

(19) 日本国特許庁 (JP)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-514383

(P2020-514383A)

(43) 公表日 令和2年5月21日 (2020.5.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07H 21/02 (2006.01)</b>	C O 7 H 21/02 C S P	4 C O 5 7
<b>A61K 31/7105 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/7105 Z N A	4 C O 7 6
<b>A61K 31/711 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/711	4 C O 8 4
<b>A61P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C O 8 5
<b>A61P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C O 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-551984 (P2019-551984)	(71) 出願人	506115514
(86) (22) 出願日	平成30年3月21日 (2018.3.21)		ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
(85) 翻訳文提出日	令和1年11月15日 (2019.11.15)		ティ オブ カリフォルニア
(86) 国際出願番号	PCT/US2018/023578		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94
(87) 国際公開番号	W02018/175592		607-5200, オークランド, フラン
(87) 国際公開日	平成30年9月27日 (2018.9.27)		クリン ストリート 1111, 12番
(31) 優先権主張番号	62/475, 185		フロア
(32) 優先日	平成29年3月22日 (2017.3.22)	(71) 出願人	518071992
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		ヴィビル ホールディングス インコーポ
			レイテッド
			VYBYL HOLDINGS, INC
			.
			アメリカ合衆国 イリノイ州 60517
			ウッドリッジ デイヴィー ロード 2
			501
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 修飾オリゴヌクレオチドおよびその治療上の使用

## (57) 【要約】

本開示は概して、様々な疾患を、ガンを含めて、処置するのに有用なヌクレオチドベースの化合物を提供する。いくつかの態様において、本開示は、操作された脂肪酸残基を含むように化学的に修飾されるオリゴヌクレオチドを、例えば、そのような化合物の半減期を改善すること、または細胞浸透（例は、腫瘍細胞への浸透）を支援することのために提供する。いくつかの態様では、本開示は、そのような修飾ヌクレオチドおよびタンパク質、例えば、アルブミンまたはそのミメティックなどのようなものを含む組成物を提供する。本開示は化合物および組成物の様々な使用を提供する。

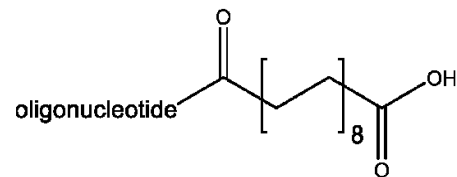


FIG. 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

## 【化 1】



式中：

$A^1$ は有機基であり；または、 $A^1$ は親水基または水素原子であり；

$A^2$ はオリゴヌクレオチドモイエティーであり；

$X^1$ は疎水基であり；および

$X^2$ は直接結合、有機基、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-S(=O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N=$ 、 $=N-$ 、 $-N(H)-$ 、 $-N=N-N(H)-$ 、 $-N(H)-N=N-$ 、 $-N(OH)-$ 、または $-N(=O)-$ である、

式(I)の化合物。

## 【請求項 2】

$A^1$ はカルボン酸基、カルボキシラートアニオン、またはカルボキシラートエステルである、請求項1の化合物。

## 【請求項 3】

$A^1$ はカルボン酸基である、請求項2の化合物。

## 【請求項 4】

オリゴヌクレオチドモイエティーには、2から200までのヌクレオチド単位、または3から150までのヌクレオチド単位、または4から100までのヌクレオチド単位、または5から50までのヌクレオチド単位、または6から40までのヌクレオチド単位が含まれる、請求項1ないし3のいずれか一項の化合物。

## 【請求項 5】

オリゴヌクレオチドモイエティーは、ホスファートモイエティーまたはチオホスファートモイエティーを介して $X^2$ にコンジュゲートする、請求項1ないし4のいずれか一項の化合物。

## 【請求項 6】

ヌクレオチド単位には、リボースモイエティーまたはデオキシリボースモイエティーが含まれる、請求項4または5の化合物。

## 【請求項 7】

ヌクレオチド単位の各々には、アデニンモイエティー、シトシンモイエティー、グアニンモイエティー、チミンモイエティー、およびウラシルモイエティーからなる群より選ばれる窒素塩基モイエティーが含まれる、請求項4ないし6のいずれか一項の化合物。

## 【請求項 8】

オリゴヌクレオチドモイエティーは、 $HA_1$ 、 $HA_2$ 、 $HA_3$ 、 $HA_4$ 、または関連または非関連siRNA、マイクロRNAミミック、またはアンチセンス配列、および前述のいずれかの薬学的に許容可能な塩である、請求項1ないし7のいずれか一項の化合物。

## 【請求項 9】

$X^1$ は $C_{12-22}$ ヒドロカルビレンであり、それは随意に置換される、請求項1ないし8のいずれか一項の化合物。

## 【請求項 10】

$X^1$ は $C_{12-22}$ アルキレン基である、請求項9の化合物。

## 【請求項 11】

$X^1$ は $-(CH_2)_{12}-$ 、 $-(CH_2)_{14}-$ 、 $-(CH_2)_{16}-$ 、 $-(CH_2)_{18}-$ 、 $-(CH_2)_{20}-$ 、または $-(CH_2)_{22}-$ である、請求項10の化合物。

## 【請求項 12】

$X^1$ は $-(CH_2)_{16}-$ である、請求項11の化合物。

## 【請求項 13】

$X^2$ は、 $-C(O)-O-Z^1-NH-$ 、 $-C(O)-O-Z^1-O-$ 、または $-C(O)-O-Z^1-S-$ であり、式中、 $Z^1$ は、 $-O$

10

20

30

40

50

Hによって一回以上随意に置換される $C_{1-6}$ アルキレン基である、請求項12の化合物。

【請求項14】

Z<sup>1</sup>はエチレンまたは $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ である、請求項13の化合物。

【請求項15】

次の：

請求項1ないし14のいずれか一項の化合物；および

タンパク質であって、そこでは、タンパク質は、ヒト血清アルブミンまたはタンパク質であってその配列がヒト血清アルブミンのものと少なくとも50%等価であるものを含む薬剤組成物。

【請求項16】

タンパク質はヒト血清アルブミンである、請求項15の薬剤組成物。

【請求項17】

担体をさらに含む、請求項15または16の薬剤組成物。

【請求項18】

担体には、水が含まれる、請求項17の薬剤組成物。

【請求項19】

化合物およびタンパク質は、少なくとも $10^2 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^5 M^{-1}$ の結合定数( $K_b$ )により互いに非共有結合的に会合する、請求項18の薬剤組成物。

【請求項20】

化合物およびタンパク質は担体によって溶媒和される、請求項17ないし19のいずれか一項の薬剤組成物。

【請求項21】

請求項1ないし16のいずれか一項の—以上の化合物および—以上のタンパク質を含み、そこでは、組成物において、化合物の少なくとも90重量%、または少なくとも95重量%、または少なくとも97重量%、または少なくとも99重量%は、少なくとも $10^2 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^5 M^{-1}$ の結合定数( $K_b$ )によりタンパク質に結合する、請求項17ないし20のいずれか一項の薬剤組成物。

【請求項22】

組成物において、少なくともタンパク質結合粒子の少なくとも90重量%、または少なくとも95重量%、または少なくとも97重量%、または少なくとも99重量%は、動的光散乱によって測定するとき、5nmを超えない、または4nmを超えない半径をもつ、請求項21の薬剤組成物。

【請求項23】

薬剤組成物は、哺乳動物、例は、ヒトへの非経口的施与に適する、請求項17ないし22のいずれか一項の薬剤組成物。

【請求項24】

薬剤組成物は、哺乳動物、例は、ヒトへの静脈内施与に適する、請求項17ないし22のいずれか一項の薬剤組成物。

【請求項25】

次の：

化合物であって、それには、オリゴヌクレオチドモイエティーおよびタンパク質結合モイエティーが含まれるもの；

タンパク質であって、そこでは、タンパク質は、ヒト血清アルブミンまたはタンパク質であってその配列がヒト血清アルブミンのものと少なくとも50%等価であるもの；および担体であって、それには、水が含まれるもの

を含み；

そこでは、化合物およびタンパク質は、少なくとも $10^2 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、または少なくとも $10^5 M^{-1}$ の結合定数( $K_b$ )により互いに非共有結合的に会合し；および

10

20

30

40

50

そこでは、化合物およびタンパク質は担体によって溶媒和される、  
薬剤組成物。

【請求項 26】

化合物は請求項1ないし16のいずれか一項の化合物である、請求項25の薬剤組成物。

【請求項 27】

タンパク質はヒト血清アルブミンである、請求項25または26の薬剤組成物。

【請求項 28】

請求項1ないし16のいずれか一項の一以上の化合物および一以上のタンパク質を含み、  
そこでは、組成物において、化合物の少なくとも90重量%、または少なくとも95重量%、ま  
たは少なくとも97重量%、または少なくとも99重量%は、少なくとも $10^2\text{M}^{-1}$ 、または少なく  
とも $10^3\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^4\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^5\text{M}^{-1}$ の結合定数( $K_b$ )により  
タンパク質に結合する、請求項25ないし27のいずれか一項の薬剤組成物。

10

【請求項 29】

組成物において、タンパク質結合粒子の少なくとも90重量%、または少なくとも95重量%  
、または少なくとも97重量%、または少なくとも99重量%は、動的光散乱によって測定する  
とき、5nmを超えない、または4nmを超えない半径をもつ、請求項28の薬剤組成物。

【請求項 30】

薬剤組成物は、哺乳動物、例は、ヒトへの非経口的施与に適する、請求項25ないし29の  
いずれか一項の薬剤組成物。

20

【請求項 31】

薬剤組成物は、哺乳動物、例は、ヒトへの静脈内施与に適する、請求項25ないし29のい  
ずれか一項の薬剤組成物。

【請求項 32】

ガンを処置するにあたり、次の：

請求項1ないし14のいずれか一項の化合物または請求項15ないし31のいずれか一項の組  
成物を対象に施すことを含む、方法。

【請求項 33】

対象に免疫療法剤を施すことをさらに含む、請求項32の方法。

【請求項 34】

免疫療法剤の対象への施与は、対象への請求項1ないし14のいずれか一項の化合物また  
は請求項15ないし31のいずれか一項の組成物の施与と同時に、またはその前または後三日  
を超えないで行う、請求項33の方法。

30

【請求項 35】

ガン細胞においてアポトーシスを誘導するにあたり、次の：

ガン細胞を請求項1ないし14のいずれか一項の化合物または請求項15ないし31のいづれ  
か一項の組成物と接触させること  
を含む、方法。

【請求項 36】

ガン性腫瘍の増殖を抑制するにあたり、次の：

ガン性腫瘍を請求項1ないし14のいずれか一項の化合物または請求項15ないし31のいづ  
れか一項の組成物と接触させること  
を含む、方法。

40

【請求項 37】

請求項1ないし14のいずれか一項の化合物または請求項15ないし31のいずれか一項の組  
成物の薬としての使用。

【請求項 38】

請求項1ないし14のいずれか一項の化合物または請求項15ないし31のいずれか一項の組  
成物のガンを処置するための使用。

【請求項 39】

薬の製造における請求項1ないし14のいずれか一項の化合物の使用。

50

## 【請求項 40】

ガンを処置するための薬の製造における請求項1ないし14のいずれか一項の化合物の使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【関連出願への相互参照】

## 【0001】

本出願は、2017年3月22日付け出願の米国仮出願第62/475,185号に関して優先権の利益を主張し、それはその全体においてまるでここに記載されているかのように参照によってここに組み込まれる。

## 【0002】

10

## テクニカルフィールド

本開示は概して、様々な疾患を、ガンを含めて、処置するのに有用なヌクレオチドベースの化合物を提供する。いくつかの態様において、本開示は、操作された脂肪酸残基を含むように化学的に修飾されるオリゴヌクレオチドを、例えば、そのような化合物の半減期を改善することを支援し、または細胞浸透（例は、腫瘍細胞への浸透）を支援するために提供する。いくつかの態様では、本開示は、そのような修飾ヌクレオチドおよびタンパク質、例えば、アルブミンまたはそのミメティック（mimetics）などのようなものを含む組成物を提供する。本開示は化合物および組成物の様々な使用を提供する。

## 関連技術の説明

## 【0003】

20

オリゴヌクレオチド（ONs）は、様々な疾患を処置するための無限の可能性を与える化合物のクラスを代表する。ほとんどのONsは、いくつかの種のアンチセンス機構を通して動作し、およびそれゆえに、何らかのRNA種に向けられることが多い。例には、制限されないが、ギャップマー（gapmers）、立体ブロックONs、アンタゴミル（antagomirs）、低分子干渉RNAs（siRNAs）、マイクロRNAミミック（mimic、模倣物などとも言う）、およびスプライススイッチングONsが含まれる。理論的な意味では、そのような化合物は、任意の障害で、その原因が特定の遺伝子に関連していることが知られるものの処置に使用することができる。そのような疾患には、様々なガン、糖尿病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、デュシェンヌ型（Duchenne）筋ジストロフィー、脊髄性筋萎縮、喘息、および関節炎が含まれる。現在、いくつかのON薬物が米国食品医薬品局から承認を受けている：ホミビルセン、サイトメガロウイルス網膜炎の処置について；ミボメルセン、ホモ接合体家族性高コレステロール血（homozygous familial hypercholesterolemia）の処置について；エテプリルセン、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの処置について、およびヌシネルセン、脊髄性筋萎縮の処置についてのものである。

