



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0009393
(43) 공개일자 2024년01월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/64 (2006.01) C07K 19/00 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01) C12N 15/87 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 7/64 (2013.01)
C07K 19/00 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2023-7036879
(22) 출원일자(국제) 2022년03월31일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년10월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/071489
(87) 국제공개번호 WO 2022/213118
국제공개일자 2022년10월06일
(30) 우선권주장
63/168,888 2021년03월31일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
엔트라다 테라퓨틱스, 인크.
미국 02210 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플
레이스 스위트 17-500
(72) 발명자
도우허티, 패트릭
미국 02210 매사추세츠, 보스턴 타이드 스트리트
6
키라바디, 마부베
미국 02210 매사추세츠, 보스턴 타이드 스트리트
6
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

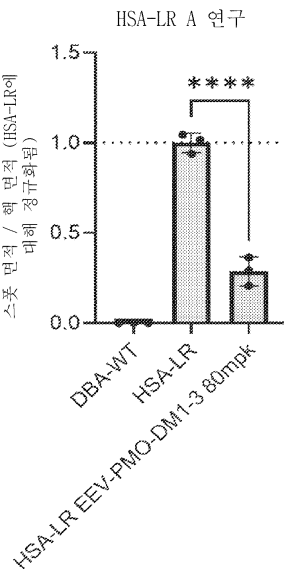
전체 청구항 수 : 총 103 항

(54) 발명의 명칭 사이클릭 세포 침투 펩티드

(57) 요약

본 발명은 운반물(cargo)을 세포 내부에 효과적으로 전달하여 다양한 질환 및 질병을 치료할 수 있는, 높은 사이
토졸 전달 효율 및 감소된 독성을 갖는 세포 침투 펩티드(cell penetrating peptide)에 관한 것으로, 상기 세포
침투 펩티드에는 사이클릭 세포 침투 펩티드가 포함된다.

대표도 - 도51



<p>(52) CPC특허분류</p> <p>C12N 15/113 (2013.01)</p> <p>C12N 15/87 (2013.01)</p> <p>C07K 2319/10 (2013.01)</p> <p>(72) 발명자</p> <p>리, 시양</p> <p>미국 02210 매사추세츠, 보스턴 타이드 스트리트 6</p> <p>치안, 즈칭</p> <p>미국 02210 매사추세츠, 보스턴 타이드 스트리트 6</p>	<p>(30) 우선권주장</p> <p>63/171,860 2021년04월07일 미국(US)</p> <p>63/239,671 2021년09월01일 미국(US)</p> <p>63/290,960 2021년12월17일 미국(US)</p> <p>63/298,565 2022년01월11일 미국(US)</p> <p>63/268,577 2022년02월25일 미국(US)</p>
--	--

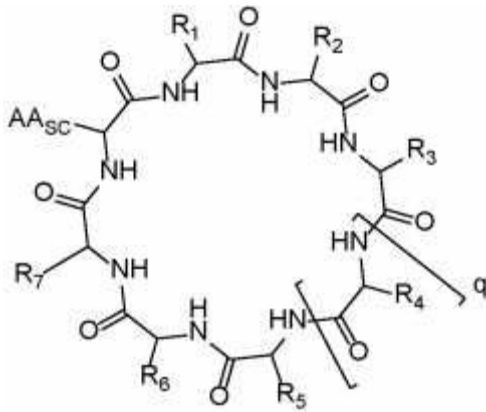
명세서

청구범위

청구항 1

화학식 (A)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태:

[화학식 (A)]



(상기 식에서,

R_1 , R_2 , 및 R_3 은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

R_1 , R_2 , 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

R_4 , R_5 , R_6 , R_7 은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

R_4 , R_5 , R_6 , R_7 중 적어도 하나는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산, 4-구아니디노-2-아미노산부탄, 아르기닌, 호모아르기닌, N-메틸아르기닌, N,N-다이메틸아르기닌, 2,3-다이아미노프로피온산, 2,4-다이아미노산부탄, 라이신, N-메틸라이신, N,N-다이메틸라이신, N-에틸라이신, N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌, 시트룰린, N,N-다이메틸라이신, β -호모아르기닌, 3-(1-피페리디닐)알라닌의 측쇄이고;

AA_{sc} 는 아미노산 측쇄이고;

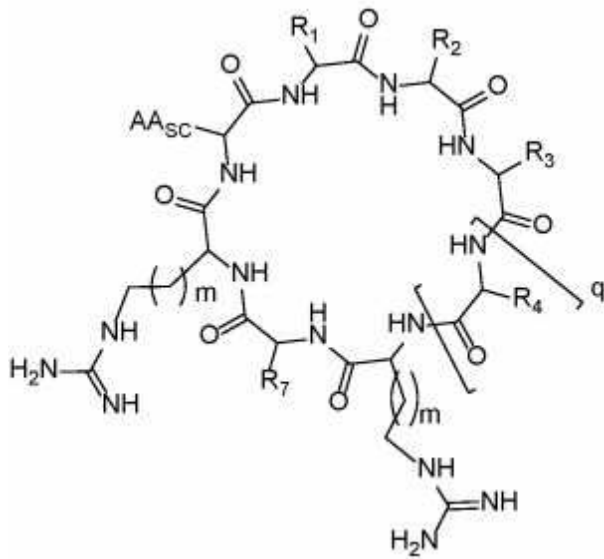
q 는 1, 2, 3, 또는 4이고;

여기서, 화학식 (A)의 사이클릭 펩티드는 Ff Φ RrRrE가 아님).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

[화학식 (I)]



(상기 식에서, 각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수임).

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, R₁, R₂, 및 R₃은 독립적으로 H, 또는 아릴 기를 포함하는 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 아릴 기를 포함하는 측쇄는 티로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티에닐알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-부틸-페닐알라닌, 4-피리디닐알라닌, 3-피리디닐알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 또는 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 아릴 기를 포함하는 측쇄는 페닐알라닌의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R₁, R₂, 및 R₃ 중 2개는 페닐알라닌의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

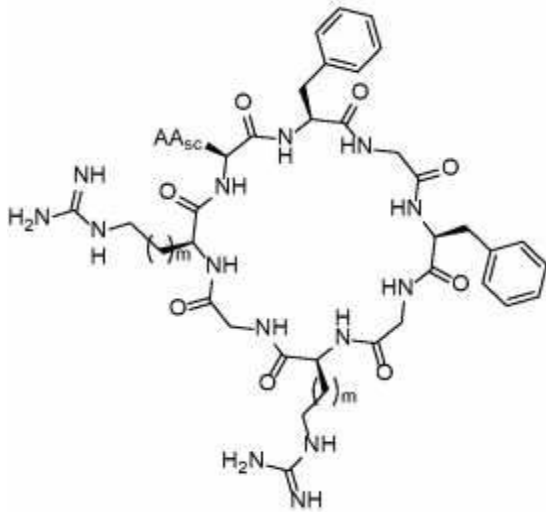
청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 2개는 H인, 사이클릭 펩티드.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-1)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

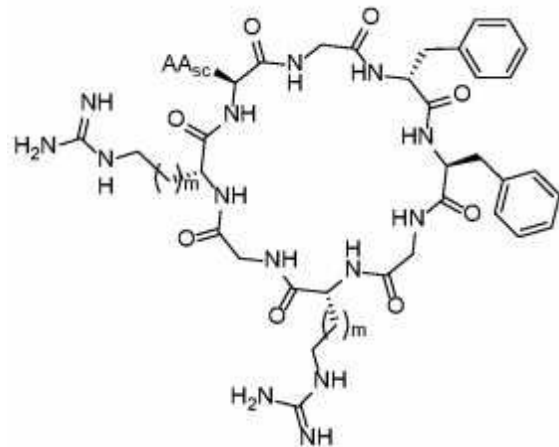
[화학식 (I-1)]



청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-2)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

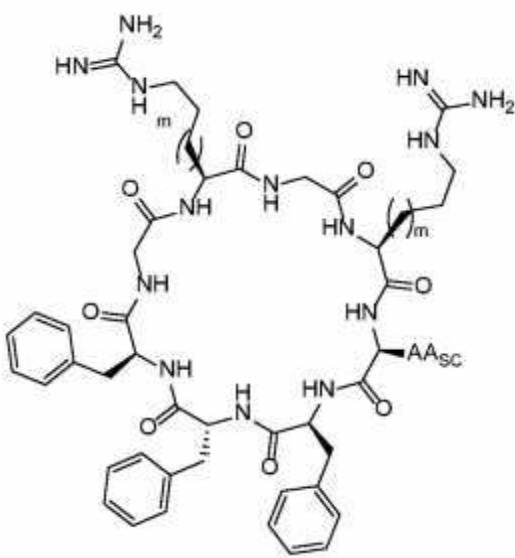
[화학식 (I-2)]



청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-3)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

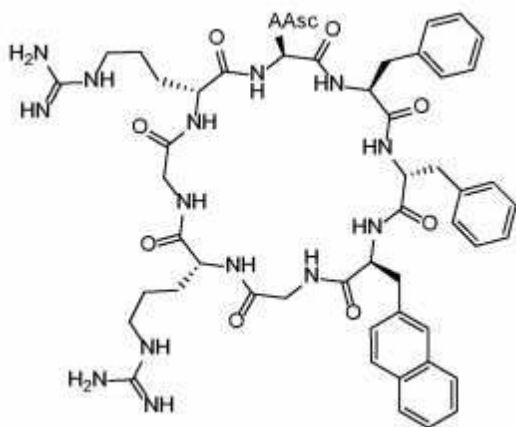
[화학식 (I-3)]



청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-4)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

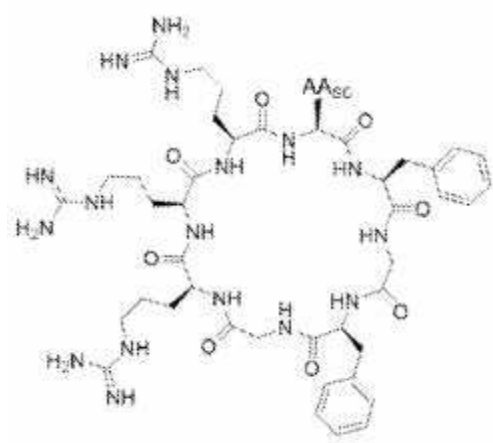
[화학식 (I-4)]



청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-5)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

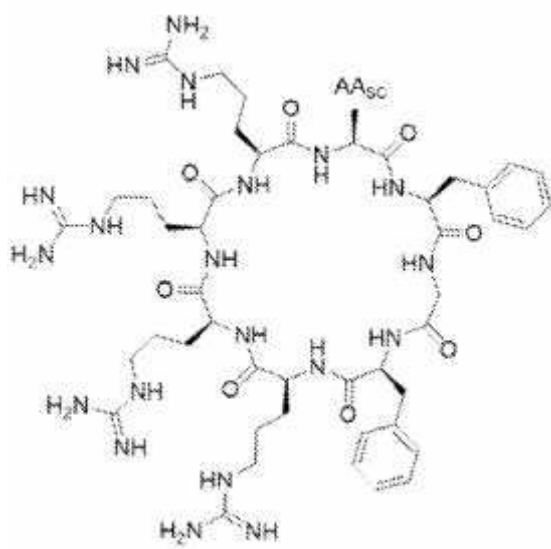
[화학식 (I-5)]



청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-6)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

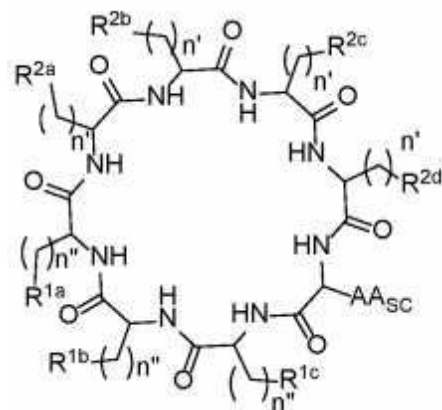
[화학식 (I-6)]



청구항 14

화학식 (II)의 사이클릭 펩티드:

[화학식 (II)]



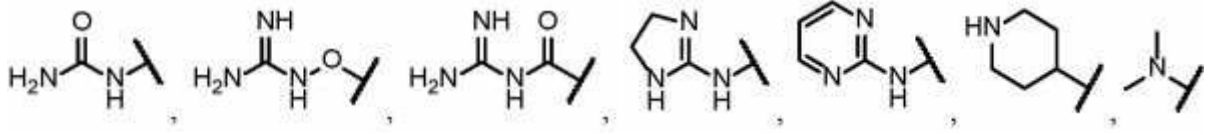
(상기 식에서,

AA_{Sc}는 아미노산 측쇄이고;

R^{1a}, R^{1b}, 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6원 내지 14원 아릴 또는 6원 내지 14원 헤테로아릴이고;

R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}는 독립적으로 아미노산 측쇄이고;

R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는



또는 이들의 양성자화된 형태이고;

R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태이고;

각각의 n''은 독립적으로 0 내지 5의 정수이고;

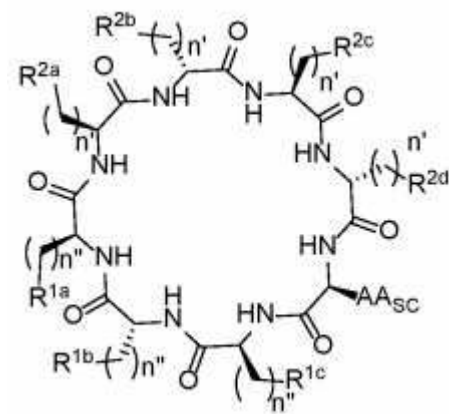
각각의 n'은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

n'이 0인 경우, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 또는 R^{2d}는 부재함).

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (II-1)의 사이클릭 펩티드인, 사이클릭 펩티드:

[화학식 (II-1)]



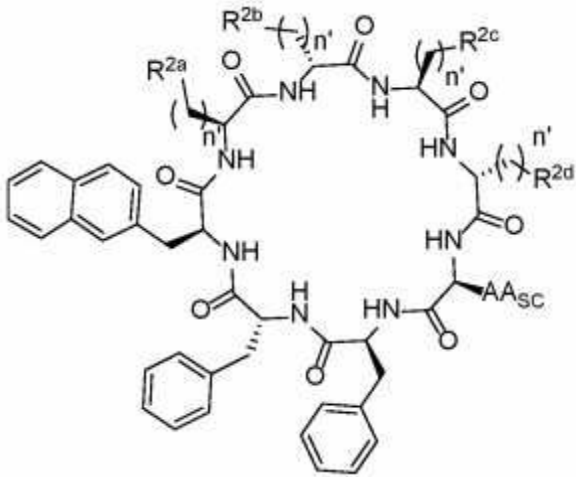
청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, R^{1a}, R^{1b}, 및 R^{1c}는 각각 독립적으로, 페닐, 나프틸, 및 안트라세닐로 이루어진 군 으로부터 선택되는, 사이클릭 펩티드.

청구항 17

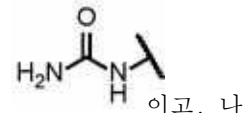
제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (IIa)의 사이클릭 펩티드인, 사이클릭 펩티드:

[화학식 (IIa)]



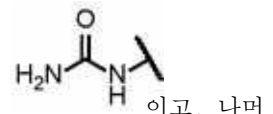
청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d} 중 적어도 하나는
 머지 R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d}는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드.



청구항 19

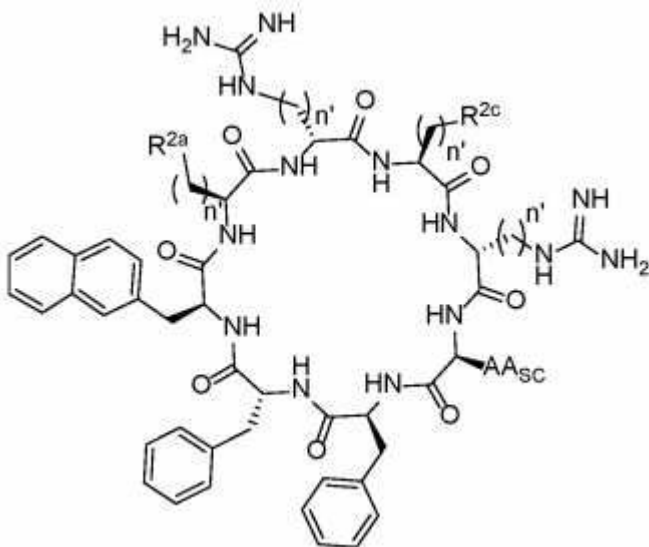
제14항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d} 중 적어도 2개는
 지 R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d}는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드.



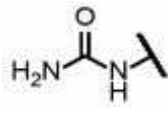
청구항 20

제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (IIb)의 사이클릭 펩티드인, 사이클릭 펩티드:

[화학식 (IIb)]



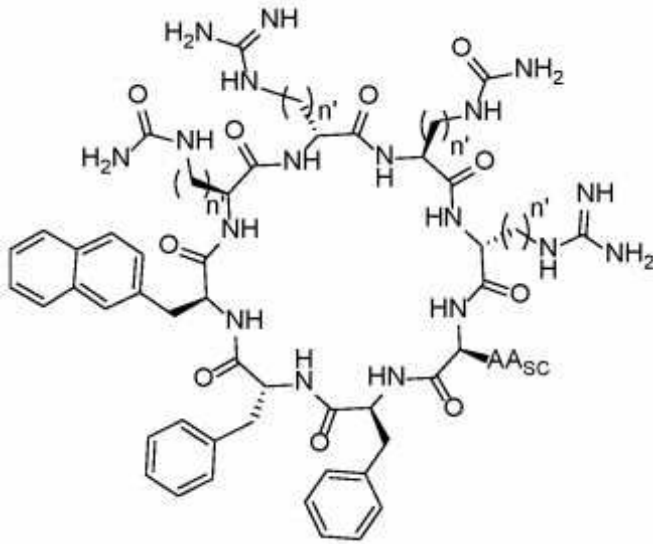
청구항 21

제20항에 있어서, R^{2a} 및 R^{2c} 는 각각  인, 사이클릭 펩티드.

청구항 22

제14항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (IIc)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, 사이클릭 펩티드:

[화학식 (IIc)]



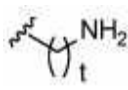
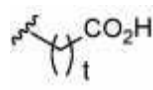
청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, AA_{sc} 는 아스파라긴 잔기, 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기, 호모글루탐산 잔기, 또는 호모글루타메이트 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 24

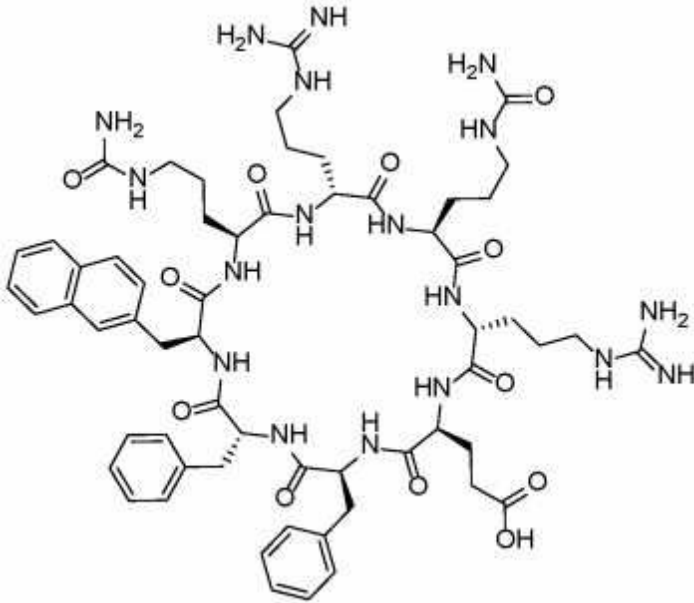
제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, AA_{sc} 는 글루탐산 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 25

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, AA_{sc} 는  또는  (여기서, t 는 0 내지 5의 정수임)인, 사이클릭 펩티드.

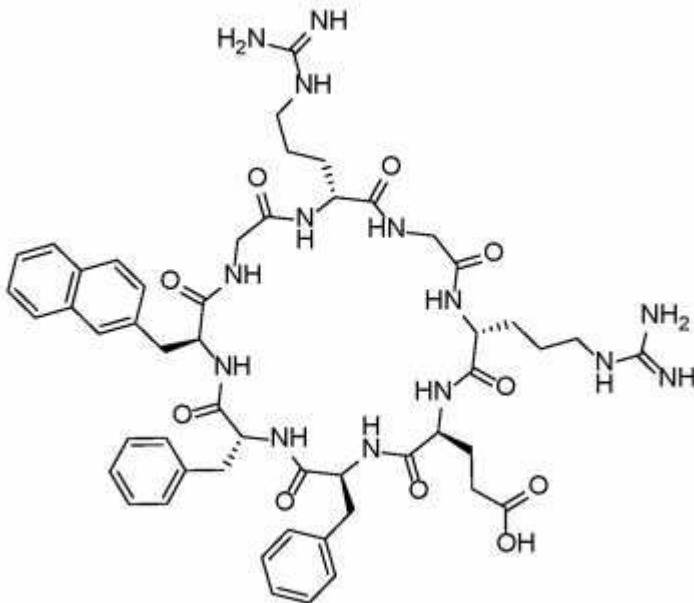
청구항 26

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 갖는, 사이클릭 펩티드:



청구항 27

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 갖는, 사이클릭 펩티드:



청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA_{Sc} 상의 적어도 하나의 원자가 운반물 모이어티(cargo moiety)에 의해 대체되거나, 또는 적어도 하나의 고립 쌍이 운반물 모이어티에 대한 결합을 형성하는, 사이클릭 펩티드.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AA_{Sc}는 링커에 접합되는, 사이클릭 펩티드.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 접합된 형태에서, 상기 AA_{Sc}는 아스파라긴 잔기, 글루타민 잔기, 또는 호모글루타민 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 접합된 형태에서, 상기 AA_{SC}는 글루타민 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 운반물 모이어티가 링커에 의해 AA_{SC}에 접합되는, 사이클릭 펩티드.

청구항 33

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 -(OCH₂CH₂)_z- 하위단위(여기서, z'은 1 내지 23의 정수임)를 포함하는, 사이클릭 펩티드.

청구항 34

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는

- (i) -(OCH₂CH₂)_z- 하위단위(여기서, z'은 1 내지 23의 정수임);
- (ii) 하나 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜트산 또는 6-아미노헥산산의 잔기, 또는 이들의 조합; 또는
- (iii) (i)과 (ii)의 조합을 포함하는, 사이클릭 펩티드.

청구항 35

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는

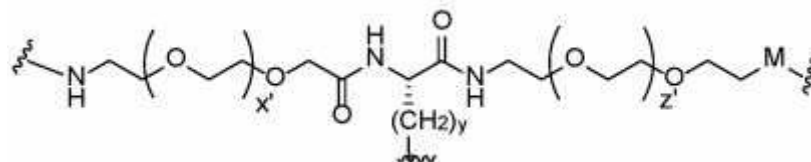
- (i) -(OCH₂CH₂)_z- 하위단위(여기서, z는 2 내지 20의 정수임);
- (ii) 하나 이상의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜트산 6-아미노헥산산의 잔기, 또는 이들의 조합; 또는
- (iii) (i)과 (ii)의 조합을 포함하는, 사이클릭 펩티드.

청구항 36

제29항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 2가 또는 3가 C₁-C₅₀ 알킬렌을 포함하며, 여기서 1 내지 25개의 메틸렌 기는 선택적으로 그리고 독립적으로 -N(H)-, -N(C₁-C₄ 알킬)-, -N(사이클로알킬)-, -O-, -C(O)-, -C(O)O-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(C₁-C₄ 알킬)-, -S(O)₂N(사이클로알킬)-, -N(H)C(O)-, -N(C₁-C₄ 알킬)C(O)-, -N(사이클로알킬)C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(C₁-C₄ 알킬), -C(O)N(사이클로알킬), 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 또는 사이클로알케닐로 대체되는, 사이클릭 펩티드.

청구항 37

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 하기 구조를 갖는, 사이클릭 펩티드:

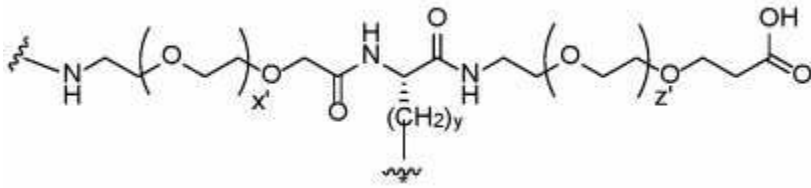


(상기 식에서,

x'은 1 내지 23의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z'은 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 상기 사이클릭 펩티드의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 결합 기임).

청구항 38

제29항 내지 제31항 또는 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 하기 구조를 갖는, 사이클릭 펩티드:



청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, z'은 11인, 사이클릭 펩티드.

청구항 40

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, x'은 1인, 사이클릭 펩티드.

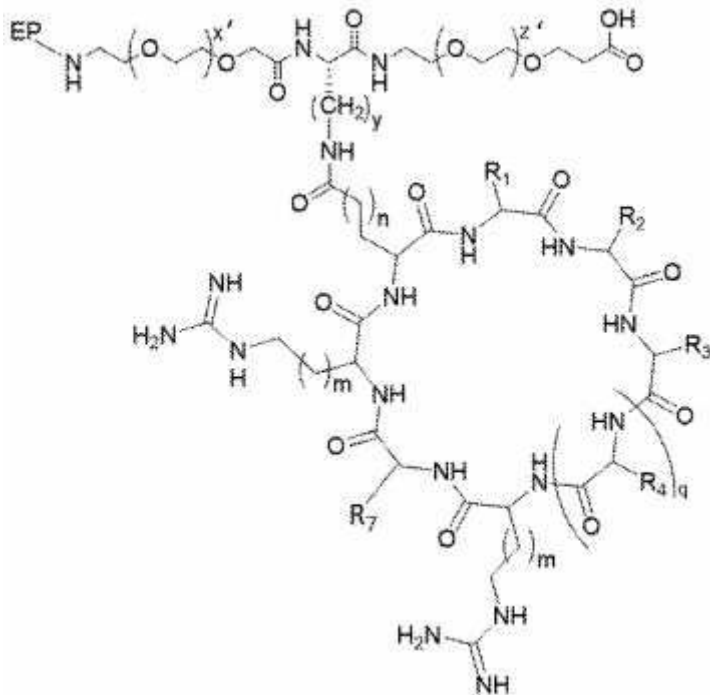
청구항 41

제29항 내지 제31항 및 제33항 내지 제40항 중 어느 한 항의 사이클릭 펩티드, 및 상기 링커의 아미노 단부에서 상기 링커에 접합된 고리의 펩티드(exocyclic peptide)를 포함하는 엔도솜 탈출 비히클(endosomal escape vehicle, EEV).

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (B)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태인, EEV:

[화학식 (B)]



(상기 식에서,

R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

R₄ 및 R₇은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

EP는 고리의 펩티드이고;

각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

n은 0 내지 2의 정수이고;

x'은 1 내지 20의 정수이고;

y는 1 내지 5의 정수이고;

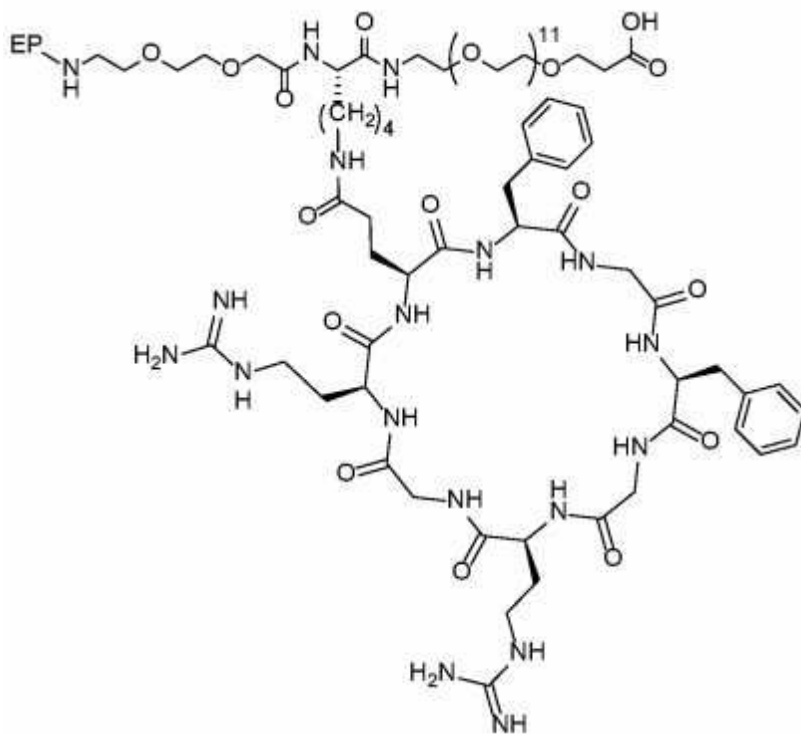
q는 1 내지 4이고;

z'은 1 내지 23의 정수임).

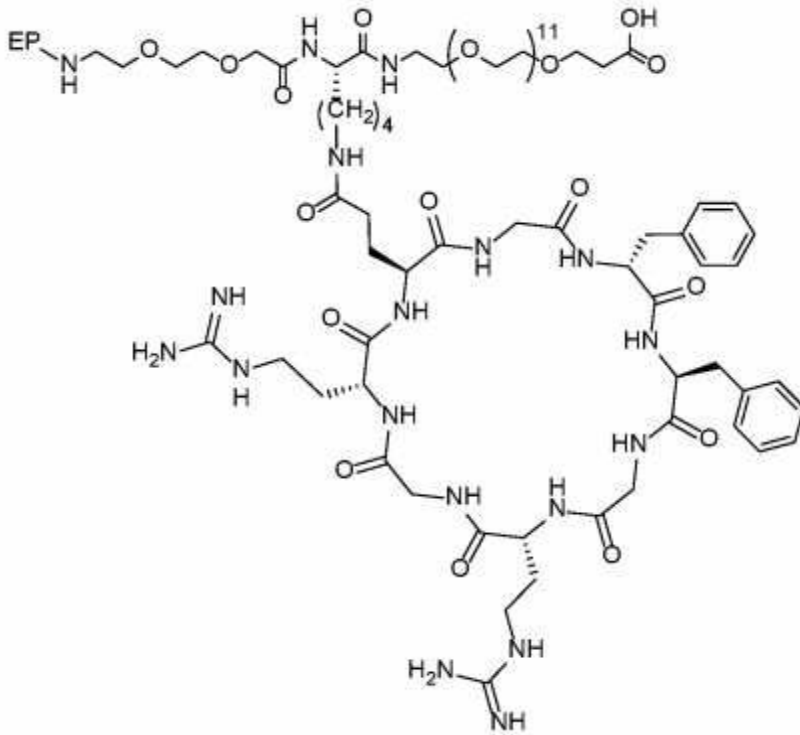
청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (B-1) 내지 화학식 (B-4)의 사이클릭 펩티드인, 사이클릭 펩티드:

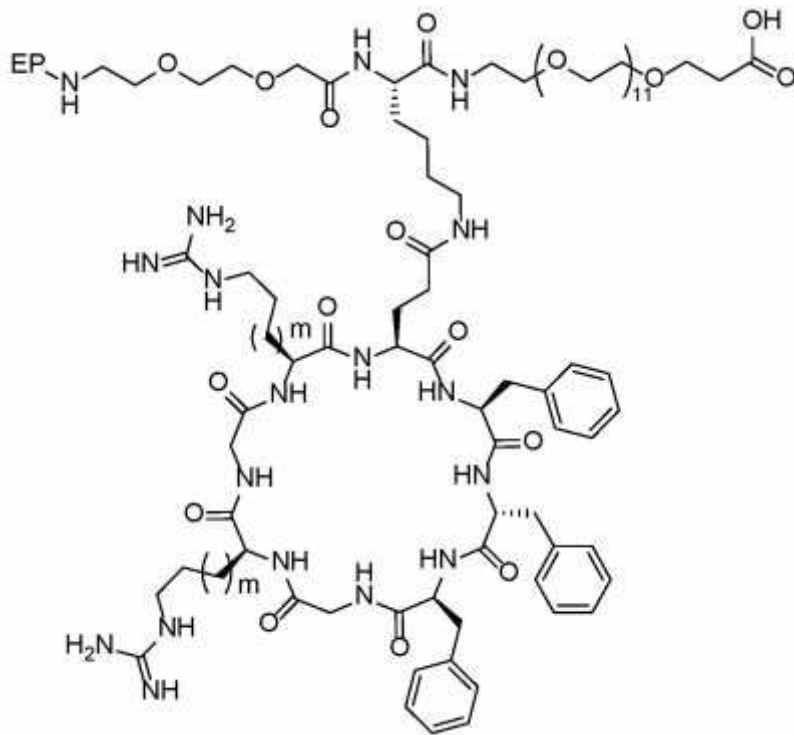
[화학식 (B-1)]



[화학식 (B-2)]

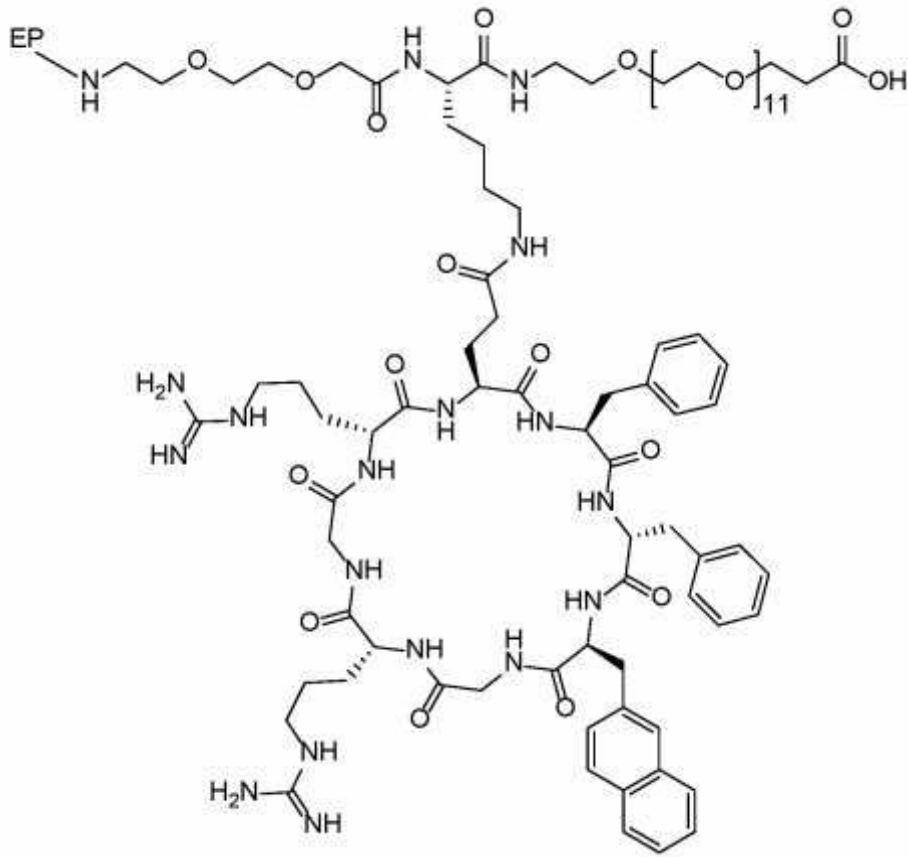


[화학식 (B-3)]



[화학식 (B-4)]

, 또는



청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 2 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV.

청구항 45

제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 4 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV.

청구항 46

제41항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV.

청구항 47

제41항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 2, 3, 또는 4개의 라이신 잔기를 포함하는, EEV.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 각각의 라이신 잔기의 측쇄 상의 아미노기는 트라이플루오로아세틸(-COCF₃), 알릴옥시 카르보닐(Alloc), 1-(4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde), 또는 (4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥스-1-일리덴-3)-메틸부틸(ivDde) 기로 치환되는, EEV.

청구항 49

제41항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신, 및 메티오닌으로부터 선택되는, EEV.

청구항 51

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 KK, KR, RR, HH, HK, HR, RH, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKH, KHK, HKK, HRR, HRH, HHR, HBH, HHH, HHHH, KHKK, KKHK, KKKH, KHKH, HKHK, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, HBHBH, HBKBH, RRRRR, KKKKK, KKKRK, RKKKK, KRKKK, KKRKK, KKKR, KBKBK, RKKKKG, KRKKKG, KKRKKG, KKKKRG, RKKKKB, KRKKKB, KKRKKB, KKKKRB, KKKRKV, RRRRRR, HHHHHH, RHRHRH, HRHRHR, KRKRKR, RKRKRK, RBRBRB, KBKBK, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRK, PKKGRK, PKKKGK, PKKKRGV 또는 PKKKRKG 중 하나를 포함하는, EEV.

청구항 52

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH 중 하나를 포함하며, 여기서 B는 베타-알라닌인, EEV.

청구항 53

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, KKKKK, KKKRK, KBKBK, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRK, PKKGRK, PKKKGK, PKKKRGV 또는 PKKKRKG 중 하나를 포함하는, EEV.

청구항 54

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH 중 하나를 포함하며, 여기서 B는 베타-알라닌인, EEV.

청구항 55

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 PKKKRKV를 포함하는, EEV.

청구항 56

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 Ac-PKKRKV 중 하나를 포함하는, EEV.

청구항 57

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 NLSKRPAAIKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKPL, SALIKKKKMAP, DRLRR, PKQKRRK, RKLKKIKKL, REKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 또는 RKCLQAGMNLEARKTKK 중 하나를 포함하는, EEV.

청구항 58

제41항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 NLSKRPAAIKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKPL, SALIKKKKMAP, DRLRR, PKQKRRK, RKLKKIKKL, REKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 또는 RKCLQAGMNLEARKTKK 중 하나를 포함하는, EEV.

청구항 59

운반물 모이어티에 접합된 제41항 내지 제58항 중 어느 한 항의 EEV를 포함하는 화합물로서, 상기 EEV의 말단 카르복실산 기의 -OH가 상기 운반물 모이어티로 대체되는, 화합물.

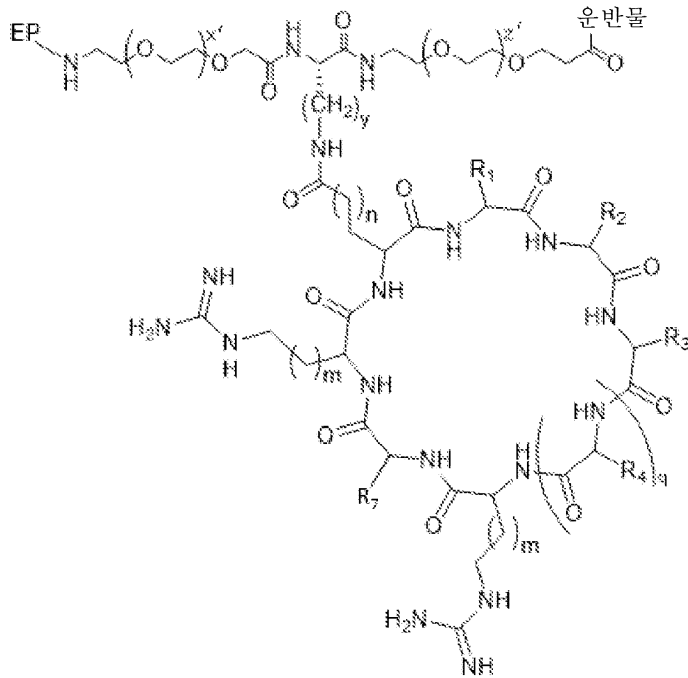
청구항 60

제59항에 있어서, 상기 운반물 모이어티는 소분자, 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 단백질, 항체 또는 이들의 유도체인, 화합물.

청구항 61

제59항 또는 제60항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 (C)의 화합물 또는 이의 양성자화된 형태인, 화합물:

[화학식 (C)]



(상기 식에서,

R_1 , R_2 , 및 R_3 은 각각 독립적으로 H, 또는 아릴 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 측쇄이며, 여기서 R_1 , R_2 , 및 R_3 중 적어도 하나는 아릴 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 측쇄이고;

R_4 및 R_7 은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

EP는 고리의 펩티드이고;

각각의 m 은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

n 은 0 내지 2의 정수이고;

x' 은 1 내지 23의 정수이고;

y 는 1 내지 5의 정수이고;

q 는 1 내지 4의 정수이고;

z' 은 1 내지 23의 정수임).

청구항 62

제61항에 있어서, R_1 , R_2 , 및 R_3 은 H, 또는 아릴 기를 포함하는 측쇄인, 화합물.

청구항 63

제61항 또는 제62항에 있어서, 상기 아릴 기를 포함하는 측쇄는 페닐알라닌의 측쇄인, 화합물.

청구항 64

제61항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, R₁, R₂, 및 R₃ 중 2개는 페닐알라닌의 측쇄인, 화합물.

청구항 65

제61항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 2개는 H인, 화합물.

청구항 66

제61항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, z'은 11인, 화합물.

청구항 67

제61항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, x'은 1인, 화합물.

청구항 68

제61항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 2 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 69

제61항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 4 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 70

제61항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 71

제61항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 적어도 1개의 라이신 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 72

제61항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 2, 3, 또는 4개의 라이신 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 73

제61항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산을 포함하는, 화합물.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신, 및 메티오닌 잔기로부터 선택되는, 화합물.

청구항 75

제61항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 서열 P₁KKR₂KV; KR; RR, KKK; KGK; KBK; KBR; KRK; KRR; RKK; RRR; KKKK; KKRK; KRKK; KRRK; RKRR; RRRR; KGKK; KKGK; KKKKK; KKKRK; KBKBK; KKKRKV; PGKKRKV; PKGKRKV; PKKGRKV; PKKKGKV; PKKKRGV; 또는 P₁KKR₂KG 중 하나를 포함하는, 화합물.

청구항 76

제62항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 구조 Ac-P₁KKR₂KV를 갖는, 화합물.

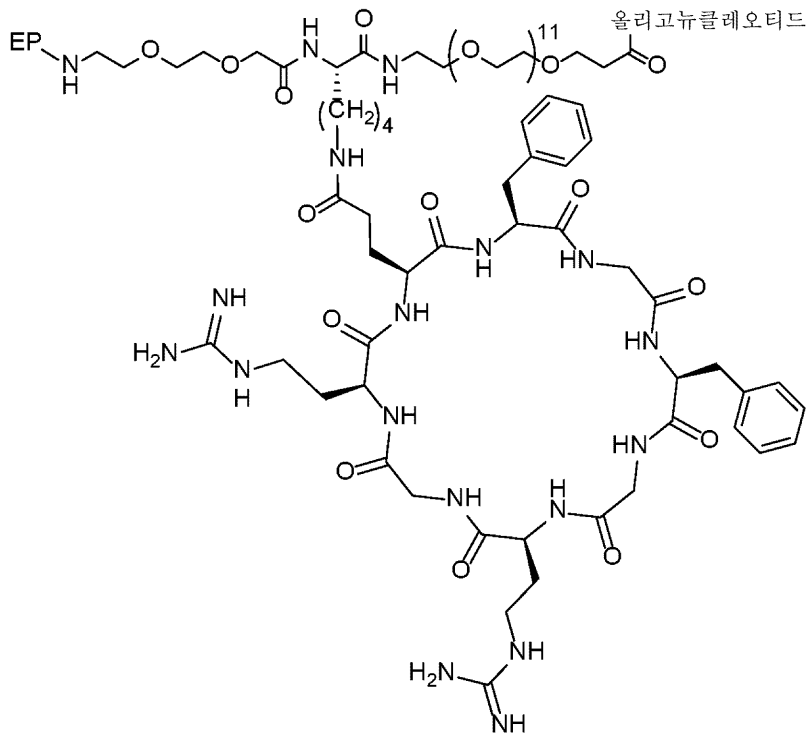
청구항 77

제61항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EEV는 올리고뉴클레오티드, 펩티드 및 소분자로부터 선택되는 치료용 모이어티를 포함하는 운반물 모이어티에 접합되는, 화합물.

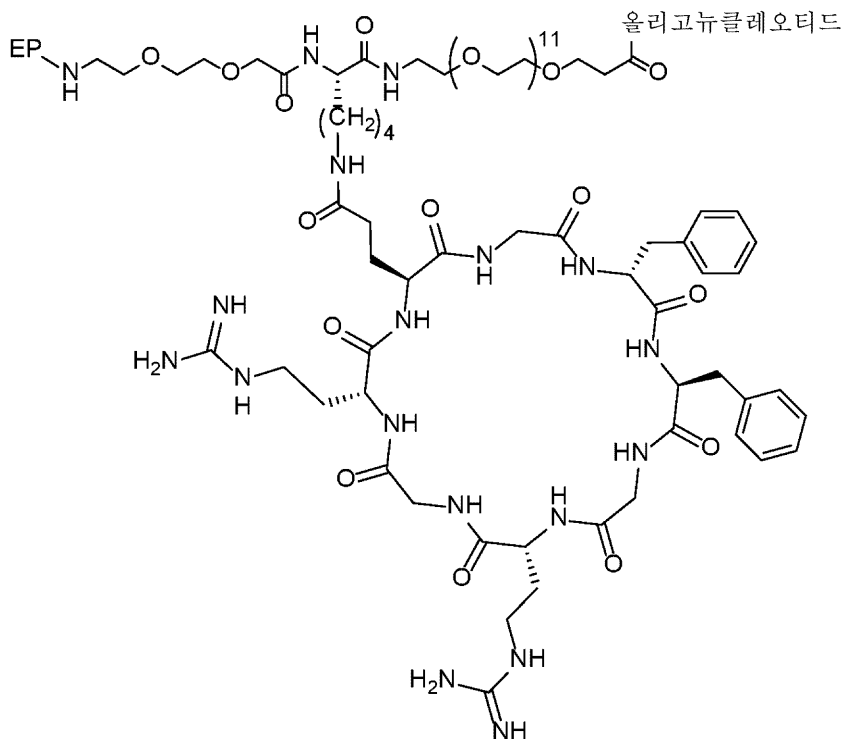
청구항 78

제61항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (C-1), 화학식 (C-2), 화학식 (C-3), 또는 화학식 (C-4)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는, 화합물:

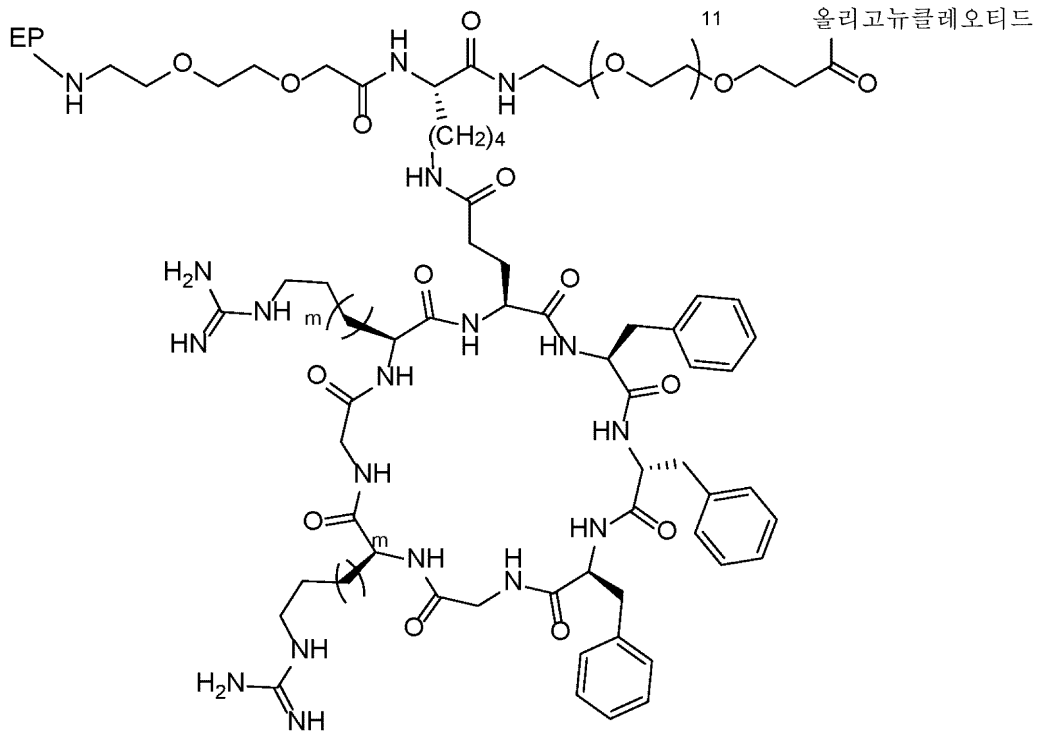
[화학식 (C-1)]



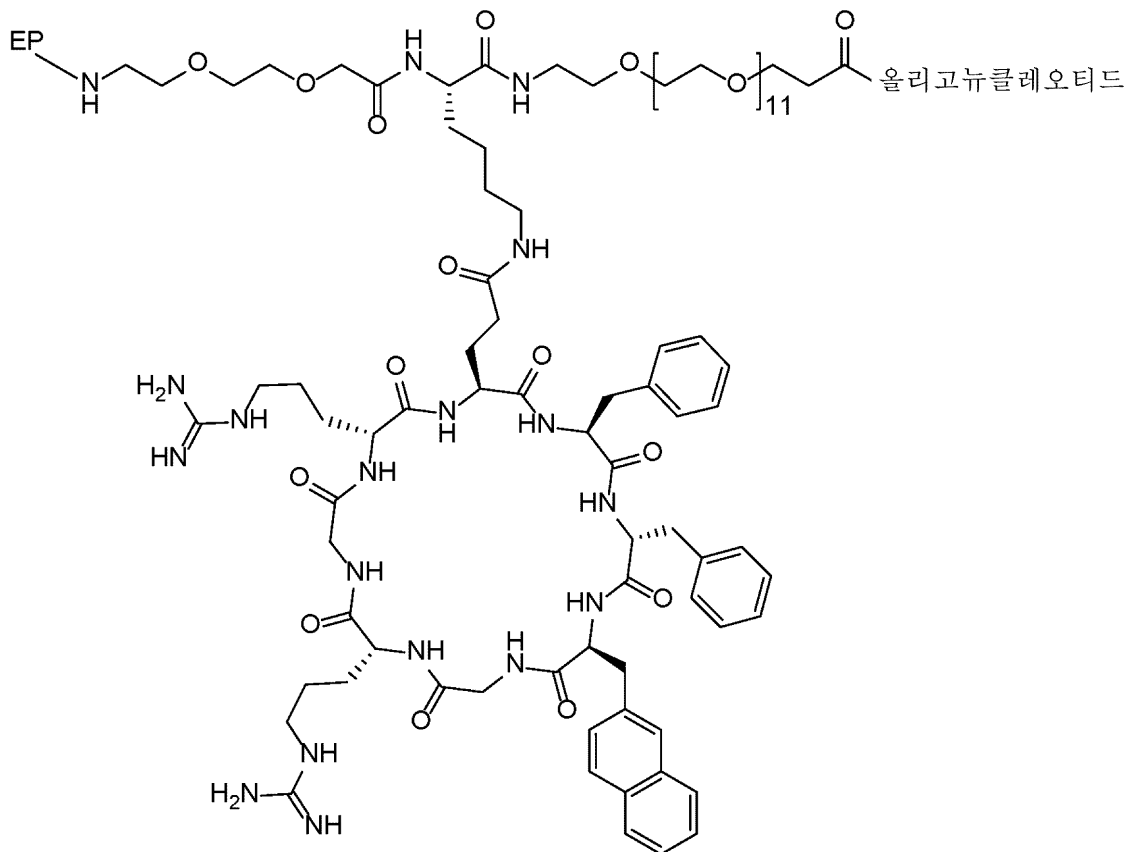
[화학식 (C-2)]



[화학식 (C-3)]



[화학식 (C-4)]



청구항 79

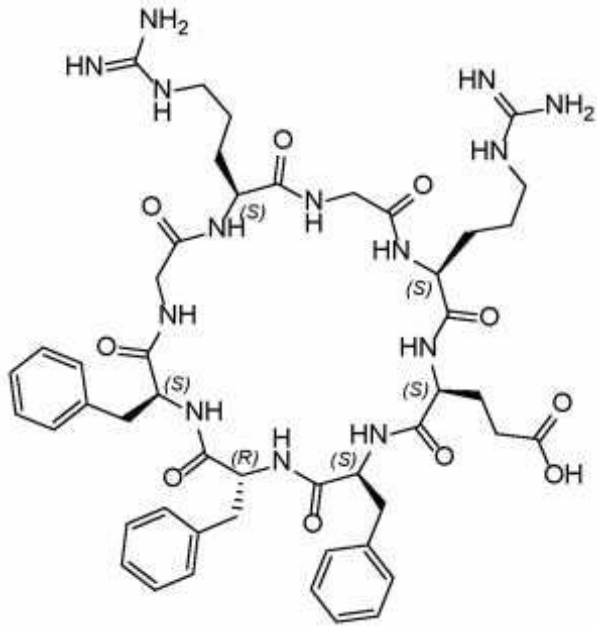
하기 화학식의 화합물:

Ac-PKKRKY-AEEA-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH, 또는

Ac-PKKKRKV-AEEA-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH.

청구항 80

운반물, 링커 및 사이클릭 펩티드를 포함하며, 상기 사이클릭 펩티드는 하기 화학식을 갖는, 화합물:



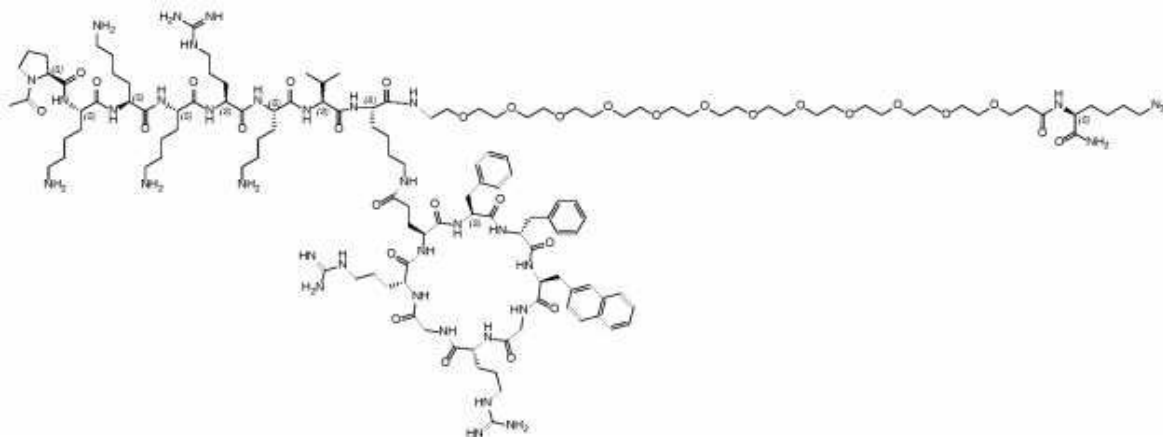
청구항 81

하기 화학식의 EEV:

Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(FfFGRGRQ))-미니PEG2-K(N3)-NH₂.

청구항 82

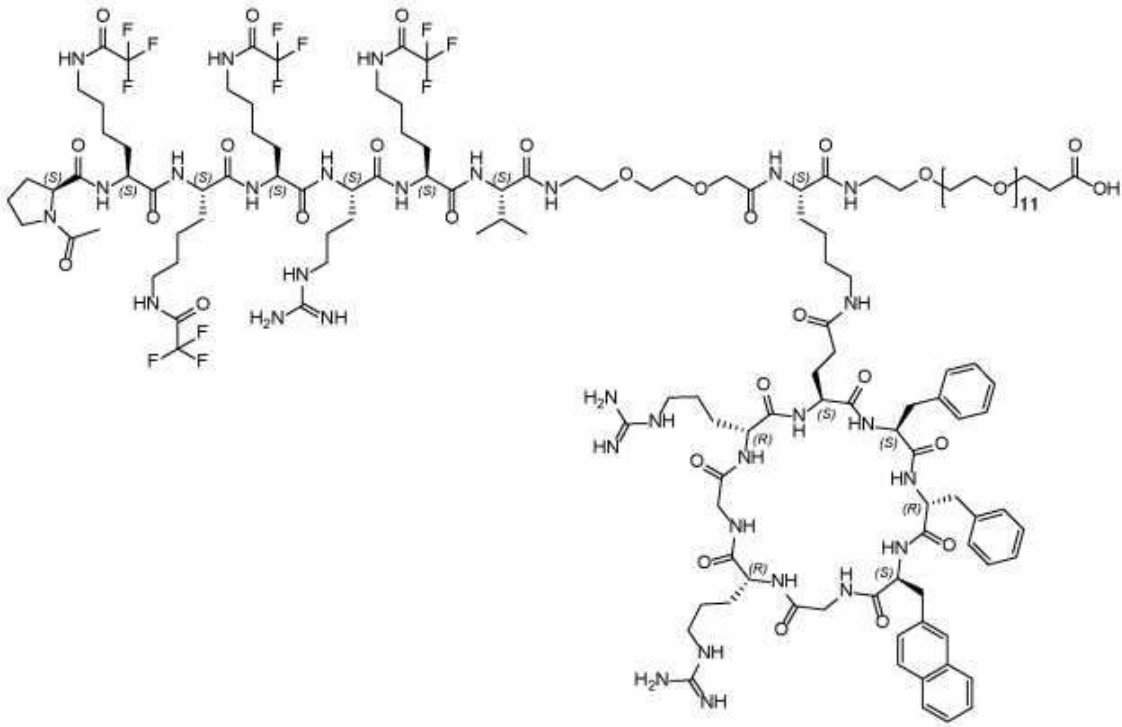
하기 화학식의 EEV:



; Ac-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Nal-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gly-Gln])-PEG12-Lys(아지도)-NH₂.

청구항 83

하기 화학식의 EEV:



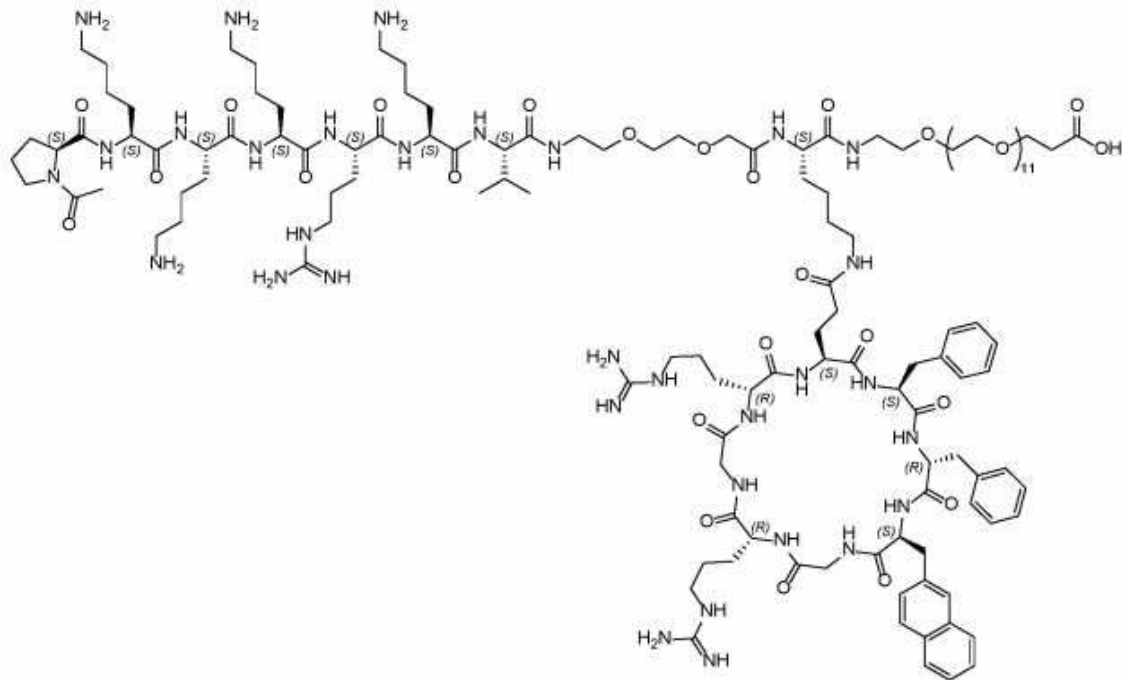
청구항 84

하기 화학식의 EEV:

Ac-P-K(Tfa)-K(Tfa)-K(Tfa)-R-K(Tfa)-V-미니PEG-K(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-PEG12-OH.

청구항 85

하기 화학식의 EEV:



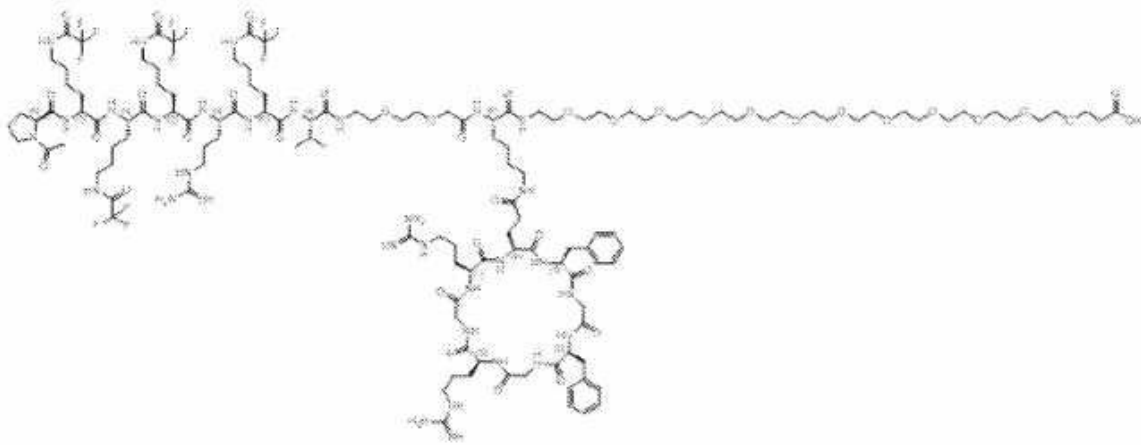
청구항 86

하기 화학식의 EEV:

Ac-P-K-K-K-R-K-V-미니PEG-K(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-PEG12-OH.

청구항 87

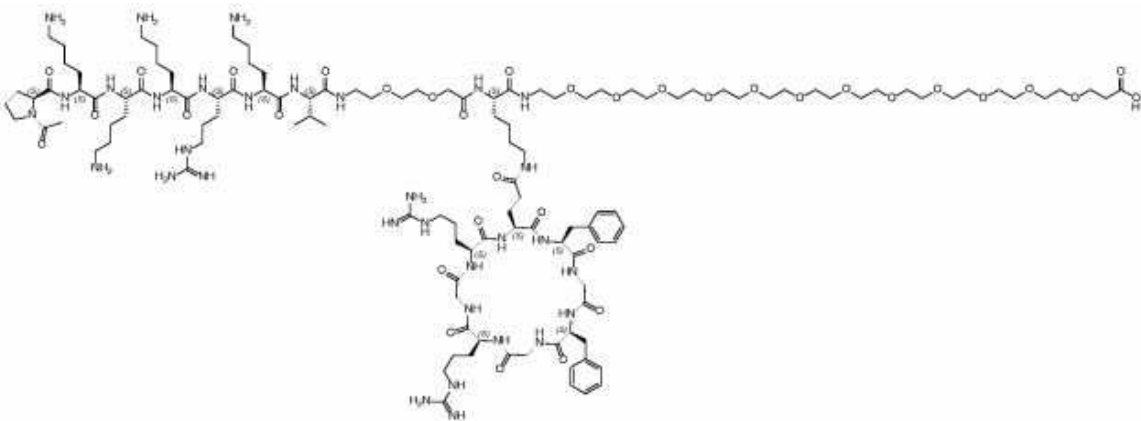
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Gly-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 88

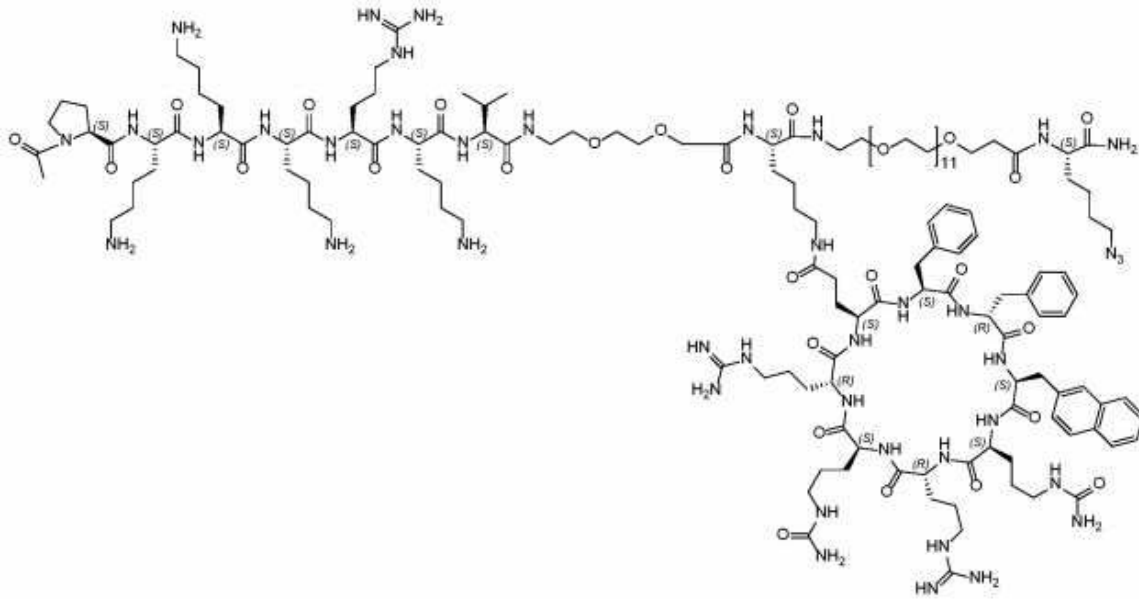
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Gly-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 89

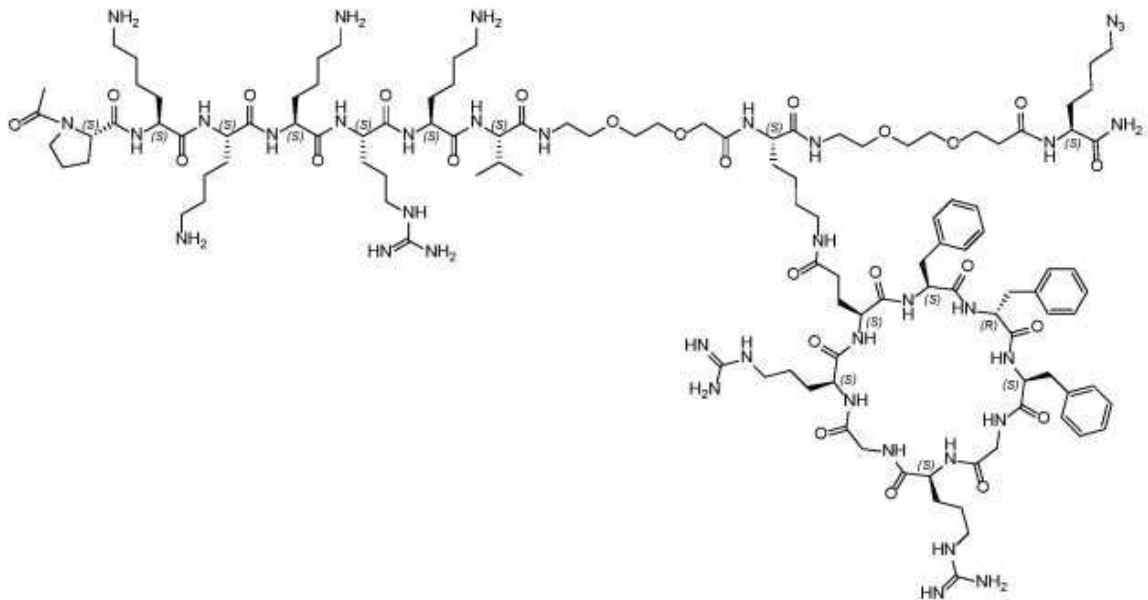
하기 화학식의 EEV:



; Ac-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Nal-Cit-D-Arg-Cit-D-Arg-Gln])-PEG12-Lys(아지도)-NH₂.

청구항 90

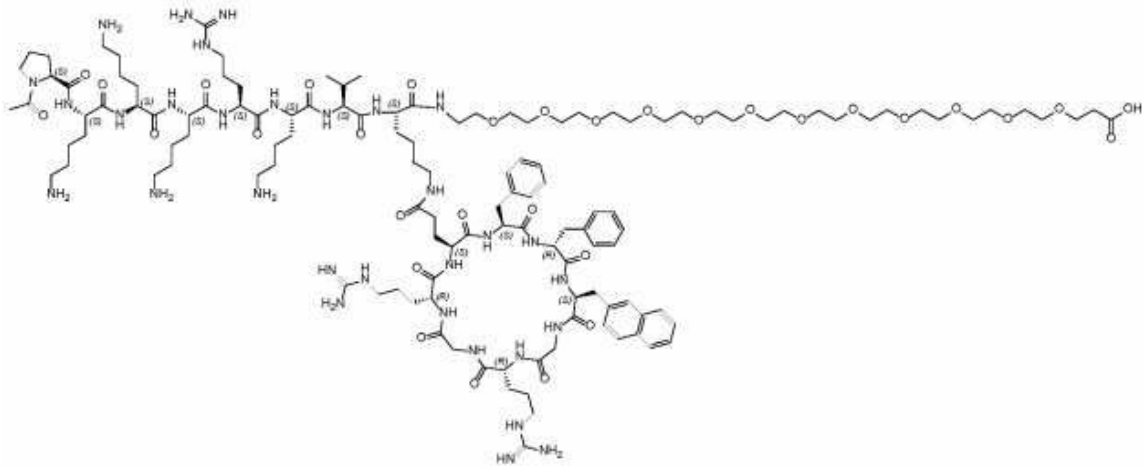
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Phe-Gly-Arg-Gly-Arg-Gln])-AEEA-Lys(아지도)-NH₂.

청구항 91

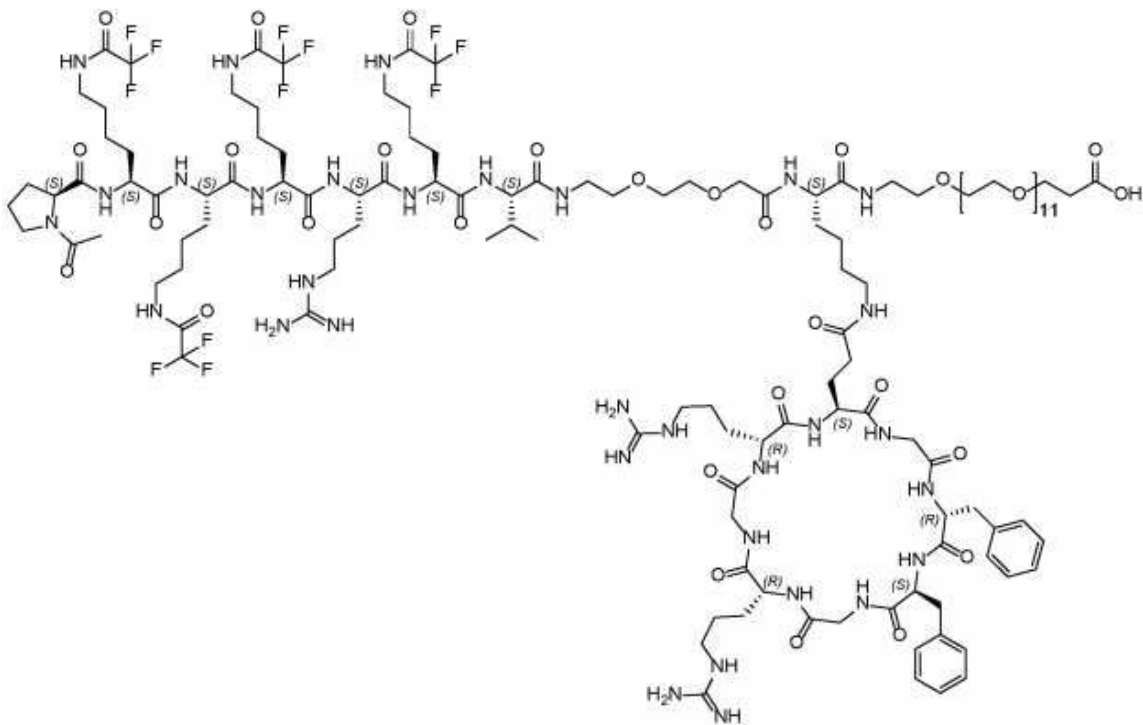
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Nal-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 92

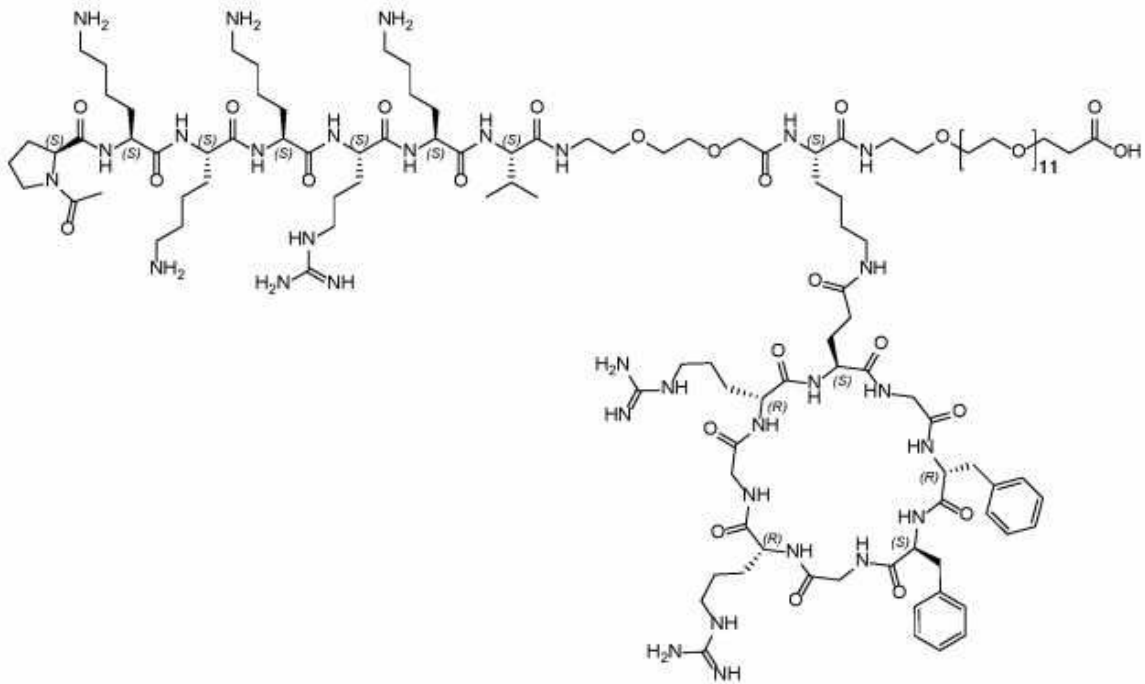
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Gly-D-Phe-Phe-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 93

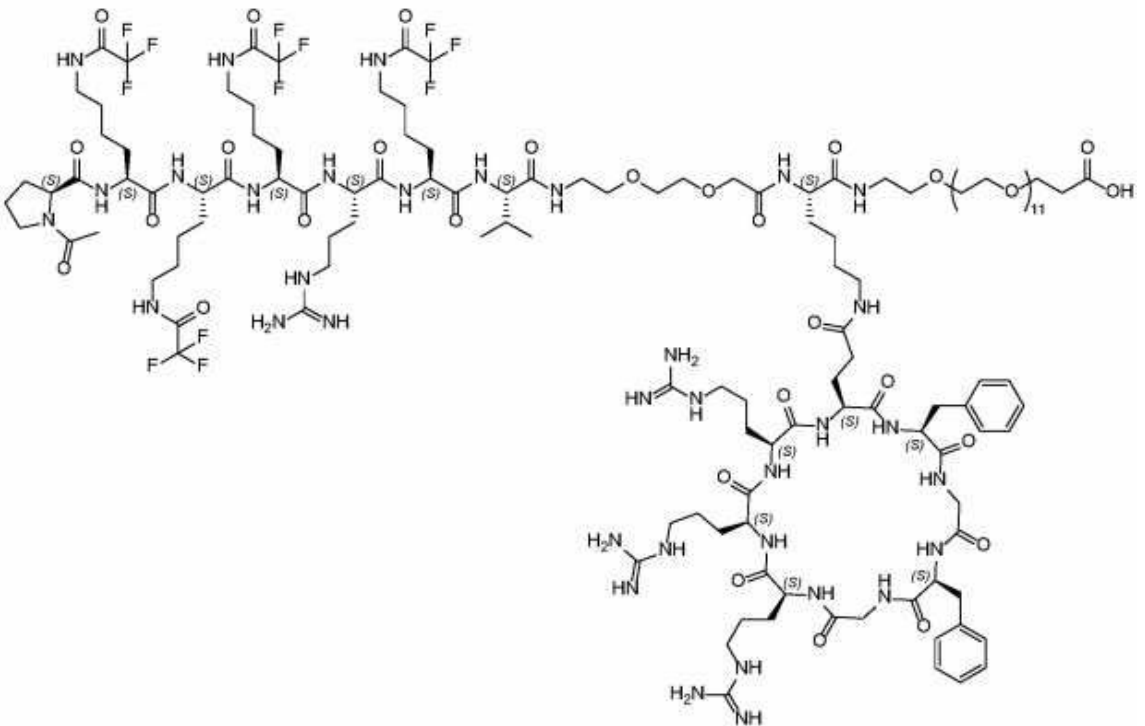
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Gly-D-Phe-Phe-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gln])-PEG12-OH

청구항 94

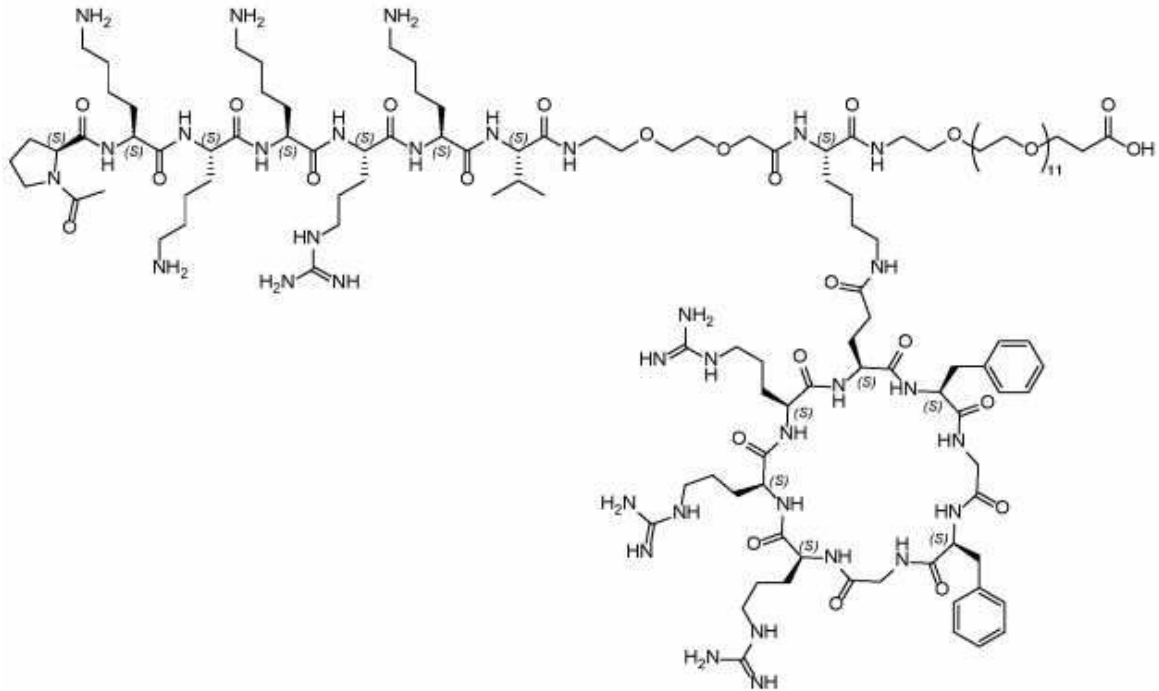
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 95

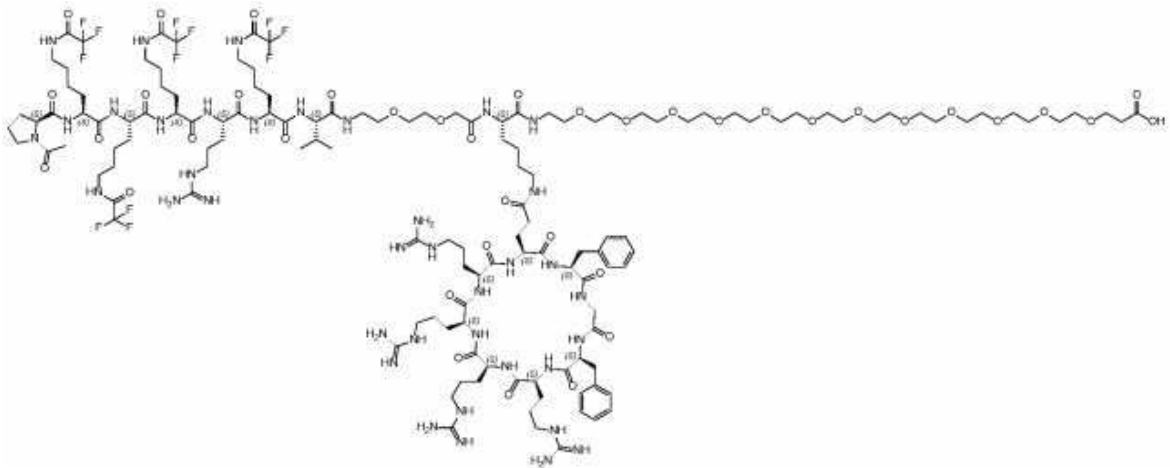
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 96

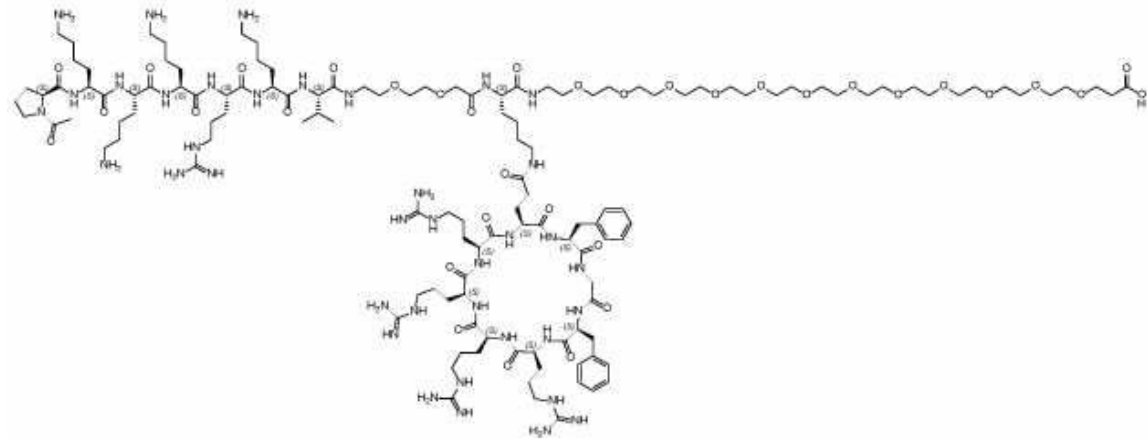
하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Arg-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 97

하기 화학식의 EEV:



; 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

청구항 98

하기로부터 선택되는 EEV:

- Ac-rr-미니PEG2-Dap[사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ)]-PEG12-OH
- Ac-frr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rfr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rbfbr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rrr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rbr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rbrbr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-hh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-hbh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-hbhbh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rbhbh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-hbrbh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- Ac-rr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-frr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-rfr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-rbfbr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-rrr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-rbr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-rbrbr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-hh-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- Ac-hbh-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

Ac-hbbbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
 Ac-rbbbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
 Ac-hbrbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
 Ac-KKKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KGKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KK GK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KGK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KBKBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KBR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PGKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKGKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKKGRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKKKGKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKKKRGV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-PKKKRKG-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KKKRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
 Ac-KK RK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2 및
 Ac-KRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2.

청구항 99

하기로부터 선택되는 EEV:

Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-G-r-G-rQ])-PEG12-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-KR-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKGKV-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKG-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-KKKRK-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[FFΦGRGRQ])-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[βhF-fΦGrGrQ])-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[FfΦSrSrQ])-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂

및

청구항 100

하기로부터 선택되는 EEV:

Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFKRKRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFRGRGQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRGRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRrRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRRRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFRRRRQ))-PEG12-OH

및

청구항 101

하기로부터 선택되는 EEV:

- Ac-K-K-K-R-K-G-미니 PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 - Ac-K-K-K-R-K-미니 PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 - Ac-K-K-R-K-K-PEG₄-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 - Ac-K-R-K-K-K-PEG₄-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 - Ac-K-K-K-K-R-PEG₄-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 - Ac-R-K-K-K-K-PEG₄-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 - Ac-K-K-K-R-K-PEG₄-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- 및

청구항 102

하기로부터 선택되는 EEV:

- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₂-K(N₃)-NH₂
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₂-K(N₃)-NH₂ 및
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH.

청구항 103

운반물로서,

상기 운반물은 단백질이고, EEV는 하기로부터 선택되는, 운반물:

- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH

Ac-rr-PEG₂-K(사이클로 [FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rr-PEG₂-K(사이클로 [GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rr-PEG₂-K(사이클로 [FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로 [FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로 [Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로 [FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로 [FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
 Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로 [GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH

- Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH 및
- Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 3월 31일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/168,888호, 2021년 4월 7일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/171,860호, 2021년 9월 1일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/239,671호, 2021년 12월 17일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/290,960호, 2022년 1월 11일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/298,565호, 2022년 2월 25일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/268,577호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각의 개시내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

배경 기술

[0003] 핵산 및 이의 합성 유사체는 치료제로서, 특히 통상적인 약물 양식(drug modality)으로 치료하기 어려운 표적(예를 들어, 유전자 돌연변이에 의해 야기되는 누락/결함 단백질)에 대한 치료제로서 매우 큰 잠재력을 가진다.

[0004] 그러나, 그러한 요법의 잠재력을 임상에 적용하는 데 있어서의 주요 문제는 이들은 전신으로 투여될 때 세포내 구획에 대한 접근을 획득할 수 있는 능력이 제한되어 있다는 것이다. 운반체 시스템, 예컨대 중합체, 양이온성 리포솜 또는 화학적 변형 - 예를 들어, 콜레스테롤 분자의 공유 부착에 의한 - 이 세포내 전달을 용이하게 하는데 사용되어 왔다. 여전히, 이들 접근법에 의한 세포내 전달 효율은 종종 낮으며, 세포내 전달의 효능을 증가시키기 위한 개선된 전달 시스템이 달성되지 않은 상태로 남아 있다.

[0005] 1980년대 말기에, 고도로 양으로 하전된 HIV Tat 펩티드가 포유류 세포막을 가로질러 전위(translocate)될 수 있다는 것을 알아내었다. 후속으로, 유의한 막 손상을 야기하지 않으면서 낮은 마이크로몰 농도에서 세포막을 침투할 수 있는 다른 "세포 침투 펩티드"(cell penetrating peptide, CPP)가 발견되었다. 문헌[Qian et al.

(2016) "Discovery and Mechanism of Highly Efficient Cyclic Cell-Penetrating Peptides." Biochem. 55:2601-2612]. 그러나, 이들 CPP 중 다수는 불량한 엔도솜 탈출 효율에 의해 이들에 의한 효과적인 사이토졸 전달이 제한된다.

[0006] 따라서, 적합한 독성 프로파일을 갖는 새로운 세포 침투 펩티드, 및 펩티드를 포함하는 조성물이 필요하다.

[0007] 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은 이들 및 다른 요구를 해결한다.

발명의 내용

[0008] 막 장벽(membrane barrier)을 파괴하고 약물을 세포 내로 전달하기 위한 한 가지 잠재적인 전략은 약물을 "세포-침투 펩티드"(본 명세서에서 CPP 또는 EEV(endosomal escape vehicle, 엔도솜 탈출 비히클)로도 지칭됨)에 부착하는 것이다. 세포질 전달을 용이하게 하는 소정 잔기, 예컨대 아르기닌은 전신 기관 독성에 대한 유의한 기여인자로서 연루되어 왔다.

[0009] 적합한 독성 프로파일을 갖는 새로운 세포 침투 펩티드, 및 펩티드를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0010] 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은 이들 및 다른 요구를 해결한다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 운반물(cargo)의 전달을 위한 아르기닌 대리물(surrogate)을 함유하는 cCPP의 비제한적인 예를 나타낸다.

도 2는 화합물 1b와 PMO 사이에 형성된 접합 생성물인 화합물 1b-PMO(EEV-PMO-MDX-1)의 구조를 나타낸다.

도 3은 다양한 농도의 EEV12 및 화합물 1b에 의한 처리 시에 인간 섬유아세포 세포주 WI38에서의 세포 생존력(cell viability)의 변화를 나타낸다.

도 4는 다양한 농도의 EEV12 및 화합물 1b에 의한 처리 시에 인간 섬유아세포 세포주 WI38로부터 방출되는 락테이트 데하이드로게나제(LDH)의 정량화를 나타낸다.

도 5는 다양한 농도의 EEV12 및 화합물 1b에 의한 처리 시에 1차 인간 신장 근위 요세관 상피 세포(renal proximal tubular epithelial cell, RPTEC)에서의 세포 생존력의 변화를 나타낸다.

도 6은 다양한 농도의 EEV12 및 화합물 1b에 의한 처리 시에 1차 인간 신장 근위 요세관 상피 세포(RPTEC)로부터의 락테이트 데하이드로게나제(LDH) 방출의 정량화를 나타낸다.

도 7은 다양한 농도의 EEV12 및 화합물 1b에 의한 처리 시에 인간 제대 정맥 내피 세포(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)에서의 세포 생존력의 변화를 나타낸다.

도 8은 다양한 농도의 EEV12 및 화합물 1b에 의한 처리 시에 인간 말초 혈액 단핵 세포(human peripheral blood mononuclear cell, hPBMC)에서의 세포 생존력의 변화를 나타낸다.

도 9는 다양한 양의 EEV12 및 화합물 1b의 정맥내 주사 후 수컷 C57BL/6 마우스에서의 LC/MS에 의한 혈청 히스타민 수준의 정량화를 나타낸다.

도 10a 내지 도 10e는 다양한 양의 EEV-MDX-PMO-1 또는 EEV-MDX-PMO-2의 정맥내 주사 후 7일 시점에서 *mdx* 마우스에서 RT-PCR에 의해 결정된 바와 같은 엑손 23 스킵핑의 양을 나타낸다. 도 10a는 복횡근에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다. 도 10b는 심장에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다. 도 10c는 횡격막에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다. 도 10d는 전경골근에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다. 도 10e는 사두근에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다.

도 11은 실시예 4에 기재된 바와 같이 다양한 양의 EEV-MDX-PMO-1 또는 EEV-MDX-PMO-2의 정맥내 주사 후 7일 시점에서의 *mdx* 마우스에서의 디스트로핀 생성의 웨스턴 블롯(Western Blot) 정량화를 나타낸다. 주어진 값은 야생형 C57BL/10 마우스에서 지시된 조직에서의 디스트로핀 수준과 대비하여 주어진다.

도 12는 화합물 4b와 PMO 사이에 형성된 접합 생성물 EEV-MDX-PMO-3의 구조를 나타낸다.

도 13은 40 mpk의 EEV-MDX-PMO-2 및 40 mpk의 EEV-MDX-PMO-3의 정맥내 주사 후 3일 시점에서의 *mdx* 마우스에서의 엑손 23 스킵핑에 대한 PCR 아가로스 겔 이미지를 나타낸다.

도 14a 내지 도 14c는 다양한 양의 EEV-MDX-PMO-2 또는 EEV-MDX-PMO-3 또는 R6-PMO의 정맥내 주사 후, 각각 3일 또는 7일 시점에서, *mdx* 마우스에서 RT-PCR에 의해 결정된 바와 같은 엑손 23 스킵핑의 양을 나타낸다. **도 14a**는 사두근에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다. **도 14b**는 횡격막에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다. **도 14c**는 심장에서의 엑손 23 스킵핑의 정량화를 나타낸다.

도 15a 내지 도 15d는 40 mg/kg의 EEV-MDX-PMO-2 또는 EEV-MDX-PMO-3의 정맥내 주사 후 3일 시점에서의 *mdx* 마우스에서의 디스트로핀 생성의 웨스턴 블롯 정량화를 나타낸다. 모든 값은 야생형 C57BL/10 마우스에서의 디스트로핀 수준 대비 디스트로핀 수준으로 주어져 있다. **도 15a**는 심장에서의 디스트로핀 수준의 상대적 정량화를 나타낸다. **도 15b**는 횡격막에서의 디스트로핀 수준의 상대적 정량화를 나타낸다. **도 15c**는 전경골근에서의 디스트로핀 수준의 상대적 정량화를 나타낸다. **도 15d**는 사두근에서의 디스트로핀 수준의 상대적 정량화를 나타낸다.

도 16a 및 **도 16b**는 치료용 모이어티(TM), 예컨대 안티센스 화합물(AC)을 세포 침투 펩티드(CPP)에 연결하기 위한 접합 화학을 보여준다. 다른 화학이 사용될 수 있으며, 예를 들어 티올 말레이미드 또는 구리 촉매된 클릭 화학이 사용될 수 있다.

도 17은 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티를 함유하는 추가의 링커 양식을 사용하여 샘플 올리고뉴클레오티드와 cCPP를 연결하기 위한 접합 화학을 나타낸다.

도 18a 내지 도 18c는 EEV-PMO-DMD44-1(**도 18a**), EEV-PMO-DMD44-2(**도 18b**), 및 EEV-PMO-DMD44-3(**도 18c**)에 대한 합성 반응도식을 나타낸다.

도 19는 웨스턴 블롯에 의해 정량화된 바와 같이 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2, 또는 EEV-PMO-DMD44-3으로 처리된 DMDΔ45 근육 세포에서의 디스트로핀 단백질 발현의 회복을 나타낸다.

도 20a 및 **도 20b**는 IV 주사를 통해 EEV-PMO-DMD44-1(**도 20a**) 및 EEV-PMO-DMD44-2(**도 20b**)로 처리된 hDMD 마우스의 조직에서의 엑손 스킵핑 및 약물 농도를 나타낸다.

도 21a 및 **도 21b**는 NHP 모델에서 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 엑손 스킵핑(**도 21a**) 및 약물 노출(**도 21b**)을 나타낸다.

도 21c 및 **도 21d**는 NHP 모델에서 EEV-PMO-DMD44-2에 대한 엑손 스킵핑(**도 21c**) 및 약물 노출(**도 21d**)을 나타낸다.

도 22a 내지 도 22f는 Mbn1(엑손 5 포함의 경우; **도 23a**), Bin1(엑손 11 포함의 경우; **도 22b**), IR(엑손 11 포함의 경우; **도 22c**), DMD(엑손 78 포함의 경우; **도 22d**), LDB3(엑손 11 포함의 경우; **도 22e**) 및 Sos1(엑손 25 포함의 경우; **도 22f**)에 대한 RNA 스플라이싱 측정을 보여준다. 처리된 vs. 비처리된 DM1 근관세포의 T-검정: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

도 23a 및 **도 23b**는 환자-유래 근육 세포에서의 엑손 스킵핑 및 디스트로핀의 회복(**도 23a**) 및 엑손 44 스킵핑을 위한 화합물을 사용하여 전장 인간 DMD 유전자를 보유하는 유전자도입 마우스에서의 심장근 및 골격근에서의 엑손 스킵핑(**도 23b**)을 나타낸다.

도 24a 내지 도 24c는 전장 인간 DMD 유전자를 보유하는 유전자도입 마우스에서 심장(**도 24a**), 전경골근(**도 24b**) 및 횡격막(**도 25c**)에서의 엑손 44 스킵핑을 위한 화합물에 대한 조직 농도 및 % 엑손 스킵핑을 나타낸다.

도 25는 NHP에 대한 엑손 44 스킵핑을 위한 화합물의 투여 후 시간 경과에 따른 혈장 수준을 나타낸다.

도 26은 엑손 스킵핑을 위한 화합물이 투여된 NHP의 골격근 및 심장 둘 모두에서의 엑손 스킵핑의 의미있는 수준을 보여준다.

도 27은 본 명세서에 기재된 안티센스 올리고뉴클레오티드에 사용되는 변형된 뉴클레오티드를 나타낸다.

도 28a 내지 도 28d는 포스포로디아미데이트-연결된 모르폴리노 올리고머를 합성하는 데 사용되는 모르폴리노 하위단위 단량체들에 대한 구조를 제공한다. **도 28a**는 아데닌 모르폴리노 단량체에 대한 구조를 제공한다. **도 28b**는 시토신 모르폴리노 단량체에 대한 구조를 제공한다. **도 28c**는 구아닌 모르폴리노 단량체에 대한 구조를 제공한다. **도 28d**는 티민 모르폴리노 단량체에 대한 구조를 제공한다.

도 29a 내지 도 29d는 AC를 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)에 연결하기 위한 접합 화학을 예시한다. **도 29a**는 카르복실산 기를 갖거나 TFP 활성화된 에스테르를 갖는 펩티드와 AC의 5' 단부에 있는 1차 아민 잔기 사이의

아미드 결합 형성을 나타낸다. 도 29b는 아미드 결합 형성을 통한, 3'에서 2차 아민 또는 1차 아민 변형된 AC와 펩티드-TFP 에스테르의 접합을 나타낸다. 도 29c는 구리-무함유 아지드-알킨 부가환화를 통한 5' 사이클로옥틴 변형된 AC에 대한 펩티드-아지드의 접합을 나타낸다. 도 29d는, 각각 구리-무함유 아지드-알킨 부가환화 또는 구리 촉매된 아지드-알킨 부가환화(클릭 반응)를 통한, 3' 변형된 사이클로옥틴 AC 또는 3' 변형된 아지드 AC와, 링커-아지드 또는 링커-알킨/사이클로옥틴 모이어티를 함유하는 cCPP 사이의 다른 접합을 보여준다.

도 30은 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티를 함유하는 추가의 링커 양식을 사용하여 AC와 cCPP를 연결하기 위한 접합 화학을 나타낸다. 다른 접합 화학이 사용될 수 있다.

도 31a는 엑손 스킵핑을 통한 GYS1 녹다운에 대한 개략도를 나타내고, 도 31b는 엑손 스킵핑을 통한 IRF-5 녹다운에 대한 개략도를 나타낸다.

도 32a 내지 도 32d는 GAA 녹아웃 마우스 모델에서 비처리된 마우스, PMO로 처리된 마우스, 및 다양한 농도의 EEV-PMO로 처리된 마우스의 GYS1 mRNA 발현의 수준을 나타낸다. 도 32a는 마우스의 횡격막에서의 GYS1 발현의 수준을 나타내는 젤이고, 도 32b는 도 32a에서의 데이터의 도표이다. 도 32c는 마우스의 심장근에서의 GYS1 발현의 수준을 나타내는 SDS-PAGE 젤이고, 도 32d는 도 32c에서의 데이터의 도표이다. ($P > 0.05 = \text{NS}$; $P \leq 0.05 = *$; $P \leq 0.01 = **$; $P \leq 0.001 = ***$)

도 33a 내지 도 33d는 처리 후 다양한 시점에서의 비처리된 마우스, PMO로 처리된 마우스, 및 EEV-PMO로 처리된 마우스의 심장(도 33a), 횡격막(도 33b), 사두근(도 33c), 및 삼두근(도 33d)에서의 GYS1 단백질 발현의 수준의 도표를 나타낸다. ($P > 0.05 = \text{NS}$; $P \leq 0.05 = *$; $P \leq 0.01 = **$; $P \leq 0.001 = ***$)

도 34a 내지 도 34c는 다양한 농도의 EEV-PMO로 처리된 마우스의 간(도 34a), 소장(도 34b), 및 전경골근(도 34c)에서의 IRF5 발현의 수준을 나타내는 도표이다. ($P > 0.05 = \text{NS}$; $P \leq 0.05 = *$; $P \leq 0.01 = **$; $P \leq 0.001 = ***$)

도 35는 마우스 대식세포 세포를 다양한 농도의 EEV-PMO-IRF5-1로 처리한 시험관내 실험에서 IRF5 발현의 수준을 나타낸 도표이다. ($P > 0.05 = \text{NS}$; $P \leq 0.05 = *$; $P \leq 0.01 = **$; $P \leq 0.001 = ***$)

도 36은 마우스 대식세포 세포를 다양한 EEV-PMO 작제물로 처리하고, 이어서 R848로 자극시킨 시험관내 실험에서 IRF5 발현의 수준을 나타낸 도표이다. ($P > 0.05 = \text{NS}$; $P \leq 0.05 = *$; $P \leq 0.01 = **$; $P \leq 0.001 = ***$).

도 37a 내지 도 37e는 다양한 EEV-PMO 화합물의 서열(도 37a) 및 구조(도 37b 내지 도 37e)를 나타낸다. 도 37b는 EEV-PMO-IRF5-1의 구조이다. 도 37c는 EEV-PMO-IRF5-3의 구조이다. 도 37d는 EEV-PMO-IRF5-4의 구조이다. 도 37e는 EEV-PMO-IRF5-2의 구조이다.

도 38은 다양한 농도의 화합물로 처리한 후 R848 자극을 수행한 후의 RAW 264.7 단핵구/대식세포 세포에서의 IRF5 발현의 수준을 나타낸 막대 그래프이다.

도 39는 다양한 농도의 화합물로 처리한 후의 RAW 264.7 단핵구/대식세포 세포에서의 엑손 4 스킵핑의 수준을 나타낸 막대 그래프이다. NT = 비처리.

도 40은 다양한 농도의 화합물로 처리한 후의 RAW 264.7 단핵구/대식세포 세포에서의 전사체 수준을 나타낸 막대 그래프이다.

도 41의 A 내지 도 41의 D는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 사두근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: 도 41의 A: Atp2a1, 도 41의 B: Nfix, 도 41의 C: Clcn1, 도 41의 D: Mbn11.

도 42의 A 내지 도 42의 D는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 비복근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: 도 42의 A: Atp2a1, 도 42의 B: Nfix, 도 42의 C: Clcn1, 도 42의 D: Mbn11.

도 43의 A 내지 도 43의 D는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 전경골근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: 도 43의 A: Atp2a1, 도 43의 B: Nfix, 도 43의 C: Clcn1, 도 43의 D: Mbn11.

도 44의 A 내지 도 44의 D는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 삼두근에서의 MBNL1

하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: 도 44의 A: Atp2a1, 도 44의 B: Nfix, 도 44의 C: Clcn1, 도 44의 D: Mbn11.

도 45의 A 내지 도 45의 D는 도 41의 A 내지 도 41의 D, 도 42의 A 내지 도 42의 D, 도 43의 A 내지 도 43의 D 및 도 44의 A 내지 도 44의 D에 나타낸 데이터의 오버레이를 제공한다.

도 46의 A 내지 도 46의 D는 EEV-PMO-DM1-3의 투여가 HSA-LR 마우스의 골격근에서 약 50 내지 70% HSA mRNA 녹다운을 가져왔음을 보여준다: 도 46의 A: 사두근; 도 46의 B: 비복근; 도 46의 C: 삼두근; 및 도 46의 D: 전경골근. HSA-LR 비히클 치료군(n=3)과 대비하여 일원분산분석(one-way ANOVA)에 의해 통계학적 유의성이 계산된다. 용량은 PMO를 기준으로 한다.

도 47의 A 내지 도 47의 F는 EEV-PMO-DM1-3이 투여된 마우스에서 다양한 근육 조직에서의 약물 수준에 대한 용량-의존적 반응을 나타낸 그래프이다. 도 47의 A: 사두근; 도 47의 B: 삼두근; 도 47의 C: 심장; 도 47의 D: 비복근; 도 47의 E: 전경골근; 및 도 47의 F: 횡격막.

도 48은 생체내(*in vivo*)에서 검출된 주요 대사물인 PMO-DM1을 나타낸다.

도 49의 A 내지 도 49의 C는 15, 30, 60 및 90 mpk로 투여 후의 뇌(도 49의 A), 간(도 49의 B) 및 신장(도 49의 C)에서의 EEV-PMO-DM1-3 노출을 나타낸다.

도 50은 EEV-PMO-DM1-3 처리가 1주 후 HSA-LR 마우스 TA 근육에서 CUG 병소를 감소시킴을 보여준다.

도 51은 EEV-PMO-DM1-3 처리가 1주 후 HSA-LR 마우스 TA 근육에서 CUG 병소를 감소시킴을 나타낸 그래프이다.

도 52는 15, 30, 60 및 90 mpk의 EEV-PMO-DM1-3으로 처리한 후 7일 시점에서의 HSA-LR 마우스에서의 용량 의존적 근긴장증 감소를 보여준다.

도 53a 내지 도 53c는 HSA-LR 마우스에서의 Atp2a1 엑손 22 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 전경골근(도 53a); 삼두근(도 53b); 및 사두근(도 53c).

도 54a 내지 도 54c는 HSA-LR 마우스에서의 Nfix 엑손 7 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 전경골근(도 54a); 삼두근(도 54b); 및 사두근(도 54c).

도 55a 내지 도 55c는 HSA-LR 마우스에서의 Mbn11 엑손 5 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 전경골근(도 55a); 삼두근(도 55b); 및 사두근(도 55c).

도 56a 내지 도 56c는 HSA-LR 마우스의 비복근에서의 엑손 22 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. Atp2a1(도 56a); Nfix(도 56b); 및 Mbn11(도 56c).

도 57은 HSA-LR 마우스의 비복근, 삼두근, 전경골근 및 사두근에서의 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다.

도 58의 A 내지 도 58의 D는 HSA-LR 마우스의 근육 조직에서의 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 도 58의 A: 사두근, 도 58의 B: 비복근, 도 58의 C: 삼두근; 및 도 58의 D: 전경골근.

도 59a 내지 도 59d는 HSA-LR 마우스에서의 Clcn1 엑손 7a 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 도 59a: 전경골근; 도 59b: 삼두근; 도 59c: 사두근; 및 도 59d: 비복근.

도 60a 내지 도 60d는 EEV-PMO-DM1-3이 주사 후 1주 및 4주 시점에서 HSA mRNA 녹다운 경향을 나타내었음을 보여준다. 도 60a: 전경골근; 도 60b: 삼두근; 도 60c: 사두근; 및 도 60d: 비복근.

도 61의 A 내지 도 61의 D는 근육 조직에서 1주 내지 4주 후 80 mpk EEV-PMO-DM1-3에 의한 약물 수준의 감소를 보여준다. 도 61의 A: 전경골근; 도 61의 B: 비복근; 도 61의 C: 삼두근; 및 도 61의 D: 비복근. EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고, 80 mpk 전 약물(whole drug))은 1주 처리 후에 비복근, 삼두근, 전경골근 및 사두근에서의 미스-스플라이싱을 완전히 교정한다.

도 62의 A 및 도 62의 B는 간 및 신장에서 1주 내지 4주 후에 80 mpk 용량의 EEV-PMO-DM1-3에 대해 약물 수준의 감소가 관찰되었음을 보여준다.

도 63의 A 내지 도 63의 C는 EEV-PMO-DM1-3이 DM1 환자-유래 근육 세포에서 유의한 바이오마커 스플라이싱 교정을 촉진시킴을 보여준다.

도 64의 A 내지 도 64의 C는 EEV-PMO-DM1-3이 DM1 환자-유래 근육 세포에서 핵 병소를 감소시킴을 보여준다.

도 65의 A 및 도 65의 B는 PMO-DM1 및 EEV-PMO-DM1-3에 대해 최대 약 800 마이크로몰 농도까지 내약성에 관한 문제가 관찰되지 않았음을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012]

엔도솜 탈출 비히클(EEV)

[0013]

세포막을 가로질러 운반물을 수송하는 데, 예를 들어 운반물을 세포의 사이토졸 또는 핵에 전달하는 데 사용될 수 있는 엔도솜 탈출 비히클(EEV)이 본 명세서에 제공된다. 운반물은 거대분자, 예를 들어 펩티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 소분자를 포함할 수 있다. EEV는 세포 침투 펩티드(CPP), 예를 들어 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)를 포함할 수 있으며, 이는 고리의 펩티드(exocyclic peptide, EP)에 접합된다. EP는 조절 펩티드(modulatory peptide, MP)로 상호교환 가능하게 지칭될 수 있다. EP는 핵 국재화 신호(nuclear localization signal, NLS)의 서열을 포함할 수 있다. EP는 운반물에 커플링될 수 있다. EP는 cCPP에 커플링될 수 있다. EP는 운반물 및 cCPP에 커플링될 수 있다. EP, 운반물, cCPP, 또는 이들의 조합 사이의 커플링은 비공유적 또는 공유적일 수 있다. EP는 cCPP의 N-말단에 펩티드 결합을 통해 부착될 수 있다. EP는 cCPP의 C-말단에 펩티드 결합을 통해 부착될 수 있다. EP는 cCPP에서의 아미노산의 측쇄를 통해 cCPP에 부착될 수 있다. EP는 라이신의 측쇄를 통해 cCPP에 부착될 수 있으며, 라이신은 cCPP에서의 글루타민의 측쇄에 접합될 수 있다. EP는 올리고뉴클레오티드 운반물의 5' 또는 3' 단부에 접합될 수 있다. EP는 링커에 커플링될 수 있다. 고리의 펩티드는 링커의 아미노기에 접합될 수 있다. EP는, EP의 C-말단을 통해 링커에, 그리고 cCPP 및/또는 EP 상의 측쇄를 통해 cCPP에 커플링될 수 있다. 예를 들어, EP는 말단 라이신을 포함할 수 있으며, 이어서 이는 아미드 결합을 통해 글루타민을 함유하는 cCPP에 커플링될 수 있다. EP가 말단 라이신을 함유하고, 라이신의 측쇄가 cCPP를 부착하는 데 사용될 수 있을 때, C- 또는 N-말단은 운반물 상의 링커에 부착될 수 있다.

[0014]

고리의 펩티드

[0015]

고리의 펩티드(EP)는 2 내지 10개의 아미노산 잔기, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 잔기(이들 사이의 모든 범위 및 값을 포함함)를 포함할 수 있다. EP는 6 내지 9개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. EP는 4 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.

[0016]

고리의 펩티드에서의 각각의 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 용어 "비천연 아미노산"은 천연 아미노산과 유사한 구조를 가지며, 이로써 천연 아미노산의 구조 및 반응성을 모방한다는 점에서 천연 아미노산의 동족체(congener)인 유기 화합물을 지칭한다. 비천연 아미노산은 변형된 아미노산, 및/또는 아미노산 유사체일 수 있되, 단, 이는 20개의 일반적인 자연 발생 아미노산 또는 희귀한 천연 아미노산인 셀레노시스테인 또는 피로라이신 중 하나는 아니다. 비천연 아미노산은 또한 천연 아미노산의 D-이성질체일 수 있다. 적합한 아미노산의 예에는 알라닌, 알로소류신, 아르기닌, 시트룰린, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 나프틸알라닌, 페닐알라닌, 프롤린, 피로글루탐산, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린, 이들의 유도체, 또는 이들의 조합이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 이들 및 다른 아미노산이 본 명세서에 사용된 그들의 약어와 함께 표 1에 열거되어 있다. 예를 들어, 아미노산은 A, G, P, K, R, V, F, H, NaI, 또는 시트룰린일 수 있다.

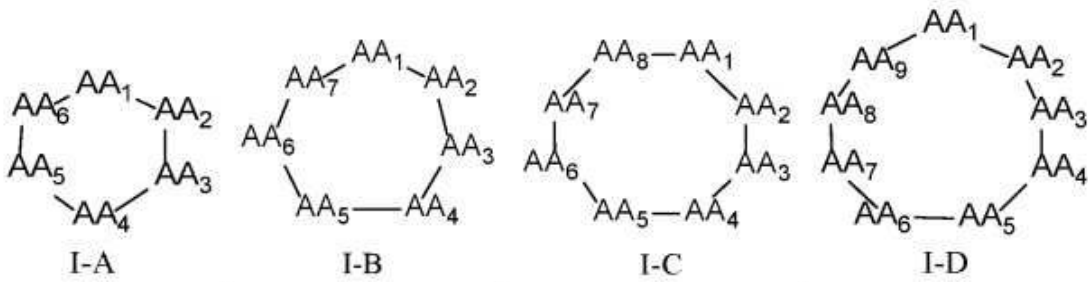
[0017]

EP는 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기, 예를 들어 적어도 하나의 라이신 잔기, 및/또는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 적어도 하나의 아민산 잔기를 포함할 수 있다. EP는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 구아니딘 기를 포함하는 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기는 아르기닌 잔기일 수 있다. 양성자화된 형태는 본 명세서 전체에 걸쳐 이의 염을 의미할 수 있다.

[0018]

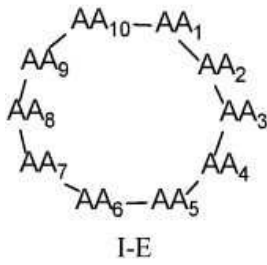
EP는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개 또는 그 이상의 라이신 잔기를 포함할 수 있다. EP는 2, 3, 또는 4개의 라이신 잔기를 포함할 수 있다. 각각의 라이신 잔기의 측쇄 상의 아미노기는 보호기로 치환될 수 있으며, 보호기에는, 예를 들어 트라이플루오로아세틸(-COCF₃), 알릴옥시카르보닐(Alloc), 1-(4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥실리텐)에틸(Dde), 또는 (4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥스-1-일리텐-3)-메틸부틸(ivDde) 기가 포함된다. 각각의 라이신 잔기의 측쇄 상의 아미노기는 트라이플루오로아세틸(-COCF₃) 기로 치환될 수 있다. 보호기는 아미드 접합을 가능하게 하도록 포함될 수 있다. 보호기는 EP가 cCPP에 접합된 후에 제거될 수 있다.

- [0019] EP는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신, 및 메티오닌으로부터 선택될 수 있다. 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린 또는 프롤린일 수 있다.
- [0020] EP는 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기, 예를 들어 적어도 하나의 라이신 잔기, 및/또는 적어도 하나의 아르기닌 잔기를 포함할 수 있다. EP는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개 또는 그 이상의 라이신 잔기 및/또는 아르기닌 잔기를 포함할 수 있다.
- [0021] EP는 KK, KR, RR, HH, HK, HR, RH, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKH, KHK, HKK, HRR, HRH, HHR, HBH, HHH, HHHH, KHKK, KKHK, KKKH, KHKH, HKHK, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGG, HBHBH, HBKBH, RRRRR, KKKKK, KKKRK, RKKKK, KRKKK, KKRKK, KKKKR, KBKKB, RKKKKG, KRKKKG, KKRKKG, KKKKRG, RKKKKB, KRKKB, KKRKKB, KKKKRB, KKKRKV, RRRRRR, HHHHHH, RHRHRH, HRHRHR, KRKRKR, RKRKRK, RBRBRB, KBKBKB, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PPKGKRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 또는 PKKKRKG를 포함할 수 있으며, 여기서 B는 베타-알라닌이다. EP에서의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.
- [0022] EP는 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKKG, KKKKK, KKKRK, KBKKB, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PPKGKRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 또는 PKKKRKG를 포함할 수 있다. EP는 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH를 포함할 수 있으며, 여기서 B는 베타-알라닌이다. EP에서의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.
- [0023] EP는 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKKG, KKKKK, KKKRK, KBKKB, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PPKGKRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 또는 PKKKRKG로 이루어질 수 있다. EP는 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH로 이루어질 수 있으며, 여기서 B는 베타-알라닌이다. EP에서의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.
- [0024] EP는 핵 국제화 서열(NLS)로서 당업계에서 확인된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. EP는 핵 국제화 서열(NLS)로서 당업계에서 확인된 아미노산 서열로 이루어질 수 있다. EP는 아미노산 서열 PKKKRKV를 포함하는 NLS를 포함할 수 있다. EP는 아미노산 서열 PKKKRKV를 포함하는 NLS로 이루어질 수 있다. EP는 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKKRK, RKLKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVEVAKKSKK 및 RKCLQAGMNLEARKTKK로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 NLS를 포함할 수 있다. EP는 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKKRK, RKLKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVEVAKKSKK 및 RKCLQAGMNLEARKTKK로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 NLS로 이루어질 수 있다.
- [0025] 모든 고리의 서열은 N-말단 아세틸 기를 또한 함유할 수 있다. 따라서, 예를 들어, EP는 구조: Ac-PKKRKV를 가질 수 있다.
- [0026] **세포 침투 펩티드(CPP)**
- [0027] 세포 침투 펩티드(CPP)는 6 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 세포 침투 펩티드는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)일 수 있다. cCPP는 세포막을 침투할 수 있다. 고리의 펩티드(EP)는 cCPP에 접합될 수 있고, 생성된 작제물은 엔도솜 탈출 비히클(EEV)로 지칭될 수 있다. cCPP는 운반물(예를 들어, 치료용 모이어티(TM), 예컨대 올리고뉴클레오티드, 펩티드 또는 소분자)이 세포막을 침투하도록 유도할 수 있다. cCPP는 운반물을 세포의 사이토졸에 전달할 수 있다. cCPP는 표적(예를 들어, 전(pre)-mRNA)이 위치된 세포 위치에 운반물을 전달할 수 있다. cCPP를 운반물(예를 들어, 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 또는 소분자)에 접합시키기 위해, cCPP 상의 적어도 하나의 결합 또는 고립 전자쌍이 대체될 수 있다.
- [0028] cCPP에서의 아미노산 잔기의 총수는 6 내지 20개의 아미노산 잔기, 예를 들어 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 잔기(이들 사이의 모든 범위 및 하위범위를 포함함)의 범위이다. cCPP는 6 내지 13개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 본 명세서에 개시된 cCPP는 6 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. 예로서, 6 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는 cCPP는 화학식 I-A 내지 화학식 I-E 중 임의의 것에 따른 구조를 가질 수 있다:



[0029]

또는



[0030]

(상기 식에서, AA₁, AA₂, AA₃, AA₄, AA₅, AA₆, AA₇, AA₈, AA₉, 및 AA₁₀은 아미노산 잔기임).

[0031]

cCPP는 6 내지 8개의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 8개의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0032]

cCPP에서의 각각의 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 용어 "비천연 아미노산"은 천연 아미노산과 유사한 구조를 가지며, 이로써 천연 아미노산의 구조 및 반응성을 모방한다는 점에서 천연 아미노산의 동족체인 유기 화합물을 지칭한다. 비천연 아미노산은 변형된 아미노산, 및/또는 아미노산 유사체일 수 있되, 단, 이는 20개의 일반적인 자연 발생 아미노산 또는 희귀한 천연 아미노산인 셀레노시스테인 또는 피로라이신 중 하나는 아니다. 비천연 아미노산은 또한 천연 아미노산의 D-이성질체일 수 있다. 적합한 아미노산의 예에는 알라닌, 알로소류신, 아르기닌, 시트룰린, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 나프틸알라닌, 페닐알라닌, 프롤린, 피로글루탐산, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린, 이들의 유도체, 또는 이들의 조합이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 이들 및 다른 아미노산이 본 명세서에 사용된 그들의 약어와 함께 표 1에 열거되어 있다.

[0033] [표 1]

아미노산 약어

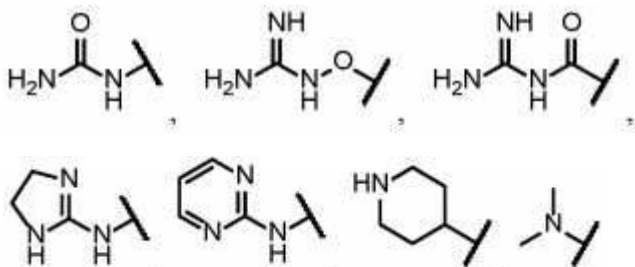
아미노산	약어* L-아미노산	약어* D-아미노산
2-[2-[2-아미노에톡시]에톡시]아세트산	AEEA, 미니 PEG, PEG2	NA
알라닌	Ala (A)	ala (a)
알로-아이소류신	Aile	Aile
아르기닌	Arg (R)	arg (r)
아스파라긴	Asn (N)	asn (n)
아스파르트산	Asp (D)	asp (d)
시스테인	Cys (C)	cys (c)
시트룰린	Cit	Cit
사이클로헥실알라닌	Cha	cha
2,3-다이아미노프로피온산	Dap	dap
4-플루오로페닐알라닌	Fpa (Σ)	pfa
글루탐산	Glu (E)	glu (e)
글루타민	Gln (Q)	gln (q)
글리신	Gly (G)	gly (g)
히스티딘	His (H)	his (h)
호모프롤린 (피페콜산으로 알려짐)	Pip (Θ)	pip (ø)
아이소류신	Ile (I)	ile (i)
류신	Leu (L)	leu (l)
라이신	Lys (K)	lys (k)
메티오닌	Met (M)	met (m)
3-(2-나프틸)-알라닌	Nal (Φ)	nal (ϕ)
3-(1-나프틸)-알라닌	1-Nal	1-nal
노르류신	Nle (Ω)	nle
페닐알라닌	Phe (f)	phe (f)
페닐글리신	Phg (Ψ)	phg
4-(포스포노다이플루오로메틸)페닐알라닌	F ₂ Pmp (Λ)	f ₂ pmp
프롤린	Pro (P)	pro (p)
사르코신	Sar (Ξ)	sar
셀레노시스테인	Sec (U)	sec (u)
세린	Ser (S)	ser (s)
트레오닌	Thr (T)	thr (y)
티로신	Tyr (Y)	tyr (y)
트립토판	Trp (W)	trp (w)
발린	Val (V)	val (v)
tert-부틸-알라닌	Tle	tle
페니실라민	Pen	Pen
호모아르기닌	HomoArg	homoarg
니코티닐-라이신	Lys(NIC)	lys(NIC)
트라이플루오로아세트산-라이신	Lys(TFA)	lys(TFA)
메틸-류신	MeLeu	meLeu
3-(3-벤조티에닐)-알라닌	Bta	bta

* 단일 문자 약어: 본 명세서에서 대문자로 표기된 경우, 이는 L-아미노산 형태를 나타내고, 본 명세서에서 소문자로 표기된 경우 이는 D-아미노산 형태를 나타낸다.

[0034]

[0035]

cCPP는 4 내지 20개의 아미노산을 포함할 수 있으며, 여기서 (i) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가지며; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 측쇄를 갖지 않거나, 또는

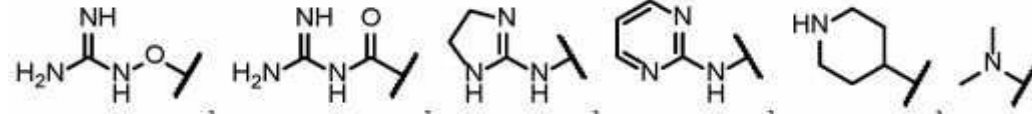
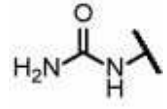


, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를

가지며; (iii) 적어도 2개의 아미노산은 독립적으로 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0036]

적어도 2개의 아미노산은 측쇄를 갖지 않거나, 또는



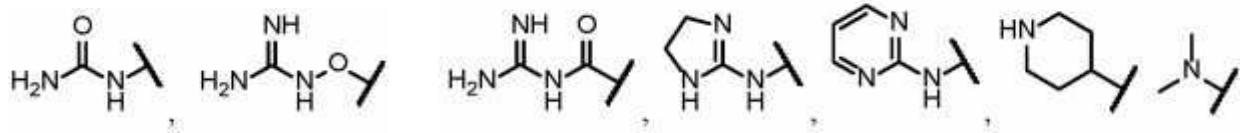
, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 측쇄가 존재하지 않을 때, 아미노산은 아민과 카르복실산을 연결하는 탄소 원자(들) 상에 2개의 수소 원자를 갖는다(예를 들어, $-CH_2-$).

[0037]

측쇄를 갖지 않는 아미노산은 글리신 또는 β -알라닌일 수 있다.

[0038]

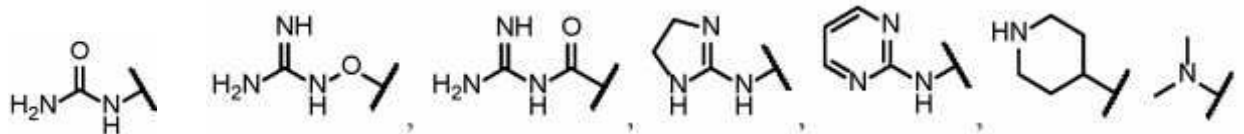
cCPP는 cCPP를 형성하는 6 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며, 여기서 (i) 적어도 하나의 아미노산은 글리신, β -알라닌, 또는 4-아미노부티르산 잔기일 수 있으며; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 아릴 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 측쇄를 가질 수 있으며; (iii) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘 기,



또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0039]

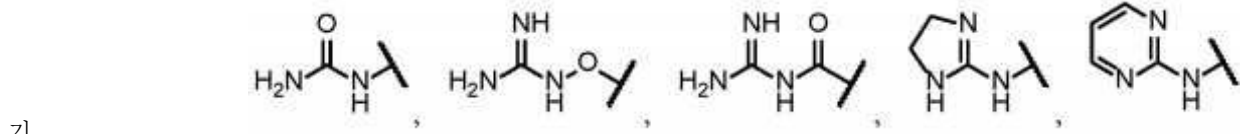
cCPP는 cCPP를 형성하는 6 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며, 여기서 (i) 적어도 2개의 아미노산은 독립적으로 글리신, β -알라닌, 또는 4-아미노부티르산 잔기일 수 있으며; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 아릴 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 측쇄를 가질 수 있으며; (iii) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘 기,



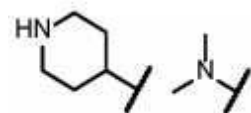
또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0040]

cCPP는 cCPP를 형성하는 6 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며, 여기서 (i) 적어도 3개의 아미노산은 독립적으로 글리신, β -알라닌, 또는 4-아미노부티르산 잔기일 수 있으며; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 가질 수 있으며; (iii) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘



기,



, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다.

[0041]

글리신 및 관련 아미노산 잔기

[0042]

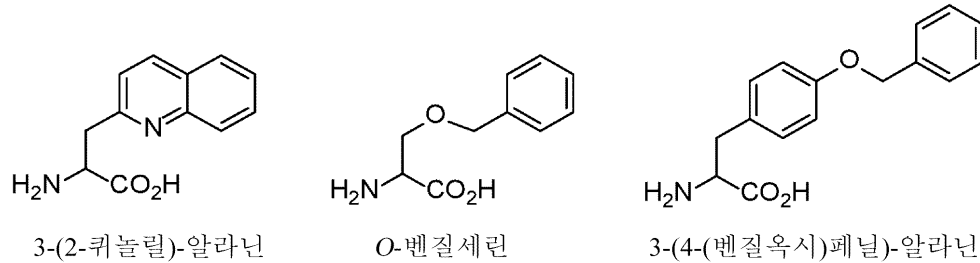
cCPP는 (i) 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 2개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3, 4, 또는 5개의 글리신, β -알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의

글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

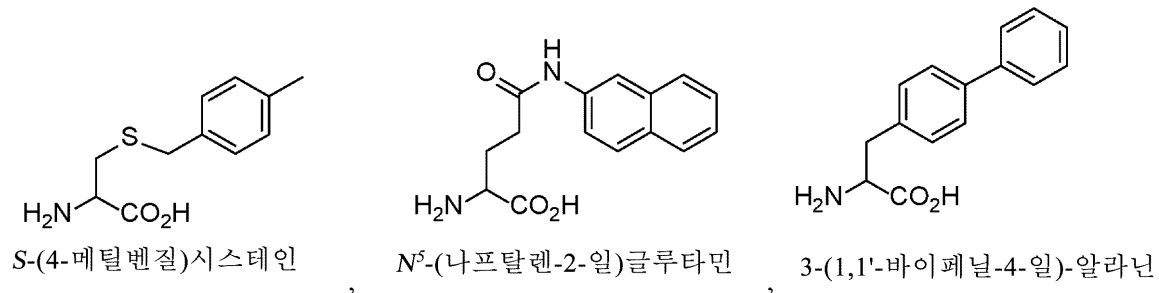
- [0043] cCPP는 (i) 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 2개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3, 4, 또는 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 2개 또는 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 1개 또는 2개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다.
- [0044] cCPP는 (i) 3, 4, 5, 또는 6개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3, 4, 또는 5개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산 잔기, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0045] cCPP는 적어도 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3, 4, 5 또는 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3, 4, 또는 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다.
- [0046] 실시 형태에서, cCPP 내의 글리신, β-알라닌, 또는 4-아미노부티르산 잔기의 어느 것도 연속적이지 않다. 2개 또는 3개의 글리신, β-알라닌, 또는 4-아미노부티르산 잔기가 연속적일 수 있다. 2개의 글리신, β-알라닌, 또는 4-아미노부티르산 잔기가 연속적일 수 있다.
- [0047] 실시 형태에서, cCPP 내의 글리신 잔기의 어느 것도 연속적이지 않다. cCPP 내의 각각의 글리신 잔기는 글리신 일 수 없는 아미노산 잔기에 의해 분리될 수 있다. 2개 또는 3개의 글리신 잔기가 연속적일 수 있다. 2개의 글리신 잔기가 연속적일 수 있다.
- [0048] *방향족 또는 헤테로방향족 기를 갖는 아미노산 측쇄*
- [0049] cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개 또는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.
- [0050] cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개 또는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.
- [0051] 방향족 기는 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라세닐일 수 있으며, 이들 각각은 선택적으로 치환된다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있으며, 이들 각각은 선택적으로 치환된다. 헤테로방향족 기는 N, O, 및 S로부터 선택되는 1, 2, 또는 3개의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다.

헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴, 또는 아이소퀴놀릴일 수 있다.

[0052] 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 비스(호모나프틸알라닌), 호모나프틸알라닌, 나프틸알라닌, 페닐글리신, 비스(호모페닐알라닌), 호모페닐알라닌, 페닐알라닌, 트립토판, 3-(3-벤조티에닐)-알라닌, 3-(2-퀴놀릴)-알라닌, 0-벤질세린, 3-(4-(벤질옥시)페닐)-알라닌, S-(4-메틸벤질)시스테인, N-(나프탈렌-2-일)글루타민, 3-(1,1'-바이페닐-4-일)-알라닌, 3-(3-벤조티에닐)-알라닌 또는 티로신일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환된다. 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 각각 독립적으로 하기로부터 선택될 수 있다:

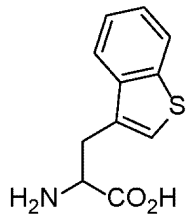


[0053] , , ,



[0054] , , ,

[0055] 및



[0056] 3-(3-벤조티에닐)-알라닌 (상기 식에서, N-말단 상의 H 및/또는 C-말단 상의 H는 펩티드 결합으로 대체됨).

[0057] 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 페닐알라닌, 나프틸알라닌, 페닐글리신, 호모페닐알라닌, 호모나프틸알라닌, 비스(호모페닐알라닌), 비스-(호모나프틸알라닌), 트립토판, 또는 티로신의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환된다. 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 티로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티에닐알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-헵타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-부틸-페닐알라닌, 4-피리디닐알라닌, 3-피리디닐알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 3-(9-안트릴)-알라닌의 잔기일 수 있다. 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 페닐알라닌, 나프틸알라닌, 페닐글리신, 호모페닐알라닌, 또는 호모나프틸알라닌의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환된다. 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 페닐알라닌 또는 나프틸알라닌의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환체로 선택적으로 치환된다. 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산 잔기는 페닐알라닌의 잔기일 수 있다. 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기는 페닐알라닌의 잔기일 수 있다. 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 각각의 아미노산 잔기는 페닐알라닌의 잔기일 수 있

다.

- [0058] 실시 형태에서, 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산의 어느 것도 연속적이지 않다. 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산은 연속적일 수 있다. 2개의 연속 아미노산은 반대 입체화학을 가질 수 있다. 2개의 연속 아미노산은 동일한 입체화학을 가질 수 있다. 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 3개의 아미노산은 연속적일 수 있다. 3개의 연속 아미노산은 동일한 입체화학을 가질 수 있다. 3개의 연속 아미노산은 교번하는 입체화학을 가질 수 있다.
- [0059] 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 아미노산 잔기는 L-아미노산일 수 있다. 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 아미노산 잔기는 D-아미노산일 수 있다. 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 아미노산 잔기는 D- 및 L-아미노산의 혼합물일 수 있다.
- [0060] 선택적인 치환체는, 예를 들어 치환체를 갖지 않는 것 이외에는 동일한 서열과 대비하여, cCPP의 사이토졸 전달 효율을 유의하게 (예를 들어, 50% 초과만큼) 감소시키지 않는 임의의 원자 또는 기일 수 있다. 선택적인 치환체는 소수성 치환체 또는 친수성 치환체일 수 있다. 선택적인 치환체는 소수성 치환체일 수 있다. 치환체는 소수성 아미노산의 용매-접근가능한 표면적(solvent-accessible surface area)(본 명세서에 정의된 바와 같음)을 증가시킬 수 있다. 치환체는 할로젠, 알킬, 알케닐, 알킬닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알킬닐, 헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, 아실, 알킬카르바모일, 알킬카르복스아미딜, 알콕시카르보닐, 알킬티오, 또는 아릴티오일 수 있다. 치환체는 할로젠일 수 있다.
- [0061] 이론에 의해 구애되고자 하지 않지만, 더 높은 소수성 값을 갖는 방향족 또는 헤테로방향족 기를 갖는 아미노산 (즉, 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산)은 더 낮은 소수성 값을 갖는 아미노산에 비해 cCPP의 사이토졸 전달 효율을 개선할 수 있는 것으로 여겨진다. 각각의 소수성 아미노산은 독립적으로 글리신보다 더 큰 소수성 값을 가질 수 있다. 각각의 소수성 아미노산은 독립적으로 알라닌보다 더 큰 소수성 값을 갖는 소수성 아미노산일 수 있다. 각각의 소수성 아미노산은 독립적으로 페닐알라닌보다 더 크거나 이와 동일한 소수성 값을 가질 수 있다. 소수성은 당업계에서 알려진 소수성 척도를 사용하여 측정될 수 있다. 표 2는 문헌[Eisenberg and Weiss (Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1984;81(1):140-144)], 문헌[Engleman, et al. (Ann. Rev. of Biophys. Biophys. Chem..1986;1986(15):321-53)], 문헌[Kyte and Doolittle (J. Mol. Biol. 1982;157(1):105-132)], 문헌[Hoop and Woods (Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1981;78(6):3824-3828)], 및 문헌[Janin (Nature. 1979;277(5696):491-492)]에 보고된 바와 같은 다양한 아미노산에 대한 소수성 값을 열거하며, 이들 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함된다. 소수성은 문헌[Engleman, et al.]에 보고된 소수성 척도를 사용하여 측정될 수 있다.

[0062] [표 2]

아미노산 소수성

아미노산	군	Eisenberg and Weiss	Engleman et al.	Kyrie and Doolittle	Hoop and Woods	Janin
Ile	비극성	0.73	3.1	4.5	-1.8	0.7
Phe	비극성	0.61	3.7	2.8	-2.5	0.5
Val	비극성	0.54	2.6	4.2	-1.5	0.6
Leu	비극성	0.53	2.8	3.8	-1.8	0.5
Trp	비극성	0.37	1.9	-0.9	-3.4	0.3
Met	비극성	0.26	3.4	1.9	-1.3	0.4
Ala	비극성	0.25	1.6	1.8	-0.5	0.3
Gly	비극성	0.16	1.0	-0.4	0.0	0.3
Cys	비하전됨/극성	0.04	2.0	2.5	-1.0	0.9
Tyr	비하전됨/극성	0.02	-0.7	-1.3	-2.3	-0.4
Pro	비극성	-0.07	-0.2	-1.6	0.0	-0.3
Thr	비하전됨/극성	-0.18	1.2	-0.7	-0.4	-0.2
Ser	비하전됨/극성	-0.26	0.6	-0.8	0.3	-0.1
His	하전됨	-0.40	-3.0	-3.2	-0.5	-0.1
Glu	하전됨	-0.62	-8.2	-3.5	3.0	-0.7
Asn	비하전됨/극성	-0.64	-4.8	-3.5	0.2	-0.5
Gln	비하전됨/극성	-0.69	-4.1	-3.5	0.2	-0.7
Asp	하전됨	-0.72	-9.2	-3.5	3.0	-0.6
Lys	하전됨	-1.10	-8.8	-3.9	3.0	-1.8
Arg	하전됨	-1.80	-12.3	-4.5	3.0	-1.4

[0063]

[0064]

방향족 또는 헤테로방향족 기의 크기는 cCPP의 사이토졸 전달 효율을 개선하도록 선택될 수 있다. 이론에 의해서 구애되고자 하지 않지만, 아미노산의 측쇄 상의 더 큰 방향족 또는 헤테로방향족 기는 더 작은 소수성 아미노산을 갖는 것 이외에는 동일한 서열과 대비하여 사이토졸 전달 효율을 개선할 수 있는 것으로 여겨진다. 소수성 아미노산의 크기는 소수성 아미노산의 분자량, 소수성 아미노산의 입체 효과, 측쇄의 용매-접근가능한 표면적(SASA), 또는 이들의 조합의 관점에서 측정될 수 있다. 소수성 아미노산의 크기는 소수성 아미노산의 분자량의 관점에서 측정될 수 있으며, 더 큰 소수성의 아미노산은 분자량이 적어도 약 90 g/mol, 또는 적어도 약 130 g/mol, 또는 적어도 약 141 g/mol인 측쇄를 갖는다. 아미노산의 크기는 소수성 측쇄의 SASA의 관점에서 측정될 수 있다. 소수성 아미노산은 SASA가 알라닌보다 더 크거나 이와 동일하거나, 또는 글리신보다 더 크거나 이와 동일한 측쇄를 가질 수 있다. 더 큰 소수성의 아미노산은 SASA가 알라닌보다 더 크거나, 또는 글리신보다 더 큰 측쇄를 가질 수 있다. 소수성 아미노산은 SASA가 피페리딘-2-카르복실산보다 더 크거나 이와 거의 동일하거나, 트립토판보다 더 크거나 이와 거의 동일하거나, 페닐알라닌보다 더 크거나 이와 거의 동일하거나, 또는 나프틸알라닌보다 더 크거나 이와 거의 동일하거나 방향족 또는 헤테로방향족 기를 가질 수 있다. 제1 소수성 아미노산(AA_{H1})은 SASA가 적어도 약 200 Å², 적어도 약 210 Å², 적어도 약 220 Å², 적어도 약 240 Å², 적어도 약 250 Å², 적어도 약 260 Å², 적어도 약 270 Å², 적어도 약 280 Å², 적어도 약 290 Å², 적어도 약 300 Å², 적어도 약 310 Å², 적어도 약 320 Å², 또는 적어도 약 330 Å²인 측쇄를 가질 수 있다. 제2 소수성 아미노산(AA_{H2})은 SASA가 적어도 약 200 Å², 적어도 약 210 Å², 적어도 약 220 Å², 적어도 약 240 Å², 적어도 약 250 Å², 적어도 약 260 Å², 적어도 약 270 Å², 적어도 약 280 Å², 적어도 약 290 Å², 적어도 약 300 Å², 적어도 약 310 Å², 적어도 약 320 Å², 또는 적어도 약 330 Å²인 측쇄를 가질 수 있다. AA_{H1} 및 AA_{H2}의 측쇄는 합계 SASA가 적어도 약 350 Å², 적어도 약 360 Å², 적어도 약 370 Å², 적어도 약 380 Å², 적어도 약 390 Å², 적어도 약 400 Å², 적어도 약 410 Å², 적어도 약 420 Å², 적어도 약 430 Å², 적어도 약 440 Å², 적어도 약 450 Å², 적어도 약 460 Å², 적어도 약 470 Å², 적어도 약 480 Å², 적어도 약 490 Å², 약 500 Å² 초과, 적어도 약 510 Å², 적어도 약 520 Å², 적어도 약 530 Å², 적어도 약 540 Å², 적어도 약 550 Å², 적어도 약 560 Å², 적

어도 약 570 Å², 적어도 약 580 Å², 적어도 약 590 Å², 적어도 약 600 Å², 적어도 약 610 Å², 적어도 약 620 Å², 적어도 약 630 Å², 적어도 약 640 Å², 약 650 Å² 초과, 적어도 약 660 Å², 적어도 약 670 Å², 적어도 약 680 Å², 적어도 약 690 Å², 또는 적어도 약 700 Å²일 수 있다. AA_{H2}는 SASA가 AA_{H1}의 소수성 측쇄의 SASA보다 더 크거나 이와 동일한 측쇄를 갖는 소수성 아미노산 잔기일 수 있다. 제한으로서가 아니라 예로서, Nal-Arg 모티프를 갖는 cCPP는 Phe-Arg 모티프를 갖는 것 이외에는 동일한 cCPP와 대비하여 개선된 사이토졸 전달 효율을 나타낼 수 있으며; Phe-Nal-Arg 모티프를 갖는 cCPP는 Nal-Phe-Arg 모티프를 갖는 것 이외에는 동일한 cCPP와 대비하여 개선된 사이토졸 전달 효율을 나타낼 수 있으며; phe-Nal-Arg 모티프는, nal-Phe-Arg 모티프를 갖는 것 이외에는 동일한 cCPP와 대비하여 개선된 사이토졸 전달 효율을 나타낼 수 있다.

[0065] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "소수성 표면적" 또는 "SASA"는 용매에 접근가능한 아미노산 측쇄의 표면적 (제곱 옹스트롬으로서 보고됨; Å²)을 지칭하며, SASA는 문헌[Shrake & Rupley (*J Mol Biol.* **79** (2): 351-71)]의 저자들에 의해 개발된 '롤링 볼(rolling ball)' 알고리즘을 사용하여 계산될 수 있으며, 이는 모든 목적을 위해 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 이 알고리즘은 분자의 표면을 프로빙하기 위해 특정 반경의 용매의 "구체"를 사용한다. 구체의 전형적인 값은 1.4 Å이며, 이는 물 분자의 반경에 근사한다.

[0066] 소정 측쇄에 대한 SASA 값이 하기 표 3에 제시되어 있다. 본 명세서에 기재된 SASA 값은 Tien, et al. (PLOS ONE 8(11): e80635. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080635>)에 의해 보고된 바와 같은, 하기 표 3에 열거된 이론치에 기초하며, 이는 모든 목적을 위하여 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

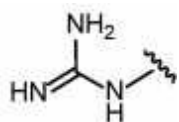
[0067] [표 3]

아미노산 SASA 값

잔기	이론치	경험치	Miller et al. (1987)	Rose et al. (1985)
알라닌	129.0	121.0	113.0	118.1
아르기닌	274.0	265.0	241.0	256.0
아스파라긴	195.0	187.0	158.0	165.5
아스파르테이트	193.0	187.0	151.0	158.7
시스테인	167.0	148.0	140.0	146.1
글루타메이트	223.0	214.0	183.0	186.2
글루타민	225.0	214.0	189.0	193.2
글리신	104.0	97.0	85.0	88.1
히스티딘	224.0	216.0	194.0	202.5
아이소류신	197.0	195.0	182.0	181.0
류신	201.0	191.0	180.0	193.1
라이신	236.0	230.0	211.0	225.8
메티오닌	224.0	203.0	204.0	203.4
페닐알라닌	240.0	228.0	218.0	222.8
프롤린	159.0	154.0	143.0	146.8
세린	155.0	143.0	122.0	129.8
트레오닌	172.0	163.0	146.0	152.5
트립토판	285.0	264.0	259.0	266.3
티로신	263.0	255.0	229.0	236.8
발린	174.0	165.0	160.0	164.5

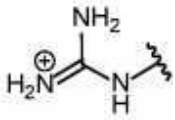
[0068] 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기

[0070] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 구아니딘은 하기 구조를 지칭한다:



[0071]

[0072] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 구아니딘의 양성자화된 형태는 하기 구조를 지칭한다:



[0073]

[0074]

[0075]

[0076]

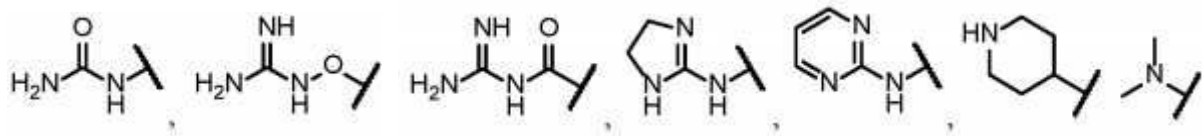
[0077]

구아니딘 대체 기는 생리학적 pH 이상에서 양으로 하전될 아미노산의 측쇄 상의 작용기 또는 구아니디늄 기의 활성을 공여하고 수용하는 수소 결합을 재현할 수 있는 작용기를 지칭한다.

구아니딘 대체 기는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태와 관련된 독성을 감소시키면서 치료제의 세포 침투 및 전달을 용이하게 한다. cCPP는 구아니딘 또는 구아니디늄 대체 기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 구아니딘 또는 구아니디늄 대체 기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 구아니딘 또는 구아니디늄 대체 기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 3개의 아미노산을 포함할 수 있다.

이러한 구아니딘 또는 구아니디늄 기는 구아니딘 또는 구아니디늄의 등배전자체(isostere)일 수 있다. 구아니딘 또는 구아니디늄 대체 기는 구아니딘보다 덜 염기성일 수 있다.

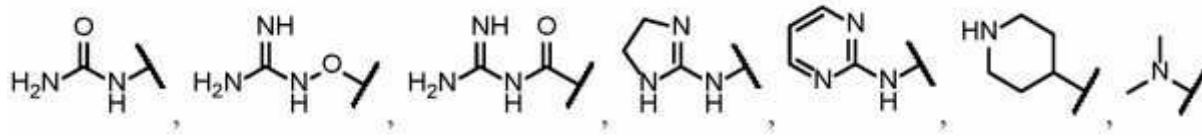
본 명세서에 사용되는 바와 같이, 구아니딘 대체 기는



또는 이들의 양성자화된 형태를 지칭한다.

[0078]

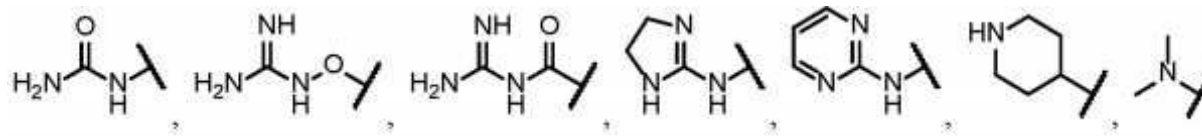
본 발명은 4 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함하는 cCPP에 관한 것으로, 여기서 (i) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가지며; (ii) 적어도 하나의 아미노산 잔기는 측쇄를 갖지 않거나, 또는



또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가지며; (iii) 적어도 2개의 아미노산 잔기는 독립적으로 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0079]

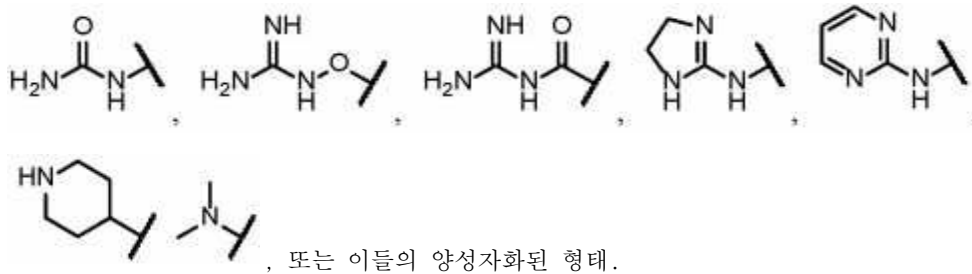
적어도 2개의 아미노산 잔기는 측쇄를 갖지 않거나, 또는



또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 측쇄가 존재하지 않을 때, 아미노산 잔기는 아민과 카르복실산을 연결하는 탄소 원자(들) 상에 2개의 수소 원자를 갖는다 (예를 들어, $-CH_2-$).

[0080]

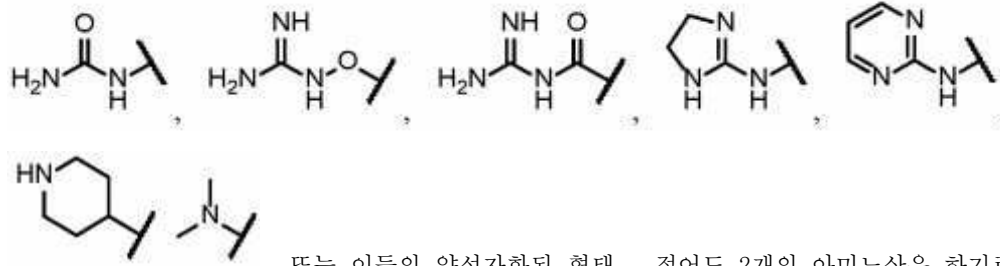
cCPP는 하기 모이어티들 중 하나를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산을 포함할 수 있다:



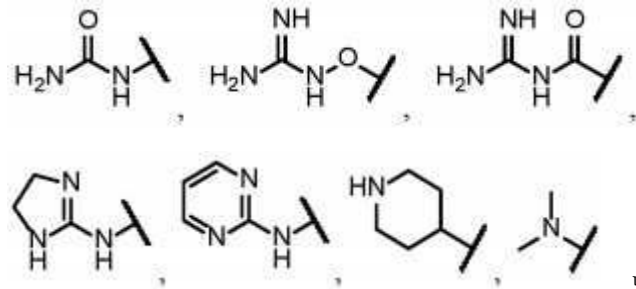
또는 이들의 양성자화된 형태.

[0081]

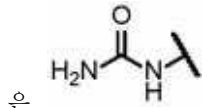
cCPP는 하기 모이어티들 중 하나를 각각 독립적으로 갖는 적어도 2개의 아미노산을 포함할 수 있다:



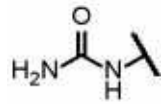
모이어티들, 또는 이들의 양성자화된 형태. 적어도 2개의 아미노산은 하기로부터 선택되는 동일한
포함하는 측쇄를 가질 수 있다:



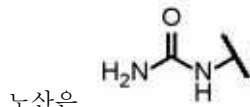
, 또는 이들의 양성자화된 형태. 적어도 하나의 아미노산



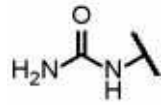
은 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은



또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 아미

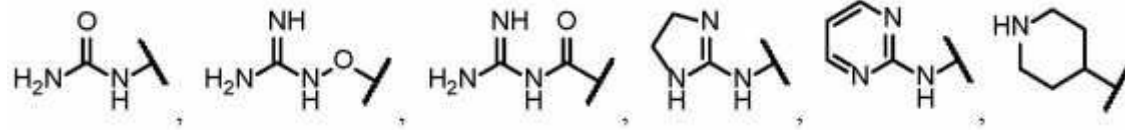
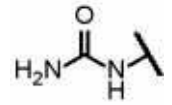


노산은 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 하나의 아미노산은

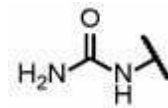


또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 2개의 아미노산은

또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다.



, 또는 이들의 양성자화된 형태가 아미노산 측쇄의 말단에 부착될 수 있다.



가 아미노산 측쇄의 말단에 부착될 수 있다.

[0082]

cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는

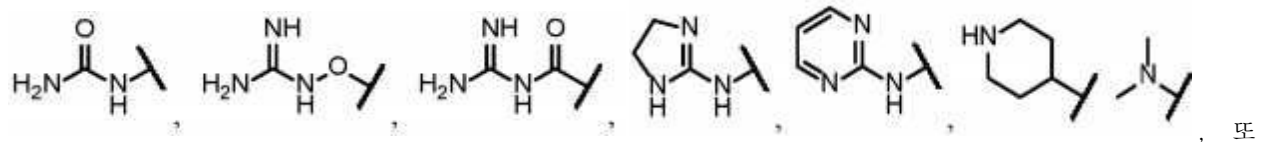
이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 4, 또는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2, 3, 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개 또는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.

[0083] 아미노산 잔기들은 독립적으로, 연속적이지 않은 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 2개의 아미노산 잔기는 독립적으로, 연속적일 수 있는 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 3개의 아미노산 잔기는 독립적으로, 연속적일 수 있는 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 4개의 아미노산 잔기는 독립적으로, 연속적일 수 있는 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 연속 아미노산 잔기들은 동일한 입체화학을 가질 수 있다. 연속 아미노산들은 교번하는 입체화학을 가질 수 있다.

[0084] 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 아미노산 잔기는 L-아미노산일 수 있다. 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 아미노산 잔기는 D-아미노산일 수 있다. 구아니딘 기, 구아니딘 대체 기, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 아미노산 잔기는 L- 또는 D-아미노산의 혼합물일 수 있다.

[0085] 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 각각의 아미노산 잔기는 독립적으로 아르기닌, 호모아르기닌, 2-아미노-3-프로피온산, 2-아미노-4-구아니디노부티르산 또는 이들의 양성자화된 형태의 잔기일 수 있다. 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 각각의 아미노산 잔기는 독립적으로 아르기닌 또는 이의 양성자화된 형태의 잔기일 수 있다.

[0086] 구아니딘 대체 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 각각의 아미노산은 독립적으로



는 이들의 양성자화된 형태일 수 있다.

[0087] 이론에 의해 구애됨이 없이, 구아니딘 대체 기는 아르기닌과 대비하여 감소된 염기성을 가지며, 일부 경우에는 생리학적 pH에서 비하전된 상태이고(예를 들어, -N(H)C(O)), 효과적인 막 회합 및 후속 내재화를 용이하게 하는 것으로 여겨지는, 원형질막 상의 인지질과의 두자리 수소 결합 상호작용을 유지할 수 있는 것으로 가설화된다. 양전하의 제거는 또한 cCPP의 독성을 감소시키는 것으로 여겨진다.

[0088] 당업자는, 본 명세서에 개시된 펩티드 내로의 도입 시에, 상기 비천연 방향족 소수성 아미노산의 N- 및/또는 C-말단이 아마이드 결합을 형성함을 이해할 것이다.

[0089] cCPP는 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산 및 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산을 포함할 수 있으며, 여기서 제1 글리신의 N-말단은 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산과의 펩티드 결합을 형성하고, 제1 글리신의 C-말단은 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산과의 펩티드 결합을 형성한다. 관례에 의하면, 용어 "제1 아미노산"은 종종 펩티드 서열의 N-말단 아미노산을 지칭하지만, 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "제1 아미노산"은 cCPP에서 지시대상 아미노산을 다른 아미노산(예를 들어, "제2 아미노산")과 구별하는 데 사용되며, 이로써 용어 "제1 아미노산"은 펩티드 서열의 N-말단에 위치한 아미노산을 지칭할 수 있거나 지칭할 수 있다.

[0090] cCPP는, 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산과의 펩티드 결합을 형성하는 제2 글리신의 N-말단, 및 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산과의 펩티드 결합을 형성하는 제2 글리신의 C-말단을 포함할 수 있다.

[0091] cCPP는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산, 및 구아니딘 기 또는 이

의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산을 포함할 수 있으며, 여기서 제3 글리신의 N-말단은 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산과의 펩티드 결합을 형성하고, 제3 글리신의 C-말단은 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산과의 펩티드 결합을 형성한다.

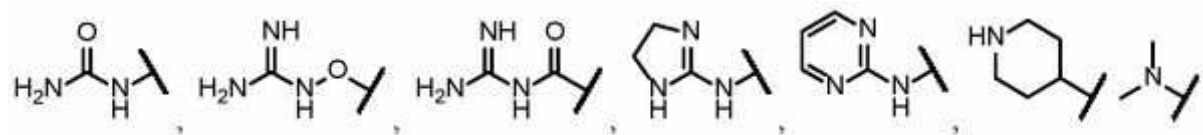
[0092] cCPP는 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산, 또는 호모글루타민의 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 아스파라긴의 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 글루타민의 잔기를 포함할 수 있다.

[0093] cCPP는 티로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티에닐알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-부틸-페닐알라닌, 4-피리디닐알라닌, 3-피리디닐알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 3-(9-안트릴)-알라닌의 잔기를 포함할 수 있다.

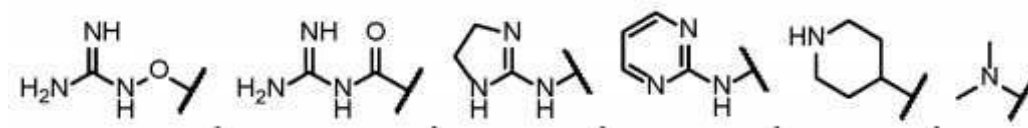
[0094] 이론에 의해 구애되고자 하지 않지만, cCPP에서의 아미노산의 키랄성은 사이토졸 흡수 효율에 영향을 줄 수 있는 것으로 여겨진다. cCPP는 적어도 하나의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 1 내지 15개의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 1 내지 10개의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 1, 2, 3, 또는 4개의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 교번하는 D 및 L 키랄성을 갖는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 동일한 키랄성을 갖는 3개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 동일한 키랄성을 갖는 2개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. 아미노산 중 적어도 2개는 반대 키랄성을 가질 수 있다. 반대 키랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 3개의 아미노산은 서로에 대해 교번하는 입체화학을 가질 수 있다. 서로에 대해 교번하는 키랄성을 갖는 적어도 3개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 4개의 아미노산은 서로에 대해 교번하는 입체화학을 갖는다. 서로에 대해 교번하는 키랄성을 갖는 적어도 4개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 아미노산 중 적어도 2개는 동일한 키랄성을 가질 수 있다. 동일한 키랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은 동일한 키랄성을 가지며, 적어도 2개의 아미노산은 반대 키랄성을 갖는다. 반대 키랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 동일한 키랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산에 인접할 수 있다. 따라서, cCPP에서의 인접 아미노산들은 하기 서열들 중 임의의 것을 가질 수 있다: D-L; L-D; D-L-L-D; L-D-D-L; L-D-L-L-D; D-L-D-D-L; D-L-L-D-L; 또는 L-D-D-L-D. cCPP를 형성하는 아미노산 잔기는 모두 L-아미노산일 수 있다. cCPP를 형성하는 아미노산 잔기는 모두 D-아미노산일 수 있다.

[0095] 아미노산 중 적어도 2개는 상이한 키랄성을 가질 수 있다. 상이한 키랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 3개의 아미노산은 인접한 아미노산과 대비하여 상이한 키랄성을 가질 수 있다. 적어도 4개의 아미노산은 인접 아미노산과 대비하여 상이한 키랄성을 가질 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은 동일한 키랄성을 가지며, 적어도 2개의 아미노산은 상이한 키랄성을 갖는다. cCPP를 형성하는 하나 이상의 아미노산 잔기는 비-키랄(achiral)일 수 있다. cCPP는 3, 4 또는 5개의 아미노산의 모티프를 포함할 수 있으며, 여기서 동일한 키랄성을 갖는 2개의 아미노산은 비-키랄 아미노산에 의해 분리될 수 있다. cCPP는 하기 서열들을 포함할 수 있다: D-X-D; D-X-D-X; D-X-D-X-D; L-X-L; L-X-L-X; 또는 L-X-L-X-L (여기서, X는 비-키랄 아미노산 임). 비-키랄 아미노산은 글리신일 수 있다.

[0096] 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측

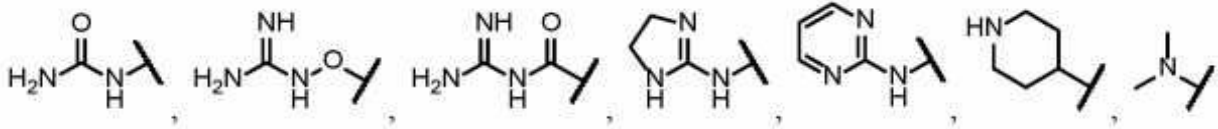


쇄를 갖는 아미노산에 인접할 수 있다.

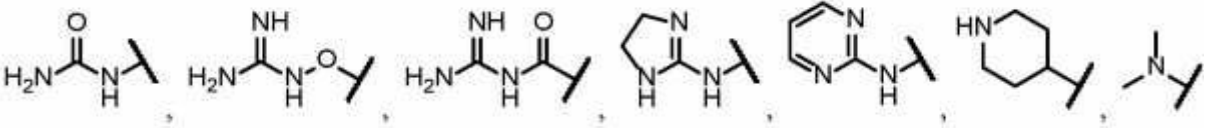


, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산에 인접할 수 있다. 구아니딘 또는 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노

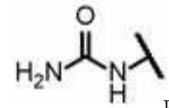
산은 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산에 인접할 수 있다.



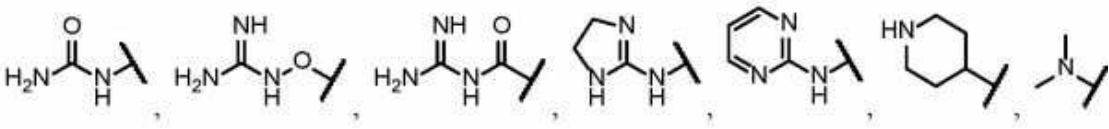
또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산은 서로 인접한다. cCPP는 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함할 수 있는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 연속 아미노산, 및



또는 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 비인접 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP



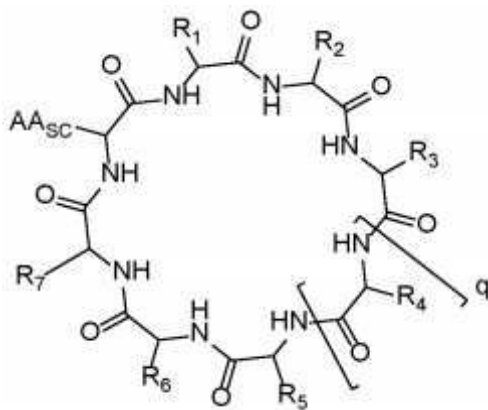
는 방향족 또는 헤테로방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 연속 아미노산, 및 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 비인접 아미노산을 포함할 수 있다. 인접 아미노산들은 동일한 키랄성을 가질 수 있다. 인접 아미노산들은 상이한 키랄성을 가질 수 있다. 아미노산들의 다른 조합은 D 및 L 아미노산의 임의의 배열, 예를 들어 나선 단락에 기재된 서열들 중 임의의 서열을 가질 수 있다.



[0097] 이들의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산은 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산과 교번한다.

[0098] cCPP는 화학식 (A)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0099] [화학식 (A)]



- [0100] (상기 식에서,
- [0101] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;
- [0102] R₁, R₂, 및 R₃ 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;
- [0103] R₄, R₅, R₆, R₇은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;
- [0104] R₄, R₅, R₆, R₇ 중 적어도 하나는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산, 4-구아니디노-2-아미노산부탄, 아르기닌, 호모아르기닌, N-메틸아르기닌, N,N-다이메틸아르기닌, 2,3-다이아미노프로피온산, 2,4-다이아미노산부탄, 라이신, N-메틸라이신, N,N-다이메틸라이신, N-에틸라이신, N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌, 시트

롤린, N,N-다이메틸라이신, β-호모아르기닌, 3-(1-피페리디닐)알라닌의 측쇄이고;

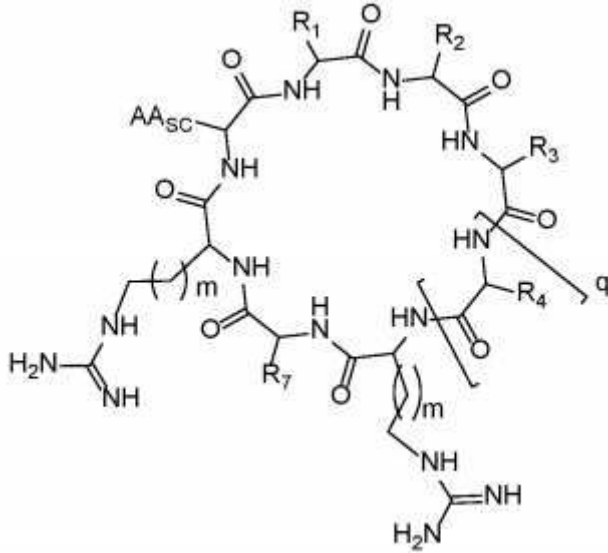
[0106] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0107] q는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0108] 여기서, 화학식 (A)의 사이클릭 펩티드는 FfΦRrRrQ가 아님).

[0109] cCPP는 화학식 (I)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0110] [화학식 (I)]



[0111] (상기 식에서,

[0112] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, 또는 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0113] R₁, R₂, 및 R₃ 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0114] R₄ 및 R₇은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0115] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0116] q는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0117] 각각의 m은 독립적으로 정수 0, 1, 2, 또는 3임).

[0118] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, -알킬렌-아릴, 또는 -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, -C₁₋₃알킬렌-아릴, 또는 -C₁₋₃알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H 또는 -C₁₋₃알킬렌-아릴일 수 있다. C₁₋₃알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O, 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴, 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, -C₁₋₃알킬렌-Ph 또는 -C₁₋₃알킬렌-나프틸일 수 있다. R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, -CH₂Ph, 또는 -CH₂나프틸일 수 있다. R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H 또는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0119] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 티로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티에닐알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-부틸-페닐알라닌, 4-피리디닐알라닌, 3-피리디닐알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

다.

[0121] R₁은 티로신의 측쇄일 수 있다. R₁은 페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 1-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 2-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 트립토판의 측쇄일 수 있다. R₁은 3-벤조티에닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-페닐페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 3,4-다이플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 β-호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-tert-부틸-페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-피리디닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 3-피리디닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 4-클로로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₁은 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0122] R₂는 티로신의 측쇄일 수 있다. R₂는 페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 1-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂은 2-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 트립토판의 측쇄일 수 있다. R₂는 3-벤조티에닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-페닐페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 3,4-다이플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 β-호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-tert-부틸-페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-피리디닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 3-피리디닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 4-클로로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₂는 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0123] R₃은 티로신의 측쇄일 수 있다. R₃은 페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 1-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 2-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 트립토판의 측쇄일 수 있다. R₃은 3-벤조티에닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-페닐페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 3,4-다이플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 β-호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-tert-부틸-페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-피리디닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 3-피리디닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 4-클로로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₃은 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0124] R₄는 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₄는 H, -C₁₋₃알킬렌-아릴, 또는 -C₁₋₃알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₄는 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R₄는 H 또는 -C₁₋₃알킬렌-아릴일 수 있다. C₁₋₃알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O, 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴, 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R₄는 H, -C₁₋₃알킬렌-Ph 또는 -C₁₋₃알킬렌-나프틸일 수 있다. R₄는 H, 또는 표 1 또는 표 3에서의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R₄는 H, 또는 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R₄는 H, -CH₂Ph, 또는 -CH₂나프틸일 수 있다. R₄는 H 또는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0125] R₅는 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₅는 H, -C₁₋₃알킬렌-아릴, 또는 -C₁₋₃알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₅는 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R₅는 H 또는 -C₁₋₃알킬렌-아릴일 수 있다. C₁₋₃알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O, 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴, 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R₅는 H, -C₁₋₃알킬렌-Ph 또는 -C₁₋₃알킬렌-나프틸일 수 있다. R₅는 H, 또는 표 1 또는 표 3에서의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R₅는 H, 또는 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다.

수 있다. R₅는 H, -CH₂Ph, 또는 -CH₂나프틸일 수 있다. R₄는 H 또는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0126] R₆은 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₆은 H, -C₁₋₃알킬렌-아릴, 또는 -C₁₋₃알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₆은 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R₆은 H 또는 -C₁₋₃알킬렌-아릴일 수 있다. C₁₋₃알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O, 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴, 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R₆은 H, -C₁₋₃알킬렌-Ph 또는 -C₁₋₃알킬렌-나프틸일 수 있다. R₆은 H, 또는 표 1 또는 표 3에서의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R₆은 H, 또는 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R₆은 H, -CH₂Ph, 또는 -CH₂나프틸일 수 있다. R₆은 H 또는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0127] R₇은 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₇은 H, -C₁₋₃알킬렌-아릴, 또는 -C₁₋₃알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R₇은 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R₇은 H 또는 -C₁₋₃알킬렌-아릴일 수 있다. C₁₋₃알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O, 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴, 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R₇은 H, -C₁₋₃알킬렌-Ph 또는 -C₁₋₃알킬렌-나프틸일 수 있다. R₇은 H, 또는 표 1 또는 표 3에서의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R₇은 H, 또는 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R₇은 H, -CH₂Ph, 또는 -CH₂나프틸일 수 있다. R₇은 H 또는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0128] R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 1개, 2개 또는 3개는 -CH₂Ph일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 1개는 -CH₂Ph일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 2개는 -CH₂Ph일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 3개는 -CH₂Ph일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 -CH₂Ph일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 4개 이하는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0129] R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 1개, 2개 또는 3개는 -CH₂Ph이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 1개는 -CH₂Ph이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 2개는 -CH₂Ph이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 3개는 -CH₂Ph이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 적어도 하나는 -CH₂Ph이다.

[0130] R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 1개, 2개 또는 3개는 H일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 1개는 H일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 2개는 H일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₅, R₆, 및 R₇ 중 3개는 H일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 H일 수 있다. R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 3개 이하는 -CH₂Ph일 수 있다.

[0131] R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 1개, 2개 또는 3개는 H이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 1개는 H이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 2개는 H이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 3개는 H이다. R₁, R₂, R₃, 및 R₄ 중 적어도 하나는 H이다.

[0132] R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 4-구아니디노-2-아미노산부탄의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 아르기닌의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 N-메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 N,N-다이메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 2,3-다이아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 2,4-다이아미노산부탄, 라이신의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 N-메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 N,N-다이메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 N-에틸라이신의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R₄, R₅, R₆, 및 R₇ 중 적어도 하나는 시트

롤린의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 하나는 N,N-다이메틸라이신, β -호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 하나는 3-(1-피페리디닐)알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0133] R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 4-구아니디노-2-아미노산부탄의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N-메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N-다이메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 2,3-다이아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 2,4-다이아미노산부탄, 라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N-메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N-다이메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N-에틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 시트룰린의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N-다이메틸라이신, β -호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 2개는 3-(1-피페리디닐)알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0134] R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 4-구아니디노-2-아미노산부탄의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N-메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N-다이메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 2,3-다이아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 2,4-다이아미노산부탄, 라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N-메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N-다이메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N-에틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 시트룰린의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N-다이메틸라이신, β -호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4 , R_5 , R_6 , 및 R_7 중 적어도 3개는 3-(1-피페리디닐)알라닌의 측쇄일 수 있다.

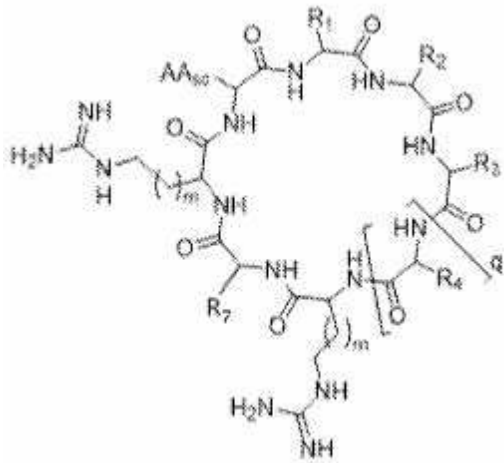
[0135] AA_{SC} 는 아스파라긴, 글루타민, 또는 호모글루타민의 잔기의 측쇄일 수 있다. AA_{SC} 는 글루타민의 잔기의 측쇄일 수 있다. cCPP는 AA_{SC} , 예를 들어 아스파라긴, 글루타민, 또는 호모글루타민의 잔기에 접합된 링커를 추가로 포함할 수 있다. 따라서, cCPP는 아스파라긴, 글루타민, 또는 호모글루타민 잔기에 접합된 링커를 추가로 포함할 수 있다. cCPP는 글루타민 잔기에 접합된 링커를 추가로 포함할 수 있다.

[0136] q 는 1, 2, 또는 3일 수 있다. q 는 1 또는 2일 수 있다. q 는 1일 수 있다. q 는 2일 수 있다. q 는 3일 수 있다. q 는 4일 수 있다.

[0137] m 은 1 내지 3일 수 있다. m 은 1 또는 2일 수 있다. m 은 0일 수 있다. m 은 1일 수 있다. m 은 2일 수 있다. m 은 3일 수 있다.

[0138] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0139] [화학식 (I)]

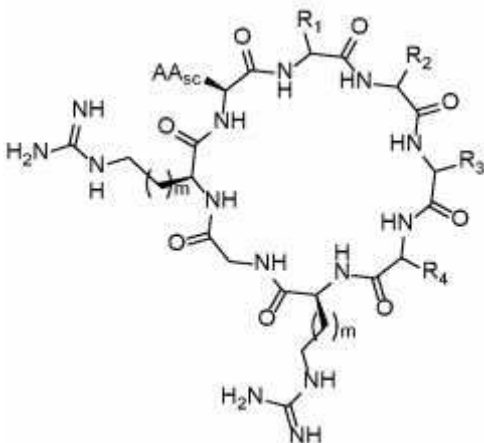


[0140]

[0141] (상기 식에서, AA_{sc}, R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, m 및 q는 본 명세서에 정의된 바와 같음).

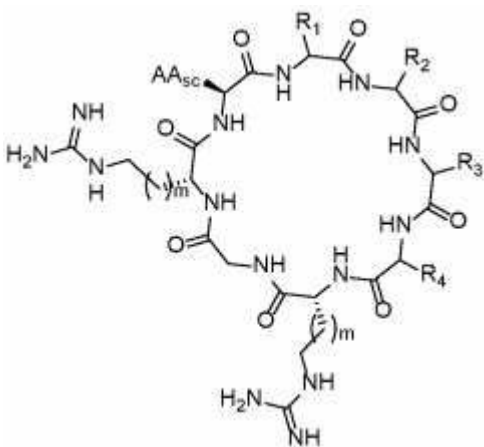
[0142] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-a) 또는 화학식 (I-b)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0143] [화학식 (I-a)]



[0144]

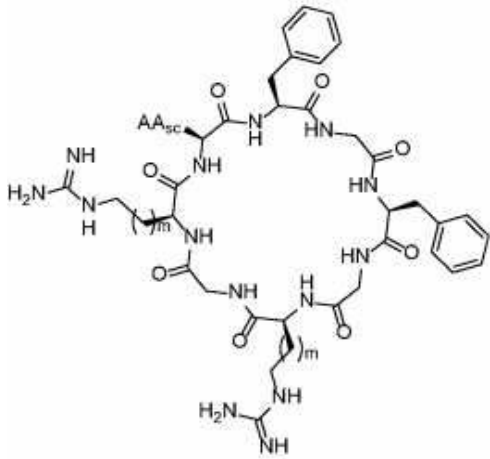
[0145] [화학식 (I-b)]



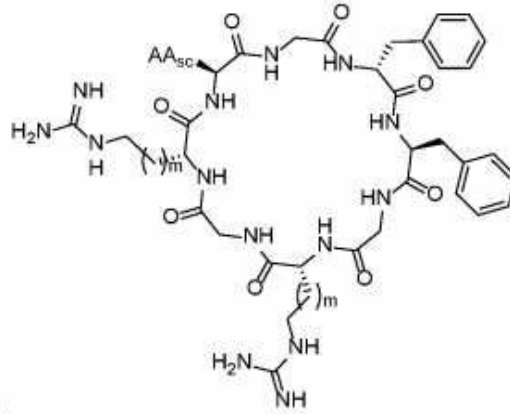
[0146]

[0147] (상기 식에서, AA_{sc}, R₁, R₂, R₃, R₄, 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0148] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-1), 화학식 (I-2), 화학식 (I-3) 또는 화학식 (I-4)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

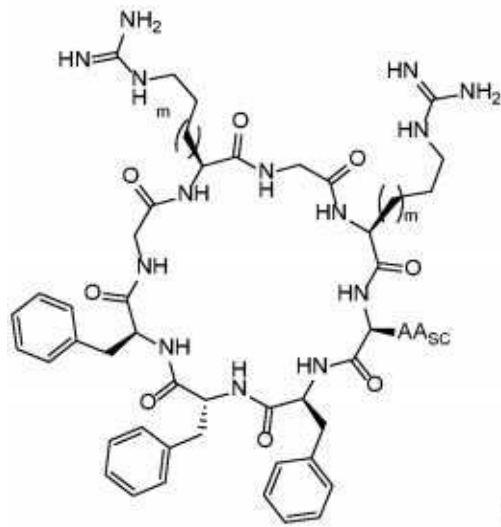


(I-1),

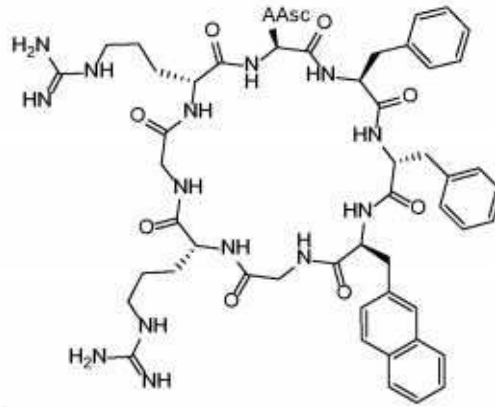


(I-2),

[0149]



(I-3),



(I-4)

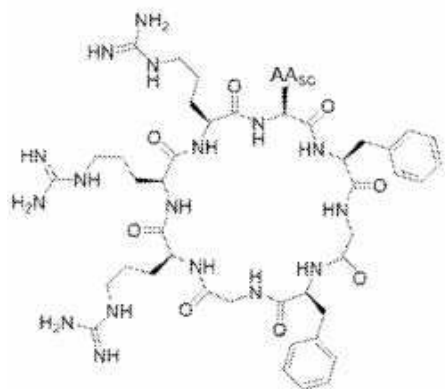
[0150]

[0151]

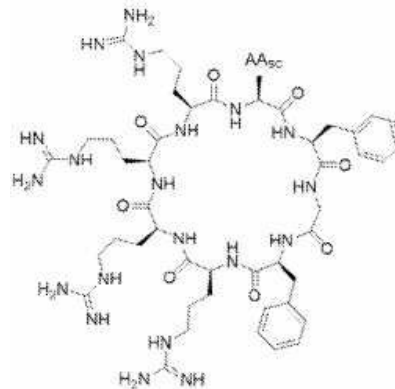
(상기 식에서, AA_{sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0152]

화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-5) 또는 화학식 (I-6)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:



(I-5), 또는



(I-6)

[0153]

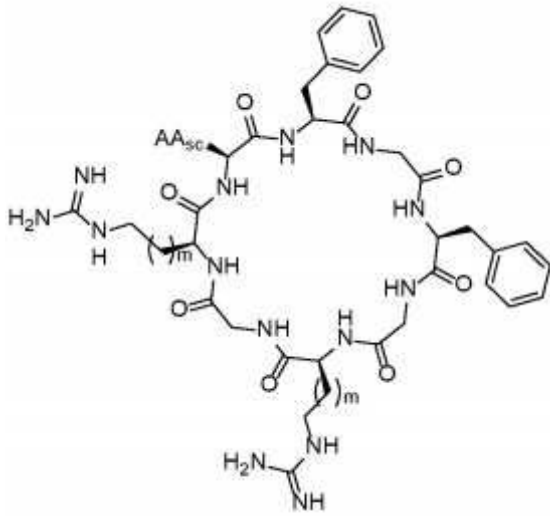
[0154]

(상기 식에서, AA_{sc}는 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0155]

화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-1)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0156] [화학식 (I-1)]

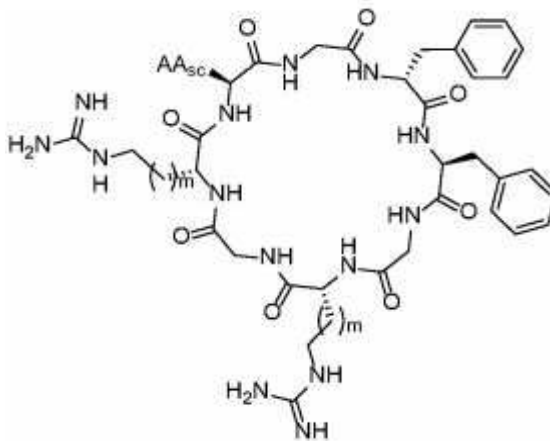


[0157]

[0158] (상기 식에서, AA_{sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0159] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-2)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0160] [화학식 (I-2)]

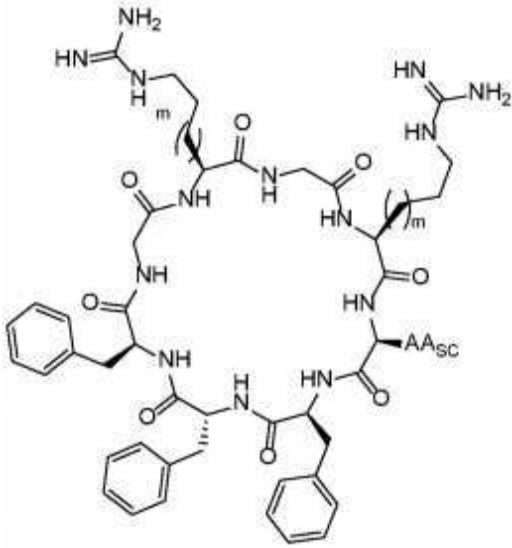


[0161]

[0162] (상기 식에서, AA_{sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0163] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-3)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0164] [화학식 (I-3)]

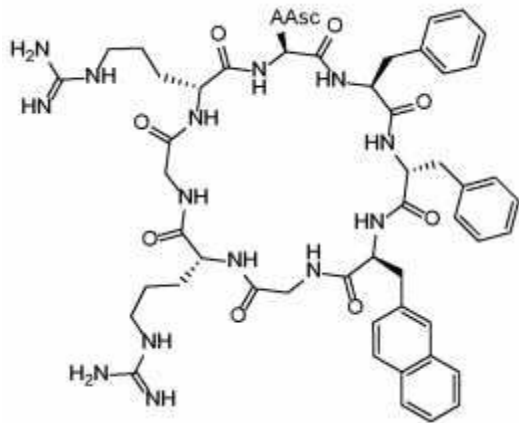


[0165]

[0166] (상기 식에서, AA_{Sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0167] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-4)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0168] [화학식 (I-4)]

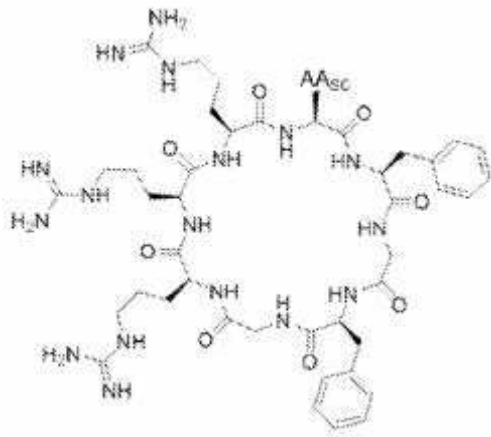


[0169]

[0170] (상기 식에서, AA_{Sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0171] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-5)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0172] [화학식 (I-5)]

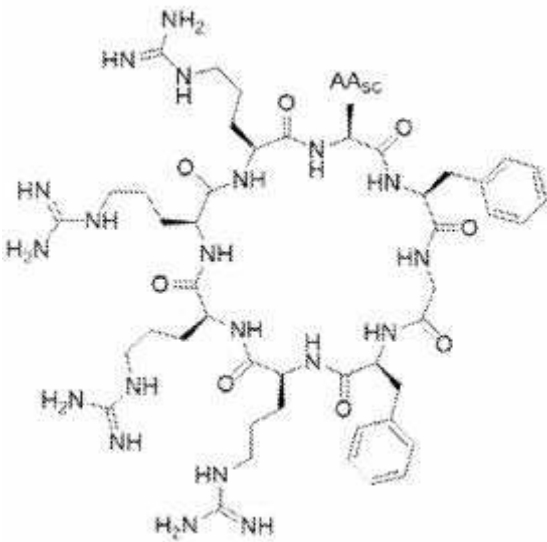


[0173]

[0174] (상기 식에서, AA_{sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0175] 화학식 (A)의 cCPP는 화학식 (I-6)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0176] [화학식 (I-6)]



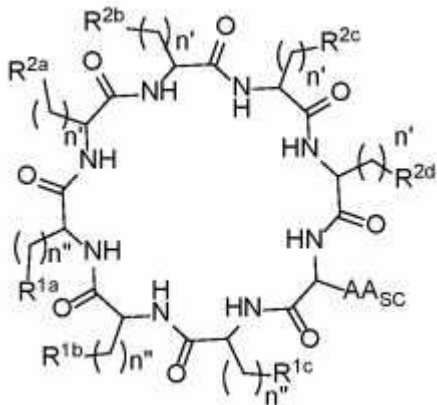
[0177]

[0178] (상기 식에서, AA_{sc} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0179] cCPP는 하기 서열들 중 하나를 포함할 수 있다: FGFGRR; GfFGrGr, FfΦGRGR; FfFGRGR; 또는 FfΦGrGr. cCPP는 하기 서열들 중 하나를 가질 수 있다: FGFΦ; GfFGrGrQ, FfΦGRGRQ; FfFGRGRQ; 또는 FfΦGrGrQ.

[0180] 본 발명은 또한 화학식 (II)의 구조를 갖는 cCPP에 관한 것이다:

[0181] [화학식 (II)]



[0182]

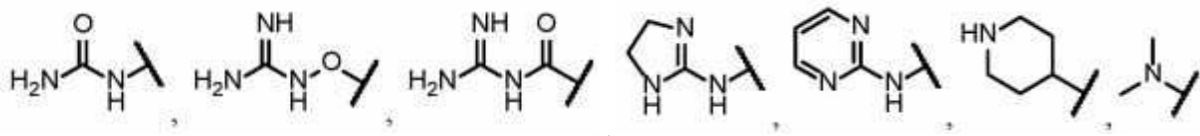
[0183] (상기 식에서,

[0184] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0185] R^{1a}, R^{1b}, 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6원 내지 14원 아릴 또는 6원 내지 14원 헤테로아릴이고;

[0186] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}는 독립적으로 아미노산 측쇄이고;

[0187] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는



또는 이들의 양성자화된 형태이고;

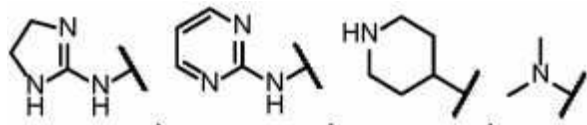
[0188] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태이고;

[0189] 각각의 n''은 독립적으로 정수 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

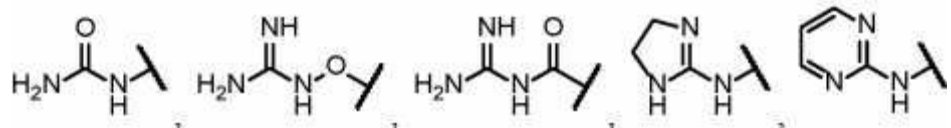
[0190] 각각의 n'은 독립적으로 0, 1, 2, 또는 3의 정수이고;

[0191] n'이 0인 경우, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 또는 R^{2d}는 부재함).

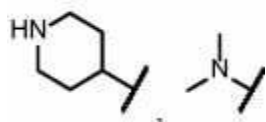
[0192] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 2개는



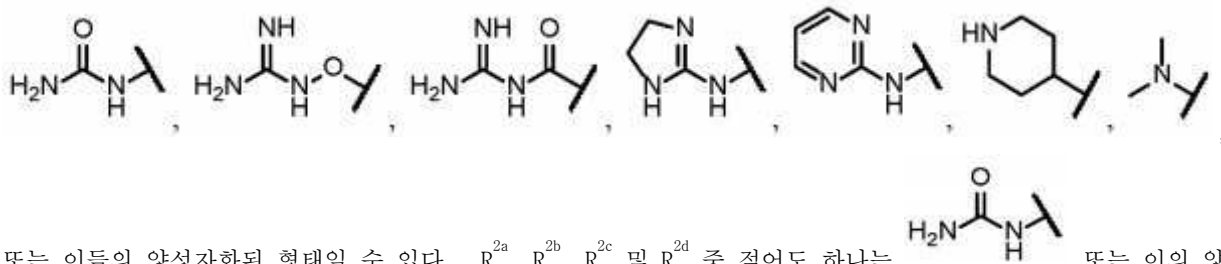
, 또는 이들의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}



및 R^{2d} 중 2개 또는 3개는



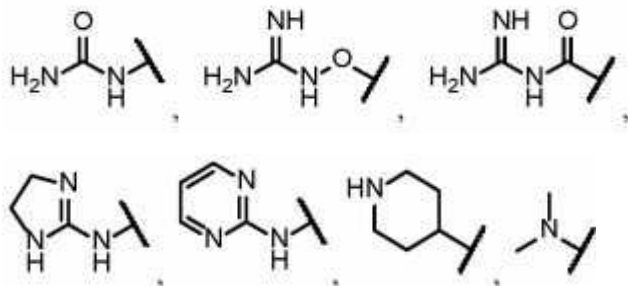
, 또는 이들의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 1개는



또는 이들의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 중 나머지는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a} ,

R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 2개는 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 중 나머지는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다.

[0193] 모든 R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 는



, 또는 이들의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a} , R^{2b} , R^{2c}

및 R^{2d} 중 적어도는 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 중 나머지는 구아

니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 기 중 적어도 2개는 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 중 나머지는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태이다.

[0194] 각각의 R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} 및 R^{2d} 는 독립적으로 2,3-다이아미노프로피온산; 2,4-다이아미노부티르산; 오르니틴, 라이신, 메틸라이신, 다이메틸라이신, 트라이메틸라이신, 호모-라이신, 세린, 호모-세린, 트레오닌, 알로-트레오닌, 히스티딘, 1-메틸히스티딘, 2-아미노부탄산, 아스파르트산, 글루탐산, 또는 호모-글루탐산의 측쇄일 수 있다.

[0195] AA_{sc} 는 *(*)C(N)C(*) 또는 *(*)C(C(=O)O)C(*) 일 수 있으며, 여기서 t는 0 내지 5의 정수일 수 있다. AA_{sc} 는

()C(C(=O)O)C(*) 일 수 있으며, 여기서 t는 0 내지 5의 정수일 수 있다. t는 1 내지 5일 수 있다. t는 2 또는 3이다. t는 2일 수 있다. t는 3일 수 있다.

[0196] R^{1a} , R^{1b} , 및 R^{1c} 는 각각 독립적으로 6원 내지 14원 아릴일 수 있다. R^{1a} , R^{1b} , 및 R^{1c} 는 N, O, 또는 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6원 내지 14원 헤테로아릴일 수 있다. R^{1a} , R^{1b} , 및 R^{1c} 는 각각 독립적으로 페닐, 나프틸, 안트라세닐, 피리딜, 퀴놀릴, 또는 아이소퀴놀릴로부터 선택될 수 있다. R^{1a} , R^{1b} , 및 R^{1c} 는 각각 독립적으로 페닐, 나프틸, 또는 안트라세닐로부터 선택될 수 있다. R^{1a} , R^{1b} , 및 R^{1c} 는 각각 독립적으로 페닐 또

는 나프틸일 수 있다. R^{1a} , R^{1b} , 및 R^{1c} 는 각각 독립적으로 피리딜, 퀴놀릴, 또는 아이소퀴놀릴로부터 선택될 수 있다.

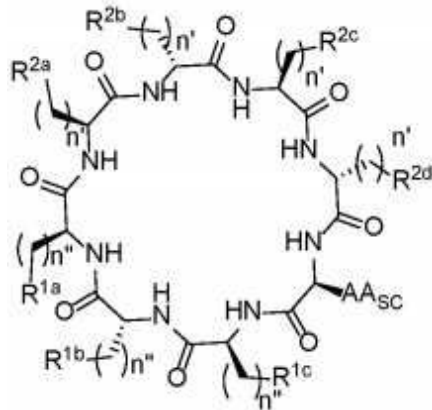
[0197] 각각의 n' 은 독립적으로 1 또는 2일 수 있다. 각각의 n' 은 1일 수 있다. 각각의 n' 은 2일 수 있다. 적어도 하나의 n' 은 0일 수 있다. 적어도 하나의 n' 은 1일 수 있다. 적어도 하나의 n' 은 2일 수 있다. 적어도 하나의 n' 은 3일 수 있다. 적어도 하나의 n' 은 4일 수 있다. 적어도 하나의 n' 은 5일 수 있다.

[0198] 각각의 n'' 은 독립적으로 1 내지 3의 정수일 수 있다. 각각의 n'' 은 독립적으로 2 또는 3일 수 있다. 각각의 n'' 은 2일 수 있다. 각각의 n'' 은 3일 수 있다. 적어도 하나의 n'' 은 0일 수 있다. 적어도 하나의 n'' 은 1일 수 있다. 적어도 하나의 n'' 은 2일 수 있다. 적어도 하나의 n'' 은 3일 수 있다.

[0199] 각각의 n'' 은 독립적으로 1 또는 2일 수 있고, 각각의 n' 은 독립적으로 2 또는 3일 수 있다. 각각의 n'' 은 1일 수 있고, 각각의 n' 은 독립적으로 2 또는 3일 수 있다. 각각의 n'' 은 1일 수 있고, 각각의 n' 은 2일 수 있다. 각각의 n'' 은 1이고, 각각의 n' 은 3이다.

[0200] 화학식 (II)의 cCPP는 화학식 (II-1)의 구조를 가질 수 있다:

[화학식 (II-1)]

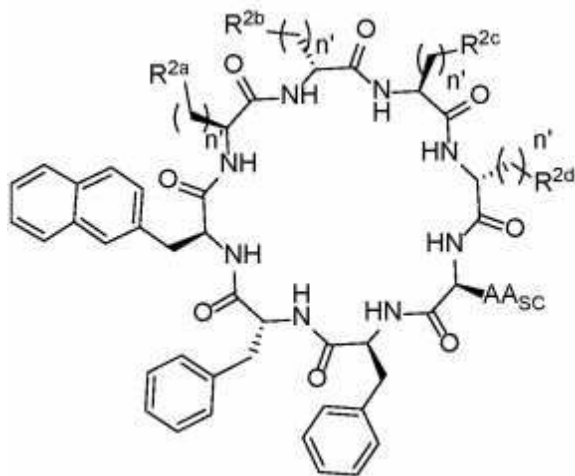


[0202]

[0203] (상기 식에서, R^{1a} , R^{1b} , R^{1c} , R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} , R^{2d} , AA_{sc} , n' 및 n'' 은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0204] 화학식 (II)의 cCPP는 화학식 (IIa)의 구조를 가질 수 있다:

[화학식 (IIa)]

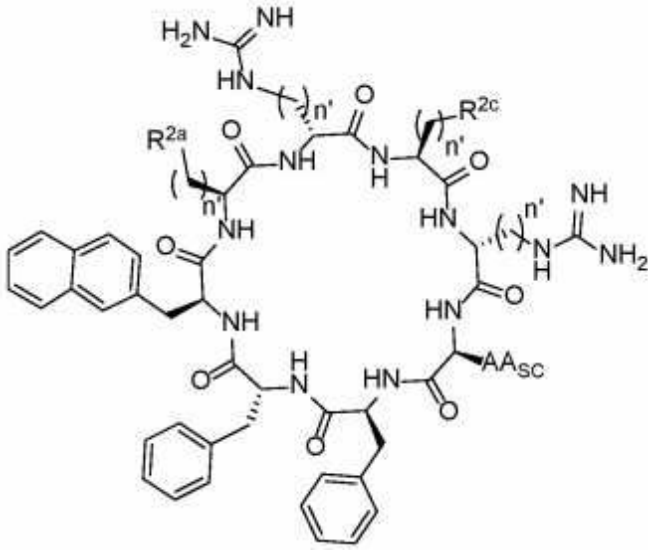


[0206]

[0207] (상기 식에서, R^{1a} , R^{1b} , R^{1c} , R^{2a} , R^{2b} , R^{2c} , R^{2d} , AA_{sc} , 및 n' 은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0208] 화학식 (II)의 cCPP는 화학식 (IIb)의 구조를 가질 수 있다:

[0209] [화학식 (IIb)]

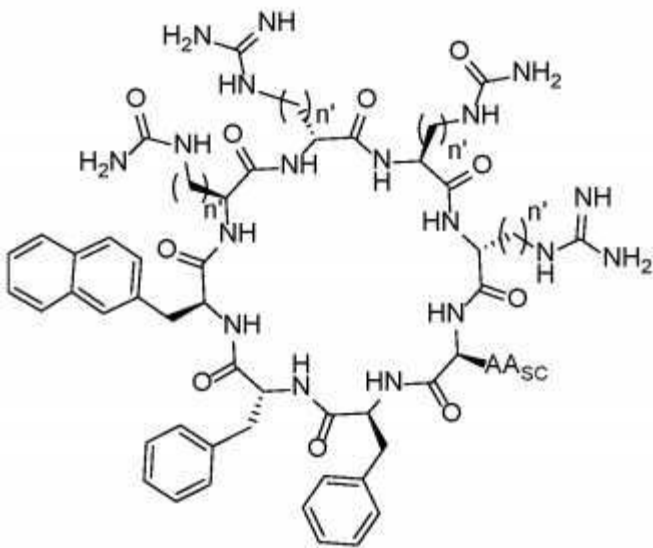


[0210]

[0211] (상기 식에서, R^{2a}, R^{2b}, AA_{Sc}, 및 n'은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0212] cCPP는 화학식 (IIb)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있다:

[0213] [화학식 (IIc)]

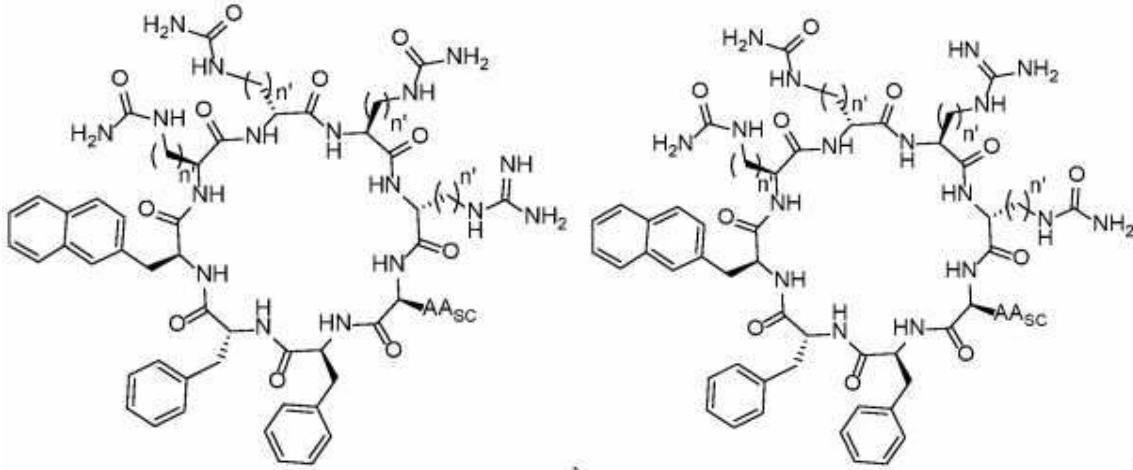


[0214]

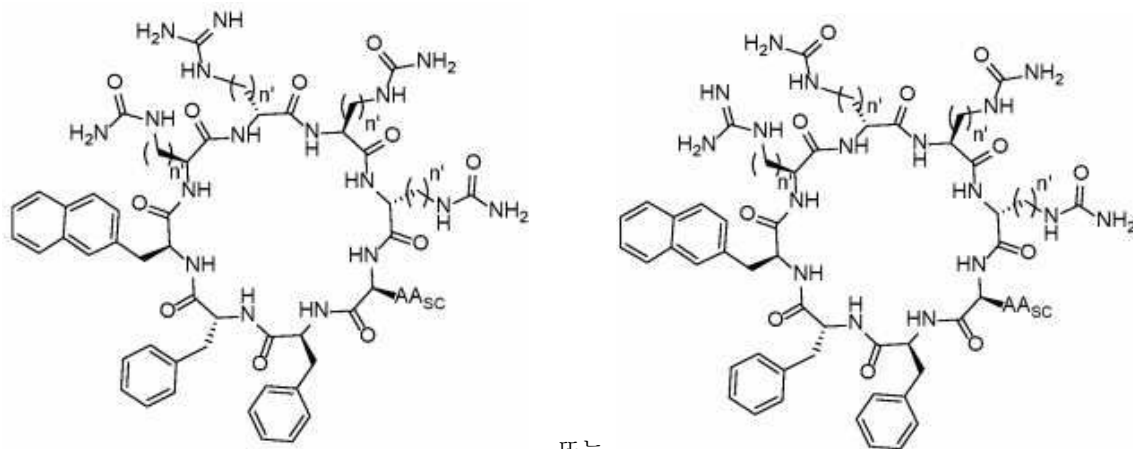
[0215] (상기 식에서,

[0216] AA_{Sc} 및 n'은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0217] 화학식 (IIa)의 cCPP는 하기 구조들 중 하나를 갖는다:



[0218]

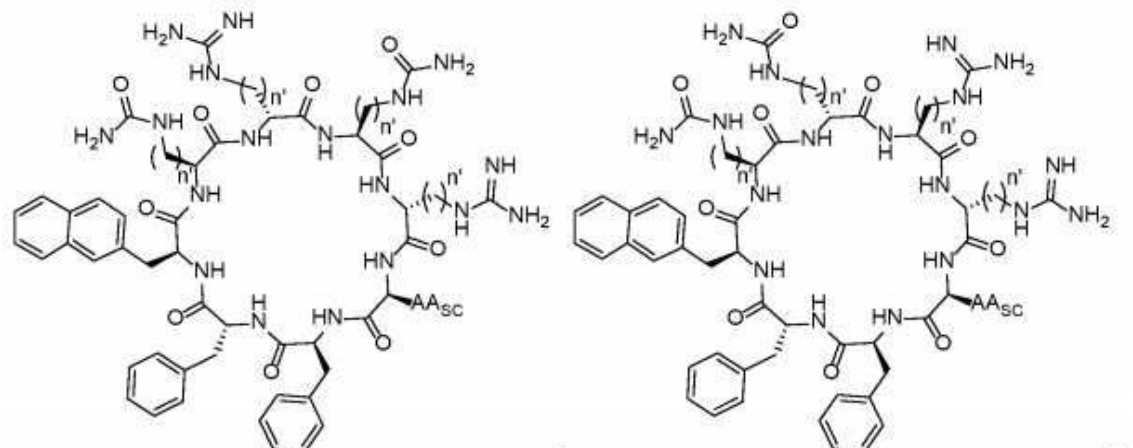


[0219]

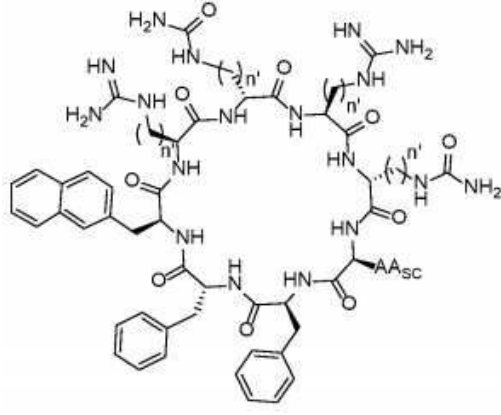
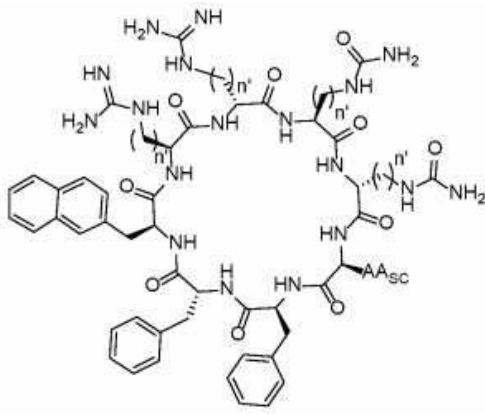
, 또는

[0220] (상기 식에서, AA_{sc} 및 n 은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0221] 화학식 (IIa)의 cCPP는 하기 구조들 중 하나를 갖는다:



[0222]



[0223]

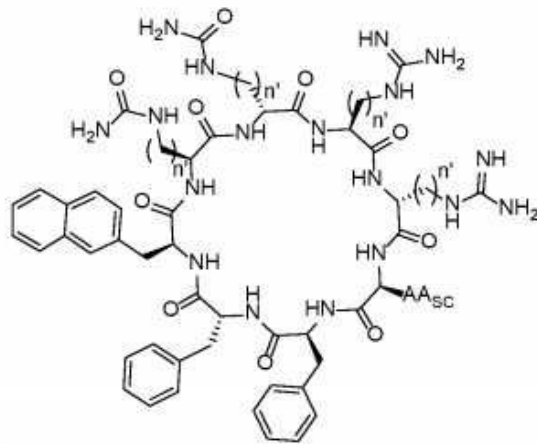
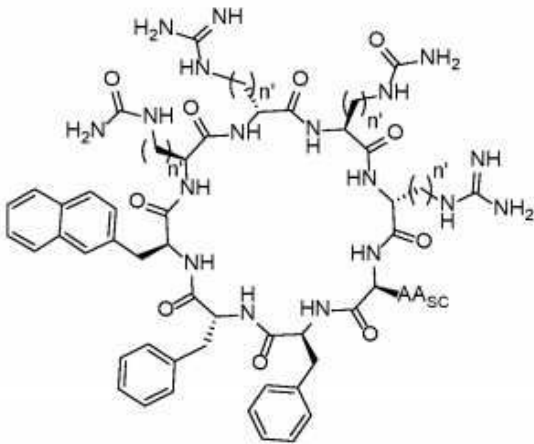
, 또는

[0224]

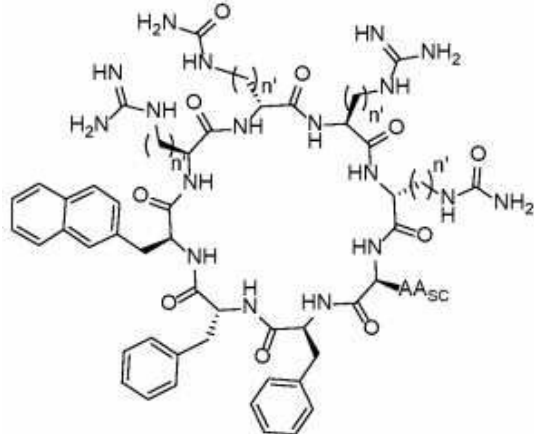
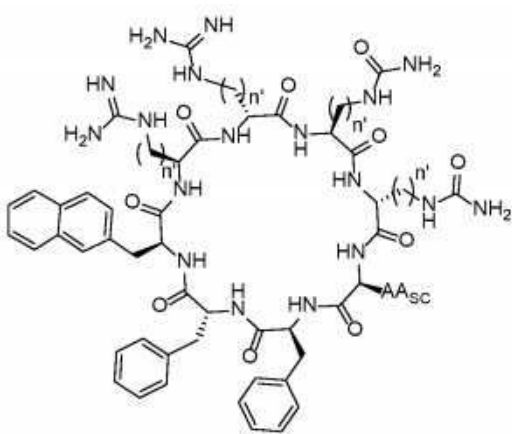
(상기 식에서, AA_{sc} 및 n은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0225]

화학식 (IIa)의 cCPP는 하기 구조들 중 하나를 갖는다:



[0226]



[0227]

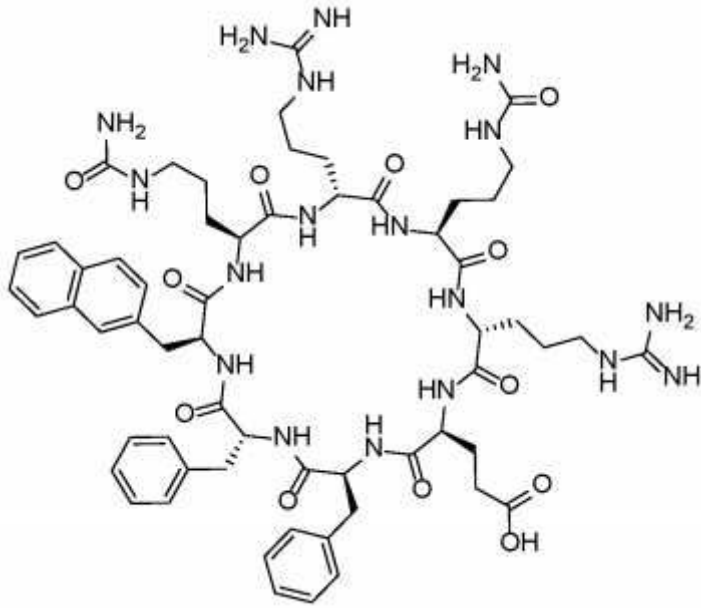
, 또는

[0228]

(상기 식에서, AA_{sc} 및 n은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

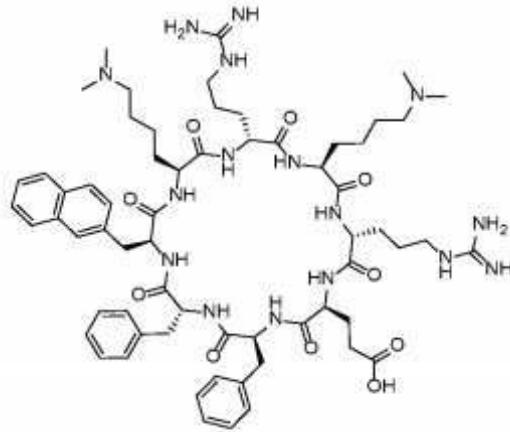
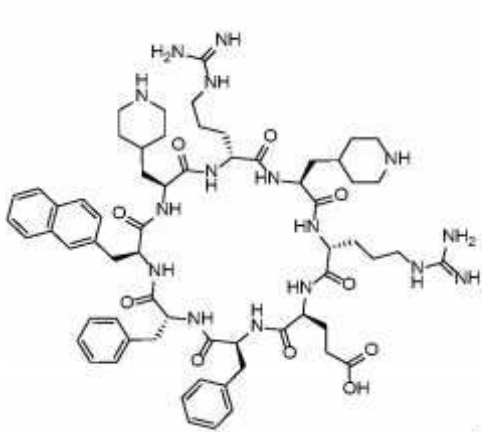
[0229]

화학식 (II)의 cCPP는 하기 구조를 가질 수 있다:



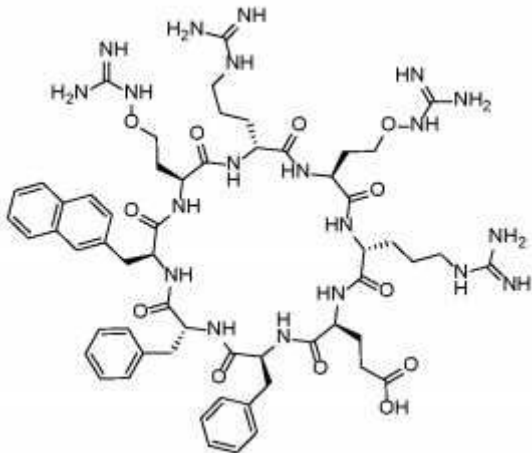
[0230]

[0231] 화학식 (II)의 cCPP는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0232]

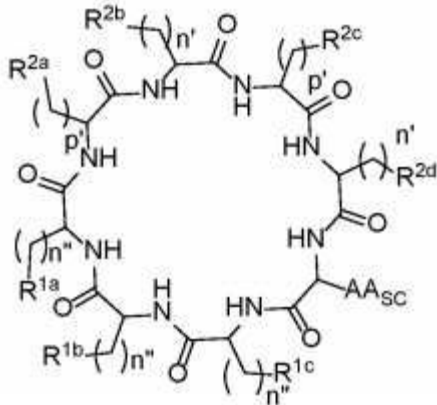
[0233] 또는



[0234]

[0235] cCPP는 화학식 (III)의 구조를 가질 수 있다:

[0236] [화학식 (III)]



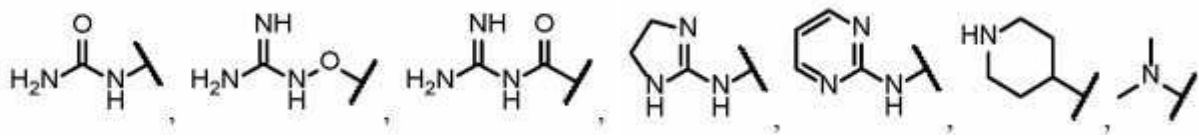
[0237]

[0238] (상기 식에서,

[0239] AA_{sc}는 아미노산 측쇄이고;

[0240] R^{1a}, R^{1b}, 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6원 내지 14원 아릴 또는 6원 내지 14원 헤테로아릴이고;

[0241] R^{2a} 및 R^{2c}는 각각 독립적으로 H,



또는 이들의 양성자화된 형태이고;

[0242] R^{2b} 및 R^{2d}는 각각 독립적으로 구아니딘 또는 이들의 양성자화된 형태이고;

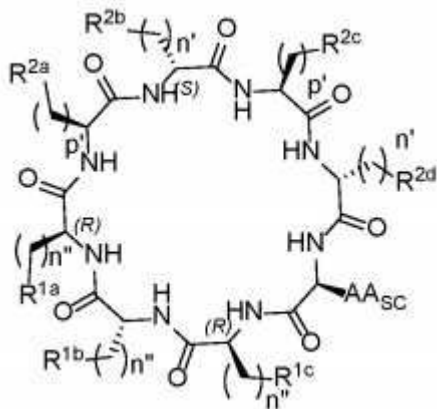
[0243] 각각의 n''은 독립적으로 1 내지 3의 정수이고;

[0244] 각각의 n'은 독립적으로 1 내지 5의 정수이고;

[0245] 각각의 p'은 독립적으로 0 내지 5의 정수임).

[0246] 화학식 (III)의 cCPP는 화학식 (III-1)의 구조를 가질 수 있다:

[0247] [화학식 (III-1)]



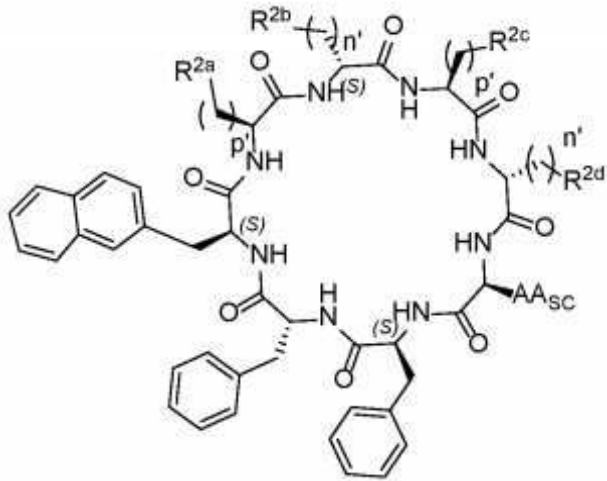
[0248]

[0249] (상기 식에서,

[0250] AA_{sc}, R^{1a}, R^{1b}, R^{1c}, R^{2a}, R^{2c}, R^{2b}, R^{2d}, n', n'', 및 p'은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0251] 화학식 (III)의 cCPP는 화학식 (IIIa)의 구조를 가질 수 있다:

[0252] [화학식 (IIIa)]



[0253]

[0254] (상기 식에서,

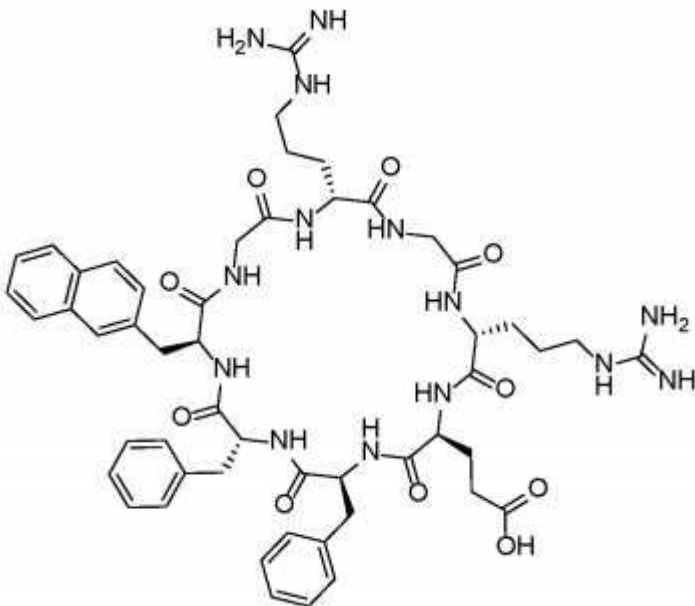
[0255] AA_{SC}, R^{2a}, R^{2c}, R^{2b}, R^{2d}, n', n'', 및 p'은 본 명세서에 정의된 바와 같음).

[0256] 화학식 (III), 화학식 (III-1), 및 화학식 (IIIa)에서, R^a 및 R^c는 H일 수 있다. R^a 및 R^c는 H일 수 있고, R^b 및 R^d는 각각 독립적으로 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^a는 H일 수 있다. R^b는 H일 수 있다. p'은 0일 수 있다. R^a 및 R^c는 H일 수 있고, 각각의 p'은 0일 수 있다.

[0257] 화학식 (III), 화학식 (III-1), 및 화학식 (IIIa)에서, R^a 및 R^c는 H일 수 있고, R^b 및 R^d는 각각 독립적으로 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, n''은 2 또는 3일 수 있고, 각각의 p'은 0일 수 있다.

[0258] p'은 0일 수 있다. p'은 1일 수 있다. p'은 2일 수 있다. p'은 3일 수 있다. p'은 4일 수 있다. p'은 5일 수 있다.

[0259] cCPP는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0260]

[0261] 화학식 (A)의 cCPP는 하기로부터 선택될 수 있다:

CPP 서열
(FfΦRrRrQ)
(FfΦCit-r-Cit-rQ)
(FfΦGrGrQ)
(FfFGRGRQ)
(FGFGRGRQ)
(GfFGrGrQ)
(FGFGRRRQ) 또는
(FGFRRRRQ)

[0262]

[0263] 화학식 (A)의 cCPP는 하기로부터 선택될 수 있다:

CPP 서열
FΦRRRRQ
fΦRrRrQ
FfΦRrRrQ
FfΦCit-r-Cit-rQ
FfΦGrGrQ
FfΦRGRGQ
FfFGRGRQ
FGFGRGRQ
GfFGrGrQ
FGFGRRRQ 또는
FGFRRRRQ

[0264]

[0265] AA_{sc}는 링커에 접합될 수 있다.

[0266] 링커

[0267] 본 발명의 cCPP는 링커에 접합될 수 있다. 링커는 운반물을 cCPP에 연결할 수 있다. 링커는 cCPP의 아미노산의 측쇄에 부착될 수 있고, 운반물은 링커 상에 적합한 위치에 부착될 수 있다.

[0268] 링커는, cCPP를 하나 이상의 추가의 모이어티, 예를 들어 고리의 펩티드(EP) 및/또는 운반물에 접합시킬 수 있는 임의의 적절한 모이어티일 수 있다. cCPP 및 하나 이상의 추가의 모이어티에 접합하기 전에, 링커는 2개 이상의 작용기를 가지며, 이들 각각은 독립적으로 cCPP 및 하나 이상의 추가의 모이어티에 공유 결합을 형성할 수 있다. 운반물이 올리고뉴클레오타이드인 경우, 링커는 운반물의 5' 단부 또는 운반물의 3' 단부에 공유 결합될 수 있다. 링커는 운반물의 5' 단부에 공유 결합될 수 있다. 링커는 운반물의 3' 단부에 공유 결합될 수 있다. 운반물이 펩티드인 경우, 링커는 운반물의 N-말단 또는 C-말단에 공유 결합될 수 있다. 링커는 올리고뉴클레오타이드 또는 펩티드 운반물의 골격에 공유 결합될 수 있다. 링커는, 본 명세서에 기재된 cCPP를 운반물, 예컨대 올리고뉴클레오타이드, 펩티드 또는 소분자에 접합시키는 임의의 적절한 모이어티일 수 있다.

[0269] 링커는 탄화수소 링커를 포함할 수 있다.

[0270] 링커는 절단 부위를 포함할 수 있다. 절단 부위는 이황화물, 또는 카스파제-절단 부위(예를 들어, Val-Cit-PABC)일 수 있다.

[0271] 링커는 (i) 하나 이상의 D 또는 L 아미노산 - 이들 각각은 선택적으로 치환됨 -; (ii) 선택적으로 치환된 알킬렌; (iii) 선택적으로 치환된 알케닐렌; (iv) 선택적으로 치환된 알키닐렌; (v) 선택적으로 치환된 카르보사이클릴; (vi) 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴; (vii) 하나 이상의 $-(R^1-J-R^2)_z-$ 하위단위(여기서, 각각의 R^1 및 R^2 는 각각의 경우에 독립적으로 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 카르보사이클릴, 및 헤테로사이클릴로부터 선택되고; 각각의 J는 독립적으로 C, NR³, -NR³C(O)-, S, 및 O이며, 여기서 R³은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 및 헤테로사이클릴로부터 선택되고, 이들 각각은 선택적으로 치환되고; z"은 1 내지 50의 정수임); (viii) $-(R^1-J)_z-$ 또는 $-(J-R^1)_z-$ (여기서, 각각의 R¹은 각각의 경우에 독립적으로 알킬렌, 알케닐렌, 알키

닐렌, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이고; 각각의 J는 독립적으로 C, NR³, -NR³C(O)-, S, 또는 O이며, 여기서 R³은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이고, 이들 각각은 선택적으로 치환되고; z"은 1 내지 50의 정수임을 포함할 수 있거나; 또는 (ix) 링커는 (i) 내지 (x) 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

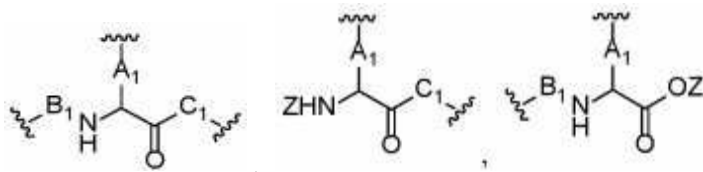
[0272] 링커는 하나 이상의 D 또는 L 아미노산 및/또는 -(R¹-J-R²)_z'-(여기서, 각각의 R¹ 및 R²는 각각의 경우에 독립적으로 알킬렌이고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR³, -NR³C(O)-, S, 및 O이고, R⁴는 독립적으로 H 및 알킬로부터 선택되고, z"은 1 내지 50의 정수임); 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0273] 링커는 (예를 들어, 스페이서로서) -(OCH₂CH₂)_{z'}-을 포함할 수 있으며, 여기서 z'은 1 내지 23의 정수, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 또는 23이다. -(OCH₂CH₂)_{z'}은 폴리에틸렌 글리콜(PEG)로도 지칭될 수 있다.

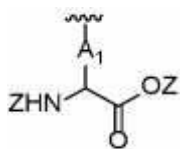
[0274] 링커는 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 펩티드를 포함할 수 있다. 링커는 -(OCH₂CH₂)_{z'}-(여기서, z'은 1 내지 23의 정수임), 및 펩티드를 포함할 수 있다. 펩티드는 2 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 클릭 화학을 통해 반응할 수 있는 작용기(FG)를 추가로 포함할 수 있다. FG는 아지드 또는 알킨일 수 있으며, 운반물이 링커에 접합될 때 트라이아졸이 형성된다.

[0275] 링커는 (i) β 알라닌 잔기 및 라이신 잔기; (ii) -(J-R¹)_z" ; 또는 (iii) 이들의 조합을 포함할 수 있다. 각각의 R¹은 독립적으로 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴일 수 있고; 각각의 J는 독립적으로 C, NR³, -NR³C(O)-, S, 또는 O이며, 여기서 R³은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이고, 이들 각각은 선택적으로 치환되고; z"은 1 내지 50의 정수일 수 있다. 각각의 R¹은 알킬렌일 수 있고, 각각의 J는 O일 수 있다.

[0276] 링커는 (i) β-알라닌, 글리신, 라이신, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜탄산, 6-아미노헥산산 또는 이들의 조합의 잔기; 및 (ii) -(R¹-J)_z"- 또는 -(J-R¹)_z"-을 포함할 수 있다. 각각의 R¹은 독립적으로 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴일 수 있고; 각각의 J는 독립적으로 C, NR³, -NR³C(O)-, S, 또는 O이며, 여기서 R³은 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이고, 이들 각각은 선택적으로 치환되고; z"은 1 내지 50의 정수일 수 있다. 각각의 R¹은 알킬렌일 수 있고, 각각의 J는 O일 수 있다. 링커는 글리신, 베타-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜탄산, 6-아미노헥산산, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.



[0277] 링커는 3가 링커일 수 있다. 링커는 구조: , , , , 또는



는 를 가질 수 있으며, 여기서 A₁, B₁, 및 C₁은 독립적으로 탄화수소 링커(예를 들어, NRH-(CH₂)_n-COOH), PEG 링커(예를 들어, NRH-(CH₂)_n-COOH, 여기서 R은 H, 메틸 또는 에틸임) 또는 하나 이상의 아미노산 잔기일 수 있고, Z는 독립적으로 보호기이다. 링커에는 또한 절단 부위를 도입시킬 수 있으며, 이에에는 이황화물[NH₂-(CH₂)_n-S-S-(CH₂)_n-COOH], 또는 카스파제-절단 부위(Val-Cit-PABC)가 포함된다.

[0278] 탄화수소는 글리신 또는 베타-알라닌의 잔기일 수 있다.

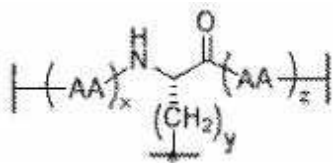
[0279] 링커는 2가이고 cCPP를 운반물에 연결할 수 있다. 링커는 2가이고 cCPP를 고리의 펩티드(EP)에 연결할 수

있다.

[0280] 링커는 3가이고 cCPP를 운반물 및 EP에 연결할 수 있다.

[0281] 링커는 2가 또는 3가 C₁-C₅₀ 알킬렌일 수 있으며, 여기서 1 내지 25개의 메틸렌 기는 선택적으로 그리고 독립적으로 -N(H)-, -N(C₁-C₄ 알킬)-, -N(사이클로알킬)-, -O-, -C(O)-, -C(O)O-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂N(C₁-C₄ 알킬)-, -S(O)₂N(사이클로알킬)-, -N(H)C(O)-, -N(C₁-C₄ 알킬)C(O)-, -N(사이클로알킬)C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(C₁-C₄ 알킬), -C(O)N(사이클로알킬), 아릴, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 또는 사이클로알케닐로 대체된다. 링커는 2가 또는 3가 C₁-C₅₀ 알킬렌일 수 있으며, 여기서 1 내지 25개의 메틸렌 기는 선택적으로 그리고 독립적으로 -N(H)-, -O-, -C(O)N(H)-, 또는 이들의 조합으로 대체된다.

[0282] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:

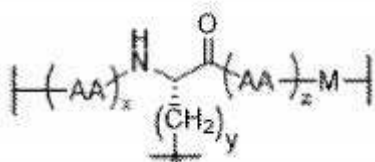


[0283]

[0284] 상기 식에서, 각각의 AA는 독립적으로 아미노산 잔기이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; x는 1 내지 10의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z는 1 내지 10의 정수이다. x는 1 내지 5의 정수일 수 있다. x는 1 내지 3의 정수일 수 있다. x는 1일 수 있다. y는 2 내지 4의 정수일 수 있다. y는 4일 수 있다. z는 1 내지 5의 정수일 수 있다. z는 1 내지 3의 정수일 수 있다. z는 1일 수 있다. 각각의 AA는 독립적으로 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜탄산, 및 6-아미노헥산산으로부터 선택될 수 있다.

[0285] cCPP는 링커("L")를 통해 운반물에 부착될 수 있다. 링커는 결합 기("M")를 통해 운반물에 접합될 수 있다.

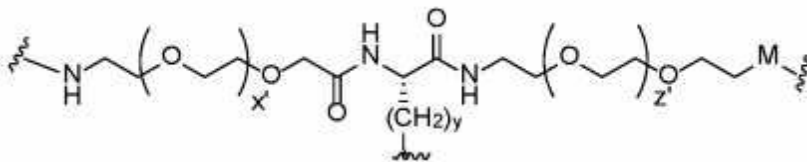
[0286] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0287]

[0288] 상기 식에서, x는 1 내지 10의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z는 1 내지 10의 정수이고; 각각의 AA는 독립적으로 아미노산 잔기이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 본 명세서에 정의된 결합 기이다.

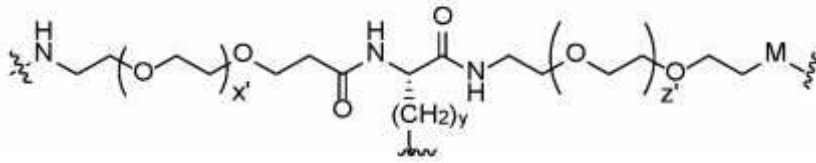
[0289] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0290]

[0291] 상기 식에서, x'은 1 내지 23의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z'은 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 본 명세서에 정의된 결합 기이다.

[0292] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:

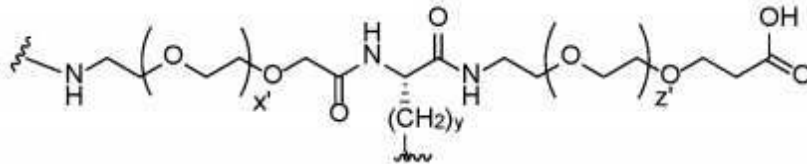


[0293]

[0294] 상기 식에서, x' 은 1 내지 23의 정수이고; y 는 1 내지 5의 정수이고; z' 은 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 본 명세서에 정의된 결합 기이다.

[0295]

링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0296]

[0297] 상기 식에서, x' 은 1 내지 23의 정수이고; y 는 1 내지 5의 정수이고; z' 은 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이다.

[0298]

x 는 1 내지 10의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10(이들 사이의 모든 범위 및 하위범위를 포함함)일 수 있다.

[0299]

x' 은 1 내지 23의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 또는 23(이들 사이의 모든 범위 및 하위범위를 포함함)일 수 있다. x' 은 5 내지 15의 정수일 수 있다. x' 은 9 내지 13의 정수일 수 있다. x' 은 1 내지 5의 정수일 수 있다. x' 은 1일 수 있다.

[0300]

y 는 1 내지 5의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 또는 5(이들 사이의 모든 범위 및 하위범위를 포함함)일 수 있다. y 는 2 내지 5의 정수일 수 있다. y 는 3 내지 5의 정수일 수 있다. y 는 3 또는 4일 수 있다. y 는 4 또는 5일 수 있다. y 는 3일 수 있다. y 는 4일 수 있다. y 는 5일 수 있다.

[0301]

z 는 1 내지 10의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10(이들 사이의 모든 범위 및 하위범위를 포함함)일 수 있다.

[0302]

z' 은 1 내지 23의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 또는 23(이들 사이의 모든 범위 및 하위범위를 포함함)일 수 있다. z' 은 5 내지 15의 정수일 수 있다. z' 은 9 내지 13의 정수일 수 있다. z' 은 11일 수 있다.

[0303]

상기에 논의된 바와 같이, 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 운반물 상의 임의의 적합한 위치에서 운반물에 공유 결합될 수 있다. 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 올리고뉴클레오티드 운반물의 3' 단부 또는 올리고뉴클레오티드 운반물의 5' 단부에 공유 결합될 수 있다. 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 펩티드 운반물의 N-말단 또는 C-말단에 공유 결합될 수 있다. 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 올리고뉴클레오티드 또는 펩티드 운반물의 골격에 공유 결합될 수 있다.

[0304]

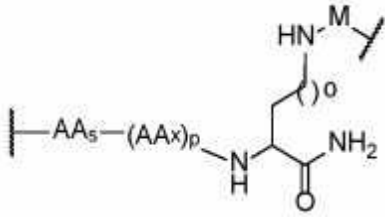
링커는 cCPP 상의 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴, 또는 라이신의 측쇄, 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 환원된 측쇄)에 결합될 수 있다. 링커는 cCPP 상의 라이신의 측쇄에 결합될 수 있다.

[0305]

링커는 펩티드 운반물 상의 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴, 또는 라이신의 측쇄, 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 환원된 측쇄)에 결합될 수 있다. 링커는 펩티드 운반물 상의 라이신의 측쇄에 결합될 수 있다.

[0306]

링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0307]

[0308]

상기 식에서,

[0309]

M은 L을 운반물, 예를 들어 올리고뉴클레오티드에 접합시키는 기이고;

[0310]

AA₅는 cCPP 상의 아미노산의 측쇄 또는 말단이고;

[0311]

각각의 AA_x는 독립적으로 아미노산 잔기이고;

[0312]

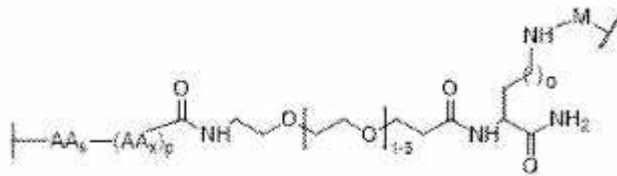
o는 0 내지 10의 정수이고;

[0313]

p는 0 내지 5의 정수이다.

[0314]

링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0315]

[0316]

상기 식에서,

[0317]

M은 L을 운반물, 예를 들어 올리고뉴클레오티드에 접합시키는 기이고;

[0318]

AA₅는 cCPP 상의 아미노산의 측쇄 또는 말단이고;

[0319]

각각의 AA_x는 독립적으로 아미노산 잔기이고;

[0320]

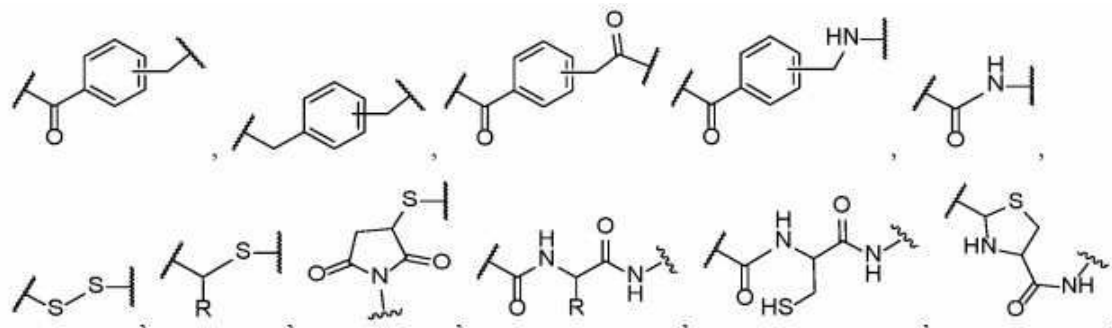
o는 0 내지 10의 정수이고;

[0321]

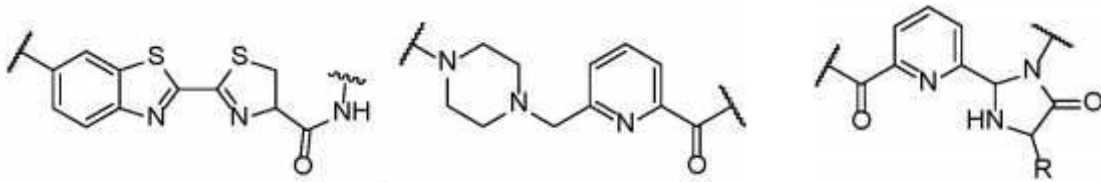
p는 0 내지 5의 정수이다.

[0322]

M은 알킬렌, 알케닐렌, 알키닐렌, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴을 포함할 수 있으며, 이들 각각은 선택적으로 치환된다. M은 하기로부터 선택될 수 있다:



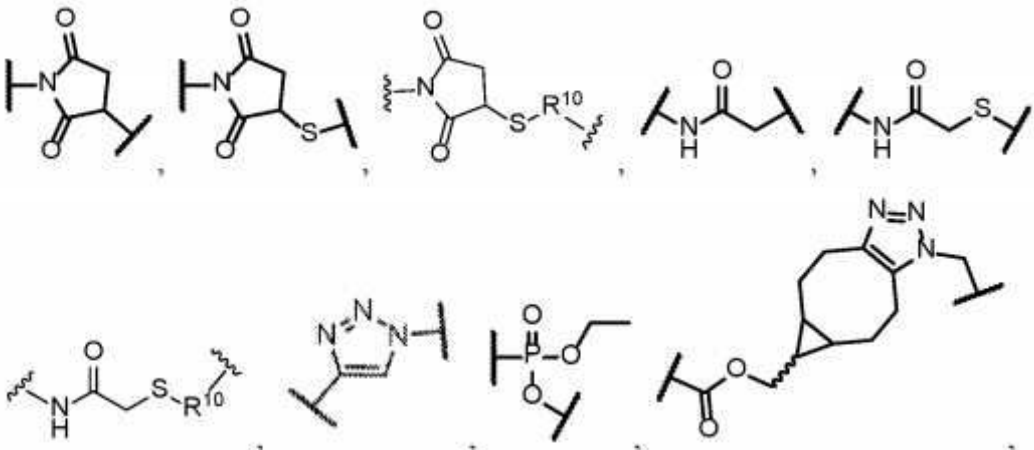
[0323]



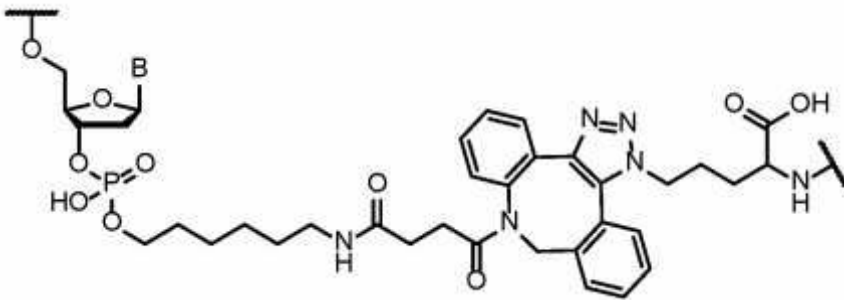
[0324] , 및 ,

[0325] 상기 식에서, R은 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이다.

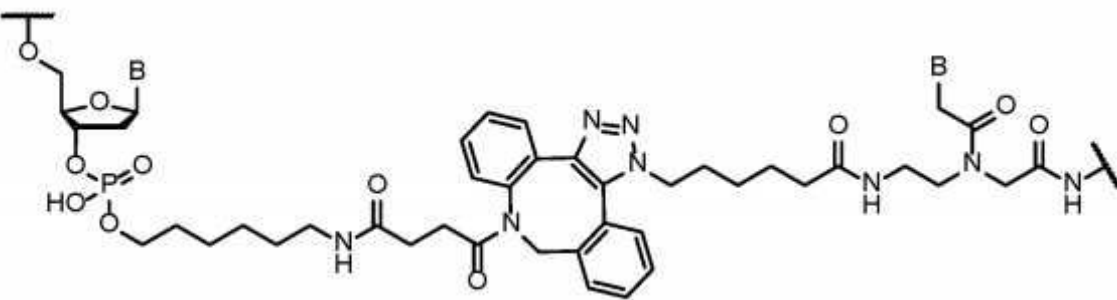
[0326] M은 하기로부터 선택될 수 있다:

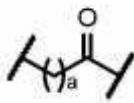


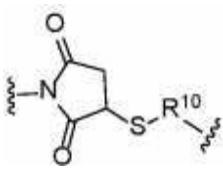
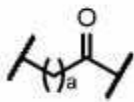
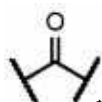
[0327] , , 및 ,



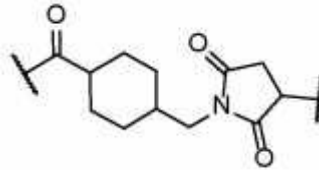
[0328] 및



[0329] 상기 식에서, R¹⁰은 알킬렌, 사이클로알킬, 또는 이며, 여기서 a는 0 내지 10이다.

[0330] M은  일 수 있고, R¹⁰은  일 수 있고, a는 0 내지 10이다. M은  일 수

있다.



[0331] M은 이중이작용성 가교결합제, 예를 들어 일 수 있으며, 이는 문헌[Williams et al. *Curr. Protoc Nucleic Acid Chem.* **2010**, *42*, 4.41.1-4.41.20]에 개시되어 있으며, 이 문헌은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0332] M은 -C(O)-일 수 있다.

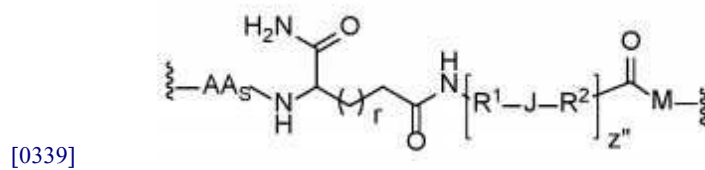
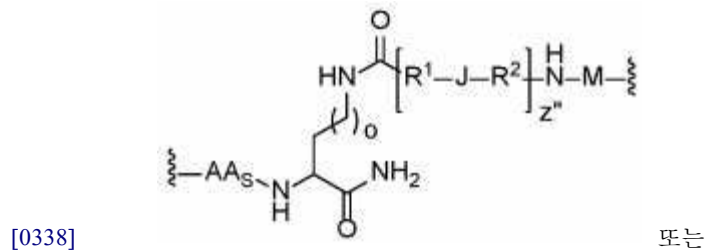
[0333] AA_s는 cCPP 상의 아미노산의 측쇄 또는 말단일 수 있다. AA_s의 비제한적인 예에는 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴, 또는 라이신의 측쇄, 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 환원된 측쇄)가 포함된다. AA_s는 본 명세서에 정의된 바와 같은 AA_{sc}일 수 있다.

[0334] 각각의 AA_x는 독립적으로 천연 또는 비천연 아미노산이다. 하나 이상의 AA_x는 천연 아미노산일 수 있다. 하나 이상의 AA_x는 비천연 아미노산일 수 있다. 하나 이상의 AA_x는 β-아미노산일 수 있다. β-아미노산은 β-알라닌일 수 있다.

[0335] o는 0 내지 10, 예를 들어 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 및 10의 정수일 수 있다. o는 0, 1, 2, 또는 3일 수 있다. o는 0일 수 있다. o는 1일 수 있다. o는 2일 수 있다. o는 3일 수 있다.

[0336] p는 0 내지 5, 예를 들어 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있다. p는 0일 수 있다. p는 1일 수 있다. p는 2일 수 있다. p는 3일 수 있다. p는 4일 수 있다. p는 5일 수 있다.

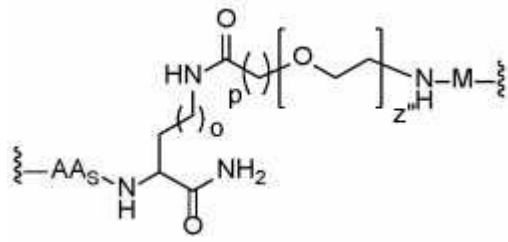
[0337] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0340] 상기 식에서, M, AA_s, 각각의 -(R¹-J-R²)_{z''}-, o 및 z''은 본 명세서에 정의되어 있으며; r은 0 또는 1일 수 있다.

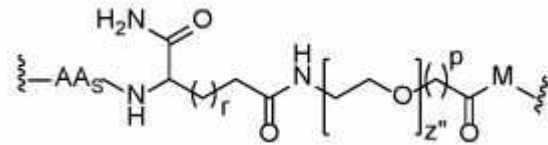
[0341] r은 0일 수 있다. r은 1일 수 있다.

[0342] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0343]

또는



[0344]

[0345]

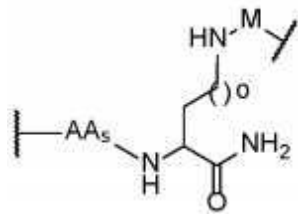
상기 식에서, 각각의 M, AA_s, o, p, q, r 및 z"은 본 명세서에 정의된 바와 같을 수 있다.

[0346]

z"은 1 내지 50의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 및 50(이들 사이의 모든 범위 및 값을 포함함)일 수 있다. z"은 5 내지 20의 정수일 수 있다. z"은 10 내지 15의 정수일 수 있다.

[0347]

링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0348]

[0349]

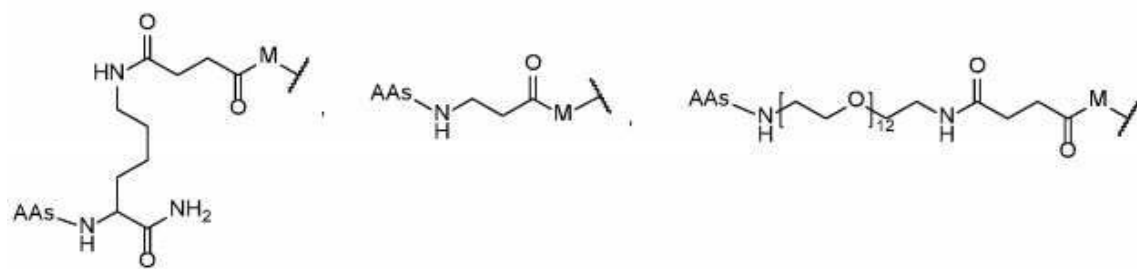
상기 식에서,

[0350]

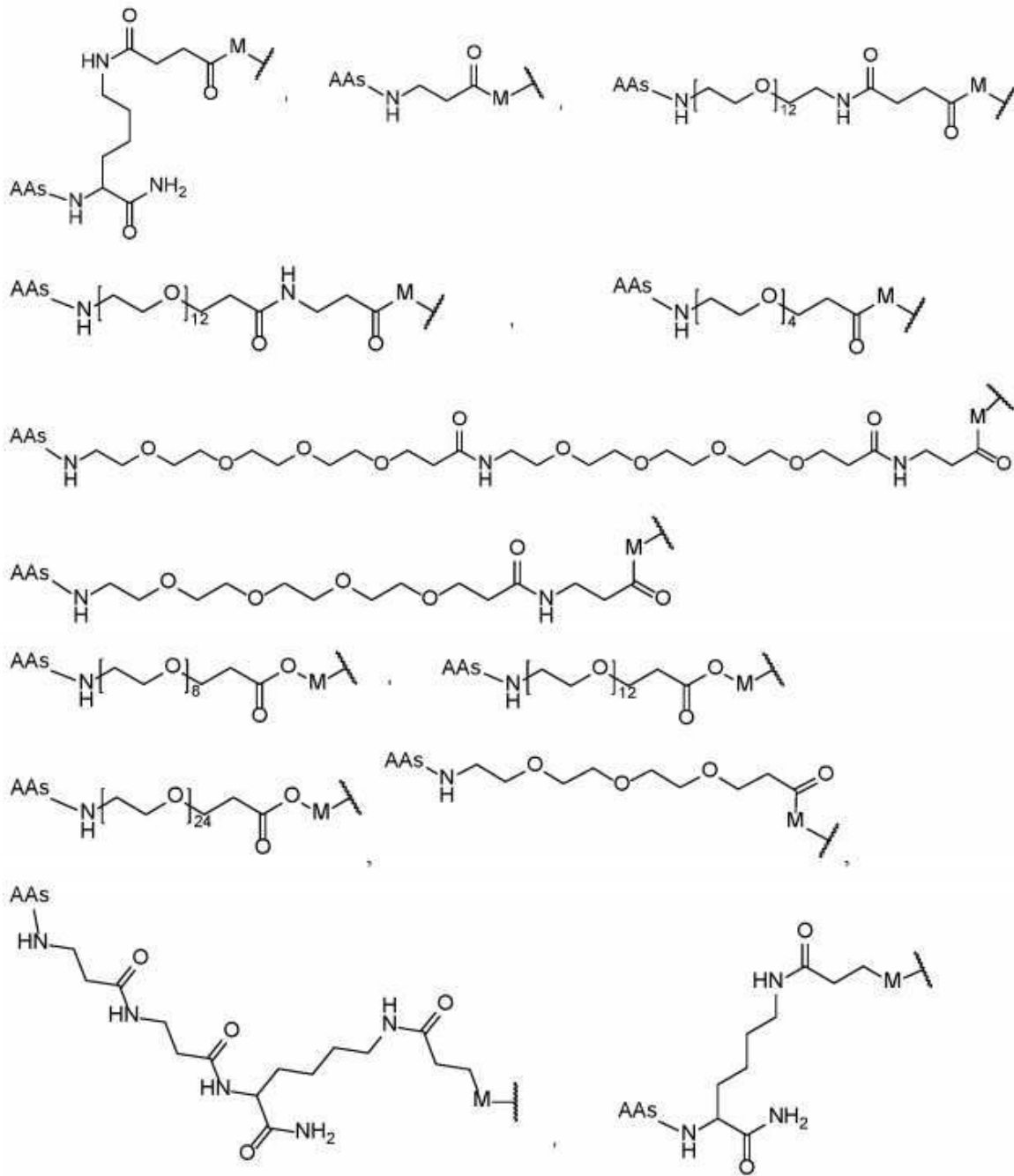
M, AA_s 및 o는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0351]

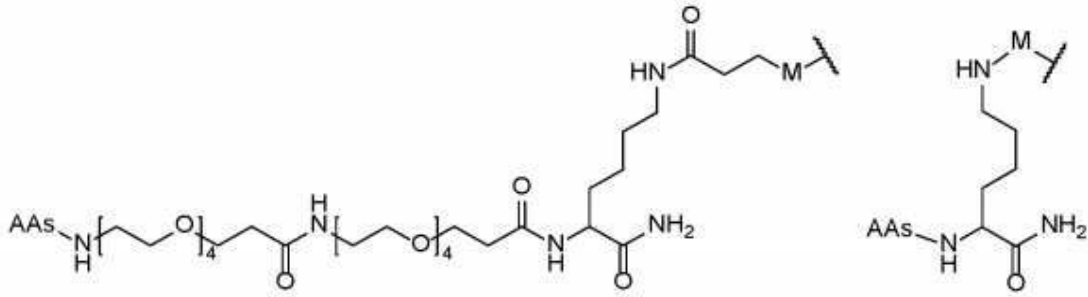
적합한 링커의 다른 비제한적인 예에는 하기가 포함된다:



[0352]

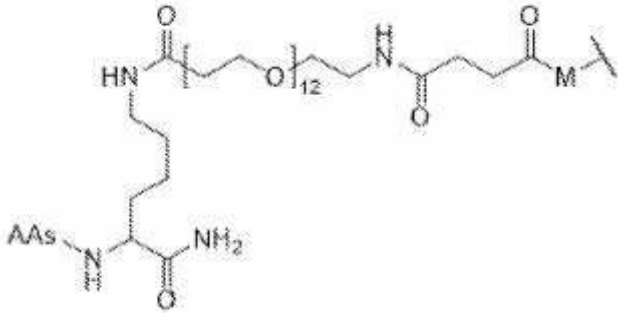


[0353]



[0354]

및,



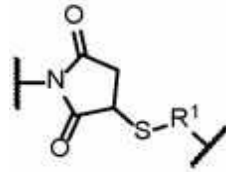
[0355]

[0356]

상기 식에서, M 및 AAs는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0357]

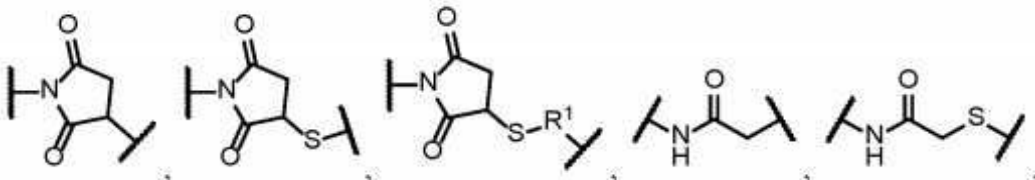
cCPP, 및 전-mRNA 서열 내의 표적에 상보적인 AC를 포함하는 화합물이 본 명세서에 제공되며, 상기 화합물은 L



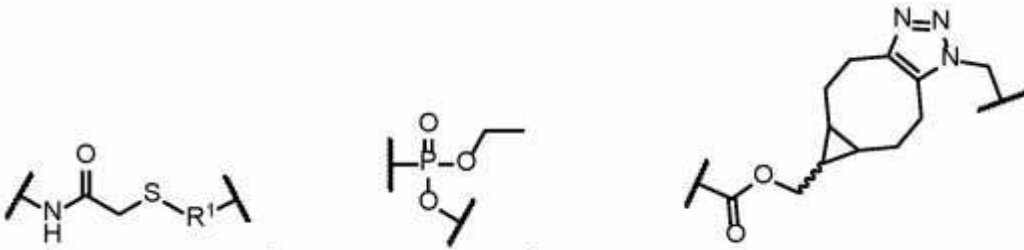
을 추가로 포함하며, 여기서 링커는 결합 기(M)를 통해 AC에 접합되고, 여기서 M은 이다.

[0358]

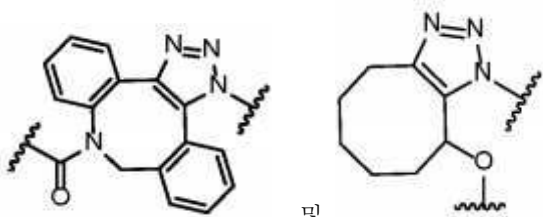
cCPP, 및 전-mRNA 서열에서 표적에 상보적인 안티센스 화합물(AC), 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 운반물을 포함하는 화합물이 본 명세서에 제공되며, 상기 화합물은 L을 추가로 포함하며, 여기서 링커는 결합 기(M)를 통해 AC에 접합되고, 여기서 M은 하기로부터 선택된다:



[0359]



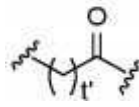
[0360]



[0361]

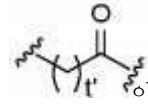
[0362]

상기 식에서, R¹은 알킬렌, 사이클로알킬, 또는



이며, 여기서 t'은 0 내지 10이고, 각각의 R은 독

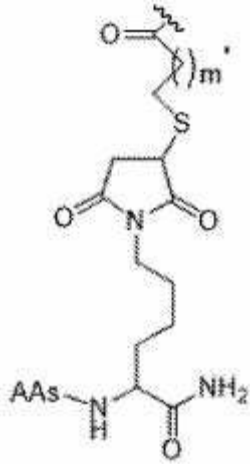
립적으로 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이며, 여기서 R¹은



은 2이다.

[0363]

링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



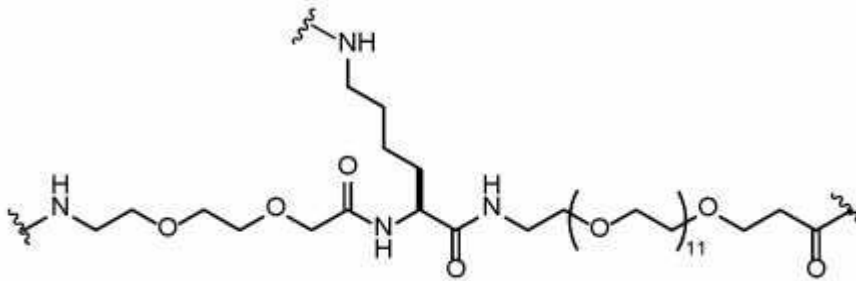
[0364]

상기 식에서, AA_s는 본 명세서에 정의된 바와 같고, m'은 0 내지 10이다.

[0365]

링커는 하기 화학식을 가질 수 있다:

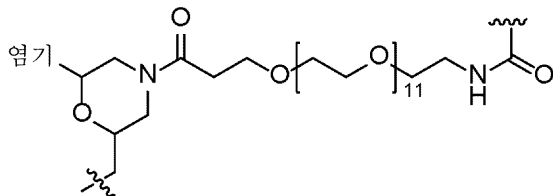
[0366]



[0367]

링커는 하기 화학식을 가질 수 있다:

[0368]



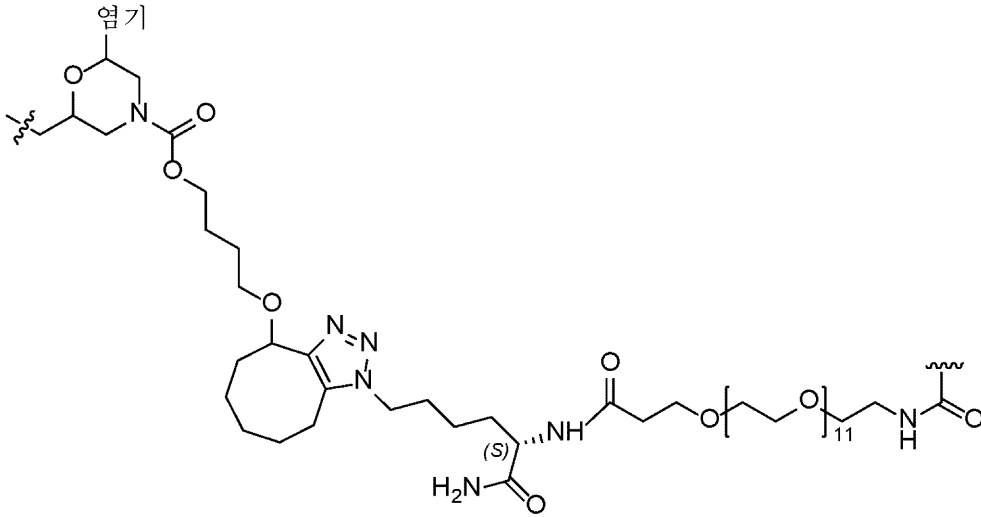
[0369]

상기 식에서, "염기"는 운반물 포스포로다이아미테이트 모르폴리노 올리고머의 3' 단부에 있는 핵염기에 상응한다.

[0370]

링커는 하기 화학식을 가질 수 있다:

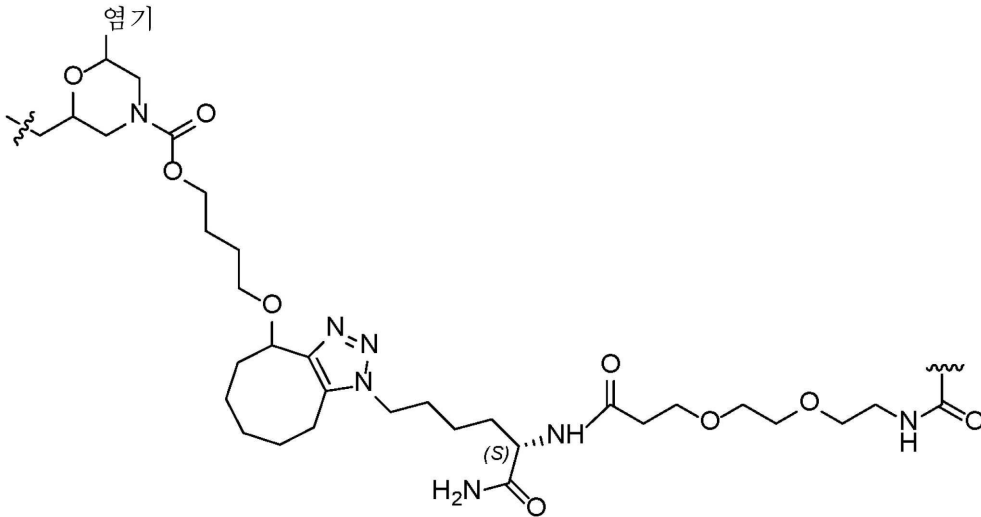
[0371]



[0372]

[0373] 상기 식에서, "염기"는 운반물 포스포로다이아미테이트 모르폴리노 올리고머의 3' 단부에 있는 핵염기에 상응한다.

