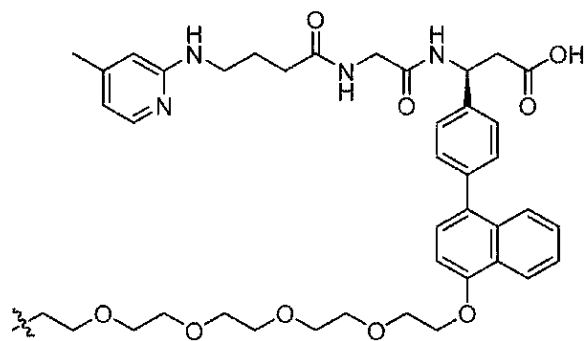




Cc1ccc(NC(=O)CCCC(=O)NC(=O)C[C@H](Cc2ccc(cc2)-c3ccc4ccccc34)CC(=O)O)cc1

10

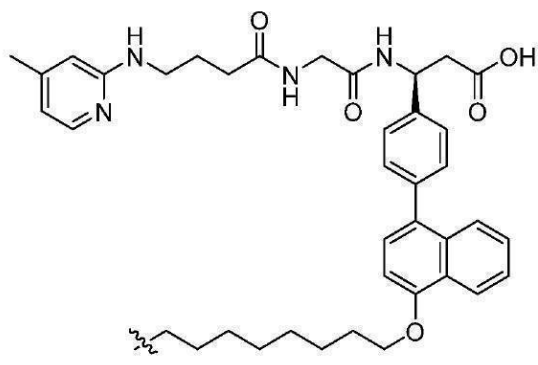


20

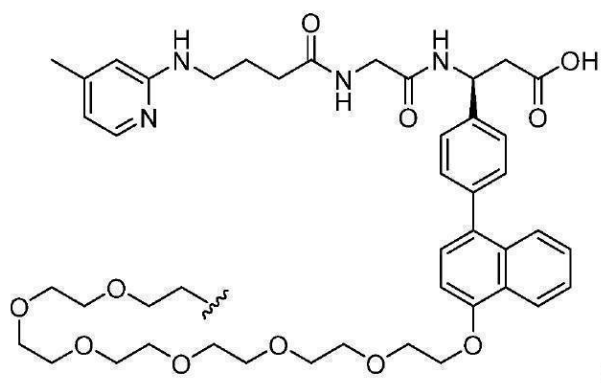
40

50

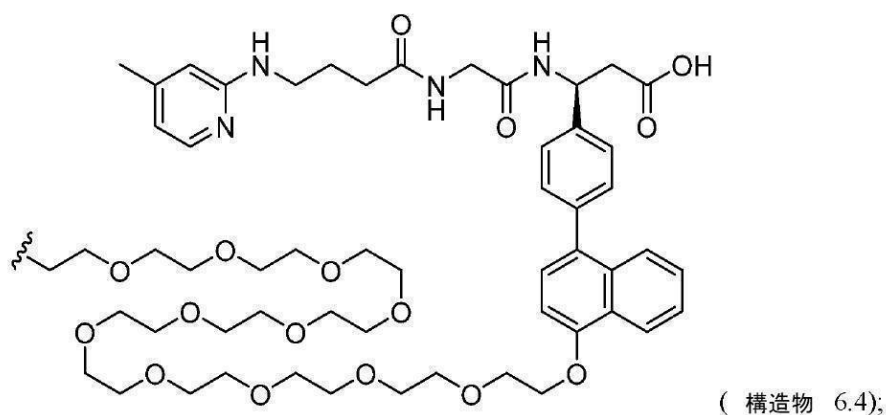
【化 3 7 6】



10



20



30

( 式中、

【化 3 8 5】

40

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  $\alpha$  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  $\alpha$  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、ポリエチレングリコール

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、またはフルオロフォアを含む、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 RNA i 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

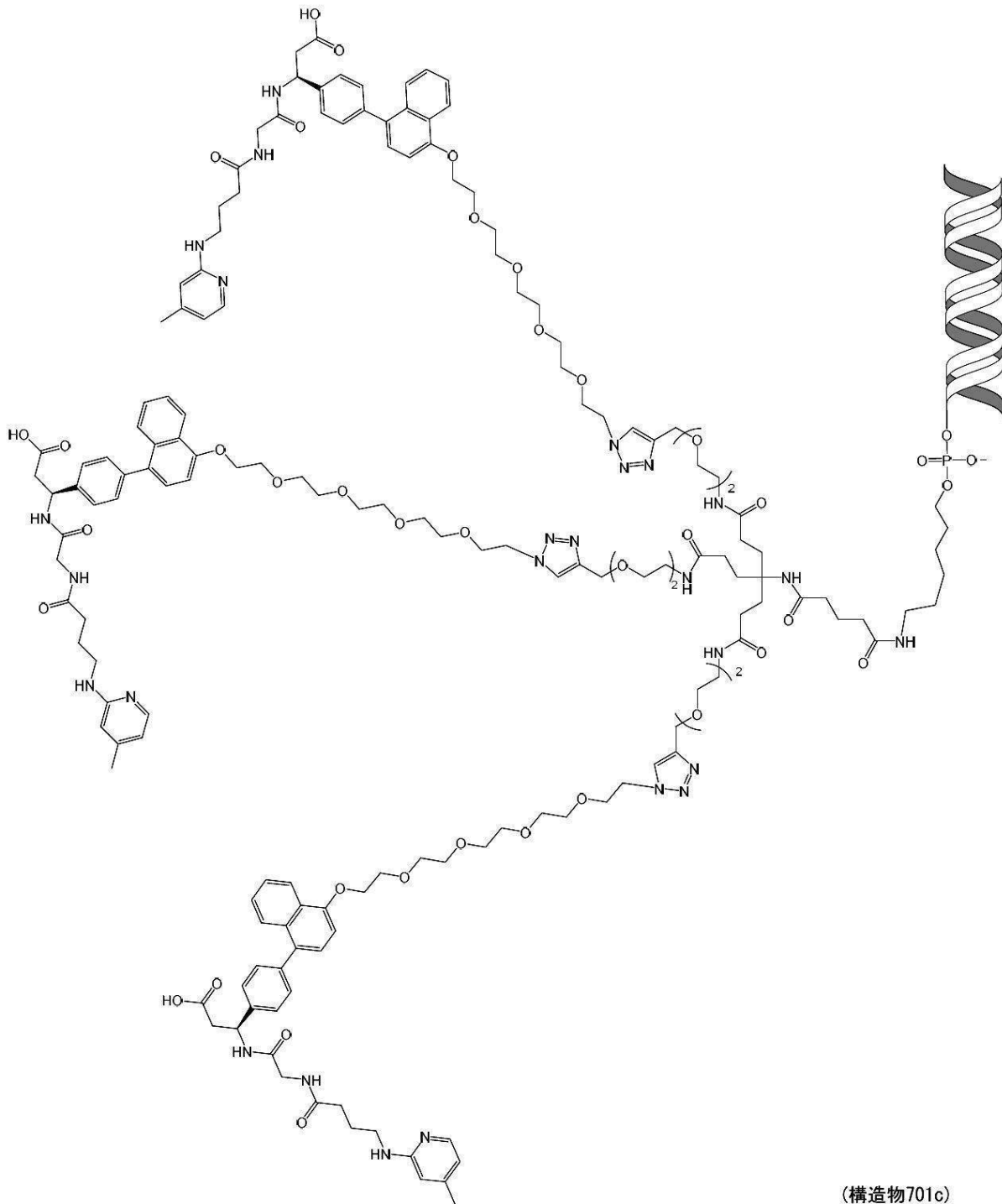
30

40

50



【化 3 8 6】



を有し、そしてここで、

【化 3 8 7】



はRNAi剤を表す、請求項6に記載の構造物。

【請求項12】

請求項1～5のいずれかに記載の  $\alpha$  6インテグリンリガンドまたは請求項6～11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13】

前記  $\alpha$  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、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 RNA i 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 RNA i 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 で送達させ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 RNA i 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 RNA i 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】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2017 年 11 月 1 日に提出された米国特許仮出願第 62 / 580,398 号、2018 年 3 月 22 日に提出された米国特許仮出願第 62 / 646,739 号、および 2018 年 6 月 1 日に提出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】

【0 0 0 2】

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 (  $\alpha 6 \beta 6$  ) は、TGF- $\beta$  の潜在関連ペプチド ( LAP ) ならびに細胞外基質 ( ECM ) タンパク質であるフィブロネクチン、ビトロネクチン、およびテネシンの受容体である。 $\alpha 6 \beta 6$  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 ( 例えば、結腸癌、卵巣癌、子宮内膜癌、および胃癌 ) で上方制御され、しばしば、癌の予後不良に関連する。 $\alpha 6 \beta 6$  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ことが示されている。 $\alpha 6 \beta 6$  インテグリンはまた、マトリックスメタロプロテアーゼ ( MMP ) の発現を制御し、TGF- $\beta 1$  を活性化することができる。 $\alpha 6 \beta 6$  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 *in vitro* 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  $\alpha 6 \beta 6$  は、とりわけ、マトリックスメタロプロテアーゼ ( MMP ) の発現および TGF- $\beta 1$  の活性化におけるその役割の観点から、腫瘍バイオマーカ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 *in vivo* 送達、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 ( 例えば、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 *in vivo* 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、*in vivo* 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 ( 例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたは RNAi 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  $\alpha 6 \beta 6$  インテグリンリガンド ( 本明細書中で  $\alpha 6 \beta 6$  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  $\alpha 6 \beta 6$  インテグリンリガンドは、血清中で安定であり、 $\alpha 6 \beta 6$  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。 $\alpha 6 \beta 6$  インテグリンリガンドをカーゴ分子に結合して、 $\alpha 6 \beta 6$  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 】

*in vivo* で  $\alpha 6 \beta 6$  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  $\alpha 6 \beta 6$  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。 $\alpha 6 \beta 6$  インテグリンを発現する細胞への治療用カーゴ分子 ( 例えば、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  $\alpha 6 \beta 6$  インテグリンリガンドを被験体に投与する工程を含む、方法をさらに開示する。

【 0 0 0 6 】

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）（RNA i 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  $\alpha$  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（RNA i 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  $\alpha$  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。

【 0 0 0 7 】

ⅴ 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 ⅴ 6 インテグリンリガンドを含む医薬組成物であり得る。

【 0 0 0 8 】

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  $\alpha$  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。

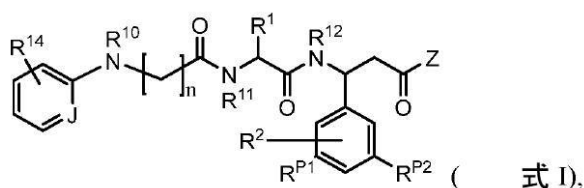
【 0 0 0 9 】

第 1 の態様では、本開示は、合成 v 6 インテグリンリガンドを提供する。

【 0 0 1 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、以下の式：

## 【化 1】



(式中、

$n$  は  $0 \sim 7$  の整数であり；

J は C - H または N であり :

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

R<sup>1</sup>は、H、必要に応じて置換されたC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキル、OH、COOH、CON(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>、OR<sup>6</sup>であるか、R<sup>1</sup>は、カーゴ分子を含み、ここで、各R<sup>5</sup>は、独立して、HまたはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキルであり、R<sup>6</sup>は、HまたはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>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<sup>10</sup> は、H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

R<sup>11</sup>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<sup>11</sup>およびR<sup>1</sup>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<sup>1 2</sup> 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、カーボ分子を含み；

$R^{14}$  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。

#### 【0011】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\alpha_6$  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

#### 【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  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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。

20

#### 【0014】

1 またはそれを超える  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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。

30

#### 【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  $\alpha_6$  インテグリンリガンドを含む組成物は、*in vivo* または *in vitro* でインテグリン  $\alpha_6$  を発現する細胞へのカーゴ分子 (*molecule*) の送達を容易にすることができる。例えば、1 またはそれを超える本明細書中に開示の  $\alpha_6$  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。

40

#### 【0016】

別の態様では、本開示は、所望する場合に開示の  $\alpha_6$  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  $\alpha_6$  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。

50

## 【0017】

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、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  $v$  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  $v$  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  $v$  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  $v$  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。

## 【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  $v$  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。

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  $v$  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。

## 【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  $v$  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。

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  $v$  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。

## 【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  $v$  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。

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  $v$  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。

## 【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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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、 $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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剤に結合した1またはそれを超える  $\alpha 6$  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、 $\alpha 6$  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】

50

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  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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。

【0038】

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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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

【0039】

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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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

【0040】

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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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

【0041】

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 $\alpha$ 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 $\alpha$ 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、 $\alpha$ 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

【0042】

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

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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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、 $\alpha 6$  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】

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  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$  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、 $\alpha 6$  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】

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 사용할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、定義を含む本明細書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。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0046】

##### 詳細な説明

##### $\alpha 6$ インテグリンリガンド。

血清安定性およびインテグリン  $\alpha 6$  に対する親和性を有する合成  $\alpha 6$  インテグリンリガンドを本明細書中に記載する。 $\alpha 6$  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  $\alpha 6$ を発現する細胞を標的にすることができる。いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\alpha 6$  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  $\alpha 6$ 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る。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  $\alpha 6$  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。

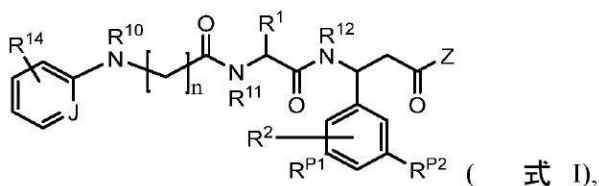
#### 【0047】

第1の態様では、本開示は、合成  $\alpha 6$  インテグリンリガンドを提供する。

#### 【0048】

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、以下の式：

【化 2】



( 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、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】

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。

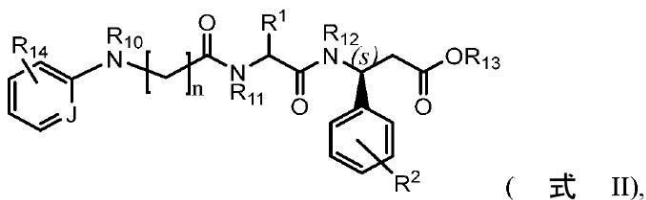
【0050】

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  $\vee$  6 インテグリンリガンドは、以下の式：

【化 3】



( 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；

10

20

30

40

50

$R^1$  は、 $H$ 、 $C_1 \sim C_6$  アルキル、 $CH(R^3)(R^4)$ 、 $OH$ 、 $COOH$ 、 $CH_2CH_2CH_2NH_2$ 、 $CONHR^5$ 、 $OR^6$  であり、ここで、 $R^3$  は、 $H$  または  $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、 $R^4$  は、 $H$ 、 $C_1 \sim C_6$  アルキルであり、 $R^5$  は、 $H$  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；

$R^2$  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、

$R^{10}$  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；

$R^{13}$  は、 $H$  または必要に応じて置換されたアルキルであり；

$R^{14}$  は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、 $R^1$  または  $R^2$  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。

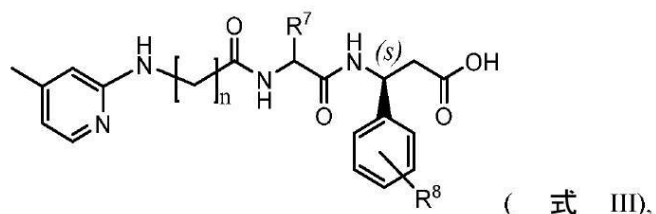
#### 【0052】

いくつかの実施形態では、式 I I 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) ；

$R^7$  は、1 またはそれを超えるカーゴ分子を含み；

$R^8$  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。

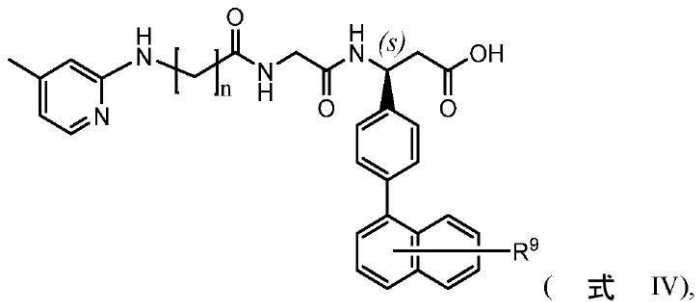
#### 【0054】

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

#### 【0055】

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 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<sup>9</sup> は、1 またはそれを超えるカーゴ分子を含む) の構造物またはその薬学的に許容され得る塩を含む。

【0056】

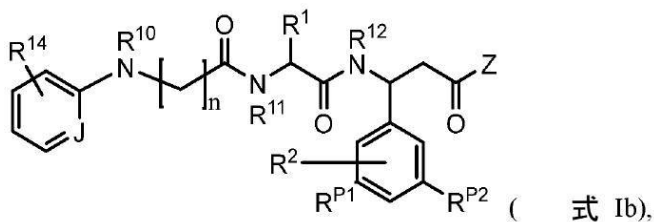
いくつかの実施形態では、式 I V において n = 3 である。いくつかの実施形態では、式 I V において n = 4 である。

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<sup>13</sup>、N(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>、または SR<sup>13</sup> であり ;

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

R<sup>2</sup>、R<sup>P1</sup>、および R<sup>P2</sup> 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<sup>2</sup>、R<sup>P1</sup>、および R<sup>P2</sup> は、反応基に結合した連結基を含んでよく ;

40

R<sup>10</sup> は、H または必要に応じて置換されたアルキルであり ;

R<sup>11</sup> 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<sup>11</sup> および R<sup>1</sup> 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<sup>12</sup> 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<sup>13</sup> 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<sup>13</sup> は、反応基に結合した連結基を含み ;

R<sup>14</sup> は必要に応じて置換されたアルキルであり ;

ここで、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>13</sup>、R<sup>P1</sup>、および R<sup>P2</sup> のうちの少なくとも 1 つは、反応基

50

に結合した連結基を含む)のインテグリンターゲット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。

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な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、それらからなるか、それらから本質的になる。

【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る。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る。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

50

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、ポリエチレングリコール、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、「C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>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、イソプロピル、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、通常のアミノ基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る。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。

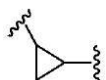
#### 【0065】

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、シクロプロピル、メチル-シクロプロピル、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、通常のアミノ基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。

#### 【0066】

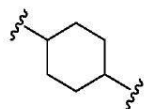
本明細書中で使用される場合、用語「シクロアルキレン」は、本明細書中に記載のシクロアルキル基の2個のラジカルを指す。シクロアルキレンは、シクロアルキルの部分集合であり、シクロアルキルと同一の残基を指すが、2つの置換点を有する。シクロアルキレンの例には、シクロプロピレン、

#### 【化7】



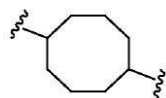
、1,4-シクロヘキシレン、

#### 【化8】



、および1,5-シクロオキシレン

#### 【化9】



が含まれる。シクロアルキレン基は、必要に応じて、通常のアミノ基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

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岐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、「C<sub>2</sub> ~ C<sub>6</sub>」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、通常のアトミ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、「C<sub>2</sub> ~ C<sub>6</sub>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、通常のアトミ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、「アルコキシル」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、C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>アルコキシには、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、およびC<sub>6</sub>アルコキシ基が含まれることを意図する。例えば、C<sub>1</sub> ~ C<sub>8</sub>アルコキシには、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、およびC<sub>8</sub>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】

40

本明細書中で使用される場合、「アルコキシカルボニル」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。アルコキシカルボニル基の例には、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、イソ - プロポキシカルボニル、n - プロポキシカルボニル、t - ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、またはn - ペントキシカルボニルが含まれるが、これらに限定されない。

【0072】

本明細書中で使用される場合、「アリーロキシカルボニル」は、オキシ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。アリーロキシカルボニル基の例には、フェノキシカルボニルおよびナフチロキシ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、「ヘテロアリーロキシカルボニル」は、オキシ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、またはピリミジニ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、通常のアトミ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、通常のアトミ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、通常のアトミ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。ヘテロアリーレンの例には、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、通常のアトミ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「ヘテロシクリル」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」および「ヘテロシクリル」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 - ジオキサニル、ヘキサヒドロアゼピニル、ピペラジニル、ピペリジニル、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、ジヒドロアゼチジニル、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 - ジオキサニル、ヘキサヒドロアゼピニル、ピペラジニル、ピペリジニル、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、ピペリジニレン、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、混合物中に含む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がり合われていること、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 $K_D$ 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

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。

【 0 0 8 8 】

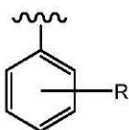
当業者は、本明細書中に開示の化合物および組成物が、化合物または組成物がおかれた環境に応じて、プロトン化した状態または脱プロトン化した状態で一定の原子（例えば、N、O、またはS原子）を有する可能性があることを容易に理解し、認識するであろう。したがって、本明細書中で使用される場合、本明細書中に開示の構造物は、例えば、OH、SH、またはNHなどの一定の官能基がプロトン化または脱プロトン化され得ることが想定される。本明細書中の開示は、当業者が容易に理解するように、環境のpHに基づいたそのプロトン化の状態と無関係に開示の化合物および組成物を対象とすることを意図する。

10

【 0 0 8 9 】

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

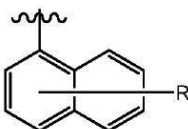
【 化 1 1 】



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 1 2 】



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）。

【 0 0 9 0 】

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、特許請求の範囲の範囲を限定する。

【 0 0 9 1 】

40

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。

【 0 0 9 2 】

式I b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。

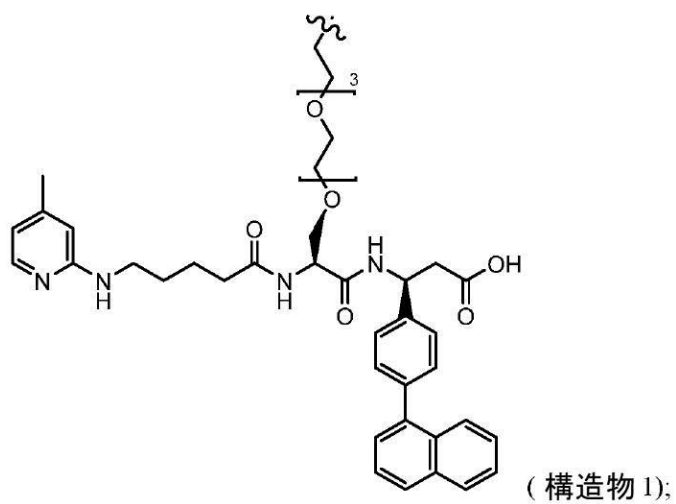
【 0 0 9 3 】

式I bのいくつかの実施形態では、反応基はアジドである。

【 0 0 9 4 】

50

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



10

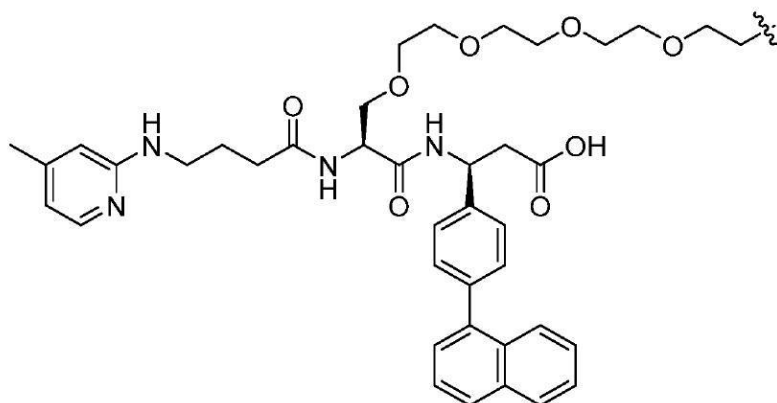
20

30

40

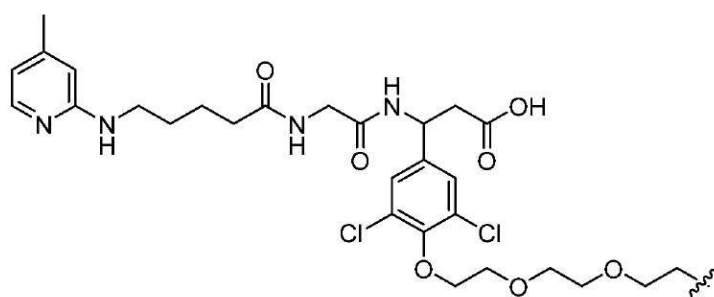
50

【化 1 4】



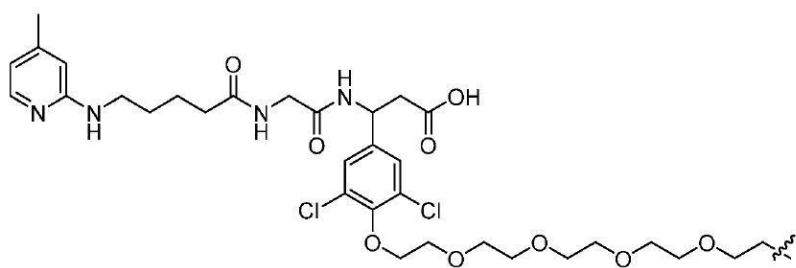
(構造物 2);

10



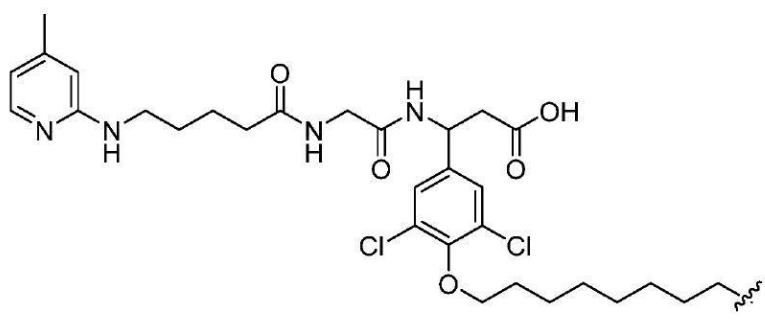
(構造物 5);

20



(構造物 5.1);

30



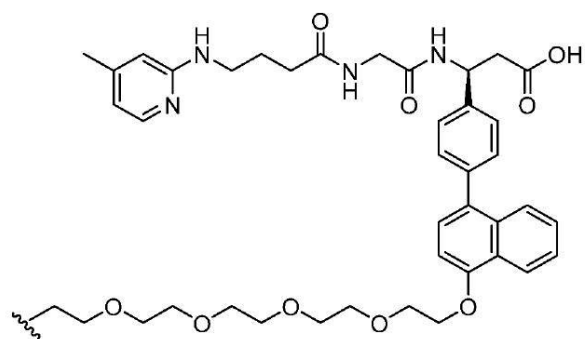
(構造物 5.2);

40

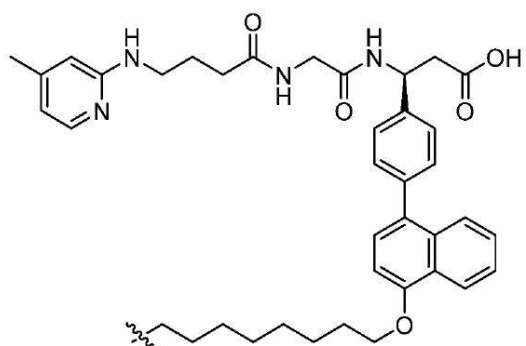
50

CC1=CC=C(NC(=O)NCCCNC(=O)N[C@@H](CC(=O)O)C2=CC=C(C3=CC=CC=C3O2)C4=CC=CC=C4)C=C1

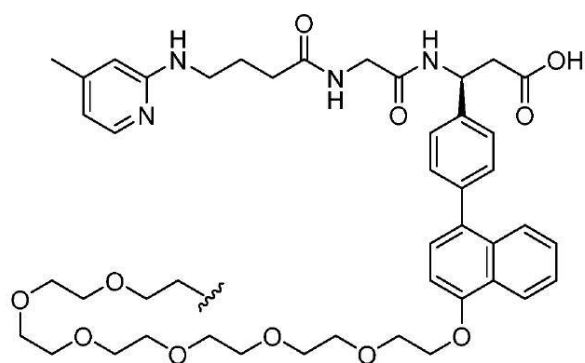
10



20

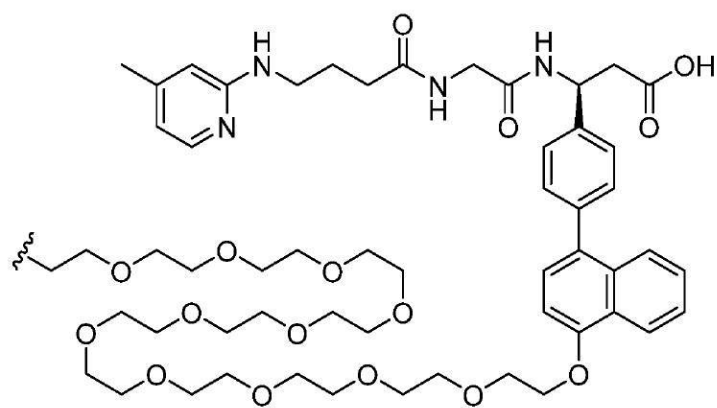


30

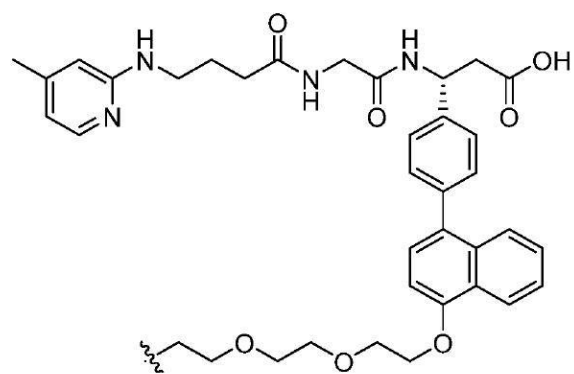


40

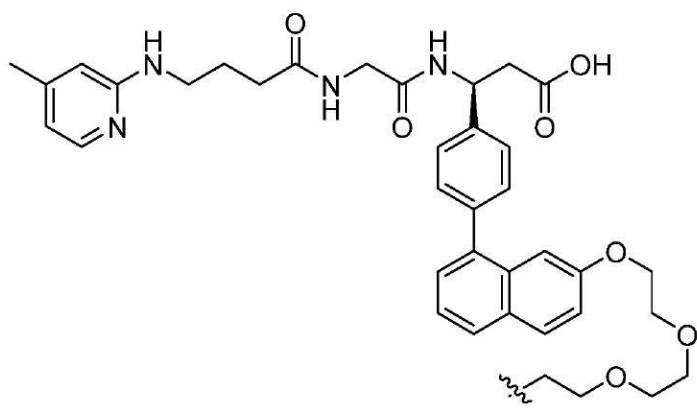
【化 1 6】



(構造物 6.4);



(構造物 7);



(構造物 8);

10

20

30

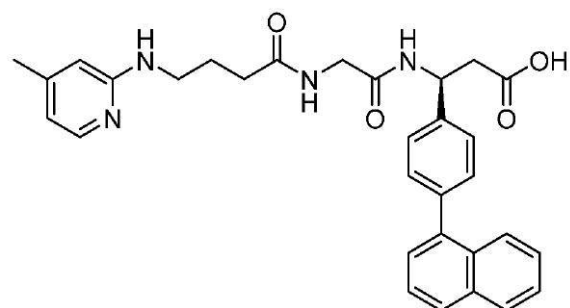
40

50

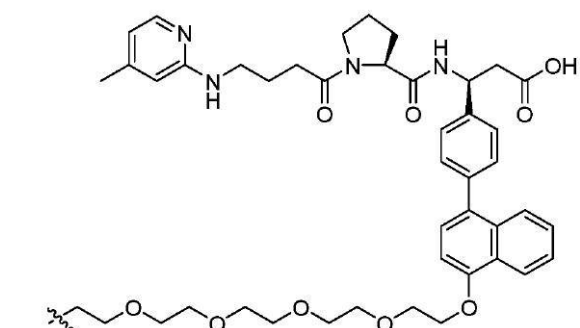


[illegible]

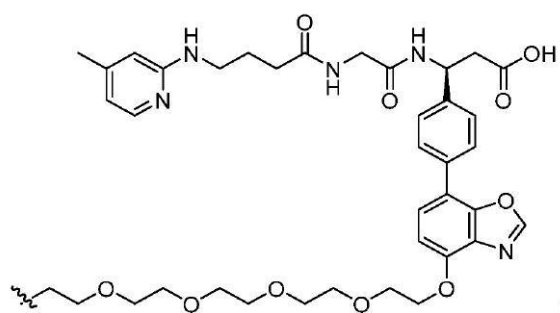
10



20



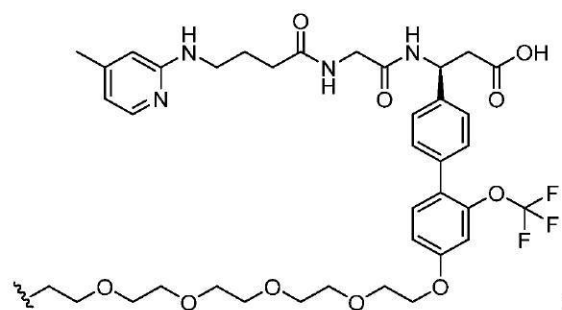
30



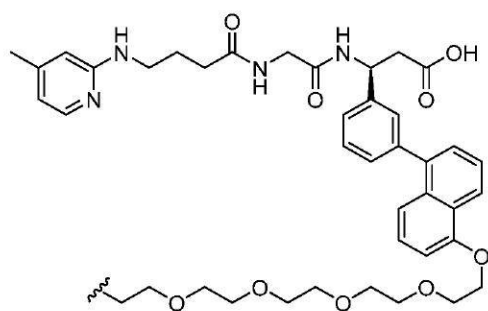
40

CC1=CC=C(NC(=O)NCCCNC(=O)NCC[C@H](C(=O)O)C2=CC=C(C3=CC4=C(C2)C(=CC5=C4C(=CC=C5)OCCCC5)C3)C6=CC=CC=C16

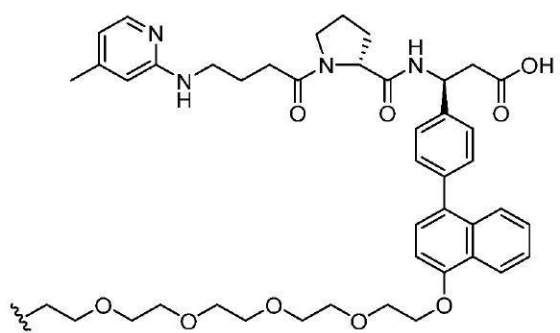
10



20



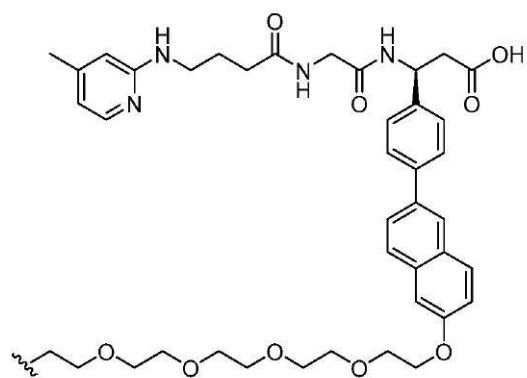
30



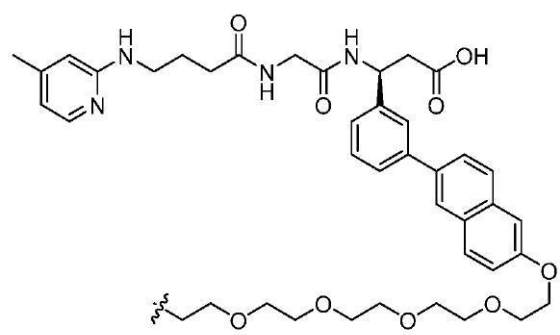
40

Cc1ccc(NC(=O)CCNC(=O)CCNC(=O)CC[C@H](Cc2ccc(cc2)-c3ccc4c(c3)sc5ccccc45)C(=O)O)cc1

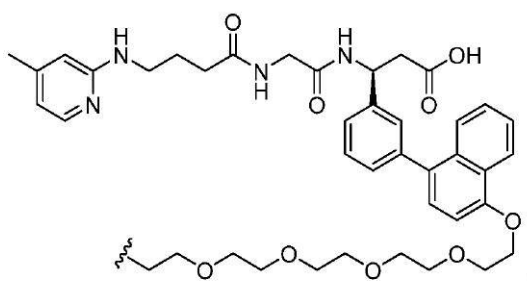
10



20



30

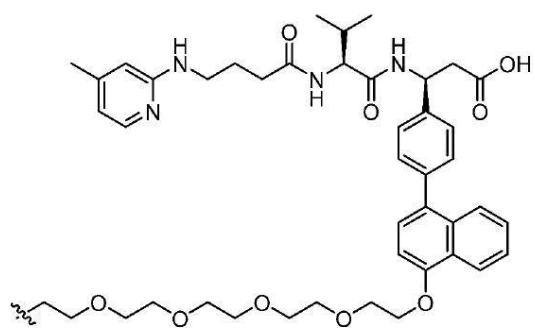


(構造物 20);

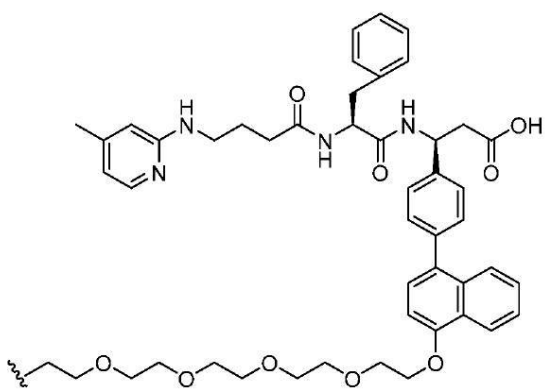
40

Cc1ccc(NC(=O)CC[C@H](NC(=O)CC[C@@H](Cc2ccccc2-c3ccc(OCCCCOCCCCOCCCCOCCCCO)cc3)c(=O)N)cc1

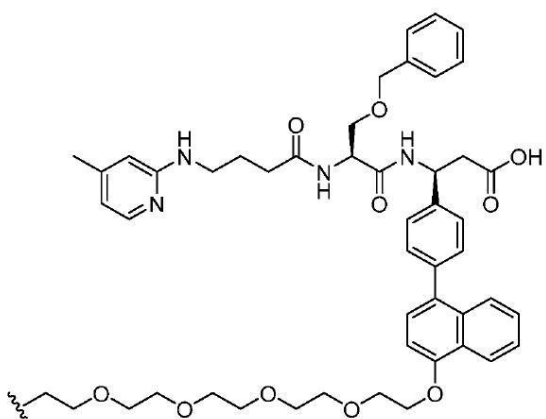
10



20

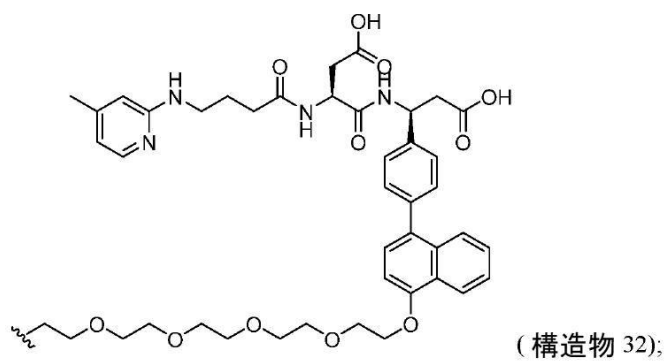
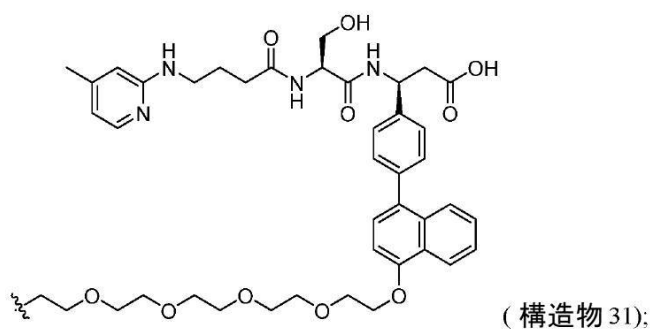
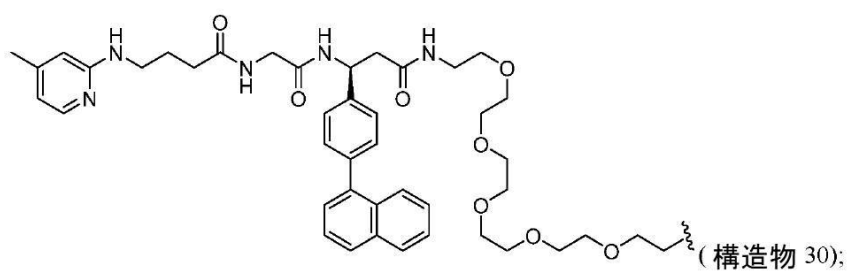
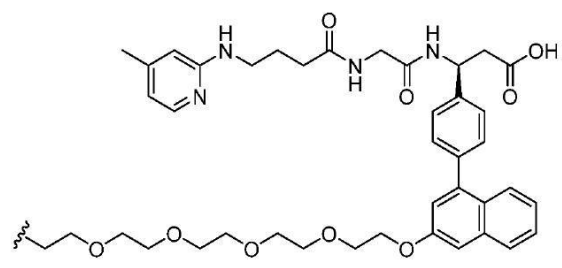
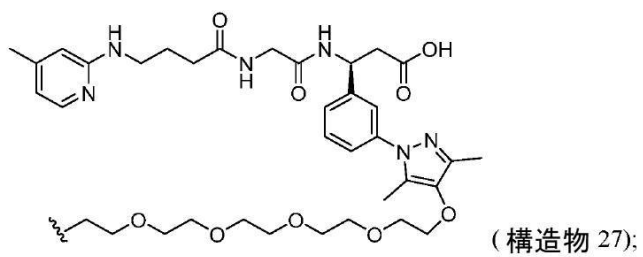


30



40

【化 2 1】



10

20

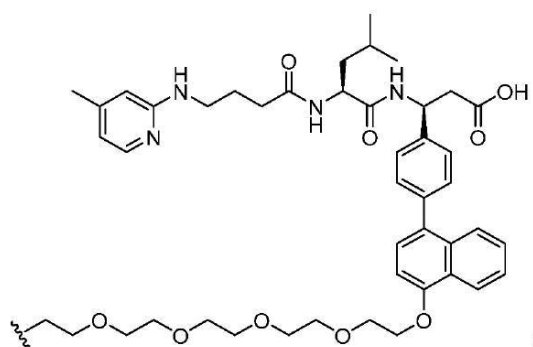
30

40

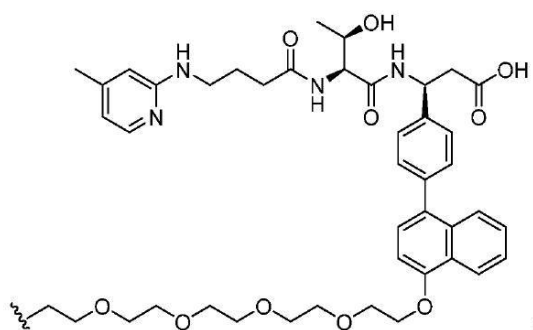
50

CCCCNC(=O)Nc1ccc(C)cn1C(=O)N[C@@H](Cc2ccc(Oc3ccc4ccccc4cc3)cc2)C(=O)O

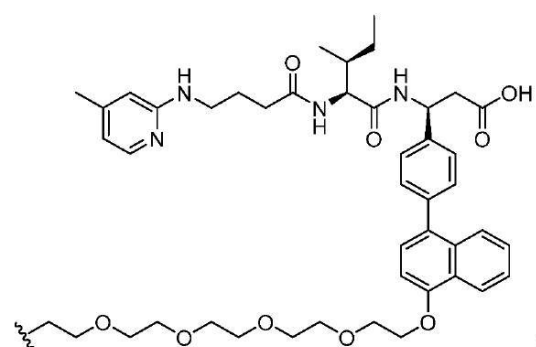
10



20

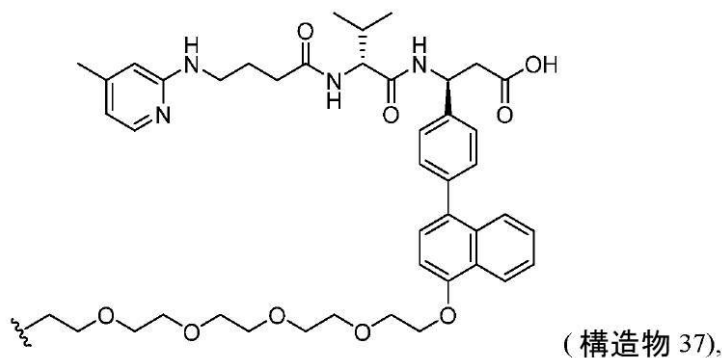


30



40

## 【化 2 3】



10

(式中、

## 【化 2 4】



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  $\nu$  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  $\nu$  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  $\nu$  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  $\nu$  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  $\nu$  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、 $\nu$  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、 $\nu$  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、 $\nu$  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、それらからなるか、それらから本質的になる。

#### 【 0 1 0 0 】

本明細書中に開示の任意の  $\alpha$  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、 $\alpha$  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。本明細書中に開示の  $\alpha$  6 インテグリンリガンドは、 $\alpha$  6 インテグリンまたは  $\alpha$  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る。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 RNA i 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、ポリエチレングリコール、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 RNA i 剤を含む。

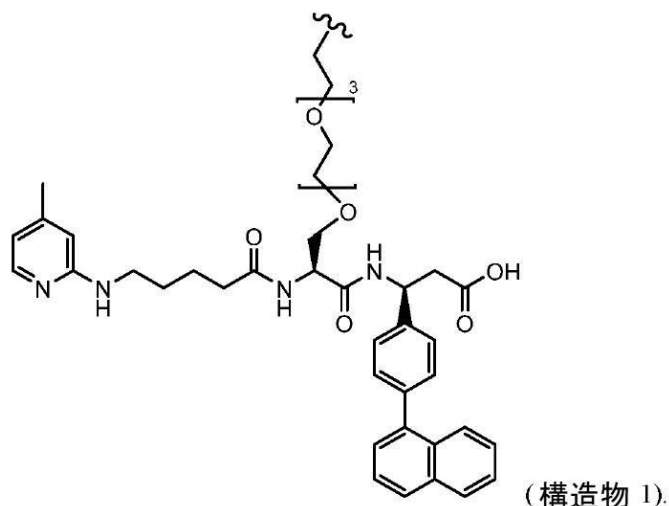
#### 【 0 1 0 1 】

1 つの態様では、本発明は、本明細書中に記載の  $\alpha$  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。

#### 【 0 1 0 2 】

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

#### 【 化 2 5 】



#### 【 0 1 0 3 】

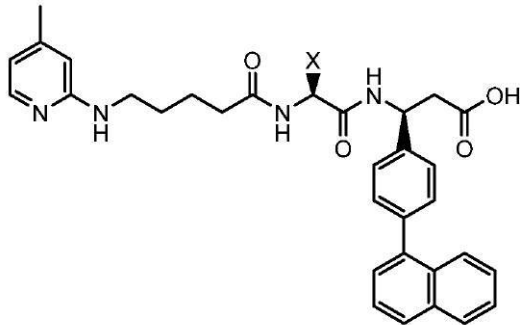


いくつかの実施形態では、構造物 1 の  $\nu$  6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【0104】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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),

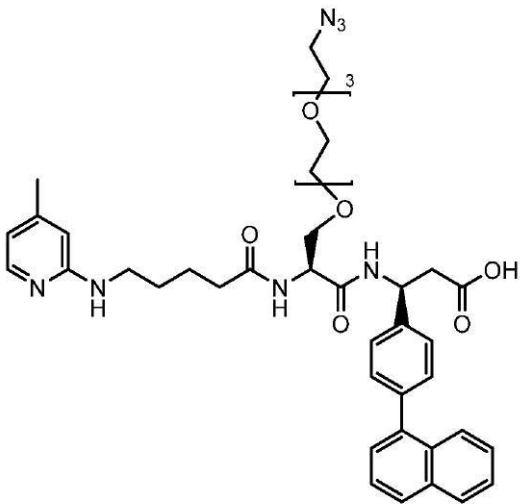
10

（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、 $\nu$  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)

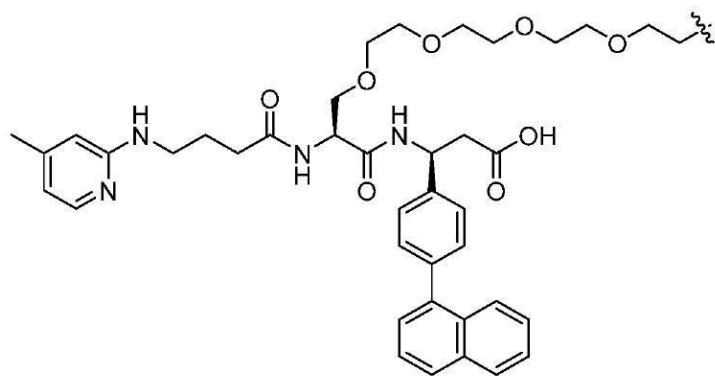
30

【0106】

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

40

【化 2 8】



(構造物 2)

10

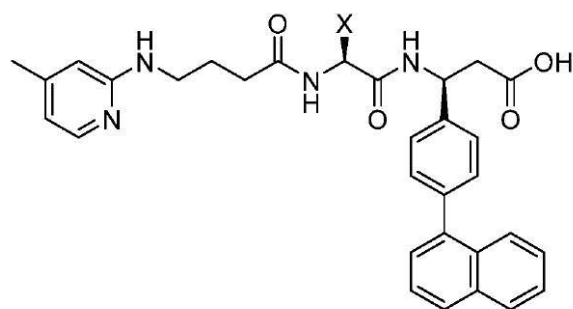
【0107】

いくつかの実施形態では、構造物 2 の  $\alpha$  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、 $\alpha$  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

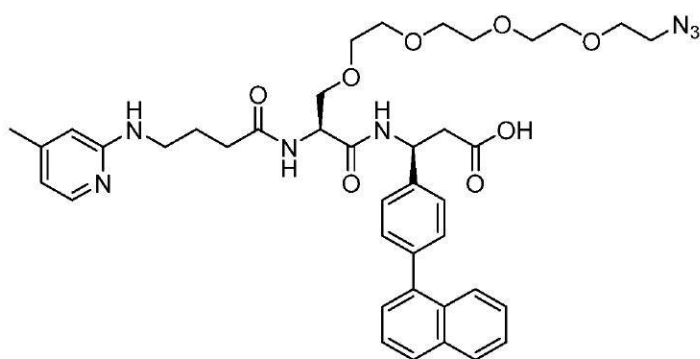
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

【0109】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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).

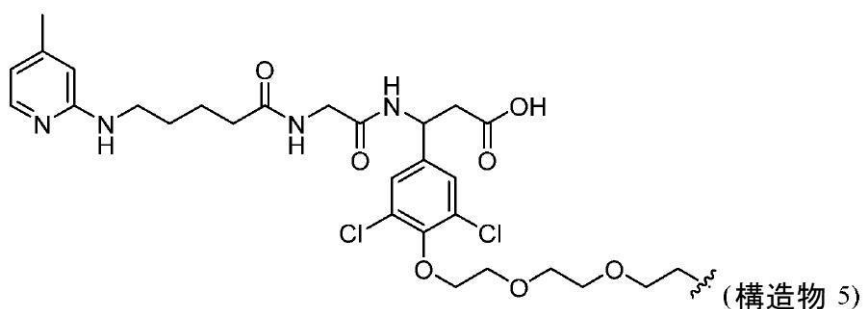
40

【0110】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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

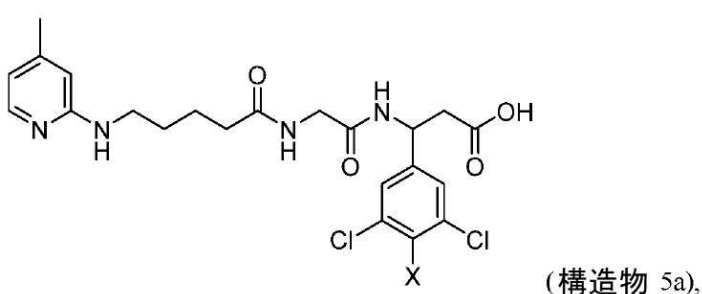
## 【0 1 1 1】

いくつかの実施形態では、構造物 5 の 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 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 3 2】



20

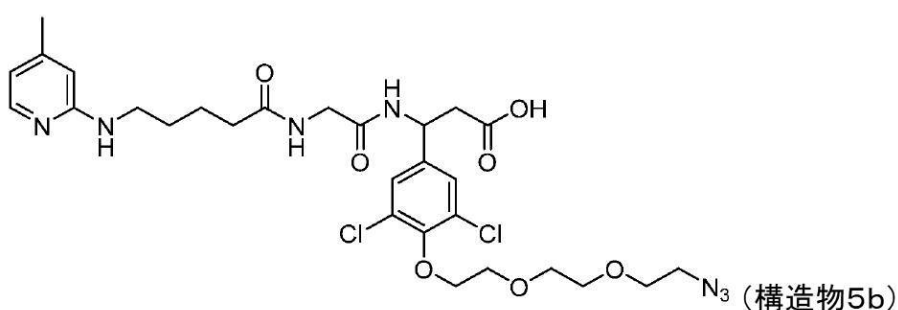
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

## 【0 1 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：

30

## 【化 3 3】



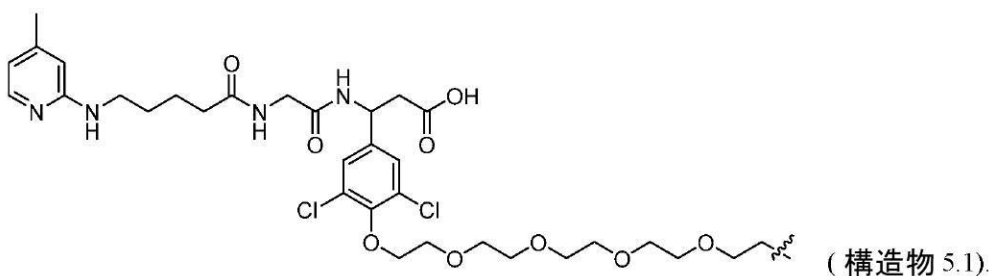
40

## 【0 1 1 4】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の v 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】

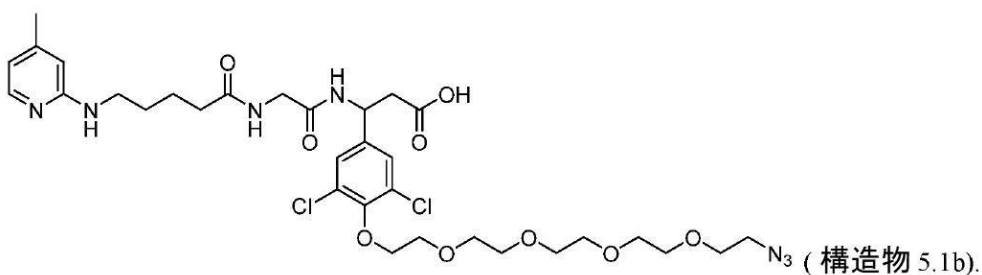


## 【 0 1 1 5】

10

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】



20

## 【 0 1 1 6】

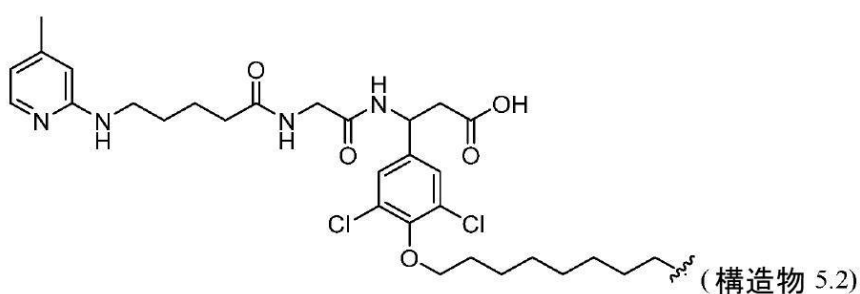
反応基 (または保護された反応基) を使用して、目的の分子 (例えば、カーゴ分子 (直接または 1 またはそれを超える足場および / もしくはリンカーを介して)) への v 6 インテグリンリガンドの結合を容易にすることができる。

## 【 0 1 1 7】

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

## 【化 3 6】

30



## 【 0 1 1 8】

40

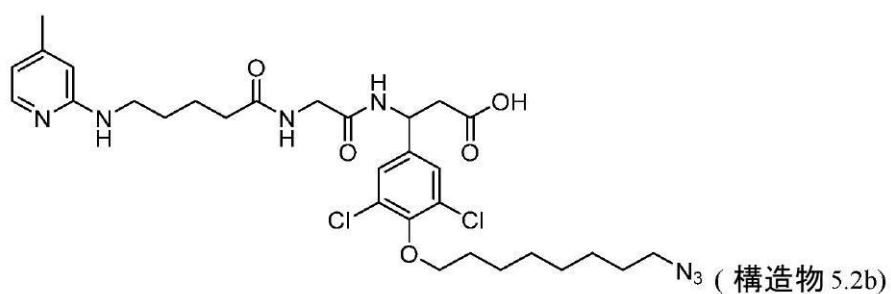
いくつかの実施形態では、構造物 5 . 2 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子 (例えば、RNAi 剤 (単数または複数)) に連結されている。

## 【 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：

50

## 【化 3 7】

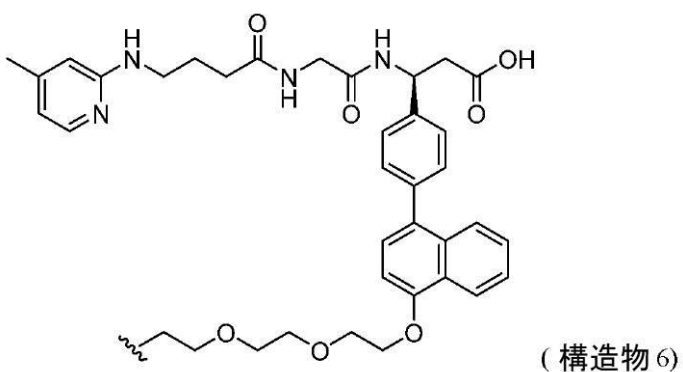


10

## 【 0 1 2 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：

## 【化 3 8】



20

## 【 0 1 2 1】

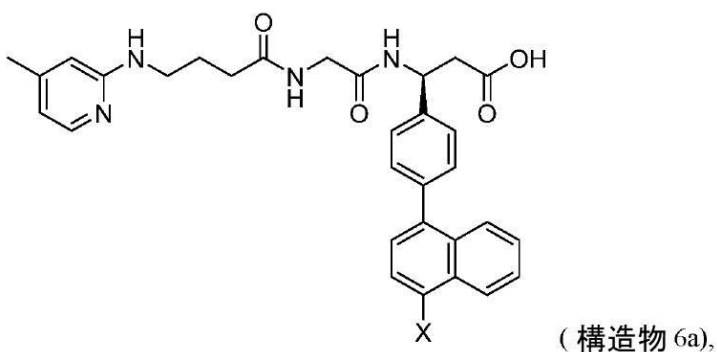
いくつかの実施形態では、構造物 6 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

## 【 0 1 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、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 3 9】



40

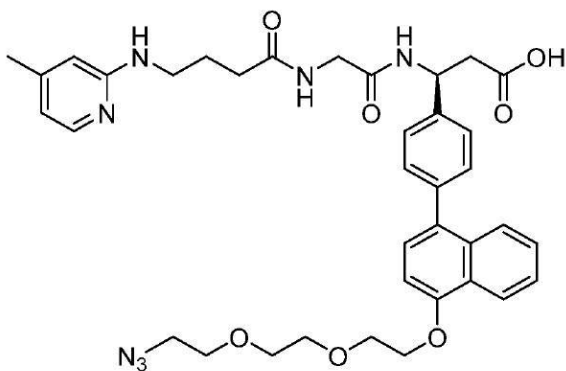
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

## 【 0 1 2 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：

50

## 【化 4 0】



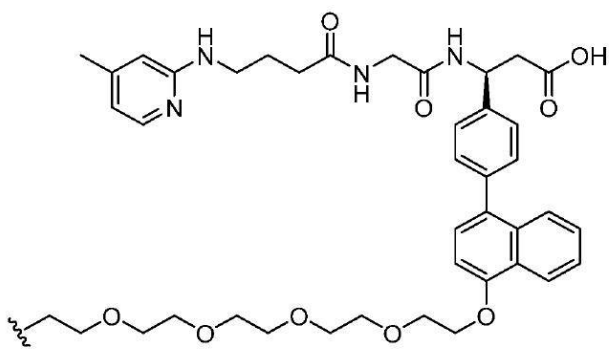
(構造物 6b)

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  $\nu$  6 インテグリンリガンドは、以下の構造物を含む：

## 【化 4 1】



(構造物 6.1)

20

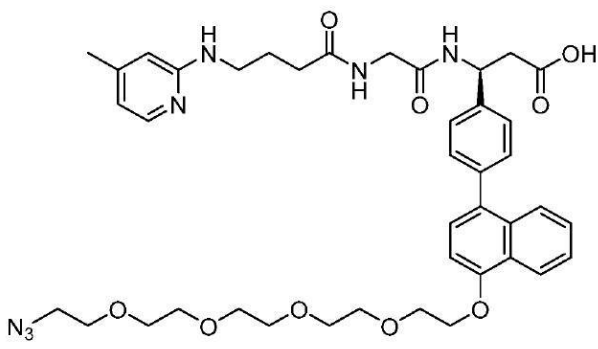
## 【 0 1 2 5】

いくつかの実施形態では、構造物 6.1 の  $\nu$  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 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、 $\nu$  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 4 2】



(構造物 6.1b)

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  $\nu$  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。

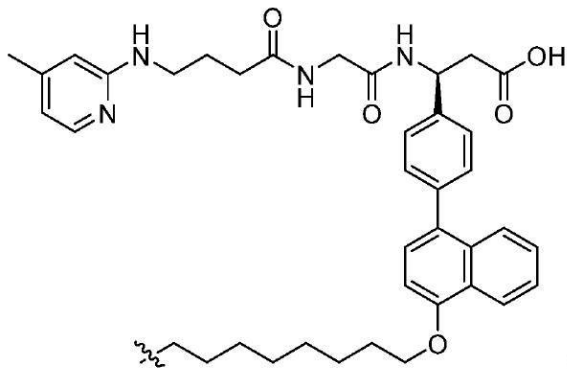
## 【 0 1 2 8】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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】

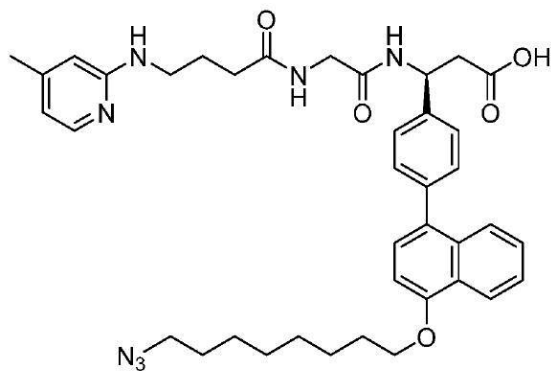
いくつかの実施形態では、構造物 6 . 2 の  $\nu$  6 インテグリンリガンドは、1またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

【 0 1 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、 $\nu$  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

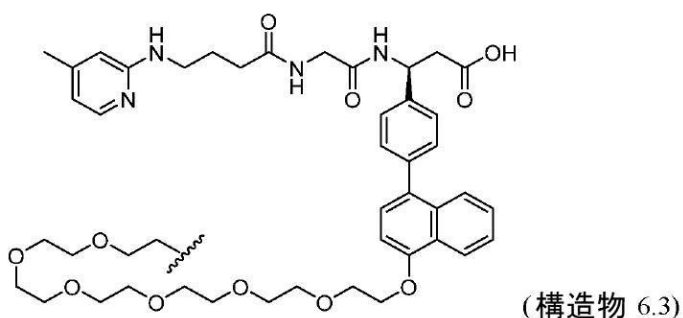
【 0 1 3 1】

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  $\nu$  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  $\nu$  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

50

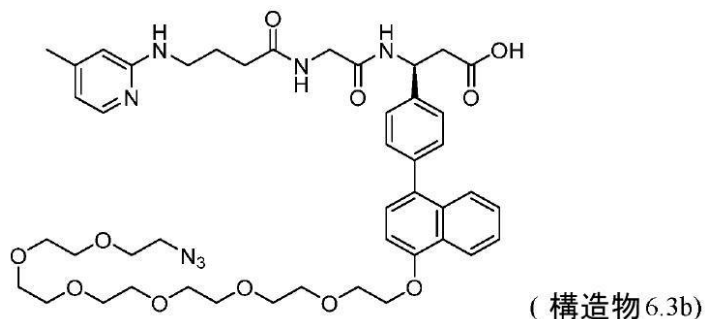
## 【 0 1 3 3 】

いくつかの実施形態では、構造物 6 . 3 の  $\nu$  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 3 4 】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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、 $\nu$  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 4 6 】

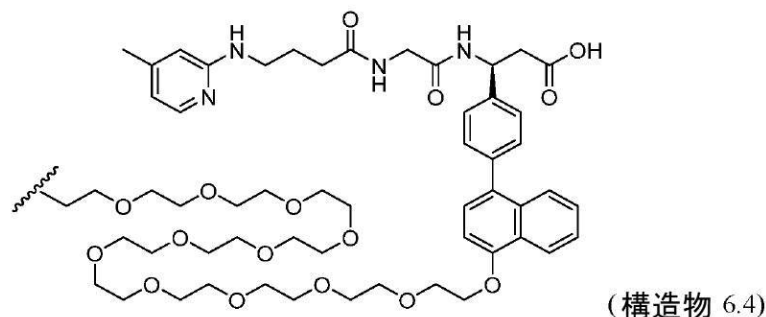


10

## 【 0 1 3 5 】

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

## 【 化 4 7 】



30

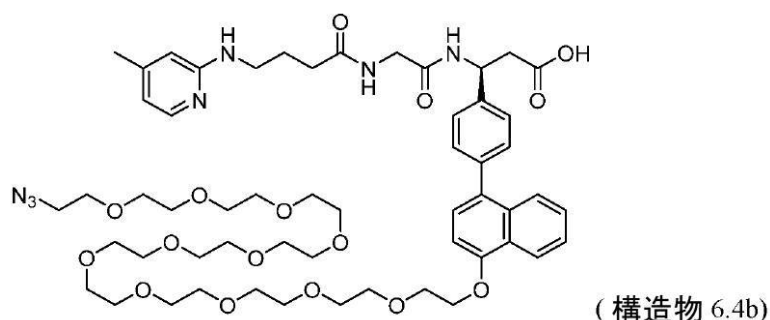
## 【 0 1 3 6 】

いくつかの実施形態では、構造物 6 . 4 の  $\nu$  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 3 7 】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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 4 8 】



40

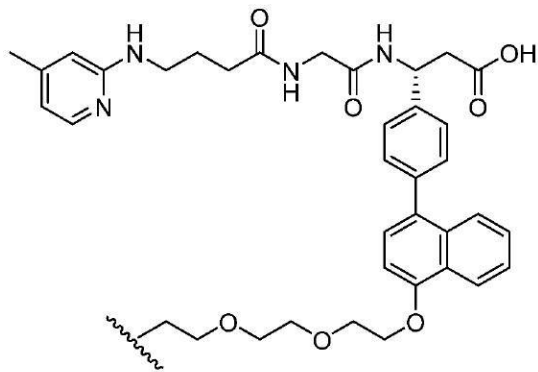
50



## 【 0 1 3 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、以下の構造物を含む：

## 【 化 4 9 】



( 構造物 7 )

10

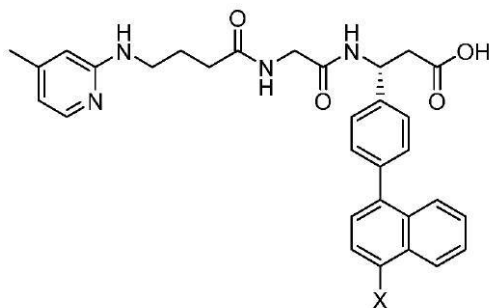
## 【 0 1 3 9 】

いくつかの実施形態では、構造物 7 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 0 】

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 0 】



( 構造物 7a ),

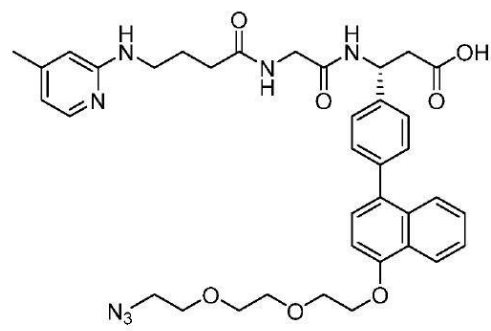
30

（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）。

## 【 0 1 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、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 1 】



( 構造物 7b )

40

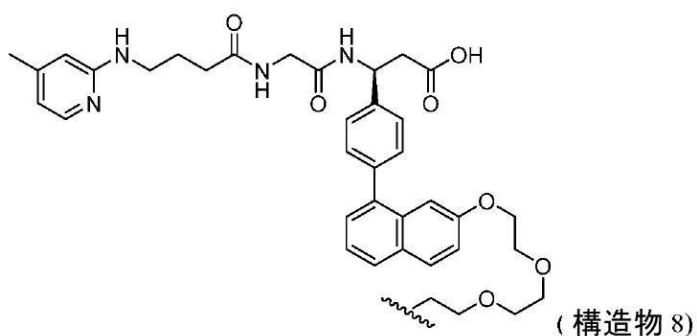
## 【 0 1 4 2 】

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 5 2】



10

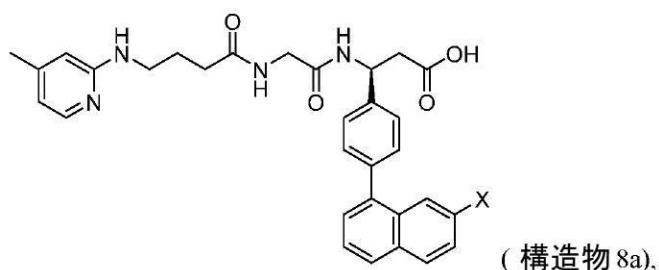
【0 1 4 3】

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、RNA i 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】



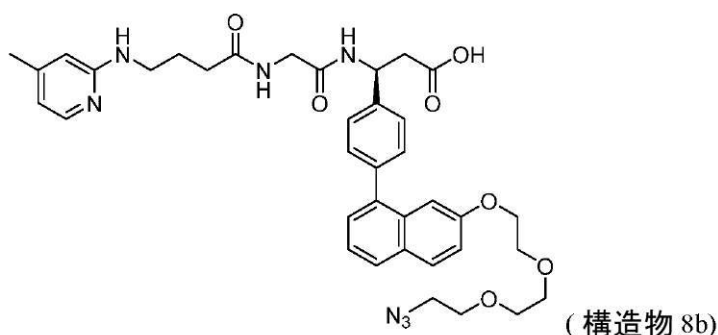
20

（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、RNA i 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】



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：

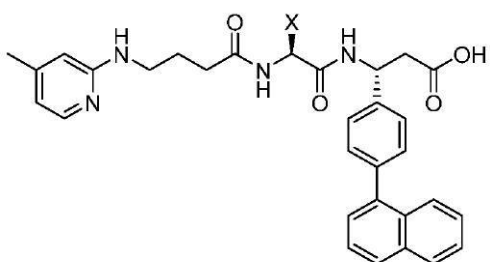
50

Cc1ccc(NC(=O)CCCCNC(=O)[C@H](COCCOCCOCCOCCOCCOCC)c2cc(C(=O)N[C@@H](Cc3ccccc3-c4cccc5ccccc45)CC(=O)O)C(=O)N)nc1

10

【 0 1 4 8 】

【化 5 6】

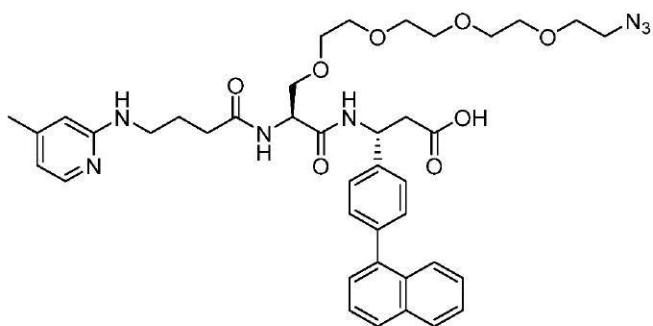


20

【 0 1 4 9 】

30

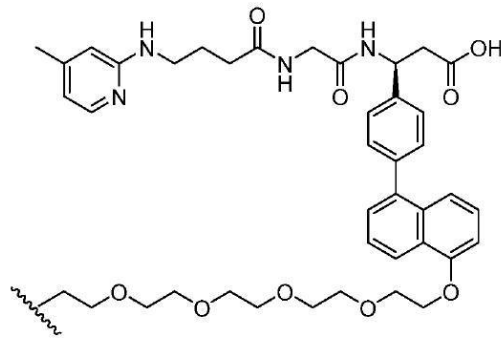
【化 5 7】



40

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 5 8】



(構造物 10)

10

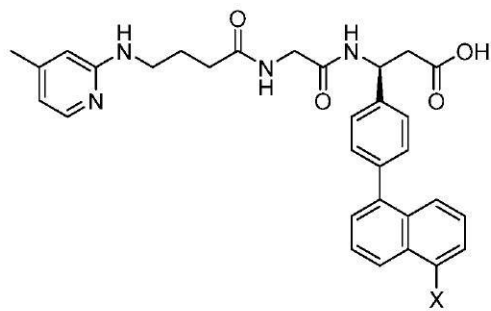
## 【0151】

いくつかの実施形態では、構造物 10 の  $\nu$  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。

## 【0152】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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

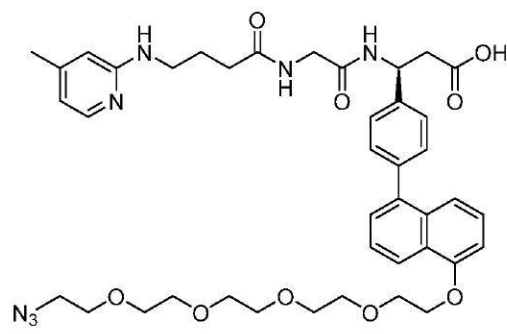
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

