

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7445594号
(P7445594)

(45)発行日 令和6年3月7日(2024.3.7)

(24)登録日 令和6年2月28日(2024.2.28)

(51)国際特許分類

C 0 7 D	213/74 (2006.01)	F I
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	C 0 7 D 213/74
A 6 1 K	31/712(2006.01)	A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/712
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K 45/00
		A 6 1 K 47/54

C S P

請求項の数 23 (全260頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-524155(P2020-524155)
 (86)(22)出願日 平成30年10月31日(2018.10.31)
 (65)公表番号 特表2021-501754(P2021-501754
 A)
 (43)公表日 令和3年1月21日(2021.1.21)
 (86)国際出願番号 PCT/US2018/058471
 (87)国際公開番号 WO2019/089765
 (87)国際公開日 令和1年5月9日(2019.5.9)
 審査請求日 令和3年10月26日(2021.10.26)
 (31)優先権主張番号 62/679,549
 (32)優先日 平成30年6月1日(2018.6.1)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)
 (31)優先権主張番号 62/646,739
 (32)優先日 平成30年3月22日(2018.3.22)
 最終頁に続く

(73)特許権者 512219840
 アローヘッド ファーマシューティカルズ
 インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 911
 05, パサデナ, イースト コロラド
 ブールバード 177, スイート 700
 (74)代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74)代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74)代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏
 (74)代理人 100181641
 弁理士 石川 大輔
 (74)代理人 230113332

最終頁に続く

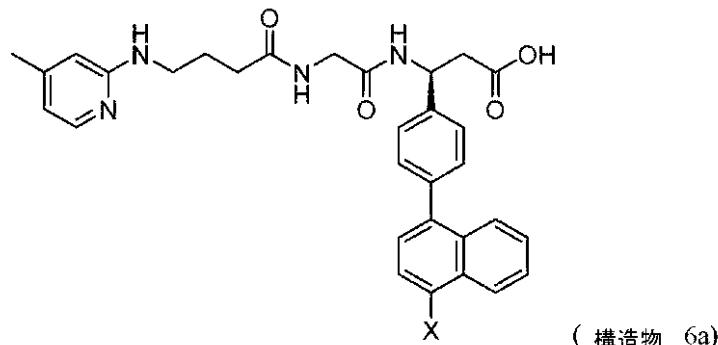
(54)【発明の名称】 インテグリンリガンドおよびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の構造物：

【化367】



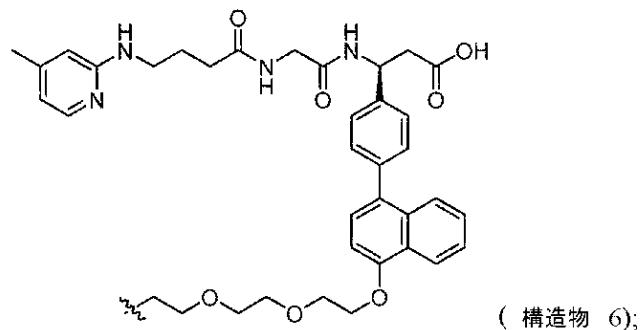
10

(式中、Xはカーゴ分子を含む)またはその薬学的に許容され得る塩を有する v 6 インテグリンリガンド。

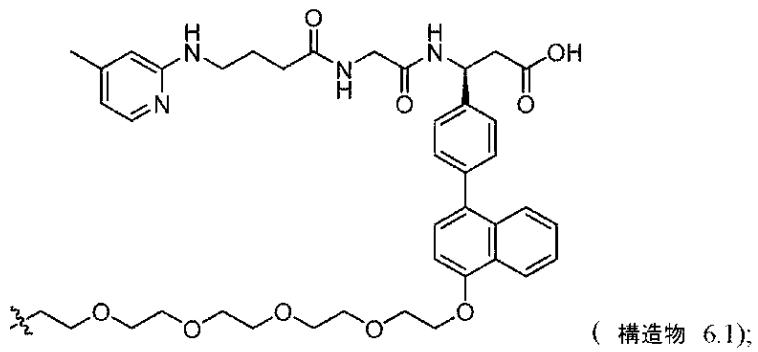
【請求項2】

前記 v 6 インテグリンリガンドが、以下：

【化 3 7 5】



10



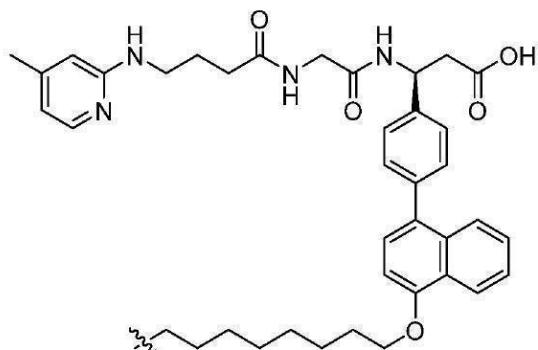
20

30

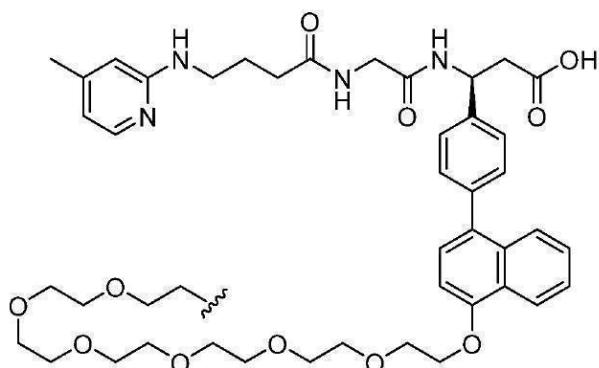
40

50

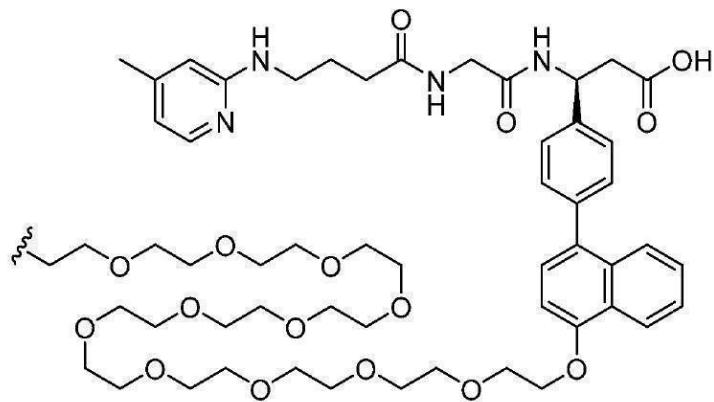
【化376】



(構造物 6.2);



(構造物 6.3);



(構造物 6.4);

(式中、

【化385】

⋮

は、カーゴ分子を含む部分への接続点を示す)からなる群から選択される構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む、請求項1に記載の v 6 インテグリンリガンド。

【請求項3】

前記カーゴ分子が、医薬品有効成分またはプロドラッグである、請求項1～2のいずれか1項に記載の v 6 インテグリンリガンド。

【請求項4】

前記カーゴ分子が、小分子、抗体、抗体断片、免疫グロブリン、モノクローナル抗体、標識もしくはマーカー、脂質、天然もしくは修飾された核酸、天然もしくは修飾された核酸オリゴヌクレオチド、天然もしくは修飾された核酸ポリヌクレオチド、ペプチド、アプタマー、ポリマー、ポリアミン、タンパク質、毒素、ビタミン、ポリエチレンギリコール

40

50

、ハプテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、放射性の原子もしくは分子、またはフルオロフオアを含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の v 6 インテグリンリガンド。

【請求項5】

前記カーゴ分子がRNAi剤を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の v 6 インテグリンリガンド。

【請求項6】

前記カーゴ分子に結合している、請求項1～5のいずれか1項に記載の v 6 インテグリンリガンド、連結基、および足場を含む構造物。

【請求項7】

単座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、請求項6に記載の構造物。

10

【請求項8】

二座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、請求項6に記載の構造物。

【請求項9】

三座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、請求項6に記載の構造物。

【請求項10】

四座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、請求項6に記載の構造物。

【請求項11】

前記構造物が、以下の式：

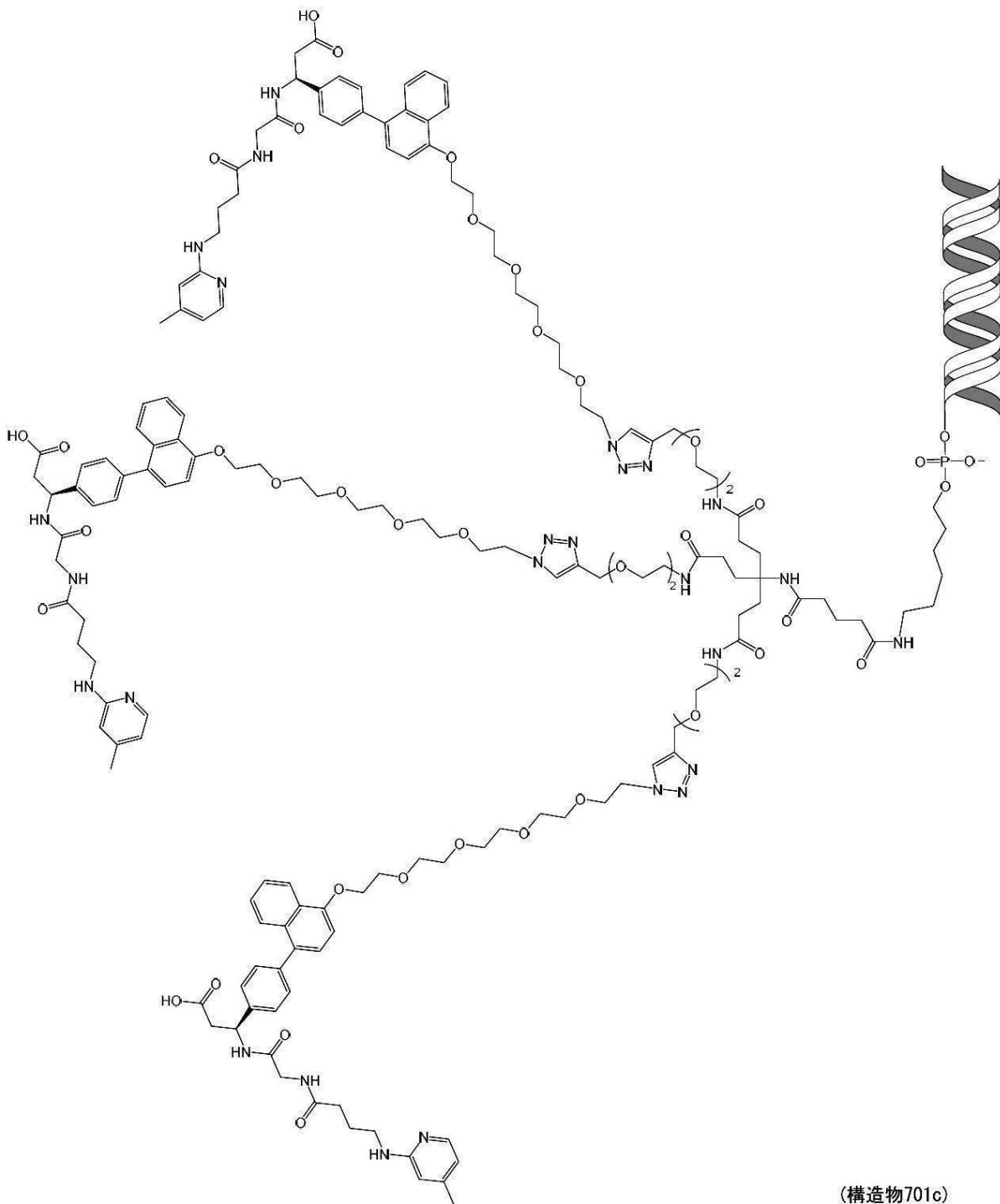
20

30

40

50

【化 3 8 6】



を有し、そしてここで、

【化 3 8 7】



は R N A i 剤を表す、請求項 6 に記載の構造物。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンドまたは請求項 6 ~ 1 1 のいずれかに記載の構造物、および薬学的に許容され得る賦形剤を含む組成物。

【請求項 1 3】

前記 v 6 インテグリンリガンドが、上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害すること

40

50

ができるオリゴヌクレオチド系化合物に結合している、請求項 1_2 に記載の組成物。

【請求項 1 4】

前記 v 6 インテグリンリガンドが、上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができる RNAi 剤に結合している、請求項 1_2 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記 v 6 インテグリンリガンドが、細気管支上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができる RNAi 剤に結合している、請求項 1_2 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

1 またはそれを超えるカーゴ分子を細胞に送達させる方法において使用するための、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンドまたは請求項 6 ~ 1_1 のいずれかに記載の構造物を含む組成物であって、前記方法が、前記細胞に前記 v 6 インテグリンリガンドまたは前記構造物を投与する工程を含む、組成物。 10

【請求項 1 7】

1 またはそれを超えるカーゴ分子を被験体の細胞または組織に in vivo で送達されることにおける使用のための、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンド、請求項 6 ~ 1_1 のいずれかに記載の構造物、または請求項 1_2 ~ 1_6 のいずれかに記載の組成物を含む、組成物。

【請求項 1 8】

前記細胞が、以下： I 型および II 型の肺胞上皮細胞、杯細胞、分泌上皮細胞、線毛上皮細胞、角膜および結膜の上皮細胞、真皮上皮細胞、胆管細胞、腸細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞、および上皮性腫瘍（癌腫）からなる群から選択される、請求項 1_6 または 1_7 に記載の組成物。 20

【請求項 1 9】

前記 1 またはそれを超えるカーゴ分子が、オリゴヌクレオチド系化合物を含む、請求項 1_6 または 1_7 に記載の組成物。

【請求項 2 0】

前記オリゴヌクレオチド系化合物が RNAi 剤である、請求項 1_9 に記載の組成物。

【請求項 2 1】

in vivo で細胞中の標的遺伝子の発現を阻害するための組成物であって、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンドに結合したオリゴヌクレオチド系化合物を含む、組成物。 30

【請求項 2 2】

前記細胞が、以下： I 型および II 型の肺胞上皮細胞、杯細胞、分泌上皮細胞、線毛上皮細胞、角膜および結膜の上皮細胞、真皮上皮細胞、胆管細胞、腸細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞、および上皮性腫瘍（癌腫）からなる群から選択される、請求項 2_1 に記載の組成物。

【請求項 2 3】

前記オリゴヌクレオチド系化合物が RNAi 剤である、請求項 2_1 または 2_2 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】 40

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2017年11月1日に出願された米国特許仮出願第 62/580,398 号、2018年3月22日に出願された米国特許仮出願第 62/646,739 号、および 2018 年 6 月 1 日に出願された米国特許仮出願第 62/679,549 号（各々の内容全体が、本明細書中で参考として援用される）の優先権を主張する。

【背景技術】

【0002】

背景 50

上皮細胞が含まれる種々の細胞型で発現されるインテグリンアルファ - v ベータ - 6 (v 6) は、 T G F - の潜在関連ペプチド (L A P) ならびに細胞外基質 (E C M) タンパク質であるフィブロネクチン、ビトロネクチン、およびテネイシンの受容体である。 v 6 インテグリンは、健常成人の上皮で辛うじて検出可能であるが、創傷治癒中および様々な癌 (例えは、結腸癌、卵巣癌、子宮内膜癌、および胃癌癌) で上方制御され、しばしば、癌の予後不良に関連する。 v 6 インテグリンは、転移における細胞浸潤および細胞遊走を促進し、アポトーシスを阻害することができる事が示されている。 v 6 インテグリンはまた、マトリックスメタロプロテアーゼ (M M P) の発現を制御し、 T G F - 1 を活性化することができる。 v 6 インテグリンが癌腫の進行を促進する可能性があることを示唆する、主に *i n v i t r o* 研究に由来する証拠が増加しつつある。したがって、インテグリン v 6 は、とりわけ、マトリックスメタロプロテアーゼ (M M P) の発現および T G F - 1 の活性化におけるその役割の観点から、腫瘍バイオマークーおよび潜在的な治療標的として魅力的である。

【 0 0 0 3 】

薬物化合物などの治療有効化合物の所望の細胞および / または組織への *i n v i v o* 送達は、製剤開発における一般的な課題であり続けている。細胞または組織を選択的に標的にすることができ、カーゴ分子 (例えは、治療上活性な化合物または成分) の特定の細胞または組織への標的化送達を容易にするために使用することができる安定かつ有効なターゲティングリガンドが必要であり続けている。実際に、 1 またはそれを超える最適なカーゴ分子 (1 またはそれを超える製剤など) または *i n v i v o* での所望の細胞または組織へのカーゴ分子の送達を容易にするための他のペイロードに結合することができるターゲティングリガンドが一般的に必要とされる。さらに、 *i n v i v o* でインテグリンアルファ - v ベータ - 6 を発現する細胞にカーゴ分子を送達させるための、カーゴ分子への結合に適切なインテグリンアルファ - v ベータ - 6 を標的にする化合物が必要である。治療用オリゴヌクレオチド系化合物 (例えは、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたは R N A i 剤) などの特定のカーゴ分子に関して、インテグリンアルファ - v ベータ - 6 を発現する細胞および / または組織に治療薬を送達させ、受容体媒介性のエンドサイトーシス、飲作用、または他の手段による細胞内への治療薬の侵入を容易にする、オリゴヌクレオチド系化合物に結合することができるインテグリンアルファ - v ベータ - 6 を標的にすることができるターゲティングリガンドが必要である。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 4 】

要旨

新規の合成 v 6 インテグリンリガンド (本明細書中に v 6 リガンドとも呼ばれる) を本明細書中に記載する。本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、血清中で安定であり、 v 6 インテグリンに親和性を有し、かつ特異的に結合することができる。 v 6 インテグリンリガンドをカーゴ分子に結合して、 v 6 インテグリンを発現する所望の細胞または組織 (上皮細胞など) へのカーゴ分子の送達を容易にすることができる。

【 0 0 0 5 】

i n v i v o で v 6 インテグリンを発現する組織および / または細胞にカーゴ分子を送達させる方法であって、ここで、 1 またはそれを超えるカーゴ分子に結合されている 1 またはそれを超える本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法も本明細書中に開示する。 v 6 インテグリンを発現する細胞への治療用カーゴ分子 (例えは、医薬品有効成分) の送達によって被験体を処置することができる疾患、症状、または障害を有する被験体を処置する方法であって、ここで、 1 またはそれを超える治療用カーゴ分子に結合されている 1 またはそれを超える本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法をさらに関示する。

10

20

30

40

50

【0006】

いくつかの実施形態では、細胞中の標的細胞の発現を阻害する方法であって、ここで、細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができる1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物（例えば、オリゴヌクレオチド系治療薬）（RNAi剤など）に結合されている有効量の1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを細胞に投与する工程を含む、方法を本明細書中に記載する。いくつかの実施形態では、被験体の細胞中の標的細胞の発現を阻害する方法であって、ここで、細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができる1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物（RNAi剤など）に結合されている有効量の1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に記載する。

10

【0007】

ν 6インテグリンリガンドを含む組成物を本明細書中にさらに記載する。本明細書中に記載の組成物は、1またはそれを超える治療物質（RNAi剤または他のカーゴ分子など）に結合した1またはそれを超える本明細書中に開示の ν 6インテグリンリガンドを含む医薬組成物であり得る。

【0008】

いくつかの実施形態では、少なくとも一部が標的遺伝子の発現によって媒介される疾患または障害を有する被験体を処置する方法であって、ここで、有効量の医薬組成物を必要とする被験体に投与する工程を含み、ここで、医薬組成物が、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物（RNAi剤など）に結合した1またはそれを超える本明細書中に開示の ν 6インテグリンリガンドを含む、方法を本明細書中に記載する。

20

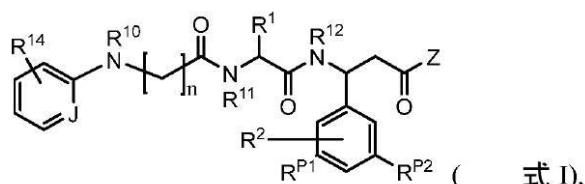
【0009】

第1の態様では、本開示は、合成 ν 6インテグリンリガンドを提供する。

【0010】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の ν 6インテグリンリガンドは、以下の式：

【化1】



30

(式中、

nは0～7の整数であり；

JはC-HまたはNであり；

Zは、OR¹³、N(R¹³)₂、またはSR¹³であり；

R¹は、H、必要に応じて置換されたC₁～C₆アルキル、OH、COOH、CON(R⁵)₂、OR⁶であるか、R¹は、カーゴ分子を含み、ここで、各R⁵は、独立して、HまたはC₁～C₆アルキルであり、R⁶は、HまたはC₁～C₆アルキルであり；

R²、R^{P1}、およびR^{P2}は、各々独立して、H、ハロ、必要に応じて置換されたシクロアルキレン、必要に応じて置換されたアリーレン、必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、または必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであるか、R²、R^{P1}、およびR^{P2}は、カーゴ分子を含んでよく；

R¹⁰は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹¹は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであるか、R¹¹およびR¹は、これらに付着している原子と共に、必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R¹²は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

各R¹³は、独立して、H、必要に応じて置換されたアルキルであるか、R¹³は、カーゴ分子を含み；

40

50

R^{14} は必要に応じて置換されたアルキルであり；ここで、 R^1 、 R^2 、 R^{13} 、 R^{P1} 、および R^{P2} のうちの少なくとも 1 つは、カーゴ分子を含む) の構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む。

【0011】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドを、1 またはそれを超える(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30；または1~30、1~25、1~20、1~15、1~10、1~5、5~30、5~25、5~20、5~15、5~10、10~30、10~25、10~20、10~15、15~30、15~25、15~20、20~30、20~25、もしくは25~30の) カーゴ分子(例えば、本明細書中に記載されているか、当該分野で公知の任意のカーゴ分子) に結合することができる。

【0012】

いくつかの実施形態では、1 を超える本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンド(例えば、2、3、4、5、6、7、8、または1~8、1~7、1~6、1~5、1~4、1~3、1~2、2~8、2~7、2~6、2~5、2~4、2~3、3~8、3~7、3~6、3~5、3~4、4~8、4~7、4~6、または4~5の v_6 インテグリンリガンド)を、1 つのカーゴ分子(例えば、本明細書中に記載されているか、当該分野で公知の任意のカーゴ分子) に結合することができる。

【0013】

別の態様では、本開示は、1 またはそれを超える本明細書中に記載の v_6 インテグリンリガンドを含む組成物を提供する。例えば、いくつかの実施形態では、1 またはそれを超える本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドを含む組成物は、 $in vivo$ で細胞に送達すべき 1 またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物(単数または複数)(1 またはそれを超える RNAi 剤(単数または複数)など)を含む。いくつかの実施形態では、 $in vivo$ で細胞に RNAi 剤を送達させるための組成物であって、ここで、RNAi 剤が 1 またはそれを超える v_6 インテグリンリガンドに連結されている、組成物を本明細書中に記載する。

【0014】

1 またはそれを超える v_6 インテグリンリガンドを含む組成物を記載する。いくつかの実施形態では、組成物は、薬学的に許容され得る賦形剤を含む。いくつかの実施形態では、1 またはそれを超える v_6 インテグリンリガンドを含む組成物は、1 またはそれを超える他の薬学的物質または薬学的に活性な成分もしくは化合物を含む。いくつかの実施形態では、1 またはそれを超える v_6 インテグリンリガンドを含む医薬を本明細書中に記載する。

【0015】

1 またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1 またはそれを超える本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドを含む組成物は、 $in vivo$ または $in vitro$ でのインテグリン v_6 を発現する細胞へのカーゴ分子(molecule)の送達を容易にできる。例えば、1 またはそれを超える本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドを含む組成物は、 $in vivo$ または $in vitro$ でカーゴ分子(オリゴヌクレオチド系化合物など)を I 型および II 型の肺胞上皮細胞、杯細胞、分泌上皮細胞、線毛上皮細胞、角膜および結膜の上皮細胞、真皮上皮細胞、胆管細胞、腸細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞、および上皮性腫瘍(癌腫)に送達させることができる。

【0016】

別の態様では、本開示は、所望する場合に開示の v_6 インテグリンリガンドおよび / または組成物を医薬品としての投与に適切な形態にした、1 またはそれを超える本明細書中に記載の v_6 インテグリンリガンドおよび / または組成物の使用を含む方法を提供する。他の実施形態では、本開示は、本明細書中に記載のリガンドおよび組成物(例えば、医薬)を製造する方法を提供する。

10

20

30

40

50

【0017】

1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを含む組成物を、投与を試みるカーゴ分子を考慮して投与に適切であることが当該分野で公知の投与経路（例えば、吸入（エアロゾルまたはドライパウダー製剤）、鼻腔内、皮下、静脈内、腹腔内、皮内、経皮、経口、舌下、局所、または腫瘍内への投与が含まれる）を使用して $in\ vivo$ で被験体に投与することができる。いくつかの実施形態では、1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを含む組成物を、全身送達させるために、例えば、静脈内投与または皮下投与によって、投与することができる。いくつかの実施形態では、1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを含む組成物を、局所送達させるために、例えば、ドライパウダー吸入器またはネブライザーを介した吸入送達によって投与することができる。いくつかの実施形態では、1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを含む組成物を、局所送達させるために、局所投与によって投与することができる。

10

【0018】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で I 型肺胞上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

20

【0019】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で II 型肺胞上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

20

【0020】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で杯細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0021】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で分泌上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

30

【0022】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で線毛上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0023】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で角膜上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

40

【0024】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で結膜上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した 1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0025】

いくつかの実施形態では、 $in\ vivo$ で真皮上皮細胞に 1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超

50

えるカーゴ分子に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0026】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で胆管細胞に1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0027】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で腸細胞に1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。 10

【0028】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で管上皮細胞に1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0029】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で腺上皮細胞に1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。 20

【0030】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で上皮性腫瘍（癌腫）に1またはそれを超える所望のカーゴ分子（単数または複数）を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0031】

いくつかの実施形態では、*in vivo*でI型肺胞上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*でI型肺胞上皮細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剤に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*でI型肺胞上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、 ν 6インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合したRNAi剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。 30

【0032】

いくつかの実施形態では、*in vivo*でII型肺胞上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*でII型肺胞上皮細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剈に結合した1またはそれを超える ν 6インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*でII型肺胞上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、 ν 6インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合したRNAi剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。 40

【0033】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で杯細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で杯細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剤に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で杯細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v 6*インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合したRNAi剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

10

【0034】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で分泌上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で分泌上皮細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剤に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で分泌上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v 6*インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合したRNAi剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

20

【0035】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で線毛上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で線毛上皮細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剤に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で線毛上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v 6*インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合したRNAi剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

30

【0036】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で角膜上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で角膜上皮細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剤に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で角膜上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v 6*インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合したRNAi剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

40

【0037】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で結膜上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で結膜上皮細胞にRNAi剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるRNAi剤に結合した1またはそれを超える*v 6*インテグリンリガンドを被験体に投与す

50

る工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で結膜上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v* 6 インテグリンに対する親和性を有する 1 またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で真皮上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で真皮上皮細胞に RNAi 剤を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超える RNAi 剤に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で真皮上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v* 6 インテグリンに対する親和性を有する 1 またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で胆管細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で胆管細胞に RNAi 剤を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超える RNAi 剤に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で胆管細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v* 6 インテグリンに対する親和性を有する 1 またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で腸細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で腸細胞に RNAi 剤を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超える RNAi 剤に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で腸細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v* 6 インテグリンに対する親和性を有する 1 またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で管上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で管上皮細胞に RNAi 剤を送達させる方法であって、ここで、1 またはそれを超える RNAi 剤に結合した 1 またはそれを超える *v* 6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo*で管上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、*v* 6 インテグリンに対する親和性を有する 1 またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態では、*in vivo*で腺上皮細胞にオリゴヌクレオチド系化合物

10

20

30

40

50

を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える ν_6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo* で腺上皮細胞に RNAi 剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超える RNAi 剤に結合した1またはそれを超える ν_6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo* で腺上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、 ν_6 インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0043】

10

いくつかの実施形態では、*in vivo* で上皮性腫瘍（癌腫）にオリゴヌクレオチド系化合物を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超えるオリゴヌクレオチド系化合物に結合した1またはそれを超える ν_6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo* で上皮性腫瘍（癌腫）に RNAi 剤を送達させる方法であって、ここで、1またはそれを超える RNAi 剤に結合した1またはそれを超える ν_6 インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。いくつかの実施形態では、*in vivo* で上皮性腫瘍（癌腫）中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、ここで、 ν_6 インテグリンに対する親和性を有する1またはそれを超えるリガンドに結合した RNAi 剤を被験体に投与する工程を含む、方法を本明細書中に開示する。

【0044】

20

別段の定義がない限り、本明細書中で使用した全ての技術用語および科学用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されている意味を有する。本明細書中に記載の方法および材料と類似するか等価な方法および材料を、本発明の実施または試験で使用することができるが、適切な方法および材料を以下に記載する。本明細書中で言及した全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、その全体が参考として援用される。矛盾がある場合、定義を含む本明細を優先するであろう。さらに、材料、方法、および実施例は、例示のみを目的とし、本発明の制限を意図しない。

【0045】

本発明の他の対象、特徴、態様、および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかであろう。

30

【発明を実施するための形態】

【0046】

詳細な説明

ν_6 インテグリンリガンド。

血清安定性およびインテグリン ν_6 に対する親和性を有する合成 ν_6 インテグリンリガンドを本明細書中に記載する。 ν_6 インテグリンリガンドを使用して、*in vitro*、*in situ*、*ex vivo*、および/または*in vivo* でインテグリン ν_6 を発現する細胞を標的にすることができます。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の ν_6 インテグリンリガンドは、1またはそれを超えるカーゴ分子に結合され、*in vitro*、*in situ*、*ex vivo*、および/または*in vivo* でインテグリン ν_6 を発現する細胞にカーゴ分子を優先的に指向して標的にすることができます。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な化合物を含むかそれからなる。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、RNAi 剤などのオリゴヌクレオチド系化合物を含むか、それからなる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の ν_6 インテグリンリガンドは、*in vivo* でカーゴ分子を上皮細胞に指向させるためにカーゴ分子に結合される。

40

【0047】

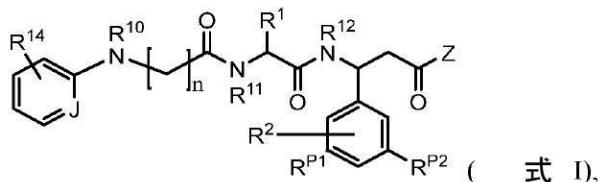
第1の態様では、本開示は、合成 ν_6 インテグリンリガンドを提供する。

【0048】

50

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の $\text{v} \sim 6$ インテグリンリガンドは、以下の式：

【化 2】



(式中、

10

n は 0 ~ 7 の整数であり；

J は C - H または N であり；

Z は、 O R^{13} 、 $\text{N}(\text{R}^{13})_2$ 、 または S R^{13} であり；

R^1 は、 H、 必要に応じて置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル、 OH、 COOH、 CON(R⁵)₂、 OR⁶ であるか、 R^1 は、 カーゴ分子を含み、 ここで、 各 R^5 は、 独立して、 H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、 R^6 は、 H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R^2 、 R^{P1} 、 および R^{P2} は、 各々独立して、 H、 ハロ、 必要に応じて置換されたシクロアルキレン、 必要に応じて置換されたアリーレン、 必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、 または必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであるか、 R^2 、 R^{P1} 、 および R^{P2} は、 カーゴ分子を含んでよく；

R^{10} は、 H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

R^{11} は、 H または必要に応じて置換されたアルキルであるか、 R^{11} および R^1 は、 これらに付着している原子と共に、 必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R^{12} は、 H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

各 R^{13} は、 独立して、 H、 必要に応じて置換されたアルキルであるか、 R^{13} は、 カーゴ分子を含み；

R^{14} は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、 R^1 、 R^2 、 R^{13} 、 R^{P1} 、 および R^{P2} のうちの少なくとも 1 つは、 カーゴ分子を含む) の構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む。

【0049】

30

いくつかの実施形態では、 式 I において $n = 3$ である。 いくつかの実施形態では、 式 I において $n = 4$ である。

【0050】

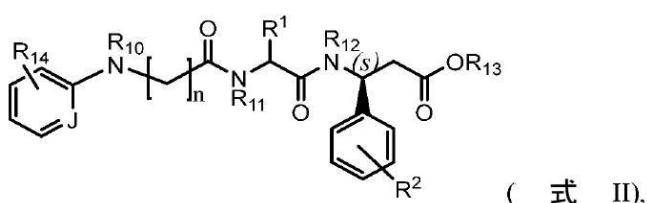
式 I のいくつかの実施形態では、 R^2 はナフチレン (naphthylene) である。 式 I のいくつかの実施形態では、 R^2 は置換ナフチレン (naphthylene) であり、 R^2 はカーゴ分子も含む。

【0051】

いくつかの実施形態では、 本明細書中に開示の $\text{v} \sim 6$ インテグリンリガンドは、 以下の式：

【化 3】

40



(式中、

n は、 0 ~ 7 の整数であり (すなわち、 n は、 0、 1、 2、 3、 4、 5、 6、 または 7 である)；

J は C - H または N であり；

50

R¹は、H、C₁～C₆アルキル、CH(R³)(R⁴)、OH、COOH、CH₂CH₂NH₂、CONHR⁵、OR⁶であり、ここで、R³は、HまたはC₁～C₆アルキルであり、R⁴は、H、C₁～C₆アルキルであり、R⁵は、HまたはC₁～C₆アルキルであり、R⁶は、HまたはC₁～C₆アルキルであり；

R²は、必要に応じて置換されたシクロアルキレン、必要に応じて置換されたアリーレン、必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、または必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであり、

R¹⁰は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹¹は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであるか、R¹¹およびR¹は、これらに付着している原子と共に、必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R¹²は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹³は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹⁴は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、R¹またはR²のうちの少なくとも1つはカーゴ分子を含む)の構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む。

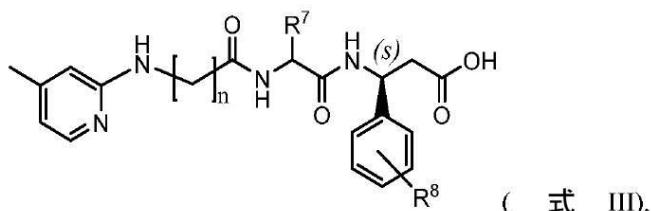
【0052】

いくつかの実施形態では、式IIにおいてn=3である。いくつかの実施形態では、式I Iにおいてn=4である。

【0053】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の式：

【化4】



(式中、

nは、1～7の整数であり(すなわち、nは、1、2、3、4、5、6、または7である)；

R⁷は、1またはそれを超えるカーゴ分子を含み；

R⁸は、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子を有する1またはそれを超える必要に応じて置換された2価の環状部分(シクロアルキル(例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリル、またはシクロヘプチル)、シクロアルケニル(例えば、シクロペンテニル、シクロブテンニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、またはシクロヘプテニル)、アリール(例えば、フェニル)、ヘテロアリール(例えば、ピリジル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、チオフェン、ベンゾチオフェン、チアゾール、ベンゾチアゾール、フラン、オキサゾール、イソキサゾール、ベンゾフラン、インドール、インダゾール、ベンズイミダゾール、オキサジアゾール、1,2,3-トリアゾール、1,2,4-トリアゾール、テトラゾール、キノリニル、イソキノリニル、またはキノキサリニル)、またはヘテロシクリル(例えば、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、ピペリジン、ピロリジン、ジオキサン、またはジオキソラン)など)である)の構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む。

【0054】

いくつかの実施形態では、式IIIにおいてn=3である。いくつかの実施形態では、式IIIにおいてn=4である。

【0055】

10

20

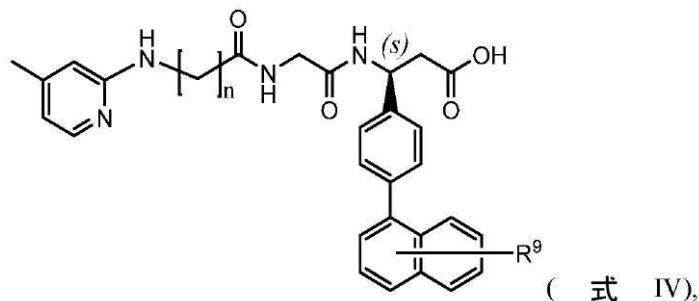
30

40

50

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の $\text{v} \sim 6$ インテグリンリガンドは、以下の式：

【化 5】



10

(式中、

n は、1 ~ 7 の整数であり（すなわち、 n は、1、2、3、4、5、6、または7である）；

R^9 は、1 またはそれを超えるカーボ分子を含む）の構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む。

【0056】

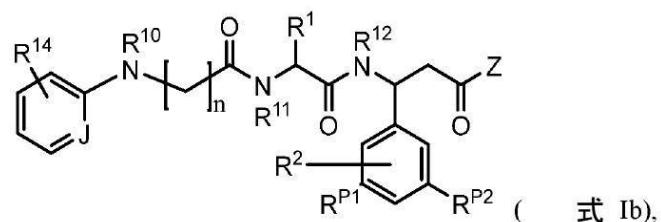
いくつかの実施形態では、式 I Vにおいて $n = 3$ である。いくつかの実施形態では、式 I Vにおいて $n = 4$ である。

20

【0057】

別の態様では、本発明は、以下の構造物：

【化 6】



30

(式中、

n は 0 ~ 7 の整数であり；

J は C - H または N であり；

Z は、 OR^{13} 、 $N(R^{13})_2$ 、または SR^{13} であり；

R^1 は、H、必要に応じて置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル、OH、COOH、CON(R^5)₂、 OR^6 であるか、 R^1 は、反応基に結合した連結基を含み、ここで、各 R^5 は、独立して、H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、 R^6 は、H または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

R^2 、 R^{P1} 、および R^{P2} は、各々独立して、H、ハロ、必要に応じて置換されたシクロアルキレン、必要に応じて置換されたアリーレン、必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、または必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであるか、 R^2 、 R^{P1} 、および R^{P2} は、反応基に結合した連結基を含んでよく；

R^{10} は、H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

R^{11} は、H または必要に応じて置換されたアルキルであるか、 R^{11} および R^1 は、これらに付着している原子と共に、必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R^{12} は、H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

各 R^{13} は、独立して、H、必要に応じて置換されたアルキルであるか、 R^{13} は、反応基に結合した連結基を含み；

R^{14} は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、 R^1 、 R^2 、 R^{13} 、 R^{P1} 、および R^{P2} のうちの少なくとも 1 つは、反応基

40

50

に結合した連結基を含む)のインテグリンターゲティングリガンド前駆体またはその薬学的に許容され得る塩を提供する。

【0058】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドを、1またはそれを超える(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30;または1~30、1~25、1~20、1~15、1~10、1~5、5~30、5~25、5~20、5~15、5~10、10~30、10~25、10~20、10~15、15~30、15~25、15~20、20~30、20~25、もしくは25~30の)カーゴ分子(例えば、本明細書中に記載されているか、当該分野で公知の任意のカーゴ分子)に結合することができる。10

【0059】

いくつかの実施形態では、1を超える本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンド(例えば、2、3、4、5、6、7、8、または1~8、1~7、1~6、1~5、1~4、1~3、1~2、2~8、2~7、2~6、2~5、2~4、2~3、3~8、3~7、3~6、3~5、3~4、4~8、4~7、4~6、または4~5の v_6 インテグリンリガンド)を、1つのカーゴ分子(例えば、本明細書中に記載されているか、当該分野で公知の任意のカーゴ分子)に結合することができる。

【0060】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、必要に応じて連結基(例えば、ポリエチレンギリコール(P E G)基など)を介して1またはそれを超えるカーゴ分子に結合される。20

【0061】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、各リガンドのための少なくとも1つの付着点および各カーゴ分子のための少なくとも1つの付着点を含む足場を介して1またはそれを超えるカーゴ分子に必要に応じて結合している。いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、1つのカーゴ分子を含むか、それからなるか、それから本質的になる。いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、1つを超えるカーゴ分子を含むか、それからなるか、それから本質的になる。30

【0062】

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、各々が本明細書中に開示の構造物1、構造物2、構造物5、構造物5.1、構造物5.2、構造物6、構造物6.1、構造物6.2、構造物6.3、構造物6.4、構造物7、構造物8、構造物9、構造物10、構造物11、構造物12、構造物13、構造物14、構造物15、構造物16、構造物17、構造物18、構造物19、構造物20、構造物22、構造物23、構造物24、構造物25、構造物27、構造物29、構造物30、構造物31、構造物32、構造物33、構造物34、構造物35、構造物36、または構造物37のうちのいずれかを含むか、それからなるか、それから本質的になる。

【0063】

本明細書中に開示の任意の v_6 インテグリンリガンドを、カーゴ分子、反応基、および/または保護された反応基に連結することができる。反応基を使用して、 v_6 インテグリンリガンドのカーゴ分子への結合を容易にすることができます。本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、 v_6 インテグリンまたは v_6 インテグリンを発現する細胞へのカーゴ分子の標的化を増加させることができます。カーゴ分子は、薬学的に活性な成分もしくは化合物、プロドラッグ、または公知の治療上または診断上の利点を有する別の物質であり得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、小分子、抗体、抗体断片、免疫グロブリン、モノクローナル抗体、標識もしくはマーカー、脂質、天然もしくは修飾されたオリゴヌクレオチド系化合物(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはRNAi剤)、天然もしくは修飾された核酸、ペプチ40

ド、アプタマー、ポリマー、ポリアミン、タンパク質、毒素、ビタミン、ポリエチレンジリコール、ハプロテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、放射性の原子もしくは分子、またはフルオロフォアであり得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な成分またはプロドラッグを含む。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な成分としてオリゴヌクレオチド系化合物を含む。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な成分としてRNAi剤を含む。

【0064】

本明細書中で使用される場合、用語「アルキル」は、別段の指定がない限り、1～10個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖の飽和脂肪族炭化水素基を指す。例えば、「C₁～C₆アルキル」には、1、2、3、4、5、または6個の炭素を直鎖または分枝鎖の配置で有するアルキル基が含まれる。アルキル基の非限定的な例には、メチル、エチル、イソ-ブロピル、tert-ブチル、n-ヘキシルが含まれる。本明細書中で使用される場合、用語「アミノアルキル」は、通常の原子価によって許容される1またはそれを超えるアミノ基と任意の位置で置換された上記定義のアルキル基を指す。アミノ基は、非置換、一置換、または二置換されていてよい。アミノアルキル基の非限定的な例には、アミノメチル、ジメチルアミノメチル、および2-アミノプロパ-1-イルが含まれる。

10

【0065】

本明細書中で使用される場合、用語「シクロアルキル」は、別段の指定がない限り、3～14個の炭素原子を有する飽和または不飽和の非芳香族炭化水素環基を意味する。シクロアルキル基の非限定的な例には、シクロブロピル、メチル-シクロブロピル、2,2-ジメチル-シクロブチル、2-エチル-シクロペンチル、およびシクロヘキシルが含まれるが、これらに限定されない。シクロアルキルは、複数のスピロ環または縮合環を含み得る。シクロアルキル基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。

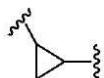
20

【0066】

本明細書中で使用される場合、用語「シクロアルキレン」は、本明細書中に記載のシクロアルキル基の2価のラジカルを指す。シクロアルキレンは、シクロアルキルの部分集合であり、シクロアルキルと同一の残基を指すが、2つの置換点を有する。シクロアルキレンの例には、シクロブロピレン、

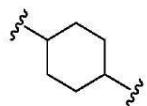
30

【化7】



、1,4-シクロヘキシレン、

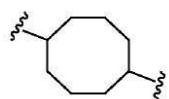
【化8】



、および1,5-シクロオキシレン

40

【化9】



が含まれる。シクロアルキレン基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。シクロアルキレン基は、単環系、二環系、または三環系であってよい。

【0067】

本明細書中で使用される場合、用語「アルケニル」は、別段の指定がない限り、少なく

50

とも1つの炭素-炭素二重結合を含み、2~10個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖の非芳香族炭化水素ラジカルを指す。かかる基内に5つまでの炭素-炭素二重結合が存在してよい。例えば、「C₂~C₆」アルケニルは、2~6個の炭素原子を有するアルケニルラジカルと定義される。アルケニル基の例には、エテニル、プロペニル、ブテニル、およびシクロヘキセニルが含まれるが、これらに限定されない。アルケニル基の直鎖部分、分岐鎖部分、または環状部分は、二重結合を含んでよく、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。用語「シクロアルケニル」は、特定の数の炭素原子および少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有する単環式炭化水素基を意味する。

【0068】

10

本明細書中で使用される場合、用語「アルキニル」は、別段の指定がない限り、2~10個の炭素原子を含み、かつ、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含む直鎖または分岐鎖の炭化水素ラジカルを指す。5つまでの炭素-炭素三重結合が存在してよい。したがって、「C₂~C₆アルキニル」は、2~6個の炭素原子を有するアルキニルラジカルを意味する。アルキニル基の例には、エチニル、2-プロピニル、および2-ブチニルが含まれるが、これらに限定されない。アルキニル基の直鎖部分または分岐鎖部分は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されていてよい。

【0069】

20

本明細書中で使用される場合、「アルコキシリ」または「アルコキシ」は、表示の数の炭素原子を有する-O-アルキルラジカルを指す。例えば、C₁~₆アルコキシには、C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、およびC₆アルコキシ基が含まれることを意図する。例えば、C₁~₈アルコキシには、C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、およびC₈アルコキシ基が含まれることを意図する。アルコキシの例には、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、i-プロポキシ、n-ブトキシ、s-ブトキシ、t-ブトキシ、n-ペントキシ、s-ペントキシ、n-ヘプトキシ、およびn-オクトキシが含まれるが、これらに限定されない。

【0070】

30

本明細書中で使用される場合、「ケト」は、カルボニル架橋を介して付着した本明細書中に定義の任意のアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、またはアリール基を指す。ケト基の例には、アルカノイル（例えば、アセチル、プロピオニル、ブタノイル、ペンタノイル、またはヘキサノイル）、アルケノイル（例えば、アクリロイル）アルキノイル（例えば、エチノイル、プロピノイル、ブチノイル、ペンチノイル、またはヘキシノイル）、アリーロイル（例えば、ベンゾイル）、ヘテロアリーロイル（例えば、ピロロイル、イミダゾロイル、キノリノイル、またはピリジノイル）が含まれるが、これらに限定されない。

【0071】

本明細書中で使用される場合、「アルコキカルボニル」は、カルボニル架橋を介して付着した上記定義の任意のアルコキシ基（すなわち、-C(O)O-アルキル）を指す。アルコキカルボニル基の例には、メトキカルボニル、エトキカルボニル、イソ-プロポキカルボニル、n-プロポキカルボニル、t-ブトキカルボニル、ベンジルオキカルボニル、またはn-ペントキカルボニルが含まれるが、これらに限定されない。

【0072】

40

本明細書中で使用される場合、「アリールオキカルボニル」は、オキカルボニル架橋を介して付着した上記定義の任意のアリール基（すなわち、-C(O)O-アリール）を指す。アリールオキカルボニル基の例には、フェノキカルボニルおよびナフチルオキカルボニルが含まれるが、これらに限定されない。

【0073】

本明細書中で使用される場合、「ヘテロアリールオキカルボニル」は、オキカルボニル架橋を介して付着した本明細書中に定義の任意のヘテロアリール基（すなわち、-C

50

(O)O-ヘテロアリール)を指す。ヘテロアリールオキシカルボニル基の例には、2-ピリジルオキシカルボニル、2-オキサゾリルオキシカルボニル、4-チアゾリルオキシカルボニル、またはピリミジルオキシカルボニルが含まれるが、これらに限定されない。

【0074】

本明細書中で使用される場合、「アリール」または「芳香族の」は、少なくとも1つの環が芳香族である、各環内が6原子までの任意の安定な単環式または多環式の炭素環を意味する。アリール基の例には、フェニル、ナフチル、アントラセニル、テトラヒドロナフチル、インダニル、およびビフェニルが含まれるが、これらに限定されない。アリール置換基が二環式であり、1つの環が非芳香族である場合、付着は芳香環を介すると理解される。アリール基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。10

【0075】

本明細書中で使用される場合、用語「アリーレン」は、本明細書中に記載のアリール基の二価のラジカルを指す。アリーレンは、アリールの部分集合であり、アリールと同一の残基を指すが、2つの置換点を有する。アリーレンの例には、2価のフェニル基を指すフェニレンが含まれる。アリーレン基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。

【0076】

本明細書中で使用される場合、用語「ハロ」は、ハロゲンラジカルを指す。例えば、「ハロ」は、フッ素(F)、塩素(Cl)、臭素(Br)、またはヨウ素(I)ラジカルを指し得る。20

【0077】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロアリール」は、各環内が7原子までの安定な単環式または二環式の環を表し、ここで、少なくとも1つの環は芳香族であり、O、N、およびSからなる群から選択される1~4個のヘテロ原子を含む。ヘテロアリール基の例には、アクリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、キノキサリニル、ピラゾリル(pyrazolyl)、インドリル、ベンゾトリアゾリル、フラニル、チエニル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、ベンズイミダゾロニル、ベンズオキサゾロニル、キノリニル、イソキノリニル、ジヒドロイソインドロニル、イミダゾピリジニル、イソインドロニル、インダゾリル、オキサゾリル、オキサジアゾリル、イソオキサゾリル、インドリル、ピラジニル、ピリダジニル、ピリジニル、ピリミジニル、ピロリル、およびテトラヒドロキノリンが含まれるが、これらに限定されない。「ヘテロアリール」はまた、任意の窒素含有ヘテロアリールのN-オキシド誘導体を含むことも理解される。ヘテロアリール置換基が二環式であり、1つの環が非芳香族であるか、ヘテロ原子を含まない場合、芳香環またはヘテロ原子含有環を介して付着すると理解される。ヘテロアリール基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。30

【0078】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロアリーレン」は、本明細書中に記載のヘテロアリール基の2価のラジカルを指す。ヘテロアリーレンは、ヘテロアリールの部分集合であり、ヘテロアリールと同一の残基を指すが、2つの置換点を有する。ヘテロアリールの例には、ピリジニレン、ピリミジニレン、およびピロリレンが含まれる。ヘテロアリーレン基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。40

【0079】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロ環」、「複素環式の」、または「ヘテロシリル」は、O、N、およびSからなる群から選択される1~4個のヘテロ原子を含む3~14員の芳香族または非芳香族のヘテロ環(多環式の基が含まれる)を意味する。本明細書中で使用される場合、用語「複素環式の」はまた、用語「ヘテロ環」と「ヘテロシリル」と同義と見なされ、本明細書中に示した同一の定義を有するとも理解される。50

「ヘテロシクリル」には、上述のヘテロアリール、ならびにそのジヒドロアナログおよびテトラヒドロアナログが含まれる。ヘテロシクリル基の例には、アゼチジニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾフラザニル、ベンゾピラゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチオフェニル、ベンゾオキサゾリル、カルバゾリル、カルボリニル、シンノリニル、フラニル、イミダゾリル、インドリニル、インドリル、インドラジニル、インダゾリル、イソベンゾフラニル、イソインドリル、イソキノリル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、ナフトピリジニル、オキサジアゾリル、オキソオキサゾリジニル、オキサゾリル、オキサゾリン、オキソピペラジニル、オキソピロリジニル、オキソモルホリニル、イソキサゾリン、オキセタニル、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリドピリジニル、ピリダジニル、ピリジル、ピリジノニル、ピリミジル、ピリミジノニル、ピロリル、キナゾリニル、キノリル、キノキサリニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラゾリル、テトラゾロピリジル、チアジアゾリル、チアゾリル、チエニル、トリアゾリル、1,4-ジオキサン二環式の基が含まれる）、ヘキサヒドロアゼビニル、ピペラジニル、ピベリジニル、ピリジン-2-オニル、ピロリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ジヒドロベンゾイミダゾリル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチオフェニル、ジヒドロベンゾオキサゾリル、ジヒドロフラニル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロインドリル、ジヒドロイソオキサゾリル、ジヒドロイソチアゾリル、ジヒドロオキサジアゾリル、ジヒドロオキサゾリル、ジヒドロピラジニル、ジヒドロピラゾリル、ジヒドロピリジニル、ジヒドロピリミジニル、ジヒドロピロリル、ジヒドロキノリニル、ジヒドロテトラゾリル、ジヒドロチアジアゾリル、ジヒドロチアゾリル、ジヒドロチエニル、ジヒドロトリアゾリル、ジヒドロアゼビニル、ジオキシドチオモルホリニル、メチレンジオキシベンゾイル、テトラヒドロフラニル、およびテトラヒドロチエニル、ならびにそのN-オキシドが含まれるが、これらに限定されない。ヘテロシクリル置換基の付着は、炭素原子またはヘテロ原子を介して生じ得る。ヘテロシクリル基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。

【0080】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキル」は、O、N、およびSからなる群から選択される1~4個のヘテロ原子を含む3~14員の非芳香族ヘテロ環（多環式の基が含まれる）を意味する。ヘテロシクリル基の例には、アゼチジニル、オキソピペラジニル、オキソピロリジニル、オキソモルホリニル、オキセタニル、ピラニル、ピリジノニル、ピリミジノニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロイソキノリニル、1,4-ジオキサン二環式の基が含まれる）、ヘキサヒドロアゼビニル、ピペラジニル、ピベリジニル、ピロリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ジヒドロフラニル、ジヒドロイミダゾリル、ジヒドロイソオキサゾリル、ジヒドロイソチアゾリル、ジヒドロオキサジアゾリル、ジヒドロオキサゾリル、ジヒドロピラジニル、ジヒドロピラゾリル、ジヒドロピリジニル、ジヒドロピリミジニル、ジヒドロピロリル、ジヒドロテトラゾリル、ジヒドロチアジアゾリル、ジヒドロチアゾリル、ジヒドロチエニル、ジヒドロトリアゾリル、ジオキシドチオモルホリニル、およびテトラヒドロチエニル、ならびにそのN-オキシドが含まれるが、これらに限定されない。ヘテロシクロアルキル置換基の付着は、炭素原子またはヘテロ原子を介して生じ得る。ヘテロシクリル基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。

【0081】

本明細書中で使用される場合、用語「ヘテロシクロアルキレン」は、本明細書中に記載のヘテロシクロアルキル基の2価のラジカルを指す。ヘテロシクロアルキレン(heterocycloalkylene)は、ヘテロシクロアルキルの部分集合であり、ヘテロシクロアルキルと同一の残基を指すが、2つの置換点を有する。ヘテロシクロアルキレンの例には、ピベリジニレン、アゼチジニレン、およびテトラヒドロフラニレンが含まれる。ヘテロシクロアルキレン基は、必要に応じて、通常の原子価によって許容される任意の位

10

20

30

40

50

置で、一置換、二置換、三置換、四置換、または五置換されている。

【0082】

本明細書中で使用される場合、用語「処置する」および「処置」などは、被験体における疾患の1またはそれを超える症状の数、重症度、および/または頻度の軽減または緩和を得るために採用される方法または工程を意味する。本明細書中で使用される場合、「処置する」および「処置」には、被験体における疾患の1またはそれを超える症状の数、重症度、および/または頻度の防止、管理、予防的処置、および/または抑制が含まれ得る。

【0083】

本明細書中で使用される場合、句「細胞内への導入」は、RNAi剤に関して言及する場合、細胞内へのRNAi剤の機能的送達を意味する。句「機能的送達」は、RNAi剤が期待される生物学的活性（例えば、遺伝子発現の配列特異的阻害）を有することができるような様式での細胞へのRNAi剤の送達を意味する。

【0084】

別段の記載がない限り、本明細書中で使用される記号

【化10】



の使用は、任意の基または複数の基が本明細書中に記載の発明の範囲にしたがってこの記号に連結することができることを意味する。

【0085】

本明細書中で使用される場合、用語「異性体」は、同一分子式を有するが、その原子の結合の性質もしくは順序またはその原子の空間的配置が異なる化合物を指す。異性体の原子の空間的配置が異なる異性体は、「立体異性体」と呼ばれる。相互に鏡像ではない立体異性体は「ジアステレオ異性体」と呼ばれ、重ね合わせることができない鏡像である立体異性体は「鏡像異性体」、時折、光学異性体と呼ばれる。4つの同一でない置換基に結合した炭素原子は、「キラル中心」と呼ばれる。本明細書中に記載の化合物がオレフィン二重結合または異性体の構造物が特に定義されていない幾何学的非対称の他の中心を含む場合、化合物がEおよびZ幾何異性体の両方を個別に含むか、混合物中に含み得ることが意図される。式Iの化合物またはその薬学的に許容され得る塩には、例えば、全ての可能性のある異性体、ならびにそのラセミ体および光学的に純粋な形態が含まれることを意味する。同様に、別段の明確な記載がない限り、全ての互変異性型も含まれることが意図される。

【0086】

本明細書中で使用される場合、連結基は、ある分子または分子の一部を別の第2の分子または分子の第2の部分に接続する1またはそれを超える原子である。当該分野では、連結基およびスペーサーという用語は、時折、互換的に使用される。同様に、当該分野で使用されるように、足場という用語は、時折、連結基と互換的に使用される。いくつかの実施形態では、連結基は、ペプチド切断性連結基を含み得る。いくつかの実施形態では、連結基は、ペプチドであるフェニルアラニン-シトルリン-フェニルアラニン-プロリンを含み得るか、これからなり得る。いくつかの実施形態では、連結基は、PEG基を含み得るか、これからなり得る。

【0087】

本明細書中で使用される場合、用語「連結した」は、2分子間の接続について言及する場合、2つの分子が共有結合によってつなぎ合わされていること、または、2つの分子が非共有結合（例えば、水素結合またはイオン結合）を介して会合していることを意味する。いくつかの例では、用語「連結した」が、非共有結合を介した2分子間の会合を指す場合、2つの異なる分子間の会合のKDは、生理学的に許容され得る緩衝液（例えば、リン酸緩衝生理食塩水）中で $1 \times 10^{-4} M$ 未満（例えば、 $1 \times 10^{-5} M$ 未満、 $1 \times 10^{-6} M$ 未満、または $1 \times 10^{-7} M$ 未満）である。記載がない限り、本明細書中で使用される

10

20

30

40

50

連結したという用語は、任意の介在する原子または原子団を用いるか用いない場合の第1の化合物と第2の化合物の間の接続を指し得る。

【0088】

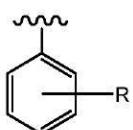
当業者は、本明細書中に開示の化合物および組成物が、化合物または組成物がおかれた環境に応じて、プロトン化した状態または脱プロトン化した状態で一定の原子（例えば、N、O、またはS原子）を有する可能性があることを容易に理解し、認識するであろう。したがって、本明細書中で使用される場合、本明細書中に開示の構造物は、例えば、OH、SH、またはNHなどの一定の官能基がプロトン化または脱プロトン化され得ることが想定される。本明細書中の開示は、当業者が容易に理解するように、環境のpHに基づいたそのプロトン化の状態と無関係に開示の化合物および組成物を対象とすることを意図する。

10

【0089】

構造物を、原子価によって許容される環上の任意の炭素原子またはヘテロ原子への結合を示すために、環構造物上に「浮遊している」結合を有するように描写することができる。例えば、構造物

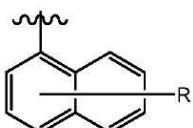
【化11】



20

は、Rが環上の任意の5個の利用可能な位置で任意の水素原子と置換することができることを示す。「浮遊している」結合を、原子価によって許容される二環のいずれかの環上の任意の位置への結合を示すために、二環構造物中で使用することもできる。二環の場合、結合は、両方の環上に「浮遊している」ように示されるであろう（例えば、

【化12】



30

は、Rが環上の任意の7個の利用可能な位置で任意の水素原子と置換することができることを示す）。

【0090】

特許請求の範囲で使用される場合、句「～からなる」は、特許請求の範囲内で特定されていないいかなる要素、工程、成分も排除する。特許請求の範囲内で使用されるとき、句「～から本質的になる」は、特定の材料または工程、ならびに特許請求の範囲に記載の発明の基本的かつ新規な特徴（単数または複数）に物質的に影響を及ぼさないものに、特許請求の範囲を限定する。

40

【0091】

v 6インテグリンを発現する細胞を標的にしてカーゴ分子を送達させるための記載の v 6インテグリンリガンドの使用を本明細書中に記載する。カーゴ分子を、in vitro、in situ、ex vivo、またはin vivoで細胞に送達することができる。

【0092】

式Ibのいくつかの実施形態では、連結基は、2～20エチレングリコール単位を含むPEG基である。

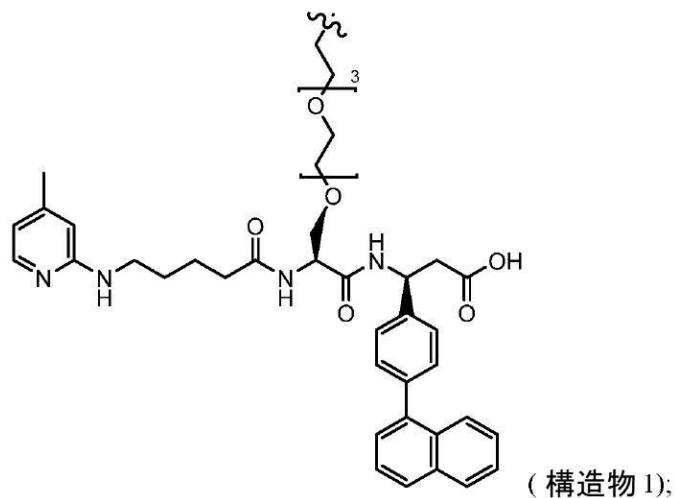
【0093】

式Ibのいくつかの実施形態では、反応基はアジドである。

【0094】

50

いくつかの実施形態では、 v^6 インテグリンリガンドは、以下：
【化 1 3】



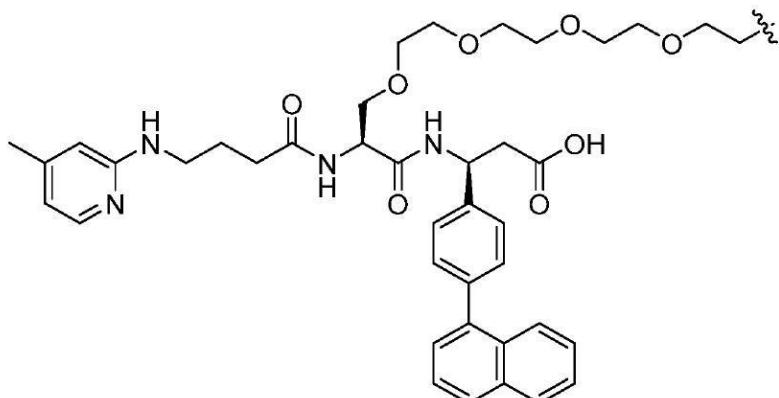
20

30

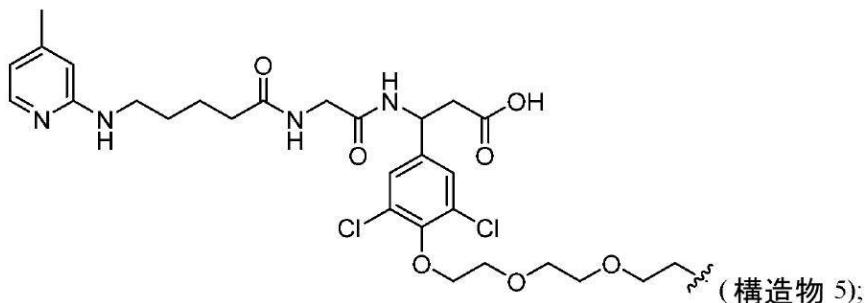
40

50

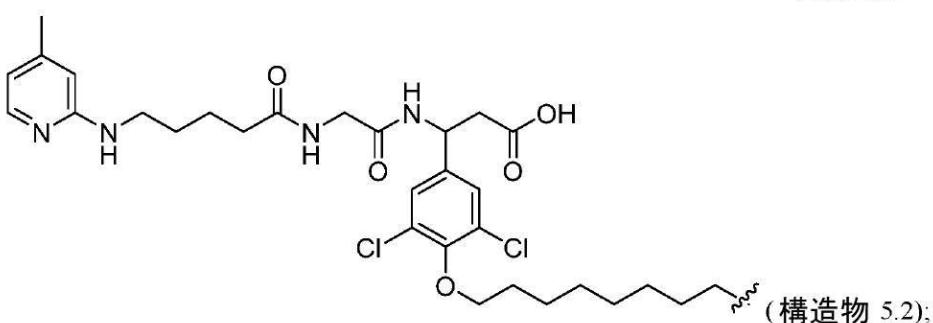
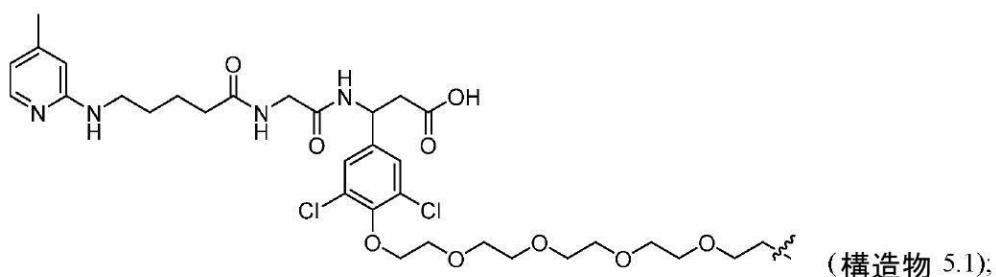
【化 1 4】



(構造物 2);



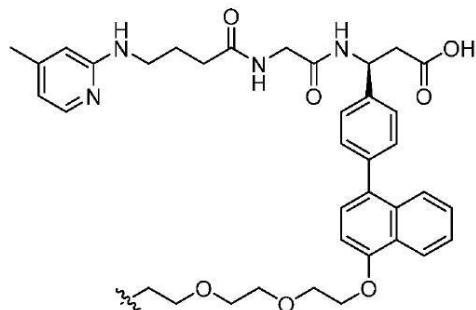
(構造物 5);



40

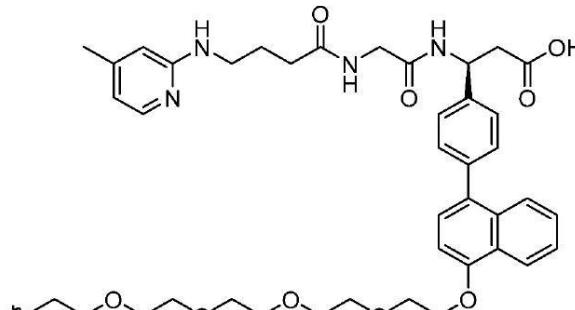
50

【化 1 5】



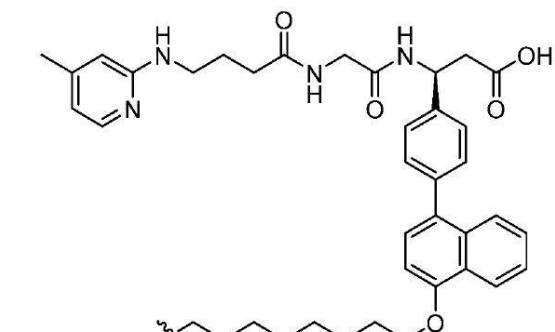
(構造物 6);

10



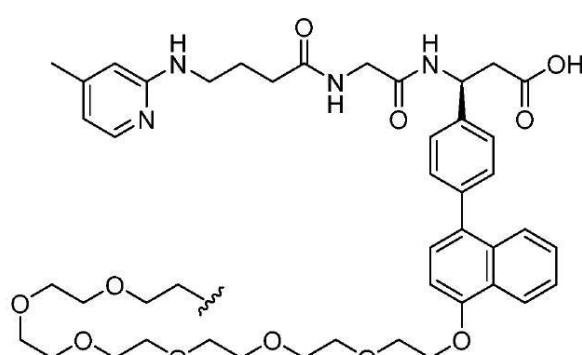
(構造物 6.1);

20



(構造物 6.2);

30

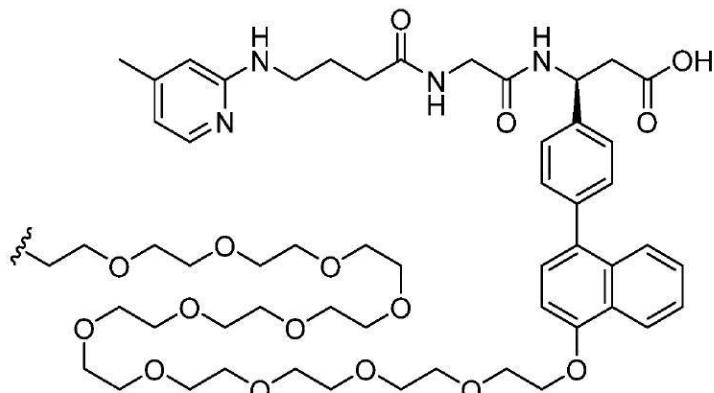


(構造物 6.3);

40

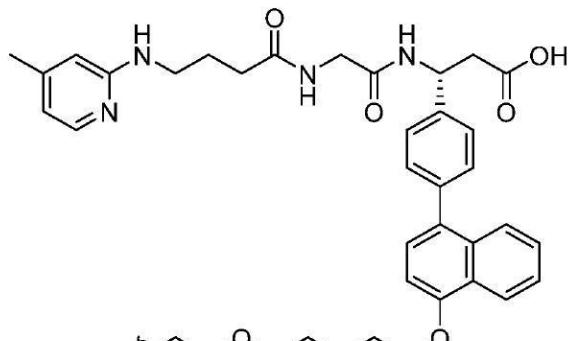
50

【化 1 6】



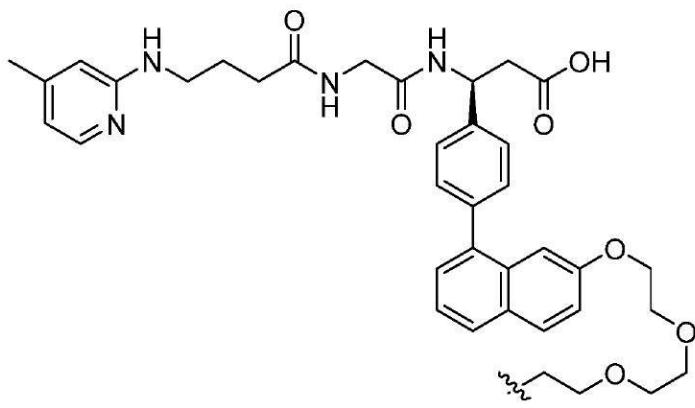
10

(構造物 6.4);



20

(構造物 7);



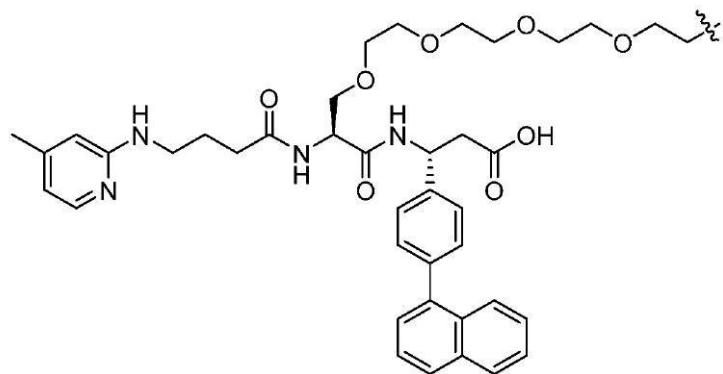
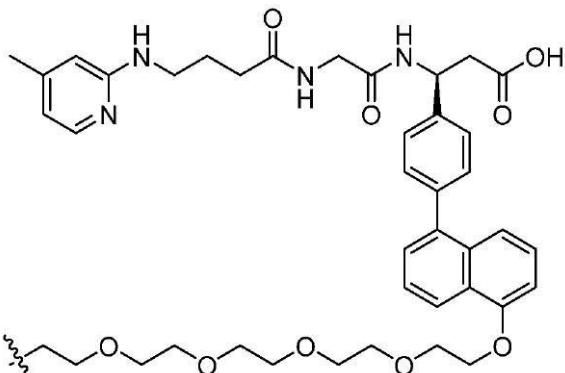
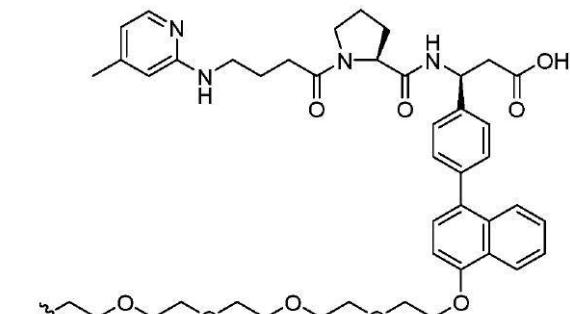
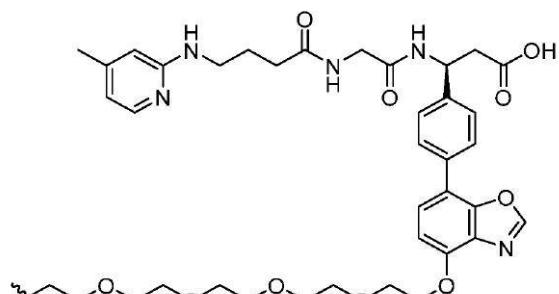
30

(構造物 8);

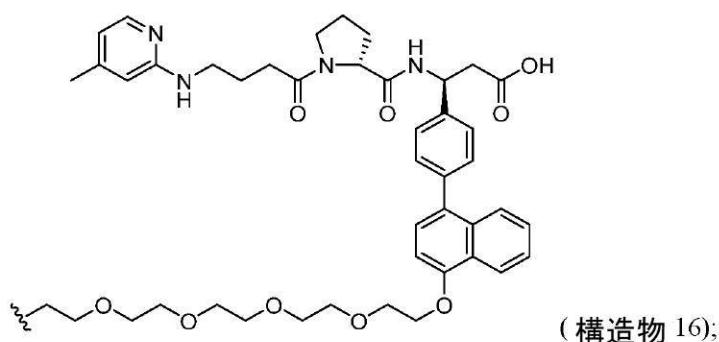
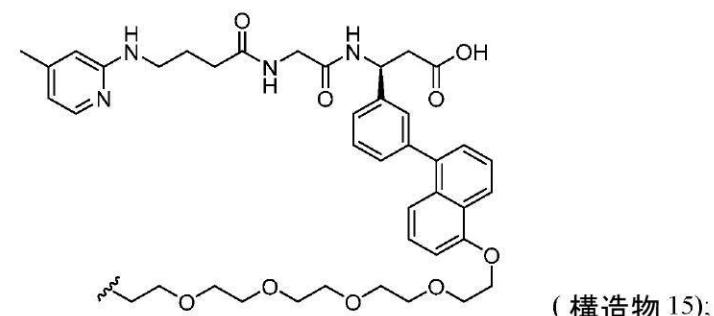
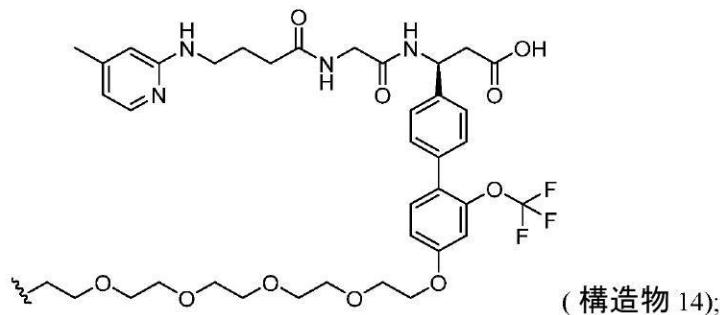
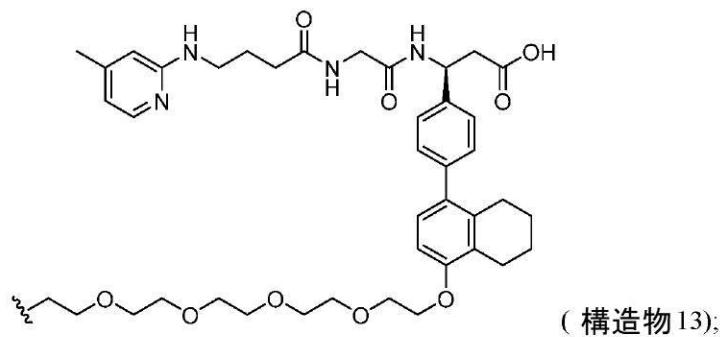
40

50

【化 17】

(構造物 9);
10(構造物 10);
20(構造物 11);
30(構造物 12);
40

【化 1 8】



10

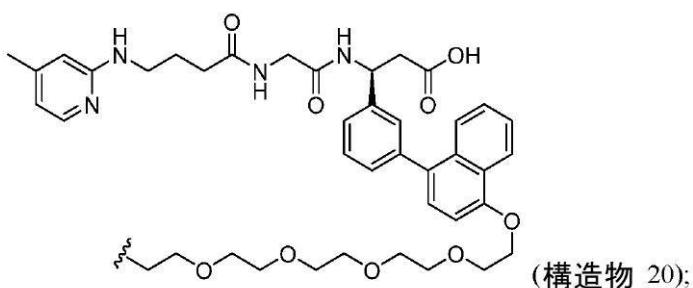
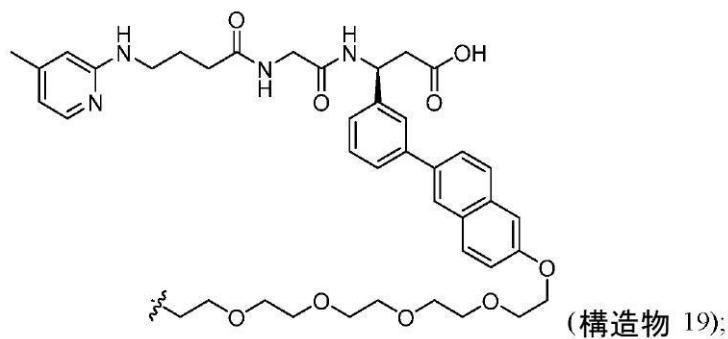
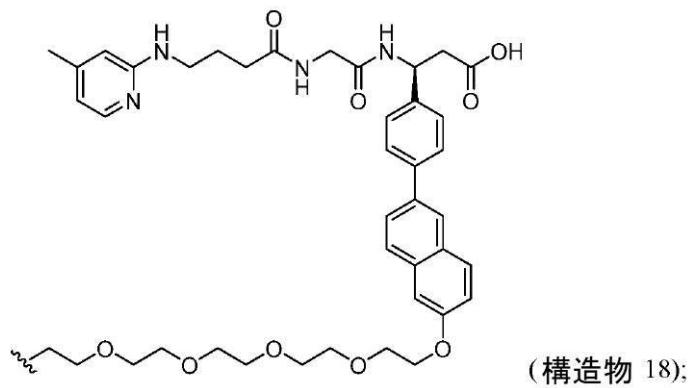
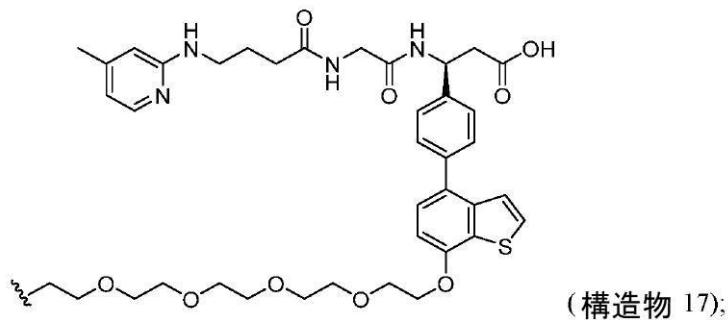
20

30

40

50

【化 1 9】



10

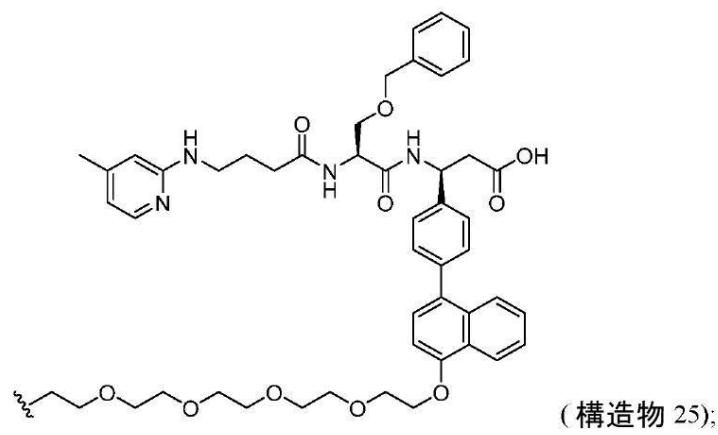
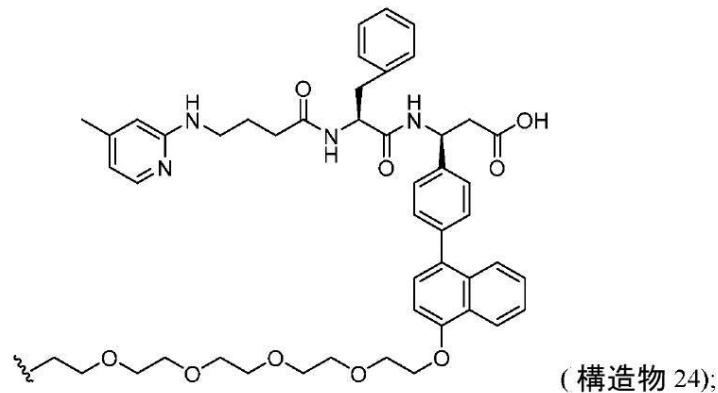
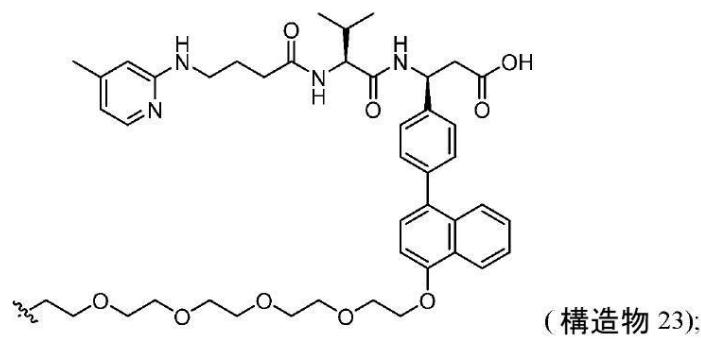
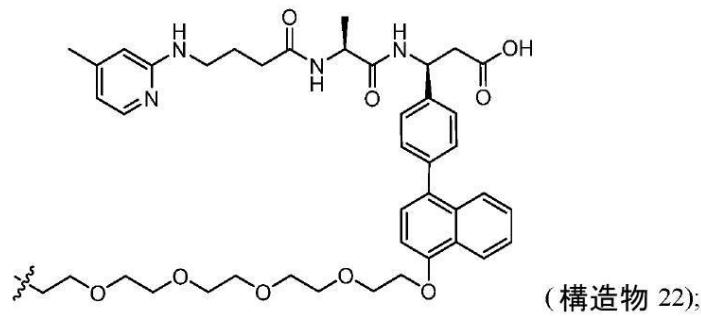
20

30

40

50

【化 2 0】



10

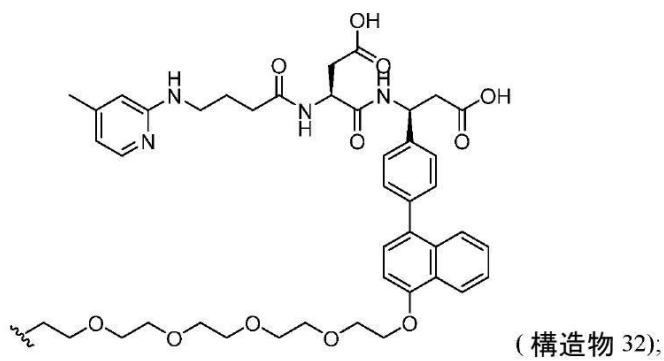
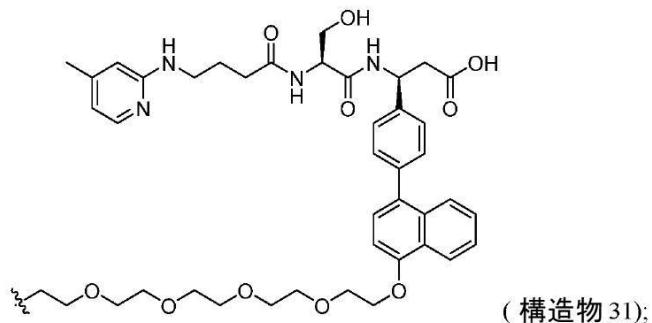
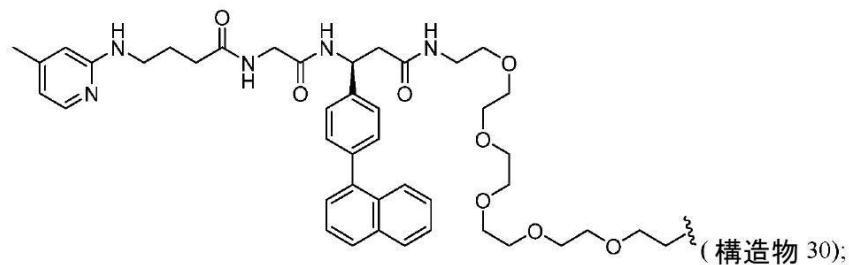
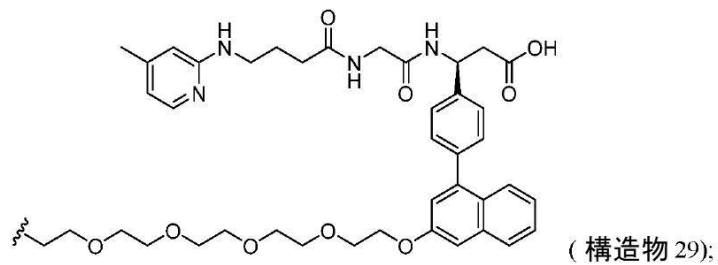
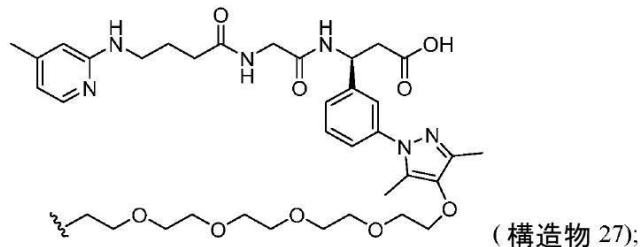
20

30

40

50

【化 2 1】



10

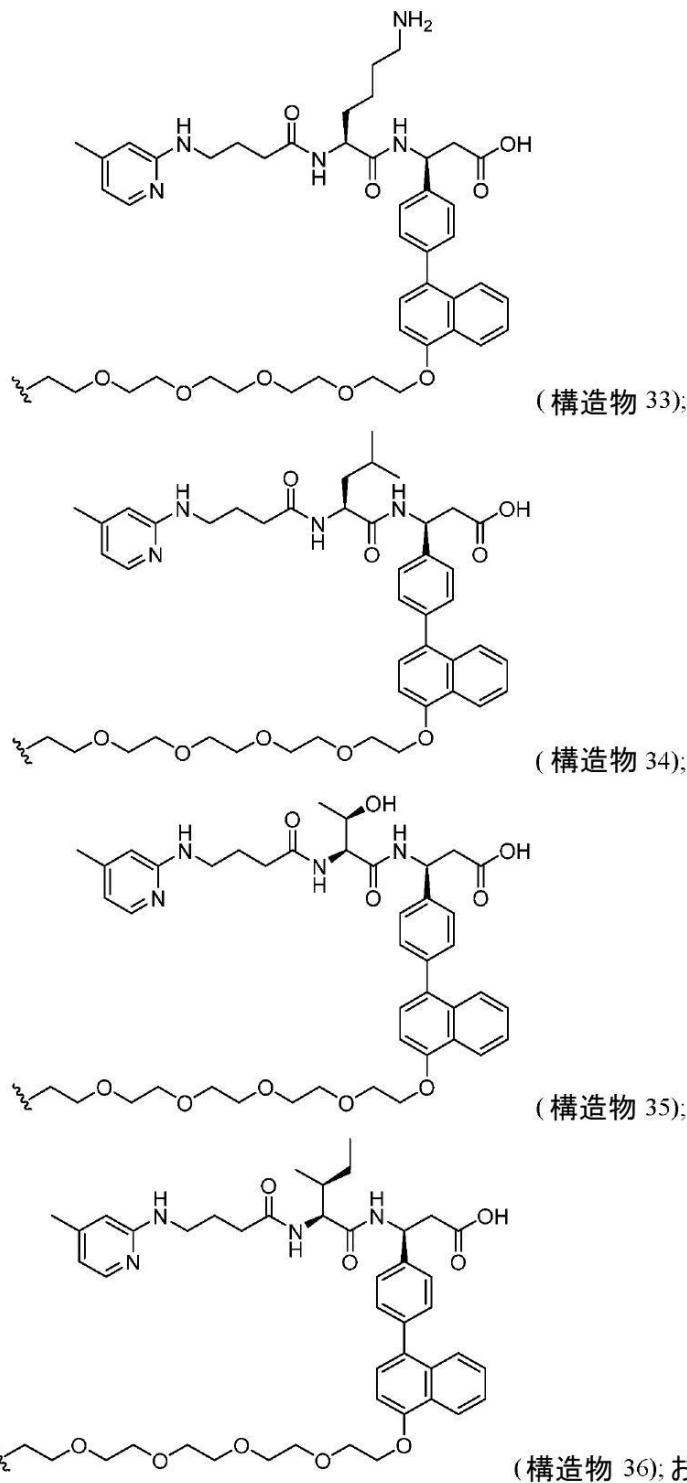
20

30

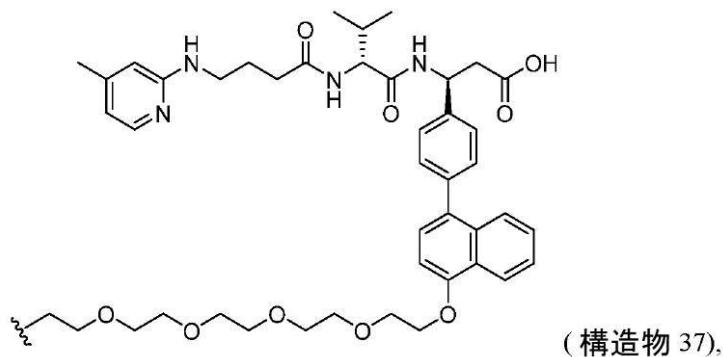
40

50

【化 2 2】



【化23】



(式中、

【化24】



は、カーゴ分子を含む部分への付着点を示す)によって表される任意の構造物を含むか、これらからなるか、これらから本質的になる構造物またはその薬学的に許容され得る塩を有する。

20

【0095】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の $\vee 6$ インテグリンリガンドを、1またはそれを超える(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、もしくは30;または1~30、1~25、1~20、1~15、1~10、1~5、5~30、5~25、5~20、5~15、5~10、10~30、10~25、10~20、10~15、15~30、15~25、15~20、20~30、20~25、もしくは25~30の)カーゴ分子(例えば、本明細書中に記載されているか、当該分野で公知の任意のカーゴ分子)に結合することができる。

【0096】

30

いくつかの実施形態では、1を超える本明細書中に開示の $\vee 6$ インテグリンリガンド(例えば、2、3、4、5、6、7、8、または1~8、1~7、1~6、1~5、1~4、1~3、1~2、2~8、2~7、2~6、2~5、2~4、2~3、3~8、3~7、3~6、3~5、3~4、4~8、4~7、4~6、または4~5の $\vee 6$ インテグリンリガンド)を、1つのカーゴ分子(例えば、本明細書中に記載されているか、当該分野で公知の任意のカーゴ分子)に結合することができる。

【0097】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の $\vee 6$ インテグリンリガンドは、必要に応じて連結基(例えば、ポリエチレングリコール(PEG)基など)を介して1またはそれを超えるカーゴ分子に結合される。

40

【0098】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の $\vee 6$ インテグリンリガンドは、各リガンドのための少なくとも1つの付着点および各カーゴ分子のための少なくとも1つの付着点を含む足場を介して1またはそれを超えるカーゴ分子に必要に応じて結合している。いくつかの実施形態では、 $\vee 6$ インテグリンリガンドは、1つのカーゴ分子を含むか、それからなるか、それから本質的になる。いくつかの実施形態では、 $\vee 6$ インテグリンリガンドは、1つを超えるカーゴ分子を含むか、それからなるか、それから本質的になる。

【0099】

いくつかの実施形態では、 $\vee 6$ インテグリンリガンドは、各々が本明細書中に開示

50

の構造物1、構造物2、構造物5、構造物5.1、構造物5.2、構造物6、構造物6.1、構造物6.2、構造物6.3、構造物6.4、構造物7、構造物8、構造物9、構造物10、構造物11、構造物12、構造物13、構造物14、構造物15、構造物16、構造物17、構造物18、構造物19、構造物20、構造物22、構造物23、構造物24、構造物25、構造物27、構造物29、構造物30、構造物31、構造物32、構造物33、構造物34、構造物35、構造物36、または構造物37のうちのいずれかを含むか、それからなるか、それから本質的になる。

【0100】

本明細書中に開示の任意の v_6 インテグリンリガンドを、カーゴ分子、反応基、および/または保護された反応基に連結することができる。反応基を使用して、 v_6 インテグリンリガンドのカーゴ分子への結合を容易にすることができます。本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、 v_6 インテグリンまたは v_6 インテグリンを発現する細胞へのカーゴ分子の標的化を増加させることができます。カーゴ分子は、薬学的に活性な成分もしくは化合物、プロドラッグ、または公知の治療上の利点を有する別の物質であり得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、小分子、抗体、抗体断片、免疫グロブリン、モノクローナル抗体、標識もしくはマーカー、脂質、天然もしくは修飾されたオリゴヌクレオチド系化合物（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたはRNAi剤）、天然もしくは修飾された核酸、ペプチド、アプタマー、ポリマー、ポリアミン、タンパク質、毒素、ビタミン、ポリエチレンギリコール、ハプロテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、放射性の原子もしくは分子、またはフルオロフォアであり得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な成分またはプロドラッグを含む。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な成分としてオリゴヌクレオチド系化合物を含む。いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、薬学的に活性な成分としてRNAi剤を含む。

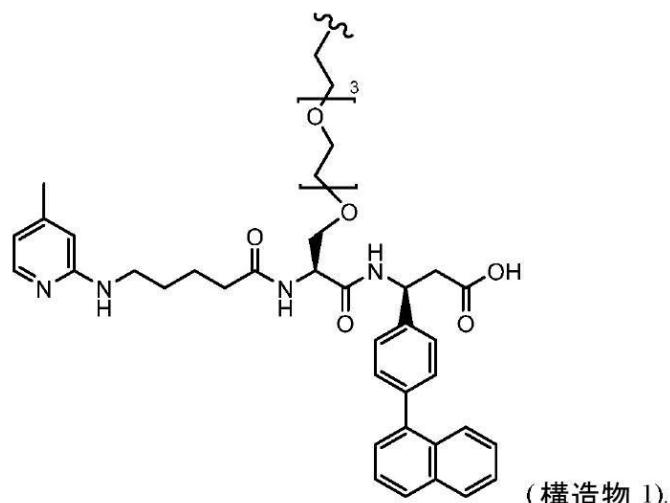
【0101】

1つの態様では、本発明は、本明細書中に記載の v_6 インテグリンリガンド、連結基、および足場を含む構造物を提供し、ここで足場はカーゴ分子に結合している。いくつかの実施形態では、構造物は、単座形態のリガンドを含み得る。いくつかの実施形態では、構造物は、二座形態のリガンドを含み得る。いくつかの実施形態では、構造物は、三座形態のリガンドを含み得る。いくつかの実施形態では、構造物は、四座形態のリガンドを含み得る。

【0102】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化25】



(構造物1)

【0103】

10

20

30

40

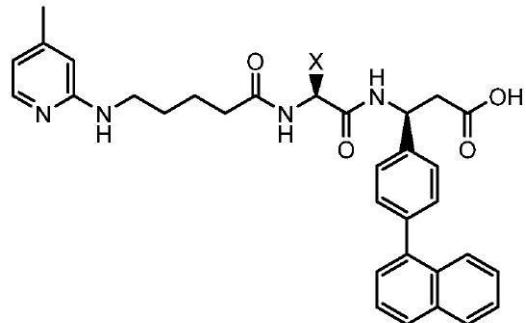
50

いくつかの実施形態では、構造物 1 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0104】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化26】



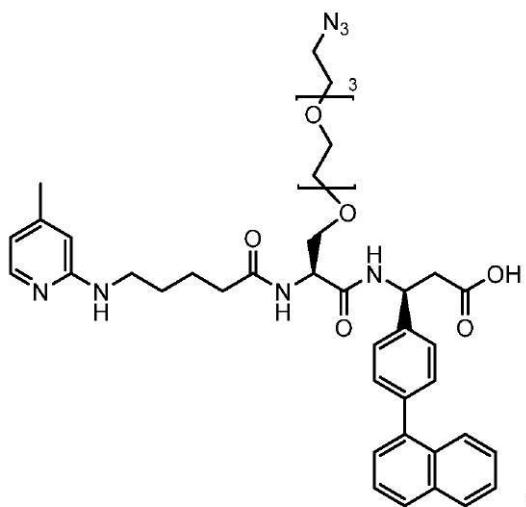
(構造物 1a),

（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0105】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化27】



(構造物 1b)

【0106】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

10

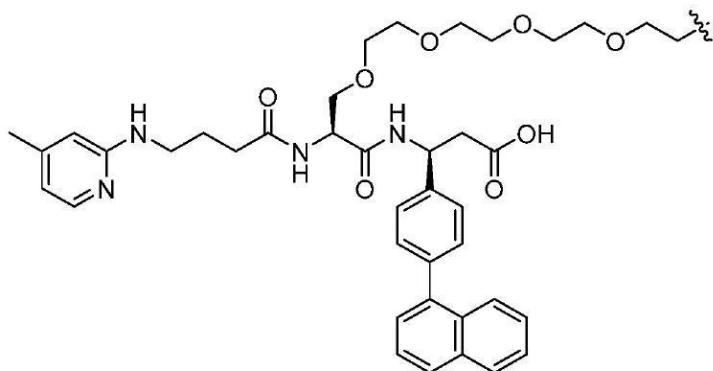
20

30

40

50

【化 2 8】



(構造物 2)

10

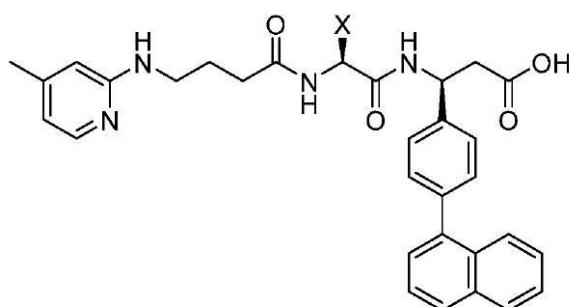
【0107】

いくつかの実施形態では、構造物 2 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0108】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 2 9】



(構造物 2a),

20

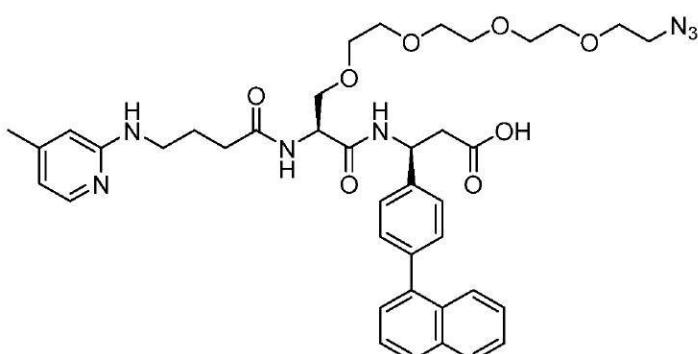
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0109】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 3 0】



(構造物 2b).