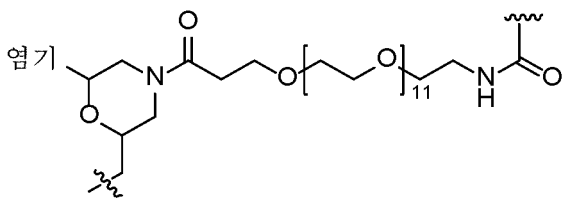
[0374] 링커는 하기 화학식을 가질 수 있다:



[0375]

[0376] 상기 식에서, "염기"는 운반물 포스포로다이아미테이트 모르폴리노 올리고머의 3' 단부에 있는 핵염기에 상응한다.

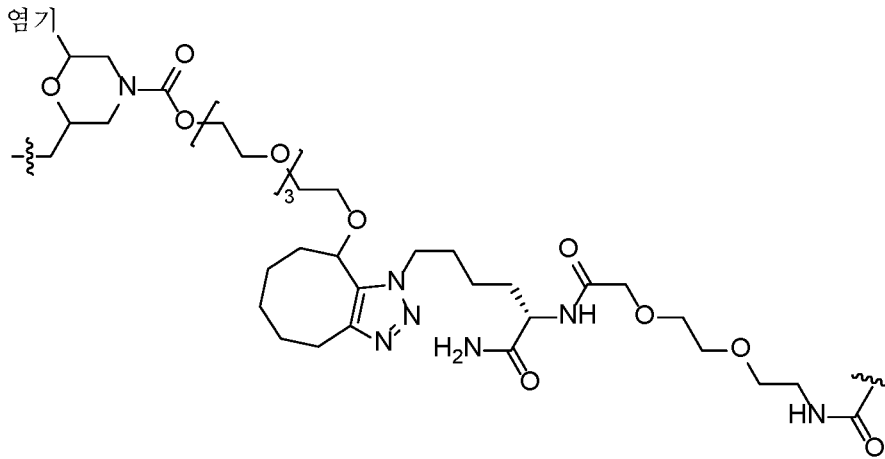
[0377] 링커는 하기 화학식을 가질 수 있다:



[0378]

[0379] 상기 식에서, "염기"는 운반물 포스포로다이아미테이트 모르폴리노 올리고머의 3' 단부에 있는 핵염기에 상응한다.

[0380] 링커는 하기 화학식을 가질 수 있다:



[0381]

[0382]

링커는 운반물 상의 임의의 적합한 위치에서 운반물에 공유 결합될 수 있다. 링커는 운반물의 3' 단부에, 또는 올리고뉴클레오타이드 운반물의 5' 단부에 공유 결합된다. 링커는 운반물의 골격에 공유 결합될 수 있다.

[0383]

링커는 cCPP 상의 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴, 또는 라이신의 측쇄, 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 환원된 측쇄)에 결합될 수 있다. 링커는 cCPP 상의 라이신의 측쇄에 결합될 수 있다.

[0384]

cCPP-링커 접합체

[0385]

cCPP는 본 명세서에 정의된 링커에 접합될 수 있다. 링커는 본 명세서에 정의된 바와 같은 cCPP의 AA_{SC}에 접합될 수 있다.

[0386]

링커는 (예를 들어, 스페이서로서) $-(OCH_2CH_2)_z-$ 하위단위를 포함할 수 있으며, 여기서 z 는 1 내지 23의 정수, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23이다. $-(OCH_2CH_2)_z-$ 은 PEG로도 지칭된다. cCPP-링커 접합체는 **표 4**로부터 선택되는 구조를 가질 수 있다:

사이클로(FfΦ-4gp-r-4gp-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
사이클로(FfΦ-Pia-r-Pia-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
사이클로(FfΦ-Dml-r-Dml-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG ₁₂ -OH
사이클로(fΦR-Cit-R-Cit-Q)-PEG ₁₂ -OH

[0387]

[0388]

링커는 $-(OCH_2CH_2)_z-$ 하위단위(여기서, z 는 1 내지 23의 정수임), 및 펩티드 하위단위를 포함할 수 있다. 펩티드 하위단위는 2 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP-링커 접합체는 **표 5**로부터 선택되는 구조를 가질 수 있다:

Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-R-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-R-rQ])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-K(사이클로[FfΦR-cit-R-cit-Q])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-B-k(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG2-k(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG4-k(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-k(N ₃)-NH ₂
Ac-pkkkrkv-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-k(N ₃)-NH ₂
Ac-rrv-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-k(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKK-Cit-KV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-k(N ₃)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-K(N ₃)-NH ₂

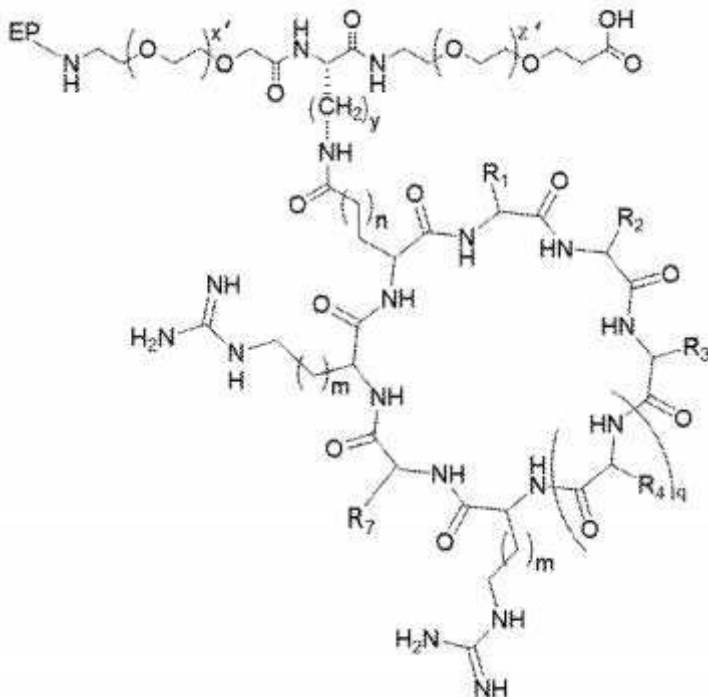
[0389]

[0390] cCPP-링커 접합체는 도 1에 나타낸 구조(예를 들어, 화합물 1a, 화합물 1b, 화합물 2a, 또는 화합물 3a) 또는 표 4에 열거된 서열을 가질 수 있다.

[0391] cCPP-링커 접합체는 표 5에 열거된 바와 같은 서열을 가질 수 있다.

[0392] cCPP-링커 접합체는 Ac-PKKKRKV-K(사이클로[Ff ΦGrQ])-PEG12-K(N₃)-NH₂일 수 있다. 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP), 링커 및 고리의 펩티드(EP)를 포함하는 EEV가 제공된다. EEV는 화학식 (B)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0393] [화학식 (B)]



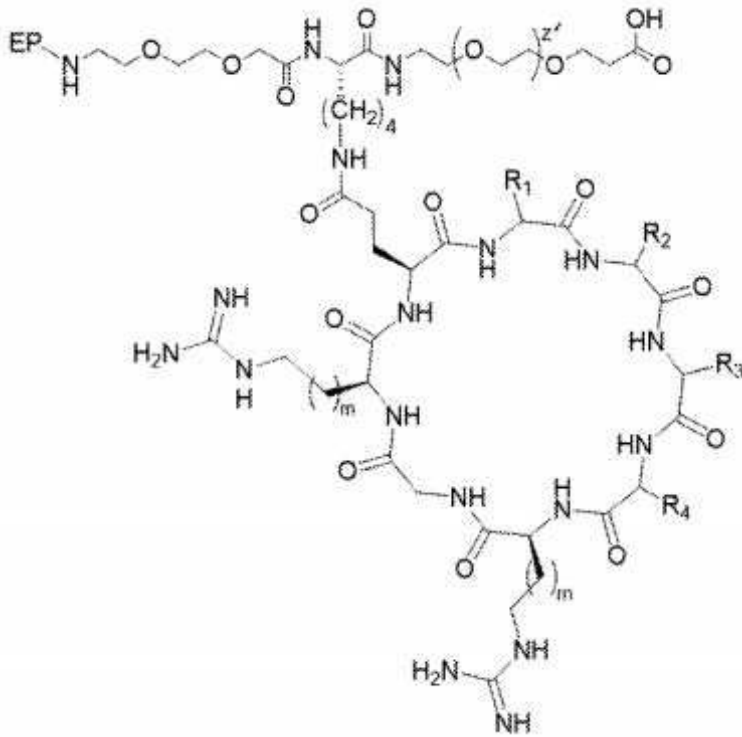
[0394]

[0395] 상기 식에서,

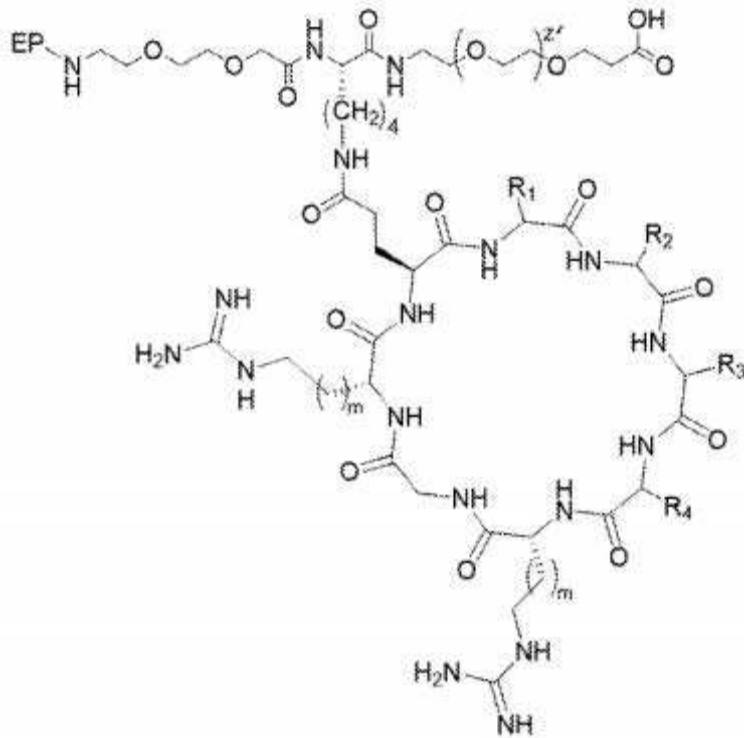
[0396] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0397] R₄ 및 R₇은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

- [0398] EP는 본 명세서에 정의된 바와 같은 고리의 펩티드이고;
- [0399] 각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;
- [0400] n은 0 내지 2의 정수이고;
- [0401] x'은 1 내지 20의 정수이고;
- [0402] y는 1 내지 5의 정수이고;
- [0403] q는 1 내지 4이고;
- [0404] z'은 1 내지 23의 정수이다.
- [0405] R₁, R₂, R₃, R₄, R₇, EP, m, q, y, x', z'은 본 명세서에 기재된 바와 같다.
- [0406] n은 0일 수 있다. n은 1일 수 있다. n은 2일 수 있다.
- [0407] EEV는 화학식 (B-a) 또는 화학식 (B-b)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:
- [0408] [화학식 (B-a)]



- [0409]
- [0410] [화학식 (B-b)]

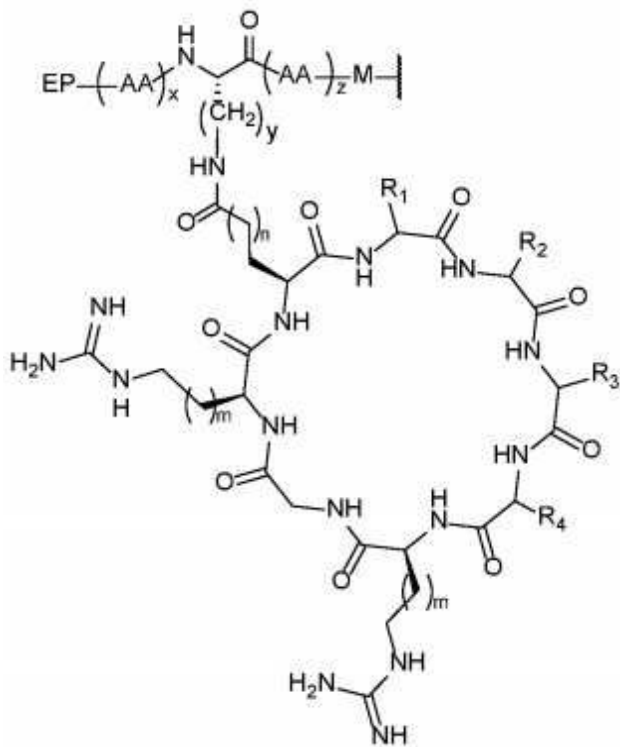


[0411]

[0412] 상기 식에서, EP, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , m 및 z' 은 화학식 (B)에서 상기에 정의된 바와 같다.

[0413] EEV는 화학식 (B-c)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함한다:

[0414] [화학식 (B-c)]



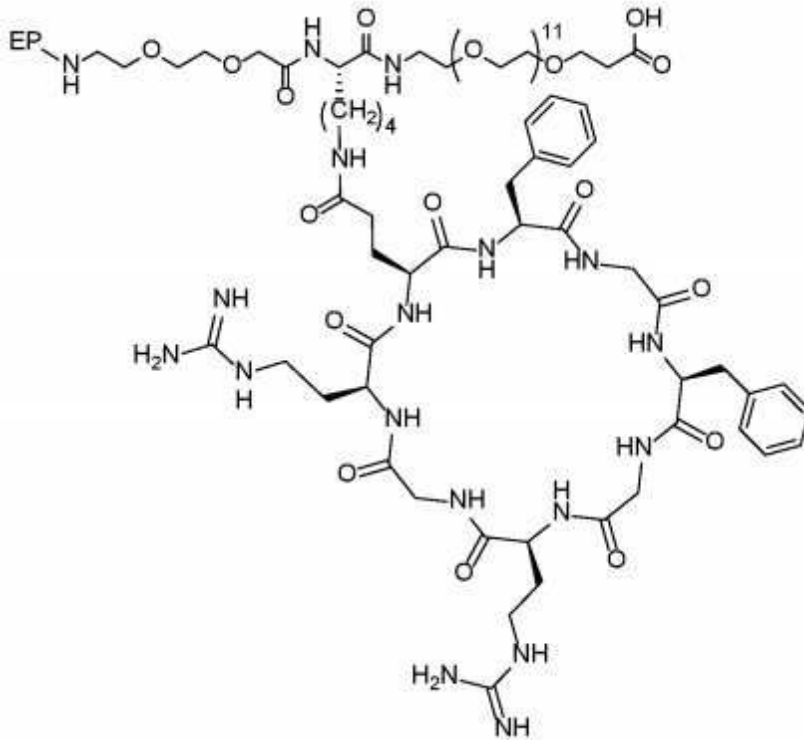
[0415]

[0416] 상기 식에서, EP, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , 및 m은 화학식 (B)에서 상기에 정의된 바와 같으며; AA는 본 명세서에 정의된 바와 같은 아미노산이고; M은 본 명세서에 정의된 바와 같으며; n은 0 내지 2의 정수이고; x는 1 내지 10의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z는 1 내지 10의 정수이다.

[0417] EEV는 화학식 (B-1), 화학식 (B-2), 화학식 (B-3), 또는 화학식 (B-4)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태를

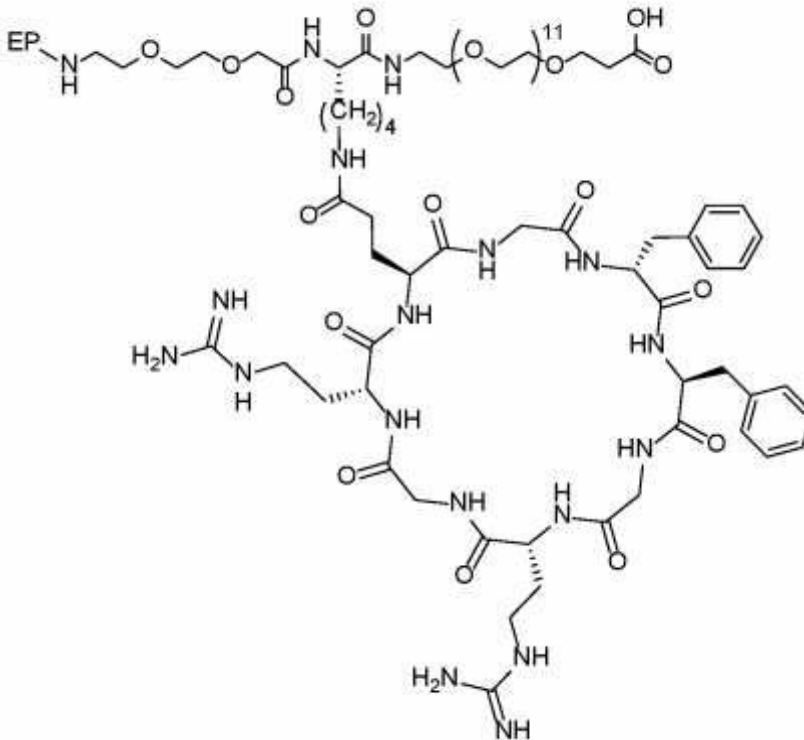
가질 수 있다:

[0418] [화학식 (B-1)]



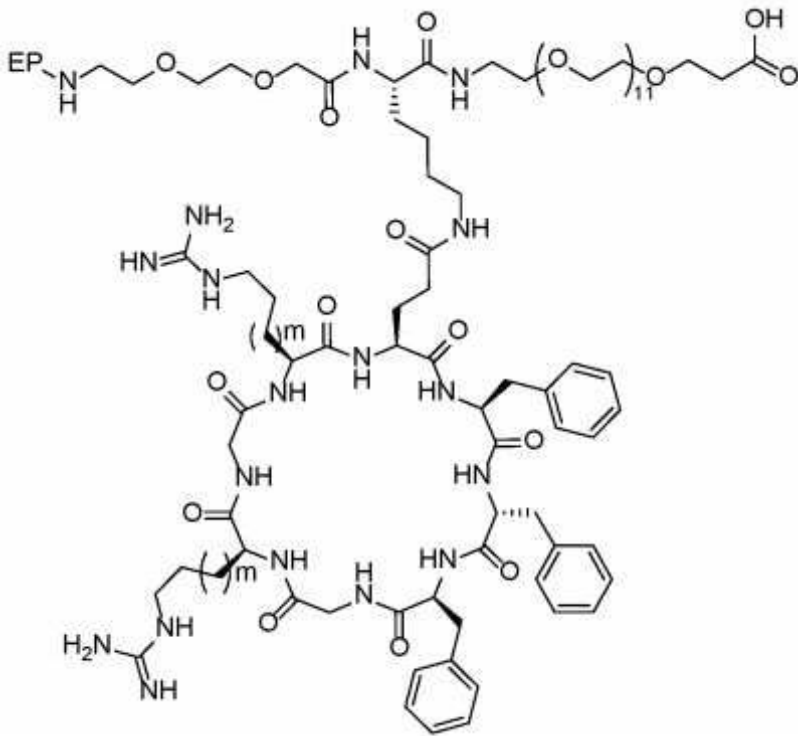
[0419]

[0420] [화학식 (B-2)]



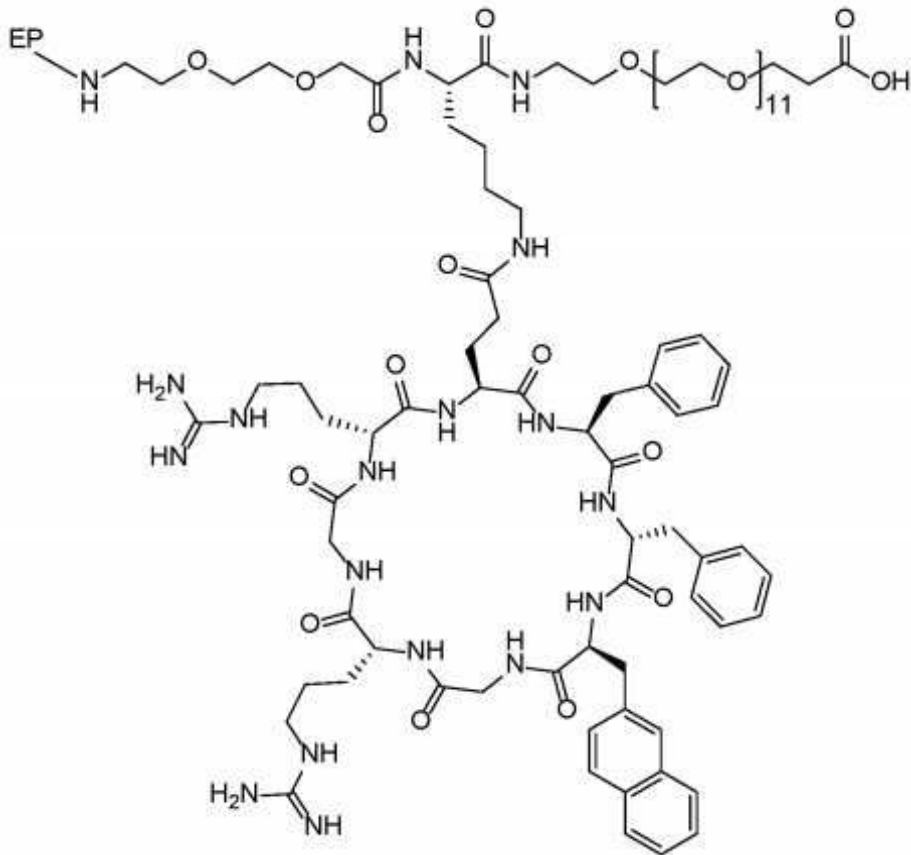
[0421]

[0422] [화학식 (B-3)]



[0423]

[0424] [화학식 (B-4)]

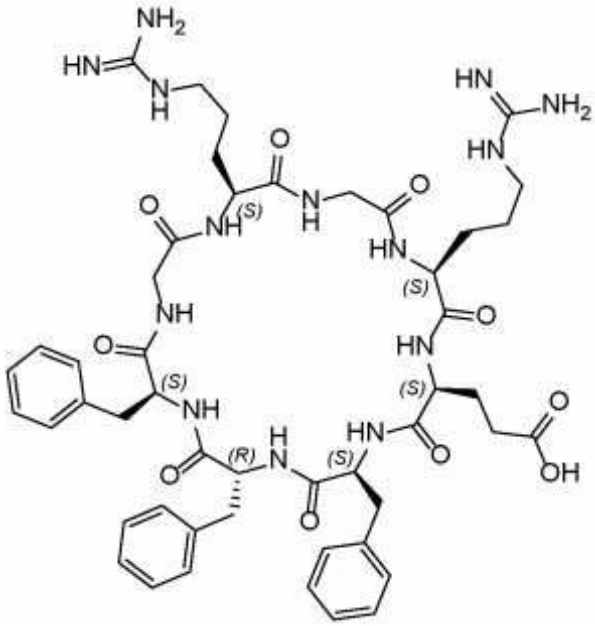


[0425]

[0426] 상기 식에서, EP는 화학식 (B)에서 상기에 정의된 바와 같다.

[0427] EEV는 화학식 (B)를 포함할 수 있으며, 하기 구조를 가질 수 있다: Ac-PKKKRKVAEEA-K(사이클로[FGFGGRQ])-PEG₁₂-OH 또는 Ac-PK-KKR-KV-AEEA-K(사이클로[GfFGGrQ])-PEG₁₂-OH.

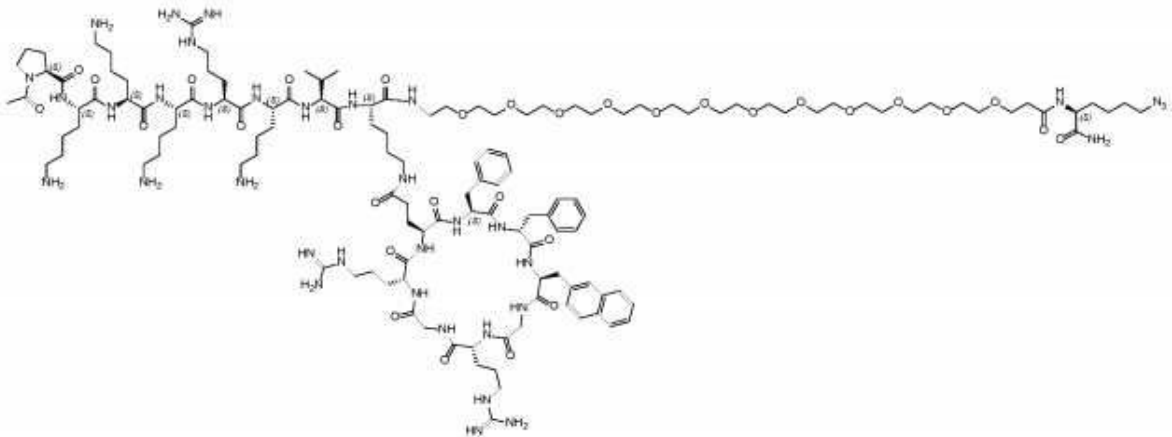
[0428] EEV는 하기 화학식의 cCPP를 포함할 수 있다:



[0429]

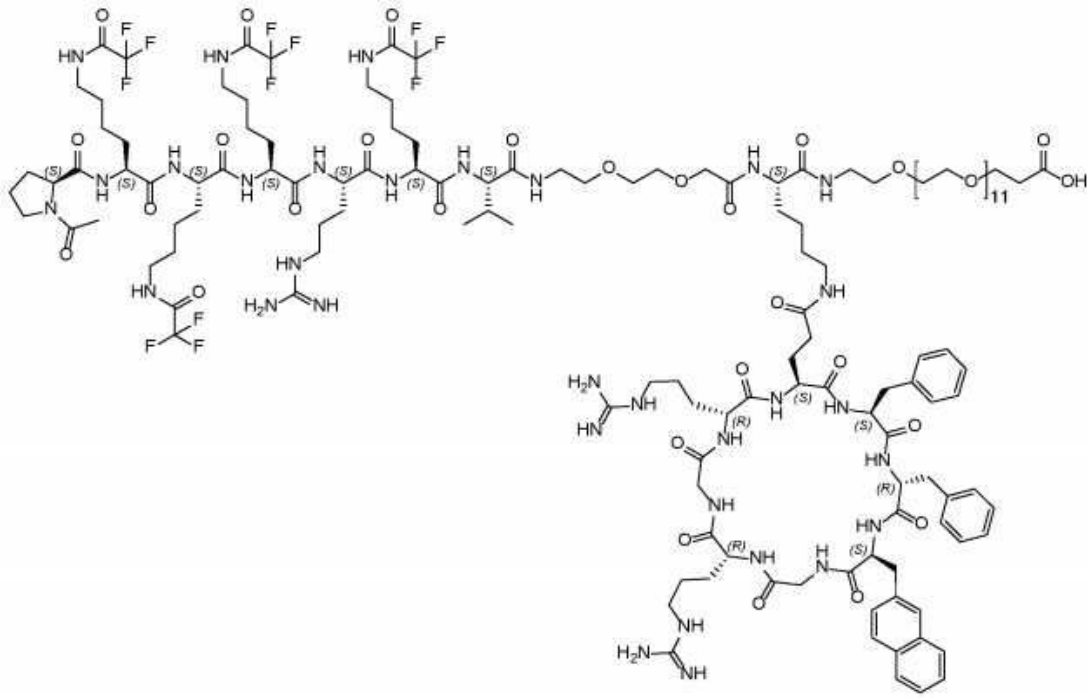
[0430] EEV는 하기 화학식을 포함할 수 있다: Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(FfFGGRGQ))-미니PEG2-K(N3).

[0431] EEV는 하기일 수 있다:



[0432]

[0433] EEV는 하기일 수 있다:



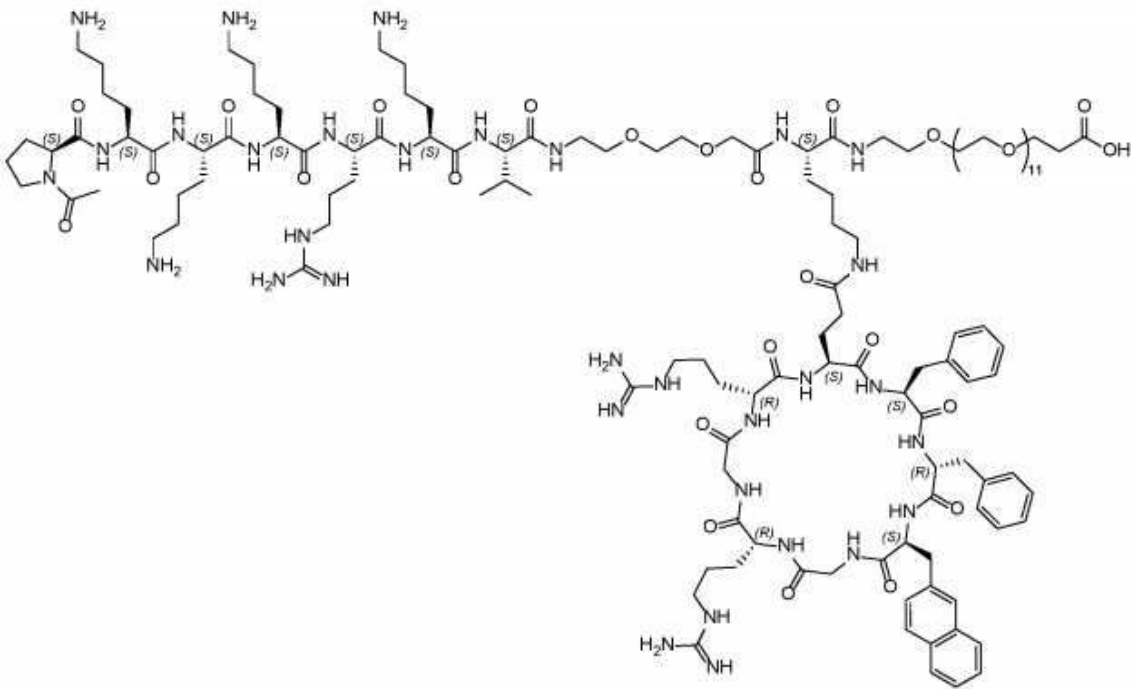
[0434]

[0435]

EEV는 Ac-P-K(Tfa)-K(Tfa)-K(Tfa)-R-K(Tfa)-V-미니PEG-K(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-PEG12-OH일 수 있다.

[0436]

EEV는 하기일 수 있다:

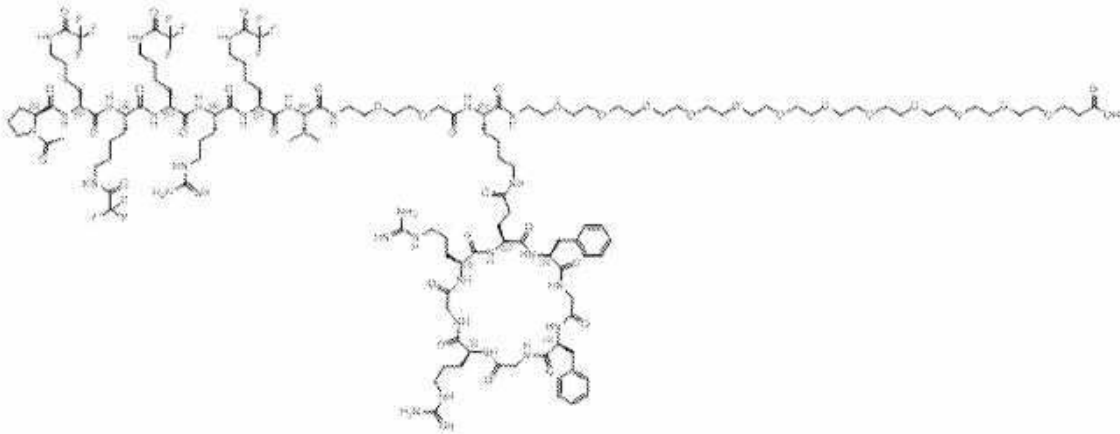


[0437]

[0438]

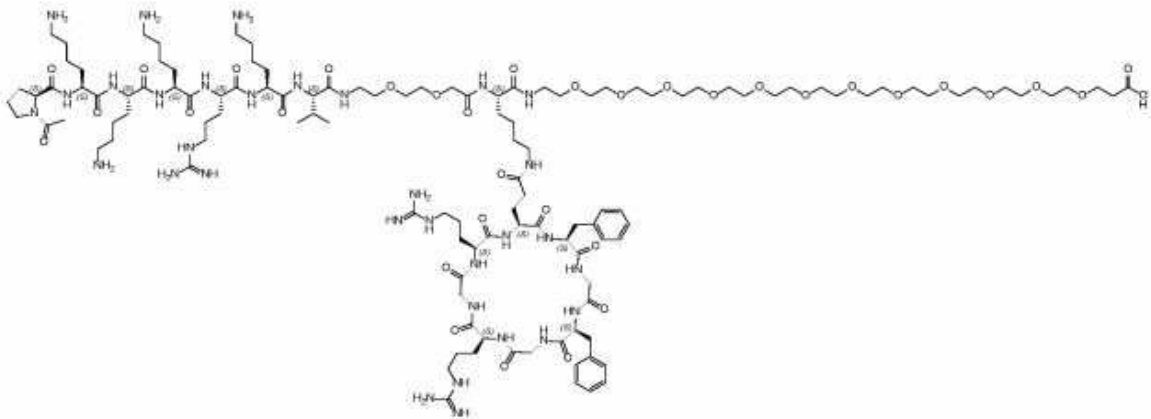
EEV는 Ac-P-K-K-K-R-K-V-미니PEG-K(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-PEG12-OH일 수 있다.

[0439] EEV는 하기일 수 있다:



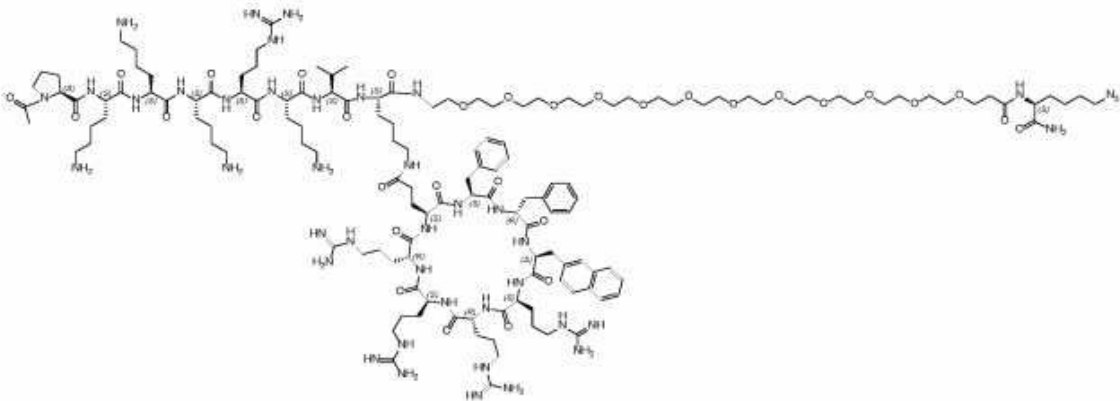
[0440]

[0441] EEV는 하기일 수 있다:



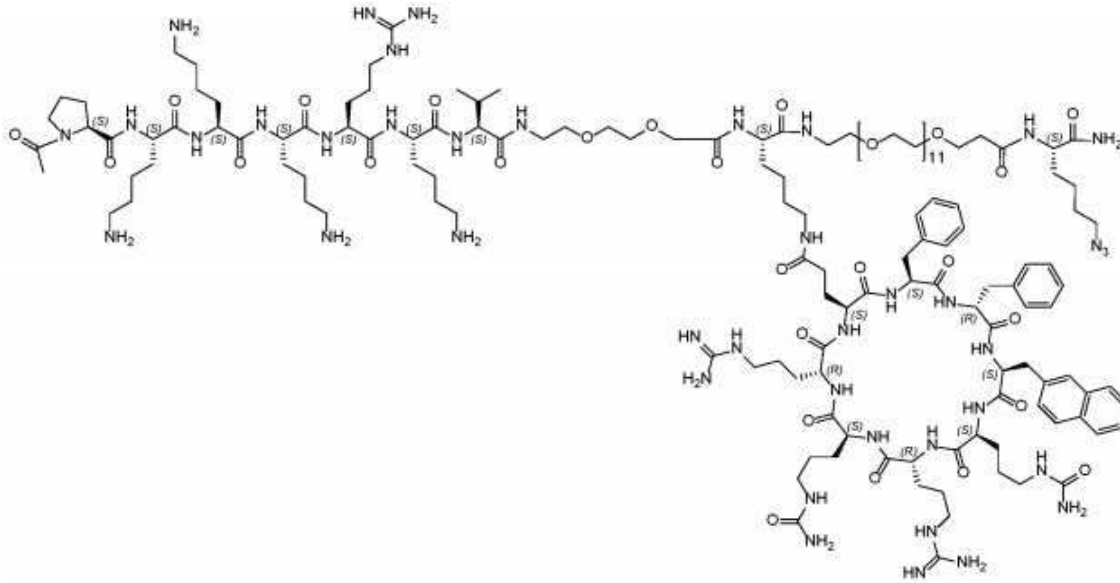
[0442]

[0443] EEV는 하기일 수 있다:



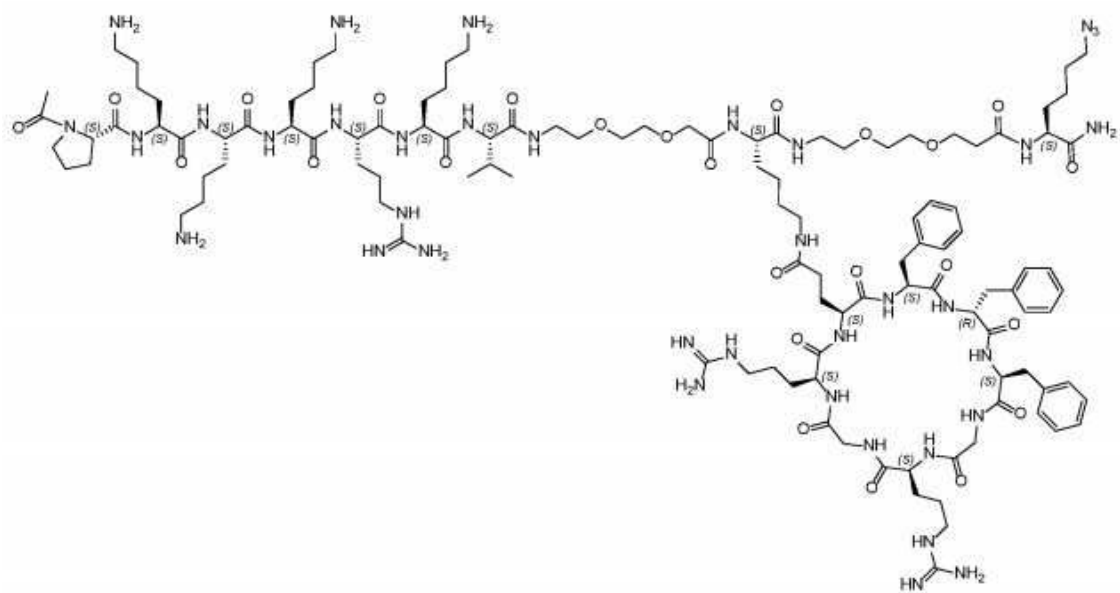
[0444]

[0445] EEV는 하기일 수 있다:



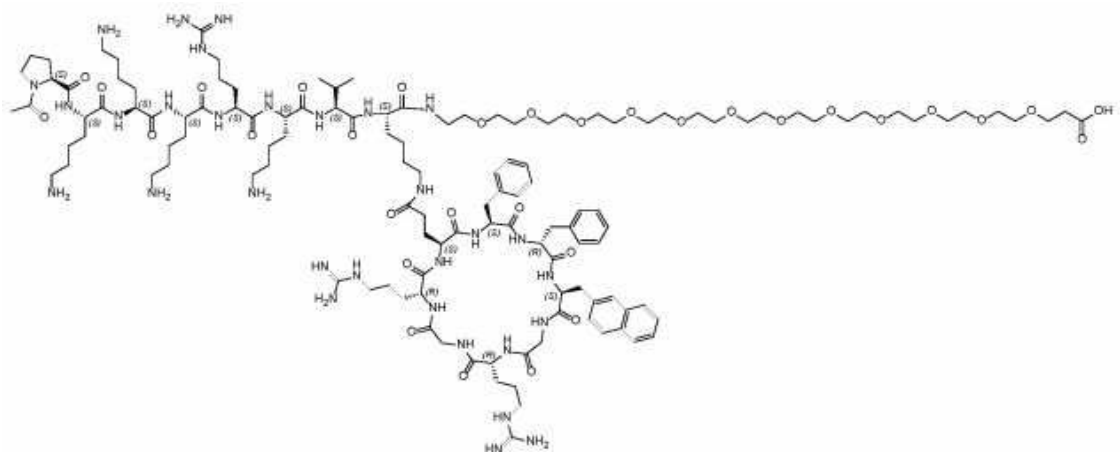
[0446]

[0447] EEV는 하기일 수 있다:



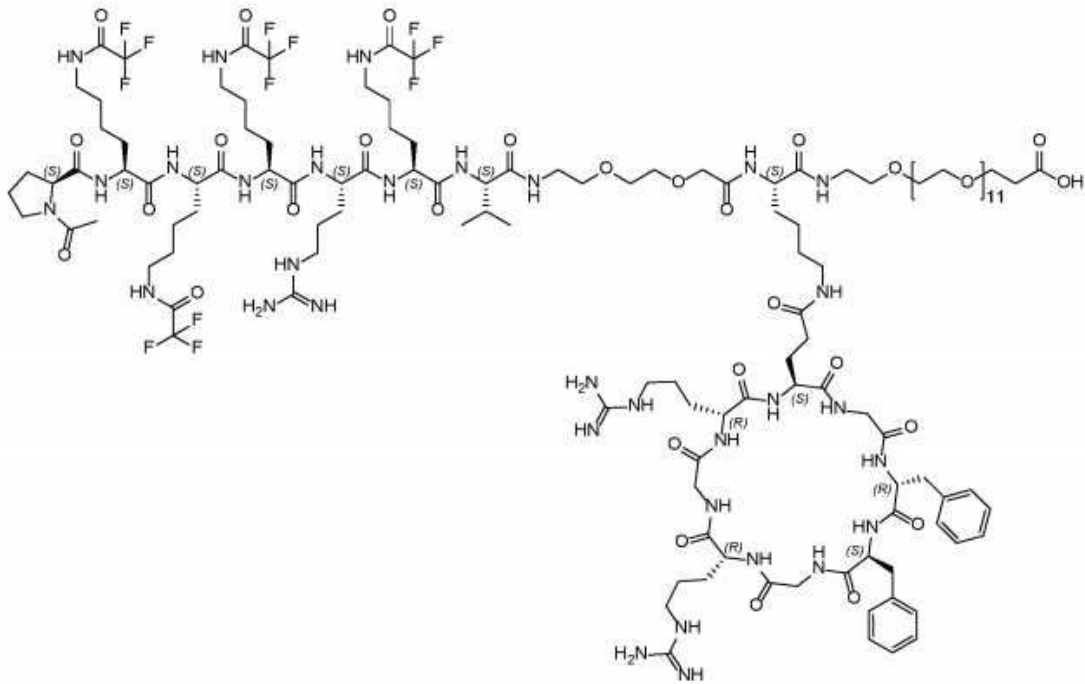
[0448]

[0449] EEV는 하기일 수 있다:



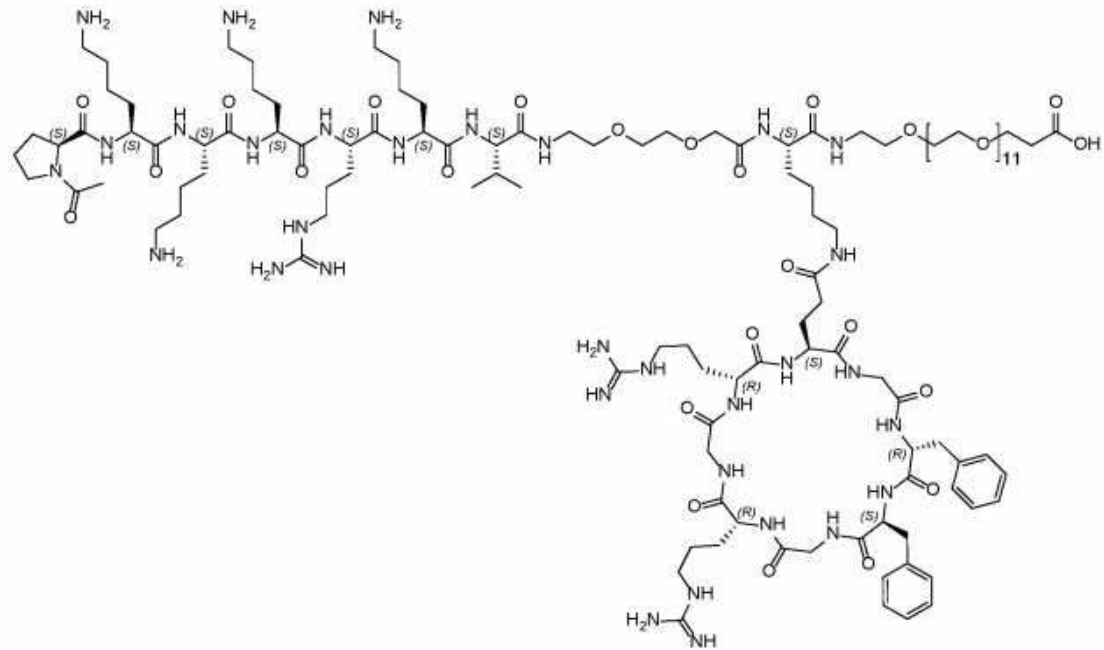
[0450]

[0451] EEV는 하기일 수 있다:



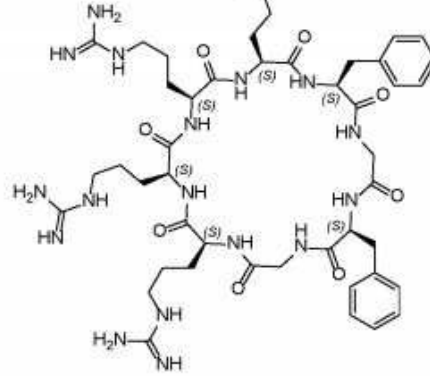
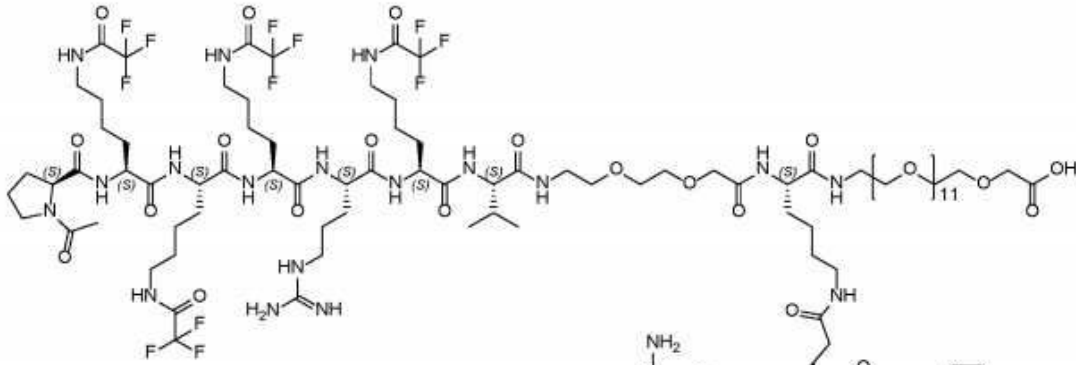
[0452]

[0453] EEV는 하기일 수 있다:



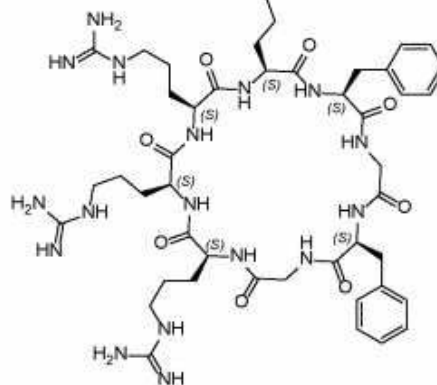
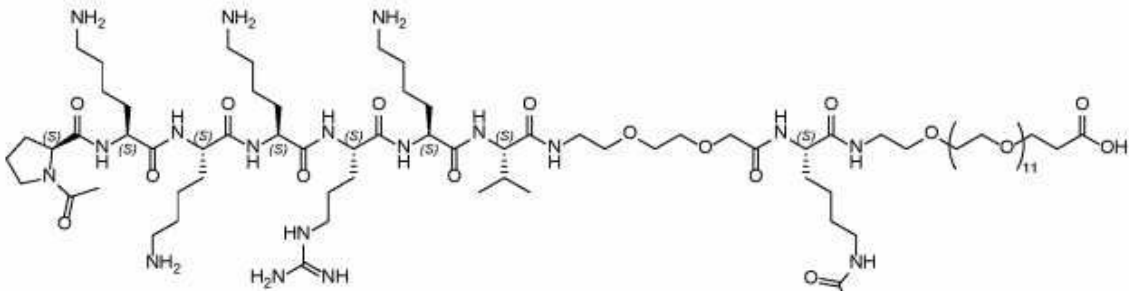
[0454]

[0455] EEV는 하기일 수 있다:



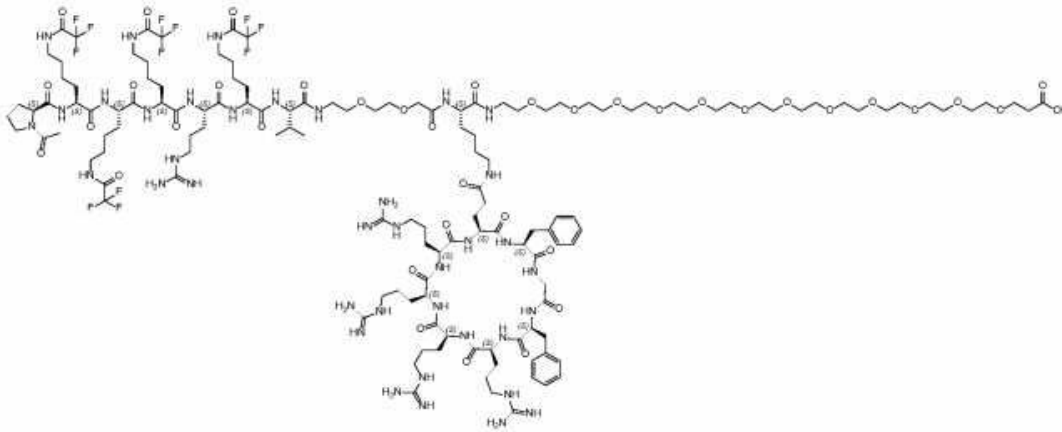
[0456]

[0457] EEV는 하기일 수 있다:



[0458]

[0459] EEV는 하기일 수 있다:



- [0460]
- [0461] EEV는 하기로부터 선택될 수 있다:
- [0462] Ac-rr-미니PEG2-Dap[사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ)]-PEG12-OH
- [0463] Ac-frr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0464] Ac-rfr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0465] Ac-rfbr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0466] Ac-rrr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0467] Ac-rbr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0468] Ac-rbrbr-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0469] Ac-hh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0470] Ac-hbh-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0471] Ac-hbhb-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0472] Ac-rbhb-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0473] Ac-hbrb-PEG2-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
- [0474] Ac-rr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0475] Ac-frr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0476] Ac-rfr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0477] Ac-rfbr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0478] Ac-rrr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0479] Ac-rbr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0480] Ac-rbrbr-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0481] Ac-hh-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0482] Ac-hbh-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0483] Ac-hbhb-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0484] Ac-rbhb-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0485] Ac-hbrb-Dap(사이클로(Ff Φ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [0486] Ac-KKKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0487] Ac-KGKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

- [0488] Ac-KKGGK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0489] Ac-KKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0490] Ac-KK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0491] Ac-KGK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0492] Ac-KBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0493] Ac-KBKBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0494] Ac-KR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0495] Ac-KBR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0496] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0497] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0498] Ac-PGKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0499] Ac-PKGKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0500] Ac-PKKGRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0501] Ac-PKKKGKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0502] Ac-PKKKRGV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0503] Ac-PKKKRKG-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0504] Ac-KKKRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [0505] Ac-KK RK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2 및
- [0506] Ac-KRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2.
- [0507] EEV는 하기로부터 선택될 수 있다:

Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[Ff-Na1-GrGrQ])-PEG12-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ))- 미니 PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKRKV- 미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))- 미니 PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-KR-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKGKV-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKRKG-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-KKKRK-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKRKV- 미니 PEG2-Lys(사이클로[FF-Na1-GrGrQ])- 미니 PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[βhF-fΦGrGrQ])- 미니 PEG2-K(N3)-NH₂
Ac-PKKKRKV- 미니 PEG2-Lys(사이클로[Ff-Na1-SrSrQ])- 미니 PEG2-K(N3)-NH₂

및

[0508]

[0509] EEV는 하기로부터 선택될 수 있다:



및

[0510]

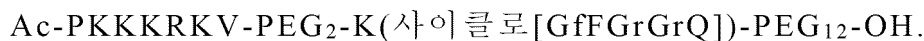
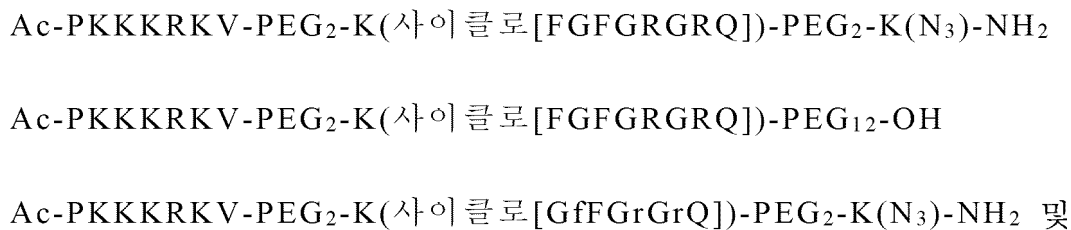
[0511] EEV는 하기로부터 선택될 수 있다:



및

[0512]

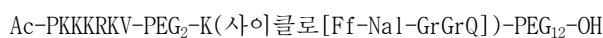
[0513] EEV는 하기로부터 선택될 수 있다:



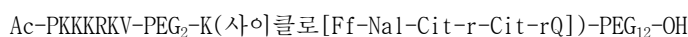
[0514]

[0515] 운반물은 단백질일 수 있고, EEV는 하기로부터 선택될 수 있다:

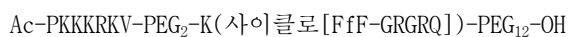
[0516]



[0517]



[0518]



- [0519] Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0520] Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0521] Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0522] Ac-PKKKRKV-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0523] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0524] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0525] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0526] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0527] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0528] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0529] Ac-rr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0530] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0531] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0532] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0533] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0534] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0535] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0536] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0537] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0538] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0539] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0540] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0541] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0542] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0543] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0544] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0545] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0546] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0547] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0548] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH

- [0549] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0550] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0551] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0552] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0553] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0554] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0555] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0556] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0557] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0558] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0559] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0560] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0561] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0562] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0563] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0564] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [0565] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0566] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [0567] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0568] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [0569] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[GfFGGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [0570] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRQ])-PEG₁₂-OH 및
- [0571] Ac-hrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH

[0572] (상기 식에서, b는 베타-알라닌이고, 고리의 서열은 D 또는 L 입체화학일 수 있음).

[0573] **운반물**

[0574] 세포 침투 펩티드(CPP), 예컨대 사이클릭 세포 침투 펩티드(예를 들어, cCPP)는 운반물에 접합될 수 있다. 운반물은 치료용 모이어티일 수 있다. 운반물은 링커의 말단 카르보닐 기에 접합될 수 있다. 사이클릭 펩티드의 적어도 하나의 원자가 운반물로 대체될 수 있거나, 또는 적어도 하나의 고립 쌍이 운반물에 대한 결합을 형성할 수 있다. 운반물은 링커에 의해 cCPP에 접합될 수 있다. 운반물은 링커에 의해 AA_{SC}에 접합될 수 있다. cCPP의 적어도 하나의 원자가 치료용 모이어티로 대체될 수 있거나, 또는 cCPP의 적어도 하나의 고립 쌍이 치료용 모이어티에 대한 결합을 형성한다. cCPP의 아미노산 측쇄 상의 하이드록실 기가 운반물에 대한 결합으로 대체될 수 있다. cCPP의 글루타민 측쇄 상의 하이드록실 기가 운반물에 대한 결합으로 대체될 수 있다. 운반물은 링커에 의해 cCPP에 접합될 수 있다. 운반물은 링커에 의해 AA_{SC}에 접합될 수 있다.

[0575] 운반물은 하나 이상의 검출가능한 모이어티, 하나 이상의 치료용 모이어티, 하나 이상의 표적화 모이어티, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 운반물은 펩티드, 올리고뉴클레오타이드, 또는 소분자일 수 있다. 운반물은 펩티드 서열 또는 비-펩티딜 치료제일 수 있다. 운반물은 항체 또는 이의 항원-결합 단편일 수 있으며, 이에는 scFv 또는 나노바디가 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0576] 운반물은 하나 이상의 추가의 아미노산(예를 들어, K, UK, TRV); 링커(예를 들어, 이작용성 링커 LC-SMCC); 조효소 A; 포스포쿠마릴 아미노 프로피온산(pCAP); 8-아미노-3,6-다이옥사옥탄산(미니PEG); L-2,3-다이아미노프로피온산(Dap 또는 J); L-β-나프틸알라닌; L-피페콜산(Pip); 사르코신; 트라이메산; 7-아미노-4-메틸쿠마린(Amc); 플루오레세인 아이소티오시아네이트(FITC); L-2-나프틸알라닌; 노르류신; 2-아미노부티르산; 로다민 B(Rho); 텍사메타손(DEX); 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0577] 운반물은 표 6에 열거된 것들 중 임의의 것, 또는 이들의 유도체 또는 조합을 포함할 수 있다.

[0578] [표 6]

예시적인 운반물 모이어티

서열 번호	약어	서열*
1	R ₅	RRRRR
2	A ₅	AAAAA
3	F ₄	FFFF
4	PCP	DE(pCAP)LI
5	A ₇	AAAAAAA
6		RARAR
7		DADAD
8		DΩUD
9		UTRV
10		D-pThr-Pip-Nal

* pCAP, 포스포쿠마릴 아미노 프로피온산; Ω, 노르류신; U, 2-아미노부티르산; D-pThr 은 D-포스포트레오닌이고, Pip 는 L-피페리딘-2-카르복실레이트이다.

[0579]

[0580] 검출가능한 모이어티

[0581] 본 화합물은 검출가능한 모이어티를 포함할 수 있다. 검출가능한 모이어티는 CPP의 아미노산 중 임의의 것의 아미노 기, 카르복실레이트 기, 또는 측쇄에서(예를 들어, cCPP에서의 임의의 아미노산의 아미노 기, 카르복실레이트 기, 또는 측쇄에서) 세포 침투 펩티드(CPP)에 부착될 수 있다. 검출가능한 모이어티는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)에서의 임의의 아미노산의 측쇄에서 cCPP에 부착될 수 있다. 운반물은 검출가능한 모이어티를 포함할 수 있다. 운반물은 치료제 및 검출가능한 모이어티를 포함할 수 있다. 검출가능한 모이어티는 임의의 검출가능한 표지를 포함할 수 있다. 적합한 검출가능한 표지의 예에는 UV-Vis 표지, 근적외선 표지, 발광기, 인광기, 자기 스핀 공명 표지, 감광제, 광결단성 모이어티, 킬레이팅 중심, 중원자(heavy atom), 방사성 동위원소, 동위원소 검출가능한 스핀 공명 표지, 상자성 모이어티, 발색단, 또는 이들의 임의의 조합이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 표지는 추가의 시약의 첨가 없이 검출가능할 수 있다.

[0582] 검출가능한 모이어티는 생체적합성 검출가능한 모이어티일 수 있으며, 이로써 본 화합물은 다양한 생물학적 응용에 사용하기에 적합할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "생체적합성" 및 "생물학적으로 적합한"은, 임의의 대사물 또는 분해 생성물과 함께, 세포 및 조직에 대해 일반적으로 비독성인 화합물을 일반적으로 지칭하는 것으로, 이들은 이들의 존재 하에서 세포 및 조직이 인큐베이션될 때(예를 들어, 배양될 때), 세포 및 조직에 어떠한 유의한 유해 효과도 야기하지 않는다.

[0583] 검출가능한 모이어티는 발광단(luminophore), 예컨대 형광 표지 또는 근적외선 표지를 함유할 수 있다. 적합한 발광단의 예에는 하기가 포함되지만 이로 한정되지 않는다: 금속 포르피린; 벤조포르피린; 아자벤조포르피린; 나프토포르피린; 프탈로시아닌; 폴리사이클릭 방향족 탄화수소, 예컨대 다이아민, 피렌; 아조 염료; 잔텐 염료; 보론 다이피로메탄, 아자-보론 다이피로메탄, 시아닌 염료, 금속-리간드 착물, 예컨대 바이피리딘, 바이피리딜, 페난트롤린, 쿠마린, 및 루테늄 및 이리듐의 아세틸아세토네이트; 아크리딘, 옥사진 유도체, 예컨대 벤조페녹사진; 아자-아놀렌, 스쿠아레인(squaraine); 8-하이드록시퀴놀린, 폴리메틴, 발광 생성 나노입자, 예컨대 양자점, 나노결정; 카르보스티릴; 테르븀 착물; 무기 인광체; 이오노포어(ionophore), 예컨대 크라운 에테르 연계된 또는 유도체화된 염료; 또는 이들의 조합. 적합한 발광단의 구체적인 예에는 하기가 포함되지만 이로 한정되지

않는다: Pd(II) 옥타에틸포르피린; Pt(II) 옥타에틸포르피린; Pd(II) 테트라페닐포르피린; Pt(II) 테트라페닐포르피린; Pd(II) 메소-테트라페닐포르피린 테트라벤조포르핀; Pt(II) 메소-테트라페닐 메틸벤조포르피린; Pd(II) 옥타에틸포르피린 케톤; Pt(II) 옥타에틸포르피린 케톤; Pd(II) 메소-테트라(펜타플루오로페닐)포르피린; Pt(II) 메소-테트라(펜타플루오로페닐) 포르피린; Ru(II) 트리스(4,7-다이페닐-1,10-페난트롤린)(Ru(dpp)₃); Ru(II) 트리스(1,10-페난트롤린)(Ru(phen)₃), 트리스(2,2'-바이피리딘)루테늄(II) 클로라이드 6수화물 (Ru(bpy)₃); 에리트로신 B; 플루오레세인; 플루오레세인 아이소티오시아네이트(FITC); 에오신; 이리듐(III) ((N-메틸-벤즈이미다졸-2-일)-7-(다이에틸아미노)-쿠마린));

[0584] (벤조티아졸) ((벤조티아졸-2-일)-7-(다이에틸아미노)-쿠마린))-2-(아세틸아세토네이트); Lumogen 염료; Macroflex 형광 적색; Macrolex 형광 황색; Texas Red; 로다민 B; 로다민 6G; 황 로다민; m-크레졸; 티몰 블루; 제일레놀 블루; 크레졸 레드; 클로로페놀 블루; 브로모크레졸 그린; 브로모크레졸 레드; 브로모티몰 블루; Cy2; Cy3; Cy5; Cy5.5; Cy7; 4-니트로페놀; 알리자린; 페놀프탈레인; σ -크레졸프탈레인; 클로로페놀 레드; 칼마자이트; 브로모-자일렌올; 페놀 레드; 뉴트럴 레드; 니트라진; 3,4,5,6-테트라브로모페놀프탈레인; 콩고 레드; 플루오레세인; 에오신; 2',7'-다이클로로플루오레세인; 5(6)-카르복시-플루오레세인; 카르복시나프토플루오레세인; 8-하이드록시피렌-1,3,6-트라이선폨산; 세미-나프토포다플루오르; 세미-나프토플루오레세인; 트리스(4,7-다이페닐-1,10-페난트롤린) 루테늄(II) 다이클로라이드; (4,7-다이페닐-1,10-페난트롤린) 루테늄(II) 테트라페닐보론; 백금(II) 옥타에틸포르피린; 다이알킬카르보시아닌; 다이옥타데실사이클로옥사카르보시아닌; 플루오레닐메틸옥시카르보닐 클로라이드; 7-아미노-4-메틸쿠마린(Amc); 녹색 형광 단백질(GFP); 및 이들의 유도체 또는 조합.

[0585] 검출가능한 모이어티는 로다민 B(Rho), 플루오레세인 아이소티오시아네이트(FITC), 7-아미노-4-메틸쿠마린(Amc), 녹색 형광 단백질(GFP), 또는 이들의 유도체 또는 조합을 포함할 수 있다.

[0586] 검출가능한 모이어티는 세포 침투 펩티드의 아미노산 중 임의의 것의 아미노 기, 카르복실레이트 기, 또는 측쇄에서(예를 들어, cCPP에서의 임의의 아미노산의 아미노 기, 카르복실레이트 기, 또는 측쇄에서) 세포 침투 펩티드(CPP)에 부착될 수 있다.

[0587] *치료용 모이어티*

[0588] 개시된 화합물은 치료용 모이어티를 포함할 수 있다. 운반물은 치료용 모이어티를 포함할 수 있다. 검출가능한 모이어티는 치료용 모이어티에 연결될 수 있거나, 또는 검출가능한 모이어티가 또한 치료용 모이어티로서의 역할을 할 수 있다. 치료용 모이어티는, 대상체에게 투여될 때 질병 또는 장애의 하나 이상의 증상을 감소시키게 될 기를 지칭한다. 치료용 모이어티는 펩티드, 단백질(예를 들어, 효소, 항체 또는 이의 단편), 소분자, 또는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0589] 치료용 모이어티는 매우 다양한 약물을 포함할 수 있으며, 이에 길항제, 예를 들어 효소 억제제, 및 효능제(agonist), 예를 들어 바람직한 유전자 산물의 발현의 증가를 가져오는 전사 인자(그렇다고 하더라도, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 길항적 전사 인자가 또한 사용될 수 있음)가 포함되며, 이들 모두가 포함된다. 또한, 치료용 모이어티는 체내에서 건강한 그리고/또는 건강하지 못한 세포에 대해 직접 독성을 나타낼 수 있고/있거나 독성을 유도할 수 있는 작용제(agent)를 포함한다. 또한, 치료용 모이어티는 잠재적 병원체에 대해 면역 시스템을 유도하고/하거나 프라이밍할 수 있다.

[0590] 치료용 모이어티는, 예를 들어 항암제, 항바이러스제, 항미생물제, 항염증제, 면역억제제, 마취제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0591] 치료용 모이어티는 항암제를 포함할 수 있다. 예시적인 항암제는 13-시스-레틴산, 2-아미노-6-메르캅토피린, 2-CdA, 2-클로로데옥시아데노신, 5-플루오로우라실, 6-티오구아닌, 6-메르캅토피린, Accutane, 악티노마이신-D, 아드리아마이신, Aducril, Agrylin, Ala-Cort, Aldesleukin, 알렘부주맙, 알리트레티노인, Alkaban-AQ, Alkeran, 올-트랜스레틴산, 알파 인터페론, 알트레타민, Amethopterin, 아미포스틴, 아미노글루테티미드, 아나그렐리드, Anandron, 아나스트로졸, 아라비도실시토신, Aranesp, Aredia, Arimidex, Aromasin, 삼산화비소, 아스파라기나제, ATRA, Avastin, BCG, BCNU, 베바시주맙, 백사로텐, 비칼루타미드, BiCNU, Blenoxane, 블레오마이신, 보르테조밂, 부셀판, 부셀팩스, C225, 칼슘 류코보린, 캄팩스, Camptosar, 캄포데신-11, 카페시타빈, Carac, Carboplatin, 카르무스틴, 카르무스틴 웨이퍼, Casodex, CCNU, CDDP, CeeNU, Cerubidine, 세톡시맙, 클로람부실, 시스플라틴, 시트로보룸 인자(Citrovorum Factor), 클라드리빈, 코르티손, Cosmegen, CPT-11, 사이클로포스파미드, Cytadren, 시타라빈, 리소졸 시타라빈, Cytosar-U, Cytosan, 다카르바진, 닥티노마이신, 다르

베포에틴 알파, 다우노마이신, 다우노루비신, 다우노루비신 하이드로클로라이드, 리포솜 다우노루비신, DaunoXome, Decadron, Delta-Cortef, Deltasone, 데닐레우킨 디프티톡스, DepoCyt, 텍사메타손, 텍사메타손 아세테이트, 텍사메타손 소듐 포스페이트, 텍사손, 텍스라족산, DHAD, DIC, Diodex, 도세탁셀, Doxil, 독소루비신, 리포솜 독소루비신, Droxia, DTIC, DTIC-Dome, Duralone, Efudex, Eligard, Ellence, Eloxatin, Elspar, Emcyt, 에피루비신, 에포에틴 알파, Erbitux, 에르위니아(Erwinia) L-아스파라기나제, 에스트라무스틴, Ethyol, Etopophos, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, Eulexin, Evista, 엑세메스탄, Fareston, Faslodex, Femara, 필그라스티م, 플록수리딘, Fludara, 플루다라빈, Fluoroplex, 플루오로우라실, 플루오로우라실(크림), 플록시메스테론, 플루타미드, 엽산, FUDR, 폴베스트란트, G-CSF, 게피티닙, 쟌시타빈, 쟌투주맵 오조가미신, Gemzar, Gleevec, Lupron, Lupron Depot, Matulane, Maxidex, 메클로레타민, -메클로레타민 하이드로클로린, Medralone, Medrol, Megace, 메게스트롤, 메게스트롤 아세테이트, 멜팔란, 메르캅토피린, 메스나, Mesnex, 메토티렉세이트, 메토티렉세이트 소듐, 메틸프레드니솔론, Mylocel, 레트로졸, Neosar, Neulasta, Neumega, Neupogen, Nilandron, 닐루타미드, 질소 머스타드, Novaldex, 노반트론, 옥트레오티드, 옥트레오티드 아세테이트, Oncospar, Oncovin, Ontak, Onxal, Oprevelkin, Orapred, Orasone, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파미드로네이트, Panretin, Paraplatin, PEDIAPRED, PEG 인터페론, 페가스파르가제, 페그필그라스티م, PEG-INTRON, PEG-L-아스파라기나제, 페닐알라닌 머스타드, 플라티놀, 플라티놀-AQ, 프레드니솔론, 프레드니손, Prelone, 프로카르바진, PROCIT, 프로류킨, 카르무스틴 임플란트를 갖는 Prolifeprospan 20, Purinethol, 랄록시펜, Rheumatrex, 리톡산, 리톡시맵, Roveron-A(인터페론 알파-2a), Rubex, 루비도마이신 하이드로클로라이드, Sandostatin, Sandostatin LAR, Sargramostim, Solu-Cortef, Solu-Medrol, STI-571, 스트렙토조신, 타목시펜, Targretin, Taxol, 탁소테레, Temodar, 테모졸로미드, 테니포시드, TESPА, 탈리도미드, Thalomid, TheraCys, 티오구아닌, 티오구아닌 타블렛, 티오포스파미드, Thioplex, 티오테과, TICE, Toposar, 토포테칸, 토레미펜, 트라스투주맵, 트레티노인, Trexall, Trisenox, TSPA, VCR, Velban, Velcade, VePesid, Vesanoid, Viadur, 빈블라스틴, 빈블라스틴 설페이트, Vincasar Pfs, 빈크리스틴, 비노렐빈, 비노렐빈 타르트레이트, VLB, VP-16, Vumon, Xeloda, Zanosar, Zevalin, Zinecard, Zoladex, 졸레드론산, Zometa, Gliadel 웨이퍼, Glivec, GM-CSF, 고세렐린, 과립구 콜로니 자극 인자, Halotestin, Herceptin, Hexadrol, Hexalen, 핵사메틸멜라민, HMM, Hycantin, Hydrea, Hydrocort 아세테이트, 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 소듐 포스페이트, 하이드로코르티손 소듐 석시네이트, Hydrocortone 포스페이트, 하이드록시우레아, 이브리투모맵, 이브리투모맵 티옥세탄, 이다마이신, 이다루비신, Ifex, IFN-알파, 이포스파미드, IL 2, IL-11, 이마티닙 메실레이트, 이미다졸 카르복사미드, 인터페론 알파, 인터페론 알파-2b(PEG 접합체), 인터류킨 2, 인터류킨-11, 인트론 A(인터페론 알파-2b), 류코보린, Leukeran, Leukine, 류프롤리드, 류로크리스틴, Leustatin, 리포솜 Ara-C, Liquid Pred, 로무스틴, L-PAM, L-사르콜리신, Meticorten, 미토마이신, 미토마이신-C, 미톡산트론, M-프레드니솔, MTC, MTX, Mustargen, 무스틴, 무타마이신, Myleran, Iressa, 이리노테칸, 아이소트레티노인, Kidrolase, Lanacort, L-아스파라기나제, 및 LCR을 포함한다. 치료용 모이어티는 또한 생물약품(biopharmaceutical), 예컨대 항체를 포함할 수 있다.

[0592] 치료용 모이어티는 항바이러스제, 예컨대 간시클로비르, 아지도티미딘(AZT), 라미부딘(3TC)을 포함할 수 있다.

[0593] 치료용 모이어티는 항생제, 예컨대 아세답손; 아세토실론 소듐; 알라메신; 알렉시딘; 암디노실린; 암디노실린 피복실; 아미사이클린; 아미플록사신; 아미플록사신 메실레이트; 아미카신; 아미카신 설페이트; 아미노살리실산; 아미노살리실레이트 소듐; 아목시실린; 암포마이신; 암피실린; 암피실린 소듐; 아팔실린 소듐; 아프라마이신; 아스파르토신; 아스트로미신 설페이트; 아빌라마이신; 아보파르신; 아지트로마이신; 아즐로실린; 아즐로실린 소듐; 바캄피실린 하이드로클로라이드; 바시트라신; 바시트라신 메틸렌 다이살리실레이트; 바시트라신 아연; 밤베르마이신; 벤조일파스 칼슘; 베리트로마이신; 베타미신 설페이트; 비아페넴; 비니라마이신; 바이페나민 하이드로클로라이드; 비스피리티온 마그네슘; 부티카신; 부티로신 설페이트; 카프레오마이신 설페이트; 카르바독스; 카르베니실린 다이소듐; 카르베니실린 인다닐 소듐; 카르베니실린 페닐 소듐; 카르베니실린 포타슘; 카루모남 소듐; 세파클로르; 세파드록실; 세파만돌; 세파만돌 나페이트; 세파만돌 소듐; 세파파롤; 세파트리진; 세파자플루르 소듐; 세파졸린; 세파졸린 소듐; 세프부페라존; 세프디니르; 세페핌; 세페핌 하이드로클로라이드; 세페테콜; 세픽심; 세프메녹심 하이드로클로라이드; 세프메타졸; 세프메타졸 소듐; 세포니시드 모노소듐; 세포니시드 소듐; 세포페라존 소듐; 세포라니드; 세포탁심 소듐; 세포테탄; 세포테탄 다이소듐; 세포티암 하이드로클로라이드; 세폭시딘; 세폭시딘 소듐; 세프피미졸; 세프피미졸 소듐; 세프피라미드; 세프피라미드 소듐; 세프피롬 설페이트; 세프포독심 프록세틸; 세프프로질; 세프록사신; 세프셀로딘 소듐; 세프타지딤; 세프티부텐; 세프티족심 소듐; 세프트리아족손 소듐; 세푸록심; 세푸록심 약세틸; 세푸록심 피복세틸; 세푸록심 소듐; 세파세트릴 소듐; 세팔렉신; 세팔렉신 하이드로클로라이드; 세팔로글리신; 세팔로리딘; 세팔로

틴 소듐; 세파리린 소듐; 세프라딘; 세토사이클린 하이드로클로라이드; 세토펜니콜; 클로람페니콜; 클로람페니콜 팔미테이트; 클로람페니콜 판토텐네이트 복합체; 클로람페니콜 소듐 석시네이트; 클로르헥시딘 포스포닐레이트; 클로로자일렌올; 클로르테트라사이클린 바이설페이트; 클로르테트라사이클린 하이드로클로라이드; 시녹사신; 시프로플록사신; 시프로플록사신 하이드로클로라이드; 시롤레마이신; 클라리트로마이신; 클리니플록사신 하이드로클로라이드; 클린다마이신; 클린다마이신 하이드로클로라이드; 클린다마이신 팔미테이트 하이드로클로라이드; 클린다마이신 포스페이트; 클로파지민; 클록사실린 벤자틴; 클록사실린 소듐; 클록시퀸; 콜리스티메테이트 소듐; 콜리스틴 설페이트; 쿠메르마이신; 쿠메르마이신 소듐; 사이클라실린; 사이클로세린; 달포프리스틴; 답손; 답토마이신; 데메클로사이클린; 데메클로사이클린 하이드로클로라이드; 데메사이클린; 데노푼진; 디아베리딘; 디클록사실린; 디클록사실린 소듐; 다이하이드로스테렙토마이신 설페이트; 디피리돈; 디리트로마이신; 독시사이클린; 독시사이클린 칼슘; 독시사이클린 포스포텍스; 독시사이클린 하이클레이트; 드록사신 소듐; 에녹사신; 에피실린; 에피테트라사이클린 하이드로클로라이드; 에리트로마이신; 에리트로마이신 아시스트레이트; 에리트로마이신 에스톨레이트; 에리트로마이신 에틸석시네이트; 에리트로마이신 글루셀레이트; 에리트로마이신 락토비오네이트; 에리트로마이신 프로피오네이트; 에리트로마이신 스테아레이트; 에탐부톨 하이드로클로라이드; 에티오나미드; 플레록사신; 플록사실린; 플루달라닌; 플루메퀸; 포스포마이신; 포스포마이신 트로메타민; 푸목시실린; 푸라졸람 클로라이드; 푸라졸람 타르trate이트; 푸시테이트 소듐; 푸리드산; 젠타민 설페이트; 글록시모남; 그라미시딘; 할로프로긴; 헤타실린; 헤타실린 포타슘; 핵세딘; 이바플록사신; 이미페넴; 아이소코나졸; 이세파미신; 아이소니아지드; 조사마이신; 카나마이신 설페이트; 기타사마이신; 레보푸랄타돈; 레보프로필실린 포타슘; 렉시트로마이신; 린코마이신; 린코마이신 하이드로클로라이드; 로메플록사신; 로메플록사신 하이드로클로라이드; 로메플록사신 메실레이트; 로라카르베프; 마페니드; 메클로사이클린; 메클로사이클린 설포살리실레이트; 메갈로미신 포타슘 포스페이트; 메퀴독스; 메로페넴; 메타사이클린; 메타사이클린 하이드로클로라이드; 메테나민; 메테나민 히푸레이트; 메테나민 만델레이트; 메티실린 소듐; 메티오프림; 메트로니다졸 하이드로클로라이드; 메트로니다졸 포스페이트; 메즐로실린; 메즐로실린 소듐; 미노사이클린; 미노사이클린 하이드로클로라이드; 미린카마이신 하이드로클로라이드; 모넨신; 모넨신 소듐; 나프실린 소듐; 날리딕세이트 소듐; 날리딕산; 나타이나이; 네브라마이신; 네오마이신 팔미테이트; 네오마이신 설페이트; 네오마이신 운데실레네이트; 네틸미신 설페이트; 뉴트라마이신; 니푸이라텐; 니푸랄데존; 니푸라텔; 니푸라트론; 니푸르다질; 니푸리미드; 니피우피리놀; 니푸르퀴나졸; 니푸르티아졸; 니트로사이클린; 니트로푸란토인; 니트로미드; 노르플록사신; 노비오신 소듐; 오플록사신; 온네토프림; 옥사실린; 옥사실린 소듐; 옥시모남; 옥시모남 소듐; 옥솔린산; 옥시테트라사이클린; 옥시테트라사이클린 칼슘; 옥시테트라사이클린 하이드로클로라이드; 팔디마이신; 파라클로로페놀; 파울로마이신; 페플록사신; 페플록사신 메실레이트; 페나메실린; 페니실린 G 벤자틴; 페니실린 G 포타슘; 페니실린 G 프로카인; 페니실린 G 소듐; 페니실린 V; 페니실린 V 벤자틴; 페니실린 V 하이드라바민; 페니실린 V 포타슘; 펜티지돈 소듐; 페닐 아미노살리실레이트; 피레라실린 소듐; 피르베니실린 소듐; 피리디실린 소듐; 피롤리마이신 하이드로클로라이드; 피밤피실린 하이드로클로라이드; 피밤피실린 파모에이트; 피밤피실린 프로베네이트; 폴릭미신 B 설페이트; 포르피로마이신; 포르피카신; 피라지나미드; 피리티온 아연; 퀸데카민 아세테이트; 퀴누프리스틴; 라세페니콜; 라모플라닌; 라니마이신; 렐로마이신; 레프로미신; 리파부틴; 리파메탄; 리파멕실; 리파미드; 리팜핀; 리파퀸; 리팍시민; 롤리테트라사이클린; 롤리테트라사이클린 니트레이트; 로사라미신; 로사라미신 부티레이트; 로사라미신 프로피오네이트; 로사라미신 소듐 포스페이트; 로사라미신 스테아레이트; 로속사신; 록사르손; 록시트로마이신; 산사이클린; 산페트리넴 소듐; 사르목시실린; 사르피실린; 스코파푼진; 시소미신; 시소미신 설페이트; 스파르플록사신; 스펙티노마이신 하이드로클로라이드; 스피라마이신; 스타리마이신 하이드로클로라이드; 스테피마이신; 스트렙토마이신 설페이트; 스트렙토니코지드; 설파벤즈; 설파벤즈아미드; 설파세타미드; 설파세타미드 소듐; 설파시틴; 설파디아진; 설파디아진 소듐; 설파독신; 설팔렌; 설파메라진; 설파메테르; 설파메타진; 설파메티졸; 설파메톡사졸; 설파모노메톡신; 설파목솔; 설파닐레이트 아연; 설파니트란; 설파살라진; 설파소미졸; 설파티아졸; 설파자메트; 설피속사졸; 설피속사졸 아세틸; 설피속사졸 디올라민; 설포믹신; 설포페넴; 설탐리실린; 선실린 소듐; 탈람피실린 하이드로클로라이드; 테이코플라닌; 테마플록사신 하이드로클로라이드; 테모실린; 테트라사이클린; 테트라사이클린 하이드로클로라이드; 테트라사이클린 포스페이트 복합체; 테트록소프림; 티암페니콜; 티펜실린 포타슘; 티카르실린 크레실 소듐; 티카르실린 다이소듐; 티카르실린 모노소듐; 티클라톤; 티오도늄 클로라이드; 토브라마이신; 토브라마이신 설페이트; 토수플록사신; 트리메토프림; 트리메토프림 설페이트; 트리설파피리미딘; 트롤레안도마이신; 트로스펙토마이신 설페이트; 티로트리신; 반코마이신; 반코마이신 하이드로클로라이드; 비르기니아마이신; 또는 조르바마이신을 포함할 수 있다.

[0594] 치료용 모이어티는 항염증제를 포함할 수 있다.

- [0595] 치료용 모이어티는 덱사메타손(Dex)을 포함할 수 있다.
- [0596] 치료용 모이어티는 치료용 단백질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 사람들은 소정 효소에서 결함을 갖는다 (예를 들어, 리소좀 축적 질병). 그러한 효소/단백질은 본 명세서에 개시된 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)에 효소/단백질을 연결함으로써 인간 세포에 전달될 수 있다. 개시된 cCPP는 단백질(예를 들어, GFP, PTP1B, 액틴, 칼모듈린, 트로포닌 C)을 사용하여 시험하였으며, 작용하는 것으로 밝혀졌다.
- [0597] 치료용 모이어티는 항감염제일 수 있다. 용어 "항감염제"는 감염성 인자를 살해, 억제, 또는 달리 이의 성장을 감소시킬 수 있는 작용제를 지칭한다. 용어 "감염성 인자"는 세균, 바이러스, 진균, 및 세포내 또는 세포외 기생충과 같은 병원성 미생물을 지칭한다. 항감염제는 감염성 질병을 치료하는 데 사용될 수 있는데, 이는, 감염성 질병은 감염성 인자에 의해 야기되기 때문이다.
- [0598] 감염성 인자는 그람-음성 세균일 수 있다. 그람-음성 세균은 에스케리키아(*Escherichia*), 프로테우스(*Proteus*), 살모넬라(*Salmonella*), 클레브시엘라(*Klebsiella*), 프로비덴시아(*Providencia*), 엔테로박테르(*Enterobacter*), 부르크홀데리아(*Burkholderia*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 아시네토박테르(*Acinetobacter*), 아에로모나스(*Aeromonas*), 하이모필루스(*Haemophilus*), 예르시니아(*Yersinia*), 네이세리아(*Neisseria*), 에르위니아(*Erwinia*), 로도슈도모나스(*Rhodopseudomonas*) 및 부르크홀데리아(*Burkholderia*)로부터 선택되는 속(genus)의 것일 수 있다. 감염성 인자는 그람-양성 세균일 수 있다. 그람-양성 세균은 락토바실루스(*Lactobacillus*), 아조리조비움(*Azorhizobium*), 스트렙토코쿠스(*Streptococcus*), 페디오코쿠스(*Pediococcus*), 포토박테리움(*Photobacterium*), 바실루스(*Bacillus*), 엔테로코쿠스(*Enterococcus*), 스태필로코쿠스(*Staphylococcus*), 클로스트리디움(*Clostridium*), 부티리비브리오(*Butyrivibrio*), 스프링코모나스(*Sphingomonas*), 로도코쿠스(*Rhodococcus*) 및 스트렙토미세스(*Streptomyces*)로부터 선택되는 속의 것일 수 있다. 감염성 인자는 미코박테리움 속의 항산성(acid-fast) 세균, 예컨대 미코박테리움 투베르쿨로시스(*Mycobacterium tuberculosis*), 미코박테리움 보비스(*Mycobacterium bovis*), 미코박테리움 아비움(*Mycobacterium avium*) 및 미코박테리움 레프라이(*Mycobacterium leprae*)일 수 있다. 감염성 인자는 노카르디아(*Nocardia*) 속일 수 있다. 감염성 인자는 하기 중 중 어느 하나로부터 선택될 수 있다: 노카르디아 아스테로이데스(*Nocardia asteroides*), 노카르디아 브라질리엔시스(*Nocardia brasiliensis*) 및 노카르디아 카비아(*Nocardia caviae*).
- [0599] 감염성 인자는 진균일 수 있다. 진균은 무코르(*Mucor*) 속으로부터 유래될 수 있다. 진균은 크리토코쿠스(*Cryptococcus*) 속으로부터 유래될 수 있다. 진균은 칸디다(*Candida*) 속으로부터 유래될 수 있다. 진균은 무코르 라세모수스(*Mucor racemosus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 크리토코쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*), 또는 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*) 중 어느 하나로부터 선택될 수 있다.
- [0600] 감염성 인자는 원생동물일 수 있다. 원생동물은 플라즈모디움(*Plasmodium*)(예를 들어, *P. 팔시파룸*(*P. falciparum*), *P. 비박스*(*P. vivax*), *P. 오발레*(*P. ovale*), 또는 *P. 말라리아이*(*P. malariae*)) 속의 것일 수 있다. 원생동물은 말라리아를 야기한다.
- [0601] 예시적인 유기체는 바실루스(*Bacillus*), 바르토넬라(*Bartonella*), 보르데텔라(*Bordetella*), 보르렐리아(*Borrelia*), 브루셀라(*Brucella*), 캄필로박테르(*Campylobacter*), 클라미디아(*Chlamydia*), 클라미도필라(*Chlamydophila*), 클로스트리디움(*Clostridium*), 코리네박테리움(*Corynebacterium*), 엔테로코쿠스(*Enterococcus*), 에스케리키아(*Escherichia*), 프란시셀라(*Francisella*), 하이모필루스(*Haemophilus*), 헬리코박테르(*Helicobacter*), 레지오넬라(*Legionella*), 렙토스피라(*Leptospira*), 리스테리아(*Listeria*), 미코박테리움(*Mycobacterium*), 미코플라스마(*Mycoplasma*), 네이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 리케치아(*Rickettsia*), 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 스태필로코쿠스(*Staphylococcus*), 스트렙토코쿠스(*Streptococcus*), 트레포네마(*Treponema*), 우레아플라스마(*Ureaplasma*), 비브리오(*Vibrio*), 및 예르시니아(*Yersinia*)를 포함한다.
- [0602] 감염성 인자는 기생충일 수 있다. 기생충은 크립토스포리디움일 수 있다. 기생충은 내부기생충일 수 있다. 내부기생충은 심장사상충, 촌충, 또는 편충일 수 있다. 기생충은 착생기생충일 수 있다. 기생충은 아칸트아메바증, 바베시아증, 발란티듐증, 배반포증, 콕시디아증, 아메바증, 편모충증, 포자충증, 시스토스포리아증, 리슈만편모충증, 원발성 아메바성 수막뇌염, 말라리아, 리노스포리듐증, 톡소플라즈마증, 트리코모나스증, 트리파노소마증, 샤가스병, 또는 옴으로부터 선택되는 질병을 야기한다.

- [0603] 감염성 인자는 바이러스일 수 있다. 바이러스의 비제한적인 예에는 급발성 급성 호흡기 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2), 급발성 급성 호흡기 코로나바이러스(SARS-CoV), 중동 호흡기 바이러스(MERS), 인플루엔자, C형 간염 바이러스, 뎅기 바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 에볼라 바이러스, B형 간염, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 단순 헤르페스, 대상 포진, 및 라사 바이러스가 포함된다.
- [0604] 항감염제는 항바이러스제일 수 있다. 항바이러스제의 비제한적인 예에는 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드 역전사 억제제, 예컨대 지도부딘(AZT), 디다노신(ddI), 잘시타빈(ddC), 스타부딘(d4T), 라미부딘(3TC), 엠트리시타빈, 아바카비르 석시네이트, 엘부시타빈, 아데포비르 디피복실, 로부카비르(BMS-180194), 로데노신(FddA) 및 테노포비르(테노포비르 디소프록실 및 테노포비르 디소프록실 푸마레이트 염을 포함함), 비-뉴클레오시드 역전사 억제제, 예컨대 네비라핀, 델라비라딘, 에파비렌즈, 에트라비린 및 릴피비린, 프로테아제 억제제, 예컨대 리토나비르, 티프라나비르, 사퀴나비르, 벨피나비르, 인디나비르, 암프레나비르, 포삼프레나비르, 아타자나비르, 로피나비르, 다루나비르(TMC-114), 라시나비르 및 브레카나비르(VX-385), 세포 진입 억제제, 예컨대 CCR5 길항제(예를 들어, 마라비록, 비크리비록, INCB9471 및 TAK-652) 및 CXCR4 길항제(AMD-11070), 융합 억제제, 예컨대 엔푸비르티드, 인테그라제 억제제, 예컨대 랄테그라비르, BMS-707035, 및 엘비테그라비르, Tat 억제제, 예컨대 다이테하이드로-코르티스타틴 A(dCA), 성숙 억제제, 예컨대 베리비맷, 면역조절제, 예컨대 레바미솔, 및 기타 다른 항바이러스제, 예컨대 하이드록시우레아, 리바비린, 인터류킨 2(IL-2), 인터류킨 12(IL-12), 펜사푸시드, 페라미비르, 자나미비르, 오셀타미비르 포스페이트, 발록사비르 마르복실이 포함된다.
- [0605] 항감염제는 항생제일 수 있다. 항생제의 비제한적인 예에는 하기가 포함된다: 아미노글리코시드, 예컨대 아미카신, 젠타미신, 카나마이신, 네오마이신, 네틸미신, 스트렙토마이신 및 토브라마이신; 카베세펜, 예컨대 로라카르베프; 카르바페넴, 예컨대 에르타페넴, 이미페넴/실라스타틴 및 메로페넴; 세팔로스포린, 예컨대 세파드록실, 세파졸린, 세팔렉신, 세파클로르, 세파만돌, 세팔렉신, 세폭시틴, 세프프로질, 세푸록심, 세픽심, 세프디니르, 세프디토렌, 세포페라존, 세포탁심, 세포독심, 세프타지덤, 세프티부텐, 세프티죽심, 세프트리아죽손 및 세페픽; 마크로라이드, 예컨대 아지트로마이신, 클라리트로마이신, 디리트로마이신, 에리트로마이신 및 트롤레안도마이신; 모노박탐; 페니실린, 예컨대 아목시실린, 암피실린, 카르베니실린, 클록사실린, 디클록사실린, 나프실린, 옥사실린, 페니실린 G, 페니실린 V, 피페라실린 및 티카르실린; 폴리펩티드, 예컨대 바시트라신, 콜리스틴 및 폴리믹신 B; 퀴놀론, 예컨대 시프로플록사신, 에녹사신, 가티플록사신, 레보플록사신, 로메플록사신, 목시플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신 및 트로바플록사신; 설폰아미드, 예컨대 마페니드, 설파세타미드, 설파메티졸, 설파살라진, 설파속사졸 및 트리메토프림-설파메톡사졸; 테트라사이클린, 예컨대 테메클로사이클린, 독시사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린 및 테트라사이클린; 및 반코마이신. 항감염제는 스테로이드성 항염증제일 수 있다. 스테로이드성 항염증제의 비제한적인 예에는 플루오시놀론, 트리암시놀론, 트리암시놀린 아세토니드, 베타메타손, 베타메타손 디프로프리오네이트, 디플루코르톨론, 플루티카손, 코르티손, 하이드로코르티손, 모메타손, 메틸프레드니솔론, 베클로메타손 디프로프리오네이트, 클로베타솔, 프레드니손, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 베타메타손, 부데소니드, 및 텍사메타손이 포함된다. 항감염제는 비스테로이드성 항염증제일 수 있다. 비스테로이드성 항염증제의 비제한적인 예에는 셀록시브, 니메실리드, 로페콕시브, 메클로페남산, 메클로페나메이트 소듐, 플루닉신, 플루프로펜, 플루르비프로펜, 설린다, 멜록시감, 피록시감, 에토들락, 페노프로펜, 펜부프로펜, 케토프로펜, 수프로펜, 디클로페낙, 브롬페낙 소듐, 페닐부타존, 탈리도미드 및 인도메타신이 포함된다.
- [0606] 항감염제는 항진균제일 수 있다. 항진균제의 비제한적인 예에는 암포테리신 B, 카스포핀진, 플루코나졸, 플루사이토신, 이트라코나졸, 케토코나졸, 암롤핀, 부테나핀, 나프티핀, 터비나핀, 엘루비올, 에코나졸, 에코낙솔, 이트라코나졸, 이소코나졸, 이미다졸, 미코나졸, 설코나졸, 클로트리마졸, 에닐코나졸, 옥시코나졸, 티오코나졸, 터코나졸, 부토코나졸, 티아벤다졸, 보리코나졸, 사피코나졸, 세르타코나졸, 펜티코나졸, 포사코나졸, 비포나졸, 플루트리마졸, 나이스타틴, 피마리신, 나타마이신, 툴나프테이트, 마페니드, 답손, 악토퍼니콘, 그리세오펜, 요오드화칼륨, 젠티안 바이올렛, 시클로피록스, 시클로피록스 올라민, 할로프로진, 운데실레네이트, 은 설파다이진, 운데실렌산, 운데실렌산 알카노아미드, 및 카르볼-푹신(Carbol-Fuchsin)이 포함된다.
- [0607] 치료용 모이어티는 진통제 또는 통증 완화제일 수 있다. 진통제 또는 통증 완화제의 비제한적인 예에는 아스피린, 아세트아미노펜, 이부프로펜, 나프록센, 프로카인, 리도카인, 테트라카인, 디부카인, 벤조카인, p-부틸아미노벤조산 2-(다이에틸아미노) 에틸 에스테르 HCl, 메피바카인, 피페로카인, 및 다이클로닌이 포함된다.
- [0608] 치료용 모이어티는 항체 또는 항원-결합 단편일 수 있다. 항체 및 항원-결합 단편은 인간, 마우스, 낙타과(예를 들어, 낙타, 알파카, 라마), 래트, 유제류(ungulate), 또는 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이, 레서스 마카

크(rhesus macaque))를 포함한 임의의 적합한 공급원으로부터 유래될 수 있다.

[0609] 더욱이, 본 명세서에 기재된 항감염제 및 다른 치료용 모이어티를 포함한 운반물은 이의 가능한 염을 포함하며, 이 중 약제학적으로 허용되는 염이 물론 치료적 응용에 대해 특히 관련이 있음이 이해되어야 한다. 염은 산 부가 염 및 염기성 염을 포함한다. 산 부가 염의 예는 하이드로클로라이드 염, 푸마레이트, 옥살레이트 등이다. 염기성 염의 예는 (나머지) 반대 이온이 알칼리 금속, 예컨대 나트륨 및 칼륨, 알칼리 토금속, 예컨대 칼슘 염, 칼륨 염, 및 암모늄 이온($N(R')_4^+$, 여기서 R'은 독립적으로, 선택적으로 치환된 C₁₋₆-알킬, 선택적으로 치환된 C₂₋₆-알케닐, 선택적으로 치환된 아릴, 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴을 나타냄)으로부터 선택될 수 있는 염이다.

[0610] 치료용 모이어티는 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 안티센스 화합물(AC)일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오티드, 짧은 간섭 RNA(siRNA), 마이크로RNA(miRNA), 리보자임, 면역 자극 핵산, 안타고미르, 안티미르, 마이크로RNA 모방체, 슈퍼미르, UI 어댑터, CRISPR 기구 및 압타머를 포함할 수 있지만 이로 한정되지 않는다. 용어 "안티센스 올리고뉴클레오티드" 또는 간단히 "안티센스"는 표적화된 폴리뉴클레오티드 서열에 상보적인 올리고뉴클레오티드를 포함하는 것으로 의미된다. 듀센 근이영양증을 치료하기 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드의 비제한적인 예는 미국 특허 출원 공개 제 2019/0365918호, 미국 특허 출원 공개 제 2020/0040336호, 미국 특허 제 9,499,818호, 및 미국 특허 제 9,447,417호에서 찾아볼 수 있으며, 이들 각각은 모든 목적을 위하여 전체적으로 참고로 포함된다.

[0611] 치료용 모이어티는 하기 질병 중 어느 하나를 치료하는 데 사용될 수 있다: 신경근육 장애, 폼페병, β-지중해 빈혈, 디스트로핀 코브(Kobe), 듀센 근이영양증, 베커 근이영양증, 당뇨병, 알츠하이머병, 암, 낭포성 섬유증, 메로신-결합 선천성 근이영양증 1A형(MDC1A), 근위 척수성 근위축증(SMA), 헌팅턴병, 헌팅턴병-유사 2(HDL2), 근긴장성 이영양증, 척수소뇌성 실조증, 척수 및 구근 근위축증(SBMA), 치상핵적핵담구시상하핵 위축증(dentatorubral-pallidolusian atrophy, DRPLA), 근위축성 축삭 경화증, 전측두엽 치매, 취약성 X 증후군, 취약성 X 정신 지체 1(FMR1), 취약성 X 정신 지체 2(FMR2), 취약성 XE 정신 지체(FRAXE), 프리드라이히 운동실조(FRDA), 취약성 X-연관 진전/운동실조 증후군(FXTAS), 근간대성 간질, 안인두근 근이영양증(OPMD), 증후군성 또는 비증후군성 X-연관 정신 지체, 근긴장성 이영양증, 근긴장성 이영양증 1형, 근긴장성 이영양증 2형, 간질, 드라베 증후군, 또는 알츠하이머병. 치료용 모이어티는 신경교종, 급성 골수성 백혈병, 갑상선암, 폐암, 결직장암, 두경부암, 위암, 간암, 췌장암, 신장암, 요로상피암, 전립선암, 고환암, 유방암, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 또는 흑색종으로부터 선택되는 암을 치료하는 데 사용될 수 있다. 치료용 모이어티는 안구 질병을 치료하는 데 사용될 수 있다. 안구 질병의 비제한적인 예에는 굴절 오차, 황반 변성, 백내장, 당뇨병성 망막병증, 녹내장, 약시, 또는 사시가 포함된다.

[0612] 치료용 모이어티는 표적화 모이어티를 포함할 수 있다. 표적화 모이어티는, 예를 들어 하나 이상의 효소 도메인을 표적화할 수 있는 아미노산의 서열을 포함할 수 있다. 표적화 모이어티는 암, 낭포성 섬유증, 당뇨병, 비만 또는 이들의 조합과 같은 질병에서 역할을 할 수 있는 효소에 대한 억제제를 포함할 수 있다. 표적화 모이어티는 하기 유전자 중 하나 이상을 표적화한다: *FMR1*, *AFF2*, *FXN*, *DMPK*, *SCA8*, *PPP2R2B*, *ATN1*, *DRPLA*, *HTT*, *AR*, *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN3*, *CACNA1A*, *ATXN7*, *TBP*, *ATP7B*, *HTT*, *SCN1A*, *BRCA1*, *LAMA2*, *CD33*, *VEGF*, *ABCA4*, *CEP290*, *RHO*, *USH2A*, *OPA1*, *CNGB3*, *PRPF31*, *GYS1*, 또는 *RPGR*. 치료용 모이어티는 미국 특허 출원 공개 제 2019/0365918호에 기재된 안티센스 화합물(AC)일 수 있으며, 이는 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 예를 들어, 표적화 모이어티는 표 7에 열거된 임의의 서열을 포함할 수 있다.

[0613] [표 7]

예시적인 표적화 모이어티

서열 번호	약어*	서열
11	PΘGΛYR	Pro-Pip-Gly-F ₂ Pmp-Tyr-Arg
12	SΘIΛAR	Ser-Pip-Ile-F ₂ Pmp-F ₂ Pmp-Arg
13	IHIΛIR	Ile-His-Ile-F ₂ Pmp-Ile-Arg
14	AalΛΘR	Ala-(D-Ala)-Ile-F ₂ Pmp-Pip-Arg
15	ΣSΘΛvR	Fpa-Ser-Pip-F ₂ Pmp-(D-Val)-Arg
16	ΘnPΛAR	Pip-(D-Asn)-Pro-F ₂ Pmp-Ala-Arg
17	TΨAAGR	Tyr-Phg-Ala-F ₂ Pmp-Gly-Arg
18	AHIΛaR	Ala-His-Ile-F ₂ Pmp-(D-Ala)-Arg
19	GnGΛpR	Gly-(D-Asn)-Gly-F ₂ Pmp-(D-Pro)-Arg
20	fQΘAIR	(D-Phe)-Gln-Pip-F ₂ Pmp-Ile-Arg
21	SPGΛHR	Ser-Pro-Gly-F ₂ Pmp-His-Arg
22	ΘYIΛHR	Pip-Tyr-Ile-F ₂ Pmp-His-Arg
23	SvPΛHR	Ser-(D-Val)-Pro-F ₂ Pmp-His-Arg
24	AIPΛnR	Ala-Ile-Pro-F ₂ Pmp-(D-Asn)-Arg
25	ΣSIAQF	Fpa-Ser-Ile-F ₂ Pmp-Gln-Arg
26	AaΨΛfR	Ala-(D-Ala)-Phg-F ₂ Pmp-(D-Phe)-Arg
27	ntΨΛΨR	(D-Asn)-(D-Thr)-Phg-F ₂ Pmp-Phg-Arg
28	IPΨΛΩR	Ile-Pro-Phg-F ₂ Pmp-Nle-Arg
29	QΘΣΛΘR	Gln-Pip-Fpa-F ₂ Pmp-Pip-Arg
30	nAΣΛGR	(D-Asn)-Ala-Fpa-F ₂ Pmp-Gly-Arg
31	ntYΛAR	(D-Asn)-(D-Thr)-Tyr-F ₂ Pmp-Ala-Arg
32	eAΨΛvR	(D-Glu)-Ala-Phg-F ₂ Pmp-(D-Val)-Arg
33	IvΨΛAR	Ile-(D-Val)-Phg-F ₂ Pmp-Ala-Arg
34	YtΨΛAR	Tyr-(D-Thr)-Phg-F ₂ Pmp-Ala-Arg
35	nΘΨAIR	(D-Asn)-Pip-Phg-F ₂ Pmp-Ile-Arg
36	ΘnWΛHR	Pip-(D-Asn)-Trp-F ₂ Pmp-His-Arg
37	YΘvAIR	Tyr-Pip-(D-Val)-F ₂ Pmp-Ile-Arg
38	nSAAGR	(D-Asn)-Ser-(D-Ala)-F ₂ Pmp-Gly-Arg
39	tnvΛaR	(D-Thr)-(D-Asn)-(D-Val)-F ₂ Pmp-(D-Ala)-Arg
40	ntvΛIR	(D-Asn)-(D-Thr)-(D-Val)-F ₂ Pmp-(D-Thr)-Arg
41	SItΛYR	Ser-Ile-(D-Thr)-F ₂ Pmp-Tyr-Arg
42	nΣnAIR	(D-Asn)-Fpa-(D-Asn)-F ₂ Pmp-(D-Leu)-Arg
43	YnnΛQR	Tyr-(D-Asn)-(D-Asn)-F ₂ Pmp-Nle-Arg
44	nYnΛGR	(D-Asn)-Tyr-(D-Asn)-F ₂ Pmp-Gly-Arg
45	AWnΛAR	Ala-Trp-(D-Asn)-F ₂ Pmp-Ala-Arg
46	vtHΛYR	(D-Val)-(D-Thr)-His-F ₂ Pmp-Tyr-Arg
47	PΨHΛΘR	Pro-Phg-His-F ₂ Pmp-Pip-Arg
48	nΨHΛGR	(D-Asn)-Phg-His-F ₂ Pmp-Gly-Arg
49	PAHΛGR	Pro-Ala-His-F ₂ Pmp-Gly-Arg
50	AYHΛIR	Ala-Tyr-His-F ₂ Pmp-Ile-Arg
51	nΘeΛYR	(D-Asn)-Pip-(D-Glu)-F ₂ Pmp-Tyr-Arg
52	vSSΛIR	(D-Val)-Ser-Ser-F ₂ Pmp-(D-Thr)-Arg
53	aΞt' ϑ Φ'YNK	((D-Ala)-Sar-(D-pThr)-Pp-Nal-Tyr-Gln)-Lys
54	Tm(aΞt' ϑΦ'RA)Dap	Tm((D-Ala)-Sar-(D-pThr)-Pp-Nal-Arg-Ala)-Dap
55	Tm(aΞt' ϑΦ'RAa)Dap	Tm((D-Ala)-Sar-(D-pThr)-Pp-Nal-Arg-Ala-(D-Ala))-Dap
56	Tm(aΞtϑΦ'RAa)Dap	Tm((D-Ala)-Sar-(D-Thr)-Pp-Nal-Arg-Ala-(D-Ala))-Dap
57	Tm(aΞtaΦ'RAa)Dap	Tm((D-Ala)-Sar-(D-Thr)-(D-Ala)-Nal-Arg-Ala-(D-Ala))-Dap

*Fpa, Σ: L-4-플루오로페닐알라닌; Pip, Θ: L-호모프롤린; Nle, Ω: L-노르류신; Phg, Ψ: L-페닐글리신; F₂Pmp, Λ: L-4-(포스포노다이플루오로메틸)페닐알라닌; Dap, L-2,3-다이아미노프로피온산; Nal, Φ': L-β-나프틸알라닌; Pp, ϑ: L-피페콜산; Sar, Ξ: 사르코신; Tm, 트라이메스산.

[0614]

[0615]

표적화 모이어티와 세포 침투 펩티드는 중첩될 수 있다. 즉, 세포 침투 펩티드를 형성하는 잔기는 또한 표적화 모이어티를 형성하는 서열의 일부일 수 있으며, 그 역으로도 성립될 수 있다.

[0616]

치료용 모이어티는 세포 침투 펩티드의 아미노산 중 임의의 것의 아미노기, 카르복실레이트기, 또는 측쇄에서 (예를 들어, cCPP의 아미노산 중 임의의 것의 아미노기, 카르복실레이트기, 또는 측쇄에서) 세포 침투 펩티드에 부착될 수 있다. 치료용 모이어티는 검출가능한 모이어티에 부착될 수 있다.

[0617]

치료용 모이어티는 Ras(예를 들어, K-Ras), PTP1B, Pin1, Grb2 SH2, CAL PDZ 등, 또는 이들의 조합에 대한 억제제로서 작용할 수 있는 표적화 모이어티를 포함할 수 있다.

- [0618] Ras는 인간에서 RAS 유전자에 의해 인코딩되는 단백질이다. 정상 Ras 단백질은 정상 조직 신호전달에서 본질적인 기능을 수행하고, Ras 유전자의 돌연변이는 많은 암의 발생에 관여한다. Ras는 분자 온/오프 스위치로서 작용할 수 있으며, 일단 켜지면, Ras는 성장 인자 및 다른 수용체의 신호의 전파에 필요한 단백질을 동원하고 활성화한다. Ras의 돌연변이된 형태는 폐암, 결장암, 췌장암, 및 다양한 백혈병을 포함한 다양한 암에 관여되어 왔다.
- [0619] 단백질-티로신 포스파타제 1B(PTP1B)는 PTP 슈퍼패밀리의 원형적인(prototypical) 구성원이며, 진행 세포 신호전달 동안 수많은 역할을 한다. PTP1B는 인슐린 신호전달 경로의 음성 조절인자이고, 특히 II형 당뇨병의 치료를 위한 유망한 잠재적인 치료 표적으로 간주된다. PTP1B는 또한 유방암의 발생에 관여되어 왔다.
- [0620] Pin1은, 단백질의 하위세트에 결합하고 단백질 기능을 조절하는 데 있어서 인산화 후 제어로서의 역할을 하는 효소이다. Pin1 활성화는 프롤린-유도 키나제 신호전달의 결과를 조절할 수 있으며, 결과적으로 세포 증식 및 세포 생존을 조절할 수 있다. Pin1의 탈조절은 다양한 질병에서 역할을 할 수 있다. Pin1의 상향조절은 소정 암에 관여할 수 있고, Pin1의 하향조절은 알츠하이머병에 관여할 수 있다. Pin1의 억제제는 암 및 면역 장애에 대해 치료적 영향을 미칠 수 있다.
- [0621] Grb2는 신호 전달 및 세포 통신에 관여하는 어댑터 단백질이다. Grb2 단백질은 티로신 인산화 서열에 결합할 수 있는 하나의 SH2 도메인을 함유한다. Grb2는 널리 발견되며 다수의 세포 기능에 본질적이다. Grb2 기능의 억제제는 발달 과정을 손상시킬 수 있고 다양한 세포 유형의 변환 및 증식을 차단할 수 있다.
- [0622] 낭포성 섬유증(CF) 환자에서 돌연변이된 클로라이드 이온 채널 단백질인 낭포성 섬유증 막 전도 조절제(CFTR)의 활성화는 CFTR-관련 리간드(CAL)에 의해, 이의 PDZ 도메인(CAL-PDZ)을 통해 음성으로 조절된다는 것이 최근에 보고되었다(문헌[Wolde, M et al. *J. Biol. Chem.* 2007, 282, 8099]). CFTR/CAL-PDZ 상호작용의 억제는 CFTR 돌연변이의 가장 일반적인 형태인 ΔPhe508-CFTR의 활성을 개선하는 것으로 밝혀졌는데(문헌[Cheng, SH et al. *Cell* 1990 63, 827]; 문헌[Kerem, BS et al. *Science* 1989, 245, 1073]), 이는, 이의 프로테아좀-매개 분해를 감소시킴으로써 수행된다(문헌[Cushing, PR et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 9907]). 따라서, 본 명세서에 개시된 화합물 또는 조성물의 유효량을 투여함으로써 낭포성 섬유증을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본 명세서에 개시된다. 대상체에게 투여된 화합물 또는 조성물은 CAL PDZ에 대한 억제제로서 작용할 수 있는 표적화 모이어티를 포함할 수 있는 치료용 모이어티를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에 개시된 조성물 또는 조성물은 CFTR 기능을 교정하는 분자와 함께 투여될 수 있다.
- [0623] 치료용 모이어티는 사이클릭 펩티드의 아미노산 중 임의의 것의 아미노 기 또는 카르복실레이트 기, 또는 측쇄에서(예를 들어, 사이클릭 펩티드의 아미노산의 측쇄 상의 아미노 기 또는 카르복실레이트 기에서) 사이클릭 펩티드에 부착될 수 있다. 일부 예에서, 치료용 모이어티는 검출가능한 모이어티에 부착될 수 있다.
- [0624] 본 명세서에 기재된 화합물을 포함하는 조성물이 본 명세서에 또한 개시된다.
- [0625] 개시된 화합물의 약제학적으로 허용되는 염 및 전구약물이 본 명세서에 또한 개시된다. 약제학적으로 허용되는 염은 화합물 상에서 발견되는 특정 치환체에 따라, 산 또는 염기를 사용하여 제조되는 개시된 화합물의 염을 포함한다. 본 명세서에 개시된 화합물이 안정한 비독성 산 또는 염기 염을 형성하기에 충분히 염기성이거나 산성인 조건 하에서, 염으로서의 화합물의 투여가 적절할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염기 부가 염의 예에는 나트륨, 칼륨, 칼슘, 암모늄, 또는 마그네슘 염이 포함된다. 생리학적으로 허용되는 산 부가 염의 예에는 염산, 브롬화수소산, 질산, 인산, 탄산, 황산, 및 유기 산, 예컨대 아세트산, 프로피온산, 벤조산, 석신산, 푸마르산, 만델산, 옥살산, 시트르산, 타르타르산, 말론산, 아스코르브산, 알파-케토글루타르산, 알파-글리코인산, 말레산, 토실산, 메탄설폰산 등이 포함된다. 따라서, 하이드로클로라이드, 니트레이트, 포스페이트, 카르보네이트, 바이카르보네이트, 설페이트, 아세테이트, 프로피오네이트, 벤조에이트, 석시네이트, 푸마레이트, 만델레이트, 옥살레이트, 시트레이트, 타르타레이트, 말로네이트, 아스코르베이트, 알파-케토글루타레이트, 알파-글리코포스페이트, 말레에이트, 토실레이트, 및 메실레이트 염이 본 명세서에 개시된다. 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 당업계에 잘 알려진 표준 절차를 사용하여, 예를 들어 충분히 염기성인 화합물, 예컨대 아민을 적절한 산과 반응시킴으로써 생리학적으로 허용되는 음이온을 얻을 수 있다. 카르복실산의 알칼리 금속(예를 들어, 나트륨, 칼륨 또는 리튬) 또는 알칼리 토금속(예를 들어, 칼슘) 염이 또한 제조될 수 있다.
- [0626] 치료용 모이어티는 치료용 폴리펩티드, 올리고뉴클레오티드 또는 소분자를 포함할 수 있다. 치료용 폴리펩티드는 펩티드 억제제를 포함할 수 있다. 치료용 폴리펩티드는 관심 표적에 특이적으로 결합하는 결합 시약을 포함할 수 있다. 결합 시약은 관심 표적에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다.

항원-결합 단편은 Fab 단편, F(ab') 단편, F(ab')₂ 단편, Fv 단편, 미니바디, 다이아바디, 나노바디, 단일 도메인 항체(dAb), 단일쇄 가변 단편(scFv), 또는 다중특이성 항체를 포함할 수 있다.

[0627] 올리고뉴클레오타이드는 안티센스 화합물(AC)을 포함할 수 있다. AC는 관심 단백질 표적을 인코딩하는 표적 뉴클레오타이드 서열에 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0628] 치료용 모이어티는(TM)는 cCPP의 아미노산의 화학 반응성 측쇄에 접합될 수 있다. 공유 결합을 형성할 수 있거나 그렇게 변형될 수 있는 cCPP 상의 임의의 아미노산 측쇄가 cCPP에 TM을 연결하는 데 사용될 수 있다. cCPP 상의 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 화학 반응성 측쇄는 아민 기, 카르복실산, 아마이드, 하이드록실 기, 설피드릴 기, 구아니디닐 기, 페놀성 기, 티오에테르 기, 이미다졸릴 기, 또는 인돌릴 기를 포함할 수 있다. TM이 접합되는 cCPP의 아미노산은 라이신, 아르기닌, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 아르기닌, 티로신, 메티오닌, 히스티딘, 트립토판 또는 이들의 유사체를 포함할 수 있다. TM을 접합하는 데 사용되는 cCPP 상의 아미노산은 오르니틴, 2,3-다이아미노프로피온산, 또는 이의 유사체일 수 있다. 아미노산은 라이신 또는 이의 유사체일 수 있다. 아미노산은 글루탐산 또는 이의 유사체일 수 있다. 아미노산은 아스파르트산 또는 이의 유사체일 수 있다. 측쇄는 TM 또는 링커에 대한 결합으로 치환될 수 있다.

[0629] TM은 치료용 폴리펩티드를 포함할 수 있으며, cCPP는 치료용 폴리펩티드의 아미노산의 화학 반응성 측쇄에 접합될 수 있다. 공유 결합을 형성할 수 있거나 그렇게 변형될 수 있는 TM 상의 임의의 아미노산 측쇄가 TM에 cCPP를 연결하는 데 사용될 수 있다. TM 상의 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 화학 반응성 측쇄는 아민 기, 카르복실산, 아마이드, 하이드록실 기, 설피드릴 기, 구아니디닐 기, 페놀성 기, 티오에테르 기, 이미다졸릴 기, 또는 인돌릴 기를 포함할 수 있다. cCPP가 접합되는 TM의 아미노산은 라이신, 아르기닌, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 아르기닌, 티로신, 메티오닌, 히스티딘, 트립토판 또는 이들의 유사체를 포함할 수 있다. cCPP를 접합하는 데 사용되는 TM 상의 아미노산은 오르니틴, 2,3-다이아미노프로피온산, 또는 이의 유사체일 수 있다. 아미노산은 라이신 또는 이의 유사체일 수 있다. 아미노산은 글루탐산 또는 이의 유사체일 수 있다. 아미노산은 아스파르트산 또는 이의 유사체일 수 있다. TM의 측쇄는 cCPP 또는 링커에 대한 결합으로 치환될 수 있다.

[0630] TM은 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 화합물(AC) 일 수 있으며, 여기서 올리고뉴클레오타이드의 5' 또는 3' 단부는 cCPP의 아미노산의 화학 반응성 측쇄에 접합된다. AC는 AC의 5' 또는 3' 단부 상의 모이어티를 통해 cCPP에 화학적으로 접합될 수 있다. cCPP의 화학 반응성 측쇄는 아민 기, 카르복실산, 아마이드, 하이드록실 기, 설피드릴 기, 구아니디닐 기, 페놀성 기, 티오에테르 기, 이미다졸릴 기, 또는 인돌릴 기를 포함할 수 있다. AC가 접합되는 cCPP의 아미노산은 라이신, 아르기닌, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 아르기닌, 티로신, 메티오닌, 히스티딘 또는 트립토판을 포함할 수 있다. AC가 접합되는 cCPP의 아미노산은 라이신 또는 시스테인을 포함할 수 있다.

[0631] *올리고뉴클레오타이드*

[0632] 본 화합물은 치료용 모이어티로서 안티센스 화합물(AC)에 접합되는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)를 포함할 수 있다. AC는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, siRNA, 마이크로RNA, 안타고미르, 압타머, 리보자임, 면역자극성 올리고뉴클레오타이드, 유인(decoy) 올리고뉴클레오타이드, 슈퍼미르, miRNA 모방체, miRNA 억제제, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0633] *안티센스 올리고뉴클레오타이드*

[0634] 치료용 모이어티는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 용어 "안티센스 올리고뉴클레오타이드" 또는 간단히 "안티센스"는 표적화된 폴리뉴클레오타이드 서열에 상보적인 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 선택된 서열, 예를 들어 표적 유전자 mRNA에 상보적인 DNA 또는 RNA의 단일 가닥을 포함할 수 있다.

[0635] 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 표적 핵산과의 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 혼성화를 통해 단백질 전사, 번역, 및 발현 및 기능의 하나 이상의 양상을 조절할 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 그의 표적 서열에 대한 혼성화는 표적 단백질의 발현을 억제할 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 그의 표적 서열에 대한 혼성화는 하나 이상의 표적 단백질 아이소형(isoform)의 발현을 억제할 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 그의 표적 서열에 대한 혼성화는 표적 단백질의 발현을 상향조절할 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드

의 그의 표적 서열에 대한 혼성화는 표적 단백질의 발현을 하향조절할 수 있다.

- [0636] 안티센스 화합물은 상보적 mRNA에 대한 결합에 의해 유전자 발현을 억제할 수 있다. 표적 mRNA에 대한 결합은 그것에 결합함으로써 상보적 mRNA 가닥의 번역을 방지함으로써, 또는 표적 mRNA의 분해로 이어짐으로써 유전자 발현의 억제로 이어질 수 있다. 안티센스 DNA는 특이적, 상보적(코딩 또는 비-코딩) RNA를 표적화하는 데 사용될 수 있다. 결합이 일어나는 경우, 이러한 DNA/RNA 혼성체는 효소 RNase H에 의해 분해될 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는 약 10 내지 약 50개의 뉴클레오티드, 약 15 내지 약 30개의 뉴클레오티드, 또는 약 20 내지 약 25개의 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이 용어는 원하는 표적 유전자에 완전히 상보적이지 않을 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 또한 포함한다. 따라서, 본 명세서에 개시된 화합물은 비표적 특이적 활성이 안티센스에 의해 발견되는 경우에 이용되거나, 또는 표적 서열과 하나 이상의 불일치를 함유하는 안티센스 서열이 요구되는 경우에 이용될 수 있다.
- [0637] 안티센스 올리고뉴클레오티드는 단백질 합성의 효과적이고 표적화된 억제제인 것으로 입증되어 있으며, 결과적으로, 표적화된 유전자에 의한 단백질 합성을 특이적으로 억제하는 데 사용될 수 있다. 단백질 합성을 억제하기 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드의 효능은 잘 확립되어 있다.
- [0638] 안티센스 올리고뉴클레오티드를 생성하는 방법은 당업계에서 알려져 있으며, 임의의 관심 폴리뉴클레오티드 서열을 표적화하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 생성하도록 용이하게 개조될 수 있다. 주어진 표적 서열에 특이적인 안티센스 올리고뉴클레오티드 서열의 선택은 선택된 표적 서열의 분석 및 2차 구조, Tm, 결합 에너지, 및 상대 안정성의 결정에 기초한다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는 숙주 세포에서 표적 mRNA에 대한 특이적 결합을 감소시키거나 억제할 이량체, 헤어핀, 또는 다른 2차 구조를 형성할 수 없는 그들의 상대적 무능력에 기초하여 선택될 수 있다. mRNA의 표적 영역은 AUG 번역 개시 코돈에 위치하거나 그 부근에 있는 영역 및 mRNA의 5' 영역에 실질적으로 상보적인 서열을 포함한다. 이들 2차 구조 분석 및 표적 부위 선택 고려사항은, 예를 들어 OLIGO 프라이머 분석 소프트웨어의 v.4(Molecular Biology Insights) 및/또는 BLASTN 2.0.5 알고리즘 소프트웨어(문헌[Altschul et al, Nucleic Acids Res. 1997, 25(17):3389-402])를 사용하여 수행될 수 있다.
- [0639] *RNA 간섭 핵산*
- [0640] 치료용 모이어티는 RNA 간섭(RNAi) 분자 또는 짧은 간섭 RNA 분자일 수 있다. RNAi 또는 siRNA 분자를 사용하는 RNA 간섭 방법이 관심 유전자 또는 폴리뉴클레오티드의 발현을 파괴하는 데 사용될 수 있다.
- [0641] 짧은 간섭 RNA(siRNA)는 RNAi-유도 침묵 복합체(RISC)로 알려진 세포질 다단백질 복합체와 회합할 수 있는 통상 약 16 내지 약 30개의 뉴클레오티드 길이의 RNA 이중체(duplex)이다. siRNA가 로딩된 RISC는 상동 mRNA 전사체의 분해를 매개하며, 이에 따라 siRNA는 높은 특이성으로 단백질 발현을 녹다운하도록 설계될 수 있다. 다른 안티센스 기술과 달리, 비-코딩 RNA를 통해 유전자 발현을 제어하도록 자연 기전(natural mechanism)을 통한 siRNA 기능이 진화되었다. 임상적으로 관련된 표적을 표적화하는 siRNA를 포함한 다양한 RNAi 시약이 현재 의약 개발 하에 있으며, 이는, 예를 들어 문헌[de Fougerolles, A. et al, Nature Reviews 6:443-453 (2007)]에 기재된 바와 같다.
- [0642] 최초로 기재된 RNAi 분자는 RNA 센스 가닥 및 RNA 안티센스 가닥 둘 모두를 포함하는 RNA:RNA 혼성체였지만, 이제 DNA 센스:RNA 안티센스 혼성체, RNA 센스:DNA 안티센스 혼성체, 및 DNA:DNA 혼성체가 RNAi를 매개할 수 있는 것으로 입증되어 있다(문헌[Lamberton, J.S. and Christian, A.T., (2003) Molecular Biotechnology 24:111-119]). 이들 상이한 유형의 이중 가닥 분자 중 임의의 것을 포함하는 RNAi 분자가 사용될 수 있다. 또한, RNAi 분자는 다양한 형태로 사용되고 세포에 도입될 수 있는 것으로 이해된다. RNAi 분자는 세포에서 RNAi 반응을 유도할 수 있는 임의의 그리고 모든 분자를 포함할 수 있으며, 이에는 2개의 별개의 가닥, 즉, 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 짧은 간섭 RNA(siRNA); 비-뉴클레오티드 링커에 의해 함께 연결된 2개의 별개의 가닥을 포함하는 이중 가닥 올리고뉴클레오티드; 이중 가닥 영역을 형성하는, 상보적인 서열들의 헤어핀 루프를 포함하는 올리고뉴클레오티드, 예를 들어 shRNAi 분자; 및 단독으로 또는 다른 폴리뉴클레오티드와 조합하여 이중 가닥 폴리뉴클레오티드를 형성할 수 있는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 발현하는 발현 벡터가 포함되지만 이로 한정되지 않는다.
- [0643] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "단일 가닥 siRNA 화합물"은 단일 분자로 구성되는 siRNA 화합물이다. 이는 가닥내 쌍형성(intra-strand pairing)에 의해 형성된, 이중체화된 영역을 포함할 수 있으며, 예를 들어 이는 헤어핀 또는 팬-핸들(pan-handle) 구조이거나 이를 포함할 수 있다. 단일 가닥 siRNA 화합물은 표적 분자에 대해 안티센스일 수 있다.