## 【0153】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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)

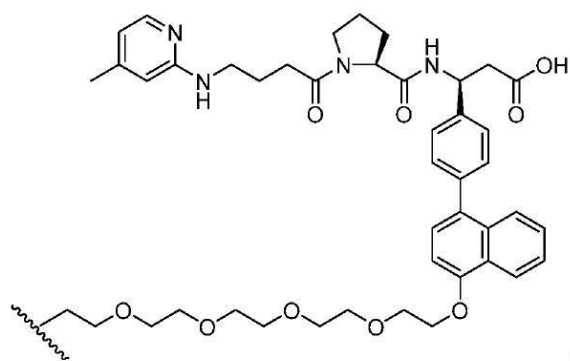
40

## 【0154】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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

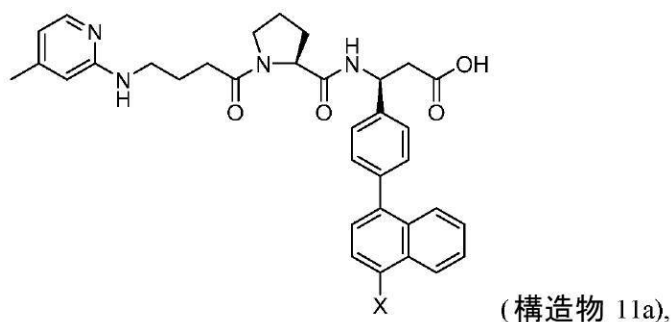
## 【 0 1 5 5】

いくつかの実施形態では、構造物 11 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 6】

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 2】



20

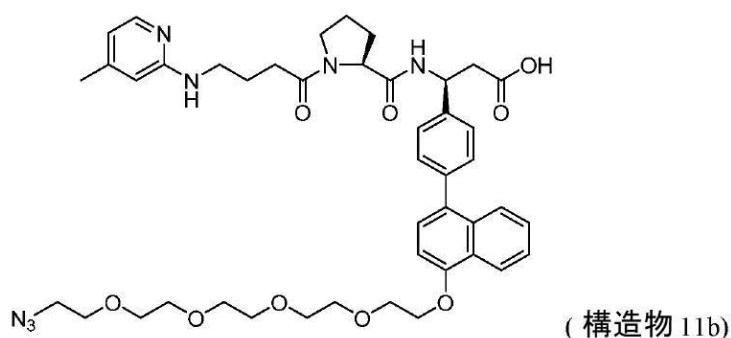
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

30

## 【 0 1 5 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、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】



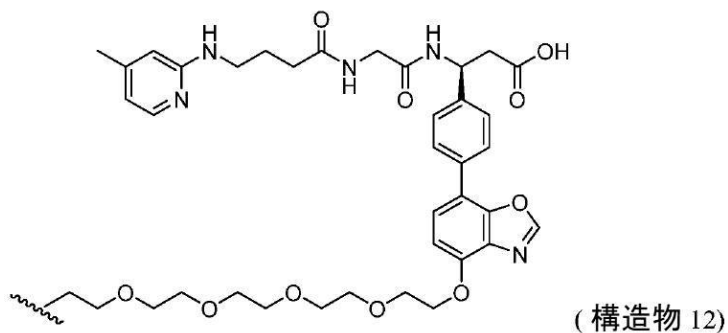
40

## 【 0 1 5 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

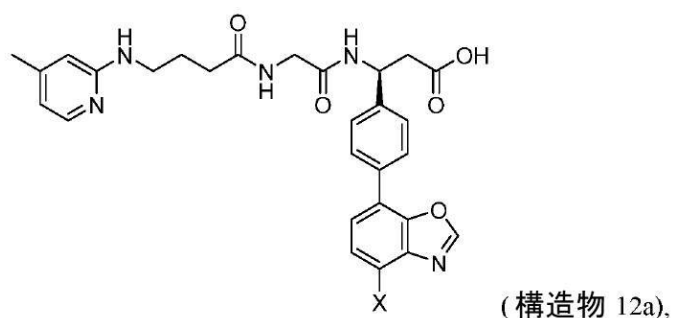
## 【0159】

いくつかの実施形態では、構造物 12 の  $\nu$  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、 $\nu$  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

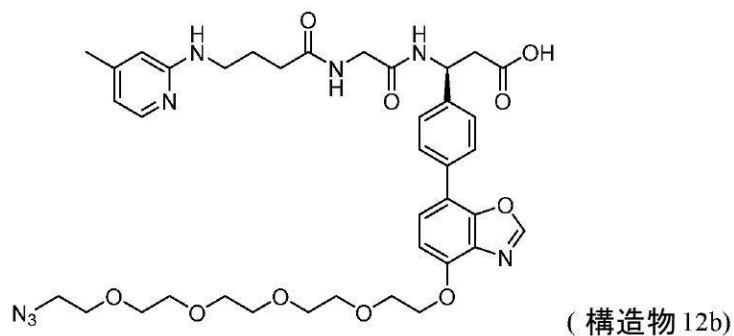
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

## 【0161】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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】



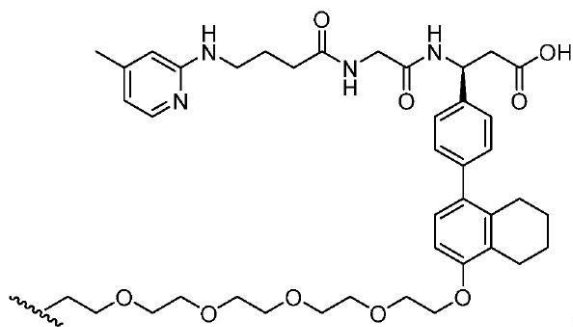
40

## 【0162】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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】



( 構造物 13)

10

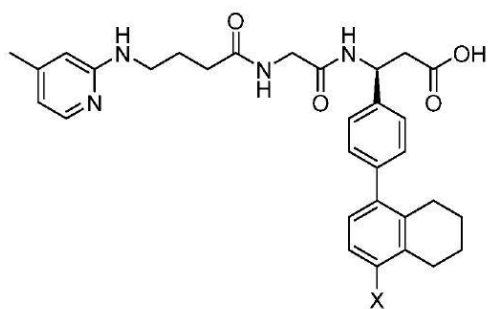
## 【 0 1 6 3】

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、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

## 【 0 1 6 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 6 8】



( 構造物 13a),

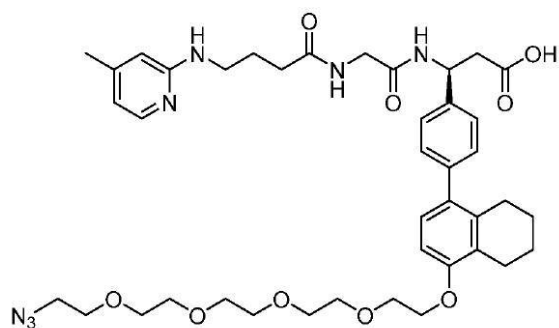
20

（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）。

## 【 0 1 6 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、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】



( 構造物 13b)

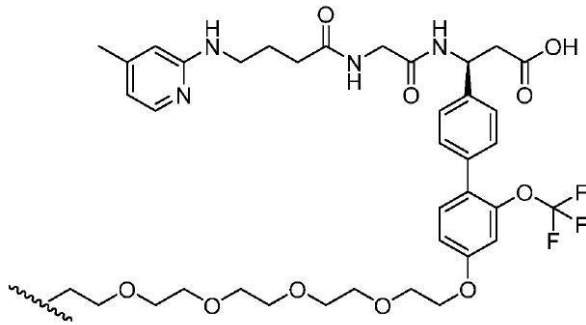
40

## 【 0 1 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、以下の構造物を含む：

50

## 【化 7 0】



(構造物 14)

10

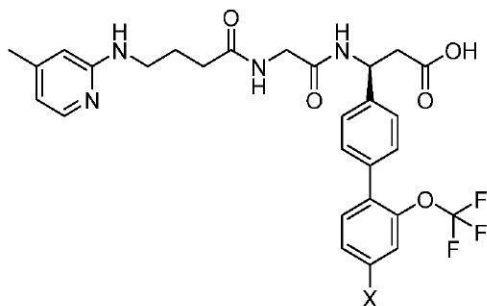
## 【0 1 6 7】

いくつかの実施形態では、構造物 1 4 の  $\nu$  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、 $\nu$  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】



(構造物 14a),

20

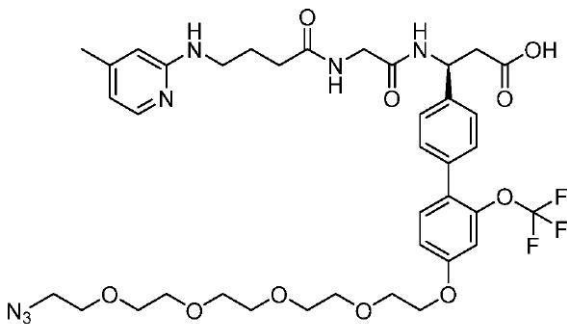
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

## 【0 1 6 9】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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】



(構造物 14b)

40

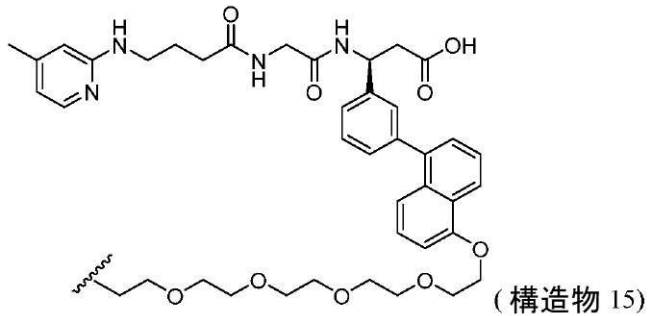
## 【0 1 7 0】

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

50



## 【化 7 3】



10

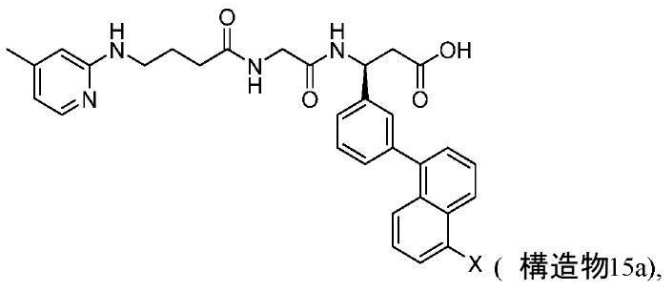
## 【0171】

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 7 4】



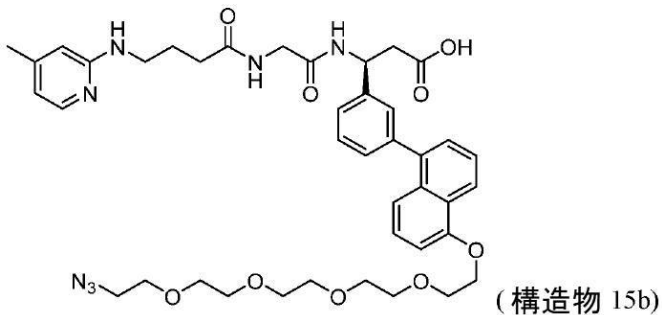
20

（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】

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 5】



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：

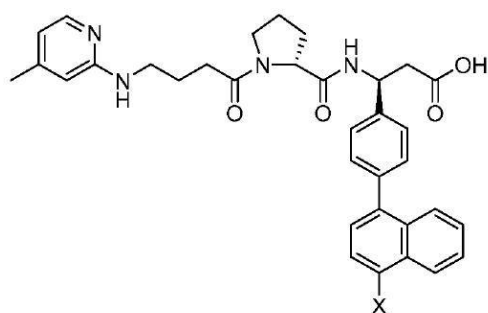
50

Cc1ccc(NCCCC(=O)N2CC[C@H](C2)C(=O)NC[C@@H](Cc3ccccc3-c4cccc5cc(OCCCCCCOCCOCCOCCOCCOCCOCC)c6ccccc45)C(=O)O)cn1

10

【 0 1 7 6 】

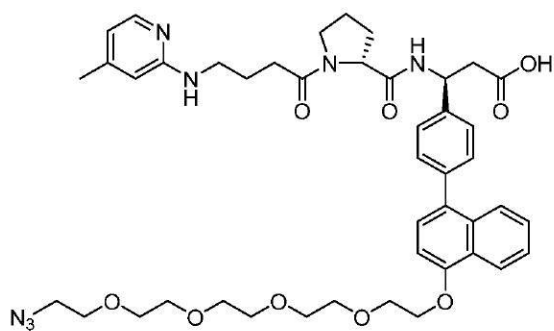
【化 7 7】



20

30

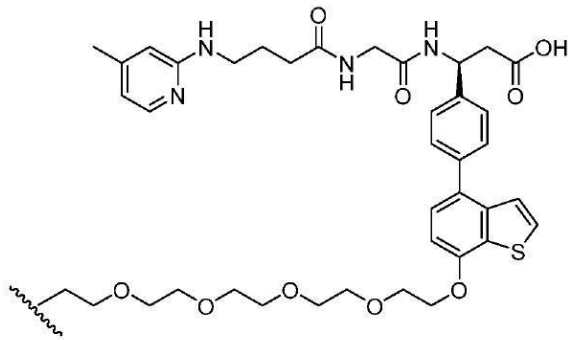
## 【化 7 8】



40

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 7 9】



10

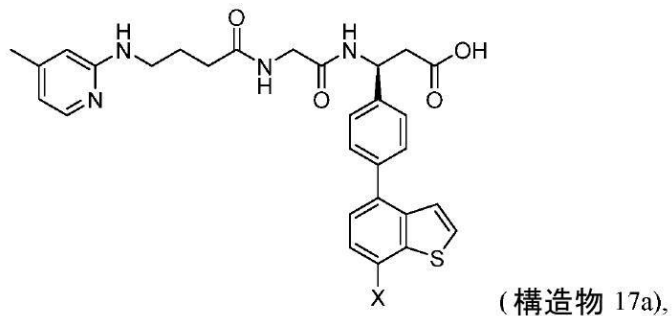
## 【0179】

いくつかの実施形態では、構造物 17 の  $\nu$  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、 $\nu$  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

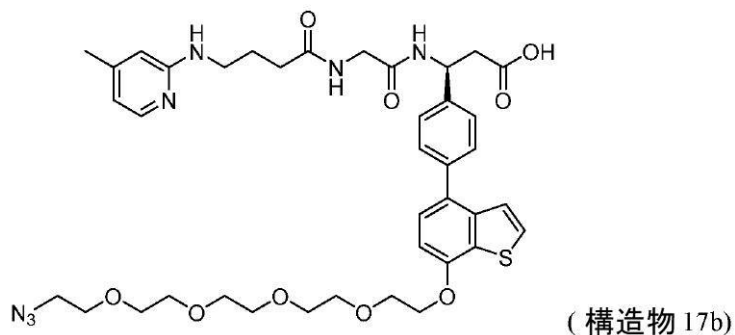
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

## 【0181】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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】



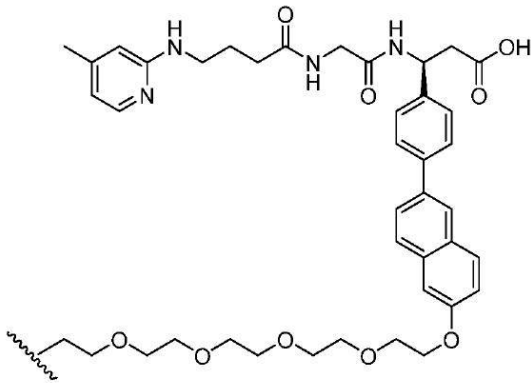
40

## 【0182】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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】



10

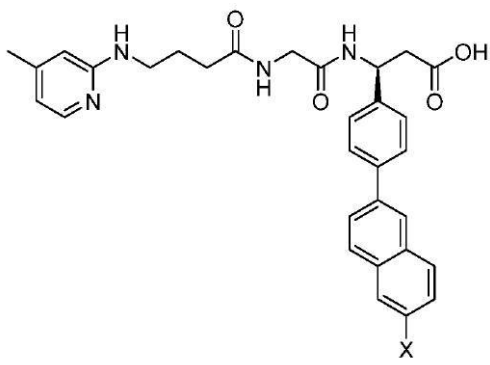
## 【 0 1 8 3】

いくつかの実施形態では、構造物 18 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 8 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 8 3】



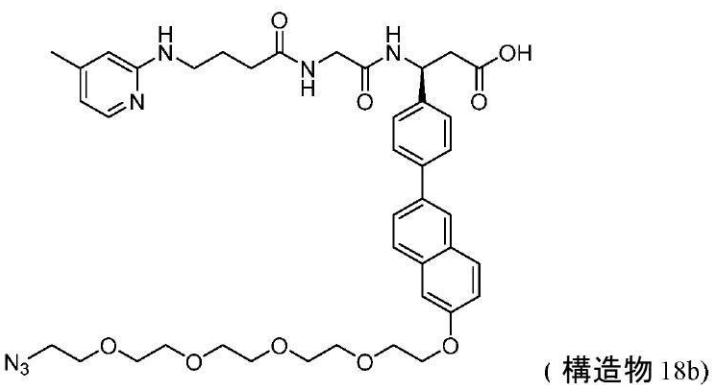
20

（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 8 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、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】



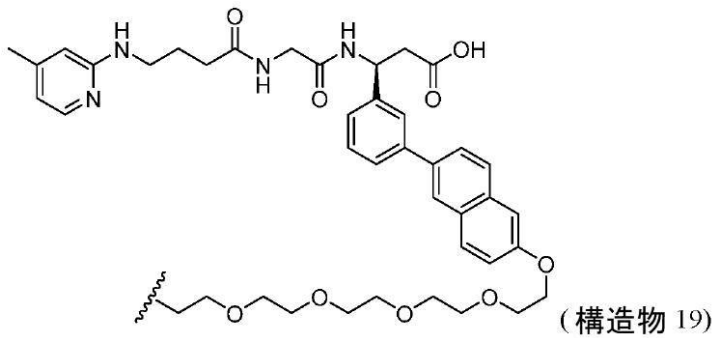
40

## 【 0 1 8 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 8 5】



10

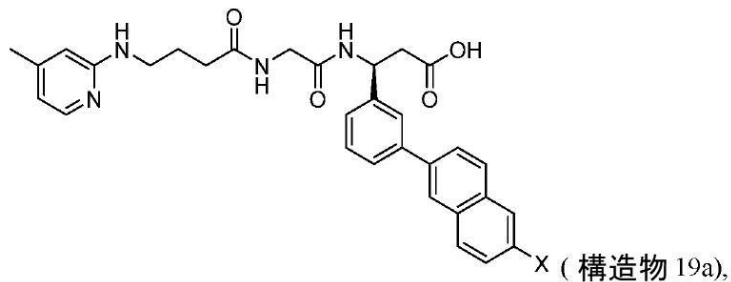
## 【0187】

いくつかの実施形態では、構造物 19 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。

## 【0188】

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 6】



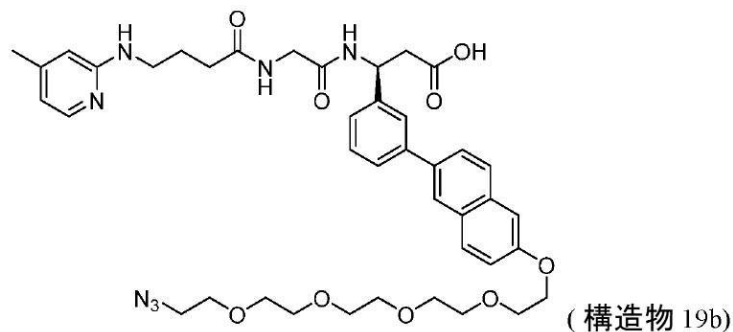
20

（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】

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 7】



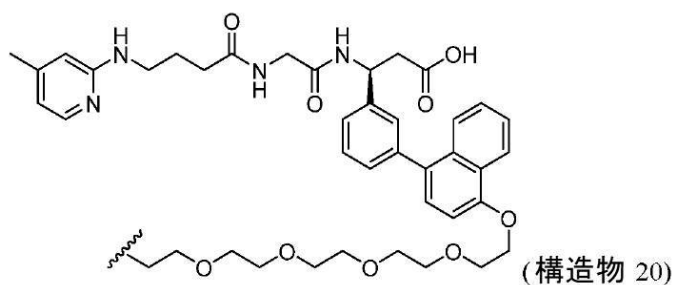
40

## 【0190】

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 8】



10

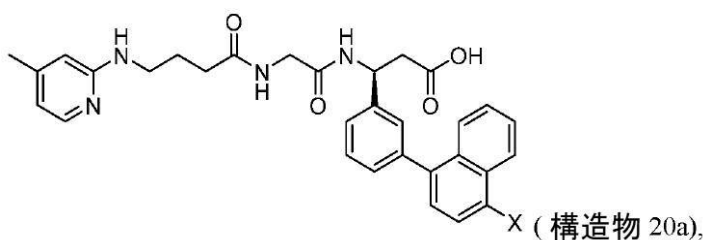
## 【0191】

いくつかの実施形態では、構造物 20 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。

## 【0192】

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 9】



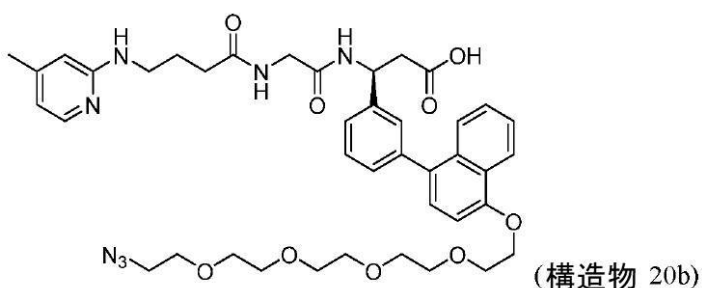
20

（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、RNA i 剤）を含む）。

## 【0193】

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 9 0】



30

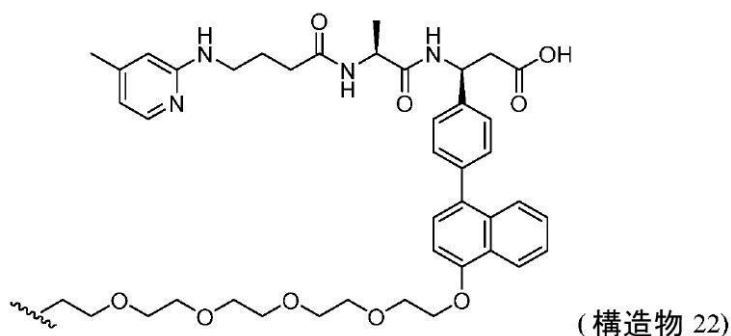
## 【0194】

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：

40

50

## 【化 9 1】



10

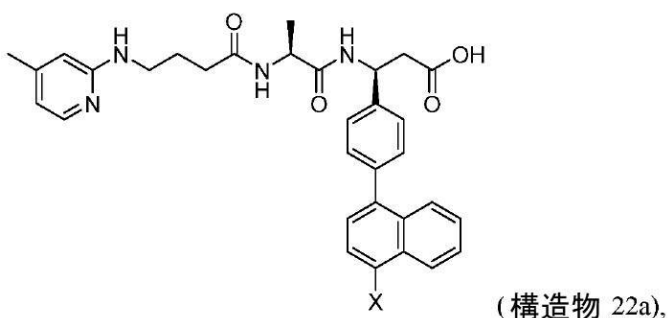
## 【0195】

いくつかの実施形態では、構造物 22 の  $\nu$  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、 $\nu$  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 9 2】



20

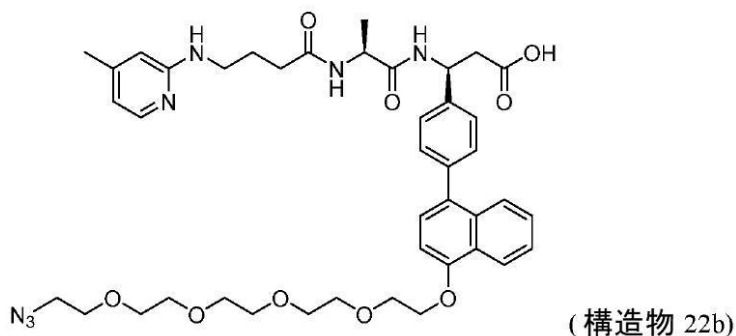
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

30

## 【0197】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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 3】



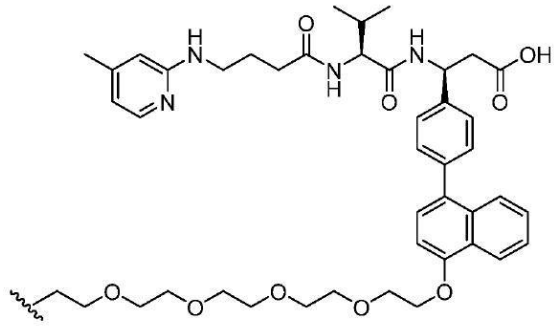
40

## 【0198】

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

50

## 【化 9 4】



10

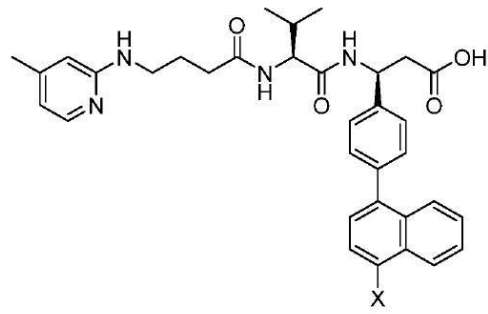
## 【 0 1 9 9】

いくつかの実施形態では、構造物 2 3 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 2 0 0】

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 9 5】



20

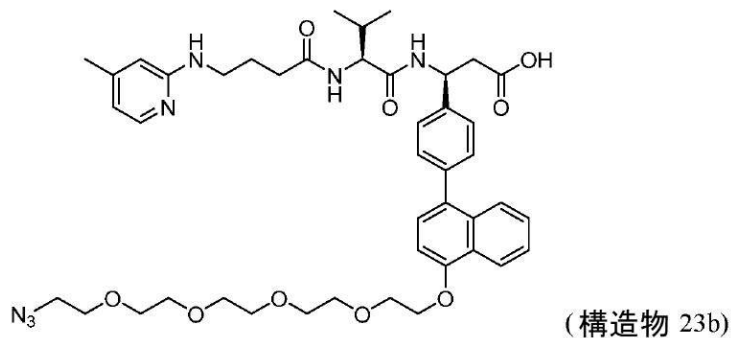
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

30

## 【 0 2 0 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、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 6】



40

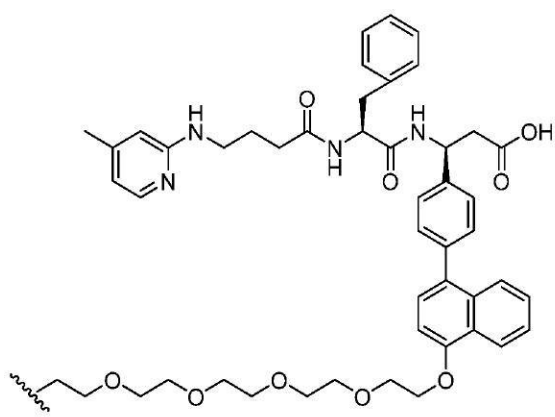
## 【 0 2 0 2】

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 9 7】



10

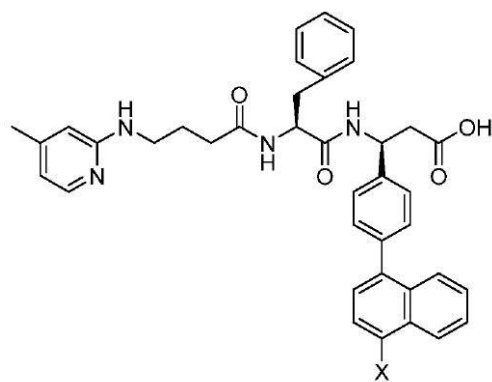
【0 2 0 3】

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、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

【0 2 0 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 9 8】



20

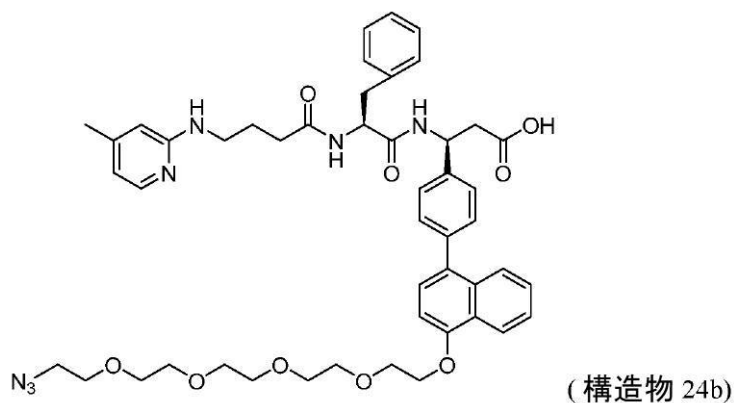
30

（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、RNA i 剤）を含む）。

【0 2 0 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、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 9】



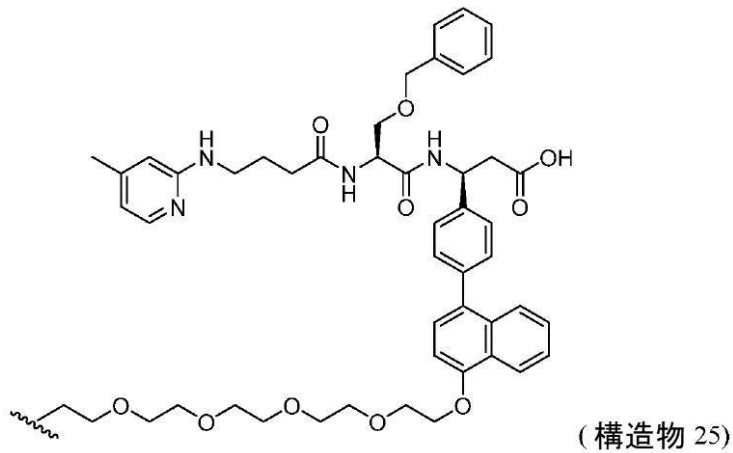
40

【0 2 0 6】

50

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\alpha$  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

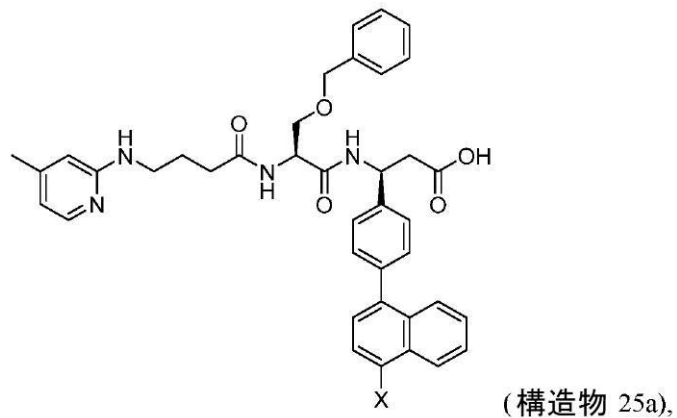
【0 2 0 7】

いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\alpha$  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、 $\alpha$  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】



30

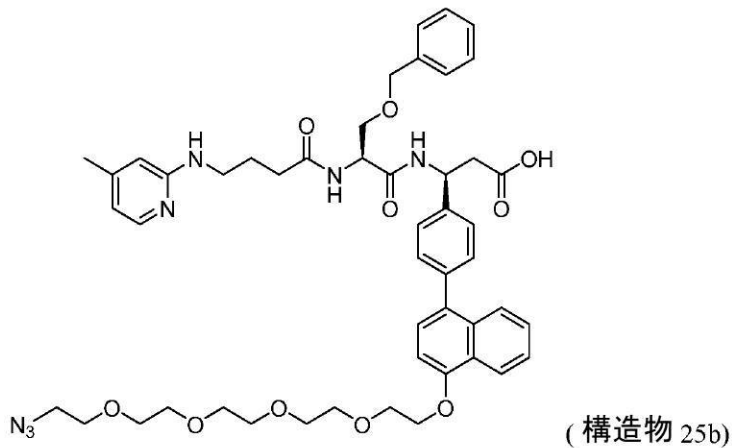
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 2 0 9】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 1 0 2】

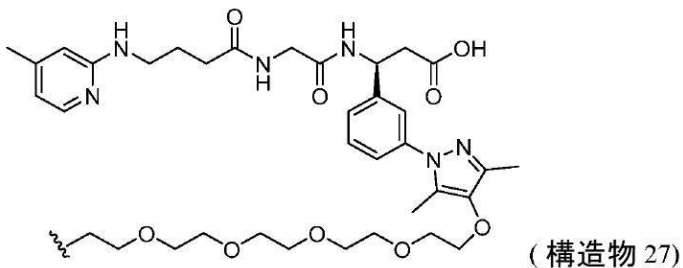


10

【 0 2 1 0】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\alpha$  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

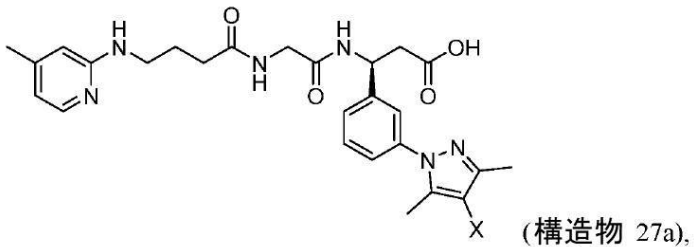
【 0 2 1 1】

いくつかの実施形態では、構造物 25 の  $\alpha$  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 1 2】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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】



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）。

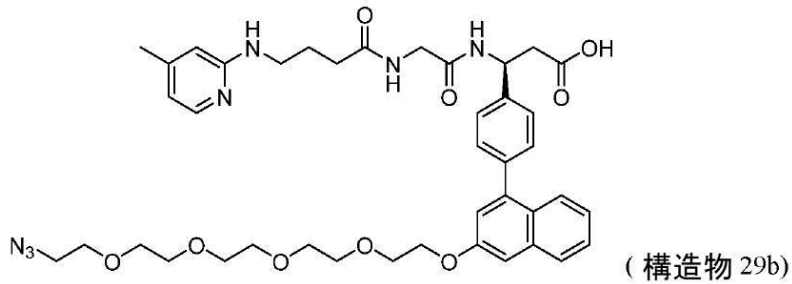
【 0 2 1 3】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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】

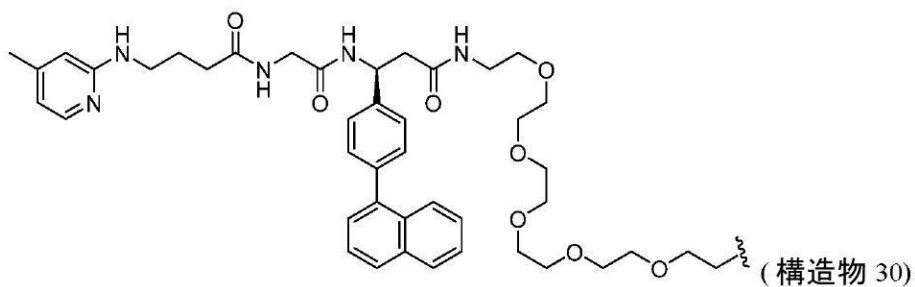


10

【 0 2 1 9】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\alpha$  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

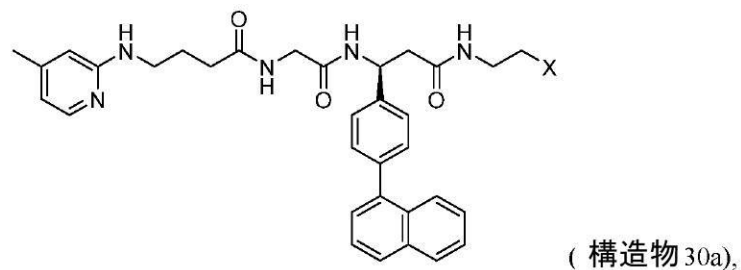
【 0 2 2 0】

いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\alpha$  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 2 2 1】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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、RNA i 剤）を含む）。

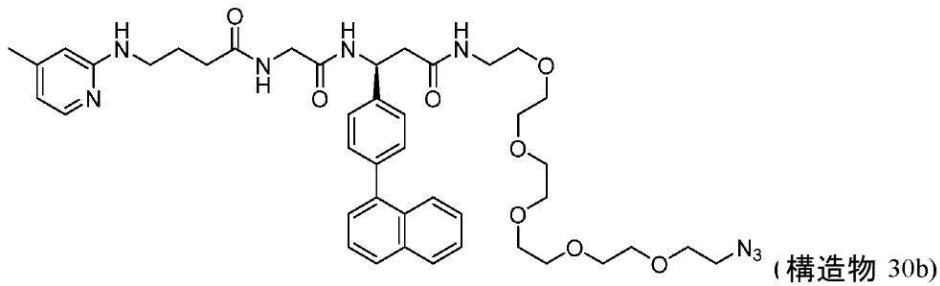
40

【 0 2 2 2】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 1 1】

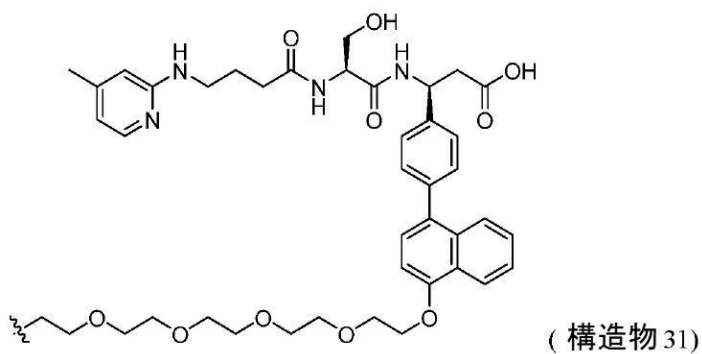


10

## 【 0 2 2 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、以下の構造物を含む：

## 【化 1 1 2】



20

## 【 0 2 2 4】

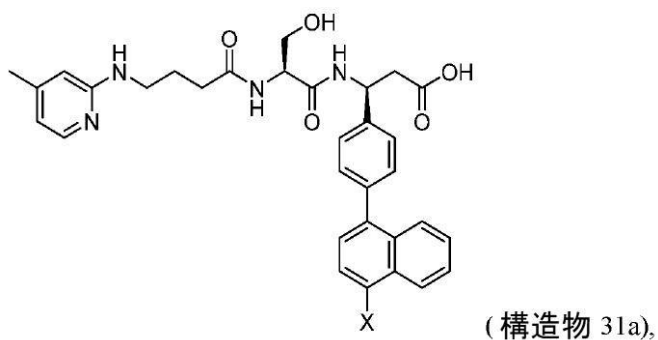
いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の v 6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

## 【 0 2 2 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、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 1 1 3】



40

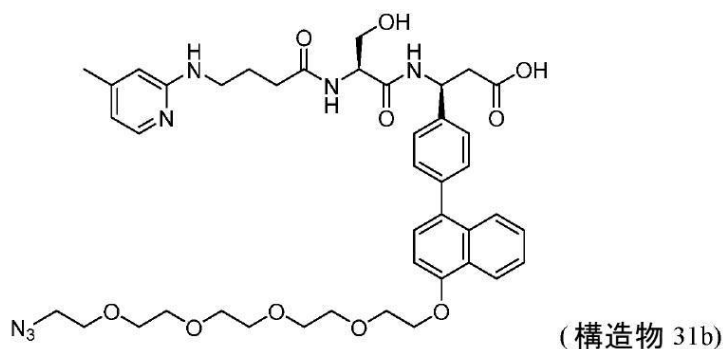
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

## 【 0 2 2 6】

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 1 4】

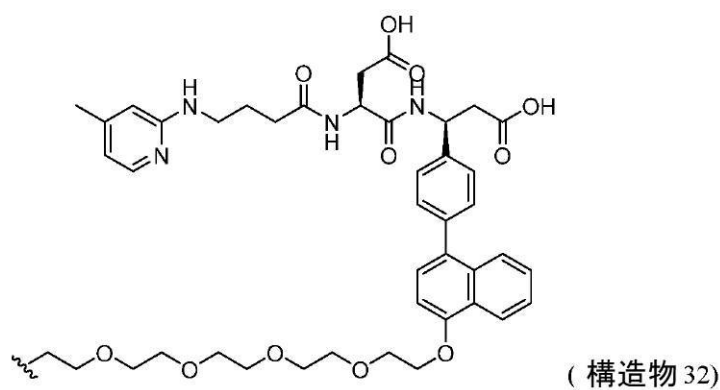


10

## 【0 2 2 7】

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

## 【化 1 1 5】



20

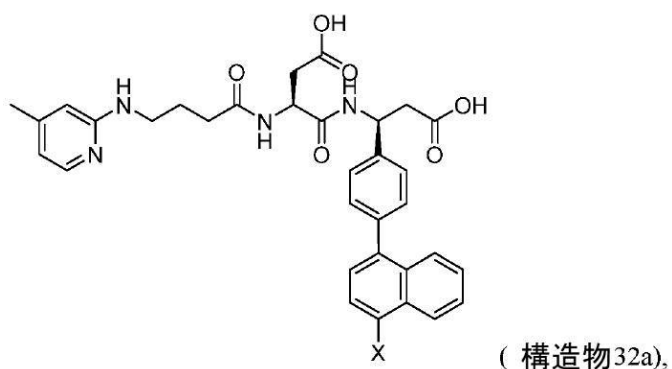
## 【0 2 2 8】

いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\alpha$  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 2 2 9】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 6】



40

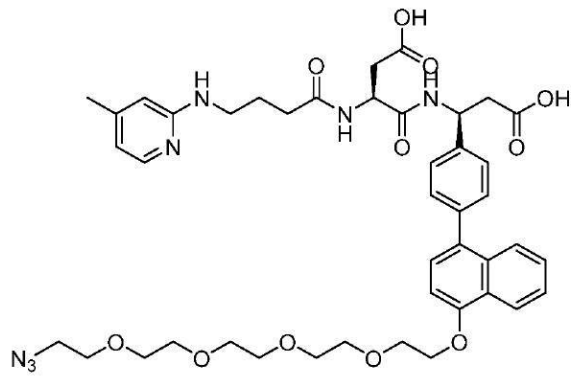
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

## 【0 2 3 0】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 1 7】

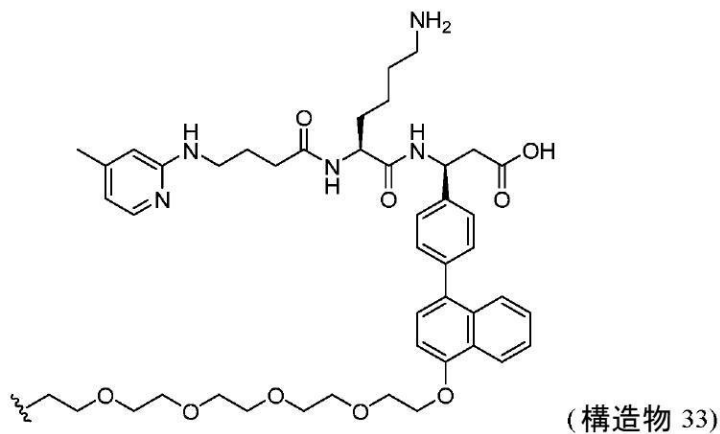


10

【 0 2 3 1】

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

【化 1 1 8】



20

【 0 2 3 2】

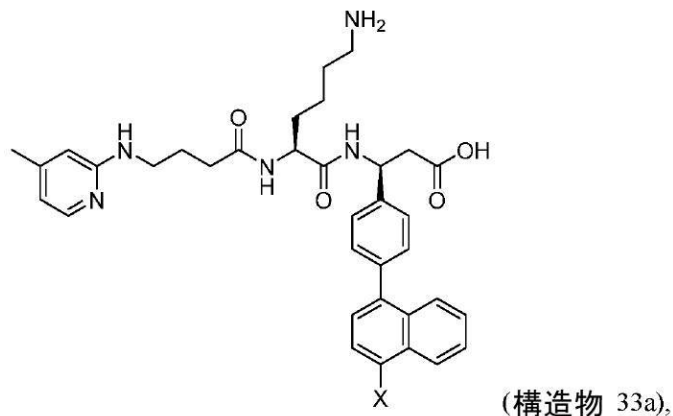
いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\alpha$  6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNA i 剤（単数または複数））に連結されている。

30

【 0 2 3 3】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 9】



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、RNA i 剤）を含む）。

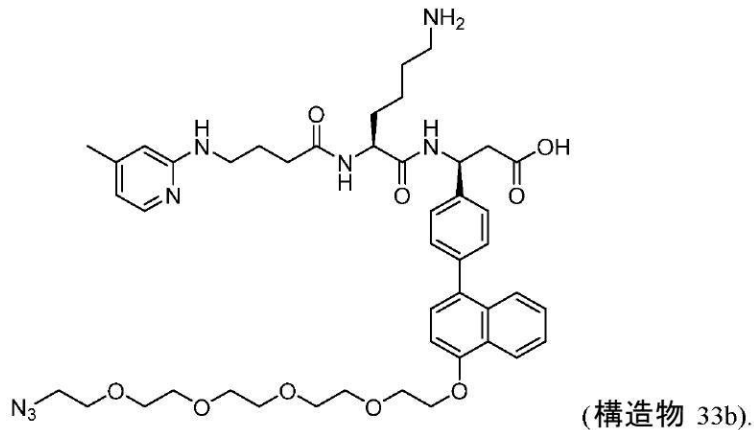
【 0 2 3 4】

50



いくつかの実施形態では、 $\nu$  6 インテグリンリガンドは、ポリエチレングリコール ( P E G ) - 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】

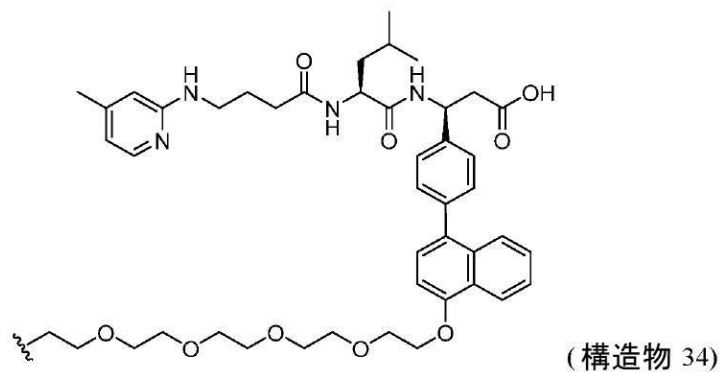


10

【 0 2 3 5】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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

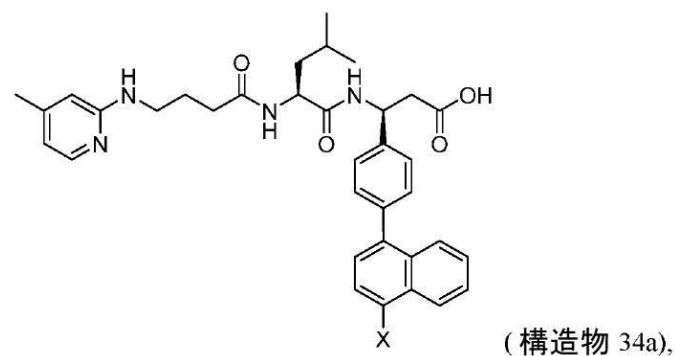
【 0 2 3 6】

いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\nu$  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、 $\nu$  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】



40

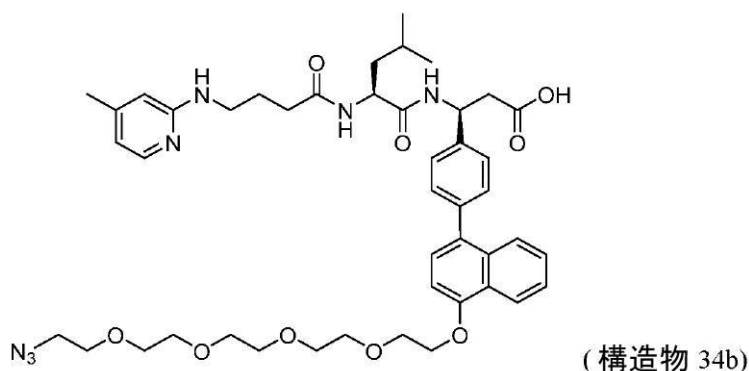
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【 0 2 3 8】

50

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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】

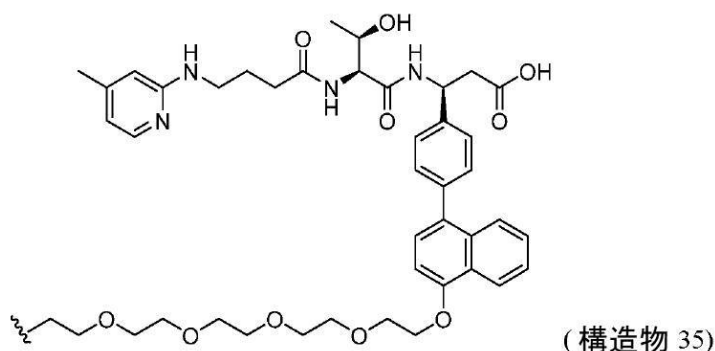


10

【0 2 3 9】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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】

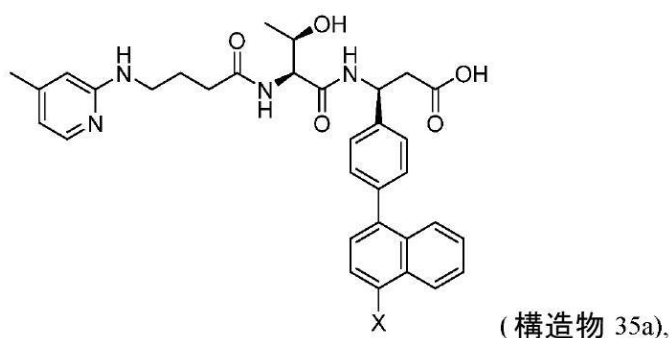
いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\nu$  6 インテグリンリガンドは、1 またはそれを超えるカーゴ分子（例えば、RNAi 剤（単数または複数））に連結されている。

30

【0 2 4 1】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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

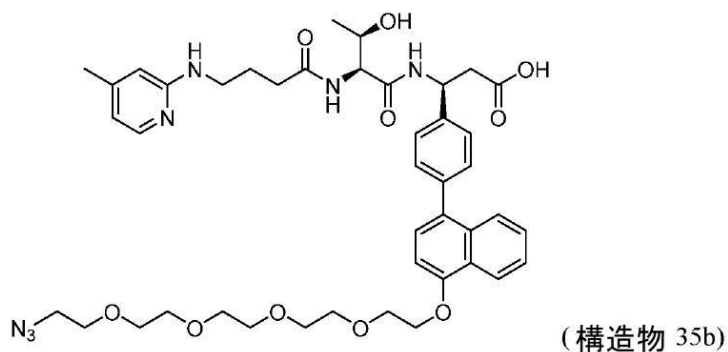
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNAi 剤）を含む）。

【0 2 4 2】

いくつかの実施形態では、 $\nu$  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 2 6】

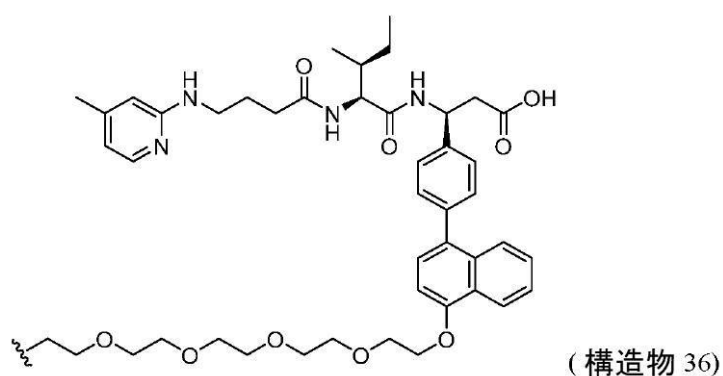


10

【 0 2 4 3】

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

【化 1 2 7】



20

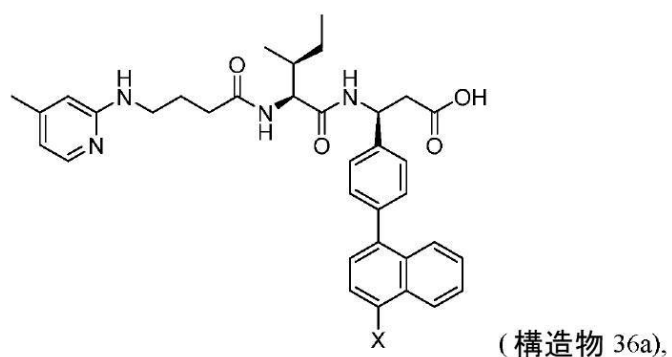
【 0 2 4 4】

いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\alpha$  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 2 4 5】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 8】



40

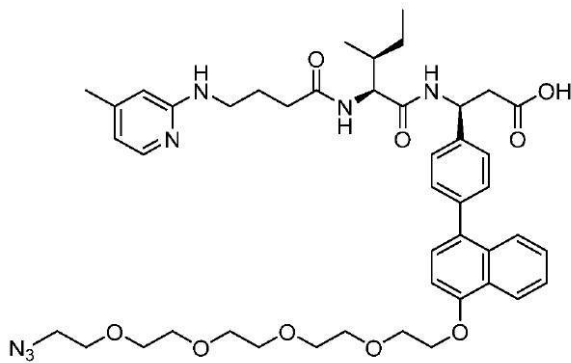
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

【 0 2 4 6】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 2 9】

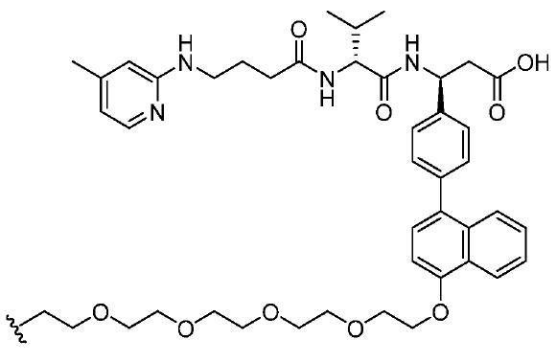


10

【 0 2 4 7】

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

【化 1 3 0】



20

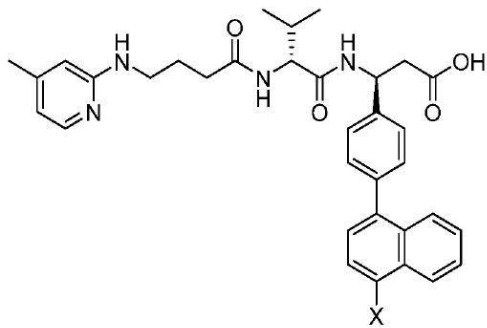
【 0 2 4 8】

いくつかの実施形態では、構造物 2 5 の  $\alpha$  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 2 4 9】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 3 1】



40

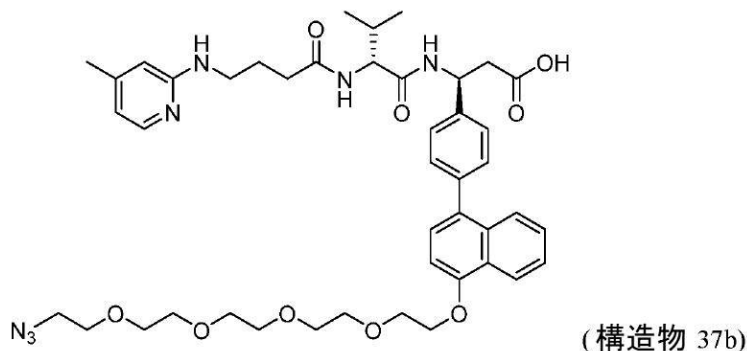
（式中、X は、反応基、保護された反応基、またはカーゴ分子（例えば、RNA i 剤）を含む）。

【 0 2 5 0】

いくつかの実施形態では、 $\alpha$  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 3 2】



10

## 【0 2 5 1】

構造物 1 a、構造物 1 b、構造物 2 a、構造物 2 b、構造物 5 a、構造物 5 b、構造物 6 a、構造物 6 b、構造物 7 a、構造物 7 b、構造物 8 a、構造物 8 b、構造物 9 a、構造物 9 b、構造物 10 a、構造物 10 b、構造物 11 a、構造物 11 b、構造物 12 a、構造物 12 b、構造物 13 a、構造物 13 b、構造物 14 a、構造物 14 b、構造物 15 a、構造物 15 b、構造物 16 a、構造物 16 b、構造物 17 a、構造物 17 b、構造物 18 a、構造物 18 b、構造物 19 a、構造物 19 b、構造物 20 a、構造物 20 b、構造物 22 a、構造物 22 b、構造物 23 a、構造物 23 b、構造物 24 a、構造物 24 b、構造物 25 a、構造物 25 b、構造物 27 a、構造物 27 b、構造物 29 a、構造物 29 b、構造物 30 a、構造物 30 b、構造物 31 a、構造物 31 b、構造物 32 a、構造物 32 b、構造物 33 a、構造物 33 b、構造物 34 a、構造物 34 b、構造物 35 a、構造物 35 b、構造物 36 a、構造物 36 b、構造物 37 a、または構造物 37 b のうちのいずれかに開示の反応基を使用して、 $\nu$  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、 $\nu$  6 インテグリン発現細胞を標的にすることが望まれる任意の分子であり得る。

20

多座  $\nu$  6 インテグリンリガンドおよび足場

## 【0 2 5 2】

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  $\nu$  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  $\nu$  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  $\nu$  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  $\nu$  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  $\nu$  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 つを超え得る  $\nu$  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。

30

## 【0 2 5 3】

いくつかの実施形態では、1 つのみの  $\nu$  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）、 $\nu$  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  $\nu$  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。

40

## 【0 2 5 4】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  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  $\nu$  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

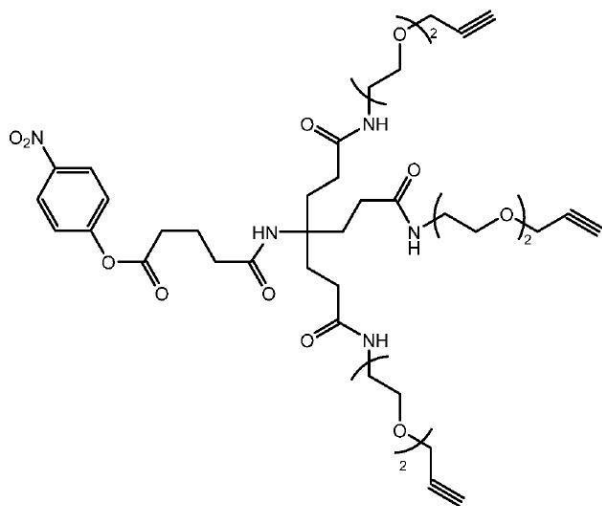
50

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  $\nu$  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、システインリンカーまたは基、D B C O - P E G <sub>1-24</sub> - N H S、プロパルギル - P E G <sub>1-24</sub> - N H S、および / または多座 D B C O および / またはプロパルギル部分を含み得る。

#### 【 0 2 5 5 】

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  $\nu$  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 1 3 3 】



#### 【 0 2 5 6 】

足場 1 を使用すると、例えば、 $\nu$  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 P E G <sub>2</sub>、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、N H <sub>2</sub> - C <sub>6</sub>）を用いてアミド形成によって作製された R N A 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。

#### 【 0 2 5 7 】

いくつかの実施形態では、カーゴ分子は R N A i 剤である。いくつかの実施形態では、足場 1 を、R N A i 剤の末端に（R N A i 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、R N A i 剤のセンス鎖の 5 ' 末端を、R N A i 剤の 5 ' 末端ヌクレオチドの 5 ' 末端に付着した C <sub>6</sub> アミン（- C <sub>6</sub> - N H <sub>2</sub>）を含むように修飾することができる。かかる C <sub>6</sub> 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 R N A i 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

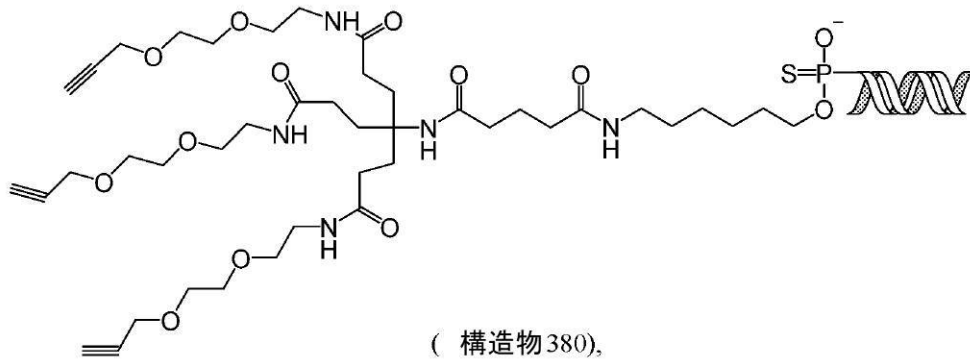
20

30

40

50

【化 1 3 4】



10

( 式中、  
【化 1 3 5】



は、RNA i 剤を示す)。

【0 2 5 8】

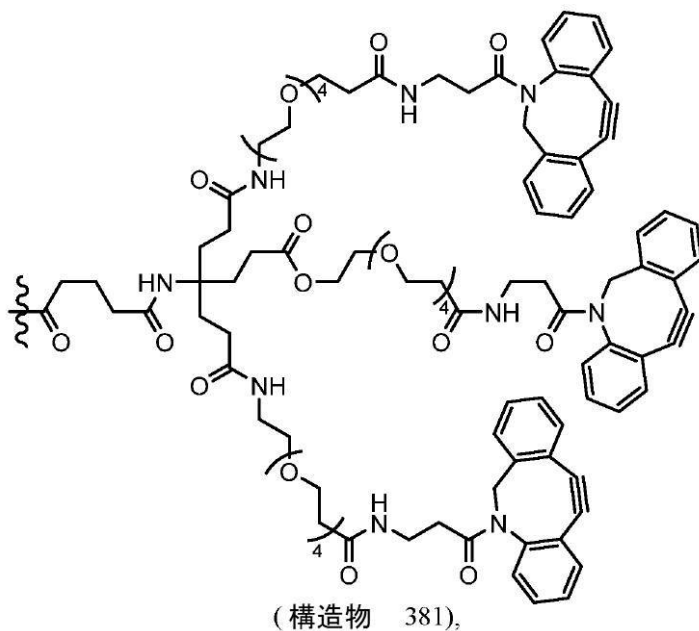
次いで、上記の構造物 3 8 0 のアルキン基を、本明細書中に開示の v 6 インテグリンリガンドに結合して、三座 v 6 インテグリンリガンドを形成することができる。

20

【0 2 5 9】

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

【化 1 3 6】



30

( 式中、  
【化 1 3 7】



は、反応基またはカーゴ分子を含む部分への付着を示す)。

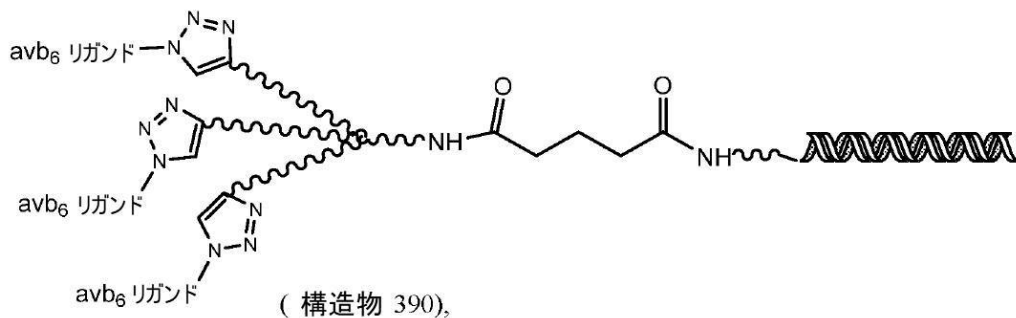
【0 2 6 0】

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】



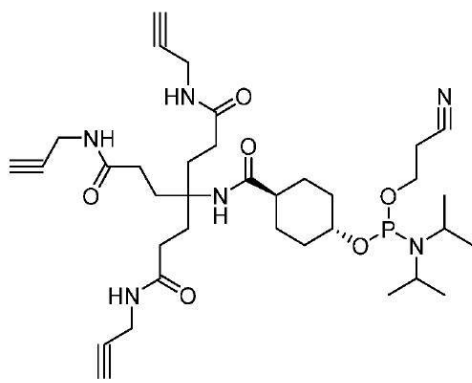
20

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】



30

【 0 2 6 2】

合成後に構造物 4 0 0 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 1 0、構造物 1 1、構造物 1 2、構造物 1 3、構造物 1 4、構造物 1 5、構造物 1 6、構造物 1 7、構造物 1 8、構造物 1 9、構造物 2 0、構造物 2 2、構造物 2 3、構造物 2 4、構造物 2 5、構造物 2 7、構造物 2 9、構造物 3 0、構造物 3 1、構造物 3 2、構造物 3 3、構造物 3 4、構造物 3 5、構造物 3 6、構造物 3 7 を含み、ここで、 v 6 インテグ

50

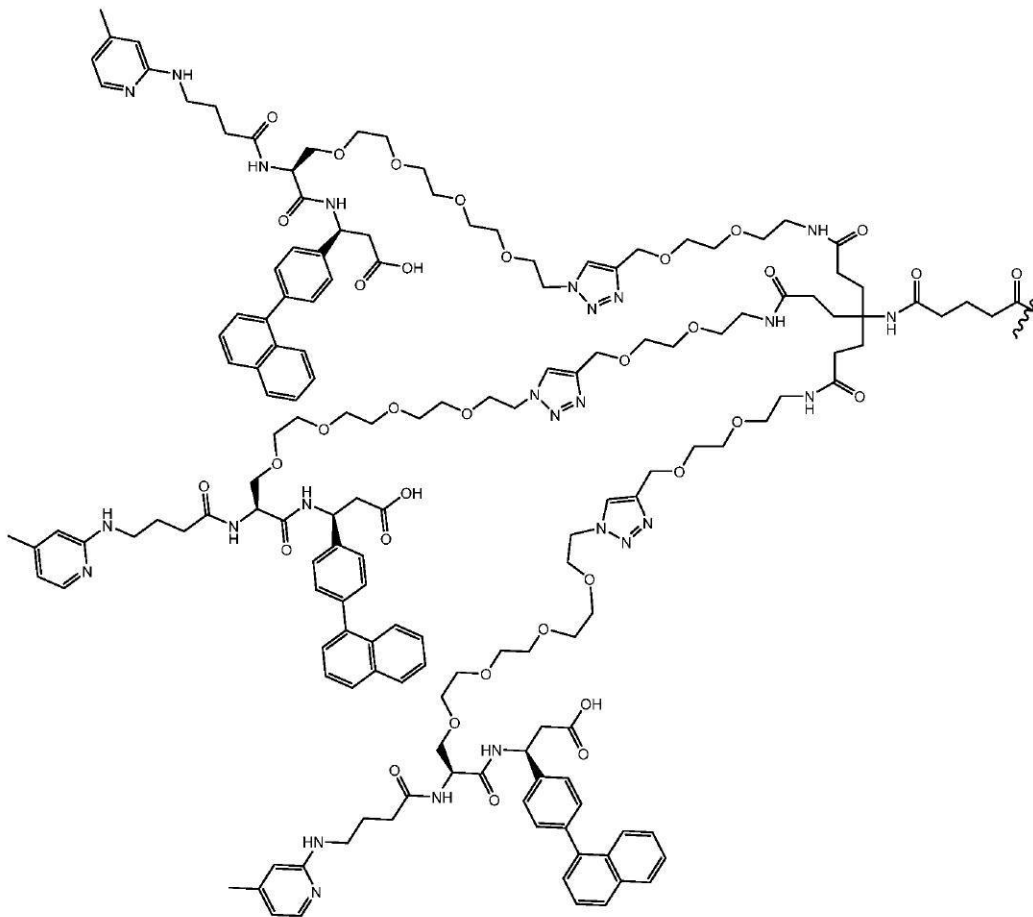


リンリガンドは、足場を介して連結した三座リガンドである。

【 0 2 6 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、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 1 4 2 】



( 構造物 700 )

【 0 2 6 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、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

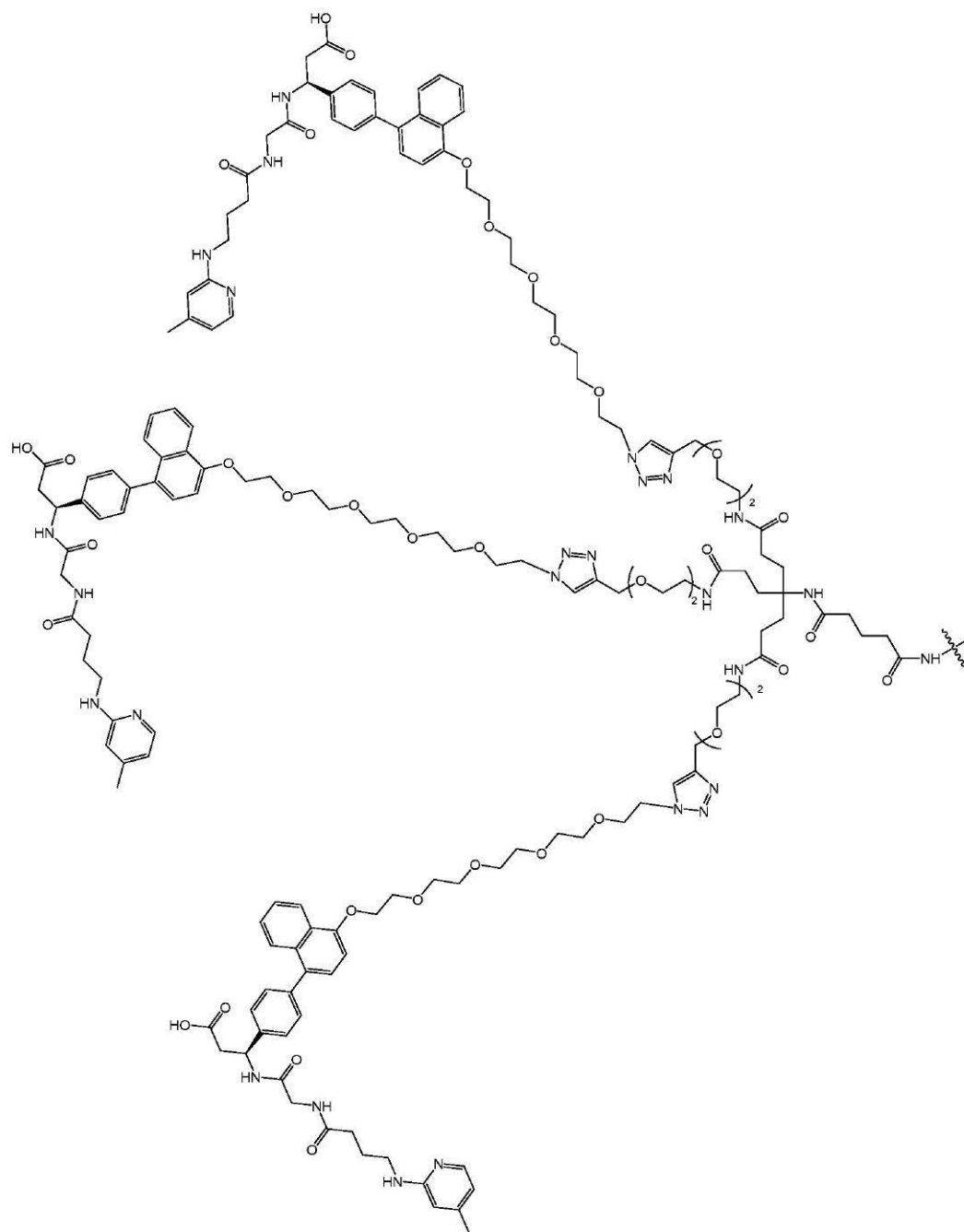
20

30

40

50

【化 1 4 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

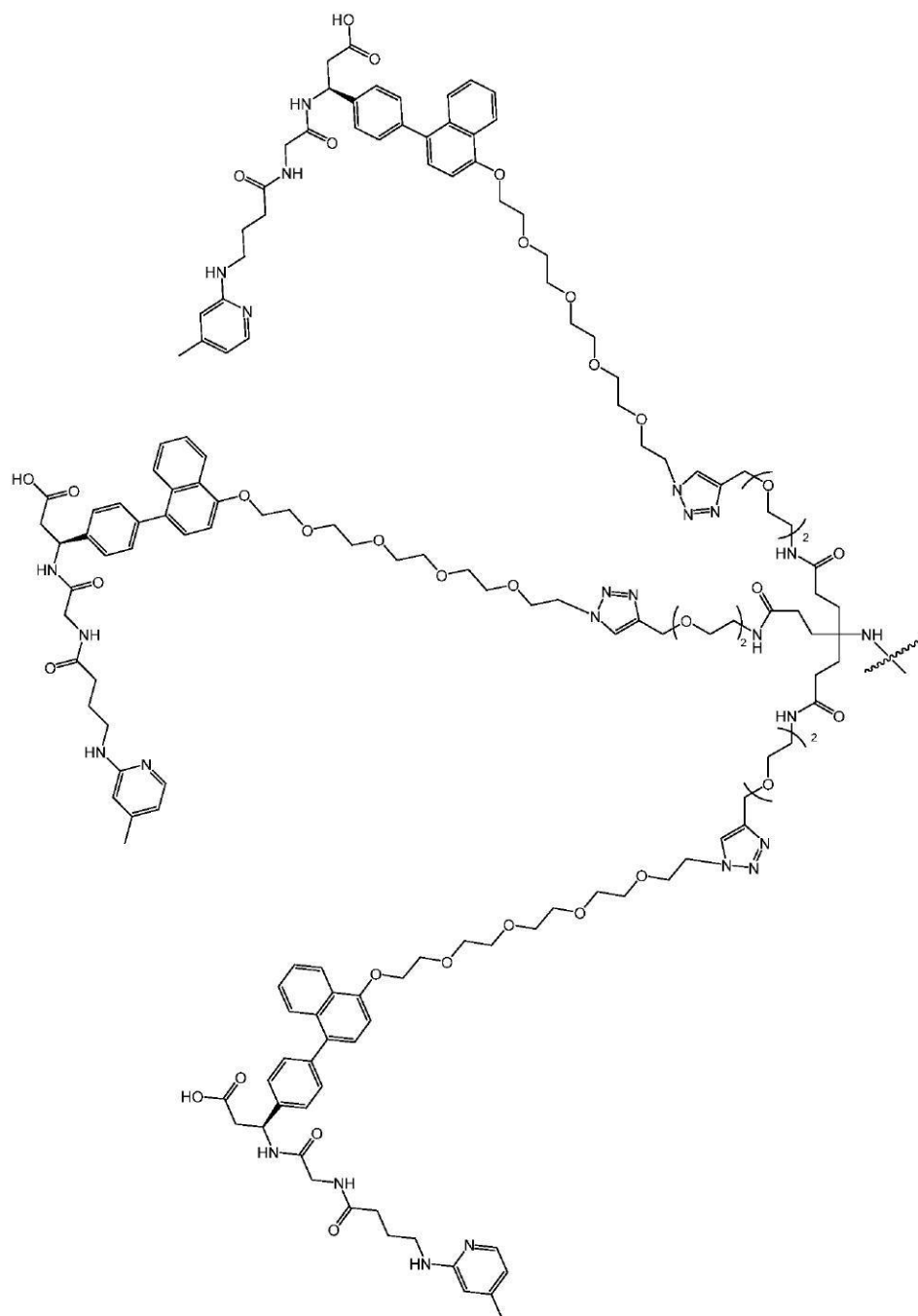
20

30

40

50

【化 1 4 4】



(構造物 701a)