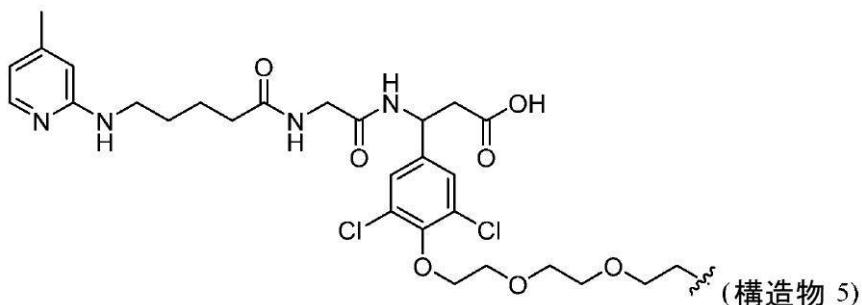
40

【0110】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

50

【化 3 1】



10

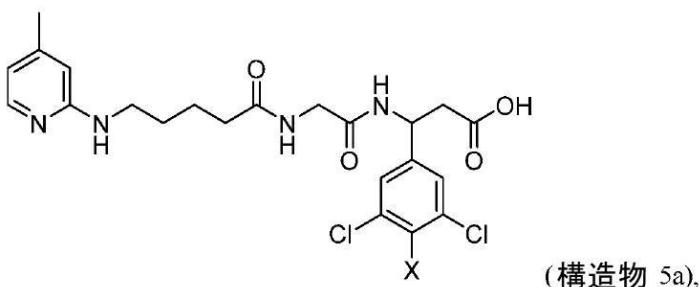
【0 1 1 1】

いくつかの実施形態では、構造物 5 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 1 1 2】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 3 2】



20

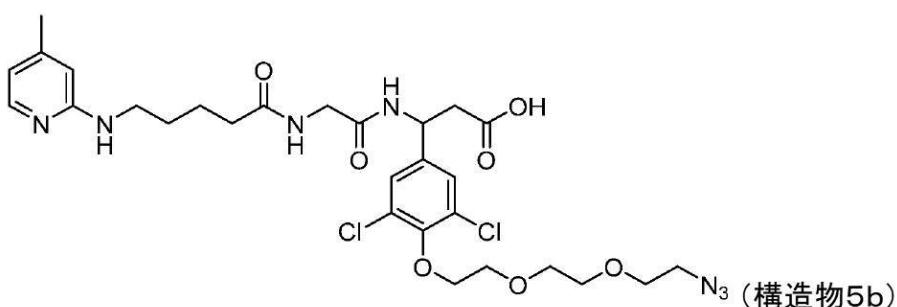
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 1 1 3】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

30

【化 3 3】



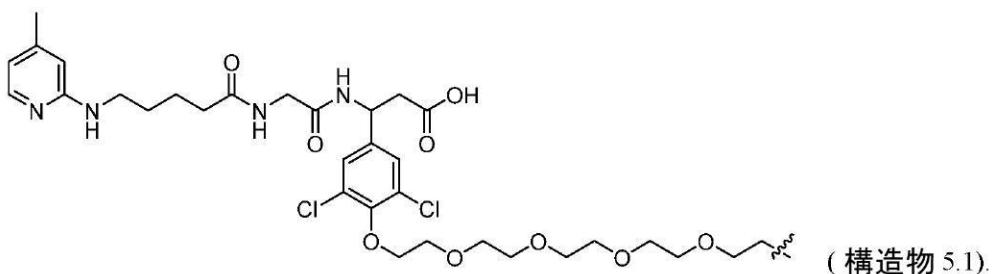
40

【0 1 1 4】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

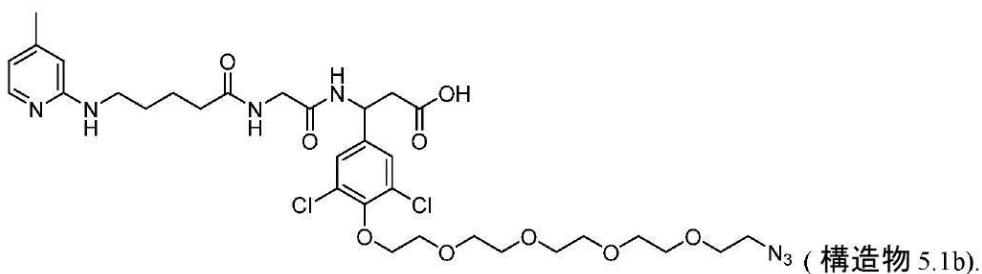
【化 3 4】



【 0 1 1 5 】

複数の実施形態では、PEG - アジド反応基中のPEGの長さは変動し得る。いくつかの実施形態では、構造物5.1の v 6インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール(PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 3 5】



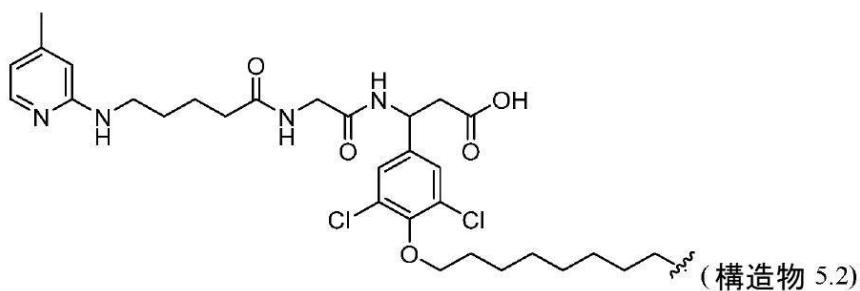
【 0 1 1 6 】

反応基（または保護された反応基）を使用して、目的の分子（例えば、カーゴ分子（直接または1またはそれを超える足場および／もしくはリンカーを介して））への v 6 インテグリンリガンドの結合を容易にすることができる。

【 0 1 1 7 】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 3 6】



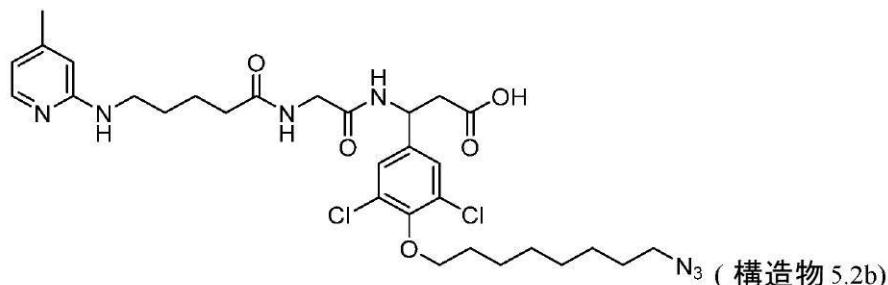
【 0 1 1 8 】

いくつかの実施形態では、構造物 5 . 2 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【 0 1 1 9 】

いくつかの実施形態では、PEG-アジド反応基を、アルキル-アジド反応基と置換することができる。いくつかの実施形態では、 v 6インテグリンリガンドは、アルキル-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化37】

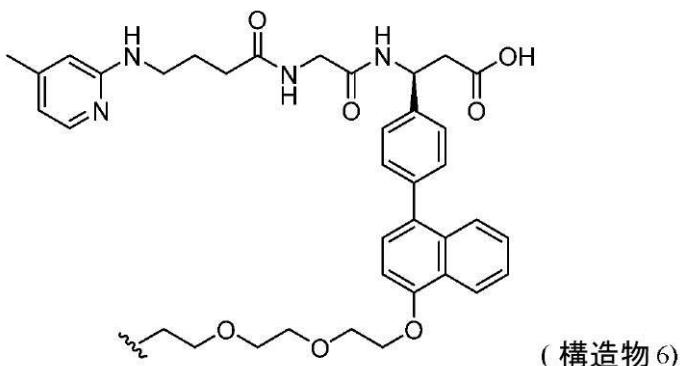


10

【0120】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化38】



20

【0121】

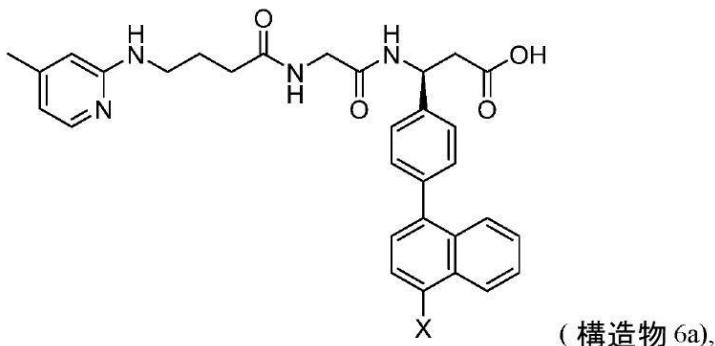
いくつかの実施形態では、構造物 6 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0122】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

30

【化39】



40

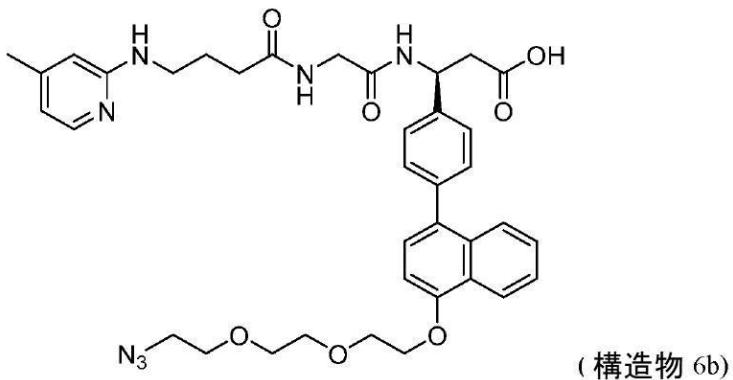
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0123】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

50

【化 4 0】

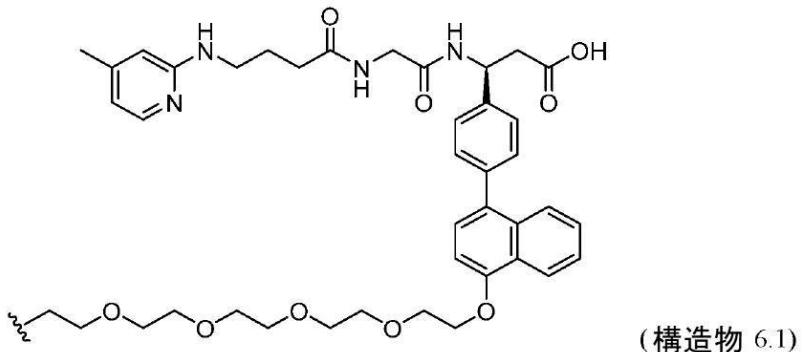


10

【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 4 1】



20

【 0 1 2 5 】

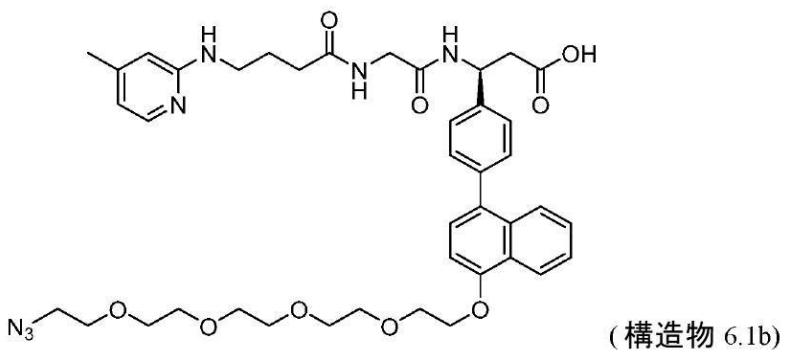
いくつかの実施形態では、構造物 6 . 1 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、R N A i 剤（単数または複数））に連結されている。

【 0 1 2 6 】

複数の実施形態では、PEG-アジド反応基中のPEGの長さは変動し得る。いくつかの実施形態では、v 6インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール(PEG)-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

30

【化 4 2】



40

【 0 1 2 7 】

反応基（または保護された反応基）を使用して、目的の分子（例えば、カーゴ分子（直接または1またはそれを超える足場および／もしくはリンカーを介して））への v 6 インテグリンリガンドの結合を容易にすることができます。

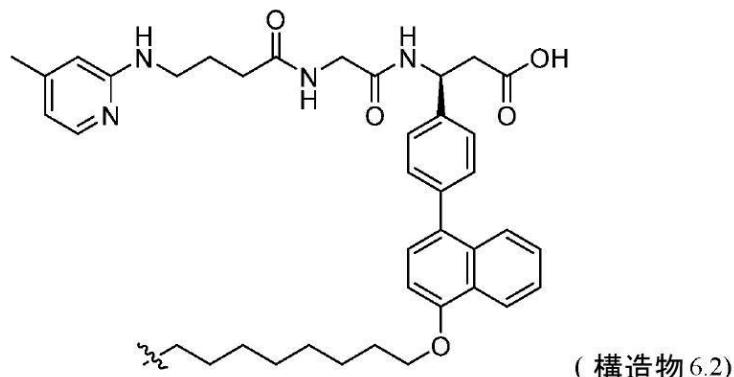
【 0 1 2 8 】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下

50

の構造物を含む：

【化 4 3】



10

[0 1 2 9]

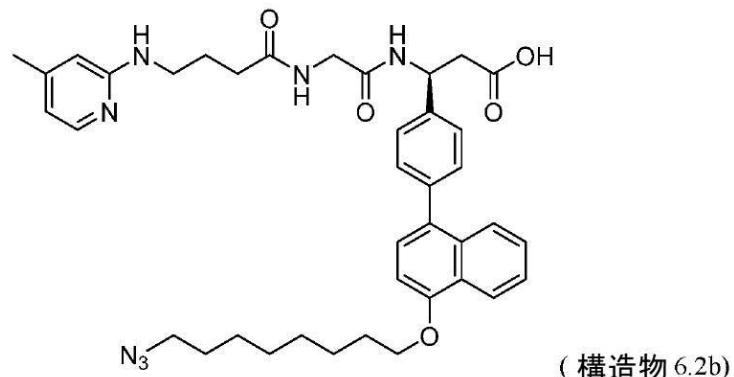
いくつかの実施形態では、構造物 6 . 2 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、R N A i 剤（単数または複数））に連結されている。

[0 1 3 0]

いくつかの実施形態では、PEG-アジド反応基を、アルキル-アジド反応基と置換することができる。いくつかの実施形態では、 \vee 6インテグリンリガンドは、アルキル-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

20

【化 4 4】



30

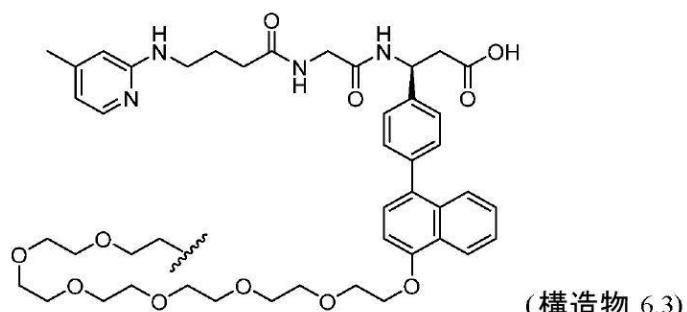
[0 1 3 1]

反応基（または保護された反応基）を使用して、目的の分子（例えば、カーゴ分子（直接または1またはそれを超える足場および／もしくはリンカーを介して））への v 6 インテグリンリガンドの結合を容易にすることができる。

[0 1 3 2]

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 4 5】



40

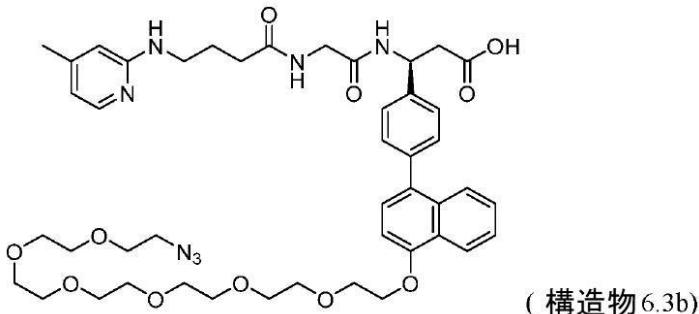
【0133】

いくつかの実施形態では、構造物 6 . 3 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

【0134】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができる。いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

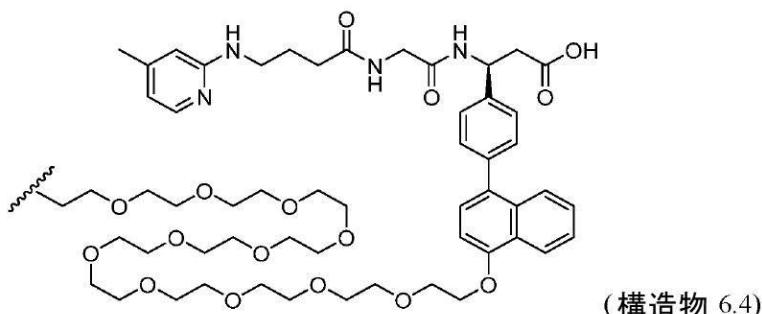
【化46】



【0135】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化47】



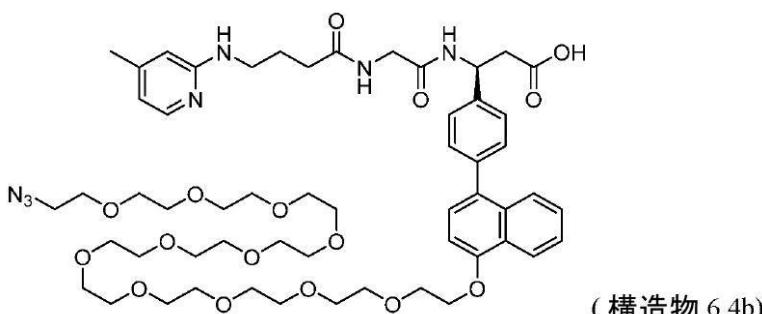
【0136】

いくつかの実施形態では、構造物 6 . 4 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

【0137】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化48】



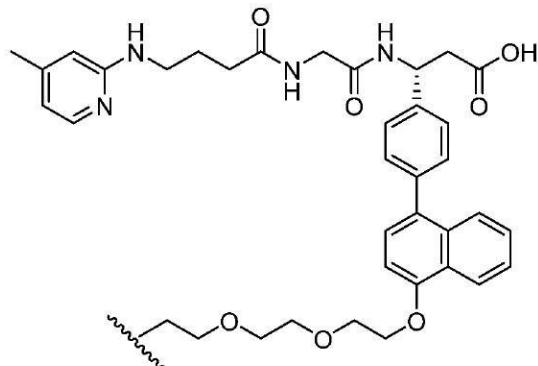
40

50

【0138】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化49】



(構造物7)

10

【0139】

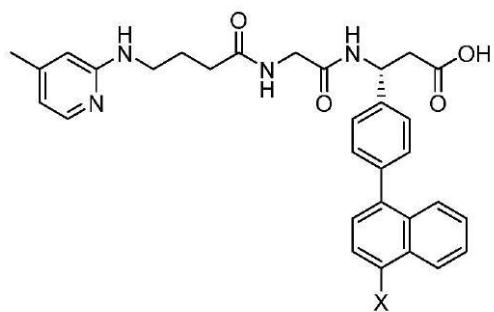
いくつかの実施形態では、構造物7の \vee 6 インテグリンリガンドは、1またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi剤（単数または複数））に連結されている。

【0140】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

20

【化50】



(構造物7a)

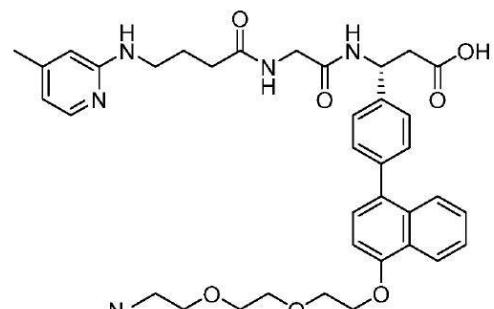
30

(式中、Xは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi剤）を含む)。

【0141】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、PEG-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化51】



(構造物7b)

40

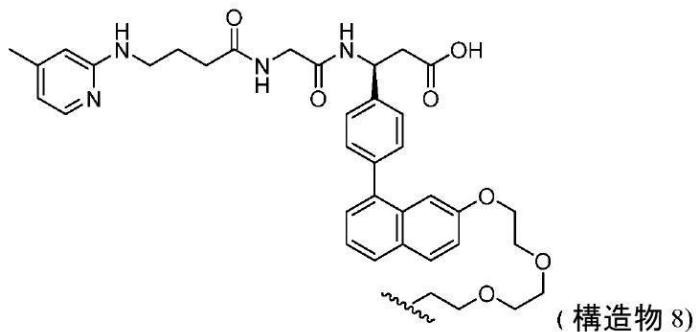
【0142】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下

50

の構造物を含む：

【化 5 2】



10

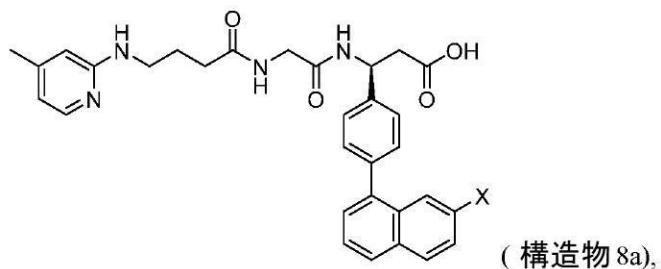
【0 1 4 3】

いくつかの実施形態では、構造物 8 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 1 4 4】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 5 3】



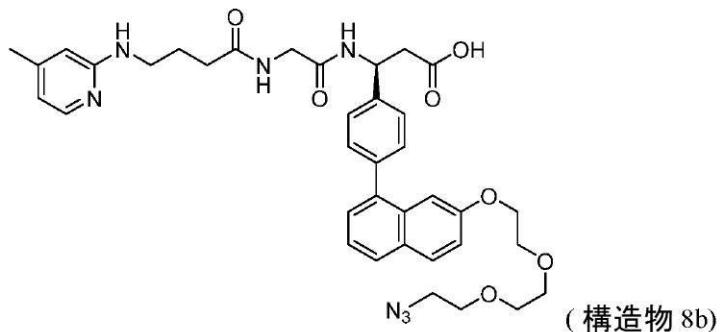
20

（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 1 4 5】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、PEG-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 5 4】



30

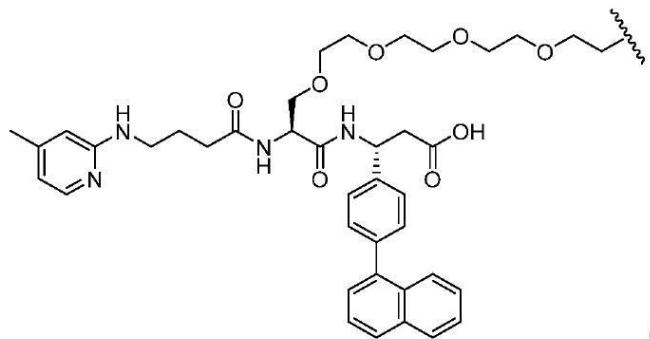
40

【0 1 4 6】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 5 5】



(構造物 9)

10

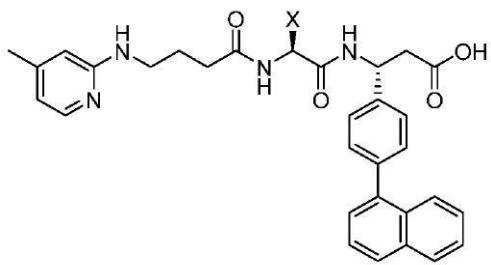
【0147】

いくつかの実施形態では、構造物 9 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0148】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 5 6】



(構造物 9a),

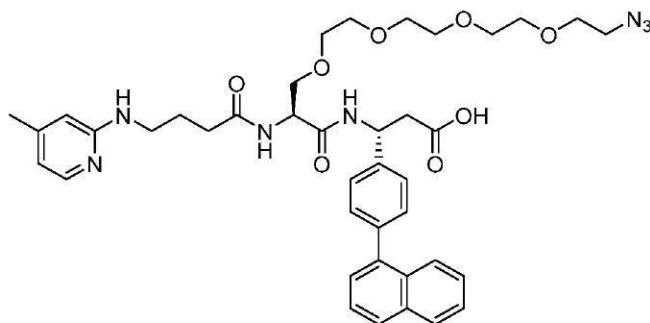
20

（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0149】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 5 7】



(構造物 9b)

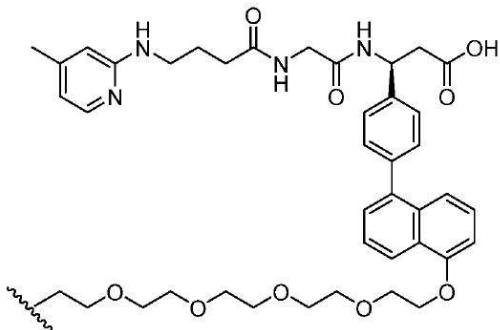
40

【0150】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 5 8】



(構造物 10)

10

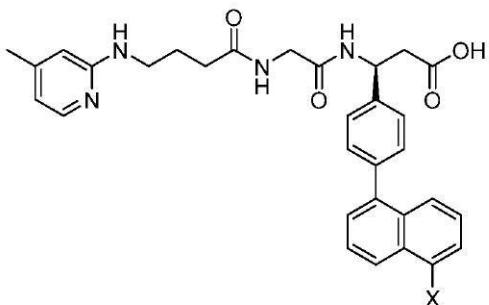
【0 1 5 1】

いくつかの実施形態では、構造物 10 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 1 5 2】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 5 9】



(構造物 10a),

20

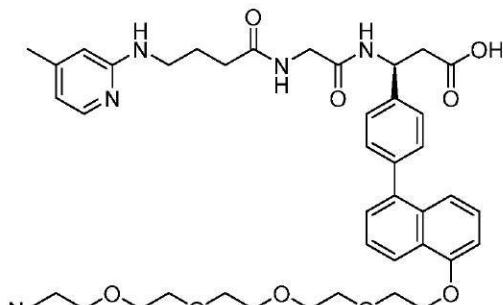
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

30

【0 1 5 3】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 0】



(構造物 10b)

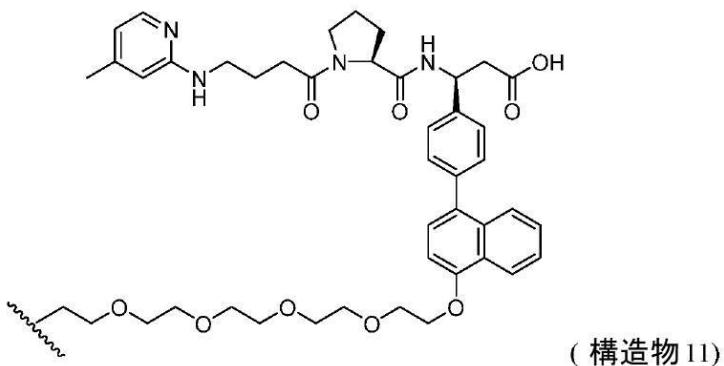
40

【0 1 5 4】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 6 1】



10

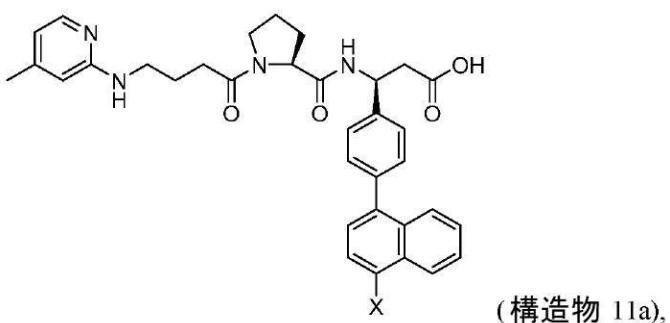
【0155】

いくつかの実施形態では、構造物 11 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0156】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 2】



20

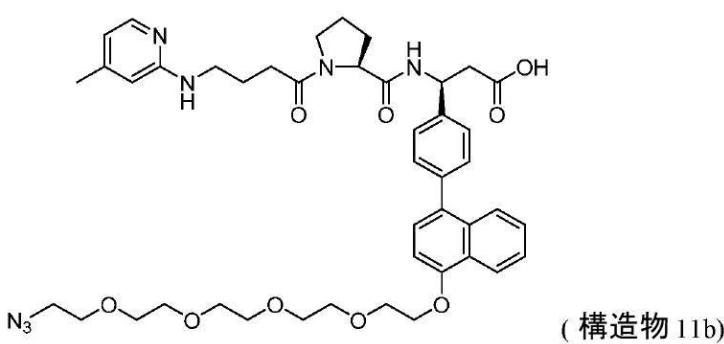
(式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む)。

30

【0157】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 3】



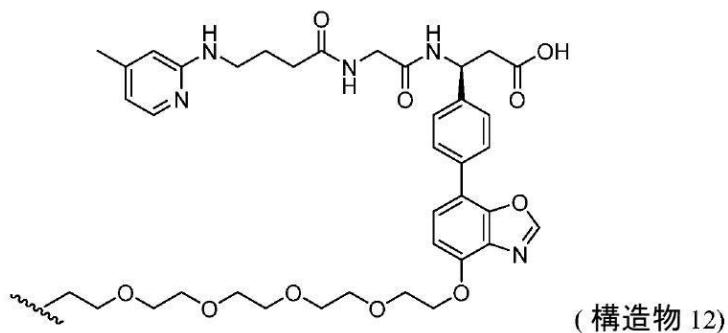
40

【0158】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 6 4】



10

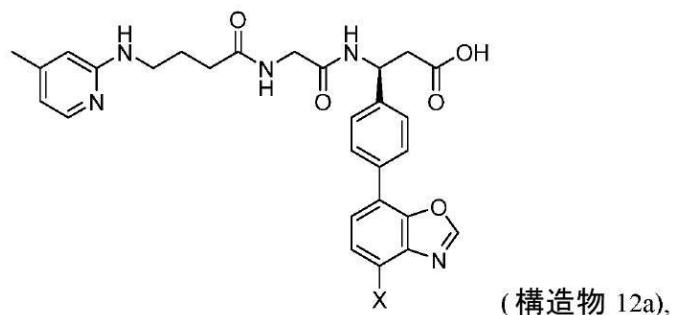
【0159】

いくつかの実施形態では、構造物 12 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0160】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 5】



20

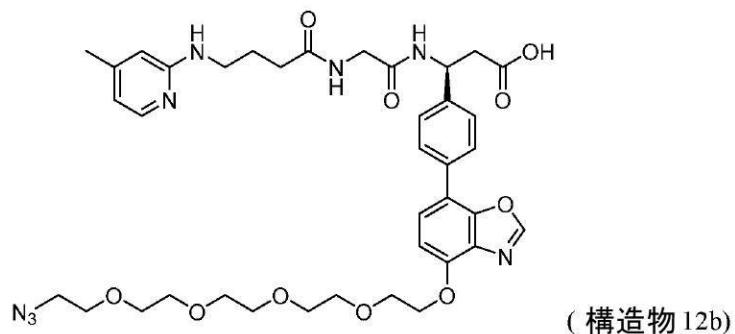
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0161】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 6】



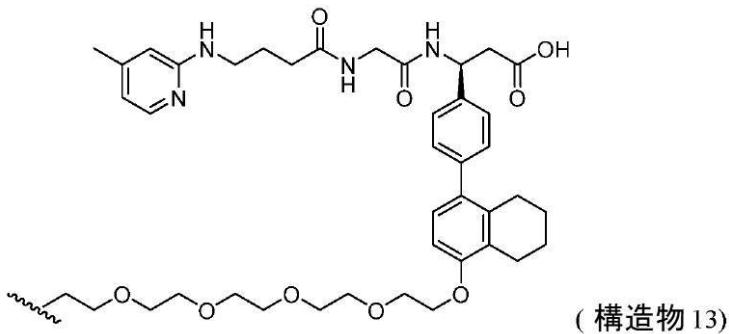
40

【0162】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 6 7】



10

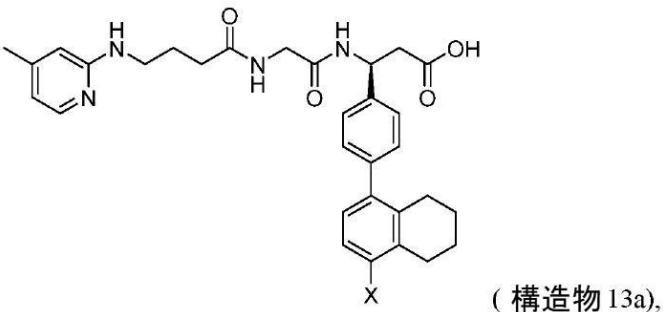
【0163】

いくつかの実施形態では、構造物 13 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0164】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 8】



20

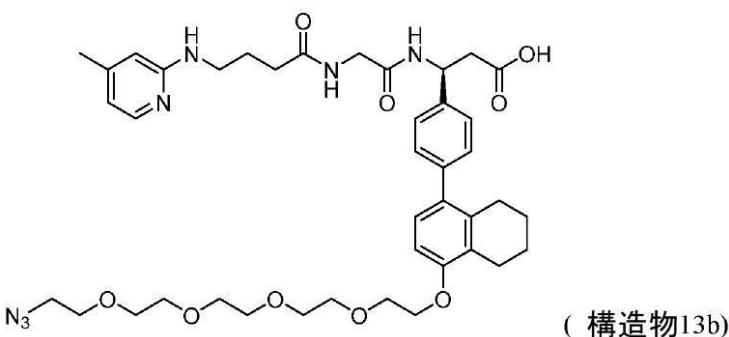
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0165】

30

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 6 9】



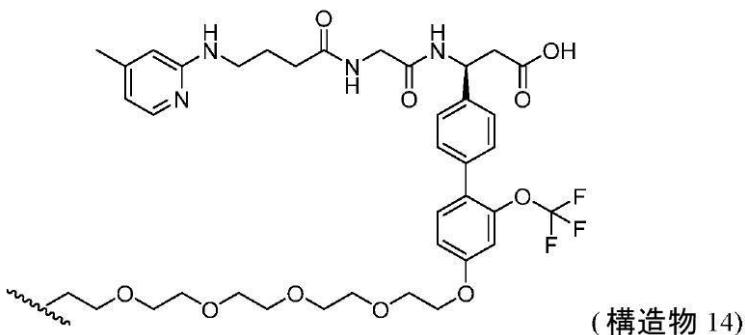
40

【0166】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 7 0】



10

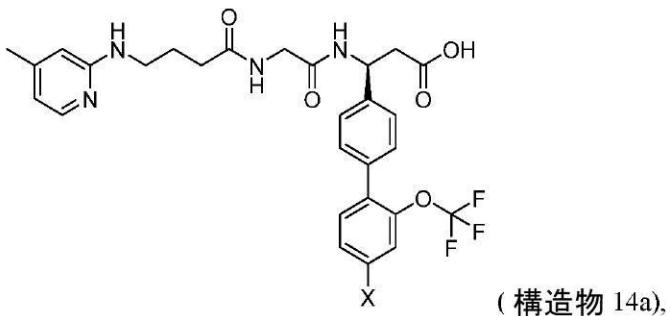
【0 1 6 7】

いくつかの実施形態では、構造物 14 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 1 6 8】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 7 1】



20

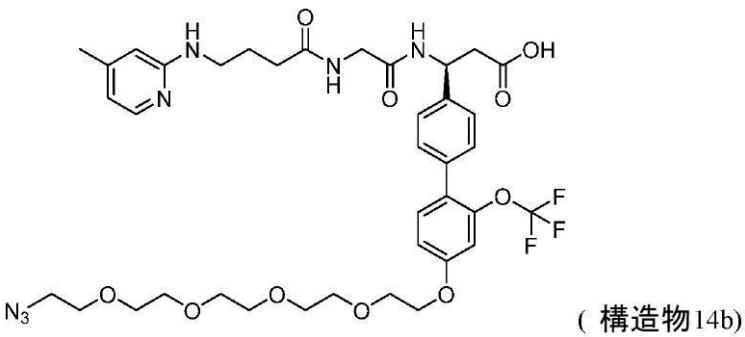
(式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む)。

30

【0 1 6 9】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 7 2】



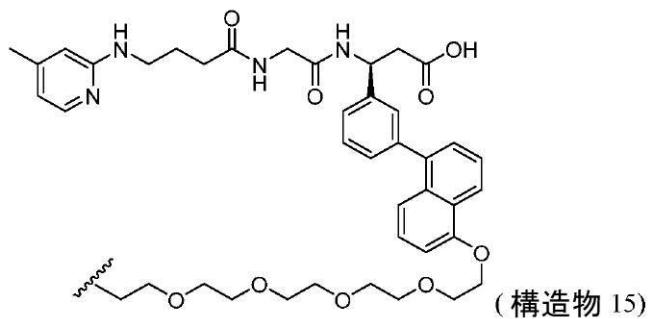
40

【0 1 7 0】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化73】



10

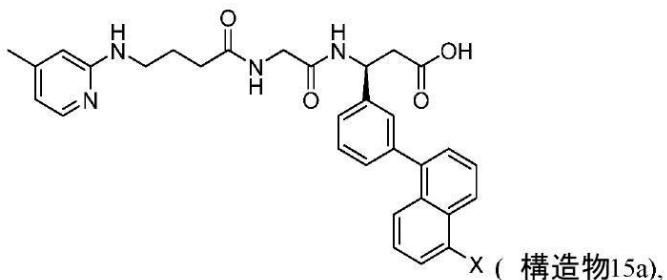
【0171】

いくつかの実施形態では、構造物 15 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0172】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化74】



20

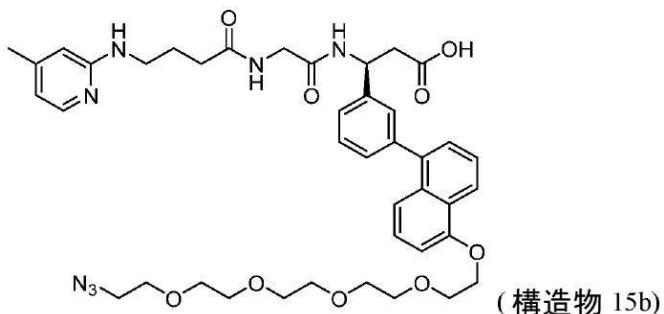
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0173】

30

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化75】



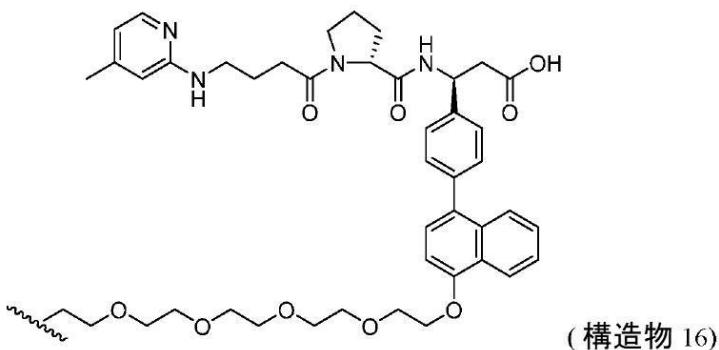
40

【0174】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 7 6】



10

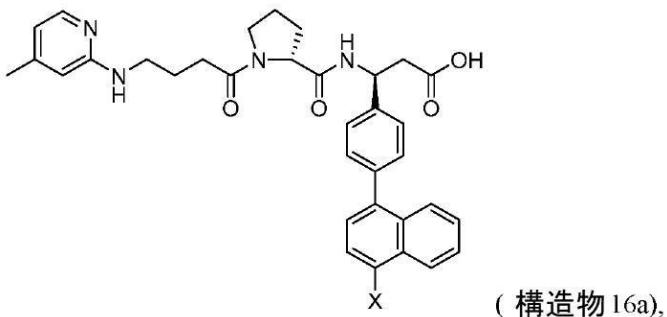
【0175】

いくつかの実施形態では、構造物 16 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0176】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 7 7】



20

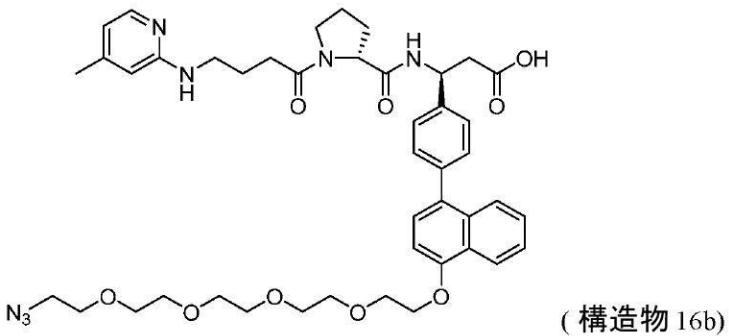
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0177】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 7 8】



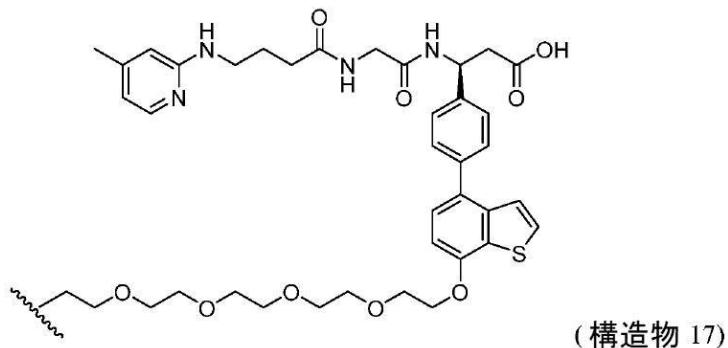
40

【0178】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 7 9】



10

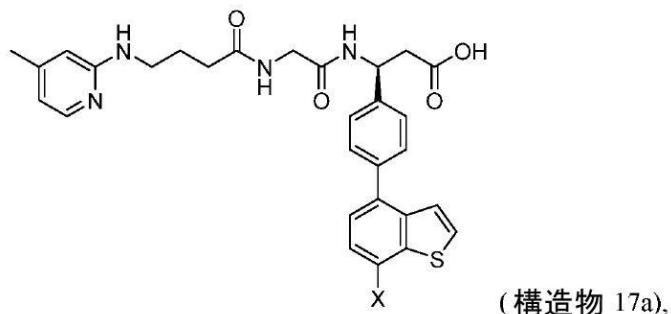
【0179】

いくつかの実施形態では、構造物 17 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0180】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 8 0】



20

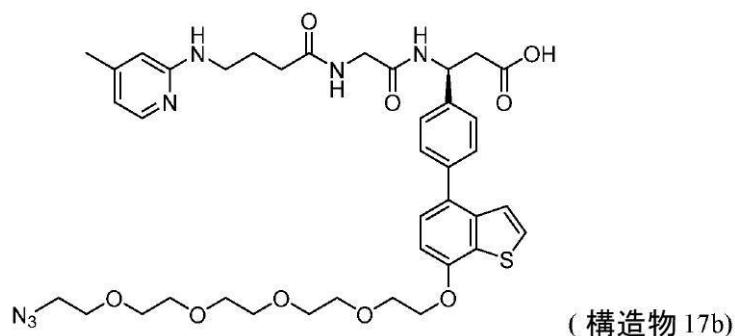
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0181】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 8 1】



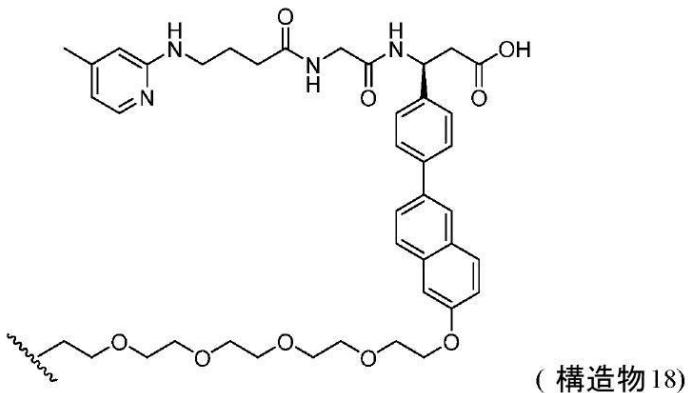
40

【0182】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 8 2】



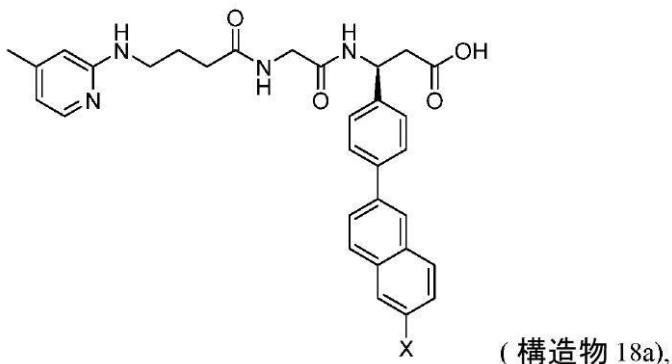
【0 1 8 3】

いくつかの実施形態では、構造物 18 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 1 8 4】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 8 3】

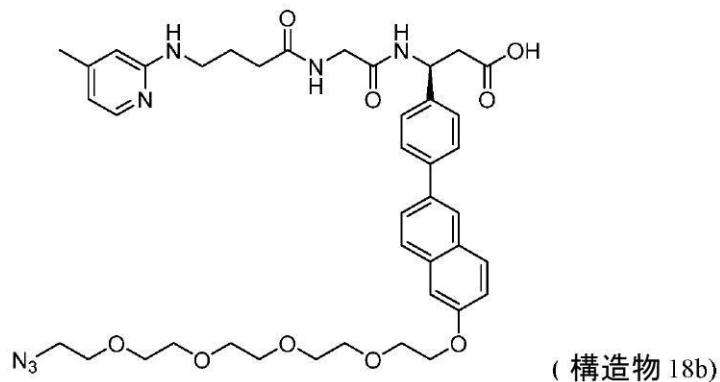


（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 1 8 5】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

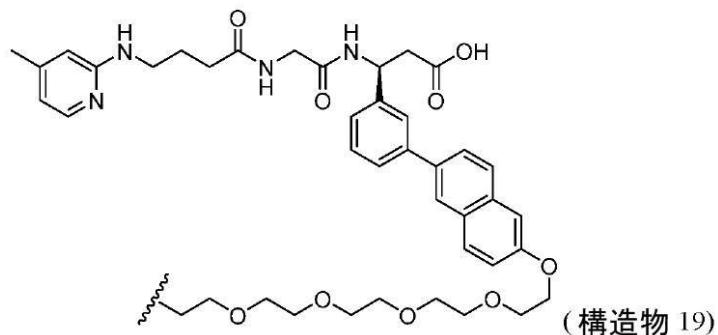
【化 8 4】



【0 1 8 6】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 8 5】



10

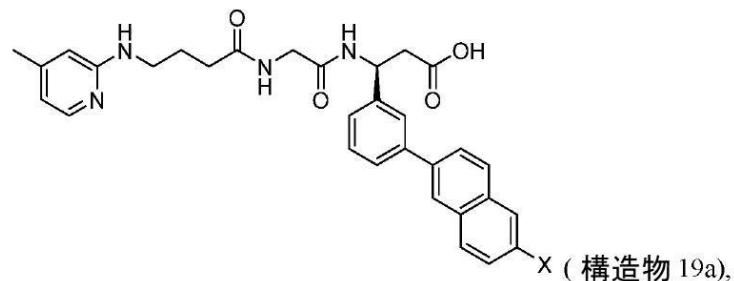
【0187】

いくつかの実施形態では、構造物 19 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0188】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 8 6】



20

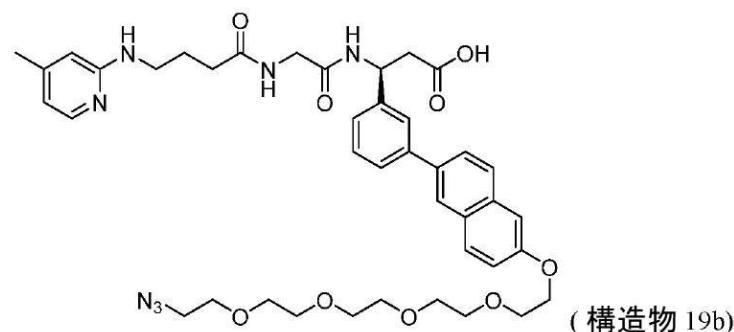
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0189】

30

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 8 7】



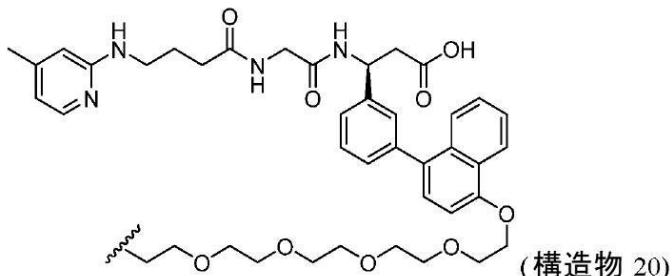
40

【0190】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化 8 8】



10

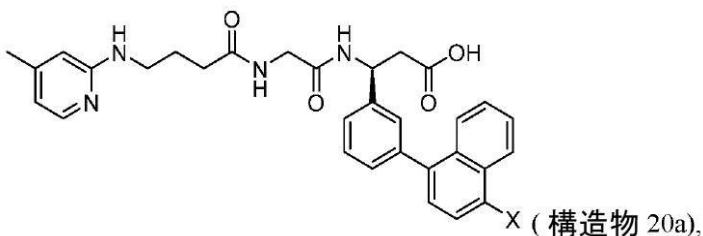
【0 1 9 1】

いくつかの実施形態では、構造物 20 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 1 9 2】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 8 9】



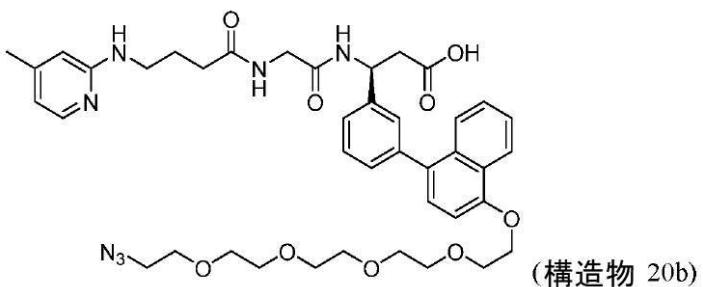
20

（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 1 9 3】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 9 0】



30

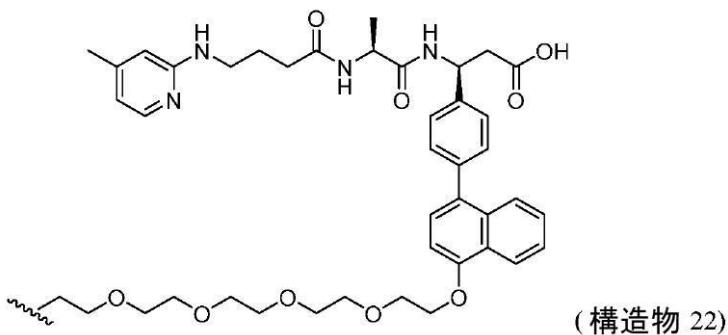
【0 1 9 4】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

40

50

【化91】



10

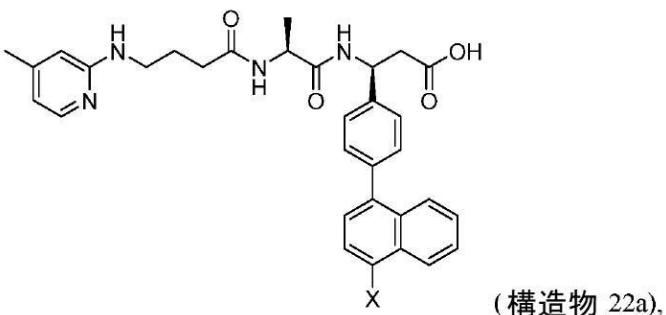
【0195】

いくつかの実施形態では、構造物 22 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0196】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化92】



20

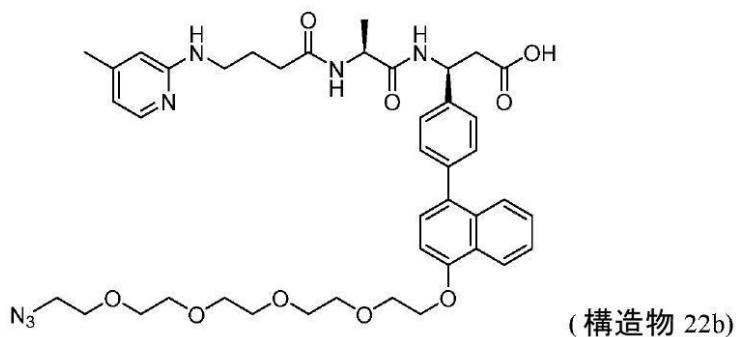
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0197】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化93】



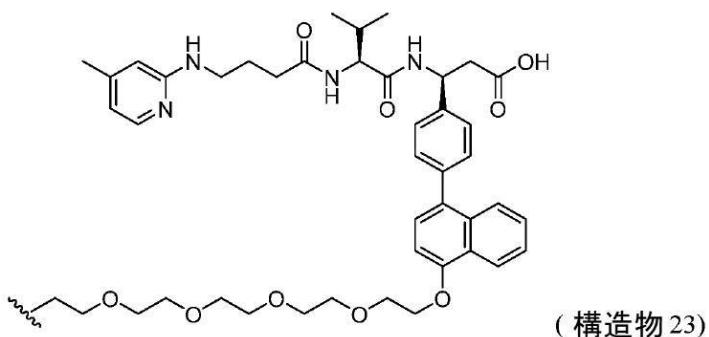
40

【0198】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化94】



10

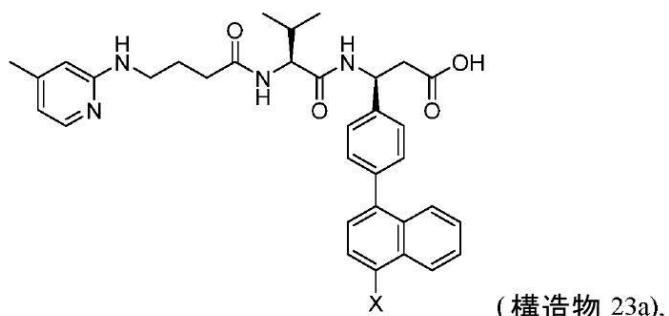
【0199】

いくつかの実施形態では、構造物 23 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0200】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化95】



20

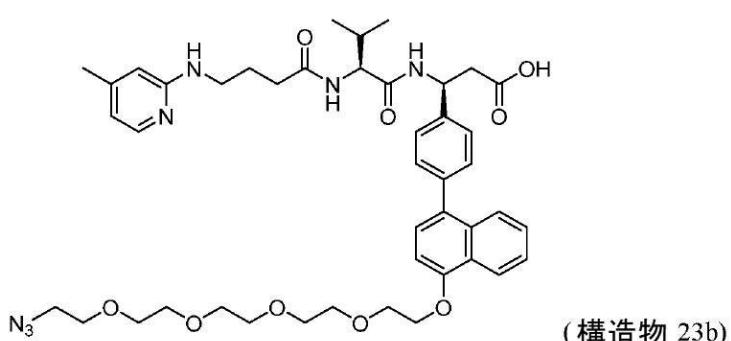
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0201】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化96】



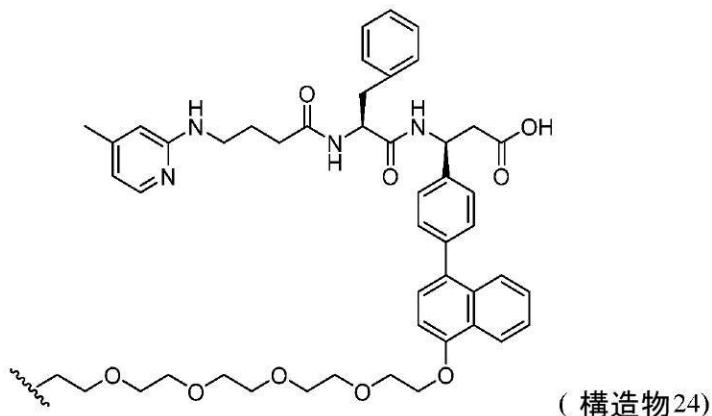
40

【0202】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

50

【化97】



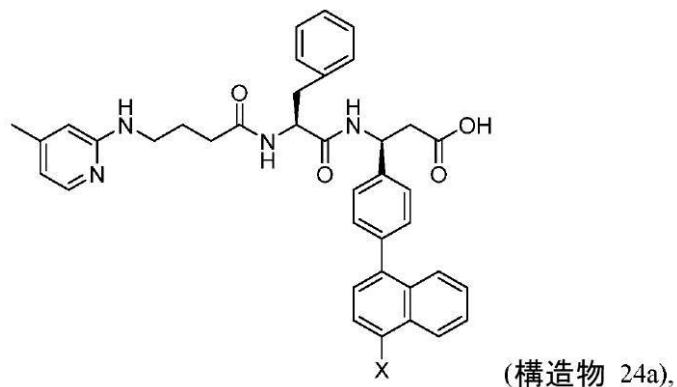
【0203】

いくつかの実施形態では、構造物24の v 6インテグリンリガンドは、1またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi剤（単数または複数））に連結されている。

【0204】

いくつかの実施形態では、 v 6インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化98】

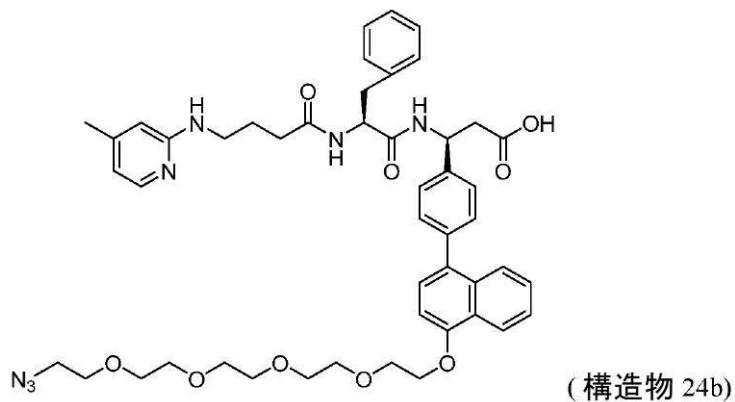


（式中、Xは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi剤）を含む）。

【0205】

いくつかの実施形態では、 v 6インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化99】



【0206】

10

20

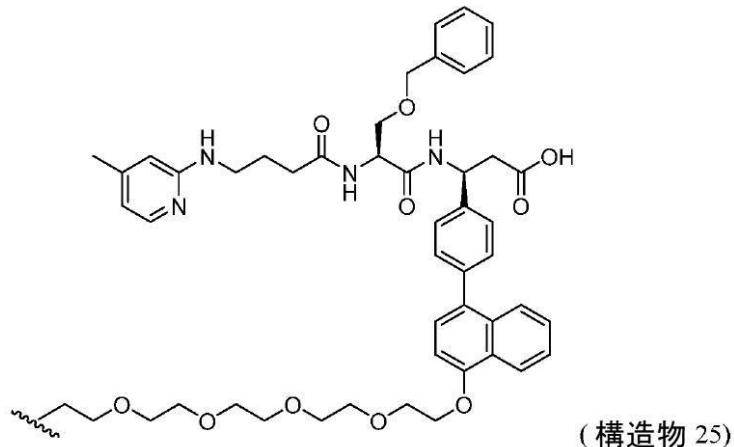
30

40

50

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 1 0 0】



10

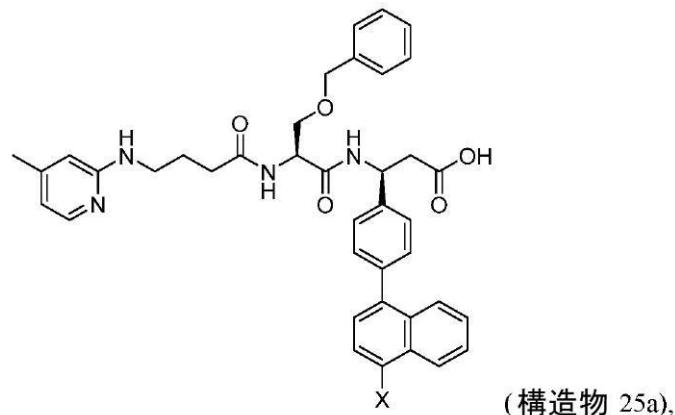
【0 2 0 7】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の v_6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 2 0 8】

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 0 1】



20

30

（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

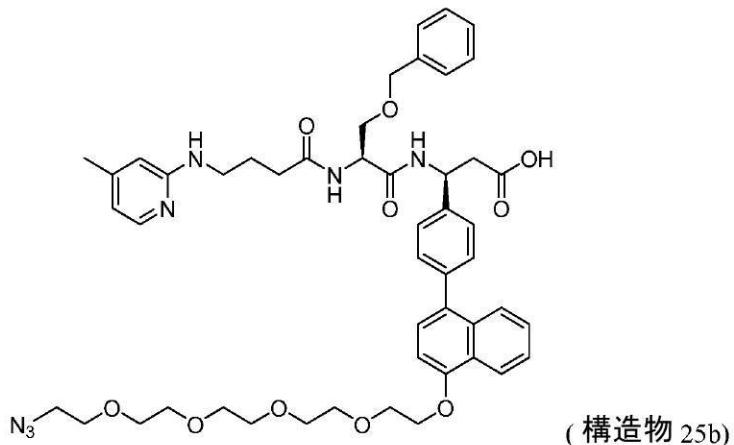
【0 2 0 9】

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

40

50

【化 1 0 2】

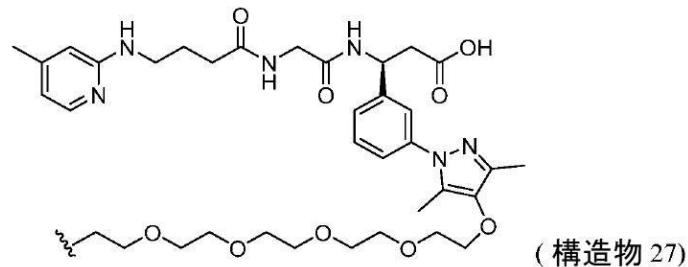


10

[0 2 1 0]

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 1 0 3】



20

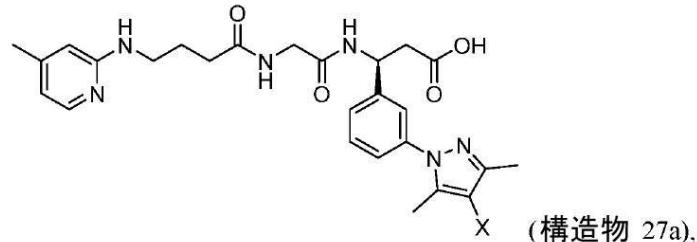
【 0 2 1 1 】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、R N A i 剤（単数または複数））に連結されている。

【 0 2 1 2 】

いくつかの実施形態では、 v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 0 4】



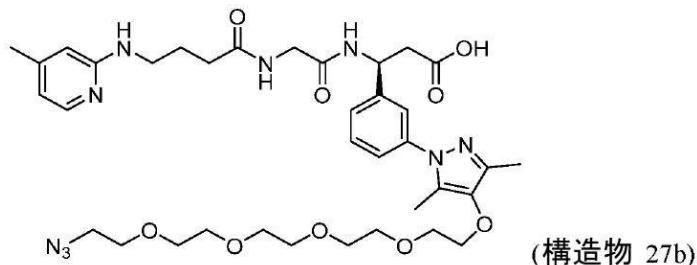
30

(式中、Xは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子(例えば、RNAi剤)を含む)。

(0 2 1 3)

いくつかの実施形態では、 v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化105】



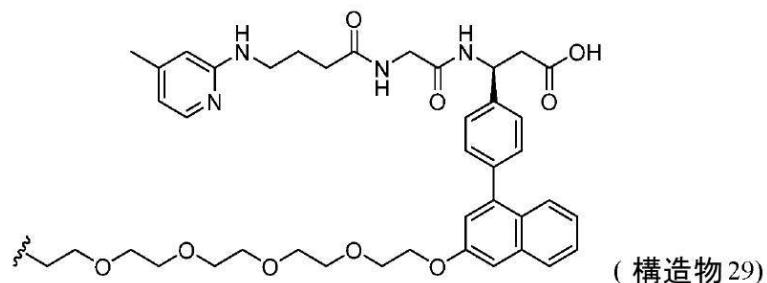
【0214】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【0215】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化106】



10

20

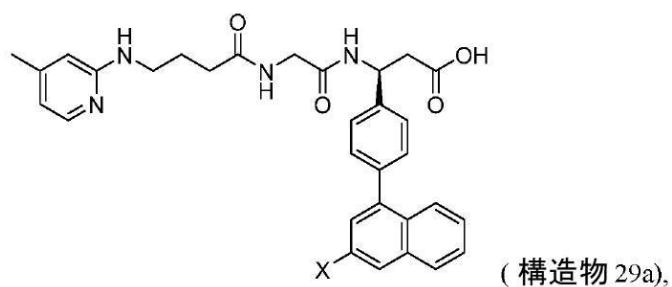
【0216】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0217】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化107】



30

40

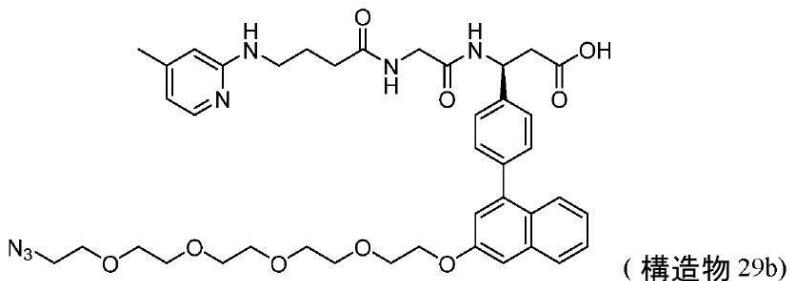
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0218】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

50

【化 1 0 8】

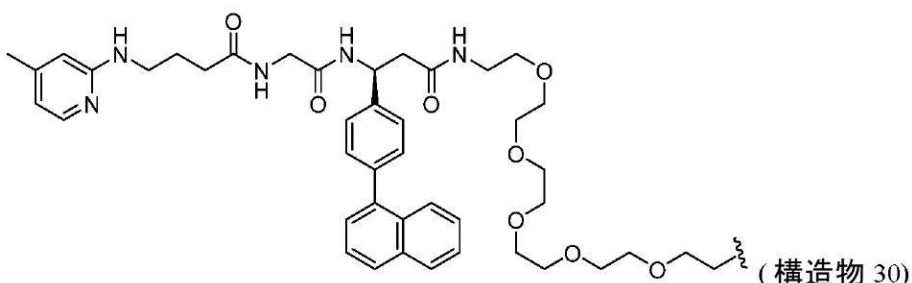


10

(0 2 1 9)

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 1 0 9】



20

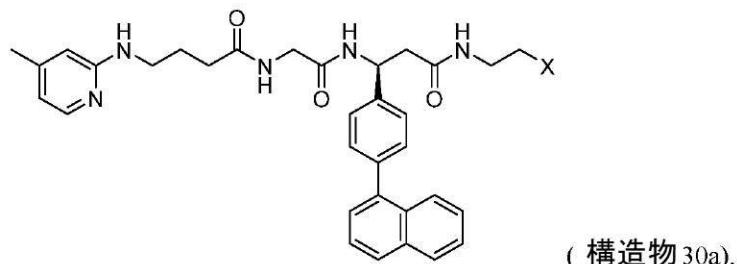
[0 2 2 0]

いくつかの実施形態では、構造物 25 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、R N A i 剤（単数または複数））に連結されている。

(0 2 2 1)

いくつかの実施形態では、 v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 1 0】



30

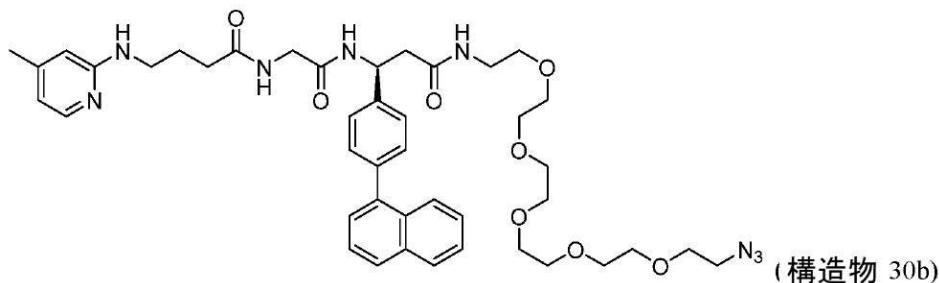
(式中、Xは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子(例えば、RNAi剤)を含む)。

(0 2 2 2)

いくつかの実施形態では、 v 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

40

【化111】

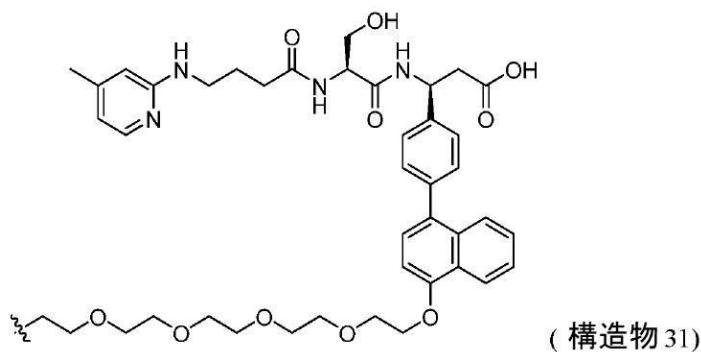


10

【0223】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化112】



20

【0224】

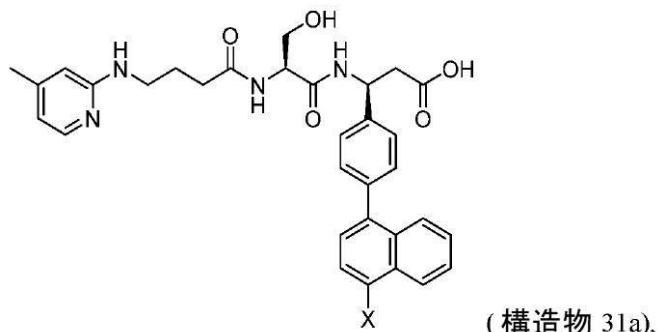
いくつかの実施形態では、構造物 25 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0225】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

30

【化113】



40

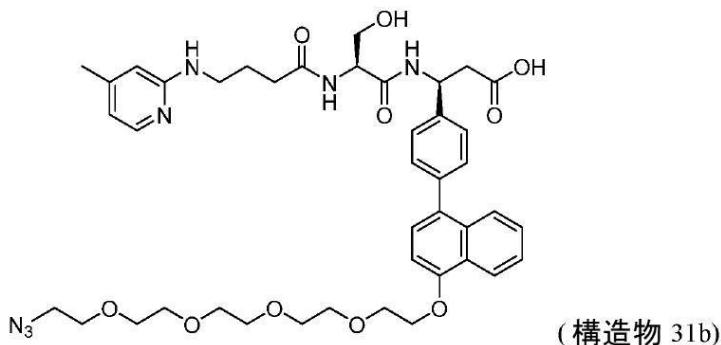
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0226】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

50

【化114】

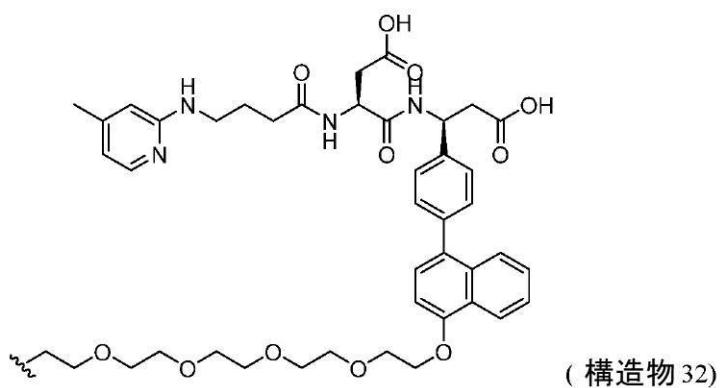


10

【0227】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化115】



20

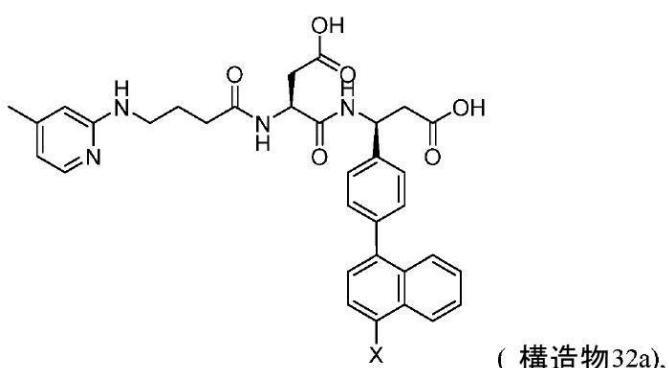
【0228】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0229】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化116】



30

40

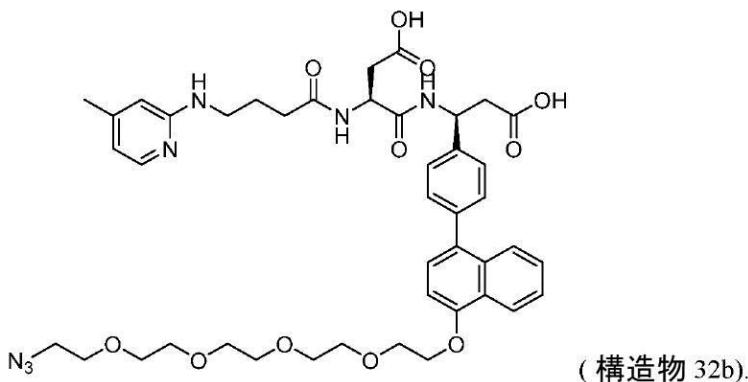
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0230】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

50

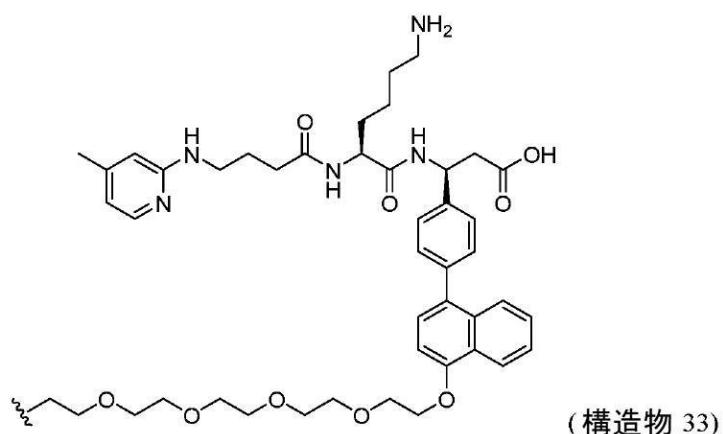
【化117】



【0231】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化118】



【0232】

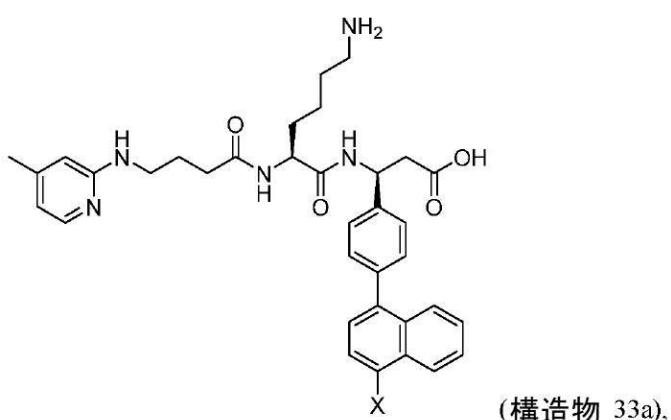
いくつかの実施形態では、構造物 25 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

30

【0233】

いくつかの実施形態では、v 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化119】



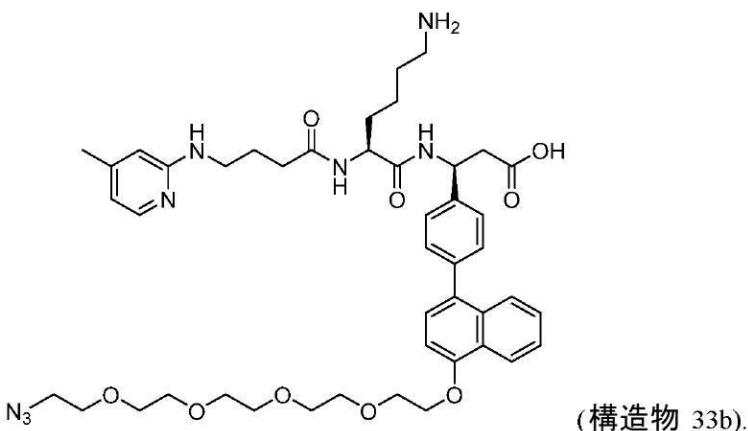
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0234】

50

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 2 0】

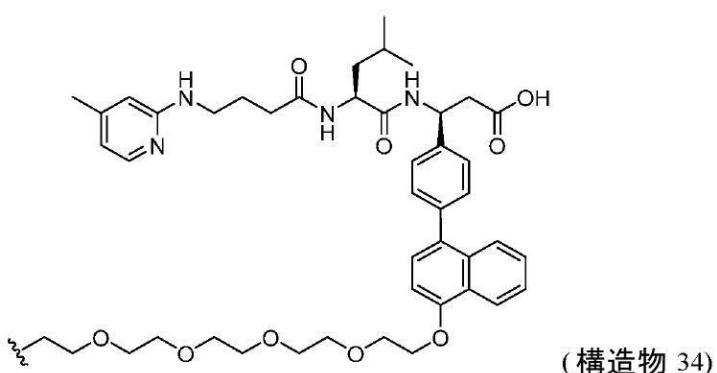


10

【0 2 3 5】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 1 2 1】



20

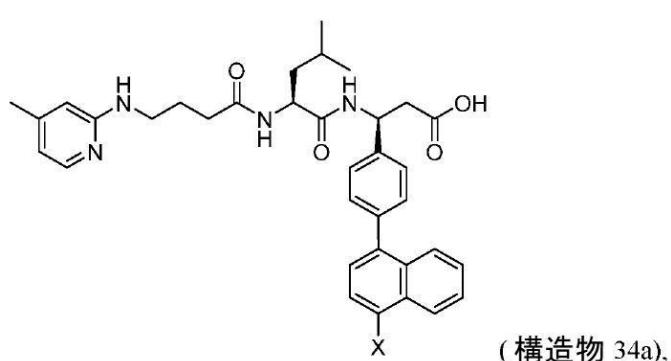
【0 2 3 6】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の v_6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 2 3 7】

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 2 2】



30

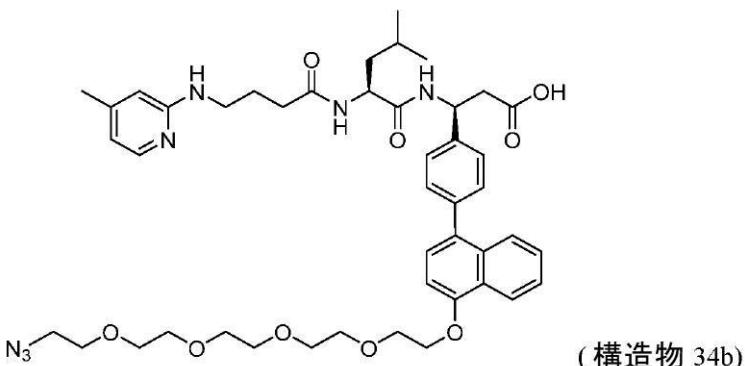
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 2 3 8】

40

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 2 3】

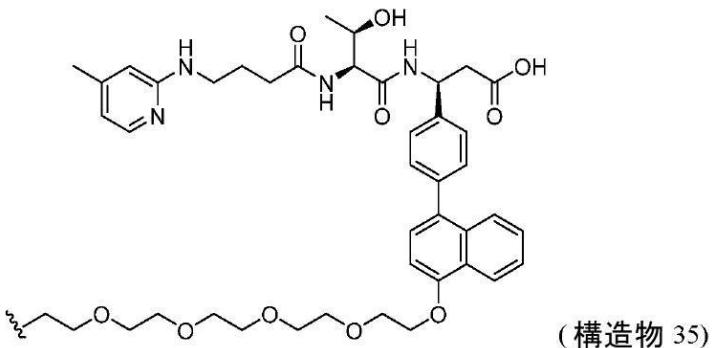


10

【0 2 3 9】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化 1 2 4】



20

【0 2 4 0】

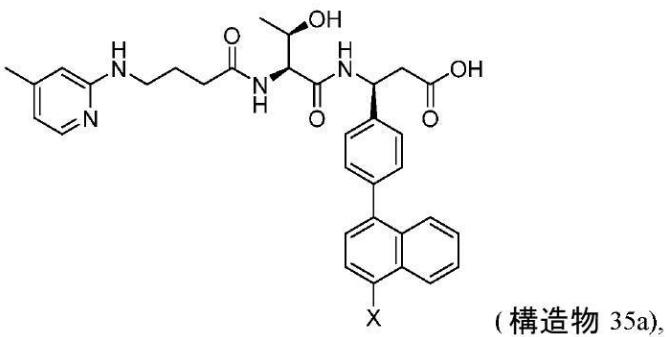
いくつかの実施形態では、構造物 25 の v_6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

30

【0 2 4 1】

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化 1 2 5】



40

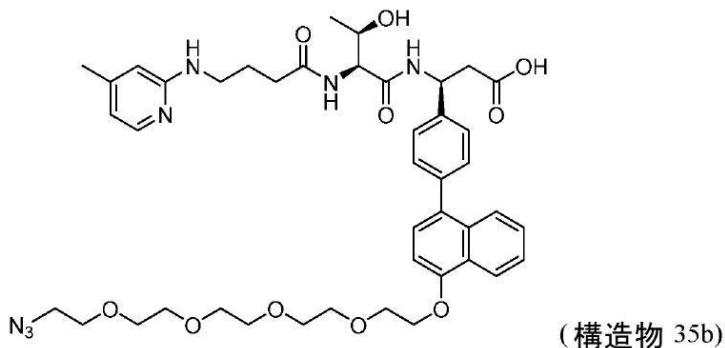
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 2 4 2】

いくつかの実施形態では、 v_6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

50

【化126】

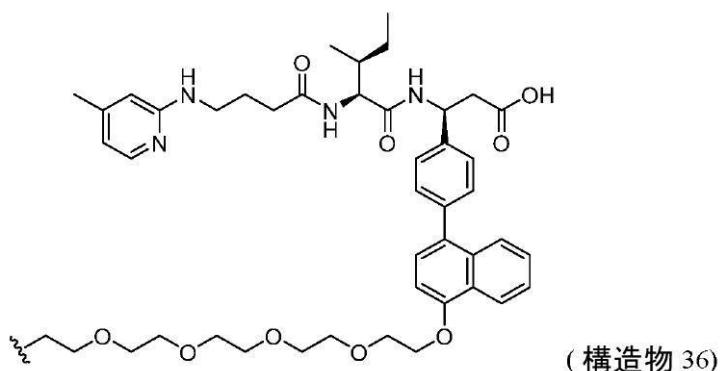


10

【0243】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化127】



20

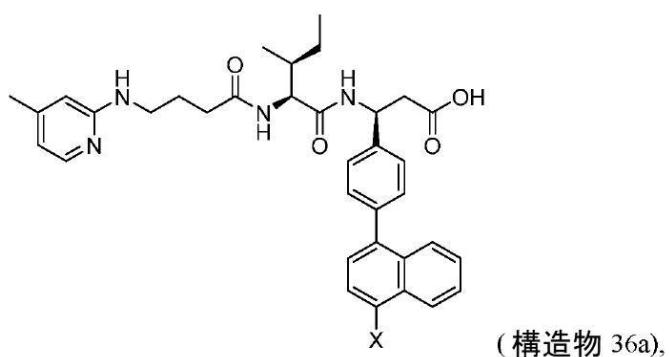
【0244】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0245】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化128】



30

（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

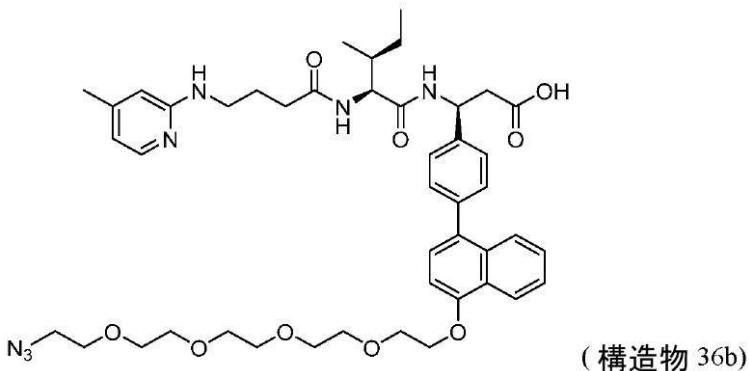
【0246】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール（PEG）-アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

40

50

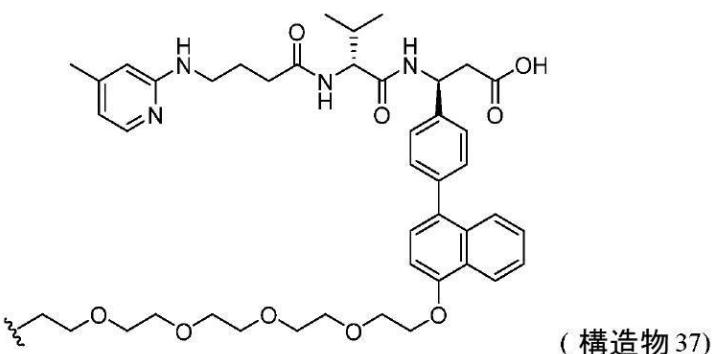
【化129】



【0247】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

【化130】



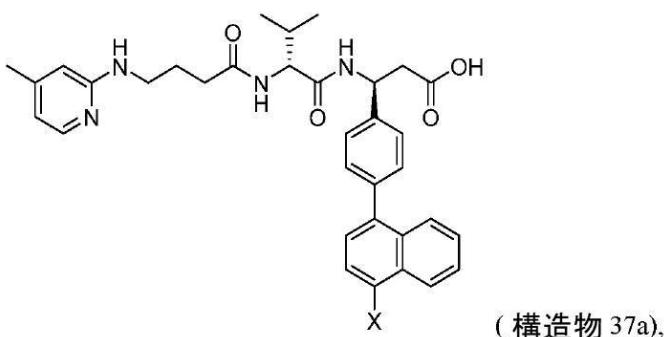
【0248】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の \vee 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0249】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化131】

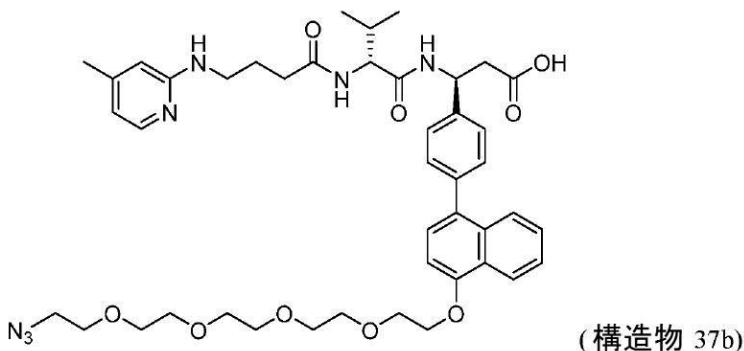


（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0250】

いくつかの実施形態では、 \vee 6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール (PEG) - アジド反応基を含むように合成することができ、以下の構造物を含む：

【化132】



10

【0251】

構造物1a、構造物1b、構造物2a、構造物2b、構造物5a、構造物5b、構造物6a、構造物6b、構造物7a、構造物7b、構造物8a、構造物8b、構造物9a、構造物9b、構造物10a、構造物10b、構造物11a、構造物11b、構造物12a、構造物12b、構造物13a、構造物13b、構造物14a、構造物14b、構造物15a、構造物15b、構造物16a、構造物16b、構造物17a、構造物17b、構造物18a、構造物18b、構造物19a、構造物19b、構造物20a、構造物20b、構造物22a、構造物22b、構造物23a、構造物23b、構造物24a、構造物24b、構造物25a、構造物25b、構造物27a、構造物27b、構造物29a、構造物29b、構造物30a、構造物30b、構造物31a、構造物31b、構造物32a、構造物32b、構造物33a、構造物33b、構造物34a、構造物34b、構造物35a、構造物35b、構造物36a、構造物36b、構造物37a、または構造物37bのうちのいずれかに開示の反応基を使用して、 \vee 6インテグリンリガンドを目的の分子に(すなわち、RNAi剤などのカーゴ分子に)付着させることができる。カーゴ分子は、 \vee 6インテグリン発現細胞を標的にすることができる任意の分子であり得る。

多座 \vee 6インテグリンリガンドおよび足場

【0252】

本明細書中に開示のように、いくつかの実施形態では、1またはそれを超える \vee 6インテグリンリガンドを、1またはそれを超えるカーゴ分子に連結することができる。いくつかの実施形態では、1つのみ \vee 6インテグリンリガンドが、カーゴ分子に結合されている(本明細書中で「単座」または「1価」リガンドと呼ばれる)。いくつかの実施形態では、2つの \vee 6インテグリンリガンドがカーゴ分子に結合されている(本明細書中で「二座」または「2価」リガンドと呼ばれる)。いくつかの実施形態では、3つの \vee 6インテグリンリガンドがカーゴ分子に結合されている(本明細書中で「三座」または「3価」リガンドと呼ばれる)。いくつかの実施形態では、4つの \vee 6インテグリンリガンドがカーゴ分子に結合されている(本明細書中で「四座」または「4価」リガンドと呼ばれる)。いくつかの実施形態では、4つを超える \vee 6インテグリンリガンドがカーゴ分子に結合されている。

【0253】

いくつかの実施形態では、1つのみの \vee 6インテグリンリガンドがカーゴ分子に結合する場合(本明細書中で「単座」リガンドと呼ばれる)、 \vee 6インテグリンリガンドを、カーゴ分子に直接結合することができる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6インテグリンリガンドを、足場または他のリンカー構造物を介してカーゴ分子に結合することができる。

【0254】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6インテグリンリガンドは、1またはそれを超える足場を含む。足場(当該分野で時折連結基またはリンカーとも呼ばれる)を使用して、1またはそれを超える本明細書中に開示の \vee 6インテグリンリガンドへの1またはそれを超えるカーゴ分子の連結を容易にすることができる。本明細書中に開

20

30

40

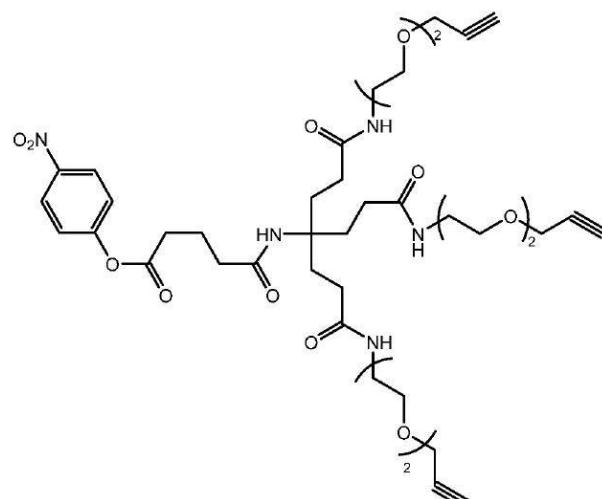
50

示のリガンドに適合する有用な足場は、当該分野で一般に知られている。本明細書中に開示の ν 6 インテグリンリガンドと共に使用することができる足場の非限定的な例には、ポリマーおよびポリアミノ酸（例えば、ビス・グルタミン酸、ポリ-L-リジンなど）が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、足場は、システインリングカーやまたは基、DBCO-P EG1-24-NHS、プロパルギル-P EG1-24-NHS、および/または多座 DBCO および/またはプロパルギル部分を含み得る。

【0255】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超える本明細書中に開示の ν 6 インテグリンリガンドを1またはそれを超えるカーゴ分子に連結するために使用される足場は、以下の構造を有する：

【化133】



(足場 1)

【0256】

足場1を使用すると、例えば、 ν 6 インテグリンリガンドモノマーおよび1またはそれを超えるカーゴ分子の両方との効率的な結合が容易になる。足場1は、アミン反応性 p -ニトロフェノール（4-ニトロフェノールとも呼ばれる）エステル、アミン架橋、および3単位の PEG₂、ならびに末端アルキンを含む。4-ニトロフェノールエステルを、カーゴ分子上の第一級アミン（末端アミン基（例えば、NH₂-C₆）を用いてアミド形成によって作製されたRNAトリガー上の第一級アミンなど）と結合することができる。末端アルキンを、銅触媒クリック化学によってアジド修飾リガンド（ペプチドおよび小分子の両方）と結合することができる。

【0257】

いくつかの実施形態では、カーゴ分子はRNAi剤である。いくつかの実施形態では、足場1を、RNAi剤の末端に（RNAi剤のセンス鎖の5'末端などに）付着させることができる。例えば、RNAi剤のセンス鎖の5'末端を、RNAi剤の5'末端ヌクレオチドの5'末端に付着したC₆アミン（-C₆-NH₂）を含むように修飾することができる。かかるC₆アミン修飾（または末端アミンが得られる別の他の修飾）を有するRNAi剤を、以下の構造の表示によって示されるように、足場1に容易に結合することができる：

10

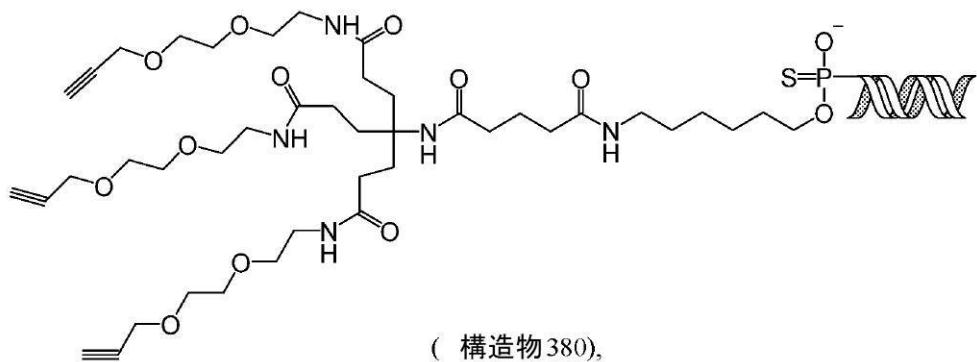
20

30

40

50

【化134】



10

(式中、

【化135】



は、RNA i 剤を示す)。

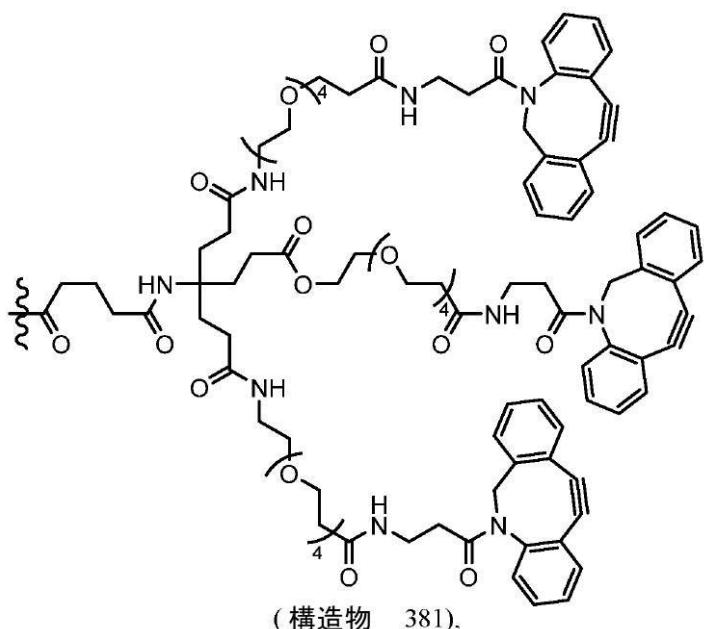
【0258】

次いで、上記の構造物 380 のアルキン基を、本明細書中に開示の ν_6 インテグリ 20
ンリガンドに結合して、三座 ν_6 インテグリンリガンドを形成することができる。

【0259】

いくつかの実施形態では、足場を、DBCO (ジベンゾシクロオクチニン) を使用して合 20
成することができ、この足場を、以下の構造によって表すことができる：

【化136】



30

40

(式中、

【化137】



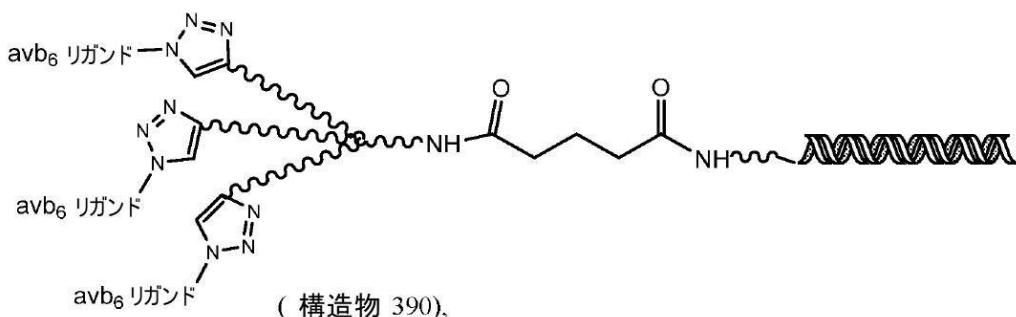
は、反応基またはカーゴ分子を含む部分への付着を示す)。

【0260】

いくつかの実施形態では、以下の一般的な構造物に示すように、トリアゾール基を、R 50

N A i 剤と本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドとの間に形成する：

【化 1 3 8】



10

(式中、

【化 1 3 9】



は、リガンドを R N A i 剤に連結するための使用することができる任意の適切な足場または連結基を示し、

【化 1 4 0】



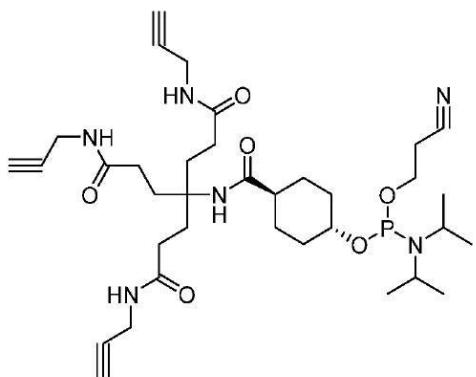
20

は R N A i 剤を示す)。

【0 2 6 1】

いくつかの実施形態では、以下の構造物において示すように、足場をホスホルアミダイト化合物として合成することができ、それにより、三座リガンドを、ホスホルアミダイト合成を介して R N A i 剤のセンス鎖の 5' 末端に容易にカップリングすることができる：

【化 1 4 1】



(構造物 400).

