



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0144488
(43) 공개일자 2024년10월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12N 15/1137 (2013.01)
C07H 21/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7031813(분할)
(22) 출원일자(국제) 2015년04월29일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2023-7018801
원출원일자(국제) 2015년04월29일
심사청구일자 2023년06월29일
(85) 번역문제출일자 2024년09월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/028327
(87) 국제공개번호 WO 2015/168310
국제공개일자 2015년11월05일
(30) 우선권주장
61/987,396 2014년05월01일 미국(US)
62/151,909 2015년04월23일 미국(US)

(71) 출원인
제론 코퍼레이션
미국, 캘리포니아 94404, 포스터 시티, 스위트
250, 힐스테일 블러버드, 919 이.
(72) 발명자
라미야 프렘찬드란 에이치.
미국 캘리포니아 94582 샌 라몬 알란미어 드라이브
1416
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 79 항

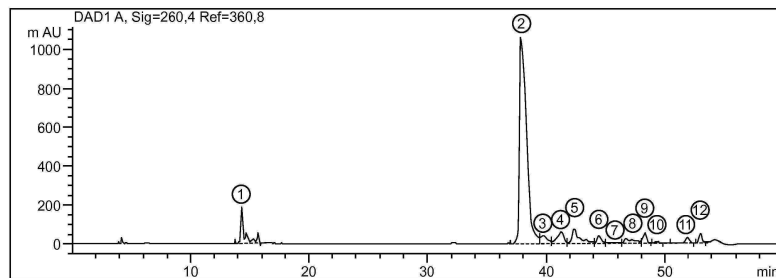
(54) 발명의 명칭 올리고뉴클레오타이드 조성물 및 이를 제조하는 방법

(57) 요약

본원의 기재 내용은 디뉴클레오타이드 이량체 서브유니트의 연장하는 쇠의 유리된 3'-말단 그룹으로의 적어도 하나의 커플링을 포함하는 연속적 커플링 사이클을 통해 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 고품상 방법을 제공한다. 상기 올리고뉴클레오타이드는 N3'→P5' 포스포르아미테이트 연결체에 의해 연결되는 적어도 2개의 뉴클레오

(뒷면에 계속)

대표도



시그널 1: DAD1A, Sig=260, 4 Ref=360,8

피크 #	체류 시간 [min]	유형	너비 [min]	면적 [mAU*s]	높이 [mAU]	면적 %
1	14.297	MM	0.3289	3623.52319	183.63403	6.1565
2	37.881	MF	0.6886	4.35741e4	1054.70142	74.0343
3	39.764	FM	0.6084	1453.00427	39.80315	2.4687
4	41.269	FM	0.6541	2267.20410	57.76622	3.8521
5	42.377	MF	0.6595	3004.52759	75.93487	5.1048
6	44.469	FM	0.4059	953.07678	39.13720	1.6193
7	45.981	FM	0.6801	134.64066	3.29974	0.2288
8	46.754	MF	0.8563	1150.84033	22.39912	1.9553
9	48.331	FM	0.3501	1082.63159	51.54351	1.8394
10	49.313	MM	0.4398	186.19765	7.05598	0.3164
11	51.937	MM	0.4624	659.89532	23.78648	1.1212
12	53.050	MM	0.2866	766.97327	44.60481	1.3031
총:				5.88566e4	1603.66652	

사이드 서브유니트를 포함한다. 상기 방법은 (a) 고품상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 이량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계; 및 (c) 상기 연결체를 산화 (예를 들어, 황화)시키는 단계를 포함할 수 있다. 본원 발명의 방법에 의해 제조된 조성물은 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 올리고뉴클레오타이드 생성물을 포함할 수 있다. 또한, 본원 발명의 올리고뉴클레오타이드 조성물을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

(52) CPC특허분류

C12Y 207/07049 (2013.01)

C12N 2310/3145 (2013.01)

C12N 2310/315 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

화합물 또는 그것의 염에 상대적으로 (N-1) 생성물의 4 중량부 중 1 미만의 부를 갖는 조성물로서, 상기 화합물이 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고 상기 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결되어 있는, 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 N3'→P5' 티오포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체 또는 그것의 염이 하기 구조를 갖는 N3'→P5' 티오포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체인, 조성물:



식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 상기 화합물이 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 조성물.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 13개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트를 포함하는 서열을 포함하는, 조성물.

청구항 5

청구항 3에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 3 내지 50개 연속 뉴클레오타이드 서브유니트를 포함하는, 조성물.

청구항 6

청구항 3 내지 5 중 어느 한 청구항에 있어서, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 상기 뉴클레오타이드가 모두 N3'→P5' 포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결되어 있는, 조성물.

청구항 7

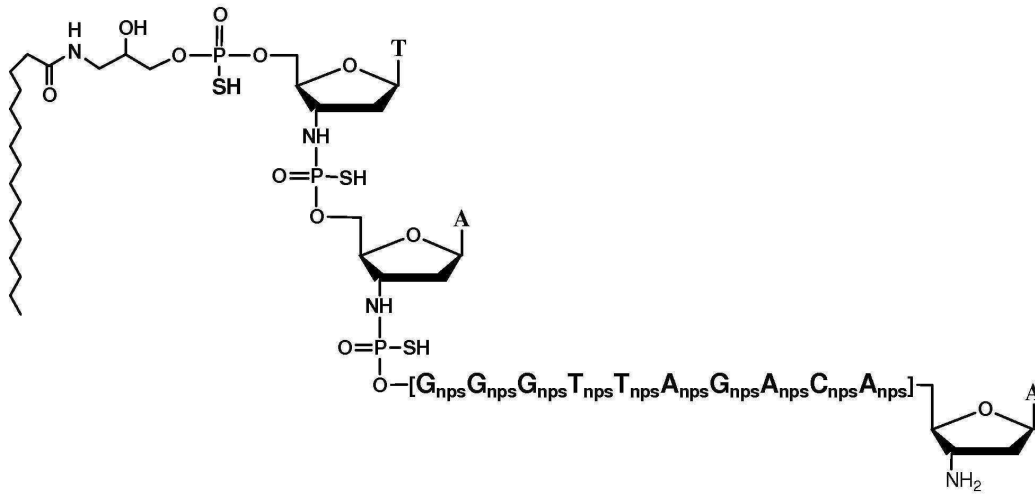
청구항 1 내지 6 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열을 포함하는, 조성물: GTTAGGGTTAG (서열번호 4), TAGGGTTAGACAA (서열번호 3) 및 CAGTTAGGGTTAG (서열번호 5).

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 3'-아미노 또는 3'-하이드록실 말단 그룹을 포함하는, 조성물.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 상기 화합물이 하기의 구조:



또는 그것의 염을 가지며

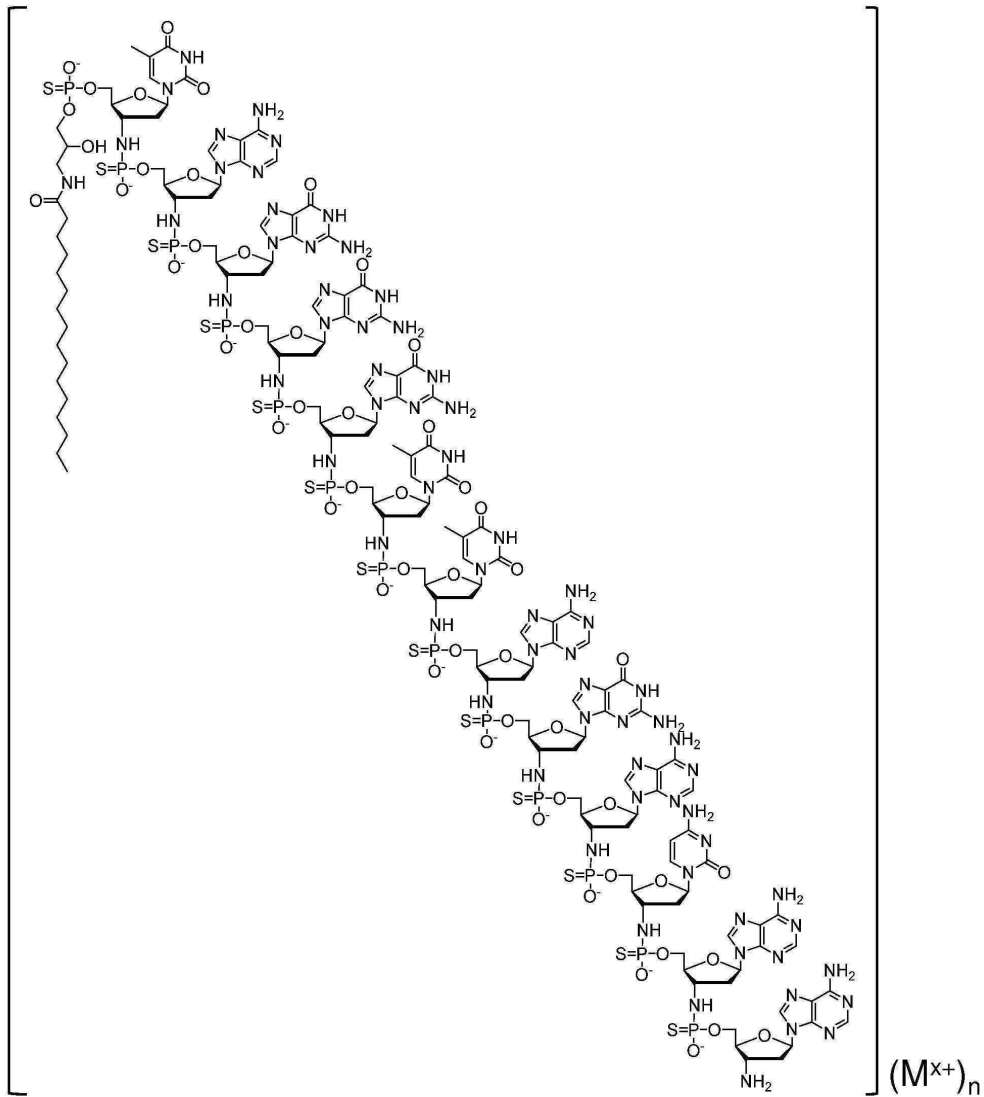
식 중, "nps"가 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포르아미데이트 연결체 $-NH-P(=O)(SH)-O-$ 를 나타내는, 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 염이 약제학적으로 허용되는 염인, 조성물.

청구항 11

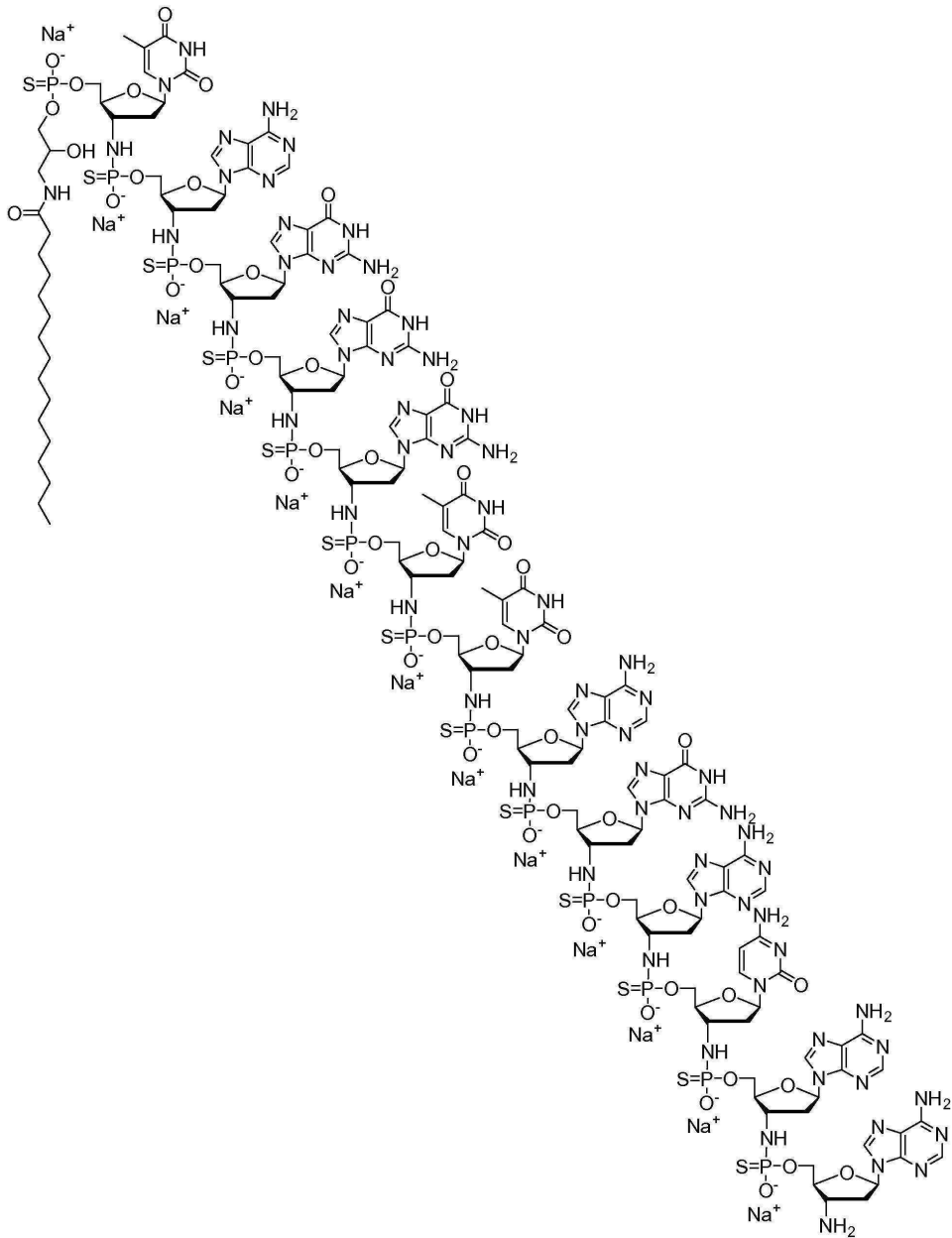
청구항 7에 있어서, 상기 화합물이 하기의 구조를 갖는, 조성물:



식 중, 각각의 M^{x+} 는 독립적으로 수소 또는 염의 짝이온이고, 각각의 x 는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n 은 5 내지 13의 정수이다.

청구항 12

청구항 7에 있어서, 상기 화합물이 하기의 구조를 갖는, 조성물:



청구항 13

청구항 1 내지 12 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 6중량부 중 1 미만의 부를 갖는, 조성물.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 10중량부 중 1 미만의 부를 갖는, 조성물.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 20중량부 중 1 미만의 부를 갖는, 조성물.

청구항 16

청구항 1 내지 15 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 화합물에 상대적으로 임의의 (N-x) 생성물의 4 중량부 중

1 미만의 부를 갖는, 조성물.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 화합물에 상대적으로 (N-x) 폴리뉴클레오타이드 함유 생성물의 총 100 중량부 중 40 미만의 부를 갖는, 조성물.

청구항 18

청구항 1 내지 12 중 어느 한 청구항에 있어서, (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 하기 프로필을 갖는 조성물:

상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 4 중량부 중 1 미만의 부;

상기 화합물에 상대적으로 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 100 중량부 중 적어도 10부.

청구항 19

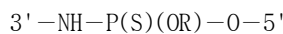
11중량% 미만의 (N-1) 생성물을 갖는 화합물 활성 억제학적 성분으로서, 상기 화합물 또는 이의 억제학적으로 허용되는 염이 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 상기 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개가 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 상기 뉴클레오타이드 서브유니트가 모두 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 21

청구항 19 또는 20에 있어서, 상기 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체 또는 이의 억제학적으로 허용되는 염이 하기의 구조를 갖는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체인, 화합물 활성 억제학적 성분:



식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

청구항 22

청구항 19 내지 21 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 내지 50개 연속 뉴클레오타이드 서브유니트를 포함하는, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 23

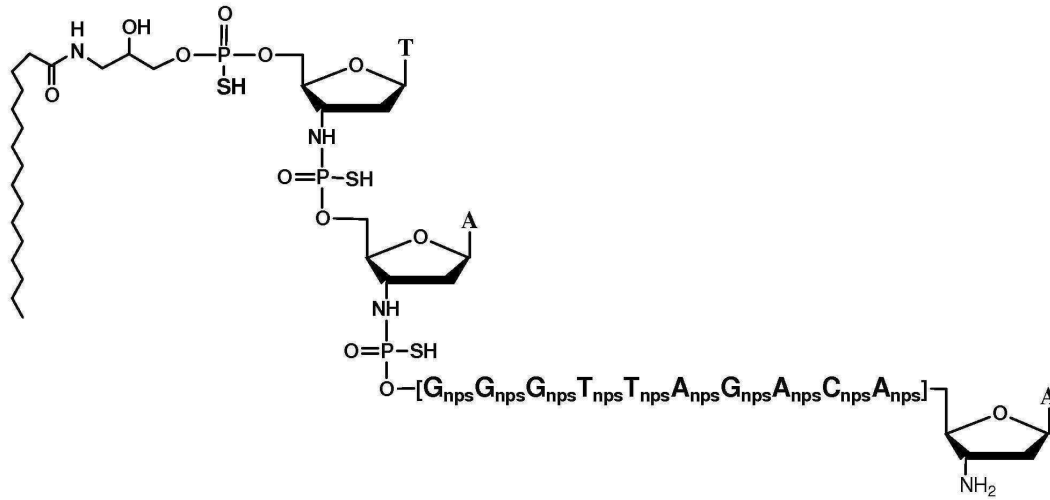
청구항 19 내지 22 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열을 포함하는, 화합물 활성 억제학적 성분: GTTAGGGTTAG (서열번호 4); TAGGGTTAGACAA (서열번호 3); 및 CAGTTAGGGTTAG (서열번호 5).

청구항 24

청구항 19 내지 23 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 3'아미노 또는 3'-하이드록실 말단 그룹을 포함하는, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 25

청구항 19 내지 23 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 화합물이 하기의 구조:

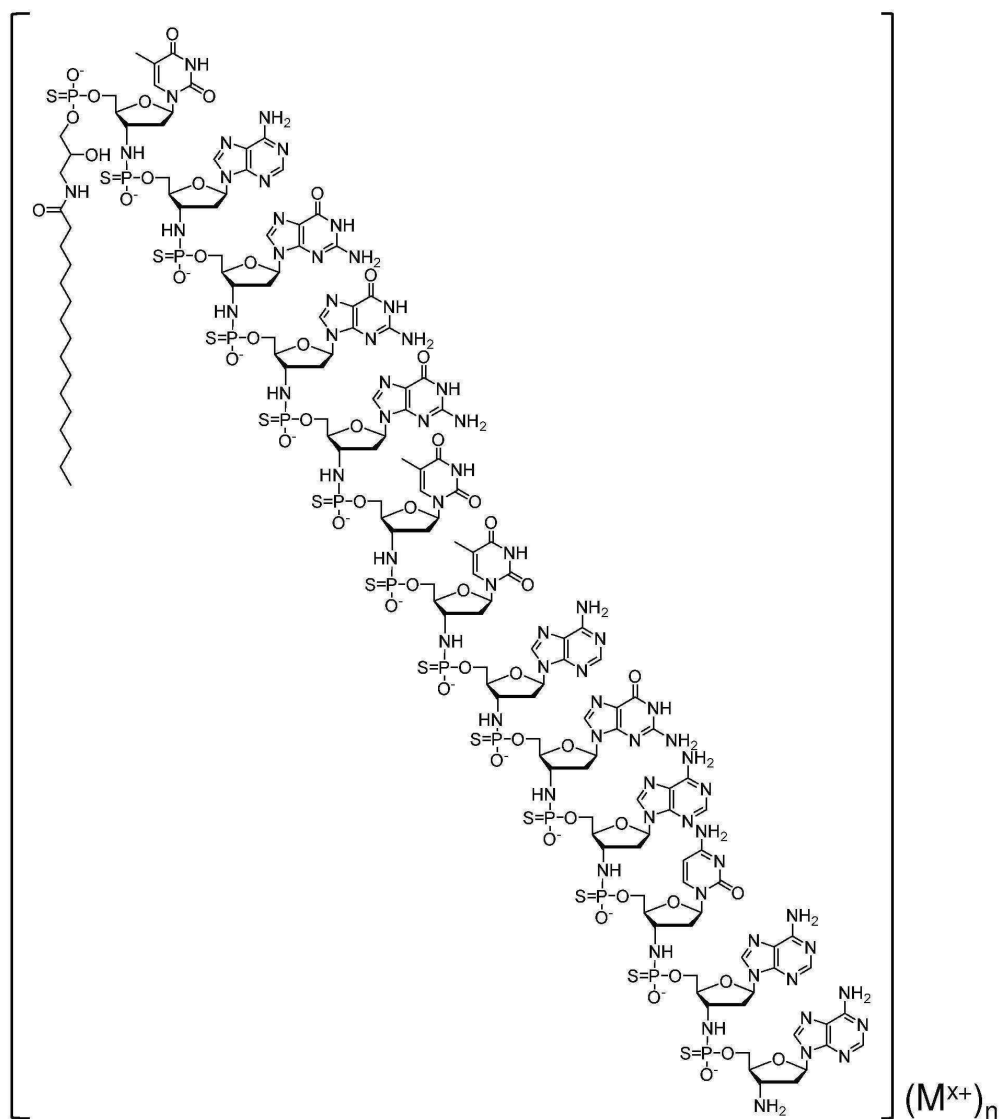


또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 가지며,

식 중, "nps"가 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포르아미테이트 연결체 $-NH-P(=O)(SH)-O-$ 를 나타내는, 화합물 활성 약제학적 성분.

청구항 26

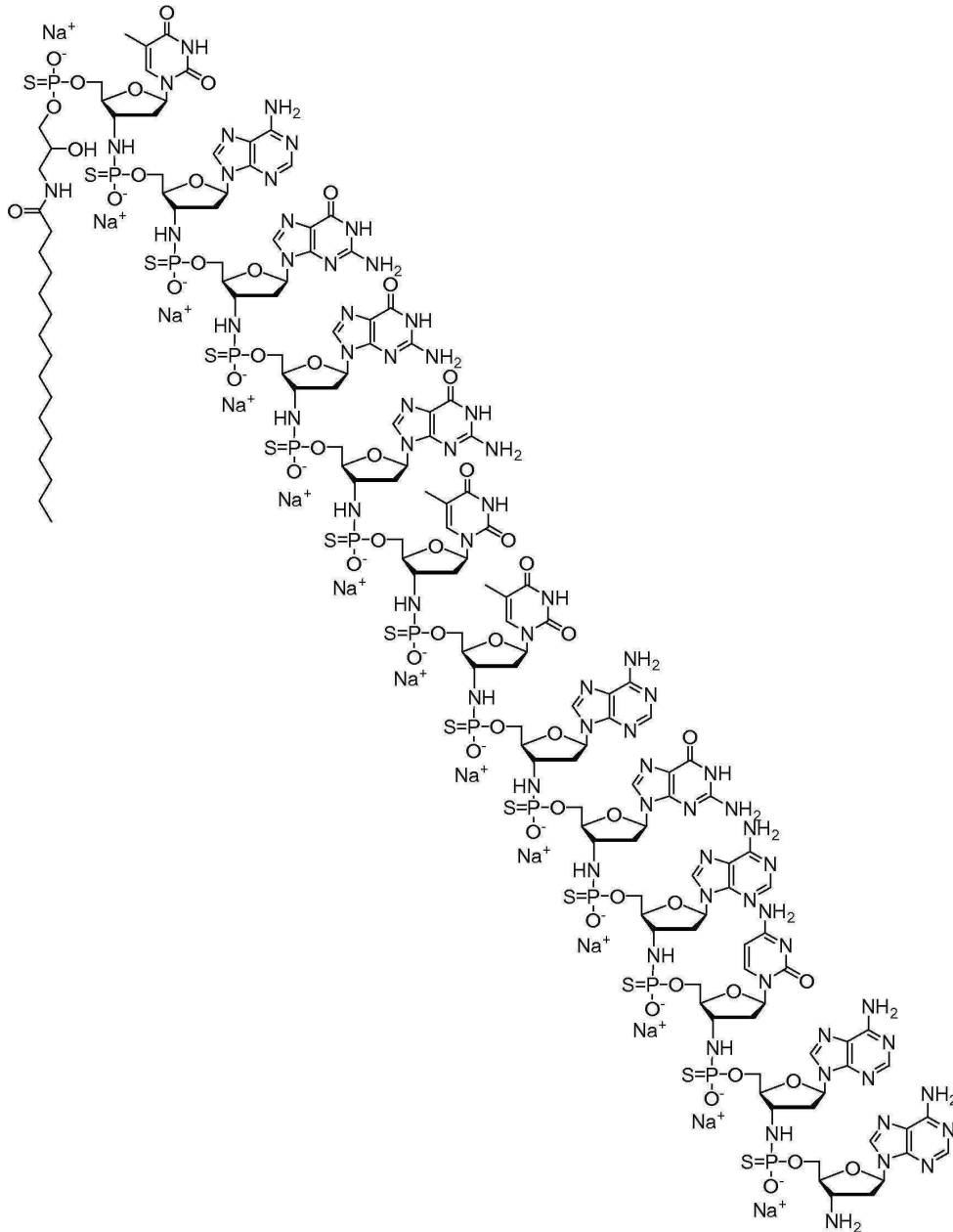
청구항 19 내지 23 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 화합물이 하기의 구조를 갖는, 화합물 활성 약제학적 성분:



식 중, 각각의 M^{x+} 는 독립적으로 수소 또는 약제학적으로 허용되는 염의 짝이온이고, 각각의 x 는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n 은 5 내지 13의 정수이다.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 상기 화합물이 하기의 구조를 갖는, 화합물 활성 억제학적 성분:



청구항 28

청구항 19 내지 27 중 어느 한 청구항에 있어서, 9중량% 미만의 (N-1) 생성물을 갖는, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 5중량% 미만의 (N-1) 생성물을 갖는, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 30

청구항 19 내지 29 중 어느 한 청구항에 있어서, 11% 미만의 임의의 (N-x) 생성물을 갖는, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 31

청구항 19 내지 30 중 어느 한 청구항에 있어서, 45중량% 미만의 총 (N-x) 폴리뉴클레오타이드 함유생성물을 갖는, 화합물 활성 억제학적 성분.

청구항 32

청구항 19에 있어서, (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 하기의 프로필을 갖는, 화합물 활성 억제학적 성분:

5중량% 미만의 (N-1) 생성물; 및

적어도 10중량%의 (N-2) 및 (N-3) 생성물.

청구항 33

약제학적으로 허용되는 부형제 중에 제형화된 청구항 1 내지 18 중 어느 한 청구항에 따른 조성물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 34

하기의 단계를 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 합성하는 방법:

(a) 고품상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오타이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계;

(b) 상기 유리된 3'-아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체와 접촉시켜 상호뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계; 및

(c) 상기 연결체를 산화시키는 단계.

청구항 35

청구항 34에 있어서, 하기의 단계를 추가로 포함하는 방법:

(a) 고품상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오타이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계;

(b) 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 단량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계; 및

(c) 상기 연결체를 산화시키는 단계.

청구항 36

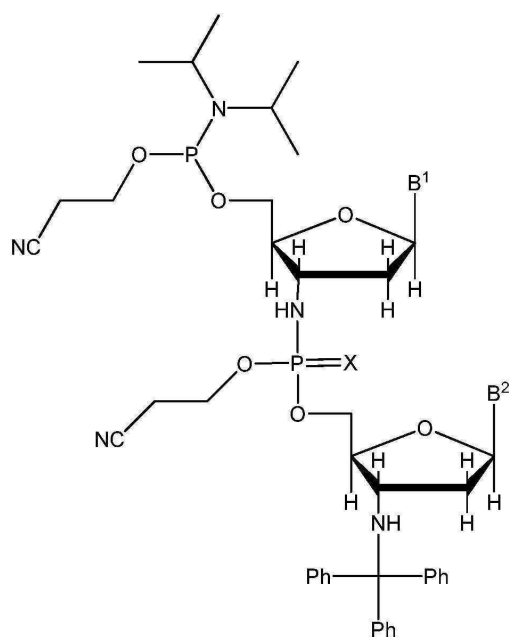
청구항 34 또는 35에 있어서, 상기 연결체를 산화시키는 것이 황화시켜 티오포스포르아미데이트 연결체를 생성함을 포함하는, 방법.

청구항 37

청구항 34 또는 35에 있어서, 상기 연결체의 산화가 옥소포스포르아미데이트 연결체를 생성하는, 방법.

청구항 38

청구항 34 내지 37 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체가 하기 화학식을 가지며:



식 중, X는 O 또는 S이고 B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체인, 방법.

청구항 39

청구항 38에 있어서, 상기 B¹ 및 B²가 각각 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택되는, 방법.

청구항 40

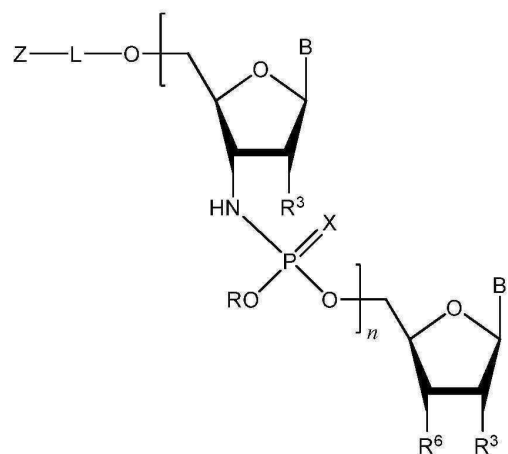
청구항 39에 있어서, 상기 B¹ 및 B²가 각각 독립적으로 A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(이소부티릴), T 및 U로부터 선택되는, 방법.

청구항 41

청구항 38 내지 40 중 어느 한 청구항에 있어서, X가 S인, 방법.

청구항 42

청구항 34 내지 41 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드 또는 그것의 염이 하기의 화학식을 가지며:



식 중:

각각의 B는 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘 또는 이의 유사체이고;

각각의 X는 독립적으로 산소 또는 황이고;

각각의 R³은 수소, 플루오로, 또는 하이드록실, 알콕시, 치환된 알콕시 또는 보호된 하이드록실이고;

L은 임의의 링커이고;

Z는 H, 지질, 지지체, 담체, 올리고뉴클레오타이드, PEG, 폴리캡타이드, 검출가능한 표지, 또는 태그이고;

R⁶은 아미노, 하이드록실, 보호된 아미노, 보호된 하이드록시, -O-L-Z 또는 -NH-L-Z이고;

R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 또는 포스페이트 보호 그룹이고;

n은 1 내지 1000의 정수이고;

상기 방법은 하기의 단계를 포함하는 방법:

(a) 고행상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계;

(b) 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 하기 중 어느 하나:

(i) 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체; 또는

(ii) 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포르아미디트 단량체와

친핵성 측매의 존재하에 반응시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계;

(c) 상기 연결체를 산화시키는 단계; 및

(d) 상기 폴리뉴클레오타이드가 합성될때까지 단계 (a) 내지 (c)를 반복하고, 상기 단계 (a) 내지 (c)의반복이 단계 (b)(i)를 적어도 1회 수행함을 포함하는, 단계.

청구항 43

청구항 42에 있어서, 연결체를 산화시키는 것이 황화시켜 티오포스포르아미데이트 연결체를 생성함을 포함하는, 방법.

청구항 44

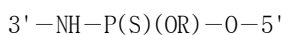
청구항 42에 있어서, 상기 연결체의 산화가 옥스포스포르아미데이트 연결체를 생성하는, 방법.

청구항 45

청구항 41 내지 44 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오사이드 서브유니트의 서열을 포함하고 상기 뉴클레오사이드의 적어도 2개가 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된, 방법.

청구항 46

청구항 45에 있어서, 상기 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체 또는 그것의 염이 하기의 구조를 갖는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체이고,



식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 47

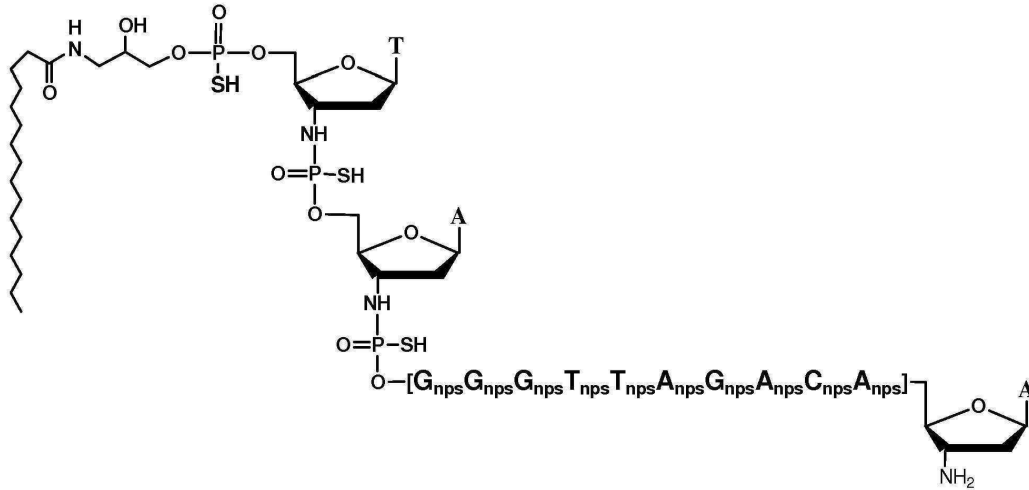
청구항 42 내지 45 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 서열 TAGGGTTAGACAA를 포함하는, 방법.