【 0 2 6 7】

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、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：

10

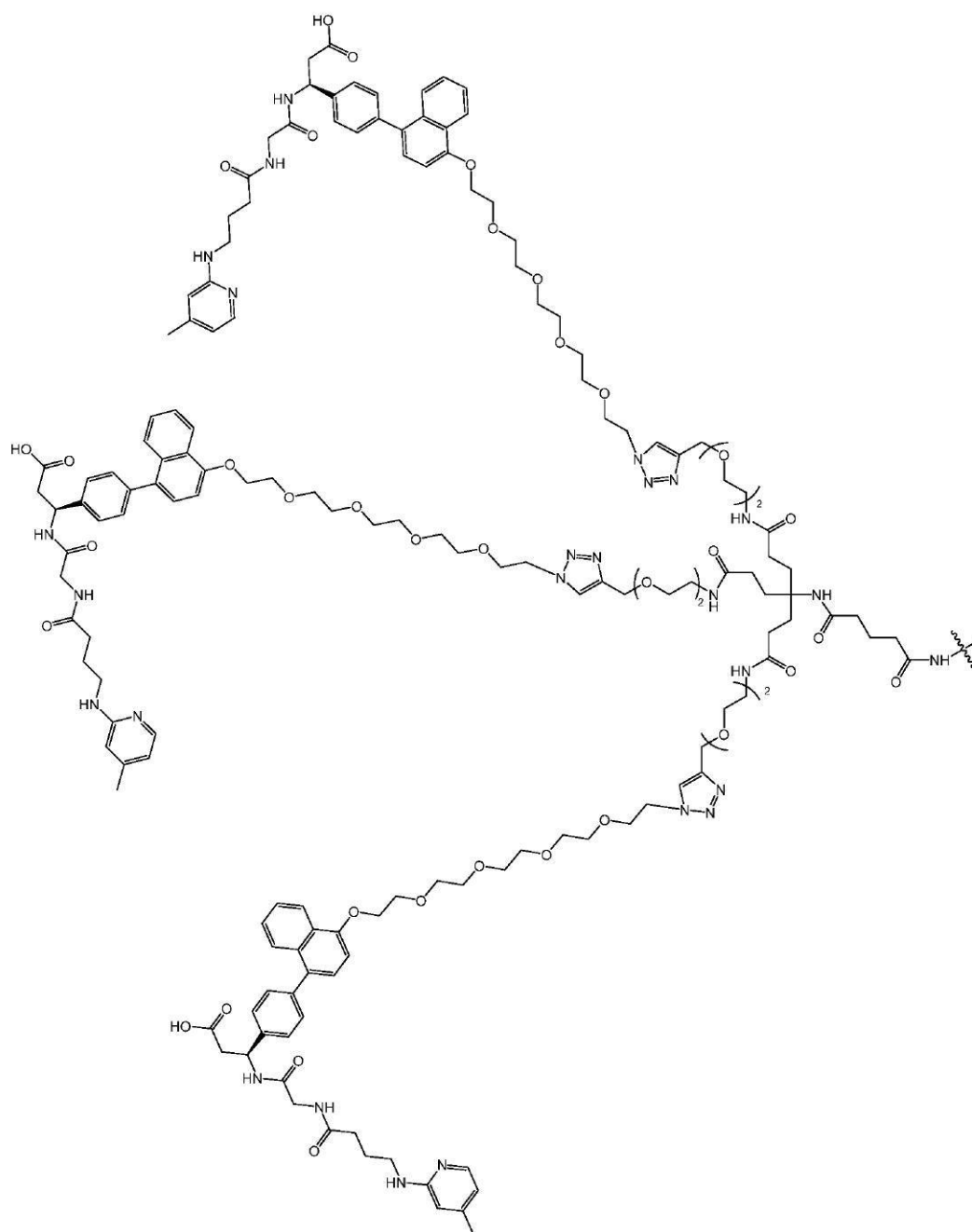
20

30

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  $\alpha_5\beta_1$  インテグリンリガンドは、RNAi 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：

10

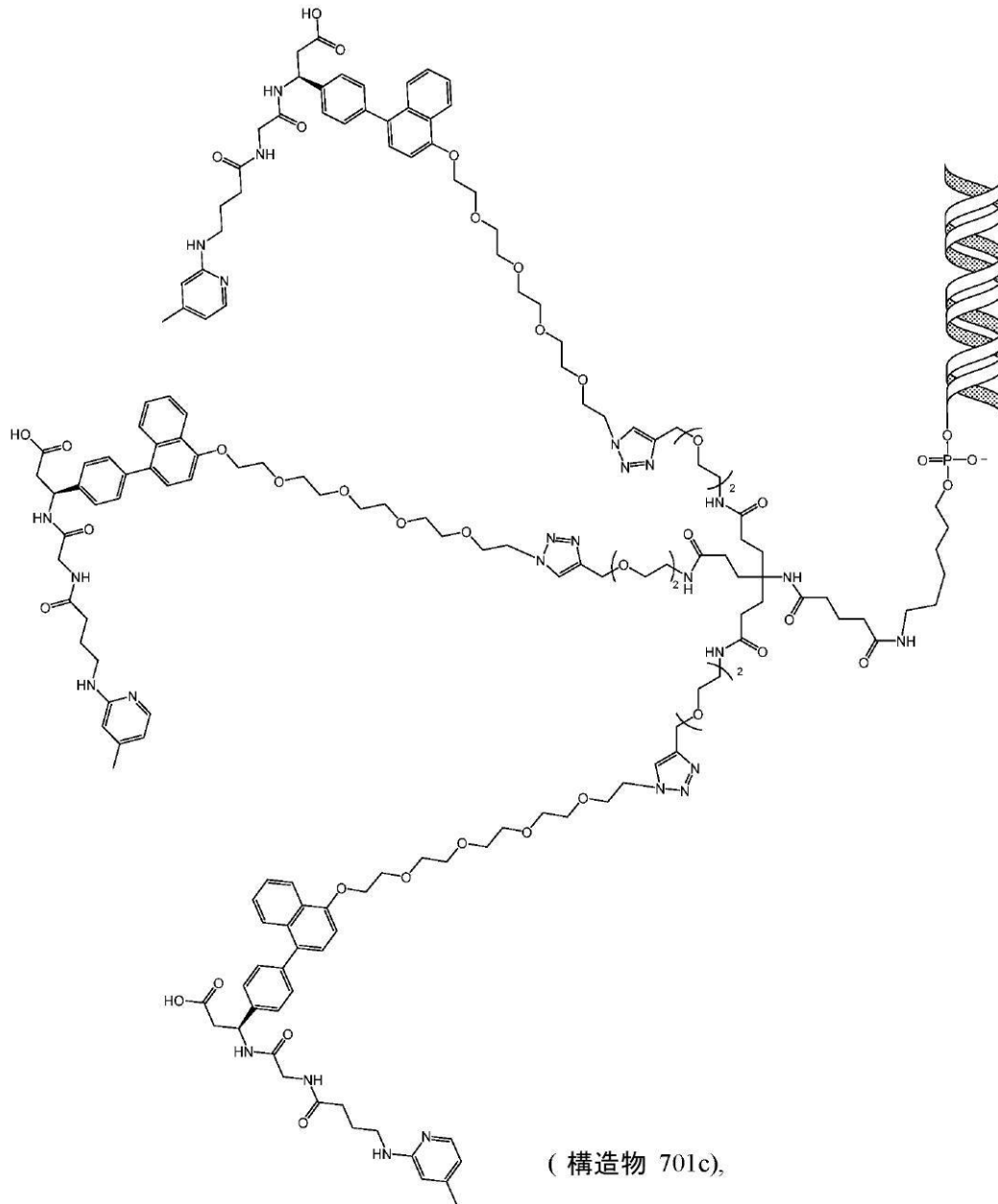
20

30

40

50

【化 1 4 6】



( 式中、  
【化 1 4 7】



は、RNA i 剤を示す)。

【0 2 6 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、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

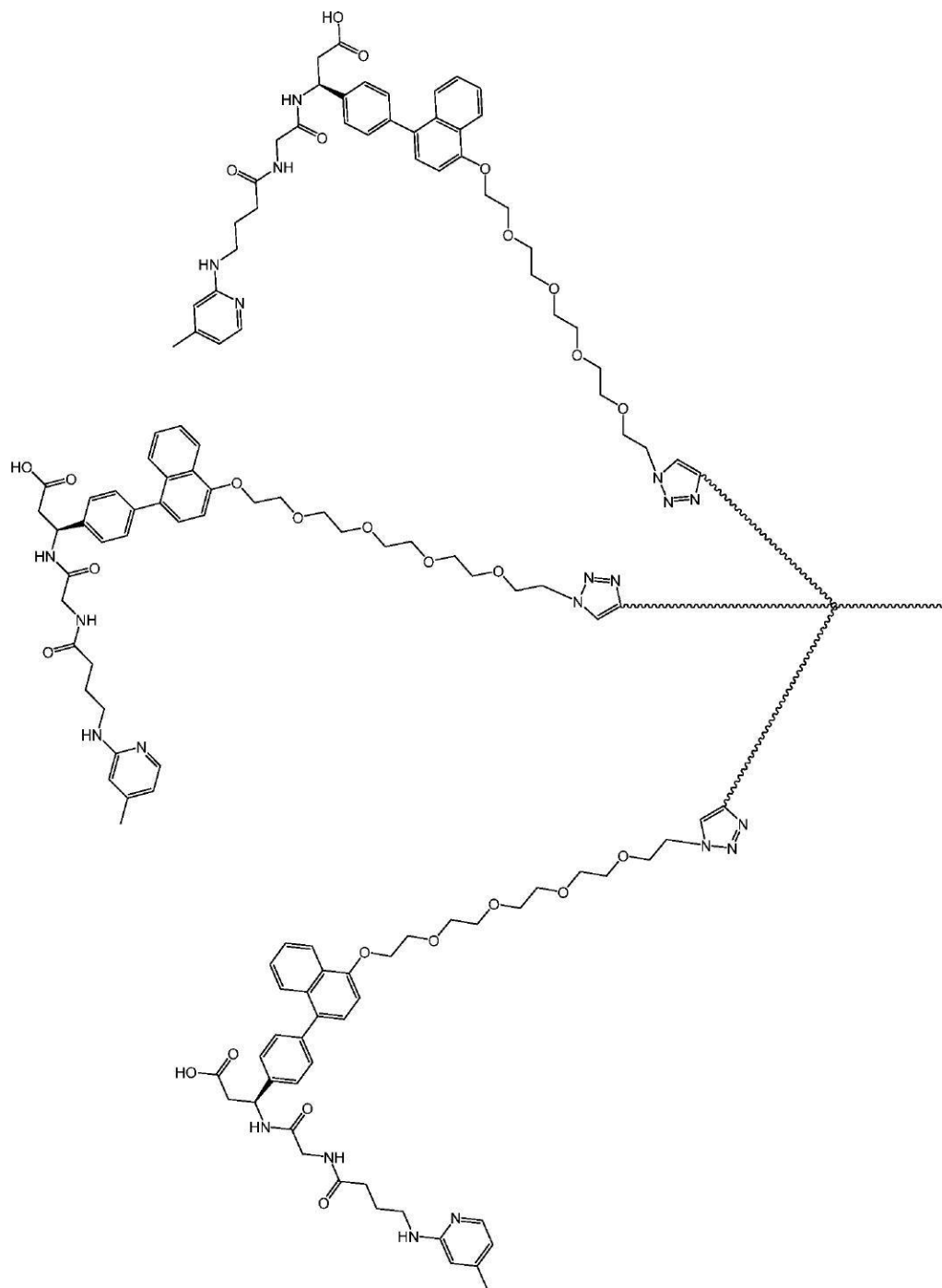
20

30

40

50

10



20

30

(構造物 701d),

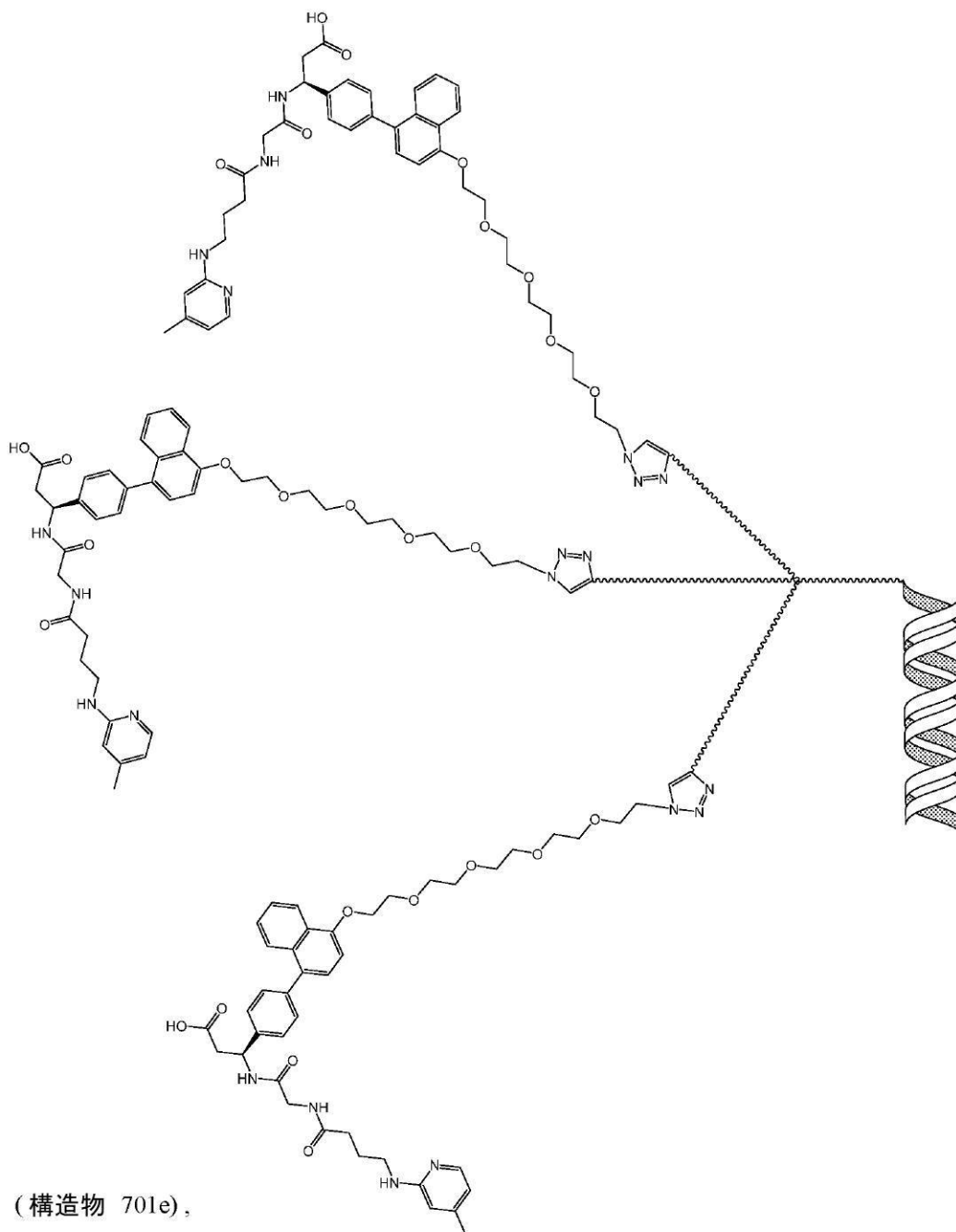
40

【化 1 4 9】

【 0 2 7 0 】

いくつかの実施形態では、本明細書中に開示の  $\nu$  6 インテグリンリガンドは、R N 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 1 5 0】



(式中、

【化 1 5 1】

~~~~~

は、リガンドおよびRNA i 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 1 5 2】



はRNA i 剤を示す)。

反応基および保護された反応基。

【0 2 7 1】

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(biclclo[6.1.0]nonyne)、D B C O (ジベンゾシクロオクチン)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、t r a n s - シクロオクテン(T C O)、ヒドラジド、ヒドロキシル基、ジスルフィド、およびオルソピリジルジスルフィド基。

#### 【0272】

反応基の組み込みにより、本明細書中に開示の  $\alpha$  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  $\alpha$  6 インテグリンターゲットイングリガンドを、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ットイングリガンドを、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。

#### 【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 - ブトキシカルボニル)、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。

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  $\alpha$  6 インテグリンリガンドから脱離したときに、 $\alpha$  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、ハプテン、ジゴキシゲニン、ピオチン、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  $\alpha$  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  $\alpha$  6 インテグリンリガンドに連結されている。

#### 【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 ~

10

20

30

40

50



14、10～12、12～50、12～48、12～46、12～44、12～42、12～40、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、14～38、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、16～34、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、18～28、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、22～50、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、24～38、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、28～48、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、32～50、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、36～44、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、44～48、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*)、マイクロ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、RNA i 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。RNA i 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 RNA i 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 RNA i 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）、マイクロ 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 RNA i 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。RNA i 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、RNA i 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。RNA i 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、RNA i 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。RNA i 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、RNA i 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 RNA i 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' - ヒドロキシルヌクレオチド）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（RNA i 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。

#### 【0282】

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。

#### 【0283】

いくつかの実施形態では、カーゴ分子は、ENaC 遺伝子発現を阻害するためのRNAi 剤である。カーゴ分子は、国際特許出願番号PCT/US18/40874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RNAi 剤であり得る。

#### 【0284】

RNAi 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、ENaC 発現の阻害に関するRNAi 剤の開示は、例えば、国際公開番号WO2008/152131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。RNAi 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、Arrowhead Pharmaceuticals, Inc. の国際特許出願番号PCT/US2017/045544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。

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、薬物動態（PK）モジュレーターとして作用することができるPEG部分を含み得るか、これからなり得る。いくつかの実施形態では、1またはそれを超えるカーゴ分子は、約20 ~ 900のエチレンオキシド（CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub> - O）単位（例えば、20 ~ 850、20 ~ 800、20 ~ 750、20 ~ 700、20 ~ 650、20 ~ 600、20 ~ 550、20 ~ 500、20 ~ 450、20 ~ 400、20 ~ 350、20 ~ 300、20 ~ 250、20 ~ 200、20 ~ 150、20 ~ 100、20 ~ 75、20 ~ 50、100 ~ 850、100 ~ 800、100 ~ 750、100 ~ 700、100 ~ 650、100 ~ 600、100 ~ 550、100 ~ 500、100 ~ 450、100 ~ 400、100 ~ 350、100 ~ 300、100 ~ 250、100 ~ 200、100 ~ 150、200 ~ 850、200 ~ 800、200 ~ 750、200 ~ 700、200 ~ 650、200 ~ 600、200 ~ 550、200 ~ 500、200 ~ 450、200 ~ 400、200 ~ 350、200 ~ 300、200 ~ 250、250 ~ 900、250 ~ 850、250 ~ 800、250 ~ 750、250 ~ 700、250 ~ 650、250 ~ 600、250 ~ 550、250 ~ 500、250 ~ 450、250 ~ 400、250 ~ 350、250 ~ 300、300 ~ 900、300 ~ 850、300 ~ 800、300 ~ 750、300 ~ 700、300 ~ 650、300 ~ 600、300 ~ 550、300 ~ 500、300 ~ 450、300 ~ 400、300 ~ 350、350 ~ 900、350 ~ 850、350 ~ 800、350 ~ 750、350 ~ 700、350 ~ 650、350 ~ 600、350 ~ 550、350 ~ 500、350 ~ 450、350 ~ 400、400 ~ 900、400 ~ 850、400 ~ 800、400 ~ 750、400 ~ 700、400 ~ 650、400 ~ 600、400 ~ 550、400 ~ 500、400 ~ 450、400 ~ 400、400 ~ 350、400 ~ 300、400 ~ 250、400 ~ 200、400 ~ 150、400 ~ 100、400 ~ 75、400 ~ 50、400 ~ 25、400 ~ 20、400 ~ 15、400 ~ 10、400 ~ 5、400 ~ 0）であり得る。

00、400～550、400～500、400～450、450～900、450～850、450～800、450～750、450～700、450～650、450～600、450～550、450～500、500～900、500～850、500～800、500～750、500～700、500～650、500～600、500～550、550～900、550～850、550～800、550～750、550～700、550～650、550～600、600～900、600～850、600～800、600～750、600～700、600～650、650～900、650～850、650～800、650～750、650～700、700～900、700～850、700～800、700～750、750～900、750～850、750～800、800～900、850～900、または850～900のエチレンオキシド単位)を有するPEG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455エチレンオキシド単位(約20キロダルトン(kDa)の分子量)を有するPEG部分からなる。いくつかの実施形態では、PEG部分の分子量は約20キロダルトンである。いくつかの実施形態では、PEG部分の分子量は約20キロダルトンである。いくつかの実施形態では、PEG部分の分子量は約40キロダルトンである。本明細書中に記載のPEG部分は、直鎖または分枝鎖であり得る。PEG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PEG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PEG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。

10

20

#### 【0285】

記載の  $\alpha$  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。  $\alpha$  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  $\alpha$  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。

#### 【0286】

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  $\alpha$  6インテグリンリガンドの置換基として提供され得る。

30

#### 【0287】

$\alpha$  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ル基、糖またはオリゴペプチドで修飾された  $\alpha$  6インテグリンリガンド)も含まれる。

#### 【0288】

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

40

#### 医薬組成物

#### 【0289】

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  $\alpha$  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。

#### 【0290】

本明細書中で使用される場合、「医薬組成物」は、薬理学的有効量の医薬品有効成分(API)、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(API、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

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) A P I 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 A P I 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、増量剤、充填剤、フレーバー、流動促進剤、湿潤薬、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、ビヒクル、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、アプタマー、および/またはワクチン。

#### 【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（ネブライザー、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, Parsippany, 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

50

## 【0296】

滅菌注射液を、適切な溶媒中に必要量の活性化化合物を、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。

## 【0297】

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

## 【0298】

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

## 【0299】

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の薬学的に活性な薬剤の量を指す。

## 【0300】

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

## 【0301】

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

## 【0302】

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

## 【0303】

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 RNAi 剤である実施形態では、RNAi 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、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端に連結している。v6 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、v6 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。

#### 【0304】

いくつかの実施形態では、非ヌクレオチド基は、RNAi 剤または RNAi 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、RNAi 剤のエンドサイトーシスを増強する。

10

#### 【0305】

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 v6 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、v6 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（脱塩基リボース）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

#### 【0306】

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 RNAi 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 v6 リガンドに付着させることができる。

#### 【0307】

例えば、いくつかの実施形態では、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端に  $\text{NH}_2 - \text{C}_6$  基を有する RNAi 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、v6 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、RNAi 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 RNAi 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、v6 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

#### 【0308】

いくつかの実施形態では、連結基は、v6 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 v6 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、第一級アミノ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

#### 【0309】

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（RNAi 剤など）またはセグメントと、目的の他方の化学基（v6 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

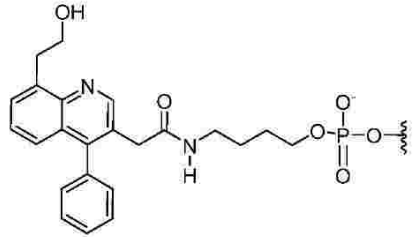
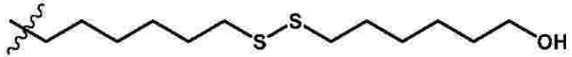
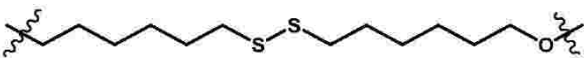
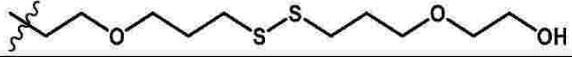
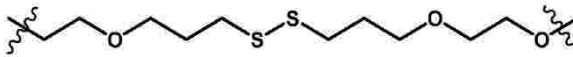
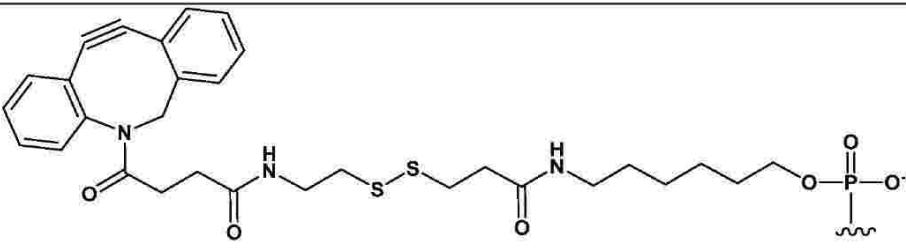
40

50



【表 A - 1】

表A. 種々の連結基を表す構造物

|                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <div><p>(PAZ)</p></div>                                                                                                          | 10 |
| <div><p>オリゴヌクレオチドの3'末端に存在する場合:</p><div><p>(C6-SS-C6)</p></div></div>                                                             |    |
| <div><p>オリゴヌクレオチドに内在する場合:</p><div><p>オリゴヌクレオチドの5'末端に向かう連結</p><p>オリゴヌクレオチドの3'末端に向かう連結</p><div><p>(C6-SS-C6)</p></div></div></div> | 20 |
| <div><p>オリゴヌクレオチドの3'末端に存在する場合:</p><div><p>(6-SS-6)</p></div></div>                                                             |    |
| <div><p>オリゴヌクレオチドに内在する場合:</p><div><p>オリゴヌクレオチドの5'末端に向かう連結</p><p>オリゴヌクレオチドの3'末端に向かう連結</p><div><p>(6-SS-6)</p></div></div></div> | 30 |
| <div><p>(C6-SS-Alk) または (Alk-SS-C6)</p></div>                                                                                 | 40 |

10

20

30

40

50

Chemical structures of various phosphonate and disulfide linkers:

- (C6-SS-Alk-Me)**: A linker featuring a 6-phenyl-1,3,8-triazepine-9-carboxamide group connected via an amide bond to a 3-mercapto-1-methylbutyl chain, which is further connected via another amide bond to a 6-phosphonohexyl chain.
- (PEG-C3-SS)**: A linker consisting of a 3-mercapto-1,3-bis(2-hydroxyethyl)propan-2-yl chain attached to a phosphonate group.
- (NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)**: A 6-aminohexyl chain attached to a phosphonate group.
- (NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)<sub>s</sub>**: A 6-aminohexyl chain attached to a phosphonate group, with a subscript 's' indicating a specific configuration or state.
- cPrpu**: A complex molecule featuring a pyridine ring, a carbonyl group, and a phosphonate group, with a subscript 'c' indicating a specific configuration or state.

50

【表 A - 3】

|                |    |
|----------------|----|
| <br>(TriAlk1)  | 10 |
| <br>(TriAlk1)s | 20 |
| <br>(TriAlk2)  | 30 |

10

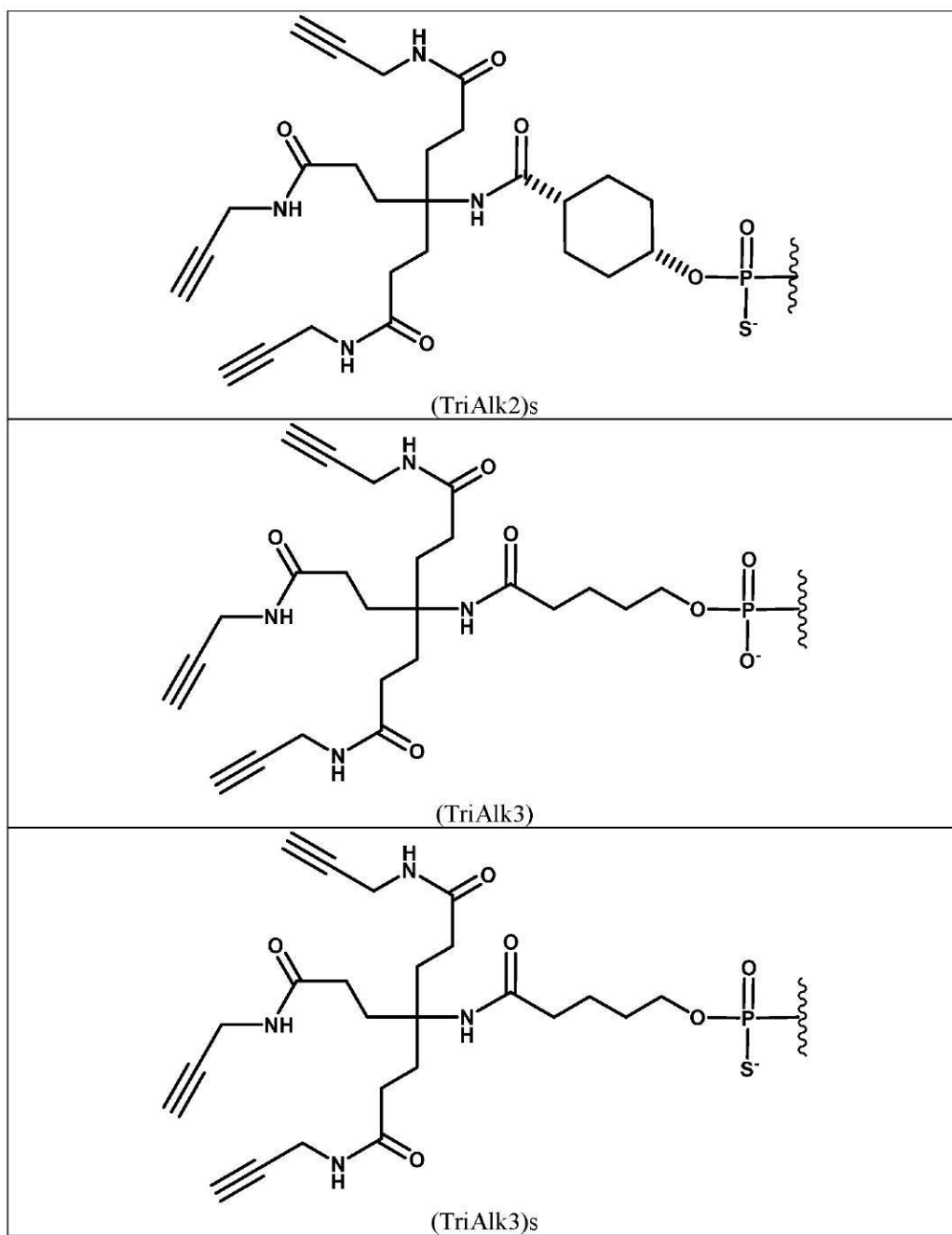
20

30

40

50

【表 A - 4】



10

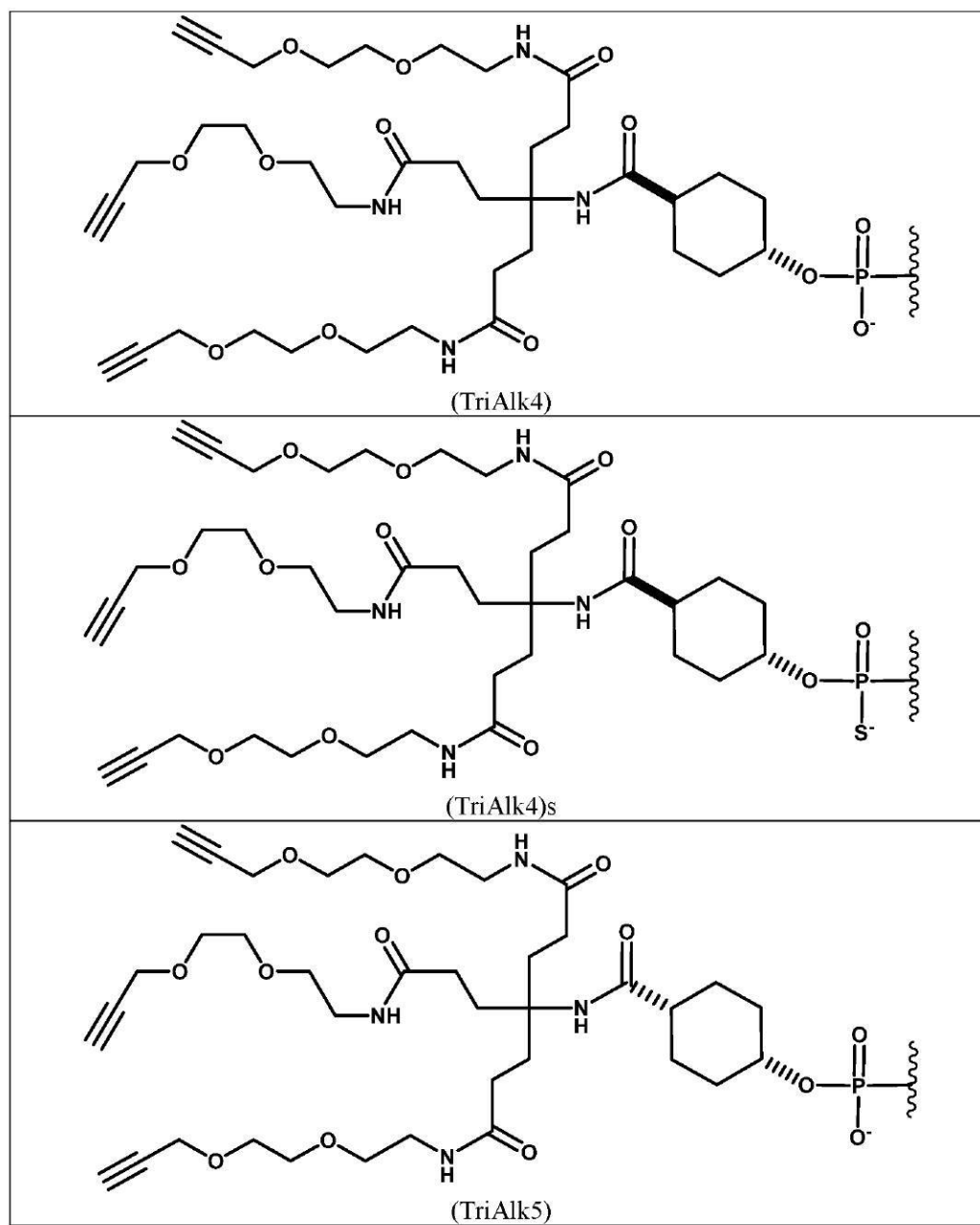
20

30

40

50

【表 A - 5】



10

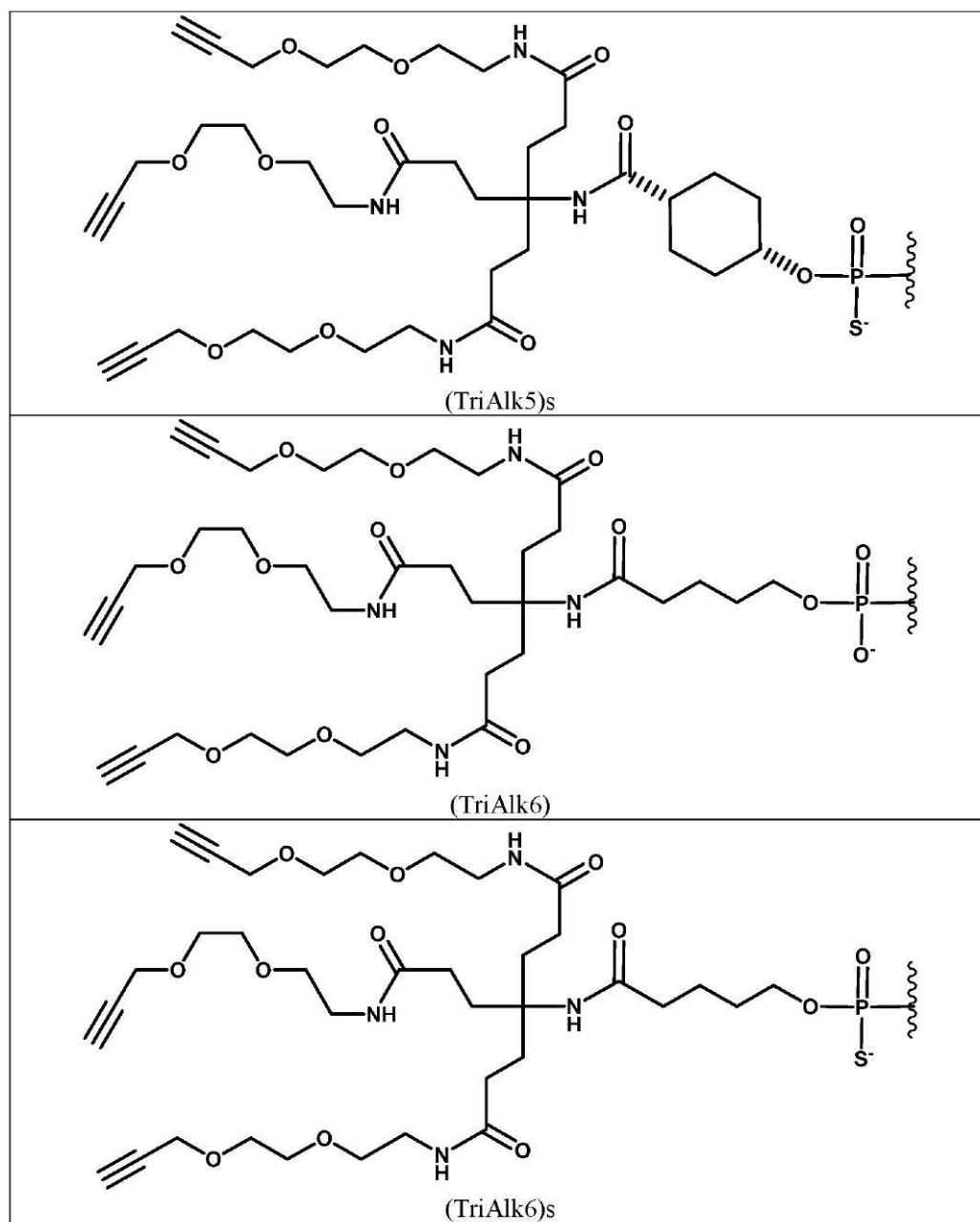
20

30

40

50

【表 A - 6】



10

20

30

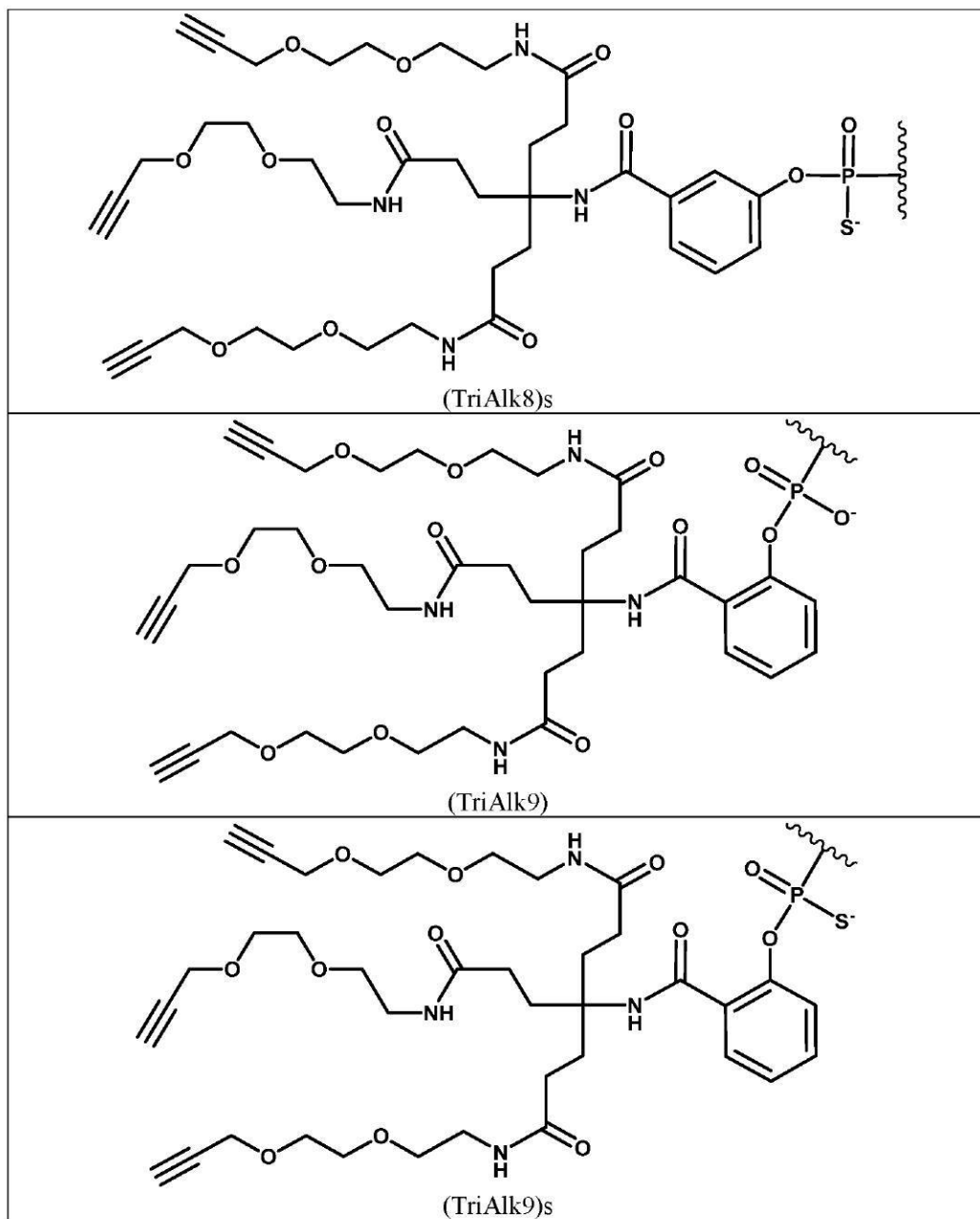
40

50

【表 A - 7】

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <p>Chemical structure (TriAlk7) is a tri-alkyl phosphazene derivative. It features a central phosphorus atom bonded to three nitrogen atoms, each of which is part of a 3-oxopropyl chain. These chains are further substituted with a 3-ethoxypropyl group, a 3-ethoxypropyl group, and a 3-ethoxypropyl group. The central phosphorus atom is also bonded to a 4-phenoxyphenyl group, which is further substituted with a 3-ethoxypropyl group. The structure is labeled (TriAlk7).</p>                                                                                                   | 10 |
| <p>Chemical structure (TriAlk7)s is a tri-alkyl phosphazene derivative, similar to (TriAlk7), but with a different substitution pattern on the central phosphorus atom. It features a central phosphorus atom bonded to three nitrogen atoms, each of which is part of a 3-oxopropyl chain. These chains are further substituted with a 3-ethoxypropyl group, a 3-ethoxypropyl group, and a 3-ethoxypropyl group. The central phosphorus atom is also bonded to a 4-phenoxyphenyl group, which is further substituted with a 3-ethoxypropyl group. The structure is labeled (TriAlk7)s.</p> | 20 |
| <p>Chemical structure (TriAlk8) is a tri-alkyl phosphazene derivative, similar to (TriAlk7), but with a different substitution pattern on the central phosphorus atom. It features a central phosphorus atom bonded to three nitrogen atoms, each of which is part of a 3-oxopropyl chain. These chains are further substituted with a 3-ethoxypropyl group, a 3-ethoxypropyl group, and a 3-ethoxypropyl group. The central phosphorus atom is also bonded to a 4-phenoxyphenyl group, which is further substituted with a 3-ethoxypropyl group. The structure is labeled (TriAlk8).</p>   | 30 |

【表 A - 8】



10

20

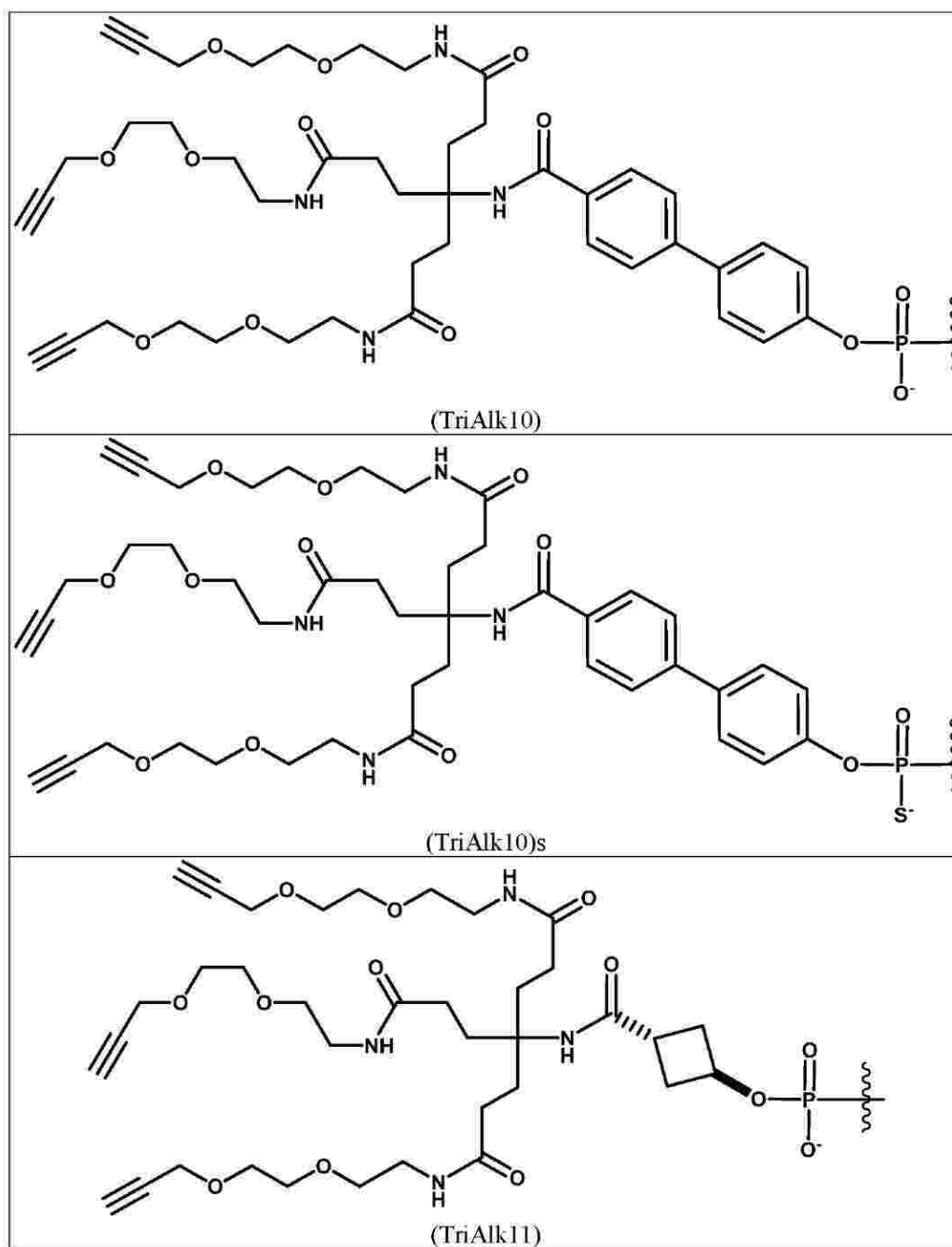
30

40

50



【表 A - 9】



10

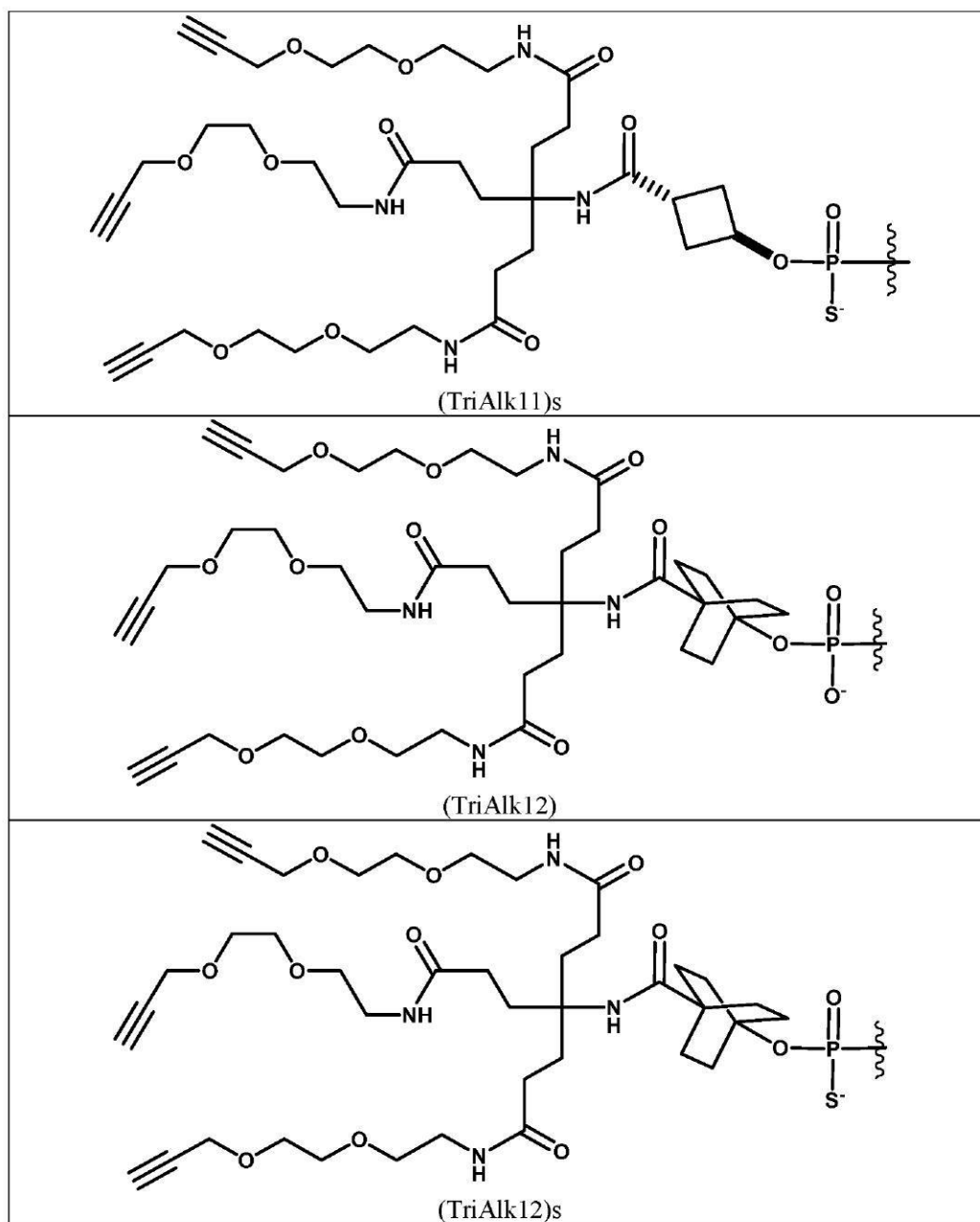
20

30

40

50

【表 A - 10】



10

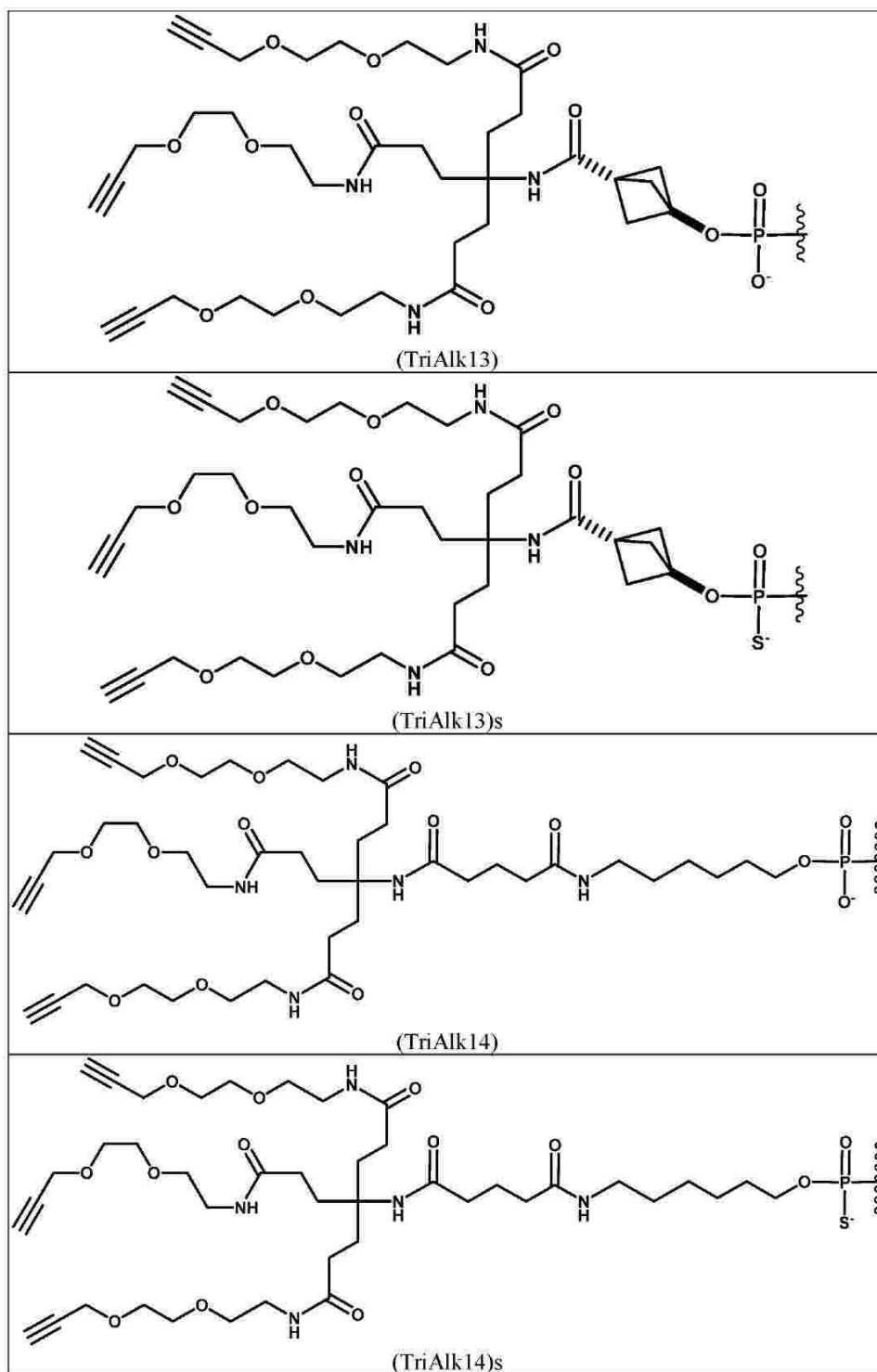
20

30

40

50

【表 A - 1 1】



(式中、  
【化 1 5 3】

~~~~~

は、カーゴ分子への付着点を示す)。

【 0 3 1 2】

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。

【 0 3 1 3】

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】

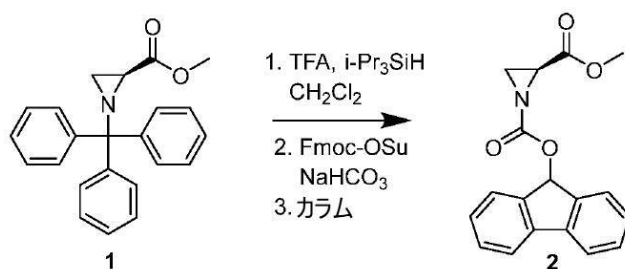
以下の実施例の合成実験の詳細中で使用したいくつかの略語を、以下のように定義する：  
 hまたはhr = 時間（単数または複数）；min = 分（単数または複数）；mol = モル（単数または複数）；mmol = ミリモル（単数または複数）；M = モル濃度；μM = マイクロモル濃度；g = グラム（単数または複数）；μg = マイクログラム（単数または複数）；rtまたはRT = 室温；L = リットル（単数または複数）；mL = ミリリットル（単数または複数）；wt = 重量；Et<sub>2</sub>O = ジエチルエーテル；THF = テトラヒドロフラン；DMSO = ジメチルスルホキシド；EtOAc = 酢酸エチル；Et<sub>3</sub>NまたはTEA = トリエチルアミン；i-Pr<sub>2</sub>NEtまたはDIPEAまたはDIEA = ジイソプロピルエチルアミン；CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>またはDCM = 塩化メチレン；CHCl<sub>3</sub> = クロロホルム；CDCl<sub>3</sub> = 重水素化クロロホルム；CCl<sub>4</sub> = 四塩化炭素；MeOH = メタノール；EtOH = エタノール；DMF = ジメチルホルムアミド；BOC = t-ブトキシカルボニル；CBZ = ベンジルオキシカルボニル；TBS = t-ブチルジメチルシリル；TBS-ClまたはTBDMSCl = t-ブチルジメチルシリルクロリド；TFA = トリフルオロ酢酸；DMAP = 4-ジメチルアミノピリジン；NaN<sub>3</sub> = アジ化ナトリウム；Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 硫酸ナトリウム；NaHCO<sub>3</sub> = 重炭酸ナトリウム；NaOH = 水酸化ナトリウム；MgSO<sub>4</sub> = 硫酸マグネシウム；K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> = 炭酸カリウム；KOH = 水酸化カリウム；NH<sub>4</sub>OH = 水酸化アンモニウム；NH<sub>4</sub>Cl = 塩化アンモニウム；SiO<sub>2</sub> = シリカ；Pd-C = 炭素担持パラジウム；HCl = 塩化水素または塩酸；NMM = N-メチルモルホリン；H<sub>2</sub> = 水素ガス；KF = フッ化カリウム；EDC-HCl = 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；MTBE = メチル-tert-ブチルエーテル；Ar = アルゴン；N<sub>2</sub> = 窒素；RT = 保持時間。

【0316】

構造物1～37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1b（（14S, 17S）-1-アジド-14-（5-（（4-メチルピリジン-2-イル）アミノ）ペンタンアミド）-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】

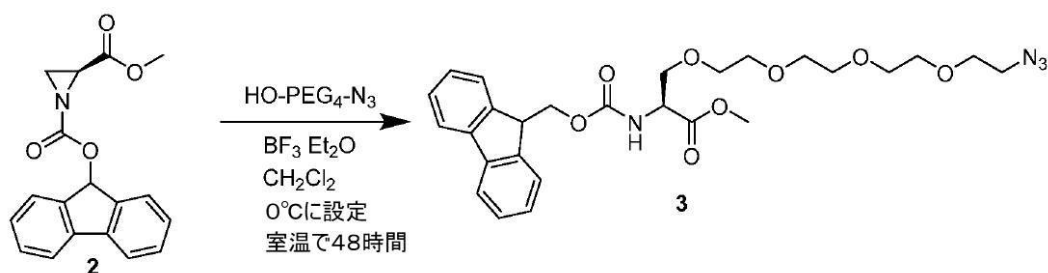


【0317】

化合物1（メチル（S）-（-）-1-トリチルアジリジン-2-カルボキシレート（4.204 g、12.24 mmol、1.0当量）およびトリイソプロピルシラン（3.877 g、5.02 mL、24.48 mmol、2当量）をDCM（40 mL）に溶解し、溶液を0 に冷却し、次いで、TFA（8.5当量）を滴下して添加した。溶液を、0

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（40 mL）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（1.06 g、10.5 mmol）を、合計60 mLのTHF / H<sub>2</sub>O（2 / 1）に溶解した。Fmoc-Osu（5.312 g、15.75 mmol、1.5当量）およびNaHCO<sub>3</sub>（2.646 g、31.5 mmol、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（350 mL）およびH<sub>2</sub>O（25 mL）で希釈した。層を分離し、有機物をH<sub>2</sub>O（40 mL）で洗浄した。次いで、有機物をpH 3～4の水（2 × 40 mL）、次いで、H<sub>2</sub>O（40 mL）、次いで、飽和NaCl水溶液（40 mL）で洗浄した。有機相をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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】



#### 【0318】

化合物2（Fmoc-アジリジン）（1.46 g、4.52 mmol）およびHO-PEG<sub>4</sub>-N<sub>3</sub>（1.983 g、9.04 mmol、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時間撹拌した。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NH<sub>4</sub>Cl溶液（5 mL）でクエンチし、DCM（60 mL）で希釈し、H<sub>2</sub>O（3 × 20 mL）、飽和NaCl水溶液（20 mL）で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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。

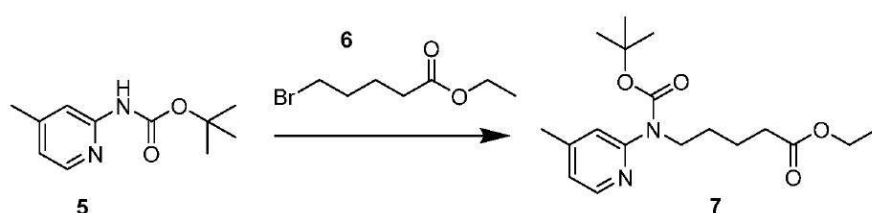
#### 【化156】



#### 【0319】

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】



10

20

30

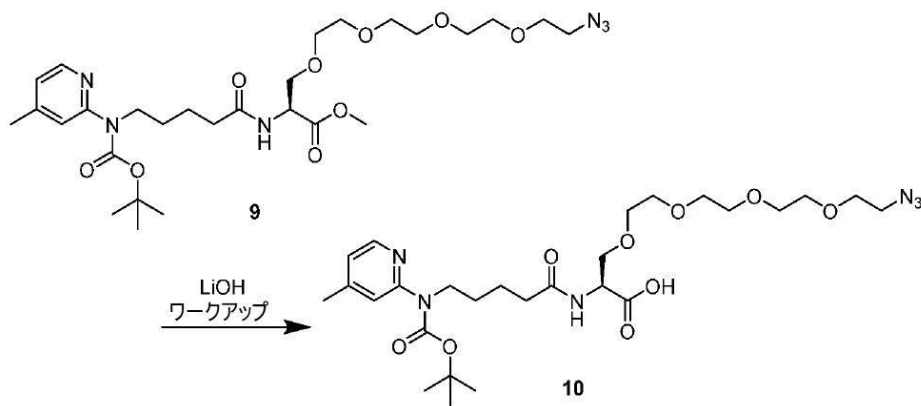
40

50



チルから 100% 酢酸エチル) で精製した。

【化 160】



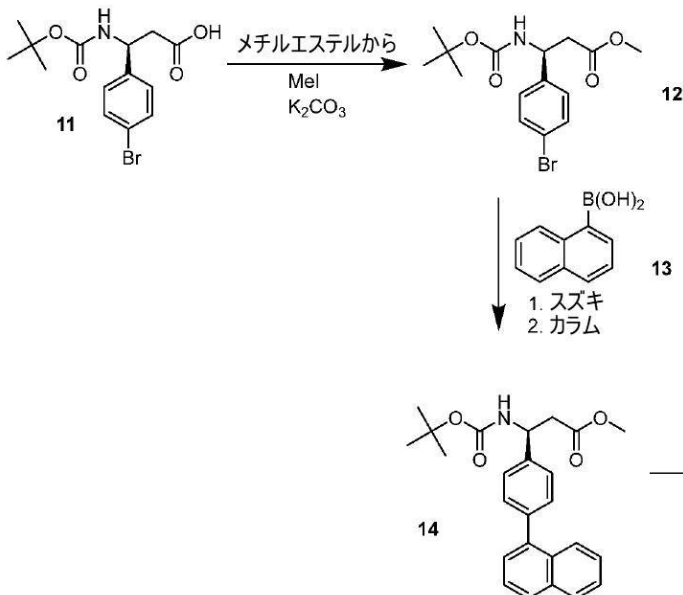
10

【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 H<sub>2</sub>O (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。有機物をプールし、飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で洗淨し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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。

20

【化 161】



30

【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、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (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、H<sub>2</sub>O (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。合わせた有機相を、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (40 mL)、次いで、H<sub>2</sub>O (4 × 40 mL) で洗淨した。混合物を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、濃縮した。

50

## 【0325】

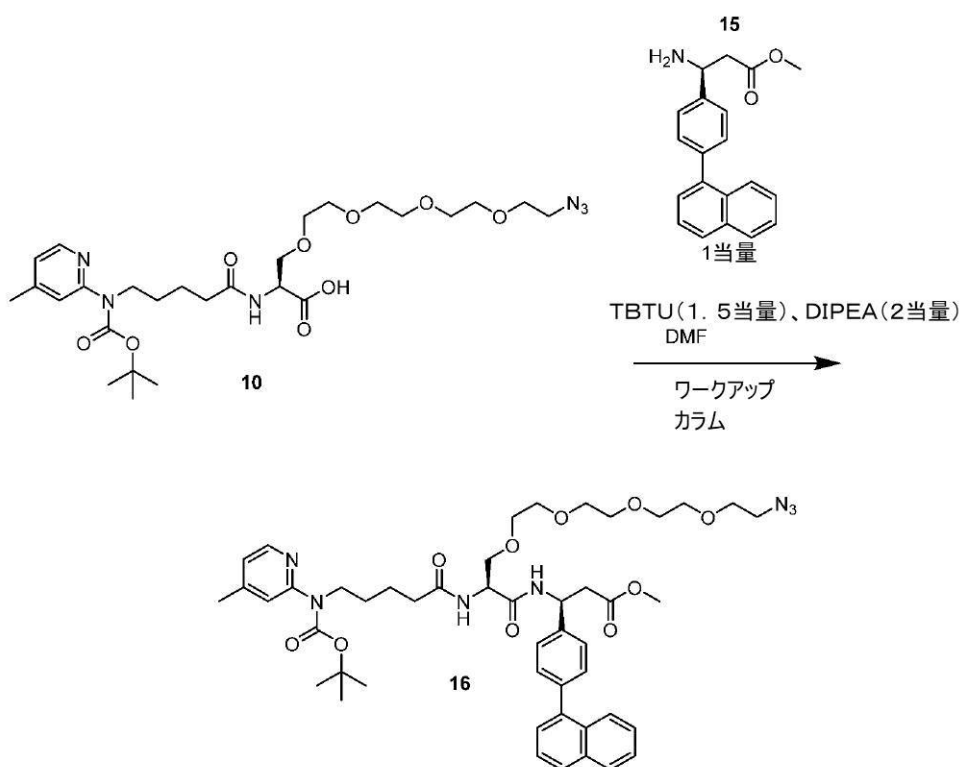
化合物12の乾燥生成物(1.0 g、2.7915 mmol)に、化合物13(1-ナフタレンボロン酸(0.960 g、5.583 mmol、2当量))を添加した。この混合物に、[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II)またはPd(dppf)Cl<sub>2</sub>(0.0817 g、0.1117 mmol、0.4当量)を、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.888 g、8.375 mmol、3当量)と共に添加した。次に、1,4-ジオキサン(5 mL)およびH<sub>2</sub>O(0.2 mL)を添加し、混合物を100 で4時間撹拌した。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(0.200 g、0.493 mmol)を、DCM(2.5 mL)に溶解し、次いで、TFA(0.45 mL)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(4 mL)に溶解し、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(2×2 mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(2×2 mL)で洗浄した。有機相をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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】

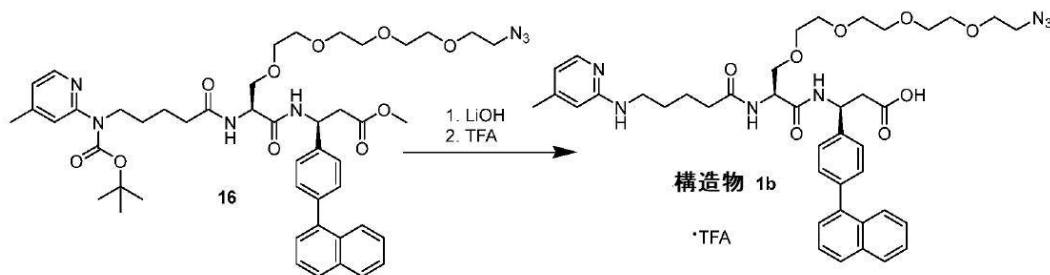
化合物10(0.3224 g、0.54 mmol)をDMF(7 mL)に溶解した。この混合物に、TBTU(0.236 g、0.735 mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(0.170 mL、0.98 mmol)を添加した。次いで、化合物15を添加した(0.1496 g、0.49 mmol)。反応物を、室温で2時間撹拌した。反応物をLC-MSによってモニタリグした。混合物を濃縮し、残渣を酢酸エチル(90 mL)に溶解し、pH3~4のH<sub>2</sub>O(3×10 mL)で洗浄した。生成物を、H<sub>2</sub>O(2×10 mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(10 mL)、次いで、飽和NaCl水溶液(1×10 mL)で洗浄した。有機相をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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 1 6 3】



10

## 【 0 3 2 8】

化合物 16 (0.250 g、0.2828 mmol) を、MeOH : ジオキサン [1 : 1] (4 mL) および 1 M LiOH (4 mL) に溶解した。混合物を室温で 2 時間撹拌した。有機物を濃縮して除去し、残渣を H<sub>2</sub>O (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。有機物をブールし、飽和 NaCl 水溶液 (10 mL) で洗浄した。生成物を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 時間撹拌した。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。=>

20

## 【化 1 6 4】

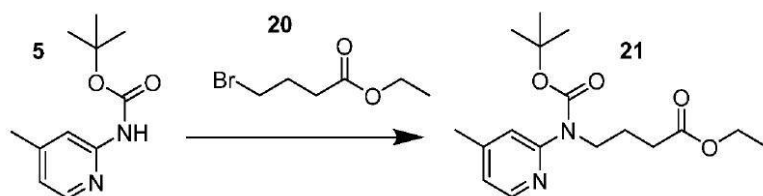
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,

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 1 6 5】



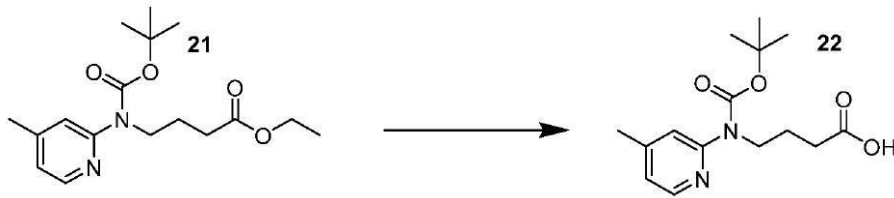
40

## 【 0 3 2 9】

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) (0.501 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 分間撹拌後、化合物 20 (エチル 4 - ブロモブチレート (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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 1 6 6】

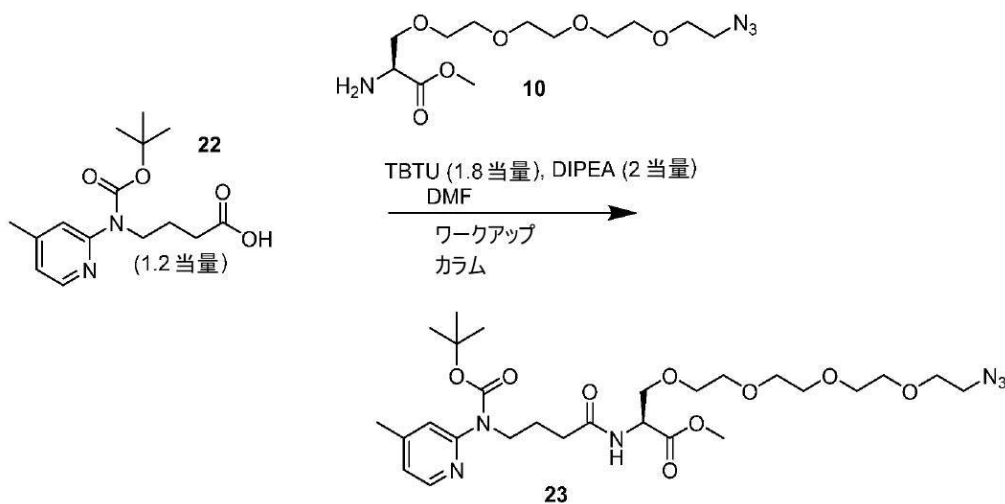


## 【 0 3 3 0】

化合物 21 (0.80 g、2.378 mmol) を、100 mL のアセトン : 0.1 M 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、0.3 M クエン酸 (40 mL) で pH 3 ~ 4 に酸性化した。生成物を、DCM (3 × 75 mL) で抽出した。有機物をプールし、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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。

10

## 【化 1 6 7】



20

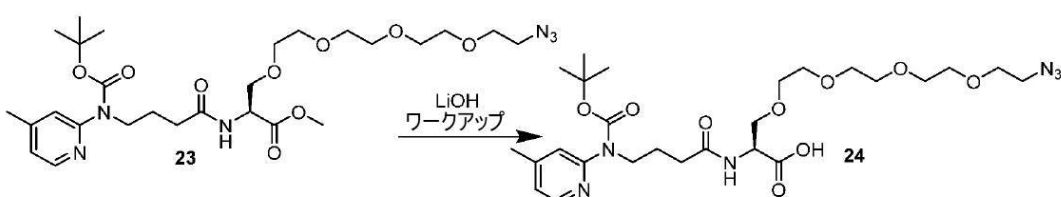
## 【 0 3 3 1】

化合物 22 (0.340 g、1.104 mmol) を DMF (10 mL) に溶解した。この混合物に、TBTU (0.531 g、1.655 mmol) およびジイソプロピルエチルアミン (0.320 mL、1.839 mmol) を添加した。次いで、化合物 10 (0.295 g、0.9197 mmol) 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 (150 mL) に溶解し、pH 3 ~ 4 の H<sub>2</sub>O (2 × 12 mL) で洗浄した。混合物を、次いで、H<sub>2</sub>O (2 × 12 mL)、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (12 mL)、次いで、飽和 NaCl 水溶液 (12 mL) で洗浄した。有機相を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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。

30

40

## 【化 1 6 8】



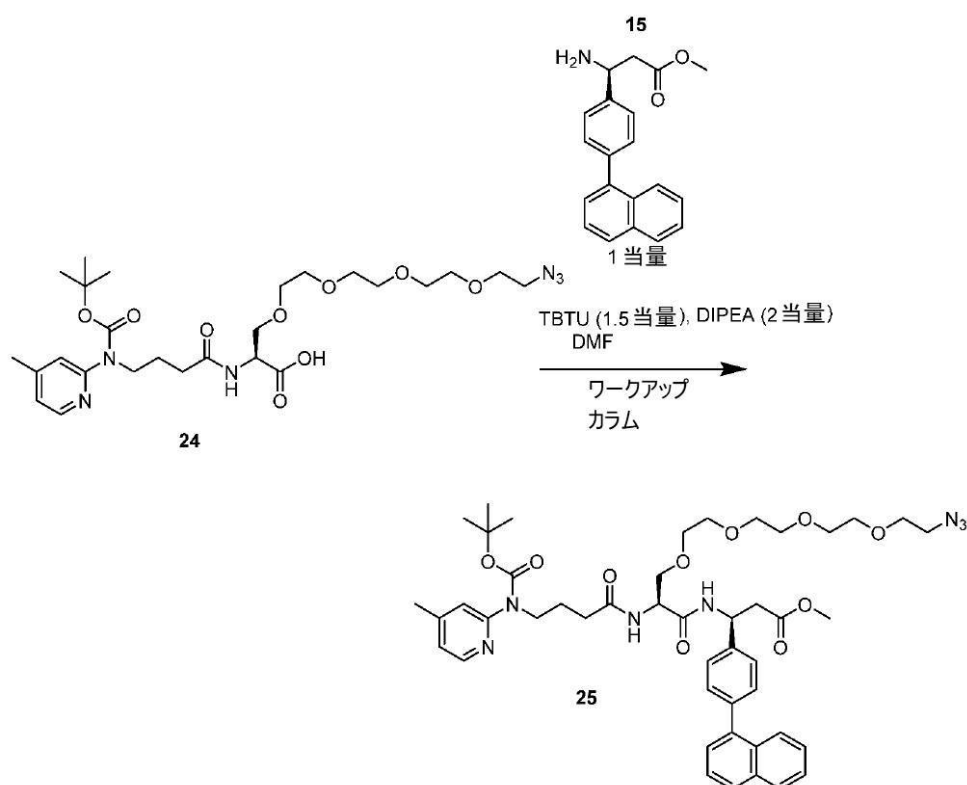
## 【 0 3 3 2】

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

50

ン [ 1 : 1 ] および 1 M  $\text{LiOH}$  ( 1 0 m L ) に溶解した。混合物を室温で 2 時間攪拌し、 $\text{LC-MS}$  および  $\text{TLC}$  ( 1 0 0 %  $\text{EtOAc}$  ) によってモニタリグした。有機物を濃縮し、残渣を  $\text{H}_2\text{O}$  ( 5 m L ) で希釈し、 $\text{pH}$  4 に酸性化した。生成物を酢酸エチル ( 2 × 5 0 m L ) で抽出した。合わせた有機相を飽和  $\text{NaCl}$  水溶液 ( 1 × 1 0 m L ) で洗浄した。有機相を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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。

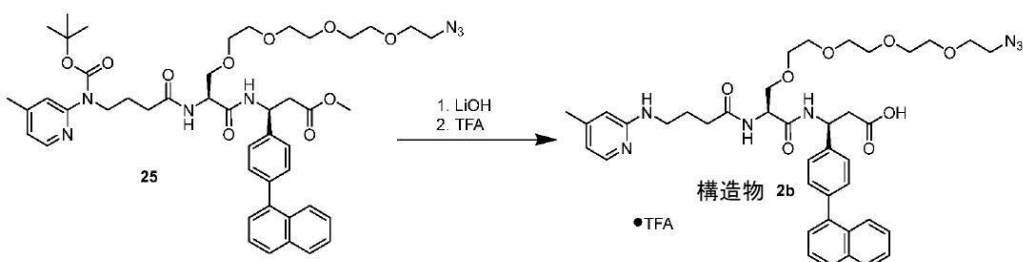
#### 【化 1 6 9】



#### 【 0 3 3 3】

化合物 2 4 ( 0 . 3 2 2 4 g 、 0 . 5 4 m m o l ) を  $\text{DMF}$  ( 7 m L ) に溶解した。この混合物に、 $\text{TBTU}$  ( 0 . 2 3 6 g 、 0 . 7 3 5 m m o l ) およびジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 1 7 0 m L 、 0 . 9 8 m m o l ) を添加した。次いで、化合物 1 5 を添加した ( 0 . 1 4 9 6 g 、 0 . 4 9 m m o l ) 。混合物を室温で 2 時間攪拌した。反応物を  $\text{LC-MS}$  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 ( 9 0 m L ) に溶解し、 $\text{pH}$  3 ~ 4 の  $\text{H}_2\text{O}$  ( 3 × 1 0 m L ) で洗浄した。濃縮物を、 $\text{H}_2\text{O}$  ( 2 × 1 0 m L ) 、飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 ( 1 0 m L ) 、次いで、飽和  $\text{NaCl}$  水溶液 ( 1 0 m L ) で洗浄した。有機相を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濾過し、濃縮した。生成物を、シリカカラム ( 5 %  $\text{MeOH}$  への勾配の  $\text{DCM}$  ) で精製した。

#### 【化 1 7 0】



#### 【 0 3 3 4】

化合物 2 5 ( 0 . 2 5 0 g 、 0 . 2 8 2 8 m m o l ) を、 $\text{MeOH}$  : ジオキサン [ 1 :

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 H<sub>2</sub>O (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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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。C<sub>40</sub>H<sub>49</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub> についての [M + H]<sup>+</sup> 計算値: 755.87、実測値: 756.32 ;

【化 171】

10

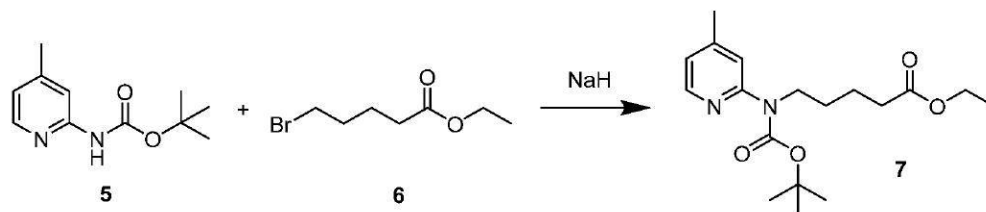
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.64 (t, 1H), 8.17–8.10 (m, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.80 (d, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.60–7.40 (m, 8H), 6.8 (s, 1H), 6.67 (d, 1H), 5.31 (q, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.62–3.45 (m, 18H), 3.40 (t, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.80 (dd, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.26 (t, 2H), 1.80 (m, 2H).