30

【0 2 6 2】

合成後に構造物 400 の化合物を R N A i 剤のセンス鎖の 5' 末端に付着するために、次いで、末端アルキンを本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドに連結することができる。

40

【0 2 6 3】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、構造物 1、構造物 2、構造物 5、構造物 5.1、構造物 5.2、構造物 6、構造物 6.1、構造物 6.2、構造物 6.3、構造物 6.4、構造物 7、構造物 8、構造物 9、構造物 10、構造物 11、構造物 12、構造物 13、構造物 14、構造物 15、構造物 16、構造物 17、構造物 18、構造物 19、構造物 20、構造物 22、構造物 23、構造物 24、構造物 25、構造物 27、構造物 29、構造物 30、構造物 31、構造物 32、構造物 33、構造物 34、構造物 35、構造物 36、構造物 37 を含み、ここで、 v_6 インテグ

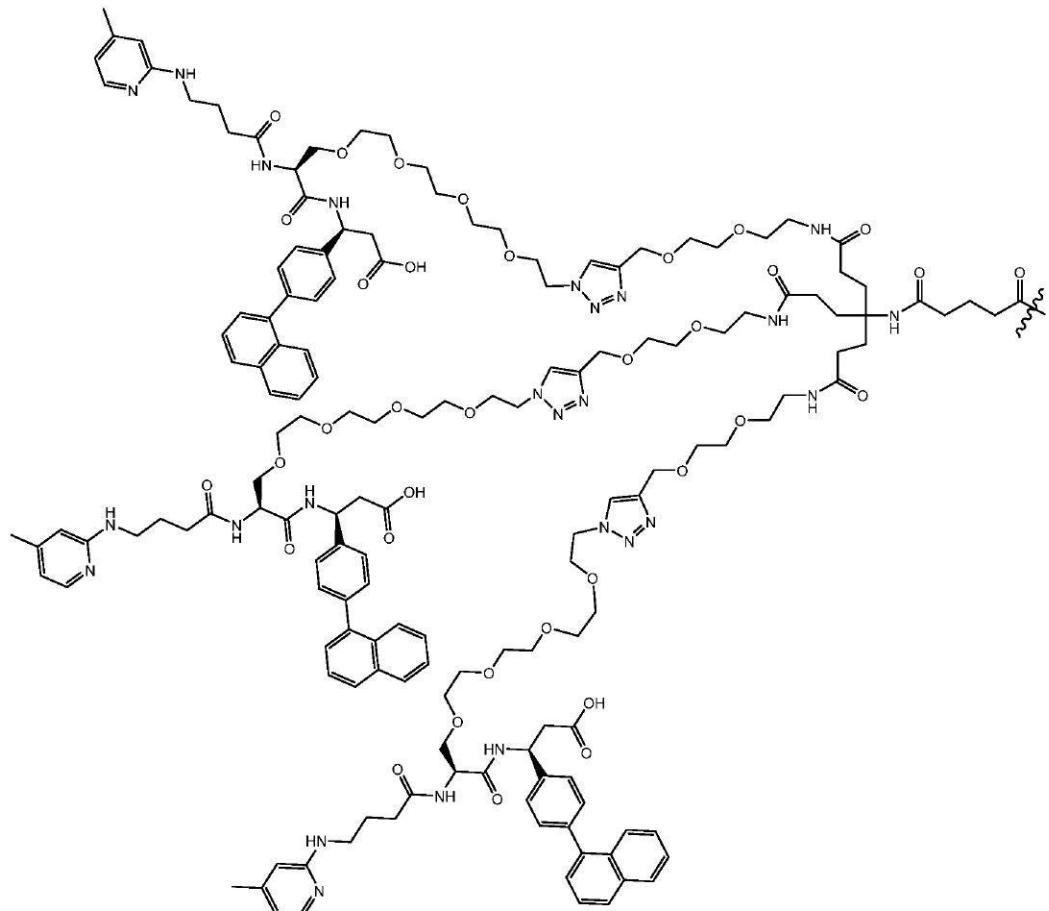
50

リンリガンドは、足場を介して連結した三座リガンドである。

【0264】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、三座形態で構造物 2 を含み、以下の構造物によって表すことができる：

【化142】



(構造物 700)

10

20

30

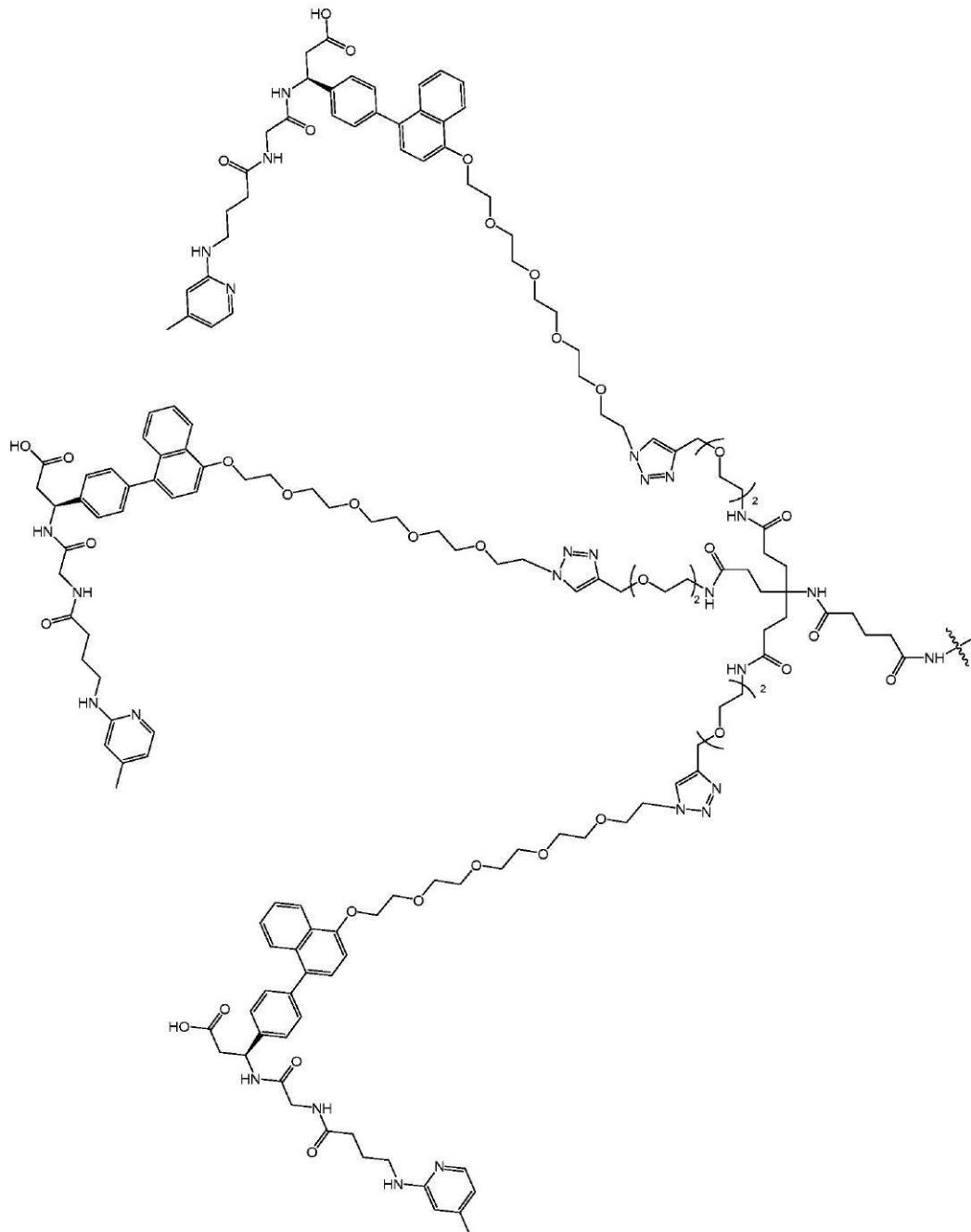
【0265】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、三座形態で構造物 6 . 1 を含み、以下の構造物によって表すことができる：

40

50

【化 1 4 3】



(構造物 701)

【0 2 6 6】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v_6 インテグリンリガンドは、三座形態で構造物 6 . 1 を含み、以下の構造物によって表すことができる：

10

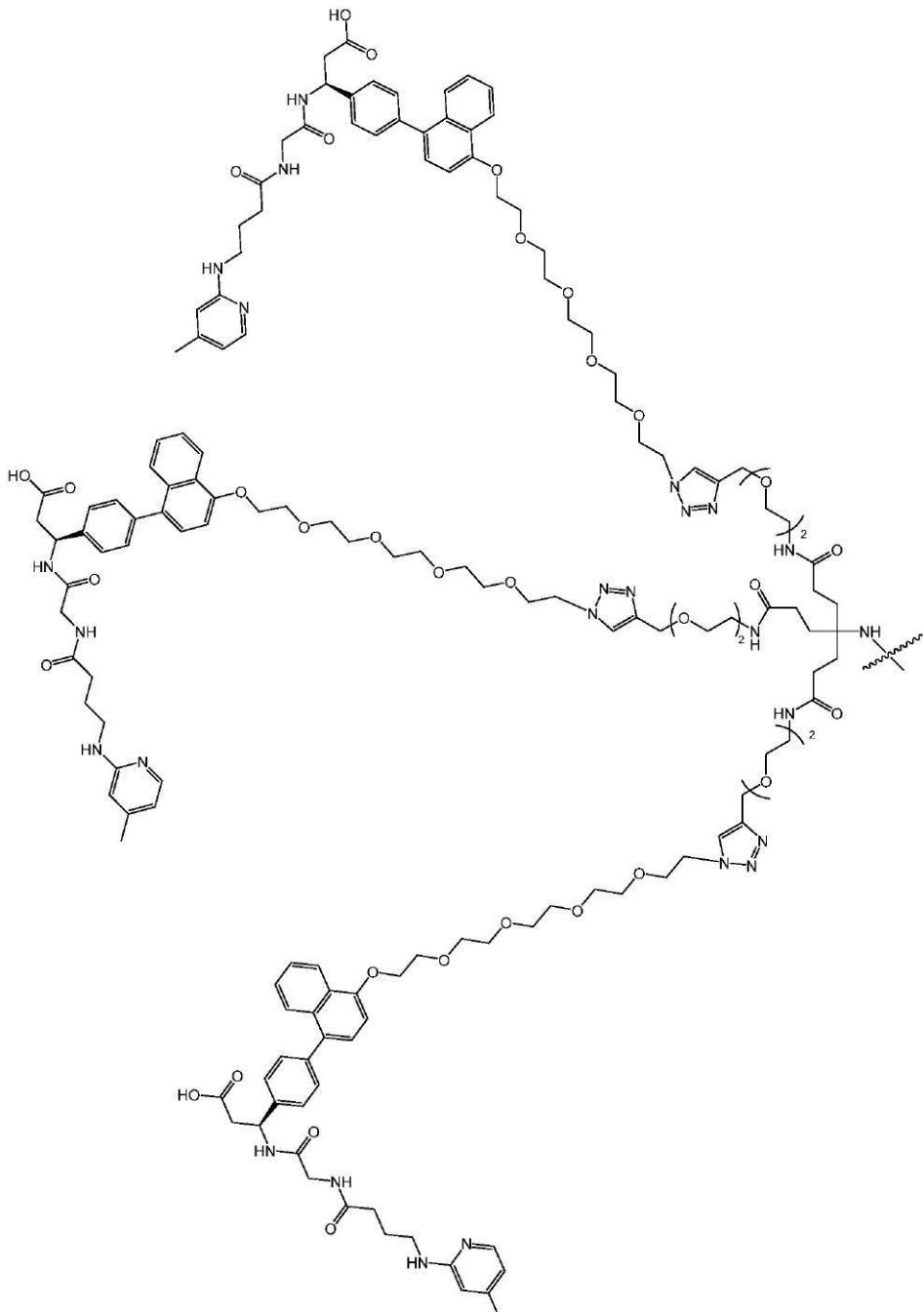
20

30

40

50

【化 1 4 4】



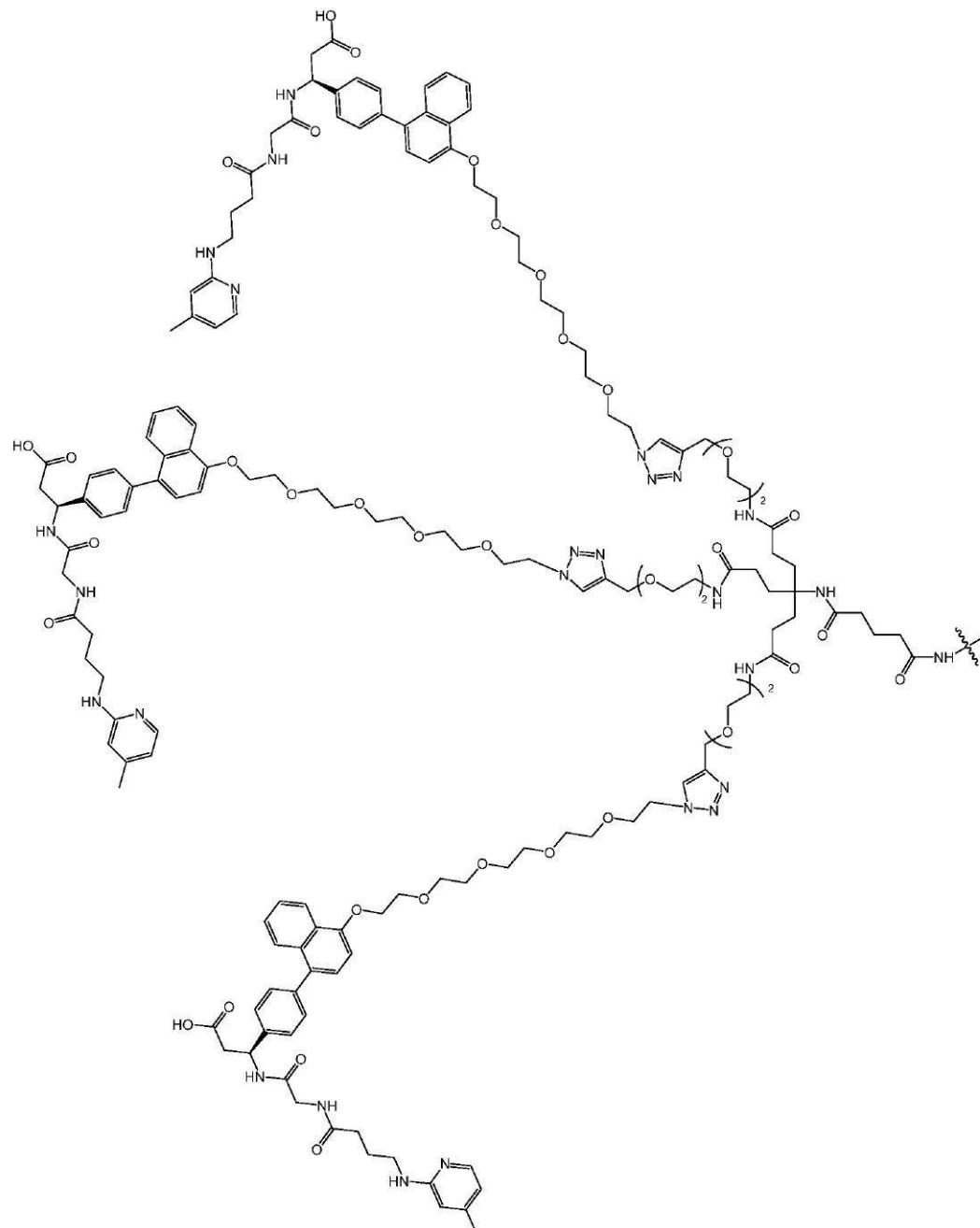
【0 2 6 7】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドは、グルタル酸リンカーを含む三座形態で構造物 6 . 1 を含み、以下の構造物によって表すことができる：

40

50

【化 1 4 5】



(構造物 701b)

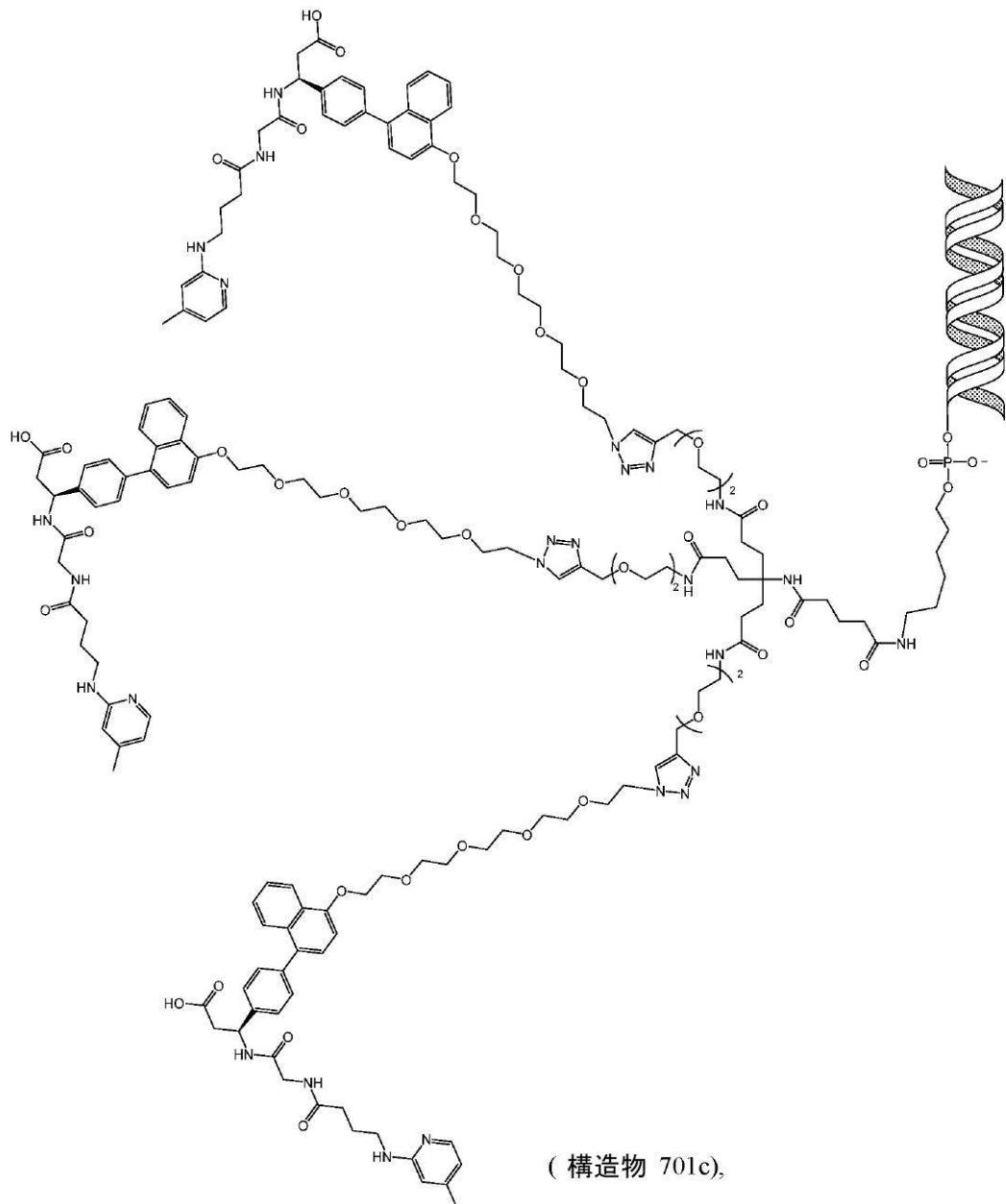
【0 2 6 8】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、RN A i 剤に結合した三座形態で構造物 6 . 1 を含み、以下の構造物によって表すことができる：

40

50

【化 1 4 6】

（式中、
【化 1 4 7】

は、RNAイ剤を示す）。

【0269】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、三座形態で構造物 6 . 1 を含み、以下の構造物によって表すことができる：

10

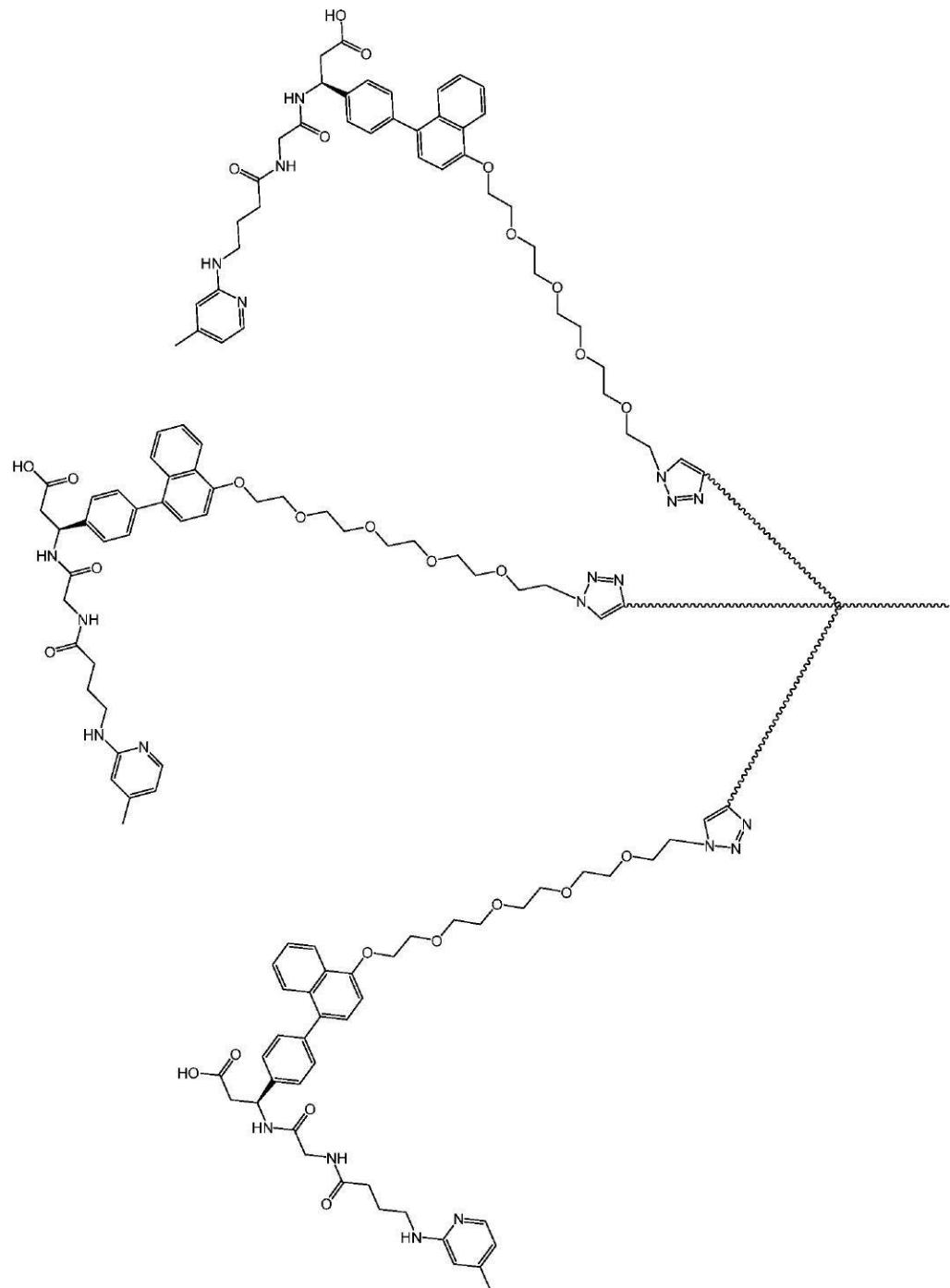
20

30

40

50

【化148】



(構造物 701d),

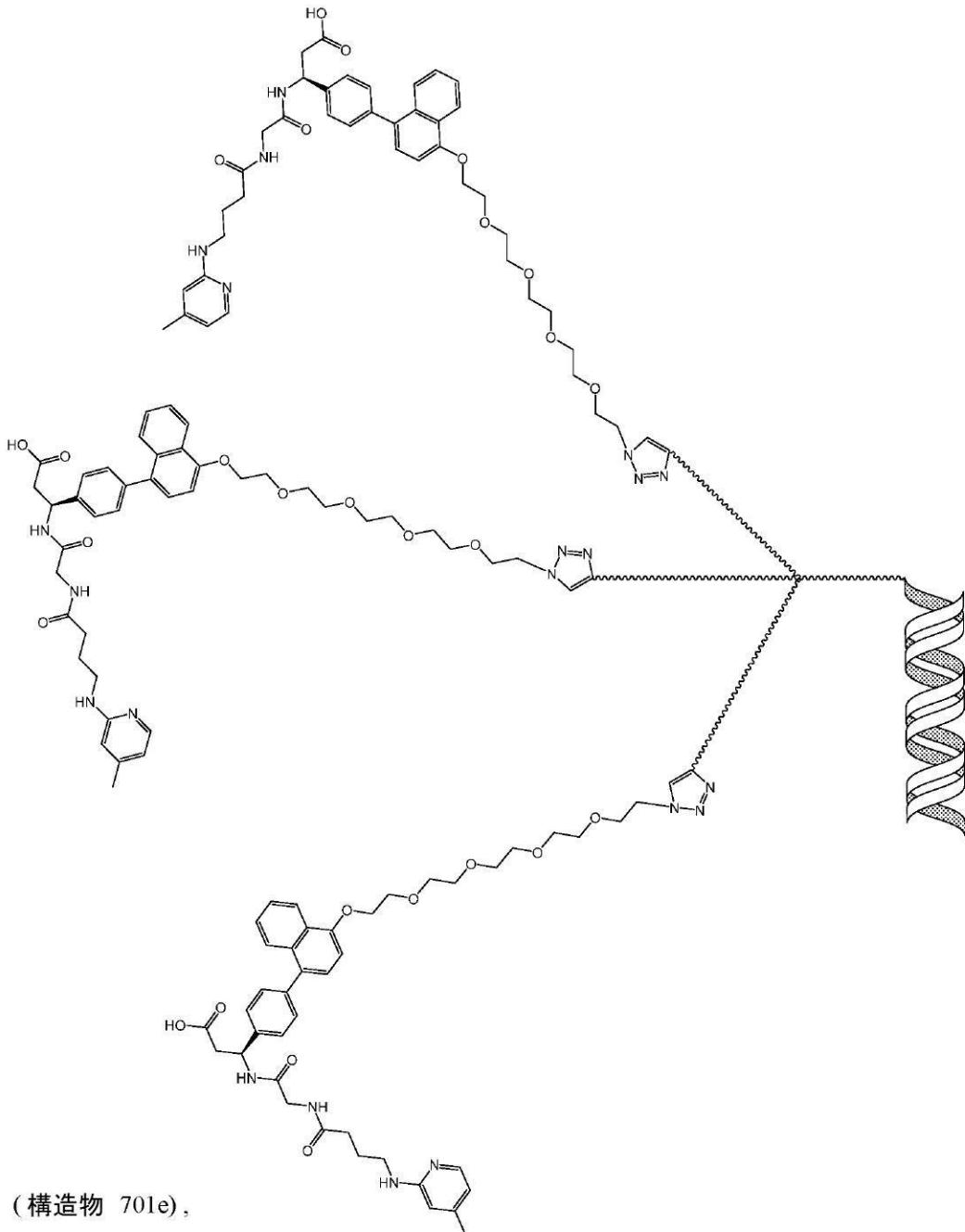
【化149】

は、リガンドおよびカーゴ分子を連結するために使用することができる任意の適切な足場を示す)。

【0270】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドは、RN A i 剤に結合した三座形態で構造物 6 . 1 を含み、以下の構造物によって表すことができる:

【化 150】



(式中、

【化 151】

40

は、リガンドおよびRNAi剤を連結するために使用することができる任意の適切な足場を示し、

【化 152】



はRNAi剤を示す)。

反応基および保護された反応基。

【0271】

50

反応基は、当該分野で周知であり、2つの分子または反応物の間の共有結合性連結を形成する。本発明の範囲内での使用に適切な反応基には、以下が含まれるが、これらに限定されない：アミノ基、アミド基、カルボン酸基、アジド、アルキン、プロパルギル基、B C N (ビシクロ [6 . 1 . 0] ノニン (b i c l c l o [6 . 1 . 0] n o n y n e)、D B C O (ジベンゾシクロオクチニ)チオール、マレイミド基、アミノオキシ基、N - ヒドロキシスクシンイミド (N H S) または他の活性化エステル (例えば、P N P、T F P、P F P)、プロモ基、アルデヒド、カルボナート、トシラート、テトラジン、trans - シクロオクテン (T C O)、ヒドラジド、ヒドロキシリ基、ジスルフィド、およびオルソピリジルジスルフィド基。

【0272】

10

反応基の組み込みにより、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンリガンドのカーゴ分子への結合を容易にすることができる。結合反応は当該分野で周知であり、2つの分子または反応物の間に共有結合性連結を形成する。本発明の範囲内での使用に適切な結合反応には、アミドカップリング反応、マイケル付加反応、ヒドラゾン形成反応、およびクリック化学付加環化反応が含まれるが、これらに限定されない。

【0273】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee 6 インテグリンターゲティングリガンドを、テトラフルオロフェニル (T F P) エステルとして合成し、これをカーゴ分子に付着するように反応性アミノ基に置換することができる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示のインテグリンターゲティングリガンドを、アジドとして合成し、これをカーゴ分子に付着するように、例えば、クリック化学付加環化反応を介してプロパルギル基またはD B C O 基に結合することができる。

20

【0274】

保護された反応基も当該分野で一般的に使用されている。保護基は、反応基を、非保護基が反応する条件下で反応しない基に一過性に化学変換し、それにより、例えば、その後の化学反応において化学的選択性が得られる。本発明の範囲内での使用に適切な保護された反応基には、B O C 基 (t - プトキシカルボニル)、F m o c (9 - フルオレニルメトキシカルボニル)、カルボキシベンジル (C B Z) 基、ベンジルエステル、およびP B F (2 , 2 , 4 , 6 , 7 - ペンタメチルジヒドロベンゾフラン - 5 - スルホニル) が含まれるが、これらに限定されない。

30

カーゴ分子 (R N A i 剤が含まれる)

【0275】

カーゴ分子は、本明細書中に記載の \vee 6 インテグリンリガンドから脱離したときによく \vee 6 インテグリン受容体を含む細胞に望ましい影響を及ぼすと考えられる任意の分子である。カーゴ分子は、薬学的成分、製剤、プロドラッグ、公知の治療上の利点を有する物質、小分子、抗体、抗体断片、免疫グロブリン、モノクローナル抗体、標識もしくはマーカー、脂質、天然もしくは修飾された核酸もしくはポリヌクレオチド、ペプチド、ポリマー、ポリアミン、タンパク質、アプタマー、毒素、ビタミン、P E G、ハブテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、放射性の原子もしくは分子、またはフルオロフォアであり得るが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、1またはそれを超えるカーゴ分子 (例えば、同一または異なるカーゴ分子) は、カーゴ分子が \vee 6 インテグリンを発現する細胞を標的にするように、1またはそれを超える \vee 6 インテグリンリガンドに連結されている。

40

【0276】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超えるカーゴ分子は、薬学的成分または医薬組成物である。いくつかの実施形態では、1またはそれを超えるカーゴ分子は、オリゴヌクレオチド系化合物である。本明細書中で使用される場合、「オリゴヌクレオチド系化合物」は、約 10 ~ 50 (例えば、10 ~ 48、10 ~ 46、10 ~ 44、10 ~ 42、10 ~ 40、10 ~ 38、10 ~ 36、10 ~ 34、10 ~ 32、10 ~ 30、10 ~ 28、10 ~ 26、10 ~ 24、10 ~ 22、10 ~ 20、10 ~ 18、10 ~ 16、10 ~

50

14、10～12、12～50、12～48、12～46、12～44、12～42、1
 2～40、12～38、12～36、12～34、12～32、12～30、12～28
 、12～26、12～24、12～22、12～20、12～18、12～16、12～
 14、14～50、14～48、14～46、14～44、14～42、14～40、1
 4～38、14～36、14～34、14～32、14～30、14～28、14～26
 、14～24、14～22、14～20、14～18、14～16、16～50、16～
 48、16～46、16～44、16～42、16～40、16～38、16～36、1
 6～34、16～32、16～30、16～28、16～26、16～24、16～22
 、16～20、16～18、18～50、18～48、18～46、18～44、18～
 42、18～40、18～38、18～36、18～34、18～32、18～30、1
 8～28、18～26、18～24、18～22、18～20、20～50、20～48
 、20～46、20～44、20～42、20～40、20～38、20～36、20～
 34、20～32、20～30、20～28、20～26、20～24、20～22、2
 2～50、22～48、22～46、22～44、22～42、22～40、22～38
 、22～36、22～34、22～32、22～30、22～28、22～26、22～
 24、24～50、24～48、24～46、24～44、24～42、24～40、2
 4～38、24～36、24～34、24～32、24～30、24～28、24～26
 、26～50、26～48、26～46、26～44、26～42、26～40、26～
 38、26～36、26～34、26～32、26～30、26～28、28～50、2
 8～48、28～46、28～44、28～42、28～40、28～38、28～36
 、28～34、28～32、28～30、30～50、30～48、30～46、30～
 44、30～42、30～40、30～38、30～36、30～34、30～32、3
 2～50、32～48、32～46、32～44、32～42、32～40、32～38
 、32～36、32～34、34～50、34～48、34～46、34～44、34～
 42、34～40、34～38、34～36、36～50、36～48、36～46、3
 6～44、36～42、36～40、36～38、38～50、38～48、38～46
 、38～44、38～42、38～40、40～50、40～48、40～46、40～
 44、40～42、42～50、42～48、42～46、42～44、44～50、4
 4～48、44～46、46～50、46～48、または48～50）のヌクレオチドまたはヌクレオチド塩基対を含むヌクレオチド配列である。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド系化合物は、細胞内の発現された標的核酸または標的遺伝子中のコード配列に少なくとも部分的に相補的な核酸塩基配列を有する。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド系化合物は、遺伝子を発現する細胞への送達の際に、根底にある遺伝子の発現を阻害することができ、この化合物は、本明細書中で「発現阻害オリゴヌクレオチド系化合物」と呼ばれる。遺伝子発現を、in vitroまたはin vivoで阻害することができる。

【0277】

「オリゴヌクレオチド系化合物」には、以下が含まれるが、これらに限定されない：一本鎖オリゴヌクレオチド、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子干渉RNA(siRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、ミクロRNA(miRNA)、低分子ヘアピン型RNA(shRNA)、リボザイム、干渉RNA分子、およびダイサー基質。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド系化合物は、一本鎖オリゴヌクレオチド(アンチセンスオリゴヌクレオチドなど)である。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド系化合物は、二本鎖オリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド系化合物は、RNAi剤である二本鎖オリゴヌクレオチドである。

【0278】

いくつかの実施形態では、1またはそれを超えるカーゴ分子は「RNAi剤」であり、このRNAi剤は、標的mRNAの伝令RNA(mRNA)転写物の翻訳を配列特異的様式で分解または阻害することができるRNAまたはRNA様(例えば、化学修飾されたRNA)オリゴヌクレオチド分子を含む組成物であると本明細書中で定義されている。本明

10

20

30

40

50

細書中で使用される場合、RNAi剤は、RNA干渉機序（すなわち、哺乳動物細胞のRNA干渉経路機序（RNA誘導サイレンシング複合体、すなわちRISC）との相互作用を介したRNA干渉の誘導）を介するか、任意の別の機序（単数または複数）または経路（単数または複数）によって操作することができる。RNAi剤は、この用語が本明細書中で使用される場合、主にRNA干渉機序を介して操作すると考えられる一方で、開示のRNAi剤は、いかなる特定の経路または作用機序にも拘束されたり制限されたりしない。本明細書中に開示のRNAi剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖から構成され、以下が含まれるが、これらに限定されない：低分子（または低分子）干渉RNA（short (or small) interfering RNAs) (siRNA)、二本鎖RNA (dsRNA)、ミクロRNA (miRNA)、低分子ヘアピン型RNA (shRNA)、およびダイサー基質。本明細書中に記載のRNAi剤のアンチセンス鎖は、標的にされるmRNAと少なくとも部分的に相補的である。RNAi剤は、1またはそれを超える修飾ヌクレオチドおよび/または1またはそれを超える非ホスホジエステル結合を含み得る。

【0279】

典型的には、RNAi剤は、少なくとも、第1の配列を含むセンス鎖（パッセンジャー鎖とも呼ばれる）および第2の配列を含むアンチセンス鎖（ガイド鎖とも呼ばれる）から構成され得る。RNAi剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖の長さは、各々16~49ヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態では、RNAi剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、17~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、19~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、21~26ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、21~24ヌクレオチド長である。センス鎖およびアンチセンス鎖は、同一の長さまたは異なる長さのいずれかであり得る。RNAi剤は、標的遺伝子中の配列と少なくとも部分的に相補的なアンチセンス鎖配列を含み、標的を発現する細胞に送達された際に、RNAi剤は、in vivoまたはin vitroで1またはそれを超える標的遺伝子の発現を阻害することができる。

【0280】

オリゴヌクレオチド系化合物（一般的に）およびRNAi剤（特異的に）は、修飾されたヌクレオチドおよび/または1またはそれを超える非ホスホジエステル結合から構成され得る。本明細書中で使用される場合、「修飾されたヌクレオチド」は、リボヌクレオチド（2' - ヒドロキシリヌクレオチド）以外のヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、少なくとも50%（例えば、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%）のヌクレオチドが修飾されたヌクレオチドである。本明細書中で使用される場合、修飾されたヌクレオチドには、デオキシリボヌクレオチド、ヌクレオチド模倣物、脱塩基ヌクレオチド、2' - 修飾されたヌクレオチド、3' - 3'連結（逆）ヌクレオチド、非天然塩基を含むヌクレオチド、架橋ヌクレオチド、ペプチド核酸、2', 3' - セコヌクレオチド模倣物（アンロック核酸塩基類似体、ロックヌクレオチド、3' - O - メトキシ（2'ヌクレオシド間連結）ヌクレオチド、2' - F - アラビノヌクレオチド、5' - Me、2' - フルオロヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ビニルホスホナートデオキシリボヌクレオチド、ビニルホスホナート含有ヌクレオチド、およびシクロプロピルホスホナート含有ヌクレオチドが含まれるが、これらに限定されない。2' - 修飾されたヌクレオチド（すなわち、5員の糖環の2'位置にヒドロキシリル基以外の基を有するヌクレオチド）には、2' - O - メチルヌクレオチド、2' - デオキシ - 2' - フルオロヌクレオチド、2' - デオキシヌクレオチド、2' - メトキシエチル（2' - O - 2' - メトキシリエチル）ヌクレオチド、2' - アミノヌクレオチド、および2' - アルキルヌクレオチドが含まれるが、これらに限定されない。

【0281】

さらに、オリゴヌクレオチド系化合物（RNAi剤など）の1またはそれを超えるヌク

10

20

30

40

50

レオチドを、非標準の連結または骨格（すなわち、修飾されたヌクレオシド間連結または修飾された骨格）によって連結することができる。修飾されたヌクレオシド間連結は、ホスファートを含有しない共有結合性のヌクレオシド間連結であり得る。修飾されたヌクレオシド間連結または骨格には、5' - ホスホロチオアート基、キラルホスホロチオアート、チオホスファート、ホスホロジチオアート、ホスホトリエステル、アミノアルキル - ホスホトリエステル、ホスホン酸アルキル（例えば、メチルホスホナートまたは3' - アルキレンホスホナート）、キラルホスホナート、ホスフィナート、ホスホルアミダート（例えば、3' - アミノホスホルアミダート、アミノアルキルホスホルアミダート、またはチオノホスホルアミダート）、チオノアルキル - ホスホナート、チオノアルキルホスホトリエステル、モルホリノ連結、通常の3' - 5' 連結を有するボラノホスファート、ボラノホスファートの2' - 5' 連結アナログ、または隣接するヌクレオシド単位の対が3' - 5' から5' - 3' または2' - 5' から5' - 2' に連結されている、逆の極性を有するボラノホスファートが含まれるが、これらに限定されない。

【 0 2 8 2 】

所与の化合物の全ての位置が均一に修飾される必要はない。逆に、1つを超える修飾を、単一のオリゴヌクレオチド系化合物に、またはその単一のヌクレオチドにさえも組み込むことができる。

【 0 2 8 3 】

いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、E N a C 遺伝子発現を阻害するための R N A i 剤である。カーゴ分子は、国際特許出願番号 P C T / U S 1 8 / 4 0 8 7 4 号（その全体が、本明細書中で参考として援用される）に記載の R N A i 剤であり得る。 20

【 0 2 8 4 】

R N A i 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖を、当該分野で公知の方法によって合成および／または修飾することができる。例えば、- E N a C 発現の阻害に関する R N A i 剤の開示は、例えば、国際公開番号 W O 2 0 0 8 / 1 5 2 1 3 1 号（その全体が、本明細書中で参考として援用される）に見出すことができる。R N A i 剤に関するさらなる開示は、例えば、修飾の開示において、例えば、A r r o w h e a d P h a r m a c e u t i c a l s , I n c . の国際特許出願番号 P C T / U S 2 0 1 7 / 0 4 5 5 4 4 6 号（これも、その全体が、本明細書中で参考として援用される）に見出すことができる。

0 0 、 4 0 0 ~ 5 5 0 、 4 0 0 ~ 5 0 0 、 4 0 0 ~ 4 5 0 、 4 5 0 ~ 9 0 0 、 4 5 0 ~ 8
 5 0 、 4 5 0 ~ 8 0 0 、 4 5 0 ~ 7 5 0 、 4 5 0 ~ 7 0 0 、 4 5 0 ~ 6 5 0 、 4 5 0 ~ 6
 0 0 、 4 5 0 ~ 5 5 0 、 4 5 0 ~ 5 0 0 、 5 0 0 ~ 9 0 0 、 5 0 0 ~ 8 5 0 、 5 0 0 ~ 8
 0 0 、 5 0 0 ~ 7 5 0 、 5 0 0 ~ 7 0 0 、 5 0 0 ~ 6 5 0 、 5 0 0 ~ 6 0 0 、 5 0 0 ~ 5
 5 0 、 5 5 0 ~ 9 0 0 、 5 5 0 ~ 8 5 0 、 5 5 0 ~ 8 0 0 、 5 5 0 ~ 7 5 0 、 5 5 0 ~ 7
 0 0 、 5 5 0 ~ 6 5 0 、 5 5 0 ~ 6 0 0 、 6 0 0 ~ 9 0 0 、 6 0 0 ~ 8 5 0 、 6 0 0 ~ 8
 0 0 、 6 0 0 ~ 7 5 0 、 6 0 0 ~ 7 0 0 、 6 0 0 ~ 6 5 0 、 6 5 0 ~ 9 0 0 、 6 5 0 ~ 8
 5 0 、 6 5 0 ~ 8 0 0 、 6 5 0 ~ 7 5 0 、 6 5 0 ~ 7 0 0 、 7 0 0 ~ 9 0 0 、 7 0 0 ~ 8
 5 0 、 7 0 0 ~ 8 0 0 、 7 0 0 ~ 7 5 0 、 7 5 0 ~ 9 0 0 、 7 5 0 ~ 8 5 0 、 7 5 0 ~ 8
 0 0 、 8 0 0 ~ 9 0 0 、 8 5 0 ~ 9 0 0 、 または 8 5 0 ~ 9 0 0 のエチレンオキシド単位

) を有する P E G 部分を含み得る。いくつかの実施形態では、1 またはそれを超えるカーゴ分子 (単数または複数) は、およそ 4 5 5 エチレンオキシド単位 (約 2 0 キロダルトン (k D a) の分子量) を有する P E G 部分からなる。いくつかの実施形態では、P E G 部分の分子量は約 2 キロダルトンである。いくつかの実施形態では、P E G 部分の分子量は約 2 0 キロダルトンである。いくつかの実施形態では、P E G 部分の分子量は約 4 0 キロダルトンである。本明細書中に記載の P E G 部分は、直鎖または分枝鎖であり得る。P E G 部分は、離散 (単分散) または非離散 (多分散) であり得る。PK 増強カーゴ分子として使用するための P E G 部分は、商業的に購入することができる。いくつかの実施形態では、1 またはそれを超えるカーゴ分子 (単数または複数) には、PK モジュレーターまたはエンハンサーとして作用することができる P E G 部分、および薬学的に活性な成分または化合物などの異なるカーゴ分子が含まれる。

【 0 2 8 5 】

記載の \vee_6 インテグリンリガンドには、その塩または溶媒和物が含まれる。 \vee_6 インテグリンリガンドの溶媒和物は、相互引力によって形成される \vee_6 インテグリンリガンド上の不活性溶媒分子の付加体を意味すると捉えられる。溶媒和物は、例えば、一水和物もしくは二水和物、または化合物のアルコール (例えば、メタノールまたはエタノールなど) との付加化合物である。

【 0 2 8 6 】

遊離アミノ基または遊離ヒドロキシル基は、対応する保護基を有する \vee_6 インテグリンリガンドの置換基として提供され得る。

【 0 2 8 7 】

\vee_6 インテグリンリガンドには、例えば、誘導体 (すなわち、例えば、in vitro または生体内のいずれかで切断されるアルキル基またはアシリル基、糖またはオリゴペプチドで修飾された \vee_6 インテグリンリガンド) も含まれる。

【 0 2 8 8 】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee_6 インテグリンリガンドは、リガンド媒介性のエンドサイトーシス、飲作用を介するか、他の手段によって、その表面上に \vee_6 インテグリンを提示する細胞のサイトゾル中へのカーゴ分子の送達を容易にする。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の \vee_6 インテグリンリガンドは、 \vee_6 インテグリンを提示する細胞の原形質膜へのカーゴ分子の送達を容易にする。

医薬組成物

【 0 2 8 9 】

いくつかの実施形態では、本開示は、1 またはそれを超える本明細書中に開示の \vee_6 インテグリンリガンドを含むか、これからなるか、これから本質的になる医薬組成物を提供する。

【 0 2 9 0 】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」は、薬理学的有効量の医薬品有効成分 (A P I) 、および必要に応じて 1 またはそれを超える薬学的に許容され得る賦形剤を含む。薬学的に許容され得る賦形剤 (賦形剤) は、薬物送達系に意図的に含まれる医薬品有効成分 (A P I 、治療剤) 以外の物質である。賦形剤は、意図する投薬量で治療効果を発揮

10

20

30

40

50

しないか、発揮することが意図されない。賦形剤は、a) 製造中の薬物送達系の処理に役立ち、b) API の安定性、生物学的利用能、または患者の忍容性を保護するか、支持するか、増強し、c) 製品同定を補助し、そして / または d) 保存または使用中の API の全体的な安全性、有効性、送達の任意の他の属性を増強するように作用し得る。薬学的に許容され得る賦形剤は、不活性物質であってもなくてもよい。

【0291】

賦形剤には、以下が含まれるが、これらに限定されない：吸収促進剤、抗粘着剤、消泡剤、抗酸化剤、結合剤、緩衝剤、担体、コーティング剤、色素、送達促進剤、送達ポリマー、デキストラン、デキストロース、希釈剤、崩壊剤、乳化剤、增量剤、充填剤、フレーバー、流動促進剤、湿潤葉、潤滑剤、油類、ポリマー、防腐剤、生理食塩水、塩、溶媒、糖、懸濁剤、徐放基質、甘味料、増粘剤、等張化剤、ビヒクリ、撥水剤、および湿潤剤。10

【0292】

本明細書中に記載の医薬組成物は、医薬組成物で一般に認められる他のさらなる構成要素を含み得る。いくつかの実施形態では、さらなる構成要素は、薬学的に活性な材料である。薬学的に活性な材料には、以下が含まれるが、これらに限定されない：止痒薬、収斂薬、局所麻酔薬、または抗炎症剤（例えば、抗ヒスタミン、ジフェンヒドラミンなど）、小分子薬物、抗体、抗体断片、アブタマー、および / またはワクチン。20

【0293】

医薬組成物は、防腐剤、可溶化剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、甘味料、着色剤、着臭剤、浸透圧変動用の塩、緩衝液、コーティング剤、または抗酸化剤も含み得る。医薬組成物はまた、公知の治療上の利点を有する他の薬剤も含み得る。20

【0294】

医薬組成物を、局所処置または全身処置のいずれが望ましいのか、および処置すべき領域に応じて、いくつかの方法で投与することができる。当該分野で一般的に知られている任意の方法（局所（例えば、経皮貼布による）、肺（例えば、散剤またはエアロゾルの吸入またはガス注入（ネプライザー、気管内、鼻腔内が含まれる））、上皮、経皮、経口、または非経口などであるが、これらに限定されない）によって投与することができる。非経口投与には、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内、または筋肉内への注射または注入；真皮下（例えば、植え込みデバイスによる）、頭蓋内、実質内、髄腔内、および脳室内への投与が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本明細書中に記載の医薬組成物を、皮下注射によって投与する。医薬組成物を、例えば、錠剤、コーティング錠、糖衣錠、硬ゼラチンまたは軟ゼラチンのカプセル、液剤、乳剤、または懸濁剤の形態で経口投与することができる。直腸（例えば、坐剤を使用）；局所または経皮（例えば、軟膏、クリーム、ゲル、または液剤を使用）；または非経口（例えば、注射可能溶液を使用）で投与することもできる。30

【0295】

注射に適切な医薬組成物は、滅菌水溶液（水溶性の場合）または分散液および注射用の滅菌溶液または懸濁液の即時調製のための滅菌散剤を含む。静脈内投与のために、適切な担体には、生理食塩水、静菌水溶液、Cremophor EL（商標）（BASF, Parisippany, NJ）、またはリン酸緩衝生理食塩水が含まれる。医薬組成物は、製造および保存条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの微生物の汚染作用に対して保存されなければならない。キャリアは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコール）、およびその適切な混合物を含む溶媒または分散媒であり得る。例えば、レシチンなどのコーティングの使用、分散液の場合の必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用によって適切な流動性を維持することができる。多くの場合、等張剤（例えば、糖、多価アルコール（マンニトール、ソルビトールなど）、および塩化ナトリウム）を組成物に含めることが好ましいであろう。吸収を遅延させる薬剤（例えば、モノステアリン酸アルミニウム、およびゼラチン）を組成物に含めることによって、注射用組成物を持続的に吸収させることができる。40

【 0 2 9 6 】

滅菌注射液を、適切な溶媒中に必要量の活性化合物を、必要に応じて上記列挙の成分のうちの1つまたは組み合わせと共に組み込み、その後に濾過滅菌することによって調製することができる。一般に、分散液を、基本分散媒および必要な上記列挙の成分由来の他の必要な成分を含む滅菌ビヒクルに活性化合物を組み込むことによって調製する。滅菌注射液調製用の滅菌散剤の場合、調製方法には、有効成分の予め濾過滅菌した溶液由来の有効成分および任意のさらなる所望の成分の粉末が得られる真空乾燥および凍結乾燥が含まれる。

【 0 2 9 7 】

関節内投与に適切な製剤は、微結晶形態であり得る本明細書中に記載の任意のリガンドの滅菌水性調製物の形態（例えば、水性微結晶懸濁液の形態）であり得る。リポソーム製剤または生分解性ポリマー系を使用して、関節内投与および眼内投与の両方のために本明細書中に記載の任意のリガンドを提供することもできる。

10

【 0 2 9 8 】

制御放出製剤（埋没物およびマイクロカプセル化送達系が含まれる）などの体内からの急速な排出から化合物を防御する担体を用いて活性化合物を調製することができる。生分解性生体適合性ポリマー（エチレンビニルアセタート、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルソエステル、およびポリ乳酸など）を使用することができる。かかる製剤の調製方法は、当業者に明らかであろう。リポソーム懸濁液を、薬学的に許容され得る担体として使用することもできる。これらを、当業者に公知の方法にしたがって（例えば、米国特許第4,522,811号に記載のように）調製することができる。

20

【 0 2 9 9 】

医薬組成物は、医薬組成物で一般的に見出される他のさらなる成分を含み得る。かかるさらなる成分には、以下が含まれるが、これらに限定されない：止痒薬、収斂薬、局所麻酔薬、または抗炎症剤（例えば、抗ヒスタミン、ジフェンヒドラミンなど）。本明細書中で使用される場合、「薬理学的有効量」、「治療有効量」、または、簡潔に「有効量」は、薬理学的結果、治療結果、または予防結果を得るために薬学的に活性な薬剤の量を指す。

【 0 3 0 0 】

v 6インテグリンリガンドを含む医薬はまた、かかる医薬の製造プロセスと同様に本発明の目的であり、ここで、プロセスは、v 6インテグリンリガンドを含む1またはそれを超える化合物、および所望する場合、公知の治療上の利点を有する1またはそれを超える他の物質を薬学的に許容され得る形態にする工程を含む。

30

【 0 3 0 1 】

記載の v 6インテグリンリガンドおよび本明細書中に開示の v 6インテグリンリガンドを含む医薬組成物を、キット、容器、パック、またはディスペンサーに包装するか含めることができる。v 6インテグリンリガンドおよび v 6インテグリンリガンドを含む医薬組成物を、充填済みのシリンジまたはバイアル中に包装することができる。

細胞、組織、および非ヒト生物

【 0 3 0 2 】

本明細書中に記載の v 6インテグリンリガンドのうちの少なくとも1つを含む細胞、組織、および非ヒト生物を意図する。細胞、組織、または非ヒト生物は、当該分野で利用可能な任意の手段によって細胞、組織、または非ヒト生物に v 6インテグリンリガンドを送達させることによって作製する。いくつかの実施形態では、細胞は、哺乳動物細胞（ヒト細胞が含まれるが、これに限定されない）である。

40

ターゲティング基、連結基、薬物動態（PK）モジュレーター、および送達ビヒクル

【 0 3 0 3 】

いくつかの実施形態では、v 6リガンドは、1またはそれを超える非ヌクレオチド基（連結基、薬物動態（PK）モジュレーター、送達ポリマー、または送達ビヒクルが含まれるが、これらに限定されない）に結合されている。非ヌクレオチド基は、カーゴ分子のターゲティング、送達、または付着を増強することができる。ターゲティング基および

50

連結基の例を、表 6 に提供する。非ヌクレオチド基を、センス鎖および / またはアンチセンス鎖のいずれかの 3' および / または 5' 末端に共有結合性に連結することができる。カーゴ分子が RNA i 剤である実施形態では、RNA i 剤は、センス鎖の 3' および / または 5' 末端に連結した非ヌクレオチド基を含む。いくつかの実施形態では、非ヌクレオチド基は、RNA i 剤のセンス鎖の 5' 末端に連結している。 v 6 リガンドを、直接またはリンカー / 連結基を介して間接的にカーゴ分子に連結することができる。いくつかの実施形態では、 v 6 リガンドは、不安定な、切断可能な、または可逆的な結合またはリンカーを介してカーゴ分子に連結している。

【 0 3 0 4 】

いくつかの実施形態では、非ヌクレオチド基は、RNA i 剤または RNA i 剤が付着した結合体の薬物動態学的性質または生体内分布の性質を、結合体の細胞または組織に特異的な分布および細胞特異的取り込みを改善するように増強する。いくつかの実施形態では、非ヌクレオチド基は、RNA i 剤のエンドサイトーシスを増強する。

10

【 0 3 0 5 】

ターゲティング基またはターゲティング部分は、これらが付着したカーゴ分子の薬物動態学的性質または生体内分布の性質を、カーゴ分子の細胞特異的（いくつかの場合、器官特異的が含まれる）分布および細胞特異的（または器官特異的）取り込みを改善するように増強する。いくつかの実施形態では、ターゲティング基は、本明細書中に記載の v 6 リガンドを含み得る。いくつかの実施形態では、ターゲティング基は、リンカーを含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング基は、PK モジュレーターを含む。いくつかの実施形態では、 v 6 リガンドは、PEG リンカーなどのリンカーまたは 1、2、もしくは 3 つの脱塩基および / またはリビトール（脱塩基リポース）残基（リンカーとしての機能を果たすことができる場合がある）を使用して、カーゴ分子に連結している。

20

【 0 3 0 6 】

アミノ基（本明細書中でアミンとも呼ばれる）などの反応基を有するカーゴ分子を合成することができる。カーゴ分子が RNA i 剤である実施形態では、反応基を、5' 末端および / または 3' 末端に連結することができる。その後に反応基を使用して、当該分野で典型的な方法を用いて v 6 リガンドに付着させることができる。

【 0 3 0 7 】

例えば、いくつかの実施形態では、RNA i 剤のセンス鎖の 5' 末端に NH - C₆ 基を有する RNA i 剤を合成する。その後に末端アミノ基を反応させて、例えば、 v 6 インテグリンターゲティングリガンドを含む基との結合体を形成することができる。いくつかの実施形態では、RNA i 剤のセンス鎖の 5' 末端に 1 またはそれを超えるアルキン基を有する RNA i 剤を合成する。その後に末端アルキン基（単数または複数）を反応させて、例えば、 v 6 インテグリンターゲティングリガンドを含む基との結合体を形成することができる。

30

【 0 3 0 8 】

いくつかの実施形態では、連結基は、 v 6 リガンドに結合されている。連結基は、カーゴ分子、薬物動態モジュレーター、送達ポリマー、または送達ビヒクルへの v 6 リガンドの共有結合性連結を容易にする。連結基の例には、以下が含まれるが、これらに限定されない：Alk - SMPt - C₆、Alk - SS - C₆、DBCO - TEG、Me - Alk - SS - C₆、および C₆ - SS - Alk - Me、反応基、例えば、第一級アミン基およびアルキン基、アルキル基、脱塩基残基 / ヌクレオチド、アミノ酸、トリアルキン官能化基、リビトール、および / または PEG 基。

40

【 0 3 0 9 】

リンカーまたは連結基は、1 またはそれを超える共有結合を介して目的の一方の化学基（RNA i 剤など）またはセグメントと、目的の他方の化学基（ v 6 リガンド、薬物動態モジュレーター、または送達ポリマーなど）またはセグメントとを連結する 2 原子間の接続物である。不安定な連結は、不安定な結合を含む。連結は、必要に応じて、2 つのつなぎ合わされた原子の間の距離を増大させるスペーサーを含み得る。スペーサーは、連

50

結の可動性および／または長さをさらに付加し得る。スペーサーには、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、アラルキル基、アラルケニル基、およびアラルキニル基が含まれるが、これらに限定されず；これらの各々は、1またはそれを超えるヘテロ原子、ヘテロ環、アミノ酸、ヌクレオチド、およびサッカリドを含み得る。スペーサー基は当該分野で周知であり、先行するリストは、説明の範囲を制限することを意味しない。

【0310】

いくつかの実施形態では、v 6リガンドは、さらなるリンカーを使用せずにカーゴ分子に連結されている。いくつかの実施形態では、カーゴ分子に容易に連結させるリンカーを有する v 6リガンドをデザインする。いくつかの実施形態では、2またはそれを超えるRNAi剤が組成物に含まれる場合、2またはそれを超えるRNAi剤を、同一のリンカーを使用してその各ターゲティング基に連結することができる。いくつかの実施形態では、2またはそれを超えるRNAi剤が組成物に含まれる場合、2またはそれを超えるRNAi剤は、異なるリンカーを使用してその各ターゲティング基に連結されている。

10

【0311】

一定の連結基の例を、表Aに提供する。

20

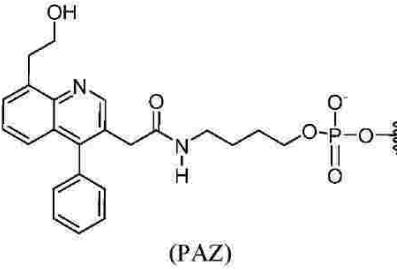
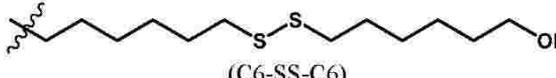
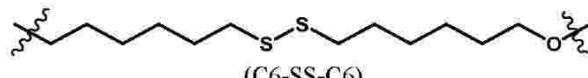
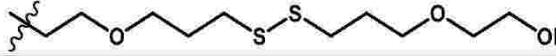
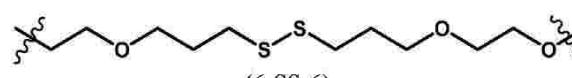
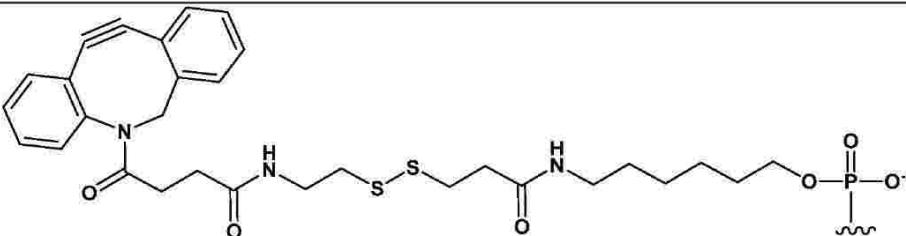
30

40

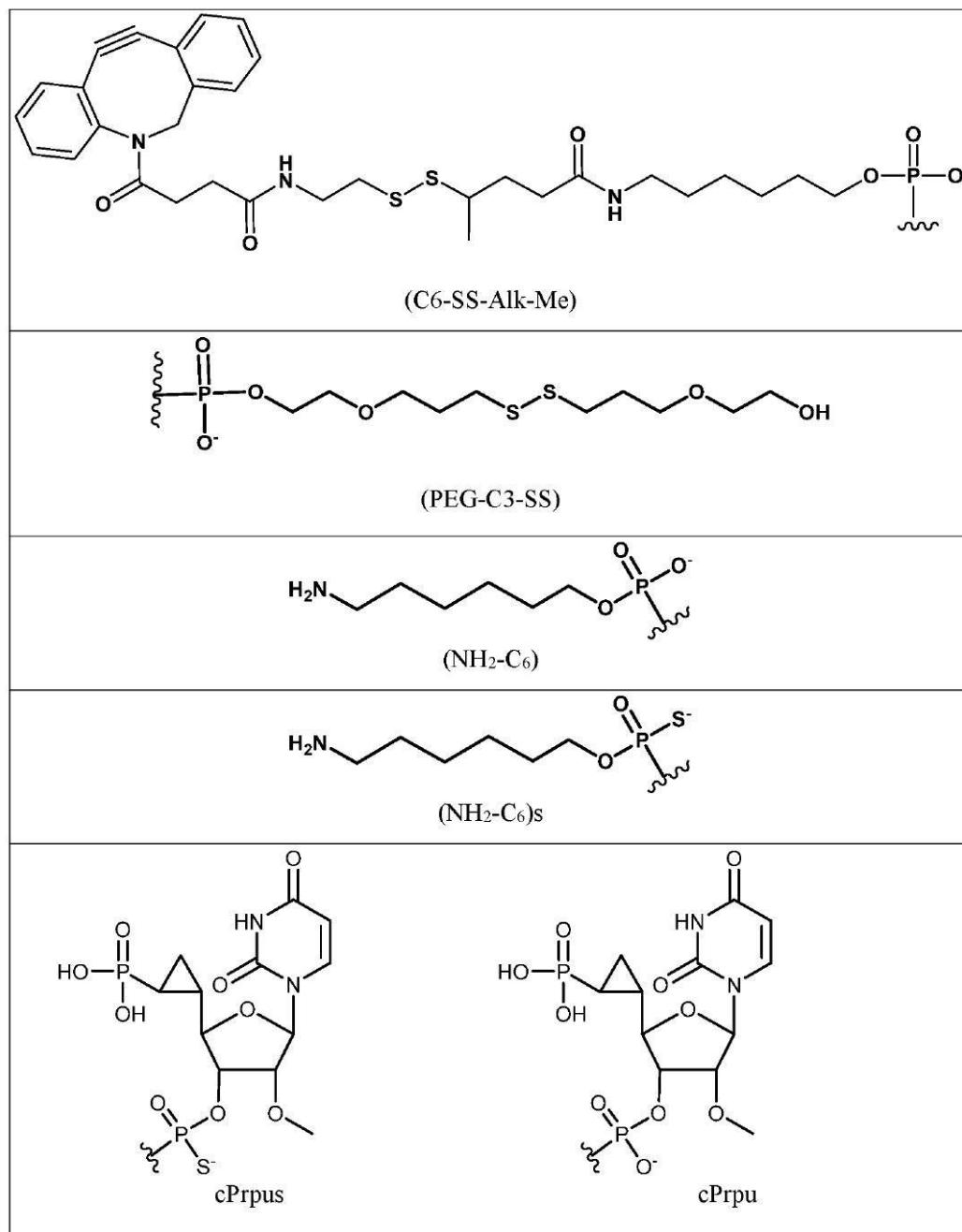
50

【表 A - 1】

表A. 種々の連結基を表す構造物

 (PAZ)	10
オリゴヌクレオチドの3'末端に存在する場合:	
 (C6-SS-C6)	
オリゴヌクレオチドに内在する場合:	
オリゴヌクレオチドの5'末端に向かう連結  (C6-SS-C6)	オリゴヌクレオチドの3' 末端に向かう連結
オリゴヌクレオチドの3'末端に存在する場合:	
 (C6-SS-C6)	
オリゴヌクレオチドに内在する場合:	
オリゴヌクレオチドの5'末端に向かう連結  (6-SS-6)	オリゴヌクレオチドの3' 末端に向かう連結
 (C6-SS-Alk) または (Alk-SS-C6)	30
 (C6-SS-Alk) または (Alk-SS-C6)	40

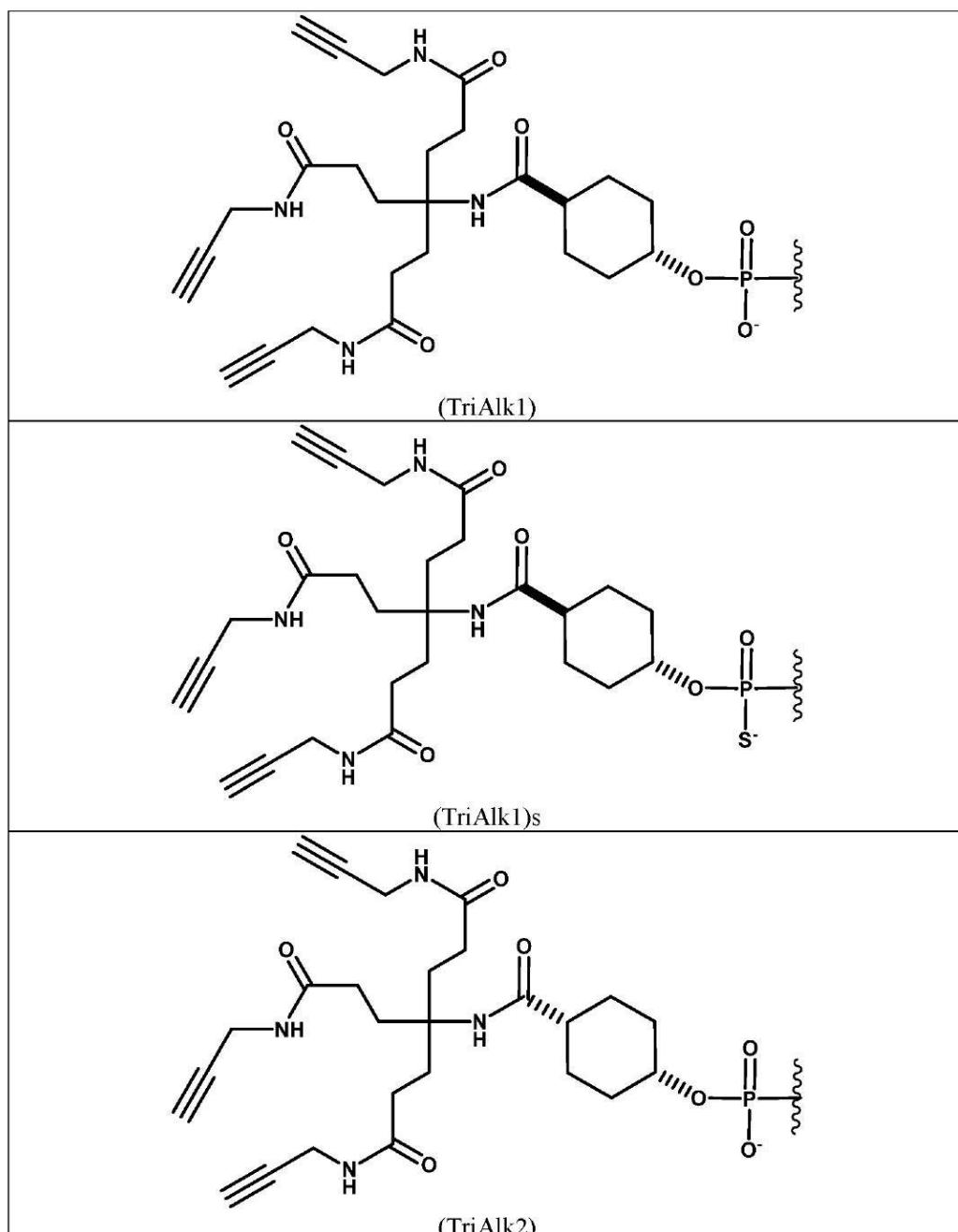
【表 A - 2】



40

50

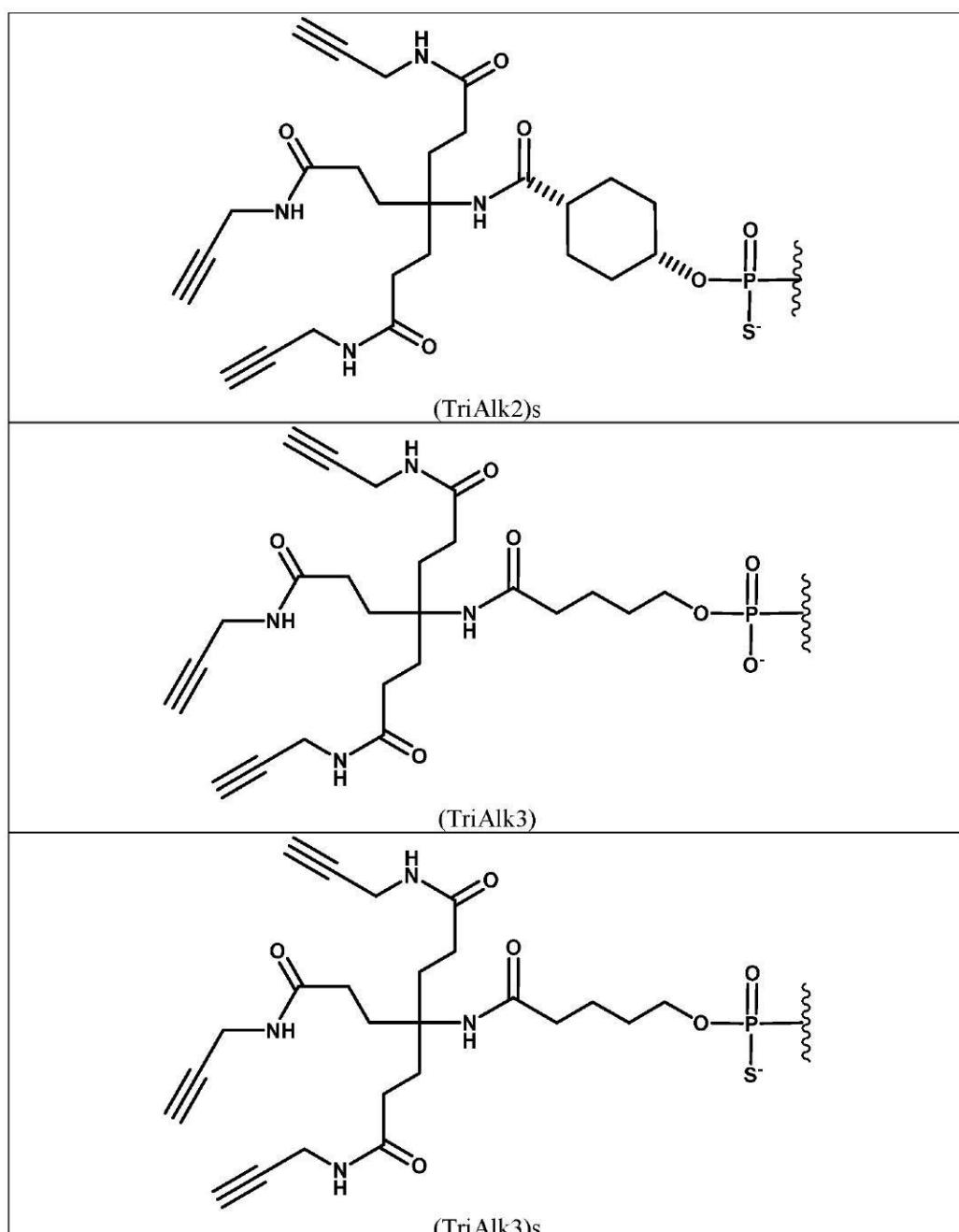
【表 A - 3】



40

50

【表 A - 4】



10

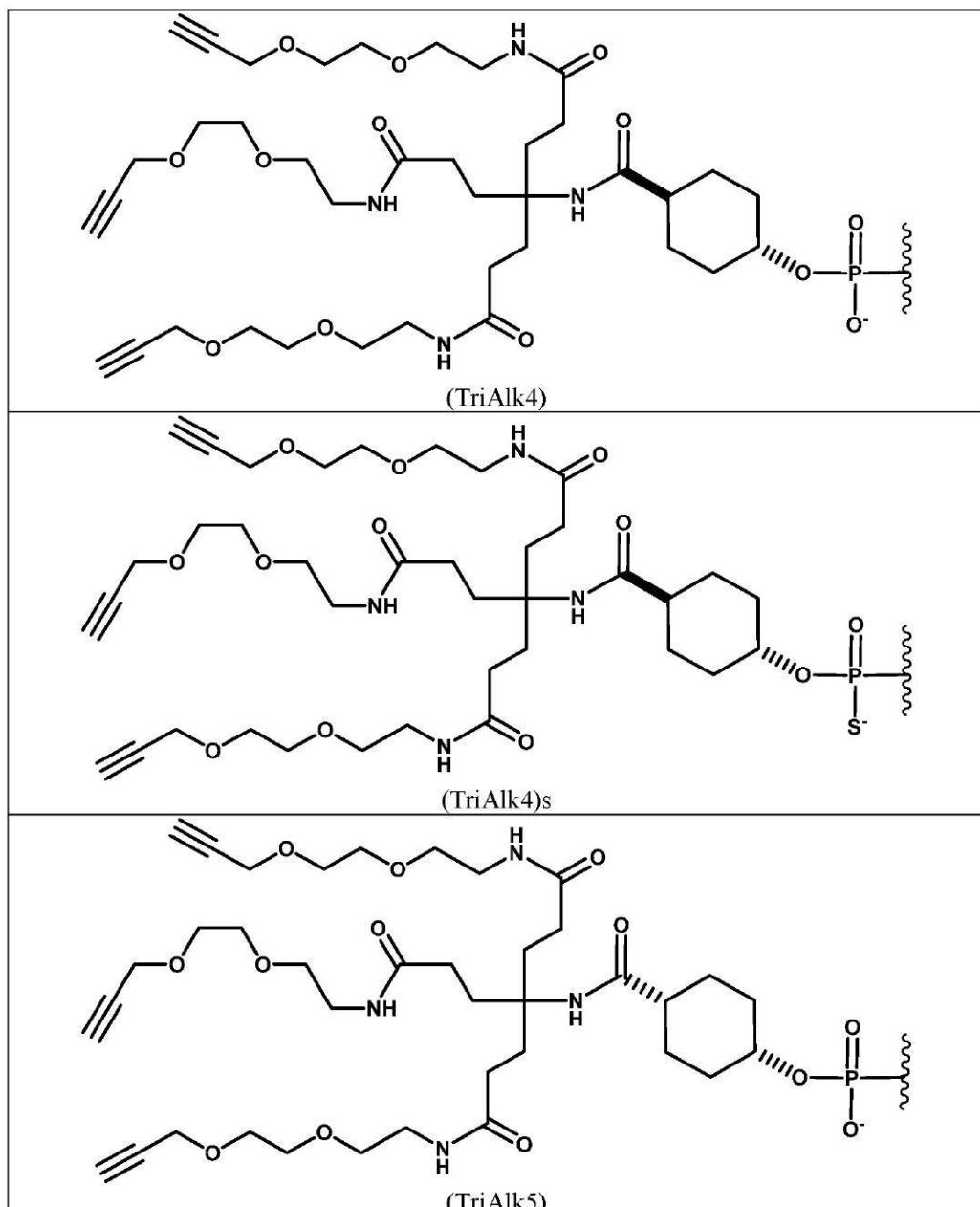
20

30

40

50

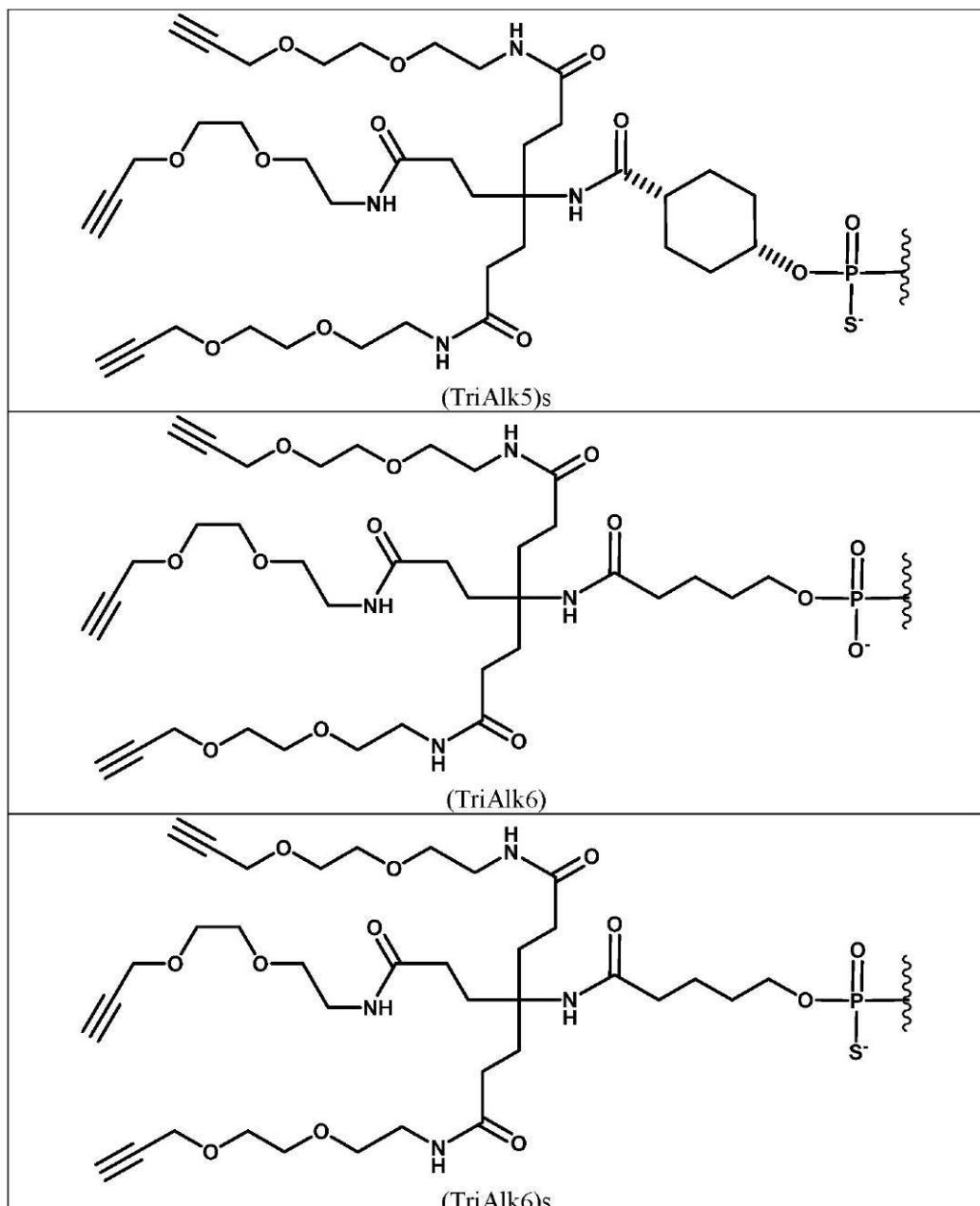
【表 A - 5】



40

50

【表 A - 6】



10

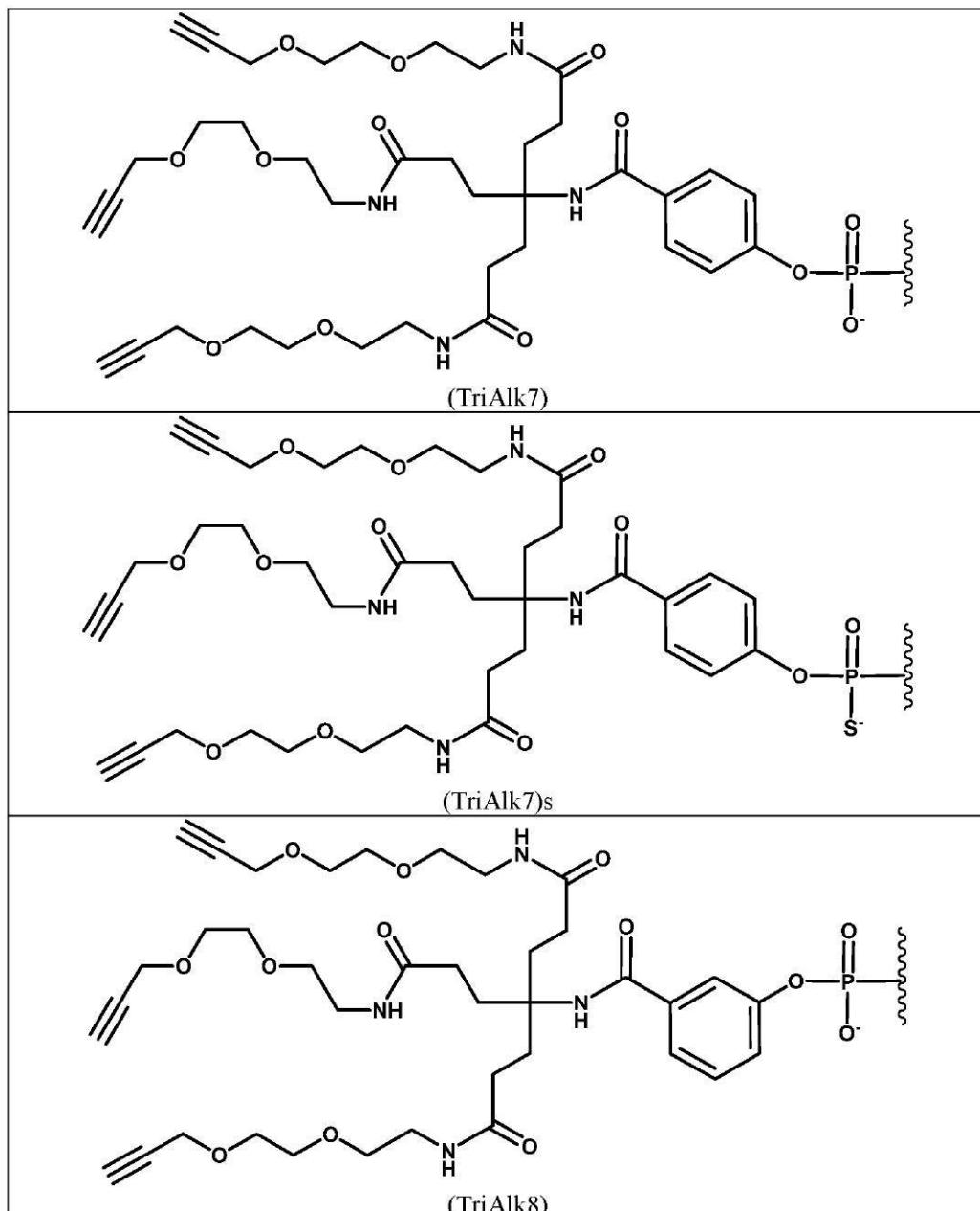
20

30

40

50

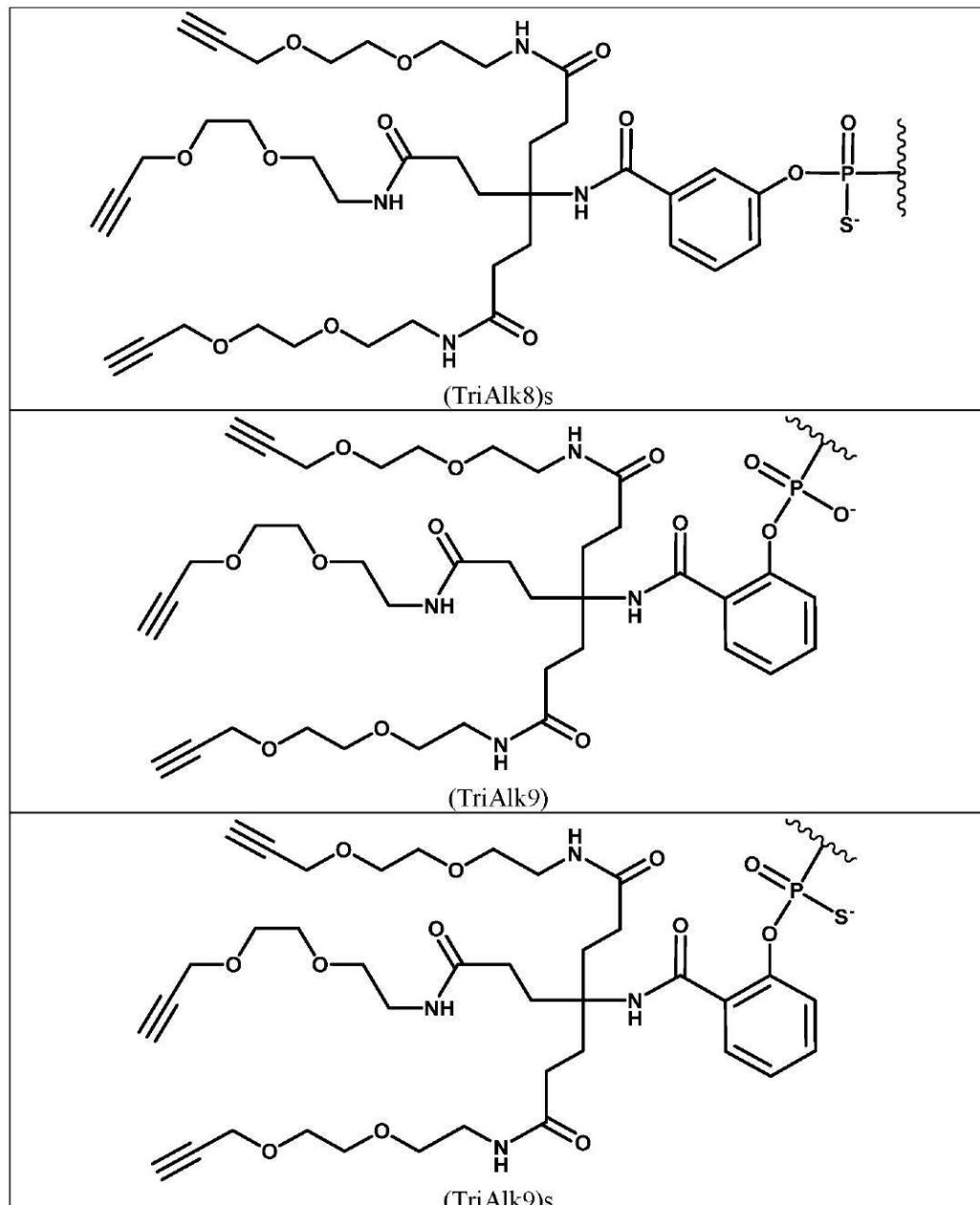
【表 A - 7】



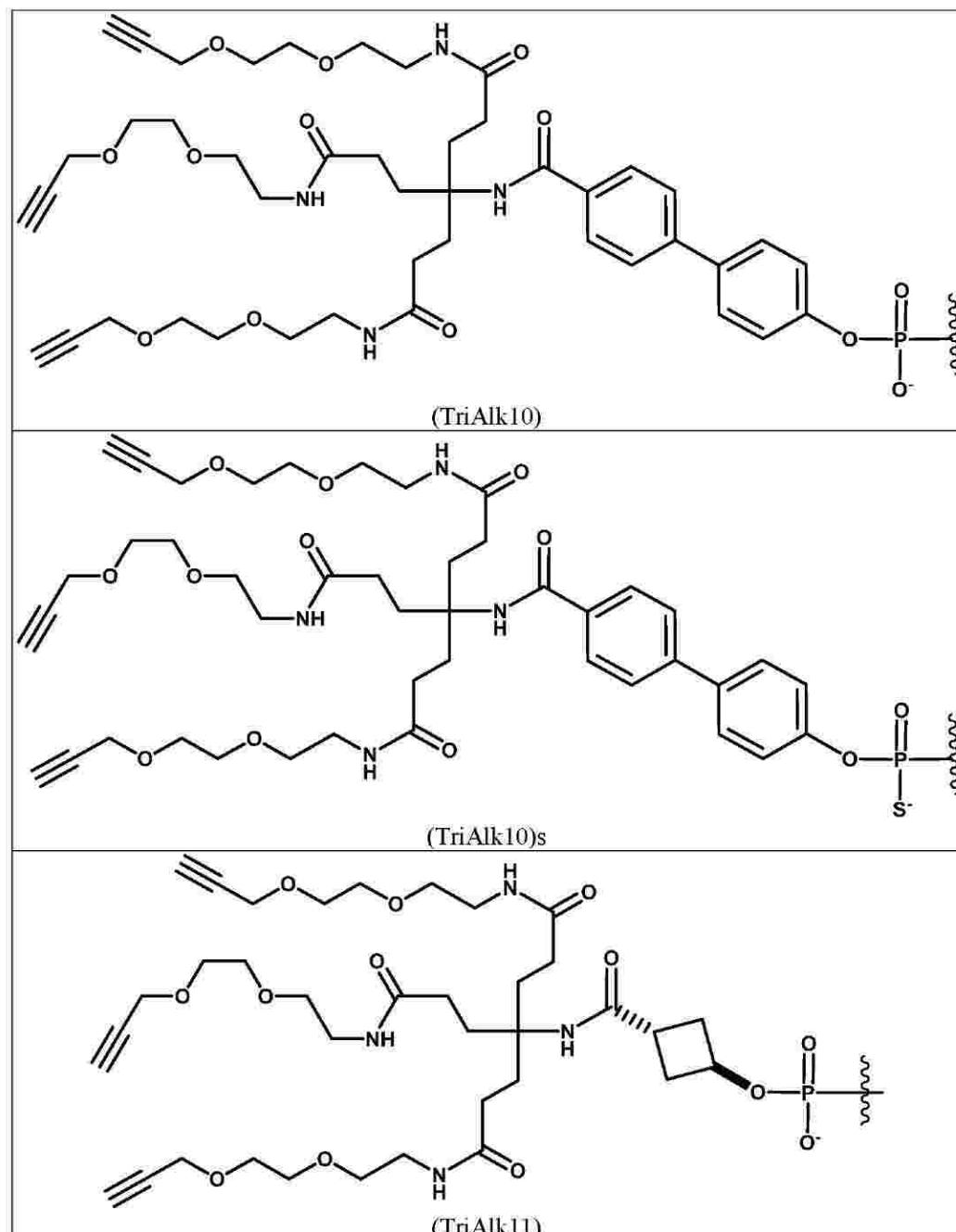
40

50

【表 A - 8】



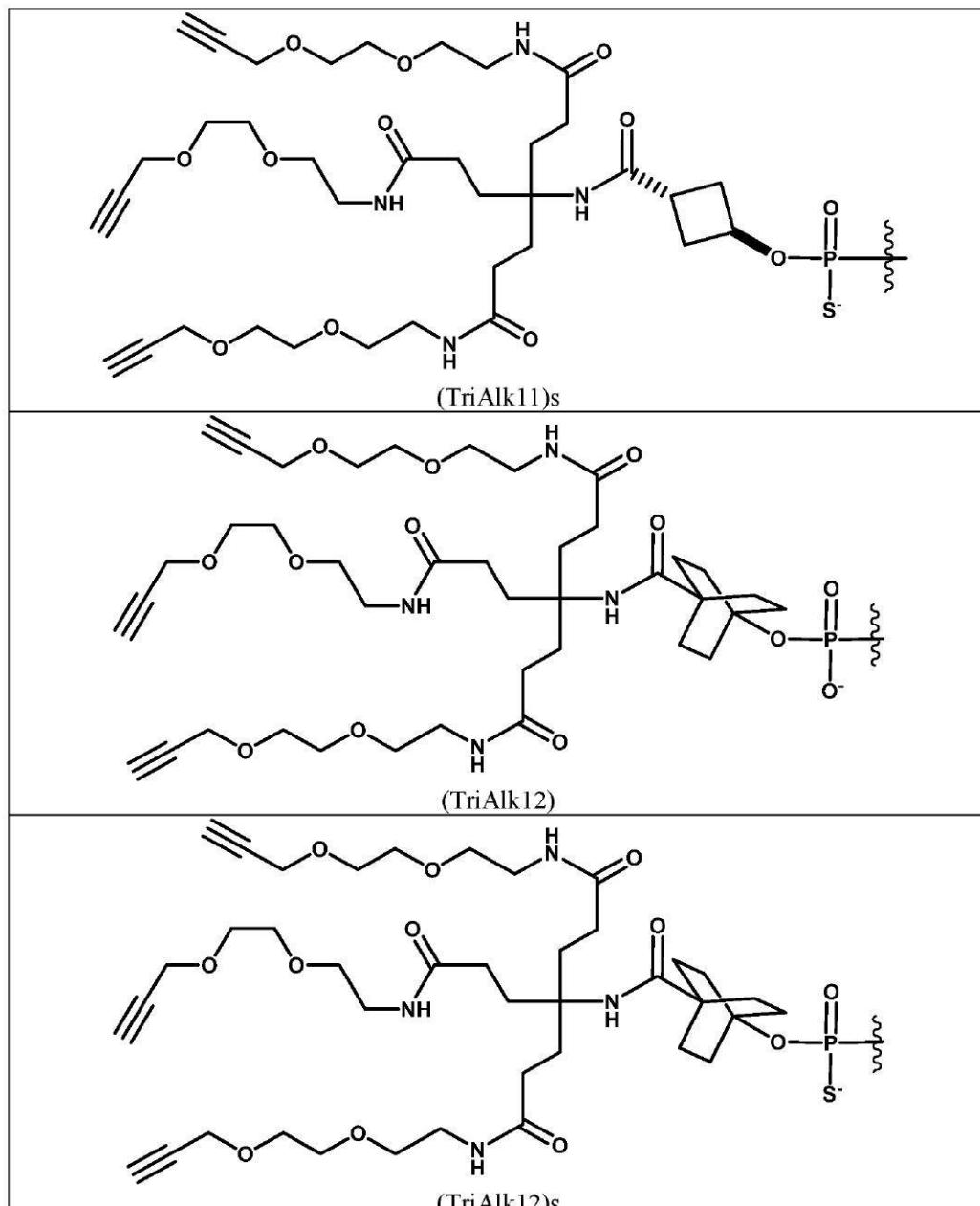
【表 A - 9】



40

50

【表 A - 10】



40

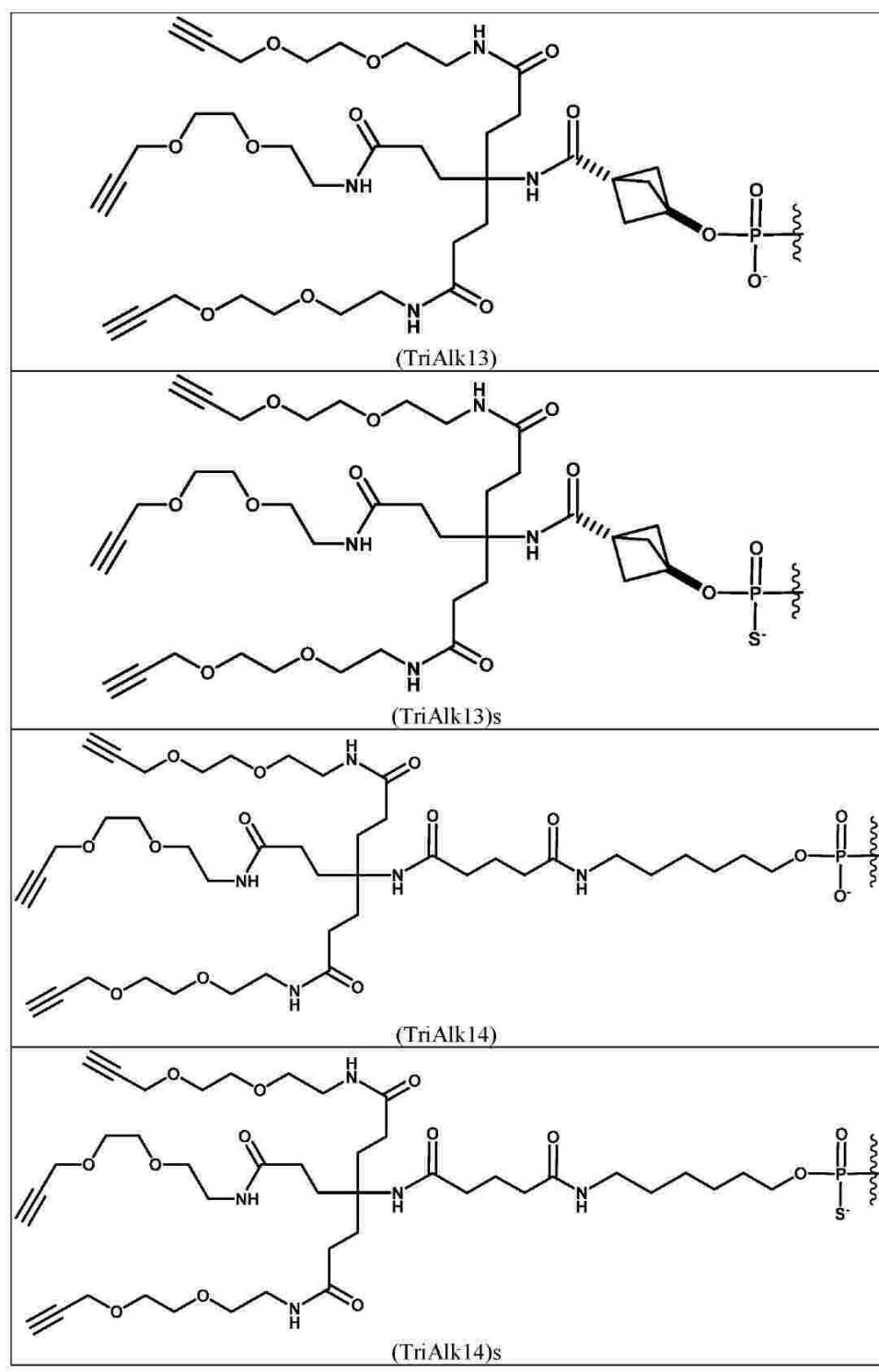
20

30

40

50

【表 A - 11】

（式中、
【化 153】）

は、カーゴ分子への付着点を示す)。

【0312】

あるいは、当該分野で公知の他の連結基を使用することができる。

【0313】

上記で提供した実施形態および項目を、ここに、以下の非限定的な実施例を用いて例示する。

【実施例】

【0314】

以下の実施例は、本発明を制限せず、本明細書中に開示の一定の実施形態を例示することを意図する。

実施例 1 . v 6 インテグリンリガンドの合成

【0315】

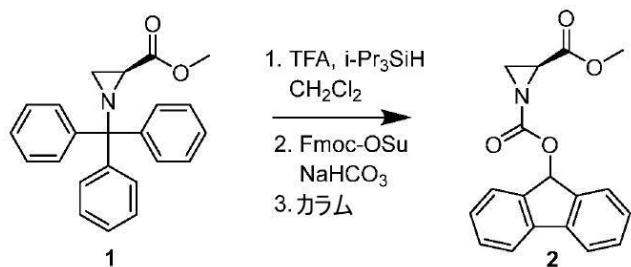
以下の実施例の合成実験の詳細中で使用したいくつかの略語を、以下のように定義する
: h または h r = 時間 (単数または複数) ; m i n = 分 (単数または複数) ; m o l = モル (単数または複数) ; m m o l = ミリモル (単数または複数) ; M = モル濃度 ; μ M = マイクロモル濃度 ; g = グラム (単数または複数) ; μ g = マイクログラム (単数または複数) ; r t または R T = 室温 ; L = リットル (単数または複数) ; m L = ミリリットル (単数または複数) ; w t = 重量 ; E t 2 O = ジエチルエーテル ; T H F = テトラヒドロフラン ; D M S O = ジメチルスルホキシド ; E t O A c = 酢酸エチル ; E t 3 N または T E A = トリエチルアミン ; i - P r 2 N E t または D I P E A または D I E A = ジイソプロピルエチルアミン ; C H 2 C l 2 または D C M = 塩化メチレン ; C H C l 3 = クロロホルム ; C D C l 3 = 重水素化クロロホルム ; C C l 4 = 四塩化炭素 ; M e O H = メタノール ; E t O H = エタノール ; D M F = ジメチルホルムアミド ; B O C = t - ブトキシカルボニル ; C B Z = ベンジルオキシカルボニル ; T B S = t - ブチルジメチルシリル ; T B S C l または T B D M S C l = t - ブチルジメチルシリルクロリド ; T F A = トリフルオロ酢酸 ; D M A P = 4 - ジメチルアミノピリジン ; N a N 3 = アジ化ナトリウム ; N a 2 S O 4 = 硫酸ナトリウム ; N a H C O 3 = 重炭酸ナトリウム ; N a O H = 水酸化ナトリウム ; M g S O 4 = 硫酸マグネシウム ; K 2 C O 3 = 炭酸カリウム ; K O H = 水酸化カリウム ; N H 4 O H = 水酸化アンモニウム ; N H 4 C l = 塩化アンモニウム ; S i O 2 = シリカ ; P d - C = 炭素担持パラジウム ; H C l = 塩化水素または塩酸 ; N M M = N - メチルモルホリン ; H 2 = 水素ガス ; K F = フッ化カリウム ; E D C - H C l = N - (3 - ジメチルアミノプロピル) - N ' - エチルカルボジイミドヒドロクロリド ; M T B E = メチル - t e r t - ブチルエーテル ; A r = アルゴン ; N 2 = 窒素 ; R T = 保持時間。