청구항 48

청구항 47에 있어서, TAGGGTTAGACAA 서열의 모든 상호 뉴클레오타이드 상호 서브유닛 연결체 서열이 N3'→P5' 포스포라미데이트 상호 서브유닛 연결체인, 방법.

청구항 49

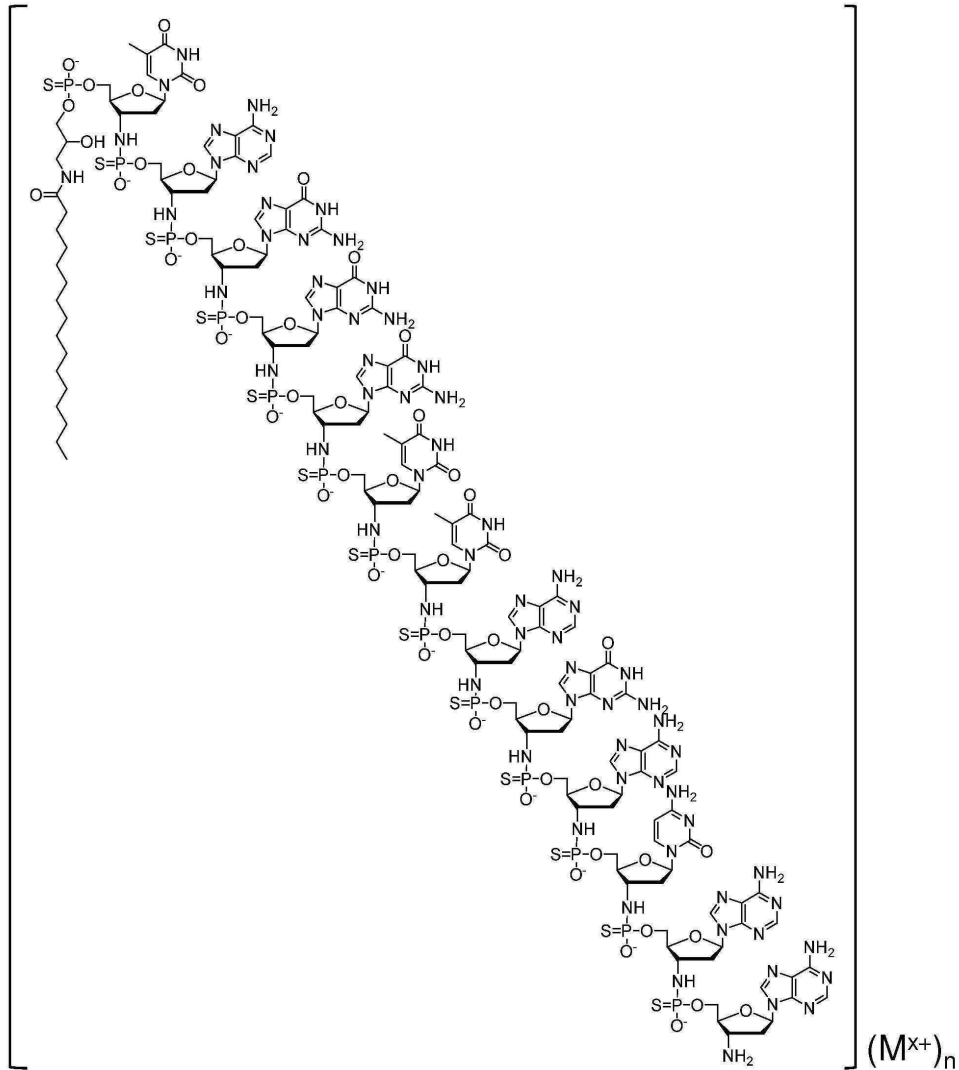
청구항 42 내지 48 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 하기의 구조 또는 그것의 염 짝는, 방법:



식 중, "nps"가 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포라미데이트 연결체 $-NH-P(=O)(SH)-O-$ 를 나타낸다.

청구항 50

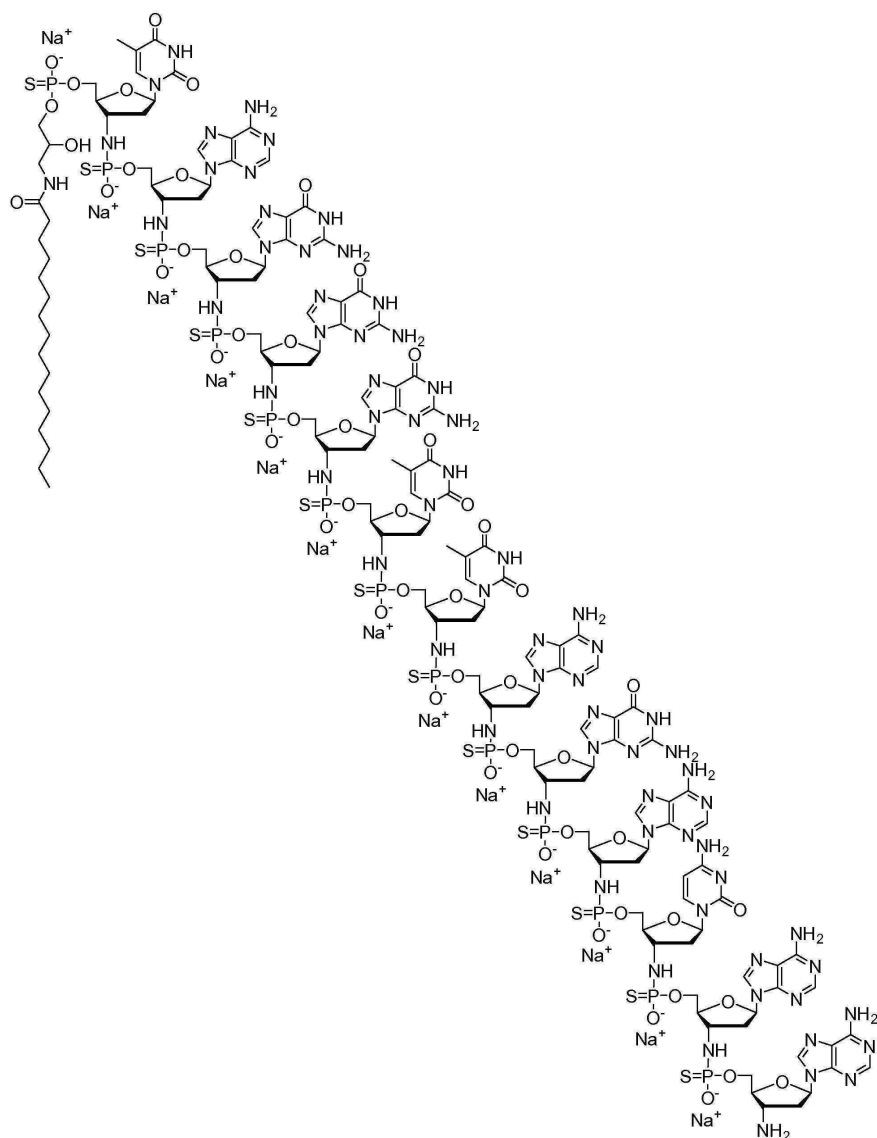
청구항 42 내지 49 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 하기의 구조를 갖는, 방법:



식 중, 각각의 M^{x+} 는 독립적으로 수소 또는 약제학적으로 허용되는 염의 짝이온이고, 각각의 x 는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n 은 5 내지 13의 정수이다.

청구항 51

청구항 50에 있어서, 상기 폴리뉴클레오타이드가 하기의 구조를 갖는, 방법:



청구항 52

청구항 47에 있어서, TAGGGTTAGACAA 서열의 C11의 뉴클레오타이드 잔기가 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포라미디트 단량체로부터 유래하는, 방법.

청구항 53

청구항 47에 있어서, 상기 방법이 하기의 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포라미데이트-5'-포스포라미디트 이량체 TA, GG, GT, TA, GA 및 AA 및 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포라미디트 단량체 C의 고체상 지지체로의 연속적 커플링을 포함하는, 방법.

청구항 54

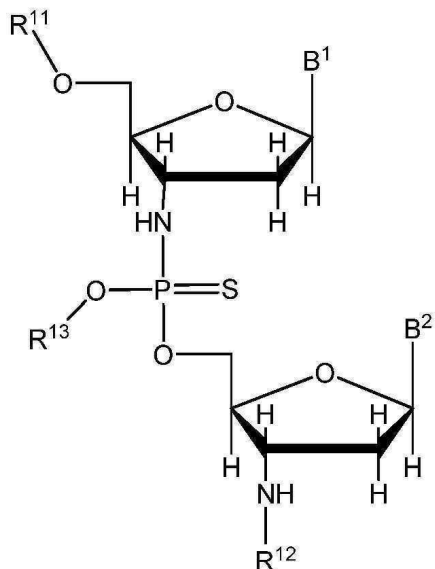
청구항 34 내지 38 중 어느 한 청구항에 있어서, 상기 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포라미디트-5'-포스포라미디트 이량체가 화학식 X^1X^2 로 나타내고, 여기서, X^1 및 X^2 가 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된 사아토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택되는, 방법.

청구항 55

청구항 34에 있어서, 상기 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포르아미디트 이량체가 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택되는, 방법.

청구항 56

화학식 (II)로 나타낸 디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트 화합물 또는 그것의 염:



화학식 (II)

식 중:

B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고;

R^{11} 은 수소, 보호 그룹 또는 포스포르아미디트 그룹이고;

R^{12} 및 R^{13} 은 각각 독립적으로 수소 또는 보호 그룹이다.

청구항 57

청구항 56에 있어서, B^1 및 B^2 가 각각 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택되는, 화합물.

청구항 58

청구항 57에 있어서, B^1 및 B^2 가 각각 독립적으로 A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(이소부틸릴), T 및 U로부터 선택되는, 화합물.

청구항 59

청구항 56에 있어서, R^{11} 이 5'-포스포르아미디트이고; R^{12} 가 보호 그룹이고 R^{13} 이 보호 그룹인, 화합물.

청구항 60

청구항 58에 있어서, B^1 이 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B^2 가 A(Bz) 또는 A(DMF)인, 화합물.

청구항 61

청구항 58에 있어서, B^1 이 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B^2 가 C(Bz)인, 화합물.

청구항 62

청구항 58에 있어서, B¹이 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²가 G(이소부틸)인, 화합물.

청구항 63

청구항 58에 있어서, B¹이 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²가 T인, 화합물.

청구항 64

청구항 58에 있어서, B¹이 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²가 U인, 화합물.

청구항 65

청구항 58에 있어서, B¹이 C(Bz)이고 B²가 A(Bz) 또는 A(DMF)인, 화합물.

청구항 66

청구항 58에 있어서, B¹이 C(Bz)이고 B²가 C(Bz)인, 화합물.

청구항 67

청구항 58에 있어서, B¹이 C(Bz)이고 B²가 G(이소부틸)인, 화합물.

청구항 68

청구항 58에 있어서, B¹이 C(Bz)이고 B²가 T인, 화합물.

청구항 69

청구항 58에 있어서, B¹이 C(Bz)이고 B²가 U인, 화합물.

청구항 70

청구항 58에 있어서, B¹이 G(이소부틸)이고 B²이 A(Bz) 또는 A(DMF)인, 화합물.

청구항 71

청구항 58에 있어서, B¹이 G(이소부틸)이고 B²가 C(Bz)인, 화합물.

청구항 72

청구항 58에 있어서, B¹이 G(이소부틸)이고 B²가 G(이소부틸)인, 화합물.

청구항 73

청구항 58에 있어서, B¹이 G(이소부틸)이고 B²가 T인, 화합물.

청구항 74

청구항 58에 있어서, B¹이 G(이소부틸)이고 B²가 U인, 화합물.

청구항 75

청구항 58에 있어서, B¹이 T 또는 U이고 B²가 A(Bz) 또는 A(DMF)인, 화합물.

청구항 76

청구항 58에 있어서, B¹이 T 또는 U이고 B²가 C(Bz)인, 화합물.

청구항 77

청구항 58에 있어서, B¹가 T 또는 U이고 B²가 G(이소부티릴)인, 화합물.

청구항 78

청구항 58에 있어서, B¹이 T 또는 U이고 B²가 T인, 화합물.

청구항 79

청구항 58에 있어서, B¹이 T 또는 U이고 B²가 U인, 화합물.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 35 U.S.C. § 119(e)에 따라, 본 출원은 미국 가출원 번호 제61/987,396호의 출원일에 대한 우선권을 주장하고, 이는 2014년 5월 1일자로 출원되었고, 미국 가출원 번호 제62/151,909호에 대한 우선권을 주장하고, 이는 2015년 4월 23일자로 출원(대리인 참조 번호 (85/002X) 되었고, 이들의 기재 내용은 본원에 참조로 인용된다.

배경 기술

[0003] 서론

[0004] 핵산 중합체 화학은 약제학적, 진단학적 및 분석학적 분야에서 및 보다 특히 안티센스 및 항-유전자 치료, 조합적 화학, 측쇄화된 DNA 신호 증폭 및 어레이-기반 DNA 진단 및 분석의 하위분야에서 많은 개발 기술에서 역할을 수행하였다. 상기 중합체 화학의 일부는 DNA와 같은 천연 핵산 중합체의 결합 강도, 특이성 및 뉴클레아제 내성을 개선시켰다. 펩타이드 핵산 (PNA), 포스포로티오에이트, 메틸포스포네이트 및 포스포르아미데이트 상호 뉴클레오사이드 연결체(linkage)는 뉴클레아제 내성, 세포 취득 및 용해도와 같은 하나 이상의 목적하는 성질을 제공하도록 올리고뉴클레오타이드에 적용된 일부 중합체 화학의 예이다.

[0005] 올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트는 상보적 DNA 및 RNA 가닥과 안정한 듀플렉스를 형성할 수 있고 DNA 듀플렉스와 안정한 트리플렉스를 형성할 수 있고, 이는 뉴클레아제에 내성이다. 올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트는 시험관내 및 생체내 둘다에서 강력한 안티센스 제제로서 사용되었다. 예를 들어, 텔로머라제 활성을 억제하는 화합물을 함유하는 올리고뉴클레오타이드는 암과 같은 텔로머라제-매개된 장애를 치료하기 위해 사용될 수 있는데, 그 이유는 암 세포는 텔로머라제 활성을 발현하고 정상 인간 체세포는 생물학적 관련 수준에서 텔로머라제 활성을 소유하고 있지 않기 때문이다. 이와 같이, 상기 올리고뉴클레오타이드를 제조하고 단리시키는 방법이 관심 대상이다.

발명의 내용

[0006] 요약

[0007] 본원 발명의 기재는 디뉴클레오타이드 이량체 서브유니트를 연장하는 쉘의 유리된 3'-말단 그룹(예를 들어, 3'-하이드록실 또는 3'-아미노 그룹)으로의 적어도 하나의 커플링을 포함하는 연속 커플링 사이클을 통해 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 고힐상 방법을 제공한다. 상기 본 발명의 방법은 올리고뉴클레오타이드를 제조함을 포함하고 여기서, 뉴클레오사이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된다. 상기 방법은 (a) 고힐상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 친핵성 촉매의 존재하에 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 이량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계; 및 (c) 상기 연결체를 산화시키는 단계를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 상기 연결체를 산화시키는 단계는 황화시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 연결체를 제조함을 포함한다.

[0008] 본원 발명의 기재의 측면은 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 올리고뉴클레오타이드 생성물을 포함하는, 본 발명

의 방법에 의해 제조된 올리고뉴클레오타이드 조성물을 포함한다. 일부 경우에, 상기 감소된 양은 N 생성물에 상대적으로 하나 이상의 (N-x) 생성물의 100 중량에 대해 (1.9 x N) 부 미만이다. 본 발명의 방법에 따라 제조된 올리고뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 N 뉴클레오타이드 서브유닛 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 뉴클레오타이드 서브유닛 중 적어도 2개는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호-서브유닛 연결체에 의해 연결되어 있다. 또한, 본원 발명의 올리고뉴클레오타이드 조성물을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0009] 도 1a 및 1b는 TA 이량체 티오포스포르아미데이트(화합물 7e, 반응식 1)에 대한 HPLC 크로마토그램(A) 및 ³¹P NMR 스펙트럼 (B)을 보여준다.
- 도 2a 및 2b는 AA 이량체 티오포스포르아미데이트(화합물 7a, 반응식 1)에 대한 HPLC 크로마토그램 (A) 및 ³¹P NMR 스펙트럼 (B)을 보여준다.
- 도 3a 및 3b는 GG 이량체 티오포스포르아미데이트 (화합물 7c, 반응식 1)에 대한 HPLC 크로마토그램 (A) 및 ³¹P NMR 스펙트럼 (B)을 보여준다.
- 도 4a 및 4b는 GT 이량체 티오포스포르아미데이트(화합물 7d, 반응식 1)에 대한 HPLC 크로마토그램 (A) 및 ³¹P NMR 스펙트럼 (B)을 보여준다.
- 도 5a 및 5b는 GA 이량체 티오포스포르아미데이트(화합물 7b, 반응식 1)에 대한 HPLC 크로마토그램 (A) 및 ³¹P NMR 스펙트럼 (B)을 보여준다.
- 도 6a 및 6b는 이량체 아미데이트 TA, AA, GA, GT 및 GG에 대한 LCMS 미량을 보여준다.
- 도 7은 단량체 커플링 전략을 사용한 이메텔스타트의 140 μmole 스케일 합성 생성물의 HPLC 크로마토그램을 보여준다.
- 도 8은 이량체 블록 커플링 전략을 사용한 이메텔스타트의 140 μmole 스케일 합성 생성물의 HPLC 크로마토그램을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0010] 정의
- [0011] 하기의 용어는 달리 나타내지 않는 한 하기의 의미를 갖는다. 임의의 정의되지 않는 용어는 이들이 당업계에서 인정된 의미를 갖는다.
- [0012] 본원에 사용된 바와 같은 용어 폴리뉴클레오타이드 및 올리고뉴클레오타이드는 상호 교환적으로 사용된다. 올리고뉴클레오타이드가 일련의 문자, 예를 들어, "ATGUCCTG"로 나타난 경우, 상기 뉴클레오타이드는 달리 주지되지 않는 한, 왼쪽에서 오른쪽으로 5'→3' 순서로 있는 것이고 "A"는 데옥시아데노신을 지칭하고, "C"는 데옥시시티딘을 지칭하고, "G"는 데옥시구아노신을 지칭하고, "T"는 티미딘을 지칭하고 "U"는 데옥시우리딘을 지칭하는 것으로 이해된다.
- [0013] 본원에 사용된 바와 같은 "뉴클레오타이드"는 예를 들어, 문헌[참조: Kornberg 및 Baker, DNA Replication, 2nd Ed. (Freeman, San Francisco, 1992)]에 기재된 바와 같이 2'-데옥시 및 2'-하이드록실 형태를 포함하는 천연 뉴클레오타이드를 포함한다. 뉴클레오타이드와 관련하여 "유사체"는 예를 들어, 일반적으로 문헌[참조: Scheit, Nucleotide Analogs (John Wiley, New York, 1980)]에 기재된, 변형된 염기 모이어티 및/또는 변형된 슈가 모이어티를 갖는 합성 뉴클레오타이드를 포함한다. 상기 유사체는 문헌[참조: Uhlmann 및 Peyman (Chemical Reviews, 90:543-584, 1990)]에 기재된 바와 같이 결합 성질, 예를 들어, 안정성, 특이성 등을 증진 시키도록 디자인된 합성 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체는 3'-하이드록실 그룹 또는 3'-아미노 그룹을 포함한다.
- [0014] 용어 "염기" 및 "뉴클레오타이드"는 상호교환적으로 사용되고 (i) 통상적인 DNA 및 RNA 염기 (우라실, 티민, 아데닌, 구아닌 및 사이토신), 및 (ii) 변형된 염기 또는 염기 유사체 (예를 들어, 5-메틸-사이토신, 5-브로모우라실, 또는 이노신)을 포함하는 것으로 본원에 정의된다. 염기 유사체는 이의 분자 구조가 통상의 DNA 또는 RNA

염기를 모방하는 화학물질이다.

- [0015] 본원에 사용된 바와 같은 "피리미딘"은 사이토신, 티민 및 우라실을 포함하는 천연 뉴클레오사이드에 존재하는 피리미딘, 및 이들의 통상의 유사체, 예를 들어, 옥시, 메틸, 프로피닐, 메톡시, 하이드록실, 아미노, 티오, 할로 등 및 치환체를 함유하는 것들을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어는 통상의 보호 그룹이 부착된 피리미딘, 예를 들어, N^4 -벤조일사이토신을 추가로 포함한다. 추가의 통상의 피리미딘 보호 그룹은 문헌[참조: Beaucage and Iyer Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992)].
- [0016] 본원에 사용된 바와 같은 "퓨린"은 아데닌, 구아닌 및 하이포크산틴을 포함하는 천연 뉴클레오사이드에 존재하는 퓨린, 및 이들의 통상의 유사체, 예를 들어, 옥시, 메틸, 프로피닐, 메톡시, 하이드록실, 아미노, 티오, 할로 등 및 치환체를 함유하는 것들을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어는 통상의 보호 그룹이 부착된 퓨린, 예를 들어, N^2 -벤조일구아닌, N^2 -이소부티릴구아닌, N^6 -벤조일아데닌 등을 추가로 포함한다. 추가의 통상의 퓨린 보호 그룹은 문헌[참조: Beaucage and Iyer Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992)]. 화학명의 한 구성 요소로서 본원에 사용된 바와 같은 용어 "-보호된-"은 화합물의 특정 모이어티에 대하여 당업계에서 인지도된 보호 그룹을 언급하고, 예를 들어, 뉴클레오사이드와 관련하여 "5'-보호된-하이드록실"은 트리페닐메틸(즉, 트리틸), p-아니실디페닐메틸(즉, 모노메톡시트리틸 또는 MMT), 디-p-아니실페닐메틸(즉, 디메톡시트리틸 또는 DMT) 등을 포함하고, 뉴클레오염기와 관련된 보호된 뉴클레오염기는 디메틸아미노포름아미딘(DMF), 벤조일(Bz), 이소부티릴 등과 같은 그룹으로 보호된 헤테로원자를 포함한다. 당업계에서 인지도된 보호 그룹은 하기의 문헌에 기재된 것들을 포함한다: Gait, editor, *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach* (IRL Press, Oxford, 1984); Amarnath 및 Broom, *Chemical Reviews*, 77:183-217, 1977; Pon 등, *Biotechniques*, 6:768-775, 1988; Ohtsuka 등, *Nucleic Acids Research*, 10:6553-6570, 1982; Eckstein, editor, *Oligonucleotides. and Analogues: A Practical Approach* (IRL Press, Oxford, 1991), Greene 및 Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Second Edition, (John Wiley & Sons, New York, 1991), Narang, editor, *Synthesis and Applications of DNA and RNA* (Academic Press, New York, 1987), Beaucage and Iyer Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992)] 등 에서 찾을 수 있다.
- [0017] 본원에 사용된 바와 같은 "올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트"는 적어도 하나의 N3'→P5' 포스포르아미데이트 연결체에 의해 연결된 통상 선형인 뉴클레오사이드 서브유니트의 올리고머를 의미한다. 일반적인 용어에서, 상기 뉴클레오사이드 서브유니트는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오사이드 유사체를 포함하지만 또한 하기의 문헌에 기재된 바와 같은 비염기성 슈가와 같은 적합한 화학물질을 갖는 보다 일반적인 모이어티 및 다른 탄화수소 모이어티를 포함할 수 있다: Newton 등, *Nucleic Acids Research*, 21: 1155-1162 (1993); Griffin 등, *J. Am. Chem. Soc.*, 114: 7976-7982 (1992); Jaschke 등, *Tetrahedron Letters*, 34: 301-304 (1992); Ma 등, *International application PCT/CA92/00423*; Zon 등, *International application PCT/US90/06630*; Durand 등, *Nucleic Acids Research*, 18: 6353-6359 (1990); Salunkhe 등, *J. Am. Chem. Soc.*, 114: 8768-8772 (1992); 등. 일부 경우에, 상기 용어는 모든 상호 뉴클레오사이드 연결체가 N3'→P5' 포스포르아미데이트 연결체로 대체된 올리고뉴클레오타이드를 의미하고, 즉, 상기 용어는 또한 부분적으로 그리고 완전히 "아미드화된" 올리고머를 포괄한다. 일부 경우에, 이것은 모든 상호 뉴클레오사이드 연결체가 N3'→P5' 포스포르아미데이트 연결체로 대체되고 상기 뉴클레오사이드 서브유니트가 천연 뉴클레오사이드 또는 이의 유사체인 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 모든 연결체가 N3'→P5' 포스포르아미데이트 연결체인 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트("완전히 아미드화된")는 "부분적으로 아미드화된" 보다 큰 올리고머를 형성하기 위해 다른 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드에 매립되거나 부착될 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트는 임의의 간편한 3' 및/또는 5' 말단 그룹을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트는 3'-하이드록실 말단 그룹 또는 3'-아미노 말단 그룹을 포함한다.
- [0018] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "포스페이트" 및 "포스페이트 그룹"은 티오포스페이트 그룹 및 옥소포스페이트 그룹을 포괄하는 것으로 의미한다.
- [0019] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "포스포르아미디트 아미노 그룹"은 포스포르아미디트 그룹의 인 원자에 부착된 아미노 그룹, $--NR^{4,5}$ 를 언급하고, 용어 "포스포르아미디트 질소"는 포스포르아미디트 아미노 그룹의 질소 원자를 언급한다.
- [0020] "알킬"은 1 내지 10개 탄소 원자를 갖는 1가 포화된 지방족 하이드로카르빌 그룹을 언급하고 예를 들어, 1 내

지 6개 탄소 원자 (예를 들어, "1 내지 6개 탄소 원자의 알킬"), 또는 1 내지 5개 (예를 들어, "1 내지 5개 탄소 원자의 알킬"), 또는 1 내지 4개 (예를 들어, "1 내지 4개 탄소 원자의 알킬"), 또는 1 내지 3개의 탄소 원자(예를 들어, "1 내지 3개 탄소 원자의 알킬")가 있다. 상기 용어는 예를 들어, 직쇄 및 측쇄 하이드로카르빌 그룹, 예를 들어, 메틸 (CH_3 -), 에틸 (CH_3CH_2 -), n-프로필 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 이소프로필 ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ -), n-부틸 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 이소부틸 ($(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2$ -), 2급-부틸 ($(\text{CH}_3)(\text{CH}_3\text{CH}_2)\text{CH}$ -), t-부틸 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -), n-펜틸 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ -), 및 네오펜틸 ($(\text{CH}_3)_3\text{CCH}_2$ -)을 포함한다.

[0021] 상기 용어 "치환된 알킬"은 본원에 정의된 바와 같은 알킬 그룹을 언급하고, 여기서, 상기 알킬 쇠에서 하나 이상의 탄소 원자는 임의로 -O-, -N-, -S-, $-\text{S}(\text{O})_n$ - (여기서, n은 0 내지 2이다), -NR- (여기서 R은 수소 또는 알킬이다)과 같은 헤테로원자로 대체되어 있고 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-아릴, -SO₂-헤테로아릴, 및 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1 내지 5개의 치환체를 갖고, 여기서, R^a 및 R^b 는 동일하거나 상이할 수 있고 수소, 임의로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 알케닐, 사이클로알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릭으로부터 선택된다. 일부 경우에, "치환된 알킬"은 알콕시, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로겐, 하이드록실, 카복실, 카복실알킬, 티올, 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 설폰아미도, 및 $-\text{NR}^a\text{R}^b$ 로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 1 내지 5개의 치환체를 갖는 본원에 정의된 바와 같은 알킬 그룹을 언급하고, 여기서, R^a 및 R^b 는 동일하거나 상이할 수 있고 수소, 알킬, 사이클로알킬, 알케닐, 사이클로알케닐, 알킬닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릭으로부터 선택된다.

[0022] "알킬렌"은 직쇄 또는 측쇄이고 임의로 -O-, $-\text{NR}^{10}$ -, $-\text{NR}^{10}\text{C}(\text{O})$ -, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{10}$ - 등으로부터 선택되는 하나 이상의 그룹으로 차단된, 바람직하게는 1 내지 6개 및 보다 바람직하게는 1 내지 3개의 탄소 원자를 갖는 2가 지방족 하이드로카빌 그룹을 언급한다. 상기 용어는 예를 들어, 메틸렌 ($-\text{CH}_2-$), 에틸렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), n-프로필렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 이소-프로필렌 ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$), $-(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2-)$, $-(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-)$, $-(\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}-)$, $-(\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-)$ 등을 포함한다.

[0023] "치환된 알킬렌"은 하기 "치환된"의 정의에서 탄소에 대해 기재된 바와 같은 치환체로 대체된 1 내지 3개의 수소를 갖는 알킬렌 그룹을 언급한다.

[0024] 상기 용어 "알칸"은 본원에 정의된 바와 같은 알킬 그룹 및 알킬렌 그룹을 언급한다.

[0025] 상기 용어 "알킬아미노알킬", "알킬아미노알케닐" 및 "알킬아미노알킬닐"은 그룹 $\text{R}'\text{NHR}$ -을 언급하고, 여기서, R' 는 본원에 정의된 바와 같은 알킬 그룹이고 R 는 본원에 정의된 바와 같은 알킬렌, 알케닐렌 또는 알킬닐렌 그룹이다.

[0026] 상기 용어 "알크아릴" 또는 "아르알킬"은 그룹 -알킬렌-아릴 및 -치환된 알킬렌-아릴을 언급하고, 여기서, 알킬렌, 치환된 알킬렌 및 아릴은 본원에 정의되어 있다.

[0027] "알콕시"는 그룹 -O-알킬을 언급하고, 여기서, 알킬은 본원에 정의된 바와 같다. 알콕시는 예를 들어, 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, t-부톡시, 2급-부톡시, n-펜톡시 등을 포함한다. 상기 용어 "알콕시"는 또한 그룹 알케닐-O-, 사이클로알킬-O-, 사이클로알케닐-O-, 및 알킬닐-O-를 언급하고, 여기서, 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐 및 알킬닐은 본원에 정의된 바와 같다.

[0028] 상기 용어 "치환된 알콕시"는 그룹 치환된 알킬-O-, 치환된 알케닐-O-, 치환된 사이클로알킬-O-, 치환된 사이클로알케닐-O-, 및 치환된 알킬닐-O-를 언급하고, 여기서, 치환된 알킬, 치환된 알케닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐 및 치환된 알킬닐은 본원에 정의된 바와 같다.

[0029] 상기 용어 "알콕시아미노"는 그룹 -NH-알콕시를 언급하고, 여기서, 알콕시는 본원에 정의되어 있다.