30

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

ON薬物の効果的なデリバリーおよびターゲティングは問題を提起し続けている。例えば、ホミビルセンは、施与後のヌクレアーゼによる分解を防ぐため、ヌクレオチド単位間の合成ポリヌクレオチドホスホロチオアート連結がある。しかし、そのような修飾はそれらの独自の問題を引き起こし、それはそのような化合物が、身体が取り扱いに慣れている化合物に容易には代謝されないからである。また、様々なタンパク質への非特異的結合も問題である。その他、例えば、ミボメルセンなどのようなものには、的外れの副作用のリスクのため、黒枠警告（black-box warnings）が含まれる。そして、多くのそのような化合物は、それらを標的組織にデリバリーする効果的な手段がないため、開発において停滞したままである。それゆえ、ONsは無数の疾患の処置に大きな期待をもたらすが、その希望はまだ実現には程遠い。

40

## 【0005】

したがって、急速な破壊に抵抗し、的外れの副作用を低減し、および/または病態または状態によって影響を受ける特定の組織を標的とするために、ONsをデリバリーする優れ

50

た方法を開発する継続的な必要性がある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

概略

本開示は、次の：施与後の優れた半減期、的外れ活性からの副作用の低減、および病変組織の高められた標的化の一以上を与えることができる修飾ON化合物および関連組成物を提供する。いくつかの実施形態において、化合物はONsのプロドラッグであり、プロドラッグは、病変組織への、例えば、哺乳動物においての固形ガン性腫瘍などのようなものへのONsの優れたデリバリーを可能にする。本開示はまた、様々な疾患を、ガンを含めて、処置するための方法および、それらの化合物および組成物の使用も提供する。

10

【0007】

第一の態様では、本開示は式(1)：

【化1】



の化合物を提供し、式中：A<sup>1</sup>は有機基、または親水基、または水素原子であり；A<sup>2</sup>はオリゴヌクレオチドモイエティーであり；X<sup>1</sup>は疎水基であり；およびX<sup>2</sup>は、直接結合、有機基、または-O-、-S-、-S(=O)-、-S(=O)<sub>2</sub>-、-S-S-、-N=、=N-、-N(H)-、-N=N-N(H)-、-N(H)-N=N-、-N(OH)-、または-N(=O)-からなる群より選ばれるヘテロ原子基である。いくつかの実施態様では、A<sup>1</sup>は、親水基、例えば、カルボン酸基(-COOH)またはその薬学的に許容可能な塩などのようなものである。いくつかの実施態様において、疎水基は、C<sub>12-22</sub>ヒドロカルビレン基であり、それは随意に置換される。いくつかの実施形態では、X<sup>2</sup>は-O-、-NH-、または有機基、例えば、-NH-Z<sup>1</sup>-O-C(O)-または-O-Z<sup>1</sup>-O-C(O)-などのようなものであり、式中、Z<sup>1</sup>はC<sub>1-6</sub>アルキレン基であり、それは随意に-OHによって一回以上置換される。

20

【0008】

第二の態様では、本開示は、組成物(例は、薬剤組成物)を提供し、それには、以下の：第一の態様の任意の実施形態の化合物；およびタンパク質が含まれる。いくつかの実施形態では、タンパク質はアルブミンまたはアルブミンミメティックである。

30

【0009】

第三の態様において、本開示は、組成物(例は、薬剤組成物)を提供し、それには、以下の：第一の態様の任意の実施形態の化合物；およびタンパク質であって、そこでは、タンパク質は、アルブミンまたはアルブミンミメティックであるもの；および、担体であって、それには、水が含まれるものが含まれ；そこでは、化合物およびタンパク質は互いに非共有結合的に会合し；および、そこでは、化合物およびタンパク質は担体によって溶媒和される。

【0010】

第四の態様では、本開示は、ガンを処置する方法を提供し、それには、前述の任意の態様の任意の実施形態の化合物または組成物を対象に施すことが含まれる。そのいくつかのさらなる実施形態において、本開示は、ガンを処置する方法を提供し、それには、一以上の免疫療法剤を対象に施すことが含まれる。

40

【0011】

第五の態様では、本開示は、ガン細胞においてアポトーシスを誘導する方法を提供し、それには、ガン細胞を第一から第三までの任意の態様の任意の実施形態の化合物または組成物と接触させることが含まれる。そのいくつかのさらなる実施形態において、本開示は、ガン細胞においてアポトーシスを誘導する方法を提供し、それには、ガン細胞を一以上の免疫療法剤と接触させることが含まれる。

【0012】

第六の態様では、本開示は、ガン性腫瘍の増殖を抑制するための方法を提供し、それに

50

は、ガン性腫瘍を第一の態様の任意の実施形態の化合物と接触させることが含まれる。そのいくつかのさらなる実施形態では、本開示は、ガン性腫瘍の増殖を抑制する方法を提供し、それには、ガン性腫瘍を一以上の免疫療法剤と接触させることが含まれる。

【0013】

第七の態様では、本開示は、第一から第三までの任意の態様の任意の実施形態の化合物または組成物の薬としての使用を提供する。

【0014】

第八の態様では、本開示は、第一から第三までの任意の態様の任意の実施形態の化合物または組成物のガン処置のための使用を提供する。そのいくつかのさらなる実施形態において、本開示は、一以上の免疫療法剤と組合せでの使用が含まれる使用を提供する。

【0015】

第九の態様では、本開示は、第一から第三までの任意の態様の任意の実施形態の化合物または組成物の薬の製造における使用を提供する。

【0016】

第十の態様では、本開示は、第一から第三までの任意の態様の任意の実施形態の化合物または組成物のガン処置のための薬剤の製造における使用を提供する。

【0017】

第十一の態様では、本開示は、第一および第二の態様の化合物ならびに第三および第四の態様の組成物を作成する方法を提供する。

【0018】

さらなる態様および実施形態は、図面、詳細な記載、請求の範囲、および要約において提供する。

【図面の簡単な説明】

【0019】

以下の図面は、ここに開示する化合物、組成物、方法、および使用の様々な実施形態を例示する目的のために提供する。図面は、例示目的だけで提供し、および任意の好適化合物もしくは組成物または任意の好適方法もしくは使用を説明することや、または請求する発明の範囲に対する何らかの制限の源としての役割を果たさせることを意図しない。

【0020】

【図1】式(1)の化合物の非制限的な例を示し、そこで、化合物には、オリゴヌクレオチドモイエティーが含まれ、それは長鎖二塩基酸モイエティーを含むように修飾される。

【図2】式(1)の非制限的化合物の精製形態の(a)分析HPLCトレース(上)および(b)MALDI-TOF質量スペクトル(下)を示す。

【図3】式(1)の非制限的化合物の精製形態の(a)分析HPLCトレース(上)および(b)MALDI-TOF質量スペクトル(下)を示す。

【図4】式(1)の非制限的化合物の精製形態の(a)分析HPLCトレース(左)および(b)MALDI-TOF質量スペクトル(右)を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

詳細な記載

以下の説明は、ここに開示する本発明の様々な態様および実施形態を列挙する。どの特定の実施形態も本発明の範囲を規定することを意図しない。むしろ、実施形態は、請求される発明の範囲内に含まれる様々な組成物および方法の非制限的な例を提供する。説明は、本技術において通常の技量の者(当業者とも言う)の観点から読むべきである。したがって、通常の熟練した職人によく知られる情報は必ずしも含まない。

定義

【0022】

以下の用語および語句は、ここで別なふうに提供されない限り、以下に指し示す意味を有する。本開示は、ここで明示的に規定しない他の用語および語句を採用し得る。そのような他の用語および語句は、それらがこの開示の関連内で本技術において通常の技量の人

10

20

30

40

50

々に関して所有するであろう意味を有すべきである。いくつかの場合には、用語または語句は単数形または複数形において規定されてよい。そのような場合には、それとは反対に明記しない限り、単数形の任意の用語はその複数形の対応物を含んでよく、および逆も同様であることが理解される。

#### 【0023】

ここで使用するように、単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈から別なふうに明確に指図されない限り、複数の指示対象を含む。例えば、「置換基」への言及は、単数の置換基ならびに二以上の置換基、およびその他同種類のものなどを包含する。

#### 【0024】

ここで使用するように、「例えば」、「例として」、「などのような」、または「含めて」は、より一層一般的な主題をさらに明確にする例を紹介することを意味する。別なふうに明示的に指し示さない限り、そのような例は、本開示において例示する実施形態を理解するための補助としてだけ提供され、およびいかなる様式においても制限することを意図しない。これらの語句は、開示する実施形態について何らの種類の優先傾向 (preference) も指し示さない。

10

#### 【0025】

ここで使用するように、「炭化水素」は、炭素および水素から構成される有機基に言及し、それは飽和または不飽和であることができ、および芳香族基を含むことができる。「ヒドロカルビル」という用語は、一価または多価 (例は、二価以上) の炭化水素モイエティーに言及する。いくつかの場合には、二価のヒドロカルビル基は「ヒドロカルビレン」

20

#### 【0026】

ここで使用するように、「アルキル」は、1ないし30個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖の飽和炭化水素に言及し、それは随意に置換されてよく、ここでさらに説明するように、複数の置換度が許容される。「アルキル」の例には、ここで使用するように、制限されないが、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、イソブチル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、イソペンチル、n-ペンチル、ネオペンチル、n-ヘキシル、および2-エチルヘキシルが含まれる。いくつかの場合には、「アルキル」基は二価であることができ、その場合、その基は代わりに「アルキレン」基と称することができる。また、いくつかの場合には、アルキルまたはアルキレン基において一またはそれよりも多く (一以上とも言う) の炭素原子をヘテロ原子によって置き換えることができ (例は、窒素、酸素、またはいおうから選ばれ、実現可能な場合、N-酸化物、いおう酸化物、二酸化いおう、およびカルボニル基が含まれ)、およびそれぞれ「ヘテロアルキル」または「ヘテロアルキレン」基と称される。非制限的な例には、「オキシアルキル」または「オキシアルキレン」基が含まれ、それらは、アルキルまたはアルキレン基において炭素原子が酸素によって置き換えられる基に言及する。オキシアルキルまたはオキシアルキレン基の非制限的な例には、アルキルまたはアルキレン鎖が含まれ、それには、カルボニル基、およびまたアルコキシラート、ポリアルキレンオキシド、およびその他同種類のものなども含まれる。

30

#### 【0027】

任意の基または化合物において炭素原子の数は、条件によって表すことができる。したがって、「C<sub>z</sub>」はz個の炭素原子を有する化合物の群に言及し、「C<sub>x-y</sub>」はxからyまでの、包括的、炭素原子を含む基または化合物に言及する。例えば、「C<sub>1-6</sub>アルキル」は、1から6個までの炭素原子を有するアルキル基を代表し、および例えば、制限されないが、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、イソブチル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、イソペンチル、n-ペンチル、ネオペンチル、およびn-ヘキシルが含まれる。他のタイプの官能基にも同じ理論が適用され、以下に規定される。

40

#### 【0028】

ここで使用するように、「アルケニル」は、2ないし30個の炭素原子を有し、および一以上の炭素-炭素二重結合を有する直鎖または分枝鎖の非芳香族炭化水素に言及し、それは随意に置換されてよく、ここでさらに説明するように、複数の置換度が許容される。「

50



アルケニル」の例には、ここで使用するように、制限されないが、エテニル、2-プロペニル、2-ブテニル、および3-ブテニルが含まれる。いくつかの場合には、「アルケニル」基は二価であることができ、その場合、その基は代わりに「アルケニレン」基と称することができる。また、いくつかの場合、アルケニルまたはアルケニレン基において一以上の炭素原子をヘテロ原子によって置き換えることができ（例は、窒素、酸素、またはいおうから選ばれ、実現可能な場合、N-酸化物、いおう酸化物、二酸化いおう、およびカルボニル基が含まれ）、およびそれぞれ「ヘテロアルケニル」または「ヘテロアルケニレン」基と称する。

#### 【0029】

ここで使用するように、「シクロアルキル」は、3ないし20個の炭素原子を有する脂肪族飽和または不飽和炭化水素環系に言及し、それは随意に置換され得、ここでさらに説明するように、複数の置換度が許容される。いくつかの実施形態において、本用語は、飽和炭化水素環系だけに言及し、ここでさらに説明するように置換される。「シクロアルキル」の例には、ここで使用するように、制限されないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロオクチル、アダマンチル、およびその他同種類のものなどが含まれる。いくつかの場合、「シクロアルキル」基は二価であることができ、その場合、その基は代わりに「シクロアルキレン」基と称することができる。シクロアルキルおよびシクロアルキレン基はまた、ここでは「環状炭素 (carbocyclic rings、炭素環などとも言う)」と称することもできる。また、いくつかの場合には、シクロアルキルまたはシクロアルキレン基において一以上の炭素原子をヘテロ原子によって置き換えることができ（例は、窒素、酸素、けい素、またはいおうから無関係に選ばれ、N-酸化物、いおう酸化物、および二酸化いおうが、実現可能であれば含まれ）、およびそれぞれ「ヘテロシクリル」または「ヘテロシクリレン」基と称される。「複素環」という用語はまた、これらの用語のいずれかと交換可能に使用することもできる。いくつかの実施形態では、シクロアルキルおよびヘテロシクリル基は十分に飽和される。いくつかの他の実施形態では、シクロアルキルおよびヘテロシクリル基は一以上の炭素-炭素二重結合を含むことができる。

10

20

#### 【0030】

ここで使用するように、「ハロゲン」、「ハロゲン原子」、または「ハロ」は、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子に言及する。いくつかの実施形態では、本用語はフッ素または塩素原子に言及する。

30

#### 【0031】

ここで使用するように、用語「有機基」、「有機モイエティー」、または「有機残基」は、少なくとも一個の炭素原子を有する一価または多価の官能基に言及し、それは随意に、水素原子、ハロゲン原子、窒素原子、酸素原子、リン原子、およびいおう原子からなる群より選ばれる一以上の追加の原子を含み、およびそれは、共有結合した金属原子または半金属原子を含まない。いくつかの実施形態では、これらの用語は、有機基の金属塩、例えば、有機アニオンのアルカリ金属またはアルカリ土類金属の塩などのようなものを含むことができる。