【0316】

構造物 1 ~ 3 7 の化学名を、ChemDraw (登録商標) ソフトウェアを使用して自動的に生成した。

構造物 1 b ((1 4 S , 1 7 S) - 1 - アジド - 1 4 - (5 - ((4 - メチルピリジン - 2 - イル) アミノ) ペンタンアミド) - 1 7 - (4 - (ナフタレン - 1 - イル) フェニル) - 1 5 - オキソ - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサ - 1 6 - アザノナデカン - 1 9 - 酸) の合成。

【化154】



【0317】

化合物 1 (メチル (S) - (-) - 1 - トリチルアジリジン - 2 - カルボキシラート (4 . 2 0 4 g 、 1 2 . 2 4 m m o l 、 1 . 0 当量) およびトリイソプロピルシラン (3 . 8 7 7 g 、 5 . 0 2 m L 、 2 4 . 4 8 m m o l 、 2 当量) を D C M (4 0 m L) に溶解し、溶液を 0 に冷却し、次いで、 T F A (8 . 5 当量) を滴下して添加した。溶液を、 0

10

20

20

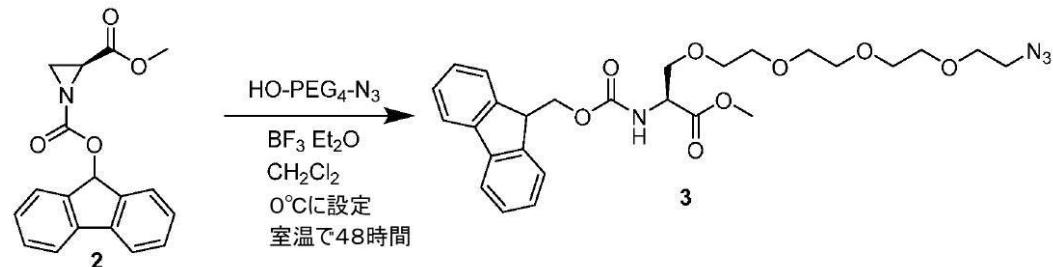
30

40

50

で1時間静置した。反応物を、TLC(ヘキサン：酢酸エチル(8:2))によってモニタリグした。溶液を乾燥させて白色沈殿と淡黄色油状物の混合物を得た。ヘキサン(40mL)を添加し、全ての白色沈殿が溶解するまでヒートガンで穏やかに加熱した。ヘキサンを添加すると二層(透明な上層および油層)になった。ヘキサン層を流し出し、油層を残した。ヘキサンの添加を繰り返し、再度流し出した。油状物を乾燥させた。アジリジン(1.06g、10.5mmol)を、合計60mLのTHF/H₂O(2/1)に溶解した。Fmoc-Osu(5.312g、15.75mmol、1.5当量)およびNaHCO₃(2.646g、31.5mmol、3当量、pH=8.5に保持するため)を室温で混合物に添加し、一晩反応させた。反応物を、TLC(ヘキサン：酢酸エチル8:2)によってモニタリグした。混合物を、全てのTHFが除去されるまで濃縮し、次いで、酢酸エチル(350mL)およびH₂O(25mL)で希釈した。層を分離し、有機物をH₂O(40mL)で洗浄した。次いで、有機物をpH3~4の水(2×40mL)、次いで、H₂O(40mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(40mL)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、10%~20%酢酸エチルを含むヘキサンのシリカカラムで精製した。

【化155】



10

20

【0318】

化合物2(Fmoc-アジリジン)(1.46g、4.52mmol)およびHO-PEG₄-N₃(1.983g、9.04mmol、2当量)をDCMに溶解した。混合物を0℃に冷却した。三フッ化ホウ素ジエチルエーテラート(12滴)を滴下して添加した。混合物を、室温で48時間攪拌した。反応物を、TLC(5%MeOHを含むDCM)によってモニタリグした。反応物を、飽和NH₄Cl溶液(5mL)でクエンチし、DCM(60mL)で希釈し、H₂O(3×20mL)、飽和NaCl水溶液(20mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム(40%~60%酢酸エチルを含むヘキサン)で精製した。

30

【化156】

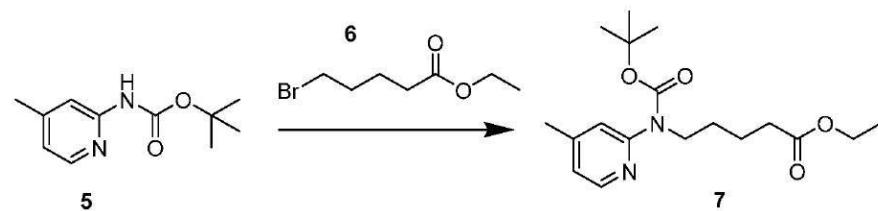


【0319】

40

化合物3を、20%トリエチルアミンを含むDMF溶液に溶解した。反応物をTLCによってモニタリグした。生成物を濃縮した。

【化157】

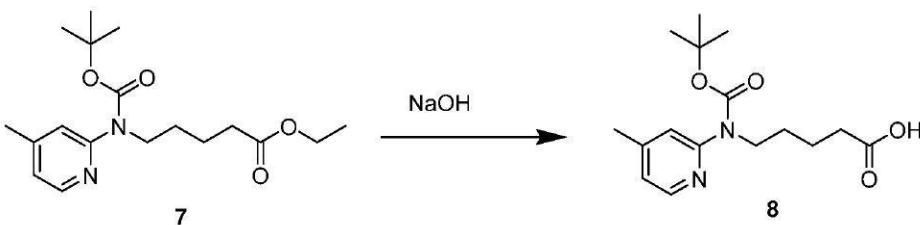


50

【0320】

化合物5(tert-ブチル(4-メチルピリジン-2-イル)カルバマート)(0.501g、2.406mmol、1.0当量)を、DMF(17mL)に溶解した。この混合物に、NaH(0.116mg、3.01mmol、1.25当量、60%鉱油分散液)を室温で添加した。混合物を10分間攪拌し、次いで、エチル5-プロモバレート(0.798g、3.82mmol、0.604mL)を添加した。3時間後に反応物をエタノール(18mL)でクエンチし、濃縮した。生成物をDCM(50mL)に溶解し、飽和NaCl水溶液(50mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム(勾配0-5%のメタノールを含むDCM)で精製した。

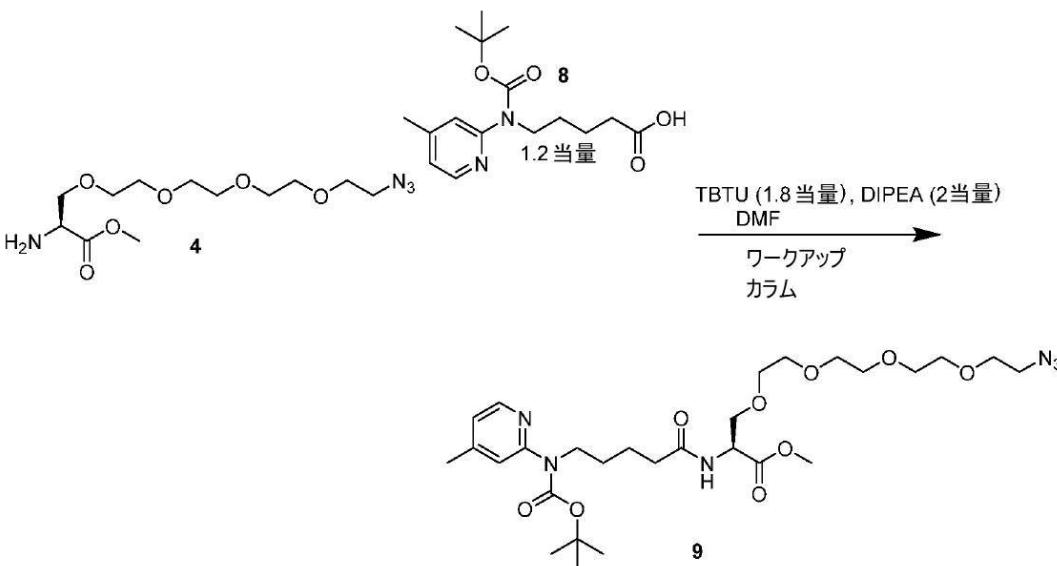
【化158】



【0321】

化合物7(0.80g、2.378mmol)を、100mLのアセトン：0.1M NaOH(1:1)に溶解し、反応物をTLC(5%酢酸エチルを含むヘキサン)によつてモニタリグした。有機物を濃縮し、混合物を0.3Mクエン酸(40mL)でpH3~4に酸性化した。生成物を、DCM(3×75mL)で抽出した。有機物をプールし、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。

【化159】



【0322】

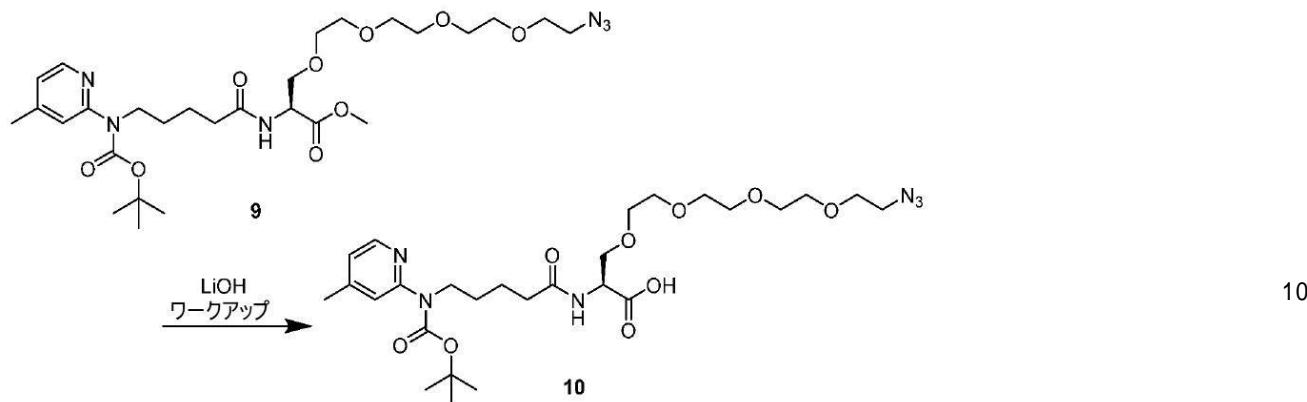
化合物4を、(0.340g、1.104mmol)を含むDMF(10mL)に溶解した。この溶液に、TBTU(0.531g、1.655mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(0.320mL、1.839mmol)を添加した。次いで、化合物8を添加した(0.295g、0.9197mmol)。反応物を、LC-MSおよびTLC(5%MeOHを含むDCM)によってモニタリグした。反応は2時間で完了した。生成物を濃縮し、酢酸エチル(150mL)に溶解し、pH3~4のH₂O(2×12mL)で洗浄した。次いで、生成物を、H₂O(2×12mL)、飽和NaHCO₃水溶液(12mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(12mL)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム(ヘキサン20%を含む酢酸エ

40

50

チルから 100% 酢酸エチル) で精製した。

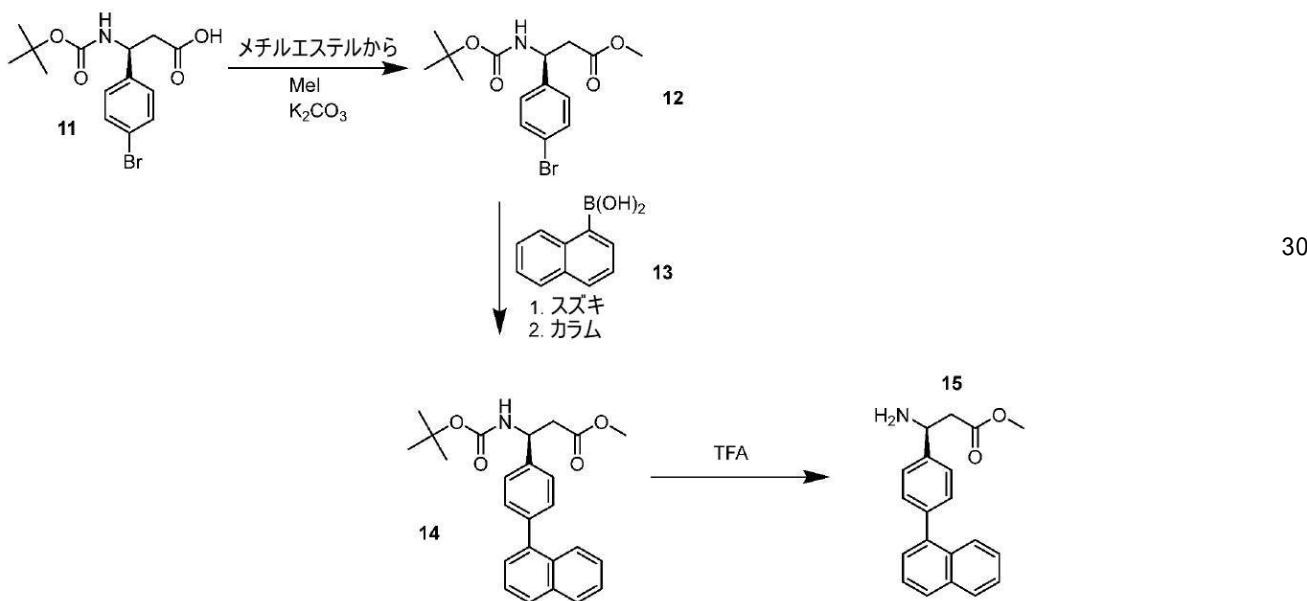
【化 160】



【0323】

化合物 9 (0.330 g、0.540 mmol) を、10 mL の MeOH : ジオキサン [1 : 1] および 1 M LiOH 溶液 (10 mL) に溶解した。混合物を室温で 2 時間攪拌し、LC - MS および TLC (EtOAc) によってモニタリグした。有機物を濃縮して除去し、混合物を H₂O (5 mL) で希釈し、pH 4 に酸性化する。生成物を酢酸エチル (2 × 50 mL) で抽出した。有機物をブールし、飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。

【化 161】



【0324】

化合物 11 ((S)-3-(4-ブロモフェニル)-3-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-プロピオン酸) (2.0 g、5.81 mmol) を DMF (40 mL) に溶解した。この混合物に、K₂CO₃ (1.2 g、8.72 mmol) を添加した。次いで、ヨードメタン (1.65 g、11.62 mmol、0.72 mL) を添加した。反応物を、TLC (ヘキサン : 酢酸エチル (7 : 3)) によってモニタリグした。完了の際、混合物を 0℃ に冷却し、H₂O (20 mL) および MTBE (40 mL) を添加した。生成物を MTBE (4 × 40 mL) で抽出した。合われた有機相を、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (40 mL)、次いで、H₂O (4 × 40 mL) で洗浄した。混合物を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。

10

20

30

40

50

【0325】

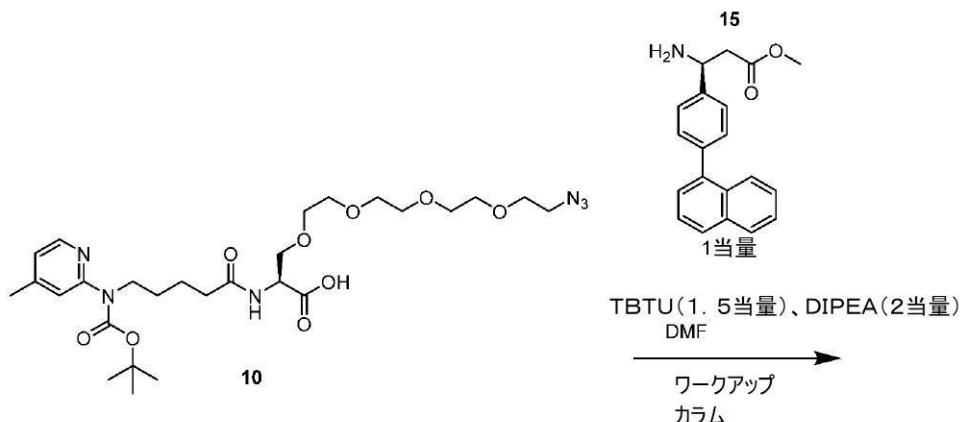
化合物12の乾燥生成物(1.0g、2.7915mmol)に、化合物13(1-ナフタレンボロン酸(0.960g、5.583mmol、2当量))を添加した。この混合物に、[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)またはPd(dppf)Cl₂(0.0817g、0.1117mmol、0.4当量)を、Na₂CO₃(0.888g、8.375mmol、3当量)と共に添加した。次に、1,4-ジオキサン(5mL)およびH₂O(0.2mL)を添加し、混合物を100で4時間攪拌した。反応物を、TLC(ヘキサン：酢酸エチル(7:3))によってモニタリグした。生成物を、シリカクロマトグラフィ(勾配0%から50%の酢酸エチルを含むヘキサン)によって精製した。

10

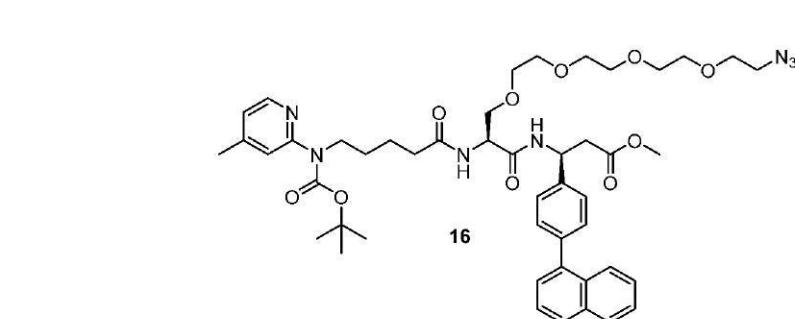
【0326】

化合物14(0.200g、0.493mmol)を、DCM(2.5mL)に溶解し、次いで、TFA(0.45mL)を添加した。反応物を、TLC、(DCM：メタノール(9:1))によってモニタリグした。完了の際、反応混合物を濃縮した。残渣をDCM(4mL)に溶解し、飽和NaHCO₃水溶液(2×2mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(2×2mL)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。

【化162】



20



30

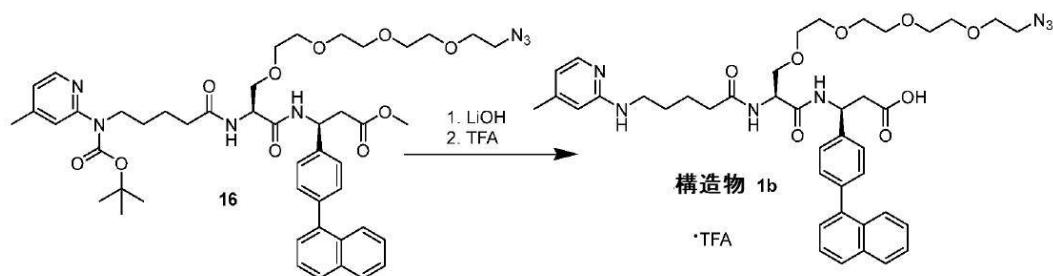
【0327】

化合物10(0.3224g、0.54mmol)をDMF(7mL)に溶解した。この混合物に、TBTU(0.236g、0.735mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(0.170mL、0.98mmol)を添加した。次いで、化合物15を添加した(0.1496g、0.49mmol)。反応物を、室温で2時間攪拌した。反応物をLC-MSによってモニタリグした。混合物を濃縮し、残渣を酢酸エチル(90mL)に溶解し、pH3~4のH₂O(3×10mL)で洗浄した。生成物を、H₂O(2×10mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(1×10mL)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、5%MeOHへの勾配のDCMを使用したシリカクロマトグラフィによって精製した。

40

50

【化163】



10

【0328】

化合物 16 (0.250 g、0.2828 mmol) を、MeOH : ジオキサン [1 : 1] (4 mL) および 1M LiOH (4 mL) に溶解した。混合物を室温で 2 時間攪拌した。有機物を濃縮して除去し、残渣を H₂O (3 mL) で希釈し、pH 4 に酸性化した。生成物を酢酸エチル (3 × 20 mL) で抽出した。有機物をプールし、飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で洗浄した。生成物を Na₂SO₄ で乾燥させた。生成物 (0.200 g、0.2299 mmol) を 2 mL DCM : TFA [25 : 75] に溶解し、室温で 2 時間攪拌した。この混合物に、トルエン (4 mL) を添加した。混合物を濃縮し、次いで、アセトニトリル (2 × 4 mL) と同時に蒸発させた。生成物を、HPLC (30 分間にわたって勾配 35% ACN から 50%、0.1% TFA 緩衝液) によって精製した。=> C₄₁H₅₁N₇O₈ についての [M + H]⁺ 計算値 : 769.90、実測値 : 770.45;

20

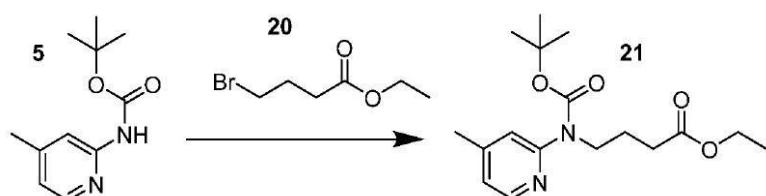
【化164】

¹H NMR (400 MHz,
DMSO) δ 8.64 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.78 (t, 2H), 7.60-7.40 (m, 8H),
6.80 (s, 1H), 6.67 (d, 1H), 5.31 (q, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.62-3.45 (m, 18H), 3.40 (t, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.80 (dd, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.20 (t, 2H), 1.55 (m, 4H).

構造物 2b ((14S, 17S)-1-アジド-14-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)-17-(4-(ナフタレン-1-イル)フェニル)-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザノナデカン-19-酸)の合成。

30

【化165】



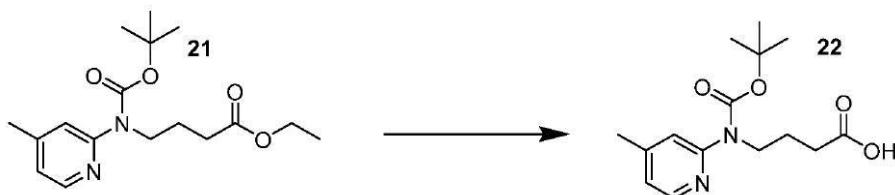
40

【0329】

化合物 5 (tert-butyl 4-(4-methylpyridin-2-yl)carbamate) (0.501 g、2.406 mmol、1 当量) を、DMF (17 mL) に溶解した。この混合物に、NaH (0.116 mg、3.01 mmol、1.25 当量、60% 油分散物) を添加した。混合物を 10 分間攪拌後、化合物 20 (エチル 4-ブロモブチラート (0.745 g、3.82 mmol、0.547 mL)) (Sigma 167118) を添加した。3 時間後に反応物をエタノール (18 mL) でクエンチし、濃縮した。濃縮物を DCM (50 mL) に溶解し、飽和 NaCl 水溶液 (1 × 50 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム (勾配 0-5% のメタノールを含む DCM) で精製した。

50

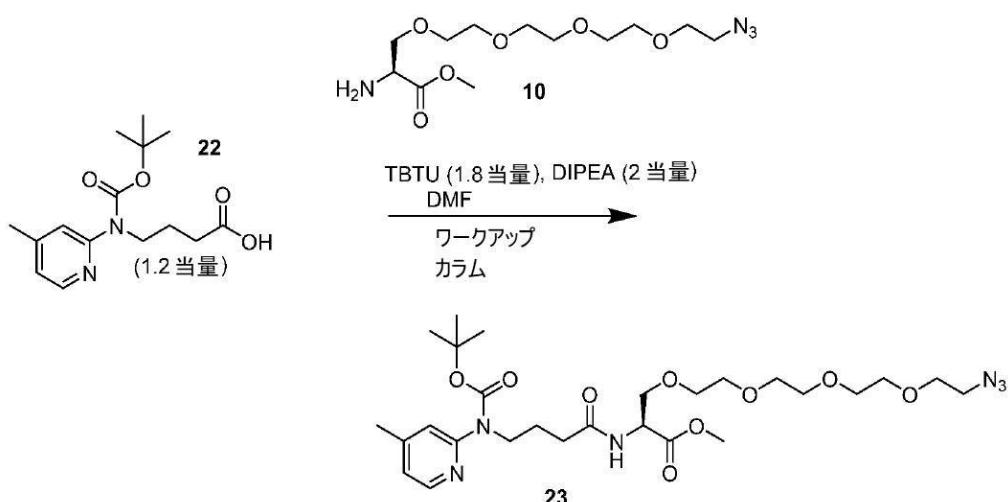
【化166】



【0330】

化合物21(0.80g、2.378mmol)を、100mLのアセトン：0.1M NaOH[1:1]に溶解した。反応物を、TLC(5%酢酸エチルを含むヘキサン)によってモニタリグした。有機物を濃縮して除去し、残渣を、0.3Mクエン酸(40mL)でpH3~4に酸性化した。生成物を、DCM(3×75mL)で抽出した。有機物をプールし、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。

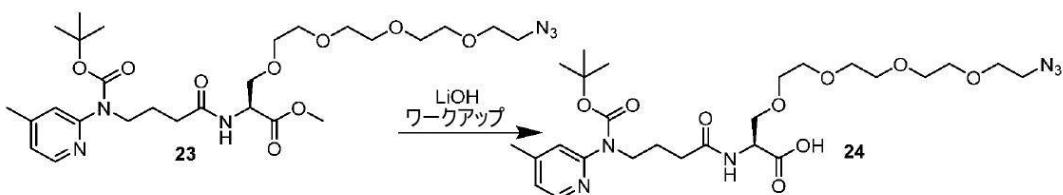
【化167】



【0331】

化合物22(0.340g、1.104mmol)をDMF(10mL)に溶解した。この混合物に、TBTU(0.531g、1.655mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(0.320mL、1.839mmol)を添加した。次いで、化合物10(0.295g、0.9197mmol)を添加した。反応物を、LC-MSおよびTLC(5%MeOHを含むDCM)によってモニタリグした。反応は2時間で完了した。混合物を濃縮し、酢酸エチル(150mL)に溶解し、pH3~4のH₂O(2×12mL)で洗浄した。混合物を、次いで、H₂O(2×12mL)、飽和NaHCO₃水溶液(12mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(12mL)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム(ヘキサン20%を含む酢酸エチルから100%酢酸エチル)で精製した。

【化168】



【0332】

化合物23(0.330g、0.540mmol)を、10mLのMeOH：ジオキサ

10

20

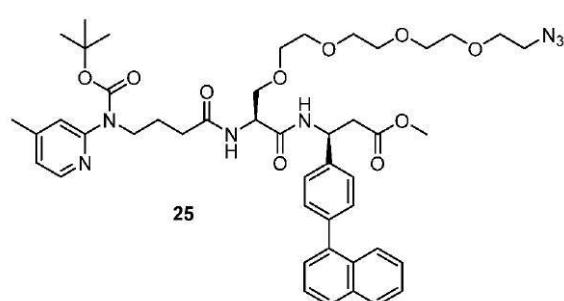
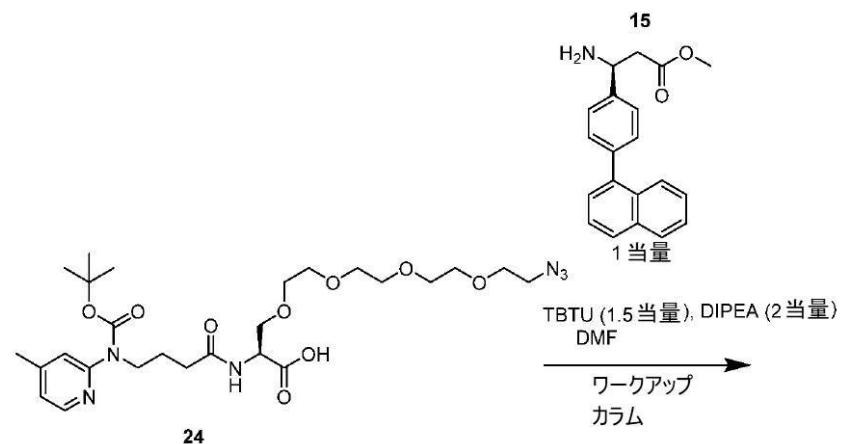
30

40

50

ン [1 : 1] および 1 M LiOH (10 mL) に溶解した。混合物を室温で 2 時間攪拌し、LC-MS および TLC (100% EtOAc) によってモニタリグした。有機物を濃縮し、残渣を H₂O (5 mL) で希釈し、pH 4 に酸性化した。生成物を酢酸エチル (2 × 50 mL) で抽出した。合わせた有機相を飽和 NaCl 水溶液 (1 × 10 mL) で洗浄した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。

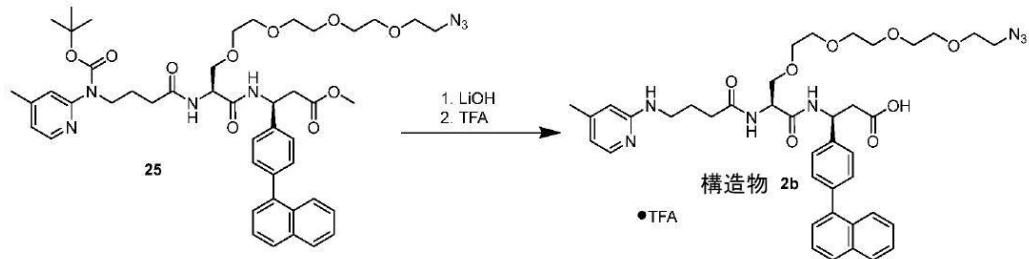
【化 169】



【0333】

化合物 24 (0.3224 g, 0.54 mmol) を DMF (7 mL) に溶解した。この混合物に、TBTU (0.236 g, 0.735 mmol) およびジイソプロピルエチルアミン (0.170 mL, 0.98 mmol) を添加した。次いで、化合物 15 を添加した (0.1496 g, 0.49 mmol) 。混合物を室温で 2 時間攪拌した。反応物を LC-MS によってモニタリグした。混合物を濃縮し、残渣を酢酸エチル (90 mL) に溶解し、pH 3 ~ 4 の H₂O (3 × 10 mL) で洗浄した。濃縮物を、H₂O (2 × 10 mL) 、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (10 mL) 、次いで、飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で洗浄した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム (5% MeOHへの勾配の DCM) で精製した。

【化 170】



【0334】

化合物 25 (0.250 g, 0.2828 mmol) を、MeOH : ジオキサン [1 :

50

1] (4 mL) および 1 M LiOH (4 mL) に溶解した。混合物を室温で 2 時間攪拌し、LC-MS によってモニタリグした。有機物を濃縮し、残渣を H₂O (3 mL) で希釈し、pH 4 に酸性化した。生成物を酢酸エチル (3 × 20 mL) で抽出した。有機物をプールし、飽和 NaCl 水溶液 (1 × 10 mL) で洗浄した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。残渣 (0.200 g, 0.2299 mmol) を 2 mL DCM/TFA (25/75) に溶解し、LC-MS によってモニタリグしながら室温で 2 時間攪拌した。トルエン (4 mL) を添加し、混合物を濃縮した。次いで、アセトニトリル (2 × 4 mL) を添加し、混合物を濃縮した。生成物を、HPLC (30 分間にわたって勾配 35% ACN から 50%, 0.1% TFA 緩衝液) で精製した。C₄₀H₄₉N₇O₈ についての [M + H]⁺ 計算値：755.87、実測値：756.32；

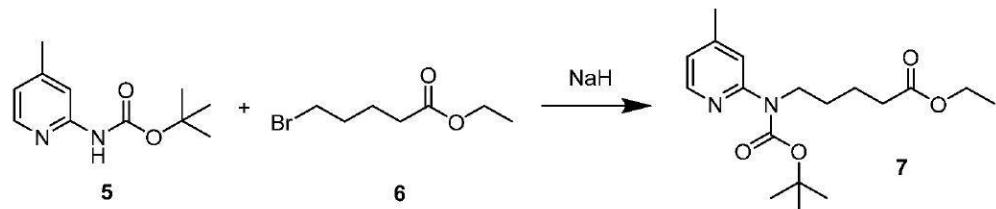
【化 171】

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.64 (t, 1H), 8.17 – 8.10 (m, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.60–7.40 (m, 8H), 6.8 (s, 1H), 6.67 (d, 1H), 5.31 (q, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.62 – 3.45 (m, 18H), 3.40 (t, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.80 (dd, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.26 (t, 2H), 1.80 (m, 2H).

構造物 5 b、5.1 b、および 5.2 b の合成。

構造物 5 b (3-(4-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)-3,5-ジクロロフェニル)-3-(2-(5-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ペンタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)

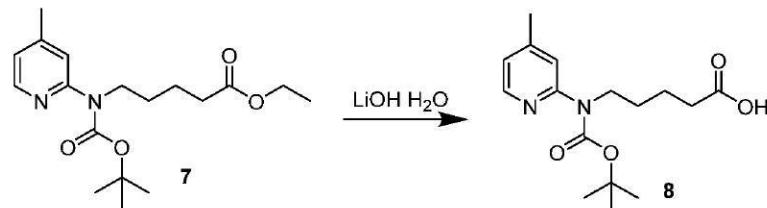
【化 172】



【0335】

化合物 5 (0.98 g, 4.70 mmol, 1 当量) を含む乾燥 DMF (10 mL) の溶液に、NaH (0.226 g, 5.647 mmol, 1.2 当量、60% 油分散液) を 0 の N₂ 霧囲気下で分割して添加した。反応混合物を 0 で 30 分間保持後、化合物 6 (1.18 mL, 5.647 mmol, 1.2 当量) を同一の温度で添加した。0 で 30 分間さらに攪拌後、混合物を室温に加温した。室温で 1 時間の攪拌後、反応物を飽和 NH₄Cl 水溶液によってクエンチした。水相を酢酸エチル (3 × 20 mL) で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用した CombiFlash (登録商標) によって分離した。LC-MS : [M + H]⁺ 337.20、実測値 337.39。

【化 173】



【0336】

化合物 7 (1.347 g, 4.00 mmol, 1 当量) を含む THF (5 mL) および H₂O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム一水和物 (0.505 g, 12.01 mmol)

10

20

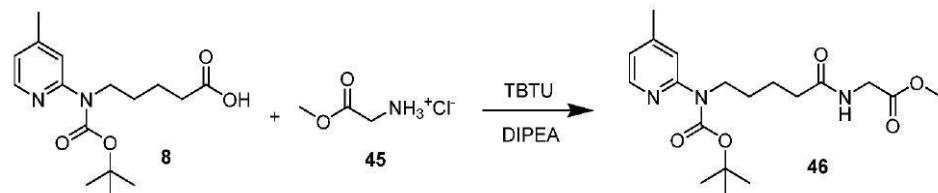
30

40

50

1、5当量)を0にて分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH4.0に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×20mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。
LC-MS: [M+H]⁺ 309.17、実測値 309.39。

【化174】



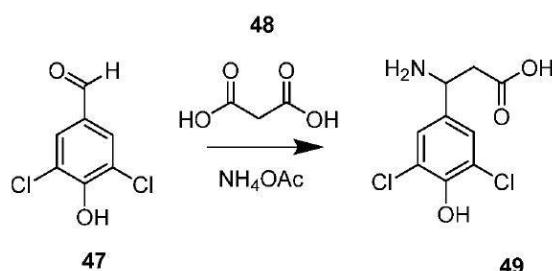
10

【0337】

化合物8(1.163g、3.77mmol、1当量)、化合物45(568mg、4.52mmol、1.2当量)、およびTBTU(1.453g、4.52mmol、1.2当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(1.97mL、11.31mmol、3当量)を0で添加した。反応混合物を室温に加温し、3時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(20mL)によってクエンチした。水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機相を合わせ、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。LC-MS: [M+H]⁺ の計算値 380.21、実測値 380.51。

20

【化175】

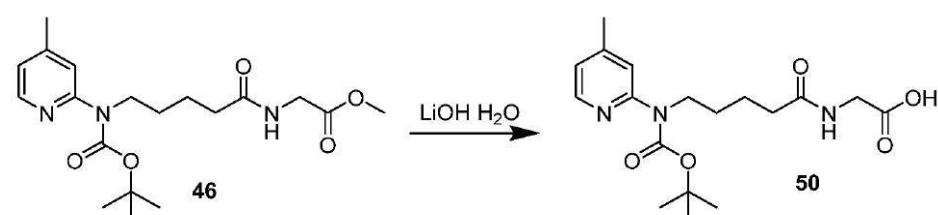


30

【0338】

化合物47(1.0g、5.23mmol、1当量)およびマロン酸(1.09g、10.47mmol、2当量)を含むエタノール(10mL)の溶液に、酢酸アンモニウム(0.807mg、10.47mmol、2.0当量)を室温で添加した。反応混合物を、一晩還流搅拌した。固体を濾過し、冷エタノールで洗浄した。生成物を、さらに精製せずにさらなる工程のために直接使用した。LC-MS: [M+H]⁺ の計算値 250.00、実測値 250.16。

【化176】



40

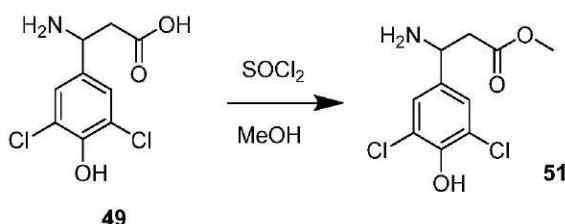
【0339】

化合物46(1.412g、3.72mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH₂O(5mL)の溶液に、水酸化リチウムー水和物(0.469g、11.16mmol、3当量)を0で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で3時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH4.0に酸性化した。水相を酢酸エ

50

チル（ $3 \times 20\text{ m L}$ ）で抽出し、有機層を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。
 L C - M S : [M + H]⁺の計算値 366.20、実測値 366.46。

【化 1 7 7】

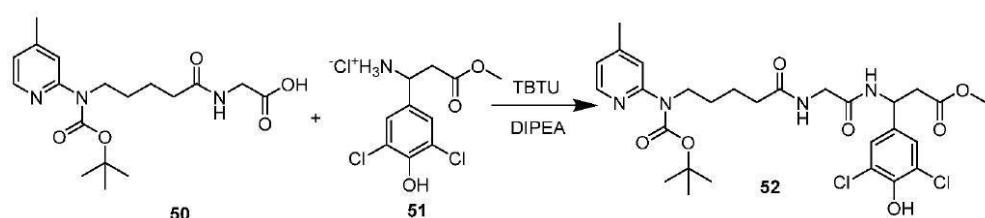


10

[0 3 4 0]

化合物 4 9 (0 . 5 3 1 g、2 . 1 2 mmol、1 当量) を含む無水メタノール (1 0 mL) の懸濁液に、塩化チオニル (3 0 8 uL、4 . 2 4 mmol、2 . 0 当量) を氷浴上で添加した。反応物を室温に加温し、一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC - MS : [M + H] + の計算値 2 6 4 . 0 1 、実測値 2 6 4 . 2 0 。

【化 1 7 8】



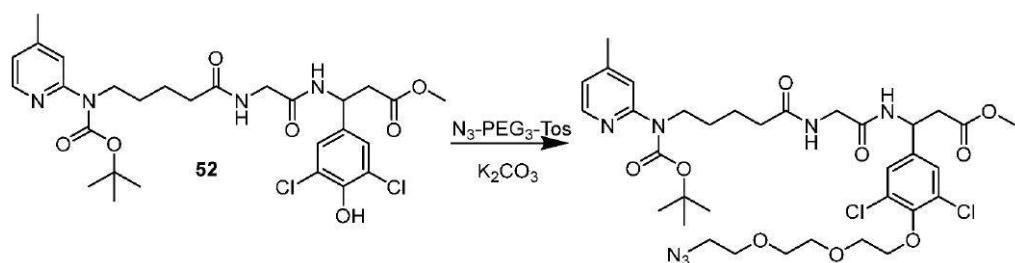
20

[0 3 4 1]

化合物50(150mg、0.410mmol、1当量)、化合物51(148mg、0.492mmol、1.2当量)、およびTBTU(158mg、0.492mmol、1.2当量)を含む無水DMF(5mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.214mL、1.23mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×20mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、2-4%メタノールを含むDCMで溶出した。

30

【化 179】



40

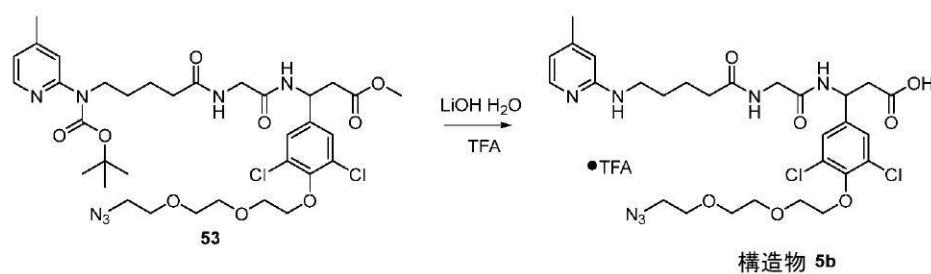
[0 3 4 3]

化合物52(80mg、0.130mmol、1当量)およびアジド-PEG₃-OTs(86mg、0.262mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、K₂CO₃(36mg、0.262mmol、2当量)を0℃で添加した。反応混合物を80℃で1時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバボレーターによって除去した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、2-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値76

50

8 . 2 8 、 実測値 7 6 9 。

【化 1 8 0】



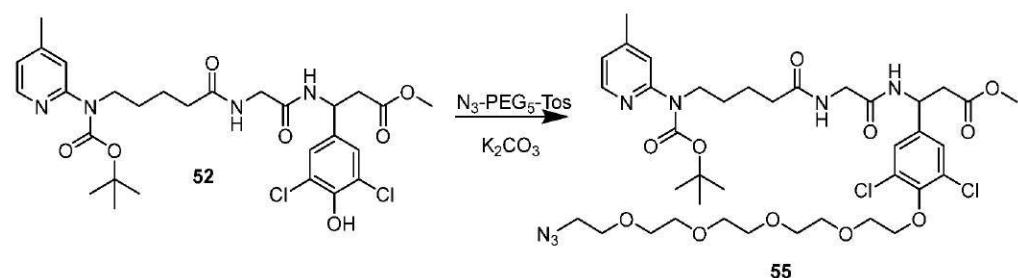
10

【0 3 4 3】

化合物 53 (5 8 m g 、 0 . 0 7 5 5 m m o l 、 1 . 0 当量) を含む T H F (2 m L) および水 (2 m L) の溶液に、水酸化リチウムー水和物 (1 0 m g 、 0 . 2 2 6 m m o l 、 3 . 0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 2 時間攪拌した。H C l (6 N) によって pH 3 . 0 に調整し、水相を E t O A c (3 × 1 0 m L) で抽出した。有機相を合わせ、N a 2 S O 4 で乾燥させ、濃縮した。T F A (0 . 2 5 m L) およびD C M (0 . 7 5 m L) を残渣に添加し、混合物を室温でさらに 1 時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。L C - M S : [M + H] + の計算値 6 5 4 . 2 1 、実測値 6 5 5 。

(構造物 5 . 1 b (3 - ((1 4 - アジド - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサテトラデシル) オキシ) - 3 , 5 - ジクロロフェニル) - 3 - (2 - (5 - ((4 - メチルピリジン - 2 - イル) アミノ) ペンタンアミド) アセトアミド) プロパン酸)

【化 1 8 1】

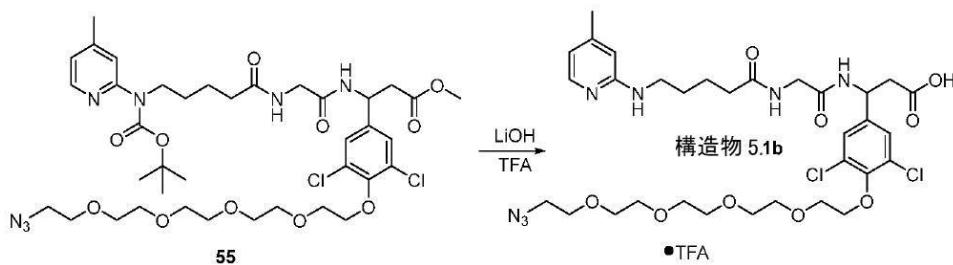


30

【0 3 4 4】

化合物 52 (1 0 0 m g 、 0 . 1 6 3 m m o l 、 1 当量) およびアジド - P E G 5 - O T s (2 0 5 m g 、 0 . 4 9 1 m m o l 、 3 当量) を含む無水 D M F (2 m L) の溶液に、K 2 C O 3 (6 8 m g 、 0 . 4 9 1 m m o l 、 2 当量) を 0 °C で添加した。反応混合物を、8 0 °C で 1 時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用した C o m b i F l a s h (登録商標) によって精製し、2 - 3 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [M + H] + の計算値 8 5 6 . 3 3 、実測値 8 5 7 . 0 7 。

【化 1 8 2】



40

【0 3 4 5】

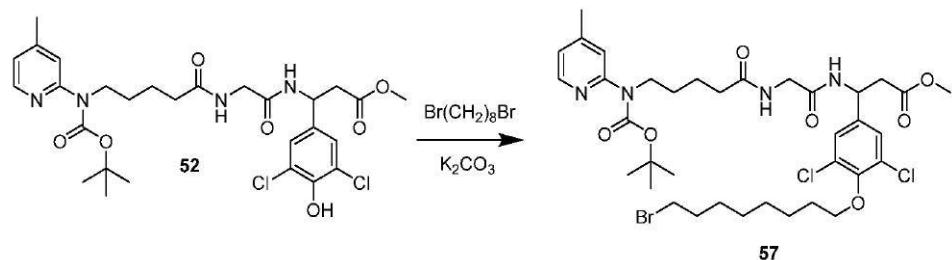
化合物 55 (1 1 9 m g 、 0 . 1 3 9 m m o l 、 1 . 0 当量) を含む T H F (4 m L)

50

および水(4 mL)の溶液に、水酸化リチウム(10 mg, 0.417 mmol, 3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc(3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA(2 mL)およびDCM(2 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 742.27、実測値 743.02。

構造物 5 . 2 b (3 - (4 - ((8 - アジドオクチル) オキシ) - 3 , 5 - ジクロロフェニル) - 3 - (2 - (5 - ((4 - メチルピリジン - 2 - イル) アミノ) ペンタンアミド) アセトアミド) プロパン酸)

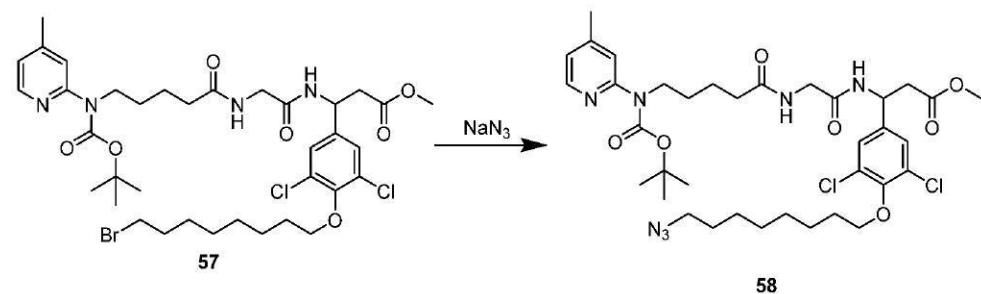
【化 1 8 3】



(0 3 4 6)

化合物 5-2 (8.9 mg、0.14 mmol、1当量) および 1,8-ジブロモオクタン (8.0 uL、0.436 mmol、3当量) を含むアセトン (2 mL) の溶液に、K₂CO₃ (6.0 mg、0.436 mmol、3当量) を室温で添加した。反応混合物を、55 °C で 6 時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO₃ 溶液によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。LC-MS : [M + H]⁺ の計算値 801.23、実測値 801.98。

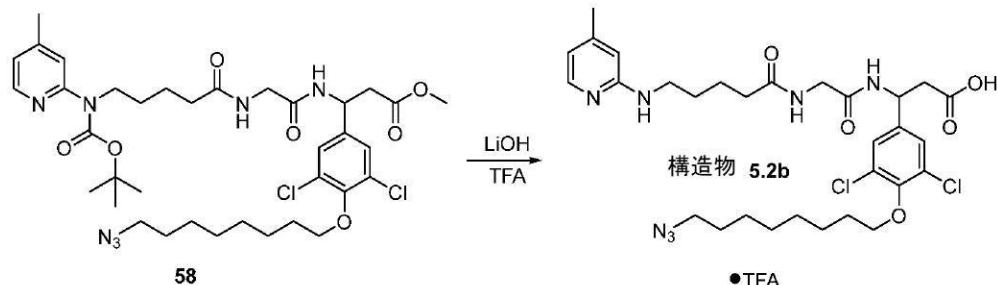
【化 1 8 4】



(0 3 4 7)

化合物 5-7 (9.7 mg、0.114 mmol、1当量)を含む無水DMF(2 mL)の溶液に、アジ化ナトリウム(15 mg、0.229 mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、80 °C で2時間攪拌した。反応物を水によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 764.32、実測値 765.07。

【化 1 8 5】



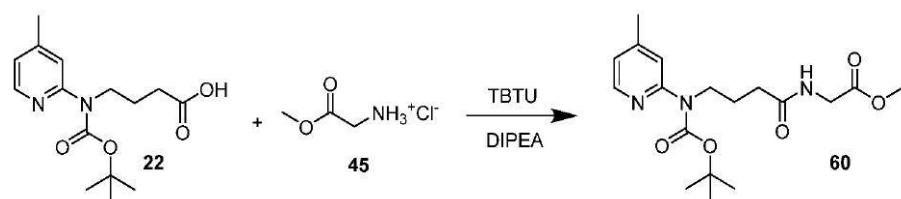
【 0 3 4 8 】

化合物 5-8 (7.8 mg、0.101 mmol、1.0当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (7 mg、0.304 mmol、3.0当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。TFA (2 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS : [M + H]⁺ の計算値 650.25、実測値 650.83。

構造物 6 b、6 . 1 b、6 . 2 b、6 . 3 b、および 6 . 4 b の合成。

構造物 6 b ((S)-3-(4-(4-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)

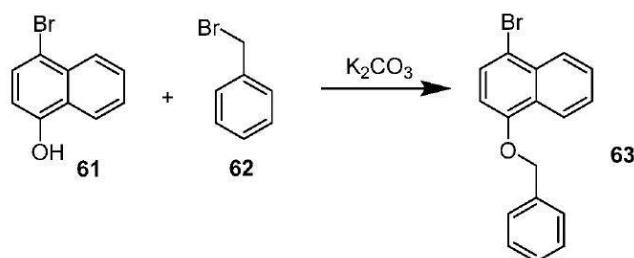
【化 1 8 6】



(0 3 4 9)

化合物22(1.1g、3.95mmol、1当量)、化合物45(595mg、4.74mmol、1.2当量)、およびTBTU(1.52g、4.74mmol、1.2当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(2.06mL、11.85mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチした。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機相を合わせ、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値366.20、実測値367。

【化 1 8 7】

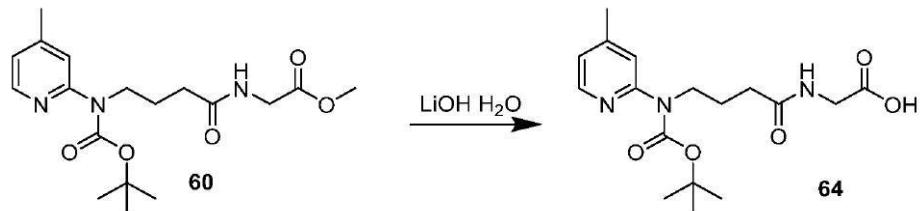


(0 3 5 0)

化合物 6-1 (2 g, 8.96 mmol, 1当量) および化合物 6-2 (2.13 mL, 1

7 . 9 3 m m o l 、 2 当量) を含む無水 D M F (1 0 m L) の溶液に、 K₂C O₃ (2 . 4 8 g 、 1 7 . 9 3 m m o l 、 2 当量) を 0° で添加した。反応混合物を室温に加温し、一晩攪拌した。反応物を水 (1 0 m L) でクエンチした。水相を酢酸エチル (3 × 1 0 m L) で抽出し、有機相を合わせ、無水 N a₂S O₄ で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用した C o m b i F l a s h (登録商標) によって分離した。

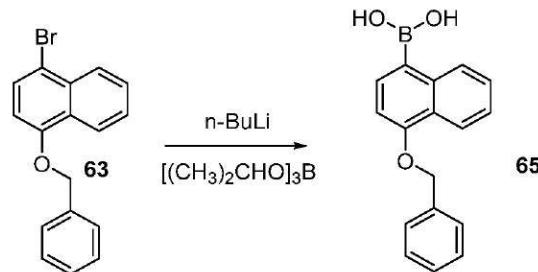
【化 1 8 8】



【0 3 5 1】

化合物 6 0 (1 . 7 7 g 、 4 . 8 4 m m o l 、 1 当量) を含む T H F (5 m L) および H₂O (5 m L) の溶液に、水酸化リチウムー水和物 (0 . 6 1 g 、 1 4 . 5 3 m m o l 、 3 当量) を 0° で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で 3 時間の攪拌後、反応混合物を H C l (6 N) によって pH 3 . 0 に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 2 0 m L) で抽出し、有機層を合わせ、N a₂S O₄ で乾燥させ、濃縮した。L C - M S : [M + H] + の計算値 3 5 2 . 1 8 、実測値 3 5 2 。

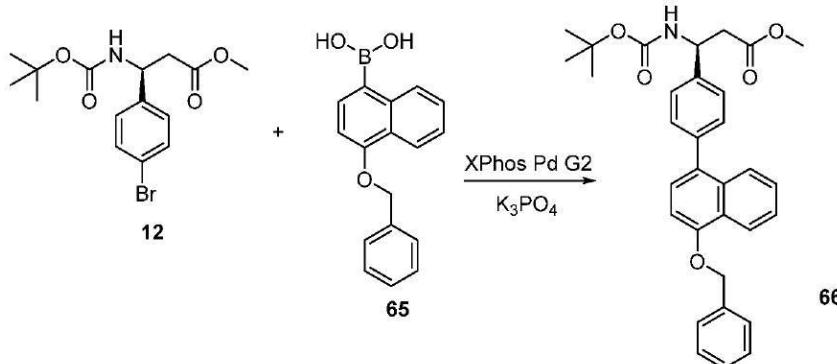
【化 1 8 9】



【0 3 5 2】

化合物 6 3 (1 . 8 8 g 、 6 . 0 m m o l 、 1 . 0 当量) を含む無水 T H F (2 0 m L) 溶液に、 n - B u L i を含むヘキサン (3 . 6 m L 、 9 . 0 m m o l 、 1 . 5 当量) を - 7 8° で滴下して添加した。反応物を、 - 7 8° でさらに 1 時間保持した。トリイソブロピルボラート (2 . 0 8 m L 、 9 . 0 m m o l 、 1 . 5 当量) を、次いで、混合物中に - 7 8° で添加した。次いで、反応物を室温に加温し、さらに 1 時間攪拌した。反応物を飽和 N H₄C l 溶液 (2 0 m L) によってクエンチし、p H 3 に調整した。水相を E t O A c (3 × 2 0 m L) で抽出し、有機相を合わせ、N a₂S O₄ で乾燥させ、濃縮した。

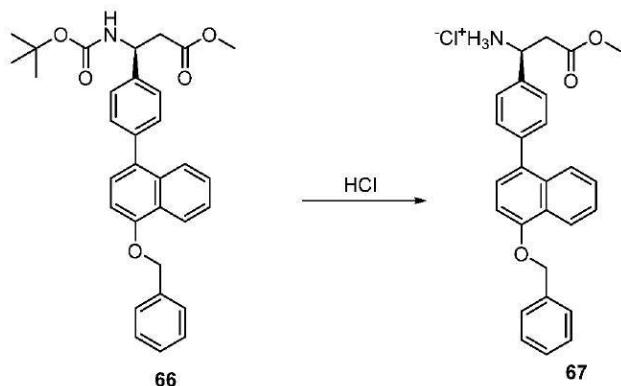
【化 1 9 0】



【0353】

化合物12(300mg、0.837mmol、1.0当量)、化合物65(349mg、1.256mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(13mg、0.0167mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(355mg、1.675mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(8mL)および水(2mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で20分間バブリングし、反応物を室温で一晩保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮し、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、15%EtOAcを含むヘキサンで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値512.24、実測値512.56。

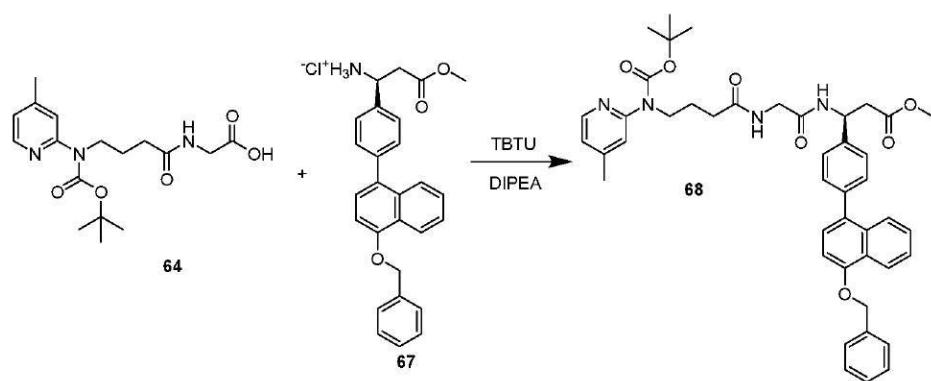
【化191】



【0354】

化合物66(858mg、1.677mmol、1.0当量)を氷浴によって冷却した。HClを含むジオキサン(8.4mL、33.54mmol、20当量)をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値412.18、実測値412.46。

【化192】



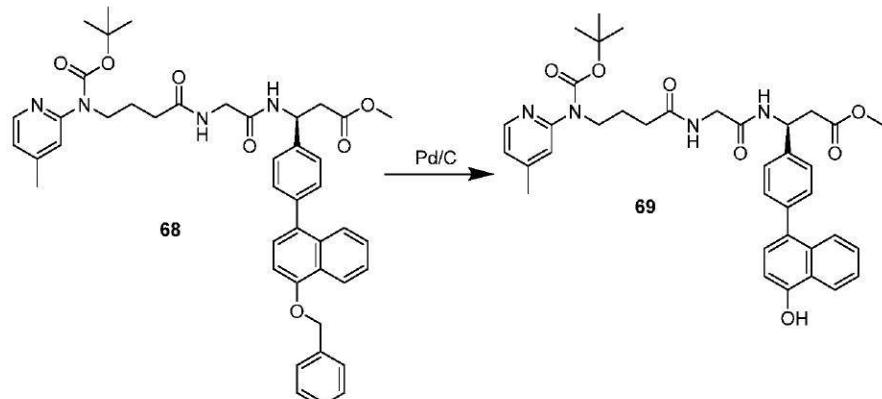
【0355】

化合物64(500mg、1.423mmol、1当量)、化合物67(669mg、1.494mmol、1.05当量)、およびTBTU(548mg、0.492mmol、1.2当量)を含む無水DMF(15mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.744mL、4.268mmol、3当量)を0°で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×20mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、15%EtOAcを含むヘキサンで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値512.24、実測値512.56。

50

i Flash (登録商標) によって精製し、3 - 4 % メタノールを含む DCM で溶出した。収率は 96.23 % であった。LC-MS : [M + H] + の計算値 745.35、実測値 746.08。

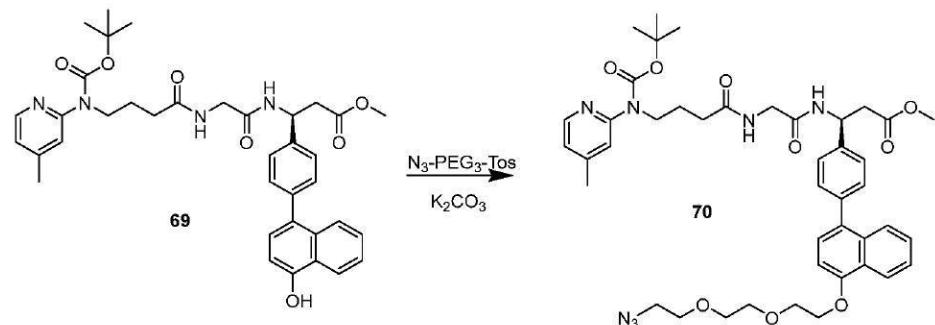
【化 193】



【0356】

化合物 68 (1.02 g、1.369 mmol、1当量) を含む酢酸エチル (10 mL) の溶液に、10% Pd/C (0.15 g、50% H₂O) を室温で添加した。反応混合物を室温に加温し、反応物を LC-MS によってモニタリゲした。反応物を室温で一晩保持した。固体を Celite (登録商標) で濾過し、溶媒をロータリーエバポレーターによって除去した。生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS : [M + H] + 655.31、実測値 655.87。

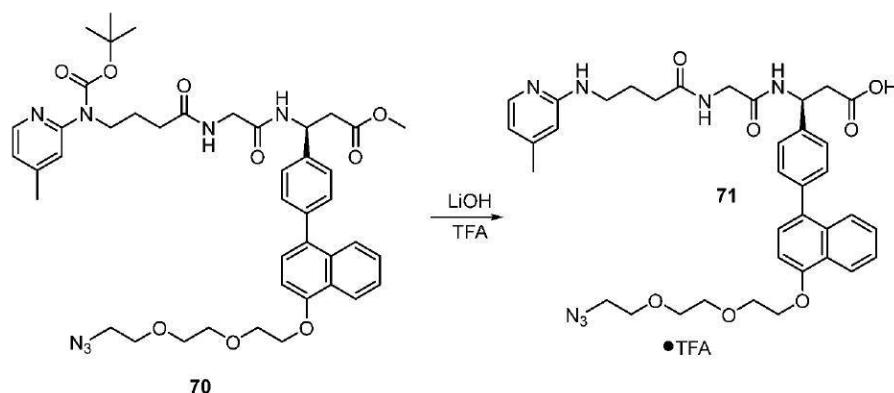
【化 194】



【0357】

化合物 69 (100 mg、0.152 mmol、1当量) およびアジド - PEG₃-OTs (100 mg、0.305 mmol、2当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、K₂CO₃ (42 mg、0.305 mmol、2当量) を 0° で添加した。反応混合物を、80° で 6 時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO₃ 溶液によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用した CombiFlash (登録商標) によって分離した。LC-MS : [M + H] + の計算値 812.39、実測値 813.14。

【化195】

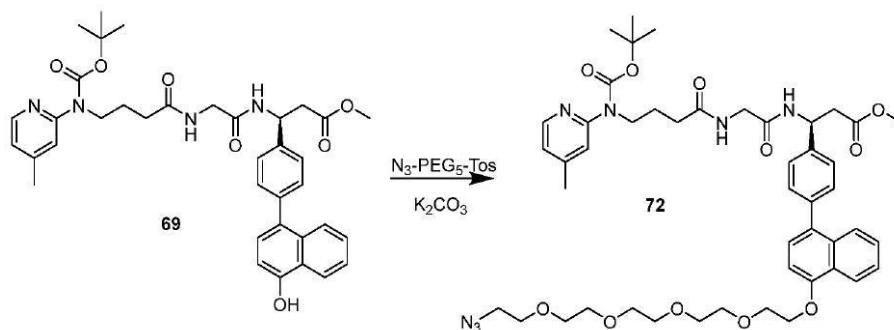


【0358】

化合物70 (77 mg、0.0948 mmol、1.0当量)を含むTHF (2 mL)および水 (2 mL)の溶液に、水酸化リチウム (7 mg、0.284 mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに2時間攪拌した。HCl (6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc (3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.5 mL)およびDCM (0.5 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 698.32、実測値 698.81。

構造物6.1b ((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-((4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)

【化196】



【0359】

化合物69 (100 mg、0.152 mmol、1当量)およびアジド-PEG₅-OTs (128 mg、0.305 mmol、2当量)を含む無水DMF (2 mL)の溶液に、K₂CO₃ (42 mg、0.305 mmol、2当量)を0°で添加した。反応混合物を、80°で6時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 900.40、実測値 901.46。

10

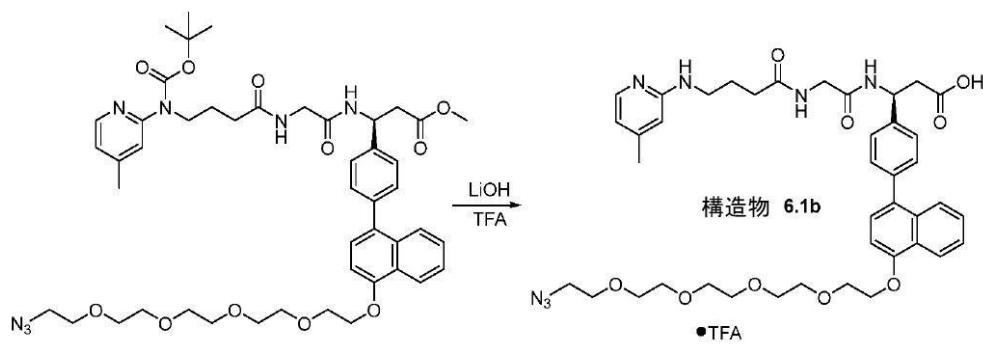
20

30

40

50

【化197】



10

72

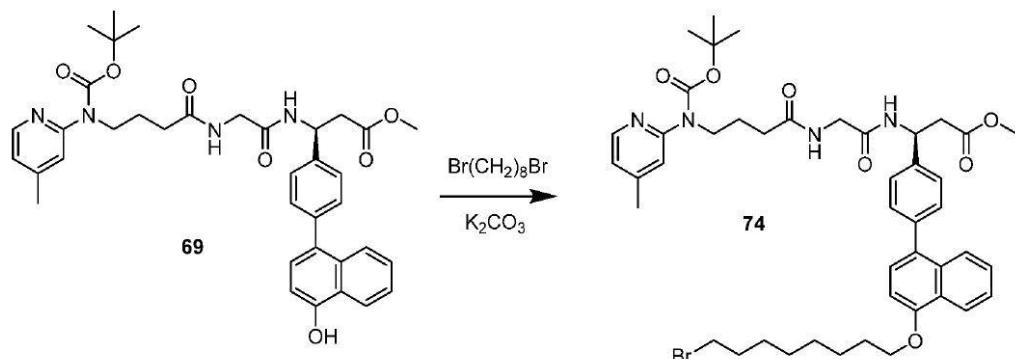
【0360】

化合物72 (59 mg、0.0656 mmol、1.0当量)を含むTHF (2 mL)および水 (2 mL)の溶液に、水酸化リチウム (5 mg、0.197 mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl (6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc (3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.5 mL)およびDCM (0.5 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 786.37、実測値 786.95。

20

構造物6.2b ((S)-3-(4-(4-((8-アジドオクチル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)

【化198】



30

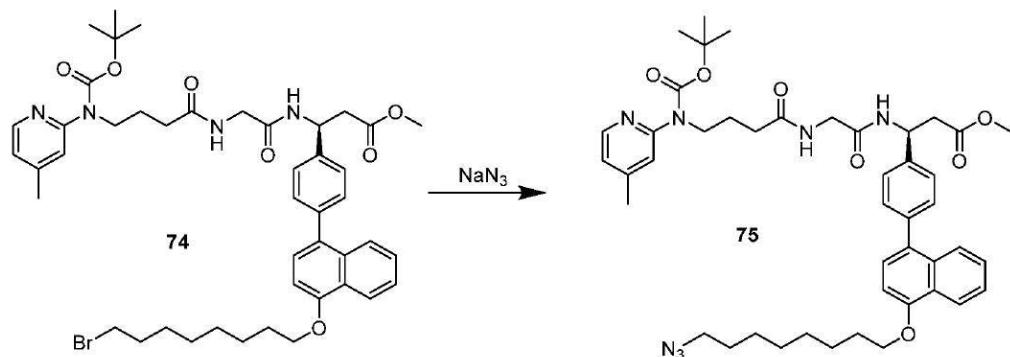
【0361】

化合物69 (150 mg、0.229 mmol、1当量)および1,8-ジブロモオクタン (127 uL、0.687 mmol、3当量)を含むアセトン (2 mL)の溶液に、 K_2CO_3 (95 mg、0.687 mmol、3当量)を室温で添加した。反応混合物を55℃で一晩攪拌した。反応物を飽和 NaHCO_3 溶液によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 845.34、実測値 845.91。

40

50

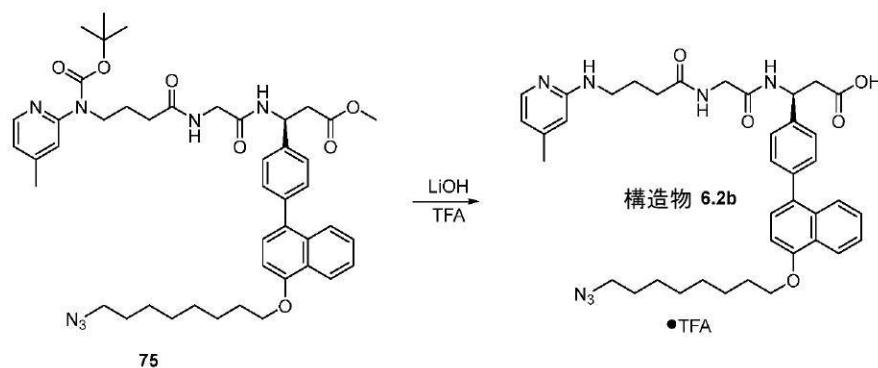
【化199】



【0362】

化合物74 (97 mg、0.114 mmol、1当量)を含む無水DMF (2 mL)の溶液に、アジ化ナトリウム (15 mg、0.229 mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、80°Cで2時間攪拌した。反応物を水によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3×10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値808.43、実測値809.00。

【化200】



【0363】

化合物75 (92 mg、0.114 mmol、1.0当量)を含むTHF (2 mL)および水 (2 mL)の溶液に、水酸化リチウム (8 mg、0.342 mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl (6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc (3×10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.5 mL)およびDCM (0.5 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値694.36、実測値694.94。

構造物6.3b ((S)-3-(4-(4-((20-アジド-3,6,9,12,15,18-ヘキサオキサイコシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)

10

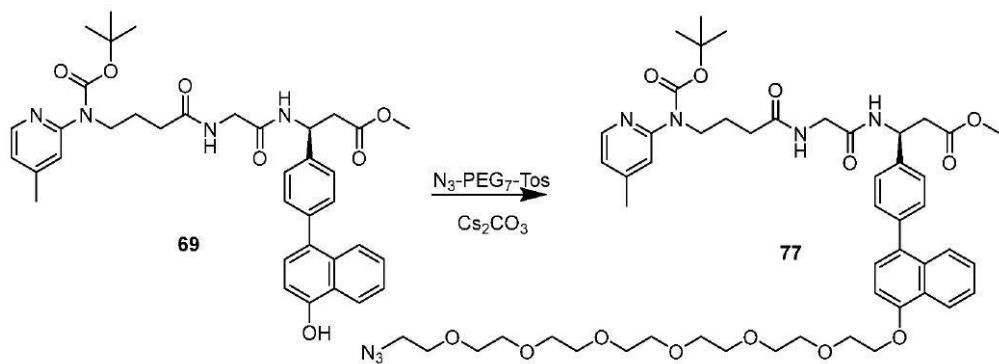
20

30

40

50

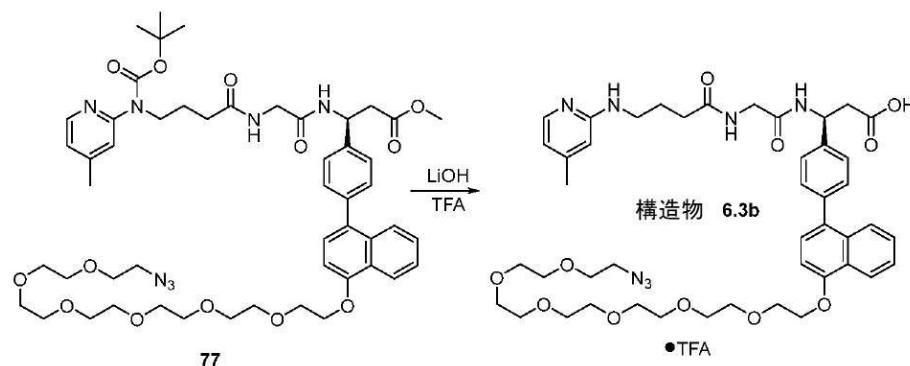
【化201】



【0364】

化合物69(100mg、0.152mmol、1当量)およびアジド-PEG₇-OTs(154mg、0.305mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(100mg、0.305mmol、2当量)を0℃で添加した。反応混合物を40℃で一晩攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってケンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、生成物を2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値988.50、実測値989.14。

【化202】

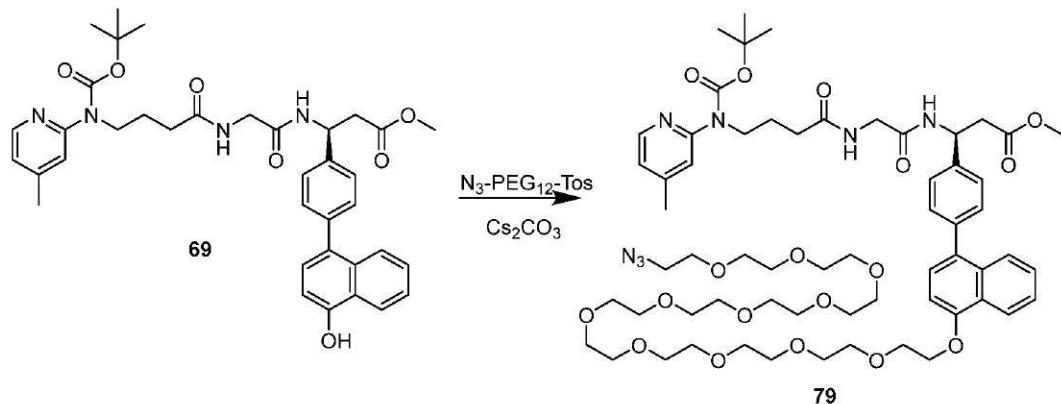


【0365】

化合物21(112mg、0.113mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(8mg、0.340mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値874.43、実測値875.08。

構造物6.4b((S)-3-(4-(4-((35-アジド-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-ウンデカオキサペントリアコンチル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)

【化 2 0 3】



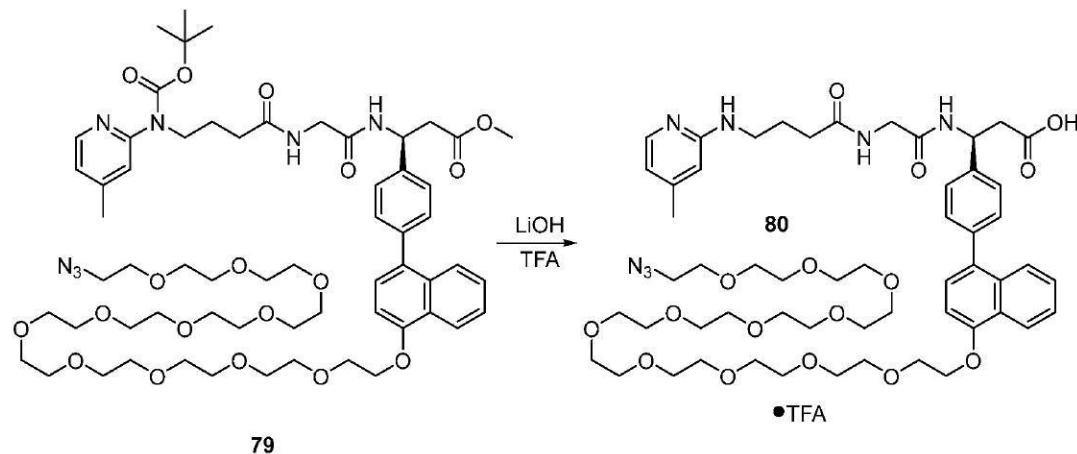
10

〔 0 3 6 6 〕

化合物69(80mg、0.122mmol、1当量)およびアジド-PEG₁₂-OTS(184mg、0.244mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(80mg、0.244mmol、2当量)を0℃で添加した。反応混合物を40℃で5時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値1208.63、実測値1209.21。

20

【化 2 0 4】



30

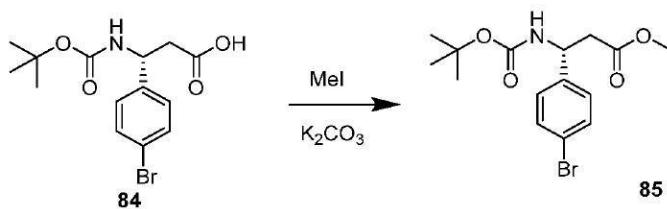
【 0 3 6 7 】

化合物 8-2 (100 mg、0.0972 mmol、1.0当量)を含むTHF(2 mL)および水(2 mL)の溶液に、水酸化リチウム(7 mg、0.292 mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc(3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4 mL)およびDCM(2 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値 1094.56、1095.05。

40

構造物 7 b ((R)-3-(4-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

【化205】

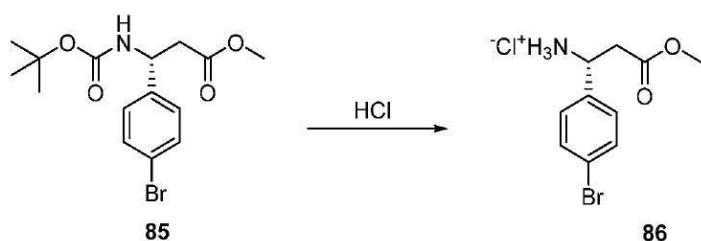


【0368】

化合物84(1.0g、2.90mmol、1当量)および炭酸カリウム(0.60g、4.36mmol、1.5当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、ヨウ化メチル(362uL、5.81mmol、2.0当量)を室温で添加した。反応混合物を室温で1時間搅拌した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値358.06、実測値358.34。

10

【化206】



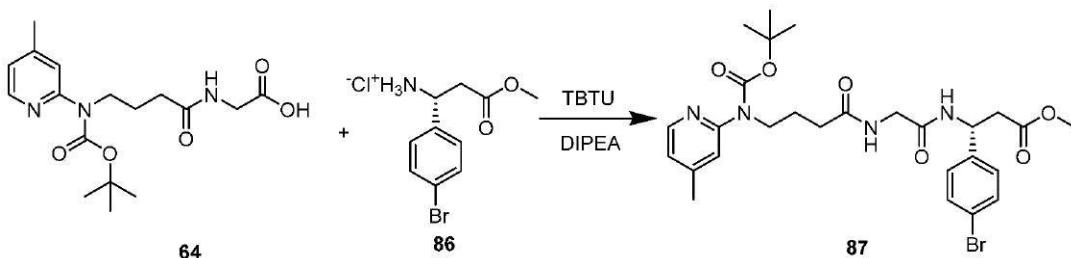
20

【0369】

化合物85(1.0g、2.791mmol、1.0当量)を氷浴によって冷却した。HClを含むジオキサン(7.0mL、27.91mmol、10当量)をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値258.01、実測値257.97。

【化207】

30



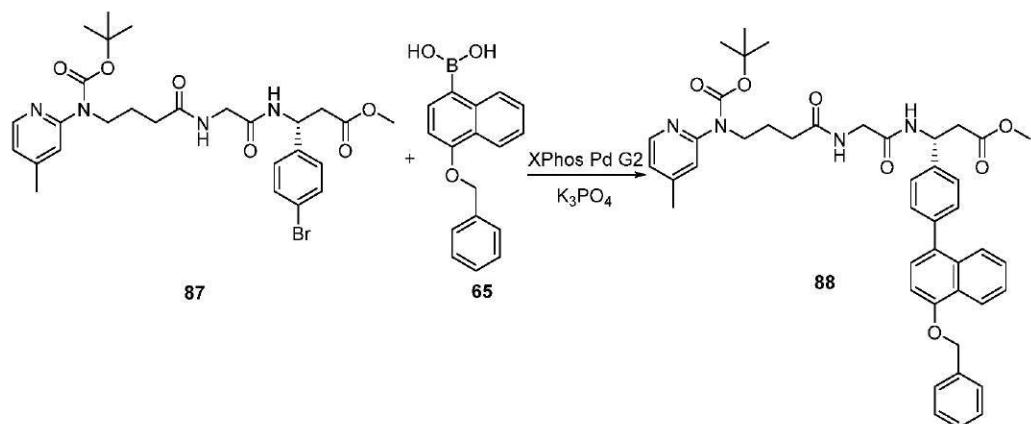
【0370】

化合物64(790mg、2.248mmol、1当量)、化合物86(728mg、2.473mmol、1.10当量)、およびTBTU(866mg、2.698mmol、1.20当量)を含む無水DMF(15mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(1.175mL、6.744mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×20mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値591.17、実測値591.49。

40

50

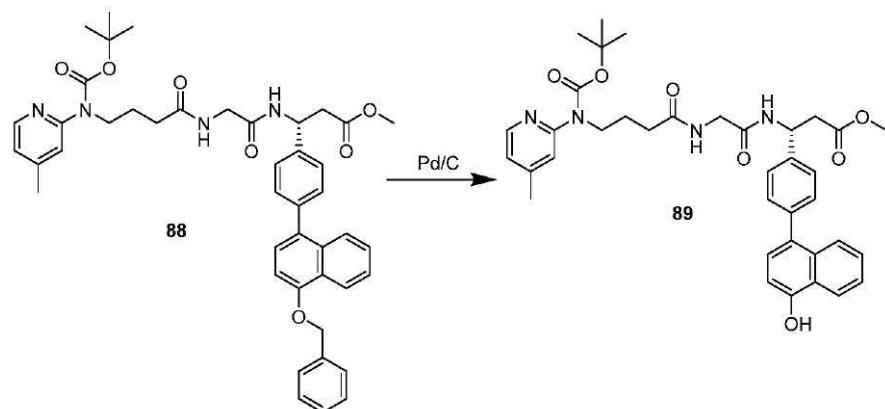
【化208】



【0371】

化合物87(200mg、0.338mmol、1.0当量)、化合物65(141mg、0.507mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(5.3mg、0.068mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(143mg、0.676mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(8mL)および水(2mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で20分間バブリングし、反応物を室温で一晩保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値745.35、実測値746.08。

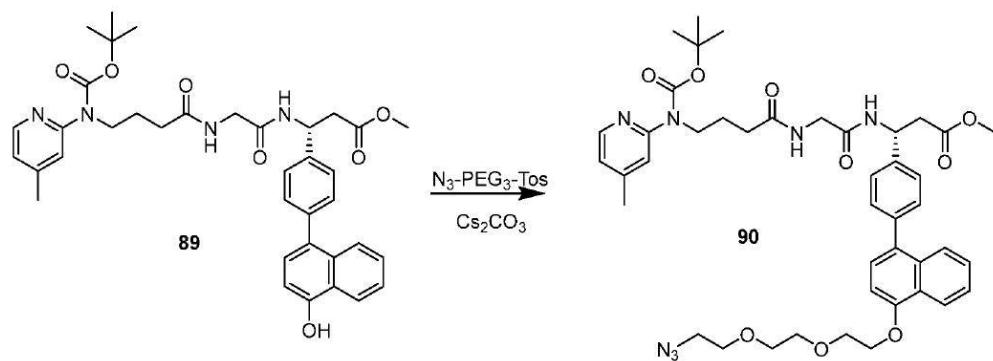
【化209】



【0372】

化合物88(0.247g、0.331mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(100mg)を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCelite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.96。