- [0030] 상기 용어 "할로알콕시"는 그룹 알킬-0-를 언급하고, 여기서, 알킬 그룹 상의 하나 이상의 수소 원자는 할로 그룹으로 치환되고, 예를 들어, 트리플루오로메톡시 등을 포함한다.
- [0031] 상기 용어 "할로알킬"은 상기된 바와 같은 치환된 알킬 그룹을 언급하고, 여기서, 알킬 그룹 상의 하나 이상의 수소 원자는 할로 그룹으로 치환되었다. 상기 그룹의 예는 제한 없이 플루오로알킬 그룹, 예를 들어, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 트리플루오로에틸 등을 포함한다.
- [0032] 상기 용어 "알킬알콕시"는 그룹 -알킬렌-0-알킬, 알킬렌-0-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-0-알킬, 및 치환된 알킬렌-0-치환된 알킬을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌은 본원에 정의된 바와 같다.
- [0033] 상기 용어 "알킬티오알콕시"는 그룹 -알킬렌-S-알킬, 알킬렌-S-치환된 알킬, 치환된 알킬렌-S-알킬 및 치환된 알킬렌-S-치환된 알킬을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알킬렌 및 치환된 알킬렌은 본원에 정의된 바와 같다.
- [0034] "알케닐"은 2 내지 6개 탄소 원자 및 바람직하게는 2 내지 4개의 탄소 원자를 갖고 적어도 1개 및 바람직하게는 1 내지 2개 부위의 이중 결합 불포화를 갖는 직쇄 또는 측쇄 하이드로카빌 그룹을 언급한다. 상기 용어는 예를 들어, 바이-비닐, 알릴 및 부트-3-엔-1-일을 포함한다. 상기 용어 내에는 시스 및 트랜스 이성체 또는 이들 이성체의 혼합물이 포함된다.
- [0035] 상기 용어 "치환된 알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴 및 -SO₂-헤테로아릴로부터 선택되는, 1 내지 5개 치환체, 또는 1 내지 3개 치환체를 갖는 본원에 정의된 바와 같은 알케닐 그룹을 언급한다.
- [0036] "알키닐"은 2 내지 6개 탄소 원자 및 바람직하게는 2 내지 3개 탄소 원자를 갖고 적어도 1개 및 바람직하게는 1 내지 2개 부위의 삼중 결합 불포화를 갖는 직쇄 또는 측쇄 1가 하이드로카빌 그룹을 언급한다. 상기 알키닐 그룹의 예는 아세틸레닐 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 및 프로파길 ($\text{-CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$)을 포함한다.
- [0037] 상기 용어 "치환된 알키닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴, 및 -SO₂-헤테로아릴로부터 선택되는, 1 내지 5개 치환체 또는 1 내지 3개 치환체를 갖는 본원에 정의된 바와 같은 알키닐 그룹을 언급한다.
- [0038] "알키닐옥시"는 그룹 -O-알키닐을 언급하고, 여기서, 알키닐은 본원에 정의된 바와 같다. 알키닐옥시는 예를 들어, 에틸닐옥시, 프로피닐옥시 등을 포함한다.
- [0039] "아실"은 그룹 H-C(O)- , 알킬- C(O)- , 치환된 알킬- C(O)- , 알케닐- C(O)- , 치환된 알케닐- C(O)- , 알키닐- C(O)- , 치환된 알키닐- C(O)- , 사이클로알킬- C(O)- , 치환된 사이클로알킬- C(O)- , 사이클로알케닐- C(O)- , 치환된 사이클로알케닐- C(O)- , 아릴- C(O)- , 치환된 아릴- C(O)- , 헤테로아릴- C(O)- , 치환된 헤테로아릴- C(O)- , 헤테로사이클릴- C(O)- , 및 치환된 헤테로사이클릴- C(O)- 를 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다. 예를 들어, 아실은 "아세틸" 그룹 $\text{CH}_3\text{C(O)-}$ 을 포함한다.
- [0040] "아실아미노"는 그룹 $\text{-NR}^{20}\text{C(O)알킬}$, $\text{-NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 알킬, $\text{N R}^{20}\text{C(O)사이클로알킬}$, $\text{-NR}^{20}\text{C(O)치환된 사이클로알킬}$, $\text{-NR}^{20}\text{C(O)사이클로알케닐}$, $\text{-NR}^{20}\text{C(O)치환된 사이클로알케닐}$, $\text{-NR}^{20}\text{C(O)알케닐}$, $\text{-NR}^{20}\text{C(O)}$ 치환된 알케닐,

$-NR^{20}C(O)$ 알킬닐, $-NR^{20}C(O)$ 치환된 알킬닐, $-NR^{20}C(O)$ 아릴, $-NR^{20}C(O)$ 치환된 아릴, $-NR^{20}C(O)$ 헤테로아릴, $-NR^{20}C(O)$ 치환된 헤테로아릴, $-NR^{20}C(O)$ 헤테로사이클릭, 및 $-NR^{20}C(O)$ 치환된 헤테로사이클릭을 언급하고, 여기서, R^{20} 은 수소 또는 알킬이고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0041] "아미노카보닐" 또는 용어 "아미노아실"은 그룹 $-C(O)NR^{21}R^{22}$ 을 언급하고, 여기서, R^{21} 및 R^{22} 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, R^{21} 및 R^{22} 는 임의로 이에 결합된 질소와 함께 연결되어 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 그룹을 형성하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0042] "아미노카보닐아미노"는 그룹 $-NR^{21}C(O)NR^{22}R^{23}$ 을 언급하고, 여기서, R^{21} , R^{22} , 및 R^{23} 은 독립적으로 수소, 알킬, 아릴 또는 사이클로알킬로부터 선택되거나, 또는 여기서, 2개의 R 그룹은 연결되어 헤테로사이클릭 그룹을 형성한다.

[0043] 용어 "알콕시카보닐아미노"는 그룹 $-NRC(O)OR$ 을 언급하고, 식 중, 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 또는 헤테로사이클릭이고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0044] 용어 "아실옥시"는 그룹 알킬-C(O)O-, 치환된 알킬-C(O)O-, 사이클로알킬-C(O)O-, 치환된 사이클로알킬-C(O)O-, 아릴-C(O)O-, 헤테로아릴-C(O)O-, 및 헤테로사이클릭-C(O)O-을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0045] "아미노설포닐"은 그룹 $-SO_2NR^{21}R^{22}$ 를 언급하고, 여기서, R^{21} 및 R^{22} 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 치환된 헤테로사이클릭으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, R^{21} 및 R^{22} 는 임의로 이에 결합된 질소와 함께 연결되어 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 그룹을 형성하고, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0046] "설포닐아미노"는 그룹 $-NR^{21}SO_2R^{22}$ 를 언급하고, 여기서, R^{21} 및 R^{22} 는 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 아릴, 치환된 아릴, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, R^{21} 및 R^{22} 는 임의로 이에 결합된 원자들과 함께 연결되어 헤테로사이클릭 또는 치환된 헤테로사이클릭 그룹을 형성하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알킬닐, 치환된 알킬닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0047] "아릴" 또는 "Ar"은 단일 환 (예를 들어, 페닐 그룹 내에 존재하는)을 갖는 6 내지 18개 탄소 원자의 1가 방향족 카보사이클릭 그룹, 또는 방향족일 수 있거나 방향족이 아닐 수 있는 다중 축합 환 (이러한 방향족 환 시스템의 예는 나프틸, 안트라닐 및 인다닐을 포함한다)을 갖는 환 시스템을 언급하고, 단 부착 지점은 방향족 환의 원자를 통해서이다. 상기 용어는, 예로서, 페닐 및 나프틸을 포함한다. 아릴 치환체에 대해 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 아릴 그룹은 아실옥시, 하이드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알킬닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알킬닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알크아릴, 아릴, 아릴옥시, 아지

도, 카복실, 카복실알킬, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴, -SO₂-헤테로아릴 및 트리할로메틸로부터 선택되는, 1 내지 5개 치환체, 또는 1 내지 3개 치환체로 임의로 치환될 수 있다. 이러한, 경우, 1 내지 5개 치환체 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은)로 치환된 아릴 그룹은 "치환된 아릴"로서 언급된다.

[0048] "아릴옥시"는 그룹 -O-아릴을 언급하고, 여기서, 아릴은 본원에 정의된 바와 같고, 예로서, 또한 본원에 정의된 바와 같은 임의로 치환된 아릴 그룹을 포함하는, 페녹시, 나프톡시 등을 포함한다.

[0049] "아미노"는 그룹 -NH₂를 언급한다.

[0050] 용어 "치환된 아미노"는 그룹 -NRR을 언급하고, 식 중, 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릴로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 단, 적어도 하나의 R은 수소가 아니다.

[0051] 용어 "아지도"는 그룹 -N₃을 언급한다.

[0052] "카복실," "카복시" 또는 "카복실레이트"는 -CO₂H 또는 그것의 염을 언급한다.

[0053] "카복실 에스테르" 또는 "카복시 에스테르" 또는 용어 "카복시알킬" 또는 "카복실알킬"은 그룹 -C(O)O-알킬, -C(O)O-치환된 알킬, -C(O)O-알케닐, -C(O)O-치환된 알케닐, -C(O)O-알키닐, -C(O)O-치환된 알키닐, -C(O)O-아릴, -C(O)O-치환된 아릴, -C(O)O-사이클로알킬, -C(O)O-치환된 사이클로알킬, -C(O)O-사이클로알케닐, -C(O)O-치환된 사이클로알케닐, -C(O)O-헤테로아릴, -C(O)O-치환된 헤테로아릴, -C(O)O-헤테로사이클릭, 및 -C(O)O-치환된 헤테로사이클릭을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0054] "(카복실 에스테르)옥시" 또는 "카보네이트"는 그룹 -O-C(O)O-알킬, -O-C(O)O-치환된 알킬, -O-C(O)O-알케닐, -O-C(O)O-치환된 알케닐, -O-C(O)O-알키닐, -O-C(O)O-치환된 알키닐, -O-C(O)O-아릴, -O-C(O)O-치환된 아릴, -O-C(O)O-사이클로알킬, -O-C(O)O-치환된 사이클로알킬, -O-C(O)O-사이클로알케닐, -O-C(O)O-치환된 사이클로알케닐, -O-C(O)O-헤테로아릴, -O-C(O)O-치환된 헤테로아릴, -O-C(O)O-헤테로사이클릭, 및 -O-C(O)O-치환된 헤테로사이클릭을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0055] "시아노" 또는 "니트릴"은 그룹 -CN을 언급한다.

[0056] "사이클로알킬"은 융합된, 브릿지된 및 스피로 환 시스템을 포함하는 단일 또는 다중 사이클릭 환을 갖는 3 내지 10개 탄소 원자의 사이클릭 알킬 그룹을 언급한다. 적합한 사이클로알킬 그룹의 예는, 예를 들어, 아다만틸, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등을 포함한다. 상기 사이클로알킬 그룹은, 예로서, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로옥틸 등과 같은 단일 환 구조, 또는 아다만타닐 등과 같은 다중 환 구조를 포함한다.

[0057] 용어 "치환된 사이클로알킬"은 알킬, 치환된 알킬, 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴 및 -SO₂-헤테로아릴로부터 선택되는, 1 내지 5개 치환체, 또는 1 내지 3개 치환체를 갖는 사이클로알킬 그룹을 언급한다.

[0058] "사이클로알케닐"은 단일 또는 다중 환과 적어도 하나의 이중 결합 및 바람직하게는 1 내지 2개 이중 결합을 갖

는 3 내지 10개 탄소 원자의 비-방향족 사이클릭 알킬 그룹을 언급한다.

[0059] 용어 "치환된 사이클로알케닐"은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 케토, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴 및 -SO₂-헤테로아릴로부터 선택되는, 1 내지 5개 치환체, 또는 1 내지 3개 치환체를 갖는 사이클로알케닐 그룹을 언급한다.

[0060] "사이클로알킬닐"은 단일 또는 다중 환 및 적어도 하나의 삼중 결합을 갖는 5 내지 10개 탄소 원자의 비-방향족 사이클로알킬 그룹을 언급한다.

[0061] "사이클로알콕시"는 -O-사이클로알킬을 언급한다.

[0062] "사이클로알케닐옥시"는 -O-사이클로알케닐을 언급한다.

[0063] "할로" 또는 "할로젠"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 언급한다.

[0064] "하이드록시" 또는 "하이드록실"은 그룹 -OH를 언급한다.

[0065] "헤테로아릴"은 환 내에 산소, 질소, 및 황으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 1 내지 15개 탄소 원자, 예를 들어, 1 내지 10개 탄소 원자 및 1 내지 10개 헤테로 원자의 방향족 그룹을 언급한다. 상기 헤테로아릴 그룹은 단일 환 (예를 들어, 피리디닐, 이미다졸릴 또는 푸릴) 또는 환 시스템에서 다중 축합 환(예를 들어, 인돌리지닐, 퀴놀리닐, 벤조푸란, 벤즈이미다졸릴 또는 벤조티에닐과 같은 그룹에서와 같은)을 가질 수 있으며, 여기서, 상기 환 시스템 내에서 적어도 하나의 환은 방향족이고, 상기 환 시스템 내에서 적어도 하나의 환은 방향족이며, 단, 부착 지점은 방향족 환의 원자를 통해서이다. 특정 구현예에서, 헤테로아릴 그룹의 질소 및/또는 황 환 원자(들)은 임의로 산화되어 N-옥사이드 (N→O), 설피닐, 또는 설포닐 모이어티를 제공한다. 상기 용어는, 예로서, 피리디닐, 피롤릴, 인돌릴, 티오펜릴, 및 푸라닐을 포함한다. 헤테로아릴 치환체에 대해 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 헤테로아릴 그룹은 아실옥시, 하이드록시, 티올, 아실, 알킬, 알콕시, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 알킬, 치환된 알콕시, 치환된 알케닐, 치환된 알키닐, 치환된 사이클로알킬, 치환된 사이클로알케닐, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아실아미노, 알크아릴, 아릴, 아릴옥시, 아지도, 카복실, 카복실알킬, 시아노, 할로젠, 니트로, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 아미노아실옥시, 옥시아실아미노, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴 및 -SO₂-헤테로아릴, 및 트리할로메틸로부터 선택되는, 1 내지 5개 치환체, 또는 1 내지 3개 치환체로 임의로 치환될 수 있다. 이러한, 경우, 1 내지 5개 치환체 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같음)로 치환된 헤테로아릴 그룹은 "치환된 헤테로아릴"로서 언급된다.

[0066] 용어 "헤테로아르알킬"은 그룹 -알킬렌-헤테로아릴을 언급하고, 여기서, 알킬렌 및 헤테로아릴은 본원에 정의된 바와 같다. 상기 용어는, 예로서, 피리딜메틸, 피리딜에틸, 인돌릴메틸 등을 포함한다.

[0067] "헤테로아릴옥시"는 -O-헤테로아릴을 언급한다.

[0068] "헤테로사이클," "헤테로사이클릭," "헤테로사이클로알킬," 및 "헤테로사이클릴"은 융합된 브릿지된 및 스피로 환 시스템을 포함하는 단일 환 또는 다중 축합 환, 및 1 내지 10개 헤테로 원자를 포함하는 3 내지 20개 환 원자를 갖는 포화 또는 불포화 그룹을 언급한다. 이들 환 원자는 질소, 황 또는 산소로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, 융합된 환 시스템에서, 하나 이상의 환은 사이클로알킬, 아릴, 또는 헤테로아릴일 수 있고, 단, 부착 지점은 비-방향족 환을 통해서이다. 특정 구현예에서, 헤테로사이클릭 그룹의 질소 및/또는 황 원자(들)은 임의로 산화되어 N-옥사이드, -S(O)-, 또는 -SO₂- 모이어티를 제공한다.

[0069] 헤테로사이클 및 헤테로아릴의 예는 아제티딘, 피롤, 이미다졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리미딘, 피리다진, 인돌리진, 이소인돌, 인돌, 디하이드로인돌, 인다졸, 퓨린, 퀴놀리진, 이소퀴놀린, 퀴놀린, 프탈라진, 나프틸피리딘, 퀴녹살린, 퀴나졸린, 신놀린, 프테리딘, 카바졸, 카볼린, 페난트리딘, 아크리딘, 페난트롤린, 이소티아졸, 페나진, 이속사졸, 페녹사진, 페노티아진, 이미다졸리딘, 이미다졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌린, 프탈이미드, 1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린, 4,5,6,7-테트라하이드로벤조[b]티오펜, 티아졸, 티아

줄리딘, 티오펜, 벤조[b]티오펜, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐 (티아모르폴리닐로도 언급됨), 1,1-디옥소티오모르폴리닐, 피페리디닐, 피롤리딘, 테트라하이드로푸라닐 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0070] 헤테로사이클릭 치환체에 대해 정의에 의해 달리 제한되지 않는 한, 이러한 헤테로사이클릭 그룹은 알콕시, 치환된 알콕시, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아실, 아실아미노, 아실옥시, 아미노, 치환된 아미노, 아미노아실, 아미노아실옥시, 옥시아미노아실, 아지도, 시아노, 할로젠, 하이드록실, 옥소, 티오케토, 카복실, 카복실알킬, 티오아릴옥시, 티오헤테로아릴옥시, 티오헤테로사이클로옥시, 티올, 티오알콕시, 치환된 티오알콕시, 아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴, 헤테로아릴옥시, 헤테로사이클릴, 헤테로사이클로옥시, 하이드록시아미노, 알콕시아미노, 니트로, -SO-알킬, -SO-치환된 알킬, -SO-아릴, -SO-헤테로아릴, -SO₂-알킬, -SO₂-치환된 알킬, -SO₂-아릴, -SO₂-헤테로아릴, 및 융합 헤테로사이클로부터 선택되는, 1 내지 5개, 또는 1 내지 3개 치환체로 임의로 치환될 수 있다.

[0071] "헤테로사이클릴옥시"는 그룹 -O-헤테로사이클릴을 언급한다.

[0072] 용어 "헤테로사이클릴티오"는 그룹 헤테로사이클릭-S-를 언급한다.

[0073] 용어 "헤테로사이클렌"은 본원에 정의된 바와 같은 헤테로사이클로부터 형성된 디라디칼 그룹을 언급한다.

[0074] 용어 "하이드록시아미노"는 그룹 -NHOH를 언급한다.

[0075] "니트로"는 그룹 -NO₂를 언급한다.

[0076] "옥소"는 원자 (=O)를 언급한다.

[0077] "설폰닐"은 그룹 SO₂-알킬, SO₂-치환된 알킬, SO₂-알케닐, SO₂-치환된 알케닐, SO₂-사이클로알킬, SO₂-치환된 사이클로알킬, SO₂-사이클로알케닐, SO₂-치환된 사이클로알케닐, SO₂-아릴, SO₂-치환된 아릴, SO₂-헤테로아릴, SO₂-치환된 헤테로아릴, SO₂-헤테로사이클릭, 및 SO₂-치환된 헤테로사이클릭을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다. 설폰닐은, 예로서, 메틸-SO₂-, 페닐-SO₂-, 및 4-메틸페닐-SO₂-을 포함한다.

[0078] "설폰닐옥시"는 그룹 -OSO₂-알킬, OSO₂-치환된 알킬, OSO₂-알케닐, OSO₂-치환된 알케닐, OSO₂-사이클로알킬, OSO₂-치환된 사이클로알킬, OSO₂-사이클로알케닐, OSO₂-치환된 사이클로알케닐, OSO₂-아릴, OSO₂-치환된 아릴, OSO₂-헤테로아릴, OSO₂-치환된 헤테로아릴, OSO₂-헤테로사이클릭, 및 OSO₂ 치환된 헤테로사이클릭을 언급하고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 사이클로알킬, 치환된 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 치환된 사이클로알케닐, 아릴, 치환된 아릴, 헤테로아릴, 치환된 헤테로아릴, 헤테로사이클릭, 및 치환된 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0079] 용어 "아미노카보닐옥시"는 그룹 -OC(O)NRR을 언급하고, 식 중, 각각의 R은 독립적으로 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 또는 헤테로사이클릭이고, 여기서, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 헤테로사이클릭은 본원에 정의된 바와 같다.

[0080] "티올"은 그룹 -SH를 언급한다.

[0081] "티옥소" 또는 용어 "티오케토"는 원자 (=S)를 언급한다.

[0082] "알킬티오" 또는 용어 "티오알콕시"는 그룹 -S-알킬을 언급하고, 여기서, 알킬은 본원에 정의된 바와 같다. 특정 구현예에서, 황은 -S(O)-로 산화될 수 있다. 설폭사이드는 하나 이상의 입체이성체로서 존재할 수 있다.

[0083] 용어 "치환된 티오알콕시"는 그룹 -S-치환된 알킬을 언급한다.

[0084] 용어 "티오아릴옥시"는 그룹 아릴-S-를 언급하고, 여기서, 상기 아릴 그룹은 본원에 정의된 바와 같으며, 또한 본원에 정의된 바와 같은 임의로 치환된 아릴 그룹을 포함한다.

[0085] 용어 "티오헤테로아릴옥시"는 그룹 헤테로아릴-S-를 언급하고, 여기서, 상기 헤테로아릴 그룹은 본원에 정의된 바와 같으며, 또한 본원에 정의된 바와 같은 임의로 치환된 아릴 그룹을 포함한다.

- [0086] 용어 "티오헤테로사이클로옥시"는 그룹 헤테로사이클릴-S-를 언급하고, 여기서, 상기 헤테로사이클릴 그룹은 본원에 정의된 바와 같으며, 또한 본원에 정의된 바와 같은 임의로 치환된 헤테로사이클릴 그룹을 포함한다.
- [0087] 본원의 개시내용에 추가하여, 구체화된 그룹 또는 라디칼을 변형시키는데 사용되는 경우, 용어 "치환된"은 또한 구체화된 그룹 또는 라디칼의 하나 이상의 수소 원자가 각각 서로 독립적으로 아래에 정의된 바와 같은 동일하거나 상이한 치환체 그룹으로 대체됨을 의미할 수 있다.
- [0088] 본원에 개별 원자에 대해 개시된 그룹에 추가하여, 구체화된 그룹 또는 라디칼에서 포화 탄소 원자 상에서 하나 이상의 수소 (단일 탄소 상에서 임의의 2개의 수소는 =O, =NR⁷⁰, =N-OR⁷⁰, =N₂ 또는 =S로 대체될 수 있다)를 대체하기 위한 치환체 그룹은, 달리 구체화되지 않는 한, -R⁶⁰, 할로, =O, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, -NR^{80,80}, 트리할로메틸, -CN, -OCN, -SCN, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -SO₂R⁷⁰, -SO₂O⁻M⁺, -SO₂OR⁷⁰, -OSO₂R⁷⁰, -OSO₂O⁻M⁺, -OSO₂OR⁷⁰, -P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂, -P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺, -P(O)(OR⁷⁰)₂, -C(O)R⁷⁰, -C(S)R⁷⁰, -C(NR⁷⁰)R⁷⁰, -C(O)O⁻M⁺, -C(O)OR⁷⁰, -C(S)OR⁷⁰, -C(O)NR^{80,80}, -C(NR⁷⁰)NR^{80,80}, -OC(O)R⁷⁰, -OC(S)R⁷⁰, -OC(O)O⁻M⁺, -OC(O)OR⁷⁰, -OC(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)R⁷⁰, -NR⁷⁰CO₂M⁺, -NR⁷⁰CO₂R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)NR^{80,80}, -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰ 및 -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR^{80,80} 이고, 여기서, R⁶⁰은 임의로 치환된 알킬, 사이클로알킬, 헤테로알킬, 헤테로사이클로알킬알킬, 사이클로알킬알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 각각의 R⁷⁰은 독립적으로 수소 또는 R⁶⁰ 이고; 각각의 R⁸⁰은 독립적으로 R⁷⁰이거나 대안적으로, 2개의 R⁸⁰은, 이들이 결합되어 있는 질소 원자와 함께 취하여, 5-, 6- 또는 7원 헤테로사이클로알킬을 형성하고 이는 O, N 및 S로 이루어진 그룹으로부터 선택된 1 내지 4개의 동일하거나 상이한 추가의 헤테로 원자를 임의로 포함할 수 있으며, 이때 N은 -H 또는 C₁-C₃ 알킬 치환을 가질 수 있으며; 각각의 M⁺은 순(net) 단일 양전하를 갖는 짝이온이다. 각각의 M⁺는 독립적으로, 예를 들어, 알칼리 이온, 예를 들어 K⁺, Na⁺, Li⁺; 암모늄 이온, 예를 들어, ⁺N(R⁶⁰)₄; 또는 알칼리 토이온, 예를 들어, [Ca²⁺]_{0.5}, [Mg²⁺]_{0.5}, 또는 [Ba²⁺]_{0.5} ("아래첨자 0.5는 이러한 2가 알칼리 토이온에 대한 짝이온 중 하나가 본 발명의 화합물의 이온화된 형태일 수 있으며, 나머지는 클로라이드와 같은 짝이온일 수 있거나, 또는 본원에 개시된 2개의 이온화된 화합물은 이러한 2가 알칼리 토이온에 대한 짝이온으로서 기능할 수 있거나, 본 발명의 이중으로 이온화된 화합물은 이러한 2가 알칼리 토이온에 대한 짝이온으로서 기능할 수 있음을 의미한다)일 수 있다. 구체적인 예로서, -NR^{80,80}은 -NH₂, -NH-알킬, *N*-피롤리딘, *N*-피페라지닐, 4*N*-메틸-피페라진-1-일 및 *N*-모르폴리닐이 포함되는 것으로 의미한다.
- [0089] 본원의 개시내용에 추가하여, "치환된" 알켄, 알킨, 아릴 및 헤테로아릴 그룹에서 불포화 탄소 원자 상에서 수소에 대한 치환체 그룹은, 달리 구체화되지 않는 한, -R⁶⁰, 할로, -O⁻M⁺, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, -S⁻M⁺, -NR^{80,80}, 트리할로메틸, -CF₃, -CN, -OCN, -SCN, -NO, -NO₂, -N₃, -SO₂R⁷⁰, -SO₃⁻M⁺, -SO₃R⁷⁰, -OSO₂R⁷⁰, -OSO₃⁻M⁺, -OSO₃R⁷⁰, -PO₃⁻(M⁺)₂, -P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺, -P(O)(OR⁷⁰)₂, -C(O)R⁷⁰, -C(S)R⁷⁰, -C(NR⁷⁰)R⁷⁰, -CO₂⁻M⁺, -CO₂R⁷⁰, -C(S)OR⁷⁰, -C(O)NR^{80,80}, -C(NR⁷⁰)NR^{80,80}, -OC(O)R⁷⁰, -OC(S)R⁷⁰, -OCO₂⁻M⁺, -OCO₂R⁷⁰, -OC(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)R⁷⁰, -NR⁷⁰CO₂⁻M⁺, -NR⁷⁰CO₂R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)NR^{80,80}, -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰ 및 -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR^{80,80} 이고, 여기서, R⁶⁰, R⁷⁰, R⁸⁰ 및 M⁺는 앞서 정의된 바와 같고, 단, 치환된 알켄 또는 알킨의 경우, 치환체는 -O⁻M⁺, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, 또는 -S⁻M⁺가 아니다.
- [0090] 본원에서 개별적인 용어에 관해 개시된 그룹에 추가하여, "치환된" 헤테로알킬 및 사이클로헤테로알킬 그룹에서 질소 원자 상에서 수소에 대한 치환체 그룹은, 달리 구체화되지 않는 한, -R⁶⁰, -O⁻M⁺, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, -S⁻M⁺, -NR^{80,80}, 트리할로메틸, -CF₃, -CN, -NO, -NO₂, -S(O)₂R⁷⁰, -S(O)₂O⁻M⁺, -S(O)₂OR⁷⁰, -OS(O)₂R⁷⁰, -OS(O)₂O⁻M⁺, -OS(O)₂OR⁷⁰, -P(O)(O⁻)₂(M⁺)₂, -P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺, -P(O)(OR⁷⁰)(OR⁷⁰), -C(O)R⁷⁰, -C(S)R⁷⁰, -C(NR⁷⁰)R⁷⁰, -C(O)OR⁷⁰,

$-C(S)OR^{70}$, $-C(O)NR^{80}R^{80}$, $-C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$, $-OC(O)R^{70}$, $-OC(S)R^{70}$, $-OC(O)OR^{70}$, $-OC(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)R^{70}$, $-NR^{70}C(S)R^{70}$, $-NR^{70}C(O)OR^{70}$, $-NR^{70}C(S)OR^{70}$, $-NR^{70}C(O)NR^{80}R^{80}$, $-NR^{70}C(NR^{70})R^{70}$ 및 $-NR^{70}C(NR^{70})NR^{80}R^{80}$ 이고, 여기서, R^{60} , R^{70} , R^{80} 및 M^+ 는 앞서 정의된 바와 같다.

[0091] 본원의 개시내용에 추가하여, 특정 구현예에서, 치환된 그룹은 1, 2, 3, 또는 4개 치환체, 1, 2, 또는 3개 치환체, 1 또는 2개 치환체, 또는 1개 치환체를 갖는다.

[0092] 상기 정의된 모든 치환된 그룹에서, 추가의 치환체를 갖는 치환체를 그 자체에 대해 정의된 중합체 (예를 들어, 치환체로서 치환된 아릴 그룹을 갖는 치환된 아릴이며 이는 그 자체가 치환된 아릴 그룹으로 치환되며, 치환된 아릴 그룹 등으로 추가로 치환된다)가 본원에 포함되지 않음을 의미한다. 이러한, 경우, 이러한 치환의 최대수는 3이다. 예를 들어, 본원에서 구체적으로 고려되는 치환된 아릴 그룹의 일련의 치환은 치환된 아릴-(치환된 아릴)-치환된 아릴로 제한된다.

[0093] 달리 나타내지 않는 한, 본원에 명백히 정의되지 않은 치환체의 명명법은 기능기에 이어 부착 지점 쪽으로 인접한 기능기의 말단 부분을 명명함에 의해 발생한다. 예를 들어, 치환체 "아릴알킬옥시카보닐"은 그룹 (아릴)-(알킬)-O-C(O)-을 언급한다.

[0094] 하나 이상의 치환체를 함유하는 본원에 개시된 그룹 중 어느 하나로서, 물론, 이러한 그룹이 입체적으로 비현실적이고/이거나 합성에 의해 비-실현가능한 임의의 치환 또는 치환 패턴을 함유하지 않음을 이해한다. 또한, 본 발명의 화합물은 이들 화합물의 치환으로부터 발생하는 모든 입체화학 이성체를 포함한다.

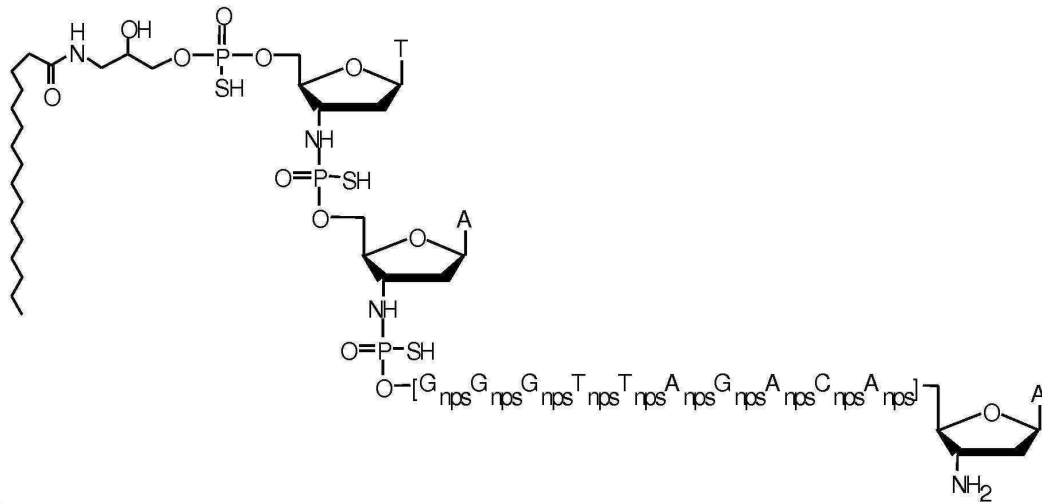
[0095] 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 환자, 예를 들어, 포유동물에게 투여하는데 허용되는 염 (주어진 투여 용법을 위한 허용가능한 포유동물 안전을 갖는 짝이온을 갖는 염)을 의미한다. 이러한 염은 약제학적으로 허용되는 무기 또는 유기 염기로부터 그리고 약제학적으로 허용되는 무기 또는 유기산으로부터 유도될 수 있다. "약제학적으로 허용되는 염"은 화합물의 약제학적으로 허용되는 염을 언급하고, 상기 염은 당업계에서 익히 공지된 다양한 유기 및 무기 짝이온으로부터 유도되고, 예로서 나트륨 등만을 포함하고; 분자가 염기성 기능을 함유하는 경우, 염산염 등과 같은 유기 또는 무기산의 염을 포함한다. 목적하는 약제학적으로 허용되는 염은 알루미늄, 암모늄, 아르기닌, 바륨, 벤자틴, 칼슘, 콜리네이트, 에틸렌디아민, 리신, 리튬, 마그네슘, 메글루민, 프로카인, 칼륨, 나트륨, 트로메타민, N-메틸글루카민, N,N'-디벤질에틸렌-디아민, 클로로프로카인, 디에탄올아민, 에탄올아민, 피페라진, 아연, 디이소프로필아민, 디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 및 트리에탄올아민 염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0096] 용어 "그것의 염"은 산의 양성자가 금속 양이온 또는 유기 양이온 등과 같은 양이온에 의해 대체되는 경우 형성되는 화합물을 의미한다. 적용가능한 경우, 염은 약제학적으로 허용되는 염이지만, 이것은 환자에게 투여하기 위해 의도되지 않은 중간체 화합물의 염에 필요하지 않다. 예로서, 본 발명의 화합물의 염은 무기 또는 유기산에 의해 양성자화되어, 염의 음이온 성분으로서 무기 또는 유기산의 짝염기를 갖는 양이온을 형성하는 것들을 포함한다. 목적하는 염은 알루미늄, 암모늄, 아르기닌, 바륨, 벤자틴, 칼슘, 세슘, 콜리네이트, 에틸렌디아민, 리튬, 마그네슘, 메글루민, 프로카인, N-메틸글루카민, 피페라진, 칼륨, 나트륨, 트로메타민, 아연, N,N'-디벤질에틸렌-디아민, 클로로프로카인, 디에탄올아민, 에탄올아민, 피페라진, 디이소프로필아민, 디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 및 트리에탄올아민 염을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 상호 뉴클로사이드 연결체의 골격을 포함하는 본원에 묘사된 올리고뉴클레오타이드 구조 중 어느 하나에 대해, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 또한 임의의 간편한 염 형태를 포함할 수 있음을 이해한다. 일부 구현예에서, 상호 뉴클로사이드 연결체의 산 형태는 단순화를 위해 묘사한다. 일부 예에서, 본 발명의 화합물의 염은 1가 양이온 염이다. 특정 예에서, 본 발명의 화합물의 염은 2가 양이온 염이다. 일부 예에서, 본 발명의 화합물의 염은 3가 양이온 염이다. "용매화물"은 용매 분자와 용질의 분자 또는 이온의 배합에 의해 형성된 착물을 언급된다. 용매는 유기 화합물, 무기 화합물, 또는 이 둘다의 혼합물일 수 있다. 용매의 일부 예는, 메탄올, N,N-디메틸포름아미드, 테트라하이드로푸란, 디메틸설폭사이드, 및 물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용매가 물인 경우, 형성된 용매화물은 수화물이다.

[0097] "입체이성체" 및 "입체이성체"들은 동일한 원자 연결을 갖지만 공간에 있어서 상이한 원자 배열을 갖는 화합물을 언급한다. 입체이성체는 시스-트랜스 이성체, E 및 Z 이성체, 에난티오머, 및 부분입체이성체를 포함한다.