#### 【0032】

ここで使用するように、「ファーマコフォア (pharmacophore、活性基、薬理作用団などとも言う)」という用語は、有機官能基のあるタイプに言及する。標準ファーマコフォアは、疎水性ファーマコフォア、水素結合供与性 (hydrogen-bond donating) ファーマコフォア、水素結合受容性 (hydrogen-bond accepting) ファーマコフォア、陽イオン化可能 (positive ionizable) ファーマコフォア、および陰イオン化可能ファーマコフォアである。化合物内の有機官能基の分類は、本技術において既知の標準的な分類システムに従って行う。

40

#### 【0033】

ここで使用するように、「疎水基」、「疎水性モイエティー」、または「疎水性残基」という用語は、疎水性ファーマコフォアから本質的になる有機基に言及する。いくつかの

50

実施形態では、本用語は、疎水性ファーマコフォアからなる有機基に言及する。

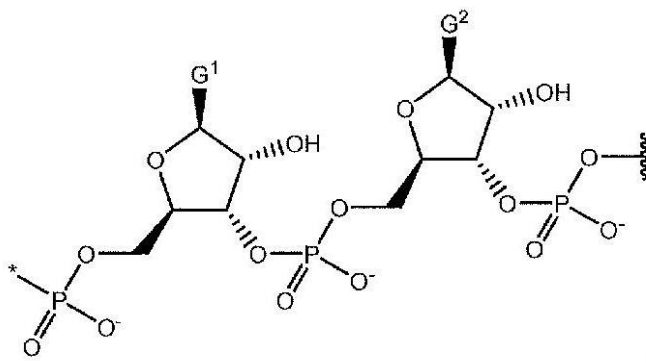
【0034】

ここで使用するように、「親水基」、「親水性モイエティー」または「親水性残基」という用語は、水素結合ドナー、水素結合アクセプター、陰イオン化可能基、または陽イオン化可能基からなる群より選ばれる一のファーマコフォアを含む有機基に言及する。いくつかの実施形態では、本用語は、水素結合ドナー、水素結合アクセプター、陰イオン化可能基、または陽イオン化可能基からなる群より選ばれるファーマコフォアから本質的になる有機基に言及する。

【0035】

ここで使用するように、「オリゴヌクレオチドモイエティー」という用語は、互いに連結された二以上のヌクレオチド単位（大抵は、2から200まで、または4から100まで、または5から50までのヌクレオチド単位）を含むモイエティー（一部分などとも言う）に言及する。そのような「オリゴヌクレオチドモイエティー」の非制限的な例は、以下の式：

【化2】

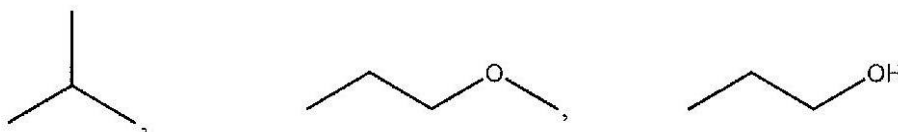


のモイエティーであり、式中、 $G^1$ および $G^2$ は塩基モイエティー、例えば、プリン-およびピリミジンベースのモイエティーで、アデニンモイエティー、グアニンモイエティー、シトシンモイエティー、チミンモイエティー、およびウラシルモイエティーを含むものであり、および式中、鉛直のくねった線（vertical squiggly line）はヌクレオチド単位およびホスホジエステル連結が右側に続くことを指し示す。「オリゴヌクレオチドモイエティー」という用語は、そのような化合物またはモイエティーを作成するために任意の特定の

【0036】

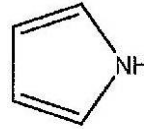
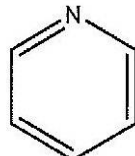
ここでは、化学構造を描写する様々な方法を使用する。場合によっては、化合物または部分を描くために、結合線構造法（bond line-structure method）を使用する。その線構造法では、線は化学結合を表し、および炭素原子は明示的には示さない（ただし、線の交差によって暗示する）。水素原子はまた、それらがヘテロ原子に結合する場合を除き、明示的には示さない。しかしながら、ヘテロ原子は明示的に示す。それゆえ、その方法論を使用すると、以下に示す構造は、2-メチルプロパン、1-メトキシプロパン、および1-プロパノールについてのものである：

【化3】



その方法論では、芳香環は典型的に、寄与共鳴構造（contributing resonance structures）の一つによってだけ表される。それゆえ、次の構造はベンゼン、ピリジン、およびピロールについてのものである：

## 【化 4】



## 【0037】

ここで使用するように、「タンパク質結合モイエティー」は、25 で水において少なくとも  $100\text{M}^{-1}$  の結合定数 ( $K_b$ ) によりタンパク質上の一以上の部位に非共有結合するモイエティーである。

10

## 【0038】

ここで使用するように「アミノ酸」は、構造  $\text{H}_2\text{N}-\text{R}^x-\text{COOH}$  を有する化合物に言及し、式中、 $\text{R}^x$  は有機基であり、および式中、 $\text{NH}_2$  は  $\text{R}^x$  と随意に結合し得る（例は、プロリンの場合のようである）。本用語は、任意の既知のアミノ酸を、制限されないが、アルファアミノ酸、ベータアミノ酸、ガンマアミノ酸、デルタアミノ酸、およびその他同種類のものなどを含めて、含む。いくつかの実施形態において、本用語はアルファアミノ酸に言及することができる。

## 【0039】

ここで使用するように、「ヒドロキシ酸」は、構造  $\text{HO}-\text{R}^y-\text{COOH}$  を有する化合物に言及し、式中、 $\text{R}^y$  は有機基である。非制限的な例には、グリコール酸、乳酸、およびカプロラクトンが含まれる。

20

## 【0040】

ここで使用するように、「アルカノールアミン」は、構造  $\text{HO}-\text{R}^z-\text{NH}_2$  を有する化合物に言及し、式中、 $\text{R}^z$  は随意に置換されたアルキレン基である。非制限的な例には、エタノールアミンが含まれる。

## 【0041】

ここで使用するように、「施す」または「施すこと」は、導入すること、例えば、化合物または組成物を対象に対して導入するなどのようなことを意味する。本用語は、任意の特定のデリバリーのモードに制限されず、および例えば、皮下デリバリー、静脈内デリバリー、筋肉内デリバリー、イントラシスターナル（intracisternal、のう内）デリバリー、注入技術によるデリバリー、経皮デリバリー、経口デリバリー、経鼻デリバリー、および直腸デリバリーを含むことができる。さらに、デリバリーのモードに応じて、施すことは、様々な個人によって、例えば、医療専門家（例は、医師、看護師、など）、製造者（pharmacist、薬剤師などとも言う）、または対象（即ち、自己-管理）を含めて、行うことができる。

30

## 【0042】

ここで使用するように、「処置する」または「処置すること」または「処置」は、以下の：疾患、障害、または状態の進行を遅らせること；疾患、障害、または状態をコントロールすること；疾患、障害、または状態に特徴的な一以上の徴候を改善すること；または、疾患、障害、または状態の性質、およびその特徴的な徴候に応じて、疾患、障害、または状態、またはその特徴的な徴候の再発を遅らせることのうちの一以上に言及することができる。

40

## 【0043】

ここで使用するように「対象」は、任意の哺乳動物に、例えば、制限されないが、ヒト、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ、マウス、ラット、イヌ、ネコ、および霊長類に、例えば、チンパンジー、ゴリラ、およびアカゲザルなどのようなものなどに言及する。いくつかの実施形態では、「対象」は人間である。いくつかのそのような実施形態では、「対象」は、疾患、障害、または状態の特徴的な一以上の徴候を見せるヒトである。「対象」という用語は、病院、診療所、または研究施設に関する特定のステータス（受け入れペイシェント（admitted patient、入院患者などとも言う）、研究参加者、またはその種の他のもの

50

など)を持つ必要はない。

【0044】

ここで使用するように、「化合物」という用語には、遊離酸、遊離塩基、およびそれらの塩が含まれる。

【0045】

ここで使用するように、「薬剤組成物」という用語は、哺乳動物宿主に、例は、経口、局所、非経口に、吸入スプレーによって、または直腸に、慣習的な非-毒性の担体、希釈剤、補助剤、ビヒクルおよびその他同種類のものを含む単位投薬量調剤物において施され得る組成物を表すために使用する。ここで使用するように、「非経口」という用語には、皮下注射、静脈内、筋肉内、のう内注射、または注入技術によってのものが含まれる。

10

【0046】

また、本開示の範囲内には、式(1)によって代表される化合物の個々の鏡像体またはその薬学的に許容可能な塩、ならびにそれらの任意の全体的または部分的ラセミ混合物も含まれる。本開示はまた、式(1)によって代表される化合物の個々の鏡像体またはその薬学的に許容可能な塩、ならびに一以上の立体中心が反転するそのジアステレオ異性体による混合物もカバーする。別なふうに述べない限り、ここに描く構造は、一以上の同位体濃縮(isotopically enriched)原子の存在においてだけ異なる化合物を含むことも意味する。例えば、本構造を有する化合物は、重水素またはトリチウムによっての水素原子の置換、または<sup>13</sup>C-または<sup>14</sup>C-濃縮炭素によっての炭素原子の置換を別にすれば、本開示の範囲内である。

20

【0047】

ここで使用するように、「混合する(mix)」または「混合した(mixed)」または「混合物」は、二以上の組成物の任意の組合せに広く言及する。二以上の組成物は同じ物理的状态を持つ必要はなく；それゆえ、固体を、例は、スラリー、懸濁物、または溶液を形成するために、液体と「混合する」ことができる。さらに、これらの用語は組成の任意の程度と同質性または均一性を必要としない。このことで、そのような「混合物」は同質または異質であることができ、または均一または不均一であることができる。さらに、本用語は、混合することを遂行するために、任意の特定の機器、例えば、工業用ミキサーなどのようなものの使用を必要としない。

30

【0048】

ここで使用するように、「随意に」は、その後に記載されるイベント(群)(event(s))、「(群)」は複数もあり得ることを示す)が発生しても、またはそうしなくてもよいことを意味する。いくつかの実施形態では、随意のイベントは発生しない。いくつかの他の実施形態では、随意のイベントは一以上の回数で発生するものである。

【0049】

ここで使用するように、「置換した(substituted)」は、指定したモイエティーの一以上の水素原子の、指名した置換基または置換基群による置換に言及し、別なふうに述べない限り、置換が安定な、または化学的に実現可能な化合物をもたらすという条件で、複数の置換度が許容される。安定な化合物または化学的に実現可能な化合物は、水分または他の化学的に反応性の条件の不存在下に少なくとも一週間、約-80 から約+40 までの温度に保たれるとき、化学構造が実質変動しないものである。ここで使用するように、「一以上の・・・により置換した」または「一以上の回数置換した・・・」という語句は、上記の安定性および化学的実現可能性の条件が満たされるならば、利用可能な結合部位の数に基づいて可能な置換基の一から最大数までに等しい置換基の数に言及する。

40

【0050】

ここで使用するように、「含む(comprise)」または「含む(comprises)」または「含むこと(comprising)」または「で構成された(compried of)」は、オープンであるグループに言及し、そのグループは、明示的に列挙されたメンバーに加えて追加のメンバーを含むことができることを意味する。例えば、「Aを含む」という語句は、Aが存在しな

50

ければならないが、他のメンバーも存在することができることを意味する。用語「含む (include)」、「有する (have、もつとも言う)」、「から構成された (composed of)」、およびそれらの文法上の変形は同じ意味をもつ。対照的に、「からなる (consist of)」または「からなる (consists of)」または「からなること (consisting of)」は、閉じられるグループに言及する。例えば、「Aからなる」という語句は、Aが唯一無二でAが存在することを意味する。ここで使用するように、「から本質的になる (consist essentially of)」、「から本質的になる (consists essentially of)」、および「から本質的になること (consisting essentially of)」という語句は、オープンであるが、クレームされた主題の基本的な特徴に質料的に (materially) 影響しないであろう追加の不特定の (unnamed) メンバーだけが含まれるグループに言及する。

10

## 【0051】

ここで使用するように、「または」は、その最も広い合理的な解釈が与えられるべきであり、およびいずれか/またはの解釈 (either/or construction) に制限されない。それゆえ、「AまたはBを含むこと」という語句は、Aが存在することができ、およびBはそうでなく、またはBが存在するが、およびAはそうでなく、またはAおよびBの双方が存在することを意味する。さらに、例えば、Aが複数のメンバー、例は、 $A_1$ および $A_2$ をもつことができるクラスを規定する場合、そのときそのクラスの一以上のメンバーは同時に存在することができる。

## 【0052】

ここで使用するように、代表される様々な官能基は、ハイフンもしくはダッシュ (-) またはアスタリスク (\*) と組み合わせて使用されるダッシュを有する官能基にて付着の点を有すると理解される。言い換えると、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  または  $^*\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  のケースでは、付着の点は左端での $\text{CH}_2$ 基であることが理解される。基がアスタリスクまたはダッシュなしで列挙される場合、そのとき付着点は列挙された基のプレーン (単純とも言う) な、および通常の意味によって指し示される。

20

## 【0053】

ここで使用するように、多原子二価種 (multi-atom bivalent species) は左から右へと読み取られる。例えば、明細またはクレームがA-D-Eを列挙し、およびDが $-\text{OC}(\text{O})-$ として規定される場合、Dが置き換えられた結果として得られる基は：A- $\text{OC}(\text{O})$ -Eであり、およびA- $\text{C}(\text{O})\text{O}$ -Eではない。

30

## 【0054】

他の用語は、たとえこのサブセクションに含まれていなくても、この説明の他の構成部分において規定される。

## 【0055】

修飾オリゴヌクレオチド

## 【0056】

少なくとも一の態様では、本開示は式 (I) :

