

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-530043

(P2022-530043A)

(43)公表日 令和4年6月27日(2022.6.27)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
C 0 7 C	219/16 (2006.01)	C 0 7 C	219/16	4 C 0 6 9
C 0 7 D	295/088 (2006.01)	C 0 7 D	295/088	4 C 0 7 6
C 0 7 D	211/22 (2006.01)	C 0 7 D	211/22	4 C 0 8 6
C 0 7 D	295/13 (2006.01)	C 0 7 D	295/13	C S P 4 H 0 0 6
C 0 7 D	207/08 (2006.01)	C 0 7 D	207/08	
		審査請求	未請求	予備審査請求
		未請求		(全239頁)
				最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-562974(P2021-562974)	(71)出願人	520107630	
(86)(22)出願日	令和2年4月24日(2020.4.24)		インテリア セラピューティクス, イン	
(85)翻訳文提出日	令和3年11月10日(2021.11.10)		コーポレーテッド	
(86)国際出願番号	PCT/US2020/029812		アメリカ合衆国 0 2 1 3 9	マサチュー
(87)国際公開番号	WO2020/219876		セッツ州, ケンブリッジ, エリー スト	
(87)国際公開日	令和2年10月29日(2020.10.29)		リート 4 0	
(31)優先権主張番号	62/843,854	(74)代理人	110002572	
(32)優先日	令和1年5月6日(2019.5.6)		特許業務法人平木国際特許事務所	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	スカリー, スティーヴン, エス.	
(31)優先権主張番号	62/838,551		アメリカ合衆国 0 2 4 7 8	マサチュー
(32)優先日	平成31年4月25日(2019.4.25)		セッツ州, ベルモント, スレイド スト	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	ラブラカ, デレク	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		アメリカ合衆国 0 2 1 6 9	マサチュー
	最終頁に続く		セッツ州, クインシー, スピアー スト	
			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 イオン化可能なアミン脂質及び脂質ナノ粒子

(57)【要約】

本開示は、生物学的に活性な薬剤の送達、例えば、操作された細胞を調製するための細胞への生物学的に活性な薬剤の送達に有用なイオン化可能なアミン脂質及びその塩（例えば、その薬学的に許容される塩）を提供する。本明細書に開示されるイオン化可能なアミン脂質は、脂質ナノ粒子ベースの組成物の製剤化におけるイオン化可能な脂質として有用である。

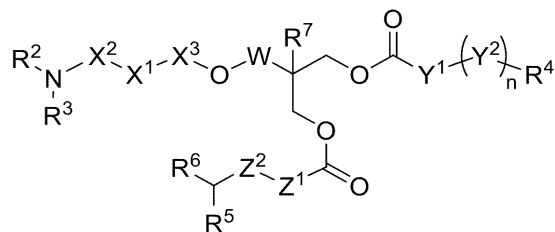
【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I I の化合物であって、

【化 1】



(I I)

10

式中、

X 1 が、O、NR 1、または直接結合であり、

X 2 が、C 2 - 5 アルキレンであり、

X 3 が、C (=O) または直接結合であり、

R 1 が、H または Me であり、

R 3 が、C 1 - 3 アルキルであり、

R 2 が、C 1 - 3 アルキルであるか、または

R 2 が、それが結合している窒素原子、及び X 2 の 1 ~ 3 個の炭素原子と一緒に、

4、5、もしくは 6 員の環を形成するか、または

X 1 が、NR 1、R 1、及び R 2 が、それらが結合している窒素原子と一緒に、5

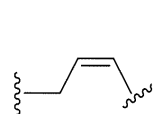
員もしくは 6 員の環を形成するか、または

R 2 が、R 3 及びそれらが結合している窒素原子と一緒に、5、6、もしくは 7 員の環を形成し、

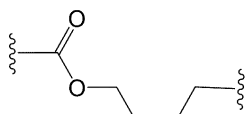
Y 1 が、C 2 - 12 アルキレンであり、

Y 2 が、

【化 2】

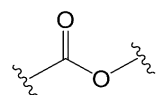


(いずれかの方向で)、



(いずれかの方向で)、及び

30



(いずれかの方向で)

から選択され、

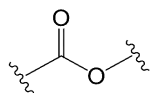
n が、0 ~ 3 であり、

R 4 が、C 1 - 15 アルキルであり、

Z 1 が、C 1 - 6 アルキレンまたは直接結合であり、

Z 2 が、

【化 3】



(いずれかの方向で) であるか、または存在しないが、但し、Z 1 が直接結合である場合、Z 2 が、存在しないものとし、

R 5 が、C 5 - 9 アルキルまたは C 6 - 10 アルコキシであり、

R 6 が、C 5 - 9 アルキルまたは C 6 - 10 アルコキシであり、

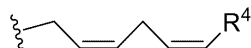
50

Wが、メチレンまたは直接結合であり、

R⁷が、HまたはMeであり、

但し、R³及びR²が、C₂アルキルであり、X¹が、Oであり、X²が、直鎖C₃アルキレンであり、X³が、C(=O)であり、Y¹が、直鎖C₆アルキレンであり、(Y²)_n-R⁴が、

【化4】



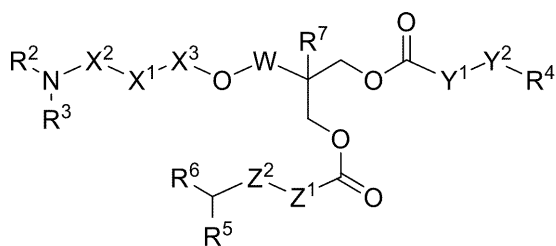
であり、R⁴が、直鎖C₅アルキルであり、Z¹が、C₂アルキレンであり、Z²が、存在せず、Wが、メチレンであり、R⁷が、Hである場合、R⁵及びR⁶が、C₈アルコキシではないものとする、前記化合物、またはその塩。

10

【請求項2】

前記化合物が、式Iの化合物であって、

【化5】



(I)

20

式中、

X¹が、O、NR¹、または直接結合であり、

X²が、C₂-5アルキレンであり、

X³が、C(=O)または直接結合であり、

R¹が、HまたはMeであり、

R³が、C₁-3アルキルであり、

R²が、C₁-3アルキルであるか、または

30

R²が、それが結合している窒素原子、及びX²の1~3個の炭素原子と一緒に、4、5、もしくは6員の環を形成するか、または

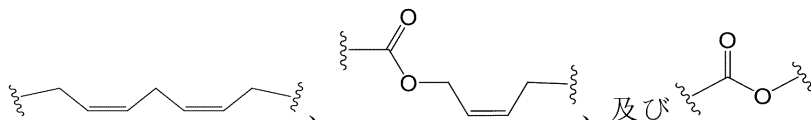
X¹が、NR¹、R¹、及びR²が、それらが結合している窒素原子と一緒に、5員もしくは6員の環を形成するか、または

R²が、R³及びそれらが結合している窒素原子と一緒に、5、6、もしくは7員の環を形成し、

Y¹が、C₂-12アルキレンであり、

Y²が、

【化6】



40

から選択され、

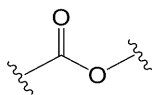
R⁴が、C₃-15アルキルであり、

Z¹が、C₁-6アルキレンまたは直接結合であり、

Z²が、

50

【化 7】



(いずれかの方向で)であるか、または存在しないが、但し、Z 1 が直接結合である場合、Z 2 が、存在しないものとし、

R 5 が、C 5 - 9 アルキルまたは C 6 - 10 アルコキシであり、

R 6 が、C 5 - 9 アルキルまたは C 6 - 10 アルコキシであり、

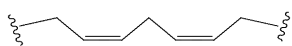
W が、メチレンまたは直接結合であり、

R 7 が、H または Me であり、

但し、R 3 及び R 2 が、C 2 アルキルであり、X 1 が、O であり、X 2 が、直鎖 C 3 アルキレンであり、X 3 が、C (=O) であり、Y 1 が、直鎖 C 6 アルキレンであり、Y 2 が、

10

【化 8】



であり、R 4 が、直鎖 C 4 アルキルであり、Z 1 が、C 2 アルキレンであり、Z 2 が、存在せず、W が、メチレンであり、R 7 が、H である場合、R 5 及び R 6 が、C 8 アルコキシではないものとする、請求項 1 に記載の化合物、またはその塩。

20

【請求項 3】

X 2 が、直鎖 C 2 アルキレンである、請求項 1 または請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

X 2 が、直鎖 C 3 アルキレンである、請求項 1 または請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 5】

X 2 が、直鎖 C 4 アルキレンである、請求項 1 または請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 6】

R 3 が、C 1 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7】

R 3 が、C 2 アルキルである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物。

30

【請求項 8】

R 2 が、C 1 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

R 2 が、C 2 アルキルである、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 10】

R 2 が、前記窒素原子、及び X 2 の 1 ~ 2 個の炭素原子と一緒にあって、5 員の環を形成する、請求項 1 ~ 7 に記載の化合物。

【請求項 11】

R 2 が、前記窒素原子、及び X 2 の 1 ~ 3 個の炭素原子と一緒にあって、6 員の環を形成する、請求項 1 ~ 7 に記載の化合物。

40

【請求項 12】

R 2 及び R 3 が、前記窒素原子と一緒にあって、5 員の環を形成する、請求項 1 ~ 5 に記載の化合物。

【請求項 13】

X 1 が、NH である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 14】

X 1 が、直接結合である、請求項 1 ~ 12 に記載の化合物。

【請求項 15】

Y 1 が、直鎖 C 3 - 10 アルキレンである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

50

【請求項 16】

Y 1 が、直鎖 C 4 - 8 アルキレンである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 17】

Y 1 が、直鎖 C 5 - 7 アルキレンである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 18】

R 4 が、直鎖 C 4 - 14 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 19】

R 4 が、直鎖 C 6 - 12 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 20】

Z 1 が、直鎖 C 2 - 4 アルキレンである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 21】

R 5 及び R 6 が、各々独立して、直鎖 C 5 - 9 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 22】

R 5 及び R 6 が、各々独立して、直鎖 C 6 - 8 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 23】

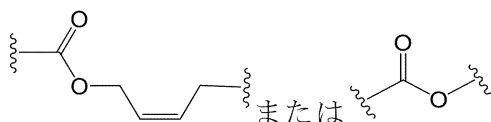
R 5 及び R 6 が、各々独立して、直鎖 C 7 - 9 アルコキシである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 24】

20

Y 2 が、

【化 9】



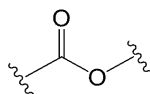
である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 25】

Y 1 が、直鎖 C 7 アルキレンであり、Y 2 が、

【化 10】

30



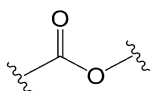
であり、n = 1 であり、R 4 が、直鎖 C 10 アルキルである、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 26】

Z 2 が、

【化 11】

40



である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 27】

Z 1、Z 2、及び R 5 が、エステル及びアセタールの炭素原子及び酸素原子を含む、6 ~ 18 個の原子の直鎖を形成するように選択される、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 28】

Y 1、Y 2、及び R 4 が、存在する場合、前記エステル（複数可）の炭素原子及び酸素原

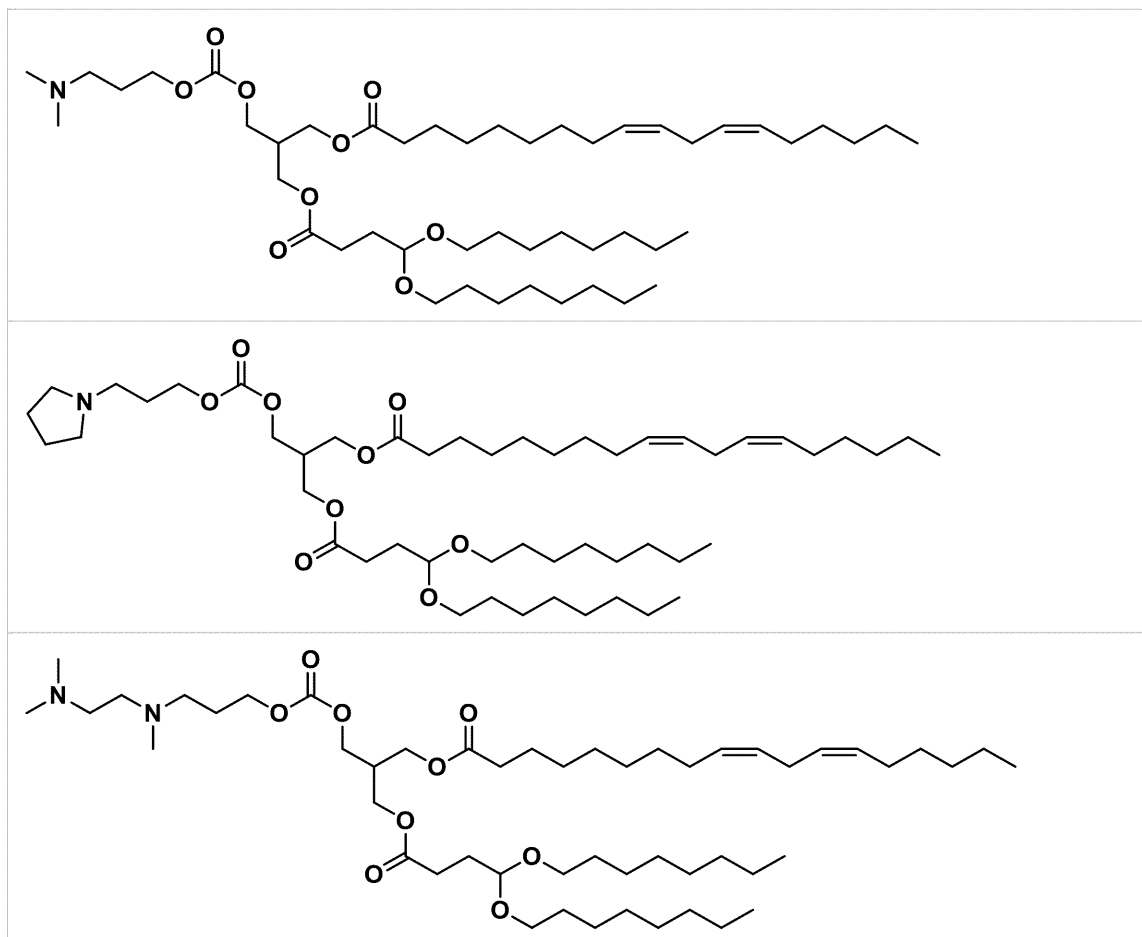
50

子を含む、14～24個の原子の直鎖を形成するように選択される、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項29】

前記化合物が、

【化12】



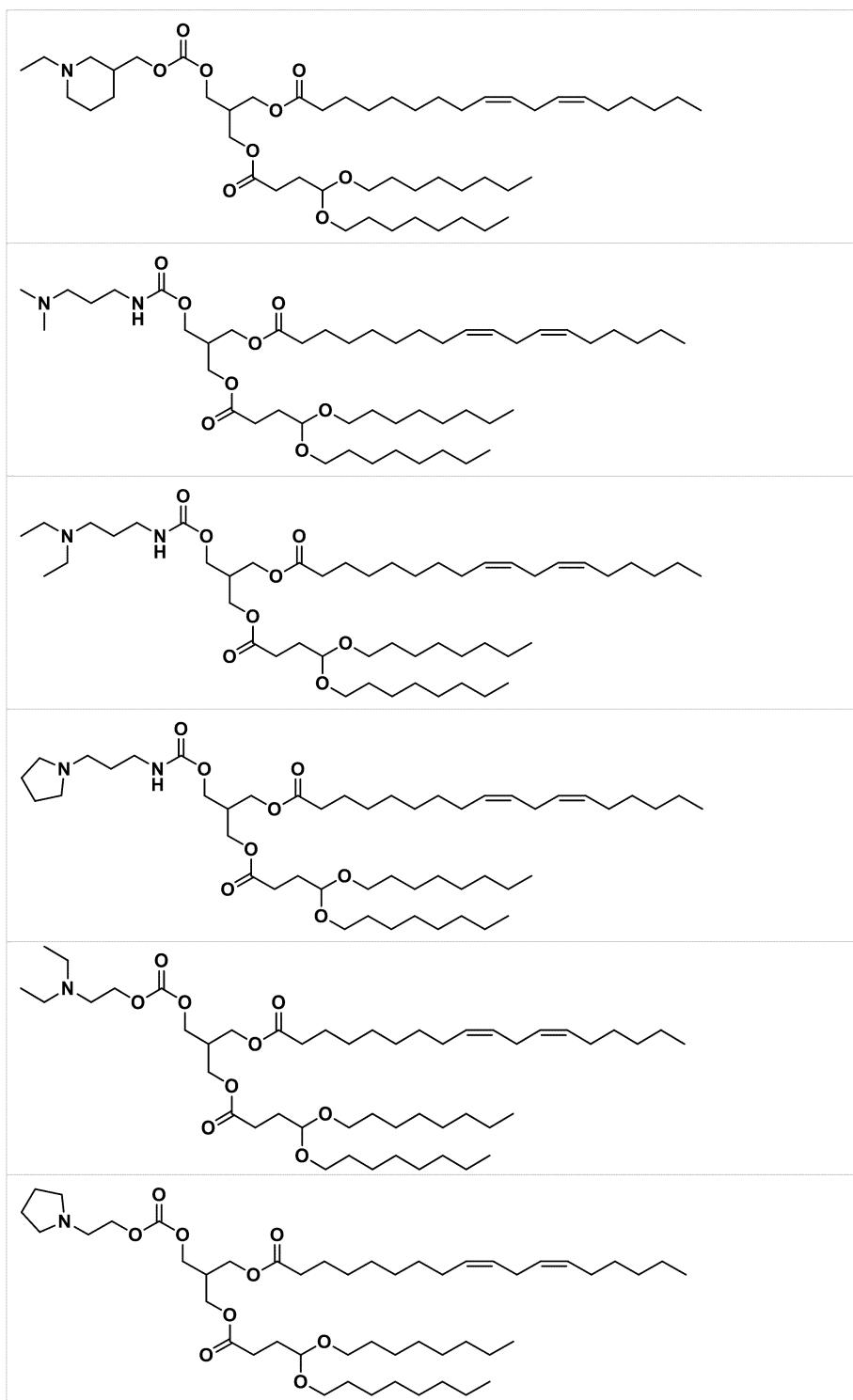
10

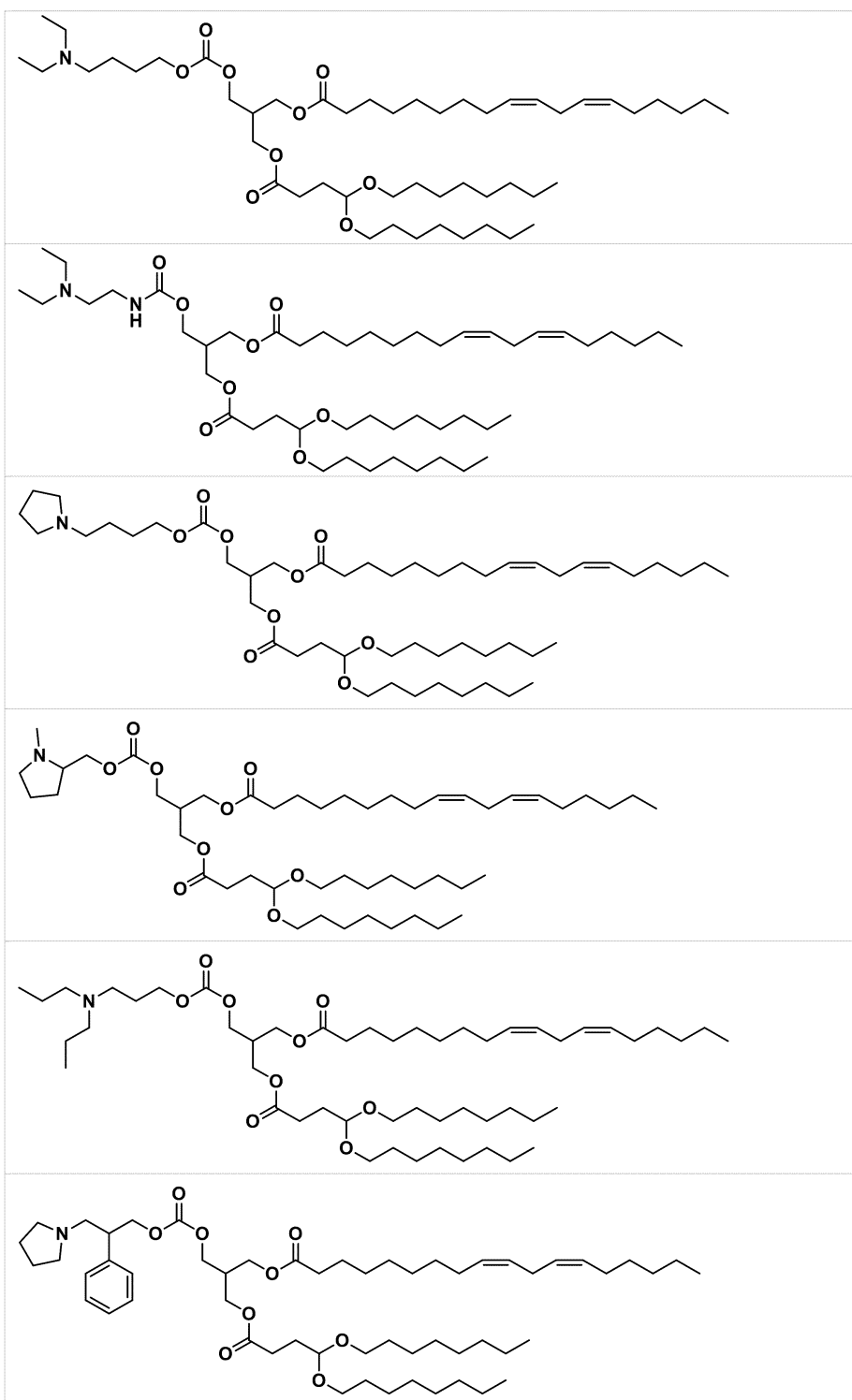
20

30

40

50





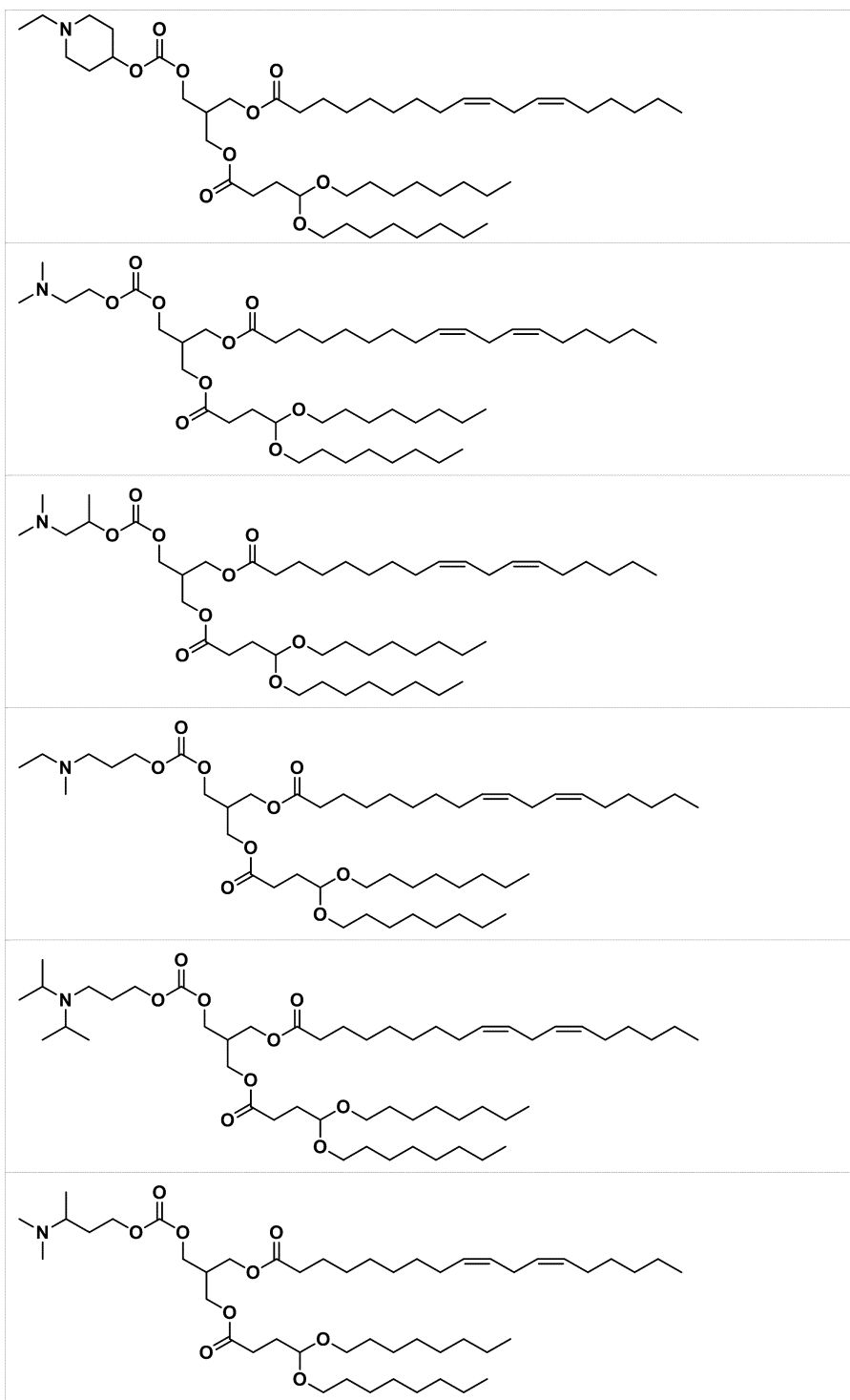
10

20

30

40

50



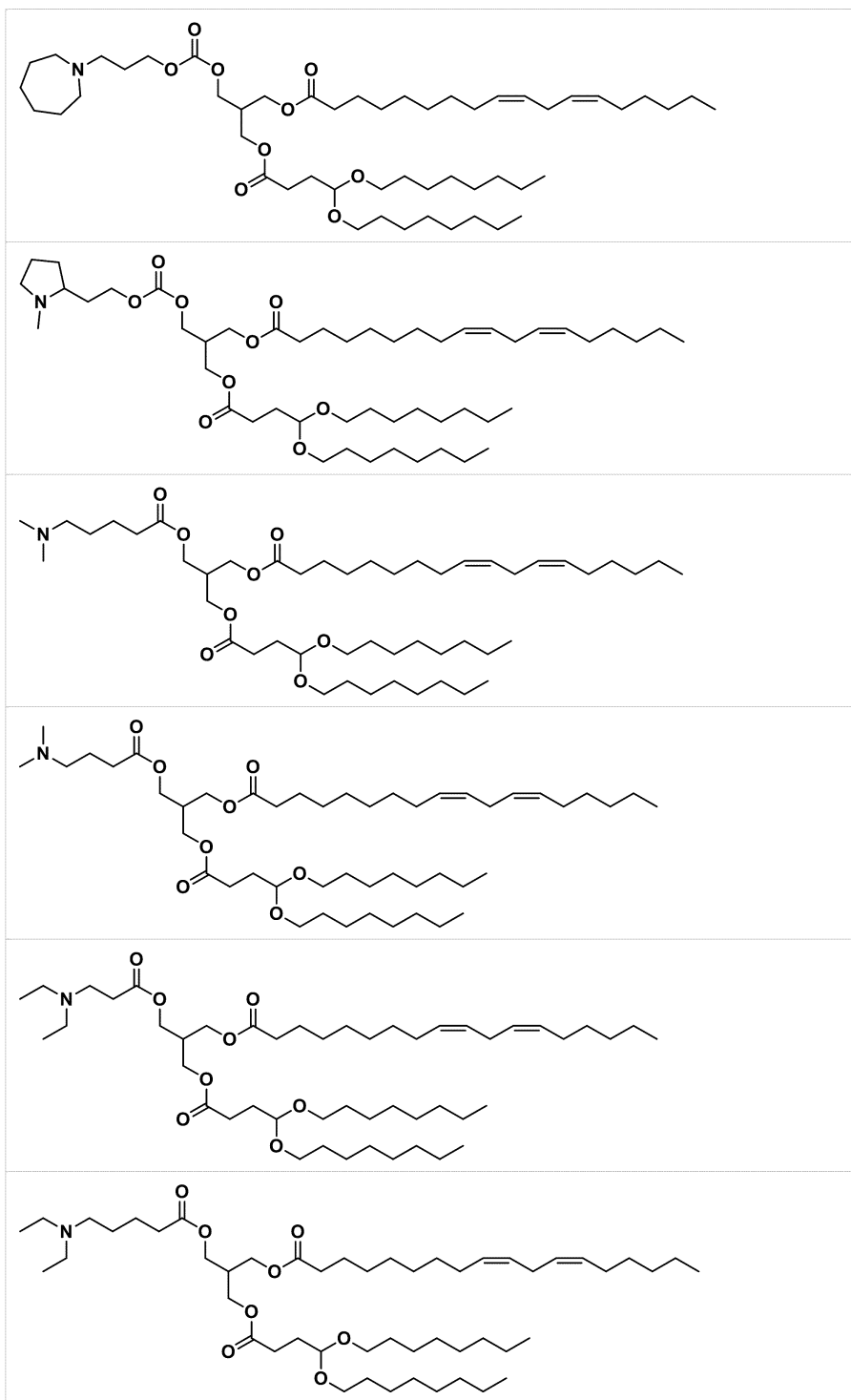
10

20

30

40

50



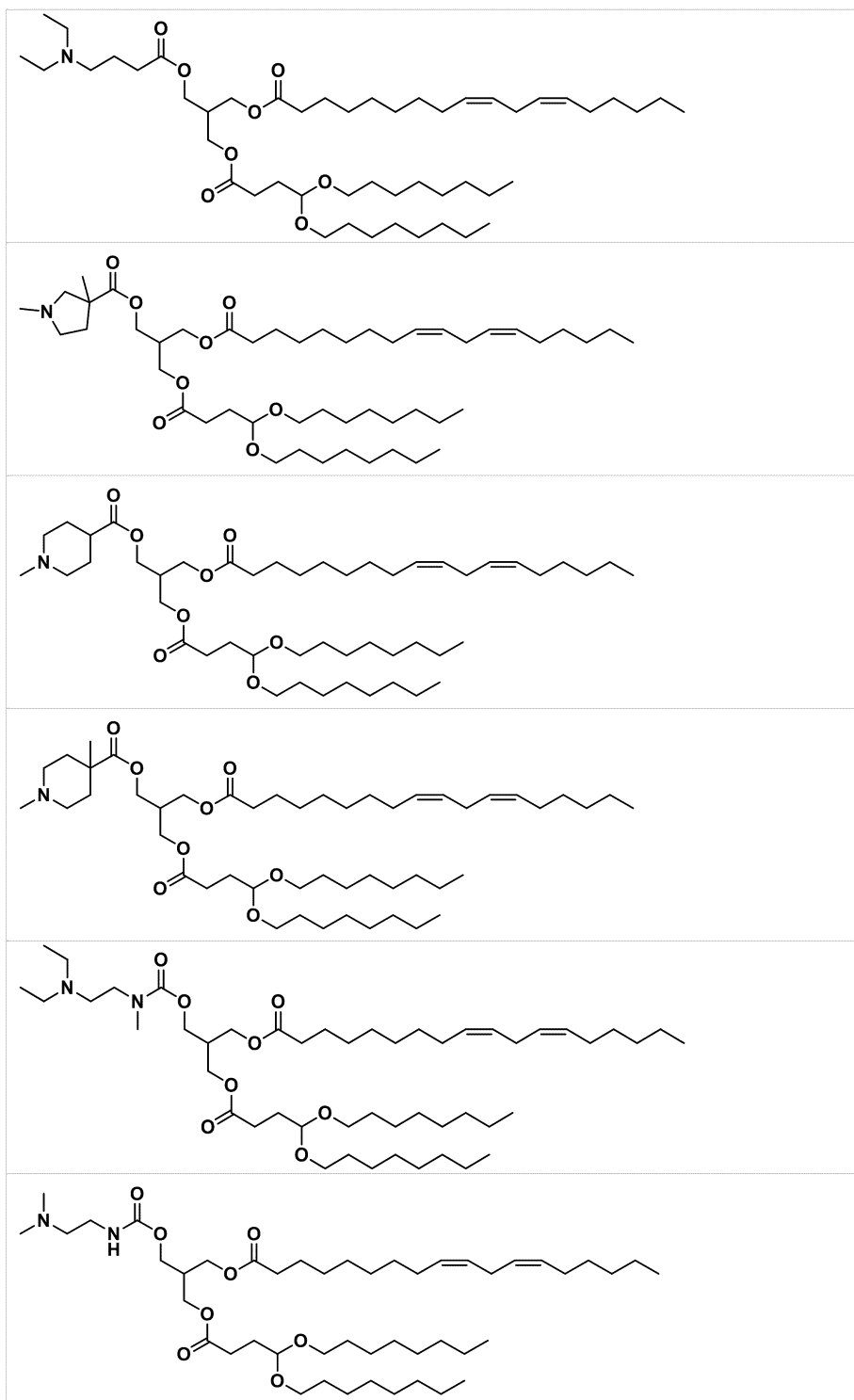
10

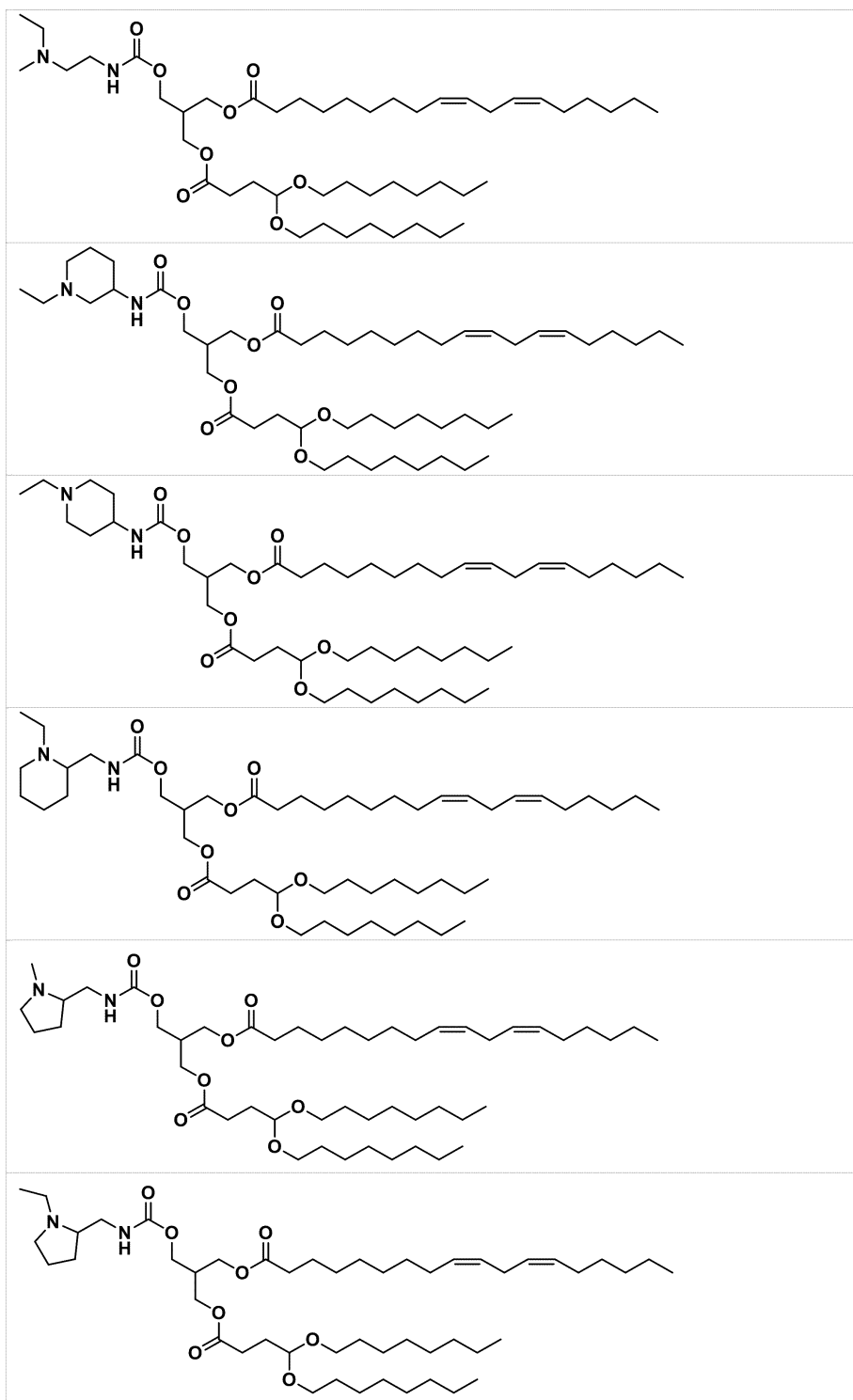
20

30

40

50





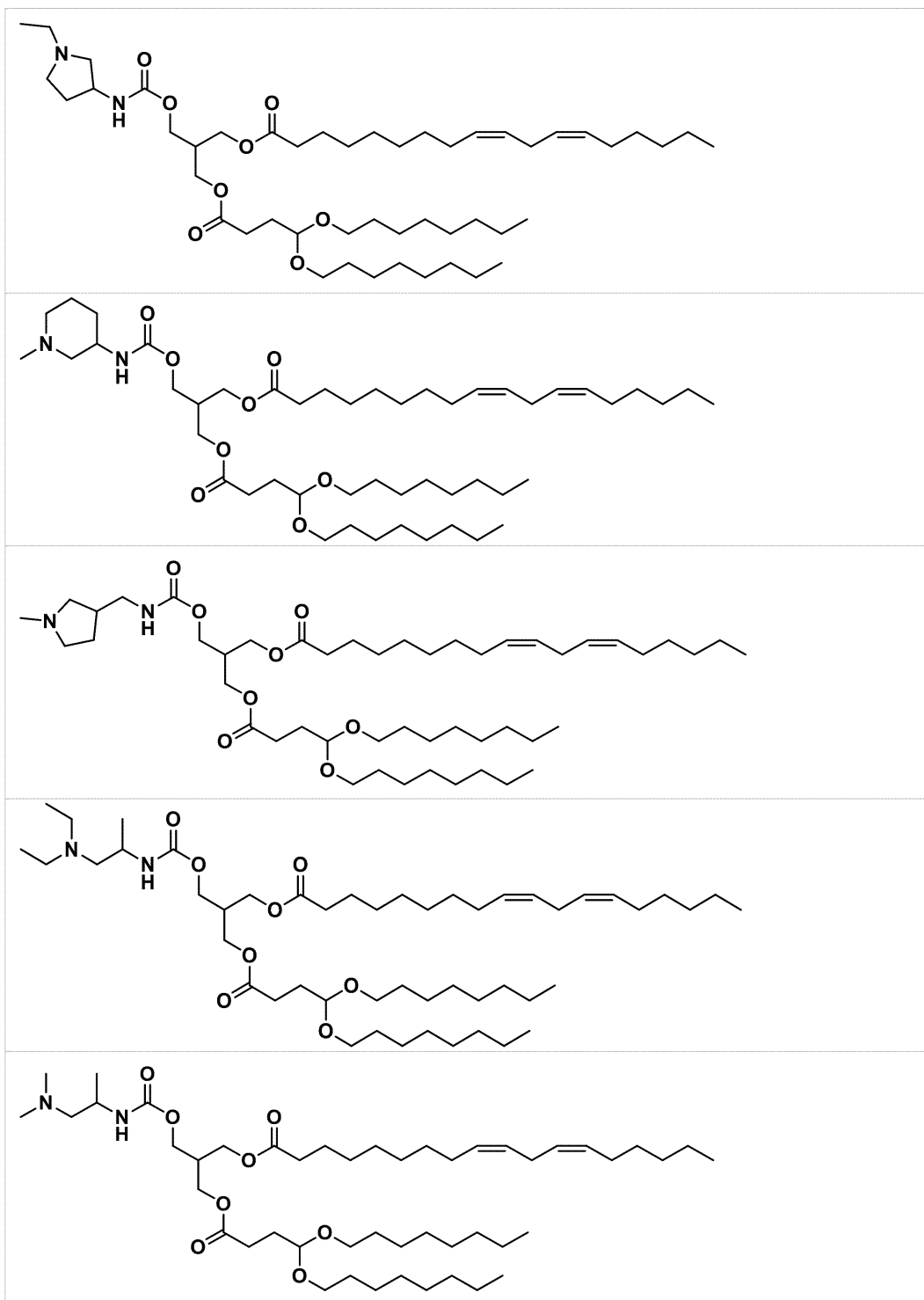
10

20

30

40

50

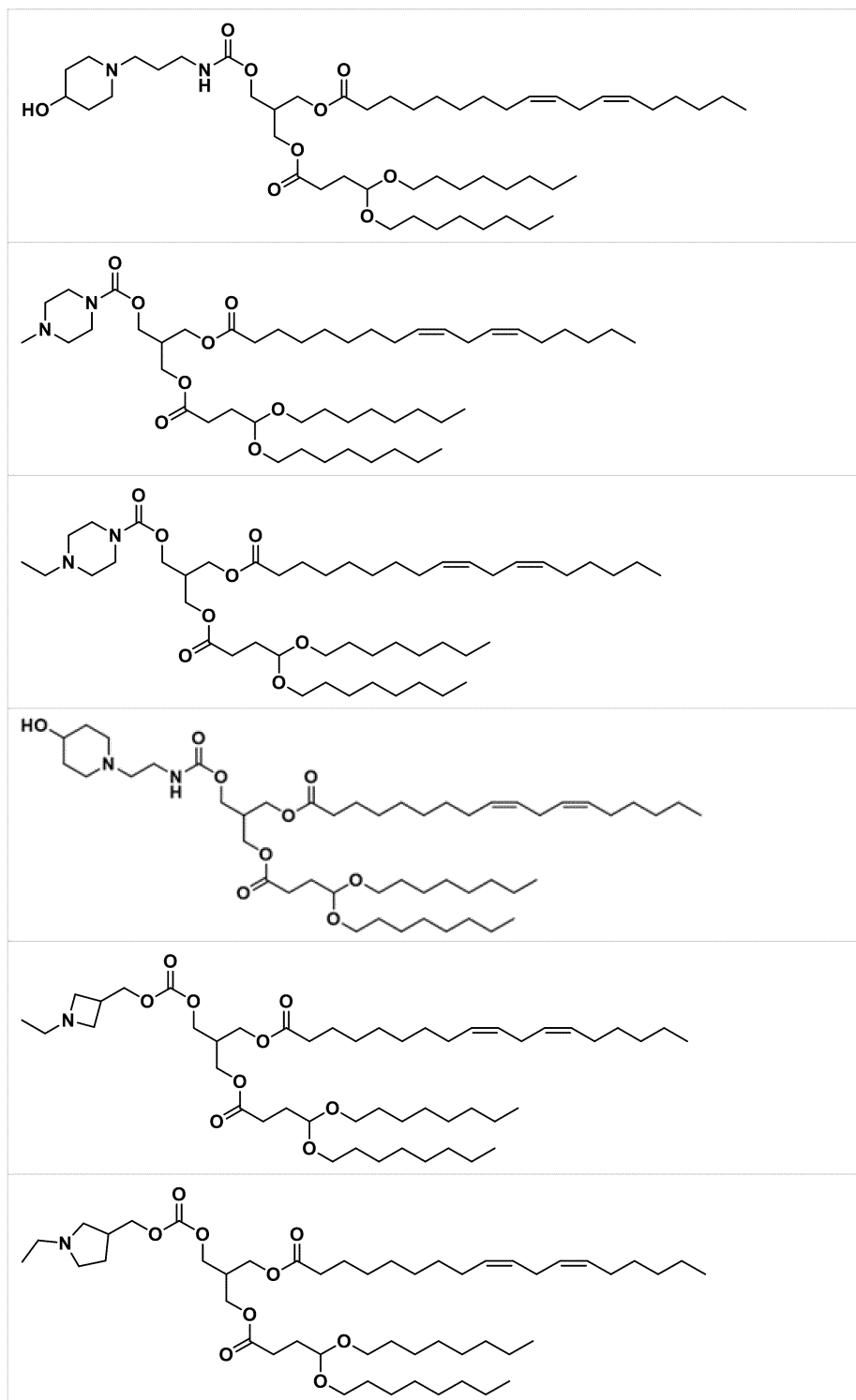


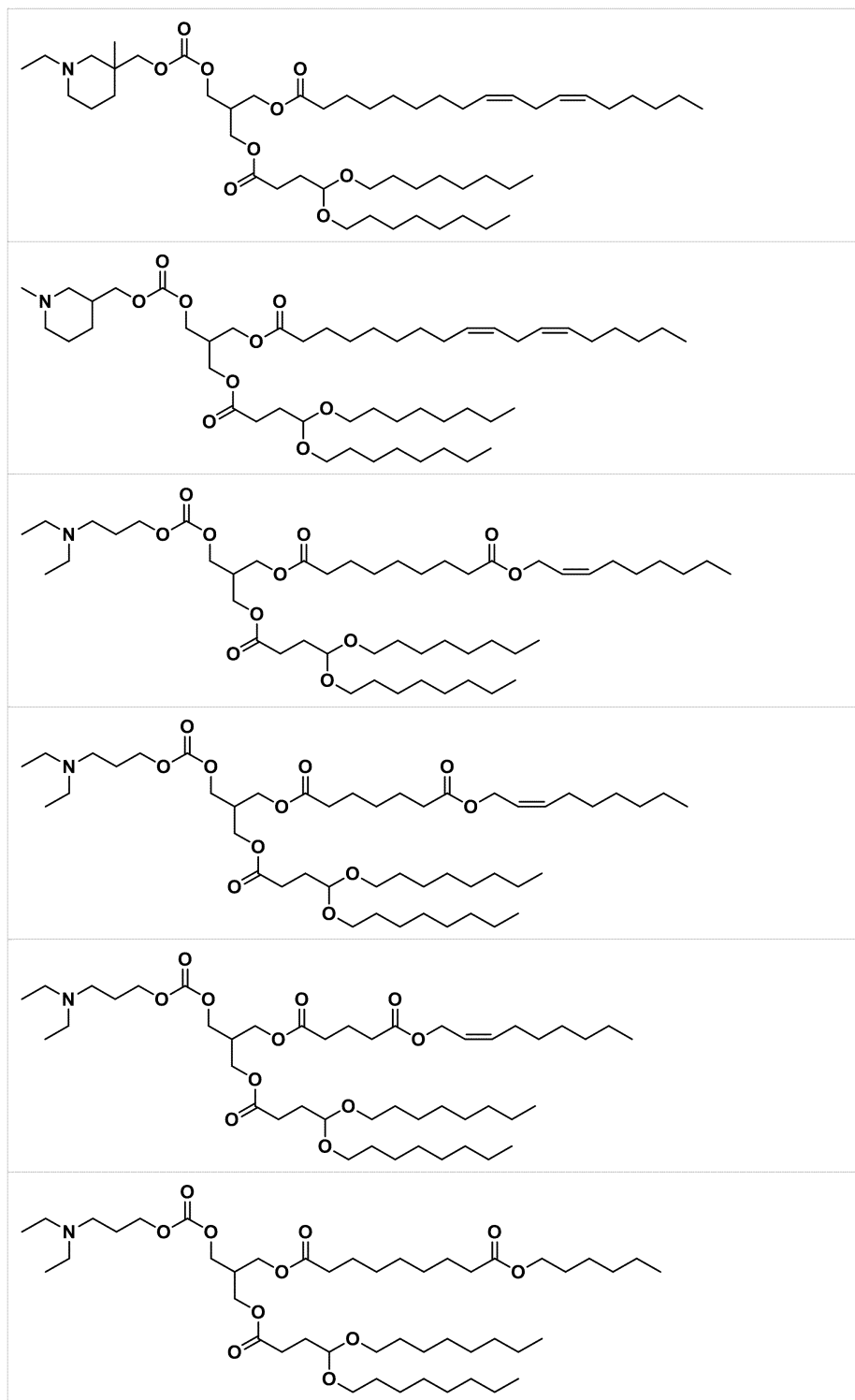
10

20

30

40





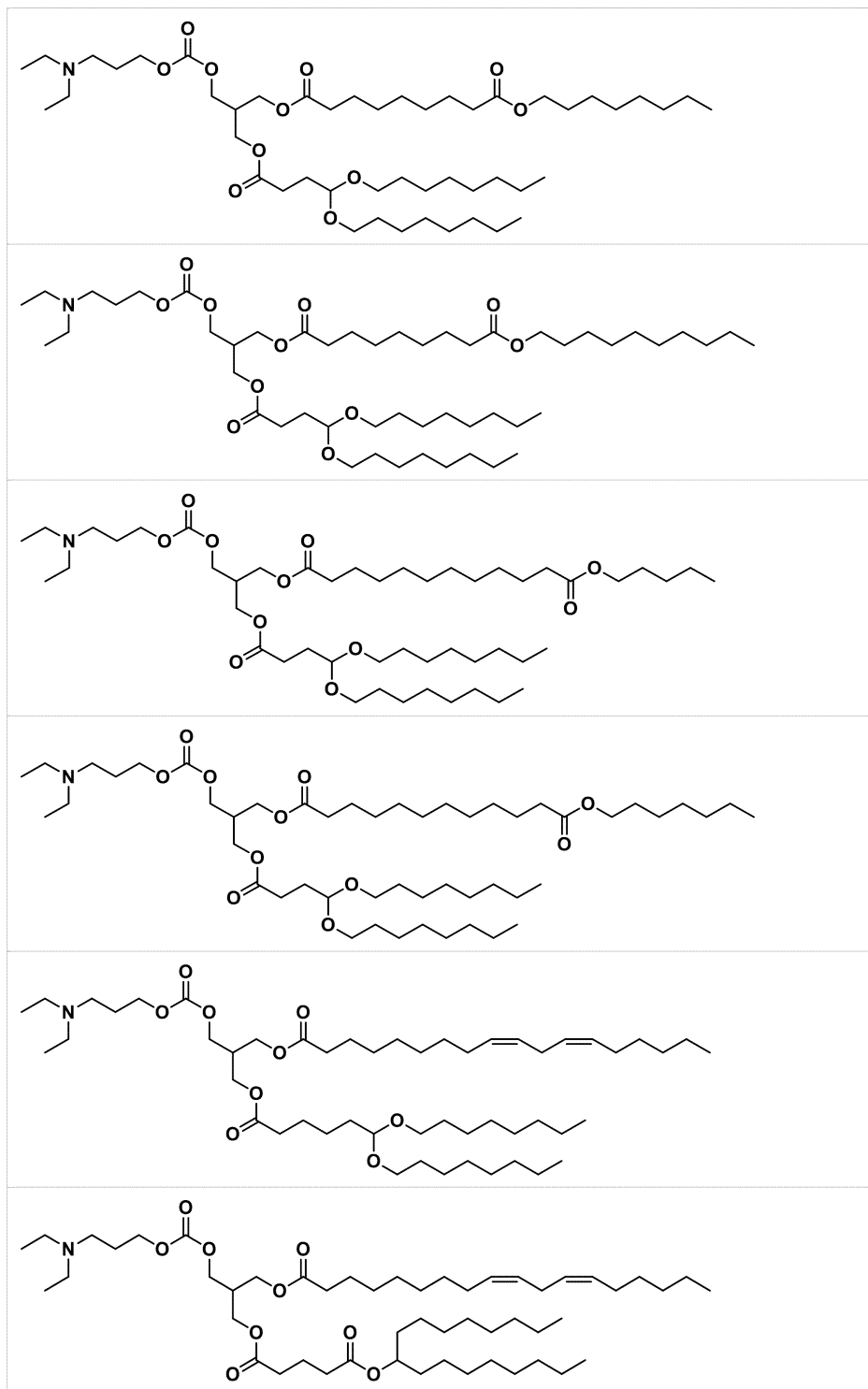
10

20

30

40

50



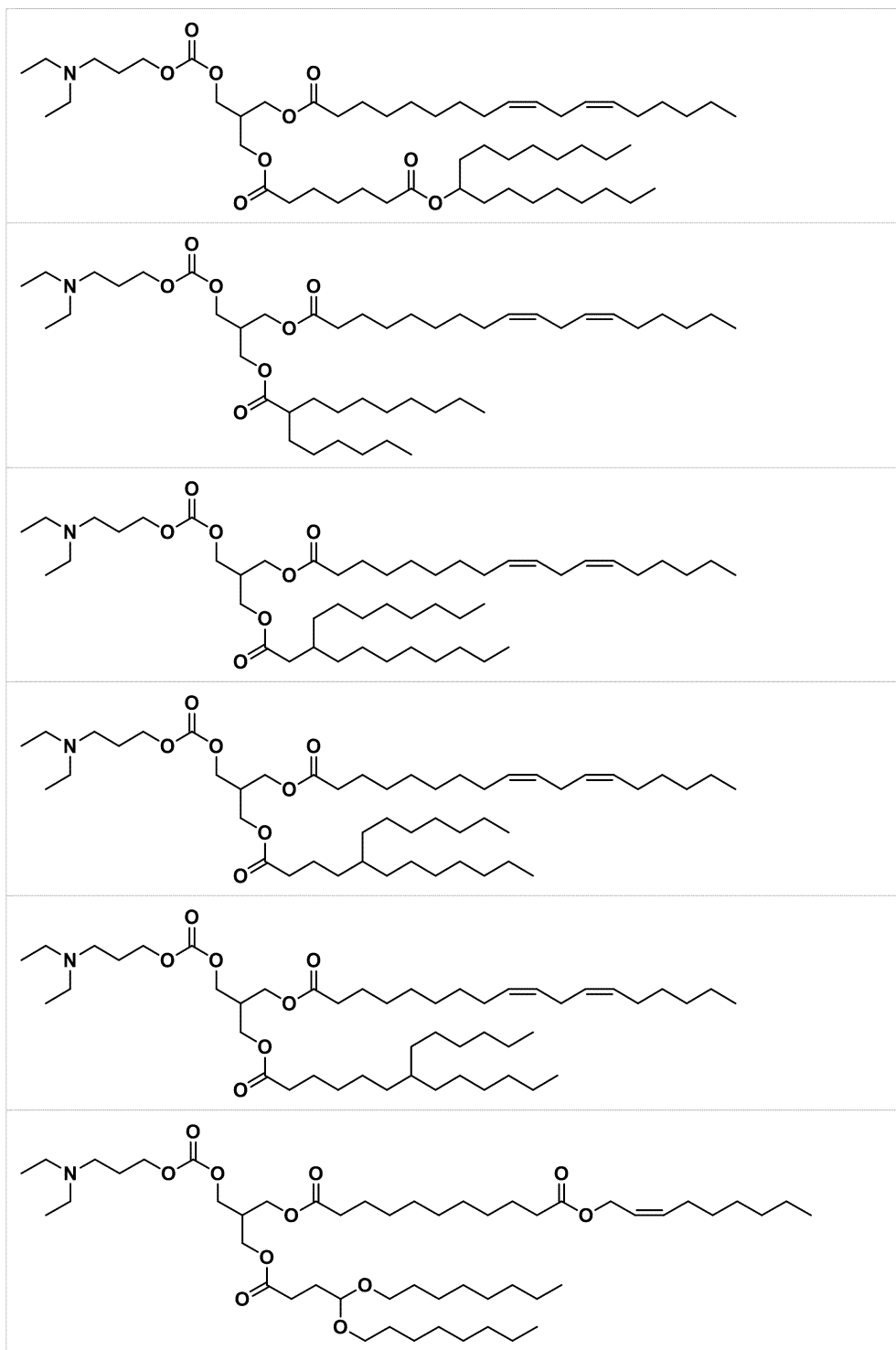
10

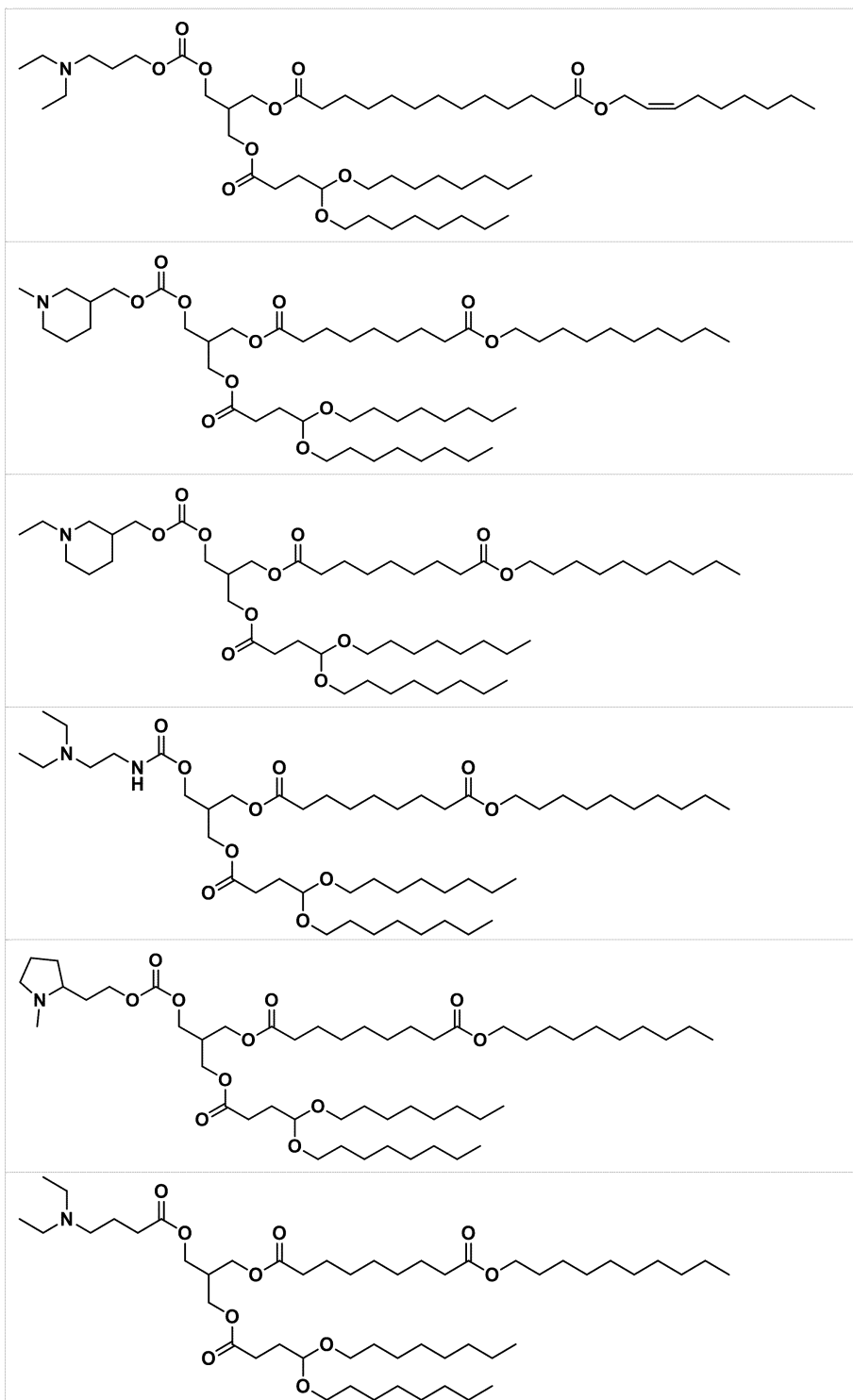
20

30

40

50





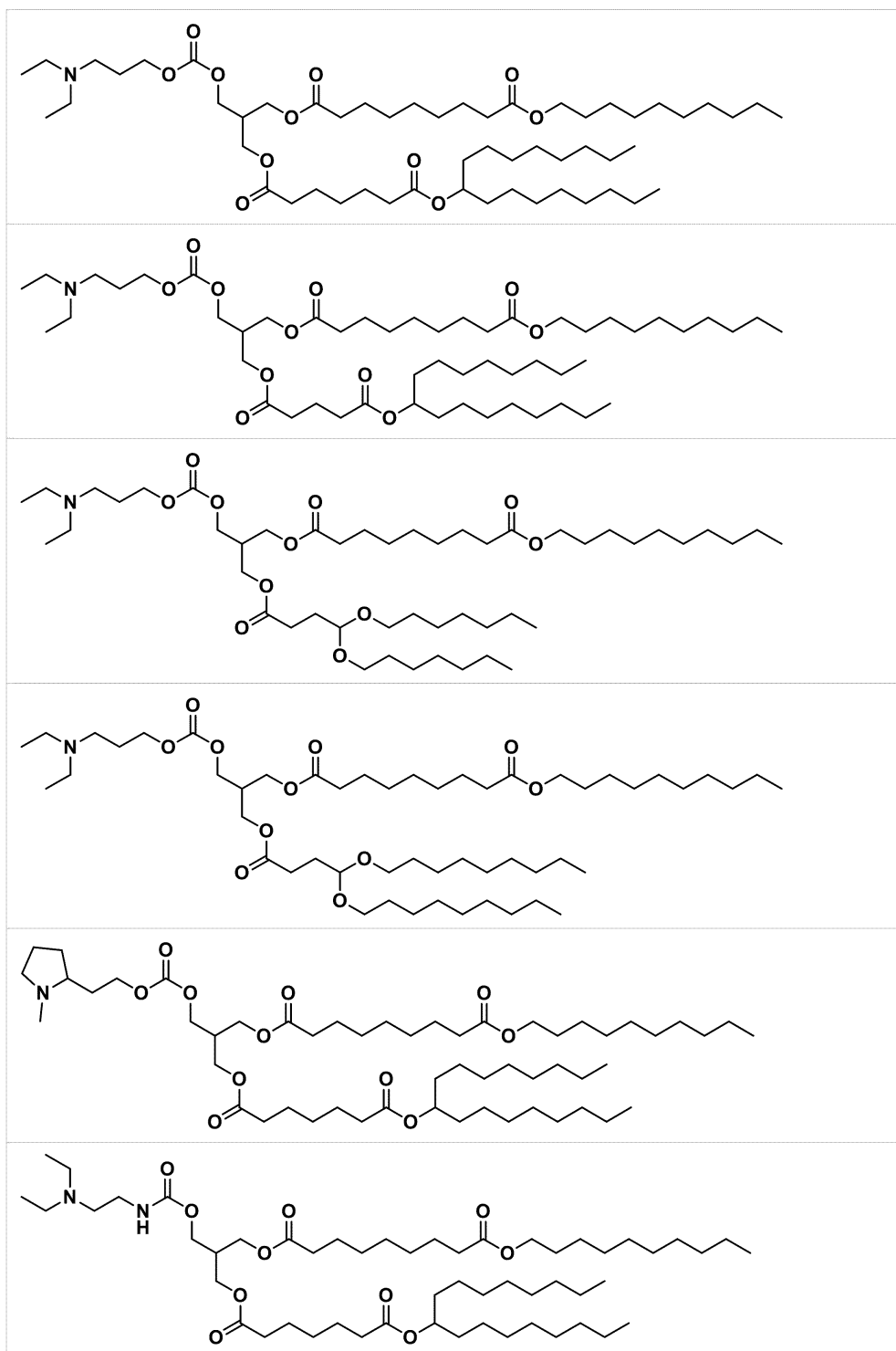
10

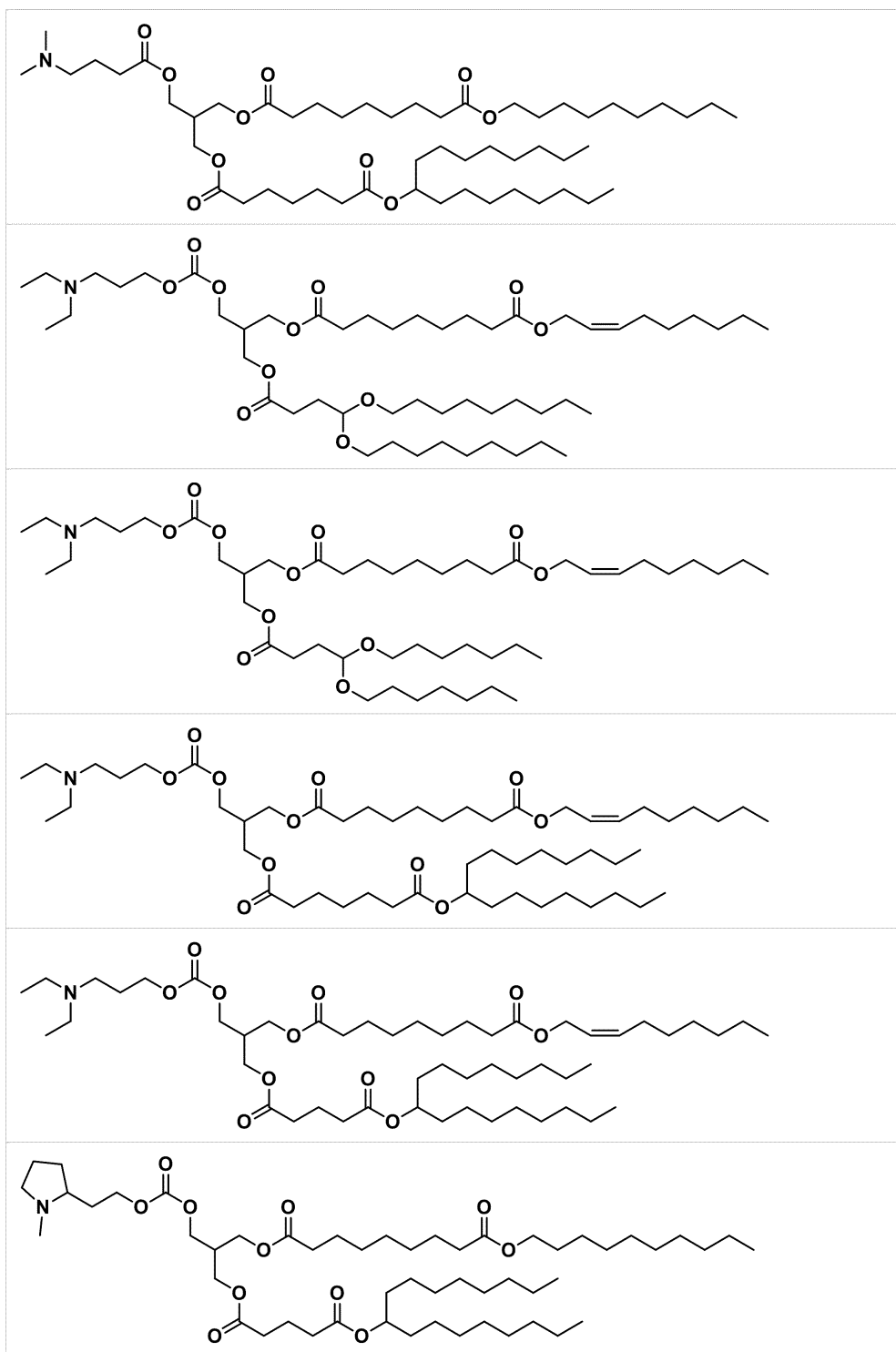
20

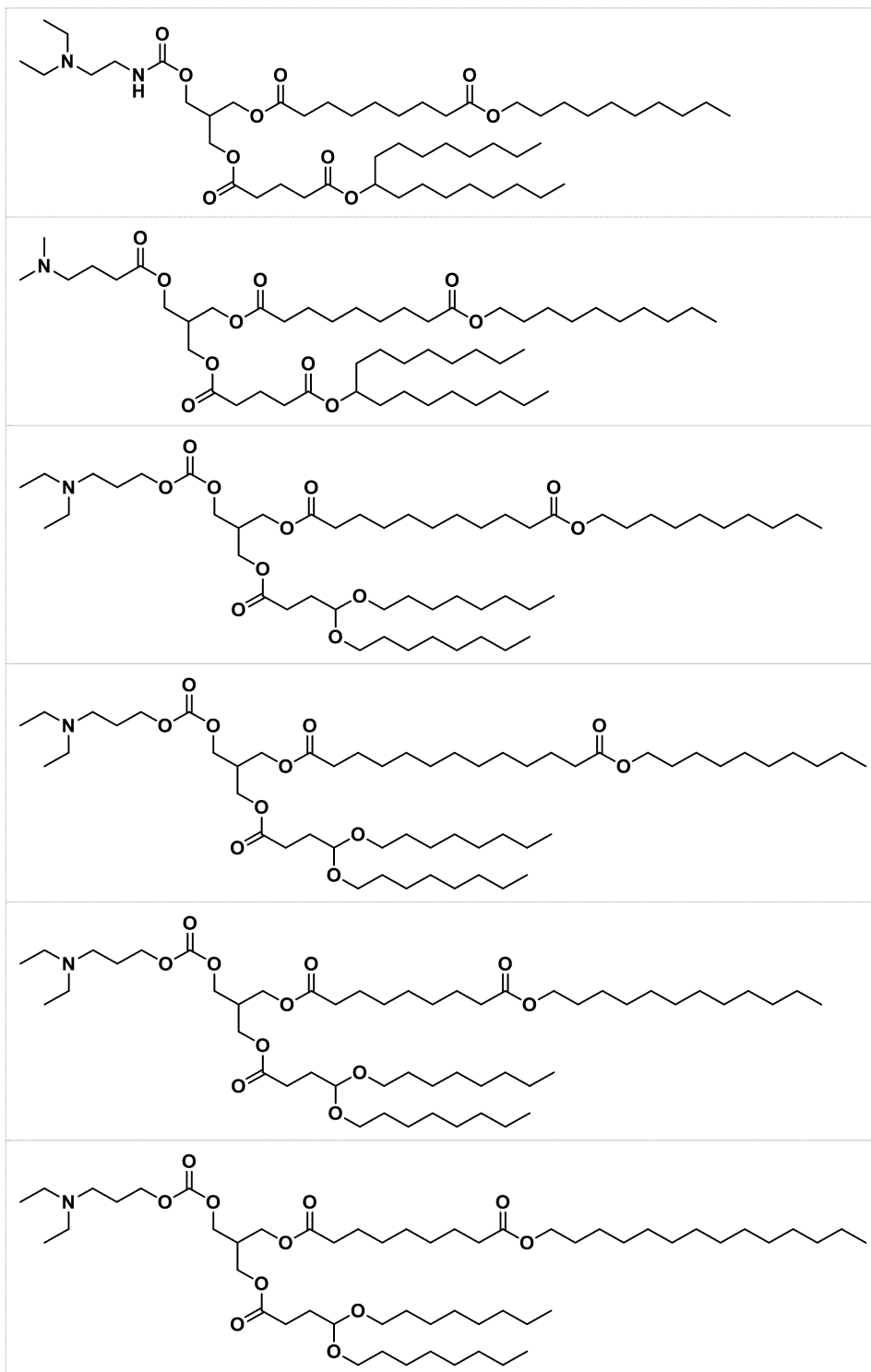
30

40

50







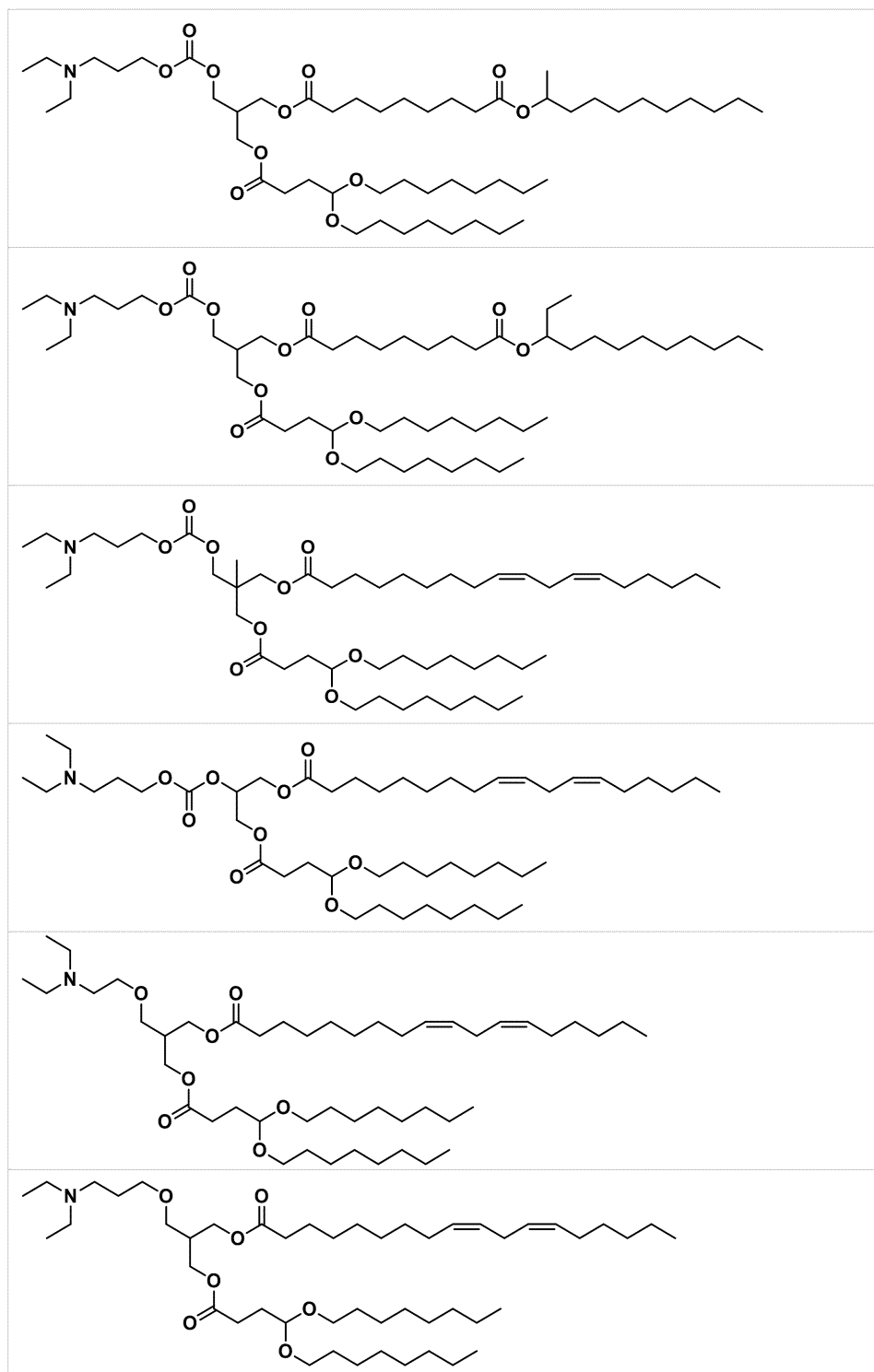
10

20

30

40

50



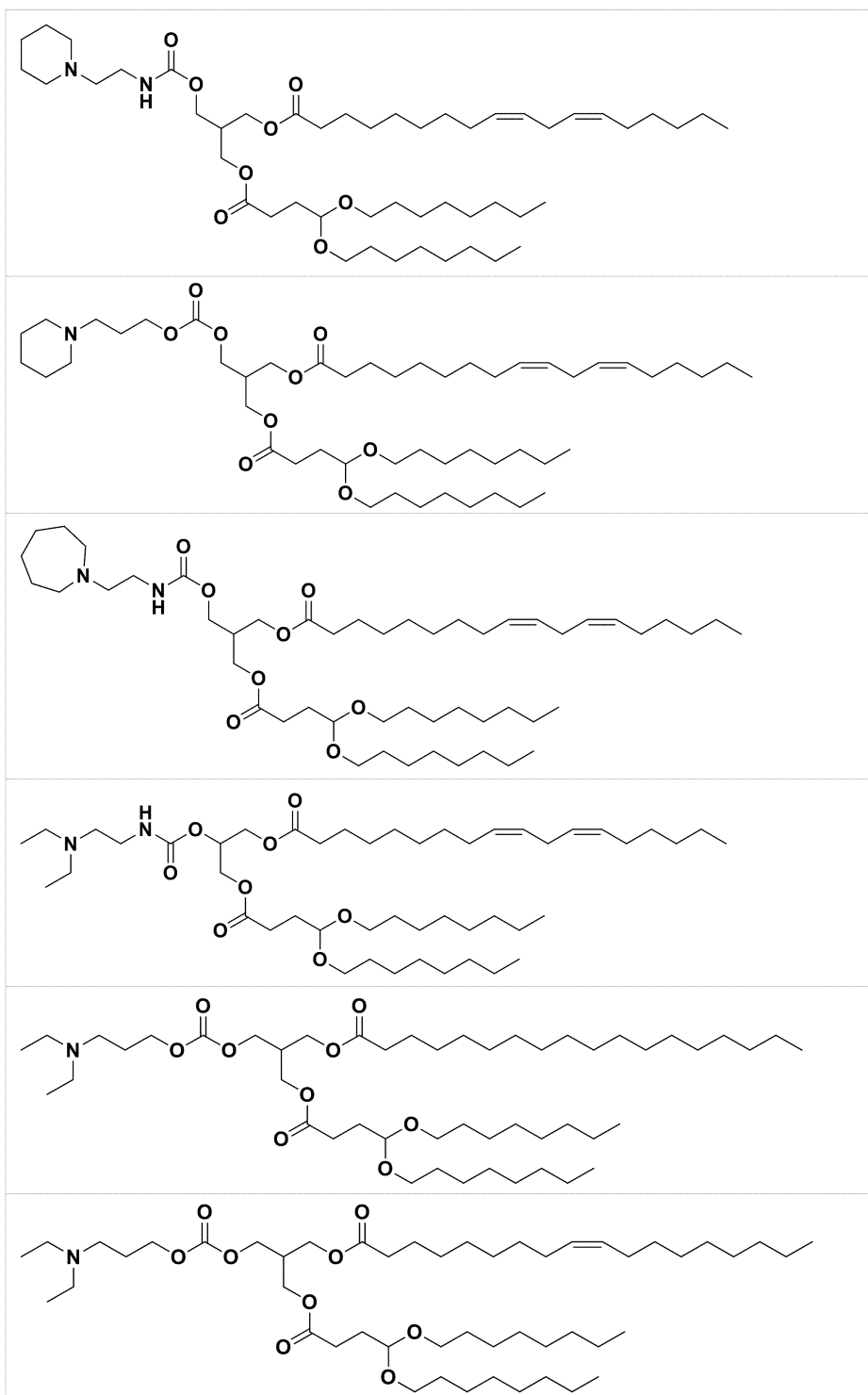
10

20

30

40

50



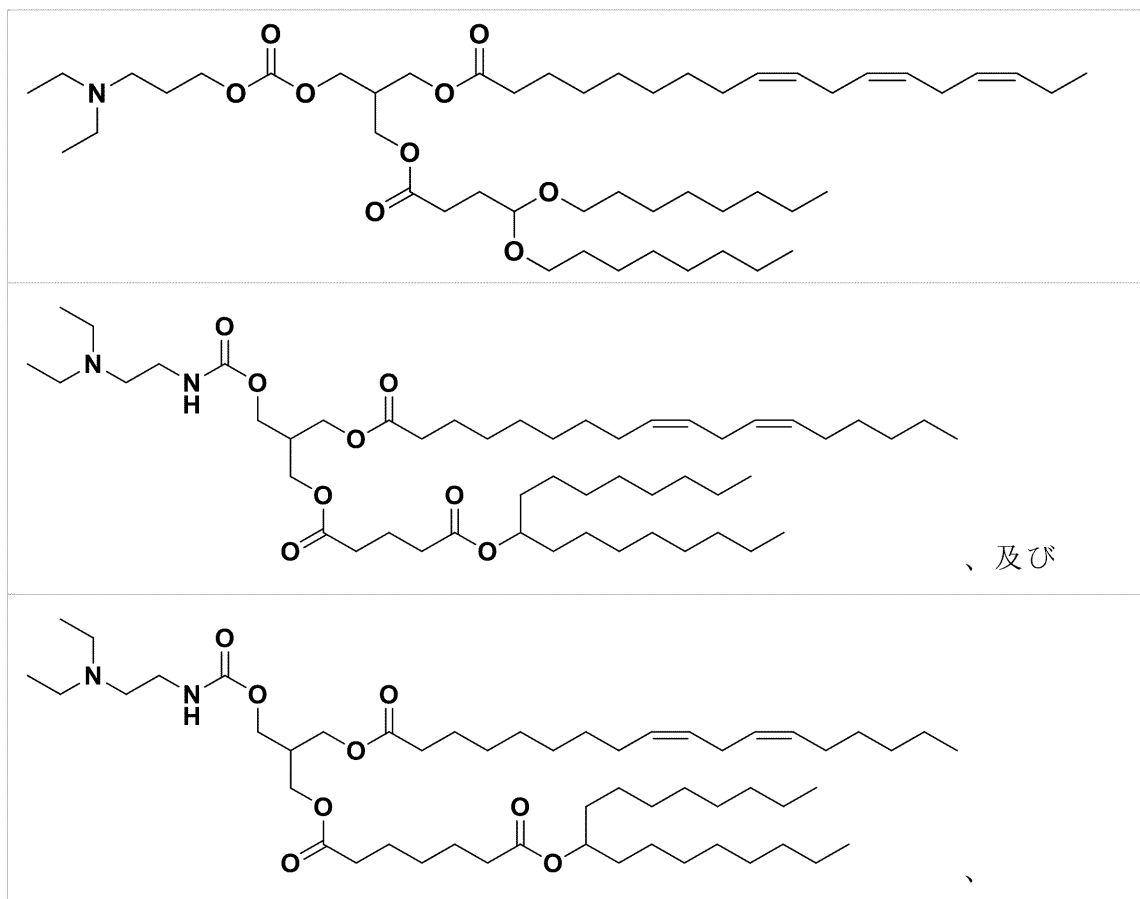
10

20

30

40

50



10

20

、またはそれらの塩から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3 0】

前記塩が、薬学的に許容される塩である、請求項 1 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の化合物。

30

【請求項 3 1】

前記化合物のプロトン化形態の pK_a が、約 5 . 1 ～ 約 8 . 0 である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 3 2】

前記化合物のプロトン化形態の pK_a が、約 5 . 7 ～ 約 7 . 6 である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 3 3】

前記化合物のプロトン化形態の pK_a が、約 6 ～ 約 7 . 6 である、先行請求項のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 3 4】

脂質成分中に先行請求項のいずれか一項に記載の化合物を含む、組成物。

40

【請求項 3 5】

前記組成物が、請求項 1 ～ 3 1 のいずれか一項に記載の化合物の約 5 0 % を含む脂質成分を含む、請求項 3 4 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記組成物が、LNP 組成物である、請求項 3 4 または 3 5 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記脂質成分が、ヘルパー脂質及びPEG脂質を含む、請求項 3 4 ～ 3 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 8】

50

前記脂質成分が、ヘルパー脂質、PEG脂質、及び中性脂質を含む、請求項34～37のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項39】

凍結保護剤をさらに含む、請求項34～38のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項40】

緩衝液をさらに含む、請求項34～39のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項41】

前記組成物が、生物学的に活性な薬剤を含む水性成分を含む、請求項34～40のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項42】

前記生物学的に活性な薬剤が、ポリペプチドを含む、請求項41に記載の組成物。

【請求項43】

前記生物学的に活性な薬剤が、核酸を含む、請求項41に記載の組成物。

【請求項44】

核酸成分が、RNAを含む、請求項43に記載の組成物。

【請求項45】

前記組成物が、約3～10のN/P比を有する、請求項43または44に記載の組成物。

【請求項46】

前記N/P比が、約 6 ± 1 である、請求項45に記載の組成物。

【請求項47】

前記N/P比が、約 6 ± 0.5 である、請求項45に記載の組成物。

【請求項48】

前記N/P比が、約6である、請求項45に記載の組成物。

【請求項49】

RNA成分を含み、前記RNA成分が、mRNAを含む、請求項34～48のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項50】

前記RNA成分が、CasヌクレアーゼmRNAなどのRNA誘導性DNA結合剤をコードする配列を含む、請求項49に記載の組成物。

【請求項51】

前記RNA成分が、クラス2 CasヌクレアーゼmRNAを含む、請求項49または50に記載の組成物。

【請求項52】

前記RNA成分が、Cas9ヌクレアーゼmRNAを含む、請求項49～51のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項53】

前記RNA成分が、修飾されたRNAを含む、請求項49～52のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項54】

前記RNA成分が、gRNA核酸を含む、請求項49～53のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項55】

前記gRNA核酸が、gRNAである、請求項54に記載の組成物。

【請求項56】

前記RNA成分が、クラス2 CasヌクレアーゼmRNA及びgRNAを含む、請求項49～55のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項57】

前記gRNA核酸が、デュアルガイドRNA (dgRNA) であるか、またはそれをコードする、請求項54～56のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項58】

10

20

30

40

50

前記 gRNA 核酸が、シングルガイド RNA (sgRNA) であるか、またはそれをコードする、請求項 54～56 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 59】

前記 gRNA が、修飾された gRNA である、請求項 54～58 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 60】

前記修飾された gRNA が、5' 末端の最初の 5 つのヌクレオチドのうちの 1 つ以上に修飾を含む、請求項 59 に記載の組成物。

【請求項 61】

前記修飾された gRNA が、3' 末端の最後の 5 つのヌクレオチドのうちの 1 つ以上に修飾を含む、請求項 59 または 60 に記載の組成物。 10

【請求項 62】

少なくとも 1 つの鋳型核酸をさらに含む、請求項 41～61 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 63】

生物学的に活性な薬剤を細胞に送達する方法であって、前記細胞を、請求項 34～62 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、前記方法。

【請求項 64】

前記細胞が、肝細胞 (hepatocyte) などの肝臓細胞 (liver cell) である、請求項 63 に記載の方法。 20

【請求項 65】

遺伝子編集の方法であって、細胞を請求項 34～62 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、前記方法。

【請求項 66】

DNA を開裂する方法であって、細胞を請求項 34～62 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、前記方法。

【請求項 67】

前記接触させる工程により、一本鎖 DNA ニックが生じる、請求項 66 に記載の方法。

【請求項 68】

前記接触させる工程により、二本鎖 DNA 切断が生じる、請求項 66 に記載の方法。 30

【請求項 69】

前記組成物が、クラス 2 Cas mRNA 及び gRNA 核酸を含む、請求項 63～67 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 70】

少なくとも 1 つの鋳型核酸を前記細胞に導入することをさらに含む、請求項 63～69 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 71】

前記細胞を、鋳型核酸を含む組成物と接触させることを含む、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 72】

前記組成物を動物に投与することを含む、請求項 63～71 のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項 73】

前記組成物をヒトに投与することを含む、請求項 63～71 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 74】

前記組成物を細胞に投与することを含む、請求項 63～71 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 75】

前記細胞が、真核細胞である、請求項 74 に記載の方法。

【請求項 76】

第 1 の L N P 組成物中に製剤化された m R N A と、m R N A、g R N A、g R N A 核酸、及び鑄型核酸のうちの 1 つ以上を含む第 2 の L N P 組成物と、を投与することを含む、請求項 6 3 ～ 7 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記第 1 及び前記第 2 の L N P 組成物が、同時に投与される、請求項 7 6 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記第 1 及び前記第 2 の L N P 組成物が、逐次的に投与される、請求項 7 6 に記載の方法。

【請求項 7 9】

単一の L N P 組成物に製剤化された前記 m R N A 及び前記 g R N A 核酸を投与することを含む、請求項 7 6 に記載の方法。

【請求項 8 0】

前記遺伝子編集が、遺伝子ノックアウトをもたらす、請求項 6 3 ～ 7 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記遺伝子編集が、遺伝子修正をもたらす、請求項 6 3 ～ 7 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記組成物を肝臓細胞に投与することを含む、請求項 6 3 ～ 8 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 3】

前記組成物を肝細胞に投与することを含む、請求項 6 3 ～ 8 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 4】

前記組成物を肝臓に投与することを含む、請求項 6 3 ～ 8 3 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年4月25日に提出された米国特許仮出願第62／838,551号及び2019年5月6日に提出された米国特許仮出願第62／843,854号の優先権の利益を主張し、本出願の各々の全内容が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

イオン化可能なアミン含有脂質によって製剤化された脂質ナノ粒子は、生物学的に活性な薬剤、特にRNA、mRNA、及びガイドRNAなどのポリヌクレオチドを細胞に送達するためのカーゴビヒクルとして役立ち得る。イオン化可能な脂質を含有するLNP組成物は、細胞膜を通過するオリゴヌクレオチド剤の送達を促進することができ、生細胞に遺伝子編集用の成分及び組成物を導入するために使用することができる。細胞への送達が特に困難な生物学的に活性な薬剤には、タンパク質、核酸ベースの薬物、及びそれらの誘導体、特に、mRNAなどの比較的大きなオリゴヌクレオチドを含む薬物が含まれる。CRISPR／Cas9システム成分の送達など、有望な遺伝子編集技術を細胞に送達するための組成物は、特別な関心対象である（例えば、ヌクレアーゼをコードするmRNA及び関連するガイドRNA（gRNA））。

【0003】

CRISPR／Casのタンパク質及び核酸成分を患者の細胞などの細胞に送達するための組成物が、必要である。特に、CRISPRタンパク質成分をコードするmRNAを送達するための、及びCRISPR gRNAを送達するための組成物は、特別な関心対象である。RNA成分を安定化し送達することができるインビトロ及びインビボ送達に有用

10

20

30

40

50

な特性を有する組成物もまた、特別な関心対象である。

【発明の概要】

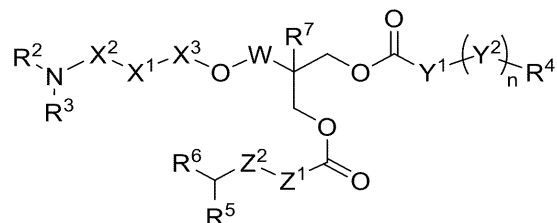
【0004】

本開示は、脂質ナノ粒子（LNP）組成物の製剤化に有用なアミン含有脂質を提供する。このようなLNP組成物は、CRISPR/Cas遺伝子編集成分などの核酸カーゴを細胞に送達するのに有利な特性を有し得る。