[0098] "호변체"는 원자의 전자 결합에서 및/또는 양성자의 위치에서만 상이한 분자의 대안적인 형태를 언급하고, 예를 들어, 에놀-케토 및 이민-엔아민 호변체, $-NH-P(=S)(OH)-O-$ 및 $-NH-P(=O)(SH)-O-$, 또는 $-N=C(H)-NH-$ 환 원자

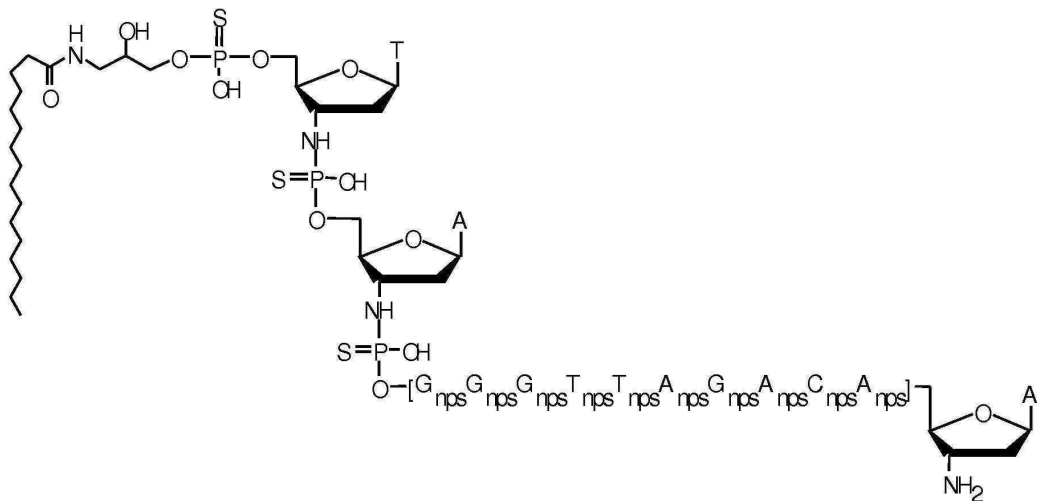
배열을 함유하는 헤테로아릴 그룹의 호변체 형태, 예를 들어, 피라졸, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 트리아졸, 및 테트라졸이다. 당업계의 숙련가는 본원에 기재된 다른 호변체 배열이 가능함을 인지할 것이다. 예를 들어, 하기 구조로 기재되는 올리고뉴클레오타이드는,



[0099]

[0100]

또한 연결체 그룹의 하나의 가능한 대안적인 호변체 배열을 나타내는 하기 구조를 포함함을 이해한다:



[0101]

[0102]

식 중, "nps"는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포르아미데이트 연결체 ($-\text{NH}-\text{P}(=\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$ 또는 $-\text{NH}-\text{P}(=\text{S})(\text{OH})-\text{O}-$)를 나타낸다. 본 발명의 화합물의 모든 호변체 형태가 구조에 의해 포괄되고, 여기서, 구체적으로 나타내지 않은 경우에도 화합물의 그룹의 하나의 가능한 호변체 배열이 기재되는 것으로 이해된다. 본 발명의 화합물의 그룹의 임의의 간편한 호변체 배열은 화합물의 기술에 사용될 수 있다.

[0103]

용어 "또는 그것의 염 또는 용매화물 또는 입체이성체"는 염, 용매화물 및 입체이성체, 예를 들어, 본 발명의 화합물의 입체이성체의 약제학적으로 허용되는 염의 용매화물의 모든 치환이 포함되는 것으로 의도됨이 인식될 것이다. 용어 "또는 그것의 염"은 염의 모든 치환이 포함되는 것으로 의도됨이 이해된다. 용어 "또는 이의 약제학적으로 허용되는 염"은 염의 치환이 포함되는 것으로 의도됨이 이해된다. 용어 "또는 이의 용매화물"은 용매화물의 모든 치환이 포함되는 것으로 의도됨이 이해된다. 용어 "또는 이의 입체이성체"는 입체이성체의 모든 치환이 포함되는 것으로 의도됨이 이해된다. 용어 "또는 이의 호변체"는 호변체의 모든 치환이 포함되는 것으로 의도됨이 이해된다. 따라서, 예를 들어, 당해 화합물의 입체이성체의 호변체의 약제학적으로 허용되는 염의 호변체의 용매화물이 포함되는 것으로 의도된다.

[0104]

"약제학적 유효량" 및 "치료학적 유효량"은 구체화된 장애 또는 질환 또는 이의 증상 중 하나 이상을 치료하고/하거나 상기 질환 또는 장애의 발생을 예방하기에 충분한 화합물의 양을 언급한다. 종양형성 증식성 장애와 관련하여, 약제학적 또는 치료학적 유효량은, 특히, 종양의 성장 속도를 줄이거나 감소시키는데 충분한 양을 포함

한다.

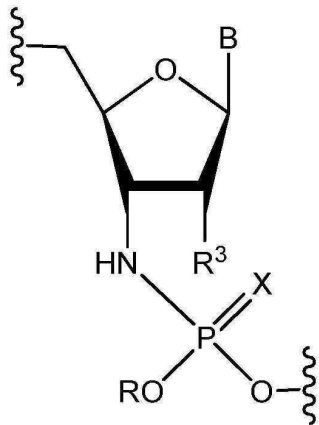
- [0105] "환자"는 인간 및 비-인간 대상체, 특히 포유동물 대상체를 언급한다.
- [0106] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 다음을 포함하는 포유동물 (특히 인간)과 같은 환자에 서 질환 또는 질병을 치료하는 것 또는 치료를 의미한다. (a) 대상체의 예방적 치료와 같은 발생으로부터 질환 또는 질병의 예방; (b) 환자에서 질환 또는 질병의 제거 또는 경감의 유발과 같은 질환 또는 질병의 개선; (c) 예를 들어, 환자에서 질환 또는 질병의 발달을 느리게하거나 억제함에 의한 질환 또는 질병의 억제; 또는 (d) 환자에서 질환 또는 질병의 증상의 완화.
- [0107] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "단리된"은 화합물이 천연에서 발생하는 것과는 상이한 환경에서 존재하는 목적 하는 화합물을 기술하는 것으로 의미한다. "단리된"은 목적하는 화합물이 실질적으로 풍부한 샘플 내에 존재하 고/하거나 목적하는 화합물이 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 화합물을 포함하는 것으로 의미한다.
- [0108] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "실질적으로 정제된"은 이의 자연 환경으로부터 제거되고, 자연적으로 결합되는 다른 성분들로부터 적어도 60% 비함유, 적어도 75% 비함유, 적어도 80% 비함유, 적어도 85% 비함유, 적어도 90% 비함유, 적어도 95% 비함유, 적어도 98% 비함유, 또는 98% 이상 비함유인 화합물을 언급한다.
- [0109] 용어 "생리적 조건"은 살아 있는 세포와 혼화성인 이들 조건, 예를 들어, 살아있는 세포와 혼화성인 온도, pH, 염분, 등의 우세한 수성 조건을 포함하는 것으로 의미한다.
- [0110] 본 발명을 추가로 기술하기 전에, 본 발명은 기재된 특정 구현예로 제한되지 않으며 그 자체가 물론 변할 수 있 음이 이해되어야 한다. 또한 본 발명의 범위가 첨부된 청구항에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에 사용된 용어가 특정 구현예만을 기술할 목적이며 제한하려는 의도가 아닌 것으로 이해되어야 한다.
- [0111] 값의 범위가 제공되는 경우, 각각의 그 사이의 값은, 맥락을 명백히 달리 나타내지 않는 한 하한의 단위의 1/10 까지, 상기 범위의 상한과 하한 사이 및 상기 언급된 범위에서 임의의 기타 언급된 또는 그 사이의 값이 본 발 명 내에 포함되는 것으로 이해된다. 이들 더 작은 범위의 상한과 하한은 독립적으로 더 작은 범위 내에 포함될 수 있으며 또한 본 발명의 범위 내에 포괄되어, 언급된 범위에서 임의의 구체적으로 배제된 범위로 제한될 수 있다. 언급된 범위가 상기 범위 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우, 이들 포함된 범위 중 하나 또는 둘 다를 제외한 범위가 또한 본 발명에 포함된다.
- [0112] 간결함을 위해 개별 구현예의 맥락으로 기재된 본 발명의 특정 특성은 또한 단일 구현예로 조합되어 제공될 수 있음을 인식한다. 반대로, 간결함을 위해 단일 구현예의 맥락에 기재된 본 발명의 다양한 특성은 또한 개별적으 로 또는 임의의 적합한 하위-조합으로 제공될 수 있다. 본 발명에 관한 구현예의 모든 조합은 본 발명에 의해 구체적으로 포함되고, 이러한 조합은, 예를 들어, 적합한 화합물 (즉, 생물학적 활성을 위해 제조되고 단리되고 특성확인되고 시험될 수 있는 화합물)인 주요 요지를 포함하는 정도로, 각각의 모든 조합이 개별적으로 그리고 명시적으로 개시된 것처럼 본원에 개시되어 있다. 또한, 다양한 구현예 및 이의 요소의 모든 하위-조합 (예를 들어, 이러한 변수를 기술하는 구현예에 기재된 화학 그룹의 구현예)은 또한 구체적으로 본 발명에 의해 포함되 고 각각의 모든 이러한 하위-조합이 개별적으로 그리고 명시적으로 본원에 개시된 것처럼 본원에 개시되어 있다.
- [0113] 달리 정의되지 않는 한 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업계의 숙련가에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동일한 임의의 방법 및 재료가 또한 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 목적하는 방법 및 재료가 지금부터 기재된다. 본원에 언급된 모든 공보는 개시내용을 참조하여 본원에 포함되고 공보가 인용된 것과 관련된 방법 및/또는 재료를 기 재한다.
- [0114] 본원에 그리고 첨부된 청구항에 사용된 바와 같이, 단수형 "a," "an," 및 "the"는 문맥에 명확히 달리 나타내지 않는 한 복수의 대상을 포함함을 주목해야 한다. 추가로, 청구항은 임의의 선택적 요소를 배제하도록 초안을 작 성할 수 있음을 주목한다. 이와 같이, 이러한 언급은 청구항 요소의 언급 또는 "부정적인" 제한의 사용과 관련 하여 "단독으로," "유일한"으로서 이러한 배타적인 용어의 사용을 위한 선행 기초로서 작용할 것이다.
- [0115] 간결함을 위해 개별 구현예의 맥락으로 기재된 본 발명의 특정 특성은 또한 단일 구현예로 조합되어 제공될 수 있음을 인식한다. 반대로, 간결함을 위해 단일 구현예의 맥락에 기재된 본 발명의 다양한 특성은 또한 개별적으 로 또는 임의의 적합한 하위-조합으로 제공될 수 있다.
- [0116] 본원에 논의된 공보는 본 출원의 출원일 전에 이들의 개시내용에 대해 단독으로 제공된다. 본원의 어떠한 것도,

본 발명은 선행 발명으로 인해 이러한 공보보다 선행하는 자격이 없음을 인정하는 것으로 해설될 수 없다. 추가로, 제공된 공보의 날짜는 독립적으로 확인될 필요가 있는 실제 공보 날짜와 상이할 수 있다.

[0117] **발명의 상세한 설명**

[0118] 상기 요약된 바와 같이, 본원 발명의 개시내용은 디뉴클레오타이드 이량체의 연장하는 쇠의 유리된 3' 말단 그룹(예를 들어, 3'-하이드록실 또는 3'-아미노 그룹)으로의 커플링을 포함하는 연속 커플링 사이클을 통해 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 고형상 방법을 제공한다. 일반적인 관점에서, 상기 합성은 표적 올리고뉴클레오타이드 서열의 5'-말단에서 3'-말단으로 진행하고 디뉴클레오타이드 이량체의 적어도 하나의 커플링을 포함한다. 상기 이량체는 임의의 간편한 화학반응을 통해 연장하는 쇠의 유리된 3' 말단 그룹으로 커플링될 수 있다. 일부 경우에, 상기 이량체는 3'-보호된 디뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 이량체이고, 여기서, 상기 디뉴클레오타이드는 임의의 간편한 상호 뉴클레오사이드 연결체를 포함할 수 있다. 상기 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 포스포르아미디트 상호 서브유닛 연결체(예를 들어, 옥소-포스포르아미디트 또는 티오포스포르아미데이 트 연결체)를 포함할 수 있다.

[0119] 일부 구현예에서, 상기 디뉴클레오타이드는 하기 화학식에 의해 정의된 적어도 하나의 서브유닛을 함유하는 뉴클레오사이드 서브유닛 서열을 포함한다:



[0120]

[0121] 식 중, B는 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고; X는 O 또는 S이고; R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; R³은 수소, O-R², 및 할로겐으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 여기서, R²는 H, 알킬, 치환된 알킬 (예를 들어, -(CH₂)_nW(CH₂)_mH이고, 여기서, n은 1 내지 10이고, m은 0 내지 10이고, W는 O, S, 또는 NH이다) 또는 하이드록실 보호 그룹이다. 상기 화학식에 의해 기재된 서브유닛을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 일부는 또한 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 이들이 존재할 수 있는 한 상기 형태는 본원의 개시 내용의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0122] 상기 본원 발명의 방법은 단지 뉴클레오사이드 단량체 서브유닛 커플링을 포함하는 방법에 상대적으로 감소된 수의 커플링 사이클을 제공하고 합성의 감소된 양의 비-표적 올리고뉴클레오타이드 생성물을 제공한다. 표적 올리고뉴클레오타이드 서열을 제조하기 위해 사용되는 레트로합성 전략은 합성의 특정 비-표적 올리고뉴클레오타이드 생성물의 양을 최소화하기 위해 표적 올리고뉴클레오타이드의 길이 및 서열과 같은 다양한 인자에 의존하여 선택될 수 있다.

[0123] 일부 구현예에서, 본원 발명의 방법은 목적하는 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 생성물을 갖는 조성물의 제제를 제공한다.

[0124] 특정 구현예에서, 목적하는 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 생성물을 갖는 본원에 기재된 임의의 조성물은 정제되지 않는다.

[0125] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "(N-x) 생성물" (식 중, X는 1 내지 N-1의 정수이고 N은 표적 올리고뉴클레오타이드 중 뉴클레오사이드 잔기들의 수이다)은 길이가 N 잔기인 표적 올리고뉴클레오타이드의 서열과 비교하여 x 뉴클레오사이드 잔기가 부재인 본 발명의 제조 방법 동안에 생성된 비-표적 올리고뉴클레오타이드를 언급한다. 상기 표적 올리고뉴클레오타이드는 본원 발명의 제조 방법이 생산하도록 디자인된 생성물이다. 이와 같이, (N-

1) 생성물은 표적 올리고뉴클레오타이드의 서열 중에 임의의 하나의 뉴클레오타이드 잔기가 부재인 비-표적 올리고뉴클레오타이드이다. 이와 같이, 일부 경우에, 용어 "(N-1) 생성물"은 다양한 비-표적 올리고뉴클레오타이드 생성물을 언급하고 상기 생성물 각각은 표적 올리고뉴클레오타이드의 서열과 비교하여 하나의 뉴클레오타이드 잔기가 부재이다. 유사하게, 상기 용어 "(N-x) 생성물"은 다양한 비-표적 올리고뉴클레오타이드 생성물을 언급하고 상기 생성물 각각은 표적 올리고뉴클레오타이드의 서열과 비교하여 x 뉴클레오타이드 잔기가 부재이다. 예를 들어, (N-2) 생성물은 표적 올리고뉴클레오타이드의 서열 중 임의의 2개의 뉴클레오타이드 잔기가 부재인 비-표적 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 경우에, x 잔기들은 표적 올리고뉴클레오타이드 서열과 비교하여 서로 연속적이다. 다른 경우에, x 잔기들은 표적 올리고뉴클레오타이드 서열과 비교하여 서로 비연속적이다. 상기 x 뉴클레오타이드 잔기는 표적 서열의 임의의 위치로부터 부재일 수 있고 커플링 사이클 동안에 비반응된 3' 말단 그룹으로부터 제조될 수 있다. 본원 발명의 방법의 (N-x) 생성물은 본원 발명의 합성 방법으로부터 유래하는 하나 이상의 추가의 변형, 예를 들어, 부분적 탈보호 변형, 뉴클레오타이드의 상실(예를 들어, 탈퓨린화), 말단 그룹의 캡핑, 합성 시약을 통한 유도체화(예를 들어, 황화 시약에 의한 페닐아세틸화) 등을 포함할 수 있다. 다양한 변형된 올리고뉴클레오타이드는 사용되는 올리고뉴클레오타이드 합성 및 시약의 화학반응에 의존하여 가능하다. 달리 나타내지 않은 한, 모든 상기 변형은 용어 (N-x) 생성물에 의해 포괄되는 것으로 의미한다.

[0126] 일부 구현예에서, 본원 발명의 방법은 부분적으로 보호된 생성물 또는 부분적으로 보호된 (N-x) 생성물로부터 선택된 올리고뉴클레오타이드 합성의 하나 이상의 비-표적 생성물, 예를 들어, 하나 이상의 뉴클레오타이드 보호 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 생성물을 감소시킨다. 본원 발명의 올리고뉴클레오타이드 조성물에서, 상기 표적 올리고뉴클레오타이드 서열은 상기 방법의 다른 올리고뉴클레오타이드-함유 생성물로부터 보다 용이하게 분리되거나 정제될 수 있고, 상기 생성물은 예를 들어, (N-x) 생성물 및 뉴클레오타이드가 부재인 생성물이다.

[0127] 본원 발명의 방법 및 조성물의 구현예는 하기의 섹션에서 보다 상세하게 기재된다.

[0128] 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 방법

[0129] 본원의 개시내용은 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 방법을 제공한다. 본원 발명의 방법은 디뉴클레오타이드 이량체의 연장하는 올리고뉴클레오타이드 쇄의 유리된 3' 말단 그룹으로의 적어도 하나의 커플링을 포함할 수 있다. 임의의 간편한 올리고뉴클레오타이드 합성 방법 및 화학반응은 본원 발명의 제조 방법에 사용될 수 있다. 본원 발명의 방법에 사용하기 위해 채택될 수 있는 목적하는 올리고뉴클레오타이드 합성 화학반응 및 방법은 포스포르아미디트, H-포스포네이트, 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 포스포이트 트리에스테르 및 미국 제 5,824,793호에서 피어론 등(Fearon 등)에 의해 기재된 것들을 포함하지만 이에 제한되지 않고, 상기 문헌의 기재는 이의 전문이 본원에 참조로 인용된다. 본원 발명의 화합물의 올리고뉴클레오타이드 성분들은 선택된 화학반응 유형을 위한 통상적인 프로토콜을 채택함에 의해 합성될 수 있다. N3'→P5' 포스포르아미데이트 화학반응을 갖는 올리고뉴클레오타이드의 합성을 위한 목적하는 방법은 하기 문헌에 기재된 방법들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다[문헌참조: McCurdy 등, (1997) Tetrahedron Letters, 38:207-210 및 Pongracz & Gryaznov, (1999) Tetrahedron Letters, 49:7661-7664].

[0130] 목적하는 올리고뉴클레오타이드는 표적 올리고뉴클레오타이드 서열의 5'-말단으로부터 개시하여 3'-말단으로 진행하는 연속적 커플링을 통한 본원 발명의 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 상기 5'-말단 뉴클레오타이드 서브유닛은 임의의 연결 그룹 또는 5'-말단 그룹을 통해 임의의 간편한 고형 지지체에 부착될 수 있다. 이어서, 연장하는 올리고뉴클레오타이드 쇄로의 서브유닛 커플링은 이량체 포스포르아미디트 또는 단량체 포스포르아미디트를 사용하여 성취될 수 있다. 대안적으로, 5'-말단 디뉴클레오타이드 서브유닛은 임의의 연결 그룹 또는 5'-말단 그룹을 통해 임의의 간편한 고형 지지체에 부착될 수 있다. 일단 제1 서브유닛(예를 들어, 단량체 또는 이량체 서브유닛)이 고형 지지체에 부착되면, 상기 서브유닛은 유리된 고정화된 3'-말단 그룹을 생성하기 위해 탈보호될 수 있다. 일부 경우에, 상기 방법은 지지체 결합된 3'-말단 그룹을 3'-보호된-디뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 이량체와 커플링시킴을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 3'-말단 그룹은 3'-하이드록실 그룹이다. 특정 구현예에서, 상기 3'-말단 그룹은 3'-아미노 그룹이다.

[0131] 일부 경우에, 상기 방법은 하기의 단계를 포함한다: (a) 고형상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오타이드의 보호된 3'-아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트 또는 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계; 및 (c) 상기 연결체를 산화시키는 단계.

- [0132] 상기 표적 올리고뉴클레오타이드 서열은 이량체 및 단량체 서브유닛 둘 다를 연장하는 올리고뉴클레오타이드 쉘의 3' 말단 그룹으로 연속적으로 커플링시킴을 포함하는 레트로합성 전략을 사용하여 합성될 수 있다. 이와 같이, 일부 구현예에서, 상기 방법은 하기의 단계를 추가로 포함한다: (a) 고품상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포라미디트 단량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포라미디트 연결체를 형성하는 단계; 및 (c) 상기 연결체를 산화시켜 N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체를 생성하는 단계.
- [0133] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "N3'→P5' 포스포라미디트 연결체"는 N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체의 인 (III) 중간체를 언급한다. 일반적인 관점에서, N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체는 N3'→P5' 포스포라미디트 연결체를 인(V) 생성물(예를 들어, 옥소(P=O) 또는 티오(P=S) 그룹을 포함할 수 있는 N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체)로 산화시킴에 의해 형성된다. 일부 경우에, 상기 산화 단계는 N3'→P5' 포스포라미디트 연결체를 황화시켜 N3'→P5' 티오포스포라미데이트 연결체를 생성하는 것으로 기재될 수 있다.
- [0134] 본원에 사용된 바와 같은 "N3'→P5' 포스포라미데이트", "P5'→N3' 포스포라미데이트" 및 "포스포라미데이트"는 하기 화학식에 의해 기재된 상호 뉴클레오사이드 서브유닛 연결체 또는 이의 호변체를 언급한다:
- [0135] 3'-NH-P(=X)(OR)-O-5'
- [0136] 식 중, 상기 3' 및 5'는 연결체에 의해 연결되는 연속 뉴클레오사이드의 슈가 모이어티의 탄소 원자를 언급하고, 식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 또는 포스페이트 보호 그룹이고, X는 칼코겐, 예를 들어, 산소 또는 황이다. R이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 또는 포스페이트 보호 그룹인 경우, 상기 화학식에 의해 기재된 상호 뉴클레오사이드 서브유닛 연결체의 일부는 또한 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 이들이 존재할 수 있는 한 상기 형태는 본원의 개시 내용의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다. 일부 경우에, X가 황인 경우, 상기 포스포라미데이트는 티오포스포라미데이트로서 언급될 수 있다. 일부 경우에, X가 산소인 경우, "포스포라미데이트"는 "옥스포스포라미데이트"로서 언급될 수 있다. 일부 경우에, R이 포스페이트 보호 그룹인 경우, 이것은 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬 또는 이의 치환된 버전일 수 있다. 일부 경우에, R은 10개 이하의 탄소 원자를 함유하는 포스페이트 보호 그룹이다. 특정 경우에, R이 포스페이트 보호 그룹인 경우, 이것은 1 내지 6개 탄소 원자를 갖는 알킬; 전자-구인 β-치환된 에틸(예를 들어, β-트리할로메틸-, β-시아노-, β-설폰-, 또는 β-니트로-치환된 에틸); 전자-구인 치환된 페닐(예를 들어, 할로-, 설폰-, 시아노-, 또는 니트로-, 치환된 페닐); 또는 전자-구인 치환된 페닐에틸이다. 일부 구현예에서, R이 포스페이트 보호 그룹인 경우, 이는 메틸, β-시아노에틸, 또는 4-니트로페닐에틸이다. 특정 구현예에서, R은 수소, 메틸 또는 β-시아노에틸이다. 목적하는 전자-구인 치환체는 할로, 시아노, 니트로, 설폰, 또는 모노-, 디-, 또는 트리할로메틸 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 할로겐 원자 치환체는 일반적으로 플루오로, 클로로, 브로모, 또는 요오드이고; 일부 경우에, 이들은 플루오로 또는 클로로이다. "전자-구인"은 이의 분자의 일부인 원자가 전자를 끌어당기는 치환체의 경향을 지칭하고, 즉 이는 음전기이고, 예를 들어, March, Advanced Organic Chemistry, pgs. 16-18 (John Wiley, New York, 1985)이다. 포스페이트 보호 그룹을 선택하기 위한 지침은 문헌[참조: Beaucage and Iyer, Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992)]. 편의를 위해, 뉴클레오타이드 포스포라미데이트는 때로는 각각 N3'→P5' 포스포라미데이트 및 P3'→N5' 포스포라미데이트에 대해 첨자 "np" 또는 "pn"으로 본원에 나타낸다. 따라서, "U_{np}U"는 3'-아미노우리딘 및 우리딘이 N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체에 의해 연결된 디뉴클레오타이드이다. 연결체가 옥소-포스포라미데이트인 경우, 상기 뉴클레오타이드 옥소-포스포라미데이트는 때로는 각각 N3'→P5' 포스포라미데이트 및 P3'→N5' 포스포라미데이트에 대해 첨자 "npo" 또는 "opn"으로 본원에 나타낸다. 유사하게, 뉴클레오타이드 티오포스포라미데이트는 때로는 각각 N3'→P5' 티오포스포라미데이트 및 P3'→N5' 티오포스포라미데이트에 대해 첨자 "nps" 또는 "spn"으로 본원에 나타낸다. 유사하게, 2'-플루오로 치환체는 첨자 "f"로 나타낸다. 따라서, "U_{f, np}U"는 5'-최외각 3'-아미노-2'-플루오로우리딘이 N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체에 의해 우리딘으로 연결된 디뉴클레오타이드이다. 단일 선행 첨자 "p"는 5' 모노포스페이트를 나타내고 단일 후행 첨자 "n"은 3'-아미노 그룹을 나타낸다.
- [0137] 일부 경우에, 상호 뉴클레오사이드 서브유닛 연결체 또는 이의 호변체는 하기 화학식에 의해 기재된다:
- [0138] 3'-NH-P(=X)(OR)-O-5'
- [0139] 상기 식에서, 3' 및 5'는 연결체에 의해 연결된 연속 뉴클레오사이드의 슈가 모이어티의 탄소 원자를 언급하고

R은 수소이고 X는 산소 또는 황이다. 상기 상호 뉴클레오사이드 연결체를 포함하는 본원에 기재된 임의의 올리고뉴클레오타이드에 대해, 상기 올리고뉴클레오타이드는 또한 연결체의 임의의 간편한 염 형태를 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 이와 같이, 상기 상호 뉴클레오사이드 연결체는 임의의 간편한 짝이온을 포함하는 염 형태로 존재할 수 있다.

[0140] 임의의 간편한 보호 그룹 전략은 염기, 포스포르아미디트, 포스포르아미데이트, 5', 2' 및/또는 3' 그룹을 보호하기 위한 본원 발명의 방법에 사용될 수 있다. 목적하는 보호 그룹은 하기 문헌에 기재된 보호 그룹들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: Ohkubo 등, *Org. Lett.*, 2010, 12 (11), pp 2496-2499; 및 Beaucage and Iyer, *Tetrahedron* 48: 2223-2311 (1992).

[0141] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "포스페이트 보호 그룹"은 올리고뉴클레오타이드의 인-함유 상호 서브유니트 연결체에 부착될 수 있는 보호 그룹을 언급한다. 존재하는 경우, 포스페이트 보호 그룹은 포스페이트 보호 그룹이 부착된 인-함유 연결체의 반응을 방지(즉, 차단)할 수 있다. 임의의 간편한 인-함유 상호 서브유니트 연결체(예를 들어, P(III) 및 P(V) 연결체)는 포스포르아미디트, 옥소포스포르아미데이트, 티오포스포르아미데이트, 포스페이트 에스테르, 티오포스페이트 에스테르, 포스포디에스테르 연결체 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 본원 발명의 포스페이트 보호 그룹에 의해 보호될 수 있다. 상기 포스페이트 보호 그룹은 인-함유 상호 서브유니트 연결체의 가용한 산소 원자에 부착될 수 있다. 임의의 간편한 보호 그룹은 포스페이트 보호 그룹으로서 사용될 수 있다. 목적하는 포스페이트 보호 그룹은 알킬, 알케닐, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 또는 이의 치환된 버전, 예를 들어, 1 내지 6개 탄소 원자를 갖는 알킬, 예를 들어, 전자-구인 β -치환된 에틸(예를 들어, β -트리할로메틸-, β -시아노-, β -설폰-, 또는 β -니트로- 치환된 에틸); 전자-구인 치환된 페닐(예를 들어, 할로-, 설폰-, 시아노-, 또는 니트로-, 치환된 페닐); 또는 전자-구인 치환된 페닐에틸, 메틸, β -시아노에틸, 또는 4-니트로페닐에틸을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 포스페이트 보호 그룹은 메틸, 또는 β -시아노에틸이다. 목적하는 전자-구인 치환체는 할로 (예를 들어, 클로로 또는 플루오로), 시아노, 니트로, 설폰, 또는 모노-, 디-, 또는 트리할로메틸 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0142] 연장하는 올리고뉴클레오타이드 쉘의 3'-말단 그룹은 3'-하이드록실, 3'-아미노 그룹 또는 이의 보호된 버전을 포함할 수 있다. 임의의 간편한 하이드록실 및/또는 아미노 보호 그룹은 올리고뉴클레오타이드 합성 동안에 3'-말단 그룹에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 3' 말단 그룹은 보호된 3'-아미노 그룹이고 상기 방법은 보호 그룹을 탈보호하거나 제거하여 유리된 3' 아미노 그룹을 생성시킴을 포함한다.

[0143] 본원에 사용된 바와 같이, 단량체 및 이량체와 관련된 용어 "유리된 아미노 그룹"은 입수 단량체 또는 이량체의 포스포르아미디트 그룹과 반응시키기 위해 가용한 아미노 그룹을 의미한다. 일부 구현예에서, 유리된 아미노 그룹은 1급 아민이다. 탈보호 (예를 들어, 탈트리틸화) 단계 후, 상기 아미노 그룹은 염 (예를 들어, 탈트리틸화를 위해 사용되는 산의 짝염기 염)의 형태로 존재할 수 있다. 상기 염은 임의로 염기성 용액, 예를 들어, 탈트리틸화 단계 후 아세트오니트릴 중 2% 트리에틸아민 또는 피리딘으로 중화될 수 있다.

[0144] 일부 구현예에서, 상기 3'-말단 그룹은 보호된 3'-하이드록실 그룹이고 상기 방법은 보호 그룹을 탈보호하거나 제거하여 유리된 3'-하이드록실 그룹을 생성시킴을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 3'-말단 그룹은 보호된 3'-아미노 그룹이고 상기 방법은 상기 보호 그룹을 탈보호하거나 제거하여 유리된 3'-아미노 그룹을 생성시킴을 포함한다. 상기 보호된 3'-아미노 또는 3'-하이드록실 그룹은 트리틸 보호 그룹으로 보호될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 트리틸 보호 그룹은 트리페닐메틸(Tr, Ph_3C -)이다. 특정 구현예에서, 상기 트리틸 보호 그룹은 4,4'-디메톡시트리틸(DMT)이다.

[0145] 3'-말단 아미노 또는 하이드록실 그룹의 탈보호는 임의의 간편한 방법을 사용하여 성취될 수 있다. 목적하는 방법은 하기 문헌에 기재된 방법들을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: Beaucage and Iyer, *Tetrahedron* 48: 2223-2311 (1992). 일부 경우에, 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹의 탈보호는 유리된 3' 말단 그룹을 생성하기 위한 탈트리틸화, 예를 들어, 산-촉매된 탈트리틸화를 포함한다.

[0146] 일반적으로, 상기 이량체 또는 단량체 서브유니트 포스포르아미디트는 고형 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 3' 말단 그룹과 동일한 보호된 3'-하이드록실 또는 3'-아미노 그룹을 포함한다. 입수 서브유니트 포스포르아미디트의 3'-보호는 쉘의 목적하지 않은 중합을 방지한다.

[0147] 임의의 간편한 고형상 지지체는 본원 발명의 방법에 사용될 수 있다. 목적하는 고형 지지체는 조절된 공극 유리(CPG), 고도로 가교결합된 폴리스티렌 (예를 들어, NittoPhase HL 400 또는 GE 프라이머 350), 아크릴 공중합체, 셀룰로스, 나일론, 텍스트란, 라텍스, 폴리아크롤레인 등, 예를 들어, 하기의 예시적 문헌에 기재된

것들로 구성된 미세입자를 포함하지만 이에 제한되지 않는다: Meth. Enzymol., Section A, pages 11-147, vol. 44 (Academic Press, New York, 1976); U.S. 특허 Nos. 4,678,814; 4,413,070; 및 4,046,720; 및 Pon, Chapter 19, in Agrawal, editor, Methods in Molecular Biology, Vol. 20, (Humana Press, Totowa, N.J., 1993). 목적하는 추가의 지지체는 폴리스티렌 비드; 폴리에틸렌 글리콜과 그래프팅된 폴리스티렌 (예를 들어, TentaGel™, Rapp Polymere, Tubingen Germany); 등을 포함한다. 물질, 공극율, 크기, 형태 등과 같은 지지체 특성 및 사용되는 연결 모이어티 유형의 선택은 사용되는 보호 그룹, 최종 생성물의 길이, 최종 생성물의 양 등과 같은 다양한 인자에 의존한다. 예시적 연결 모이어티는 문헌[참조: Pon 등, Biotechniques, 6:768-775 (1988); Webb, U.S. 특허 번호 4,659,774; Barany 등, International patent application PCT/US91/06103; Brown 등, J. Chem. Soc. Commun., 1989: 891-893; Damha 등, Nucleic Acids Research, 18: 3813-3821(1990); Beattie 등, Clinical Chemistry, 39: 719-722 (1993); Maskos and Southern, Nucleic Acids Research, 20: 1679-1684 (1992)] 등에 기재되어 있다.