## 【化5】



(I)

40

の化合物を提供し、式中： $\text{A}^1$ は親水基、または水素原子、または有機基であり； $\text{A}^2$ はオリゴヌクレオチドモイエティーであり； $\text{X}^1$ は疎水基であり；および $\text{X}^2$ は、直接結合、有機基、または $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}-\text{S}-$ 、 $-\text{N}=\text{N}-$ 、 $=\text{N}-$ 、 $-\text{N}(\text{H})-$ 、 $-\text{N}=\text{N}-\text{N}(\text{H})-$ 、 $-\text{N}(\text{H})-\text{N}=\text{N}-$ 、 $-\text{N}(\text{OH})-$ 、または $-\text{N}(=\text{O})-$ からなる群より選ばれる基である。

## 【0057】

いくつかの実施態様では、 $\text{A}^1$ は有機基である。 $\text{A}^1$ は任意の適切な数の炭素原子を含むことができる。いくつかの実施態様では、例えば、 $\text{A}^1$ は1から100個までの炭素原子、または1から50個までの炭素原子、または1から25個までの炭素原子、または1から10個までの炭素原子、または1から6個までの炭素原子を含む。 $\text{A}^1$ はまた、一以上のヘテロ原子、例えば

50

、窒素、酸素、いおう、またはりんを含むことができる。

【0058】

任意の上記の実施態様に従ういくつかの実施態様において、 $A^1$ は親水基またはモイエティーである。親水基の非制限的な例には、以下に制限されないが、カルボン酸モイエティー、エステルモイエティー、アミドモイエティー、尿素モイエティー、アミンモイエティー、エーテルモイエティー、アルコールモイエティー、チオエーテルモイエティー、チオールモイエティー、ケトンモイエティー、アルデヒドモイエティー、スルファートモイエティー、チオスルファートモイエティー、スルファイトモイエティー、チオスルファイトモイエティー、ホスファートモイエティー、ホスホナートモイエティー、ホスフィナートモイエティー、ホスファイトモイエティー、ボラートモイエティー、またはボロナートモイエティーが含まれる。

10

【0059】

任意の上記実施態様に従ういくつかの実施態様において、 $A^1$ は、カルボン酸基 ( $-COOH$ )、カルボキシラートアニオン ( $-COOH^-$ )、またはカルボキシラートエステル ( $-COOR^a$ 、式中、 $R^a$ は有機基、例えば、アルキルまたはアルコキシラート基などのようなものである)。いくつかのそのような実施態様では、 $A^1$ はカルボン酸基である。いくつかのそのような実施態様では、 $A^1$ はカルボキシラートエステル基である。

【0060】

任意の前述の実施態様に従ういくつかの実施態様において、 $A^1$ は水素原子である。任意の前述の実施形態のいくつかの他の実施形態では、 $A^1$ はヒドロキシル ( $-OH$ ) 基である。

20

【0061】

任意の前記実施形態において、 $X^1$ は、任意の適切な数の炭素原子を有する疎水基であることができる。いくつかの実施形態では、例えば、 $X^1$ は、1から100個までの炭素原子、または1から50個までの炭素原子、または1から25個までの炭素原子を含む。

【0062】

任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、 $X^1$ は、 $C_{8-30}$ ヒドロカルビレンであり、それは随意に置換される。いくつかのさらなる実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ ヒドロカルビレンであり、それは随意に置換される。いくつかのさらなる実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ アルキレンである。いくつかのさらなる実施形態では、 $X^1$ は $-(CH_2)_{12}-$ 、 $-(CH_2)_{14}-$ 、 $-(CH_2)_{16}-$ 、 $-(CH_2)_{18}-$ 、 $-(CH_2)_{20}-$ 、または $-(CH_2)_{22}-$ である。いくつかの他の実施形態では、 $X^1$ は $-(CH_2)_{16}-$ である。いくつかのさらなる実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ アルケニレンである。いくつかのさらなるそのような実施形態では、 $X^1$ は $-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-$ である。

30

【0063】

任意の前記実施形態のいくつかのさらなる実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ ヒドロカルビレンであり、それは随意に置換される。いくつかのかかる実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ ヒドロカルビレンである。いくつかのさらなるかかる実施形態では、 $X^1$ は $C_{14-22}$ ヒドロカルビレンである。いくつかのさらなるかかる実施形態では、 $X^1$ は $C_{16-22}$ ヒドロカルビレンである。任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ ヒドロカルビレンであり、そこでは、 $A^1$ および $X^2$  (または $X^2$ が直接結合である場合、 $A^2$ ) は、少なくとも6による、または少なくとも8による、または少なくとも10による、または少なくとも12による、または少なくとも14による炭素原子で互いに分けられる。いくつかのさらなるかかる実施形態では、 $X^1$ は $C_{14-22}$ ヒドロカルビレンであり、そこでは、 $A^1$ および $X^2$  (または $X^2$ が直接結合の場合、 $A^2$ ) は、少なくとも6による、または少なくとも8による、または少なくとも10による、または少なくとも12による、または少なくとも14による炭素原子で互いに分けられる。いくつかのさらなるかかる実施形態において、 $X^1$ は $C_{16-22}$ ヒドロカルビレンであり、そこでは、 $A^1$ および $X^2$  (または $X^2$ が直接結合である場合、 $A^2$ ) は、少なくとも6による、または少なくとも8による、または少なくとも10による、または少なくとも12による、または少なくとも14による炭素原子で互いに分けられる。任意の前記実施形態のいくつかのさらなる実施形態では、 $X^1$ は $C_{12-22}$ 直鎖アルキレン、または $C_{14-22}$ 直鎖アルキレン、または $C_{16-22}$ 直鎖アルキレンである。任意の前記実施形態のいくつかのさらなる実施形態では

40

50

$X^1$ は $C_{12-22}$ 直鎖アルケニレン、または $C_{14-22}$ 直鎖アルケニレン、または $C_{16-22}$ 直鎖アルケニレンである。

【0064】

任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、 $X^2$ は直接結合である。任意の前記実施形態のいくつかの他の実施形態では、 $X^2$ は有機基である。いくつかの実施形態では、 $X^2$ は親水基である。いくつかの実施形態では、 $X^2$ はヘテロアルキレン基である。

【0065】

任意の前記実施形態において、そこで $X^2$ が有機基であり、 $X^2$ は任意の適切な数の炭素原子を含むことができる。いくつかの実施形態では、例えば、 $X^2$ は1から100個までの炭素原子、または1から50個までの炭素原子、または1から25個までの炭素原子、または1から10個までの炭素原子、または1から6個までの炭素原子を含む。

10

【0066】

任意の前記実施形態では、そこで $X^2$ がヘテロアルキレン基であり、 $X^2$ は任意の適切な数の炭素原子を含むことができる。いくつかの実施形態では、例えば、 $X^2$ は1から100個までの炭素原子、または1から50個までの炭素原子、または1から25個までの炭素原子、または1から10個までの炭素原子、または1から6個までの炭素原子を含む。

【0067】

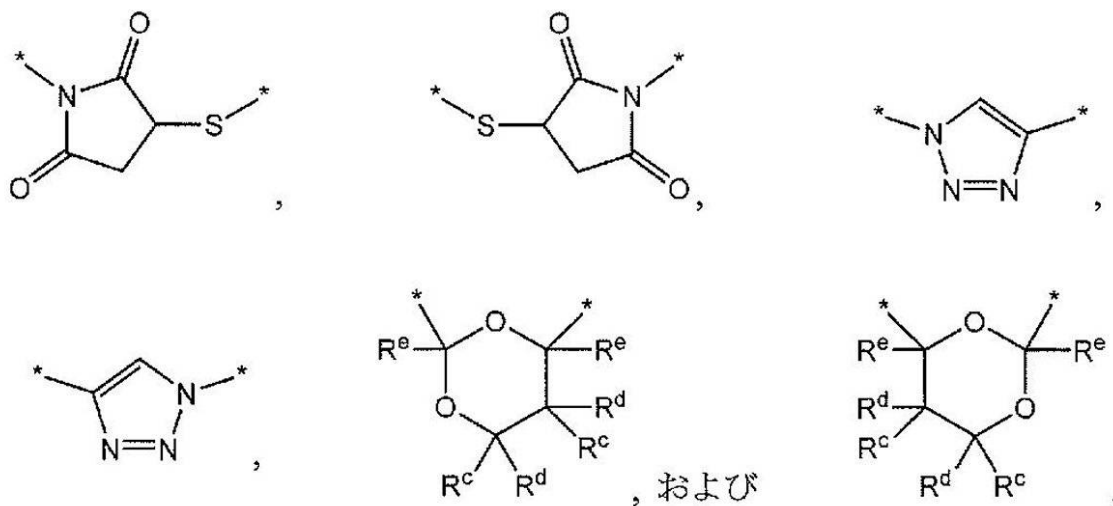
いくつかの前記実施形態では、 $X^2$ は一定の基を含むことができる。かかる基のいくつかの非制限的な例は、 $X^2$ が含むことができるもので、ポリアルキレンオキシド基、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)および様々なポリペプチド鎖などのようなものである。

20

【0068】

いくつかの実施形態では、 $X^2$ は、 $-C(=O)-$ 、 $-C-C-$ 、 $-C(H)=C(H)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 、 $-NH-C(=O)-$ 、 $-NH-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-NH-$ 、 $-O-C(=O)-O-$ 、 $-C(=N-NH_2)-$ 、 $-C(=N-R^b)-$ (式中、 $R^b$ は水素原子またはアルキル基であり)、 $-C(=N-OH)-$ 、 $-NH-C(=O)-NH-$ 、 $-NH-C(=S)-NH-$ 、 $-NH-C(=S)-O-$ 、 $-O-C(=S)-NH-$ 、 $-NH-C(=O)-S-$ 、 $-S-C(=O)-NH-$ 、 $-NH-C(=S)-S-$ 、 $-S-C(=S)-NH-$ 、および以下に示す環状構造：

【化6】



30

40

からなる群より選ばれる有機基であり、式中、 $R^c$ 、 $R^d$ 、および $R^e$ は、それぞれ無関係に、水素原子または $C_{1-10}$ アルキルである。いくつかのさらなる実施形態では、 $X^2$ は $-C(=O)-$ である。

【0069】

いくつかの実施態様では、 $X^2$ は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-S(=O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N=$ 、 $=N-$ 、 $-N(H)-$ 、 $-N=N-N(H)-$ 、 $-N(H)-N=N-$ 、 $-N(OH)-$ 、および $-N(O)-$ からなる群より選ばれる基である。

【0070】

50

いくつかの実施態様では、 $X^2$ は、次の：-O-、-NH-、-S-や、アルキレングリコールから形成される一以上のモイエティー、アルカノールアミンから形成される一以上の単位、アミノ酸から形成される一以上の単位、およびヒドロキシ酸から形成される一以上の単位からなる群より選ばれる一以上のモイエティーを含む。それゆえ、いくつかの実施形態では、 $X^2$ は、アルキレングリコール、例えば、1ないし25個のエチレングリコール単位を有する短いポリ(エチレングリコール)鎖などのようなものから形成される一以上のモイエティーを含む。いくつかの実施形態では、 $X^2$ は、アミノ酸から形成される一以上のモイエティー、例えば、1ないし25個のアミノ酸単位を有するオリゴペプチド鎖などのようなものを含む。いくつかの実施形態では、 $X^2$ は、ヒドロキシ酸から形成される一以上のモイエティー、例えば、グリコール酸、乳酸、またはカプロラクトンから形成されるモイエティーなどのようなものを含む。いくつかの実施形態では、 $X^2$ は、1ないし25個のエチレングリコール単位を有するポリ(エチレングリコール)鎖および1ないし25個のアミノ酸単位を有するオリゴペプチド、および随意にヒドロキシ酸から形成される一以上の単位の組合せを含む。いくつかの実施形態では、 $X^2$ は-O-、-S-、-NH-、または有機基であり、例えば、-C(O)-O-Z<sup>1</sup>-NH-、-C(O)-O-Z<sup>1</sup>-O-、-C(O)-O-Z<sup>1</sup>-S-などのようなものであり、式中、Z<sup>1</sup>はC<sub>1-6</sub>アルキレン基であり、それは随意に-OHによって一回以上置換される。いくつかのかかる実施形態では、Z<sup>1</sup>はエチレンである。いくつかのかかる実施形態では、Z<sup>1</sup>は-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-である。

10

#### 【0071】

任意の上記実施形態において、 $X^2$ の選定は、官能基のタイプに依存し、それを通して、化学的に不安定または不可能な化合物の作成を避けるために、それがオリゴヌクレオチドモイエティーに連結される。熟練した職人は、化学的に安定な化合物をもたらし $X^2$ および $A^2$ の組合せを選ぶことができ、それは、少なくとも一週間、水分または他の化学反応性条件の不存在下、約-80 から約+40 までの温度に保たれるとき、化学構造が実質変わらない化合物である。

20

#### 【0072】

上記実施形態において、 $A^2$ は、上記に示す定義に従って、任意の適切なオリゴヌクレオチドモイエティーであることができる。かかるオリゴヌクレオチドモイエティーは、任意の適切な数のヌクレオチド単位を含むことができる。いくつかの実施態様において、オリゴヌクレオチドモイエティーは、2から200までのヌクレオチド単位、または3から150までのヌクレオチド単位、または4から100までのヌクレオチド単位、または5から50までのヌクレオチド単位、または6から40までのヌクレオチド単位を含む。