【0005】

いくつかの実施形態では、脂質は、式IIの構造を有する化合物であって、

【化1】



(I I)

式中、

X1が、O、NR1、または直接結合であり、

X2が、C2-5アルキレンであり、

X3が、C(=O)または直接結合であり、

R1が、HまたはMeであり、

R3が、C1-3アルキルであり、

R2が、C1-3アルキルであるか、または

R2が、それが結合している窒素原子、及びX2の1~3個の炭素原子と一緒に、

4、5、もしくは6員の環を形成するか、または

X1が、NR1、R1、及びR2が、それらが結合している窒素原子と一緒に、5

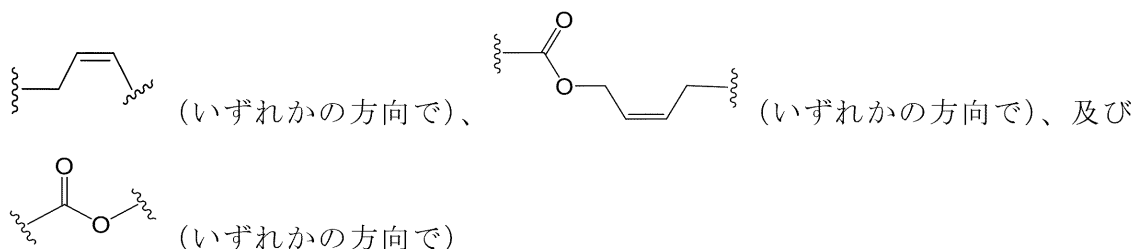
員もしくは6員の環を形成するか、または

R2が、R3及びそれらが結合している窒素原子と一緒に、5、6、もしくは7員の環を形成し、

Y1が、C2-12アルキレンであり、

Y2が、

【化2】



から選択され、

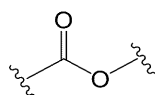
nが、0~3であり、

R4が、C1-15アルキルであり、

Z1が、C1-6アルキレンまたは直接結合であり、

Z2が、

【化3】



10

20

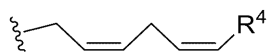
30

40

50

(いずれかの方向で)であるか、または存在しないが、但し、 Z^1 が直接結合である場合、 Z^2 が、存在しないものとし、
 R^5 が、 C_5-9 アルキルまたは C_6-10 アルコキシであり、
 R^6 が、 C_5-9 アルキルまたは C_6-10 アルコキシであり、
 W が、メチレンまたは直接結合であり、
 R^7 が、 H または Me であり、
 但し、 R^3 及び R^2 が、 C_2 アルキルであり、 X^1 が、 O であり、 X^2 が、直鎖 C_3 アルキレンであり、 X^3 が、 $C(=O)$ であり、 Y^1 が、直鎖 C_6 アルキレンであり、 $(Y^2)_n-R^4$ が、
 【化4】

10

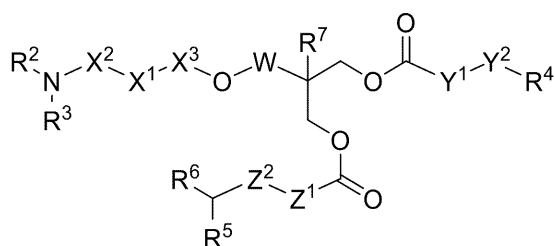


であり、 R^4 が、直鎖 C_5 アルキルであり、 Z^1 が、 C_2 アルキレンであり、 Z^2 が、存在せず、 W が、メチレンであり、 R^7 が、 H である場合、 R^5 及び R^6 が、 C_8 アルコキシではないものとする、化合物、またはその塩である。

【0006】

ある特定の実施形態では、脂質は、式(I)の構造を有する化合物であって、
 【化5】

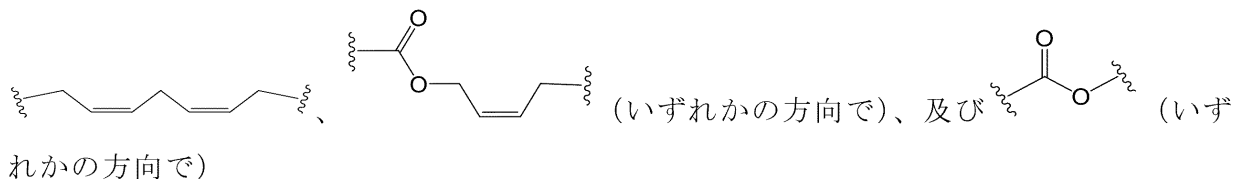
20



(I)

X^1 が、 O 、 NR^1 、または直接結合であり、
 X^2 が、 C_2-5 アルキレンであり、
 X^3 が、 $C(=O)$ または直接結合であり、
 R^1 が、 H または Me であり、
 R^3 が、 C_1-3 アルキルであり、
 R^2 が、 C_1-3 アルキルであるか、または
 R^2 が、それが結合している窒素原子、及び X^2 の1~3個の炭素原子と一緒に、4、5、もしくは6員の環を形成するか、または
 X^1 が、 NR^1 、 R^1 、及び R^2 が、それらが結合している窒素原子と一緒に、5員もしくは6員の環を形成するか、または
 R^2 が、 R^3 及びそれらが結合している窒素原子と一緒に、5、6、もしくは7員の環を形成し、
 Y^1 が、 C_2-12 アルキレンであり、
 Y^2 が、
 【化6】

30



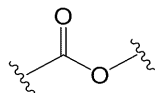
40

から選択され、

R^4 が、 C_3-15 アルキルであり、

50

Z¹が、C₁－6アルキレンまたは直接結合であり、
 Z²が、
 【化7】



(いずれかの方向で)であるか、または存在しないが、但し、Z¹が直接結合である場合、Z²が、存在しないものとし、

R⁵が、C₅－9アルキルまたはC₆－10アルコキシであり、

10

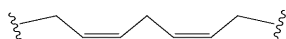
R⁶が、C₅－9アルキルまたはC₆－10アルコキシであり、

Wが、メチレンまたは直接結合であり、

R⁷が、HまたはMeであり、

但し、R³及びR²が、C₂アルキルであり、X¹が、Oであり、X²が、直鎖C₃アルキレンであり、X³が、C(=O)であり、Y¹が、直鎖C₆アルキレンであり、Y²が、

【化8】



20

であり、R⁴が、直鎖C₄アルキルであり、Z¹が、C₂アルキレンであり、Z²が、存在せず、Wが、メチレンであり、R⁷が、Hである場合、R⁵及びR⁶が、C₈アルコキシではないものとする、化合物、またはその塩である。

【0007】

ある特定の実施形態では、本発明は、化合物のプロトン化形態のpK_aが、約5.1～約9.0、例えば、約5.7～約7.6、または約6～約7.5である、本明細書に記載の任意の化合物に関する。

【0008】

ある特定の実施形態では、本発明は、本明細書に記載の任意の化合物及び脂質成分を含む、例えば、約50%（例えば、脂質成分の約50%）の本明細書に記載の化合物及び脂質成分、例えば、アミン脂質、好ましくは、式(I)または式(II)の化合物を含む、組成物に関する。

30

【0009】

ある特定の実施形態では、本発明は、組成物がLNP組成物である、本明細書に記載の任意の組成物に関する。例えば、本発明は、本明細書に記載の任意の化合物、及び脂質成分を含むLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、脂質成分がヘルパー脂質及びPEG脂質を含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、脂質成分がヘルパー脂質、PEG脂質、及び中性脂質を含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、凍結保護剤をさらに含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、緩衝液をさらに含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

40

【0010】

ある特定の実施形態では、本発明は、核酸成分をさらに含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、RNAまたはDNA成分をさらに含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、LNP組成物が、約3～10のN/P比を有し、例えば、N/P比は、約6±1であり、またはN/P比は、約6±0.5である、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、LNP組成物が約6のN/P比を有する、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

50

【0011】

ある特定の実施形態では、本発明は、RNA成分がmRNAを含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、RNA成分が、RNA誘導性DNA結合剤、例えば、クラス2 CasヌクレアーゼmRNAまたはCas9ヌクレアーゼmRNAなどのCasヌクレアーゼmRNAを含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

【0012】

ある特定の実施形態では、本発明は、mRNAが修飾されたmRNAである、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、RNA成分がgRNA核酸を含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、gRNA核酸がgRNAである、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

10

【0013】

ある特定の実施形態では、本発明は、RNA成分がクラス2 CasヌクレアーゼmRNA及びgRNAを含む、本明細書に記載のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、gRNA核酸がデュアルガイドRNA (dgRNA) であるかまたはそれをコードする、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、gRNA核酸がシングルガイドRNA (sgRNA) であるかまたはそれをコードする、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

20

【0014】

ある特定の実施形態では、本発明は、gRNAが修飾されたgRNAである、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、修飾されたgRNAが、5'末端の最初の5つのヌクレオチドのうちの1つ以上に修飾を含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、修飾されたgRNAが、3'末端の最後の5つのヌクレオチドのうちの1つ以上に修飾を含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

【0015】

ある特定の実施形態では、本発明は、少なくとも1つの鑄型核酸をさらに含む、本明細書に記載の任意のLNP組成物に関する。

【0016】

ある特定の実施形態では、本発明は、細胞をLNPと接触させることを含む、遺伝子編集の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、DNAを開裂することを含む、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。

30

【0017】

ある特定の実施形態では、本発明は、細胞をLNP組成物と接触させることを含む、DNAを開裂する方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、開裂する工程が、一本鎖DNAニックを導入することを含む、本明細書に記載のDNAを開裂する任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、開裂する工程が、二本鎖DNA切断を導入することを含む、本明細書に記載のDNAを開裂する任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、LNP組成物が、クラス2 Cas mRNA及びgRNA核酸を含む、本明細書に記載のDNAを開裂する任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、少なくとも1つの鑄型核酸を細胞に導入することをさらに含む、本明細書に記載のDNAを開裂する任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、細胞を鑄型核酸を含むLNP組成物と接触させることを含む、本明細書に記載のDNAを開裂する任意の方法に関する。

40

【0018】

ある特定の実施形態では、本発明は、LNP組成物を動物、例えばヒトに投与することを含む、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、LNP組成物を真核細胞などの細胞に投与することを含む、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。

50

【0019】

ある特定の実施形態では、本発明は、第1のLNP組成物中に製剤化されたmRNAと、mRNA、gRNA、gRNA核酸、及び鋳型核酸のうちの1つ以上を含む第2のLNP組成物と、を投与することを含む、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、第1及び第2のLNP組成物が同時に投与される、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、第1及び第2のLNP組成物が逐次的に投与される、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。ある特定の実施形態では、本発明は、単一のLNP組成物中に製剤化されたmRNA及びgRNA核酸を投与することを含む、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。

10

【0020】

ある特定の実施形態では、本発明は、遺伝子編集が遺伝子ノックアウトをもたらす、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。

【0021】

ある特定の実施形態では、本発明は、遺伝子編集が遺伝子修正をもたらす、本明細書に記載の遺伝子編集の任意の方法に関する。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1A】化合物1、化合物29、化合物31、または化合物32を含むLNPを使用した送達後のマウス肝臓細胞におけるTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。用量応答データも示される。実施例122を参照されたい。

20

【図1B】化合物1、化合物40、化合物53、または化合物54を含むLNPを使用した送達後のマウス肝臓細胞におけるTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。用量応答データも示される。実施例122を参照されたい。

【図1C】化合物1または化合物59を含むLNPを使用した送達後のマウス肝臓細胞におけるB2M及びTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。用量応答データも示される。実施例122を参照されたい。

【図1D】化合物1、化合物24、化合物59、化合物61、または化合物94を含むLNPを使用した送達後のマウス肝臓細胞におけるTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。用量応答データも示される。実施例122を参照されたい。

30

【図2】化合物1、化合物100、化合物101、化合物102、または化合物103を含むLNPを使用した送達後のマウス肝臓細胞におけるTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。実施例123を参照されたい。

【図3】化合物1、化合物114、化合物115、または化合物116を含むLNPを使用した送達後のマウス肝臓細胞におけるTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。実施例123を参照されたい。

【図4】化合物1、化合物12、化合物59、または化合物94を含むLNPを使用した送達後のラット肝臓細胞におけるTTRの編集のパーセンテージを示すグラフである。用量応答データを示す。実施例125を参照されたい。

【発明を実施するための形態】

40

【0023】

本開示は、CRISPR/Cas成分RNA（「カーゴ」）などの核酸を含む生物学的に活性な薬剤を細胞に送達するのに有用な脂質、特にイオン化可能な脂質、ならびにそのような組成物を調製及び使用するための方法を提供する。脂質及びその薬学的に許容される塩は、任意選択で、LNP組成物を含む、脂質を含む組成物として提供される。ある特定の実施形態では、LNP組成物は、生物学的に活性な薬剤、例えば、RNA成分、及び本明細書で定義される式（II）または（I）の化合物を含む脂質成分を含んでもよい。ある特定の実施形態では、RNA成分は、RNAを含む。いくつかの実施形態では、脂質は、生物学的に活性な薬剤、例えば、mRNAを肝臓細胞などの細胞に送達するために使用される。ある特定の実施形態では、RNA成分は、gRNA、及び任意選択でクラス2

50

C a sヌクレアーゼをコードするmRNAを含む。これらの組成物を使用する、遺伝子編集の方法及び操作された細胞を作製する方法も提供される。

【0024】

脂質ナノ粒子組成物

核酸、例えば、CRISPR/Casカーゴを含む、mRNA及びgRNAなどの生物学的に活性な薬剤を送達するための様々なLNP組成物が、本明細書に開示される。このようなLNP組成物は、中性脂質、PEG脂質、及びヘルパー脂質とともに、「イオン化可能なアミン脂質」を含む。「脂質ナノ粒子」または「LNP」は、意味を限定することなく、分子間力によって互いに物理的に結合する複数の（すなわち、2つ以上の）LNP成分を含む粒子を指す。

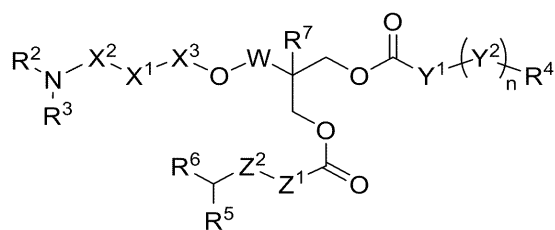
10

【0025】

脂質

本開示は、LNP組成物で 사용할 ことができる脂質を提供する。いくつかの実施形態では、脂質は、式IIの構造を有する化合物であって、

【化9】



(I I)

20

式中、

X1が、O、NR1、または直接結合であり、

X2が、C2-5アルキレンであり、

X3が、C(=O)または直接結合であり、

R1が、HまたはMeであり、

R3が、C1-3アルキルであり、

R2が、C1-3アルキルであるか、または

R2が、それが結合している窒素原子、及びX2の1~3個の炭素原子と一緒に、4、5、もしくは6員の環を形成するか、または

30

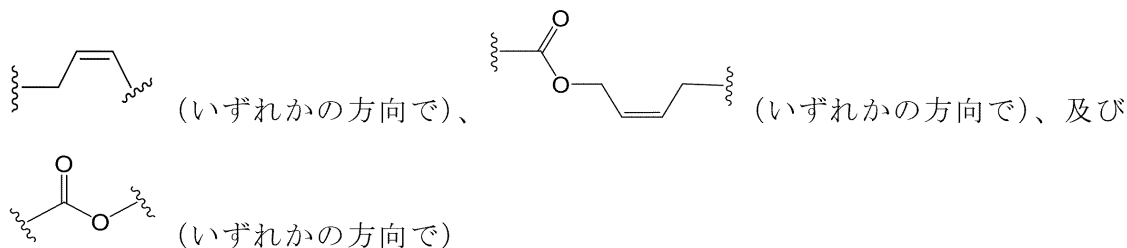
X1が、NR1、R1、及びR2が、それらが結合している窒素原子と一緒に、5員もしくは6員の環を形成するか、または

R2が、R3及びそれらが結合している窒素原子と一緒に、5、6、もしくは7員の環を形成し、

Y1が、C2-12アルキレンであり、

Y2が、

【化10】



40

から選択され、

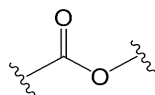
nが、0~3であり、

R4が、C1-15アルキルであり、

Z1が、C1-6アルキレンまたは直接結合であり、

50

Z² が、
【化 1 1】



(いずれかの方向で) であるか、または存在しないが、但し、Z¹ が直接結合である場合、Z² が、存在しないものとし、

R⁵ が、C₅ - 9 アルキルまたは C₆ - 10 アルコキシであり、

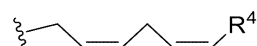
R⁶ が、C₅ - 9 アルキルまたは C₆ - 10 アルコキシであり、

W が、メチレンまたは直接結合であり、

R⁷ が、H または Me であり、

但し、R³ 及び R² が、C₂ アルキルであり、X¹ が、O であり、X² が、直鎖 C₃ アルキレンであり、X³ が、C (=O) であり、Y¹ が、直鎖 C₆ アルキレンであり、(Y²)_n - R⁴ が、

【化 1 2】



であり、R⁴ が、直鎖 C₅ アルキルであり、Z¹ が、C₂ アルキレンであり、Z² が、存在せず、W が、メチレンであり、R⁷ が、H である場合、R⁵ 及び R⁶ が、C₈ アルコキシではないものとする、化合物、またはその塩である。

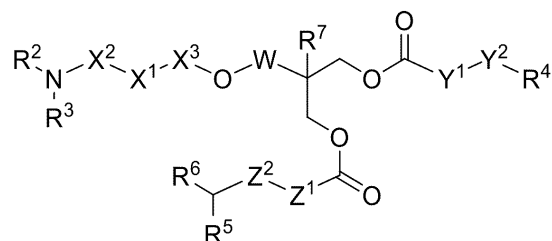
【0026】

いくつかの実施形態では、n は、1 ~ 3 であり、例えば、n は、1 である。ある特定の実施形態では、n は、2 である。いくつかの実施形態では、n は、3 である。

【0027】

ある特定の実施形態では、脂質は、式 (I) の構造を有する化合物であって、

【化 1 3】



(I)

X¹ が、O、NR¹、または直接結合であり、

X² が、C₂ - 5 アルキレンであり、

X³ が、C (=O) または直接結合であり、

R¹ が、H または Me であり、

R³ が、C₁ - 3 アルキルであり、

R² が、C₁ - 3 アルキルであるか、または

R² が、それが結合している窒素原子、及び X² の 1 ~ 3 個の炭素原子と一緒に、4、5、もしくは 6 員の環を形成するか、または

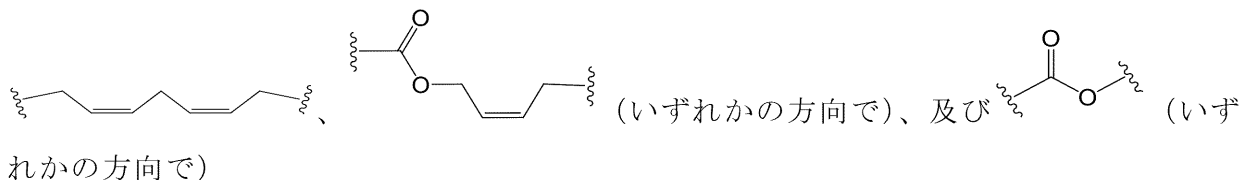
X¹ が、NR¹、R¹、及び R² が、それらが結合している窒素原子と一緒に、5 員もしくは 6 員の環を形成するか、または

R² が、R³ 及びそれらが結合している窒素原子と一緒に、5、6、もしくは 7 員の環を形成し、

Y¹ が、C₂ - 12 アルキレンであり、

Y² が、

【化 1 4】



から選択され、

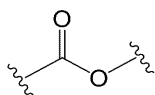
R⁴が、C₃ - 15 アルキルであり、

Z¹が、C₁ - 6 アルキレンまたは直接結合であり、

Z²が、

10

【化 1 5】



(いずれかの方向で)であるか、または存在しないが、但し、Z¹が直接結合である場合、Z²が、存在しないものとし、

R⁵が、C₅ - 9 アルキルまたはC₆ - 10 アルコキシであり、

R⁶が、C₅ - 9 アルキルまたはC₆ - 10 アルコキシであり、

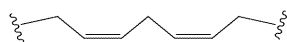
20

Wが、メチレンまたは直接結合であり、

R⁷が、HまたはMeであり、

但し、R³及びR²が、C₂ アルキルであり、X¹が、Oであり、X²が、直鎖C₃ アルキレンであり、X³が、C(=O)であり、Y¹が、直鎖C₆ アルキレンであり、Y²が、

【化 1 6】



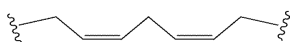
であり、R⁴が、直鎖C₄ アルキルであり、Z¹が、C₂ アルキレンであり、Z²が、存在せず、Wが、メチレンであり、R⁷が、Hである場合、R⁵及びR⁶が、C₈ アルコキシではない（例えば、化合物は、化合物1ではない）ものとする、化合物、またはその塩である。

30

【0028】

好ましくは、化合物は、式(I)の構造を有する化合物であるが、但し、R³及びR²が、C₂ アルキルであり、X¹が、Oであり、X²が、直鎖C₃ アルキレンであり、X³が、C(=O)であり、Y¹が、直鎖C₆ アルキレンであり、Y²が、

【化 1 7】



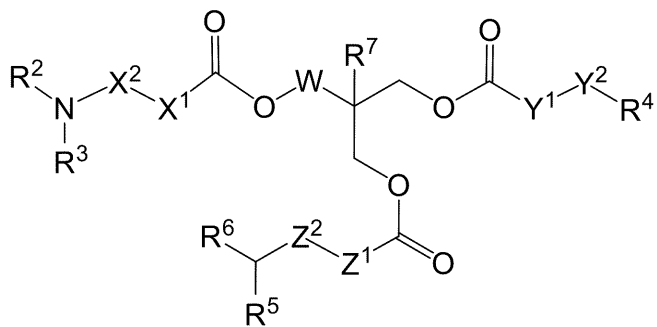
40

であり、R⁴が、直鎖C₄ アルキルであり、Z¹が、C₂ アルキレンであり、Z²が、存在せず、Wが、メチレンであり、R⁷が、Hである場合、R⁵及びR⁶が、C₆ - 10 アルコキシではないものとする。

【0029】

いくつかの実施形態では、本化合物は、式(Ia)の化合物である。

【化 18】



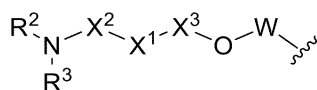
(I a)

10

【0030】

いくつかの実施形態では、

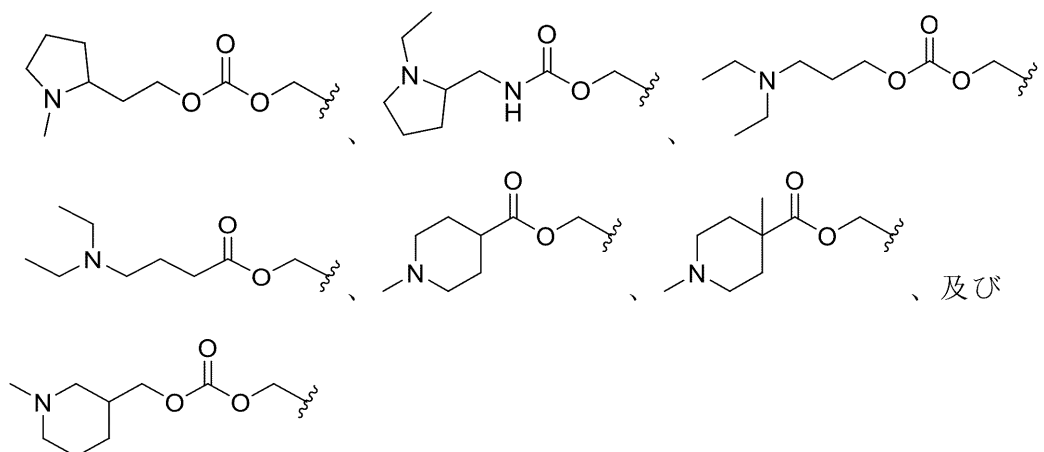
【化 19】



は、

【化 20】

20



30

から選択される。

【0031】

いくつかの実施形態では、X2は、直鎖C2アルキレン、または直鎖C3アルキレン、または直鎖C4アルキレンである。

【0032】

他の実施形態では、R3は、C1アルキルまたはC2アルキルである。

40

【0033】

ある特定の実施形態では、R2は、C1アルキルまたはC2アルキルである。いくつかの他の実施形態では、R2は、窒素原子、及びX2の1～2個の炭素原子と一緒に、5員の環を形成する。あるいは、R2は、窒素原子、及びX2の1～3個の炭素原子と一緒に、6員の環を形成してもよい。

【0034】

さらに他の実施形態では、R2及びR3は、窒素原子と一緒に、5員の環を形成する。ある特定の実施形態では、X1は、NHであるか、または直接結合である。

【0035】

いくつかの実施形態では、Y1は、直鎖C3～10アルキレン、例えば、直鎖C4～8ア

50

ルキレン、例えば、直鎖 C 5 – 7 アルキレンである。

【 0 0 3 6 】

ある特定の実施形態では、R⁴ は、直鎖 C 4 – 1 4 アルキルであり、好ましくは、直鎖 C 6 – 1 2 アルキルである。

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態では、Z¹ は、直鎖 C 2 – 4 アルキレンである。

【 0 0 3 8 】

ある特定の実施形態では、R⁵ 及び R⁶ は、各々独立して、直鎖 C 6 – 8 アルキルなどの直鎖 C 5 – 9 アルキルである。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態では、R⁵ 及び R⁶ は、各々独立して、直鎖 C 7 – 9 アルコキシである。

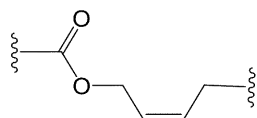
【 0 0 4 0 】

ある特定の実施形態では、R⁵ 及び R⁶ は、同一である。あるいは、R⁵ 及び R⁶ は、異なる。

【 0 0 4 1 】

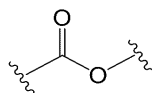
いくつかの実施形態では、Y² は、

【 化 2 1 】



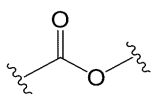
である。他の実施形態では、Y² は、

【 化 2 2 】



である。いくつかの実施形態では、Y¹ は、直鎖 C 7 アルキレンであり、Y² は、

【 化 2 3 】

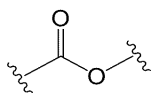


であり、n は、1 であり、R⁴ は、直鎖 C 1 0 アルキルである。

【 0 0 4 2 】

ある特定の実施形態では、Z² は、

【 化 2 4 】



である。

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態では、Z¹、Z²、及び R⁵ は、エステル及びアセタールの炭素及び酸素原子を含む 6 ~ 1 8 個の原子の直鎖を形成するように選択される。

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、Y¹、Y²、及び R⁴ は、エステルの炭素及び酸素原子を含む 1 4 ~ 2 4 個の原子の直鎖を形成するように選択される。

【 0 0 4 5 】

10

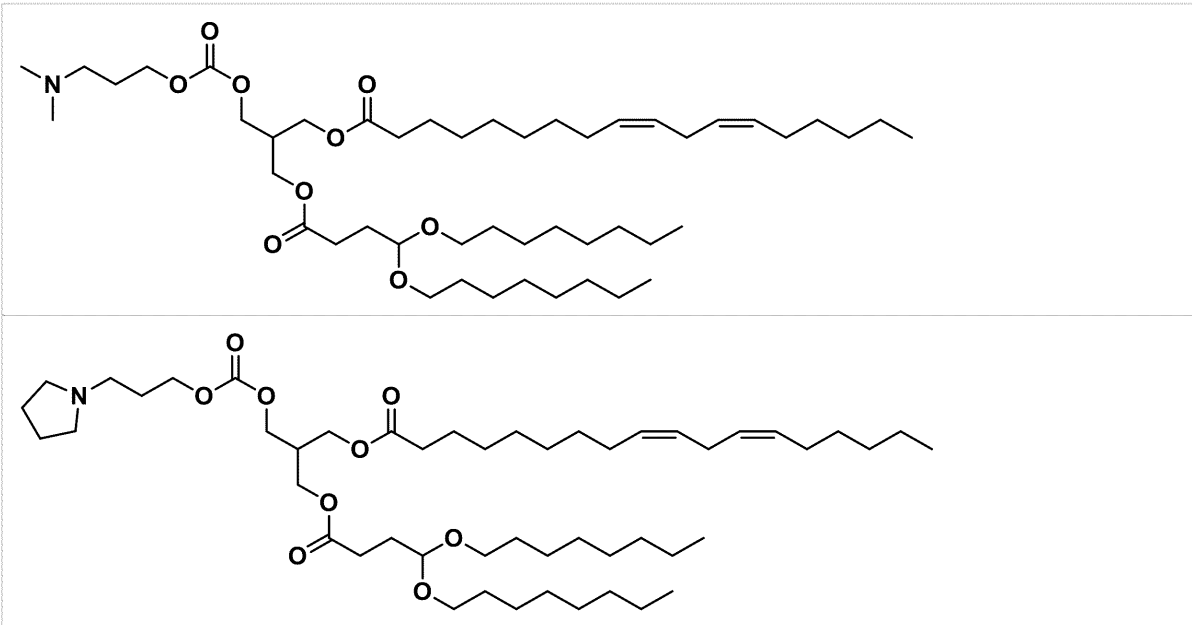
20

30

40

50

式（ⅠⅠ）の代表的な化合物には、
【化 2 5】



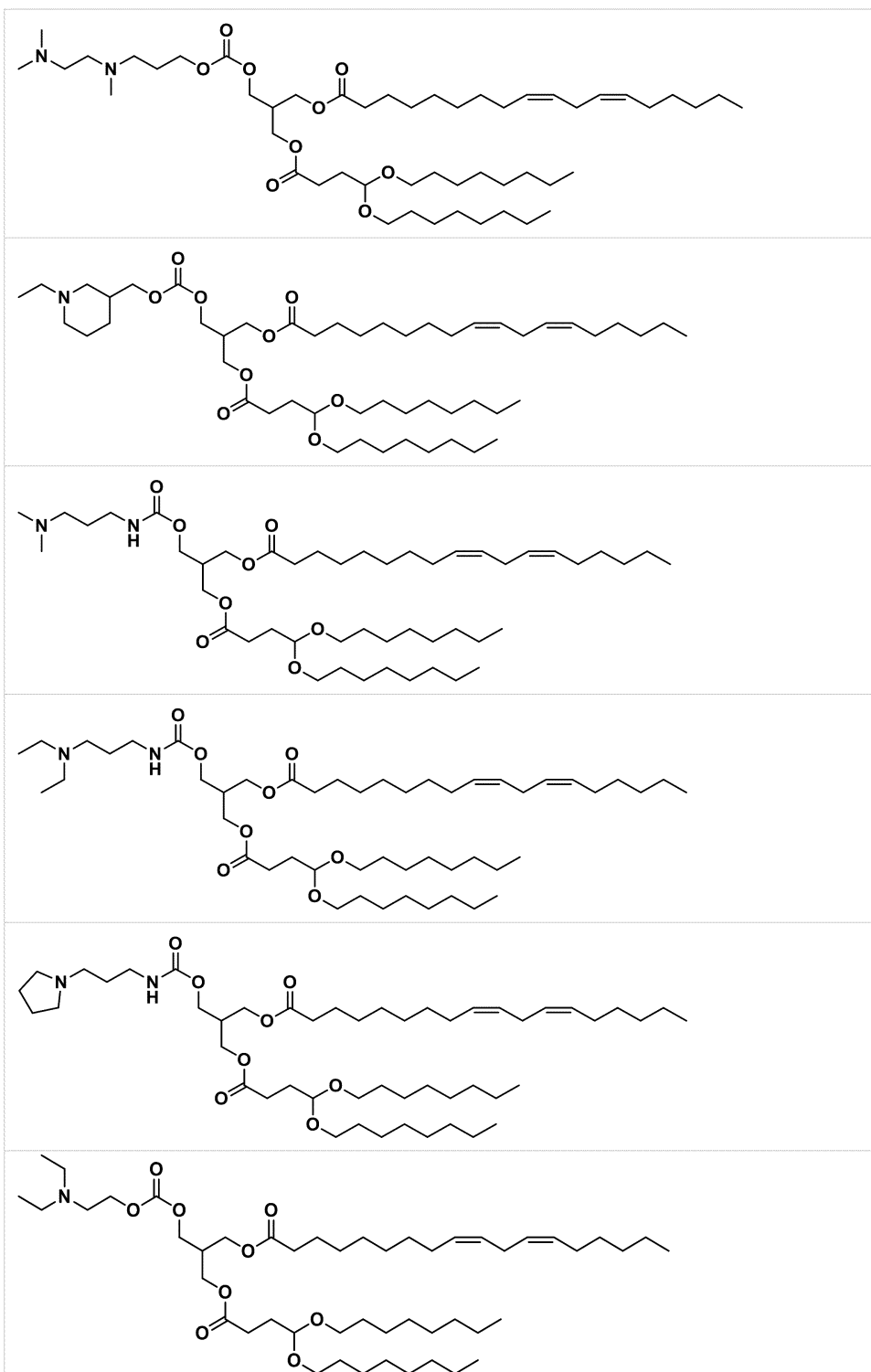
10

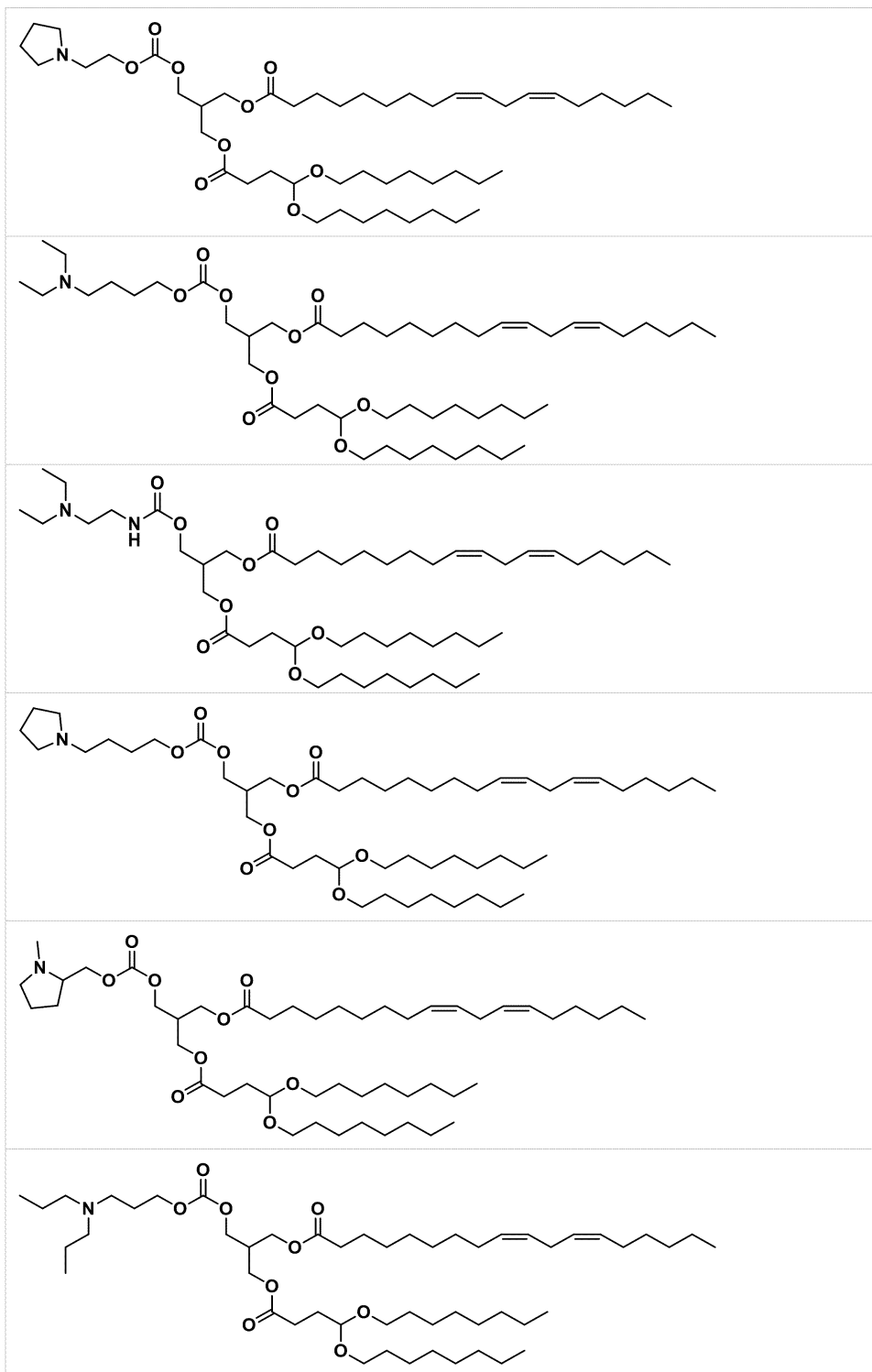
20

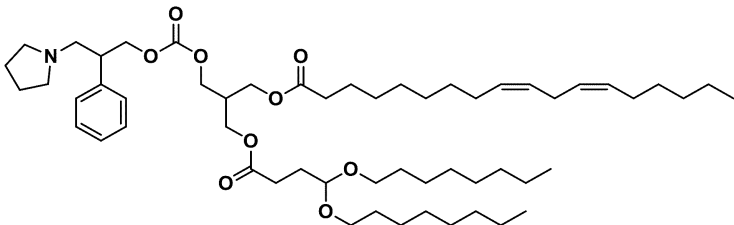
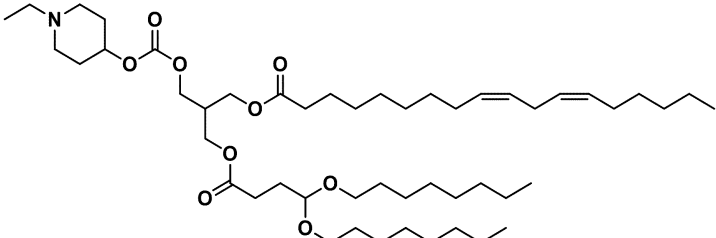
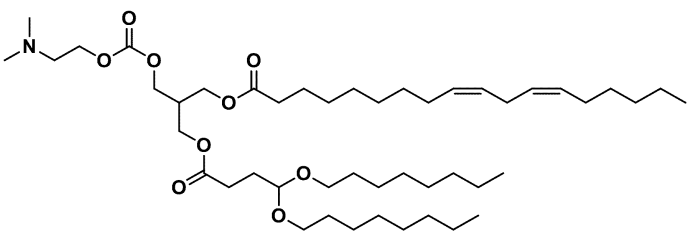
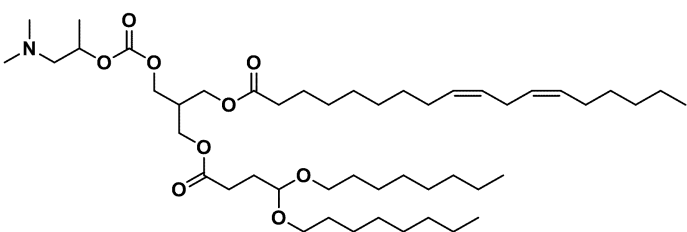
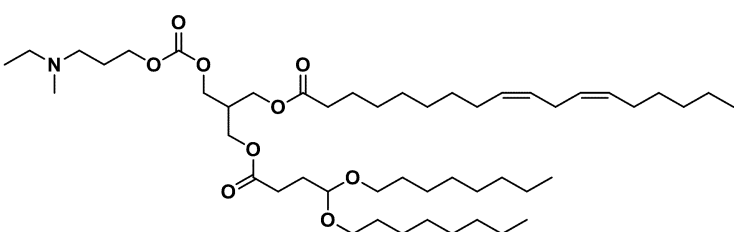
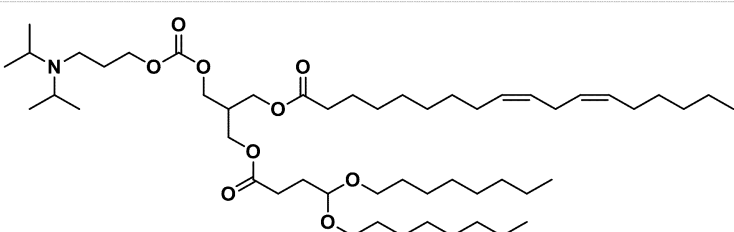
30

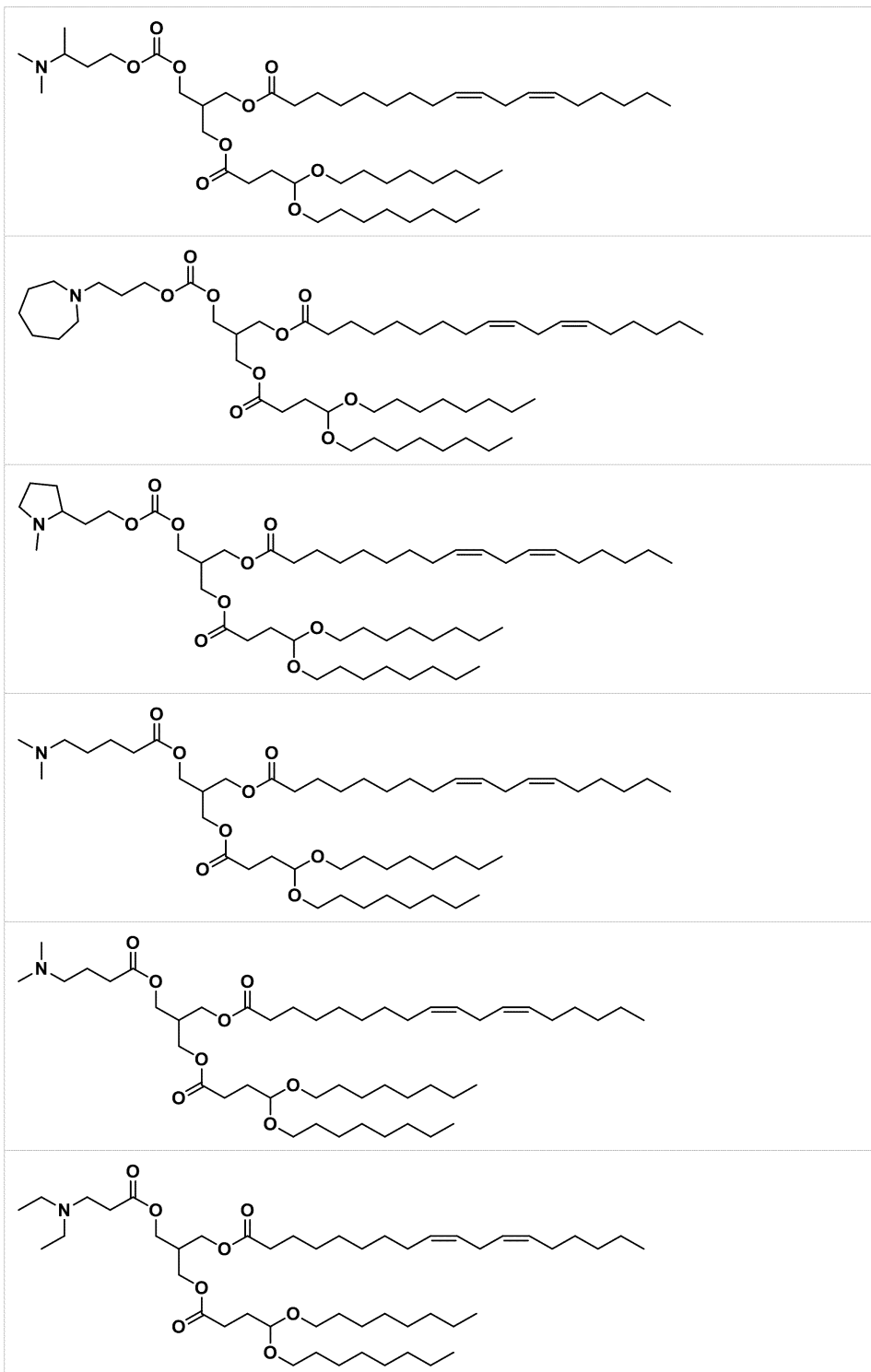
40

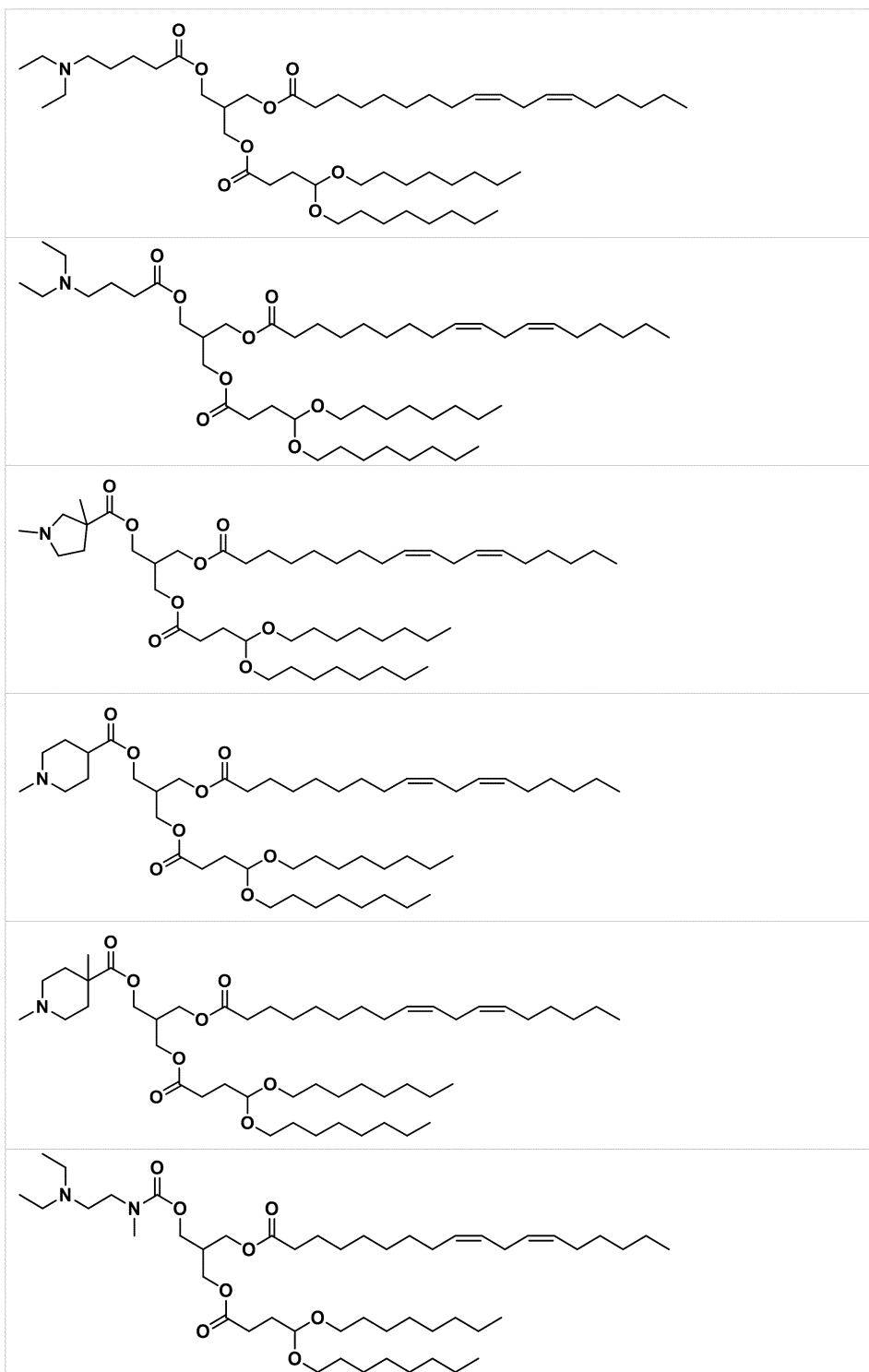
50

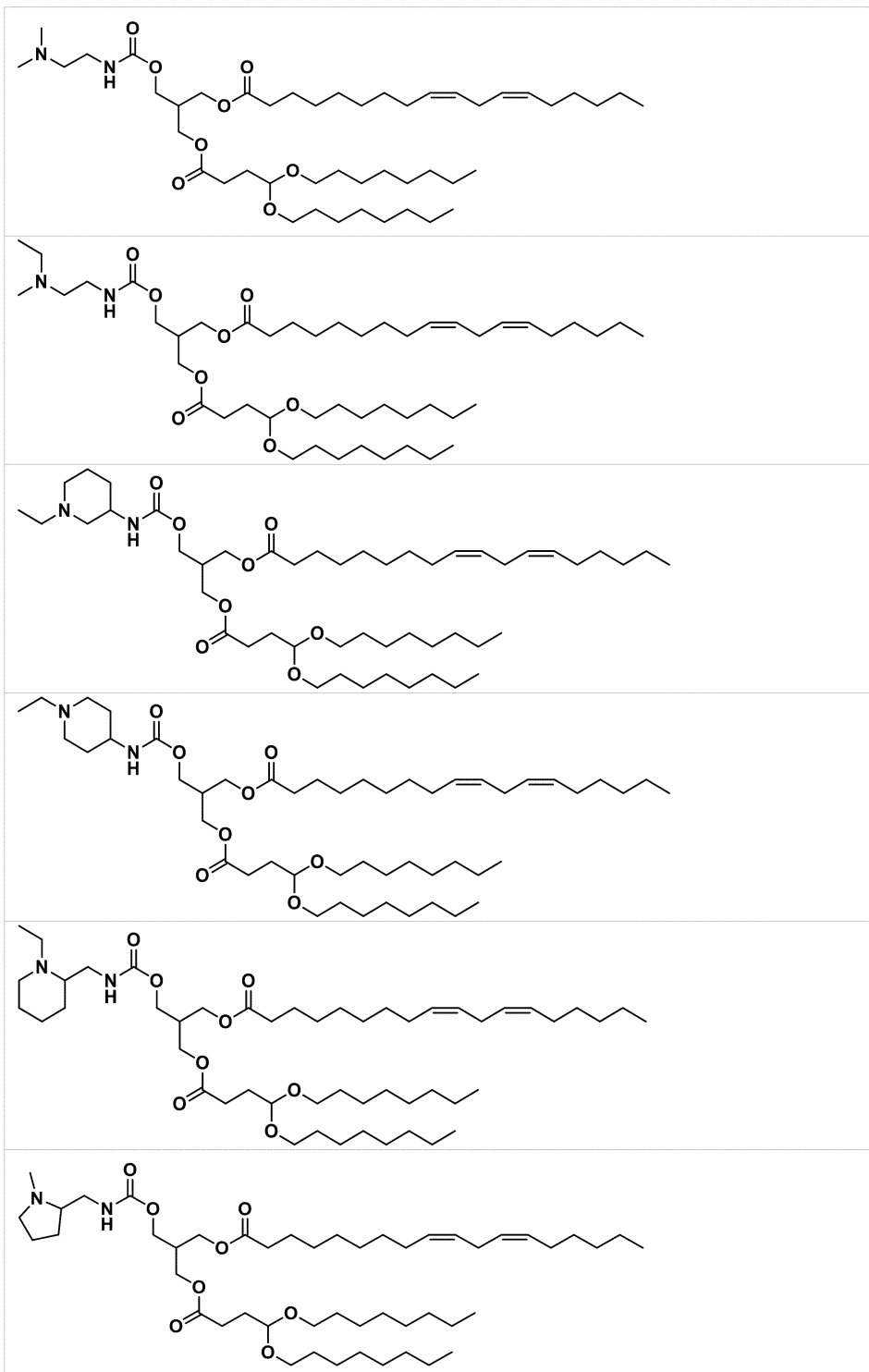


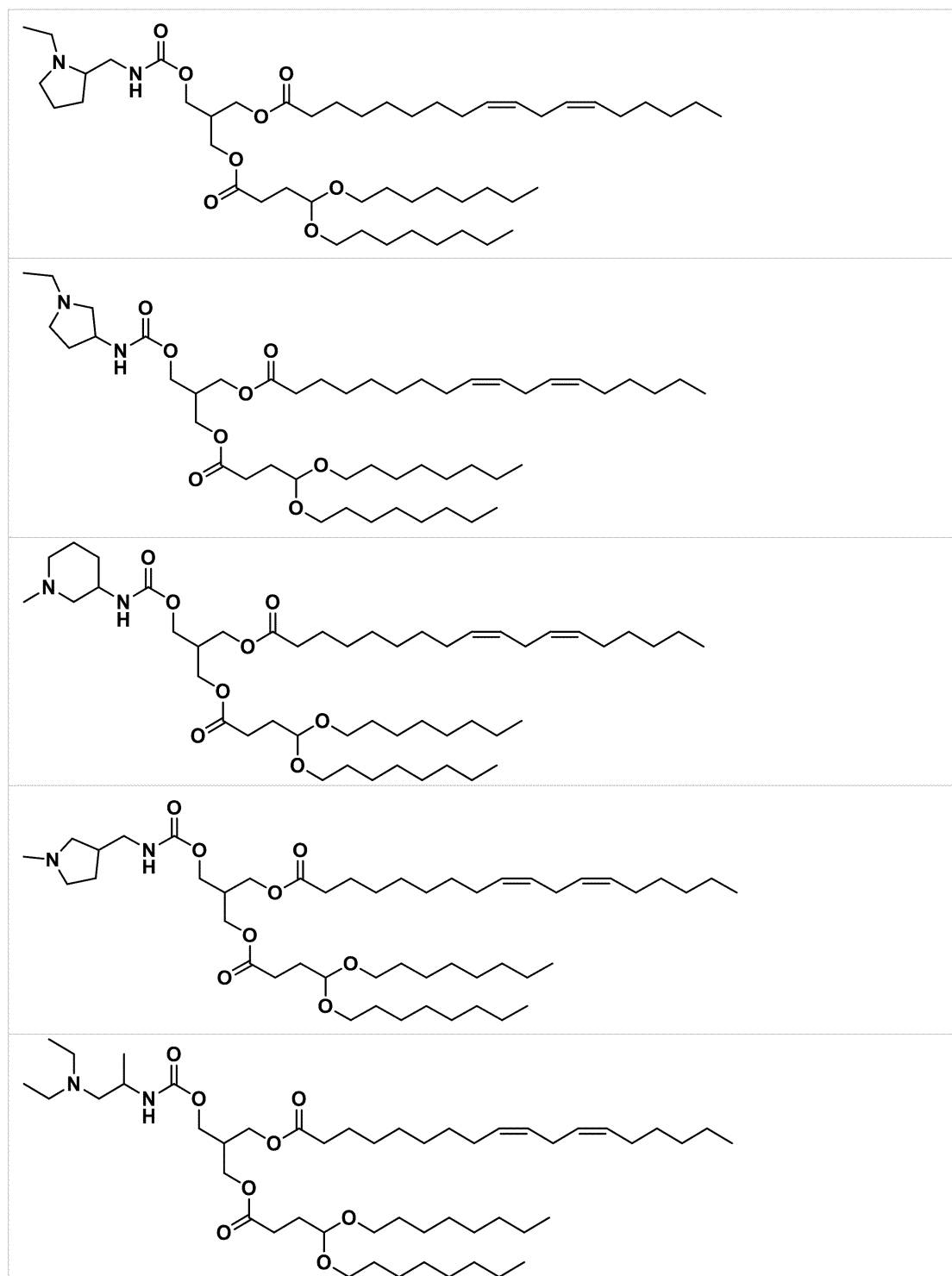


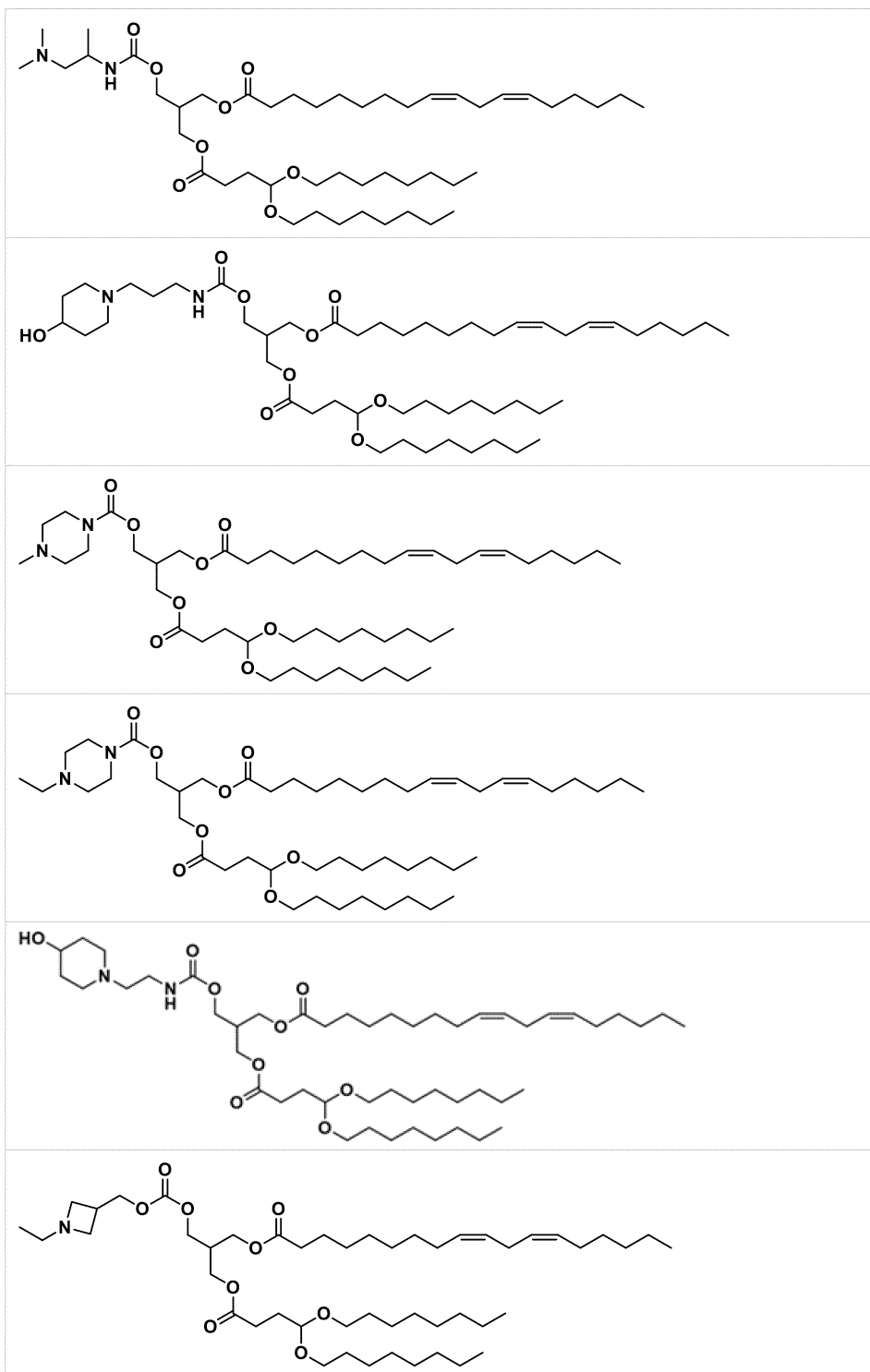
	
	10
	20
	
	30
	40

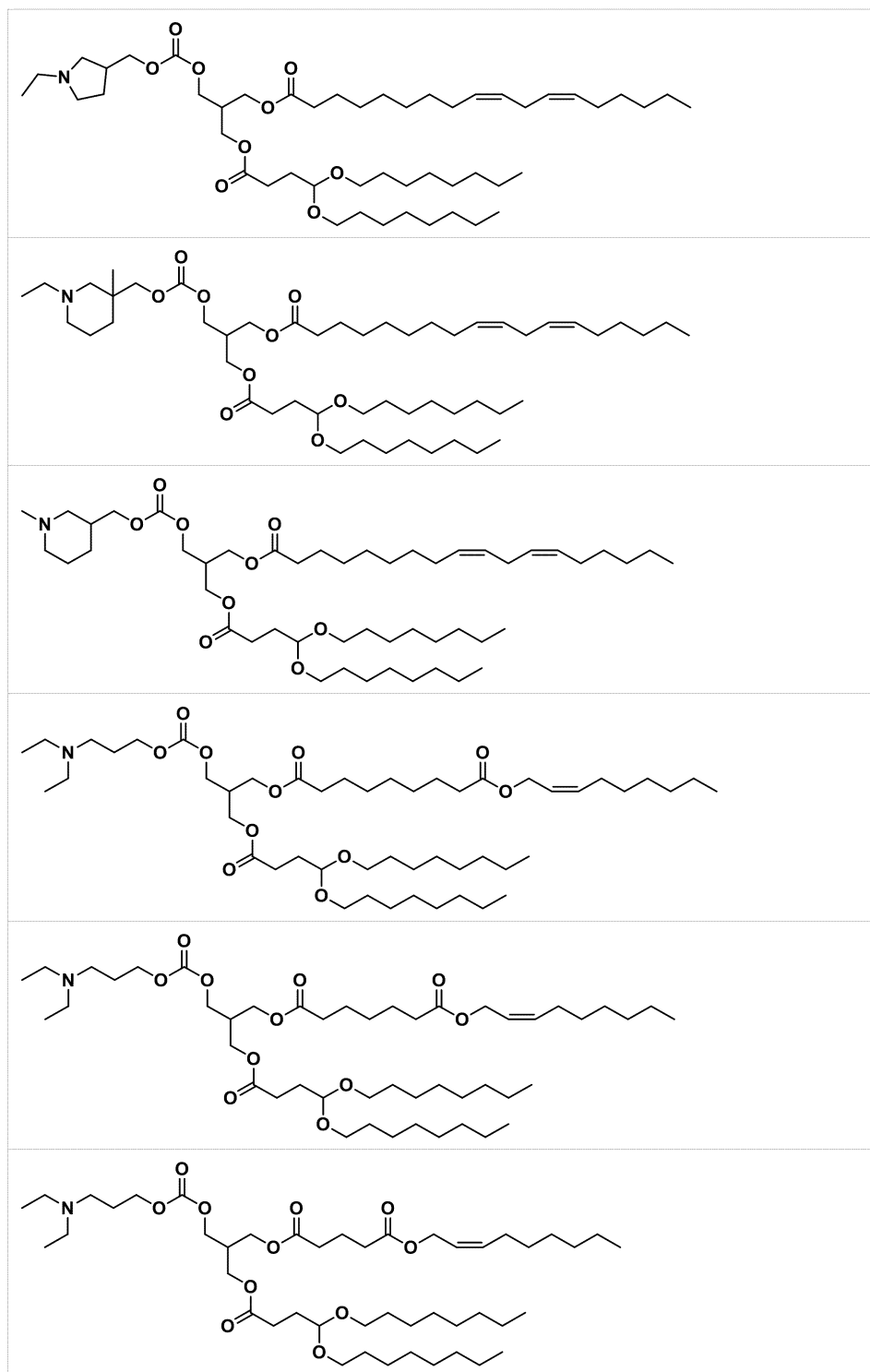


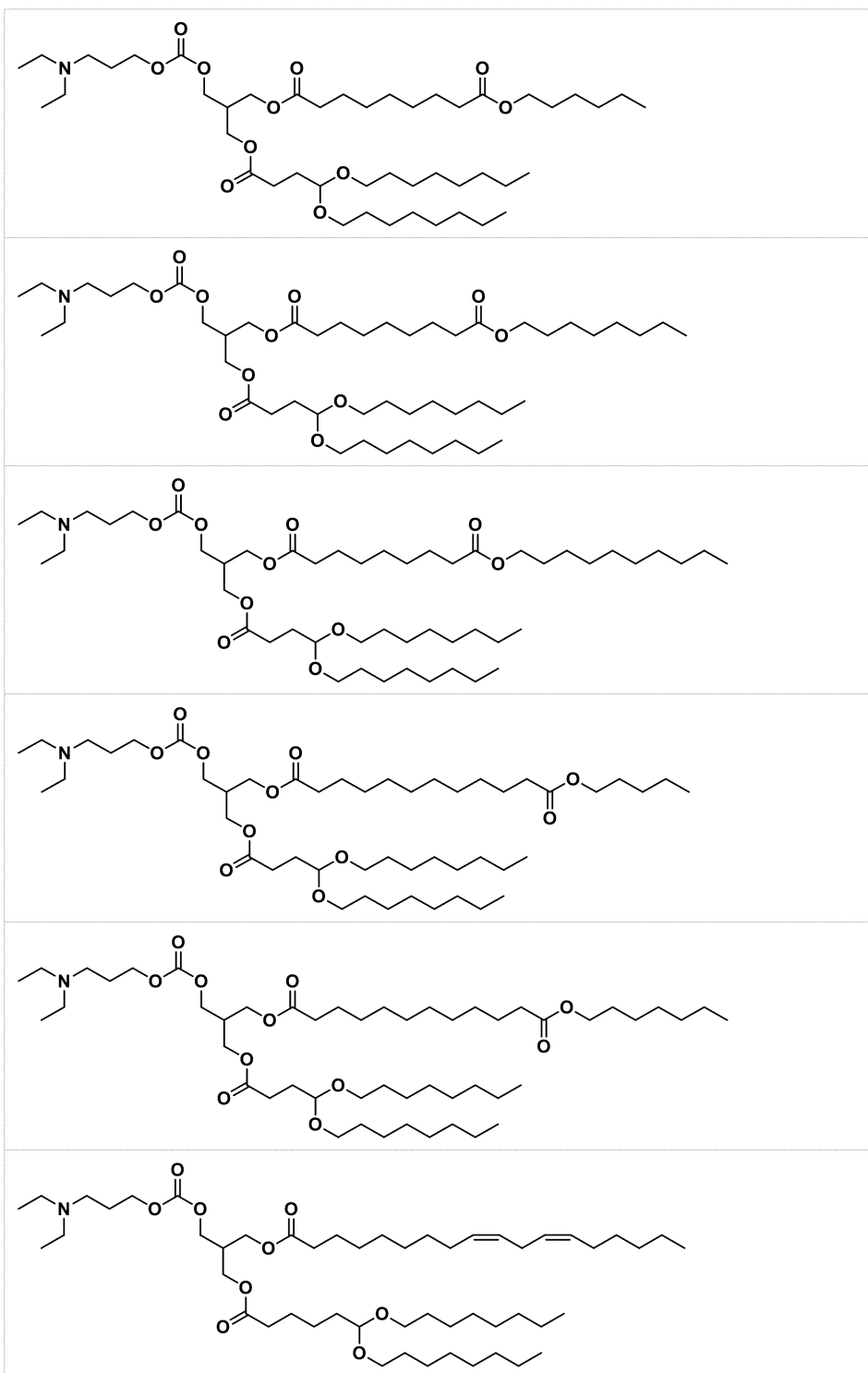


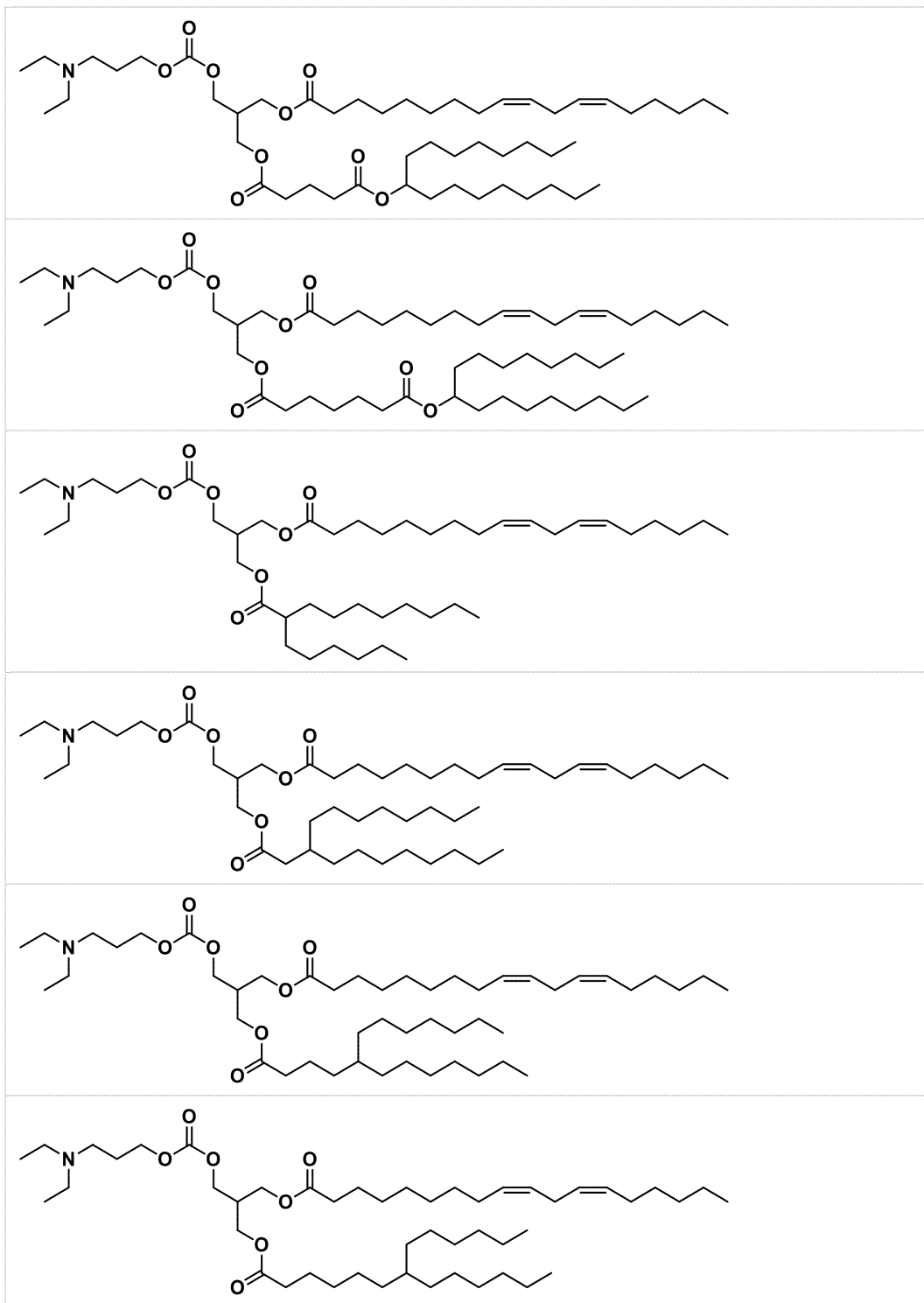


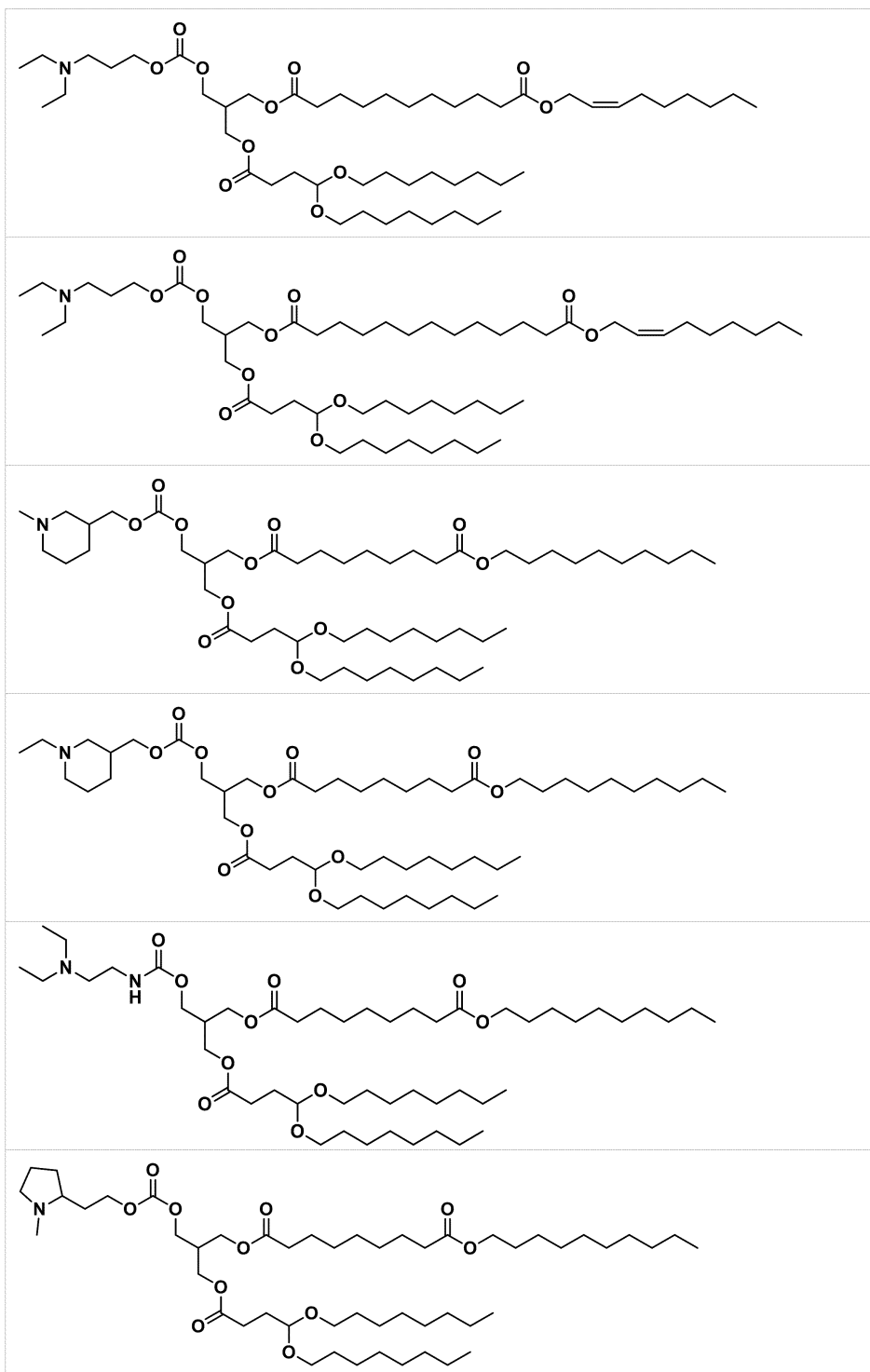


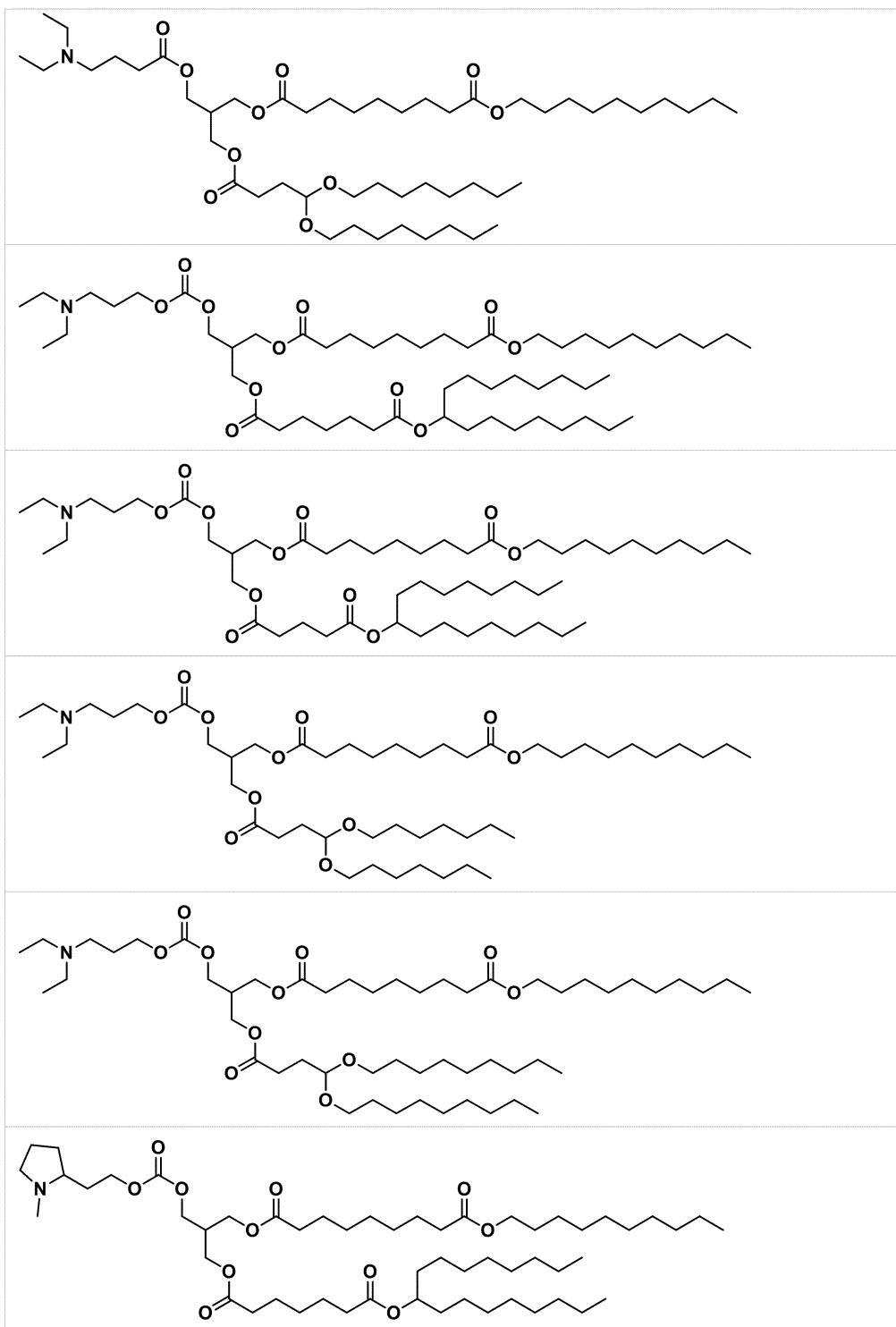












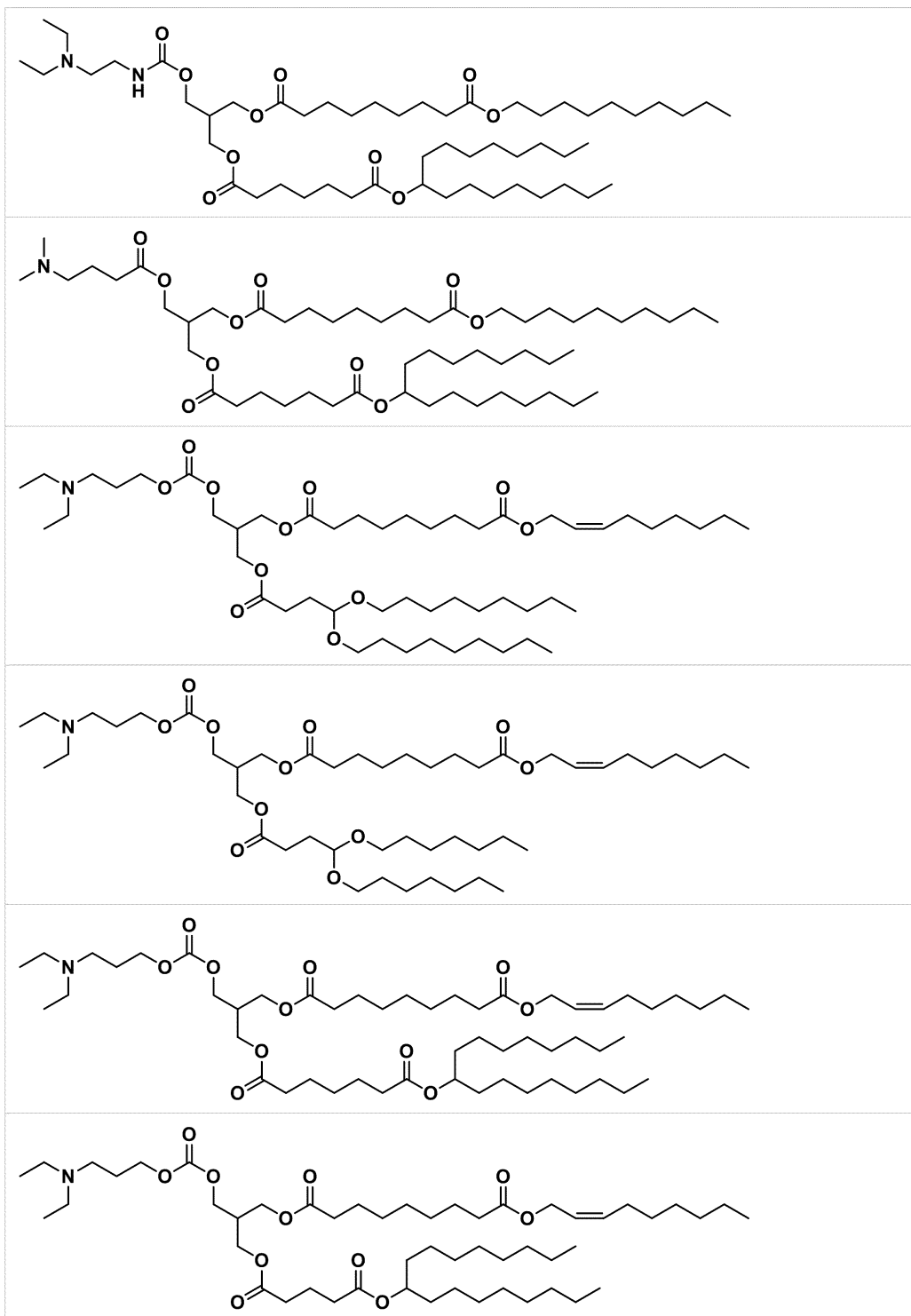
10

20

30

40

50



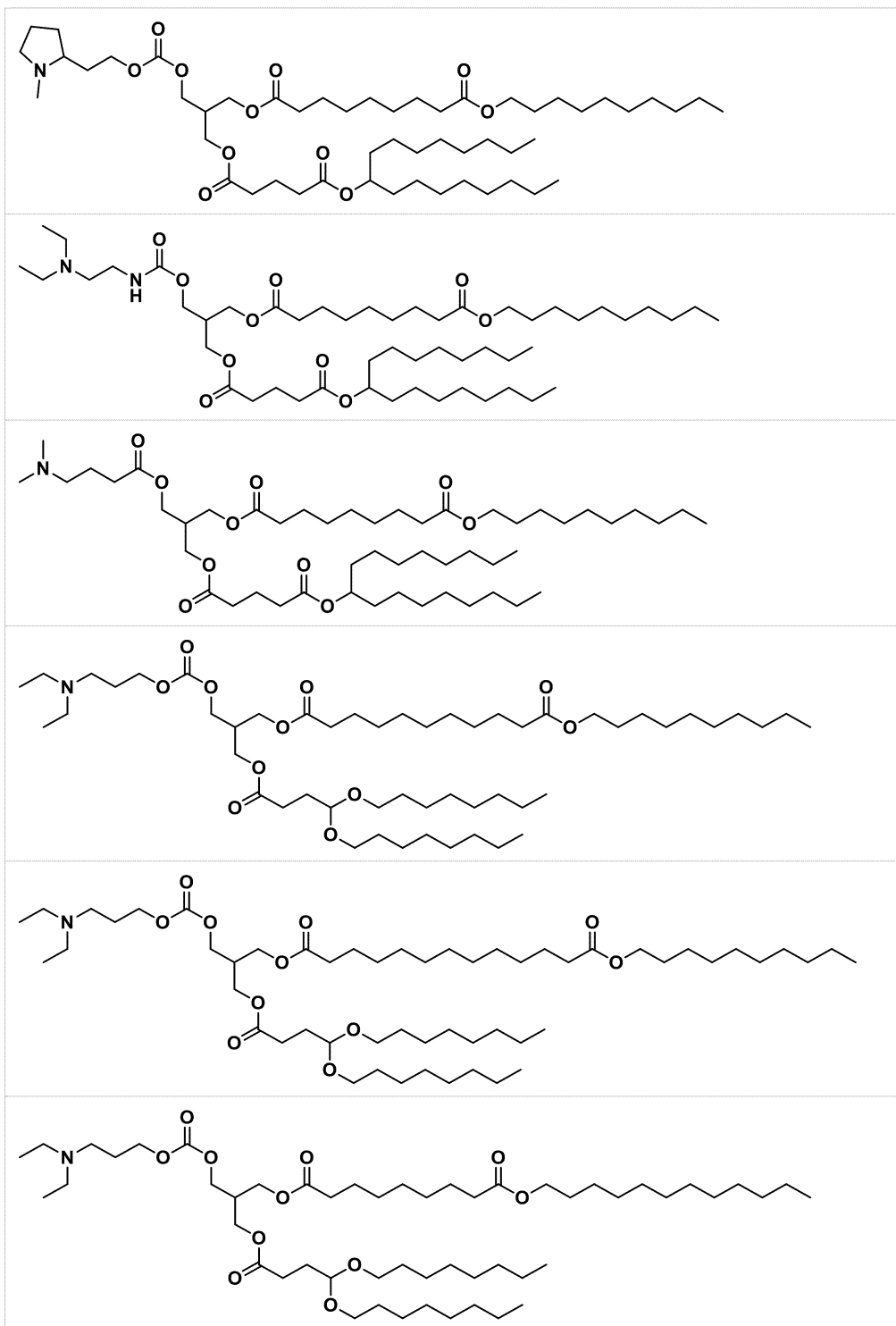
10

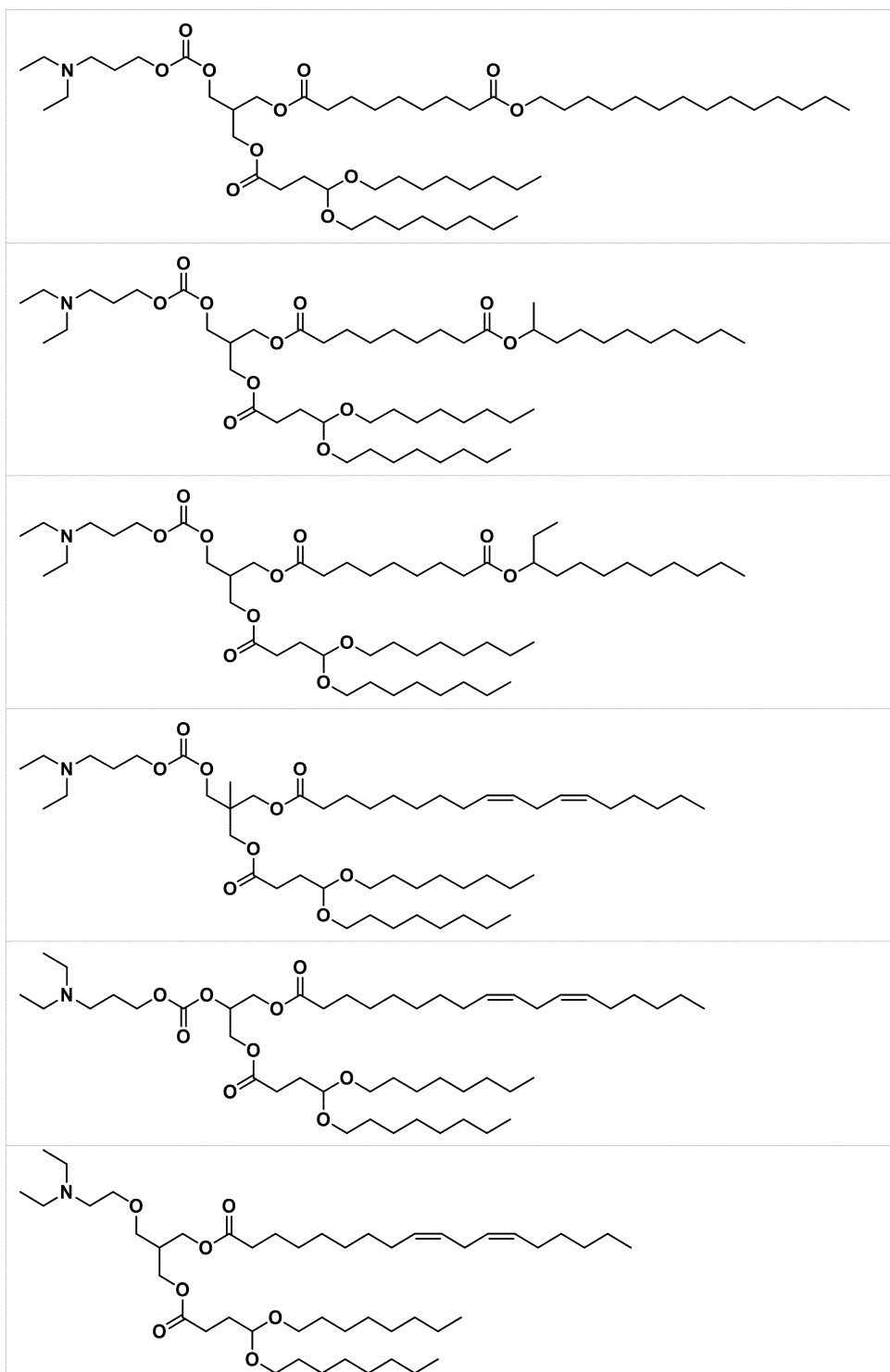
20

30

40

50





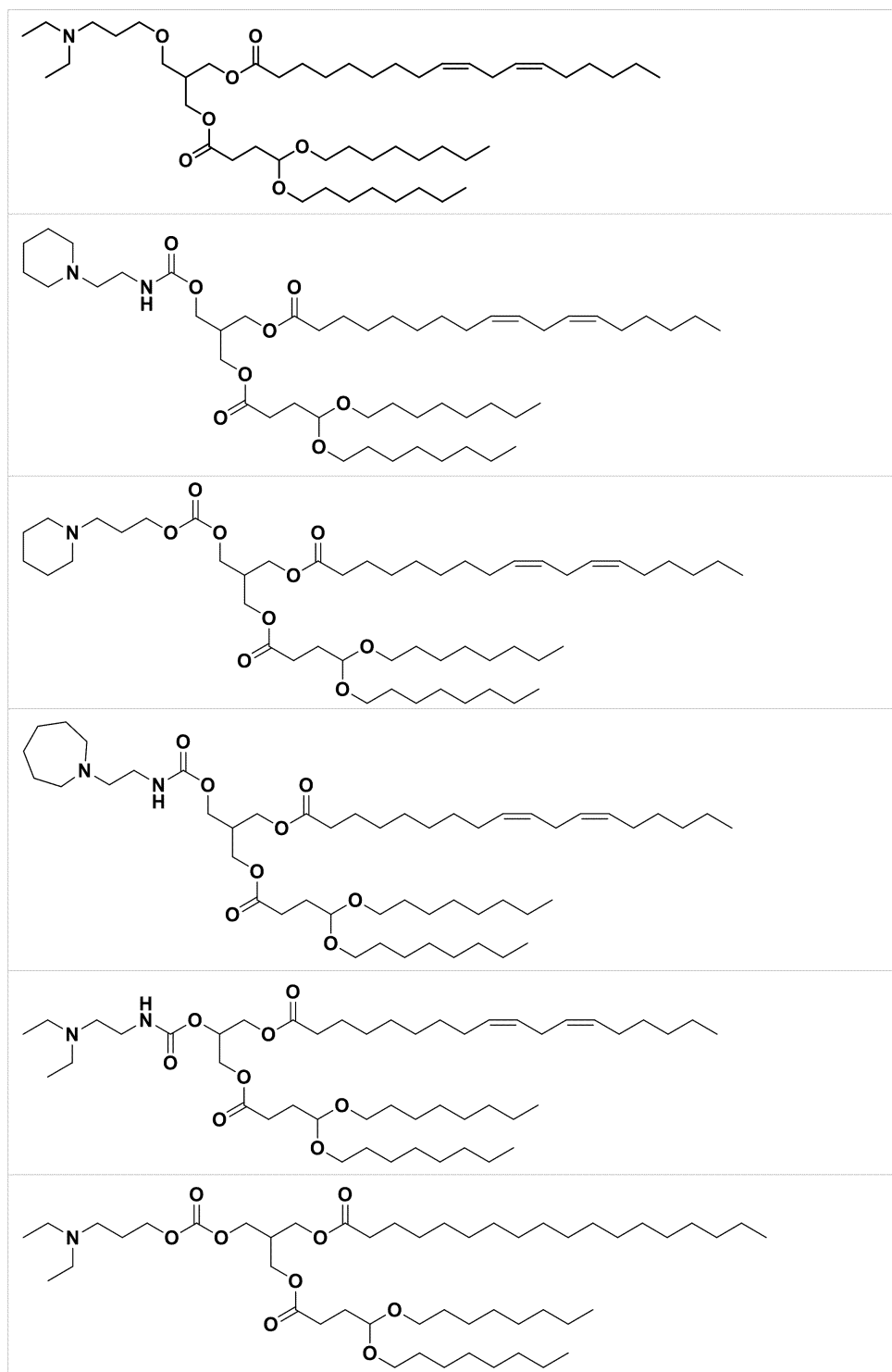
10

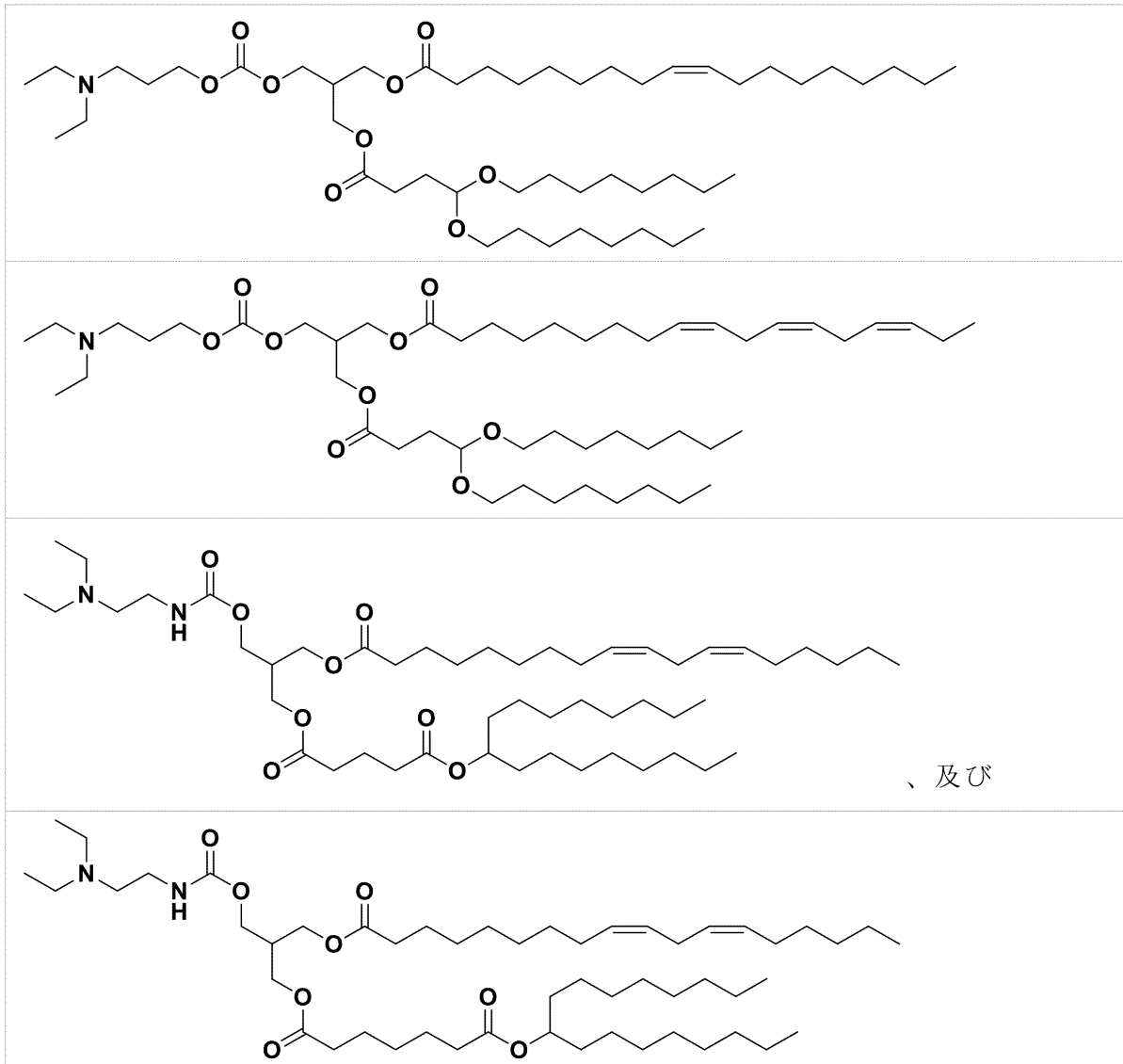
20

30

40

50





またはその薬学的に許容される塩などのその塩が含まれる。ある特定の実施形態では、本明細書に開示されるように製剤化された脂質組成物の式 (II) または (I) の化合物の少なくとも 75% は、投与後 8、10、12、24、もしくは 48 時間、または 3、4、5、6、7、もしくは 10 日以内に対象の血漿から除去される。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される式 (II) または (I) の化合物を含む脂質組成物の少なくとも 50% は、投与後 8、10、12、24、もしくは 48 時間、または 3、4、5、6、7、もしくは 10 日以内に対象の血漿から除去される。これは、例えば、血漿中の脂質（例えば、式 (II) または (I) の化合物）、RNA（例えば、mRNA）、または他の成分を測定することによって決定することができる。ある特定の実施形態では、脂質組成物の脂質カプセル化対遊離脂質、RNA、または核酸成分が測定される。