[0148] 일부 구현예에서, 본원 발명의 방법에 사용되는 고행 지지체는 폴리에틸렌 글리콜과 그래프팅되고 말단 아미노 그룹 (예를 들어, TentaGel-NH₂™, Rapp Polymere, Tubingen Germany)을 소유하는 CPG 및 폴리스티렌을 포함한다. 상기 아미노프로필 그룹은 CPG와 뉴클레오사이드 연결체 간의 스페이서로서 사용될 수 있다. 일부 경우에, 제1 뉴클레오사이드의 5'-하이드록실로의 연결체는 수성 암모니아를 사용한 합성 후 절단될 수 있는 염기-불안정 에스테르 연결체를 제공하는 숙시닐 그룹이다.

[0149] 탈보호 후, 지지체-결합된 뉴클레오사이드는 이량체 또는 단량체 서브유닛 포스포르아미디트와 반응하여 상호 뉴클레오사이드 연결체를 형성할 수 있다. 지지체-결합된 뉴클레오사이드는 고행 지지체에 부착된 단일 잔기를 언급할 수 있거나 상기 지지체에 부착된 올리고뉴클레오타이드 쉼의 말단 잔기를 언급할 수 있는 것으로 이해된다.

[0150] 임의의 간편한 커플링 화학반응, 커플링 시약 및 방법은 본원 발명의 방법에 사용될 수 있다. 본원 발명의 방법과 관련하여 커플링 조건, 보호 그룹, 고행상 지지체, 연결 그룹, 탈보호 시약, 고행상 지지체로부터 생성물을 절단하기 위한 시약, 생성물의 정제 등에 관한 선택을 하는데 있어서의 대부분의 지침은 하기 문헌[예를 들어, Gait, editor, Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach (IRL Press, Oxford, 1984); Amarnath and Broom, Chemical Reviews, Vol. 77, pgs. 183-217 (1977); Pon 등, Biotechniques, Vol. 6, pgs. 768-775 (1988); Ohtsuka 등, Nucleic Acids Research, Vol. 10, pgs. 6553-6570 (1982); Eckstein, editor Oligonucleotides. and Analogues: A Practical Approach (IRL Press, Oxford, 1991), Greene 및 Wuts "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, Narang, editor, Synthesis and Applications of DNA and RNA (Academic Press, New York, 1987), Beaucage and Iyer, Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992)] 등에서 찾을 수 있다.

[0151] 본원 발명의 방법의 커플링 단계는 -20 내지 200 섭씨 온도 범위에서 수행될 수 있다. 일부 경우에, 상기 반응은 주위 온도 (약 15 내지 30 섭씨 온도)에서 수행된다. 상기 반응은 포스포르아미디트 이량체 또는 단량체 용액 및 활성화제 용액(또는 포스포르아미디트 이량체 또는 단량체 및 활성화제를 함유하는 용액)을 고행 지지체에 공유 부착된 (올리고)뉴클레오타이드의 유리된 아미노 그룹을 함유하는 반응 용기에 첨가함에 의해 수행될 수 있다. 일반적으로, 목적하는 활성화제는 보다 안정한 포스포르아미디트 아미노 그룹을 대체하여 고도로 반응성(및 덜 안정한) 중간체를 형성하는 친핵성 촉매를 포함하고, 상기 중간체는 이어서 고행 지지된 올리고뉴클레오타이드 N3'→P5' 포스포르아미디트의 유리된 3' 아미노 그룹과 반응한다. 이어서, 상기 혼합물은 기계적 와동, 불활성 가스를 사용한 살포 등과 같은 방법에 의해 혼합한다. 대안적으로, 이량체 또는 단량체 및 활성화제의 용액(들)은 유리된 3'-말단 그룹을 갖는 고행 지지된 (올리고)뉴클레오타이드를 함유하는 반응 용기(또는 칼럼)에 통류시켜 제조될 수 있다. 상기 단량체 및 활성화제는 예비 혼합하거나 적합한 합성기의 밸브-블록에서 혼합하고 예비-활성화 용기에서 혼합하고 목적하는 경우 미리 평형화시킬 수 있거나 이들은 상기 반응 용기에 별도로 첨가될 수 있다.

[0152] 본원 발명의 방법에 사용될 수 있는 목적하는 활성화제는 테트라졸, 5-(에틸티오)테트라졸, 5-(4-니트로페닐)테트라졸, 5-(2-티오펜) 테트라졸, 트리아졸, 피리디늄 클로라이드 등, 예를 들어, 하기 문헌에 기재된 활성화제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다: Beaucage and Iyer Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992); Berner 등, Nucleic Acids Research, 17: 853-864 (1989); Benson, Chem. Rev. 41: 1-61 (1947). 본원에 사용된 바와 같은 용어 "테트라졸 활성화제"는 테트라졸 또는 테트라졸의 유도체인 활성화제를 언급한다. 일부 구현예에서, 상기 활성화제는 테트라졸이다. 간편한 용매는 아세토니트릴, 테트라하이드로푸란, 메틸렌 클로라이드 등을 포함

하지만 이에 제한되지 않는다. 커플링 단계 직전에 무수(물 부재) 이량체 또는 단량체, 활성화제 및 커플링 단계용 용매 및 고형 지지체를 세척하기 위해 사용되는 용매에 대해 주의를 기울일 수 있다.

[0153] 커플링 후, 올리고뉴클레오타이드의 지지체-결합된 연장하는 쇠의 반응되지 않은 3'-아미노 그룹은 임의로, 다음 탈보호 단계(예를 들어, 탈트리틸화 단계) 전 간편한 캡핑 체계로 캡핑시켜 이들이 후속 커플링 단계에서 불활성화되도록 할 수 있다. 상기 캡핑 단계는 제조 단계의 HPLC 프로필을 개선시켜 정제를 보다 용이하게 할 수 있고 또한 생성물의 전체 수율을 개선시킬 수 있다. 본원 발명의 방법에 유용한 캡핑 시약은 아세트산 무수물 및 이소부티르산 무수물, 산 클로라이드, 예를 들어, 아다만틸 카보닐 클로라이드, 피바오일 클로라이드 등, 이소티오시아네이트, 클로로포르메이트 등과 같은 친전자성 시약을 포함한다. 또한, 활성화제와 연계되고 이어서 산화되는 포스포르아미디트가 유용하고 트리에틸암모늄 이소프로필-H-포스포네이트와 같은 H-포스포네이트 염이 피발로일 클로라이드 또는 아다만틸 카보닐 클로라이드와 같은 산 클로라이드와 함께 사용된다.

[0154] 일부 구현예에서, 상기 방법은 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 산화시킴을 포함한다. 인-함유 상호 뉴클레오사이드 연결체와 관련하여 본원에 사용된 바와 같은 용어 "산화시키다", "산화", "산화시키는" 등은 인(III) 형태 기원 연결체의 인 원자를 인(V) 형태로 전환시키기 위한 방법 또는 처리를 의미한다. 상호 뉴클레오타이드 연결체의 산화는 임의의 간편한 방법을 사용한 합성에서 임의의 간편한 지점에서 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 산화는 예를 들어, 모든 커플링 사이클 동안에 단계적 방식으로 수행된다. 다른 구현예에서, 다수의 상호 뉴클레오타이드 연결체의 산화는 합성 말기에 수행된다. 일부 경우에, N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 산화시켜(예를 들어, 요오드/물 기반 산화제) 옥소-포스포르아미데이트 연결체를 생성한다. 다른 경우에, N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 산화시켜 티오포스포르아미데이트 연결체를 생성하기 위한 황화를 포함한다. 황화는 임의의 간편한 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 목적하는 황화 방법은 문헌[참조: Gryazonov 등, WO2001018015]에 기재된 것들을 포함하고, 이의 개시 내용은 전문이 본원에 참조로 인용된다. 본 발명에 사용하기 위한 황화 체계는 원소 황, 티우람 디설파이드, 예를 들어, 테트라에틸 티우람 디설파이드, 아실 디설파이드, 예를 들어, 펜아실디설파이드, 포스포노티오일 디설파이드, 예를 들어, S-Tetra™, 및 1,1-디옥소-3H-1,2-벤조디티올-3-온을 포함한다. 일부 구현예에서, 황화는 원소 황(S8)을 사용하여 수행될 수 있다. 특정 구현예에서, 황화는 Beaucage 시약을 수행하여 수행할 수 있고, 하기 문헌에 기재된 방법을 사용한다: Iyer 등, J. Organic Chemistry 55:4693-4699, 1990.

[0155] 상기 방법에 유용한 산화제는 요오드, 염소, 브롬, 과산, 예를 들어, m-클로로벤조산, 과산화수소, 예를 들어, t-부틸하이드로퍼옥사이드, 에틸 하이드로퍼옥사이드, 메틸 하이드로퍼옥사이드 등, 오존, 혼합 아실-설피닉 무수물, 예를 들어, 3H-2,1-벤즈옥사티올란-3-온-1-옥사이드, 과황산염, 예를 들어, 나트륨, 암모늄 및 테트라부틸암모늄 과황산염 등, 모노퍼옥시설피이트, 예를 들어, oxone™, 나트륨 및/또는 다른 하이포아염소산염, 과산화물, 예를 들어, 디에틸 퍼옥사이드 또는 비스(트리메틸실릴)퍼옥사이드 또는 과산화수소 또는 비수성 과산화수소 등가물, 예를 들어, 우레아/과산화수소 착물 등을 포함한다. 다른 유용한 산화제가 인(III)을 인(V)으로 전환시키는데 사용될 수 있고 이는 하기 문헌에 기재되어 있다: Beaucage and Iyer Tetrahedron 48: 2223-2311 (1992).

[0156] 일부 경우에, 산화제 또는 황화제는 목적하는 산화와 병행하여 목적하지 않은 아르부조브 (Arbuzov) 부반응을 진행하는 경향을 가질 수 있다(Beaucage and Iyer, 상기 인용). 상기 아르부조브 부반응은 후속적 탈트리틸화 단계의 산성 조건에 불안정한 탈보호된 포스포르아미데이트를 유도할 수 있고 올리고뉴클레오타이드 단편화를 유도한다. 특정 구현예에서, 과산화수소는 아르부조브 부반응을 최소화하기 위한 산화제로서 사용된다. 특정 구현예에서, 산화는 상기 올리고뉴클레오타이드를 1.5% 과산화수소, 3.5% 물, 20% 피리딘, 및 75% THF 용액과 접촉시킴을 포함한다.

[0157] 일부 구현예에서, 상기 방법은 하기의 단계를 포함한다:

[0158] (a) 고형상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계;

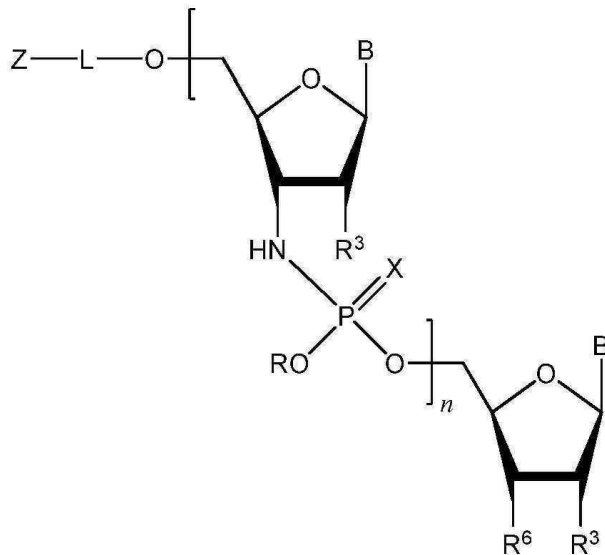
[0159] (b) 상기 유리된 3' 아미노 그룹을 하기 중 어느 하나:

[0160] (i) 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체; 또는

[0161] (ii) 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포르아미디트 단량체와

[0162] 친핵성 측매의 존재하에 반응시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계;

- [0163] (c) 상기 연결체를 산화시키는 단계; 및
- [0164] (d) 상기 폴리뉴클레오타이드가 합성될때까지 단계 (a) 내지 (c)를 반복하고, 상기 단계 (a) 내지 (c)의반복이 단계 (b)(i)를 적어도 1회 수행함을 포함하는, 단계.
- [0165] 일부 구현예에서, 반복 단계 (a) 내지 (c)는 2회 이상 단계 (b)(i)를 수행함을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 반복 단계 (a) 내지 (c)는 단계 (b)(i)를 3회 이상 예를 들어, 4회 이상, 5회 이상, 6회 이상, 7회, 8회 이상, 9회 이상, 10회 이상, 15회 이상, 20회 이상 또는 심지어 30회 이상을 수행함을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 반복 단계 (a) 내지 (c)는 모든 커플링 단계에서 단계 (b)(i)를 수행함을 포함한다. 특정 구현예에서, 반복 단계 (a) 내지 (c)는 하나를 제외한 모든 커플링 단계에서 단계 (b)(i)를 수행함을 포함한다. 특정 구현예에서, (a) 내지 (c)의 반복 단계는 1회 및 단지 1회로 단계 (b)(ii)를 수행함을 포함한다. 특정 구현예에서, (a) 내지 (c)의 반복 단계는 2회 및 단지 2회로 단계 (b)(ii)를 수행함을 포함한다.
- [0166] 본원에 기재된 바와 같이, 용어 포스포르아미데이트 연결체는 옥소-포스포르아미데이트 및 티오포스포르아미데이트 연결체(예를 들어, 화학식 I에 도시된 바와 같이) 둘다를 포괄함으로 의미되는 것으로 이해된다. 상기 방법의 특정 구현예에서, 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트 연결체를 산화시켜 옥소-포스포르아미데이트 연결체를 생성한다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 산화시키는 것은 황화시켜 티오포스포르아미데이트 연결체를 생성함을 포함한다.
- [0167] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 화학식 (I)로 나타낸다:



- [0168]
- [0169] 화학식 (I)
- [0170] 식 중:
- [0171] 각각의 B는 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고;
- [0172] 각각의 X는 독립적으로 산소 또는 황이고;
- [0173] 각각의 R³은 수소, 플루오로, 하이드록실, 알콕시, 치환된 알콕시 또는 보호된 하이드록실이고;
- [0174] R⁶은 아미노, 하이드록실, 보호된 아미노, 보호된 하이드록시, -O-L-Z 또는 -NH-L-Z이고;
- [0175] 각각의 L은 독립적으로 임의의 링커이고;
- [0176] 각각의 Z는 독립적으로 H, 지질, 지지체, 담체, 올리고뉴클레오타이드, 중합체, 폴리펩타이드, 검출가능한 표지 또는 태그이고;
- [0177] R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 또는 포스페이트 보호 그룹이고;
- [0178] n은 1 내지 1000의 정수이다. R이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 또는 포스페이트 보호 그룹인 경우, 화학식 (I)의 일부 올리고뉴클레오타이드는 또한 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 이들이 존

재할 수 있는 한 상기 형태는 본원의 개시 내용의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

- [0179] 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R^3 은 수소이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R^3 은 플루오로이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R^3 은 하이드록실이다.
- [0180] 화학식 (I)의 일부 구현예에서, R^6 은 아미노이다. 화학식 (I)의 특정 구현예에서, R^6 은 하이드록실이다.
- [0181] 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R은 수소이다. R이 수소인 경우, 포스페이트 연결체는 생리학적 조건과 같은 수성 조건하에서 하전될 수 있는 것으로 이해된다. 이와 같이, 화학식 (I)의 올리고뉴클레오타이드는 또한 연결체의 임의의 간편한 염 형태를 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 이와 같이, 화학식 (I)의 상호 뉴클레오타이드 연결체는 임의의 간편한 짝이온을 포함하는 염 형태로 존재할 수 있다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R은 알킬 또는 치환된 알킬이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R은 아릴 또는 치환된 아릴이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, 각각의 R은 포스페이트 보호 그룹이다.
- [0182] 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 H이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 지질(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이)이다. 특정 경우에, 상기 지질은 지방산(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이)이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 지지체이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 담체이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 올리고뉴클레오타이드이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 중합체이다. 특정 경우에, 상기 중합체는 PEG이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 폴리펩타이드이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 검출가능한 표지이다. 화학식 (I)의 일부 구현예에서, Z는 태그이다.
- [0183] 화학식 (I)의 일부 구현예에서, L은 부재이다.
- [0184] 일부 구현예에서, 각각의 B는 A, C, G, T 및 U 또는 이의 보호된 버전으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0185] 화학식 (I)의 특정 구현예에서, n은 1 내지 500, 예를 들어, 1 내지 100, 1 내지 75, 1 내지 50, 1 내지 40, 1 내지 30, 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10 또는 4 내지 10의 정수이다. 특정 구현예에서, n은 1 내지 100, 예를 들어, 5 내지 50, 10 내지 50, 10 내지 40, 10 내지 30, 10 내지 25, 10 내지 20, 12 내지 18 또는 12 내지 16의 정수이다. 특정 구현예에서, n은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25이다.
- [0186] 상기 방법의 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함하고 여기서, 상기 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 포스포라미데이트 상호-서브유니트 연결체에 의해 연결된다.
- [0187] 상기 방법의 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 3 내지 50개 뉴클레오타이드 연속 서브유니트, 예를 들어, 5 내지 40, 10 내지 40, 10 내지 30, 10 내지 25, 10 내지 20, 12 내지 18 또는 12 내지 16개 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 연속 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 7개 이상의 연속 뉴클레오타이드 서브유니트, 예를 들어, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개 연속 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 11 내지 18개, 예를 들어, 11 내지 16개 연속 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다.
- [0188] 상기 방법의 일부 경우에, N3'→P5' 티오포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체는 하기의 구조로 나타낸다:
- [0189] $3' - NH - P(S)(OR) - O - 5'$
- [0190] 식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. R이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 경우, 상기 화학식으로 나타낸 상호 뉴클레오타이드 서브유니트 연결체의 일부는 또한 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 이들이 존재할 수 있는 한 상기 형태는 본원의 개시 내용의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0191] 상기 방법의 일부 경우에, N3'→P5' 티오포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체는 하기의 구조로 나타낸다:

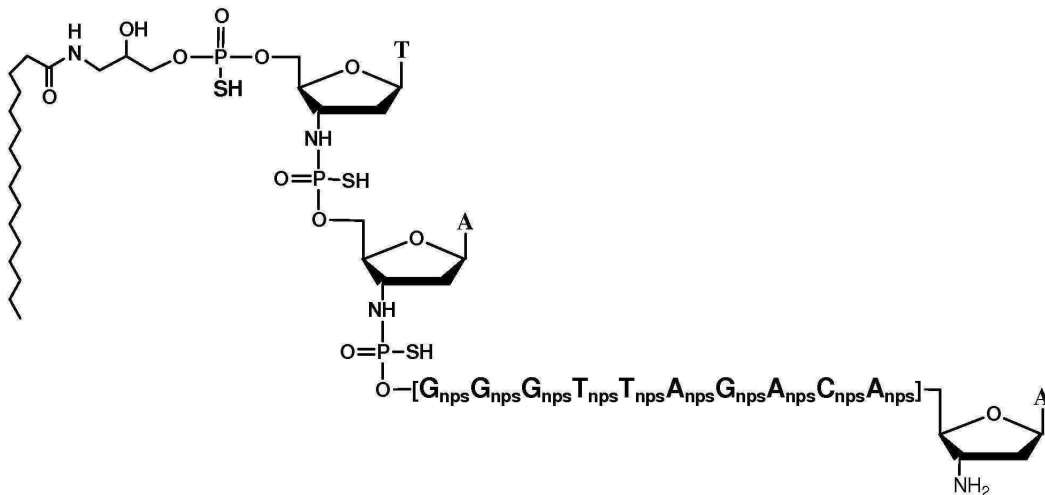
[0192] $3'-\text{NH}-\text{P}(\text{S})(\text{OR})-\text{O}-5'$

[0193] 식 중, R은 수소이다. 상기 상호 서브유닛 연결체를 포함하는 본원에 기재된 임의의 올리고뉴클레오타이드에 대해 상기 올리고뉴클레오타이드는 또한 연결체의 임의의 간편한 염 형태를 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 이와 같이, 상호 서브유닛 연결체는 임의의 간편한 짝이온을 포함하는 염 형태로 존재할 수 있다.

[0194] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 서열 TAGGGTTAGACAA (서열번호 3)를 포함한다. 특정 구현예에서, TAGGGTTAGACAA (서열번호 3) 서열의 모든 상호 뉴클레오타이드 상호 서브유닛 연결체는 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체이다. 특정 경우에, 서열의 모든 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체(예를 들어, nps 연결체)이다. 특정 경우에, 서열의 모든 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 N3'→P5' 옥소-포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체(예를 들어, np 연결체)이다.

[0195] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 3'-아미노 또는 3'-하이드록실 말단 그룹을 포함한다. 상기 방법의 특정 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 3'-아미노 말단 그룹을 포함한다. 상기 방법의 특정 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 3'-하이드록실 말단 그룹을 포함한다.

[0196] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조에 의해 기재된다:

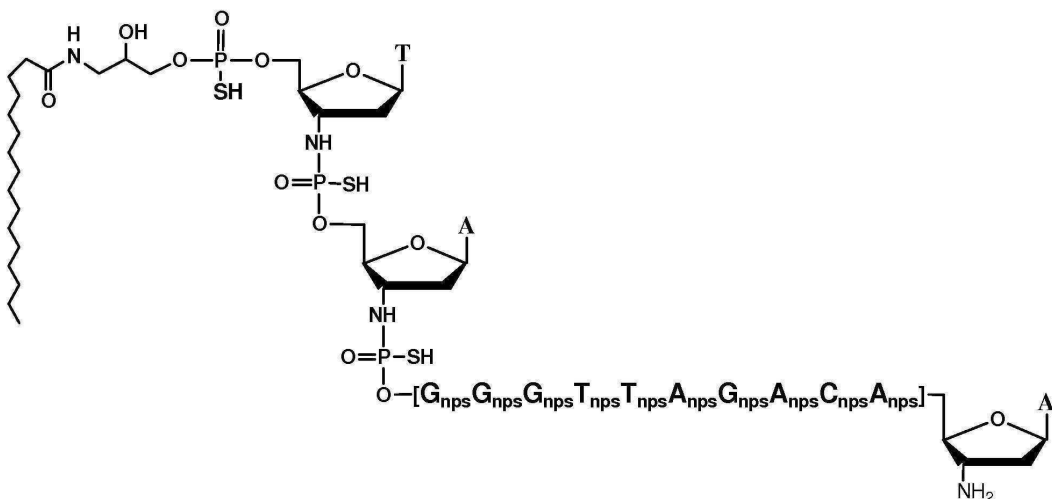


[0197]

[0198] 식 중, "nps"는 티오포스포르아미데이트 연결체 (예를 들어, $-\text{NH}-\text{P}(=\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$ 또는 이의 호변체)를 나타내고, 이는 하나의 뉴클레오사이드의 3' 탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5' 탄소로 연결한다.

[0199] 올리고뉴클레오타이드를 언급하는 모든 구현예는 상기 올리고뉴클레오타이드의 염 형태에 적용될 수 있는 것으로 이해된다.

[0200] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조:

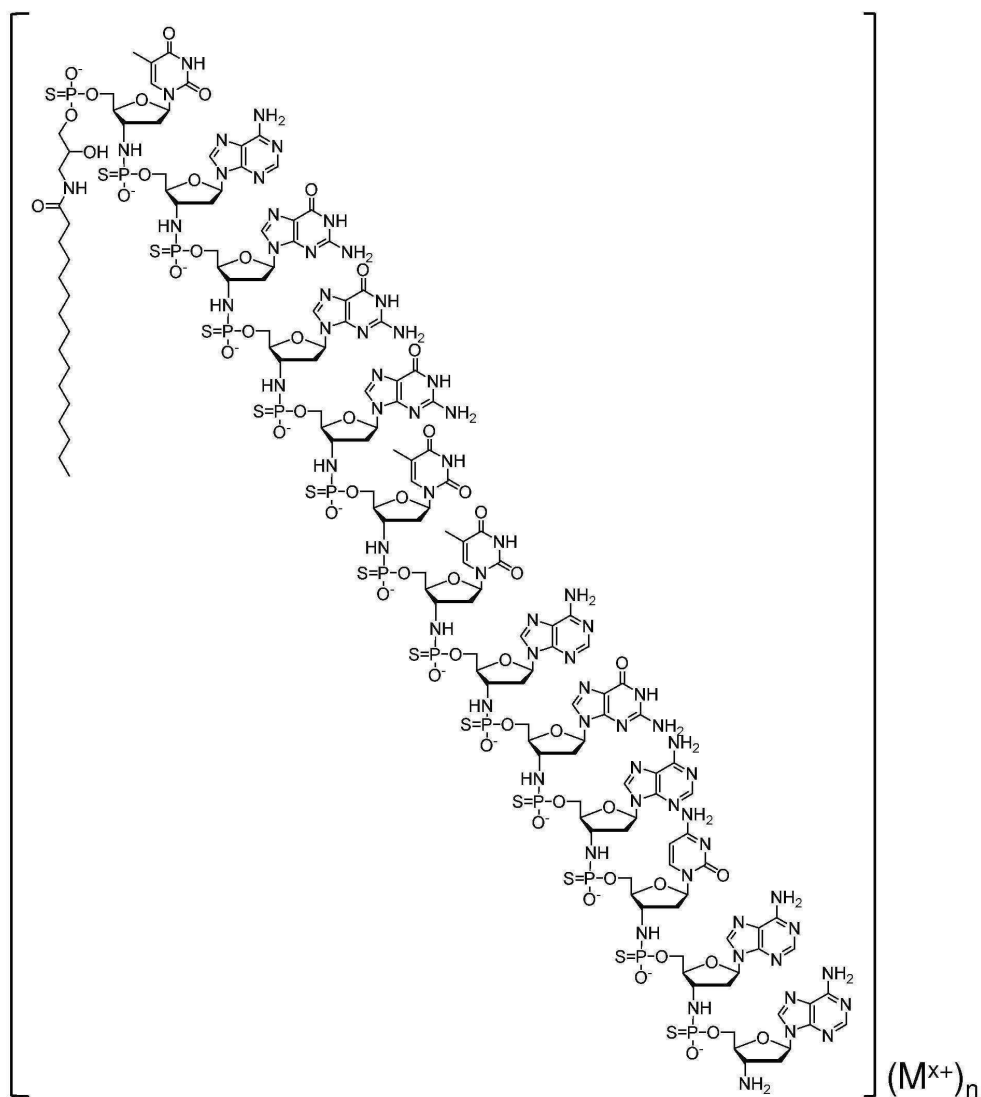


[0201]

[0202] 또는 그것의 염에 의해 기재되고;

[0203] 식 중, "nps"는 티오포스포라미데이트 연결체 (예를 들어, $-\text{NH}-\text{P}(=\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$ 또는 이의 호변체, 또는 그것의 염)을 나타내고, 이는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소에 연결한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 약리학적으로 허용되는 염을 포함한다. 특정 경우에, 상기 조성물은 화합물의 나트륨 염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 마그네슘 염과 같은 화합물의 2가 양이온 염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 알루미늄 염과 같은 화합물의 3가 양이온 염을 포함한다.

[0204] 상기 방법의 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 하기의 구조로 나타내고, 여기서, 각각 M^{x+} 은 독립적으로 수소 또는 염의 임의의 간편한 짝이온이고, 각각의 x는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n은 5 내지 13, 예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13의 정수이고, 예를 들어, n은 13이다:

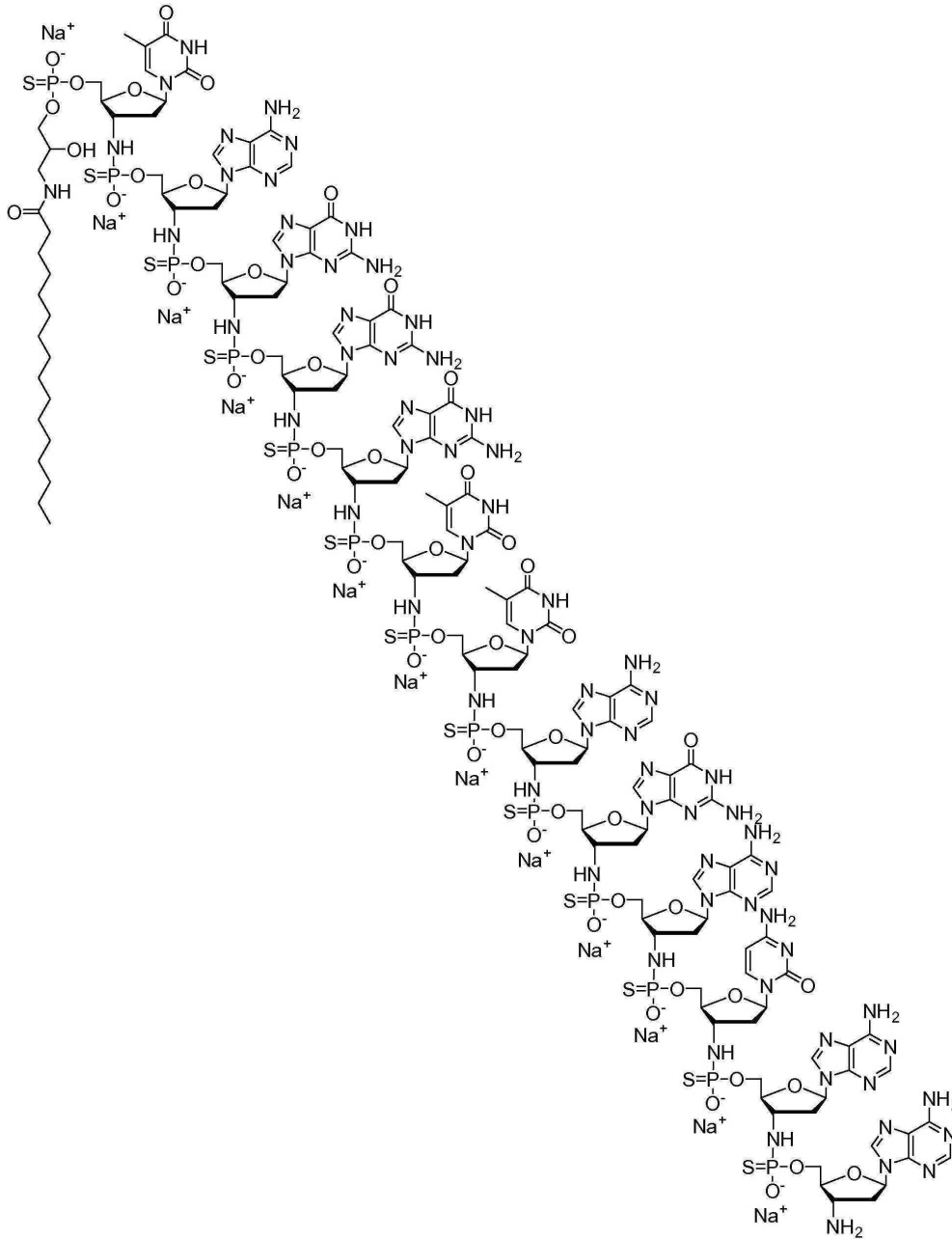


[0205]

[0206] 특정 경우에, 각각의 x는 1이다. 특정 경우에, 각각의 x는 독립적으로 1 또는 2이다. 특정 경우에, 각각의 x는 독립적으로 1 또는 3이다. 특정 경우에, M^{x+} 는 수소이다.

[0207] 상기 방법의 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 하기의 구조로 나타내고 염의 임의의 간편한 양이온 짝이온을 포함할 수 있다:

[0208] 상기 방법의 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 다음 구조로 나타낸다:



[0209]

[0210] 상기 방법의 특정 구현예에서, TAGGGTTAGACAA (서열번호 3) 서열의 상기 C11 뉴클레오타이드 잔기는 3'-보호된 아미노뉴클레오타이드-5'포스포르아미디트 단량체로부터 유래한다. "로부터 유래하는"이란 목적하는 잔기가 합성 동안에 특정 서브유니트를 통해 도입됨을 의미한다. 특정 경우에, TAGGGTTAGACAA (서열번호 3) 서열의 T1 내지 A10, A12 및 A13 잔기는 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체로부터 유래한다.

[0211] 일부 경우에, 상기 방법은 하기의 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체 및 3'-보호된 아미노뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 단량체의 고휘상 지지체의 말단 그룹으로의 연속적 커플링을 포함한다: TA, GG, GT, TA, GA, C 및 AA. 단순화를 위해, 본원 발명의 방법의 커플링에 사용되는 보호된 포스포르아미디트 서브유니트는 심볼 X^1 또는 X^1X^2 를 통해 나타낼 수 있는 것으로 이해되고, 여기서, X^1 및 X^2 는 독립적으로 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이) 임의의 간편한 상호 뉴클레오타이드 연결체를 통해 연결되는 임의의 간편한 뉴클레오타이드이다. 임의의 간편한 합성 전략은 본원 발명의 방법에 사용될 수 있다. 목적하는 일부 전략은 하기에서 올리고뉴클레오타이드 표적 서열의 제조가 특정 이량체 및/또는 단량체

서브유니트에 어떻게 할당될 수 있는지를 입증하기 위해 나타낸다.