30

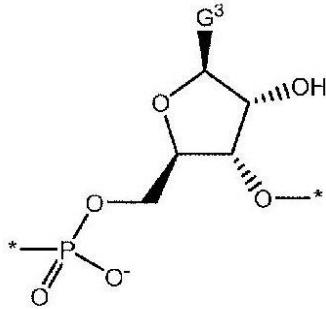
#### 【0073】

ここで使用するように、「ヌクレオチド単位」という用語は、ホスファートベースのモイエティー、環状ヒドロキシ置換エーテルモイエティー、および窒素塩基(nitrogenous base、窒素含有塩基とも言う)から形成されるモイエティーに言及する。大抵は、ホスファートベースのモイエティーおよび窒素塩基は、環状ヒドロキシル置換エーテルの環状エーテル基の異なる位置から置換基オフ(substituents off)を形成し、およびオリゴヌクレオチドモイエティーでは、モイエティーの骨格はホスファートベースのモイエティーおよび環状ヒドロキシル置換エーテルモイエティーから形成される交互基(alternating groups)を含む。以下の式のモイエティーは、かかるヌクレオチド単位の非制限的な例を表し、そこで、 $G^3$ は、窒素塩基から形成されるモイエティー、例えば、アデニンモイエティー、シトシンモイエティー、グアニンモイエティー、チミンモイエティー、またはウラシルモイエティーなどのようなものである：

40



## 【化 7】



10

## 【0074】

任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、ホスファートベースのモイエティーは、ホスファートモイエティー、例えば、上記に示すようなものである。いくつかの実施形態では、一以上の酸素原子を、ホスホロチオアートモイエティーを形成するために、いおうによって置き換えることができる。かかるホスホロチオアートモイエティーの例には、例えば、 $-P(=S)(O^-)-O-$  などのようなモイエティーが含まれる。いくつかの他の実施形態では、ホスファートのアニオン性酸素原子は、有機基、例えば、アルキルまたはアルキルオキシ基などのようなものによって置き換えられる。

## 【0075】

任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、環状ヒドロキシ置換エーテルモイエティーは、環状リボースモイエティー（例は、上記に示すようなものなど）または2-デオキシリボースモイエティーである（そこで、リボースでの2'位置は非置換である）。双方の場合、1'位置での-OH基は窒素塩基モイエティーによって置き換えられる。いくつかの実施形態では、環状ヒドロキシ置換エーテルモイエティーはリボースモイエティーであり、そこで、2'位置でのヒドロキシル基は、有機基によって、例えば、メトキシ基、メトキシエトキシ基、またはアミノエトキシ基などのようなもので置き換えられる。いくつかの実施形態では、環状ヒドロキシ置換エーテルモイエティーはリボースモイエティーであり、そこで、2'位置でのヒドロキシル基はハロゲン原子によって、例えば、フッ素などのようなもので置き換えられる。いくつかの実施形態では、特にそこで、一定のヌクレオチド単位がオリゴヌクレオチド鎖において末端単位である場合、2'位置でのヒドロキシル基は窒素塩基によって、例えば、チミンなどのようなもので置き換えられる。いくつかのかかる実施形態では、末端ヌクレオチドのリボースまたはデオキシリボースの3'位置はヒドロキシル基である。環状ヒドロキシ置換エーテルモイエティーがリボースモイエティー、デオキシリボースモイエティー、または前述のいずれかの誘導体である実施形態では、オリゴヌクレオチドは大抵、上記に示すように、5'および3'位置を通して連結することによって形成される。いくつかのかかる実施形態では、 $-X^2-X^1-A^1$ モイエティーは5'位置に最も近くコンジュゲートする（例は、ホスファートベースのモイエティーを介する）。

20

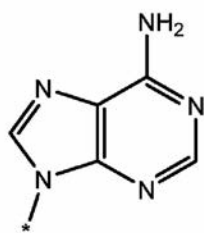
30

## 【0076】

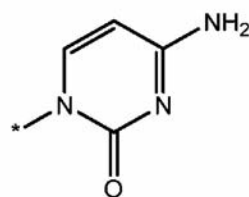
いくつかの実施形態では、窒素塩基モイエティーは、アデニンモイエティー、グアニンモイエティー、シトシンモイエティー、チミンモイエティー、およびウラシルモイエティーからなる群より選ばれる。いくつかの他の実施形態では、窒素塩基は、前述のものの一定のミメティック、例えば、ジヒドロウラシルなどのようなものから選ぶこともできる。アデニンおよびグアニンモイエティーは典型的に、イミダゾール環でのN-H基を介してリボースまたはデオキシリボースモイエティーに接続する。窒素塩基モイエティーの例を以下および次のページに示す。

40

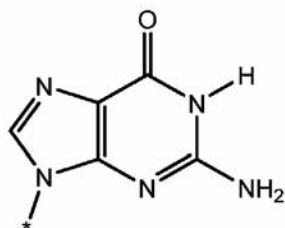
## 【化 8】



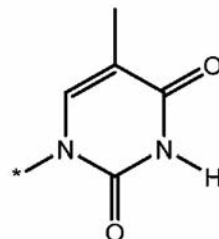
アデニンモイエティー



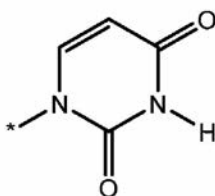
シトシンモイエティー



グアニンモイエティー



チミンモイエティー



ウラシルモイエティー

10

20

## 【0077】

30

任意の前記実施形態によるオリゴヌクレオチドモイエティーは、一本鎖または二本鎖であることができる。二本鎖の実施形態では、相補的オリゴヌクレオチドは、水素結合および/または スタッキングを介してオリゴヌクレオチドモイエティーに非共有結合する。かかる実施形態では、 $-X^2-X^1-A^1$ モイエティーは、塩基対間の水素結合および/または スタッキングを介して、他の鎖（例は、ガイド鎖）に非共有結合する二つの鎖の一つ（例は、パッセンジャー鎖）にコンジュゲートする。

## 【0078】

$-X^2-X^1-A^1$ の選定はオリゴヌクレオチドモイエティーへの接続の性質に依存することができる。

## 【0079】

40

$-X^2-X^1-A^1$ がC(=O)基に、またはP(=O)基に、またはP(=S)基に接続する実施形態では大抵、オリゴヌクレオチドモイエティーに連結するときの場合にそうであるように、そのとき、 $-X^2-X^1-A^1$ は、次の： $-O-(CH_2)_{n_2}-C(=O)-OH$ ； $-NH-(CH_2)_{n_2}-C(=O)-OH$ ； $-NH-(C_{1-6}\text{アルキレン})-O-C(=O)-(CH_2)_{n_1}-C(=O)-OH$ ； $-O-(C_{1-6}\text{アルキレン})-O-C(=O)-(CH_2)_{n_1}-C(=O)-OH$ ； $-NH-(C_{1-6}\text{アルキレン})-O-C(=O)-(CH_2)_{n_1}-C(=O)-OCH_3$ ； $-O-(C_{1-6}\text{アルキレン})-O-C(=O)-(CH_2)_{n_1}-C(=O)-OCH_3$ ； $-NH-(C_{1-6}\text{アルキレン})-O-C(=O)-(CH_2)_{n_1}-CH_3$ ； $-O-(C_{1-6}\text{アルキレン})-O-C(=O)-(CH_2)_{n_1}-CH_3$ ； $-NH-(C_{1-6}\text{アルキレン})-C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_{n_3}(CH_2)_{n_2}-C(=O)-OH$ ；および $-O-(C_{1-6}\text{アルキレン})-C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_{n_3}(CH_2)_{n_2}-C(=O)-OH$ からなる群より選ばれ；式中、 $n_1$ は12ないし24の整数であり、 $n_2$ は13から25までの整数であり、および $n_3$ は1から25までの整数である。さらにいくつかのかかる実施形態において、 $-X^2-X^1-A^1$ は、次

50

の：-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n2</sub>-C(=O)-OH；-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>n2</sub>-C(=O)-OH；-NH-(C<sub>1-6</sub>アルキレン)-O-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-C(=O)-OH；-O-(C<sub>1-6</sub>アルキレン)-O-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-C(=O)-OH；-NH-(C<sub>1-6</sub>アルキレン)-O-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-C(=O)-OCH<sub>3</sub>；および-O-(C<sub>1-6</sub>アルキレン)-O-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-C(=O)-OCH<sub>3</sub>からなる群より選ばれる。いくらかのさらなるかかる実施形態では、-X<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>-A<sup>1</sup>は、次の：-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n2</sub>-C(=O)-OH；-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>n2</sub>-C(=O)-OH；-NH-(C<sub>1-6</sub>アルキレン)-O-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-C(=O)-OH；および-O-(C<sub>1-6</sub>アルキレン)-O-C(=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-C(=O)-OHからなる群より選ばれる。任意の前記実施形態のいくらかの実施形態では、n1は14から22まで、または16から20までの整数である。任意の前記実施形態のいくらかの実施形態では、n2は15から23まで、または17から21までの整数である。任意の前記実施形態のいくらかの実施形態では、n3は1から15まで、または1から10まで、または1から6までの整数である。いくらかのかかる実施形態では、-X<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>-A<sup>1</sup>は-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n3</sub>-OHであり、そこで、n3は14から26までの整数、または16から24までの整数、または18から22までの整数である。

10

#### 【0080】

任意の上記実施形態に記載される化合物は、薬学的に許容可能な塩として存在することもできる。「薬学的に許容可能な塩」という用語は、生物学的に、または別なふうに望ましくないものでない化合物の塩に言及し、および大抵は、遊離塩基を適切な有機または無機酸と反応させることによって、または酸を適切な有機または無機塩基と反応させることによって調製される。代表的な塩には、以下の塩が含まれる：酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩、重硫酸塩、重酒石酸塩、ホウ酸塩、臭化物、カルシウムエデト酸塩、カムシラート、炭酸塩、塩化物、クラブラン酸塩、クエン酸塩、二塩酸塩、エデト酸塩、エジシラート、エストラート、エシラート、フマル酸塩、グルセブタート、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニラート（グリコリルアルサニル酸塩）、ヘキシルレゾルシン酸塩、ヒドラバミン（hydrabamine）、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトアート、ヨウ化物、イセチオナート、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、ラウラート（ラウリン酸塩）、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシラート、メチル臭化物、メチル硝酸塩、メチル硫酸塩、マレイン酸-カリウム、ムカート（ムチン酸塩）、ナプシル酸塩（napsylate）、硝酸塩（ナイトラート）、N-メチルグルカミン、シュウ酸塩、パモ酸塩（エンボナート）、パルミタート、パントテン酸塩、リン酸塩/ニリン酸塩、ポリガラクトツロ酸塩（polygalacturonate）、カリウム、サリチル酸塩、ナトリウム、ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩（subacetate）、コハク酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩、テオクル酸塩（テオクラート）、トシラート、トリエチオジド、トリメチルアンモニウム、および吉草酸塩である。酸性置換基、例えば、-COOHなどのようなものが存在するとき、剤形として使用するために、アンモニウム、モルホリニウム、ナトリウム、カリウム、バリウム、カルシウム塩、およびその他同種類のものなどを形成することができる。塩基性基、例えば、アミノまたは塩基性ヘテロアリーラジカル、例えば、ピリジルなどのようなものが存在するとき、酸性塩、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、りん酸塩、硫酸塩、トリフルオロ酢酸塩、トリクロロ酢酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、ピルビン酸塩、マロン酸塩、こはく酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、マンデル酸塩、安息香酸塩、けい皮酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ピクリン酸塩、およびその他同種類のものなどを形成することができる。

20

30

40

#### 【0081】

上記の化合物は、標準的な合成方法、例えば、次の：Sudhir Agrawal（スディール・アグラワル）、Protocols for Oligonucleotides and Analogs-Synthesis and Properties（オリゴヌクレオチドおよび類似体についてのプロトコル-合成および特性）（Methods in Molecular Biology（メソッド・イン・モレキュラー・バイオロジー）、Volume 20（第20巻）、1993、Springer-Verlag New York, LLC（シュプリングラー・フェアラーク・ニュー・ヨーク社））；Piet Herdewijn（ピエト・ヘルデウィジン）、Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications（オリゴヌクレオチド合成：方法と応用）（Methods in Molecular Biology、Volume 288、2005、Edition 1（初版）、Humana Press（ヒュマナ・プレス））；およびJohn Goodchild（ジョン・グッドチャイルド）、Therapeutic

50

Oligonucleotides: Methods and Protocols (治療用オリゴヌクレオチド：方法とプロトコル) (Methods in Molecular Biology, Volume 764, 2011, Edition 1, Humana Press, Springer Science + Business Media, LLC (シュプリンガー・サイエンス + ビジネス・メディア社)) において例示されるなどのようなものによって作成することができる。特定の非制限的な例を下記に実施例において示す。

【0082】

表3(下記)は、本開示によって企図される化合物の様々な例を示す。表3は、 $A^2$ -モイエティーと $-X^2-X^1-A^1$ との様々な組合せに言及し、それらは一緒に本開示の化合物を形成する。表1は、 $A^2$ -モイエティーについて例示的なモイエティーの例を示し、そこでは、 $A^2$ は示されたモイエティーであることができ、またはその薬学的に許容可能な塩でもあることができる。表2は、 $-X^2-X^1-A^1$ について例示的なモイエティーの例を示す。表3は、表1および2からのモイエティーの非制限的な例示的組合せを示し、それは一緒になって本開示の化合物を形成することができる。表3において開示する化合物は、実施例において例示されるものと類似の方法によって、および本技術において通常の技量の者に既知の普通の合成方法によって作成することができる。そのような化合物の適切な作成方法は、次の：Sudhir Agrawal, Protocols for Oligonucleotides and Analogs - Synthesis and Properties (Methods in Molecular Biology, Volume 20, 1993, Springer-Verlag New York, LLC) ; Piet Herdewijn, Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications (Methods in Molecular Biology, Volume 288, 2005, Edition 1, Humana Press) ; および John Goodchild, Therapeutic Oligonucleotides: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Volume 764, 2011, Edition 1, Humana Press, Springer Science + Business Media, LLC) において例示される。