40

【0046】

脂質クリアランスは、文献に記載されているように測定されてもよい。Maier, M. A., et al. Biodegradable Lipids Enabling Rapidly Eliminated Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of RNAi Therapeutics. Mol. Ther. 2013, 21 (8), 1570-78 (「Maier」) を参照されたい。例えば、Maier では、ルシフェラーゼを標的とする siRNA を含有する LNP-siRNA システムが、6~8 週齢の雄 C57BL/6 マウスに 0.3 mg/k

50

gで、外側尾静脈からの静脈内ボラス注射によって投与された。血液、肝臓、及び脾臓の試料は、投与後0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、24、48、96、及び168時間に収集された。組織収集の前にマウスを生理食塩水で灌流し、血液試料を処理して血漿を得た。すべての試料は、LC-MSによって処理及び分析された。さらに、Maierは、LNP-siRNA組成物の投与後の毒性を評価するための手順を記載している。例えば、ルシフェラーゼを標的とするsiRNAが、雄のSprague-Dawleyラットに5mL/kgの用量の単回静脈内ボラス注射により、0、1、3、5、及び10mg/kg（5匹の動物/群）で投与された。24時間後、意識のある動物の頸静脈から約1mLの血液が得られ、血清が単離された。投与後72時間で、すべての動物を剖検のために安楽死させた。臨床徴候、体重、血清化学、臓器重量、及び組織病理学の評価が実施された。Maierは、siRNA-LNP組成物を評価する方法を記載しているが、これらの方法は、本開示の脂質組成物、例えばLNP組成物の投与のクリアランス、薬物動態、及び毒性の評価に適用できる。

10

【0047】

ある特定の実施形態では、本明細書に開示される式(II)または(I)の化合物を使用する脂質組成物は、代替のイオン化可能なアミン脂質と比較して増加したクリアランス速度を呈する。いくつかのそのような実施形態では、クリアランス速度は、脂質クリアランス速度、例えば、式(II)または(I)の化合物が血液、血清、または血漿から除去される速度である。いくつかの実施形態では、クリアランス速度は、カーゴ（例えば、生物学的に活性な薬剤）のクリアランス速度、例えば、カーゴ成分が血液、血清、または血漿から除去される速度である。いくつかの実施形態では、クリアランス速度は、RNAクリアランス速度、例えば、mRNAまたはgRNAが血液、血清、または血漿から除去される速度である。いくつかの実施形態では、クリアランス速度は、LNPが血液、血清、または血漿から除去される速度である。いくつかの実施形態では、クリアランス速度は、LNPが肝臓組織または脾臓組織などの組織から除去される速度である。望ましくは、高いクリアランス速度は、実質的な有害作用のない安全性プロファイル、及び/または循環及び/または組織におけるLNP蓄積の低減をもたらし得る。

20

【0048】

本開示の式(II)または(I)の化合物は、それらが含まれる媒体のpHに応じて塩を形成してもよい。例えば、わずかに酸性の媒体において、式(II)または(I)の化合物は、プロトン化され、したがって正電荷を帯びてもよい。逆に、例えば、pHがおおよそ7.35である血液などのわずかに塩基性の媒体では、式(II)または(I)の化合物は、プロトン化されず、したがって電荷を帯びない場合がある。いくつかの実施形態では、本開示の式(II)または(I)の化合物は、少なくとも約9のpHで大部分がプロトン化されてもよい。いくつかの実施形態では、本開示の式(II)または(I)の化合物は、少なくとも約10のpHで大部分がプロトン化されてもよい。

30

【0049】

式(II)または(I)の化合物の大部分がプロトン化されるpHは、その固有のpKaに関連する。好ましい実施形態では、本開示の式(II)または(I)の化合物の塩は、約5.1～約8.0、さらにより好ましくは約5.5～約7.6の範囲のpKaを有する。他の実施形態では、本開示の式(II)または(I)の化合物の塩は、約5.7～約7.6、例えば、約6～約7.5の範囲のpKaを有する。あるいは、本開示の式(II)または(I)の化合物の塩は、約6～約8の範囲のpKaを有する。約5.5～約7.0の範囲のpKaを有する特定の脂質で製剤化されたLNPが、例えば肝臓へのインビボでのカーゴの送達に有効であることが見出されているので、式(II)または(I)の化合物の塩のpKaは、LNPを製剤化する際の重要な考慮事項となり得る。さらに、約5.3～約6.4の範囲のpKaを有する特定の脂質で製剤化されたLNPは、例えば腫瘍へのインビボでの送達に有効であることが見出されている。例えば、WO2014/136086を参照されたい。

40

【0050】

50

追加の脂質

本開示の脂質組成物における使用に適した「中性脂質」は、例えば、様々な中性、非荷電、または双性イオン性の脂質を含む。本開示における使用に適した中性リン脂質の例としては、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)、ホスホコリン (DOPC)、ジミリストイルホスファチジルコリン (DMPC)、ホスファチジルコリン (PLPC)、1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DAPC)、ホスファチジルエタノールアミン (PE)、卵ホスファチジルコリン (EPC)、ジラウリロイルホスファチジルコリン (DLPC)、ジミリストイルホスファチジルコリン (DMPC)、1-ミリストイル-2-パルミトイルホスファチジルコリン (MPPC)、1-パルミトイル-2-ミリストイルホスファチジルコリン (PMP C)、1-パルミトイル-2-ステアロイルホスファチジルコリン (PSPC)、1, 2-ジアラキドイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DBPC)、1-ステアロイル-2-パルミトイルホスファチジルコリン (SPPC)、1, 2-ジェイコセノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン (DEPC)、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン (POPC)、リソホスファチジルコリン、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン (DOPE)、ジリノレオイルホスファチジルコリンジステアロイルホスファチジルエタノールアミン (DSPE)、ジミリストイルホスファチジルエタノールアミン (DMPE)、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (DPPE)、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン (POPE)、リソホスファチジルエタノールアミン、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、中性リン脂質は、ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) 及びジミリストイルホスファチジルエタノールアミン (DMPE)、好ましくはジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC) から選択されてもよい。

10

20

【0051】

「ヘルパー脂質」としては、ステロイド、ステロール、及びアルキルレゾルシノールが挙げられる。本開示での使用に適したヘルパー脂質としては、コレステロール、5-ヘプタデシルレゾルシノール、及びコレステロールヘミスクシナートが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、ヘルパー脂質は、コレステロールまたはその誘導体、例えば、コレステロールヘミスクシナートであってもよい。

【0052】

PEG脂質は、ナノ粒子がインビボ（例えば、血液中）で存在し得る時間の長さに影響を及ぼし得る。PEG脂質は、例えば、粒子凝集を低減し、粒径を制御することによって製剤化プロセスにおいて有用であり得る。本明細書で使用されるPEG脂質は、LNPの薬物動態特性を調節し得る。典型的には、PEG脂質は、脂質部分及びPEGに基づくポリマー部分（ポリ（エチレンオキシド）と呼ばれることもある）（PEG部分）を含む。本開示の式 (II) または (I) の化合物を含む脂質組成物での使用に適したPEG脂質、及びそのような脂質の生化学に関する情報は、Romberg et al., *Pharmaceutical Research* 25 (1), 2008, pp. 55-71 及び Hoekstra et al., *Biochimica et Biophysica Acta* 1660 (2004) 41-52 に見出すことができる。追加の好適なPEG脂質は、例えば、WO2015/095340 (31 ページ 14 行目～37 ページ 6 行目)、WO2006/007712、及びWO2011/076807 (「ステルス脂質」) に開示されている。

30

40

【0053】

いくつかの実施形態では、脂質部分は、独立して約 C4～約 C40 の飽和または不飽和の炭素原子を含むアルキル鎖長を有するジアルキルグリセロールまたはジアルキルグリカミド基を含むものを含むジアシルグリセロールまたはジアシルグリカミドから由来してもよく、ここで、鎖は、例えばアミドまたはエステルなどの1つ以上の官能基を含んでもよい。いくつかの実施形態では、アルキル鎖長は、約 C10～C20 を含む。ジアルキルグリセロールまたはジアルキルグリカミド基は、1つ以上の置換アルキル基をさらに含み得る

50

。鎖長は、対称でも非対称でもよい。

【0054】

特に明記しない限り、本明細書で使用されるとき、「PEG」という用語は、任意のポリエチレングリコールまたは他のポリアルキレンエーテルポリマー、例えば、任意選択で置換された直鎖または分岐鎖の、エチレングリコールまたはエチレンオキシドのポリマーを意味する。ある特定の実施形態では、PEG部分は、非置換である。あるいは、PEG部分は、例えば、1つ以上のアルキル、アルコキシ、アシル、ヒドロキシ、またはアリール基によって置換されてもよい。例えば、PEG部分は、PEG-ポリウレタンまたはPEG-ポリプロピレンなどのPEGコポリマーを含んでもよい（例えば、J. Milton Harris, Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications (1992)を参照されたい）。あるいは、PEG部分はPEGホモポリマーであってもよい。ある特定の実施形態では、PEG部分は、約130～約50,000、例えば、約150～約30,000、さらには約150～約20,000の分子量を有する。同様に、PEG部分は、約150～約15,000、約150～約10,000、約150～約6,000、さらには、約150～約5,000の分子量を有し得る。ある特定の好ましい実施形態では、PEG部分は、約150～約4,000、約150～約3,000、約300～約3,000、約1,000～約3,000、または約1500～約2,500の分子量を有する。

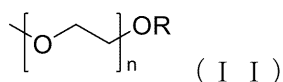
10

20

【0055】

ある特定の好ましい実施形態では、PEG部分は、「PEG2000」とも呼ばれる「PEG-2K」であり、これは、約2,000ダルトンの平均分子量を有する。PEG-2Kは、本明細書では、以下の式(II)によって表され、式中、nは、45であり、これは、数平均重合度が約45のサブユニットを含むことを意味する。

【化26】



しかしながら、例えば、数平均重合度が約23サブユニット(n=23)、及び／または68サブユニット(n=68)を含む、当該技術分野において公知の他のPEGの実施形態を使用してもよい。いくつかの実施形態では、nは、約30～約60の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、nは、約35～約55の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、nは、約40～約50の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、nは、約42～約48の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、nは、45であってもよい。いくつかの実施形態では、Rは、H、置換アルキル、及び非置換アルキルから選択されてもよい。いくつかの実施形態では、Rは、メチルなどの非置換アルキルであってもよい。

30

【0056】

本明細書に記載の実施形態のいずれにおいても、PEG脂質は、PEG-ジラウロイルグリセロール、PEG-ジミリスチルグリセロール(PEG-DMG)(カタログ番号GM-020、NOF(Tokyo, Japan)製)、PEG-ジパルミトイルグリセロール、PEG-ジステアロイルグリセロール(PEG-DSP)(カタログ番号DSP-020CN、NOF, Tokyo, Japan)、PEG-ジラウリルグリカミド、PEG-ジミリスチルグリカミド、PEG-ジパルミトイルグリカミド、及びPEG-ジステアロイルグリカミド、PEG-コレステロール(1-[8'-(コレスト-5-エン-3[ベータ]-オキシ)カルボキシアミド-3', 6'-ジオキサオクタニル]カルバモイル-[オメガ]-メチル-ポリ(エチレングリコール)、PEG-DMB(3,4-ジテトラデコキシルベンジル-[オメガ]-メチル-ポリ(エチレングリコール)エーテル)、1,2-ジミリスチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000](PEG2k-DMG)、1,2-ジス

40

50

テアロイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000](PEG2k-DSPE)(カタログ番号880120C Avanti Polar Lipids (Alabaster, Alabama, USA)製)、1,2-ジステアロイル-s n-グリセロール、メトキシポリエチレングリコール(PEG2k-DSG; GS-020, NOF Tokyo, Japan)、ポリ(エチレングリコール)-2000-ジメタクリレート(PEG2k-DMA)、及び1,2-ジステアリルオキシプロピル-3-アミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000](PEG2k-DSA)から選択され得る。ある特定のそのような実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DMGであってもよい。いくつかの実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DSGであってもよい。他の実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DSPEであってもよい。いくつかの実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DMAであってもよい。さらに他の実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-C-DMAであってもよい。ある特定の実施形態では、PEG脂質は、WO2016/010840(段落[00240]~[00244])に開示されている化合物S027であってもよい。いくつかの実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DSAであってもよい。他の実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-C11であってもよい。いくつかの実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-C14であってもよい。いくつかの実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-C16であってもよい。いくつかの実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-C18であってもよい。

10

20

30

40

【0057】

本発明の脂質組成物における使用に適したカチオン性脂質としては、N,N-ジオレイル-N,N-ジメチルアンモニウムクロリド(DODAC)、N,N-ジステアリル-N,N-ジメチルアンモニウムブロミド(DDAB)、N-(1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド(DOTAP)、1,2-ジオレオイル-3-ジメチルアンモニウムプロパン(DODAP)、N-(1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド(DOTMA)、1,2-ジオレオイルカルバミル-3-ジメチルアンモニウムプロパン(DOCDAP)、1,2-ジリネオイル-3-ジメチルアンモニウムプロパン(DLINDAP)、ジラウリル(C12:0)トリメチルアンモニウムプロパン(DLTAP)、ジオクタデシルアミドグリシルスペルミン(DOGS)、DC-Choi、ジオレオイルオキシ-N-[2-(スペルミンカルボキサミド)エチル]-N,N-ジメチル-1-プロパニウムトリフルオロアセテート(DOSPA)、1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-ジメチル-ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド(DMRIE)、3-ジメチルアミノ-2-(コレスト-5-エン-3-ベータ-オキシブタン-4-オキシ)-1-(シス,シス-9,12-オクタデカジエノキシ)プロパン(CLINDMA)、N,N-ジメチル-2,3-ジオレイルオキシ)プロピルアミン(DODMA)、2-[5'-(コレスト-5-エン-3[ベータ]-オキシ)-3'-オキサペントキシ)-3-ジメチル-1-(シス,シス-9',1-2'-オクタデカジエノキシ)プロパン(CpLINDMA)、N,N-ジメチル-3,4-ジオレイルオキシベンジルアミン(DMOBA)、及び1,2-N,N'-ジオレイルカルバミル-3-ジメチルアミノプロパン(DOcarbDAP)が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、カチオン性脂質は、DOTAPまたはDLTAPである。

【0058】

本発明における使用に適したアニオン性脂質としては、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン、ジアシルホスファチジルセリン、ジアシルホスファチジン酸、N-ドデカノイルホスファチジルエタノールアミン、N-スクシニルホスファチジルエタノールアミン、N-グルタリルホスファチジルエタノールアミンコレステロールヘミスクシナート(CHEMS)、及びリシルホスファチジルグリセロールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0059】

50

脂質組成物

本発明は、式 (I I) または (I) の少なくとも 1 つの化合物またはその塩 (例えば、その薬学的に許容される塩)、及び少なくとも 1 つの他の脂質成分を含む脂質組成物を提供する。そのような組成物はまた、生物学的に活性な薬剤を、任意選択で 1 つ以上の他の脂質成分と組み合わせて含有することができる。いくつかの実施形態では、脂質組成物は、脂質成分、及び生物学的に活性な薬剤を含む水性成分を含む。

【0060】

一実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及び少なくとも 1 つの他の脂質成分を含む。別の実施形態では、脂質組成物は、生物学的に活性な薬剤を、任意選択で 1 つ以上の他の脂質成分と組み合わせてさらに含む。別の実施形態では、脂質組成物は、リポソームの形態である。別の実施形態では、脂質組成物は、脂質ナノ粒子 (LNP) の形態である。別の実施形態では、脂質組成物は、肝臓への送達に好適である。

10

【0061】

一実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及び別の脂質成分を含む。そのような他の脂質成分としては、中性脂質、ヘルパー脂質、PEG 脂質、カチオン性脂質、及びアニオン性脂質が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及び中性脂質、例えば DSPC を、任意選択で 1 つ以上の追加の脂質成分とともに含む。別の実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及びヘルパー脂質、例えばコレステロールを、任意選択で 1 つ以上の追加の脂質成分とともに含む。さらなる実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及び PEG 脂質を、任意選択で 1 つ以上の追加の脂質成分とともに含む。さらなる実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及びカチオン性脂質を、任意選択で 1 つ以上の追加の脂質成分とともに含む。さらなる実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、及びアニオン性脂質を、任意選択で 1 つ以上の追加の脂質成分とともに含む。従属実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、ヘルパー脂質、及び PEG 脂質を、任意選択で中性脂質とともに含む。さらなる従属実施形態では、脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、ヘルパー脂質、PEG 脂質、及び中性脂質を含む。

20

30

【0062】

式 (I I) もしくは (I) の脂質、またはその薬学的に許容される塩、またはその脂質組成物を含有する組成物は、様々な形態であってもよく、これらの形態としては、様々な分子を細胞に送達するのに有用な、微粒子、ナノ粒子、及びトランスフェクション剤を含む粒子形成送達剤が挙げられるが、これらに限定されない。特定の組成物は、生物学的に活性な薬剤をトランスフェクトまたは送達するのに効果的である。好ましい生物学的に活性な薬剤は、RNA 及び DNA である。さらなる実施形態では、生物学的に活性な薬剤は、mRNA、gRNA、及び DNA から選択される。gRNA は、dgRNA であっても sgRNA であってもよい。ある特定の実施形態では、カーゴには、RNA 誘導性 DNA 結合剤 (例えば、Cas ヌクレアーゼ、クラス 2 Cas ヌクレアーゼ、または Cas 9) をコードする mRNA、gRNA もしくは gRNA をコードする核酸、または mRNA と gRNA との組み合わせが含まれる。

40

【0063】

上記の脂質組成物で使用するための式 (I) または (I I) の例示的な化合物は、実施例 2 ~ 99、100 ~ 103、及び 113 ~ 118 に示されている。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 2 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 3 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 4 である。

50

[illegible]

、化合物 69 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 70 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 71 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 72 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 73 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 74 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 75 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 76 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 77 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 78 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 79 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 80 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 81 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 82 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 83 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 84 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 85 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 86 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 87 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 88 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 89 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 90 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 91 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 92 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 93 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 94 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 95 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 96 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 97 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 98 である。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、化合物 99 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 100 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 101 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 102 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 103 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 113 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 114 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 115 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 116 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 117 である。ある特定の実施形態では、本化合物は、化合物 118 である。

10

20

30

【0064】

LNP 組成物

脂質組成物は、LNP 組成物として提供されてもよい。脂質ナノ粒子は、例えば、ミクロスフェア（単層及び多層の小胞、例えば、いくつかの実施形態では、実質的に球形であり、より具体的な実施形態では、水性コアを含み得る「リポソーム」ラメラ相脂質二重層を含み、例えば、RNA 分子の実質的な部分を含む）、エマルション中の分散相、ミセル、または懸濁液中の内相であってもよい。

【0065】

LNP は、サイズが、約 1 ~ 約 1,000 nm、約 10 ~ 約 500 nm、約 20 ~ 約 500 nm、従属実施形態では、約 50 ~ 約 400 nm、従属実施形態では、約 50 ~ 約 300 nm、従属実施形態では、約 50 ~ 約 200 nm、及び従属実施形態では、約 50 ~ 約 150 nm、及び別の従属実施形態では、約 60 ~ 約 120 nm である。好ましくは、LNP は、約 60 nm ~ 約 100 nm のサイズを有する。完全に形成された LNP の平均サイズ（直径）は、Malvern Zetasizer または Wyatt NanoStar で動的光散乱によって測定され得る。LNP 試料は、計数率がおおよそ 200 ~ 400 kcps となるようにリン酸緩衝生理食塩水（PBS）で希釈される。データは、強度測定値の加重平均として提示される。

40

【0066】

本開示の実施形態は、組成物中の成分の脂質のそれぞれのモル比に従って記載される脂質

50

組成物を提供する。すべてのモル％数は、脂質組成物、またはより具体的には L N P 組成物の脂質成分の分率として示される。ある特定の実施形態では、式 (I I) または (I) の化合物のモル％は、約 30 モル％～約 70 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、式 (I I) または (I) の化合物のモル％は、少なくとも 30 モル％、少なくとも 40 モル％、少なくとも 50 モル％、または少なくとも 60 モル％であってもよい。

【0067】

ある特定の実施形態では、中性脂質のモル％は、約 0 モル％～約 30 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、中性脂質のモル％は、約 0 モル％～約 20 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、中性脂質のモル％は、約 10 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、中性脂質のモル％は、約 9 モル％であってもよい。

10

【0068】

ある特定の実施形態では、ヘルパー脂質のモル％は、約 0 モル％～約 80 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、ヘルパー脂質のモル％は、約 20 モル％～約 60 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、ヘルパー脂質のモル％は、約 30 モル％～約 50 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、ヘルパー脂質のモル％は、30 モル％～約 40 モル％、または約 35 モル％～約 45 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、ヘルパー脂質のモル％は、脂質成分を 100 モル％にするように、式 (I I) もしくは (I) の化合物、中性脂質、及び／または P E G 脂質濃度に基づいて調整される。

【0069】

20

ある特定の実施形態では、P E G 脂質のモル％は、約 1 モル％～約 10 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、P E G 脂質のモル％は、約 1 モル％～約 4 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、P E G 脂質のモル％は、約 1 モル％～約 2 モル％であってもよい。ある特定の実施形態では、P E G 脂質のモル％は、約 1.5 モル％であってもよい。

【0070】

様々な実施形態では、L N P 組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその塩（例えば、その薬学的に許容される塩（例えば、本明細書に開示される））、中性脂質（例えば、D S P C）、ヘルパー脂質（例えば、コレステロール）、及び P E G 脂質（例えば、P E G 2 k - D M G）を含む。いくつかの実施形態では、L N P 組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩（例えば、本明細書に開示される）、D S P C、コレステロール、及び P E G 脂質を含む。いくつかのそのような実施形態では、L N P 組成物は、P E G 2 k - D M G などの D M G を含む P E G 脂質を含む。ある特定の好ましい実施形態では、L N P 組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩、コレステロール、D S P C、及び P E G 2 k - D M G を含む。

30

【0071】

ある特定の実施形態では、L N P 組成物などの脂質組成物は、脂質成分、及び核酸成分、例えば、R N A 成分を含み、式 (I I) もしくは (I) の化合物の核酸に対するモル比を測定することができる。本開示の実施形態はまた、式 (I I) もしくは (I) の化合物の薬学的に許容される塩の正に帯電したアミン基 (N) と、カプセル化される核酸の負に帯電したリン酸基 (P) との間の定義されたモル比を有する脂質組成物を提供する。これは、方程式 N/P によって数学的に表され得る。いくつかの実施形態では、L N P 組成物などの脂質組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む脂質成分、及び核酸成分を含んでもよく、 N/P 比は、約 3～10 である。いくつかの実施形態では、L N P 組成物は、式 (I I) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む脂質成分、及び R N A 成分を含んでもよく、 N/P 比は、約 3～10 である。例えば、 N/P 比は、約 4～7 であってもよい。あるいは、 N/P 比は、約 6、例えば、 6 ± 1 、または 6 ± 0.5 であってもよい。

40

【0072】

50

いくつかの実施形態では、水性成分は、生物学的に活性な薬剤を含む。いくつかの実施形態では、水性成分は、ポリペプチドを、任意選択で核酸と組み合わせて含む。いくつかの実施形態では、水性成分は、RNAなどの核酸を含む。いくつかの実施形態では、水性成分は、核酸成分である。いくつかの実施形態では、核酸成分は、DNAを含み、これは、DNA成分と呼ばれ得る。いくつかの実施形態では、核酸成分は、RNAを含む。いくつかの実施形態では、RNA成分などの水性成分は、RNA誘導性DNA結合剤をコードするmRNAなどのmRNAを含んでもよい。いくつかの実施形態では、RNA誘導性DNA結合剤は、Casヌクレアーゼである。ある特定の実施形態では、水性成分は、Cas9をコードするmRNAを含んでもよい。ある特定の実施形態では、水性成分は、gRNAを含んでもよい。RNA誘導性DNA結合剤をコードするmRNAを含むいくつかの組成物において、本組成物は、gRNAなどのgRNA核酸をさらに含む。いくつかの実施形態では、水性成分は、RNA誘導性DNA結合剤及びgRNAを含む。いくつかの実施形態では、水性成分は、CasヌクレアーゼmRNA及びgRNAを含む。いくつかの実施形態では、水性成分は、クラス2 CasヌクレアーゼmRNA及びgRNAを含む。

10

【0073】

ある特定の実施形態では、LNP組成物などの脂質組成物は、クラス2 CasヌクレアーゼなどのCasヌクレアーゼをコードするmRNA、式(II)もしくは(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩、ヘルパー脂質、任意選択で中性脂質、及びPEG脂質を含んでもよい。クラス2 CasヌクレアーゼなどのCasヌクレアーゼをコードするmRNAを含むある特定の組成物において、ヘルパー脂質は、コレステロールである。クラス2 CasヌクレアーゼなどのCasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む他の組成物において、中性脂質は、DSPCである。例えばCas9などのクラス2 CasヌクレアーゼなどのCasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む追加の実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DMGである。特定の組成物において、クラス2 CasヌクレアーゼなどのCasヌクレアーゼをコードするmRNA、及び式(II)もしくは(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む。ある特定の組成物において、本組成物は、dgRNAまたはsgRNAなどのgRNAをさらに含む。

20

【0074】

いくつかの実施形態では、LNP組成物などの脂質組成物は、gRNAを含んでもよい。ある特定の実施形態では、組成物は、式(II)もしくは(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩、gRNA、ヘルパー脂質、任意選択で中性脂質、及びPEG脂質を含んでもよい。gRNAを含むある特定のLNP組成物において、ヘルパー脂質は、コレステロールである。gRNAを含むいくつかの組成物において、中性脂質は、DSPCである。gRNAを含む追加の実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DMGである。ある特定の組成物において、gRNAは、dgRNA及びsgRNAから選択される。

30

【0075】

ある特定の実施形態では、LNP組成物などの脂質組成物は、水性成分中にRNA誘導性DNA結合剤をコードするmRNA及びgRNA(sgRNAであり得る)を、脂質成分中に式(II)もしくは(I)の化合物を含む。例えば、LNP組成物は、式(II)もしくは(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩、CasヌクレアーゼをコードするmRNA、gRNA、ヘルパー脂質、中性脂質、及びPEG脂質を含んでもよい。CasヌクレアーゼをコードするmRNA及びgRNAを含むある特定の組成物において、ヘルパー脂質は、コレステロールである。CasヌクレアーゼをコードするmRNA及びgRNAを含むいくつかの組成物において、中性脂質は、DSPCである。CasヌクレアーゼをコードするmRNA及びgRNAを含む追加の実施形態では、PEG脂質は、PEG2k-DMGである。

40

【0076】

ある特定の実施形態では、LNP組成物などの脂質組成物は、クラス2 Cas mRNAなどのRNA誘導性DNA結合剤、及び少なくとも1つのgRNAを含む。ある特定の実施形態では、LNP組成物は、約1:1または約1:2のgRNA対クラス2 Cas

50

ヌクレアーゼ mRNA などの RNA 誘導 DNA 結合剤 mRNA の比を含む。いくつかの実施形態では、この比は、約 25 : 1 ~ 約 1 : 25、約 10 : 1 ~ 約 1 : 10、約 8 : 1 ~ 約 1 : 8、約 4 : 1 ~ 約 1 : 4、または約 2 : 1 ~ 約 1 : 2 である。

【0077】

LNP 組成物などの本明細書に開示される脂質組成物は、鑄型核酸、例えば、DNA 鑄型を含んでもよい。鑄型核酸は、LNP 組成物としてを含めて、式 (II) もしくは (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む脂質組成物とともに、またはそれとは別に送達されてもよい。いくつかの実施形態では、鑄型核酸は、所望の修復機序に応じて、一本鎖であっても二本鎖であってもよい。鑄型は、例えば、標的 DNA 配列内の標的 DNA、及び／または標的 DNA に隣接する配列と相同性のある領域を有してもよい。

10

【0078】

いくつかの実施形態では、LNP は、水性 RNA 溶液を有機溶媒ベースの脂質溶液と混合することによって形成される。好適な溶液または溶媒は、水、PBS、Tris 緩衝液、NaCl、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、エタノール、クロロホルム、ジエチルエーテル、シクロヘキサン、テトラヒドロフラン、メタノール、イソプロパノールを含むか、またはそれらを含んでもよい。例えば、有機溶媒は、100% エタノールであってもよい。例えば、LNP のインビボ投与のための薬学的に許容される緩衝液を使用してもよい。ある特定の実施形態では、緩衝液は、LNP を含む組成物の pH を pH 6.5 以上に維持するために使用される。ある特定の実施形態では、緩衝液は、LNP を含む組成物の pH を pH 7.0 以上に維持するために使用される。ある特定の実施形態では、本組成物は、約 7.2 ~ 約 7.7 の範囲の pH を有する。追加の実施形態では、本組成物は、約 7.3 ~ 約 7.7 の範囲または約 7.4 ~ 約 7.6 の範囲の pH を有する。さらなる実施形態では、本組成物は、約 7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、または 7.7 の pH を有する。組成物の pH は、マイクロ pH プロブで測定されてもよい。ある特定の実施形態では、凍結保護剤が、組成物に含まれる。凍結保護剤の非限定的な例としては、スクロース、トレハロース、グリセロール、DMSO、及びエチレングリコールが挙げられる。例示的な組成物は、例えばスクロースなどの凍結保護剤を最大 10% 含んでもよい。ある特定の実施形態では、本組成物は、tris 生理食塩水スクロース (TSS) を含んでもよい。ある特定の実施形態では、LNP 組成物は、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10% の凍結保護剤を含んでもよい。ある特定の実施形態では、LNP 組成物は、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10% のスクロースを含んでもよい。いくつかの実施形態では、LNP 組成物は、緩衝液を含んでもよい。いくつかの実施形態では、緩衝液は、リン酸緩衝液 (PBS)、Tris 緩衝液、クエン酸緩衝液、及びそれらの混合物を含んでもよい。ある特定の例示的な実施形態では、緩衝液は、NaCl を含む。ある特定の実施形態では、緩衝液は、NaCl を欠いている。NaCl の例示的な量は、約 20 mM ~ 約 45 mM の範囲であってもよい。NaCl の例示的な量は、約 40 mM ~ 約 50 mM の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、NaCl の量は、約 45 mM である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、Tris 緩衝液である。Tris の例示的な量は、約 20 mM ~ 約 60 mM の範囲であってもよい。Tris の例示的な量は、約 40 mM ~ 約 60 mM の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、Tris の量は、約 50 mM である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、NaCl 及び Tris を含む。LNP 組成物のある特定の例示的な実施形態は、Tris 緩衝液中に 5% のスクロース及び 45 mM の NaCl を含有する。他の例示的な実施形態では、本組成物は、約 5% w/v の量のスクロース、約 45 mM の NaCl、及び約 50 mM の Tris を pH 7.5 で含有する。塩、緩衝液、及び凍結保護剤の量は、組成物全体の浸透圧が維持されるように変化させてもよい。例えば、最終浸透圧は、450 mOsm/L 未満に維持されてもよい。さらなる実施形態では、浸透圧は、350 ~ 250 mOsm/L である。ある特定の実施形態は、300 ± 20 mOsm/L または 310 ± 40 mOsm/L の最終浸透圧を有する。

20

30

40

【0079】

50

いくつかの実施形態では、有機溶媒中のRNA水溶液と脂質溶液とのマイクロ流体混合、T混合、または交差混合が、使用される。ある特定の態様では、流速、接合部のサイズ、接合部の幾何、接合部の形状、管の直径、溶液、及び／またはRNA及び脂質の濃度を変化させてもよい。LNPまたはLNP組成物は、例えば、透析、遠心濾過、タンジェンシャルフロー濾過、またはクロマトグラフィーを介して濃縮または精製してもよい。LNPは、例えば、懸濁液、エマルション、または凍結乾燥粉末として保存してもよい。いくつかの実施形態では、LNP組成物は、2～8℃で保存され、ある特定の態様では、LNP組成物は、室温で保存される。追加の実施形態では、LNP組成物は、例えば-20℃または-80℃で冷凍保存される。他の実施形態では、LNP組成物は、約0℃～約-80℃の範囲の温度で保存される。凍結LNP組成物は、使用前に、例えば氷上で、室温で、または25℃で解凍してもよい。

10

【0080】

LNPは、例えば、ミクロスフェア（単層及び多層の小胞、例えば、いくつかの実施形態では、実質的に球形であり、より具体的な実施形態では、例えばRNA分子の大部分を含む水性コアを含み得る、「リボソーム」ラメラ相脂質二重層）、エマルション中の分散相、ミセル、または懸濁液中の内相であってもよい。

【0081】

LNP組成物などの好ましい脂質組成物は、治療上有効な用量でインビボにおいて細胞毒性レベルまで蓄積しないという点で生分解性である。いくつかの実施形態では、本組成物は、治療用量レベルで実質的な有害作用をもたらす自然免疫応答を引き起こさない。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される組成物は、治療用量レベルで毒性を引き起こさない。

20

【0082】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示されるLNPは、約0.005～約0.75の範囲であってもよい多分散指数(PDI)を有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約0.01～約0.5の範囲であってもよいPDIを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約0～約0.4の範囲であってもよいPDIを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約0～約0.35の範囲であってもよいPDIを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約0～約0.35の範囲であってもよいPDIを有する。いくつかの実施形態では、LNPのPDIは、約0～約0.3の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、LNPは、約0～約0.25の範囲であってもよいPDIを有する。いくつかの実施形態では、LNPのPDIは、約0～約0.2の範囲であってもよい。いくつかの実施形態では、LNPは、約0.08、0.1、0.15、0.2、または0.4未満であってもよいPDIを有する。

30

【0083】

本明細書に開示のLNPは、約1～約250nmのサイズ（例えば、Z平均直径）を有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約10～約200nmのサイズを有する。さらなる実施形態では、LNPは、約20～約150nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約50～約150nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約50～約100nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約50～約120nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約60～約100nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約75～約150nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約75～約120nmのサイズを有する。いくつかの実施形態では、LNPは、約75～約100nmのサイズを有する。特に明記しない限り、本明細書で言及されるすべてのサイズは、Malvern ZetasizerまたはWyatt NanoStarでの動的光散乱によって測定した、完全に形成されたナノ粒子の平均サイズ（直径）である。ナノ粒子試料は、計数率がおよそ200～400k cpsとなるようにリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で希釈される。データは、強度測定値の加重平均（Z平均直径）として提示される。

40

【0084】

50

いくつかの実施形態では、LNPは、約50%～約100%の範囲の平均カプセル化効率で形成される。いくつかの実施形態では、LNPは、約50%～約95%の範囲の平均カプセル化効率で形成される。いくつかの実施形態では、LNPは、約70%～約90%の範囲の平均カプセル化効率で形成される。いくつかの実施形態では、LNPは、約90%～約100%の範囲の平均カプセル化効率で形成される。いくつかの実施形態では、LNPは、約75%～約95%の範囲の平均カプセル化効率で形成される。

【0085】

カーゴ

LNP組成物を介して送達されるカーゴは、生物学的に活性な薬剤であってもよい。ある特定の実施形態では、カーゴは、1つ以上の生物学的に活性な薬剤、例えば、mRNA、gRNA、発現ベクター、鋳型核酸、RNA誘導性DNA結合剤、抗体（例えば、モノクローナル、キメラ、ヒト化、ナノボディ、及びそれらの断片など）、コレステロール、ホルモン、ペプチド、タンパク質、化学療法剤及び他のタイプの抗腫瘍薬、低分子量薬物、ビタミン、補因子、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、酵素的核酸、アンチセンス核酸、三重鎖形成オリゴヌクレオチド、アンチセンスDNAまたはRNA組成物、キメラDNA：RNA組成物、アロザイム、アプタマー、リボザイム、デコイ及びその類似体、プラスミド及び他の種類のベクター、ならびに小核酸分子、RNAi剤、低分子干渉核酸（siRNA）、低分子干渉RNA（siRNA）、二本鎖RNA（dsRNA）、マイクロRNA（miRNA）、ショートヘアピンRNA（shRNA）、及び「自己複製RNA」（レプリカーゼ酵素活性をコードし、それ自体のインビボでの複製または増幅を誘導することができる）分子、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸リボヌクレオチド（LNA）、モルホリノヌクレオチド、トレオース核酸（TNA）、グリコール核酸（GNA）、sisRNA（低分子内部セグメント化干渉RNA）、及びiRNA（非対称干渉RNA）であるか、またはそれらを含む。上述の生物学的に活性な薬剤の列挙は、単なる例示であり、限定することを意図するものではない。そのような化合物は、精製されても部分的に精製されてもよく、天然に存在しても合成されてもよく、化学的に修飾されてもよい。

【0086】

LNP組成物を介して送達されるカーゴは、関心対象のタンパク質をコードするmRNA分子などのRNAであってもよい。例えば、緑色蛍光タンパク質（GFP）、RNA誘導DNA結合剤、またはCasヌクレアーゼなどのタンパク質を発現するためのmRNAが、含まれる。CasヌクレアーゼmRNA、例えば、Cas9またはCpf1タンパク質などのクラス2 Casヌクレアーゼの細胞での発現を可能にするクラス2 CasヌクレアーゼmRNAを含む、LNP組成物が、提供される。さらに、カーゴは、1つ以上のgRNAまたはgRNAをコードする核酸を含有してもよい。例えば、修復または組換えのための鋳型核酸も、組成物に含まれてもよく、または鋳型核酸が、本明細書に記載の方法で使用されてもよい。従属実施形態では、カーゴは、Streptococcus pyogenesのCas9をコードするmRNA、及び任意選択でS. pyogenesのgRNAを含む。さらなる従属実施形態では、カーゴは、Neisseria meningitidisのCas9をコードするmRNA、及び任意選択でNme（Neisseria meningitidis）のgRNAを含む。

【0087】

「mRNA」は、ポリヌクレオチドを指し、ポリペプチドへと翻訳することができる（すなわち、リボソーム及びアミノアシル化tRNAによる翻訳のための基質として機能し得る）オープンリーディングフレームを含む。mRNAは、リボース残基またはその類似体を含むリン酸-糖主鎖（例えば、2'-メトキシリボース残基）を含むことができる。いくつかの実施形態では、mRNAリン酸-糖主鎖の糖は、本質的に、リボース残基、2'-メトキシリボース残基、またはそれらの組み合わせからなる。一般に、mRNAは、相当量のチミジン残基を含有しない（例えば、0個の残基または30、20、10、5、4、3、もしくは2個未満のチミジン残基、または10%、9%、8%、7%、6%、5%

10

20

30

40

50

、4 %、4 %、3 %、2 %、1 %、0.5 %、0.2 %、もしくは0.1 %未満のチミジン含有量)。mRNAは、そのウリジン位置の一部またはすべてに修飾されたウリジンを含有し得る。

【0088】

CRISPR／Casカーゴ

ある特定の実施形態では、開示の組成物は、CasヌクレアーゼなどのRNA誘導性DNA結合剤をコードするmRNAを含む。特定の実施形態では、開示の組成物は、S. pyogenesのCas9などのクラス2 CasヌクレアーゼをコードするmRNAを含む。

【0089】

本明細書で使用されるとき、「RNA誘導性DNA結合剤」は、RNA及びDNA結合活性を有するポリペプチドもしくはポリペプチドの複合体、またはそのような複合体のDNA結合サブユニットを意味し、このDNA結合活性は、配列特異的であり、RNAの配列に依存する。例示的なRNA誘導性DNA結合剤には、Cas開裂酵素／ニックアーゼ及びその不活性化形態（「dCas DNA結合剤」）が含まれる。本明細書で使用されるとき、「Casヌクレアーゼ」は、Cas開裂酵素、Casニックアーゼ、及びdCas DNA結合剤を包含する。Cas開裂酵素／ニックアーゼ及びdCas DNA結合剤には、III型CRISPRシステムのCsmまたはCmr複合体、そのCas10、Csm1、またはCmr2サブユニット、I型CRISPRシステムのカスケード複合体、そのCas3サブユニット、及びクラス2 Casヌクレアーゼが含まれる。本明細書で使用されるとき、「クラス2 Casヌクレアーゼ」は、RNA誘導性DNA結合活性を有する一本鎖ポリペプチドである。クラス2 Casヌクレアーゼには、RNA誘導性DNA開裂酵素またはニックアーゼ活性をさらに有するクラス2 Cas開裂酵素／ニックアーゼ（例えば、H840A、D10A、またはN863Aバリエーション）、及び開裂酵素／ニックアーゼ活性が不活性化されている、クラス2 dCas DNA結合剤が含まれる。クラス2 Casヌクレアーゼには、例えば、Cas9、Cpf1、C2c1、C2c2、C2c3、HF Cas9（例えば、N497A、R661A、Q695A、Q926Aバリエーション）、HypaCas9（例えば、N692A、M694A、Q695A、H698Aバリエーション）、eSPCas9（1.0）（例えば、K810A、K1003A、R1060Aバリエーション）、及びeSPCas9（1.1）（例えば、K848A、K1003A、R1060Aバリエーション）タンパク質、ならびにそれらの修飾物が含まれる。Cpf1タンパク質、Zetsche et al., Cell, 163:1-13 (2015) は、Cas9と相同であり、RuvC様ヌクレアーゼドメインを含有する。ZetscheのCpf1配列は、参照によりその全体が組み込まれる。例えば、Zetscheの表2及び4を参照されたい。例えば、Makarova et al., Nat Rev Microbiol, 13(11):722-36 (2015)、Shmakov et al., Molecular Cell, 60:385-397 (2015)を参照されたい。

【0090】

本明細書で使用されるとき、「リボヌクレオプロテイン」(RNP)または「RNP複合体」は、Casヌクレアーゼ、例えば、Cas開裂酵素、Casニックアーゼ、またはdCas DNA結合剤（例えば、Cas9）などのRNA誘導性DNA結合剤と一緒にされるgRNAを指す。いくつかの実施形態では、gRNAは、Cas9などのRNA誘導性DNA結合剤を標的配列に誘導し、gRNAは、標的配列とハイブリダイズし、この結合剤が標的配列に結合する。この結合剤が開裂酵素またはニックアーゼである場合、結合の後に開裂またはニックが生じ得る。

【0091】

本開示のいくつかの実施形態では、LNP組成物のカーゴは、ヌクレアーゼ（例えば、Cas9などのCasヌクレアーゼ）であり得るRNA誘導性DNA結合剤を標的DNAに誘導する(direct)ガイド配列を含む少なくとも1つのgRNAを含む。gRNA

10

20

30

40

50

は、Casヌクレアーゼまたはクラス2 Casヌクレアーゼを標的核酸分子上の標的配列に誘導して (guide) もよい。いくつかの実施形態では、gRNAは、クラス2 Casヌクレアーゼと結合し、それによる開裂の特異性を提供する。いくつかの実施形態では、gRNA及びCasヌクレアーゼは、リボヌクレオプロテイン (RNP)、例えば、CRISPR/Cas9複合体などのCRISPR/Cas複合体を形成してもよい。いくつかの実施形態では、CRISPR/Cas複合体は、II型CRISPR/Cas9複合体であってもよい。いくつかの実施形態では、CRISPR/Cas複合体は、Cpf1/gRNA複合体などのV型CRISPR/Cas複合体であってもよい。Casヌクレアーゼ及び同族のgRNAは、対になってもよい。各クラス2 Casヌクレアーゼと対になるgRNA足場構造は、特定のCRISPR/Casシステムによって異なる。

10

【0092】

「ガイドRNA」、「gRNA」、及び単に「ガイド」は、本明細書で互換的に使用され、RNA誘導性DNA結合剤のための同族ガイド核酸を指す。ガイドRNAは、本明細書に記載される修飾されたRNAを含み得る。gRNAは、crRNA (CRISPR RNAとしても知られる)、またはcrRNAとtrRNAとの組み合わせ (tracrRNAとしても知られる) のいずれかであってもよい。crRNA及びtrRNAは、単一のRNA分子 (単一のガイドRNA、sgRNA) として、または2つの別々のRNA分子 (デュアルガイドRNA、dgRNA) で会合してもよい。「ガイドRNA」または「gRNA」は、各々のタイプを指す。trRNAは、天然に存在する配列、または天然に存在する配列と比較して修飾もしくは変化を伴うtrRNA配列であってもよい。

20

【0093】

本明細書で使用されるとき、「ガイド配列」は、標的配列に相補的であり、RNA誘導性DNA結合剤による結合または修飾 (例えば、開裂) のためにgRNAを標的配列に誘導するように機能するgRNA内の配列を指す。「ガイド配列」はまた、「標的化配列」または「スペーサー配列」と称されてもよい。ガイド配列は、例えば、Streptococcus pyogenes (すなわち、Spy Cas9) 及び関連するCas9ホモログ/オルソログの場合、長さが20塩基対であり得る。より短いまたはより長い、例えば、15、16、17、18、19、21、22、23、24、または25ヌクレオチド長の配列もガイドとして使用することができる。いくつかの実施形態では、標的配列は、例えば、遺伝子中または染色体上にあり、ガイド配列に相補的である。いくつかの実施形態では、ガイド配列とそれに対応する標的配列との間の相補性または同一性の程度は、約または少なくとも75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%であってもよい。いくつかの実施形態では、ガイド配列及び標的領域は、少なくとも15、16、17、18、19、または20個の連続するヌクレオチドの領域にわたって100%相補的または同一であってもよい。他の実施形態では、ガイド配列及び標的領域は、少なくとも1個のミスマッチを含有してもよい。例えば、ガイド配列及び標的配列は、1、2、3、または4個のミスマッチを含有してもよく、ここで、標的配列の全長は、少なくとも17、18、19、20個、またはそれ以上の塩基対である。いくつかの実施形態では、ガイド配列及び標的領域は、1~4個のミスマッチを含有してもよく、ガイド配列は、少なくとも17、18、19、20個、またはそれ以上のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、ガイド配列及び標的領域は、1、2、3、または4個のミスマッチを含有してもよく、ガイド配列は、20個のヌクレオチドを含む。

30

40

【0094】

Casタンパク質の核酸基質は二本鎖核酸であるので、Casタンパク質などのRNA誘導性DNA結合タンパク質の標的配列は、ゲノムDNAのプラス鎖及びマイナス鎖 (すなわち、所与の配列と配列の逆相補鎖と) の両方を含む。したがって、ガイド配列が「標的配列に相補的」であると言われる場合、ガイド配列は、gRNAを、標的配列の逆相補鎖に結合するように誘導し得ると理解されるべきである。したがって、いくつかの実施形態

50

では、ガイド配列が、標的配列の逆相補鎖に結合する場合、ガイド配列は、ガイド配列におけるTのUへの置換を除いて、標的配列のある特定のヌクレオチド（例えば、PAMを含まない標的配列）と同一である。

【0095】

標的化配列の長さは、使用するCRISPR/Casシステム及び成分に依存し得る。例えば、様々な細菌種に由来する様々なクラス2 Casヌクレアーゼは、最適な標的化配列の長さが異なる。したがって、標的化配列は、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、30、35、40、45、50、または50超のヌクレオチド長を含んでもよい。いくつかの実施形態では、標的化配列の長さは、天然に存在するCRISPR/Casシステムのガイド配列よりも0、1、2、3、4、または5ヌクレオチド、長いまたは短い。ある特定の実施形態では、Casヌクレアーゼ及びgRNA足場は、同じCRISPR/Casシステムに由来することになる。いくつかの実施形態では、標的化配列は、18～24ヌクレオチドを含んでもよく、またはそれからなってもよい。いくつかの実施形態では、標的化配列は、19～21ヌクレオチドを含んでもよく、またはそれからなってもよい。いくつかの実施形態では、標的化配列は、20ヌクレオチドを含んでもよく、またはそれからなってもよい。

10

【0096】

いくつかの実施形態では、sgRNAは、Cas9タンパク質によるRNA誘導性DNA開裂を媒介することができる「Cas9 sgRNA」である。いくつかの実施形態では、sgRNAは、Cpf1タンパク質によるRNA誘導性DNA開裂を媒介することができる「Cpf1 sgRNA」である。ある特定の実施形態では、gRNAは、Cas9タンパク質と活性複合体を形成し、RNA誘導性DNA開裂を媒介するのに十分なcrRNA及びtracrRNAを含む。ある特定の実施形態では、gRNAは、Cpf1タンパク質と活性複合体を形成し、RNA誘導性DNA開裂を媒介するのに十分なcrRNAを含む。Zetsche 2015を参照されたい。

20

【0097】

本発明のある特定の実施形態はまた、本明細書に記載のgRNAをコードする核酸、例えば、発現カセットを提供する。「ガイドRNA核酸」は、本明細書では、gRNA（例えば、sgRNAまたはdgRNA）及び1つ以上のgRNAをコードする核酸であるgRNA発現カセットを指すように使用される。

30

【0098】

修飾されたRNA

ある特定の実施形態では、LNP組成物などの脂質組成物は、修飾されたRNAを含む修飾された核酸を含む。

【0099】

修飾されたヌクレオシドまたはヌクレオチドは、RNA、例えば、gRNAまたはmRNAに存在することができる。例えば、1つ以上の修飾されたヌクレオシドまたはヌクレオチドを含むgRNAまたはmRNAは、「修飾された」RNAと呼ばれ、標準的なA、G、C、及びU残基の代わりにまたはそれらに加えて使用される1つ以上の非天然の及び／または天然に存在する成分または配置の存在を説明する。いくつかの実施形態では、修飾されたRNAは、非標準のヌクレオシドまたはヌクレオチドによって合成され、本明細書では「修飾された」と呼ばれる。

40

【0100】

修飾されたヌクレオシド及び修飾されたヌクレオチドは、(i)ホスホジエステル主鎖連結における改変、例えば、非連結のリン酸酸素の一方もしくは両方、及び／または、連結のリン酸酸素のうちの1つ以上の代置（例示的な主鎖修飾）、(ii)リボース糖の構成要素、例えばリボース糖上の2'ヒドロキシルの改変、例えば、代置（例示的な糖修飾）、(iii)リン酸部分の「脱リン酸型」リンカーによる大規模な代置（例示的な主鎖修飾）、(iv)非標準的な核酸塩基によるものを含む天然に存在する核酸塩基の修飾また

50

は代置（例示的な塩基修飾）、（v）リボースリン酸主鎖の代置または修飾（例示的な主鎖修飾）、（v i）ポリヌクレオチドの3'末端または5'末端の修飾、例えば、末端リン酸基の除去、修飾、もしくは代置、または部分、キャップ、もしくはリンカーの抱合（そのような3'または5'のキャップ修飾は、糖及び／または主鎖の修飾を含んでもよい）、ならびに（v i i）糖の修飾または代置（例示的な糖修飾）のうちの1つ以上を含み得る。ある特定の実施形態は、mRNA、gRNA、または核酸に対する5'末端修飾を含む。ある特定の実施形態は、mRNA、gRNA、または核酸に対する修飾を含む。ある特定の実施形態は、mRNA、gRNA、または核酸に対する3'末端修飾を含む。修飾されたRNAは、5'末端及び3'末端修飾を含有し得る。修飾されたRNAは、非末端位置に1つ以上の修飾された残基を含有し得る。ある特定の実施形態では、gRNAは、少なくとも1つの修飾された残基を含む。ある特定の実施形態では、mRNAは、少なくとも1つの修飾された残基を含む。

10

【0101】

非修飾核酸は、例えば、細胞内ヌクレアーゼまたは血清中に見られるヌクレアーゼによって分解されやすい可能性がある。例えば、ヌクレアーゼは、核酸のホスホジエステル結合を加水分解し得る。したがって、一態様では、本明細書に記載されるRNA（例えば、mRNA、gRNA）は、例えば、細胞内または血清ベースのヌクレアーゼに対する安定性を導入するために、1つ以上の修飾されたヌクレオチドまたはヌクレオチドを含有し得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される修飾されたRNA分子は、インビボ及びエキスピボの両方において細胞集団に導入されるときに、低減した自然免疫応答を呈し得る。「自然免疫応答」という用語は、サイトカイン発現及び放出の誘発（特にインターフェロン）及び細胞死を伴う、一本鎖核酸を含む外来性核酸に対する細胞応答を含む。

20

【0102】

したがって、いくつかの実施形態では、RNAまたは核酸は、例えば、インビボでのヌクレアーゼ消化に対する改善された耐性を含む、核酸に増加または増強された安定性を与える少なくとも1つの修飾を含む。本明細書で使用されるとき、「修飾」及び「修飾された」という用語は、本明細書で提供される核酸に関連する場合、好ましくは安定性を増強し、RNAまたは核酸を、RNAまたは核酸の野生型または天然に存在するバージョンよりも安定にする（例えば、ヌクレアーゼ消化に耐性にする）少なくとも1つの改変を含む。本明細書で使用されるとき、「安定」及び「安定性」という用語は、本発明の核酸に関連する場合、特にRNAに関して、例えば、通常、そのようなRNAを分解することができるヌクレアーゼ（すなわち、エンドヌクレアーゼまたはエキソヌクレアーゼ）による分解に対する増加または増強された耐性を指す。安定性の増加には、例えば、内因性酵素（例えば、エンドヌクレアーゼもしくはエキソヌクレアーゼ）または標的細胞もしくは組織内の条件による加水分解または他の破壊に対する感受性の低下が含まれ得、それにより、標的細胞、組織、対象、及び／または細胞質におけるそのようなRNAまたは核酸の滞留が増加または増強される。本明細書で提供される安定化されたRNAまたは核酸分子は、それらの天然に存在する非修飾の対応物（例えば、野生型バージョンの分子）と比べてより長い半減期を示す。本明細書に開示されるLNP組成物のmRNAに関連するそのような用語として「修飾」及び「修飾された」という用語によっても企図されるのは、例えば、タンパク質翻訳の開始において機能する配列（例えば、Kozakコンセンサス配列）を含めることを含む、mRNA核酸の翻訳を改善または増強する改変である。（Kozak, M., *Nucleic Acids Res* 15 (20): 8125-48 (1987)）。

30

40

【0103】

いくつかの実施形態では、RNAまたは核酸は、それをより安定にするために化学的または生物学的修飾を受けている。RNAまたは核酸への例示的な修飾には、塩基の枯渇（例えば、欠失による、またはあるヌクレオチドの別のヌクレオチドへの置換による）または塩基の修飾、例えば、塩基の化学的修飾が含まれる。本明細書で使用されるとき、「化学的修飾」という句は、天然に存在するRNAまたは核酸に見られるものとは異なる化学的

50

性質を導入する修飾、例えば、修飾されたヌクレオチドの導入などの共有結合修飾（例えば、ヌクレオチド類似体、またはそのようなRNAもしくは核酸分子には天然で見られないペンダント基を含めること）を含む。

【0104】

主鎖修飾のいくつかの実施形態では、修飾された残基のリン酸基は、酸素のうちの1つ以上を異なる置換基によって代置することによって修飾され得る。さらに、修飾された残基、例えば、修飾された核酸中に存在する修飾された残基は、本明細書に記載されるように、非修飾リン酸部分の修飾リン酸基による大規模な代置を含み得る。いくつかの実施形態では、リン酸主鎖の主鎖修飾は、非荷電のリンカーまたは非対称電荷分布の荷電のリンカーのいずれかをもたらす改変を含み得る。

10

【0105】

修飾されたリン酸基の例には、ホスホロチオエート、ホスホロセレネート、ボラノホスフェート、ボラノホスフェートエステル、水素ホスホネート、ホスホロアミデート、アルキルまたはアリールホスホネート、及びホスホトリエステルが挙げられる。非修飾リン酸基中のリン酸原子は、アキラルである。しかしながら、非架橋酸素のうちの1つを上述の原子または原子群のうちの1つで代置することで、そのリン原子をキラルにすることができる。立体リン原子は、「R」配置（本明細書ではRp）または「S」配置（本明細書ではSp）のいずれかを保有し得る。主鎖はまた、架橋化酸素（すなわち、リン酸をヌクレオシドに連結する酸素）を、窒素（架橋されたホスホロアミデート）、硫黄（架橋されたホスホロチオエート）、及び炭素（架橋されたメチレンホスホネート）で代置することによっても修飾され得る。代置は、連結酸素のいずれかまたは連結酸素の両方において出現し得る。リン酸基は、ある特定の主鎖修飾において、非リン含有連結基によって代置され得る。いくつかの実施形態では、荷電リン酸基は、中性部分によって代置され得る。リン酸基を代置することができる部分の例としては、例えば、メチルホスホン酸、ヒドロキシルアミノ、シロキサン、カルボネート、カルボキシメチル、カルバメート、アミド、チオエーテル、エチレンオキシドリンカー、スルホネート、スルホンアミド、チオホルムアセタール、ホルムアセタール、オキシム、メチレンイミノ、メチレンメチルイミノ、メチレンヒドラゾ、メチレンジメチルヒドラゾ、及びメチレンオキシメチルイミノが挙げられ得るが、これらに限定されない。

20

【0106】

mRNA

いくつかの実施形態では、本明細書に開示される組成物または製剤は、本明細書に記載のCasヌクレアーゼまたはクラス2 CasヌクレアーゼなどのRNA誘導性DNA結合剤をコードするオープンリーディングフレーム（ORF）を含むmRNAを含む。いくつかの実施形態では、Casヌクレアーゼまたはクラス2 CasヌクレアーゼなどのRNA誘導性DNA結合剤をコードするORFを含むmRNAが提供され、使用され、または投与される。mRNAは、5'キャップ、5'非翻訳領域（UTR）、3'UTR、及びポリアデニン尾部のうちの1つ以上を含んでもよい。mRNAは、例えば、核局在化配列をコードするように、または代替コドンを使用してタンパク質をコードするように、修飾されたオープンリーディングフレームを含んでもよい。

30

40

【0107】

開示されるLNP組成物中のmRNAは、例えば、分泌されたホルモン、酵素、受容体、ポリペプチド、ペプチド、または通常分泌される関心対象の他のタンパク質をコードしてもよい。本発明の一実施形態では、mRNAは、例えば、そのようなmRNAの安定性及び／または半減期を改善するか、またはタンパク質産生を改善、さもなければ促進する化学的または生物学的修飾を任意選択で有してもよい。

【0108】

さらに、好適な修飾には、コドンが同じアミノ酸をコードするが、野生型バージョンのmRNAに見られるコドンよりも安定であるようにする、コドンの1つ以上のヌクレオチドにおける改変が含まれる。例えば、RNAの安定性と、より多くのシチジン（C）及び／

50

またはウリジン（U）残基との逆相関が実証されており、C及びU残基を欠くRNAは、ほとんどのRNaseに対して安定であることが分かっている（Heidenreich, et al. J Biol Chem 269, 2131-8 (1994)）。いくつかの実施形態では、mRNA配列中のC及び／またはU残基の数は、低減する。別の実施形態では、C及び／またはU残基の数は、特定のアミノ酸をコードする1つのコドン、同じまたは関連するアミノ酸をコードする別のコドンで置換することによって低減する。本発明のmRNA核酸への企図される修飾には、シュドウリジンの組み込みも含まれる。本発明のmRNA核酸へのシュドウリジンの組み込みは、安定性及び翻訳能力を増強し、かつインビボでの免疫原性を低下させてもよい。例えば、Kariko, K., et al., Molecular Therapy 16 (11): 1833-1840 (2008)を参照されたい。本発明のmRNAに対する置換及び修飾は、当業者によく知られている方法によって実施され得る。

10

【0109】

配列内のC及びU残基の数を低減させることに対する制約は、非翻訳領域と比較して、mRNAのコード領域内でより大きくなり得る（すなわち、所望のアミノ酸配列をコードするメッセージの機能を保持しながら、メッセージに存在するすべてのC及びU残基を排除することは不可能である可能性が高い）。しかしながら、遺伝暗号の縮重により、同じコード能力を維持しながら、配列に存在するC及び／またはU残基の数を低減させることを可能にする機会がもたらされる（すなわち、どのアミノ酸がコドンにコードされているかに応じて、RNA配列の修飾のためのいくつかの異なる可能性が可能であり得る）。

20

【0110】

修飾という用語はまた、例えば、本発明のmRNA配列への非ヌクレオチド連結または修飾されたヌクレオチドの組み込み（例えば、機能的な分泌されたタンパク質または酵素をコードするmRNA分子の3'及び5'末端の一方または両方への修飾）を含む。そのような修飾には、mRNA配列への塩基の付加（例えば、ポリA尾部またはより長いポリA尾部を含めること）、3'UTRまたは5'UTRの改変、mRNAと薬剤（例えば、タンパク質または相補的核酸分子）との複合体形成、及びmRNA分子の構造を変化させる（例えば、二次構造を形成する）要素を含めることが含まれる。

【0111】

ポリA尾部は、天然のメッセンジャーを安定させると考えられている。したがって、一実施形態では、長いポリA尾部をmRNA分子に付加することで、mRNAをより安定にすることができる。ポリA尾部は、当該技術分野で認められた様々な技術を使用して付加することができる。例えば、長いポリA尾部は、ポリAポリメラーゼを使用して、合成またはインビトロで転写されたmRNAに付加することができる（Yokoe, et al. Nature Biotechnology 1996; 14: 1252-1256）。転写ベクターは、長いポリA尾部をコードすることもできる。加えて、ポリA尾部は、PCR産物から直接転写することにより付加することができる。一実施形態では、ポリA尾部の長さは、少なくとも約90、200、300、400、少なくとも500ヌクレオチドである。一実施形態では、ポリA尾部の長さは、本発明の修飾されたmRNA分子の安定性、したがってタンパク質の転写を制御するように調整される。例えば、ポリA尾部の長さはmRNA分子の半減期に影響を与え得るため、ポリA尾部の長さを調整して、ヌクレアーゼに対するmRNAの耐性レベルを変化させ、それによって細胞内のタンパク質発現の経時変化を制御することができる。一実施形態では、安定化されたmRNA分子は、（例えば、ヌクレアーゼによる）インビボ分解に対して十分に耐性があり、その結果、移送ビヒクルなしで標的細胞に送達され得る。

30

40

【0112】

一実施形態では、mRNAは、野生型mRNAに天然には見られない3'及び／または5'非翻訳（UTR）配列を組み込むことによって修飾することができる。一実施形態では、mRNAに天然に隣接し、第2の無関係なタンパク質をコードする3'及び／または5'隣接配列を、それを修飾するために、治療的または機能的なタンパク質をコードするmRNA

50

A分子のヌクレオチド配列に組み込むことができる。例えば、安定しているmRNA分子（例えば、グロビン、アクチン、GAPDH、チューブリン、ヒストン、またはクエン酸回路酵素）からの3'または5'配列を、センスmRNA核酸分子の3'及び／または5'領域に組み込み、センスmRNA分子の安定性を増加させることができる。例えば、US2003/0083272を参照されたい。

【0113】

mRNA修飾のより詳細な説明は、US2017/0210698A1の57～68ページに記載されており、その内容は本明細書に組み込まれる。

【0114】

鑄型核酸

本明細書に開示される組成物及び方法は、鑄型核酸を含んでもよい。鑄型を使用して、Casヌクレアーゼ、例えば、クラス2 CasヌクレアーゼなどのRNA誘導性DNA結合タンパク質の標的部位でまたはその近くで核酸配列を改変または挿入してもよい。いくつかの実施形態では、本方法は、鑄型を細胞に導入することを含む。いくつかの実施形態では、単一の鑄型が、提供されてもよい。他の実施形態では、編集が2つ以上の標的部位で生じ得るように、2つ以上の鑄型が提供されてもよい。例えば、異なる鑄型が、細胞内の単一の遺伝子、または細胞内の2つの異なる遺伝子を編集するために提供されてもよい。

【0115】

いくつかの実施形態では、鑄型は、相同組換えにおいて使用されてもよい。いくつかの実施形態では、相同組換えにより、鑄型配列または鑄型配列の一部が標的核酸分子に組み込まれてもよい。他の実施形態では、鑄型は、核酸の開裂部位でのDNA鎖の侵入を伴う相同性指向修復に使用されてもよい。いくつかの実施形態では、相同性指向修復により、編集された標的核酸分子中に鑄型配列が含まれるようになってもよい。さらに他の実施形態では、鑄型は、非相同末端結合によって媒介される遺伝子編集において使用されてもよい。いくつかの実施形態では、鑄型配列は、開裂部位近くの核酸配列に類似しない。いくつかの実施形態では、鑄型または鑄型配列の一部が組み込まれる。いくつかの実施形態では、鑄型は、隣接する末端逆位反復（ITR）配列を含む。

【0116】

いくつかの実施形態では、鑄型配列は、標的細胞の内因性配列に対応するか、それを含むか、またはそれからなってもよい。鑄型配列はまた、または代替的に、標的細胞の外因性配列に対応するか、それを含むか、またはそれからなってもよい。本明細書で使用される時、「内因性配列」という用語は、その細胞にとって天然である配列を指す。「外因性配列」という用語は、その細胞にとって天然ではない配列、または細胞のゲノムにおける天然での位置が異なる位置にある配列を指す。いくつかの実施形態では、内因性配列は、細胞のゲノム配列であってもよい。いくつかの実施形態では、内因性配列は、染色体配列であっても染色体外配列であってもよい。いくつかの実施形態では、内因性配列は、細胞のプラスミド配列であってもよい。

【0117】

いくつかの実施形態では、鑄型は、隣接する末端逆位反復（ITR）配列を含有するssDNAまたはdsDNAを含有する。いくつかの実施形態では、鑄型は、ベクター、プラスミド、ミニサークル、ナノサークル、またはPCR産物として提供される。

【0118】

いくつかの実施形態では、核酸は、精製される。いくつかの実施形態では、核酸は、沈殿法（例えば、LiCl沈殿、アルコール沈殿、または同等の方法、例えば、本明細書に記載されるもの）を使用して精製される。いくつかの実施形態では、核酸は、HPLCベースの方法または同等の方法（例えば、本明細書に記載されるもの）などのクロマトグラフィーベースの方法を使用して精製される。いくつかの実施形態では、核酸は、沈殿法（例えば、LiCl沈殿）及びHPLCベースの方法の両方を使用して精製される。いくつかの実施形態では、核酸は、タンジェンシャルフロー濾過（TFF）によって精製される。

【0119】

本化合物または組成物は、必ずではないが、一般に、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む。「賦形剤」という用語は、本開示の化合物（複数可）、他の脂質成分（component）（複数可）、及び生物学的に活性な薬剤以外の任意の成分（ingredient）を含む。賦形剤は、本組成物に機能的（例えば、薬物放出速度の制御）及び／または非機能的（例えば、加工助剤または希釈剤）特性のいずれかを付与してもよい。賦形剤の選択は、特定の投与様式、溶解性及び安定性に対する賦形剤の効果、ならびに剤形の性質などの因子に大きく依存することになる。

【0120】

非経口製剤は、典型的には、水性もしくは油性の溶液または懸濁液である。製剤が水性である場合、賦形剤は、糖（グルコース、マンニトール、ソルビトールなどを含むがこれらに限定されない）、塩、炭水化物、及び緩衝剤（好ましくは3～9のpH）などであるが、しかしいくつかの用途では、それらは無菌の非水溶液を用いて、または無菌のピロジェンフリー水（WFI）などの好適なビヒクルと組み合わせて使用される乾燥形態として、より好適に製剤化されてもよい。

【0121】

本発明は例示される実施形態と併せて説明されるが、それらは、本発明をそれらの実施形態に限定することを意図するものではないことが理解される。逆に、本発明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲内に含まれ得るすべての代替形、修正形、及び特定の特徴の同等物を含む同等物を網羅することが意図されている。

【0122】

前述の一般的な説明及び詳細な説明の両方、ならびに以下の実施例は、例示的及び説明的なものに過ぎず、本教示を限定するものではない。本明細書に使用される節の見出しは、構成目的のものに過ぎず、決して所望の主題を限定すると解釈されるべきではない。参照により組み込まれた文献が本明細書で定義された用語と矛盾する場合、本明細書が優先する。特に明記されていない限り、本出願で指定されているすべての範囲は、エンドポイントを含む。

【0123】

定義

本明細書で使用されるとき、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈により別途明らかに示されない限り、複数形を含むことに留意されたい。したがって、例えば、「a composition（組成物）」への言及は、複数の組成物を含み、「a cell（細胞）」への言及は、複数の細胞を含むなどとなる。「または」の使用は包括的であり、特に明記されていない限り「及び／または」を意味する。

【0124】

上記の明細書に特に記載されていない限り、様々な成分を「含む」と記載する明細書の実施形態は、記載された成分「からなる」または「から本質的になる」とみなされる。様々な成分「からなる」と記載する明細書の実施形態はまた、記載された成分を「含む」またはそれ「から本質的になる」と企図される。様々な成分「付近」と記載する本明細書の実施形態はまた、記載された成分「で」と企図される。また、様々な成分「から本質的になる」と記載する明細書の実施形態は、記載された成分「からなる」またはそれを「含む」と企図される（この互換性は、特許請求の範囲におけるこれらの用語の使用には適用されない）。

【0125】

数値範囲は、範囲を定義する数を含む。測定値及び測定可能値は、有効数字及び測定に関連する誤差を考慮して、概算であると理解される。本願で使用されるとき、「約」及び「およそ」という用語は、当該技術分野で理解される意味を有し、一方ではなく他方を使用することは、必ずしも異なる範囲を意味するわけではない。特に明記しない限り、「約」または「およそ」などの修飾語を伴ってまたは伴わずに本願で使用される数字は、関連技術分野の当業者によって理解されるように、通常の逸脱及び／または変動を包含すると理

10

20

30

40

50

解されるべきである。ある特定の実施形態では、「およそ」または「約」という用語は、特に明記されていない限り、または文脈から明らかでない限り（そのような数が可能値の 100% を超える場合を除いて）、述べられる参照値のいずれかの方向（より大きいまたはより小さい）の 25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% またはそれ以下の内に入る値の範囲を指す。

【0126】

本明細書で使用されるとき、「接触させること」という用語は、2 つ以上の実体間の物理的な接続を確立することを意味する。例えば、哺乳動物細胞をナノ粒子組成物と接触させることは、哺乳動物細胞及びナノ粒子に物理的接続を共有させることを意味する。インビボ及びエクシボの両方で細胞を外部実体と接触させる方法は、生物学分野で周知である。例えば、ナノ粒子組成物と哺乳動物内に配置された哺乳動物細胞とを接触させることは、様々な投与経路（例えば、静脈内、筋肉内、皮内、及び皮下）によって実施されてもよく、様々な量のナノ粒子組成物が伴ってもよい。さらに、1 つ超の哺乳動物細胞が、ナノ粒子組成物によって接触されてもよい。

10

【0127】

本明細書で使用されるとき、「送達すること」という用語は、実体を目的地に提供することを意味する。例えば、治療薬及び／または予防薬を対象に送達することは、治療薬及び／または予防薬を含むナノ粒子組成物を対象に投与すること（例えば、静脈内、筋肉内、皮内、または皮下経路による）を伴ってもよい。哺乳動物または哺乳動物細胞へのナノ粒子組成物の投与には、1 つ以上の細胞をナノ粒子組成物と接触させることが伴ってもよい。

20

【0128】

本明細書で使用されるとき、「カプセル化効率」は、ナノ粒子組成物の調製に使用される治療薬及び／または予防薬の初期総量に対する、ナノ粒子組成物の一部となる治療薬及び／または予防薬の量を指す。例えば、組成物に最初に提供された合計 100 mg の治療薬及び／または予防薬のうち 97 mg の治療薬及び／または予防薬がナノ粒子組成物にカプセル化される場合、カプセル化効率は 97% と付与されてもよい。本明細書で使用されるとき、「カプセル化」は、完全な、実質的な、または部分的な封入、閉込め、囲込み、または包装を指してもよい。

30

【0129】

本明細書で使用されるとき、「生分解性」という用語は、細胞に導入されると、細胞機構（例えば、酵素分解）によって、または細胞が細胞への重大な毒性の影響（複数可）なしに再利用または廃棄できる成分へと加水分解によって分解される材料を指すために使用される。ある特定の実施形態では、生分解性材料の分解によって生成された成分は、インビボで炎症及び／または他の有害作用を誘発しない。いくつかの実施形態では、生分解性材料は、酵素的に分解される。あるいは、または加えて、いくつかの実施形態では、生分解性材料は、加水分解によって分解される。

【0130】

本明細書で使用されるとき、「N/P 比」は、RNA 中、例えば脂質成分及び RNA を含むナノ粒子組成物中の、イオン化可能な窒素原子含有脂質（例えば、式 I の化合物）とリン酸基とのモル比である。

40

【0131】

組成物はまた、1 つ以上の化合物の塩を含んでもよい。塩は、薬学的に許容される塩であってもよい。本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容される塩」は、既存の酸または塩基部分をその塩形態に変換することにより（例えば、遊離塩基を好適な有機酸と反応させることにより）親化合物が改変される、開示される化合物の誘導体を指す。薬学的に許容される塩の例には、アミンなどの塩基性残基の無機または有機酸塩、カルボン酸などの酸性残基のアルカリまたは有機塩などが挙げられるが、これらに限定されない。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパ

50

ラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフトレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなど、ならびに無毒のアンモニウム、第四級アンモニウム、及びアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含むがこれらに限定されないアミンカチオンが挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩としては、例えば、無毒の無機酸または有機酸から形成される親化合物の従来の無毒の塩が挙げられる。本開示の薬学的に許容される塩は、従来の化学的方法により、塩基性または酸性部分を含む親化合物から合成することができる。一般的に、このような塩は、これらの化合物の遊離酸または塩基形態を、水中または有機溶媒またはこれら2つの混合物（一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒体が好ましい）中で化学量論的な量の適切な塩基または酸と反応させることによって調製することができる。好適な塩のリストは、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. H. Stahl and C. G. Wermuth (eds.), Wiley-VCH, 2008、及びBerge et al., Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19 (1977)に見出され、その各々は全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0132】

本明細書で使用されるとき、「多分散指数」は、系の粒径分布の均一性を表す比率である。例えば、0.3未満の小さい値は、狭い粒径分布を示す。いくつかの実施形態では、多分散指数は、0.1未満であってもよい。

【0133】

本明細書で使用されるとき、「トランスフェクション」とは、種（例えば、RNA）の細胞への導入を指す。トランスフェクションは、例えば、インビトロ、エクスピボ、またはインビボで起こり得る。

【0134】

本明細書で使用されるとき、「アルキル」という用語は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、s-ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、エイコシル、テトラコシルなどの1~24個の炭素原子の分岐鎖または非分岐鎖の飽和炭化水素基である。アルキル基は、環状または非環状であり得る。アルキル基は、分岐鎖または非分岐鎖（すなわち、直鎖）であり得る。アルキル基はまた、置換または非置換であり得る。例えば、アルキル基は、本明細書に記載されているように、アルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、アルコキシ、アミノ、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ニトロ、シリル、スルホキソ、スルホネート、カルボキシレート、またはチオールを含むがこれらに限定されない1つ以上の基で置換され得る。「低級アルキル」基は、1~6個（例えば、1~4個）の炭素原子を含むアルキル基である。

【0135】

本明細書で使用されるとき、「アルケニル」という用語は、少なくとも1個の炭素-炭素二重結合を含有する脂肪族基を指し、「非置換アルケニル」と「置換アルケニル」との両方を含むものとし、後者はアルケニル基の1つ以上の炭素原子上の水素を代置する置換基を有するアルケニル部分を指す。そのような置換基は、1つ以上の二重結合に含まれるかまたは含まれない1つ以上の炭素上にあってもよい。さらに、そのような置換基には、安定性により禁止である場合を除いて、以下に述べるようなアルキル基について企図されるすべてのものが含まれる。例えば、1つ以上のアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリール基により置換されてもよいアルケニル基が企図される。例示的なアルケニル基としては、ビニル ($-\text{CH}=\text{CH}_2$)、アリル ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$)、シクロペンテニル ($-\text{C}_5\text{H}_7$)、及び5-ヘキセニル ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0136】

「アルキレン」基は、分岐鎖または非分岐鎖（すなわち、直鎖）であってもよい二価のアルキルラジカルを指す。上述の一価アルキル基のうちのいずれも、アルキルからの第2の水素原子の引抜きによってアルキレンに変換されてもよい。代表的なアルキレンとしては、 C_2-4 アルキレン及び C_2-3 アルキレンが挙げられる。典型的なアルキレン基としては、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ などが挙げられるが、これらに限定されない。アルキレン基はまた、置換または非置換であり得る。例えば、アルキレン基は、本明細書に記載されているように、アルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル、アルコキシ、アミノ、エーテル、ハライド、ヒドロキシ、ニトロ、シリル、スルホキソ、スルホネート、カルボキシレート、またはチオールを含むがこれらに限定されない1つ以上の基で置換され得る。

20

【0137】

「アルケニレン」という用語は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有し、一実施形態では、炭素-炭素三重結合を有しない、二価の、直鎖または分岐鎖の、不飽和の非環式ヒドロカルビル基を含む。上述の一価アルケニル基のいずれも、アルケニルからの第2の水素原子の引抜きによってアルケニレンに変換され得る。代表的なアルケニレンとしては、 C_2-6 アルケニレンが挙げられる。

30

【0138】

「 C_x-y 」という用語は、アルキルまたはアルキレンなどの化学部分とともに使用される場合、鎖中に $x \sim y$ 個の炭素を含有する基を含むことを意味する。例えば、「 C_x-y アルキル」という用語は、鎖中に $x \sim y$ 個の炭素を含有する直鎖及び分岐鎖のアルキル及びアルキレン基を含む、置換または非置換の飽和炭化水素基を指す。

【0139】

参照による組み込み

本明細書で言及または引用されている記事、特許、及び特許出願の内容、ならびに他のすべての文書及び電子的に入手可能な情報は、各々個別の刊行物が参照により具体的かつ個別に組み込まれることが示された場合と同程度に、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。出願人は、そのような記事、特許、特許出願、またはその他の物理的及び電子的文書からのすべての資料及び情報をこの出願に物理的に組み込む権利を留保する。

40

【実施例】

【0140】

一般情報

すべての試薬及び溶媒は、商業供給業者から購入し、受け取ったまま使用するか、引用する手順に従って合成した。すべての中間体及び最終化合物は、シリカゲル上のフラッシュカラムクロマトグラフィーを使用して精製した。NMRスペクトルは、BrukerまたはVarianの400MHzの分光計で記録し、NMRデータは、周囲温度で、 CDCl_3 中で収集した。化学シフトは、 CDCl_3 (7.26) と比較して、百万分の1 (p

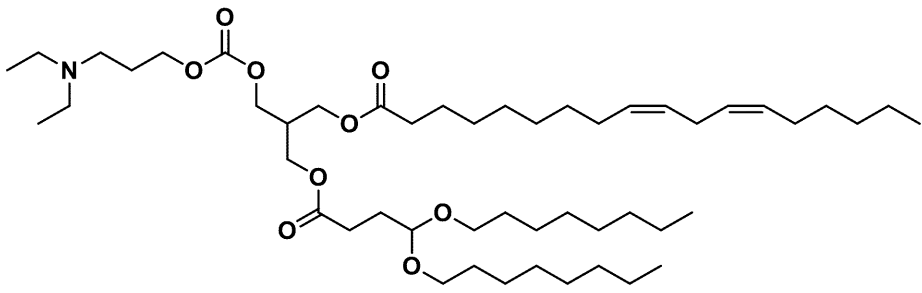
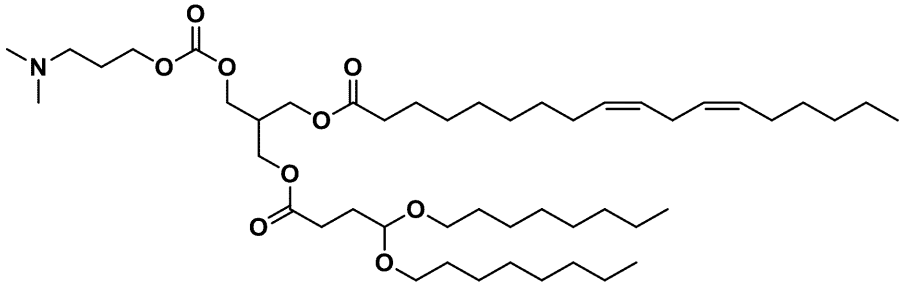
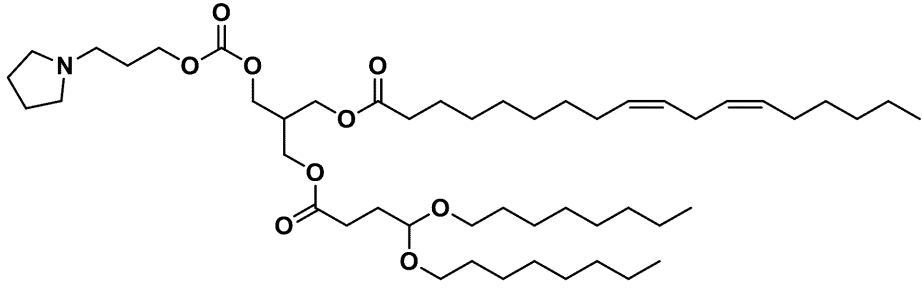
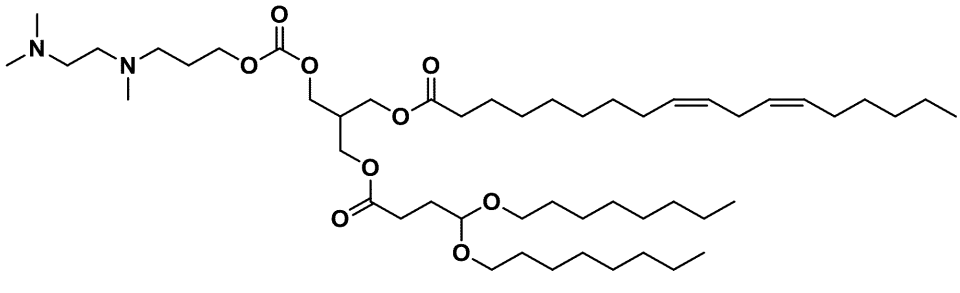
50

p m) で報告される。 ^1H NMRのデータは、化学シフト、多重度 (b r = 広域、s = 一重項、d = 二重項、t = 三重項、d d = 二重項の二重項、d t = 三重項の二重項、q = 四重項、m = 多重項、d d d = 二重項の二重項の二重項、t d = 二重項の三重項、t t = 三重項の三重項、t d d = 二重項の二重項の三重項、d d d d = 二重項の二重項の二重項の二重項)、結合定数、及び積分として報告する。MSデータは、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) ソースを備えたWaters SQD2質量分析計で記録した。最終化合物の純度は、フォトダイオードアレイ (PDA) 及び蒸発光散乱 (ELS) 検出器を有するSQD2質量分析計を備えたWaters Acquity H-Class液体クロマトグラフィー計器を使用したUPLC-MS-ELSによって決定した。