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】

20



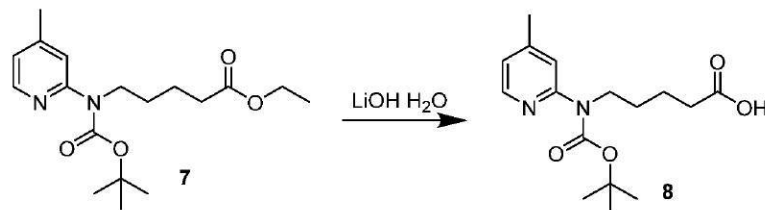
【0335】

30

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 N<sub>2</sub> 雰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 NH<sub>4</sub>Cl 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> + 337.20、実測値 337.39。

【化 173】

40



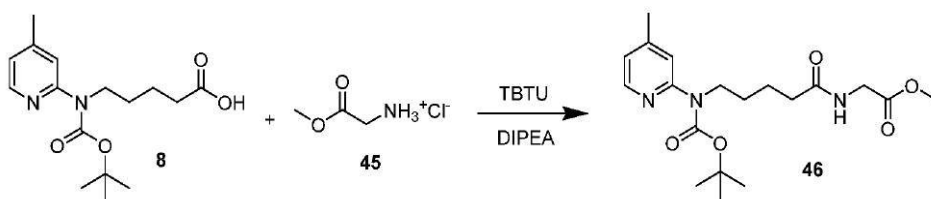
【0336】

化合物 7 (1.347 g、4.00 mmol、1 当量) を含む THF (5 mL) および H<sub>2</sub>O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム水和物 (0.505 g、12.01 mmol)

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時間の攪拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。LC-MS:[M+H]<sup>+</sup>309.17、実測値309.39。

【化174】



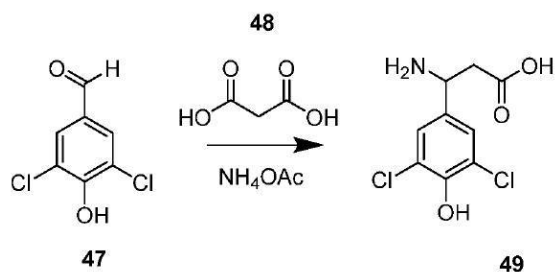
10

【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にて添加した。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NaHCO<sub>3</sub>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Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値380.21、実測値380.51。

20

【化175】

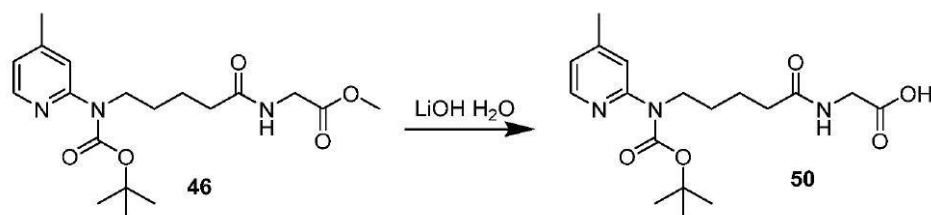


30

【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、一晚還流攪拌した。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]<sup>+</sup>の計算値250.00、実測値250.16。

【化176】



40

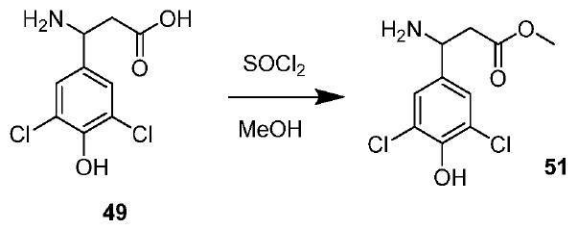
【0339】

化合物46(1.412g、3.72mmol、1当量)を含むTHF(5mL)およびH<sub>2</sub>O(5mL)の溶液に、水酸化リチウム一水和物(0.469g、11.16mmol、3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3時間の攪拌後、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 × 20 mL ) で抽出し、有機層を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。  
LC - MS : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 366.20、実測値 366.46。

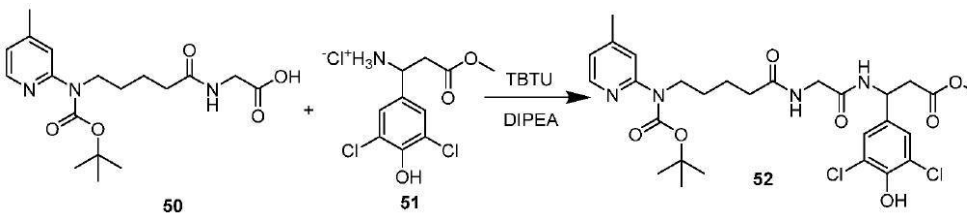
【化177】



【0340】

化合物49 ( 0.531 g、2.12 mmol、1当量 ) を含む無水メタノール ( 10 mL ) の懸濁液に、塩化チオニル ( 308  $\mu$ L、4.24 mmol、2.0当量 ) を氷浴上で添加した。反応物を室温に加温し、一晚撹拌した。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 ]<sup>+</sup> の計算値 264.01、実測値 264.20。

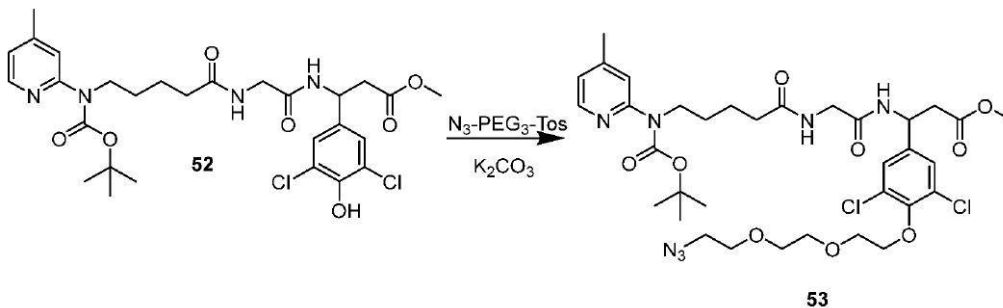
【化178】



【0341】

化合物50 ( 150 mg、0.410 mmol、1当量 )、化合物51 ( 148 mg、0.492 mmol、1.2当量 )、およびTBTU ( 158 mg、0.492 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 ( 0.214 mL、1.23 mmol、3当量 ) を0 で添加した。反応混合物を室温に加温し、3時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 ( 10 mL ) によってクエンチし、生成物を酢酸エチル ( 3 × 20 mL ) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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。

【化179】

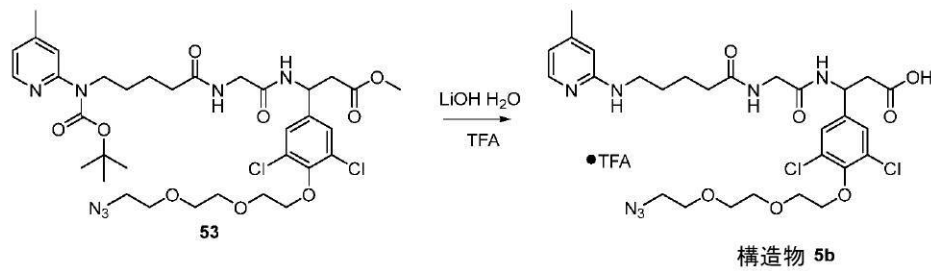


【0342】

化合物52 ( 80 mg、0.130 mmol、1当量 ) およびアジド - PEG<sub>3</sub> - OTs ( 86 mg、0.262 mmol、2当量 ) を含む無水DMF ( 2 mL ) の溶液に、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ( 36 mg、0.262 mmol、2当量 ) を0 で添加した。反応混合物を80 で1時間撹拌した。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 ]<sup>+</sup> の計算値 76

8.28、実測値 769。

【化180】



10

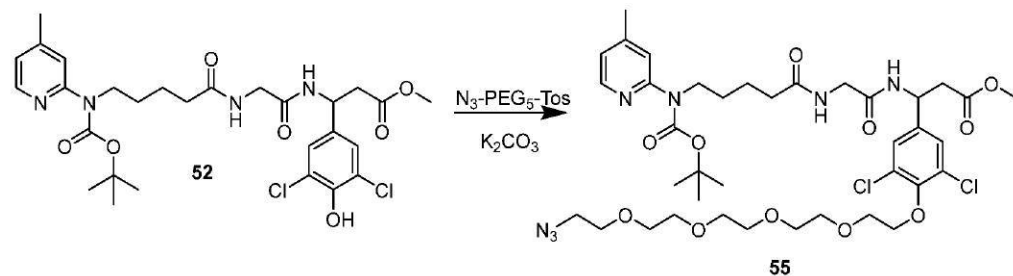
【0343】

化合物 53 (58 mg、0.0755 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム一水和物 (10 mg、0.226 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 2 時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.25 mL) および DCM (0.75 mL) を残渣に添加し、混合物を室温でさらに 1 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> の計算値 654.21、実測値 655。

構造物 5.1b (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)

20

【化181】

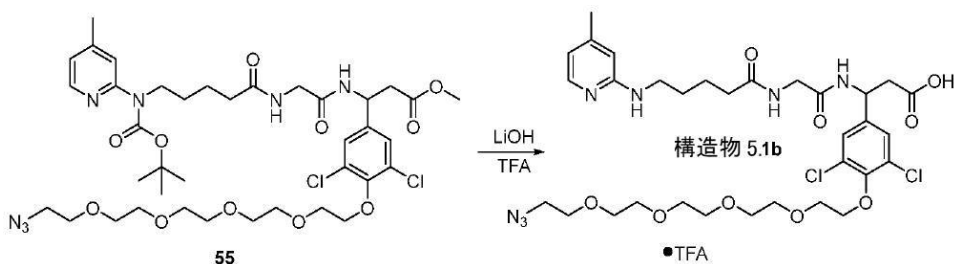


30

【0344】

化合物 52 (100 mg、0.163 mmol、1 当量) およびアジド-PEG<sub>5</sub>-OTs (205 mg、0.491 mmol、3 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (68 mg、0.491 mmol、2 当量) を 0 °C で添加した。反応混合物を、80 °C で 1 時間撹拌した。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 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。LC-MS: [M+H]<sup>+</sup> の計算値 856.33、実測値 857.07。

【化182】



40

【0345】

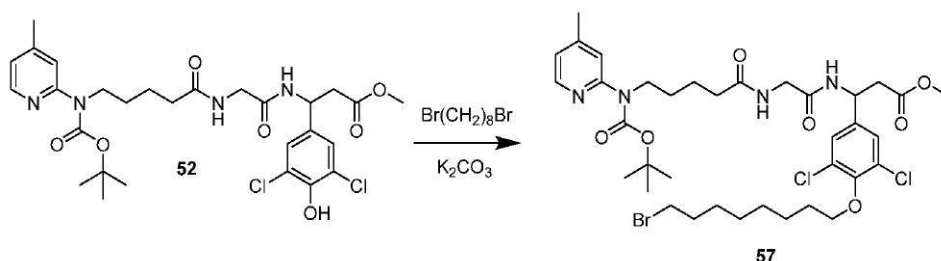
化合物 55 (119 mg、0.139 mmol、1.0 当量) を含む THF (4 mL)

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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 742.27、実測値 743.02。

構造物 5.2b (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)

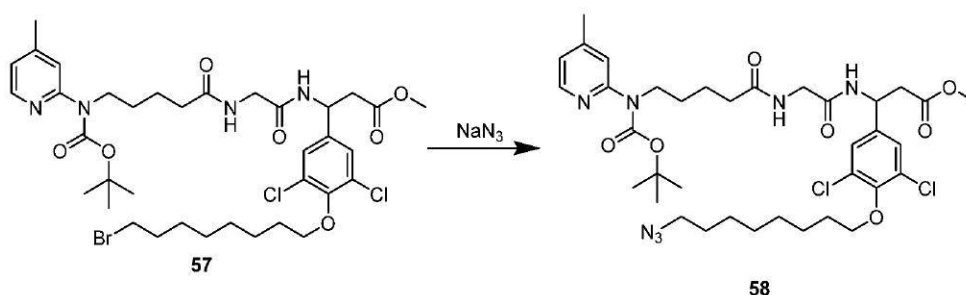
【化183】



【0346】

化合物 52 (89 mg、0.14 mmol、1 当量) および 1,8 - ジブromoオクタン (80  $\mu$ L、0.436 mmol、3 当量) を含むアセトン (2 mL) の溶液に、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (60 mg、0.436 mmol、3 当量) を室温で添加した。反応混合物を、55 で6時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。LC-MS: [M+H]<sup>+</sup> の計算値 801.23、実測値 801.98。

【化184】



【0347】

化合物 57 (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 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 764.32、実測値 765.07。

10

20

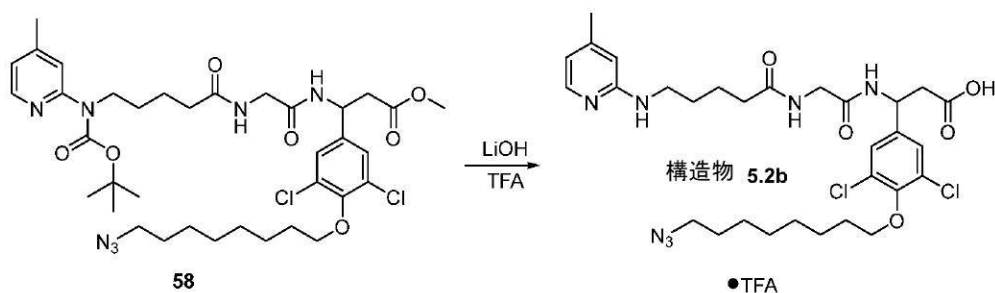
30

40

50



## 【化 1 8 5】



10

## 【 0 3 4 8】

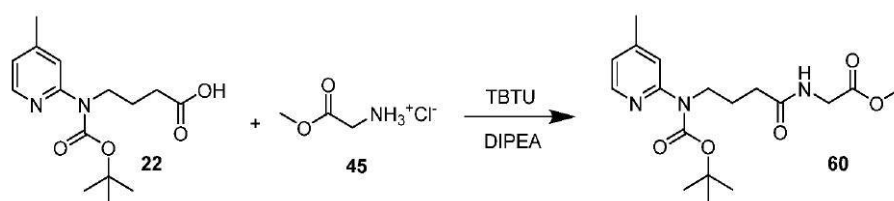
化合物 58 (78 mg、0.101 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (7 mg、0.304 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (2 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS: [M+H]<sup>+</sup> の計算値 650.25、実測値 650.83。

構造物 6b、6.1b、6.2b、6.3b、および 6.4b の合成。

構造物 6b ((S)-3-(4-(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)

20

## 【化 1 8 6】

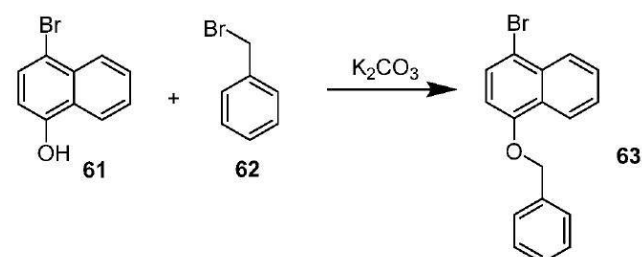


## 【 0 3 4 9】

化合物 22 (1.1 g、3.95 mmol、1 当量)、化合物 45 (595 mg、4.74 mmol、1.2 当量)、および TBTU (1.52 g、4.74 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 (2.06 mL、11.85 mmol、3 当量) を 0℃ で添加した。反応混合物を室温に加温し、3 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (10 mL) によってクエンチした。水相を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出し、有機相を合わせ、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 366.20、実測値 367.7。

30

## 【化 1 8 7】



40

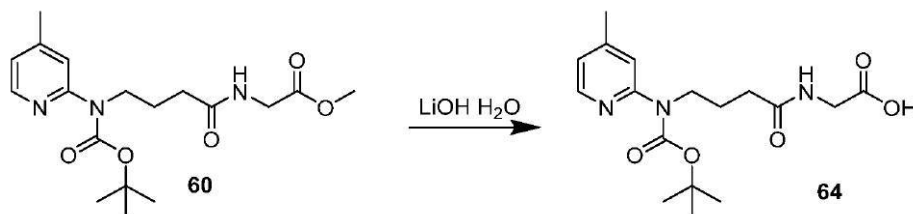
## 【 0 3 5 0】

化合物 61 (2 g、8.96 mmol、1 当量) および化合物 62 (2.13 mL、1

50

7.93 mmol、2当量)を含む無水DMF(10 mL)の溶液に、 $K_2CO_3$ (2.48 g、17.93 mmol、2当量)を0 で添加した。反応混合物を室温に加温し、一晚撹拌した。反応物を水(10 mL)でクエンチした。水相を酢酸エチル(3 × 10 mL)で抽出し、有機相を合わせ、無水 $Na_2SO_4$ 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)によって分離した。

【化188】



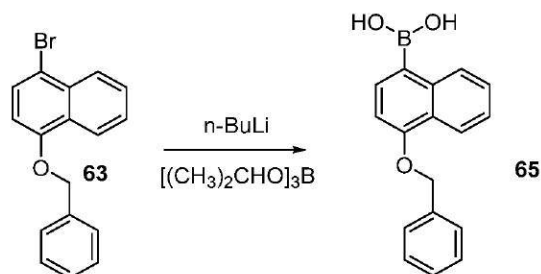
10

【0351】

化合物60(1.77 g、4.84 mmol、1当量)を含むTHF(5 mL)およびH<sub>2</sub>O(5 mL)の溶液に、水酸化リチウム水和物(0.61 g、14.53 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3時間の撹拌後、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 × 20 mL)で抽出し、有機層を合わせ、 $Na_2SO_4$ で乾燥させ、濃縮した。LC-MS:[M+H]<sup>+</sup>の計算値352.18、実測値352。

20

【化189】

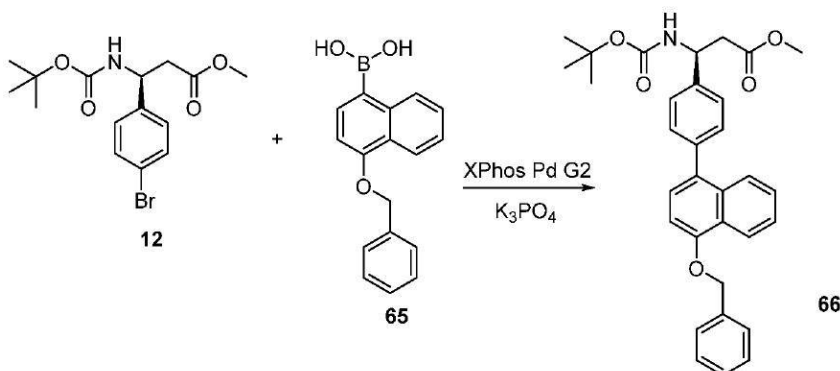


30

【0352】

化合物63(1.88 g、6.0 mmol、1.0当量)を含む無水THF(20 mL)溶液に、n-BuLiを含むヘキサン(3.6 mL、9.0 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。トリイソプロピルポラート(2.08 mL、9.0 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時間撹拌した。反応物を飽和NH<sub>4</sub>Cl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 × 20 mL)で抽出し、有機相を合わせ、 $Na_2SO_4$ で乾燥させ、濃縮した。

【化190】



40

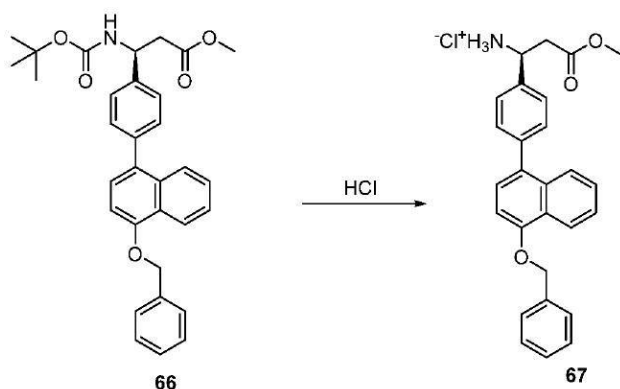
50

## 【 0 3 5 3 】

化合物 1 2 ( 3 0 0 m g 、 0 . 8 3 7 m m o l 、 1 . 0 当量 ) 、 化合物 6 5 ( 3 4 9 m g 、 1 . 2 5 6 m m o l 、 1 . 5 当量 ) 、 X P h o s P d G 2 ( 1 3 m g 、 0 . 0 1 6 7 m m o l 、 0 . 0 2 当量 ) 、 および  $K_3PO_4$  ( 3 5 5 m g 、 1 . 6 7 5 m m o l 、 2 . 0 当量 ) を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセブタム付きスクリ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、T H F ( 8 m L ) および水 ( 2 m L ) をシリンジで添加した。混合物を窒素で 2 0 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 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) で抽出した。有機相を  $Na_2SO_4$  で乾燥させ、濃縮し、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、1 5 % E t O A c を含むヘキサンで溶出した。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 5 1 2 . 2 4 、実測値 5 1 2 . 5 6 。

10

## 【 化 1 9 1 】



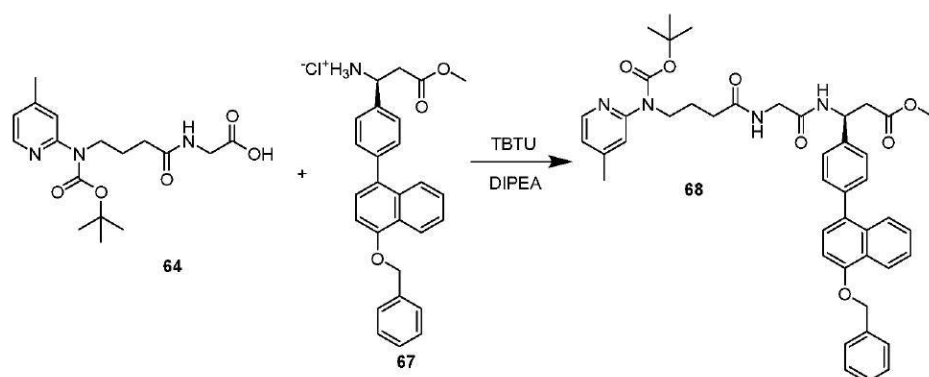
20

## 【 0 3 5 4 】

化合物 6 6 ( 8 5 8 m g 、 1 . 6 7 7 m m o l 、 1 . 0 当量 ) を氷浴によって冷却した。H C l を含むジオキサン ( 8 . 4 m L 、 3 3 . 5 4 m m o l 、 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 時間撹拌した。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。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 4 1 2 . 1 8 、実測値 4 1 2 . 4 6 。

30

## 【 化 1 9 2 】



40

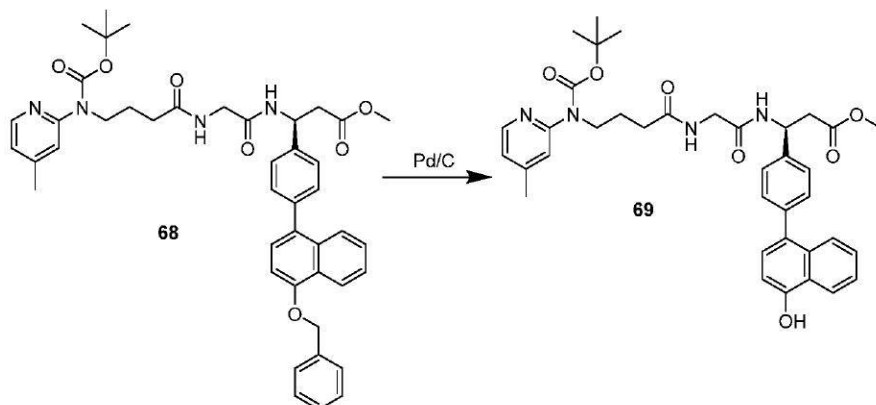
## 【 0 3 5 5 】

化合物 6 4 ( 5 0 0 m g 、 1 . 4 2 3 m m o l 、 1 当量 ) 、 化合物 6 7 ( 6 6 9 m g 、 1 . 4 9 4 m m o l 、 1 . 0 5 当量 ) 、 および T B T U ( 5 4 8 m g 、 0 . 4 9 2 m m o l 、 1 . 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 1 5 m L ) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 7 4 4 m L 、 4 . 2 6 8 m m o l 、 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 時間撹拌した。反応物を飽和  $NaHCO_3$  水溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、生成物を酢酸エチル ( 3 × 2 0 m L ) 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 C o m b

50

i F l a s h (登録商標) によって精製し、3 - 4 % メタノールを含む D C M で溶出した。収率は 96.23 % であった。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 745.35、実測値 746.08。

【化 193】



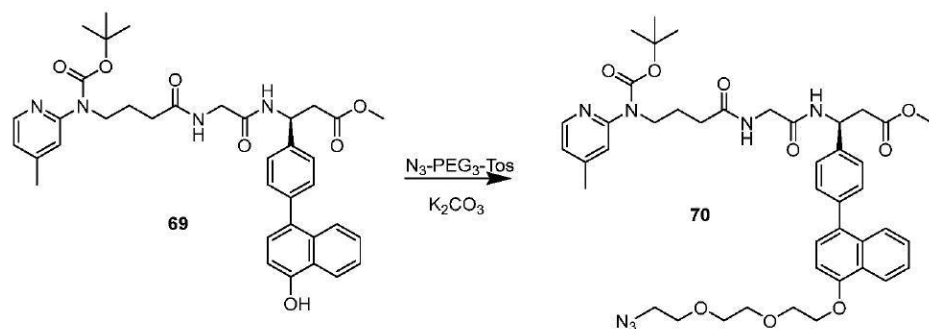
10

【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 % P d / C (0.15 g、50 % H<sub>2</sub>O) を室温で添加した。反応混合物を室温に加温し、反応物を L C - M S によってモニタリグした。反応物を室温で一晩保持した。固体を C e l i t e (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。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> 655.31、実測値 655.87。

20

【化 194】



30

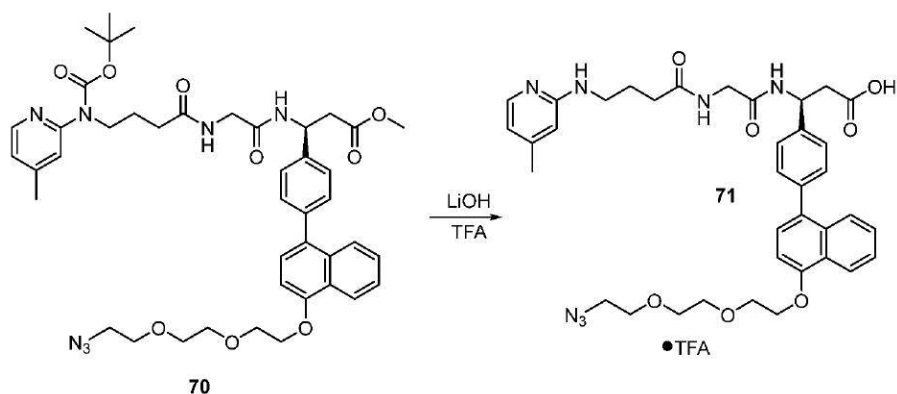
【0357】

化合物 69 (100 mg、0.152 mmol、1 当量) およびアジド - P E G<sub>3</sub> - O T s (100 mg、0.305 mmol、2 当量) を含む無水 D M F (2 mL) の溶液に、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (42 mg、0.305 mmol、2 当量) を 0 で添加した。反応混合物を、80 で 6 時間撹拌した。反応物を飽和 N a H C O<sub>3</sub> 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、N a<sub>2</sub>S O<sub>4</sub> 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。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 812.39、実測値 813.14。

40

50

## 【化 1 9 5】



10

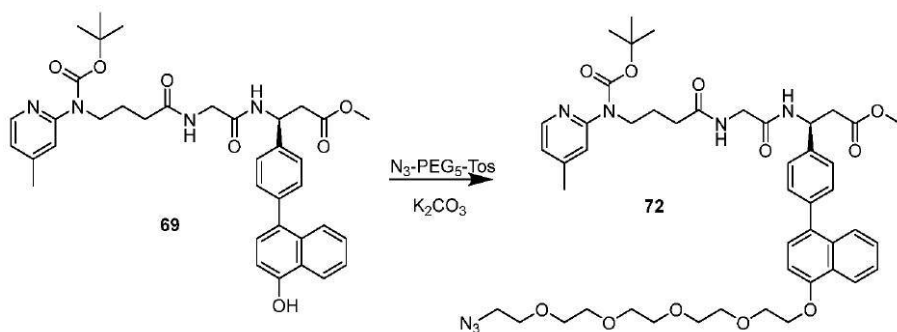
## 【 0 3 5 8】

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 時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> の計算値 698.32、実測値 698.81。

20

構造物 6.1b ((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-(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 9 6】



30

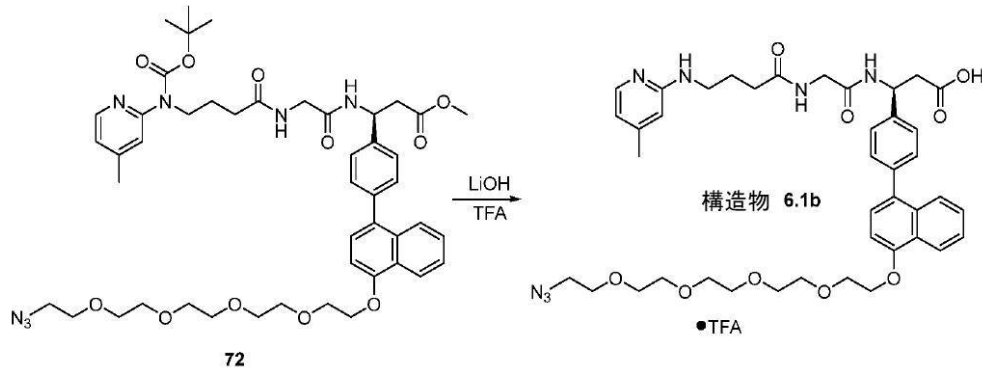
## 【 0 3 5 9】

化合物 69 (100 mg、0.152 mmol、1 当量) およびアジド-PEG<sub>5</sub>-OTs (128 mg、0.305 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (42 mg、0.305 mmol、2 当量) を 0 で添加した。反応混合物を、80 で 6 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。LC-MS: [M+H]<sup>+</sup> の計算値 900.40、実測値 901.46。

40

50

## 【化 1 9 7】



10

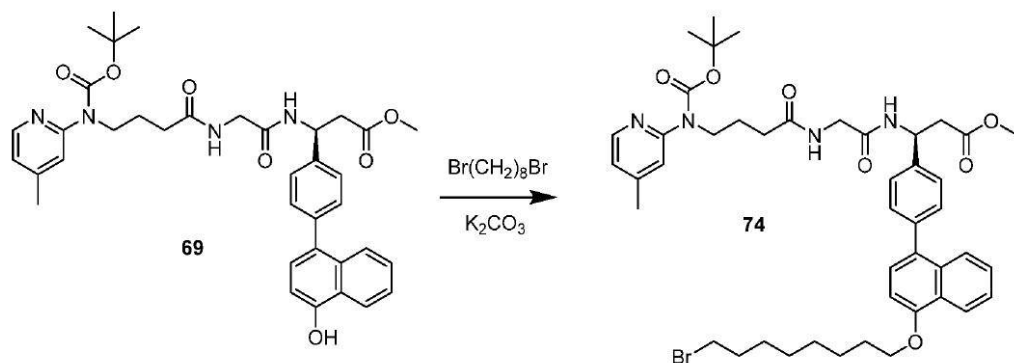
## 【 0 3 6 0】

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 時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> 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 1 9 8】



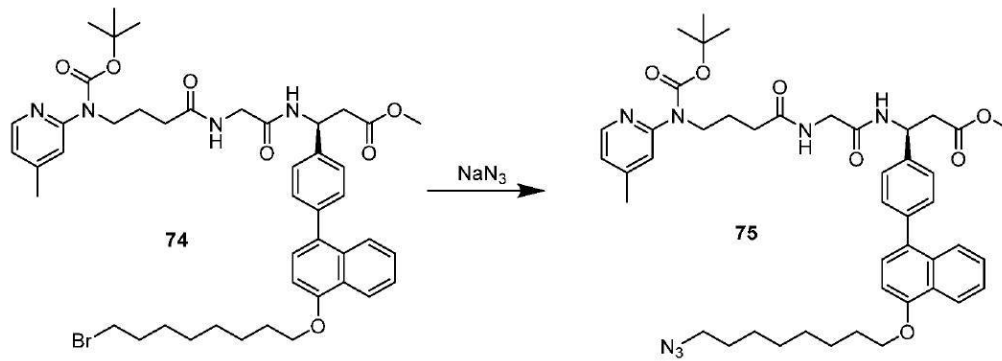
30

## 【 0 3 6 1】

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  $\mu$ L、0.687 mmol、3 当量) を含むアセトン (2 mL) の溶液に、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (95 mg、0.687 mmol、3 当量) を室温で添加した。反応混合物を 55 °C で一晩撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。LC-MS: [M + H]<sup>+</sup> の計算値 845.34、実測値 845.91。

40

## 【化 1 9 9】

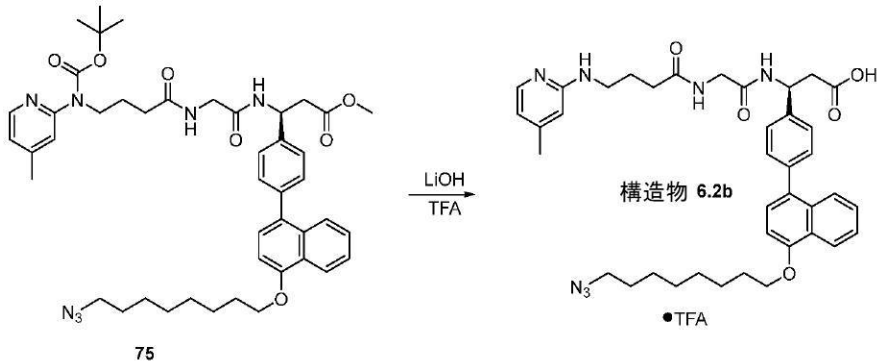


10

## 【 0 3 6 2】

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 で 2 時間撹拌した。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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮した。LC-MS:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  の計算値 808.43、実測値 809.00。

## 【化 2 0 0】



20

30

## 【 0 3 6 3】

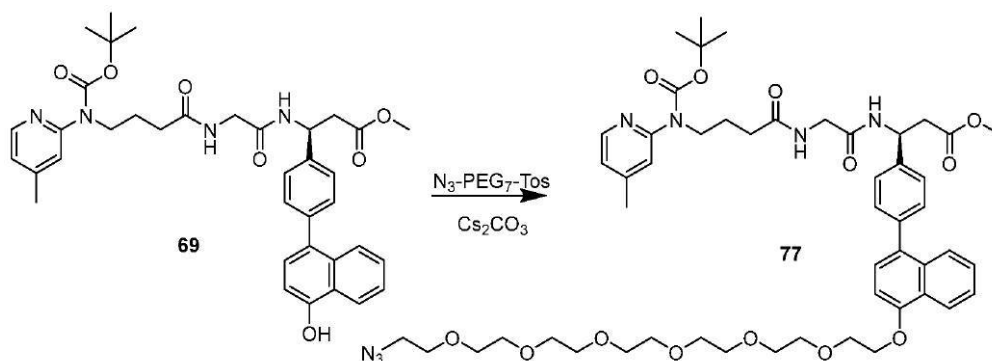
化合物 75 (92 mg、0.114 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (8 mg、0.342 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.5 mL) および DCM (0.5 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC-MS:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  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-ヘキサオキサシクロヘキシル)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)

40

50

## 【化 2 0 1】



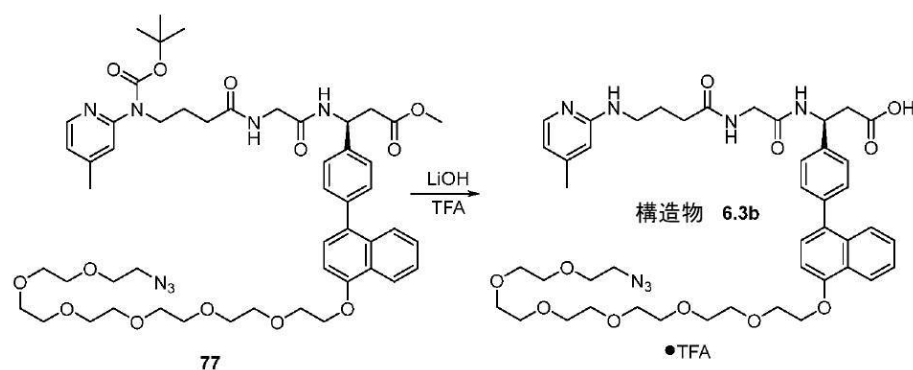
10

## 【 0 3 6 4】

化合物 69 (100 mg、0.152 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>7</sub> - OTs (154 mg、0.305 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (100 mg、0.305 mmol、2 当量) を 0 で添加した。反応混合物を 40 で一晩撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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、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。

20

## 【化 2 0 2】



30

## 【 0 3 6 5】

化合物 21 (112 mg、0.113 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、0.340 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 時間撹拌した。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。

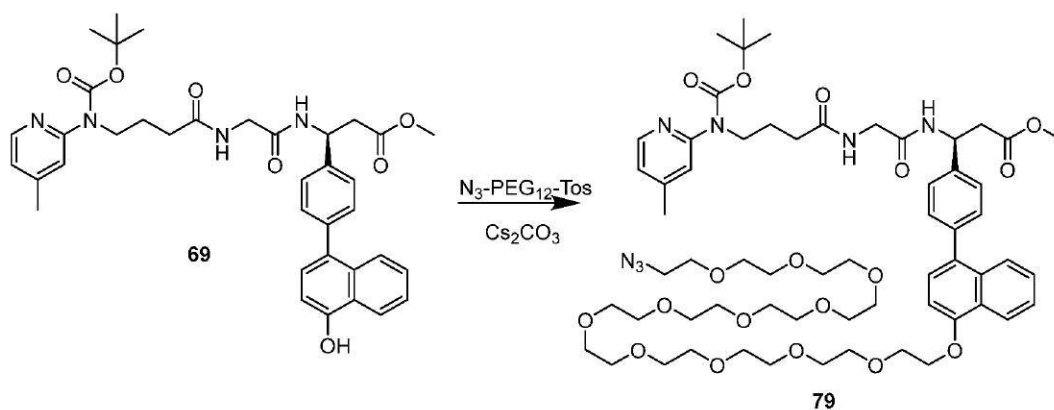
40

構造物 6.4b ((S) - 3 - (4 - (4 - ((3S - アジド - 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 - ウンデカオキサペンタトリアコンチル) 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)

50



## 【化 2 0 3】

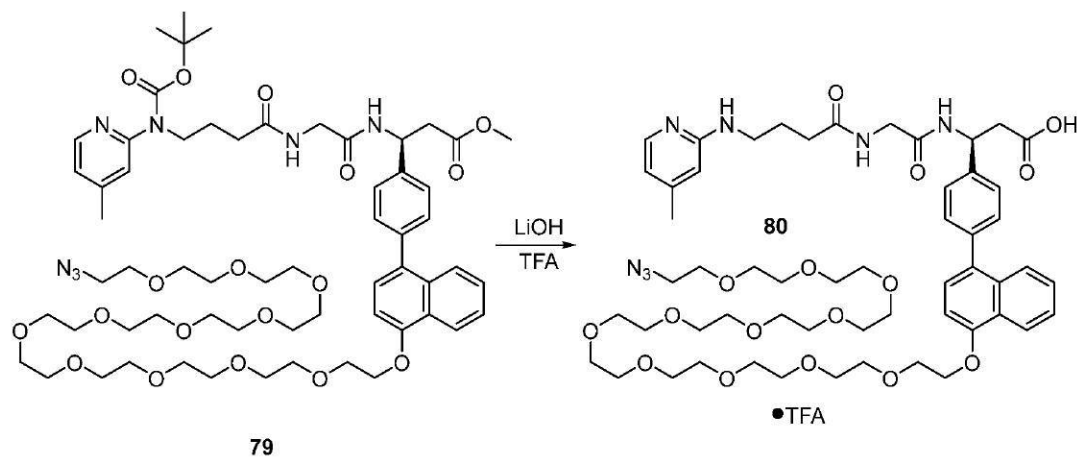


## 【 0 3 6 6】

化合物 69 (80 mg、0.122 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>12</sub> - OTs (184 mg、0.244 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (80 mg、0.244 mmol、2 当量) を 0 で添加した。反応混合物を 40 で 5 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 1208.63、実測値 1209.21。

20

## 【化 2 0 4】



## 【 0 3 6 7】

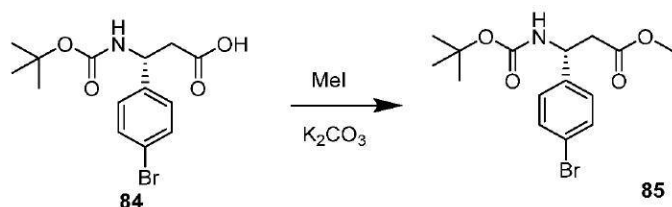
化合物 82 (100 mg、0.0972 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (7 mg、0.292 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC - MS : [M + H]<sup>+</sup> の計算値 1094.56、1095.05。

40

構造物 7b ((R) - 3 - (4 - (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。

50

## 【化 2 0 5】

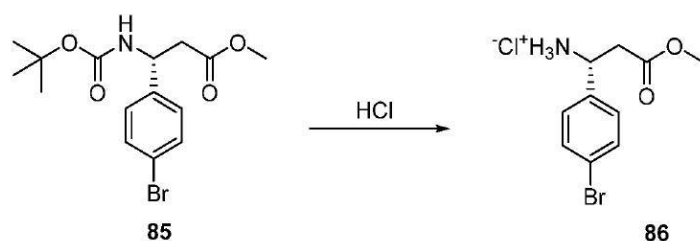


## 【 0 3 6 8】

化合物 84 (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  $\mu$ L、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 時間撹拌した。LC-MS:  $[M+H]^+$  の計算値 358.06、実測値 358.34。

10

## 【化 2 0 6】



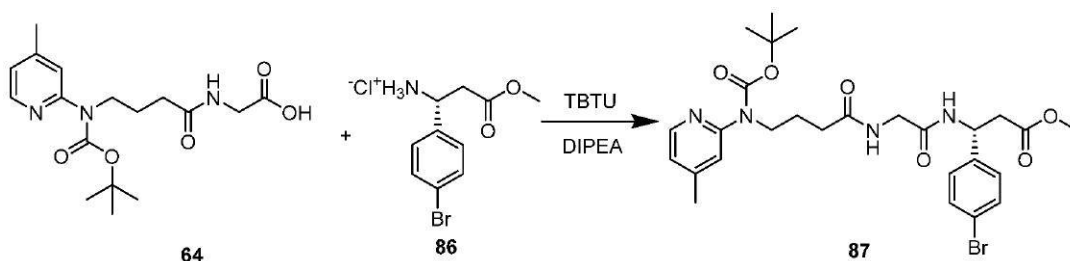
20

## 【 0 3 6 9】

化合物 85 (1.0 g、2.791 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 (7.0 mL、27.91 mmol、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 時間撹拌した。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 2 0 7】

30



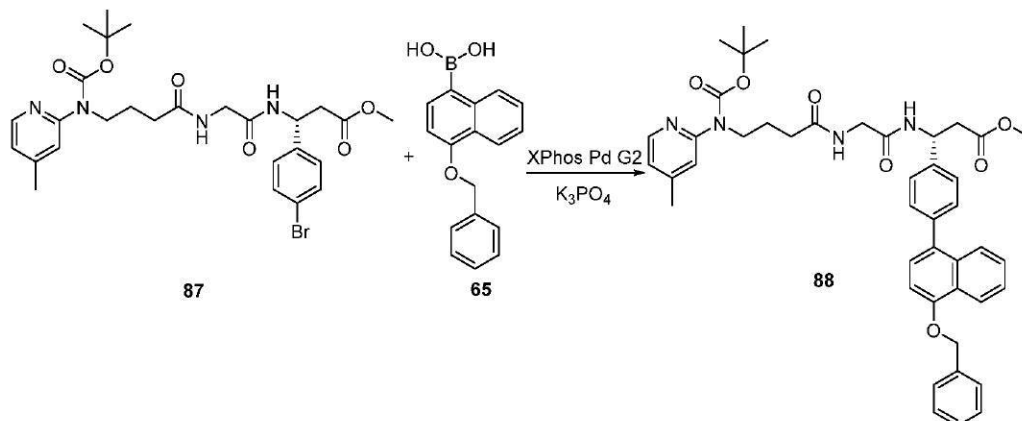
## 【 0 3 7 0】

化合物 64 (790 mg、2.248 mmol、1 当量)、化合物 86 (728 mg、2.473 mmol、1.10 当量)、および TBTU (866 mg、2.698 mmol、1.20 当量) を含む無水 DMF (15 mL) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (1.175 mL、6.744 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 時間撹拌した。反応物を飽和  $NaHCO_3$  水溶液 (10 mL) によってクエンチし、生成物を酢酸エチル (3  $\times$  20 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 591.17、実測値 591.49。

40

50

## 【化 2 0 8】



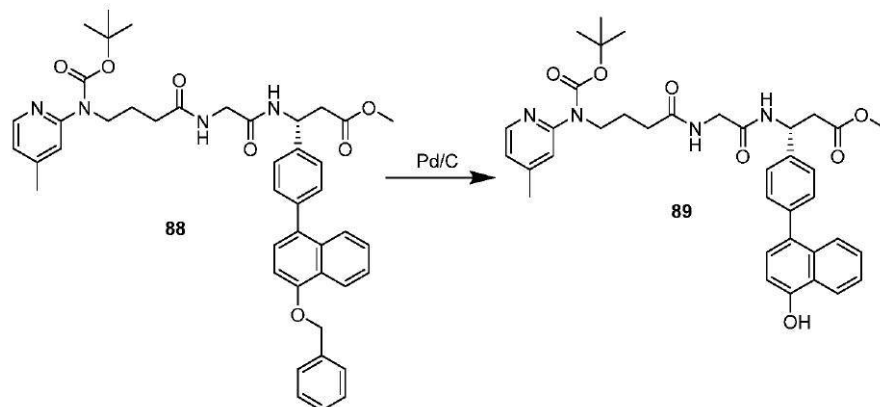
10

## 【 0 3 7 1】

化合物 87 (200 mg、0.338 mmol、1.0 当量)、化合物 65 (141 mg、0.507 mmol、1.5 当量)、XPhos Pd G2 (5.3 mg、0.068 mmol、0.02 当量)、および  $K_3PO_4$  (143 mg、0.676 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 (8 mL) および水 (2 mL) をシリンジで添加した。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 (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  $Na_2SO_4$  で乾燥させ、濃縮した。LC-MS:  $[M+H]^+$  の計算値 745.35、実測値 746.08。

20

## 【化 2 0 9】



30

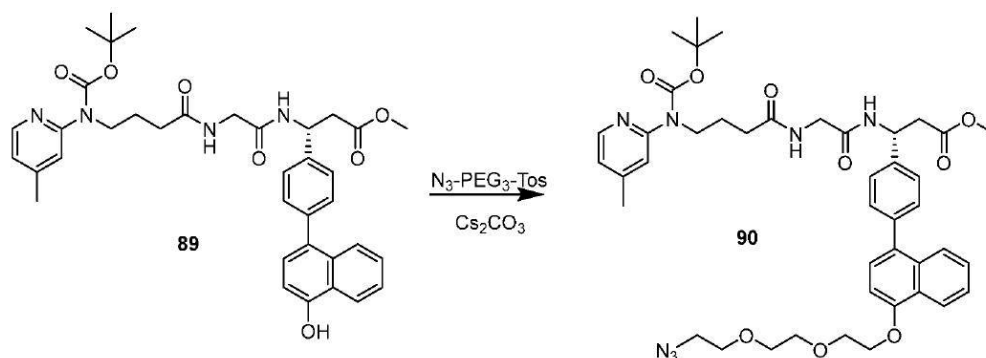
## 【 0 3 7 2】

化合物 88 (0.247 g、0.331 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 655.31、実測値 655.96。

40

50

## 【化 2 1 0】



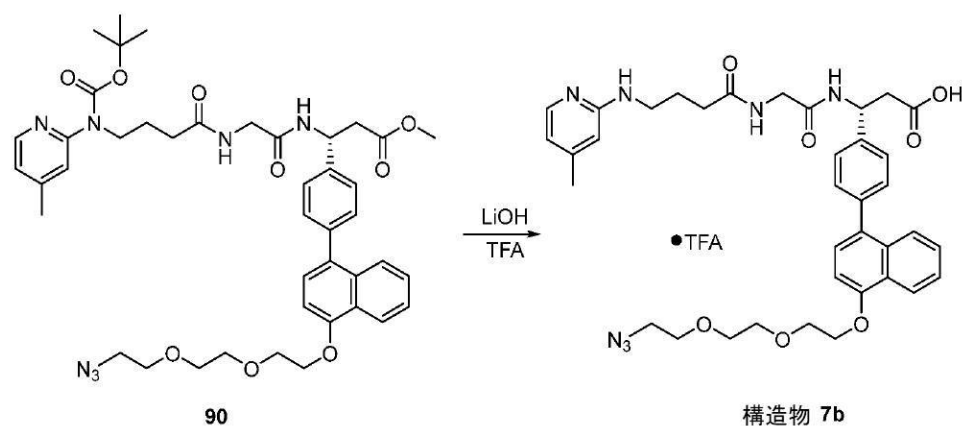
10

## 【 0 3 7 3】

化合物 89 (50 mg、0.076 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>3</sub> - OTs (50 mg、0.152 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (50 mg、0.152 mmol、2 当量) を 0 で添加した。反応混合物を室温で 72 時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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% 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。

20

## 【化 2 1 1】



30

## 【 0 3 7 4】

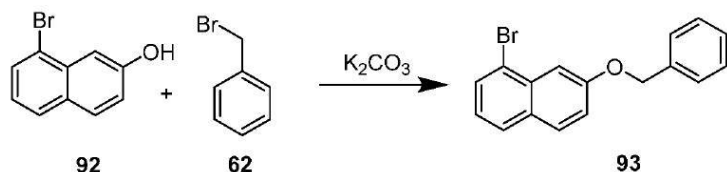
化合物 90 (36 mg、0.0443 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (3 mg、0.133 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮した。TFA (0.5 mL) および DCM (0.5 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバ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。

40

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。

50

## 【化 2 1 2】

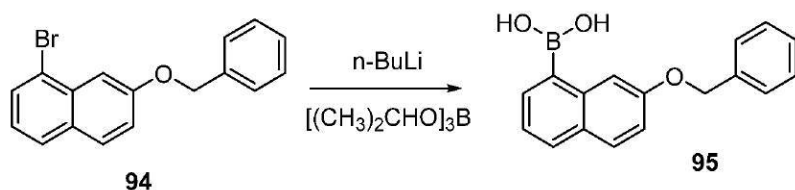


## 【 0 3 7 5】

化合物 9 2 ( 1 . 0 g 、 4 . 4 8 m m o l 、 1 当量 ) 、 および化合物 6 2 ( 1 . 0 6 m L 、 8 . 9 6 m m o l 、 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 1 0 m L ) の溶液に、 $K_2CO_3$  ( 1 . 2 4 g 、 8 . 9 6 m m o l 、 2 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を 8 0 ° で一晩攪拌した。反応物を飽和  $NaHCO_3$  溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) 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 C o m b i F l a s h ( 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。

10

## 【化 2 1 3】



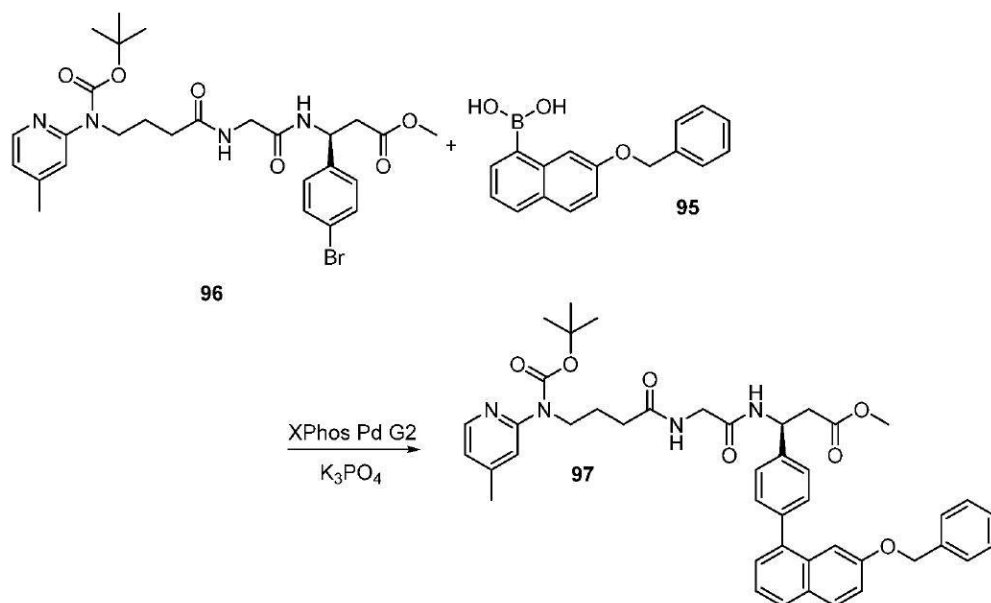
20

## 【 0 3 7 6】

化合物 9 4 ( 0 . 5 g 、 1 . 5 9 6 m m o l 、 1 . 0 当量 ) を含む無水 T H F ( 1 0 m L ) 溶液に、 $n-BuLi$  を含むヘキサン ( 0 . 9 6 m L 、 2 . 3 9 4 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。トリイソプロピルボラート ( 0 . 5 5 3 m L 、 2 . 3 9 4 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  $NH_4Cl$  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、 $Na_2SO_4$  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 ] <sup>-</sup> の計算値 2 7 7 . 1 1 、実測値 2 7 7 . 3 5 。

30

## 【化 2 1 4】



40

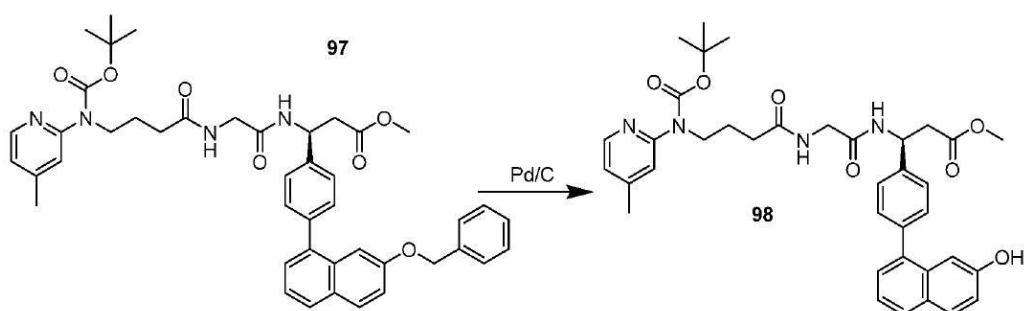
50

## 【 0 3 7 7 】

化合物 96 ( 1 0 0 m g 、 0 . 1 6 9 m m o l 、 1 . 0 当量 ) 、 化合物 95 ( 7 0 m g 、 0 . 2 5 3 m m o l 、 1 . 5 当量 ) 、 X P h o s P d G 2 ( 2 . 7 m g 、 0 . 0 0 3 4 m m o l 、 0 . 0 2 当量 ) 、 および  $K_3PO_4$  ( 7 2 m g 、 0 . 3 3 8 m m o l 、 2 . 0 当量 ) を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセブタム付きスクリ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 ( 8 m L ) および水 ( 2 m L ) をシリンジで添加した。混合物を窒素で 2 0 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 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、3 % メタノールを含む D C M で溶出した。

10

## 【 化 2 1 5 】

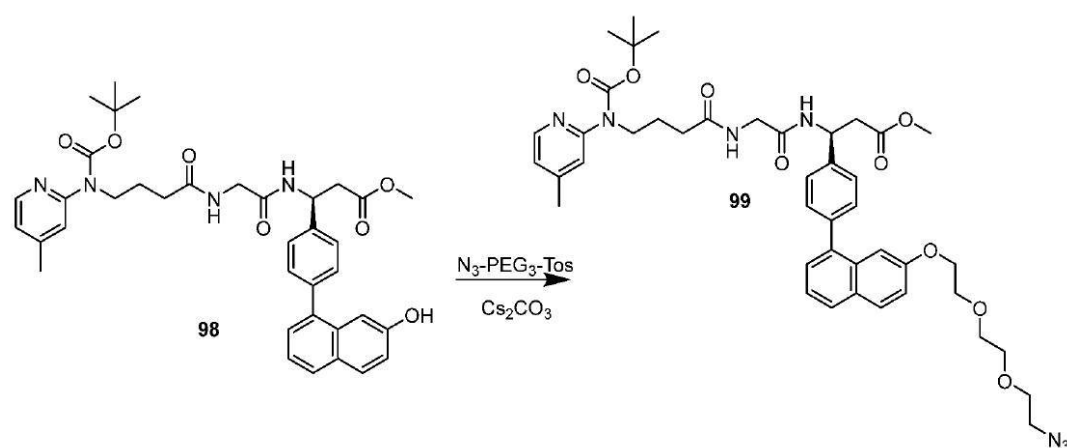


20

## 【 0 3 7 8 】

化合物 97 ( 0 . 1 1 6 g 、 0 . 1 5 7 m m o l 、 1 当量 ) を含む酢酸エチル ( 1 0 m L ) の溶液に、10 % Pd / C ( 1 0 0 m g ) を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。触媒を C e l i t e ( 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 6 5 5 . 3 1 、実測値 6 5 5 . 8 7 。

## 【 化 2 1 6 】



30

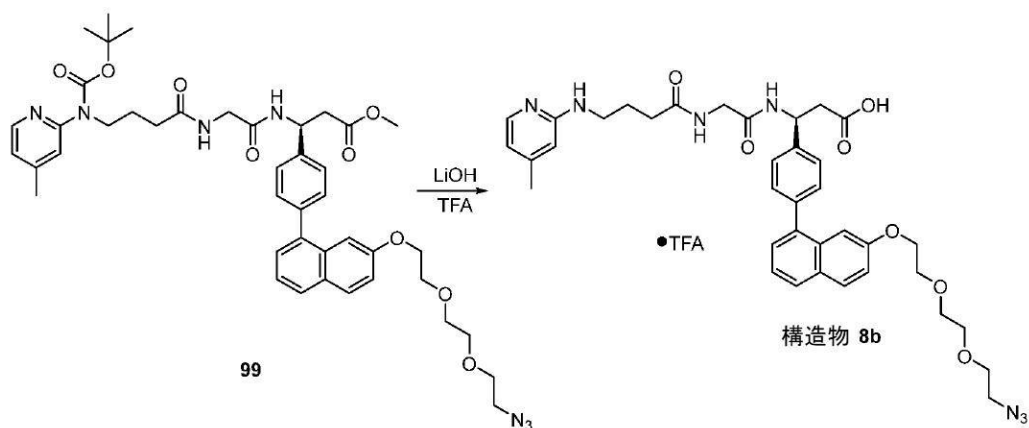
40

## 【 0 3 7 9 】

化合物 98 ( 8 7 m g 、 0 . 1 3 3 m m o l 、 1 当量 ) およびアジド - P E G <sub>3</sub> - O T s ( 8 7 m g 、 0 . 2 6 6 m m o l 、 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 2 m L ) の溶液に、 $Cs_2CO_3$  ( 8 7 m g 、 0 . 2 6 6 m m o l 、 2 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を 4 0 °C で 6 時間撹拌した。反応物を飽和  $NaHCO_3$  溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、水層を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、3 - 4 % M e O H を含む D C M で溶出した。LC - MS :  $[M + H]^+$  の計算値 8 1 2 . 3 9 、実測値 8 1 3 . 0 5 。

50

## 【化 2 1 7】



10

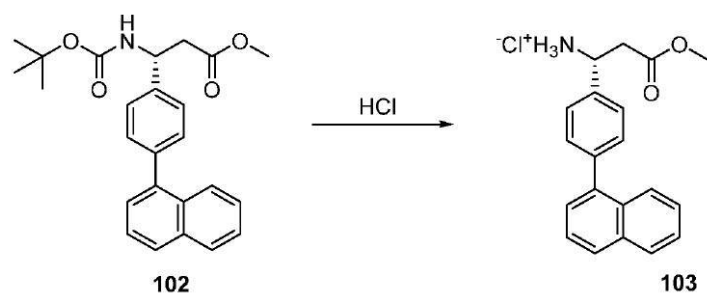
## 【 0 3 8 0】

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 時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> の計算値 698.32、実測値 698.99。

20

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 2 1 8】



30

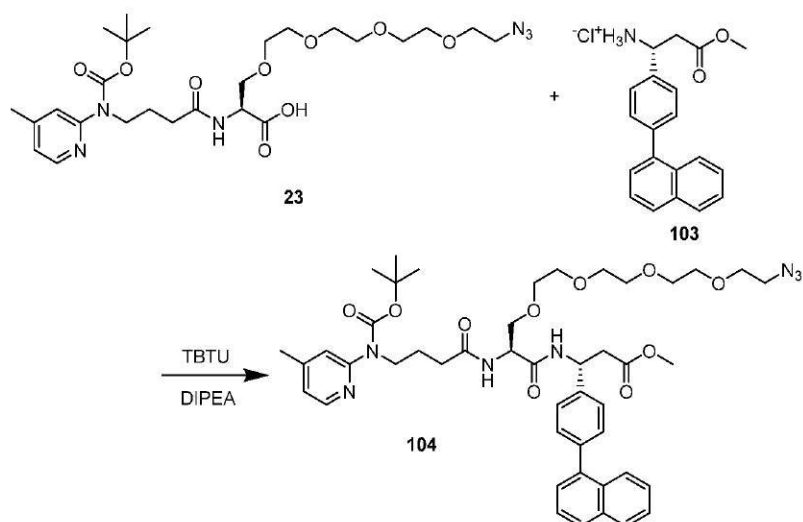
## 【 0 3 8 1】

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 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> の計算値 306.14、実測値 306.51。

40

50

## 【化 2 1 9】



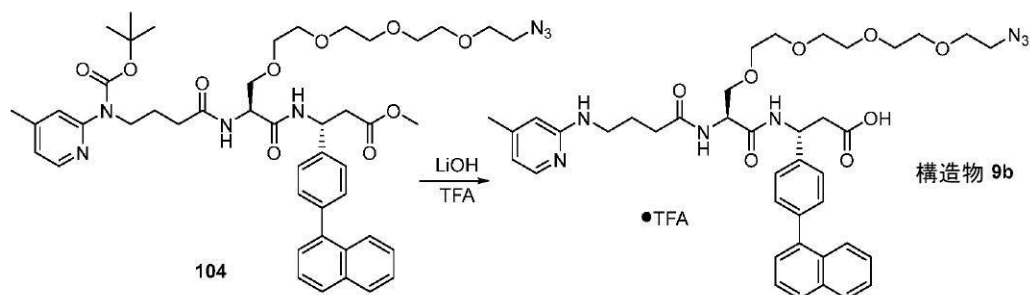
10

## 【 0 3 8 2】

化合物 23 (110 mg、0.188 mmol、1 当量)、化合物 103 (71 mg、0.207 mmol、1.10 当量)、および TBTU (72.7 mg、0.226 mmol、1.20 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 (0.1 mL、0.566 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 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 870.43、実測値 871.12。

20

## 【化 2 2 0】



30

## 【 0 3 8 3】

化合物 104 (110 mg、0.126 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 (9 mg、0.379 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を室温でさらに 1 時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> の計算値 756.36、実測値 756.88。

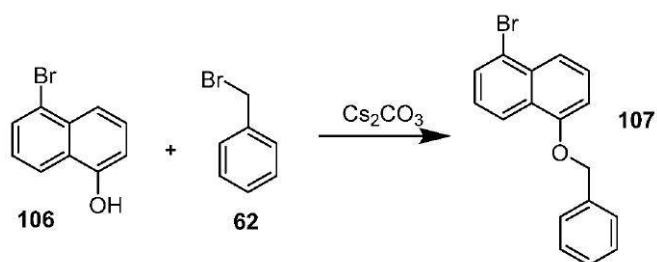
40

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。

50



## 【化 2 2 1】

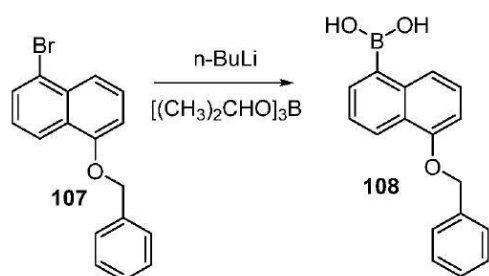


## 【 0 3 8 4】

10

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、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (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撹拌した。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 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 2 2 2】



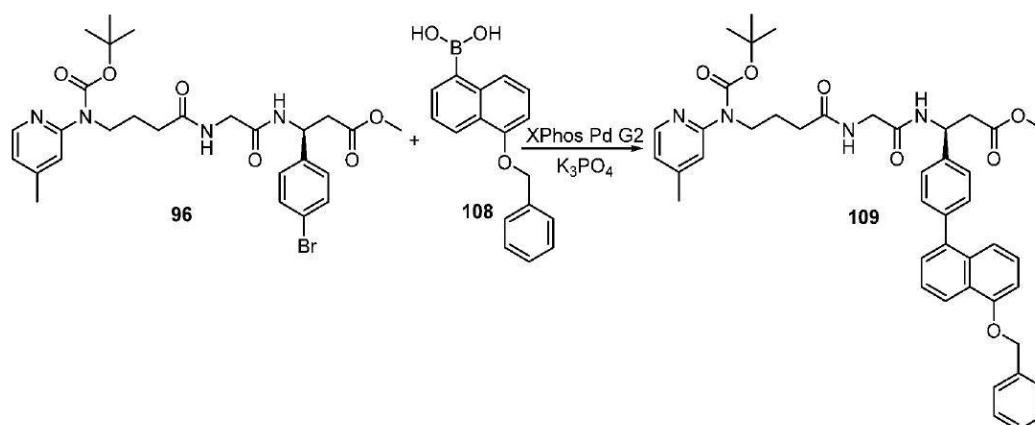
20

## 【 0 3 8 5】

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 °C で滴下して添加した。反応物を、-78 °C 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 °C で添加した。次いで、反応物を室温に加温し、さらに 1 時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  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 × 20 mL) で抽出し、有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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。

30

## 【化 2 2 3】



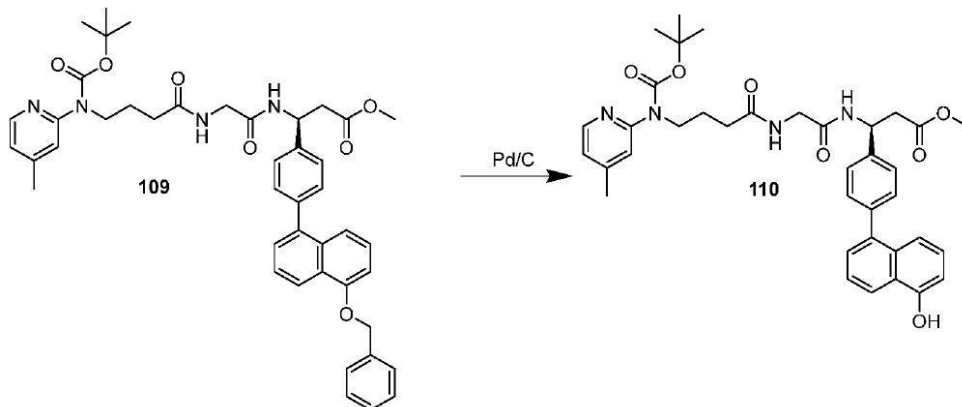
40

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 $K_3PO_4$ (72mg、0.338mmol、2.0当量)を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセブタム付きスクリ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、 $Na_2SO_4$ 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。LC-MS:  $[M+H]^+$ の計算値745.35、実測値745.99。

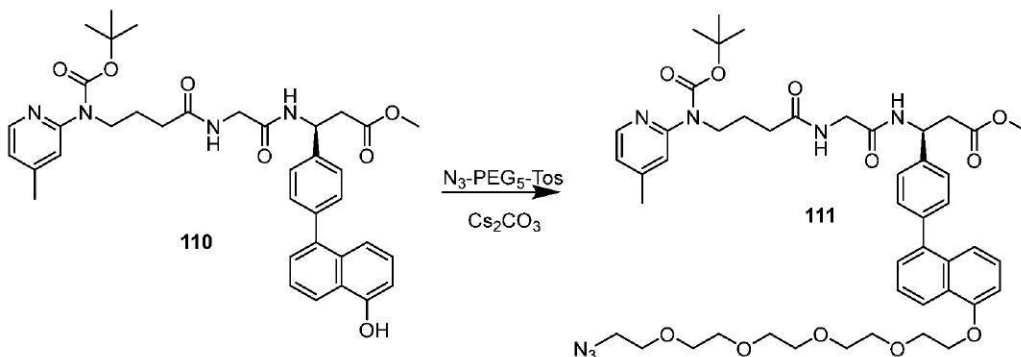
## 【化224】



## 【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撹拌した。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】

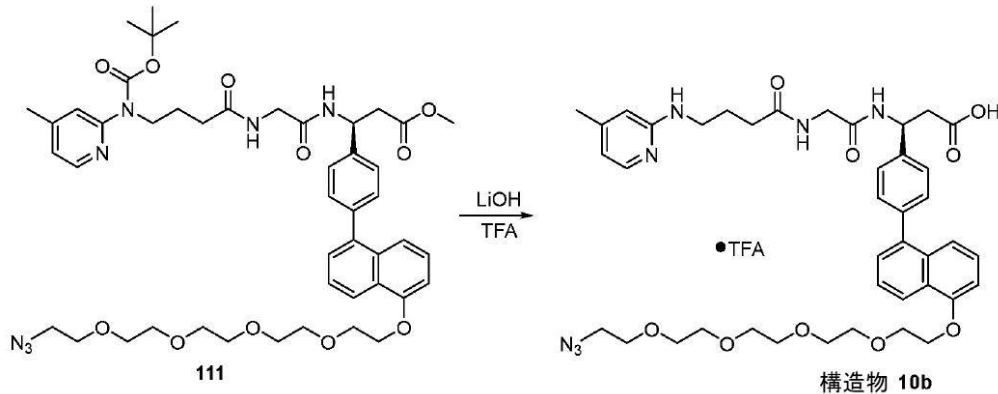


## 【0388】

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、 $Cs_2CO_3$ (50mg、0.152mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間撹拌した。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