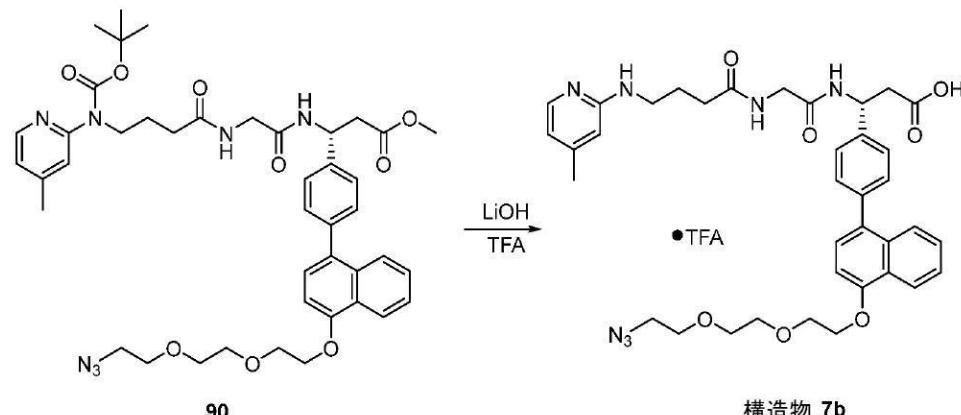
【化210】



【0373】

化合物89(50mg、0.076mmol、1当量)およびアジド-PEG₃-OTs(50mg、0.152mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(50mg、0.152mmol、2当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温で72時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、4%MeOHを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値812.39、実測値813.14。

【化211】

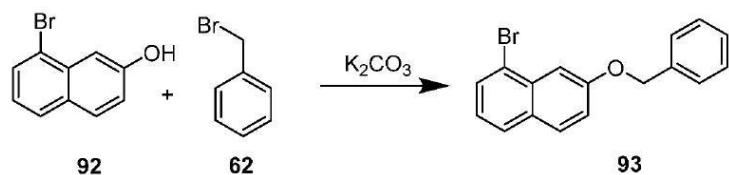


【0374】

化合物90(36mg、0.0443mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(3mg、0.133mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(0.5mL)およびDCM(0.5mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値698.32、実測値698.90。

構造物8b((S)-3-(4-(7-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

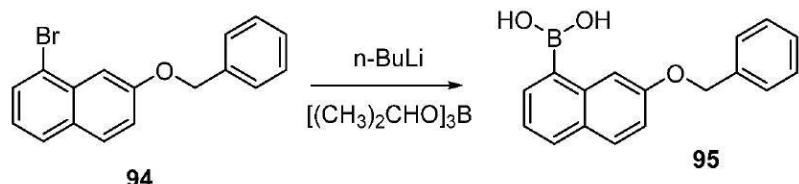
【化212】



【0375】

化合物92(1.0g、4.48mmol、1当量)、および化合物62(1.06mL、8.96mmol、2当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、K₂CO₃(1.24g、8.96mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を80℃で一晩攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、5%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。

【化213】



10

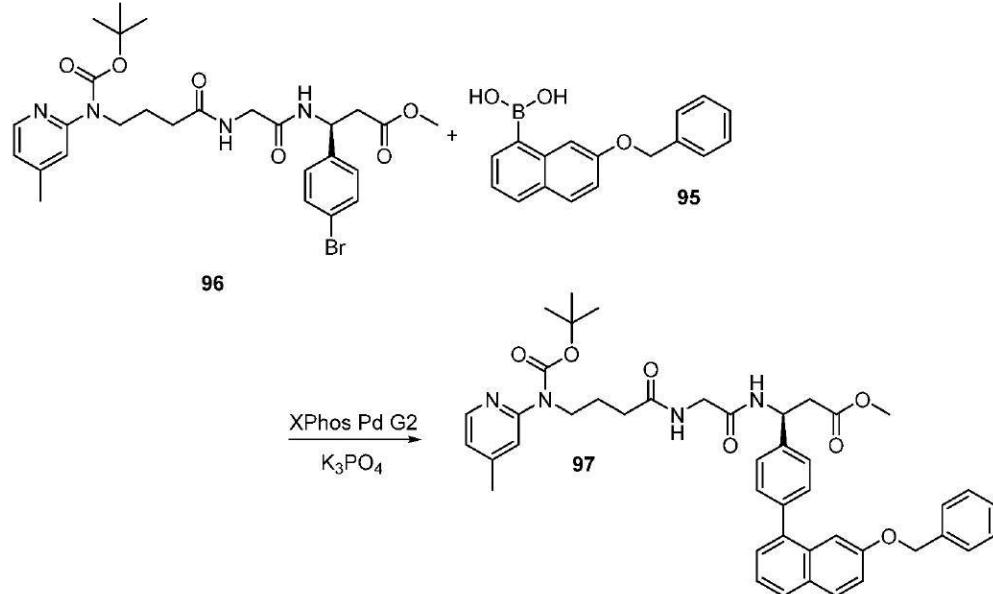
20

【0376】

化合物94(0.5g、1.596mmol、1.0当量)を含む無水THF(10mL)溶液に、n-BuLiを含むヘキサン(0.96mL、2.394mmol、1.5当量)を-78℃で滴下して添加した。反応物を、-78℃でさらに1時間保持した。トリイソプロピルボラート(0.553mL、2.394mmol、1.5当量)を、次いで、混合物中に-78℃で添加した。次いで、反応物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NH₄Cl溶液(20mL)によってクエンチし、pH3に調整した。水相をEtOAc(3×20mL)で抽出し、有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。固体をヘキサンでトリチュレートし、濾過した。生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M-H]⁻の計算値277.11、実測値277.35。

30

【化214】



40

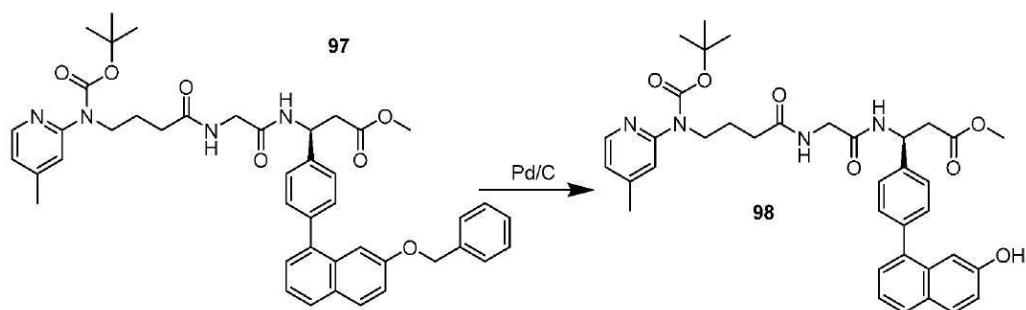
50

【0377】

化合物96(100mg、0.169mmol、1.0当量)、化合物95(70mg、0.253mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(2.7mg、0.0034mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(72mg、0.338mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(8mL)および水(2mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で20分間バブリングし、反応物を室温で一晩保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、3%メタノールを含むDCMで溶出した。

10

【化215】

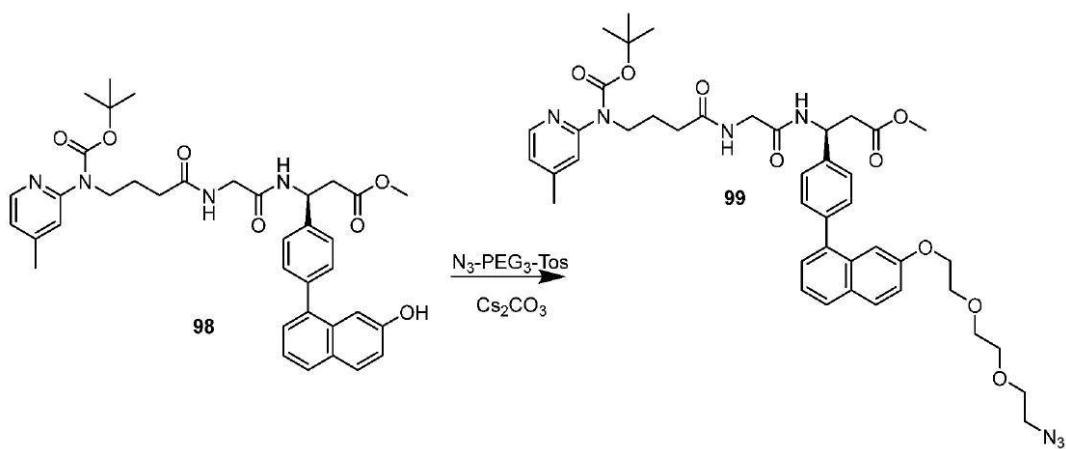


20

【0378】

化合物97(0.116g、0.157mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(100mg)を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCelite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.87。

【化216】



30

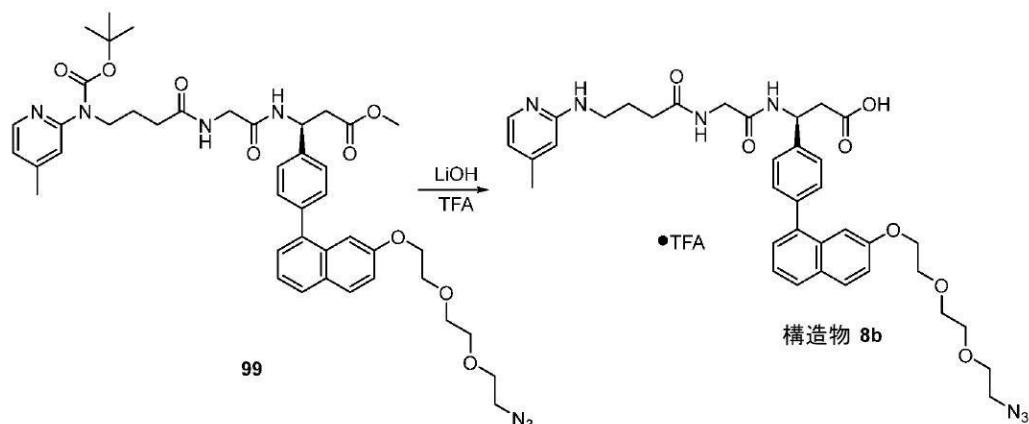
40

【0379】

化合物98(87mg、0.133mmol、1当量)およびアジド-PEG₃-OT(87mg、0.266mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(87mg、0.266mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を40℃で6時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、3-4%MeOHを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値812.39、実測値813.05。

50

【化217】

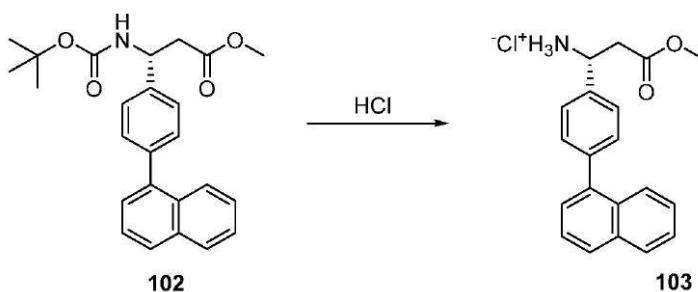


【0380】

化合物 99 (65 mg、0.0801 mmol、1.0当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (6 mg、0.240 mmol、3.0当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.5 mL) および DCM (0.5 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS : [M + H]⁺ の計算値 698.32、実測値 698.99。

構造物 9b ((14S, 17R)-1-アジド-14-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)-17-(4-(ナフタレン-1-イル)フェニル)-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザノナデカン-19-酸)の合成。

【化218】



【0381】

化合物 102 (0.19 g、0.468 mmol、1.0当量) を氷浴によって冷却した。HCl を含むジオキサン (2.35 mL、9.37 mmol、20当量) をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS : [M + H]⁺ の計算値 306.14、実測値 306.51。

10

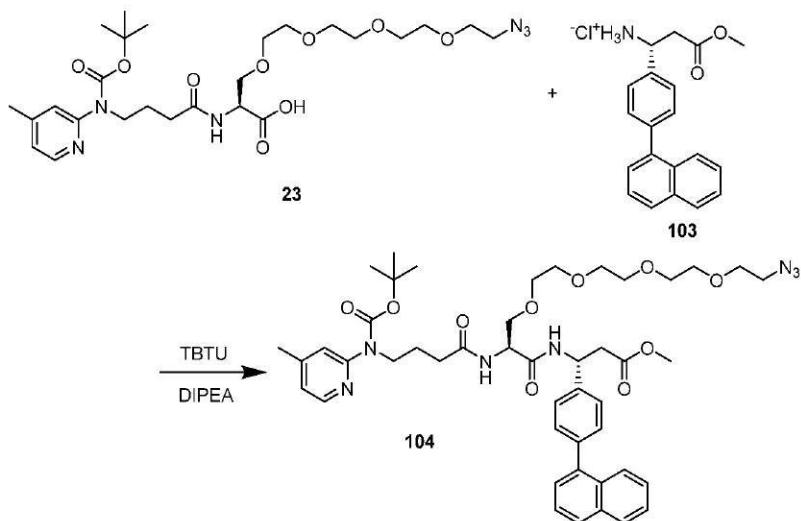
20

30

40

50

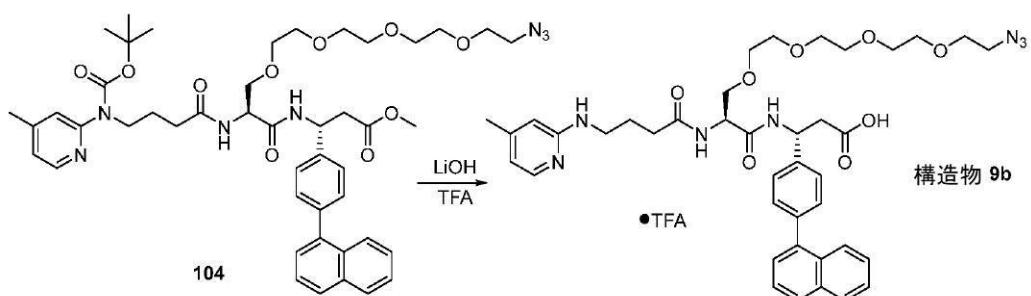
【化219】



【0382】

化合物23(110mg、0.188mmol、1当量)、化合物103(71mg、0.207mmol、1.10当量)、およびTBTU(72.7mg、0.226mmol、1.20当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.1mL、0.566mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を饱和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値870.43、実測値871.12。

【化220】

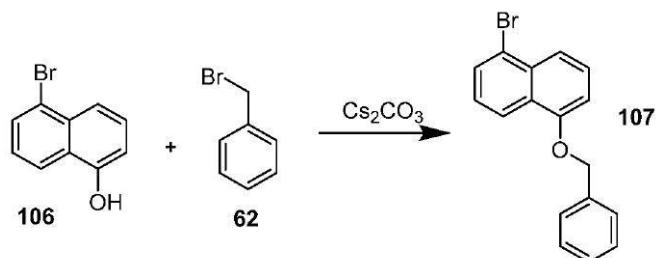


【0383】

化合物104(110mg、0.126mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(9mg、0.379mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間搅拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間搅拌した。溶媒を、ロータリーエバボレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値756.36、実測値756.88。

構造物10b((S)-3-(4-(5-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

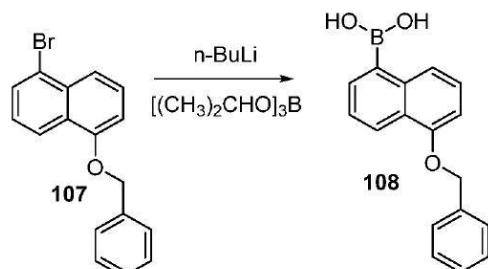
【化221】



【0384】

化合物106 (1.0 g、4.48 mmol、1当量)、および化合物62 (1.06 mL、8.96 mmol、2当量)を含む無水DMF (10 mL)の溶液に、 Cs_2CO_3 (2.92 g、8.96 mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応物を水溶液 (20 mL)によってクエンチし、水相を酢酸エチル ($3 \times 10 \text{ mL}$) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash (登録商標) によって分離し、5%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。

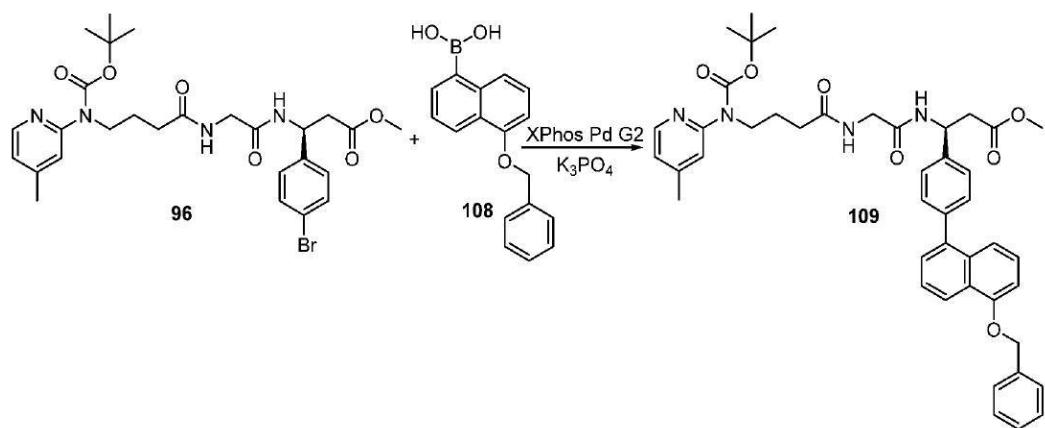
【化222】



【0385】

化合物107 (1.188 g、3.793 mmol、1.0当量)を含む無水THF (10 mL)溶液に、 $n\text{-BuLi}$ を含むヘキサン (2.27 mL、5.689 mmol、1.5当量)を-78°で滴下して添加した。反応物を、-78°でさらに1時間保持した。トリイソプロピルボラート (1.31 mL、5.689 mmol、1.5当量)を、次いで、混合物中に-78°で添加した。次いで、反応物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和 NH_4Cl 溶液 (20 mL)によってクエンチし、pH 3に調整した。水相をEtOAc ($3 \times 20 \text{ mL}$) で抽出し、有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。固体をヘキサンでトリチュレートし、濾過した。生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS: [M-H]⁻の計算値277.11、実測値277.26。

【化223】



10

20

30

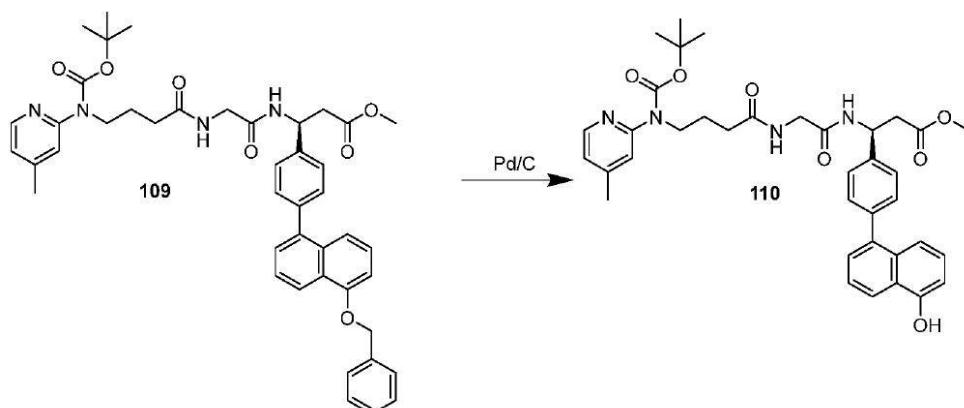
40

50

【0386】

化合物96(100mg、0.169mmol、1.0当量)、化合物108(70mg、0.253mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(2.7mg、0.0034mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(72mg、0.338mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(8mL)および水(2mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で20分間バブリングし、反応物を室温で一晩保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlas h(登録商標)によって分離し、3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値745.35、実測値745.99。

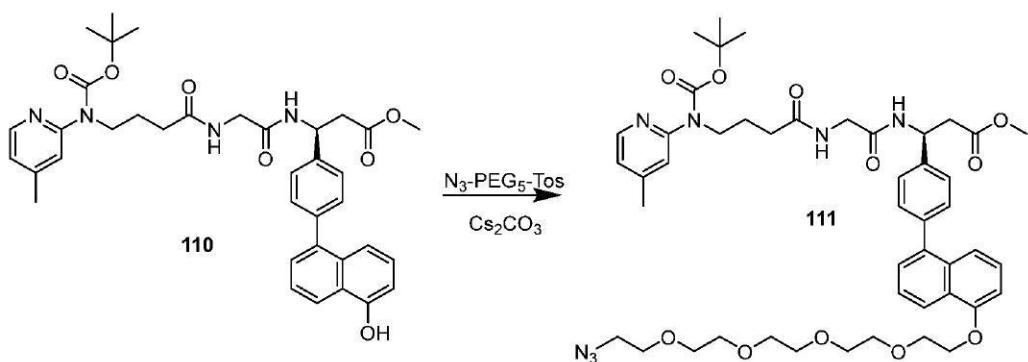
【化224】



【0387】

化合物109(0.135g、0.181mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(100mg)を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCelite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.87。

【化225】



【0388】

化合物110(50mg、0.0764mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(64mg、0.152mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(50mg、0.152mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlas h(登録商標)によって分離し、3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値745.35、実測値745.99。

10

20

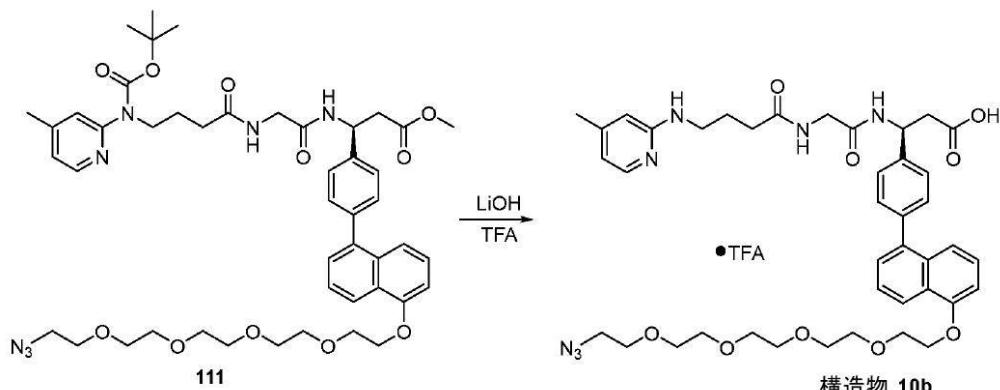
30

40

50

s h (登録商標)によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は62%である。LC-MS: [M + H]⁺の計算値900.44、実測値901.19。

【化226】

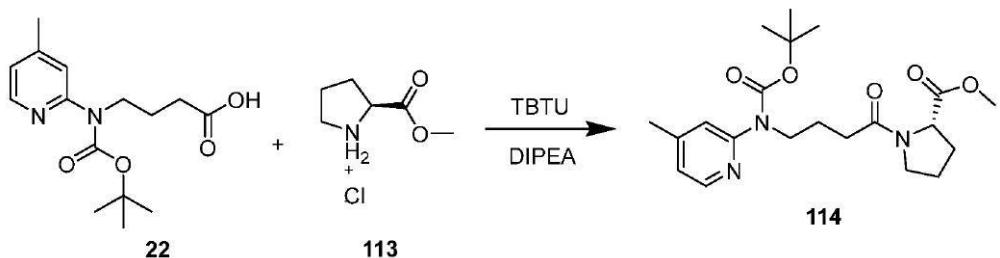


【0389】

化合物111(43mg、0.0478mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(3.4mg、0.143mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリー-エバボレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値786.37、実測値787.04。

構造物11b((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((S)-1-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタノイル)ピロリジン-2-カルボキサミド)プロパン酸)の合成。

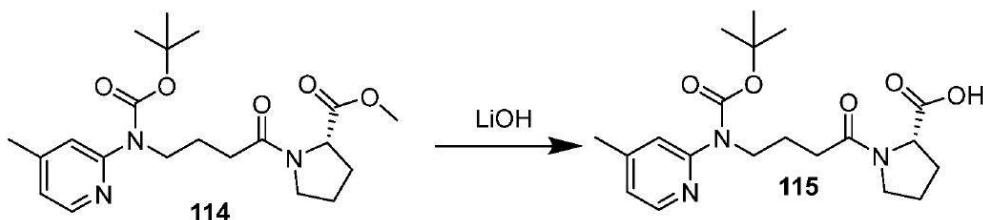
【化227】



【0390】

化合物22(500mg、1.698mmol、1当量)、化合物113(295mg、1.783mmol、1.05当量)、およびTBTU(654mg、2.038mmol、1.2当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.888mL、5.096mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は98.72%である。LC-MS: [M + H]⁺の計算値406.23、実測値406.07。

【化228】

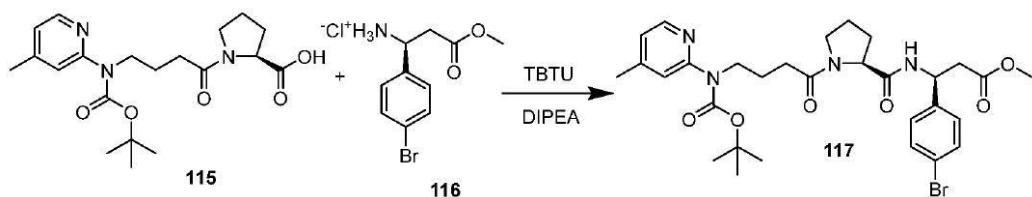


【0391】

化合物114(0.68g、1.676mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH₂O(5mL)の溶液に、水酸化リチウム(0.12g、5.030mmol、3当量)を0で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値392.21、実測値392.39。

10

【化229】



20

【0392】

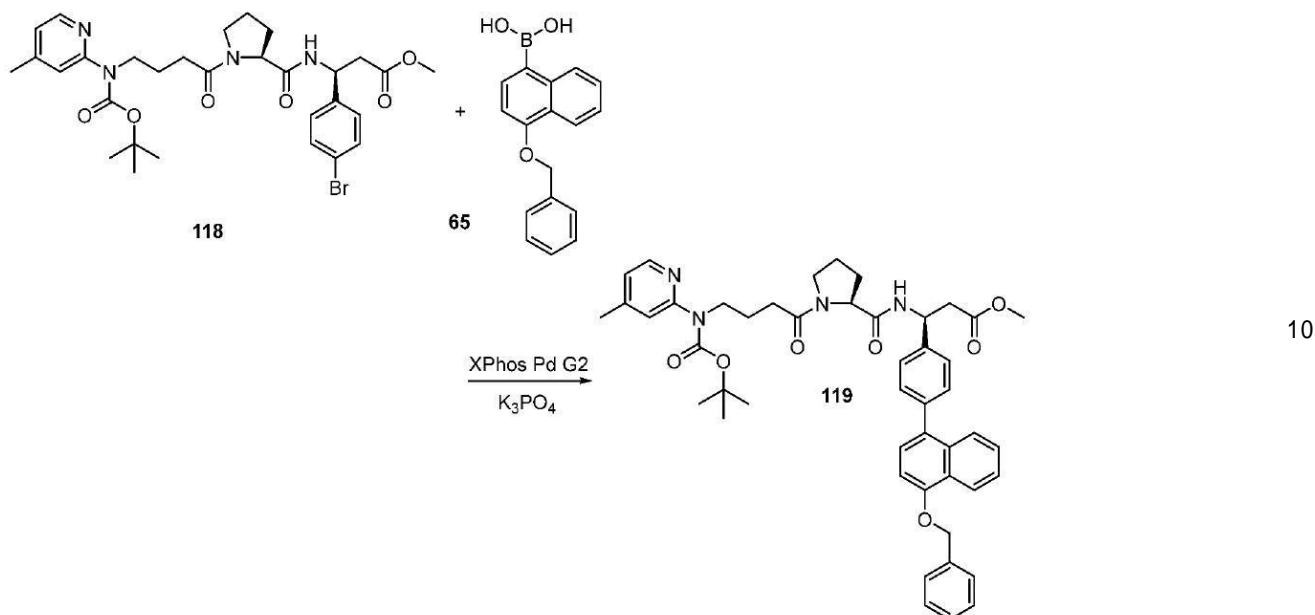
化合物115(300mg、0.766mmol、1当量)、化合物116(237mg、0.804mmol、1.05当量)、およびTBTU(295mg、0.919mmol、1.2当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.400mL、2.299mmol、3当量)を0で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は83%である。LC-MS:[M+H]⁺の計算値631.21、実測値631.46。

30

40

50

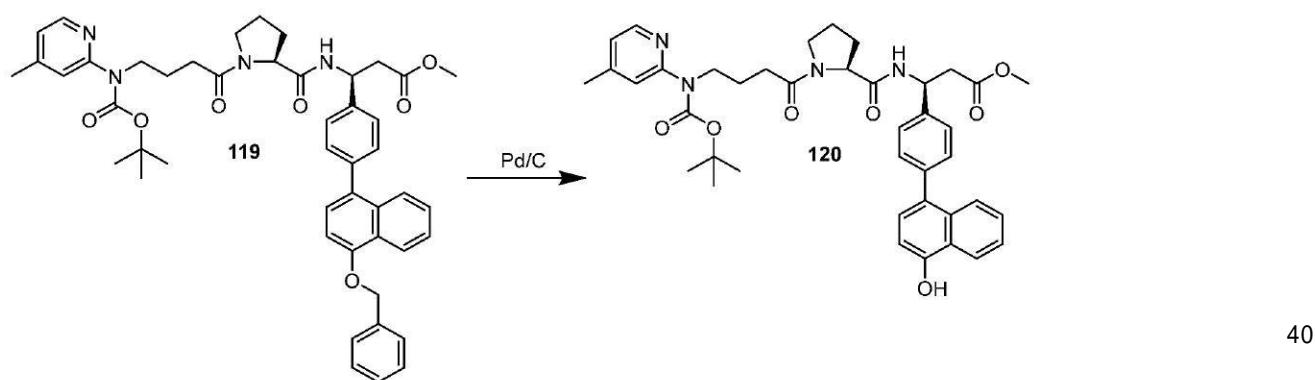
【化230】



【0393】

化合物 118 (100 mg、0.158 mmol、1.0 当量)、化合物 65 (66 mg、0.237 mmol、1.5 当量)、 XPhos Pd G2 (2.5 mg、0.0032 mmol、0.02 当量)、および K_3PO_4 (67 mg、0.316 mmol、2.0 当量) を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF (5 mL) および水 (1 mL) をシリングで添加した。混合物を窒素で20分間バブリングし、反応物を40 ℃で1時間保持した。反応物を水 (10 mL) でクエンチし、水相を酢酸エチル ($3 \times 10 \text{ mL}$) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用した Combiflash (登録商標) によって分離し、3%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は96%であった。LC-MS: [M+H]⁺ の計算値 785.38、実測値 785.69。

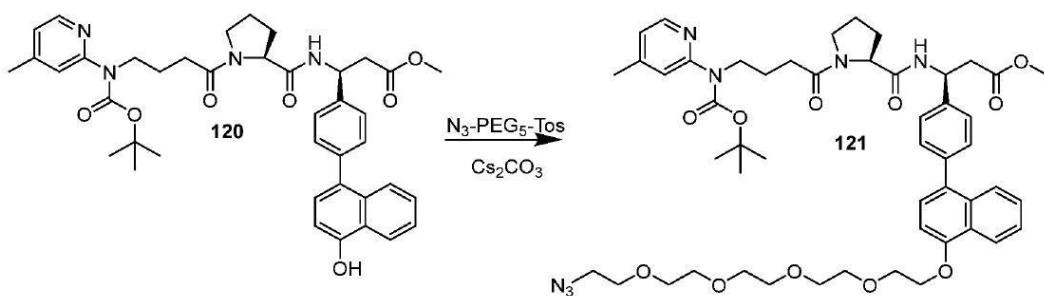
【化231】



【0394】

化合物 119 (0.120 g、0.153 mmol、1当量) を含む酢酸エチル (10 mL) の溶液に、10% Pd/C (100 mg) を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒を Celite (登録商標) での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS: [M+H]⁺ の計算値 695.34、実測値 695.66。

【化232】

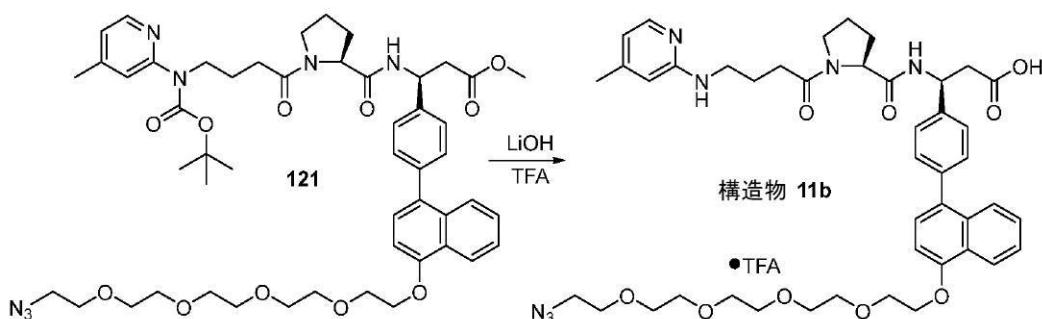


10

【0395】

化合物120 (83 mg、0.119 mmol、1当量) およびアジド-PEG₅-OTs (100 mg、0.239 mmol、2当量) を含む無水DMF (2 mL) の溶液に、 Cs_2CO_3 (78 mg、0.239 mmol、2当量) を室温で添加した。反応混合物を、40 °C で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液 (10 mL) によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash (登録商標) によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は79%であった。LC-MS：計算値940.47、実測値941.16。

【化233】



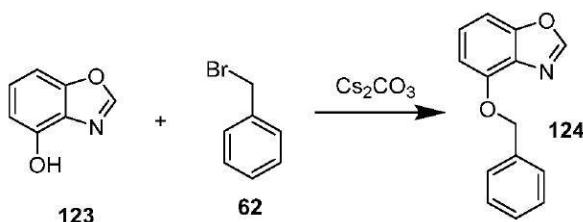
20

【0396】

化合物121 (89 mg、0.0947 mmol、1.0当量) を含むTHF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (6.8 mg、0.284 mmol、3.0当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl (6 N) によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) およびDCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS：[M + H]⁺の計算値826.41、実測値827.10。

構造物12b ((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ベンゾ[d]オキサゾール-7-イル)フェニル)-3-(2-((4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

【化234】



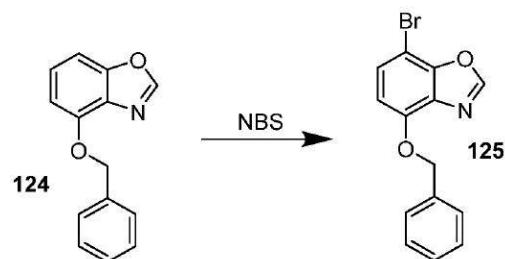
40

50

【0397】

化合物123(1.0g、7.40mmol、1当量)、および化合物62(1.32mL、11.10mmol、1.5当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、Cs₂CO₃(3.62g、11.10mmol、1.5当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、一晩攪拌した。反応物を水(10mL)でクエンチした。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機相を合わせ、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、5-7%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。収率85%。

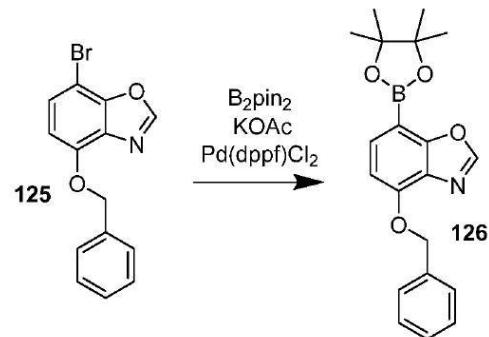
【化235】



【0398】

化合物124(1.425g、6.326mmol、1当量)を含む無水アセトニトリル(20mL)の溶液に、N-ブロモスクシンイミド(1.216g、6.832mmol、1.08当量)を0℃で分割して添加した。反応混合物を0℃でさらに30分間保持し、次いで、室温に加温し、一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製した。生成物を4-5%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。収率65%。LC-MS:[M+H]⁺の計算値303.99。実測値304.08。

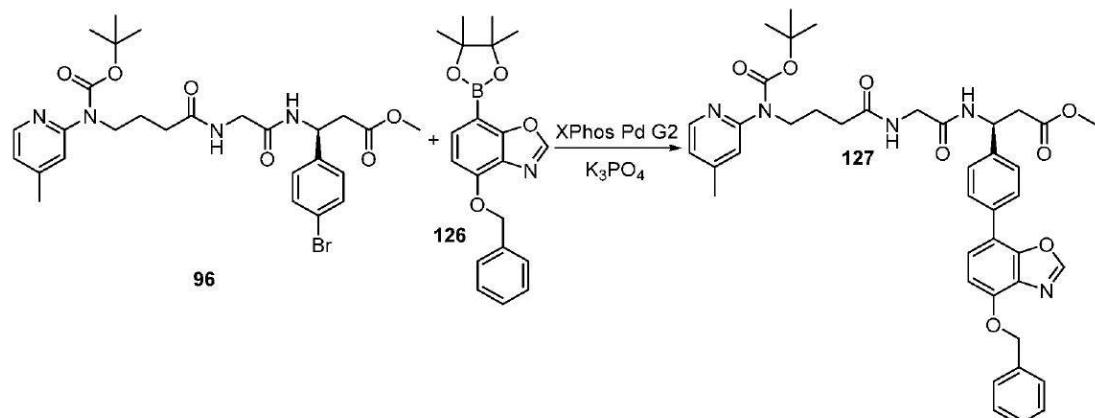
【化236】



【0399】

化合物125(1.339g、4.402mmol、1当量)、ビス(ピナコラト)ジボロン(2.236g、8.805mmol、2当量)、酢酸カリウム(0.864g、8.805mmol、2当量)、およびPd(dppf)Cl₂(161mg、0.220mmol、0.05当量)を含む15mLの無水1,4-ジオキサンの混合物を、100℃の窒素下で8時間攪拌した。濃縮後、残渣をH₂OとDCMとの間で分配し、水相をDCMで抽出し、合わせた有機層をブライントで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、15-20%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値352.16、実測値352.06。

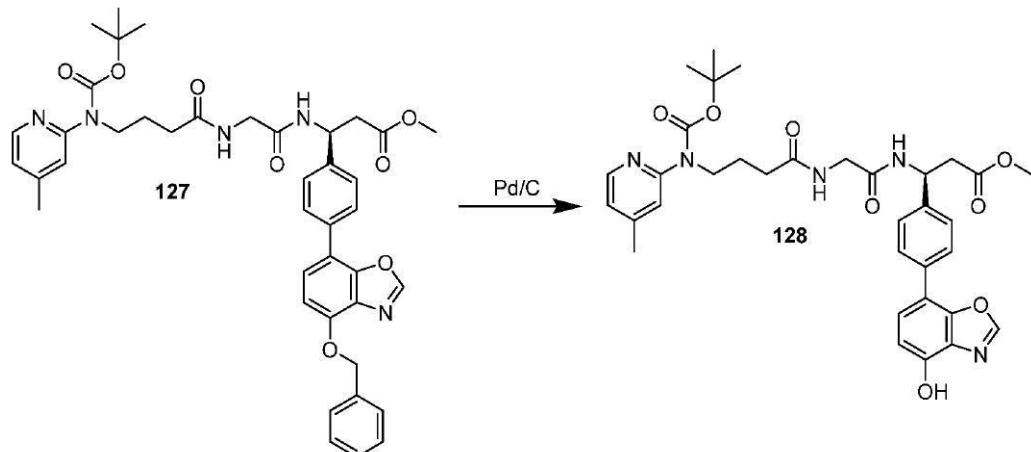
【化237】



【0400】

化合物96(200mg、0.338mmol、1.0当量)、化合物126(178mg、0.507mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(5.3mg、0.068mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(143mg、0.676mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で20分間バーリングし、反応物を40℃で1時間保持した。反応物を飽和NaHC_O₃(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値736.33、実測値736.89。

【化238】



【0401】

化合物127(0.219g、0.297mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(100mg)を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCellite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値646.28、実測値646.78。

10

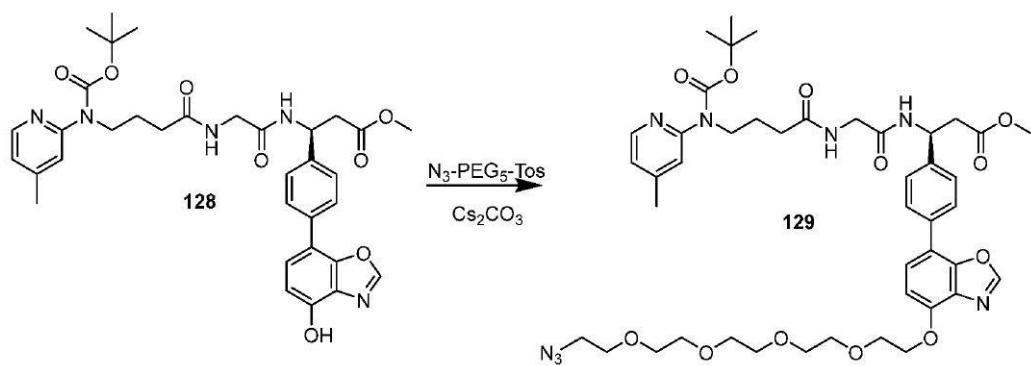
20

30

40

50

【化239】

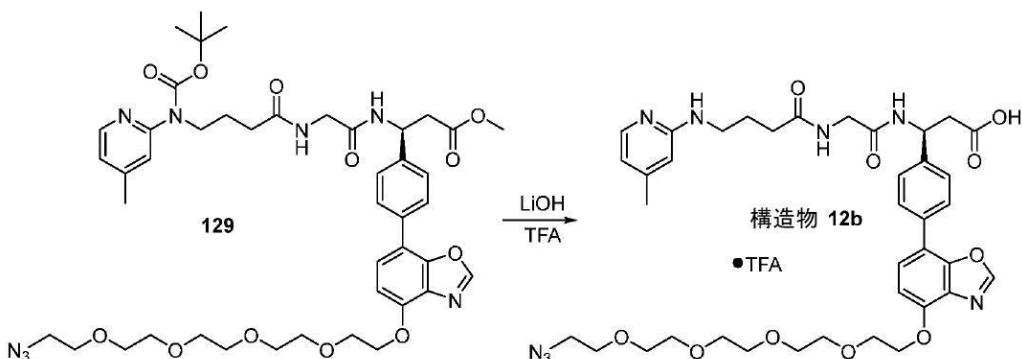


【0402】

化合物128(73mg、0.113mmol、1当量)およびアジド-PEG₅-OTs(94mg、0.226mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(74mg、0.226mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってケンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlas h(登録商標)によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は80%である。LC-MS:[M+H]⁺の計算値891.42、実測値892.00。

20

【化240】



【0403】

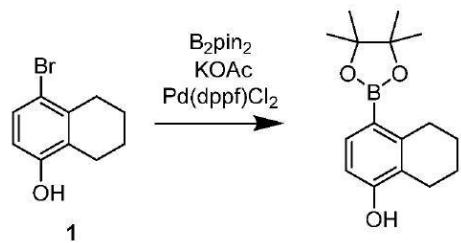
化合物129(43mg、0.0478mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(3.4mg、0.143mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を室温で1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値777.35、実測値777.94。

40

構造物13b((S)-3-(4-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)-5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

50

【化241】



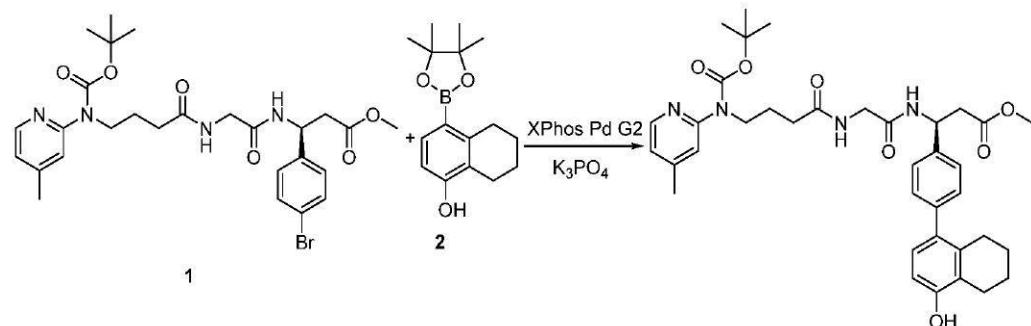
【0404】

10

化合物1 (300 mg、1.321 mmol、1当量)、ビス(ピナコラト)ジボロン (671 mg、2.642 mmol、2当量)、酢酸カリウム (389 mg、3.963 mmol、2当量)、および $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (48 mg、0.066 mmol、0.05当量) を含む10 mLの無水1,4-ジオキサンの混合物を、80°で窒素にて一晩攪拌した。濃縮後、残渣を H_2O と DCMとの間で分配し、水相を DCMで抽出し、合わせた有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用した Combiflash (登録商標) によって精製し、10%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC-MS: [M-H]⁻ の計算値 273.17、実測値 273.29。

【化242】

20



【0405】

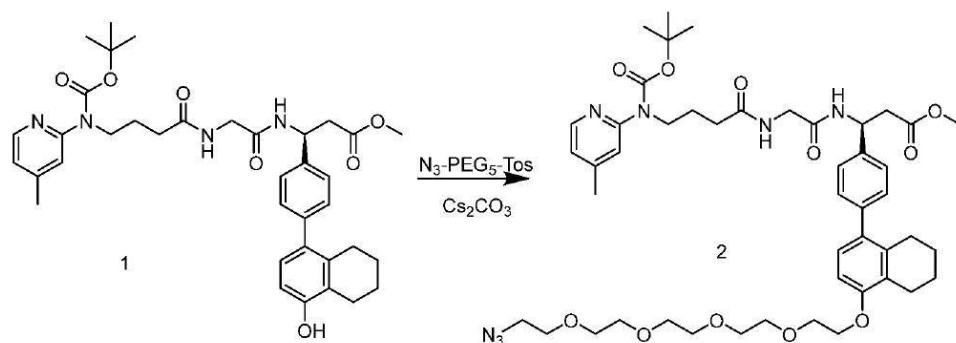
30

化合物1 (100 mg、0.169 mmol、1.0当量)、化合物2 (70 mg、0.253 mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2 (2.7 mg、0.0034 mmol、0.02当量)、および K_3PO_4 (72 mg、0.338 mmol、2.0当量) を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF (5 mL) および水 (1 mL) をシリンジで添加した。混合物を窒素で20分間バーピングし、反応物を40°で3時間保持した。次いで、反応物を室温に冷却し、一晩静置した。反応物を飽和 NaHCO_3 (10 mL) でクエンチし、水相を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用した Combiflash (登録商標) によって分離し、4-5%メタノールを含む DCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺ の計算値 659.34、実測値 659.57。

40

50

【化243】

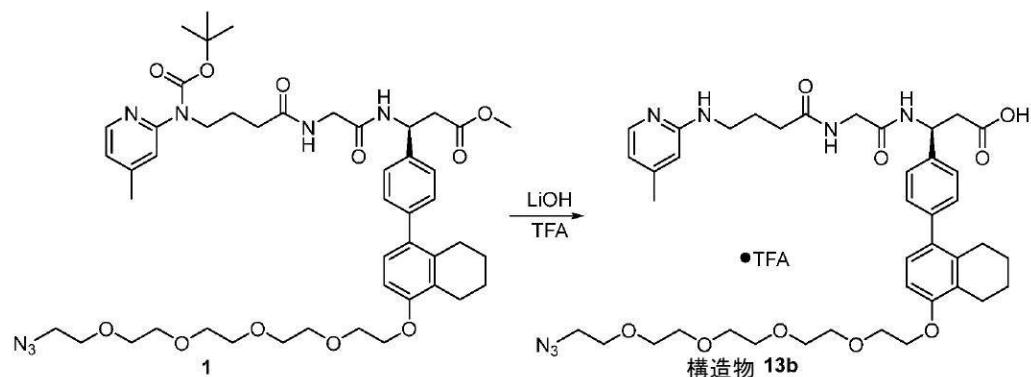


【0406】

化合物1(30mg、0.0455mmol、1当量)およびアジド-PEG₅-OTs(38mg、0.0911mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(30mg、0.0911mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は70%である。LC-MS:[M+H]⁺の計算値904.47、実測値904.88。

20

【化244】



【0407】

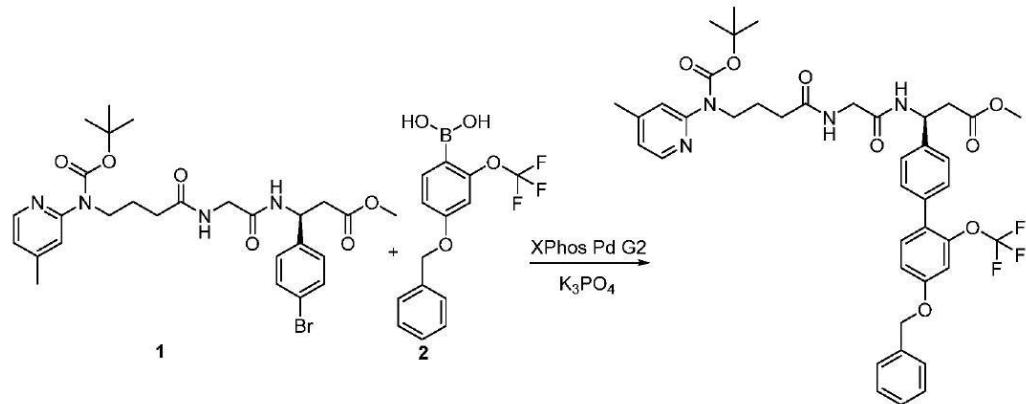
化合物1(29mg、0.0321mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(2.3mg、0.0962mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値790.41、実測値790.64。

40

構造物14b(((S)-3-(4'-(14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)-2'-(トリフルオロメトキシ)-[1,1'-ビフェニル]-4-イル)-3-(2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

50

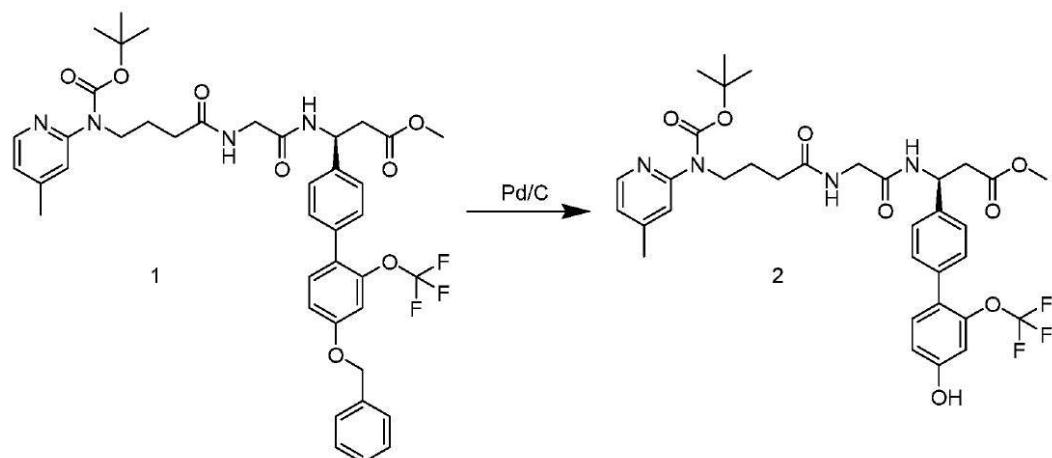
【化245】



【0408】

化合物1(150mg、0.253mmol、1.0当量)、化合物2(118mg、0.380mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(4mg、0.0051mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(107mg、0.507mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリンドリで添加した。混合物を窒素で10分間バーリングし、反応物を40℃で一晩保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値779.32、実測値779.65。

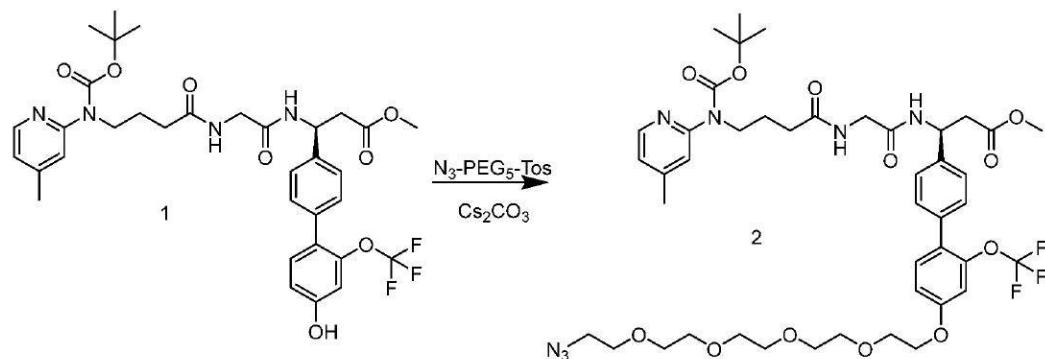
【化246】



【0409】

化合物1(0.19g、0.244mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(100mg)を室温で添加した。反応物を排気し、水素を再充填した(このプロセスを3回繰り返した)。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCellite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値689.27、実測値689.54。

【化247】

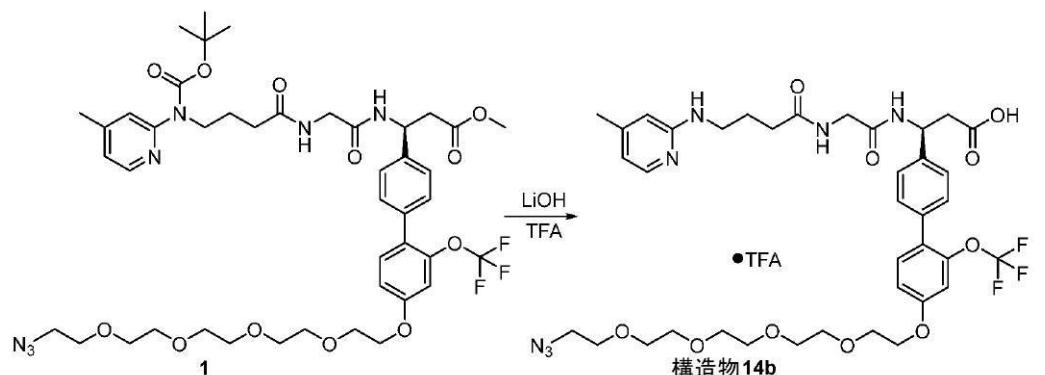


【0410】

化合物1(80mg、0.116mmol、1当量)およびアジド-PEG₅-OTs(97mg、0.232mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(76mg、0.232mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は82%であった。LC-MS:[M+H]⁺の計算値934.41、実測値935.04。

20

【化248】



【0411】

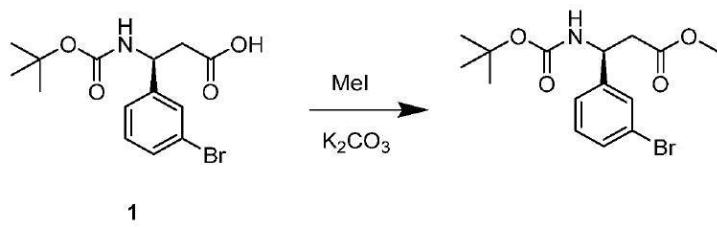
化合物1(90mg、0.0964mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(7mg、0.289mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバボレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値820.34、実測値820.89。

40

構造物15b((S)-3-(3-(5-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

50

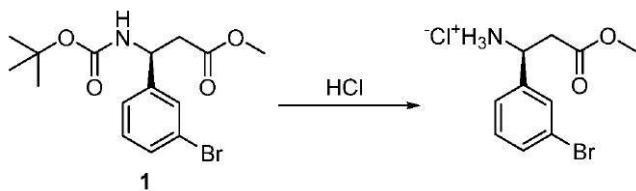
【化249】



【0412】

化合物1(1.0 g、2.90 mmol、1当量)および炭酸カリウム(0.60 g、4.36 mmol、1.5当量)を含む無水DMF(10 mL)の溶液に、ヨウ化メチル(362 uL、5.81 mmol、2.0当量)を室温で添加した。反応混合物を室温で1時間攪拌した。次いで、反応物を水(20 mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、15%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値358.06、実測値358.18。

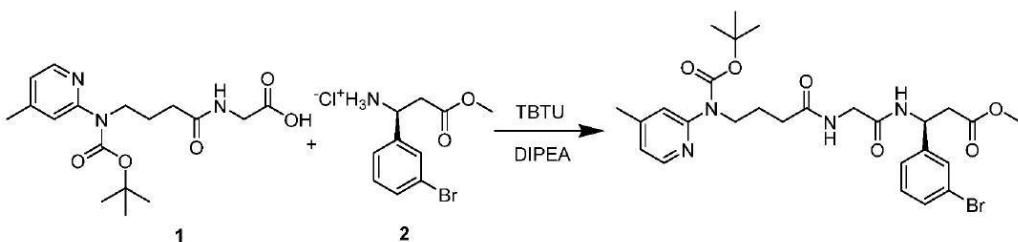
【化250】



【0413】

化合物1(858 mg、1.677 mmol、1.0当量)を氷浴によって冷却した。HClを含むジオキサン(8.4 mL、33.54 mmol、20当量)をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値258.01、実測値258.08。

【化251】



【0414】

化合物1(640 mg、1.821 mmol、1当量)、化合物2(590 mg、2.003 mmol、1.10当量)、およびTBTU(702 mg、2.185 mmol、1.20当量)を含む無水DMF(10 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.952 mL、5.464 mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値591.17、実測値591.40。

10

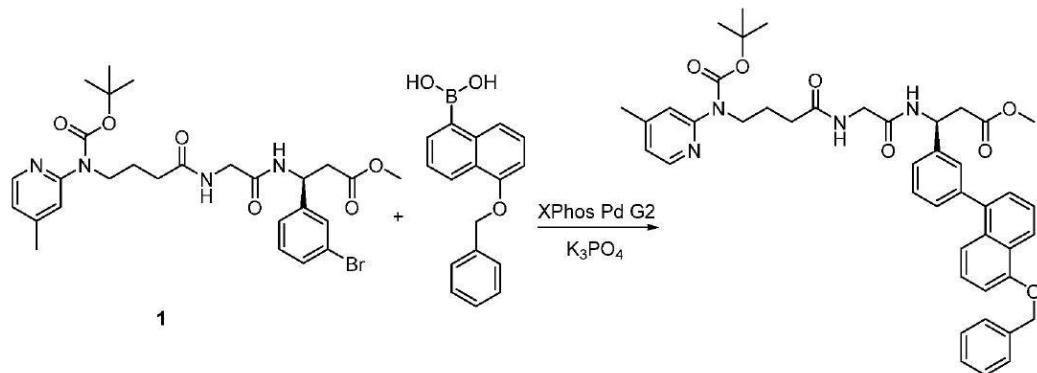
20

30

40

50

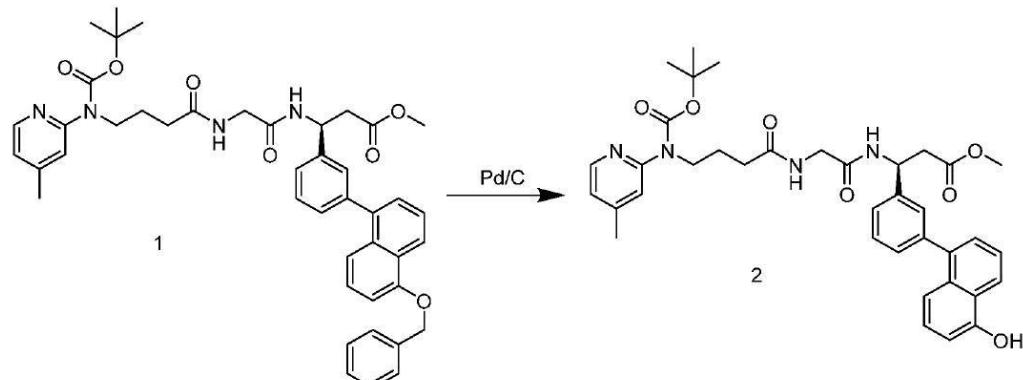
【化252】



【0415】

化合物1(150mg、0.253mmol、1.0当量)、化合物2(106mg、0.380mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(4mg、0.0051mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(107mg、0.507mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリンジで添加した。混合物を窒素で10分間バブリングし、反応物を40℃で2時間保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値745.35、実測値745.99。

【化253】



【0416】

化合物1(0.189g、0.253mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(100mg)を室温で添加した。反応物を排気し、水素を再充填した(このプロセスを3回繰り返した)。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCellite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.42。

10

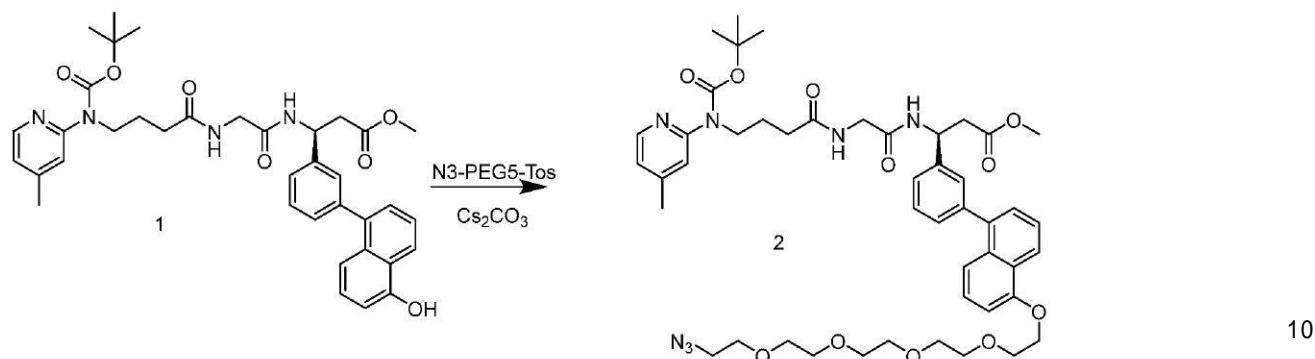
20

30

40

50

【化254】

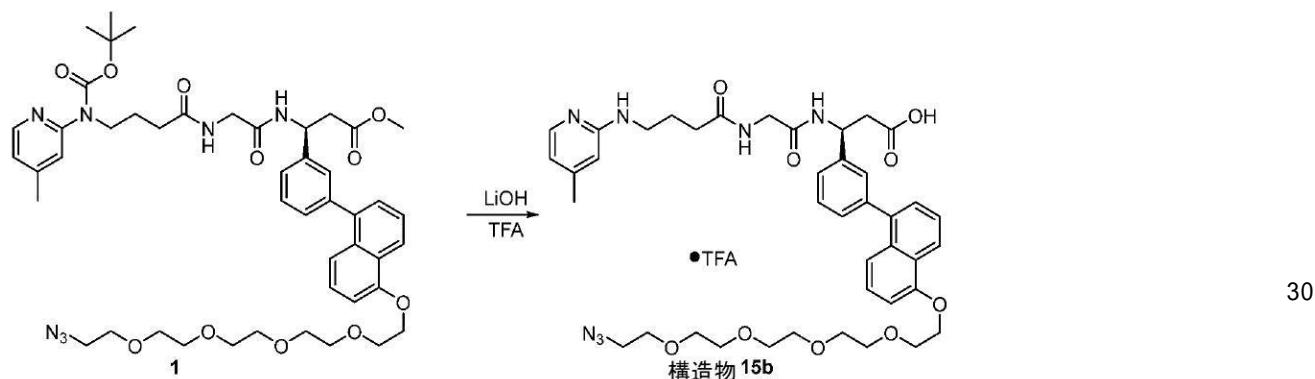


【0417】

化合物1(80mg、0.122mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(102mg、0.244mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(80mg、0.244mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、1-2%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は90%である。LC-MS: 計算値900.44、実測値901.10。

20

【化255】



【0418】

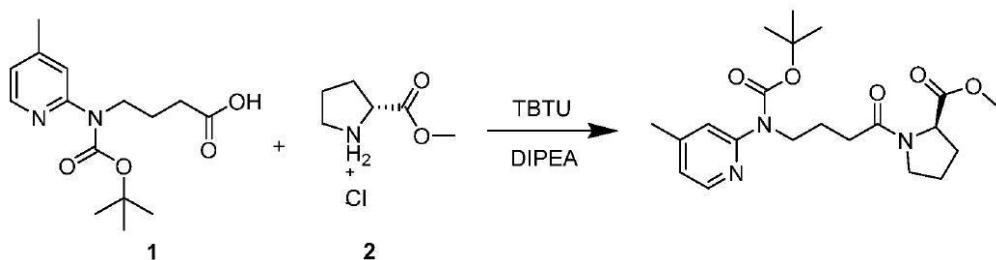
化合物1(100mg、0.111mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(8mg、0.333mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバボレーターによって除去した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値786.37、実測値786.95。

40

構造物16b((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((R)-1-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタノイル)ピロリジン-2-カルボキサミド)プロパン酸)の合成。

50

【化256】

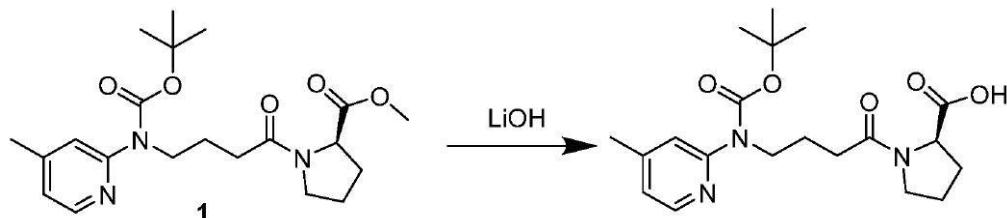


【0419】

化合物1 (500 mg、1.698 mmol、1当量)、化合物2 (295 mg、1.783 mmol、1.05当量)、およびTBTU (654 mg、2.038 mmol、1.2当量)を含む無水DMF (10 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (0.888 mL、5.096 mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液 (10 mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash (登録商標) によって精製し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。收率は98.43%である。LC-MS: [M + H]⁺の計算値406.23、実測値406.34。

10

【化257】

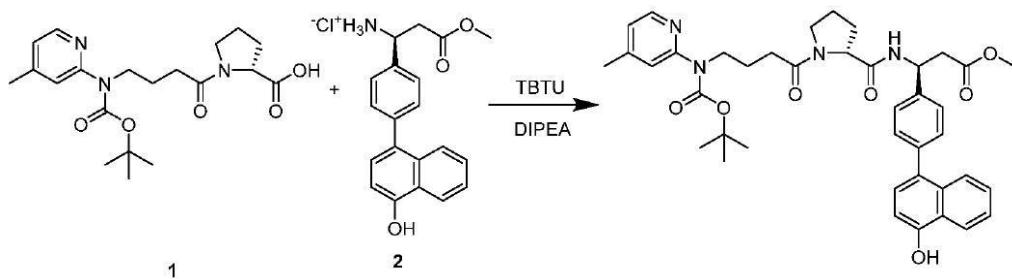


【0420】

化合物1 (0.678 g、1.672 mmol、1当量)を含むTHF (10 mL)およびH₂O (10 mL)の溶液に、水酸化リチウム (0.12 g、5.016 mmol、3当量)を0℃で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl (6 N)によってpH 3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値392.21、実測値392.39。

30

【化258】



40

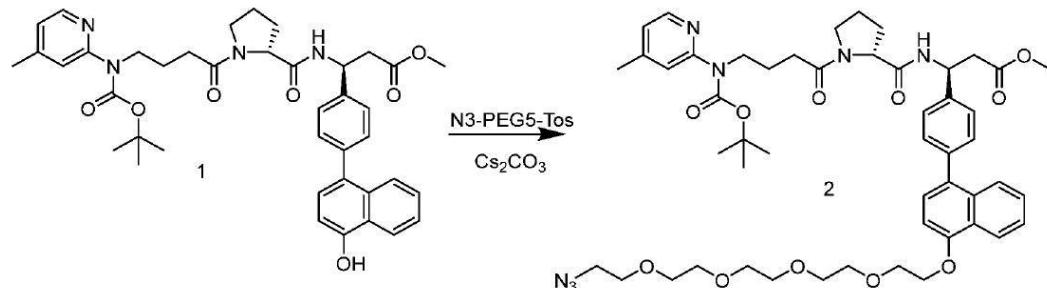
【0421】

化合物1 (130 mg、0.332 mmol、1当量)、化合物2 (125 mg、0.348 mmol、1.05当量)、およびTBTU (128 mg、0.398 mmol、1.2当量)を含む無水DMF (5 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (0.174 mL、0.996 mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温

50

し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)によってクエンチし、生成物を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は86%である。LC-MS:[M+H]⁺の計算値695.34、実測値695.93。

【化 2 5 9】



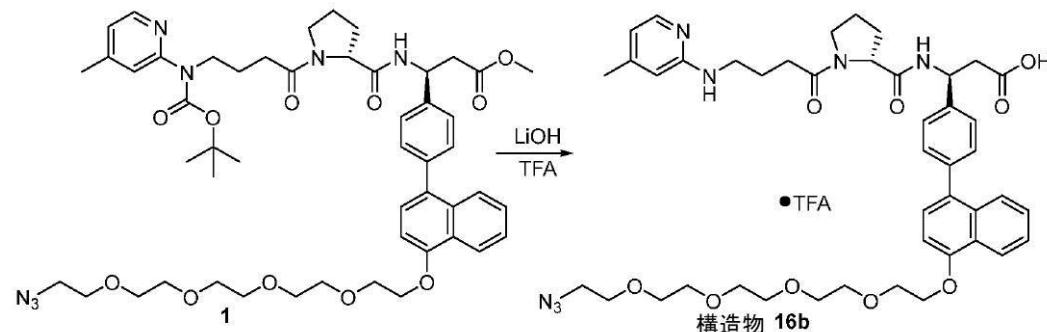
10

〔 0 4 2 2 〕

化合物1(80mg、0.115mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(96mg、0.230mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(75mg、0.230mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、4-5%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は60%である。

20

【化 2 6 0】



30

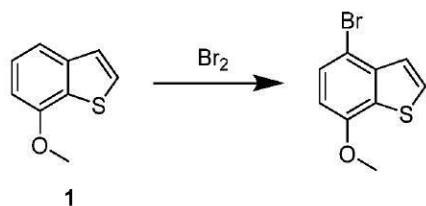
【 0 4 2 3 】

化合物 1 (65 mg、0.0691 mmol、1.0当量)を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (5 mg、0.207 mmol、3.0当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M + H]⁺ の計算値 826.41、実測値 827.01。

40

構造物 17b ((S)-3-(4-(7-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ベンゾ[b]チオフェン-4-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

【化261】

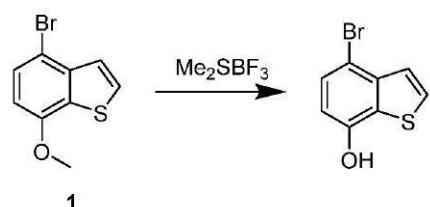


【0424】

臭素 (1.877 g、11.745 mmol、1.05当量) を含む乾燥テトラクロロメタン (20 mL) の溶液を、1.5時間にわたって化合物1 (1.837 g、11.186 mmol、1当量) を含むテトラクロロメタン (20 mL) の攪拌溶液に0で滴下して添加。0でさらに1時間後、有機層を水およびブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮して残渣を得て、これを固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash (登録商標) によって精製した。生成物を、純粋なヘキサンを使用して不純物と共に溶出した。

10

【化262】



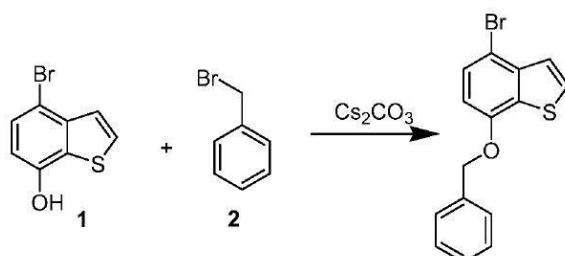
20

【0425】

化合物1 (2.70 g、11.105 mmol、1.0当量) のジクロロメタン (20 mL) 溶液に、窒素雰囲気下にて0で、三フッ化ホウ素ジメチルスルフィド錯体 (3.5 mL、33.317 mmol、3.0当量) を添加し、室温で20時間攪拌した。反応混合物を0に冷却し、飽和 NH_4Cl 溶液 (20 mL) でクエンチした。水相を酢酸エチル ($3 \times 20 \text{ mL}$) で抽出し、有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash (登録商標) によって分離し、5%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC-MS: [M-H]⁻の計算値226.92、実測値227.03。

30

【化263】



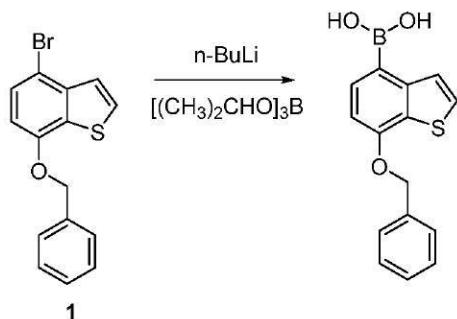
40

【0426】

化合物1 (1.838 g、8.023 mmol、1当量)、および化合物2 (1.906 mL、16.04 mmol、2当量) を含む無水DMF (10 mL) の溶液に、 Cs_2CO_3 (5.228 g、16.04 mmol、2当量) を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応物を水 (20 mL) によってクエンチし、水相を酢酸エチル ($3 \times 10 \text{ mL}$) で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash (登録商標) によって分離し、2-3%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。

50

【化264】



1

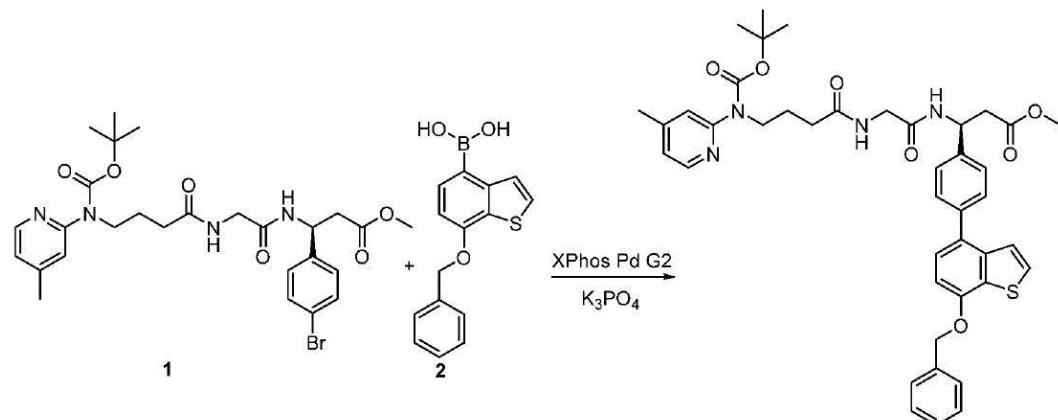
10

【0427】

化合物1(2.22g、6.954mmol、1.0当量)を含む無水THF(20mL)溶液に、 $n\text{-BuLi}$ を含むヘキサン(4.17mL、10.43mmol、1.5当量)を-78で滴下して添加した。反応物を-78でさらに1時間保持した。トリイソプロピルボラート(2.40mL、10.43mmol、1.5当量)を、次いで、混合物中に-78で添加した。次いで、反応物を室温まで加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和 NH_4Cl 溶液(20mL)によってクエンチし、pH3に調整した。水相をEtOAc(3×20mL)で抽出し、有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、4-6%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M-H]⁻の計算値283.07、実測値283.20。

20

【化265】



30

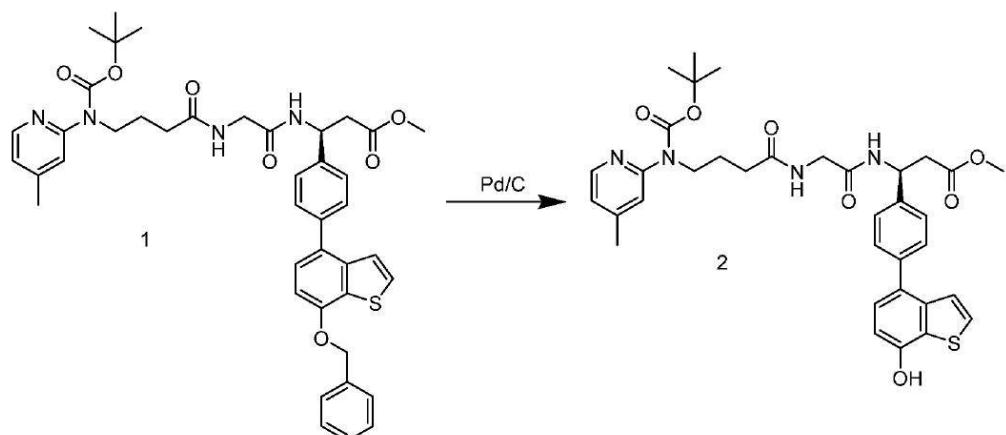
【0428】

化合物1(400mg、0.676mmol、1.0当量)、化合物2(288mg、1.01mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(10mg、0.0135mmol、0.02当量)、および K_3PO_4 (287mg、1.352mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(8mL)および水(2mL)をシリンジで添加した。混合物を窒素で10分間バブリングし、反応物を40で2時間保持した。反応物を飽和 NaHCO_3 溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値751.31、実測値751.84。

40

50

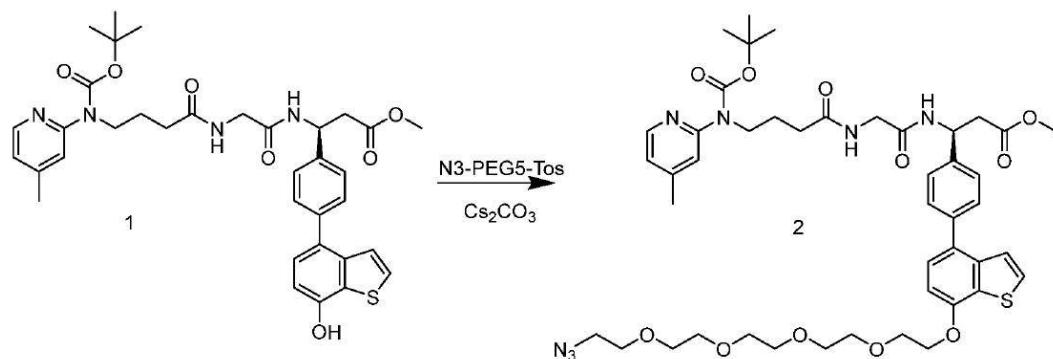
【化266】



【0429】

化合物1(0.50 g、0.666 mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10 mL)の溶液に、10%Pd/C(100 mg)を室温で添加した。反応物を排気し、水素を再充填した(このプロセスを3回繰り返した)。反応混合物を室温で一晩攪拌した。触媒をCelite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、5%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値661.26、実測値661.73。

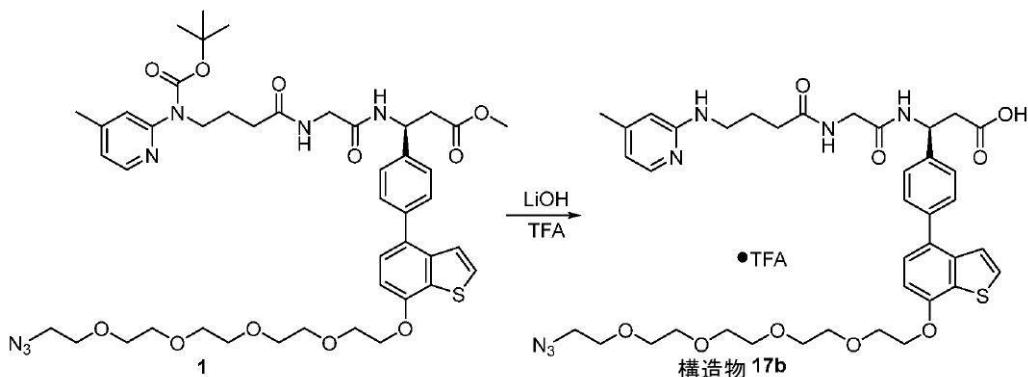
【化267】



【0430】

化合物1(130 mg、0.196 mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(164 mg、0.393 mmol、2当量)を含む無水DMF(2 mL)の溶液に、Cs₂CO₃(128 mg、0.393 mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10 mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は82%である。LC-MS: [M+H]⁺の計算値906.40、実測値906.95。

【化 2 6 8】



10

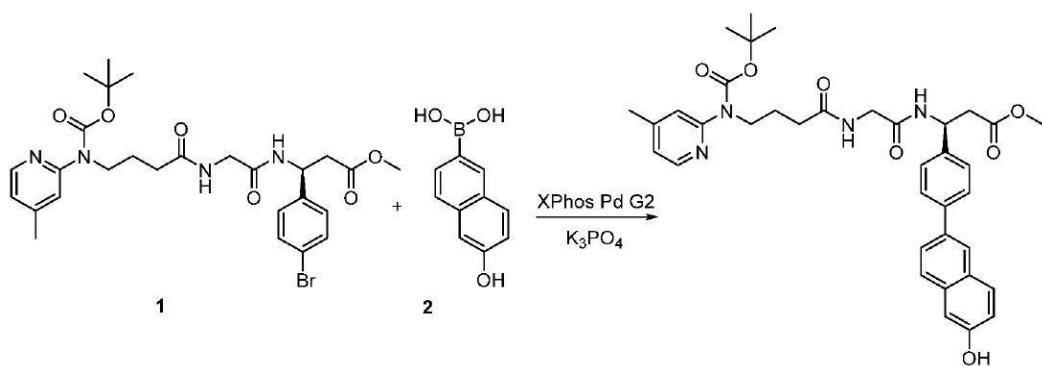
(0 4 3 1)

化合物1(147mg、0.162mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(12mg、0.486mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(2mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値792.33、実測値792.89。

20

構造物 1 8 b ((S) - 3 - (4 - (6 - ((14 - アジド - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキサテトラデシル) オキシ) ナフタレン - 2 - イル) フェニル) - 3 - (2 - ((4 - (4 - メチルピリジン - 2 - イル) アミノ) ブタンアミド) アセトアミド) プロパン酸) の合成。

【化 2 6 9】



30

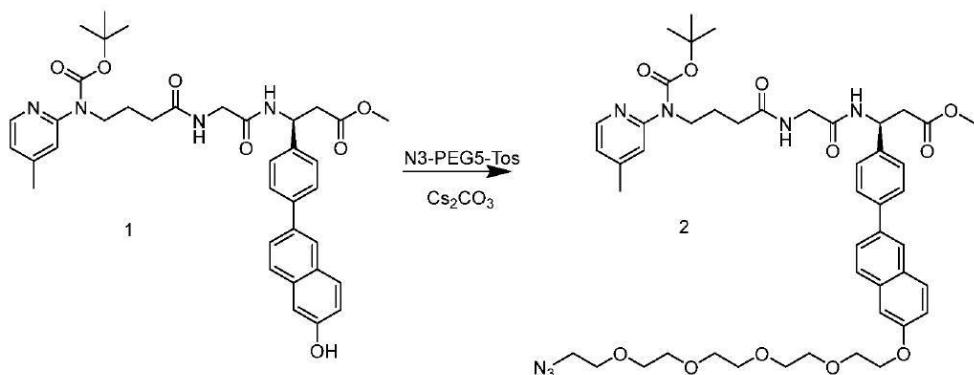
【 0 4 3 2 】

化合物1(150mg、0.253mmol、1.0当量)、化合物2(71.5mg、0.380mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(4mg、0.0051mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(107mg、0.507mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で10分間バブリングし、反応物を40℃で2時間保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombi Glassh(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.87。

40

50

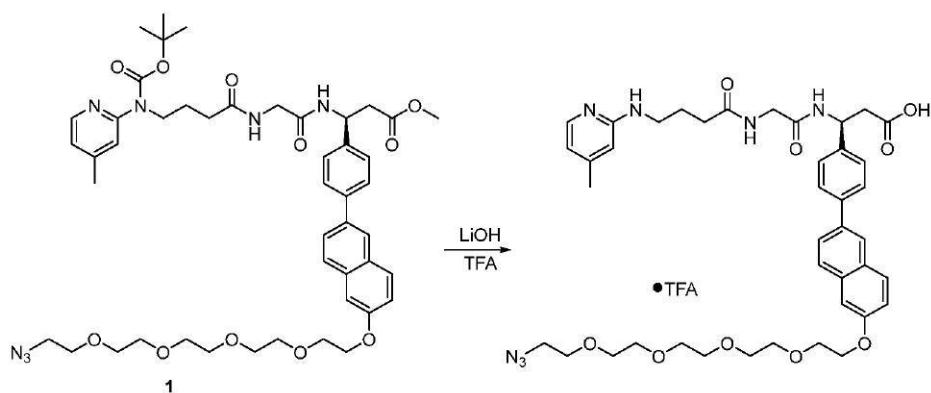
【化270】



【0433】

化合物1(160mg、0.244mmol、1当量)およびアジド-PEG5-O-Ts(204mg、0.488mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(160mg、0.488mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、60℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は30%であった。LC-MS: [M+H]⁺の計算値900.44、実測値901.01。

【化271】

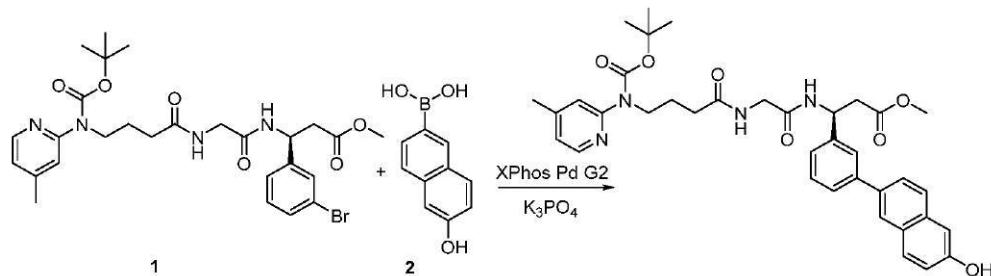


【0434】

化合物1(67mg、0.0744mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(5mg、0.223mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(2mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、10%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値786.37、実測値786.86。

構造物19b((S)-3-(3-(6-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-2-イル)フェニル)-3-(2-((4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

【化272】



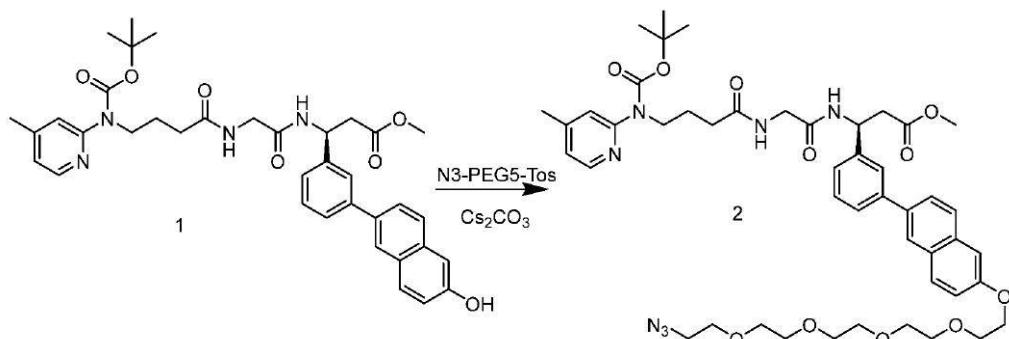
10

【0435】

化合物1(150mg、0.253mmol、1.0当量)、化合物2(71.5mg、0.380mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(4mg、0.0051mol、0.02当量)、およびK₃PO₄(107mg、0.507mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリンドリで添加した。混合物を窒素で10分間バーリングし、反応物を40℃で2時間保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash h(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.78。

20

【化273】



30

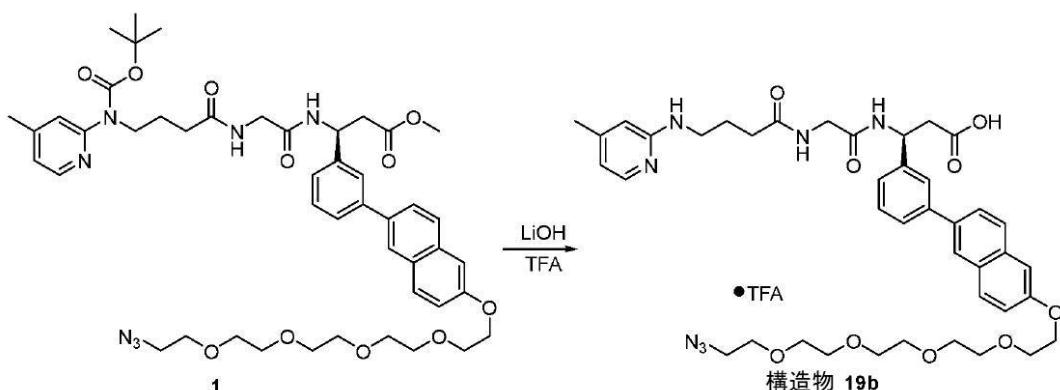
【0436】

化合物1(104mg、0.158mmol、1当量)およびアジド-PEG5-O-Ts(132mg、0.317mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(103mg、0.317mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、60℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash h(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値900.44、実測値901.01。

40

50

【化274】

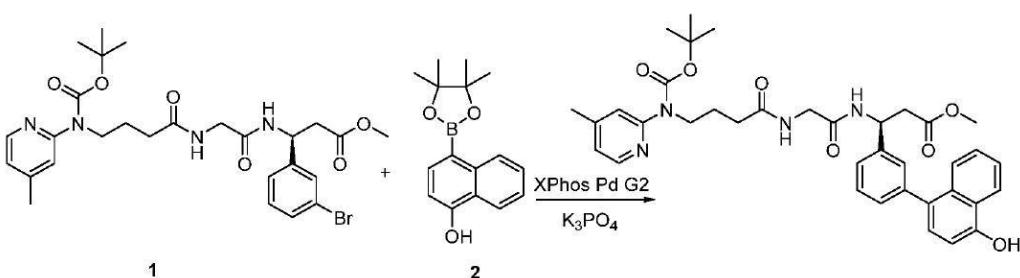


【0437】

化合物1(125mg、0.138mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(10mg、0.416mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、12%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値786.37、実測値786.86。

構造物20b((S)-3-(3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-((4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

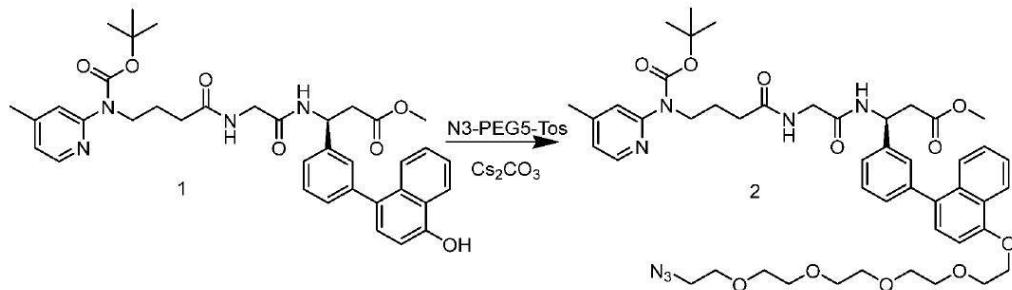
【化275】



【0438】

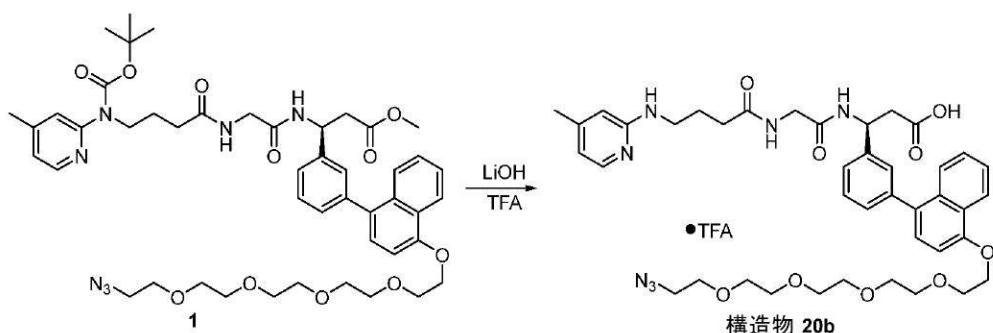
化合物1(150mg、0.253mmol、1.0当量)、化合物2(102mg、0.380mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(4mg、0.0051mmol、0.02当量)、およびK₃PO₄(107mg、0.507mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリンジで添加した。混合物を窒素で10分間バーリングし、反応物を40℃で2時間保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値655.78。

【化 2 7 6】



10

化合物1(160mg、0.244mmol、1当量)およびアジド-PEG₅-OTs(204mg、0.488mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(159mg、0.488mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、60℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってケンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlask(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値900.44、実測値901.01。



30

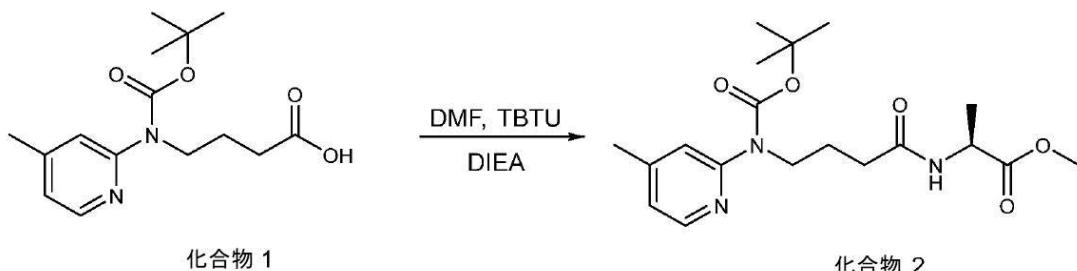
[0 4 4 0]

化合物1(125mg、0.138mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(10mg、0.416mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、8-12%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値786.37、実測値786.86。

構造物 22b ((S)-3-(4-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((S)-2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタニアミド)プロパンアミド)プロパン酸)の合成。

40

【化 2 7 8 】

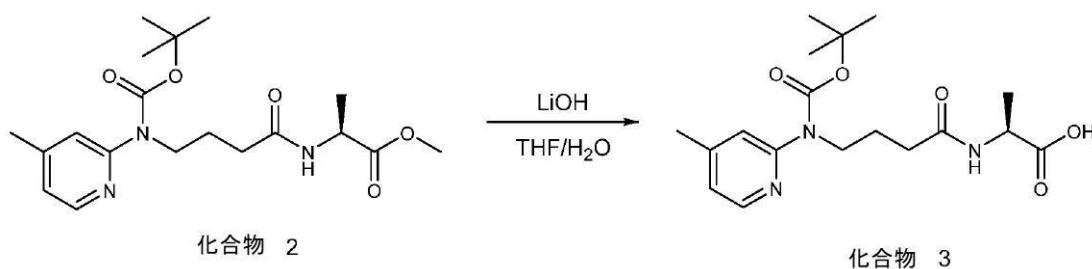


(0 4 4 1)

化合物1(250mg、0.85mmol)、L-アラニンメチルエスチル塩酸塩(130mg、0.93mmol)、およびTBTU(327mg、1.02mmol)を含むDMF(2mL)の溶液に、Dipea(329mg、444μL、2.55mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、1時間攪拌した。反応物を飽和NH₄Cl(水)溶液(0.75mL)および脱イオン水(1mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(3mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×3mL)でさらに抽出した。合わせた有機相を、飽和NaHCO₃(水)溶液(2mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-5%メタノール含有DCMと共に使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。化合物2の収率: 294mg(91%)。C₁₉H₂₉N₃O₅についての[M+H]計算値: 380.46、実測値: 380.33。

10

【化 2 7 9】



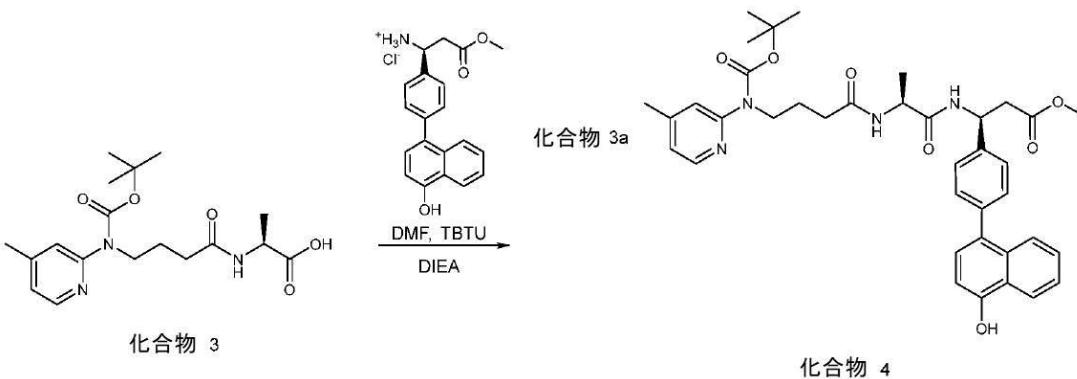
20

(0 4 4 2)