【0083】

10

20

【表 1】

	<u>A<sup>2</sup>-モイエティ</u>	
HA1	<p>抗サバイビン siRNA (サバイビンは様々なガンにおいて過剰発現される遺伝子である) :</p> <p>パッセンジャー鎖 : 5'-GGACCACCGCAUCUCUACAdTdT-3'</p> <p>ガイド鎖 : 5'-UGUAGAGAUGCGGUGGUCCdTdT-3'</p> <p>または、その任意のフルオロフォア/発色団-標識バージョン、または安定化修飾、例えば、ホスホロチオアート、2'-フルオロリボース、2'-O-メチルリボースおよびその他などのようなものを含むその任意のフルオロフォア/発色団-標識または非標識バージョン</p>	10
HA2	<p>マイクロ RNA-122 ミミック (miR-122 は肝細胞ガンにおいて抑制される) :</p> <p>5'-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3'</p> <p>または、その任意のフルオロフォア/発色団-標識バージョン、または安定化修飾、例えば、ホスホロチオアート、2'-フルオロリボース、2'-O-メチルリボースおよびその他などのようなものを含むその任意のフルオロフォア/発色団-標識または非標識バージョン</p>	20
HA3	<p>抗β1インテグリンサブユニット siRNA (インテグリンは重要な細胞外マトリクス受容体であり、それはノックアウトするとき肝細胞ガンの増殖を抑制することが示された (Bogorad (ボゴラド) ら、Nat. Commun. (ネイチャー・コミュニケーションズ) 2014、5、3869 参照) :</p> <p>パッセンジャー鎖 : 5'-AGAUGAGGUUUAUUUGAAdTdT-3'</p> <p>ガイド鎖 : 5'-UUCAAAUUGAACCUCUAUCUdTdT-3'</p> <p>またはその任意のフルオロフォア/発色団-標識バージョン、または安定化修飾、例えば、ホスホロチオアート、2'-フルオロリボース、2'-O-メチルリボースおよびその他などのようなものを含むその任意のフルオロフォア/発色団-標識または非標識バージョン</p>	30
HA4	<p>抗αvインテグリンサブユニット siRNA (インテグリンは重要な細胞外マトリクス受容体であり、それはノックアウトするとき肝細胞ガンの増殖を抑制することが示された (Bogorad ら、Nat. Commun. 2014、5、3869 参照) :</p> <p>パッセンジャー鎖 : 5'-GCUUGAAAGAUCAUAAUCAdTdT-3'</p> <p>ガイド鎖 : 5'-UGAUUAUGAUCUUUCAAGCdTdT-3'</p> <p>または、その任意のフルオロフォア/発色団-標識バージョン、または安定化修飾、例えば、ホスホロチオアート、2'-フルオロリボース、2'-O-メチルリボースおよびその他などのようなものを含むその任意のフルオロフォア/発色団-標識または非標識バージョン</p>	40

【表 2】

	<u><math>-X^2-X^1-A^1</math> モイエティ</u>
HB1	$-O-(CH_2)_{15}-C(=O)-OH$
HB1	$-O-(CH_2)_{17}-C(=O)-OH$
HB3	$-O-(CH_2)_{19}-C(=O)-OH$
HB4	$-O-(CH_2)_8-CH=CH-(CH_2)_7-C(=O)-OH$
HB5	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{14}-C(=O)-OH$
HB6	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{16}-C(=O)-OH$
HB7	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{18}-C(=O)-OH$
HB8	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-C(=O)-OH$
HB9	$-O-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{14}-C(=O)-OH$
HB10	$-O-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{16}-C(=O)-OH$
HB11	$-O-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{18}-C(=O)-OH$
HB12	$-O-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-C(=O)-OH$
HB13	$-NH-CH_2-C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_6C(=O)-(CH_2)_{14}-C(=O)-OH$
HB14	$-NH-CH_2-C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_6C(=O)-(CH_2)_{16}-C(=O)-OH$
HB15	$-NH-CH_2-C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_6C(=O)-(CH_2)_{18}-C(=O)-OH$
HB16	$-NH-CH_2-C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_6C(=O)-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-C(=O)-OH$
HB17	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{14}-C(=O)-O-CH_3$
HB18	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{16}-C(=O)-O-CH_3$
HB19	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_{18}-C(=O)-O-CH_3$
HB20	$-NH-(CH_2)_2-O-C(=O)-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-C(=O)-O-CH_3$

10

20

30

40

【表 3】

化合物 No.	A <sup>2</sup> -モイエティーン	-X <sup>2</sup> -X <sup>1</sup> -A <sup>1</sup> モイエティーン
1-20	HA1	それぞれ HB1, HB2, HB3, HB4, HB5, HB6, HB7, HB8, HB9, HB10, HB11, HB12, HB13, HB14, HB15, HB16, HB17, HB18, HB19, HB20
21-40	HA2	それぞれ HB1, HB2, HB3, HB4, HB5, HB6, HB7, HB8, HB9, HB10, HB11, HB12, HB13, HB14, HB15, HB16, HB17, HB18, HB19, HB20
41-60	HA3	それぞれ HB1, HB2, HB3, HB4, HB5, HB6, HB7, HB8, HB9, HB10, HB11, HB12, HB13, HB14, HB15, HB16, HB17, HB18, HB19, HB20
61-80	HA4	それぞれ HB1, HB2, HB3, HB4, HB5, HB6, HB7, HB8, HB9, HB10, HB11, HB12, HB13, HB14, HB15, HB16, HB17, HB18, HB19, HB20

10

20

## 【0086】

薬剤組成物

## 【0087】

一定の態様では、先行する任意の実施形態の化合物は、任意の適切なマナーにおいて薬剤組成物に調剤し得る。大抵は、ガンの処置のための化合物として、かかる薬剤調剤物は、非経口施与のために、例えば、静脈内または動脈内投与などのようなものに適した水性調剤物である。

30

## 【0088】

少なくとも一の態様では、本開示は、式(1)の一以上の化合物(任意の前記実施形態に従う)およびタンパク質を含む薬剤組成物を提供する。いくつかの実施形態では、タンパク質はアルブミンまたはアルブミンミメティックである。いくつかのかかる実施形態において、タンパク質はヒト血清アルブミン(HSA)またはそのミメティック、すなわち、タンパク質はその配列がHSAのものと少なくとも50%等価、またはHSAのものと少なくとも60%等価、または少なくともHSAのものと少なくとも70%等価、またはHSAのものと少なくとも80%等価、またはHSAのものと少なくとも90%等価、またはHSAのものと少なくとも95%等価、HSAのものと少なくとも97%等価、HSAのものと少なくとも99%等価である。いくつかの実施形態では、タンパク質はヒト血清アルブミンである。

40

## 【0089】

任意の前記実施形態の一定の実施形態では、薬剤組成物はまた、担体を、例えば、液状担体などのようなものも含む。いくつかの実施形態では、担体には、水が含まれる。例えば、いくつかのかかる実施形態では、水は薬剤組成物において液状物質の合計容量に基づき、少なくとも50容量%、または少なくとも60容量%、または少なくとも70容量%、または少なくとも80容量%、または少なくとも90容量%を構成する。担体はまた、他の液状原料、例えば、非経口施与のために水性薬剤調剤物において普通に含まれる液状原料などのようなものも含むことができる。

## 【0090】

50

水性担体を有する一定の実施形態では、式(1)の化合物は、薬剤調剤物においてタンパク質に非共有結合する。いくつかの実施形態において、式(1)の化合物およびタンパク質(例は、ヒト血清アルブミン)は、水性組成物において25℃にて少なくとも $10^2\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^3\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^4\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^5\text{M}^{-1}$ の結合定数( $K_D$ )により互いに非共有結合的に会合する(non-covalently associated with)。

【0091】

水性担体を有するいくつかの実施形態では、式(1)の化合物およびタンパク質は担体によって溶媒和される。いくつかのかかる実施形態において、式(1)の化合物の組成物における少なくとも90重量%、または少なくとも95重量%、または少なくとも97重量%、または少なくとも98重量%、または少なくとも99重量%は、25℃にて水性組成物において少なくとも $10^2\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^3\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^4\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^5\text{M}^{-1}$ の結合定数( $K_D$ )によりタンパク質に非共有結合する。いくつかのさらなるかかる実施形態では、組成物は凝集体またはナノ粒子を実質含まない。例えば、任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、水性組成物におけるタンパク質-化合物(即ち、タンパク質および式(1)の一以上の化合物間の非共有結合コンジュゲート)の5重量%以下(を超えないとも言う)、または4重量%以下、または3重量%以下、または2重量%以下、または1重量%以下は、動的光散乱によって測定して、7nmより大きい半径、または5nmより大きい半径、または4nmより大きい半径をもつ。

10

【0092】

式(1)の化合物は、調剤物においてタンパク質に対して任意の適切なモル比を有することができる。例えば、任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、式(1)の化合物のタンパク質に対するモル比は、1:10から20:1まで、または1:5から15:1まで、または1:2から10:1までに及ぶ。任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、式(1)の化合物のタンパク質に対するモル比は、約1:1であり、または約2:1であり、または約3:1であり、または約4:1であり、または約5:1であり、または約6:1であり、または約7:1であり、そこでは、「約」という用語はこの例では、 $\pm 0.5:1$ を意味し、「約5:1」は4.5:1から5.5:1までの範囲に言及するようなものである。

20

【0093】

少なくとも一態様では、本開示は、次のもの:化合物、それはオリゴヌクレオチドモイエティーおよびタンパク質結合モイエティーが含まれるものであり;タンパク質、そこでは、タンパク質はアルブミンまたはアルブミンミメティックであり;および担体、それには、水が含まれるものである、を含む薬剤組成物を提供する。

30

【0094】

いくつかの実施形態において、タンパク質は、ヒト血清アルブミン(HSA)またはそのミメティック、即ち、その配列がHSAのものと少なくとも50%等価、またはHSAのものと少なくとも60%等価、またはHSAのものと少なくとも70%等価、またはHSAのものと少なくとも80%等価、またはHSAのものと少なくとも90%等価、またはHSAのものと少なくとも95%等価、HSAのものと少なくとも97%等価、HSAのものと少なくとも99%等価であるタンパク質である。いくつかの実施形態では、タンパク質はヒト血清アルブミンである。

40

【0095】

上記のように、いくつかの実施形態では、担体には、水が含まれる。例えば、いくつかのそのような実施形態では、水は、少なくとも50容量%、または少なくとも60容量%、または少なくとも70容量%、または少なくとも80容量%、または少なくとも90容量%を、薬剤組成物における液状物質の合計容量に基づいて構成する。担体はまた、他の液状原料、例えば、非経口施与用の水性薬剤調剤物に普通に含まれる液状原料などのようなものも含むことができる。

【0096】

一定の実施形態では、本化合物は、薬剤調剤物においてタンパク質に非共有結合する。いくつかの実施形態では、化合物およびタンパク質(例は、ヒト血清アルブミン)は、水性組成物において25℃にて少なくとも $10^2\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^3\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも

50



も $10^4\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^5\text{M}^{-1}$ の結合定数( $K_b$ )により互いに非共有結合的に会合する。

【0097】

水性担体を有するいくつかの実施形態では、化合物およびタンパク質は担体によって溶媒和される。いくつかのかかる実施形態において、組成物における式(1)の化合物の少なくとも90重量%、または少なくとも95重量%、または少なくとも97重量%、または少なくとも98重量%、または少なくとも99重量%は、水性組成物において25℃にて少なくとも $10^2\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^3\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^4\text{M}^{-1}$ 、または少なくとも $10^5\text{M}^{-1}$ の結合定数( $K_b$ )によりタンパク質に非共有結合する。いくつかのさらなるそのような実施形態では、組成物は凝集体またはナノ粒子を実質含まない。例えば、任意の前記実施形態のいくつかの実施形態では、水性組成物におけるタンパク質-化合物(即ち、タンパク質および式(1)の一以上の化合物間の非共有結合コンジュゲート)の5重量%以下、または4重量%以下、または3重量%以下、または2重量%以下、または1重量%以下は、動的光散乱によって測定して、7nmより大きい半径、または5nmより大きい半径、または4nmより大きい半径をもつ。

10

【0098】

式(1)の化合物は、調剤物においてタンパク質に対して任意の適切なモル比を有することができる。例えば、任意の前述の実施形態のいくつかの実施形態では、式(1)の化合物対タンパク質のモル比は、1:10から20:1まで、または1:5から15:1まで、または1:2から10:1までに及ぶ。任意の前述の実施形態のいくつかの実施形態では、式(1)の化合物対タンパク質のモル比は、約1:1であり、または約2:1であり、または約3:1であり、または約4:1であり、または約5:1であり、または約6:1であり、または約7:1であり、そこでは、「約」という用語はこの例では、 $\pm 0.5:1$ を意味し、「約5:1」は4.5:1から5.5:1までの範囲に言及するようなものである。

20

【0099】

任意の前述の態様および実施形態の薬剤組成物はまた、一定の追加的な原料、例えば、非経口施与用の薬剤組成物において普通に採用されるものなどのようなものも含むことができる。

【0100】

方法および使用

30

【0101】

任意の前述の実施形態の化合物または組成物は、ガンおよび関連障害の処置に有用である。したがって、これらの化合物および組成物は、ガン性腫瘍を有するか、または有していた対象への施与のために使用することができる。

【0102】

それゆえ、一定の態様では、本開示は、ガンを処置する方法を提供し、任意の前述の態様および実施形態の化合物または組成物を対象に施すことが含まれる。いくつかの実施形態では、対象はヒトである。いくつかの実施形態では、対象は、そのような処置を必要とする対象、例は、そのような処置を必要とするヒトである。