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]<sup>+</sup>の計算値900.44、実測値901.19。

【化226】



10

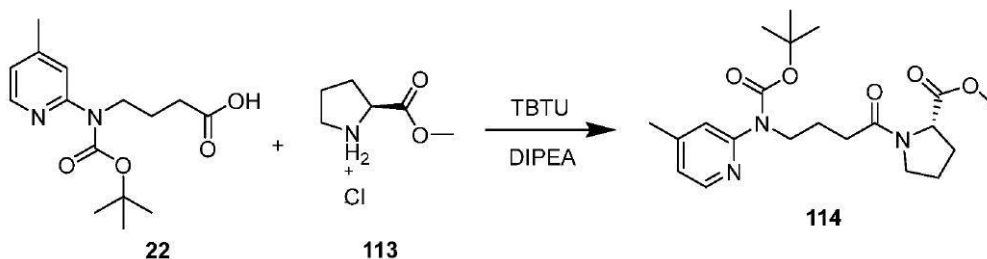
【0389】

化合物111 (43 mg、0.0478 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 (3.4 mg、0.143 mmol、3.0当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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時間撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値786.37、実測値787.04。

20

構造物11b ((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)-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】



30

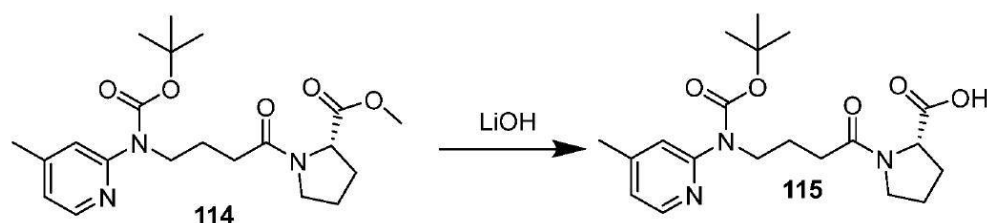
【0390】

化合物22 (500 mg、1.698 mmol、1当量)、化合物113 (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熱し、さらに1時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値406.23、実測値406.07。

40

50

## 【化 2 2 8】

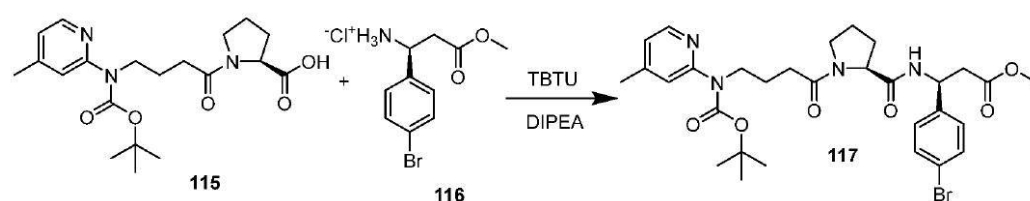


## 【 0 3 9 1】

化合物 114 (0.68 g、1.676 mmol、1 当量) を含む THF (5 mL) および H<sub>2</sub>O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム (0.12 g、5.030 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 時間の攪拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 392.21、実測値 392.39。

10

## 【化 2 2 9】



20

## 【 0 3 9 2】

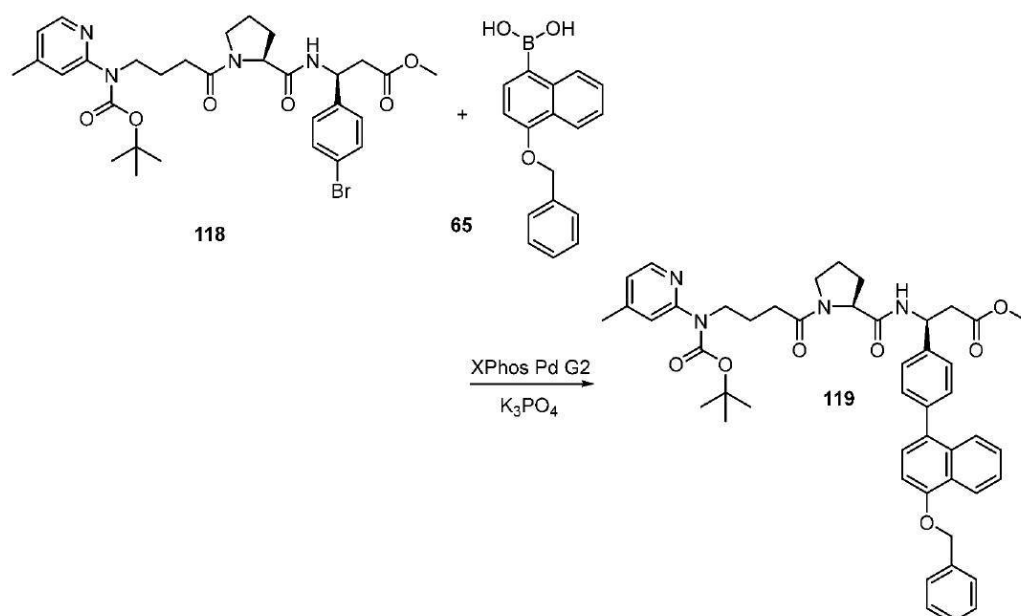
化合物 115 (300 mg、0.766 mmol、1 当量)、化合物 116 (237 mg、0.804 mmol、1.05 当量)、および TBTU (295 mg、0.919 mmol、1.2 当量) を含む無水 DMF (10 mL) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (0.400 mL、2.299 mmol、3 当量) を 0 で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに 1 時間攪拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (10 mL) によってクエンチし、生成物を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 631.21、実測値 631.46。

30

40

50

## 【化230】



10

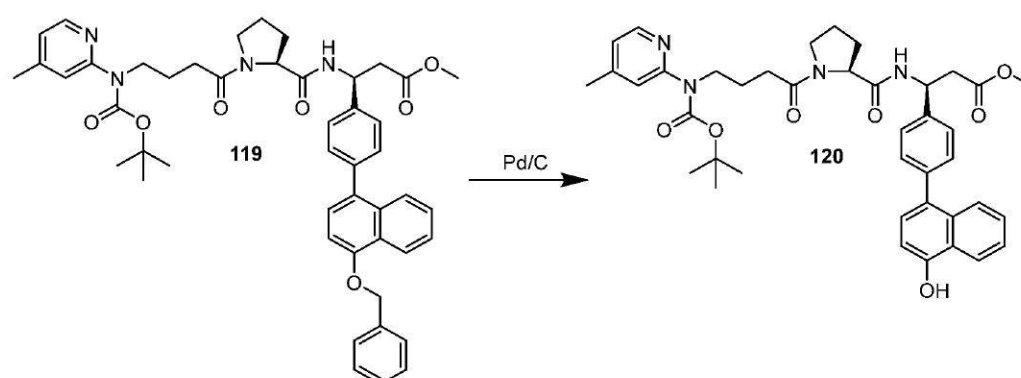
## 【0393】

化合物118(100mg、0.158mmol、1.0当量)、化合物65(66mg、0.237mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2(2.5mg、0.0032mmol、0.02当量)、および $K_3PO_4$ (67mg、0.316mmol、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(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%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]<sup>+</sup>の計算値785.38、実測値785.69。

20

30

## 【化231】



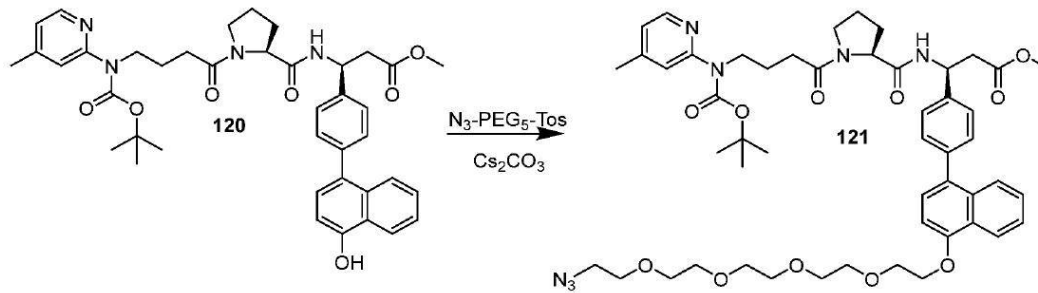
40

## 【0394】

化合物119(0.120g、0.153mmol、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撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値695.34、実測値695.66。

50

## 【化 2 3 2】

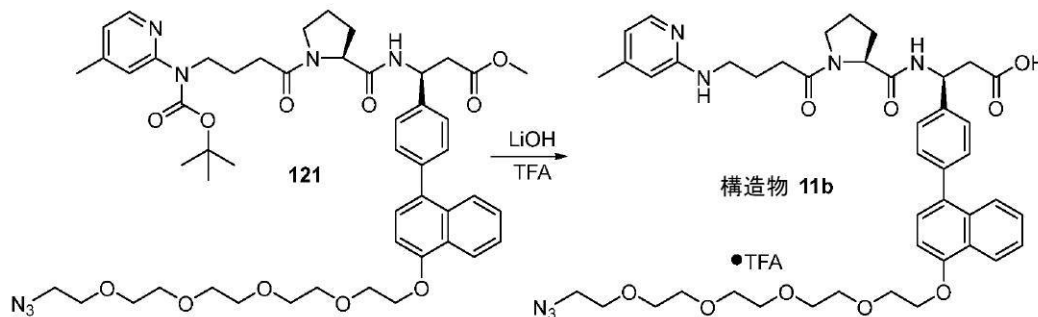


10

## 【 0 3 9 5】

化合物 120 (83 mg、0.119 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>5</sub> - OTs (100 mg、0.239 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (78 mg、0.239 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 2 3 3】



20

## 【 0 3 9 6】

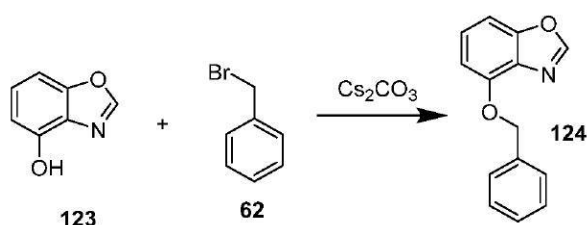
化合物 121 (89 mg、0.0947 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (6.8 mg、0.284 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエ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

30

構造物 12b ((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)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。

40

## 【化 2 3 4】

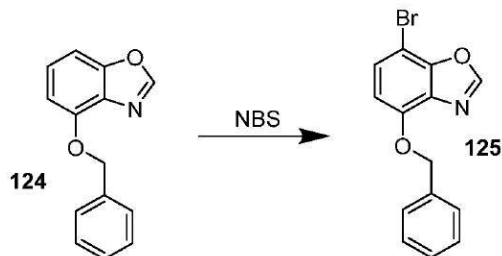


50

## 【 0 3 9 7 】

化合物 1 2 3 ( 1 . 0 g、7 . 4 0 m m o l、1 当量)、および化合物 6 2 ( 1 . 3 2 m L、1 1 . 1 0 m m o l、1 . 5 当量) を含む無水 D M F ( 1 0 m L ) の溶液に、 $Cs_2CO_3$  ( 3 . 6 2 g、1 1 . 1 0 m m o l、1 . 5 当量) を 0 で添加した。反応混合物を室温に加温し、一晚撹拌した。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  $Na_2SO_4$  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 C o m b i F l a s h ( 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 8 5 %。

## 【 化 2 3 5 】



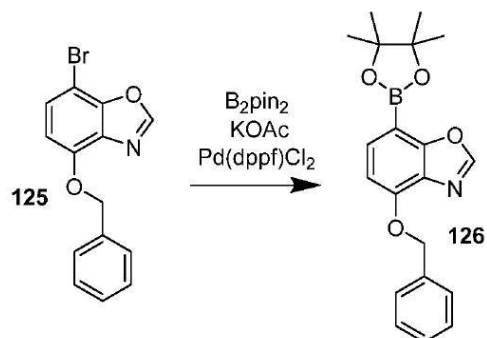
10

## 【 0 3 9 8 】

化合物 1 2 4 ( 1 . 4 2 5 g、6 . 3 2 6 m m o l、1 当量) を含む無水アセトニトリル ( 2 0 m L ) の溶液に、N - ブロモスクシンイミド ( 1 . 2 1 6 g、6 . 8 3 2 m m o l、1 . 0 8 当量) を 0 で分割して添加した。反応混合物を 0 でさらに 3 0 分間保持し、次いで、室温に加温し、一晚撹拌した。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 C o m b i F l a s h ( 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 6 5 %。LC - MS : [ M + H ] + の計算値 3 0 3 . 9 9。実測値 3 0 4 . 0 8。

20

## 【 化 2 3 6 】



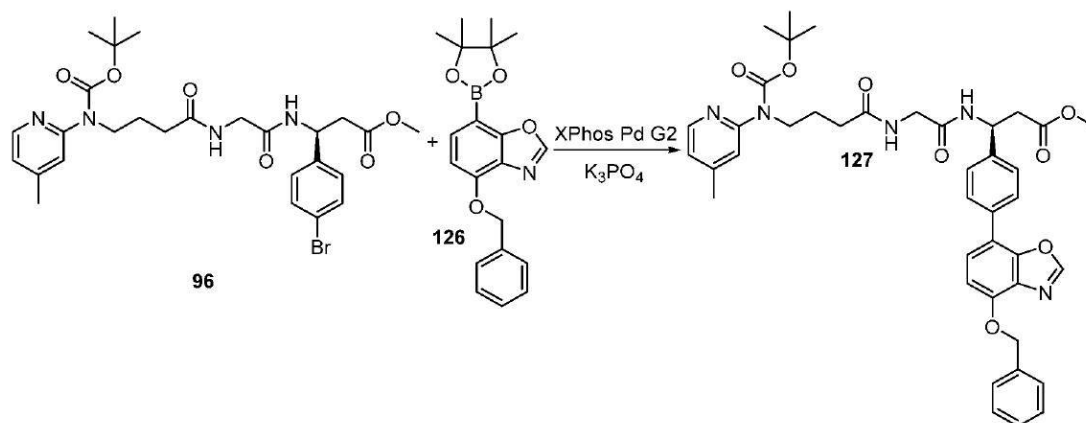
30

## 【 0 3 9 9 】

化合物 1 2 5 ( 1 . 3 3 9 g、4 . 4 0 2 m m o l、1 当量)、ビス ( ピナコラト ) ジボロン ( 2 . 2 3 6 g、8 . 8 0 5 m m o l、2 当量)、酢酸カリウム ( 0 . 8 6 4 g、8 . 8 0 5 m m o l、2 当量)、および  $Pd(dppf)Cl_2$  ( 1 6 1 m g、0 . 2 2 0 m m o l、0 . 0 5 当量) を含む 1 5 m L の無水 1 , 4 - ジオキサンの混合物を、1 0 0 の窒素下で 8 時間撹拌した。濃縮後、残渣を  $H_2O$  と D C M との間で分配し、水相を D C M 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標) によって精製し、1 5 - 2 0 % 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 3 5 2 . 1 6、実測値 3 5 2 . 0 6。

40

## 【化 2 3 7】



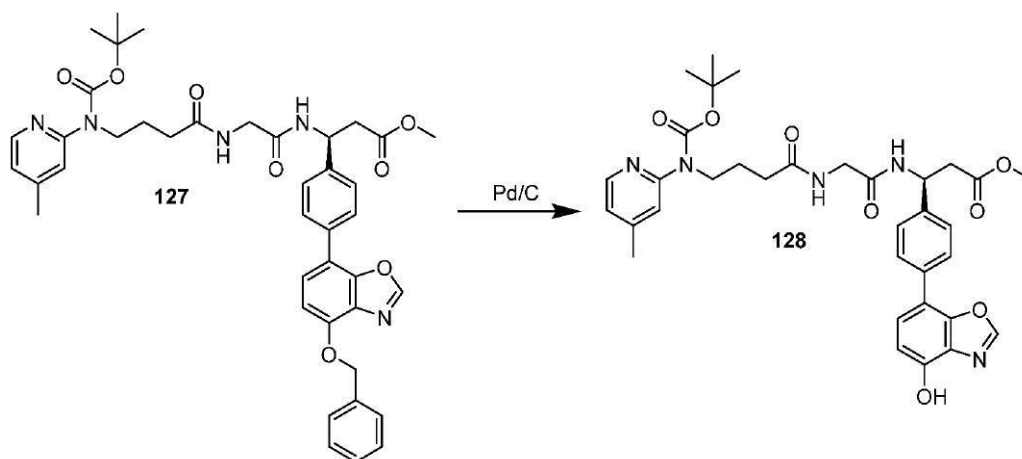
10

## 【 0 4 0 0】

化合物 96 (200 mg、0.338 mmol、1.0 当量)、化合物 126 (178 mg、0.507 mmol、1.5 当量)、XPhos Pd G2 (5.3 mg、0.0068 mmol、0.02 当量)、および  $K_3PO_4$  (143 mg、0.676 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 分間バブリングし、反応物を 40℃ で 1 時間保持した。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、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。

20

## 【化 2 3 8】



30

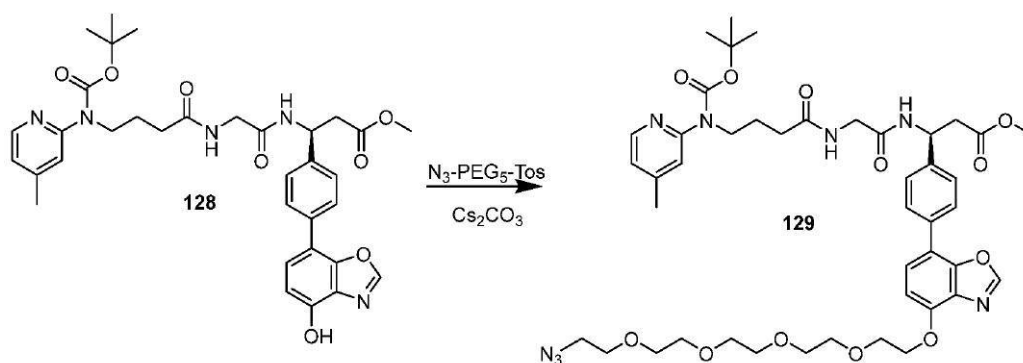
## 【 0 4 0 1】

化合物 127 (0.219 g、0.297 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 646.28、実測値 646.78。

40



## 【化 2 3 9】



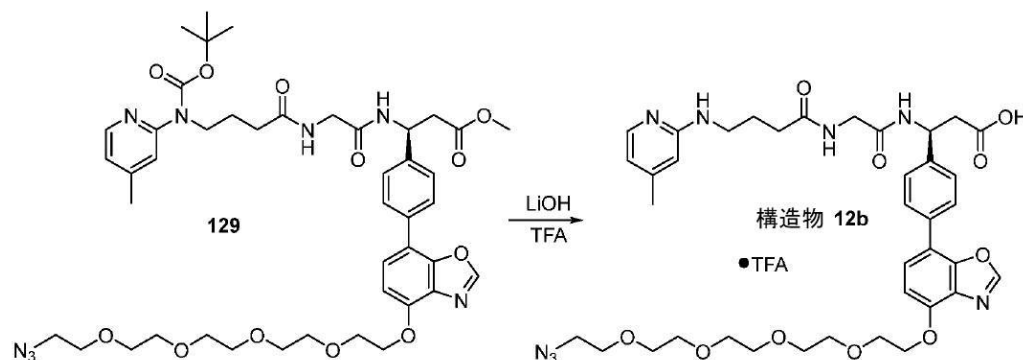
10

## 【 0 4 0 2】

化合物 128 (73 mg、0.113 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>5</sub> - OTs (94 mg、0.226 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (74 mg、0.226 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 80% である。LC-MS:  $[M+H]^+$  の計算値 891.42、実測値 892.00。

20

## 【化 2 4 0】



30

## 【 0 4 0 3】

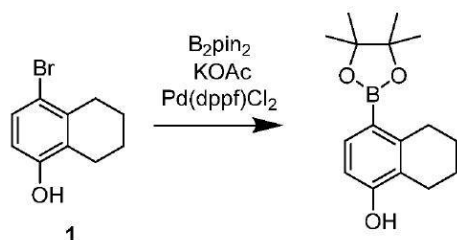
化合物 129 (43 mg、0.0478 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (3.4 mg、0.143 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を室温で1時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。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

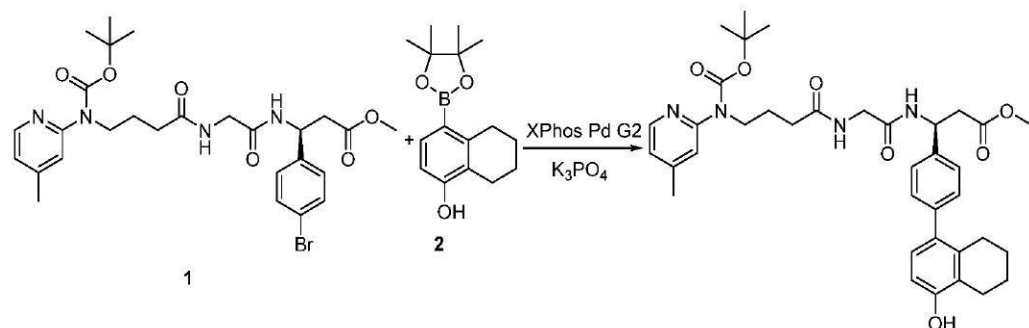
## 【化 2 4 1】



## 【 0 4 0 4】

化合物 1 ( 3 0 0 m g 、 1 . 3 2 1 m m o l 、 1 当量 ) 、ビス ( ピナコラト ) ジボロン ( 6 7 1 m g 、 2 . 6 4 2 m m o l 、 2 当量 ) 、酢酸カリウム ( 3 8 9 m g 、 3 . 9 6 3 m m o l 、 2 当量 ) 、および P d ( d p p f ) C l <sub>2</sub> ( 4 8 m g 、 0 . 0 6 6 m m o l 、 0 . 0 5 当量 ) を含む 1 0 m L の無水 1 , 4 - ジオキサンを、 8 0 ° で窒素にて一晩撹拌した。濃縮後、残渣を H<sub>2</sub>O と D C M との間で分配し、水相を D C M で抽出し、合わせた有機層をブラインで洗浄し、 N a<sub>2</sub>S O<sub>4</sub> 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 ) によって精製し、 1 0 % 酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。 L C - M S : [ M - H ]<sup>-</sup> の計算値 2 7 3 . 1 7 、実測値 2 7 3 . 2 9 。

## 【化 2 4 2】



## 【 0 4 0 5】

化合物 1 ( 1 0 0 m g 、 0 . 1 6 9 m m o l 、 1 . 0 当量 ) 、化合物 2 ( 7 0 m g 、 0 . 2 5 3 m m o l 、 1 . 5 当量 ) 、 X P h o s P d G 2 ( 2 . 7 m g 、 0 . 0 0 3 4 m m o l 、 0 . 0 2 当量 ) 、および K<sub>3</sub>P O<sub>4</sub> ( 7 2 m g 、 0 . 3 3 8 m m o l 、 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、 T H F ( 5 m L ) および水 ( 1 m L ) をシリンジで添加した。混合物を窒素で 2 0 分間バブリングし、反応物を 4 0 ° 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 N a H C O<sub>3</sub> ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、 N a<sub>2</sub>S O<sub>4</sub> 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、 4 - 5 % メタノールを含む D C M で溶出した。 L C - M S : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 6 5 9 . 3 4 、実測値 6 5 9 . 5 7 。

10

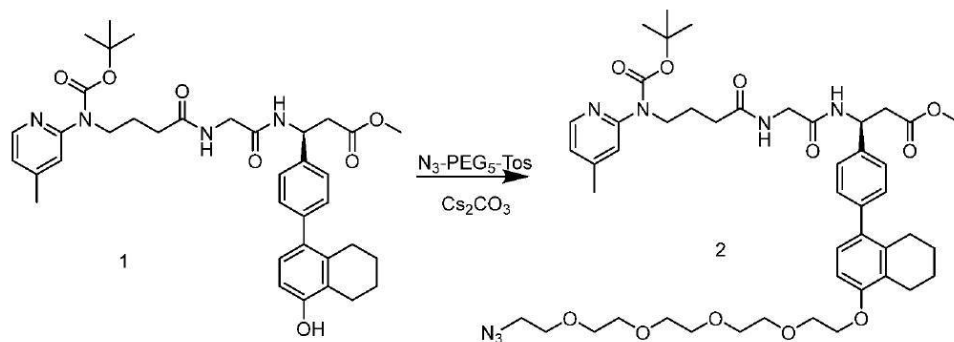
20

30

40

50

## 【化 2 4 3】



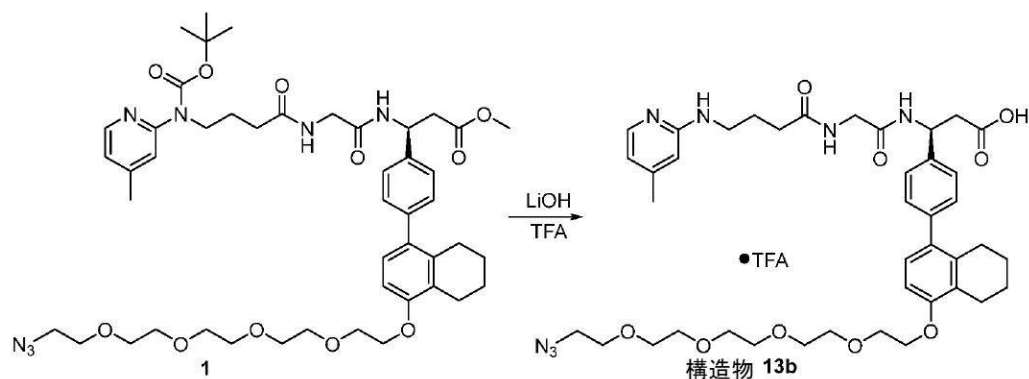
10

## 【 0 4 0 6】

化合物 1 (30 mg、0.0455 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>5</sub> - OTs (38 mg、0.0911 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (30 mg、0.0911 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、40 で 3 時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 70% である。LC-MS:  $[M+H]^+$  の計算値 904.47、実測値 904.88。

20

## 【化 2 4 4】



30

## 【 0 4 0 7】

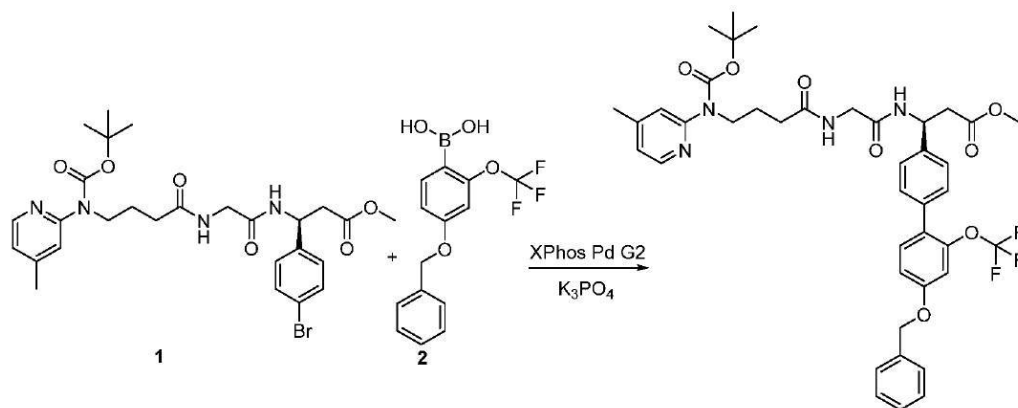
化合物 1 (29 mg、0.0321 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (2.3 mg、0.0962 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバポレ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 2 4 5】



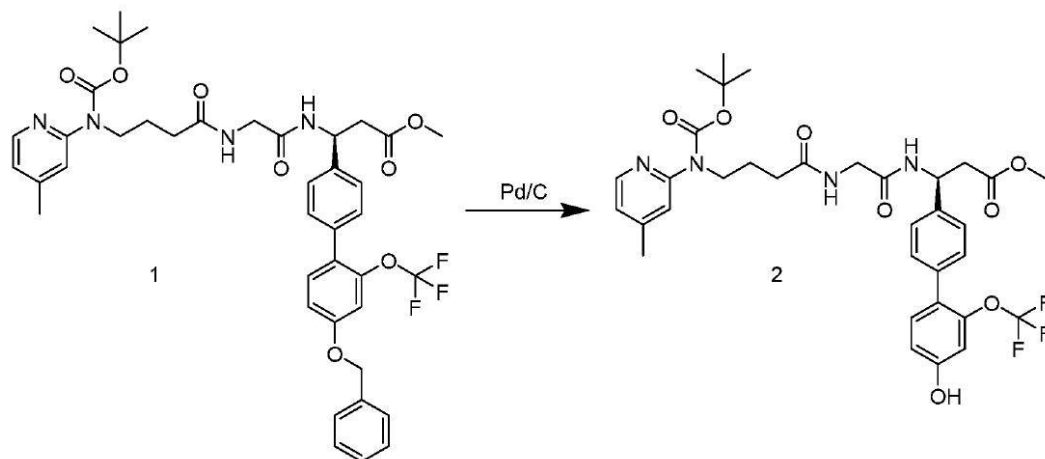
10

## 【 0 4 0 8】

化合物 1 ( 1 5 0 m g 、 0 . 2 5 3 m m o l 、 1 . 0 当量 ) 、 化合物 2 ( 1 1 8 m g 、 0 . 3 8 0 m m o l 、 1 . 5 当量 ) 、 X P h o s P d G 2 ( 4 m g 、 0 . 0 0 5 1 m m o l 、 0 . 0 2 当量 ) 、 および K<sub>3</sub>P O<sub>4</sub> ( 1 0 7 m g 、 0 . 5 0 7 m m o l 、 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ウ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、T H F ( 5 m L ) および水 ( 1 m L ) をシリンジで添加した。混合物を窒素で 1 0 分間バブリングし、反応物を 4 0 ° で一晩保持した。反応物を水 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、N a<sub>2</sub>S O<sub>4</sub> 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 C o m b i F l a s h (登録商標) によって分離し、2 - 4 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 7 7 9 . 3 2 、実測値 7 7 9 . 6 5 。

20

## 【化 2 4 6】



30

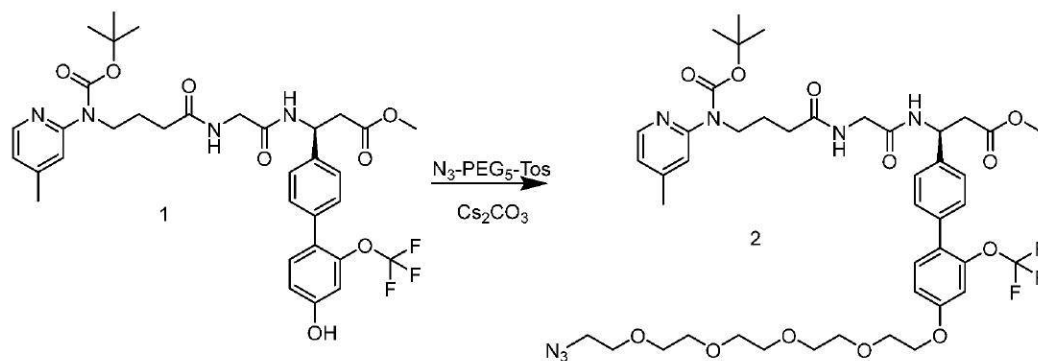
## 【 0 4 0 9】

化合物 1 ( 0 . 1 9 g 、 0 . 2 4 4 m m o l 、 1 当量 ) を含む酢酸エチル ( 1 0 m L ) の溶液に、1 0 % P d / C ( 1 0 0 m g ) 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撹拌した。触媒を C e l i t e (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。L C - M S : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 6 8 9 . 2 7 、実測値 6 8 9 . 5 4 。

40

50

## 【化 2 4 7】



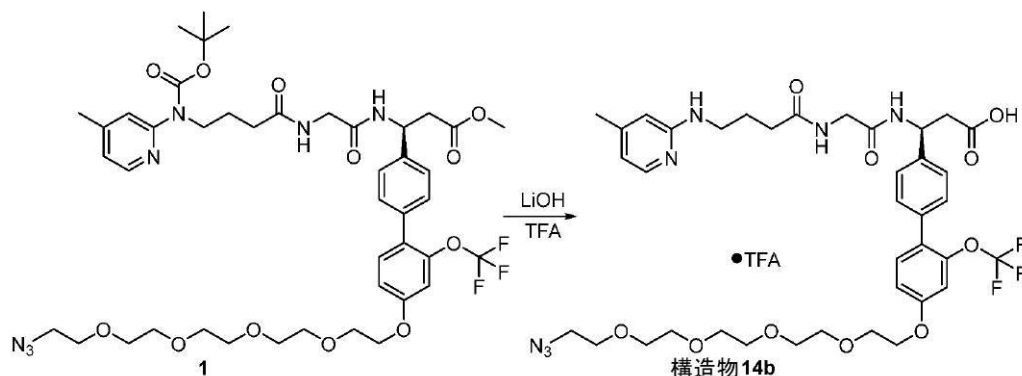
10

## 【 0 4 1 0】

化合物 1 (80 mg、0.116 mmol、1 当量) およびアジド - PEG<sub>5</sub> - OTs (97 mg、0.232 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (76 mg、0.232 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、40℃で3時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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。収率は 82 % であった。LC - MS:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  の計算値 934.41、実測値 935.04。

20

## 【化 2 4 8】



30

## 【 0 4 1 1】

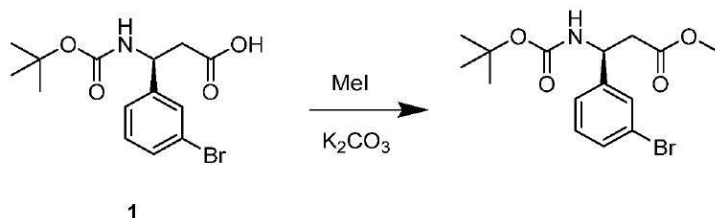
化合物 1 (90 mg、0.0964 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (7 mg、0.289 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間撹拌した。 $\text{HCl}$  (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮した。 $\text{TFA}$  (4 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。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:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  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 2 4 9】

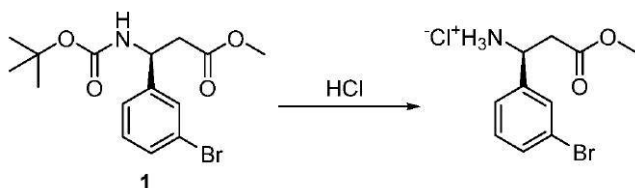


## 【 0 4 1 2】

化合物 1 ( 1 . 0 g 、 2 . 9 0 m m o l 、 1 当量 ) および炭酸カリウム ( 0 . 6 0 g 、 4 . 3 6 m m o l 、 1 . 5 当量 ) を含む無水 D M F ( 1 0 m L ) の溶液に、ヨウ化メチル ( 3 6 2  $\mu$  L 、 5 . 8 1 m m o l 、 2 . 0 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を室温で 1 時間撹拌した。次いで、反応物を水 ( 2 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3  $\times$  1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、無水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 C o m b i F l a s h ( 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 3 5 8 . 0 6 、実測値 3 5 8 . 1 8 。

10

## 【化 2 5 0】



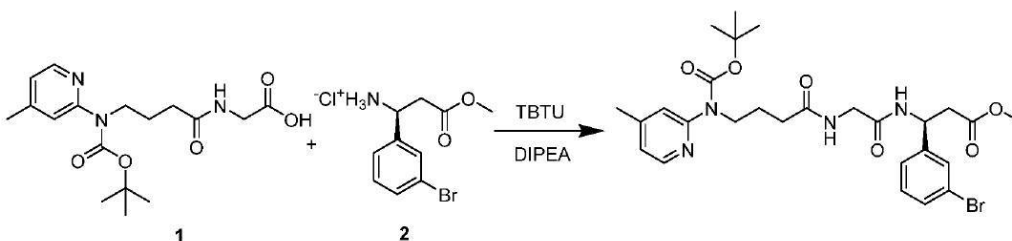
20

## 【 0 4 1 3】

化合物 1 ( 8 5 8 m g 、 1 . 6 7 7 m m o l 、 1 . 0 当量 ) を氷浴によって冷却した。H C l を含むジオキサン ( 8 . 4 m L 、 3 3 . 5 4 m m o l 、 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 時間撹拌した。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 2 5 8 . 0 1 、実測値 2 5 8 . 0 8 。

30

## 【化 2 5 1】



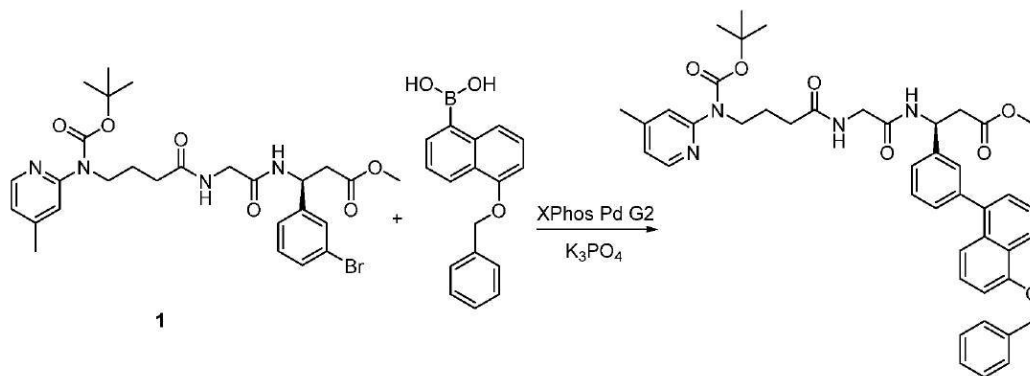
## 【 0 4 1 4】

化合物 1 ( 6 4 0 m g 、 1 . 8 2 1 m m o l 、 1 当量 ) 、化合物 2 ( 5 9 0 m g 、 2 . 0 0 3 m m o l 、 1 . 1 0 当量 ) 、および T B T U ( 7 0 2 m g 、 2 . 1 8 5 m m o l 、 1 . 2 0 当量 ) を含む無水 D M F ( 1 0 m L ) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 9 5 2 m L 、 5 . 4 6 4 m m o l 、 3 当量 ) を 0  $^{\circ}\text{C}$  で添加した。反応混合物を室温に加温し、さらに 1 時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、生成物を酢酸エチル ( 3  $\times$  1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって精製し、3 - 4% メタノールを含む D C M で溶出した。LC - MS : [ M + H ]  $^{+}$  の計算値 5 9 1 . 1 7 、実測値 5 9 1 . 4 0 。

40

50

## 【化 2 5 2】

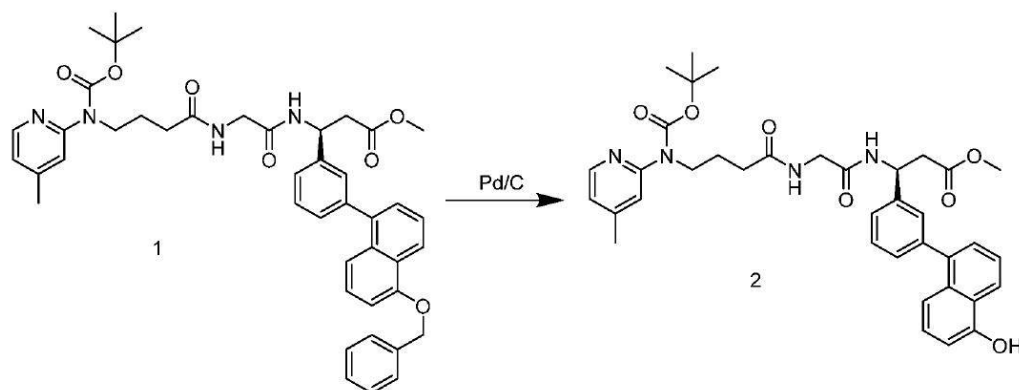


## 【 0 4 1 5】

化合物 1 (150 mg、0.253 mmol、1.0 当量)、化合物 2 (106 mg、0.380 mmol、1.5 当量)、XPhos Pd G2 (4 mg、0.0051 mmol、0.02 当量)、および  $K_3PO_4$  (107 mg、0.507 mmol、2.0 当量) を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセブタム付きスクリ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 分間バブリングし、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 745.35、実測値 745.99。

20

## 【化 2 5 3】

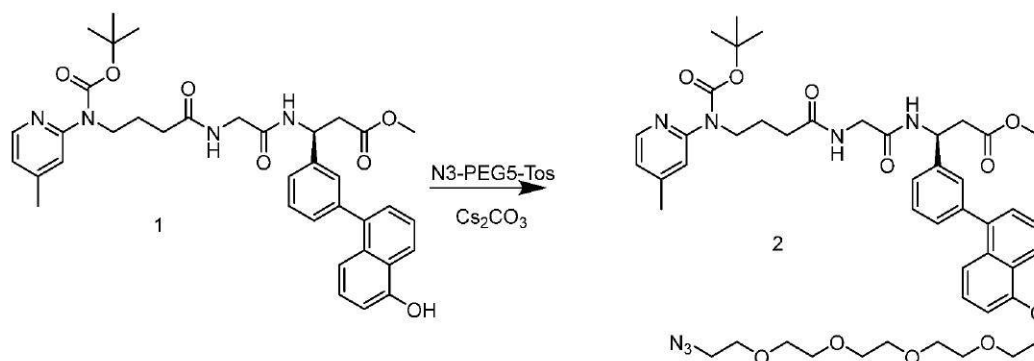


## 【 0 4 1 6】

化合物 1 (0.189 g、0.253 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。

40

## 【化 2 5 4】



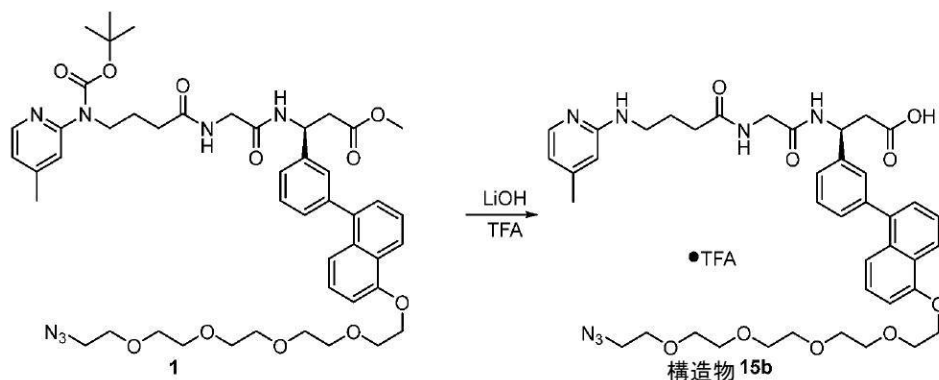
10

## 【 0 4 1 7】

化合物 1 ( 8 0 m g 、 0 . 1 2 2 m m o l 、 1 当量 ) およびアジド - P E G <sub>5</sub> - O T s ( 1 0 2 m g 、 0 . 2 4 4 m m o l 、 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 2 m L ) の溶液に、 C s <sub>2</sub> C O <sub>3</sub> ( 8 0 m g 、 0 . 2 4 4 m m o l 、 2 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を、 4 0 ° C で 3 時間撹拌した。反応物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、水層を酢酸エチル ( 3 × 5 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、 N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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 ) によって精製し、 1 - 2 % メタノールを含む D C M で溶出した。収率は 9 0 % である。 L C - M S : 計算値 9 0 0 . 4 4 、実測値 9 0 1 . 1 0 。

20

## 【化 2 5 5】



30

## 【 0 4 1 8】

化合物 1 ( 1 0 0 m g 、 0 . 1 1 1 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 ( 8 m g 、 0 . 3 3 3 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 1 時間撹拌した。 H C l ( 6 N ) によって p H 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 <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。 T F A ( 4 m L ) および D C M ( 2 m L ) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。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 ] <sup>+</sup> の計算値 7 8 6 . 3 7 、実測値 7 8 6 . 9 5 。

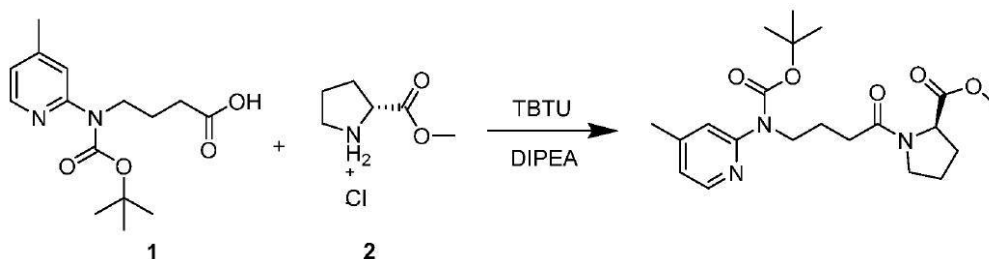
40

構造物 1 6 b ( ( S ) - 3 - ( 4 - ( 4 - ( ( 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 ) 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



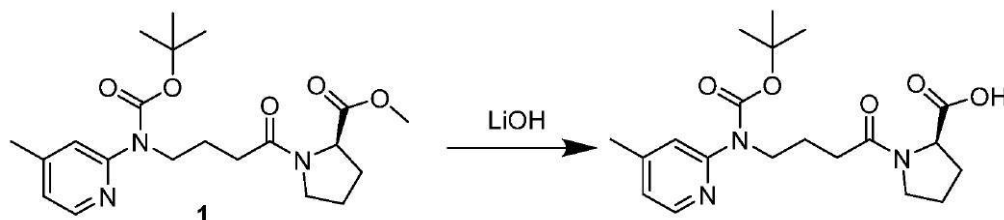
## 【化 2 5 6】



## 【0 4 1 9】

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熱し、さらに 1 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 98.43 % である。LC - MS : [M + H]<sup>+</sup> の計算値 406.23、実測値 406.34。

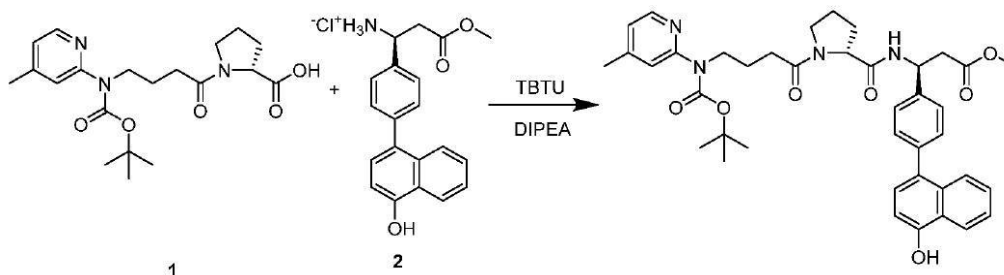
## 【化 2 5 7】



## 【0 4 2 0】

化合物 1 (0.678 g、1.672 mmol、1 当量) を含む THF (10 mL) および H<sub>2</sub>O (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熱した。室温で 1 時間の撹拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 392.21、実測値 392.39。

## 【化 2 5 8】

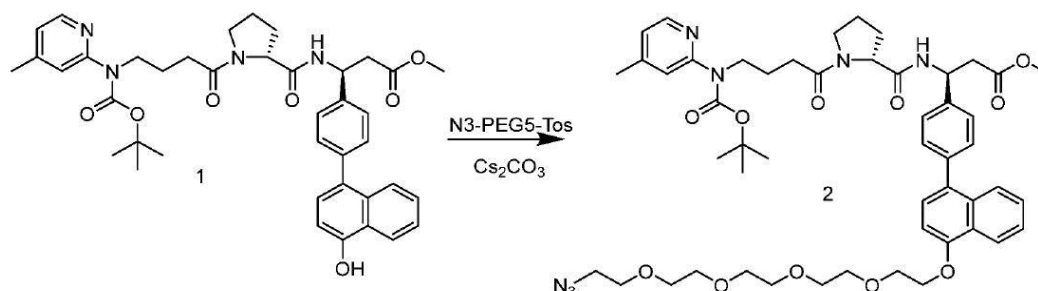


## 【0 4 2 1】

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熱

し、さらに1時間撹拌した。反応物を飽和 $\text{NaHCO}_3$ 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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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。収率は86 %である。LC - MS :  $[\text{M} + \text{H}]^+$ の計算値695.34、実測値695.93。

#### 【化259】



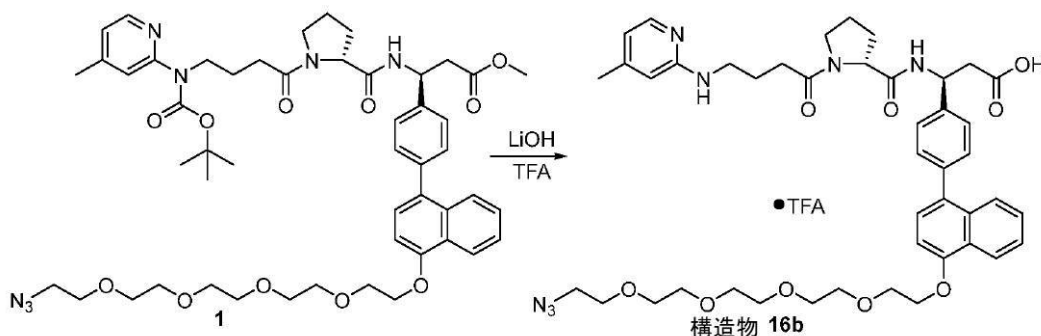
10

#### 【0422】

化合物1(80 mg、0.115 mmol、1当量)およびアジド - PEG5 - OTs(96 mg、0.230 mmol、2当量)を含む無水DMF(2 mL)の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (75 mg、0.230 mmol、2当量)を室温で添加した。反応混合物を、40 °Cで3時間撹拌した。反応物を飽和 $\text{NaHCO}_3$ 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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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 - 5 %メタノールを含むDCMで溶出した。収率は60 %である。

20

#### 【化260】



30

#### 【0423】

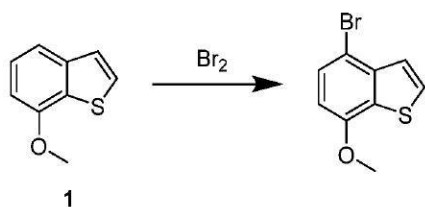
化合物1(65 mg、0.0691 mmol、1.0当量)を含むTHF(2 mL)および水(2 mL)の溶液に、水酸化リチウム(5 mg、0.207 mmol、3.0当量)を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間撹拌した。HCl(6 N)によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc(3 × 10 mL)で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮した。TFA(4 mL)およびDCM(2 mL)を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。溶媒を、ロータリーエバポレーターによって除去した。LC - MS :  $[\text{M} + \text{H}]^+$ 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。

50

## 【化 2 6 1】

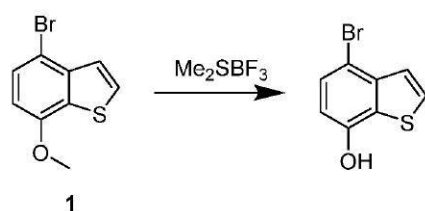


## 【 0 4 2 4】

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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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 2 6 2】



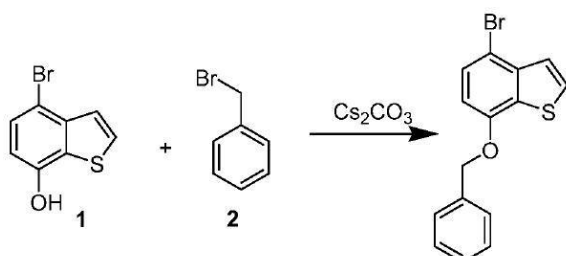
20

## 【 0 4 2 5】

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  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液（20 mL）でクエンチした。水相を酢酸エチル（3 × 20 mL）で抽出し、有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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:  $[\text{M} - \text{H}]^-$  の計算値 226.92、実測値 227.03。

30

## 【化 2 6 3】



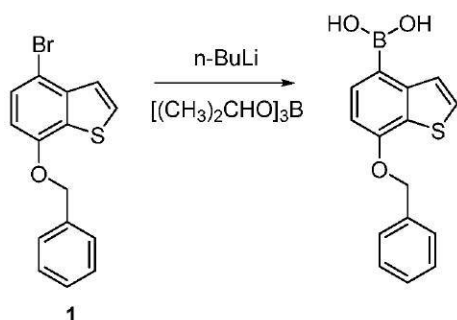
40

## 【 0 4 2 6】

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、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ （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 × 10 mL）で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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 2 6 4】



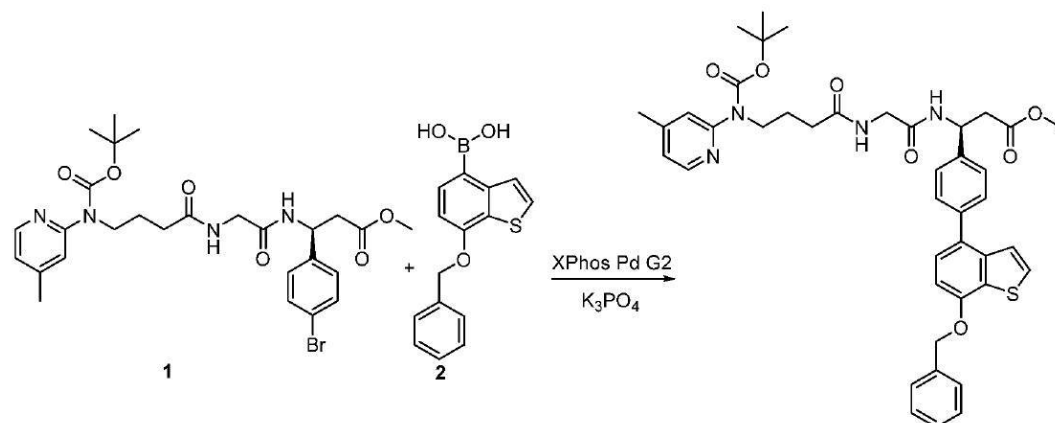
10

## 【 0 4 2 7】

化合物 1 ( 2 . 2 2 g、6 . 9 5 4 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 ( 4 . 1 7 m L、1 0 . 4 3 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。トリイソプロピルボレート ( 2 . 4 0 m L、1 0 . 4 3 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、反応物を室温まで加温し、さらに 1 時間撹拌した。反応物を飽和 N H <sub>4</sub> C 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 a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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、4 - 6 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M - H ]<sup>-</sup> の計算値 2 8 3 . 0 7、実測値 2 8 3 . 2 0。

20

## 【化 2 6 5】



30

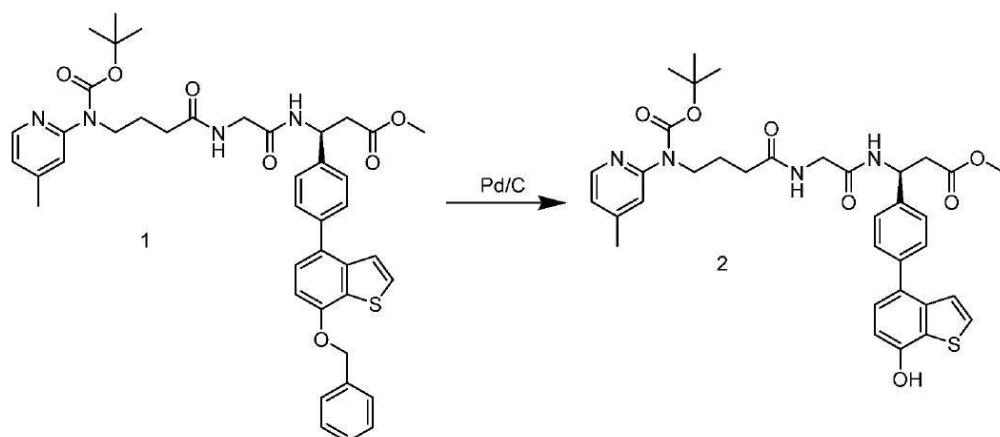
## 【 0 4 2 8】

化合物 1 ( 4 0 0 m g、0 . 6 7 6 m m o l、1 . 0 当量 )、化合物 2 ( 2 8 8 m g、1 . 0 1 m m o l、1 . 5 当量 )、X P h o s P d G 2 ( 1 0 m g、0 . 0 1 3 5 m m o l、0 . 0 2 当量 )、および K <sub>3</sub> P O <sub>4</sub> ( 2 8 7 m g、1 . 3 5 2 m m o l、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、T H F ( 8 m L ) および水 ( 2 m L ) をシリンジで添加した。混合物を窒素で 1 0 分間バブリングし、反応物を 4 0 ° で 2 時間保持した。反応物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、3 - 4 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 7 5 1 . 3 1、実測値 7 5 1 . 8 4。

40

50

## 【化 2 6 6】



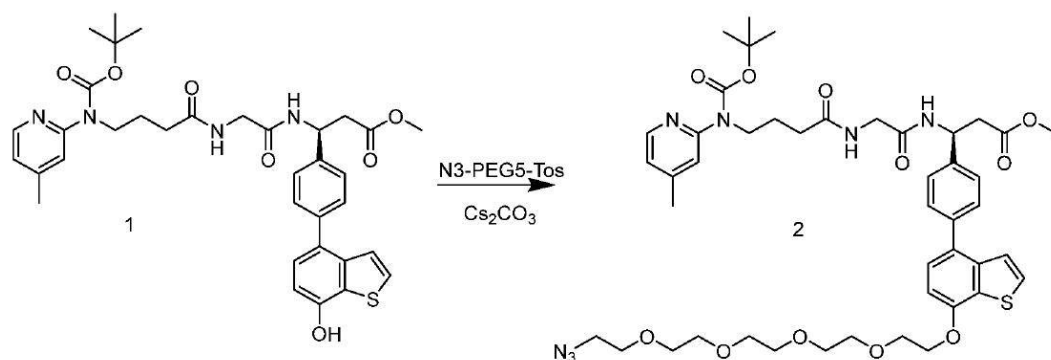
10

## 【 0 4 2 9】

化合物 1 ( 0 . 5 0 g 、 0 . 6 6 6 m m o l 、 1 当量 ) を含む酢酸エチル ( 1 0 m L ) の溶液に、 1 0 % P d / C ( 1 0 0 m g ) 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 C e l i t e ( 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、 5 % メタノールを含む D C M で溶出した。 L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 6 6 1 . 2 6 、実測値 6 6 1 . 7 3 。

20

## 【化 2 6 7】



30

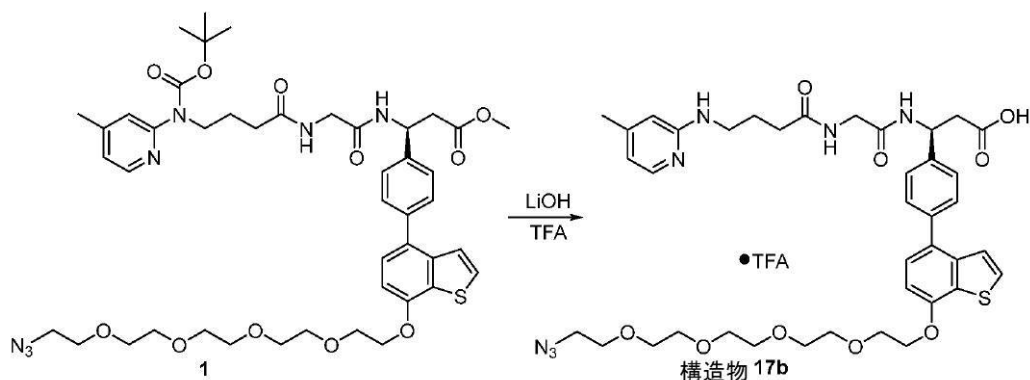
## 【 0 4 3 0】

化合物 1 ( 1 3 0 m g 、 0 . 1 9 6 m m o l 、 1 当量 ) およびアジド - P E G 5 - O T s ( 1 6 4 m g 、 0 . 3 9 3 m m o l 、 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 2 m L ) の溶液に、 C s <sub>2</sub> C O <sub>3</sub> ( 1 2 8 m g 、 0 . 3 9 3 m m o l 、 2 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を、 4 0 ° で 3 時間攪拌した。反応物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、水層を酢酸エチル ( 3 × 5 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、 N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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 ) によって精製し、 3 - 4 % メタノールを含む D C M で溶出した。収率は 8 2 % である。 L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 9 0 6 . 4 0 、実測値 9 0 6 . 9 5 。

40

50

## 【化 2 6 8】



10

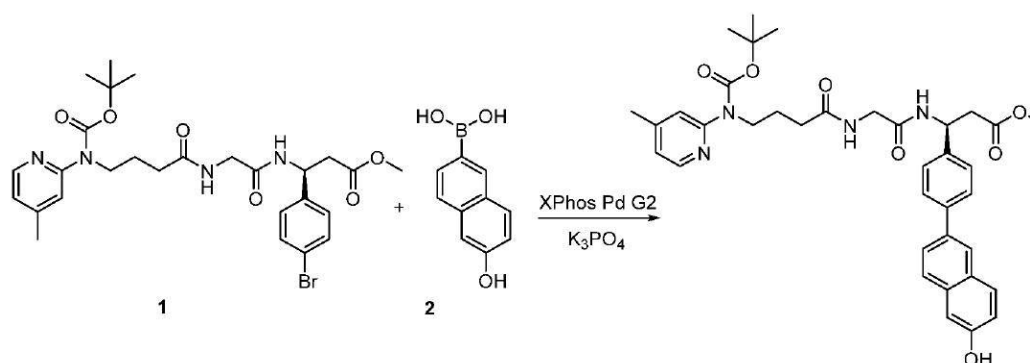
## 【 0 4 3 1】

化合物 1 (147 mg、0.162 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 (12 mg、0.486 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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、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]<sup>+</sup> の計算値 792.33、実測値 792.89。

20

構造物 18b ((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

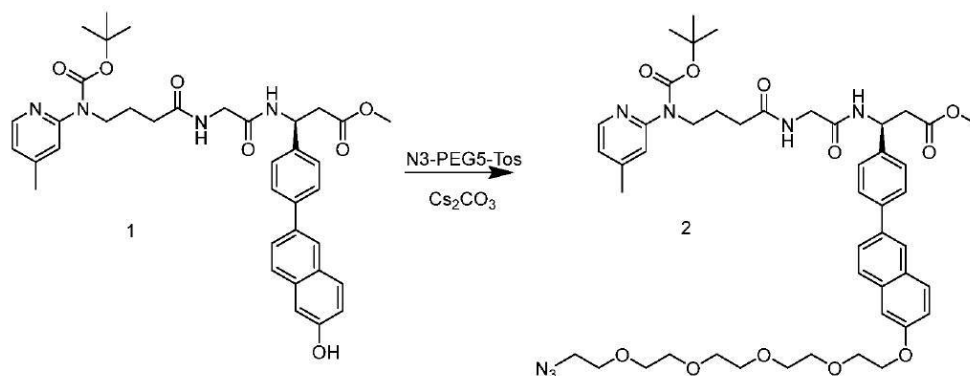
## 【 0 4 3 2】

化合物 1 (150 mg、0.253 mmol、1.0 当量)、化合物 2 (71.5 mg、0.380 mmol、1.5 当量)、XPhos Pd G2 (4 mg、0.0051 mmol、0.02 当量)、および K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (107 mg、0.507 mmol、2.0 当量) を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセブタム付きスクリ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 分間バブリングし、反応物を 40 °C 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 655.31、実測値 655.87。

40

50

## 【化 2 7 0】



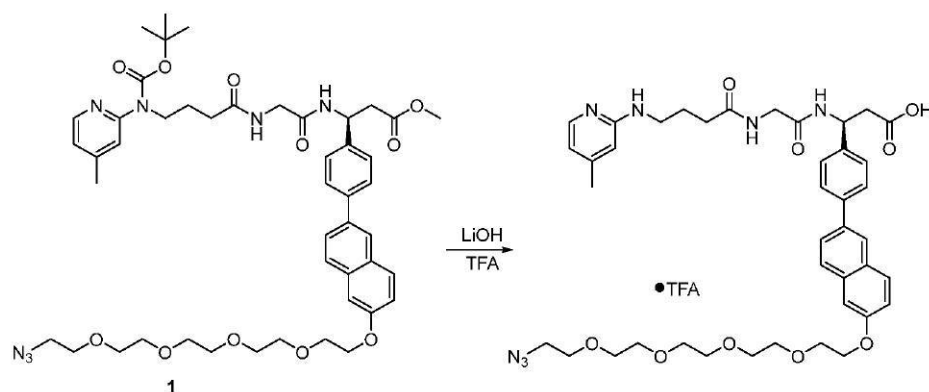
10

## 【 0 4 3 3】

化合物 1 (160 mg、0.244 mmol、1 当量) およびアジド - PEG 5 - OTs (204 mg、0.488 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (160 mg、0.488 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、60 で 3 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 900.44、実測値 901.01。

20

## 【化 2 7 1】



30

## 【 0 4 3 4】

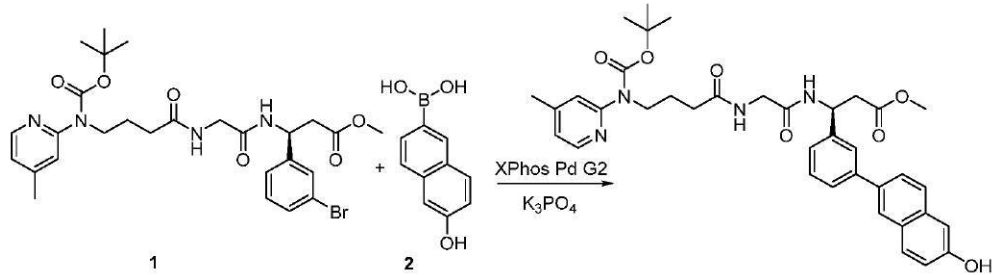
化合物 1 (67 mg、0.0744 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (5 mg、0.223 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (2 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、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]<sup>+</sup> の計算値 786.37、実測値 786.86。

40

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。

50

## 【化 2 7 2】



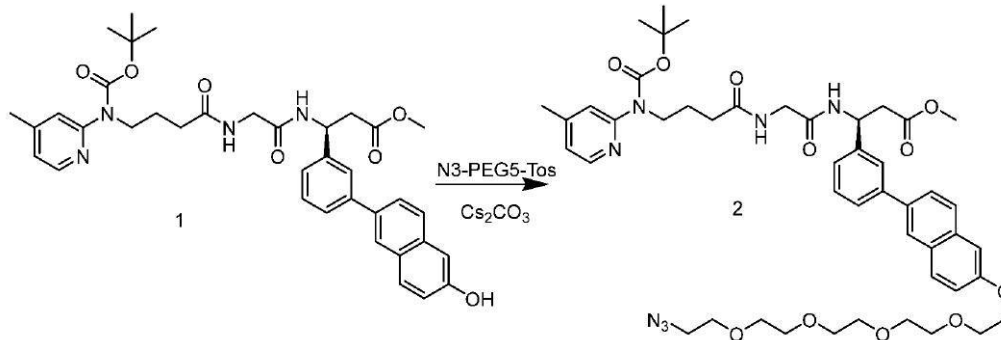
10

## 【0 4 3 5】

化合物 1 (150 mg、0.253 mmol、1.0 当量)、化合物 2 (71.5 mg、0.380 mmol、1.5 当量)、XPhos Pd G2 (4 mg、0.0051 mmol、0.02 当量)、および K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (107 mg、0.507 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 分間バブリングし、反応物を 40 °C 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 655.31、実測値 655.78。

20

## 【化 2 7 3】



30

## 【0 4 3 6】

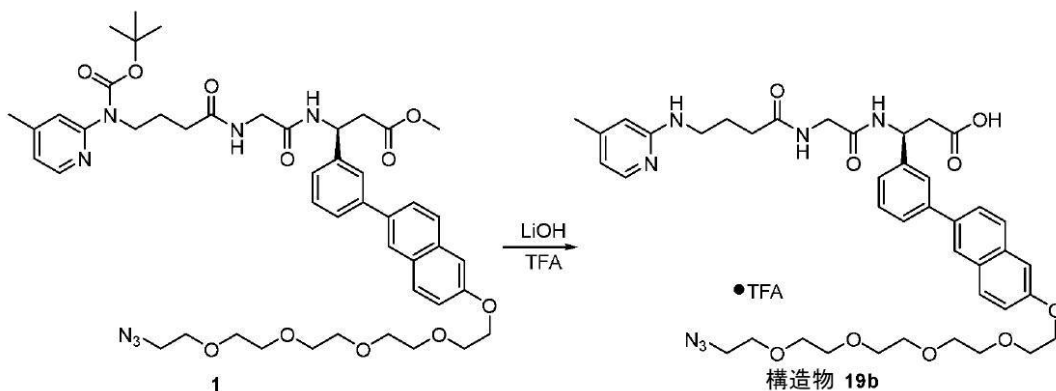
化合物 1 (104 mg、0.158 mmol、1 当量) および アジド - PEG<sub>5</sub> - OTs (132 mg、0.317 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (103 mg、0.317 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、60 °C で 3 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (10 mL) によってクエンチし、水層を酢酸エチル (3 × 5 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 900.44、実測値 901.01。

40

50



## 【化 2 7 4】



10

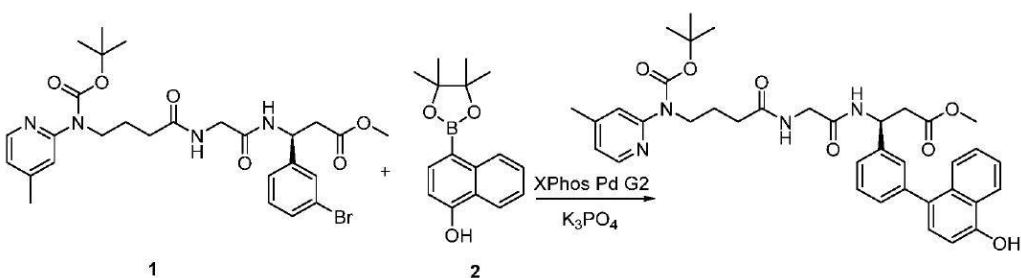
## 【 0 4 3 7】

化合物 1 (125 mg、0.138 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、0.416 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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、12% メタノールを含む DCM で溶出した。LC-MS: [M + H]<sup>+</sup> の計算値 786.37、実測値 786.86。

20

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 2 7 5】



30

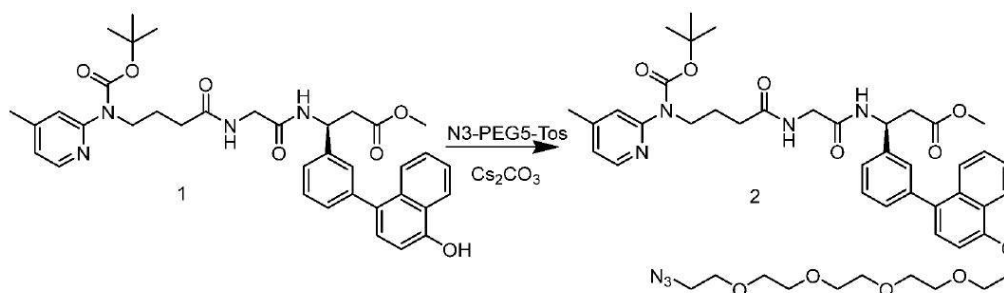
## 【 0 4 3 8】

化合物 1 (150 mg、0.253 mmol、1.0 当量)、化合物 2 (102 mg、0.380 mmol、1.5 当量)、XPhos Pd G2 (4 mg、0.0051 mmol、0.02 当量)、および K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (107 mg、0.507 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 分間バブリングし、反応物を 40 °C 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 655.31、実測値 655.78。

40

50

## 【化 2 7 6】

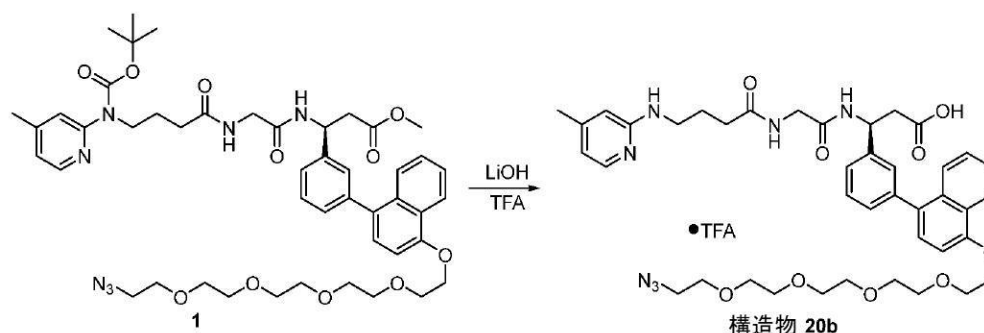


10

## 【 0 4 3 9】

化合物 1 ( 1 6 0 m g、0 . 2 4 4 m m o l、1 当量 ) およびアジド - P E G 5 - O T s ( 2 0 4 m g、0 . 4 8 8 m m o l、2 当量 ) を含む無水 D M F ( 2 m L ) の溶液に、C s <sub>2</sub> C O <sub>3</sub> ( 1 5 9 m g、0 . 4 8 8 m m o l、2 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を、6 0 で 3 時間撹拌した。反応物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、水層を酢酸エチル ( 3 × 5 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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 ) によって精製し、3 - 4 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 9 0 0 . 4 4、実測値 9 0 1 . 0 1。

## 【化 2 7 7】



20

30

## 【 0 4 4 0】

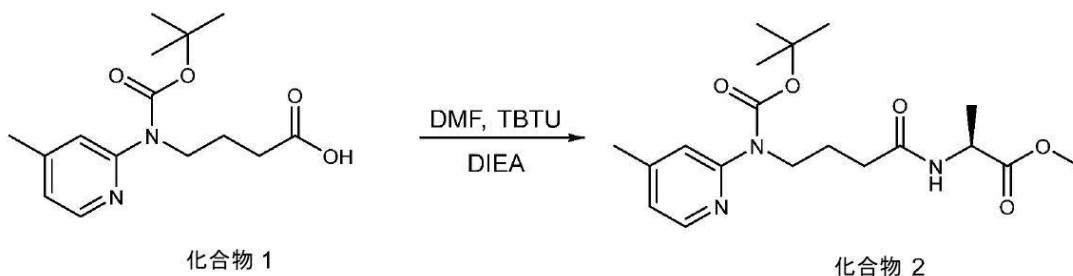
化合物 1 ( 1 2 5 m g、0 . 1 3 8 m m o l、1 . 0 当量 ) を含む T H F ( 2 m L ) および水 ( 2 m L ) の溶液に、水酸化リチウム ( 1 0 m g、0 . 4 1 6 m m o l、3 . 0 当量 ) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。H C l ( 6 N ) によって p H 3 . 0 に調整し、水相を E t O A c ( 3 × 1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。T F A ( 4 m L ) および D C M ( 2 m L ) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、8 - 1 2 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 7 8 6 . 3 7、実測値 7 8 6 . 8 6。