- [0644] 단일 가닥 siRNA 화합물은, 그것이 RISC에 진입하여 표적 mRNA의 RISC 매개 절단에 참여할 수 있기에 충분히 길 수 있다. 단일 가닥 siRNA 화합물은 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 20개, 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 35개, 적어도 약 40개, 또는 최대 약 50개의 뉴클레오타이드 길이이다. 단일 가닥 siRNA는 약 200개, 약 100개, 또는 약 60개 미만의 뉴클레오타이드 길이이다.
- [0645] 헤어핀 siRNA 화합물은 적어도 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 또는 약 25개의 뉴클레오타이드 쌍의 이중체 영역을 가질 수 있다. 이중체 영역은 약 200개, 약 100개, 또는 약 50개 이하의 뉴클레오타이드 쌍 길이일 수 있다. 이중체 영역에 대한 범위는 약 15 내지 약 30개, 약 17 내지 약 23개, 약 19 내지 약 23개, 및 약 19 내지 약 21개의 뉴클레오타이드 쌍 길이이다. 헤어핀은 단일 가닥 돌출부(overhang), 또는 쌍을 형성하지 않은 말단 영역을 가질 수 있다. 돌출부는 약 2 내지 약 3개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 돌출부는 헤어핀의 센스 측에 또는 헤어핀의 안티센스 측에 있을 수 있다.
- [0646] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이중 가닥 siRNA 화합물"은 하나 초과와, 그리고 일부 경우에는 2개의 가닥을 포함하는 siRNA 화합물이며, 여기서는 사슬간 혼성화가 이중체 구조의 영역을 형성할 수 있다.
- [0647] 이중 가닥 siRNA 화합물의 안티센스 가닥은 적어도 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 25개, 약 30개, 약 40, 또는 약 60개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 이는 약 200개, 약 100개, 또는 약 50개 이하의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 약 17 내지 약 25개, 약 19 내지 약 23개, 및 약 19 내지 약 21개의 뉴클레오타이드 길이의 범위일 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "안티센스 가닥"은 표적 분자, 예를 들어 표적 RNA에 충분히 상보적인 siRNA 화합물의 가닥을 의미한다.
- [0648] 이중 가닥 siRNA 화합물의 센스 가닥은 적어도 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 25개, 약 30개, 약 40, 또는 약 60개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 이는 약 200개, 약 100개, 또는 약 50개 이하의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 약 17 내지 약 25개, 약 19 내지 약 23개, 및 약 19 내지 약 21개의 뉴클레오타이드 길이의 범위일 수 있다.
- [0649] 이중 가닥 siRNA 화합물의 이중 가닥 부분은 적어도 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 30개, 약 40개, 또는 약 60개의 뉴클레오타이드 쌍 길이일 수 있다. 이는 약 200개, 약 100개, 또는 약 50개 이하의 뉴클레오타이드 쌍 길이일 수 있다. 약 15 내지 약 30개, 약 17 내지 약 23개, 약 19 내지 약 23개, 및 약 19 내지 약 21개의 뉴클레오타이드 쌍 길이의 범위일 수 있다.
- [0650] siRNA 화합물은 내인성 분자에 의해, 예를 들어 Dicer에 의해 절단되어 더 작은 siRNA 화합물, 예를 들어 siRNA 작용제를 생성할 수 있기에 충분히 클 수 있다.
- [0651] 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 이중 가닥 siRNA 화합물이 분자의 한쪽 또는 양쪽 말단에 단일 가닥 또는 쌍을 형성하지 않은 영역을 포함하도록 선택될 수 있다. 따라서, 이중 가닥 siRNA 화합물은 돌출부, 예를 들어 1개 또는 2개의 5' 또는 3' 돌출부, 또는 1 내지 3개의 뉴클레오타이드의 3' 돌출부를 함유하도록 쌍형성된, 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 함유할 수 있다. 돌출부는, 한쪽 가닥이 다른 한쪽 가닥보다 더 긴 것으로 인한 결과일 수 있거나, 또는 동일한 길이의 2개의 가닥이 엇갈린 것으로 인한 결과일 수 있다. 일부 실시 형태는 적어도 하나의 3' 돌출부를 가질 것이다. 실시 형태에서, siRNA 분자의 양쪽 단부는 3' 돌출부를 가질 것이다. 돌출부는 2개의 뉴클레오타이드일 수 있다.
- [0652] 이중체화된 영역에 대한 길이는, 예를 들어 상기에 논의된 ssiRNA(점착성 돌출부를 갖는 siRNA) 화합물 범위에서 약 15 내지 약 30개, 또는 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 또는 약 23개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. ssiRNA 화합물은 길이 및 구조에 있어서, 긴 dsRNA로부터 천연 Dicer 가공된 생성물과 유사할 수 있다. ssiRNA 화합물의 2개의 가닥이 연결되는, 예를 들어 공유적으로 연결되는 실시 형태가 또한 포함된다. 이중 가닥 영역 및 3' 돌출부를 제공하는 헤어핀, 또는 다른 단일 가닥 구조가 포함된다.
- [0653] 이중 가닥 siRNA 화합물 및 단일 가닥 siRNA 화합물을 포함한, 본 명세서에 기재된 siRNA 화합물은 표적 RNA, 예를 들어 mRNA, 예를 들어 단백질을 인코딩하는 유전자의 전사체의 침묵을 매개할 수 있다. 편의상, 그러한 mRNA는 본 명세서에서 침묵시키려는 mRNA로도 지칭된다. 그러한 유전자는 표적 유전자로도 지칭된다. 일반적으로, 침묵시키려는 RNA는 내인성 유전자이다.
- [0654] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "RNAi를 매개한다"는 서열 특이적 방식으로 표적 RNA를 침묵시킬 수 있는 능력을 지칭한다. 이론에 의해 구애되고자 함이 없이, 침묵은 RNAi 기구 또는 프로세스 및 가이드 RNA, 예

를 들어, 약 21 내지 약 23개의 뉴클레오타이드의 siRNA 화합물을 사용하는 것으로 여겨진다.

[0655] 표적 RNA, 예를 들어 표적 mRNA에 "충분히 상보적인" siRNA 화합물은 표적 mRNA에 의해 인코딩되는 단백질의 생성을 침묵시킬 수 있다. 관심 단백질을 인코딩하는 RNA에 "충분히 상보적인" siRNA 화합물은 mRNA에 의해 인코딩되는 관심 단백질의 생성을 침묵시킬 수 있다. siRNA 화합물은 표적 RNA에 "정확하게 상보적"일 수 있으며, 예를 들어 표적 RNA와 siRNA 화합물은 어닐링되어, 예를 들어 정확한 상보성을 가진 영역 내에서 오로지 왓슨-크릭 염기쌍만으로 이루어진 혼성체를 형성할 수 있다. "충분히 상보적인" 표적 RNA는 표적 RNA에 정확하게 상보적인 내부 영역(예를 들어, 적어도 약 10개의 뉴클레오타이드)을 포함할 수 있다. 실시 형태에서, siRNA 화합물은 단일-뉴클레오타이드 차이를 특이적으로 구별한다. 이러한 경우, siRNA 화합물은 단일-뉴클레오타이드 차이를 갖는 영역에서(예를 들어, 이의 7개의 뉴클레오타이드 이내에서) 정확한 상보성이 발견되는 경우에만 매개한다.

[0656] *마이크로RNA*

[0657] 치료용 모이어티는 마이크로RNA 분자일 수 있다. 마이크로RNA(miRNA)는 식물 및 동물의 게놈에서 DNA로부터 전사되지만 단백질로 번역되지 않는 짧은 RNA 분자의 고도로 보존된 부류이다. 처리된 miRNA는, RNA-유도 침묵 복합체(RISC) 내로 도입되게 되고 발달, 세포 증식, 아포토시스 및 분화의 주요 조절인자로서 확인된 단일 가닥의 17 내지 25개의 뉴클레오타이드(nt) RNA이다. 이들은 특이적 mRNA의 3'-비번역 영역에 결합함으로써 유전자 발현의 조절에 있어서 역할을 하는 것으로 여겨진다. RISC는 번역 억제, 전사체 절단, 또는 둘 모두를 통한 유전자 발현의 하향조절을 매개한다. RISC는 또한 광범위한 진핵생물의 핵에서의 전사 침묵화에 관여한다.

[0658] *안타고미르*

[0659] 치료용 모이어티는 안타고미르일 수 있다. 안타고미르는 RNase 보호 및 약리학적 특성에 대한 다양한 변형, 예컨대 향상된 조직 및 세포 흡수를 갖는 RNA-유사 올리고뉴클레오타이드이다. 이들은, 예를 들어, 당의 완전한 2'-O-메틸화, 포스포로티오에이트 골격, 및, 이를 테면 3' 단부에서의 콜레스테롤 모이어티에 의해 정상 RNA와 상이하다. 안타고미르는, 안타고미르 및 내인성 miRNA를 포함하는 이중체를 형성함으로써 내인성 miRNA를 효율적으로 침묵시켜, miRNA-유도 유전자 침묵을 방해하는 데 사용될 수 있다. 안타고미르-매개 miRNA 침묵의 예는 문헌[Krutzfeldt et al., Nature, 2005, 438: 685-689]에 기재된 miR-122의 침묵이며, 이 문헌은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 안타고미르 RNA는 표준 고상(solid phase) 올리고뉴클레오타이드 합성 프로토콜을 사용하여 합성될 수 있다. 미국 특허 출원 제11/502,158호 및 제11/657,341호(각각의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)를 참조한다.

[0660] 안타고미르는 리간드-접합된 단량체 하위단위 및 올리고뉴클레오타이드 합성을 위한 단량체를 포함할 수 있다. 단량체는 2004년 8월 10일자로 출원된 미국 특허 출원 제10/916,185호에 기재되어 있다. 안타고미르는 2004년 3월 8일자로 출원된 PCT 출원 PCT/US 2004/07070호에 기재된 바와 같은 ZXY 구조를 가질 수 있다. 안타고미르는 양친매성 모이어티와 복합체화될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 작용체와 함께 사용하기 위한 양친매성 모이어티는 2004년 3월 8일자로 출원된 PCT 출원 PCT/US2004/07070호에 기재되어 있다.

[0661] *압타머*

[0662] 치료용 모이어티는 압타머일 수 있다. 압타머는 높은 친화도 및 특이성으로 특정 관심 분자에 결합하는 핵산 또는 펩티드 분자이다(문헌[Tuerk and Gold, Science 249:505 (1990)]; 문헌[Ellington and Szostak, Nature 346:818 (1990)]). DNA 또는 RNA 압타머가 성공적으로 생성되어 왔으며, 이들은 큰 단백질로부터 유기 소분자까지 많은 각종 물질에 결합한다. 문헌[Eaton, Curr. Opin. Chem. Biol. 1: 10-16 (1997)], 문헌[Famulok, Curr. Opin. Struct. Biol. 9:324-9(1999)], 및 문헌[Hermann and Patel, Science 287:820-5 (2000)]을 참조한다. 압타머는 RNA 또는 DNA 기반일 수 있으며, 리보스위치(riboswitch)를 포함할 수 있다. 리보스위치는 mRNA 분자의 일부로서, 이는 표적 소분자에 직접 결합할 수 있고 표적에 대한 이의 결합은 유전자의 활성화에 영향을 준다. 따라서, 리보스위치를 함유하는 mRNA는 그의 표적 분자의 존재 또는 부재에 따라 그 자신의 활성을 조절하는 데 직접 관여된다. 일반적으로, 압타머는 다양한 분자 표적, 예컨대 소분자, 단백질, 핵산, 및 심지어 세포, 조직 및 유기체에 결합하도록 반복된 라운드의 시험관내 선택, 또는 등가적으로, SELEX(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, 지수적 풍부화에 의한 리간드의 체계적 진화)를 통해 조작된다. 압타머는 합성, 재조합, 및 정제 방법을 포함한 임의의 알려진 방법에 의해 제조될 수 있으며, 단독으로 사용되거나 동일한 표적에 특이적인 다른 압타머와 조합하여 사용될 수 있다. 추가로, 용어 "압타머"는 또한 2개 이상의 알려진 압타머를 주어진 표적과 비교하는 것으로부터 유래된 컨센서스 서열을 함유하는 "2차 압타머"를 포함한다. 압타머는 세포내 표적을 특이적으로 인식하는 "세포내 압타머" 또는 "인트라머(intramer)"일

수 있다. 문헌[Famulok et al., Chem Biol. 2001, Oct, 8(10):931-939]; 문헌[Yoon and Rossi, Adv Drug Deliv Rev. 2018, Sep, 134:22-35]을 참조하며, 각각은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0663] 리보자임

[0664] 치료용 모이어티는 리보자임일 수 있다. 리보자임은 엔도뉴클레아제 활성을 갖는 특정 촉매 도메인을 갖는 RNA 분자 복합체이다(문헌[Kim and Cech, Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Dec;84(24):8788-92]; 문헌[Forster and Symons, Cell. 1987 Apr 24;49(2):211-20]). 예를 들어, 다수의 리보자임은 고도의 특이성으로 포스포에스테르 전달 반응을 가속시켜, 종종 올리고뉴클레오타이드 기질 내의 몇몇 포스포에스테르 중 하나만을 절단한다(문헌[Cech et al, cell. 1981 Dec;27(3 Pt 2):487-96]; 문헌[Michel and Westhof, J Mol Biol. 1990 Dec 5;216(3):585-610]; 문헌[Reinhold-Hurek and Shub, Nature. 1992 May 14;357(6374): 173-6]). 이러한 특이성은 기질이 화학 반응 전에 리보자임의 내부 가이드 서열("IGS")에 특이적 염기쌍 형성 상호작용을 통해 결합하는 요건에 기인되어 왔다.

[0665] 자연 발생 효소적 RNA의 적어도 6가지의 염기성 변종이 현재 알려져 있다. 각각은 생리학적 조건 하에서 트랜스로 RNA 포스포다이에스테르 결합의 가수분해를 촉매할 수 있다(그리고 이로써 다른 RNA 분자를 절단할 수 있다). 일반적으로, 효소적 핵산은 먼저 표적 RNA에 결합함으로써 작용한다. 그러한 결합은, 표적 RNA를 절단하도록 작용하는 분자의 효소적 부분에 근접하게 유지되어 있는, 효소적 핵산의 표적 결합 부분을 통해 일어난다. 따라서, 효소적 핵산은 먼저 상보적 염기쌍 형성을 통해 표적 RNA를 인식하고 이어서 이에 결합하고, 일단 정확한 부위에 결합되면, 표적 RNA를 절단하도록 효소적으로 작용한다. 그러한 표적 RNA의 전략적 절단은 인코딩된 단백질의 합성을 유도하는 이의 능력을 파괴할 것이다. 효소적 핵산이 이의 RNA 표적에 결합하고 이를 절단한 후에, 그것은 그 RNA로부터 방출되어 다른 표적을 검색하고 반복적으로 새로운 표적에 결합하고 이를 절단할 수 있다.

[0666] 효소적 핵산 분자는, 예를 들어 헤머헤드, 헤어핀, 간염 δ 바이러스, 제I군 인트론 또는 RNaseP RNA(RNA 가이드 사열과 회합된 상태) 또는 Neurospora VS RNA 모티프 형태로 형성될 수 있다. 헤머헤드 모티프의 구체적인 예는 문헌[Rossi et al. Nucleic Acids Res. 1992 Sep 11;20(17):4559-65]에 기재되어 있다. 헤어핀 모티프의 예는 문헌[Hampel et al. (유럽 특허 출원 공개 EP 0360257호)], 문헌[Hampel and Tritz, Biochemistry 1989 Jun 13;28(12):4929-33]; 문헌[Hampel et al, Nucleic Acids Res. 1990 Jan 25;18(2):299-304] 및 미국 특허 제5,631,359호에 기재되어 있다. 간염 바이러스 모티프의 예는 문헌[Perrotta and Been, Biochemistry. 1992 Dec 1;31(47): 11843-52]에 기재되어 있으며; RNaseP 모티프의 예는 문헌[Guerrier-Takada et al, Cell. 1983 Dec;35(3 Pt 2):849-57]에 기재되어 있으며; Neurospora VS RNA 리보자임 모티프는 문헌[Collins (Saville and Collins, Cell. 1990 May 18;61(4):685-96]; 문헌[Saville and Collins, Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 Oct 1;88(19):8826-30]; 문헌[Collins and Olive, Biochemistry. 1993 Mar 23;32(11):2795-9]에 기재되어 있으며; 제I군 인트론의 예는 미국 특허 제4,987,071호에 기재되어 있다. 효소적 핵산 분자는 표적 유전자 DNA 또는 RNA 영역 중 하나 이상에 상보적인 특이적 기질 결합 부위를 가질 수 있으며, 이들은 그러한 기질 결합 부위 내에 또는 그 주위에 그 분자에 대해 RNA 절단 활성을 부여하는 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 따라서, 리보자임 작제물은 본 명세서에 언급된 특정 모티프로 제한될 필요는 없다.

[0667] 폴리뉴클레오타이드 서열에 표적화된 리보자임을 생성하는 방법은 당업계에 알려져 있다. 리보자임은 국제 특허 출원 공개 WO 93/23569호 및 국제 특허 출원 공개 WO 94/02595호(각각은 구체적으로 본 명세서에 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같이 설계될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 바와 같이 시험관내 및 생체내에서 시험되도록 합성될 수 있다.

[0668] 리보자임 활성은 리보자임 결합 아암의 길이를 변경시킴으로써, 또는 혈청 리보뉴클레아제에 의한 분해를 방지하는 변형(예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 92/07065호; 국제 특허 출원 공개 WO 93/15187호; 국제 특허 출원 공개 WO 91/03162호; 유럽 특허 출원 공개 제92110298.4호; 미국 특허 제5,334,711호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 94/13688호를 참조하며, 이들은 효소적 RNA 분자의 당 모이어티에 대해 이루어질 수 있는 다양한 화학적 변형을 기재함), 세포에서 효능을 향상시키는 변형, 및 RNA 합성 시간을 단축시키고 화학적 요건을 감소시키기 위한 줄기 II 염기(stem II base)의 제거를 갖도록 리보자임을 화학적으로 합성함으로써 증가될 수 있다.

[0669] 면역자극성 올리고뉴클레오타이드

[0670] 치료용 모이어티는 면역자극성 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. 면역자극성 올리고뉴클레오타이드(ISS; 단일 가닥 또는 이중 가닥)는 환자 - 이는 포유동물 또는 다른 환자일 수 있음 - 에게 투여될 때 면역 반응을 유도할 수

있다. ISS는, 예를 들어, 헤어핀 2차 구조로 이어지는 소정 회문서열(palindrome)(문헌[Yamamoto S., et al. (1992) J. Immunol. 148: 4072-4076] 참조), 또는 CpG 모티프뿐만 아니라, 다른 알려진 ISS 특징(예컨대, 멀티-G 도메인, 국제 특허 출원 공개 WO 96/11266호 참조)을 포함한다.

- [0671] 면역 반응은 선천 또는 적응 면역 반응일 수 있다. 면역 시스템은 척추동물의 더 선천적인 면역 시스템 및 획득된 적응 면역 시스템으로 세분되며, 이의 후자는 체액성 세포 성분으로 추가로 세분된다. 면역 반응은 점막 면역 반응일 수 있다.
- [0672] 면역자극성 핵산은 그것이 면역 반응을 유발하기 위하여 표적 폴리뉴클레오티드에 특이적으로 결합하고 이의 발현을 감소시키는 것을 필요로 하지 않을 때 서열 비특이적인 것으로 간주된다. 따라서, 소정 면역자극성 핵산은 자연 발생 유전자 또는 mRNA의 영역에 상응하는 서열을 포함할 수 있지만, 이들은 여전히 서열 비특이적 면역자극성 핵산으로 간주될 수 있다.
- [0673] 면역자극성 핵산 또는 올리고뉴클레오티드는 적어도 하나의 CpG 다이뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드 또는 CpG 다이뉴클레오티드는 비메틸화 또는 메틸화될 수 있다. 면역자극성 핵산은 메틸화된 시토신을 갖는 적어도 하나의 CpG 다이뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 핵산은 단일 CpG 다이뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 여기서는 상기 CpG 다이뉴클레오티드 내의 시토신이 메틸화된다. 핵산은 서열 5' TAACGTTGAGGG'CAT 3'을 포함할 수 있다. 핵산은 적어도 2개의 CpG 다이뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 여기서는 CpG 다이뉴클레오티드 내의 적어도 하나의 시토신이 메틸화된다. 서열에 존재하는 CpG 다이뉴클레오티드 내의 각각의 시토신은 메틸화될 수 있다. 핵산은 복수의 CpG 다이뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 여기서는 상기 CpG 다이뉴클레오티드의 적어도 하나가, 메틸화된 시토신을 포함한다.
- [0674] 상기 조성물 및 방법에 사용하기에 적합한 올리고뉴클레오티드(ODN)의 추가적인 특정 핵산 서열이 문헌[Raney et al, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 298:1185-1192 (2001)]에 기재되어 있다. 상기 조성물 및 방법에 사용되는 ODN은 포스포다이에스테르("PO") 골격 또는 포스포로티오에이트("PS") 골격, 및/또는 CpG 모티프 내의 적어도 하나의 메틸화된 시토신 잔기를 가질 수 있다.
- [0675] *유인 올리고뉴클레오티드*
- [0676] 치료용 모이어티는 유인 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 전사 인자는 주위 게놈 DNA의 부재 하에서도 그들의 비교적 짧은 결합 서열을 인식하기 때문에, 특정 전사 인자의 컨센서스 결합 서열을 보유하는 짧은 올리고뉴클레오티드가 살아있는 세포에서 유전자 발현을 조작하기 위한 툴로서 사용될 수 있다. 이 전략은 그러한 "유인 올리고뉴클레오티드"의 세포내 전달을 수반하며, 이어서 이는 표적 인자에 의해 인식되고 결합된다. 유인제에 의한 전사 인자의 DNA-결합 부위의 점유는 전사 인자가 표적 유전자의 프로모터 영역에 후속으로 결합하는 것을 불가능하게 한다. 유인제는 치료제로서 사용되어, 전사 인자에 의해 활성화되는 유전자의 발현을 억제하거나, 또는 전사 인자의 결합에 의해 억제되는 유전자를 상향조절할 수 있다. 유인 올리고뉴클레오티드의 이용의 예는 문헌[Mann et al., J. Clin. Invest, 2000, 106: 1071-1075]에서 찾아볼 수 있으며, 이는 전체적으로 본 명세서에 명시적으로 참고로 포함된다.
- [0677] *슈퍼미르*
- [0678] 치료용 모이어티는 슈퍼미르일 수 있다. 슈퍼미르는 리보핵산(RNA) 또는 데옥시리보핵산(DNA) 또는 둘 모두의 단일 가닥, 이중 가닥 또는 부분 이중 가닥 올리고머 또는 중합체, 또는 이들의 변형을 지칭하는 것으로, 이는, miRNA와 실질적으로 동일하고 이의 표적에 대해 안티센스인 뉴클레오티드 서열을 갖는다. 이 용어는, 자연 발생 핵염기, 당 및 공유 뉴클레오시드간(골격) 결합으로 구성되고, 유사하게 기능하는 적어도 하나의 비자연 발생 부분을 포함하는 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 그러한 변형된 또는 치환된 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 향상된 세포 흡수, 핵산 표적에 대한 향상된 친화성 및 뉴클레아제의 존재 하에서의 증가된 안정성과 같은 바람직한 특성을 갖는다. 슈퍼미르는 센스 가닥을 포함하지 않을 수 있다. 슈퍼미르는 상당한 정도까지 자가-혼성화되지 않을 수 있다. 슈퍼미르는 2차 구조를 가질 수 있지만, 이는 생리학적 조건 하에서 실질적으로 단일 가닥이다. 실질적으로 단일 가닥인 슈퍼미르는 슈퍼미르의 약 50% 미만(예를 들어, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 10%, 또는 약 5% 미만)이 그 자체와 이중체화되는 정도까지 단일 가닥이다. 슈퍼미르는 헤어핀 세그먼트를 포함할 수 있으며, 예를 들어 서열, 예를 들어 3' 단부에 있는 서열은 자가 혼성화되어 이중체 영역, 예를 들어 약 1개, 약 2개, 약 3개, 또는 약 4개 이상 또는 약 8개, 약 7개, 약 6개, 또는 약 5개 미만의 뉴클레오티드, 또는 약 5개의 뉴클레오티드의 이중체 영역을 형성할 수 있다. 이중체화된 영역은 링커, 예를 들어 뉴클레오티드 링커, 예를 들어 약 3, 약 4, 약 5, 또는 약 6 dT, 예를 들어 변형된 dT에 의해 연결될 수 있다. 슈퍼

미르는, 예를 들어 3' 및 5' 단부 중 한쪽 또는 양쪽 단부에서 또는 슈퍼미르의 한쪽 단부에서 그리고 비말단 또는 중간에서 더 짧은 올리고, 예를 들어 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 또는 약 10개의 뉴클레오티드 길이의 올리고와 이중체화될 수 있다.

[0679] *miRNA 모방체*

[0680] 치료용 모이어티는 miRNA 모방체일 수 있다. miRNA 모방체는 하나 이상의 miRNA의 유전자 침묵 능력을 모방하는 데 사용될 수 있는 분자들의 부류를 나타낸다. 따라서, 용어 "마이크로RNA 모방체"는, RNAi 경로에 들어가고 유전자 발현을 조절할 수 있는 합성 비-코딩 RNA(즉, miRNA는 내인성 miRNA의 공급원으로부터의 정제에 의해 얻어지지 않음)를 지칭한다. miRNA 모방체는 성숙 분자(예를 들어, 단일 가닥) 또는 모방체 전구체(예를 들어, 1차(pri)- 또는 전-miRNA)로서 설계될 수 있다. miRNA 모방체는 올리고뉴클레오티드를 포함한 핵산(변형된 또는 변형된 핵산)을 포함할 수 있으며, 올리고뉴클레오티드에는, 제한 없이, RNA, 변형된 RNA, DNA, 변형된 DNA, 고정된 핵산, 또는 2'-O,4'-C-에틸렌-가교된 핵산(ENA), 또는 상기의 임의의 조합(DNA-RNA 혼성체를 포함함)이 포함된다. 또한, miRNA 모방체는 전달, 세포내 구획화, 안정성, 특이성, 작용성, 가닥 사용빈도(strand usage), 및/또는 효능에 영향을 줄 수 있는 접합체를 포함할 수 있다. 하나의 설계에서, miRNA 모방체는 (예를 들어, 약 16 내지 약 31개의 뉴클레오티드 길이의 이중체 영역을 갖는) 이중 가닥 분자이고, 주어진 miRNA의 성숙 가닥과 동일성을 갖는 하나 이상의 서열을 함유한다. 변형은 분자의 한쪽 또는 양쪽 가닥 상에서의 2' 변형(2'-O 메틸 변형 및 2' F 변형을 포함함), 및 핵산 안정성 및/또는 특이성을 향상시키는 뉴클레오티드간 변형(예를 들어, 포르포르티오에이트 변형)을 포함할 수 있다. 또한, miRNA 모방체는 돌출부를 포함할 수 있다. 돌출부는 어느 한쪽 가닥의 3' 또는 5' 단부 중 어느 하나의 단부 상에 약 1 내지 약 6개의 뉴클레오티드를 포함할 수 있고, 안정성 또는 기능성을 향상시키도록 변형될 수 있다. miRNA 모방체는 약 16 내지 약 31개의 뉴클레오티드 및 하기 화학적 변형 패턴들 중 하나 이상의 이중체 영역을 포함할 수 있다: 센스 가닥은 뉴클레오티드 1 및 2의 2'-O-메틸 변형(센스 올리고뉴클레오티드의 5' 단부로부터 계수함), 및 모든 C 및 U를 함유하고; 안티센스 가닥 변형은 모든 C 및 U의 2' F 변형, 올리고뉴클레오티드의 5' 단부의 인산화, 및 2 뉴클레오티드 3' 돌출부와 관련된 안정화된 뉴클레오티드간 결합을 포함할 수 있다.

[0681] *miRNA 억제제*

[0682] 치료용 모이어티는 miRNA 억제제일 수 있다. 용어 "안티미르", "마이크로RNA 억제제", "miR 억제제", 또는 "miRNA 억제제"는 동의어이며, 특정 miRNA의 능력을 방해하는 올리고뉴클레오티드 또는 변형된 올리고뉴클레오티드를 지칭한다. 일반적으로, 이 억제제는 올리고뉴클레오티드를 포함한, 본질적으로 핵산 또는 변형된 핵산으로서, 올리고뉴클레오티드에는 RNA, 변형된 RNA, DNA, 변형된 DNA, 고정된 핵산(LNA), 또는 상기의 임의의 조합이 포함된다.

[0683] 변형은 전달, 안정성, 특이성, 세포내 구획화, 또는 효능에 영향을 줄 수 있는 2' 변형(2'-O 알킬 변형 및 2' F 변형을 포함함) 및 뉴클레오티드간 변형(예를 들어, 포스포로티오에이트 변형을 포함)을 포함한다. 또한, miRNA 억제제는 전달, 세포내 구획화, 안정성, 및/또는 효능에 영향을 줄 수 있는 접합체를 포함할 수 있다. 억제제는 단일 가닥, 이중 가닥(RNA/RNA 또는 RNA/DNA 이중체), 및 헤어핀 설계를 포함한 다양한 입체구조를 채택할 수 있으며, 일반적으로, 마이크로RNA 억제제는 표적화되는 miRNA의 성숙 가닥(또는 가닥들)과 상보적이거나 부분 상보적인 하나 이상의 서열, 또는 서열의 일부분을 포함하며, 또한, miRNA 억제제는 성숙 miRNA의 역상보체인 서열에 대해 5' 및 3'에 위치된 추가의 서열을 또한 포함할 수 있다. 추가의 서열은 성숙 miRNA의 유래가 되는 1차-miRNA에서 성숙 miRNA에 인접한 서열의 역상보체일 수 있거나, 또는 추가의 서열은 (A, G, C, 또는 U의 조합을 갖는) 임의적인 서열일 수 있다. 추가의 서열 중 하나 또는 둘 모두는 헤어핀을 형성할 수 있는 임의적인 서열일 수 있다. miRNA의 역상보체인 서열은 헤어핀 구조에 의해 5' 측 및 3' 측에서 플랭킹될 수 있다. 마이크로-RNA 억제제는 이중 가닥일 때, 서로 반대인 가닥들 상의 뉴클레오티드들 사이에 불일치를 포함할 수 있다. 더욱이, 마이크로-RNA 억제제의 세포 내로의 억제제의 흡수를 촉진하기 위해 마이크로-RNA 억제제가 접합체 모이어티에 연결될 수 있다. 예를 들어, 마이크로-RNA 억제제는 콜레스테릴 5-(비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시)-3 하이드록시펜틸카르바메이트에 연결될 수 있는데, 이는 세포 내로의 마이크로-RNA 억제제의 수동적 흡수를 가능하게 한다. 헤어핀 miRNA 억제제를 포함한 마이크로-RNA 억제제는 문헌[Vermeulen et al., "Double-Stranded Regions Are Essential Design Components Of Potent Inhibitors of RISC Function," RNA 13: 723- 730 (2007)]에, 그리고 국제 특허 출원 공개 W02007/095387호 및 WO 2008/036825호에 상세히 기재되어 있으며, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 당업자는 원하는 miRNA에 대한 데이터베이스로부터 서열을 선택하고 본 명세서에 개시된 방법에 유용한 억제제를 설계할 수 있다.

- [0684] *안티센스 화합물(AC)*
- [0685] 치료용 모이머티는 표적 유전자의 번역 또는 발현의 하나 이상의 양상을 변경시킬 수 있는 안티센스 화합물(AC)을 포함한다. 안티센스 기술의 배후에 있는 원리는, 표적 핵산에 혼성화되는 안티센스 화합물이 다수의 안티센스 기전 중 하나를 통해 유전자 발현 활성화, 예컨대 번역을 조절한다는 것이다. 안티센스 기술은 하나 이상의 특정 유전자 산물의 발현을 변화시키기에 효과적인 수단이며, 이에 따라 다수의 치료적, 진단적, 및 연구 응용에 유용한 것으로 입증될 수 있다.
- [0686] 본 명세서에 기재된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있으며, 따라서 절대 입체화학의 관점에서 (R) 또는 (S), α 또는 β 로서, 또는 (D) 또는 (L)로서 정의될 수 있는 거울상 이성질체, 부분입체 이성질체, 및 다른 입체이성질체 형태를 발생시킬 수 있다. 본 명세서에 제공된 안티센스 화합물에는 모든 그러한 가능한 이성질체뿐만 아니라, 그들의 라세미 형태 및 광학적으로 순수한 형태가 포함된다.
- [0687] *안티센스 화합물 혼성화 부위*
- [0688] 안티센스 기전은 표적 핵산에 대한 안티센스 화합물의 혼성화에 의존한다.
- [0689] AC는 약 5 내지 약 50개의 핵산 길이의 서열과 혼성화될 수 있으며, 이는 AC의 길이로도 지칭될 수 있다. AC는 약 5 내지 약 10개, 약 10 내지 약 15개, 약 15 내지 약 20개, 약 20 내지 약 25개, 약 25 내지 약 30개, 약 30 내지 약 35개, 약 35 내지 약 40개, 약 40 내지 약 45개, 또는 약 45 내지 약 50개의 핵산 길이일 수 있다. AC는 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 약 30개, 약 31개, 약 32개, 약 33개, 약 34개, 약 35개, 약 36개, 약 37개, 약 38개, 약 39개, 약 40개, 약 41개, 약 42개, 약 43개, 약 44개, 약 45개, 약 46개, 약 47개, 약 48개, 약 49개, 또는 약 50개의 핵산 길이일 수 있다. AC는 약 10개의 핵산 길이일 수 있다. AC는 약 15개의 핵산 길이일 수 있다. AC는 약 20개의 핵산 길이일 수 있다. AC는 약 25개의 핵산 길이일 수 있다. AC는 약 30개의 핵산 길이일 수 있다.
- [0690] AC는 표적 핵산 서열과 약 100% 미만으로 상보적일 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "% 상보적"은 올리고머성 화합물 또는 핵산의 상응하는 핵염기와 핵염기 상보성을 갖는 AC의 핵염기의 수를 AC의 총 길이(핵염기의 수)로 나눈 값을 지칭한다. 당업자는 안티센스 화합물의 활성을 없애지 않으면서 불일치의 포함이 가능성을 인식한다. AC는 표적 핵산에 대한 AC의 염기쌍 형성을 파괴하는 최대 약 20%의 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. AC는 약 15% 이하, 약 10% 이하, 5% 이하의 불일치를 함유할 수 있거나, 또는 불일치를 함유하지 않을 수 있다. AC는 표적 핵산에 대해 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 약 100% 상보적일 수 있다. 올리고뉴클레오티드의 % 상보성은 상보적 핵염기의 수를 올리고뉴클레오티드의 핵염기의 총수로 나눔으로써 계산된다. 올리고뉴클레오티드의 영역의 % 상보성은 영역 내의 상보적 핵염기의 수를 영역 내의 핵염기의 총수로 나눔으로써 계산된다.
- [0691] 뉴클레오티드 친화성 변형의 도입은 비변형된 화합물과 대비하여 더 많은 수의 불일치를 허용할 수 있다. 유사하게, 소정 올리고뉴클레오티드 서열은 다른 올리고뉴클레오티드 서열보다 불일치에 대해 더 내성일 수 있다. 당업자는 올리고뉴클레오티드들 사이, 또는 올리고뉴클레오티드와 표적 핵산 사이의 적절한 수의 불일치를, 예를 들어 용융 온도(T_m)를 결정함으로써 결정할 수 있다. T_m 또는 ΔT_m 은 당업자에게 친숙한 기법에 의해 계산될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Freier et al. (Nucleic Acids Research, 1997, 25, 22: 4429-4443)]에 기재된 기법은 당업자가 RNA:DNA 이중체의 용융 온도를 증가시킬 수 있는 뉴클레오티드 변형의 능력에 대해 뉴클레오티드 변형을 평가할 수 있게 한다.
- [0692] *안티센스 기전*
- [0693] 본 발명에 따른 AC는 단백질 전사, 번역, 및 발현의 하나 이상의 양상을 조절할 수 있다.
- [0694] AC는 입체 차단(steric blocking)을 통해 전사, 번역, 또는 단백질 발현을 조절할 수 있다. 하기 리뷰 논문은 입체 차단 기전 및 이의 응용을 기재하며, 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다: 문헌[Roberts et al. Nature Reviews Drug Discovery (2020) 19: 673-694].
- [0695] 안티센스 기전은 안티센스 화합물과 표적 핵산의 혼성화를 통해 기능한다. AC는 그의 표적 서열에 혼성화되고 표적 단백질의 발현을 하향조절할 수 있다. AC는 그의 표적 서열에 혼성화되어 하나 이상의 표적 단백질 이성

질체의 발현을 하향조절할 수 있다. AC는 그의 표적 서열에 혼성화되어 표적 단백질의 발현을 상향조절할 수 있다. AC는 그의 표적 서열에 혼성화되어 하나 이상의 표적 단백질 이성질체의 발현을 증가시킬 수 있다.

[0696] AC의 효능은 이들의 투여에 의해 달성되는 안티센스 활성을 평가함으로써 평가될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "안티센스 활성"은 안티센스 화합물의 그의 표적 핵산에 대한 혼성화에 기인할 수 있는 임의의 검출가능한 그리고/또는 측정가능한 활성을 지칭한다. 그러한 검출 및 또는 측정은 직접적 또는 간접적으로 수행될 수 있다. 실시 형태에서, 안티센스 활성은 표적 단백질의 양을 검출 및/또는 측정함으로써 평가된다. 안티센스 활성은 표적 핵산의 양을 검출 및/또는 측정함으로써 평가될 수 있다.

[0697] *안티센스 화합물 설계*

[0698] 본 발명에 따른 AC의 설계는 표적화되는 서열에 따라 좌우될 것이다. AC를 특정 표적 핵산 분자에 대해 표적화하는 것은 다단계 공정일 수 있다. 상기 공정은 조절하려는 발현을 갖는 표적 핵산의 확인으로 통상 시작한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "표적 핵산" 및 "표적 유전자를 인코딩하는 핵산"은 선택된 표적 유전자를 인코딩하는 DNA, 그러한 DNA로부터 전사된 RNA(전-mRNA 및 mRNA를 포함함), 및 또한 그러한 RNA로부터 유래되는 cDNA를 포함한다.

[0699] 당업자는 안티센스 활성을 가져오는 서열을 확인하기 위해 상이한 핵염기 서열들의 안티센스 화합물들을 설계, 합성, 및 스크리닝할 수 있을 것이다. 예를 들어, 표적 단백질의 발현을 억제하는 안티센스 화합물을 설계할 수 있다. 미리 선택된 표적 핵산에 대한 안티센스 활성을 위한 안티센스 화합물을 설계, 합성 및 스크리닝하기 위한 방법은, 예를 들어 문헌["Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" Edited by Stanley T. Crooke, CRC Press, Boca Raton, Florida]에서 찾아볼 수 있으며, 이는 임의의 목적을 위하여 전체적으로 참고로 포함된다.

[0700] 약 8 내지 약 30개의 연결된 뉴클레오시드를 포함하는 안티센스 화합물이 제공된다. 안티센스 화합물은 변형된 뉴클레오시드, 변형된 뉴클레오시드간 결합 및/또는 접합기(conjugate group)를 포함할 수 있다.

[0701] 안티센스 화합물은 "트라이사이클로-DNA(tc-DNA)"일 수 있으며, 이는, 각각의 뉴클레오티드가 사이클로프로판 고리의 도입에 의해 변형되어 골격의 입체구조적 가요성을 제한하고 비틀림각 γ 의 골격 기하구조를 향상시키는 구속성 DNA 유사체들의 부류를 지칭한다. 동종염기성 아데닌- 및 티민-함유 tc-DNA는 상보적 RNA와 매우 안정한 A-T 염기쌍을 형성한다.

[0702] *뉴클레오시드*

[0703] 안티센스 화합물은 연결된 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 뉴클레오시드의 일부 또는 전부는 변형된 뉴클레오시드일 수 있다. 하나 이상의 뉴클레오시드는 변형된 핵염기를 포함할 수 있다. 하나 이상의 뉴클레오시드는 변형된 당을 포함할 수 있다. 화학적으로 변형된 뉴클레오시드는 뉴클레아제 저항성, 약동학적 특성 또는 표적 RNA에 대한 친화도와 같은 하나 이상의 특성을 향상시키기 위해 안티센스 화합물 내로의 도입에 일상적으로 사용된다. 뉴클레오시드의 비제한적인 예는 문헌[Khvorova et al. Nature Biotechnology (2017) 35: 238-248]에 제공되어 있으며, 이는 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0704] 일반적으로, 핵염기는 다른 핵산의 염기에 대한 수소 결합이 가능한 하나 이상의 원자 또는 원자들의 기를 함유하는 임의의 기이다. "비변형" 또는 "천연 핵염기, 예컨대 퓨린 핵염기, 즉, 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘 핵염기, 즉, 티민(T), 시토신(C) 및 우라실(U)에 추가하여, 당업자에게 알려진 많은 변형된 핵염기 또는 핵염기 모방체가 본 명세서에 기재된 화합물에 적합할 수 있다. 용어 '변형된 핵염기'와 '핵염기 모방체'는 중첩될 수 있지만, 일반적으로 변형된 핵염기는 구조에 있어서 모체 핵염기와 상당히 유사한 핵염기, 예컨대 7-데아자 퓨린, 5-메틸 시토신, 또는 G-클램프를 지칭하는 반면, 핵염기 모방체는, 예를 들어 트라이사이클릭 페녹사진 핵염기 모방체와 같은 더 복잡한 구조를 포함할 것이다. 상기 언급된 변형된 핵염기의 제조 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0705] AC는 변형된 당 모이어티를 갖는 하나 이상의 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 천연 뉴클레오시드의 푸라노실 당 고리는 다수의 방법으로 변형될 수 있으며, 이러한 방법에는 치환기의 부가, 2개의 같은 자리가 아닌(non-geminal) 고리 원자를 가교하여 바이사이클릭 핵산(BNA)을 형성, 및 4'-위치의 고리 산소를 대신하여 원자 또는 기, 예컨대 -S-, -N(R)- 또는 -C(R1)(R2)로의 치환이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 변형된 당 모이어티는 잘 알려져 있으며, 표적에 대한 안티센스 화합물의 친화도를 변경, 전형적으로 증가시키고/시키거나 뉴클레아제 저항성을 증가시키는 데 사용될 수 있다. 변형된 당의 대표적인 목록은 비-바이사이클릭 치환된 당, 특히 2'-

F, 2'-OCH₃ 또는 2'-O(CH₂)₂-OCH₃ 치환기를 갖는 비-바이사이클릭 2'-치환된 당; 및 4'-티오 변형된 당을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 당은 또한 특히 당 모방체 기로 대체될 수 있다. 변형된 당의 제조 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 그러한 변형된 당의 제조를 교시하는 일부 대표적인 특허 및 간행물은 미국 특허 제 4,981,957호; 제5,118,800호; 제5,319,080호; 제5,359,044호; 제5,393,878호; 제5,446,137호; 제5,466,786호; 제5,514,785호; 제5,519,134호; 제5,567,811호; 제5,576,427호; 제5,591,722호; 제5,597,909호; 제5,610,300호; 제5,627,053호; 제5,639,873호; 제5,646,265호; 제5,658,873호; 제5,670,633호; 제5,792,747호; 제5,700,920호; 및 제6,600,032호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 2005/121371호를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0706] 뉴클레오시드는 바이사이클릭 변형된 당(BNA)을 포함할 수 있으며, 이에 LNA(4'-(CH₂)-O-2' 가교), 2'-티오-LNA(4'-(CH₂)-S-2' 가교), 2'-아미노-LNA(4'-(CH₂)-NR-2' 가교), ENA(4'-(CH₂)₂-O-2' 가교), 4'-(CH₂)₃-2' 가교된 BNA, 4'-(CH₂CH(CH₃))-2' 가교된 BNA, cEt(4'-(CH(CH₃))-O-2' 가교), 및 cMOE BNA(4'-(CH(CH₂OCH₃))-O-2' 가교)가 포함된다. 소정의 그러한 BNA가 특허 문헌뿐만 아니라 과학 문헌에도 제조되어 왔고 개시되어 있다(예를 들어, 문헌[Srivastava, et al. J. Am. Chem. Soc. 2007, ACS Advanced online publication, 10.1021/ja071106y]; 문헌[Albaek et al. J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740]; 문헌[Fluiter, et al. ChemBiochem 2005, 6, 1104-1109]; 문헌[Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456]; 문헌[Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630]; 문헌[Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638]; 문헌[Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222]; 국제 특허 출원 공개 WO 94/14226호; WO 2005/021570호; 문헌[Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039], 국제 특허 출원 공개 WO 2007/090071호 참조). BNA를 개시하는 허여된 미국 특허 및 공개된 출원의 예에는, 예를 들어 미국 특허 제7,053,207호; 제6,268,490호; 제6,770,748호; 제6,794,499호; 제7,034,133호; 및 제6,525,191호; 및 미국 사전 허가 공보 제2004-0171570호; 제2004-0219565호; 제2004-0014959호; 제2003-0207841호; 제2004-0143114호; 및 제20030082807호가 포함된다.

[0707] "고정된 핵산"(LNA)이 본 명세서에 또한 제공되는데, 여기서는 리보실 당 고리의 2'-하이드록실 기가 당 고리의 4' 탄소 원자에 연결되며, 그럼으로써 2'-C,4'-C-옥시메틸렌 결합을 형성하여 바이사이클릭 당 모이어티를 형성한다(문헌[Elayadi et al., Curr. Opinion Inven. Drugs, 2001, 2, 558-561]; 문헌[Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8 1-7]; 및 문헌[Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243]에 검토되어 있으며; 미국 특허 제6,268,490호 및 제6,670,461호를 또한 참조한다). 결합은 2' 산소 원자와 4' 탄소 원자를 가교하는 메틸렌(-CH₂-) 기일 수 있으며, 이에 대하여 용어 LNA는 바이사이클릭 모이어티에 대해 사용되며; 이 위치에서 에틸렌 기의 경우에는, 용어 ENA™이 사용된다(문헌[Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456]; 문헌[ENA™: Morita et al., Bioorganic Medicinal Chemistry, 2003, 11, 2211-2226]). LNA 및 다른 바이사이클릭 당 유사체는 상보적 DNA 및 RNA에 대한 매우 높은 이중체 열안정성(Tm = +3 내지 +10°C), 3'-외부 핵산분해성(exonucleolytic) 분해에 대한 안정성, 및 우수한 가용성 특성을 나타낸다. LNA를 함유하는 강력한 비독성 안티센스 올리고뉴클레오티드가 기재되어 있다(문헌[Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638]).

[0708] 또한 연구되어 온 LNA의 이성질체가 알파-L-LNA인데, 이는 3'-엑소뉴클레아제에 대해 월등한 안정성을 갖는 것으로 밝혀져 있다. 알파-L-LNA를 안티센스 갭머(gapmer) 및 키메라 내로 도입시켰으며, 이는 강력한 안티센스 활성을 나타내었다(문헌[Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372]).

[0709] LNA 단량체, 즉, 아데닌, 시토신, 구아닌, 5-메틸-시토신, 티민 및 우라실의 합성 및 제조가, 이들의 올리고머화, 및 핵산 인식 특성과 함께 기재되어 있다(문헌[Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630]). LNA 및 이의 제조가 또한 국제 특허 출원 공개 WO 98/39352호 및 WO 99/14226호에 기재되어 있다.

[0710] LNA의 유사체, 즉, 포스포로티오에이트-LNA 및 2'-티오-LNA가 또한 제조되어 왔다(문헌[Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222]). 핵산 폴리머라제에 대한 기질로서 올리고테옥시리보뉴클레오티드 이중체를 함유하는 고정된 뉴클레오시드 유사체의 제조가 또한 기재되어 있다(문헌[Wengel et al., WO 99/14226]). 더욱이, 신규한 입체구조적으로 제한된 고친화성 올리고뉴클레오티드 유사체인 2'-아미노-LNA의 합성은 당업계에 기재되어 있다(문헌[Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039]). 또한, 2'-아미노- 및 2'-메틸아미노-LNA가 제조되어 왔으며, 상보적 RNA 및 DNA 가닥과의 이들의 이중체의 열안정성은 이전에 보고되어 있다.

- [0711] 뉴클레오시드간 결합
- [0712] 뉴클레오시드들 또는 달리 변형된 단량체 단위들을 함께 연결하여 안티센스 화합물을 형성하는 뉴클레오시드간 연결기가 본 명세서에 기재된다. 뉴클레오시드간 연결기의 2개의 주요 부류는 인 원자의 존재 또는 부재에 의해 정의된다. 대표적인 인 함유 뉴클레오시드간 결합은 포스포다이에스테르, 포스포트라이에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포르아미데이트, 및 포스포로티오에이트를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 대표적인 인 비함유 뉴클레오시드간 연결기는 메틸렌메틸이미노(-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-), 티오다이에스테르(-O-C(O)-S-), 티오카르바메이트(-O-C(O)(NH)-S-); 실록산(-O-Si(H)₂-O-); 및 N,N'-다이메틸하이드라진(-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-)을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 비-인 뉴클레오시드간 연결기를 갖는 안티센스 화합물은 올리고뉴클레오시드로 지칭된다. 포스포다이에스테르 결합과 대비하여, 변형된 뉴클레오시드간 결합은 안티센스 화합물의 뉴클레아제 저항성을 변경시키는 데, 전형적으로 증가시키는 데 사용될 수 있다. 키랄 원자를 갖는 뉴클레오시드간 결합은 라세미 형태, 키랄 형태로, 또는 혼합물로서 제조될 수 있다. 대표적인 키랄 뉴클레오시드간 결합은 알킬포스포네이트 및 포스포로티오에이트를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 인-함유 및 인-비함유 결합의 제조 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.
- [0713] 포스페이트 기가 당의 2', 3' 또는 5' 하이드록실 모이어티에 연결될 수 있다. 올리고뉴클레오티드를 형성함에 있어서, 포스페이트 기는 인접한 뉴클레오시드들을 서로 공유적으로 연결하여 선형 중합체 화합물을 형성한다. 올리고뉴클레오티드 내에서, 포스페이트 기는 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드간 골격을 형성하는 것으로 일반적으로 지칭된다. RNA 및 DNA의 정상 결합 또는 골격은 3'에서 5'으로의 포스포다이에스테르 결합이다.
- [0714] 접합기
- [0715] 운반물은 하나 이상의 접합기의 공유 부착에 의해 변형될 수 있다. 일반적으로, 접합기는 운반물의 하나 이상의 특성을 변형시키며, 이러한 특성에는 약력학적, 약동학적, 결합, 흡수, 세포 분포, 세포 흡수, 전하 및 제거율(clearance)이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 접합기는 화학 분야에서 일상적으로 사용되며, 직접, 또는 선택적인 연결 모이어티 또는 연결기를 통해 모 화합물에 연결된다. 접합기는, 제한 없이, 삽입제, 리포터 분자, 폴리아민, 폴리아미드, 폴리에틸렌 글리콜, 티오에테르, 폴리에테르, 콜레스테롤, 티오콜레스테롤, 콜산 모이어티, 플레이트, 지질, 인지질, 비오틴, 페나진, 페나트리딘, 안트라퀴논, 아다만탄, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린, 및 염료를 포함한다. 접합기는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함할 수 있다. PEG는 운반물 또는 cCPP 어느 것에도 접합될 수 있다. 운반물은 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 또는 소분자를 포함할 수 있다.
- [0716] 접합기는 지질 모이어티, 예컨대 콜레스테롤 모이어티(문헌[Letsinger et al., proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553]); 콜산(문헌[Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053]); 티오에테르, 예를 들어 핵실-S-트라이틸티올(문헌[Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306]); 문헌[Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3, 2765]); 티오콜레스테롤(문헌[Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533]); 지방족 사슬, 예를 들어 도데칸다이올 또는 운테실 잔기(문헌[Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 111]); 문헌[Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327]; 문헌[Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49]); 인지질, 예를 들어 다이-핵사데실-rac-글리세롤 또는 트라이에틸암모늄-1,2-다이-O-핵사데실-rac-글리세롤-3-H-포스포네이트(문헌[Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651]); 문헌[Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777]); 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(문헌[Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969]); 아다만탄 아세트산(문헌[Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651]); 팔미틸 모이어티(문헌[Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229]); 또는 옥타데실아민 또는 핵실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 모이어티(문헌[Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923])를 포함할 수 있다.
- [0717] 당업계에 알려진 것들과 같은 연결기 또는 이작용성 연결 모이어티가 본 명세서에 제공된 화합물에 적합하다. 연결기는 모 화합물, 예컨대 AC에서의 선택적 부위에 대한 화학 작용기, 접합기, 리포터 기 및 다른 기의 부착에 유용하다. 일반적으로, 이작용성 연결 모이어티는 2개의 작용기를 갖는 하이드로카르빌 모이어티를 포함한다. 작용기들 중 하나는 모 분자 또는 관심 화합물에 결합하도록 선택되고, 나머지 다른 하나는 화학 작용기 또는 접합기와 같은 임의의 선택된 기에 본질적으로 결합하도록 선택된다. 본 명세서에 기재된 임의의 링커가 사용될 수 있다. 링커는 사슬 구조, 또는 에틸렌 글리콜 또는 아미노산 단위와 같은 반복 단위의 올리고머를 포함할 수 있다. 이작용성 연결 모이어티에 일상적으로 사용되는 작용기의 예에는 친핵성 기와 반응하기 위한 친전자체 및 친전자성 기와 반응하기 위한 친핵체가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 이작용성 연결 모이어

티는 아미노, 하이드록실, 카르복실산, 티올, 불포화체(예를 들어, 이중 또는 삼중 결합) 등을 포함할 수 있다. 이작용성 연결 모이어티의 일부 비제한적인 예에는 8-아미노-3,6-다이옥사옥탄산(ADO), 석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카르복실레이트(SMCC) 및 6-아미노헥산산(AHEX 또는 AHA)이 포함된다. 다른 연결기는 치환된 C₁-C₁₀ 알킬, 치환 또는 비치환된 C₂-C₁₀ 알케닐, 또는 치환 또는 비치환된 C₂-C₁₀ 알키닐을 포함하지만 이로 한정되지 않으며, 여기서 치환기의 비제한적인 목록에는 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카르복시, 벤질, 페닐, 니트로, 티올, 티오알콕시, 할로젠, 알킬, 아릴, 알케닐 및 알키닐이 포함된다.

[0718] AC는 약 5 내지 약 50개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 5 내지 약 10개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 10 내지 약 15개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 15 내지 약 20개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 20 내지 약 25개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 25 내지 약 30개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 30 내지 약 35개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 35 내지 약 40개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 40 내지 약 45개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. AC는 약 45 내지 약 50개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다.

[0719] **CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat, 클러스터화된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부) 유전자-편집 기구**

[0720] 본 화합물은 CRISPR 유전자-편집 기구에 접합되는 하나 이상의 cCPP(또는 cCPP)를 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "CRISPR 유전자-편집 기구"는 게놈을 편집하는 데 사용될 수 있는 단백질, 핵산, 또는 이들의 조합을 지칭한다. 유전자-편집 기구의 비제한적인 예에는 gRNA, 뉴클레아제, 뉴클레아제 억제제, 및 이들의 조합 및 복합체를 포함한다. 하기 특허 문헌은 CRISPR 유전자-편집 기구를 기재한다: 미국 특허 제 8,697,359호, 미국 특허 제 8,771,945호, 미국 특허 제 8,795,965호, 미국 특허 제 8,865,406호, 미국 특허 제 8,871,445호, 미국 특허 제 8,889,356호, 미국 특허 제 8,895,308호, 미국 특허 제 8,906,616호, 미국 특허 제 8,932,814호, 미국 특허 제 8,945,839호, 미국 특허 제 8,993,233호, 미국 특허 제 8,999,641호, 미국 특허 출원 제 14/704,551호, 및 미국 특허 출원 제 13/842,859호. 상기 언급된 특허 문헌 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0721] 링커가 cCPP를 CRISPR 유전자-편집 기구에 접합시킬 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 링커 또는 당업자에게 알려진 것이 이용될 수 있다.

[0722] *gRNA*

[0723] 본 화합물은 gRNA에 접합되는 cCPP를 포함할 수 있다. gRNA는 원핵 세포 또는 진핵 세포에서 게놈 유전자좌를 표적화한다.

[0724] gRNA는 단일-분자 가이드 RNA(sgRNA)일 수 있다. sgRNA는 스페이서 서열 및 스키펴드 서열을 포함한다. 스페이서 서열은 뉴클레아제(예를 들어, Cas9 뉴클레아제)를 관심 대상인 특정 뉴클레오티드 영역(예를 들어, 절단하려는 게놈 DNA 서열)에 표적화하는 데 사용되는 짧은 핵산 서열이다. 스페이서는 약 17 내지 24개의 염기쌍 길이, 예컨대 약 20개의 염기쌍 길이일 수 있다. 스페이서는 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 또는 약 30개의 염기쌍 길이일 수 있다. 스페이서는 적어도 15, 적어도 16, 적어도 17, 적어도 18, 적어도 19, 적어도 20, 적어도 21, 적어도 22, 적어도 23, 적어도 24, 적어도 25, 적어도 26, 적어도 27, 적어도 28, 적어도 29, 또는 적어도 30개의 염기쌍 길이일 수 있다. 스페이서는 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 또는 약 30개의 염기쌍 길이일 수 있다. 스페이서는 서열은 약 40% 내지 약 80%의 GC 함량을 가질 수 있다.

[0725] 스페이서는 5' 프로토스페이서 인접 모티프(PAM) 바로 앞에 위치하는 부위를 표적화할 수 있다. PAM 서열은 원하는 뉴클레아제에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들어, PAM 서열은 하기 표에 나타난 PAM 서열 중 어느 하나일 수 있으며, 여기서 N은 임의의 핵산을 지칭하고, R은 A 또는 G를 지칭하고, Y는 C 또는 T를 지칭하고, W는 A 또는 T를 지칭하고, V는 A 또는 C 또는 G를 지칭한다.

[0726] [표 8]

PAM 서열 (5'에서 3'으로)	뉴클레아제	하기로부터 단리
NGG	SpCas9	스트렙토코쿠스 피오게네스
NGRRT 또는 NGRRN	SaCas9	스타필로코쿠스 아우레우스
NNNNGATT	NmeCas9	나이세리아 메닝기티디스
NNNNRYAC	CjCas9	감필로박테르 제주니
NNAGAAW	StCas9	스트렙토코쿠스 테르모필루스
TTTV	LbCpf1	라크노스피라세아이 박테리움(<i>Lachnospiraceae bacterium</i>)
TTTV	AsCpf1	아시다미노코쿠스 종(<i>Acidaminococcus sp.</i>)

[0727]

[0728]

스페이서는 포유류 유전자, 예컨대 인간 유전자의 서열을 표적화할 수 있다. 스페이서는 돌연변이 유전자를 표적화할 수 있다. 스페이서는 코딩 서열을 표적화할 수 있다.

[0729]

스캐폴드 서열은 뉴클레아제(예를 들어, Cas9) 결합을 담당하는 sgRNA 내의 서열이다. 스캐폴드 서열은 스페이서/표적화 서열을 포함하지 않는다. 실시 형태에서, 스캐폴드는 약 1 내지 약 10개, 약 10 내지 약 20개, 약 20 내지 약 30개, 약 30 내지 약 40개, 약 40 내지 약 50개, 약 50 내지 약 60개, 약 60 내지 약 70개, 약 70 내지 약 80개, 약 80 내지 약 90개, 약 90 내지 약 100개, 약 100 내지 약 110개, 약 110 내지 약 120개, 또는 약 120 내지 약 130개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 스캐폴드는 약 1개, 약 2개, 약 3개, 약 4개, 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 약 30개, 약 31개, 약 32개, 약 33개, 약 34개, 약 35개, 약 36개, 약 37개, 약 38개, 약 39개, 약 40개, 약 41개, 약 42개, 약 43개, 약 44개, 약 45개, 약 46개, 약 47개, 약 48개, 약 49개, 약 50개, 약 51개, 약 52개, 약 53개, 약 54개, 약 55개, 약 56개, 약 57개, 약 58개, 약 59개, 약 60, 약 60개, 약 61개, 약 62개, 약 63개, 약 64개, 약 65개, 약 66개, 약 67개, 약 68개, 약 69개, 약 70개, 약 71개, 약 72개, 약 73개, 약 74개, 약 75개, 약 76개, 약 77개, 약 78개, 약 79개, 약 80개, 약 81개, 약 82개, 약 83개, 약 84개, 약 85개, 약 86개, 약 87개, 약 88개, 약 89개, 약 90개, 약 91개, 약 92개, 약 93개, 약 94개, 약 95개, 약 96개, 약 97개, 약 98개, 약 99개, 약 100개, 약 101개, 약 102개, 약 103개, 약 104개, 약 105개, 약 106개, 약 107개, 약 108개, 약 109개, 약 110개, 약 111개, 약 112개, 약 113개, 약 114개, 약 115개, 약 116개, 약 117개, 약 118개, 약 119개, 약 120개, 약 121개, 약 122개, 약 123개, 약 124개, 또는 약 125개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 스캐폴드는 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90, 적어도 100, 적어도 110, 적어도 120, 또는 적어도 125개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다.

[0730]

gRNA는 이중-분자 가이드 RNA, 예를 들어 crRNA 및 tracrRNA일 수 있다. gRNA는 폴리A 테일을 추가로 포함할 수 있다.

[0731]

화합물은 gRNA를 포함하는 핵산에 접합된 cCPP를 포함한다. 핵산은 약 1개, 약 2개, 약 3개, 약 4개, 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 또는 약 20개의 gRNA를 포함할 수 있다. gRNA는 동일한 표적을 인식할 수 있다. gRNA는 상이한 표적을 인식할 수 있다. gRNA를 포함하는 핵산은 프로모터를 인코딩하는 서열을 포함하며, 여기서 프로모터는 gRNA의 발현을 유도한다.

[0732]

뉴클레아제

[0733]

본 화합물은 뉴클레아제에 접합되는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)를 포함할 수 있다. 뉴클레아제는 유형 II, 유형 V-A, 유형 V-B, 유형 VC, 유형 V-U, 또는 유형 VI-B 뉴클레아제일 수 있다. 뉴클레아제는 전사, 활성화 인자-유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN), 메가뉴클레아제, 또는 아연-핑거 뉴클레아제일 수 있다. 뉴클레아제는 Cas9, Cas12a(Cpf1), Cas12b, Cas12c, Tnp-B 유사, Cas13a(C2c2), Cas13b, 또는 Cas14 뉴클레아제일 수 있다. 뉴클레아제는 Cas9 뉴클레아제 또는 Cpf1 뉴클레아제일 수 있다.

[0734]

뉴클레아제는 Cas9, Cas12a(Cpf1), Cas12b, Cas12c, Tnp-B 유사, Cas13a(C2c2), Cas13b, 또는 Cas14 뉴클레아제의 변형된 형태 또는 변이체일 수 있다. 뉴클레아제는 TAL 뉴클레아제, 메가뉴클레아제, 또는 아연-핑거 뉴클레아제의 변형된 형태 또는 변이체일 수 있다. "변형된" 또는 "변이체" 뉴클레아제는, 예를 들어, 절단된, 다른 단백질(예컨대, 다른 뉴클레아제)에 융합된, 촉매 불활성화된 등등인 것이다. 뉴클레아제는 자연 발생 Cas9, Cas12a(Cpf1), Cas12b, Cas12c, Tnp-B 유사, Cas13a(C2c2), Cas13b, Cas14 뉴클레아제, 또는 TALEN, 메

가뉴클레아제, 또는 아연-핑거 뉴클레아제와 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 뉴클레아제는 S. 피오게네스(SpCas9)로부터 유래되는 Cas9 뉴클레아제일 수 있다. 뉴클레아제는 S. 피오게네스(SpCas9)로부터 유래되는 Cas9 뉴클레아제와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 뉴클레아제는 S. 아우레우스(SaCas9)로부터 유래되는 Cas9일 수 있다. 뉴클레아제는 S. 아우레우스(SaCas9)로부터 유래되는 Cas9와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다. Cpf1은 아시다미노콥쿠스(종 BV3L6, UniProt 수탁 번호 U2UMQ6)로부터 유래되는 Cpf1 효소일 수 있다. 뉴클레아제는 아시다미노콥쿠스(종 BV3L6, UniProt 수탁 번호 U2UMQ6)으로부터 유래되는 Cpf1 효소와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0735] Cpf1은 라크노스피라세아이(종 ND2006, UniProt 수탁 번호 A0A182DWE3)로부터 유래되는 Cpf1 효소일 수 있다. 뉴클레아제는 라크노스피라세아이로부터 유래되는 Cpf1 효소와 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%의 서열 동일성을 가질 수 있다. 뉴클레아제를 인코딩하는 서열은 포유류 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화될 수 있다. 뉴클레아제를 인코딩하는 서열은 인간 세포 또는 마우스 세포에서의 발현을 위해 코돈 최적화될 수 있다.

[0736] 본 화합물은 뉴클레아제에 접합되는 cCPP를 포함할 수 있다. 뉴클레아제는 가용성 단백질일 수 있다.

[0737] 본 화합물은 뉴클레아제를 인코딩하는 핵산에 접합되는 cCPP를 포함할 수 있다. 뉴클레아제를 인코딩하는 핵산은 프로모터를 인코딩하는 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 프로모터는 뉴클레아제의 발현을 유도한다.

[0738] *gRNA 및 뉴클레아제 조합*

[0739] 본 화합물은 gRNA 및 뉴클레아제에 접합되는 하나 이상의 cCPP를 포함할 수 있다. 하나 이상의 cCPP는 gRNA 및 /또는 뉴클레아제를 인코딩하는 핵산에 접합될 수 있다. 뉴클레아제 및 gRNA를 인코딩하는 핵산은 프로모터를 인코딩하는 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 프로모터는 뉴클레아제 및 gRNA의 발현을 유도한다. 뉴클레아제 및 gRNA를 인코딩하는 핵산은 2개의 프로모터를 포함할 수 있으며, 여기서 제1 프로모터는 뉴클레아제의 발현을 제어하고, 제2 프로모터는 gRNA의 발현을 제어한다. gRNA 및 뉴클레아제를 인코딩하는 핵산은 약 1 내지 약 20개의 gRNA, 또는 약 1개, 약 2개, 약 3개, 약 4개, 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 또는 약 19개, 및 최대 약 20개의 gRNA를 인코딩할 수 있다. gRNA는 상이한 표적들을 인식할 수 있다. gRNA는 동일한 표적을 인식할 수 있다.

[0740] 본 화합물은 gRNA 및 뉴클레아제를 포함하는 리보핵단백질(RNP)에 접합되는 사이클릭 세포 침투 펩티드(또는 cCPP)를 포함할 수 있다.

[0741] (a) gRNA에 접합되는 cCPP, 및 (b) 뉴클레아제를 포함하는 조성물이 세포에 전달될 수 있다. (a) 뉴클레아제에 접합되는 cCPP, 및 (b) gRNA를 포함하는 조성물이 세포에 전달될 수 있다.

[0742] (a) gRNA에 접합되는 제1 cCPP, 및 (b) 뉴클레아제에 접합되는 제2 cCPP를 포함하는 조성물이 세포에 전달될 수 있다. 제1 cCPP와 제2 cCPP는 동일할 수 있다. 제1 cCPP와 제2 cCPP는 상이할 수 있다.

[0743] *관심 유전자적 요소*

[0744] 본 화합물은 관심 유전자적 요소에 접합되는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)를 포함할 수 있다. 관심 유전자적 요소는 뉴클레아제에 의해 절단되는 게놈 DNA 서열을 대체할 수 있다. 관심 유전자적 요소의 비제한적인 예에는 유전자, 단일 뉴클레오티드 다형, 프로모터, 또는 종결자가 포함된다.

[0745] *뉴클레아제 억제제*

[0746] 본 화합물은 뉴클레아제 억제제(예를 들어, Cas9 억제제)에 접합되는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)를 포함할 수 있다. 유전자 편집의 제한은 잠재적인 표적-이탈(off-target) 편집이다. 뉴클레아제 억제제의 전달은 표적-이탈 편집을 제한할 수 있다. 뉴클레아제 억제제는 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 또는 소분자일 수 있다. 뉴클레아제 억제제는 미국 특허 출원 공개 제2020/087354호, 국제 특허 출원 공개 제2018/085288호, 미국 특허 출원 공개 제2018/0382741호, 국제 특허 출원 공개 제2019/089761호, 국제 특허 출원 공개 제2020/068304호, 국제 특허 출원 공개 제2020/041384호, 및 국제 특허 출원 공개 제2019/076651호에 기재되어 있으며, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

- [0747] **치료용 폴리펩티드**
- [0748] 항체
- [0749] 치료용 모이어티는 항체 또는 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 항체 및 항원-결합 단편은 인간, 마우스, 낙타과(예를 들어, 낙타, 알파카, 라마), 래트, 유제류, 또는 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이, 레서스 마카크)를 포함한 임의의 적합한 공급원으로부터 유래될 수 있다.
- [0750] 용어 "항체"는 특이적 표적, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 또는 폴리펩티드에 결합할 수 있는 면역글로불린(Ig) 분자를 지칭하며, 이때 상기 결합은 Ig 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 에피토프 인식 부위를 통해 수행된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 이 용어는 온전한 다중클론 또는 단일클론 항체 및 이들의 항원-결합 단편을 포함한다. 천연 면역글로불린 분자는 일반적으로 2개의 중쇄 폴리펩티드 및 2개의 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. 각각의 중쇄 폴리펩티드는, 중쇄 폴리펩티드와 경쇄 폴리펩티드 사이의 사슬간 이황화물 결합에 의해 경쇄 폴리펩티드와 회합하여 2개의 이중이량체성 단백질 또는 폴리펩티드(즉, 2개의 이중 폴리펩티드 사슬로 구성되는 단백질)를 형성한다. 이어서, 2개의 이중이량체성 단백질은 중쇄 폴리펩티드들 사이의 추가의 사슬간 이황화물 결합에 의해 회합하여 면역글로불린 단백질 또는 폴리펩티드를 형성한다.
- [0751] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "항원-결합 단편"은 관심 항원의 적어도 하나의 에피토프에 결합하는 면역글로불린 중쇄 및/또는 경쇄의 적어도 하나의 상보성-결정 영역(CDR)을 함유하는 폴리펩티드 단편을 지칭한다. 항원-결합 단편은 표적 분자에 특이적으로 결합하는 항체로부터의 가변 중쇄(VH) 서열의 1개, 2개, 또는 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 항원-결합 단편은 표적 분자에 특이적으로 결합하는 항체로부터의 가변 경쇄(VL) 서열의 1개, 2개, 또는 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 항원-결합 단편은 표적 분자에 특이적으로 결합하는 항체로부터의 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL) 서열의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 모든 6개의 CDR을 포함할 수 있다. 항원-결합 단편은 전장(full length) 항체의 일부분, 일반적으로 이의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함하는 단백질, 예컨대 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv 단편, 미니바디, 다이아바디, 단일 도메인 항체(dAb), 단일쇄 가변 단편(scFv), 나노바디, 항체 단편으로부터 형성되는 다중특이성 항체, 및 필요한 특이성의 항원-결합 부위 또는 단편을 포함할 수 있는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성을 포함한다.
- [0752] 용어 "F(ab)"는 효소 파파인에 의한 IgG 분자의 단백질 분해적 절단으로부터 생성되는 단백질 단편 중 2개를 지칭한다. 각각의 F(ab)는 VH 사슬과 VL 사슬의 공유 이중이량체를 포함할 수 있으며, 온전한 항원-결합 부위를 포함한다. 각각의 F(ab)는 1가 항원-결합 단편일 수 있다. 용어 "Fab'"는 F(ab')₂로부터 유래되는 단편을 지칭하며, Fc의 작은 부분을 함유할 수 있다. 각각의 Fab' 단편은 1가 항원-결합 단편일 수 있다.
- [0753] 용어 "F(ab')₂"는 효소 펩신에 의한 단백질 분해적 절단에 의해 생성되는 IgG의 단백질 단편을 지칭한다. 각각의 F(ab')₂ 단편은 2개의 F(ab') 단편을 포함할 수 있으며, 따라서 2가 항원-결합 단편일 수 있다.
- [0754] "Fv 단편"은, 천연 항체 분자의 많은 항원 인식 및 결합 능력을 보유하는 항원-결합 부위를 포함하지만, Fab 내에 함유된 CH1 및 CL 도메인이 결여되어 있는 비공유 VH::VL 이중이량체를 지칭한다(문헌[Inbar et al. (1972) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69:2659-2662]; 문헌[Hochman et al. (1976) Biochem 15:2706-2710]; 및 문헌[Ehrlich et al. (1980) Biochem 19:4091-4096]).
- [0755] 이중특이성 항체(BsAb)는 2개의 별개의 그리고 특유의 항원(또는 동일한 항원의 상이한 에피토프들)에 동시에 결합할 수 있는 항체이다. 치료용 모이어티는 관심 대상인 2개의 상이한 표적에 동시에 결합할 수 있는 이중특이성 항체를 포함할 수 있다. BsAb는 이펙터 세포에 의해 매개되는 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 및 다른 세포독성 기전에 의한 종양 세포의 향상된 살해를 위하여 세포독성 면역 이펙터 세포를 재유도할 수 있다.
- [0756] 재조합 항체 조각은 모(parental) 단일클론 항체(mAb)의 가변 중쇄(VH) 및 경쇄(VL) 도메인을 포함하는 재조합 이중특이성 항체 단편의 생성을 가능하게 하였다. 비제한적인 예에는 scFv(단일쇄 가변 단편), BsDb(이중특이성 다이아바디), scBsDb(단일쇄 이중특이성 다이아바디), scBsTaFv(단일쇄 이중특이성 탠덤 가변 도메인), DNL-(Fab)₃(독-앤드-락(dock-and-lock) 3가 Fab), sdAb(단일-도메인 항체), 및 BssdAb(이중특이성 단일-도메인 항체)가 포함된다.
- [0757] Fc 영역을 갖는 BsAb는 ADCC 및 CDC와 같은 Fc 매개 이펙터 기능을 수행하는 데 유용하다. 이들은 정상 IgG의 반감기를 갖는다. 다른 한편, Fc 영역이 없는 BsAb(이중특이성 단편)는 치료적 활성을 수행하기 위하여 그의 항원-결합 능력에만 오로지 의존한다. 더 작은 크기로 인해, 이들 단편은 더 우수한 고형 종양 침투율을 갖는다. BsAb 단편은 글리코실화를 필요로 하지 않으며, 이들은 세균 세포에서 생성될 수 있다. BsAb의 크기, 결합

합가(valency), 가요성 및 반감기는 응용에 적합하게 한다.

- [0758] 재조합 DNA 기술을 사용하여, 이중특이성 IgG 항체는 동일한 세포주에서 발현되는 2개의 상이한 중쇄 및 경쇄로부터 조립될 수 있다. 상이한 사슬들의 랜덤 조립은 비기능성 분자 및 바람직하지 않은 HC 동종이량체의 형성을 초래한다. 이 문제를 해결하기 위해, 제2 결합 모이어티(예를 들어, 단일쇄 가변 단편)가 H 또는 L 사슬의 N 또는 C 말단에 융합되어, 각각의 항원에 대한 2개의 결합 부위를 함유하는 4가 BsAb를 생성할 수 있다. LC-HC 잘못된 쌍형성(mispairing) 및 HC 동종이량체화를 해결하는 추가의 방법이 뒤따른다.
- [0759] 노브-인투-홀(knob-into-hole) BsAb IgG. H 사슬 이중이량체화는 2개의 CH3 도메인 내로 상이한 돌연변이를 도입함으로써 강제로 수행되어 비대칭 항체를 생성한다. 구체적으로는, "노브" 돌연변이가 하나의 HC 내로 생성되고, "홀" 돌연변이가 다른 하나의 HC에서 생성되어 이중이량체화를 촉진한다.
- [0760] Ig-scFv 융합체. 새로운 항원-결합 모이어티를 전장 IgG에 직접 부가함으로써 4가를 갖는 융합 단백질이 생성된다. 예에는 IgG C-말단 scFv 융합체 및 IgG N-말단 scFv 융합체가 포함된다.
- [0761] 다이아바디-Fc 융합체. 이는 IgG의 Fab 단편을 이중특이성 다이아바디(scFv의 유도체)로 대체하는 것을 포함한다.
- [0762] 이중-가변-도메인-IgG(DVD-IgG). 하나의 특이성을 갖는 IgG의 VL 및 VH 도메인을 링커 서열을 통해 상이한 특이성의 IgG의 VL 및 VH의 N-말단에 각각 융합하여 DVD-IgG를 형성하였다.
- [0763] 용어 "다이아바디"는, VH 및 VL 도메인이 동일한 사슬 상의 2개의 도메인 사이의 쌍형성을 가능하게 하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써 이들 도메인이 다른 사슬의 상보적 도메인과 강제로 쌍형성되게 하고 2개의 항원-결합 부위를 생성하는, 단일 폴리펩티드 사슬에서 발현되는 이중특이성 항체를 지칭한다(예를 들어, 문헌[Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48 (1993)] 및 문헌[Poljak et al., Structure 2:1121-23 (1994)] 참조). 다이아바디는 2개의 별개의 항원에 결합하도록 설계될 수 있고, 이중특이성 항원-결합 작제물이다.
- [0764] 용어 "나노바디" 또는 "단일 도메인 항체"는 중쇄 항체의 하나의 가변 도메인(VH)을 포함하는 단일 단량체성 가변 항체 도메인의 항원-결합 단편을 지칭한다. 이들은 전통적인 단일클론 항체(mAb)에 비해 몇 가지 이점을 가지며, 이러한 이점에는 더 작은 크기(15 kD), 환원성 세포내 환경에서의 안정성, 및 세균 시스템에서의 생산 용이성이 포함된다(문헌[Schumacher et al., (2018) Nanobodies: Chemical Functionalization Strategies and Intracellular Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* 57, 2314]; 문헌[Siontorou, (2013) Nanobodies as novel agents for disease diagnosis and therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 4215-27]). 이들 특징은 나노바디가 유전자적 및 화학적 변형에 적합하게 될 수 있게 하여(문헌[Schumacher et al., (2018) Nanobodies: Chemical Functionalization Strategies and Intracellular Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* 57, 2314]), 연구 툴 및 치료제로서의 이들의 응용을 용이하게 한다(문헌[Bannas et al., (2017) Nanobodies and nanobody-based human heavy chain antibodies as antitumor therapeutics. *Frontiers in Immunology*, 8, 1603]). 지난 10년에 걸쳐, 나노바디는 단백질 고정화(문헌[Rothbauer et al., (2008) A Versatile Nanotrapp for Biochemical and Functional Studies with Fluorescent Fusion Proteins. *Mol. Cell. Proteomics*, 7, 282-289]), 이미징(문헌[Traenkle et al., (2015) Monitoring Interactions and Dynamics of Endogenous Beta-catenin With Intracellular Nanobodies in Living Cells. *Mol. Cell. Proteomics*, 14, 707-723]), 단백질-단백질 상호작용의 검출(문헌[Herce et al., (2013) Visualization and targeted disruption of protein interactions in living cells. *Nat. Commun.* 4, 2660]; 문헌[Massa et al., (2014) Site-Specific Labeling of Cysteine-Tagged Camelid Single-Domain Antibody-Fragments for Use in Molecular Imaging. *Bioconjugate Chem.* 25, 979-988])에, 그리고 거대분자 억제제(문헌[Truttmann et al., (2015) HypE-specific Nanobodies as Tools to Modulate HypE-mediated Target AMPylation. *J. Biol. Chem.* 290, 9087-9100])로서 사용되어 왔다.
- [0765] 치료용 모이어티는 관심 표적에 결합하는 항원-결합 단편일 수 있다. 관심 표적에 결합하는 항원-결합 단편은 관심 표적에 특이적으로 결합하는 항체로부터의 가변 중쇄(VH) 서열의 1개, 2개, 또는 3개의 CDR을 포함한다. 관심 표적에 결합하는 항원-결합 단편은 관심 표적에 특이적으로 결합하는 항체로부터의 가변 경쇄(VL) 서열의 1개, 2개, 또는 3개의 CDR을 포함한다. 관심 표적에 결합하는 항원-결합 단편은 관심 표적에 특이적으로 결합하는 항체로부터의 가변 중쇄(VH) 및/또는 가변 경쇄(VL) 서열의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 모든 6개의 CDR을 포함한다. 표적에 결합하는 항원-결합 단편은 전장 항체의 일부분, 예컨대 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv

단편, 미니바디, 다이아바디, 단일 도메인 항체(dAb), 단일쇄 가변 단편(scFv), 나노바디, 항체 단편으로부터 형성되는 다중특이성 항체, 또는 필요한 특이성의 항원-결합 부위 또는 단편을 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성일 수 있다.

- [0766] 치료용 모이어티는 이중특이성 항체를 포함할 수 있다. 이중특이성 항체(BsAb)는 2개의 별개의 그리고 특유의 항원(또는 동일한 항원의 상이한 에피토프들)에 동시에 결합할 수 있는 항체이다.
- [0767] 치료용 모이어티는 "다이아바디"를 포함할 수 있다.
- [0768] 치료용 모이어티는 나노바디 또는 단일 도메인 항체(본 명세서에서 sdAb 또는 VHH로 지칭될 수 있음)를 포함할 수 있다.
- [0769] 치료용 모이어티는 "미니바디"를 포함할 수 있다 미니바디(Mb)는 항원-결합 단편에 융합되거나 연결된 CH3 도메인(예를 들어, scFv, 도메인 항체 등에 융합되거나 연결된 CH3 도메인 등)을 포함한다. 용어 "Mb"는 CH3 단일 도메인을 나타낼 수 있다. CH3 도메인은 미니바디를 나타낼 수 있다. (문헌[S. Hu et al., Cancer Res., 56, 3055-3061, 1996]). 예를 들어, 문헌[Ward, E. S. et al., Nature 341, 544-546 (1989)]; 문헌[Bird et al., Science, 242, 423-426, 1988]; 문헌[Huston et al., PNAS USA, 85, 5879-5883, 1988)]; PCT/US92/09965호; 국제 특허 출원 공개 W094/13804호; 문헌[P. Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 6444-6448, 1993]; 문헌[Y. Reiter et al., Nature Biotech, 14, 1239-1245, 1996]; 문헌[S. Hu et al., Cancer Res., 56, 3055-3061, 1996]을 참조한다.
- [0770] 치료용 모이어티는 "모노바디"를 포함할 수 있다. 용어 "모노바디"는 분자 스캐폴드로서 피브로넥틴 III형 도메인(FN3)을 사용하여 작제된 합성 결합 단백질을 지칭한다.
- [0771] 치료용 모이어티는 항체 모방체일 수 있다. 항체 모방체는, 항체와 같이 항원에 특이적으로 결합할 수 있지만 항체와 구조적으로 관련되지 않은 화합물이다. 이들은 통상 (약 150 kDa의 항체의 몰 질량과 비교하여) 약 3 내지 20 kD의 몰 질량을 갖는 인공 펩티드 또는 단백질이다. 항체 모방체의 예에는 아피바디(Affibody) 분자 (단백질 A의 도메인의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Nygren (June 2008). FEBS J. 275 (11): 2668-76] 참조), 아필린(Affilin)(감마-B 결정질 또는 유비퀴틴의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Ebersbach H et al. (September 2007). J. Mol. Biol. 372 (1): 172-85] 참조), 아피머(Affimer)(크리스타틴 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌 [Johnson A et al., (Aug 7, 2012). Anal. Chem. 84 (15): 6553-60] 참조), 아피틴(Affitin)(S. 아시도칼다리우스(*S. acidocaldarius*) 스캐폴드로부터의 Sac7d 상에 작제됨, 문헌[Krehenbrink M et al., (November 2008). J. Mol. Biol. 383 (5): 1058- 68] 참조), 알파바디(Alphabody)(삼중 나선 코일드 코일 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Desmet, J et al., (5 Feb 2014). Nature Communications. 5: 5237] 참조), 안티칼린(Anticalin)(리포칼린의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Skerra A (June 2008). FEBS J. 275 (11): 2677-83] 참조), 아비머(Avimer)(다양한 막 수용체의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Silverman J et al. (December 2005). Nat. Biotechnol. 23 (12): 1556-61] 참조), DARPIn(안키린 반복 모티프의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌 [Stumpp et al., (August 2008). Drug Discov. Today. 13 (15-16): 695-701] 참조), 피노머(Fynomer)(Fyn의 SH3 도메인의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Grabulovski et al., (2007). J Biol Chem. 282 (5): 3196-3204] 참조), 쿠니츠(Kunitz) 도메인 펩티드(다양한 프로테아제 억제제의 쿠니츠 도메인의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Nixon et al (March 2006). Curr Opin Drug Discov Dev. 9 (2): 261-8] 참조), 및 모노바디(Monobody)(피브로넥틴의 III형 도메인의 스캐폴드 상에 작제됨, 문헌[Koide et al (2007). Methods Mol. Biol. 352: 95-109] 참조)가 포함된다.
- [0772] 치료용 모이어티는 "설계된 안키린 반복부" 또는 "DARPIn"을 포함할 수 있다. DARPIn은 적어도 3개의 반복 모티프 단백질로 구성된 천연 안키린 단백질로부터 유래되고, 4개 또는 5개의 반복부를 통상 포함한다.
- [0773] 치료용 모이어티는 "이중 가변-도메인-IgG" 또는 "DVD-IgG"를 포함할 수 있다. DVD-IgG는 2개의 모 단일클론 항체로부터, 링커 서열을 통해 하나의 특이성을 갖는 IgG의 VL 및 VH 도메인을 상이한 특이성의 IgG의 VL 및 VH의 N-말단에 각각 융합함으로써 생성된다.
- [0774] 치료용 모이어티는 F(ab) 단편을 포함할 수 있다.
- [0775] 치료용 모이어티는 F(ab')₂ 단편을 포함할 수 있다.
- [0776] 치료용 모이어티는 Fv 단편을 포함할 수 있다.

[0777] 항원-결합 단편은 "단일쇄 가변 단편" 또는 "scFv"를 포함할 수 있다. scFv는, 10 내지 약 25개의 아미노산의 짧은 링커 펩티드를 사용하여 연결된, 면역글로불린의 중쇄(VH) 및 경쇄(VL)의 가변 영역들의 융합 단백질을 지칭한다. 문헌[Huston et al. (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 85(16):5879-5883]. 링커는 VH의 N-말단을 VL의 C-말단과 연결할 수 있거나, 또는 그 반대로도 가능할 수 있다. 항체 V 영역으로부터 유래되는, 천연적으로 응집되지만 화학적으로 분리된 경쇄 및 중쇄 폴리펩티드 사슬을 scFv 분자 - 이는 항원-결합 부위의 구조와 실질적으로 유사한 3차원 구조로 접힐 것임 - 로 전환시키기 위한 화학 구조를 식별하기 위한 다수의 방법이 기재되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,091,513호 및 제5,132,405호(Huston et al.에게 하여됨); 및 미국 특허 제4,946,778호(Ladner et al.에게 하여됨)를 참조한다.

[0778] 항원-결합 작제물은 2개 이상의 항원-결합 모이어티를 포함한다. 항원-결합 작제물은 2개의 별개의 그리고 특유의 항원에, 또는 동일한 항원의 상이한 에피토프들에 결합할 수 있다. 노브-인투-홀 BsAb IgG. H 사슬 이중 이량체화는 2개의 CH3 도메인 내로 상이한 돌연변이를 도입함으로써 강제로 수행되어 비대칭 항체를 생성한다. 구체적으로는, "노브" 돌연변이가 하나의 HC 내로 생성되고, "홀" 돌연변이가 다른 하나의 HC에서 생성되어 이중 이량체화를 촉진한다.

[0779] **펩티드 억제제**

[0780] 치료용 모이어티는 펩티드를 포함할 수 있다. 펩티드는 효능제로서 작용하여, 표적 단백질의 활성을 증가시킬 수 있다. 펩티드는 길항제로서 작용하여, 표적 단백질의 활성을 감소시킬 수 있다. 펩티드는 단백질-단백질 상호작용(PPI)을 억제하도록 구성될 수 있다. 단백질-단백질 상호작용(PPI)은 핵산의 전사, 및 번역된 단백질의 다양한 번역 후 변형을 포함한 많은 생화학적 과정에서 중요하다. PPI는 X-선 결정학적 분석, NMR 분광법, 표면 플라즈마 공명(SPR), 바이오층 간섭법(BLI), 등은 적정 열량측정법(ITC), 방사성-리간드 결합, 분광광도법 검정 및 형광 분광법과 같은 생물물리학적 기법에 의해 실험적으로 결정될 수 있다. 단백질-단백질 상호작용을 억제하는 펩티드는 펩티드 억제제로 지칭될 수 있다.

[0781] 치료용 모이어티는 펩티드 억제제를 포함할 수 있다. 펩티드 억제제는 약 5 내지 약 100개의 아미노산, 약 5 내지 약 50개의 아미노산; 약 15 내지 약 30개의 아미노산; 또는 약 20 내지 약 40개의 아미노산을 포함할 수 있다. 펩티드 억제제는, 예를 들어 단백질 분해적 분해를 감소시키고/시키거나 생체내 반감기를 개선하기 위해 하나 이상의 화학적 변형을 포함할 수 있다, 펩티드 억제제는 하나 이상의 합성 아미노산 및/또는 골격 변형을 포함할 수 있다. 펩티드 억제제는 α-나선 구조를 가질 수 있다.

[0782] 펩티드 억제제는 관심 동중이량체성 또는 이중이량체성 표적 단백질의 이량체화 도메인을 표적화할 수 있다.

[0783] **소분자**

[0784] 치료용 모이어티는 소분자를 포함할 수 있다. 치료용 모이어티는 소분자 키나제 억제제를 포함할 수 있다. 치료용 모이어티는 관심 표적을 인산화하는 키나제를 억제하는 소분자를 포함할 수 있다. 관심 표적의 인산화의 억제는 관심 표적의 핵 전좌(nuclear translocation)를 차단할 수 있다. 치료용 모이어티는 MyD88의 소분자 억제제를 포함할 수 있다.

[0785] **조성물**

[0786] 본 명세서에 기재된 화합물을 포함하는 조성물이 제공된다.

[0787] 개시된 화합물의 약제학적으로 허용되는 염 및/또는 전구약물이 제공된다. 약제학적으로 허용되는 염은 화합물 상에서 발견되는 특정 치환체에 따라, 산 또는 염기를 사용하여 제조되는 개시된 화합물의 염을 포함한다. 본 명세서에 개시된 화합물이 안정한 비독성 산 또는 염기 염을 형성하기에 충분히 염기성이거나 산성인 조건 하에서, 염으로서의 화합물의 투여가 적절할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염기 부가 염의 예에는 나트륨, 칼륨, 칼슘, 암모늄, 또는 마그네슘 염이 포함된다. 생리학적으로 허용되는 산 부가 염의 예에는 염산, 브롬화 수소산, 질산, 인산, 탄산, 황산, 및 유기 산, 예컨대 아세트산, 프로피온산, 벤조산, 석신산, 푸마르산, 만델산, 옥살산, 시트르산, 타르타르산, 말론산, 아스코르브산, 알파-케토글루타르산, 알파-글리코인산, 말레산, 토실산, 메탄설폰산 등이 포함된다. 따라서, 하이드로클로라이드, 니트레이트, 포스페이트, 카르보네이트, 바이 카르보네이트, 설페이트, 아세테이트, 프로피오네이트, 벤조에이트, 석시네이트, 푸마레이트, 만델레이트, 옥살레이트, 시트레이트, 타르타레이트, 말로네이트, 아스코르베이트, 알파-케토글루타레이트, 알파-글리코포스페이트, 말레레이트, 토실레이트, 및 메실레이트 염이 본 명세서에 개시된다. 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 당업계에서 잘 알려진 표준 절차를 사용하여, 예를 들어 충분히 염기성인 화합물, 예컨대 아민을 적합한 산과

반응시킴으로써 생리학적으로 허용되는 음이온을 얻을 수 있다. 카르복실산의 알칼리 금속(예를 들어, 나트륨, 칼륨 또는 리튬) 또는 알칼리 토금속(예를 들어, 칼슘) 염이 또한 제조될 수 있다.

[0788] **올리고뉴클레오티드 치료제의 기전 및 표적 분자**

[0789] 많은 유형의 올리고뉴클레오티드가 세포에서 유전자 전사, 번역 및/또는 단백질 기능을 조절할 수 있다. 그러한 올리고뉴클레오티드의 비제한적인 예에는, 예를 들어 짧은 간섭 RNA(siRNA), 마이크로RNA(miRNA), 안티센스 올리고뉴클레오티드, 리보자임, 플라스미드, 번역 자극 핵산, 안티센스, 안타고미르, 안티미르, 마이크로RNA 모방체, 슈퍼미르, UI 어댑터, 및 압타머가 포함된다. 추가적인 예에는 DNA-표적화, 삼중체-형성 올리고뉴클레오티드, 가닥-침입 올리고뉴클레오티드, 및 CRISPR/Cas를 위한 합성 가이드 가닥이 포함된다. 이들 핵산은 다양한 기전을 통해 작용한다. 문헌[Smith and Zain, Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2019, 59:605-630]을 참조하며, 이는 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0790] 스플라이싱-스위칭 안티센스 올리고뉴클레오티드는, 전-mRNA와 염기쌍을 형성하여, 스플라이싱 기구의 성분과 전-mRNA 사이에서 일어나는 RNA-RNA 염기쌍 형성 또는 단백질-RNA 결합 상호작용을 차단함으로써, 전사의 정상 스플라이싱 레퍼토리를 파괴하는 짧은, 합성, 안티센스, 변형된 핵산이다. 전-mRNA의 스플라이싱은 대부분의 단백질-코딩 유전자의 적절한 발현에 필요하며, 따라서 이 과정을 표적화하는 것은 유전자로부터의 단백질 생성을 조작하는 수단을 제공한다. 스플라이싱 조절은, 정상 스플라이싱의 파괴로 이어지는 돌연변이에 의해 야기되거나, 또는 유전자 전사체의 정상 스플라이싱 과정을 간섭할 때, 치료적일 수 있는 질병의 경우에 특히 가치있다. 그러한 안티센스 올리고뉴클레오티드는 치료적 방식으로 스플라이싱을 표적화하고 변경시키는 효과적이고 특이적인 방법을 제공한다. 문헌[Havens and Hastings, Nucleic Acids Res. 2016 Aug 19;44(14):6549-6563]을 참조하며, 이는 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0791] siRNA 또는 miRNA의 경우에, 이들 핵산은 RNA 간섭(RNAi)으로 불리는 과정을 통해 특정 단백질의 세포내 수준을 하향조절할 수 있다. 세포 세포질 내로의 siRNA 또는 miRNA의 도입 후, 이들 이중 가닥 RNA 작제물은 RISC로 불리는 단백질에 결합할 수 있다. siRNA 또는 miRNA의 센스 가닥은 RISC 복합체로부터 변위되어 RISC 내에 주형을 제공하며, 이러한 주형은 결합된 siRNA 또는 miRNA에 상보적인 서열을 갖는 mRNA를 인식하고 이에 결합할 수 있다. 상보적 mRNA에 결합되었으면, RISC 복합체는 mRNA를 절단하고 절단된 가닥을 방출한다. RNAi는 단백질 합성을 인코딩하는 상응하는 mRNA의 특이적 파괴를 표적화함으로써 특정 단백질의 하향조절을 제공할 수 있다.

[0792] RNAi의 치료적 응용은 매우 폭넓은데, 이는, siRNA 및 miRNA 작제물이 표적 단백질에 대해 유도된 임의의 뉴클레오티드 서열을 사용하여 합성될 수 있기 때문이다. 지금까지, siRNA 작제물은 시험관내 및 생체내 모델 모두에서뿐만 아니라 임상 연구에서도 표적 단백질을 특이적으로 하향조절하는 능력을 나타내었다.

[0793] 안티센스 올리고뉴클레오티드 및 리보자임이 또한 단백질로의 mRNA 번역을 억제할 수 있다. 안티센스 작제물의 경우, 이들 단일 가닥 데옥시핵산은 표적 단백질 mRNA에 상보적인 서열을 가지며 왓슨-크릭 염기쌍 형성에 의해 mRNA에 결합할 수 있다. 이러한 결합은 표적 mRNA의 번역을 방지하고/하거나 mRNA 전사체의 RNase H 분해를 촉발한다. 결과적으로, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 작용 특이성(즉, 특정 질병-관련 단백질의 하향조절)에 있어서 엄청난 잠재력을 갖는다. 지금까지, 이들 화합물은 염증성 질병, 암, 및 HIV의 모델을 포함한 여러 시험관내 및 생체내 모델에서 유망한 것으로 밝혀져 있다(문헌[Agrawal, Trends in Biotech. 14:376-387 (1996)]에서 검토됨). 안티센스는 또한 염색체 DNA와 특이적으로 혼성화함으로써 세포 활성에 영향을 줄 수 있다.

[0794] 번역-자극 핵산은 데옥시리보핵산 및 리보핵산을 포함한다. 데옥시리보핵산의 경우, 소정 서열 또는 모티프가 포유동물에서 번역 자극을 이끌어내는 것으로 밝혀져 있다. 이들 서열 또는 모티프는 CpG 모티프, 피리미딘-풍부 서열 및 회문식 서열을 포함한다. 데옥시리보핵산에서의 CpG 모티프는 엔도솜 수용체, 툴-유사 수용체 9(TLR-9)에 의해 특이적으로 인식되고, 이어서 이는 선천 면역 자극 경로 및 획득 면역 자극 경로 둘 모두를 촉발하는 것으로 여겨진다. 소정 면역 자극 리보핵산 서열이 또한 보고되어 있다. 이들 RNA 서열은 툴-유사 수용체 6 및 7(TLR-6 및 TLR-7)에 대한 결합에 의해 면역 활성화를 촉발하는 것으로 여겨진다. 또한, 이중 가닥 RNA가 또한 면역 자극성인 것으로 보고되어 있으며, 이는 TLR-3에 대한 결합을 통해 활성화되는 것으로 여겨진다.

[0795] 유전자 전사, 번역 및/또는 단백질 기능을 조절하기 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드(ASO)의 기전 및 표적의 비제한적인 예가 표 9A 및 표 9B에 예시되어 있다.

[0796] [표 9A]

ASO 조절의 기전 및 표적 분자

유형	표적 위치	세포내 위치	기전
mRNA	세포내	세포질	번역의 억제
전-mRNA	세포내	핵	대체 스플라이싱
마이크로-RNA	세포내	세포질 및 핵	miRNA 억제 또는 활성화
긴 비-코딩 RNA	세포내	세포질 및 핵	lncRNA 기능의 억제
텔로머라제 RNA 성분	세포내	세포질 및 핵	텔로머라제의 억제
단백질	세포외 및 세포내	세포질 및 핵	단백질 표적의 억제

[0797]

[0798] [표 9B]

ASO 조절의 기전 및 표적 분자

기전	표적	설명	약물의 예
전-mRNA 스플라이싱의 조절	전-mRNA	ASO는 전-mRNA에 결합하고 입체 차단에 의해 스플라이싱을 변경시키고, 그 결과, 스플라이싱 인자에 의한 인식의 파괴를 가져옴	누시네르센, 에테플리르센
RNase H를 동원함으로써 RNA 번역의 조절	전-mRNA 및 mRNA	DNA 염기를 함유하는 ASO는 표적 RNA에 결합하고 RNase H에 의한 RNA의 절단을 유도함	미포메르센, 이노테르센
입체 차단에 의한 RNA 번역의 조절	mRNA	ASO 및 이중체 RNA는 둘 모두 번역 기구를 입체적으로 차단하여 RNA 번역을 억제하거나, 또는 RNA 번역을 감소시키는 비정상 부위를 차단함으로써 RNA 번역을 향상시킬 수 있음	
RNAi에 의한 RNA 번역의 조절	mRNA	siRNA 및 miRNA는 RNA 간섭에 의해 번역을 억제하고 표적 RNA의 절단을 유도함	파티시란, 인클리시란, 피투시란, 기보시란
표적 단백질과의 결합에 의해 단백질 활성의 조절	단백질	압타머는 길항제로서 표적 단백질과 결합함	폐갑타닙

[0799]

[0800]

CRISPR(클러스터화된 규칙적 간격의 짧은 회문식 반복부) 및 관련된 Cas 단백질은 CRISPR-Cas 시스템을 구성한다. CRISPR-Cas는 유전자-편집을 위한 기전이다. RNA-가이드(예를 들어, gRNA) Cas9 엔도뉴클레아제는 서열-의존적 방식으로 DNA를 특이적으로 표적화하고 절단한다. Cas9 엔도뉴클레아제는 본 발명의 임의의 뉴클레아제로 치환될 수 있다. gRNA는 뉴클레아제(예를 들어, Cas9 뉴클레아제)를 관심 특정 뉴클레오티드 영역(예를 들어, 절단하려는 게놈 DNA 서열)에 표적화하고 게놈 DNA를 절단한다. 이어서, 게놈 DNA를 관심 유전자적 요소로 대체할 수 있다.

[0801]

조직 분포 및/또는 체류를 조절하는 방법

[0802]

대상체에서 치료제의 조직 분포 및/또는 체류를 조절하기 위한 화합물 및 방법이 본 명세서에 제공된다. 치료제의 조직 분포를 조절하는 화합물은 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCCP) 및 고리의 펩티드(EP)를 포함할 수 있다. 조직 분포를 조절하기 위한 방법은 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCCP) 및 고리의 펩티드(EP)를 포함하는 화합물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 화합물의 조직 분포 또는 체류의 조절은 생체내에서 상이한 조직들에서의 화합물의 양, 발현, 기능 또는 활성의 측정에 의해 평가될 수 있다. 조직은 동일한 생물학적 시스템의 상이한 조직일 수 있으며, 이를 테면, 중추 신경계 내의 상이한 유형의 근육 조직 또는 상이한 조직일 수 있다. 조직은 근육 조직일 수 있고, 적어도 하나의 다른 유형의 근육 조직(예를 들어, 골격근(횡격막, 전경골근 및 삼두근, 또는 평활근이 포함되지만 이로 한정되지 않음))과 대비하여 심장근 조직에서 화합물의 분포 또는 체류를 조절한다. 조직은 CNS 조직일 수 있으며, 적어도 하나의 다른 유형의 CNS 조직과 대비하여 적어도 하나의 CNS 조직에서 화합물의 분포 또는 체류를 조절한다.

[0803]

본 명세서에 기재된 임의의 EP가 상기 방법에 사용되는 화합물 내에 포함시키기에 적합하다. EP는 PKKKRKV일 수 있다. EP는 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKRR, RRRR, KGKK, KKGK, KKKKK, KKKRK, KBKKB, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PKKGRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 및

PKKKRRKG일 수 있다. EP는 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, KKKKK, KKKRK, KBKKB, KKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PKKGRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 및 PKKKRRKG로부터 선택될 수 있다.

[0804] EP는 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH를 포함할 수 있으며, 여기서 B는 베타-알라닌이다. EP에서의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다. EP는 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH일 수 있으며, 여기서 B는 베타-알라닌이다. EP에서의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.

[0805] EP는 핵 국제화 서열(NLS)로서 당업계에서 확인된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. EP는 핵 국제화 서열(NLS)로서 당업계에서 확인된 아미노산 서열로 이루어질 수 있다. EP는 아미노산 서열 PKKKRKV를 포함하는 NLS를 포함할 수 있다. EP는 아미노산 서열 PKKKRKV를 포함하는 NLS로 이루어질 수 있다. EP는 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKRRK, RKLKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 및 RKCLQAGMNEARKTKK로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 NLS를 포함할 수 있다. EP는 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKRRK, RKLKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 및 RKCLQAGMNEARKTKK로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 NLS로 이루어질 수 있다.

[0806] 화합물의 양, 발현, 기능 또는 활성은 적어도 하나의 조직에서, 제2 조직과 대비하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450% 또는 500% 증가될 수 있다.

[0807] 화합물의 양, 발현, 기능 또는 활성은 적어도 하나의 조직에서, 제2 조직과 대비하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450% 또는 500% 감소될 수 있다.

[0808] 화합물의 양 또는 발현은, 실시예에 기재된 방법을 포함하지만 이로 한정되지 않는, 당업계에 알려진 방법에 의해 상이한 조직 유형들에서 평가될 수 있다. 조직은 표준 방법에 의해 제조될 수 있다. 상이한 조직들에서의 화합물의 양 또는 발현은 당업계에서 잘 확립된 기법에 의해, 예를 들어 LC-MS/MS, 웨스턴 블롯 분석 또는 ELISA에 의해 측정될 수 있다. 상이한 조직들에서의 화합물의 기능 또는 활성은 관련 기능 또는 활성을 평가하기 위해 확립된 기법에 의해 측정될 수 있으며, 이를 테면, 올리고뉴클레오티드-기반 치료용 모이어티의 활성을 평가하기 위한 것으로 RT-PCR의 사용을 들 수 있다. 예를 들어, 관심 표적 mRNA에서 엑손-스킵핑을 유도하기 위해 치료용 모이어티(TM)로서 사용되는 안티센스 화합물(AC)의 경우, RT-PCR이 상이한 조직들에서 엑손-스킵핑의 수준을 정량화하는 데 사용될 수 있다.

[0809] 중추 신경계(CNS)의 조직에서의 치료제의 조직 분포 및/또는 체류는 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP) 및 고리의 펩티드(EP)를 포함하는 화합물을 사용하여 조절될 수 있다. 화합물은 수강내로 대상체에게 투여될 수 있으며, 화합물은 중추 신경계(CNS)의 조직들에서의 치료제의 조직 분포 및/또는 체류를 조절할 수 있다. CNS의 조직의 비제한적인 예는 소뇌, 피질, 해마, 후각 신경구, 척수, 후근 신경절(DRG) 및 뇌척수액(CSF)을 포함한다. cCPP 및 EP를 포함하는 화합물은 수강내 투여될 수 있으며, 치료제의 발현, 활성 또는 기능의 수준은 다른 CNS 조직과 대비하여 적어도 하나의 CNS 조직에서 더 높을 수 있다. cCPP 및 EP를 포함하는 화합물은 수강내 투여될 수 있으며, 치료제의 발현, 활성 또는 기능의 수준은 다른 CNS 조직과 대비하여 적어도 하나의 CNS 조직에서 더 낮을 수 있다. 치료제는 CD33-표적화된 치료제(예를 들어, CD33-표적화된 안티센스 화합물)를 포함할 수 있으며, 여기서 화합물은 수강내 투여된다. cCPP 및 EP를 포함하는 화합물은 적어도 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg 또는 50 mg/kg의 투여량으로 수강내 투여될 수 있다.

[0810] 대상체의 중추 신경계(CNS)에서의 치료제의 조직 분포 또는 체류를 조절하는 방법은 화합물을 상기 대상체에게 수강내 투여하는 단계를 포함할 수 있으며, 상기 화합물은

[0811] (a) 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP);

[0812] (b) 상기 치료제를 포함하는 치료용 모이어티(TM); 및

[0813] (c) 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 포함하는 고리의 펩티드(EP)를 포함하며, 여기서 상기 치료제의 양, 발현, 기능 또는 활성은 상기 대상체의 CNS의 적어도 하나의 조직에서 상기 대상체의 CNS의 제2 조직

과 대비하여 적어도 10% 조절된다.

- [0814] 치료제의 양, 발현, 기능 또는 활성은 대상체의 CNS의 적어도 하나의 조직에서, 대상체의 CNS의 제2 조직과 대비하여 적어도 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450% 또는 500% 조절될 수 있다.
- [0815] CNS-관련 질병 또는 장애에 대해 본 명세서에 기재된 임의의 치료제가 상기 방법에 사용되는 화합물 내에 포함시키기에 적합하다. 치료제는 CD33-표적화된 치료제, 예컨대 본 명세서에 기재된 임의의 CD33-표적화된 안티센스 화합물을 포함할 수 있다.
- [0816] 본 명세서에 기재된 임의의 CPP가 상기 방법에 사용되는 화합물 내에 포함시키기에 적합하다. CPP는 사이클릭 CPP(cCPP)일 수 있다.
- [0817] 상기 화합물은 중추 신경계 질병 또는 장애 또는 신경염증성 질병 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 실시 형태에서, 대상체는 알츠하이머병 또는 파킨슨병을 갖는다.
- [0818] 상이한 유형의 근육 조직들에서의 치료제의 조직 분포 및/또는 체류가 조절될 수 있다. 근육 조직의 비제한적인 예에는 횡격막, 심장근(심근), 전경골근, 삼두근, 다른 골격근 및 평활근이 포함된다. cCPP, EP 및 치료제를 포함하는 화합물이 투여될 수 있으며, 치료제의 발현, 활성 또는 기능의 수준은 다른 근육 조직과 대비하여 적어도 하나의 근육 조직에서 더 높을 수 있다. cCPP, EP 및 치료제를 포함하는 화합물이 투여될 수 있으며, 치료제의 발현, 활성 또는 기능의 수준은 다른 근육 조직과 대비하여 적어도 하나의 근육 조직에서 더 낮을 수 있다. 치료제는 디스트로핀-표적화된 치료제(예를 들어, DMD-표적화된 안티센스 화합물)일 수 있다. 화합물은 적어도 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg 또는 50 mg/kg의 투여량으로 투여될 수 있다.
- [0819] 대상체의 근육계에서의 치료제의 조직 분포 또는 체류를 조절하는 방법은 화합물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있으며, 상기 화합물은
- [0820] (a) 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP);
- [0821] (b) 상기 치료제를 포함하는 치료용 모이어티(TM); 및
- [0822] (c) 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기를 포함하는 고리의 펩티드(EP)를 포함하며, 여기서 상기 치료제의 양, 발현, 기능 또는 활성은 상기 대상체의 근육계의 적어도 하나의 조직에서 상기 대상체의 근육계의 제2 조직과 대비하여 적어도 10% 조절된다.
- [0823] 치료제의 양, 발현, 기능 또는 활성은 대상체의 근육계의 적어도 하나의 조직에서, 대상체의 근육계의 제2 조직과 대비하여 적어도 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300%, 350%, 400%, 450% 또는 500% 조절될 수 있다.
- [0824] 근육계-관련 질병 또는 장애에 대해 본 명세서에 기재된 임의의 치료제가 상기 방법에 사용되는 화합물 내에 포함시키기에 적합하다. 치료제는 DMD-표적화된 치료제, 예컨대 DMD-표적화된 안티센스 화합물일 수 있다.
- [0825] 본 명세서에 기재된 임의의 CPP가 상기 방법에 사용되는 화합물 내에 포함시키기에 적합하다. 실시 형태에서, CPP는 사이클릭 CPP(cCPP)이다.
- [0826] 실시 형태에서, 대상체는 신경근 장애 또는 근골격계 장애를 갖는다. 실시 형태에서, 대상체는 듀센 근이영양증을 갖는다.
- [0827] **비정상 스플라이싱과 관련된 질병 및 예시적인 표적 유전자**
- [0828] 인간 게놈은 40,000개 초과 유전자를 포함하며, 이의 대략 절반은 단백질-코딩 유전자에 상응한다. 그러나, 인간 단백질 종의 수는 단일 아미노산 다형, 번역 후 변형, 그리고 중요하게는, 대체 스플라이싱으로 인해 더 높은 자릿수일 것으로 예측된다. 일반적으로 핵에서 일어나는 RNA 스플라이싱은 전구체 메신저 RNA(전-mRNA)가, 비-코딩 영역(인트론)을 제거하고 나머지 코딩 영역(엑손)들을 함께 결합함으로써 성숙 메신저 RNA(mRNA)로 변환되는 과정이다. 이어서, 생성된 mRNA를 핵으로부터 내보내고 단백질로 번역할 수 있다. 대체 스플라이싱, 또는 차별적 스플라이싱이 유전자 발현 동안 조절되는 과정으로서, 이는 다수의 단백질에 대해 단일 유전자 코딩을 가져온다. 이 과정에서, 유전자의 특정 엑손은 그 유전자로부터 생성된, 최종의 처리된 mRNA 내에 포함되거나 그로부터 배제될 수 있다. 대체 스플라이싱은 진행 유기체에서 정상적인 현상이고, 게놈에 의

해 인코딩된 단백질의 생물학적 다양성에 기여하지만, 스플라이싱에서의 비정상적인 변형은 질병에 심하게 관여되어 있다. 인간 유전자적 장애의 큰 비율이 스플라이싱 변이체로부터 유래되고; 비정상 스플라이싱 변이체는 암의 발달에 기여하고; 스플라이싱 인자 유전자는 상이한 유형의 암에서 빈번하게 돌연변이된다.

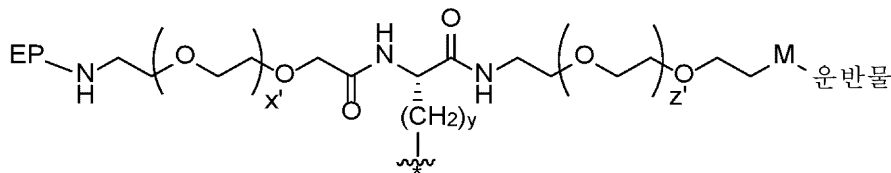
- [0829] 인간 유전자 돌연변이 데이터베이스(HGMD)에 보고된 약 80,000개의 돌연변이의 약 10%가 스플라이스 부위에 영향을 준다. HGMD에는, +1 공여자 스플라이스 부위에서 일어나는 3390개의 질병-유발 돌연변이가 있다. 이들 돌연변이는 901개의 유전자에서 2754개의 엑손에 영향을 준다. 이러한 유병률은 근육 구조 단백질을 인코딩하는 유전자의 매우 큰 크기 및 멀티엑손 구조로 인해 신경근 장애(NMD)에 대해 훨씬 더 높은데, 이는 NMD에서의 이들 돌연변이의 중요성을 추가로 강조한다.
- [0830] 이전에, 점 돌연변이, 예를 들어 스플라이스 부위 돌연변이의 교정은 상동성-유도 수복(HDR) 경로를 통해 시도되어 왔는데, 이는 유사분열 후 조직, 예컨대 골격근에서 매우 비효율적이어서 NMD에서의 이의 치료적 유용성을 방해한다. 또한, 계놈 내로 교정된 코딩 영역을 재도입하기 위한 표준 유전자 요법 접근법은, 예를 들어 근육 구조 단백질을 인코딩하는 유전자의 큰 크기에 의해 방해된다. 더욱이, 많은 기존의 요법은 질병 세포 내로의 치료용 화합물의 비효율적인 도입에 의존하며, 이로써 생체내 치료는 비실용적이고 더 높은 독성을 겪게 된다.
- [0831] 본 명세서에서의 표적 유전자는 하나 이상의 인트론 및 하나 이상의 엑손을 포함하는 임의의 진행성 유전자일 수 있다. 표적 유전자는 포유류 유전자일 수 있다. 포유동물은 인간, 마우스, 소, 래트, 돼지, 말, 닭, 양 등일 수 있다. 표적 유전자는 인간 유전자일 수 있다.
- [0832] 표적 유전자는 비정상 스플라이싱으로 이어지는 돌연변이를 포함하는 유전자일 수 있다. 표적 유전자는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 유전자일 수 있다. 표적 유전자는, 표적 유전자의 전사 및 번역이 기능성 단백질로 이어지지 않도록 하는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 유전자일 수 있다. 표적 유전자는, 표적 유전자의 전사 및 번역이 야생형 표적 단백질보다 덜 활성이거나 덜 기능적인 표적 단백질로 이어지도록 하는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 유전자일 수 있다.
- [0833] 표적 유전자는 유전자적 장애의 근거가 되는 유전자일 수 있다. 표적 유전자는 중추 신경계에서 비정상적인 유전자 발현을 가질 수 있다. 표적 유전자는 신경근 장애(NMD)의 발병에 관여하는 유전자일 수 있다. 표적 유전자는 근골격계 장애(NMD)의 발병에 관여하는 유전자일 수 있다. 신경근육 질병은 폼페 질병일 수 있고, 표적 유전자는 GYS1일 수 있다.
- [0834] 안티센스 화합물은 유전자적 질병의 근거가 되는 비정상 스플라이싱으로 이어지는 돌연변이를 포함하는 표적 유전자에 대해 사용될 수 있으며, 이는, 스플라이싱을 재유도하여 원하는 스플라이스 산물을 제공하기 위함이다 (문헌[Kole, Acta Biochimica Polonica, 1997, 44, 231-238]).
- [0835] CRISPR 유전자-편집 기구는 제거를 위한 비정상 유전자를 표적화하거나 유전자 전사 및 번역을 조절하는 데 사용될 수 있다.
- [0836] 상기 질병은 β -지중해빈혈을 포함할 수 있다(문헌[Dominski and Kole, proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90, 8673-8677]; 문헌[Sierakowska et al., Nucleosides & Nucleotides, 1997, 16,1173-1182]; 문헌[Sierakowska et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93, 12840-44]; 문헌[Lacerra et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97, 9591-9596]).
- [0837] 상기 질병은 디스트로핀 코브를 포함할 수 있다(문헌[Takeshima et al., J. Clin. Invest., 1995, 95, 515-520]).
- [0838] 상기 질병은 듀센 근이영양증을 포함할 수 있다(문헌[Dunckley et al. Nucleosides & 뉴클레오티드, 1997, 16, 1665-1668]; 문헌[Dunckley et al. Human Mol. Genetics, 1998, 5, 1083-90]). 표적 유전자는 DMD 유전자일 수 있으며, 이는 디스트로핀을 인코딩한다. 상기 단백질은 액틴 필라멘트에 결합하는 N-말단 도메인, 중앙 로드 도메인, 및 디스트로핀-당단백질 복합체에 결합하는 C-말단 시스테인-풍부 도메인으로 이루어진다(문헌[Hoffman et al. 1987]; 문헌[Koenig et al. 1988]; 문헌[Yoshida and Ozawa 1990]). 관독 프레임을 중단시키는 DMD 유전자에서의 돌연변이는 디스트로핀 기능의 완전한 손실을 가져오며, 이는 심각한 듀센 근이영양증(DMD[MIM 310200])을 야기한다. 다른 한편으로, 더 경증인 베커 근이영양증(BMD[MIM 300376])은 동일한 유전자에서의 돌연변이의 결과로서, 이들 돌연변이는 프레임시프팅하지 않고, 그 결과, N- 및 C-말단 단부를 보유한, 내부적으로 결실되지만 부분적으로 기능성인 디스트로핀을 생성한다(문헌[Koenig et al. 1989; 문헌[Di Blasi et al. 1996]). DMD 및 BMD를 갖는 환자의 3분의 2를 초과하여 1개 초과 엑손의 결실을 갖는다(문헌[den Dun-nen et al. 1989]). 주목할 만한 점은, 매우 경미한 BMD를 나타내고 중앙 로드 도메인의 최대 67%까

지 결여된 환자가 기재되어 있다는 것이다(문헌[England et al. 1990]; 문헌[Winnard et al. 1993]; 문헌[Mirabella et al. 1998]). 이는, 큰 결실에도 불구하고, 그러한 결실이 전사체를 인 프레임되게 한다면, 부분적으로 기능성인 디스트로핀이 생성될 수 있음을 시사한다. 이러한 관찰은 AC를 스플라이싱을 변경시키는 데 사용하는 아이디어로 이어졌는데, 이로써 오픈 리딩 프레임이 복원되고, 심각한 DMD 표현형이 더 경미한 BMD 표현형으로 전환된다. 몇몇 연구는 mdx 마우스 모델로부터 유래된 세포에서(문헌[Dunckley et al. 1998]; 문헌[Wilton et al. 1999]; 문헌[Mann et al. 2001, 2002]; 문헌[Lu et al. 2003]), 그리고 다양한 DMD 환자에서(문헌[Takeshima et al. 2001]; 문헌[van Deutekom et al. 2001]; 문헌[Aartsma-Rus et al. 2002, 2003]; 문헌[De Angelis et al. 2002]) 치료적 AC-유도 단일-엑손 스킵핑을 보여주었다. AC는 DMD의 엑손 2, 8, 11, 17, 19, 23, 29, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 및 59로부터 선택되는 하나 이상의 엑손을 스킵핑하는 데 사용될 수 있다. 문헌[Aartsma-Rus et al. 2002]을 참조하며, 이는 본 명세서에 참고로 포함된다. AC는 DMD의 엑손 8, 11, 43, 44, 45, 50, 51, 53, 및 55로부터 선택되는 하나 이상의 엑손을 스킵핑하는 데 사용될 수 있다. DMD를 갖는 모든 환자 중에서, 약 75%가 이들 엑손의 스킵핑으로부터 이익을 얻을 것이다. 아웃-오브-프레임 결실을 플랭킹하는 엑손 또는 넌센스 돌연변이를 함유하는 인-프레임 엑손의 스킵핑은 판독 프레임을 복원하고, 처리된 세포에서 BMD-유사 디스트로핀의 합성을 유도할 수 있다. (문헌[van Deutekom et al. 2001]; 문헌[Aartsma-Rus et al. 2003]). 표적 DMD 전-mRNA 내의 표적 서열에 혼성화되는 AC는 하나 이상의 엑손의 스킵핑을 유도할 수 있다. AC는 디스트로핀의 활성 단편을 포함하는 재-스플라이싱된 표적 단백질의 발현을 유도할 수 있다. 엑손 52에 대한 AC의 비제한적인 예가 미국 특허 출원 공개 제 2019/0365918호에 기재되어 있으며, 이는 모든 목적을 위하여 전체적으로 참고로 포함된다. 화합물은 EP, cCPP, 및 DMD 유전자를 표적화하는 운반물을 포함할 수 있다.

[0839] 운반물 모이어티에 접합된 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)

[0840] 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)는 운반물 모이어티에 접합될 수 있다.

[0841] 운반물 모이어티는 링커를 통해 cCPP에 접합될 수 있다. 운반물 모이어티는 치료용 모이어티를 포함할 수 있다. 치료용 모이어티는 올리고뉴클레오티드, 펩티드 또는 소분자를 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 운반물 모이어티는 말단 카르보닐 기에서 링커에 접합되어 하기 구조를 제공할 수 있다:



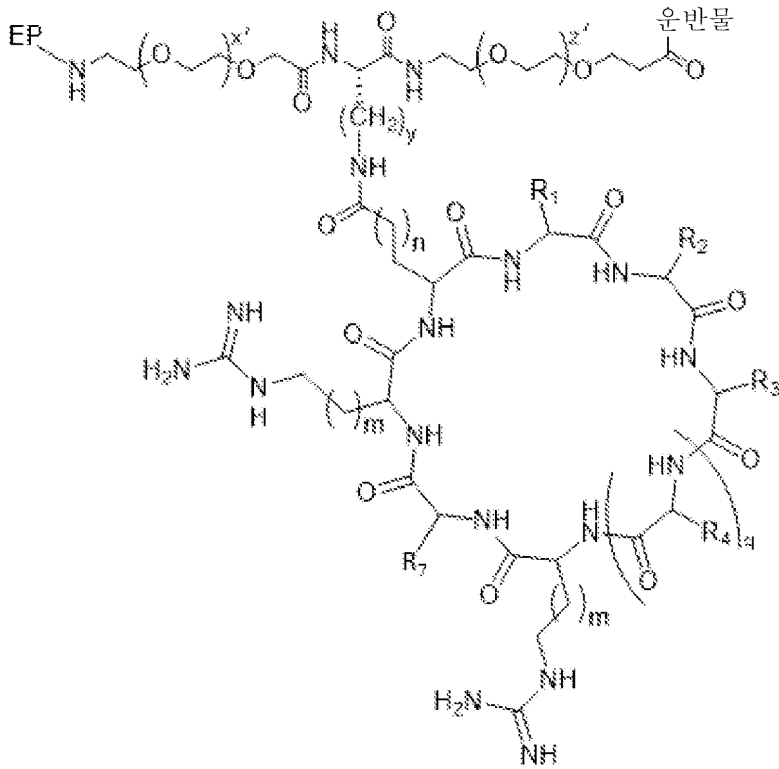
[0842]

[0843] 상기 식에서,

[0844] EP는 고리의 펩티드이고, M, AA_{SC}, 운반물, x', y, 및 z'은 상기에 정의된 바와 같으며, *는 AA_{SC}에 대한 부착점이다. x'은 1일 수 있다. y는 4일 수 있다. z'은 11일 수 있다. -(OCH₂CH-₂)_{x'}- 및/또는 -(OCH₂CH-₂)_{z'}-는 독립적으로 하나 이상의 아미노산으로 대체될 수 있으며, 상기 아미노산에는, 예를 들어 글리신, 베타-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜탄산, 6-아미노헥산산, 또는 이들의 조합이 포함된다.

[0845] 엔도솜 탈출 비히클(EEV)은 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP), 고리의 펩티드(EP) 및 링커를 포함할 수 있으며, 운반물에 접합되어 화학식 (C)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 EEV-접합체를 형성할 수 있다:

[0846] [화학식 (C)]



[0847]

[0848] 상기 식에서,

[0849] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, 또는 방향족 기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0850] R₄는 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0851] EP는 본 명세서에 정의된 바와 같은 고리의 펩티드이고;

[0852] 운반물은 본 명세서에 정의된 바와 같은 모이어티이고;

[0853] 각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

[0854] n은 0 내지 2의 정수이고;

[0855] x'은 2 내지 20의 정수이고;

[0856] y는 1 내지 5의 정수이고;

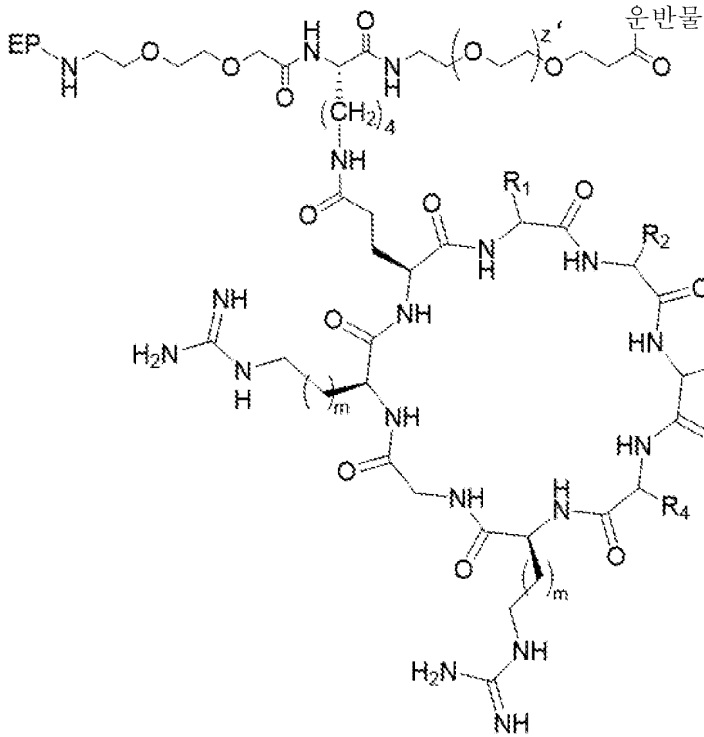
[0857] q는 1 내지 4의 정수이고;

[0858] z'은 2 내지 20의 정수이다.

[0859] R₁, R₂, R₃, R₄, EP, 운반물, m, n, x', y, q, 및 z'은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

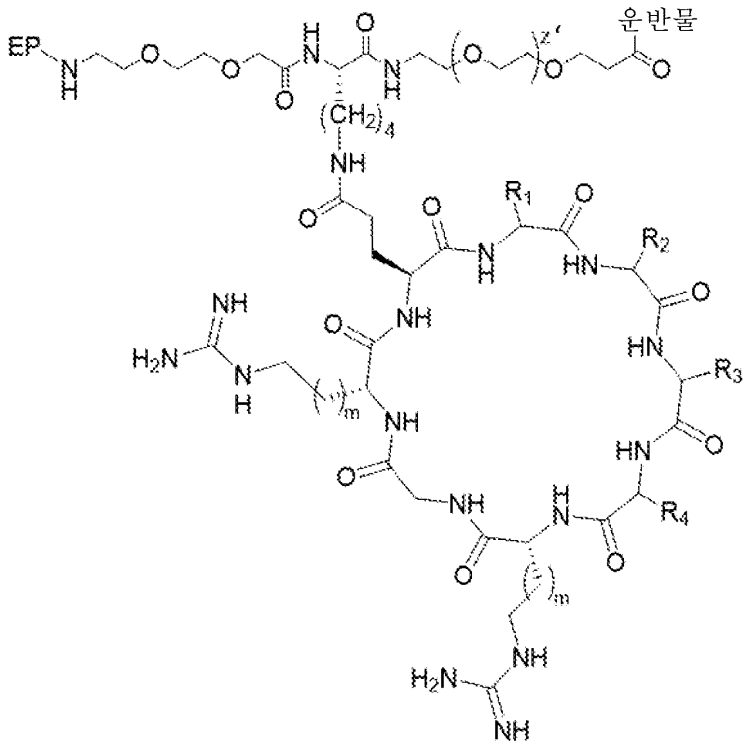
[0860] EEV는 운반물에 접합될 수 있으며, EEV-접합체는 화학식 (C-a) 또는 화학식 (C-b)의 구조, 또는 이들의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0861] [화학식 (C-a)]



[0862]

[0863] [화학식 (C-b)]

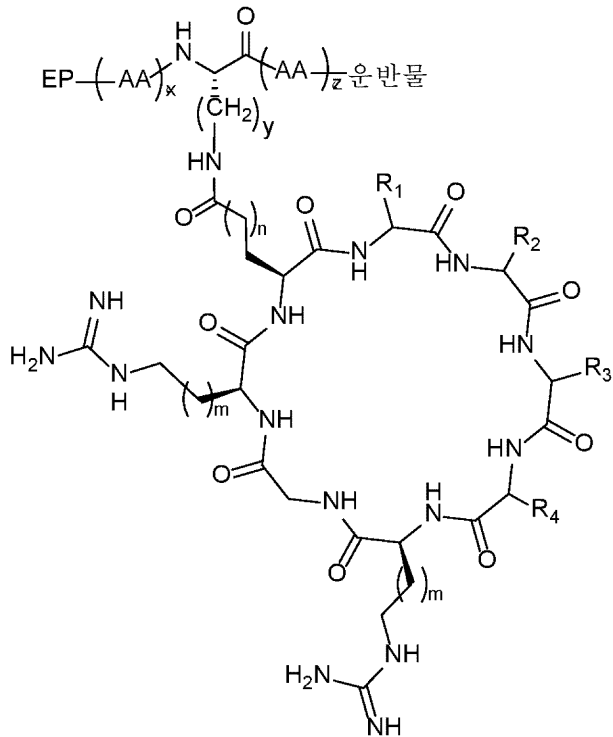


[0864]

[0865] 상기 식에서, EP, m 및 z는 상기에서 화학식 (C)에 정의된 바와 같다.

[0866] EEV는 운반물에 접합될 수 있으며, EEV-접합체는 화학식 (C-c)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0867] [화학식 (C-c)]



[0868]

[0869]

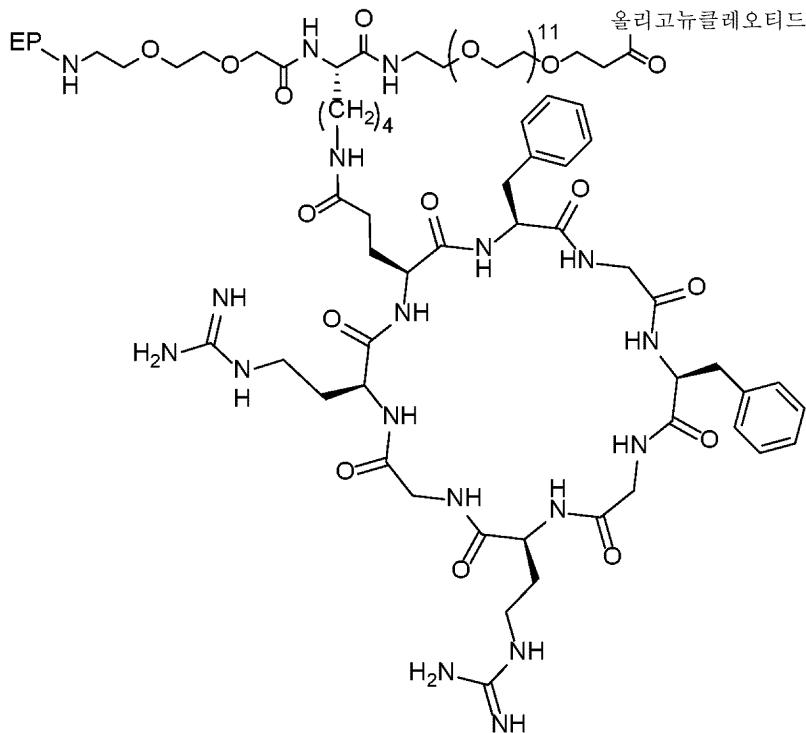
상기 식에서, EP, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , 및 m은 화학식 (III)에서 상기에 정의된 바와 같으며; AA는 본 명세서에 정의된 바와 같은 아미노산일 수 있고; n은 0 내지 2의 정수일 수 있고; x는 1 내지 10의 정수일 수 있고; y는 1 내지 5의 정수일 수 있고; z는 1 내지 10의 정수일 수 있다.