化合物2(294mg、0.77mmol)を含むTHF(4.5mL)および脱イオン水(3mL)の0%の溶液に、水酸化リチウム(56mg、2.32mmol)を含む脱イオン水(1mL)の溶液を添加した。反応物を室温に加温し、40分間攪拌した。反応混合物を、6M HCl(水溶液)でpH=3に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。化合物3を、さらに精製せずに使用した。化合物3の収率：267mg(94%)。C₁₈H₂₇N₃O₅についての[M+H]⁺計算値：366.43、実測値：366.19。

30

【化 2 8 0】

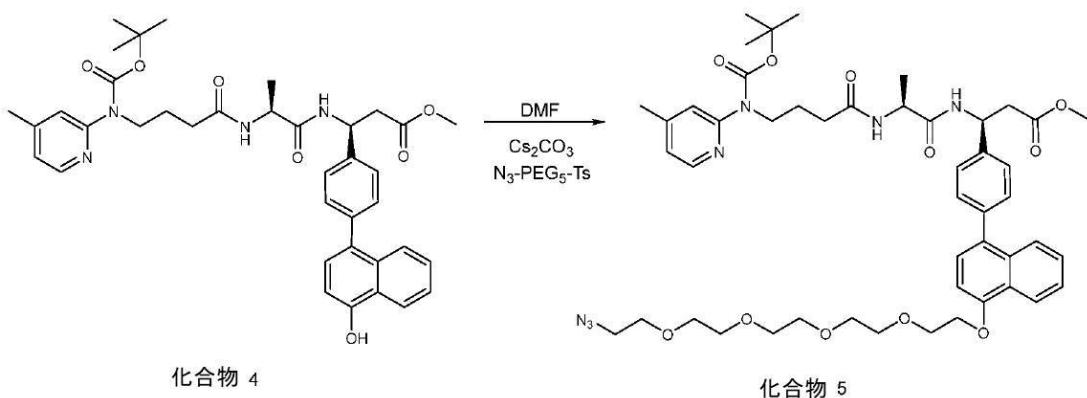


40

【 0 4 4 3 】

化合物3(267mg、0.73mmol)、化合物3a(288mg、0.80mmol)、およびTBTU(282mg、0.88mmol)を含むDMF(3mL)の溶液に、DIPSEA(283mg、382μL、2.19mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、1時間搅拌した。反応混合物を、飽和NH₄Cl(水)溶液(1.5mL)および脱イオン水(1.5mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(12mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×12mL)でさらに抽出した。合わせた有機相を、半飽和NH₄Cl(水)溶液(10mL)、半飽和NaHCO₃(水)溶液(10mL)、および飽和NaCl(水)溶液(10mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-5%メタノール含有DCMと共に使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。化合物4の収率：342mg(70%)。C₃₈H₄₄N₄O₇についての[M+H]⁺計算値：669.79、実測値：669.74。

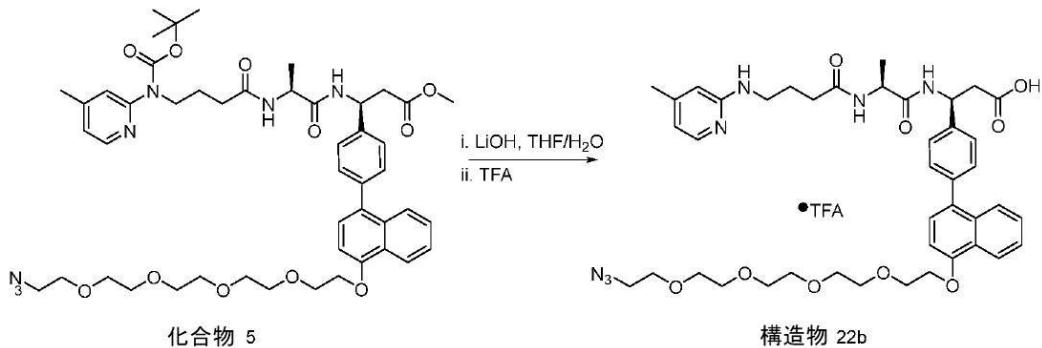
【化 2 8 1】



【 0 4 4 4 】

化合物4(150mg、0.22mmol)およびアジド-PEG₅-OTs(187mg、0.49mmol)を含む無水DMF(1.2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(146mg、0.49mmol)を添加した。反応混合物を60℃で3時間攪拌した。反応混合物を飽和NaHCO₃(水)溶液(10mL)および脱イオン水(5mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(7.5mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×7.5mL)でさらに抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-4%メタノール含有DCMと共に使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。化合物5の収率: 142mg(69%)。C₄₈H₆₃N₇O₁₁についての[M+H]計算値: 915.06、実測値: 914.96。

【化 2 8 2】



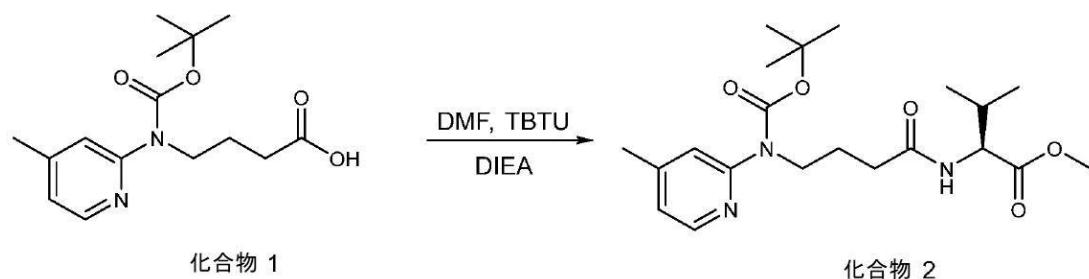
【 0 4 4 5 】

化合物 5 (142 mg, 0.16 mmol) を含む THF (2 mL) および脱イオン水 (1.5 mL) の 0° の溶液に、水酸化リチウム (11 mg, 0.47 mmol) を含む

脱イオン水（0.5 mL）の溶液を添加した。反応物を室温に加温し、1時間攪拌した。反応混合物を、6M HCl（水溶液）でpH=3に酸性化した。水相を酢酸エチル（3×8 mL）で抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。この粗残渣に、TFA（2.0 mL）および水（100 μL）を添加した。反応混合物を室温で1.5時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をアセトニトリル：トルエン[1:1]（2×20 mL）で同時蒸発させた。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-13%メタノール含有DCMと共に使用したCombiflash（登録商標）によって分離した。構造物22bの収率：100 mg (80%)。C₄₂H₅₃N₇O₉についての[M+H]⁺計算値：800.92、実測値：800.81。

構造物 2 3 b ((S) - 3 - (4 - (4 - ((14 - アジド - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキサテトラデシル) オキシ) ナフタレン - 1 -イル) フェニル) - 3 - ((S) - 3 - メチル - 2 - (4 - ((4 - メチルピリジン - 2 -イル) アミノ) プタンアミド) プタンアミド) プロパン酸) の合成。

【化 2 8 3】



10

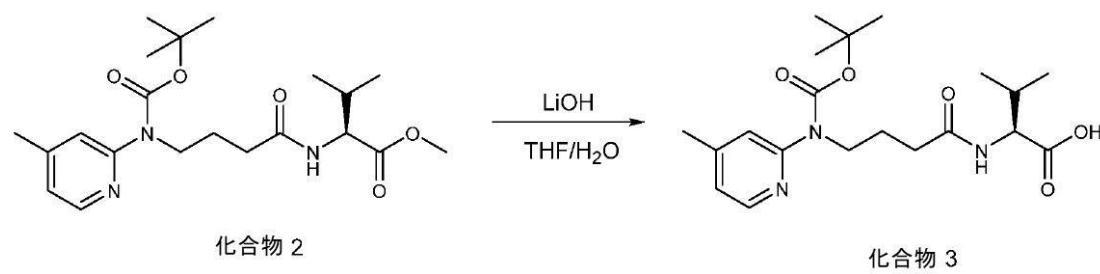
20

[0 4 4 6]

化合物1(250mg、0.85mmol)、L-バリンメチルエステル塩酸塩(157mg、0.93mmol)、およびTBTU(327mg、1.02mmol)を含むDMF(2mL)の溶液に、DIPSEA(329mg、444μL、2.55mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、1時間攪拌した。反応物を飽和NH₄C₁(水)溶液(0.75mL)および脱イオン水(1mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(3mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×3mL)でさらに抽出した。合わせた有機相を、飽和NaHCO₃(水)溶液(2mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-5%メタノール含有DCMと共に使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。化合物2の収率: 297mg(86%)。C₂₁H₃₃N₃O₅についての[M+H]計算値: 408.51、実測値: 407.87。

30

【化 2 8 4】



40

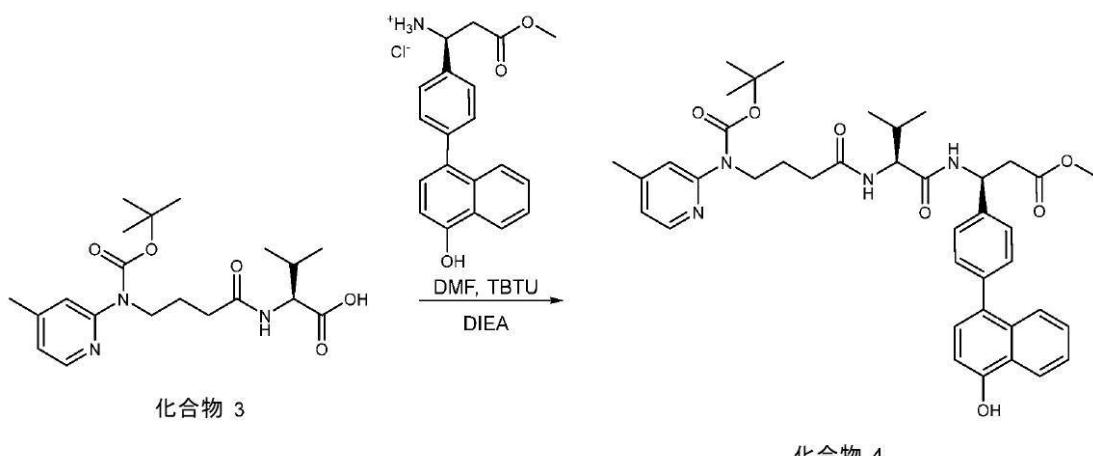
【 0 4 4 7 】

化合物2(297mg、0.73mmol)を含むTHF(4.5mL)および脱イオン水(3mL)の0%の溶液に、水酸化リチウム(52mg、2.19mmol)を含む脱イオン水(1mL)の溶液を添加した。反応物を室温に加温し、40分間搅拌した。反応混合物を、6M HCl(水溶液)でpH=3に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。化合物3を、收率100%と仮定してさらに精製せずに使用した。C₂₀H₃₁N₃O₅

50

についての [M + H] 計算値: 394.49、実測値: 393.83。

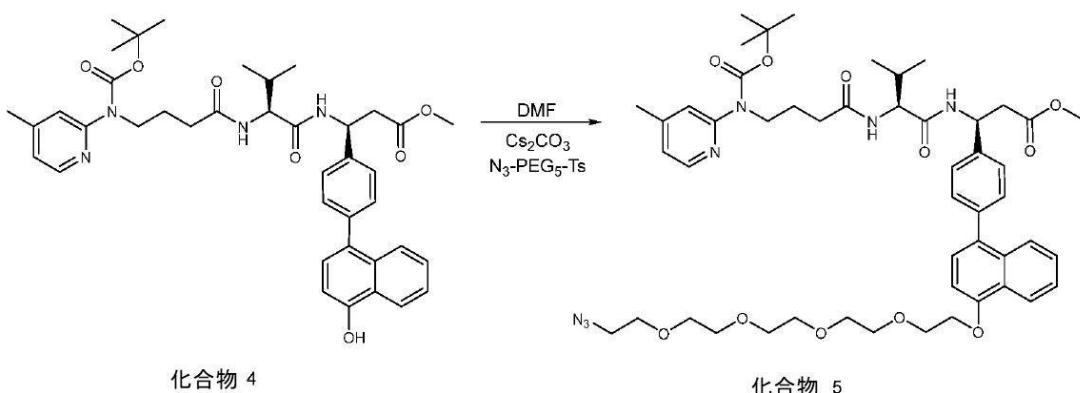
【化 2 8 5】



[0 4 4 8]

化合物3(287mg、0.73mmol)、化合物3a(287mg、0.80mmol)、およびTBTU(281mg、0.88mmol)を含むDMF(3mL)の溶液に、DIPSEA(283mg、382μL、2.19mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、1時間搅拌した。反応混合物を饱和NH₄Cl(水)溶液(2.5mL)および脱イオン水(2.5mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(1.2mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×1.2mL)でさらに抽出した。合わせた有機相を、半饱和NH₄Cl(水)溶液(1.0mL)、半饱和NaHCO₃(水)溶液(1.0mL)、および饱和NaCl(水)溶液(1.0mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-5%メタノール含有DCMと共に使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。化合物4の收率：374mg(74%)。C₄₀H₄₈N₄O₇についての[M+H]計算値：697.84、実測値：697.46。

【化 2 8 6】

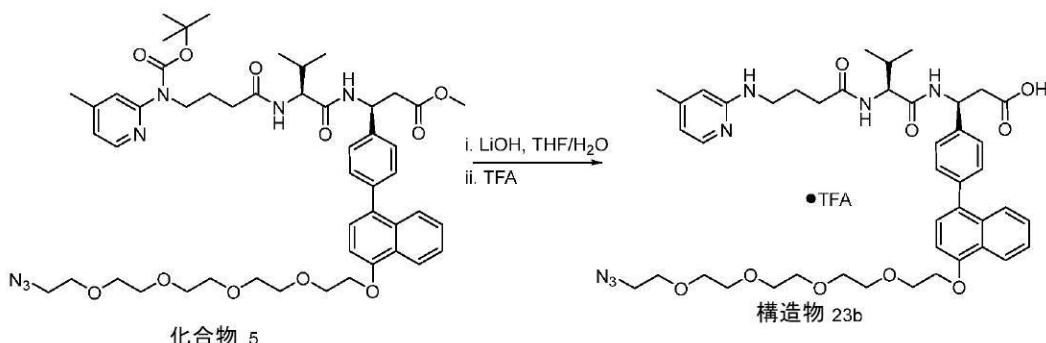


[0 4 4 9]

化合物4(150mg、0.215mmol)およびアジド-PEG5-OTS(180mg、0.43mmol)を含む無水DMF(1.2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(140mg、0.43mmol)を添加した。反応混合物を60℃で3時間攪拌した。反応混合物を飽和NaHCO₃(水)溶液(10mL)および脱イオン水(5mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(7.5mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×7.5mL)でさらに抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-4%メタノール含有DCMと共に使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。化合物5の収率：134mg(

6.6 %)。C₅H₆N₇O₁₁についての [M + H] 計算値: 943.12、実測値: 942.96。

【化 2 8 7】



10

(0 4 5 0)

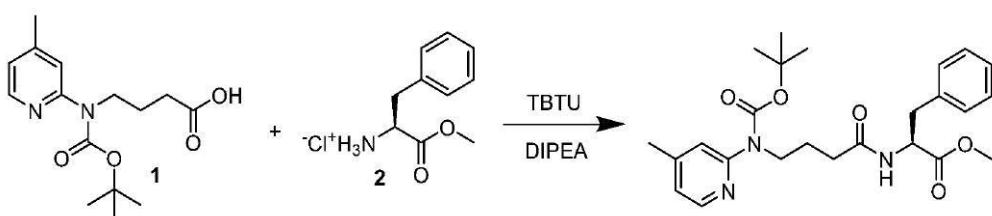
化合物5(134mg、0.14mmol)を含むTHF(2mL)および脱イオン水(1.5mL)の0%の溶液に、水酸化リチウム(10mg、0.43mmol)を含む脱イオン水(0.5mL)の溶液を添加した。反応物を室温に加温し、1時間搅拌した。反応混合物を、6M HCl(水溶液)でpH=3に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×8mL)で抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。この粗残渣に、TFA(1.9mL)および水(95μL)を添加した。反応混合物を室温で1.5時間搅拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をアセトニトリル：トルエン[1:1](2×20mL)で同時蒸発させた。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-10%メタノール含有DCMと共に使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。構造物23bの収率：36mg(30.5%)。C₄₄H₅₇N₇O₉についての[M+H]⁺計算値：828.97、実測値828.90。

構造物 2 4 b ((S) - 3 - (4 - (14 - アジド - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキサテトラデシル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) フェニル) - 3 - ((S) - 2 - (4 - ((4 - メチルピリジン - 2 - イル) アミノ) プタンアミド) - 3 - フェニルプロパンアミド) プロパン酸) の合成。

20

【化 2 8 8】

30

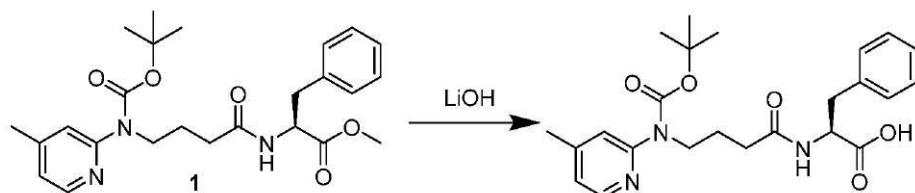


【 0 4 5 1 】

化合物1(200mg、0.679mmol、1当量)、化合物2(161mg、0.747mmol、1.2当量)、およびTBTU(261mg、0.815mmol、1.2当量)を含む無水DMF(4mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.355mL、2.038mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値456.24、実測値456.12。

40

【化289】

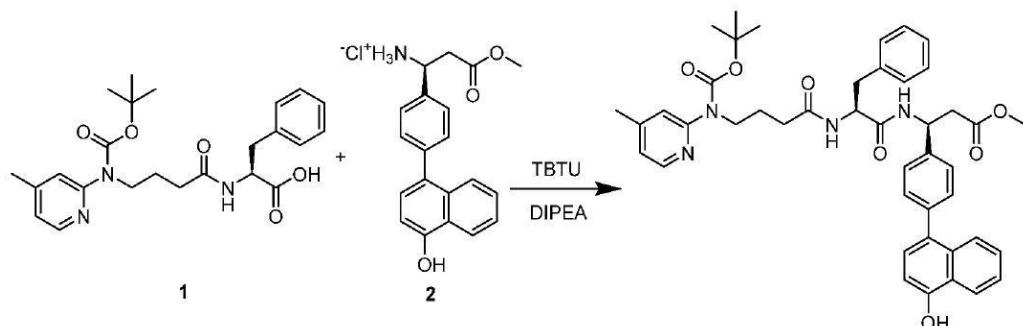


【0452】

化合物1(300mg、0.658mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH₂O(5mL)の溶液に、水酸化リチウム(47mg、1.975mmol、3当量)を0℃で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値442.23、実測値442.08。

10

【化290】



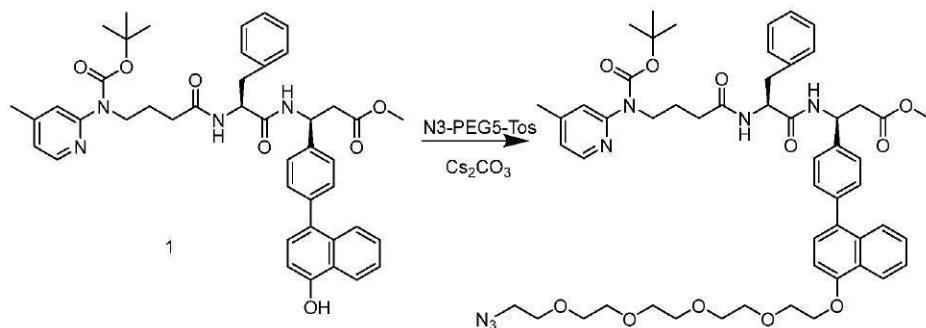
20

【0453】

化合物1(290mg、0.656mmol、1当量)、化合物2(258mg、0.722mmol、1.1当量)、およびTBTU(253mg、0.788mmol、1.2当量)を含む無水DMF(5mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.343mL、1.970mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値745.35、実測値745.63。

30

【化291】



40

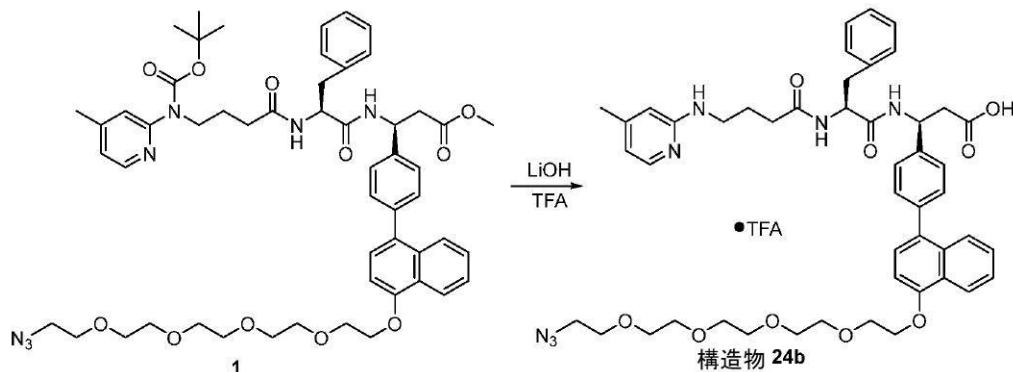
【0454】

化合物1(113mg、0.151mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(126mg、0.303mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、

50

Cs_2CO_3 (99 mg、0.303 mmol、2当量) を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値990.49、実測値990.87。

【化292】

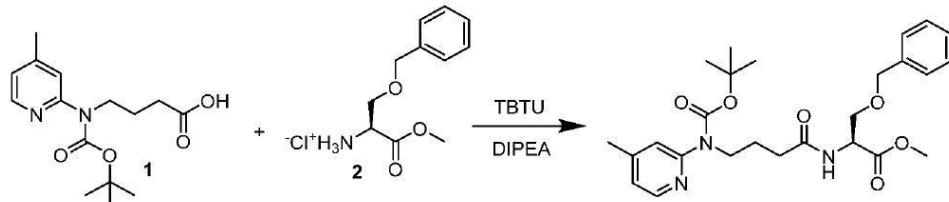


【0455】

化合物1(140 mg、0.141 mmol、1.0当量)を含むTHF(2 mL)および水(2 mL)の溶液に、水酸化リチウム(10 mg、0.424 mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。 $\text{HC}1$ (6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA(4 mL)およびDCM(2 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、6-10%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値876.42、実測値876.88。

構造物25b((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((S)-3-(ベンジルオキシ)-2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)プロパンアミド)プロパン酸)の合成。

【化293】



【0456】

化合物1(100 mg、0.339 mmol、1当量)、化合物2(92 mg、0.373 mmol、1.1当量)、およびTBTU(131 mg、0.407 mmol、1.2当量)を含む無水DMF(4 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.178 mL、1.019 mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO_3 溶液(10 mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値486.25、実測値486.37。

10

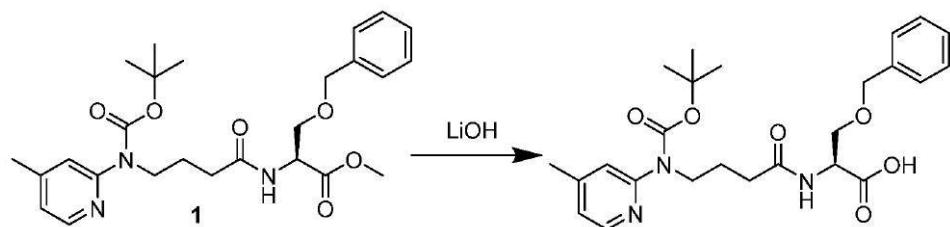
20

30

40

50

【化294】

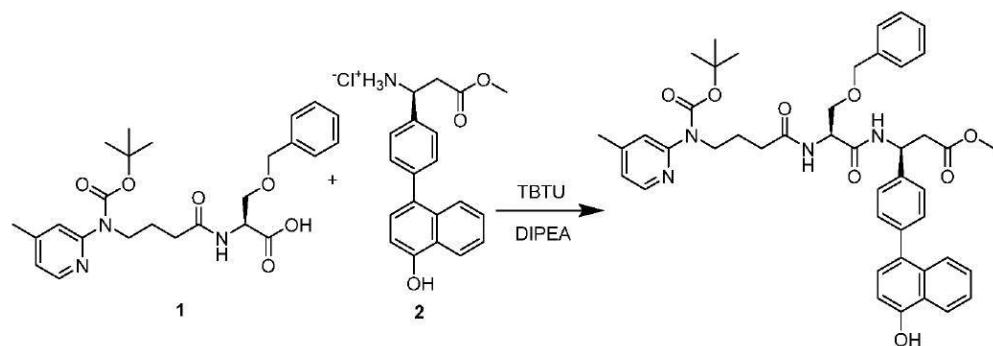


【0457】

化合物1(160mg、0.329mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH₂O(5mL)の溶液に、水酸化リチウム(23mg、0.988mmol、3当量)を0℃で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値472.24、実測値472.32。

10

【化295】



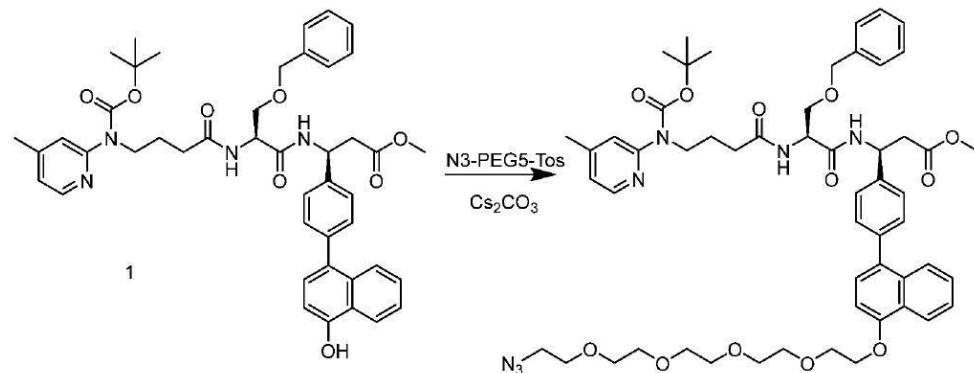
20

【0458】

化合物1(1600mg、0.339mmol、1当量)、化合物2(133mg、0.373mmol、1.1当量)、およびTBTU(130mg、0.815mmol、1.2当量)を含む無水DMF(3mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.177mL、1.018mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値775.36、実測値775.87。

30

【化296】



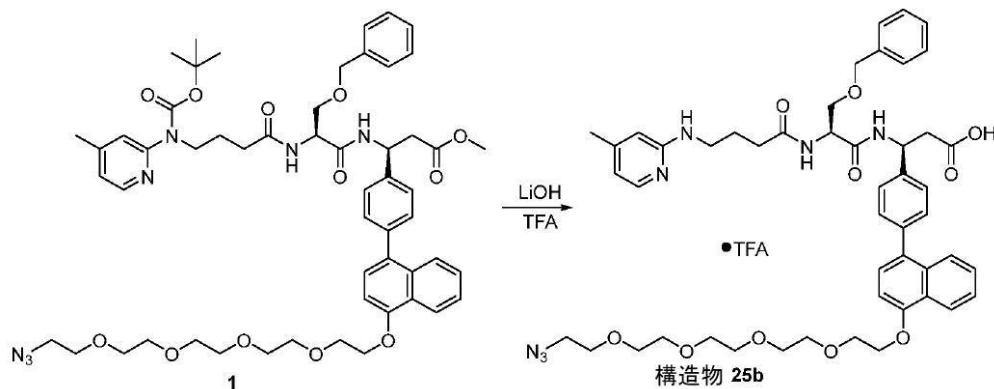
40

【0459】

50

化合物1(140mg、0.180mmol、1当量)およびアジド-PEG5-O-Ts(150mg、0.361mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(117mg、0.361mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってケンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値1020.50、実測値1020.88。

【化 2 9 7】

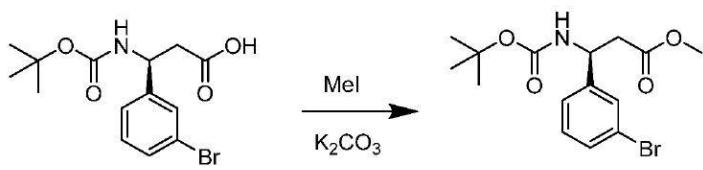


[0 4 6 0]

化合物1(170mg、0.166mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(12mg、0.499mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(4mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、6-10%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値906.43、実測値906.95。

構造物 27b ((S)-3-(3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)-3,5-ジメチル-1H-ピラゾール-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。

【化 2 9 8 】

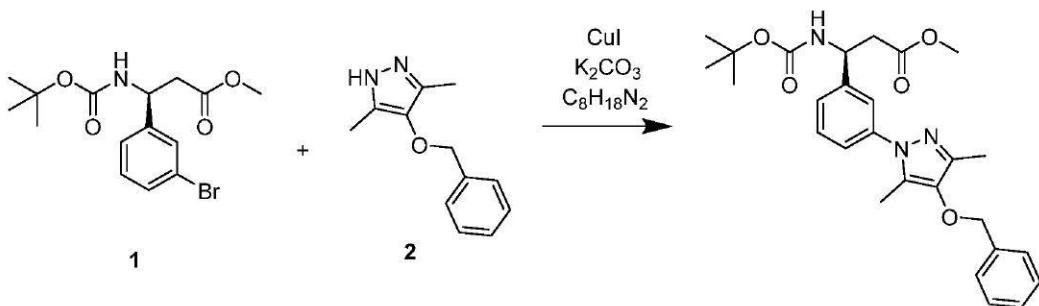


【 0 4 6 1 】

化合物1(3.0g、8.71mmol、1当量)および炭酸カリウム(1.806g、13.073mmol、1.5当量)を含む無水DMF(10mL)の溶液に、ヨウ化メチル(1.085mL、17.431mmol、2.0当量)を室温で添加した。反応混合物を室温で1時間攪拌した。次いで、反応物を水(20mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、15%酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC-MS: [M+]

$[M + H]^+$ の計算値 358.06、実測値 358.15。

【化 299】



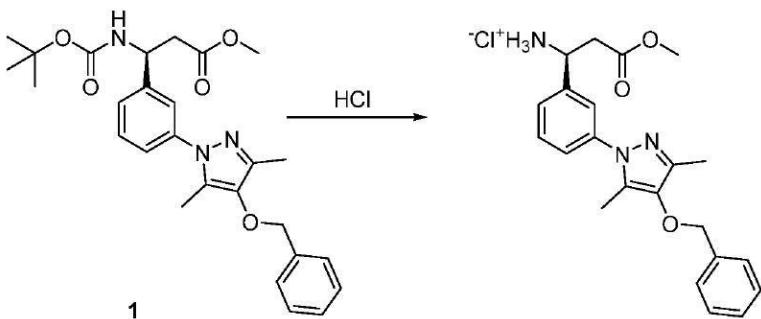
10

【0462】

化合物 1 (200 mg、0.558 mmol、1当量)、化合物 2 (169 mg、0.837 mmol、1.5当量)、ヨウ化銅(I) (106 mg、0.558 mmol、1.0当量)、炭酸カリウム (154 mg、1.116 mmol、2.0当量)、および trans - N,N' - デミチルシクロヘキサン - 1,2 - ディアミン (88 μL、0.558 mmol、1.0当量) を含む無水 DMF (5 mL) の混合物に、窒素を3回再充填した。混合物を120 °C で24時間攪拌した。混合物を室温に冷却し、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用した CombiFlash (登録商標) によって分離し、30 - 40% 酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC - MS : [M + H]⁺ の計算値 480.24、実測値 480.43。

20

【化 300】

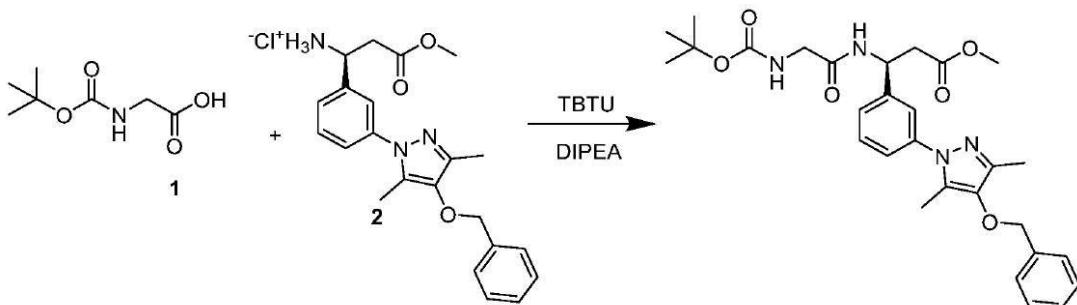


30

【0463】

化合物 1 (30 mg、0.0626 mmol、1.0当量) を氷浴によって冷却した。HCl を含むジオキサン (0.313 mL、1.25 mmol、2.0当量) をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC - MS : [M + H]⁺ の計算値 380.19、実測値 380.33。

【化 301】



40

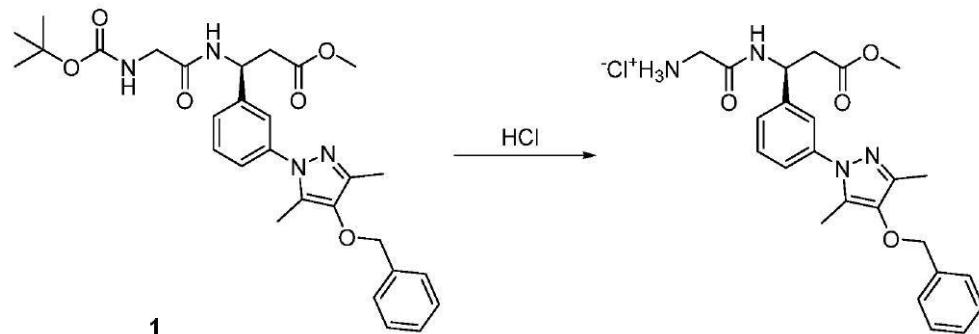
【0464】

化合物 1 (10 mg、0.0571 mmol、1当量)、化合物 2 (26 mg、0.0

50

628 mmol、1.1当量)、およびTBTU(22mg、0.0685mmol、1.2当量)を含む無水DMF(1mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.030mL、0.171mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を饱和NaHCO₃溶液(5mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値537.26、実測値537.41。

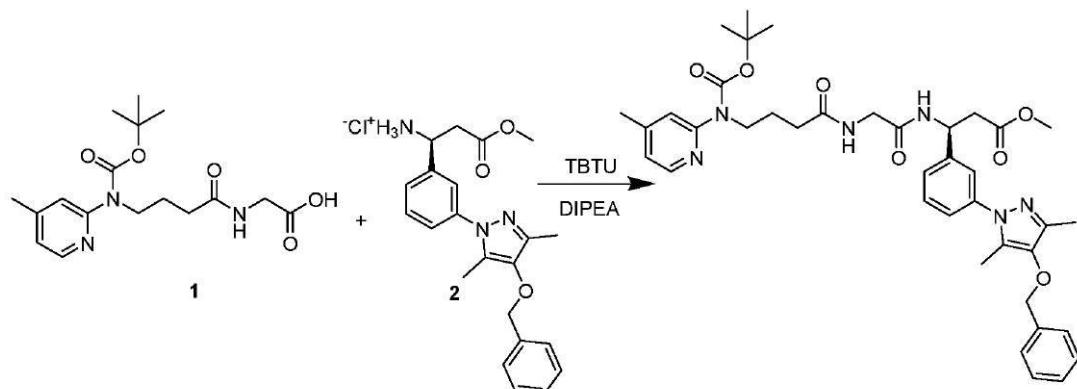
【化302】



【0465】

化合物1(30mg、0.0626mmol、1.0当量)を氷浴によって冷却した。HClを含むジオキサン(0.313mL、1.25mmol、2.0当量)をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値437.21、実測値437.31。

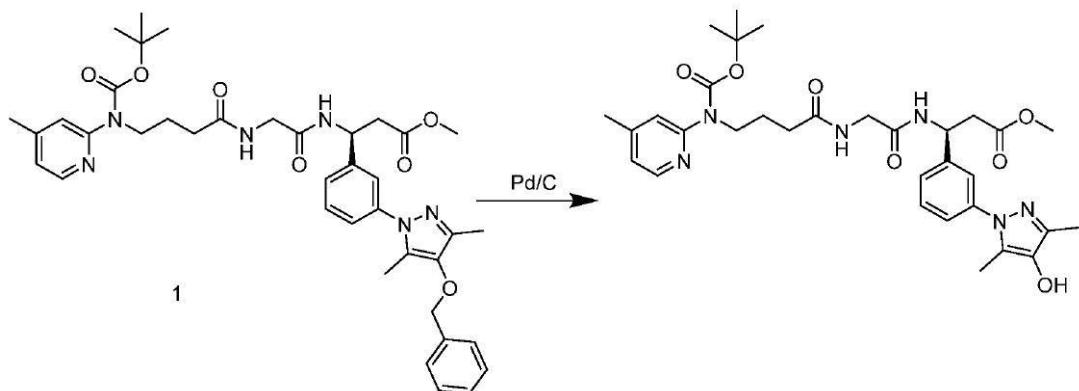
【化303】



【0466】

化合物1(20mg、0.0569mmol、1当量)、化合物2(26mg、0.0626mmol、1.1当量)、およびTBTU(22mg、0.0683mmol、1.2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.03mL、0.170mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を饱和NaHCO₃溶液(5mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、4-5%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値713.36、実測値713.85。

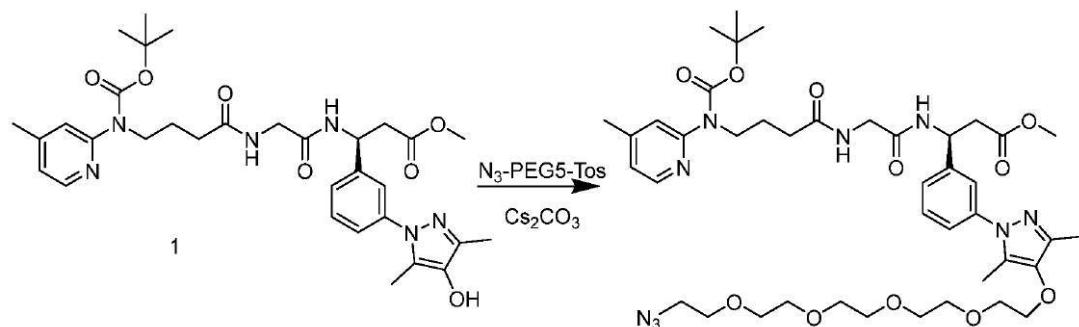
【化304】



【0467】

化合物1(0.033g、0.0463mmol、1当量)を含む酢酸エチル(10mL)の溶液に、10%Pd/C(20mg)を室温で添加した。反応混合物を水素ガスと共に室温で一晩攪拌した。触媒をCelite(登録商標)での濾過によって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値623.31、実測値623.56。

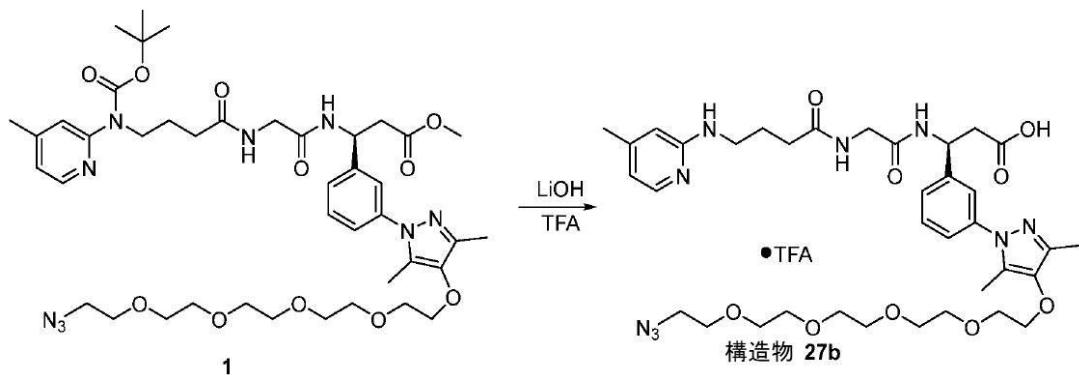
【化305】



【0468】

化合物1(16mg、0.0257mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTS(22mg、0.0514mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(17mg、0.0514mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値868.45、実測値868.96。

【化306】

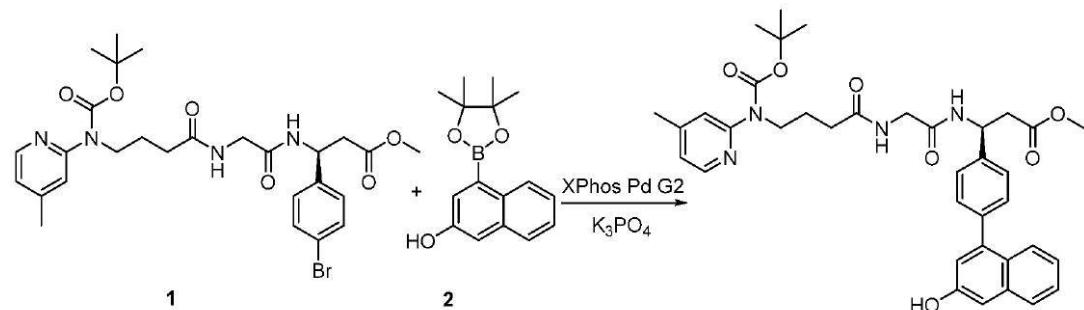


【0469】

化合物1(5mg、0.0058mmol、1.0当量)を含むTHF(1mL)および水(1mL)の溶液に、水酸化リチウム(1mg、0.0346mmol、6.0当量)を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(1mL)およびDCM(1mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値754.38、実測値755。

構造物29b((S)-3-(4-(14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-(2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)アセトアミド)プロパン酸)の合成。
10

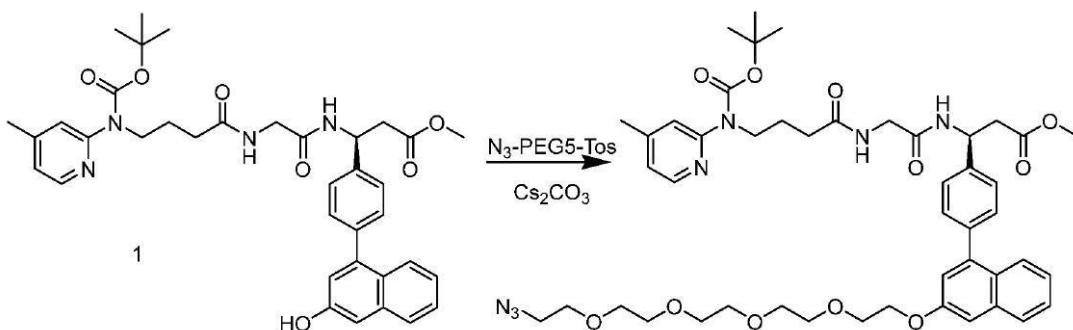
【化307】



【0470】

化合物1(100mg、0.169mmol、1.0当量)、化合物2(68mg、0.253mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(3mg、0.0034mmol、0.002当量)、およびK₃PO₄(72mg、0.338mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きスクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した(このプロセスを合計で3回繰り返した)。次いで、THF(5mL)および水(1mL)をシリングで添加した。混合物を窒素で10分間バーリングし、反応物を40℃で2時間保持した。反応物を水(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値655.31、実測値656。
30

【化308】

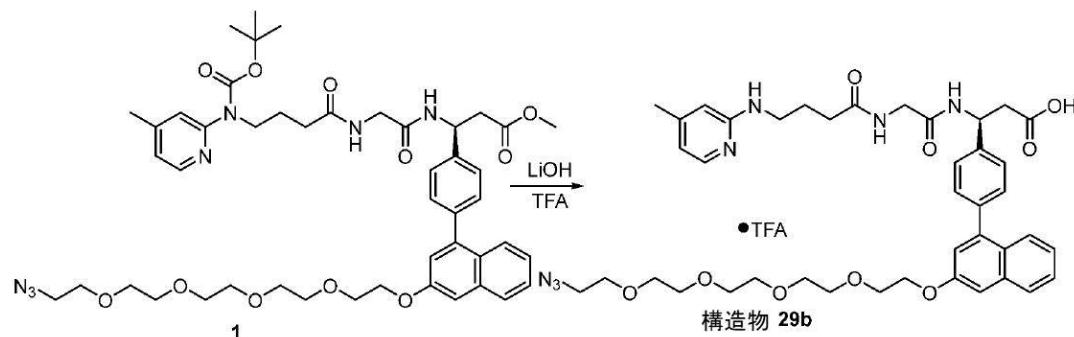


【0471】

化合物1(100mg、0.152mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(127mg、0.305mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(100mg、0.305mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエ
50

ンチし、水層を酢酸エチル（ 3×5 mL）で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用した CombiFlash（登録商標）によって精製し、3 - 4 %メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS : [M + H]⁺の計算値 900.44、実測値 901。

【化309】



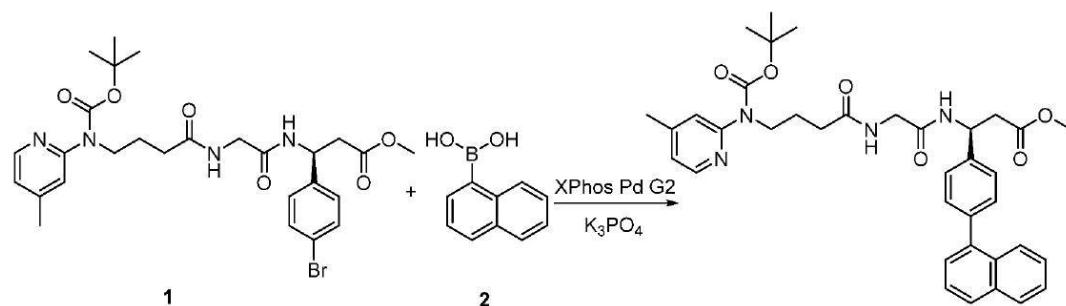
10

【0472】

化合物1（125 mg、0.138 mmol、1.0当量）を含むTHF（1 mL）および水（1 mL）の溶液に、水酸化リチウム（10 mg、0.416 mmol、3.0当量）を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間攪拌した。HCl（6 N）によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc（3 × 10 mL）で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA（3 mL）およびDCM（2 mL）を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒を、ロータリー-エバポレーターによって除去した。生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS : [M + H]⁺の計算値 786.37、実測値 787。

構造物30b ((S)-N-(1-アジド-21-(4-(ナフタレン-1-イル)フェニル)-19,23-ジオキソ-3,6,9,12,15-ペンタオキサ-18,22-ジアザテトラコサン-24-イル)-4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)の合成。

【化310】



30

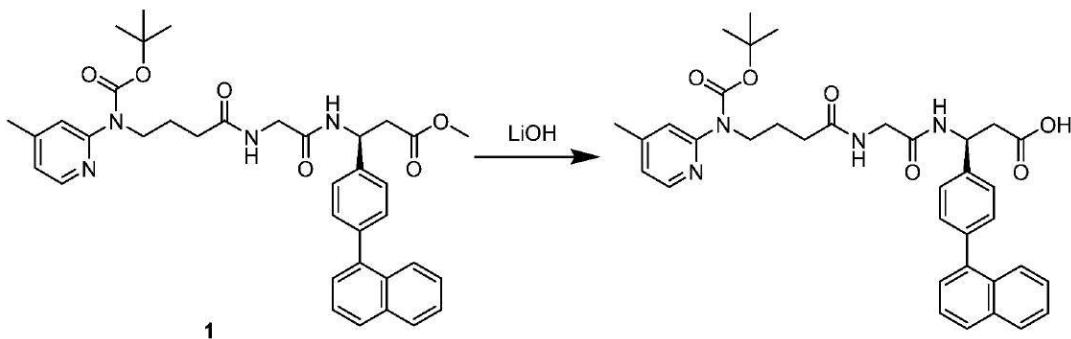
【0473】

化合物1（100 mg、0.169 mmol、1.0当量）、化合物2（43 mg、0.253 mmol、1.5当量）、XPhos Pd G2（3 mg、0.0034 mmol、0.002当量）、および K_3PO_4 （72 mg、0.338 mmol、2.0当量）を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセプタム付きクリューキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した（このプロセスを合計で3回繰り返した）。次いで、THF（5 mL）および水（1 mL）をシリンジで添加した。混合物を窒素で10分間バーリングし、反応物を40 ℃で2時間保持した。反応物を水（10 mL）でクエンチし、水相を酢酸エチル（3 × 10 mL）で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。化合物を固定相としてシリカゲルを使用した CombiFlash（登録商標）によって分離し、3 - 4 %メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS : [M + H]⁺の計算値 639.31、実測値 640。

40

50

【化 3 1 1】

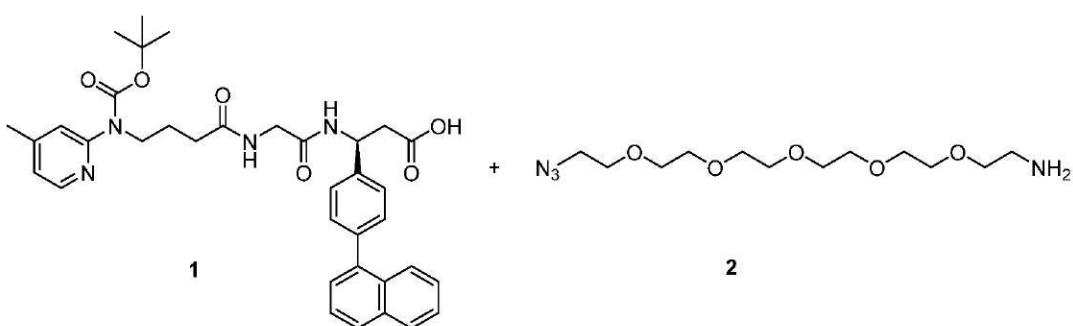


10

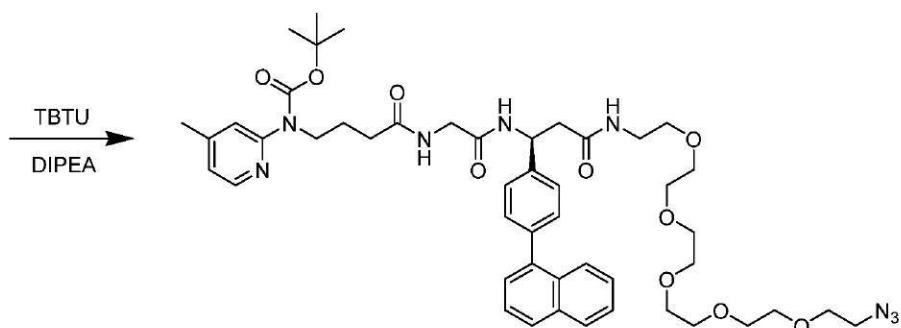
(0 4 7 4)

化合物 1 (90 mg、0.140 mmol、1当量) を含む THF (5 mL) および H₂O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム (10 mg、0.422 mmol、3当量) を 0 °C で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で 1 時間の搅拌後、反応混合物を HCl (6 N) によって pH 3.0 に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS : [M + H]⁺ の計算値 625.29、実測値 625.36。

【化 3 1 2】



20



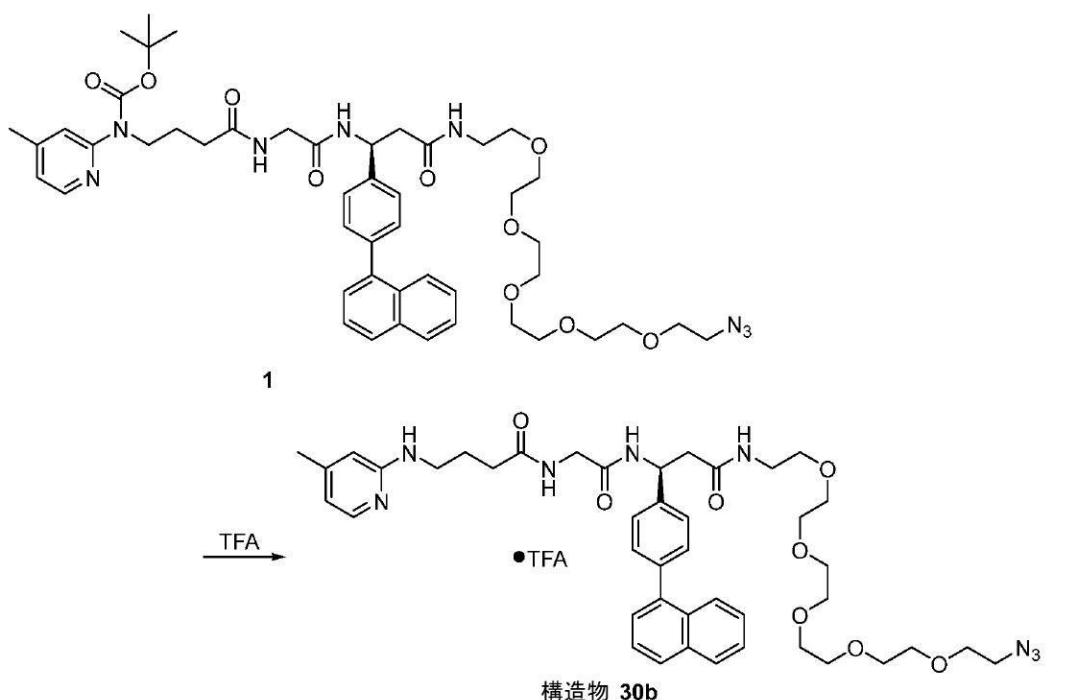
30

(0 4 7 5)

化合物1(88mg、0.140mmol、1当量)、化合物2(48mg、0.154mmol、1.1当量)、およびTBTU(54mg、0.169mmol、1.2当量)を含む無水DMF(3mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.074mL、0.422mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、4-6%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値913.47、実測値913.70。

40

【化313】

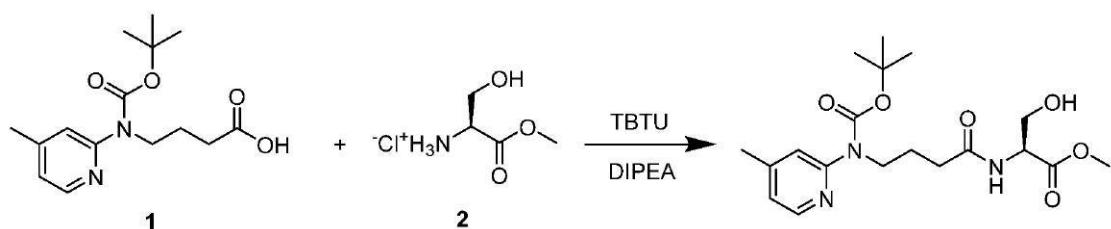


【0476】

化合物1(93mg、0.101mmol、1.0当量)を含むDCM(2mL)の溶液に、TFA(3mL)を添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。生成物を、10-12%メタノールを含むジクロロメタンで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値813.42、実測値813.68。

構造物31b((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((S)-3-ヒドロキシ-2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブantanアミド)プロパンアミド)プロパン酸)の合成。

【化314】



【0477】

化合物1(150mg、0.509mmol、1当量)、化合物2(87mg、0.560mmol、1.1当量)、およびTBTU(196mg、0.196mmol、1.2当量)を含む無水DMF(3mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.074mL、0.422mmol、3当量)を0°で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、4-6%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値396.21、実測値396.17。

10

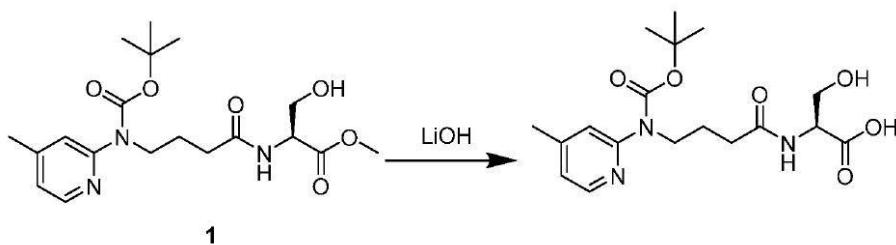
20

30

40

50

【化315】

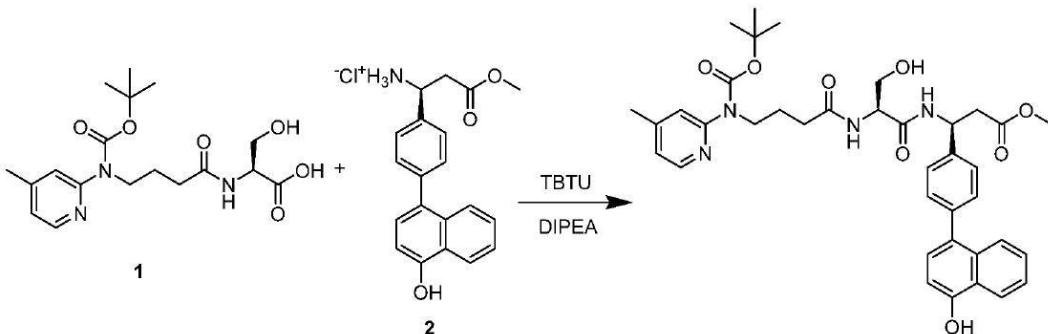


【0478】

10

化合物1(196mg、0.495mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH₂O(5mL)の溶液に、水酸化リチウム(35mg、1.486mmol、3当量)を0で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値382.19、実測値382.13。

【化316】



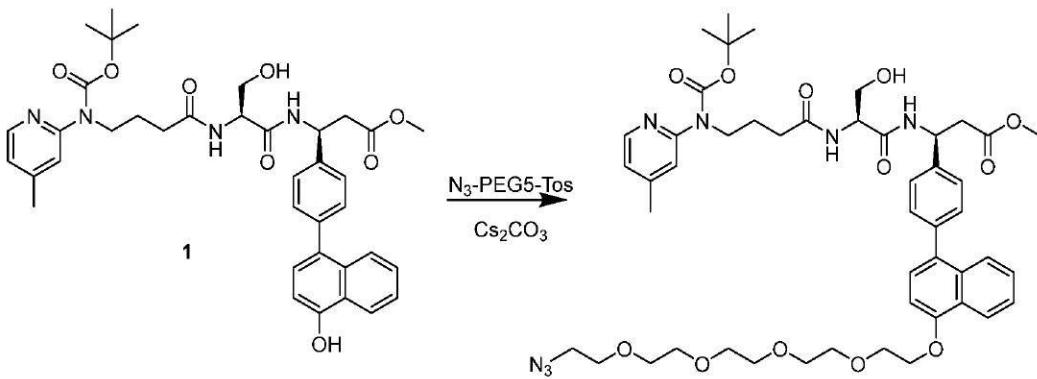
【0479】

30

化合物1(189mg、0.495mmol、1当量)、化合物2(195mg、0.545mmol、1.1当量)、およびTBTU(190mg、0.595mmol、1.2当量)を含む無水DMF(5mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.259mL、1.486mmol、3当量)を0で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、4-6%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値685.32、実測値685.58。

【化317】

40

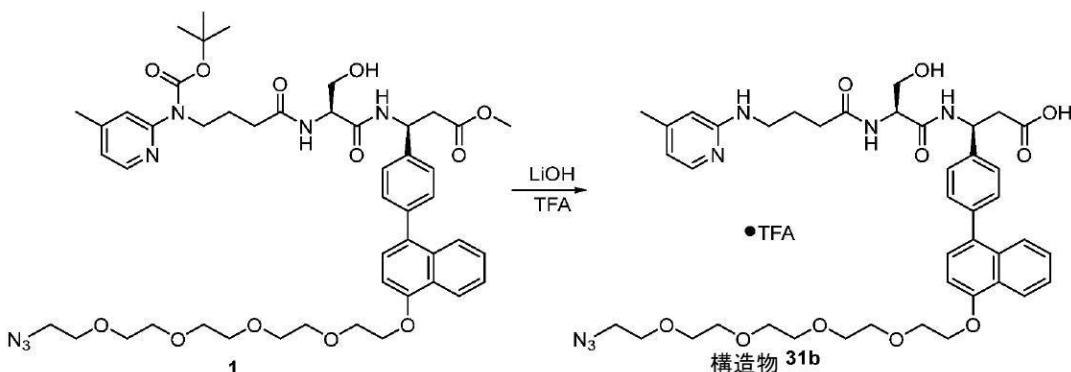


50

【0480】

化合物1(75mg、0.109mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(91mg、0.219mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(71mg、0.219mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を40℃で一晩攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は29%である。LC-MS:[M+H]⁺の計算値930.45、実測値930.90。

【化318】

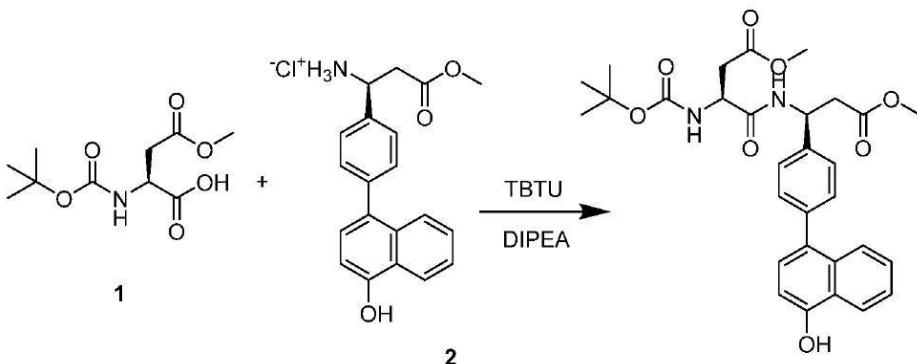


【0481】

化合物1(30mg、0.0323mmol、1.0当量)を含むTHF(1mL)および水(1mL)の溶液に、水酸化リチウム(2.3mg、0.0968mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(2mL)およびDCM(1mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。生成物を、12-15%メタノールを含むジクロロメタンで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値816.39、実測値816.92。

構造物32b((S)-4-(((S)-1-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-2-カルボキシエチル)アミノ)-3-(4-((4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)-4-オキソブタン酸)の合成。

【化319】

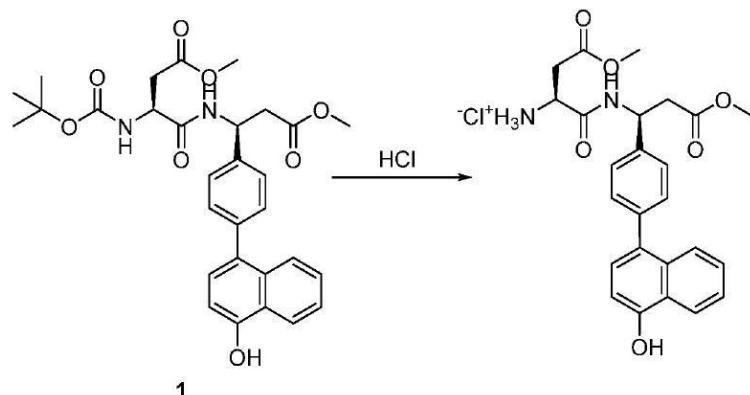


【0482】

化合物1(100mg、0.404mmol、1当量)、化合物2(160mg、0.444mmol、1.1当量)、およびTBTU(155mg、0.485mmol、1

.2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.211mL、1.213mmol、3当量)を0で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を饱和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値551.23、実測値551.45。

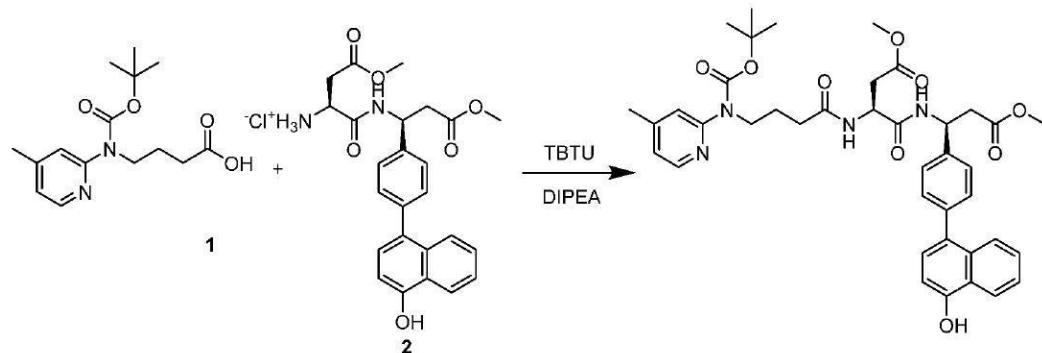
【化320】



【0483】

化合物1(0.164g、0.297mmol、1.0当量)を氷浴によって冷却した。HClを含むジオキサン(0.745mL、2.978mmol、10当量)をフラスコに添加した。反応物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物をさらに精製せずに直接使用した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値451.18、実測値451.35。

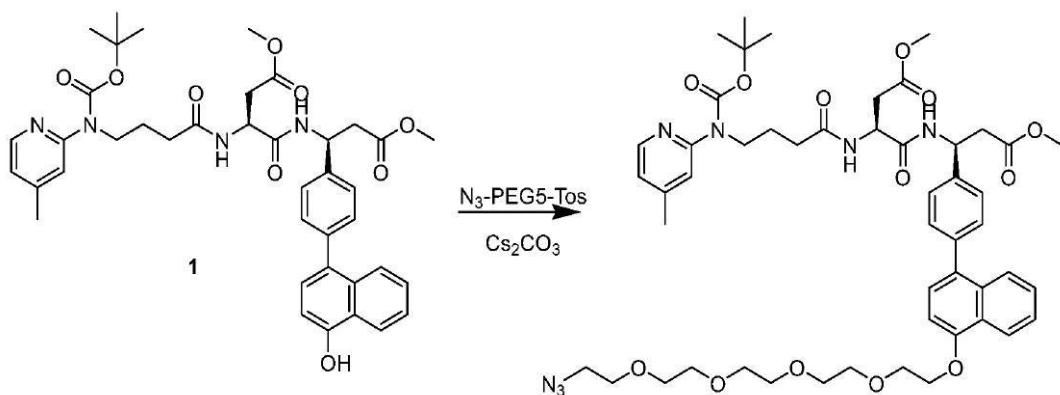
【化321】



【0484】

化合物1(100mg、0.404mmol、1当量)、化合物2(160mg、0.444mmol、1.1当量)、およびTBTU(155mg、0.485mmol、1.2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.211mL、1.213mmol、3当量)を0で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を饱和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash(登録商標)によって分離し、3-5%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値727.33、実測値727.53。

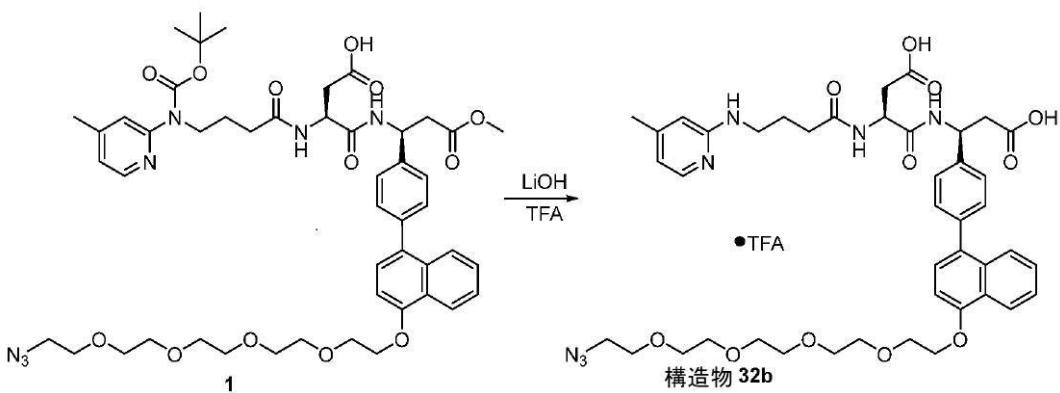
【化322】



【0485】

化合物1(150mg、0.206mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(172mg、0.412mmol、2当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、 Cs_2CO_3 (134mg、0.412mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応物を飽和 NaHCO_3 溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は29%である。LC-MS: [M+H]⁺の計算値940.45、実測値940.71。

【化323】



【0486】

化合物1(30mg、0.0344mmol、1.0当量)を含むTHF(1mL)および水(1mL)の溶液に、水酸化リチウム(2.5mg、0.103mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間攪拌した。 HCl (6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA(2mL)およびDCM(1mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。生成物を、20%メタノールを含むジクロロメタンで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値844.38、実測値844.56。

構造物33b((S)-3-((S)-6-アミノ-2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)ヘキサンアミド)-3-(4-(4-(14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)プロパン酸)の合成。

10

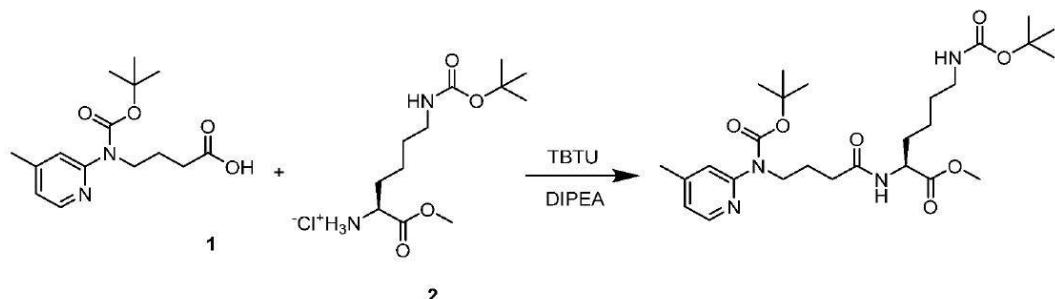
20

30

40

50

【化324】



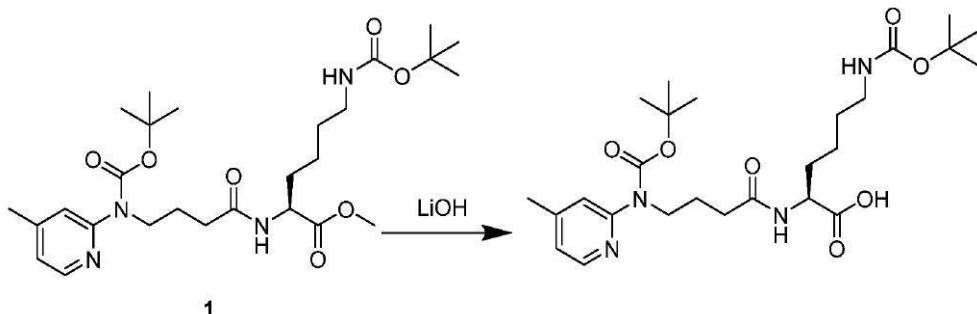
10

【0487】

化合物1 (150 mg、0.509 mmol、1当量)、化合物2 (166 mg、0.560 mmol、1.1当量)、およびTBTU (196 mg、0.611 mmol、1.2当量)を含む無水DMF (3 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (0.266 mL、1.528 mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液 (10 mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル (3 × 5 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiflash (登録商標)によって分離し、3-5%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値537.32、実測値537.23。

20

【化325】



30

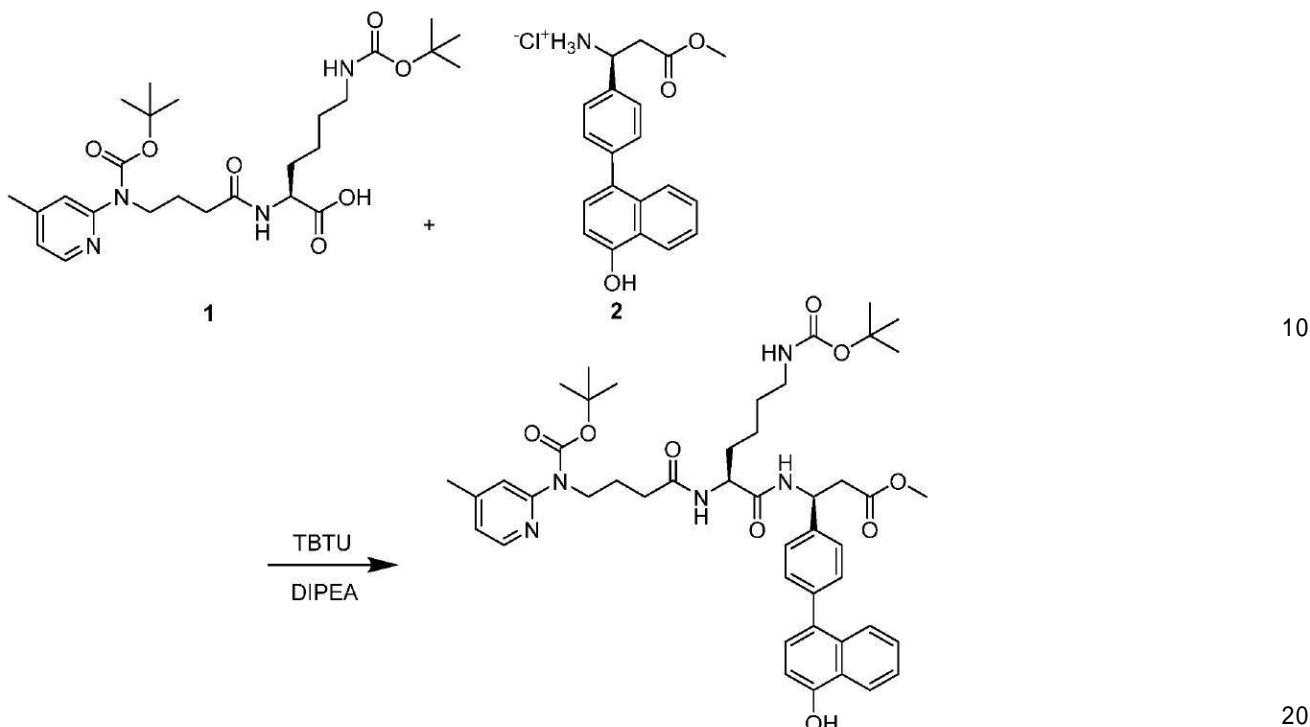
【0488】

化合物1 (230 mg、0.428 mmol、1当量)を含むTHF (5 mL)およびH₂O (5 mL)の溶液に、水酸化リチウム (31 mg、1.285 mmol、3当量)を0℃で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl (6 N)によってpH 3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 10 mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC-MS: [M + H]⁺の計算値523.31、実測値523.55。

40

50

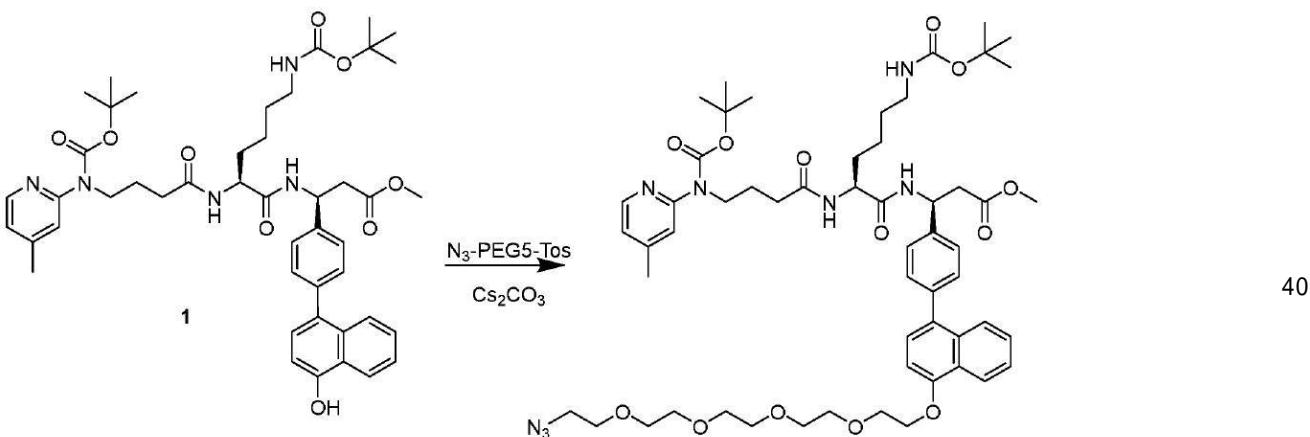
【化326】



【0489】

化合物1(230 mg、0.440 mmol、1当量)、化合物2(173 mg、0.484 mmol、1.1当量)、およびTBTU(170 mg、0.528 mmol、1.2当量)を含む無水DMF(2 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.230 mL、1.320 mmol、3当量)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10 mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3 x 5 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離し、4-6%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値826.43、実測値826.65。

【化327】

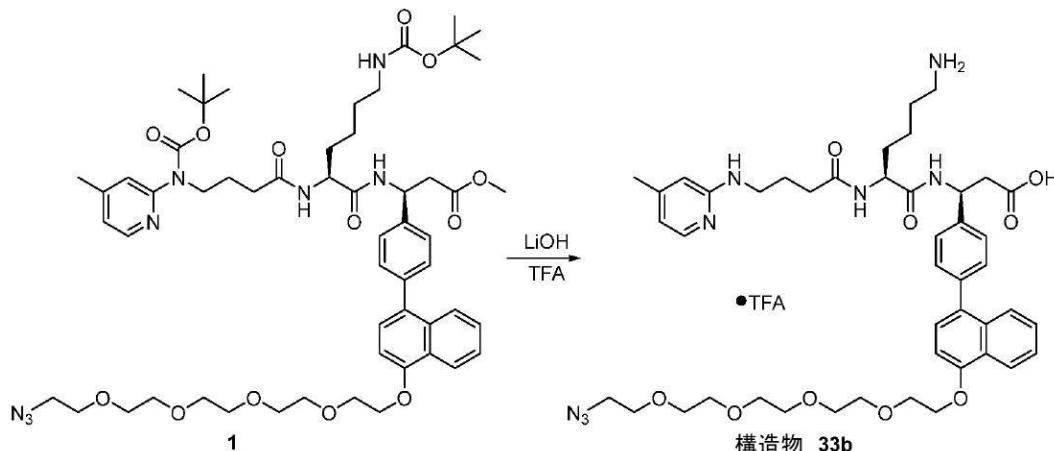


【0490】

化合物1(150 mg、0.181 mmol、1当量)およびアジド-PEG5-OTs(113 mg、0.272 mmol、1.5当量)を含む無水DMF(2 mL)の溶液に、Cs₂CO₃(118 mg、0.363 mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(5 mL)によってク

エンチし、水層を酢酸エチル（ $3 \times 5 \text{ mL}$ ）で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したComb i F l a s h（登録商標）によって精製し、4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は66%である。LC-MS：[M + H]⁺の計算値1071.57、実測値1071.89。

【化328】

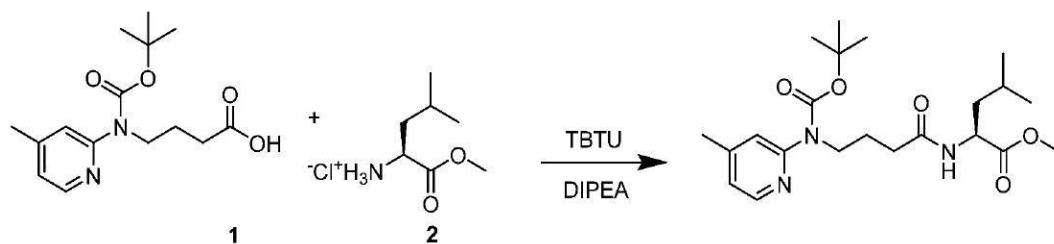


【0491】

化合物1（130mg、0.121mmol、1.0当量）を含むTHF（2mL）および水（2mL）の溶液に、水酸化リチウム（8.7mg、0.364mmol、3.0当量）を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間攪拌した。HCl（6N）によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc（3×10mL）で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。TFA（3mL）およびDCM（2mL）を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したComb i F l a s h（登録商標）によって分離した。生成物を、20%メタノールを含むジクロロメタンで溶出した。LC-MS：[M + H]⁺の計算値857.45、実測値857.64。

構造物34b（(S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル）-3-((S)-4-メチル-2-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド）ペンタンアミド）プロパン酸）の合成。

【化329】



【0492】

化合物1（150mg、0.509mmol、1当量）、化合物2（101mg、0.560mmol、1.1当量）、およびTBTU（196mg、0.611mmol、1.2当量）を含む無水DMF（3mL）の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン（0.266mL、1.528mmol、3当量）を0°で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO_3 溶液（5mL）でクエンチし、水相を酢酸エチル（ $3 \times 5 \text{ mL}$ ）で抽出した。有機相を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用したComb i F l a s h（登録商標）によって分離し、3-5%メタノールを含むDCMで溶出した。LC-MS：[M + H]⁺

10

20

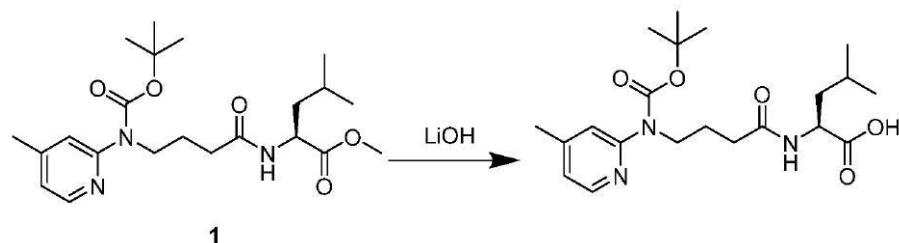
30

40

50

+ の計算値 422.26、実測値 422.36。

【化330】

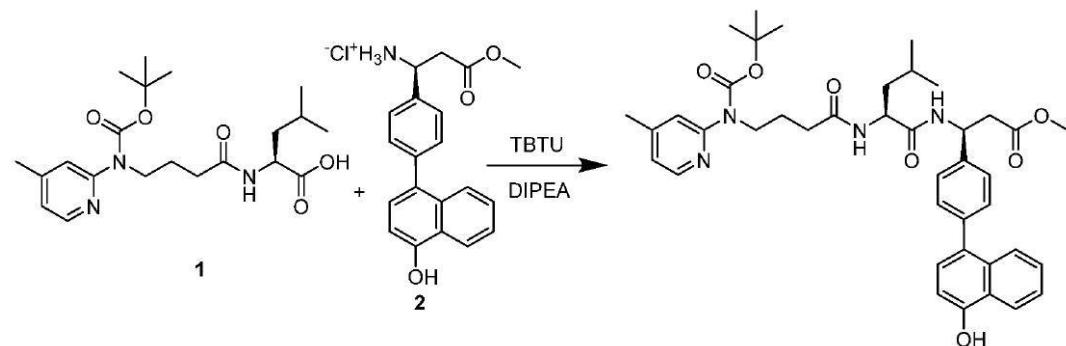


10

【0493】

化合物 1 (186 mg、0.441 mmol、1当量) を含む THF (3 mL) および H₂O (3 mL) の溶液に、水酸化リチウム (31 mg、1.323 mmol、3当量) を 0°で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で 1 時間の搅拌後、反応混合物を HCl (6 N) によって pH 3.0 に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。LC - MS : [M + H]⁺ の計算値 408.24、実測値 408.23。

【化331】



20

【0494】

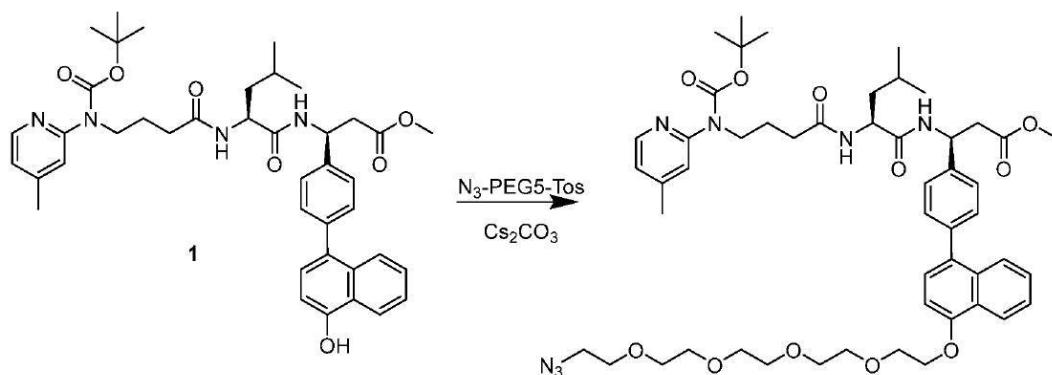
化合物 1 (168 mg、0.412 mmol、1当量)、化合物 2 (162 mg、0.453 mmol、1.1当量)、および TBTU (159 mg、0.494 mmol、1.2当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (0.215 mL、1.237 mmol、3当量) を 0°で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに 1 時間搅拌した。反応物を飽和 NaHCO₃ 溶液 (10 mL) でクエンチし、水相を酢酸エチル (3 × 5 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮した。生成物を固定相としてシリカゲルを使用した CombiFlash (登録商標) によって分離し、2 - 4% メタノールを含む DCM で溶出した。LC - MS : [M + H]⁺ の計算値 711.37、実測値 711.69。

30

40

50

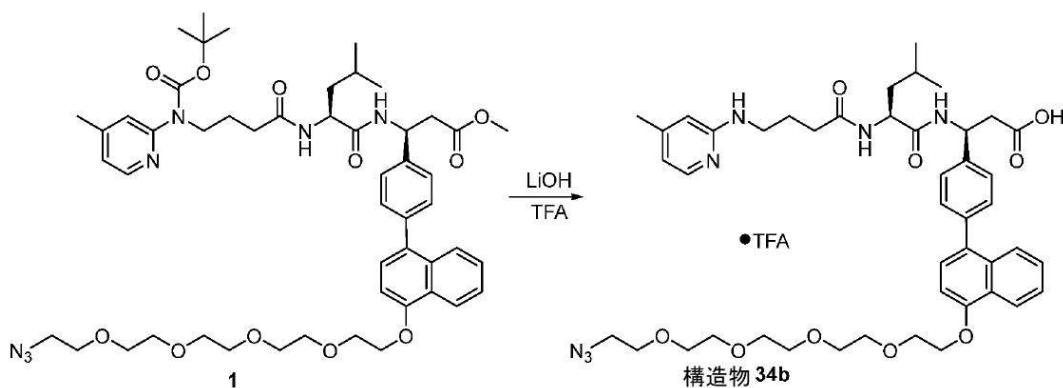
【化332】



【0495】

化合物1(150mg、0.206mmol、1当量)およびアジド-PEG5-O-Ts(132mg、0.317mmol、1.5当量)を含む無水DMF(2mL)の溶液に、Cs₂CO₃(137mg、0.422mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を40℃で3時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)によってクエンチし、水層を酢酸エチル(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって精製し、3-4%メタノールを含むDCMで溶出した。収率は82%である。LC-MS:[M+H]⁺の計算値956.51、実測値956.64。

【化333】



【0496】

化合物1(160mg、0.167mmol、1.0当量)を含むTHF(2mL)および水(2mL)の溶液に、水酸化リチウム(12mg、0.502mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間攪拌した。HCl(6N)によってpH3.0に調整し、水相をEtOAc(3×10mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。TFA(3mL)およびDCM(2mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間攪拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したCombiFlash(登録商標)によって分離した。生成物を、8-10%メタノールを含むジクロロメタンで溶出した。LC-MS:[M+H]⁺の計算値842.44、実測値842.67。

構造物35b((S)-3-(4-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((2S,3R)-3-ヒドロキシ-2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)ブタンアミド)プロパン酸)の合成。

10

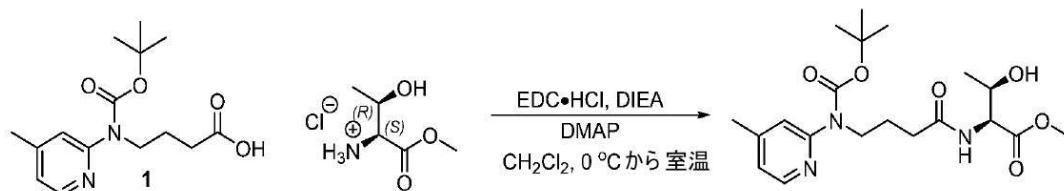
20

30

40

50

【化334】

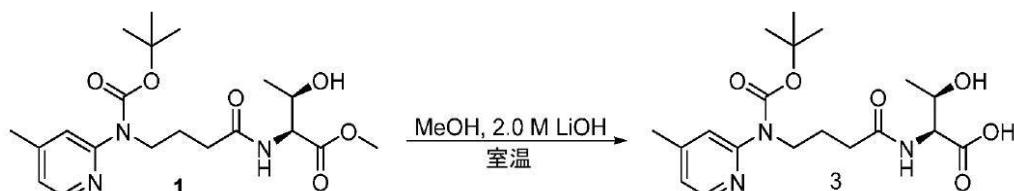


【0497】

L-トレオニン-O Me HCl (1.000 g, 5.896 mmol, 1.3当量)を含むバイアルに、化合物1 (1.335 g, 4.535 mmol, 1当量)、ジメチルアミノピリジン (0.277 g, 2.268 mmol, 0.5当量)、およびCH₂C₁ (13.3 mL)を添加した。この混合物にジイソプロピルアミン (2.054 mL, 1.792 mmol, 2.6当量)を添加し、得られた溶液を0℃に冷却した。EDC・HCl (1.130 g, 5.896 mmol, 1.3当量)を添加し、反応物を0℃で30分間攪拌後、室温に加温した。反応物は、16時間後にHPLCによって反応完了と判断され、これを分液漏斗に移し、66%飽和NH₄Cl (4×20 mL)および飽和NH₄Cl (20 mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮して粘稠性油状物 (1.7588 g, 94.7%)を得、これを次の工程に直接使用した。LC-MS: [M+H]⁺の計算値: 410.22、実測値410.03

10

【化335】



【0498】

化合物1をMeOH (4.5 mL)に溶解し、この混合物に2.0 MのLiOH (9.1 mL)溶液を添加した。反応物を1.5時間攪拌し、濃縮してMeOHを除去した。次いで、混合物を20%KHSO₄でpH = 4に酸性化し、EtOAc (3×15 mL)で抽出した。合わせた有機物をブライン (20 mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して、3を固体として得た (1.5095 g、収率88.9%)。LC-MS: [M-H]⁻の計算値: 394.21、実測値394.37。

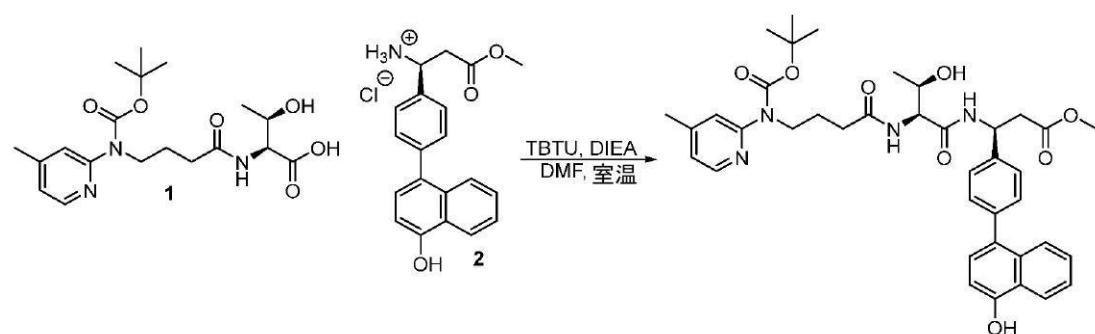
30

【化336】

¹H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ 8.26 (d, 1H), 7.27 – 7.24 (m, 1H), 7.23 (s, 1H), 6.95 (ddd, 1H), 4.60 (dd, 1H), 4.39 (qd, 1H), 3.97 – 3.77 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.41 – 2.23 (m, 2H), 1.98 – 1.84 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.19 (d, 3H).