40

構造物 2 2 b ( ( S ) - 3 - ( 4 - ( 4 - ( ( 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 ) 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 ) ブタンアミド ) プロパンアミド ) プロパン酸 ) の合成。

50

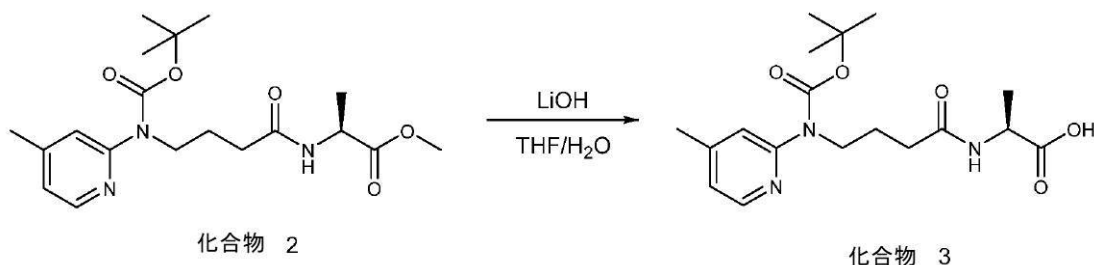
## 【化 2 7 8】



## 【 0 4 4 1】

化合物 1 (250 mg、0.85 mmol)、L-アラニンメチルエステル塩酸塩 (130 mg、0.93 mmol)、および TBTU (327 mg、1.02 mmol) を含む DMF (2 mL) の溶液に、DIEA (329 mg、444  $\mu$ L、2.55 mmol) を 0 で添加した。反応混合物を室温に加温し、1 時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (水) 溶液 (0.75 mL) および脱イオン水 (1 mL) でクエンチし、次いで、酢酸エチル (3 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (2  $\times$  3 mL) でさらに抽出した。合わせた有機相を、飽和  $\text{NaHCO}_3$  (水) 溶液 (2 mL) で洗浄した。有機層を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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：294 mg (91%)。C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> についての [M + H]<sup>+</sup> 計算値：380.46、実測値：380.33。

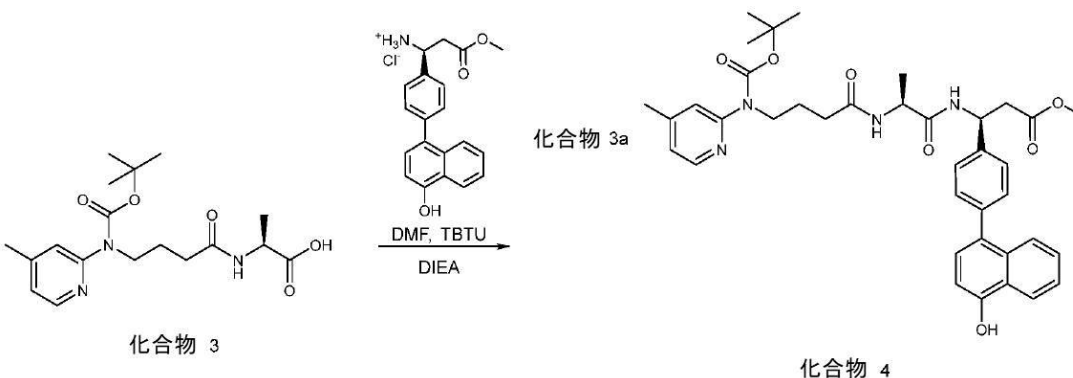
## 【化 2 7 9】



## 【 0 4 4 2】

化合物 2 (294 mg、0.77 mmol) を含む THF (4.5 mL) および脱イオン水 (3 mL) の 0 の溶液に、水酸化リチウム (56 mg、2.32 mmol) を含む脱イオン水 (1 mL) の溶液を添加した。反応物を室温に加温し、40 分間撹拌した。反応混合物を、6 M  $\text{HCl}$  (水溶液) で pH = 3 に酸性化した。水相を酢酸エチル (3  $\times$  10 mL) で抽出した。合わせた有機相を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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：267 mg (94%)。C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> についての [M + H]<sup>+</sup> 計算値：366.43、実測値：366.19。

## 【化 2 8 0】



10

20

30

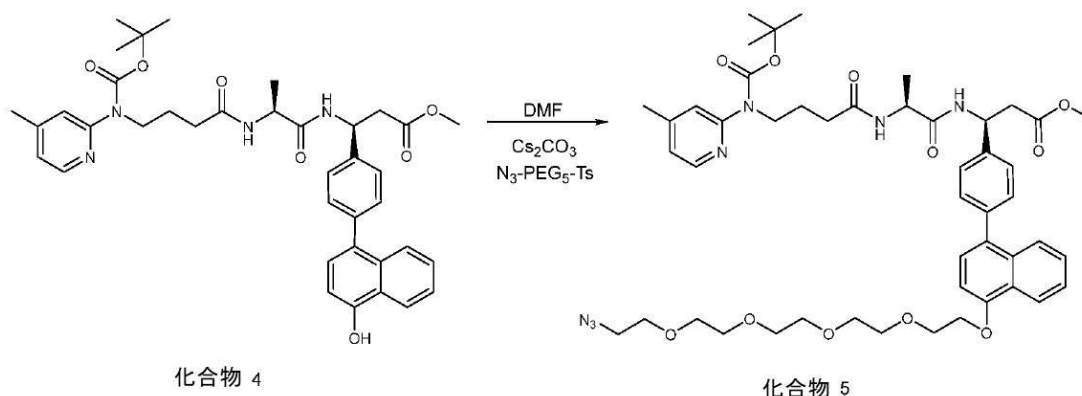
40

50

## 【0443】

化合物3 (267 mg、0.73 mmol)、化合物3a (288 mg、0.80 mmol)、およびTBTU (282 mg、0.88 mmol)を含むDMF (3 mL)の溶液に、DIPEA (283 mg、382  $\mu$ L、2.19 mmol)を0 で添加した。反応混合物を室温に加熱し、1時間撹拌した。反応混合物を、飽和NH<sub>4</sub>Cl (水) 溶液 (1.5 mL) および脱イオン水 (1.5 mL) でクエンチし、次いで、酢酸エチル (12 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (2  $\times$  12 mL) でさらに抽出した。合わせた有機相を、半飽和NH<sub>4</sub>Cl (水) 溶液 (10 mL)、半飽和NaHCO<sub>3</sub> (水) 溶液 (10 mL)、および飽和NaCl (水) 溶液 (10 mL) で洗浄した。有機層をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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: 342 mg (70%)。C<sub>38</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>についての[M + H]<sup>+</sup>計算値: 669.79、実測値: 669.74。

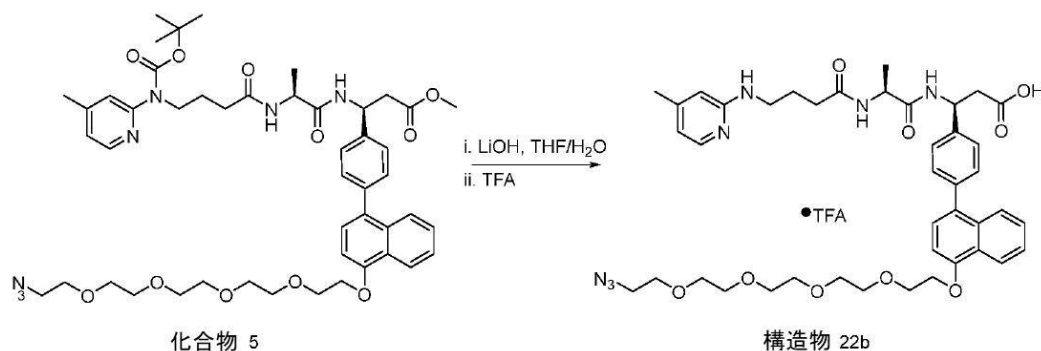
## 【化281】



## 【0444】

化合物4 (150 mg、0.22 mmol) およびアジド-PEG<sub>5</sub>-OTs (187 mg、0.49 mmol)を含む無水DMF (1.2 mL)の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (146 mg、0.49 mmol)を添加した。反応混合物を60 で3時間撹拌した。反応混合物を飽和NaHCO<sub>3</sub> (水) 溶液 (10 mL) および脱イオン水 (5 mL) でクエンチし、次いで、酢酸エチル (7.5 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (2  $\times$  7.5 mL) でさらに抽出した。合わせた有機相をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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: 142 mg (69%)。C<sub>48</sub>H<sub>63</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub>についての[M + H]<sup>+</sup>計算値: 915.06、実測値: 914.96。

## 【化282】



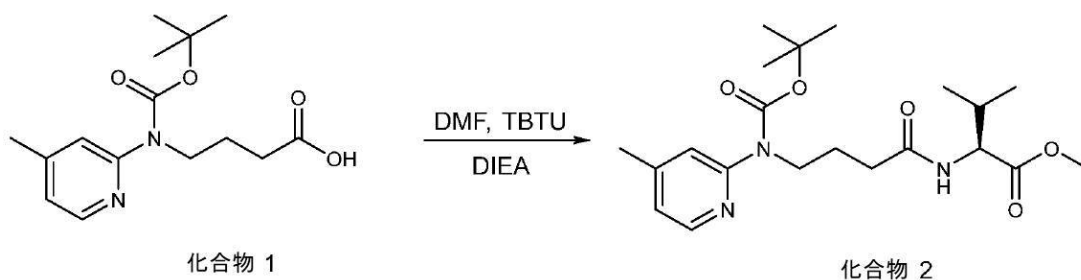
## 【0445】

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 時間撹拌した。反応混合物を、6 M 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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 時間撹拌した。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%)。C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>N<sub>7</sub>O<sub>9</sub> についての [M + H] 計算値：800.92、実測値：800.81。

構造物 23b ((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)ブタンアミド)ブタンアミド)プロパン酸) の合成。

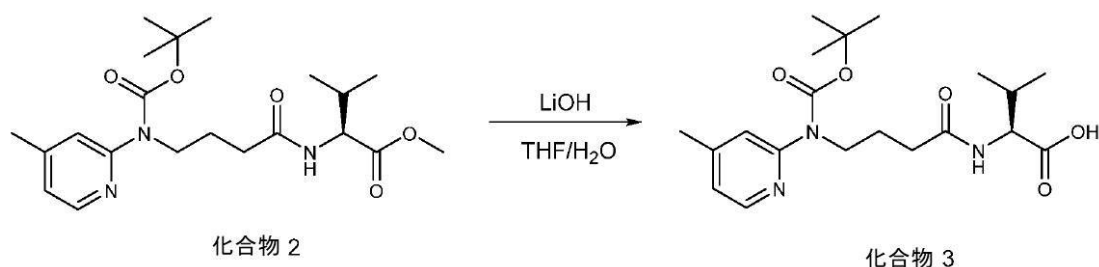
#### 【化 283】



#### 【0446】

化合物 1 (250 mg、0.85 mmol)、L-バリンメチルエステル塩酸塩 (157 mg、0.93 mmol)、および TBTU (327 mg、1.02 mmol) を含む DMF (2 mL) の溶液に、DIPEA (329 mg、444 μL、2.55 mmol) を 0 で添加した。反応混合物を室温に加温し、1 時間撹拌した。反応物を飽和 NH<sub>4</sub>Cl (水) 溶液 (0.75 mL) および脱イオン水 (1 mL) でクエンチし、次いで、酢酸エチル (3 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (2 × 3 mL) でさらに抽出した。合わせた有機相を、飽和 NaHCO<sub>3</sub> (水) 溶液 (2 mL) で洗浄した。有機層を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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：297 mg (86%)。C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> についての [M + H] 計算値：408.51、実測値：407.87。

#### 【化 284】



#### 【0447】

化合物 2 (297 mg、0.73 mmol) を含む THF (4.5 mL) および脱イオン水 (3 mL) の 0 の溶液に、水酸化リチウム (52 mg、2.19 mmol) を含む脱イオン水 (1 mL) の溶液を添加した。反応物を室温に加温し、40 分間撹拌した。反応混合物を、6 M HCl (水溶液) で pH = 3 に酸性化した。水相を酢酸エチル (3 × 10 mL) で抽出した。合わせた有機相を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、濃縮した。化合物 3 を、収率 100 % と仮定してさらに精製せずに使用した。C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>

【化 2 8 5】



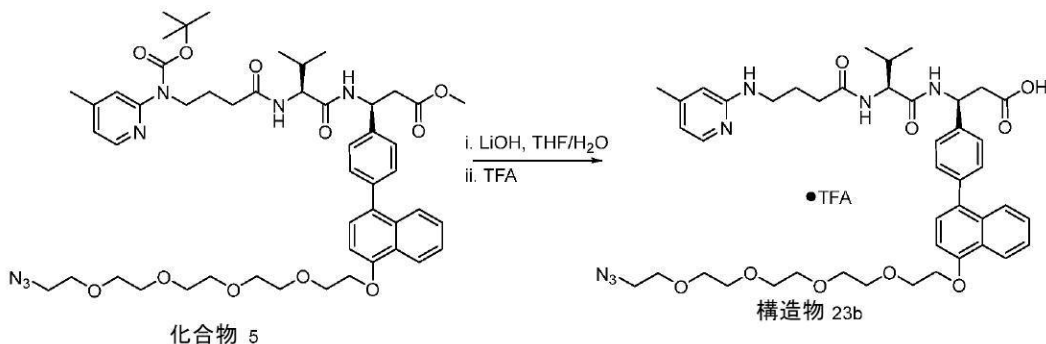
20

30

50

66%)。C<sub>50</sub>H<sub>67</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub>についての[M+H]<sup>+</sup>計算値：943.12、実測値：942.96。

#### 【化287】



10

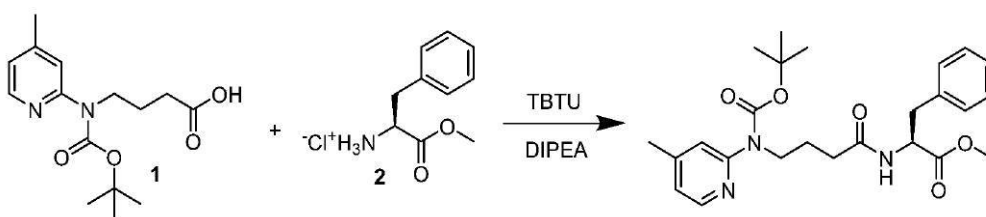
#### 【0450】

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時間撹拌した。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Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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時間撹拌した。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%)。C<sub>44</sub>H<sub>57</sub>N<sub>7</sub>O<sub>9</sub>についての[M+H]<sup>+</sup>計算値：828.97、実測値828.90。

20

構造物24b((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)ブタンアミド)-3-フェニルプロパンアミド)プロパン酸)の合成。

#### 【化288】



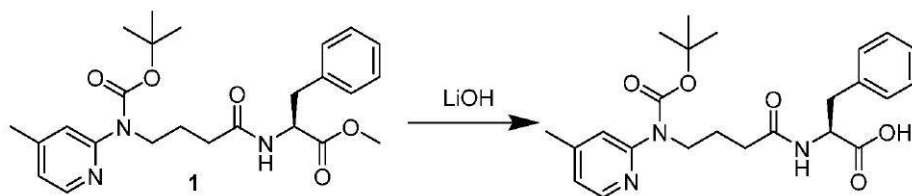
30

#### 【0451】

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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値456.24、実測値456.12。

40

## 【化 2 8 9】

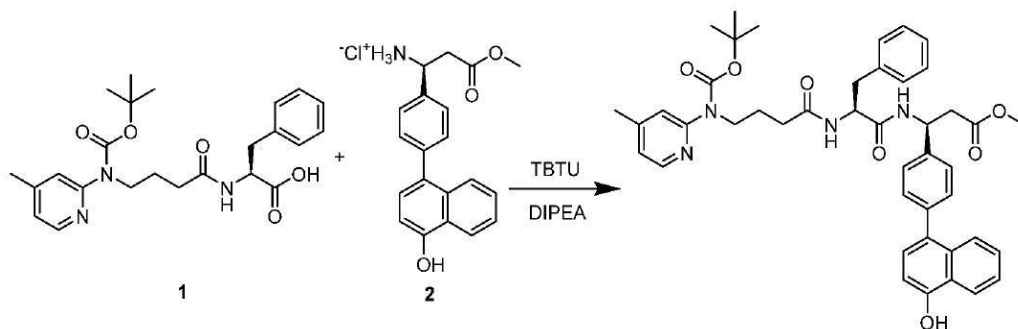


## 【 0 4 5 2】

化合物 1 (300 mg、0.658 mmol、1 当量) を含む THF (5 mL) および H<sub>2</sub>O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム (47 mg、1.975 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 時間の攪拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 442.23、実測値 442.08。

10

## 【化 2 9 0】



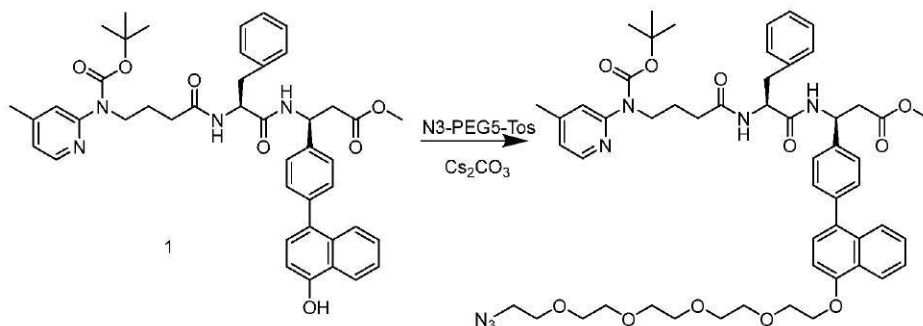
20

## 【 0 4 5 3】

化合物 1 (290 mg、0.656 mmol、1 当量)、化合物 2 (258 mg、0.722 mmol、1.1 当量)、および TBTU (253 mg、0.788 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 (0.343 mL、1.970 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<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 745.35、実測値 745.63。

30

## 【化 2 9 1】



40

## 【 0 4 5 4】

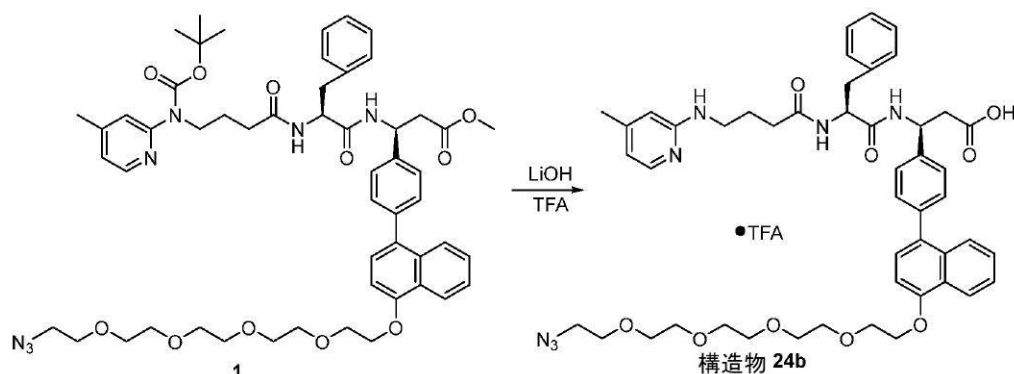
化合物 1 (113 mg、0.151 mmol、1 当量) およびアジド - PEG 5 - OTs (126 mg、0.303 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、

50



Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup> の計算値 990.49、実測値 990.87。

#### 【化292】



10

#### 【0455】

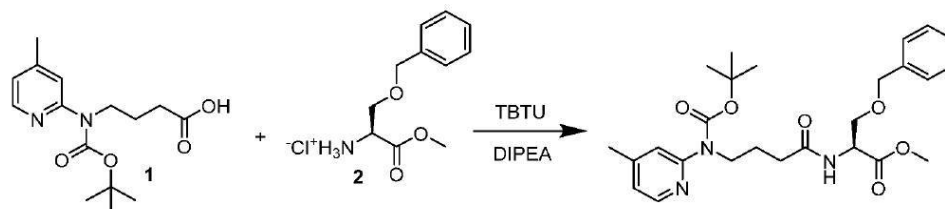
化合物 1 (140 mg、0.141 mmol、1.0 当量) を含むTHF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (10 mg、0.424 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに1時間撹拌した。HCl (6 N) によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。TFA (4 mL) およびDCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、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]<sup>+</sup> の計算値 876.42、実測値 876.88。

20

構造物 25b ((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 - (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。

30

#### 【化293】



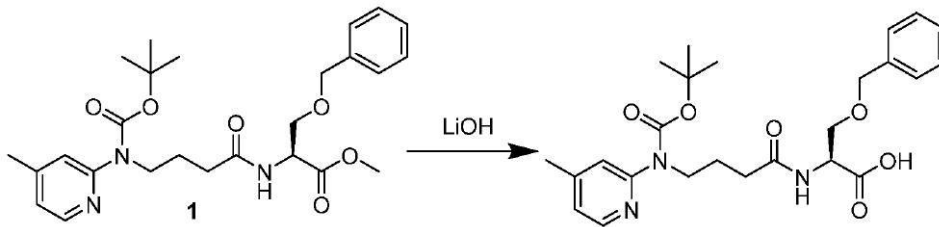
40

#### 【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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup> の計算値 486.25、実測値 486.37。

50

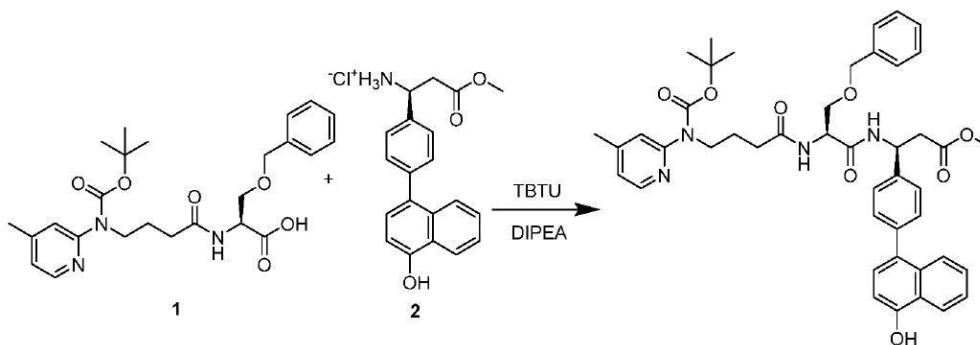
## 【化 2 9 4】



## 【 0 4 5 7】

化合物 1 (160 mg、0.329 mmol、1 当量) を含む THF (5 mL) および H<sub>2</sub>O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム (23 mg、0.988 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 時間の攪拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 472.24、実測値 472.32。

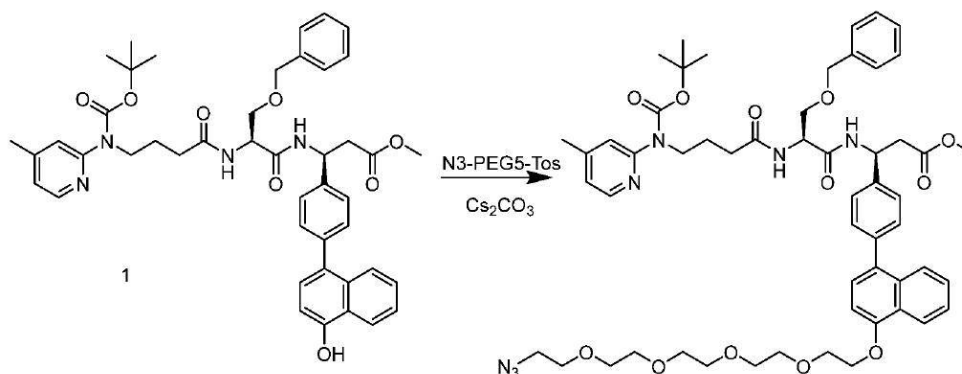
## 【化 2 9 5】



## 【 0 4 5 8】

化合物 1 (1600 mg、0.339 mmol、1 当量)、化合物 2 (133 mg、0.373 mmol、1.1 当量)、および TBTU (130 mg、0.815 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 (0.177 mL、1.018 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<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 775.36、実測値 775.87。

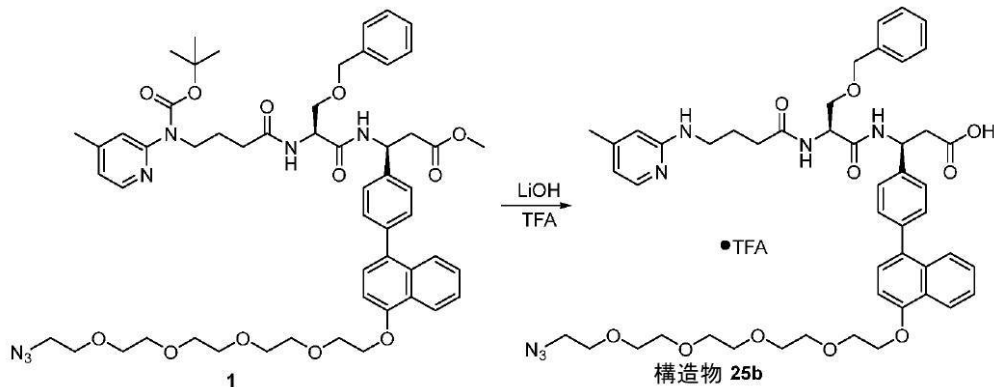
## 【化 2 9 6】



## 【 0 4 5 9】

化合物 1 (140 mg、0.180 mmol、1 当量) およびアジド - PEG 5 - OTs (150 mg、0.361 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (117 mg、0.361 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を、40 で 3 時間撹拌した。反応物を飽和  $\text{NaHCO}_3$  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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  の計算値 1020.50、実測値 1020.88。

【化 297】



10

20

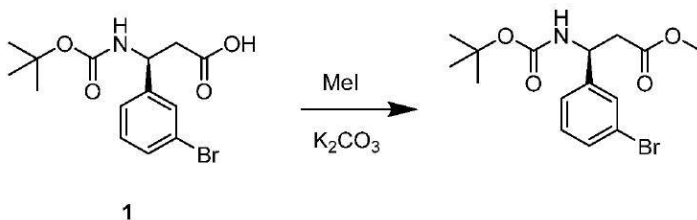
【0460】

化合物 1 (170 mg、0.166 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 (12 mg、0.499 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を、室温でさらに 1 時間撹拌した。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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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 時間撹拌した。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:  $[\text{M} + \text{H}]^+$  の計算値 906.43、実測値 906.95。

30

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 298】



40

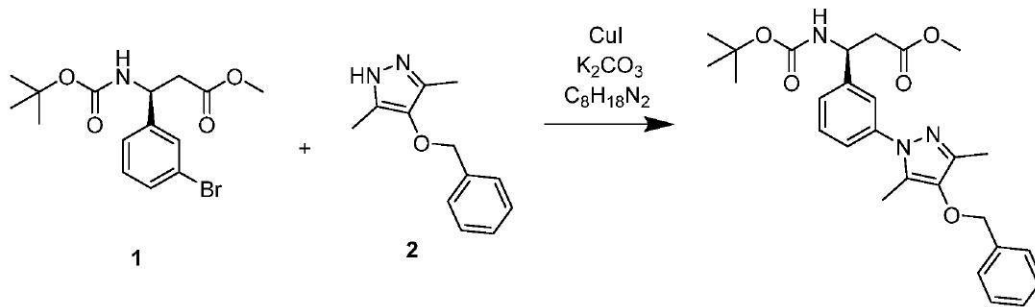
【0461】

化合物 1 (3.0 g、8.71 mmol、1 当量) および炭酸カリウム (1.806 g、13.073 mmol、1.5 当量) を含む無水 DMF (10 mL) の溶液に、ヨウ化メチル (1.085 mL、17.431 mmol、2.0 当量) を室温で添加した。反応混合物を室温で 1 時間撹拌した。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  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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、15 % 酢酸エチルを含むヘキサンで溶出した。LC - MS:  $[\text{M} +$

50

$[M+H]^+$  の計算値 358.06、実測値 358.15。

【化299】



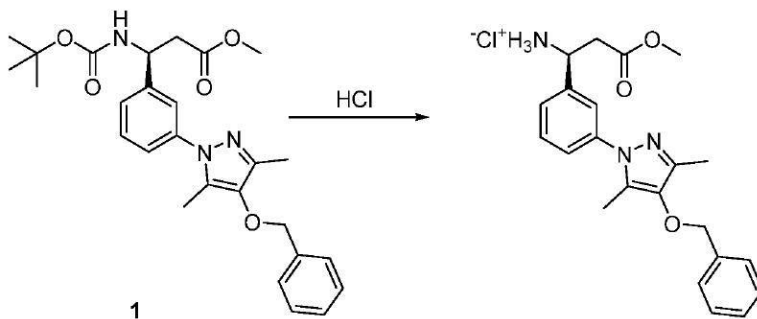
10

【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'-ジメチルシクロヘキサン-1,2-ジアミン (88  $\mu$ L、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 で24時間撹拌した。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】

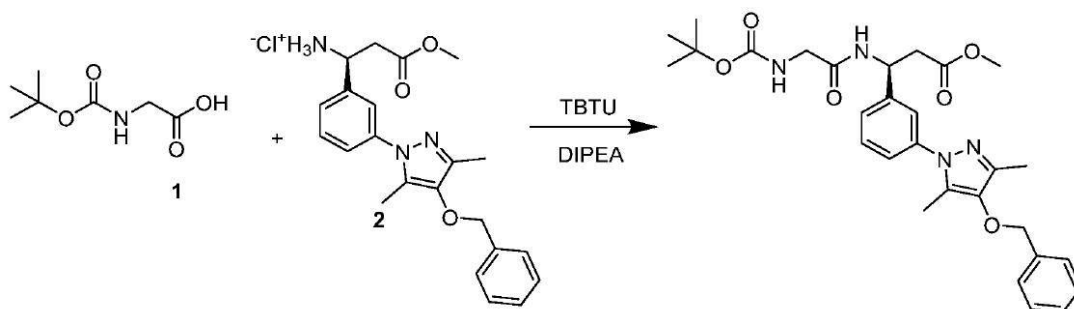


30

【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、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時間撹拌した。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

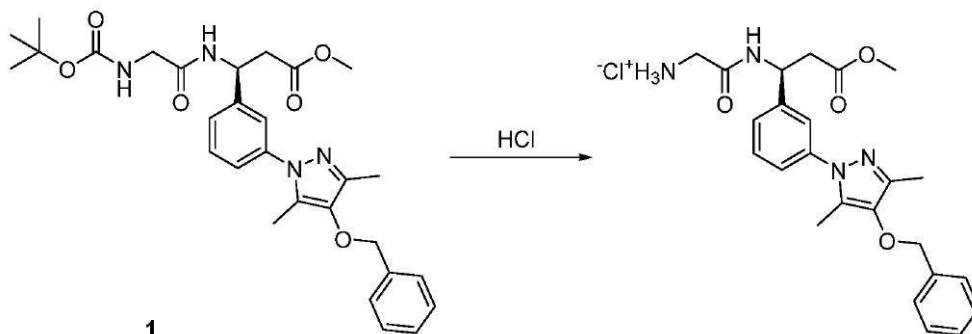
【0464】

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

50

6.28 mmol、1.1当量)、およびTBTU(22 mg、0.0685 mmol、1.2当量)を含む無水DMF(1 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(0.030 mL、0.171 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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液(5 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値537.26、実測値537.41。

#### 【化302】



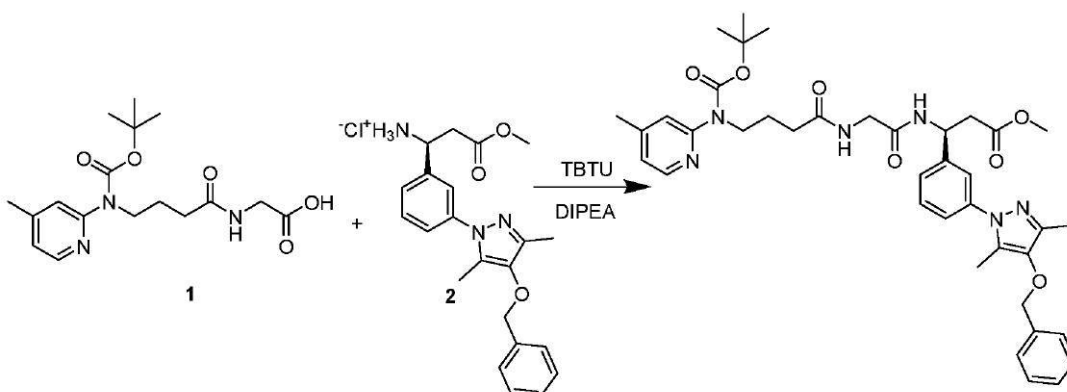
10

#### 【0465】

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、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時間撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値437.21、実測値437.31。

20

#### 【化303】



30

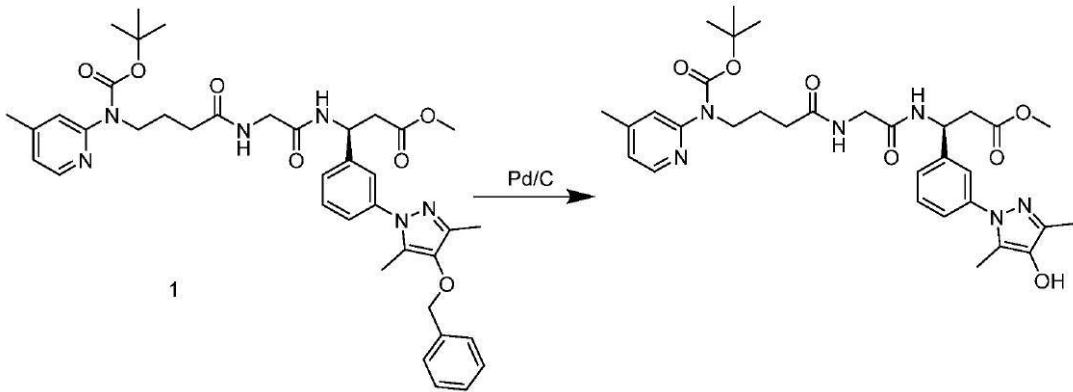
#### 【0466】

化合物1(20 mg、0.0569 mmol、1当量)、化合物2(26 mg、0.0626 mmol、1.1当量)、およびTBTU(22 mg、0.0683 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(0.030 mL、0.170 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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液(5 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値713.36、実測値713.85。

40

50

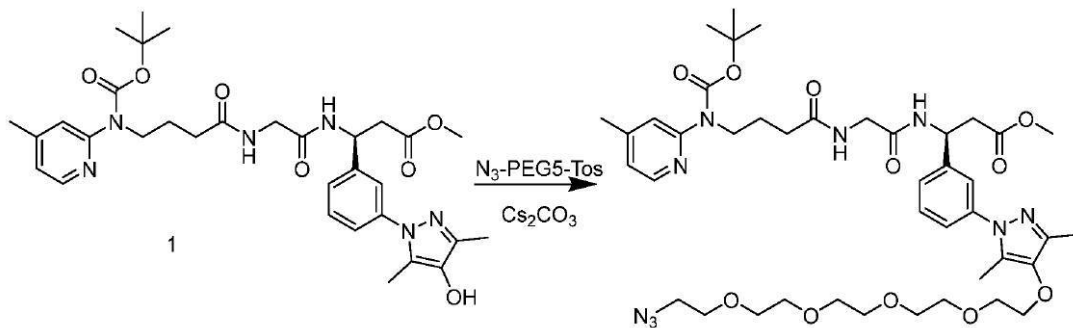
## 【化 3 0 4】



## 【 0 4 6 7】

化合物 1 ( 0 . 0 3 3 g、0 . 0 4 6 3 m m o l、1 当量 ) を含む酢酸エチル ( 1 0 m L ) の溶液に、1 0 % P d / C ( 2 0 m g ) 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撹拌した。触媒を C e l i t e ( 登録商標 ) で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。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 6 2 3 . 3 1、実測値 6 2 3 . 5 6。

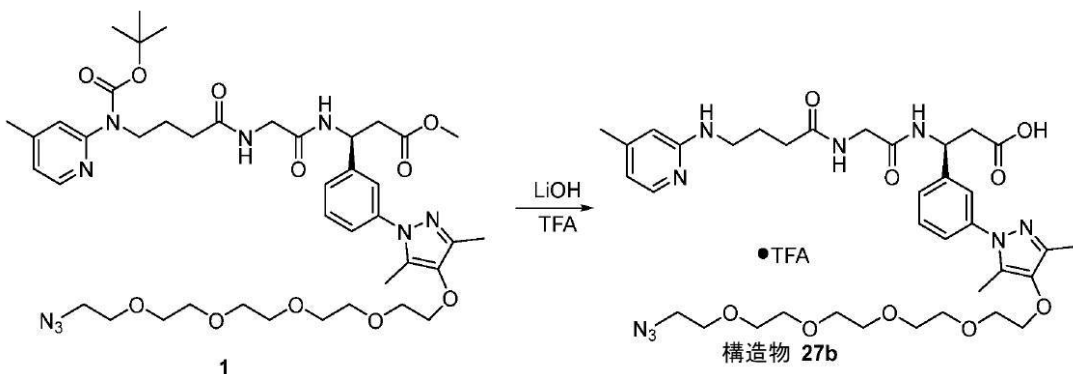
## 【化 3 0 5】



## 【 0 4 6 8】

化合物 1 ( 1 6 m g、0 . 0 2 5 7 m m o l、1 当量 ) およびアジド - P E G 5 - O T s ( 2 2 m g、0 . 0 5 1 4 m m o l、2 当量 ) を含む無水 D M F ( 2 m L ) の溶液に、C s <sub>2</sub> C O <sub>3</sub> ( 1 7 m g、0 . 0 5 1 4 m m o l、2 当量 ) を室温で添加した。反応混合物を 4 0 ° で 3 時間撹拌した。反応物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) によってクエンチし、水層を酢酸エチル ( 3 × 5 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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 ) によって精製し、3 - 4 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 8 6 8 . 4 5、実測値 8 6 8 . 9 6。

## 【化 3 0 6】



10

20

30

40

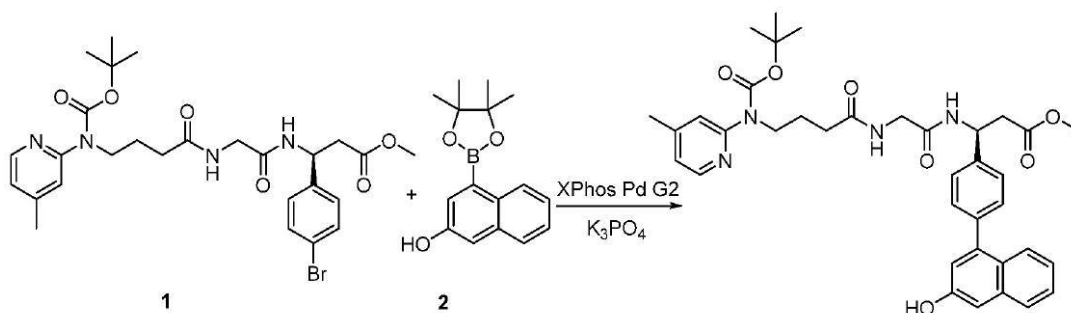
50

## 【0469】

化合物1 (5 mg、0.0058 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 (1 mg、0.0346 mmol、6.0当量) を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。TFA (1 mL) およびDCM (1 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値754.38、実測値755。

構造物29b ((S)-3-(4-(3-(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。

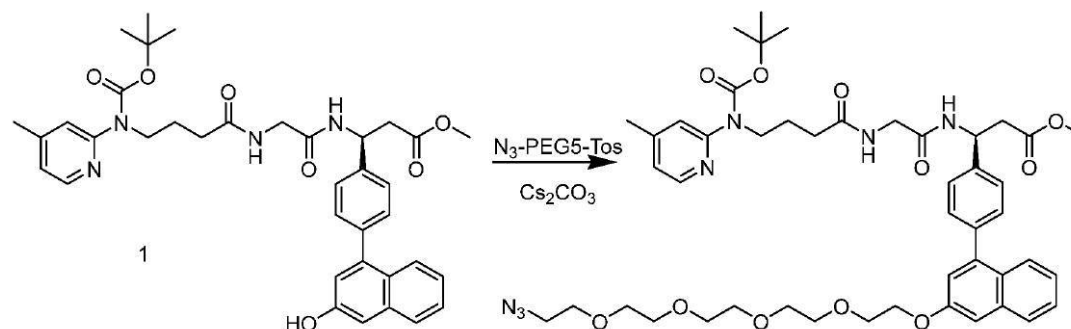
## 【化307】



## 【0470】

化合物1 (100 mg、0.169 mmol、1.0当量)、化合物2 (68 mg、0.253 mmol、1.5当量)、XPhos Pd G2 (3 mg、0.0034 mmol、0.02当量)、およびK<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (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分間バブリングし、反応物を40 °C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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値655.31、実測値656。

## 【化308】

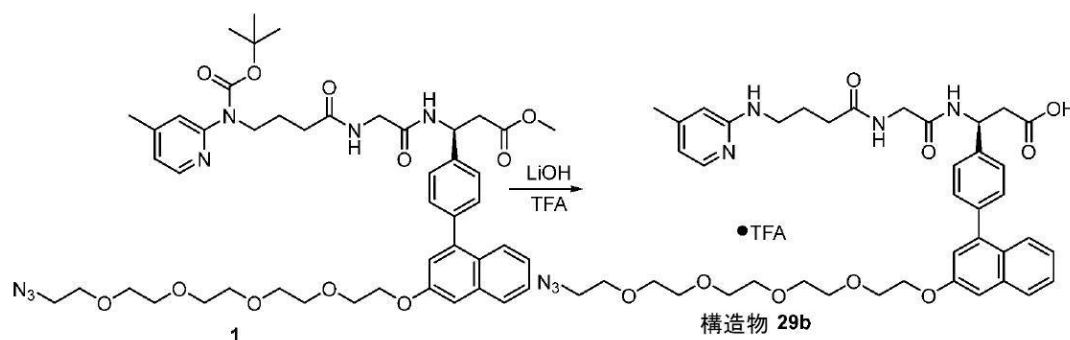


## 【0471】

化合物1 (100 mg、0.152 mmol、1当量) およびアジド-PEG5-OTs (127 mg、0.305 mmol、2当量) を含む無水DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (100 mg、0.305 mmol、2当量) を室温で添加した。反応混合物を40 °Cで3時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値900.44、実測値901。

#### 【化309】



10

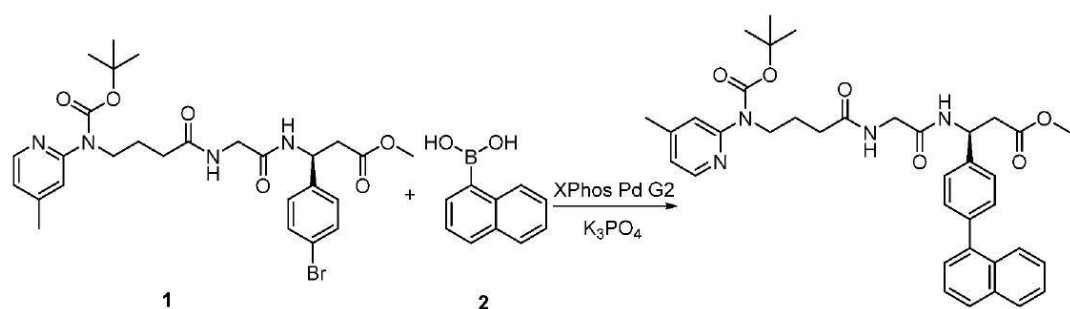
#### 【0472】

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時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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時間撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値786.37、実測値787。

20

構造物30b（（S）-N-（1-アジド-2-（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】

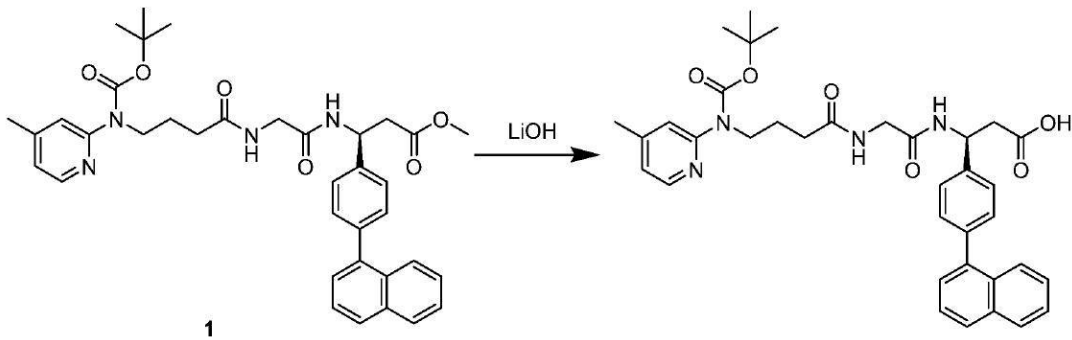
化合物1（100 mg、0.169 mmol、1.0当量）、化合物2（43 mg、0.253 mmol、1.5当量）、XPhos Pd G2（3 mg、0.0034 mmol、0.02当量）、およびK<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>（72 mg、0.338 mmol、2.0当量）を、丸底フラスコ中で混合した。フラスコをセブタム付きスクリュキャップでシールし、次いで、排気し、窒素を再充填した（このプロセスを合計で3回繰り返した）。次いで、THF（5 mL）および水（1 mL）をシリンジで添加した。混合物を窒素で10分間バブリングし、反応物を40 °Cで2時間保持した。反応物を水（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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値639.31、実測値640。

40

50



## 【化 3 1 1】

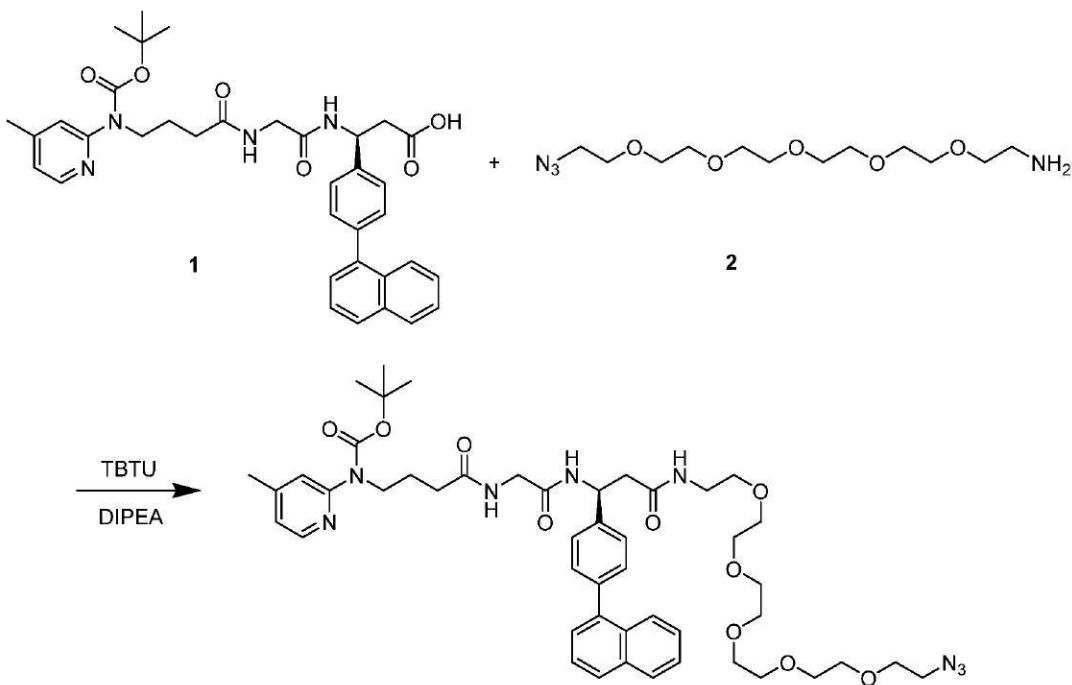


10

## 【 0 4 7 4】

化合物 1 ( 9 0 m g 、 0 . 1 4 0 m m o l 、 1 当量 ) を含む T H F ( 5 m L ) および  $H_2O$  ( 5 m L ) の溶液に、水酸化リチウム ( 1 0 m g 、 0 . 4 2 2 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 1 時間の攪拌後、反応混合物を H C l ( 6 N ) によって p H 3 . 0 に酸性化した。水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 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。生成物を、さらに精製せずに使用した。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 6 2 5 . 2 9 、実測値 6 2 5 . 3 6 。

## 【化 3 1 2】



20

30

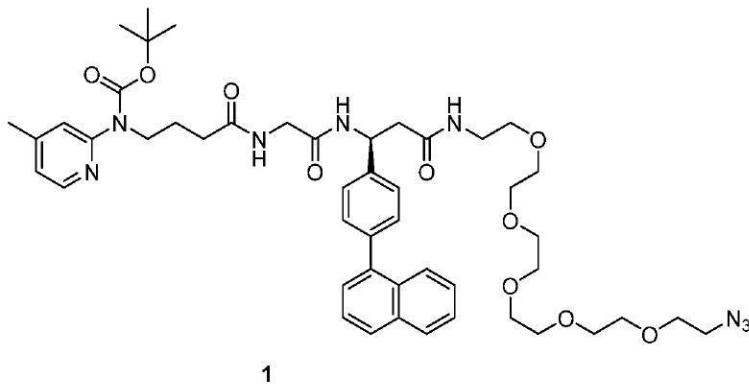
## 【 0 4 7 5】

化合物 1 ( 8 8 m g 、 0 . 1 4 0 m m o l 、 1 当量 ) 、化合物 2 ( 4 8 m g 、 0 . 1 5 4 m m o l 、 1 . 1 当量 ) 、および T B T U ( 5 4 m g 、 0 . 1 6 9 m m o l 、 1 . 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 3 m L ) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 0 7 4 m L 、 0 . 4 2 2 m m o l 、 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 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 5 m L ) 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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離し、4 - 6 % メタノールを含む D C M で溶出した。L C - M S : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 9 1 3 . 4 7 、実測値 9 1 3 . 7 0 。

40

50

## 【化 3 1 3】

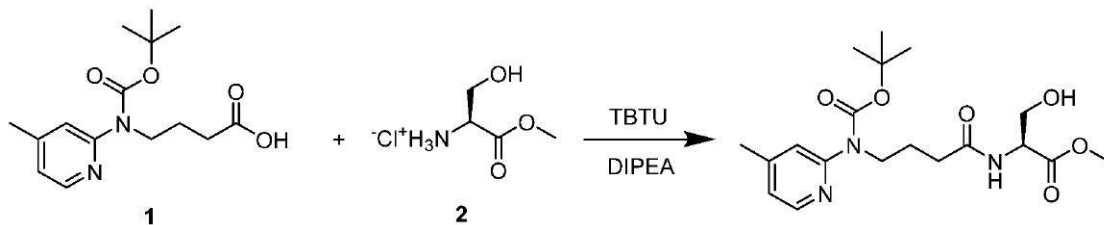


## 【 0 4 7 6】

化合物 1 ( 9 3 m g 、 0 . 1 0 1 m m o l 、 1 . 0 当量 ) を含む D C M ( 2 m L ) の溶液に、 T F A ( 3 m L ) を添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。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 C o m b i F l a s h ( 登録商標 ) によって分離した。生成物を、 1 0 - 1 2 % メタノールを含むジクロロメタンで溶出した。 L C - M S : [ M + H ] + の計算値 8 1 3 . 4 2 、実測値 8 1 3 . 6 8 。

構造物 3 1 b ( ( S ) - 3 - ( 4 - ( 4 - ( ( 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 ) 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 ) ブタンアミド ) プロパンアミド ) プロパン酸 ) の合成。

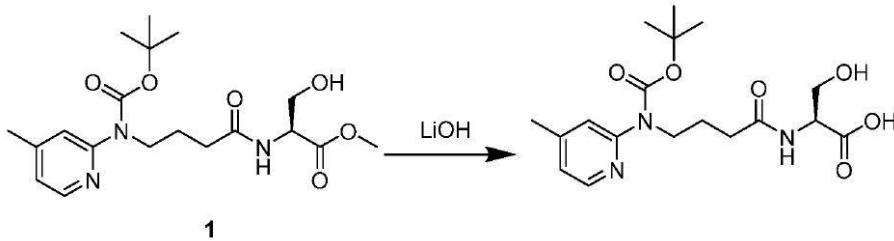
## 【化 3 1 4】



## 【 0 4 7 7】

化合物 1 ( 1 5 0 m g 、 0 . 5 0 9 m m o l 、 1 当量 ) 、 化合物 2 ( 8 7 m g 、 0 . 5 6 0 m m o l 、 1 . 1 当量 ) 、 および T B T U ( 1 9 6 m g 、 0 . 1 9 6 m m o l 、 1 . 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 3 m L ) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 0 7 4 m L 、 0 . 4 2 2 m m o l 、 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 時間撹拌した。反応物を飽和 N a H C O <sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 5 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、 N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> 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、 4 - 6 % 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 3 9 6 . 2 1 、実測値 3 9 6 . 1 7 。

## 【化 3 1 5】

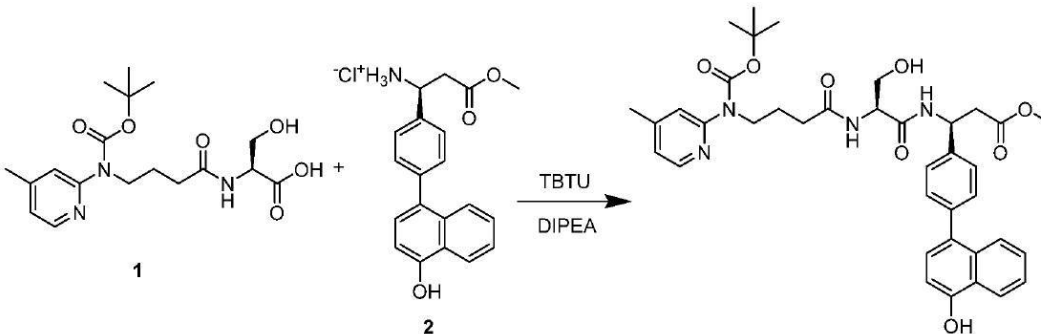


## 【 0 4 7 8】

10

化合物 1 ( 1 9 6 m g 、 0 . 4 9 5 m m o l 、 1 当量 ) を含む T H F ( 5 m L ) および H<sub>2</sub>O ( 5 m L ) の溶液に、水酸化リチウム ( 3 5 m g 、 1 . 4 8 6 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熱した。室温で 1 時間の攪拌後、反応混合物を H C l ( 6 N ) によって p H 3 . 0 に酸性化した。水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) で抽出し、有機層を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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 ]<sup>+</sup> の計算値 3 8 2 . 1 9 、実測値 3 8 2 . 1 3。

## 【化 3 1 6】



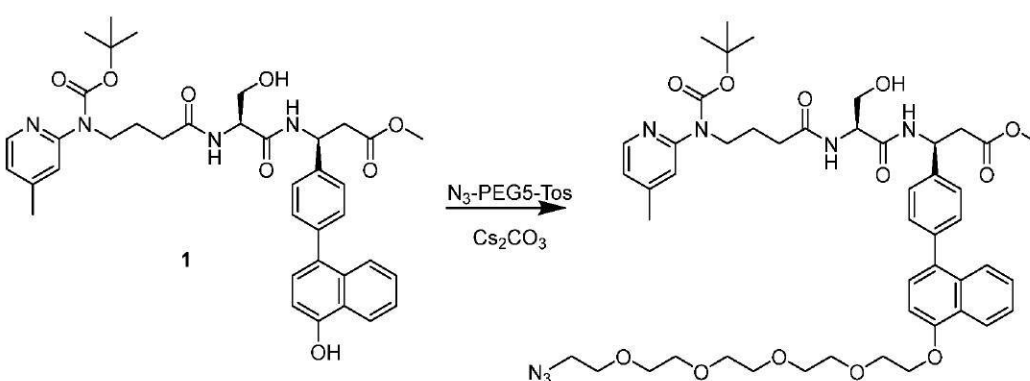
20

## 【 0 4 7 9】

30

化合物 1 ( 1 8 9 m g 、 0 . 4 9 5 m m o l 、 1 当量 ) 、 化合物 2 ( 1 9 5 m g 、 0 . 5 4 5 m m o l 、 1 . 1 当量 ) 、 および T B T U ( 1 9 0 m g 、 0 . 5 9 5 m m o l 、 1 . 2 当量 ) を含む無水 D M F ( 5 m L ) の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン ( 0 . 2 5 9 m L 、 1 . 4 8 6 m m o l 、 3 当量 ) を 0 で添加した。反応混合物を室温に加熱し、さらに 1 時間攪拌した。反応物を飽和 Na H C O<sub>3</sub> 溶液 ( 1 0 m L ) でクエンチし、水相を酢酸エチル ( 3 × 1 0 m L ) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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、4 - 6 % メタノールを含む D C M で溶出した。LC - MS : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 6 8 5 . 3 2 、実測値 6 8 5 . 5 8。

## 【化 3 1 7】



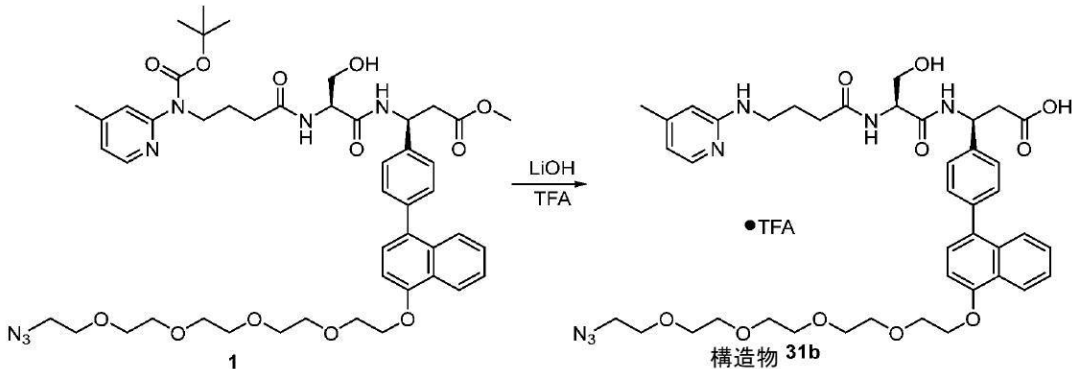
40

50

## 【0480】

化合物1 (75 mg、0.109 mmol、1当量) およびアジド-PEG5-OTs (91 mg、0.219 mmol、2当量) を含む無水DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (71 mg、0.219 mmol、2当量) を室温で添加した。反応混合物を40℃で一晩撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値930.45、実測値930.90。

## 【化318】

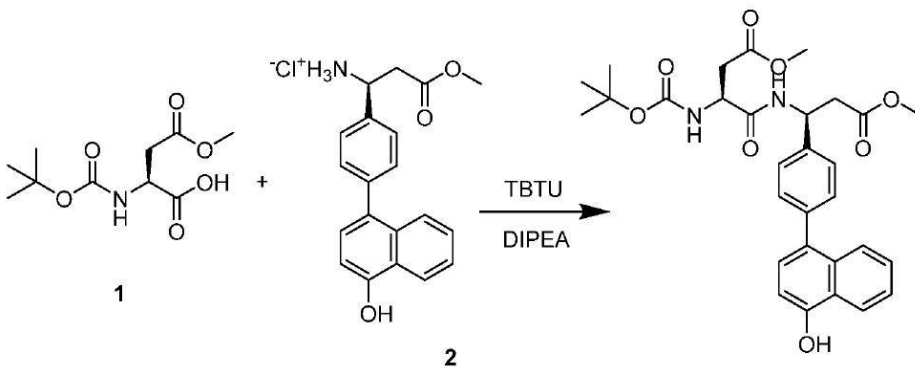


## 【0481】

化合物1 (30 mg、0.0323 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 (2.3 mg、0.0968 mmol、3.0当量) を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。TFA (2 mL) およびDCM (1 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値816.39、実測値816.92。

構造物32b ((S)-4-(((S)-1-(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)-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】

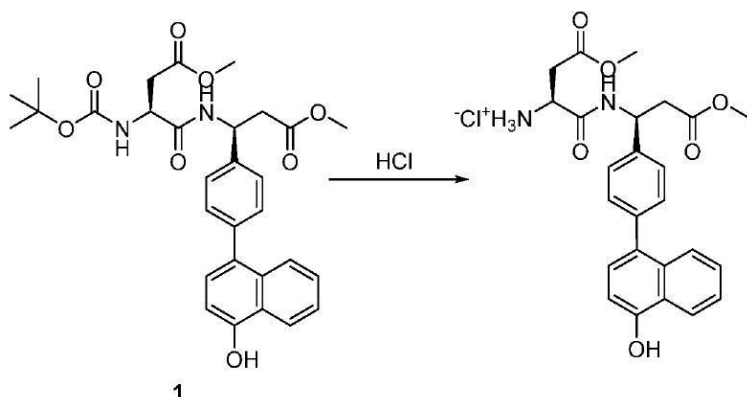


## 【0482】

化合物1 (100 mg、0.404 mmol、1当量)、化合物2 (160 mg、0.444 mmol、1.1当量)、およびTBTU (155 mg、0.485 mmol、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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値551.23、実測値551.45。

【化320】



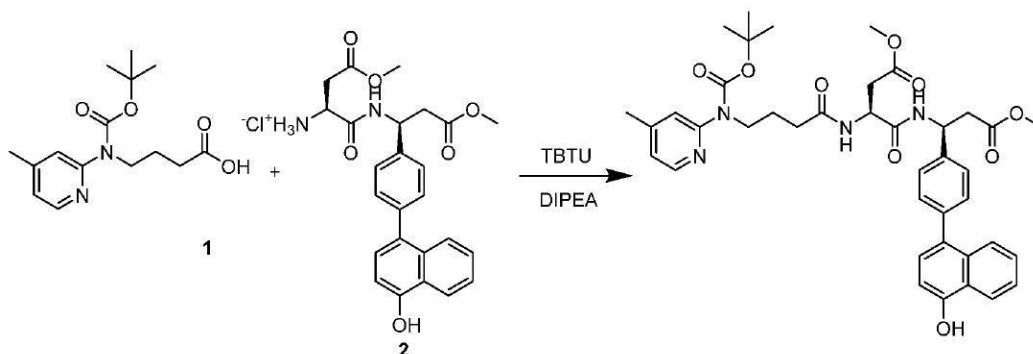
10

20

【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時間撹拌した。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]<sup>+</sup>の計算値451.18、実測値451.35。

【化321】



30

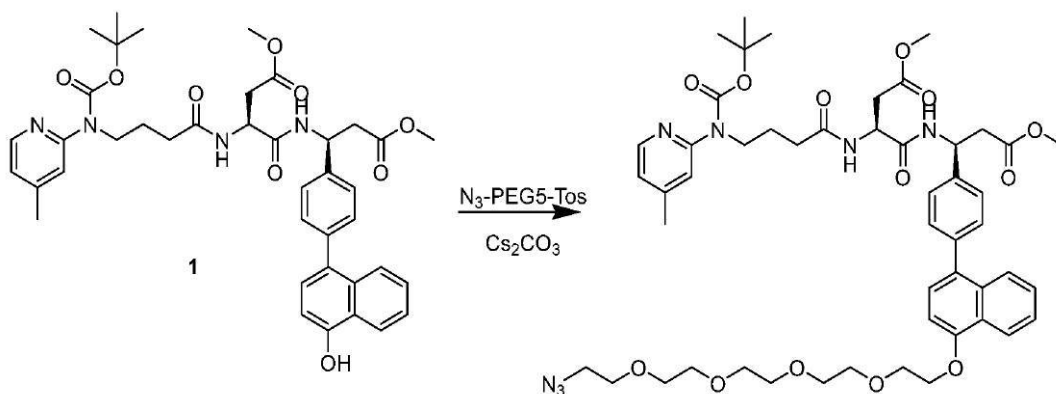
【0484】

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時間撹拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値727.33、実測値727.53。

40

50

## 【化 3 2 2】



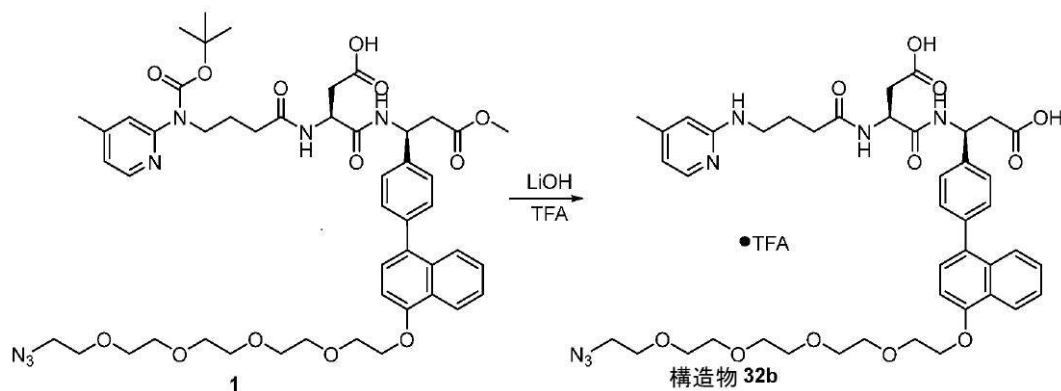
10

## 【 0 4 8 5】

化合物 1 (150 mg、0.206 mmol、1 当量) およびアジド - PEG 5 - OTs (172 mg、0.412 mmol、2 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (134 mg、0.412 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 940.45、実測値 940.71。

20

## 【化 3 2 3】



30

## 【 0 4 8 6】

化合物 1 (30 mg、0.0344 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 (2.5 mg、0.103 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を室温でさらに 1 時間撹拌した。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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (2 mL) および DCM (1 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。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]<sup>+</sup> の計算値 844.38、実測値 844.56。

40

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)ヘキサナミド)-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。

50

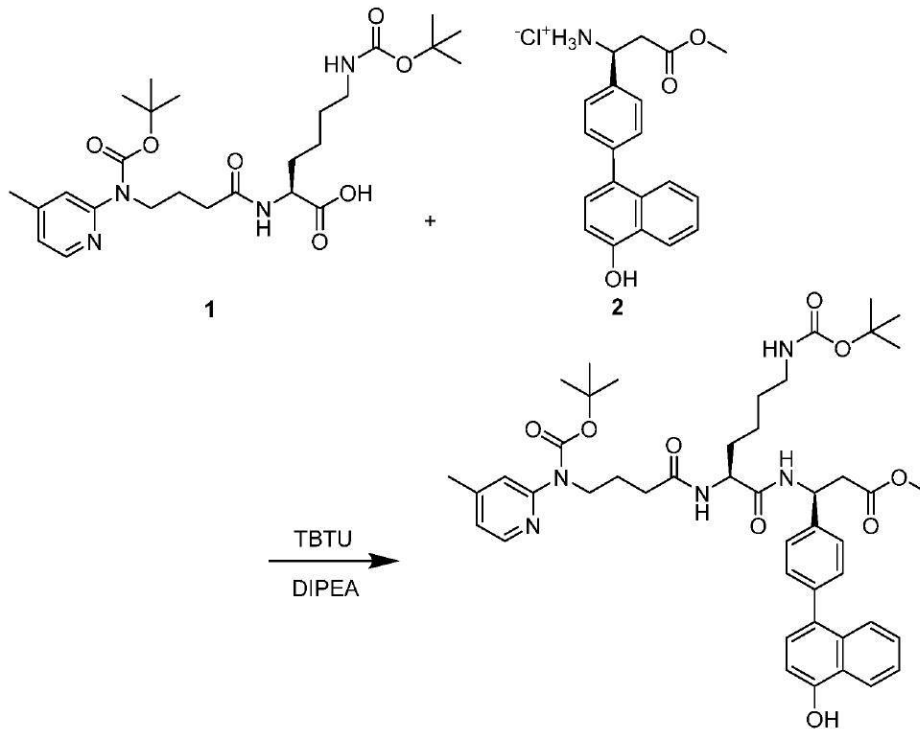
10

20

30

40

## 【化 3 2 6】



10

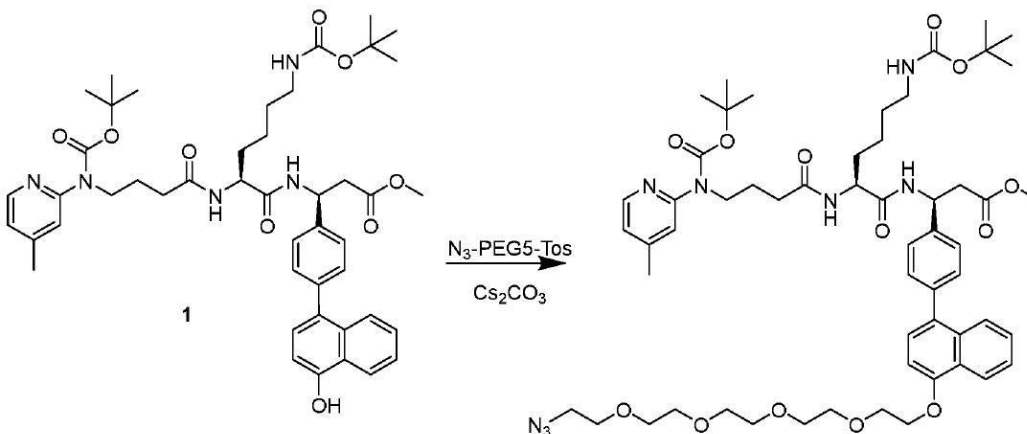
20

## 【 0 4 8 9】

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 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 826.43、実測値 826.65。

30

## 【化 3 2 7】



40

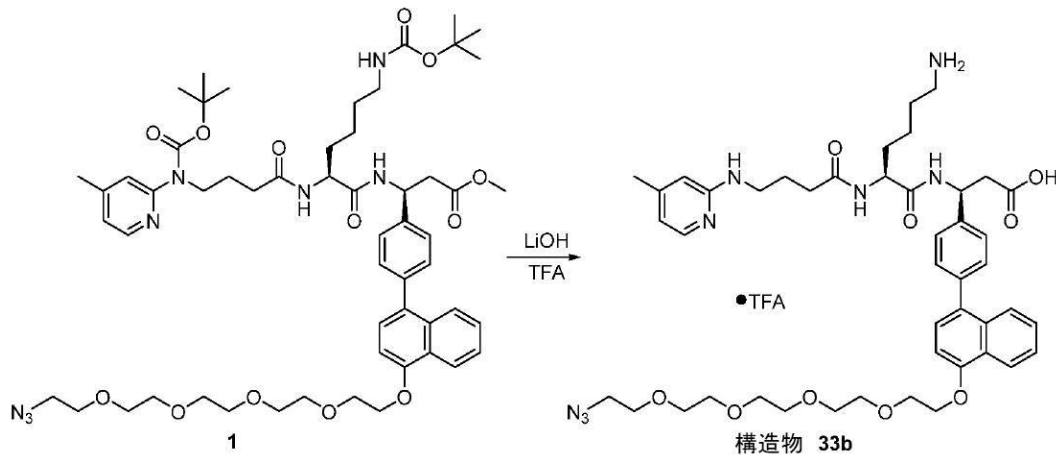
## 【 0 4 9 0】

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、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (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 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (5 mL) によってク

50



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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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C o m b 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]<sup>+</sup>の計算値1071.57、実測値1071.89。  
【化328】



10

## 【0491】

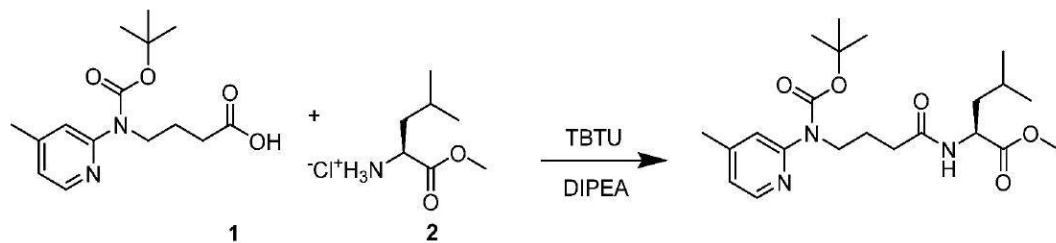
化合物1（130 mg、0.121 mmol、1.0当量）を含むTHF（2 mL）および水（2 mL）の溶液に、水酸化リチウム（8.7 mg、0.364 mmol、3.0当量）を室温で添加した。混合物を室温でさらに1時間撹拌した。HCl（6 N）によってpH 3.0に調整し、水相をEtOAc（3 × 10 mL）で抽出した。有機相を合わせ、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮した。TFA（3 mL）およびDCM（2 mL）を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに3時間撹拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、生成物を、固定相としてシリカゲルを使用したC o m b 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]<sup>+</sup>の計算値857.45、実測値857.64。

20

構造物34b（（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）-4-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。

30

## 【化329】



40

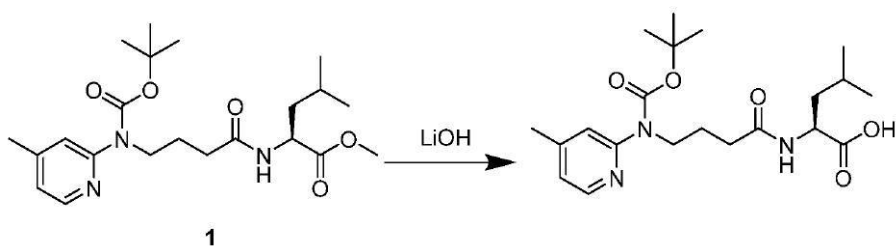
## 【0492】

化合物1（150 mg、0.509 mmol、1当量）、化合物2（101 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熱し、さらに1時間撹拌した。反応物を飽和 $\text{NaHCO}_3$ 溶液（5 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、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 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C o m b 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]<sup>+</sup>

50

+ の計算値 422.26、実測値 422.36。

【化330】

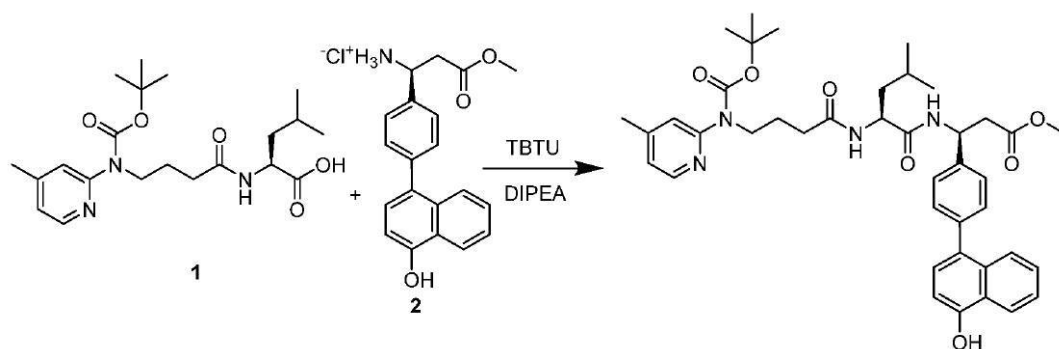


10

【0493】

化合物1 (186 mg、0.441 mmol、1当量)を含むTHF (3 mL)およびH<sub>2</sub>O (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熱した。室温で1時間の攪拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup>の計算値 408.24、実測値 408.23。

【化331】



20

【0494】

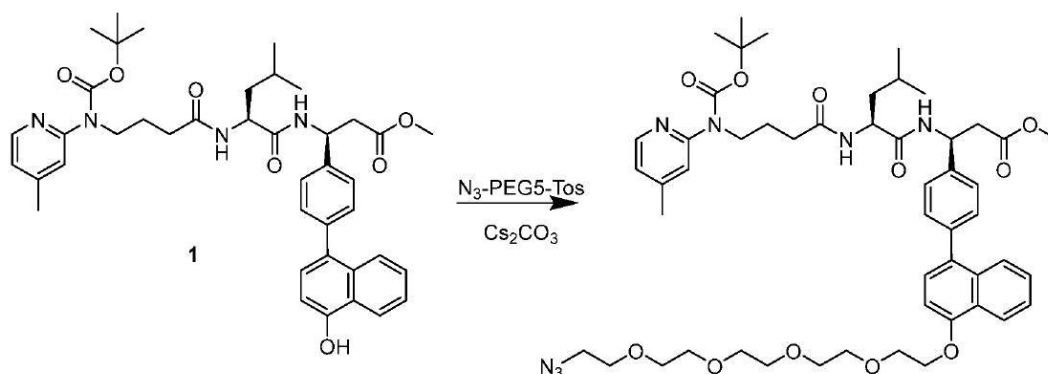
化合物1 (168 mg、0.412 mmol、1当量)、化合物2 (162 mg、0.453 mmol、1.1当量)、およびTBTU (159 mg、0.494 mmol、1.2当量)を含む無水DMF (2 mL)の溶液に、ジイソプロピルエチルアミン (0.215 mL、1.237 mmol、3当量)を0 で添加した。反応混合物を室温に加熱し、さらに1時間攪拌した。反応物を飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液 (10 mL)でクエンチし、水相を酢酸エチル (3 × 5 mL)で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。生成物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]<sup>+</sup>の計算値 711.37、実測値 711.69。

30

40

50

## 【化 3 3 2】

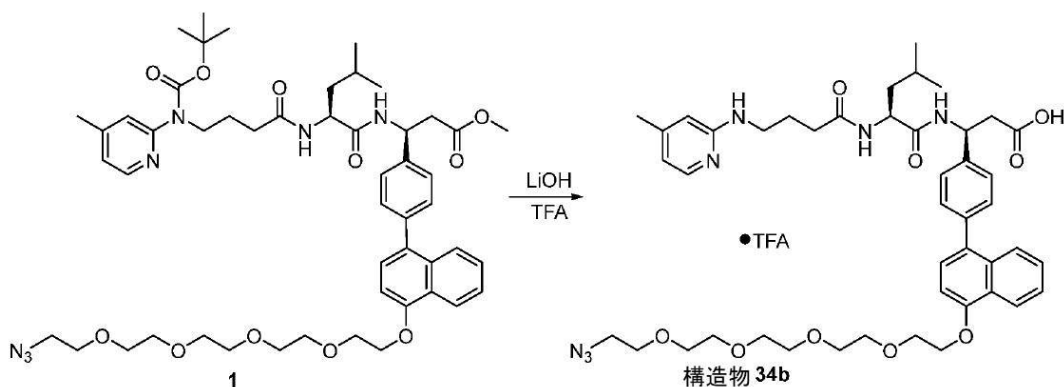


## 【 0 4 9 5】

化合物 1 (150 mg、0.206 mmol、1 当量) およびアジド - PEG5 - OTs (132 mg、0.317 mmol、1.5 当量) を含む無水 DMF (2 mL) の溶液に、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (137 mg、0.422 mmol、2 当量) を室温で添加した。反応混合物を 40℃ で 3 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値 956.51、実測値 956.64。

20

## 【化 3 3 3】



## 【 0 4 9 6】

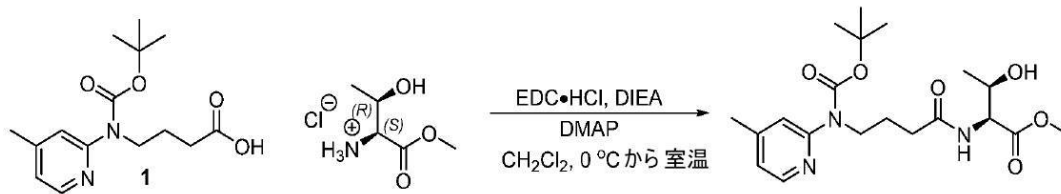
化合物 1 (160 mg、0.167 mmol、1.0 当量) を含む THF (2 mL) および水 (2 mL) の溶液に、水酸化リチウム (12 mg、0.502 mmol、3.0 当量) を室温で添加した。混合物を室温でさらに 1 時間撹拌した。HCl (6 N) によって pH 3.0 に調整し、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。有機相を合わせ、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。TFA (3 mL) および DCM (2 mL) を残渣に添加し、混合物を、室温でさらに 3 時間撹拌した。溶媒をロータリーエバポレーターによって除去し、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]<sup>+</sup> の計算値 842.44、実測値 842.67。

40

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。

50

## 【化 3 3 4】



## 【 0 4 9 7】

L - トレオニン - OMe HCl ( 1 . 0 0 0 g、 5 . 8 9 6 m m o l、 1 . 3 当量 ) を含むバイアルに、化合物 1 ( 1 . 3 3 5 g、 4 . 5 3 5 m m o l、 1 当量 )、ジメチルアミノピリジン ( 0 . 2 7 7 g、 2 . 2 6 8 m m o l、 0 . 5 当量 )、および  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 1 3 . 3 m L ) を添加した。この混合物にジイソプロピルアミン ( 2 . 0 5 4 m L、 1 1 . 7 9 2 m m o l、 2 . 6 当量 ) を添加し、得られた溶液を 0 に冷却した。EDC · HCl ( 1 . 1 3 0 g、 5 . 8 9 6 m m o l、 1 . 3 当量 ) を添加し、反応物を 0 で 3 0 分間攪拌後、室温に加熱した。反応物は、 1 6 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、 6 6 % 飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( 4 × 2 0 m L ) および飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( 2 0 m L ) で洗浄した。有機層を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮して粘稠性油状物 ( 1 . 7 5 8 8 g、 9 4 . 7 % ) を得、これを次の工程に直接使用した。LC - MS : [ M + H ] <sup>+</sup> の計算値 : 4 1 0 . 2 2、実測値 4 1 0 . 0 3

## 【化 3 3 5】



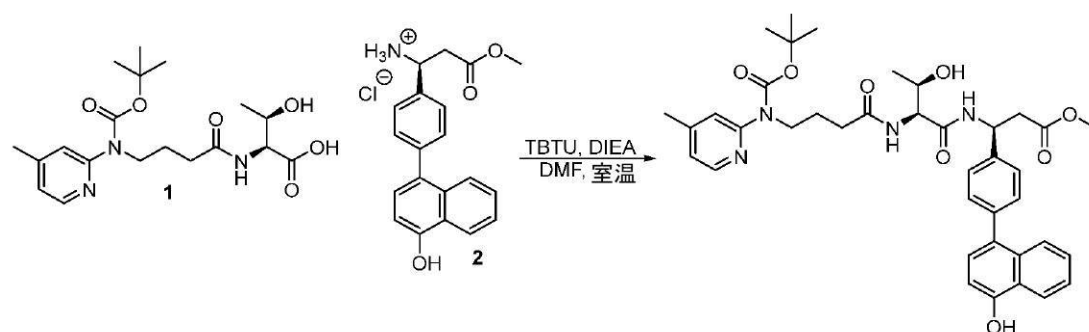
## 【 0 4 9 8】

化合物 1 を MeOH ( 4 . 5 m L ) に溶解し、この混合物に 2 . 0 M の LiOH ( 9 . 1 m L ) 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 2 0 %  $\text{KHSO}_4$  で pH = 4 に酸性化し、EtOAc ( 3 × 1 5 m L ) で抽出した。合わせた有機物をブライン ( 2 0 m L ) で洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮して、3 を固体として得た ( 1 . 5 0 9 5 g、収率 8 8 . 9 % )。LC - MS : [ M - H ] <sup>-</sup> の計算値 : 3 9 4 . 2 1、実測値 3 9 4 . 3 7。

## 【化 3 3 6】

<sup>1</sup>H  
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).