[0870]

EEV는 올리고뉴클레오타이드 운반물에 접합될 수 있으며, EEV-올리고뉴클레오타이드 접합체는 화학식 (C-1), 화학식 (C-2), 화학식 (C-3), 또는 화학식 (C-4)의 구조를 포함할 수 있다:

[0871]

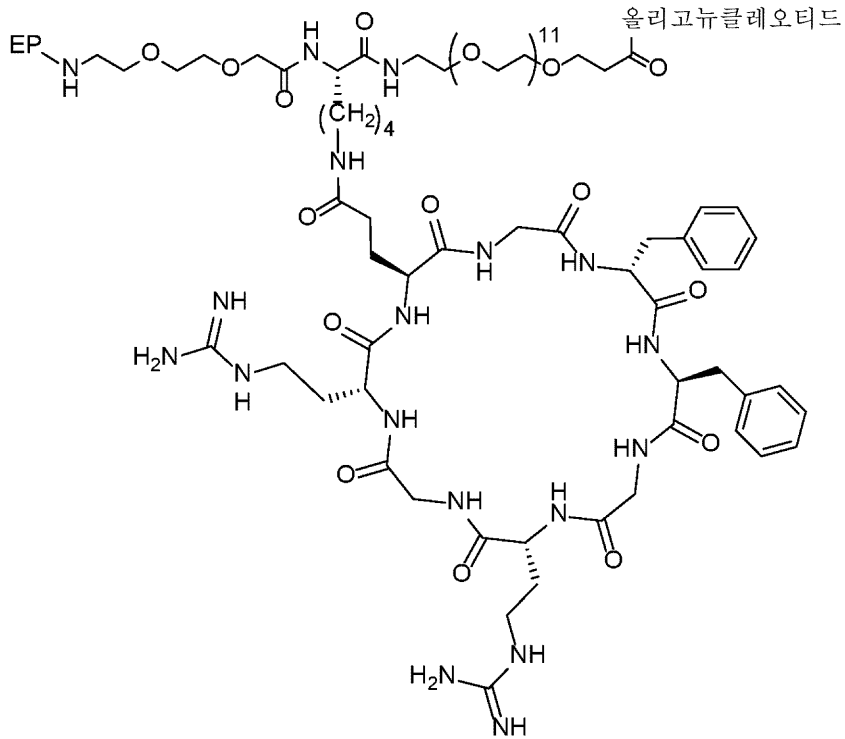
[화학식 (C-1)]



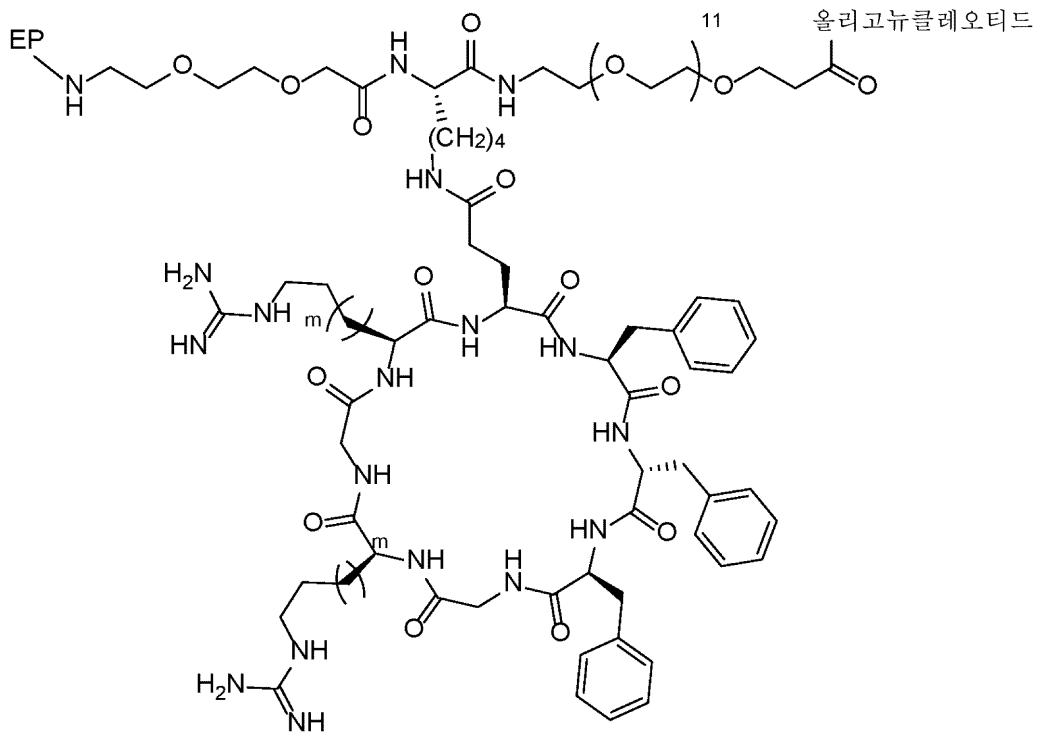
[0872]

[0873]

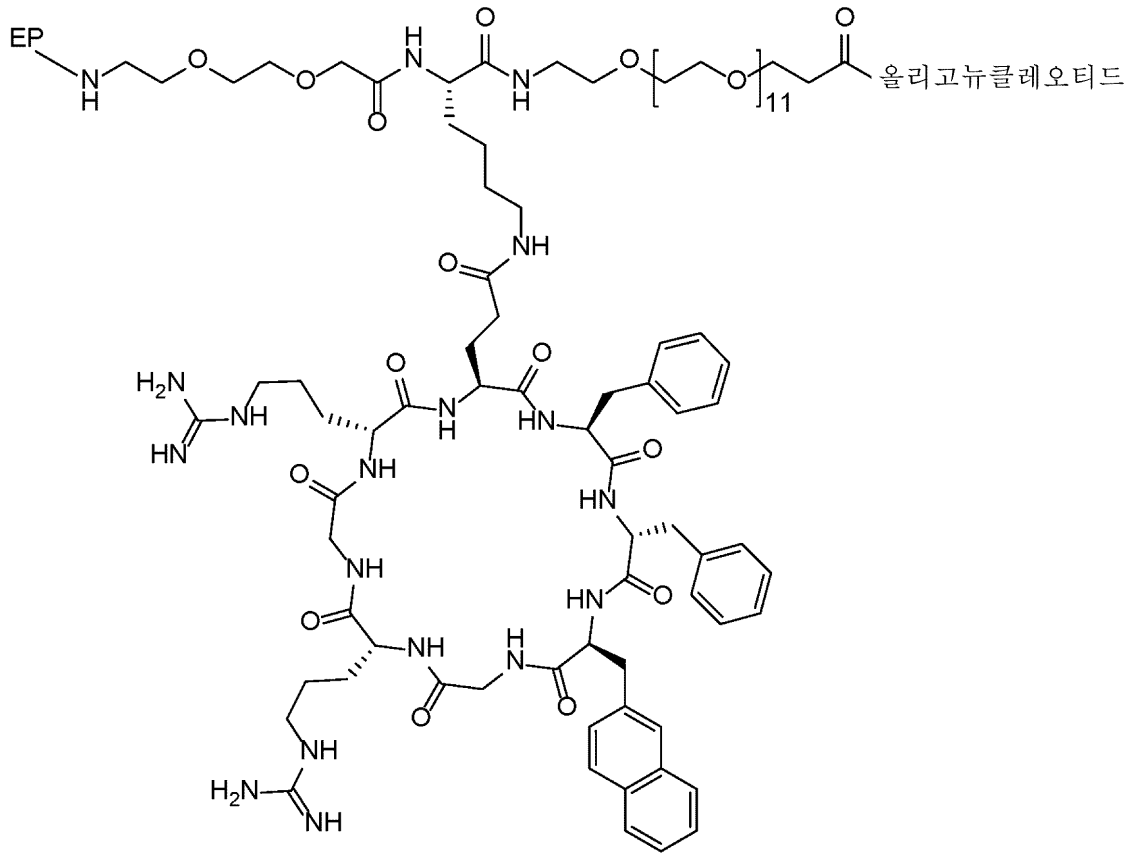
[화학식 (C-2)]



[0875] [화학식 (C-3)]



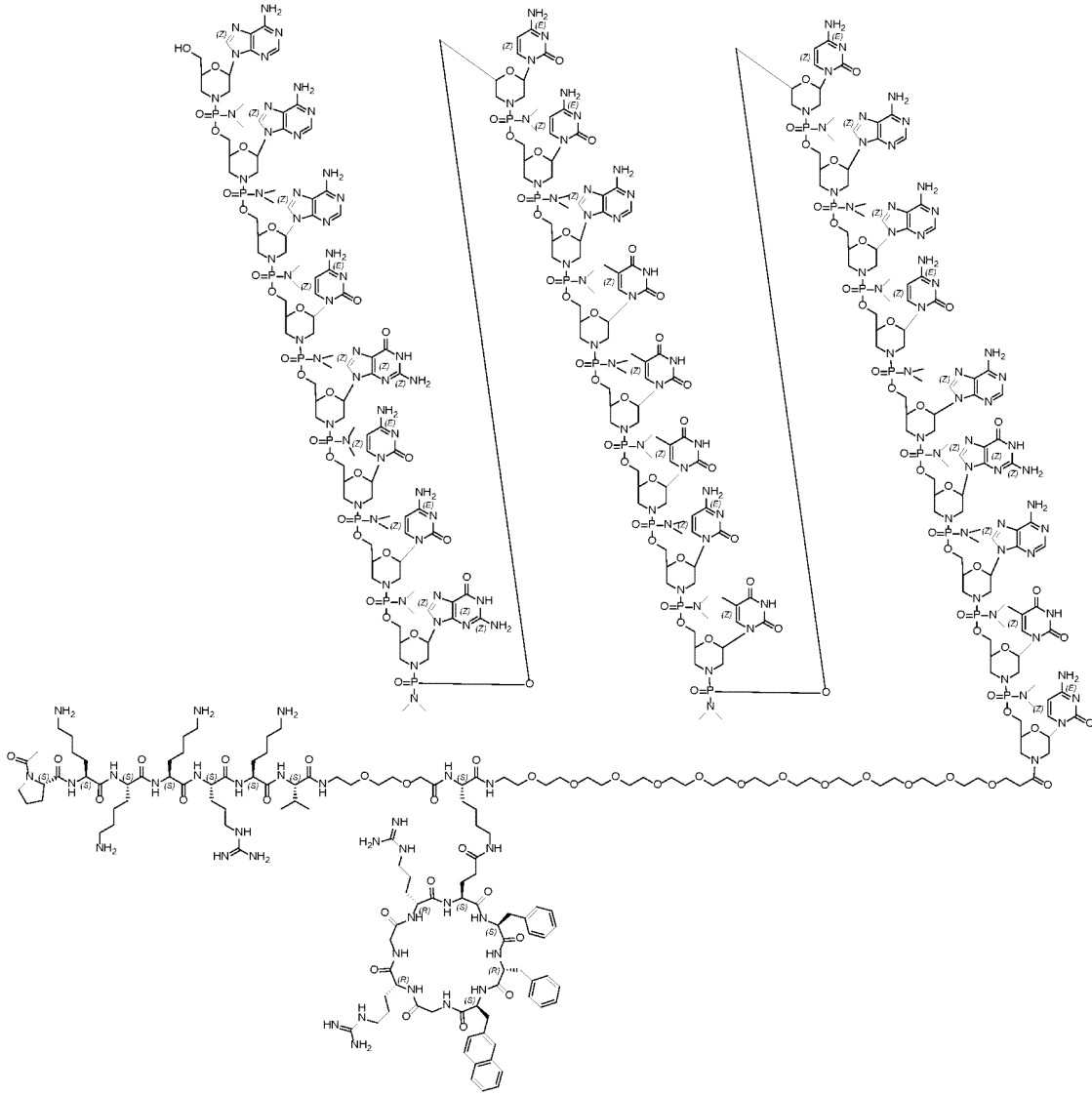
[0877] [화학식 (C-4)]



[0878]

[0879]

EEV는 올리고뉴클레오티드 운반물에 접합될 수 있으며, EEV-접합체는 하기 구조를 포함할 수 있다:



[0880]

[0881]

사이토졸 전달 효율

[0882]

사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)에 대한 변형은 사이토졸 전달 효율을 개선할 수 있다. 개선된 사이토졸 흡수 효율은 변형된 서열을 갖는 cCPP의 사이토졸 전달 효율을 대조 서열의 것과 비교함으로써 측정될 수 있다. 대조 서열은 변형된 서열 내의 특정 대체 아미노산 잔기(아르기닌, 페닐알라닌 및/또는 글리신을 포함하지만 이로 한정되지 않음)를 포함하지 않는 것을 제외하면, 달리 동일하다.

[0883]

본 명세서에 사용되는 바와 같이, 사이토졸 전달 효율은 cCPP가 세포막을 가로질러 세포의 사이토졸에 들어갈 수 있는 능력을 지칭한다. cCPP의 세포질 전달 효율은 수용체 또는 세포 유형에 반드시 의존하지 않는다. 사이토졸 전달 효율은 절대 사이토졸 전달 효율 또는 상대 사이토졸 전달 효율을 지칭할 수 있다.

[0884]

절대 사이토졸 전달 효율은 성장 배지 중의 cCPP의 농도(또는 cCPP-운반물 접합체)에 대한 cCPP(또는 cCPP-운반물 접합체)의 사이토졸 농도의 비이다. 상대 사이토졸 전달 효율은 사이토졸 중의 대조 cCPP의 농도와 대비하여 사이토졸 중의 cCPP의 농도를 지칭한다. cCPP를 (예를 들어, FITC 염료로) 형광 표지하고, 당업계에 잘 알려진 기법을 사용하여 형광 강도를 측정함으로써 정량화가 달성될 수 있다.

[0885]

상대 사이토졸 전달 효율은 (i) 세포 유형(예를 들어, heLa 세포)에 의해 내재화된 본 발명의 cCPP의 양을 (ii) 동일한 세포 유형에 의해 내재화된 대조 cCPP의 양과 비교함으로써 결정된다. 상대 사이토졸 전달 효율을 측정하기 위해, 세포 유형을 cCPP의 존재 하에서 지정된 기간 동안(예를 들어, 30분, 1시간, 2시간 등) 인큐베이션할 수 있으며, 이후에 세포에 의해 내재화된 cCPP의 양을 당업계에 알려진 방법, 예를 들어 형광 현미경법을 사용하여 정량화한다. 별도로, 동일한 농도의 대조 cCPP를 동일한 기간에 걸쳐 세포 유형의 존재 하에서 인큐베이션하고, 세포에 의해 내재화된 대조 cCPP의 양을 정량화한다.

- [0886] 상대 사이토졸 전달 효율은 세포내 표적을 위한 변형된 서열을 갖는 cCPP의 IC₅₀을 측정하고, 변형된 서열을 갖는 cCPP의 IC₅₀을 대조 서열(본 명세서에 기재된 바와 같음)과 비교함으로써 결정될 수 있다.
- [0887] cCPP의 상대 사이토졸 전달 효율은 사이클로(FfΦRrRQ)와 대비하여 약 50% 내지 약 450%의 범위, 예를 들어 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 100%, 약 110%, 약 120%, 약 130%, 약 140%, 약 150%, 약 160%, 약 170%, 약 180%, 약 190%, 약 200%, 약 210%, 약 220%, 약 230%, 약 240%, 약 250%, 약 260%, 약 270%, 약 280%, 약 290%, 약 300%, 약 310%, 약 320%, 약 330%, 약 340%, 약 350%, 약 360%, 약 370%, 약 380%, 약 390%, 약 400%, 약 410%, 약 420%, 약 430%, 약 440%, 약 450%, 약 460%, 약 470%, 약 480%, 약 490%, 약 500%, 약 510%, 약 520%, 약 530%, 약 540%, 약 550%, 약 560%, 약 570%, 약 580%, 또는 약 590%(이들 사이의 모든 값 및 하위범위를 포함함)일 수 있다. cCPP의 상대 사이토졸 전달 효율은 사이클로(FfΦRrRQ)를 포함하는 사이클릭 펩티드와 대비하여 약 600% 초과만큼 개선될 수 있다.
- [0888] 절대 사이토졸 전달 효능은 약 40% 내지 약 100%, 예를 들어 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%(이들 사이의 모든 값 및 하위범위를 포함함)일 수 있다.
- [0889] 본 발명의 cCPP는, 달리 동일한 서열과 대비하여 약 1.1배 내지 약 30배, 예를 들어 약 1.2배, 약 1.3배, 약 1.4배, 약 1.5배, 약 1.6배, 약 1.7배, 약 1.8배, 약 1.9배, 약 2.0배, 약 2.5배, 약 3.0배, 약 3.5배, 약 4.0배, 약 4.5배, 약 5.0배, 약 5.5배, 약 6.0배, 약 6.5배, 약 7.0배, 약 7.5배, 약 8.0배, 약 8.5배, 약 9.0배, 약 10배, 약 10.5배, 약 11.0배, 약 11.5배, 약 12.0배, 약 12.5배, 약 13.0배, 약 13.5배, 약 14.0배, 약 14.5배, 약 15.0배, 약 15.5배, 약 16.0배, 약 16.5배, 약 17.0배, 약 17.5배, 약 18.0배, 약 18.5배, 약 19.0배, 약 19.5배, 약 20배, 약 20.5배, 약 21.0배, 약 21.5배, 약 22.0배, 약 22.5배, 약 23.0배, 약 23.5배, 약 24.0배, 약 24.5배, 약 25.0배, 약 25.5배, 약 26.0배, 약 26.5배, 약 27.0배, 약 27.5배, 약 28.0배, 약 28.5배, 약 29.0배, 또는 약 29.5배(이들 사이의 모든 값 및 하위범위를 포함함)만큼 사이토졸 전달 효율을 개선할 수 있다.
- [0890] 제조 방법
- [0891] 본 명세서에 기재된 화합물은 당업자에 의해 이해되는 바와 같이 유기 합성 기술분야의 당업자에게 알려진 다양한 방식으로 또는 그에 대한 변형으로 제조될 수 있다. 본 명세서에 기재된 화합물은 용이하게 입수가 가능한 출발 물질로부터 제조될 수 있다. 최적의 반응 조건은 사용되는 특정 반응물질 또는 용매에 따라 달라질 수 있지만, 그러한 조건은 당업자에 의해 결정될 수 있다.
- [0892] 본 명세서에 기재된 화합물에 대한 변형은 각각의 화합물에 대해 기재된 바와 같이 다양한 성분의 부가, 차감, 또는 이동을 포함한다. 유사하게, 하나 이상의 키랄 중심이 분자에 존재할 때, 분자의 키랄성이 변화될 수 있다. 추가로, 화합물 합성은 다양한 화학기의 보호 및 탈보호를 수반할 수 있다. 보호 및 탈보호의 사용, 및 적절한 보호기의 선택은 당업자에 의해 결정될 수 있다. 보호기의 화학적 특성은, 예를 들어 문헌[Wuts and Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., Wiley & Sons, 2006]에서 찾아볼 수 있으며, 이는 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.
- [0893] 개시된 화합물 및 조성물을 제조하는 데 사용되는 출발 물질 및 시약은 Aldrich Chemical Co.(미국 위스콘신주 밀워키 소재), Acros Organics(미국 뉴저지주 모리스 플레인스 소재), Fisher Scientific(미국 펜실베이니아주 피츠버그 소재), Sigma(미국 미주리주 세인트 루이스 소재), Pfizer(미국 뉴욕주 뉴욕 소재), GlaxoSmithKline(미국 노스 캐롤라이나주 롤리 소재), Merck(미국 뉴저지주 화이트하우스 스테이션), Johnson & Johnson(미국 뉴저지주 뉴브런즈윅 소재), Aventis(미국 뉴저지주 브리지워터 소재), AstraZeneca(미국 텔라웨어주 월링턴 소재), Novartis(스위스 바젤 소재), Wyeth(미국 뉴저지주 매디슨 소재), Bristol-Myers-Squibb(미국 뉴욕주 뉴욕 소재), Roche(스위스 바젤 소재), Lilly(미국 인디애나주 인디애나폴리스 소재), Abbott(미국 일리노이즈주 애보트 파크 소재), Schering Plough(미국 뉴저지주 케널워스 소재), 또는 Boehringer Ingelheim(독일 잉겔하임 소재)과 같은 상업적 공급업체로부터 구매가능하거나, 또는 문헌[Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991)]; 문헌[Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5 and Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989)]; 문헌[Organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991)]; 문헌[March's Advanced Organic Chemistry, (John Wiley and Sons, 4th Edition)]; 및 문헌[Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989)]과 같은 참고문헌에 제시된 절차에 따라 당업자에게 알려진 방법에 의해

제조된다. 본 명세서에 개시된 약제학적 담체와 같은 다른 물질은 상업적 공급처로부터 입수될 수 있다.

[0894]

본 명세서에 기재된 화합물을 생성하기 위한 반응은 용매 중에서 수행될 수 있으며, 이러한 용매는 유기 합성 기술분야의 당업자에 의해 선택될 수 있다. 용매는 반응이 수행되는 조건(즉, 온도 및 압력) 하에서 출발 물질(반응물질), 중간체, 또는 생성물과 실질적으로 비반응성일 수 있다. 반응은 하나의 용매 또는 하나 초과 용매의 혼합물 중에서 수행될 수 있다. 생성물 또는 중간체 형성은 당업계에 알려진 임의의 적합한 방법에 따라 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 생성물 형성은 핵자기 공명 분광법(예를 들어, ¹H 또는 ¹³C), 적외선 분광법, 분광광도법(예를 들어, UV-가시광선), 또는 질량 분석과 같은 분광학적 수단에 의해, 또는 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 또는 박막 크로마토그래피와 같은 크로마토그래피에 의해 모니터링될 수 있다.

[0895]

개시된 화합물은 고상 펩티드 합성에 의해 제조될 수 있으며, 여기서 아미노산 α-N-말단은 산 또는 염기 보호기에 의해 보호된다. 그러한 보호기는 성장하는 펩티드 사슬의 파괴 또는 거기에 함유된 어떠한 키랄 중심의 라세미화 없이 용이하게 제거가능하면서 펩티드 결합 형성의 조건에 안정하다는 특성을 가져야 한다. 적합한 보호기는 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐(Fmoc), t-부틸옥시카르보닐(Boc), 벤질옥시카르보닐(Cbz), 바이페닐아 이소프로필옥시카르보닐, t-아밀옥시카르보닐, 아이소보르닐옥시카르보닐, α, α-다이메틸-3,5-다이메톡시벤질 옥시카르보닐, o-니트로페닐설폰, 2-시아노-t-부틸옥시카르보닐 등이다. 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐(Fmoc) 보호기가 개시된 화합물의 합성에 특히 바람직하다. 다른 바람직한 측쇄 보호기는, 라이신 및 아르기닌과 같은 측쇄 아미노 기의 경우, 2,2,5,7,8-펜타메틸크로만-6-설폰(pmc), 니트로, p-톨루엔설폰, 4-메톡시벤젠설폰, Cbz, Boc, 및 아다만틸옥시카르보닐; 티로신의 경우, 벤질, o-브로모벤질옥시-카르보닐, 2,6-다이클로로벤질, 아이소프로필, t-부틸(t-Bu), 사이클로헥실, 사이클로페닐 및 아세틸(Ac); 세린의 경우, t-부틸, 벤질 및 테트라하이드로피라닐; 히스티딘의 경우, 트라이틸, 벤질, Cbz, p-톨루엔설폰 및 2,4-다이니트로페닐; 트립토판의 경우, 포르밀; 아스파르트산 및 글루탐산의 경우, 벤질 및 t-부틸, 그리고 시스테인의 경우, 트라이페닐메틸(트라이틸)이다.

[0896]

고상 펩티드 합성 방법에서, α-C-말단 아미노산은 적합한 고체 지지체 또는 수지에 부착된다. 상기 합성에 유용한 적합한 고체 지지체는 단계적 축합-탈보호 반응의 시약 및 반응 조건에 불활성일 뿐만 아니라, 사용되는 매질 중에 불용성인 재료이다. α-C-말단 카르복시 펩티드의 합성을 위한 고체 지지체는 4-하이드록시메틸페녹시메틸-코-폴리(스티렌-1% 다이비닐벤젠) 또는 4-(2',4'-다이메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸)페녹시아세트아미도메틸 수지(Applied Biosystems(미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재)로부터 입수가 가능함)이다. α-C-말단 아미노산은 용매, 예컨대 다이클로로메탄 또는 DMF 중에서 10°C 내지 50°C의 온도에서 약 1 내지 약 24시간 동안, 4-다이메틸아미노피리딘(DMAP), 1-하이드록시벤조트라이아졸(HOBT), 벤조트라이아졸-1-일옥시-트리스(다이메틸아미노)포스포늄헥사플루오로포스페이트(BOP) 또는 비스(2-옥소-3-옥사졸리디닐)포스핀 클로라이드(BOPCl)-매개 커플링과 함께 또는 이것 없이, N,N'-다이사이클로헥실카르보다이이미드(DCC), N,N'-다이아이소프로필카르보다이이미드(DIC) 또는 O-벤조트라이아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(HBTU)에 의해 상기 수지에 커플링된다. 고체 지지체가 4-(2',4'-다이메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸)페녹시아세트아미도메틸 수지일 때, Fmoc 기는 2차 아민, 바람직하게는 피페리딘을 사용하여 절단된 후, 전술된 바와 같이 α-C-말단 아미노산과 커플링된다. 탈보호된 4-(2',4'-다이메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸)페녹시아세트아미도메틸 수지에 커플링하기 위한 한 가지 방법은 DMF 중 O-벤조트라이아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(HBTU, 1 당량) 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(HOBT, 1 당량)이다. 연속적인 보호된 아미노산들의 커플링은 자동 폴리펩티드 합성기 내에서 수행될 수 있다. 한 예에서, 성장하는 펩티드 사슬의 아미노산에서의 α-N-말단은 Fmoc으로 보호된다. 성장하는 펩티드의 α-N-말단 측으로부터의 Fmoc 보호기의 제거는 2차 아민, 바람직하게는 피페리딘에 의한 처리에 의해 달성된다. 이어서, 각각의 보호된 아미노산을 약 3배 몰 과량으로 도입하고, 커플링을 바람직하게는 DMF 중에서 수행한다. 커플링제는 O-벤조트라이아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(HBTU, 1 당량) 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(HOBT, 1 당량)일 수 있다. 고상 합성의 종료 시점에서, 폴리펩티드는 수지로부터 제거되고, 연속적으로 또는 단일 작업으로 탈보호된다. 폴리펩티드의 제거 및 탈보호는 수지-결합된 폴리펩티드를, 티오아니올, 물, 에탄다이티올 및 트라이플루오로아세트산을 포함하는 절단 시약으로 처리함으로써 단일 작업으로 달성될 수 있다. 폴리펩티드의 α-C-말단이 알킬아미드인 경우, 수지는 알킬아민을 사용하여 아미노분해에 의해 절단된다. 대안적으로, 펩티드는, 예를 들어 메탄올을 사용하여 에스테르 교환 후, 아미노 분해를 수행함으로써 제거되거나, 또는 직접 아미노 기 전이(transamidation)에 의해 제거될 수 있다. 보호된 펩티드는 이 시점에서 정제되거나, 또는 직접 다음 단계로 진행될 수 있다. 측쇄 보호기의 제거는 전술된 절단 각테일을 사용하여 달성될 수 있다. 완전 탈보호된 펩티드는 하기 유형들 중 임의의 것 또는 전부를 사용하여 일련의 크로마토그래피 단계에 의해 정제될 수 있다: 약

염기성 수지(아세테이트 형태) 상에서의 이온 교환; 비유도체화된 폴리스티렌-다이비닐벤젠(예를 들어, Amberlite XAD) 상에서의 소수성 흡착 크로마토그래피; 실리카 겔 흡착 크로마토그래피; 카르복시메틸셀룰로스 상에서의 이온 교환 크로마토그래피; 예를 들어 Sephadex G-25, LH-20, 향류(countercurrent) 분포 상에서의 분배 크로마토그래피; 옥틸- 또는 옥타데실실릴-실리카 결합된 상 컬럼 패키징 상에서의 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 특히 역상 HPLC.

[0897] 사용 방법

[0898] 본 명세서에 기재된 화합물 또는 조성물의 사용 방법이 본 명세서에 또한 제공된다. 질병 또는 병리의 치료를 필요로 하는 대상체에서 상기 질병 또는 병리를 치료하기 위한 방법이 본 명세서에 또한 제공되며, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 임의의 화합물 또는 조성물의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 화합물 또는 조성물은 본 명세서에 개시된 치료용 모이어티에 의한 치료에 적합한 임의의 질병 또는 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0899] 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본 명세서에 또한 제공된다. 상기 방법은하나 이상의 본 명세서에 기재된 화합물 또는 조성물, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 명세서에 기재된 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염은 인간, 예를 들어 소아 및 노인 집단에서, 그리고 동물, 예를 들어 수의과적 응용에서 암을 치료하는 데 유용하다. 개시된 방법은 선택적으로, 암의 치료를 필요로 하거나 필요로 할 수 있는 환자를 확인하는 단계를 포함할 수 있다. 본 명세서에 기재된 화합물 및 조성물에 의해 치료가능한 암 유형의 예에는 방광암, 뇌암, 유방암, 결직장암, 자궁경부암, 위장암, 비뇨생식기암, 두경부암, 폐암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 피부암, 및 고환암이 포함된다. 추가의 예에는 항문, 담관, 뼈, 골수, 장(결장 및 직장을 포함함), 눈, 담낭, 신장, 입, 후두, 식도, 위, 고환, 자궁경부, 중피종, 신경내분비, 음경, 피부, 척수, 갑상선, 질, 외음부, 자궁, 간, 근육, 혈액 세포(림프구 및 다른 면역 시스템 세포를 포함함)의 암 및/또는 종양이 포함된다. 본 명세서에 기재된 화합물 및 조성물에 의해 치료가능한 암의 추가의 예에는 암종, 카포시 육종, 흑색종, 중피종, 연조직 육종, 췌장암, 폐암, 백혈병(급성 림프아구성, 급성 골수성, 만성 림프구성, 만성 골수성, 및 기타), 및 림프종(호지킨 및 비호지킨), 및 다발성 골수종이 포함된다.

[0900] 본 명세서에 기재된 암의 치료 또는 예방 방법은 하나 이상의 추가의 작용제(예를 들어, 항암제 또는 이온화 방사선)에 의한 치료를 추가로 포함할 수 있다. 하나 이상의 추가의 작용제와, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염은 동시 투여를 포함한 임의의 순서로 투여될 수 있을 뿐만 아니라, 최대 수일 간격의 시간적으로 떨어진 순서로 투여될 수 있다. 상기 방법들은 또한 하나 이상의 추가의 작용제 및/또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염의 단회 초과 투여를 포함할 수 있다. 하나 이상의 추가의 작용제와, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염의 투여는 동일하거나 상이한 경로에 의해 수행될 수 있다. 하나 이상의 추가의 작용제로 치료할 때, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염은 하나 이상의 추가의 작용제를 포함하는 약제학적 조성물 형태로 병용될 수 있다.

[0901] 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염은 약제학적 조성물로 추가의 항암제와 병용될 수 있으며, 이러한 추가의 항암제는, 이를 테면 13-시스-레티산, 2-아미노-6-메르캅토피린, 2-CdA, 2-클로로테옥시아데노신, 5-플루오로우라실, 6-티오구아닌, 6-메르캅토피린, Accutane, 악티노마이신-D, 아드리아마이신, Adrucil, Agrylin, Ala-Cort, Aldesleukin, 알렘부주맙, 알리트레티노인, Alkaban-AQ, Alkeran, 울-트랜스레티산, 알파 인터페론, 알트레타민, Amethopterin, 아미포스틴, 아미노글루테티미드, 아나그렐리드, Anandron, 아나스트로졸, 아라비노실시토신, Aranesp, Aredia, Arimidex, Aromasin, 삼산화비소, 아스파라기나제, ATRA, Avastin, BCG, BCNU, 베바시주맙, 벡사로텐, 비칼루타미드, BiCNU, Blenoxane, 블레오마이신, 보르테조밂, 부셀판, 부셀팩스, C225, 칼슘 류코보린, 캄페스, Camptosar, 캄포테신-11, 카페시타빈, Carac, Carboplatin, 카르무스틴, 카르무스틴 웨이퍼, Casodex, CCNU, CDDP, CeeNU, Cerubidine, 세톡시맙, 클로람부실, 시스플라틴, 시트로보룸 인자(Citrovorum Factor), 클라드리빈, 코르티손, Cosmegen, CPT-11, 사이클로포스파미드, Cytadren, 시타라빈, 리소좀 시타라빈, Cytosar-U, Cytoxan, 다카르바진, 닥티노마이신, 다르베포에틴 알파, 다우노마이신, 다우노루비신, 다우노루비신 하이드로클로라이드, 리포좀 다우노루비신, DaunoXome, Decadron, Delta-Cortef, Deltasone, 데닐레우킨 디프티톡스, DepoCyt, 텍사메타손, 텍사메타손 아세테이트, 텍사메타손 소듐 포스페이트, 텍사손, 텍스라족산, DHAD, DIC, Diiodex, 도세탁셀, Doxil, 독소루비신, 리포좀 독소루비신, Droxia, DTIC, DTIC-Dome, Duralone, Efudex, Eligard, Ellence, Eloxatin, Elspar, Emcyt, 에피루비신, 에포에틴 알파, Erbitux, 에르위니아(Erwinia) L-아스파라기나제, 에스

트라무스틴, Etyol, Etopophos, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, Eulexin, Evista, 엑세메스탄, Fareston, Faslodex, Femara, 필그라스티م, 플록수리딘, Fludara, 플루다라빈, Fluoroplex, 플루오로우라실, 플루오로우라실(크립), 플록시메스테론, 플루타미드, 엽산, FUDR, 폴베스트란트, G-CSF, 게피티닙, 켄시타빈, 켄투주맵 오조가미신, Gemzar, Gleevec, Lupron, Lupron Depot, Matulane, Maxidex, 메클로레타민, -메클로레타민 하이드로클로린, Medralone, Medrol, Megace, 메게스트롤, 메게스트롤 아세테이트, 멜팔란, 메르캅토피딘, 메스나, Mesnex, 메토티렉세이트, 메토티렉세이트 소듐, 메틸프레드니솔론, Mylocel, 레트로졸, Neosar, Neulasta, Neumega, Neupogen, Nilandron, 닐루타미드, 질소 머스타드, Novaldex, 노반트론, 옥트레오티드, 옥트레오티드 아세테이트, Oncospar, Oncovin, Ontak, Onxal, Oprevelkin, Orapred, Orasone, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파미드로네이트, Panretin, Paraplatin, PEDIAPRED, PEG 인터페론, 페가스파르가세, 페그필그라스티م, PEG-INTRON, PEG-L-아스파라기나제, 페닐알라닌 머스타드, 플라티놀, 플라티놀-AQ, 프레드니솔론, 프레드니손, Prelone, 프로카르바진, PROCREDIT, 프로류킨, 카르무스틴 임플란트를 갖는 Prolifeprospan 20, Purinethol, 락록시켄, Rheumatrex, 리톡산, 리톡시맵, Roveron-A(인터페론 알파-2a), Rubex, 루비도마이신 하이드로클로라이드, Sandostatin, Sandostatin LAR, Sargramostim, Solu-Cortef, Solu-Medrol, STI-571, 스트렙토조신, 타목시켄, Targretin, Taxol, 탁스토레, Temodar, 테모졸로미드, 테니포시드, TESPAN, 탈리도미드, Thalomid, TheraCys, 티오구아닌, 티오구아닌 타블로이드, 티오포스파미드, Thioplex, 티오테파, TICE, Toposar, 토포테칸, 토레미펜, 트라스투주맵, 트레티노인, Trexall, Trisenox, TSPA, VCR, Velban, Velcade, VePesid, Vesanoid, Viadur, 빈블라스틴, 빈블라스틴 셀레이트, Vincasar Pfs, 빈크리스틴, 비노렐빈, 비노렐빈 타르트레이트, VLB, VP-16, Vumon, Xeloda, Zanosar, Zevalin, Zinecard, Zoladex, 졸레드론산, Zometa, Gliadel 웨이퍼, Glivec, GM-CSF, 고세렐린, 과립구 콜로니 자극 인자, Halotestin, Herceptin, Hexadrol, Hexalen, 핵사메틸멜라민, HMM, Hycamtin, Hydrea, Hydrocort 아세테이트, 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 소듐 포스페이트, 하이드로코르티손 소듐 석시네이트, Hydrocortone 포스페이트, 하이드록시우레아, 이브리투모맵, 이브리투모맵 티옥세탄, 이다마이신, 이다루비신, Ixef, IFN-알파, 이포스파미드, IL 2, IL-11, 이마티닙 메실레이트, 이미다졸 카르복사미드, 인터페론 알파, 인터페론 알파-2b(PEG 접합체), 인터류킨 2, 인터류킨-11, 인트론 A(인터페론 알파-2b), 류코보린, Leukeran, Leukine, 류프롤리드, 류로크리스틴, Leustatin, 리포솜 Ara-C, Liquid Pred, 로무스틴, L-PAM, L-사르콜리신, Meticorten, 미토마이신, 미토마이신-C, 미톡산트론, M-프레드니솔, MTC, MTX, Mustargen, 무스틴, 무타마이신, Myleran, Iressa, 이리노테칸, 아이소트레티노인, Kidrolase, Lanacort, L-아스파라기나제, 및 LCR이다. 추가의 항암제는 또한 생물의약품, 예컨대 항체를 포함할 수 있다.

[0902] 많은 중앙 및 암은 중앙 또는 암 세포에 존재하는 바이러스 계놈을 갖는다. 예를 들어, 엡스타인-바르 바이러스(EBV)가 다수의 포유류 악성종양과 관련되어 있다. 본 명세서에 개시된 화합물은 또한 단독으로 사용되거나 항암제 또는 항바이러스제, 예컨대 간시클로비르, 아지도티미딘(AZT), 라미부딘(3TC) 등과 병용하여 사용되어, 세포 형질전환을 야기할 수 있는 바이러스로 감염된 환자를 치료하고/하거나 세포 내의 바이러스 계놈의 존재와 관련되어 있는 종양 또는 암을 갖는 환자를 치료할 수 있다. 본 명세서에 개시된 화합물은 또한 중앙성 질병의 바이러스 기반 치료와 병용하여 사용될 수 있다.

[0903] 대상체에서 종양 세포를 살해하는 방법이 본 명세서에 또한 기재된다. 상기 방법은 상기 종양 세포를 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하며, 선택적으로 상기 종양 세포를 이온화 방사선의 유효량으로 조사하는 단계를 포함한다. 추가로, 종양의 방사선 요법의 방법들이 본 명세서에 제공된다. 상기 방법들은 상기 종양 세포를 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 또는 조성물의 유효량과 접촉시키는 단계, 및 상기 종양을 이온화 방사선의 유효량으로 조사하는 단계를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 '이온화 방사선'은 이온화를 일으키는 핵 상호작용을 통해 충분한 에너지를 갖거나 충분한 에너지를 생성할 수 있는 입자 또는 광자를 포함하는 방사선을 지칭한다. 이온화 방사선의 예는 X-방사선이다. 이온화 방사선의 유효량은 본 명세서에 기재된 화합물과 조합하여 투여될 때 세포 손상 또는 사멸의 증가를 일으키는 이온화 방사선의 용량을 지칭한다. 이온화 방사선은 당업계에 알려진 바와 같은 방법에 따라 전달될 수 있으며, 이러한 방법에는 방사성 표지된 항체 및 방사성 동위원소를 투여하는 방법이 포함된다.

[0904] 본 명세서에 기재된 바와 같은 방법 및 화합물은 예방적 치료 및 치료적 치료 둘 모두에 유용하다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 '치료하는' 또는 '치료'는 예방; 발병의 지연; 축소, 근절, 또는 개시 후 징후 또는 증상의 증악의 지연; 및 재발 예방을 포함한다. 예방적 사용을 위해, 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량은 발병 전에(예를 들어, 암의 명백한 징후 전에), 조기 발병 동안(예를 들어, 암의 초기 징후 및 증상 시에), 또는 암의 확립된 발달 후에 대상체에게 투여된다. 예방적 투여는 감염 증상의 징후가 있기 전 수일 내지 수년 동안 일어날 수 있다. 예방적 투여는, 예를

들어, 전암성 병변을 제시하는 대상체, 초기 병기 악성종양으로 진단된 대상체의, 그리고 특정 암에 대해 감수성을 갖는 하위군(예를 들어, 가족, 인종, 및/또는 직업)에 대한 화학예방적 치료에 사용될 수 있다. 치료적 치료는 암이 진단된 후에 본 명세서에 기재된 바와 같은 화합물 및 조성물 또는 이들의 약제학적으로 허용되는 염의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0905] 대상체에서 암 또는 증상을 치료하는 방법의 일부 예에서, 대상체에게 투여되는 화합물 또는 조성물은 Ras(예를 들어, K-Ras), PTP1B, Pin1, Grb2 SH2, 또는 이들의 조합에 대한 억제제로서 작용할 수 있는 표적화 모이어티를 포함할 수 있는 치료용 모이어티를 포함할 수 있다.

[0906] 개시된 발명 요지는 또한 대사 장애 또는 질환을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 명세서에 개시된 하나 이상의 화합물 또는 조성물의 유효량은 대사 장애를 갖는 대상체 또는 이의 치료를 필요로 하는 자에게 투여될 수 있다. 일부 예에서, 대사 장애는 II형 당뇨병을 포함할 수 있다. 대상체에서 대사 장애를 치료하는 방법의 일부 예에서, 대상체에게 투여되는 화합물 또는 조성물은 PTP1B에 대한 억제제로서 작용할 수 있는 표적화 모이어티를 포함할 수 있는 치료용 모이어티를 포함할 수 있다. 이 방법의 특정한 한 예에서, 대상체는 비만이고, 상기 방법은 본 명세서에 개시된 바와 같은 조성물을 투여함으로써 비만에 대해 상기 대상체를 치료하는 단계를 포함할 수 있다.

[0907] 개시된 발명 요지는 또한 면역 장애 또는 질환을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 명세서에 개시된 하나 이상의 화합물 또는 조성물의 유효량은 면역 장애를 갖는 대상체 또는 이의 치료를 필요로 하는 자에게 투여된다. 대상체에서 면역 장애를 치료하는 방법의 일부 예에서, 대상체에게 투여되는 화합물 또는 조성물은 Pin1에 대한 억제제로서 작용할 수 있는 표적화 모이어티를 포함할 수 있는 치료용 모이어티를 포함할 수 있다.

[0908] 개시된 발명 요지는 또한 염증성 장애 또는 질환을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 명세서에 개시된 하나 이상의 화합물 또는 조성물의 유효량은 염증성 장애를 갖는 대상체 또는 이의 치료를 필요로 하는 자에게 투여될 수 있다.

[0909] 개시된 발명 요지는 또한 낭포성 섬유증을 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법에 관한 것이다. 본 명세서에 개시된 하나 이상의 화합물 또는 조성물의 유효량은 낭포성 섬유증을 갖는 대상체 또는 이의 치료를 필요로 하는 자에게 투여될 수 있다. 대상체에서 낭포성 섬유증을 치료하는 방법의 일부 예에서, 대상체에게 투여되는 화합물 또는 조성물은 CAL PDZ에 대한 억제제로서 작용할 수 있는 표적화 모이어티를 포함할 수 있는 치료용 모이어티를 포함할 수 있다.

[0910] 본 명세서에 개시된 화합물은 대상체에서 질병 또는 질환을 검출 또는 진단하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, cCPP는 표적화 모이어티, 및/또는 표적, 예를 들어 증양과 상호작용할 수 있는 검출가능한 모이어티를 포함할 수 있다.

[0911] **조성물, 제형 및 투여 방법**

[0912] 개시된 화합물 및 이를 함유하는 조성물의 생체내 적용은 당업자에게 현재 또는 전향적으로 알려진 임의의 적합한 방법 및 기법에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 개시된 화합물은 생리학적으로 또는 약제학적으로 허용되는 형태로 제형화되고, 예를 들어 경구, 비강, 직장, 국소, 및 비경구 투여 경로를 포함한 당업계에 알려진 임의의 적합한 경로에 의해 투여될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 '비경구'는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 복막내, 및 흉골내 투여를 포함하며, 이를 테면 주사에 의한 투여이다. 개시된 화합물 또는 조성물의 투여는 단회 투여이거나, 또는 연속적인 또는 구별되는 간격으로 투여될 수 있으며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있는 바와 같다.

[0913] 본 명세서에 개시된 화합물 및 이를 포함하는 조성물은 또한 리포솜 기술, 저속 방출 캡슐, 이식가능 펌프, 및 생분해성 용기를 이용하여 투여될 수 있다. 이들 전달 방법은 유리하게도 연장된 기간에 걸쳐 균일한 투여량을 제공할 수 있다. 화합물은 또한 이의 염 유도체 형태 또는 결정질 형태로 투여될 수 있다.

[0914] 본 명세서에 개시된 화합물은 약제학적으로 허용되는 조성물을 제조하기 위한 알려진 방법에 따라 제형화될 수 있다. 제형은, 당업자에게 잘 알려져 있고 용이하게 이용가능한 다수의 소스에 상세히 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Remington's Pharmaceutical Science by E.W. Martin (1995)]은 개시된 방법과 관련하여 사용될 수 있는 제형을 기재한다. 일반적으로, 본 명세서에 개시된 화합물은, 화합물의 효과적인 투여를 용이하게 하기 위해 화합물의 유효량이 적합한 담체와 배합되도록 제형화될 수 있다. 사용되는 조성물은 또한 다양한 형태일 수 있다. 이들은, 예를 들어 고체, 반고체, 및 액체 투여 형태, 예컨대 정제, 알약, 분말, 액체 용액 또는 현

탁액, 좌제, 주사가능한 및 불용용성 용액, 및 스프레이를 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료적 응용에 좌우된다. 조성물은 또한 바람직하게는 당업자에게 알려진 통상적인 약제학적으로 허용되는 담체 및 희석제를 포함한다. 화합물과 함께 사용하기 위한 담체 또는 희석제의 예에는 에탄올, 다이메틸 설폭사이드, 글리세롤, 알루미나, 전분, 식염수, 및 동등한 담체 및 희석제가 포함된다. 원하는 치료적 치료를 위한 그러한 투여량의 투여를 제공하기 위해, 본 명세서에 개시된 조성물은 유리하게는 담체 또는 희석제를 포함하는 총 조성물의 중량을 기준으로 하나 이상의 총 대상 화합물을 약 0.1% 내지 100% 포함할 수 있다.

[0915] 투여에 적합한 제형은, 예를 들어, 산화방지제, 완충제, 정세균제(bacteriostat), 및 제형을 의도된 수용자의 혈액과 등장성이 되게 하는 용질을 함유할 수 있는 수성 멸균 주사 용액; 및 현탁화제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함한다. 제형은 단위-용량 또는 다회-용량 용기, 예를 들어 밀봉 앰플 및 바이알로 제공될 수 있으며, 냉동-건조된(동결건조된) 상태로 저장되어, 사용 전에 단지 멸균 액체 담체, 예를 들어 주사용수의 조건만을 필요로 할 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액이 멸균 분말, 과립, 및 정제 등으로부터 제조될 수 있다. 상기에 특별히 언급된 성분들에 추가하여, 본 명세서에 개시된 조성물은 대상이 되는 제형의 유형과 관련하여 당업계에서 통상적인 다른 작용제를 포함할 수 있음이 이해되어야 한다.

[0916] 본 명세서에 개시된 화합물, 및 이를 포함하는 조성물은 세포와의 직접 접촉을 통해 또는 담체 수단을 통해 세포에 전달될 수 있다. 화합물 및 조성물을 세포에 전달하기 위한 담체 수단은 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어 조성물을 리포솜 모이어티 내에 캡슐화하는 것을 포함한다. 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물을 세포에 전달하기 위한 다른 수단은 표적 세포에의 전달을 위해 표적화된 단백질 또는 핵산에 화합물을 부착하는 단계를 포함할 수 있다. 미국 특허 제6,960,648호 및 미국 특허 출원 공개 제20030032594호 및 제20020120100호는 다른 조성물에 커플링될 수 있고 조성물이 생체막을 가로질러 전위되게 할 수 있는 아미노산 서열을 개시한다. 미국 특허 출원 공개 제20020035243호는 또한 세포내 전달을 위해 세포막을 가로질러 생물학적 모이어티를 수송하기 위한 조성물을 기재한다. 화합물은 또한 중합체 내로 도입될 수 있으며, 이의 예에는, 두개내 종양을 위한 폴리(D-L 락티드-코-글리콜리드) 중합체; (GLIADEL에서 사용되는 바와 같은) 20:80 몰비의 폴리[비스(p-카르복시페녹시) 프로판:세바스산; 콘드로이틴; 키틴; 및 키토산이 포함된다.

[0917] 종양성 장애의 치료를 위하여, 본 명세서에 개시된 화합물은 다른 항종양 또는 항암 물질, 그리고/또는 방사선 및/또는 광역학적(photodynamic) 요법, 그리고/또는 종양을 제거하기 위한 외과적 치료와 병용하여, 치료를 필요로 하는 환자에게 투여될 수 있다. 이들 다른 물질 또는 치료는 본 명세서에 개시된 화합물과 동일하거나 상이한 시간에 제공될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 화합물은 유사분열 억제제, 예컨대 탁솔 또는 빈블라스틴, 알킬화제, 예컨대 사이클로포스파미드 또는 이포스파미드, 항대사물, 예컨대 5-플루오로우라실 또는 하이드록시우레아, DNA 삽입제, 예컨대 아드리아마이신 또는 블레오마이신, 토포아이소머라제 억제제, 예컨대 에토포시드 또는 캄포테신, 항혈관생성제, 예컨대 안지오스타틴, 항에스트로겐제, 예컨대 타목시펜, 및/또는 기타 다른 항암 약물 또는 항체, 예컨대 각각 GLEEVEC(Novartis Pharmaceuticals Corporation) 및 HERCEPTIN(Genentech, Inc.), 또는 면역요법제, 예컨대 이필리무맙 및 보르테조미프와 병용하여 사용될 수 있다.

[0918] 소정 예에서, 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물은, 선택적으로 약제학적으로 허용되는 담체, 예컨대 불활성 희석제와 배합하여, 하나 이상의 해부학적 부위, 예컨대 원치 않는 세포 성장 부위에 국부적으로 투여될 수 있다(예컨대, 종양 부위 또는 양성 피부 증식물(benign skin growth)에 투여될 수 있으며, 예를 들어 종양 또는 피부 증식물에 주사되거나 국소 적용될 수 있다). 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물은, 선택적으로 약제학적으로 허용되는 담체, 예컨대 불활성 희석제, 또는 경구 전달을 위한 동화성 식용 담체(assimilable edible carrier)와 배합하여, 정맥내 또는 경구 투여와 같이 전신 투여될 수 있다. 이들은 경질 또는 연질 셀 젤라틴 캡슐 내에 봉입될 수 있거나, 정제로 압축될 수 있거나, 환자의 식이의 식품과 함께 직접 도입될 수 있다. 경구 치료용 투여의 경우, 활성 화합물은 하나 이상의 부형제와 배합되고 섭취가능한 정제, 혀측 정제(buccal tablet), 트로키(troche), 캡슐, 엘릭서(elixir), 현탁액, 시럽, 웨이퍼, 에어로졸 스프레이 등의 형태로 사용될 수 있다.

[0919] 개시된 조성물은 생체이용 가능하고 경구 전달될 수 있다. 경구 조성물은 정제, 트로키, 알약, 캡슐 등일 수 있으며, 하기를 또한 함유할 수 있다: 결합제, 예컨대 검 트래거캔스, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴; 부형제, 예컨대 인산이칼슘; 붕해제, 예컨대 옥수수 전분, 감자 전분, 알긴산 등; 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트; 및 감미제, 예컨대 수크로스, 프럭토스, 락토스 또는 아스파르탐 또는 향미제, 예컨대 페퍼민트, 윈터그린(wintergreen)의 오일, 또는 체리향(cherry flavoring)이 첨가될 수 있다. 단위 투여 형태가 캡슐일 때, 이는 상기 유형의 물질에 추가하여, 식물성 오일 또는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 액체 담체를 함유할 수 있다. 다양한 다른 물질이 코팅으로서 존재하거나, 또는 고체 단위 투여 형태의 물리적 형태를 달리 변형시키도

록 존재할 수 있다. 예를 들어, 정제, 알약 또는 캡슐은 젤라틴, 왁스, 셀락, 또는 당 등으로 코팅될 수 있다. 시럽 또는 엘릭서는 활성 화합물, 감미제로서의 수크로스 또는 프룩토스, 방부제로서의 메틸 및 프로필파라벤, 염료 및 향미제, 예컨대 체리향 또는 오렌지향을 함유할 수 있다. 물론, 임의의 단위 투여 형태를 제조하는 데 사용되는 임의의 물질은 사용되는 양에서 약제학적으로 허용되고 실질적으로 비독성이어야 한다. 또한, 활성 화합물은 지속-방출 제제 및 장치 내로 도입될 수 있다.

[0920] 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물(이들의 약제학적으로 허용되는 염 또는 전구약물을 포함함)은 주입 또는 주사에 의해 정맥내, 근육내, 또는 복막내 투여될 수 있다. 활성제 또는 이의 염의 용액이, 선택적으로 비독성 계면활성제와 혼합된 물 중에 제조된다. 분산액은 또한 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜, 트리아세틴, 및 이들의 혼합물 중에 그리고 오일 중에 제조될 수 있다. 통상적인 저장 및 사용 조건 하에서, 이들 제제는 미생물의 성장을 방지하기 위하여 방부제를 함유할 수 있다.

[0921] 주사 또는 주입에 적합한 약제학적 투여 형태는 활성 성분을 포함하는 멸균 수용액 또는 분산액 또는 멸균 분말을 포함할 수 있으며, 이는, 선택적으로 리포솜 내에 캡슐화된, 멸균 주사용 또는 불용용성 용액 또는 분산액의 즉석 제조에 적합하다. 최종 투여 형태는 제조 및 저장 조건 하에서 멸균 상태이고, 유동성이고, 안정해야 한다. 액체 담체 또는 비히클은, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 식물성 오일, 비독성 글리세릴 에스테르, 및 이들의 적합한 혼합물을 포함하는 용매 또는 액체 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 리포솜의 형성에 의해, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 또는 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 선택적으로, 미생물 작용의 예방은 다양한 다른 항세균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산, 티메로살 등에 의해 가져올 수 있다. 많은 경우에, 등장제, 예를 들어 당, 완충제 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사가 가능한 조성물의 연장된 흡수가 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 포함에 의해 야기될 수 있다.

[0922] 멸균 주사용 용액은, 필요에 따라 상기 열거된 다양한 다른 성분들과 함께 적절한 용매 중에 필요한 양으로 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제를 도입시킨 후 여과 멸균하여 제조된다. 멸균 주사용 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 및 냉동 건조 기법인데, 이러한 기법은 이전에 멸균-여과된 용액 내에 존재하는 활성 성분 + 임의의 추가의 필요한 성분의 분말을 생성한다.

[0923] 국소 투여의 경우, 본 명세서에 개시된 화합물 및 작용제는 액체 또는 고체로서 적용될 수 있다. 그러나, 이들을, 고체 또는 액체일 수 있는 피부과학적으로 허용되는 담체와 배합하여, 조성물로서 피부에 국소 투여하는 것이 일반적으로 바람직할 것이다. 본 명세서에 개시된 화합물 및 작용제, 그리고 조성물은 악성 또는 양성 증식물의 크기를 감소시키거나(그리고 완전한 제거를 포함할 수 있음), 또는 감염 부위를 치료하기 위해 대상체의 피부에 국소 적용될 수 있다. 본 명세서에 개시된 화합물 및 작용제는 증식물 또는 감염 부위에 직접 적용될 수 있다. 바람직하게는, 화합물 및 작용제는 연고, 크림, 로션, 용액, 팅크제(tincture) 등과 같은 제형으로 증식물 또는 감염 부위에 적용된다.

[0924] 유용한 고체 담체는 활석, 점토, 미세결정질 셀룰로스, 실리카, 알루미늄과 같은 미분된 고체를 포함한다. 유용한 액체 담체는 물, 알코올 또는 글리콜 또는 물-알코올/글리콜 블렌드를 포함하며, 여기서 화합물은, 선택적으로 비독성 계면활성제의 도움으로, 유효 수준으로 용해 또는 분산될 수 있다. 방향제 및 추가의 향미생물제와 같은 애드juvant(adjutant)가 주어진 용도에 맞게 특성을 최적화하도록 첨가될 수 있다. 생성되는 액체 조성물은, 예를 들어, 흡수 패드로부터 적용되거나, 붕대 및 다른 드레싱을 함침시키는 데 사용되거나, 펌프-유형 또는 에어로졸 분무기를 사용하여 이환된 영역 상에 분무될 수 있다.

[0925] 증점제, 예컨대 합성 중합체, 지방산, 지방산 염 및 에스테르, 지방 알코올, 변형된 셀룰로스 또는 변형된 광물 물질이 또한 액체 담체와 함께 사용되어, 사용자의 피부에 직접 적용하기 위한, 펼침가능한(spreadable) 페이스트, 젤, 연고, 비누 등을 형성할 수 있다.

[0926] 본 명세서에 개시된 화합물 및 작용제 및 약제학적 조성물의 유용한 투여량은 이들의 시험관내 활성, 및 동물 모델에서의 생체내 활성을 비교함으로써 결정될 수 있다. 마우스 및 다른 동물에서 유효 투여량의 외삽을 위한 방법은 당업계에 알려져 있다.

[0927] 조성물의 투여를 위한 투여량 범위는 증상 또는 장애에 영향을 미치는 원하는 효과를 생성하기에 충분히 큰 것이다. 투여량은 원치 않는 교차-반응, 아나필락시 반응 등과 같은 유해한 부작용을 야기할 정도로 커서는 안 된다. 일반적으로, 투여량은 환자의 연령, 상태, 성별 및 질병의 정도에 따라 달라질 것이며, 당업자에 의해

결정될 수 있다. 투여량은 어떠한 금기가 있는 경우에는 개인 의사에 의해 조정될 수 있다. 투여량은 다양할 수 있으며, 1일 또는 수 일 동안 매일 1회 이상의 용량 투여로 투여될 수 있다.

[0928] 약제학적으로 허용되는 담체와 배합된 본 명세서에 개시된 화합물을 포함하는 약제학적 조성물이 또한 개시된다. 소정량의 화합물을 포함하는 경구, 국소 또는 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물이 바람직한 태양을 구성한다. 환자, 특히 인간에게 투여되는 용량은 치명적인 독성 없이, 그리고 바람직하게는 허용가능한 수준을 초과하는 부작용 또는 이환율을 야기하지 않고서, 합리적인 시간 프레임에 걸쳐 환자에서 치료 반응을 달성하기에 충분해야 한다. 당업자는 투여량이 대상체의 상태(건강), 대상체의 체중, 존재하는 경우 병행 치료의 종류, 치료 빈도, 치료가능비(therapeutic ratio)뿐만 아니라, 병리학적 상태의 중증도 및 병기를 포함한 다양한 인자에 좌우될 것임을 인식할 것이다.

[0929] 하나 이상의 용기에 본 명세서에 개시된 화합물을 포함하는 키트가 또한 개시된다. 개시된 키트는 선택적으로 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 희석제를 포함할 수 있다. 키트는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 다른 성분, 보조제(adjunct), 또는 애드뷰먼트를 포함할 수 있다. 키트는 하나 이상의 항암제, 예컨대 본 명세서에 기재된 항암제를 포함한다. 키트는 키트의 화합물 또는 조성물을 투여하는 방법을 기술하는 설명서 또는 패키징 재료를 포함할 수 있다. 키트의 용기는 임의의 적합한 재료, 예를 들어 유리, 플라스틱, 금속 등으로 된 것일 수 있으며, 임의의 적합한 크기, 형상, 또는 구성을 가질 수 있다. 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제는 정제, 알약, 또는 분말 형태와 같은 고체로서 키트에 제공될 수 있다. 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제는 액체 또는 용액으로서 키트에 제공될 수 있다. 키트는 액체 또는 용액 형태의 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제가 담긴 앰플 또는 주사기를 포함할 수 있다.

[0930] **소정 정의**

[0931] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않으면, 복수의 지시 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "조성물"에 대한 언급은 2개 이상의 그러한 조성물의 혼합물을 포함하며, "작용제"에 대한 언급은 2개 이상의 그러한 작용제의 혼합물을 포함하며, "성분"에 대한 언급은 2개 이상의 그러한 성분의 혼합물을 포함하며, 등등이다.

[0932] 수치 값 바로 앞에 올 때 용어 "약"은 일정 범위(예를 들어, 그 값의 플러스 또는 마이너스 10%)를 의미한다. 예를 들어, 본 명세서의 문맥이 달리 나타내거나 그러한 해석과 일치하지 않는 한, "약 50"은 45 내지 55를 의미할 수 있으며, "약 25,000"은 22,500 내지 27,500을 의미할 수 있으며, 등등이다. 예를 들어, 수치 값들의 목록, 예컨대 "약 49, 약 50, 약 55, ..."에서, "약 50"은 선행 값과 후속 값 사이의 구간(들)의 절반 미만으로 연장되는 범위, 예를 들어 49.5 초과 내지 52.5 미만을 의미한다. 더욱이, 어구 "약 소정 값 미만" 또는 "약 소정 값 초과"는 본 명세서에 제공된 용어 "약"의 정의를 고려하여 이해되어야 한다. 유사하게, 일련의 수치 값들 또는 값들의 범위(예를 들어, "약 10, 20, 30" 또는 "10 내지 30")의 앞에 올 때 용어 "약"은 각각 일련 내의 모든 값, 또는 그 범위의 중점을 지칭한다.

[0933] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "사이클릭 세포 침투 펩티드" 또는 "cCPP"는 세포 내로의 운반물, 예를 들어 치료용 모이어티의 전달을 용이하게 하는 펩티드를 지칭한다.

[0934] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "엔도솜 탈출 비히클"(EEV)은 화학적 결합(즉, 공유 결합 또는 비공유 상호작용)에 의해 링커 및/또는 고리의 펩티드(EP)에 접합된 cCPP를 지칭한다. EEV는 화학식 (B)의 EEV일 수 있다.

[0935] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "EEV-접합체"는 본 명세서에 정의된 엔도솜 탈출 비히클이 화학적 결합(즉, 공유 결합 또는 비공유 상호작용)에 의해 운반물에 접합된 것을 지칭한다. 운반물은 EEV에 의해 세포 내로 전달될 수 있는 치료용 모이어티(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, 펩티드 또는 소분자)일 수 있다. EEV-접합체는 화학식 (C)의 EEV-접합체일 수 있다.

[0936] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "고리의 펩티드"(EP)와 "조절 펩티드"(MP)는 본 명세서에 개시된 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)에 접합될 수 있는, 펩티드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산 잔기를 지칭하기 위해 상호교환 가능하게 사용될 수 있다. EP는, 본 명세서에 개시된 사이클릭 펩티드에 접합될 때, 화합물의 조직 분포 및/또는 체류를 변경시킬 수 있다. 전형적으로, EP는 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기, 예를 들어 적어도 하나의 라이신 잔기, 및/또는 적어도 하나의 아르기닌 잔기를 포함할 수 있다. EP의 비제한적인 예가 본 명세서에 기재되어 있다. EP는 당업계에서 "핵 국제화 서열"(NLS)로서 확인된 펩티드일 수 있다. 핵 국제화 서열의 비제한적인 예에는 최소 기능 단위가 7-아미노산 서열 PKKKRKV인 SV40 바이러스 큰 T-

항원의 핵 국제화 서열, 서열 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK를 갖는 뉴클레오플라스민 양립형 NLS, 아미노산 서열 PAAKRVKLD 또는 RQRRNELKRSF를 갖는 c-myc 핵 국제화 서열, 임포르틴-알파로부터의 IBB 도메인의 서열 RMRKFKNGKGDTAELRRRVEVSVELRKAKKDEQILKRRNV, 근종 T 단백질의 서열 VSRKRPRP 및 PPKKARED, 인간 p53의 서열 PPKKKPL, 마우스 c-abl IV의 서열 SALIKKKKMAP, 인플루엔자 바이러스 NS1의 서열 DRLRR 및 PKQKRRK, 간염 바이러스 델타 항원의 서열 RKLKKKIKKL, 및 마우스 Mx1 단백질의 서열 REKKKFLKRR, 인간 폴리(ADP-리보스) 폴리머라제의 서열 KRKGEVDGVDEVAKKSKK 및 스테로이드 호르몬 수용체(인간) 글루코코르티코이드의 서열 RKCLQAGMNEARKTKK가 포함된다. 국제 특허 출원 공개 제2001/038547호는 NLS의 추가의 예를 기재하며, 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0937] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "링커" 또는 "L"은 하나 이상의 모이어티(예를 들어, 고리의 펩티드(EP) 및 운반물, 예를 들어 올리고뉴클레오티드, 펩티드 또는 소분자)를 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)에 공유 결합시키는 모이어티를 지칭한다. 링커는 천연 또는 비천연 아미노산 또는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 링커는 cCPP를 운반물 모이어티에 결합시켜 본 명세서에 개시된 화합물을 형성하기에 적합한 2개 이상의 적절한 작용기를 함유하는 합성 화합물일 수 있다. 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티를 포함할 수 있다. 링커는 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 링커를 통해 운반물에 공유 결합될 수 있다.

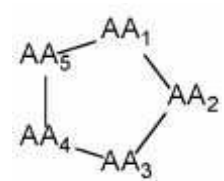
[0938] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "올리고뉴클레오티드"는 복수의 연결된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드를 포함하는 올리고머 화합물을 지칭한다. 올리고뉴클레오티드의 하나 이상의 뉴클레오티드는 변형될 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 리보핵산(RNA) 또는 데옥시리보핵산(DNA)을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 천연 및/또는 변형된 핵염기, 당 및 공유 뉴클레오시드간 결합으로 구성될 수 있고, 비-핵산 접합체를 추가로 포함할 수 있다.

[0939] 용어 "펩티드", "단백질", 및 "폴리펩티드"는 하나의 아미노산의 카르복실기에 의해 다른 아미노산의 알파 아미노기에 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 천연 또는 합성 분자를 지칭하기 위해 상호교환 가능하게 사용된다. 2개 이상의 아미노산 잔기가 하나의 아미노산의 카르복실기에 의해 알파 아미노기에 연결될 수 있다. 폴리펩티드의 2개 이상의 아미노산은 펩티드 결합에 의해 연결될 수 있다. 폴리펩티드는 2개 이상의 아미노산이 펩티드 결합 이외의 결합에 의해 공유적으로 부착된 펩티드 골격 변형을 포함할 수 있다. 폴리펩티드는 폴리펩티드에 통합시킬 수 있는 하나 이상의 비천연 아미노산, 아미노산 유사체, 또는 다른 합성 분자를 포함할 수 있다. 용어 '폴리펩티드'는 자연 발생 및 인공 발생 아미노산을 포함한다. 용어 '폴리펩티드'는, 예를 들어 약 2 내지 약 100개의 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드뿐만 아니라, 약 100개 초과 아미노산 잔기, 또는 약 1000개 초과 아미노산 잔기를 포함하는 단백질을 포함하며, 이에에는 치료용 단백질, 예컨대 항체, 효소, 수용체, 가용성 단백질 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0940] 용어 "치료용 폴리펩티드"는 치료적, 예방적 또는 다른 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드를 지칭한다. 치료용 폴리펩티드는 임의의 적합한 방식으로 생성될 수 있다. 예를 들어, 치료용 폴리펩티드는 자연 발생 환경으로부터 단리되거나 정제될 수 있거나, 화학적으로 합성될 수 있거나, 제조합적으로 생성될 수 있거나, 또는 이들의 조합일 수 있다.

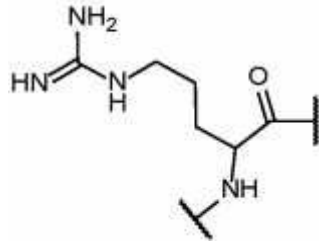
[0941] 용어 "소분자"는 분자량이 약 2000 달톤 미만, 또는 약 1000 달톤 미만, 또는 약 500 달톤 미만인 약리학적 활성을 갖는 유기 화합물을 지칭한다. 소분자 치료제는 전형적으로 화학적 합성에 의해 제조된다.

[0942] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "연속적"은 공유 결합에 의해 연결된 2개의 아미노산을 지칭한다. 예를



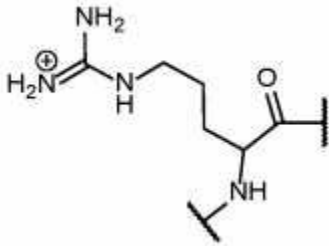
들어, 대표적인 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP), 예컨대 AA₁/AA₂, AA₂/AA₃, AA₃/AA₄, 및 AA₅/AA₁은 연속 아미노산의 쌍을 예시한다.

[0943] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 화학종의 잔기는 특정 생성물에 존재하는 화학종의 유도체를 지칭한다. 상기 생성물을 형성하기 위해, 화학종의 적어도 하나의 원자가 다른 모이어티에 대한 결합으로 대체되어, 생성물은 화학종의 유도체 또는 잔기를 함유하게 된다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 사이클릭 세포 침투 펩티드(cCPP)는 하나 이상의 펩티드 결합의 형성을 통해 그 안에 도입된 아미노산(예를 들어, 아르기닌)을 갖는다. cCPP 내로 도입된 아미노산은 잔기로 지칭될 수 있거나, 간단히 아미노산으로서 지칭될 수 있다. 따라서, 아르



기닌 또는 아르기닌 잔기는  를 지칭한다.

[0944] 용어 "이의 양성자화된 형태"는 아미노산의 양성자화된 형태를 지칭한다. 예를 들어, 아르기닌의 측쇄 상의 구아니딘 기는 양성자화되어 구아니디늄 기를 형성할 수 있다. 아르기닌의 양성자화된 형태의 구조는



이다.

[0945] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "키랄성"은, 원자들의 3차원 공간적 배열이 상이한 하나 초과 입체 이성질체를 가지며, 여기서 하나의 입체이성질체는 다른 하나의 입체이성질체와 겹쳐질 수 없는 거울상인, 분자를 지칭한다. 글리신을 제외한 아미노산은 카르복실 기에 인접한 키랄 탄소 원자를 갖는다. 용어 "거울상 이성질체"는 키랄 입체 이성질체들을 지칭한다. 키랄 분자는 "D" 및 "L" 거울상 이성질체를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. 글리신과 같은 키랄 중심이 없는 분자는 "비-키랄"로 지칭될 수 있다.

[0946] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "소수성"은 물 중에 가용성이 아니거나 물 중에 최소한의 용해도를 갖는 모이어티를 지칭한다. 일반적으로, 중성 모이어티 및/또는 비극성 모이어티, 또는 주로 중성 및/또는 비극성인 모이어티가 소수성이다. 소수성은 하기에 개시된 방법들 중 하나에 의해 측정될 수 있다.

[0947] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "방향족"은 $4n + 2$ 개의 π 전자를 갖는 불포화 사이클릭 분자를 지칭하며, 여기서 n 은 임의의 정수이다. 용어 "비방향족"은 방향족의 정의 내에 속하지 않는 임의의 불포화 사이클릭 분자를 지칭한다.

[0948] "알킬", "알킬 사슬" 또는 "알킬 기"는 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착된, 1 내지 40개의 탄소 원자를 갖는 완전 포화된 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 1 내지 40개 중 임의의 개수의 탄소 원자를 포함하는 알킬이 포함된다. 최대 40개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C₁-C₄₀ 알킬이고, 최대 10개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C₁-C₁₀ 알킬이고, 최대 6개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C₁-C₆ 알킬이고, 최대 5개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C₁-C₅ 알킬이다. C₁-C₅ 알킬은 C₅ 알킬, C₄ 알킬, C₃ 알킬, C₂ 알킬 및 C₁ 알킬(즉, 메틸)을 포함한다. C₁-C₆ 알킬은 C₁-C₅ 알킬에 대해 전술된 모든 모이어티를 포함하지만, C₆ 알킬을 또한 포함한다. C₁-C₁₀ 알킬은 C₁-C₅ 알킬 및 C₁-C₆ 알킬에 대해 전술된 모든 모이어티를 포함하지만, C₇, C₈, C₉ 및 C₁₀ 알킬을 또한 포함한다. 유사하게, C₁-C₁₂ 알킬은 앞서 말한 모든 모이어티를 포함하지만, C₁₁ 및 C₁₂ 알킬을 또한 포함한다. C₁-C₁₂ 알킬의 비제한적인 예에는 메틸, 에틸, *n*-프로필, *i*-프로필, *sec*-프로필, *n*-부틸, *i*-부틸, *sec*-부틸, *t*-부틸, *n*-펜틸, *t*-아밀, *n*-헥실, *n*-헵틸, *n*-옥틸, *n*-노닐, *n*-데실, *n*-운데실, 및 *n*-도데실이 포함된다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0949] "알킬렌", "알킬렌 사슬" 또는 "알킬렌 기"는 1 내지 40개의 탄소 원자를 갖는, 완전 포화된 직쇄 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. C₂-C₄₀ 알킬렌의 비제한적인 예에는 에틸렌, 프로필렌, *n*-부틸렌, 에틸렌, 프로페닐렌, *n*-부틸렌, 프로피닐렌, *n*-부틸렌 등이 포함된다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬렌 사슬은 선택적으로 치환될 수 있다.

[0950] "알케닐", "알케닐 사슬" 또는 "알케닐 기"는 2 내지 40개의 탄소 원자를 가지며 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 각각의 알케닐은 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착된다. 2 내지 40개 중 임의의 개수의 탄소 원자를 포함하는 알케닐 기가 포함된다. 최대 40개의

탄소 원자를 포함하는 알케닐 기는 C_2-C_{40} 알케닐이고, 최대 10개의 탄소 원자를 포함하는 알케닐은 C_2-C_{10} 알케닐이고, 최대 6개의 탄소 원자를 포함하는 알케닐은 C_2-C_6 알케닐이고, 최대 5개의 탄소 원자를 포함하는 알케닐은 C_2-C_5 알케닐이다. C_2-C_5 알케닐은 C_5 알케닐, C_4 알케닐, C_3 알케닐, 및 C_2 알케닐을 포함한다. C_2-C_6 알케닐은 C_2-C_5 알케닐에 대해 전술된 모든 모이어티를 포함하지만, C_6 알케닐을 또한 포함한다. C_2-C_{10} 알케닐은 C_2-C_5 알케닐 및 C_2-C_6 알케닐에 대해 전술된 모든 모이어티를 포함하지만, C_7 , C_8 , C_9 및 C_{10} 알케닐을 또한 포함한다. 유사하게, C_2-C_{12} 알케닐은 앞서 말한 모든 모이어티를 포함하지만, C_{11} 및 C_{12} 알케닐을 또한 포함한다. C_2-C_{12} 알케닐의 비제한적인 예에는 에테닐(비닐), 1-프로페닐, 2-프로페닐(알릴), 아이소-프로페닐, 2-메틸-1-프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 3-부테닐, 1-펜테닐, 2-펜테닐, 3-펜테닐, 4-펜테닐, 1-헥세닐, 2-헥세닐, 3-헥세닐, 4-헥세닐, 5-헥세닐, 1-헵테닐, 2-헵테닐, 3-헵테닐, 4-헵테닐, 5-헵테닐, 6-헵테닐, 1-옥테닐, 2-옥테닐, 3-옥테닐, 4-옥테닐, 5-옥테닐, 6-옥테닐, 7-옥테닐, 1-노네닐, 2-노네닐, 3-노네닐, 4-노네닐, 5-노네닐, 6-노네닐, 7-노네닐, 8-노네닐, 1-데세닐, 2-데세닐, 3-데세닐, 4-데세닐, 5-데세닐, 6-데세닐, 7-데세닐, 8-데세닐, 9-데세닐, 1-운데세닐, 2-운데세닐, 3-운데세닐, 4-운데세닐, 5-운데세닐, 6-운데세닐, 7-운데세닐, 8-운데세닐, 9-운데세닐, 10-운데세닐, 1-도데세닐, 2-도데세닐, 3-도데세닐, 4-도데세닐, 5-도데세닐, 6-도데세닐, 7-도데세닐, 8-도데세닐, 9-도데세닐, 10-도데세닐, 및 11-도데세닐이 포함된다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0951] "알케닐렌", "알케닐렌 사슬" 또는 "알케닐렌 기"는 2 내지 40개의 탄소 원자를 가지며 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. C_2-C_{40} 알케닐렌의 비제한적인 예에는 에텐, 프로펜, 부텐 등이 포함된다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알케닐렌은 선택적으로 치환될 수 있다.

[0952] "알콕시" 또는 "알콕시 기"는 기 -OR을 지칭하며, 여기서 R은 본 명세서에 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 또는 헤테로사이클릴이다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알콕시 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0953] "아실" 또는 "아실 기"는 기 -C(O)R을 지칭하며, 여기서 R은 본 명세서에 정의된 바와 같은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보사이클릴, 또는 헤테로사이클릴이다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 아실은 선택적으로 치환될 수 있다.

[0954] "알킬카르바모일" 또는 "알킬카르바모일 기"는 기 -O-C(O)-NR_aR_b를 지칭하며, 여기서 R_a 및 R_b는 동일하거나 상이하며, 독립적으로, 본 명세서에 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴이거나, 또는 R_aR_b는 함께 결합되어, 본 명세서에 정의된 바와 같은 사이클로알킬 기 또는 헤테로사이클릴 기를 형성할 수 있다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬카르바모일 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0955] "알킬카르복스아미딜" 또는 "알킬카르복스아미딜 기"는 기 -C(O)-NR_aR_b를 지칭하며, 여기서 R_a 및 R_b는 동일하거나 상이하하며, 독립적으로, 본 명세서에 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알키닐, 또는 헤테로사이클릴 기이거나, 또는 R_aR_b는 함께 결합되어, 본 명세서에 정의된 바와 같은 사이클로알킬 기를 형성할 수 있다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬카르복스아미딜 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0956] "아릴"은 수소, 6 내지 18개의 탄소 원자 및 적어도 하나의 방향족 고리를 포함하는 탄화수소 고리 시스템 라디칼을 지칭한다. 본 발명의 목적상, 아릴 라디칼은 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트라이사이클릭 또는 테트라사이클릭 고리 시스템일 수 있으며, 이들은 융합 또는 가교된 고리 시스템을 포함할 수 있다. 아릴 라디칼은 아세안트릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난트릴렌, 안트라센, 아줄렌, 벤젠, 크라이센, 플루오란텐, 플루오렌, *as*-인다센, *s*-인다센, 인단, 인덴, 나프탈렌, 페날렌, 페난트렌, 플레이아덴, 피렌, 및 트라이페닐렌으로부터 유도되는 아릴 라디칼이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 용어 "아릴"은 선택적으로 치환된 아릴 라디칼을 포함하는 것으로 의미된다.

[0957] "헤테로아릴"은 수소 원자, 1 내지 13개의 탄소 원자, 질소, 산소 및 황으로부터 선택되는 1 내지 6개의 헤테로 원자, 및 적어도 하나의 방향족 고리를 포함하는 5원 내지 20원 고리 시스템 라디칼을 지칭한다. 본 발명의 목적상, 헤테로아릴 라디칼은 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트라이사이클릭 또는 테트라사이클릭 고리 시스템일 수 있으며, 이들은 융합 또는 가교된 고리 시스템을 포함할 수 있으며; 헤테로아릴 라디칼 내의 질소, 탄소 또

는 황 원자는 선택적으로 산화될 수 있고; 질소 원자는 선택적으로 4차화될 수 있다. 예에는 아제피닐, 아크리디닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조티아졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조다이옥솔릴, 벤조푸라닐, 벤조옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조[*b*][1,4]다이옥세피닐, 1,4-벤조다이옥사닐, 벤조나프토푸라닐, 벤족사졸릴, 벤조다이옥솔릴, 벤조다이옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤조티에닐 (벤조티오페닐), 벤조트리아졸릴, 벤조[4,6]이미다조[1,2-*a*]피리디닐, 카르바졸릴, 신놀리닐, 다이벤조푸라닐, 다이벤조티오페닐, 푸라닐, 푸라노닐, 아이소티아졸릴, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌릴, 인다졸릴, 아이소인돌릴, 인돌리닐, 아이소인돌리닐, 아이소퀴놀릴, 인돌리지닐, 아이소옥사졸릴, 나프티리디닐, 옥사디아아졸릴, 2-옥소아제피닐, 옥사졸릴, 옥시라닐, 1-옥시도피리디닐, 1-옥시도피리미디닐, 1-옥시도피라지닐, 1-옥시도피리다지닐, 1-페닐-1*H*-피롤릴, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 푸리닐, 피롤릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 퀴놀리닐, 퀴누클리디닐, 아이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 티아졸릴, 티아디아아졸릴, 트리아아졸릴, 테트라졸릴, 트리아아지닐, 및 티오펜일(즉, 티에닐)이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 본 명세서에 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 헤테로아릴 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0958] 본 명세서에 사용되는 용어 "치환된"은 상기 기들(즉, 알킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알키닐, 헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, 아실, 알킬카르바모일, 알킬카르복스아미딜, 알콕시카르보닐, 알킬티오, 또는 아릴티오) 중 임의의 기에서, 적어도 하나의 원자가 비수소 원자, 예컨대 제한 없이, 할로겐 원자, 예컨대 F, Cl, Br, 및 I로 대체된 것을 의미한다: 하이드록실 기, 알콕시 기, 및 에스테르 기와 같은 기에서는 산소 원자; 티올 기, 티오알킬 기, 설펜 기, 설펜닐 기, 및 설펜사이드 기와 같은 기에서는 황 원자; 아민, 아마이드, 알킬아민, 다이알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 다이아릴아민, *N*-옥사이드, 이미드, 및 에나민과 같은 기에서는 질소 원자; 트리아알킬실릴 기, 다이알킬아릴실릴 기, 알킬다이아릴실릴 기, 및 트리아아릴실릴 기와 같은 기에서는 규소 원자; 및 다양한 다른 기에서는 다른 헤테로원자. "치환된"은 또한 상기 기들 중 임의의 기에서, 하나 이상의 원자가 헤테로원자에 대해, 예컨대 옥소, 카르보닐, 카르복실, 및 에스테르 기에서는 산소에 대해; 그리고 이민, 옥심, 하이드라존, 및 니트릴과 같은 기에서는 질소에 대해 고차 결합(예를 들어, 이중 결합 또는 삼중 결합)으로 대체된 것을 의미한다. 예를 들어, "치환된"은 상기 기들 중 임의의 기에서, 하나 이상의 원자가 $-NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)R_h$, $-NR_gC(=O)NR_gR_h$, $-NR_gC(=O)OR_h$, $-NR_gSO_2R_h$, $-OC(=O)NR_gR_h$, $-OR_g$, $-SR_g$, $-SOR_g$, $-SO_2R_g$, $-OSO_2R_g$, $-SO_2OR_g$, $=NSO_2R_g$, 및 $-SO_2NR_gR_h$ 로 대체된 것을 포함한다. "치환된"은 또한 상기 기들 중 임의의 기에서, 하나 이상의 수소 원자가 $-C(=O)R_g$, $-C(=O)OR_g$, $-C(=O)NR_gR_h$, $-CH_2SO_2R_g$, $-CH_2SO_2NR_gR_h$ 로 대체된 것을 의미한다. 상기에서, R_g 와 R_h 는 동일하거나 상이하고, 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알키닐, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 할로알케닐, 할로알키닐, 헤테로사이클릴, *N*-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, *N*-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. "치환된"은 상기 기들 중 임의의 기에서, 하나 이상의 원자가 아미노, 시아노, 하이드록실, 이민, 니트로, 옥소, 티옥소, 할로, 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 사이클로알키닐, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 할로알케닐, 할로알키닐, 헤테로사이클릴, *N*-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, *N*-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬 기로 대체된 것을 추가로 의미한다. "치환된"은 또한, 측쇄 상의 하나 이상의 원자가 알킬, 알케닐, 알키닐, 아실, 알킬카르복스아미딜, 알콕시카르보닐, 카르보사이클릴, 헤테로사이클릴, 아릴, 또는 헤테로아릴로 대체된 아미노산을 의미할 수 있다. 또한, 전술한 치환체 각각은 또한 상기 치환체들 중 하나 이상으로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0959] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "대상체"는 개체를 의미한다. 따라서, "대상체"는 길들여진 동물(예를 들어, 고양이, 개 등), 가축(예를 들어, 소, 말, 돼지, 양, 염소 등), 실험실 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 래트, 기니 피그 등), 및 조류를 포함할 수 있다. "대상체"는 또한 포유동물, 예컨대 영장류 또는 인간을 포함할 수 있다. 따라서, 대상체는 인간 또는 수의과 환자일 수 있다. 용어 "환자"는 임상상의 치료 하에 있는 대상체, 예를 들어 의사를 지칭한다.

[0960] 용어 "억제하다"는 활성, 반응, 질환, 질병, 또는 다른 생물학적 파라미터의 감소를 지칭한다. 이는 활성, 반응, 질환, 또는 질병의 완전한 근절을 포함할 수 있지만 이로 한정되지 않는다. 이는 또한, 예를 들어, 천연 또는 대조군 수준과 대비하여, 활성, 반응, 질환, 또는 질병의 10% 감소를 포함할 수 있다. 따라서, 감소는, 천연 또는 대조군 수준과 대비하여 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100%, 또는 이들 사이의 임의의 양의 감소일 수 있다.

- [0961] "감소시키다" 또는 이 단어의 다른 형태, 예컨대 "감소시키는" 또는 "감소"는 사건 또는 특징(예를 들어, 종양 성장)의 저하를 의미한다. 이는 전형적으로 일부 표준 또는 예상된 값과 관련되지만, 다시 말해 그것은 상대적이지만, 표준 또는 상대 값이 항상 언급되어야 할 필요가 있는 것은 아님이 이해된다. 예를 들어, "종양 성장을 감소시키다"는 표준 또는 대조군(예를 들어, 처리되지 않은 종양)과 대비하여 종양의 성장 속도를 감소시키는 것을 의미한다.
- [0962] 용어 "치료"는 질병, 병리학적 상태, 또는 장애를 치유, 호전, 안정화, 또는 예방하려는 의도로 행하는 환자의 의료 관리를 지칭한다. 이 용어는 적극적 치료, 즉, 질병, 병리학적 상태, 또는 장애의 개선을 향해 특히 지향된 치료를 포함하며, 또한 원인 치료, 즉, 관련 질병, 병리학적 상태, 또는 장애의 원인의 제거를 향한 치료를 포함한다. 또한, 이 용어는 고식적 치료, 즉, 질병, 병리학적 상태, 또는 장애의 치유라기보다는 증상의 완화를 위해 설계된 치료; 예방적 치료, 즉, 관련 질병, 병리학적 상태, 또는 장애의 발달을 최소화하거나 부분적으로 또는 완전히 억제하도록 지향된 치료; 및 지지적 치료, 즉, 관련 질병, 병리학적 상태, 또는 장애의 개선을 향해 지향된 다른 특정 요법을 보충하기 위해 사용되는 치료를 포함한다.
- [0963] 용어 "치료적으로 유효한"은 질병 또는 장애의 하나 이상의 원인 또는 증상을 호전시키기에 충분한 양의, 사용되는 조성물의 양을 지칭한다. 그러한 개선은 단지 감소 또는 변경만을 필요로 하며, 반드시 제거를 필요로 하지는 않는다.
- [0964] 용어 "약제학적으로 허용되는"은, 건전한 의학적 판단의 범위 내에서, 합리적인 효과/위험 비에 상응하는 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이, 인간 및 동물의 조직과의 접촉 시에 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투여 형태를 지칭한다.
- [0965] 용어 "담체"는, 화합물 또는 조성물과 배합될 때, 의도된 사용 또는 목적을 위하여 상기 화합물 또는 조성물의 제조, 저장, 투여, 전달, 유효성, 선택성, 또는 임의의 다른 특징을 돕거나 용이하게 하는 화합물, 조성물, 물질, 또는 구조를 의미한다. 예를 들어, 담체는 활성 성분의 임의의 분해를 최소화하도록 그리고 대상체에서의 임의의 유해한 부작용을 최소화하도록 선택될 수 있다.
- [0966] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀전뿐만 아니라, 사용 직전에 멸균 주사용 용액 또는 분산액으로 재구성하기 위한 멸균 분말을 지칭한다. 적합한 수성 및 비수성 담체, 희석제, 용매 또는 비히클의 예에는 물, 에탄올, 폴리올(예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 카르복시메틸셀룰로스 및 이들의 적합한 혼합물, 식물성 오일(예컨대, 올리브유) 및 주사가 가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트가 포함된다. 적절한 유동성은, 예를 들어 레시틴과 같은 코팅 재료의 사용에 의해, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 이들 조성물은 또한 애쥬번트, 예컨대 방부제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항생균제 및 항진균제, 예컨대 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르브산 등의 포함에 의해 보장될 수 있다. 등장제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 포함하는 것이 또한 바람직할 수 있다. 주사가 가능한 제형은, 예를 들어, 세균-잔류 필터(bacterial-retaining filter)를 통한 여과에 의해 또는 사용 직전에 멸균수 또는 다른 멸균 주사용 매질 중에 용해 또는 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물 형태의 멸균제를 도입시킴으로써 멸균될 수 있다. 적합한 불활성 담체는 당, 예컨대 락토스를 포함할 수 있다.

[0967] [표 10]

약어	IUPAC 명칭
HATU	1-[비스(다이메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트
HOBt	1-하이드록시벤조트리아졸
PyAOP	(7-아자벤조트리아졸-1-일옥시)트라이피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트
PyOxim	[(E)-(1-시아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴)아미노]옥시-트라이피롤리딘-1-일포스파늄; 헥사플루오로포스페이트
Oxyma	에틸 (2Z)-2-시아노-2-(하이드록시이미노)아세테이트
HBTU	3-[비스(다이메틸아미노)메틸리우밀]-3H-벤조트리아졸-1-옥사이드 헥사플루오로포스페이트
TBTU	2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트
COMU	(1-시아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴아미노옥시)다이메틸아미노-모르폴리노-카르베늄 헥사플루오로포스페이트
DEPBT	다이에틸 4-옥소-1,2,3-벤조트리아진-3(4H)-일 포스페이트

[0968]

[0969] 실시예

[0970] 실시예 1. 아르기닌 유도체를 함유하는 cCPP 및 이의 접합체의 설계 및 합성

[0971] **재료 및 일반적 방법** 펩티드 합성을 위한 시약 및 Rink 아미드 수지(100 내지 200 메시, 0.54 mmol/g)를 상업적 공급업체로부터 구입하였다. 펩티드의 순도를 분석용 HPLC에 의해 평가하고, ESI 질량 분석에 의한 분석에 의해 정체를 확인하였다.

[0972] **cCPP 설계.** 아르기닌은 세포-침투 펩티드의 전신 기관 독성에 대한 유의한 기여인자로서 연루되어 왔다. 측쇄 상의 구아니디늄 작용기로 인해 아르기닌 잔기는 양성자화되고, 생리학적 pH에서 양전하를 갖는다. 이러한 양전하는 원형질막 및 엔도리소좀 막(endolysosomal membrane) 둘 모두와의 상호작용을 용이하게 하며, 이는 세포 내이입 및 엔도솜 탈출을 가능하게 하여 운반물 양식을 세포질 내로 전달될 수 있게 한다. 생리학적 pH에서 양으로 하전될 수 있는 대체 잔기를 사이클릭 스캐폴드 내로 도입시키고, 표 11 및 도 1에 열거된 바와 같이 제조하였다. 구아니디늄 작용기는 또한 원형질막 상의 인지질과의 두자리 수소 결합 상호작용을 형성할 수 있으며, 이는 효과적인 막 회합 및 후속 내재화에 본질적일 것임이 이해된다. 증가하는 양전하 수는 증가하는 전신 독성으로 이어지기 때문에, 양전하를 사용하지 않고서 두자리 수소 결합 상호작용을 형성할 수 있는 아르기닌 대체물이, 독성을 감소시키면서 활성을 보유할 것임을 제안하였으며, 이는 표 11 및 도 1에 열거된 바와 같다.

[0973] [표 11]

대체 잔기를 포함하는 사이클릭 펩티드.

화합물	서열
화합물 A	사이클로(FfΦ-Agp-r-Agp-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂ (대조군)
화합물 B	사이클로(FfΦ-Agb-r-Agb-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂ (대조군)
화합물 C	사이클로(FfΦ-hR-r-hR-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂ (대조군)
화합물 D	사이클로(FfΦ-4gp-r-4gp-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
화합물 1a	사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
화합물 2a	사이클로(FfΦ-Pia-r-Pia-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
화합물 3a	사이클로(FfΦ-Dml-r-Dml-rQ)-PEG ₄ -K-NH ₂
화합물 1b	Ac-PKKKRKV-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q]-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂)
화합물 1c	사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG ₁₂ -OH
화합물 7c	사이클로(fΦR-Cit-R-Cit-Q)-PEG ₁₂ -OH
화합물 8d	Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-R-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂
화합물 9d	Ac-PKKKRKV-K(사이클로[FfΦR-cit-R-cit-Q])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂
화합물 10d	Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-R-rQ])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂
화합물 1e	Ac-PKKKRKV-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-B-k(N ₃)-NH ₂
화합물 1f	Ac-PKKKRKV-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₂ -k(N ₃)-NH ₂
화합물 1g	Ac-PKKKRKV-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₄ -k(N ₃)-NH ₂
화합물 1h	Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -k(N ₃)-NH ₂
화합물 1i	Ac-pkkkrkv-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -k(N ₃)-NH ₂
화합물 1j	Ac-rrv-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -OH
화합물 1k	Ac-PKKKRKV-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -k(N ₃)-NH ₂
화합물 1l	Ac-PKKK-Cit-KV-PEG ₂ -Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -k(N ₃)-NH ₂
화합물 1m	Ac-pkkkrkv-PEG ₂ -k(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -k(N ₃)-NH ₂

Φ = 3-(2-나프틸)-L-알라닌, Agp = L-2-아미노-3-구아니디노프로피온산, Agb = L-2-4-구아니디노산부탄, hR = L-호모아르기닌, 4gp = 4-구아니디노-L-페닐알라닌, Cit = 시트룰린, Pia = 3-(4-피페리디닐)-L-알라닌, Dml = N-다이메틸-L-라이신, B = 베타-알라닌. 소문자는 D-아미노산을 나타낸다.

[0974]

[0975]

올리고뉴클레오타이드 설계. 마우스 디스트로핀 전-mRNA에서 엑손 23을 스킵핑하여, 그 결과, 디스트로핀의 내부적으로 절단된 형태를 형성하도록 안티센스 화합물(AC)을 설계하여, 듀센 근이영양증(DMD)의 *mdx* 마우스 모델에서 질병 상태에 대처하는 데 조성을 이용하기 위한 실행가능성을 평가하였다. AC는, 오로지 포스포로디아아미데이트 모르폴리노 염기만으로 구성되고, 이 중 접합된 하나의 서열이 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACTGAAAT-3'인, 포스포로디아아미데이트 모르폴리노 올리고머(PMO)이다.

[0976]

세포 침투 펩티드. 서열 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-PEG₂-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-2-Nal-Cit-D-Arg-Cit-D-Arg-γ-Glu)-PEG₁₂-Lys(N₃)-NH₂를 포함하는 세포-침투 펩티드("화합물 1b")를 TFA 염으로서 제형화하였다.

[0977]

합성. 이 펩티드는 표준 Fmoc 화학을 사용하여 합성하였다.

[0978]

1. Rink 아미드 MBHA 수지(0.3 mmol, 0.87 g, sub: 0.35 mmol/g)가 담긴 베셀(vessel)에 DMA를 첨가하고, 2시간 동안 팽윤시킨다.

[0979]

2. 배액하고, 이어서 30초씩 3회 DMF 세척한다.

[0980]

3. 20% 피페리딘/DMF를 첨가하고, 30분 동안 혼합한다.

[0981]

4. 배액하고, 이어서 30초씩 5회 DMF 세척한다.

[0982]

5. Fmoc-아미노산 용액을 첨가하고, 30초 동안 혼합하고, 이어서 30분 동안 N₂ 버블링을 수행하면서 커플링 시약을 첨가한다.

[0983]

6. 다음 아미노산 커플링을 위해 단계 2 내지 단계 5를 반복한다.

[0984]

7. 커플링 후, 수지를 MeOH로 3회 세척하고, 감압 하에서 건조시켰다.

[0985] [표 12]

1	Fmoc-Lys(N ₃)-OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
2	Fmoc-PEG ₁₂ -OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
3	Fmoc-Lys(Dde)-OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
4	Fmoc-미니 PEG2-OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
5	Fmoc-Val-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
6	Fmoc-Lys(Boc)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
7	Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
8	Fmoc-Lys(Boc)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
9	Fmoc-Lys(Boc)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
10	Fmoc-Lys(Boc)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
11	Fmoc-Pro-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
12	Ac ₂ O (6.0 eq)	DIEA (12.0 eq)
13	Fmoc-Glu-O 알릴 (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
14	D-Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
15	Fmoc-Cit-OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
16	D-Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
17	Fmoc-Cit-OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
18	Fmoc-3-(2-Nal)-Ala-OH (2.0 eq)	HATU (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)
19	D-Fmoc-Phe-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
20	Fmoc-Phe-OH (3.0 eq)	HBTU (2.85 eq)/HOBt (3 eq)/DIEA (6.0 eq)
21	환화	PyAOP (1.85 eq)/HOAt (2 eq)/DIEA (4.0 eq)

[0986]

[0987] Fmoc 탈보호를 위해 DMF 중 20% 피페리딘을 30분 동안 사용하였다. Dde를 30분 동안 2회 3% NH₂NH₂/DMF에 의해 제거하였다. 알릴을 Pd(PPh₃)₄ 및 PhSiH₃에 의해 제거하였다. 커플링 반응을 닌하이드린 시험에 의해 모니터링하고, 수지를 DMF로 5회 세척하였다.

[0988] 펩티드 절단 및 정제:

[0989] 1. 절단 완충액(95% TFA / 2.5% TIS / 2.5% H₂O)을 실온에서 측쇄 보호된 펩티드가 담긴 플라스크에 첨가하고, 2.0시간 동안 교반한다.

[0990] 2. 펩티드를 차가운 아이소프로필 에테르를 사용하여 침전시키고, 원심분리한다(3000 rpm으로 3분).

[0991] 3. 추가 2회의 아이소프로필 에테르 세척을 수행한다.

[0992] 4. 진공 하에서 2시간 동안 조(crude) 펩티드를 건조시킨다.

[0993] 5. 분취용 HPLC(A: H₂O 중 0.075% TFA, B: ACN)에 의해 조 펩티드를 정제하여 최종 생성물(145.6 mg, 97.4% 순도, 15.1% 수율)을 얻는다. 순도 및 정체가 분석용 UPLC/MS에 의해 확인되었다.

[0994] **cCPP-PMO 접합체의 제조.** 변형-축진된 알긴-아지드 부가환화를 통해 3' 접합체로서 펩티드-PMO를 제조하였다. 간략하게 말하면, 뉴클레아제-무함유 물 중 펩티드-아지드의 용액(1 mM)을 PMO-3'-사이클로옥틴 또는 사이클로옥틴-5'-PMO 고체에 첨가하였다. 혼합물을 와동시켜 펩티드-PMO 접합체를 용해시키고, 원심분리하여 용액을 침강시키고, LCMS(Q-TOF)에 의해 확인되는 바와 같은 완료를 위해 실온에서 8 내지 12시간 동안 인큐베이션하였다. 정제를 위해, 조 혼합물을 DMSO로 희석시키고, C18 역상 컬럼(150 mm * 21.2 mm) 상에 20 mL/분의 유량으로 로딩하고, 용매로서 0.05% TFA를 함유하는 물 및 아세트니트릴을 사용하여 적절한 구배로 정제하였다. 원하는 분획을 풀링하고, 1 N NaOH를 사용하여 용액의 pH를 5 내지 6으로 조정하고, 용액을 동결건조시켜 백색 분말을 얻었다. 시험관내 및 생체내 제형을 위해, 접합체를 적절한 양의 멸균 PBS 또는 멸균 식염수 중에 원하는 농도(2 내지 10 mg/mL)로 재구성하였다. 모든 재료를 사용 시까지 -80°C에서 저장하였다.

[0995] **실시예 2. 클로로알칸 침투 검정을 사용한 세포 침투 활성의 결정.**

[0996] **검정 설계.** 사이토졸에 대한 노출에 의해 외부 미토콘드리아 막에 대해 융합 단백질 국제화를 보장하는 할로태그(HaloTag)-ActA 융합 단백질을 안정하게 발현하는 HEK293 세포("HEK293-할로태그")를 생성하였다. 할로태그 단백질은 짧은 클로로알칸-함유 화합물과 신속하게 공유적으로 반응하여, 활성 부위를 점유하고 추가 반응을 방

지한다. 클로로알칸 침투 검정은 펄스-추적(pulse-chase) 검정에서의 이러한 반응성을 이용하는데, 여기서는 세포를 먼저 관심 cCPP-클로로알칸으로 처리한 후, 세포-투과성 형광 염료 테트라메틸로다민-클로로알칸("TMR-ct")과 함께 인큐베이션한다. cCPP가 사이토졸에 대한 접근을 획득하였다면, 이들은 할로태그와 반응하고, 그것이 TMR-ct와 반응하는 것을 방지할 것이다. 따라서, 화합물들의 상대 세포-침투 효율은, 세척 기간 후에 세포 TMR 형광을 감소시킬 수 있는 이들의 능력에 의해 결정될 수 있으며, 이 값은 IC₅₀으로 표현된다.

[0997] **세포 침투 펩티드.** 표 13(하기)에 지시된 서열을 갖는 세포 침투 펩티드를 라이신 잔기 상에서 서열 N¹-(2-(2-((5-클로로헥실)옥시)에톡시)에틸)-N⁴-(2-(2-(2-옥소에톡시)에톡시)에틸)석신아미드(표 13에서 "클로로알칸"으로 지칭됨)의 클로로알칸 태그로 작용기화하고, 정제하고, DMSO 중 스탁 용액으로서 제조하였으며, 이때 이의 농도는 적용가능한 경우 A₂₈₀ 또는 중량 기준으로 결정된다.

[0998] **세포-침투 효율의 결정.** 평가하려는 화합물을 DMSO 중 스탁 용액으로서 제조하고, PBS 중에 희석시킨 후, 30 μM부터 0.5 nM까지의 연속 희석물로서 HEK293-할로태그 세포에 첨가하였다. 세포를 37°C에서 FBS의 존재 하에 24시간 동안 주어진 농도의 화합물과 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 PBS로 완전히 세척하고, 세포에 5 μM TMR-ct를 함유하는 신선한 무혈청 배지를 첨가하고 30분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 세척하고, 신선한 배지 중에서 인큐베이션하여 어떠한 미반응 TMR-ct도 세척하였다. 이어서, 고함량 이미징(high-content imaging)을 사용하여 세포를 이미징하고 세포 형광에 대해 정량화하였다. 비히클-처리된 세포에 대해 값을 정규화하고, GraphPad PRISM v.8에서 4-파라미터 로그 적합을 사용하여 IC₅₀을 계산한다.

[0999] **결과.** 할로태그 실험으로부터의 데이터는 다수의 아르기닌 유도체(도 1 참조) - 중성 잔기, 예컨대 시트룰린을 포함함 - 가 포유류 세포에서 cCPP의 세포-침투 및 사이토졸 전달을 가능하게 하는 데 있어서 아르기닌과 동등하거나 그보다 더 월등하다는 것을 뒷받침한다(표 13).

[1000] [표 13]

아르기닌 대체물을 포함하는 사이클릭 펩티드의 세포-침투 효율.

ID	서열	할로태그 IC ₅₀ (μM)
EEV12	사이클로(FfΦRrRrQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.792
화합물 A	사이클로(FfΦ-Agp-r-Agp-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.626
화합물 B	사이클로(FfΦ-Agb-r-Agb-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.695
화합물 C	사이클로(FfΦ-hR-r-hR-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.786
화합물 D	사이클로(FfΦ-4gp-r-4gp-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.695
화합물 1a	사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.849
화합물 2a	사이클로(FfΦ-Pia-r-Pia-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.881
화합물 3a	사이클로(FfΦ-Dml-r-Dml-rQ)-PEG ₄ -K(클로로알칸)-NH ₂	0.932

[1001]

실시예 3. 아르기닌-유도체 cCPP의 시험관내 세포독성 및 막용해성(membranolytic) 활성.

[1002]

[1003] **세포주.** 인간 섬유아세포("WI38"), 인간 1차 신장 근위 요세포 상피 세포("RPTEC"), 인간 제대 정맥 내피 세포("HUVEC"), 및 인간 말초 혈액 단핵 세포("PBMC")의 혼합물을 이용하였다.

[1004]

[1004] **세포 생존력.** 화합물을 전술한 바와 같이 합성하고, DMSO 중 스탁 용액으로서 제조하였다. 화합물을 원하는 농도로 멸균 식염수 중에 연속 희석시키고, 10% FBS를 함유하는 완전 성장 배지 중에서 플레이팅된 WI38, RPTEC, HUVEC, 또는 PBMC에 첨가하고, 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 24시간 후에, 제조자의 프로토콜에 따라 CellTiter-Glo 2.0(WI38) 또는 CyQuant Green(RPTEC, HUVEC, PBMC)을 사용하여 세포 생존력을 평가하였다. 생존력에 대해 주어진 값은 100% 생존가능한 것으로서의 비히클-처리된 대조군과 대비하여 주어진다.

[1005]

[1005] **LDH 방출.** cCPP가 원형질막을 파괴하고 LDH 방출을 야기할 수 있는 능력을 평가하였다. WI38, RPTEC, 및 HUVEC 세포를 10% FBS가 보충된 완전 성장 배지 중에 유지하고, 37°C, 5% CO₂에서 1시간 동안 지시된 농도로 PBS 중 DMSO 스탁 용액으로부터 연속 희석된 화합물로 처리하였다. 1시간 후에, 각 웰로부터의 50 μL의 세포 배양 배지를 투명 96웰 플레이트 내로 옮기고, 50 μL의 LDH 반응 혼합물과 배합하고, 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 30분 후에, 반응물을 50 μL의 정지 용액으로 켄칭(quenching)하고, 490 nm에서 흡광도를 측정하고, 680 nm에서의 흡광도를 사용하여 백그라운드 보정을 수행하였다. 주어진 값은 100% LDH 활성을 나타내는

1% Triton-X100을 사용하여 용해된 세포와 대비하여 주어진다.

[1006] **결과.** 화합물 1b(Ac-PKKKRKV-PEG₂-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q]-PEG₁₂-K(N₃)-NH₂)에 의한 처리는 WI38, HUVEC 및 hPBMC에서의 세포 생존력에 있어서 유의하지 않은 손실을 가져왔으며, 이에 는 검출 불가능한 LDH 방출 이 포함되는데, 이는 화합물 처리 시에 측정 불가능한 막 손상을 나타낸다. 아르기닌 유사체 시트룰린으로의 아르기닌 잔기의 대체는 RPTEC에 대한 독성을 감소시켰으며(화합물 1b vs. EEV12), 이는 심지어, 고리의 잔기 덕분에 더 많은 전체 양전하를 보유하는 분자와 관련해서도 그러하였다. 결과가 도 3 내지 도 8에 나타나 있다.

[1007] **실시예 4. 아르기닌 유도체를 함유하는 cCPP의 생체내 내약성 및 효능.**

[1008] **마우스.** 수컷 C57BL/6 마우스를 내약성 실험에 사용하였다. 효능 연구는 C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J(MDX) 마우스를 사용하였는데, 이 마우스는 X 염색체 상의 디스트로핀 유전자(*Dmd*)의 엑손 23 내의 위치 2983에서 종결 코돈을 생성하게 되는 C에서 T로의 돌연변이를 함유한다. 이 돌연변이체 대립유전자를 발현하는 마우스는 최소한의 디스트로핀 mRNA 산물 및 디스트로핀 단백질을 생성하며, 이에 따라 듀센 근이영양증("DMD")의 모델이다.

[1009] **연구 설계.** 표 6에 열거된 서열을 사용하여 cCPP 및 cCPP-AC 접합체를 제조하고, 실시예 2에 기재된 바와 같이 특성화하였으며, 이때 구조는 도 3에 나타나 있다. C57BL/6 마우스에서의 내약성 연구를 위해, cCPP를 접합 없이 사용하였다. *mdx* 마우스에서의 효능 연구를 위해, cCPP-AC 접합체는 표 6으로부터의 서열, 및 서열 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3'을 갖는 AC를 포함하였다. 생성된 접합체는 EEV12와 AC("EEV-MDX-PMO-1") 또는 화합물 1b(Ac-PKKKRKV-PEG₂-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q]-PEG₁₂-K(N₃)-NH₂)와 AC("EEV1-PMO-MDX-2")를 포함하였다. 내약성 연구를 위해, 평균 식염수, pH 7.2 중에 화합물을 제형화하고, 동물의 체중을 기준으로 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 및 40 mg/kg의 용량으로 IV 주사를 통해 C57BL/6 마우스에 투여하였다. 주사 후 15분 시점에서 혈청을 수집하고, 액체 질소 중에서 급속-냉동시키고, 추가 분석을 위해 -80°C에서 저장하였다. 효능 연구를 위해, 평균 식염수, pH 7.2 중에 접합체를 제형화하고, 동물의 체중을 기준으로 15 mg/kg, 30 mg/kg 및 40 mg/kg의 용량으로 IV 주사를 통해 *mdx* 마우스에 투여하였다. 주사 후 7일 시점에서, 동물을 희생시키고, 지시된 조직을 수집하고, 액체 질소 중에서 급속-냉동시키고, 추후의 가공을 위해 -80°C에서 저장하였다.

[1010] **히스타민 수준의 정량화.** 화합물 투여 후 혈청 히스타민 수준의 증가는 전신 알레르기 반응을 나타낼 수 있거나, 이것이 유해한 임상 관찰로서 나타나기 때문에 어느 것이 성공적인 화합물 개발을 방해할 수 있는지를 나타낼 수 있다. C57BL/6 마우스에서 IV 화합물 투여 후 15분 시점에서 획득된 혈청 샘플 중의 히스타민을 페닐아이소티오시아네이트(PITC)를 사용하여, PITC:에탄올:피리딘의 0.1:1:10 혼합물 중에서 실온에서 10분 동안 유도체화하여 페닐티오카르바미드(PTC) 히스타민을 생성하였다. 샘플을 건조시키고, 아세트니트릴 중 0.1% 포름산 중에 재구성한 후, 247.1-154.1 *m/z*의 MRM 전이를 사용하는 ESI-MS를 사용하여 크로마토그래피 분리 및 검출을 수행하였다. 내부 PTC-히스타민 대조군을 사용하여 정량화를 수행하고, 값을 ng/mL의 혈청 히스타민으로 표현하였다.

[1011] **RT-PCR에 의한 스플라이싱 교정의 검출.** PMO의 전달은 스플라이싱을 변경시키고, 그 결과, 엑손 23 스킵핑 후에 절단된 디스트로핀 mRNA를 생성할 수 있다. 스플라이싱 교정 과정의 검출을 RT-PCR에 의해 측정하는데, 여기서는 조직으로부터 추출된 RNA를 먼저 cDNA에 역전사하고, 다음 2개의 프라이머 세트를 사용하여 중첩(nested) PCR에 의해 추가로 분석한다: 제1 라운드 PCR에 대해서는 정방향 프라이머 5'-CAGAATTCTGCCAATGCTGAG-3' 및 역방향 프라이머 5'- TTCTTCAGCTTGTCATCC-3'(외부 프라이머 세트), 그리고 제2 라운드 PCR에 대해서는 정방향 프라이머 5'- CCCAGTCTACCACCTATCAGAGC-3' 및 역방향 프라이머 5'- CCTGCCTTAAGGCTTCCTT-3'(내부 프라이머 세트). 스플라이싱 교정의 부재 하에서의 조직의 RT-PCR 판독은 901 bp 유전자 단편의 생성을 나타내고, 스플라이싱 교정 후에 새로운 689 bp 유전자 단편이 나타난다. RT-PCR에 의해 검출된 스플라이싱 교정의 정도(백분율)를 하기 식을 사용하여 계산하였다: % 교정 = (689 bp 단편 밴드의 강도) / (901 bp 단편 밴드의 강도 + 689 bp 단편 밴드의 강도).

[1012] **웨스턴 블롯에 의한 디스트로핀 발현의 검출.** 용해 원추액(HALT 프로테아제 억제제와 함께, 9% SDS, 4% 글리세롤, 5 mM Tris, 및 5% 베타-메르캅토에탄올)을 마우스 심장, 복횡근, 사두근, 또는 횡격막 중 어느 하나로부터의 민싱된(minced) 마우스 조직에 첨가하였다. 급속 비드를 Qiagen TissueLyser와 함께 사용하여 조직을 기계적으로 균질화하였다. 용해물을 원심분리에 의해 청정화하고, 상층액을 3 내지 8% Tris 아세트레이트 겔을 사용하는 SDS-PAGE에 적용한 후 니트로셀룰로스 막에 전달하고 웨스턴 블롯팅을 수행한 후, LICOR 시스템을 사용하

여 형광 이미징을 수행하거나, 66 내지 440 kDa 모세관 매트릭스를 사용하여 Jess Simple Western 시스템에 적용하였다. Abcam으로부터의 항-디스트로핀 항체(Ab52777 또는 Ab154168)를 사용하여 디스트로핀을 검출하고; R&D Systems로부터의 항-알파-액티닌 항체(MAB8279) 또는 Abcam으로부터의 항-알파-액티닌 항체(ab68167)를 사용하여 알파-액티닌을 검출하였다. 전통적인 웨스턴 블롯 밴드를 LICOR 소프트웨어를 사용하여 정량화하였다. Jess Simple Western 피크를 적합화하고, Simple Western 소프트웨어를 사용하여 피크 아래 면적을 계산하였다. 각 실행마다 각각의 조직으로부터의 상이한 양의 mdx 마우스 용해물로 희석된 야생형 마우스 용해물을 사용하는 표준 곡선을 포함하였다. 각 샘플에서 검출된 디스트로핀을 로딩 대조군으로서의 알파-액티닌에 대해 정규화하고, 표준 곡선에 대해 선형 회귀를 수행하였으며, 이를 사용하여 야생형 디스트로핀 수준의 백분율로서 각 샘플 내의 디스트로핀의 양을 결정하였다.

[1013] **결과.** 아르기닌 유사체로의 아르기닌 잔기의 대체는 IV 투여 후 혈청 히스타민 수준을 유의하게 감소시킬 수 있었으며, 이는 도 9에 입증된 바와 같다. 화합물 1b가 cCPP 모티프 내에 총 7개의 양전하를 가졌음(그러나, 2개 더 적은 아르기닌 잔기를 가짐)에도 불구하고, 5 mg/kg의 화합물 1b로 처리한 후의 히스타민 방출은 5 mg/kg의 EEV12보다 약 3배 더 낮았다. 5 mg/kg의 EEV12와 비교되는 히스타민 방출을 보기 위해서는 20 mg/kg의 용량의 화합물 1b가 필요하였다. 화합물 1b는 아르기닌 잔기를 양으로 하전되지 않은 시트룰린 잔기로 대체한 덕분에 유의하게 향상된 내약성을 갖는다. 이러한 내약성은 유해 반응 없이 더 높은 용량의 투여를 가능하게 한다. 아르기닌 잔기의 도입이 또한 mdx 마우스에서 RT-PCR에 의해 결정된 바와 같이 생체내 효능을 보유하거나 향상시켰다. 40 mg/kg의 EEV-MDX-PMO-2(PMO 농도를 기준으로 함)에 의한 처리는 복횡근, 심장, 횡격막, 전경골근, 및 사두근을 포함한, 평가된 모든 조직에서 30 mg/kg의 EEV-MDX-PMO-1과 대비하여 엑손 23 스킵핑을 유의하게 향상시켰으며, 이는 도 10a 내지 도 10e에 나타난 바와 같다. mdx 마우스에서의 엑손 스킵핑 효율은 웨스턴 블롯에 의해 결정된 바와 같이 그리고 도 11에 나타난 바와 같이, 복횡근, 심장, 횡격막, 전경골근, 및 사두근에 걸쳐 강력한 디스트로핀 생성물로 추가로 변환되었다. 이들 조사결과는, 아르기닌의 특유의 수소 결합 능력을 보유하지만 양전하를 갖지 않는 대체 잔기로의 아르기닌 대체가 cCPP가 세포-투과성이 될 수 있게 하고 운반물 양식을 생체내에서 사이토졸 및 핵에 성공적으로 전달할 수 있음을 입증한다.

[1014] **실시예 5: 글리신을 함유하는 cCPP의 생체내 효능.**

[1015] 상기에서와 같이, 효능 연구는 C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J(MDX) 마우스를 사용하였는데, 이 마우스는 X 염색체 상의 디스트로핀 유전자(*Dmd*)의 엑손 23 내의 위치 2983에서 종결 코돈을 생성하게 되는 C에서 T로의 돌연변이를 함유한다. 이 돌연변이체 대립유전자를 발현하는 마우스는 최소한의 디스트로핀 mRNA 산물 및 디스트로핀 단백질을 생성하며, 이에 따라 듀센 근이영양증("DMD")의 모델이다.

[1016] **연구 설계.** mdx 마우스에서의 효능 연구를 위해, cCPP 및 cCPP-AC 접합체를 제조하고, 실시예 2에 기재된 바와 같이 특성화하였으며, 이때 구조는 도 2 및 도 12에 나타나 있다. AC는 서열 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3'을 가졌다. 화합물 4b는 서열 Ac-PKKKRKV-Lys(FfΦ-G-r-G-rQ)-PEG₁₂-K(N₃)-NH₂를 가졌다. 생성된 접합체는 EEV-MDX-PMO-3이었다.

[1017] 멸균 식염수, pH 7.2 중에 접합체를 제형화하고, 동물의 체중을 기준으로 40 mg/kg의 용량으로 IV 주사를 통해 mdx 마우스에 투여하였다. 주사 후 3일 시점에서, 동물을 희생시키고, 지시된 조직을 수집하고, 액체 질소 중에서 급속-냉동시키고, 추후의 가공을 위해 -80°C에서 저장하였다.

[1018] **RT-PCR에 의한 스플라이싱 교정의 검출.** PMO의 전달은 스플라이싱을 변경시키고, 그 결과, 엑손 23 스킵핑 후에 절단된 디스트로핀 mRNA를 생성할 수 있다. 스플라이싱 교정 과정의 검출을 RT-PCR에 의해 측정하는데, 여기서는 조직으로부터 추출된 RNA를 먼저 cDNA에 역전사하고, 다음 2개의 프라이머 세트를 사용하여 중첩 PCR에 의해 추가로 분석한다: 제1 라운드 PCR에 대해서는 정방향 프라이머 5'-CAGAATTCTGCCAATTGCTGAG-3' 및 역방향 프라이머 5'-TTCTTCAGCTGTGTCATCC-3'(외부 프라이머 세트), 그리고 제2 라운드 PCR에 대해서는 정방향 프라이머 5'-CCCAGTCTACCACCTATCAGAGC-3' 및 역방향 프라이머 5'-CTGCCTTAAGGCTTCCTT-3'(내부 프라이머 세트). 스플라이싱 교정의 부재 하에서의 조직의 RT-PCR 판독은 901 bp 유전자 단편의 생성을 나타내고, 스플라이싱 교정 후에 새로운 689 bp 유전자 단편이 나타난다. RT-PCR에 의해 검출된 스플라이싱 교정의 정도(백분율)를 하기 식을 사용하여 계산하였다: % 교정 = (689 bp 단편 밴드의 강도) / (901 bp 단편 밴드의 강도 + 689 bp 단편 밴드의 강도).

[1019] **웨스턴 블롯에 의한 디스트로핀 발현의 검출.** 용해 완충액(HALT 프로테아제 억제제와 함께, 9% SDS, 4% 글리세롤, 5 mM Tris, 및 5% 베타-메르캅토에탄올)을 마우스 심장, 복횡근, 사두근, 또는 횡격막 중 어느 하나로부터의 민성된 마우스 조직에 첨가하였다. 급속 비드를 Qiagen Tissuelyser와 함께 사용하여 조직을 기계적으로 균

질화하였다. 용해물을 원심분리에 의해 청정화하고, 상층액을 3 내지 8% Tris 아세테이트 겔을 사용하는 SDS-PAGE에 적용한 후 니트로셀룰로스 막에 전달하고 웨스턴 블롯팅을 수행한 후, LICOR 시스템을 사용하여 형광 이미징을 수행하거나, 66 내지 440 kDa 모세관 매트릭스를 사용하여 Jess Simple Western 시스템에 적용하였다. 디스트로핀은 Abcam으로부터의 항-디스트로핀 항체(Ab52777 또는 Ab154168)를 사용하여 검출하고, HSP90은 Cell Signaling Technology로부터의 HSP90 항체(4877)를 사용하여 검출하였다. 전통적인 웨스턴 블롯 밴드를 LICOR 소프트웨어를 사용하여 정량화하였다. Jess Simple Western 피크를 적합화하고, Simple Western 소프트웨어를 사용하여 피크 아래 면적을 계산하였다. 각 실행마다 각각의 조직으로부터의 상이한 양의 mdx 마우스 용해물로 희석된 야생형 마우스 용해물을 사용하는 표준 곡선을 포함하였다. 각 샘플에서 검출된 디스트로핀을 로딩 대조군으로서의 HSP90에 대해 정규화하였다.

[1020] **결과.** 글리신으로의 아르기닌 잔기의 대체는 mdx 마우스에서 RT-PCR에 의해 결정된 바와 같이 생체내 효능을 보유하거나 향상시켰다. 40 mpk의 EEV-MDX-PMO-2 및 40 mpk의 EEV-MDX-PMO-3의 정맥내 주사 후 3일 시점에서의 mdx 마우스에서의 엑손 23 스킵핑에 대한 PCR 아가로스 겔 이미지가 도 13에 나타나 있다. 40 mg/kg의 EEV-MDX-PMO-3(PMO 농도를 기준으로 함)에 의한 처리는 사두근, 횡격막, 및 심장을 포함한, 평가된 모든 조직에서 40 mg/kg의 EEV-MDX-PMO-2와 대비하여 엑손 23 스킵핑에 의해 측정된 바와 같이 유사한 효능 수준을 가져왔으며, 이는 도 14a 내지 도 14c에 나타낸 바와 같다. mdx 마우스에서의 엑손 스킵핑 효율은 웨스턴 블롯에 의해 결정된 바와 같이 그리고 도 15a 내지 도 15d에 나타낸 바와 같이, 이들 조직에 걸쳐 강력한 디스트로핀 생성물로 추가로 변환되었다. 이들 조사 결과는 글리신 잔기로의 아르기닌 대체가, 내약성을 향상시키면서, cCPP가 세포-투과성이 될 수 있게 하고 운반물 양식을 생체내에서 사이토졸 및 핵에 성공적으로 전달할 수 있음을 입증한다.

[1021] **실시예 6: hDMD 및 CD1 마우스 모델에서 그리고 비인간 영장류(NHP)에서 DMD의 엑손 44의 스플라이싱 교정을 위한 올리고뉴클레오티드에 접합된 세포-침투 펩티드의 사용**

[1022] **목적:** 이 연구는 hDMD 및 CD1 마우스 모델 및 NHP 모델을 사용하여, 안티센스 화합물 및 세포 침투 펩티드를 포함하는 화합물의 효과를 연구한다. 각각의 화합물은 고리의 서열 PKKKRKY를 함유하였다.

[1023] **평가된 화합물:** 이 연구에서 평가된 화합물이 표 14에 나타나 있다.

[1024] [표 14]

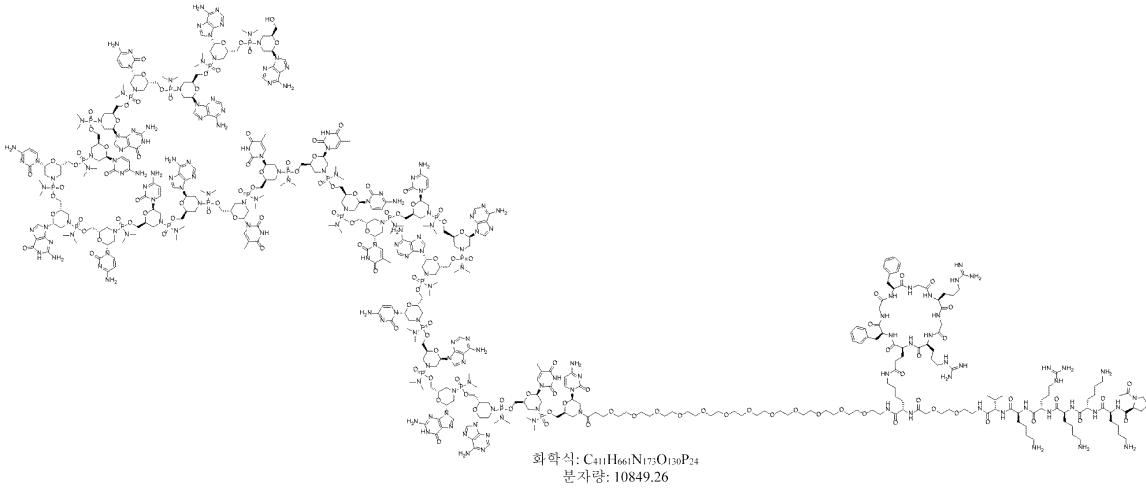
이 연구에서 평가된 화합물

화합물	펩티드 서열	AC의 핵산 서열 (5'-3')	화합물질
EEV-PMO-DMD44-1	Ac-PKKKRKY-AEEA-Lys-(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG ₁₂ -OH	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'	PMO
EEV-PMO-DMD44-2	Ac-PKKKRKY-AEEA-Lys(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG ₁₂ -OH	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'	PMO
EEV-PMO-DMD44-3	Ac-PKKKRKY-AEEA-Lys(사이클로[FfFGrGrQ])-PEG ₁₂ -OH	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'	PMO

[1025]

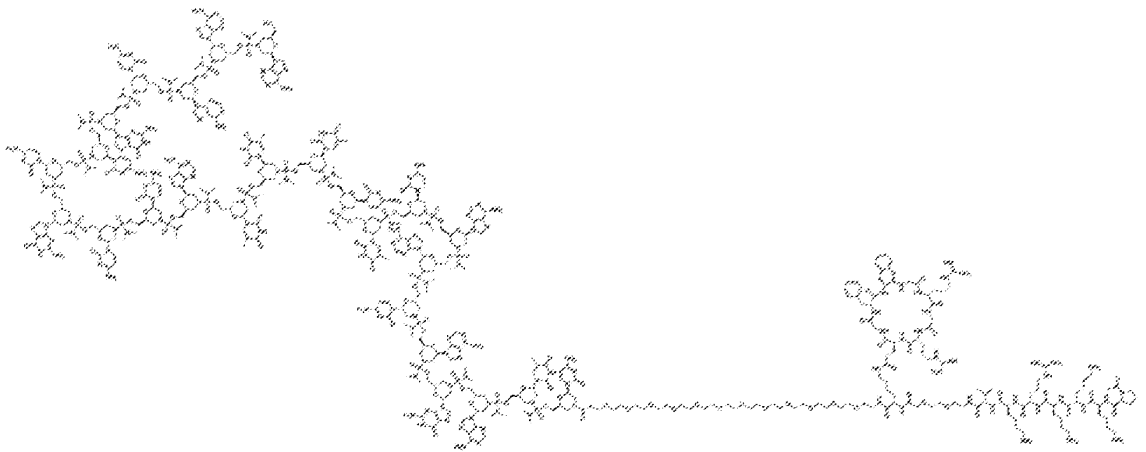
[1026] EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2, 및 EEV-PMO-DMD44-3의 구조가 하기에 제공된다. EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2, 및 EEV-PMO-DMD44-3은 도 18a(EEV-PMO-DMD44-1), 도 18b(EEV-PMO-DMD44-2), 및 도 18c(EEV-PMO-DMD44-3)의 반응도식에 따라 합성된다.