40

【0103】

いくつかの態様では、本開示は、ガン細胞においてアポトーシスを誘導する方法を提供し、ガン細胞を任意の前述の態様および実施形態の化合物または組成物と接触させることが含まれる。

【0104】

いくつかの態様では、本開示は、ガン性腫瘍の増殖を抑制する方法を提供し、ガン性腫瘍を任意の前述の態様および実施形態の化合物または組成物と接触させることが含まれる。

【0105】

いくつかの態様では、本開示は、薬としての任意の前述の態様および実施形態の化合物または組成物の使用を提供する。

50

## 【 0 1 0 6 】

いくらかの態様では、本開示は、ガンを処置するための任意の前述の態様および実施形態の化合物または組成物の使用を提供する。

## 【 0 1 0 7 】

いくらかの態様では、本開示は、薬の製造における任意の前述の態様および実施形態の化合物の使用を提供する。

## 【 0 1 0 8 】

いくらかの態様では、本開示は、ガンを処置するための薬の製造における任意の前述の態様および実施形態の化合物の使用を提供する。

## 【 0 1 0 9 】

10

## 併用療法

任意の前述の実施形態の化合物または組成物は、免疫療法剤と、例えば、チェックポイントインヒビター、トール ( toll ) 様レセプターモジュレーター、および様々な抗体などのようなものと、制限されないが、アレムツズマブ、アテゾリズマブ、イビリムマブ、オファツムマブ、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、およびリツキシマブを含め、併用するとき有用である。

## 【 実施例 】

## 【 0 1 1 0 】

以下の例は、ここに開示する化合物、組成物、および方法の一定の例示的な実施形態を示す。これらの例は、決して制限的なものと見なされるべきではない。また、これらの例は、任意の好ましい実施形態を表現するものとしてや、またはさらなる研究の任意の方向を指し示すものとしては解釈されるべきでない。

20

## 【 0 1 1 1 】

それらの例は、一定の共通の化学物質についての略語を使用し得る。以下の略語は指し示される化合物に言及する。

## 【 0 1 1 2 】

DMF=ジメチルホルムアミド

DCM=ジクロロメタン

NMR=核磁気共鳴

HPLC=高性能液体クロマトグラフィー

30

RP-HPLC=逆相高性能液体クロマトグラフィー

LRMS=液体クロマトグラフィー/低分解能質量分析

HRMS=液体クロマトグラフィー/高分解能質量分析

Tips=トリイソプロピルシリル

DMAP=4-(ジメチルアミノ)ピリジン

EDC=1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド

THF=テトラヒドロフラン

Dipea=N,N-ジイソプロピルエチルアミン

HATU=1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ-[4,5-b]ピリジニウム3

-オキシドヘキサフルオロホスファート

40

DCC=N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド

HSA=ヒト血清アルブミン

## 【 0 1 1 3 】

例1 - オリゴヌクレオチドの例

## 【 0 1 1 4 】

オリゴヌクレオチドの固相合成

オリゴヌクレオチドは、第一の5'-Dmt-保護ヌクレオチドを保持する1μモルCPG(1000孔径、Glen Research(グレン・リサーチ))をロードした合成カラムにおいて、ABI 394 DNA/RNAシンセサイザー(Applied Biosystems(アプライド・バイオシステムズ))にて合成した。すべてのシアノエチルホスホルアミダイト(CEPAs)はGlen Researchから購

50

入した：DNAヌクレオチドについてDmt-dT-CEPA（10-1030）、RNAヌクレオチドについてDmt-A<sup>Ac</sup>-TOM-CEPA（10-3004）、Dmt-G<sup>Ac</sup>-TOM-CEPA、および2'-F-RNAヌクレオチドについてDmt-2'-F-C<sup>Ac</sup>-CEPA（10-3415）およびDmt-2'-FU-CEPA（10-3430）（2'-F-ピリミジンの存在はオリゴヌクレオチド配列において上付き文字<sup>F</sup>で指し示す）。5'-アミノ-モディファイア-5（10-1905）を、パッセンジャー鎖にて末端アミンを取り付けるために使用した。3'-フルオレセイン標識配列は、3'-フルオレセイン-dT-CPG（20-2056）にて合成した。4,5-ジシアノイミダゾール（DCC）および5-(ベンジルチオ)-1H-テトラゾール（BTT）は、DNAおよびRNA/2'-F-RNAそれぞれの合成のためのアクチベーター（活性化物質とも言う）として使用した。アセトニトリルにおいてTHF/ピリジン/無水酢酸（Cap Mix A）およびTHFにおいて16%1-メチルイミダゾール（Cap Mix B）によりカップリングを実行した。各サイクルにおいて、りんは、THF/ピリジン/水において0.02Mヨウ素による処理によって酸化した。5'-トリチル保護基はすべて、DCMにおいて3%トリクロロ酢酸により開裂させた。カップリングサイクルは、次のステップ：脱トリチル化、カップリング、カップリング、および酸化からなった。脱トリチル化時間は60秒、カップリング時間はDNAおよび5'-アミノ-モディファイアについて30秒、RNA/2'-F-RNAについて180秒であった。カップリングは5秒間実行し、酸化は15秒間行った。すべての洗浄および試薬デリバリーステップは、機器のデフォルトの合成サイクルにおいて与えられるように実行した。

10

## 【0115】

アミン修飾核酸の5'末端へのオクタデカン二酸（ODDA）のコンジュゲーション

20

## 【0116】

カップリングの前に、Mmt-カチオンの黄色がもはや目測によって観察されなくなるまで（ca.（約）3-4.5分）、支持体に結合した十分に保護された核酸を、DCMにおいて3%トリクロロ酢酸によりフラッシュすることによって、5'-アミノモディファイアの末端Mmt保護基を開裂させた。支持体をDCMおよびアセトニトリルにより洗浄し、およびアルゴンストリーム下で短時間乾燥した。残留溶媒をデシケーターにおいて除去した。

## 【0117】

小分子とのコンジュゲーション：10当量のODDA-モノ-トリイソプロピルシリルエステル（ODDA-TIPS）、9当量のHATUおよび30当量の無水DMFでのDIPEAの溶液を、5分間予備活性化し、およびその後、5'-アミノ修飾核酸配列を伴う乾燥支持体に加えた。合成カラムを2時間振盪し、支持体をNMPおよびDCMにより洗浄し、および真空において乾燥させた。カップリング反応は、新鮮な活性化ODDA-TIPSで一回繰り返した（2h）。支持体は、未反応のカルボン酸を洗い流すために、NMPおよびDCMで広範囲に洗浄し、および真空において乾燥させた。支持体は、コンジュゲート（共役）が開裂され、および脱保護されるまでデシケーターにおいて貯蔵した。

30

## 【0118】

核酸コンジュゲートの固形支持体からの放出および脱保護

## 【0119】

CPG結合オリゴヌクレオチドの放出および核酸塩基の脱保護、ならびにシアノエチル保護基の除去は、AMA（30%水酸化アンモニウム、40%水性メチルアミン、1:1、v:v）に支持体を浸漬することによって行った。ピバロイル保護フルオレセイン色素が配列において存在する場合、支持体を最初に室温にて1時間30%水酸化アンモニウムにより処理して、等量の40%メチルアミン水溶液を添加する前にピバロイル保護基を除去した。固形支持体を含むAMA溶液を、室温で2時間インキュベートして、脱保護を終了させた。遠心分離後、上清を除去し、および支持体を4×200 μLの水により洗浄した。組み合わせた溶液を二窒素のストリーム下で乾燥させた（2'-F-RNAヌクレオチドが配列において存在する場合、熱を避ける必要がある）。2'-TOM保護基を除去するため、残留物を115 μLの無水DMSOに再溶解し（5分65℃）、および60 μLの無水トリエチルアミンを加えた。75 μLのフッ化水素トリエチルアミン錯体（NEt<sub>3</sub>×3HF）を添加し、および溶液を65℃にて2.5時間インキュベートした。後に、溶液をフリーザーにおいて短時間冷却し、および3M酢酸ナトリウムの25 μLを加えた。オリゴヌクレオチドを1mLのブタノールにより沈殿させ、および-20℃にて3

40

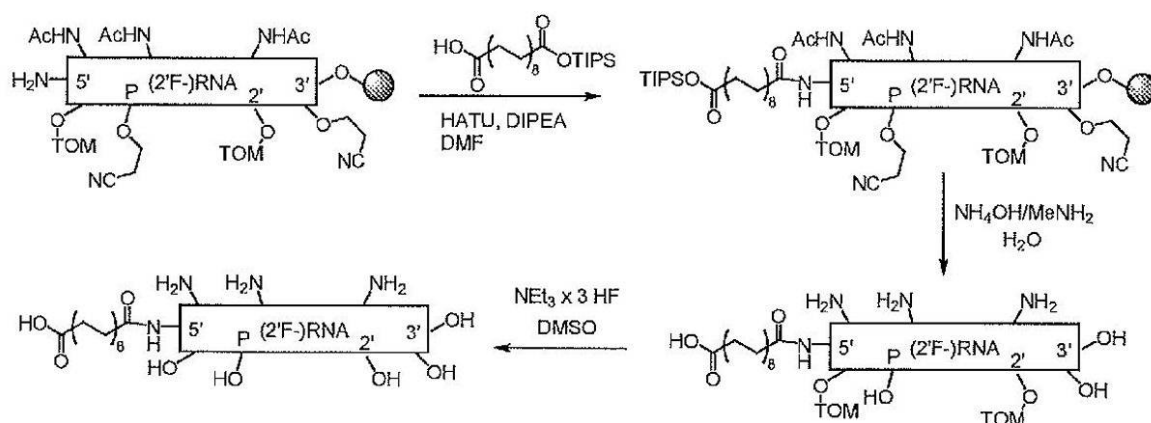
50

0分間インキュベートした。懸濁物を10分間遠心分離し(12000rcf)、および上清を除去した。沈殿物を2×750μLのエタノールで洗浄し、および真空遠心分離によって短時間乾燥させた。粗オリゴヌクレオチドを水において溶解し、および分析HPLCによって分析し、およびセミ分取HPLCによって精製した。生成物を含むフラクションを真空遠心分離によって10mLに減らし、およびSep-Pak<sup>(R)</sup>(商標)C-18カートリッジ(Waters(ウォーターズ))を使用してオリゴヌクレオチドを脱塩した。カートリッジを10mLのアセトニトリルにより洗浄し、および10mLの水で平衡化した。オリゴヌクレオチドをロードし、10mLの水により洗浄し、約6mLの水:アセトニトリル(1:1、v:v)により溶出し、減圧下で乾燥し、および水において再溶解した。濃度はUV-vis分光法を介して定め、および生成物の同一性および純度を、分析HPLCおよびMALDI-TOF-MSによって検証した。サンプルを分注し、および-20にて貯蔵した。合成スキームを以下に例示する。

10

【0120】

【化9】



20

【0121】

高性能液体クロマトグラフィー (HPLC)

オリゴヌクレオチドサンプルのHPLCは、55 での、phenomenex<sup>(R)</sup> clarity 5u Oligo-RP (フェノメネックス・クラリティ・5uオリゴ-RP) カラム (セミ分取HPLCでは250×10.0 0mm、分析HPLCでは150×4.60mm、5ミクロン) を備えたHitachi Elite LaChrom (ヒタチ・エリート・ラクロム) 機器にて実行した。吸光度を260nmにて測定した。サンプルは、溶媒A (90%の50mM酢酸トリエチルアンモニウム水溶液 (pH7.0)、10%メタノール) およびB (メタノール) を使用して線状勾配 (勾配I: 60分において0%B 80%B、流量: 4mL・分<sup>-1</sup>、勾配II: 60分において0%B 70%B、流量: 4mL・分<sup>-1</sup>、勾配III: 60分において0%B 40%B、流量: 4mL・分<sup>-1</sup>、勾配IV: 60分において0%B 25%B、流量: 4mL・分<sup>-1</sup>、勾配V: 50分において0%B 80%B、流量: 1mL・分<sup>-1</sup>、勾配VI: 50分において0%B 70%B、流量: 1mL・分<sup>-1</sup>、勾配VII: 50分において0%B 40%B、流量: 1mL・分<sup>-1</sup>、勾配VIII: 50分において0%B 30%B、流量: 1mL・分<sup>-1</sup>) において溶出した。

30

【0122】

マトリクス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOF-MS)

質量スペクトルは、UCSD Chemistry & Biochemistry Molecular Mass Spectrometry Facility (UCSD化学および生化学分子質量分析施設) にてBruker Biflex (ブルカー・ビフレックス) IV MALDI-TOF機器での負のモードにおいて記録した。2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン-水和物 (THAP) および3-ヒドロキシピコリン酸 (3-HPA) の混合物をマトリクスとして使用した。3-HPAマトリクスは、25mgの3-HPAを500μLの水/アセトニトリル (1:1、v:v) において溶解し、およびこの溶液の454μLを45μLの100mg・mL<sup>-1</sup>クエン酸水素二アンモニウム水溶液により希釈することによって調製した。THAPマトリクスは、15mgのTHAPを150μLのアセトニトリルに溶解すること (飽和溶液、溶媒和は超音波処理により支援した)、およびこの溶液の100μLを、100μLの23mg・mL<sup>-1</sup>クエン酸水素二アン