## 【化 3 3 7】

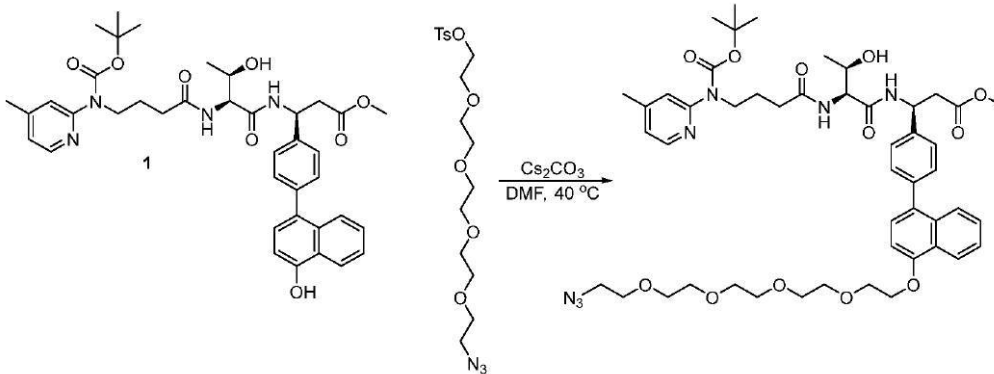


## 【0499】

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NaHCO<sub>3</sub>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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0 - 20% MeOHを含むCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>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]<sup>+</sup>の計算値: 699.33、実測値699.53

10

## 【化338】



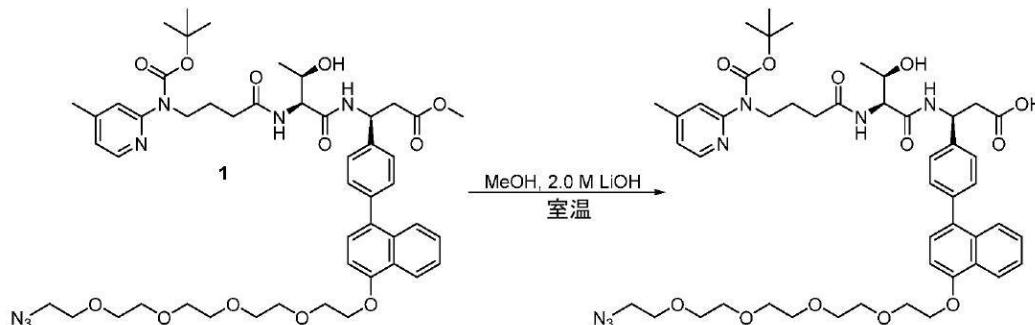
20

## 【0500】

化合物1 (0.151 g、0.216 mmol、1当量)を含むバイアルにCs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.106 g、0.324 mmol、1.5当量)およびDMF (1.9 mL)を添加した。N<sub>3</sub>-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NaHCO<sub>3</sub>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Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0 - 20% MeOHを含むCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>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]<sup>+</sup>の計算値: 944.47、実測値944.56

30

## 【化339】



40

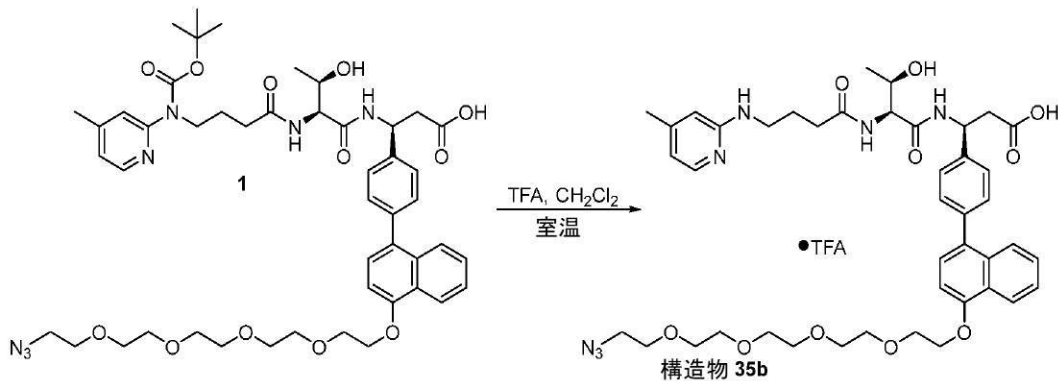
## 【0501】

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% KHSO<sub>4</sub>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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>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]<sup>+</sup> の計算値：930.45、実測値930.56。

【化340】



10

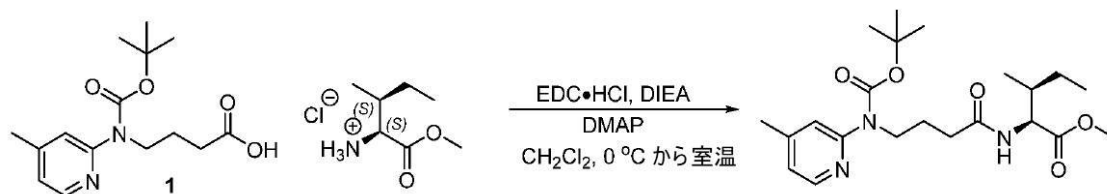
【0502】

化合物1 (0.0879 g、0.0945 mmol、1当量)を含むバイアルに、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.3 mL) およびトリフルオロ酢酸 (0.64 mL) を添加した。溶液を室温で撹拌した。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) と同時蒸発させた。TFA が残存した生成物を得た (115.6 mg)。

構造物 36b ((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,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。

20

【化341】



30

【0503】

L-イソロイシン-OMe HCl (1.000 g、5.505 mmol、1.3当量)を含むバイアルに、化合物1 (1.246 g、4.234 mmol、1当量)、ジメチルアミノピリジン (0.259 g、2.117 mmol、0.5当量)、およびCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (12.5 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、11.792 mmol、2.6当量) を添加し、得られた溶液を0 °C に冷却した。EDC·HCl (1.055 g、5.505 mmol、1.3当量) を添加し、反応物を0 °C で30分間撹拌後、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NH<sub>4</sub>Cl (4 × 20 mL) および飽和NH<sub>4</sub>Cl (1 × 20 mL) で洗浄した。有機層をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮して粘稠性油状物 (1.8634 g、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値：422.26、実測値422.00。

40

【化342】



50

## 【 0 5 0 4 】

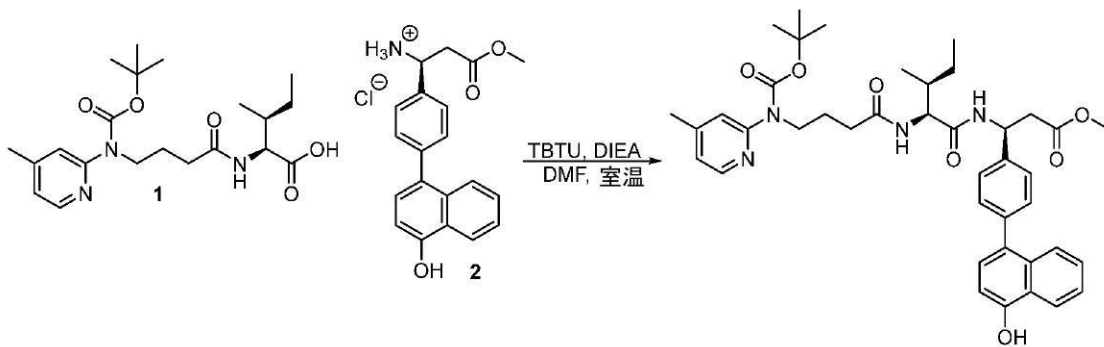
化合物 1 を MeOH ( 4 . 2 mL ) に溶解し、この混合物に 2 . 0 mL の LiOH ( 8 . 5 mL ) 溶液を添加した。反応物を 1 . 5 時間攪拌し、濃縮して MeOH を除去した。次いで、混合物を 20 % KHSO<sub>4</sub> で pH = 4 に酸性化し、EtOAc ( 3 × 15 mL ) で抽出した。合わせた有機物をブライン ( 20 mL ) で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮して、生成物を粘稠性油状物として得た ( 1 . 6 1 2 3 g、2 工程の収率 93 . 4 % )。LC - MS : [ M - H ]<sup>-</sup> の計算値 : 406 . 24、実測値 406 . 43。

## 【 化 3 4 3 】

<sup>1</sup>H 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 3 4 4 】



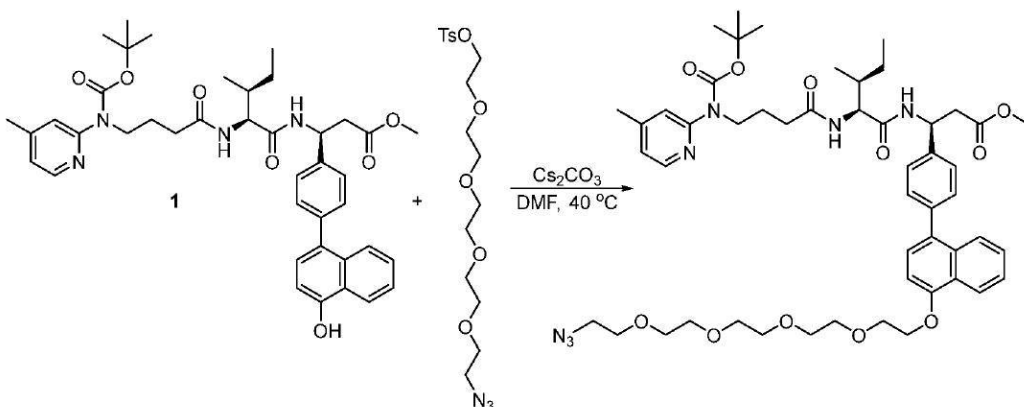
20

## 【 0 5 0 5 】

バイアルに、化合物 1 ( 0 . 200 g、0 . 491 mmol、1 当量 )、TBTU ( 0 . 189 g、0 . 589 mmol、1 . 2 当量 )、DMF ( 2 . 0 mL )、および DIEA ( 0 . 256 mL、1 . 472 mmol、3 . 0 当量 ) を入れた。反応物を 2 分間攪拌後、2 ( 0 . 246 g、0 . 687 mmol、1 . 4 当量 ) を添加した。完了後、反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0 - 20 % MeOH を含む CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 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 . 3024 mg、収率 86 . 7 % )。LC - MS : [ M + H ]<sup>+</sup> の計算値 : 711 . 37、実測値 711 . 51。

30

## 【 化 3 4 5 】



40

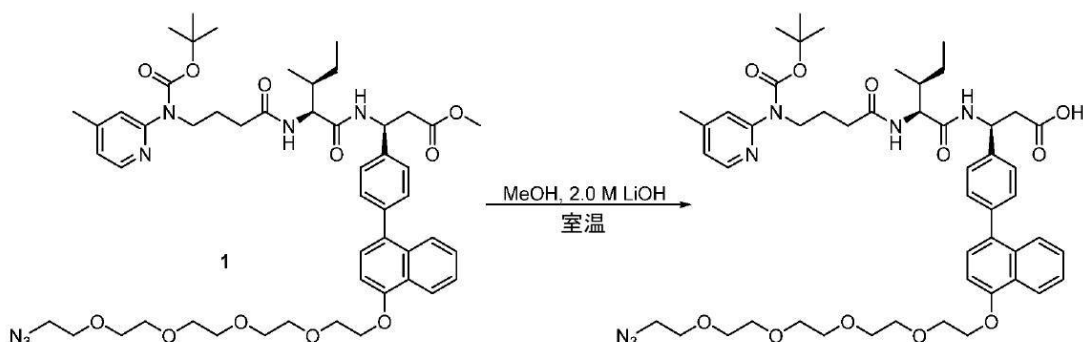
## 【 0 5 0 6 】

化合物 1 ( 0 . 170 g、0 . 238 mmol、1 当量 ) を含むバイアルに Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ( 0 . 116 g、0 . 358 mmol、1 . 5 当量 ) および DMF ( 2 . 1 mL ) を添加

50

した。N<sub>3</sub>-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 で撹拌した。完了後、反応物を EtOAc (10 mL)、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。粗物質を、0 - 20 % MeOH を含む CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 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]<sup>+</sup> の計算値: 956.51、実測値 956.78。

#### 【化 3 4 6】



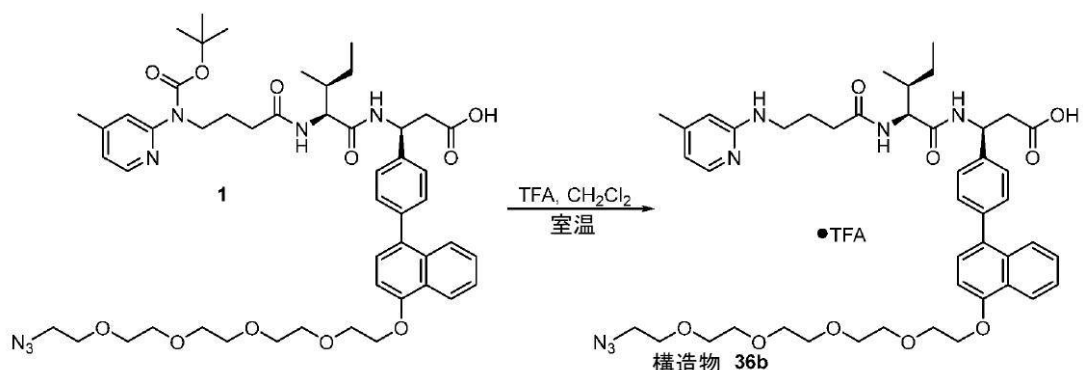
10

#### 【0 5 0 7】

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。反応物を室温で撹拌し、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 % KHSO<sub>4</sub> 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮して生成物を得た (0.1417 g、87.4 %)。LC-MS: [M + H]<sup>+</sup> の計算値: 942.49、実測値 942.56。

20

#### 【化 3 4 7】



40

#### 【0 5 0 8】

化合物 1 (0.1417 g、0.1504 mmol、1 当量) を含むバイアルに、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.5 mL) およびトリフルオロ酢酸 (1.0 mL) を添加した。溶液を室温で撹拌した。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]<sup>+</sup> 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

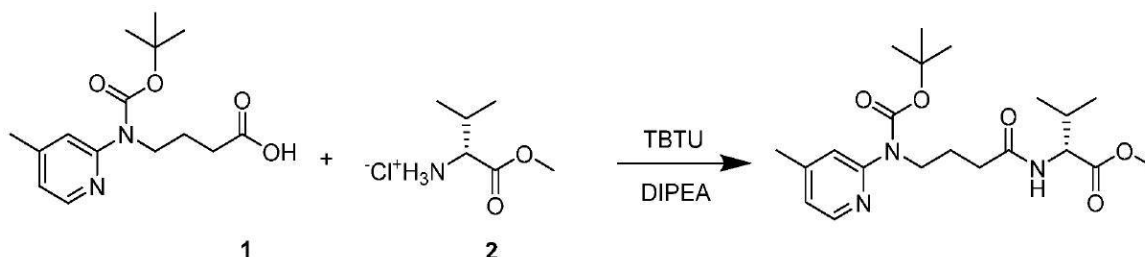
50



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】



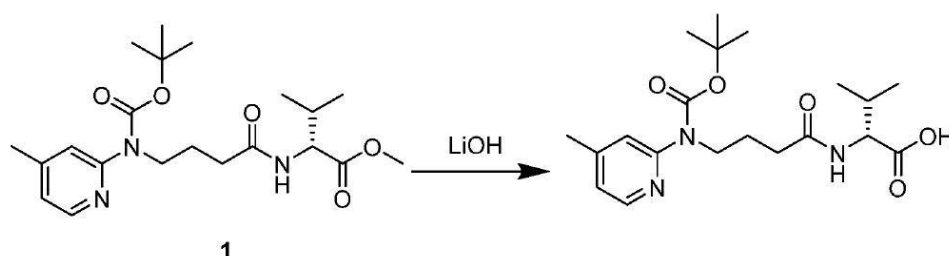
10

【0509】

化合物 1 (150 mg、0.509 mmol、1 当量)、化合物 2 (94 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 時間撹拌した。反応物を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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: 205 mg (99 %)。

20

【化349】



30

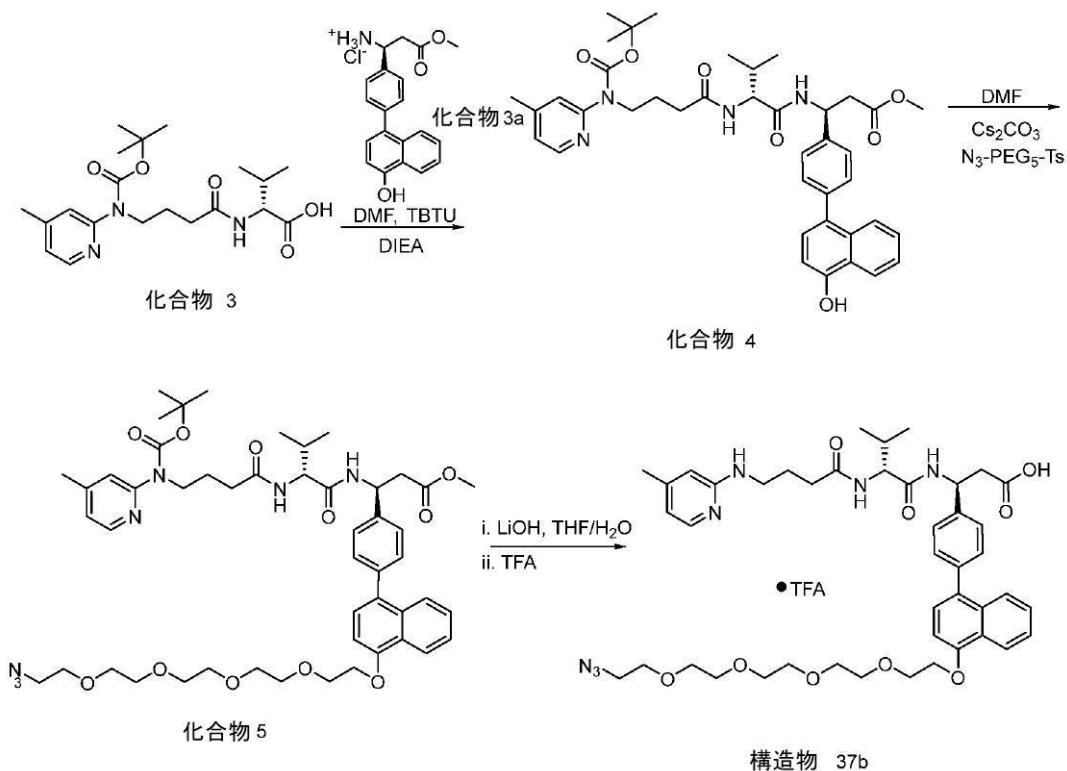
【0510】

化合物 1 (207 mg、0.508 mmol、1 当量) を含む THF (5 mL) および H<sub>2</sub>O (5 mL) の溶液に、水酸化リチウム (36 mg、1.523 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 時間の撹拌後、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、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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: 180 mg (91 %)。

40

50

## 【化 3 5 0】



10

20

## 【 0 5 1 1】

化合物 3 (180 mg、0.46 mmol)、化合物 3a (180 mg、0.50 mmol)、および TBTU (176 mg、0.55 mmol) を含む DMF (2.5 mL) の溶液に、DIEA (177 mg、239  $\mu$ L、1.37 mmol) を 0 で添加した。反応混合物を室温に加熱し、1 時間撹拌した。反応混合物を、飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (水) 溶液 (1.75 mL) および脱イオン水 (1.75 mL) でクエンチし、次いで、酢酸エチル (8 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (2  $\times$  8 mL) でさらに抽出した。合わせた有機相を、半飽和  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (水) 溶液 (6 mL) および半飽和  $\text{NaHCO}_3$  (水) 溶液 (6 mL) で洗浄した。有機層を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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：295 mg (92 %)。 $\text{C}_{40}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_7$  についての  $[\text{M} + \text{H}]^+$  計算値：697.84、実測値：697.82。

30

## 【 0 5 1 2】

化合物 4 (200 mg、0.29 mmol) およびアジド - PEG5 - OTs (240 mg、0.57 mmol) を含む無水 DMF (2.5 mL) の溶液に、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (187 mg、0.57 mmol) を添加した。反応混合物を 60 で 2 時間撹拌した。反応混合物を、飽和  $\text{NaHCO}_3$  (水) 溶液 (15 mL) および脱イオン水 (7.5 mL) でクエンチし、次いで、酢酸エチル (10 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (2  $\times$  10 mL) でさらに抽出した。合わせた有機相を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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：97 mg (36 %)。 $\text{C}_{50}\text{H}_{67}\text{N}_7\text{O}_{11}$  についての  $[\text{M} + \text{H}]^+$  計算値：943.15、実測値：942.96。

40

## 【 0 5 1 3】

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

50

1 (水溶液) で  $\text{pH} = 3$  に酸性化した。水相を酢酸エチル (  $3 \times 5 \text{ mL}$  ) で抽出した。合わせた有機相を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濾過し、濃縮した。この粗残渣に、 $\text{TFA}$  (  $1.34 \text{ mL}$  ) および水 (  $67 \mu\text{L}$  ) を添加した。反応混合物を室温で  $1.5$  時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をアセトニトリル:トルエン [  $1:1$  ] (  $2 \times 20 \text{ mL}$  ) 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  $\text{DCM}$  と共に使用した  $\text{Comb i F l a s h}$  (登録商標) によって分離した。構造物  $37b$  の収率:  $44 \text{ mg}$  (  $53\%$  )。  $\text{C}_{44}\text{H}_{57}\text{N}_7\text{O}_9$  についての  $[\text{M} + \text{H}]^+$  計算値:  $828.97$ 、実測値:  $828.63$ 。

実施例 2. 三座  $\nu_6$  インテグリンリガンドの合成および  $\nu_6$  インテグリンリガンドのカーゴ分子 (  $\text{RNAi}$  剤 ) への結合。

10

#### 【 0 5 1 4 】

$\nu_6$  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  $\text{RNAi}$  剤に結合することができる。 $\nu_6$  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  $\text{RNAi}$  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  $\nu_6$  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  $\nu_6$  インテグリンリガンド -  $\text{RNAi}$  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。

#### 【 0 5 1 5 】

A.  $\text{RNAi}$  剤の合成。 $\text{RNAi}$  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  $\text{RNAi}$  剤の合成のために

20

、 $\text{RNAi}$  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、 $\text{Mer Made 96E}$  (登録商標) (  $\text{Bio automation}$  )、 $\text{Mer Made 12}$  (登録商標) (  $\text{Bio automation}$  )、または  $\text{OP Pilot 100}$  (  $\text{GE Healthcare}$  ) を使用した。制御細孔ガラス (  $\text{Prime Synthesis}$  ,  $\text{Aston, PA, USA}$  から入手した  $\text{CPG}$ 、 $500$  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  $\text{RNA}$  および  $2'$  修飾  $\text{RNA}$  ホスホルアミダイトを、 $\text{Thermo Fisher Scientific}$  (  $\text{Milwaukee, WI, USA}$  ) から購入した。具体的には、以下の  $2' - \text{O} - \text{メチル}$  ホスホルアミダイトを使用した: (  $5' - \text{O} - \text{ジメトキシトリチル} - \text{N}^6 - (\text{ベンゾイル}) - 2' - \text{O} - \text{メチル} - \text{アデノシン} - 3' - \text{O} - (2 - \text{シアノエチル} - \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピルアミノ})$  ホスホルアミダイト、 $5' - \text{O} - \text{ジメトキシ} - \text{トリチル} - \text{N}^4 - (\text{アセチル}) - 2' - \text{O} - \text{メチル} - \text{シチジン} - 3' - \text{O} - (2 - \text{シアノエチル} - \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピル} - \text{アミノ})$  ホスホルアミダイト、(  $5' - \text{O} - \text{ジメトキシトリチル} - \text{N}^2 - (\text{イソブチリル}) - 2' - \text{O} - \text{メチル} - \text{グアノシン} - 3' - \text{O} - (2 - \text{シアノエチル} - \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピルアミノ})$  ホスホルアミダイト、および  $5' - \text{O} - \text{ジメトキシトリチル} - 2' - \text{O} - \text{メチル} - \text{ウリジン} - 3' - \text{O} - (2 - \text{シアノエチル} - \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピルアミノ})$  ホスホルアミダイト。  $2' - \text{デオキシ} - 2' - \text{フルオロ} - \text{ホスホルアミダイト}$  は、 $2' - \text{O} - \text{メチル}$   $\text{RNA}$  アミダイトと同一の保護基を保有していた。

30

$5' - \text{ジメトキシトリチル} - 2' - \text{O} - \text{メチル} - \text{イノシン} - 3' - \text{O} - (2 - \text{シアノエチル} - \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピルアミノ})$  ホスホルアミダイトを、 $\text{Glen Research}$  (  $\text{Virginia}$  ) から購入した。反転脱塩基 (  $3' - \text{O} - \text{ジメトキシトリチル} - 2' - \text{デオキシリボース} - 5' - \text{O} - (2 - \text{シアノエチル} - \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピルアミノ})$  ホスホルアミダイトを、 $\text{ChemGenes}$  (  $\text{Wilmington, MA, USA}$  ) から購入した。以下の  $\text{UNA}$  ホスホルアミダイトを使用した:  $5' - (4, 4' - \text{ジメトキシトリチル}) - \text{N}^6 - (\text{ベンゾイル}) - 2'$  ,  $3' - \text{セコ} - \text{アデノシン}$ 、 $2' - \text{ベンゾイル} - 3' - [ (2 - \text{シアノエチル}) - ( \text{N}, \text{N} - \text{ジイソプロピル} ) ] - \text{ホスホルアミダイト}$ 、 $5' - (4, 4' - \text{ジメトキシトリチル}) - \text{N} - \text{アセチル} - 2'$  ,  $3' - \text{セコ} - \text{シトシン}$ 、 $2' - \text{ベンゾイル} - 3' - [ (2 - \text{シアノエチル}) - ( \text{N}, \text{N} - \text{ジイソ} - \text{プロピル} ) ] - \text{ホスホルアミダイト}$ 、 $5' - (4, 4' - \text{ジメトキシトリチル}) - \text{N} - \text{イソブチリル} - 2'$  ,  $3' - \text{セコ} - \text{グアノ}$

40

$50$

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(ThermoFisher)。

#### 【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。

10

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(50mM)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(50mM)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、250mM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、250mM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、100mM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。

20

#### 【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きに、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(50mM)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、250mM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、250mM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、100mM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。

30

#### 【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(Alldrich)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)。

40

#### 【0519】

C. 精製。粗オリゴマーを、TSK gel Super Q-5PW 13μm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、20mM Tris、5mM EDTA(pH9.0)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1.5M塩化ナトリウムが添加されていた。260nm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 XK16/40カラムを使用したサイズ排除HPLCにて、100mM 重炭酸アンモニウム(pH6.7)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

50

運転した。

【 0 5 2 0 】

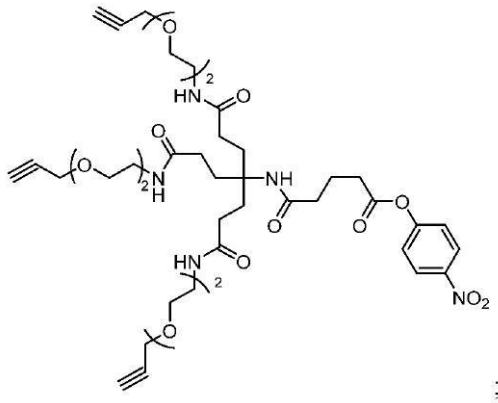
D . アニーリング。等モルのRNA溶液（センスおよびアンチセンス）を1×PBS（リン酸緩衝生理食塩水、1×、Corning, Cellgro）中で組み合わせることによって相補鎖を混合してRNAi剤を形成した。いくらかのRNAi剤を凍結乾燥させ、-15～-25で保存した。二重鎖の濃度を、UV-Vis分光計にて1×PBS中の溶液の吸光度を測定することによって決定した。次いで、260nmでの溶液の吸光度に変換係数および希釈計数を掛けて、二重鎖濃度を決定した。変換係数は0.037mg/(mL・cm)であったが、あるいは、実験によっては、変換係数を実験で決定した吸光係数から計算した。

10

【 0 5 2 1 】

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例示的なトリアルキン足場構造には、以下が含まれる：

【 化 3 5 1 】



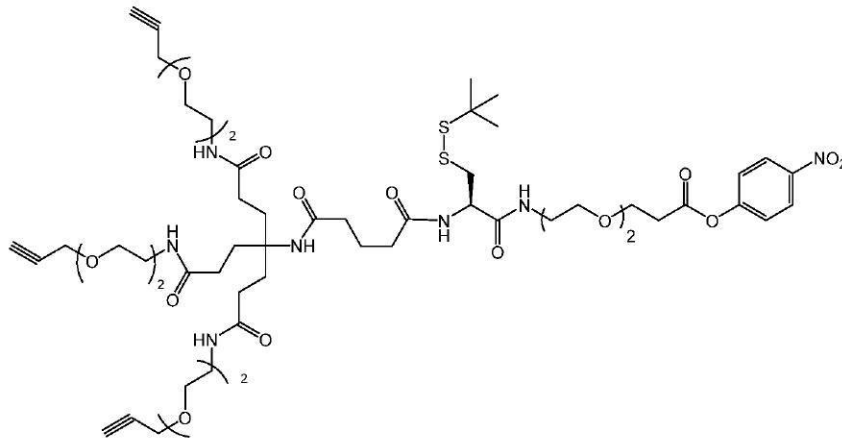
20

30

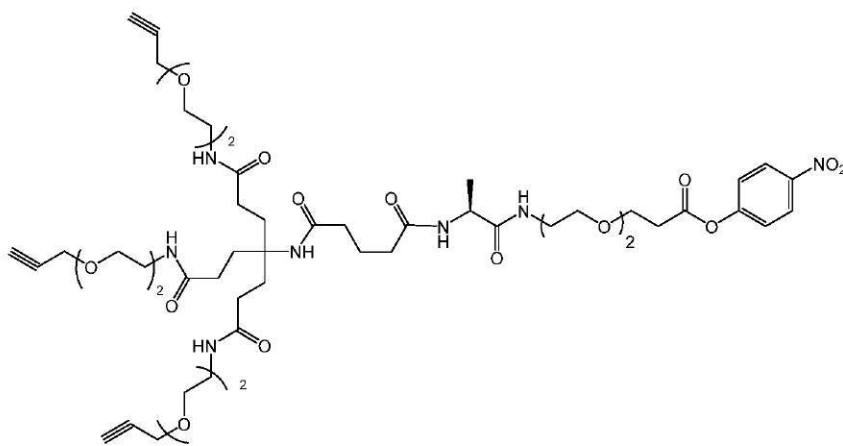
40

50

## 【化 3 5 2】



10



20

## 【 0 5 2 2】

以下に、アニール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 % H<sub>2</sub>O 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。

30

## 【 0 5 2 3】

F. v 6 インテグリンリガンドの結合。アニール前またはアニール後のいずれかに、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、アニールした二重鎖への 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) SO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O)、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) SO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O 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

40

50

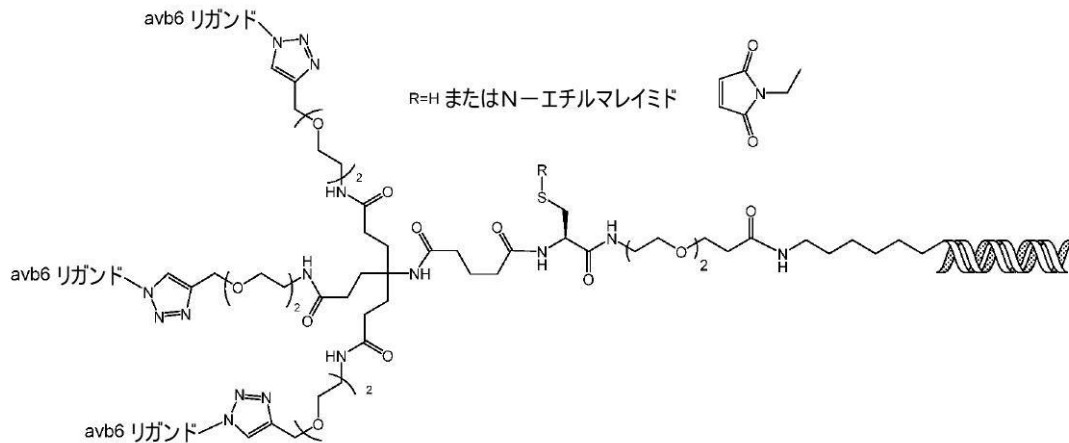
直後に、2 M アスコルビン酸塩（5  $\mu$  L、50 当量 / 二重鎖、16.7 / アルキン）を反応バイアルに添加し、ボルテックスした。反応が完了した時点で（典型的には、0.5 ~ 1 時間で完了する）、反応物を直ちに未変性陰イオン交換クロマトグラフィによって精製した。

#### 【0524】

G. シス테인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테인リンカーを使用して、 $\alpha$ 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る。アニリング前またはアニ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<sub>2</sub> 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る：

10

#### 【化353】



20

#### 【0525】

以下に、N-エチルマレイミドでのトリアルキン - Cys (Stbu) - PEG<sub>2</sub> - 二重鎖の修飾の例を記載する：トリアルキン - Cys (Stbu) - PEG<sub>2</sub> - 二重鎖（35 mg）を、500  $\mu$  L の脱イオン水に溶解した。HEPES 緩衝液（1 M、pH 8.5、82  $\mu$  L）を反応物に添加し、溶液をボルテックスした。1 M ジチオトレイトール溶液（DTT、100 当量、236  $\mu$  L）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  $\times$  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  $\times$  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。

30

実施例 3.  $\alpha$ 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  $\alpha$ 6 インテグリンリガンドについての IC<sub>50</sub> 結合データを得た：

40

#### 【表 1】

表1. IC<sub>50</sub>結合活性。

群	IC <sub>50</sub> (nM)		
	$\alpha\beta 3$	$\alpha\beta 5$	$\alpha\beta 6$
構造物 1	不活性	不活性	13
構造物 2	不活性	不活性	129

#### 【0527】

50

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 IC50 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、 $\alpha$ 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  $\alpha$ 6 インテグリンリガンドに結合した  $\alpha$ 6-ENaC を標的にする RNAi 剤の *in vivo* 気管内投与。

#### 【0528】

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の手順にしたがって、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  $\alpha$ 6-ENaC または SCNN1A 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。 $\alpha$ 6-ENaC RNAi 剤を、 $\alpha$ 6-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、 $\alpha$ 6-ENaC 遺伝子の発現を阻害することができるようにデザインした。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') :  
(NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) s g s c u g u g c a A f C f C f a g a a c a a u a s (i n v A b) (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、(i n v A b) 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；A f、C f、G f、および U f 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；c P r p u 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）；(NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) は、必要に応じてターゲットインテグリンリガンド結合を容易にするための C<sub>6</sub> 末端アミンを表す（例えば、表 A を参照のこと）。

#### 【0529】

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。

#### 【0530】

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) 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ル (D5W)；
- (2) 3.0 mg/kg の、5% デキストロース水溶液 (d5w) 中に処方されたりガンドを含まない  $\alpha$ 6-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  $\alpha$ 6 インテグリンリガンドに結合された  $\alpha$ 6-ENaC RNAi 剤 (AD04835)。

#### 【0531】

群 2 および 3 において同一の  $\alpha$ 6-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 (NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) 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  $\alpha\beta6$  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日目に安楽死させ、採取および均一化後に両肺から全てのRNAを単離した。 $\alpha$ -ENaCのmRNA存在量を、プロンプベースの定量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 $\alpha$ -ENaC発現。

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 $\alpha\beta6$ インテグリンリガンド構造物1[( $\alpha\beta6$ インテグリンリガンド構造物1) $\beta$ -RNAi剤]	0.19	0.05 / 0.59

#### 【0533】

上の表2に示すように、 $\alpha$ -ENaC RNAi剤に結合した三座形態の構造物1の $\alpha\beta6$ 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 $\alpha$ -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。

実施例5. ラットにおける $\alpha\beta6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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、 $\alpha\beta6$ 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。

#### 【0535】

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 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha\text{-ENaC}$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha\text{-ENaC}$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha\text{-ENaC}$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha\text{-ENaC}$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha\text{-ENaC}$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha\text{-ENaC}$ 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

## 【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、 $\text{v} 6$  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 ( $\text{NH}_2 - \text{C}_6$ ) を含んでいた。次いで、各  $\text{v} 6$  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 -  $\text{v} 6$  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  $\text{v} 6$  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 -  $\text{v} 6$  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：

10

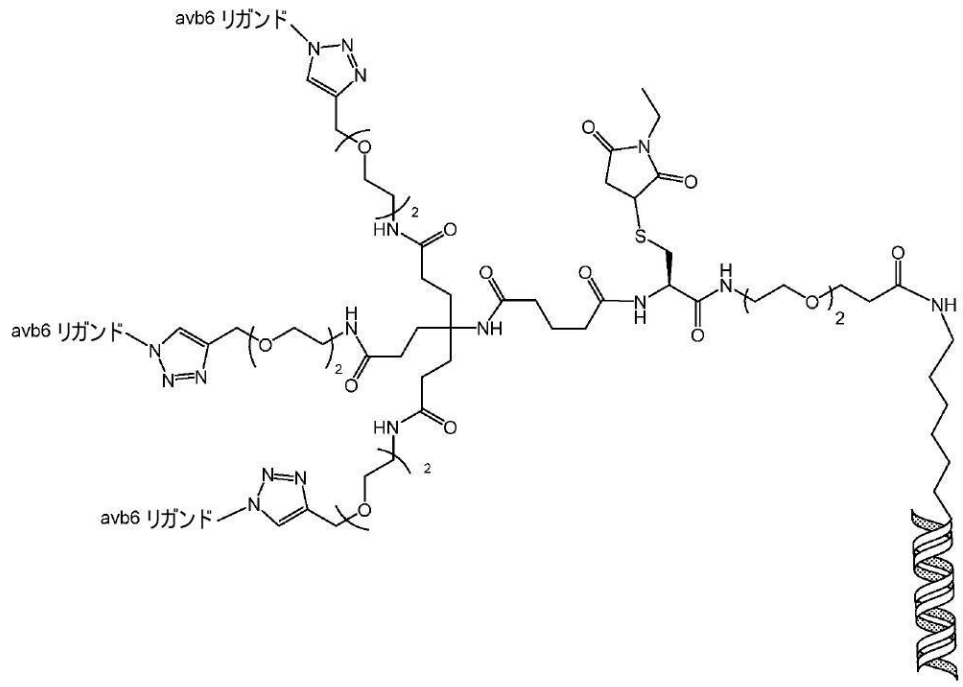
20

30

40

50

## 【化 3 5 4】



10

20

(式中、  
【化 3 5 5】



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。-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 <sub>2</sub> -三座αvβ6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 <sub>2</sub> -三座αvβ6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 <sub>2</sub> -三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 <sub>2</sub> -三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 <sub>2</sub> -三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 <sub>2</sub> -三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 r ENaC 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 r ENaC 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 r ENaC 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  $\alpha\text{v}\beta 6$  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。

## 【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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\beta\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\beta\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 - 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、 $\beta$ 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')：

( $\text{NH}_2 - \text{C}_6$ ) c s c u g u g c a A f C f C f a g a a c a a u a s ( i n v A

b) (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')：

( $\text{NH}_2 - \text{C}_6$ ) c s c u g u g c a A f C f C f a g a a c a a u a s ( i n v A

b) (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)、

ここで、( i n v A b ) 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；A f、C f、G f、および U f 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；c P r p u 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)；( $\text{NH}_2 - \text{C}_6$ ) は、必要に応じてターゲットインテグリンリガンド結合を容易にするための  $\text{C}_6$  末端アミンを表す (例えば、表 A を参照のこと)。

30

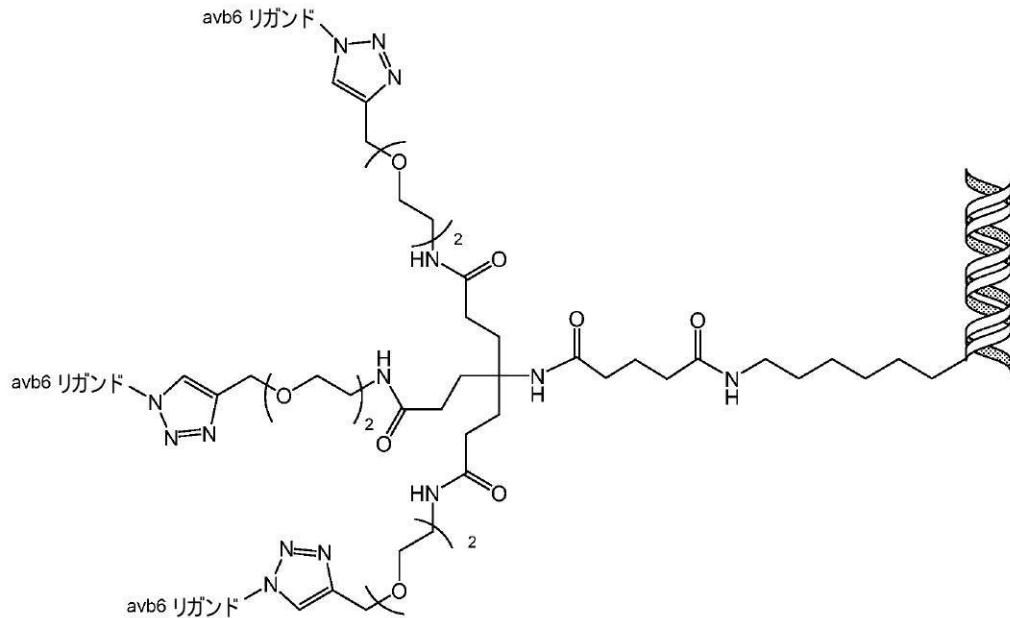
40

## 【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  $\beta$ 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 3 5 6】



( 構造物 300a),

( 式中、

【化 3 5 7】

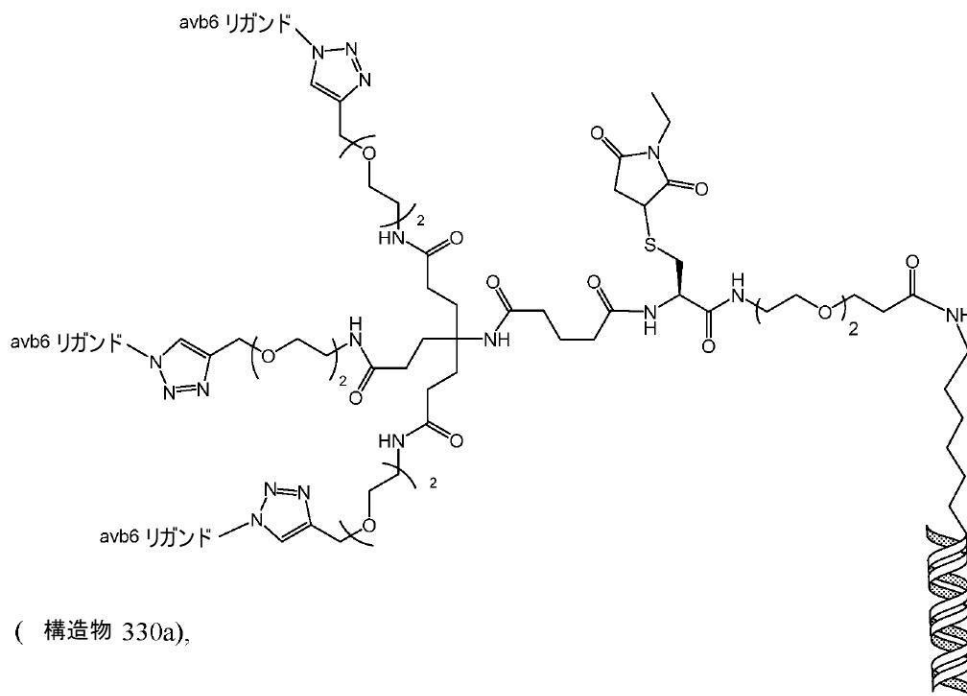


はRNA i 剤を表し、「avb6 リガンド」は、各リガンド構造を表す)。

【0 5 4 2】

群7および8について、各々の v 6 インテグリンリガンドを、構造物 3 3 0 a に示す構造を有する三座足場 / リンカー構造を介してRNA i 剤に結合した：

【化 3 5 8】



( 構造物 330a),

( 式中、

10

20

30

40

50

## 【化 3 5 9】



は RNA i 剤を表し、「 $\alpha\beta6$  リガンド」は、各リガンド構造を表す)。

## 【0 5 4 3】

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)。

## 【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 $\alpha\beta6$ インテグリン リガンド構造物2)	3	0.486	0.090	0.110

## 【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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ インテグリン リガンド構造物7)	4	0.743	0.104	0.121

## 【0 5 4 4】

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  $\alpha\beta6$  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 r ENaC mRNA 発現のおよそ 51% の減少 (0 . 494) を示し、群 3 (AD05453 - 三座  $\alpha\beta6$  インテグリンリガンド構造物 2) は対照と比較して平均 r ENaC mRNA 発現のおよそ 38% の減少 (0 . 615) を示した。さらに、群 5 (  $\alpha\beta6$  インテグリンリガンド構造物 6 . 1 を含んでいた) は、群 6 (  $\alpha\beta6$  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、  $\alpha\beta6$  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。

実施例 7 . ラットにおける  $\alpha\beta6$  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。

【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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 $\alpha\gamma\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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( $\text{NH}_2\text{-C}_6$ )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ンリガンドに結合した $\alpha$ -ENaC RNAi剤AD05453(等張生理食塩水中に処方)。	1日目の単回OP服薬



## 【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、 $\alpha\beta6$  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 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  $\alpha\beta6$  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、 $\alpha\beta6$  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 20 kDa 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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 $\alpha\beta6$ 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

40

## 【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  $\alpha\beta6$  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  $\alpha\beta6$  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  $\alpha\beta6$  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 の薬物動態学的効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

50

上皮細胞ターゲット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  $\alpha$ 6 インテグリンリガンドに結合した  $\alpha$ -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. 5mg/kg の、20 キロダルトン (kDa) 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ットグリガンドに結合した $\alpha$ -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. 5mg/kg の、システインリンカーを含む構造物 1 の三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 1 の三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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. 5mg/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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 日目の IT 服薬
6	1. 5mg/kg の、20kDa PEG 部分およびシステインリンカーをさらに含むセンス鎖の 5' 末端上のアミン ( $\text{NH}_2\text{-C}_6$ ) 連結を介して三座ペプチドベースの上皮細胞ターゲットグリガンドに結合した $\alpha$ -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
7	1. 5mg/kg の、グルタル酸リンカーを含む構造物 1 の三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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 日目の IT 服薬

【0550】

ヒト  $\alpha$ -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、 $\alpha$ 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。

【0551】

群 3 および 4 について、構造物 1 の  $\alpha$ 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、システインリンカーを含む三座足場およびリンカー構造を介して RNAi 剤に結合した：

10

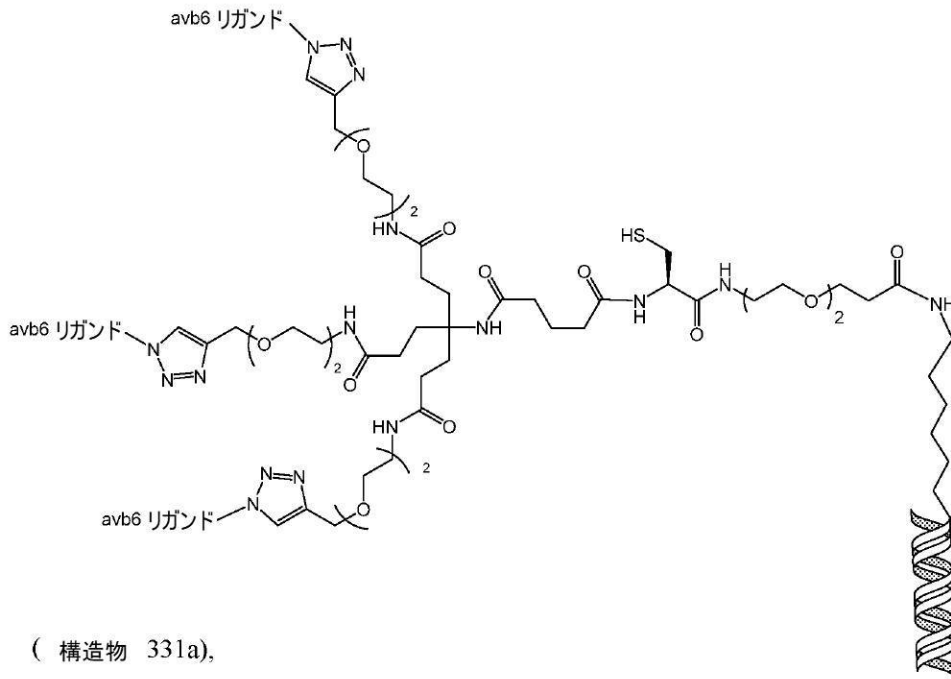
20

30

40

50

## 【化 3 6 0】



( 式中、  
【化 3 6 1】



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ットリガンドは、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。

## 【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)。

10

20

30

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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンド)	0.648	0.184	0.256

10

## 【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  $\alpha\beta$ 6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ン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。

20

実施例9. 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：

30

## 【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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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日目の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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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日目の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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンドに結合した $\alpha$ -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

50

## 【 0 5 5 7 】

ヒト  $\alpha$  - 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、  $\alpha$  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 H<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> ) 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 2 および 3 について、それぞれの  $\alpha$  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。群 6 について、それぞれの  $\alpha$  6 インテグリンリガンドを、上の実施例 8 に示す構造物 3 3 1 a 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。

10

## 【 0 5 5 8 】

同一の  $\alpha$  - E N a C R N A i 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 R N A を単離した。  $\alpha$  - 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、+ / - 9 5 % 信頼区間 )。

## 【 表 1 2 - 1 】

表 12. 実施例 9 における屠殺時 ( 9 日目 ) の平均相対  $\alpha$  E N a C m R N A 発現。

群 ID	平均相対 $\alpha$ E N a C m R N A 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 $\alpha$ v $\beta$ 6 インテグリンリガンド構造物 1 )	0.545	0.121	0.156

20

## 【 表 1 2 - 2 】

群 3 ( 1. 5mg / kg AD04835 - グルタル酸 - 三座 $\alpha$ v $\beta$ 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 $\alpha$ v $\beta$ 6 インテグリンリガンド構造物 2 )	0.237	0.125	0.267

30

## 【 0 5 5 9 】

上の表 1 2 に示すように、各々の  $\alpha$  - E N a C R N A i 剤は、対照と比較してラットにおける m R N A 発現が減少した。例えば、群 3 ( R N A i 剤 - グルタル酸 - 三座  $\alpha$  v  $\beta$  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  $\alpha$  E N a C m R N A 発現のおよそ 5 2 % の減少 ( 0 . 4 8 3 ) を示し、群 6 ( R N A i 剤 - C y s - 三座  $\alpha$  v  $\beta$  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  $\alpha$  E N a C m R N A 発現のおよそ 7 6 % の減少 ( 0 . 2 3 7 ) を示した。

実施例 1 0 . ラットにおける  $\alpha$  6 インテグリンリガンドに結合した  $\alpha$  - E N a C を標的にする R N A i 剤の i n v i v o 気管内投与。

40

## 【 0 5 6 0 】

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、微量噴霧デバイス ( P e n n C e n t u r y , P h i l a d e l p h i a , P A ) を介して 2 0 0 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：

## 【 0 5 6 1 】

## 【表 1 3 - 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ペプチドリナーをさらに含むセンス鎖の5'末端上のアミン(NH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> )連結を介して単座のペプチドベースの上皮細胞ターゲット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

## 【表 1 3 - 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

30

## 【0 5 6 2】

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、 $\alpha v \beta 6$  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 (NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) 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 3、4、5、  
および 6 について、それぞれの  $\alpha v \beta 6$  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。群 2 について、ターゲットリガンドは、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 20 kDa PEG 部分および FCFP ペ  
プチドリナーを含んでいた。

40

## 【0 5 6 3】

同一の - ENaC RNAi 剤を、群 2 ~ 7 の各々で使用した。

## 【0 5 6 4】

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  
 )。

50

## 【表 1 4】

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 <sub>20</sub> -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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンド構造物2)	0.616	0.069	0.078

上の表 1 4 に示すように、各々の  $\alpha\text{v}\beta 6$ -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 . 0 m g / k g A D 0 4 8 3 5 - C y s - 三 座  $\alpha\text{v}\beta 6$  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 2 0 キロダルトンの P E G 部分を含まないにもかかわらず、群 2 ( 1 . 0 m g / k g A D 0 4 8 3 5 - C y s - P E G 2 0 k D a - F C F P - P E G <sub>20</sub> - 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、 $\alpha\text{v}\beta 6$ -ENaC 発現の阻害レベルが数値的に優れていた ( 群 5 = およそ 5 6 % ノックダウン ( 0 . 4 3 6 ) ; 群 2 = およそ 4 7 % ノックダウン ( 0 . 5 3 1 ) ) 。

実施例 1 1 . ラットにおける  $\alpha\text{v}\beta 6$  インテグリンリガンドに結合した  $\alpha\text{v}\beta 6$ -ENaC を標的にする RNAi 剤の *in vivo* 口腔咽頭吸引投与。

## 【 0 5 6 5 】

研究 1 日目、2 日目、および 3 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 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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、 $\alpha\text{v}\beta 6$  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 6 に記載されている。各  $\alpha\text{v}\beta 6$  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。ヒト - 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 1 6】

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 $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンド構造物6.1)	0.254	0.043	0.052

10

## 【0 5 6 8】

20

上の表16に示すように、構造物6.1(三座形態)を有する $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ インテグリンリガンド結合活性。

## 【0 5 6 9】

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 $\alpha v \beta 6$ 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：

30

## 【表 1 7】

表17. IC50 結合活性。

群	IC50 (nM) $\alpha v \beta 6$
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

40

## 【0 5 7 0】

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、 $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ 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。

## 【0 5 7 1】

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 $\alpha\beta 6$ 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 $\alpha\beta 6$ 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 $\alpha\beta 6$ 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、 $\alpha\beta 6$ 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。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 $\alpha\beta 6$ 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

### 【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 $\alpha\beta 6$ 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 $\alpha\beta 6$ 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 $\alpha\beta 6$ 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 $\alpha\beta 6$ 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。

### 【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 2 0】

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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

10

## 【0 5 7 5】

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、A D 0 5 3 4 7 および A D 0 5 4 5 3 二重鎖を含む R N A i 剤は、 $\alpha\text{v}\beta 6$  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 R N A i 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  $\alpha\text{v}\beta 6$  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

## 【0 5 7 6】

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 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、ピビ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 1】

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンド構造物6. 4)	0.620	0.105	0.127

30

40

実施例 1 5 . ラットにおける  $\alpha\text{v}\beta 6$  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 7 7】

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 :

50

## 【表 2 2】

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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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

10

## 【0 5 7 8】

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、 $\alpha$  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 H<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> ) 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  $\alpha$  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

## 【0 5 7 9】

各群 1 ~ 9 および 1 2 中の四 ( 4 ) 匹のラットに服薬させた ( n = 4 ) 。群 1 0 および 1 1 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 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、ピヒクル対照群に対する割合として示した ( 幾何平均、+ / - 9 5 % 信頼区間 ) 。

## 【表 2 3】

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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンド構造物13)	0.711	0.086	0.098

30

実施例 1 6 . ラットにおける  $\alpha$  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 0】

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 :

40

50

## 【表 2 4 - 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 2 4 - 2】

4	(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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
---	---	------------------

## 【0 5 8 1】

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、 $\text{v} 6$  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 H<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> ) 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  $\text{v} 6$  インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 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

## 【0 5 8 2】

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 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、+ / - 9 5 % 信頼区間 ) 。

## 【表 2 5】

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンド構造物15)	0.533	0.047	0.052

30

実施例 1 7 . ラットにおける  $\text{v} 6$  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。

40

## 【0 5 8 3】

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 :

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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】

10

3	(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 - 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、 $\alpha\text{v}\beta 6$  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。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  $\alpha\text{v}\beta 6$  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

## 【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 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 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。

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	0.195	0.242
群2(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンド構造物11)	0.625	0.126	0.158

40

実施例 18 . ラットにおける  $\alpha\text{v}\beta 6$  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。

## 【0 5 8 6】

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 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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

10

## 【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、 $\alpha\beta$ 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。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  $\alpha\beta$ 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

## 【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、 $\pm 95\%$  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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンド構造物15)	0.628	0.101	0.120

30

実施例 19 . 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。

40

## 【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
---	------------	--------

50

【表 3 0 - 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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

## 【0 5 9 0】

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、 $\text{v} 6$  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 ( $\text{NH}_2 - \text{C}_6$ ) 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  $\text{v} 6$  インテグリンリガンドを、上の実施例 6 に示す構造物 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 9 1】

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 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、+ / - 9 5 % 信頼区間 ) 。

20

## 【表 3 1】

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリン リガンド構造物20)	0.589	0.078	0.090

30

実施例 2 0 . ラットにおける  $\text{v} 6$  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。

40

## 【0 5 9 2】

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 3 2】

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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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

## 【0 5 9 3】

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、 $\alpha\beta$  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 H<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>) 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  $\alpha\beta$  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

## 【0 5 9 4】

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 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、+ / - 9 5 % 信頼区間 ) 。

30

## 【表 3 3 - 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 $\alpha\beta$ 6インテグリン リガンド構造物6. 1)	0.400	0.057	0.066

## 【表 3 3 - 2】

群3(0. 5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 6インテグリン リガンド構造物15)	0.473	0.052	0.058

40

50

実施例 21 . ラットにおける  $\alpha 6$  インテグリンリガンドに結合した  $\alpha 1$  - ENaC を標的にする RNAi 剤の *in vivo* 口腔咽頭吸引投与。

【 0 5 9 5 】

研究 1 日目および 2 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 3 4】

表34. 実施例21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
4	(0. 5mg/kg AD05453 三座 $\alpha v \beta 6$ 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

【 0 5 9 6 】

ヒト  $\alpha 1$  - 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、 $\alpha 6$  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。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  $\alpha 6$  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

【 0 5 9 7 】

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 RNA を単離した。 $\alpha 1$  - 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 3 5 - 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。

30

【表 3 5 - 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 $\alpha v \beta 6$ 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 $\alpha v \beta 6$ 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  $\alpha 6$  インテグリンリガンドに結合した  $\alpha 1$  - ENaC を標的にする RNAi 剤の *in vivo* 口腔咽頭吸引投与。

【 0 5 9 8 】

研究 1 日目および 2 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 3 6】

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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、 $\alpha\text{v}\beta 6$  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。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  $\alpha\text{v}\beta 6$  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

## 【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)。

## 【表 3 7】

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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ 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 $\alpha\text{v}\beta 6$ インテグリンリガンド構造物33)	0.560	0.145	0.196

30

40

実施例 23 . ラットにおける  $\alpha\text{v}\beta 6$  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。

## 【0601】

研究 1 日目および 2 日目に、雄 Sprague 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 $\alpha\beta$ 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
3	(0.5mg/kg AD05453三座 $\alpha\beta$ 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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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

10

## 【0602】

20

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、 $\alpha\beta$ 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。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  $\alpha\beta$ 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。

## 【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、

30

【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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6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 $\alpha\beta$ 6インテグリンリガンド構造物37)	0.443	0.049	0.055

40

他の実施形態

## 【0604】

50

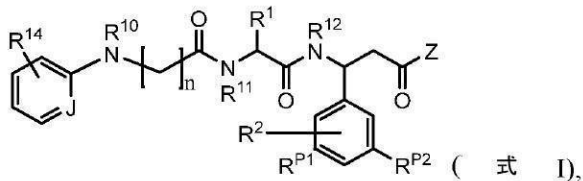
本発明をその詳細な説明と併せて記載しているが、前述の説明は、例示を意図し、本発明の範囲を制限せず、本発明は、添付の特許請求の範囲の範囲によって定義されると理解すべきである。他の態様、利点、および修正形態は、以下の特許請求の範囲の範囲内にある。

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】



10

(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<sup>13</sup>、N(R<sup>13</sup>)<sub>2</sub>、またはSR<sup>13</sup>であり；

R<sup>1</sup> は、H、必要に応じて置換されたC<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> アルキル、OH、COOH、CON(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>、OR<sup>6</sup>であるか、R<sup>1</sup> は、カーゴ分子を含み、ここで、各R<sup>5</sup>は、独立して、H またはC<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> アルキルであり、R<sup>6</sup>は、H またはC<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> アルキルであり；

20

R<sup>2</sup>、R<sup>P1</sup>、およびR<sup>P2</sup>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<sup>2</sup>、R<sup>P1</sup>、およびR<sup>P2</sup>は、カーゴ分子を含んでよく；

R<sup>10</sup> は、H または必要に応じて置換されたアルキルであり；

R<sup>11</sup> 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<sup>11</sup> およびR<sup>1</sup>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<sup>12</sup> 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<sup>13</sup>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<sup>13</sup>は、カーゴ分子を含み；

30

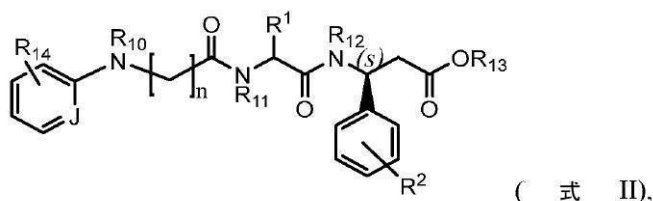
R<sup>14</sup> は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>13</sup>、R<sup>P1</sup>、およびR<sup>P2</sup>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】



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；

R<sup>1</sup> は、H、C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> アルキル、CH(R<sup>3</sup>)(R<sup>4</sup>)、OH、COOH、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、CONHR<sup>5</sup>、OR<sup>6</sup>であるか、R<sup>1</sup>は、カーゴ分子を含み、ここで、R<sup>3</sup>

50

は、HまたはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキルであり、R<sup>4</sup>は、H、C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキルであり、R<sup>5</sup>は、HまたはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキルであり、R<sup>6</sup>は、HまたはC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>アルキルであり；

R<sup>2</sup>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、R<sup>2</sup>はカーゴ分子を含み、

R<sup>1.0</sup>は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R<sup>1.1</sup>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<sup>1.1</sup>およびR<sup>1</sup>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<sup>1.2</sup>は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

R<sup>1.3</sup>は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；

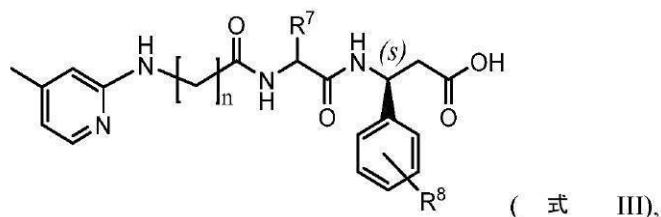
R<sup>1.4</sup>は必要に応じて置換されたアルキルであり；

ここで、R<sup>1</sup>またはR<sup>2</sup>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】



(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<sup>7</sup>は、1またはそれを超えるカーゴ分子を含み；

R<sup>8</sup>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、またはジオキサラン)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。

(項目4)

以下の構造物：

10

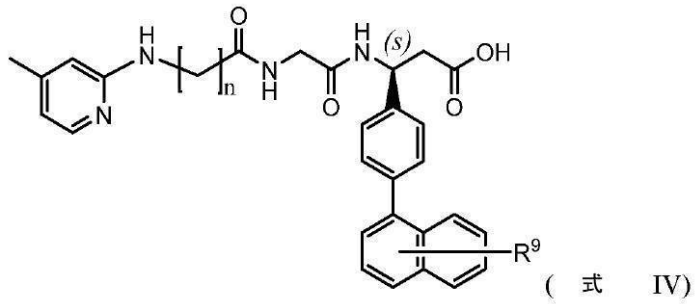
20

30

40

50

## 【化 3 6 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) ;

$R^8$  は、1 またはそれを超えるカーゴ分子を含む ) 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 )

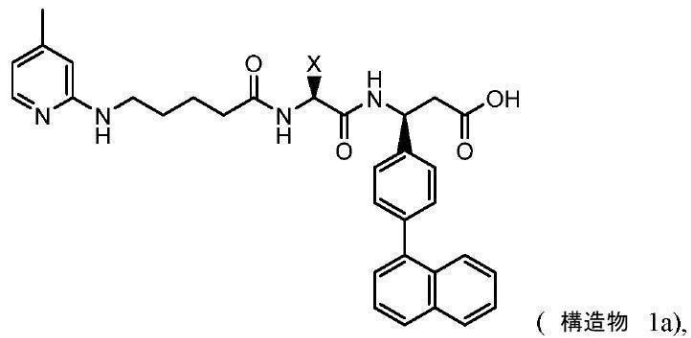
$n$  が 4 である、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の v 6 インテグリンリガンド。

( 項目 7 )

20

以下 :