[1027] EEV-PMO-DMD44-1



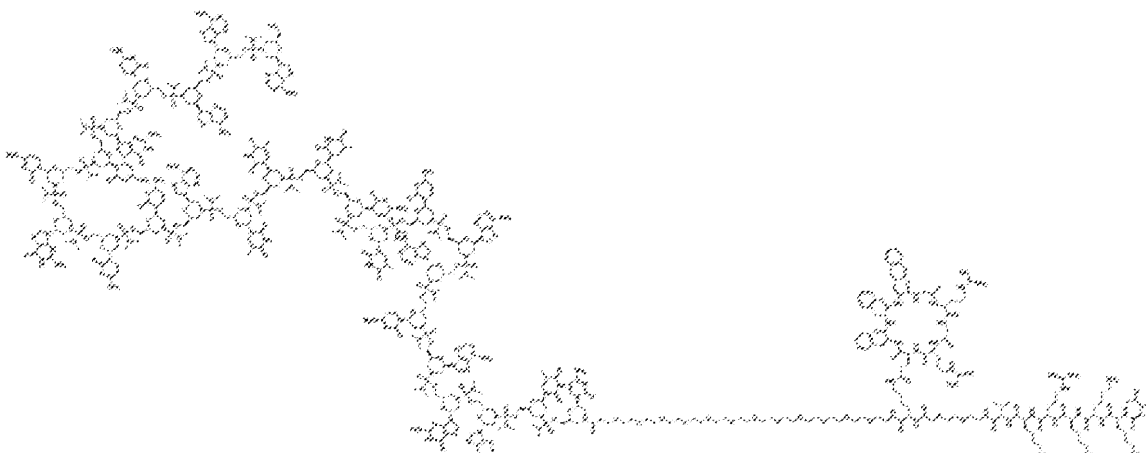
[1028]

[1029] EEV-PMO-DMD44-2



[1030]

[1031] EEV-PMO-DMD44-3



[1032]

[1033] **화합물 합성 및 정제:** 이들 화합물을 하기 절차에 따라 화합물을 합성하였다. TFA-라이신 보호된 cCPP를 표 14의 AC와 반응시키고, 후속으로 탈보호하여 cCPP-AC 접합체를 제공하였다. 간략하게 말하면, cCPP를 DMSO(10 mM, 1.8 mL) 중 HATU(2.0 당량) 및 DIPEA(2.0 당량)와 반응시킴으로써 사전활성화하였다. 실온에서 10분 후에, 사전활성화된 용액을 DMSO(10 mM, 1.8 mL) 중 AC의 용액과 배합하고, 완전히 혼합하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 반응물을 BEH C18 컬럼(130Å, 1.7 μm, 2.1 mm × 50 mm), 완충액 A: 물 (0.1% FA), 완충액 B: 아세트니트릴(0.1% FA), 유량: 0.4 mL/분을 사용하여 LCMS(Q-TOF)에 의해 모니터링하였으며, 이때 2% 완충액 B로 출발하여 3.4분에 걸쳐 최대 98%까지 램핑하였다. 완료 시에, 0.2 M KCl(aq), pH

12(36 mL)로 반응 혼합물을 희석시킴으로써, TFA-보호된 라이신의 시험관내 탈보호를 개시하였다. 상기에 언급된 분석 방법을 사용하여, LCMS(Q-TOF)에 의해 반응을 모니터링하였다. 조 혼합물을 C18 역상 컬럼(Oligo Clarity 컬럼, 150 mm * 21.2 mm) 상에 직접 로딩하였다. 이어서, 용매로서 0.1% FA를 함유하는 물 및 아세트 니트릴을 사용하고 20 mL/분의 유량을 사용하여 60분에 걸쳐 5%부터 20%까지의 구배를 사용하여 조 생성물을 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 풀링하고, 0.5 M NaOH를 사용하여 용액의 pH를 7로 조정하였다. 용액을 냉동 및 동결건조시켜, 백색 분말을 얻었다. 포르메이트 염을 물 중 1M NaCl에서의 cCPP-AC 접합체의 재구성에 의해 클로라이드로 교환하고, 3-kD MW-컷오프 Amicon 튜브를 통해 세척을 반복하였다(3500 rpm으로 20 내지 40분 동안 원심분리함). 이 공정을 1 M NaCl로 3회 그리고 식염수(0.9% NaCl, 멸균, 내독소-무함유)로 3회 수행하였다. 최종 여과액의 전도도를 평가하여 적절한 염 농도를 확인하였다. 용액을 원하는 제형 농도로 식염수를 사용하여 추가로 희석시키고, 생물안전 캐비닛 내에서 멸균 여과하였다. 각각의 제형의 농도를 여과 후에 재측정하였다.

[1034] EEV-PMO-DMD44-1을 74% 수율로 얻었다. 각각의 제형의 순도 및 정체를 액체 크로마토그래피-질량분석법 사중극자 비행 시간 질량 분석법(QTOF-LCMS)에 의해 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-1은 RP-FA에 의해서는 99% 순도, 그리고 CEX에 의해서는 78% 순도인 것으로 결정되었다. $C_{411}H_{661}N_{173}O_{130}P_{24}$ 에 대한 *MW* 계산치, 10849.26. QTOF-LCMS에 의해 확인된 *MW*는 10850.95였다. 제형을 그들의 내독소량, 잔류 유리 펩티드, FA 함량 및 pH에 대해 추가로 검정하였다.

[1035] EEV-PMO-DMD44-2를 70% 수율로 얻었다. 각각의 제형의 순도 및 정체를 QTOF-LCMS에 의해 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-2는 RP-FA에 의해서는 99% 순도, 그리고 CEX에 의해서는 78% 순도였다. $C_{411}H_{661}N_{173}O_{130}P_{24}$ 에 대한 *MW* 계산치는 10849.26이었다. QTOF-LCMS에 의해 확인된 *MW*는 10850.88이었다.

[1036] EEV-PMO-DMD44-3을 68% 수율로 얻었다. 각각의 제형의 순도 및 정체를 QTOF-LCMS에 의해 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-3은 RP-FA에 의해 86.3% 순도였다(불순물은 미반응 AC임). $C_{422}H_{669}N_{173}O_{130}P_{24}$ 에 대한 *MW* 계산치는 10989.45였다. QTOF-LCMS에 의해 확인된 *MW*는 10990.07이었다.

[1037] 방법:

[1038] *hDMD* 마우스 모델: hDMD 마우스를 Jackson Lab으로부터 주문받고(STOCK Tg(DMD)72Thoen/J; 스톡 번호: 018900), 사내에서 사육하였다. 이들 반접합성 마우스를 Transnetyx에서 추가로 유전자형화하였다. 모든 군에 정맥내(iv) 주사에 의해 동물당 5 mL/kg을 투여하고, 주사 후 5일 후에 희생시켰다. 모든 동물을 CO₂ 질식에 의해 안락사시킨 후, 심장 천자를 통해 말단 혈액 수집을 수행하였다. 전혈의 최대 획득가능 부피를 리튬 헤파린 튜브 내로 수집하고, 혈장에 대해 처리하였다. 혈장의 일부분을 Testing Facility(IDEXX)에 의해 임상화학 검사를 위해 분석하고, 나머지 부분을 공칭 -70°C에서 냉동된 상태로 저장하였다. 조직(삼두근, TA, 횡격막, 심장, 신장, 간, 뇌)을 수집하고, 액체 질소 중에 급속 냉동시키고, 엑손 스킵핑 및 약물 농도 측정의 추가 평가를 위해 -80°C에서 저장하였다. 동물들을 주령 매칭하고(age matched), 표 15에 따라 8개의 치료군에 할당하였다. 군 1-1(3 마리의 호모 hDMD 마우스, 6주령), 군 1-2(3 마리의 호모 hDMD 마우스, 6주령), 군 1-3(1 마리의 수컷, 1 마리의 암컷, 헤미 hDMD, 11주령), 군 1-4(1 마리의 수컷, 1 마리의 암컷, 헤미 DMD, 11주령)은 각각 10, 20, 40 및 80 mg/kg 체중(mpk)의 EEV-PMO-DMD44-1을 제공받았다. 군 2-1(3 마리의 호모 hDMD 마우스, 6주령), 군 2-2(3 마리의 호모 hDMD 마우스, 6주령), 군 2-3(1 마리의 수컷, 1 마리의 암컷, 헤미 hDMD, 11주령), 군 2-4(1 마리의 수컷, 1 마리의 암컷, 헤미 DMD, 11주령)은 각각 10, 20, 40 및 80 mpk의 EEV-PMO-DMD44-2를 제공받았다. 모든 동물은 이들의 예정된 안락사 시간까지 생존하였다. 프로토콜에 따라 조직을 수집하였다. 다양한 조직 샘플에서의 AC 및 cCPP-AC의 양을 LC-MS에 의해 정량화하였다. 상이한 조직에서의 엑손 스킵핑을 RT-PCR에 의해 분석하고, 엑손 44 교정의 정량화를 수행하였다.

[1039] [표 15]

hDMD 실험의 실험 설계

군	동물 마리수	시험 대상물	용량 수준 mg/kg	용량 부피 (5 mL/kg)	투여 계획 (dosing regimen)	종결 시점
1-1	3	EEV-PMO-DMD44-1	10	5	IV	주사 후 5일 시점
1-2	3	EEV-PMO-DMD44-1	20			
1-3	3	EEV-PMO-DMD44-1	40			
1-4	3	EEV-PMO-DMD44-1	80			
2-1	2	EEV-PMO-DMD44-2	10			
2-2	2	EEV-PMO-DMD44-2	20			
2-3	2	EEV-PMO-DMD44-2	40			
2-4	2	EEV-PMO-DMD44-2	80			

[1040]

[1041]

CD1 마우스 모델: EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2의 내약성을 7주령 시점에서 CD1 수컷 마우스를 사용하여 평가하였다. 이들을 Charles River Lab으로부터 주문받았으며, 제공받은 후, 이들을 주사 전 5일 동안 순응시켰다. 동물들을 주령 매칭하고, 표 16에 따라 9개의 치료군에 할당하였다. 군 1(3 마리의 마우스, 식염수); 군 2-1(3 마리의 마우스), 군 2-2(2 마리의 마우스), 군 2-3(2 마리의 마우스), 군 2-4(2 마리의 마우스), 군 2-5(3 마리의 마우스), 군 2-6(3 마리의 마우스)은 각각 80, 100, 120, 160, 200 및 300 mpk의 EEV-PMO-DMD44-1을 제공받았다. 군 3-1(3 마리의 마우스), 군 3-2(2 마리의 마우스), 군 3-3(2 마리의 마우스), 군 3-4(2 마리의 마우스), 군 3-5(3 마리의 마우스), 군 3-6(3 마리의 마우스)은 각각 80, 100, 120, 160, 200 및 300 mpk의 EEV-PMO-DMD44-2를 제공받았다.

[1042]

[표 16]

CD1 마우스에서의 내약성 연구의 실험 설계

군	동물 마리수	시험 대상물	용량 수준 mg/kg	용량 부피 (5 mL/kg)	투여 계획	종결 시점
1	3	식염수	-	5	IV	주사 후 7일 시점
2-1	3	EEV-PMO-DMD44-1	80			
2-2	2	EEV-PMO-DMD44-1	100			
2-3	2	EEV-PMO-DMD44-1	120			
2-4	2	EEV-PMO-DMD44-1	160			
2-5	3	EEV-PMO-DMD44-1	200			
2-6	3	EEV-PMO-DMD44-1	300			
3-1	2	EEV-PMO-DMD44-2	80			
3-2	2	EEV-PMO-DMD44-2	100			
3-3	2	EEV-PMO-DMD44-2	120			
3-4	2	EEV-PMO-DMD44-2	160			
3-5	3	EEV-PMO-DMD44-2	200			
3-6	3	EEV-PMO-DMD44-2	300			

[1043]

[1044]

NHP 모델: 화합물(EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2)당 1 마리의 암컷 동물에 표 17에 따라 10 mL/kg의 투여 부피로 60분 IV 주입을 투여하였다. 각각의 시험 대상물을 4 mg/mL로 식염수 중에 제형화하였다. 추가 PK 분석을 위해 표 18에 지시된 시점에서 혈액 및 소변을 채취하였다. 주사 후 2일 시점에서 이두근에 대해 생검을 수행하였다. 주사 후 일수 7 시점에서 동물을 희생시키고, 골격근(사두근, 횡격막, 이두근, 삼각근, 전경골근(TiA), 평활근(식도, 대동맥, 결장) 및 심장근(심실, 심방)을 채취하고, 분쇄하고, 엑손 스킵핑 및 조직에서의 생체내분포의 평가를 위해 -80°C에서 저장하였다.

[1045]

[표 17]

NHP 연구의 실험 설계

군	동물의 성별	시험 대상물	용량 수준 mg/kg	용량 부피 (5 mL/kg)	투여 계획	종결 시점
1	암컷	EEV-PMO-DMD44-1	40	10	IV 주입	주사 후 7일 시점
2	암컷	EEV-PMO-DMD44-1	40			

[1046]

[1047] [표 18]

NHP 연구 시점

군	기질	검출 인자	혈액 부피	샘플 부피	투여 후 샘플링 시점
1-2	혈청	사이토카인 패널 IL-2/4/5/6/10/13/TNF α /IFN- γ	0.5 mL	2 × 100 μ L	투여 전(0 h), 1.5 h(전체 주입 후 30분 시점), 24 h 및 일수 7
	혈액	혈액학적 검사	0.5 mL	0.5 mL	투여 전(0 h), 주입 동안 5분 시점(0.083 h), 24 h 및 일수 7
	혈청	마그네슘을 포함한 임상화학 검사	1 mL	400 μ L	투여 전(0 h), 주입 동안 5분 시점(0.083 h), 24 h 및 일수 7
	혈액	응고	1.8 mL	1.8 mL	투여 전(0 h), 주입 동안 5분 시점(0.083 h), 24 h 및 일수 7
	소변	크레아티닌을 포함한 소변검사		4 mL	투여 전(0 h), 및 25 내지 29 h 및 일수 7
	소변 및 대변*	스폰서에게 보낼 추가의 수집		4 mL	투여 전(0), 0 내지 6 h, 6 내지 12 h, 12 내지 24 h, 24 내지 48 h
	근육*	상완이두근에서 생검 부위당 2개의 코어		2 × (30 내지 50) mg	일수 2
	혈장*	스폰서에게 보낼 PK 분석 샘플	0.5 mL	2 × 100 μ L	투여 전(0 h), 주입 동안 30분 시점(0.5 h), 주입 동안 55분 시점(0.92 h), 65분(1.083 h), 1.5 h, 3 h, 9 h, 25 h, 39 h, 97 h, 및 169 h(일수 7)
	1. 주입 시작점으로부터의 타이머. 2. 혈액학적 검사, 임상화학 검사, 응고 및 소변검사의 투여 전 시점은 투여 전 1주 시점에서 수행된다.				

[1048]

[1049]

생물분석적 샘플 분석: 조직을 해동시키고, 칭량하고, 1x 프로테아제 억제제 콕테일(ThermoFisher Scientific, Ref# 1860932)이 스파이킹된 RIPA 완충액을 사용하여 균질화하였다(w/v, 1/5). 균질액을 4°C에서 5분 동안 5000 rpm으로 원심분리하였다. 상층액을 H₂O, 아세트오니트릴 및 MeOH의 혼합물을 사용하여 침전시키고, 4°C에서 15분 동안 15000 rpm으로 원심분리하였다. Triple Quad Sciex 4500 기기와 통합된 Shimadzu UPLC를 사용하여 LC-MS/MS 분석을 위해 상층액을 주입 플레이트에 옮겼다. LC-MS/MS 검정의 동적 범위는 25 내지 50,000 ng/g의 조직이었다. LC-MS/MS 방법의 세부사항은 여기에 그리고 표 19에 개략적으로 설명되어 있다. 간략하게 말하면, UPLC를 Waters Acquity UPLC BEH C4, 300A, 1.7 μ m, 2.1 × 150 mm, 완충액 A: H₂O(0.2% FA), 완충액 B: H₂O(0.2% FA) 중 95% 아세트오니트릴, 유량(0.3 mL/분) 및 50°C의 컬럼 온도를 사용하여 작동시켰다. 10분 전 개가 2% 완충액 B로 시작하여 3.5분 동안 35%까지, 이어서 1분 동안 90%까지 램핑하고, 2.5분 동안 90% 구배로 유지하고, 최종적으로 2분 동안 2% 구배로 전개하였다. 하기를 사용하여 표 19에 따라 7.5분의 지속시간 동안 MRM 방법을 확립하였다: 양성 극성; 터보 스프레이(Turbo Spray) 이온 공급원; 커튼 가스: 25; 충돌 가스: 6; 이온 스프레이 전압: 5500; 온도: 500; 이온 공급원 가스 1: 60; 이온 공급원 가스 2: 60. 표 21의 밀출된 행은 온전한 그리고 상응하는 대사물(AC-PEG12)의 정량화에 사용된다.

[1050]

[표 19]

LC-MS/MS 검정

분석물	Q1 질량 (Da)	전하 상태 (m/z)	Q3 질량 (Da)	시간 (msec)	DP (볼트)	EP (볼트)	CE (볼트)	CXP (볼트)
EEV-PMO-DMD44-1 / EEV-PMO-DMD44-2	835.6	13	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
EEV-PMO-DMD44-1 / EEV-PMO-DMD44-2	776.0	14	112.0	300.0	80.0	8.0	80.0	10.0
EEV-PMO-DMD44-1 / EEV-PMO-DMD44-2	724.3	15	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
AC-PEG12	879.0	10	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
AC-PEG12	799.2	11	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
AC-PEG12	732.7	12	112.0	300.0	80.0	8.0	80.0	10.0
IS	863.8	12	112.0	100.0	80.0	8.0	80.0	10.0

[1051]

[1052]

RT-PCR에 의한 엑손 스킵핑 분석: hDMD 마우스 및 NHP는 전장 인간 디스트로핀 mRNA를 발현한다. AC의 전달은 스플라이싱을 변경시키고, 그 결과, 엑손 44 스킵핑 후에 짧아진 디스트로핀 mRNA를 생성할 수 있다. 1 mL의 RLT 용해 완충액(Qiagen, Cat# 79216)을 사용하여 조직을 균질화하였다. 스플라이싱 교정 과정의 검출을 RT-PCR에 의해 측정하였는데, 여기서는 조직으로부터 추출된 RNA를 먼저 cDNA에 역전사하고, 다음 프라이머 세트를

사용하여 1-단계 RT-PCR에 의해 추가로 분석하였다:

- [1053] 정방향 프라이머 5'-GCTCAGGTCGGATTGACATT-3' 및 역방향 프라이머 5'-GGGCAACTCTCCACCAGTA-3'. 스플라이싱 교정의 부재 하에서의 조직의 RT-PCR 관독은 641 bp 유전자 단편의 생성을 나타내었으며, 스플라이싱 교정 후에 새로운 493 bp 유전자 단편이 나타났다. 스킵핑된 전사체 및 비-스킵핑된 전사체에 상응하는 밴드들의 상대 강도의 정량화를 수행하여 AC-유도 엑손-44-스킵핑 효능을 평가하였다. RT-PCR에 의해 검출된 스플라이싱 교정의 정도(백분율)를 하기 식을 사용하여 계산하였다: % 교정 = (493 bp 단편 밴드의 강도) / (493 bp 단편 밴드의 강도 + 641 bp 단편 밴드의 강도).
- [1054] **결과:** 환자 근관세포에서의 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2, 및 EEV-PMO-DMD44-3의 효능: 각각 인간 디스트로핀(DMD) 엑손 44를 표적화하는 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2, 및 EEV-PMO-DMD44-3을 DMD 환자-유래 근육 세포에서 DMD 엑손 44 스킵핑에 대해 평가하였다. 간략하게 말하면, 엑손 45 결실(DMD Δ 45)을 갖는 환자-유래 근아세포를 2% 말 혈청 및 1% 닭 배아 추출물이 보충된 PromoCell 골격근 세포 성장 배지 중에서 24시간 동안 1 μ M, 3 μ M, 및 10 μ M의 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2, 및 EEV-PMO-DMD44-3으로 처리하였다. 24시간 후에, 화합물-함유 성장 배지를 DMEM/2% 말 혈청으로 대체하고, 5일 동안 인큐베이션하여 근아세포 융합 및 근관세포로의 분화를 촉진시켰다. 세포를 세척하고 RNA 추출을 위해 수집하여 엑손 44 스킵핑을 평가하거나, 또는 단백질을 추출 및 디스트로핀 단백질 회복의 Simple Western 분석을 위해 프로테아제 억제제를 함유하는 RIPA 완충액 중에 넣어두었다. 결과가 도 19에 나타나 있다. 디스트로핀 수준을 HSP90에 대해 정규화하고, 비처리된 건강한 샘플과 대비하여 표현하였다. 데이터는 평균 \pm SD, n = 3 또는 4로 표현된다. 비처리된 DMD Δ 45 환자-유래 세포는 기저선에서 약 10% 자발적 DMD 엑손 44 스킵핑 및 약 4% 디스트로핀 단백질을 발현한다. 3개의 모든 화합물은 용량-의존적 방식으로 강력한 엑손 스킵핑 및 디스트로핀 단백질 회복을 가져왔다.
- [1055] **도 20a 및 도 20b**는 IV 주사를 통해 EEV-PMO-DMD44-1(**도 201a**) 및 EEV-PMO-DMD44-2(**도 20b**)가 투여된 hDMD 마우스에서의 엑손 스킵핑을 나타낸다. 심각한 부작용은 관찰되지 않았다. 마우스는 주사 후 시점, 주사 후 24시간 시점, 및 희생 날짜 전에 모두 정상이었다. 간 및 신장 독성(알칼리성 포스파타제(ALP), 아스파르테이트 트랜스아미나제(AST), 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT), 알부민, 혈액 우레아 질소(BUN), 크레아티닌, 칼슘, 인, 클로라이드, 칼륨, 나트륨, BUN/크레아티닌, 마그네슘)뿐만 아니라, 용혈 및 지방혈증 지수를 측정하는 임상화학 검사는 IV 주사 후 5일 시점에서 평가된다. EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2 처리된 마우스에서는 임상화학 평가에 의해 유의한 독성이 검출되지 않았다. 다양한 근육군에서의 조직 농도 및 엑손 스킵핑은 10, 20, 40, 및 80 mpk의 IV 투여 후 5일 시점에서 평가되었다. 심장/삼두근/TiA/횡격막 조직에서 EEV-PMO-DMD44-1의 각 용량에 대해 각각 다음 엑손 스킵핑이 달성되었다: 10 mpk(0%, 6%, 12%, 6%); 20 mpk(0%, 22, 36%, 33%); 40 mpk(20%, 94%, 99%, 82%); 80 mpk(79%, 97%, 99%, 98%). 심장/삼두근/TiA/횡격막 조직에서 EEV-PMO-DMD44-2의 각 용량에 대해 각각 다음 엑손 스킵핑이 달성되었다: 10 mpk(0%, 17%, 22%, 14%); 20 mpk(2%, 44, 58%, 35%); 40 mpk(17%, 92%, 95%, 83%); 80 mpk(79%, 98%, 99%, 99%). 전체-크기 인간 DMD 유전자를 보유하는 유전자도입 무린 모델에서 심장근 및 골격근에서 EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2 둘 모두에 대해 강한 용량-의존적 축적 및 강력한 엑손 스킵핑이 관찰되었다. 더 낮은 용량, 즉, 10 및 20 mpk에서는 EEV-PMO-DMD44-2의 약물 노출 및 효능이 EEV-PMO-DMD44-1보다 약간 더 높았다. 그러나, 이 효과는 40 mpk 용량에서 감소하기 시작하였으며, 여기서 두 화합물 모두는 모든 골격근에서 동일하게 높은 수준의 엑손 스킵핑(80% 초과)을 가져왔다. EEV-PMO-DMD44-1에 대한 상응하는 조직 농도는 100 내지 300 ng/g의 조직 범위인 반면, EEV-PMO-DMD44-2의 경우, 이 범위는 약간 더 높은 수치, 즉, 300 내지 500 ng/g의 조직 농도로 이동하였다. 흥미롭게도, 심장에서의 EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2의 최소 효능 용량은 40 mpk를 사용하여 달성되었는데, 이는 각각 170 및 350 ng/g의 조직 농도에 상응한다.
- [1056] **도 20a 및 도 20b**는 IV 주사를 통해 EEV-PMO-DMD44-1(**도 20a**) 및 EEV-PMO-DMD44-2(**도 20b**)로 처리된 hDMD 마우스의 심장, 삼두근, 전경골근 및 횡격막 조직에서의 엑손 스킵핑 및 약물 농도를 나타낸다.
- [1057] EEV-PMO-DMD44-1은 80, 100, 160, 200 및 300 mpk 용량으로 CD1 마우스에 투여된 모든 용량에서 매우 우수한 내약성을 나타내었다. 다만 일과성 증상들이 관찰되었는데, 이들은 주사 후 1시간 시점에서 완전히 소산되었다. 주사 후 1일 및 7일 시점에서 바이오마커 비정상이 관찰되지 않았다. EEV-PMO-DMD44-2는 더 적은 내약성을 나타내었다. EEV-PMO-DMD44-2의 최고 용량, 즉, 300 mpk에서, 3 마리의 마우스 중 1 마리는 주사 후 1 내지 3시간 이내에 사망하였다. EEV-PMO-DMD44-2의 더 낮은 용량, 즉, 200 mpk에서, 3 마리의 마우스 중 1 마리는 심각한 증상을 가졌다(자극에 대해 반응하지 않고, 귀는 뒤로 접혀지고, 호흡이 느리고, 자세를 바로 잡으려고 발버둥침). 이들 증상은 점진적으로 악화되었으며, 이들은 근육 경련과 조합된다. 160 및 80 mpk의 더 낮은 용량에 대해서는 증상이 관찰되지 않았다. 놀랍게도, 100 mpk에서는, 3 마리의 마우스 중 1 마리가 주사

후 2시간 시점에서 지연된 증상을 나타내었지만; 이들은 주사 후 1일 및 7일 시점에서 완전히 정상으로 되었다.

- [1058] cCPP-AC 접합체의 엑손 스킵핑의 효능을 추가로 입증하기 위해, NHP를 이용하였다. 구체적으로는, 온전한 근육 조직을 갖는 사이노몰거스 원숭이에게 40 mg/kg의 EEV-PMO-DMD44-1 또는 EEV-PMO-DMD44-2의 60분 IV 주입을 투여하였으며, 이들은 우수한 내약성을 나타내었다. 더 구체적으로는, 동물은 치료 45분 시점에서 구역 시작을 겪었으며, 이것은 치료 후 대략 3시간 시점에서 유의하게 소산되었고, 동물은 더 각성 상태이고, 덜 굶었으며, 제공된 먹이를 먹었다. 투여 후 대략 20시간 시점에서, 동물은 (밝고, 각성 상태이고, 반응하였으며(bright, alert, and responsive)), 이로써 동물을 표현형으로 "정상"이 되게 함)(BAR), 케이지 안에 비스킷이 남아 있지 않았으며, 먹이를 먹은 것으로 관찰되었다.
- [1059] 주사 후 2일 및 7일 시점에서 임상화학 검사 패널에서 어떠한 비정상도 관찰되지 않았다. 표준 프로토콜에 따라 상이한 조직에서의 엑손 44 스킵핑 백분율을 분석하였다. 도 21a 및 도 21b는 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 엑손 스킵핑(도 21a) 및 약물 노출(도 21b)을 나타낸다. 도 21c 및 도 21d는 EEV-PMO-DMD44-2에 대한 엑손 스킵핑(도 21c) 및 약물 노출(도 21d)을 나타낸다. 두 화합물은 모두 주사 후 7일 시점에서 IV에 의한 40 mpk에 대해 상이한 근육군에 걸쳐 탁월한 엑손 스킵핑 수준을 입증하였다. EEV-PMO-DMD44-1은 TiA, 횡격막에서는 효능 표준점을 증가하였으며, 심실 및 심방에서는 이보다 덜 우세하였다. 모든 골격근에서는, 78% 초과 엑손 스킵핑이 달성되었으며, 이때 횡격막에서 98.4%로 최대 달성되었다. 심장 조직에서는, 40 mpk의 EEV-PMO-DMD44-1이 심실 및 심방에서 각각 31.9% 및 23.4%를 가져왔다. 평활근에서는, 식도가 57.1%의 가장 높은 효능을 나타내었다. EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2 둘 모두는 다양한 조직에 대해 약리학적으로 관련된 농도로 분포되었다. 일부 경우에, 이를 테면 심장 조직에서의 심실 및 심방에서, 그리고 더 우세하게는 식도 및 결장에서, 동일한 조직 농도는 동일한 기능적 전달로 변환되지 않았다. 이는 상이한 조직에서의 엔도솜 탈출 수준이 상이할 수 있음을 나타낼 수 있다. 그럼에도 불구하고, 골격근에서는, 약 200 ng/g의 조직 농도가 80% 초과 강력 엑손 스킵핑과 상관관계가 있었던 반면, 심장 조직에서는 800 내지 1000 ng/g의 조직 농도가 심방 및 심실에서 대략 합계 50% 엑손 스킵핑과 상관관계가 있었다. 단지 단일 용량, 40 mpk의 cCPP-AC 접합체에 의한 50% 엑손 스킵핑은 매우 고무적이었는데, 그 이유는, 심장 조직은 전달하기가 더 어려운 조직이고, 신경근 장애, 예컨대 DMD의 치료에 있어서 중요한 것이기 때문이다.
- [1060] EEV-PMO-DMD44-1을 DMD 환자-유래 근육 세포에 첨가하고, 전장 인간 디스트로핀 유전자를 발현하는 hDMD 유전자 도입 마우스에 투여하여, DMD 전사체 교정을 위한 인간 서열-특이적 PMO에 대해 시험하였다. 마우스에서 다양한 근육군에서의 엑손 스킵핑 및 조직 농도를 10, 20, 40 및 80 mg/kg의 IV 투여 후 5일 시점에서 평가하였다. 도 23a는 EEV-PMO-DMD44-1로 처리된 DMD 환자-유래 근육 세포에서의 강력한 용량-의존적 엑손 스킵핑 및 디스트로핀의 회복을 보여준다. 비처리된 환자-유래 세포 및 건강한 세포 둘 모두와 비교하여, EEV-PMO-DMD44-1로 처리된 DMD 환자-유래 근육 세포에서는 용량-의존적 엑손 44 스킵핑 및 디스트로핀 단백질 회복이(각각 최대 100% 및 43.7%로) 관찰되었다. 이어서, EEV-PMO-DMD44-1을 인간화 마우스 모델에서 연구하여 조직에서의 흡수 및 엑손 스킵핑 잠재력을 평가하였다.
- [1061] 도 23b는 10 mg/kg 내지 80 mg/kg 범위의 다양한 수준으로 EEV-PMO-DMD44-1의 상승하는 IV 용량을 투여한 후에, 전장 인간 DMD 유전자의 통합된 카피를 보유하는 유전자도입 마우스에서 심장근 및 골격근에서의 용량-의존적 조직 노출 및 엑손 스킵핑을 보여준다. 투여 후 5일 시점에서 엑손 스킵핑 및 조직 노출을 각각 평가하였다. 변환적으로 관련된(translationally relevant) 용량에 대해 최대 80%까지의 조직 노출 및 최대 100%까지의 엑손 스킵핑의 용량 의존적 수준이 관찰되었다.
- [1062] 도 24a 내지 도 24c는 전장 인간 DMD 유전자를 보유하는 유전자도입 마우스에서 심장(도 24a), 전경골근(도 24b) 및 횡격막(도 24c)에서의 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 조직 농도 및 % 엑손 스킵핑을 나타낸다.
- [1063] 도 25는 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 연장된 순환 반감기가 NHP에서 관찰되었음을 보여준다. EEV-PMO-DMD44-1에 대한 연장된 순환 반감기가 최대 50시간 동안 NHP의 혈장에서 관찰되었다(도 24a). 이러한 약동학적 프로파일은 의도된 조직 노출, 표적 인게이지먼트(engagement) 및 약력학적 효과에 대한 가능성을 시사한다.
- [1064] 도 26은 EEV-PMO-DMD44-1의 단일 30 mg/kg IV 용량이 NHP의 골격근 및 심장 둘 모두에서 엑손 스킵핑의 의미있는 수준을 가져왔음을 보여주는데, 이는 변환적 잠재력(translational potential)의 신뢰성을 제공한다. 30 mg/kg으로 1시간 IV 주입 후 7일 시점에서, EEV-PMO-DMD44-1 처리된 NHP로부터 단리된 상이한 근육군들에 걸쳐 강력한 엑손 44 스킵핑이 관찰되었다.
- [1065] 이들 결과는 변환적 데이터의 강력한 세트를 나타낸다. 엑손 스킵핑은 심장근 및 골격근에서의 유망한 디스트

로핀 생성으로 변환된다. 디스트로핀 생성은 기능적 개선을 가져오기에 충분하다. 디스트로핀 생성은 단회 주사 후 4주에 걸쳐 지속되었다.

[1066] **실시예 7: DM1로부터의 근아세포에서의 CTG 반복부를 표적화하기 위한 올리고뉴클레오티드에 접합된 세포-침투 펩티드의 사용**

[1067] **평가된 화합물:** 이 연구에서 평가된 화합물이 표 21에 나타나 있다.

[1068] [표 21]

이 연구에서 평가된 화합물

화합물	펩티드 서열	AC의 핵산 서열 (5'-3')	화합물질
EEV-PMO-DM1-1	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FfFGRGRQ])-AEEA-K(N ₃)-NH ₂	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG	PMO
EEV-PMO-DM1-2	Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦRrRQ])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG	PMO
EEV-PMO-DM1-3	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG ₁₂ -OH	CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAG	PMO

[1069]

[1070] **세포 배양.** DM1(ASA308DM1s) 및 이환되지 않은 개체(KM1421; AB1190)로부터의 불멸화된 근아세포를 프랑스 법원에 따라 Institut de Myologie(프랑스 소재)로부터 입수하였다. DM1 환자 근아세포는 *DMPK*의 3'UTR 내에 2600개의 CTG 반복부를 갖는다. 근아세포를 골격근 세포 성장 배지(PomoCell), 2% 말 혈청(Gibco), 1%의 닭 배아 추출물(USB), 및 0.5 mg/mL 페니실린/스트렙토마이신(Gibco)의 성장 배지 중에서 배양하였다. 근원성 분화를 위해, 킨플루언트 배양물을 2% 말 혈청이 보충된 DMEM의 분화 배지로 교체하고, 4 동안 배양하였다(DM1).

[1071] **방법.** DM1에 대해서는, 2개의 처리 조건을 평가하였으며, 각각의 조건을 3회 반복하여 실행하였다. 첫 번째 조건에서는, 근아세포를 75 내지 80% 킨플루언트로 플레이팅하고, 표 14의 화합물을 성장 배지 중에 연속 희석시키고, 세포를 각각의 화합물에 개별적으로 24시간 동안 담가두어서, 화합물의 자유-흡수(free-uptake)를 가능하게 하였다. 화합물을 함유하는 배지를 제거하고, 근아세포를 1X DPBS(Gibco)로 세척하고, 4일 동안 분화시킨 후 수집하였다. 동시에 실행되는 두 번째 조건에 대해서는, 근아세포를 3일 동안 분화시킨 후 처리를 수행하였다. 화합물을 분화 배지 중에 연속 희석시키고, 근아세포를 24시간 후에 분석을 위해 수집하였다.

[1072] **RNA 단리 및 PCR.** 총 RNA를 제조자의 설명서에 따라 Qiagen RNeasy Mini Kit를 사용하여 단리하였다. 엑손 포함을 위하여, 100 ng의 RNA를 역전사시키고, PCR(OneStep RT-PCR Kit, Qiagen)에 사용하였다. 샘플을 HT DNA High Sensitivity Assay Kit를 사용하여 LabChip(PerkinElmer)에 의해 분석하였다.

[1073] **도 22a 내지 도 22f**는 Mbn1(엑손 5 포함의 경우; **도 22a**), Bin1(엑손 11 포함의 경우; **도 22b**), IR(엑손 11 포함의 경우; **도 22c**), DMD(엑손 78 포함의 경우; **도 22d**), LDB3(엑손 11 포함의 경우; **도 22e**) 및 Sos1(엑손 25 포함의 경우; **도 22f**)에 대한 RNA 스플라이싱 측정을 보여준다. 이 데이터는 일반적으로 본 명세서에 기재된 화합물을 사용한 적어도 부분적인 회복을 입증한다.

[1074] **실시예 8. MDX 마우스 모델에서 DMD의 엑손 23의 스플라이싱 교정을 위한 전하-감소된 사이클릭 세포-침투 펩티드의 효능**

[1075] 하기 표 22의 화합물은 화합물의 추가의 비제한적인 예를 포함한다. 앞선 실시예들에 기재된 바와 같이 화합물을 제조하였다.

[1076] [표 22]

서열
Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦR-cit-R-cit-Q])-PEG12-K(N3)
Ac-rr-미니 PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-frr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rfr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rfbfr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rrr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rbrbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-hh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-hbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-hbhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rhbhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-hbrhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH
Ac-rr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-frr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-rfr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-rfbfr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-rrr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-rbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-rbrbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-hh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-hbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-hbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-rhbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-hbrhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KKKGK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBKBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KR-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBR-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PGKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKGRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKGKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKRGV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKRKG-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KKKRK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2

[1077]

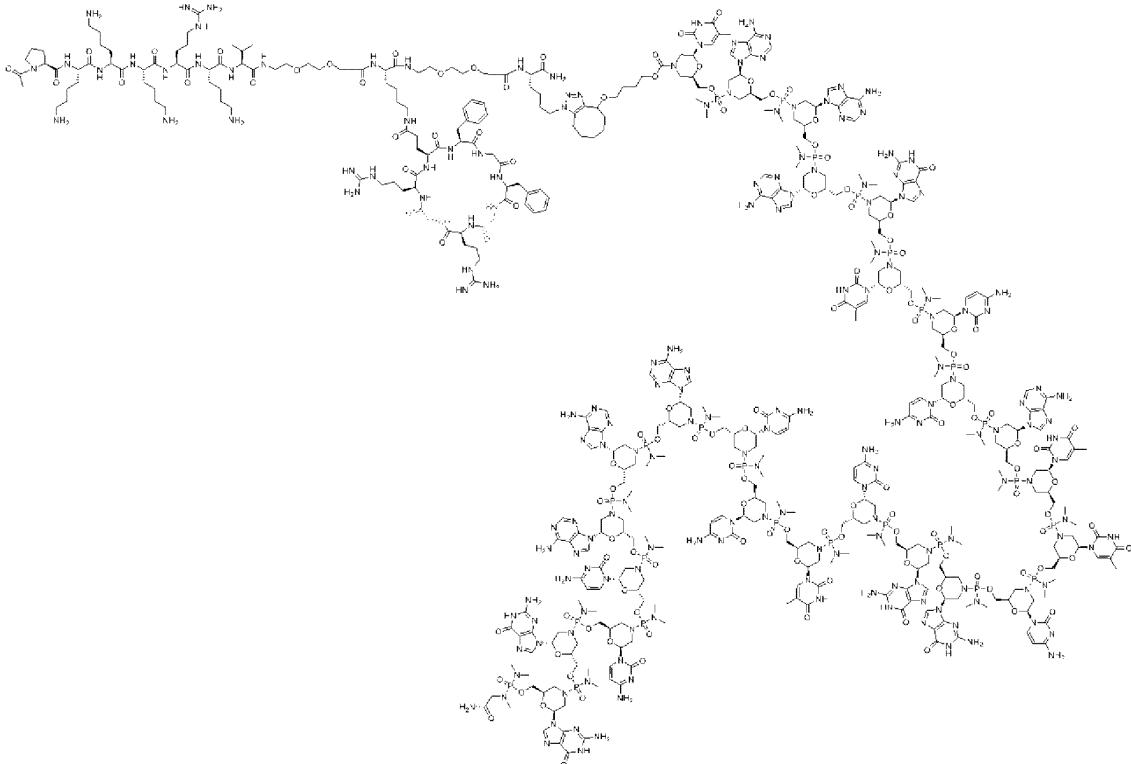
Ac-KKRK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KRK-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBKBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBKBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBKBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KBK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-KGKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FfF-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-PEG12-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-PEG12-K(N3)-NH2
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-PEG12-K(N3)-NH2
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-PEG12-K(N3)-NH2
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-PEG12-OH
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-PEG12-OH
Ac-KKKK-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-PEG12-OH

[1078]

[1079]

cCPP 화학 구조의 비제한적인 예가 제시된다:

[1080] EEV-PMO-MDX-4

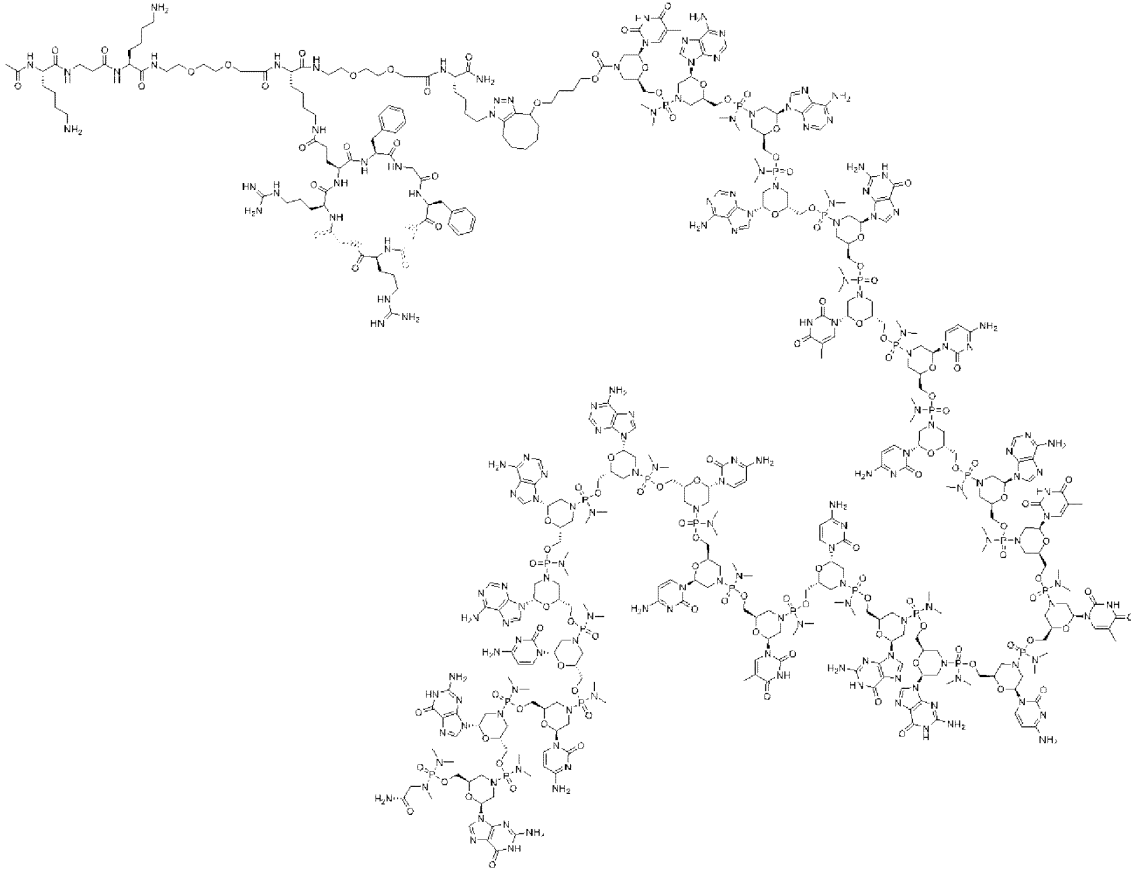


화학식: C₄₁₅H₆₆₂N₁₈₃O₁₂₇P₂₅
 정확한 질량: 11015.44
 분자량: 11021.36

m/z: 11019.45 (100.0%), 11020.46 (90.5%), 11018.45 (83.9%), 11017.45 (46.0%), 11021.46 (31.0%), 11016.44 (22.3%), 11015.44 (9.3%)

[1081]

[1082] EEV-PMO-MDX-5



화학식: C₃₉₀H₆₁₈N₁₇₄O₁₂₃P₂₅

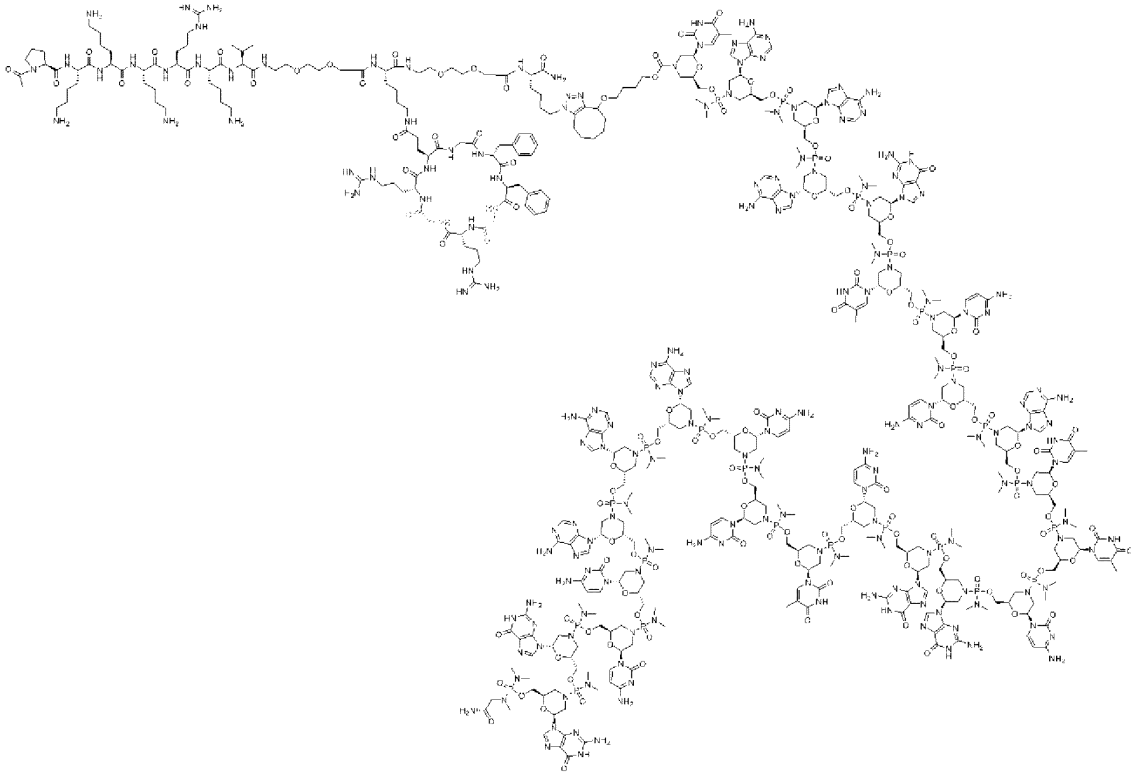
정확한 질량: 10478.07

분자량: 10483.65

m/z: 10482.08 (100.0%), 10481.08 (93.3%), 10483.08 (71.5%), 10480.07 (51.2%), 10479.07 (24.8%), 10484.09 (11.5%), 10478.07 (10.4%)

[1083]

[1084] EEV-PMO-MDX-6

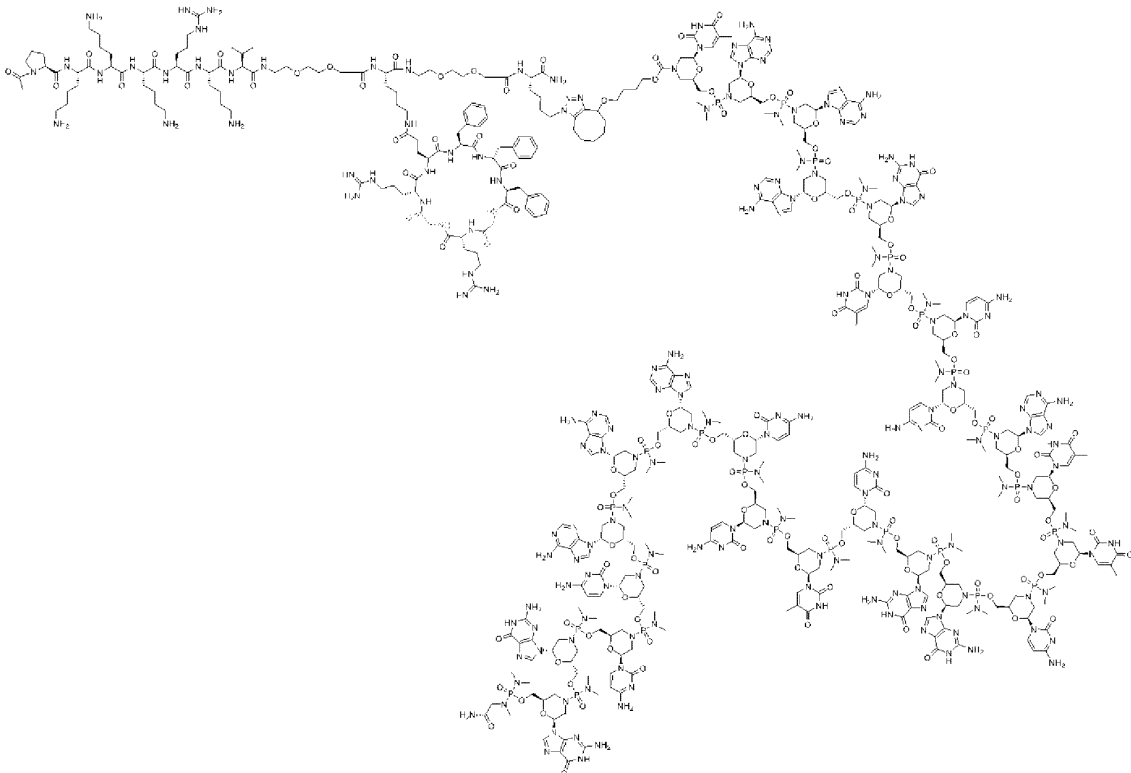


화학식: C₄₁₅H₆₆₂N₁₈₅O₁₂₇P₂₅
 정확한 질량: 11015.44
 분자량: 11021.36

m/z: 11019.45 (100.0%), 11020.46 (90.5%), 11018.45 (83.9%), 11017.45 (46.0%), 11021.46 (31.0%), 11016.44 (22.3%), 11015.44 (9.3%)

[1085]

[1086] EEV-PMO-MDX-7



화학식: C₄₂₂H₆₆₈N₁₈₅O₁₂₇P₂₅
 정확한 질량: 11105.49
 분자량: 11111.48

m/z: 11109.50 (100.0%), 11110.50 (98.1%), 11108.50 (83.9%), 11107.49 (46.0%), 11111.51 (38.1%), 11106.49 (22.3%), 11105.49 (9.3%)

[1087]

[1088] 실시예 4에 기재된 MDX 모델에서 화합물을 시험하였다. 마우스를 일수 1에서 20 mg/kg의 단일 정맥내 용량으로

처리하였다. 주사 후 일수 5에서, 동물을 희생시키고, 지정된 조직을 수집하고, 급속-냉동시켰다. RNA를 추출하고, 횡격막(도 39a), 심장(도 39b), 전경골근(도 39c) 및 삼두근(도 39d)에서 앞서 기재된 바와 같이 RT-PCR에 의해 엑손 스킵핑을 정량화하였다. 이들 결과는 EEV-PMO-MDX-4, EEV-PMO-MDX-5, EEV-PMO-MDX-6 및 EEV-PMO-MDX-7에 의한 처리가, 조사된 근육 조직의 3가지 유형과 대비하여 심장 조직에서 더 낮은 수준의 엑손 스킵핑을 가져왔음을 나타내었다. 추가로, 주사 후 일수 5에서, 횡격막(도 40a), 심장(도 40b) 및 전경골근(도 40c)에서 웨스턴 블롯 분석에 의해 디스트로핀 수준을 정량화하였다. 이들 결과는 NLS-함유 화합물(EEV-PMO-MDX-8, EEV-PMO-MDX-5)에 의한 처리가 또한 횡격막 조직과 대비하여 심장 조직 및 전경골근 조직에서 더 낮은 수준의 디스트로핀 발현을 가져왔음을 나타내었다.

[1089] [표 23]

이 연구에서 평가된 화합물

ID	펩티드 서열	AC의 핵산 서열 (5' - 3')	화학물질
EEV-PMO-MDX-4	Ac-PKPKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FGFGRGRQ])-AEEA-K(N ₃)-NH ₂	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	PMO
EEV-PMO-MDX-5	Ac-KBK-AEEA-Lys(사이클로[FGFGRGRQ])-AEEA-K(N ₃)-NH ₂	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	PMO
EEV-PMO-MDX-6	Ac-PKPKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[GfFGrGrQ])-AEEA-K(N ₃)-NH ₂	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	PMO
EEV-PMO-MDX-7	Ac-PKPKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FfFGRGRQ])-AEEA-K(N ₃)-NH ₂	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	PMO
EEV-PMO-MDX-8	Ac-KBK-BK-AEEA-Lys(사이클로[FfFGRGRQ])-AEEA-K(N ₃)-NH ₂	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	PMO

[1090]

실시예 9. 엑손 스킵핑을 통한 GYS1 발현의 녹다운

[1091]

도 31a는 엑손 스킵핑을 사용하여 GYS1의 발현을 녹다운하기 위한 개략도를 나타낸다. EEV-PMO를 사용하여 엑손 6의 엑손 스킵핑을 유도한다. 사용된 EEV는 Ac-PKPKKRKV-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-K(N₃)-NH₂, 또는 Ac-PKPKKRKV-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₂-K(N₃)-NH₂ 중 어느 하나였다. 엑손 6의 스킵핑은 판독 프레임을 이동하여 미성숙 정지 코돈을 판독하는 것을 포함한다. 이어서, GYS1 mRNA를 넌센스 매개 붕괴 기구를 통해 분해하여, 완전 GYS1 단백질의 발현을 방지한다.

[1092]

[1093] [표 24]

이 연구에서 평가된 화합물

ID	펩티드 서열	AC의 핵산 서열 (5' - 3')	화학물질
EEV-PMO-GYS1-1	Ac-PKPKKRKV-PEG ₂ -K(사이클로[Ff-Φ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG ₁₂ -K(N ₃)-NH ₂	TCA CTG TCT GGC TCA CAT ACC CAT A	PMO
EEV-PMO-GYS-2	Ac-PKPKKRKV-PEG ₂ -K(사이클로[Ff-Φ-GrGrQ])-PEG ₂ -K(N ₃)-NH ₂ .	TCA CTG TCT GGC TCA CAT ACC CAT A	PMO

[1094]

GYS1/GAA 이중 녹아웃 마우스는, GAA 단일 녹아웃 마우스와 대비하여, 심장근 및 골격근에서의 글리코겐의 양의 현저한 감소, 리소좀 팽윤의 유의한 감소, 및 자가포식 축적(autophagic build-up)을 나타내었다. 이들 세포-수준 변화는 심장비대 교정, 글루코스 대사의 정상화 및 근위축증의 교정으로 이어진다. GAA의 부재에도 불구하고, GYS1의 제거는 글리코겐 대사에서 중요한 역할을 할 수 있다.

[1095]

[1096] 실험

[1097]

GAA 녹아웃 마우스(GAA^{-/-})에 13.5 mg/kg의 EEV-PMO-GYS1-1, 27 mg/kg의 EEV-PMO-GYS1-1, 27 mg/kg의 PMO, 또는 음성 대조군(비히클) 중 어느 하나의 단일 IV 용량을 주사하였다. GYS1 mRNA 및 단백질 수준을 주사 후 1주 동안 측정하였다. GYS1의 수준을 13.5 mg/kg의 EEV-PMO-GYS1-2의 IV 용량 투여 후 1주, 2주, 4주, 및 8주 시점에서 또한 평가하였다. 결과

[1098]

도 32a 내지 도 32d는 EEV-PMO-GYS1-1 및 EEV-PMO-GYS1-2 시험군(arm) 둘 모두에서는 횡격막 및 심장근에서의 유의한 녹다운 GYS1 발현을 보여주지만, PMO 단독 아암에서는 그렇지 않음을 보여준다. 이러한 약력학적 결과는, 이것이 매우 낮은 용량으로 투여된 단일 용량 실험임을 고려할 때 주목할 만하며, 이는 GYS1이 다룰 만한 표적임을 시사한다.

[1099]

도 33a 내지 도 33d는 감소된 GYS1 단백질 수준이 심장, 횡격막, 사두근, 및 삼두근에서 주사 후 최대 8주 동안

지속됨을 보여준다.

[1100] **실시예 10. 엑손 스킵핑을 통한 IRF5 발현의 녹다운**

[1101] **도 31b**는 엑손 스킵핑을 사용하여 IRF5의 발현을 녹다운하기 위한 개략도를 나타낸다. EEV-PMO를 사용하여 엑손 4의 엑손 스킵핑을 유도한다. 엑손 4의 스킵핑은 판독 프레임을 이동하여 미성숙 정지 코돈을 판독하는 것을 포함한다. 이어서, IRF5 mRNA를 닌센스 매개 붕괴 기구를 통해 분해하여, 완전 IRF5 단백질의 발현을 방지한다.

[1102] [표 25]

이 연구에서 평가된 화합물

ID	펩티드 서열	AC의 핵산 서열 (5' - 3')	화학물질
EEV-PMO-IRF5-1	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG ₁₂ -OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C	PMO
EEV-PMO-IRF5-2	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FfDGrGrQ])-PEG ₁₂ -OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C	PMO
EEV-PMO-IRF5-3	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG ₁₂ -OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C	PMO
EEV-PMO-IRF5-4	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG ₁₂ -OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C	PMO

[1103]

[1104] **실험**

[1105] 생체내 연구의 경우, 야생형 마우스를 일수 0 및 일수 3에서 2회 용량의 EEV-PMO-IRF5-1로 처리하였다. mRNA 수준을 측정하기 위한 qPCR을 위해 일수 7에서 샘플을 수집하였다. 시험관내 연구의 경우, EEV-PMO-IRF5-1로 처리된 마우스 대식세포 세포를 2 μM의 EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, 또는 EEV-PMO-IRF5-4로 4시간 동안 전처리한 후, 툴-유사 수용체(TLR) 7/8의 특정 활성화 인자인 이미다조퀴놀린 화합물인 R848로 하룻밤 자극하였다. 처리 후 24시간 시점에서, 세포를 수집하고 웨스턴 블롯에 의해 평가하였다.

[1106] EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, EEV-PMO-IRF5-4 각각에 대해, PMO는 278의 하기 서열 5'-AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C-3'이었다.

[1107] EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, 및 EEV-PMO-IRF5-4에 대한 EEV는 **도 37a 내지 도 37e**에 나타나 있다.

[1108] **결과**

[1109] **도 34a 내지 도 34c**는 간(A), 소장(B), 및 전경골근(C)의 유의한 녹다운 IRF5 수준을 나타낸다. 모든 조직에서, 녹다운은 용량 의존적이었다.

[1110] **도 35**는 EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, 및 EEV-PMO-IRF5-4가, IRF5 단백질 발현에 의해 측정되는 바와 같이, EEV-PMO-IRF5-1과 대비하여 상대 효력의 유의한 개선을 가졌음을 보여준다.

[1111] **도 36**은 EEV-PMO-IRF5-1로 처리된 마우스 대식세포 세포가 30 μM, 10 μM 및 3 μM의 용량에서 IRF5 단백질 수준의 통계학적으로 유의한 감소를 가졌음을 보여준다.

[1112] **실시예 11: 시험관내에서 IRF-5-표적화 PMO를 위한 EEV의 스크리닝**

[1113] RAW 264.7 단핵구/대식세포 세포를 사용하여, **도 37a 내지 도 37e**에 나타난 다양한 EEV-PMO 작제물로 치료한 후에 IRF-5 발현 및 엑손 스킵핑을 평가하였다.

[1114] 간략하게 말하면, 150K개의 세포/웰을 24웰 플레이트 내에 0.5 ml의 DMEM 중에 시딩하였다. 4시간 후, EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, EEV-PMO-IRF5-4 화합물을 세포에 첨가하여 500 μL의 총 부피를 제공하였다. 이어서, 세포를 24시간 동안 인큐베이션하였다. EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, EEV-PMO-IRF5-4 화합물과의 인큐베이션 후에, 세포를 신선한 배지로 세척하고, 이어서 하룻밤 인큐베이션하였다. 두 번째 인큐베이션 후에, RNA를 수집하고, IRF-5 유전자에서의 엑손 5 스킵핑을 검출하는 프라이머를 사용하여 RT-PCR을 행하였다.

[1115] IRF5 발현 수준을 β-튜블린과 대비하여 결정하였다.

[1116] IRF-5 발현 연구에서는, 세포를 EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, EEV-PMO-IRF5-4 화합물로

전처리한 후, R848로 하룻밤 자극하였다. R484는 톨-유사 수용체 효능제이고, IRF-5 발현의 유도도 이어진다. 총 처리 시간은 24시간이었다.

- [1117] **도 38 및 도 39**는 본 실시예의 스크리닝 연구의 결과를 나타낸다.
- [1118] **도 38 및 도 40**은 다양한 농도의 다양한 화합물로 처리한 후의 IRF-5 발현의 수준을 나타낸다. R848은 RAW264.7 세포에서 IRF5 단백질 발현을 유의하게 증가시킨다. 모든 시험된 농도의 모든 EEV-PMO-IRF5-1, EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, EEV-PMO-IRF5-4 처리된 샘플은 R848로 자극된 세포와 대비하여 IRF-5 단백질 발현의 유의한 감소를 나타내었다. EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, EEV-PMO-IRF5-4는 R848로 자극된 세포에서의 IRF-5 수준과 대비하여, 2 μ M 정도로 낮은 농도에서 약 80% IRF-5 단백질 감소를 갖는 EEV-PMO-IRF5-1보다 평균 5배 더 효능이 컸다.
- [1119] **도 39**는 다양한 농도의 다양한 화합물로 처리한 후의 엑손 스킵핑의 수준을 나타낸다. 화합물 EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, 및 EEV-PMO-IRF5-4는 5 μ M에서 EEV-PMO-IRF5-1보다 더 높은 엑손 스킵핑을 나타내었다. EEV-PMO-IRF5-2, EEV-PMO-IRF5-3, 및 EEV-PMO-IRF5-4 사이에서 엑손 스킵핑의 실질적인 차이가 관찰되지 않았다. 엑손 스킵핑을 통한 IRF5 발현의 녹다운
- [1120] **실시예 12: EEV-PMO-DM1-3에 대한 7일 단일 용량 범위 결정 연구**
- [1121] 이 연구에서 평가된 화합물은 EEV-PMO-DM1-3이었으며, 이의 서열은 실시예 7, 표 21에서 찾을 수 있다.
- [1122] 9주령된 HSA-LR 마우스 및 대조군 FVB 마우스를 단일 용량 범위 연구 후 1주 시점에서 사용하였다. HSA-LR 마우스를 5개의 군으로 나누었다. 하나의 군에는 식염수를 정맥내 투여하고, 나머지 다른 군에는 15, 30, 60 또는 90 mpk의 EEV-PMO-DM1-3으로 EEV-PMO-DM1-3을 투여하였다. 7일 후에 조직을 수집하였다. RT-PCR을 사용하여 특정 유전자(Atp2a1, Clcn1, Nfix, MBNL1)에 대한 대체 스플라이싱을 결정하였다. LC-질량을 사용하여 사두근, 비복근, TA, 삼두근, 횡격막, 심장, 신장, 간, 뇌, 혈장에서의 약물 수준을 결정하였다. RNA-seq를 사용하여, 처리된 질병 모델, 비처리된 질병 모델 및 야생형 사이의 전사 수준 변화를 결정하였다. 형광 이미징을 사용하여 EEV-올리고 화합물에 의한 처리 후 RNA 병소 감소를 결정하였다. EEV-PMO-DM1-3으로 처리 후 7일 시점에서 근긴장증 감소가 기록되었다. Q-PCR을 사용하여, 처리 후 액틴-HSA의 mRNA 수준의 감소를 결정하였다.
- [1123] **도 41의 A 내지 도 41의 D**는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 사두근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: **도 41의 A:** Atp2a1, **도 41의 B:** Nfix, **도 41의 C:** Clcn1, **도 41의 D:** Mbn11.
- [1124] **도 42의 A 내지 도 42의 D**는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 비복근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: **도 42의 A:** Atp2a1, **도 42의 B:** Nfix, **도 42의 C:** Clcn1, **도 42의 D:** Mbn11.
- [1125] **도 43의 A 내지 도 43의 D**는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 전경골근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: **도 43의 A:** Atp2a1, **도 43의 B:** Nfix, **도 43의 C:** Clcn1, **도 43의 D:** Mbn11.
- [1126] **도 44의 A 내지 도 44의 D**는 HSA-LR 마우스에 EEV-PMO-DM1-3을 주사한 후 1주 시점에서의 삼두근에서의 MBNL1 하류 유전자의 용량 의존적 교정을 보여준다: **도 44의 A:** Atp2a1, **도 44의 B:** Nfix, **도 44의 C:** Clcn1, **도 44의 D:** Mbn11.
- [1127] **도 45의 A 내지 도 45의 D**는 **도 41의 A 내지 도 41의 D**, **도 42의 A 내지 도 42의 D**, **도 43의 A 내지 도 43의 D** 및 **도 44의 A 내지 도 44의 D**에 나타낸 데이터의 오버레이를 제공한다.
- [1128] **도 46의 A 내지 도 46의 D**는 EEV-PMO-DM1-3의 투여가 HSA-LR 마우스의 골격근에서 약 50 내지 70% HSA mRNA 녹다운을 가져왔음을 보여준다: **도 46의 A:** 사두근; **도 46의 B:** 비복근; **도 46의 C:** 삼두근; 및 **도 46의 D:** 전경골근. HSALR 비히클 치료군(n=3)과 대비하여 일원분산분석에 의해 통계학적 유의성이 계산된다. 용량은 PMO를 기준으로 한다.
- [1129] **도 47의 A 내지 도 47의 F**는 EEV-PMO-DM1-3이 투여된 마우스에서 다양한 근육 조직에서의 약물 수준에 대한 용량-의존적 반응을 나타낸 그래프이다. **도 47의 A:** 사두근; **도 47의 B:** 삼두근; **도 47의 C:** 심장; **도 47의 D:** 비복근; **도 47의 E:** 전경골근; 및 **도 47의 F:** 횡격막.
- [1130] **도 48**은 생체내에서 검출된 주요 대사물인 PMO-DM1을 나타낸다.

- [1131] 도 49의 A 내지 도 49의 C는 15, 30, 60 및 90 mpk로 투여 후의 뇌(도 49의 A), 간(도 49의 B) 및 신장(도 49의 C)에서의 EEV-PMO-DM1-3 노출을 나타낸다.
- [1132] 도 50은 EEV-PMO 처리가 1주 후 HSA-LR 마우스 TA 근육에서 CUG 병소를 감소시킴을 보여준다.
- [1133] 도 51은 EEV-PMO 처리가 1주 후 HSA-LR 마우스 TA 근육에서 CUG 병소를 감소시킴을 나타낸 그래프이다.
- [1134] 도 52는 15, 30, 60 및 90 mpk의 EEV-PMO-DM1-3으로 처리한 후 7일 시점에서의 HSA-LR 마우스에서의 용량 의존적 근긴장증 감소를 보여준다.
- [1135] 근긴장증은 EEV-PMO-DM1-3으로 처리 후 1주 시점에서 호전될 가능성이 높다. 90 mg/kg의 EEV-PMO-DM1-3의 단일 용량으로 처리된 HSA-LR 마우스는 유도 후 뒷다리 근긴장증의 명백한 징후를 나타내지 않았다.
- [1136] **실시예 13: EEV-PMO-DM1-3을 사용하여 최대 8주까지 80 mpk의 지속기간 효과**
- [1137] 이 연구에서 평가된 화합물은 EEV-PMO-DM1-3이었으며, 이의 서열은 실시예 7, 표 21에서 찾을 수 있다.
- [1138] 7주령된 HSALR 마우스에 80 mpk의 EEV-PMO-DM1-3을 정맥내 투여하고, 1주 내지 8주 후에 조직을 수집하였다. RT-PCR을 사용하여 특정 유전자(Atp2a1, Clcn1, Nfix, MBNL1)에 대한 대체 스플라이싱을 결정하였다. LC-질량을 사용하여 사두근, 비복근, TA, 삼두근, 횡격막, 심장, 신장, 간, 뇌, 혈장에서의 약물 수준을 결정하였다. RNA-seq를 사용하여, 처리된 질병 모델, 비처리된 질병 모델 및 야생형 사이의 전사 수준 변화를 결정하였다. 형광 이미징을 사용하여 EEV-올리고 화합물에 의한 처리 후 RNA 병소 감소를 결정하였다. EEV-올리고 화합물로 처리 후 7일 시점에서 근긴장증 감소가 기록되었다. Q-PCR을 사용하여, 처리 후 액틴-HSA의 mRNA 수준의 감소를 결정하였다.
- [1139] 도 53a 내지 도 53c는 HSA-LR 마우스에서의 Atp2a1 엑손 22 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 전경골근(도 53a); 삼두근(도 53b); 및 사두근(도 53c).
- [1140] 도 54a 내지 도 54c는 HSA-LR 마우스에서의 Nfix 엑손 7 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 전경골근(도 54a); 삼두근(도 54b); 및 사두근(도 54c).
- [1141] 도 55a 내지 도 55c는 HSA-LR 마우스에서의 Mbn1l1 엑손 5 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 전경골근(도 55a); 삼두근(도 55b); 및 사두근(도 55c).
- [1142] 도 56a 내지 도 56c는 HSA-LR 마우스의 비복근에서의 엑손 22 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. Atp2a1(도 56a); Nfix(도 56b); 및 Mbn1l1(도 56c).
- [1143] 도 57은 HSA-LR 마우스의 비복근, 삼두근, 전경골근 및 사두근에서의 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다.
- [1144] 도 58의 A 내지 도 58의 D는 HSA-LR 마우스의 근육 조직에서의 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 도 58의 A: 사두근, 도 58의 B: 비복근, 도 58의 C: 삼두근; 및 도 58의 D: 전경골근.
- [1145] 도 59a 내지 도 59d는 HSA-LR 마우스에서의 Clcn1 엑손 7a 포함에 대한 80 mpk EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고)의 효과의 지속기간을 나타낸다. 도 59a: 전경골근; 도 59b: 삼두근; 도 59c: 사두근; 및 도 59d: 비복근.
- [1146] 도 60a 내지 도 60d는 EEV-PMO-DM1-3이 주사 후 1주 및 4주 시점에서 HSA mRNA 녹다운 경향을 나타내었음을 보여준다. 도 60a: 전경골근; 도 60b: 삼두근; 도 60c: 사두근; 및 도 60d: 비복근.
- [1147] 도 61의 A 내지 도 61의 D는 근육 조직에서 1주 내지 4주 후 80 mpk EEV-PMO-DM1-3에 의한 약물 수준의 감소를 보여준다. 도 61의 A: 전경골근; 도 61의 B: 비복근; 도 61의 C: 삼두근; 및 도 61의 D: 비복근. EEV-PMO-DM1-3(60 mpk 올리고, 80 mpk 전 약물)은 1주 처리 후에 비복근, 삼두근, 전경골근 및 사두근에서의 미스-스플라이싱을 완전히 교정한다.
- [1148] 도 62의 A 및 도 62의 B는 간 및 신장에서 1주 내지 4주 후에 80 mpk 용량의 EEV-PMO-DM1-3에 대해 약물 수준의 감소가 관찰되었음을 보여준다.
- [1149] 더 긴 지속기간 동안 그리고 더 높은 용량에서 EEV-PMO-DM1-3의 정맥내 투여를 평가하기 위해 유사한 실험을 수행하였다. 8주령된 HSALR 마우스에 40, 60, 80 또는 120 mpk의 EEV-PMO-DM1-3을 정맥내 투여하고, 4 내지 12주 후에 조직을 수집하였다. RT-PCR을 사용하여 특정 유전자(Atp2a1, Clcn1, Nfix, MBNL1)에 대한 대체 스플라이싱을 결정하였다. LC-질량을 사용하여 사두근, 비복근, TA, 삼두근, 횡격막, 심장, 신장, 간, 뇌, 혈장에

서의 약물 수준을 결정하였다. RNA-seq를 사용하여, 처리된 질병 모델, 비처리된 질병 모델 및 야생형 사이의 전사 수준 변화를 결정하였다. 형광 이미징을 사용하여 EEV-PMO-DM1-3에 의한 처리 후 RNA 병소 감소를 결정하였다. EEV-PMO-DM1-3으로 처리 후 7일 시점에서 근긴장증 감소가 기록되었다. Q-PCR을 사용하여, 처리 후 액틴-HSA의 mRNA 수준의 감소를 결정하였다. 데이터에서의 유사한 경향이 관찰되었다(데이터는 제시되지 않음).

[1150] 실시예 14: EEV-PMO-DM1-3에 의한 환자-유래 DM1 세포의 처리

[1151] 이 연구에서 평가된 화합물은 EEV-PMO-DM1-3이었으며, 이의 서열은 실시예 7, 표 21에서 찾을 수 있다.

[1152] 환자 근아세포를 4일의 분화에 걸쳐 30 마이크로몰 농도의 EEV-올리고로 처리하였다. 1-단계 RT-PCR에 의해 스플라이싱 교정을 평가하였다. HCR-FISH 및 격리된(sequestered) MBNL1 단백질 검출 검정을 사용하여 RNA 병소를 검출하였다. 결과: EEV-PMO-DM1-3은 DM1 환자-유래 근육 세포에서 유의한 바이오마커 스플라이싱 교정 및 핵 병소의 감소를 촉진한다.

[1153] 환자 근아세포는 *DMPK* 3'UTR 내에 2600개의 CTG 반복부를 갖는다. 30 μM EEV-PMO-DM1-3의 자유 흡수는 4일의 분화 전체에 걸쳐 이루어졌다. 1-단계 RT-PCR 및 Labchip 분석에 의해 스플라이싱 교정을 평가하였다. 평균 ± SD, n=4를 플롯팅하고; 원위치에서 CUG 병소 검출을 위한 HCR-FISH 검정을 수행하였다.

[1154] 도 63의 A 내지 도 63의 C는 EEV-PMO-DM1-3이 DM1 환자-유래 근육 세포에서 유의한 바이오마커 스플라이싱 교정을 촉진시킴을 보여준다.

[1155] 도 64의 A 내지 도 64의 C는 EEV-PMO-DM1-3이 DM1 환자-유래 근육 세포에서 핵 병소를 감소시킴을 보여준다.

[1156] 실시예 15: 신장 세포에서의 EEV-PMO-DM1-3의 세포독성 스크리닝

[1157] 이 연구에서 평가된 화합물은 PMO-DM1 또는 EEV-PMO-DM1-3이었으며, 이들의 서열은 실시예 7, 표 21에서 찾을 수 있다.

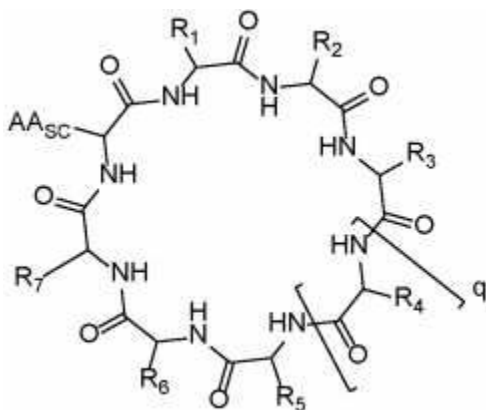
[1158] 인간 1차 신장 근위 요세관 상피 세포(RPTEC)를 다양한 농도(약 6 마이크로몰 농도부터 약 800 마이크로몰 농도까지 4x의 최종 희석 인자를 사용하여 식염수 중 1:2 연속 희석)의 PMO-DM1 및 EEV-PMO-DM1-3에 24시간 동안 노출시키고, 생존력에 대해 스크리닝하였다. 멜리틴을 16.6 μM에서 양성 대조군으로서 사용하였다.

[1159] 도 65의 A 및 도 65의 B는 PMO-DM1 또는 이의 컨주게이트된 EEV-PMO-DM1-3은 각각 817 μM 또는 797 μM의 최고 농도에서조차 어떠한 독성도 나타내지 않았음을 보여준다.

[1160] 넘버링된 실시 형태

[1161] 실시 형태 1은 화학식 (A)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염에 관한 것이다:

[1162] [화학식 (A)]



[1163] (상기 식에서,

[1165] R₁, R₂, 및 R₃은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[1166] R₁, R₂, 및 R₃ 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[1167] R₄, R₅, R₆, R₇은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[1168] R_1, R_5, R_6, R_7 중 적어도 하나는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산, 4-구아니디노-2-아미노산부탄, 아르기닌, 호모아르기닌, N-메틸아르기닌, N,N-다이메틸아르기닌, 2,3-다이아미노프로피온산, 2,4-다이아미노산부탄, 라이신, N-메틸라이신, N,N-다이메틸라이신, N-에틸라이신, N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌, 시트룰린, N,N-다이메틸라이신, β -호모아르기닌, 3-(1-피페리디닐)알라닌의 측쇄이고;

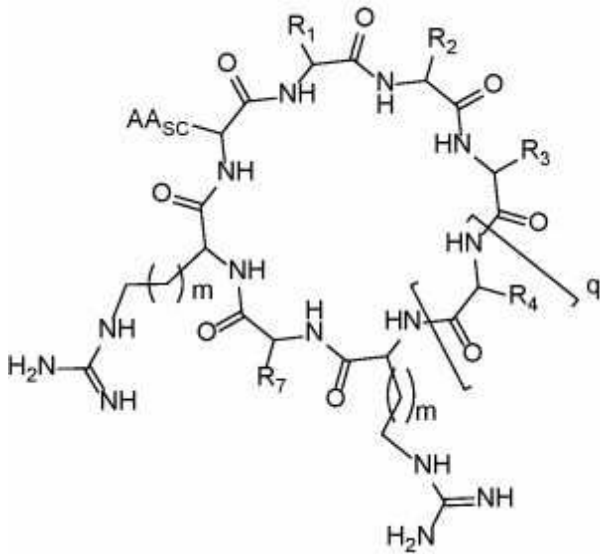
[1169] AA_{sc} 는 아미노산 측쇄이고;

[1170] q 는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[1171] 여기서, 화학식 (A)의 사이클릭 펩티드는 $Ff \Phi RrRrE$ 가 아님).

[1172] 실시 형태 2는, 실시 형태 1에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

[1173] [화학식 (I)]



[1174] (상기 식에서, 각각의 m 은 독립적으로 0 내지 3의 정수임).

[1175] 실시 형태 3은, 실시 형태 1 또는 실시 형태 2에 있어서, $R_1, R_2,$ 및 R_3 은 독립적으로 H, 또는 아릴 기를 포함하는 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1176] 실시 형태 4는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 아릴 기를 포함하는 측쇄는 티로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티에닐알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β -호모페닐알라닌, 4-tert-부틸-페닐알라닌, 4-피리디닐알라닌, 3-피리디닐알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 또는 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

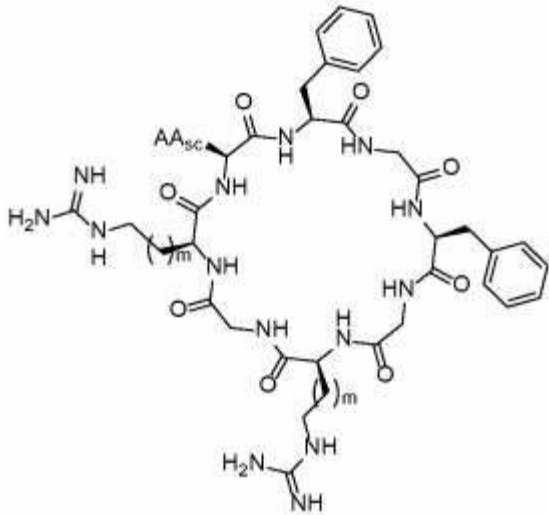
[1177] 실시 형태 5는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 아릴 기를 포함하는 측쇄는 페닐알라닌의 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1178] 실시 형태 6은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, $R_1, R_2,$ 및 R_3 중 2개는 페닐알라닌의 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1179] 실시 형태 7은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, $R_1, R_2, R_3,$ 및 R_4 중 2개는 H인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1180] 실시 형태 8은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-1)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

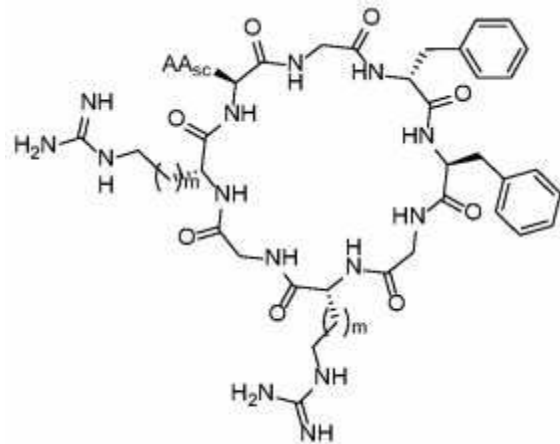
[1181] [화학식 (I-1)]



[1183]

[1184] 실시 형태 9는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-2)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

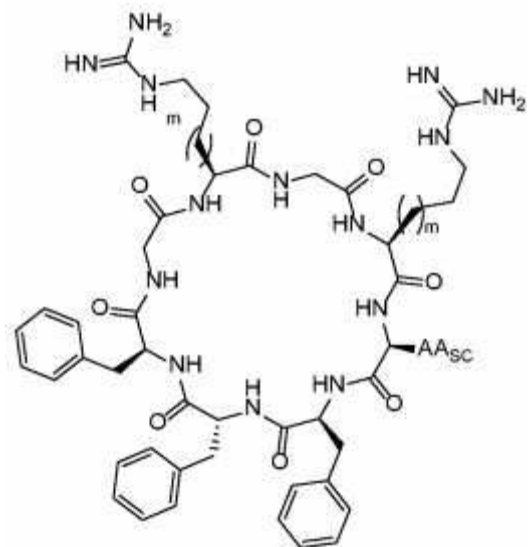
[1185] [화학식 (I-2)]



[1186]

[1187] 실시 형태 10은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-3)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

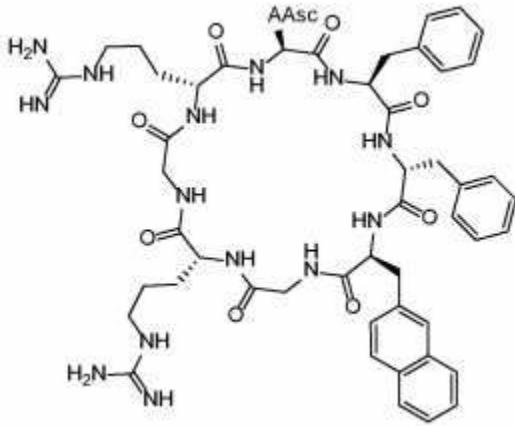
[1188] [화학식 (I-3)]



[1189]

[1190] 실시 형태 11은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-4)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

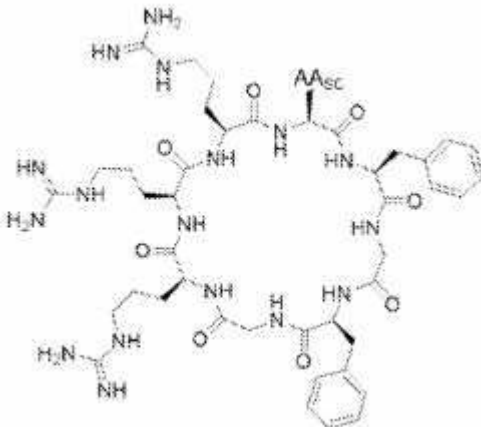
[1191] [화학식 (I-4)]



[1192]

[1193] 실시 형태 12는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-5)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

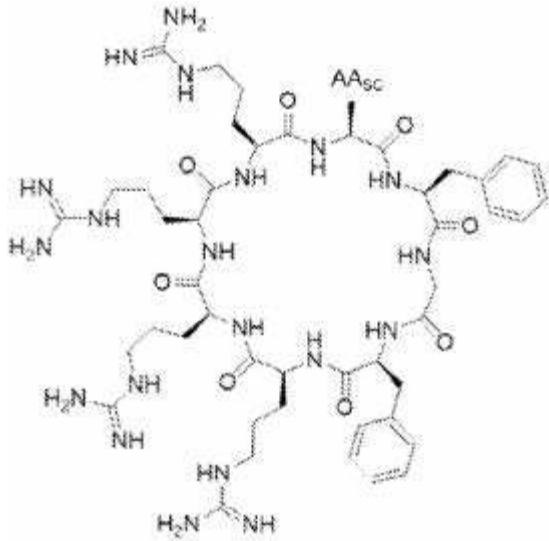
[1194] [화학식 (I-5)]



[1195]

[1196] 실시 형태 13은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (I-6)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

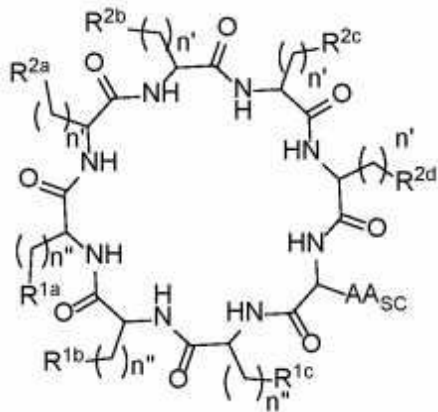
[1197] [화학식 (I-6)]



[1198]

[1199] 실시 형태 14는 화학식 (II)의 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

[1200] [화학식 (II)]



[1201]

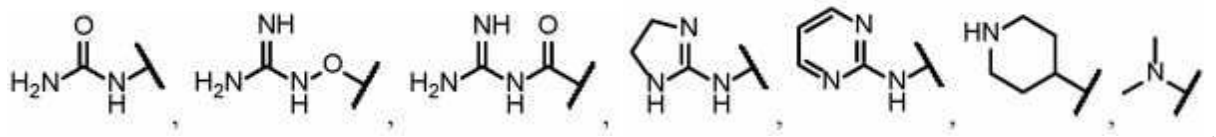
[1202] (상기 식에서,

[1203] AA_{sc}는 아미노산 측쇄이고;

[1204] R^{1a}, R^{1b}, 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6원 내지 14원 아릴 또는 6원 내지 14원 헤테로아릴이고;

[1205] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}는 독립적으로 아미노산 측쇄이고;

[1206] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는



또는 이들의 양성자화된 형태 또는 염이고;

[1207] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는 구아니딘 또는 그의 양성자화된 형태 또는 염이고;

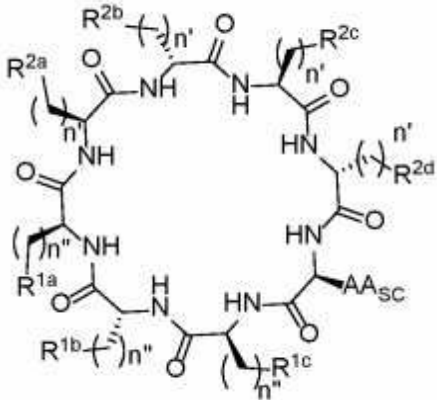
[1208] 각각의 n''은 독립적으로 0 내지 5의 정수이고;

[1209] 각각의 n'은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

[1210] n'이 0인 경우, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 또는 R^{2d}는 부재함).

[1211] 실시 형태 15는, 실시 형태 14에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (II-1)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

[1212] [화학식 (II-1)]

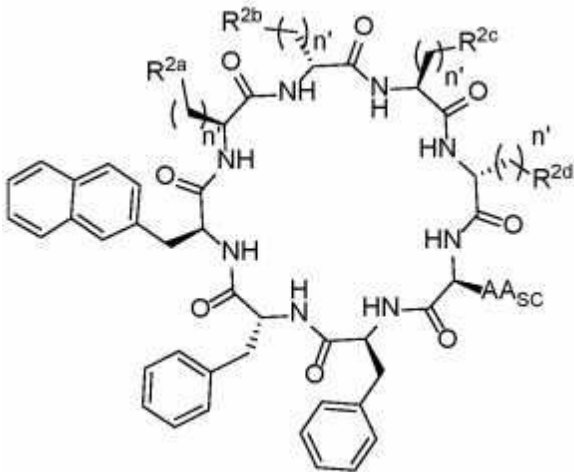


[1213]

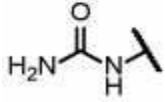
[1214] 실시 형태 16은, 실시 형태 14 또는 실시 형태 15에 있어서, R^{1a}, R^{1b}, 및 R^{1c}는 각각 독립적으로, 페닐, 나프틸, 및 안트라세닐로 이루어진 군으로부터 선택되는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1215] 실시 형태 17은, 실시 형태 14 또는 실시 형태 15에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (IIa)의 사이클릭 펩티드인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

[1216] [화학식 (IIa)]



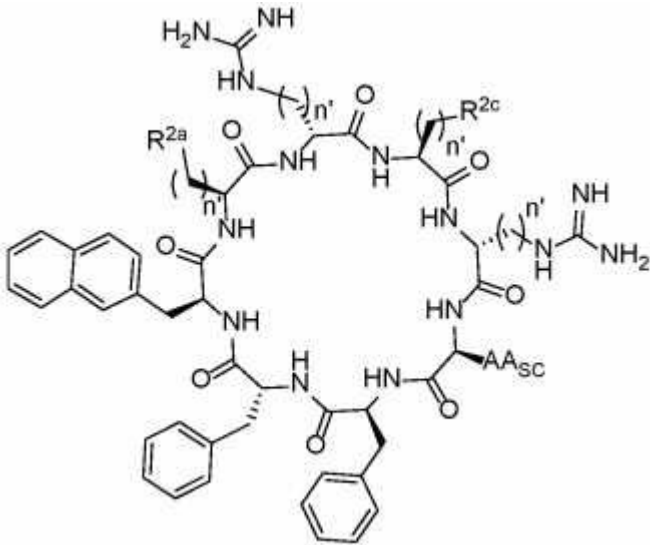
[1217]

[1218] 실시 형태 18은, 실시 형태 14 내지 실시 형태 17 중 하나에 있어서, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d} 중 적어도 하나는  이고, 나머지 R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d}는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1219] 실시 형태 19는, 실시 형태 14 내지 실시 형태 18 중 하나에 있어서, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d} 중 적어도 2개는  이고, 나머지 R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, 또는 R^{2d}는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

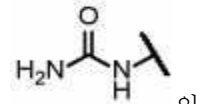
[1220] 실시 형태 20은, 실시 형태 14 내지 실시 형태 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (IIb)의 사이클릭 펩티드인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

[1221] [화학식 (IIb)]



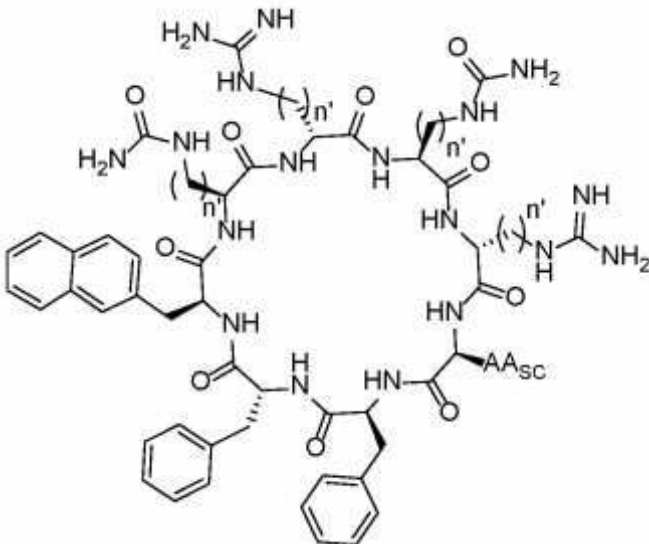
[1222]

[1223] 실시 형태 21은, 실시 형태 14 내지 실시 형태 20 중 어느 하나에 있어서, R^{2a} 및 R^{2c} 는 각각 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.



[1224] 실시 형태 22는, 실시 형태 14 내지 실시 형태 21 중 어느 하나에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (IIc)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:

[1225] [화학식 (IIc)]

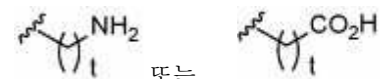


[1226]

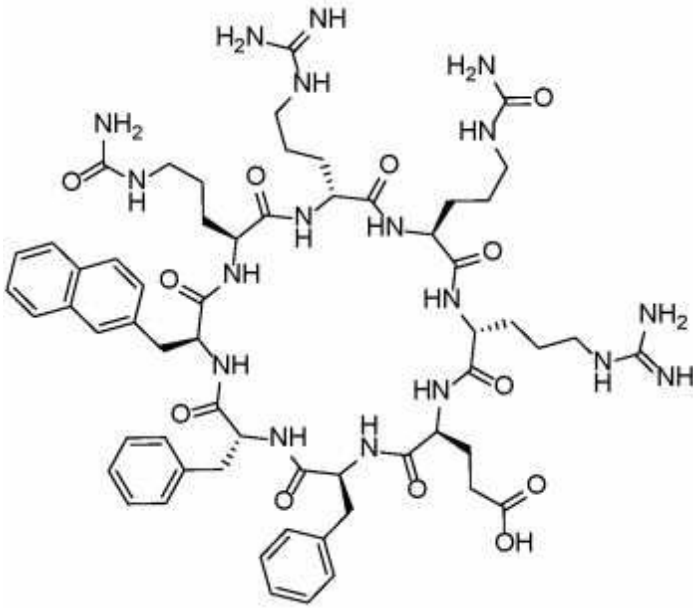
[1227] 실시 형태 23은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, AA_{sc} 는 아스파라긴 잔기, 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기, 호모글루탐산 잔기, 또는 호모글루타메이트 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1228] 실시 형태 24는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, AA_{sc} 는 글루탐산 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1229] 실시 형태 25는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, AA_{sc} 는 (여기서, t 는 0 내지 5의 정수임)인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

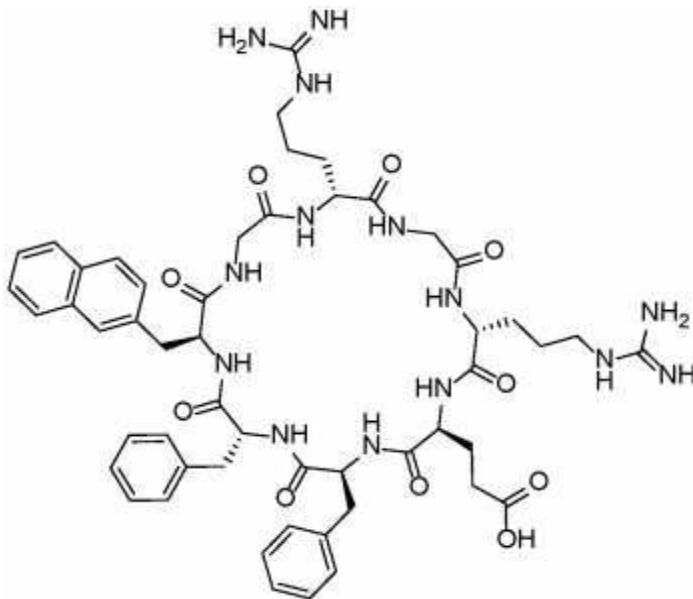


[1230] 실시 형태 26은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 하기 구조 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염을 갖는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:



[1231]

[1232] 실시 형태 27은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 하기 구조 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염을 갖는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:



[1233]

[1234] 실시 형태 28은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA_{sc} 상의 적어도 하나의 원자가 운반물 모이어티에 의해 대체되거나, 또는 적어도 하나의 고립 쌍이 운반물 모이어티에 대한 결합을 형성하는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1235] 실시 형태 29는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 AA_{sc}는 링커에 접합되는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1236] 실시 형태 30은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합된 형태에서, 상기 AA_{sc}는 아스파라긴 잔기, 글루타민 잔기, 또는 호모글루타민 잔기의 측쇄인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1237] 실시 형태 31은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합된 형태에서, 상기 AA_{sc}는 글루타민 잔기에 관한 것이다.

[1238] 실시 형태 32는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 운반물 모이어티가 링커에 의해 AA_{Sc}에 접합되는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1239] 실시 형태 33은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는 $-(OCH_2CH_2)_z-$ 하위단위(여기서, z'은 1 내지 23의 정수임)를 포함하는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1240] 실시 형태 34는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는

[1241] (i) $-(OCH_2CH_2)_z-$ 하위단위(여기서, z'은 1 내지 23의 정수임);

[1242] (ii) 하나 이상의 아미노산 잔기, 예컨대 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜트산 또는 6-아미노헥산산의 잔기, 또는 이들의 조합; 또는

[1243] (iii) (i)과 (ii)의 조합을 포함하는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1244] 실시 형태 35는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는

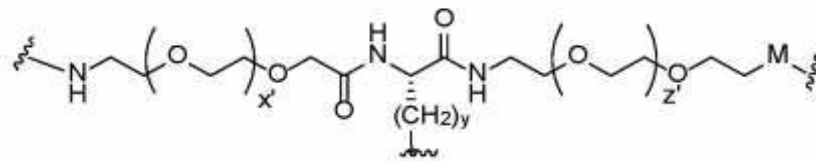
[1245] (i) $-(OCH_2CH_2)_z-$ 하위단위(여기서, z는 2 내지 20의 정수임);

[1246] (ii) 하나 이상의 글리신, β-알라닌, 4-아미노부티르산, 5-아미노펜트산 6-아미노헥산산의 잔기, 또는 이들의 조합; 또는

[1247] (iii) (i)과 (ii)의 조합을 포함하는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1248] 실시 형태 36은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는 2가 또는 3가 C₁-C₅₀ 알킬렌을 포함하며, 여기서 1 내지 25개의 메틸렌 기는 선택적으로 그리고 독립적으로 $-N(H)-$, $-N(C_1-C_4 \text{ 알킬})-$, $-N(\text{사이클로알킬})-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-C(O)O-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(C_1-C_4 \text{ 알킬})-$, $-S(O)_2N(\text{사이클로알킬})-$, $-N(H)C(O)-$, $-N(C_1-C_4 \text{ 알킬})C(O)-$, $-N(\text{사이클로알킬})C(O)-$, $-C(O)N(H)-$, $-C(O)N(C_1-C_4 \text{ 알킬})-$, $-C(O)N(\text{사이클로알킬})-$, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 또는 사이클로알케닐로 대체되는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

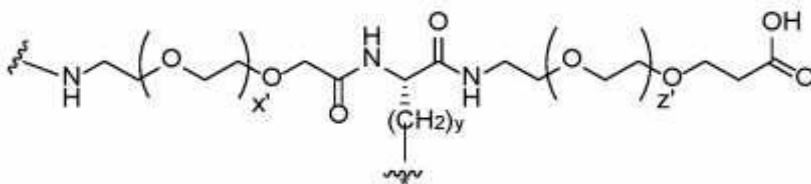
[1249] 실시 형태 37은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는 하기 구조를 갖는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:



[1250] (상기 식에서,

[1252] x'은 1 내지 23의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z'은 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{Sc}에 대한 부착점이고, AA_{Sc}는 상기 사이클릭 펩티드의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 결합 기임).

[1253] 실시 형태 38은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, 상기 링커는 하기 구조를 갖는, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다:



[1254] 실시 형태 39는, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, z'은 11인인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

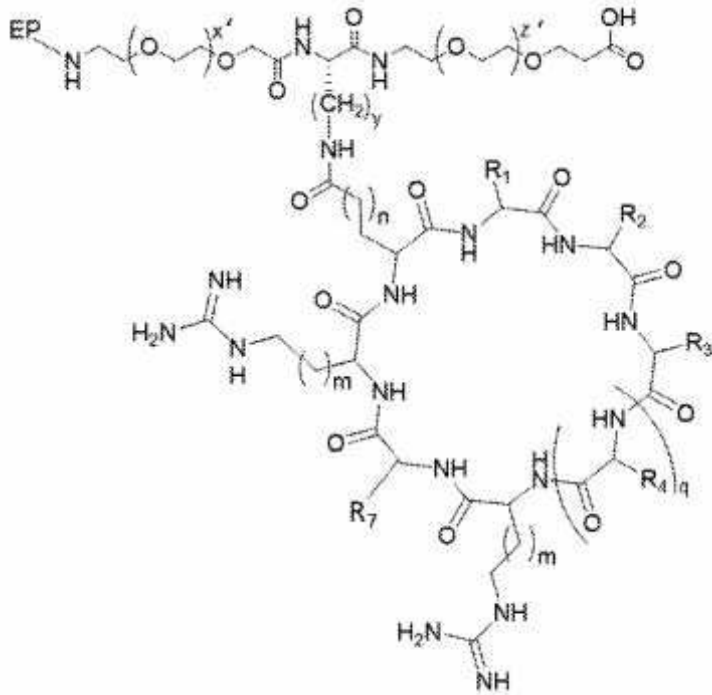
[1256] 실시 형태 40은, 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나에 있어서, x'은 1인인, 사이클릭 펩티드에 관한 것이다.

[1257] 실시 형태 41은 제29항 내지 제31항 및 제33항 내지 제40항 중 어느 한 항의 사이클릭 펩티드, 및 상기 링커의

아미노 단부에서 상기 링커에 접합된 고리의 펩티드를 포함하는 엔도솜 탈출 비히클(EEV)에 관한 것이다.

[1258] 실시 형태 42는, 실시 형태 41에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (B)의 사이클릭 펩티드 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, EEV에 관한 것이다:

[1259] [화학식 (B)]



[1260]

[1261] (상기 식에서,

[1262] R_1 , R_2 , 및 R_3 은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[1263] R_4 및 R_7 은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[1264] EP는 고리의 펩티드이고;

[1265] 각각의 m 은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

[1266] n 은 0 내지 2의 정수이고;

[1267] x' 은 1 내지 20의 정수이고;

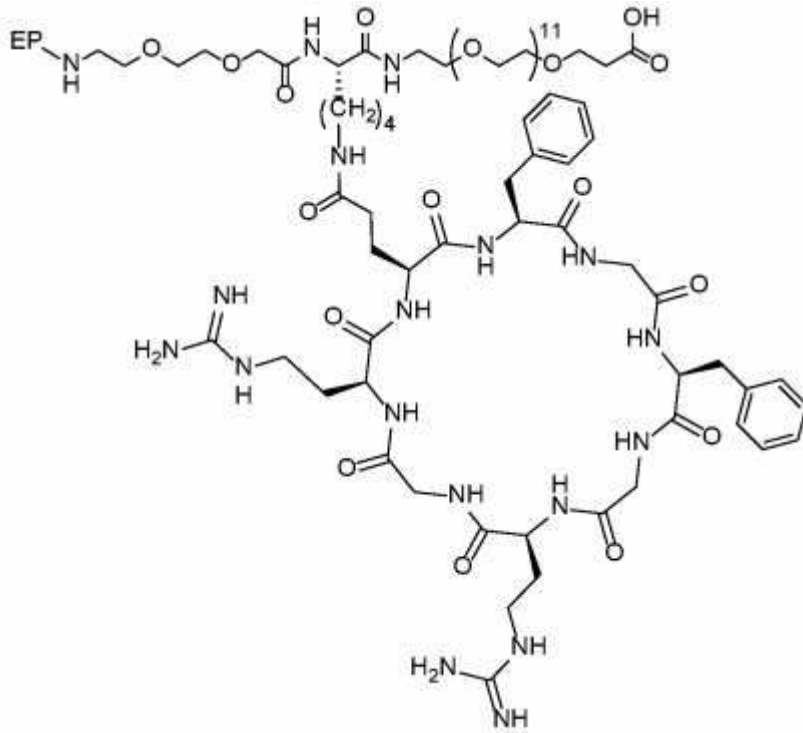
[1268] y 는 1 내지 5의 정수이고;

[1269] q 는 1 내지 4이고;

[1270] z' 은 1 내지 23의 정수임).

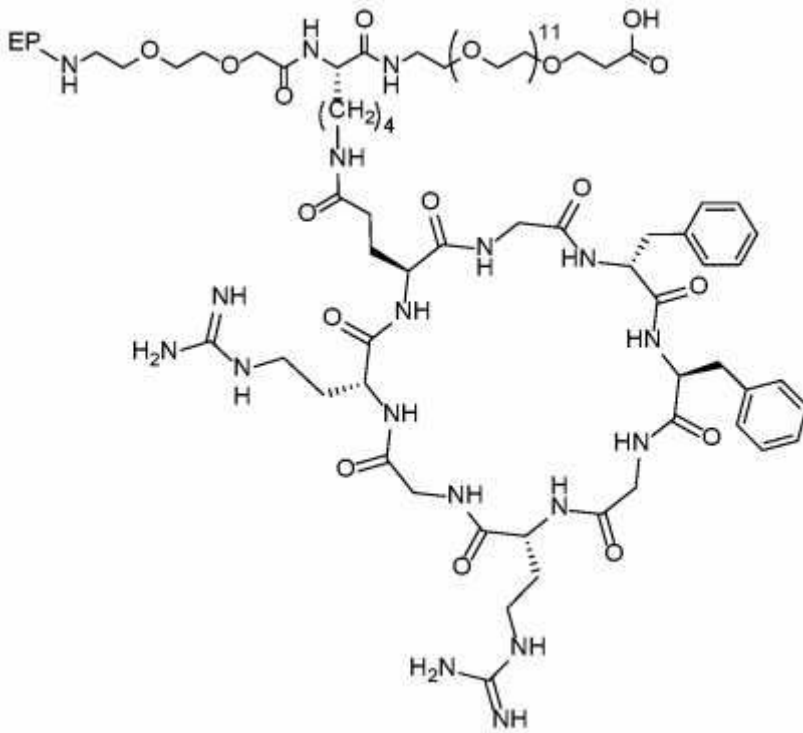
[1271] 실시 형태 43은, 실시 형태 41 또는 실시 형태 42에 있어서, 상기 사이클릭 펩티드는 화학식 (B-1) 내지 화학식 (B-4)의 사이클릭 펩티드인, EEV에 관한 것이다:

[1272] [화학식 (B-1)]



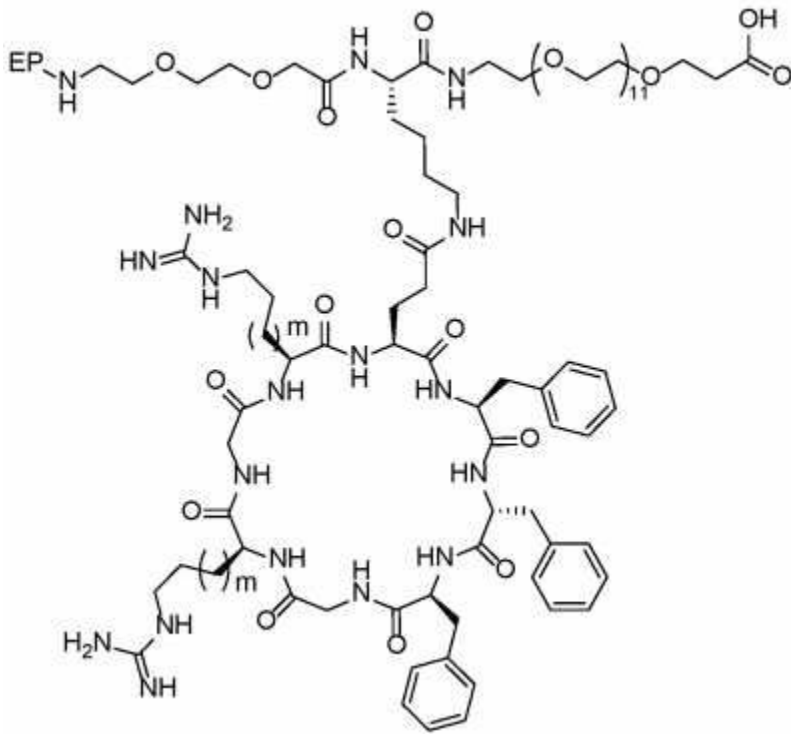
[1273]

[1274] [화학식 (B-2)]



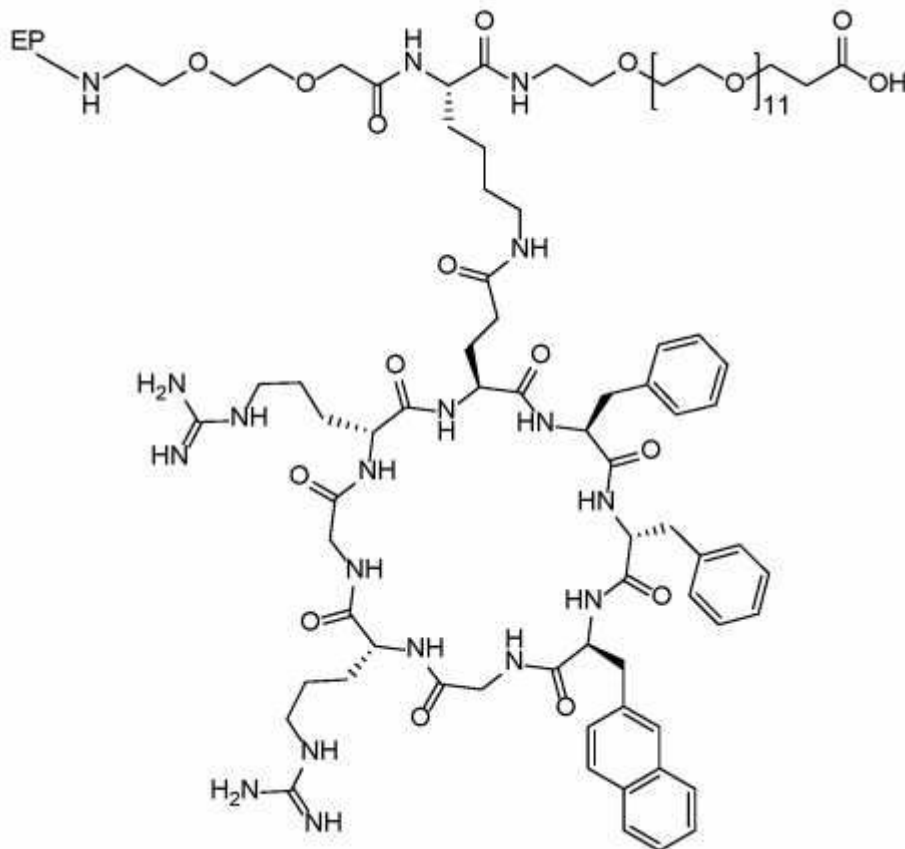
[1275]

[1276] [화학식 (B-3)]



[1277] , 또는

[1278] [화학식 (B-4)]



[1279]

[1280] 실시 형태 44는, 실시 형태 41 내지 실시 형태 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 2 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV에 관한 것이다.

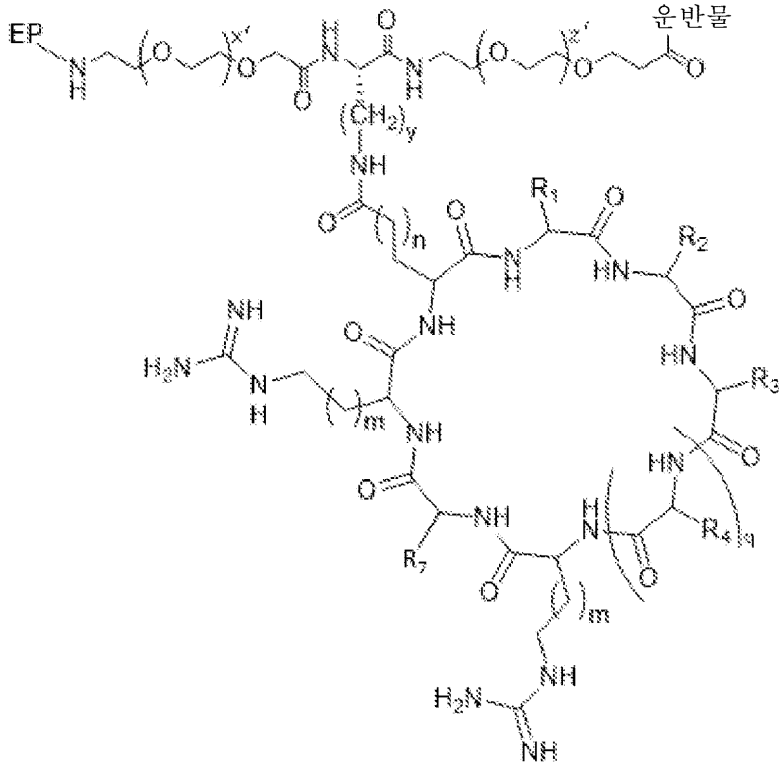
[1281] 실시 형태 45는, 실시 형태 41 내지 실시 형태 44 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 4 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV에 관한 것이다.

- [1282] 실시 형태 46은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 45 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염을 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1283] 실시 형태 47은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 46 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 2, 3, 또는 4 개의 라이신 잔기를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1284] 실시 형태 48은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 각각의 라이신 잔기의 측쇄 상의 아미노기는 트라이플루오로아세틸(-COCF₃), 알릴옥시카르보닐(Alloc), 1-(4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde), 또는 (4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥스-1-일리덴-3)-메틸부틸(ivDde) 기로 치환되는, EEV에 관한 것이다.
- [1285] 실시 형태 49는, 실시 형태 41 내지 실시 형태 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1286] 실시 형태 50은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 49 중 어느 하나에 있어서, 상기 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신, 및 메티오닌으로부터 선택되는, EEV에 관한 것이다.
- [1287] 실시 형태 51은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 KK, KR, RR, HH, HK, HR, RH, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKH, KHK, HKK, HRR, HRH, HHR, HBH, HHH, HHHH, KHKK, KKHK, KKKH, KHKH, HKHK, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, HBHBH, HBKBH, RRRRR, KKKKK, KKKRK, RKKKK, KRKKK, KKKKR, KBKKB, RKKKKG, KRKKKG, KKRKKG, KKKKRG, RKKKKB, KRKKKB, KKRKKB, KKKKRB, KKKRKV, RRRRRR, HHHHHH, RHRHRH, HRHRHR, KRKRKR, RKRKRK, RBRBRB, KBKBKB, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRK, PKKKGK, PKKKRGV 또는 PKKKRKG 중 하나를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1288] 실시 형태 52는, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH 중 하나를 포함하며, 여기서 B는 베타-알라닌인, EEV에 관한 것이다.
- [1289] 실시 형태 53은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, KKKKK, KKKRK, KBKKB, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRK, PKKKGK, PKKKRGV 또는 PKKKRKG 중 하나를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1290] 실시 형태 54는, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR, 또는 HBRBH 중 하나를 포함하며, 여기서 B는 베타-알라닌인, EEV에 관한 것이다.
- [1291] 실시 형태 55는, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 PKKKRKV를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1292] 실시 형태 56은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 Ac-PKKRKV 중 하나를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1293] 실시 형태 57은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, POPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKKRK, RKLKKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKSKK 또는 RKCLQAGMNLEARKTKK 중 하나를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1294] 실시 형태 58은, 실시 형태 41 내지 실시 형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 고리의 펩티드는 서열 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, POPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKKRK, RKLKKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKSKK 또는 RKCLQAGMNLEARKTKK 중 하나를 포함하는, EEV에 관한 것이다.
- [1295] 실시 형태 59는 운반물 모이어티에 접합된 실시 형태 41 내지 실시 형태 58 중 어느 하나의 EEV를 포함하는 화합물에 관한 것으로, 상기 EEV의 말단 카복실산 기의 -OH가 상기 운반물 모이어티로 대체된다.

[1296] 실시 형태 60은, 실시 형태 59에 있어서, 상기 운반물 모이어티는 소분자, 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 단백질, 항체 또는 이들의 유도체인, 화합물에 관한 것이다.

[1297] 실시 형태 61은, 실시 형태 59 또는 실시 형태 60에 있어서, 상기 화합물은 화학식 (C)의 화합물 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염인, 화합물에 관한 것이다:

[1298] [화학식 (C)]



[1299] (상기 식에서,

[1301] $R_1, R_2,$ 및 R_3 은 각각 독립적으로 H, 또는 아릴 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 측쇄이며, 여기서 $R_1, R_2,$ 및 R_3 중 적어도 하나는 아릴 또는 헤테로아릴 기를 포함하는 측쇄이고;

[1302] R_4 및 R_7 은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[1303] EP는 고리의 펩티드이고;

[1304] 각각의 m 은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

[1305] n 은 0 내지 2의 정수이고;

[1306] x' 은 1 내지 23의 정수이고;

[1307] y 는 1 내지 5의 정수이고;

[1308] q 는 1 내지 4의 정수이고;

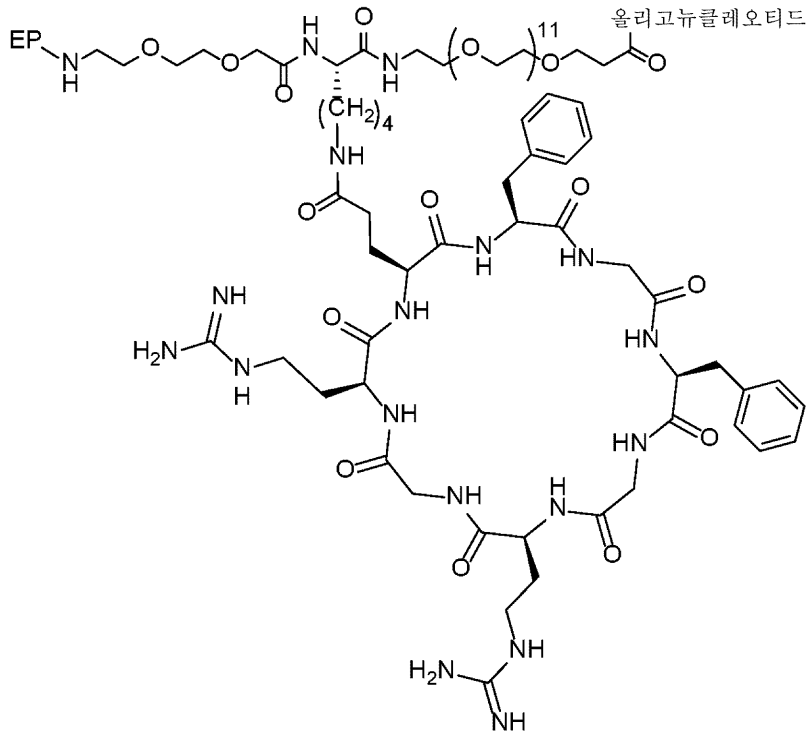
[1309] z' 은 1 내지 23의 정수임).

[1310] 실시 형태 62는, 실시 형태 61에 있어서, $R_1, R_2,$ 및 R_3 은 H, 또는 아릴 기를 포함하는 측쇄인, 화합물에 관한 것이다.

[1311] 실시 형태 63은, 실시 형태 61 또는 실시 형태 62에 있어서, 상기 아릴 기를 포함하는 측쇄는 페닐알라닌의 측쇄인, 화합물에 관한 것이다.

[1312] 실시 형태 64는, 실시 형태 61 내지 실시 형태 63 중 어느 하나에 있어서, $R_1, R_2,$ 및 R_3 중 2개는 페닐알라닌의 측쇄인, 화합물에 관한 것이다.

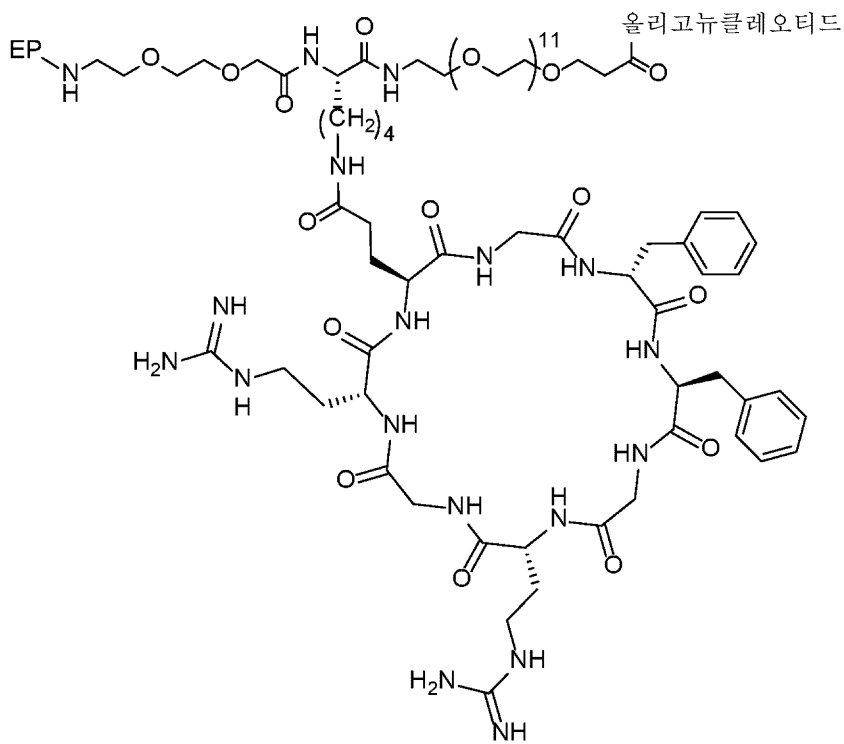
- [1313] 실시 형태 65는, 실시 형태 61 내지 실시 형태 64 중 어느 하나에 있어서, R_1 , R_2 , R_3 , 및 R_4 중 2개는 H인, 화합물에 관한 것이다.
- [1314] 실시 형태 66은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 65 중 어느 하나에 있어서, z' 은 11인, 화합물에 관한 것이다.
- [1315] 실시 형태 67은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 66 중 어느 하나에 있어서, x' 은 1인, 화합물에 관한 것이다.
- [1316] 실시 형태 68은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 67 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 2 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1317] 실시 형태 69는, 실시 형태 61 내지 실시 형태 68 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 4 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1318] 실시 형태 70은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 69 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 구아니딘 기 또는 이의 양성자화된 형태 또는 염을 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1319] 실시 형태 71은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 70 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 적어도 1개의 라이신 잔기를 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1320] 실시 형태 72는, 실시 형태 61 내지 실시 형태 71 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 2, 3, 또는 4개의 라이신 잔기를 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1321] 실시 형태 73은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 72 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산을 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1322] 실시 형태 74는, 실시 형태 61 내지 실시 형태 73 중 어느 하나에 있어서, 상기 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신, 및 메티오닌 잔기로부터 선택되는, 화합물에 관한 것이다.
- [1323] 실시 형태 75는, 실시 형태 61 내지 실시 형태 74 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 서열 PKKKRKV; KR; RR; KKK; KGK; KBK; KBR; KRK; KRR; RKK; RRR; KKKK; KKRK; KRKK; KRRK; RKKR; RRRR; KGKK; KKGK; KKKKK; KKKRK; KBKKBK; KKKRKV; PGKKRKV; PKGKRKV; PKKGRKV; PKKKGKV; PKKKRGV; 또는 PKKKRKG 중 하나를 포함하는, 화합물에 관한 것이다.
- [1324] 실시 형태 76은, 실시 형태 62 내지 실시 형태 75 중 어느 하나에 있어서, 상기 EP는 구조 Ac-PKKKRKV를 갖는, 화합물에 관한 것이다.
- [1325] 실시 형태 77은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 76 중 어느 하나에 있어서, 상기 EEV는 올리고뉴클레오티드, 펩티드 및 소분자로부터 선택되는 치료용 모이어티를 포함하는 운반물 모이어티에 접합되는, 화합물에 관한 것이다.
- [1326] 실시 형태 78은, 실시 형태 61 내지 실시 형태 77 중 어느 하나에 있어서, 화학식 (C-1), 화학식 (C-2), 화학식 (C-3), 또는 화학식 (C-4)의 구조 또는 이들의 양성자화된 형태 또는 염을 포함하는, 화합물에 관한 것이다:
- [1327] [화학식 (C-1)]



[1328]

[1329] [화학식 (C-2)]

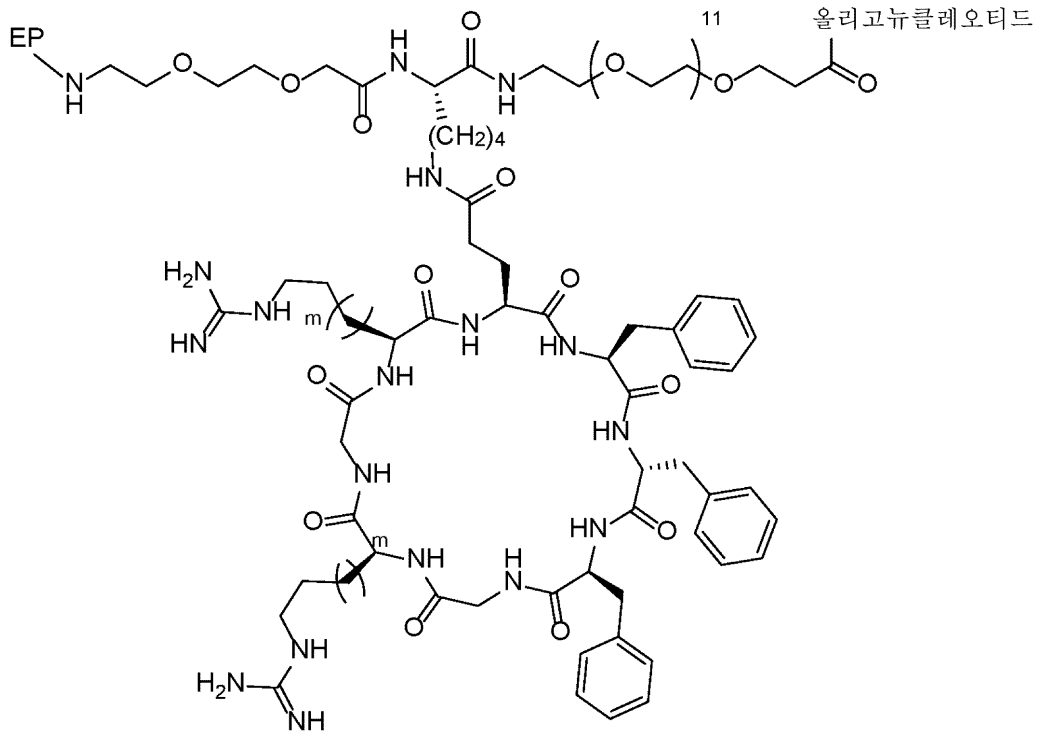
[1329]



[1330]

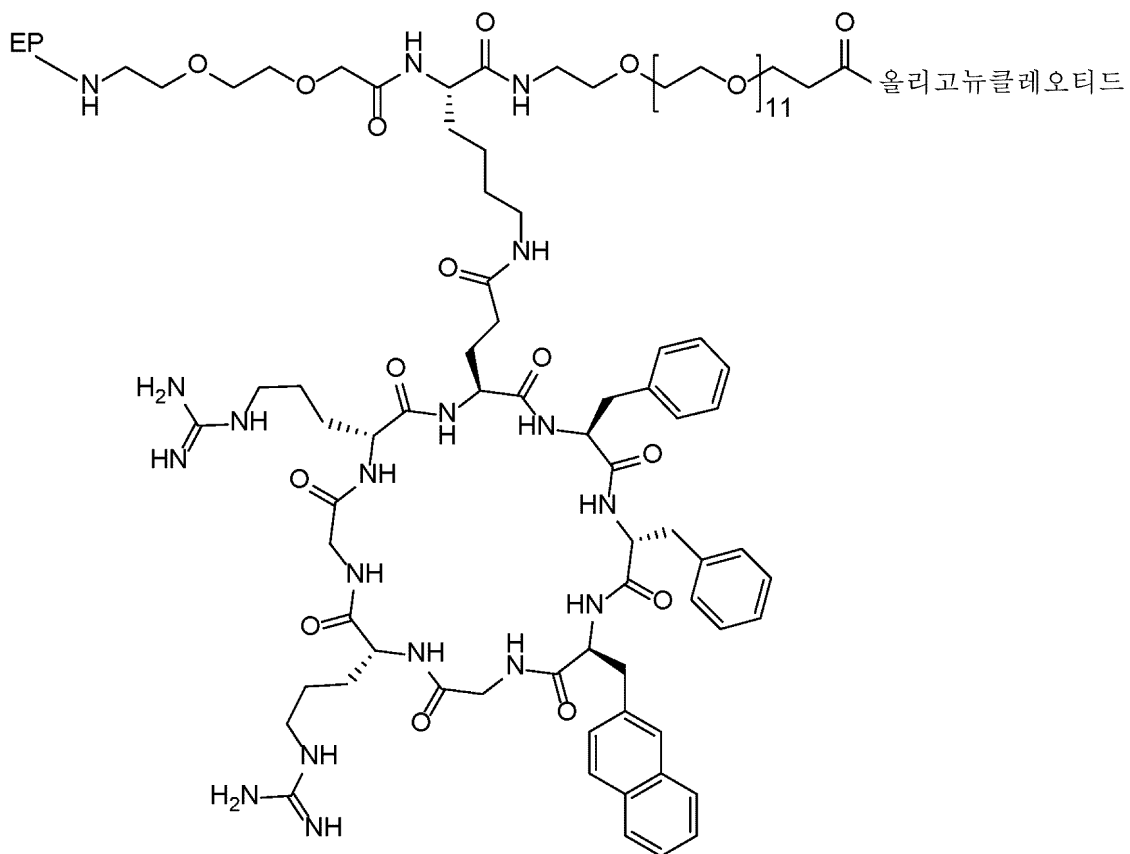
[1331] [화학식 (C-3)]

[1331]



[1332]

[1333] [화학식 (C-4)]



[1334]

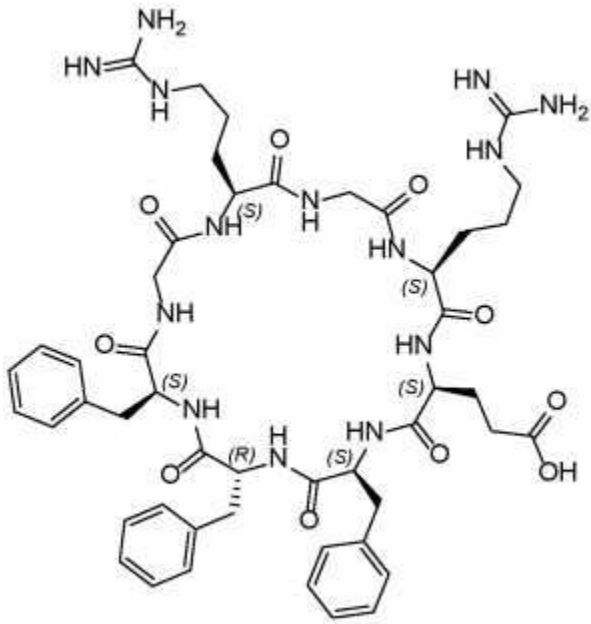
[1335] 실시 형태 79는 하기 화학식의 화합물에 관한 것이다:

[1336] Ac-PKKKRKVAEEAK(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH, 또는

[1337] Ac-PKKKRKVAEEAK(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH.