【0141】

10

【化27】

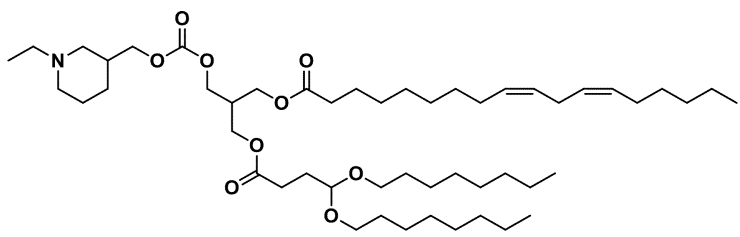
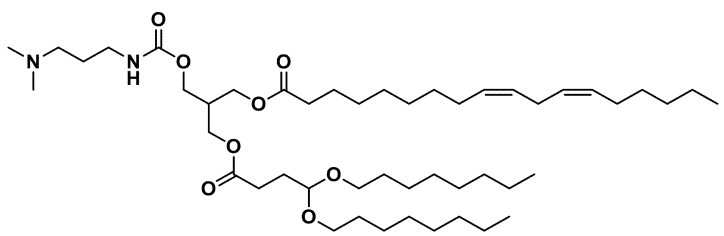
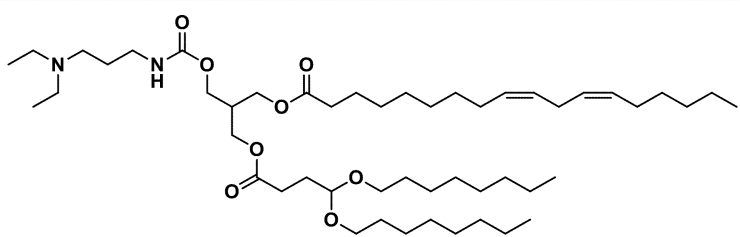
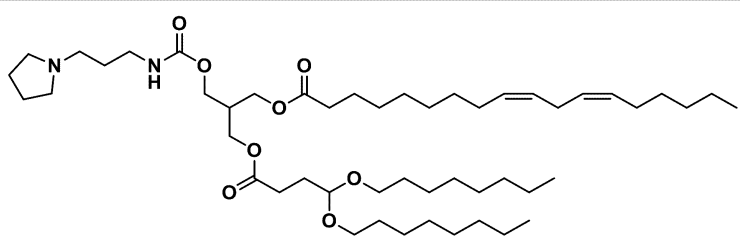
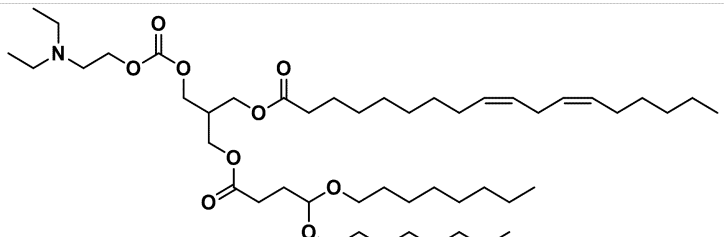
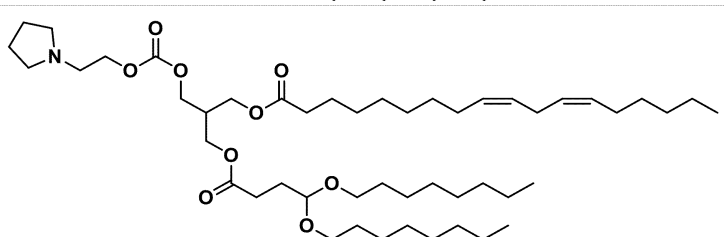
化合物	構造
1	
2	
3	
4	

20

30

40

50

5	
6	
7	
8	
9	
10	

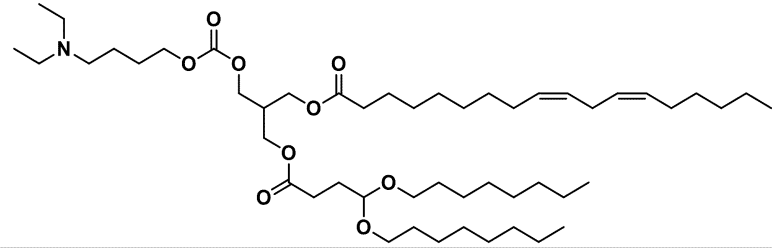
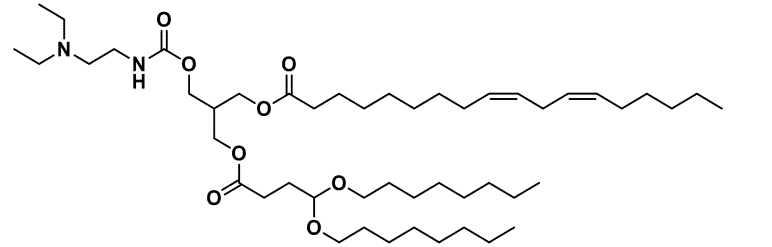
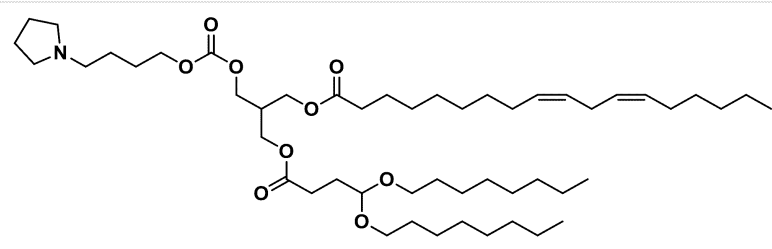
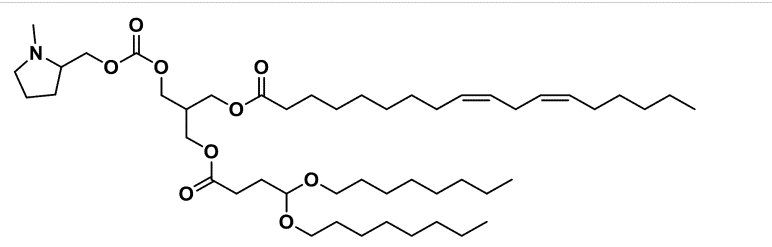
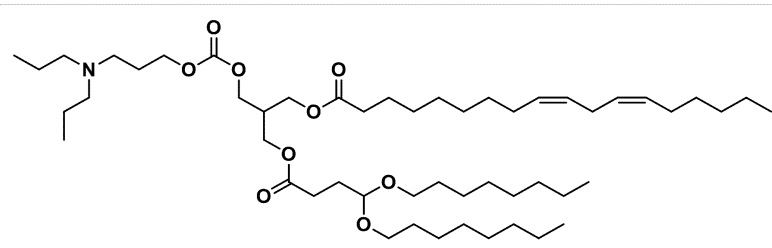
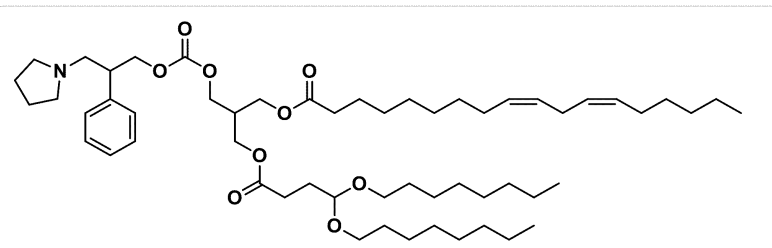
10

20

30

40

50

1 1	
1 2	
1 3	
1 4	
1 5	
1 6	

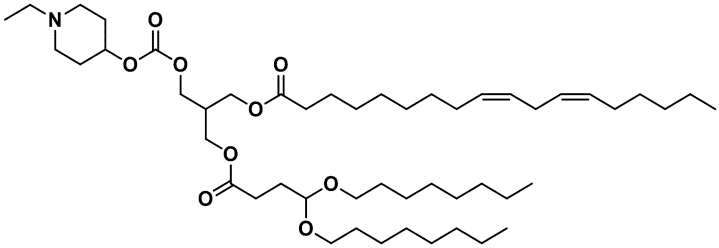
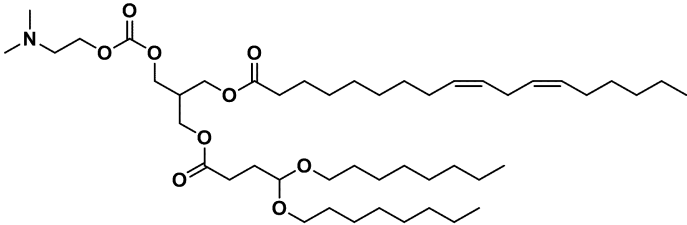
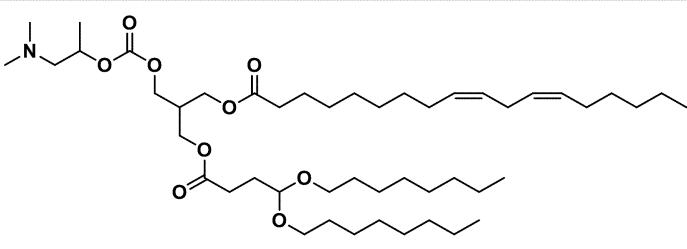
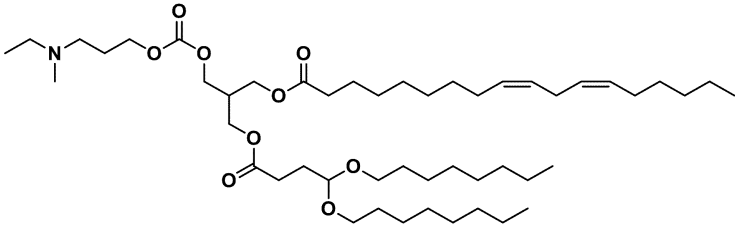
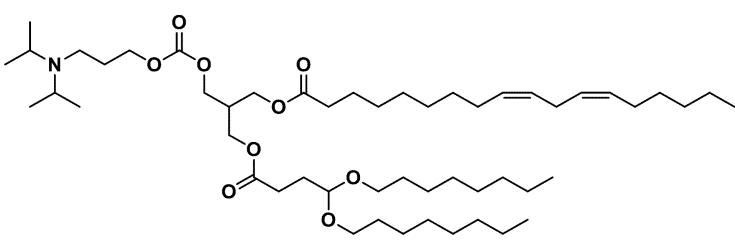
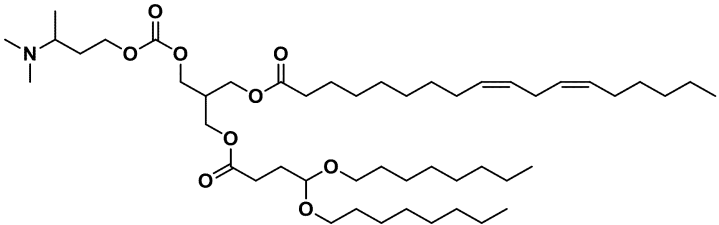
10

20

30

40

50

1 7	
1 8	
1 9	
2 0	
2 1	
2 2	

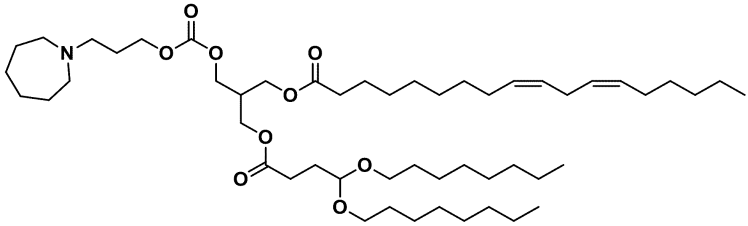
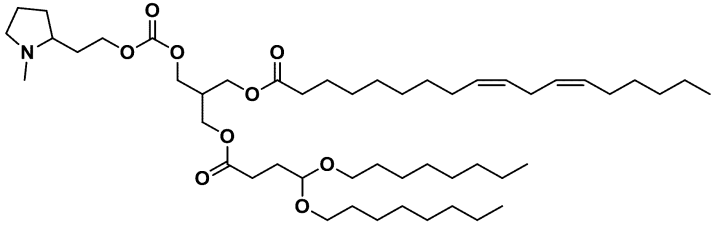
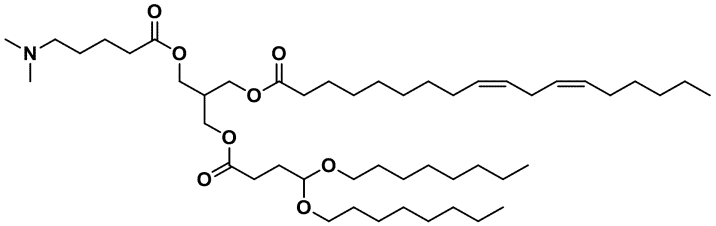
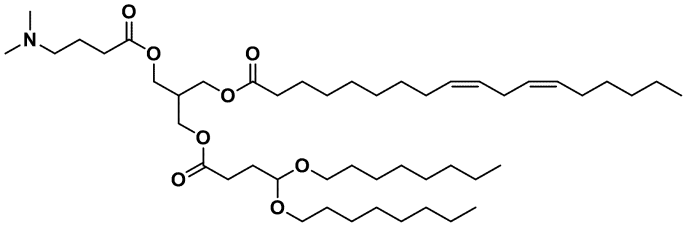
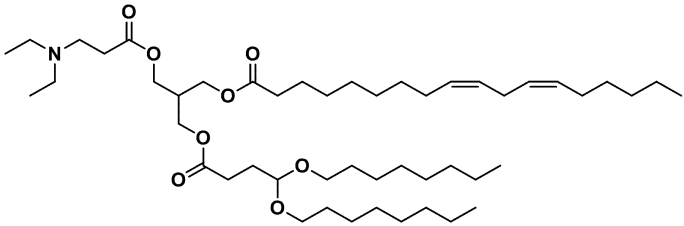
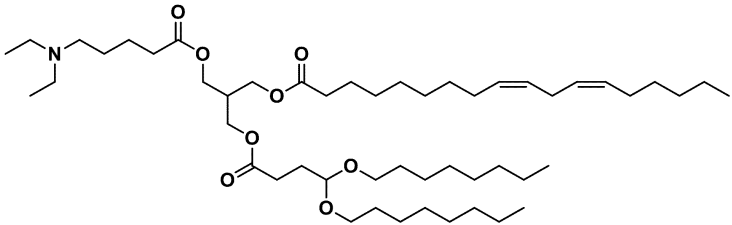
10

20

30

40

50

2 3	
2 4	
2 5	
2 6	
2 7	
2 8	

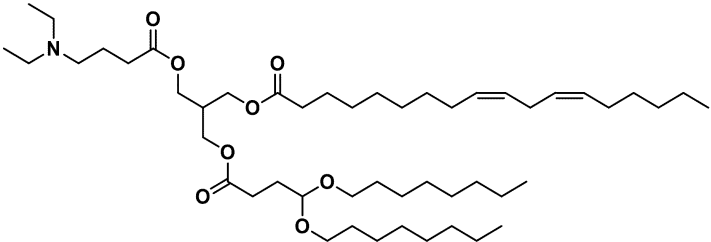
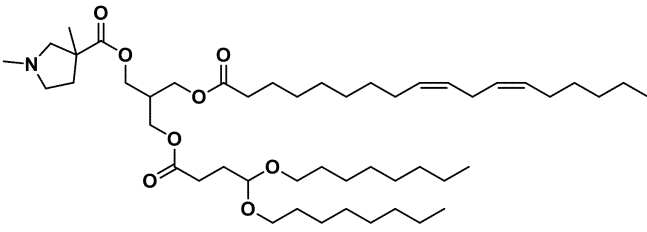
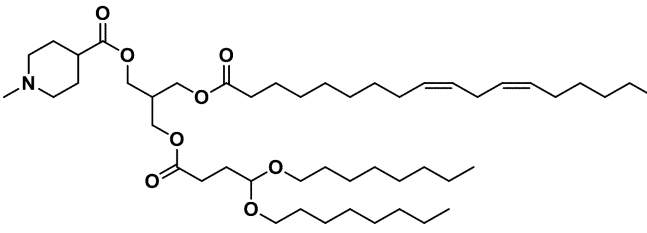
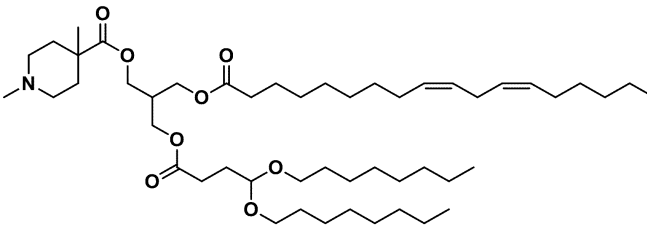
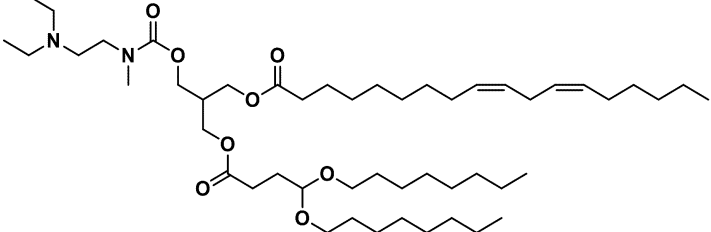
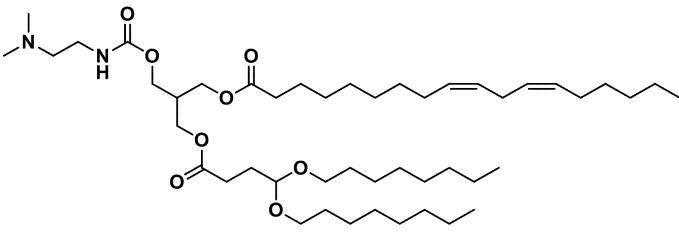
10

20

30

40

50

2 9	
3 0	
3 1	
3 2	
3 3	
3 4	

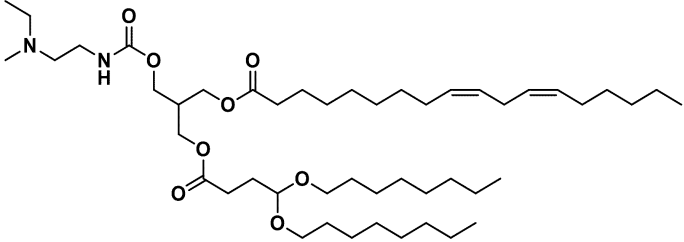
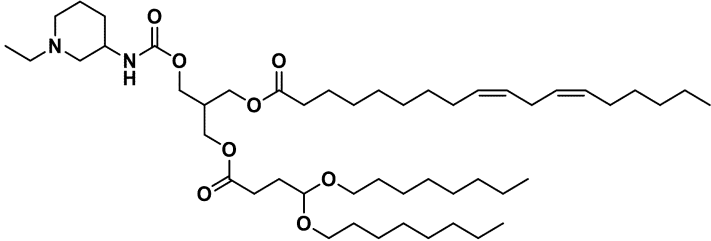
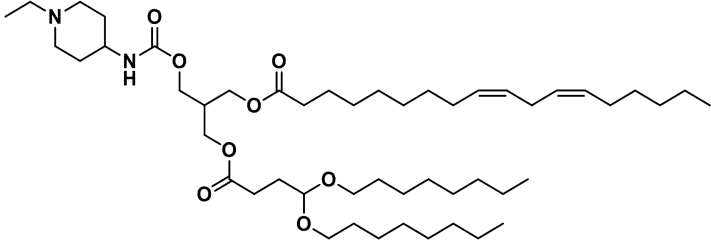
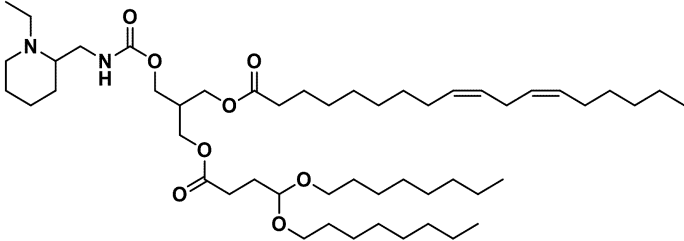
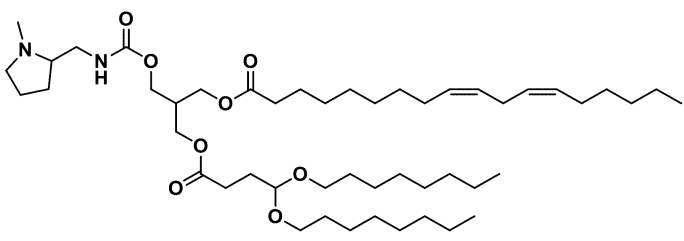
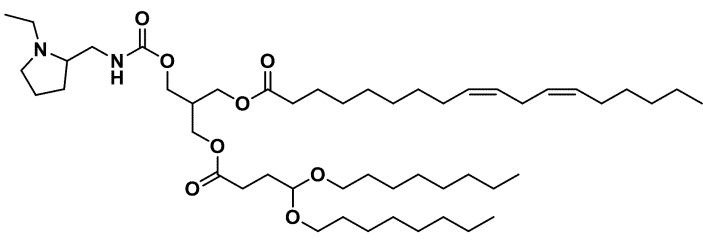
10

20

30

40

50

3 5	
3 6	
3 7	
3 8	
3 9	
4 0	

10

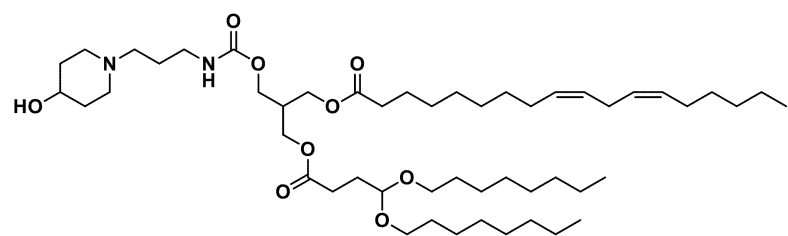
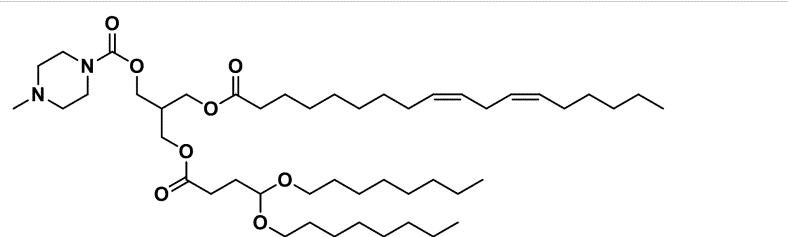
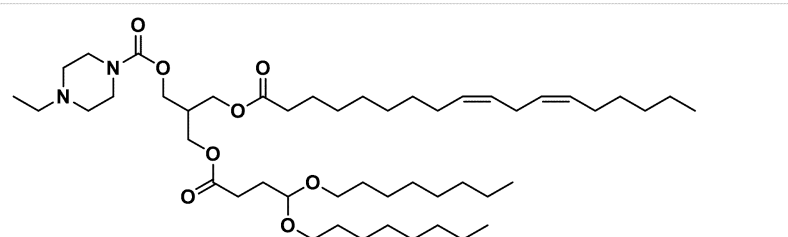
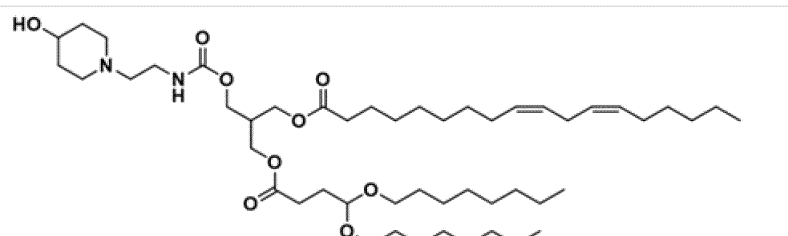
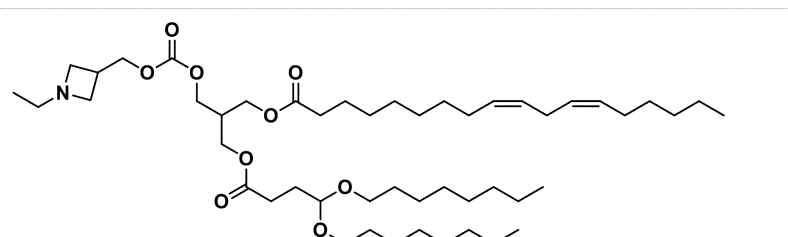
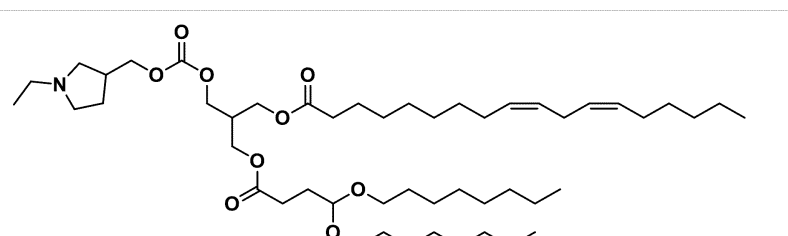
20

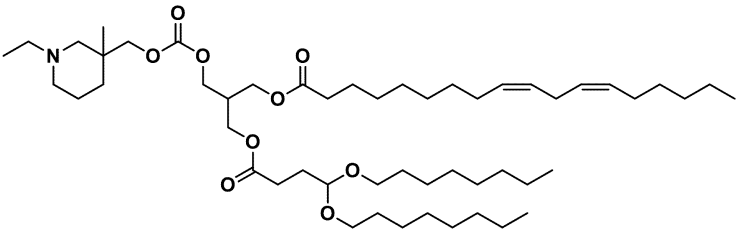
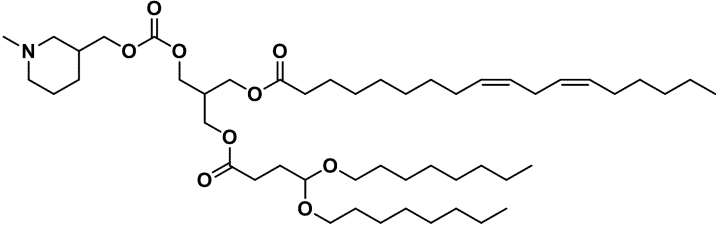
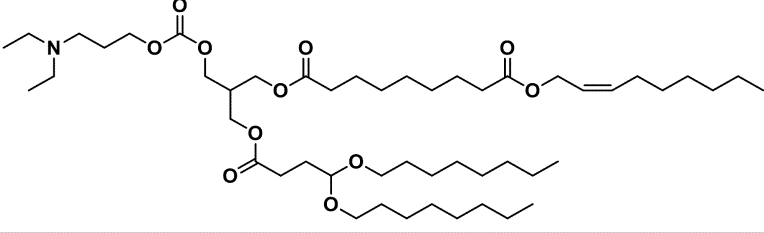
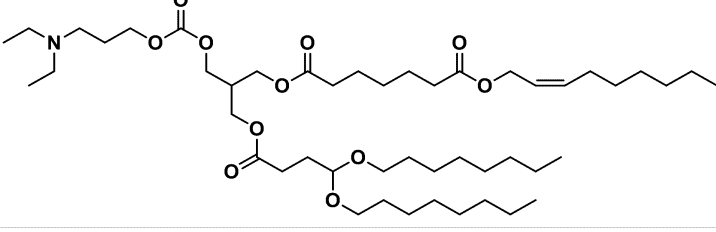
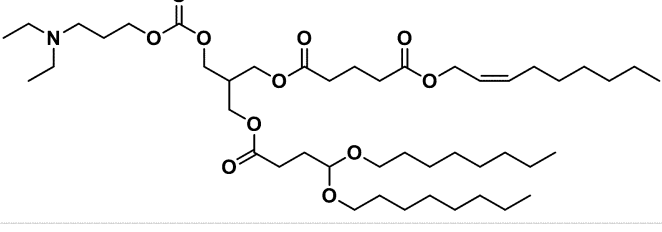
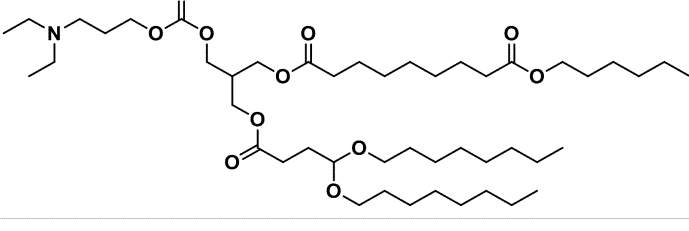
30

40

50

4 1	 <chem>CCN1CCCC1C(=O)OCCOC(=O)CCOC(=O)CCCCCCCC/C=C\CCCCCCCC</chem>	10
4 2	 <chem>CC1NCCCCC1C(=O)OCCOC(=O)CCOC(=O)CCCCCCCC/C=C\CCCCCCCC</chem>	20
4 3	 <chem>CC1CNCCC1C(=O)OCCOC(=O)CCOC(=O)CCCCCCCC/C=C\CCCCCCCC</chem>	30
4 4	 <chem>CCN1(C)CCCC1C(=O)OCCOC(=O)CCOC(=O)CCCCCCCC/C=C\CCCCCCCC</chem>	40
4 5	 <chem>CC(C)N1CCCC1C(=O)OCCOC(=O)CCOC(=O)CCCCCCCC/C=C\CCCCCCCC</chem>	50

4 6	
4 7	
4 8	
4 9	
5 0	
5 1	

5 2	
5 3	
5 4	
5 5	
5 6	
5 7	

10

20

30

40

50

5 8	
5 9	
6 0	
6 1	
6 2	
6 3	

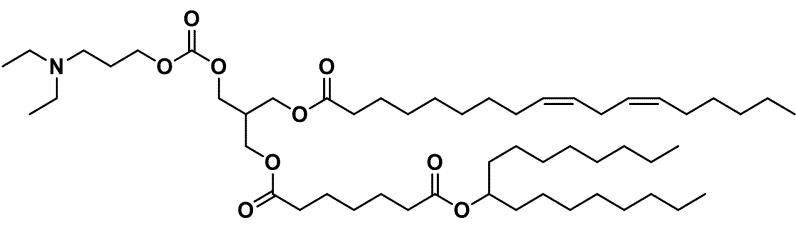
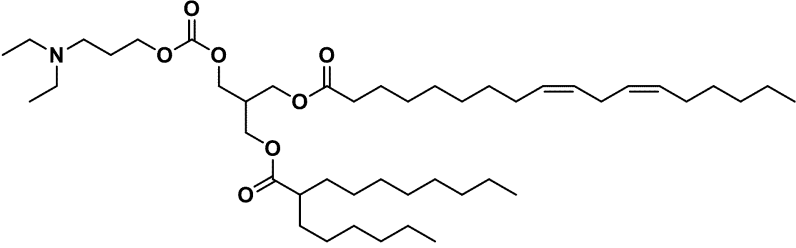
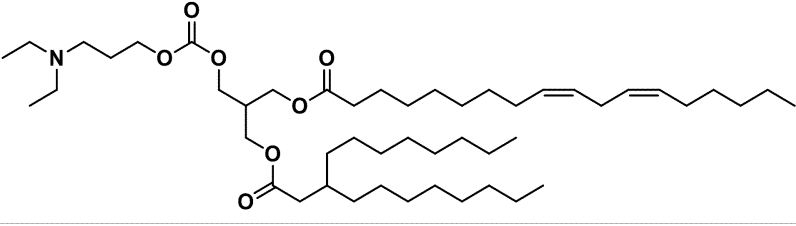
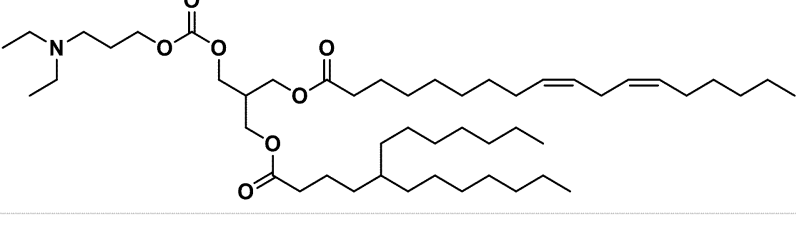
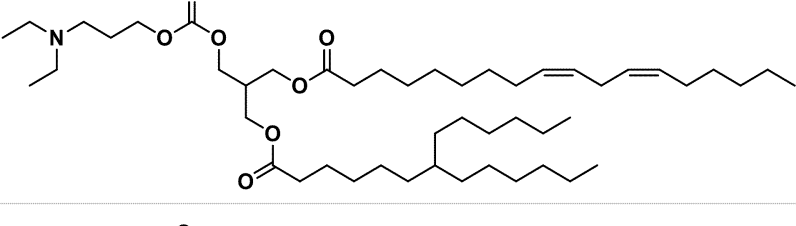
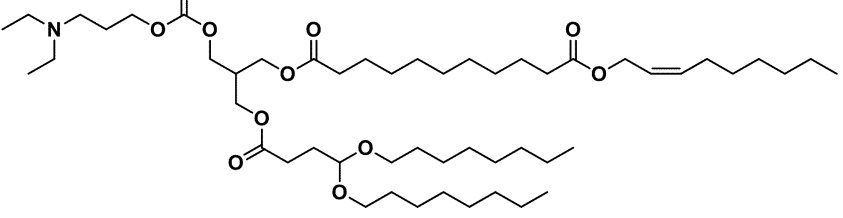
10

20

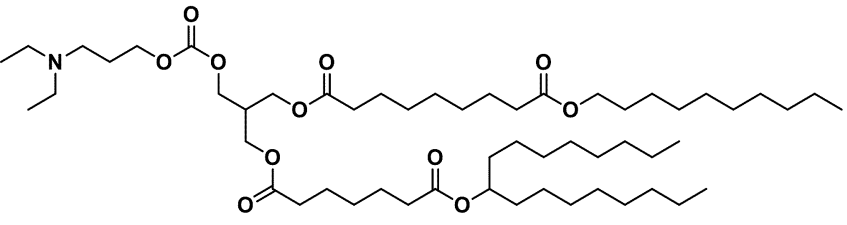
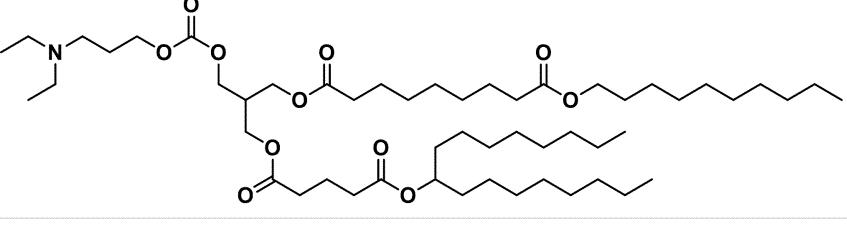
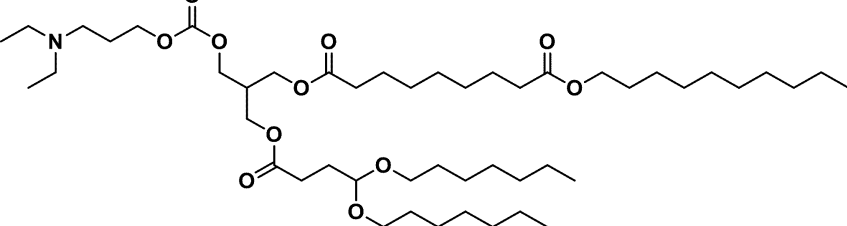
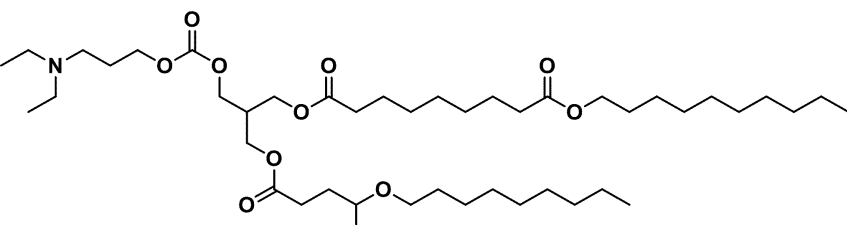
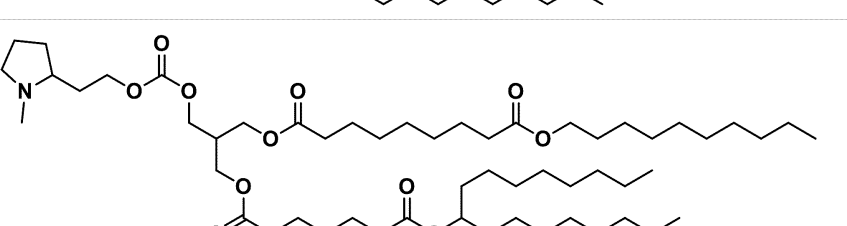
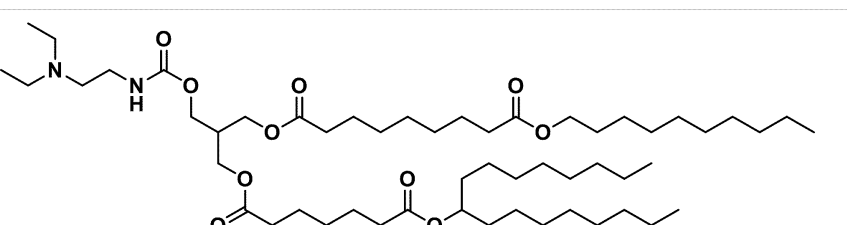
30

40

50

6 4	
6 5	
6 6	
6 7	
6 8	
6 9	

7 0		
7 1		10
7 2		20
7 3		
7 4		30
7 5		40

7 6	
7 7	
7 8	
7 9	
8 0	
8 1	

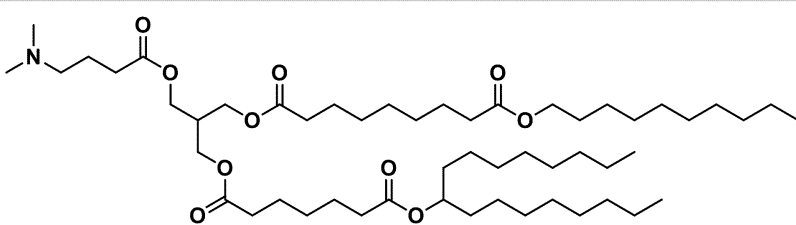
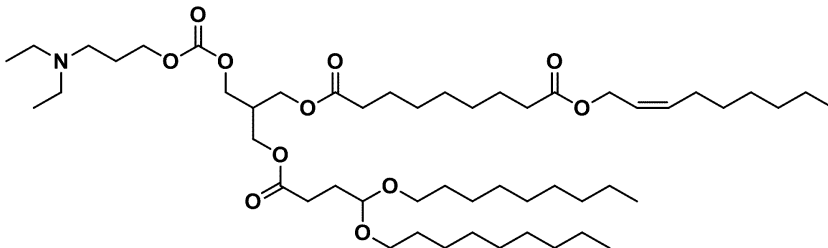
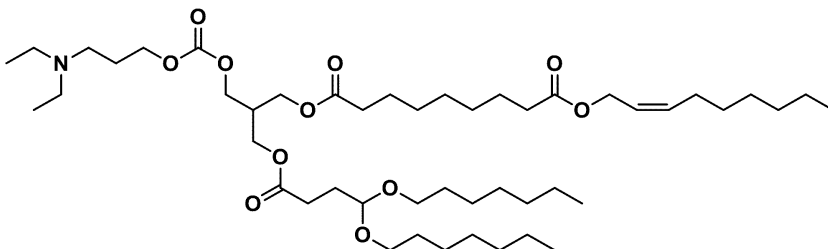
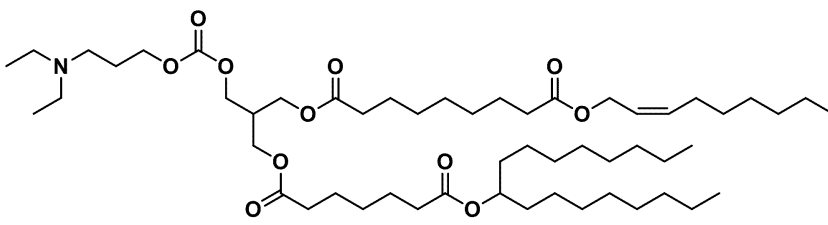
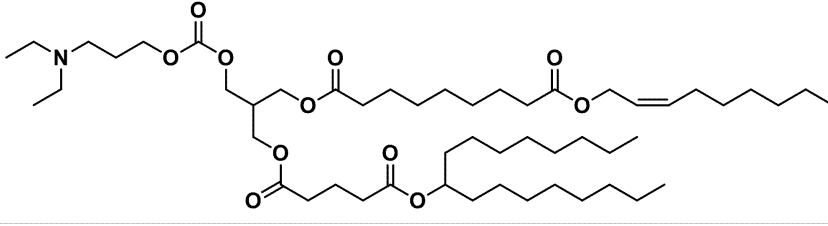
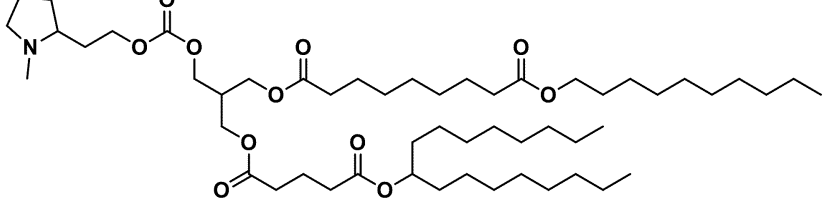
10

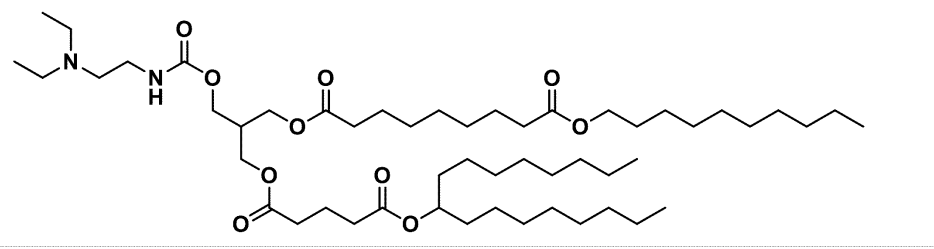
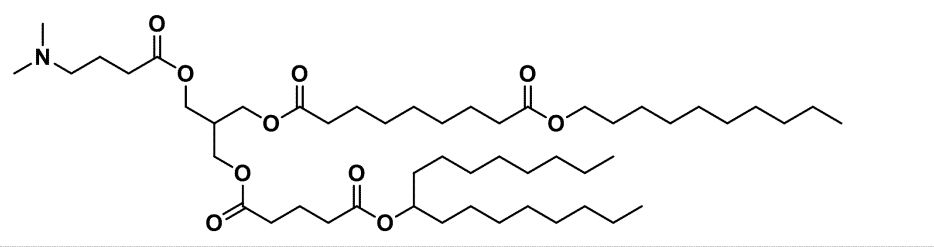
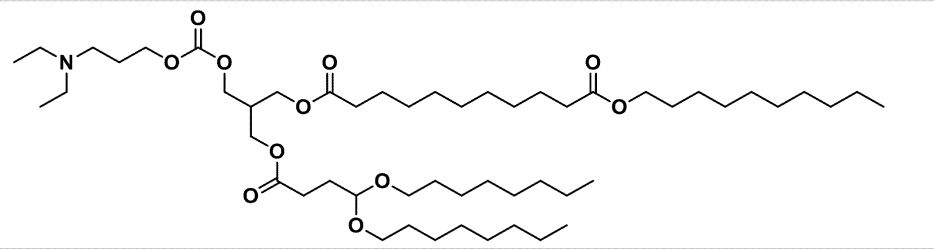
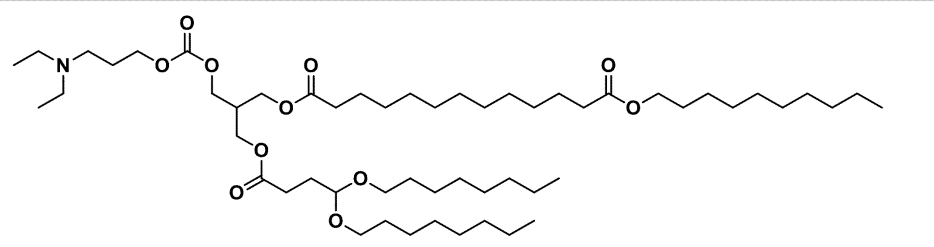
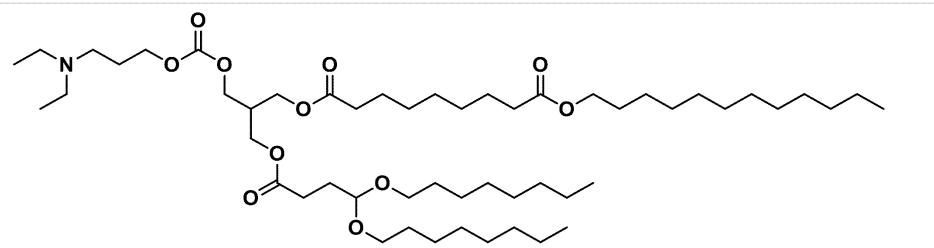
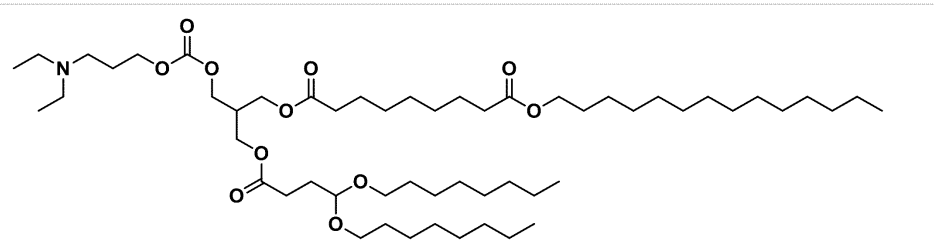
20

30

40

50

8 2	
8 3	
8 4	
8 5	
8 6	
8 7	

8 8	
8 9	
9 0	
9 1	
9 2	
9 3	

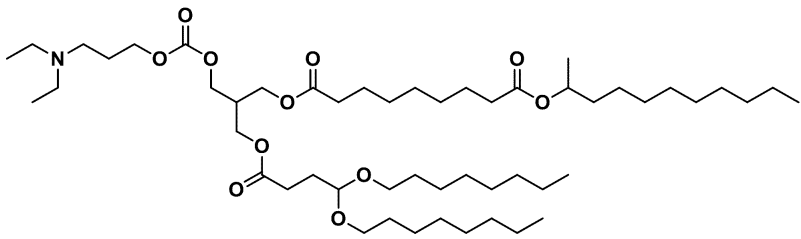
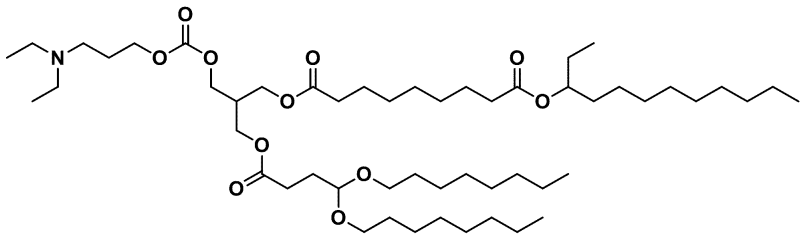
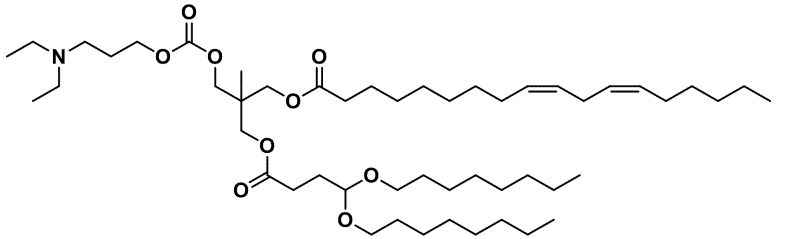
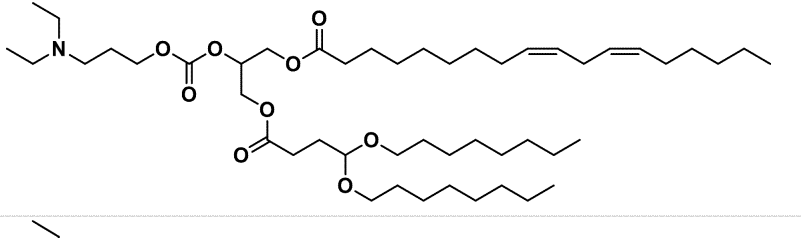
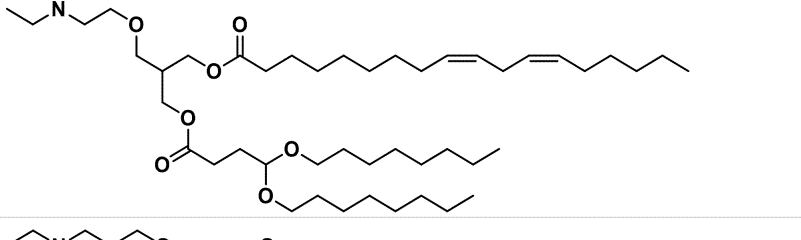
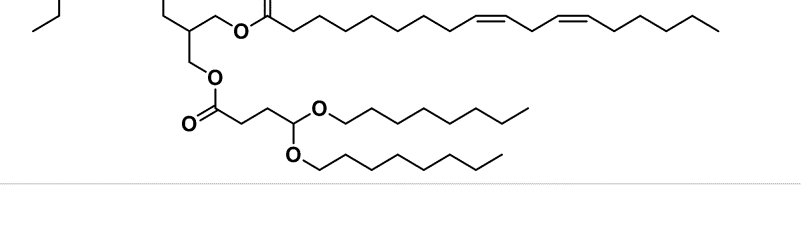
10

20

30

40

50

9 4	
9 5	
9 6	
9 7	
9 8	
9 9	

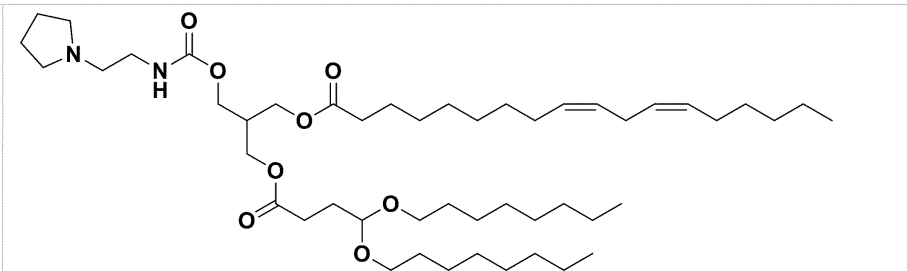
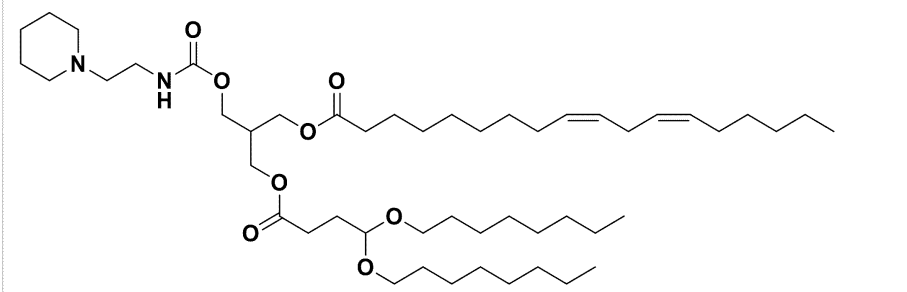
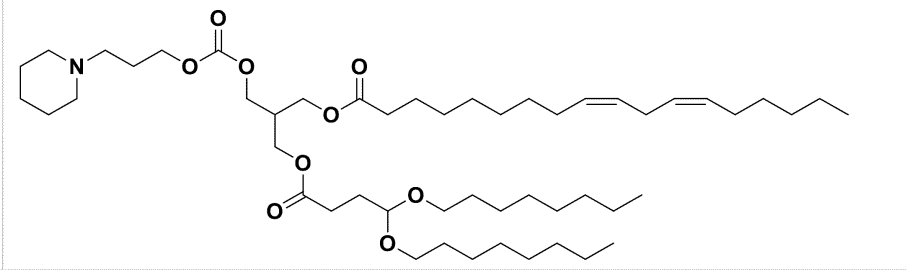
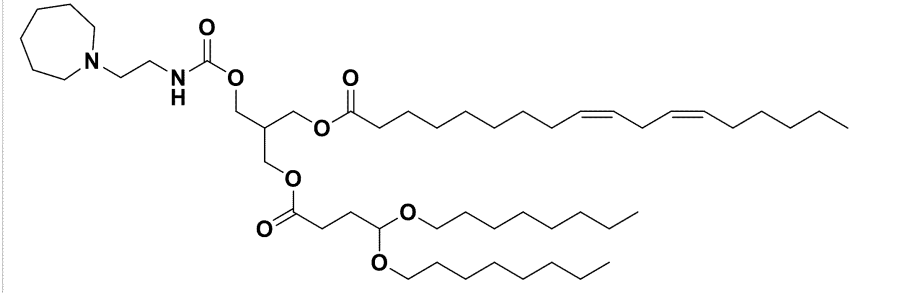
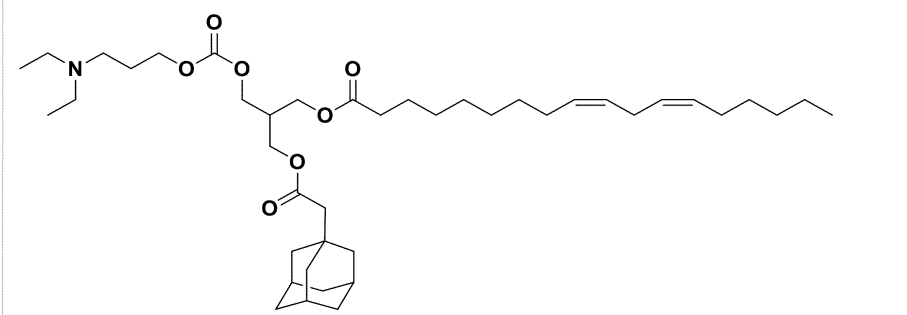
10

20

30

40

50

1 0 0	
1 0 1	
1 0 2	
1 0 3	
1 0 7	

10

20

30

40

50

1 1 3	
1 1 4	
1 1 5	
1 1 6	
1 1 7	
1 1 8	

10

20

30

40

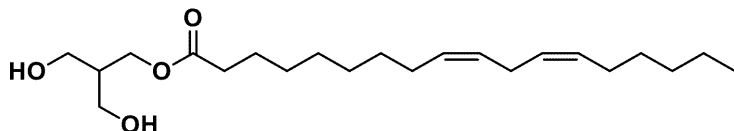
【 0 1 4 2 】

実施例の合成

実施例 1 の合成

中間体 1 a : 3 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) プロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【化 28】



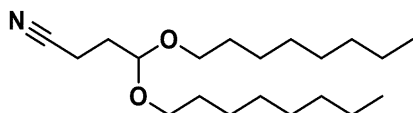
DCM (100 mL) 中のリノール酸 (13.2 g、47.1 mmol)、DMAP (1.15 g、9.42 mmol)、DIPEA (12.3 mL、70.6 mmol)、及び 2-(ヒドロキシメチル)プロパン-1,3-ジオール (5 g、47.1 mmol) の溶液に、EDC・HCl (13.5 g、70.6 mmol) を室温で添加した。反応混合物を室温で 24 時間攪拌し、真空中で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー (120 g の H₂Si、ヘキサン中の 0~50% EtOAc) を使用して直接精製して、6.7 g (18.1 mmol、収率 39%) の所望の生成物を油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44–5.25 (m, 4H), 4.25 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.76 (m, 4H), 2.77 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.43–2.27 (m, 4H), 2.11–1.96 (m, 5H), 1.62 (m, 2H), 1.43–1.22 (m, 14H), 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 3H) ppm。

10

【0143】

中間体 1b: 4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタンニトリル

【化 29】



20

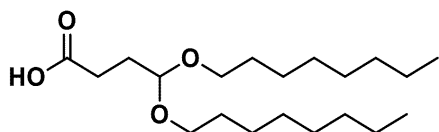
4,4-ジエトキシブタンニトリル (9.4 g、60 mmol、1 当量) 及びオクタン-1-オール (3 当量) の混合物に、ピリジニウム p-トルエンスルホン酸塩 (0.05 当量) を室温で添加した。反応混合物を 105℃ に加温し、反応容器を空気に開いたまま少なくとも 18 時間攪拌し、還流凝縮器を取り付けなかった。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、シリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の EtOAc の勾配) を使用して直接精製して、10.1 g (31.0 mmol、収率 52%) の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.55 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.60 (dt, J = 9.2, 6.6 Hz, 2H), 3.43 (dt, J = 9.2, 6.6 Hz, 2H), 2.42 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.94 (td, J = 7.4, 5.3 Hz, 2H), 1.63–1.50 (m, 4H), 1.38–1.19 (m, 20H), 0.93–0.82 (m, 6H) ppm; MS: 348 m/z [M + Na]。

30

【0144】

中間体 1c: 4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタン酸

【化 30】



40

エタノール (1 M) 中の中間体 1b (8.42 g、31 mmol、1 当量) の溶液に、水酸化カリウム水溶液 (2.5 M、2.5 当量) を室温で添加した。反応容器に還流凝縮器を取り付けると、反応混合物を 110℃ に加温し、20~24 時間攪拌した。次いで、反応混合物を室温に冷却し、1 N の HCl 水溶液で pH 5 に酸性化し、ヘキサンに抽出した。組み合わせた有機抽出物を水及びブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウムまたは硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、8.15 g (23.6 mmol、収

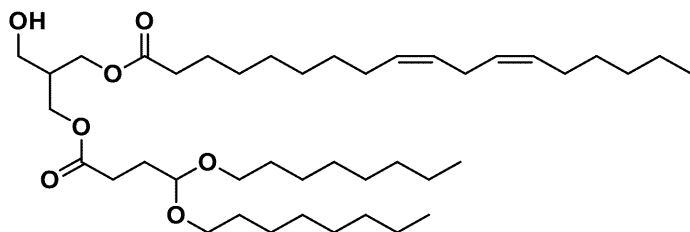
50

率 76%) の所望の生成物を透明油として得、これをさらなる精製なしで粗製を使用した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.50 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.57 (dt, J = 9.4, 6.7 Hz, 2H), 3.41 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.92 (td, J = 7.4, 5.3 Hz, 2H), 1.56 (m, 4H), 1.37–1.21 (m, 20H), 0.92–0.83 (m, 6H) ppm; MS: 343 m/z [M–H]。

【0145】

中間体 1d: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化31】

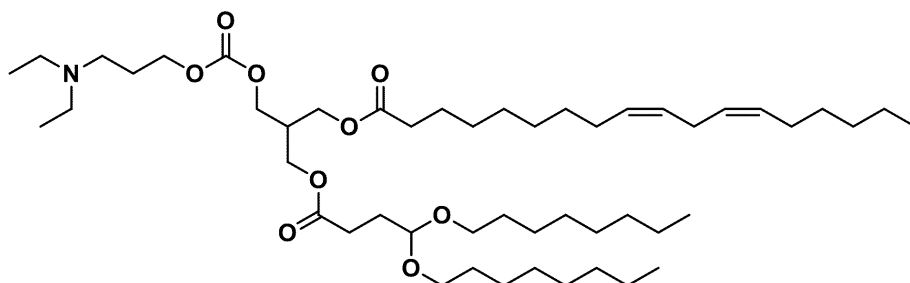


DCM (0.08~0.4 M) 中の中間体 1a (0.8~1.2 当量) 及び中間体 1c (1.1 g、3.2 mmol、1 当量の溶液に、DMAP (0.1~0.2 当量)、DIEA (1.4~3 当量)、及び EDC·HCl (1.4~1.6 当量) を室温で添加した。反応混合物を室温で少なくとも 5 時間攪拌し、真空中で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン中の EtOAc の勾配)を使用して直接精製して、1.08 g (1.55 mmol、収率 48%) の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.36 (m, 4H), 4.49 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 4.17 (m, 4H), 3.66–3.53 (m, 4H), 3.40 (m, 2H), 2.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.41 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.32 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.19 (m, 2H), 2.05 (m, 4H), 1.93 (m, 2H), 1.58 (m, 7H), 1.31 (m, 32H), 0.88 (m, 9H) ppm。

【0146】

実施例 1: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化32】



アセトニトリル (0.04~0.1 M) 中の中間体 1d (1.08 g、1.55 mmol、1 当量) の溶液に、ピリジン (2 当量)、DMAP (0.2 当量)、及び 4-ニトロフェニルクロロホルメート (1.5 当量) を室温で連続的に添加した。少なくとも 2 時間攪拌した後に、3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オール (3 当量) を添加し、得られた反応混合物を室温でさらに 2~24 時間攪拌した。反応混合物をヘキサン (20 mL) に抽出し、水で洗浄した。得られた水層をヘキサンで再抽出した。組み合わせたヘキサン層を無水 MgSO₄ または Na₂SO₄ 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残

留物をシリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン中のEtOAcまたはDCM中のメタノールの勾配）を使用して精製して、711mg（0.834mmol、収率54%）の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR（CDCl₃，400MHz）δ 5.35（m，4H），4.48（t，J=5.6Hz，1H），4.17（m，8H），3.56（m，2H），3.40（m，2H），2.77（t，J=6.6Hz，2H），2.55（q，J=7.2Hz，6H），2.40（m，3H），2.30（t，J=7.6Hz，2H），2.05（q，J=6.8Hz，4H），1.92（m，2H），1.84（m，2H），1.57（m，6H），1.30（m，34H），1.03（t，J=7.2Hz，6H），0.88（m，9H）ppm；MS：853m/z [M+H]。

【0147】

10

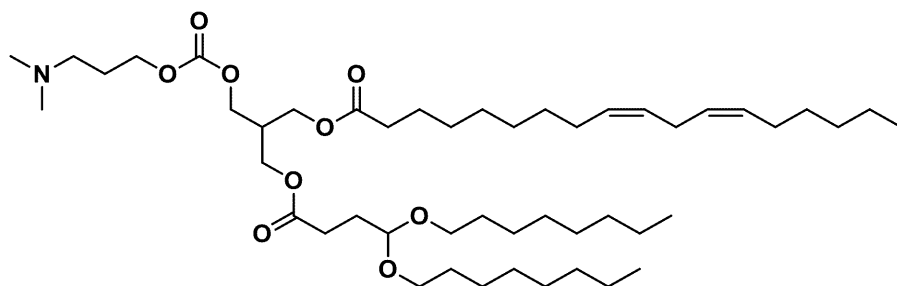
実施例2～24の合成

以下の実施例を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体1d及びアミノアルコールまたはジアミン試薬から合成した。

【0148】

実施例2：3-（（4，4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（3-（ジメチルアミノ）プロポキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル（9Z，12Z）-オクタデカ-9，12-ジエノエート

【化33】



20

収率42%；¹H NMR（400MHz，CDCl₃）δ 5.44-5.27（m，4H），4.48（t，J=5.5Hz，1H），4.23-4.08（m，8H），3.56（dt，J=9.3，6.7Hz，2H），3.40（dt，J=9.3，6.7Hz，2H），2.77（t，J=6.5Hz，2H），2.47-2.34（m，5H），2.30（t，J=7.6Hz，2H），2.24（s，6H），2.05（q，J=6.9Hz，4H），1.97-1.79（m，4H），1.58（m，6H），1.41-1.24（m，34H），0.88（m，9H）ppm。MS：825m/z [M+H]。

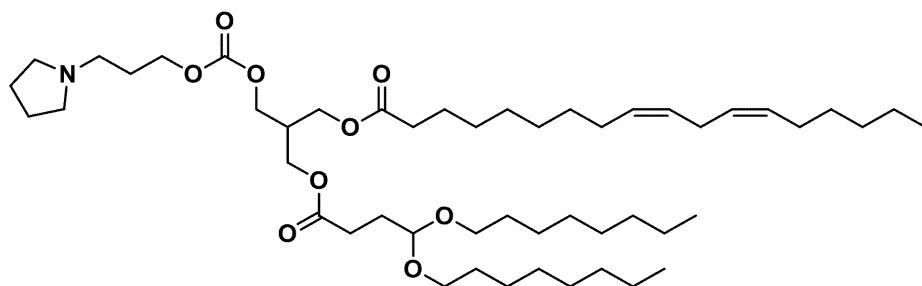
30

【0149】

実施例3：3-（（4，4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（3-（ピロリジン-1-イル）プロポキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル（9Z，12Z）-オクタデカ-9，12-ジエノエート

【化34】

40



収率38%；¹H NMR（400MHz，，CDCl₃）δ 5.44-5.27（m，

50

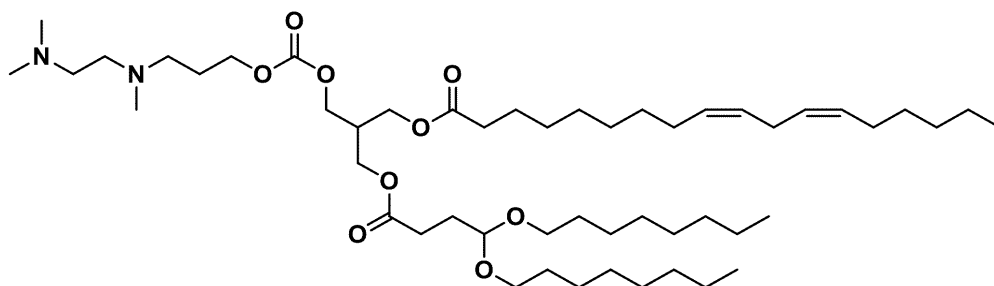
4 H), 4.48 (t, J=5.5 Hz, 1 H), 4.24–4.08 (m, 8 H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.40 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 2.77 (t, J=6.5 Hz, 2 H), 2.56 (m, 6 H), 2.47–2.35 (m, 3 H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 2 H), 2.05 (q, J=6.8 Hz, 4 H), 1.97–1.85 (m, 4 H), 1.86–1.73 (m, 4 H), 1.58 (m, 6 H), 1.41–1.24 (m, 34 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 851 m/z [M+H]。

【0150】

実施例4：13-(((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)メチル)-2,5-ジメチル-10-オキソ-9,11-ジオキサ-2,5-ジアザテトラデカン-14-イル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

10

【化35】



20

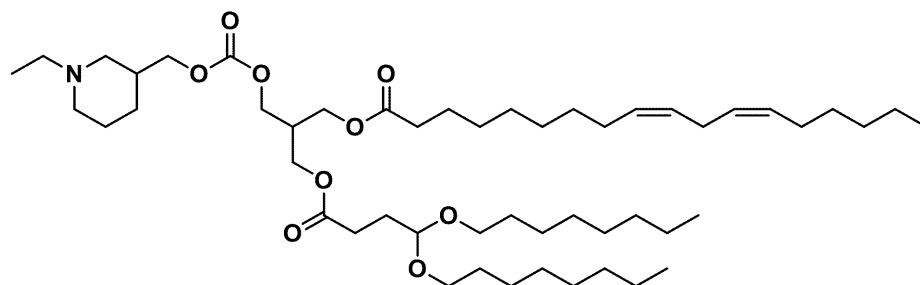
収率25%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, J=5.5 Hz, 1 H), 4.22–4.11 (m, 8 H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.40 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 2.77 (t, J=6.5 Hz, 2 H), 2.58–2.38 (m, 9 H), 2.33–2.28 (m, 8 H), 2.25 (s, 3 H), 2.05 (q, J=6.8 Hz, 4 H), 1.97–1.79 (m, 4 H), 1.58 (m, 6 H), 1.41–1.23 (m, 34 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 882 m/z [M+H]。

【0151】

実施例5：3-(((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチルピペリジン-3-イル)メトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

30

【化36】



40

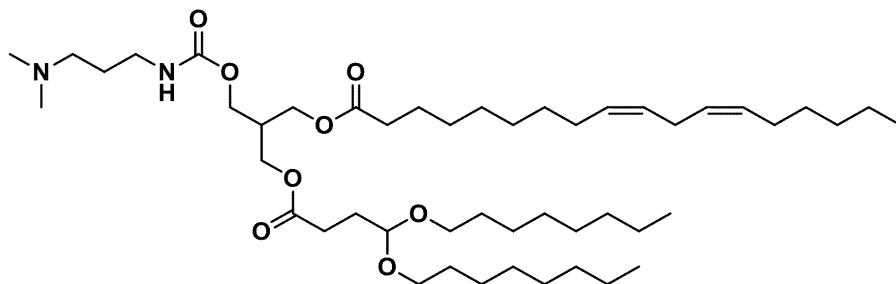
収率19%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, J=5.6 Hz, 1 H), 4.13–3.95 (m, 8 H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.40 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 2.96 (m, 2 H), 2.77 (t, J=6.5 Hz, 2 H), 2.54–2.35 (m, 5 H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 2 H), 2.05 (q, J=6.9 Hz, 5 H), 2.02–1.54 (m, 15 H), 1.42–1.24 (m, 31 H), 1.16–1.00 (m, 5 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 865 m/z [M+H]。

50

【0152】

実施例6：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジメチルアミノ)プロピル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化37】



10

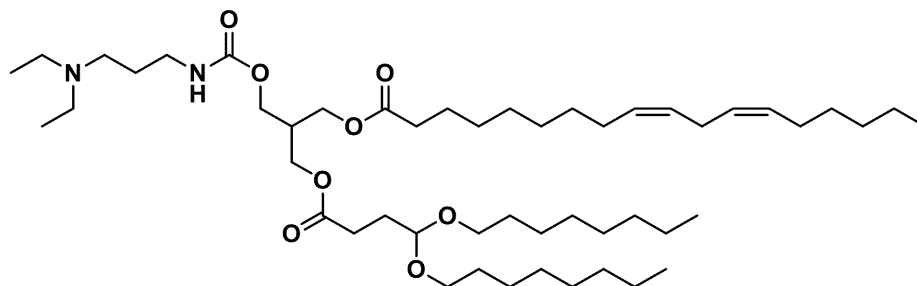
収率50%；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.70 (br m, 1H), 5.44–5.27 (m, 4H), 4.48 (t, J=5.6 Hz, 1H), 4.13 (br m, 6H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.40 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.26 (q, J=6.2 Hz, 2H), 2.77 (t, J=6.5 Hz, 2H), 2.55 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.40 (m, 7H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.21–2.02 (m, 11H), 1.92 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 1.57 (m, 4H), 1.42–1.25 (m, 31H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 824 m/z [M+H]

20

【0153】

実施例7：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロピル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化38】



30

収率37%；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.14 (s, 1H), 5.44–5.28 (m, 4H), 4.48 (t, J=5.6 Hz, 1H), 4.18–4.06 (m, 6H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.40 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.27 (q, J=5.8 Hz, 2H), 2.74 (m, 7H), 2.39 (m, 3H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.13–2.00 (m, 4H), 1.92 (td, J=7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.78 (t, J=6.5 Hz, 2H), 1.57 (m, 6H), 1.40–1.22 (m, 35H), 1.14 (t, J=7.2 Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 852 m/z [M+H]。

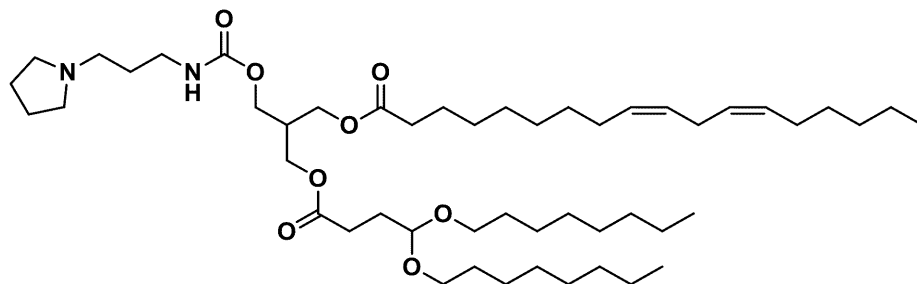
40

【0154】

実施例8：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ピロリジン-1-イル)プロピル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 39】



収率 44% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.87 (br m, 1H), 5.43–5.27 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.11 (m, 6H), 3.56 (dt, $J=9.2, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.29 (q, $J=6.1$ Hz, 2H), 2.95–2.68 (m, 8H), 2.44–2.26 (m, 5H), 2.05 (m, 4H), 1.98–1.81 (m, 8H), 1.58 (m, 7H), 1.41–1.18 (m, 33H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 850 m/z [M+H]。

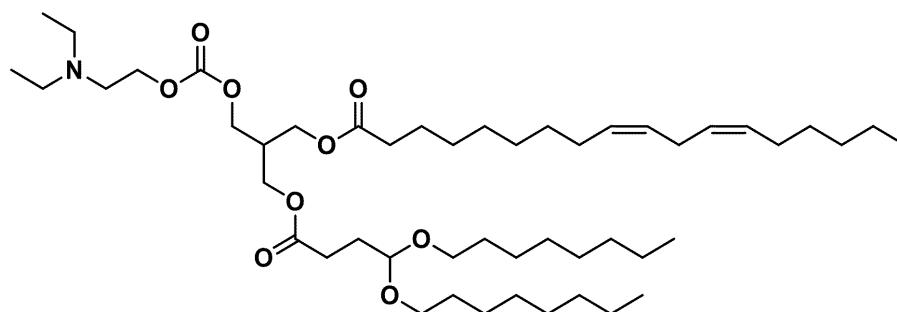
10

【0155】

実施例 9 : 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ジエチルアミノ)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 40】



収率 84% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.28–4.06 (m, 8H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.79–2.60 (m, 8H), 2.46–2.35 (m, 3H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2H), 1.58 (m, 9H), 1.42–1.17 (m, 31H), 1.05 (br m, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 839 m/z [M+H]。

30

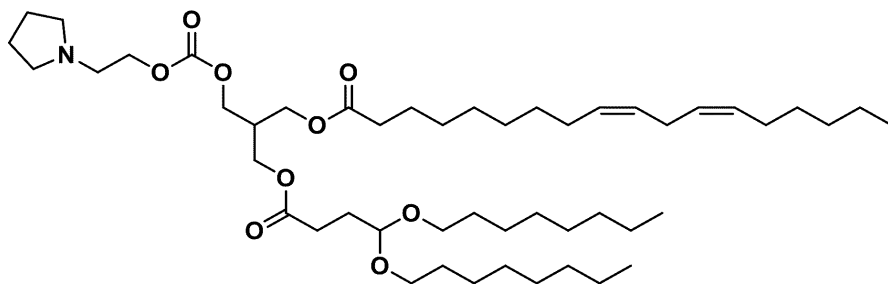
40

【0156】

実施例 10 : 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ピロリジン-1-イル)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

【化 4 1】



収率 74% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.27 (t, $J=5.9$ Hz, 2 H), 4.23–4.08 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (m, 4 H), 2.59 (br s, 4 H), 2.47–2.35 (m, 3 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.86–1.74 (br m, 4 H), 1.58 (m, 7 H), 1.41–1.16 (m, 33 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 837 m/z [M+H].

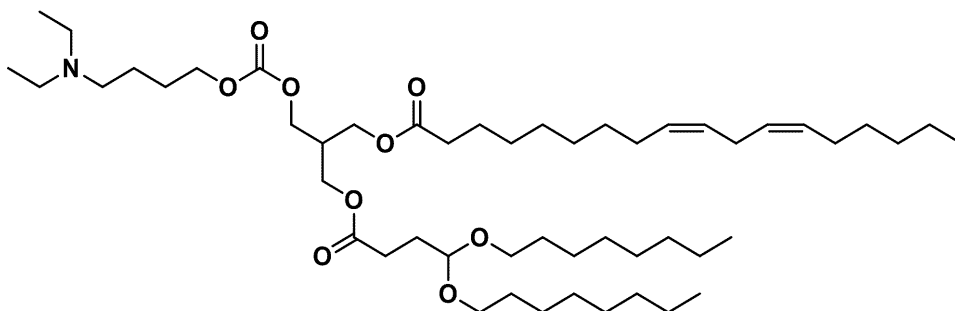
10

【0157】

実施例 11: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((4-(ジエチルアミノ)ブトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 4 2】



収率 74% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.22–4.08 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.2, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.65–2.35 (m, 8 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.74–1.52 (m, 12 H), 1.42–1.18 (m, 33 H), 1.03 (t, $J=7.2$ Hz, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 867 m/z [M+H].

30

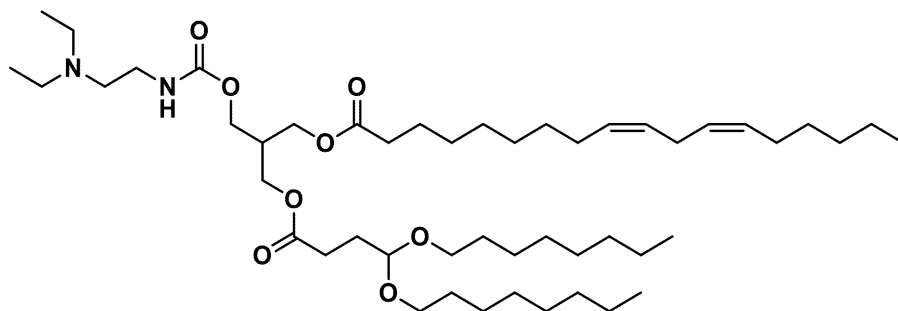
40

【0158】

実施例 12: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ジエチルアミノ)エチル)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

【化 4 3】



10

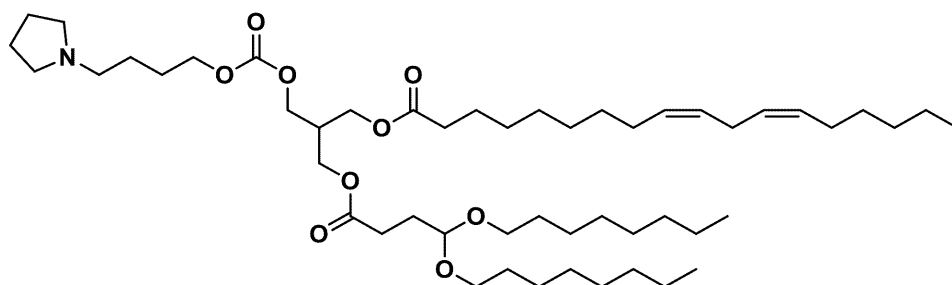
収率 72 % ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.12 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.25 (br m, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.57 (s, 5 H), 2.44–2.26 (m, 5 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.58 (m, 9 H), 1.41–1.18 (m, 32 H), 1.05 (br m, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 838 m/z [M+H]。

【0159】

実施例 13: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((4-(ピロリジン-1-イル)ブトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 4 4】



30

収率 58 % ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.22–4.11 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.60–2.38 (m, 8 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.86–1.77 (br m, 4 H), 1.77–1.52 (m, 13 H), 1.41–1.24 (m, 32 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 865 m/z [M+H]。

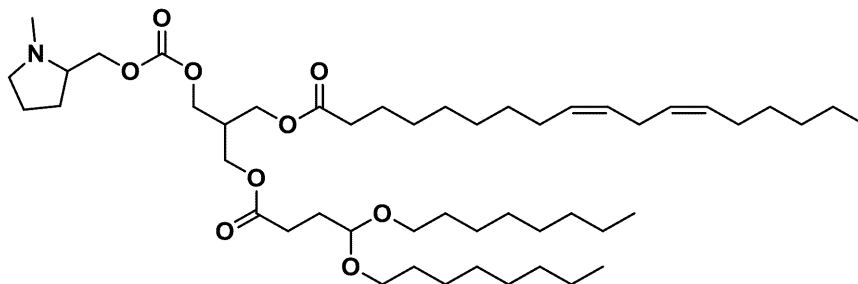
40

【0160】

実施例 14: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-メチルピロリジン-2-イル)メトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 4 5】



10

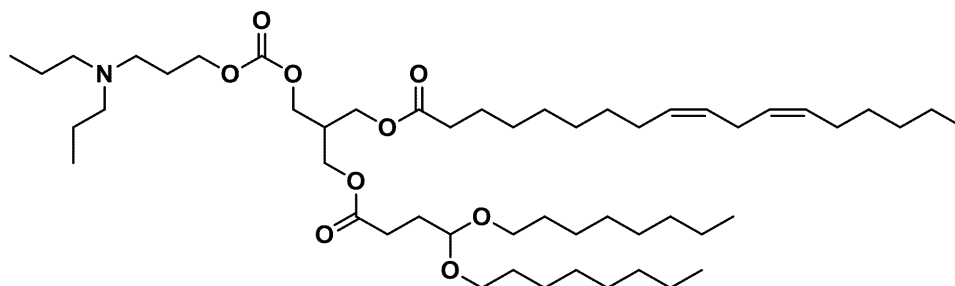
収率 60% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.21–4.05 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.11 (br m, 1 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.50–2.35 (m, 6 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 3 H), 2.07–1.52 (m, 19 H), 1.30 (m, 32 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 837 m/z [M+H] .

【0161】

実施例 15 : 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジプロピルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 4 6】



30

収率 79% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.23–4.07 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.55–2.28 (m, 11 H), 2.10–2.00 (m, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.81 (br m, 2 H), 1.62–1.24 (m, 44 H), 0.88 (m, 15 H) ppm; MS: 881 m/z [M+H] .

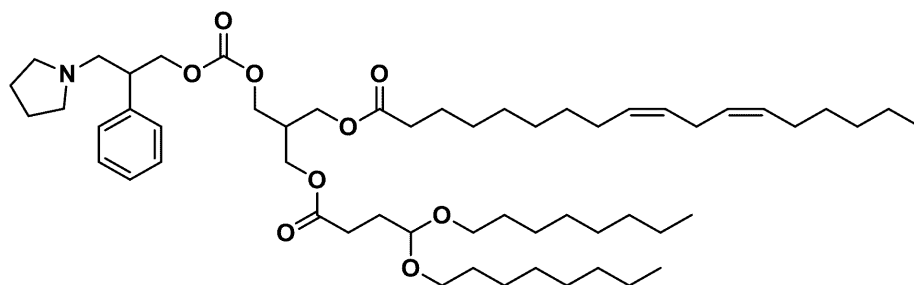
【0162】

実施例 16 : 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-フェニル-3-(ピロリジン-1-イル)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

40

50

【化 4 7】



収率 58% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36–7.17 (m, 5 H), 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.53–4.43 (m, 2 H), 4.33 (dd, $J=10.7, 7.6$ Hz, 1 H), 4.11 (m, 6 H), 3.55 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.24 (br m, 1 H), 2.92 (br m, 1 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.61–2.33 (m, 7 H), 2.28 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 1.91 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.74 (br m, 4 H), 1.66–1.51 (m, 8 H), 1.41–1.24 (m, 33 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 927 m/z [M+H].

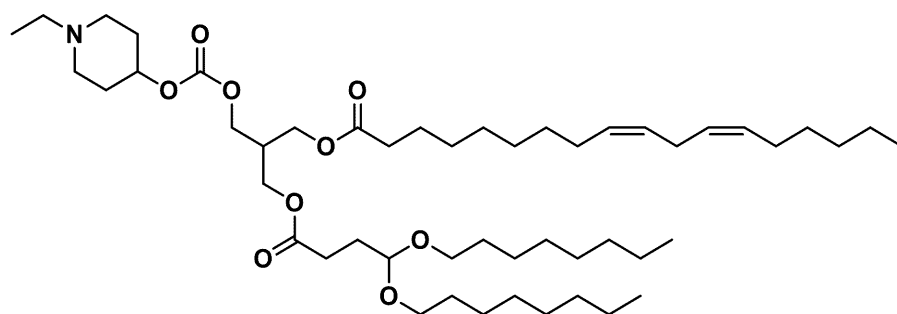
10

【0163】

実施例 17: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチルピペリジン-4-イル)オキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 4 8】



収率 40% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.66 (br s, 1 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.22–4.11 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (m, 4 H), 2.50–2.24 (m, 8 H), 2.05 (m, 6 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.87–1.74 (m, 2 H), 1.58 (m, 10 H), 1.41–1.24 (m, 31 H), 1.11 (t, $J=7.2$ Hz, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 851 m/z [M+H].

30

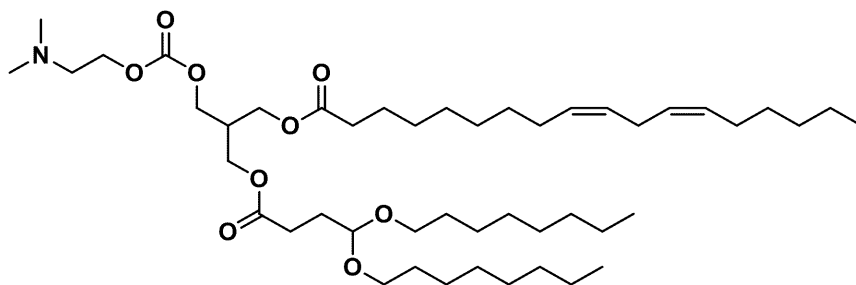
40

【0164】

実施例 18: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ジメチルアミノ)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

【化 4 9】



10

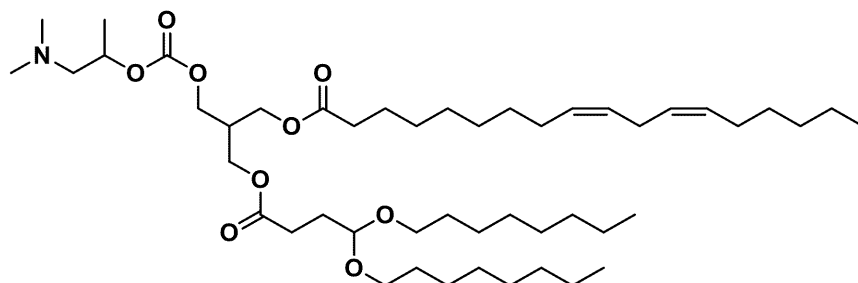
収率 52% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.29–4.18 (m, 4 H), 4.18–4.08 (m, 4 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.64 (br t, $J=5.8$ Hz, 2 H), 2.40 (m, 3 H), 2.31 (m, 7 H), 2.04 (dd, $J=8.8, 5.0$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.56 (m, 10 H), 1.30 (m, 31 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 811 m/z [M+H] .

【0165】

実施例 19: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-(ジメチルアミノ)プロパン-2-イル)オキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 5 0】



30

収率 63% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.26 (m, 4 H), 4.88 (m, 1 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.16 (m, 7 H), 3.56 (dt, $J=9.2, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.57 (dd, $J=13.0, 7.7$ Hz, 1 H), 2.49–2.35 (m, 3 H), 2.29 (m, 8 H), 2.09–1.99 (m, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.69–1.53 (m, 10 H), 1.30 (m, 33 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 825 m/z [M+H] .