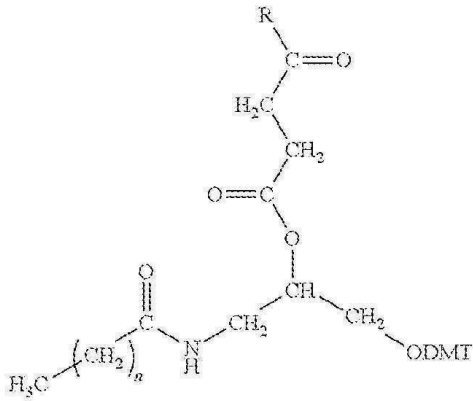
- [0212] 연속적 이량체 및/또는 단량체 서브유니트의 하기 목록에 의해 나타난 예시적 레트로합성 전략은 예시적 표적 올리고뉴클레오타이드 서열 TAGGGTTAGACAA (서열번호 3)을 위해 제공된다. 상기 목록의 전략은 완전하지 않고 임의의 간편한 표적 올리고뉴클레오타이드 합성에 적용하기 위해 채택될 수 있는 것으로 이해된다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 하기 계열의 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체 및/또는 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포르아미디트 단량체의 하나를 고품상 지지체의 말단 그룹으로 연속적으로 커플링시킴을 포함한다:
- [0213] TA, G, G, G, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0214] T, AG, G, G, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0215] T, A, GG, G, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0216] T, A, G, GG, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0217] T, A, G, G, GT, T, A, G, A, C, A, A
- [0218] T, A, G, G, G, TT, A, G, A, C, A, A
- [0219] T, A, G, G, G, T, TA, G, A, C, A, A
- [0220] T, A, G, G, G, T, T, AG, A, C, A, A
- [0221] T, A, G, G, G, T, T, A, GA, C, A, A
- [0222] T, A, G, G, G, T, T, A, G, AC, A, A
- [0223] T, A, G, G, G, T, T, A, G, A, CA, A
- [0224] T, A, G, G, G, T, T, A, G, A, C, AA
- [0225] TA, GG, G, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0226] TA, G, GG, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0227] TA, G, G, GT, T, A, G, A, C, A, A
- [0228] TA, G, G, G, TT, A, G, A, C, A, A
- [0229] TA, G, G, G, T, TA, G, A, C, A, A
- [0230] TA, G, G, G, T, T, AG, A, C, A, A
- [0231] TA, G, G, G, T, T, A, GA, C, A, A
- [0232] TA, G, G, G, T, T, A, G, AC, A, A
- [0233] TA, G, G, G, T, T, A, G, A, CA, A
- [0234] TA, G, G, G, T, T, A, G, A, C, AA
- [0235] T, AG, GG, T, T, A, G, A, C, A, A
- [0236] T, AG, G, GT, T, A, G, A, C, A, A
- [0237] T, AG, G, G, TT, A, G, A, C, A, A
- [0238] T, AG, G, G, T, TA, G, A, C, A, A
- [0239] T, AG, G, G, T, T, AG, A, C, A, A
- [0240] T, AG, G, G, T, T, A, GA, C, A, A
- [0241] T, AG, G, G, T, T, A, G, AC, A, A
- [0242] T, AG, G, G, T, T, A, G, A, CA, A

[0243]	T, AG, G, G, T, T, A, G, A, C, AA
[0244]	T, A, GG, GT, T, A, G, A, C, A, A
[0245]	T, A, GG, G, TT, A, G, A, C, A, A
[0246]	T, A, GG, G, T, TA, G, A, C, A, A
[0247]	T, A, GG, G, T, T, AG, A, C, A, A
[0248]	T, A, GG, G, T, T, A, GA, C, A, A
[0249]	T, A, GG, G, T, T, A, G, AC, A, A
[0250]	T, A, GG, G, T, T, A, G, A, CA, A
[0251]	T, A, GG, G, T, T, A, G, A, C, AA
[0252]	T, A, G, GG, TT, A, G, A, C, A, A
[0253]	T, A, G, GG, T, TA, G, A, C, A, A
[0254]	T, A, G, GG, T, T, AG, A, C, A, A
[0255]	T, A, G, GG, T, T, A, GA, C, A, A
[0256]	T, A, G, GG, T, T, A, G, AC, A, A
[0257]	T, A, G, GG, T, T, A, G, A, CA, A
[0258]	T, A, G, GG, T, T, A, G, A, C, AA
[0259]	T, A, G, G, GT, TA, G, A, C, A, A
[0260]	T, A, G, G, GT, T, AG, A, C, A, A
[0261]	T, A, G, G, GT, T, A, GA, C, A, A
[0262]	T, A, G, G, GT, T, A, G, AC, A, A
[0263]	T, A, G, G, GT, T, A, G, A, CA, A
[0264]	T, A, G, G, GT, T, A, G, A, C, AA
[0265]	T, A, G, G, G, TT, AG, A, C, A, A
[0266]	T, A, G, G, G, TT, A, GA, C, A, A
[0267]	T, A, G, G, G, TT, A, G, AC, A, A
[0268]	T, A, G, G, G, TT, A, G, A, CA, A
[0269]	T, A, G, G, G, TT, A, G, A, C, AA
[0270]	T, A, G, G, G, T, TA, GA, C, A, A
[0271]	T, A, G, G, G, T, TA, G, AC, A, A
[0272]	T, A, G, G, G, T, TA, G, A, CA, A
[0273]	T, A, G, G, G, T, TA, G, A, C, AA
[0274]	T, A, G, G, G, T, T, AG, AC, A, A
[0275]	T, A, G, G, G, T, T, AG, A, CA, A
[0276]	T, A, G, G, G, T, T, AG, A, C, AA
[0277]	T, A, G, G, G, T, T, A, GA, CA, A
[0278]	T, A, G, G, G, T, T, A, GA, C, AA

[0279]	TA, GG, GT, T, A, G, A, C, A, A
[0280]	TA, GG, G, TT, A, G, A, C, A, A
[0281]	TA, GG, G, T, TA, G, A, C, A, A
[0282]	TA, GG, G, T, T, AG, A, C, A, A
[0283]	TA, GG, G, T, T, A, GA, C, A, A
[0284]	TA, GG, G, T, T, A, G, AC, A, A
[0285]	TA, GG, G, T, T, A, G, A, CA, A
[0286]	TA, GG, G, T, T, A, G, A, C, AA
[0287]	TA, G, GG, TT, A, G, A, C, A, A
[0288]	TA, G, GG, T, TA, G, A, C, A, A
[0289]	TA, G, GG, T, T, AG, A, C, A, A
[0290]	TA, G, GG, T, T, A, GA, C, A, A
[0291]	TA, G, GG, T, T, A, G, AC, A, A
[0292]	TA, G, GG, T, T, A, G, A, CA, A
[0293]	TA, G, GG, T, T, A, G, A, C, AA, 등.
[0294]	TA, GG, GT, TA, G, A, C, A, A
[0295]	TA, GG, GT, T, AG, A, C, A, A
[0296]	TA, GG, GT, T, A, GA, C, A, A
[0297]	TA, GG, GT, T, A, G, AC, A, A
[0298]	TA, GG, GT, T, A, G, A, CA, A
[0299]	TA, GG, GT, T, A, G, A, C, AA, 등
[0300]	TA, GG, GT, TA, GA, C, A, A
[0301]	TA, GG, GT, TA, G, AC, A, A
[0302]	TA, GG, GT, TA, G, A, CA, A
[0303]	TA, GG, GT, TA, G, A, C, AA, 등
[0304]	TA, G, GG, TT, AG, AC, A, A
[0305]	TA, G, GG, TT, AG, A, CA, A
[0306]	TA, G, GG, TT, AG, A, C, AA
[0307]	TA, G, G, GT, TA, GA, CA, A
[0308]	TA, G, G, GT, TA, GA, C, AA
[0309]	TA, G, G, GT, TA, GA, CA, A
[0310]	TA, G, G, G, TT, AG, AC, AA
[0311]	TA, G, GG, T, TA, GA, CA, A
[0312]	TA, G, GG, T, TA, GA, C, AA
[0313]	TA, G, GG, T, TA, G, AC, AA, 등
[0314]	T, A, G, GG, TT, AG, AC, AA

- [0315] T, A, GG, G, TT, AG, AC, AA
- [0316] T, AG, G, G, TT, AG, AC, AA
- [0317] TA, G, G, G, TT, AG, AC, AA
- [0318] T, AG, G, GT, T, AG, AC, AA, 등
- [0319] T, AG, GG, T, T, AG, AC, AA, 등
- [0320] T, AG, GG, TT, A, G, AC, AA, 등
- [0321] T, AG, GG, TT, AG, A, C, AA, 등
- [0322] T, AG, GG, TT, AG, AC, A, A
- [0323] T, AG, GG, TT, AG, AC, AA
- [0324] TA, G, GG, TT, AG, AC, AA
- [0325] TA, GG, G, TT, AG, AC, AA
- [0326] TA, GG, GT, T, AG, AC, AA
- [0327] TA, GG, GT, TA, G, AC, AA
- [0328] TA, GG, GT, TA, GA, C, AA or
- [0329] TA, GG, GT, TA, GA, CA, A.
- [0330] 일부 구현예에서, 상기 방법은 일련의 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포라미데이트-5'-포스포라미디트 이량체 및/또는 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포라미디트 단량체를 고품상 지지체의 말단 그룹으로 연속으로 커플링시킴을 포함하고, 여기서, 합성의 적어도 최종 커플링은 이량체 커플링이다. 특정 구현예에서, 제2- 내지 -마지막 커플링 및 최종 커플링은 이량체 커플링이다. 특정 경우에, N이 짝수인 경우, 상기 방법은 N/2 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 짝수인 경우, 상기 방법은 N/2-1 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 짝수인 경우, 상기 방법은 N/2-2 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 짝수인 경우, 상기 방법은 N/2-3 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 짝수인 경우, 상기 방법은 N/2-4 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 짝수인 경우, 상기 방법은 N/2-5 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 홀수인 경우, 상기 방법은 N/2-1 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 홀수인 경우, 상기 방법은 N/2-2 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 홀수인 경우, 상기 방법은 N/2-3 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 홀수인 경우, 상기 방법은 N/2-4 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 홀수인 경우, 상기 방법은 N/2-5 이량체 커플링을 포함한다. 특정 경우에, N이 홀수인 경우, 상기 방법은 N/2-6 이량체 커플링을 포함한다. 예를 들어, 하기 시리즈의 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포라미데이트-5'-포스포라미디트 이량체 및/또는 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포라미디트 단량체의 고품상 지지체의 말단 그룹으로의 연속적 커플링:
- [0331] T, A, G, G, G, T, T, A, G, A, C, AA
- [0332] T, A, G, G, G, T, T, A, G, AC, AA
- [0333] T, A, G, G, G, T, T, A, GA, C, AA
- [0334] T, A, G, G, G, T, T, AG, A, C, AA
- [0335] T, A, G, G, G, T, TA, G, A, C, AA
- [0336] T, A, G, G, G, TT, A, G, A, C, AA
- [0337] T, A, G, G, GT, T, A, G, A, C, AA
- [0338] T, A, G, GG, T, T, A, G, A, C, AA
- [0339] T, A, GG, G, T, T, A, G, A, C, AA
- [0340] T, AG, G, G, T, T, A, G, A, C, AA

- [0341] TA, G, G, G, T, T, A, G, A, C, AA, 등
- [0342] T, A, G, G, G, T, T, AG, AC, AA
- [0343] T, A, G, G, G, TT, AG, AC, AA
- [0344] T, A, G, GG, TT, AG, AC, AA
- [0345] T, AG, GG, TT, AG, AC, AA
- [0346] TA, G, GG, TT, AG, AC, AA
- [0347] TA, GG, G, TT, AG, AC, AA
- [0348] TA, GG, GT, T, AG, AC, AA
- [0349] TA, GG, GT, TA, G, AC, AA
- [0350] TA, GG, GT, TA, GA, C, AA.
- [0351] 상기 방법의 일부 구현예에서, 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트-5'-포스포르아미데이트 이량체는 화학식 X^1X^2 로 나타내고, 여기서, X^1 및 X^2 는 보호된 아데닌, 보호된 시토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 독립적으로 선택된다.
- [0352] **지질 변형된 올리고뉴클레오타이드**
- [0353] 다양한 합성 방법을 사용하여 하기 문헌에 기재된 방법을 포함하는, 선택된 연결체의 특성에 의존하여 지질 잔기 L'를 올리고뉴클레오타이드에 접합시킬 수 있다: Mishra 등, (1995) Biochemica et Biophysica Acta, 1264:229-237, Shea 등, (1990) Nucleic Acids Res. 18:3777-3783, 및 Rump 등, (1998) Bioconj. Chem. 9:341-349. 지질 모이어티가 올리고뉴클레오타이드의 5' 또는 3' 말단에 접합된 화합물의 합성은 적당한 말단에서 카복실산, 산 클로라이드, 무수물 및 활성 에스테르와 반응할 수 있는 적합한 기능성 그룹, 일부 경우에 아미노 그룹을 통해 성취될 수 있다. 티올 그룹은 또한 기능성 그룹으로서 사용될 수 있다(문헌참조: Kupihar 등, (2001) Bioorganic and Medicinal Chemistry 9:1241-1247). 상이한 쇠 길이의 아미노- 및 티올-변형체 둘다는 올리고뉴클레오타이드 합성을 위해 상업적으로 가용하다. N3'→P5' 포스포르아미데이트를 갖는 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, N3'→P5' 티오포스포르아미데이트) 연결체는 3'-아미노 그룹 (가장 통상적인 올리고뉴클레오타이드 화학반응에서 발견되는 3'-하이드록시 보다는 차라리)을 함유하고 따라서 이들 올리고뉴클레오타이드는 지질 그룹을 올리고뉴클레오타이드의 3'-말단에 접합시키기 위해 유일한 기회를 제공한다.
- [0354] 다양한 방법을 사용하여 지질 그룹을 N3'→P5' 포스포르아미데이트 (예를 들어, N3'→P5' 티오포스포르아미데이트) 화학반응과 함께 올리고뉴클레오타이드의 말단으로 부착시킬 수 있다 (예를 들어, 표 2의 3-팔미토일아미도-1-0-(4,4'-디메톡시트리틸)-2-0-숙시닐 프로판디올 링커를 참조한다). 3' 말단으로의 부착을 위해, 상기 접합된 화합물은 완전히 보호된 고히지 지지체 결합된 올리고뉴클레오타이드의 유리된 3'-아미노 그룹을 상응하는 산 무수물과 반응시킴에 이어서 암모니아로 탈보호하고 정제하여 합성될 수 있다. 대안적으로, 카보디이미드, HBTU 또는 2-클로로-1-메틸피리디늄 요오드와 같은 커플링 시약을 사용하여 지지체 결합된 올리고뉴클레오타이드의 유리된 3'-아미노 그룹으로의 지질의 카복실산의 커플링을 사용하여 지질 그룹을 접합시킬 수 있다. 이들 2개의 방법은 지질과 올리고뉴클레오타이드 간의 아마이드 결합을 형성한다. 지질은 또한 쇠 연장 동안에 올리고뉴클레오타이드로 커플링된 지질의 포스포르아미데이트 유도체를 사용하여 올리고뉴클레오타이드 쇠에 부착될 수 있다. 상기 방법으로 포스포르아미데이트(예를 들어, 티오포스포르아미데이트) 연결체를 수득하고, 상기 연결체(프로필-팔미토일 및 2-하이드록시-프로필-팔미토일 화합물에 의해 예시된)는 지질과 올리고뉴클레오타이드를 연결한다. 여전히 또 다른 방법은 완전히 보호된 지지체 결합된 올리고뉴클레오타이드의 유리된 3'-아미노 그룹을 적합한 지질 무수물과 반응시킴에 이어서 아민 연결체를 생성하는 나트륨 시아노보로하이드라이드로 환원시킴을 포함한다.
- [0355] 5' 말단으로의 부착을 위해, 올리고뉴클레오타이드는 변형된 지질-함유 고히지 지지체를 사용한 합성에 이어서 문헌(참조: Pongracz & Gryaznov (1999))에 기재된 바와 같이 5'에서 3' 방향으로 올리고뉴클레오타이드를 합성할 수 있다. 변형된 지지체의 예는 하기에 제공된다. n=14인 경우에, 지방산은 팔미산이다: 3-아미노-1,2-프로판디올과 팔미토일 클로라이드의 반응에 이어서 디메톡시트리틸화 및 숙시닐화로 고히지 지지체로의 커플링을 위해 사용되는 중간체를 수득하였다. R은 장쇄 알킬 아민 조절된 공극 유리일 수 있다.



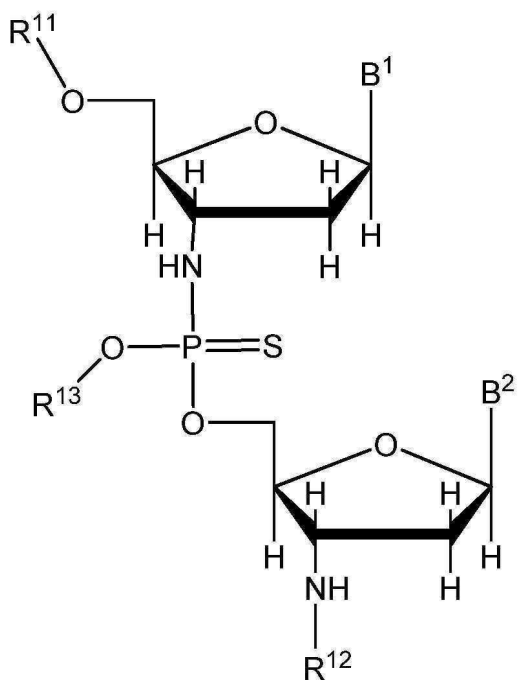
올리고뉴클레오타이드를 제조하기 위해 유용한 이량체

올리고뉴클레오타이드를 제조하는 방법의 일부 구현예에서, 상기 방법은 지지체-결합된 유리된 3'-말단 그룹(예를 들어, 3'-하이드록실 또는 3'-아미노 그룹)을 디뉴클레오타이드 이량체 서브유닛과 접촉시켜 상호 서브유닛 연결체를 형성함을 포함한다. 일반적으로, 디뉴클레오타이드 이량체는 3'-보호되어 있고 3'-말단 그룹과 커플링할 수 있는 5'-그룹을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 디뉴클레오타이드 이량체는 5'-포스포르아미디트를 포함한다. 상기 디뉴클레오타이드 이량체는 3'-보호된 아미노 그룹 또는 3'-보호된 하이드록실 그룹을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 디뉴클레오타이드는 화학식 X^1X^2 로 나타내고, 여기서, X^1 및 X^2 는 독립적으로 임의의 간편한 뉴클레오사이드(예를 들어, A, C, G, T 또는 U 또는 이의 보호된 버전)이고, 이는 임의의 간편한 상호 뉴클레오사이드 연결체를 통해 연결되어 있다(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이). 상기 디뉴클레오타이드는 2개의 뉴클레오사이드 간의 임의의 간편한 상호 뉴클레오사이드 연결체를 포함할 수 있다. 디뉴클레오타이드 이량체에 사용되는 목적하는 상호 뉴클레오사이드 연결체는 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포르아미데이트(예를 들어, 티오포스포르아미데이트) 및 포스포로티오에이트 연결체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

일부 경우에, 상기 디뉴클레오타이드 이량체는 3'-보호된-디뉴클레오타이드-5'-포스포르아미디트 이량체 또는 이의 합성 전구체이고, 여기서, 상기 디뉴클레오타이드는 화학식 X^1X^2 로 나타내고, 여기서, X^1 및 X^2 는 독립적으로 A, C, G, T 및 U 또는 이의 보호된 버전으로부터 선택되고, 여기서, X^1 및 X^2 는 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포르아미데이트(예를 들어, 티오포스포르아미데이트) 또는 포스포로티오에이트 연결체 또는 이의 보호된 버전을 통해 연결된다.

올리고뉴클레오타이드를 제조하는 방법의 일부 구현예에서, 상기 방법은 지지체-결합된 유리된 3'-아미노 그룹을 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성함을 포함한다. 임의의 간편한 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체 또는 이의 합성 전구체는 본원 발명의 방법에 사용될 수 있다. 일부 경우에, 상기 이량체는 하기의 서열 중 하나로 나타낼 수 있다: AA, AC, AG, AT, AU, CA, CC, CG, CT 또는 CU, GA, GC, GG, GT 또는 GU, TA 또는 UA, TC 또는 UC, TG 또는 UG 및 TT 또는 UU. 일부 경우에, 상기 이량체는 보호된 2'-하이드록실 그룹을 포함한다.

특정 구현예에서, 상기 디뉴클레오타이드 이량체는 화학식 (II)에 의해 기재된 디뉴클레오타이드 티오포스포르아미데이트 화합물이다:



[0362]

[0363]

화학식 (II)

[0364]

여기서, B^1 및 B^2 은 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고; R^{11} 은 수소, 보호 그룹 또는 포스포르아미디트 그룹이고; R^{12} 은 수소 또는 보호 그룹이고; R^{13} 은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 또는 보호 그룹이다. 일부 경우에, B^1 및/또는 B^2 는 뉴클레오타이드 보호 그룹을 포함한다. R^{13} 이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 또는 보호 그룹인 경우, 화학식 (II)로 나타낸 디뉴클레오타이드 이량체의 일부는 또한 염 형태로 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 이들이 존재할 수 있는 한 상기 형태는 본원의 개시 내용의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0365]

화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{11} 은 수소이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{11} 은 보호 그룹이다. 임의의 간편한 보호 그룹은 화학식 (II)의 본원 발명의 이량체에 사용될 수 있다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{11} 은 레불리네이트계 보호 그룹이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{11} 은 레불리네이트 보호 그룹(즉, $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_3$)이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{11} 은 5'-포스포르아미디트 그룹이다.

[0366]

화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{12} 은 수소이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{12} 은 보호 그룹이다. 특정 구현예에서, R^{12} 은 트리틸 그룹(예를 들어, 트리페닐메틸 (Trt), 모노메톡시트리틸 (MMT), 또는 디메톡시트리틸 (DMT))이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{12} 은 Trt 보호 그룹이다.

[0367]

화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{12} 은 광절단가능한 보호 그룹이다. 임의의 간편한 광절단가능한 보호 그룹은 본원 발명의 디뉴클레오타이드 이량체 및 이의 합성 전구체의 제조에 사용될 수 있다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{12} 은 치환된 픽실 보호 그룹, 예를 들어, 니트로, 플루오로, 메틸, 트리플루오로메틸 및/또는 메톡시-치환된 픽실 보호 그룹이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{12} 은 픽실 보호 그룹(즉, 9-(9-페닐)크산테닐)이다.

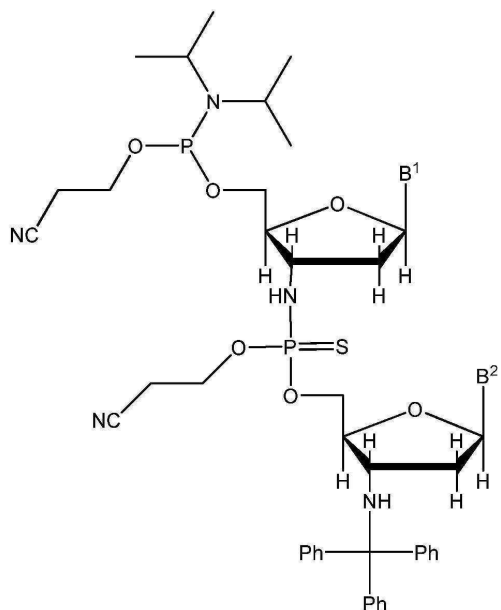
[0368]

화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{11} 은 레부닐 보호 그룹이고 R^{12} 은 트리틸 보호 그룹이다.

[0369]

화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{13} 은 수소이다. 화학식 (II)의 일부 구현예에서, R^{13} 은 보호 그룹이다. 특정 구현예에서, R^{13} 은 2-시아노-에틸 그룹이다.

[0370] 특정 구현예에서, 상기 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체는 화학식 (III)으로 나타낸다:

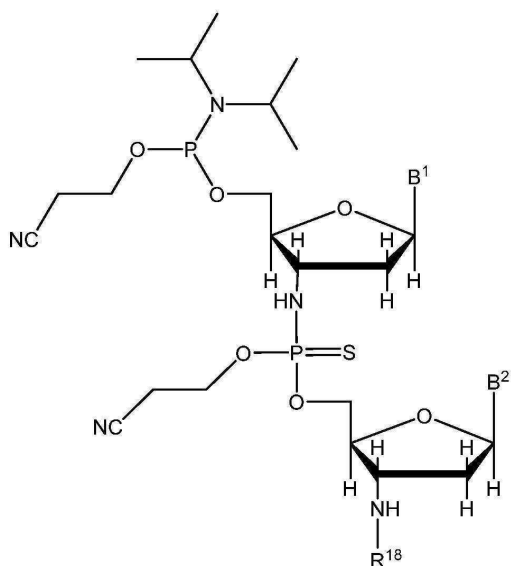


[0371]

[0372] 화학식 (III)

[0373] 여기서, B^1 및 B^2 은 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이다. 일부 경우에, B^1 및/또는 B^2 는 뉴클레오타이드 보호 그룹을 포함한다.

[0374] 특정 구현예에서, 상기 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미디트 이량체는 화학식 (III)으로 나타낸다:



[0375]

[0376] 화학식 (IV)

[0377] 여기서, B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고; R^{18} 은 트리틸 보호 그룹(예를 들어, Trt, DMT 또는 MMT) 또는 픽실 보호 그룹이다.

[0378] 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티아민 및 우라실로부터 선택된다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(이소부틸), T 및 U로부터 선택된다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현

예에서, B^1 은 A(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 A(DMF)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 C(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 G(이소부티릴)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 T 또는 U이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^2 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^2 은 C(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^2 은 G(이소부티릴)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^2 은 T 또는 U이다.

[0379] 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B^2 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B^2 은 C(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B^2 은 G(이소부티릴)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B^2 은 T 또는 U이다.

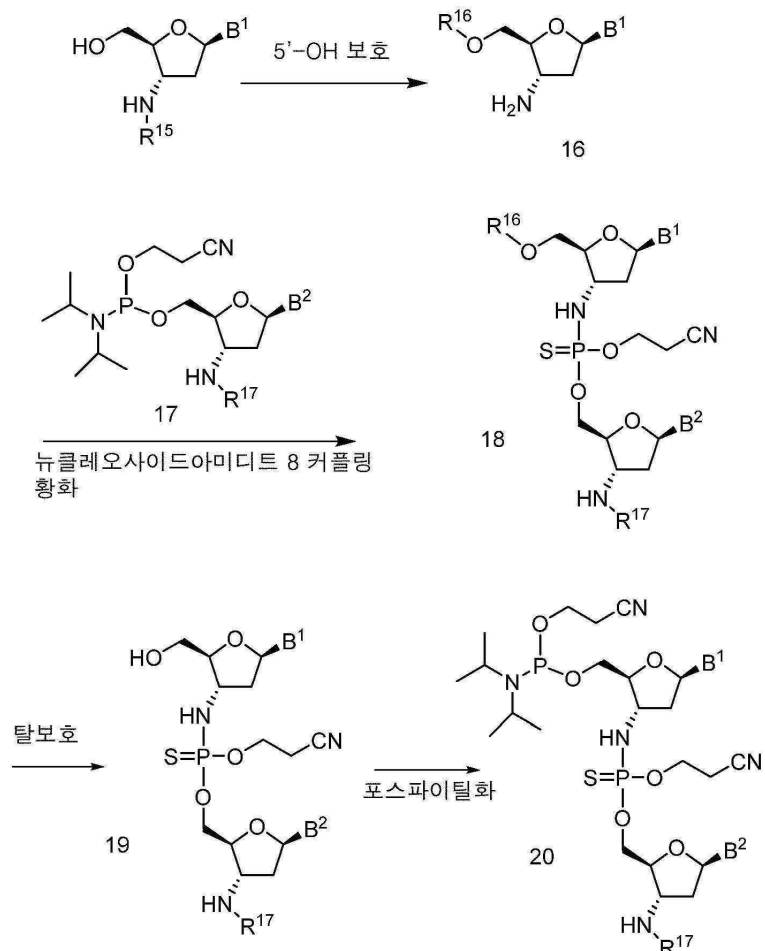
[0380] 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 C(Bz)이고 B^2 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 C(Bz)이고 B^2 은 C(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 C(Bz)이고 B^2 은 G(이소부티릴)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 C(Bz)이고 B^2 은 T 또는 U이다.

[0381] 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 G(이소부티릴)이고 B^2 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 G(이소부티릴)이고 B^2 은 C(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 G(이소부티릴)이고 B^2 은 G(이소부티릴)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 G(이소부티릴)이고 B^2 은 T 또는 U이다.

[0382] 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 T 또는 U이고 B^2 은 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 T 또는 U이고 B^2 은 C(Bz)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 T 또는 U이고 B^2 은 G(이소부티릴)이다. 화학식 (II) 또는 (III)의 일부 구현예에서, B^1 은 T 또는 U이고 B^2 은 T 또는 U이다. 본원에 기재된 화학식 (II) 또는 (III)의 임의의 구현예는 또한 화학식 (IV)에 적용될 수 있는 것으로 이해된다.

[0383] 본원에 기재된 임의의 이량체는 본원 발명의 방법에 사용하기 위해 채택될 수 있다. 본원 발명의 이량체는 임의의 간편한 뉴클레오사이드 단량체로부터 임의의 간편한 방법에 따라 제조될 수 있다. 본원 발명의 뉴클레오사이드 이량체의 제조에 사용되는 목적하는 뉴클레오사이드 단량체는, 본원에 기재된 합성 반응식에 도시된 단량체 16, 17, 12 및 13을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 목적하는 디뉴클레오타이드 이량체는 본원 발명의 포스포티화된 디뉴클레오타이드 이량체의 제조에 사용되는 비-포스포티화된 이량체, 예를 들어, 20과 같은 포스포티화된 디뉴클레오타이드 이량체의 제조에 사용되는 이량체 18 및 19, 또는 15와 같은 포스포티화된 디뉴클레오타이드 이량체의 제조에 사용되는 이량체 14를 포함한다.

[0384] 일부 구현예에서, 화학식 (III) 및 (IV)의 이량체는 하기의 반응식에 도시된 방법을 통해 제조된다:



[0385]

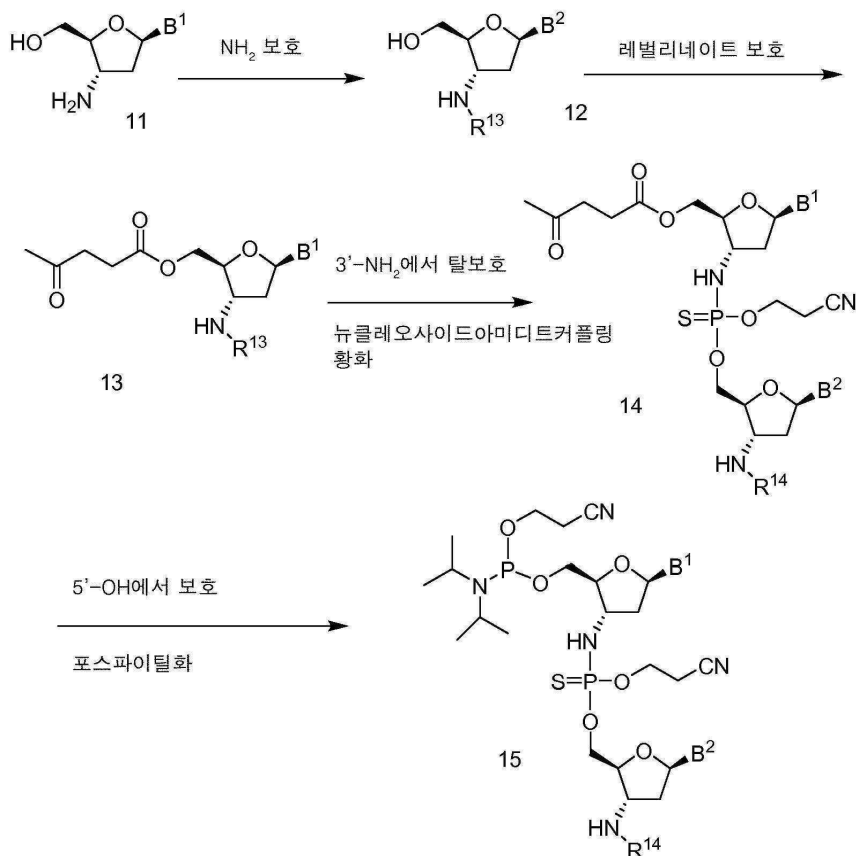
[0386] 여기서, B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고; R^{15} 는 수소 또는 아미노 보호 그룹이고; R^{17} 은 아미노 보호 그룹이고; R^{16} 은 하이드록실 보호 그룹이다. 특정 구현예에서, R^{15} 는 수소이다. 단량체 16의 특정 구현예에서, R^{16} 은 실틸이다. 단량체 16의 특정 구현예에서, R^{16} 은 TBDMS (3-급-부틸디메틸실틸)이다. 단량체 17의 특정 구현예에서, R^{17} 은 트리틸(Trt)이다. 단량체 17의 특정 구현예에서, R^{17} 은 모노메톡시트리틸 (MMT)이다.