[1338] 실시 형태 80은 운반물, 링커 및 사이클릭 펩티드에 관한 것이며, 상기 사이클릭 펩티드는 하기 화학식을 갖는

다:

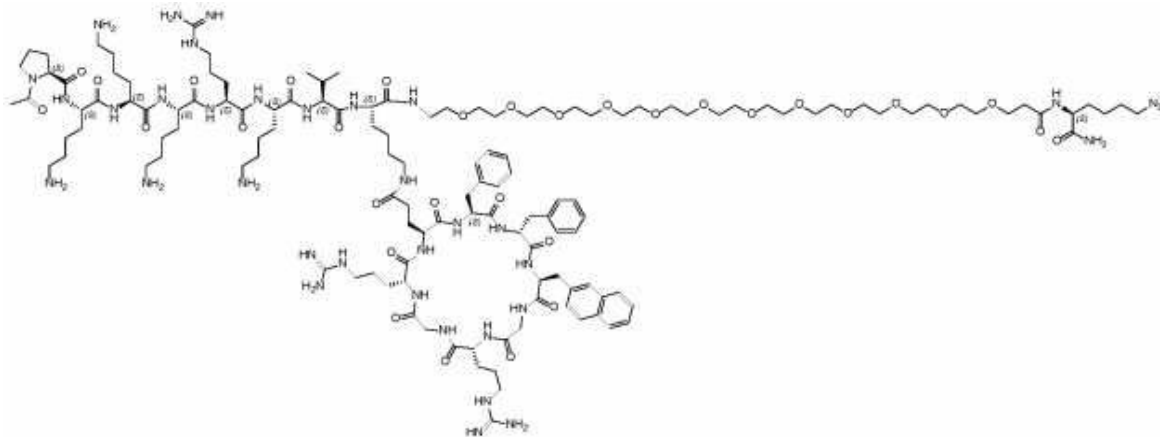


[1339]

[1340] 실시 형태 81은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:

[1341] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(FfFGRGRQ))-미니PEG2-K(N3).

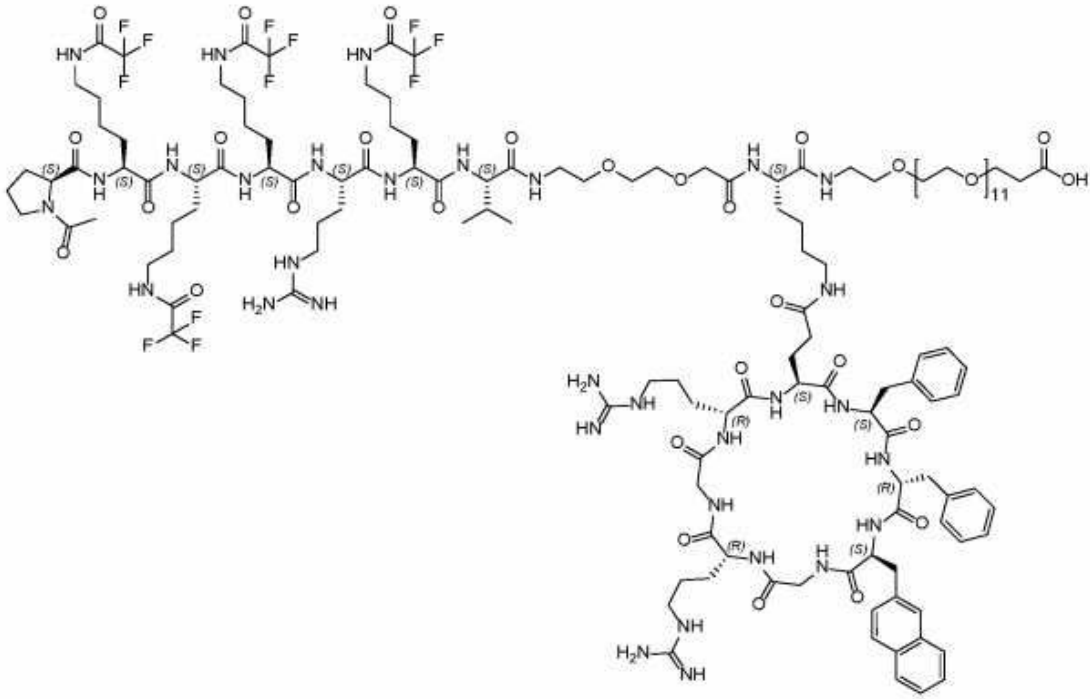
[1342] 실시 형태 82는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1343]

Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Nal-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gly-Gln])-PEG12-Lys(아지도)-NH₂ ; Ac-

[1344] 실시 형태 83은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:

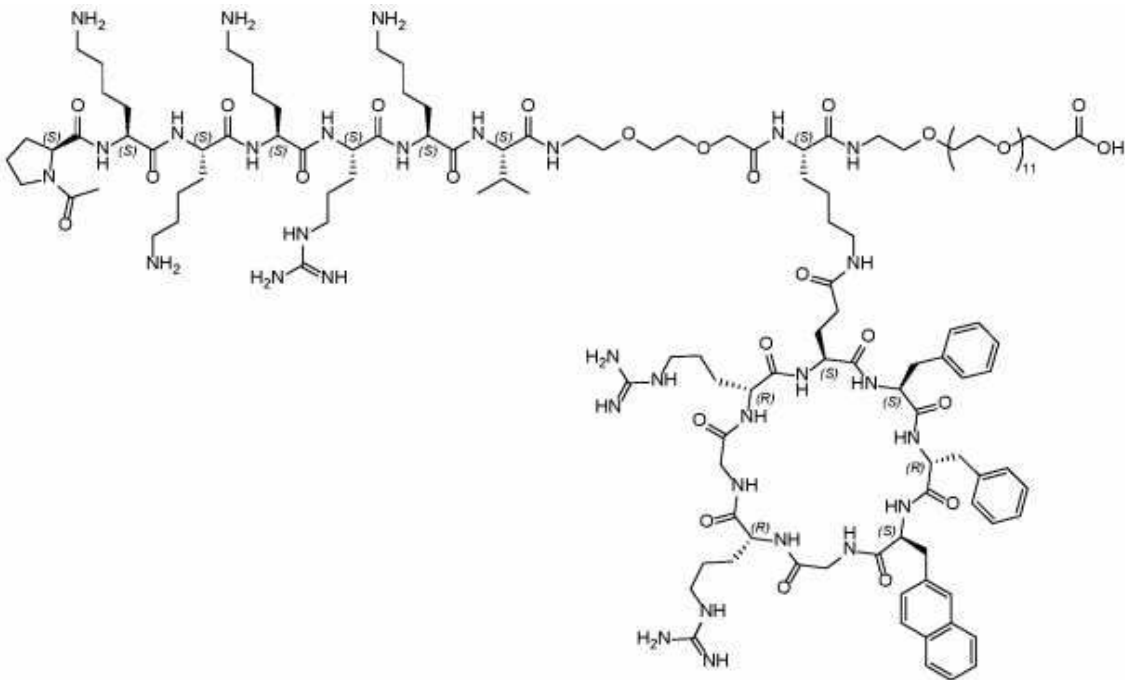


[1345]

[1346] 실시 형태 84는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:

[1347] Ac-P-K(Tfa)-K(Tfa)-K(Tfa)-R-K(Tfa)-V-미니PEG-K(사이클로(Ff-NaI-GrGrQ))-PEG12-OH.

[1348] 실시 형태 85는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:

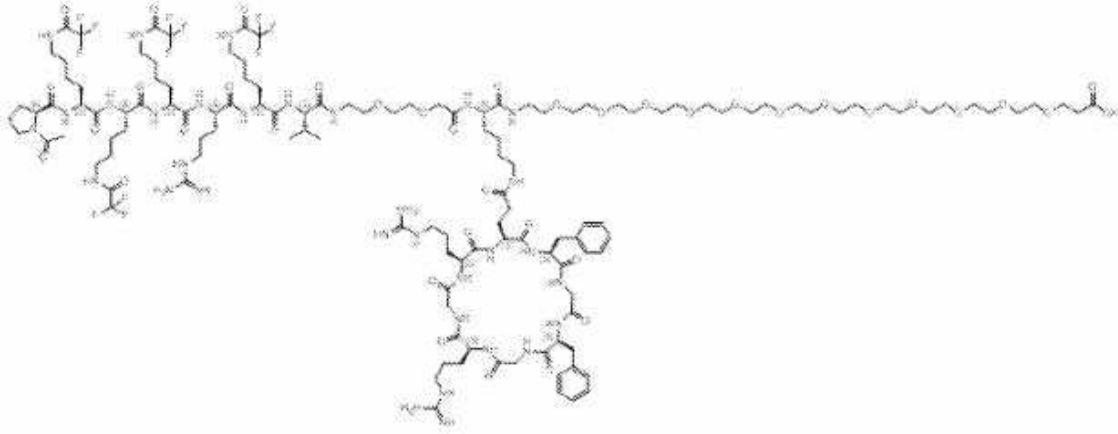


[1349]

[1350] 실시 형태 86은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:

[1351] Ac-P-K-K-K-R-K-V-미니PEG-K(사이클로(Ff-NaI-GrGrQ))-PEG12-OH.

[1352] 실시 형태 87은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1353]

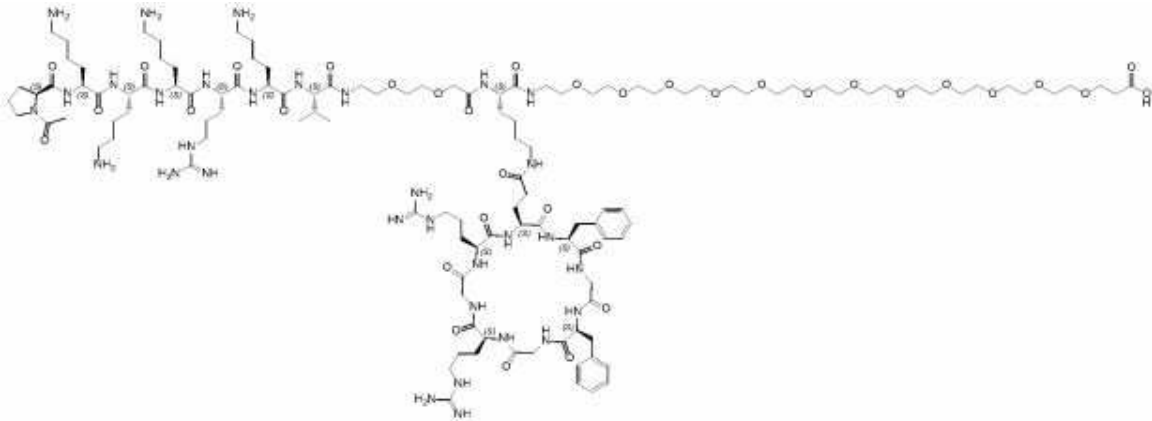
;

[1354]

아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Gly-Arg-Gln])-PEG12-OH

[1355]

실시 형태 88은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1356]

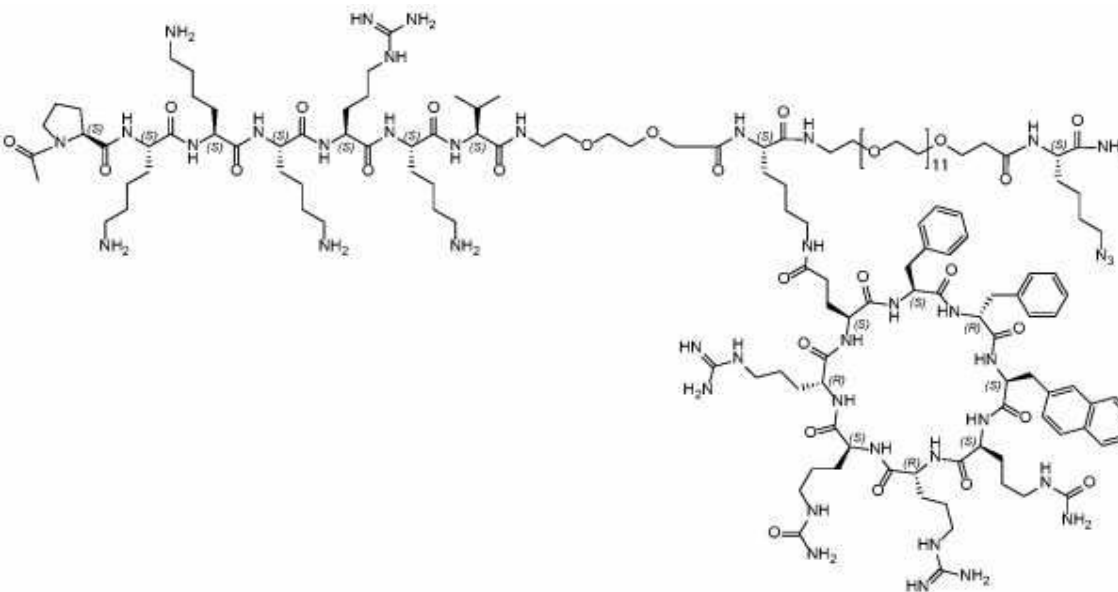
;

[1357]

아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Gly-Arg-Gln])-PEG12-OH

[1358]

실시 형태 89는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



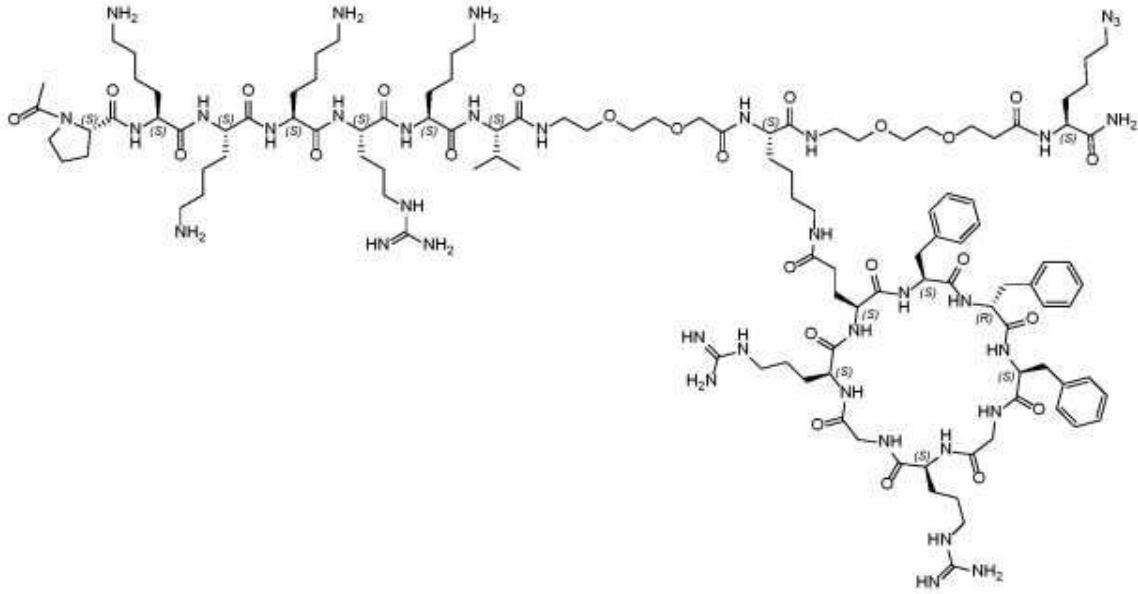
[1359]

;

[1360]

Ac-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Nal-Cit-D-Arg-Cit-D-Arg-Gln])-PEG12-Lys(아지도)-NH₂

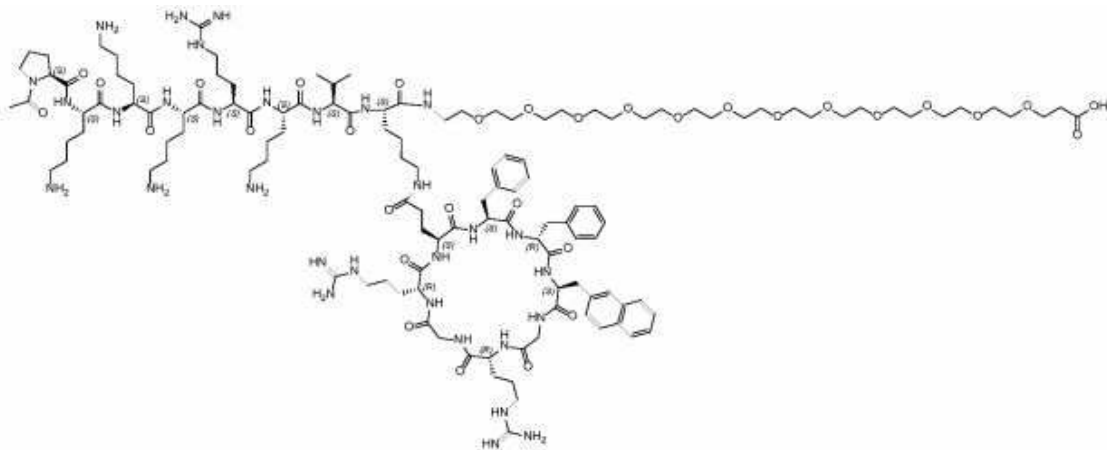
[1361] 실시 형태 90은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1362]

[1363] 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Phe-Gly-Arg-Gly-Arg-Gln])-AEEA-Lys(아지도)-NH₂.

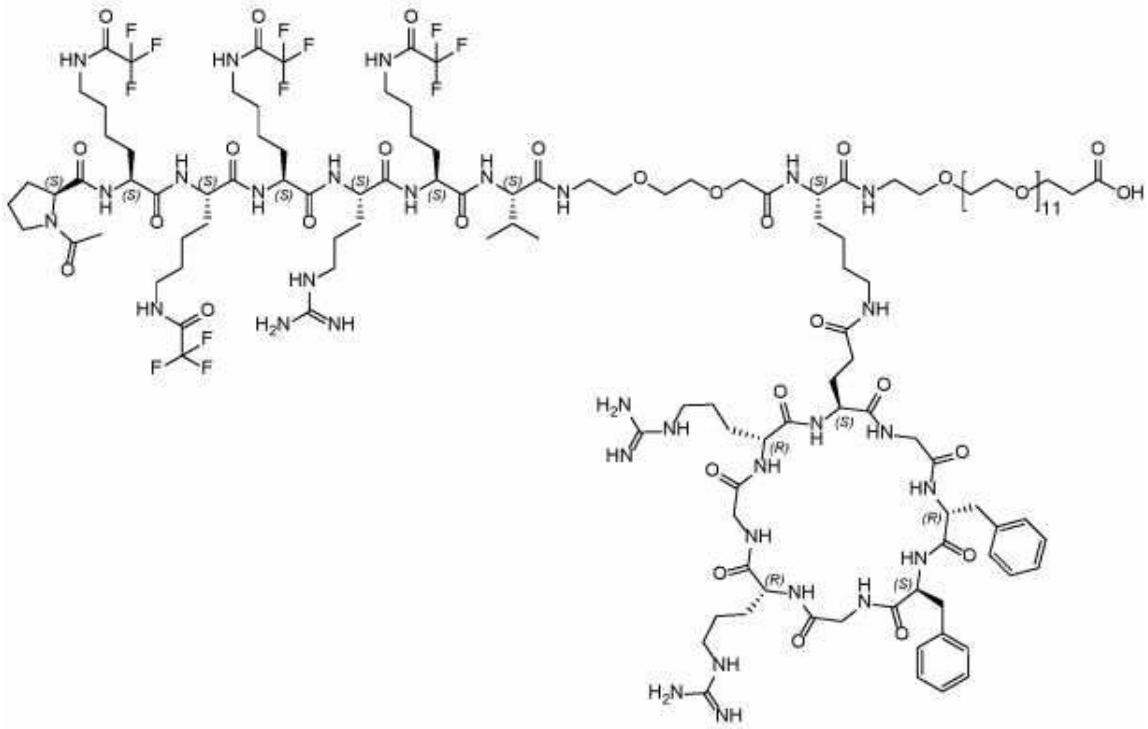
[1364] 실시 형태 91은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1365]

[1366] 아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-D-Phe-Nal-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gln])-PEG12-OH

[1367] 실시 형태 92는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



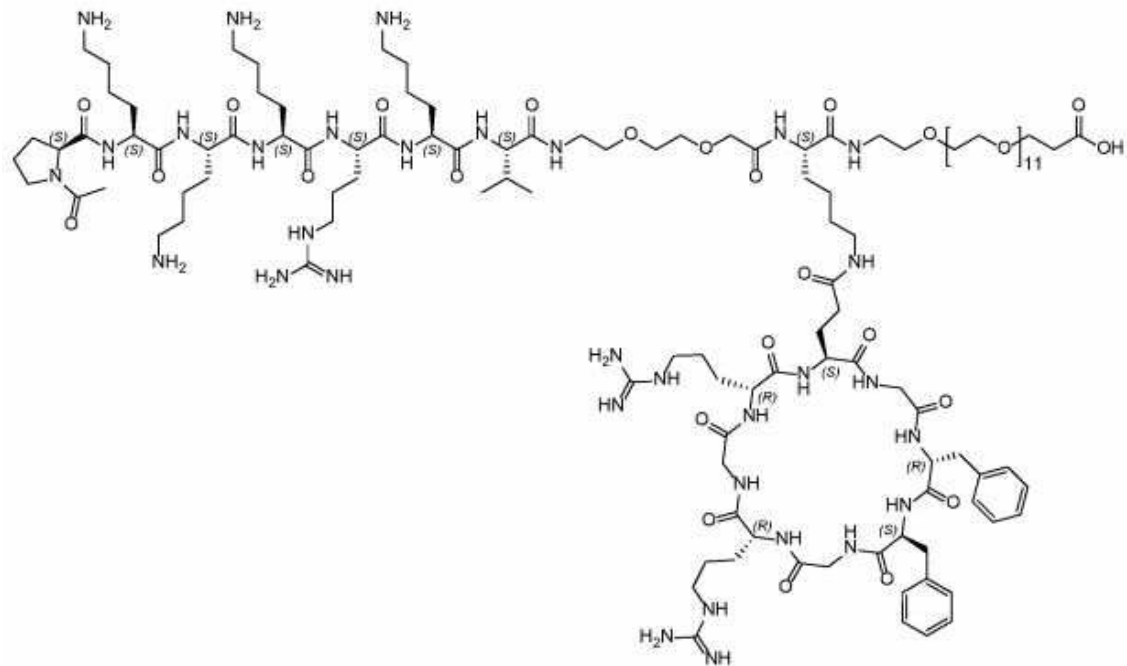
[1368]

[1369]

아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Gly-D-Phe-Phe-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gln])-PEG12-OH

[1370]

실시 형태 93은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



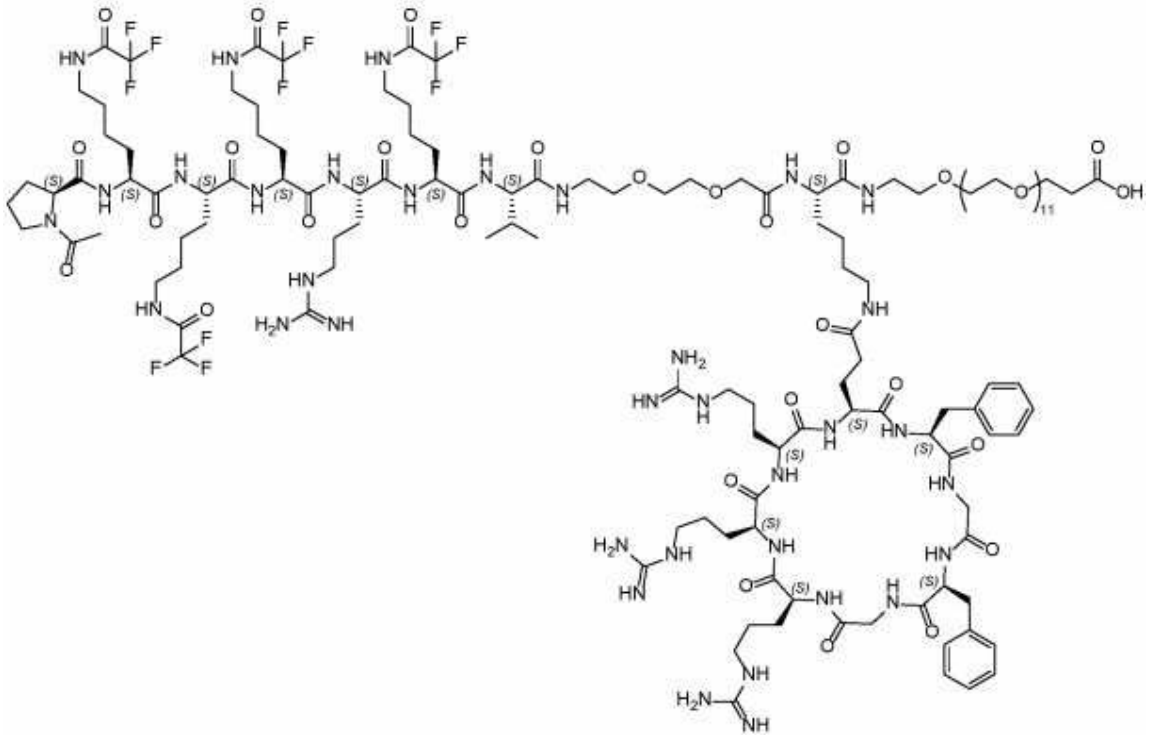
[1371]

[1372]

아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Gly-D-Phe-Phe-Gly-D-Arg-Gly-D-Arg-Gln])-PEG12-OH

[1373]

실시 형태 94는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



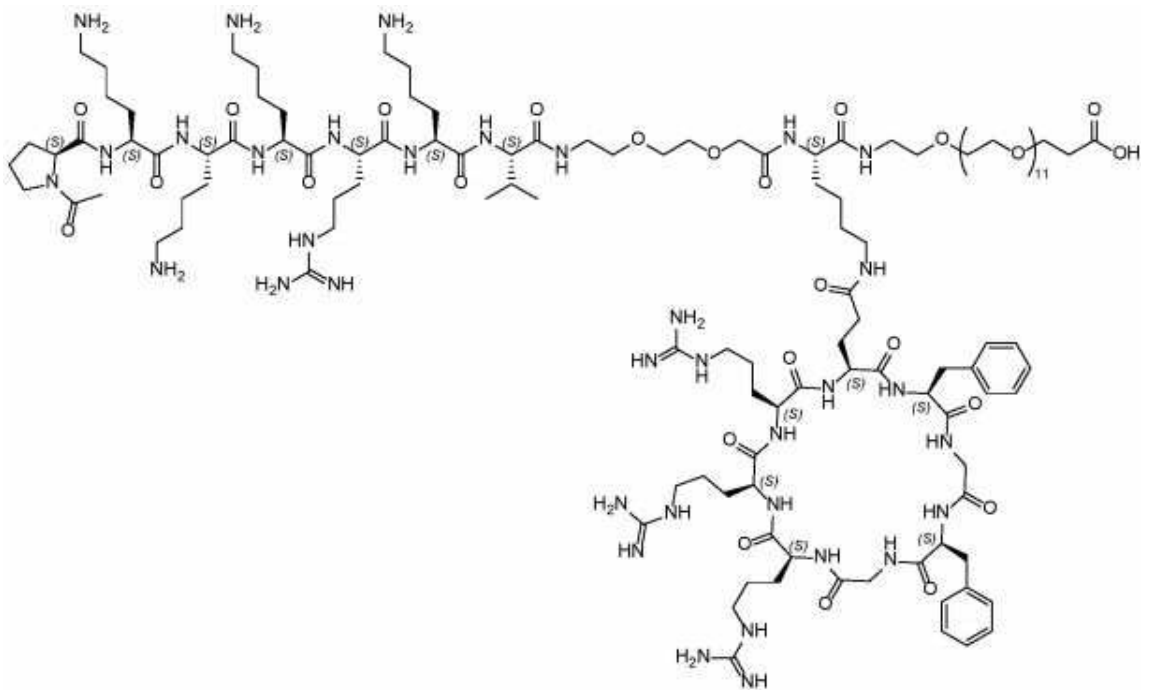
[1374]

[1375]

아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

[1376]

실시 형태 95는 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



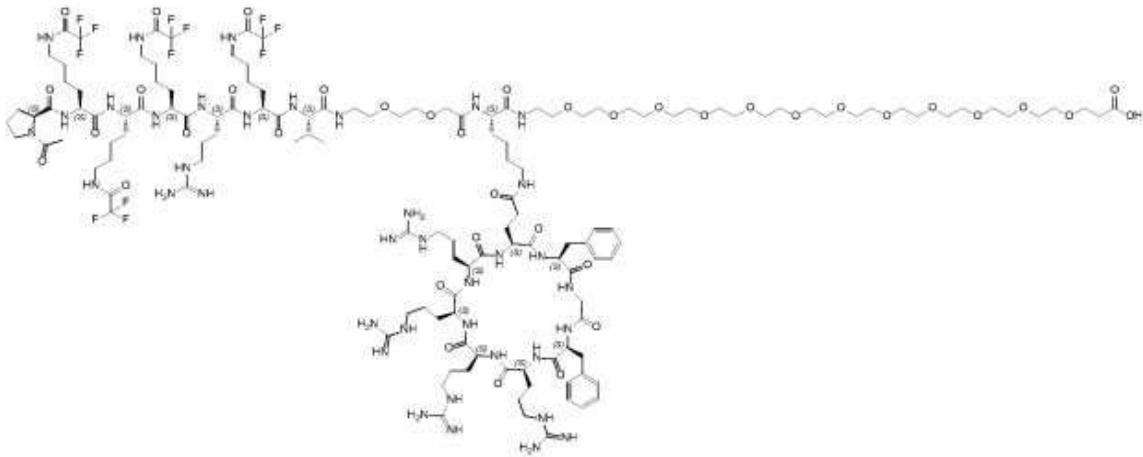
[1377]

[1378]

아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Gly-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

[1379]

실시 형태 96은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1380]

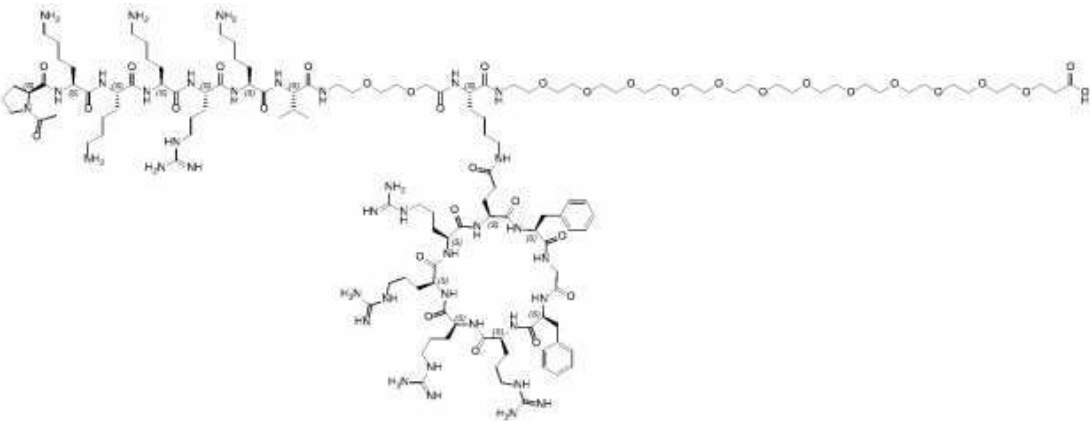
;

[1381]

아세틸-Pro-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Lys(Tfa)-Arg-Lys(Tfa)-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Arg-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

[1382]

실시 형태 97은 하기 화학식의 EEV에 관한 것이다:



[1383]

;

[1384]

아세틸-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-AEEA-Lys(사이클로[Phe-Gly-Phe-Arg-Arg-Arg-Gln])-PEG12-OH.

[1385]

실시 형태 98은 하기로부터 선택되는 EEV에 관한 것이다:

[1386]

Ac-rr-미니PEG2-Dap[사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)]-PEG12-OH

[1387]

Ac-frr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1388]

Ac-rfr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1389]

Ac-rfbfr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1390]

Ac-rrr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1391]

Ac-rbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1392]

Ac-rbrbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1393]

Ac-hh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1394]

Ac-hbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1395]

Ac-hbhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1396]

Ac-rbhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1397]

Ac-hbrbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[1398]

Ac-rr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

- [1399] Ac-frr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1400] Ac-rfr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1401] Ac-rbfbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1402] Ac-rrr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1403] Ac-rbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1404] Ac-rbrbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1405] Ac-hh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1406] Ac-hbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1407] Ac-hbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1408] Ac-rhbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1409] Ac-hrbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH
- [1410] Ac-KKKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1411] Ac-KGKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1412] Ac-KK GK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1413] Ac-KKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1414] Ac-KK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1415] Ac-KGK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1416] Ac-KBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1417] Ac-KBKBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1418] Ac-KR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1419] Ac-KBR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1420] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1421] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1422] Ac-PGKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1423] Ac-PKGKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1424] Ac-PKKGRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1425] Ac-PKKKGKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1426] Ac-PKKKRGV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1427] Ac-PKKKRKG-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1428] Ac-KKKRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2
- [1429] Ac-KK RK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2 및
- [1430] Ac-KRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2.

[1431] 실시 형태 99는 하기로부터 선택되는 EEV에 관한 것이다:

Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-G-r-G-rQ])-PEG12-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRQ))-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-KR-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKGKV-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKG-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-KKKRK-PEG2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[FFΦGRGRQ])-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[βhF-fΦGrGrQ])-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로[FfΦSrSrQ])-미니 PEG2-K(N3)-NH ₂

및

[1432]

[1433] 실시 형태 100은 하기로부터 선택되는 EEV에 관한 것이다:

Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(GfF-GrGrQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFKRKRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFRGRGQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRGRGRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFGRrRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFRRRQ))-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-미니 PEG2-Lys(사이클로(FGFRRRRQ))-PEG12-OH

및

[1434]

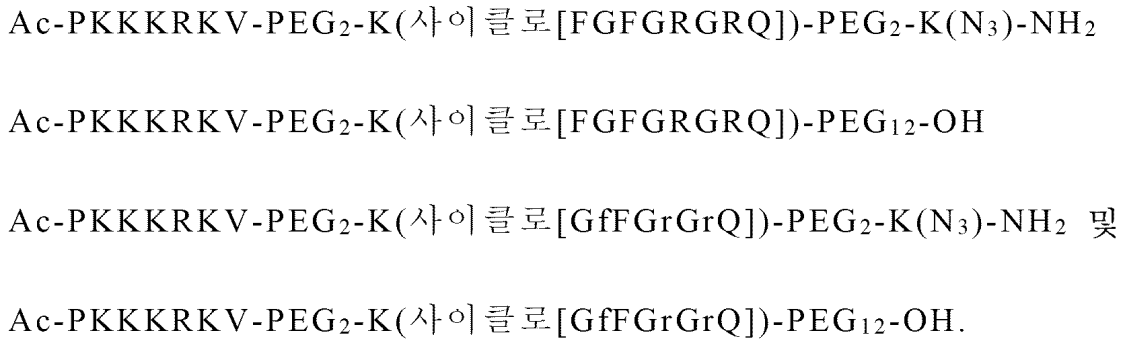
[1435] 실시 형태 101은 하기로부터 선택되는 EEV에 관한 것이다:



및

[1436]

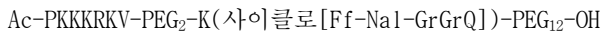
[1437] 실시 형태 102는 하기로부터 선택되는 EEV에 관한 것이다:



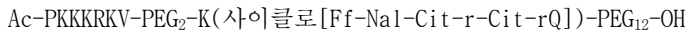
[1438]

[1439] 실시 형태 103은 운반물에 관한 것으로, 상기 운반물은 단백질이고, EEV는 하기로부터 선택된다:

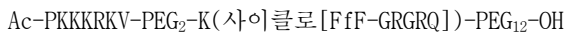
[1440]



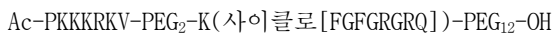
[1441]



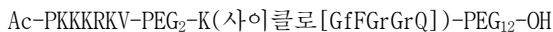
[1442]



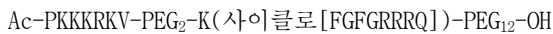
[1443]



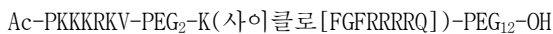
[1444]



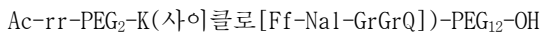
[1445]



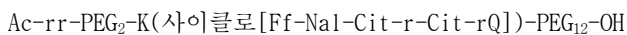
[1446]



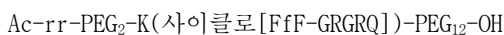
[1447]



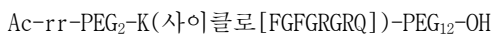
[1448]



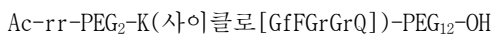
[1449]



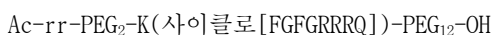
[1450]



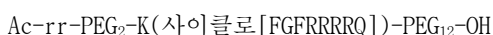
[1451]



[1452]



[1453]

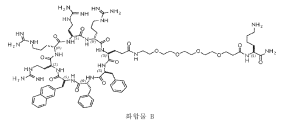
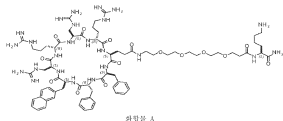


- [1454] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1455] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [1456] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1457] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1458] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1459] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1460] Ac-rrr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1461] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1462] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [1463] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1464] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1465] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1466] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1467] Ac-rhr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1468] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1469] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [1470] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1471] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1472] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1473] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1474] Ac-rbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1475] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1476] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [1477] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1478] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1479] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1480] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1481] Ac-rbrbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1482] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1483] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[Ff-Nal-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH

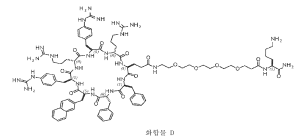
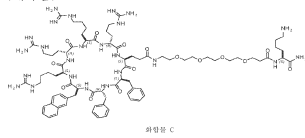
- [1484] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1485] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1486] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1487] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1488] Ac-rbhbr-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1489] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[Ff-NaI-GrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1490] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[Ff-NaI-Cit-r-Cit-rQ])-PEG₁₂-OH
- [1491] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FfF-GRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1492] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG₁₂-OH
- [1493] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG₁₂-OH
- [1494] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG₁₂-OH
- [1495] Ac-hbrbh-PEG₂-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG₁₂-OH

도면

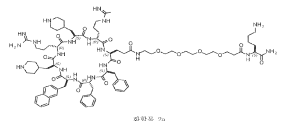
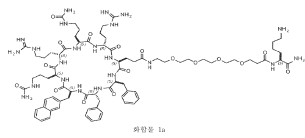
도면1



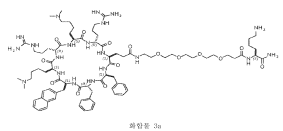
(계속됨)



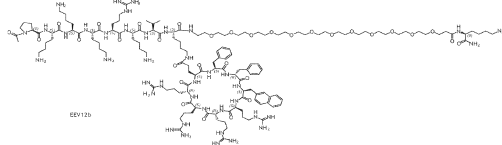
(계속됨)



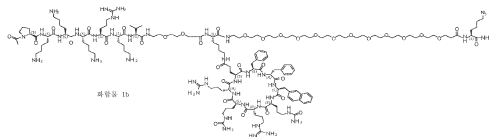
(계속됨)



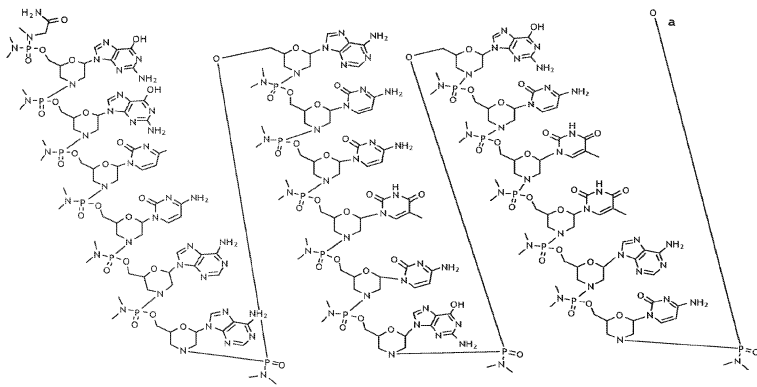
(계속됨)



(계속됨)

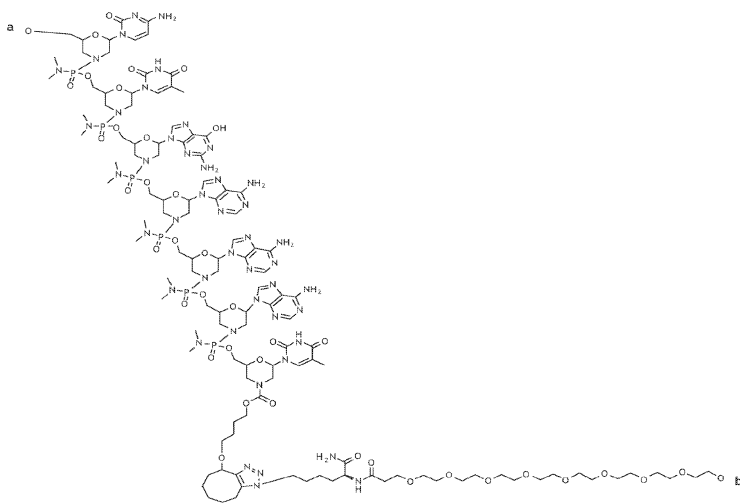


도면2

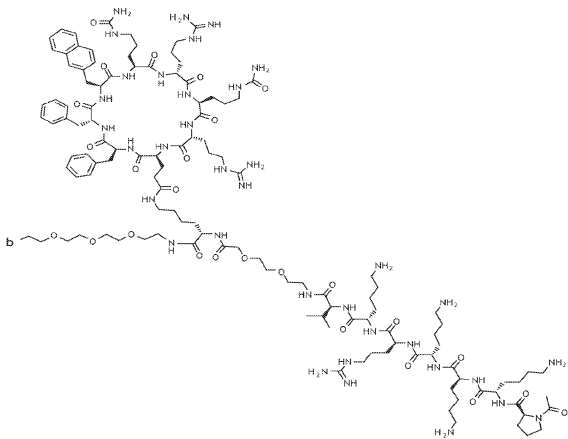


EEV-PMO-MDX-2

(계속됨)

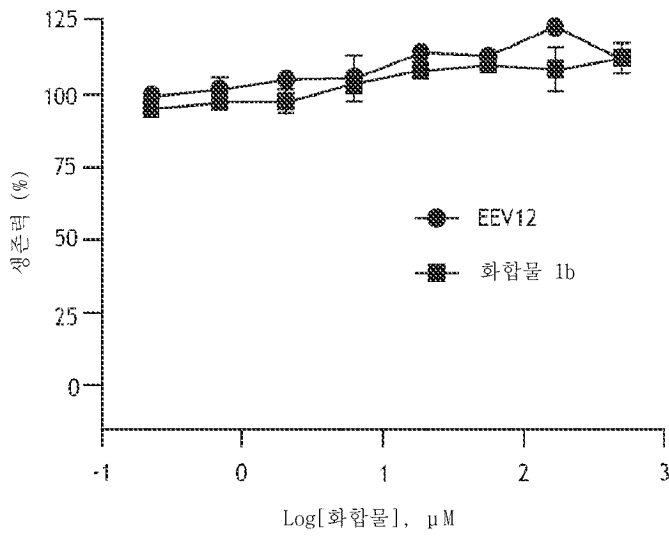


(계속됨)



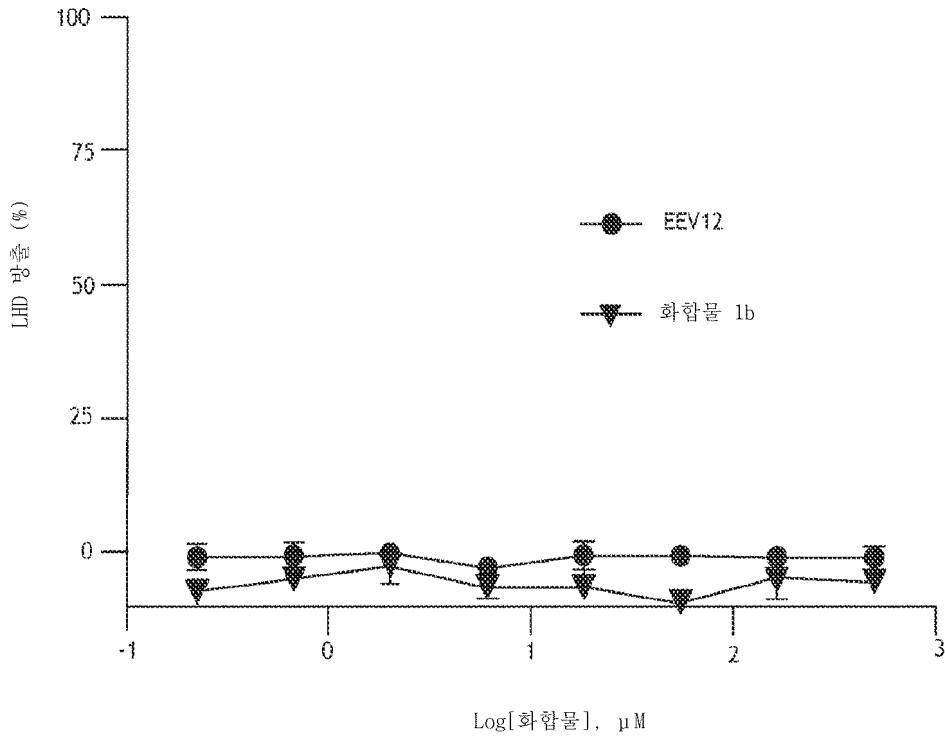
도면3

인간 WI38 섬유아세포, 10% FBS, 24 h - CTG



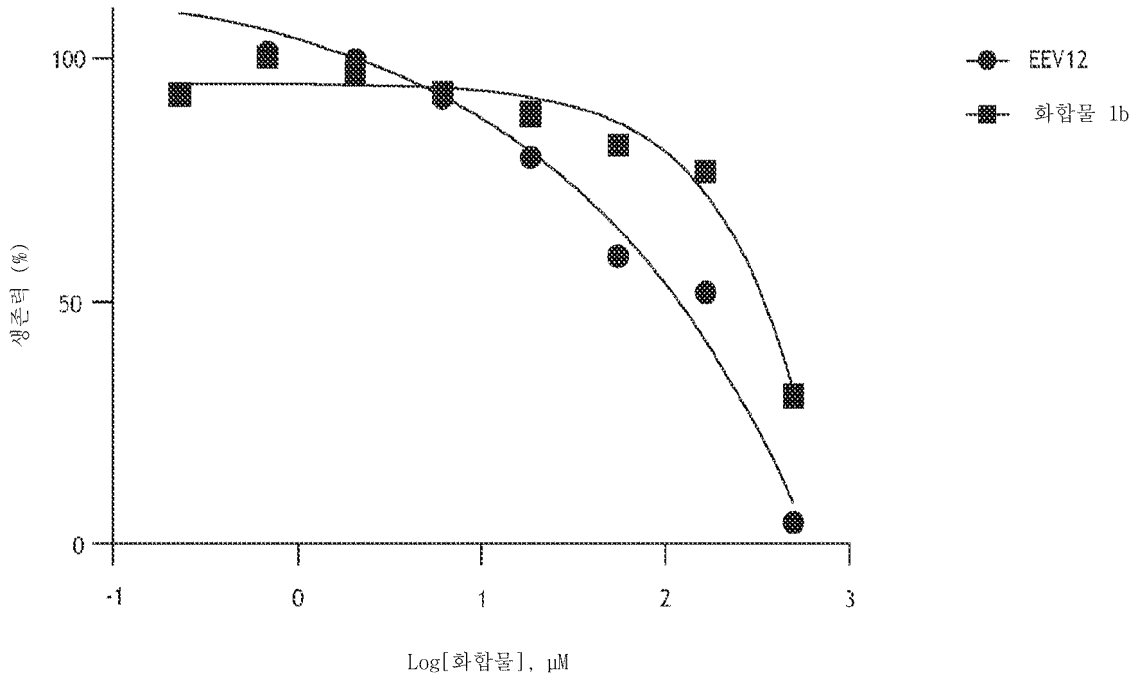
도면4

인간 WI38 섬유아세포, 10% FBS, 1 H, LDH



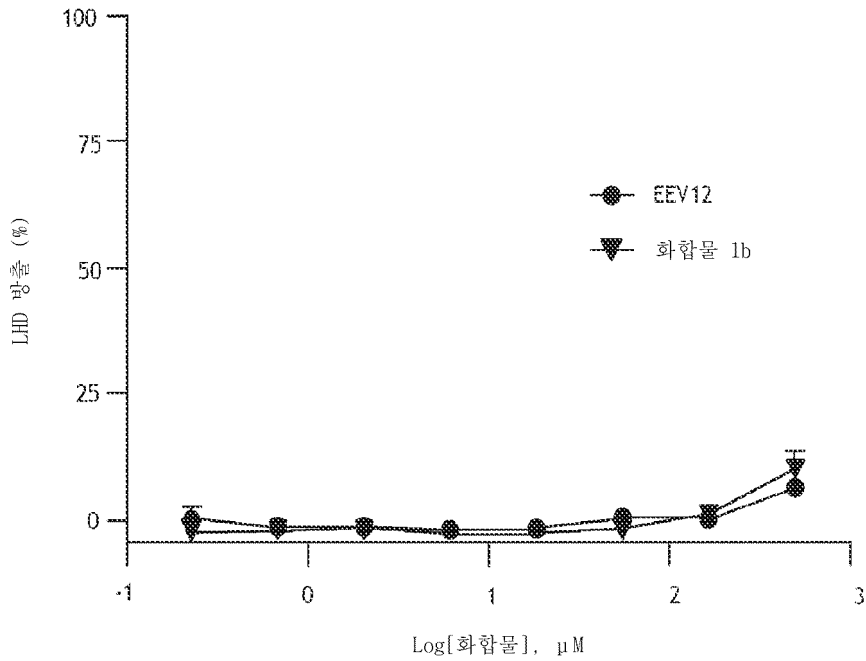
도면5

인간 1차 신장 근위 요세관 상피 세포, 10% FBS, 24 h - CyQuant

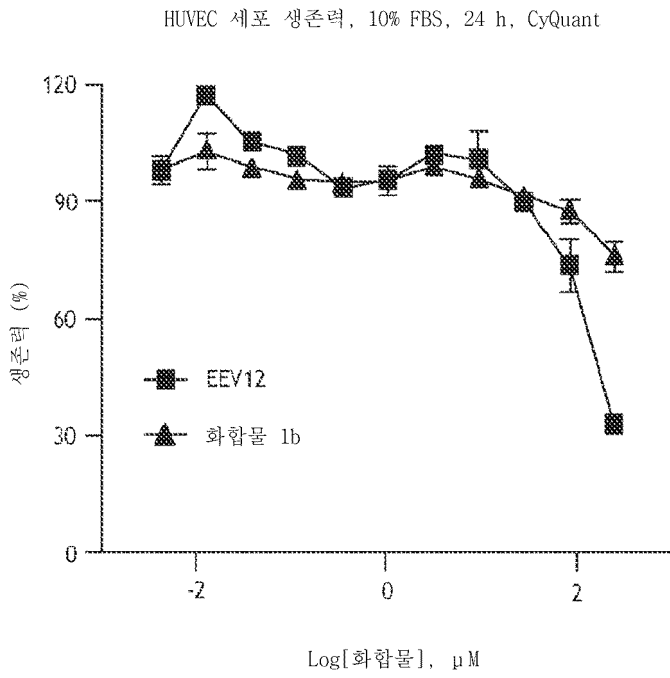


도면6

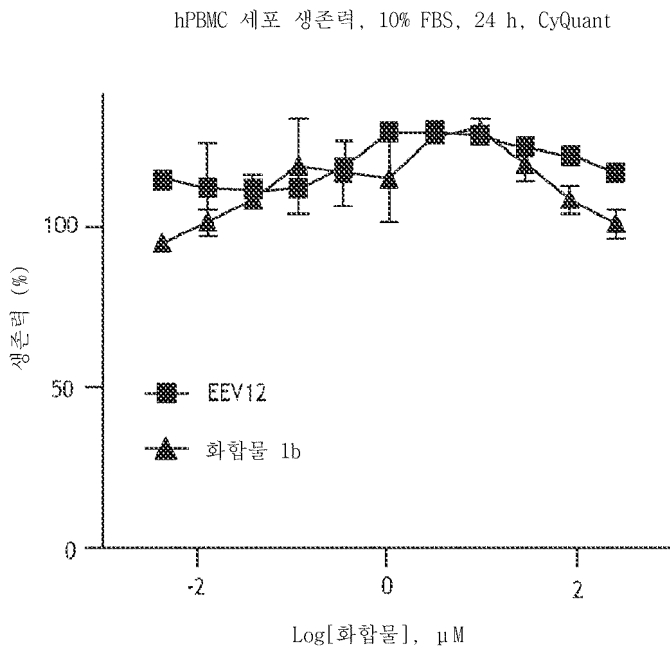
인간 1차 신장 근위 요세관 상피 세포, 10% FBS, 1 h, LDH



도면7

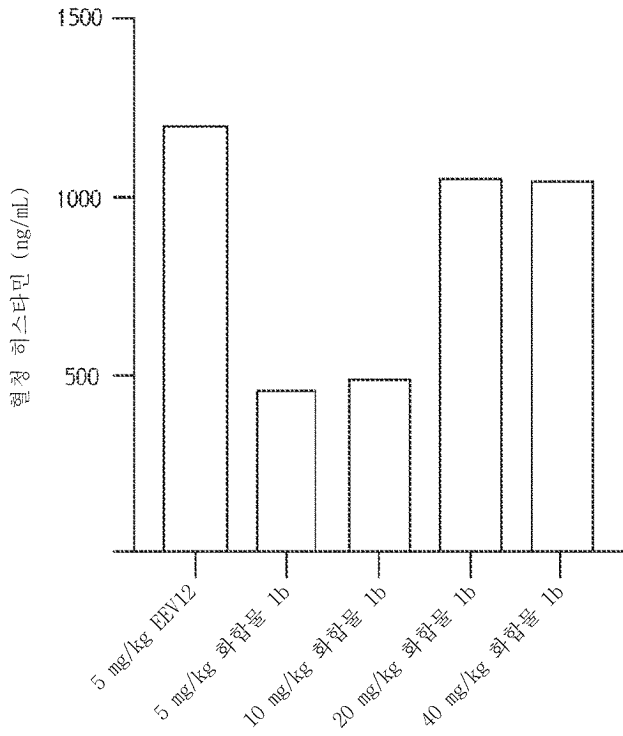


도면8

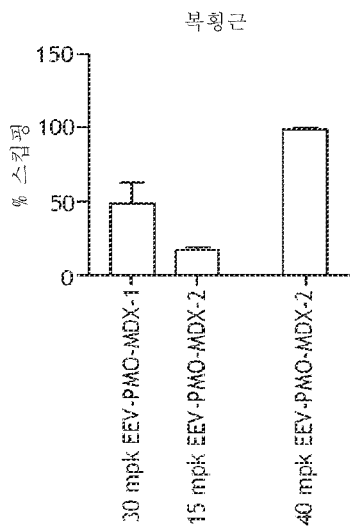


도면9

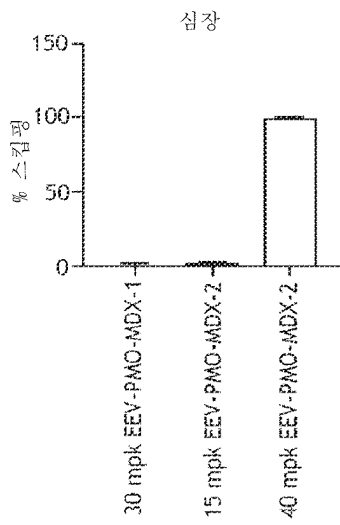
15분 혈청 히스타민, LC/MS에 의한 BL/6 정량화



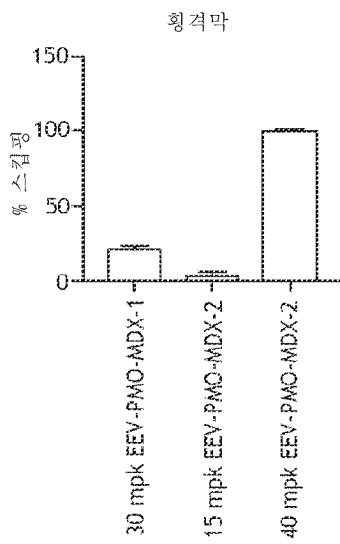
도면10a



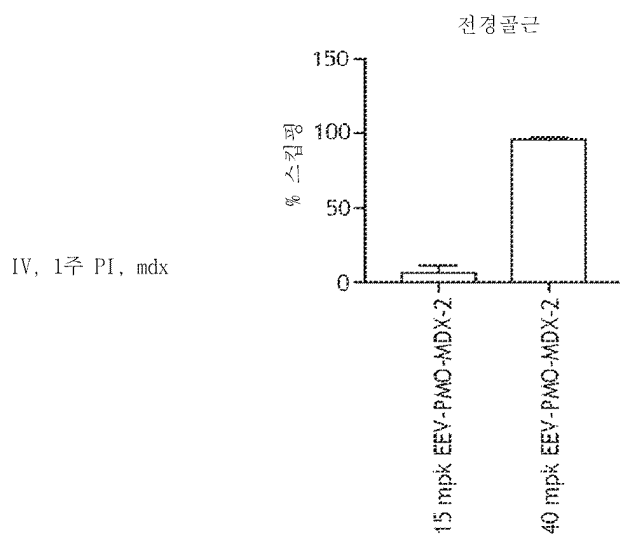
도면10b



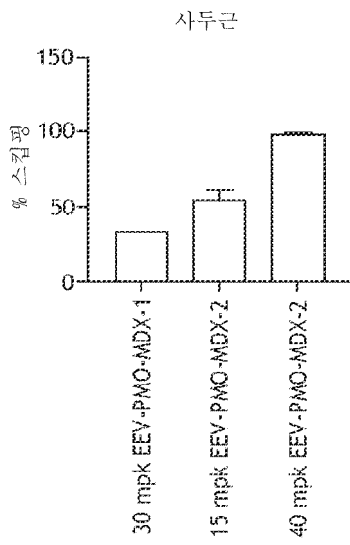
도면10c



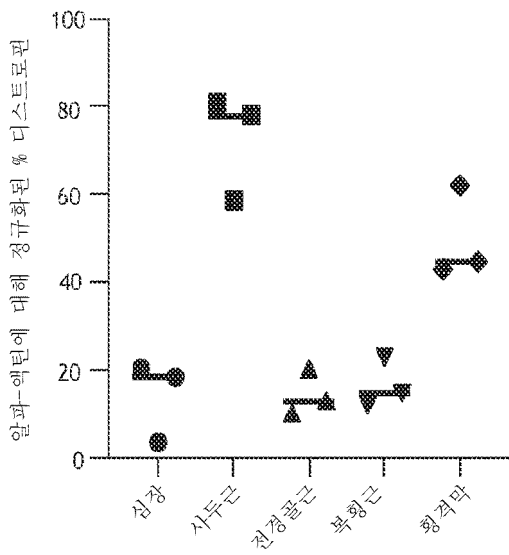
도면10d



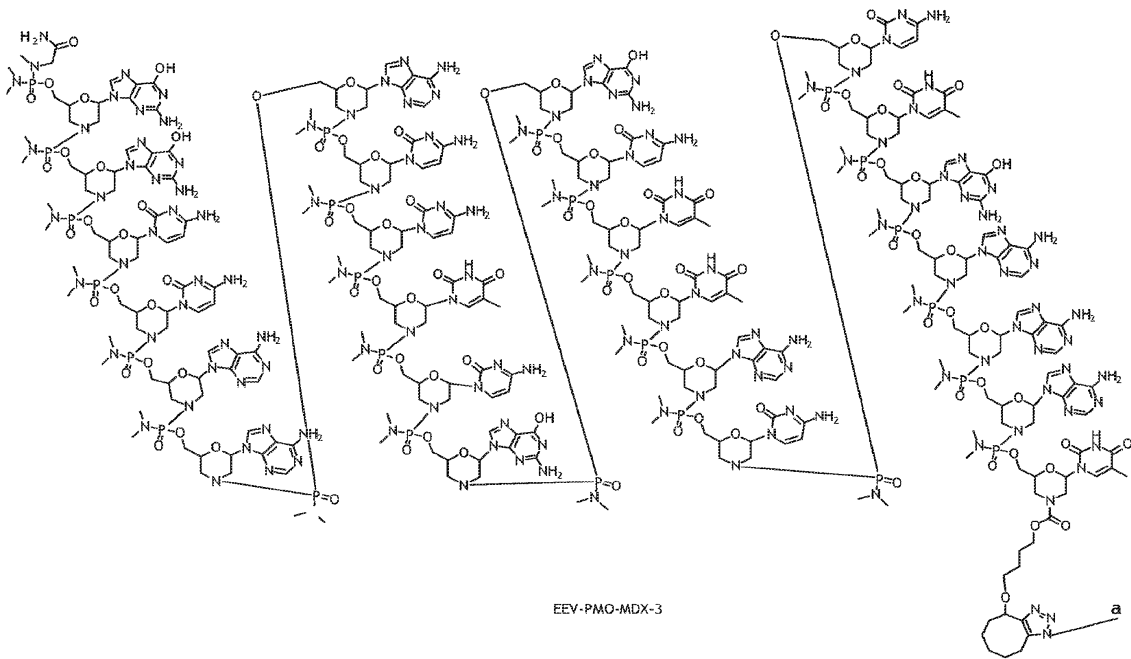
도면10e



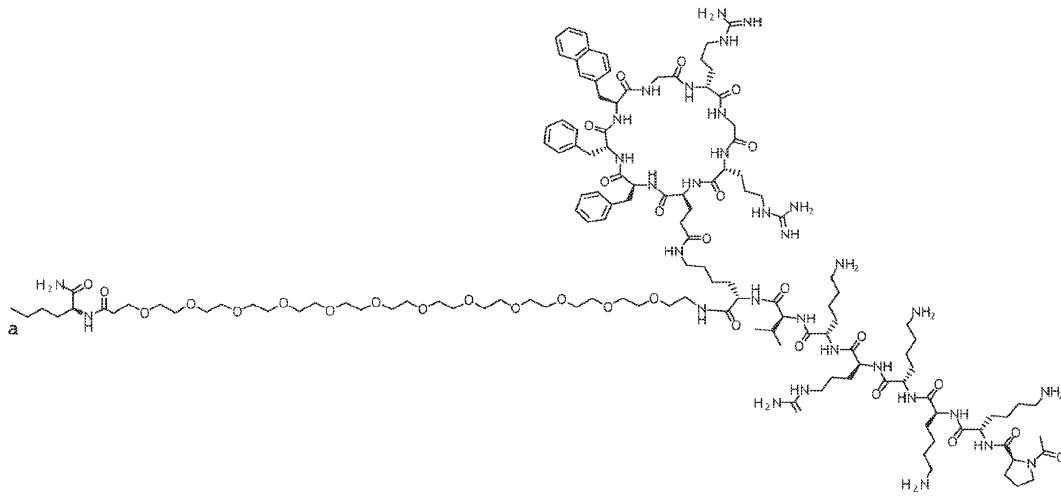
도면11



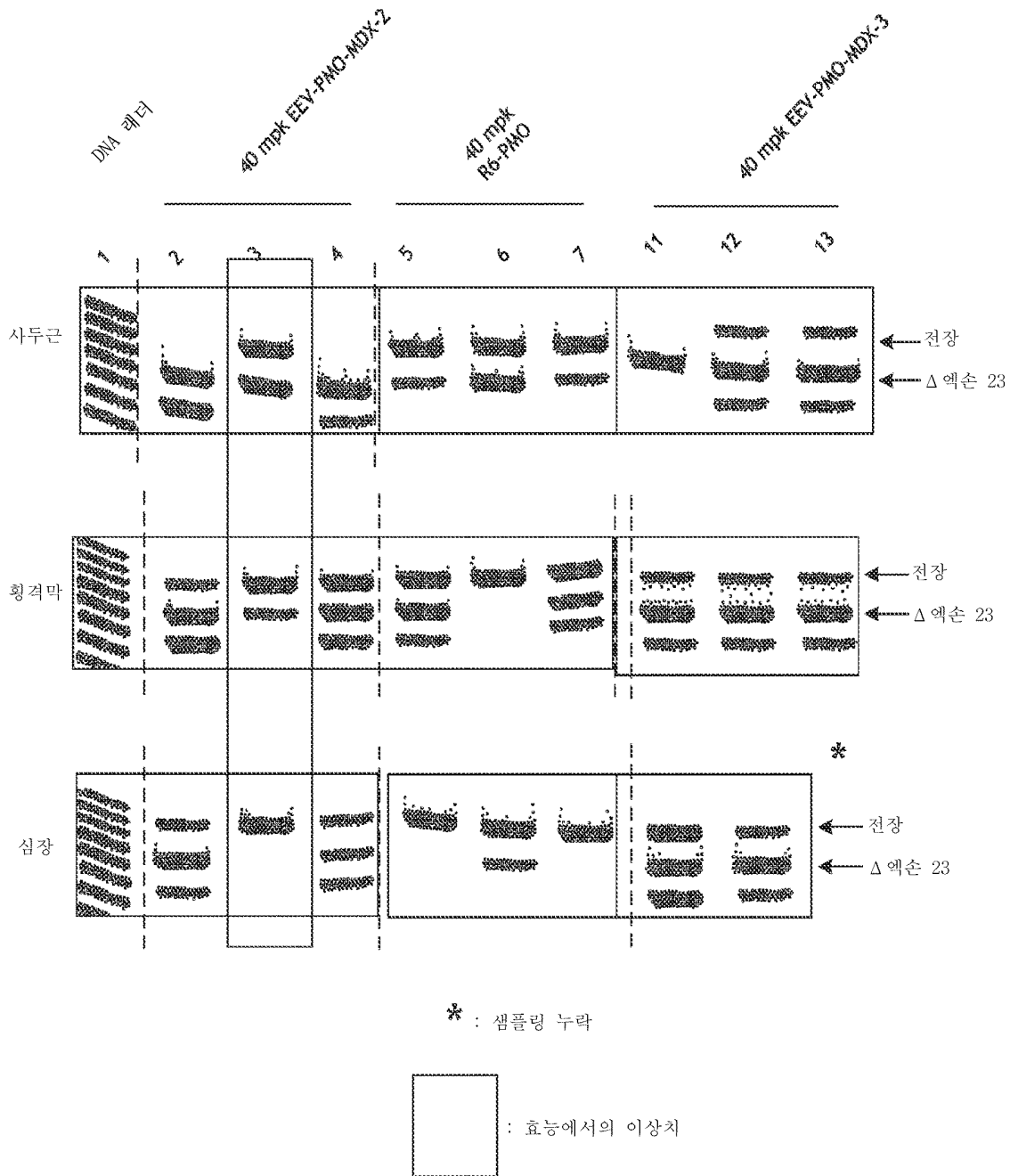
도면12



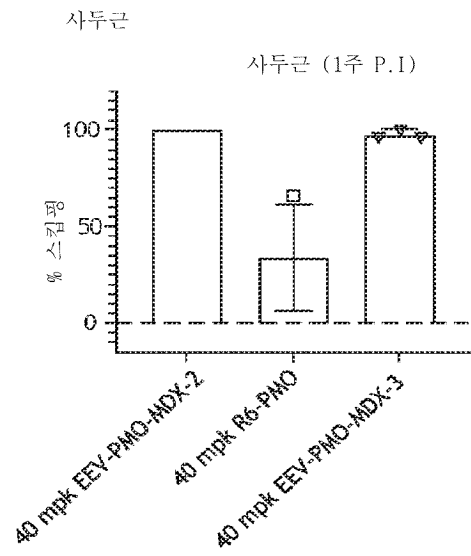
(계속됨)



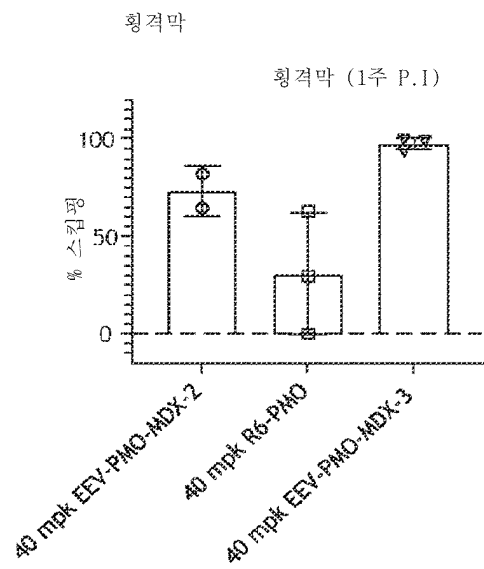
도면13



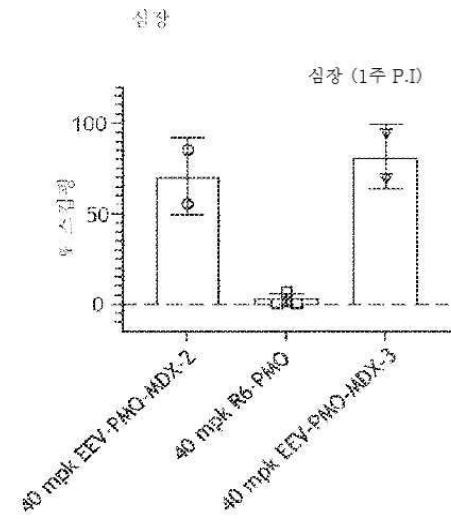
도면14a



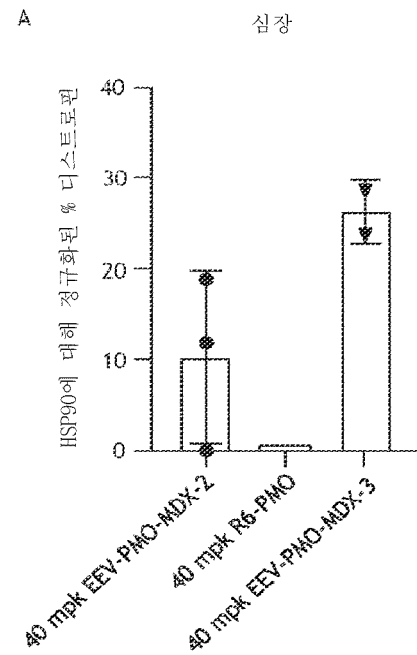
도면14b



도면14c



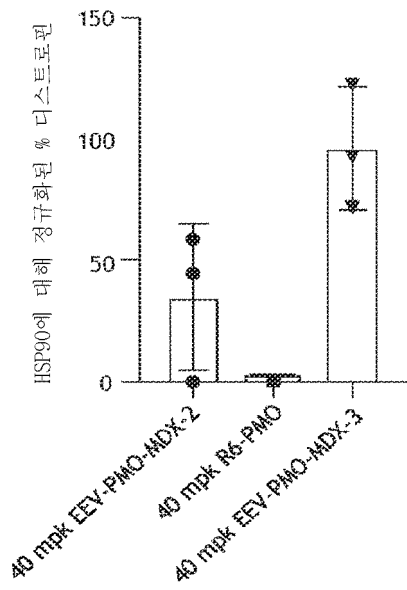
도면15a



도면15b

8

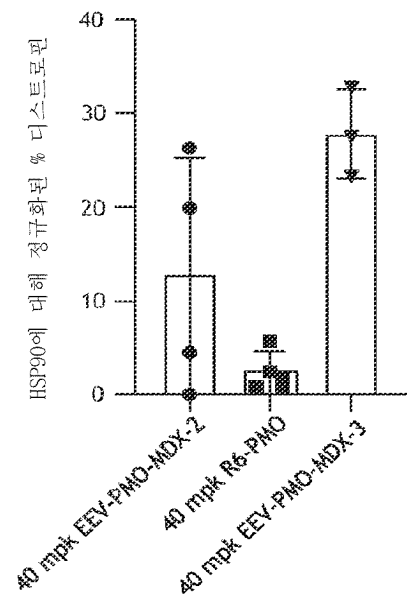
횡격막



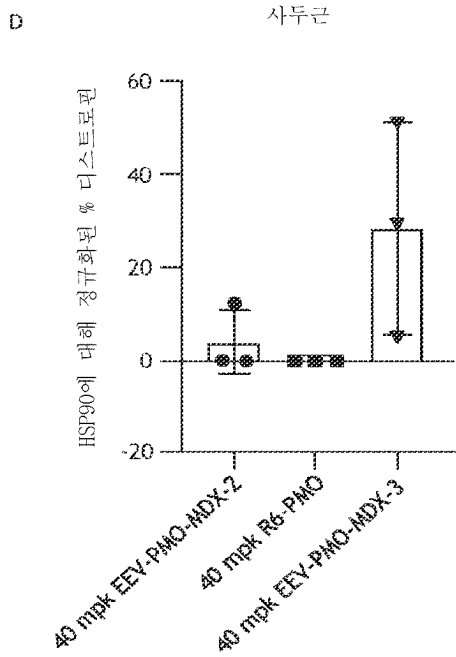
도면15c

9

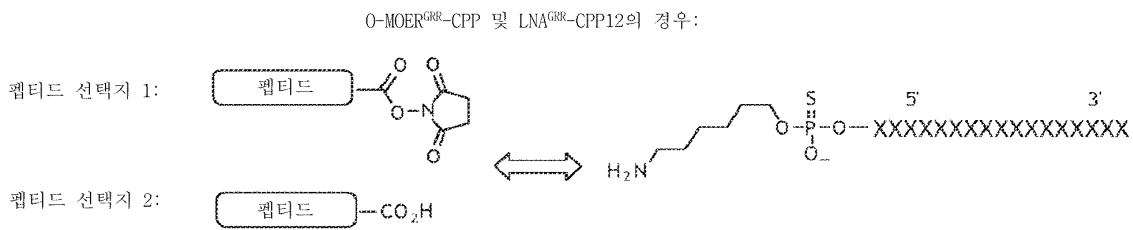
전경골근



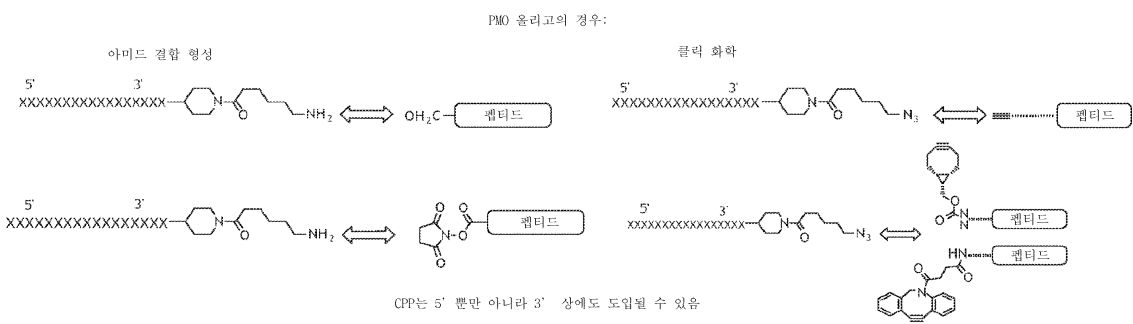
도면15d



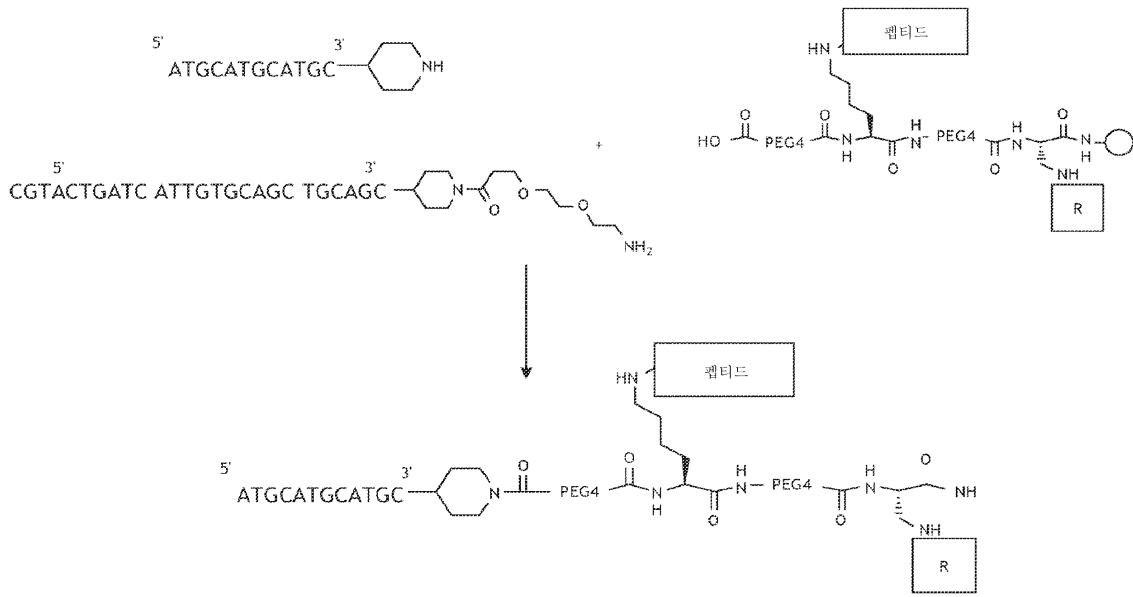
도면16a



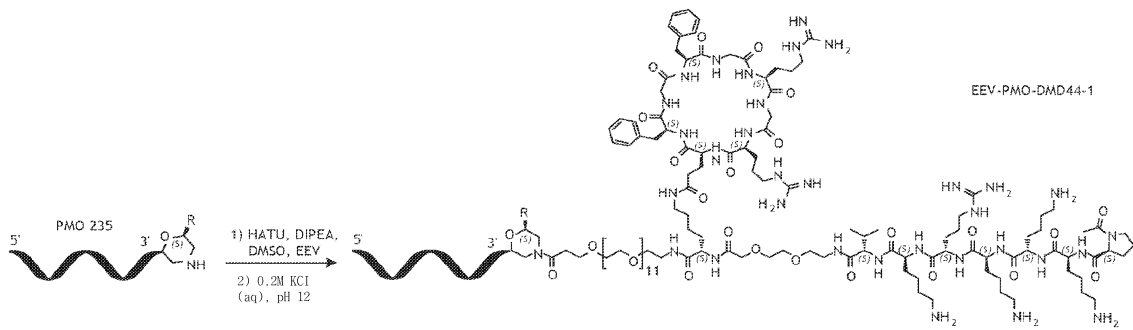
도면16b



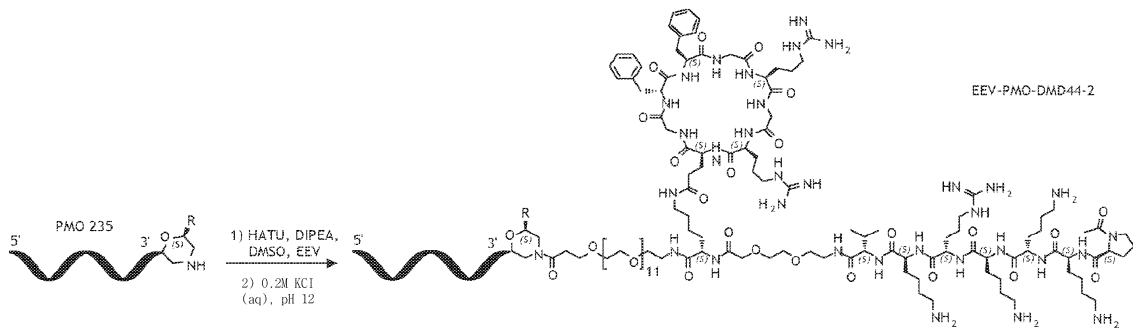
도면17



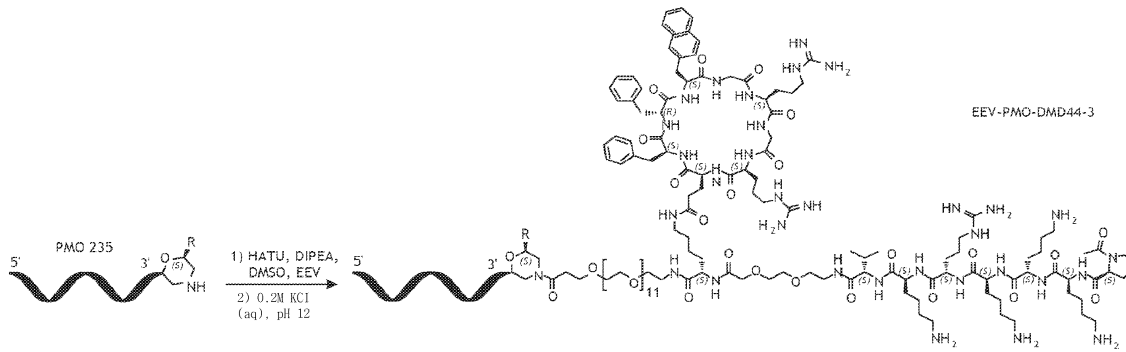
도면18a



도면18b

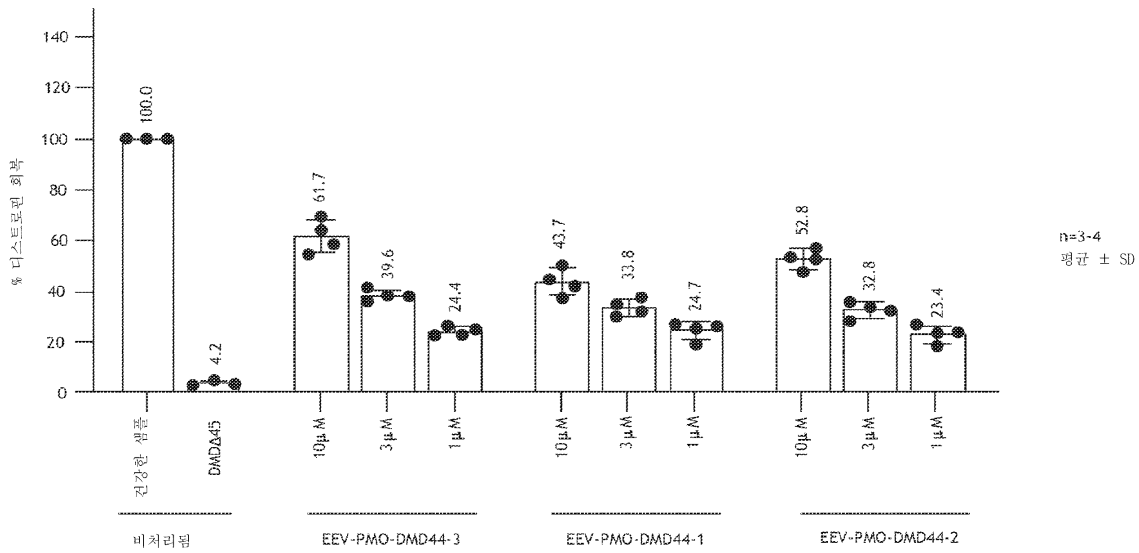


도면18c

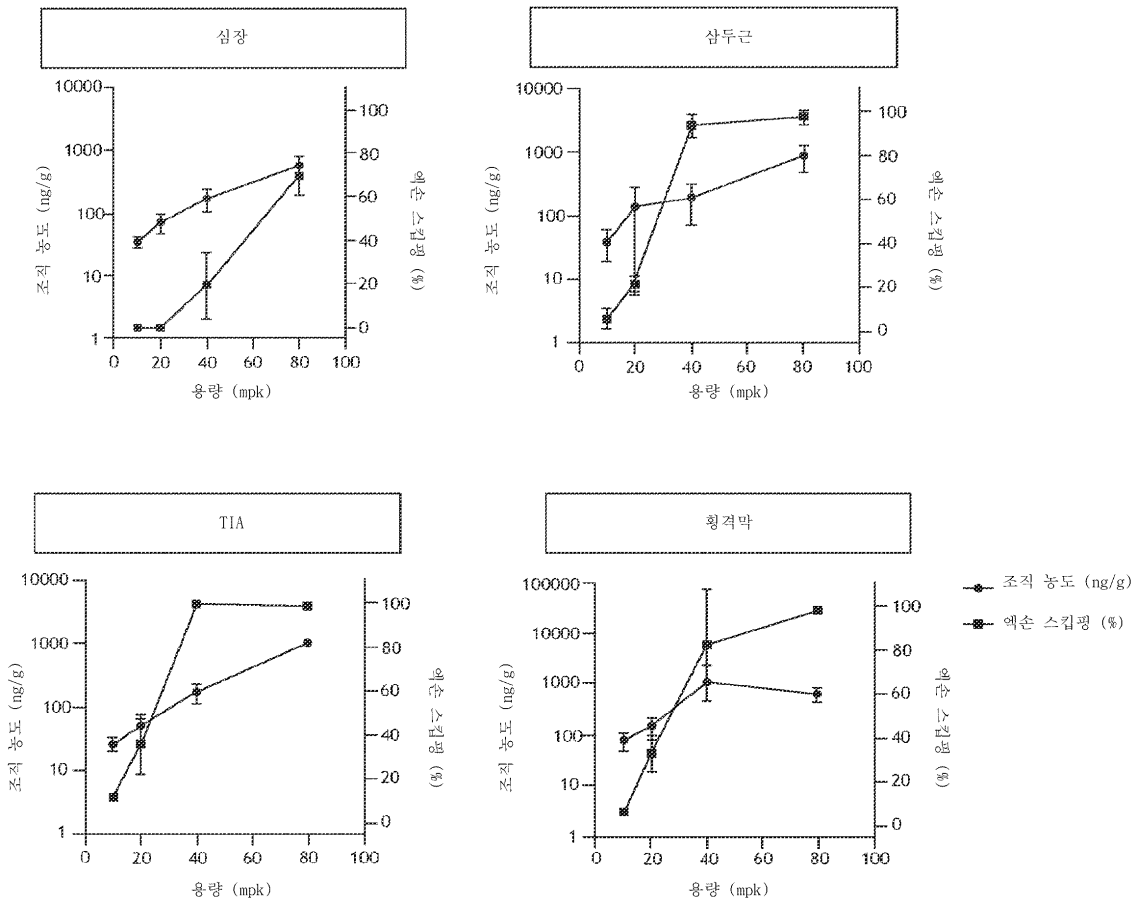


도면19

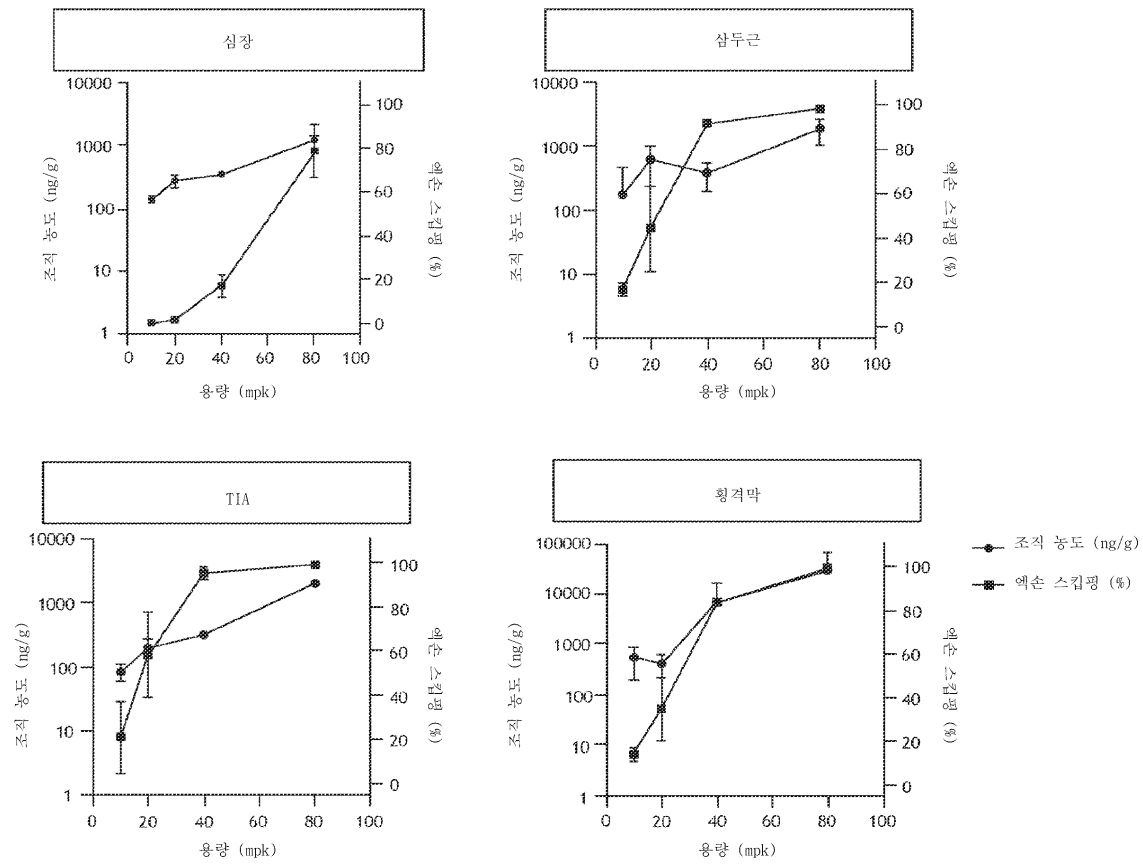
PPMO로 처리된 DMD445 근육 세포에서의 디스트로핀 단백질 회복



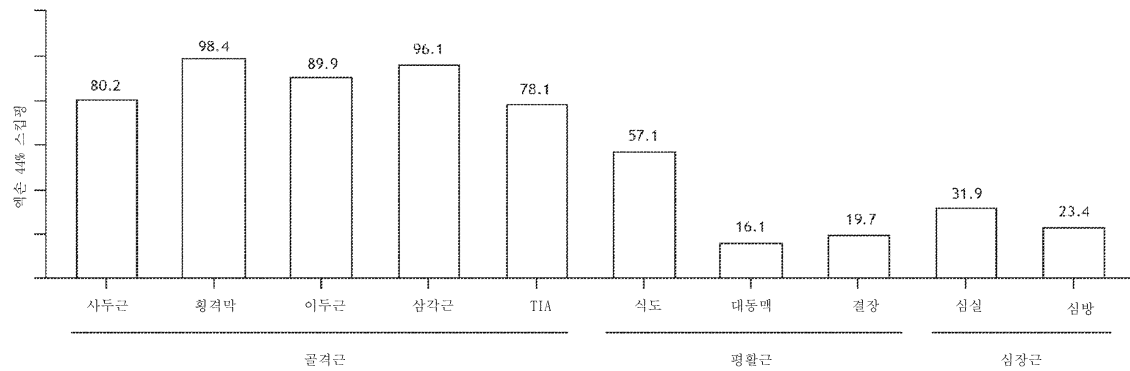
도면20a



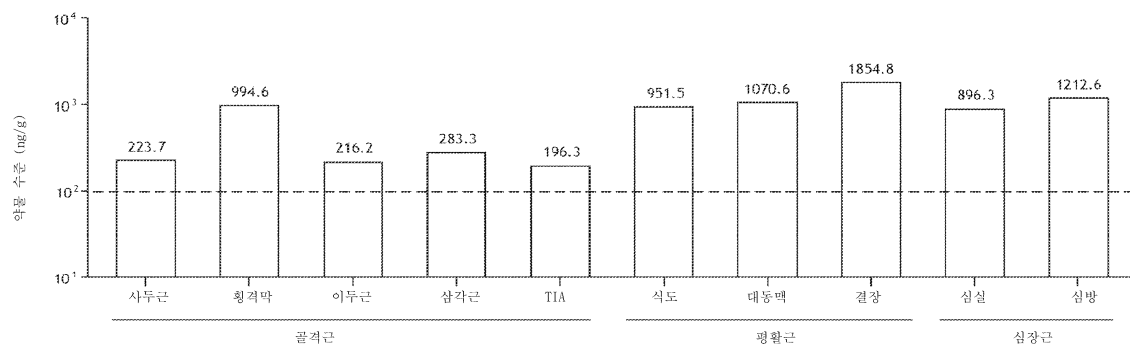
도면20b



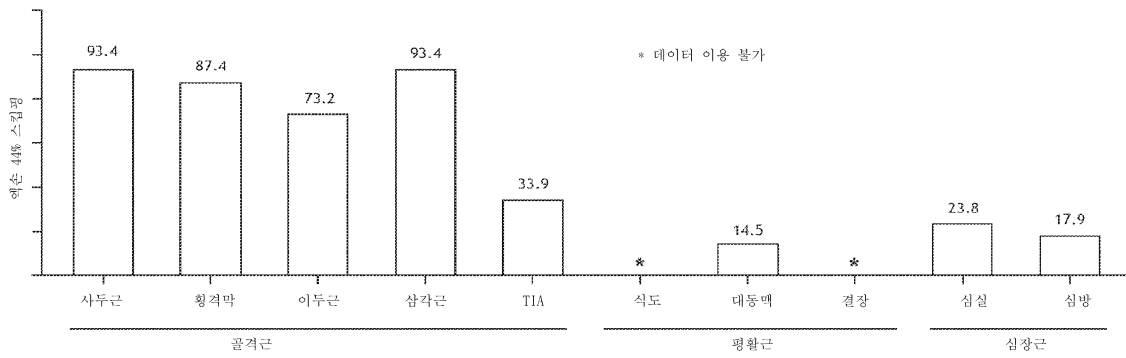
도면21a



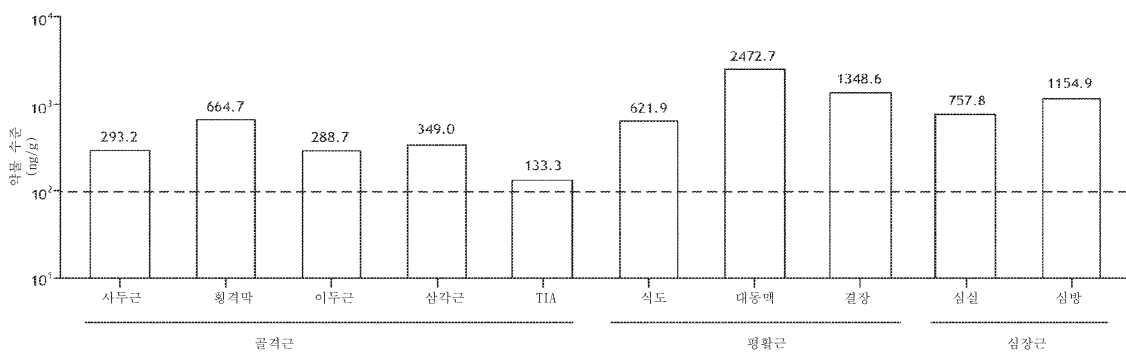
도면21b



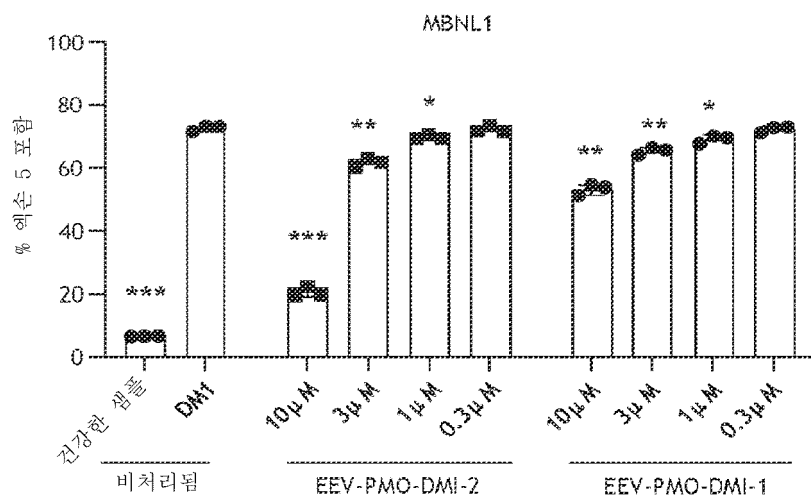
도면21c



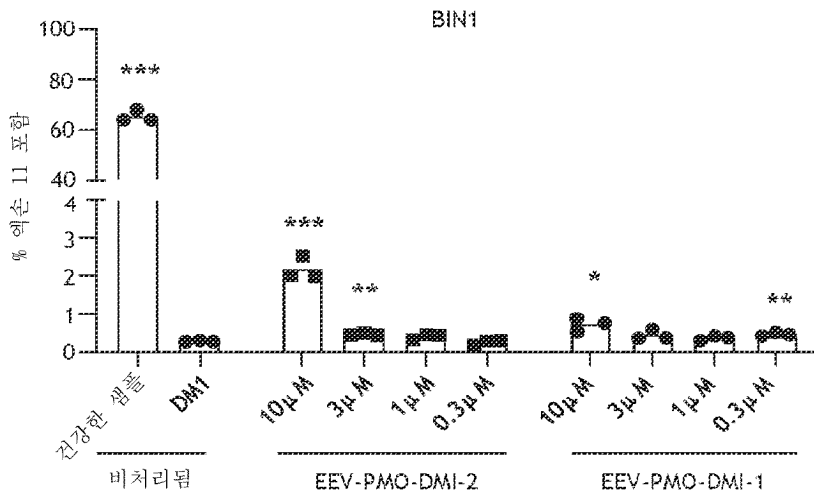
도면21d



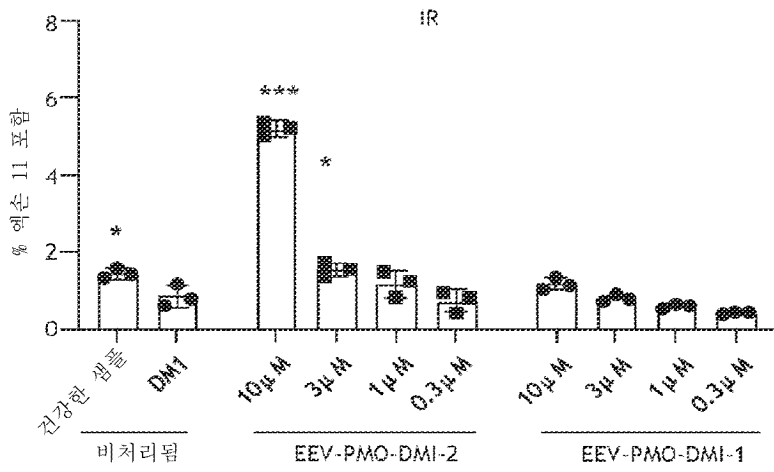
도면22a



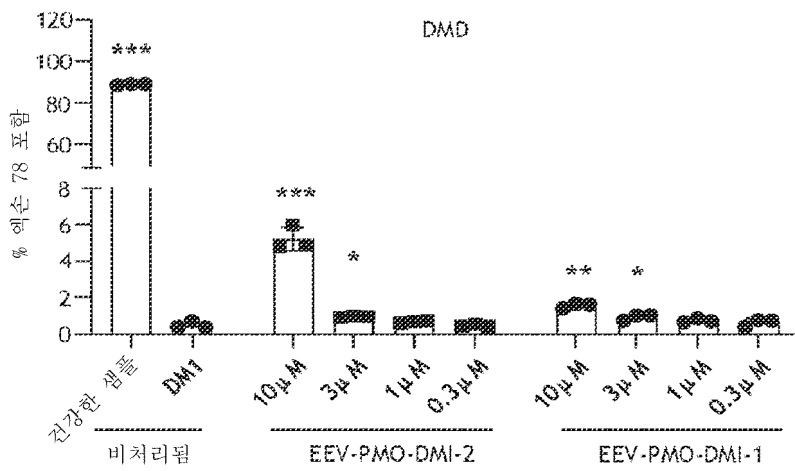
도면22b



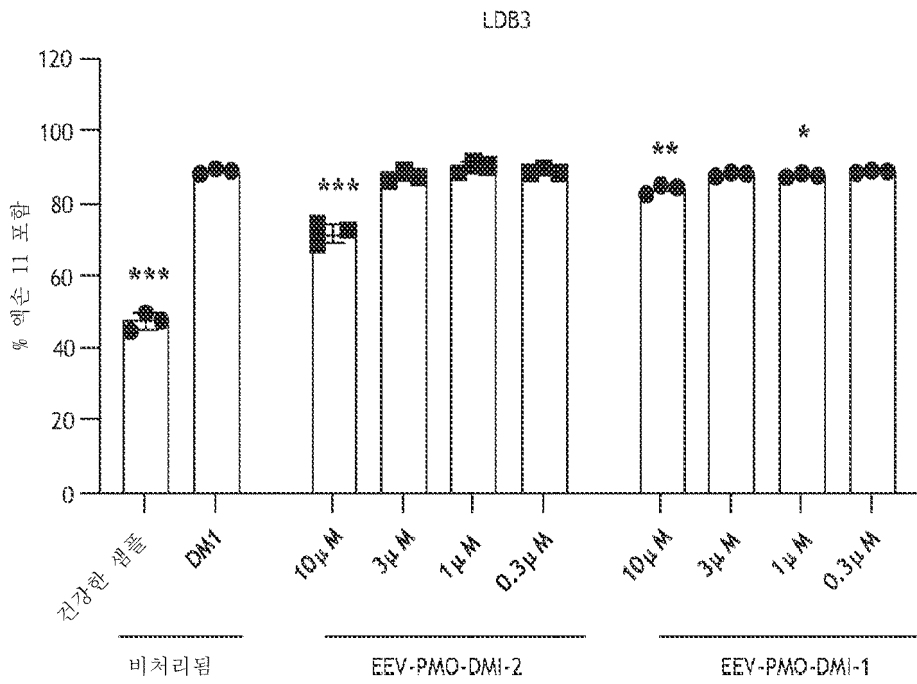
도면22c



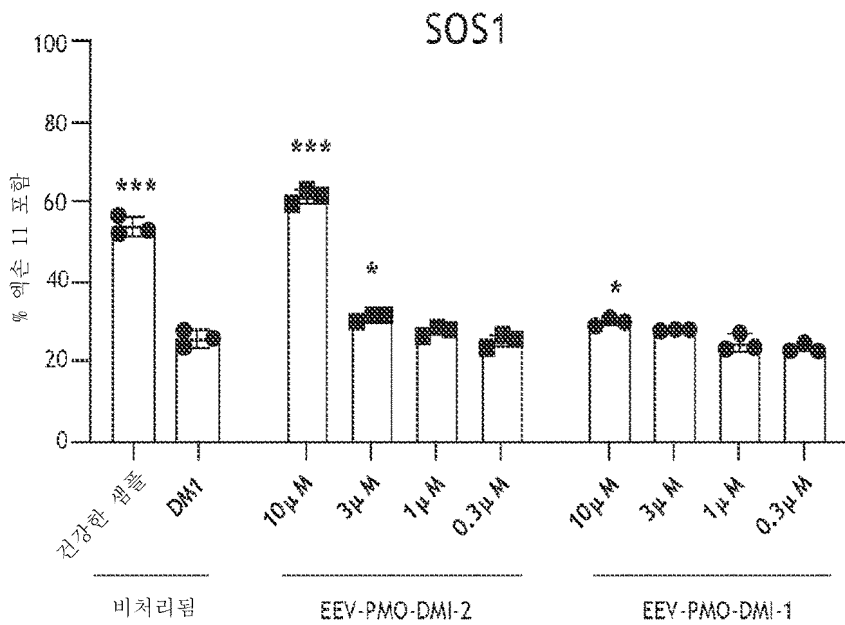
도면22d



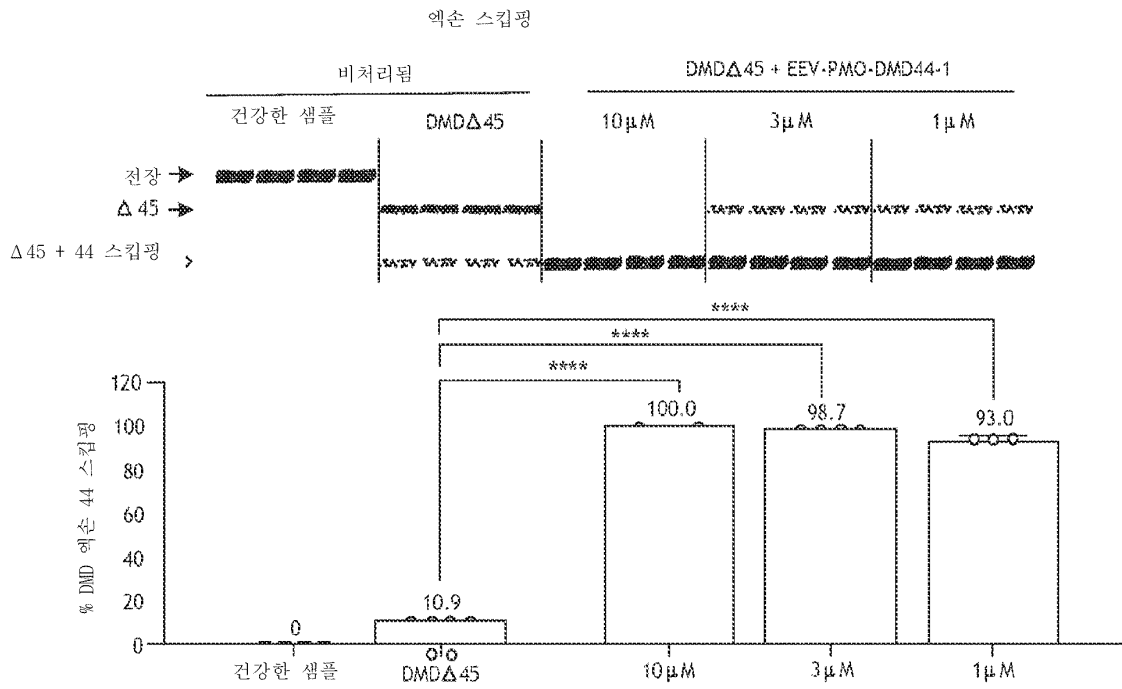
도면22e



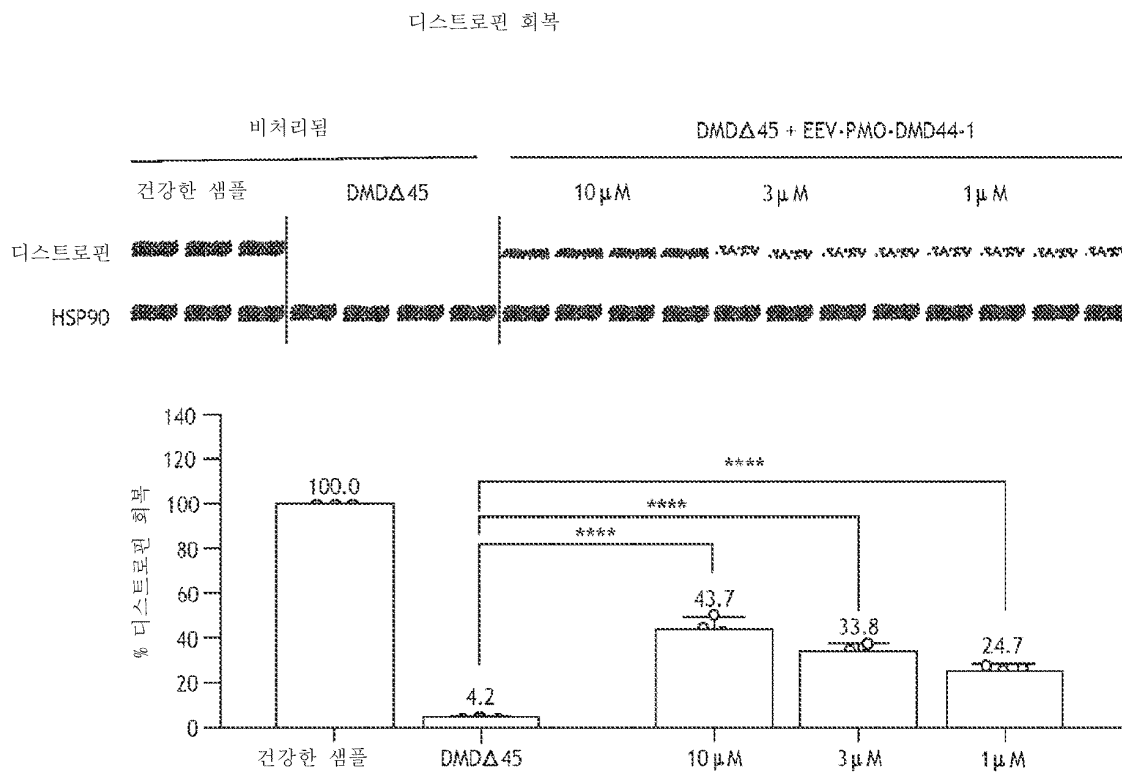
도면22f



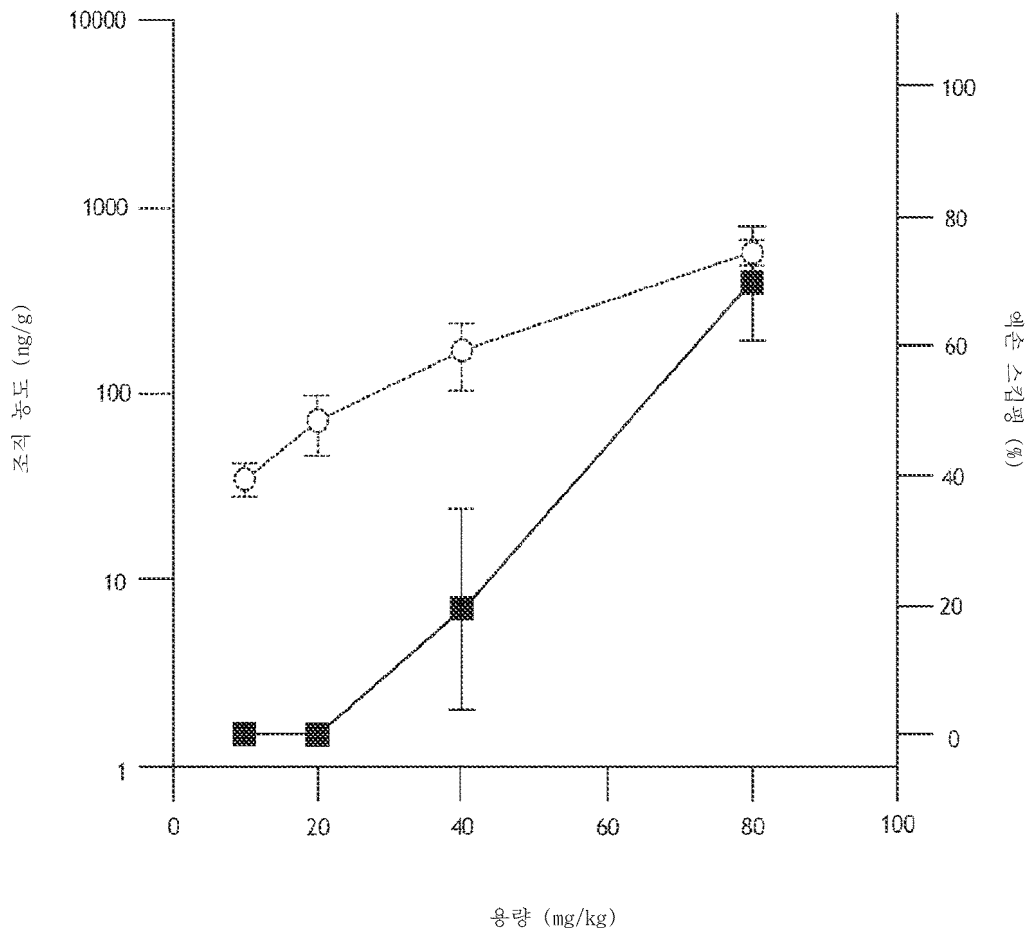
도면23a



도면23b



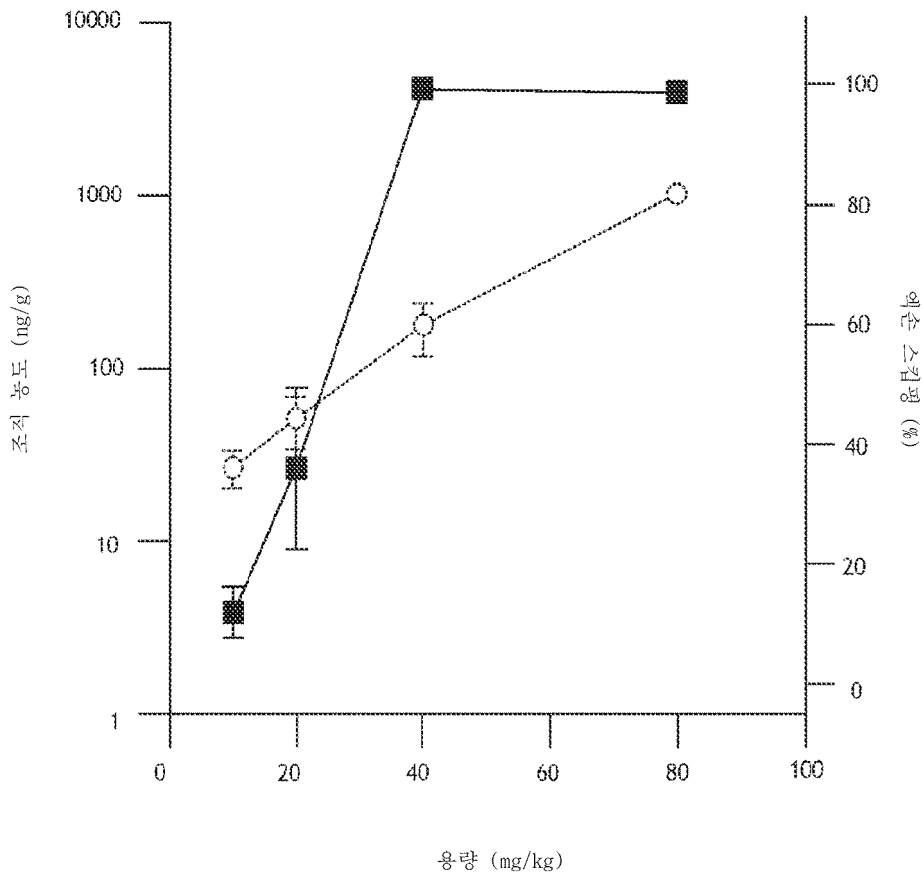
도면24a



○ 조직 농도 (ng/g)

■ 엑손 스킵핑 (%)

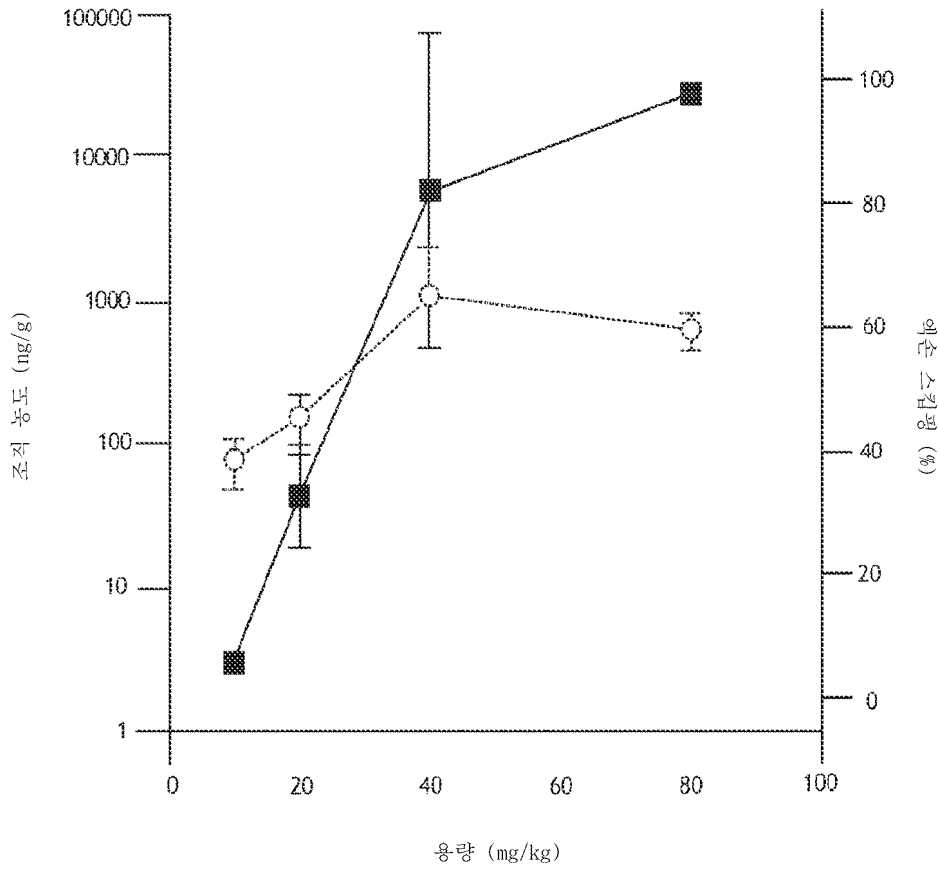
도면24b



○ 조직 농도 (ng/g)

■ 엑손 스킵핑 (%)

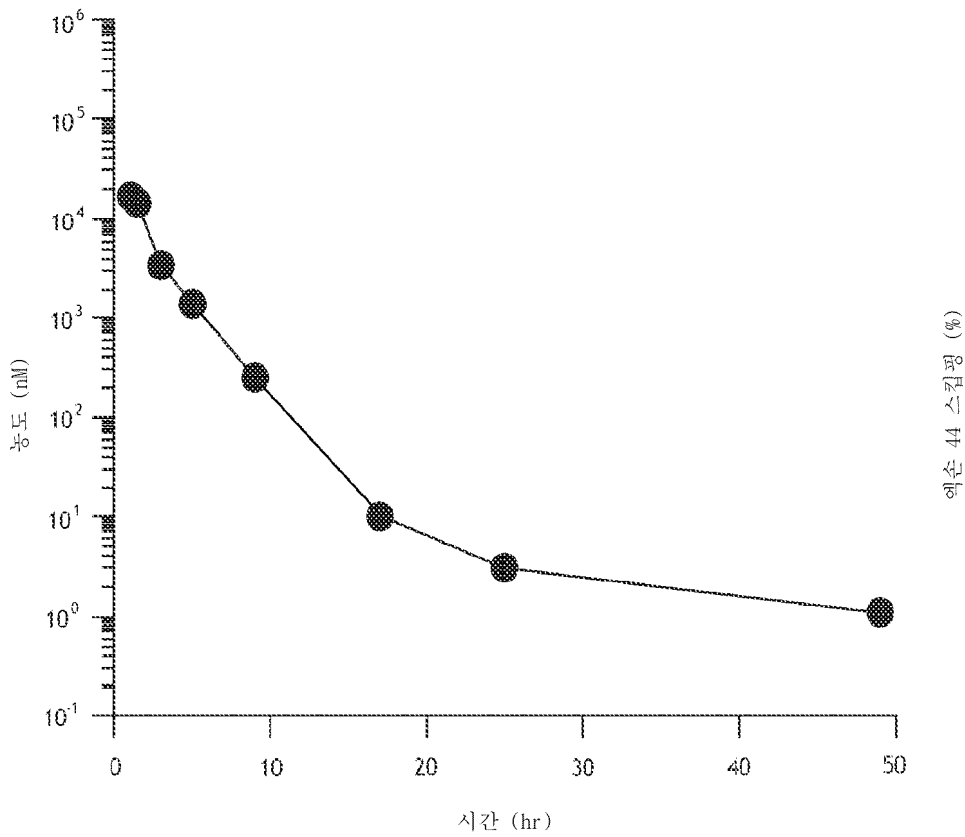
도면24c



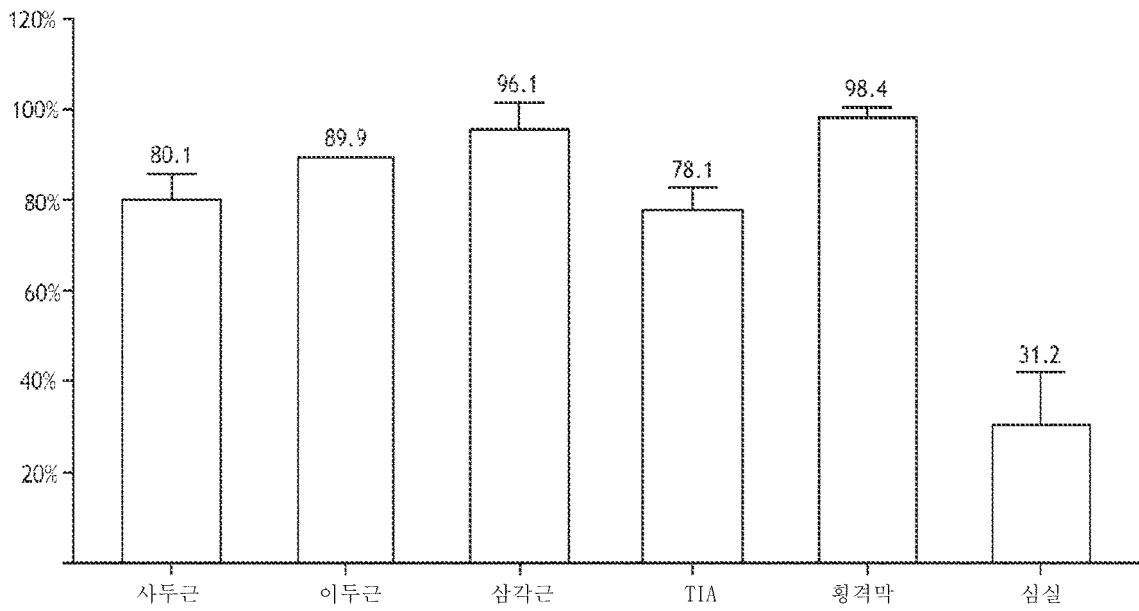
○ 조직 농도 (ng/g)

■ 엑손 스킵핑 (%)