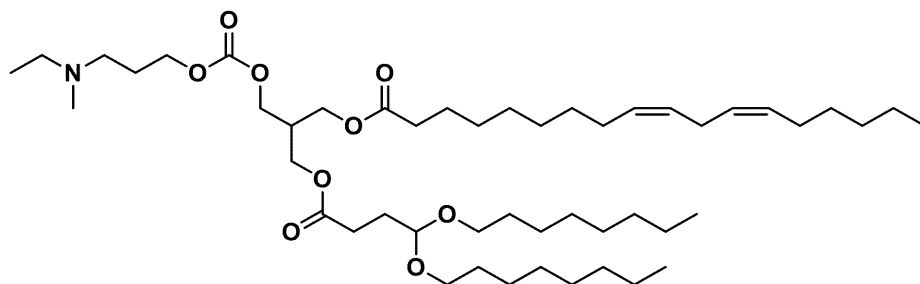
40

【0166】

実施例 20: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(エチル(メチル)アミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 5 1】



10

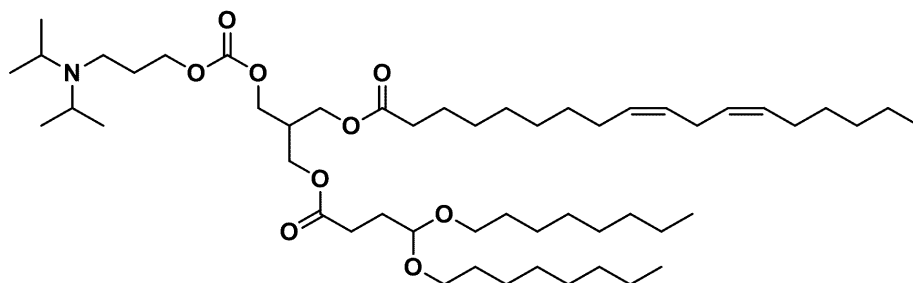
収率 30% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.24–4.09 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.57–2.38 (m, 6 H), 2.32–2.20 (m, 5 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.95–1.82 (m, 4 H), 1.58 (m, 7 H), 1.42–1.25 (m, 34 H), 1.09 (br m, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 839 m/z [M+H]。

【0167】

実施例 21: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジイソプロピルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 5 2】



30

収率 31% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.22–4.08 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.98 (m, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 2 H), 2.50 (t, $J=6.9$ Hz, 2 H), 2.47–2.35 (m, 3 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.74 (m, 2 H), 1.63–1.51 (m, 10 H), 1.42–1.24 (m, 36 H), 0.98 (d, $J=6.6$ Hz, 9 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 881 m/z [M+H]。

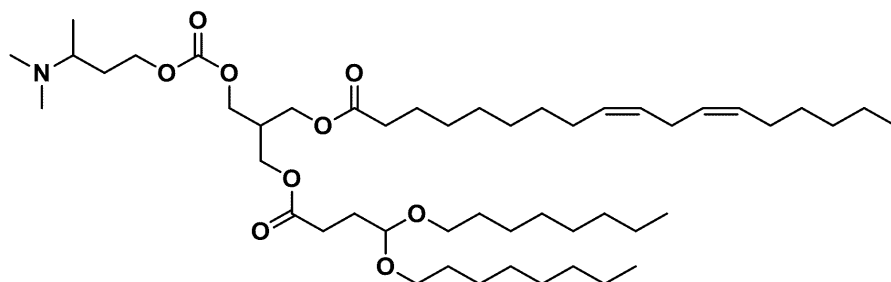
40

【0168】

実施例 22: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジメチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 5 3】



収率 35 % ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.29–4.21 (m, 1 H), 4.27–4.10 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 3 H), 2.46–2.35 (m, 3 H), 2.29 (m, 7 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 3 H), 1.60 (m, 8 H), 1.42–1.25 (m, 33 H), 1.02 (br s, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 839 m/z [M+H]。

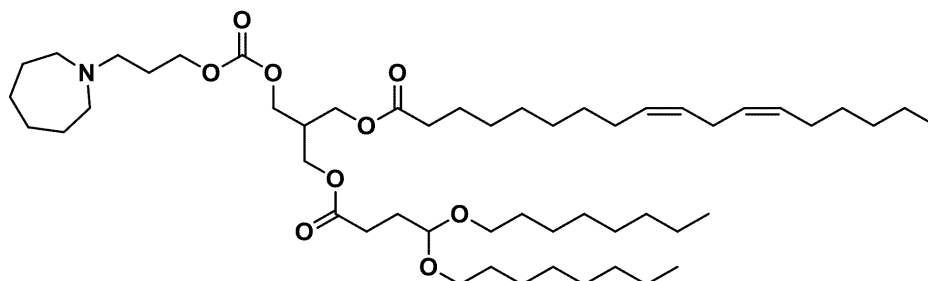
10

【0169】

実施例 23: 3-((3-(アゼパン-1-イル)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 5 4】



収率 59 % ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.35 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.24–4.09 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.4, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.64 (br m, 6 H), 2.47–2.35 (m, 3 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.04 (dd, $J=7.9, 5.9$ Hz, 4 H), 1.95–1.81 (m, 4 H), 1.70–1.52 (m, 14 H), 1.41–1.23 (m, 34 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 879 m/z [M+H]。

30

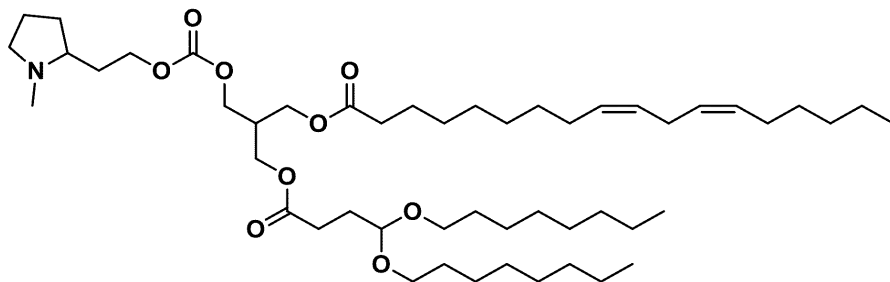
40

【0170】

実施例 24: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(1-メチルピロリジン-2-イル)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 5 5】



10

収率 56% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.35 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.29–4.07 (m, 8H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.13 (br s, 1H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 2.45–1.50 (m, 28H), 1.29 (m, 34H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 851 m/z [M+H].

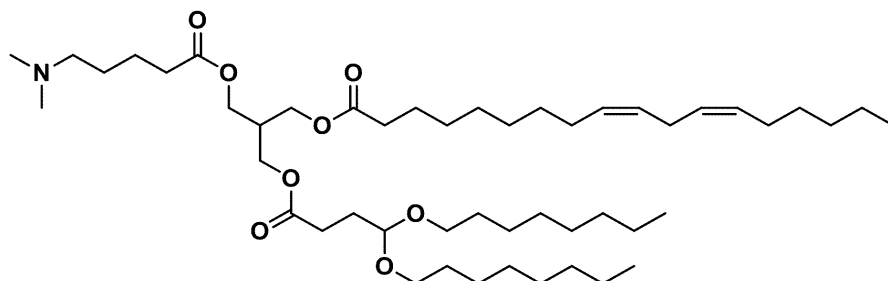
【0171】

実施例 25 の合成

実施例 25: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(1-メチルピロリジン-2-イル)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 5 6】



30

DCM (0.10~0.15 M) 中の中間体 1d (300 mg、0.43 mmol、1 当量)、5-(ジメチルアミノ)ペンタン酸 (1~3 当量)、DIPEA (1.4~3 当量)、及び DMAP (0.1~0.2 当量) の溶液に、EDC·HCl (1.4~1.5 当量) を室温で添加した。室温で少なくとも 2 時間攪拌した後、反応混合物を水で希釈し、有機層を分離し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の EtOAc または DCM 中の MeOH の勾配) を使用して精製して、159 mg (0.19 mmol、収率 44%) の所望の生成物を得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.35 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.12 (m, 6H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 2.70 (br m, 2H), 2.56 (br s, 6H), 2.39 (m, 5H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.04 (m, 4H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2H), 1.81–1.52 (m, 10H), 1.41–1.24 (m, 34H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 823.42 m/z [M+H].

40

【0172】

実施例 26~32 の合成

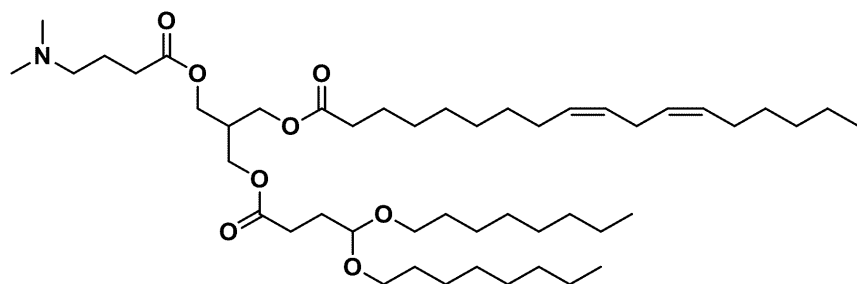
以下の実施例を、実施例 25 に用いた方法を使用して、中間体 1d 及びカルボン酸試薬から合成した。

【0173】

50

実施例 26：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化57】



10

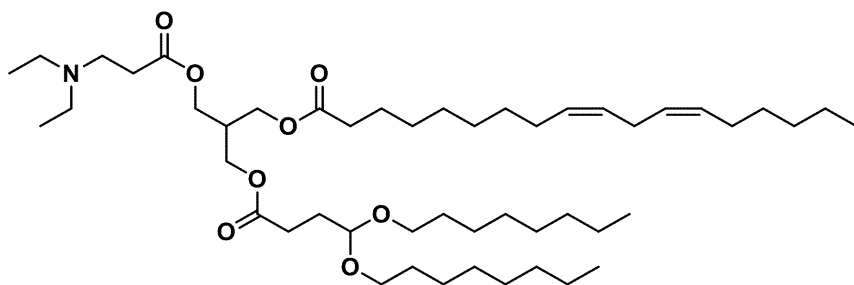
収率39%；¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 5.44-5.27(m, 4H), 4.48(t, J=5.5Hz, 1H), 4.13(m, J=6.0, 2.2Hz, 6H), 3.56(dt, J=9.3, 6.7Hz, 2H), 3.40(dt, J=9.3, 6.7Hz, 2H), 2.77(t, J=6.5Hz, 2H), 2.44-2.28(m, 9H), 2.21(s, 6H), 2.10-2.00(m, 4H), 1.92(td, J=7.6, 5.5Hz, 2H), 1.78(m, J=7.4Hz, 2H), 1.58(m, 6H), 1.42-1.22(m, 34H), 0.88(m, 9H) ppm; MS: 809.47 m/z [M+H]。

20

【0174】

実施例 27：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((3-(ジエチルアミノ)プロパノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化58】



30

収率78%；¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 5.44-5.27(m, 4H), 4.48(t, J=5.5Hz, 1H), 4.13(m, 6H), 3.56(dt, J=9.3, 6.7Hz, 2H), 3.40(dt, J=9.3, 6.7Hz, 2H), 2.77(m, 4H), 2.56-2.34(m, 9H), 2.30(t, J=7.6Hz, 2H), 2.10-2.00(m, 4H), 1.92(td, J=7.6, 5.5Hz, 2H), 1.58(m, 6H), 1.42-1.22(m, 34H), 1.01(t, J=7.1Hz, 6H), 0.88(m, 9H) ppm; MS: 823.42 m/z [M+H]。

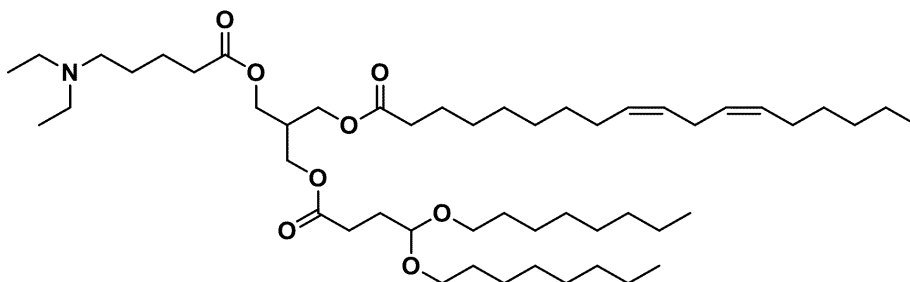
40

【0175】

実施例 28：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((5-(ジエチルアミノ)ペンタノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 59】



収率 77% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.13 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.50 (q, $J=7.2$ Hz, 4 H), 2.45–2.27 (m, 9 H), 2.04 (dd, $J=7.8, 6.2$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.64–1.44 (m, 11 H), 1.31 (m, 33 H), 1.01 (t, $J=7.1$ Hz, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm. MS: 851.86 m/z [M+H] .

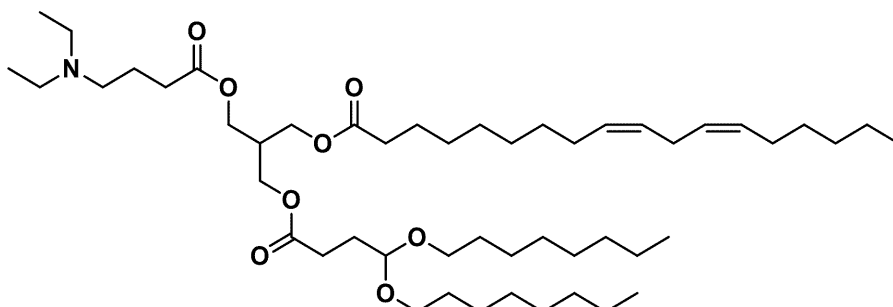
10

【0176】

実施例 29: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((4-(ジエチルアミノ)ブタノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 60】



収率 53% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.13 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.50 (m, 5 H), 2.45–2.29 (m, 10 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.75 (m, 2 H), 1.66–1.52 (m, 7 H), 1.40–1.23 (m, 30 H), 1.00 (m, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 837.01 m/z [M+H] .

30

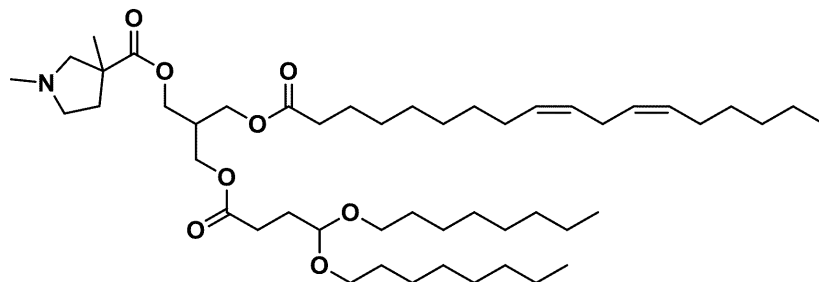
40

【0177】

実施例 30: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル1,3-ジメチルピロリジン-3-カルボキシレート

50

【化 6 1】



収率 45% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.18–4.11 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.93 (d, $J=9.4$ Hz, 1 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.64–2.52 (m, 2 H), 2.47–2.27 (m, 11 H), 2.05 (q, $J=7.0$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.71–1.52 (m, 9 H), 1.40–1.24 (m, 34 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 821.30 m/z [M+H].

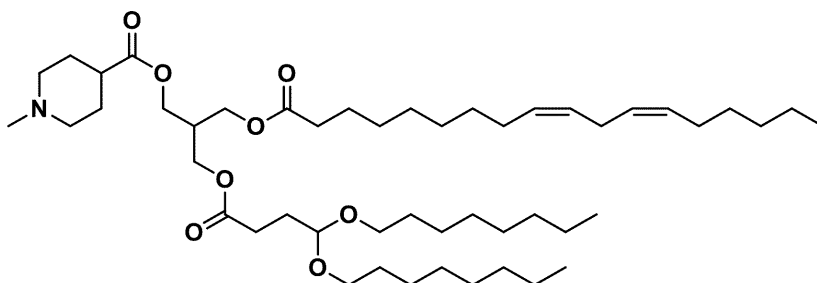
10

【0178】

実施例 31: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル 1-メチルピペリジン-4-カルボキシレート

20

【化 6 2】



収率 87% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.16–4.09 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.78 (m, 4 H), 2.43–2.34 (m, 3 H), 2.34–2.22 (m, 6 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 2.00–1.87 (m, 6 H), 1.76 (m, 2 H), 1.65–1.52 (m, 7 H), 1.42–1.19 (m, 33 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 821.80 m/z [M+H].

30

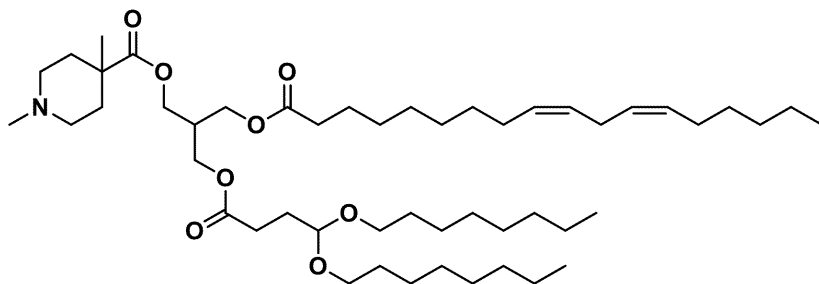
【0179】

実施例 32: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル 1,4-ジメチルピペリジン-4-カルボキシレート

40

50

【化 6 3】



収率 39% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.17–4.09 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.58 (m, 2 H), 2.41 (m, 3 H), 2.31 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.24 (s, 3 H), 2.15–2.01 (m, 8 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.3$ Hz, 2 H), 1.63–1.48 (m, 9 H), 1.42–1.24 (m, 33 H), 1.19 (s, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 835.79 m/z [M+H].

【0180】

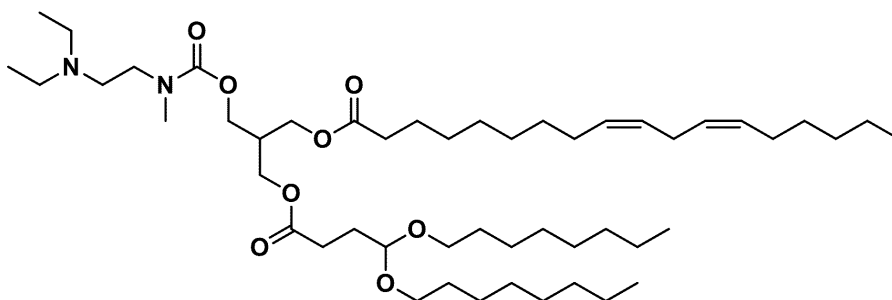
実施例 33～36 の合成

以下の実施例を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 1 d 及びアミノアルコールまたはジアミン試薬から合成した。

【0181】

実施例 33: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ジエチルアミノ)エチル)(メチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化 6 4】



収率 62% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.13 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.30 (m, 2 H), 2.94 (s, 1.5 H), 2.91 (s, 1.5 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.54 (m, 6 H), 2.39 (m, 3 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.04 (m, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.64–1.54 (m, 7 H), 1.39–1.22 (m, 33 H), 1.01 (m, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 852.80 m/z [M+H].

【0182】

実施例 34: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ジメチルアミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

10

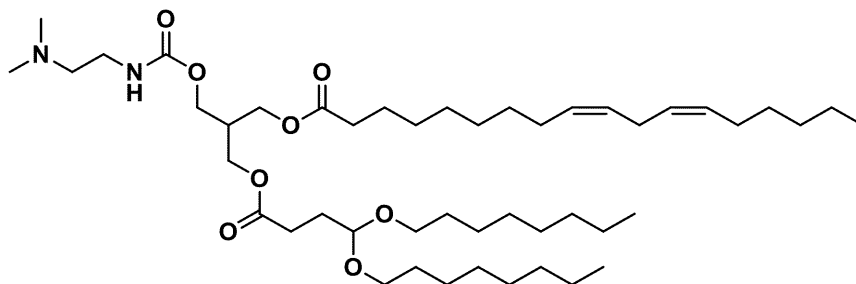
20

30

40

50

【化 6 5】



収率 44% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 5.20 (br t, $J=5.1$ Hz, 1 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.13 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.24 (m, 2 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.43–2.34 (m, 5 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.22 (s, 6 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 5 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2 H), 1.63–1.52 (m, 7 H), 1.40–1.24 (m, 32 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 810.73 m/z [M+H] .

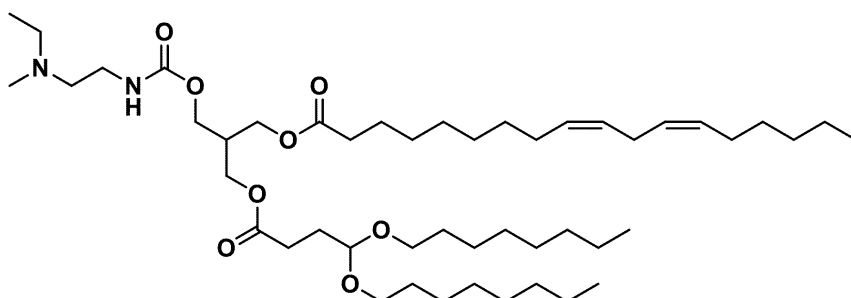
10

【0183】

実施例 35 : 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(エチル(メチル)アミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 6 6】



収率 53% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4 H), 5.20 (t, $J=5.1$ Hz, 1 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.12 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.24 (m, 2 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.48–2.33 (m, 7 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.20 (s, 3 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.7, 5.5$ Hz, 2 H), 1.62–1.52 (m, 7 H), 1.35–1.23 (m, 33 H), 1.04 (t, $J=7.2$ Hz, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 824.77 m/z [M+H] .

30

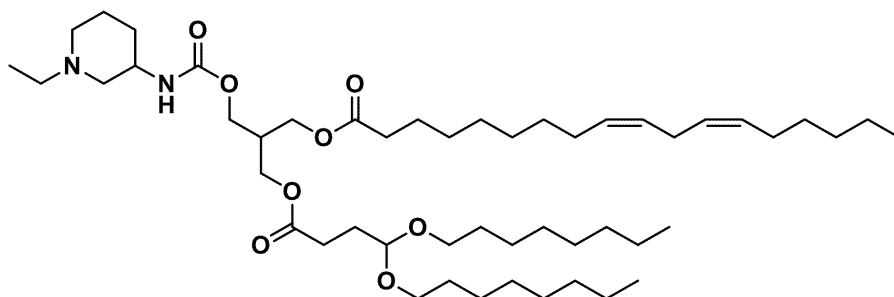
40

【0184】

実施例 36 : 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチルピペリジン-3-イル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 6 7】



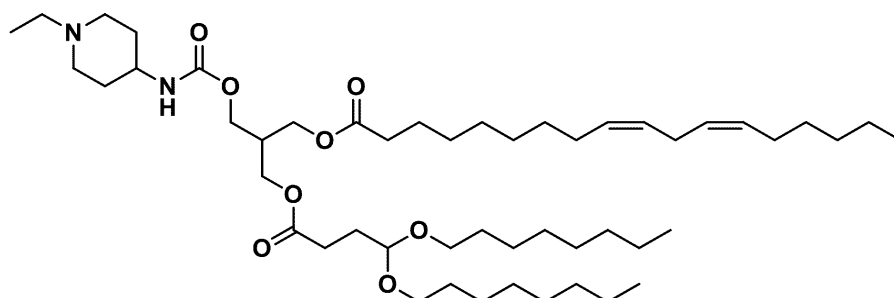
収率 46% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.27 (m, 4 H), 5.20 (br s, 1 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.12 (m, 6 H), 3.78 (br s, 1 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 2 H), 2.50–2.19 (m, 8 H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.73–1.52 (m, 14 H), 1.41–1.23 (m, 33 H), 1.04 (t, $J=7.2$ Hz, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 850.48 m/z [M+H].

【0185】

実施例 37 の合成

実施例 37: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチルピペリジン-4-イル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化 6 8】



アセトニトリル (6 mL) 中の中間体 1d (400 mg、0.57 mmol) の溶液に、ピリジン (93 μL 、1.15 mmol)、DMAP (14 mg、0.08 mmol)、及び 4-ニトロフェニルクロロホルメート (173 mg、0.86 mmol) を連続して室温で添加した。2 時間攪拌した後に、1-エチルピペリジン-4-アミン二塩酸塩 (344 mg、1.72 mmol) 及び DIPEA (800 μL 、4.60 mmol) を添加し、得られた反応混合物を室温でさらに 4 時間攪拌した。反応混合物をヘキサンに抽出し、水で洗浄した。必要に応じて、得られた水層をヘキサンで再抽出した。組み合わせたヘキサン層を無水 MgSO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の EtOAc または DCM 中のメタノールの勾配) を使用して精製して、157 mg (0.18 mmol、収率 32%) の所望の生成物を透明油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.27 (m, 4 H), 4.59 (br d, $J=8.1$ Hz, 1 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.12 (m, 6 H), 3.59–3.49 (m, 3 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.85 (br d, $J=11.1$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2 H), 2.45–2.35 (m, 5 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=7.2$ Hz, 6 H), 1.99–1.87 (m, 4 H), 1.65–1.21 (m, 43 H), 1.07 (t, $J=7.2$ Hz

, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 850.34 m/z [M+H].

【0186】

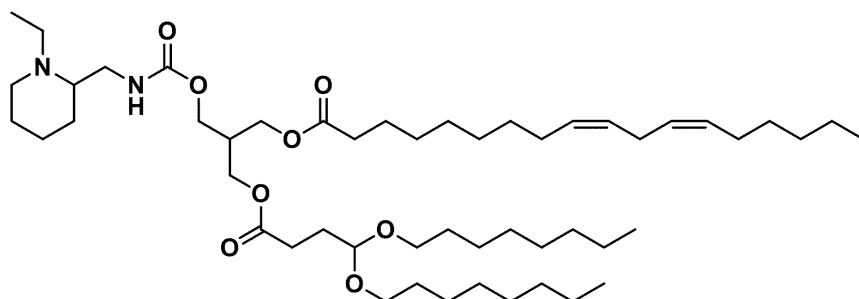
実施例 38～49 の合成

以下の実施例を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 1 d 及びジアミン試薬から合成した。

【0187】

実施例 38: 3-((4, 4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチルピペリジン-2-イル)メチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化69】



10

収率 30%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.41–5.27 (m, 4 H), 5.14 (br s, 1 H), 4.48 (t, J=5.6 Hz, 1 H), 4.16–4.09 (m, 6 H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.45–3.23 (m, 4 H), 2.89 (m, 1 H), 2.77 (m, 3 H), 2.49–2.26 (m, 7 H), 2.19 (m, 1 H), 2.05 (q, J=6.8 Hz, 4 H), 1.92 (td, J=7.5, 5.5 Hz, 2 H), 1.73–1.25 (m, 46 H), 1.02 (t, J=7.0 Hz, 3 H), 0.93–0.84 (m, 9 H) ppm; MS: 864.39 m/z [M+H].

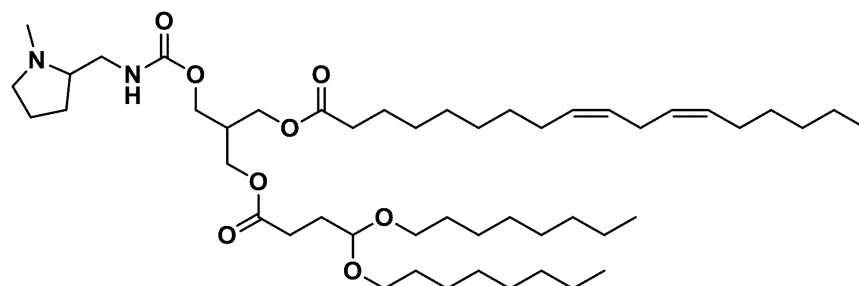
20

【0188】

実施例 39: 3-((4, 4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-メチルピロリジン-2-イル)メチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

30

【化70】



40

収率 18%; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.43–5.27 (m, 4 H), 5.13 (s, 1 H), 4.48 (t, J=5.6 Hz, 1 H), 4.13 (m, 6 H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.40 (m, 3 H), 3.20–2.98 (m, 2 H), 2.77 (t, J=6.4 Hz, 2 H), 2.41–2.17 (m, 10 H), 2.05 (q, J=6.8 Hz, 4 H), 1.98–1.78 (m, 3 H), 1.72–1.52 (m, 11 H), 1.41–1.24 (m, 32 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 836.27 m/z [M+H].

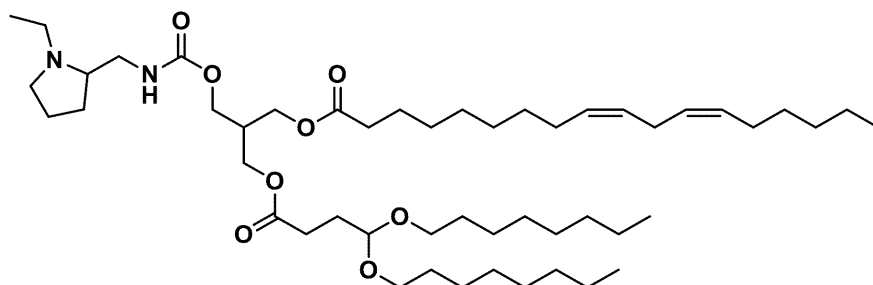
【0189】

実施例 40: 3-((4, 4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-メチルピロリジン-2-イル)メチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

(((1 - エチルピロリジン - 2 - イル) メチル) カルバモイル) オキシ) メチル) プロピル (9 Z , 12 Z) - オクタデカ - 9 , 12 - ジエノエート

【化 7 1】



10

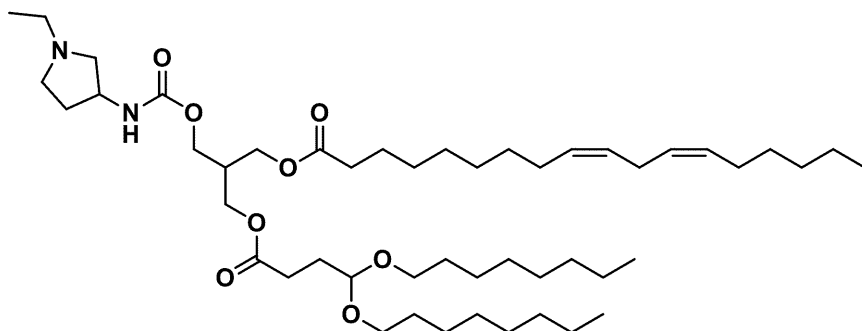
収率 13 % ; ^1H NMR (400 MHz , CDCl_3) δ 5.42 – 5.27 (m , 4 H) , 5.15 (b r d , $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1 H) , 4.48 (t , $J = 5.6 \text{ Hz}$, 1 H) , 4.13 (m , 6 H) , 3.56 (d t , $J = 9.3$, 6.7 Hz , 2 H) , 3.43 – 3.31 (m , 3 H) , 3.19 – 3.05 (m , 2 H) , 2.78 (m , 3 H) , 2.50 (b r m , 1 H) , 2.39 (m , 3 H) , 2.30 (t , $J = 7.6 \text{ Hz}$, 2 H) , 2.26 – 2.08 (m , 2 H) , 2.05 (q , $J = 6.8 \text{ Hz}$, 4 H) , 1.97 – 1.79 (m , 3 H) , 1.76 – 1.51 (m , 11 H) , 1.40 – 1.22 (m , 32 H) , 1.09 (t , $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3 H) , 0.88 (m , 9 H) ppm ; MS : 850.20 m/z [M + H] .

20

【 0 1 9 0 】

実施例 41 : 3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((1 - エチルピロリジン - 3 - イル) カルバモイル) オキシ) メチル) プロピル (9 Z , 12 Z) - オクタデカ - 9 , 12 - ジエノエート

【化 7 2】



30

収率 34 % ; ^1H NMR (400 MHz , CDCl_3) δ 5.44 – 5.27 (m , 4 H) , 5.01 (d , $J = 8.3 \text{ Hz}$, 1 H) , 4.48 (t , $J = 5.6 \text{ Hz}$, 1 H) , 4.20 – 4.02 (m , 7 H) , 3.56 (d t , $J = 9.3$, 6.7 Hz , 2 H) , 3.40 (d t , $J = 9.3$, 6.7 Hz , 2 H) , 2.86 – 2.73 (m , 3 H) , 2.62 – 2.19 (m , 11 H) , 2.05 (q , $J = 6.9 \text{ Hz}$, 4 H) , 1.92 (t d , $J = 7.6$, 5.5 Hz , 2 H) , 1.66 – 1.51 (m , 9 H) , 1.44 – 1.21 (m , 32 H) , 1.10 (t , $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3 H) , 0.88 (m , 9 H) ppm ; MS : 836.33 m/z [M + H] .

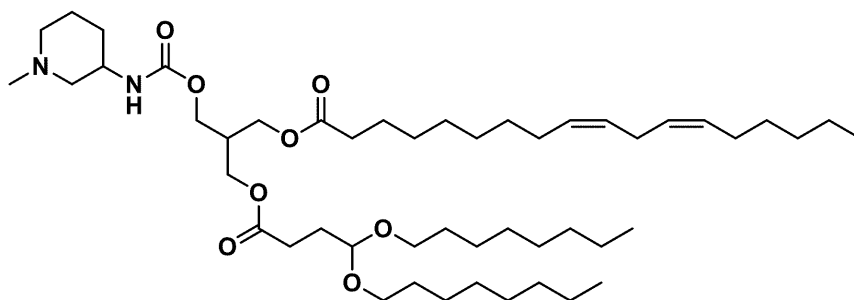
40

【 0 1 9 1 】

実施例 42 : 3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((1 - メチルピペリジン - 3 - イル) カルバモイル) オキシ) メチル) プロピル (9 Z , 12 Z) - オクタデカ - 9 , 12 - ジエノエート

50

【化 7 3】



10

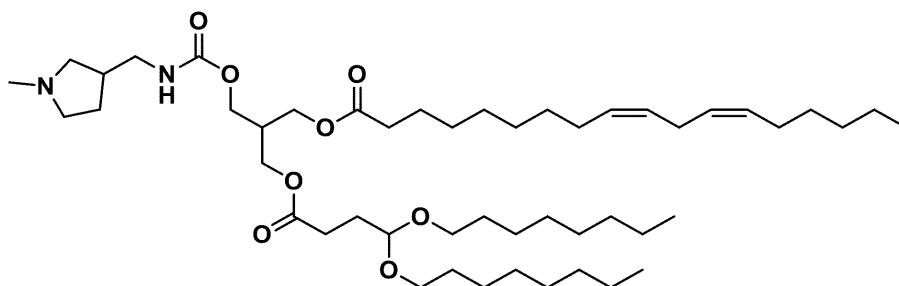
収率 57% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.27 (m, 4 H), 5.18 (br m, 1 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.13 (m, 6 H), 3.78 (br m, 1 H), 3.56 (dt, $J=9.2, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.2, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 2 H), 2.47–2.13 (m, 11 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 3 H), 1.71–1.52 (m, 11 H), 1.41–1.24 (m, 33 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 836.51 m/z [M+H] .

【0192】

実施例 43: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-メチルピロリジン-3-イル)メチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 7 4】



30

収率 30% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.30 (m, 4 H), 5.19 (t, $J=5.1$ Hz, 1 H), 4.51 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.18–4.11 (m, 6 H), 3.58 (dt, $J=9.2, 6.7$ Hz, 2 H), 3.42 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.19 (t, $J=5.9$ Hz, 2 H), 2.84–2.79 (t, $J=6.4$ Hz, 2 H), 2.64 (m, 1 H), 2.56 (t, $J=8.0$ Hz, 1 H), 2.44–2.31 (m, 11 H), 2.10–1.92 (m, 7 H), 1.71–1.46 (m, 9 H), 1.44–1.19 (m, 33 H), 0.91 (m, 9 H) ppm; MS: 836.31 m/z [M+H] .

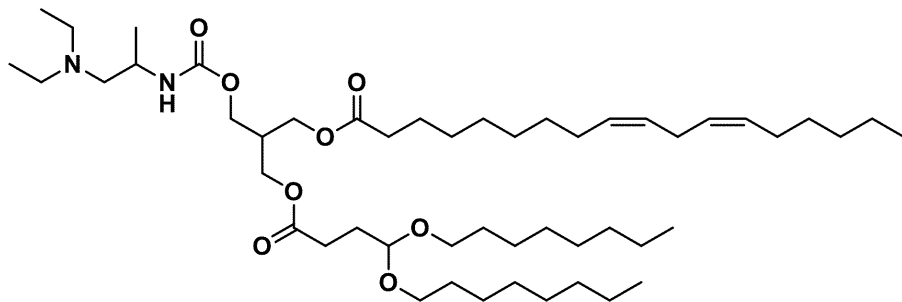
40

【0193】

実施例 44: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-(ジエチルアミノ)プロパン-2-イル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

【化 7 5】



10

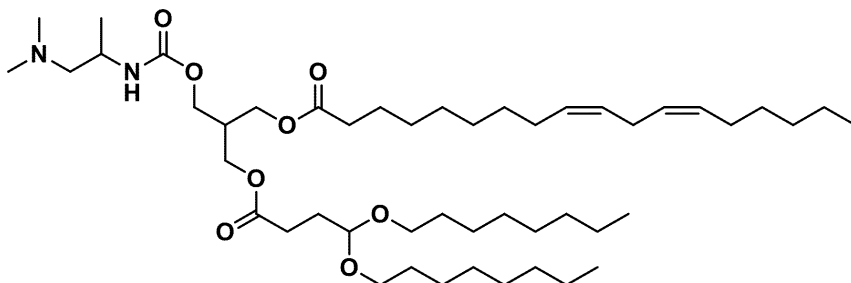
収率 78% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.42–5.27 (m, 4 H), 5.07 (d, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.12 (m, 6 H), 3.67–3.51 (m, 3 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 2 H), 2.61–2.26 (m, 10 H), 2.04 (dd, $J=7.8, 5.9$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.68–1.50 (m, 7 H), 1.41–1.24 (m, 34 H), 1.17 (d, $J=6.4$ Hz, 3 H), 0.99 (t, $J=7.1$ Hz, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 852.59 m/z [M+H].

【0194】

実施例 45: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-(ジメチルアミノ)プロパン-2-イル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 7 6】



30

収率 68% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.42–5.27 (m, 4 H), 5.02 (br m, 1 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.18–4.07 (m, 6 H), 3.66 (m, 1 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.5$ Hz, 2 H), 2.42–2.27 (m, 6 H), 2.22 (s, 6 H), 2.14 (dd, $J=12.4, 5.5$ Hz, 1 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.65–1.50 (m, 8 H), 1.41–1.25 (m, 32 H), 1.18 (d, $J=6.4$ Hz, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 824.28 m/z [M+H].

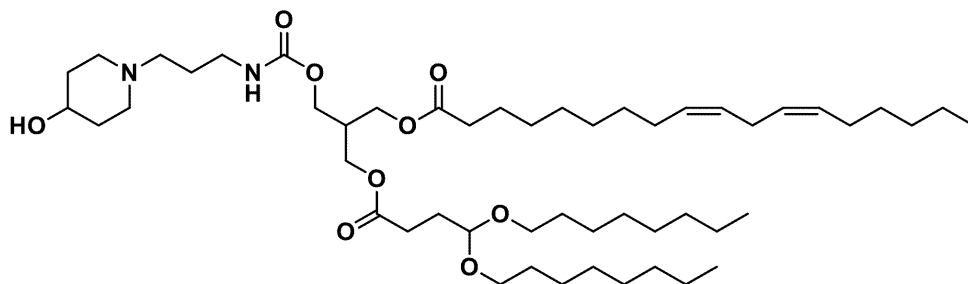
40

【0195】

実施例 46: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(4-ヒドロキシピペリジン-1-イル)プロピル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

【化 7 7】



10

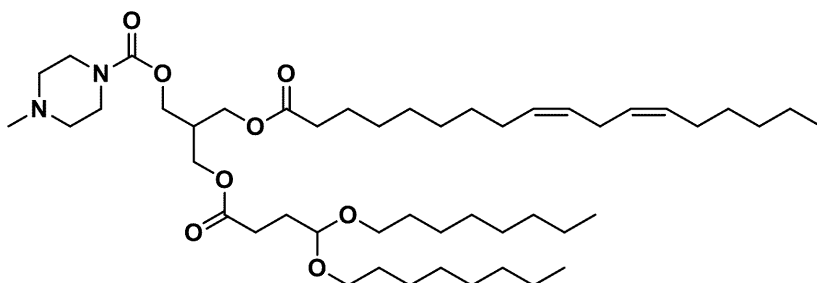
収率 26% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.72 (br s, 1H), 5.42–5.27 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.23–4.05 (m, 6H), 3.62 (br s, 1H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.27 (q, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.83 (d, $J=11.2$ Hz, 2H), 2.77 (m, 2H), 2.49–2.26 (m, 7H), 2.09–2.02 (m, 6H), 1.93 (m, 4H), 1.68–1.52 (m, 11H), 1.41–1.24 (m, 34H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 880.46 m/z [M+H].

【0196】

実施例 47: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル 4-メチルピペラジン-1-カルボキシレート

20

【化 7 8】



30

収率 61% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.42–5.27 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.18–4.09 (m, 6H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.47 (br s, 4H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.81–2.73 (m, 2H), 2.45–2.26 (m, 11H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2H), 1.65–1.49 (m, 7H), 1.41–1.21 (m, 34H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 822.25 m/z [M+H].

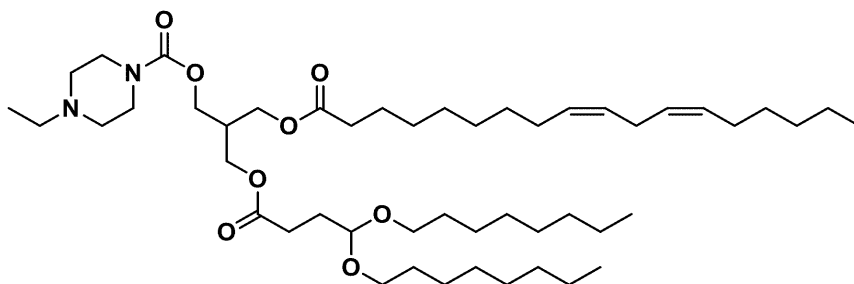
40

【0197】

実施例 48: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル 4-エチルピペラジン-1-カルボキシレート

50

【化 79】



収率 66% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.44–5.27 (m, 4 H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1 H), 4.19–4.09 (m, 6 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.48 (br s, 4 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.81–2.73 (m, 2 H), 2.47–2.35 (m, 8 H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2 H), 2.05 (q, $J=6.9$ Hz, 4 H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2 H), 1.65–1.52 (m, 7 H), 1.41–1.24 (m, 34 H), 1.09 (t, $J=7.2$ Hz, 3 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 836.30 m/z [M+H].

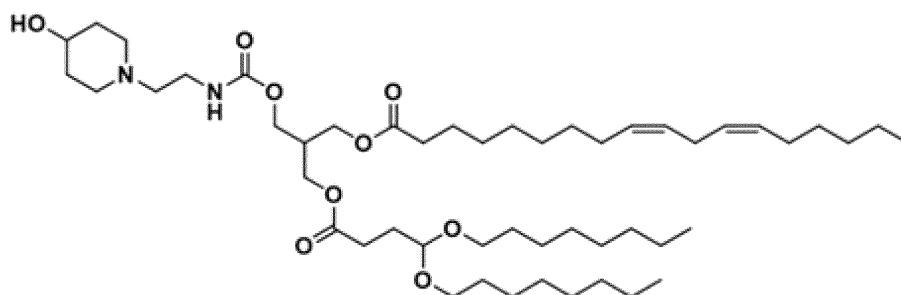
10

【0198】

実施例 49: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(4-ヒドロキシピペリジン-1-イル)エチル)カルボモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

20

【化 80】



収率 58% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.27 (m, 3 H), 5.18 (s, 1 H), 4.48 (t, 1 H), 4.17–4.09 (m, 6 H), 3.76–3.65 (m, 1 H), 3.56 (d, 2 H), 3.40 (dt, 2 H), 3.30–3.21 (m, 2 H), 2.81–2.66 (m, 4 H), 2.53–2.34 (m, 6 H), 2.30 (t, 2 H), 2.21–2.10 (m, 2 H), 2.05 (q, 4 H), 1.97–1.85 (m, 5 H), 1.67–1.51 (m, 10 H), 1.40–1.25 (m, 35 H), 0.94–0.84 (m, 9 H); MS: 866.41 m/z [M+H].

30

40

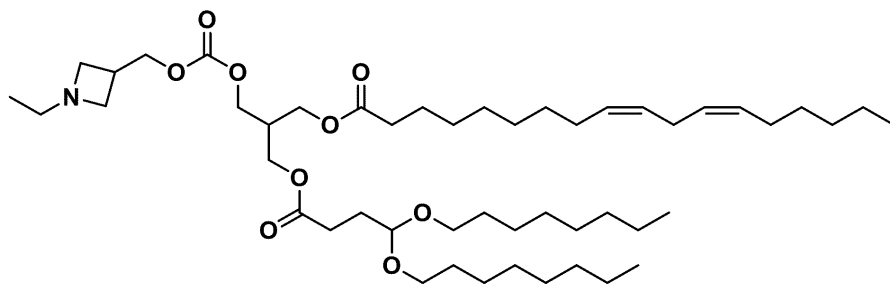
【0199】

実施例 50 の合成

実施例 50: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチルアゼチジン-3-イル)メトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

50

【化 8 1】



10

アセトニトリル（6 mL）中の中間体 1 d（300 mg、0.43 mmol）の溶液に、ピリジン（69 μ L、86 mmol）、DMAP（11 mg、0.086 mmol）、及び 4-ニトロフェニルクロロホルメート（134 mg、0.65 mmol）を連続して室温で添加した。2 時間攪拌した後に、（1-エチルアゼチジン-3-イル）メタノール塩酸塩（194 mg、1.29 mmol）及び Et₃N（359 μ L、2.58 mmol）を添加し、得られた反応混合物を室温でさらに 4 時間攪拌した。反応混合物をヘキサンに抽出し、水で洗浄した。必要に応じて、得られた水層をヘキサンで再抽出した。組み合わせたヘキサン層を無水 MgSO₄ 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン中の EtOAc の勾配）を使用して精製して、181 mg（0.22 mmol、収率 50%）の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR（400 MHz, CDCl₃） δ 5.35（m, 4H）, 4.48（t, J = 5.5 Hz, 1H）, 4.27–4.14（m, 8H）, 3.66–3.36（m, 4H）, 2.94（br s, 1H）, 2.78（m, 3H）, 2.42（m, 5H）, 2.30（t, J = 7.6 Hz, 2H）, 2.05（q, J = 7.0 Hz, 4H）, 1.92（m, 2H）, 1.62–1.52（m, 8H）, 1.31（m, 35H）, 0.95（t, J = 7.2 Hz, 3H）, 0.89（m, 9H）ppm；MS：837.30 m/z [M + H]。

20

【0200】

実施例 51～53 の合成

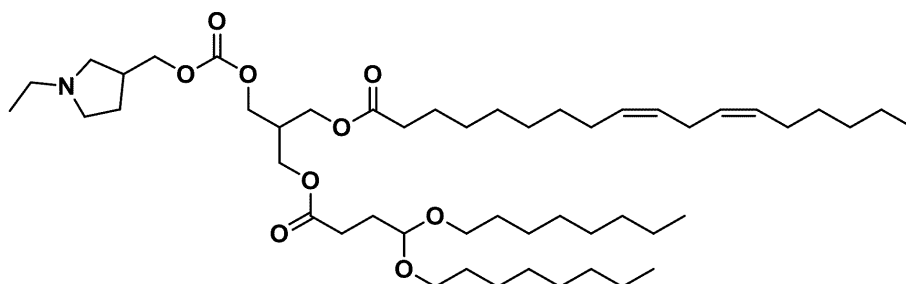
以下の実施例を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 1 d 及びアミノアルコール試薬から合成した。

30

【0201】

実施例 51：3-（（4, 4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（（1-エチルピロリジン-3-イル）メトキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル（9Z, 12Z）-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化 8 2】



40

収率 57%；¹H NMR（500 MHz, CDCl₃） δ 5.42–5.29（m, 4H）, 4.48（t, J = 5.5 Hz, 1H）, 4.22–4.09（m, 8H）, 3.56（dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H）, 3.40（dt, J = 9.3, 6.6 Hz, 2H）, 2.96–2.49（m, 7H）, 2.45–2.36（m, 4H）, 2.30（t, J = 7.6 Hz, 2H）, 2.20–2.29（m, 5H）, 1.91（td

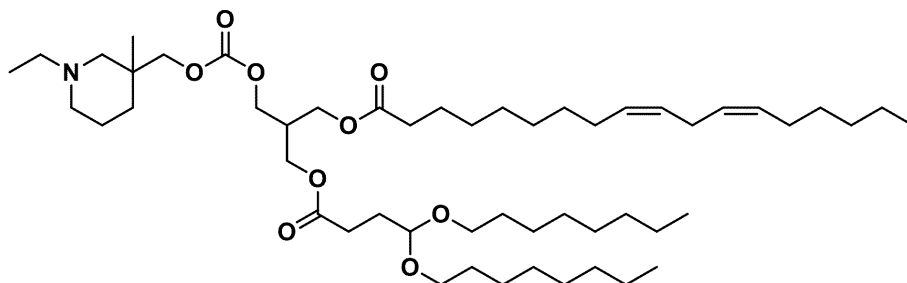
50

, $J = 7.6, 5.3 \text{ Hz}$, 2H), $1.75 - 1.52 \text{ (m, } 8\text{H)}$, $1.40 - 1.16 \text{ (m, } 37\text{H)}$, $0.88 \text{ (m, } 9\text{H}) \text{ ppm}$; $\text{MS: } 851.48 \text{ m/z [M+H]}$ 。

【0202】

実施例 52: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-エチル-3-メチルピペリジン-3-イル)メトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化83】



10

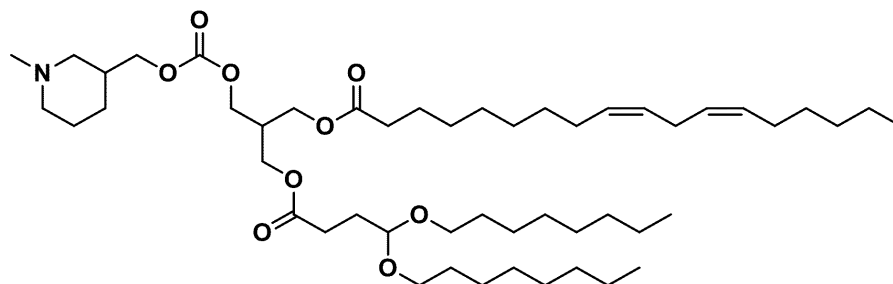
収率 66%; $^1\text{H NMR (500 MHz, CDCl}_3\text{)}$ δ 5.43–5.28 (m, 4H), 4.48 (t, $J = 5.5 \text{ Hz}$, 1H), 4.22–4.12 (m, 8H), 3.56 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 3.40 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 2.77 (t, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 2.46–2.37 (m, 3H), 2.31 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 2H), 2.21 (br s, 6H), 2.05 (q, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 4H), 1.92 (td, $J = 7.5, 5.4 \text{ Hz}$, 2H), 1.57 (m, 10H), 1.45–1.17 (m, 40H), 0.88 (m, 9H) ppm; $\text{MS: } 865.58 \text{ m/z [M+H]}$ 。

20

【0203】

実施例 53: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((1-メチルピペリジン-3-イル)メトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化84】



30

収率 42%; $^1\text{H NMR (400 MHz, CDCl}_3\text{)}$ δ 5.45–5.24 (m, 4H), 4.48 (t, $J = 5.5 \text{ Hz}$, 1H), 4.24–3.93 (m, 8H), 3.56 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 3.40 (dt, $J = 9.2, 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 3.09 (br m, 2H), 2.77 (t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 1H), 2.70–2.16 (m, 7H), 2.05 (q, $J = 6.9 \text{ Hz}$, 4H), 1.92 (td, $J = 7.6, 5.5 \text{ Hz}$, 2H), 1.87–1.71 (m, 3H), 1.57 (m, 10H), 1.42–1.00 (m, 36H), 0.88 (m, 9H) ppm; $\text{MS: } 850.77 \text{ m/z [M+H]}$ 。

40

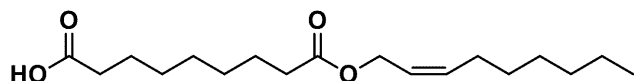
【0204】

実施例 54 の合成

中間体 54a: (Z)-9-(ノン-2-エン-1-イルオキシ)-9-オキソノナン酸

50

【化 8 5】



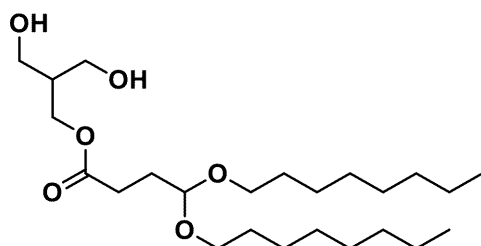
THF (0.4~0.5 M) 中のノナン二酸 (25 g、132 mmol、1 当量) の溶液に、塩化オキサリル (1.1~1.5 当量) を 15~25℃ で添加した。少なくとも 10 分間撹拌した後に、DMF (0.01~0.1 当量) を添加し、続いて少なくとも 10 分間さらに撹拌した。次いで、(Z)-ノン-2-エン-1-オール (24.3 g、171 mmol、1.3 当量) を滴加し、得られた混合物を 15~25℃ で少なくとも 30 分間撹拌した。反応混合物を濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーを使用して直接精製して、17.3 g (55.4 mmol、収率 42%) の所望の生成物を油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.65 (m, 1H), 5.53 (m, 1H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 2.33 (m, 4H), 2.10 (m, 2H), 1.63 (m, 4H), 1.28 (m, 14H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 3H) ppm; MS: 335.27 m/z [M+Na]。

10

【0205】

中間体 54b: 3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロピル 4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノエート

【化 8 6】



20

DCM (231 mL) 中の中間体 1c (16.0 g、46.4 mmol)、DMAP (1.1 g、9.28 mmol)、DIPEA (24.1 mL、139 mmol)、及び 2-(ヒドロキシメチル)プロパン-1,3-ジオール (6.39 g、60.3 mmol) の溶液に、EDC·HCl (10.6 g、55.6 mmol) を室温で添加した。反応混合物を室温で 18 時間撹拌し、水で希釈し、有機層を真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の 0~100% EtOAc) を使用して精製して、6.7 g (15.4 mmol、収率 33%) の所望の生成物を得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.24 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.75 (m, 4H), 3.55 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.54 (br s, 2H), 2.41 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.02 (m, 1H), 1.93 (td, J = 7.5, 5.4 Hz, 2H), 1.59-1.48 (m, 4H), 1.37-1.20 (m, 20H), 0.87 (t, J = 7.0 Hz, 6H) ppm。

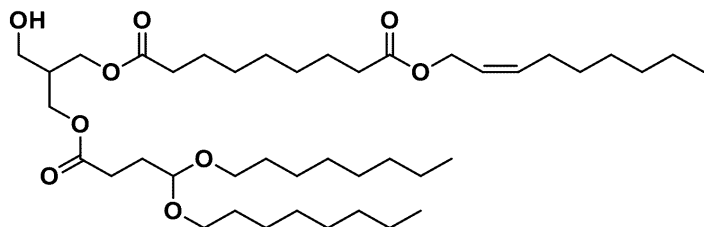
30

40

【0206】

中間体 54c: (Z)-1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

【化 8 7】



DCM (0.2 M) 中の中間体 54 a (1 ~ 1.2 当量)、DMAP (0.15 当量)、DIPEA (1.6 ~ 3.0 当量)、及び中間体 54 b (900 mg、2.08 mmol、1 当量) の溶液に、EDCI・HCl (1.6 当量) を室温で添加した。反応混合物を室温で少なくとも 2 時間攪拌し、真空中で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の EtOAc の勾配) を使用して直接精製して、503 mg (0.69 mmol、収率 33%) の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.61 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.17 (m, 4H), 3.65 – 3.51 (m, 4H), 3.39 (dt, J = 9.4, 6.7 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.29 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 2.09 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.93 (td, J = 7.5, 5.4 Hz, 2H), 1.67 – 1.50 (m, 8H), 1.40 – 1.19 (m, 32H), 0.87 (t, J = 6.7 Hz, 9H) ppm; MS: 749.69 m/z [M + Na]。

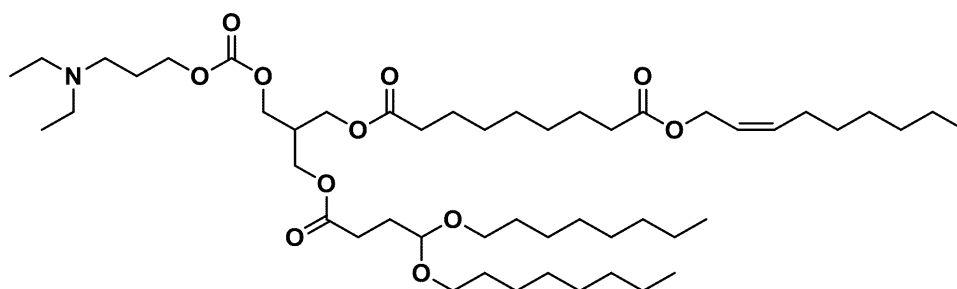
10

20

【0207】

実施例 54: (Z) - 1 - (3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピル) 9 - (ノン - 2 - エン - 1 - イル) ノナンジオエート

【化 8 8】



30

実施例 54 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 54 c 及び 3 - (ジエチルアミノ) プロパン - 1 - オールから収率 48% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.68 – 5.58 (m, 1H), 5.55 – 5.46 (m, 1H), 4.61 (dd, J = 6.8, 1.2 Hz, 2H), 4.47 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.21 – 4.06 (m, 8H), 3.55 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.45 – 2.35 (m, 3H), 2.29 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 2.09 (m, 2H), 1.91 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.67 – 1.49 (m, 8H), 1.40 – 1.21 (m, 34H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 885.65 m/z [M + H]。

40

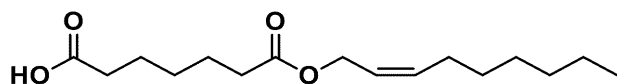
【0208】

実施例 55 の合成

中間体 55 a: (Z) - 7 - (ノン - 2 - エン - 1 - イルオキシ) - 7 - オキソヘプタン酸

50

【化 8 9】



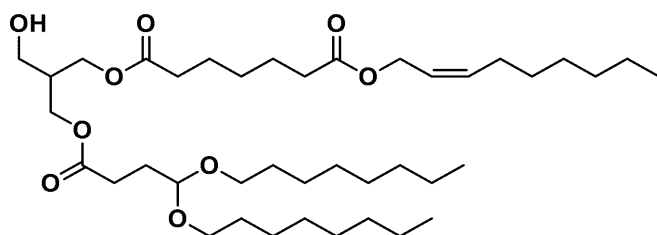
中間体 5 4 a を、中間体 5 4 a に用いた方法を使用して、ヘプタン二酸及び (Z) - ノン - 2 - エン - 1 - オールから合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.58 (m, 1H), 5.44 (m, 1H), 4.55 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.26 (m, 4H), 2.03 (m, 2H), 1.59 (m, 4H), 1.30 (m, 10H), 0.81 (t, $J=6.8$ Hz, 3H) ppm。

10

【0209】

中間体 5 5 b : (Z) - 1 - (3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (ヒドロキシメチル) プロピル) 7 - (ノン - 2 - エン - 1 - イル) ヘプタンジオエート

【化 9 0】



20

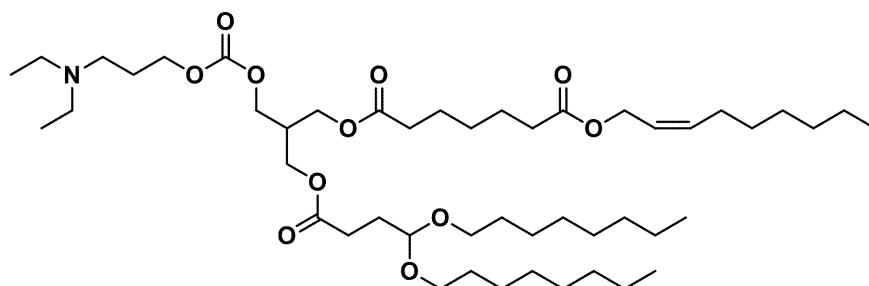
中間体 5 5 b を、中間体 5 4 c に用いた方法を使用して、中間体 5 5 a 及び中間体 5 4 b から収率 30% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.62 (dd, $J=6.8, 1.2$ Hz, 2H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.22 - 4.07 (m, 4H), 3.67 - 3.51 (m, 4H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.41 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.32 (td, $J=7.5, 5.9$ Hz, 4H), 2.19 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 1.93 (td, $J=7.5, 5.4$ Hz, 2H), 1.68 - 1.50 (m, 8H), 1.39 - 1.23 (m, 30H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 721.67 m/z [M+Na]。

30

【0210】

実施例 5 5 : (Z) - 1 - (3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピル) 7 - (ノン - 2 - エン - 1 - イル) ヘプタンジオエート

【化 9 1】



40

実施例 5 5 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 5 5 b 及び 3 - (ジエチルアミノ) プロパン - 1 - オールから収率 46% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.69 - 5.59 (m, 1H), 5.55 - 5.47 (m, 1H), 4.62 (dd, $J=6.9, 1.3$ Hz, 2H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.20 (m, 4H), 4.13 (m,

50

4 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.94–2.57 (br m, 6 H), 2.47–2.36 (m, 3 H), 2.31 (td, $J=7.5, 2.0$ Hz, 4 H), 2.19–1.89 (m, 6 H) 1.70–1.49 (m, 9 H), 1.41–1.08 (m, 35 H), 0.88 (m, 9 H); MS: 857.57 m/z [M+H].

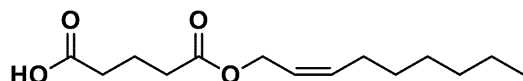
【0211】

実施例 56 の合成

中間体 56a: (Z)-5-(ノン-2-エン-1-イルオキシ)-5-オキソペンタン酸

【化92】

10



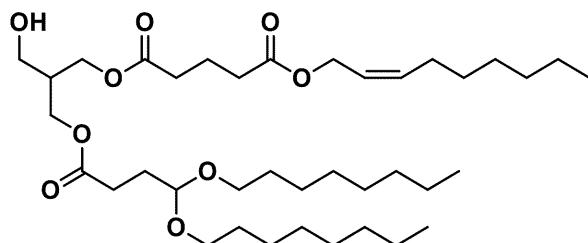
中間体 56a を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ペンタン二酸及び (Z)-ノン-2-エン-1-オールから合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.66 (m, 1 H), 5.52 (m, 1 H), 4.64 (d, $J=6.8$ Hz, 2 H), 2.43 (m, 4 H), 2.15 (m, 2 H), 1.97 (m, 2 H), 1.28 (m, 8 H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 3 H) ppm.

【0212】

20

中間体 56b: (Z)-3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((ヒドロキシメチル)プロピルノン-2-エン-1-イルグルタレート

【化93】



30

中間体 56b を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 56a 及び中間体 54b から収率 32% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.65 (m, 1 H), 5.51 (m, 1 H), 4.63 (dd, $J=6.9, 1.3$ Hz, 2 H), 4.49 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.18 (m, 4 H), 3.64 (m, 2 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.40 (m, 6 H), 2.19 (m, 1 H), 2.20 (m, 2 H), 1.94 (m, 4 H), 1.56 (m, 4 H), 1.39–1.19 (m, 28 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 693.64 [M+Na].

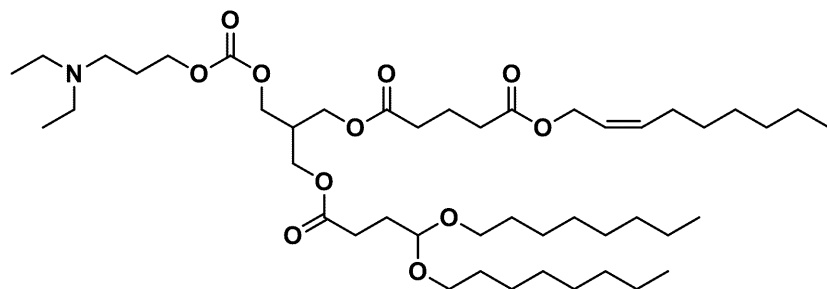
【0213】

40

実施例 56: (Z)-3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピルノン-2-エン-1-イルグルタレート

50

【化 9 4】



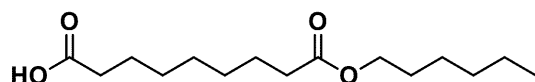
実施例 56 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 56b 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 66% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.74–5.58（m, 1H）, 5.58–5.45（m, 1H）, 4.63（dd, $J=6.8, 1.3$ Hz, 2H）, 4.48（t, $J=5.5$ Hz, 1H）, 4.25–4.17（m, 4H）, 4.14（dd, $J=6.2, 3.1$ Hz, 4H）, 3.56（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 3.40（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 2.71（br m, 6H）, 2.48–2.35（m, 7H）, 2.09（qd, $J=7.3, 1.5$ Hz, 3H）, 2.04–1.87（m, 5H）, 1.66–1.52（m, 5H）, 1.42–1.30（m, 30H）, 1.15（br m, 3H）, 0.88（m, 9H）; MS: 829.67 m/z [M+H]。

【0214】

実施例 57 の合成

中間体 57a: 9-（ヘキシルオキシ）-9-オキソノナン酸

【化 9 5】

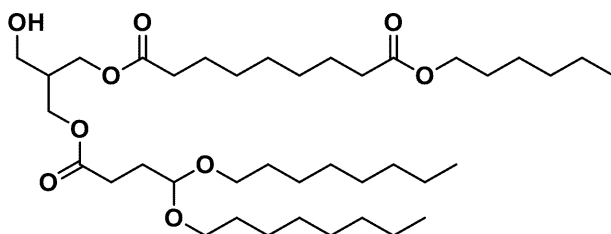


中間体 57a を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ノナン二酸及びヘキサン-1-オールから合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.05（t, $J=6.8$ Hz, 2H）, 2.36–2.26（m, 4H）, 1.60（m, 6H）, 1.32（m, 12H）, 0.88（t, $J=6.8$ Hz, 3H） ppm。

【0215】

中間体 57b: 1-（3-（（4,4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（ヒドロキシメチル）プロピル）9-ヘキシルノナンジオエート

【化 9 6】



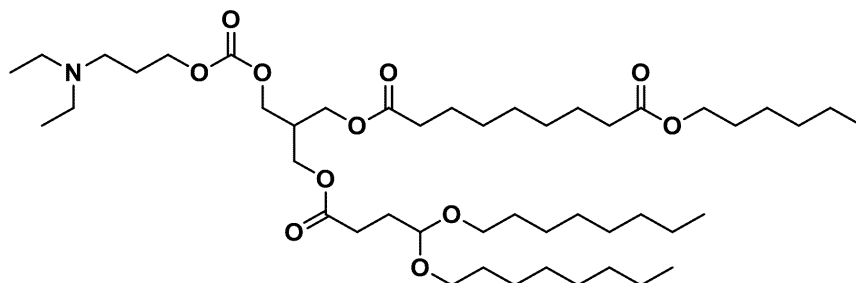
中間体 57b を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 57a 及び中間体 54b から収率 30% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.48（t, $J=5.5$ Hz, 1H）, 4.21–4.12（m, 4H）, 4.04（t, $J=6.7$ Hz, 2H）, 3.61（t, $J=5.9$ Hz, 2H）, 3.55（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 3.39（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 2.40（t, $J=7.5$ Hz, 2H）, 2.29（m, 5H）, 2.19（m, 1H）, 1.92

(t d, $J = 7.5, 5.4 \text{ Hz}$, 2 H), 1.66–1.49 (m, 9 H), 1.38–1.24 (m, 32 H), 0.87 (m, 9 H) ppm; MS: 709.64 m/z [M+Na]。

【0216】

実施例 57: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-ヘキシルノナンジオエート

【化97】



10

実施例 57 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 57b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 65% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 (t, $J = 5.5 \text{ Hz}$, 1 H), 4.23–4.08 (m, 8 H), 4.05 (t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 2 H), 3.55 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2 H), 3.39 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2 H), 2.50 (m, 6 H), 2.40 (m, 3 H), 2.29 (td, $J = 7.5, 5.9 \text{ Hz}$, 4 H), 1.91 (m, 2 H), 1.80 (m, 2 H), 1.66–1.49 (m, 10 H), 1.39–1.21 (m, 32 H), 1.00 (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 845.63 m/z [M+H]。

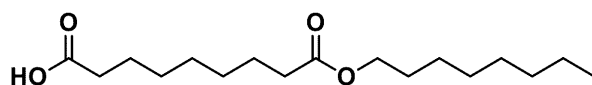
20

【0217】

実施例 58 の合成

中間体 58a: 9-(オクチルオキシ)-9-オキソノナン酸

【化98】



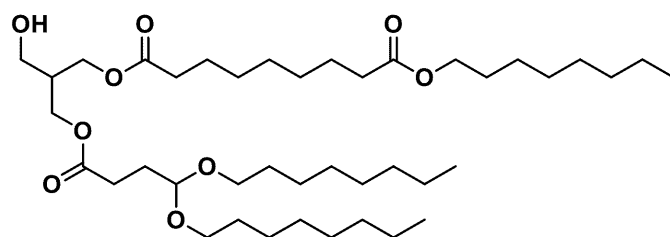
30

中間体 58a を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ノナン二酸及びオクタン-1-オールから合成した。 ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.05 (t, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 2 H), 2.28 (m, 4 H), 1.61 (m, 6 H), 1.32 (m, 16 H), 0.90 (t, $J = 6.6 \text{ Hz}$, 3 H) ppm。

【0218】

中間体 58b: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-オクチルノナンジオエート

【化99】



40

中間体 58b を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 58a 及び中間体 54b

50

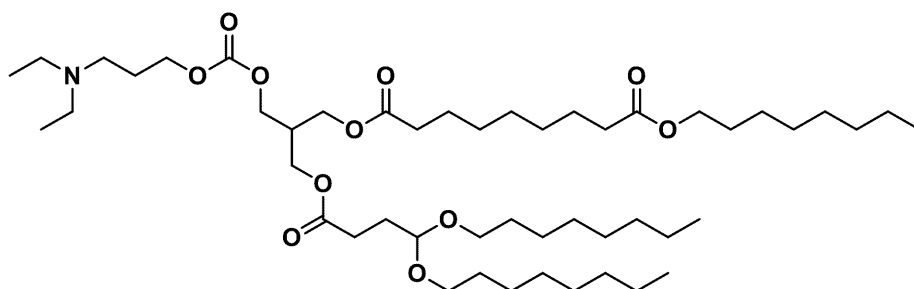
から収率 26% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.22–4.13 (m, 4H), 4.05 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 3.62 (t, $J=5.9$ Hz, 2H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J=9.4, 6.7$ Hz, 2H), 2.40 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.34–2.24 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, $J=7.5, 5.4$ Hz, 2H), 1.66–1.49 (m, 10H), 1.39–1.19 (m, 36H), 0.87 (m, 9H) ppm。

【0219】

実施例 58：1-((3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-オクチルノナンジオエート

10

【化100】



20

実施例 58 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 58b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.22–4.08 (m, 8H), 4.05 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.55 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.40 (m, 3H), 2.29 (td, $J=7.6, 6.2$ Hz, 4H), 1.91 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.66–1.51 (m, 10H), 1.38–1.21 (m, 36H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 873.67 m/z [M+H]。

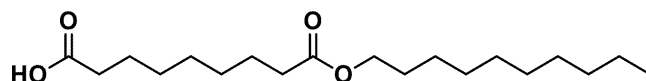
30

【0220】

実施例 59 の合成

中間体 59a：9-(デシルオキシ)-9-オキソノナン酸

【化101】



中間体 59a を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ノナン二酸及びデカン-1-オールから収率 39% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.08 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.31 (m, 4H), 1.63 (m, 6H), 1.33 (m, 20H), 0.92 (t, $J=6.8$ Hz, 3H) ppm。

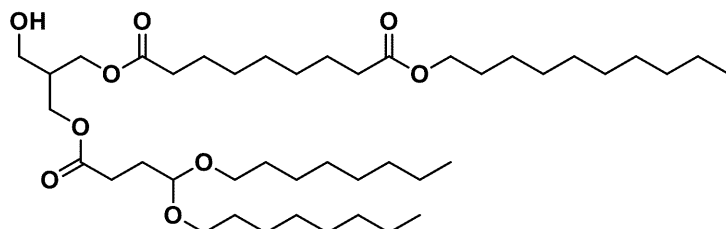
40

【0221】

中間体 59b：1-((3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

50

【化 102】



中間体 59b を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 59a 及び中間体 54b から収率 43% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.22–4.12 (m, 4H), 4.04 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.61 (t, $J=5.9$ Hz, 2H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.40 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.34–2.24 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, $J=7.5, 5.4$ Hz, 2H), 1.66–1.50 (m, 10H), 1.37–1.21 (m, 40H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 765.68 m/z [M+Na]。

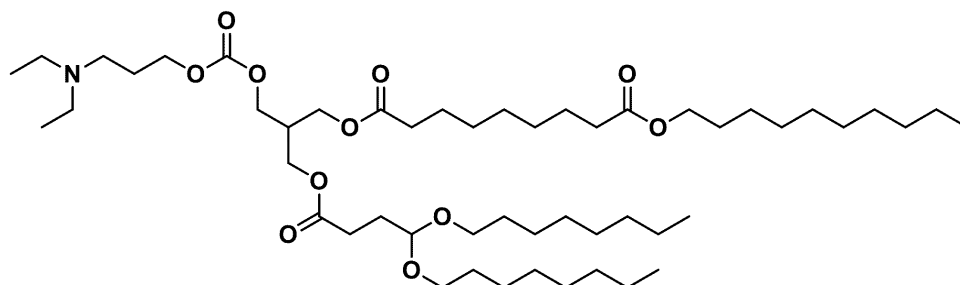
10

【0222】

実施例 59: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

20

【化 103】



30

実施例 59 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 59b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 65% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.21–4.09 (m, 8H), 4.04 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 3.55 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.39 (m, 3H), 2.28 (m, 4H), 1.91 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.66–1.49 (m, 10H), 1.37–1.21 (m, 40H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 901.76 m/z [M+H]。

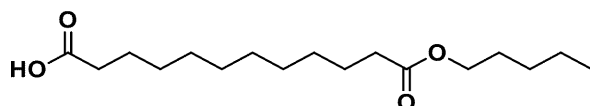
40

【0223】

実施例 60 の合成

中間体 60a: 12-オキソ-12-(ペンチルオキシ)ドデカン酸

【化 104】



中間体 60a を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ドデカン二酸及びペンタン-1-オールから合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.07 (t, J

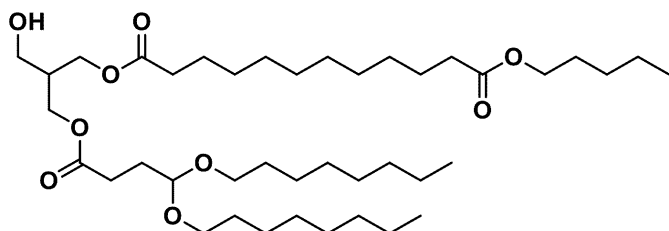
50

= 6.8 Hz, 2H), 2.30 (m, 4H), 1.63 (m, 6H), 1.33 (m, 16H), 0.93 (t, J = 6.8 Hz, 3H) ppm.

【0224】

中間体60b: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)12-ペンチルドデカンジオエート

【化105】



10

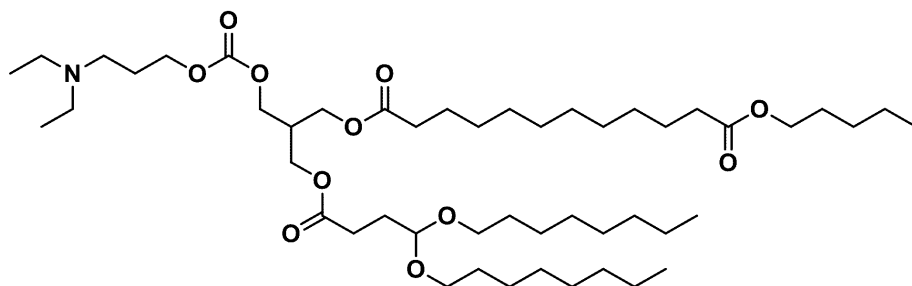
中間体60bを、中間体54cに用いた方法を使用して、中間体60a及び中間体54bから収率21%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.22-4.11 (m, 4H), 4.05 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.61 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.56 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.34-2.24 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, J = 7.5, 5.4 Hz, 2H), 1.65-1.50 (m, 10H), 1.29 (m, 36H), 0.89 (m, 9H) ppm; MS: 737.68 m/z [M+Na].

20

【0225】

実施例60: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)12-ペンチルドデカンジオエート

【化106】



30

実施例60を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体60b及び3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率65%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.47 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.24-4.09 (m, 8H), 4.05 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.55 (dt, J = 9.2, 6.7 Hz, 2H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.40 (m, 3H), 2.29 (td, J = 7.6, 5.8 Hz, 4H), 1.91 (td, J = 7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.80 (dq, J = 8.7, 6.7 Hz, 2H), 1.68-1.49 (m, 10H), 1.38-1.24 (m, 36H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.89 (m, 9H) ppm; MS: 873.67 m/z [M+H].

40

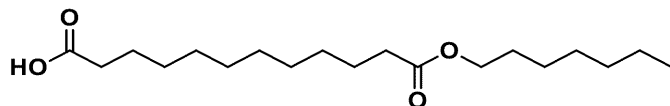
【0226】

実施例61の合成

中間体61a: 12-(ヘプチルオキシ)-12-オキソドデカン酸

50

【化 1 0 7】

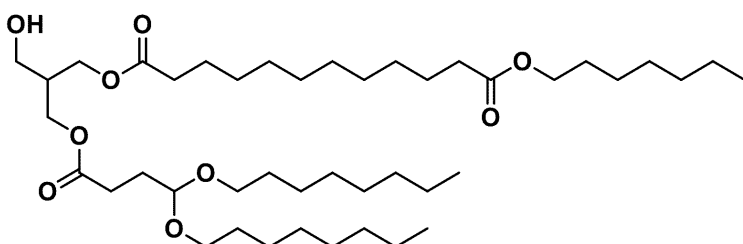


中間体 6 1 a を、中間体 5 4 a に用いた方法を使用して、ドデカン二酸及びヘプタン-1-オールから合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.31 (m, 4H), 1.61 (m, 6H), 1.30 (m, 20H), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H) ppm。

【0 2 2 7】

中間体 6 1 b : 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)12-ヘプチルドデカンジオエート

【化 1 0 8】

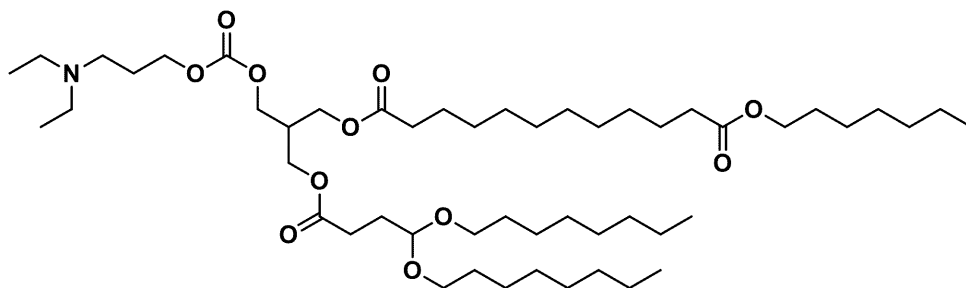


中間体 6 1 b を、中間体 5 4 c に用いた方法を使用して、中間体 6 1 a 及び中間体 5 4 b から収率 33% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.22-4.12 (m, 4H), 4.05 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.64-3.59 (m, 2H), 3.56 (dt, $J = 9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J = 9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.40 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.35-2.23 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, $J = 7.5, 5.5$ Hz, 2H), 1.66-1.50 (m, 10H), 1.37-1.23 (m, 40H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 765.68 m/z [M+Na]。

【0 2 2 8】

実施例 6 1 : 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)12-ヘプチルドデカンジオエート

【化 1 0 9】



実施例 6 1 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 6 1 b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 69% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.22-4.09 (m, 8H), 4.05 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.55 (dt, $J = 9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J = 9.3, 6.6$ Hz, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.40 (m, 3H), 2.29 (td, $J = 7.6, 6.3$ Hz, 4H), 1.91 (t

10

20

30

40

50

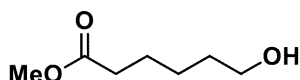
d, $J = 7.6, 5.5 \text{ Hz}$, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.66–1.49 (m, 10H), 1.37–1.24 (m, 40H), 1.00 (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 901.72 m/z [M+H].

【0229】

実施例62の合成

中間体62a: メチル6-ヒドロキシヘキサノエート

【化110】



10

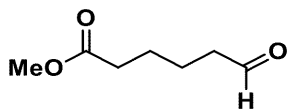
MeOH中のHCl (1000 mL) 中のオキセパン-2-オン (100 g、876 mmol) の混合物を、70℃で12時間撹拌した。反応混合物を、NaHCO₃水溶液の添加によってpH8に調整して、次いで、これをEtOAc (3×1000 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (50 mL) で洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、100 g (685 mmol、収率78%) の粗生成物を無色油として得、これは、さらなる精製を必要としなかった。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.65 (m, 5H), 2.33 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 2H), 1.69–1.57 (m, 4H), 1.41 (m, 3H) ppm.

【0230】

20

中間体62b: メチル6-オキソヘキサノエート

【化111】



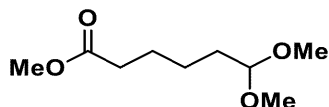
DCM (1200 mL) 中の中間体62a (93 g、636 mmol) の溶液に、Et₃N (266 mL、1.91 mol) を0℃で添加した。次いで、DMSO (497 mL) 中の三酸化硫黄ピリジン (203 g、1.27 mol) を0℃で滴加した。得られた反応混合物を15℃で2時間撹拌し、水 (1000 mL) で希釈し、DCM (2×1000 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (1000 mL) で洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の0~5% EtOAc) を使用して精製して、63 g (437 mmol、収率69%) の所望の生成物を無色油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.77 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 2.47 (m, 2H), 2.33 (m, 2H), 1.67 (m, 4H) ppm.

30

【0231】

中間体62c: メチル6,6-ジメトキシヘキサノエート

【化112】



40

MeOH (300 mL) 中の中間体62b (60 g、416 mmol) の溶液に、H₂SO₄ (2.22 mL、4.08 g、41.6 mmol) を添加した。反応混合物を、80℃で12時間撹拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、残留物を得、pH7になるまで飽和NaHCO₃で希釈し、EtOAc (3×500 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (500 mL) で洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の0~5% EtOAc) を使用して精製して、30 g (158 mmol、収率38%) の所望の生成

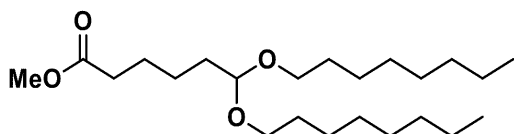
50

物を無色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.36 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.32 (s, 6H), 2.32 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.67–1.60 (m, 4H), 1.35 (m, 2H) ppm。

【0232】

中間体62d：メチル6，6－ビス（オクチルオキシ）ヘキサノエート

【化113】



10

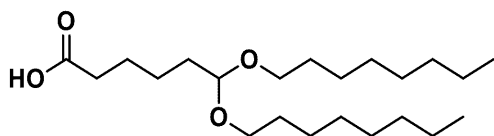
オクタン－1－オール（80 mL）中の中間体62c（30 g、158 mmol）の溶液に、 KHSO_4 （10.7 g、78.9 mmol）を添加した。反応混合物を80℃で12時間攪拌し、石油エーテル（150 mLで希釈し、シリカゲルクロマトグラフィー（石油エーテル）を使用して直接精製して、35 g（90.5 mmol、収率57%）の所望の生成物を無色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.46 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.57 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.32 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.67–1.55 (m, 8H), 1.36–1.28 (m, 22H), 0.80 (t, $J = 6.8$ Hz, 6H) ppm。

20

【0233】

中間体62e：6，6－ビス（オクチルオキシ）ヘキサン酸

【化114】



MeOH （150 mL）中の中間体62d（35 g、90.5 mmol）の溶液に、 H_2O （50 mL）中の NaOH （10.9 g、272 mmol）の溶液を添加した。15℃で5時間攪拌した後に、反応混合物を減圧下で濃縮し、水（150 mL）で希釈し、石油エーテル（200 mL）に抽出した。有機層をブライン（200 mL）で洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー（石油エーテル中の0～5% EtOAc ）を使用して精製して、9.5 g（25.5 mmol、収率28%）の所望の生成物を黄色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.37 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.69–1.55 (m, 8H), 1.33 (m, 22H), 0.89 (t, $J = 6.8$ Hz, 6H) ppm; MS: 371.3 [M–H]。

30

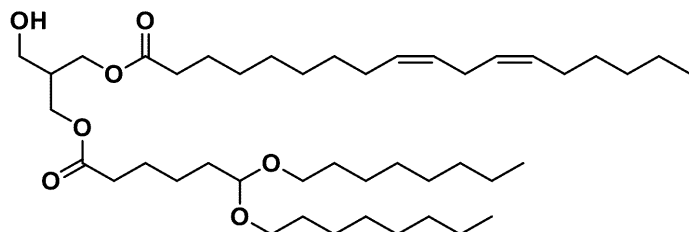
40

【0234】

中間体62f：3－（（6，6－ビス（オクチルオキシ）ヘキサノイル）オキシ）－2－（ヒドロキシメチル）プロピル（9Z，12Z）－オクタデカ－9，12－ジエノエート

50

【化 1 1 5】



中間体 6 2 f を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 1 a 及び中間体 6 2 e から収率 3 4 % で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.45–5.29 (m, 4 H), 4.47 (t, $J=5.7$ Hz, 1 H), 4.26–4.11 (m, 4 H), 3.63 (t, $J=5.9$ Hz, 2 H), 3.57 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.41 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.78 (m, 2 H), 2.35 (td, $J=7.6, 6.4$ Hz, 4 H), 2.28 (t, $J=6.3$ Hz, 1 H), 2.21 (m, 1 H), 2.07 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.72–1.53 (m, 9 H), 1.45–1.23 (m, 38 H), 0.90 (m, 9 H) ppm; MS: 745.74 [M+Na]。

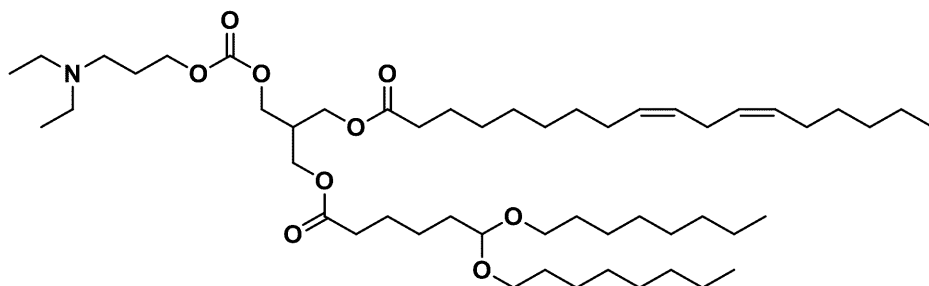
10

【0 2 3 5】

実施例 6 2: 3-((6,6-ビス(オクチルオキシ)ヘキサノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 1 1 6】



30

実施例 6 2 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 6 2 f 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 4 7 % で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.27 (m, 4 H), 4.44 (t, $J=5.7$ Hz, 1 H), 4.22–4.07 (m, 8 H), 3.55 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 2 H), 2.51 (q, $J=6.9$ Hz, 6 H), 2.41 (m, 1 H), 2.31 (td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 4 H), 2.04 (q, $J=6.8$ Hz, 4 H), 1.81 (m, 2 H), 1.60 (m, 10 H), 1.44–1.20 (m, 36 H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 881.76 m/z [M+H]。

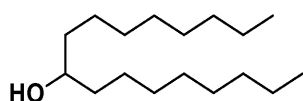
40

【0 2 3 6】

実施例 6 3 の合成

中間体 6 3 a: ヘプタデカン-9-オール

【化 1 1 7】



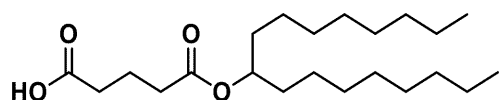
50

THF (400 mL) 中のノナール (40 g、281.22 mmol) の溶液に、ブromo (オクチル) マグネシウム (1 M、309.34 mL) を -40°C で添加した。混合物を 16°C で2時間攪拌した。残留物を、飽和 NH_4Cl (500 mL) に注ぎ入れ、酢酸エチル ($3 \times 700\text{ mL}$) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (800 mL) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の $0 \sim 1.5\%$ EtOAc) を使用して精製して、32 g (124.8 mmol、収率 44%) の所望の生成物を白色固体として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.52 (m, 1H), 1.42–1.21 (m, 28H), 0.81 (t, $J = 6.6\text{ Hz}$, 6H) ppm.

【0237】

中間体 63b: 5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタン酸

【化118】

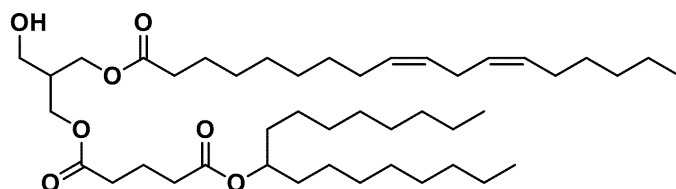


中間体 63b を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ペンタン二酸及び中間体 63a から合成した。 ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 4.90 (m, 1H), 2.36 (m, 4H), 1.91 (m, 2H), 1.54 (m, 4H), 1.29 (m, 24H) 0.90 (t, $J = 6.6\text{ Hz}$, 6H) ppm.

【0238】

中間体 63c: ヘプタデカン-9-イル (3-ヒドロキシ-2-((9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノイル) オキシ) メチル) プロピル) グルタレート

【化119】

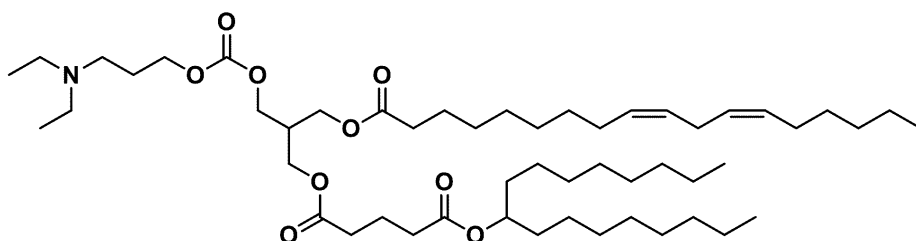


中間体 63c を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 1a 及び中間体 63b から収率 41% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.26 (m, 4H), 4.86 (m, 1H), 4.22–4.08 (m, 4H), 3.61 (t, $J = 5.9\text{ Hz}$, 2H), 2.77 (m, 2H), 2.43–2.28 (m, 6H), 2.26–2.16 (m, 2H), 2.04 (q, $J = 6.8\text{ Hz}$, 4H), 1.95 (m, 2H), 1.65–1.58 (m, 2H), 1.50 (m, 4H), 1.40–1.18 (m, 37H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 721.84 m/z [M+H].