40

50

モニウム水溶液 (69  $\mu\text{L}$  の  $100\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  クエン酸水素二アンモニウム水溶液を、231  $\mu\text{L}$  の水により希釈することによって取得) により希釈することによって調製した。MALDI-MS分析に先立ち、ZipTip C18ピペットチップ (Merck Millipore (メルク・ミリポア)) を使用して、オリゴヌクレオチドサンプルを脱塩した。ZipTipsを水/アセトニトリル (1:1、 $v:v$ 、 $5 \times 10 \mu\text{L}$ ) で洗浄し、およびオリゴヌクレオチドを濃縮ストック溶液の吸引および放出によってZipTipに吸着させる前に (10-20  $\times 10 \mu\text{L}$ )、0.1M TEAA緩衝剤 (5  $\times 10 \mu\text{L}$ ) により平衡化させた。結合したオリゴヌクレオチドは、0.1M TEAA緩衝剤 (5  $\times 10 \mu\text{L}$ ) により洗浄することによってアンモニウム塩に移し、水 (7  $\times 10 \mu\text{L}$ ) により洗浄することによって脱塩し、および最終的に2.5  $\mu\text{L}$  のTHAPマトリクス中に放出させた。この溶液を、事前に結晶化した3-HPAマトリクス (1  $\mu\text{L}$ ) の頂部上にスポット (1  $\mu\text{L}$ ) した。機器は、同じターゲットプレート上にスポットした二つの購入オリゴヌクレオチドから構成される標準によりキャリブレーションした。値は質量対電荷比 ( $m/z$ ) において与える。

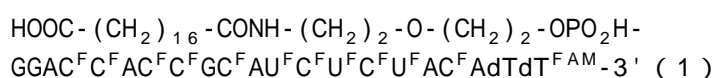
10

## 【0123】

核酸コンジュゲートの合成および特徴付け

## 【0124】

3'-フルオレセイン標識を有するサバイピンsiRNA ODDAコンジュゲートパッセンジャー鎖:



20

## 【0125】

化合物1は、核酸の固相合成のための一般的なプロトコルに従い1  $\mu$  モルの $\text{dT}^{\text{FAM}}$ をロードしたCPGにて合成し、および分取HPLCを介して精製した。

収率:  $\text{OD}_{495\text{nm}}=5.2$ 、69ナノモル、7%。

$$\epsilon_{495\text{nm}}=75000\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}, M_w=7585.0\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

分析HPLC: 勾配VI。

MALDI-TOF-MS ( $m/z$ ):  $[\text{M}-\text{H}^+]^-$ : 7581.3 (算出: 7584.0)、 $[\text{M}-2\text{H}^+]^{2-}$ : 3785.9 (算出: 3791.5)。

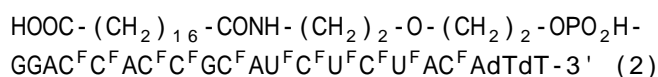
## 【0126】

図2は精製化合物の (a) 分析HPLCトレース (上部) および (b) MALDI-TOF質量スペクトル (底部) を示す。

30

## 【0127】

サバイピンsiRNA ODDAコンジュゲートパッセンジャー鎖:



## 【0128】

化合物2は、核酸の固相合成のための一般的なプロトコルに従い1  $\mu$  モルの $\text{dT}$ ロードしたCPGにて合成した。ピーズは半分に分け、およびODDA-TIPSは一般的なプロトコルに従い接合した。2は分取HPLCを介して精製した。

収率:  $\text{OD}_{260\text{nm}}=10.2$ 、44ナノモル、9%。

$$\epsilon_{260\text{nm}}=232178\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}, M_w=7073.5\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

分析HPLC: 勾配VI。

MALDI-TOF-MS ( $m/z$ ):  $[\text{M}-\text{H}^+]^-$ : 7070.6 (算出: 7072.5)、 $[\text{M}-2\text{H}^+]^{2-}$ : 3531.4 (算出: 3535.8)。

40

## 【0129】

図3は精製化合物の (a) 分析HPLCトレース (上部) および (b) MALDI-TOF質量スペクトル (底部) を示す。

## 【0130】

サバイピンsiRNA 5'-ヒドロキシル化ガイド鎖:



## 【0131】

50

3は、核酸の固相合成のための一般的なプロトコルに従い1  $\mu$  モルのdTをロードしたCPGにて合成した。ピーズは半分に分けた。3は分取HPLCを介して5'-OH RNAとして精製した。

収量： $OD_{260nm}=16.0$ 、64ナノモル、6%。

$OD_{260nm}=249575L \cdot \text{モル}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 、 $M_w=6758.0g \cdot \text{モル}^{-1}$

分析HPLC：勾配VII。

MALDI-TOF-MS ( $m/z$ )： $[M-H]^+$ ： $6755.8$  (算出： $6757.0$ )、 $[M-2H]^+$ ： $3374.9$  (算出： $3378.0$ )。

【0132】

図4は精製化合物の(a)分析HPLCトレース(左)および(b)MALDI-TOF質量スペクトル(右)を示す。

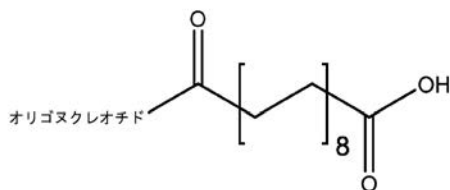
10

【0133】

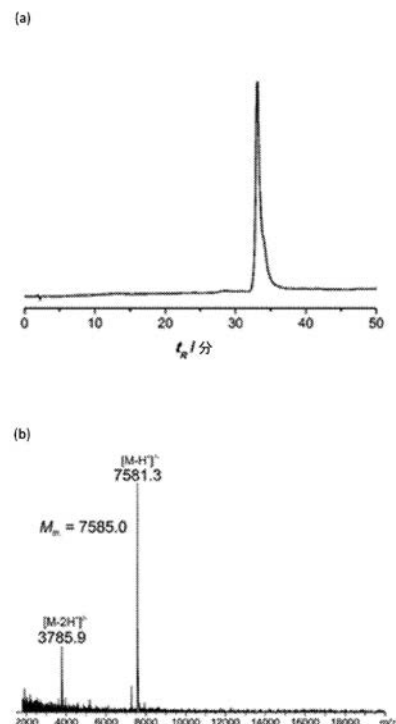
ODDA-RNA-HSA複合体の調剤

新たに構成されたHSA(最終濃度600  $\mu$ M)を含むPBS緩衝剤(最終濃度1 $\times$ )において、一本鎖または二本鎖RNAを望ましい濃度(ゲルシフトアッセイについて：10  $\mu$ M、循環時間研究について：75  $\mu$ M)に溶解した。平衡を確実にするため溶液を夜通し室温にてインキュベートした。

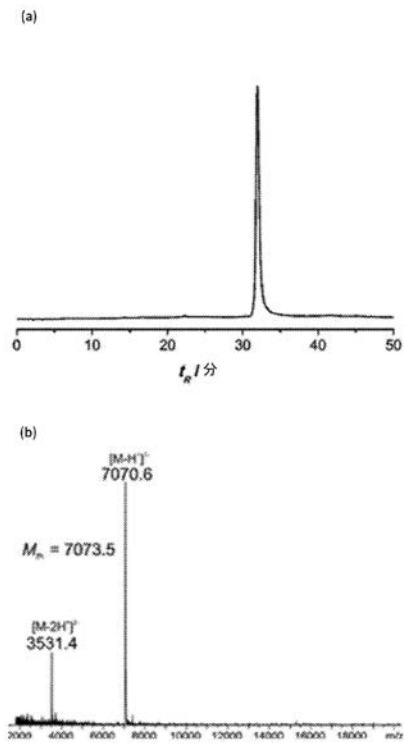
【図1】



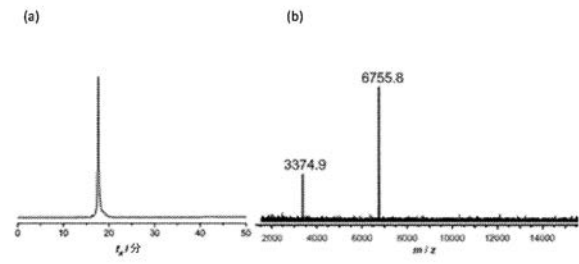
【図2】



【 図 3 】



【 図 4 】



## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. <b>PCT/US2018/023578</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>A61K 47/54(2017.01)i, A61K 48/00(2006.01)i, A61K 47/42(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 47/54; C07H 21/04; C07H 21/02; C12N 15/113; A61K 48/00; A61K 47/42; A61K 9/00; A61P 35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: oligonucleotide, conjugate, hydrophilic group, hydrophobic group, siRNA, carboxylic acid		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 8969543 B2 (JEONG, JI HOON et al.) 03 March 2015 See columns 7, 8; and figure 1.	1-4
A		25
X	NICOLI, E. et al., "Enhanced Gene Silencing through Human Serum Albumin-Mediated Delivery of Polyethylenimine-siRNA Polyplexes", PLOS ONE, 2015, 10(4): e0122581, internal pages 1-16 See abstract; figure 1; and page 4.	25
X	DOVYDENKO, I. et al., "Method of carrier-free delivery of therapeutic RNA importable into human mitochondria: Lipophilic conjugates with cleavable bonds", Biomaterials, 2016, Vol. 76, pp. 408-417 See abstract; and figures 1-3.	1,4
A	US 2014-0350232 A1 (BIONEER CORPORATION) 27 November 2014 See abstract; and claims 1-12.	1-4, 25
A	MING, X. et al., "Albumin-based nanoconjugates for targeted delivery of therapeutic oligonucleotides", Biomaterials, 2013, Vol. 34, pp. 7939-7949 See the whole document.	1-4, 25
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 09 July 2018 (09.07.2018)		Date of mailing of the international search report <b>09 July 2018 (09.07.2018)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer KAM, Yoo Lim Telephone No. +82-42-481-3516



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.  
**PCT/US2018/023578**
**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☒ Claims Nos.: 32-36  
 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
 Claims 32-36 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. ☒ Claims Nos.: 10-14, 16, 18, 19, 22, 29, 33  
 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
 Claims 10-14, 16, 18, 19, 22, 29 and 33 directly or indirectly refer to one of unsearchable claims which do not comply with PCT Rule 6.4(a).
3. ☒ Claims Nos.: 5-9, 15, 17, 20, 21, 23, 24, 26-28, 30-32, 34-40  
 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No.

**PCT/US2018/023578**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 8969543 B2	03/03/2015	AU 2003-219576 A1	25/10/2004
		US 2007-0041932 A1	22/02/2007
		US 2007-0287681 A1	13/12/2007
		US 8324365 B2	04/12/2012
		WO 2004-087931 A1	14/10/2004
US 2014-0350232 A1	27/11/2014	AU 2010-248239 A1	08/12/2011
		AU 2010-248239 B2	22/01/2015
		CA 2761749 A1	18/11/2010
		CA 2761749 C	05/09/2017
		CA 2871888 A1	18/11/2010
		CN 102439148 A	02/05/2012
		CN 102439148 B	01/07/2015
		CN 102888404 A	23/01/2013
		CN 102888404 B	17/06/2015
		CN 103233003 A	07/08/2013
		CN 103233003 B	16/09/2015
		EP 2463371 A2	13/06/2012
		EP 2463371 A4	16/01/2013
		EP 2463371 B1	26/08/2015
		EP 2626427 A2	14/08/2013
		EP 2626427 A3	21/08/2013
		EP 2682466 A1	08/01/2014
		EP 2682466 B1	20/07/2016
		JP 2012-526548 A	01/11/2012
		JP 2013-230148 A	14/11/2013
		JP 2015-107115 A	11/06/2015
		JP 5758381 B2	05/08/2015
		JP 5797688 B2	21/10/2015
		KR 10-1224828 B1	22/01/2013
		KR 10-1241852 B1	11/03/2013
		KR 10-1392973 B1	09/05/2014
		KR 10-2010-0123214 A	24/11/2010
		RU 2011150787 A	20/06/2013
		RU 2013151977 A	27/05/2015
		RU 2558258 C2	27/07/2015
		RU 2571218 C2	20/12/2015
		US 2012-0108803 A1	03/05/2012
		US 2013-0096288 A1	18/04/2013
		US 2014-0350233 A1	27/11/2014
		US 8772472 B2	08/07/2014
		US 8779114 B2	15/07/2014
		US 9211343 B2	15/12/2015
		WO 2010-131916 A2	18/11/2010
		WO 2010-131916 A3	07/04/2011

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/713	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 45/00 1 0 1	
A 6 1 K 47/42 (2017.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 47/54 (2017.01)	A 6 1 K 47/42	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 47/54	
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
	A 6 1 K 39/395 N	
	C 1 2 N 15/113 Z	

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,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,DK,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),OA(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,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(74)代理人 100147485

弁理士 杉村 憲司

(74)代理人 230118913

弁理士 杉村 光嗣

(74)代理人 100119530

弁理士 富田 和幸

(72)発明者 アレクサンダー ロロフ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 サンディエゴ ノース トーリー パインズ  
ロード 1 0 3 0 0

(72)発明者 ネイサン シー ギアネッシ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 サンディエゴ ノース トーリー パインズ  
ロード 1 0 3 0 0

(72)発明者 カッサンドラ イー コールマン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 サンディエゴ ノース トーリー パインズ  
ロード 1 0 3 0 0

(72)発明者 マシュー ピー トンプソン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 サンディエゴ ノース トーリー パインズ  
ロード 1 0 3 0 0

(72)発明者 ポール エイ パーティン

アメリカ合衆国 イリノイ州 6 0 5 1 7 ウッドリッジ デイヴィー ロード 2 5 0 1

F ターム(参考) 4C057 BB04 DD01 MM02 MM05

4C076 AA11 BB13 CC27 CC29 CC42 EE41 EE59 FF31 FF67

4C084 AA13 AA14 AA19 MA02 MA05 MA55 MA66 NA06 NA12 NA13

NA15 ZB26 ZC02 ZC75

4C085 AA14 EE03

4C086 AA01 AA03 EA16 EA17 EA18 EA25 MA01 MA03 MA04 MA05

MA55 MA66 NA06 NA12 NA13 NA15 ZB26 ZC02