40

【化337】



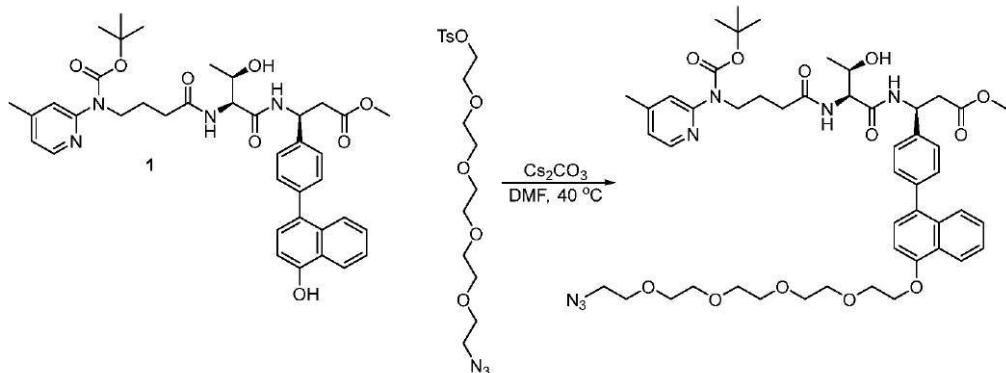
50

【0499】

バイアルに、化合物1(0.200 g、0.506 mmol、1当量)、TBTU(0.195 g、0.607 mmol、1.2当量)、DMF(2.0 mL)、およびDIEA(0.264 mL、1.517 mmol、3.0当量)を入れた。反応物を2分間攪拌後、2(0.253 g、0.708 mmol、1.4当量)を添加した。完了後、反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)で希釈し、EtOAc(3 × 5 mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(10 mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0-20%MeOHを含むCH₂Cl₂で溶出するカラムクロマトグラフィによって精製して、生成物を得た(150.8 mg、収率42.7%)。LC-MS: [M + H]⁺の計算値: 699.33、実測値699.53

10

【化338】



20

【0500】

化合物1(0.151 g、0.216 mmol、1当量)を含むバイアルにCs₂CO₃(0.106 g、0.324 mmol、1.5当量)およびDMF(1.9 mL)を添加した。N₃-PEG5-OTs(0.135 g、0.324 mmol、1.5当量)を混合物に添加し、反応物を40℃で攪拌した。完了後、反応物をEtOAc(10 mL)、飽和NaHCO₃水溶液(5 mL)、および水(5 mL)で希釈した。層を分離し、EtOAcを用いて合計3 × 10 mLで水性抽出した。合わせた有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0-20%MeOHを含むCH₂Cl₂で溶出するカラムクロマトグラフィによって精製して、生成物を得た(103 mg、収率50.4%)。LC-MS: [M + H]⁺の計算値: 944.47、実測値944.56

30

【化339】



40

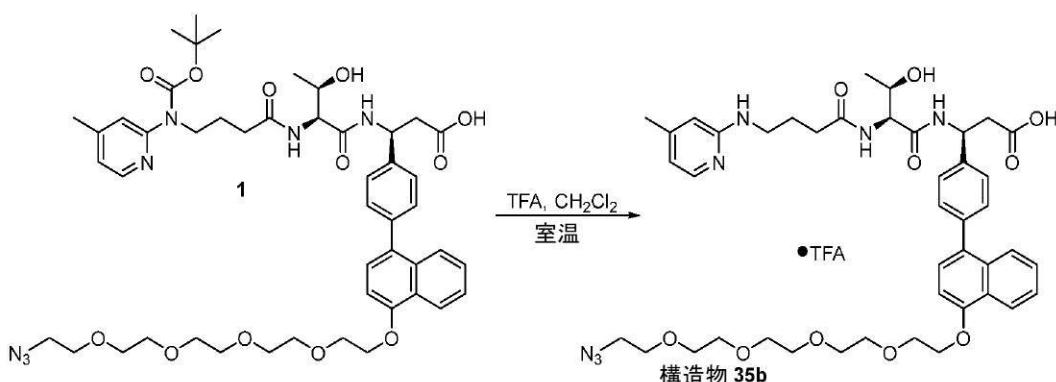
【0501】

化合物1(0.103 g、0.109 mmol、1当量)を含むバイアルに、MeOH(1.5 mL)および2.0 M LiOH(2.0 mL)を添加した。反応物を室温で攪拌し、次いで、濃縮してMeOHを除去し、20%KHSO₄でpH = 2に酸性化した。この混合物に、EtOAc(5 mL)および水(4 mL)を添加した。水層をEtOAc(3 × 5 mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(10 mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して生成物を得た(0.0879 g、86.9%)。LC-MS:

50

[M + H]⁺の計算値：930.45、実測値930.56。

【化340】

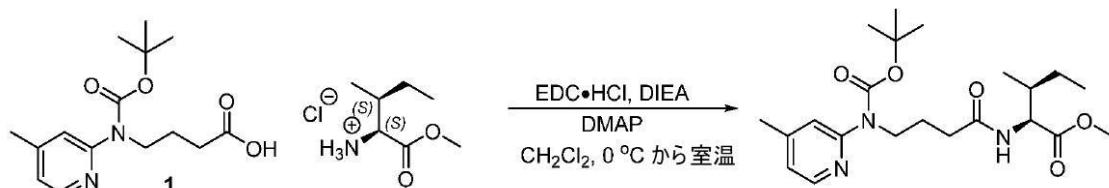


【0502】

化合物1(0.0879g、0.0945mmol、1当量)を含むバイアルに、CH₂C₁₂(0.3mL)およびトリフルオロ酢酸(0.64mL)を添加した。溶液を室温で攪拌した。完了後(97%超の生成物)、反応物を濃縮し、トルエン(3mL)およびその後のアセトニトリル(2×3mL)と同時に蒸発させた。TFAが残存した生成物を得た(115.6mg)。

構造物36b((S)-3-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((2S,3S)-3-メチル-2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)ペンタンアミド)プロパン酸)の合成。

【化341】



【0503】

L-イソロイシン-O-Me HCl(1.000g、5.505mmol、1.3当量)を含むバイアルに、化合物1(1.246g、4.234mmol、1当量)、ジメチルアミノピリジン(0.259g、2.117mmol、0.5当量)、およびCH₂C₁₂(12.5mL)を添加した。この混合物にジイソプロピルアミン(2.054mL、11.792mmol、2.6当量)を添加し、得られた溶液を0に冷却した。EDC•HCl(1.055g、5.505mmol、1.3当量)を添加し、反応物を0で30分間攪拌後、室温に加温した。反応物は、16時間後にHPLCによって反応完了と判断され、これを分液漏斗に移し、66%飽和NH₄Cl(4×20mL)および飽和NH₄Cl(1×20mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮して粘稠性油状物(1.8634g、CH₂C₁₂で湿っている)を得、これを次の工程に直接使用した。LC-MS:[M + H]⁺の計算値：422.26、実測値422.00。

【化342】



10

20

30

40

50

【0504】

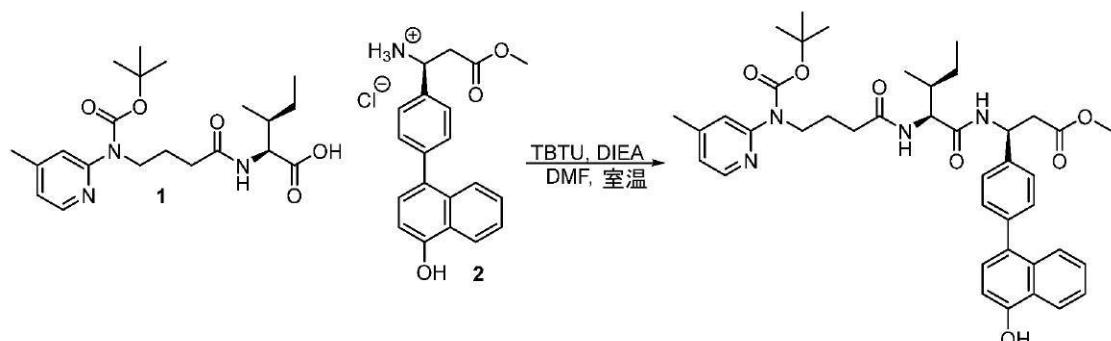
化合物1をMeOH(4.2mL)に溶解し、この混合物に2.0mLのLiOH(8.5mL)溶液を添加した。反応物を1.5時間攪拌し、濃縮してMeOHを除去した。次いで、混合物を20%KHSO₄でpH=4に酸性化し、EtOAc(3×15mL)で抽出した。合わせた有機物をブライン(20mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して、生成物を粘稠性油状物として得た(1.6123g、2工程の収率93.4%)。LC-MS:[M-H]⁻の計算値:406.24、実測値406.43。

【化343】

¹H NMR(400 MHz, クロロホルム-d) δ 8.23 (d, 1H), 7.12 (d, 1H), 6.95 – 6.88 (m, 1H), 4.58 (dd, 1H), 3.99 – 3.83 (m, 2H), 2.35 – 2.34 (s, 3H), 2.30 (hept, 2H), 2.00 – 1.84 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 0.91 (m, 6H).

10

【化344】



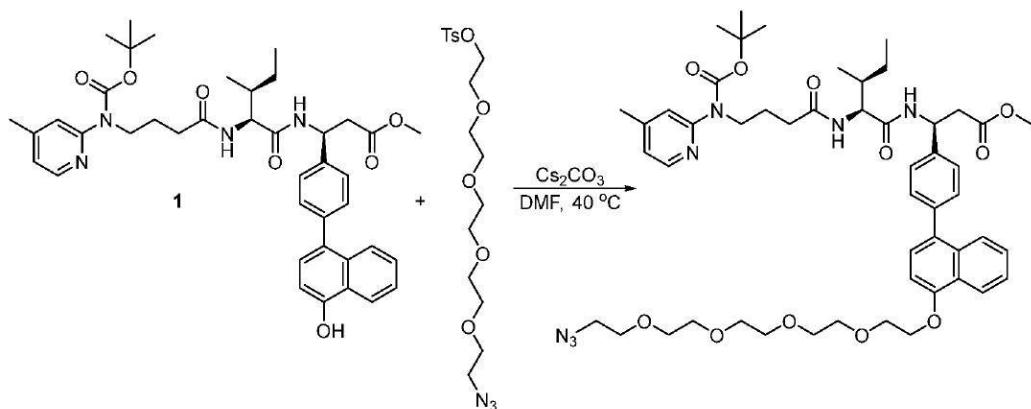
20

【0505】

バイアルに、化合物1(0.200g、0.491mmol、1当量)、TBTU(0.189g、0.589mmol、1.2当量)、DMF(2.0mL)、およびDIEA(0.256mL、1.472mmol、3.0当量)を入れた。反応物を2分間攪拌後、2(0.246g、0.687mmol、1.4当量)を添加した。完了後、反応物を飽和NaHCO₃水溶液(10mL)で希釈し、EtOAc(3×5mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(10mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0-20%MeOHを含むCH₂Cl₂で溶出するカラムクロマトグラフィによって精製して、生成物を得た(0.3024mg、収率86.7%)。LC-MS:[M+H]⁺の計算値:711.37、実測値711.51。

30

【化345】



40

【0506】

化合物1(0.170g、0.238mmol、1当量)を含むバイアルにCs₂CO₃(0.116g、0.358mmol、1.5当量)およびDMF(2.1mL)を添加

50

した。N₃-PEG5-OTs (0.149 g、0.358 mmol、1.5当量) を混合物に添加し、反応物を40℃で攪拌した。完了後、反応物をEtOAc (10 mL)、飽和NaHCO₃水溶液 (5 mL)、および水 (5 mL) で希釈した。層を分離し、EtOAcを用いて合計3×10 mLで水性抽出した。合わせた有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0-20%MeOHを含むCH₂Cl₂で溶出するカラムクロマトグラフィによって精製して、生成物を得た (0.1645 g、収率72.1%)。LC-MS: [M+H]⁺の計算値: 956.51、実測値956.78。

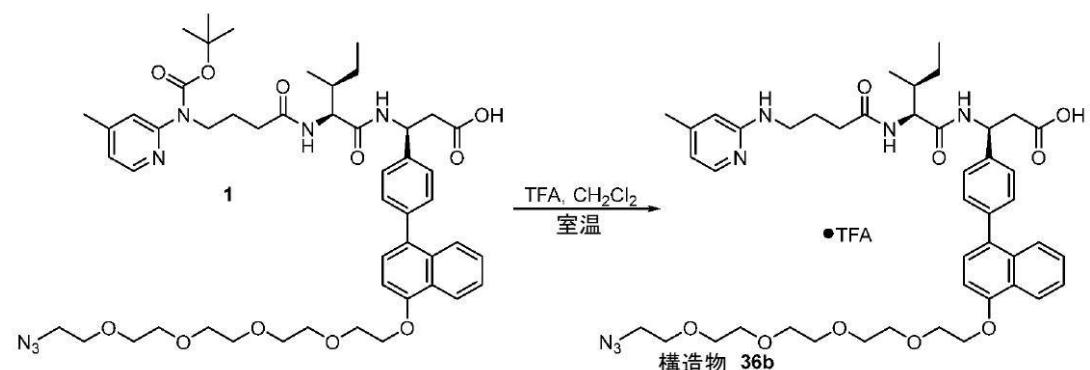
【化346】



【0507】

化合物1 (0.164 g、0.172 mmol、1当量) を含むバイアルに、MeOH (2.0 mL) および2.0 M LiOH (3.0 mL) を添加した。反応物を室温で攪拌し、HPLCによってモニタリグした。材料を溶解して反応を進めるために、さらなるLiOH (33 mg、1.38 mmol、8当量)、水 (5 mL)、およびMeOH (4 mL) が必要であった。HPLCによって2つの新規のピークの形成が明らかとなり、これらはジアステレオマーであると考えられる。変換率94%超に到達した際に、反応物を濃縮してMeOHを除去し、20%KHSO₄でpH=2に酸性化した。この混合物に、EtOAc (5 mL) および水 (4 mL) を添加した。水層をEtOAc (4×5 mL) で抽出した。合わせた有機層をブライン (10 mL) で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮して生成物を得た (0.1417 g、87.4%)。LC-MS: [M+H]⁺の計算値: 942.49、実測値942.56。

【化347】



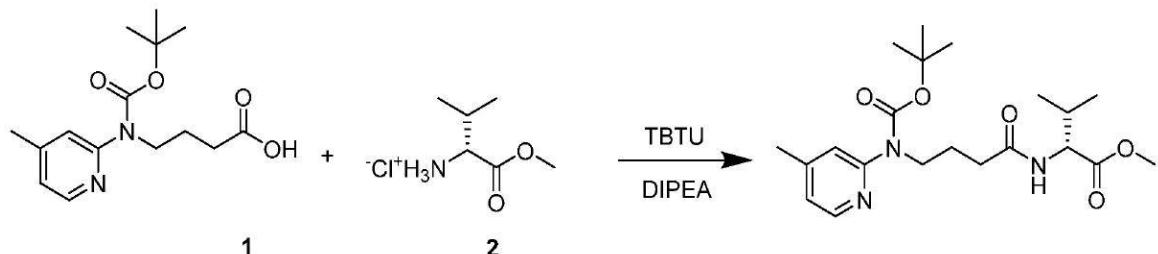
【0508】

化合物1 (0.1417 g、0.1504 mmol、1当量) を含むバイアルに、CH₂Cl₂ (0.5 mL) およびトリフルオロ酢酸 (1.0 mL) を添加した。溶液を室温で攪拌した。完了後 (97%超の生成物)、反応物を濃縮し、トルエン (3 mL) およびその後のアセトニトリル (2×3 mL) と同時に蒸発させた。TFAが残存した生成物を得た (150.3 mg)。出発物質および生成物の両方の反応による2つのピークが存在していた。LC-MS: [M+H]⁺の計算値: 842.44、実測値842.56。両方の生成物ピークは質量が同一であることが見出され、これらはジアステレオマーの存在を

示す。

構造物 37b ((S)-3-(4-(4-((14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル)オキシ)ナフタレン-1-イル)フェニル)-3-((R)-3-メチル-2-(4-(4-メチルピリジン-2-イル)アミノ)ブタンアミド)ブタンアミド)プロパン酸)の合成。

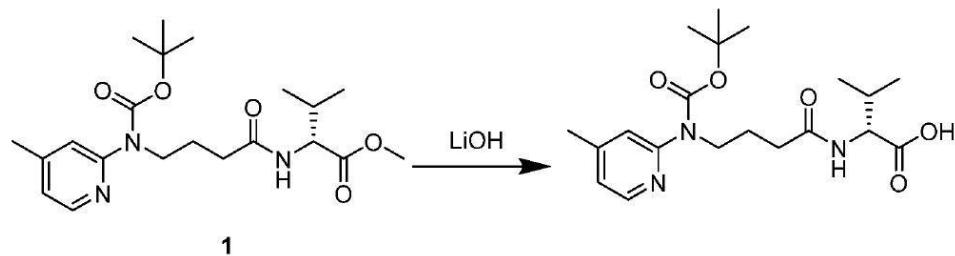
【化348】



【0509】

化合物1(150mg、0.509mmol、1当量)、化合物2(94mg、0.560mmol、1.1当量)、およびTBTU(196mg、0.611mmol、1.2当量)を含む無水DMF(3mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.266mL、1.528mmol、3当量)を0で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに1時間搅拌した。反応物を飽和NaHCO₃溶液(10mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル(3×5mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物をCombiFlash(登録商標)によって分離し、2-3%メタノールを含むDCMで溶出した。収率: 205mg(99%)。

【化349】



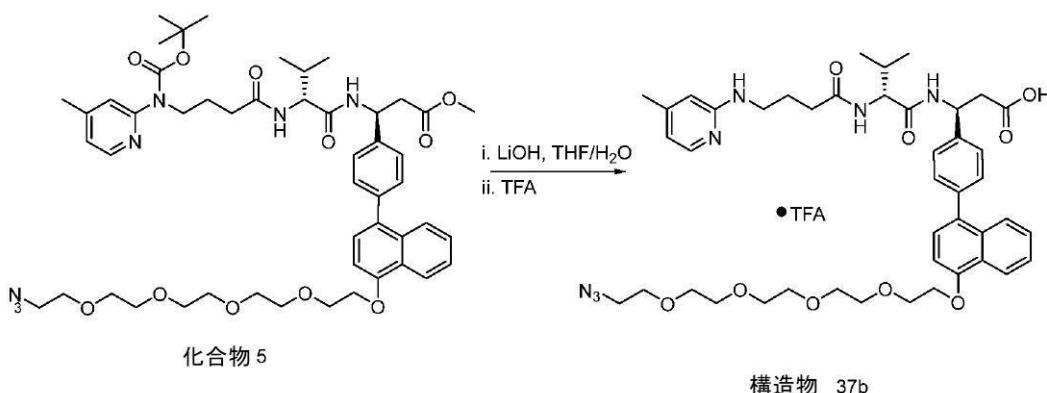
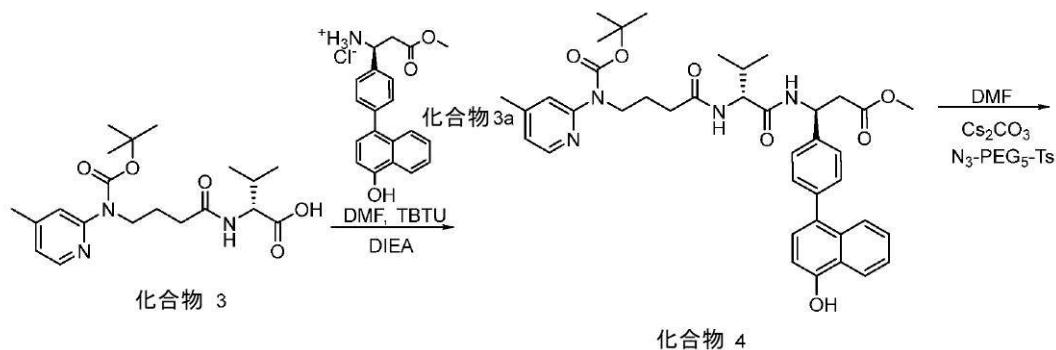
【0510】

化合物1(207mg、0.508mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH₂O(5mL)の溶液に、水酸化リチウム(36mg、1.523mmol、3当量)を0で分割して添加した。反応混合物を室温に加温した。室温で1時間の搅拌後、反応混合物をHCl(6N)によってpH3.0に酸性化した。水相を酢酸エチル(3×10mL)で抽出し、有機層を合わせ、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮した。生成物を、さらに精製せずに使用した。収率: 180mg(91%)。

40

50

【化350】



構造物 37b

【0511】

化合物3(180mg、0.46mmol)、化合物3a(180mg、0.50mmol)、およびTBTU(176mg、0.55mmol)を含むDMF(2.5mL)の溶液に、DIPEA(177mg、239μL、1.37mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温に加温し、1時間攪拌した。反応混合物を、飽和NH₄Cl(水)溶液(1.75mL)および脱イオン水(1.75mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(8mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×8mL)でさらに抽出した。合わせた有機相を、半飽和NH₄Cl(水)溶液(6mL)および半飽和NaHCO₃(水)溶液(6mL)で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-5%メタノール含有DCMと共に使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。化合物4の収率：295mg(92%)。C₄₀H₄₈N₄O₇についての[M+H]⁺計算値：697.84、実測値：697.82。

30

【0512】

化合物4(200mg、0.29mmol)およびアジド-PEG5-OTS(240mg、0.57mmol)を含む無水DMF(2.5mL)の溶液に、Cs₂CO₃(187mg、0.57mmol)を添加した。反応混合物を60℃で2時間攪拌した。反応混合物を、飽和NaHCO₃(水)溶液(15mL)および脱イオン水(7.5mL)でクエンチし、次いで、酢酸エチル(10mL)で抽出した。水層を酢酸エチル(2×10mL)でさらに抽出した。合わせた有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを0-5%メタノール含有DCMと共に使用したCombiflash(登録商標)によって分離した。化合物5の収率：97mg(36%)。C₅₀H₆₇N₇O₁₁についての[M+H]⁺計算値：943.15、実測値：942.96。

40

【0513】

化合物5(94mg、0.10mmol)を含むTHF(1.5mL)および脱イオン水(1mL)の溶液に、水酸化リチウム(7.2mg、0.30mmol)を含む脱イオン水(0.5mL)の溶液を添加した。反応混合物を1時間攪拌し、次いで、6M HCl

50

1 (水溶液) で pH = 3 に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 5 mL) で抽出した。合わせた有機相を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。この粗残渣に、TFA (1.34 mL) および水 (67 μL) を添加した。反応混合物を室温で 1.5 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をアセトニトリル：トルエン [1 : 1] (2 × 20 mL) で同時蒸発させた。粗混合物を、固定相としてのシリカゲルを 0 - 10 % メタノール含有 DCM と共に使用した CombiFlash (登録商標) によって分離した。構造物 37b の収率: 44 mg (53%)。C₄₄H₅₇N₇O₉ についての [M + H]⁺ 計算値: 828.97、実測値: 828.63。

実施例 2. 三座 v 6 インテグリンリガンドの合成および v 6 インテグリンリガンドのカーゴ分子 (RNAi 剤) への結合。 10

【0514】

v 6 インテグリンリガンドを、1 またはそれを超える標的にされた遺伝子の発現の阻害に有用な 1 またはそれを超える RNAi 剤に結合することができる。v 6 インテグリンリガンドは、標的にされた細胞および / または組織への RNAi 剤の送達を容易にする。上記の実施例 1 は、本明細書中に開示の一定の v 6 インテグリンリガンドの合成を記載していた。以下は、一定の v 6 インテグリンリガンド - RNAi 剤結合体の一般的な合成手順を記載し、これは、本明細書中に記載の非限定的な実施例に示されている。

【0515】

A. RNAi 剤の合成。RNAi 剤を、当該分野で一般的に知られている方法を使用して合成することができる。本明細書中に記載の実施例に示した RNAi 剤の合成のために、RNAi 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖を、オリゴヌクレオチド合成で使用される固相でのホスホルアミダイトテクノロジーにしたがって合成した。規模に応じて、MerMade 96E (登録商標) (Bioautomation)、MerMade 12 (登録商標) (Bioautomation)、または OP Pilot 100 (GE Healthcare) を使用した。制御細孔ガラス (Prime Synthesis, Aston, PA, USA) から入手した CPG、500 または 600 から作製された固体支持体にて合成した。全ての RNA および 2' 修飾 RNA ホスホルアミダイトを、Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA) から購入した。具体的には、以下の 2' - O - メチルホスホルアミダイトを使用した: (5' - O - ジメトキシトリチル - N⁶ - (ベンゾイル) - 2' - O - メチル - アデノシン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - デイソプロピルアミノ) ホスホルアミダイト、5' - O - ジメトキシ - トリチル - N⁴ - (アセチル) - 2' - O - メチル - シチジン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - デイソプロピル - アミノ) ホスホルアミダイト、(5' - O - ジメトキシトリチル - N² - (イソブチリル) - 2' - O - メチル - グアノシン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - デイソプロピルアミノ) ホスホルアミダイト、および 5' - O - ジメトキシトリチル - 2' - O - メチル - ウリジン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - デイソプロピルアミノ) ホスホルアミダイト。2' - デオキシ - 2' - フルオロ - ホスホルアミダイトは、2' - O - メチル RNA アミダイトと同一の保護基を保有していた。5' - ジメトキシトリチル - 2' - O - メチル - イノシン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - デイソプロピルアミノ) ホスホルアミダイトを、Glen Research (Virginia) から購入した。反転脱塩基 (3' - O - ジメトキシトリチル - 2' - デオキシリボース - 5' - O - (2 - シアノエチル - N, N - デイソプロピルアミノ) ホスホルアミダイトを、ChemGenes (Wilmington, MA, USA) から購入した。以下の UNA ホスホルアミダイトを使用した: 5' - (4, 4' - ジメトキシトリチル) - N⁶ - (ベンゾイル) - 2', 3' - セコ - アデノシン、2' - ベンゾイル - 3' - [(2 - シアノエチル) - (N, N - デイソプロピル)] - ホスホルアミダイト、5' - (4, 4' - ジメトキシトリチル) - N - アセチル - 2', 3' - セコ - シトシン、2' - ベンゾイル - 3' - [(2 - シアノエチル) - (N, N - デイソ - プロピル)] - ホスホルアミダイト、5' - (4, 4' - ジメトキシトリチル) - N - イソブチリル - 2', 3' - セコ - グアノ 50

シン、2' - ベンゾイル - 3' - [(2 - シアノエチル) - (N, N - ジイソプロピル)] - ホスホルアミダイト、および5' - (4, 4' - ジメトキシ - トリチル) - 2', 3' - セコ - ウリジン、2' - ベンゾイル - 3' - [(2 - シアノエチル) - (N, N - ジイソ - プロピル)] - ホスホルアミダイト。TFAアミノ連結ホスホルアミダイトも購入した (Thermo Fisher)。

【0516】

いくつかの例では、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドを、トリアルキン基を含む足場への構成要素の連結によって RNAi 剤に結合する。いくつかの例では、トリアルキン基を、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端に付加することができるトリアルキン含有ホスホルアミダイトを使用して付加する。

本明細書中の一定の実施形態に示した RNAi 剤に接続して使用する場合、トリアルキン含有ホスホルアミダイトを無水ジクロロメタンまたは無水アセトニトリル (50 mM) に溶解し、一方で、全ての他のアミダイトを無水アセトニトリル (50 mM) に溶解し、モレキュラーシーブ (3') を添加した。5 - ベンジルチオ - 1H - テトラゾール (BTT、250 mM のアセトニトリル溶液) または 5 - エチルチオ - 1H - テトラゾール (ETT、250 mM のアセトニトリル溶液) を、アクチベーター溶液として使用した。カップリング時間は、10 分間 (RNA)、90 秒間 (2' O - Me)、および 60 秒間 (2' F) であった。ホスホロチオアート連結を導入するために、100 mM の 3 - フェニル 1, 2, 4 - ジチアゾリン - 5 - オン (POS、PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA から入手) を含む無水アセトニトリルの溶液を使用した。

【0517】

あるいは、v 6 インテグリンリガンドを、トリアルキン足場を介して RNAi 剤に結合する場合、ホスホルアミダイトアプローチを使用する代わりに、合成後にトリアルキン含有化合物を導入することができる（例えば、以下のセクション E を参照のこと）。本明細書中の一定の実施形態に示した RNAi 剤に接続して使用する場合、センス鎖の 5' 末端にトリアルキン基を合成後に付着させると、センス鎖の 5' 末端ヌクレオチドを、トリアルキン含有足場への付着を容易にするために 5' 末端に第一級アミンを含むヌクレオチドで官能化した。TFAアミノ連結ホスホルアミダイトを無水アセトニトリル (50 mM) に溶解し、モレキュラーシーブ (3') を添加した。5 - ベンジルチオ - 1H - テトラゾール (BTT、250 mM のアセトニトリル溶液) または 5 - エチルチオ - 1H - テトラゾール (ETT、250 mM のアセトニトリル溶液) を、アクチベーター溶液として使用した。カップリング時間は、10 分間 (RNA)、90 秒間 (2' O - Me)、および 60 秒間 (2' F) であった。ホスホロチオアート連結を導入するために、100 mM の 3 - フェニル 1, 2, 4 - ジチアゾリン - 5 - オン (POS、PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA から入手) を含む無水アセトニトリルの溶液を使用した。

【0518】

B. 支持体結合オリゴマーの切断および脱保護。固相合成の完了後、乾燥固体支持体を、1 : 1 容量溶液の 40 重量% メチルアミン水溶液および 28% ~ 31% 水酸化アンモニウム溶液 (Aldrich) にて 30° で 1.5 時間処理した。溶液を蒸発させ、固体残渣を水で再構成した（以下を参照のこと）。

【0519】

C. 精製。粗オリゴマーを、TSKgel Super Q - 5 PW 13 μm カラムおよび Shimadzu LC - 8 システムを用いた陰イオン交換 HPLC によって精製した。緩衝液 A は、20 mM Tris、5 mM EDTA (pH 9.0) であり、20% アセトニトリルを含んでおり、緩衝液 B は緩衝液 A と同一であるが 1.5 M 塩化ナトリウムが添加されていた。260 nm での UV の軌跡を記録した。適切な画分をプールし、次いで、Sephadex G - 25 fine を充填した GE Healthcare XK 16 / 40 カラムを使用したサイズ排除 HPLC にて、100 mM 重炭酸アンモニウム (pH 6.7) および 20% アセトニトリルまたは濾水のランニングバッファーを用いて

10

20

30

40

50

運転した。

【0520】

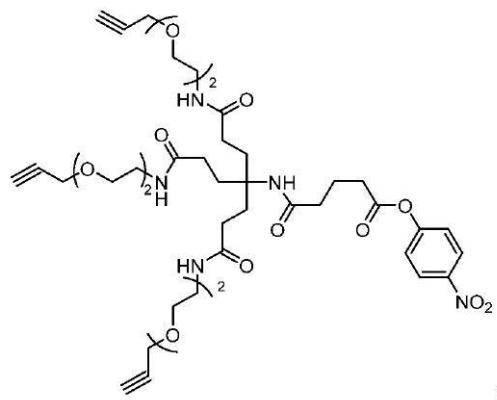
D. アニーリング。等モルのRNA溶液(センスおよびアンチセンス)を1×PBS(リン酸緩衝生理食塩水、1×、Corning, Cellgro)中で組み合わせることによって相補鎖を混合してRNAI剤を形成した。いくらかのRNAI剤を凍結乾燥させ、-15~-25℃で保存した。二重鎖の濃度を、UV-Viss分光計にて1×PBS中の溶液の吸光度を測定することによって決定した。次いで、260nmでの溶液の吸光度に変換係数および希釈計数を掛けて、二重鎖濃度を決定した。変換係数は0.037mg/(mL·cm)であったか、あるいは、実験によっては、変換係数を実験で決定した吸光係数から計算した。

10

【0521】

E. トリアルキン足場の結合。アニーリング前またはアニーリング後のいずれかに、RNAI剤の5'または3'アミン官能化センス鎖を、トリアルキン足場に結合することができる。本明細書中に開示の構築物の形成で使用することができる例示的なトリアルキン足場構造には、以下が含まれる：

【化351】



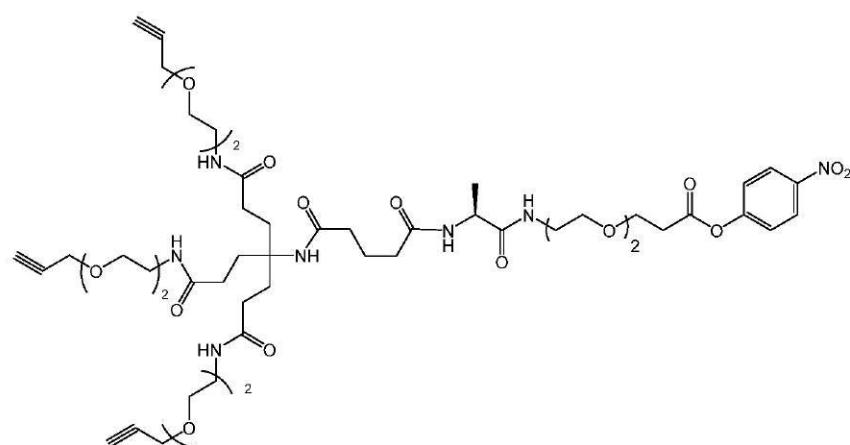
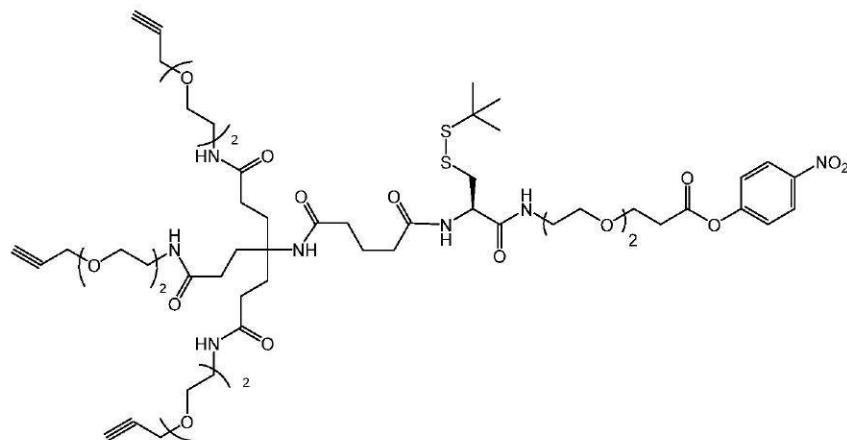
20

30

40

50

【化 3 5 2】



【0 5 2 2】

以下に、アニーリングした二重鎖へのトリアルキン足場の結合を記載する：アミン官能化二重鎖を、約 50 ~ 70 mg / mL で 90 % DMSO / 10 % H₂O に溶解した。40 当量トリエチルアミンを添加後、3 当量トリアルキン - PNP を添加した。完了した時点で、結合体を 1 × リン酸緩衝生理食塩水 / アセトニトリル (1 : 14 の比) の溶媒系中で 2 回沈殿させ、乾燥させた。

【0 5 2 3】

F. v 6 インテグリンリガンドの結合。アニーリング前またはアニーリング後のいずれかに、5' または 3' 三座アルキン官能化センス鎖を、v 6 インテグリンリガンドに結合する。以下の例に、アニーリングした二重鎖への v 6 インテグリンリガンドの結合を記載する：0.5 M の Tris (3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル) アミン (THPTA)、0.5 M の硫酸銅 (II) 五水和物 (Cu(II)SO₄ · 5 H₂O)、および 2 M アスコルビン酸ナトリウム溶液のストック溶液を、脱イオン水で調製した。75 mg / mL の v 6 インテグリンリガンドの DMSO 溶液を作製した。トリアルキン官能化二重鎖 (3 mg、75 μL、40 mg / mL を含む脱イオン水、約 15, 000 g / mol) を含む 1.5 mL 遠心管中に、25 μL の 1 M HEPES (pH 8.5) 緩衝液を添加する。ボルテックス後、35 μL の DMSO を添加し、溶液をボルテックスする。v 6 インテグリンリガンドを反応物に添加し (6 当量 / 二重鎖、2 当量 / アルキン、約 15 μL)、溶液をボルテックスする。pH 試験紙を使用して pH をチェックし、約 pH 8 であることを確認した。個別の 1.5 mL 遠心管中で、50 μL の 0.5 M THPTA を 10 μL の 0.5 M Cu(II)SO₄ · 5 H₂O と混合し、ボルテックスし、室温で 5 分間インキュベートした。5 分後、THPTA / Cu 溶液 (7.2 μL、6 当量 5 : 1 THPTA : Cu) を反応バイアルに添加し、ボルテックスした。その

10

20

30

40

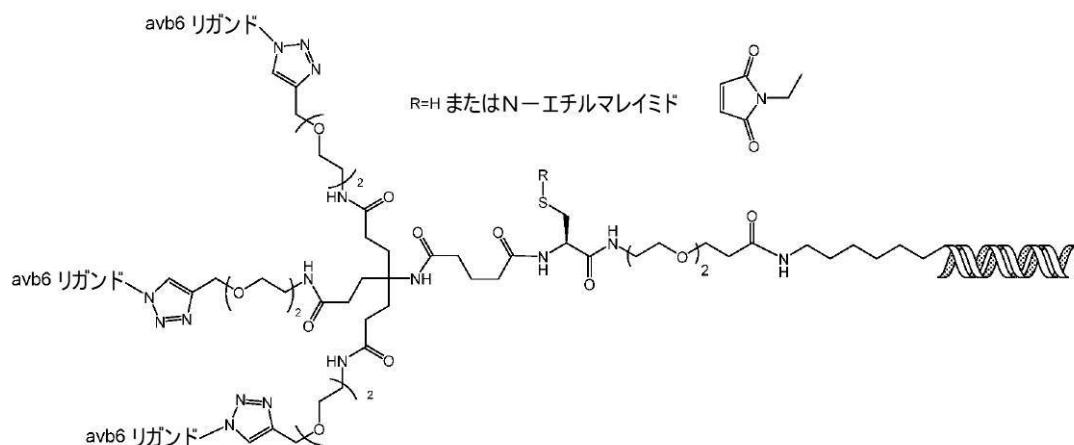
50

直後に、2 M アスコルビン酸塩（5 μL、50当量／二重鎖、16.7／アルキン）を反応バイアルに添加し、ボルテックスした。反応が完了した時点で（典型的には、0.5～1時間で完了する）、反応物を直ちに未変性陰イオン交換クロマトグラフィによって精製した。

【0524】

G. システインリンカー上のチオール基の官能化。いくつかの例では、システインリンカーを使用して、 ν_6 インテグリンリガンドの RNAi 剤への結合を容易にすることができます。アニーリング前またはアニーリング後のいずれかに、以下の構造に示すように、5' または 3' 三座アルキン - Cys (Stbu) - PEG 官能化センス鎖を、マレイミド含有部分で官能化するか、還元して遊離チオールとして遊離させることができます：

【化353】



10

20

【0525】

以下に、N-エチルマレイミドでのトリアルキン - Cys (Stbu) - PEG2 - 二重鎖の修飾の例を記載する：トリアルキン - Cys (Stbu) - PEG2 - 二重鎖 (3.5 mg) を、500 μL の脱イオン水に溶解した。HEPES 緩衝液 (1 M、pH 8.5、82 μL) を反応物に添加し、溶液をボルテックスした。1 M ジチオトレイトル溶液 (DTT、100 当量、236 μL) を添加し、溶液をボルテックス振盪機に3時間配置した。変性 RP-HPLC によるジスルフィドの還元の確認後、結合体を、1×リン酸緩衝生理食塩水 / アセトニトリル (1:14 の比) の溶媒系で3回沈殿させた。沈殿したペレットを 0.5 mL の 0.1 M HEPES (pH 6.5) で再構成し、N-エチルマレイミド (3 mg、10 当量) をこの溶液に添加し、ボルテックスミキサーに約 15 分間おいた。反応完了後、結合体を 1×リン酸緩衝生理食塩水 / アセトニトリル (1:14 の比) の溶媒系で3回沈殿させ、脱塩し、乾燥させた。

実施例 3. ν_6 インテグリンリガンド結合活性。

【0526】

以下の表 1 で報告するように、構造 1 および 2 の ν_6 インテグリンリガンドについての IC50 結合データを得た：

【表 1】

表1. IC50結合活性。

30

40

【0527】

50

群	IC50 (nM)		
	$\alpha\beta3$	$\alpha\beta5$	$\alpha\beta6$
構造物 1	不活性	不活性	13
構造物 2	不活性	不活性	129

アジド官能化構造体（すなわち、構造体 1 b および 2 b）を、当該分野で典型的に使用され、かつ公知の条件下で I C 5 0 について試験した。上記の表 1 に示すように、構造体 1 および 2 は、 v 6 インテグリンへの選択的結合を示した。

実施例 4 . ラットにおける v 6 インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 気管内投与。

【 0 5 2 8 】

センス鎖およびアンチセンス鎖を含む RNAi 剤を、当該分野で公知であり、かつ本明細書中の実施例 2 に記載のオリゴヌクレオチド合成で共通に使用される一般的手順にしたがって、固相におけるホスホルアミダイトテクノロジーにより合成した。RNAi 剤は、アミロライド感受性上皮ナトリウムチャネルの サブユニット（一般的に - ENaC または SCN N 1 A と呼ばれる）を発現する遺伝子に少なくとも部分的に相補的な核酸塩基配列を有するアンチセンス鎖を含んでいた。 - ENaC RNAi 剤を、 - ENaC の伝令 RNA (mRNA) 転写物の翻訳を配列特異的様式で分解または阻害することができ、それにより、 - ENaC 遺伝子の発現を阻害することができるようデザインした。この実施例で使用した RNAi 剤 (AD04835) は、修飾されたヌクレオチドおよび 1 つを超える非ホスホジエステル結合から構成され、以下のヌクレオチド配列を含んでいた：

センス鎖配列 (5' - 3') :

(NH₂ - C₆) s g s c u g u g c a A f C f C f a g a a c a a a u a s (inv Ab) (配列番号 1)

アンチセンス鎖配列 (5' - 3')

c P r p u s A f s u s U f u G f u U f c U f g G f u U f g C f a C f a G f s c (配列番号 2)

ここで、(invAb) は、反転 (3' - 3' 連結) 脱塩基デオキシリボヌクレオチドを表し； s は、ホスホロチオアート連結を表し； a, c, g, および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、2' - O - メチルシチジン、2' - O - メチルグアノシン、または 2' - O - メチルウリジンを表し； Af, Cf, Gf, および Uf は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、2' - フルオロシチジン、2' - フルオログアノシン、または 2' - フルオロウリジンを表し； cPrpu は、5' - シクロプロピルホスホナート - 2' - O - メチルウリジンを表し（例えば、表 A を参照のこと）； (NH₂ - C₆) は、必要に応じてターゲティングリガンド結合を容易にするための C₆ 末端アミンを表す（例えば、表 A を参考のこと）。

【 0 5 2 9 】

当業者が明確に理解するように、ヌクレオチドモノマーは、オリゴヌクレオチド中に典型的に存在するホスホジエステル結合の代わりに本明細書中に開示の修飾されたヌクレオチド配列に示されるホスホロチオアート連結を含めたことを除き、標準的なホスホジエステル結合によって連結されている。

【 0 5 3 0 】

研究 1 日目および 2 日目に、雄 Prague - Dawley ラットに、微量噴霧デバイス (Penn Century, Philadelphia, PA) によって 200 マイクロリットルの用量を気管内に投与し、用量には、以下の服薬群を含んでいた：

(1) 5 % デキストロースを含む水性ビヒクリ (D5W) ;

(2) 3.0 mg / kg の、5 % デキストロース水溶液 (d5w) 中に処方されたリガンドを含まない - ENaC RNAi 剤 (AD04835)（「ネイキッド RNAi 剤」）；または

(3) 3.0 mg / kg の、d5w 中に処方された構造物 1 の三座 v 6 インテグリンリガンドに結合された - ENaC RNAi 剤 (AD04835)。

【 0 5 3 1 】

群 2 および 3 において同一の - ENaC RNAi 剤を使用した。群 3 については、次いで、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端上に存在する末端アミン (NH₂ - C₆) を、3

10

20

30

40

50

つの末端アルキン基を含む足場に結合した。次いで、アルキン基を、構造物 1 b 上に存在するアジド官能基に結合し、それにより、構造物 1 の三座 \vee 6 インテグリンリガンドが形成された。一般的な合成手順は、上記の実施例 2 に記載されている。

【0532】

群あたり四(4)匹のラットに服薬させた。ラットを5日目に安樂死させ、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。-ENaCのmRNA存在量を、プローブベースの定量PCRによって定量し、GAPDH発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95%信頼区間)。

【表2】

表2. 実施例4の対照に対して正規化されたmRNAの相対 α -ENaC発現。

10

群	相対発現 (幾何平均)	下側／上側 95%信頼区間
(1) 5%デキストロースビヒクル	1.000	0.81 / 1.23
(2) ネイキッドRNAi剤(リガンドなし)	0.36	0.07 / 1.79
(3) 三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物1[($\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物1) ₃ -RNAi剤]	0.19	0.05 / 0.59

【0533】

上の表2に示すように、-ENaC RNAi剤に結合した三座形態の構造物1の \vee 6インテグリンリガンド(すなわち、群3)は、in vivoでいかなるリガンドも用いないネイキッドRNAi剤(64%ノックダウン)(すなわち、群2)およびビヒクル対照と比較して-ENaC mRNA(およそ81%ノックダウン)の相対的ノックダウンの増加を示した。

20

実施例5. ラットにおける \vee 6インテグリンリガンドに結合した-ENaCを標的にするRNAi剤のin vivo口腔咽頭吸引投与。

【0534】

以下の実施例では、 \vee 6インテグリンを介した目的の細胞へのカーゴ分子の送達を試験するためのカーゴ分子として種々のRNAi剤を使用する。本明細書中で使用した一定のRNAi剤は、米国特許出願第62/679,549号(その全体が、本明細書中で参考として援用される)に記載されている。

30

【0535】

研究1日目に、雄S prague Dawleyラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して200マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

40

50

【表3】

表3. 実施例5におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬 レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目の単回 OP服薬
2	0. 5mg/kgの、構造物2の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD04835) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回 OP服薬
3	0. 5mg/kgの、構造物5. 1の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD04835) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回 OP服薬
4	0. 5mg/kgの、構造物5. 2の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD04835) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回 OP服薬
5	0. 5mg/kgの、構造物6の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD04835) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回 OP服薬
6	0. 5mg/kgの、構造物6. 1の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD04835) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回 OP服薬
7	0. 5mg/kgの、構造物6. 2の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD04835) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回 OP服薬

10

20

30

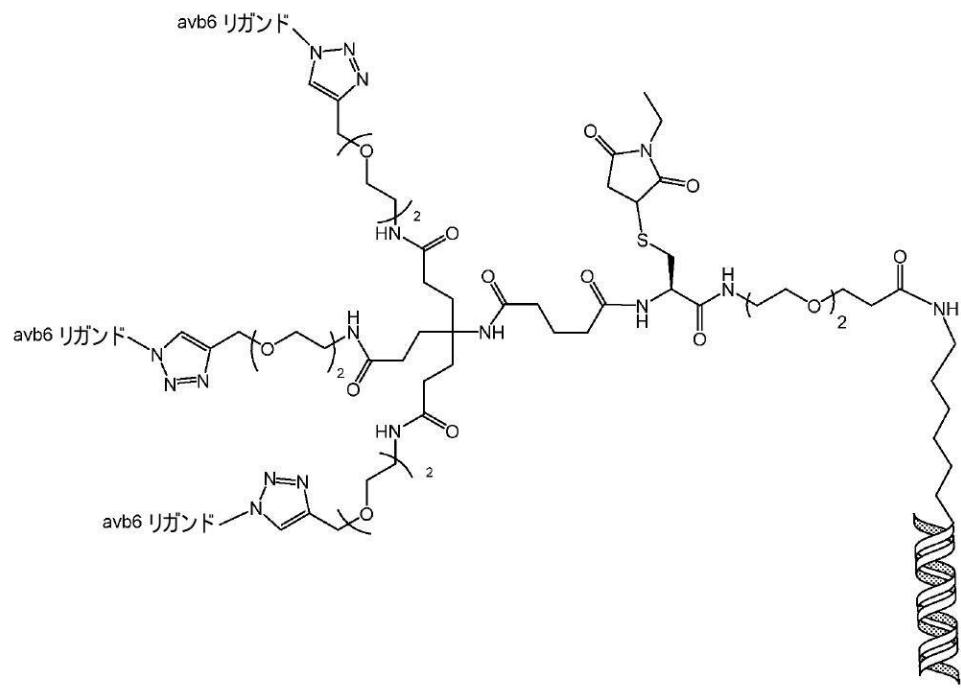
【0536】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、これは、 v 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂ - C₆) を含んでいた。次いで、各 v 6 インテグリンリガンドを、システイン - n - エチル - マレイミドリンカーを含む三座足場を介して RNAi 剤に結合した。実施例 5 の RNAi 剤 - v 6 インテグリンリガンド結合体について、 RNAi 剤および足場 / リンカー構造は、群 2 ~ 7 の各々で一貫していた。したがって、群 2 ~ 7 では、使用した特異的 v 6 インテグリンリガンド (各々が三座形態) のみが異なっていた。実施例 5 の RNAi 剤 - v 6 インテグリンリガンド結合体は、以下に表す構造を有していた：

40

50

【化354】



10

20

(式中、

【化355】



はRNAi剤を表し、「avb6リガンド」は、各リガンド構造を表す）。この実施例で使用したRNAi剤（AD04835）の構造は、上の実施例4に記載されている。

【0537】

各群中の五（5）匹のラットに服薬させた（n = 5）。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。rENaC（SCNN1A）mRNA発現を、プローブベースの定量PCRによって定量し、GAPDH発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した（幾何平均、+/-95%信頼区間）。

30

【表4-1】

表4. 実施例5における屠殺時（9日目）の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低（エラー）	高（エラー）
群1（等張生理食塩水）	1.000	0.195	0.243
群2（RNAi剤-Cys-(n-エチル-Mal)-PEG ₂ -三座avb6インテグリンリガンド構造物2）	0.543	0.114	0.145
群3（RNAi剤-Cys-(n-エチル-Mal)-PEG ₂ -三座avb6インテグリンリガンド構造物5.1）	0.541	0.138	0.185

40

50

【表4 - 2】

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群4(RNAi剤-Cys-(n-エチル-Mal)-PEG ₂ -三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物5. 2)	0.522	0.151	0.212
群5(RNAi剤-Cys-(n-エチル-Mal)-PEG ₂ -三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6)	0.399	0.108	0.148
群6(RNAi剤-Cys-(n-エチル-Mal)-PEG ₂ -三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.351	0.100	0.139
群7(RNAi剤-Cys-(n-エチル-Mal)-PEG ₂ -三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6. 2)	0.568	0.061	0.068

10

【0538】

上の表4に示すように、各々の - ENaC RNAi 剤は、対照と比較してラットにおけるmRNA発現が減少した。例えば、群6(AD04835-三座-構造物6.1)は、対照と比較して平均rENaC mRNA発現のおよそ65%の減少(0.351)を示した;群2(AD04835-三座-構造物2)は、対照と比較して平均rENaC mRNA発現のおよそ46%の減少(0.543)を示した;群4(AD04835-三座-構造物5.2)は、対照と比較して平均rENaC mRNA発現のおよそ48%の減少(0.522)を示した。

20

実施例6. ラットにおける ν_6 インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 口腔咽頭吸引投与。

【0539】

研究1日目に、雄 Sprague Dawley ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 200 マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

【表5 - 1】

表5. 実施例6におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目の単回OP服薬
2	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物2の三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD05347)(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
3	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物2の三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD05453)(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
4	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物6の三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD05453)(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)	1日目の単回OP服薬

30

40

50

【表5-2】

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
	(等張生理食塩水中に処方)。	
5	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物6.1の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD05453) (すなわち、構造物300aに表した構造を有する) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
6	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物7の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC二本鎖RNAi剤(AD05453) (すなわち、構造物300aに表した構造を有する) (等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬

10

【0540】

ヒト α -ENaC遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有するRNAi剤を合成し、これは、 v_6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の5'末端に官能化アミン反応基(NH₂-C₆)を含んでいた。この実施例で使用したRNAi剤は、修飾されたヌクレオチドおよび1つを超える非ホスホジエステル結合から構成され、以下のヌクレオチド配列を含んでいた：

20

AD05347:

センス鎖配列(5' 3'):

(NH₂-C₆) c s c u g u g c a A f C f C f a g a a c a a a u a s (invAb) (配列番号3)

アンチセンス鎖配列(5' 3')

c P r p u s A f s u s U f u G f u U f c U f g G f u U f g C f a C f a G f s c
(配列番号2)、および

AD05453:

センス鎖配列(5' 3'):

(NH₂-C₆) c s c u g u g c a A f C f C f a g a a c a a a u a s (invAb) (配列番号3)

アンチセンス鎖配列(5' 3')

u s A f s u s U f u G f u U f c U f g G f u U f g C f a C f a G f s g (配列番号4)、

30

ここで、(invAb)は、反転(3' - 3'連結)脱塩基デオキシリボヌクレオチドを表し；sは、ホスホロチオアート連結を表し；a、c、g、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、2'-O-メチルシチジン、2'-O-メチルグアノシン、または2'-O-メチルウリジンを表し；Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、2'-フルオロシチジン、2'-フルオログアノシン、または2'-フルオロウリジンを表し；cPrpuは、5'-シクロプロピルホスホナート-2'-O-メチルウリジンを表し(例えば、表Aを参照のこと)；(NH₂-C₆)は、必要に応じてターゲティングリガンド結合を容易にするためのC₆末端アミンを表す(例えば、表Aを参照のこと)。

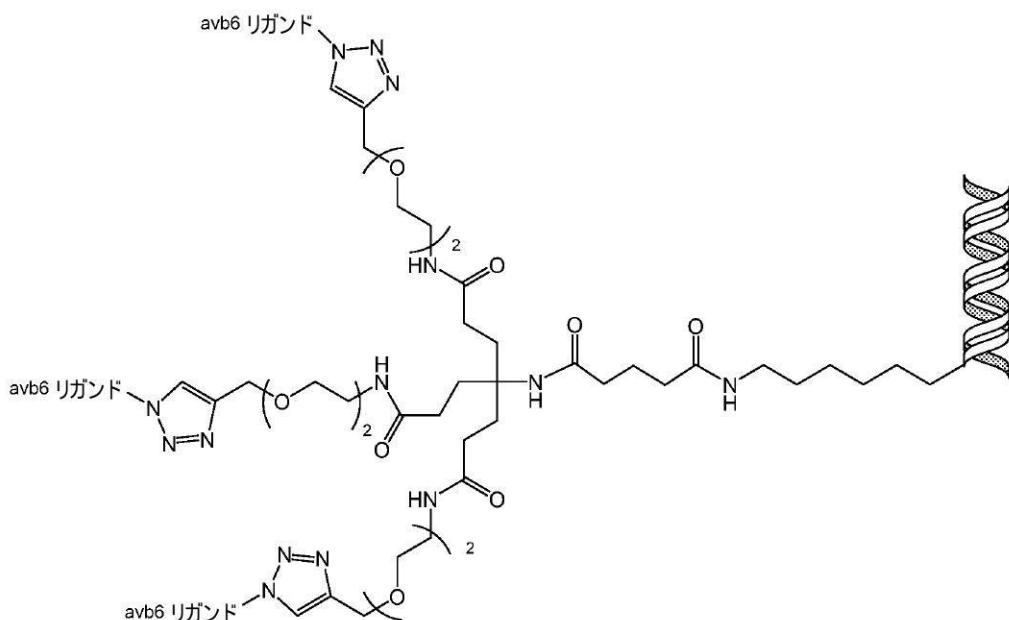
40

【0541】

群2、3、4、5、6について、以下の構造物300aに示すように、各 v_6 インテグリンリガンドを、(グルタル酸の付加を介して)グルタル酸リンカーを含む三座足場/リンカー構造を介してRNAi剤に結合した：

50

【化356】



(構造物 300a),

20

(式中、

【化357】



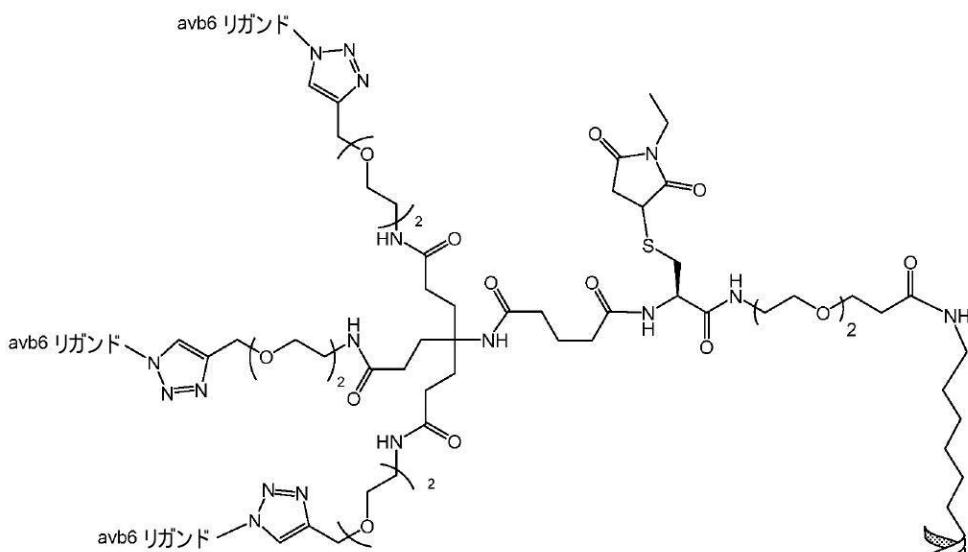
はRNAi剤を表し、「avb6 リガンド」は、各リガンド構造を表す)。

【0542】

群7および8について、各々のv6インテグリンリガンドを、構造物330aに示す構造を有する三座足場/リンカー構造を介してRNAi剤に結合した:

【化358】

30



(構造物 330a),

(式中、

50

【化359】



はRNA i 剤を表し、「 α ν β 6 リガンド」は、各リガンド構造を表す)。

【0543】

群1、3、4、6、および7中の四(4)匹のラットに服薬させた($n = 4$) ; 群5および8中の五(5)匹のラットに服薬させた($n = 5$) ; 群2中の三(3)匹のラットに服薬させた($n = 3$)。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。 - ENaC (SCNN1A) mRNA発現を、プローブベースの定量PCRによって定量し、GAPDH発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95%信頼区間)。

10

【表6-1】

表6. 実施例6における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	動物数 (n=)	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	4	1.000	0.137	0.159
群2(0.5mg/kg AD05347-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	3	0.486	0.090	0.110

20

【表6-2】

群ID	動物数 (n=)	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群3(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	4	0.615	0.066	0.074
群4(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6)	4	0.512	0.119	0.156
群5(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	5	0.494	0.101	0.127
群6(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物7)	4	0.743	0.104	0.121

30

【0544】

上の表6に示すように、各々の - ENaC RNA i 剤は、対照と比較してラットにおけるmRNA発現が減少した。例えば、群5(AD05453-三座 ν 6インテグリンリガンド構造物6.1)は、対照と比較して平均rENaC mRNA発現のおよそ51%の減少(0.494)を示し、群3(AD05453-三座 ν 6インテグリンリガンド構造物2)は対照と比較して平均rENaC mRNA発現のおよそ38%の減少(0.615)を示した。さらに、群5(ν 6インテグリンリガンド構造物6.1を含んでいた)は、群6(ν 6インテグリンリガンド構造物7を含んでいた)より改善され、これは、 ν 6インテグリンリガンドについての構造物7で認められる(r)を超える構造物6.1で認められる(s)のキラリティーの依存性を示していた。

40

実施例7. ラットにおける ν 6インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標

50

的にするRNAi剤のin vivo口腔咽頭吸引投与。

【0545】

研究1日目に、雄Sprague Dawleyラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して200マイクロリットルを口腔咽頭（「OP」）吸引投与によって服薬させた：

【表7-1】

表7. 実施例7におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目の単回OP服薬
2	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物2の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05347(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬

【表7-2】

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
3	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物6.1の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05347(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
4	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物2の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
5	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物9の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
6	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物6の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
7	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物8の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
8	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物6.1の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
9	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物10の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
10	0.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物11の三座 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬
11	0.5mg/kgの、20キロダルトン(kDa)PEG部分をさらに含むセンス鎖の5'末端上のアミン(NH ₂ -C ₆)連結を介して三座ペプチドベースの上皮細胞ターゲティングリガンドに結合した α -ENaC RNAi剤AD05453(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬

10

20

30

40

50

【0546】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、これは、 ν 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。この実施例で使用した RNAi 剤のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。群 2、3、4、5、6、7、8、9、および 10 について、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すように、各々の ν 6 インテグリンリガンドを、グルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。群 11 について、上皮細胞ターゲティグリガンドは、 ν 6 インテグリンに結合することが公知の RGD 模倣ペプチドから構成され、薬物動態 (PK) モジュレーターとしての 20kDa PEG 部分を含んでいた。

10

【0547】

各群中の四 (4) 匹のラットに服薬させた (n = 4)。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。- ENaC (SCNN1A) mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した (幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

【表 8】

表8. 実施例7における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.162	0.193
群2(0.5mg/kg AD05347-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	0.469	0.101	0.129
群3(0.5mg/kg AD05347-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.358	0.078	0.100
群4(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	0.562	0.086	0.102
群5(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物9)	0.620	0.168	0.230
群6(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6)	0.559	0.099	0.120
群7(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物8)	0.691	0.072	0.081
群8(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.454	0.055	0.063
群9(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物10)	0.454	0.080	0.097
群10(0.5mg/kg AD05453-グルタル酸-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物11)	0.577	0.113	0.140
群11(0.5mg/kg AD05453-三座ペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンド-20kDa PEG)	0.558	0.057	0.064

20

30

【0548】

上の表 8 に示すように、各々の - ENaC RNAi 剤は、対照と比較してラットにおける mRNA 発現が減少した。例えば、群 3 (AD05347-グルタル酸-三座 ν 6 インテグリンリガンド構造物 6.1) は、対照と比較して平均 rENaC mRNA 発現のおよそ 64% の減少 (0.358) を示し、群 8 (AD05453-グルタル酸-三座 ν 6 インテグリンリガンド構造物 6.1) は、対照と比較して平均 rENaC mRNA 発現のおよそ 55% の減少 (0.454) を示した。さらに、実施例 7 中の ν 6 インテグリンリガンド (すなわち、構造物 2、構造物 6、構造物 6.1、構造物 8、構造物 9、構造物 10、および構造物 11) は全て、群 11 の薬物動態学的效果を増強するための比較的嵩高い 20 キロダルトンの PEG 部分をさらに含む三座ペプチドベースの

40

50

上皮細胞ターゲティグリガンドに匹敵するノックダウンレベルを示した。

実施例 8 . ラットにおける ν 6 インテグリンリガンドに結合した α -ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 気管内投与

【0549】

研究 1 日目および 2 日目に、雄 Sprague Dawley ラットに、微量噴霧デバイス (Penn Century, Philadelphia, PA) を介して 200 マイクロリットルの用量を気管内に投与し、前述の用量は、以下の服薬群を含んでいた：

【表 9】

表9. 実施例8におけるラットの服薬群。

群	RNAi 剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水 (RNAi 剤なし)	1 日目および 2 日目の IT 服薬
2	1.5 mg/kg の、20 キロダルトン (kDa) PEG 部分、システインリソマー、および FCFP ペプチドリンカーをさらに含むセンス鎖の 5' 末端上にアミン ($\text{NH}_2 - \text{C}_6$) 連結を介して単座のペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンドに結合した α -ENaC RNAi 剤 AD04835 (等張生理食塩水中に処方)。	1 日目および 2 日目の IT 服薬
3	0.5 mg/kg の、システインリソマーを含む構造物 1 の三座 $\alpha\nu\beta$ 6 インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi 剤 AD04835 (すなわち、構造物 331a に表した構造を有する) (等張生理食塩水中に処方)。	1 日目および 2 日目の IT 服薬
4	1.5 mg/kg の、システインリソマーを含む構造物 1 の三座 $\alpha\nu\beta$ 6 インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi 剤 AD04835 (すなわち、構造物 331a に表した構造を有する) (等張生理食塩水中に処方)。	1 日目および 2 日目の IT 服薬
5	1.5 mg/kg の、システイン- n -エチル-マレイミドリンカーを含む構造物 1 の三座 $\alpha\nu\beta$ 6 インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi 剤 AD04835 (すなわち、構造物 330a に表した構造を有する) (等張生理食塩水中に処方)。	1 日目および 2 日日の IT 服薬
6	1.5 mg/kg の、20 kDa PEG 部分およびシステインリソマーをさらに含むセンス鎖の 5' 末端上にアミン ($\text{NH}_2 - \text{C}_6$) 連結を介して三座ペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンドに結合した α -ENaC RNAi 剤 AD04835 (等張生理食塩水中に処方)	1 日目および 2 日日の IT 服薬
7	1.5 mg/kg の、グルタル酸リソマーを含む構造物 1 の三座 $\alpha\nu\beta$ 6 インテグリンリガンドに結合した α -ENaC RNAi 剤 AD04835 (すなわち、構造物 300a に表した構造を有する) (等張生理食塩水中に処方)。	1 日目および 2 日日の IT 服薬

10

20

30

【0550】

ヒト α -ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、これは、 ν 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 ($\text{NH}_2 - \text{C}_6$) を含んでいた。この実施例で使用した RNAi 剤のヌクレオチド配列は、上の実施例 4 に記載されている。

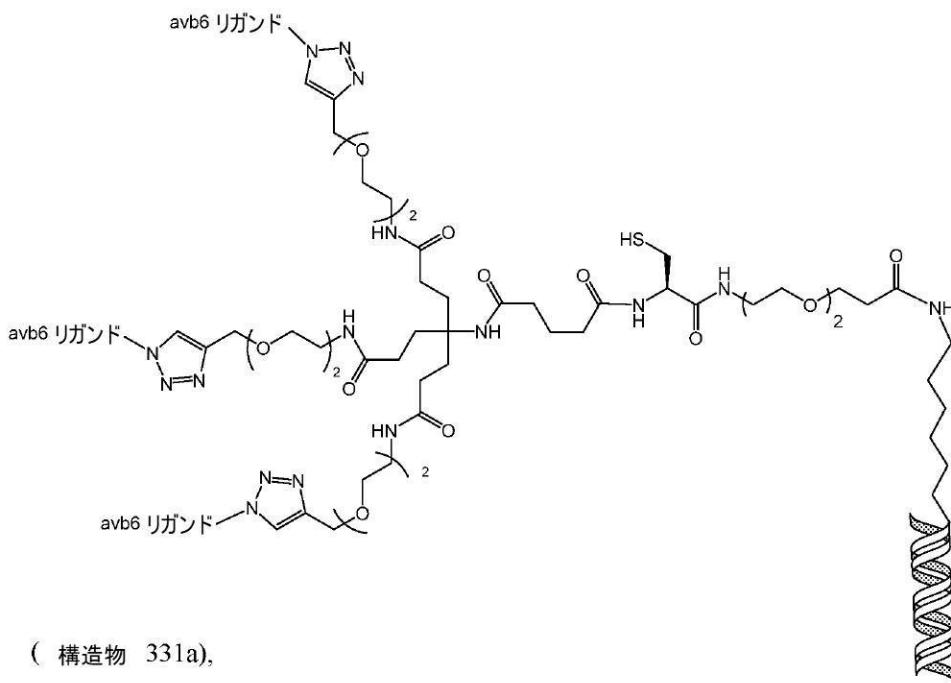
40

【0551】

群 3 および 4 について、構造物 1 の ν 6 インテグリンリガンドを、以下の構造物 331a に示すように、システインリソマーを含む三座足場およびリソマー構造を介して RNAi 剤に結合した：

50

【化360】



(構造物 331a),

20

(式中、

【化361】



はRNAi剤を表し、「avb6リガンド」は、各リガンド構造を表す)。

【0552】

群5について、v6インテグリンリガンドを、上の実施例6に示す構造物330aに示す三座足場およびシステイン-n-エチル-マレイミドリンカーを含むリンカー構造を介してRNAi剤に結合した。群7について、v6インテグリンリガンドを、上の実施例6に示す構造物300aに示す三座足場およびグルタル酸リンカーを含むリンカー構造を介してRNAi剤に結合した。群2および6について、ペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンドは、RGD模倣ペプチドから構成され、薬物動態(PK)モジュレーターとしての20kDa PEG部分を含んでいた。

30

【0553】

同一の-ENaC RNAi剤を、群2~7の各々で使用した。

【0554】

各群1、2、3、4、5、および6中の五(5)匹のラットに服薬させ($n=5$)、群7中の四(4)匹のラットに服薬させた($n=4$)。研究8日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。-ENaC(SCNN1A)mRNA発現を、プローブベースの定量PCRによって定量し、GAPDH発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95%信頼区間)。

40

50

【表10】

表10. 実施例8における屠殺時(8日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.143	0.167
群2(1.5mg/kgのAD04835-Cys-FCFP-単座ペプチドベースのリガンド-PEG20kDa)	0.354	0.078	0.100
群3(0.5mg/kgの構造物1のAD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド)	0.695	0.215	0.312
群4(1.5mg/kgの構造物1のAD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド)	0.438	0.077	0.093
群5(1.5mg/kgの構造物1のAD04835-Cys-(n-エチル-Mal)-三座αvβ6インテグリンリガンド)	0.349	0.083	0.108
群6(1.5mg/kgのAD04835-Cys-PEG20k-三座ペプチドベースのリガンド)	0.643	0.070	0.079
群7(1.5mg/kgの構造物1のAD04835-グルタル酸-三座αvβ6インテグリンリガンド)	0.648	0.184	0.256

【0555】

上の表10に示すように、各々の - ENaC RNAi 剤は、対照と比較してラットにおけるmRNA発現が減少した。例えば、群5 (AD04835-Cys-(n-エチル-Mal)-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物1を含む)は、対照と比較して平均rENaC mRNA発現のおよそ65%の減少(0.358)を示し、これは、薬物動態モジュレーターとしての20kDaのPEG部分も含むペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンドを有する群2で達成されたノックダウンレベルに匹敵した。

実施例9. ラットにおけるαvβ6インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標的にするRNAi剤のin vivo 気管内投与

【0556】

研究1日目および2日目に、雄Sprague Dawleyラットに、微量噴霧デバイス(Penn Century, Philadelphia, PA)を介して200マイクロリットルの用量を気管内に投与し、前述の用量は、以下の服薬群を含んでいた：

【表11-1】

表11. 実施例9におけるラットの服薬群。

【表11-2】

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目および2日目のIT服薬
2	1.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物1の三座αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤AD04835(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および2日日のIT服薬
3	1.5mg/kgの、グルタル酸リンカーを含む構造物2の三座αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤AD04835(すなわち、構造物300aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および2日日のIT服薬
6	1.5mg/kgの、システインリンカーを含む構造物2の三座αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤AD04835(すなわち、構造物331aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および2日日のIT服薬

【0557】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、これは、 ν 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセанс鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。この実施例で使用した RNAi 剤のヌクレオチド配列は、上の実施例 4 に記載されている。群 2 および 3 について、それぞれの ν 6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。群 6 について、それぞれの ν 6 インテグリンリガンドを、上の実施例 8 に示す構造物 331a に示すシステインリンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

10

【0558】

同一の - ENaC RNAi 剤を、群 2 ~ 8 の各々で使用した。

群 1 中の五 (5) 匹のラットに服薬させ (n = 5)、各群 2 および 3 中の四 (4) 匹のラットに服薬させた (n = 4)。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。 - ENaC (SCNN1A)mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した (幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

【表 12 - 1】

表 12. 実施例 9 における屠殺時 (9 日目) の平均相対 rENaC mRNA 発現。

群ID	平均相対 rENaC mRNA 発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群 1 (等張生理食塩水)	1.000	0.165	0.197
群 2 (1.5mg/kg AD04835-グルタル酸-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6 インテグリンリガンド構造物 1)	0.545	0.121	0.156

20

【表 12 - 2】

群 3 (1.5mg/kg AD04835-グルタル酸-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6 インテグリンリガンド構造物 2)	0.483	0.038	0.041
群 6 (1.5mg/kg AD04835-Cys-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6 インテグリンリガンド構造物 2)	0.237	0.125	0.267

30

【0559】

上の表 12 に示すように、各々の - ENaC RNAi 剤は、対照と比較してラットにおける mRNA 発現が減少した。例えば、群 3 (RNAi 剤 - グルタル酸 - 三座 ν 6 インテグリンリガンド構造物 2) は、対照と比較して平均 rENaC mRNA 発現のおよそ 52% の減少 (0.483) を示し、群 6 (RNAi 剤 - Cys - 三座 ν 6 インテグリンリガンド構造物 2) は、対照と比較して平均 rENaC mRNA 発現のおよそ 76% の減少 (0.237) を示した。

実施例 10. ラットにおける ν 6 インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 気管内投与。

40

【0560】

研究 1 日目および 2 日目に、雄 Prague Dawley ラットに、微量噴霧デバイス (Penn Century, Philadelphia, PA) を介して 200 マイクロリットルの用量を気管内に投与し、前述の用量は、以下の服薬群を含んでいた：

【0561】

50

【表13-1】

表13. 実施例10におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目および 2日目のIT服薬
2	1. 0mg/kgの、20kDa PEG部分、システインリンカー、およびFCFPペプチドリンカーをさらに含むセンス鎖の5'末端上のアミン(NH ₂ -C ₆)連結を介して单座のペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤 AD04835(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および 2日目のIT服薬
3	1. 5mg/kgの、システインリンカーを含む構造物1の三座 αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤 AD04835(すなわち、構造物331aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および 2日目のIT服薬
4	1. 5mg/kgの、システインリンカーを含む構造物2の三座 αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤 AD04835(すなわち、構造物331aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および 2日目のIT服薬
5	1. 0mg/kgの、システインリンカーを含む構造物2の三座 αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤 AD04835(すなわち、構造物331aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および 2日目のIT服薬
6	0. 50mg/kgの、システインリンカーを含む構造物2の三座 αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤	1日目および 2日目のIT服薬

10

20

30

【表13-2】

	AD04835(すなわち、構造物331aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	
7	0. 10mg/kgの、システインリンカーを含む構造物2の三座 αvβ6インテグリンリガンドに結合したα-ENaC RNAi剤 AD04835(すなわち、構造物331aに表した構造を有する)(等張生理食塩水中に処方)。	1日目および 2日目のIT服薬

40

【0562】

ヒト - E N a C 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する R N A i 剤を合成し、これは、 v 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (N H₂ - C₆) を含んでいた。この実施例で使用した R N A i 剤のヌクレオチド配列は、上の実施例 4 に記載されている。群 3 、 4 、 5 、および 6 について、それぞれの v 6 インテグリンリガンドを、上の実施例 8 に示す構造物 331a に示すシステインリンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して R N A i 剤に結合した。群 2 について、ターゲティグリガンドは、 R G D 模倣ペプチドから構成され、薬物動態 (P K) モジュレーターとしての 20 k D a P E G 部分および F C F P ペプチドリンカーを含んでいた。

【0563】

同一の - E N a C R N A i 剤を、群 2 ~ 7 の各々で使用した。

【0564】

各群中の五 (5) 匹のラットに服薬させた (n = 5) 。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての R N A を単離した。 - E N a C (S C N N 1 A) m R N A 発現を、プローブベースの定量 P C R によって定量し、 G A P D H 発現に対して正規化し、ビヒクリ对照群に対する割合として示した (幾何平均、 + / - 95 % 信頼区間) 。

50

【表14】

表14. 実施例10における屠殺時(8日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.164	0.196
群2(1.0mg/kg AD04835-Cys-PEG20kDa-FCFP-PEG ₂₀ -ペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンド)	0.531	0.132	0.176
群3(1.5mg/kg AD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物1)	0.451	0.156	0.238
群4(1.5mg/kg AD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物2)	0.418	0.077	0.094
群5(1.0mg/kg AD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物2)	0.436	0.043	0.048
群6(0.5mg/kg AD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物2)	0.537	0.049	0.054
群7(0.1mg/kg AD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物2)	0.616	0.069	0.078

上の表14に示すように、各々の - ENaC RNAi 剤は、対照と比較してラットにおけるmRNA発現が減少した。特に、群5(1.0mg/kg AD04835-Cys-三座αvβ6インテグリンリガンド構造物2)は、薬物動態モジュレーターとしての巨大な20キロダルトンのPEG部分を含まないにもかかわらず、群2(1.0mg/kg AD04835-Cys-PEG20kDa-FCFP-PEG₂₀-ペプチドベースの上皮細胞ターゲティグリガンド)と比較して、- ENaC 発現の阻害レベルが数値的に優れていた(群5=およそ56%ノックダウン(0.436);群2=およそ47%ノックダウン(0.531))。

実施例11. ラットにおけるαvβ6インテグリンリガンドに結合した- ENaCを標的にするRNAi剤のin vivo口腔咽頭吸引投与。

【0565】

研究1日目、2日目、および3日目に、雄Sprague Dawleyラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して200マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

10

20

30

40

50

【表 15】

表15. 実施例11におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
2	0. 01mg/kgのAD05453(「ネイキッドRNAi剤」)(等張生理食塩水中に処方)。	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
3	0. 05mg/kgのAD05453(「ネイキッドRNAi剤」)(等張生理食塩水中に処方)	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
4	0. 15mg/kgのAD05453(「ネイキッドRNAi剤」)(等張生理食塩水中に処方)	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
5	0. 50mg/kgのAD05453(「ネイキッドRNAi剤」)(等張生理食塩水中に処方)	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
6	0. 01mg/kgの構造物6. 1の三座 α v β 6インテグリンリガンドに結合したAD05453(等張生理食塩水中に処方)。	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
7	0. 05mg/kgの、構造物6. 1の三座 α v β 6インテグリンリガンドに結合したAD05453(等張生理食塩水中に処方)。	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
8	0. 15mg/kgの、構造物6. 1の三座 α v β 6インテグリンリガンドに結合したAD05453(等張生理食塩水中に処方)。	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬
9	0. 50mg/kgの、構造物6. 1の三座 α v β 6インテグリンリガンドに結合したAD05453(等張生理食塩水中に処方)。	1、2、および3日目の各々にOP投与によって服薬

【0566】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、これは、 ν 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂ - C₆) を含んでいた。この実施例で使用した RNAi 剤のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 ν 6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

【0567】

各群 1、3、4、5、8、および 9 中の五(5)匹のラットに服薬させ(n = 5)、群 2、6、および 7 中の六(6)匹のラットに服薬させた(n = 6)。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。- ENaC (SCNN1A)mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

10

20

30

40

50

【表16】

表16. 実施例11における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.199	0.249
群2(0.01mg/kg AD05347(ネイキッド))	1.016	0.219	0.279
群3(0.05mg/kg AD05347(ネイキッド))	0.881	0.157	0.192
群4(0.15mg/kg AD05347(ネイキッド))	0.638	0.179	0.250
群5(0.50mg/kg AD05347(ネイキッド))	0.354	0.076	0.097
群6(0.01mg/kg AD05453—グルタル酸—三座 $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.646	0.058	0.063
群7(0.05mg/kg AD05453—グルタル酸—三座 $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.432	0.044	0.049
群8(0.15mg/kg AD05453—グルタル酸—三座 $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.319	0.034	0.038
群9(0.50mg/kg AD05453—グルタル酸—三座 $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.254	0.043	0.052

【0568】

上の表16に示すように、構造物6.1(三座形態)を有する $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した各-ENaC RNAi剤は、対照と比較してラットにおいてmRNA発現が減少した。さらに、各投薬量レベルにおいて、構造物6.1を有する $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した-ENaC RNAi剤は、ネイキッドで投与した-ENaC RNAi剤より優れており、これはRNAi剤の送達に及ぼすリガンドの効果を示していた(例えば、群2と6;群3と7;群4と8;および群5と9を比較のこと)。

実施例12.さらなる $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンド結合活性。

【0569】

以下の表17で報告するように、本明細書中の一定の実施例で使用した構造物2、6.1、7、および23の $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンドについてのさらなるIC50結合データを得た:

【表17】

表17. IC50結合活性。

群	IC50 (nM) $\alpha\beta 6$
構造物2	205.4
構造物6.1	1.6
構造物7	381.5
構造物23	759.7

【0570】

アジド官能化構造物(すなわち、構造物2bおよび6.1b、7b、および23b)を、当該分野で典型的に用いられており、かつ公知の条件下でIC50について試験した。上の表17に示すように、構造物6.1は、 $\alpha\beta 6$ インテグリンに対する強力な結合活性を示した(IC50 = 1.6 nM)。

実施例13.ラットにおける $\alpha\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した-ENaCを標的にするRNAi剤のin vivo口腔咽頭吸引投与。

【0571】

10

20

30

40

50

研究1日目に、雄 Sprague Dawleyラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して200マイクロリットルを口腔咽頭（「OP」）吸引投与によって服薬させた：

【表18】

表18. 実施例13におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬
5	(0.5mg/kg AD05347三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物1)	1日目に単回OP投与によって服薬
6	(0.5mg/kg AD05347三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	1日目に単回OP投与によって服薬
7	(0.5mg/kg AD05347三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物5)	1日目に単回OP投与によって服薬

10

【0572】

ヒト-ENaC遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有するRNAi剤を合成し、AD05347二重鎖を含むRNAi剤は、v6インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の5'末端に官能化アミン反応基(NH₂-C₆)を含んでいた。RNAi剤AD05347のヌクレオチド配列は、上の実施例6に記載されている。各v6インテグリンリガンドを、上の実施例6に示す構造物300aに示すグルタル酸リンカーを含む三座足場/リンカー構造を介してRNAi剤に結合した。

20

【0573】

各群中の五(5)匹のラットに服薬させた(n=5)。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。-ENaC(SCNN1A)mRNA発現を、プローブベースの定量PCRによって定量し、GAPDH発現に対して正規化し、ビヒクリ对照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95%信頼区間)。

20

【表19】

表19. 実施例13における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

30

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.044	0.046
群5(0.5mg/kg AD05347三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物1)	0.449	0.088	0.109
群6(0.5mg/kg AD05347三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	0.487	0.049	0.055
群7(0.5mg/kg AD05347三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物5)	0.715	0.078	0.087

40

実施例14. ラットにおけるv6インテグリンリガンドに結合した-ENaCを標的にするRNAi剤のin vivo口腔咽頭吸引投与。

【0574】

研究1日目に、雄 Sprague Dawleyラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して200マイクロリットルを口腔咽頭（「OP」）吸引投与によって服薬させた：

50

【表20】

表20. 実施例14におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05347-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物2)	1日目に単回OP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.1)	1日目に単回OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.3)	1日目に単回OP投与によって服薬
5	(0.5mg/kg AD05453-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.4)	1日目に単回OP投与によって服薬

【0575】

ヒト-ENaC遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有するRNAi剤を合成し、AD05347およびAD05453二重鎖を含むRNAi剤は、 ν 6インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の5'末端に官能化アミン反応基(NH₂-C₆)を含んでいた。この実施例で使用したRNAi剤のヌクレオチド配列は、上の実施例6に記載されている。各 ν 6インテグリンリガンドを、上の実施例6に示す構造物300aに示すグルタル酸リンカーを含む三座足場/リンカー構造を介してRNAi剤に結合した。

【0576】

各群中の四(4)匹のラットに服薬させた(n=4)。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。-ENaC(SCNN1A)mRNA発現を、プローブベースの定量PCRによって定量し、GAPDH発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95%信頼区間)。

【表21】

表21. 実施例14における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低(エラー)	高(エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.164	0.197
群2(0.5mg/kg AD05347-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物2)	0.418	0.051	0.058
群3(0.5mg/kg AD05453-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.472	0.071	0.084
群4(0.5mg/kg AD05453-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.3)	0.534	0.059	0.066
群5(0.5mg/kg AD05453-三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.4)	0.620	0.105	0.127

実施例15. ラットにおける ν 6インテグリンリガンドに結合した-ENaCを標的にするRNAi剤のin vivo口腔咽頭吸引投与。

【0577】

研究1日目に、雄Sprague Dawleyラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して200マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

10

20

30

40

50

【表22】

表22. 実施例15におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	1日目に単回OP投与によって服薬
9	(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	1日目に単回OP投与によって服薬
11	(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物12)	1日目に単回OP投与によって服薬
12	(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物13)	1日目に単回OP投与によって服薬

【0578】

ヒト-E NaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、v6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。 RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 v6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

【0579】

各群 1 ~ 9 および 12 中の四(4)匹のラットに服薬させた(n = 4)。群 10 および 11 中の三(3)匹のラットに服薬させた(n = 3)。研究 7 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。 - E NaC (SCNN1A)m RNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95%信頼区間)。

【表23】

表23. 実施例15における屠殺時(7日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低(エラー)	高(エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.058	0.062
群4(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.606	0.217	0.338
群9(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物2)	0.705	0.136	0.169
群11(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物12)	0.703	0.093	0.108
群12(0.5mg/kg AD05453-三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物13)	0.711	0.086	0.098

実施例 16. ラットにおける v6 インテグリンリガンドに結合した - E NaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 口腔咽頭吸引投与。

【0580】

研究 1 日目に、雄 Sprague Dawley ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 200 マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

10

20

30

40

50

【表24-1】

表24. 実施例16におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.1)	1日目に単回OP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物14)	1日目に単回OP投与によって服薬

10

【表24-2】

4	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物15)	1日目に単回OP投与によって服薬
---	---	------------------

【0581】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、 ν_6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂ - C₆) を含んでいた。 RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 ν_6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

20

【0582】

各群中の四(4)匹のラットに服薬させた。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。 - ENaC (SCNN1A) mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

20

【表25】

表25. 実施例16における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.084	0.092
群2(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.597	0.163	0.224
群3(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物14)	0.674	0.115	0.139
群4(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物15)	0.533	0.047	0.052

30

実施例 17. ラットにおける ν_6 インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 口腔咽頭吸引投与。

40

【0583】

研究 1 日目に、雄 Sprague Dawley ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 200 マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた：

50

【表 2 6 - 1】

表26. 実施例17におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.1)	1日目に単回OP投与によって服薬

【表 2 6 - 2】

3	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物16)	1日目に単回OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物11)	1日目に単回OP投与によって服薬

【0 5 8 4】

ヒト-E N a C 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する R N A i 剤を合成し、この R N A i 剤は、 ν 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (N H₂ - C₆) を含んでいた。R N A i 剤 A D 0 5 4 5 3 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 ν 6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 3 0 0 a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して R N A i 剤に結合した。

【0 5 8 5】

四(4)匹のラットに服薬させた群4を除いて、各群中の五(5)匹のラットに服薬させた。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての R N A を単離した。- E N a C (S C N N 1 A) mRNA 発現を、プローブベースの定量 P C R によって定量し、G A P D H 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95%信頼区間)。

【表 2 7】

表27. 実施例17における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.195	0.242
群2(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.489	0.168	0.257
群3(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物16)	0.872	0.104	0.118
群4(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物11)	0.625	0.126	0.158

実施例 18. ラットにおける ν 6 インテグリンリガンドに結合した - E N a C を標的にする R N A i 剤の i n v i v o 口腔咽頭吸引投与。

【0 5 8 6】

研究1日目に、雄 S p r a g u e D a w l e y ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 2 0 0 マイクロリットルを口腔咽頭(「O P」)吸引投与によって服薬させた：

10

20

30

40

50

【表28-1】

表28. 実施例18におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬

【表28-2】

2	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6, 1)	1日目に単回OP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物17)	1日目に単回OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物15)	1日目に単回OP投与によって服薬

【0587】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、 $\alpha\beta\gamma$ 6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。 RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 $\alpha\beta\gamma$ 6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

【0588】

各群中の四(4)匹のラットに服薬させた。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。 - ENaC (SCNN1A) mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

【表29】

表29. 実施例18における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.140	0.162
群2(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物6, 1)	0.622	0.035	0.037
群3(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物17)	0.818	0.101	0.116
群4(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta\gamma$ 6インテグリンリガンド構造物15)	0.628	0.101	0.120

実施例 19. ラットにおける $\alpha\beta\gamma$ 6 インテグリンリガンドに結合した - ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 口腔咽頭吸引投与。

【0589】

研究 1 日目に、雄 Sprague Dawley ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 200 マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

【表30-1】

表30. 実施例19におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン

10

20

30

40

50

【表30-2】

1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回OP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	1日目に単回OP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物15)	1日目に単回OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物18)	1日目に単回OP投与によって服薬
5	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物19)	1日目に単回OP投与によって服薬
6	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物20)	1日目に単回OP投与によって服薬

10

【0590】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、v6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 v6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

【0591】

各群中の四(4)匹のラットに服薬させた。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。-ENaC (SCNN1A)mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95% 信頼区間)。

20

【表31】

表31. 実施例19における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低(エラー)	高(エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.121	0.138
群2(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.503	0.074	0.086
群3(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物15)	0.700	0.079	0.089
群4(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物18)	0.742	0.137	0.169
群5(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物19)	0.837	0.186	0.239
群6(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物20)	0.589	0.078	0.090

30

実施例 20. ラットにおける v6 インテグリンリガンドに結合した -ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 口腔咽頭吸引投与。

40

【0592】

研究 1 日目および 2 日目に、雄 *prague* *Dawley* ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 200 マイクロリットルを口腔咽頭(「OP」)吸引投与によって服薬させた:

50

【表32】

表32. 実施例20におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物22)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物23)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
5	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物24)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
6	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物25)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
7	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物15)	1日目および2日目に OP投与によって服薬

10

【0593】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、 v_6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂ - C₆) を含んでいた。 RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 v_6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

20

【0594】

三(3)匹のラットに服薬させた群1を除いて、各群中の四(4)匹のラットに服薬させた。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。 - ENaC (SCNN1A) mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

30

【表33-1】

表33. 実施例20における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.164	0.197
群2(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.400	0.057	0.066

30

【表33-2】

40

群3(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物22)	0.483	0.170	0.263
群4(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物23)	0.339	0.042	0.048
群5(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物24)	0.493	0.125	0.168
群6(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物25)	0.416	0.089	0.113
群7(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha v\beta 6$ インテグリンリガンド構造物15)	0.473	0.052	0.058

50

実施例21. ラットにおける ν_6 インテグリンリガンドに結合した - E N a C を標的にする R N A i 剤の i n v i v o 口腔咽頭吸引投与。

【0595】

研究1日目および2日目に、雄 S p r a g u e D a w l e y ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 2 0 0 マイクロリットルを口腔咽頭（「O P」）吸引投与によって服薬させた：

【表34】

表34. 実施例21におけるラットの服薬群。

群	R N A i 剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(R N A i 剤なし)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
2	(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta_6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
4	(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta_6$ インテグリンリガンド構造物27)	1日目および2日目に OP投与によって服薬

10

【0596】

ヒト - E N a C 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する R N A i 剤を合成し、この R N A i 剤は、 ν_6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (N H₂ - C₆) を含んでいた。R N A i 剤 A D 0 5 4 5 3 のヌクレオチド配列は、上の実施例6に記載されている。各 ν_6 インテグリンリガンドを、上の実施例6に示す構造物 3 0 0 a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して R N A i 剤に結合した。

20

【0597】

六(6)匹のラットに服薬させた群2を除いて、各群中の五(5)匹のラットに服薬させた。研究9日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての R N A を単離した。 - E N a C (S C N N 1 A) m R N A 発現を、プローブベースの定量 P C R によって定量し、G A P D H 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95%信頼区間)。

30

【表35-1】

表35. 実施例21における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

【表35-2】

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.150	0.176
群2(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta_6$ インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.380	0.108	0.151
群4(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta_6$ インテグリンリガンド構造物27)	0.411	0.051	0.058

40

実施例22. ラットにおける ν_6 インテグリンリガンドに結合した - E N a C を標的にする R N A i 剤の i n v i v o 口腔咽頭吸引投与。

【0598】

研究1日目および2日目に、雄 S p r a g u e D a w l e y ラットに、以下の服薬群に従って、ピペットを使用して 2 0 0 マイクロリットルを口腔咽頭（「O P」）吸引投与によって服薬させた：

50

【表36】

表36. 実施例22におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目および2日目にOP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6. 1)	1日目および2日目にOP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物29)	1日目および2日目にOP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物30)	1日目および2日目にOP投与によって服薬
5	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物31)	1日目および2日目にOP投与によって服薬
6	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物32)	1日目および2日目にOP投与によって服薬
7	(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物33)	1日目および2日目にOP投与によって服薬

10

【0599】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、v6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 v6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

20

【0600】

各群中の四(4)匹のラットに服薬させた。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。-ENaC(SCNN1A)mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/-95% 信頼区間)。

30

【表37】

表37. 実施例22における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低 (エラー)	高 (エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.179	0.218
群2(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物6. 1)	0.511	0.132	0.178
群3(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物29)	0.455	0.024	0.025
群4(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物30)	0.637	0.047	0.050
群5(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物31)	0.505	0.079	0.093
群6(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物32)	0.534	0.135	0.181
群7(0.5mg/kg AD05453三座 α v β 6インテグリンリガンド構造物33)	0.560	0.145	0.196

40

実施例 23. ラットにおける v6 インテグリンリガンドに結合した -ENaC を標的にする RNAi 剤の in vivo 口腔咽頭吸引投与。

【0601】

研究 1 日目および 2 日目に、雄 Prague Dawley ラットに、以下の服薬群

50

に従って、ピペットを使用して 200 マイクロリットルを口腔咽頭（「OP」）吸引投与によって服薬させた：

【表 38】

表38. 実施例23におけるラットの服薬群。

群	RNAi剤および用量	服薬レジメン
1	等張生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
2	(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物6.1)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
3	(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物29)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
4	(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物34)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
5	(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物35)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
6	(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物36)	1日目および2日目に OP投与によって服薬
7	(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物37)	1日目および2日目に OP投与によって服薬

【0602】

ヒト - ENaC 遺伝子を標的にするように指示されたヌクレオチド配列を有する RNAi 剤を合成し、この RNAi 剤は、v6 インテグリンリガンドへの結合を容易にするためにセンス鎖の 5' 末端に官能化アミン反応基 (NH₂-C₆) を含んでいた。 RNAi 剤 AD05453 のヌクレオチド配列は、上の実施例 6 に記載されている。各 v6 インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 300a に示すグルタル酸リンカーを含む三座足場 / リンカー構造を介して RNAi 剤に結合した。

【0603】

各群中の四(4)匹のラットに服薬させた。研究 9 日目にラットを殺し、採取および均一化後に両肺から全ての RNA を単離した。 - ENaC (SCNN1A) mRNA 発現を、プローブベースの定量 PCR によって定量し、GAPDH 発現に対して正規化し、ビヒクル対照群に対する割合として示した(幾何平均、+/- 95% 信頼区間)。

【表 39】

表39. 実施例23における屠殺時(9日目)の平均相対rENaC mRNA発現。

群ID	平均相対rENaC mRNA発現	低(エラー)	高(エラー)
群1(等張生理食塩水)	1.000	0.117	0.132
群2(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物6.1)	0.368	0.079	0.100
群3(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物29)	0.429	0.033	0.036
群4(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物34)	0.465	0.103	0.132
群5(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物35)	0.449	0.053	0.060
群6(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物36)	0.501	0.043	0.047
群7(0.5mg/kg AD05453三座αvβ6インテグリンリガンド構造物37)	0.443	0.049	0.055

他の実施形態

【0604】

10

20

30

40

50

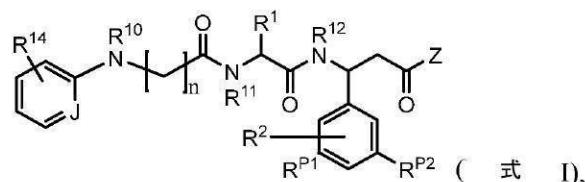
本発明をその詳細な説明と併せて記載しているが、前述の説明は、例示を意図し、本発明の範囲を制限せず、本発明は、添付の特許請求の範囲の範囲によって定義されると理解すべきである。他の様態、利点、および修正形態は、以下の特許請求の範囲の範囲内にある。

一実施形態において、例えば、以下の項目が提供される。

(項目1)

v 6 インテグリンリガンドであって、以下の構造物：

【化362】



(式中、

n は 0 ~ 7 の整数であり；

J は C - H または N であり；

Z は、 O R¹³、 N (R¹³)₂、 または S R¹³ であり；

R¹ は、 H、 必要に応じて置換された C₁ ~ C₆ アルキル、 OH、 COOH、 CON (R⁵)₂、 OR⁶ であるか、 R¹ は、 カーゴ分子を含み、 ここで、 各 R⁵ は、 独立して、 H または C₁ ~ C₆ アルキルであり、 R⁶ は、 H または C₁ ~ C₆ アルキルであり；

R²、 R^{P1}、 および R^{P2} は、 各々独立して、 H、 ハロ、 必要に応じて置換されたシクロアルキレン、 必要に応じて置換されたアリーレン、 必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、 または必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであるか、 R²、 R^{P1}、 および R^{P2} は、 カーゴ分子を含んでよく；

R¹⁰ は、 H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹¹ は、 H または必要に応じて置換されたアルキルであるか、 R¹¹ および R¹ は、 これらに付着している原子と共に、 必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R¹² は、 H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

各 R¹³ は、 独立して、 H、 必要に応じて置換されたアルキルであるか、 R¹³ は、 カーゴ分子を含み；

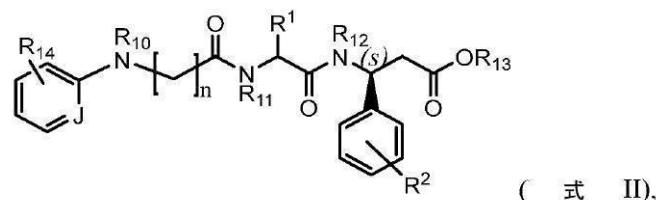
R¹⁴ は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、 R¹、 R²、 R¹³、 R^{P1}、 および R^{P2} のうちの少なくとも 1 つは、 カーゴ分子を含む) を含む v 6 インテグリンリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。

(項目2)

v 6 インテグリンリガンドであって、以下の構造物：

【化363】



(式中、

n は、 0 ~ 7 の整数であり (すなわち、 n は、 0、 1、 2、 3、 4、 5、 6、 または 7 である)；

J は C - H または N であり；

R¹ は、 H、 C₁ ~ C₆ アルキル、 CH (R³) (R⁴)、 OH、 COOH、 CH₂CH₂CH₂NH₂、 CONHR⁵、 OR⁶ であるか、 R¹ は、 カーゴ分子を含み、 ここで、 R³

40

50

は、HまたはC₁～C₆アルキルであり、R⁴は、H、C₁～C₆アルキルであり、R⁵は
HまたはC₁～C₆アルキルであり、R⁶は、HまたはC₁～C₆アルキルであり；
R²は、必要に応じて置換されたシクロアルキレン、必要に応じて置換されたアリーレン、必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであるか、R²はカーゴ分子を含み、

R¹⁰は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹¹は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであるか、R¹¹およびR¹は、これらに付着している原子と共に、必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R¹²は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹³は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

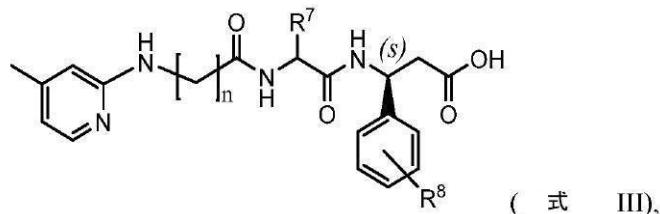
R¹⁴は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、R¹またはR²のうちの少なくとも1つはカーゴ分子を含む)を含む v 6イ
ンテグリンリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。

(項目3)

以下の構造物：

【化364】



10

20

(式中、

nは、1～7の整数であり(すなわち、nは、1、2、3、4、5、6、または7である)；

R⁷は、1またはそれを超えるカーゴ分子を含み；

R⁸は、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の炭素原子を有する1またはそれを超える必要に応じて置換された2価の環状部分(シクロアルキル(例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリル、またはシクロヘプチル)、シクロアルケニル(例えば、シクロペンテニル、シクロブテンニル、シクロヘキセンニル、またはシクロヘプテンニル)、アリール(例えば、フェニル)、ヘテロアリール(例えば、ピリジル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、チオフェン、ベンゾチオフェン、チアゾール、ベンゾチアゾール、フラン、オキサゾール、イソキサゾール、ベンゾフラン、インドール、インダゾール、ベンズイミダゾール、オキサジアゾール、1,2,3-トリアゾール、1,2,4-トリアゾール、テトラゾール、キノリニル、イソキノリニル、またはキノキサリニル)、またはヘテロシクリル(例えば、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、ピペリジン、ピロリジン、ジオキサン、またはジオキソラン)など)である)を含む、項目1に記載の v 6インテ
グリンリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。