【0239】

実施例 63: 3-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-((9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピルヘプタデカン-9-イルグルタレート

【化120】



10

20

30

40

50

実施例 63 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 63c 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 59% で合成した。 ^1H NMR（500 MHz, CDCl_3 ） δ 5.42–5.28（m, 4H）, 4.86（m, 1H）, 4.21–4.08（m, 8H）, 2.76（t, $J=6.7$ Hz, 2H）, 2.50（q, $J=7.0$ Hz, 6H）, 2.46–2.27（m, 7H）, 2.04（d, $J=6.2$ Hz, 4H）, 1.94（m, $J=7.5$ Hz, 2H）, 1.80（m, $J=6.8$ Hz, 2H）, 1.60（t, $J=7.3$ Hz, 2H）, 1.50（q, $J=6.2$ Hz, 4H）, 1.35（t, $J=7.1$ Hz, 4H）, 1.33–1.22（m, 34H）, 1.00（t, $J=7.1$ Hz, 6H）, 0.88（m, 9H）ppm；MS：879.78 m/z [M+H]。

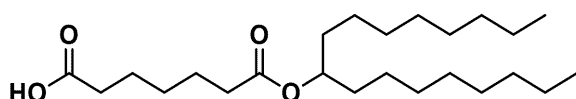
10

【0240】

実施例 64 の合成

中間体 64a：7-（ヘプタデカン-9-イルオキシ）-7-オキソヘプタン酸

【化121】



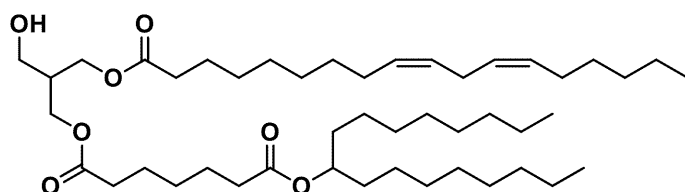
中間体 64 を、中間体 54a に用いた方法を使用して、ヘプタン二酸及び中間体 63a から合成した。 ^1H NMR（400 MHz, MeOD ） δ 4.90（m, 1H）, 2.30（m, 4H）, 1.62（m, 4H）, 1.53（m, 4H）, 1.29（m, 26H）, 0.90（t, $J=6.8$ Hz, 6H）ppm。

20

【0241】

中間体 64b：1-（ヘプタデカン-9-イル）7-（3-ヒドロキシ-2-（（（9Z, 12Z）-オクタデカ-9, 12-ジエノイル）オキシ）メチル）プロピル）ヘプタンジオエート

【化122】



30

中間体 64b を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 1a 及び中間体 64a から収率 43% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.42–5.27（m, 4H）, 4.85（m, 1H）, 4.22–4.12（m, 4H）, 3.61（t, $J=5.9$ Hz, 2H）, 2.76（dd, $J=7.2, 5.9$ Hz, 2H）, 2.36–2.24（m, 6H）, 2.19（m, 1H）, 2.04（t, $J=3.5$ Hz, 4H）, 1.69–1.58（m, 6H）, 1.49（t, $J=6.2$ Hz, 4H）, 1.41–1.19（m, 40H）, 0.88（m, 9H）ppm；MS：749.83 m/z [M+H]。

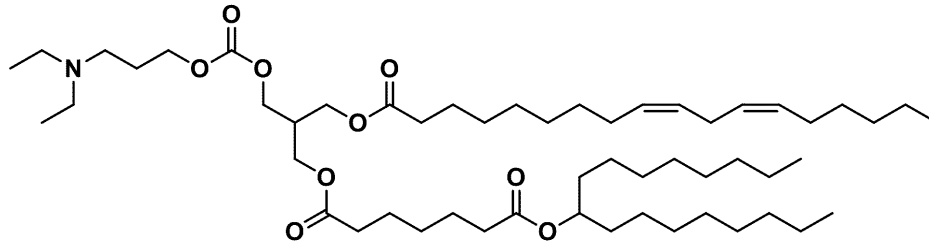
40

【0242】

実施例 64：1-（3-（（（3-（ジエチルアミノ）プロポキシ）カルボニル）オキシ）-2-（（（（9Z, 12Z）-オクタデカ-9, 12-ジエノイル）オキシ）メチル）プロピル）7-（ヘプタデカン-9-イル）ヘプタンジオエート

50

【化 1 2 3】



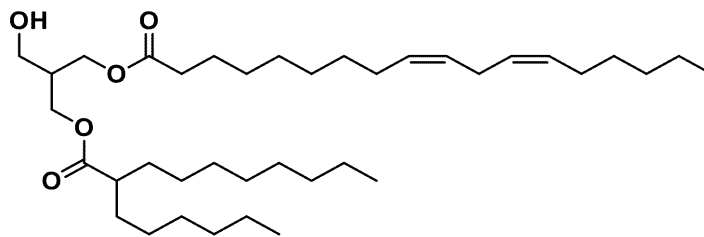
実施例 6 4 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 6 4 b 及び 3 - (ジエチルアミノ) プロパン - 1 - オールから収率 6 3 % で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.42 - 5.26 (m, 4H), 4.85 (m, 1H), 4.22 - 4.07 (m, 8H), 2.76 (m, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.41 (m, 1H), 2.35 - 2.24 (m, 7H), 2.04 (q, J = 6.2 Hz, 4H), 1.80 (m, 2H), 1.63 (m, 7H), 1.49 (q, J = 6.1 Hz, 4H), 1.38 - 1.24 (m, 38H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 907.61 m/z [M+H]。

【0 2 4 3】

実施例 6 5 の合成

中間体 6 5 a : 3 - ((2 - ヘキシルデカノイル) オキシ) - 2 - (ヒドロキシメチル) プロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【化 1 2 4】

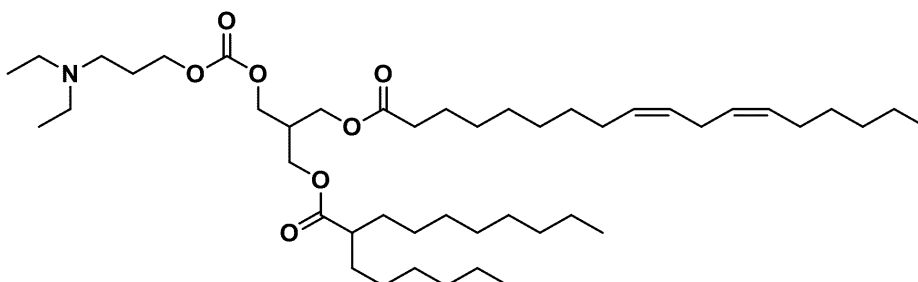


中間体 6 5 a を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 1 a 及び 2 - ヘキシルデカン酸から収率 4 0 % で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.45 - 5.25 (m, 4H), 4.25 - 4.10 (m, 4H), 3.61 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.39 - 2.29 (m, 3H), 2.27 - 2.16 (m, 2H), 2.04 (q, J = 6.8 Hz, 4H), 1.60 (m, 4H), 1.50 - 1.16 (m, 36H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 607.77 m/z [M+H]。

【0 2 4 4】

実施例 6 5 : 3 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) - 2 - (((2 - ヘキシルデカノイル) オキシ) メチル) プロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【化 1 2 5】



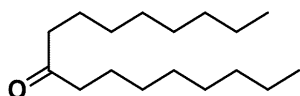
実施例 65 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 65a 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 63% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.43–5.27（m, 4H）, 4.22–4.07（m, 8H）, 2.77（t, $J=6.5\text{ Hz}$, 2H）, 2.50（q, $J=7.1\text{ Hz}$, 6H）, 2.42（m, 1H）, 2.36–2.26（m, 3H）, 2.09–2.00（m, 4H）, 1.80（m, 2H）, 1.63–1.51（m, 4H）, 1.43（m, 2H）, 1.39–1.19（m, 34H）, 1.00（t, $J=7.1\text{ Hz}$, 6H）, 0.87（m, 9H）ppm；MS：765.68 m/z [M+H]。

【0245】

実施例 66 の合成

中間体 66a：ヘプタデカン-9-オン

【化126】

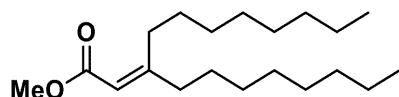


DCM （300 mL）中の中間体 63a（32.8 g、127 mmol）の溶液に、デスマーチンペルヨージナン（81.4 g、192 mmol）を添加した。反応混合物を 15℃ で 5 時間攪拌し、真空中で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー（石油エーテル）を使用して直接精製して、20 g（70.5 mmol、収率 56%）の所望の生成物を白色固体として得た。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 2.39（t, $J=7.4\text{ Hz}$, 4H）, 1.56（m, 4H）, 1.30（m, 20H）, 0.88（t, $J=6.8\text{ Hz}$, 6H）ppm。

【0246】

中間体 66b：メチル 3-オクチルウンデカ-2-エノエート

【化127】

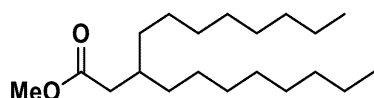


DMF （75 mL）中のメチル 2-ジメトキシホスホリルアセテート（2 当量）の溶液に、 NaH （2 当量）を 15℃ で添加した。1 時間攪拌した後に、中間体 66a（7.5 g、29.48 mmol、1 当量）を添加し、反応混合物をさらに 1 時間攪拌した。次いで、反応混合物を 90～110℃ に加温し、10～48 時間攪拌した。反応混合物を水に注ぎ入れ、酢酸エチルに抽出した。組み合わせた有機層をブラインで洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィーを使用して精製して、12 g（38.65 mmol、収率 66%）の所望の生成物を黄色油として得た。

【0247】

中間体 66c：メチル 3-オクチルウンデカノエート

【化128】



EtOH （75 mL）中の中間体 66b（7.5 g、24 mmol）の溶液に、 N_2 下で、 Pd/C （1 g）を添加した。懸濁液を真空下で脱気し、 H_2 で 3 回パージした。混合物を H_2 （15 psi）下、15℃ で 12 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、 MeOH （1 L）で洗浄した。濾液を真空下で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー（石油エーテル）を使用して直接精製して、10 g（32.00 mmol、収率 66%）の所望の生

10

20

30

40

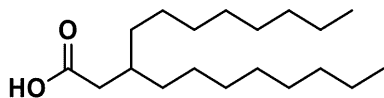
50

成物を無色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.59 (s, 3H), 2.16 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.77 (br m, 1H), 1.19 (m, 28H), 0.81 (t, $J=6.8$ Hz, 6H) ppm。

【0248】

中間体 66d: 3-オクチルウンデカン酸

【化129】



10

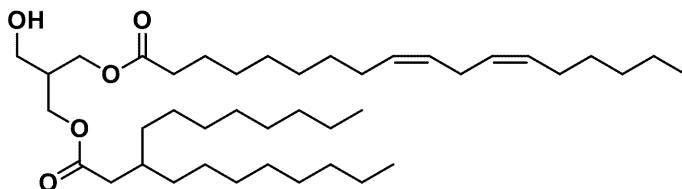
EtOH (50 mL) 及び H_2O (50 mL) 中の中間体 66c (10 g、32.0 mmol) の溶液に、 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2.69 g、64.0) 及び NaOH (2.56 g、64.0 mmol) を添加した。反応混合物を 60°C に加温し、12時間攪拌した。反応混合物を濃縮して、EtOH を除去し、次いで水 (30 mL) に注ぎ入れた。得られた混合物を 1 M の HCl (水溶液) で pH 6 まで酸性化し、次いで酢酸エチル (3×60 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (2×40 mL) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の 0~50% EtOAc) を使用して精製して、3.6 g (12.4 mmol、収率 38%) の所望の生成物を無色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 2.20 (br m, 2H), 1.82 (br m, 1H), 1.31 (m, 28H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 6H) ppm。

20

【0249】

中間体 66e: 3-ヒドロキシ-2-((3-オクチルウンデカノイル)オキシ)メチル)プロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化130】



30

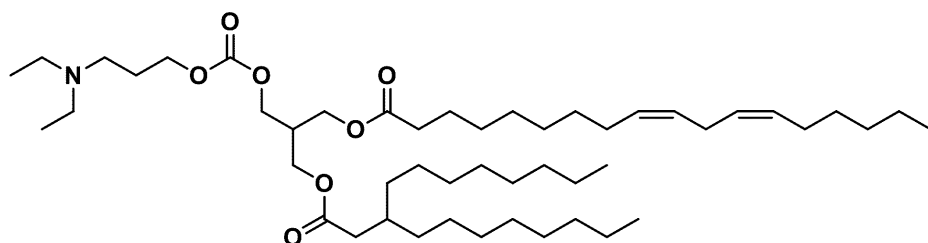
中間体 66e を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 1a 及び中間体 66d から収率 39% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.45–5.26 (m, 4H), 4.24–4.10 (m, 4H), 3.61 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.77 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.32 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.28–2.14 (m, 4H), 2.05 (q, $J=6.8$ Hz, 4H), 1.83 (m, 1H), 1.61 (m, 2H), 1.28 (m, 42H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 649.67 m/z [M+H]。

【0250】

実施例 66: 3-((3-((3-((ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-((3-オクチルウンデカノイル)オキシ)メチル)プロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

40

【化131】



50

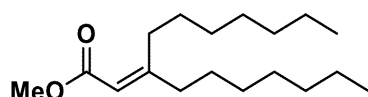
実施例 66 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 66e 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 53% で合成した。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.43–5.28 (m, 4H), 4.19–4.13 (m, 8H), 2.77 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 2.50 (q, $J=7.0$ Hz, 6H), 2.42 (m, 1H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.24 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.05 (m, 4H), 1.80 (m, 3H), 1.61 (m, 2H), 1.42–1.15 (m, 42H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 807.58 m/z [M+H]。

【0251】

実施例 67 の合成

中間体 67a: メチル 3-ヘプチルデカ-2-エノエート

【化 132】

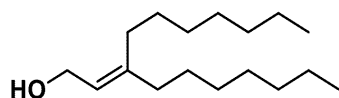


THF (0.4 M) 中の NaH (14.13 g、353.36 mmol、2 当量) の溶液に、メチル 2-ジメトキシホスホリルアセテート (64.35 g、353.36 mmol、2 当量) を 0℃ でゆっくりと添加した。1 時間攪拌した後に、ペンタデカン-8-オン (40 g、176.68 mmol) をゆっくりと添加し、反応混合物を 15℃ に加温した。さらに 1 時間攪拌した後、反応混合物を 70℃ に加熱し、48 時間攪拌した。反応混合物を 0℃ に冷却し、水で希釈し、石油エーテルに抽出した。組み合わせた有機層をブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウムまたは硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物を、シリカゲルクロマトグラフィーを使用して精製して、20 g (56.65 mmol、収率 32%) の所望の生成物を無色油として得た。

【0252】

中間体 67b: 3-ヘプチルデカ-2-エン-1-オール

【化 133】

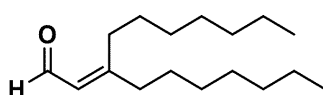


THF (200 mL) 中の中間体 67a (21.5 g、76.1 mmol) の溶液に、DIBAL (1 M、228.4 mL) を 0℃ で添加した。混合物を 0℃ で 30 分間、次いで 15℃ で 12 時間攪拌した。反応混合物を水 (20 mL) で 0℃ で希釈し、続いて、さらに 200 mL を添加した後、EtOAc (2 × 200 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (200 mL) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の 0~2% EtOAc) を使用して精製して、17 g (40.1 mmol、収率 53%) の所望の生成物を無色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.39 (t, $J=7.0$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.65 (t, $J=6.6$ Hz, 1H), 2.03 (m, 4H), 1.35–1.28 (m, 20H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 6H) ppm。

【0253】

中間体 67c: 3-ヘプチルデカ-2-エナール

【化 134】



10

20

30

40

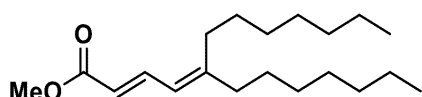
50

DMSO (1.5~3.5 M) 中の IBX (1.5~3.5 M) の攪拌懸濁液に、THF (0.5~1 M) 中の中間体 67b (17 g、66.8 mmol、1 当量) を 30℃ で添加した。30℃ で少なくとも 2 時間攪拌した後に、反応混合物を石油エーテルで希釈し、水及びブラインで洗浄し、無水 Na₂SO₄ 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィーを使用して精製して、12 g (47.5 mmol、収率 71%) の所望の生成物を無色油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.86 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 2.55 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 1.52 (m, 4H), 1.30 (m, 16H), 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 6H) ppm.

【0254】

中間体 67d: メチル (E)-5-ヘプチルドデカ-2,4-ジエノエート

【化135】

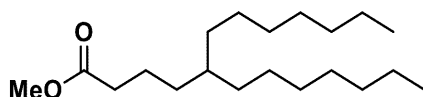


中間体 67d を、67a に用いた方法を使用して、中間体 67c 及びメチル 2-ジメトキシホスホリルアセテートから収率 44% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (dd, J = 15.0 Hz, 11.8 Hz, 1H), 5.97 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.79 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.27 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.13 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.48-1.29 (m, 20H), 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 6H) ppm.

【0255】

中間体 67e: メチル 5-ヘプチルドデカノエート

【化136】

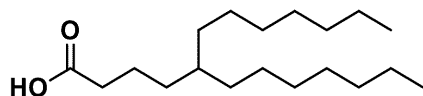


MeOH (100 mL) 中の中間体 67d (8 g、20.75 mmol) の溶液に、Pd/C (10 g、339.59 μmol、33.96 μL、10% 純度) を添加した。懸濁液を真空中で脱気し、H₂ で数回パージした。混合物を H₂ (15 psi) 下、15℃ で 12 時間攪拌した。反応混合物を濾過し、真空中で濃縮して、6 g (15.36 mmol、収率 74%) の所望の生成物を無色油として得、これはさらなる精製を必要としなかった。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.68 (s, 3H), 2.29 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.28 (m, 27H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H) ppm.

【0256】

中間体 67f: 5-ヘプチルドデカン酸

【化137】



THF (120 mL) 中の中間体 67e (6 g、15.36 mmol) の溶液に、水 (60 mL) 中の NaOH (3.07 g、76.79 mmol) の溶液を添加した。反応混合物を 60℃ で 5 時間攪拌し、水 (20 mL) で希釈し、1 M の HCl で pH 4 に中和し、EtOAc (3×20 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (20 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の 0~2% EtOAc) を使用して精製して、3

10

20

30

40

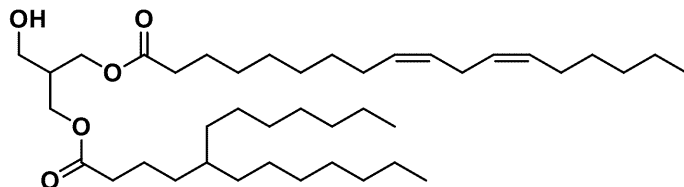
50

． 51 g (11.68 mmol、収率 76.03%) の所望の生成物を無色油として得た。¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 2.27 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.29 (m, 27H), 0.91 (t, J = 6.8 Hz, 6H) ppm; MS: 297.2 m/z [M-H]。

【0257】

中間体 67 g: 3-((5-ヘプチルドデカノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化138】



10

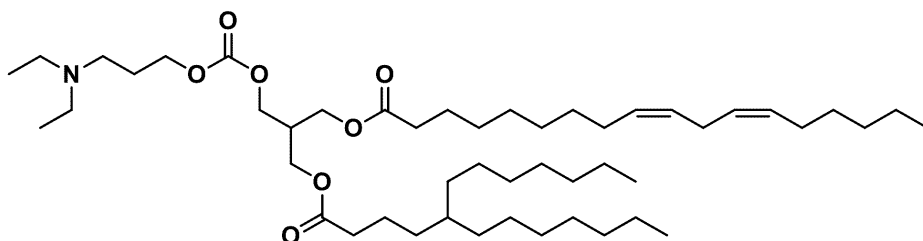
中間体 67 g を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 1 a 及び中間体 67 f から収率 42% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44-5.26 (m, 4H), 4.17 (m, 4H), 3.61 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.76 (m, 2H), 2.31 (q, J = 7.3 Hz, 4H), 2.26-2.13 (m, 2H), 2.04 (q, J = 6.8 Hz, 4H), 1.59 (m, 5H), 1.41-1.16 (m, 39H), 0.88 (m, 9H) ppm。MS: 649.67 m/z [M+H]。

20

【0258】

実施例 67: 3-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-(((5-ヘプチルドデカノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化139】



30

実施例 67 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 67 g 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 51% で合成した。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.42-5.28 (m, 4H), 4.22-4.08 (m, 8H), 2.77 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.50 (q, J = 7.0 Hz, 6H), 2.42 (m, 1H), 2.29 (m, 4H), 2.04 (m, 4H), 1.80 (m, 2H), 1.59 (m, 4H), 1.40-1.20 (m, 42H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 807.53 m/z [M+H]。

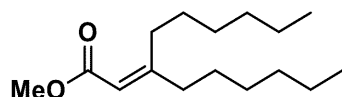
40

【0259】

実施例 68 の合成

中間体 68 a: メチル 3-ヘキシルノン-2-エノエート

【化140】



中間体 68 a を、66 b に用いた方法を使用して、トリデカン-7-オン及びメチル 2-

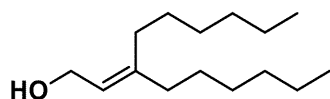
50

ジメトキシホスホリルアセテートから収率 55% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.63 (s, 1H), 3.68 (s, 3H), 2.60 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.14 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.45–1.27 (m, 16H), 0.89 (t, $J=6.4$ Hz, 6H) ppm。

【0260】

中間体 68b: 3-ヘプチルデカ-2-エン-1-オール

【化141】



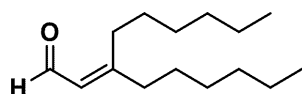
10

中間体 68b を、中間体 67b に用いた方法を使用して、中間体 68a から収率 49% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.38 (t, $J=7.0$ Hz, 1H), 4.14 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.01 (m, 4H), 1.39–1.27 (m, 16H), 0.88 (t, $J=6.6$ Hz, 6H) ppm。

【0261】

中間体 68c: 3-ヘプチルデカ-2-エナール

【化142】



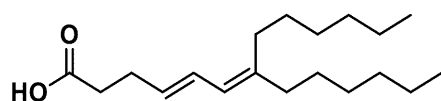
20

中間体 68c を、中間体 67c に用いた方法を使用して、中間体 68b から収率 73% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.99 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 5.85 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 2.55 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.21 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.49 (m, 4H), 1.31 (m, 12H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 6H) ppm。

【0262】

中間体 68d: (E)-7-ヘキシルトリデカ-4,6-ジエン酸

【化143】



30

HMPA (8 mL) 及び THF (104 mL) 中の中間体 68c (9 g、40.1 mmol) の溶液に、NaHMDS (1 M、160.4 mL) を 0℃ で添加した。THF (28 mL) 中の 3-カルボキシプロピル (トリフェニル) ホスホニウム (22.42 g、64.18 mmol) を反応混合物に添加し、15℃ で 12 時間さらに攪拌した。反応混合物を水 (200 mL) 中に注ぎ入れ、2 N の HCl (水溶液) で酸性化し、EtOAc (4 × 150 mL) に抽出した。組み合わせた有機層をブライン (200 mL) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル中の 1~100% EtOAc) を使用して精製して、8 g (19.0 mmol、収率 24%) の所望の生成物を黄色油として得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.25 (m, 1H), 6.05 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.30 (m, 1H), 2.59–2.45 (m, 4H), 2.13–2.07 (m, 4H), 1.40–1.29 (m, 16H), 0.89 (t, $J=6.6$ Hz, 6H) ppm; MS: 295.2 [M+H]。

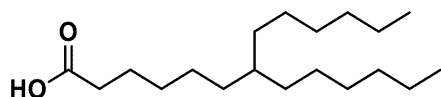
40

【0263】

中間体 68e: 7-ヘキシルトリデカン酸

50

【化 1 4 4】



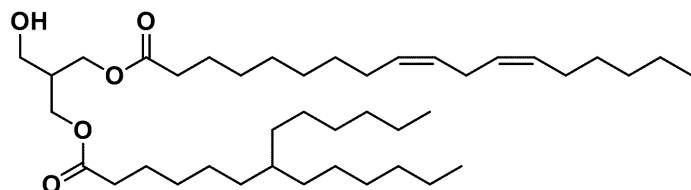
MeOH (50 mL) 中の中間体 68 d (4 g、13.6 mmol) の溶液に、N₂ 下で、Pd/C (0.4 g、13.58 mmol) を添加した。懸濁液を真空下で脱気し、H₂ で数回パージした。反応混合物を H₂ (15 psi) 下、35 °C で 12 時間攪拌し、濾過し、MeOH (300 mL) で洗浄し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル) を使用して精製して、5.3 g (16.0 mmol、収率 59%) の所望の生成物を黄色油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.35 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.25 (m, 27H), 0.89 (t, J = 6.6 Hz, 6H) ppm; MS: 297.2 m/z [M-H]。

10

【0 2 6 4】

中間体 68 f: 3-((7-ヘキシルトリデカノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化 1 4 5】



20

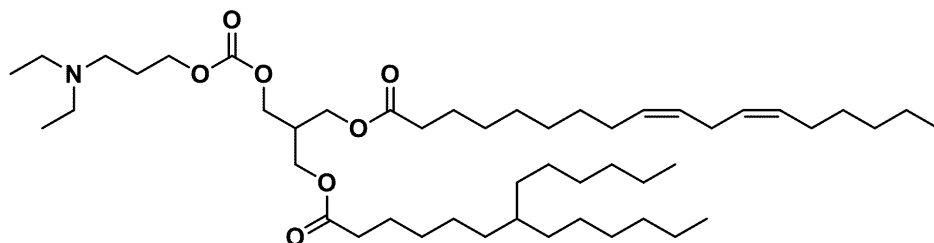
中間体 68 f を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 1 a 及び中間体 68 e から収率 60% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.45-5.27 (m, 4H), 4.17 (m, 4H), 3.61 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.32 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 2.25-2.14 (m, 2H), 2.04 (q, J = 6.8 Hz, 4H), 1.68-1.55 (m, 5H), 1.40-1.15 (m, 39H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 649.72 m/z [M+H]。

30

【0 2 6 5】

実施例 68: 3-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-(((7-ヘキシルトリデカノイル)オキシ)メチル)プロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化 1 4 6】



40

実施例 68 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 68 f 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 43% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.43-5.27 (m, 4H), 4.22-4.07 (m, 8H), 2.77 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.55-2.46 (m, 6H), 2.46-2.37 (m, 1H), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 2.04 (m, 4H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.61 (t, J = 7.3 Hz, 4H), 1.42-1

50

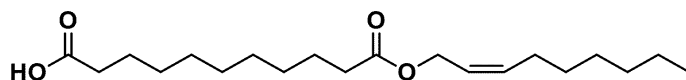
． 1 1 (m, 4 H) , 1 . 0 0 (t, J = 7 . 1 H z , 6 H) , 0 . 8 8 (m, 9 H) ppm ; MS : 8 0 7 . 7 2 m / z [M + H] 。

【 0 2 6 6 】

実施例 6 9 の合成

中間体 6 9 a : (Z) - 1 1 - (ノン - 2 - エン - 1 - イルオキシ) - 1 1 - オキソウンデカン酸

【 化 1 4 7 】



10

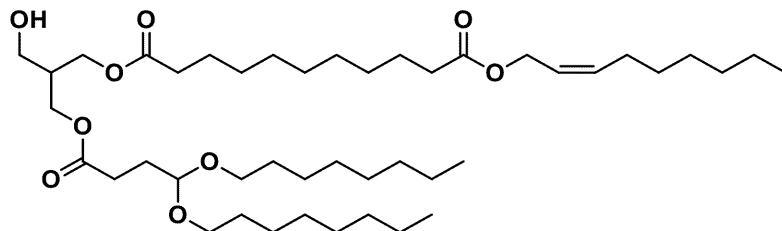
中間体 6 9 a を、中間体 5 4 a に用いた方法を使用して、ウンデカン二酸及び (Z) - ノン - 2 - エン - 1 - オールから収率 3 6 % で合成した。1 H NMR (4 0 0 M H z , C D C l 3) δ 5 . 6 5 (m, 1 H) , 5 . 5 2 (m, 1 H) , 4 . 6 1 (dd, J = 6 . 9 , 1 . 2 H z , 2 H) , 2 . 3 2 (m, 4 H) , 2 . 0 9 (m, 2 H) , 1 . 6 1 (m, 4 H) , 1 . 4 1 - 1 . 2 0 (m, 1 8 H) , 0 . 8 8 (t, J = 6 . 8 H z , 3 H) ppm 。

【 0 2 6 7 】

中間体 6 9 b : (Z) - 1 - (3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (ヒドロキシメチル) プロピル) 1 1 - (ノン - 2 - エン - 1 - イル) ウンデカンジオエート

20

【 化 1 4 8 】



中間体 6 9 b を、中間体 5 4 c に用いた方法を使用して、中間体 6 9 a 及び中間体 5 4 b から収率 3 5 % で合成した。1 H NMR (4 0 0 M H z , C D C l 3) δ 5 . 6 4 (m, 1 H) , 5 . 5 2 (m, 1 H) , 4 . 6 2 (d, J = 6 . 7 H z , 2 H) , 4 . 4 9 (t, J = 5 . 5 H z , 1 H) , 4 . 2 4 - 4 . 1 0 (m, 4 H) , 3 . 6 7 - 3 . 5 2 (m, 4 H) , 3 . 4 0 (dt, J = 9 . 3 , 6 . 7 H z , 2 H) , 2 . 4 1 (t, J = 7 . 5 H z , 2 H) , 2 . 3 0 (q, J = 7 . 1 H z , 4 H) , 2 . 2 1 (m, 2 H) , 2 . 1 4 - 2 . 0 5 (m, 2 H) , 1 . 9 3 (td, J = 7 . 5 , 5 . 4 H z , 2 H) , 1 . 5 7 (m, 9 H) , 1 . 4 0 - 1 . 2 1 (m, 3 6 H) , 0 . 8 8 (m, 9 H) ppm ; MS : 7 7 7 . 7 8 m / z [M + N a] 。

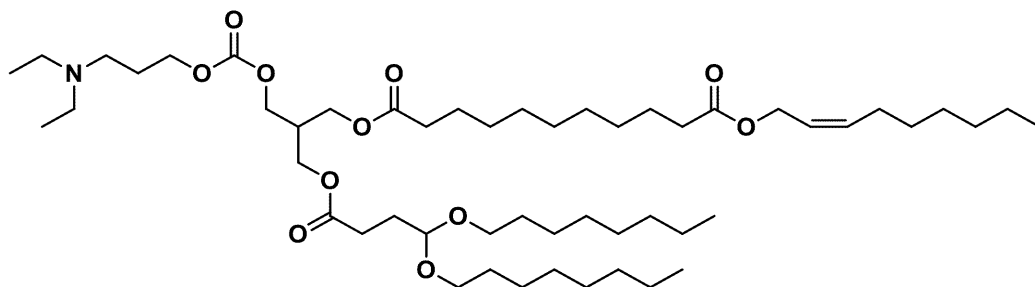
30

【 0 2 6 8 】

実施例 6 9 : (Z) - 1 - (3 - ((4, 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピル) 1 1 - (ノン - 2 - エン - 1 - イル) ウンデカンジオエート

40

【 化 1 4 9 】



50

実施例 69 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 69b 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 19% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.62（m, 1H）, 5.53（m, 1H）, 4.61（d, $J=7.0$, 1.3 Hz, 2H）, 4.48（t, $J=5.5$ Hz, 1H）, 4.22-4.09（m, 8H）, 3.55（m, 2H）, 3.39（m, 2H）, 2.56（q, $J=7.2$ Hz, 6H）, 2.47-2.35（m, 3H）, 2.29（t, $J=7.6$ Hz, 4H）, 2.09（m, 2H）, 1.97-1.78（m, 4H）, 1.65-1.49（m, 8H）, 1.40-1.24（m, 35H）, 1.03（t, $J=7.2$ Hz, 6H）, 0.88（m, 9H） ppm; MS: 913.37 m/z [M+H]。

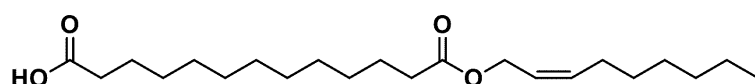
【0269】

10

実施例 70 の合成

中間体 70a: ((Z)-13-(ノン-2-エン-1-イルオキシ)-13-オキソトリデカン酸

【化150】



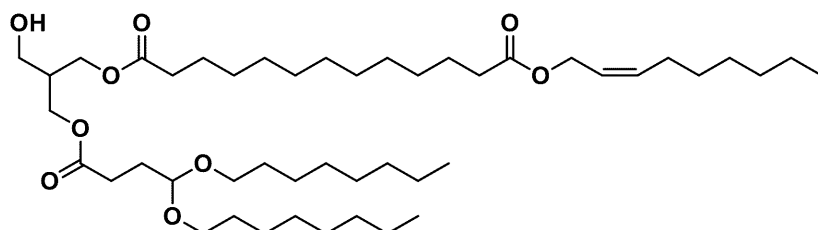
中間体 70a を、中間体 54a に用いた方法を使用して、トリデカン二酸及び (Z)-ノン-2-エン-1-オールから収率 40% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.62（m, 1H）, 5.50（m, 1H）, 4.59（dd, $J=6.8$, 1.2 Hz, 2H）, 2.29（m, 4H）, 2.07（m, 2H）, 1.59（m, 4H）, 1.39-1.18（m, 22H）, 0.85（t, $J=6.8$ Hz, 3H） ppm。

20

【0270】

中間体 70b: (Z)-1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)13-(ノン-2-エン-1-イル)トリデカンジオエート

【化151】



30

中間体 70b を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 70a 及び中間体 54b から収率 34% で合成した。 ^1H NMR（500 MHz, CDCl_3 ） δ 5.64（m, 1H）, 5.52（m, 1H）, 4.62（d, $J=6.8$ Hz, 2H）, 4.49（t, $J=5.5$ Hz, 1H）, 4.17（m, 4H）, 3.62（t, $J=5.7$ Hz, 2H）, 3.56（dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H）, 3.40（dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H）, 2.41（t, $J=7.5$ Hz, 2H）, 2.31（q, $J=7.9$ Hz, 4H）, 2.25-2.15（m, 2H）, 2.09（q, $J=7.3$ Hz, 2H）, 1.93（td, $J=7.5$, 5.4 Hz, 2H）, 1.58（m, 8H）, 1.39-1.21（m, 41H）, 0.88（m, 9H） ppm; MS: 805.63 m/z [M+Na]。

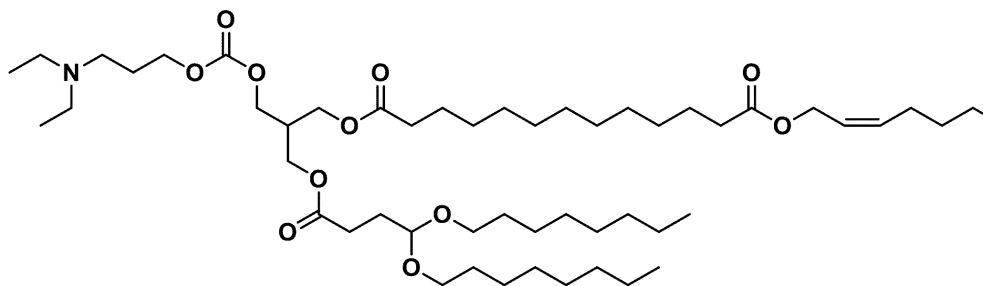
40

【0271】

実施例 70: (Z)-1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)13-(ノン-2-エン-1-イル)トリデカンジオエート

50

【化 1 5 2】



10

実施例 70 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 70 b 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 15% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.61 (d, $J=6.9$, 1.2 Hz, 2H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.22-4.09 (m, 8H), 3.55 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.51 (q, $J=7.0$ Hz, 6H), 2.46-2.35 (m, 3H), 2.34-2.26 (m, 4H), 2.15-2.04 (m, 2H), 1.97-1.87 (m, 2H), 1.86-1.75 (m, 4H), 1.67-1.49 (m, 8H), 1.40-1.23 (m, 40H), 1.01 (t, $J=7.2$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 942.04 m/z [M+H]。

20

【0 2 7 2】

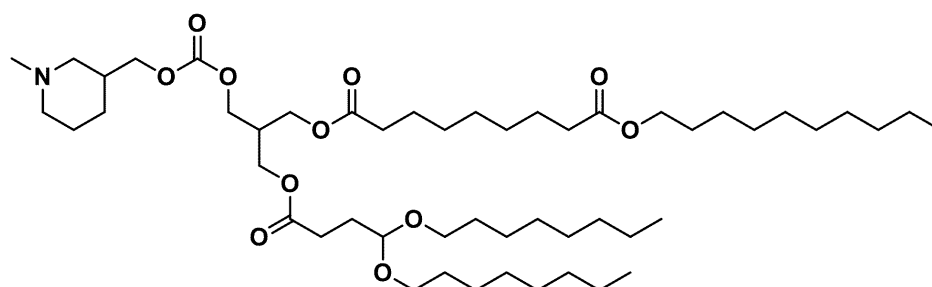
実施例 71～74 の合成

以下の実施例を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 59 b 及びアミノアルコールまたはジアミン試薬から合成した。

【0 2 7 3】

実施例 71：1-（3-（（4, 4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（（（1-メチルピペリジン-3-イル）メトキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル）9-デシルノナンジオエート

【化 1 5 3】



30

収率 19%； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 4.14 (dt, $J=6.0$, 1.4 Hz, 4H), 4.05 (t, $J=6.7$ Hz, 3H), 3.96 (dd, $J=10.6$, 7.3 Hz, 1H), 3.56 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 2.78 (m, 2H), 2.47-2.36 (m, 3H), 2.33-2.23 (m, 7H), 2.07-1.86 (m, 4H), 1.79-1.50 (m, 16H), 1.29 (m, 38H), 1.00 (m, 1H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 899.87 m/z [M+H]。

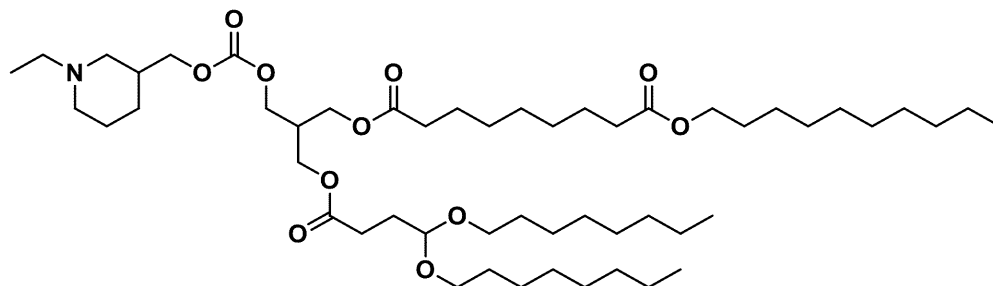
40

【0 2 7 4】

実施例 72：1-（3-（（4, 4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（（（1-エチルピペリジン-3-イル）メトキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル）9-デシルノナンジオエート

50

【化 1 5 4】

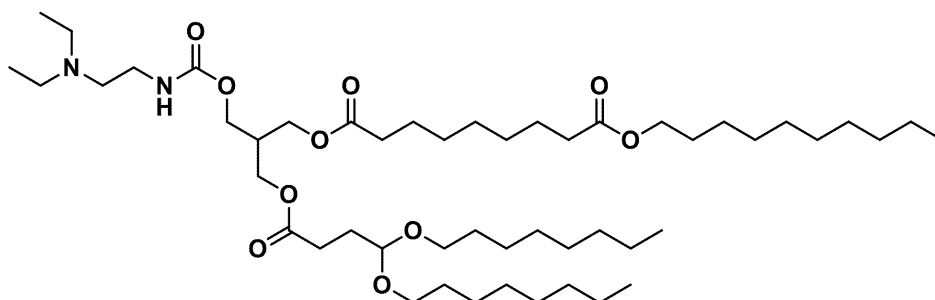


収率 19% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 4.14 (dt, $J=6.0$, 1.4 Hz, 4H), 4.05 (td, $J=6.9$, 6.4, 3.7 Hz, 3H), 3.96 (dd, $J=10.7$, 7.2 Hz, 1H), 3.56 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 2.87 m, 2H), 2.48–2.36 (m, 5H), 2.34–2.24 (m, 4H), 2.05–1.85 (m, 3H), 1.79–1.50 (m, 16H), 1.39–1.20 (m, 40H), 1.12–0.97 (m, 3H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 913.46 m/z [M+H] .

【0 2 7 5】

実施例 73 : 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ジエチルアミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

【化 1 5 5】



収率 14% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.22 (br s, 1H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.20–4.08 (m, 6H), 4.05 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.56 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 3.21 (br m, 2H), 2.52 (q, $J=7.1$, 6.2 Hz, 6H), 2.40 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.29 (td, $J=7.6$, 5.9 Hz, 4H), 1.92 (td, $J=7.6$, 5.5 Hz, 2H), 1.76–1.49 (m, 13H), 1.39–1.20 (m, 40H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 886.69 m/z [M+H] .

【0 2 7 6】

実施例 74 : 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(1-メチルピロリジン-2-イル)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

10

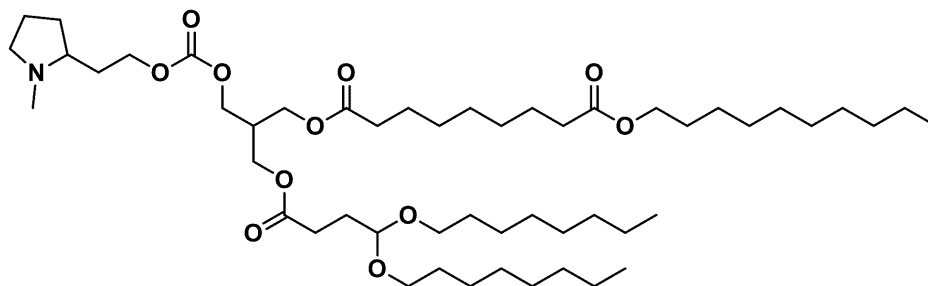
20

30

40

50

【化 1 5 6】



10

収率 26% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.28–4.09 (m, 8H), 4.05 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.05 (m, 1H), 2.46–2.36 (m, 3H), 2.34–2.24 (m, 7H), 2.21–1.87 (m, 4H), 1.84–1.43 (m, 12H), 1.40–1.18 (m, 40H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 899.38 m/z [M+H] .

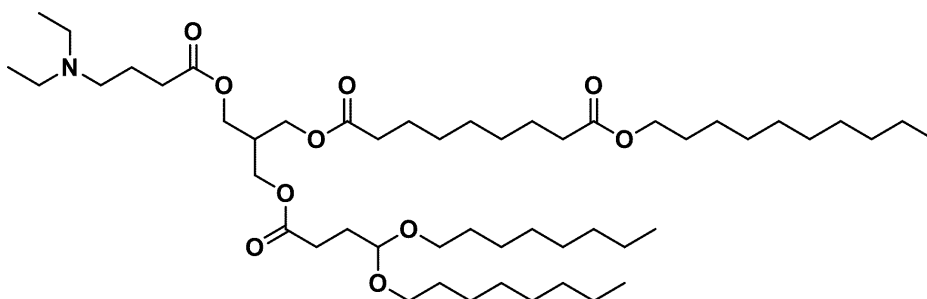
【0 2 7 7】

実施例 75 の合成

実施例 75: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((4-(ジエチルアミノ)ブタノイル)オキシ)メチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

20

【化 1 5 7】



30

実施例 75 を、実施例 25 に用いた方法を使用して、中間体 59b 及び 4-(ジエチルアミノ)ブタン酸から収率 61% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J=6.1, 1.6$ Hz, 6H), 4.05 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.50 (q, $J=7.1$ Hz, 4H), 2.45–2.24 (m, 10H), 1.92 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.65–1.50 (m, 12H), 1.38–1.20 (m, 40H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 8H) ppm; MS: 885.43 m/z [M+H] .

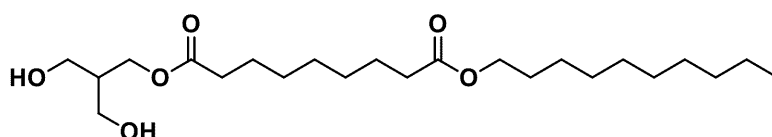
40

【0 2 7 8】

実施例 76 の合成

中間体 76a: 1-デシル9-(3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)ノナンジオエート

【化 1 5 8】



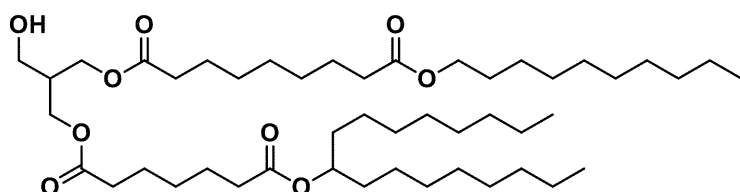
50

DCM (0.2 M) 中の中間体 59a (15 g、45.6 mmol、1 当量)、(2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキサン-5-イル) メタノール (1~1.2 当量)、DMAP (0.2 当量)、及び DIPEA (1.5~3 当量) の溶液に、EDC・HCl (1.5 当量) を室温で添加した。反応混合物を少なくとも 16 時間攪拌し、水で希釈し、1 M の HCl 及び 5 % の重炭酸ナトリウムで連続的に洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗製アセトニド保護中間体を、MeOH 中に再懸濁し、Dowex (登録商標) 50W X8 樹脂を添加した。得られた混合物を室温で少なくとも 12 時間攪拌し、濾過し、MeOH で洗浄し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の EtOAc の勾配) を使用して精製して、12.2 g (29.3 mmol、収率 65 %) の所望の生成物を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.24 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 4.04 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.76 (m, 4H), 2.52 (br s, 2H), 2.30 (dt, J = 16.1, 7.5 Hz, 4H), 2.03 (m, 1H), 1.61 (m, 6H), 1.38-1.20 (m, 20H), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 3H) ppm; MS: 439.56 m/z [M+Na]。

10

【0279】

中間体 76b: 1-デシル 9-(3-((7-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-7-オキソヘプタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)ノナンジオエート
【化159】



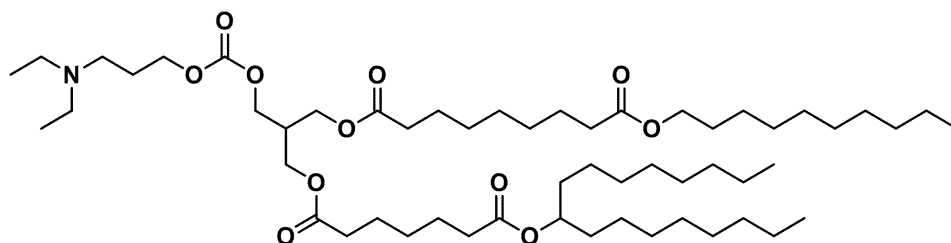
20

中間体 76b を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 76a 及び中間体 64a から収率 37 % で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.85 (m, 1H), 4.21-4.12 (m, 4H), 4.04 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.61 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 2.37-2.24 (m, 8H), 2.18 (m, 1H), 1.63 (m, 11H), 1.49 (m, 7H), 1.39-1.19 (m, 42H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 797.96 m/z [M+H]。

30

【0280】

実施例 76: 1-デシル 9-(3-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-(((7-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-7-オキソヘプタノイル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート
【化160】



40

実施例 76 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 76b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 22 % で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.85 (m, 1H), 4.22-4.10 (m, 8H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.55-2.50 (m, 6H), 2.41 (m, 1H), 2.35-2.24 (m, 8H), 1.81 (m, 2H), 1.70-1.55 (m, 12H), 1.50 (m, 4H), 1.41-1.23 (m, 44H), 1.00 (t, J =

50

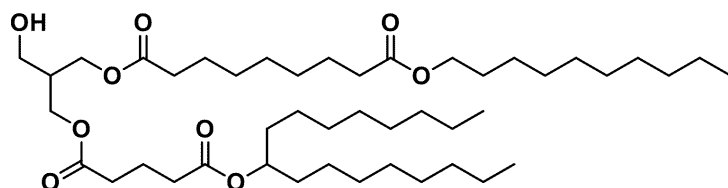
7.1 Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 956.17 m/z [M+H]
]。

【0281】

実施例77の合成

中間体77a: 1-デシル9-(3-((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-
 オキソペンタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)ノナンジオエート

【化161】



10

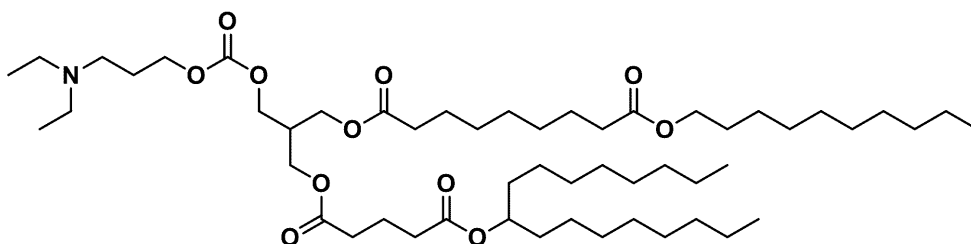
中間体77aを、中間体1dに用いた方法を使用して、中間体76a及び中間体63bから収率26%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.86 (m, 1H), 4.23-4.13 (m, 4H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.62 (t, J=5.5 Hz, 2H), 2.33 (m, 8H), 2.19 (m, 1H), 1.95 (m, 2H), 1.61 (m, 8H), 1.50 (m, 4H), 1.38-1.19 (m, 42H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 769.91 m/z [M+H]
]。

20

【0282】

実施例77: 1-デシル9-(3-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタノイル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート

【化162】



30

実施例77を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体77a及び3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.87 (m, 1H), 4.16 (m, 8H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.51 (m, 6H), 2.46-2.24 (m, 9H), 1.94 (m, 2H), 1.87-1.76 (m, 2H), 1.69-1.57 (m, 6H), 1.49 (m, 4H), 1.40-1.17 (m, 44H), 1.00 (t, J=7.1 Hz, 6H), 0.89 (m, 9H) ppm; MS: 928.07 m/z [M+H]。

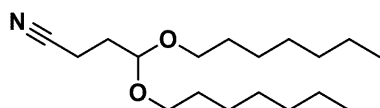
40

【0283】

実施例78の合成

中間体78a: 4,4-ビス(ヘプチルオキシ)ブタンニトリル

【化163】



中間体78aを、中間体1bに用いた方法を使用して、4,4-ジエトキシブタンニトリル及びヘプタン-1-オールから収率99%で合成した。¹H NMR (400 MHz,

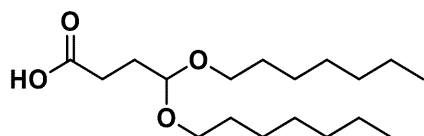
50

CDCI₃) δ 4.55 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.60 (dt, J = 9.3, 6.6 Hz, 2H), 3.43 (dt, J = 9.3, 6.6 Hz, 2H), 2.42 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.94 (td, J = 7.4, 5.3 Hz, 2H), 1.57 (m, 4H), 1.40–1.23 (m, 16H), 0.88 (m, 6H) ppm.

【0284】

中間体 78b: 4, 4-ビス(ヘプチルオキシ)ブタン酸

【化164】



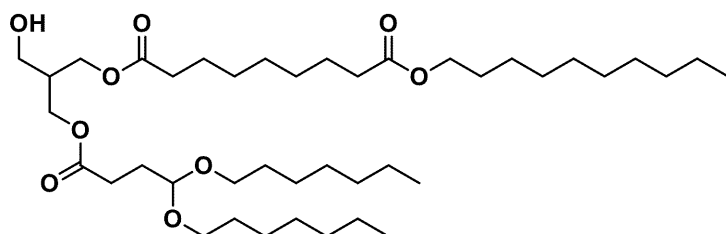
10

中間体 78b を、中間体 1c に用いた方法を使用して、中間体 78a から収率 92% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (br s, 1H), 4.46 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 3.52 (dt, J = 9.4, 6.8 Hz, 2H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.8 Hz, 2H), 2.26 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.85 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.53 (m, 4H), 1.29 (m, 16H), 0.94–0.80 (m, 6H) ppm; MS: 315 m/z [M-H]。

【0285】

中間体 78c: 1-(3-((4, 4-ビス(ヘプチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

【化165】



30

中間体 78c を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 76a 及び中間体 78b から収率 46% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.23–4.11 (m, 4H), 4.04 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.65–3.50 (m, 4H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.29 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, J = 7.5, 5.4 Hz, 2H), 1.68–1.49 (m, 11H), 1.38–1.19 (m, 34H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 737.82 m/z [M+Na]。

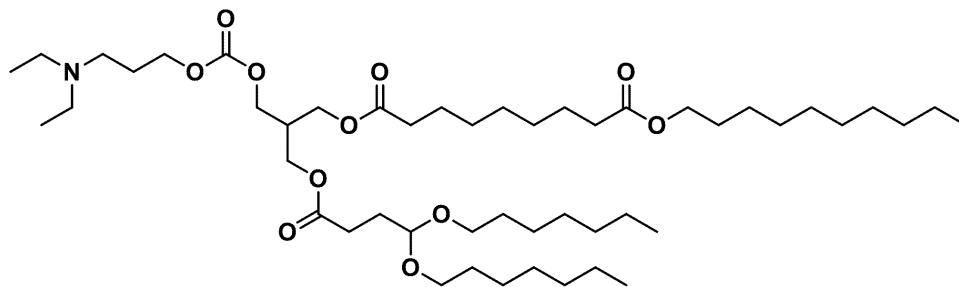
【0286】

実施例 78: 1-(3-((4, 4-ビス(ヘプチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-デシルノナンジオエート

40

50

【化 1 6 6】



10

実施例 78 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 78 c 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 35% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.48（t, $J=5.6$ Hz, 1H）, 4.22–4.09（m, 8H）, 4.05（t, $J=6.8$ Hz, 2H）, 3.56（m, 2H）, 3.40（m, 2H）, 2.51（m, 6H）, 2.46–2.35（m, 3H）, 2.29（m, 4H）, 1.92（m, 2H）, 1.81（m, 2H）, 1.66–1.49（m, 12H）, 1.39–1.23（m, 34H）, 1.00（t, $J=7.1$ Hz, 6H）, 0.88（m, 9H）ppm；MS：873.52 m/z [M+H]。

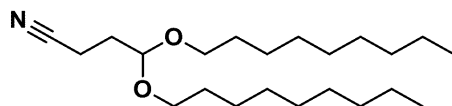
【0287】

実施例 79 の合成

20

中間体 79 a：4, 4-ビス（ノニルオキシ）ブタンニトリル

【化 1 6 7】



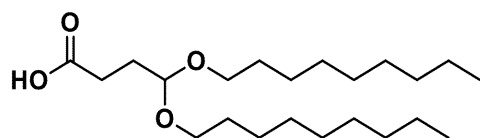
中間体 79 a を、中間体 1 b に用いた方法を使用して、4, 4-ジエトキシブタンニトリル及びノナン-1-オールから収率 16% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.55（t, $J=5.3$ Hz, 1H）, 3.60（dt, $J=9.2, 6.6$ Hz, 2H）, 3.43（dt, $J=9.3, 6.6$ Hz, 2H）, 2.42（t, $J=7.4$ Hz, 2H）, 1.94（td, $J=7.4, 5.3$ Hz, 2H）, 1.57（m, 4H）, 1.38–1.24（m, 24H）, 0.88（t, $J=6.7$ Hz, 6H）ppm。

30

【0288】

中間体 79 b：4, 4-ビス（ノニルオキシ）ブタン酸

【化 1 6 8】



40

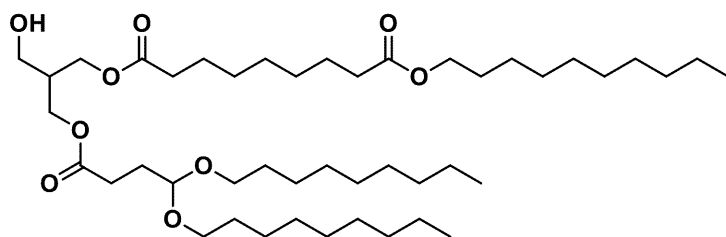
中間体 79 b を、中間体 1 c に用いた方法を使用して、中間体 79 a から収率 100% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.32（br s, 1H）, 4.44（t, $J=5.6$ Hz, 1H）, 3.49（dt, $J=9.3, 6.9$ Hz, 2H）, 3.38（dt, $J=9.4, 6.9$ Hz, 2H）, 2.10（t, $J=7.6$ Hz, 2H）, 1.78（q, $J=7.0$ Hz, 2H）, 1.53（m, 4H）, 1.27（m, 24H）, 0.88（t, $J=6.6$ Hz, 6H）ppm；MS：371 m/z [M-H]。

【0289】

中間体 79 c：1-（3-（（4, 4-ビス（ノニルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2

50

－（ヒドロキシメチル）プロピル）９－デシルノナンジオエート
【化１６９】



10

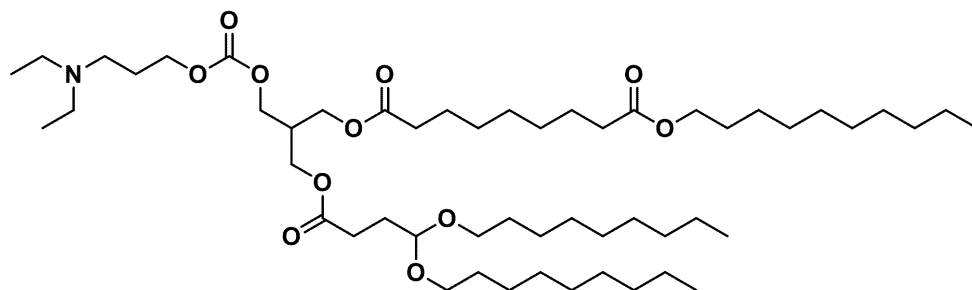
中間体 79 c を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 76 a 及び中間体 79 b から収率 43 % で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.23–4.12 (m, 4H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.67–3.51 (m, 4H), 3.40 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.30 (dt, J = 11.9, 7.6 Hz, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, J = 7.6, 5.4 Hz, 2H), 1.66–1.48 (m, 11H), 1.37–1.20 (m, 42H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 793.91 m/z [M+Na]。

【0290】

実施例 79: 1-(3-((4,4-bis(nonyloxy)butanoyl)oxy)-2-((3-(diethylamino)propoxy)carbonyl)oxy)propyl)nonan-9-yl ester

20

【化１７０】



30

実施例 79 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 79 c 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 35 % で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.22–4.10 (m, 8H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.39 (m, 2H), 2.50 (m, 6H), 2.45–2.35 (m, 3H), 2.29 (m, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.86–1.74 (m, 3H), 1.66–1.49 (m, 10H), 1.35–1.23 (m, 43H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 929.60 m/z [M+H]。

40

【0291】

実施例 80～81 の合成

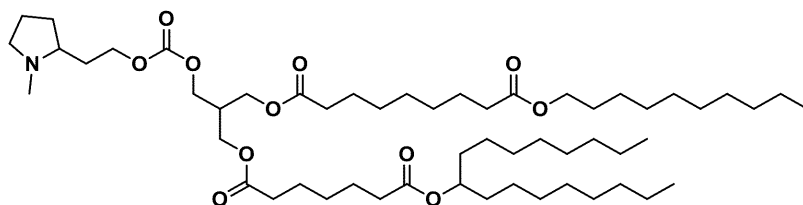
以下の実施例を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 76 b 及びアミノアルコールまたはジアミン試薬から合成した。

【0292】

実施例 80: 1-デシル 9-(3-((7-(heptadecan-9-yl)oxy)-7-oxoheptanoyl)oxy)-2-(((2-(1-methylpiperidin-2-yl)ethyl)oxy)carbonyl)oxy)propyl)nonan-9-yl ester

50

【化 1 7 1】



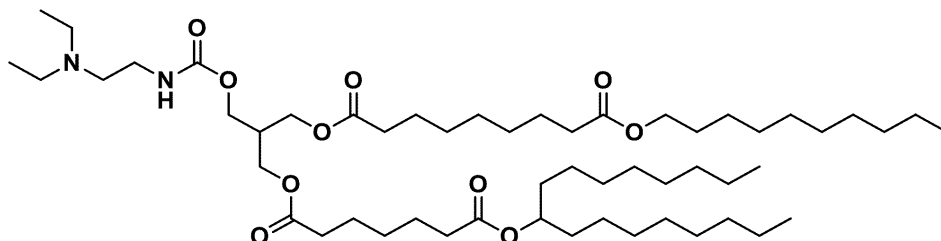
収率 48% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.85 (m, 1H), 4.26–4.09 (m, 8H), 4.04 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 3.05 (m, 1H), 2.41 (m, 1H), 2.34–2.26 (m, 11H), 2.19–1.89 (m, 4H), 1.83–1.43 (m, 18H), 1.40–1.17 (m, 46H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 954.23 m/z [M+H].

10

【0 2 9 3】

実施例 81: 1-デシル 9-(3-((2-(ジエチルアミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)-2-((7-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-7-オキソヘプタノイル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート

【化 1 7 2】



20

収率 43% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.21 (br t, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.12 (d, $J=6.0$ Hz, 6H), 4.05 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.21 (br q, $J=5.8$ Hz, 2H), 2.51 (q, $J=7.1, 6.3$ Hz, 6H), 2.43–2.23 (m, 8H), 1.62 (m, 11H), 1.50 (q, $J=6.1$ Hz, 4H), 1.40–1.20 (m, 46H), 0.99 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 940.46 m/z [M+H].

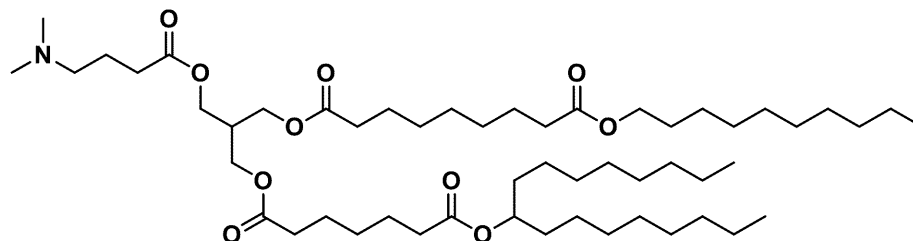
30

【0 2 9 4】

実施例 82 の合成

実施例 82: 1-デシル 9-(3-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)-2-((7-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-7-オキソヘプタノイル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート

【化 1 7 3】



40

実施例 82 を、実施例 25 に用いた方法を使用して、中間体 76b 及び 4-(ジメチルアミノ)ブタン酸から収率 55% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.85 (m, 1H), 4.12 (dd, $J=6.0, 2.3$ Hz, 6H), 4.04

50

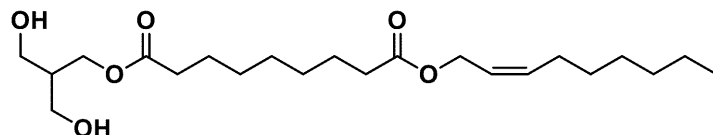
(t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 2H), 2.42–2.23 (m, 13H), 2.20 (s, 6H), 1.77 (m, 2H), 1.62 (m, 11H), 1.49 (q, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 4H), 1.40–1.19 (m, 45H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 911.44 m/z [M+H]。

【0295】

実施例 83 の合成

中間体 83 a: (Z)-1-(3-(ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)-9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

【化174】



10

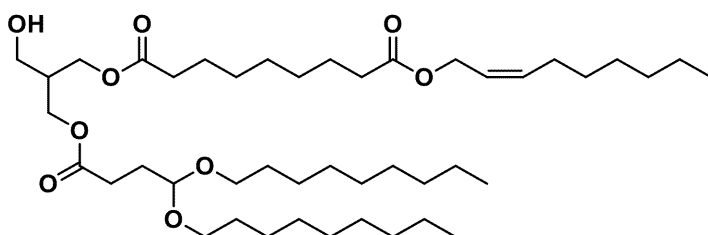
中間体 83 a を、76 a に用いた方法を使用して、中間体 54 a 及び 2-(ヒドロキシメチル)プロパン-1,3-ジオールから収率 84% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.65 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.61 (dd, $J = 6.9, 1.2 \text{ Hz}$, 2H), 4.24 (d, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 2H), 3.76 (m, 4H), 2.52 (br s, 2H), 2.31 (m, 4H), 2.12–1.98 (m, 3H), 1.61 (m, 4H), 1.40–1.21 (m, 14H), 0.87 (t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 3H) ppm。

20

【0296】

中間体 83 b: (Z)-1-(3-(4,4-ビス(ノニルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)-9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

【化175】



30

中間体 83 b を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 83 a 及び中間体 79 b から収率 33% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.61 (dd, $J = 6.9, 1.2 \text{ Hz}$, 2H), 4.48 (t, $J = 5.5 \text{ Hz}$, 1H), 4.17 (m, 4H), 3.62 (br m, 2H), 3.56 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 3.40 (dt, $J = 9.3, 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 2.40 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 2H), 2.30 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 1.93 (td, $J = 7.5, 5.4 \text{ Hz}$, 2H), 1.66–1.50 (m, 10H), 1.39–1.21 (m, 36H), 0.087 (m, 9H) ppm; MS: 777.87 m/z [M+Na]。

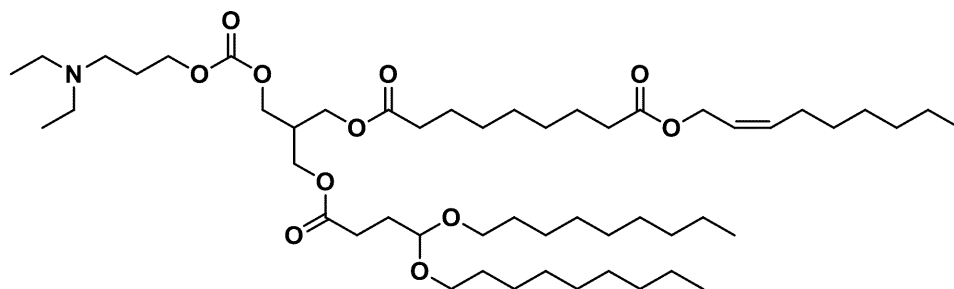
40

【0297】

実施例 83: (Z)-1-(3-(4,4-ビス(ノニルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)-9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

50

【化 1 7 6】



10

実施例 83 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 83b 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 60% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.62 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.61 (dd, $J=6.8, 1.2$ Hz, 2H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.21–4.09 (m, 8H), 3.55 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.51 (m, 6H), 2.45–2.35 (m, 3H), 2.29 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 2.09 (m, 2H), 1.92 (td, $J=7.6, 5.5$ Hz, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.67–1.48 (m, 8H), 1.42–1.20 (m, 38H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 913.71 m/z [M+H]。

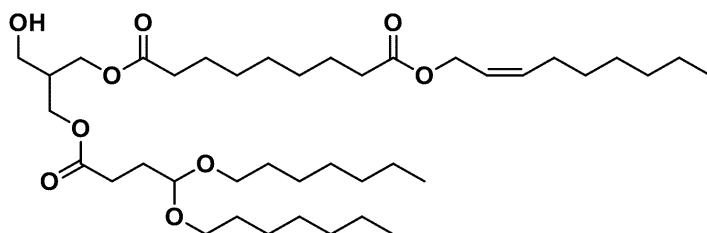
20

【0298】

実施例 84 の合成

中間体 84a: (Z)-1-((3-((4,4-ビス(ヘプチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

【化 1 7 7】



30

中間体 84a を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 83a 及び中間体 78b から収率 38% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.61 (dd, $J=6.9, 1.2$ Hz, 2H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.23–4.12 (m, 4H), 3.62 (br t, $J=5.2$ Hz, 2H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.40 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.30 (td, $J=7.5, 5.8$ Hz, 5H), 2.19 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 1.93 (td, $J=7.5, 5.4$ Hz, 2H), 1.66–1.50 (m, 8H), 1.39–1.25 (m, 30H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 721.65 [M+Na]。

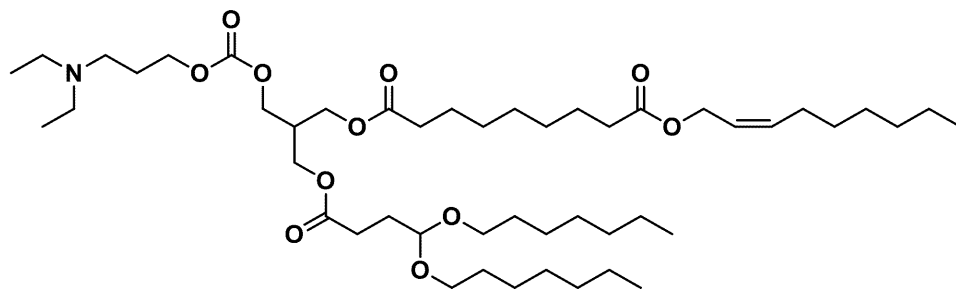
40

【0299】

実施例 84: (Z)-1-((3-((4,4-ビス(ヘプチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

50

【化 178】



10

実施例 84 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 84a 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから合成した。 ^1H NMR（400 MHz， CDCl_3 ） δ 5.64（m，1H），5.51（m，1H），4.61（dd， $J=6.8$ ，1.2 Hz，2H），4.48（t， $J=5.5$ Hz，1H），4.22-4.10（m，8H），3.56（dt， $J=9.3$ ，6.7 Hz，2H），3.39（dt， $J=9.3$ ，6.7 Hz，2H），2.50（m，6H），2.46-2.35（m，3H），2.30（t， $J=7.5$ Hz，4H），2.09（m，2H），1.92（m，2H），1.80（dq， $J=8.2$ ，6.6 Hz，2H），1.58（m，8H），1.40-1.21（m，30H），1.00（t， $J=7.1$ Hz，6H），0.89（m，9H）ppm；MS：857.54 m/z [M+H]。

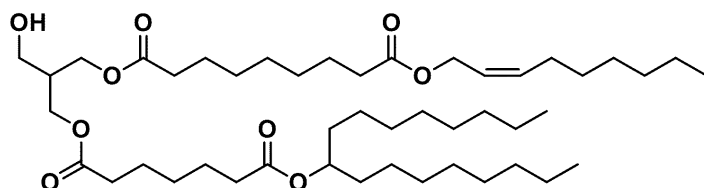
20

【0300】

実施例 85 の合成

中間体 85a：（Z）-1-（3-（（7-（ヘプタデカン-9-イルオキシ）-7-オキソヘプタノイル）オキシ）-2-（ヒドロキシメチル）プロピル）9-（ノン-2-エン-1-イル）ノナンジオエート

【化 179】



30

中間体 85a を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 83a 及び中間体 64a から収率 37% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz， CDCl_3 ） δ 5.64（m，1H），5.51（m，1H），4.85（m，1H），4.61（dd， $J=6.9$ ，1.2 Hz，2H），4.22-4.12（m，4H），3.61（m，2H），2.30（m，9H），2.19（m，1H），2.09（m，2H），1.64（m，8H），1.49（m，4H），1.41-1.18（m，40H），0.87（m，9H）ppm；MS：781.73 m/z [M+H]。

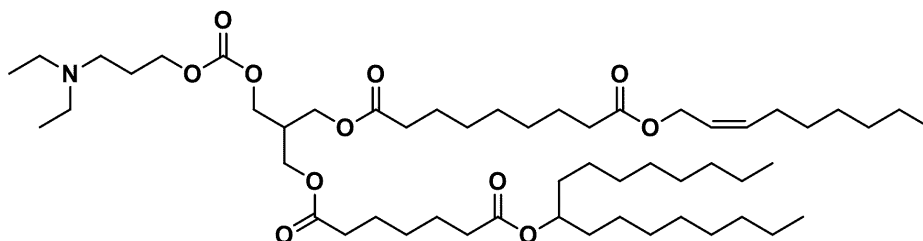
40

【0301】

実施例 85：（Z）-1-（3-（（3-（ジエチルアミノ）プロポキシ）カルボニル）オキシ）-2-（（7-（ヘプタデカン-9-イルオキシ）-7-オキソヘプタノイル）オキシ）メチル）プロピル）9-（ノン-2-エン-1-イル）ノナンジオエート

50

【化 180】



実施例 85 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 85 a 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 48% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.61 (dd, $J=6.8, 1.2$ Hz, 2H), 4.24–4.09 (m, 8H), 2.51 (m, 6H), 2.41 (m, 1H), 2.35–2.21 (m, 8H), 2.09 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.69–1.55 (m, 10H), 1.50 (q, $J=6.2$ Hz, 4H), 1.40–1.18 (m, 38H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 939.19 m/z [M+H]。

10

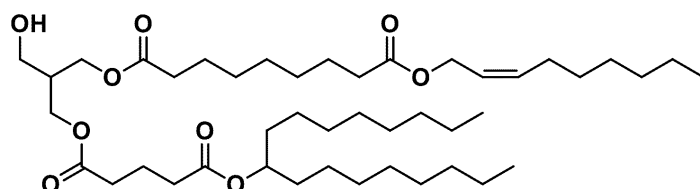
【0302】

実施例 86～88 の合成

20

中間体 86 a: (Z)-1-(3-((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

【化 181】



30

中間体 86 a を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 83 a 及び中間体 63 b から収率 39% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 5.64 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.61 (dd, $J=7.0, 1.2$ Hz, 2H), 4.23–4.12 (m, 4H), 3.62 (t, $J=4.4$ Hz, 2H), 2.44–2.24 (m, 9H), 2.19 (m, 1H), 2.09 (m, 2H), 1.95 (m, 2H), 1.61 (m, 5H), 1.50 (m, 4H), 1.38–1.20 (m, 37H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 753.74 m/z [M+H]。

【0303】

以下の実施例を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 86 a 及びアミノアルコールまたはジアミン試薬から合成した。

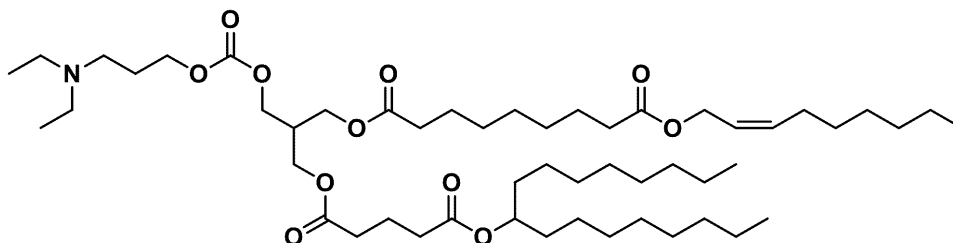
40

【0304】

実施例 86: (Z)-1-(3-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)-2-(((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタノイル)オキシ)メチル)プロピル)9-(ノン-2-エン-1-イル)ノナンジオエート

50

【化 1 8 2】



収率 48% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.65 (m, 1H), 5.51 (m, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.61 (dd, $J=6.9, 1.3$ Hz, 2H), 4.22–4.09 (m, 8H), 2.50 (q, $J=7.1$ Hz, 6H), 2.46–2.25 (m, 9H), 2.09 (m, 2H), 1.94 (m, 2H), 1.86–1.74 (m, 3H), 1.61 (m, 4H), 1.50 (m, 4H), 1.40–1.23 (m, 37H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 912.23 m/z [M+H].

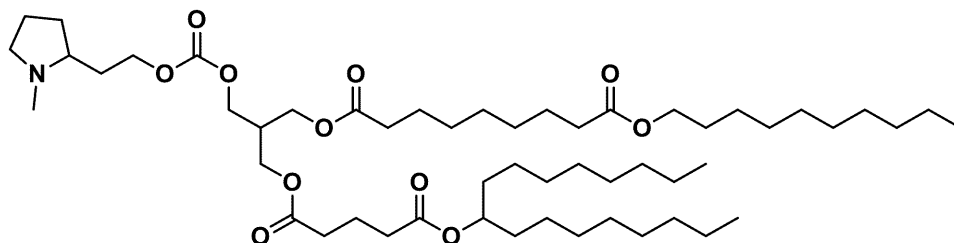
10

【0305】

実施例 87: 1-デシル 9-(3-((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタノイル)オキシ)-2-(((2-(1-メチルピロリジン-2-イル)エトキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート

20

【化 1 8 3】



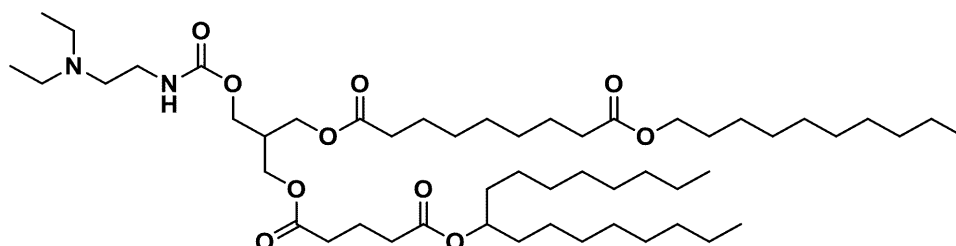
収率 50% ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (m, 1H), 4.27–4.08 (m, 8H), 4.04 (t, $J=6.7$ Hz, 2H), 3.05 (m, 1H), 2.48–2.24 (m, 12H), 2.20–1.88 (m, 6H), 1.82–1.41 (m, 15H), 1.37–1.21 (m, 43H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 925.43 m/z [M+H].

30

【0306】

実施例 88: 1-デシル 9-(3-(((2-(ジエチルアミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)-2-((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタノイル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート

【化 1 8 4】



収率 49% ; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.23 (br t, $J=5.3$ Hz, 1H), 4.86 (m, 1H), 4.12 (m, 6H), 4.04 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.20 (br q, $J=5.9$ Hz, 2H), 2.51 (q, J

40

50

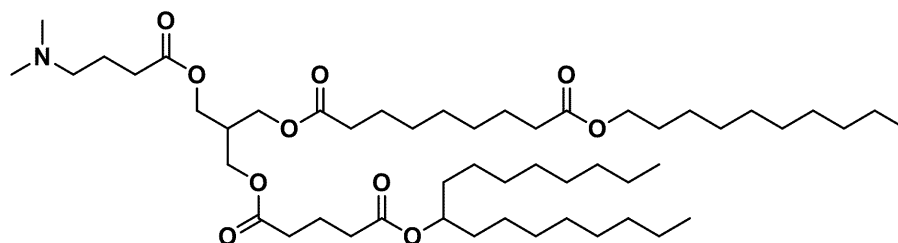
= 7.0 Hz, 6H), 2.41–2.25 (m, 9H), 1.93 (m, 2H), 1.61 (m, 6H), 1.50 (m, 4H), 1.33–1.23 (m, 44H), 0.99 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 912.43 m/z [M+H].

【0307】

実施例 89 の合成

実施例 89: 1-デシル 9-(3-(4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)-2-((5-(ヘプタデカン-9-イルオキシ)-5-オキソペンタノイル)オキシ)メチル)プロピル)ノナンジオエート

【化185】



10

実施例 89 を、実施例 25 に用いた方法を使用して、中間体 86a 及び 4-(ジメチルアミノ)ブタン酸から収率 43% で合成した。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.91–4.82 (m, 1H), 4.12 (m, 6H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.42–2.23 (m, 13H), 2.20 (s, 6H), 1.94 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.61 (m, 6H), 1.49 (m, 4H), 1.37–1.16 (m, 44H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 883.85 m/z [M+H].