[0387]

단량체 17의 특정 구현예에서, R^{17} 은 디메톡시트리틸(DMT)이다. 단량체 17의 특정 구현예에서, R^{17} 은 픽실이다. 이량체 18 내지 20의 특정 구현예에서, R^{17} 은 트리틸(Trt)이다. 이량체 18 내지 20의 특정 구현예에서, R^{17} 은 모노메톡시트리틸(MMT)이다. 이량체 18 내지 20의 특정 구현예에서, R^{17} 은 디메톡시트리틸(DMT)이다. 이량체 18-20의 특정 구현예에서, R^{17} 은 픽실이다.

[0388]

일부 구현예에서, 화학식 (III) 및 (IV)의 이량체는 하기의 반응식에서 도시된 방법을 통해 제조되고, 여기서, 상기 단량체 13은 단량체 12를 통해 11로부터 제조되고 뉴클레오사이드 아미디트와 커플링시켜 이량체 15로 전환되는 이량체 14를 제조한다:



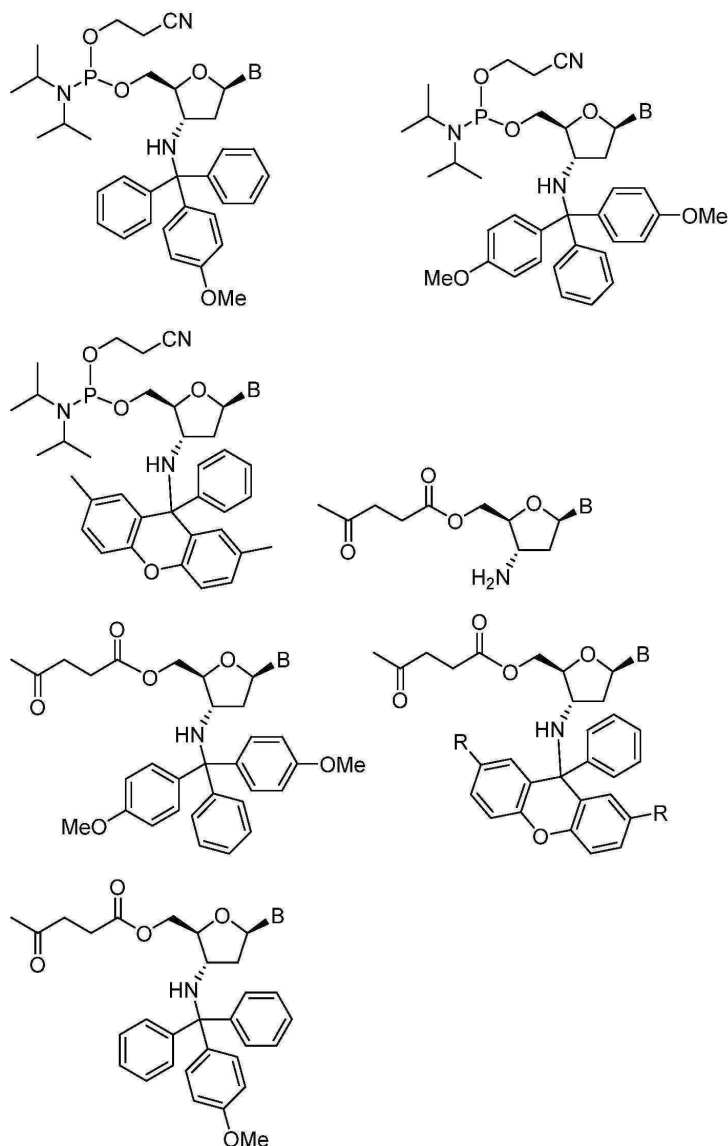
[0389]

[0390]

여기서, B^1 및 B^2 는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고; R^{13} 및 R^{14} 는 각각 독립적으로 보호 그룹이다. 단량체 12 및 13의 특정 구현예에서, R^{13} 은 트리틸이다. 단량체 12 및 13의 특정 구현예에서, R^{13} 은 픽실이다. 이량체 14 및 15의 특정 구현예에서, R^{14} 은 트리틸이다. 이량체 14 및 15의 특정 구현예에서, R^{14} 는 디메톡시트리틸이다. 이량체 14 및 15의 특정 구현예에서, R^{14} 는 모노메톡시트리틸이다. 이량체 14 및 15의 특정 구현예에서, R^{14} 은 픽실이다.

[0391]

본원에 기재된 방법에 따른 본원 발명의 디뉴클레오타이드 이량체를 제조하는데 사용되는 목적하는 단량체는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다:



[0392]

[0393]

여기서, B는 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고 R은 수소 또는 알킬(예를 들어, 메틸) 또는 할로젠(예를 들어, 브로모)이다. 특정 경우에, B는 A(Bz), G(iBu), T, A(DMF), C(Bz), 또는 U로부터 선택된다.

[0394]

올리고뉴클레오타이드 조성물

[0395]

표적 올리고뉴클레오타이드에 추가로, 다양한 비-표적 올리고뉴클레오타이드 합성 생성물은 올리고뉴클레오타이드 합성 동안에 제조될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 제제에 존재할 수 있는 소수 생성물은 결실 생성물(예를 들어, 하나 이상의 뉴클레오사이드 잔기가 없는 생성물), 하나 이상의 보호 그룹을 포함하는 생성물, 말단화된 생성물(예를 들어, 캡핑된 올리고뉴클레오타이드 쇄를 포함하는 생성물), 하나 이상의 뉴클레오타이드가 없는 생성물, 부분적으로 산화된 포스포라미드 연결체를 포함하는 생성물 및 부분적으로 황화된 연결체를 포함하는 생성물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원에 사용된 바와 같은 표적 올리고뉴클레오타이드는 제조 방법의 표적 생성물인 목적하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 언급한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "비-표적 생성물" 및 "소수 생성물"은 상호교환적으로 사용되고 표적 생성물이 아니고 표적 올리고뉴클레오타이드 합성의 사이클 동안 및 이후에 존재할 수 있는 임의의 올리고뉴클레오타이드-함유 생성물을 언급한다.

[0396]

본 발명의 방법은 개선된 순도의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 50중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어, 약 55중량% 이상, 약 60중량% 이상, 약 65중량% 이상, 약 70중량% 이상, 약 75중량% 이상, 약 80중량% 이상, 약 85중량% 이상, 약 90중량% 이상 또는 심지어 약 95중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 50중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 55중량% 이상의 표적 올리고뉴클

레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 60중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 65중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 70중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 75중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 80중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 85중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 90중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 95중량% 이상의 표적 올리고뉴클레오타이드를 포함한다.

[0397] 일부 구현예에서, 본원 발명의 방법은 95% 이상, 예를 들어, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 심지어 98% 이상의 커플링 효율을 제공한다.

[0398] 일부 구현예에서, 본원 발명의 방법은 단지 단량체 서브유니트를 사용하여 수행된 대조군 합성의 평균 커플링 효율 보다 0.5% 이상, 예를 들어, 0.75% 이상, 1.0% 이상, 1.25% 이상, 1.5% 이상, 1.75% 이상, 2.0% 이상, 2.5% 이상, 또는 심지어 3.0% 이상인 평균 커플링 효율을 제공한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 방법은 96% 이상의 커플링 효율을 제공하였다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 방법은 단지 단량체 서브유니트를 사용하여 수행된 대조군 합성의 커플링 효율 보다 2% 이상인 커플링 효율을 제공하였다.

[0399] 합성 후, 상기 본원 발명의 조성물은 하나 이상의 정제 단계를 거치고(예를 들어, HPLC 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 여과 등), 예를 들어, 표적 올리고뉴클레오타이드로부터 하나 이상의 소수의 생성물을 제거하였다. 본원 발명의 조성물에서, 본원 발명의 제조 방법에 의해 제공된 감소된 양의 소수 생성물 및/또는 증가된 양의 표적 올리고뉴클레오타이드는 합성 직후 수득된 양 및 순도를 언급할 수 있는 것으로 이해되고, 임의의 추가의 정제 또는 분리 단계(예를 들어, HPLC 크로마토그래피)가 수행되기 전이다. 이와 같이, 일부 경우에, 본원 발명의 조성물은 합성 제제, 예를 들어, 정제되지 않은 합성 제제로서 언급될 수 있다. 정제되지 않은 이란, 어떠한 크로마토그래피 정제 단계도 조성물에 대해 수행되지 않았음을 의미한다. 크로마토그래피 정제는 크로마토그래피 지지체로의 표적 폴리뉴클레오타이드의 흡착 및 상기 표적 폴리뉴클레오타이드의 후속적 용출을 포함하는 임의의 간편한 정제 방법을 언급한다. 일부 경우에, 크로마토그래피 정제는 역상 크로마토그래피 정제를 언급한다.

[0400] 본원 발명의 방법은 감소된 양의 하나 이상의 소수 생성물을 포함하는 조성물을 제공한다. 감소된 양이란 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적인 조성물 중에 소수 생성물의 중량 기준 양이 대조군 합성, 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드가 단지 단량체 커플링을 사용하여 제조되는 합성과 상대적으로 감소됨을 의미한다. 일부 구현예에서, 소수 생성물의 감소된 양은 표적 올리고뉴클레오타이드 양의 약 20중량% 이하, 예를 들어, 약 15중량% 이하, 약 10중량% 이하 또는 약 5중량% 이하이다. 특정 구현예에서, 소수 생성물의 감소된 양은 표적 올리고뉴클레오타이드 양의 20중량% 이하, 예를 들어, 15중량% 이하, 10중량% 이하, 9중량% 이하, 8중량% 이하, 7중량% 이하, 6중량% 이하, 5중량% 이하, 4중량% 이하, 3중량% 이하, 2중량% 이하, 또는 1중량% 이하의 양이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-x) 생성물이다.

[0401] 본원 발명의 제조 방법은 목적하는 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 하나 이상의 (N-x) 생성물의 감소된 양을 갖는 조성물을 제공할 수 있고, 식 중, x는 1 내지 N-1의 정수이고 N은 표적 올리고뉴클레오타이드 중에 뉴클레오타이드 잔기 수이다. 이와 같이, (N-1) 생성물은 표적 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 임의의 하나의 뉴클레오타이드 잔기가 없는 임의의 및 모든 올리고뉴클레오타이드 생성물(예를 들어, N 생성물)을 언급할 수 있다. 이와 같이, (N-2) 생성물은 표적 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 임의의 2개의 뉴클레오타이드 잔기가 없는 임의의 모든 올리고뉴클레오타이드 생성물(예를 들어, N 생성물)을 언급한다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-1) 생성물이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-2) 생성물이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-3) 생성물이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-4) 생성물이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-5) 생성물이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-6) 생성물이다. 특정 구현예에서, 소수의 생성물은 (N-7) 생성물이다.

[0402] 특정 구현예에서, 목적하는 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 생성물을 갖는 본원에 기재된 임의의 조성물은 정제되지 않는다.

[0403] 일부 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 (N-1) 생성물 대 표적 올리고뉴클레오타이드 생성물의 낮은 비율을 포함한다. 일부 경우에, 낮은 비율은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 (N-1) 생성물의 100 중량부에 대해 (2.0 x N) 미만의 중량부이고, 여기서, N은 표적 올리고뉴클레오타이드 서열내 뉴클레오타이드 잔기 수를 언급한다. 특정 구현예에서, 상기 비율은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 (N-1) 생성물의 100 중량부에 대

해 ($1.9 \times N$) 미만의 중량부, 예를 들어, 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-1$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.8 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.7 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.6 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.5 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.4 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.3 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.2 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.1 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.0 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.9 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.8 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.7 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.6 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.5 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.4 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.3 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.2 \times N$) 미만의 중량부, 또는 심지어 100 중량부에 대해 ($0.1 \times N$) 미만의 중량부이다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-1$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.5 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-1$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.2 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-1$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.0 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-1$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($0.5 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다.

[0404] 일부 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드 생성물에 대해 ($N-2$) 생성물의 낮은 비율을 포함한다. 일부 경우에, 상기 낮은 비율은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-2$) 생성물의 100 중량부에 대해 $2.0 \times N$ 미만의 중량부이고, 여기서, N 은 표적 올리고뉴클레오타이드 서열 중 뉴클레오타이드 잔기의 수를 언급한다. 특정 구현예에서, 상기 비율은 표적 올리고뉴클레오타이드와 상대적으로 ($N-2$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.9 \times N$) 미만의 중량부, 예를 들어, 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-2$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.8 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.7 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.6 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.5 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.4 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.3 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.2 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.1 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($1.0 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.9 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.8 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.7 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.6 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.5 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.4 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.3 \times N$) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 ($0.2 \times N$) 미만의 중량부, 또는 심지어 100 중량부에 대해 ($0.1 \times N$) 미만의 중량부이다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-2$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.5 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-2$) 생성물의 100 중량%에 대해 ($1.2 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-1$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($1.0 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 ($N-2$) 생성물의 100 중량부에 대해 ($0.5 \times N$) 미만의 중량부의 낮은 비율을 포함한다.

[0405] 일부 구현예에서, 본원 발명의 조성물은 조성물 중 총 비-표적 올리고뉴클레오타이드의 20% 이하의 양, 예를 들어, 총 비-표적 올리고뉴클레오타이드의 15% 이하 또는 10% 이하 또는 심지어 5% 이하의 양으로 ($N-1$) 생성물을 포함한다.

[0406] 임의의 광범위한 올리고뉴클레오타이드 조성물은 본원에 기재된 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 다양한 부류 및 유형의 올리고뉴클레오타이드는 본원 발명의 방법을 사용하여 제조하기 위한(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은) 관심 대상이다. 본원 발명의 방법에 따른 제조를 위해 적합한 올리고뉴클레오타이드는 안티-센스 올리고뉴클레오타이드, RNA 올리고뉴클레오타이드, siRNA 올리고뉴클레오타이드, RNAi 올리고뉴클레오타이드, DNA 압타머, 마이크로 RNA 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0407] **텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 올리고뉴클레오타이드**

[0408] 본원의 개시 내용의 한 측면은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물 및 조성물 및 이를 제조하기 위한 방법을 포함한다. 상기 화합물은 높은 효능으로 세포에서 텔로머라제 활성을 억제할 수 있고 세포 흡수 특성을 갖는다.

[0409] 상기 요약된 바와 같이, 본원 발명의 방법은 감소된 양의 합성의 비-표적 올리고뉴클레오타이드 생성물을 제공한다. 특정 경우에, 본원 발명의 방법은 증가된 양의 합성의 표적 올리고뉴클레오타이드 생성물을 제공한다. 일

부 구현예에서, 본원 발명의 방법은 목적하는 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 생성물을 갖는 조성물의 제제를 제공한다. 표 1은 일부 비-표적 올리고뉴클레오타이드 생성물의 목적하는 양을 제시한다.

[0410] 특정 구현예에서, 목적하는 표적 올리고뉴클레오타이드에 상대적으로 감소된 양의 하나 이상의 (N-x) 생성물을 갖는 본원에 기재된 임의의 조성물은 정제되지 않는다.

[0411] 표 1. 목적하는 조성물 중 올리고뉴클레오타이드 생성물의 수준. 본원 발명의 조성물은 표 1에 나타난 수준 중 하나에서 하나 이상의 하기의 성분들을 포함할 수 있다.

생성물	조성물의 % (중량 기준)	표적에 상대적인 역치 양 (중량 기준)	표적에 상대적인 범위 (중량 기준) 올리고스	표적에 상대적인 범위 (중량 기준) 이매텐스타트
표적	50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상	N/A	N/A	N/A
(N-1) 생성물(페닐아세틸과 같은 이의 유도체 및 iBu 유도체를 포함하는) (예를 들어, 피크 1 후 (N-1) 생성물)	11% 미만 10% 미만 9% 미만 8% 미만 7% 미만 6% 미만 5% 미만 4% 미만 3% 미만 2% 미만 1% 미만 0.5% 미만	100 중량부에 대해 (1.9 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.8 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.7 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.6 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.5 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.4 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.3 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.2 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (1.1 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.9 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.8 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.7 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.6 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.5 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.4 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.3 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.2 x N) 미만의 중량부, 100 중량부에 대해 (0.1 x N) 미만의 중량부	100 중 약 (0.1 x N) 내지 약 (0.5 x N) 부, 100 중 약 (0.1 x N) 내지 약 (0.4 x N) 부, 100 중 약 (0.2 x N) 내지 약 (0.3 x N) 부, 100 중 약 (0.1 x N) 부, 100 중 약 (0.2 x N) 부, 100 중 약 (0.3 x N) 부, 100 중 약 (0.4 x N) 부, 100 중 약 (0.5 x N) 부,	100 중 약 1 내지 약 20부, 100 중 약 1 내지 약 10부, 100 중 약 1 내지 약 8부, 100 중 약 1 내지 약 6부, 100 중 약 1 내지 약 5부, 100 중 약 2 내지 약 4부, 100 중 약 1부, 100 중 약 2부, 100 중 약 3부, 100 중 약 4부, 100 중 약 5부 4 중 1 미만의 중량부, 5 중 1 미만의 중량부, 6 중 1 미만의 중량부, 7 중 1 미만의 중량부, 8 중 1 미만의 중량부, 9 중 1 미만의 중량부, 10 중 1 미만의 중량부, 20 중 1 미만의 중량부, 25 중 1 미만의 중량부, 100 중 1 미만의 중량부
개별적으로 또는 조합된 (N-2) 및 (N-3) 생성물(페닐아세틸과 같은 이의 유도체 및 iBu 유도체를 포함하는) (예를 들어, 피크 1 후 (N-2) 및 (N-3) 생성물)	4% 이상 6% 이상 8% 이상 10% 이상 12% 이상 14% 이상 16% 이상 18% 이상 20% 이상 25% 이상 25% 미만 20% 미만 18% 미만 16% 미만	100부에 대해 적어도 (1.0 x N) 부, 100부에 대해 적어도 (1.5 x N) 부, 100부에 대해 적어도 (2.0 x N) 부, 100부에 대해 적어도 (2.5 x N) 부, 100부에 대해 적어도 (3.0 x N) 부, 100부에 대해 적어도 (3.3 x N) 부 100부에 대해 (3.3 x N) 미만의 중량부, 100부에 대해 (3.0 x N) 미만의 중량부, 100부에 대해 (2.5 x N) 미만의 중량부, 100부에 대해 (2.0 x N) 미만의 중량부, 100부에 대해 (1.5 x N) 미만의 중량부, 100부에 대해 (1.0 x N) 미만의 중량부	100 중 약 (1.0 x N) 내지 약 (5.0 x N) 부, 100 중 약 (2.0 x N) 내지 약 (5.0 x N) 부, 100 중 약 (2.5 x N) 내지 약 (4.0 x N) 부, 100 중 약 (3.0 x N) 내지 약 (4.0 x N) 부, 100 중 약 (3.0 x N) 내지 약 (3.5 x N) 부 100 중 약 (1.0 x N) 부, 100 중 약 (1.5 x N) 부, 100 중 약 (2.0 x N) 부, 100 중 약 (2.5 x N) 부, 100 중 약 (3.0 x N) 부, 100 중 약 (3.5 x N) 부	100 중 약 5 내지 약 50부, 100 중 약 10 내지 약 50부, 100 중 약 20 내지 약 50부, 100 중 약 30 내지 약 50부, 100 중 약 40 내지 약 50부, 100 중 약 5 내지 약 40부, 100 중 약 5 내지 약 30부, 100 중 약 5 내지 약 20부, 100 중 약 10 내지 약 20부 100 중 약 10부, 100 중 약 15부, 100 중 약 20부, 100 중 약 25부, 100 중 약 30부, 100 중 약 35부, 100 중 약 40부, 100 중 약 50부

[0412]

피크 2+3+4 후, 또는 피크 3+4 후, 또는 피크 2, 3 또는 4 후)	14% 미만 12% 미만 10% 미만		(2.5 x N) 부, 100 중 약 (3.0 x N) 부, 100 중 약 (3.3 x N) 부, 100 중 약 (3.5 x N) 부	45부, 100 중 약 50부 100 중 적어도 5부, 100 중 적어도 10부, 100 중 적어도 12부, 100 중 적어도 14부, 100 중 적어도 15부, 100 중 적어도 20부, 100 중 적어도 30부, 100 중 적어도 40부
중 비-표적 올리고뉴클레오타이드	45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하	100에 대해 (8.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (8.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (7.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (7.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (6.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (6.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (5.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (5.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (4.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (4.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (3.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (3.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (2.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (2.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.0 x N) 미만의 중량부	100 중 약 (0.4 x N) 내지 약 (5.0 x N) 부, 100 중 약 (0.8 x N) 내지 약 (4.0 x N) 부, 100 중 약 (1.6 x N) 내지 약 (4.0 x N) 부, 100 중 약 (1.6 x N) 내지 약 (2.5 x N) 부 100에 대해 약 (1.9 x N) 부 100당 적어도 (1.0 x N) 부, 100당 적어도 (1.5 x N) 부, 100당 적어도 (2.0 x N) 부	100 중 약 5 내지 약 50부, 100 중 약 10 내지 약 50부, 100 중 약 20 내지 약 50부, 100 중 약 20 내지 약 40부, 100 중 약 20 내지 약 30부, 100 중 약 25부 100 중 적어도 10부, 100 중 적어도 15부, 100 중 적어도 20부, 100 중 적어도 25부, 100 중 40 미만의 중량부, 100 중 30 미만의 중량부, 100 중 25 미만의 중량부, 100 중 20 미만의 중량부, 100 중 15미만의 중량부

[0413]

[0414]

특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 100 중량부에 대해 (2.0 x N)미만의 중량부를 갖고, 여기서, 상기 화합물은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 N 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 상기 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결되어 있다. 특정 구현예에서, 상기 비율은 N 생성물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 100 중량부에 대해 (1.9 x N) 미만의 중량부, 예를 들어, N 생성물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 100 중량부에 대해 (1.8 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.7 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.6 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.4 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.3 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.2 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.1 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (1.0 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.9 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.8 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.7 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.6 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.5 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.4 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.3 x N) 미만의 중량부, 100에 대해 (0.2 x N) 미만의 중량부, 또는 심지어 100에 대해 (0.1 x N) 미만의 중량부.

[0415]

일부 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 4 중량부 중 1 미만의 중량부(예를 들어, 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 100 중량 중 5중 1 미만의 중량부, 6중 1 미만의 중량부, 7중 1 미만의 중량부, 8중 1 미만의 중량부, 9중 1 미만의 중량부, 10중 1 미만의 중량부, 15중 1 미만의 중량부, 20중 1 미만의 중량부, 25중 1 미만의 중량부, 50중 1 미만의 중량부, 100 중 1 미만의 중량부)를 갖고, 여기서, 상기 화합물은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 또는 옥소포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된다. 특정 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트, 예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는다.

[0416]

특정 경우에, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 13개 이상의 서브유니트, 예를 들어, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 15개 이상, 20개 이상, 30개 이상, 50개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다.

[0417]

특정 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 7개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트, 예를 들어, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 11 내지 18개의 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오타이드 서브유니트, 예를 들어, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 11 내지 16개 연속 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 포함한다.

[0418]

일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 3 내지 50개 연속 뉴클레

오사이드 서브유닛, 예를 들어, 5 내지 40개, 10 내지 40개, 10 내지 30개, 10 내지 25개, 10 내지 20개 또는 12 내지 15개의 뉴클레오사이드 서브유닛을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 연속 뉴클레오사이드 서브유닛의 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 10중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물 20중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물 25중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물 30중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물 50중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다.

[0419] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 임의의 (N-x) 생성물의 4 중량부 중 1 미만의 중량부, 예를 들어, 화합물에 상대적으로 임의의 (N-x) 생성물의 중량을 기준으로 5 중량부 중 1 미만의 중량부, 6중량부 중 1 미만의 중량부, 7 중량부 중 1 미만의 중량부, 8 중량부 중 1 미만의 중량부, 9 중량부 중 1 미만의 중량부, 10 중량부 중 1 미만의 중량부, 20 중량부 중 1 미만의 중량부, 25 중량부 중 1 미만의 중량부, 30 중량부 중 1 미만의 중량부, 또는 심지어 50 중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다.

[0420] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 총 100 중량부 중 40 미만의 중량부, 예를 들어, 화합물에 상대적으로 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 중량을 기준으로 100 중 35 미만의 중량부, 100 중 30 미만의 중량부, 100 중 25 미만의 중량부, 100 중 20 미만의 중량부 또는 100 중 15 미만의 중량부를 갖는다.

[0421] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 화합물에 상대적으로 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 100 중량부 중 적어도 5 미만의 중량부, 예를 들어, 화합물에 상대적으로 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 중량을 기준으로 100 중량부 중 적어도 10부, 100 중량부 중 적어도 12부, 100 중량부 중 적어도 14부, 100 중량부 중 적어도 15부, 100 중량부 중 적어도 20부, 100 중량부 중 적어도 30부 또는 100 중량부 중 적어도 40부를 갖는다.

[0422] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 하기의 프로필을 갖는다:

[0423] N 생성물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 4 중량부 중 1중량부 미만; 및

[0424] N 생성물에 상대적으로 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 100 중량부 중 적어도 10중량부.

[0425] 특정 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드 N 생성물은 (N-1) 생성물 중에 없는 3'-말단 뉴클레오사이드 서브유닛을 포함한다.

[0426] 상기 올리고뉴클레오타이드 화합물은 하기 화학식으로 나타낼 수 있다:

[0427] $O-(x'-L')_n$

[0428] 여기서, O는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오사이드 서브유닛의 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 나타내고, x'은 임의의 링커 그룹이고, L'은 지질 모이어티를 나타내고 n은 1 내지 5의 정수이다.

[0429] 따라서, 화합물의 디자인은 2개의 실체의 선택, O 및 L', 및 임의의 링커 그룹 x'를 포함할 수 있는 이들 실체 간의 구조적 연결체(들)의 결정을 필요로 한다.

[0430] 일부 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드 화합물은 하기 화학식으로 나타낼 수 있다:

[0431] $O-(x'-L')_n$

[0432] 여기서, O는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오사이드 서브유닛의 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드(x'는 임의의 링커 그룹이고, L'는 지질 모이어티를 나타내고 n은 1이다), 예를 들어, 화학식 (I)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그것의 염이고, 여기서, 화학식 (I)에서, Z는 지질 모이어티이고, L은 임의의 링커이고 B 그룹은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오사이드 서브유닛의 서열에 상응한다.

[0433] 상기 올리고뉴클레오타이드 성분 O는 이것이 텔로머라제의 RNA 성분에 결합함에 의해 텔로머라제 효소의 역제를 수행하는 성분이라는 점에서 화합물의 "이펙터" 성분으로서 간주될 수 있다. 따라서, O의 서열은 이것이 서열번호 1에 나타난 텔로머라제 RNA의 서열에 상보적인 영역을 포함하도록 선택된다. 텔로머라제 RNA 성분에 상보적인 영역은 이론적으로 텔로머라제 RNA의 임의의 부분에 표적화될 수 있지만 텔로머라제 RNA의 특정 영역은 억제성 올리고뉴클레오타이드를 위해 바람직한 표적이다. 하나의 바람직한 표적 영역은 서열번호 1의 뉴클레오타이드 30 내지 67에 걸쳐있는 영역이고, 이는 서열번호 1의 뉴클레오타이드 46-56을 관통하는 "주형 영역", 서열

5'-CUAACCCUAAC-3'의 11개 뉴클레오타이드 영역 (서열번호 2)를 포함한다. 상기 주형 영역은 텔로머라제가 염색체 말단에 부가하고 텔로머라제 효소의 활성화에 필수적인 텔로머성 반복체의 서열을 특징하는 기능을 한다(문헌참조: Chen et al., Cell 100:503-514, 2000; Kim 등, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 98(14):7982-7987, 2001). 따라서, 전부 또는 일부에 상보적인 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 모이어티를 함유하는 본원 발명의 화합물이 특히 바람직하다. 또 다른 바람직한 표적 영역은 hTR의 뉴클레오타이드 137-179에 걸쳐있는 영역이다(문헌참조: Pruzan 등, Nucl. Acids Research, 30:559-588, 2002). 상기 영역 내에서, 141-153에 걸쳐있는 서열이 바람직한 표적이다. PCT 공보 WO 98/28442은 텔로머라제를 억제하기 위해 길이에 있어 적어도 7개의 뉴클레오타이드의 올리고뉴클레오타이드의 용도를 기재하고 있고, 여기서, 올리고뉴클레오타이드는 hTR의 뉴클레오타이드 137-196, 290-319, 및 350-380을 포함하는 주형 영역의 외부의 hTR 서열의 근접가능한 부분에 상보적 이도록 디자인된다.

[0434] hTR 서열에 표적화된 0의 영역은 바람직하게 상응하는 hTR 서열에 정확하게 상보적이다. 미스매치가 특정 경우에 관용성일 수 있고 이들은 수득한 올리고뉴클레오타이드 접합체의 특이성 및 활성을 감소시키는 것으로 예상된다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 0의 염기 서열은 따라서 텔로머라제 RNA에 정확하게 상보적인 적어도 5개의 뉴클레오타이드 서열을 포함하도록 선택되고 증진된 텔로머라제 억제는 상보적 서열의 증가하는 길이가 사용되는 경우, 예를 들어, 텔로머라제 RNA에 정확하게 상보적인 적어도 8, 적어도 10, 적어도 12, 적어도 13 또는 적어도 15개 뉴클레오타이드가 사용되는 경우 수득될 수 있다. 다른 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드의 서열은 텔로머라제 RNA 서열에 정확하게 상보적인 적어도 5 내지 20, 적어도 8 내지 20, 적어도 10 내지 20 또는 적어도 10 내지 15개 뉴클레오타이드의 서열을 포함한다. 임의의 텔로머라제 억제 활성화는 올리고뉴클레오타이드 0의 완전한 길이가 텔로머라제 RNA에 상보적이도록 선택되는 경우 수득될 수 있다. 그러나, 올리고뉴클레오타이드 성분의 완전한 길이가 표적 서열에 정확하게 상보적일 필요는 없고 올리고뉴클레오타이드 서열은 표적 서열에 상보적이지 않은 영역을 포함할 수 있다. 상기 영역은 예를 들어, 화합물 상에 다른 성질을 부여하기 위해 예를 들어, 정제를 촉진시키는 서열이 첨가될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 성분 0가 표적 서열에 상보적이지 않은 영역을 포함해야만 하는 경우, 상기 영역은 5' 또는 3' 말단 중 하나 또는 둘다에 위치할 수 있다. 정확한 상보성 영역이 주형 영역으로 표적화된 경우에, 효과적인 텔로머라제 억제는 텔로머라제형(G-풍부) 서열이 5' 말단에 연결되는 정확한 상보성의 짧은 (5 내지 8개 뉴클레오타이드) 영역과 함께 성취될 수 있다.