30

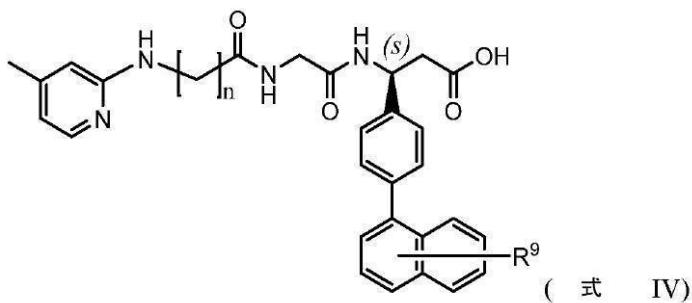
(項目4)

以下の構造物：

40

50

【化365】



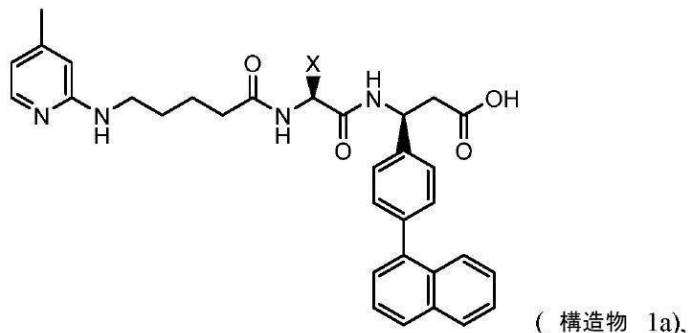
10

(式中、nは、1～7の整数であり（すなわち、nは、1、2、3、4、5、6、または7である）；R⁸は、1またはそれを超えるカーボン分子を含む）を含む、項目1に記載の v 6イ
ンテグリンリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。（項目5）nが3である、項目1～3のいずれか1項に記載の v 6インテグリンリガンド。（項目6）nが4である、項目1～3のいずれか1項に記載の v 6インテグリンリガンド。（項目7）

20

以下：

【化366】

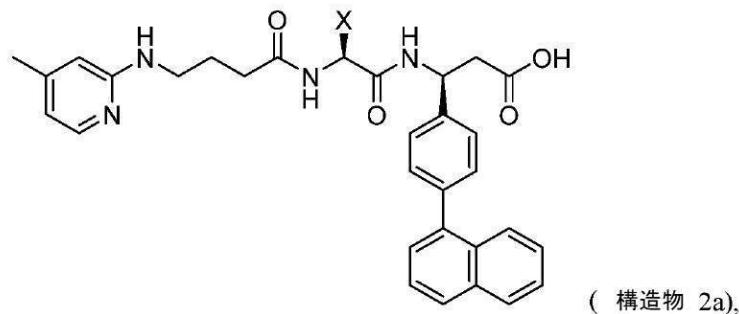


30

40

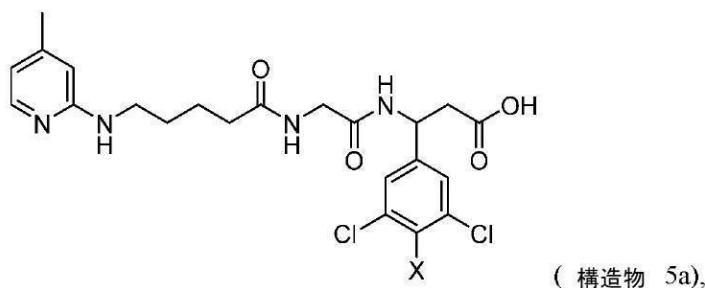
50

【化 3 6 7】



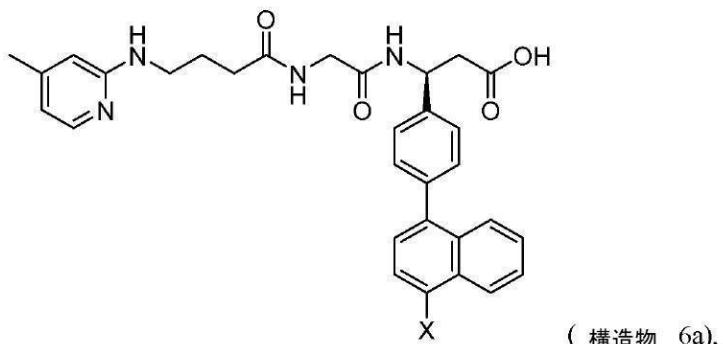
(構造物 2a),

10

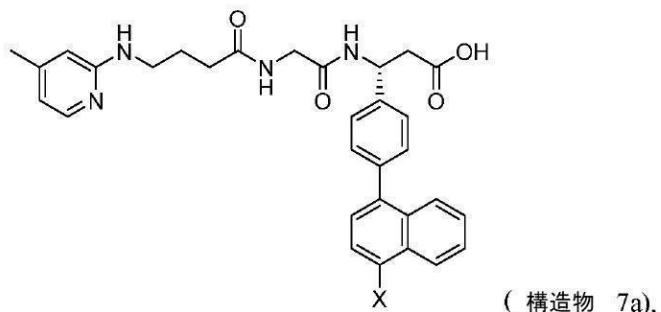


(構造物 5a),

20



(構造物 6a),



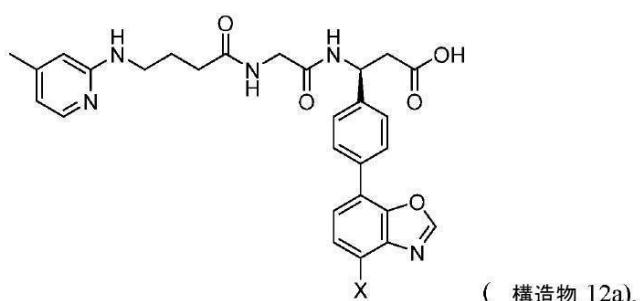
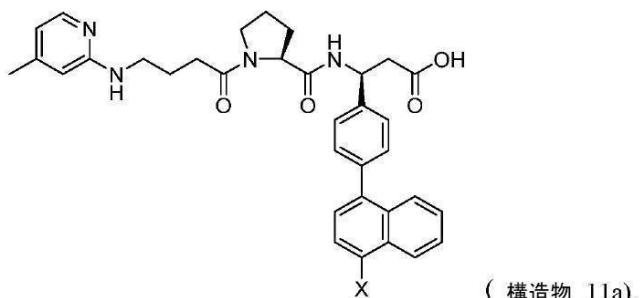
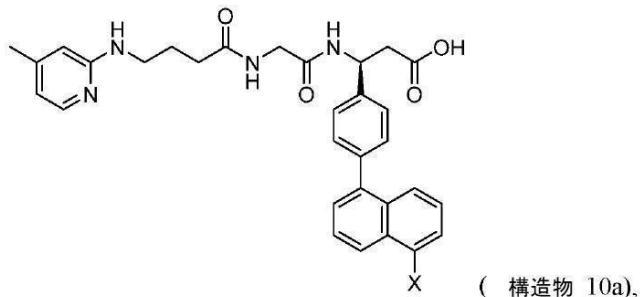
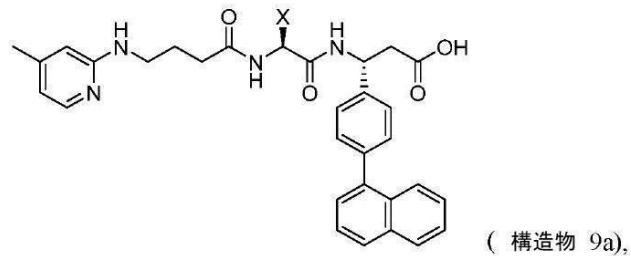
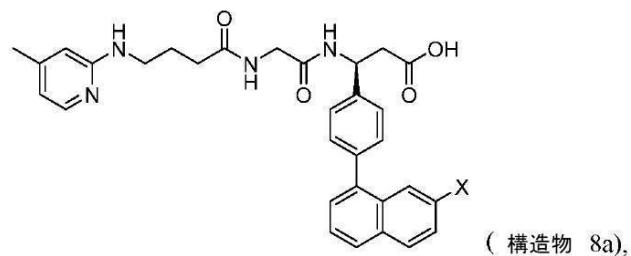
(構造物 7a),

30

40

50

【化 3 6 8】



10

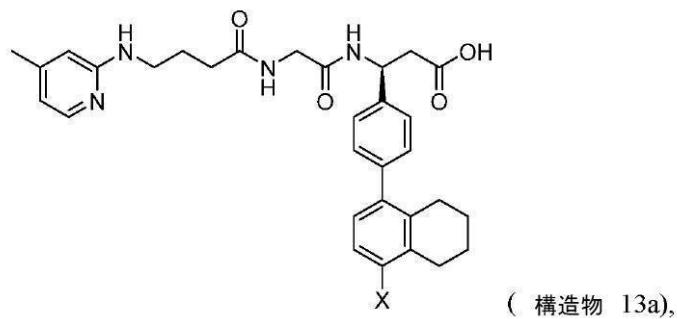
20

30

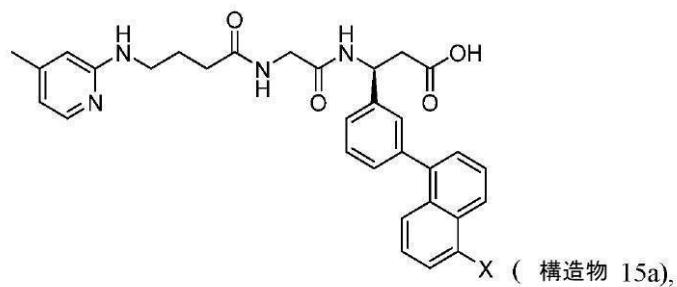
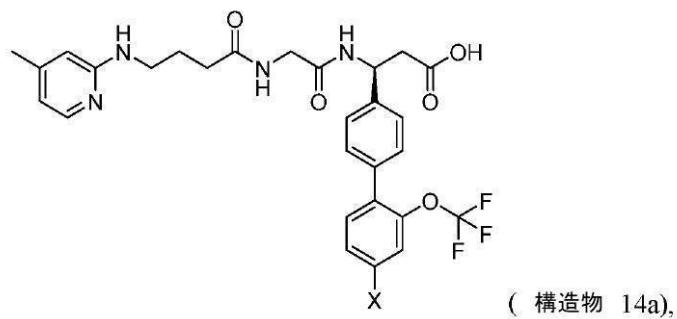
40

50

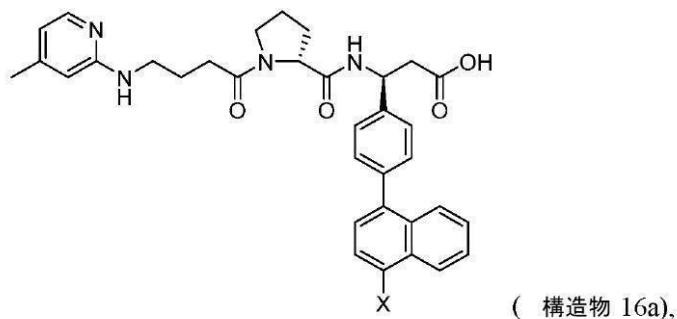
【化 3 6 9】



10



20

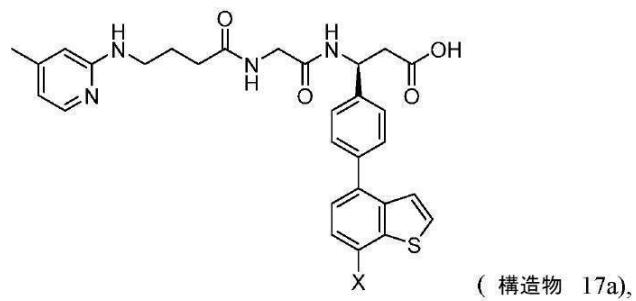


30

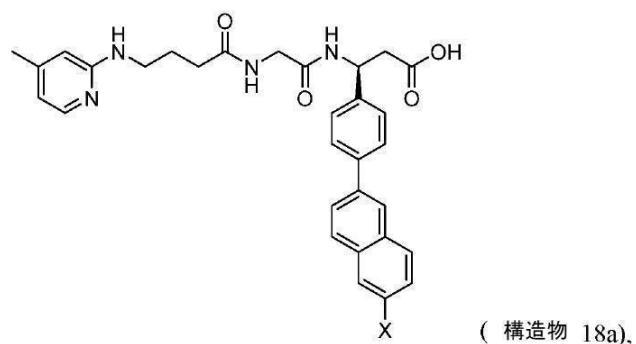
40

50

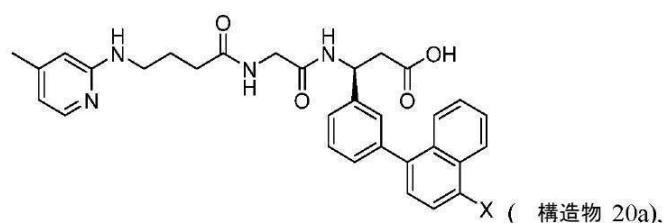
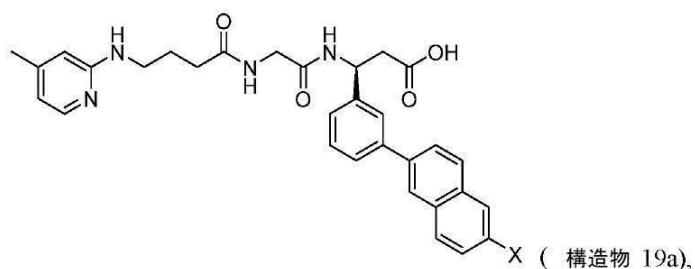
【化 3 7 0】



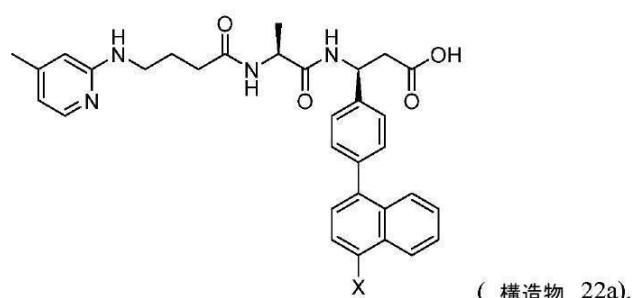
10



20



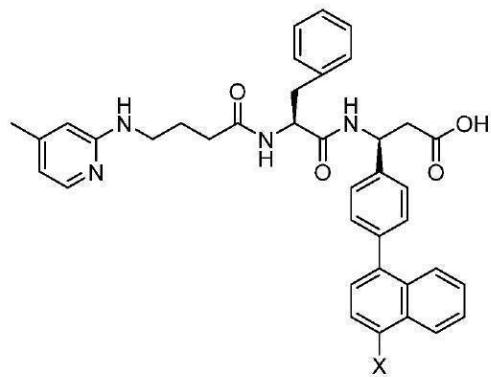
30



40

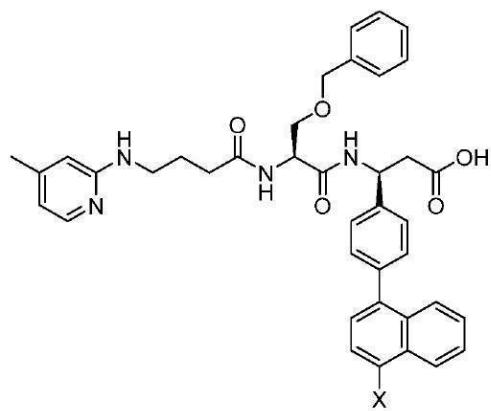
50

【化 3 7 1】



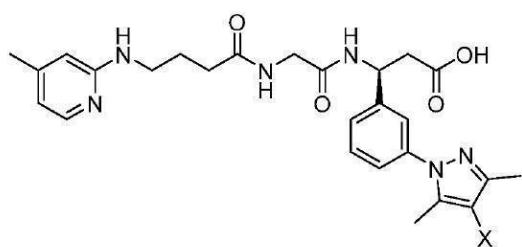
(構造物 24a),

10



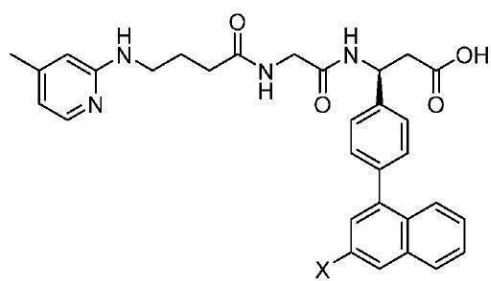
(構造物 25a),

20



(構造物 27a),

30

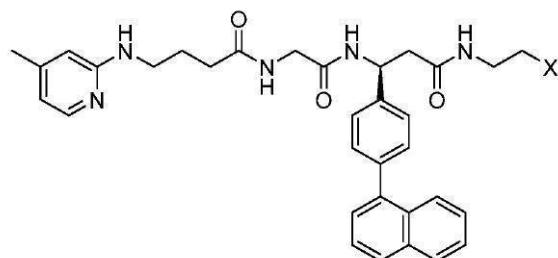


(構造物 29a),

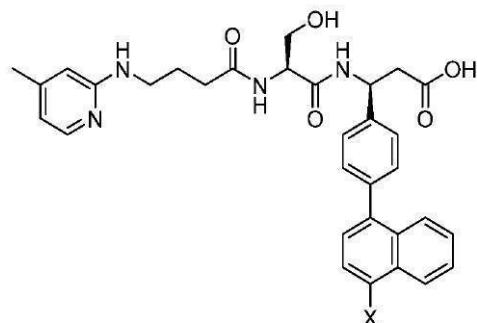
40

50

【化 3 7 2】

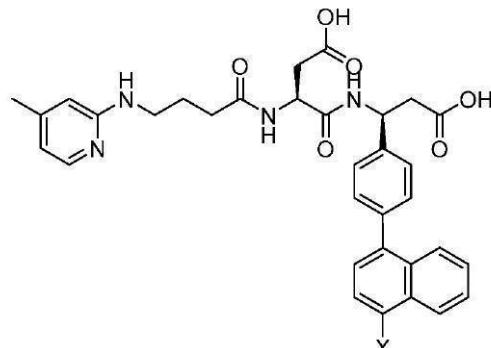


(構造物 30a),



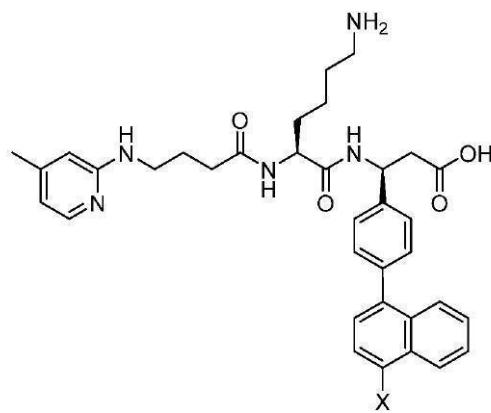
10

(構造物 31a),



20

(構造物 32a),



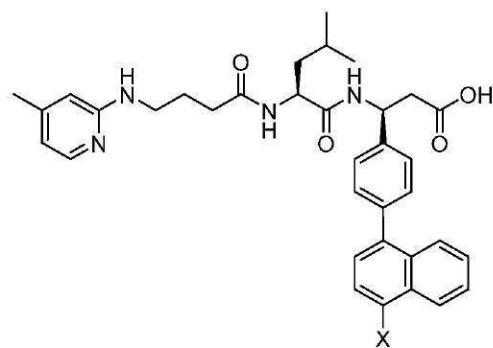
30

(構造物 33a),

40

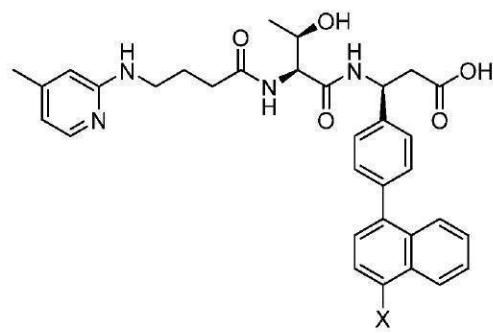
50

【化 3 7 3】



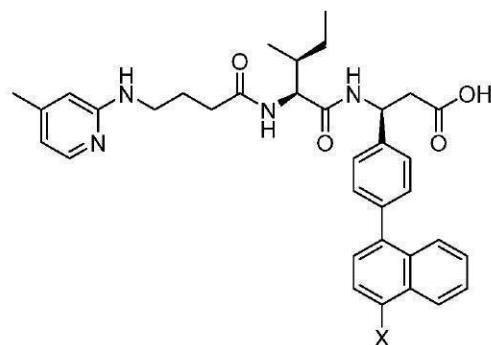
(構造物 34a),

10

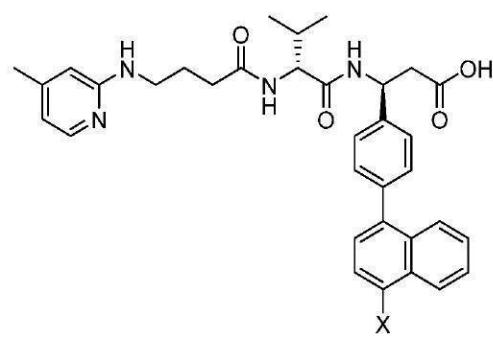


(構造物 35a),

20



(構造物 36a), および



(構造物 37a),

30

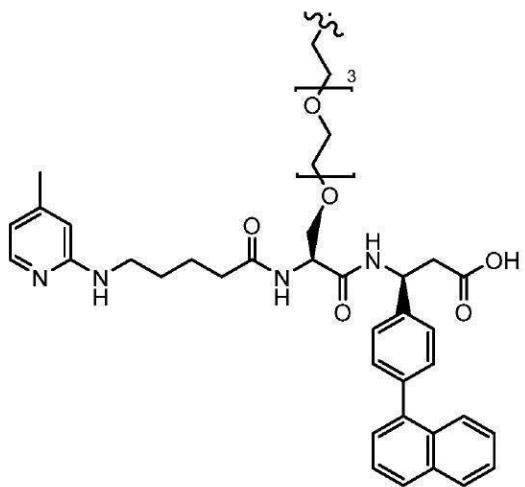
(式中、Xはカーゴ分子を含む)からなる群から選択される v 6 インテグリンリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。

40

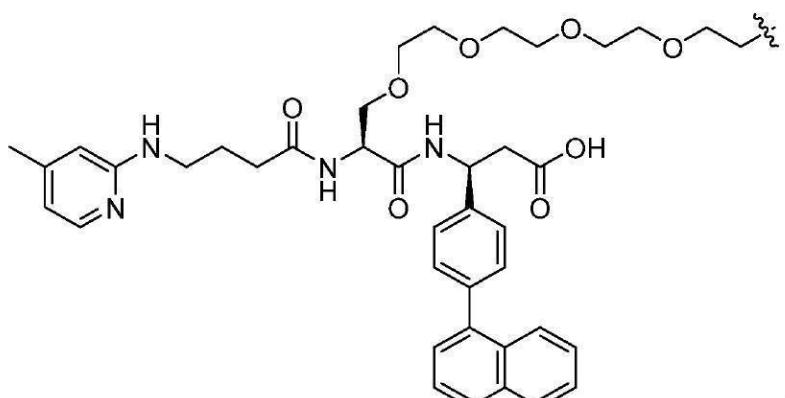
(項目 8)以下:

50

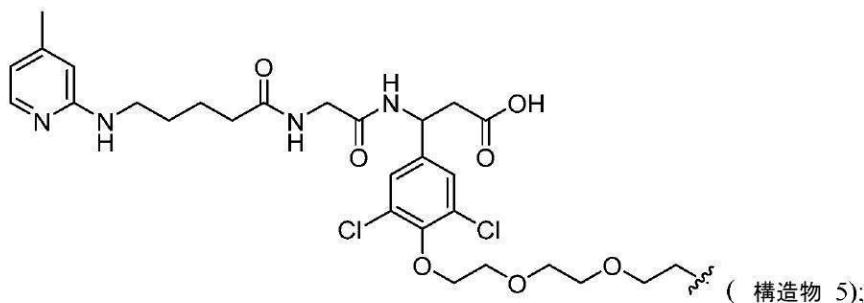
【化 3 7 4】



(構造物 1);



(構造物 2);

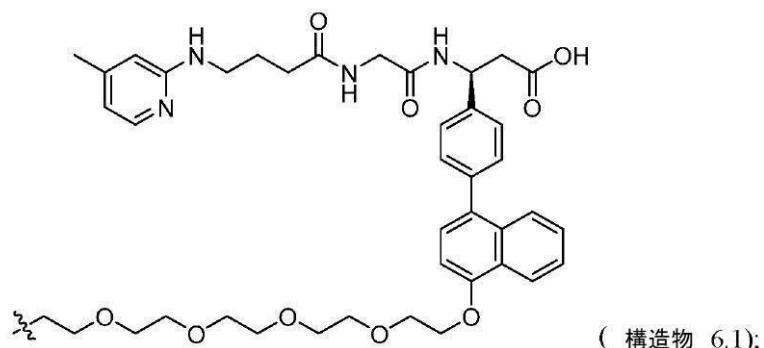
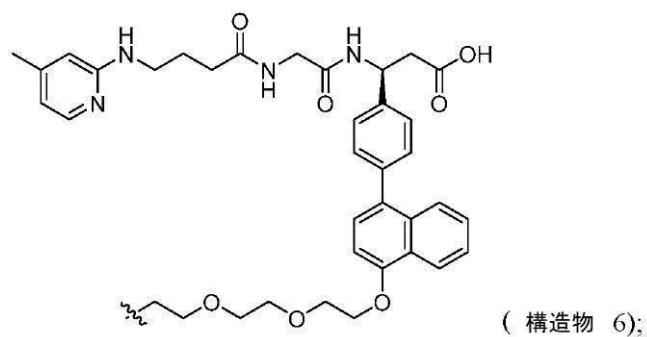
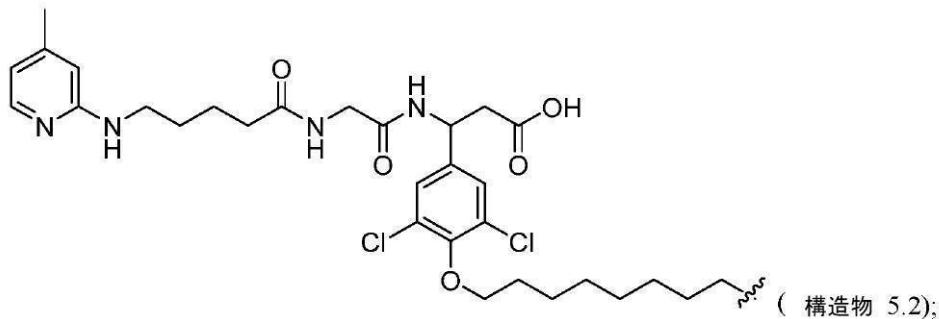
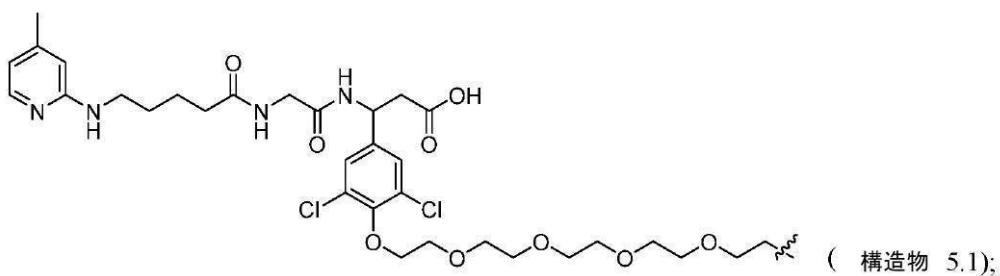


(構造物 5);

40

50

【化 3 7 5】



10

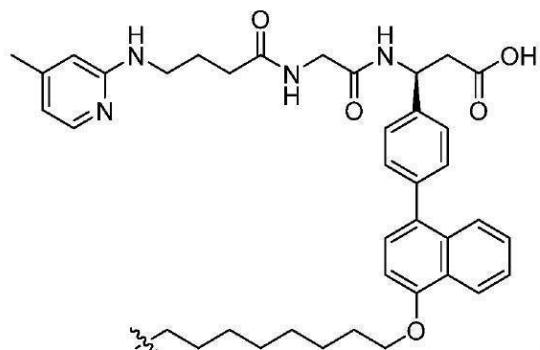
20

30

40

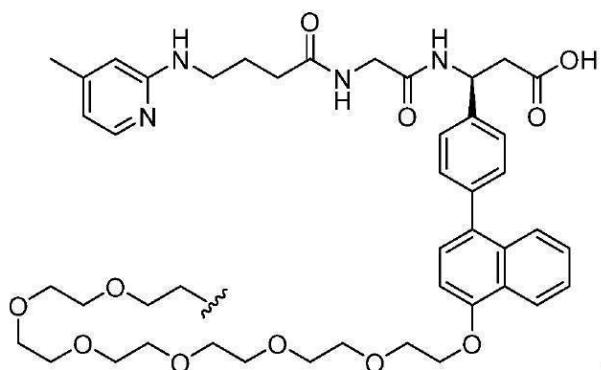
50

【化 3 7 6】



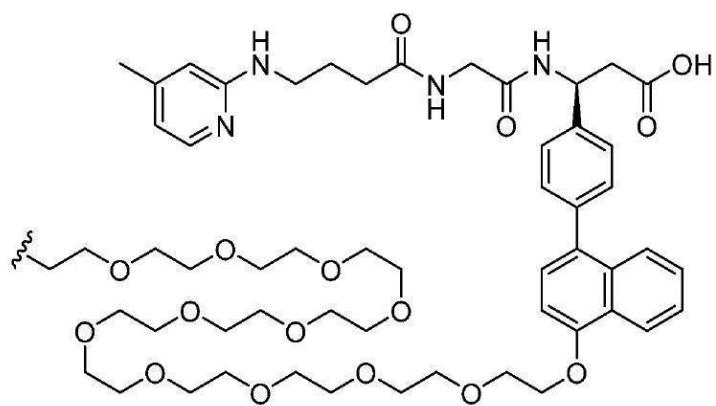
10

(構造物 6.2);



20

(構造物 6.3);



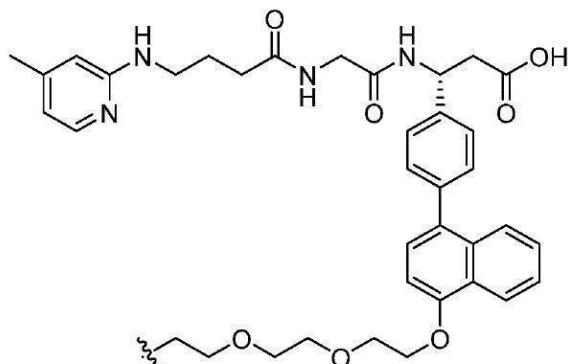
30

(構造物 6.4);

40

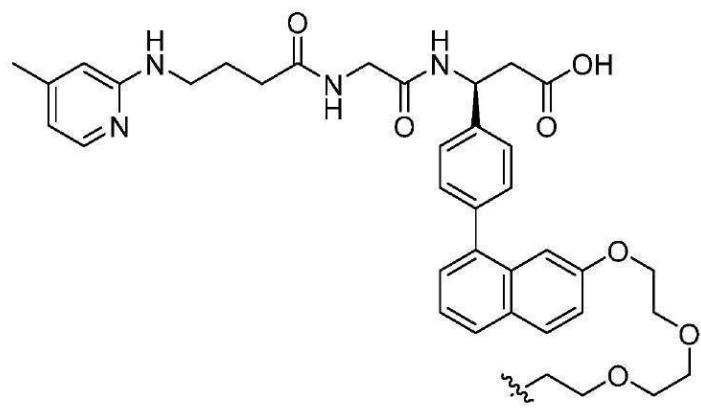
50

【化 3 7 7】



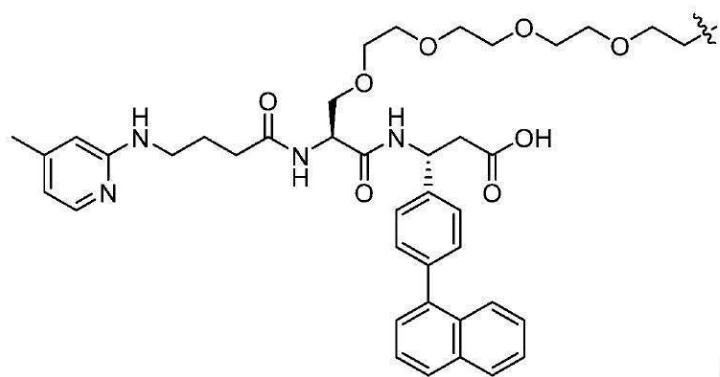
(構造物 7);

10



(構造物 8);

20



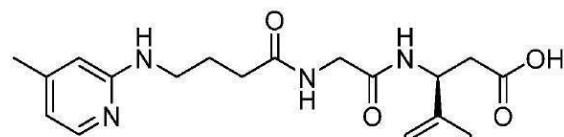
(構造物 9);

30

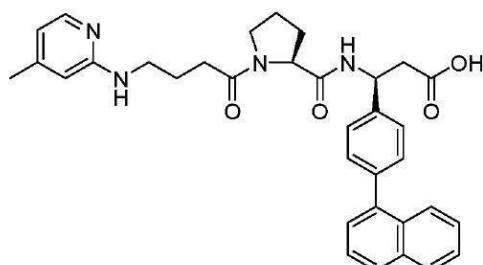
40

50

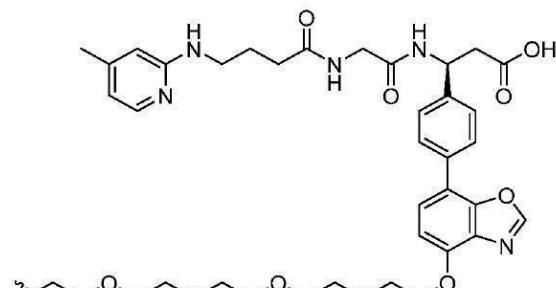
【化 3 7 8】



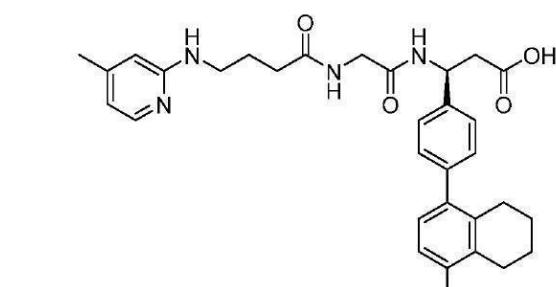
10
(構造物 10);



20
(構造物 11);

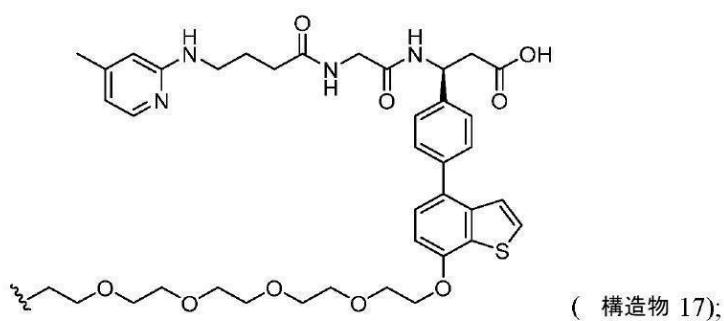
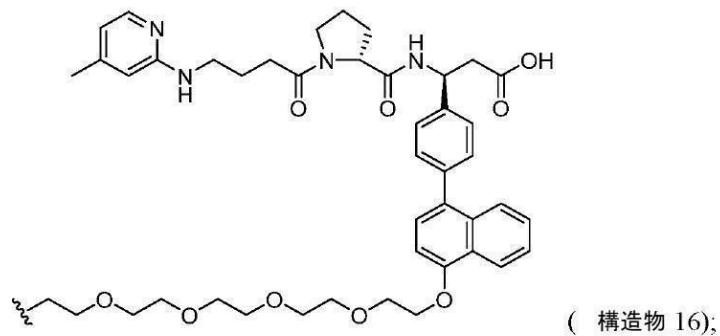
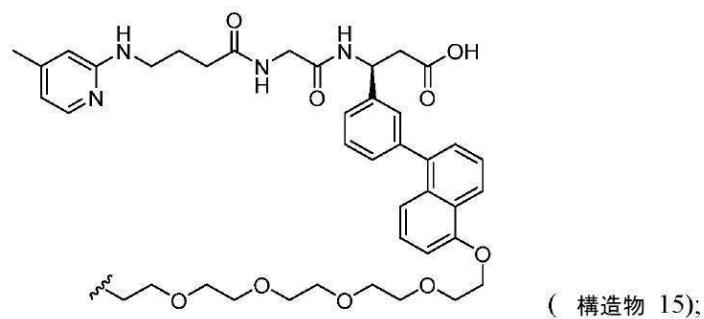
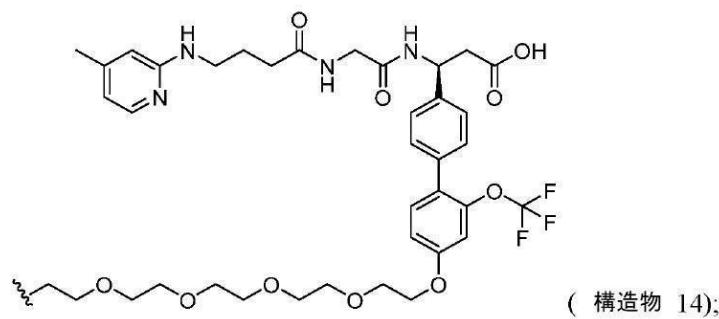


30
(構造物 12);



40
(構造物 13);

【化 3 7 9】



10

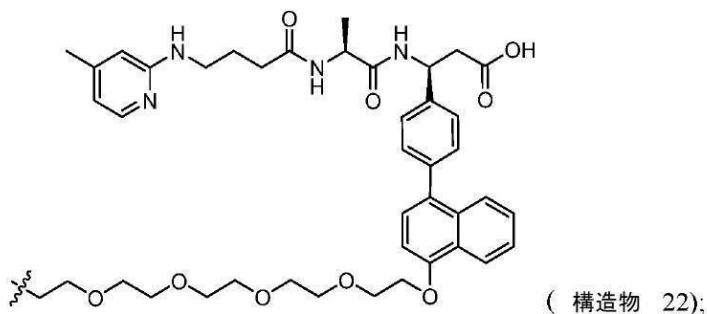
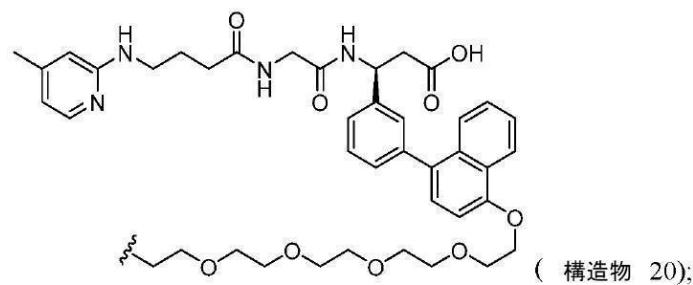
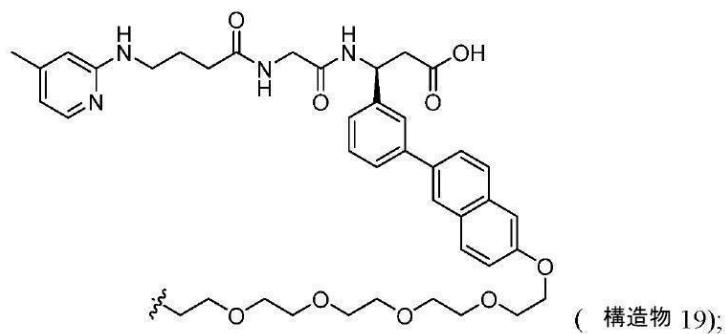
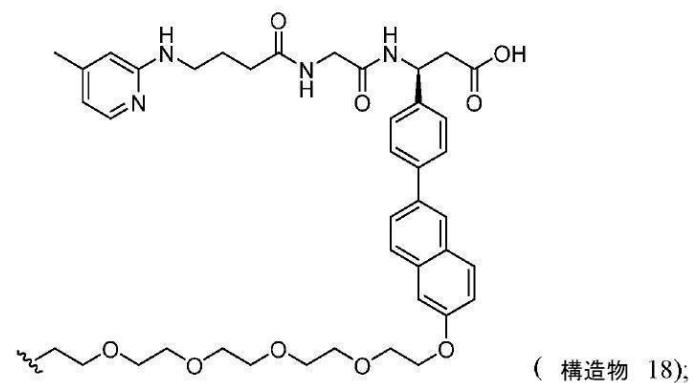
20

30

40

50

【化 3 8 0】



10

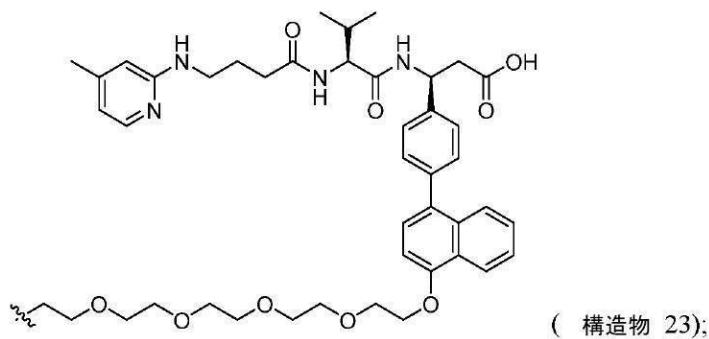
20

30

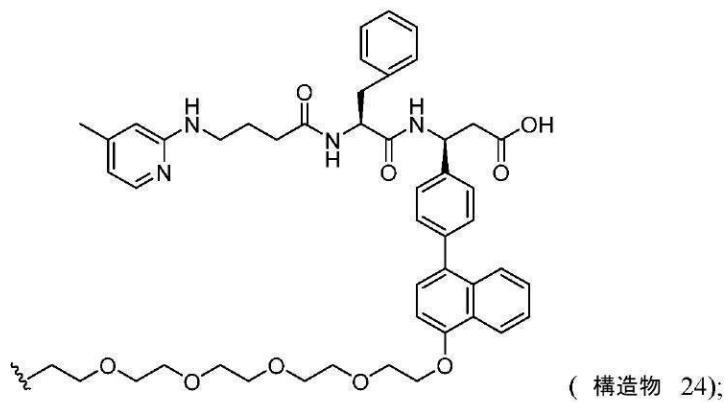
40

50

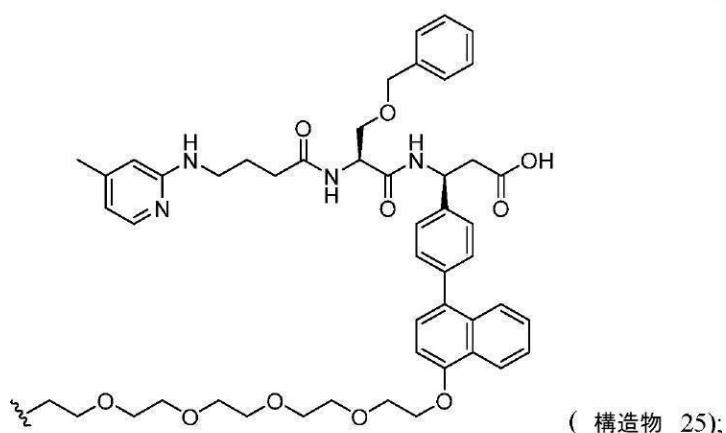
【化 3 8 1】



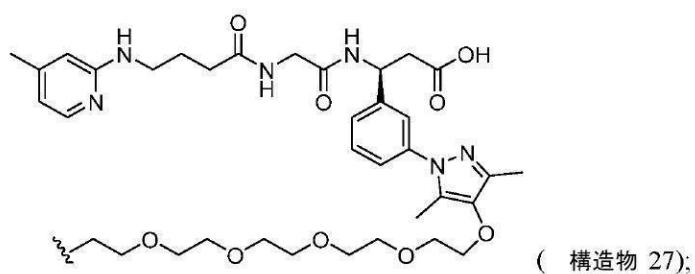
10



20



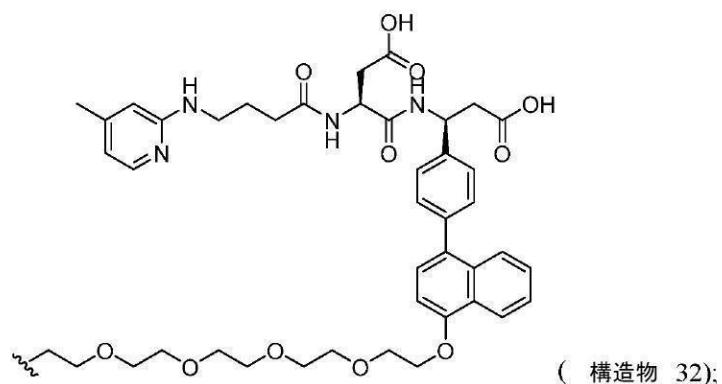
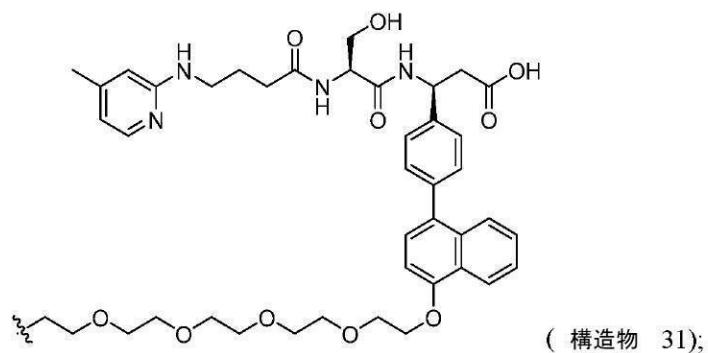
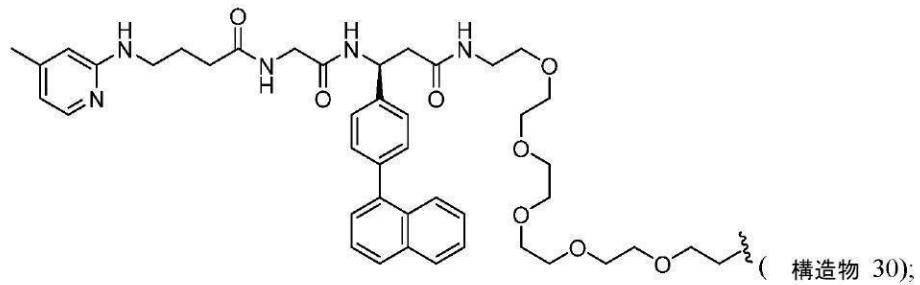
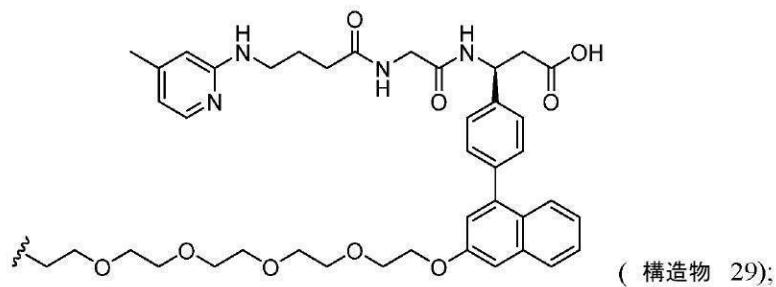
30



40

50

【化 3 8 2】



10

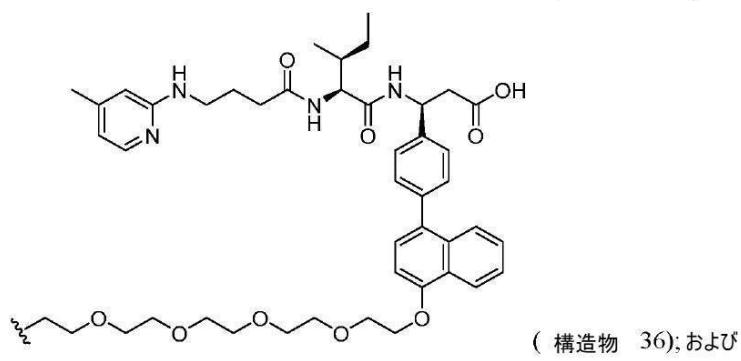
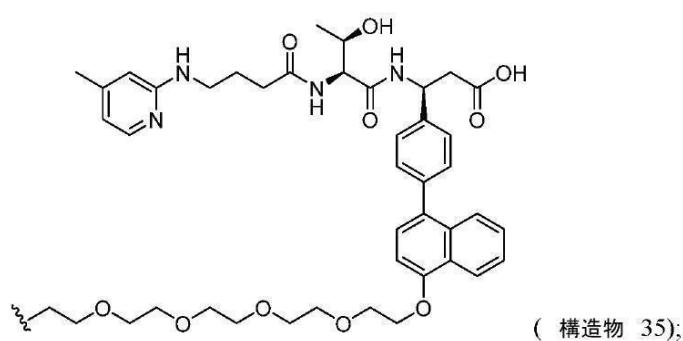
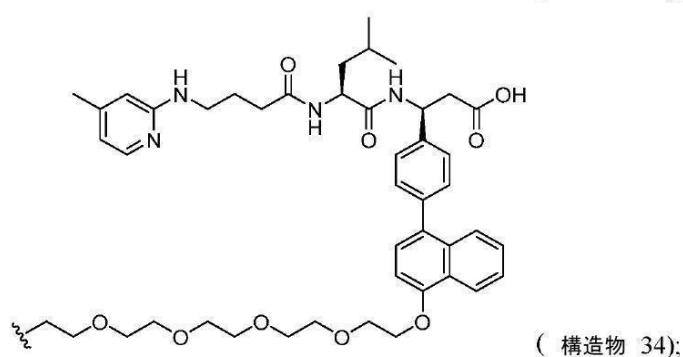
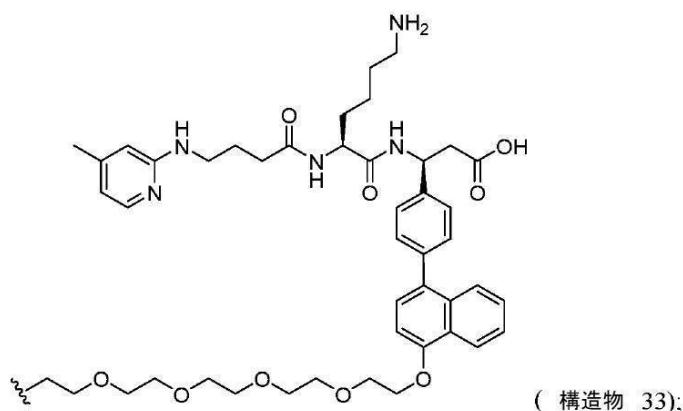
20

30

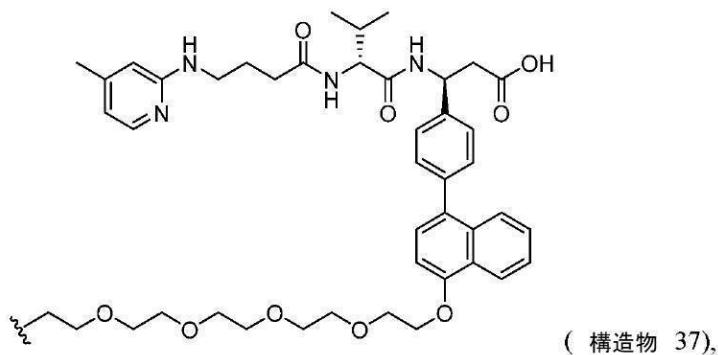
40

50

【化 3 8 3】



【化384】

(式中、

【化385】

⋮

は、カーゴ分子を含む部分への接続点を示す)からなる群から選択される v 6 インテグリニリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。

(項目9)

前記カーゴ分子が、医薬品有効成分またはプロドラッグである、項目1～8のいずれか1項に記載の v 6 インテグリニリガンド。

(項目10)

前記カーゴ分子が、小分子、抗体、抗体断片、免疫グロブリン、モノクローナル抗体、標識もしくはマーカー、脂質、天然もしくは修飾された核酸、天然もしくは修飾された核酸オリゴヌクレオチド、天然もしくは修飾された核酸ポリヌクレオチド、ペプチド、アプタマー、ポリマー、ポリアミン、タンパク質、毒素、ビタミン、ポリエチレンギリコール、ハプテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、放射性の原子もしくは分子、またはフルオロフオアを含む、項目1～8のいずれか1項に記載の v 6 インテグリニリガンド。

(項目11)

前記カーゴ分子がRNAi剤を含む、項目1～8のいずれか1項に記載の v 6 インテグリニリガンド。

(項目12)

2～20エチレンオキシド単位を有するポリエチレンギリコールリンカーをさらに含む項目1～11のいずれか1項に記載の v 6 インテグリニリガンド。

(項目13)

前記カーゴ分子に結合している、項目1～12のいずれか1項に記載の v 6 インテグリニリガンド、連結基、および足場を含む構造物。

(項目14)

単座形態の前記 v 6 インテグリニリガンドを含む、項目13に記載の構造物。

(項目15)

二座形態の前記 v 6 インテグリニリガンドを含む、項目13に記載の構造物。

(項目16)

三座形態の前記 v 6 インテグリニリガンドを含む、項目13に記載の構造物。

(項目17)

四座形態の前記 v 6 インテグリニリガンドを含む、項目13に記載の構造物。

(項目18)

前記足場が、以下の式：

10

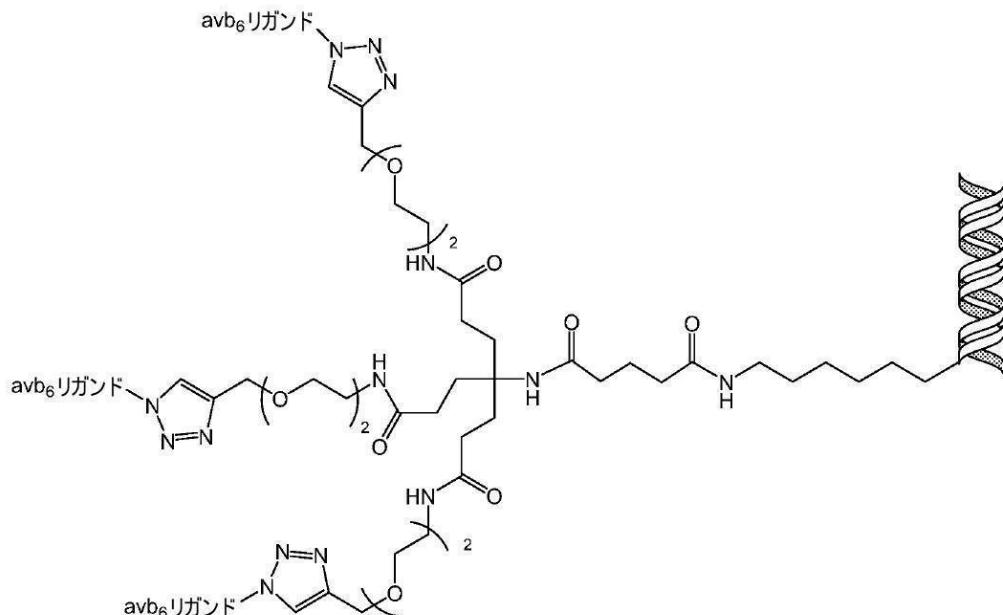
20

30

40

50

【化386】



(構造物 300a),

20

(式中、

【化387】

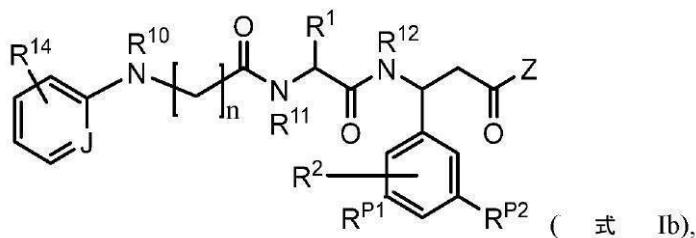


は RNA i 剤を表し、「avb6リガンド」は、各リガンド構造物および架橋剤を表す
の足場である、項目13に記載の構造物。

(項目19)以下の構造物：

【化388】

30

(式中、n は 0 ~ 7 の整数であり；J は C - H または N であり；Z は、OR¹³、N(R¹³)₂、またはSR¹³であり；

R¹は、H、必要に応じて置換されたC₁~C₆アルキル、OH、COOH、CON(R₅)₂、OR⁶であるか、R¹は、反応基に結合した連結基を含み、ここで、各R⁵は、独立して、HまたはC₁~C₆アルキルであり、R⁶は、HまたはC₁~C₆アルキルであり；

R²、R^{P1}、およびR^{P2}は、各々独立して、H、必要に応じて置換されたシクロアルキレン、必要に応じて置換されたアリーレン、必要に応じて置換されたヘテロシクロアルキレン、または必要に応じて置換されたヘテロアリーレンであるか、R²、R^{P1}、およびR^{P2}は、反応基に結合した連結基を含んでよく；

40

50

R¹⁰は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R¹¹は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであるか、R¹¹およびR¹は、これらに付着している原子と共に、必要に応じて置換されたヘテロ環を形成し；

R¹²は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

各R¹³は、独立して、H、必要に応じて置換されたアルキルであるか、R¹³は、反応基に結合した連結基を含み；

R¹⁴は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、R¹、R²、R¹³、R^{P1}、およびR^{P2}のうちの少なくとも1つは、反応基に結合した連結基を含む)を含む v 6インテグリンリガンド前駆体またはその薬学的に許容され得る塩。

10

(項目20)

前記連結基がPEGリンカーである、項目19に記載の v 6インテグリンリガンド前駆体。

(項目21)

前記PEGリンカーが2~20PEG単位を含む、項目19に記載の v 6インテグリンリガンド前駆体。

(項目22)

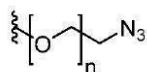
前記反応基がアジドである、項目19に記載の v 6インテグリンリガンド前駆体。

(項目23)

前記反応基に結合した連結基が、以下の構造物：

20

【化389】



(式中、nは、2~20の整数であり、

【化390】

⋮

は、式Ibの構造物への接続点を示す)の連結基である、項目19に記載の v 6インテグリンリガンド前駆体。

30

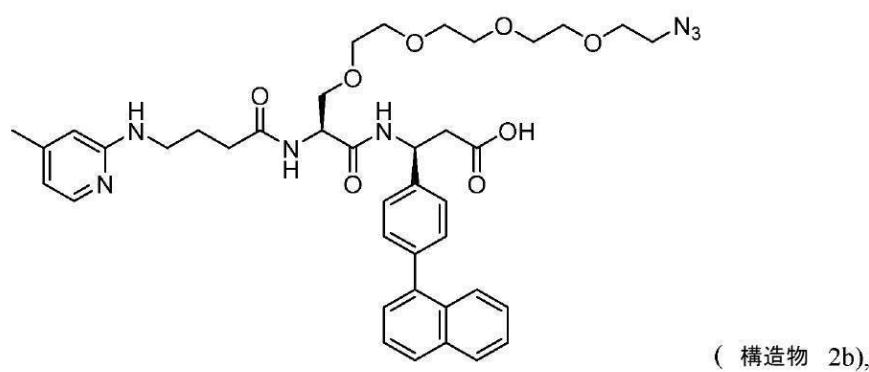
(項目24)

以下：

40

50

【化 3 9 1】

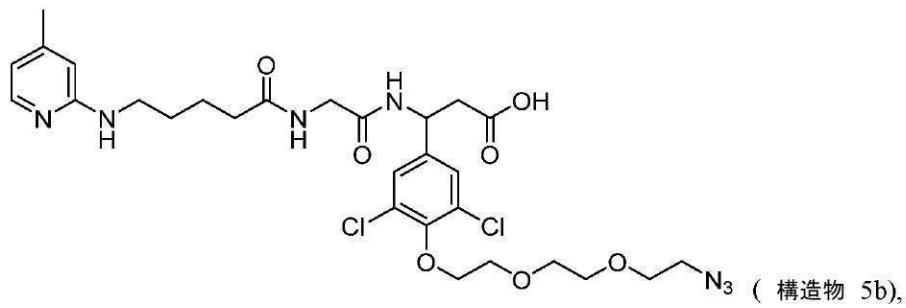


30

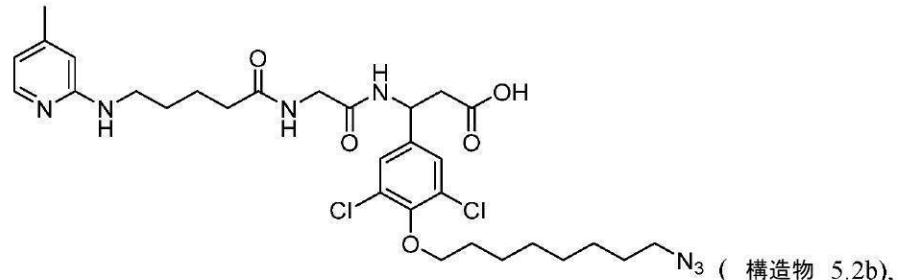
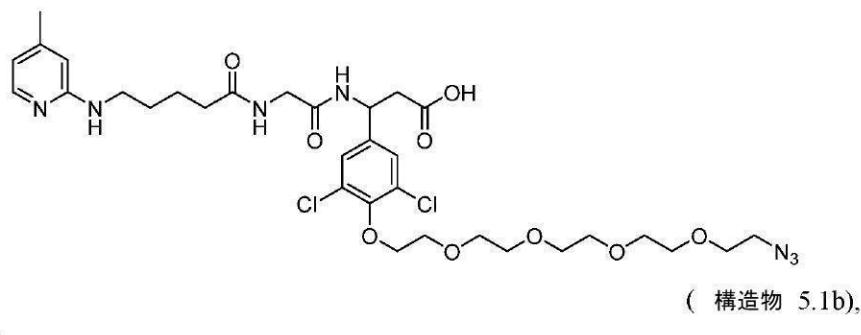
40

50

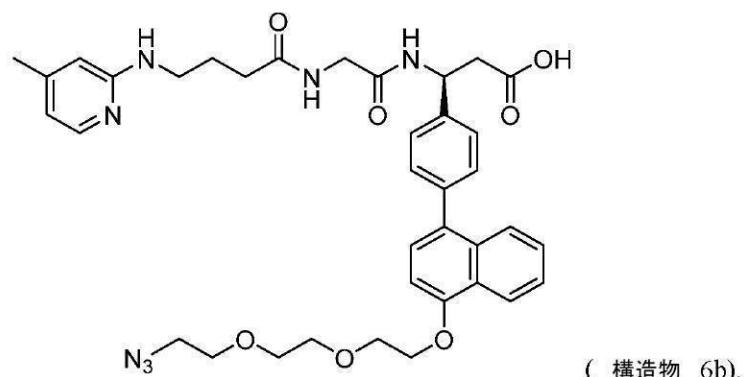
【化 3 9 2】



10



20

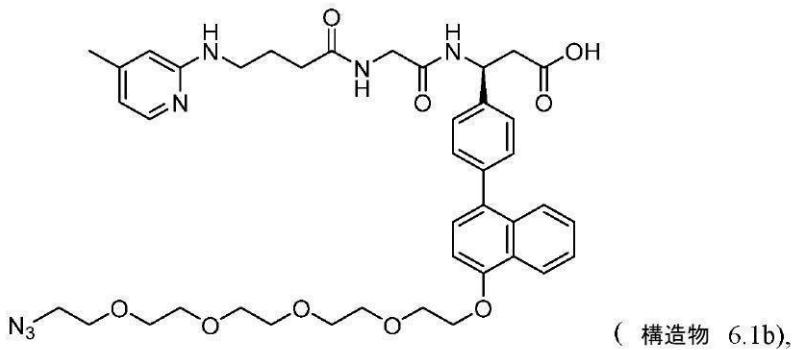


30

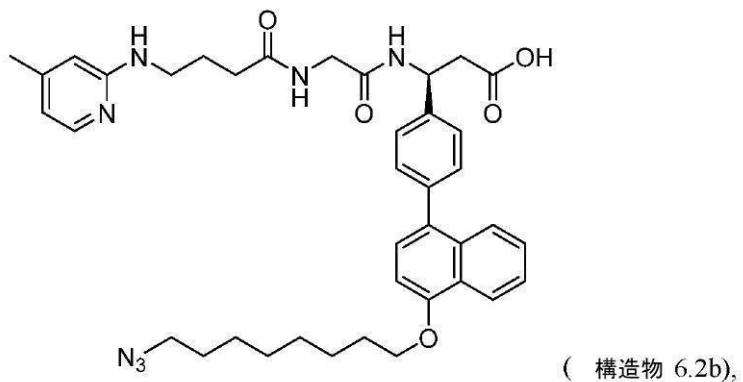
40

50

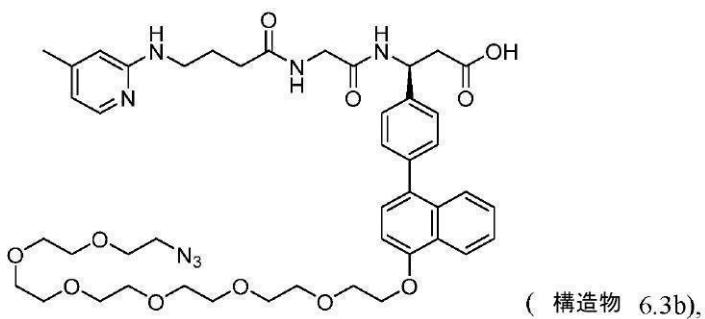
【化 3 9 3】



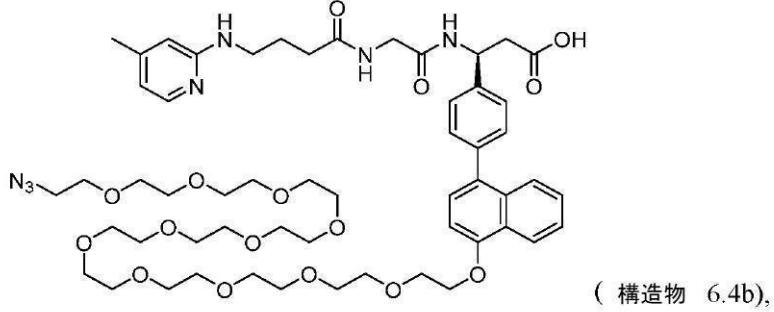
10



20



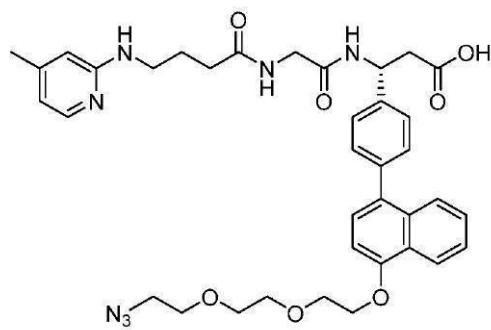
30



40

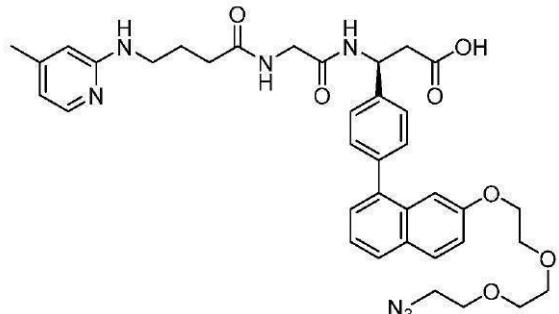
50

【化 3 9 4】



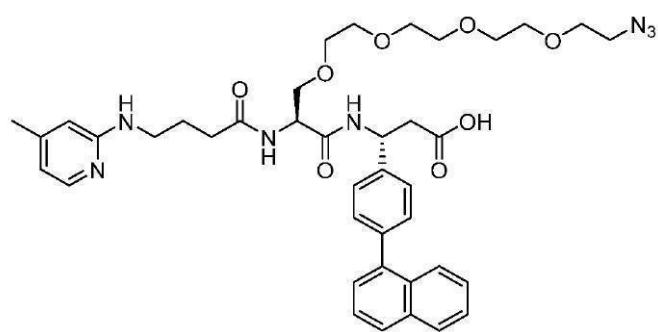
(構造物 7b),

10



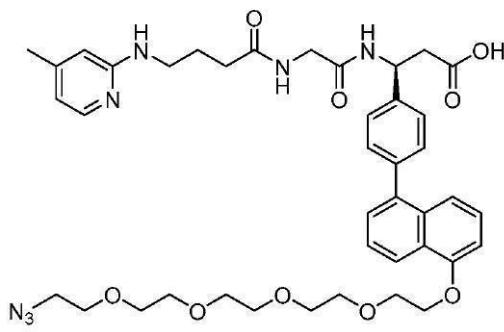
(構造物 8b),

20



(構造物 9b),

30

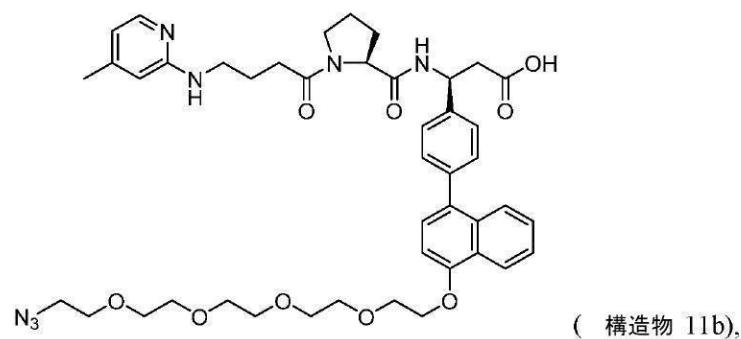


(構造物 10b),

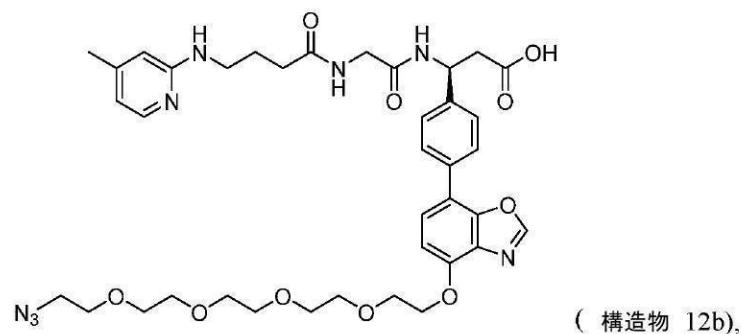
40

50

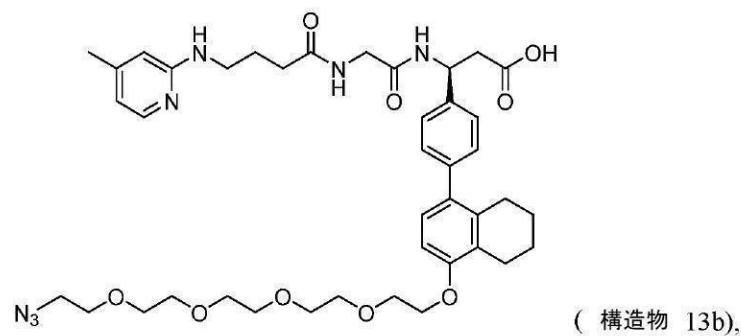
【化 3 9 5】



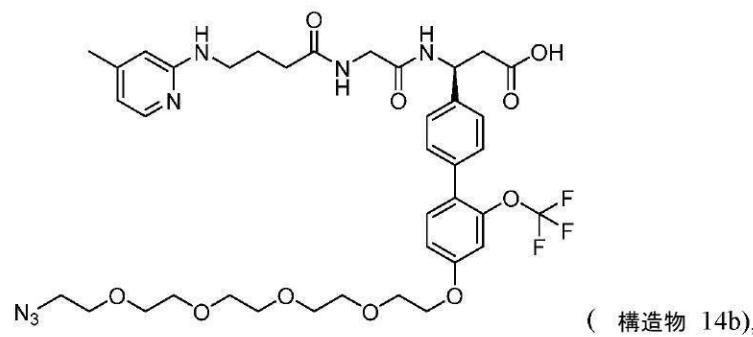
10



20



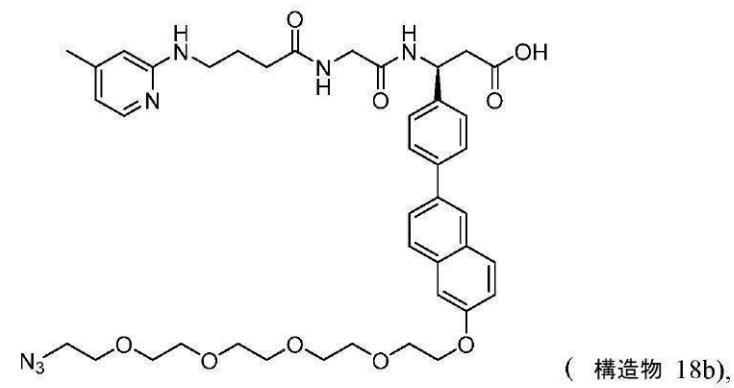
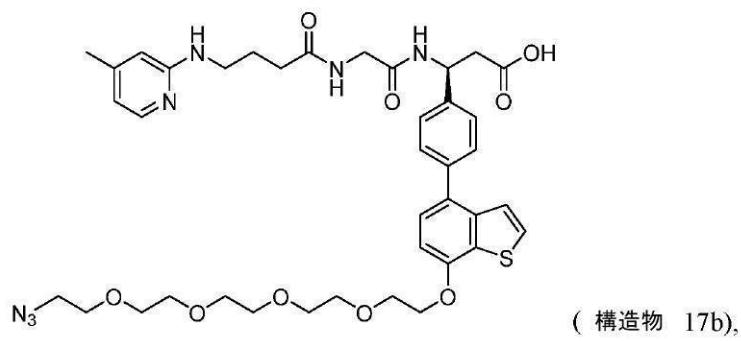
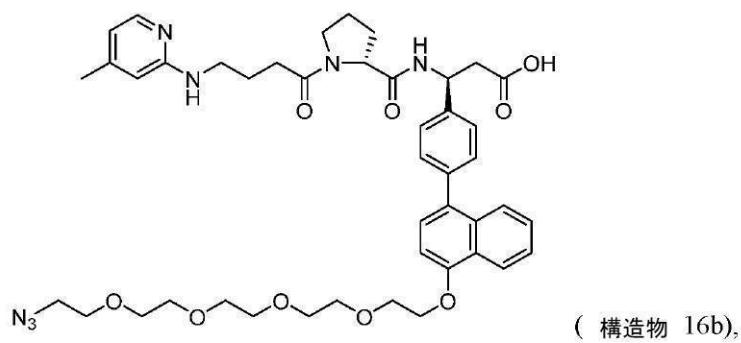
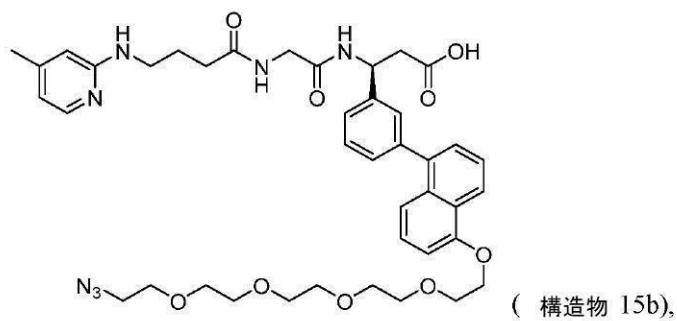
30



40

50

【化 3 9 6】



10

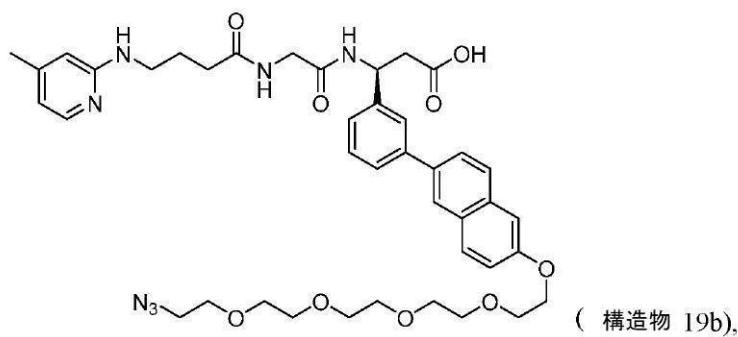
20

30

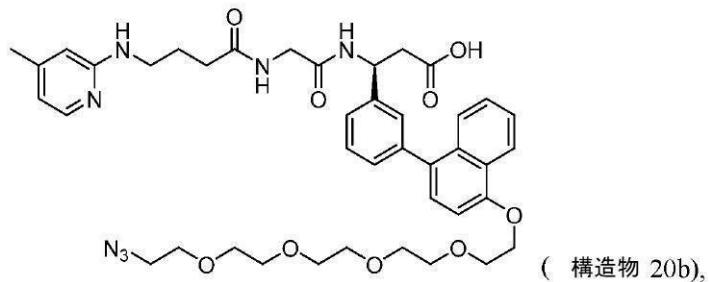
40

50

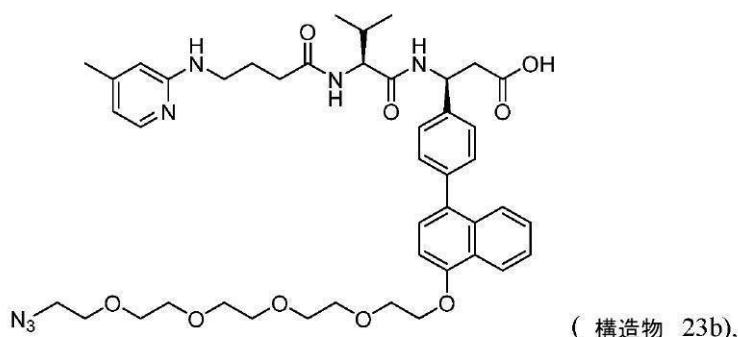
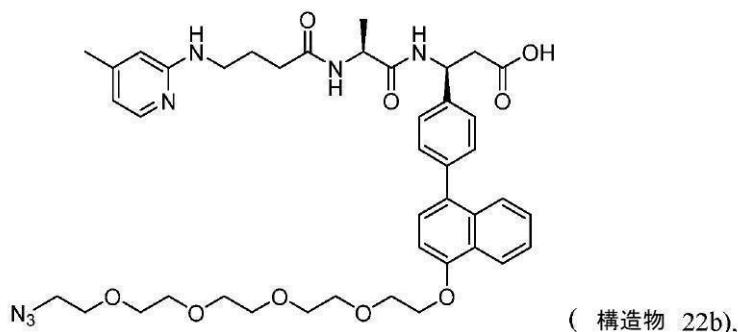
【化 3 9 7】



10



20

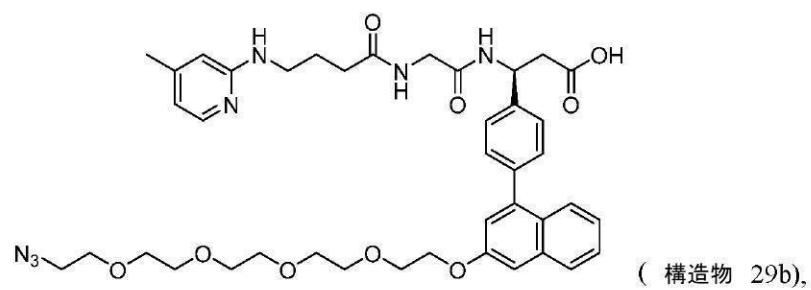
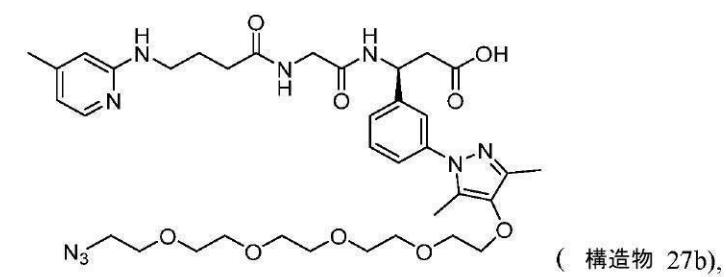
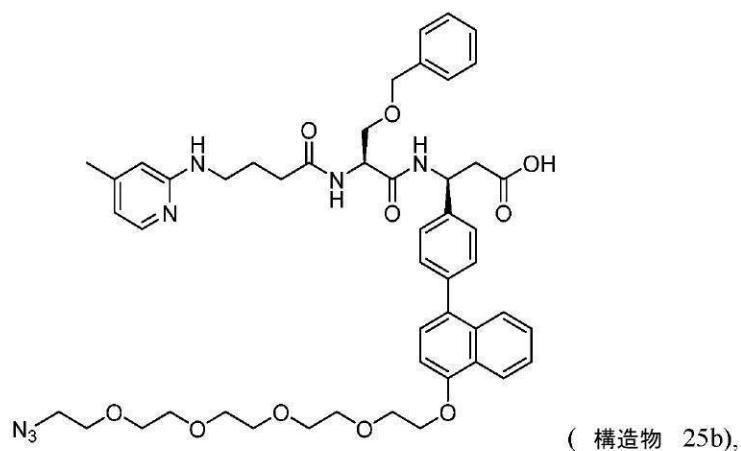
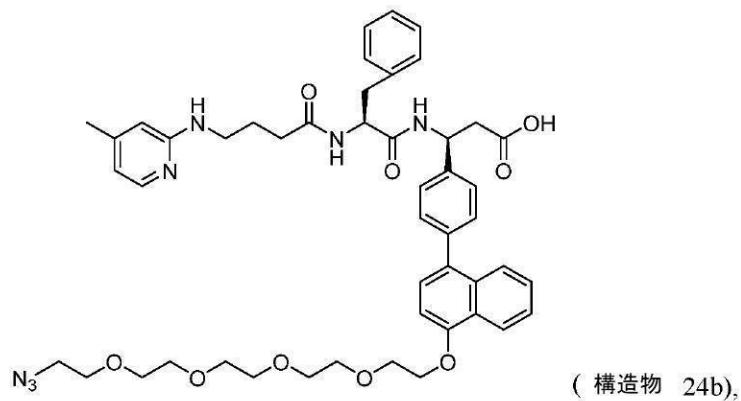


30

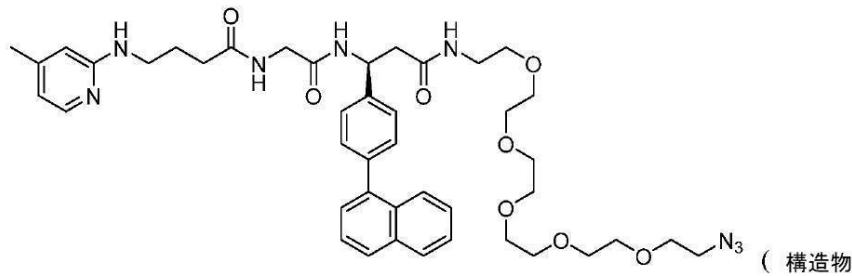
40

50

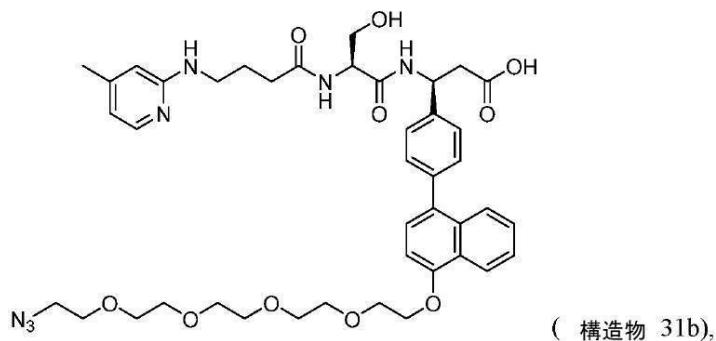
【化 3 9 8】



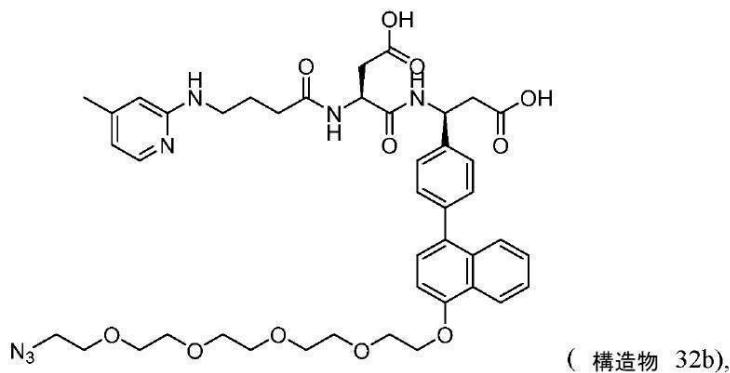
【化 3 9 9】



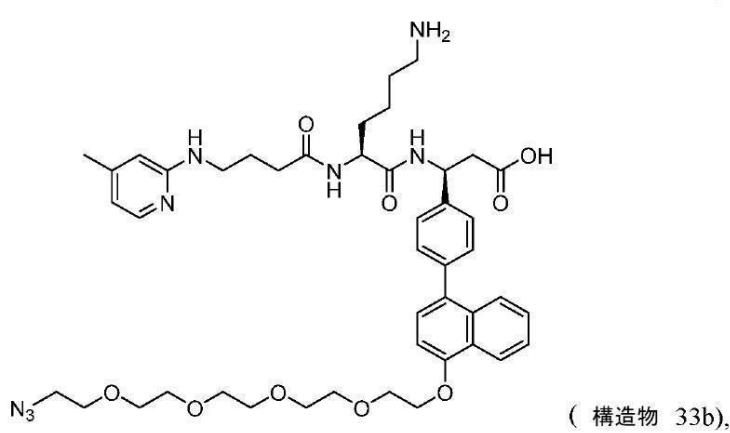
10



20



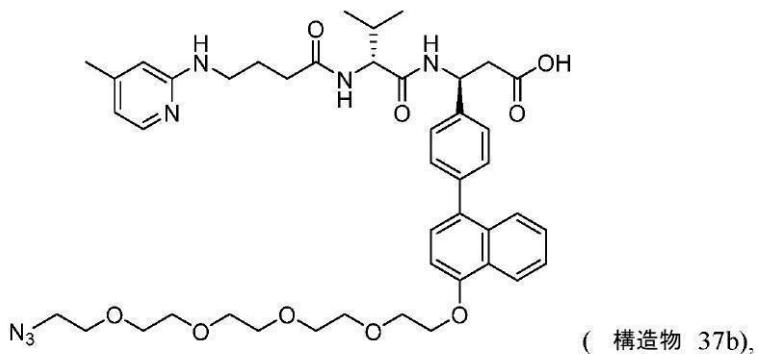
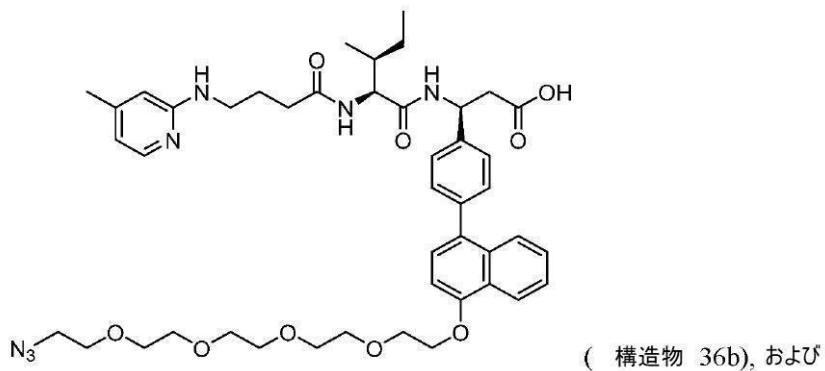
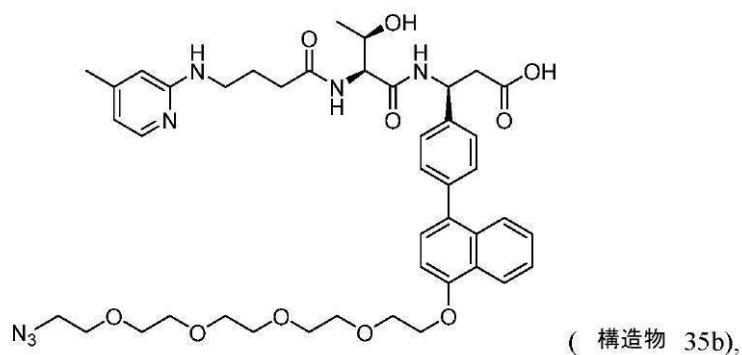
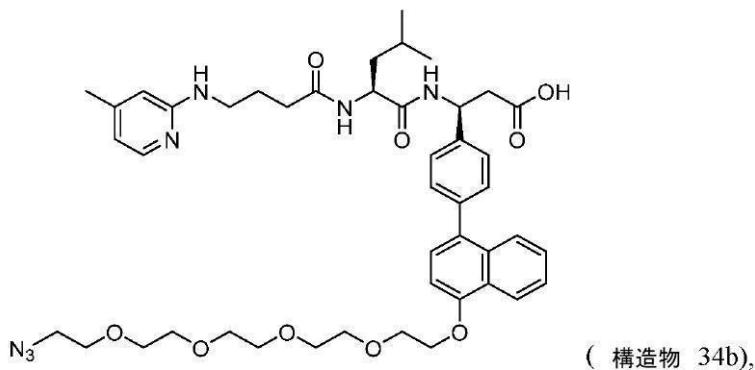
30



40

50

【化 4 0 0】



からなる群から選択される v 6 インテグリンリガンド前駆体またはその薬学的に許容され得る塩。

(項目 25)

項目 1 ~ 12 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンドまたは項目 13 ~ 18 のいずれかに記載の構造物、および薬学的に許容され得る賦形剤を含む組成物。

(項目 26)

前記 v 6 インテグリンリガンドが、上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができるオリゴヌクレオチド系化合物に結合している、項目 25 に記載の組成物。

(項目 27)

前記 v 6 インテグリンリガンドが、上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができる R N A i 剤に結合している、項目 2 5 に記載の組成物。

(項目 2 8)

前記 v 6 インテグリンリガンドが、細気管支上皮細胞中の標的遺伝子の発現を阻害することができる R N A i 剤に結合している、項目 2 5 に記載の組成物。

(項目 2 9)

1 またはそれを超えるカーゴ分子を細胞に送達させる方法であって、項目 1 ~ 1 2 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンドまたは項目 1 3 ~ 1 8 のいずれかに記載の構造物を前記細胞に投与する工程を含む、方法。

(項目 3 0)

1 またはそれを超えるカーゴ分子を被験体の細胞または組織に i n v i v o で送達させる方法であって、項目 1 ~ 1 2 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンド、項目 1 3 ~ 1 8 のいずれかに記載の構造物、または項目 1 9 ~ 2 2 のいずれかに記載の組成物を前記被験体に投与する工程を含む、方法。

(項目 3 1)

前記細胞が、以下：I型およびII型の肺胞上皮細胞、杯細胞、分泌上皮細胞、線毛上皮細胞、角膜および結膜の上皮細胞、真皮上皮細胞、胆管細胞、腸細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞、および上皮性腫瘍（癌腫）からなる群から選択される、項目 2 9 または 3 0 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記 1 またはそれを超えるカーゴ分子が、オリゴヌクレオチド系化合物を含む、項目 2 9 または 3 0 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記オリゴヌクレオチド系化合物が R N A i 剤である、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

i n v i v o で細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、有効量の、項目 1 ~ 1 2 のいずれかに記載の v 6 インテグリンリガンドに結合したオリゴヌクレオチド系化合物を含む組成物を被験体に投与する工程を含む、方法。

(項目 3 5)

前記細胞が、以下：I型およびII型の肺胞上皮細胞、杯細胞、分泌上皮細胞、線毛上皮細胞、角膜および結膜の上皮細胞、真皮上皮細胞、胆管細胞、腸細胞、管上皮細胞、腺上皮細胞、および上皮性腫瘍（癌腫）からなる群から選択される、項目 3 4 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記オリゴヌクレオチド系化合物が R N A i 剤である、項目 3 4 または 3 5 に記載の方法。

【配列表】

0007445594000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

	F	I	
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K 48/00
A 6 1 K	49/00	(2006.01)	A 6 1 K 49/00
A 6 1 K	51/04	(2006.01)	A 6 1 K 51/04 2 0 0
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P 17/02
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00 Z N A
A 6 1 P	35/04	(2006.01)	A 6 1 P 35/04
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
C 0 7 H	21/02	(2006.01)	C 0 7 H 21/02
A 6 1 K	38/02	(2006.01)	A 6 1 K 38/02
A 6 1 K	38/17	(2006.01)	A 6 1 K 38/17 1 0 0
A 6 1 K	39/44	(2006.01)	A 6 1 K 39/44
C 0 7 K	16/00	(2006.01)	C 0 7 K 16/00
C 1 2 N	5/071	(2010.01)	C 1 2 N 5/071
C 1 2 N	5/09	(2010.01)	C 1 2 N 5/09
C 1 2 N	15/113	(2010.01)	C 1 2 N 15/113 Z
C 1 2 N	15/115	(2010.01)	C 1 2 N 15/115 Z

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/580,398

(32)優先日 平成29年11月1日(2017.11.1)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁護士 山本 健策

(72)発明者 リ, ゼン

アメリカ合衆国 ニュージャージー 07090, ウエストフィールド, ホウソーン ドライブ 6

(72)発明者 リ, シャオカイ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 53719, マディソン, エス. ローザ ロード 502,
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

(72)発明者 ブッシュ, エリック ダブリュー.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 53719, マディソン, エス. ローザ ロード 502,
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

(72)発明者 ジュー, ルイ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 53562, ミドルトン, ストーニーウッド ブールバード
9427

(72)発明者 シュー, ドンシュー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 53719, マディソン, エス. ローザ ロード 502,
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

(72)発明者 ベンソン, ジョナサン

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 53719, マディソン, エス. ローザ ロード 502,
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

(72)発明者 シャオ, パトリック

アメリカ合衆国 ニュージャージー 07023, ファンウッド, コテージ ウェイ 17

(72)発明者 ファウラー - ウォッタース, マシュー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 53719, マディソン, エス. ローザ ロード 502,
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

審査官 藤代 亮

(56)参考文献 特表2013-514326 (JP, A)

特表2013-506709 (JP, A)

国際公開第2015/179823 (WO, A2)

国際公開第2008/006102 (WO, A2)

特表 2002 - 537287 (JP, A)

GOSWAMI R. K. et al. , Chemically Programmed Antibodies Targeting Multiple Alpha(v) Integrins and Their Effects on Tumor-Related Functions in Vitro , Bioconjugate Chemistry , 2011年07月20日 , Vol.22 , p.1535-1544

REGISTRY (STN) [online] , 2002年08月02日 , [検索日 2022.09.22] , CAS Registry Number: 442138-55-8

REGISTRY (STN) [online] , 2002年08月02日 , [検索日 2022.09.22] , CAS Registry Number: 442137-98-6

REGISTRY (STN) [online] , 2002年08月16日 , [検索日 2022.09.22] , CAS Registry Number: 444053-20-7

(58)調査した分野 (Int.Cl. , DB名)

C 0 7 D 2 1 3 / 7 4
A 6 1 K 3 1 / 7 0 8 8
A 6 1 K 3 1 / 7 1 2
A 6 1 K 4 5 / 0 0
A 6 1 K 4 7 / 5 4
A 6 1 K 4 8 / 0 0
A 6 1 K 4 9 / 0 0
A 6 1 K 5 1 / 0 4
A 6 1 P 1 7 / 0 2
A 6 1 P 3 5 / 0 0
A 6 1 P 3 5 / 0 4
A 6 1 P 4 3 / 0 0
C 0 7 H 2 1 / 0 2
A 6 1 K 3 8 / 0 2
A 6 1 K 3 8 / 1 7
A 6 1 K 3 9 / 4 4
C 0 7 K 1 6 / 0 0
C 1 2 N 5 / 0 7 1
C 1 2 N 5 / 0 9
C 1 2 N 1 5 / 1 1 3
C 1 2 N 1 5 / 1 1 5
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)