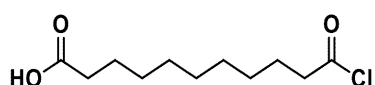
20

【0308】

実施例 90 の合成

中間体 90a: 11-クロロ-11-オキソウンデカン酸

【化186】



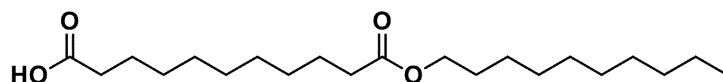
30

THF (0.6 M) 中のウンデカン二酸 (15 g、69.36 mmol、1 当量) の溶液に、塩化オキサリル (1.1~1.3 当量) を添加した。添加後、混合物を攪拌し、DMF (0.01~0.05 当量) を滴加した。得られた混合物を 25℃ で 2 時間攪拌し、次いで濃縮して、16 g (47.0 mmol、収率 99%) の所望の粗生成物を黄色油として得、これは、さらに精製を必要としなかった。

【0309】

中間体 90b: 11-(デシルオキシ)-11-オキソウンデカン酸

【化187】



40

THF (0.45 M) 中の中間体 90a (16.28 g、69.36 mmol、1 当量) の溶液に、デカン-1-オール (1.1 当量) を添加した。混合物を 25℃ で 2 時間攪拌し、次いで真空中で濃縮した。粗残留物をカラムクロマトグラフィー (石油エーテル中の EtOAc の勾配) によって精製し、必要に応じて石油エーテル中で再結晶して、5.5 g (15.5 mmol、収率 22%) の所望の生成物を白色固体として得た。¹H NMR

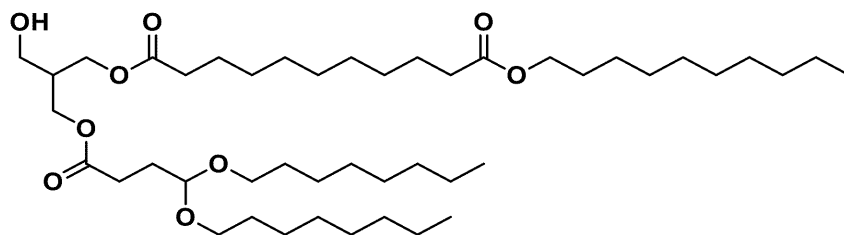
50

R (400 MHz, CDCl₃) δ 4.06 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.37 – 2.28 (m, 4H), 1.62 (m, 6H), 1.28 (m, 24H), 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 3H) ppm; MS: 355.2 m/z [M – H]。

【0310】

中間体90c: 1 – (3 – ((4, 4 – ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) – 2 – (ヒドロキシメチル) プロピル) 11 – デシルウンデカンジオエート

【化188】



10

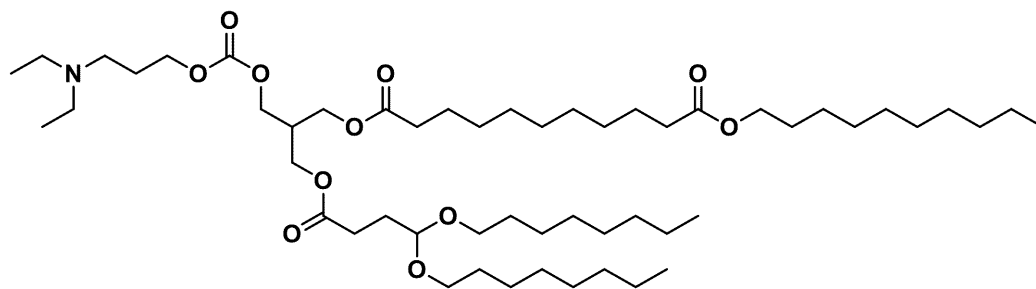
中間体90cを、中間体54cに用いた方法を使用して、中間体90b及び中間体54bから収率39%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.18 (m, 4H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.64 – 3.51 (m, 4H), 3.40 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.41 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.34 – 2.23 (m, 5H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, J = 7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.65 – 1.50 (m, 10H), 1.37 – 1.21 (m, 44H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 793.73 m/z [M + Na]。

20

【0311】

実施例90: 1 – (3 – ((4, 4 – ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) – 2 – ((3 – (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピル) 11 – デシルウンデカンジオエート

【化189】



30

実施例90を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体90c及び3 – (ジエチルアミノ) プロパン – 1 – オールから収率59%で合成した。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.47 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.21 – 4.08 (m, 8H), 4.05 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.55 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.39 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.50 (q, J = 7.0 Hz, 6H), 2.46 – 2.36 (m, 3H), 2.29 (q, J = 7.7 Hz, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.65 – 1.51 (m, 10H), 1.36 – 1.24 (m, 44H), 1.00 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.87 (m, 9H) ppm. MS: 929.93 m/z [M + H]。

40

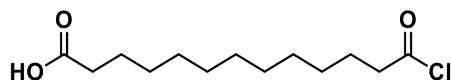
【0312】

実施例91の合成

中間体91a: 13 – クロロ – 13 – オキソトリデカン酸

50

【化 1 9 0】

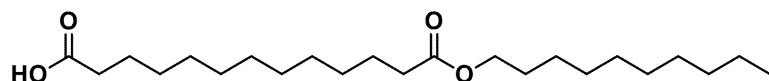


中間体 9 1 a を、9 0 a に用いた方法を使用して、トリデカン二酸から定量収率で合成した。

【0 3 1 3】

中間体 9 1 b : 1 3 - (デシルオキシ) - 1 3 - オキソトリデカン酸

【化 1 9 1】

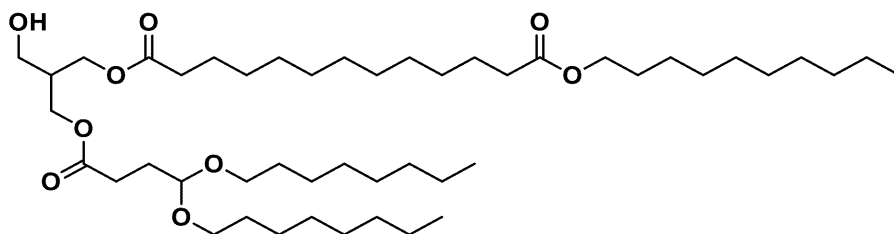


中間体 9 1 b を、中間体 9 0 b に用いた方法を使用して、中間体 9 1 a 及びデカン-1-オールから収率 1 7 % で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.06 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H), 2.37–2.27 (m, 4 H), 1.64 (m, 6 H), 1.27 (m, 28 H), 0.89 (t, $J = 6.8$ Hz, 3 H) ppm; MS: 383.3 m/z [M-H]。

【0 3 1 4】

中間体 9 1 c : 1 - (3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (ヒドロキシメチル) プロピル) 1 3 - デシルトリデカンジオエート

【化 1 9 2】

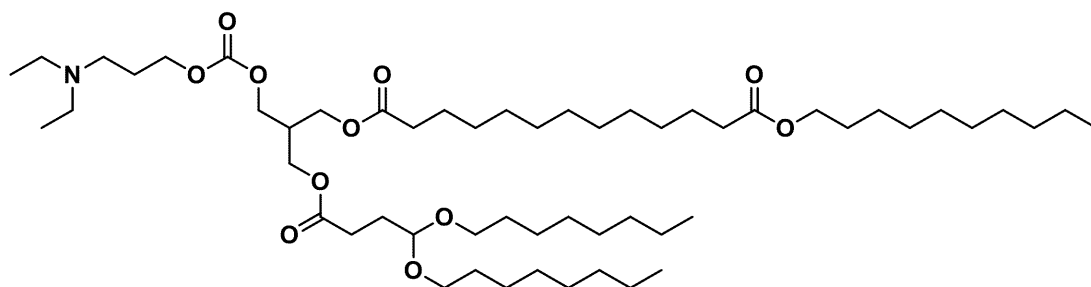


中間体 9 1 c を、中間体 5 4 c に用いた方法を使用して、中間体 9 1 b 及び中間体 5 4 b から収率 4 0 % で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.48 (t, $J = 5.5$ Hz, 1 H), 4.23–4.12 (m, 4 H), 4.05 (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H), 3.65–3.51 (m, 4 H), 3.40 (dt, $J = 9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 2.34–2.22 (m, 5 H), 2.19 (m, 1 H), 1.93 (td, $J = 7.5, 5.4$ Hz, 2 H), 1.58 (m, 10 H), 1.38–1.20 (m, 48 H), 0.87 (m, 9 H) ppm; MS: 821.77 m/z [M+Na]。

【0 3 1 5】

実施例 9 1 : 1 - (3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - (((3 - (ジエチルアミノ) プロポキシ) カルボニル) オキシ) メチル) プロピル) 1 3 - デシルトリデカンジオエート

【化 1 9 3】



10

20

30

40

50

実施例 91 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 91c 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 56% で合成した。 ^1H NMR（500 MHz, CDCl_3 ） δ 4.48（t, $J=5.6$ Hz, 1H）, 4.21–4.08（m, 8H）, 4.05（t, $J=6.7$ Hz, 2H）, 3.56（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 3.39（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 2.50（q, $J=7.1$ Hz, 6H）, 2.46–2.36（m, 3H）, 2.29（q, $J=7.8$ Hz, 4H）, 1.92（m, 2H）, 1.81（m, 2H）, 1.65–1.52（m, 10H）, 1.36–1.22（m, 48H）, 1.00（t, $J=7.1$ Hz, 6H）, 0.88（m, 9H）ppm；MS：958.01 m/z [M+H]。

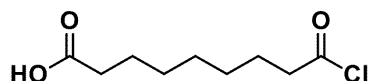
【0316】

10

実施例 92 の合成

中間体 92a：9-クロロ-9-オキソノナン酸

【化194】

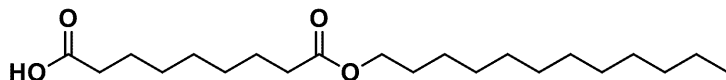


中間体 92a を、90a に用いた方法を使用して、ノナン二酸から定量収率で合成した。

【0317】

中間体 92b：9-（ドデシルオキシ）-9-オキソノナン酸

【化195】



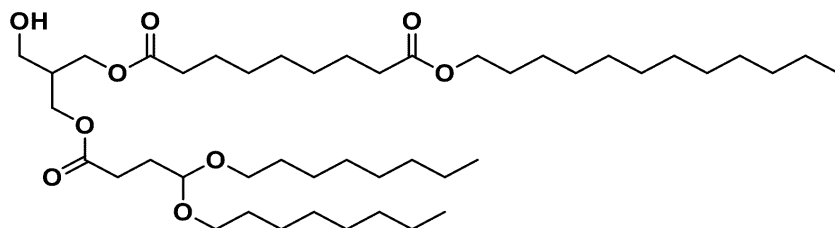
中間体 92b を、中間体 90b に用いた方法を使用して、中間体 92a 及びドデカン-1-オールから収率 31% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.06（t, $J=6.8$ Hz, 2H）, 2.37–2.28（m, 4H）, 1.63（m, 6H）, 1.37–1.27（m, 24H）, 0.89（t, $J=6.8$ Hz, 3H）ppm；MS：355.2 m/z [M-H]。

【0318】

30

中間体 92c：1-（3-（（4,4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（ヒドロキシメチル）プロピル）9-ドデシルノナンジオエート

【化196】



40

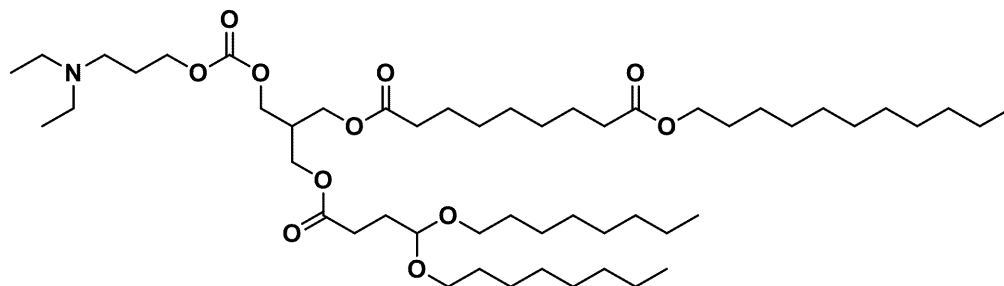
中間体 92c を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 92b 及び中間体 54b から収率 43% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.48（t, $J=5.5$ Hz, 1H）, 4.23–4.12（m, 4H）, 4.05（t, $J=6.8$ Hz, 2H）, 3.65–3.51（m, 4H）, 3.40（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 2.41（t, $J=7.5$ Hz, 2H）, 2.30（dt, $J=12.0, 7.6$ Hz, 5H）, 2.19（m, 1H）, 1.93（td, $J=7.5, 5.5$ Hz, 2H）, 1.66–1.48（m, 11H）, 1.37–1.22（m, 43H）, 0.87（m, 9H）ppm；MS：793.77 m/z [M+Na]。

【0319】

50

実施例 92：1-（3-（（4，4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（（3-（ジエチルアミノ）プロポキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル）9-ドデシルノナンジオエート

【化197】



10

実施例 92を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 92c 及び 3-（ジエチルアミノ）プロパン-1-オールから収率 53% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz， CDCl_3 ） δ 4.48（t， $J=5.5\text{ Hz}$ ，1H），4.22-4.09（m，8H），4.05（t， $J=6.8\text{ Hz}$ ，2H），3.56（dt， $J=9.3$ ，6.7 Hz，2H），3.39（dt， $J=9.3$ ，6.7 Hz，2H），2.50（m，6H），2.45-2.35（m，3H），2.34-2.24（m，4H），1.92（m，2H），1.80（m，2H），1.71-1.51（m，10H），1.37-1.21（m，44H），1.00（t， $J=7.1\text{ Hz}$ ，6H），0.87（m，9H）ppm；MS：929.53 m/z [M+H]。

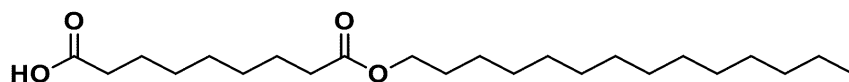
20

【0320】

実施例 93 の合成

中間体 93a：9-オキソ-9-（テトラデシルオキシ）ノナン酸

【化198】



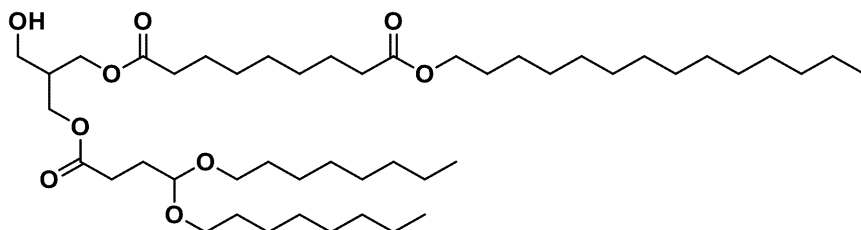
中間体 93aを、中間体 90b に用いた方法を使用して、中間体 92a 及びテトラデカン-1-オールから収率 11% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz， CDCl_3 ） δ 4.06（t， $J=6.8\text{ Hz}$ ，2H），2.37-2.28（m，4H），1.62（m，6H），1.33-1.26（m，30H），0.88（t， $J=6.8\text{ Hz}$ ，3H）ppm；MS：383.3 m/z [M-H]。

30

【0321】

中間体 93b：1-（3-（（4，4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（ヒドロキシメチル）プロピル）9-テトラデシルノナンジオエート

【化199】



40

中間体 93bを、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 93a 及び中間体 54b から収率 45% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz， CDCl_3 ） δ 4.48（t， $J=5.5\text{ Hz}$ ，1H），4.23-4.12（m，4H），4.05（t， $J=6.8\text{ Hz}$ ，2H），3.65-3.50（m，4H），3.40（dt， $J=9.3$ ，6.7 Hz，2H），2.41（t， $J=7.5\text{ Hz}$ ，2H），2.35-2.24（m，5

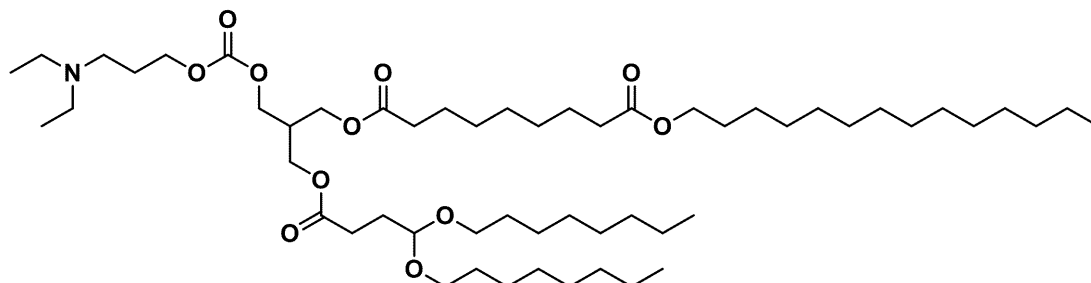
50

H), 2.19 (m, 1H), 1.93 (td, J=7.5, 5.5 Hz, 2H), 1.66–1.49 (m, 11H), 1.38–1.21 (m, 46H), 0.87 (m, 9H) ppm; MS: 822.00 m/z [M+Na]。

【0322】

実施例93: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-テトラデシルノナンジオエート

【化200】



10

実施例93を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体93b及び3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率47%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.48 (t, J=5.5 Hz, 1H), 4.22–4.08 (m, 8H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.39 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.50 (q, J=7.1 Hz, 6H), 2.45–2.35 (m, 3H), 2.29 (m, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.67–1.49 (m, 12H), 1.37–1.21 (m, 47H), 1.00 (t, J=7.1 Hz, 5H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 943.03 m/z [M+H]。

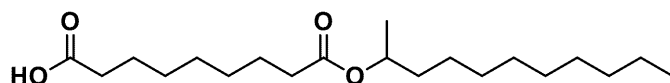
20

【0323】

実施例94の合成

中間体94a: 9-オキソ-9-(ウンデカン-2-イルオキシ)ノナン酸

【化201】



30

中間体94aを、中間体90bに用いた方法を使用して、中間体92a及びウンデカン-2-オールから収率30%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.90 (m, 1H), 2.35 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.27 (t, J=7.4 Hz, 2H), 1.66–1.30 (m, 26H), 1.20 (d, J=6.0 Hz, 3H), 0.89 (t, J=7.0 Hz, 3H) ppm; MS: 341.2 m/z [M-H]。

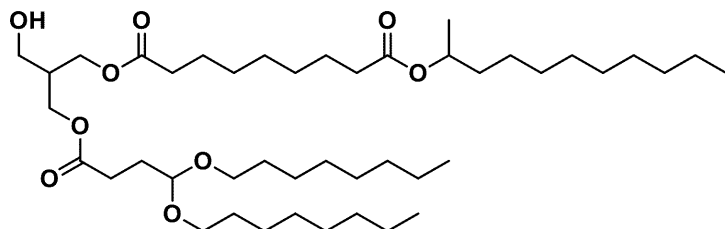
40

【0324】

中間体94b: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル)9-(ウンデカン-2-イル)ノナンジオエート

50

【化 2 0 2】



中間体 9 4 b を、中間体 5 4 c に用いた方法を使用して、中間体 9 4 a 及び中間体 5 4 b から収率 3 9 % で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.88 (m, 1 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.23–4.11 (m, 4 H), 3.66–3.52 (m, 4 H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.41 (t, $J=7.5$ Hz, 2 H), 2.35–2.23 (m, 5 H), 2.19 (m, 1 H), 1.93 (td, $J=7.5, 5.4$ Hz, 2 H), 1.66–1.22 (m, 50 H), 1.19 (d, $J=6.2$ Hz, 3 H), 0.87 (m, 9 H) ppm; MS: 779.78 m/z [M+Na]。

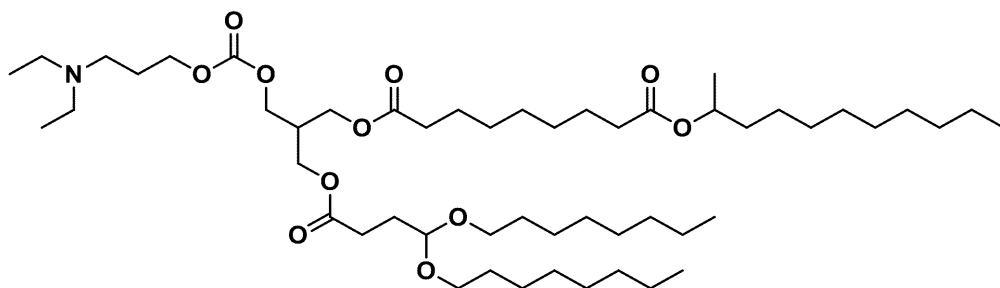
10

【0 3 2 5】

実施例 9 4: 1-(3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル)9-(ウンデカン-2-イル)ノナンジオエート

20

【化 2 0 3】



実施例 9 4 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 9 4 b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 6 3 % で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.89 (m, 1 H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1 H), 4.22–4.07 (m, 8 H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 3.39 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2 H), 2.55–2.45 (m, 6 H), 2.45–2.35 (m, 3 H), 2.34–2.22 (m, 4 H), 1.92 (m, 2 H), 1.81 (m, 2 H), 1.64–1.26 (m, 50 H), 1.19 (d, $J=6.3$ Hz, 3 H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6 H), 0.88 (m, 9 H) ppm; MS: 915.44 m/z [M+H]。

30

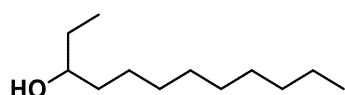
【0 3 2 6】

実施例 9 5 の合成

中間体 9 5 a: ドデカン-3-オール

40

【化 2 0 4】



THF (100 mL) 中のデカナル (12.8 mL, 64 mmol) の溶液に、ブromo (エチル) マグネシウム (3 M, 19.20 mL) を -78°C で滴加した。反応混合物を 25°C で 2 時間攪拌し、水 (200 mL) で希釈し、EtOAc (2×200 mL) に抽出

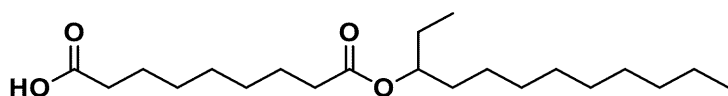
50

した。組み合わせた有機層を無水 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー（石油エーテル中の 2～2.5% EtOAc）を使用して精製して、6.9 g（37 mmol、収率 64%）の所望の生成物を無色油として得た。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 3.53（m, 1H）, 1.49–1.27（m, 18H）, 0.95（t, $J=7.4$ Hz, 3H）, 0.89（t, $J=6.8$ Hz, 3H）ppm。

【0327】

中間体 95b：9-（ドデカン-3-イルオキシ）-9-オキソノナン酸

【化205】



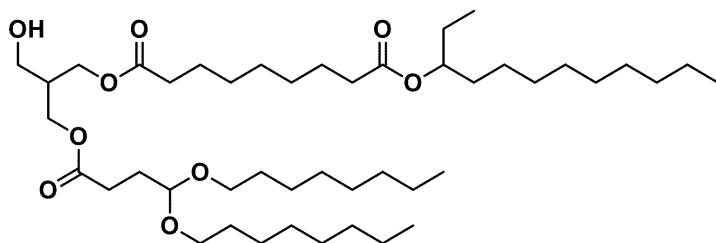
10

中間体 95b を、中間体 90b に用いた方法を使用して、中間体 92a 及びドデカン-3-オールから収率 38% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.82（m, 1H）, 2.37–2.27（m, 4H）, 1.63（m, 8H）, 1.34–1.26（m, 20H）, 0.88（m, 6H）ppm；MS：355.2 m/z [M-H]。

【0328】

中間体 95c：1-（3-（（4,4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（ヒドロキシメチル）プロピル）9-（ドデカン-3-イル）ノナンジオエート

【化206】



20

中間体 95c を、中間体 54c に用いた方法を使用して、中間体 95b 及び中間体 54b から収率 42% で合成した。 ^1H NMR（400 MHz, CDCl_3 ） δ 4.80（m, 1H）, 4.48（t, $J=5.5$ Hz, 1H）, 4.23–4.10（m, 4H）, 3.66–3.50（m, 4H）, 3.39（dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H）, 2.40（t, $J=7.5$ Hz, 2H）, 2.36–2.24（m, 5H）, 2.19（m, 1H）, 1.93（td, $J=7.6, 5.4$ Hz, 2H）, 1.67–1.46（m, 11H）, 1.38–1.18（m, 40H）, 0.87（m, 12H）ppm；MS：793.77 m/z [M+Na]。

【0329】

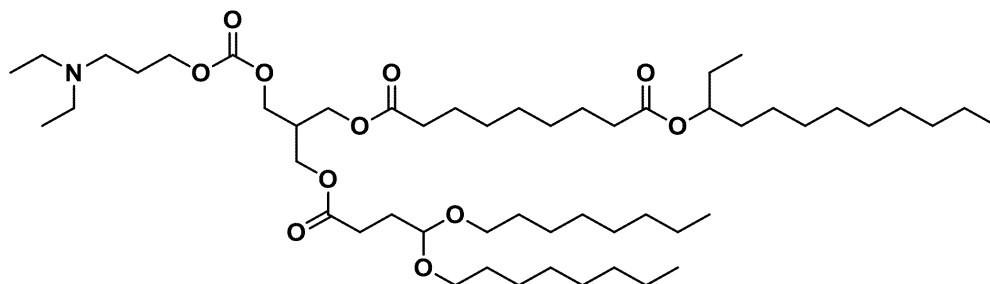
実施例 95：1-（3-（（4,4-ビス（オクチルオキシ）ブタノイル）オキシ）-2-（（（（3-（ジエチルアミノ）プロポキシ）カルボニル）オキシ）メチル）プロピル）9-（ドデカン-3-イル）ノナンジオエート

30

40

50

【化 2 0 7】



10

実施例 95 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 95c 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 63% で合成した。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.82 (m, 1H), 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.22–4.07 (m, 8H), 3.56 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 3.40 (dt, $J=9.3, 6.7$ Hz, 2H), 2.50 (q, $J=6.9$ Hz, 6H), 2.45–2.35 (m, 3H), 2.29 (q, $J=7.5$ Hz, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.68–1.47 (m, 11H), 1.37–1.23 (m, 41H), 1.00 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 0.87 (m, 12H) ppm; MS: 929.03 m/z [M+H]。

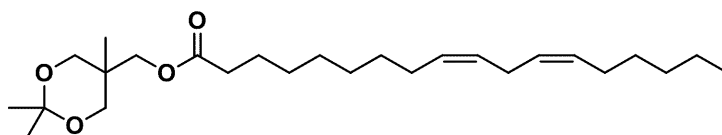
20

【0330】

実施例 96 の合成

中間体 96a: (2, 2, 5-トリメチル-1, 3-ジオキサン-5-イル)メチル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化 2 0 8】



DCM (50 mL) 中の (2, 2, 5-トリメチル-1, 3-ジオキサン-5-イル)メタノール (2 g, 12.4 mmol)、リノール酸 (4.23 mL, 13.6 mmol)、DMAP (302 mg, 2.48 mmol)、及び DIPEA (4.32 mL, 24.8 mmol) の溶液に、EDC·HCl (3.56 g, 18.6 mmol) を室温で添加した。反応混合物を室温で 48 時間攪拌し、次いで水 (25 mL) で希釈した。有機層を収集し、水 (25 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の 0~100% EtOAc) を使用して精製して、2.16 g (5.11 mmol, 収率 41%) の所望の生成物を透明油として得た。MS: 867.22 m/z [M+Na]。

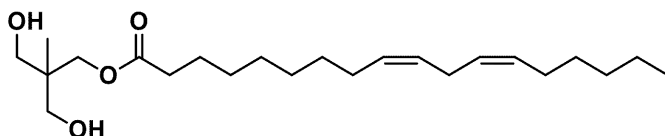
30

【0331】

中間体 96b: 3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)-2-メチルプロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

40

【化 2 0 9】



中間体 96a (2.16 g, 5.11 mmol) をメタノール (50 mL) に溶解し、Dowex 50x8 樹脂を添加した。得られた反応混合物を室温で 16 時間攪拌し、濾過し、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の 0~6

50

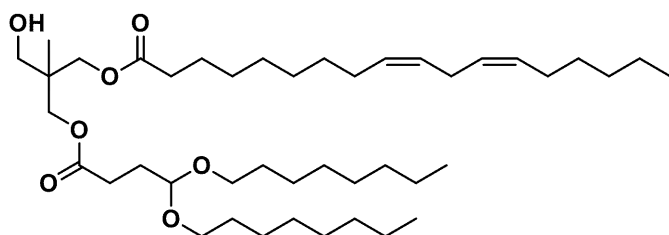
0% EtOAc)を使用して精製して、1.43 g (3.73 mmol、収率73%)の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44–5.27 (m, 4H), 4.20 (s, 2H), 3.58 (dd, J=11.3, 4.2 Hz, 2H), 3.51 (dd, J=11.3, 4.9 Hz, 2H), 2.81–2.74 (m, 2H), 2.71 (m, 2H), 2.36 (t, J=7.5 Hz, 2H), 2.05 (dt, J=8.5, 6.7 Hz, 4H), 1.69–1.56 (m, 2H), 1.40–1.25 (m, 14H), 0.89 (m, 3H), 0.84 (s, 3H) ppm。

【0332】

中間体96c: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)-2-メチルプロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

10

【化210】



20

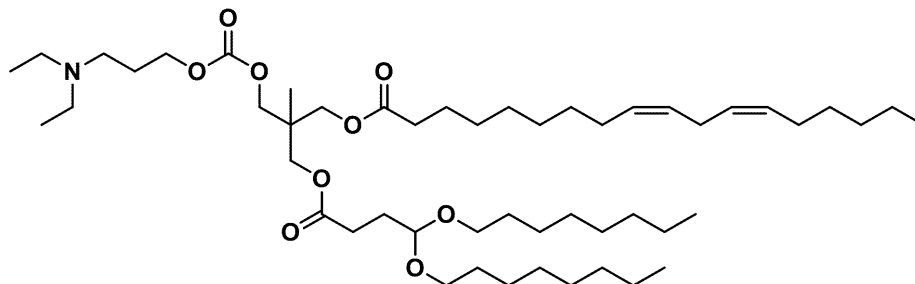
中間体96cを、中間体1dに用いた方法を使用して、中間体96b及び中間体1cから収率67%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44–5.27 (m, 4H), 4.49 (t, J=5.5 Hz, 1H), 4.02 (d, J=2.7 Hz, 4H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.44–3.36 (m, 4H), 2.80–2.74 (m, 2H), 2.42 (t, J=7.5 Hz, 3H), 2.33 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.05 (q, J=6.8 Hz, 4H), 1.94 (td, J=7.5, 5.4 Hz, 2H), 1.69–1.50 (m, 7H), 1.40–1.20 (m, 34H), 0.95 (s, 3H), 0.88 (m, 9H) ppm。

30

【0333】

実施例96: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)-2-メチルプロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化211】



40

実施例96を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体96c及び3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率32%で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.44–5.27 (m, 4H), 4.48 (t, J=5.5 Hz, 1H), 4.18 (t, J=6.6 Hz, 2H), 4.06 (s, 2H), 4.01 (m, 4H), 3.56 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.40 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.77 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.51 (q, J=7.

50

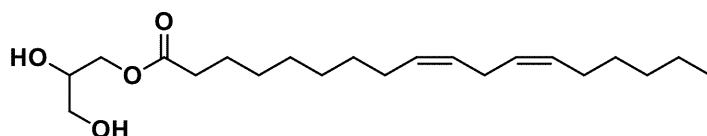
1 H z , 6 H) , 2 . 4 0 (t , J = 7 . 6 H z , 2 H) , 2 . 3 1 (t , J = 7 . 6 H z , 2 H) , 2 . 0 5 (q , J = 6 . 8 H z , 5 H) , 1 . 9 2 (t d , J = 7 . 6 , 5 . 5 H z , 2 H) , 1 . 8 1 (m , 2 H) , 1 . 6 7 - 1 . 4 9 (m , 1 2 H) , 1 . 4 2 - 1 . 1 9 (m , 3 8 H) , 1 . 0 5 - 0 . 9 6 (m , 9 H) , 0 . 8 8 (m , 9 H) p p m ; M S : 8 6 7 . 2 2 m / z [M + H] .

【 0 3 3 4 】

実施例 97 の合成

中間体 97 a : 2 , 3 - ジヒドロキシプロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【 化 2 1 2 】

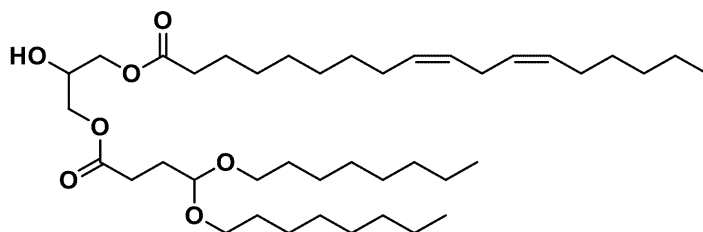


D C M (1 7 2 m L) 中のグリセロール (1 . 5 9 g 、 1 7 . 3 m m o l) の溶液に、リノール酸 (3 5 . 6 m m o l) 、 D M A P (4 2 3 m g 、 3 . 4 7 m m o l) 、 及び D I P E A (7 . 2 3 m L 、 4 1 . 6 m m o l) を室温で添加した。E D C ・ H C l (8 . 0 5 g 、 4 1 . 6 m m o l) を 1 5 分間にわたって 3 回に分けて添加し、続いて D M F (1 m L) を添加した。得られた反応混合物を 1 6 時間攪拌し、水、1 M の H C l 、 及び 5 % の N a H C O ₃ で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン中の E t O A c の勾配) を使用して精製して、2 . 1 0 g (5 . 9 m m o l 、 収率 3 4 %) の所望の生成物を得た。1 H N M R (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ 5 . 4 4 - 5 . 2 7 (m , 4 H) , 4 . 2 4 - 4 . 0 6 (m , 2 H) , 3 . 9 2 (m , 1 H) , 3 . 6 9 (m , 1 H) , 3 . 5 9 (d t , J = 1 1 . 0 , 5 . 1 H z , 1 H) , 2 . 7 6 (m , 2 H) , 2 . 6 7 (d , J = 4 . 9 H z , 1 H) , 2 . 3 4 (t , J = 7 . 6 H z , 2 H) , 2 . 2 5 (m , 1 H) , 2 . 0 4 (m , 4 H) , 1 . 6 3 (m , 2 H) , 1 . 4 1 - 1 . 2 2 (m , 1 4 H) , 0 . 8 9 (t , J = 6 . 8 H z , 3 H) p p m .

【 0 3 3 5 】

中間体 97 b : 3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - ヒドロキシプロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【 化 2 1 3 】



中間体 97 b を、中間体 1 d に用いた方法を使用して、中間体 97 a 及び中間体 1 c から収率 1 1 % で合成した。1 H N M R (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ 5 . 3 5 (m , 4 H) , 4 . 5 0 (t , J = 5 . 5 H z , 1 H) , 4 . 2 3 - 4 . 0 5 (m , 5 H) , 3 . 5 6 (d t , J = 9 . 3 , 6 . 7 H z , 2 H) , 3 . 4 0 (d t , J = 9 . 3 , 6 . 7 H z , 2 H) , 2 . 7 7 (m , 2 H) , 2 . 5 5 (d , J = 4 . 6 H z , 1 H) , 2 . 4 4 (t , J = 7 . 4 H z , 2 H) , 2 . 3 5 (t , J = 7 . 6 H z , 2 H) , 2 . 0 5 (q , J = 6 . 8 H z , 4 H) , 1 . 9 5 (t d , J = 7 . 4 , 5 . 5 H z , 2 H) , 1 . 7 0 - 1 . 5 1 (m , 8 H) , 1 . 3 9 - 1 . 2 1 (m , 3 4 H) , 0 . 8 8 (m , 9 H) p p m .

【 0 3 3 6 】

10

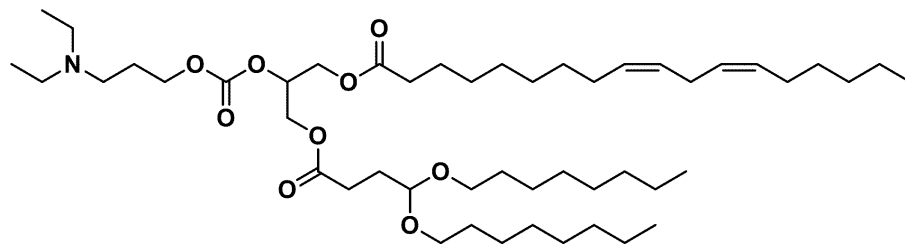
20

30

40

50

実施例 97: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート
 【化 2 1 4】



10

アセトニトリル(5 mL)中の中間体 96b(170 mg、0.25 mmol)の溶液に、ピリジン(40 μ L、0.5 mmol)及び4-ニトロフェニルクロロホルメート(70 mg、0.35 mmol)を室温で添加した。4時間攪拌した後に、3-ジエチルアミノ-1-プロパノール(111 μ L、0.75 mmol)を添加し、得られた反応混合物をさらに2時間攪拌した。反応混合物をヘキサン(10 mL)に抽出し、水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン中0~100% EtOAc)を使用して精製して、52 mg(0.062 mmol、収率25%)の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 5.36(m, 4H), 5.08(m, 1H), 4.48(t, J=5.6 Hz, 1H), 4.34(m, 2H), 4.25-4.13(m, 4H), 3.56(dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.40(dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2H), 2.77(t, J=6.6 Hz, 2H), 2.56-2.46(m, 6H), 2.41(t, J=7.6 Hz, 2H), 2.36-2.28(m, 2H), 2.05(q, J=6.9 Hz, 4H), 1.92(td, J=7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.82(m, 2H), 1.67-1.52(10H), 1.40-1.23(m, 34H), 1.01(t, J=7.1 Hz, 6H), 0.88(m, 9H) ppm; MS: 840.03 m/z [M+H]。

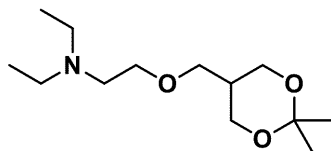
20

【0337】

30

実施例 98 の合成

中間体 98a: 2-((2,2-ジメチル-1,3-ジオキサン-5-イル)メトキシ)-N,N-ジエチルエタン-1-アミン
 【化 2 1 5】



無水DCM(1.7~4.3 M)中の95%水素化ナトリウム(2.5当量)の混合物に、無水DCM(0.45~1.1 M)中の(2,2-ジメチル-1,3-ジオキサン-5-イル)メタノール(1当量)の溶液を0℃で添加した。反応混合物を、0℃で15分間攪拌し、続いて(2-ブロモエチル)ジエチルアミンヒドロブロミド(1.23 g、4.78 mmol、1.4当量)を添加した。反応物を室温に加温し、2時間攪拌した後、0℃に再冷却し、水で希釈し、EtOAcに抽出した。有機層を収集し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、真空中で濃縮して、370 mg(1.50 mmol、収率44%)の所望の生成物を透明油として得たが、これをさらに精製しなかった。¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 3.95(m, 2H), 3.75(m, 2H), 3.51(t, J=6.2 Hz, 2H), 3.47(d, J=6.7 Hz, 2H), 2.64(t, J=6.2 Hz, 2H), 2.57(q, J=7.1 Hz, 4H), 1.98(m, 1H),

40

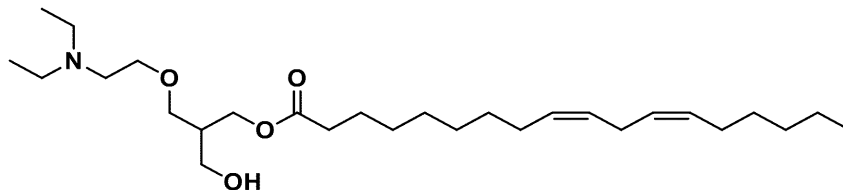
50

1.42 (s, 3H), 1.40 (s, 3H) 1.02 (t, J = 7.1 Hz, 6H) ppm; MS: 246.40 [M+H]。

【0338】

中間体98b: 3-(2-(ジエチルアミノ)エトキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化216】



10

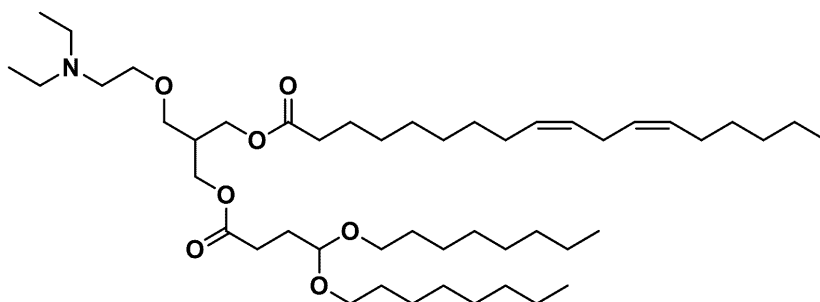
1,4-ジオキサン(10mL、40当量)中の4NのHClを、中間体98a(1当量)にそのまま添加した。得られた反応混合物を室温で2時間攪拌し、次いで真空中で濃縮して、アセトニドで脱保護した中間体を得た。粗残留物、リノール酸(0.9~1.5当量)、DIPEA(2~3.2当量)、及びDMAP(0.15~0.26当量)をDCM(0.2~0.3M)に溶解した。EDC-HCl(1.2~1.9当量)を溶液に添加し、反応混合物を室温で16時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、次いでシリカゲルクロマトグラフィー(ヘキサン中の0~100% EtOAc、続いてDCM中の0~10% MeOH)を使用して精製して、550mg(2工程の収率78%)の所望の生成物を白色粘性物質として得た。MS: 469.08 [M+H]。

20

【0339】

実施例98: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(2-(ジエチルアミノ)エトキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化217】



30

DCM(0.1~0.5M)中の中間体98b(1当量)、DIPEA(1.5当量)、DMAP(0.2当量)、及び中間体1c(1当量)の溶液に、EDC-HCl(1.5当量)を室温で添加した。反応混合物を室温で16時間攪拌し、真空中で濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー(0.1%水酸化アンモニウムを用いたDCM中の0~10% MeOH)を使用して精製した。生成物画分をプールし、真空中で濃縮し、50mLのトルエン(3回)で共沸して、残留水酸化アンモニウムを除去し、174mg(0.22mmol、収率19%)の所望の生成物を淡黄色油として得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 5.43-5.28 (m, 4H), 4.48 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.18-4.07 (m, 4H), 3.56 (dt, J = 9.3, 6.7 Hz, 2H), 3.52-3.32 (m, 6H), 2.77 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.63 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.55 (q, J = 7.2 Hz, 4H), 2.39 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.29 (m, 3H), 2.05 (q, J = 6.8 Hz, 4H), 1.92 (td, J = 7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.57 (m, 7H), 1.31 (m, 33H), 1.02 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.93-0.84 (m, 9H) ppm; MS: 795.56 M+H (ESI+).

40

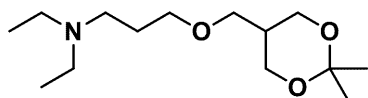
50

【0340】

実施例99の合成

中間体99a：3-((2,2-ジメチル-1,3-ジオキサン-5-イル)メトキシ)-N,N-ジエチルプロパン-1-アミン

【化218】



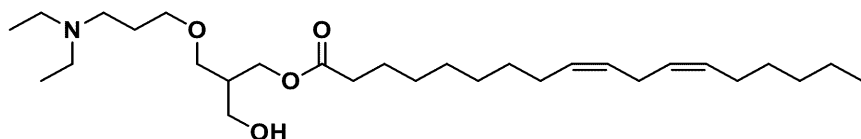
中間体99aを、中間体98aに用いた方法を使用して、(3-ブロモプロピル)ジエチルアミンヒドロブロミド及び(2,2-ジメチル-1,3-ジオキサン-5-イル)メタノールから収率77%で合成した。MS：260.58 [M+H]。

10

【0341】

中間体99b：3-(3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化219】



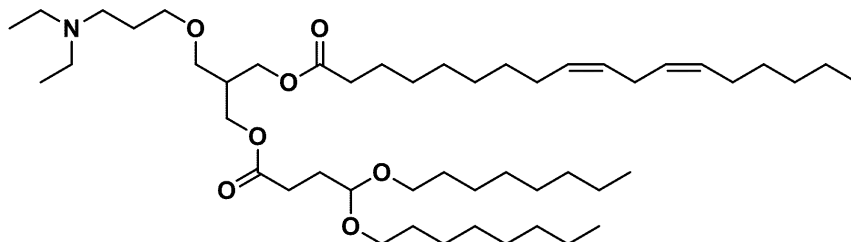
20

中間体99bを、中間体98bで用いた方法を使用して、中間体99a及びリノール酸から収率50%(2工程)で合成した。MS：483.12 [M+H]。

【0342】

実施例99：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化220】



30

実施例99を、実施例98に用いた方法を使用して、中間体99b及び中間体1cから収率20%で合成した。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 5.42-5.27(m, 4H), 4.48(t, J=5.6Hz, 1H), 4.13(m, 4H), 3.56(dt, J=9.3, 6.7Hz, 2H), 3.46-3.34(m, 6H), 2.77(t, J=6.4Hz, 2H), 2.56-2.43(m, 6H), 2.39(t, J=7.6Hz, 2H), 2.29(m, 3H), 2.05(q, J=6.8Hz, 4H), 1.93(m, 2H), 1.64(m, 9H), 1.36-1.26(m, 33H), 1.01(t, J=7.1Hz, 6H), 0.88(m, 9H) ppm; MS：809.74 [M+H]。

40

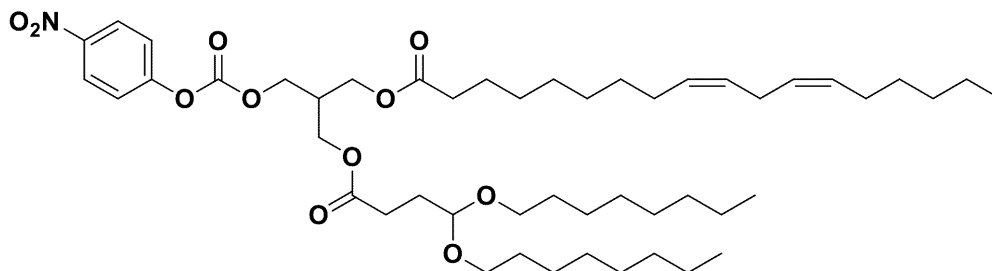
【0343】

実施例100の合成

中間体100a：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((4-ニトロフェキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

50

【化 2 2 1】



10

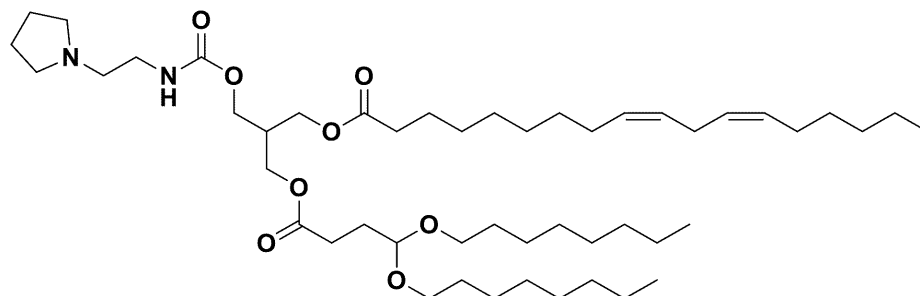
DCM (30 mL) 中の中間体 1 d (3 g、1.0 当量) 及び (4-ニトロフェニル) カルボノクロリデート (1.74 g、2.0 当量) の溶液に、ピリジン (1.05 mL、3.0 当量) を 0℃ で添加した。混合物を、N₂ 雰囲気下、20℃ で 2 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、DCM を除去した。残留物を H₂O で希釈し、EtOAc で 2 回抽出した。組み合わせた有機層を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物 (2.5 g、67%) を得た。

【0 3 4 4】

実施例 100: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ピロリジン-1-イル)エチル)カルバモイル)オキシ)メチル)プロピル (9Z, 12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

20

【化 2 2 2】



30

MeCN (9 mL) 中の中間体 100 a (500 mg、1.0 当量) の溶液に、2-ピロリジン-1-イルエタンアミン (133 mg、2.0 当量)、ピリジン (94 μ L、2.0 当量)、及び DMAP (71 mg、1.0 当量) を添加した。混合物を、N₂ 雰囲気下、20℃ で 5 時間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮して、溶媒を除去した。残留物を EtOAc で希釈し、1 N の NaHCO₃ で 5 回、H₂O で 3 回洗浄した。有機層を Na₂SO₄ 上で乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物 (150 mg、31%) を得た。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.36–5.22 (m, 4H), 5.20 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 4.42 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 5.4 Hz, 6H), 3.49 (dt, J = 9.4, 6.7 Hz, 2H), 3.38–3.30 (m, 2H), 3.21 (q, J = 5.8 Hz, 2H), 2.70 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.51 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 2.43 (d, J = 6.2 Hz, 4H), 2.33 (dd, J = 9.7, 5.5 Hz, 3H), 2.23 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 1.98 (q, J = 6.9 Hz, 4H), 1.85 (td, J = 7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.70 (q, J = 3.3 Hz, 4H), 1.57–1.44 (m, 12H), 1.23 (ddt, J = 18.4, 10.5, 6.3 Hz, 37H), 0.84–0.78 (m, 9H)。MS: 836.3 m/z [M+H]。

40

【0 3 4 5】

実施例 101～103 の合成

50

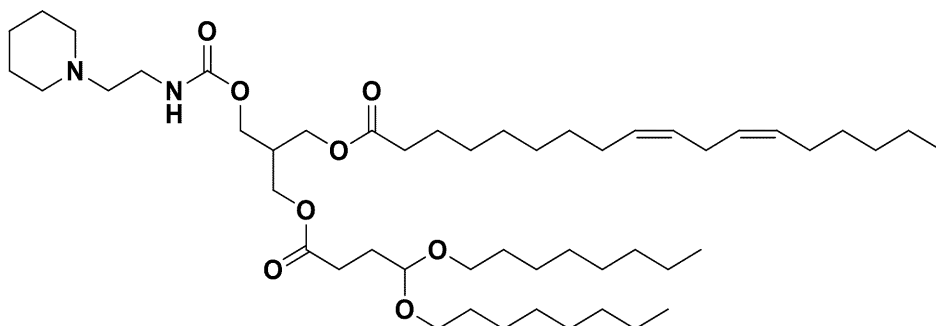
以下の実施例を、実施例 100 に用いた方法を使用して、中間体 100 a 及びアミノアルコールまたはジアミン試薬から合成した。

【0346】

実施例 101

実施例 101：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((2-(ピペリジン-1-イル)エチル)カルボモイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化223】



10

収率 32%；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.36–5.17 (m, 4 H), 4.41 (t, J=5.5 Hz, 1 H), 4.18–4.02 (m, 8 H), 3.49 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.33 (dt, J=9.3, 6.6 Hz, 2 H), 2.68 (dt, J=19.3, 6.5 Hz, 4 H), 2.50 (q, J=7.2 Hz, 4 H), 2.40–2.28 (m, 3 H), 2.23 (t, J=7.6 Hz, 2 H), 1.98 (q, J=6.9 Hz, 4 H), 1.85 (td, J=7.6, 5.5 Hz, 2 H), 1.61–1.44 (m, 12 H), 1.32–1.14 (m, 35 H), 0.96 (t, J=7.1 Hz, 6 H), 0.82 (td, J=6.9, 4.0 Hz, 9 H)。MS: 850.3 m/z [M+H]。

20

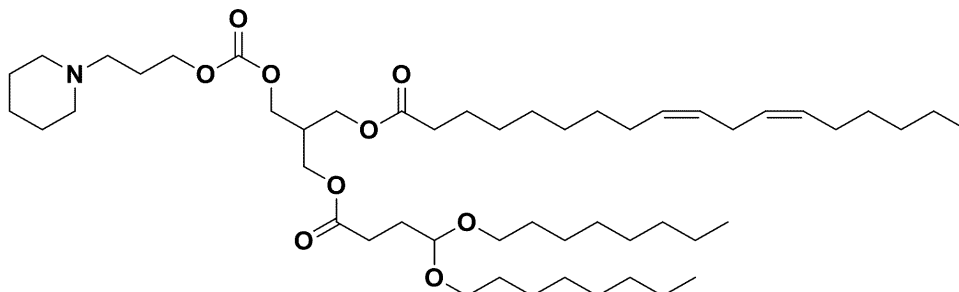
【0347】

実施例 102

実施例 102：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ピペリジン-1-イル)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

30

【化224】



40

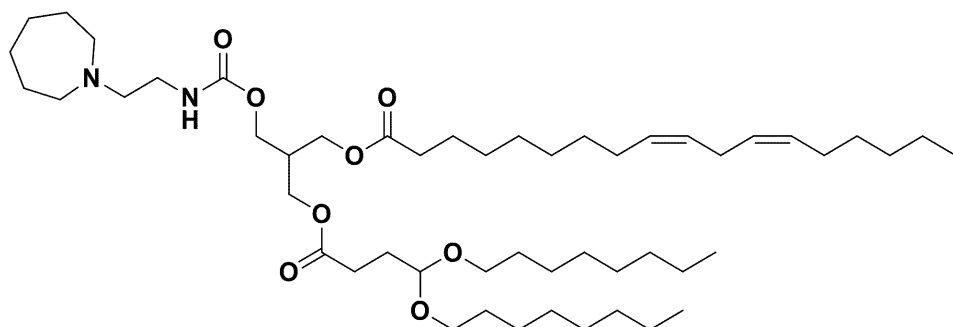
収率 91%；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.36–5.21 (m, 4 H), 4.41 (t, J=5.5 Hz, 1 H), 4.16–4.00 (m, 8 H), 3.49 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 3.33 (dt, J=9.3, 6.7 Hz, 2 H), 2.70 (t, J=6.5 Hz, 2 H), 2.40–2.19 (m, 11 H), 1.98 (q, J=6.8 Hz, 4 H), 1.89–1.74 (m, 4 H), 1.60–1.43 (m, 14 H), 1.41–1.08 (m, 36 H), 0.82 (td, J=6.9, 4.0 Hz, 9 H)。MS: 865.3 m/z [M+H]。

【0348】

50

実施例 103

実施例 103：3-((2-(アゼパン-1-イル)エチル)カルバモイル)オキシ-2-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)メチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート
【化225】



10

収率 47%； ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.67 (s, 1H), 5.42–5.29 (m, 4H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.12 (qt, $J=6.2$, 4.1, 3.7 Hz, 7H), 3.56 (dt, $J=9.3$, 6.7 Hz, 2H), 3.44–3.38 (m, 2H), 3.27 (q, $J=5.6$ Hz, 2H), 2.71 (ddt, $J=30.8$, 24.9, 12.7 Hz, 8H), 2.35 (dt, $J=37.4$, 7.7 Hz, 6H), 2.27–1.99 (m, 13H), 1.92 (td, $J=7.6$, 5.5 Hz, 2H), 1.60 (ddt, $J=24.3$, 21.1, 6.7 Hz, 14H), 1.40–1.19 (m, 35H), 0.88 (td, $J=6.8$, 4.0 Hz, 9H)。MS: 864.3 m/z [M+H]。

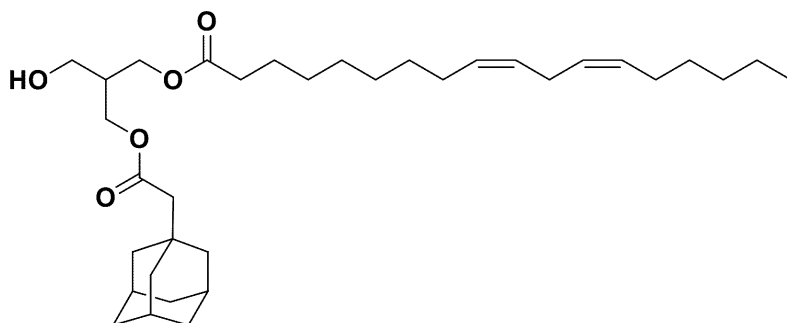
20

【0349】

実施例 107 の合成

中間体 107a：3-(2-((3r,5r,7r)-アダマンタン-1-イル)アセトキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエノエート

【化226】



30

DCM (40 mL) 中の中間体 1a (4 g、1.0 当量) の溶液に、EDCI (2.5 g、1.2 当量) を添加し、DMAP (132 mg、0.1 当量)、及び DIPEA (3.78 mL、2.0 当量- (1-アダマンチル) 酢酸 (2.11 g、1.0 当量) を上記の混合物に 0℃ で添加した。混合物を、 N_2 雰囲気下、20℃ で 2 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、DCM を除去した。残留物を H_2O で希釈し、EtOAc で 2 回抽出した。組み合わせた有機層を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物 (4 g、68%) を得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.37–5.20 (m, 4H), 4.19–4.01 (m, 4H), 3.56 (d, $J=5.6$ Hz, 2H), 2.70 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 2.25 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.13 (dt, $J=11.$

40

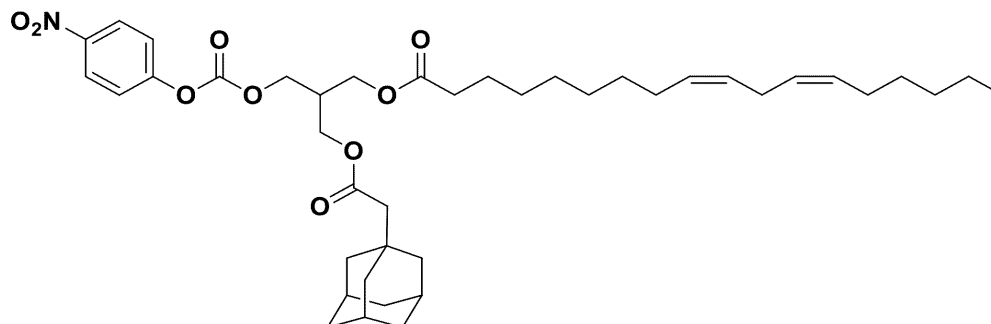
50

6, 5.8 Hz, 2H), 2.04–1.95 (m, 6H), 1.90 (q, J = 3.2 Hz, 3H), 1.64 (dt, J = 12.3, 3.0 Hz, 3H), 1.55 (dd, J = 15.4, 2.5 Hz, 11H), 1.33–1.15 (m, 15H), 0.87–0.77 (m, 3H)。

【0350】

中間体107b: 3-(2-((3r, 5r, 7r)-アダマンタン-1-イル)アセトキシ)-2-(((4-ニトロフェノキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化227】



10

DCM (30 mL) 中の中間体107a (3 g、1.0当量)、(4-ニトロフェニル)カルボノクロリデート (3.3 g、3.0当量) の溶液に、ピリジン (1.3 mL、3.0当量) を0℃で添加した。混合物を、N₂雰囲気下、20℃で2～5時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、溶媒を除去した。残留物をヘキサンで希釈し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をシリカゲルクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物 (3 g、収率76%) を得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.31 (dd, J = 9.3, 3.1 Hz, 2H), 7.41 (dd, J = 9.3, 3.0 Hz, 2H), 5.37 (dtp, J = 11.1, 7.1, 3.9 Hz, 4H), 4.39 (dd, J = 6.0, 3.0 Hz, 2H), 4.23 (dt, J = 9.5, 4.1 Hz, 4H), 2.80 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 2.54 (ddt, J = 11.6, 8.5, 4.3 Hz, 1H), 2.35 (td, J = 7.6, 3.0 Hz, 2H), 2.17–1.95 (m, 9H), 1.78–1.58 (m, 15H), 1.42–1.26 (m, 15H), 0.91 (td, J = 6.8, 3.0 Hz, 3H)。

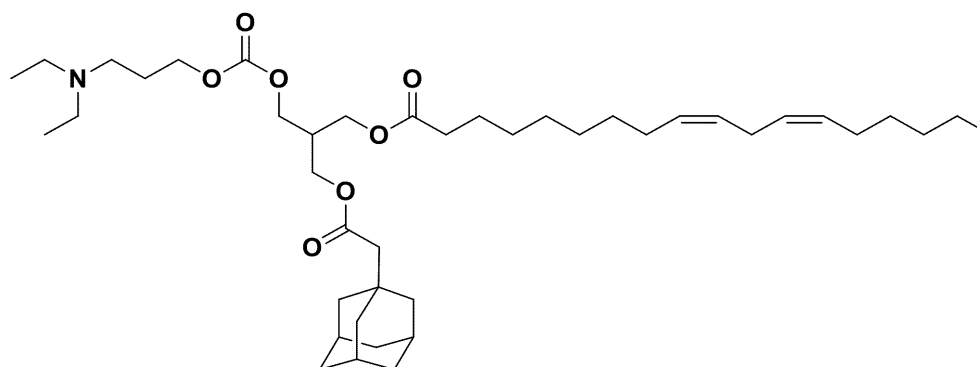
20

30

【0351】

実施例107: 3-(2-((3r, 5r, 7r)-アダマンタン-1-イル)アセトキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化228】



40

MeCN (10 mL) 中の中間体107b (1 g、1.0当量) の溶液に、3-(ジエチ

50

ルアミノ)プロパン-1-オール(555mg、3.0当量)、ピリジン(342μL、2.0当量)、及びDMAPI(17mg、0.1当量)を添加した。混合物を、N₂雰囲気下、20℃で12時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、溶媒を除去した。残留物をH₂Oで希釈し、EtOAcで3回抽出した。有機層をNa₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、淡黄色油として生成物(432mg、44%)を得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 5.28 (tt, J=11.2, 5.5 Hz, 4H), 4.21–3.97 (m, 8H), 2.70 (t, J=6.5 Hz, 2H), 2.40 (dq, J=29.5, 6.5, 6.0 Hz, 7H), 2.24 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.98 (dd, J=14.6, 7.7 Hz, 6H), 1.94–1.85 (m, 3H), 1.74 (p, J=6.8 Hz, 2H), 1.68–1.46 (m, 16H), 1.24 (d, J=6.6 Hz, 14H), 0.94 (t, J=7.1 Hz, 6H), 0.82 (t, J=6.7 Hz, 3H)。MS: 703.3 m/z [M+H]。

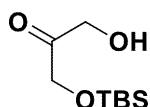
10

【0352】

実施例113の合成

中間体113a: 1-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-3-ヒドロキシプロパン-2-オン

【化229】



20

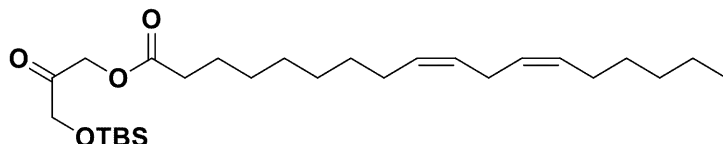
THF(150mL)中の1,3-ジヒドロキシプロパン-2-オン(20g、1.0当量)の混合物に、イミダゾール(15.12g、1.0当量)を添加した。次いで、THF(150mL)中のTBSCl(1.0当量)の混合物を上記の混合物に0℃で滴加した。混合物を、N₂雰囲気下、15℃で2時間攪拌した。完了した後に、反応混合物を水に注ぎ入れ、EtOAcで3回抽出した。組み合わせた有機相をブラインで2回洗浄し、無水Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。反応混合物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物(5.5g、12%)を得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 4.47 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 0.91–0.87 (m, 12H), 0.14–0.01 (m, 9H)。

30

【0353】

中間体113b: 3-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-2-オキソプロピル(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノエート

【化230】



40

DCM(55mL)中の中間体113a(5.5g、1.0当量)、EDCI(6.19g、1.2当量)、DMAPI(658mg、0.2当量)、及びDIPEA(14.06mL、3.0当量)の混合物に、(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン酸(7.6mL、1.0当量)を添加した。反応物を、N₂下、15℃で12時間攪拌した。完了した後に、反応混合物を水に注ぎ入れ、DCMで3回抽出した。組み合わせた有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物(7g、56%)を得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 5.33–5.18 (m, 4H), 4.85 (s, 2H), 4.16 (s, 2H), 2.67 (t, J=6.5 Hz, 2H), 2.32 (t, J=7.5 Hz, 2H), 1.94 (q, J=6.9 Hz, 4H), 1.57 (q, J=7

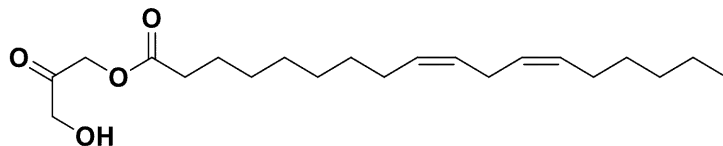
50

． 3 H z ， 2 H) ， 1 . 3 2 - 1 . 1 3 (m ， 1 4 H) ， 0 . 8 7 - 0 . 7 4 (m ， 1 2 H) 。

【 0 3 5 4 】

中間体 1 1 3 c : 3 - ヒドロキシ - 2 - オキソプロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【 化 2 3 1 】



10

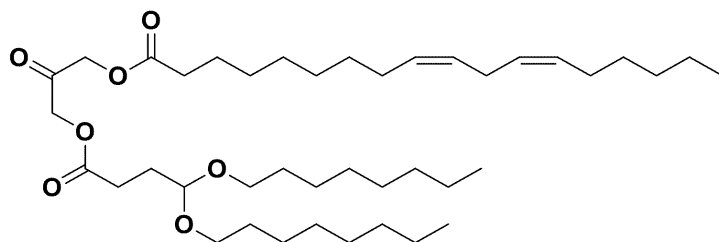
T H F (7 0 m L) 中 の 中 間 体 1 1 3 b (7 . 0 g 、 1 . 0 当 量) の 溶 液 に 、 H F - ピ リ ジ ン (6 . 7 6 m L 、 5 . 0 当 量) を 0 ~ 1 5 ° C で 滴 加 し た 。 反 応 混 合 物 を 、 1 5 ° C で 1 時 間 攪 拌 し た 。 次 い で 、 混 合 物 を 水 に 注 ぎ 入 れ 、 E t O A c で 3 回 抽 出 し た 。 組 み 合 わ せ た 有 機 相 を プ ラ イ ン で 洗 浄 し 、 無 水 Na_2SO_4 で 乾 燥 さ せ 、 濾 過 し 、 真 空 中 で 濃 縮 し た 。 残 留 物 を カ ラ ム ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー に よ っ て 精 製 し て 、 無 色 油 と し て 生 成 物 (3 g 、 5 7 %) を 得 た 。 ^1H N M R (4 0 0 M H z , CDCl_3) δ 5 . 3 5 (t p , $J = 1 1 . 2 , 3 . 6 , 3 . 2 \text{ Hz}$, 4 H) , 4 . 7 6 (s , 1 H) , 4 . 3 7 (s , 1 H) , 2 . 9 3 (s , 1 H) , 2 . 7 7 (t , $J = 6 . 4 \text{ Hz}$, 2 H) , 2 . 4 3 (t , $J = 7 . 5 \text{ Hz}$, 2 H) , 2 . 3 9 - 2 . 3 1 (m , 1 H) , 2 . 0 5 (p , $J = 7 . 1 , 6 . 4 \text{ Hz}$, 4 H) , 1 . 6 5 (d p , $J = 1 1 . 8 , 6 . 4 , 5 . 4 \text{ Hz}$, 2 H) , 1 . 4 1 - 1 . 2 2 (m , 1 5 H) , 0 . 8 8 (t , $J = 6 . 7 \text{ Hz}$, 3 H) 。

20

【 0 3 5 5 】

中間体 1 1 3 d : 3 - ((4 , 4 - ビ ス (オ ク チ ル オ キ シ) プ タ ノ イ ル) オ キ シ) - 2 - オキソプロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノエート

【 化 2 3 2 】



30

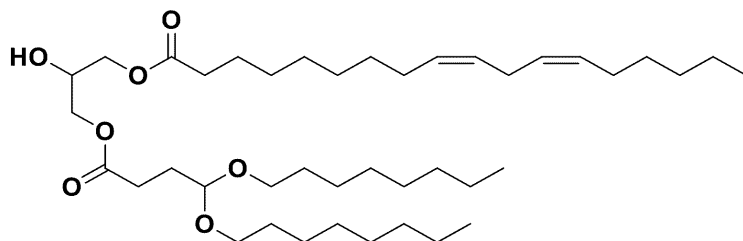
D C M (3 0 m L) 中 の 中 間 体 1 1 3 c (3 g 、 1 . 0 当 量) 、 E D C I (1 . 9 6 g 、 1 . 2 当 量) 、 D M A P (2 0 8 m g 、 0 . 2 当 量) 、 及 び D I P E A (4 . 4 5 m L 、 3 . 0 当 量) の 溶 液 に 、 中 間 体 1 c (2 . 9 3 g 、 1 . 0 当 量) を 添 加 し た 。 次 い で 、 反 応 混 合 物 を 、 N_2 下 、 1 5 ° C で 1 2 時 間 攪 拌 し た 。 残 留 物 を 水 に 注 ぎ 入 れ 、 D C M で 3 回 抽 出 し た 。 組 み 合 わ せ た 有 機 相 を 無 水 Na_2SO_4 で 乾 燥 さ せ 、 濾 過 し 、 真 空 中 で 濃 縮 し た 。 残 留 物 を カ ラ ム ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー に よ っ て 精 製 し て 、 無 色 油 と し て 生 成 物 (4 g 、 6 9 %) を 得 た 。 ^1H N M R (4 0 0 M H z , CDCl_3) δ 5 . 4 3 - 5 . 2 6 (m , 4 H) , 4 . 7 4 (d , $J = 1 . 9 \text{ Hz}$, 4 H) , 4 . 5 0 (t , $J = 5 . 5 \text{ Hz}$, 1 H) , 4 . 1 1 (q , $J = 7 . 1 \text{ Hz}$, 2 H) , 3 . 5 6 (d t , $J = 9 . 3 , 6 . 6 \text{ Hz}$, 2 H) , 3 . 4 0 (d t , $J = 9 . 3 , 6 . 7 \text{ Hz}$, 2 H) , 2 . 7 6 (t , $J = 6 . 4 \text{ Hz}$, 2 H) , 2 . 5 0 (t , $J = 7 . 5 \text{ Hz}$, 2 H) , 2 . 4 1 (t , $J = 7 . 5 \text{ Hz}$, 2 H) , 2 . 0 4 (d , $J = 5 . 9 \text{ Hz}$, 6 H) , 1 . 9 6 (d d , $J = 7 . 5 , 5 . 5 \text{ Hz}$, 2 H) , 1 . 6 5 (p , $J = 7 . 2 \text{ Hz}$, 2 H) , 1 . 5 5 (q , $J = 6 . 9 \text{ Hz}$, 4 H) , 1 . 4 0 - 1 . 1 9 (m , 3 3 H) , 0 . 8 7 (t d , $J = 6 . 8 , 3 . 9 \text{ Hz}$, 8 H) 。

40

【 0 3 5 6 】

50

中間体 113 e : 3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 -
ヒドロキシプロピル (9 Z , 12 Z) - オクタデカ - 9 , 12 - ジエノエート
【化 2 3 3】



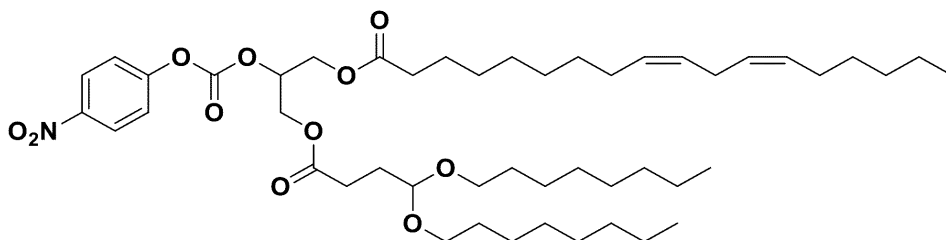
10

T H F (80 m L) 、 H₂ O (40 m L 、 及びトルエン (20 m L) 中の中間体 113 d
(4 g 、 1.0 当量) の溶液に、Na B H₄ (1.11 g 、 5.0 当量) を 5℃ で添加し
た。混合物を 5℃ で 5 時間攪拌した。次いで、反応混合物を、飽和 N H₄ C l に注ぎ入れ
、酢酸エチルで 2 回抽出した。組み合わせた有機相をブラインで洗浄し、無水 N a₂ S O₄
で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーによって
精製して、無色油として生成物 (2.5 g 、 62 %) を得た。

【 0 3 5 7】

中間体 113 f : 3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 -
((4 - ニトロフェノキシ) カルボニル) オキシ) プロピル (9 Z , 12 Z) - オクタ
デカ - 9 , 12 - ジエノエート
【化 2 3 4】

20



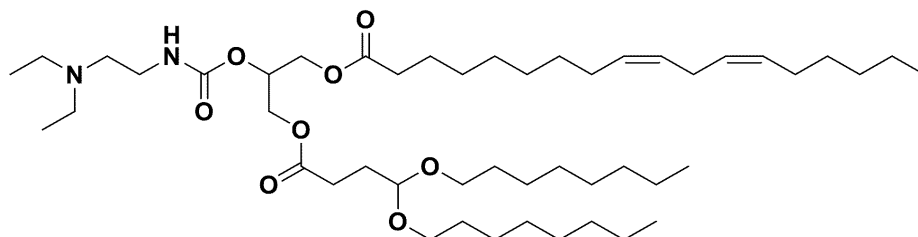
30

D C M (25 m L) 中の中間体 113 e (2.5 g 、 1.0 当量) 及び (4 - ニトロフェ
ニル) カルボノクロリデート (1.48 g 、 2.0 当量) の溶液に、D M A P (4 m g 、
0.01 当量) 及びピリジン (5.93 m L 、 20 当量) を添加した。反応混合物を、1
5℃ で 5 時間攪拌した。反応混合物を減圧下で濃縮して、溶媒を除去した。粗生成物 (無
色油) を、さらに精製して次の工程に直接使用した (2.4 g 、 79 %) 。

【 0 3 5 8】

実施例 113 : 3 - ((4 , 4 - ビス (オクチルオキシ) ブタノイル) オキシ) - 2 - ((2 - (ジエチルアミノ) エチル) カルバモイル) オキシ) プロピル (9 Z , 12 Z)
- オクタデカ - 9 , 12 - ジエノエート
【化 2 3 5】

40



M e C N (10 m L) 中の中間体 113 f (800 m g 、 1.0 当量) 及び N' , N' - ジ
エチルエタン - 1 , 2 - ジアミン (664 u L 、 5.0 当量) の溶液に、ピリジン (1. 50

50

53 mL、20 当量) 及び DMAP (12 mg、0.1 当量) を添加した。反応混合物を、15℃で12時間攪拌した。混合物を水に注ぎ入れ、EtOAcで3回抽出した。組み合わせた有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、無色油として生成物 (320 mg、41%) を得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.33 (ddt, J=19.7, 13.2, 7.4 Hz, 4H), 5.19–5.09 (m, 1H), 4.47 (t, J=5.6 Hz, 1H), 4.25 (dt, J=11.5, 3.8 Hz, 2H), 4.17 (dd, J=11.9, 5.7 Hz, 2H), 3.55 (dt, J=9.4, 6.7 Hz, 2H), 3.38 (dt, J=9.2, 6.7 Hz, 2H), 3.21 (q, J=5.7 Hz, 2H), 2.76 (t, J=6.5 Hz, 2H), 2.51 (q, J=7.3 Hz, 5H), 2.39 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.03 (q, J=6.9 Hz, 3H), 1.91 (td, J=7.6, 5.5 Hz, 2H), 1.57 (dt, J=21.9, 7.1 Hz, 5H), 1.29 (q, J=10.3, 5.5 Hz, 25H), 0.99 (t, J=7.1 Hz, 4H), 0.87 (td, J=6.7, 3.9 Hz, 6H)。MS: 825.4 m/z [M+H]。

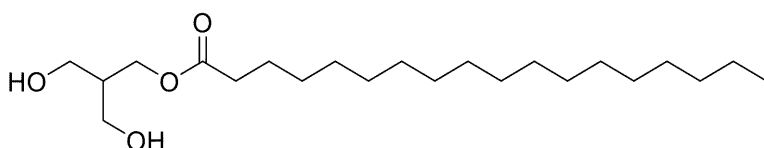
10

【0359】

実施例 114 の合成

中間体 114 a: 3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル) プロピルステアレート

【化 236】



20

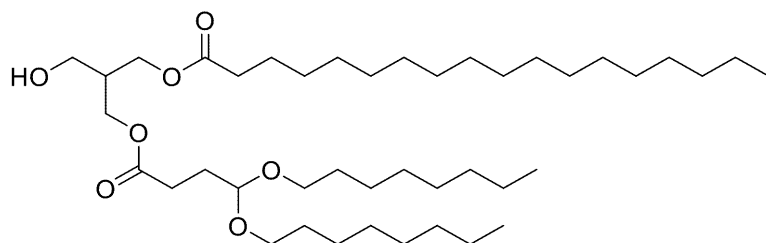
DCM (25 mL) 中の (2,2-ジメチル-1,3-ジオキサン-5-イル) メタノール (1.53 g、10.5 mmol)、ステアリン酸 (3 g、10.5 mmol)、DMAP (256 mg、2.1 mmol)、及び DIPEA (4.39 mL、25.2 mmol) の溶液に、EDC-HCl (2.41 g、12.6 mmol) を室温で添加した。反応混合物を室温で24時間攪拌し、次いで水 (25 mL) で希釈した。有機層を収集し、1 HCl (10 mL)、飽和 NaHCO₃ 溶液 (10 mL) で洗浄し、次いで水 (10 mL) で洗浄した。有機層を収集し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、次いで真空中で濃縮した。粗残留物を、試料を完全に可溶化するまで、メタノールに溶解し、続いてヘキサンに溶解して、Dowex (登録商標) 50 x 8 樹脂を添加した。得られた反応混合物を室温で24時間攪拌し、濾過し、真空中で濃縮して、2.74 g (7.35 mmol、収率 70%) の所望の生成物を白色固体として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4.27 (d, J=6.3 Hz, 2H), 3.77 (m, 4H), 2.33 (m, 2H), 2.10 (s, 2H), 2.03 (m, 1H), 1.62 (m, 2H), 1.25 (m, 29H), 0.87 (t, J=6.7 Hz, 3H); MS: 373.32 m/z [M+H]。

30

【0360】

中間体 114 b: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル) プロピルステアレート

【化 237】



50

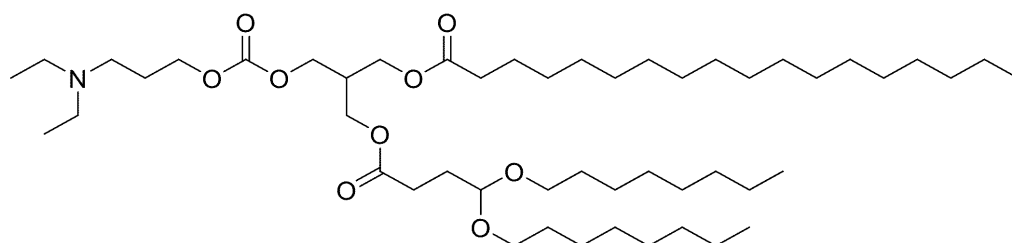
中間体 114b を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 114a 及び中間体 1c から収率 43% で合成した。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4.49 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.17 (m, 4H), 3.62 (t, $J=5.5$ Hz, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.41 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.32 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.20 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.55 (m, 6H), 1.27 (m, 49H), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 9H); MS: 721.78 m/z [$M+\text{Na}$]。

【0361】

実施例 114: 3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピルステアレート

10

【化238】



20

実施例 114 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 114b 及び 3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率 30% で合成した。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4.48 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.17 (m, 8H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.52 (s, 5H), 2.40 (m, 3H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 1.92 (m, 2H), 1.82 (s, 2H), 1.57 (m, 7H), 1.26 (m, 48H), 1.02 (t, $J=6.8$ Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 857.14 m/z [$M+\text{H}$]。

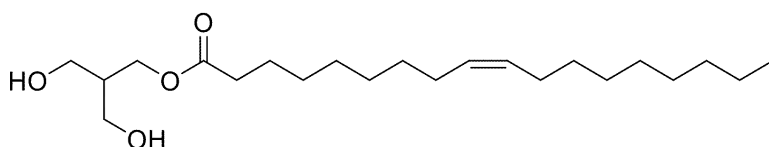
【0362】

実施例 115 の合成

中間体 115a: 3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロピルオレエート

30

【化239】



DCM (25 mL) 中の (2,2-ジメチル-1,3-ジオキササン-5-イル)メタノール (1.53 g、10.5 mmol)、オレイン酸 (3.37 mL、10.5 mmol)、DMAP (256 mg、2.1 mmol)、及び DIPEA (4.39 mL、25.2 mmol) の溶液に、EDC-HCl (2.41 g、12.6 mmol) を室温で添加した。反応混合物を室温で 24 時間攪拌し、次いで水 (25 mL) で希釈した。有機層を収集し、1 HCl (10 mL)、飽和 NaHCO_3 溶液 (10 mL) で洗浄し、次いで水 (10 mL) で洗浄した。有機層を収集し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、次いで真空中で濃縮した。粗残留物をメタノールに溶解し、Dowex (登録商標) 50x8 樹脂を添加した。得られた反応混合物を室温で 24 時間攪拌し、濾過し、真空中で濃縮して、2.76 g (7.44 mmol、収率 70%) の所望の生成物を透明油として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.35 (m, 2H), 4.27 (d, $J=6.3$ Hz, 2H), 3.77 (m, 4H), 2.33 (t, 7.5 Hz, 2H), 2.02 (m, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.29 (m, 20H), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 3H); MS: 371.29 m/z [$M+\text{H}$]。

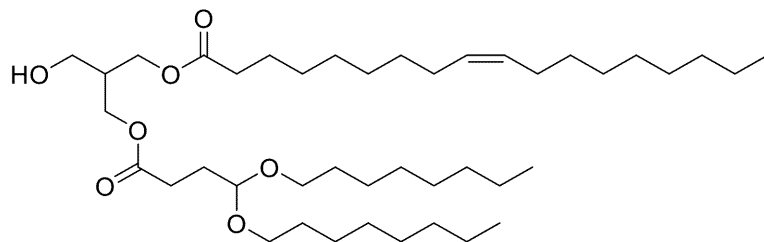
40

50

【0363】

中間体115b：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピルオレエート

【化240】



10

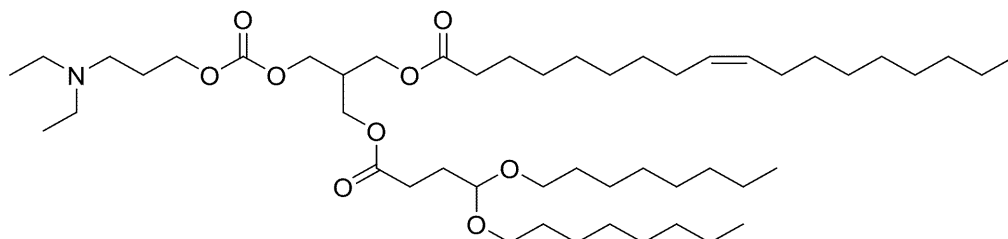
中間体115bを、中間体1dに用いた方法を使用して、中間体115a及び中間体1cから収率45%で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.34 (m, 2H), 4.49 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.18 (m, 4H), 3.62 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.41 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.32 (m, 2H), 2.20 (m, 2H), 2.01 (q, J = 6.2 Hz, 4H), 1.94 (m, 2H), 1.61 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 1.56 (m, 6H), 1.29 (m, 42H), 0.87 (m, 9H); MS: 720.52 m/z [M+Na]。

20

【0364】

実施例115：3-((4,4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピルオレエート

【化241】



30

実施例115を、実施例1に用いた方法を使用して、中間体115b及び3-(ジエチルアミノ)プロパン-1-オールから収率40%で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.34 (m, 2H), 4.48 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.17 (m, 8H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.52 (s, 5H), 2.40 (m, 3H), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.00 (m, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.57 (m, 7H), 1.26 (m, 40H), 1.02 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 0.88 (m, 9H) ppm; MS: 855.37 m/z [M+H]。

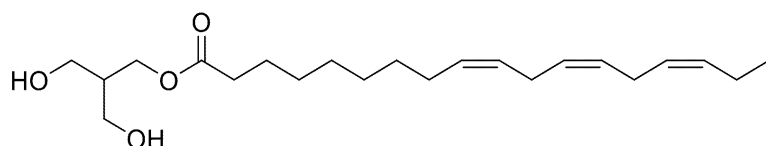
40

【0365】

実施例116の合成

中間体116a：3-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z, 12Z, 15Z)-オクタデカ-9, 12, 15-トリエノエート

【化242】



50

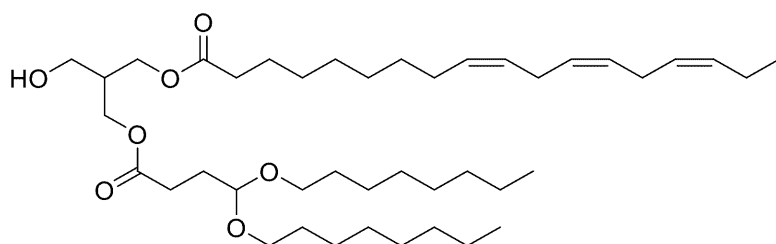
DCM (25 mL) 中の (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキサン-5-イル) メタノール (1.53 g、10.5 mmol)、リノレン酸 (3.28 mL、10.5 mmol)、DMAP (256 mg、2.1 mmol)、及び DIPEA (4.39 mL、25.2 mmol) の溶液に、EDC-HCl (2.41 g、12.6 mmol) を室温で添加した。反応混合物を室温で 24 時間攪拌し、次いで水 (25 mL) で希釈した。有機層を収集し、1 HCl (10 mL)、飽和 NaHCO₃ 溶液 (10 mL) で洗浄し、次いで水 (10 mL) で洗浄した。有機層を収集し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、次いで真空中で濃縮した。粗残留物をメタノールに溶解し、Dowex (登録商標) 50 x 8 樹脂を添加した。得られた反応混合物を室温で 24 時間攪拌し、濾過し、真空中で濃縮して、2.36 g (6.43 mmol、収率 60%) の所望の生成物を透明油として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.36 (m, 6H), 4.27 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.77 (m, 4H), 2.81 (m, 4H), 2.33 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.06 (m, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.31 (m, 9H), 0.98 (t, J = 7.5 Hz, 3H); MS: 367.29 m/z [M+H]。

10

【0366】

中間体 116b: 3-((4, 4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(ヒドロキシメチル)プロピル(9Z, 12Z, 15Z)-オクタデカ-9, 12, 15-トリエノエート

【化243】



20

中間体 116b を、中間体 1d に用いた方法を使用して、中間体 116a 及び中間体 1c から収率 45% で合成した。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.36 (m, 6H), 4.49 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 4.18 (m, 4H), 3.62 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.81 (m, 4H), 2.41 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.32 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.20 (m, 2H), 2.07 (m, 4H), 1.93 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.56 (m, 6H), 1.31 (m, 30H), 0.98 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H); MS: 715.93 m/z [M+Na]。

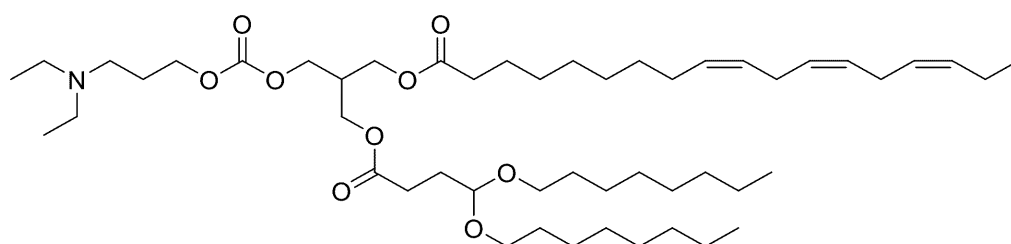
30

【0367】

実施例 116: 3-((4, 4-ビス(オクチルオキシ)ブタノイル)オキシ)-2-(((3-(ジエチルアミノ)プロポキシ)カルボニル)オキシ)メチル)プロピル(9Z, 12Z, 15Z)-オクタデカ-9, 12, 15-トリエノエート

40

【化244】



実施例 116 を、実施例 1 に用いた方法を使用して、中間体 116b 及び 3-(ジエチル

50

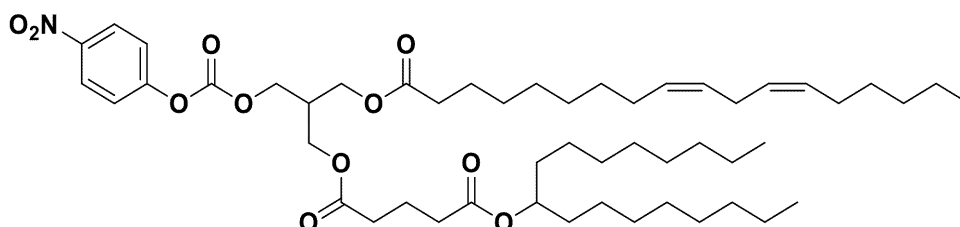
アミノ) プロパン-1-オールから収率 31% で合成した。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.34 (m, 6H), 4.48 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.17 (m, 8H), 3.56 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 2.81 (m, 4H), 2.52 (s, 5H), 2.40 (m, 3H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.08 (m, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.57 (m, 8H), 1.29 (m, 28H), 0.99 (m, 8H), 0.88 (m, 6H) ppm; MS: 851.32 m/z [M+H]。

【0368】

実施例 117 の合成

中間体 117a: ヘプタデカン-9-イル (3-((4-ニトロフェノキシ)カルボニル)オキシ)-2-(((9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル)グルタレート

【化 245】

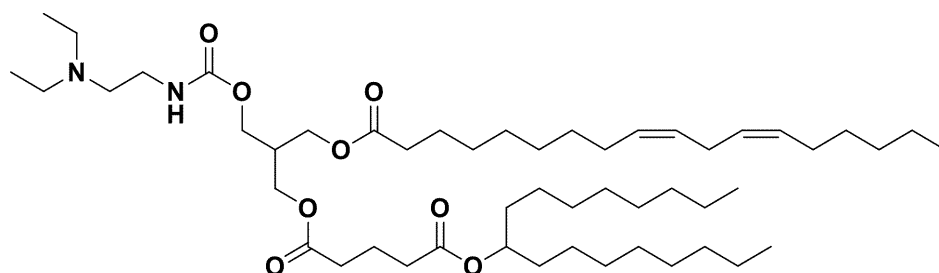


DCM (0.05~0.2 M) 中の中間体 63a (1.0 当量) 及び (4-ニトロフェニル)カルボノクロリデート (2.0 当量) の混合物に、ピリジン (2.0 当量) を添加した。混合物を、不活性雰囲気下、20℃で5時間攪拌した。完了した後に、混合物を真空中で濃縮し、得られた残留物をヘキサンで希釈し、濾過した。濾液を濃縮して、色残留物を得て、これをさらに精製することなく次の工程に直接使用した (47%)。

【0369】

実施例 117: 3-(((2-(ジエチルアミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)-2-(((9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピルヘプタデカン-9-イルグルタレート

【化 246】



MeCN (0.1 M) 中の中間体 117a (1.0 当量) の混合物に、不活性雰囲気下で、N', N'-ジエチルエタン-1, 2-ジアミン (2.0 当量)、ピリジン (2.0 当量) 及び DMAP (1.0 当量) を添加した。混合物を、不活性雰囲気下、20℃で12時間攪拌し、その時点後、混合物を真空中で濃縮した。得られた残留物を EtOAc で希釈し、1N の NaHCO₃ で5回、H₂O で3回洗浄した。有機層を Na₂SO₄ 上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮し、カラムクロマトグラフィーによって精製して、淡黄色油として生成物 (36%) を得た。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.36-5.21 (m, 5H), 4.79 (p, $J=6.2$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J=5.9$ Hz, 6H), 3.20 (s, 2H), 2.70 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.49 (d, $J=25.8$ Hz, 6H), 2.36-2.20 (m, 8H), 1.97 (dd, $J=7.8, 5.9$ Hz, 5H), 1.87 (p, $J=7.5$ Hz, 3H), 1.54 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.43 (d, $J=6.5$ Hz, 4H), 1.