## 【化 3 6 6】

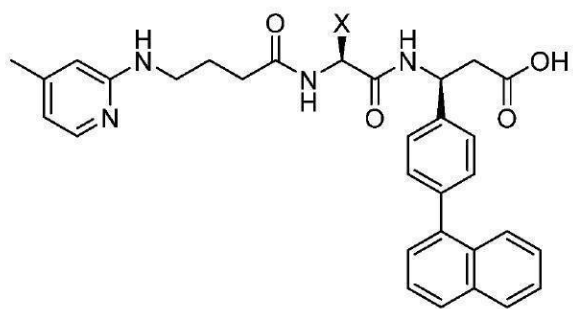


30

40

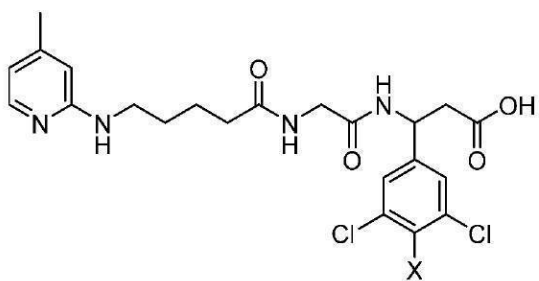
50

【化 3 6 7】

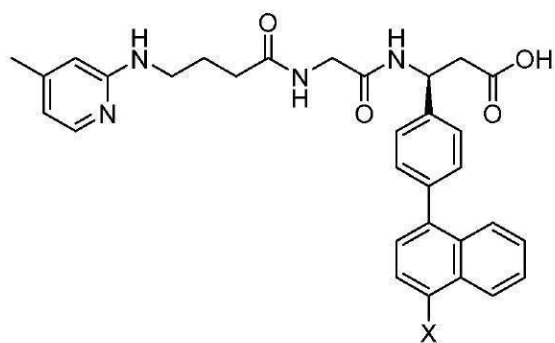


( 構造物 2a),

10

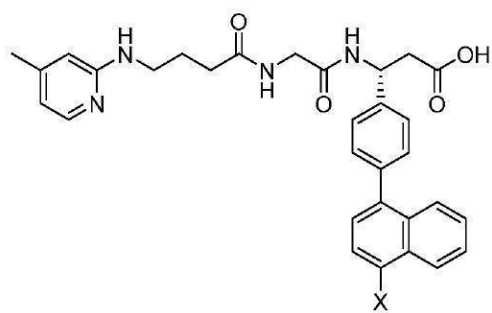


( 構造物 5a),



( 構造物 6a),

20



( 構造物 7a),

30

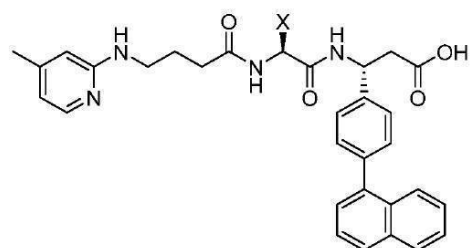
40

50

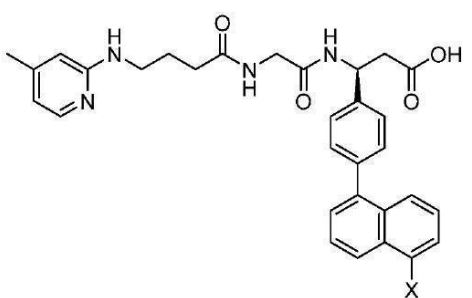


Cc1ccc(NCCCC(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc2ccc(cc2)-c3ccc(cc3)X)CC(=O)O)cc1

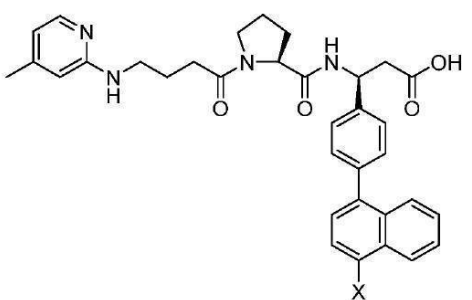
(構造物 8a),



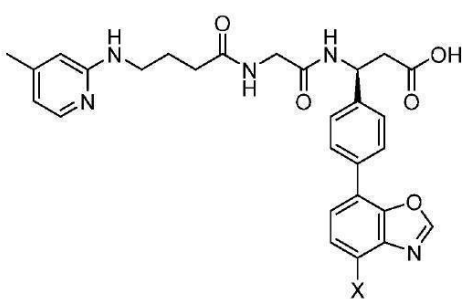
( 構造物 9a),



( 構造物 10a),

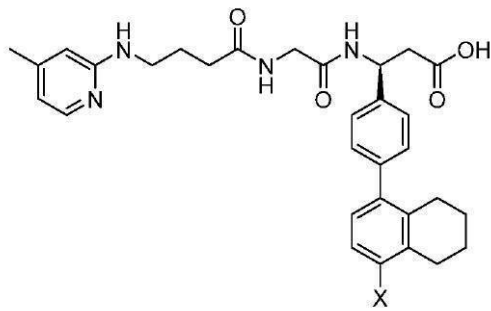


(構造物 11a),

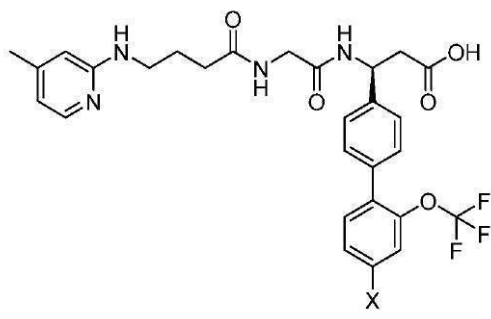


( 構造物 12a),

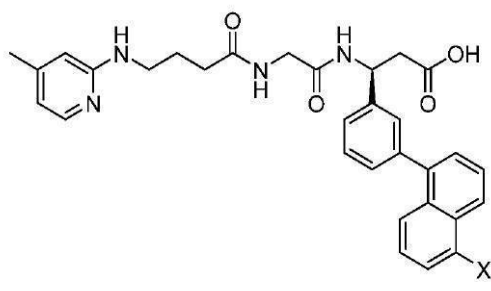
【化 3 6 9】



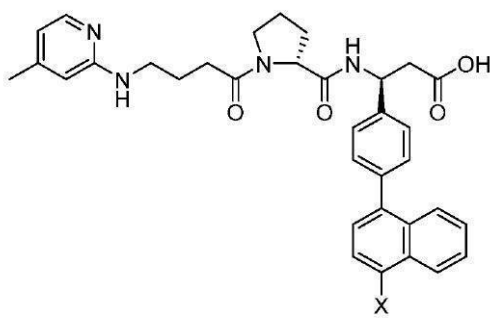
10



20



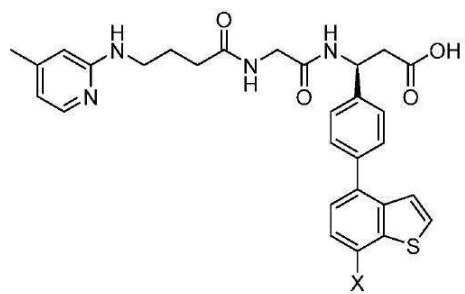
30



40

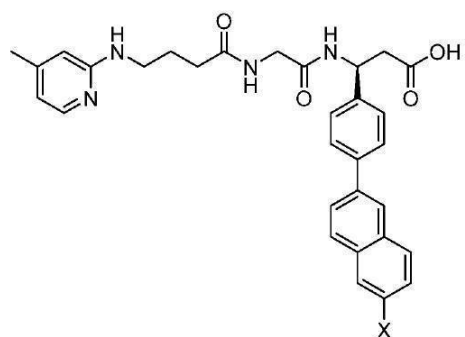
50

【化 3 7 0】



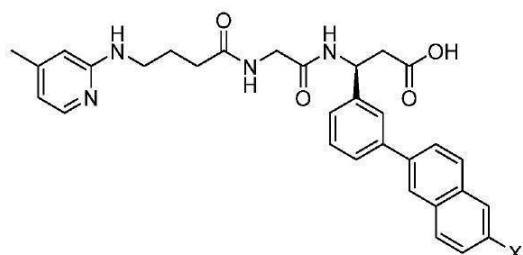
( 構造物 17a),

10

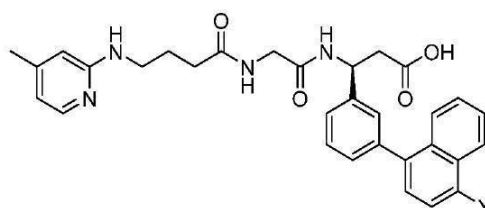


( 構造物 18a),

20

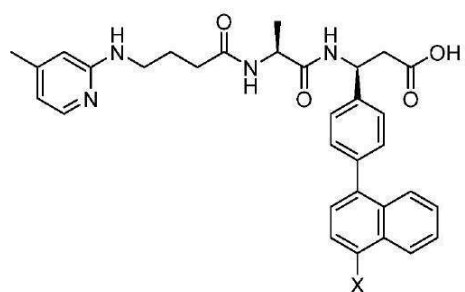


( 構造物 19a),



( 構造物 20a),

30

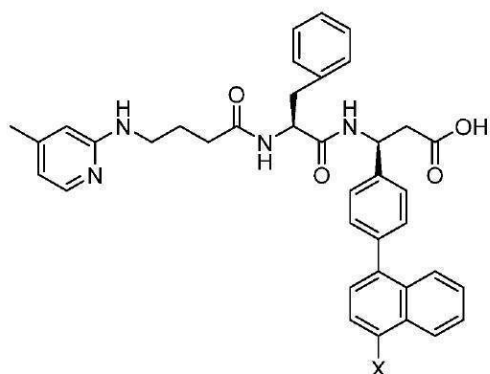


( 構造物 22a),

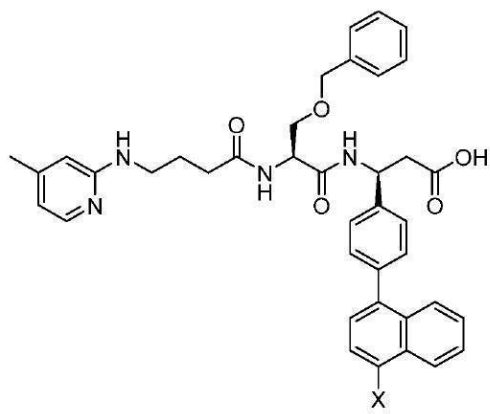
40

50

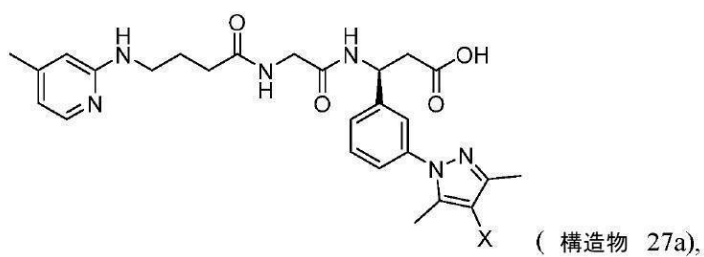
【化 3 7 1】



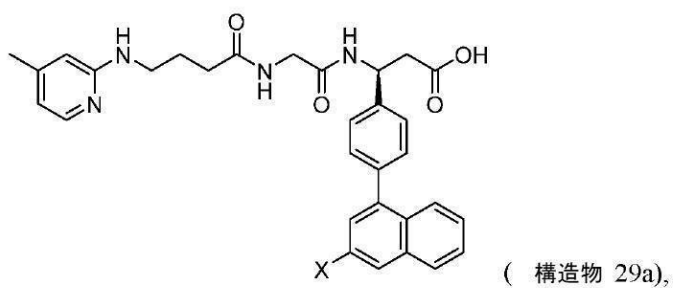
10



20



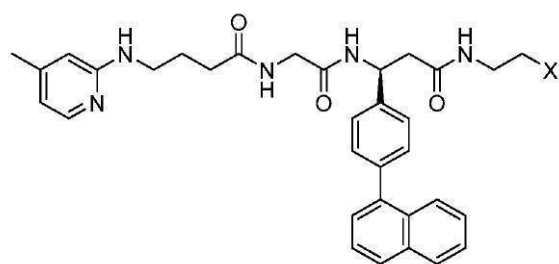
30



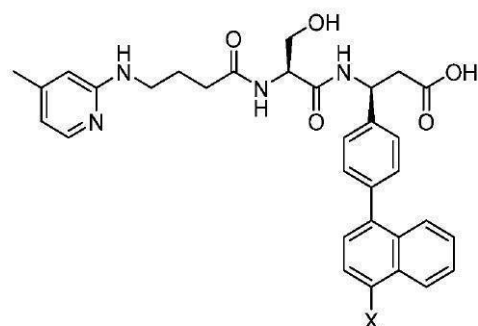
40

50

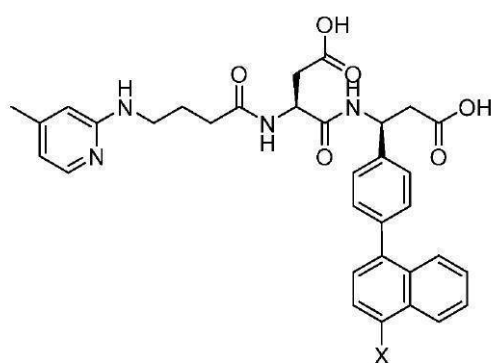
【化 3 7 2】



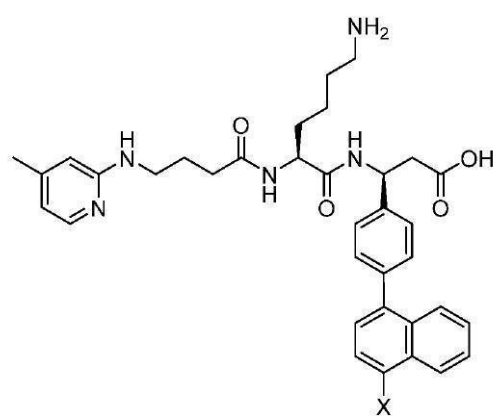
( 構造物 30a),



( 構造物 31a),



( 構造物 32a),



( 構造物 33a),

10

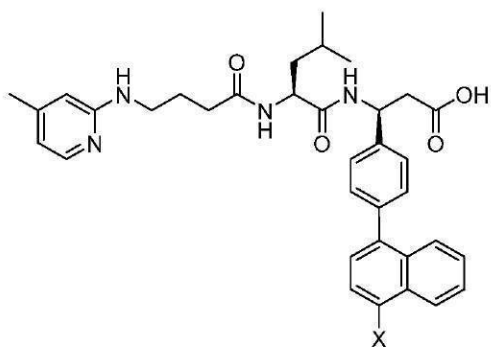
20

30

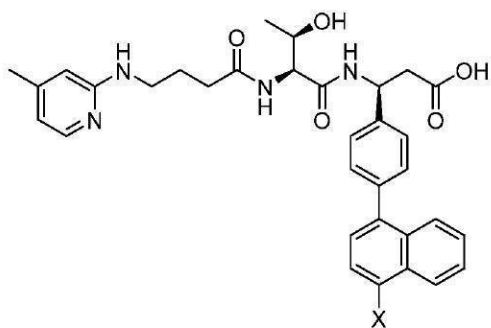
40

50

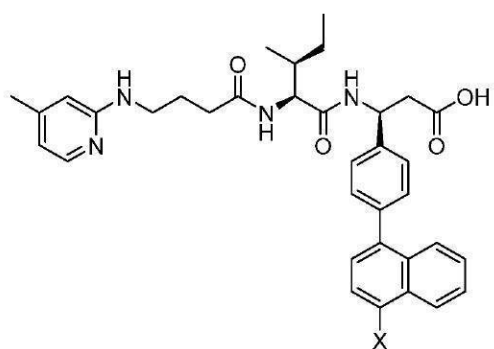
【化 3 7 3】



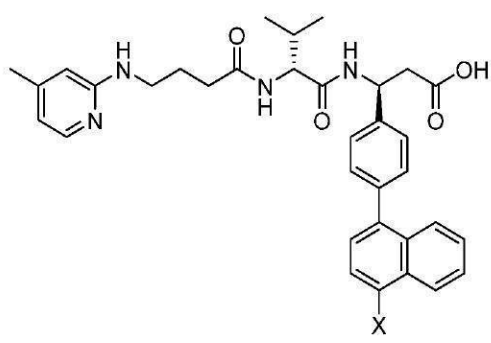
10



20



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。

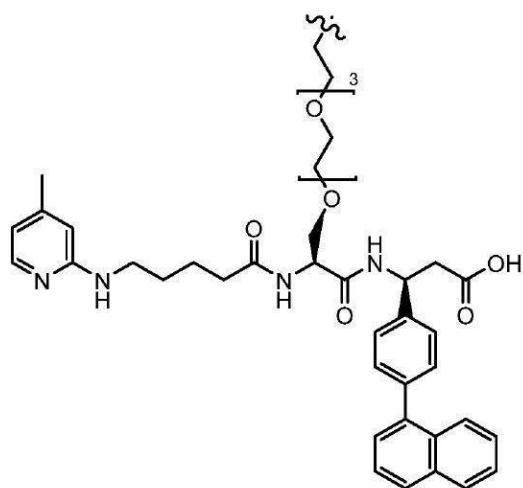
40

( 項目 8 )

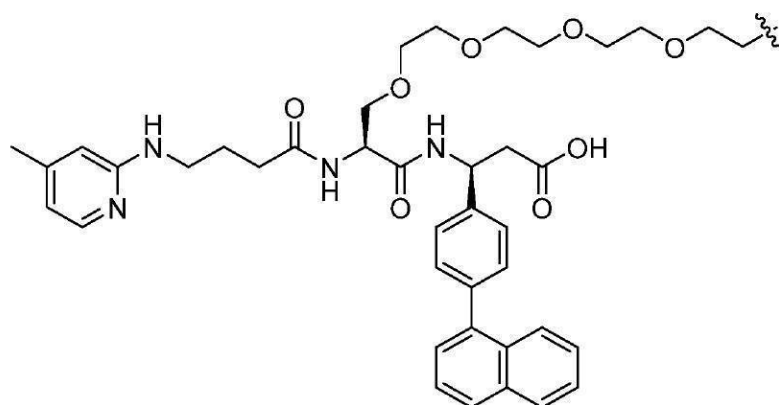
以下：

50

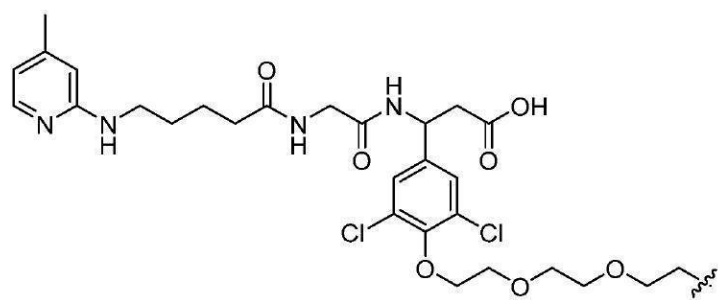
【化 3 7 4】



( 構造物 1 );

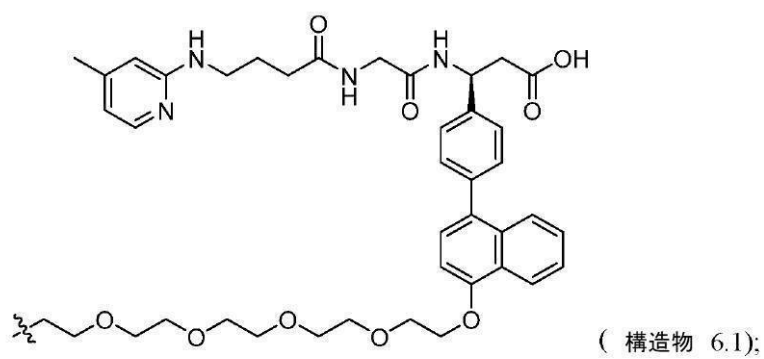
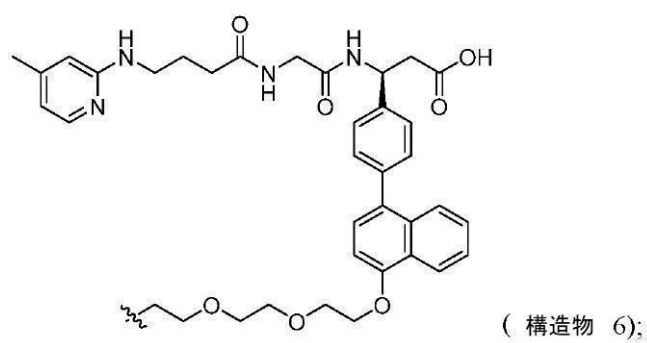
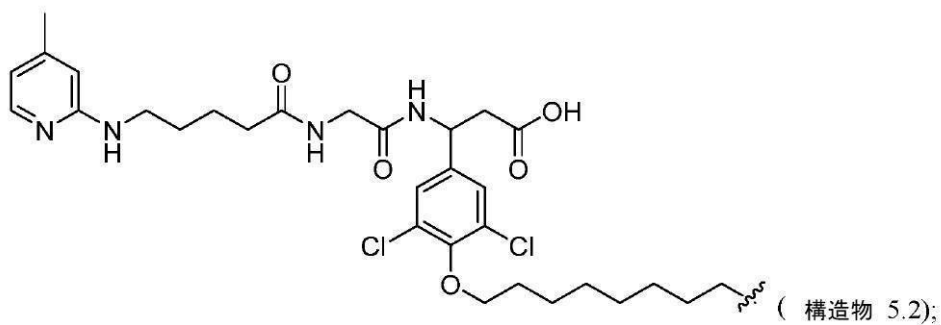
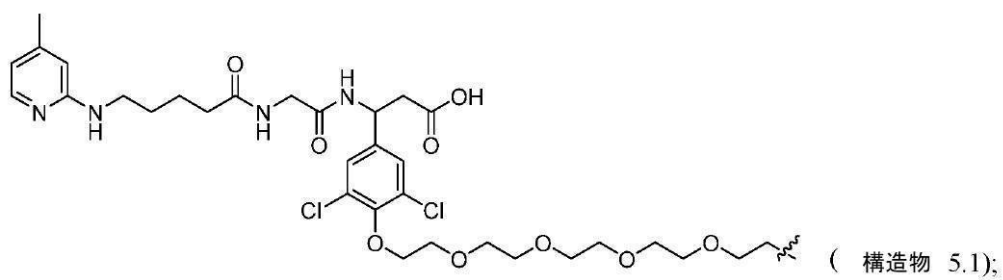


( 構造物 2 );



( 構造物 5 );

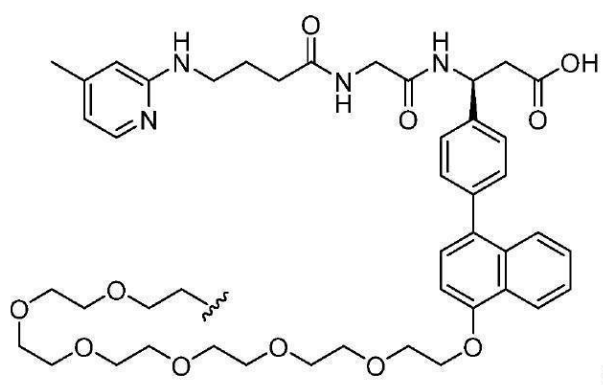
【化 3 7 5】



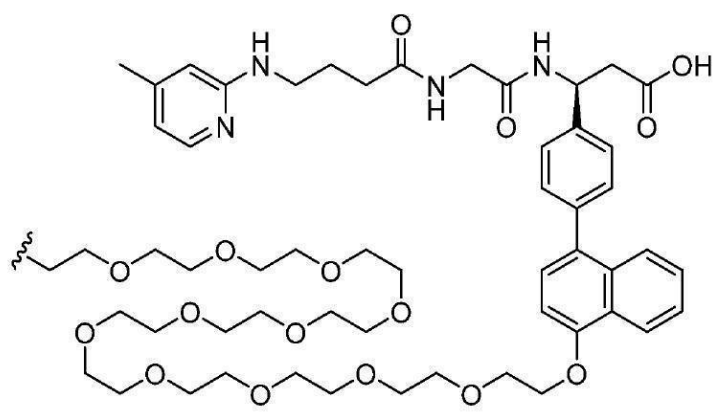


CC1=CC=C(NC(=O)NCCCNC(=O)NC(C(=O)O)Cc2ccc(cc2)-c3ccc4cc(OCCCCCCCCC)ccc34)N=C1

10



20

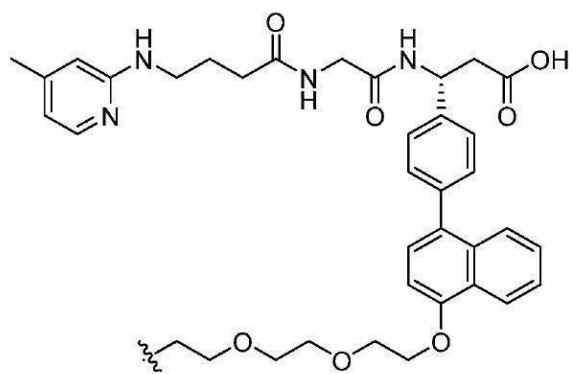


30

40

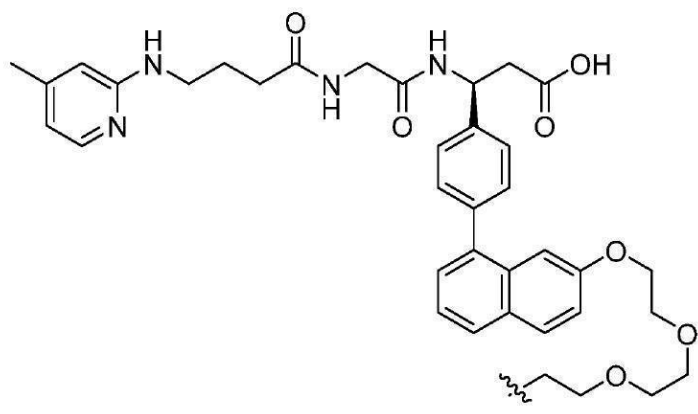
50

【化 3 7 7】



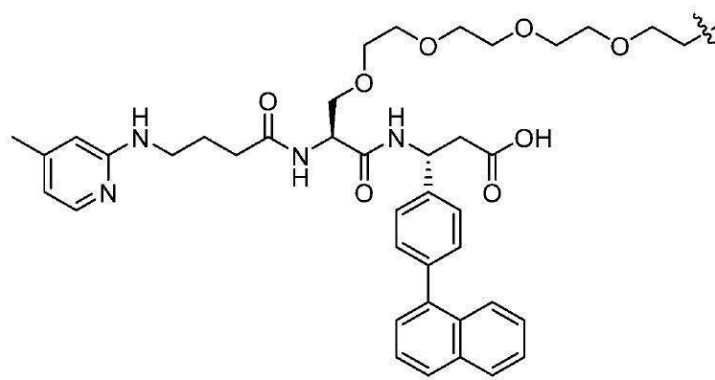
( 構造物 7 );

10



( 構造物 8 );

20



( 構造物 9 );

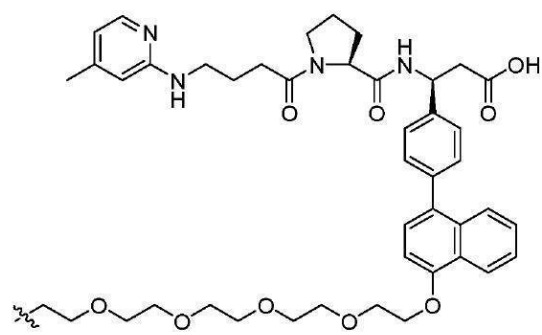
30

40

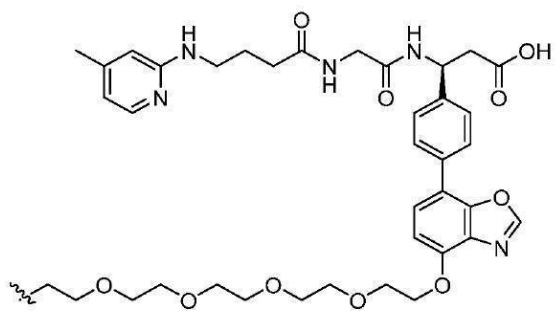
50

CC1=CC=C(NC(=O)NCCCNC(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc2ccc(cc2)-c3ccc4cc(O)ccc4c3)C(=O)O)C=C1

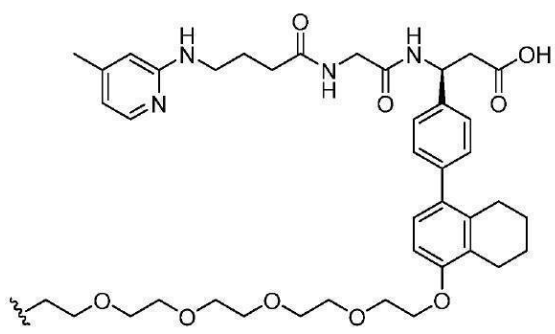
10



20

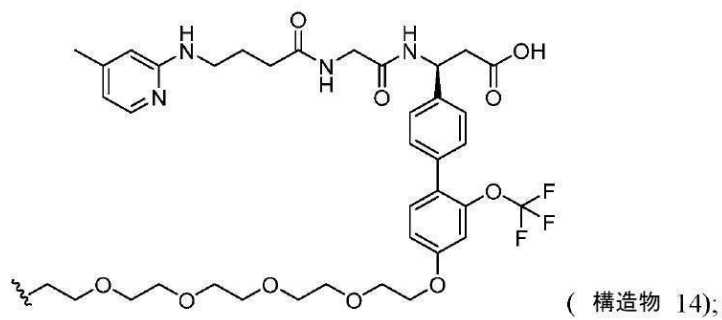


30

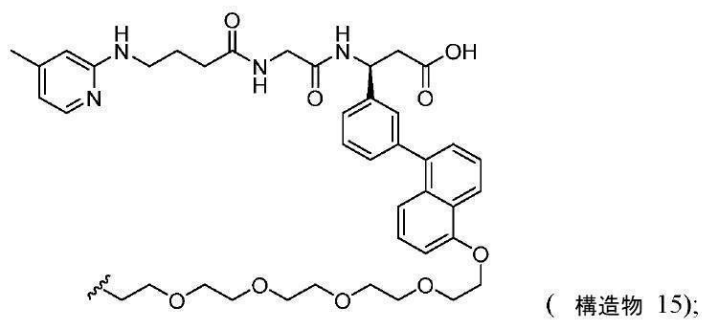


40

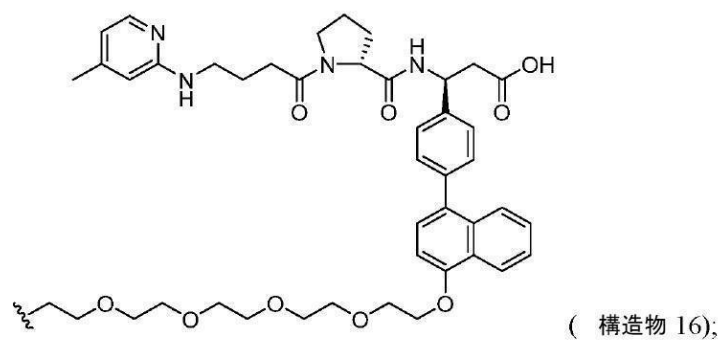
【化 3 7 9】



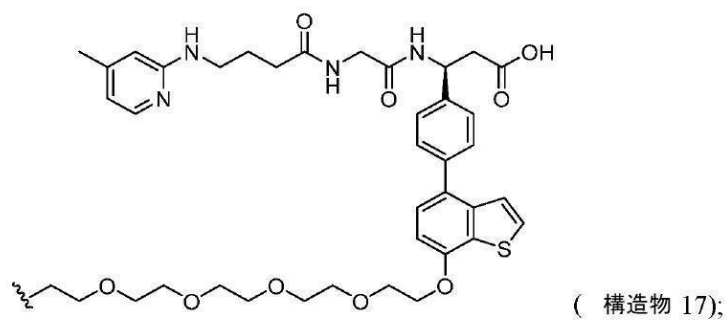
10



20



30

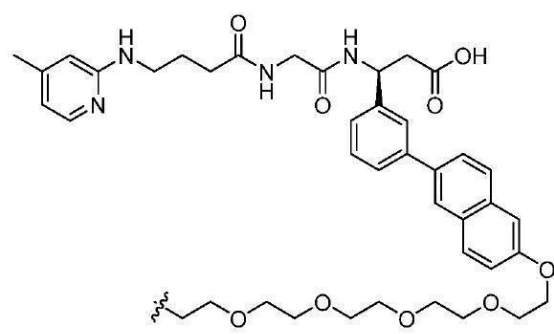


40

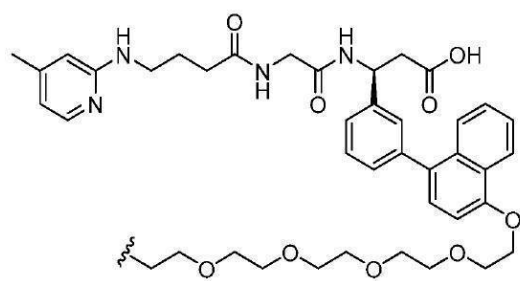
50

[illegible]

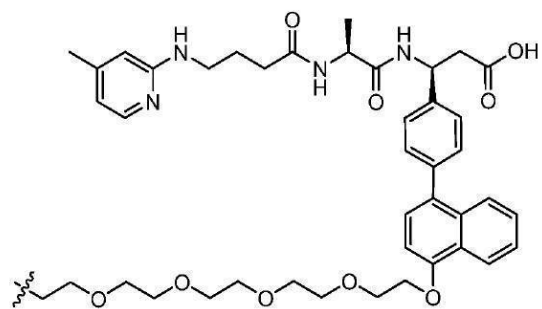
10



20

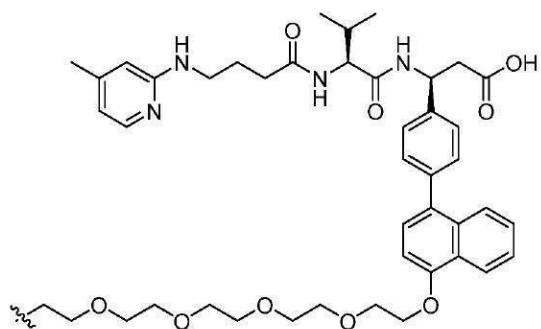


30



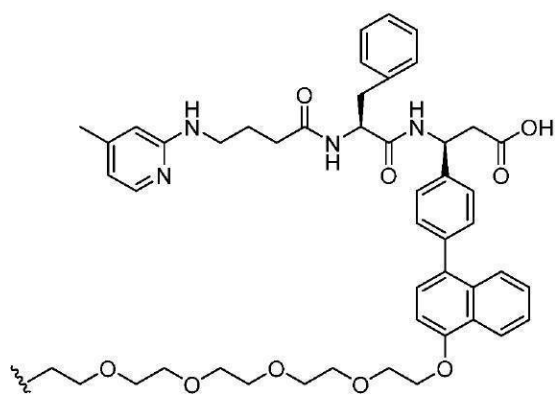
40

【化 3 8 1】



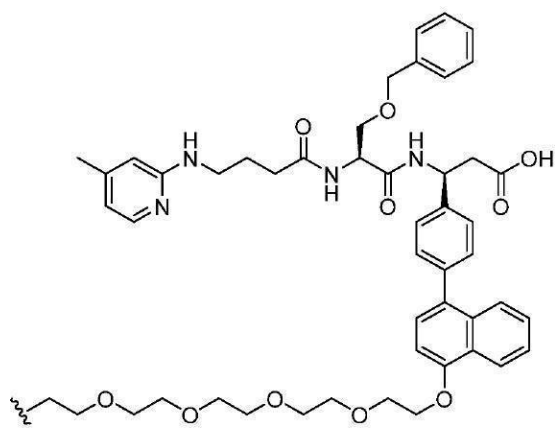
( 構造物 23);

10



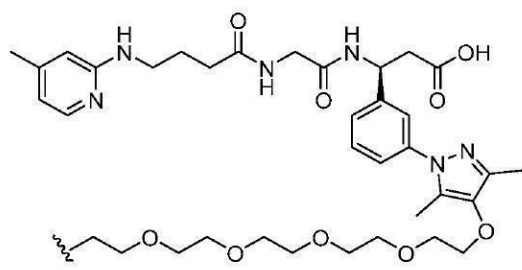
( 構造物 24);

20



( 構造物 25);

30

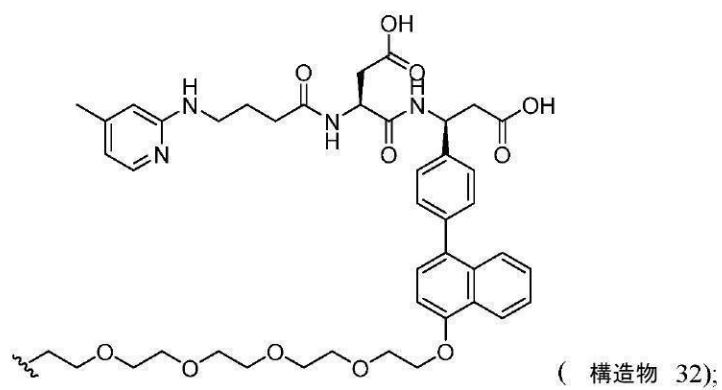
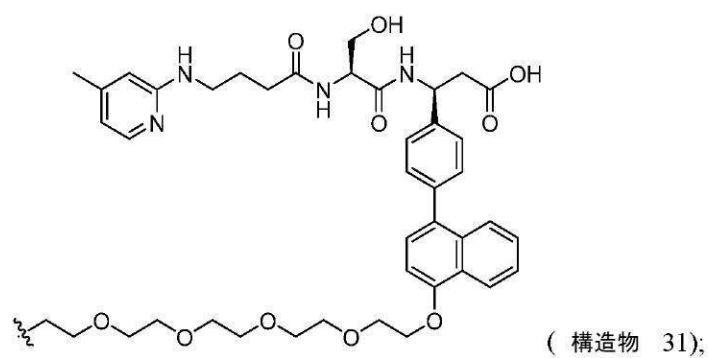
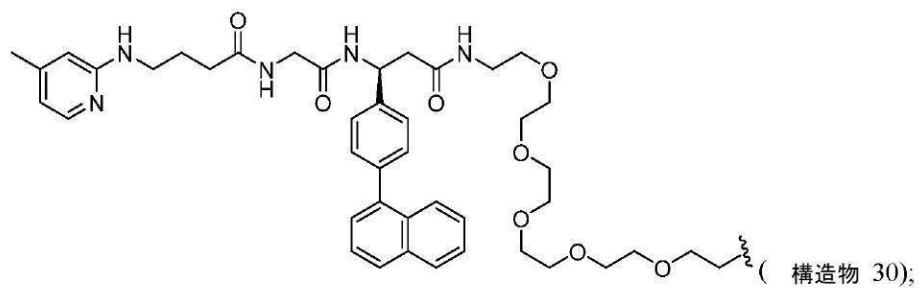
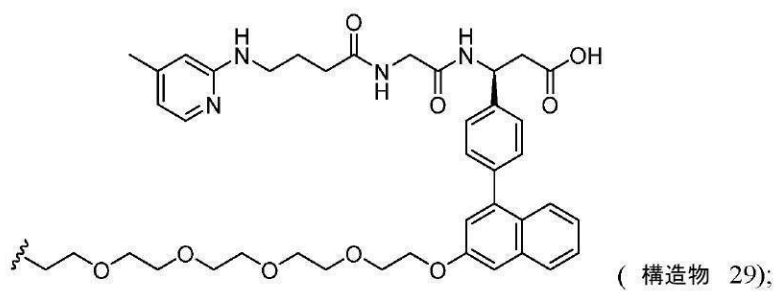


( 構造物 27);

40

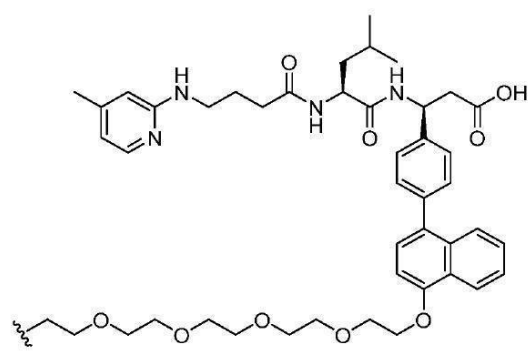
50

【化 3 8 2】

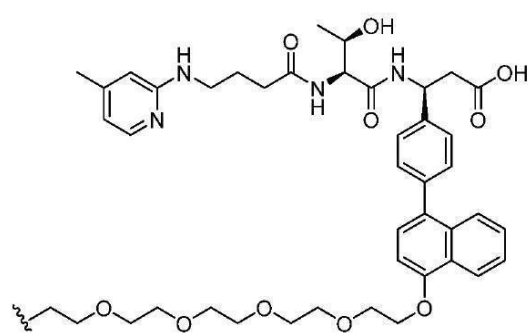


CCCCNC(=O)NCCCNC(=O)N[C@@H](Cc1ccc2c(c1)ccc3ccccc23)CC(=O)O

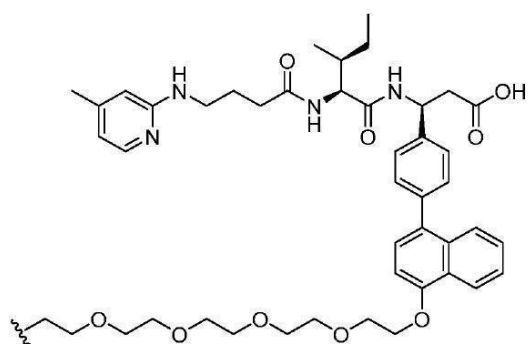
10



20



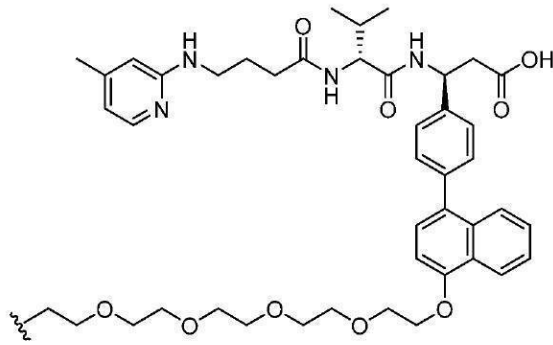
30



40



## 【化 3 8 4】



( 構造物 37),

10

( 式中、

## 【化 3 8 5】

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 インテグリンリガンドまたはその薬学的に許容され得る塩。

( 項目 9 )

20

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 インテグリンリガンド。

( 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、ポリエチレングリコール、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、またはフルオロフォアを含む、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の v 6 インテグリンリガンド。

( 項目 11 )

30

前記カーゴ分子が RNA i 剤を含む、項目 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の v 6 インテグリンリガンド。

( 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グ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 インテグリンリガンド。

( 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 インテグリンリガンド、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 インテグリンリガンドを含む、項目 13 に記載の構造物。

40

( 項目 15 )

二座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、項目 13 に記載の構造物。

( 項目 16 )

三座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、項目 13 に記載の構造物。

( 項目 17 )

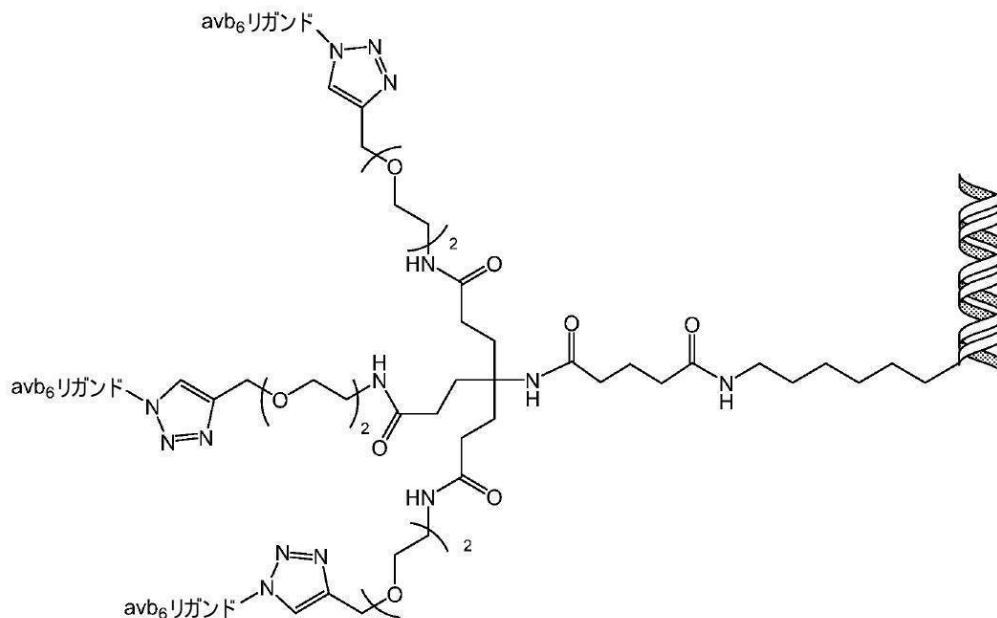
四座形態の前記 v 6 インテグリンリガンドを含む、項目 13 に記載の構造物。

( 項目 18 )

前記足場が、以下の式：

50

【化 3 8 6】



( 構造物 300a),

( 式中、

【化 3 8 7】

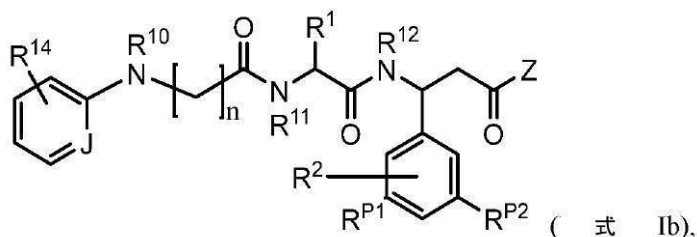


はRNAi剤を表し、「avb6 リガンド」は、各リガンド構造物および架橋剤を表す)の足場である、項目13に記載の構造物。

( 項目 1 9 )

以下の構造物：

【化 3 8 8】



( 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、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；

10

20

30

40

50

R<sup>1 0</sup>は、Hまたは必要に応じて置換されたアルキルであり；  
R<sup>1 1</sup>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<sup>1 1</sup>およびR<sup>1</sup>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<sup>1 2</sup>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<sup>1 3</sup>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<sup>1 3</sup>は、反応  
基に結合した連結基を含み；  
R<sup>1 4</sup>は必要に応じて置換されたアルキルであり；  
ここで、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>1 3</sup>、R<sup>P 1</sup>、およびR<sup>P 2</sup>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 2 0 )

前記連結基が P E G リンカーである、項目 1 9 に記載の v 6 インテグリンリガンド  
前駆体。

( 項目 2 1 )

前記 P E G リンカーが 2 ~ 2 0 P E G 単位を含む、項目 1 9 に記載の v 6 インテグ  
リンリガンド前駆体。

( 項目 2 2 )

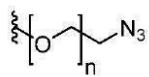
前記反応基がアジドである、項目 1 9 に記載の v 6 インテグリンリガンド前駆体。

( 項目 2 3 )

前記反応基に結合した連結基が、以下の構造物：

20

**【化 3 8 9】**



( 式中、n は、2 ~ 2 0 の整数であり、

**【化 3 9 0】**



は、式 I b の構造物への接続点を示す) の連結基である、項目 1 9 に記載の v 6 イン  
テグリンリガンド前駆体。

30

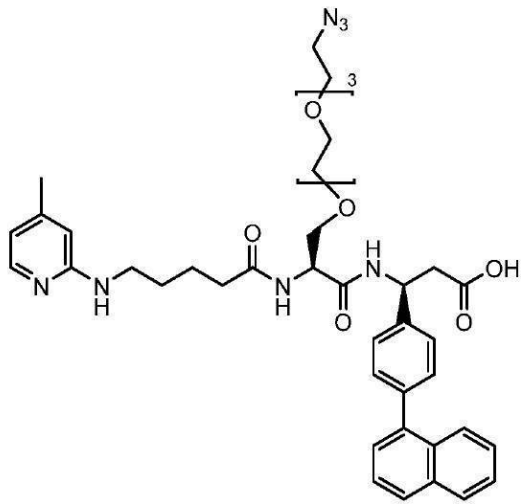
( 項目 2 4 )

以下：

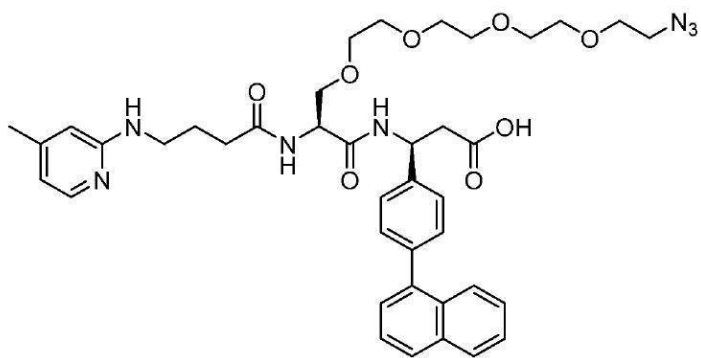
40

50

【化 3 9 1】



( 構造物 1b),



( 構造物 2b),

10

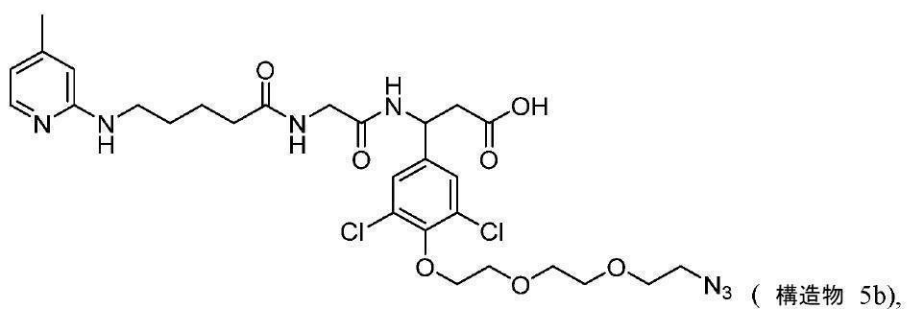
20

30

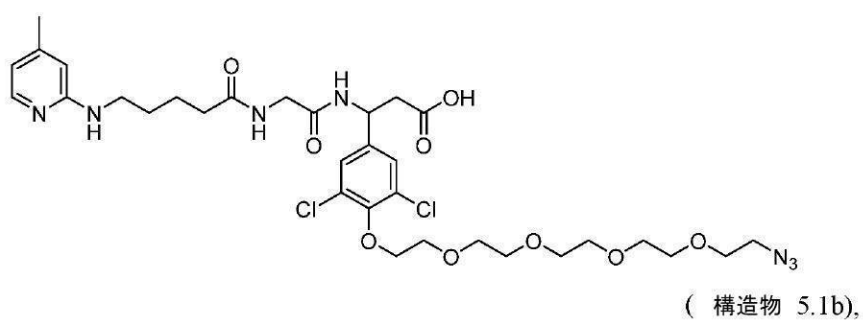
40

50

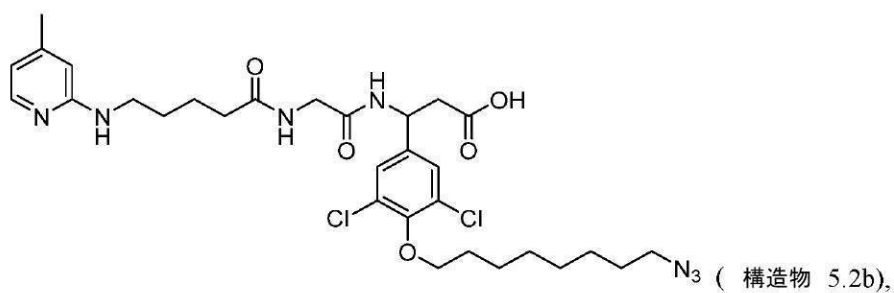
【化 3 9 2】



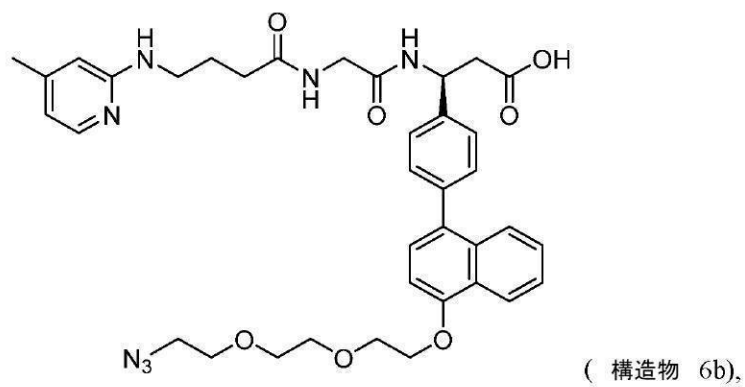
10



20



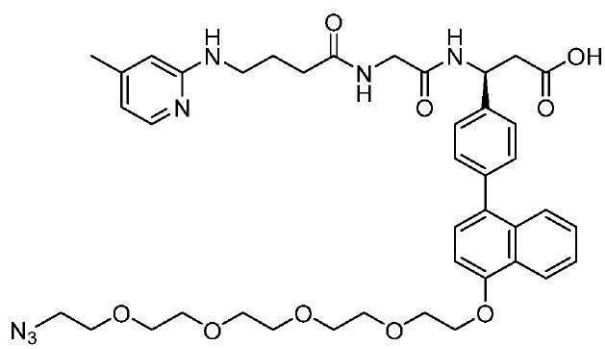
30



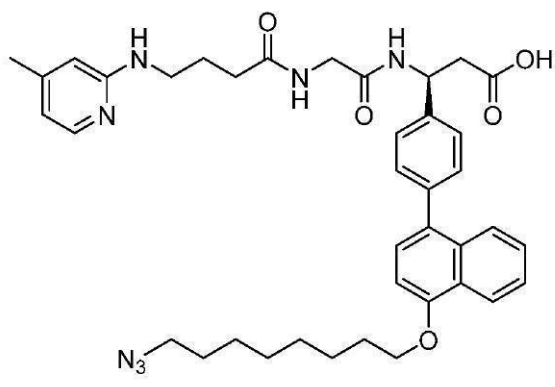
40

50

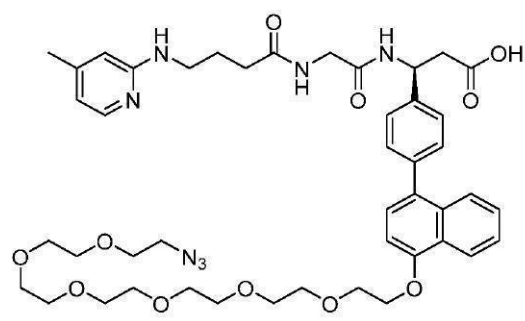
【化 3 9 3】



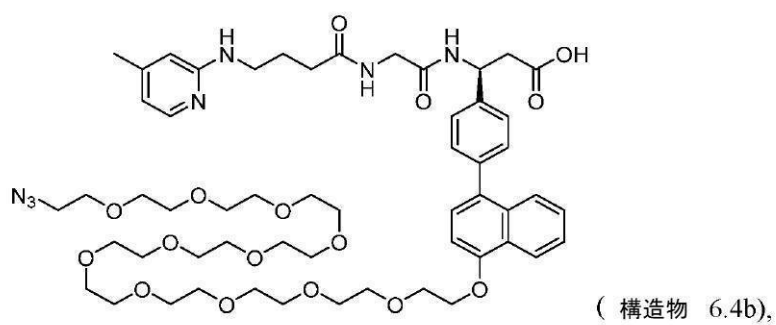
10



20



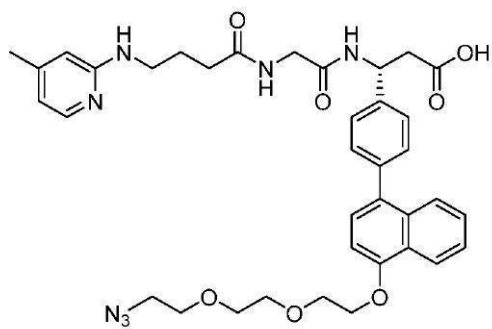
30



40

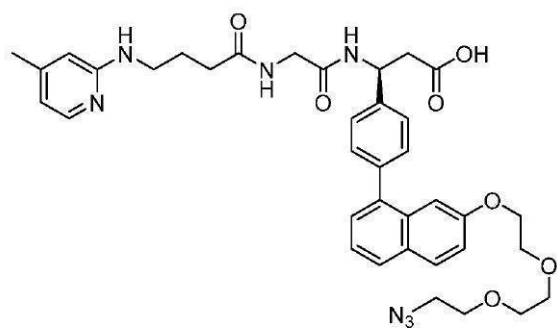
50

【化 3 9 4】



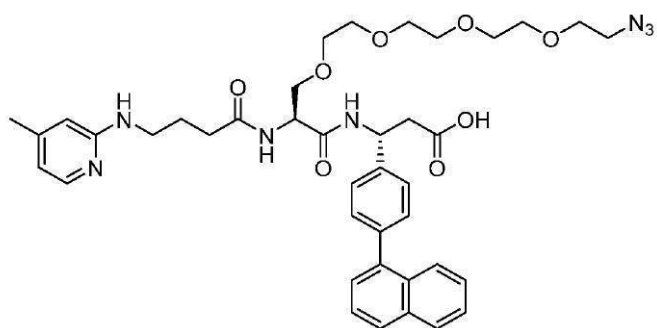
( 構造物 7b),

10



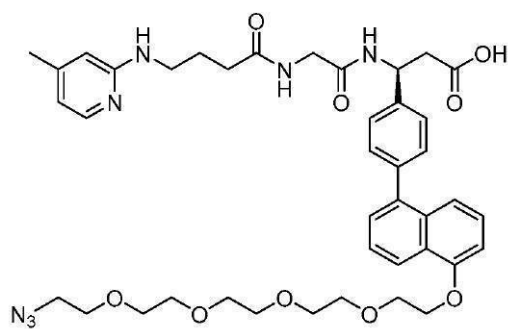
( 構造物 8b),

20



( 構造物 9b),

30

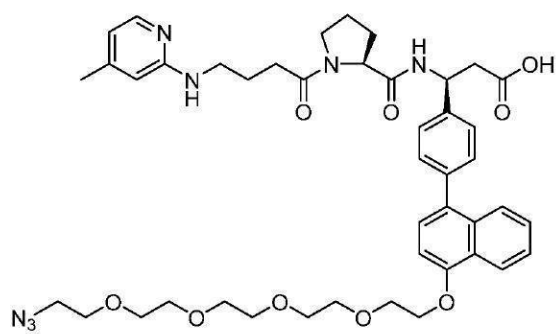


( 構造物 10b),

40

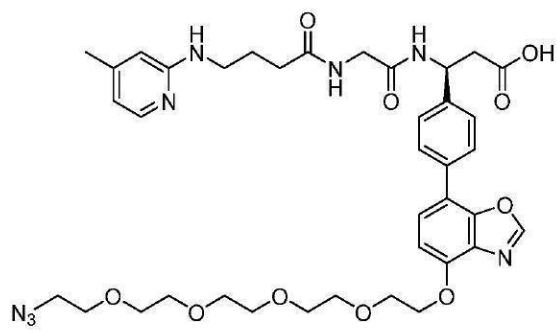
50

【化 3 9 5】



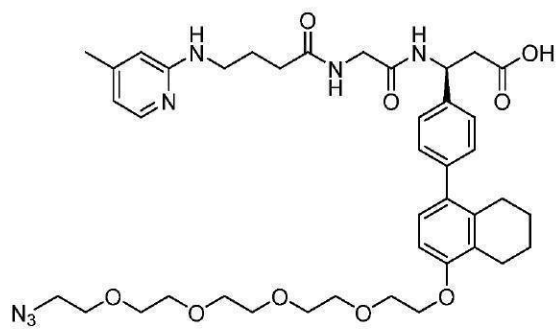
( 構造物 11b),

10



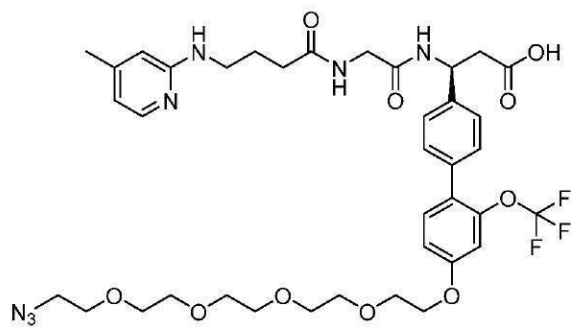
( 構造物 12b),

20



( 構造物 13b),

30



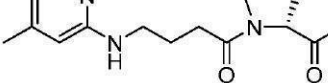
( 構造物 14b),

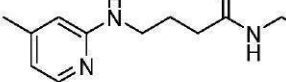
40

50



(構造物 15b),

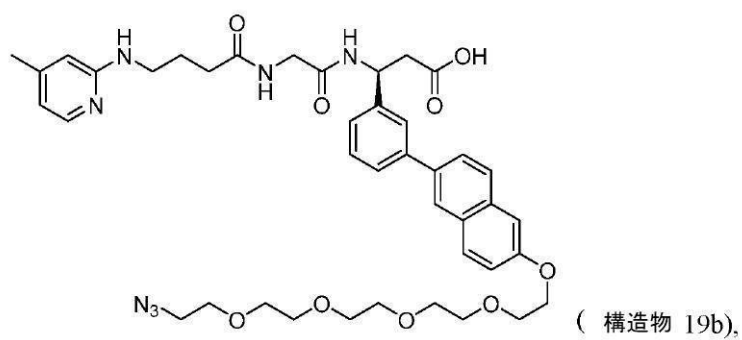
  
(構造物 16b),

  
(構造物 17b).

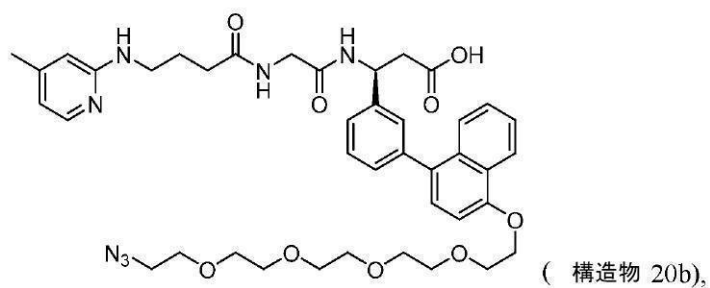
(構造物 18b).

50

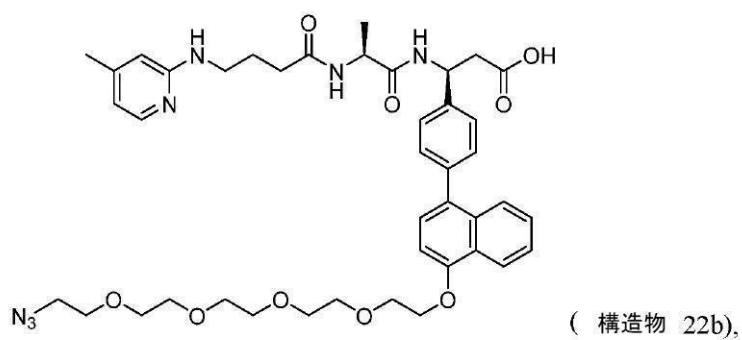
【化 3 9 7】



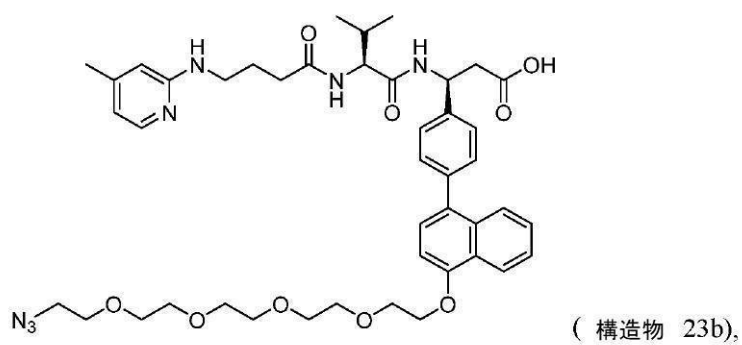
10



20



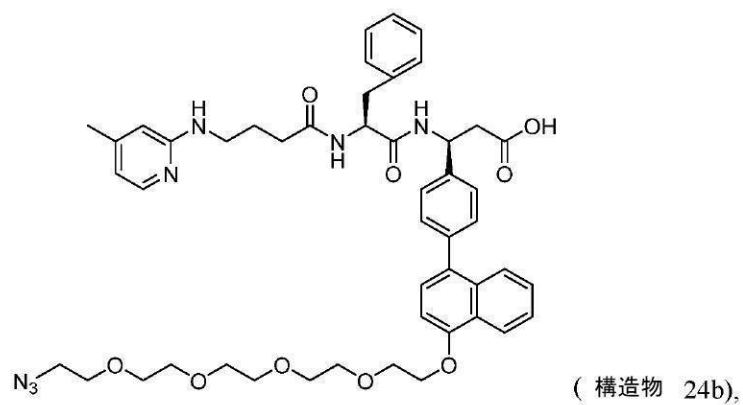
30



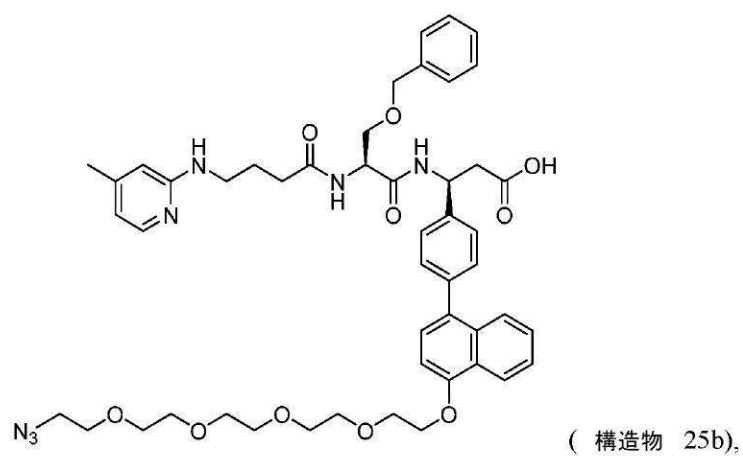
40

50

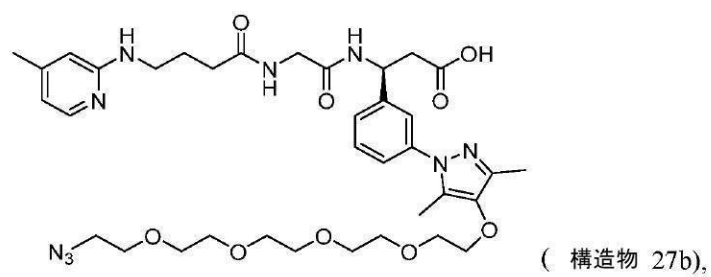
【化 3 9 8】



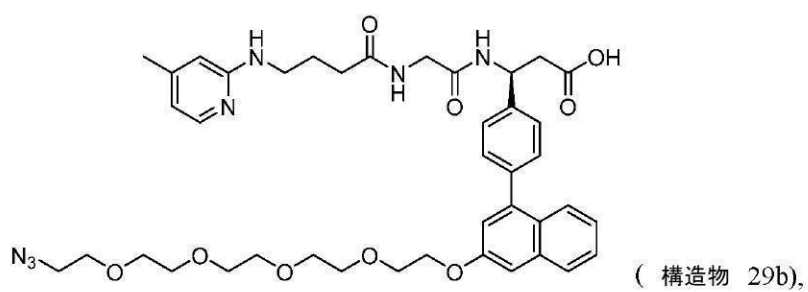
10



20



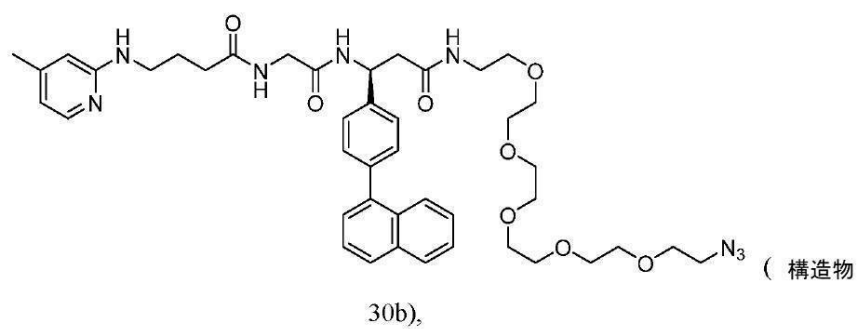
30



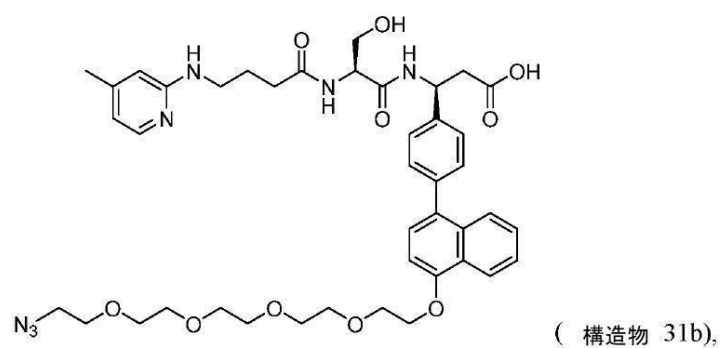
40

50

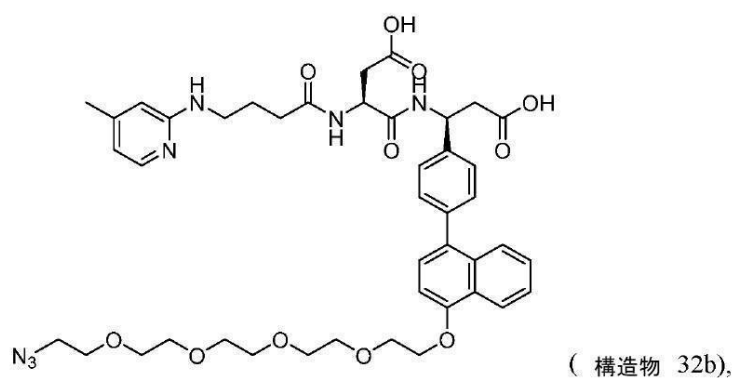
【化 3 9 9】



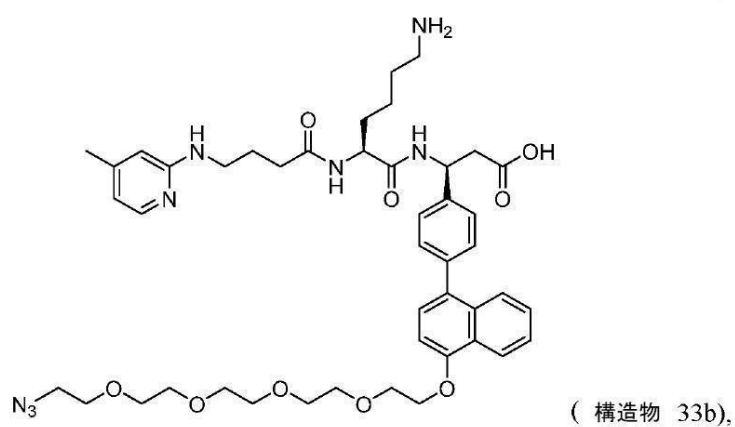
10



20



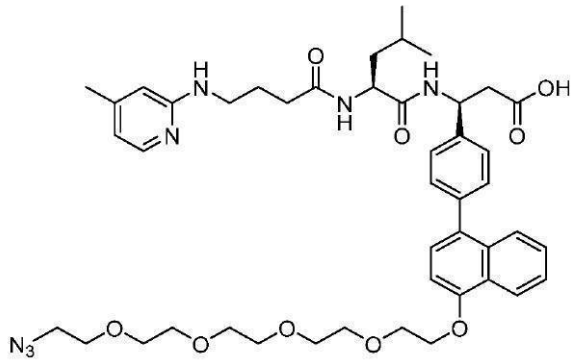
30



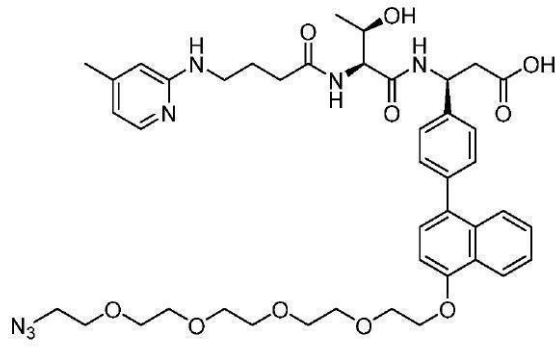
40

50

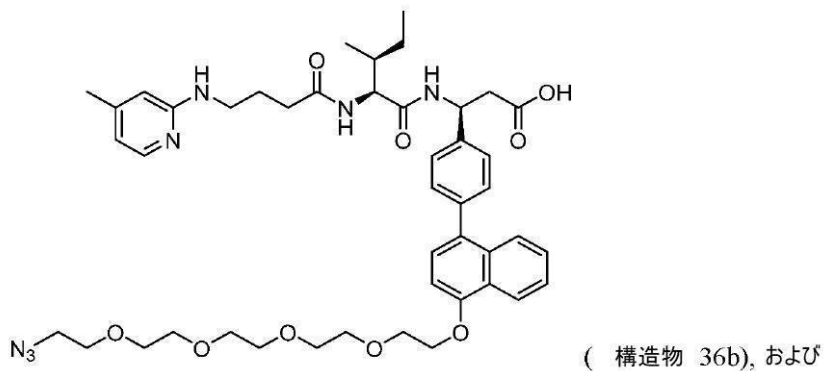
【化 4 0 0】



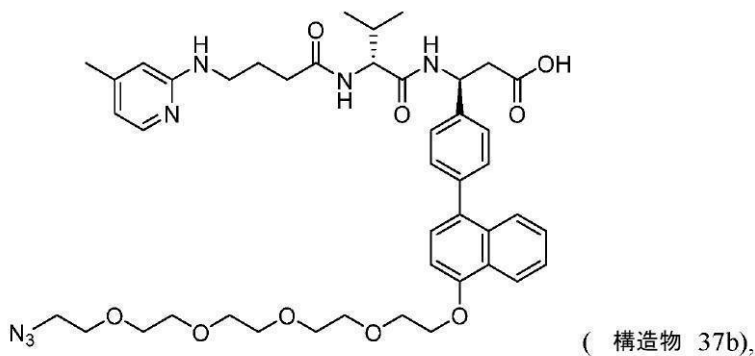
10



20



30



40

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 2 5 )

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、および薬学的に許容され得る賦形剤を含む組成物。

( 項目 2 6 )

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 2 5 に記載の組成物。

( 項目 2 7 )

50

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 RNA i 剤に結合している、項目 25 に記載の組成物。

(項目 28)

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 RNA i 剤に結合している、項目 25 に記載の組成物。

(項目 29)

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 ~ 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を前記細胞に投与する工程を含む、方法。

(項目 30)

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 で送達させる方法であって、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、項目 13 ~ 18 のいずれかに記載の構造物、または項目 19 ~ 22 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 31)

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 29 または 30 に記載の方法。

(項目 32)

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 29 または 30 に記載の方法。

(項目 33)

前記オリゴヌクレオチド系化合物が RNA i 剤である、項目 32 に記載の方法。

(項目 34)

in vivo 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 ~ 12 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 35)

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 34 に記載の方法。

(項目 36)

前記オリゴヌクレオチド系化合物が RNA i 剤である、項目 34 または 35 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 0 7 0 9 0, ウェストフィールド, 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 5 3 7 1 9, マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2, 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 5 3 7 1 9, マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2, 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 5 3 5 6 2, ミドルトン, ストリーウッド ブールバード 9 4 2 7

## (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 5 3 7 1 9, マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2, 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 5 3 7 1 9, マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2, 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 0 7 0 2 3, ファンウッド, コテージ ウェイ 1 7

## (72)発明者 ファウラー-ウォッターズ, マシュー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 7 1 9, マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2, 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 2 0 0 2 - 5 3 7 2 8 7 ( J P , 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. , D B 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 )