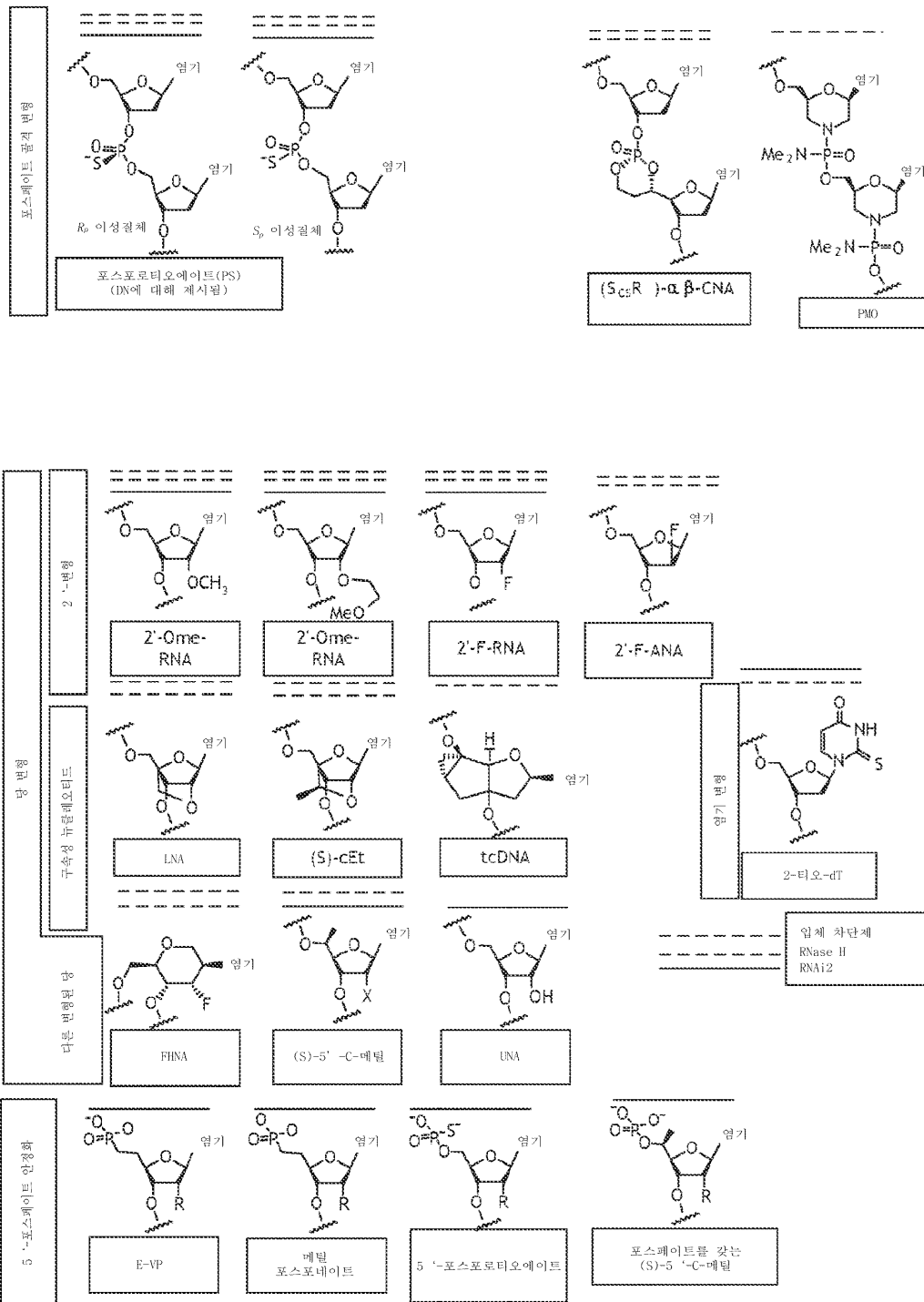
도면25



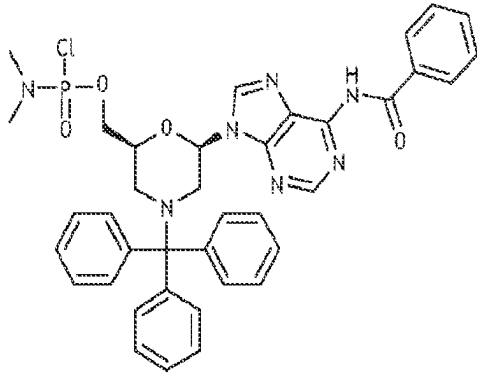
도면26



도면27

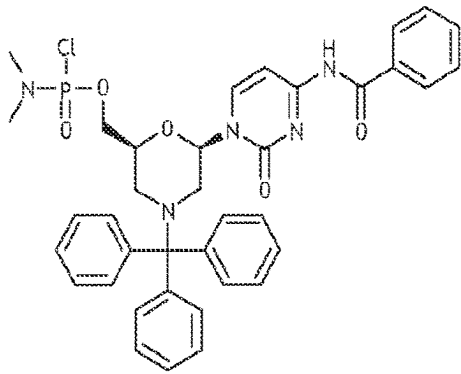


도면28a



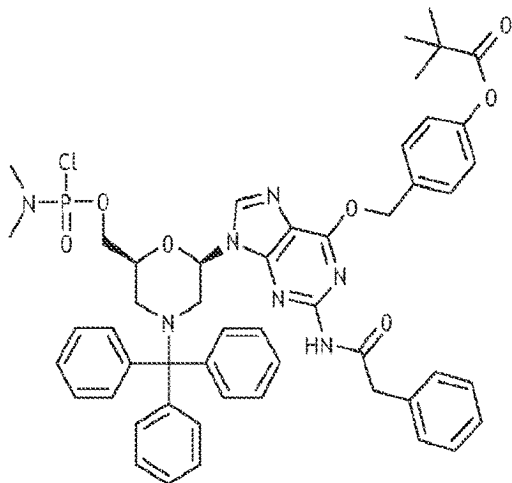
아데닌 모르폴리노 단량체

도면28b



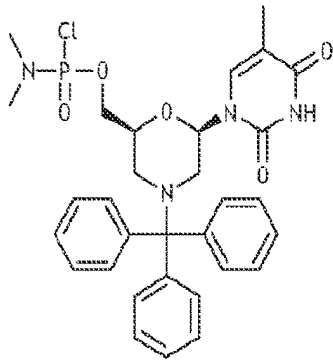
시토신 모르폴리노 단량체

도면28c



구아닌 모르폴리노 단량체

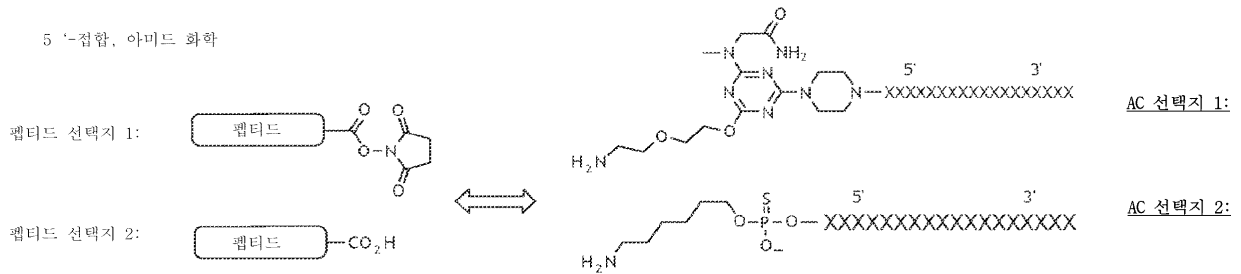
도면28d



티민 모르폴리노 단량체

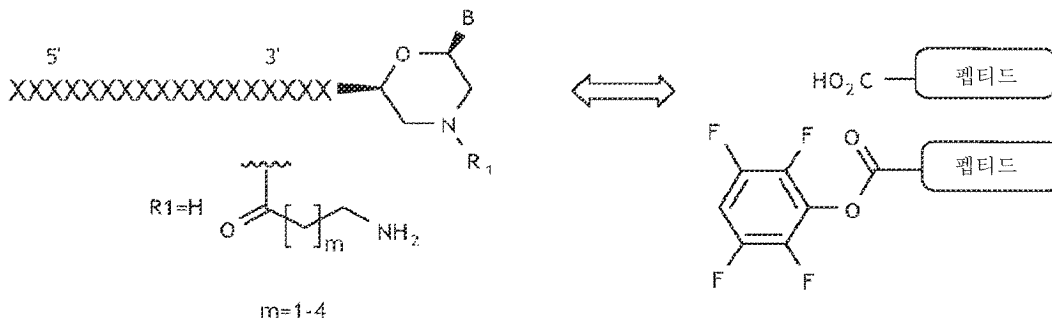
도면29a

5'-접합, 아마이드 화학



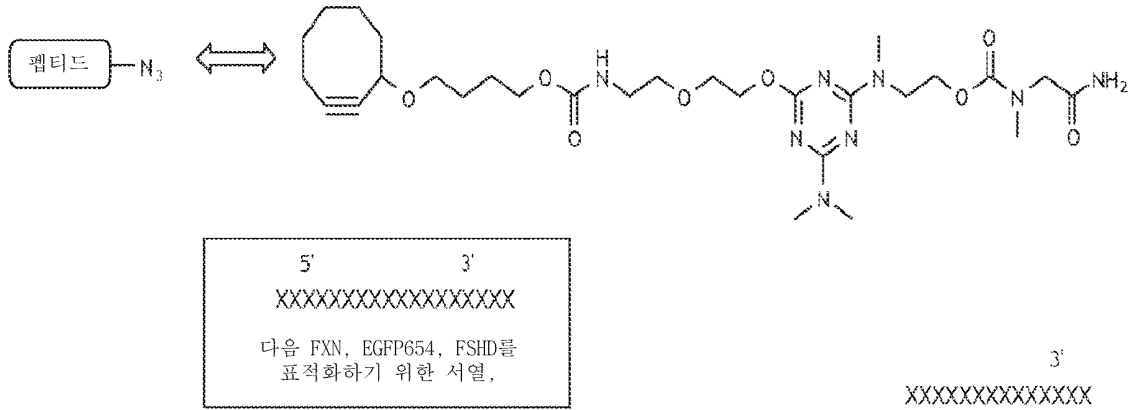
도면29b

3'-접합, 아마이드 화학



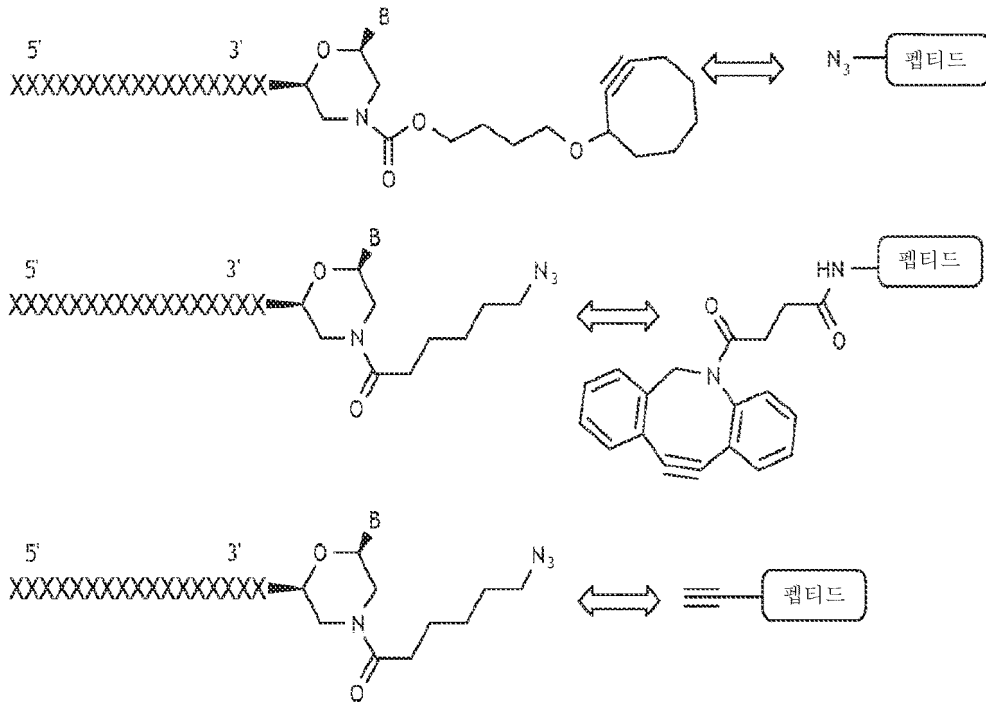
도면29c

5'-접합, 아마이드 화학

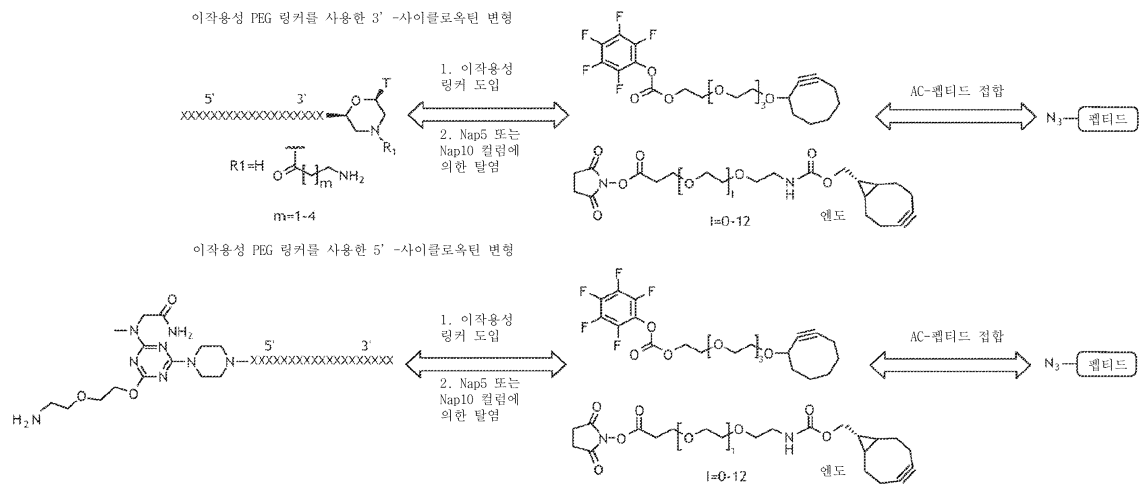


도면29d

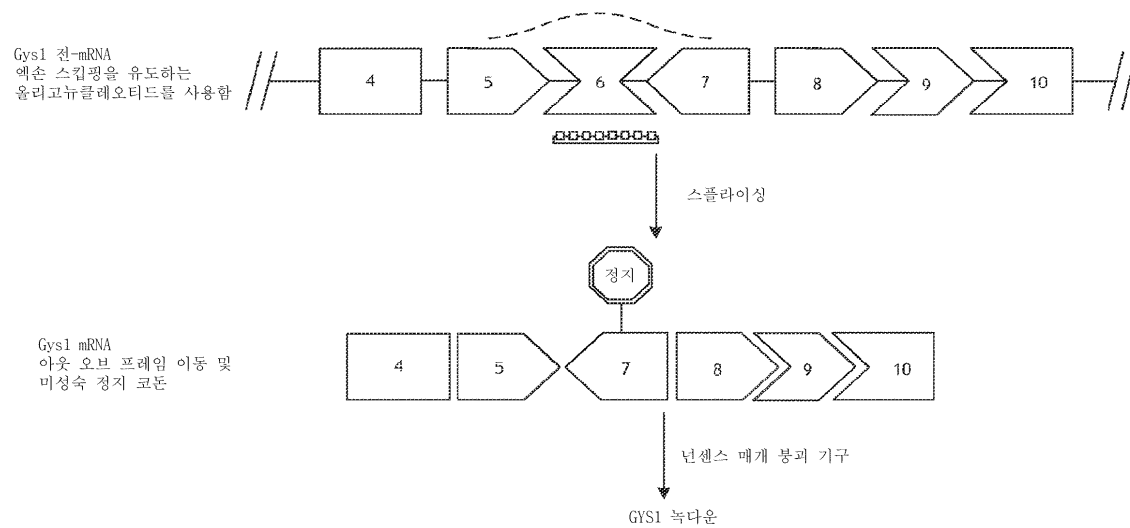
3'-접합, 아마이드 화학



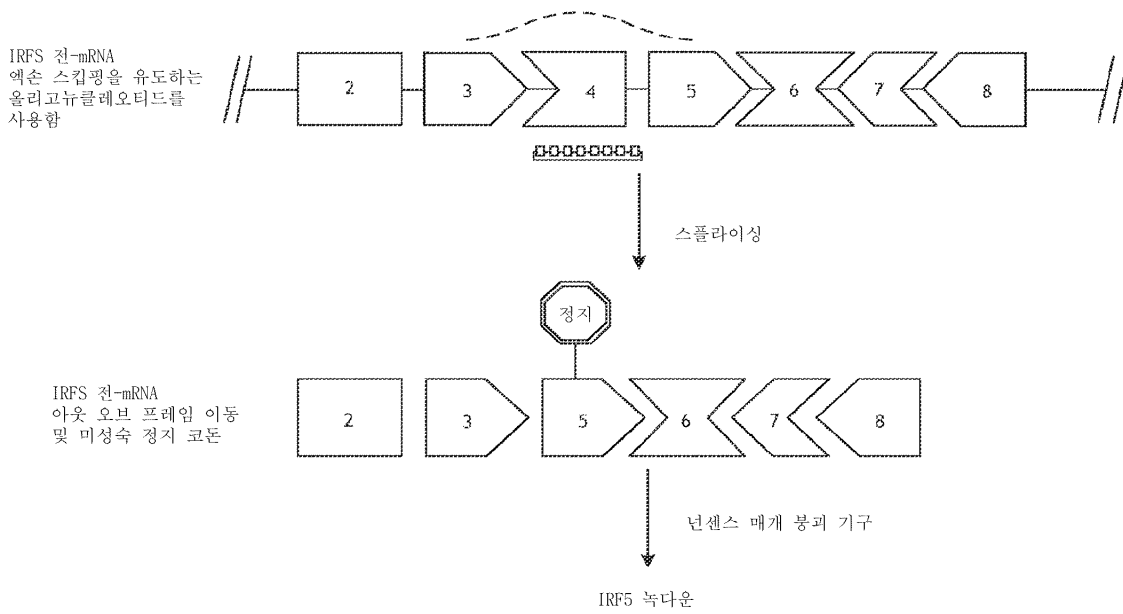
도면30



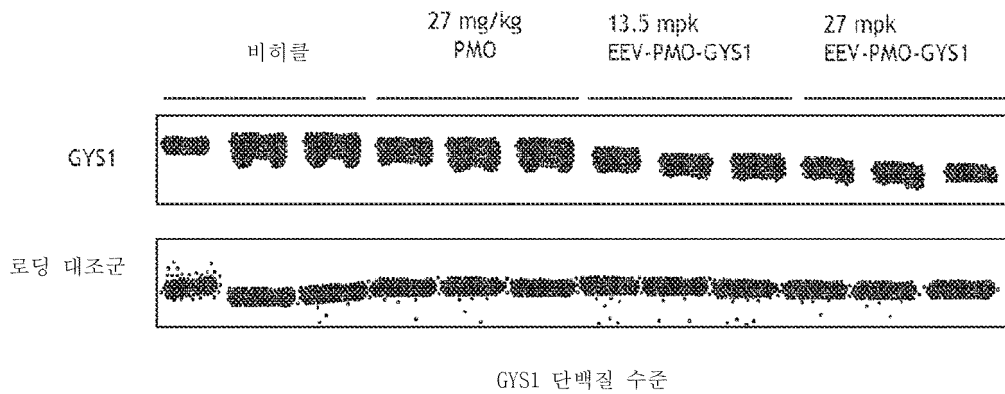
도면31a



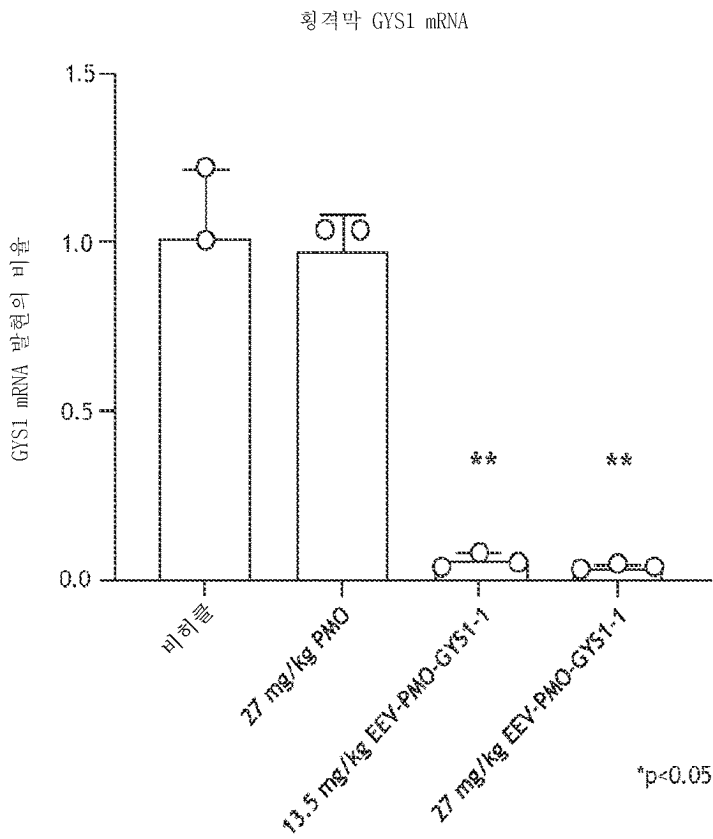
도면31b



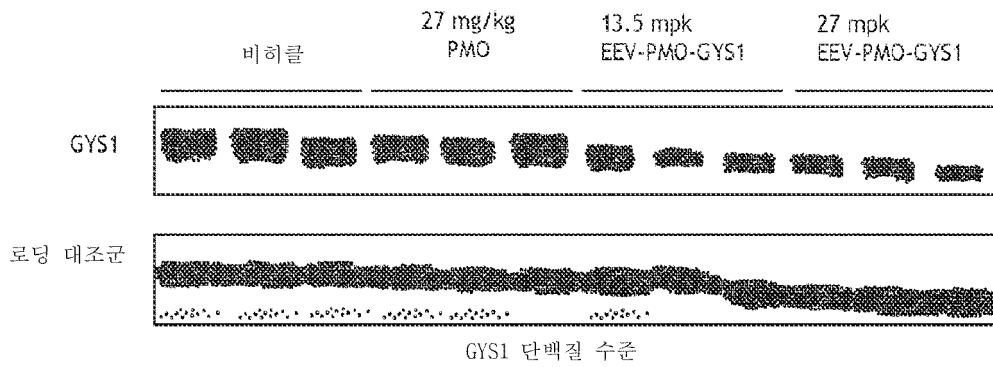
도면32a



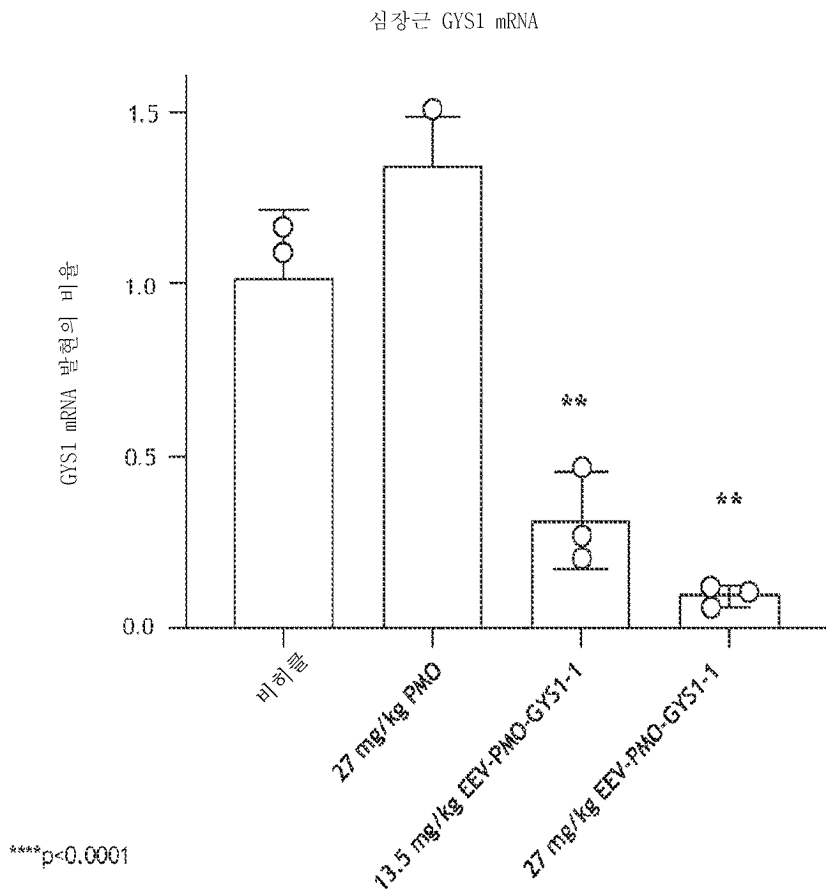
도면32b



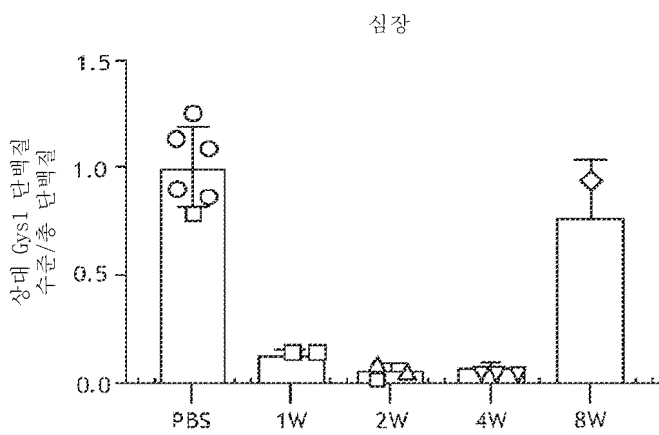
도면32c



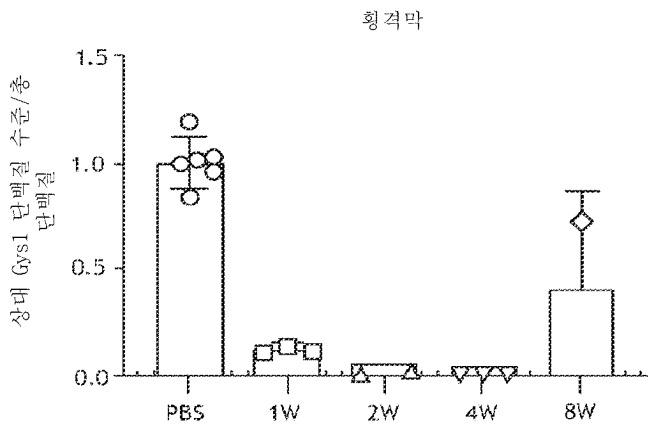
도면32d



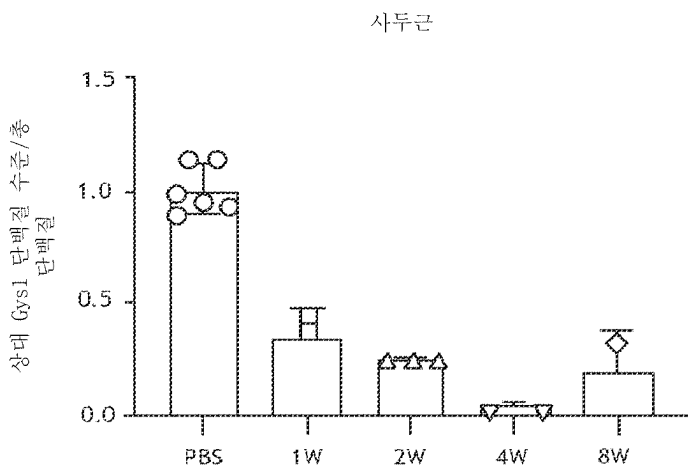
도면33a



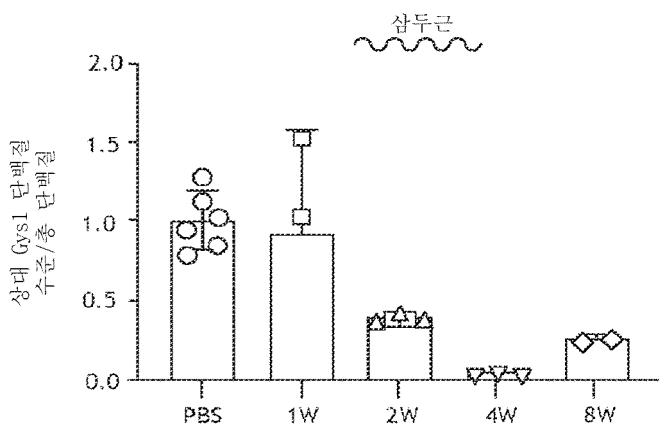
도면33b



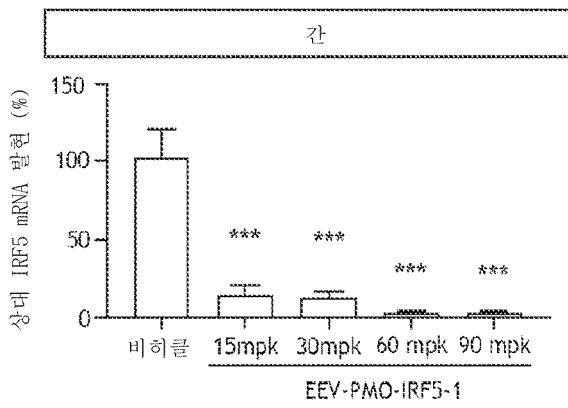
도면33c



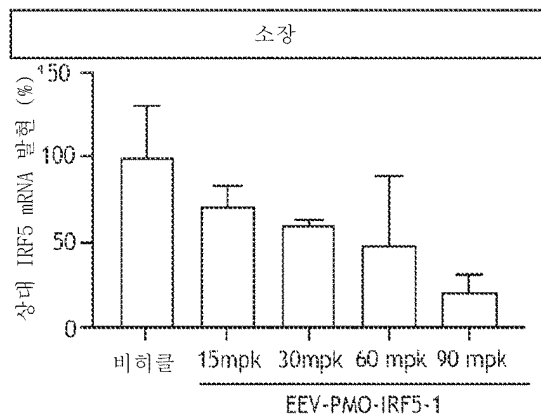
도면33d



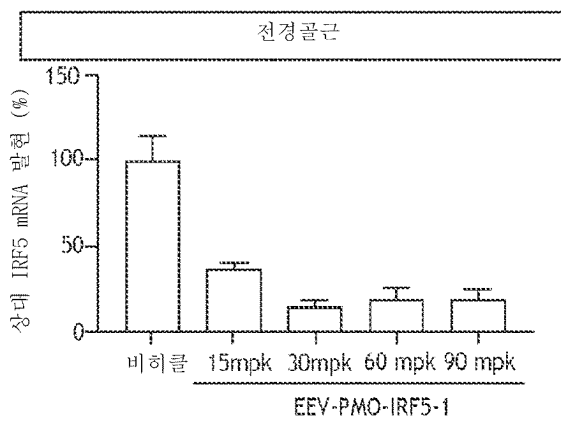
도면34a



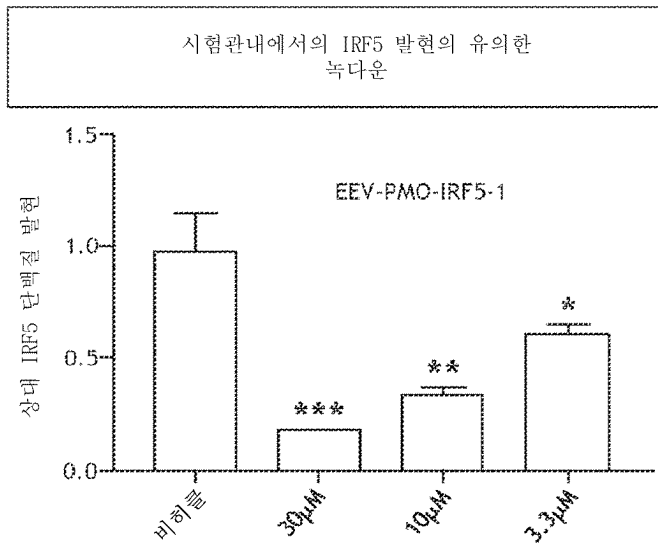
도면34b



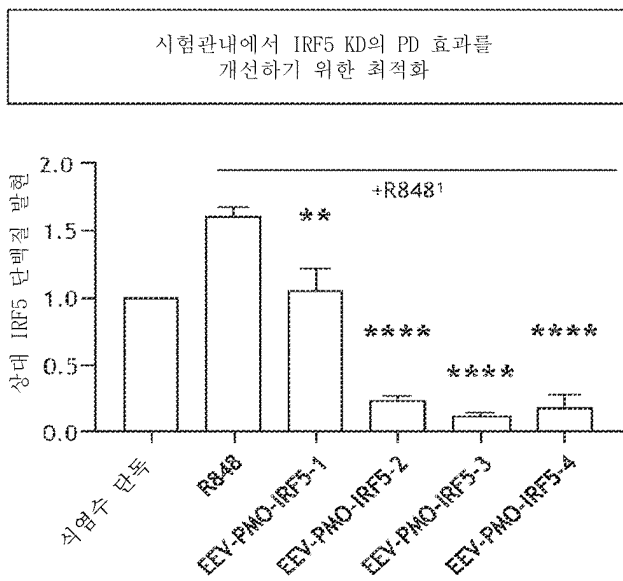
도면34c



도면35



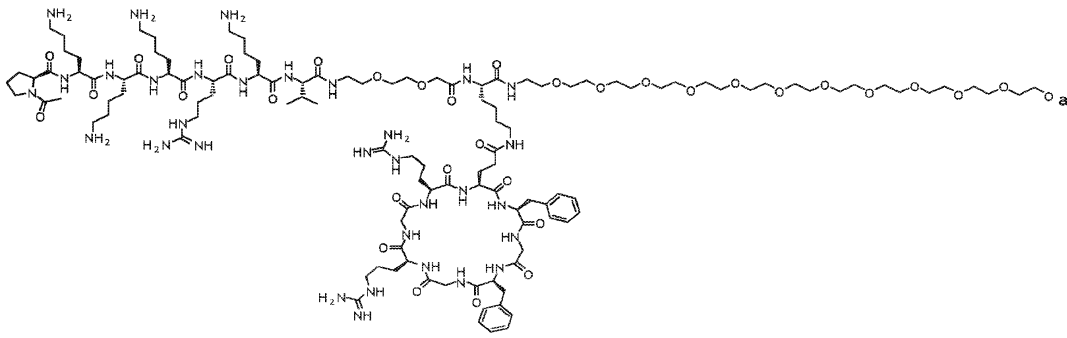
도면36



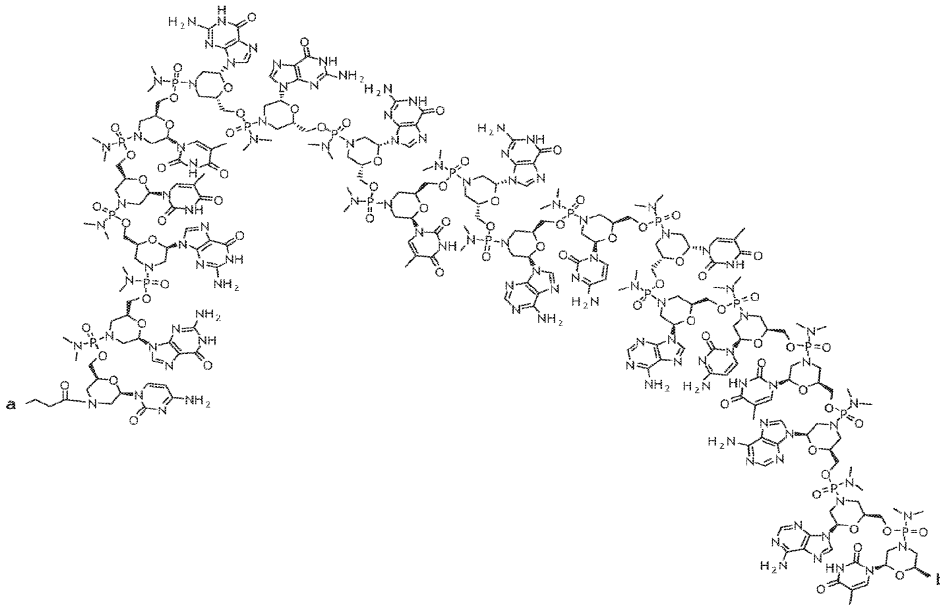
도면37a

화합물 (PMO-EEV)	양 (탈염 전)	EEV 펩티드 서열	PMO 서열
EEV-PMO-IRF5-1	12.7 mg	Ac-PKKRKKV-Lys-사이클로(FiNaIGrGrQ)-PEG12-OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C
EEV-PMO-IRF5-2	12.4 mg	Ac-PKKRKKV-Lys-사이클로(FGFRRRQ)-PEG12-OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C
EEV-PMO-IRF5-3	13.0 mg	Ac-PKKRKKV-Lys-사이클로(FGFRRRQ)-PEG12-OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C
EEV-PMO-IRF5-4		Ac-PKKRKKV-Lys-사이클로(FGFRGRQ)-PEG12-OH	AGA ACG TAA TCA TCA GTG GGT TGG C

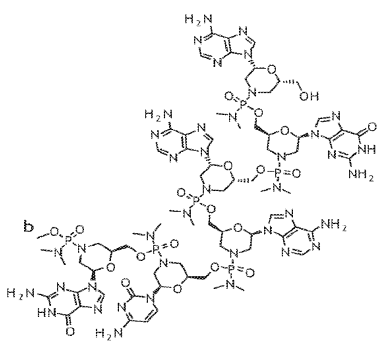
도면37b



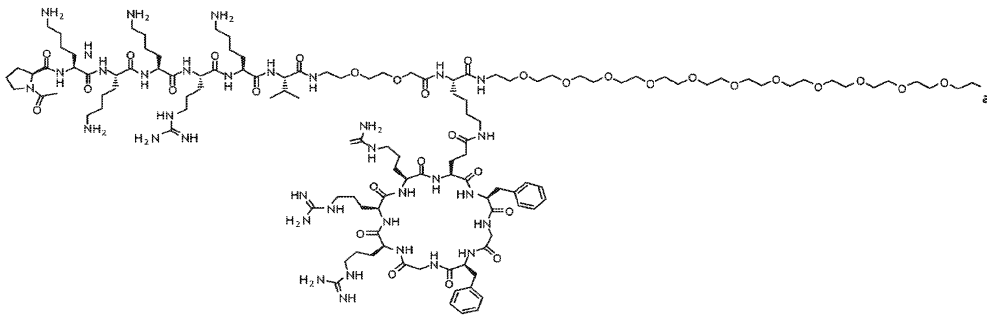
(계속됨)



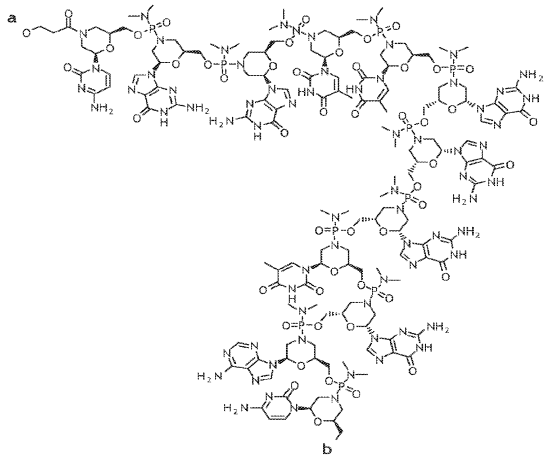
(계속됨)



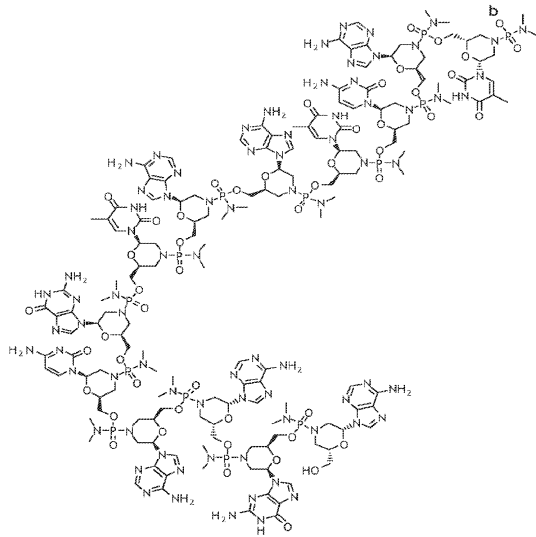
도면37c



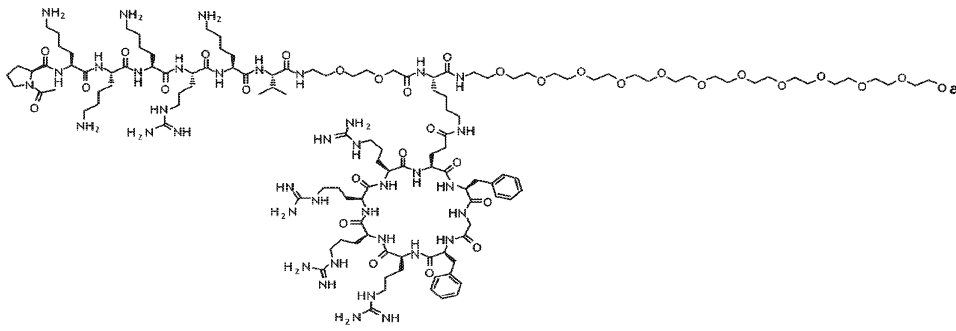
(계속됨)



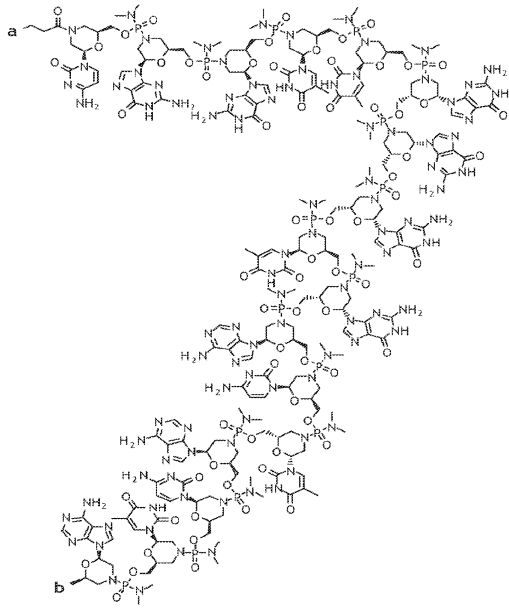
(계속됨)



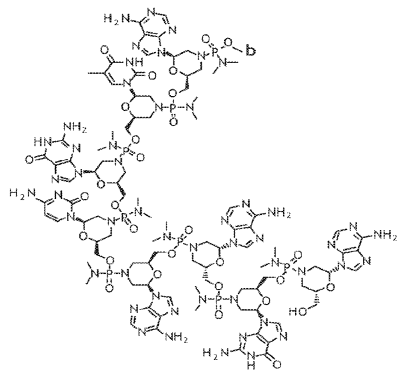
도면37d



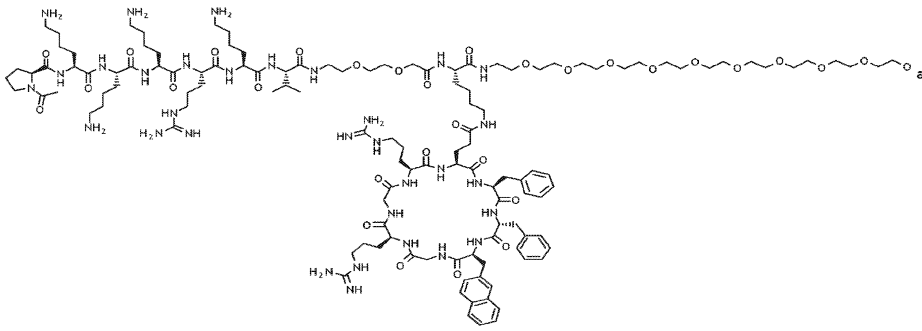
(계속됨)



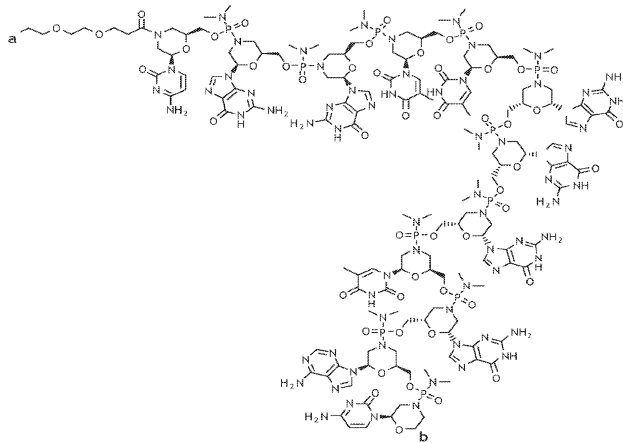
(계속됨)



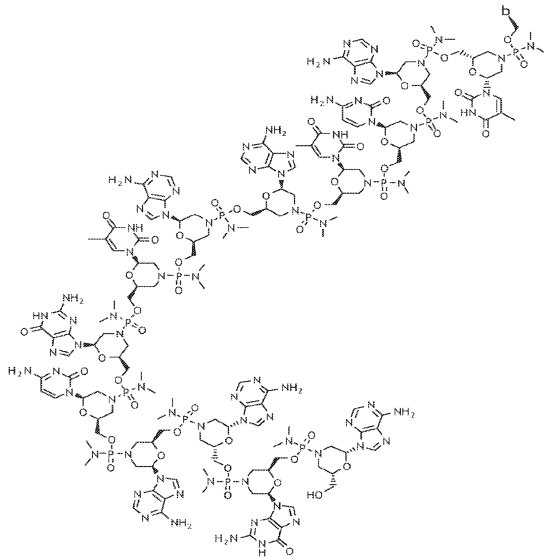
도면37e



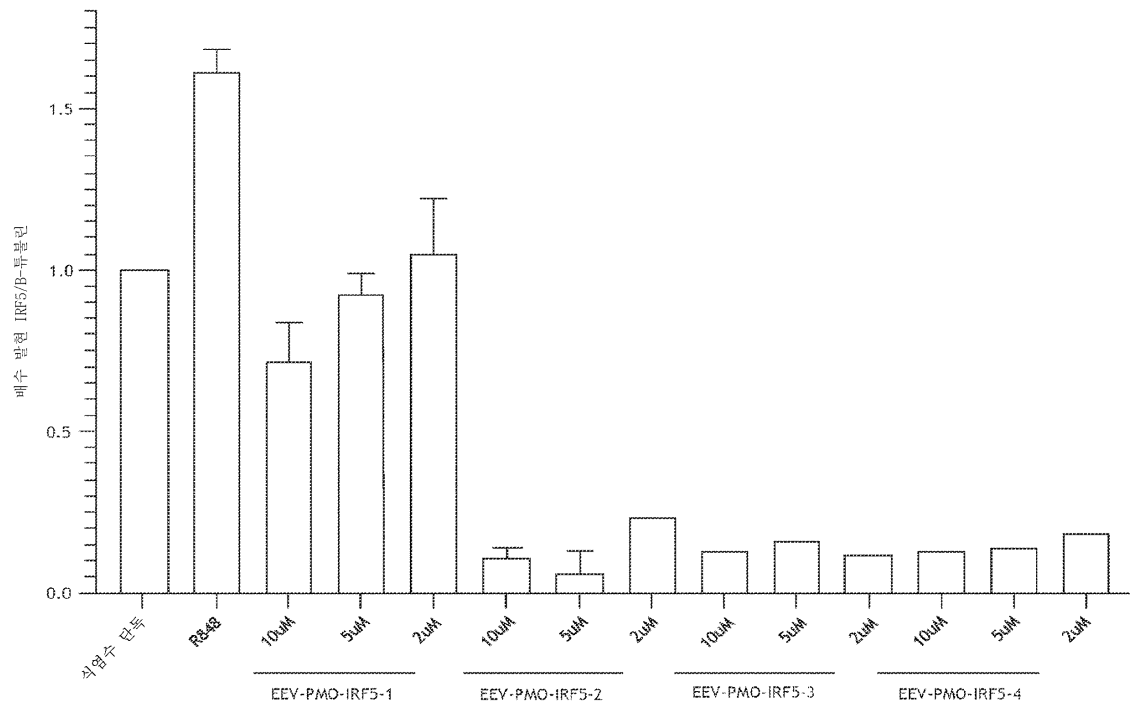
(계속됨)



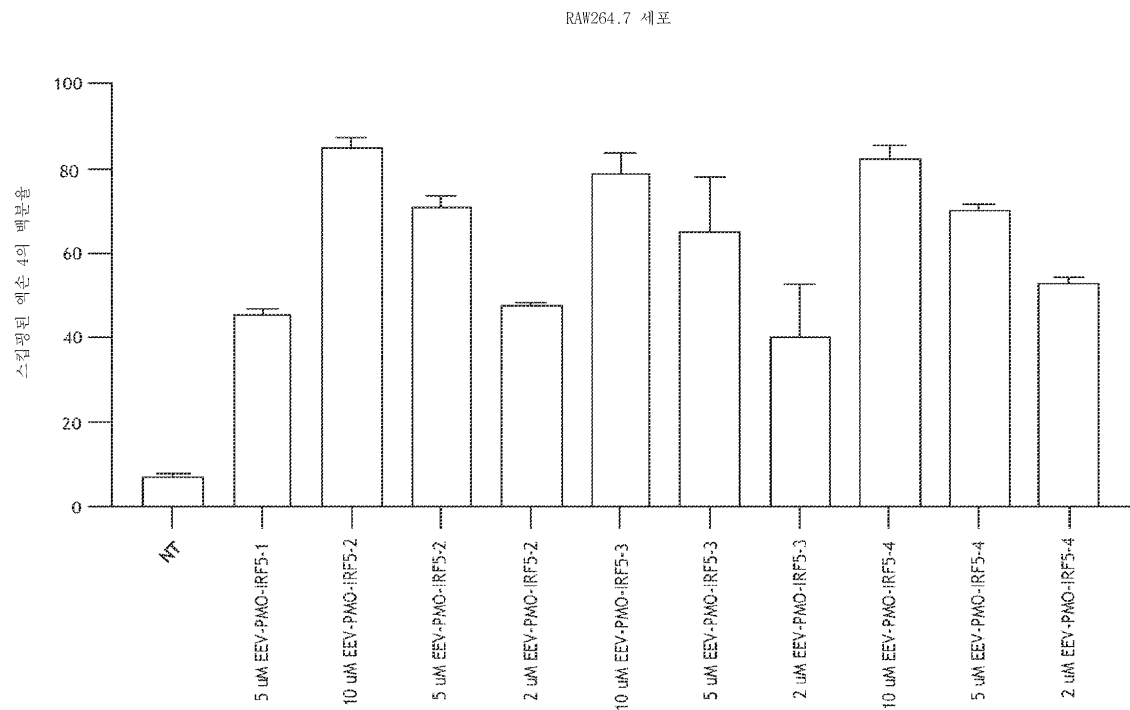
(계속됨)



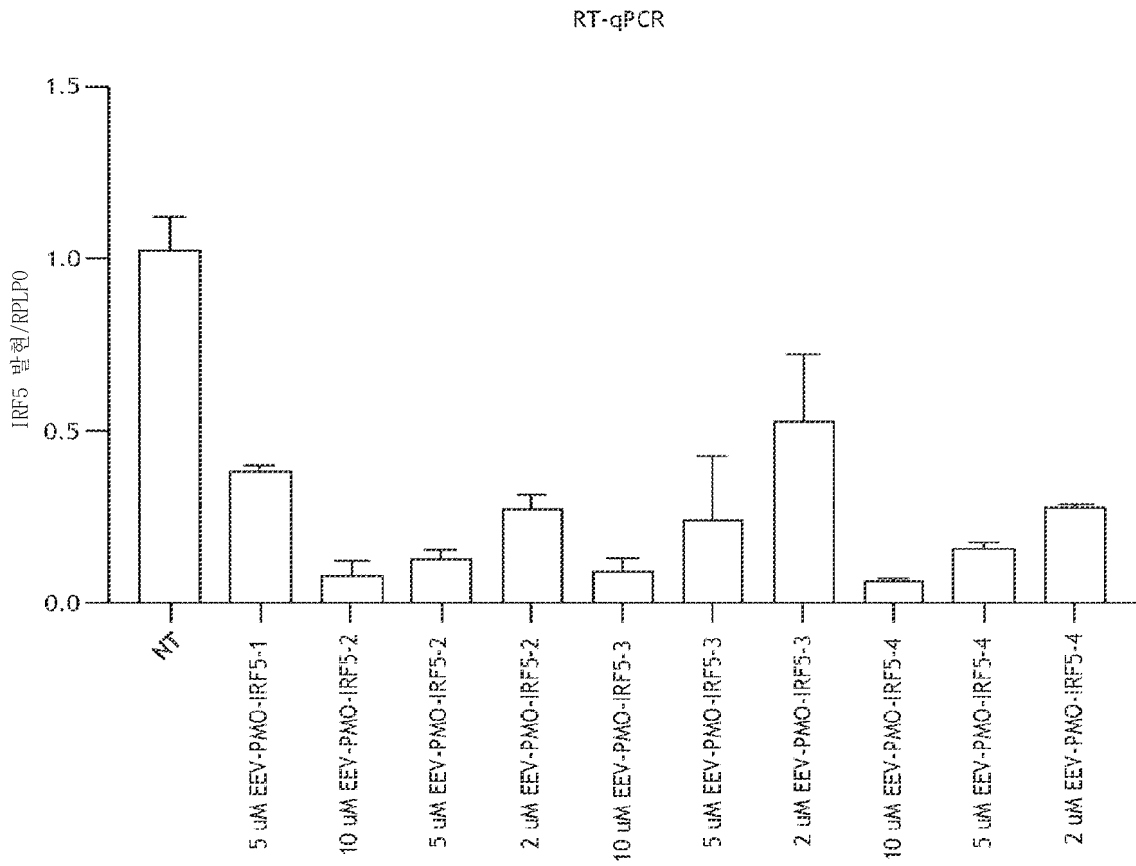
도면38



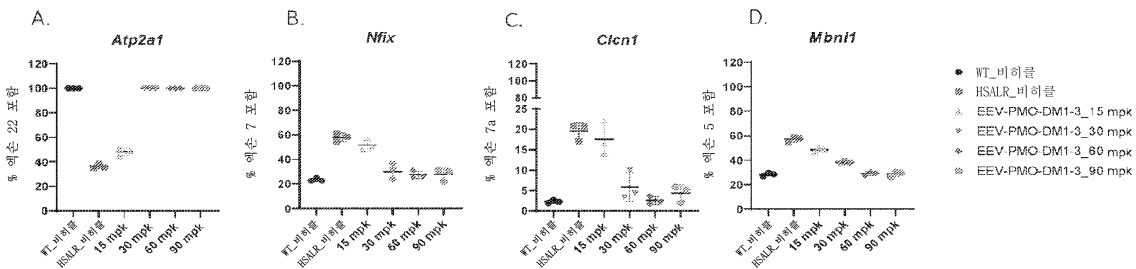
도면39



도면40

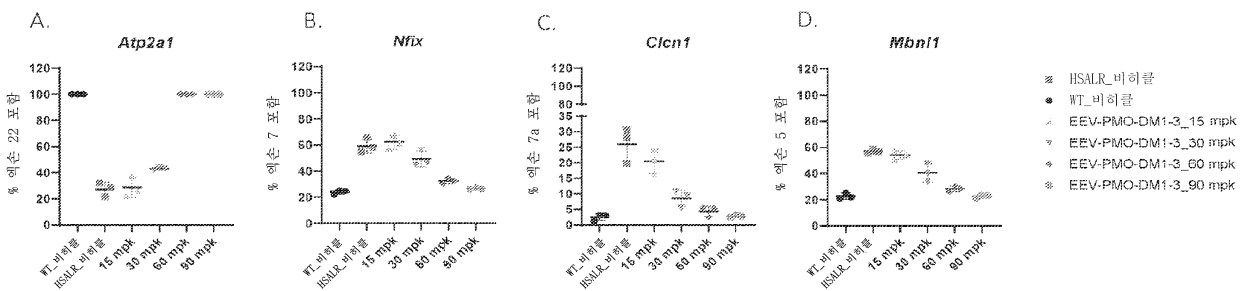


도면41



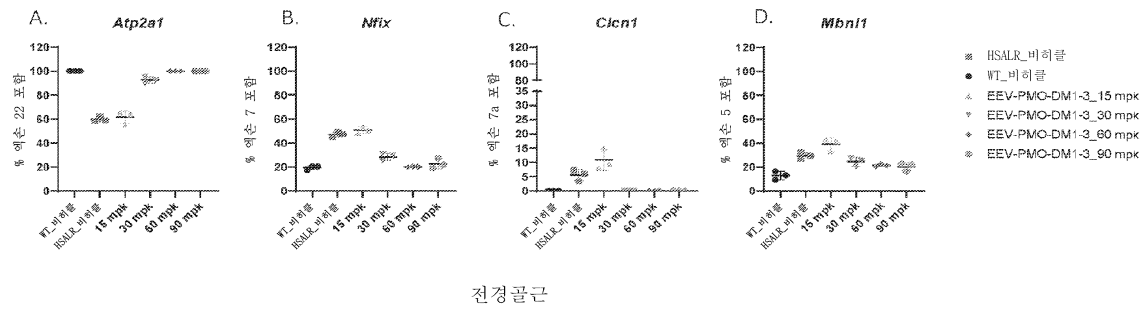
사두근

도면42

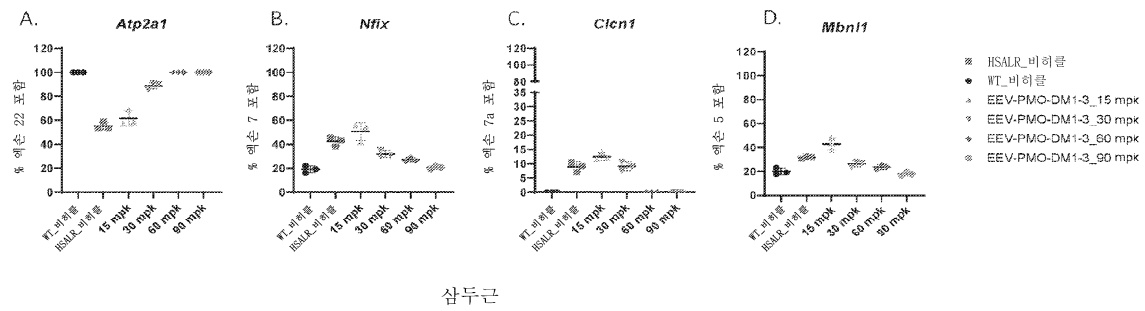


비복근

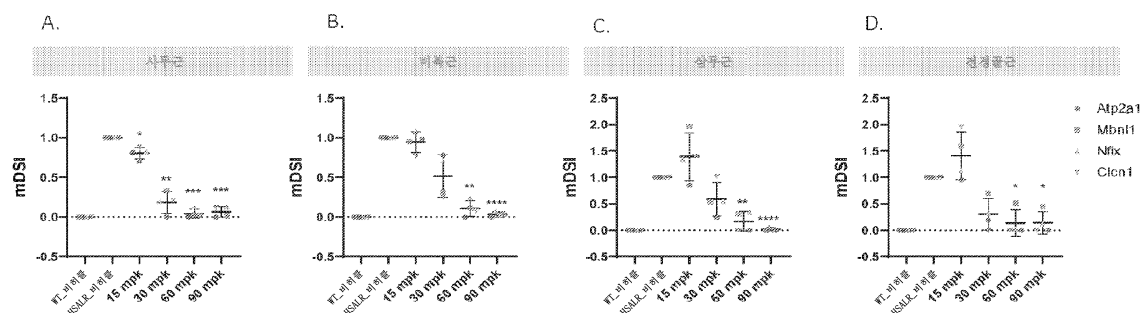
도면43



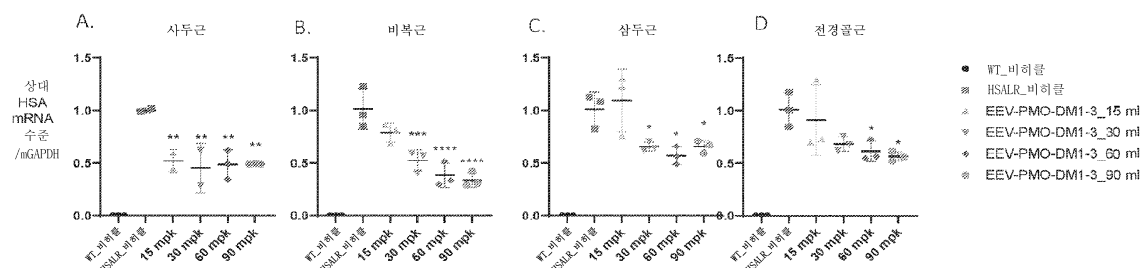
도면44



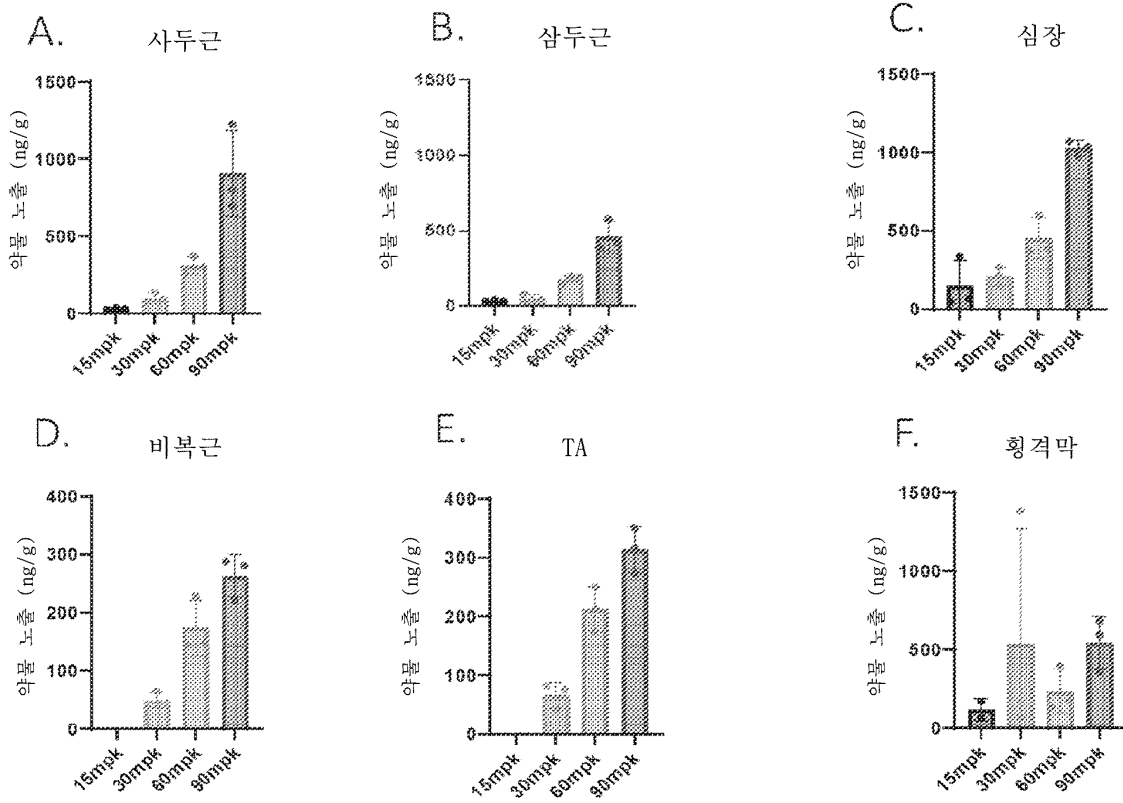
도면45



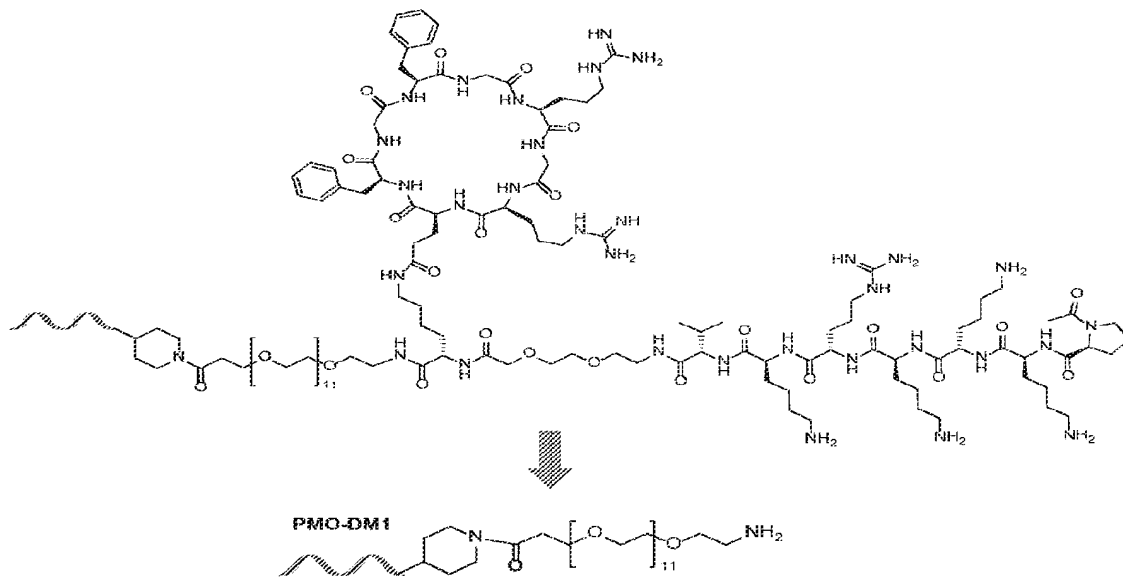
도면46



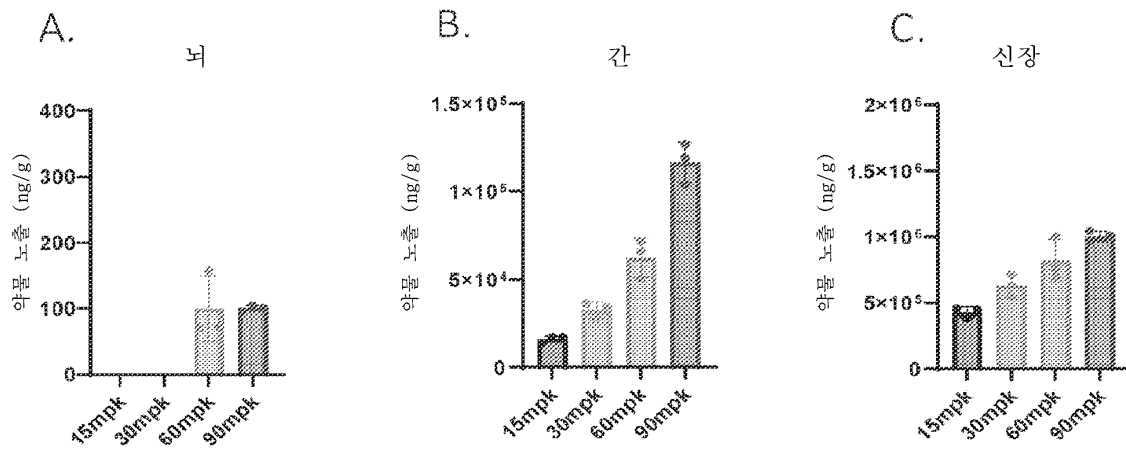
도면47



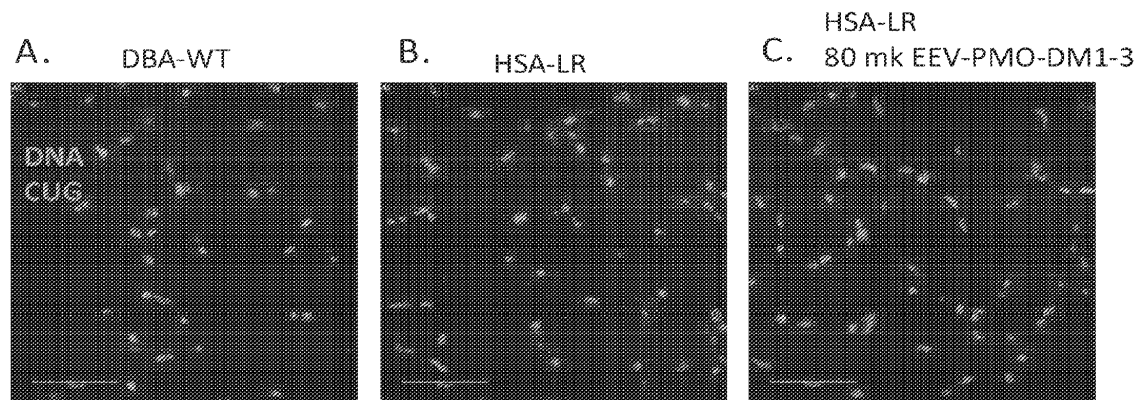
도면48



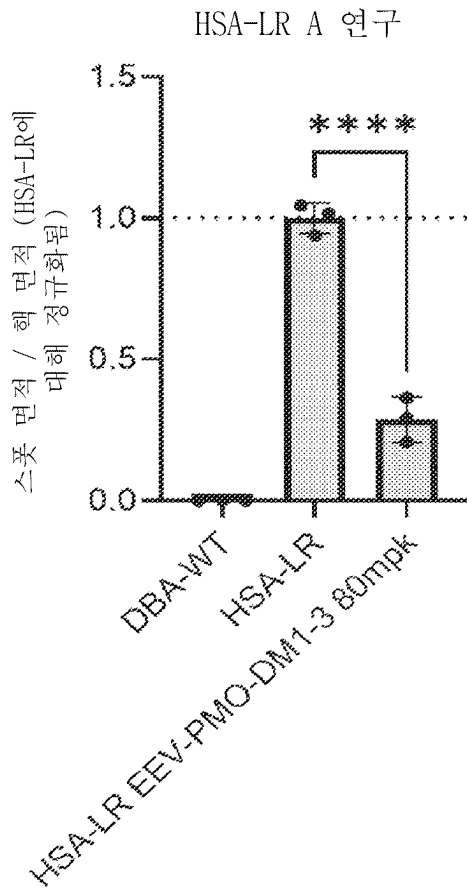
도면49



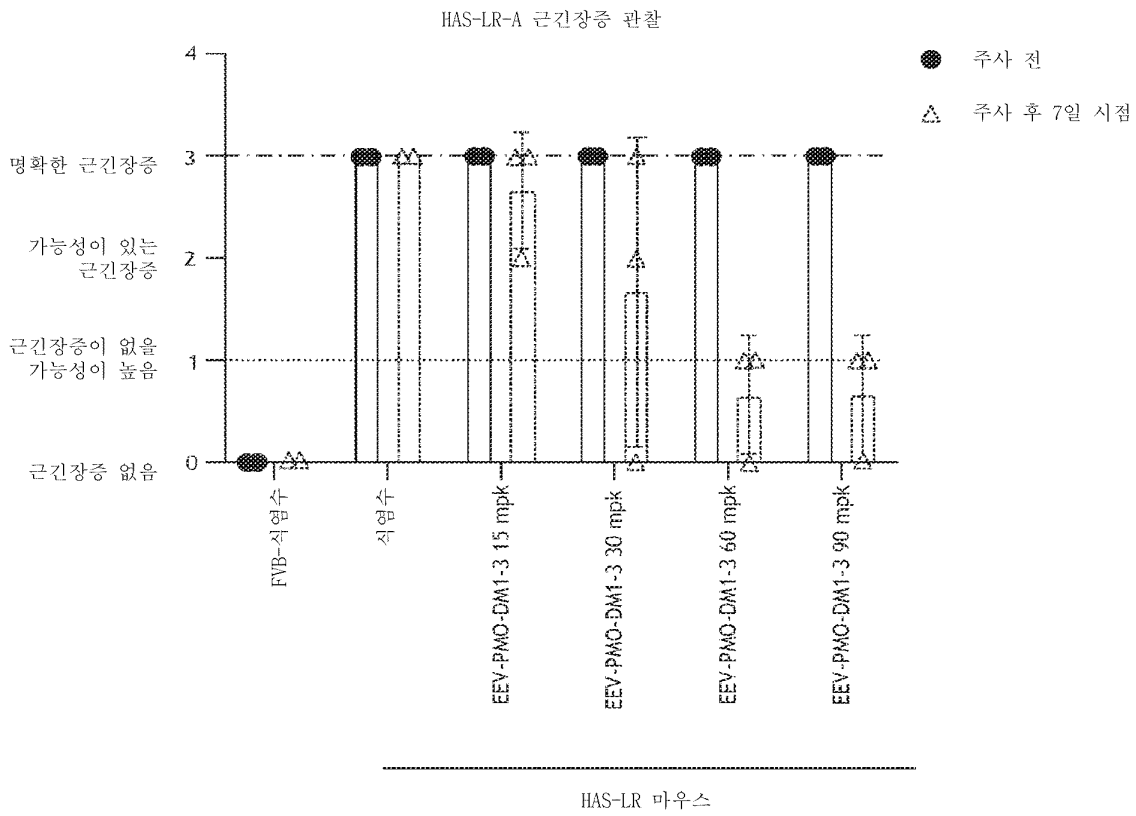
도면50



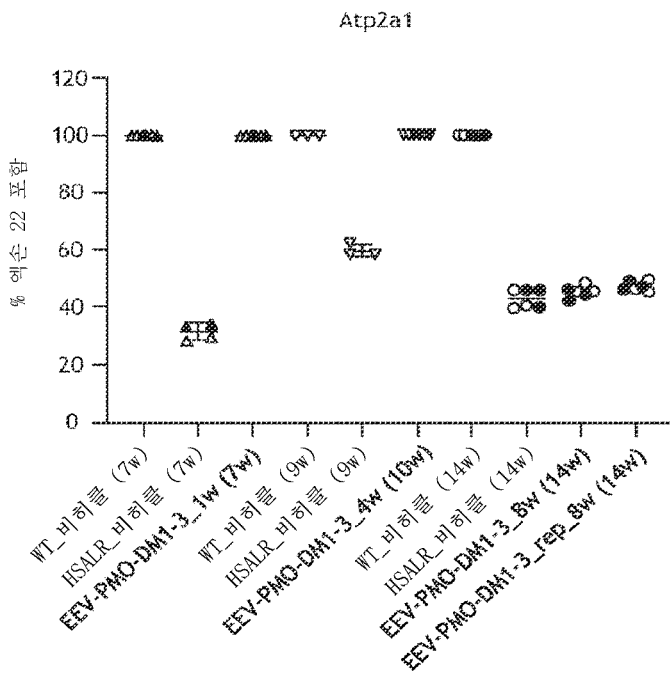
도면51



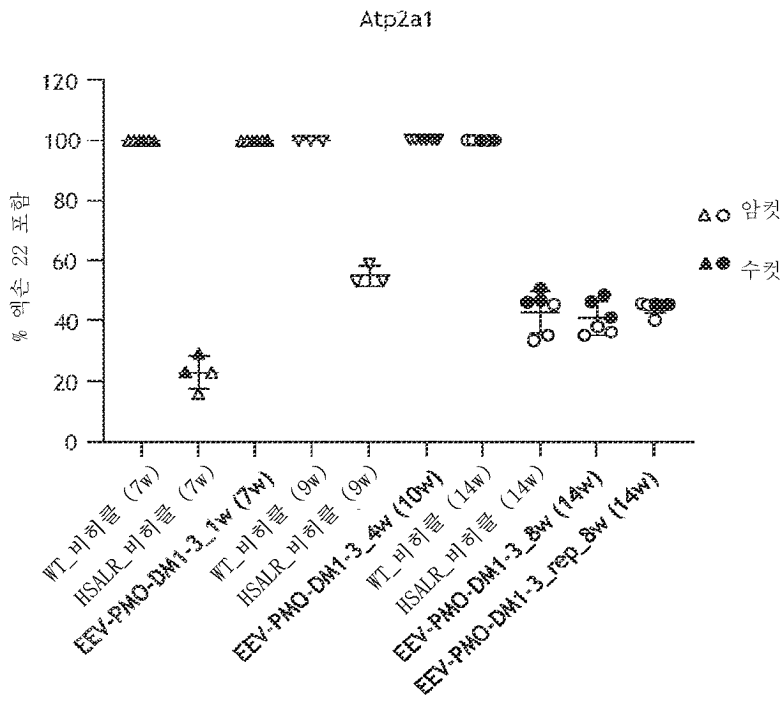
도면52



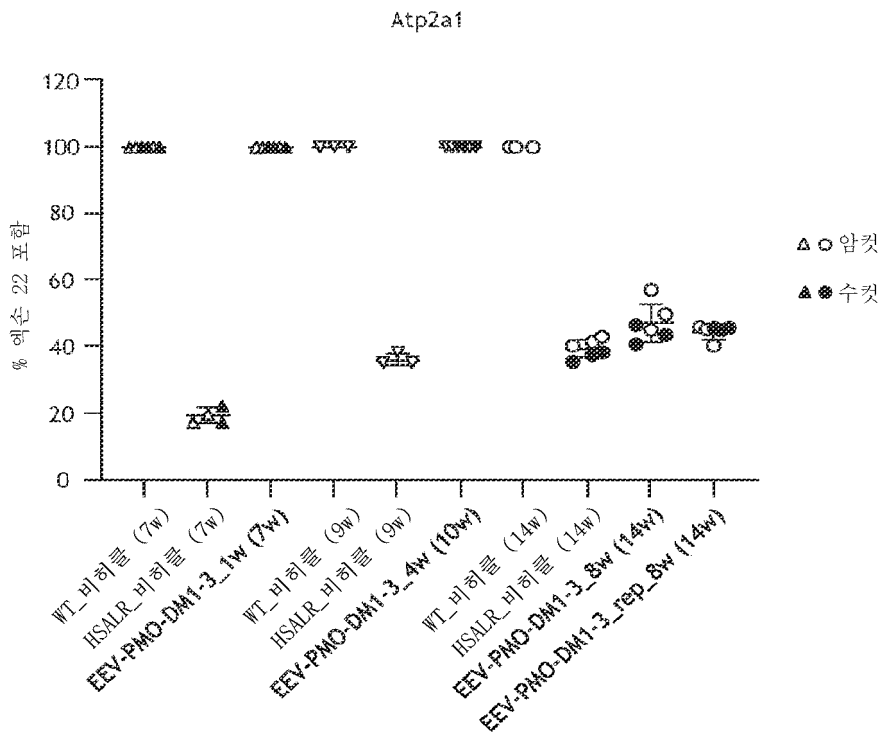
도면53a



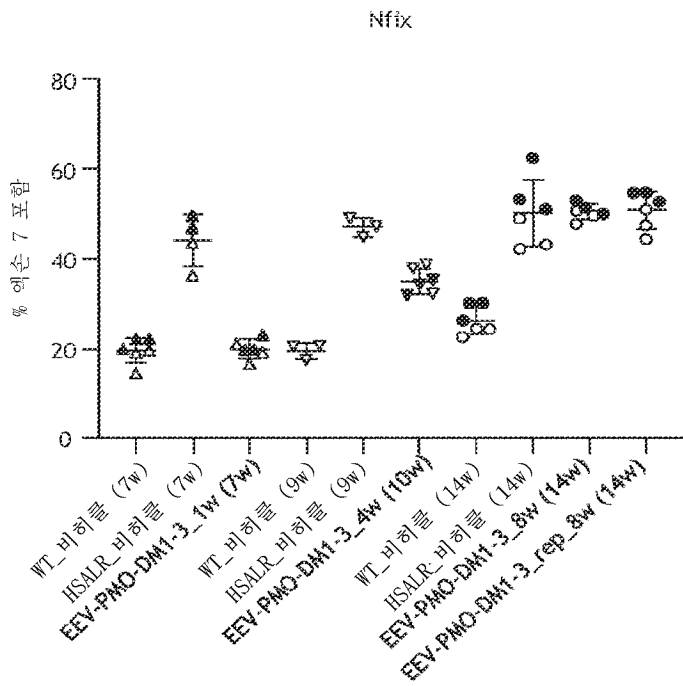
도면53b



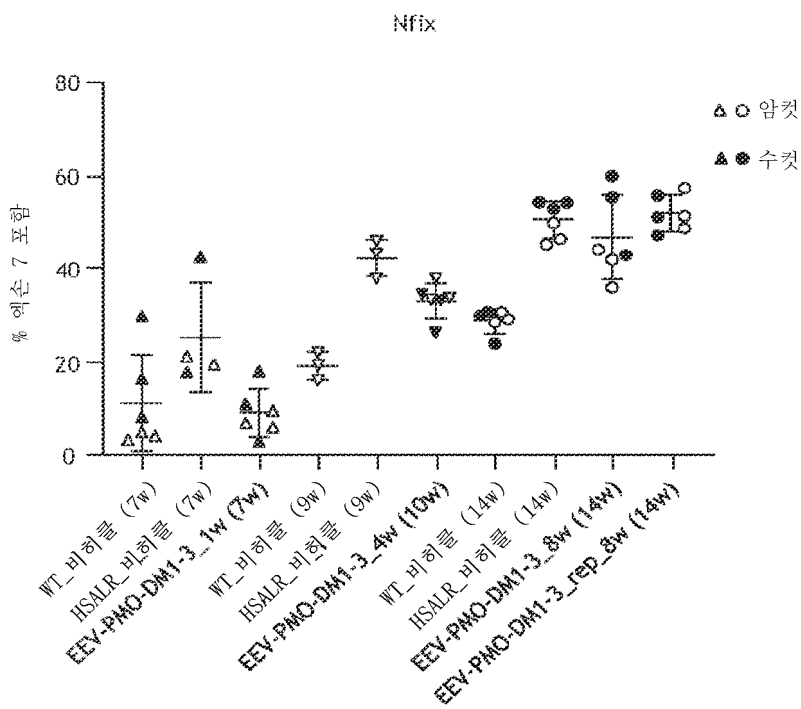
도면53c



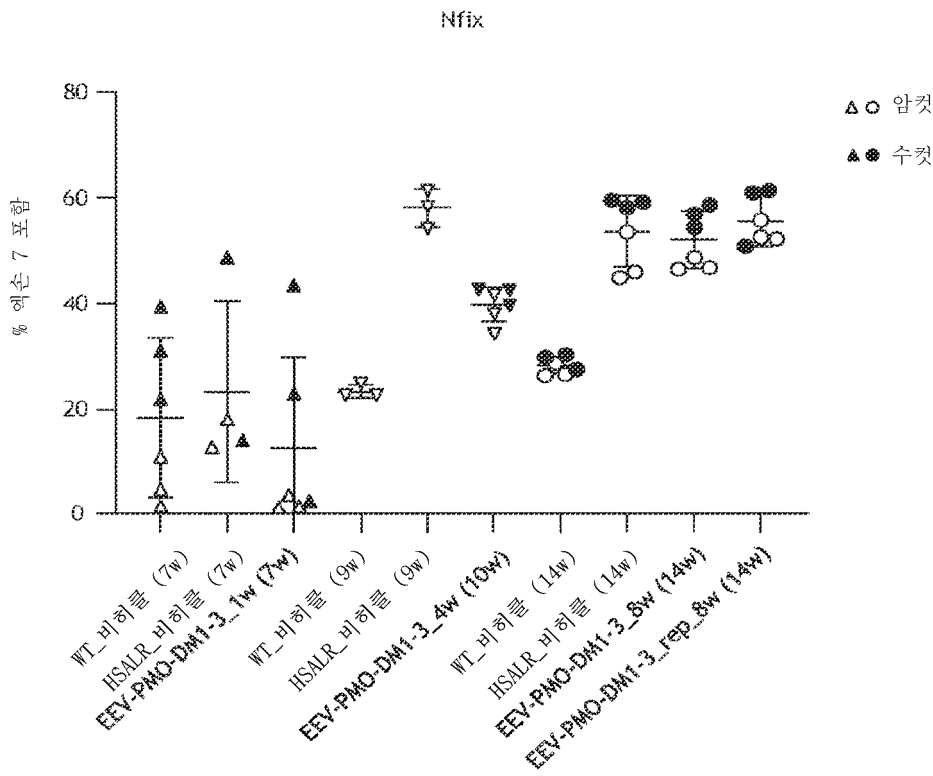
도면54a



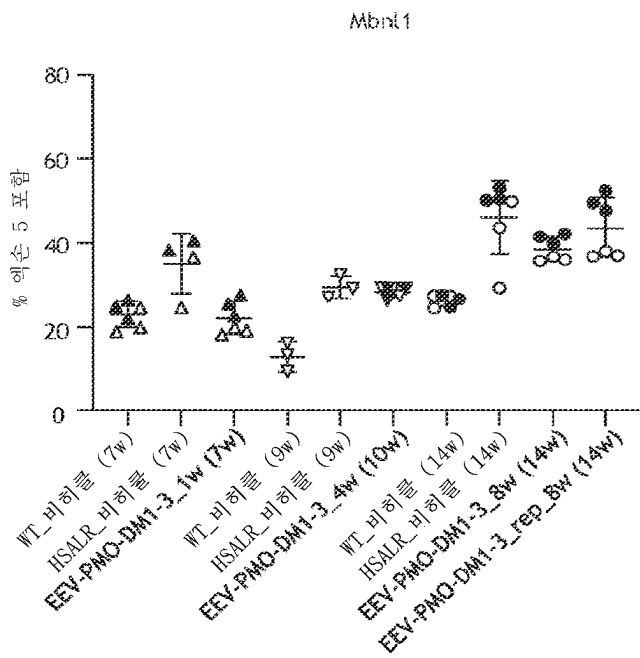
도면54b



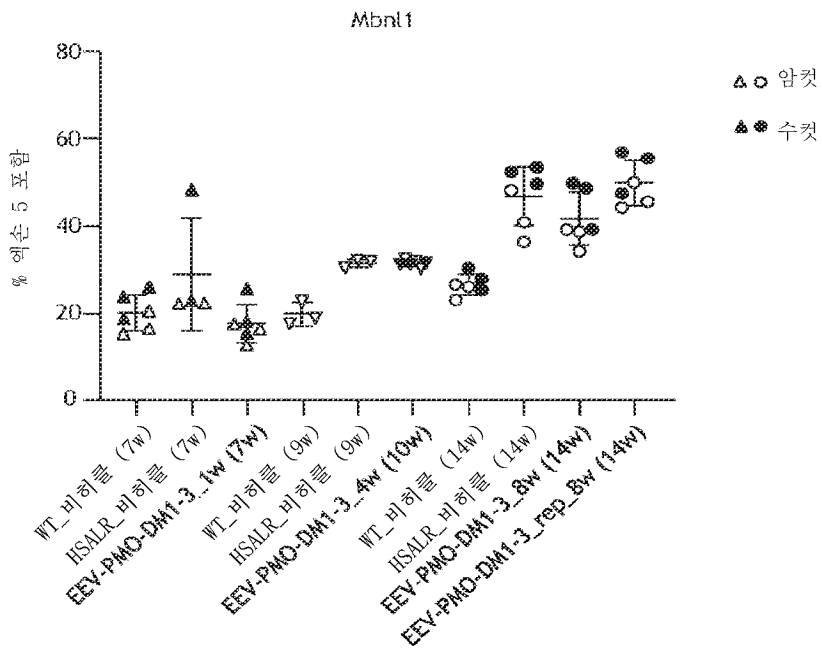
도면54c



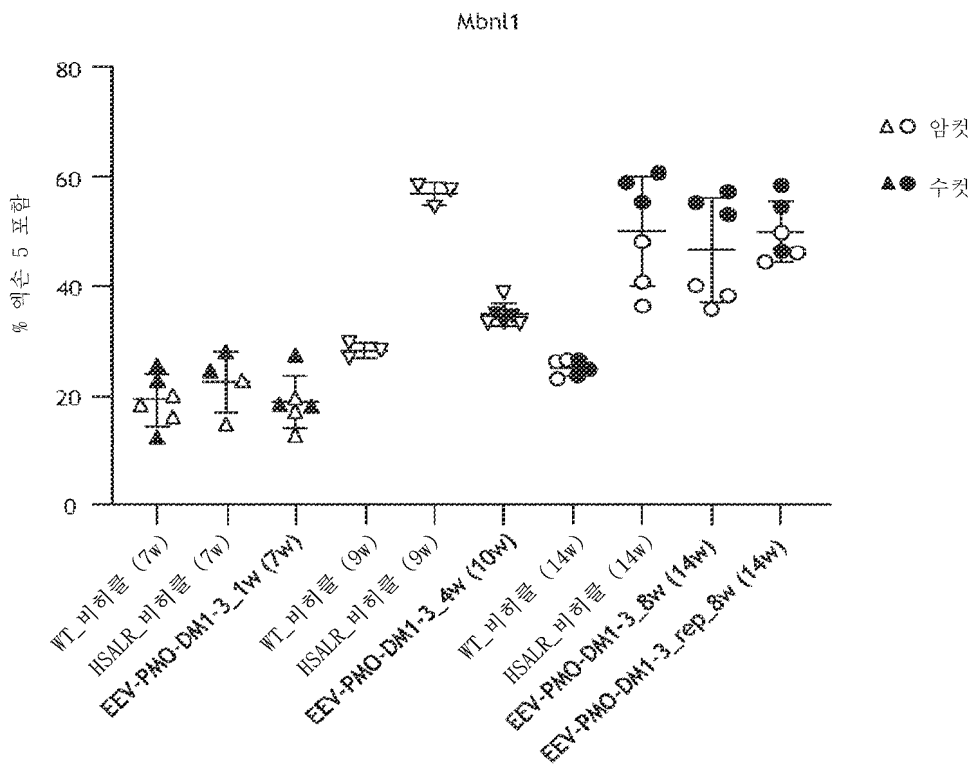
도면55a



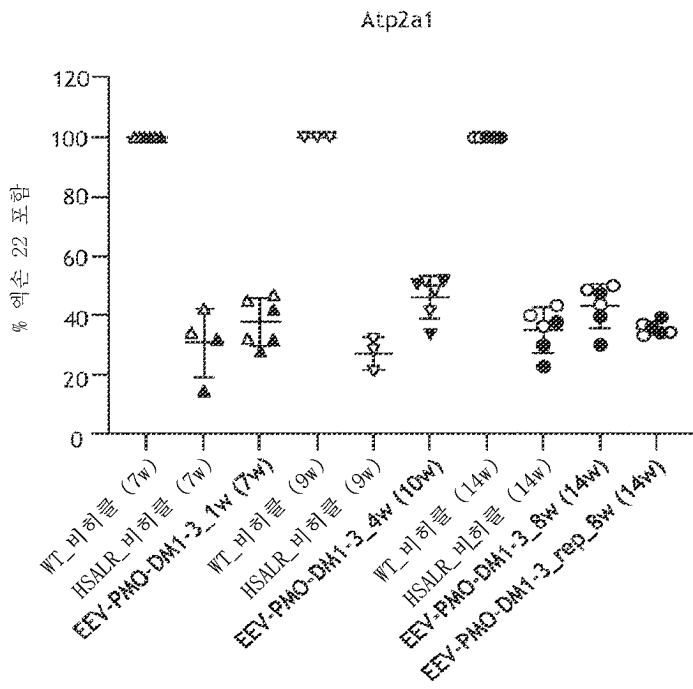
도면55b



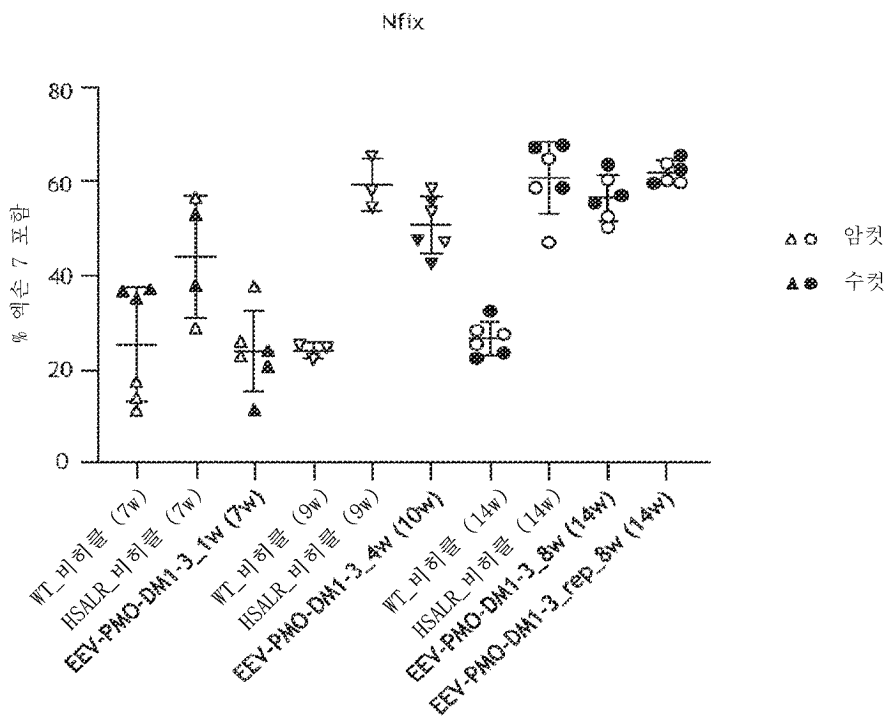
도면55c



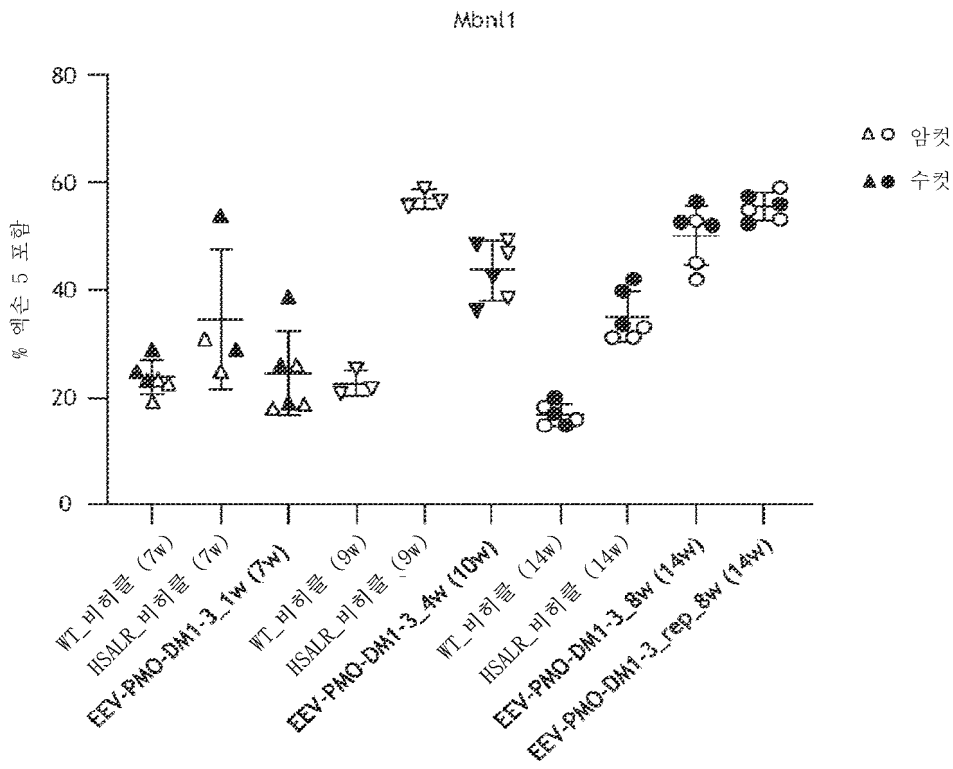
도면56a



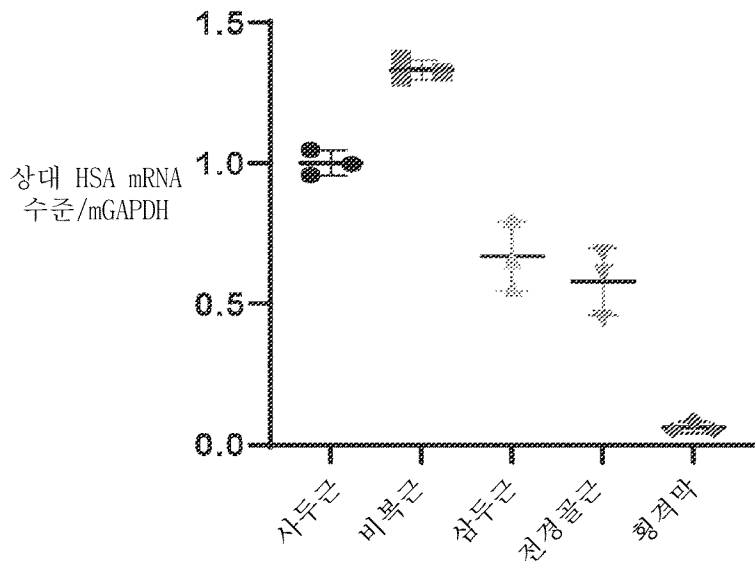
도면56b



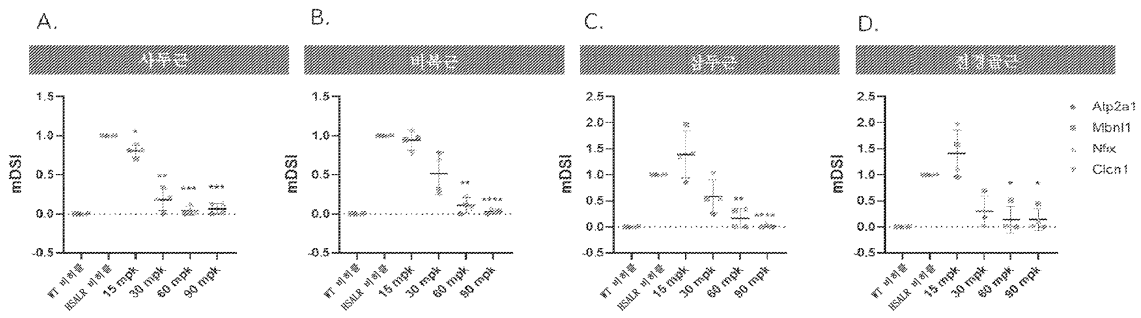
도면56c



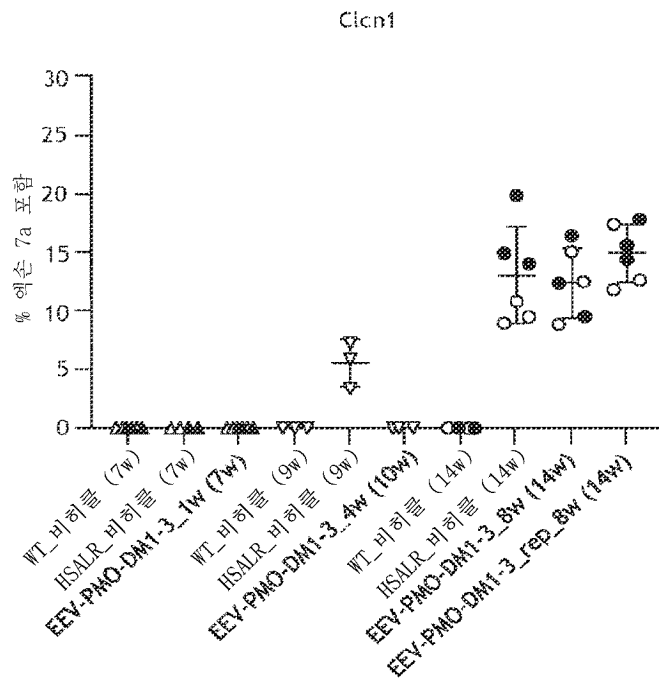
도면57



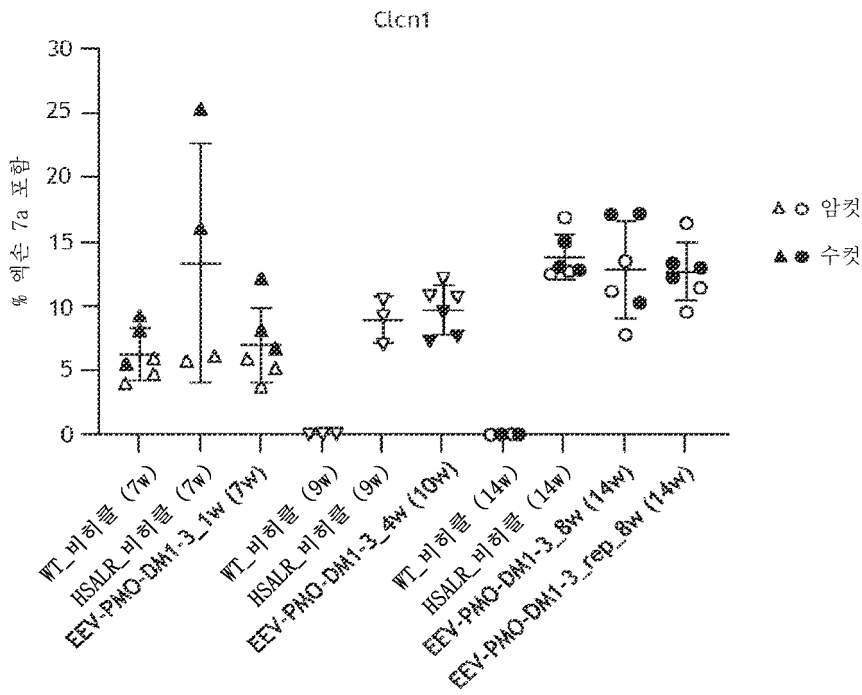
도면58



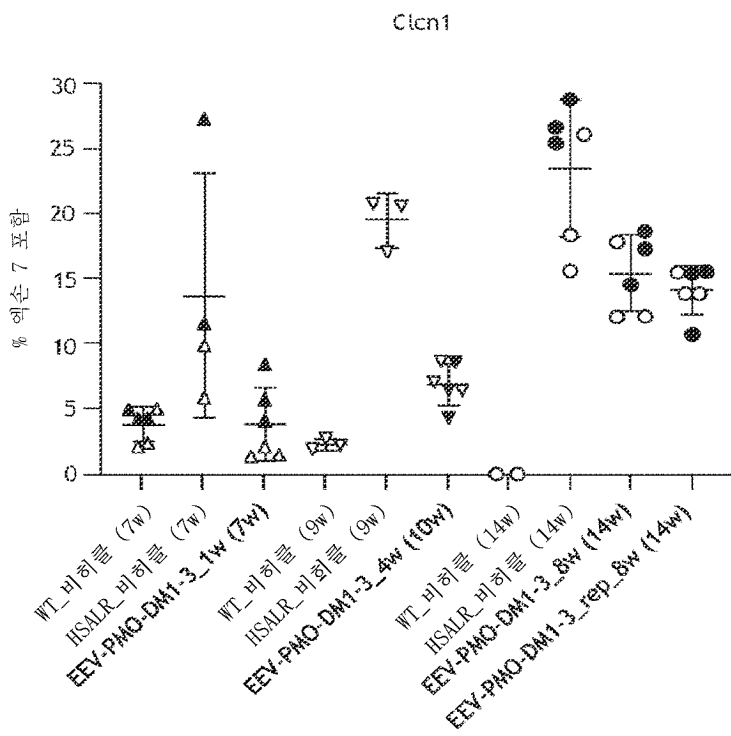
도면59a



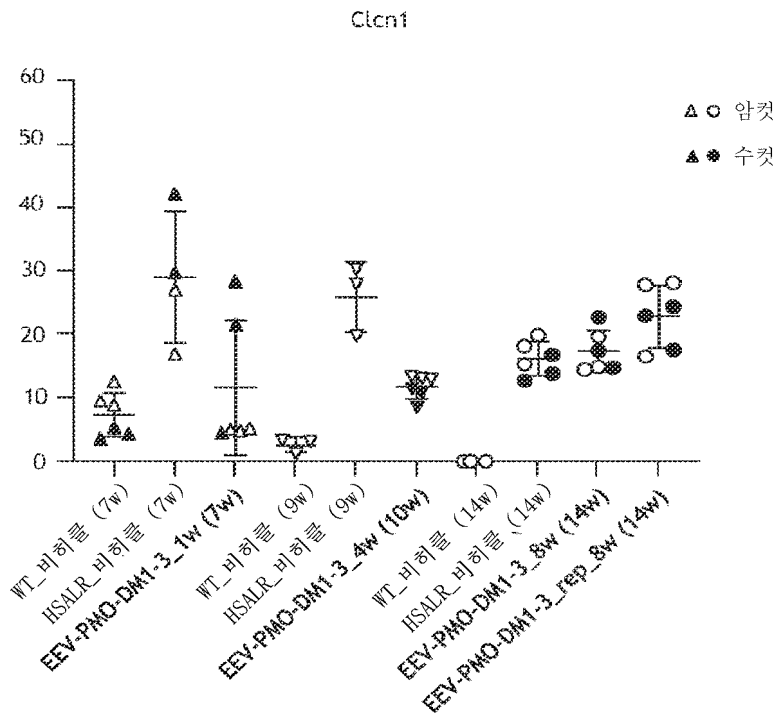
도면59b



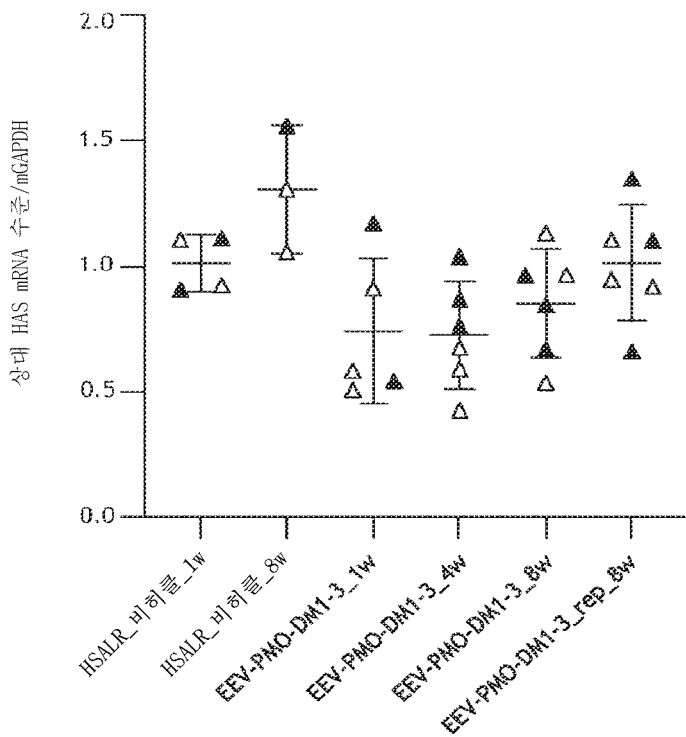
도면59c



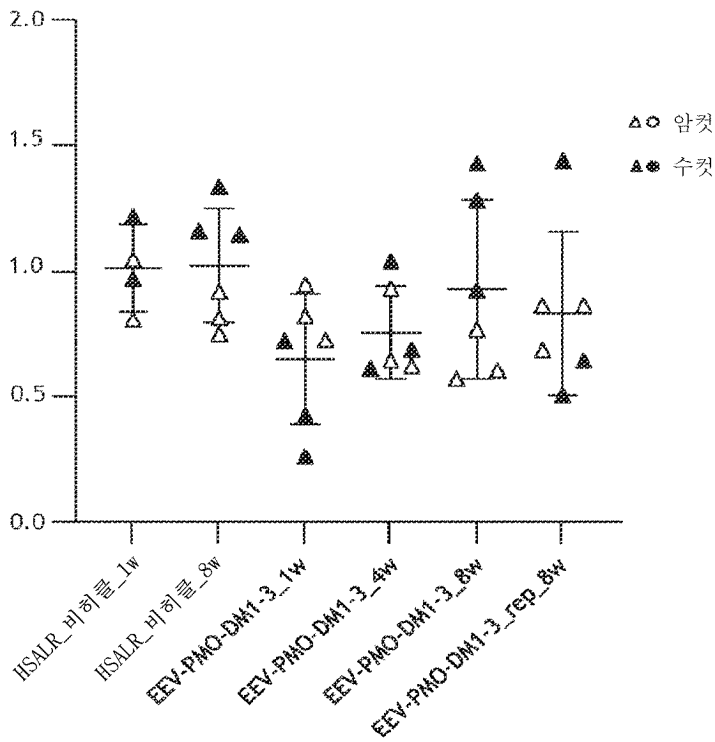
도면59d



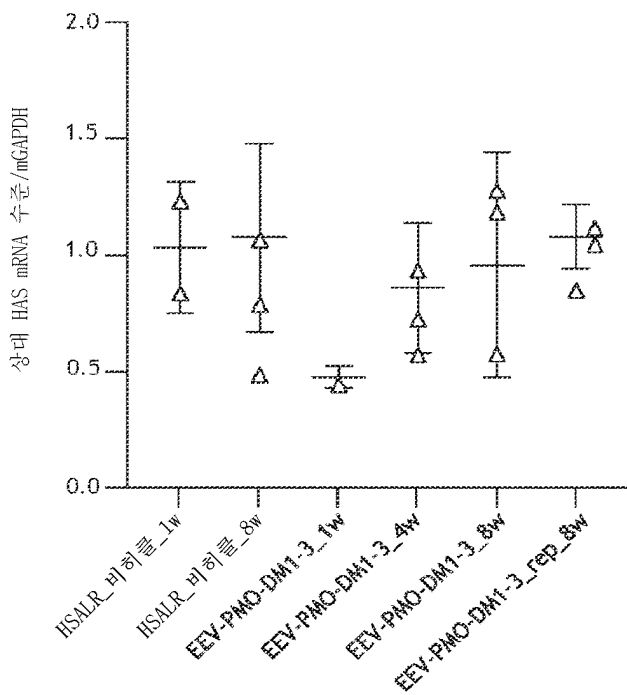
도면60a



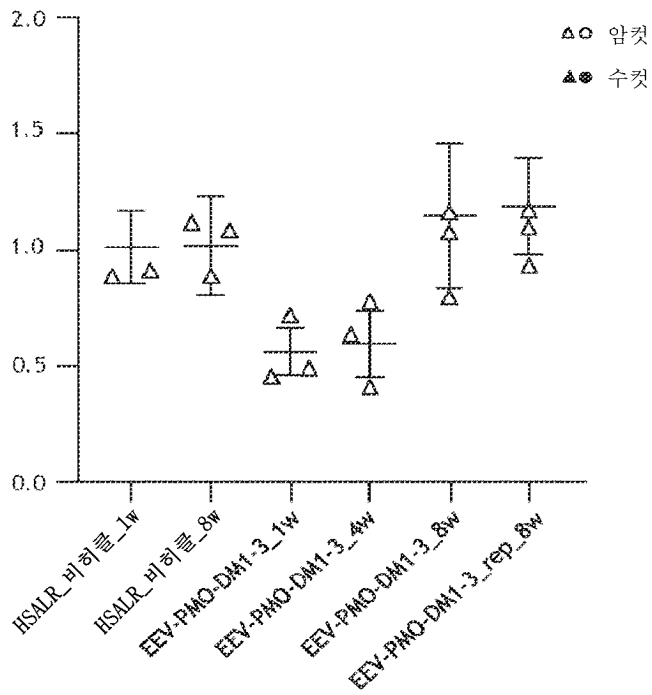
도면60b



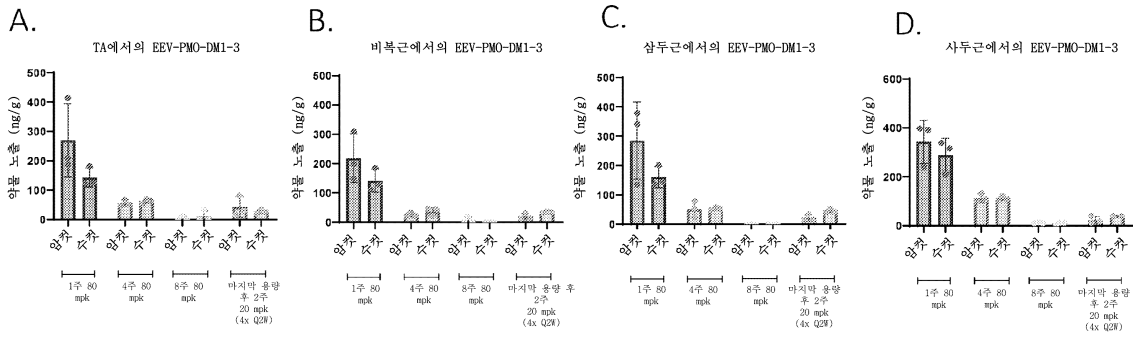
도면60c



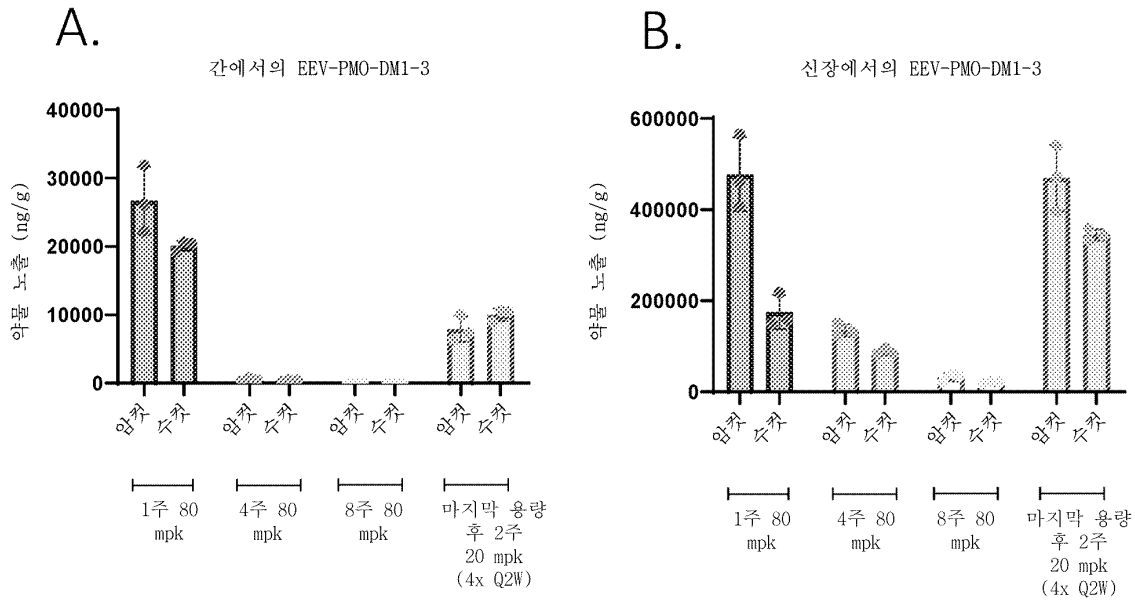
도면60d



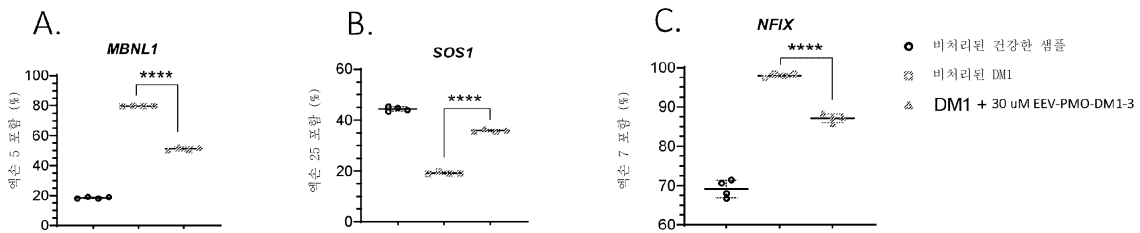
도면61



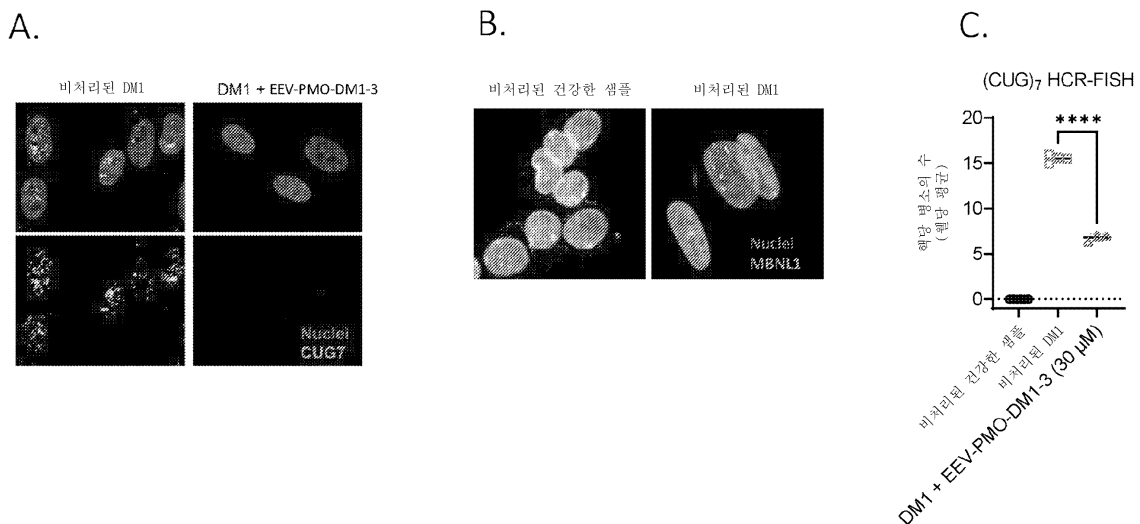
도면62



도면63



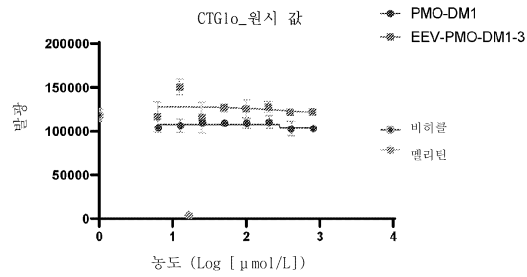
도면64



도면65

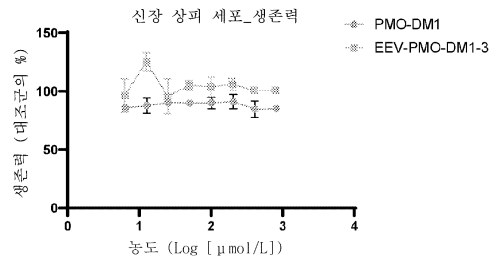
A.

CTG1 α 발광 원시 데이터



B.

멜리틴 양성 대조군에 대해 정규화됨



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Dougherty, Patrick

Kheirabadi, Mahboubeh

Li, Xiang

Qian, Ziqing

Entrada Therapeutics, Inc.

<120> CYCLIC CELL PENETRATING PEPTIDES

<130> 5892.019W01

<140> PCT/US2022/071489

<141> 2022-03-31

<150> US 63/168,888

<151> 2021-03-31

<150> US 63/171,860

<151> 2021-04-07

<150> US 63/239,671

<151> 2021-09-01

<150> US 63/290,960

<151> 2021-12-17

<150> US 63/298,565

<151> 2022-01-11

<150> US 63/268,577

<151> 2022-02-25

<160> 170

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 1

Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 2

Ala Ala Ala Ala Ala

1 5

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 3

Phe Phe Phe Phe

1

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = phosphocoumaryl amino propionic acid

<400> 4

Asp Glu Xaa Leu Ile

1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 5

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala

1 5

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 6

Arg Ala Arg Ala Arg

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 7

Asp Ala Asp Ala Asp

1 5

<210> 8

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = norleucine

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = 2-aminobutyric acid

<400> 8

Asp Xaa Xaa Asp

1

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = 2-aminobutyric acid

<400> 9

Xaa Thr Arg Val

1

<210> 10

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-phosphothreonine

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-piperidine-2-carboxylate

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<400> 10

Xaa Xaa Xaa

1

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 11

Pro Xaa Gly Xaa Tyr Arg

1

5

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 4,5

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 12

Ser Xaa Ile Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 13

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 13

Ile His Ile Xaa Ile Arg

1 5

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-alanine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = L-homoproline

<400> 14

Ala Xaa Ile Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 15

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = L-4-fluorophenylalanine

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = D-Valine

<400> 15

Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 16

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Asn
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 16
Xaa Xaa Pro Xaa Ala Arg
1 5
<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222>
2
<223> Xaa = L-phenylglycine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 17
Tyr Xaa Ala Xaa Gly Arg
1 5
<210> 18
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa = D-Alanine

<400> 18

Ala His Ile Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 19

<211> 6

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = D-Proline

<400> 19

Gly Xaa Gly Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 20

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Phenylalanin

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 20
Xaa Gln Xaa Xaa Ile Arg
1 5
<210> 21
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 21
Ser Pro Gly Xaa His Arg
1 5
<210> 22
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence

<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 22
Xaa Tyr Ile Xaa His Arg
1 5
<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Valine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 23

Ser Xaa Pro Xaa His Arg

1 5

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = D-Asn

<400> 24

Ala Ile Pro Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = L-4-fluorophenylalanine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 25

Xaa Ser Ile Xaa Gln Arg

1 5

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-alanine

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = L-phenylglycine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = D-Phenylalanine

<400> 26

Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 27

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence
 <221> SITE
 <222> 1
 <223> Xaa = D-Asn
 <221> SITE
 <222> 2
 <223> Xaa = D-Thr
 <221> SITE
 <222> 3
 <223> Xaa = L-phenylglycine
 <221> SITE
 <222> 4
 <223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
 <221> SITE
 <222> 5
 <223> Xaa = L-phenylglycine
 <400> 27
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg
 1 5
 <210> 28
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <
 220>
 <223> A synthetic sequence
 <221> SITE
 <222> 2
 <223> Xaa = L-phenylglycine
 <221> SITE
 <222> (0)...(0)
 <223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
 <221> MOD_RES
 <222> 6
 <223> Xaa = Nle

<400> 28

Ile Pro Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = L-4-fluorophenylalanine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = L-homoproline

<400> 29

Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 30

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = L-4-fluorophenylalanine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 30

Xaa Ala Xaa Xaa Gly Arg

1 5

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Thr

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 31

Xaa Xaa Tyr Xaa Ala Arg

1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1
<223> Xaa = D-Glu
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = L-phenylglycine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa = D-Val
<400> 32
Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Arg
1 5
<210> 33
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = D-Val
<221> SITE
<222> 3
<223>
Xaa = L-phenylglycine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 33
Ile Xaa Xaa Xaa Ala Arg
1 5
<210> 34
<211> 6

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = D-Thr
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = L-phenylglycine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 34
Tyr Xaa Xaa Xaa Ala Arg

1 5
<210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = D-Asn
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = L-homoproline
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = L-phenylglycine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 35

Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Arg

1 5

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 36

Xaa Xaa Trp Xaa His Arg

1 5

<210> 37

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-homoproline

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = D-Val

<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 37
Tyr Xaa Xaa Xaa Ile Arg
1 5
<210> 38
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = D-Asn
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = D-Ala
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 38
Xaa Ser Xaa Xaa Gly Arg
1 5
<210> 39

<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = D-Thr
<221> SITE

<222> 2
<223> Xaa = D-Asn
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = D-Val
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa = D-ala
<400> 39
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg
1 5
<210> 40
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = D-Asn
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = D-Thr
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = D-Val
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa =L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<221> SITE
<222> 5

<223> Xaa = D-Thr

<400> 40

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 41

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = D-Thr

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 41

Ser Ile Xaa Xaa Tyr Arg

1 5

<210> 42

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-4-fluorophenylalanine

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = D-Leu

<400> 42

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 43

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa =D-Asn

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = Nle

<400> 43

Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 44

Xaa Tyr Xaa Xaa Gly Arg

1 5

<210> 45

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = D-Asn

<221>

> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 45

Ala Trp Xaa Xaa Ala Arg

1 5

<210> 46

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Val

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Thr

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 46

Xaa Xaa His Xaa Tyr Arg

1 5

<210> 47

<

211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-phenylglycine;

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = L-homoproline

<400> 47

Pro Xaa His Xaa Xaa Arg

1 5

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = D-Asn

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = L-phenylglycine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 48

Xaa Xaa His Xaa Gly Arg

1 5

<210> 49

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 49

Pro Ala His Xaa Gly Arg

1 5

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<400> 50
Ala Tyr His Xaa Ile Arg
1 5
<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = D-Asn
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = L-homoproline
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = D-Glu
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine

<400> 51
Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Arg
1 5
<210> 52
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence

<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = D-Val
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = L-4-(phosphonodifluoromethyl)phenylalanine
<221> SITE
<222> 5
<223> D-Thr
<400> 52
Xaa Ser Ser Xaa Xaa Arg
1 5
<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE

<222> 1
<223> Xaa = D-Ala
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = sarcosine
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = D-pThr
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = pipecolic acid
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa = L-beta-naphthylalanine
<400> 53

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Gln Lys

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = trimesic acid

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Ala

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = sarcosine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = D-pThr

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = L-pipecolic acid

<221> SITE

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = L-beta-naphthylalanine

<221> SITE

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = L-2,3-diaminopropionic acid

<400> 54

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Ala Xaa

1 5

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<

223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 1

<223> Xaa = trimesic acid

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = D-Ala

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = sarcosine

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = D-pThr

<221> SITE

<222> 5

<223> Xaa = L-pipecolic acid

<221> SITE

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = L-?naphthylalanine

<221> SITE

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = D-Ala

<221> SITE

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = L-2,3-diaminopropionic acid

<400> 55

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Ala Xaa Xaa

1 5 10

<210> 56

<211> 10

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = trimesic acid
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = D-Als
<221> SITE
<222> 3
<223> Xaa = sarcosine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = D-Thr
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa = L-pipecolic acid
<221> SITE
<
<222> (6)...(6)
<223> Xaa = L- β -naphthylalanine
<221> SITE
<222> (9)...(9)
<223> Xaa = D-Ala
<221> SITE
<222> (10)...(10)
<223> Xaa = L-2,3-diaminopropionic acid
<400> 56
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Ala Xaa Xaa
1 5 10
<210> 57
<211> 10
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 1
<223> Xaa = trimesic acid
<221> SITE
<222> 2
<223> Xaa = D-Ala
<221>
SITE
<222> 3
<223> Xaa = sarcosine
<221> SITE
<222> 4
<223> Xaa = D-Thr
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa = L-pipecolic acid
<221> SITE
<222> (6)...(6)
<223> Xaa = L-beta-naphthylalanine
<221> SITE
<222> (9)...(9)
<223> Xaa = D-Ala
<221> SITE
<222> (10)...(10)
<223> Xaa = L-2,3-diaminopropionic acid
<400> 57
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Ala Xaa Xaa
1 5 10
<210> 58
<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 58

His His His His

1

<210> 59

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 59

Lys His Lys Lys

1

<210> 60

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 60

Lys Lys His Lys

1

<210> 61

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 61

Lys Lys Lys His

1

<210

> 62

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 62

Lys His Lys His

1

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 63

His Lys His Lys

1

<210> 64

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 64

Lys Lys Lys Lys

1

<210> 65

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 65

Lys Lys Arg Lys

1

<210> 66

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 66

Lys Arg Lys Lys

1

<210> 67

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 67

Lys Arg Arg Lys

1

<210> 68

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 68

Arg Lys Lys Arg

1

<210> 69

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 69

Arg Arg Arg Arg

1

<210> 70

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 70

Lys Gly Lys Lys

1

<210> 71

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 71

Lys Lys Gly Lys

1

<210> 72

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 72

His Xaa His Xaa His

1

5

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 73

His Xaa Lys Xaa His

1 5

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 74

Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 75

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 75

Lys Lys Lys Lys Lys

1 5

<210

> 76

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 76

Lys Lys Lys Arg Lys

1 5

<210> 77

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 77

Arg Lys Lys Lys Lys

1 5

<210> 78

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 78

Lys Arg Lys Lys Lys

1 5

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 79

Lys Lys Arg Lys Lys

1 5

<210> 80

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 80

Lys Lys Lys Lys Arg

1 5

<210> 81

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 81

Lys Xaa Lys Xaa Lys

1 5

<210> 82

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 82

Arg Lys Lys Lys Lys Gly

1 5

<210> 83

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 83

Lys Arg Lys Lys Lys Gly

1 5

<210> 84

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 84

Lys Lys Arg Lys Lys Gly

1 5

<210> 85

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400>

> 85

Lys Lys Lys Lys Arg Gly

1 5

<210> 86

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 6

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 86

Arg Lys Lys Lys Lys Xaa

1 5

<210> 87

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 6

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 87

Lys Arg Lys Lys Lys Xaa

1 5

<210> 88

<211> 6

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 6

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 88

Lys Lys Arg Lys Lys Xaa

1 5

<210> 89

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 6

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 89

Lys Lys Lys Lys Arg Xaa

1 5

<210> 90

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400

> 90

Lys Lys Lys Arg Lys Val

1 5

<210> 91

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 91

Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 92

His His His His His His

1 5

<210> 93

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 93

Arg His Arg His Arg His

1 5

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 94

His Arg His Arg His Arg

1 5

<210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 95

Lys Arg Lys Arg Lys Arg

1 5

<210> 96

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 96

Arg Lys Arg Lys Arg Lys

1 5

<210> 97

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4,6

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 97

Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa

1 5

<210> 98

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4,6

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 98

Lys Xaa Lys Xaa Lys Xaa

1 5

<210> 99

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 99

Arg Xaa Arg Xaa Arg

1 5

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 100

Arg Xaa His Xaa Arg

1 5

<210> 101

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 101

His Xaa Arg Xaa His

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 102

Lys Xaa Lys Ala Glu Glu Ala Lys

1 5

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2,4

<223> Xaa = beta-alanine

<400> 103

Lys Xaa Lys Xaa Lys Ala Glu Glu Ala Lys

1 5 10

<210> 104

<211> 6

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 104

Lys Lys Lys Arg Lys Gly

1 5

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 105

Lys Lys Lys Arg Lys

1 5

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 106

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val

1 5

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 107

Pro Gly Lys Lys Arg Lys Val

1 5

<210> 108

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 108

Pro Lys Gly Lys Arg Lys Val

1 5

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 109

Pro Lys Lys Gly Arg Lys Val

1 5

<210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 110

Pro Lys Lys Lys Gly Lys Val

1 5

<210> 111

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 111

Pro Lys Lys Lys Arg Gly Val

1 5

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 112

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Gly

1 5

<210> 113

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 113

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Lys

1 5
<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<221> SITE
<222> 5
<223> Xaa =citrulline
<400> 114

Pro Lys Lys Lys Xaa Lys Val

1 5
<210> 115
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> A synthetic sequence
<400> 115

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ala Glu Glu Ala Lys

1 5 10
<210> 116
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
>
<223> A synthetic sequence
<400> 116

Asn Leu Ser Lys Arg Pro Ala Ala Ile Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys

1 5 10 15
Lys Lys Lys

<210> 117

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 117

Pro Ala Ala Lys Arg Val Lys Leu Asp

1 5

<210> 118

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 118

Arg Gln Arg Arg Asn Glu Leu Lys Arg Ser Phe

1 5 10

<210> 119

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 119

Arg Met Arg Lys Phe Lys Asn Lys Gly Lys Asp Thr Ala Glu Leu Arg

1 5 10 15

Arg Arg Arg Val Glu Val Ser Val Glu Leu Arg

20 25

<210> 120

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 120

Lys Ala Lys Lys Asp Glu Gln Ile Leu Lys Arg Arg Asn Val

1 5 10

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 121

Val Ser Arg Lys Arg Pro Arg Pro

1 5

<210> 122

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 122

Pro Pro Lys Lys Ala Arg Glu Asp

1 5

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 123

Pro Gln Pro Lys Lys Lys Pro Leu

1 5

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 124

Ser Ala Leu Ile Lys Lys Lys Lys Lys Met Ala Pro

1 5 10

<210> 125

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 125

Asp Arg Leu Arg Arg

1 5

<210> 126

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 126

Pro Lys Gln Lys Lys Arg Lys

1 5

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 127

Arg Lys Leu Lys Lys Lys Ile Lys Lys Leu

1 5 10

<210> 128

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 128

Arg Glu Lys Lys Lys Phe Leu Lys Arg Arg

1 5 10

<210> 129

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 129

Lys Arg Lys Gly Asp Glu Val Asp Gly Val Asp Glu Val Ala Lys Lys

1 5 10 15

Lys Ser Lys Lys

20

<210> 130

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 130

Arg Lys Cys Leu Gln Ala Gly Met Asn Leu Glu Ala Arg Lys Thr Lys

1 5 10 15

Lys

<210> 131

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<400> 131

Phe Asp Phe Xaa Gly Asp Arg Gly Asp Arg Gly Gln

1 5 10

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<400> 132

Phe Asp Phe Xaa Gly Asp Arg Gly Asp Arg Gln

1 5 10

<210> 133

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<221> SITE

<222> 5,8

<223> Xaa = citrulline

<400> 133

Phe Asp Phe Xaa Xaa Asp Arg Xaa Asp Arg Gln

1 5 10

<210> 134

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 134

Phe Asp Phe Phe Gly Arg Gly Arg Gln Ala Glu Glu Ala Lys

1 5 10

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 135

Gly Asp Phe Phe Gly Asp Arg Gly Asp Arg Gln

1 5 10

<210> 136

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 136

Phe Gly Phe Gly Arg Gly Arg

1 5

<210> 137

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 4

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<400> 137

Phe Gly Phe Xaa

1

<210> 138

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 138

Phe Gly Phe Gly Arg Gly Arg Gln

1

5

<210> 139

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 139

Phe Gly Phe Arg Arg Arg Arg Gln

1

5

<210> 140

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 140

Phe Gly Phe Gly Arg Arg Arg Gln

1

5

<210> 141

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 2

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<400> 141

Phe Xaa Arg Arg Arg Arg Gln

1 5

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<221> SITE

<222> 3

<223> Xaa = 3-(2-naphthyl)-alanine

<400> 142

Phe Phe Xaa Gly Arg Gly Arg Gln

1 5

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 143

Phe Gly Phe Lys Arg Lys Arg Gln

1 5

<210> 144

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 144

Phe Gly Phe Arg Gly Arg Gly Gln

1 5

<210> 145

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 145

Phe Gly Phe Gly Arg Gly Arg Gly Arg Gln

1 5 10

<210> 146

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 146

Phe Gly Phe Gly Arg Arg Arg Gln

1 5

<210> 147

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 147

Phe Gly Phe Arg Arg Arg Arg Gln

1 5

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 148

Phe Gly Phe Gly Arg Arg Arg Gln

1 5

<210> 149

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> A synthetic sequence

<400> 149

Ala Glu Glu Ala Lys Asn Asn Asn

1 5

<210> 150

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 150

Lys Asn Asn Asn

1

<210> 151

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence
 <400> 151
 taacgttgag ggcac 15
 <210> 152
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence

 <400> 152
 ggccaaacct cggcttacct gaaat 25
 <210> 153
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 153
 Asn Gly Arg Arg Thr
 1 5
 <210> 154
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 154
 Asn Gly Arg Arg Asn
 1 5
 <210> 155
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> A synthetic sequence

<400> 155

Asn Asn Asn Asn Gly Ala Thr Thr

1 5

<210> 156

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 156

Asn Asn Asn Asn Arg Tyr Ala Cys

1 5

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 157

Asn Asn Ala Gly Ala Ala Trp

1 5

<210> 158

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> A synthetic sequence

<400> 158

Thr Thr Thr Val

1

<210> 159

<211> 22

<212>

> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 159
 cagaattctg ccaattgctg ag 22
 <210> 160
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 160
 ttcttcagct tgtgcatcc 20
 <210> 161
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 161
 cccagtctac cacctatca gagc 24
 <210> 162
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 162
 cctgccttta aggcttcctt 20
 <210> 163
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 163
 aaacgccgcc atttctcaac agatc 25
 <210> 164
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 164
 gctcaggtcg gattgacatt 20
 <210> 165
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 165
 gggcaactct tccaccagta 20
 <210> 166
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence
 <400> 166
 cagcagcagc agcagcagca g 21
 <210> 167
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence

<400> 167
 tcactgtctg gctcacatac ccata 25

<210> 168
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence

<400> 168
 agaacgtaat catcagtggg ttggc 25

<210> 169
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence

<400> 169
 atgcatgcat gc 12

<210> 170
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> A synthetic sequence

<400> 170
 cgtactgata attgtgcagc tgcacc 26