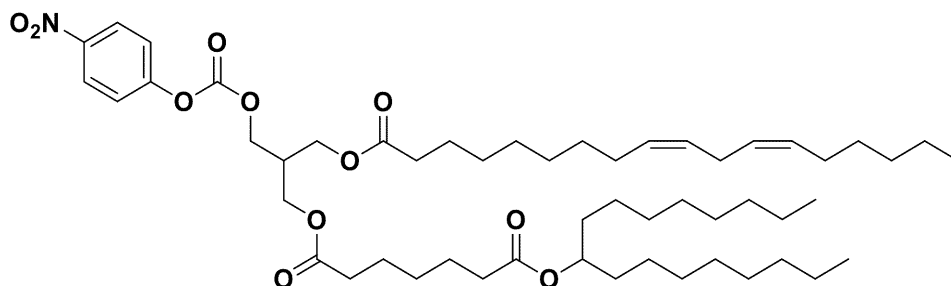
3.5-1.06 (m, 42 H), 0.98 (s, 6 H), 0.81 (td, J = 6.8, 4.9 Hz, 9 H)。MS: 863.7 m/z [M+H]。

【0370】

実施例 118 の合成

中間体 118a: 1-(ヘプタデカン-9-イル) 7-(3-(4-ニトロフェノキシ)カルボニル)オキシ)-2-(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル)ヘプタンジオエート

【化 247】



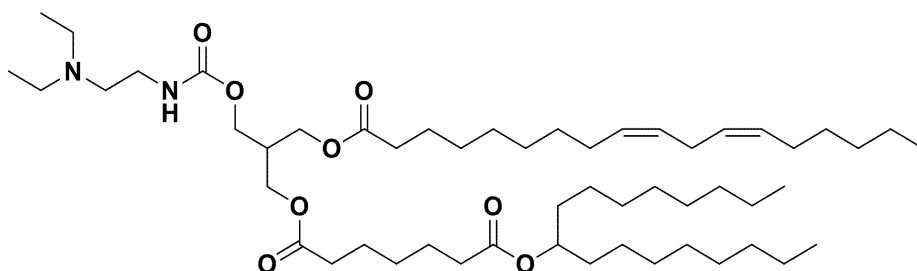
10

中間体 118a を、中間体 117a に用いた方法を使用して、中間体 64b から収率 61% で合成した。

【0371】

実施例 118: 1-(3-(2-(ジエチルアミノ)エチル)カルバモイル)オキシ)-2-(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエノイル)オキシ)メチル)プロピル) 7-(ヘプタデカン-9-イル)ヘプタンジオエート

【化 248】



30

実施例 118 を、実施例 117 に用いた方法を使用して、実施例 118A から収率 96% で合成した。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.28 (dtt, J = 17.4, 10.8, 6.0 Hz, 4 H), 5.15 (s, 1 H), 4.79 (p, J = 6.2 Hz, 1 H), 4.05 (d, J = 6.1 Hz, 6 H), 3.14 (q, J = 5.9 Hz, 2 H), 2.70 (t, J = 6.5 Hz, 2 H), 2.45 (q, J = 6.8 Hz, 6 H), 2.37-2.18 (m, 7 H), 1.98 (q, J = 7.0 Hz, 4 H), 1.56 (q, J = 7.9 Hz, 6 H), 1.43 (q, J = 6.3 Hz, 4 H), 1.21 (d, J = 18.3 Hz, 40 H), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 6 H), 0.81 (q, J = 6.4 Hz, 9 H)。MS: 891.8 m/z [M+H]。

40

【0372】

実施例 119: pKa 測定

各アミン脂質の pKa は、以下のように適応させた Jayaraman ら (Angewandte Chemie, 2012) の方法に従って決定した。pKa は、2.94 mM の濃度でエタノール中の製剤化されていないアミン脂質について決定した。脂質を、pH が 2.0~12.0 の範囲であった 0.1 M のリン酸緩衝液 (Boston Bioproducts) 中で 100 μM に希釈した。321 nm 及び 448 nm の励起波長及び発光波長を使用して蛍光強度を測定した。表 1 は、列挙された化合物の pKa 測定値を示す。

50

【 0 3 7 3 】

【表 1】

表 1 - p K a 値

化合物	p K a		化合物	p K a		化合物	p K a
化合物 1	6 . 4		化合物 5 3	6 . 8 5		化合物 8 2	6 . 3 1
化合物 2 5	7 . 6 5		化合物 5 4	6 . 4		化合物 8 3	6 . 1 6
化合物 2 6	7 . 3 9		化合物 5 5	6 . 8 4		化合物 8 4	6 . 1 6

10

20

30

40

50

化合物 2 7	5 . 3 5		化合物 5 6	6 . 8 5	化合物 8 5	6 . 1 6
化合物 2 8	7 . 3		化合物 5 7	6 . 5 8 6	化合物 8 6	6 . 1 6
化合物 2 9	6 . 8 4		化合物 5 8	6 . 4	化合物 8 7	6 . 5 2
化合物 3 0	6 . 0 6		化合物 5 9	6 . 3 9 6	化合物 8 8	6 . 8 4
化合物 3 1	7 . 3 1		化合物 6 0	6 . 3 8 2	化合物 8 9	6 . 7 9
化合物 3 2	7 . 3 2		化合物 6 1	6 . 2 9 5	化合物 9 0	6 . 1 4
化合物 3 3	6 . 0 3		化合物 6 2	6 . 0 3	化合物 9 1	6 . 0 8
化合物 3 4	7 . 8 4		化合物 6 3	6 . 0 9	化合物 9 2	6 . 1 6
化合物 3 5	7 . 3 9		化合物 6 4	6 . 0 8	化合物 9 3	6 . 1 5
化合物 3 6	6 . 5 8		化合物 6 5	5 . 8 8	化合物 9 4	6 . 1 4
化合物 3 7	7 . 8		化合物 6 6	6 . 0 6	化合物 9 5	6 . 1 4

10

20

30

40

50

	4				
化合物 3 8	7 . 1 7	化合物 6 7	6 . 1 9	化合物 9 6	5 . 7 6
化合物 3 9	7 . 3 4	化合物 6 8	6 . 1	化合物 9 7	6 . 0 9
化合物 4 0	7 . 3 3	化合物 6 9	6 . 1 8	化合物 9 8	6 . 4
化合物 4 1	7 . 8 2	化合物 7 0	6 . 0 2	化合物 9 9	7 . 1
化合物 4 2	6 . 9	化合物 7 1	6 . 4 4	化合物 1 0 0	7 . 2
化合物 4 3	8 . 6	化合物 7 2	6 . 0 7	化合物 1 0 1	6 . 4
化合物 4 4	6 . 1	化合物 7 3	6 . 6 4	化合物 1 0 2	5 . 7
化合物 4 5	7 . 3	化合物 7 4	6 . 3 9	化合物 1 0 3	7 . 0
化合物 4 6	8 . 9	化合物 7 5	6 . 4 5	化合物 1 0 7	6 . 4 3
化合物 4 7	5 . 9	化合物 7 6	6 . 1 7	化合物 1 1 3	N A
化合物 4 8	5 . 3	化合物 7 7	6 . 1 6	化合物 1 1 4	6 . 1 3 4
化合物 4 9	8 . 4	化合物 7 8	6 . 1 1	化合物 1 1 5	5 . 9 5 7
化合物 5 0	5	化合物 7 9	6 .	化合物 1 1 6	6 . 0

10

20

30

40

50

	.		1 3		3 9
化合物 5 1	7	化合物 8 0	6 .		
	.		2 1	化合物 1 1 7	N A
化合物 5 2	7	化合物 8 1	6 .		
	.		6 5	化合物 1 1 8	N A
	8				

10

【0374】

実施例 120－材料及び方法

インビボ編集のための LNP 組成物

LNP は、イオン化可能な脂質（例えば、アミン脂質）、DSPC、コレステロール、及び PEG-2k-DMG からなる 4 成分脂質システム中で、様々なアミン脂質を使用して調製した。LNP の脂質成分中の脂質のモル濃度は、50 / 9 / 38 / 3 のアミン脂質 / DSPC / コレステロール / PEG-2k-DMG のモル % で使用される。マウスにおける肝臓編集パーセントについてのアッセイでは、Cas9 mRNA 及びマウス配列を標的にする化学修飾した sgRNA を、LNP 中、1 : 1 の w / w 比、1 : 2 の w / w 比、または 1 : 1 . 3 の w / w 比のいずれかで製剤化した。

20

【0375】

LNP 製剤

脂質成分を、以下に記載の脂質成分モル比で 100 % のエタノールに溶解させた。化学修飾した sgRNA と Cas9 mRNA とを、pH 5 . 0 の 25 mM のクエン酸、100 mM の NaCl 中で組み合わせて溶解させ、全 RNA カーゴの濃度をおよそ 0 . 45 mg / mL にした。LNP を、N / P 比が約 6、化学修飾した sgRNA : Cas9 mRNA の比が以下に記載するように 1 : 1 の w / w 比、1 : 2 の w / w 比、または 1 : 1 . 3 の w / w 比のいずれかで製剤化した。

30

【0376】

エタノール中の脂質と 2 倍量の RNA 溶液及び 1 倍量の水との衝突噴流混合によって、LNP を形成した。エタノール中の脂質を、混合交差部 (mixing cross) により、2 体積の RNA 溶液と混合した。第 4 の水流は、インラインティーを介してクロスの出口流と混合する（例えば、WO2016 / 010840、図 2 を参照されたい）。あるいは、Precision Nanosystems NanoAssembler (商標) Benchtop Instrument を使用し、製造業者のプロトコルに従って、脂質及び RNA 溶液をマイクロ流体混合することによって、LNP を形成した。差動流量を使用して、混合中、水性溶媒対有機溶媒の 2 : 1 の比を維持した。LNP を室温で 1 時間保持し、水でさらに希釈した（およそ 1 : 1 v / v）。希釈した LNP を、フラットシートカートリッジ (Sartorius、100 kD MWCO) でタンジェンシャルフロー濾過を使用して濃縮した後、50 mM の Tris、45 mM の NaCl、5 % (w / v) のスクロース、pH 7 . 5 (TSS) へと透析濾過により緩衝液交換した。あるいは、TSS への最終緩衝液交換は、PD-10 脱塩カラム (GE) を用いて完了した。必要に応じて、組成物を、Amicon 100 kDa 遠心フィルター (Millipore) を用いた遠心分離により濃縮した。次にいで、得られた混合物を、0 . 2 μm の滅菌フィルターを使用して濾過した。最終 LNP を、さらなる使用まで 4 °C または -80 °C で保存した。

40

【0377】

LNP 組成分析

50

本開示のLNPの多分散指数（「PDI」）及びサイズを特徴付けるために、動的光散乱（「DLS」）を使用する。DLSは、試料を光源に供した結果として生じる光の散乱を測定する。DLS測定値から決定されたPDIは、集団内の粒径（平均粒径付近）の分布を表し、完全に均一な集団はゼロのPDIを有する。

【0378】

電気泳動光散乱は、指定のpHでのLNPの表面電荷を特徴付けるために使用される。表面電荷、すなわちゼータ電位は、LNP懸濁液中の粒子間の静電反発／引力の大きさの尺度である。

【0379】

非対称フローフィールドフローフラクシオネーション－マルチアングル光散乱（AF4－MALS）を使用して、流体力学半径によって組成物内の粒子を分離させた後、分画された粒子の分子量、流体力学半径、及び二乗平均平方根半径を測定する。これにより、分子量及びサイズの分布、ならびにBurchard－Stockmeyerプロット（粒子の内部コア密度を示唆する経時的な二乗平均平方根（「rms」）半径と流体力学半径との割合）、rmsコンフォメーションプロット（rms半径の対数対分子量の対数であり、得られる線形適合の傾きにより伸びに対するコンパクトさの程度が得られる）などの二次特性を評価できるようになる。

【0380】

ナノ粒子追跡分析（NTA、Malvern Nanosight）は、粒径分布及び粒子濃度を決定するために使用することができる。LNP試料を適切に希釈し、顕微鏡スライドに注入する。粒子が視野を通して緩徐に注入されるときに、カメラにより散乱光を記録する。動画をキャプチャした後、ナノ粒子追跡分析により、ピクセルを追跡し、拡散係数を計算することによって動画を処理する。この拡散係数は、粒子の流体力学半径に変換できる。また、この計器により、分析で計数された個々の粒子の数が計数され、粒子濃度が得られる。

【0381】

低温電子顕微鏡法（「クライオEM」）を使用して、LNPの粒径、形態、及び構造特性を決定することができる。

【0382】

LNPの脂質組成分析は、液体クロマトグラフィー及びそれに続く荷電エアロゾル検出（LC－CAD）から決定することができる。この分析により、実際の脂質含有量と理論上の脂質含有量との比較が提供され得る。

【0383】

LNP組成物は、平均粒径、多分散指数（PDI）、全RNA含有量、RNAのカプセル化効率、及びゼータ電位について分析される。LNP組成物は、脂質分析、AF4－MALS、NTA、及び／またはクライオEMによってさらに特徴付けられてもよい。平均粒径及び多分散性は、Malvern Zetasizer DLS計器またはWyatt NanoStarを使用した動的光散乱（DLS）によって測定される。LNP試料をPBS緩衝液で希釈した後、DLSにより測定した。平均粒径の強度ベースの測定値であるZ平均直径を、数平均直径及びPDIとともに報告する。Malvern ZetasizerまたはWyatt NanoStar計器は、LNPのゼータ電位を測定するためにも使用される。試料は、測定前にpH7.4の0.1倍PBSで1：17（50μLから800μL）に希釈する。

【0384】

蛍光ベースのアッセイ（Ribogreen（登録商標）、ThermoFisher Scientific）を使用して、全RNA濃度及び遊離RNAを決定する。カプセル化効率は、（全RNA－遊離RNA）／全RNAとして計算する。LNP試料は、0.2%のTriton－X100を含有する1倍TE緩衝液で適切に希釈して全RNAを決定するか、1倍TE緩衝液で遊離RNAを決定する。標準曲線を、組成物の作製に使用した開始RNA溶液を利用して作成し、1倍TE緩衝液±0.2%のTriton－X100

10

20

30

40

50

で希釈する。次いで、希釈した R i b o G r e e n（登録商標）色素（製造元の使用説明書に従う）を標準物及び試料の各々に添加して、遮光状態で、室温でおよそ 10 分間インキュベートする。S p e c t r a M a x M 5 マイクロプレートリーダー（M o l e c u l a r D e v i c e s）を使用して、励起波長、自動カットオフ波長、及び発光波長をそれぞれ 488 nm、515 nm、及び 525 nm に設定して試料を読み取る。全 RNA 及び遊離 RNA を、適切な標準曲線から決定する。

【0385】

カプセル化効率は、 $(\text{全 RNA} - \text{遊離 RNA}) / \text{全 RNA}$ として計算する。DNA ベースのカーゴ成分のカプセル化効率を決定するために同じ手順を使用してもよい。蛍光ベースのアッセイでは、一本鎖 DNA の場合は O l i g r e e n D y e、二本鎖 DNA の場合は P i c o g r e e n D y e を使用してもよい。あるいは、全 RNA 濃度は、逆相イオン対合（R P - I P）H P L C 法によって決定することができる。T r i t o n X - 100 は、L N P を破壊するために使用し、RNA を放出する。次いで、RNA を、R P - I P H P L C によって、脂質成分からクロマトグラフィー的に分離し、UV 吸光度を 260 nm で使用して、標準曲線に対して定量化する。

【0386】

A F 4 - M A L S を使用して、分子量及びサイズの分布、ならびにそれらの計算からの二次統計を調べる。L N P を必要に応じて希釈し、H P L C オートサンプラーを使用して A F 4 分離チャンネルに注入し、そこで集束させ、チャンネルを横切るクロスフローのクロスの数関数的勾配で溶出させる。すべての流体は、H P L C ポンプ及び W y a t t E c l i p s e I n s t r u m e n t によって駆動される。A F 4 チャンネルから溶出する粒子は、UV 検出器、マルチアングル光散乱検出器、準弾性光散乱検出器、及び示差屈折率検出器を通過する。生データを、D e b y e モデルを使用して処理して、検出器信号から分子量及び r m s 半径を決定する。

【0387】

L N P の脂質成分は、荷電エアロゾル検出器（C A D）に接続した H P L C によって定量的に分析する。4 つの脂質成分のクロマトグラフィー分離を逆相 H P L C によって達成する。C A D は、すべての非揮発性化合物を検出する破壊質量系検出器であり、分析対象物の構造に関係なく信号は一貫している。

【0388】

C a s 9 mRNA 及び g RNA カーゴ

C a s 9 mRNA（例えば、配列番号 3）カーゴを、インビトロ転写によって調製した。1 X N L S を含むキャップされたポリアデニル化 C a s 9 mRNA を、線状プラスミド DNA 鑄型及び T 7 RNA ポリメラーゼを使用したインビトロ転写によって生成した。T 7 プロモーター及び 100 n t ポリ（A / T）領域を含有するプラスミド DNA を、200 ng / μ L のプラスミド、2 U / μ L の X b a I（N E B）、及び 1 倍反応緩衝液の条件で、37 °C で 2 時間インキュベートすることによって線状化する。X b a I は、反応物を 65 °C で 20 分間加熱することによって不活性化される。線状プラスミドを、シリカマキシスピンカラム（E p o c h L i f e S c i e n c e s）を使用して酵素及び緩衝液から精製し、アガロースゲルによって分析し、線状化を確認する。C a s 9 修飾された mRNA を生成するための I V T 反応は、37 °C で 4 時間、以下の条件でインキュベートすることによって実施する：50 ng / μ L の直線化プラスミド；各 2 mM の G T P、A T P、C T P、及び N 1 - メチルシュード U T P（T r i l i n k）；10 mM の A R C A（T r i l i n k）；5 U / μ L の T 7 RNA ポリメラーゼ（N E B）；1 U / μ L のマウス R N a s e 阻害剤（N E B）；0.004 U / μ L の無機 E . c o l i ピロホスファターゼ（N E B）；ならびに 1 倍反応緩衝液。4 時間のインキュベーション後、T U R B O D N a s e（T h e r m o F i s h e r）を最終濃度 0.01 U / μ L になるように添加し、反応物をさらに 30 分間インキュベートして、DNA 鑄型を除去する。C a s 9 mRNA を、T F F または L i C l 沈殿を含む方法で精製した。

【0389】

配列番号 6 及び 1 X N L S を含むキャップされたポリアデニル化 C a s 9 m R N A を、線状プラスミド DNA 鑄型及び T 7 R N A ポリメラーゼを使用したインビトロ転写によって生成した。T 7 プロモーター及び 9 0 ~ 1 0 0 n t のポリ (A / T) 領域を含有するプラスミド DNA を、3 7 ° C で X b a I とともにインキュベートすることによって線状化して完了させる。線状プラスミドは、酵素及び緩衝塩から精製される。C a s 9 修飾された m R N A を生成するための I V T 反応は、3 7 ° C で 1 . 5 または 2 時間、以下の条件でインキュベートすることによって実施する：5 0 n g / μ L の線状プラスミド；各 5 m M の G T P 、 A T P 、 C T P 、及び N 1 - メチルシュード U T P (T r i l i n k) ；2 5 m M の A R C A (T r i l i n k) ；5 U / μ L の T 7 R N A ポリメラーゼ；1 U / μ L のマウス R N a s e 阻害剤；0 . 0 0 4 U / μ L の無機 E . c o l i ピロホスファターゼ；ならびに 1 倍反応緩衝液。次いで、T U R B O D N a s e (T h e r m o F i s h e r) を添加して、DNA 鑄型を除去する。

10

【0390】

製造業者のプロトコルに従って、R N e a s y M a x i キット (Q i a g e n) を使用して、酵素及びヌクレオチドから m R N A を精製した。あるいは、製造業者のプロトコルに従って、M E G A c l e a r キット (I n v i t r o g e n) を使用して、m R N A を精製した。あるいは、L i C l 沈殿、酢酸アンモニウム沈殿、及び酢酸ナトリウム沈殿を使用して、m R N A を精製する。あるいは、m R N A を L i C l 沈殿法で精製し、続いてタンジェンシャルフロー濾過によりさらなる精製を行う。あるいは、タンジェンシャルフロー濾過と組み合わせて L i C l 沈殿により R N A を精製した。転写物濃度を、2 6 0 n m での光吸光度を測定することによって決定し (N a n o d r o p) 、転写物を F r a g m e n t A n a l y z e r (A g i l e n t) によるキャピラリー電気泳動によって分析した。

20

【0391】

以下の実施例の s g R N A を、ホスホラミダイトを使用して既知の方法によって化学的に合成した。

【0392】

インビボでの L N P 送達

マウス研究

6 ~ 1 0 週齢の C D - 1 雌マウスを各研究に使用した。群の平均体重に基づいて投薬溶液を調製するために、動物の体重を測り、体重に従って群分けした。L N P を、動物当たり 0 . 2 m L (体重 1 キログラム当たりおよそ 1 0 m L) の量で、外側尾静脈を介して投薬した。投薬後少なくとも 2 4 時間、動物を有害作用について定期的に観察した。

30

【0393】

肝臓中のインビボ編集を測定する研究のため、別途示されない限り、C D - 1 雌マウスに、0 . 1 m g / k g で投薬した。動物を、イソフルラン麻酔下での心臓穿刺による放血による、6 日または 7 日で安楽死させた。肝臓組織を、DNA 抽出及び分析のために各動物から収集した。本明細書に記載のように、血液を血清分離チューブまたは血漿用の緩衝クエン酸ナトリウムを含有するチューブに収集した。マウスのコホートを、次世代シーケンシング (N G S) により編集について測定した。

40

【0394】

ラット研究

S p r a g u e D a w l e y の 6 ~ 7 週齢の雌ラットを各研究に使用した。各動物の体重を測定し、体重に基づいて投薬溶液を調製した。L N P を、動物当たり 0 . 3 5 m L (体重 1 キログラム当たりおよそ 2 m L) の量で、外側尾静脈を介して投薬した。投薬後少なくとも 2 4 時間、動物を有害作用について定期的に観察した。

【0395】

肝臓中のインビボ編集を測定する研究のため、動物に、0 . 1 m g / k g または 0 . 3 m g / k g で投薬した。投与の 6 日後、動物を C O 2 窒息により安楽死させた。剖検では、N G S による編集分析のために肝臓を収集し、血液を血清 T T R 測定のための血清分離管

50

に収集した。

【0396】

NGSシーケンシング

簡潔に述べると、ゲノム内の標的位置における編集効率を定量的に決定するために、ゲノムDNAを単離し、ディープシーケンシングを利用して、遺伝子編集によって導入された挿入及び欠失の存在を同定した。

【0397】

PCRプライマーを標的部位（例えば、B2M内の）の周りに設計し、関心対象のゲノム領域を増幅した。シーケンシングのために必要な化学的性質を付加するために、製造業者のプロトコル（Illumina）に従って追加のPCRを実施した。アンプリコンをIllumina MiSeq計器上でシーケンシングした。読み取りを、品質スコアが低いものを除去した後に、マウスまたはラット関連性のある参照ゲノム（例えば、GRCm38）とアラインさせた。読み取りを含有する得られたファイルを参照ゲノム（BAMファイル）にマッピングし、ここで関心対象の標的領域にオーバーラップする読み取りを選択し、野生型の読み取りの数を、対挿入、置換、または欠失を含有する読み取りの数に対して計算した。

【0398】

編集パーセンテージ（例えば「挿入欠失効率」または「パーセント挿入欠失」）は、野生型を含む配列読み取りの総数に対する、挿入または欠失を有する配列読み取りの総数として定義された。

【0399】

トランスサイレチン（TTR）ELISA分析

血液を採取し、示すように血清を単離した。総マウスTTR血清レベルを、Mouse Prealbumin（Transthyretin）ELISAキット（Aviva Systems Biology、カタログ番号OKIA00111）を使用して測定した。簡潔に述べると、血清をキット試料希釈液により10,000倍の最終希釈に0.1 mg/kg用量ならびに10,000倍及び2,500倍の最終希釈に0.3 mg/kgに段階希釈した。次いで、この希釈した試料をELISAプレートに加え、アッセイを製造業者の取扱説明書に従って実行した。

【0400】

実施例121ーインビボ編集による脂質有効性の評価

様々なアミン脂質化合物を含む製剤により送達された材料のインビボ編集効率を評価した。編集を、マウスTTR遺伝子を標的とするG282（配列番号1）またはマウスB2M遺伝子を標的とするG650（配列番号2）のいずれかを使用して測定した。上記の脂質を、インビボ編集実験を通して有効性について評価した。LNPを、1:1または1:1.3のsgRNA対Cas9 mRNAのw/w比、及び約6のN/P比で製剤化した。LNPの脂質成分中の脂質のモル濃度は、50/9/38/3のアミン脂質/DSPC/コレステロール/PEG-2k-DMGのモル%で使用する。最終LNPを、上述の分析方法に従って、カプセル化効率、多分散指数、及び平均粒径を決定するために特徴付けた。平均粒径、多分散性（PDI）、全RNA含有量、及びRNAのカプセル化効率の分析を表2に示す。

【0401】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2－組成分析

化合物	s g : m R N A	カプセル 化 (%)	Z－平均 (n m)	P D I	数平均 (n m)	実験
化合物 1	1 : 1 . 3	9 7	7 7 . 8 5	0 . 0 2 2	6 3 . 1 6	1
化合物 2	1 : 1 . 3	9 6	7 5 . 6 4	0 . 0 4 6	5 9 . 1 7	1
化合物 3	1 : 1 . 3	9 1	8 6 . 1 6	0 . 0 7 9	6 1 . 6 7	1
化合物 4	1 : 1 . 3	1 0 0	7 2 . 1 1	0 . 1 2 9	4 4 . 9 2	1
化合物 5	1 : 1 . 3	9 8	6 6 . 2 8	0 . 0 5 9	5 0 . 8 9	1
化合物 6	1 : 1 . 3	1 0 0	5 6 . 8 6	0 . 0 6 6	4 1 . 8 2	1

10

20

30

40

50

化合物 1	1 : 1	9 6	7 7 . 2 3	0 . 0 0 8	6 3 . 6 1	2
化合物 1	1 : 1	9 7	7 5 . 7	0 . 0 2 6	6 2 . 0 4	2
化合物 7	1 : 1	9 9	6 7 . 6 1	0 . 1 2 6	4 3 . 9 1	2
化合物 8	1 : 1	1 0 0	5 3 . 8 8	0 . 0 9 3	3 7 . 1 7	2
化合物 1 0	1 : 1	9 0	5 7 . 2 1	0 . 0 8 6	3 9 . 1 2	2
化合物 1 1	1 : 1	9 7	8 5 . 3 5	0 . 0 2 2	6 8 . 3 5	2
化合物 1 2	1 : 1	8 3	8 8 . 5 3	0 . 0 0 7	7 3 . 4	2
化合物 1 3	1 : 1	9 7	9 1 . 1 2	0 . 0 1 3	7 4 . 6	2
化合物 1	1 : 1	9 7	7 5 . 7	0 . 0 2 6	6 2 . 0 4	3
化合物 1	1 : 1	9 7	7 5 . 5 5	0 . 0 4 3	6 0 . 4 1	3
化合物 9	1 : 1	8 9	6 2 . 9 9	0 . 0 5 8	4 5 . 1 1	3
化合物 2 3	1 : 1	9 5	7 4 . 7 8	0 . 0 6 8	5 6 . 6 2	3
化合物 2 4	1 : 1	9 8	7 6 . 8 2	0 . 0 2 7	6 1 . 3 4	3
化合物 1	1 : 1	9 7	7 5 . 5 5	0 . 0 4 3	6 0 . 4 1	4
化合物 1	1 : 1	9 7	7 5 . 7	0 . 0 2 6	6 2 . 0 4	4
化合物 1 4	1 : 1	9 3	6 4 . 6 9	0 . 0 9 1	4 5 . 1 8	4
化合物 1 7	1 : 1	9 8	7 0 . 9 7	0 . 0 3 7	5 6 . 5 8	4
化合物 1 8	1 : 1	9 7	6 8 . 7 2	0 . 0 9 0	4 8 . 2 2	4
化合物 2 0	1 : 1	9 6	7 9 . 2 5	0 . 0 2 3	6 4 . 3 4	4
化合物 2 1	1 : 1	9 4	7 5 . 4 1	0 . 0 3 9	5 9 . 7 5	4
化合物 2 2	1 : 1	9 8	8 9 . 4 3	0 . 0 0 4	7 3 . 9 6	4
化合物 1	1 : 1	9 9	7 6	0 . 0 4 0	5 9	5
化合物 2 5	1 : 1	9 9	8 7	0 . 0 8 0	6 1	5
化合物 2 6	1 : 1	9 8	8 8	0 . 0 0 0	7 3	5
化合物 2 7	1 : 1	9 7	6 6	0 . 1 0 0	4 5	5
化合物 2 8	1 : 1	9 8	8 3	0 . 0 1 0	6 8	5
化合物 3 2	1 : 1	9 9	7 7	0 . 0 4 0	6 1	5
化合物 1	1 : 1	9 7	7 9 . 1 8	0 . 0 4 7	6 3 . 1 9	6
化合物 3 6	1 : 1	9 8	7 3 . 7 1	0 . 0 2 4	5 9 . 4 8	6
化合物 3 7	1 : 1	1 0 0	6 5 . 0 1	0 . 0 9 1	4 4 . 7 3	6
化合物 3 8	1 : 1	9 6	9 1 . 5	0 . 0 1 9	7 4 . 5 8	6
化合物 3 9	1 : 1	9 7	7 9 . 8 1	0 . 0 2 4	6 4 . 7 9	6
化合物 4 1	1 : 1	9 8	7 4 . 8 3	0 . 0 7 4	5 4 . 1	6
化合物 1	1 : 1	9 7	7 9 . 1 8	0 . 0 4 7	6 3 . 1 9	7
化合物 4 2	1 : 1	9 9	7 4 . 0 3	0 . 0 2 7	5 8 . 6 6	7
化合物 4 4	1 : 1	9 1	8 1 . 1 9	0 . 0 2 5	6 4 . 7 8	7
化合物 4 5	1 : 1	9 8	8 2 . 9 3	0 . 0 0 7	6 9 . 2 3	7
化合物 4 7	1 : 1	9 7	5 8 . 9 3	0 . 0 8 6	4 0 . 9 5	7
化合物 4 8	1 : 1	9 7	6 4 . 6 8	0 . 0 8 5	4 5 . 3 2	7
化合物 5 1	1 : 1	9 8	8 6 . 1 5	0 . 0 1 8	7 2 . 2 3	7
化合物 5 2	1 : 1	9 9	8 6 . 7 2	0 . 0 3 2	6 9 . 4	7

10

20

30

40

50

化合物 1	1 : 1	9 7	7 9 . 1 8	0 . 0 4 7	6 3 . 1 9	8
化合物 1	1 : 1	9 8	7 8 . 0 8	0 . 0 0 7	6 3 . 4	8
化合物 5 3	1 : 1	9 9	7 6 . 2 4	0 . 0 4 0	6 0 . 3 5	8
化合物 5 4	1 : 1	9 8	9 5 . 7 6	0 . 0 1 9	7 6 . 9 5	8
化合物 5 5	1 : 1	9 6	1 0 1	0 . 0 4 8	7 9 . 4 6	8
化合物 5 6	1 : 1	9 6	1 0 5 . 2	0 . 0 6 7	8 1 . 4 4	8
化合物 1	1 : 1	9 9	8 6 . 0 6	0 . 0 3 3	7 1 . 2 3	9
化合物 4 0	1 : 1	9 8	7 4 . 1 2	0 . 0 5 6	5 6 . 7 3	9
化合物 1	1 : 1	9 9	8 6 . 0 6	0 . 0 3 3	7 1 . 2 3	1 0
化合物 2 4	1 : 1	9 8	8 3 . 9 2	0 . 0 3 3	6 6 . 8 8	1 0
化合物 2 9	1 : 1	9 8	8 2 . 4 1	0 . 0 0 9	6 6 . 9 2	1 0
化合物 3 1	1 : 1	9 8	7 5 . 1 1	0 . 0 5 9	5 8 . 6 7	1 0
化合物 1	1 : 1	9 8	7 4 . 9 8	0 . 0 4 2	6 0 . 3 8	1 1
化合物 2 4	1 : 1	9 7	7 7 . 2 4	0 . 0 2 5	6 3 . 1 6	1 1
化合物 2 9	1 : 1	9 8	7 8 . 6 3	0 . 0 0 2	6 4 . 6 3	1 1
化合物 3 1	1 : 1	9 9	7 3 . 6 5	0 . 0 1 5	5 9 . 3 5	1 1
化合物 1	1 : 1	9 8	7 5 . 3 4	0 . 0 5 2	5 9 . 1 7	1 2
化合物 5 7	1 : 1	8 9	1 0 2	0 . 0 1 1	8 3 . 4 1	1 2
化合物 5 8	1 : 1	9 5	8 9 . 0 7	0 . 0 2 9	7 2 . 4 2	1 2
化合物 5 9	1 : 1	9 7	8 7 . 8 6	0 . 0 2 8	7 3 . 0 4	1 2
化合物 9 7	1 : 1	9 8	6 8 . 6 6	0 . 0 3 7	5 5 . 1 4	1 2
化合物 1	1 : 1	9 7	7 8 . 8 5	0 . 0 3 6	6 4 . 0 5	1 3
化合物 6 0	1 : 1	9 7	1 0 4 . 2	0 . 0 2 2	8 4 . 4 6	1 3
化合物 6 1	1 : 1	9 7	8 7 . 2 6	0 . 0 1 8	7 2	1 3
化合物 1	1 : 1	9 8	8 2 . 7 1	0 . 0 5 6	6 4 . 9 7	1 4
化合物 6 2	1 : 1	9 8	7 3 . 4 6	0 . 0 4 4	5 9 . 3 5	1 4
化合物 6 3	1 : 1	9 8	7 9 . 3 7	0 . 0 1 9	6 4 . 0 5	1 4
化合物 6 4	1 : 1	9 8	8 5 . 1 6	0 . 0 3 2	6 9 . 2 5	1 4
化合物 6 5	1 : 1	9 8	7 0 . 1 9	0 . 0 3 4	5 5 . 7 6	1 4
化合物 6 6	1 : 1	9 8	5 8 . 5 4	0 . 0 7 1	4 4 . 0 3	1 4
化合物 6 7	1 : 1	9 9	6 9 . 8 5	0 . 0 2 5	5 6 . 5 6	1 4
化合物 6 8	1 : 1	9 8	7 2 . 7 1	0 . 0 0 8	6 0 . 0 4	1 4
化合物 5 4	1 : 1	9 8	8 9 . 8	0 . 0 3 7	7 1 . 8	1 5
化合物 5 5	1 : 1	9 2	1 1 3 . 2	0 . 0 3 9	9 0 . 1 6	1 5
化合物 6 9	1 : 1	9 8	8 5 . 1 1	0 . 0 2 6	6 8 . 1 2	1 5
化合物 7 0	1 : 1	9 8	8 3 . 4 7	0 . 0 1 7	6 6 . 7 8	1 5
化合物 1	1 : 1	9 6	8 3 . 6 5	0 . 0 3 1	6 7 . 2 2	1 6
化合物 1	1 : 1	9 9	8 4 . 9 9	0 . 0 0 7	7 1 . 1	1 6
化合物 5 4	1 : 1	9 8	9 9 . 7 1	0 . 0 5 8	7 8 . 3 9	1 6
化合物 5 9	1 : 1	9 9	1 0 0 . 4	0 . 0 0 5	8 4 . 0 5	1 6
化合物 7 6	1 : 1	9 9	1 1 1 . 8	0 . 0 9 7	8 0 . 2	1 6

10

20

30

40

50

化合物 7 7	1 : 1	9 9	1 0 1 . 8	0 . 0 0 6	8 5 . 4	1 6
化合物 7 9	1 : 1	9 9	9 9 . 2 4	0 . 0 1 9	8 3 . 6 4	1 6
化合物 8 3	1 : 1	9 9	8 9 . 5 5	0 . 0 0 9	7 4 . 4 1	1 6
化合物 8 4	1 : 1	9 5	1 1 4 . 2	0 . 0 8 6	8 6 . 0 8	1 6
化合物 8 5	1 : 1	9 9	9 7 . 8 6	0 . 0 0 6	8 1 . 2 1	1 6
化合物 8 6	1 : 1	9 8	9 9 . 0 1	0 . 0 1 6	8 1 . 2 3	1 6
化合物 1	1 : 1	9 6	8 3 . 6 5	0 . 0 3 1	6 7 . 2 2	1 7
化合物 1	1 : 1	9 9	8 5 . 7 9	0 . 0 0 2	6 8 . 6 4	1 7
化合物 5 9	1 : 1	9 9	1 0 0 . 4	0 . 0 0 5	8 4 . 0 5	1 7
化合物 8 0	1 : 1	9 8	1 0 5 . 8	0 . 0 1 6	8 7 . 3	1 7
化合物 8 2	1 : 1	9 8	1 1 7 . 5	0 . 0 3 8	9 4 . 0 1	1 7
化合物 8 7	1 : 1	9 8	9 8 . 4 7	0 . 0 0 6	8 1 . 5 7	1 7
化合物 8 8	1 : 1	9 8	1 1 7 . 1	0 . 0 1 1	9 9 . 5 1	1 7
化合物 8 9	1 : 1	9 5	1 0 7 . 3	0 . 0 0 8	8 9 . 4	1 7
化合物 9 0	1 : 1	9 9	9 9 . 6 2	0 . 0 1 7	8 1 . 1 5	1 7
化合物 9 1	1 : 1	9 9	9 3 . 1 3	0 . 0 2 8	7 5 . 6 7	1 7
化合物 9 2	1 : 1	9 9	9 3 . 6 9	0 . 0 2 2	7 7 . 3 5	1 7
化合物 9 3	1 : 1	9 8	9 5 . 1 9	0 . 0 0 4	7 8 . 7 3	1 7
化合物 9 4	1 : 1	9 9	9 6 . 3 5	0 . 0 1 8	7 8 . 2 2	1 7
化合物 9 5	1 : 1	9 9	9 1 . 1	0 . 0 2 9	7 4 . 5	1 7
化合物 1	1 : 1	9 9	8 4 . 4 8	0 . 0 4 1	6 6 . 2 1	1 8
化合物 5 9	1 : 1	9 9	1 0 0 . 4	0 . 0 0 5	8 4 . 0 5	1 8
化合物 7 1	1 : 1	9 9	9 5 . 5 7	0 . 0 3 5	7 6 . 9 5	1 8
化合物 7 2	1 : 1	9 9	9 1 . 6 5	0 . 0 0 2	7 5 . 2 2	1 8
化合物 7 3	1 : 1	9 7	1 1 0 . 6	0 . 0 0 8	9 4 . 5	1 8
化合物 7 4	1 : 1	9 9	1 0 5 . 7	0 . 0 2 1	8 7 . 1 4	1 8
化合物 7 5	1 : 1	9 8	1 1 0 . 9	0 . 0 2 0	9 2 . 7 4	1 8
化合物 1	1 : 1	9 6	8 3 . 6 5	0 . 0 3 1	6 7 . 2 2	1 9
化合物 1	1 : 1	9 8	8 6 . 8 4	0 . 0 2 0	7 1 . 4 9	1 9
化合物 9 6	1 : 1	9 8	8 1 . 5 5	0 . 0 1 9	6 5 . 9 4	1 9
化合物 1	1 : 1	9 9	7 6	0 . 0 4	5 9	2 0
化合物 9 8	1 : 1	9 9	7 0	0 . 0 2	5 7	2 0
化合物 9 9	1 : 1	9 9	8 9	0 . 0 0 3	7 4	2 0

10

20

30

40

【 0 4 0 2 】

表 3 は、N G S によって測定したマウス肝臓中の編集パーセンテージを示す。

【 0 4 0 3 】

【表 3】

表 3. G 2 8 2 及び G 6 5 0 実験の挿入欠失形成%及び G 2 8 2 実験の血清 T T R レベルを提供するマウス肝臓中の編集効率

化合物	編集			血清 T T R				ガイド	実験
	平均	S	N	血清 T	S	N	T S		

	挿入 欠失 (%)	D		T R (u g /m l)	D		S (%)		
T S S	0. 1	0 0	5	1 2 3 5	2 7 9	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1
化合物 1	1 5. 7	4 0	5	5 2 3	1 7 8	5	4 2 %	G 2 8 2	1
化合物 1	1 8. 7	1 2 8	5	7 7 3	2 5 5	5	6 3 %	G 2 8 2	1
化合物 1	1 5. 1	8 0	5	6 8 9	3 2 0	5	5 6 %	G 2 8 2	1
化合物 2	6. 3	2 8	5	1 1 1 4	2 5 7	5	9 0 %	G 2 8 2	1
化合物 3	8. 8	3 1	5	1 2 9 7	7 5	5	1 0 5 %	G 2 8 2	1
化合物 4	0. 1	0 0	5	1 3 4 7	2 8 3	5	1 0 9 %	G 2 8 2	1
化合物 5	7. 0	5 2	5	7 3 7	2 2 9	5	6 0 %	G 2 8 2	1
化合物 6	0. 1	0 0	5	1 1 0 7	2 5 1	5	9 0 %	G 2 8 2	1
T S S	0. 1	0 0	5	9 0 5	2 3 0	5	1 0 0 %	G 2 8 2	2
化合物 1	2 4. 9	5 1	5	5 6 3	1 1 3	5	6 2 %	G 2 8 2	2
化合物 1	2 1. 5	6 8	5	6 5 8	9 9	5	7 3 %	G 2 8 2	2
化合物 7	0.	0	5	9 4 0	1	5	1 0	G 2	2

10

20

30

40

50

	2	.			4		4 %	8 2	
		1			2				
化合物 8	0.	0			1		1 0	G 2	
	1	0	5	9 6 2	8	5	6 %	8 2	2
化合物 1 0	0.	0			1		9	G 2	
	5	2	5	8 7 1	6	5	6 %	8 2	2
化合物 1 1	1	3			9		7	G 2	
	6.	.			1		8 %	8 2	2
	8	1	5	7 0 6	1	5			
化合物 1 2	2	8			1		8	G 2	
	0.	.			3		1 %	8 2	2
	3	2	5	7 3 6	1	5			
化合物 1 3	1	1			1		9	G 2	
	2.	.			7		3 %	8 2	2
	0	7	5	8 3 7	3	5			
T S S	0.	0			8		1 0	G 2	
	0	1	5	8 6 5	1	5	0 %	8 2	3
化合物 1	3	9			1		5	G 2	
	2.	.			4		8 %	8 2	3
	0	9	5	4 9 8	5	5			
化合物 9	0.	.			1		1 0	G 2	
	1	1	5	8 6 5	7	5	0 %	8 2	3
化合物 2 3	8.	6			1		8	G 2	
	6	2	5	7 1 6	0	5	3 %	8 2	3
化合物 2 4	3	8			5		4	G 2	
	4.	.			0	5	6 %	8 2	3
	2	0	5	3 9 7	0	5			
T S S	0.	0			1		1 0	G 2	
	1	1	5	1 0 3	7	5	0 %	8 2	4
化合物 1	2	6			1		7	G 2	
	0.	.			7		2 %	8 2	4
	5	4	5	7 4 2	2	5			
化合物 1 4	0.	0			1		8	G 2	
	2	1	5	9 0 8	3	5	8 %	8 2	4
化合物 1 7	1	3	5	7 2 7	6	5	7	G 2	4
					7	5			

10

20

30

40

50

	2. 0	. 6			5		0 %	8 2	
化合物 1 8	2. 1	. 7	5	8 4 9	9 8	5	8 2 %	G 2 8 2	4
化合物 2 0	2 4. 5	1 2 .	5	4 7 6	1 6 4	5	4 6 %	G 2 8 2	4
化合物 2 1	0. 8	. 3	5	8 9 7	1 2 4	5	8 7 %	G 2 8 2	4
化合物 2 2	1 1. 5	2 . 9	5	6 3 4	6 0	5	6 1 %	G 2 8 2	4
T S S	0. 1	. 0	5	9 0 4	1 5 0	5	1 0 0 %	G 2 8 2	5
化合物 1	1 4. 4	5 . 8	5	7 4 3	9 6	5	8 2 %	G 2 8 2	5
化合物 2 5	3. 9	1 . 5	5	1 0 1 3	2 6 8	5	1 1 2 %	G 2 8 2	5
化合物 2 6	8. 2	2 . 1	5	1 0 0 8	9 3	5	1 1 2 %	G 2 8 2	5
化合物 2 7	0. 4	0 . 1	5	8 4 1	1 6 6	5	9 3 %	G 2 8 2	5
化合物 2 8	9. 9	1 . 5	5	6 6 1	1 3 8	5	7 3 %	G 2 8 2	5
化合物 3 2	2 8. 8	8 . 2	5	3 8 8	1 5 0	5	4 3 %	G 2 8 2	5
T S S	0. 1	. 0	5	8 0 1	1 1 5	5	1 0 0 %	G 2 8 2	6
化合物 1	1 4. 7	9 . 5	5	8 6 5	1 9 7	5	1 0 8 %	G 2 8 2	6

10

20

30

40

50

化合物 3 6	0. 2	. 1	5	7 9 5	1 3 6	5	9 9 %	G 2 8 2	6
化合物 3 7	1. 6	. 2	5	6 1 7	1 1 7	5	7 7 %	G 2 8 2	6
化合物 3 8	0. 2	. 1	5	4 8 1	1 3 7	5	6 0 %	G 2 8 2	6
化合物 3 9	2. 5	. 1	5	6 5 6	3 2 7	5	8 2 %	G 2 8 2	6
化合物 4 1	9. 0	. 7	5	7 5 8	3 3 3	5	9 5 %	G 2 8 2	6
T S S	0. 1	. 0	5	1 1 1 4	1 3 5	5	1 0 0 %	G 2 8 2	7
化合物 1	1 8. 3	. 4	4	7 8 4	1 7 5	5	7 0 %	G 2 8 2	7
化合物 4 2	5. 2	. 4	5	9 0 2	7 7 7	5	8 1 %	G 2 8 2	7
化合物 4 4	3. 8	. 6	5	9 1 0	2 1 9	5	8 2 %	G 2 8 2	7
化合物 4 5	4. 0	. 8	5	1 0 9 6	1 5 5	5	9 8 %	G 2 8 2	7
化合物 4 7	0. 1	. 0	5	1 0 7 5	1 8 5	5	9 6 %	G 2 8 2	7
化合物 4 8	0. 1	. 0	5	9 1 5	1 6 3	5	8 2 %	G 2 8 2	7
化合物 5 1	1 3. 5	. 3	5	8 4 3	9 5 5	5	7 6 %	G 2 8 2	7
化合物 5 2	6. 4	. 3	5	9 3 5	7 7 7	5	8 4 %	G 2 8 2	7

10

20

30

40

50

T S S	0. 1	0 0	5	8 7 5	9 2	5	1 0 0 %	G 2 8 2	8
化合物 1	2 2. 6	9 . 7	5	6 8 7	1 3 7	5	7 8 %	G 2 8 2	8
化合物 5 3	2 8. 2	8 . 5	5	4 1 3	1 5 2	5	4 7 %	G 2 8 2	8
化合物 5 4	4 6. 7	1 0 9	5	2 7 0	1 4 2	5	3 1 %	G 2 8 2	8
化合物 5 5	3 1. 5	6 . 4	5	4 4 2	1 2 3	5	5 1 %	G 2 8 2	8
化合物 5 6	1 5. 5	4 . 4	4	5 7 6	6 7	4	6 6 %	G 2 8 2	8
T S S	0. 1	0 1	4	8 8 4	1 1 3	5	1 0 0 %	G 2 8 2	9
化合物 1	3 3. 5	8 . 9	5	3 8 8	1 0 3	5	4 4 %	G 2 8 2	9
化合物 4 0	4 2. 1	1 5 7	4	3 9 3	2 6 2	5	4 4 %	G 2 8 2	9
T S S	0. 2	0 0	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	1 0
化合物 1	2 9. 4	4 . 6	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	1 0
化合物 2 4	4 3. 2	9 . 1	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	1 0
化合物 2 9	1 8. 4	6 . 6	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	1 0
化合物 3 1	2	1	5	N D	N	N	N D	G 2	1 0

10

20

30

40

50

	6. 7	4. 5			D	D		8 2	
T S S	0. 0	. 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 1
化合物 1	1 3. 6	6. 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 1
化合物 2 4	2 5. 8	8. 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 1
化合物 2 9	1 9. 7	6. 3	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 1
化合物 3 1	2 4. 5	5. 6	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 1
T S S	0. 1	. 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 2
化合物 1	1 0. 2	2. 8	4	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 2
化合物 5 7	1 0. 0	2. 2	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 2
化合物 5 8	1 4. 9	3. 0	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 2
化合物 5 9	1 9. 7	2. 8	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 2
化合物 9 7	5. 1	. 2	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 2
T S S	0. 1	. 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 3
化合物 1	1 5. 7	5. 5	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 3
化合物 6 0	2	1	5	N D	N	N	N D	G 6	1 3

10

20

30

40

50

	3. 7	0 . 5			D	D		5 0	
化合物 6 1	2 0. 2	9 . 5	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 3
T S S	0. 1	. 0	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 1	1 6. 1	2 . 8	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 2	6. 5	. 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 3	1 5. 0	1 . 6	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 4	1 9. 3	4 . 8	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 5	4. 7	. 0	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 6	0. 8	. 3	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 7	3. 1	. 0	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
化合物 6 8	2. 9	. 8	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 4
T S S	0. 7	. 3	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 5
化合物 1	1 4. 8	4 . 1	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 5
化合物 5 4	2 7. 6	9 . 5	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 5

10

20

30

40

50

化合物 5 5	3 0. 2	1 3 4	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 5
化合物 6 9	2 1. 3	3 . 0	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 5
化合物 7 0	9. 7	2 . 5	5	N D	N D	N D	N D	G 6 5 0	1 5
T S S	0. 1	. 1	5	9 0 7	9 2	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 6
化合物 1	3 5. 4	6 . 1	5	4 4 6	6 3	5	4 9 %	G 2 8 2	1 6
化合物 1	1 4. 9	3 . 0	5	6 0 7	8 5	5	6 7 %	G 2 8 2	1 6
化合物 5 4	2 7. 0	5 . 9	5	5 7 4	1 4 4	5	6 3 %	G 2 8 2	1 6
化合物 5 9	3 9. 0	1 2 0	5	3 6 7	1 6 8	5	4 0 %	G 2 8 2	1 6
化合物 7 6	7. 0	3 . 3	5	7 3 5	1 3 4	5	8 1 %	G 2 8 2	1 6
化合物 7 7	3 0. 4	9 . 5	5	4 7 8	1 5 7	5	5 3 %	G 2 8 2	1 6
化合物 7 9	4 0. 3	1 1 6	5	3 5 1	1 4 0	5	3 9 %	G 2 8 2	1 6
化合物 8 3	2 6. 4	8 . 2	5	4 8 8	8 7	5	5 4 %	G 2 8 2	1 6
化合物 8 4	1 3. 3	5 . 3	5	6 4 8	1 2 4	5	7 1 %	G 2 8 2	1 6

10

20

30

40

50

化合物 8 5	3. 5	1 3	5	7 6 2	4 2	5	8 4 %	G 2 8 2	1 6
化合物 8 6	2 2. 6	1 3 6	5	5 8 2	1 7 2	5	6 4 %	G 2 8 2	1 6
T S S	0. 1	0 .	5	7 5 6	1 6 9	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 7
化合物 1	2 7. 2	5 . 7	5	4 9 0	9 0	5	6 5 %	G 2 8 2	1 7
化合物 1	2 5. 0	5 . 2	5	5 0 5	1 1 3	5	6 7 %	G 2 8 2	1 7
化合物 5 9	3 1. 8	8 . 2	5	4 3 1	1 0 5	5	5 7 %	G 2 8 2	1 7
化合物 8 0	1 0. 3	2 . 2	5	8 7 3	2 2 0	5	1 1 6 %	G 2 8 2	1 7
化合物 8 2	5. 0	1 . 5	5	9 5 3	1 8 5	5	1 2 6 %	G 2 8 2	1 7
化合物 8 7	2 6. 2	8 . 7	5	5 1 1	1 0 7	5	6 8 %	G 2 8 2	1 7
化合物 8 8	3 2. 1	5 . 5	5	5 8 2	1 4 5	5	7 7 %	G 2 8 2	1 7
化合物 8 9	9. 2	3 . 2	5	7 7 4	7 6	5	1 0 2 %	G 2 8 2	1 7
化合物 9 0	2 6. 0	6 . 7	5	5 0 4	1 0 0	5	6 7 %	G 2 8 2	1 7
化合物 9 1	1 3. 9	4 . 4	5	6 3 3	5 4	5	8 4 %	G 2 8 2	1 7
化合物 9 2	2 6. 0	5 . .	5	4 7 0	1 0	5	6 2 %	G 2 8 2	1 7

10

20

30

40

50

	6	6			2				
化合物 9 3	1 5. 0	2 . 3	5	6 6 9	1 5 4	5	8 8 %	G 2 8 2	1 7
化合物 9 4	3 9. 4	6 . 6	5	2 8 6	9 5	5	3 8 %	G 2 8 2	1 7
化合物 9 5	3 0. 3	7 . 7	5	4 0 8	8 8	5	5 4 %	G 2 8 2	1 7
T S S	0. 1	0 .	5	9 1 9	2 3 0	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 8
化合物 1	4 1. 6	9 . 0	5	4 3 1	2 7 0	5	4 7 %	G 2 8 2	1 8
化合物 1	3 2. 0	9 . 9	4	5 8 7	1 2 1	4	6 4 %	G 2 8 2	1 8
化合物 5 9	3 5. 6	8 . 4	5	6 0 4	2 2 9	5	6 6 %	G 2 8 2	1 8
化合物 7 1	5 2. 4	4 . 0	4	4 6 2	1 5 6	5	5 0 %	G 2 8 2	1 8
化合物 7 2	4 2. 4	7 . 4	5	4 7 9	1 8 8	5	5 2 %	G 2 8 2	1 8
化合物 7 3	4 1. 6	8 . 8	4	5 5 0	1 8 7	3	6 0 %	G 2 8 2	1 8
化合物 7 4	4 2. 8	1 2 .	5	4 0 6	1 4 4	5	4 4 %	G 2 8 2	1 8
化合物 7 5	2 5. 4	4 . 3	4	6 2 3	2 0 1	5	6 8 %	G 2 8 2	1 8
T S S	0. 1	0 .	5	7 7 7	8 9	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 9
化合物 1	3	5	5	3 1 1	7	5	4	G 2	1 9

10

20

30

40

50

	0. 4	. 1			6		0 %	8 2	
化合物 1	3 8. 6	8 . 0	5	2 4 7	8 2	5	3 2 %	G 2 8 2	1 9
化合物 9 6	1 5. 3	8 . 2	5	4 4 9	9 5	5	5 8 %	G 2 8 2	1 9
T S S	0. 0 8	0 . 4	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	2 0
化合物 1	2 0. 5	1 0 . 6	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	2 0
化合物 9 8	1 0. 5 6	5 . 3 7	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	2 0
化合物 9 9	2 6. 3 8	1 5 . 2	5	N D	N D	N D	N D	G 2 8 2	2 0

10

20

30

40

50

【 0 4 0 4 】

実施例 1 2 2 - 肝臓における編集の用量応答

編集が用量応答性であったかどうかを評価するために、様々な L N P 用量レベルでインビボの実験を実施した。実施例 1 2 0 の C a s 9 mRNA を、T T R (G 2 8 2、配列番号 1 ; または G 5 0 2、配列番号 4) を標的化する s g R N A を有する L N P として製剤化した。あるいは、実施例 1 2 0 の C a s 9 mRNA を、B 2 M を標的とする s g R N A (G 6 5 0、配列番号 2) を有する L N P として製剤化し、これらの L N P を、表 4 に示すように、s g R N A 及び C a s 9 mRNA の w / w 比で製剤化した。L N P は、5 0 / 9 / 3 8 / 3 のアミン脂質 / D S P C / コレステロール / P E G - 2 k - D M G 及び 6 . 0 の N / P 比のモル % の脂質モル組成を用いて、クロスフロー手順を使用して製剤化した。

【 0 4 0 5 】

L N P 組成物を、実施例 1 2 0 に記載のように、平均粒径、多分散性 (P D I)、全 R N A 含有量、及び R N A のカプセル化効率について分析した。

【 0 4 0 6 】

平均粒径、多分散性 (P D I)、全 R N A 含有量、及び R N A のカプセル化効率の分析を表 4 に示す。

【 0 4 0 7 】

【表 4】

表 4 : 組成分析

化合物	s g : m R N A	E %	Z - 平均 (n m)	P D I	数平均 (n m)	実験
化合物 1	1 : 1	9 7	7 9 . 1 8	0 . 0 4 7	6 3 . 1 9	1 0 1
化合物 2 9	1 : 1	9 9	8 4	0 . 0 0 3	7 0	1 0 1
化合物 3 1	1 : 1	9 9	7 6	0 . 0 4	6 1	1 0 1
化合物 1	1 : 1	9 8	8 4 . 9 3	0 . 0 0 7	6 9 . 5 1	1 0 2
化合物 4 0	1 : 1	9 5	8 3 . 6 9	0 . 0 1 4	6 6 . 9 2	1 0 2
化合物 5 3	1 : 1	9 9	7 0 . 4 7	0 . 0 1 9	5 6 . 0 5	1 0 2
化合物 5 4	1 : 1	9 8	9 6 . 9 8	0 . 0 3 2	7 7 . 9 6	1 0 2
化合物 1	1 : 1	9 9	7 9 . 8 3	0 . 0 1 5	6 2 . 8 6	1 0 3
化合物 5 9	1 : 1	9 8	8 7 . 3 1	0 . 0 1 2	7 2 . 6 0	1 0 3
化合物 1	1 : 1	9 8	8 2 . 7 1	0 . 0 5 6	6 4 . 9 7	1 0 4
化合物 5 9	1 : 1	9 6	8 3 . 4 2	0 . 0 2 4	6 7 . 1 2	1 0 4
化合物 1	1 : 2	9 9	8 8 . 6 0	0 . 0 3 3	7 3 . 1 5	1 0 5
化合物 2 4	1 : 2	9 9	8 8 . 3 9	0 . 0 2 9	7 2 . 9 5	1 0 5
化合物 5 9	1 : 2	9 9	9 6 . 7 6	0 . 0 4 1	7 9 . 1 1	1 0 5
化合物 6 1	1 : 2	9 8	9 9 . 2 5	0 . 0 3 3	7 9 . 7 3	1 0 5
化合物 9 4	1 : 2	9 9	9 8 . 9 0	0 . 0 3 2	8 0 . 0 4	1 0 5

【 0 4 0 8 】

C D - 1 雌マウスに、表 5 に明記されるように静脈内投与し、肝臓中の編集について評価した。結果を図 1 A ~ 1 D 及び表 5 に示す。

【 0 4 0 9 】

【表 5】

表 5 : G 2 8 2、G 5 0 2、及び G 6 5 0 実験の挿入欠失形成%ならびに G 2 8 2 及び G 5 0 2 実験の血清 T T R レベルを提供する用量応答についての T T R 肝臓編集及び血清 T T R レベル

化合物	編集				血清 T T R				ガイド	実験
	用量 (m g / k g)	平均挿 入欠失 (%)	S D	N	血清 T T R (u g / m l)	S D	N	T S S (%)		
T S S	T S S	0 . 1	0 . 0	5	1 3 6 9	3 8 7	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 0 1
化合物 1	0 . 1	2 3 . 1	1 0 . 3	5	1 0 8 3	6 6 5	5	7 9 %	G 2 8 2	1 0 1

化合物 1	0. 3	5 8. 3	6. 5	5	2 7 1	1 3 5	5	2 0 %	G 2 8 2	1 0 1
化合物 2 9	0. 1	3 1. 4	6. 1	5	6 6 3	3 4 8	5	4 8 %	G 2 8 2	1 0 1
化合物 2 9	0. 3	5 4. 8	4. 5	5	2 0 5	1 2 2	5	1 5 %	G 2 8 2	1 0 1
化合物 3 1	0. 1	1 3. 5	3. 6	5	9 7 6	4 5 7	5	7 1 %	G 2 8 2	1 0 1
化合物 3 1	0. 3	5 0. 7	1 0. 2	5	2 2 6	9 9	5	1 7 %	G 2 8 2	1 0 1
T S S	T S S	0. 2	0. 1	4	9 1 8	1 0 0	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 1	0. 1	3 6. 4	1 3. 0	4	5 0 0	2 6 3	4	5 4 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 1	0. 3	6 7. 4	5. 9	5	1 2 3	6 1	5	1 3 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 4 0	0. 1	3 0. 2	1 9. 1	5	4 4 3	1 6 4	5	4 8 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 4 0	0. 3	6 8. 0	5. 5	5	8 0	4 6	5	9 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 5 3	0. 1	8. 6	2. 0	5	6 1 9	1 3 3	5	6 7 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 5 3	0. 3	4 8. 2	8. 7	5	2 3 1	6 9	5	2 5 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 5 4	0. 1	2 8. 3	5. 0	4	4 4 9	1 2	4	4 9 %	G 2 8 2	1 0 2
化合物 5 4	0. 3	6 4. 8	4. 9	5	9 7	5 1	5	1 1 %	G 2 8 2	1 0 2
T S S	T S S	0. 1	0. 1	5	6 0 8	1 1 8	5	1 0 0 %	G 2 8 2	1 0 3
化合物 1	0. 1	2 1. 6	1 0. 4	5	4 6 2	1 8 1	5	7 6 %	G 2 8 2	1 0 3
化合物 1	0. 3	5 4. 9	2. 4	5	8 2	2 4	5	1 3 %	G 2 8 2	1 0 3
化合物 5 9	0. 1	3 2. 4	6. 2	5	3 0 0	7 6	5	4 9 %	G 2 8 2	1 0 3
化合物 5 9	0. 3	6 3. 9	7. 8	5	4 3	5 0	3	7 %	G 2 8 2	1 0 3
化合物 1	0. 1	1 7. 8	4. 2	5	N D	N D	0	N D	G 6 5 0	1 0 4
化合物 1	0. 3	5 0. 3	6. 6	5	N D	N D	0	N D	G 6 5 0	1 0 4

10

20

30

40

50

化合物 5 9	0 . 1	2 1 . 2	6 . 1 5	ND	ND	0	ND	G 6 5 0	1 0 4	
化合物 5 9	0 . 3	5 1 . 6	1 0 . 4	5	ND	ND	0	G 6 5 0	1 0 4	
T S S	T S S	0 . 1 4	0 . 1 5	1 0 9 8	8 4	5	1 0 0 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 1	0 . 0 3	9 . 2 4	4 . 1 5	9 3 1	4 1	5	8 5 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 1	0 . 1	4 7 . 6 2	9 . 7 5	2 9 4	1 3 5	5	2 7 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 2 4	0 . 0 3	1 1 . 3 4	5 . 4 5	7 7 2	1 2 6	5	7 0 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 2 4	0 . 1	4 0 . 5 4	1 2 . 4	5	4 2 0	1 7 8	5	3 8 %	G 5 0 2	1 0 5
化合物 5 9	0 . 0 3	1 1 . 8	6 . 2 5	9 0 9	1 1 5	5	8 3 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 5 9	0 . 1	3 5 . 6 4	8 . 2 5	4 6 7	1 6 6	5	4 2 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 6 1	0 . 0 3	7 . 7 8	2 . 9 5	7 1 1	6 6	5	6 5 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 6 1	0 . 1	3 6 . 0 6	1 2 . 6	5	4 7 2	1 4 3	5	4 3 %	G 5 0 2	1 0 5
化合物 9 4	0 . 0 3	1 9 . 7 6	6 . 8 5	6 0 5	9 3	5	5 5 %	G 5 0 2	1 0 5	
化合物 9 4	0 . 1	4 3 . 5 2	1 4 . 9	5	3 5 2	2 0 1	5	3 2 %	G 5 0 2	1 0 5

10

20

30

40

【 0 4 1 0 】

実施例 1 2 3 - G 5 0 2 実験の挿入欠失形成 % を提供する T T R 肝臓編集及び血清 T T R レベル

様々なアミン脂質化合物を含む製剤により送達された材料の編集効率を測定することによって、インビボ送達を評価した。T T R マウス遺伝子（配列番号 4）を標的とする s g R N A を有する L N P として、C a s 9 m R N A （配列番号 6）を製剤化した。L N P を、1 : 2 の s g R N A 対 C a s 9 m R N A の w / w 比、及び約 6 の N / P 比で製剤化した。L N P の脂質成分中の脂質のモル濃度は、5 0 / 9 / 3 8 / 3 のアミン脂質 / D S P C / コレステロール / P E G - 2 k - D M G のモル % で使用される。最終的な L N P 組成物を、実施例 1 2 0 に記載されるように特徴付け、分析した。平均粒径、多分散性（P D I）、全 R N A 含有量、及び R N A のカプセル化効率の分析を表 6 に示す。

【 0 4 1 1 】

【表 6】

表 6 - 組成分析

化合物	s g : m R N A	E %	Z - 平均 (n m)	P D I	数平均 (n m)	実験
化合物 1	1 : 2	9 9	8 8	0 . 0 4	7 1	1 0 6
化合物 1 0 0	1 : 2	9 9	8 9	0 . 0 4	7 0	1 0 6
化合物 1 0 1	1 : 2	9 9	7 3	0 . 0 4	5 8	1 0 6
化合物 1 0 2	1 : 2	9 8	7 1	0 . 0 2	5 7	1 0 6
化合物 1 0 3	1 : 2	9 9	6 5	0 . 0 5	5 0	1 0 6
化合物 1	1 : 2	9 9	9 1	0 . 0 0 2	7 6	1 0 7
化合物 1 1 4	1 : 2	9 6	8 7	0 . 0 2	7 2	1 0 7
化合物 1 1 5	1 : 2	9 7	9 3	0 . 0 1	7 6	1 0 7
化合物 1 1 6	1 : 2	9 9	9 0	0	7 4	1 0 7

10

20

30

40

50

【 0 4 1 2 】

C D - 1 雌マウスに、 0 . 1 m g / k g で静脈内投与し、肝臓中の編集について評価し、循環 T T R レベルを測定した。結果を図 2、3 及び表 7 に示す。

【 0 4 1 3 】

【表 7】

表 7－G 5 0 2 実験の挿入欠失形成%及び血清 T T R レベルを提供するマウスにおける編集効率

化合物	編集		血清 T T R			ガイド	実験		
	平均挿入欠失 (%)	S D	N	血清 T T R (u g / m l)	S D	N	T S S (%)		
T S S	0 . 1	0 . 0	5	1 1 6 8 . 5	3 2 6 . 6	5	1 0 0	G 5 0 2	1 0 6
化合物 1	4 2 .	3 .	5	4 4	1 0	5	3 7 .	G	1

10

20

30

40

50

	9	6		2	7. 9		8	5 0 2	0 6
化合物 1 0 0	1 2	5. 1	5	1 0 1 7. 4	1 8 7. 4	5	8 1. 3	G 5 0 2	1 0 6
化合物 1 0 1	2 5. 9	1. 9	5	6 5 5. 8	1 1 8. 7	5	5 6. 1	G 5 0 2	1 0 6
化合物 1 0 2	1 9. 6	6. 2	5	7 2 8. 1	1 7 0. 4	5	6 2. 3	G 5 0 2	1 0 6
化合物 1 0 3	4. 2	1. 0	5	1 0 4 3. 8	1 5 4. 9	5	8 9. 3	G 5 0 2	1 0 6
T S S	0. 1	0. 0	5	1 1 0 5. 5	2 2 9. 9	5	1 0 0	G 5 0 2	1 0 7
化合物 1	3 2. 8	4. 2	5	5 9 3. 7 6	1 7 4. 5	5	5 3. 7	G 5 0 2	1 0 7
化合物 1 1 4	1 8. 0 4	7. 8	5	9 7 8. 0 1	2 7 6. 8	5	8 8. 4	G 5 0 2	1 0 7
化合物 1 1 5	1 9. 6 8	3. 3	5	8 1 6. 3	1 2 8. 2	5	7 3. 8	G 5 0 2	1 0 7
化合物 1 1 6	3 4. 4 8	4. 0	5	5 6 7. 0 9	6 8. 1	5	5 1. 3	G 5 0 2	1 0 7

10

20

30

40

50

【 0 4 1 4 】

実施例 1 2 4 G 6 5 0 実験の挿入欠失形成%を提供する T T R 肝臓編集及び血清 T T R レベル

様々なアミン脂質化合物を含む製剤により送達された材料の編集効率を測定することによって、肝臓、脾臓、及び骨髄へのインビボ送達を評価した。T T R ラット遺伝子 (G 6 5 0、配列番号 2) を標的とする s g R N A を有する L N P として、C a s 9 m R N A (配列番号 6) を製剤化した。L N P を、1 : 2 の s g R N A 対 C a s 9 m R N A の w / w 比、及び約 6 の N / P 比で製剤化した。L N P の脂質成分中の脂質のモル濃度は、5 0 / 9 / 3 8 / 3 のアミン脂質 / D S P C / コレステロール / P E G - 2 k - D M G のモル

%で使用される。最終的なLNP組成物を、実施例120に記載されるように特徴付け、分析した。平均粒径、多分散性（PDI）、全RNA含有量、及びRNAのカプセル化効率の分析を表8に示す。

【0415】

【表8】

表8．組成分析

化合物	s g : m R N A	% E	Z－ 平均 (n m)	P D I	数平均 (n m)	実験
化合物 1	1 : 2	9 8	8 6	0 . 0 3	7 0	1 0 8
化合物 1 0 7	1 : 2	9 4	8 4	0 . 0 7	6 5	1 0 8

10

【0416】

CD－1雌マウスに、0.1、0.3、または1mg/kgを静脈内投与し、肝臓、脾臓、及び骨髄中の編集について評価した。結果を表9に示す。

20

【0417】

【表9】

表9．G650実験の挿入欠失形成%を提供するマウスにおける編集効率

化合物	用量 (mg / kg)	肝臓編集 (%)	脾臓で の編集 (%)	BMでの編 集 (%)	実験
T S S	—	0 . 1	0 . 1	N A	1 0 8
化合物 1	0 . 1	2 3 . 7 4	0 . 6 2	N A	1 0 8
	0 . 3	5 8 . 4 8	2 . 2	N A	1 0 8
	1	7 3 . 6	6 . 2 6	2 . 6 6	1 0 8
化合物 1 0 7	0 . 1	0 . 5 2	0 . 0 8	N A	1 0 8
	0 . 3	1 . 0 4	0 . 1 2	N A	1 0 8
	1	5 . 9 2	0 . 3	0 . 3 2	1 0 8

30

40

【0418】

実施例125 ラット研究における送達

様々なアミン脂質化合物を含む製剤により送達された材料の編集効率を測定することにより、ラットモデルにおけるインビボ送達を評価した。TTRラット遺伝子（G534、配列番号5）を標的とするsgRNAを有するLNPとして、Cas9 mRNA（配列番号6）を製剤化した。LNPを、実施例123に記載されるように製剤化し、特徴付けた。平均粒径、多分散性（PDI）、全RNA含有量、及びRNAのカプセル化効率の分析を表10に示す。

50

【 0 4 1 9 】

【表 1 0】

表 1 0－組成分析

化合物	s g : m R N A	% E	Z－平 均 (n m)	P D I	数平均 (n m)	実験
化合物 1	1 : 2	9 8	8 8	0 . 0 1	7 3	1 0 9
化合物 1 2	1 : 2	9 7	8 0	0 . 0 6	6 2	1 0 9
化合物 5 9	1 : 2	9 8	9 1	0 . 0 4	7 5	1 0 9
化合物 9 4	1 : 2	9 7	9 5	0 . 0 2	7 7	1 0 9

10

【 0 4 2 0 】

雌の Sprague Dawley ラットに、0.1 mg / kg または 0.3 mg / kg を静脈内投与し、肝臓中の編集について評価した。結果を図 4 及び表 1 1 に示す。

20

【 0 4 2 1 】

【表 1 1】

表 1 1. G 5 3 4 実験の挿入欠失形成%及び血清 T T R レベルを提供するラットにおける編集効率

化合物	投与 量 (m g / k g)	編集		血清 T T R			ガイド		実験	
		平均 挿入 欠失 (%)	S D	N	血清 T T R (u g / m l)	S D	N	T S S (%)		
T S S	0	0 . 1	0 . 0	5	1 6 2 0 . 7	1 6 5 . 6	5	1 0 0 . 0	G 5 3 4	1 0 9
化合物 1	0 . 1	2 1 . 1	6 . 7	5	9 1 6 . 9	1 4 1 . 1	5	5 6 . 6	G 5 3 4	1 0 9
化合物	0 .	6	2 .	5	1 1 4 .	2 7 .	5	7 . 1	G 5	1 0

30

40

50

1	3	1 . 3	3		3	4			3 4	9
化合物 1 2	0 . 1	3 7 . 6	9 . 8	4	7 4 4 . 2	1 9 6 . 4	4	4 5 . 9	G 5 3 4	1 0 9
化合物 1 2	0 . 3	6 2 . 5	2 . 4	5	8 9 . 1	2 5 . 5	5	5 . 5	G 5 3 4	1 0 9
化合物 5 9	0 . 1	1 2 . 4	6 . 1	5	1 1 2 4 . 0	2 2 5 . 9	5	6 9 . 4	G 5 3 4	1 0 9
化合物 5 9	0 . 3	4 6 . 2	7 . 9	5	3 3 7 . 9	9 5 . 2	5	2 0 . 9	G 5 3 4	1 0 9
化合物 9 4	0 . 1	3 1 . 7	1 9 . 6	5	6 3 9 . 5	2 6 4 . 1	5	3 9 . 5	G 5 3 4	1 0 9
化合物 9 4	0 . 3	6 0 . 0	9 . 1	5	1 3 2 . 9	1 1 5 . 3	5	8 . 2	G 5 3 4	1 0 9

10

20

【 0 4 2 2 】

配列表

30

40

50

説明	配列	配列 番号
G 0 0 0 2 8 2 マウスTTRを 標的とする s g R N A	mU * mU * mA * CAGCCACGUCUACAGC AGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU * mU * mU * mU	1
G 0 0 0 6 5 0 ヒトB2Mを標 的とする s g R N A	mG * mA * mC * AAGCACCCAGAAAGACC AGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU * mU * mU * mU	2
c a s 9をコー ドするmRNA	GGGUCCCCGCAGUCGGCGUCCAGCGG CUCUGCUUGUUCGUGUGUGUGUCGU UGCAGGCCUUAUUCGGAUCCGCCAC CAUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGA	3

10

20

30

40

50

	CUGGACAUCGGAACAAACAGCGUCG GAUGGGCAGUCAUCACAGACGAAUA CAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAG GUCCUGGGAAACACAGACAGACACA GCAUCAAGAAGAACCUGAUCGGAGC ACUGCUGUUCGACAGCGGAGAAACA GCAGAAGCAACAAGACUGAAGAGAA CAGCAAGAAGAAGAUACACAAGAAG AAAGAACAGAAUCUGCUACCUGCAG GAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAA AGGUCGACGACAGCUUCUCCACAG ACUGGAAGAAAGCUUCCUGGUCGAA GAAGACAAGAAGCACGAAAGACACC CGAUCUUCGGAAACAUCGUCGACGA AGUCGCAUACCACGAAAAGUACCCG ACAAUCUACCACCUGAGAAAGAAGC UGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGA CCUGAGACUGAUCUACCUGGCACUG GCACACAUGAUCAAGUUCAGAGGAC ACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUGAA CCCGGACAACAGCGACGUCGACAAG CUGUUCAUCCAGCUGGUCCAGACAU ACAACCAGCUGUUCGAAGAAAACCC GAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCA AAGGCAAUCCUGAGCGCAAGACUGA GCAAGAGCAGAAGACUGGAAAACCU GAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAAG AAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGA UCGCACUGAGCCUGGGACUGACACC GAACUUCAAGAGCAACUUCGACCUG GCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGA GCAAGGACACAUAACGACGACGACCU GGACAACCUGCUGGCACAGAU CGGA GACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGG CAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAU CCUGCUGAGCGACAUCUGAGAGUC AACACAGAAAUCACAAAGGCACCGC UGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAU CGACGAACACCACCAGGACCUGACA CUGCUGAAGGCACUGGUCAGACAGC AGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAU CUUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGA	
		10
		20
		30
		40

50

	CAGAAGGCACAGGUCAGCGGACAGG GAGACAGCCUGCACGAACACAUCGC AAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUC AAGAAGGGAAUCCUGCAGACAGUCA AGGUCGUCGACGAACUGGUCAAGGU CAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAAC AUCGUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAA ACCAGACAACACAGAAGGGACAGAA GAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGAGA AUCGAAGAAGGAAUCAAGGAACUGG GAAGCCAGAUCCUGAAGGAACACCC GGUCGAAAACACACAGCUGCAGAAC GAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGC AGAACGGAAAGAGACAUGUACGU CGA CCAGGAACUGGACAUCAACAGACUG AGCGACUACGACGUCGACCACAUCG UCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGA CAGCAUCGACAACAAGGUCCUGACA AGAAGCGACAAGAACAGAGGAAAGA GCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGU CGUCAAGAAGAUGAAGAACUACUGG AGACAGCUGCUGAACGCAAAGCUGA UCACACAGAGAAAGUUUCGACAACCU GACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUG AGCGAACUGGACAAGGCAGGAUUCA UCAAGAGACAGCUGGUCGAAACAAG ACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAG AUCCUGGACAGCAGAAUGAACACAA AGUACGACGAAAACGACAAGCUGAU CAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUG AAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCA GAAAGGACUUC CAGUUCUACAAGGU CAGAGAAAUCAACAACUACCACCAC GCACACGACGCAUACCUGAACGCAG UCGU CGGAACAGCACUGAUCAAGAA GUACCCGAAGCUGGAAAGCGAAUUC GUCUACGGAGACUACAAGGUCUACG ACGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAG CGAACAGGAAAUCGGAAAGGCAACA GCAAAGUACUUCUUCUACAGCAACA UCAUGAACUUCUUCUACAAGACAGAAU CACACUGGCAAACGGAGAAAUCAGA	10 20 30 40
--	--	---

AAGAGACCGCUGAUCGAAACAAACG GAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGA CAAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUC AGAAAGGUCCUGAGCAUGCCGCAGG UCAACAUCGUCAAGAAGACAGAAGU CCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAA AGCAUCCUGCCGAAGAGAAACAGCG ACAAGCUGAUCGCAAGAAAGAAGGA CUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGA UUCGACAGCCCGACAGUCGCAUACA GCGUCCUGGUCGUCGCAAAGGUCGA AAAGGGAAAGAGCAAGAAGCUGAAG AGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCA CAAUCAUGGAAAGAAGCAGCUUCGA AAAGAACCCGAUCGACUUCUGGAA GCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGA AGGACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAA GUACAGCCUGUUCGAACUGGAAAAC GGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAAGCG CAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGA ACUGGCACUGCCGAGCAAGUACGUC AACUUCCUGUACCUGGCAAGCCACU ACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGA AGACAACGAACAGAAGCAGCUGUUC GUCGAACAGCACAAAGCACUACCUGG ACGAAAUCAUCGAACAGAUACGCGA AUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCA GACGCAAACCUGGACAAGGUCCUGA GCGCAUACAACAAGCACAGAGACAA GCCGAUCAGAGAACAGGCAGAAAAC AUCAUCCACCUGUUCACACUGACAA ACCUGGGAGCACCGGCAGCAUUCAA GUACUUCGACACAACAUCGACAGA AAGAGAUACACAAGCACAAAGGAAG UCCUGGACGCAACACUGAUCCACCA GAGCAUCACAGGACUGUACGAAACA AGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGAG GAGACGGAGGAGGAAGCCCGAAGAA GAAGAGAAAGGUCUAGCUAGCCAUC ACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACC AUGAGAAUAAGAGAAAGAAAAUGAA GAUCAAUAGCUUAUUCUUCUUUU	
---	--

10

20

30

40

50

	UCUUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAAC ACCCUGUCUAAAAAACAUAAAUUUC UUUAAUCAUUUUGCCUCUUUUCUCU GUGCUUCAAUUAUAAAAAAUGGAA AGAACCUCGAGAAAAAATAAAAAA AAAAAATAAAAAAATAAAAAAATA AAAAAATAAAAAAATAAAAAAATA AAAAAATAAAAAAATAAAAAAATA AAAAAATAAAAAAUCUAG	
マウスTTRを 標的とするG0 00502 s gRNA	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGC GGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU *mU	4
ラットTTRを 標的とするG0 00534 s gRNA	mA*mC*mG*CAAAUAUCAGUCCAGC GGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU *mU	5
Cas9 mR NA	AUGGACAAGAAGUACUCCAUCGGCC UGGACAUCGGCACCAACUCCGUGGG CUGGGCCGUGAUCACCGACGAGUAC AAGGUGCCCUCCAAGAAGUUCAAGG UGCUGGGCAACACCGACCGGCACUC CAUCAAGAAGAACCUGAUCGGCGCC CUGCUGUUCGACUCCGGCGAGACCG CCGAGGCCACCCGGCUGAAGCGGAC CGCCCGGGCGGGCGGUACACCCGGCGG AAGAACCAGGAUCUGCUACCUGCAGG AGAUCUUCUCCAACGAGAUGGCCAA GGUGGACGACUCCUUCUUCACCGG CUGGAGGAGUCCUUCUGGUGGAGG AGGACAAGAAGCACGAGCGGCACCC CAUCUUCGGCAACAUCGUGGACGAG GUGGCCUACCACGAGAAGUACCCCA CCAUCUACCACCGGGAAGAAGCU GGUGGACUCCACCGACAAGGCCGAC CUGCGGCUGAUCUACCUGGCCCUUG	6

10

20

30

40

50

50

	CCAAGCACUCCCUGCUGUACGAGUA CUUCACCGUGUACAACGAGCUGACC AAGGUGAAGUACGUGACCGAGGGCA UGCGGAAGCCCGCCUUCUGUCCGG CGAGCAGAAGAAGGCCAUUCGUGGAC CUGCUGUUCAAGACCAACCGGAAGG UGACCGUGAAGCAGCUGAAGGAGGA CUACUUCAAGAAGAUCGAGUGCUCUC GACUCCGUGGAGAUCUCCGGCGUGG AGGACCGGUUCAACGCCUCCCUGGG CACCUACCACGACCUGCUGAAGAUC AUCAAGGACAAGGACUUCCUGGACA ACGAGGAGAACGAGGACAUCCUGGA GGACAUCGUGCUGACCCUGACCCUG UUCGAGGACCGGGAGAUGAUCGAGG AGCGGCUGAAGACCUACGCCCACCU GUUCGACGACAAGGUGAUGAAGCAG CUGAAGCGGCGGCGGUACACCGGCU GGGGCCGGCUGUCCCGGAAGCUGAU CAACGGCAUCCGGGACAAGCAGUCC GGCAAGACCAUCCUGGACUUCCUGA AGUCCGACGGCUUCGCCAACCGGAA CUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGAC UCCUGACCUUCAAGGAGGACAUCC AGAAGGCCCCAGGUGUCCGGCCAGGG CGACUCCCUGCACGAGCACAUCGCC AACCUGGCCGGCUCCCCCGCCAUCA AGAAGGGCAUCCUGCAGACCGUGAA GGUGGUGGACGAGCUGGUGAAGGUG AUGGGCCGGCACAAAGCCCGAGAACA UCGUGAUCGAGAUGGCCCGGGAGAA CCAGACCACCCAGAAGGGCCAGAAG AACUCCCGGGAGCGGAUGAAGCGGA UCGAGGAGGGCAUCAAGGAGCUGGG CUCCCAGAUCCUGAAGGAGCACCCC GUGGAGAACACCCAGCUGCAGAACG AGAAGCUGUACCUGUACUACCUGCA GAACGGCCGGGACAUGUACGUGGAC CAGGAGCUGGACAUCAACCGGCUGU CCGACUACGACGUGGACCACAUCGU GCCCCAGUCCUUCUGAAGGACGAC UCCAUCGACAACAAGGUGCUGACCC	
		10
		20
		30
		40

	GGUCCGACAAGAACC GGGGCAAGUC CGACAACGUGCCC UCCGAGGAGGUG GUGAAGAAGAU GAAGAACUACUGGC GGCAGCUGCUGAACGCCAAGCUGAU CACCCAGCGGAAGUUCGACAACCUG ACCAAGGCCGAGCGGGGCGGCCUGU CCGAGCUGGACAAGGCCGCGCUUCAU CAAGCGGCAGCUGGUGGAGACCCGG CAGAUCAACCAAGCACGUGGCCCAGA UCCUGGACUCCCGGAUGAACACCAA GUACGACGAGAACGACAAGCUGAUC CGGGAGGUGAAGGUGAUCACCCUGA AGUCCAAGCUGGUGUCCGACUUCGG GAAGGACUUCCAGUUCUACAAGGUG CGGGAGAUCAACAACUACCACCACG CCCACGACGCCUACCUGAACGCCGU GGUGGGCACCGCCCUGAUCAAGAAG UACCCCAAGCUGGAGUCCGAGUUCG UGUACGGCGACUACAAGGUGUACGA CGUGC GGAAGAU GAUCGCCAAGUCC GAGCAGGAGAU CGGCAAGGCCACCG CCAAGUACUUCUUCUACUCCAACAU CAUGAACUUCUUCAAGACCGAGAUC ACCCUGGCCAACGGCGAGAUCCGGA AGCGGCCCCUGAUCGAGACCAACGG CGAGACCGGCGAGAU CGUGUGGGAC AAGGGCCGGGACUUCGCCACCGUGC GGAAGGUGCUGUCCAUGCCCCAGGU GAACAUCGUGAAGAAGACCGAGGUG CAGACCGGCGGCUUCUCCAAGGAGU CCAUCCUGCCCAAGCGGAACUCCGA CAAGCUGAUCGCCCGGAAGAAGGAC UGGGACCCCAAGAAGUACGGCGGCU UCGACUCCCCCACCUGGGCCUACUC CGUGCUGGUGGUGGCCAAGGUGGAG AAGGGCAAGUCCAAGAAGCUGAAGU CCGUGAAGGAGCUGCUGGGCAUCAC CAUCAUGGAGCGGUCCUCCUUCGAG AAGAACCCCAUCGACUUCUUGGAGG CCAAGGGCUACAAGGAGGUGAAGAA GGACCUGAUCAUCAAGCUGCCCAAG UACUCCCUGUUCGAGCUGGAGAACG	
		10
		20
		30
		40

	G C C G G A A G C G G A U G C U G G C C U C C G C C G G C G A G C U G C A G A A G G G C A A C G A G C U G G C C C U G C C C U C C A A G U A C G U G A A C U U C C U G U A C C U G G C C U C C C A C U A C G A G A A G C U G A A G G G C U C C C C C G A G G A C A A C G A G C A G A A G C A G C U G U U C G U G G A G C A G C A C A A G C A C U A C C U G G A C G A G A U C A U C G A G C A G A U C U C C G A G U U C U C C A A G C G G G U G A U C C U G G C C G A C G C C A A C C U G G A C A A G G U G C U G U C C G C C U A C A A C A A G C A C C G G G A C A A G C C C A U C C G G G A G C A G G C C G A G A A C A U C A U C C A C C U G U U C A C C C U G A C C A A C C U G G G C G C C C C C G C C G C C U U C A A G U A C U U C G A C A C C A C C A U C G A C C G G A A G C G G U A C A C C U C C A C C A A G G A G G U G C U G G A C G C C A C C C U G A U C C A C C A G U C C A U C A C C G G C C U G U A C G A G A C C C G G A U C G A C C U G U C C C A G C U G G G C G G C G A C G G C G G C G G C U C C C C C A A G A A G A A G C G G A A G G U G U G A	
--	---	--

10

20

30

40

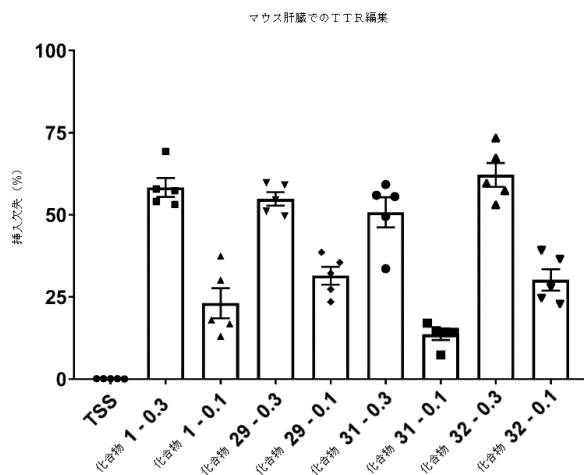
50

【 0 4 2 3 】

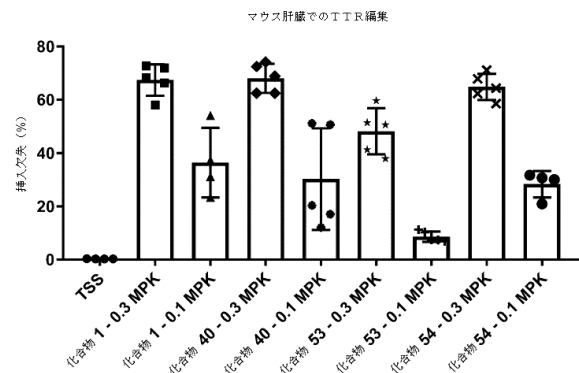
2' - O - メチル修飾及びホスホロチオエート結合を次のとおり示す (m = 2' - O M e ;
* = ホスホロチオエート) 。

【 図 面 】

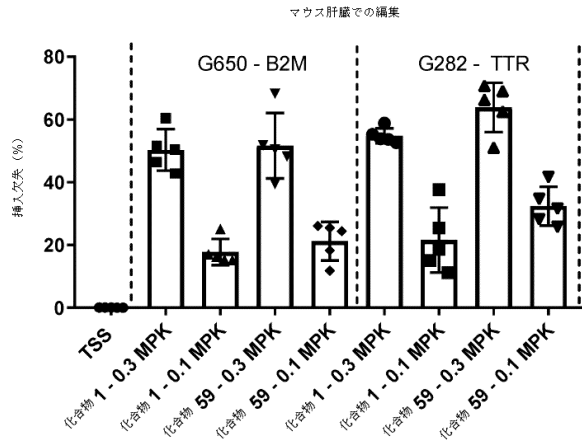
【 図 1 A 】



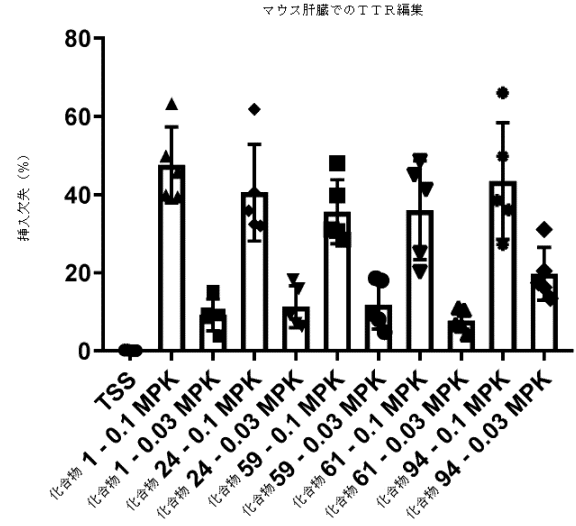
【 図 1 B 】



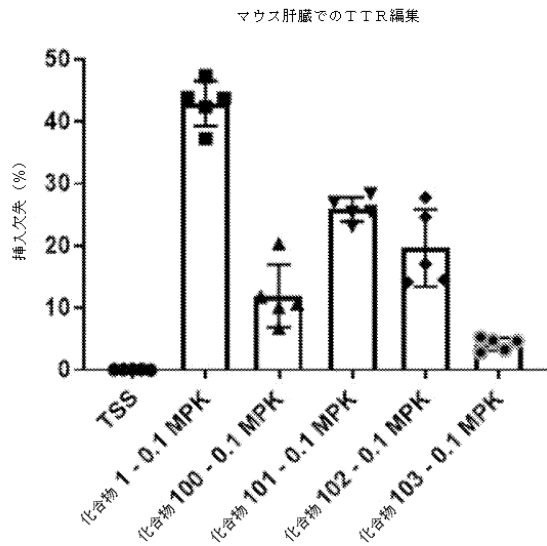
【図 1 C】



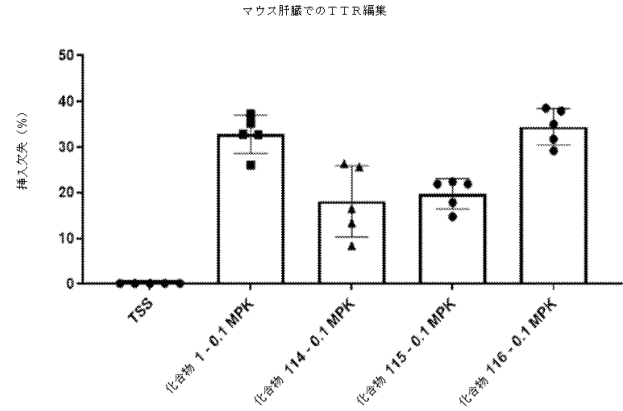
【図 1 D】



【図 2】



【図 3】



10

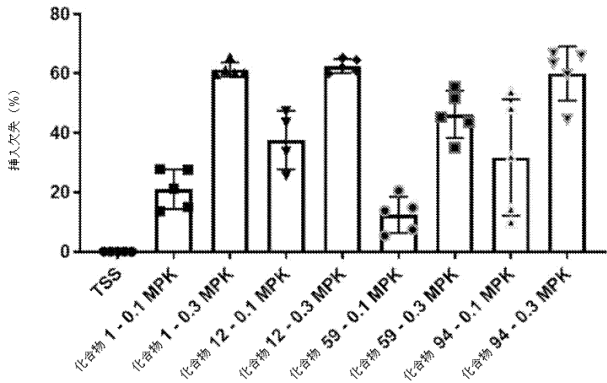
20

30

40

50

【 図 4 】



10

【 配 列 表 】

2022530043000001.app

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/029812

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07C219/16 C07C229/10 C07C271/16 C07D205/04 C07D207/08
C07D207/09 C07D207/14 C07D207/16 C07D211/22 C07D211/26
C07D211/46 C07D211/58 C07D211/62 C07D295/088 C07D295/13

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/095340 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BRITO LUIS [US] ET AL.) 25 June 2015 (2015-06-25) cited in the application p. 21-24, 69-71; claims 1,9-17; examples 13,14,17,19,20,22-27,32,45,46,53 -----	1-84

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 July 2020

Date of mailing of the international search report

29/07/2020

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fritz, Martin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/029812

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 2015095340 A1	25-06-2015	EP 3083556 A1	26-10-2016
		EP 3623361 A1	18-03-2020
		PL 3083556 T3	29-06-2020
		PT 3083556 T	05-03-2020
		US 2016311759 A1	27-10-2016
		US 2018290965 A1	11-10-2018
		W0 2015095340 A1	25-06-2015

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 D 295/092 (2006.01)	C 0 7 D 295/092	Z N A
C 0 7 D 211/46 (2006.01)	C 0 7 D 211/46	
C 0 7 D 207/16 (2006.01)	C 0 7 D 207/16	
C 0 7 D 211/62 (2006.01)	C 0 7 D 211/62	
C 0 7 D 211/56 (2006.01)	C 0 7 D 211/56	
C 0 7 D 211/58 (2006.01)	C 0 7 D 211/58	
C 0 7 D 211/26 (2006.01)	C 0 7 D 211/26	
C 0 7 D 207/09 (2006.01)	C 0 7 D 207/09	
C 0 7 D 207/14 (2006.01)	C 0 7 D 207/14	
C 0 7 D 295/205 (2006.01)	C 0 7 D 295/205	
C 0 7 D 205/04 (2006.01)	C 0 7 D 205/04	
A 6 1 K 9/127(2006.01)	A 6 1 K 9/127	
A 6 1 K 9/51 (2006.01)	A 6 1 K 9/51	
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18	
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 47/22	
A 6 1 K 47/24 (2006.01)	A 6 1 K 47/24	
A 6 1 K 47/28 (2006.01)	A 6 1 K 47/28	
A 6 1 K 47/34 (2017.01)	A 6 1 K 47/34	
A 6 1 K 31/7105(2006.01)	A 6 1 K 31/7105	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09	1 1 0
C 0 7 C 271/20 (2006.01)	C 0 7 C 271/20	
C 0 7 C 229/12 (2006.01)	C 0 7 C 229/12	
C 0 7 C 217/08 (2006.01)	C 0 7 C 217/08	
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,
MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,
RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

リート 3 5, ナンバー 6

(72)発明者 ペリー, レイチェル

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, チェストナット ストリート
2 1 4, アpartment 2

(72)発明者 パーマー, ルビナ, ギアレ

アメリカ合衆国 0 1 7 2 0 マサチューセッツ州, アクトン, リーブ ストリート 1

(72)発明者 マエタニ, マイカ

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州, ケンブリッジ, ケンブリッジ ストリート 1
2 6 7, ナンバー 2

F ターム (参考)

4C069 AA05 AA07 AA12 AA16 BA01 BB02 BB18 BC05 BC29 BD03
4C076 AA19 AA65 BB11 CC16 CC50 DD15F DD49F DD60F DD63F DD70F
EE23F FF16 FF43
4C086 AA01 AA02 EA16 MA03 MA05 MA24 MA66 NA13 ZA75 ZB21
4H006 AA01 AB20 BP10 BT12 BT40 BU32 RA10