[0435] 인간 텔로머라제 RNA에 상보적이고 올리고뉴클레오타이드 성분 0의 일부로서 포함될 수 있거나, 전체 올리고뉴클레오타이드 성분 0로서 사용될 수 있는 예시적 서열은 다음을 포함한다:

[0436] hTR 상보적 서열(올리고뉴클레오타이드 서열 서열번호 1의 영역, 미국 공보 제2012329858호)

[0437] GGGUUGCGGA GGGUGGGCCU GGGAGGGGUG GUGGCCAUUU UUUGUCUAA CCUAAACUGAG AAGGGCGUAG GCGCCGUGCU UUUGCUCCCC GCGCGCUGUU UUUCUCGCGU ACUUUCAGCG GGCGGAAAAG CCUCGGCCUG CCGCCUCCA CCGUUAUUC UAGAGCAAAC AAAAAAUGUC AGCUGCUGGC CCGUUCGCCC CUCCCGGGGA CCUGCGGCGG GUCGCCUGCC CAGCCCCCGA ACCCCGCCUG GAGGCCGCGG UCGGCCCGGG GCUUCUCCG AGGCACCCAC UGCCACGCG AAGAGUUGG CUCUGUCAGC CGCGGUCUC UCGGGGCGA GGGCGAGGU CAGGCCUUUC AGGCCGAGG AAGAGGAACG GAGCGAGUCC CCGCGCGCG CGCAUUCUCC UGAGCUGUG GACGUGCACC CAGGACUCGG CUCACACAUG C (서열번호 1)

[0438] GCTCTAGAATGAACGGTGAAGGCGGCAGG 137-166 (서열번호 6)

[0439] GTGGAAGGCGGCAGG 137-151 (서열번호 7)

[0440] GGAAGGCGGCAGG 137-149 (서열번호 8)

[0441] GTGGAAGGCGCA 139-151 (서열번호 9)

[0442] GTGGAAGGCGG 141-151 (서열번호 10)

[0443] CGGTGGAAGGCGG 141-153 (서열번호 11)

[0444] ACGGTGGAAGGCG 142-154 (서열번호 12)

[0445] AACGGTGGAAGGCGG 143-155 (서열번호 13)

[0446] ATGAACGGTGGAAGGCGG 144-158 (서열번호 14)

[0447] ACATTTTTTTGTTTGTCTAG 160-179 (서열번호 15)

- [0448] TAGGGTTAGACAA 42-54 (서열번호 3)
- [0449] GTTAGGGTTAG 46-56 (서열번호 4)
- [0450] GTTAGGGTTAGAC 44-56 (서열번호 16)
- [0451] GTTAGGGTTAGACAA 42-56 (서열번호 17)
- [0452] GGGTTAGAC 44-52
- [0453] CAGTTAGGG 50-58
- [0454] CCCTTCTCAGTT 54-65 (서열번호 18)
- [0455] CGCCCTTCTCAG 56-67 (서열번호 19)
- [0456] 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택된 서열을 포함한다: GTTAGGGTTAG (서열번호 4); TAGGGTTAGACAA (서열번호 3); 및 CAGTTAGGGTTAG (서열번호 5).
- [0457] 0 성분의 합성에 사용되는 상호 뉴클레오사이드 연결체는 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, P3'→N5' 포스포르아미데이트, N3'→P5' 포스포르아미데이트, N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 및 포스포로티오에이트 연결체를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 가용한 올리고뉴클레오타이드 화학물질의 어느 하나로부터 선택될 수 있다.
- [0458] 일부 구현예에서, 상기 올리고뉴클레오타이드 성분 0는 적어도 하나의 N3'→P5' 포스포르아미데이트 (예를 들어, N3'→P5' 티오포스포르아미데이트) 연결체를 갖는다. 특정 구현예에서, 인간 텔로머라제의 RNA 성분 상보적인 뉴클레오사이드 서브유닛 모두는 또한 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체에 의해 연결된다. 특정 경우에, N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체이다. 특정 경우에, N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 N3'→P5' 옥소-포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체이다.
- [0459] 특정 경우에, N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 하기의 구조를 갖는다:
- [0460] $3' - \text{NH} - \text{P}(\text{S})(\text{OR}) - \text{O} - 5'$
- [0461] 식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. R이 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 상기 화학식에 의해 나타낸 상호 서브유닛 연결체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 성분 0의 일부가 염 형태로도 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 이들이 존재할 수 있는 한 상기 형태는 본원의 개시 내용의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0462] 일부 경우에, N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 하기의 구조로 나타낸다:
- [0463] $3' - \text{NH} - \text{P}(\text{S})(\text{OR}) - \text{O} - 5'$
- [0464] 식 중, R은 수소이다. 상기 상호 서브유닛 연결체를 포함하는, 본원에 기재된 임의의 올리고뉴클레오타이드 성분 0 중 어느 하나에 대해, 상기 올리고뉴클레오타이드 성분 0는 또한 임의의 간편한 염 형태의 연결체를 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 이와 같이, 상호 서브유닛 연결체는 임의의 간편한 짝이온을 포함하는 염 형태로 존재할 수 있다.
- [0465] 본 발명의 화합물은 지질 성분에 접합되지 않은 상응하는 올리고뉴클레오타이드 보다 세포에서 텔로머라제 억제제를 나타내는데 보다 효과적이다. 상기 지질 성분 L'은 특히 세포 막을 통한 전달을 촉진시키는데 있어서 화합물의 세포 흡수를 증진시키는 기능을 하는 것으로 사료된다. 이것이 발생하도록 하는 메커니즘은 완전히 이해되지 않고 있지만 한가지 가능성은 지질 성분이 후속적 내재화와 함께 단일 분자 또는 응집체(마이셀) 형태로서 세포 막으로의 화합물의 결합을 촉진시킬 수 있다는 것이다. 그러나, 정확한 메커니즘의 이해는 사용될 발명을 위해 요구되지 않는다.
- [0466] 상기 지질 성분은 비변형된 올리고뉴클레오타이드와 비교하여 증진된 세포 흡수를 제공하는 임의의 지질 또는 지질 유도체일 수 있다. 바람직한 지질은 탄화수소, 지방(예를 들어, 글리세라이드, 지방산 및 지방 아미드와 같은 지방산 유도체) 및 스테롤이다. 지질 성분이 탄화수소인 경우, L' 성분은 포화되거나 불포화될 수 있는 치환되거나 비치환된 사이클릭 탄화수소 또는 지방족 직쇄 또는 측쇄 탄화수소일 수 있다. 바람직한 예는 완전히 포

화되거나 다중불포화된 직쇄의 비측쇄 탄화수소이다. 탄화수소 쇠의 길이는 C2-C30로부터 다양할 수 있지만, 임의의 텔로머라제 억제제는 C8-C22인 탄소 쇠와 함께 수득될 수 있다. 포화된 탄화수소(알칸)의 바람직한 예는 하기에 열거되어 있다:

[0467] 시스템 명칭 /탄소쇄

[0468] 테트라데칸 $C_{14}H_{30}$

[0469] 펜타데칸 $C_{15}H_{32}$

[0470] 헥사데칸 $C_{16}H_{34}$

[0471] 헵타데칸 $C_{17}H_{36}$

[0472] 옥타데칸 $C_{18}H_{38}$

[0473] 노나데칸 $C_{19}H_{40}$

[0474] 에이코산 $C_{20}H_{42}$

[0475] 탄화수소의 단일- 및 다중-불포화된 형태 (알켄 및 폴리엔, 예를 들어, 알카디엔 및 알카트리엔)이 또한 선택될 수 있고 1 내지 3개의 이중 결합을 갖는 화합물이 바람직하지만 보다 많은 이중 결합을 갖는 화합물이 사용될 수 있다. 알킨 (하나 이상의 삼중 결합을 함유하는) 및 알케닌 (삼중 결합(들) 및 이중 결합(들))이 또한 사용될 수 있다.

[0476] 치환된 형태의 탄화수소는 본 발명의 화합물에 사용될 수 있고 치환체 그룹은 생체내 및 시험관내에서 불활성인 것이 바람직하다. 특히 바람직한 치환체는 불소이다. 다중불소화된 탄화수소의 예시적인 일반 구조는 다음을 포함한다: $CF_3(CF_2)_n-(CH_2)_m-$ (여기서, m 은 적어도 1, 바람직하게 적어도 2이고 $n=1-30$, 예를 들어 플루오로트리테칸이다): $CF_3(CF_2)_9(CH_2)_3$; 및 $CH_3(CH_2)_a(CF_2)_b(CH_2)_c-$ (여기서, a , b 및 c 는 독립적으로 1-30이다).

[0477] 다른 적합한 지질 성분은 단순 지방산 및 지방산 유도체, 글리세라이드 및 스테롤과 같은 보다 복합지질, 예를 들어, 콜레스테롤이다. 지방산 및 이들의 유도체는 완전히 포화되거나 단일 또는 다중 불포화될 수 있다. 탄소 쇠의 길이는 C2-C30으로 다양할 수 있지만, 최적의 텔로머라제 억제제는 C8-C22인 탄소쇄와 함께 수득될 수 있다. 포화된 지방산의 바람직한 예는 하기에 열거되어 있다:

[0478] 시스템 명칭/통칭명 /탄소쇄

[0479] 테트라데카노익 미리스틱 14:0

[0480] 헥사데카노익 팔미틱 16:0

[0481] 옥타데카노익 스테아릭 18:0

[0482] 에이코사노익 아라키딕 20:0

[0483] 단일- 및 다중-불포화된 형태의 지방산이 또한 사용될 수 있고 1개 내지 3개의 이중 결합을 갖는 화합물이 바람직하지만 보다 많은 이중 결합을 갖는 화합물이 또한 사용될 수 있다. 사용될 수 있는 통상의 단일- 및 다중-불포화된 지방산의 예는 다음을 포함한다:

[0484] 시스템 명칭 /통칭명/탄소쇄

[0485] 시스-9-헥사데카노익 팔미톨레익 16:1(n-7)

[0486] 시스-6-옥타데카노익 페트로셀리닉 18:1 (n-12)

[0487] 시스-9-옥타데카노익 올레익 18:1 (n-9)

[0488] 9,12-옥타데카디에노익 리놀레익 18:2 (n-6)

[0489] 6,9,12-옥타데카트리에노익 감마-리놀레익 18:3 (n-6)

[0490] 9,12,15-옥타데카트리에노익 알파-리놀레익 18:3 (n-3)

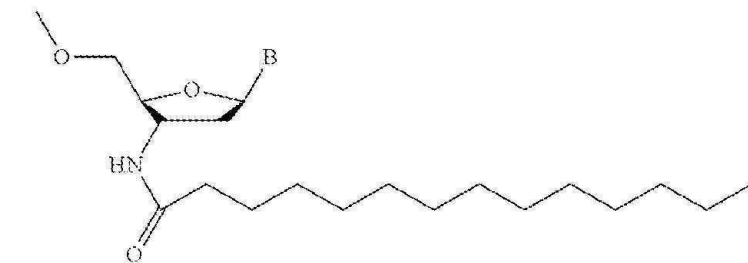
[0491] 5,8,11,14-에이코사테트라에노익 아라키도닉 20:4 (n-6)

[0492] 탄소쇄에서 하나 이상의 삼중 결합을 갖는 지방산, 및 측쇄 지방산은 또한 본 발명의 화합물에 사용될 수 있다. 치환된 형태의 지방산은 본 발명의 화합물에 사용될 수 있다. 탄화수소 그룹과 함께 생체내 또는 시험관내 불활성인 치환체 그룹이 바람직하고 불소가 특히 바람직하다. 본 발명에 사용하기 위해 적합한 지방산의 다중불소화된 유도체의 예시적 일반 구조는 다음과 같다: $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n-(\text{CH}_2)_m\text{CO}-$ (여기서, m은 적어도 1, 바람직하게 적어도 2이고, n=1-30이다), 및 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_a(\text{CF}_2)_b(\text{CH}_2)_c\text{CO}-$ (여기서, a, b 및 c는 독립적으로 1-30이다)

[0493] 일부 경우에, 1 내지 5개 사이의 L' 성분 (n=1-5)은 임의의 링커를 통해 0 성분으로 공유적으로 연결된다. 보다 일반적으로 1 또는 2개의 L' 성분들이 사용된다 (n=1 또는 2). 하나 이상의 L' 성분이 0 성분으로 연결되는 경우, 각각의 L' 성분은 독립적으로 선택된다.

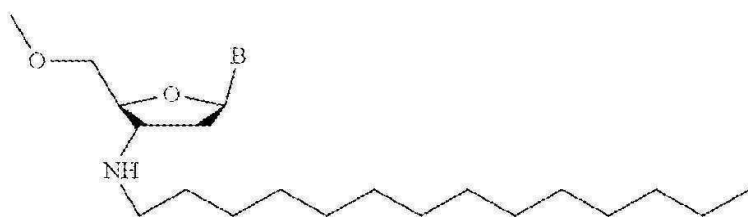
[0494] L' 모이어티로서 특정 탄화수소를 갖는 것으로서 기재된 본원 발명의 화합물 및 특정 지방산을 갖는 것으로서 기재된 화합물(특정 탄화수소와 동일한 수의 탄소원자를 갖는)은 밀접하게 관련되고 L' 모이어티를 올리고뉴클레오타이드에 연결하는 결합의 특성에서만 구조에서 상이한 (이는 이어서 화합물을 제조하기 위해 사용되는 합성 과정의 결과이다) 것으로 인지된다. 예를 들어, 및 하기에 보다 상세하게 기재된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드 (포스포라미데이트 또는 티오포스포라미데이트 상호 뉴클레오사이드 연결체)의 3'-아미노 말단으로 접합된 L' 모이어티를 갖는 화합물이 합성되는 경우, 출발 물질로서 알데하이드 형태의 지방산(지방알데하이드)의 사용은 지질쇄와 올리고뉴클레오타이드 간의 아민 연결체를 형성시켜 지질 그룹은 탄화수소로서 나타난다. 대조적으로, 카복실산, 산 무수물 또는 산 클로라이드 형태의 동일한 지방산의 용도는 아마이드 연결체를 형성시켜 지질 그룹이 지방산 유도체를 형성시켜 지질 그룹이 지방산 유도체, 특히 이 경우에 지방 아마이드 (단순화하기 위해 상기 정의 섹션에서 주지된 바와 같이 용어 "지방산"은 접합된 L' 그룹을 지칭하는 경우를 기재하는 경우 용어 "지방산"은 지방 아마이드를 포함하는 지방산 유도체를 포함하도록 본원에서 광범위하게 사용된다)로 나타나도록 한다. 이것은 C14 지질 성분에 연결된 포스포라미데이트 올리고뉴클레오타이드의 3'-아미노 말단을 도시하는 하기의 반응식에서 설명된다. 반응식 A에서, L'은 테트라데카노산(미리스트산)이고, 여기서, L'와 0 그룹간의 연결은 아마이드이다. 반응식 B에서, L'은 테트라데칸이고 L'와 0 그룹 간의 연결은 아민이다.

[0495] 도식 A



[0496]

[0497] 도식 B



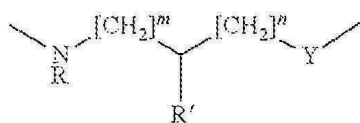
[0498]

[0499] 0와 L' 성분들 간의 연결체는 직접 연결체일 수 있거나 임의의 링커 모이어티, 예를 들어, 화학식 (I)의 x' 또는 임의의 링커 L를 통한 것일 수 있다. 상기 링커 그룹은 화합물의 화학적 합성을 촉진시키는 작용을 할 수 있다. 링커 그룹이 0와 L' 성분들의 접합을 매개하기 위해 사용되는지의 여부는 L' 성분(들)이 간편하게 접합될 수 있는 올리고뉴클레오타이드 성분 0 상의 다중 부위가 있는지에 의존한다. 적합한 연결체 지점은 올리고뉴클레오타이드의 5' 및 3' 말단, 하나 이상의 슈가 환, 상호 뉴클레오사이드 골격 및 뉴클레오염기를 포함한다. 일부 경우에, L' 모이어티는 올리고뉴클레오타이드의 3' 또는 5' 말단에 부착된다.

[0500] L' 성분이 3' 말단으로 부착되어야 하는 경우, 부착점은 3' 치환체에 직접적인 것일 수 있고 바람직한 포스포르

아미데이트 및 티오포스포르아미데이트 올리고뉴클레오타이드의 경우에 3'-아미노 그룹이고 통상적인 포스포디에스테르 올리고뉴클레오타이드와 같은 다른 경우에 3-하이드록시 그룹이다. 대안적으로, L' 모이어티는 3'-연결된 포스페이트 그룹을 통해 연결될 수 있고, 여기서, 헥사데칸 탄화수소는 0-알킬 링커를 통해 티오포스포르아미데이트 올리고뉴클레오타이드의 3' 포스페이트에 연결된다. L' 모이어티가 5' 말단에 연결되어야만 하는 경우, 5'-연결된 포스페이트 그룹을 통해 부착될 수 있다. 0 모이어티 상에 염기로의 부착은 임의의 적합한 원자, 예를 들어, 구아노신의 N2 아미노 그룹으로 부착될 수 있다. $n > 1$ 이어서, 다수의 지질 모이어티가 0 성분으로 부착되어야만 하는 경우, 개별적으로 선택된 L' 성분은 임의의 적합한 부위(들)에서 부착될 수 있다. 예를 들어, 하나의 L' 그룹은 각각의 말단으로 부착될 수 있고, 다양한 L' 그룹은 염기로 부착될 수 있거나 2개 이상의 L' 그룹은 하나의 말단에 부착될 수 있다.

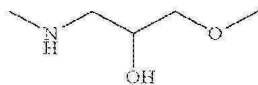
[0501] 임의의 링커 성분 x'는 화합물의 0와 L' 성분을 연결하기 위해 사용될 수 있다. 임의의 링커 (예를 들어, 화학식 (I)의 x', 또는 L)는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 0)에 부착될 수 있는 것으로 이해되고, 이는 말단 포스페이트 그룹, 예를 들어, 3'-연결된 또는 5' 연결된 포스페이트 그룹을 통해서이다. 링커가 사용되어야만 하는 경우, 본원에 기재된 바와 같이 합성 과정으로 혼입된다. 적합한 링커 그룹의 예는 일반 구조에 의해 각각 도시될 수 있는 아미노 글리세롤 및 0-알킬 글리세롤형 링커를 포함한다:



[0502]

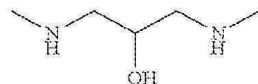
[0503] 여기서, $R' = H, OH, NH_2$ 또는 SH ; $Y = O, S$ 또는 NR ; $R = H$, 알킬 또는 치환된 알킬이고; n 및 m은 독립적으로 1 내지 18의 정수이다.

[0504] 적합한 링커의 구체적인 예는 아미노글리세롤 링커(여기서, $R' = OH$, $Y = O$ 이고 m 및 n은 각각 1이다):



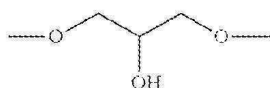
[0505]

[0506] 비스-아미노글리세롤 링커(여기서, $R' = OH$, $Y = NH$ 이고, m 및 n은 각각 1 이다):



[0507]

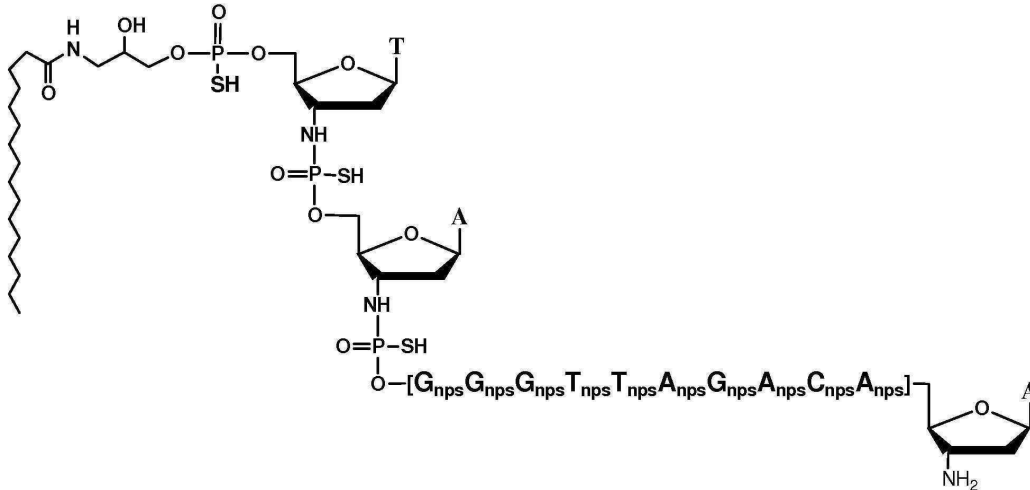
[0508] 및 0-알킬 글리세롤 링커(여기서, $R = H$ 이다):



[0509]

[0510] 본원 발명의 방법에 따라 제조될 수 있는 예시적인 지질-변형된 올리고뉴클레오타이드는 하기 문헌의 도 1(예를 들어, 도 1a 내지 10d)에 기재된 화합물을 포함한다: U.S. 출원 US20120329858 to Gryaznov 등 "Modified oligonucleotides for telomerase inhibition", 이의 기재내용은 이의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0511] 특정 구현예에서, 상기 조성물은 하기의 구조로 나타낸 화합물을 포함한다:

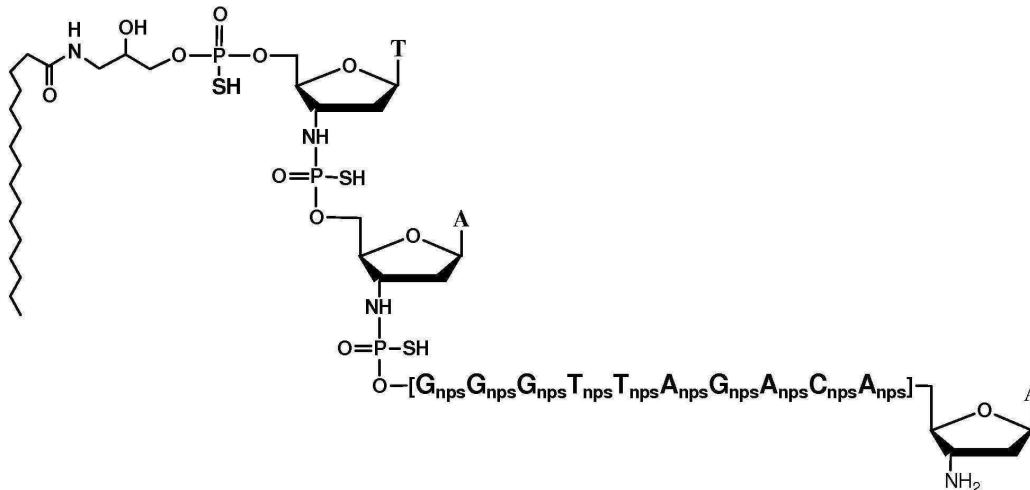


[0512]

[0513] 식 중, "nps"는 티오포스포라미데이트 연결체 (예를 들어, $-\text{NH}-\text{P}(=\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$)를 나타내고, 이는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소에 연결한다.

[0514] 화합물을 언급하는 모든 구현예는 또한 상기 화합물의 염 형태에 적용될 수 있는 것으로 이해된다.

[0515] 특정 구현예에서, 상기 조성물은 하기의 구조로 나타낸 화합물을 포함한다:

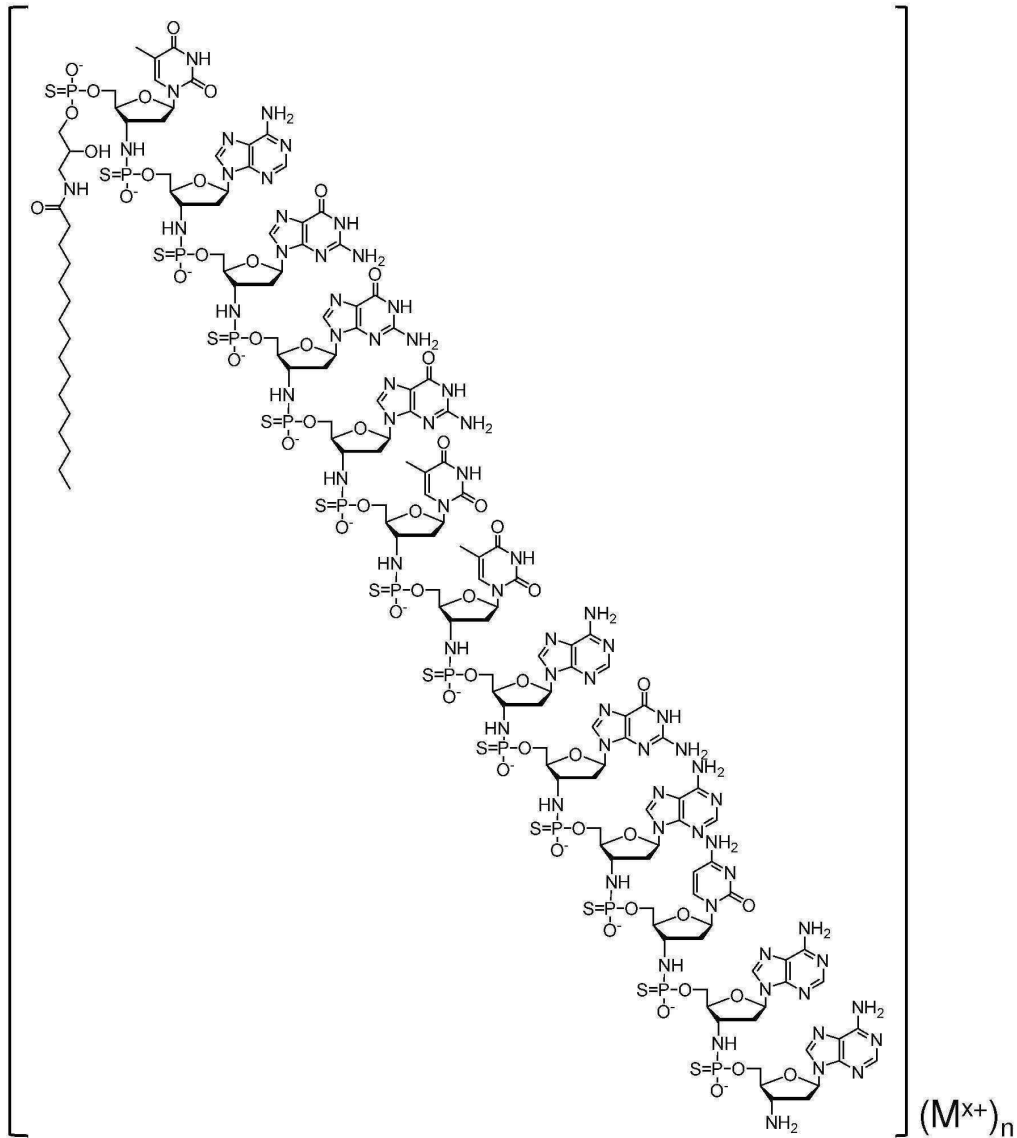


[0516]

[0517] 또는 그것의 염이 하기의 구조를 갖는, 방법:

[0518] 식 중, "nps"는 티오포스포라미데이트 연결체 (예를 들어, $-\text{NH}-\text{P}(=\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$ 또는 이의 호변체, 또는 그것의 염)을 나타내고, 이는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소에 연결한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 약리학적으로 허용되는 염을 포함한다. 특정 경우에, 상기 조성물은 화합물의 나트륨 염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 마그네슘 염과 같은 화합물의 2가 양이온 염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 알루미늄 염과 같은 화합물의 3가 양이온 염을 포함한다.

[0519] 특정 구현예에서, 상기 조성물은 하기의 구조로 나타낸 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 식 중, 각각의 M^{x+} 은 독립적으로 수소 또는 염의 임의의 간편한 짝이온이고, 각각의 x는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n은 5 내지 13, 예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13이고, 예를 들어, n은 13이다:



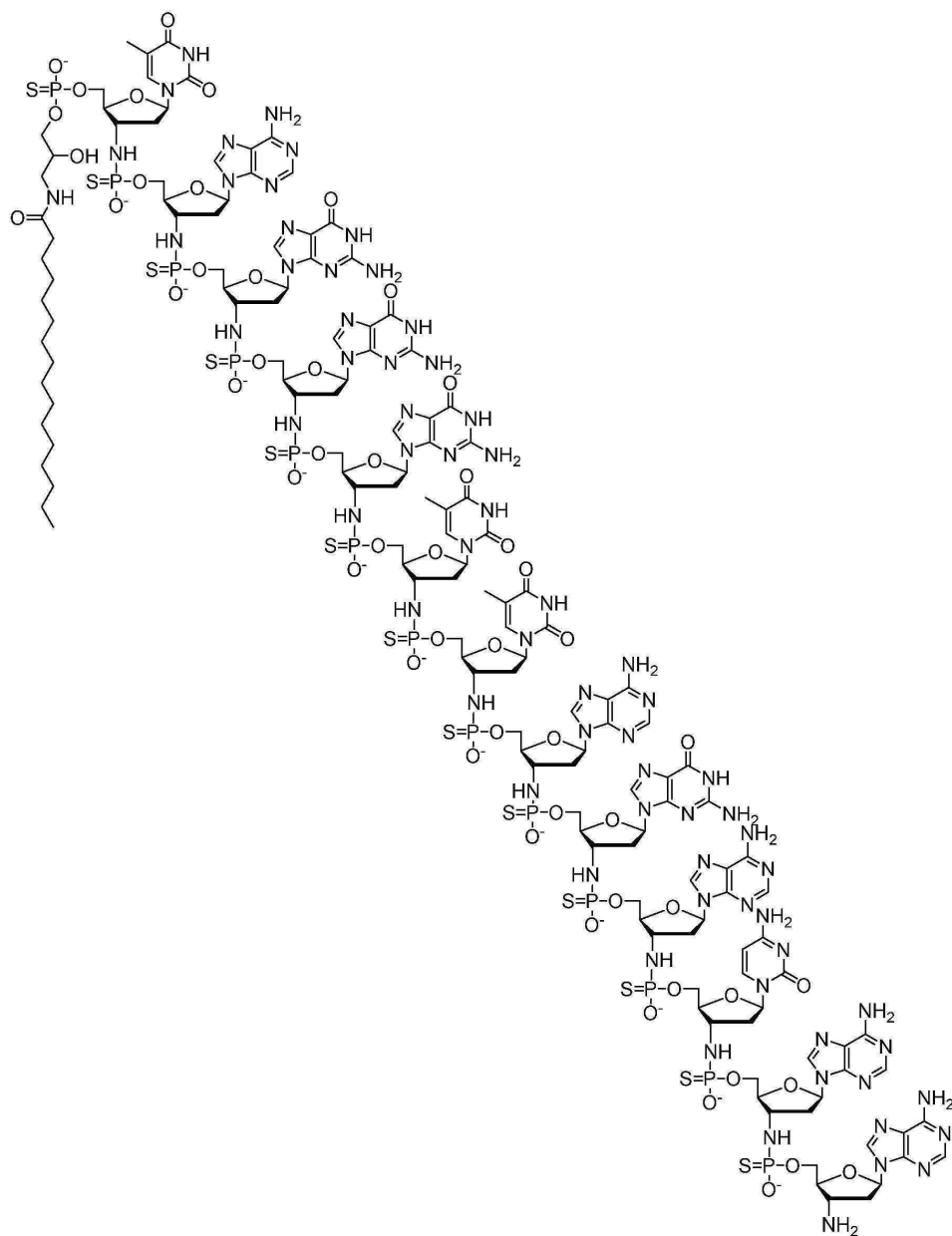
[0520]

[0521]

특정 경우에, 각각의 x 는 1이다. 특정 경우에, 각각의 x 는 독립적으로 1 또는 2이다. 특정 경우에, 각각의 x 는 독립적으로 1 또는 3이다. 특정 경우에, M^{x+} 는 수소이다.

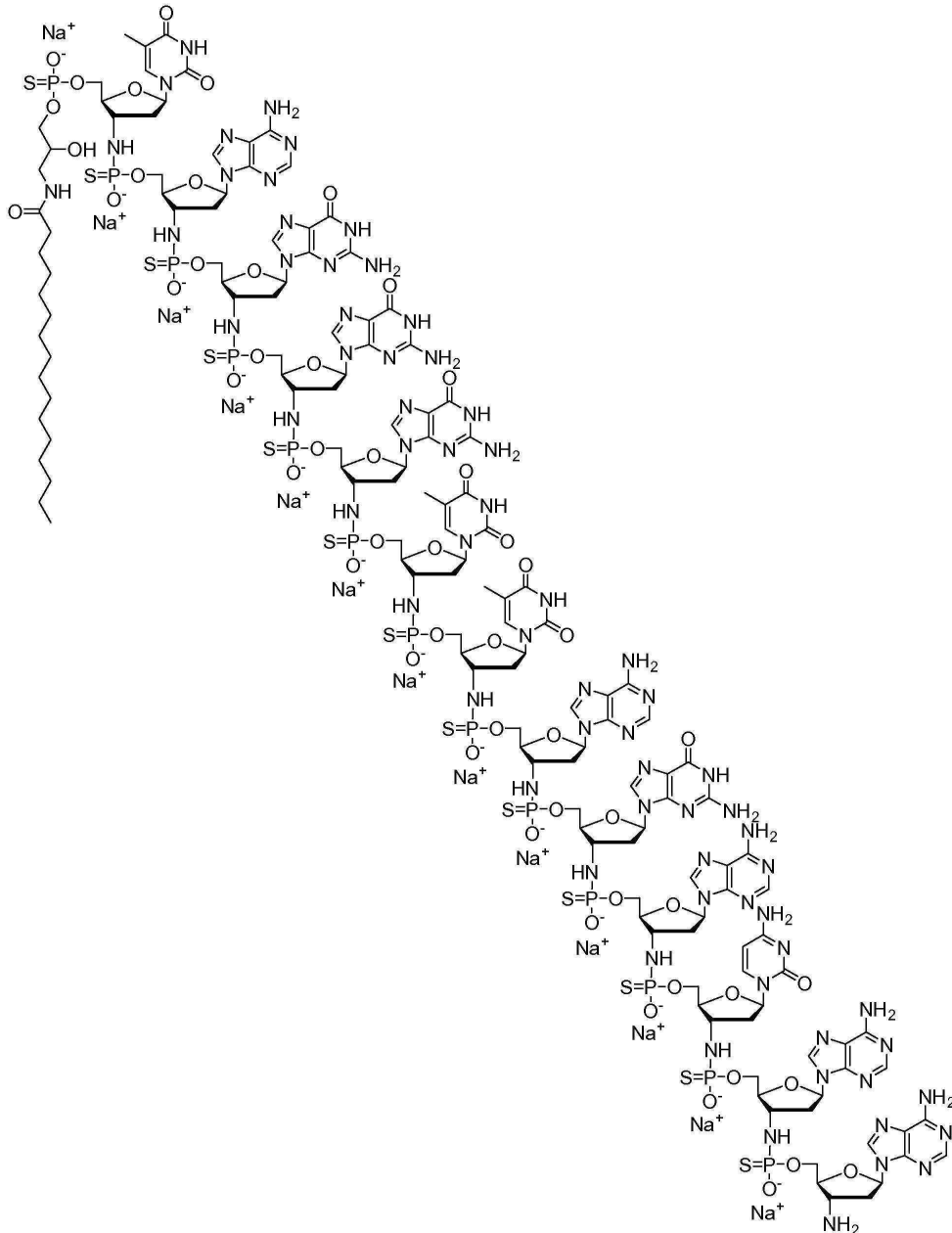
[0522]

특정 구현예에서, 상기 조성물은 하기의 구조로 나타낸 올리고뉴클레오타이드를 포함하고 염의 임의의 간편한 양이온성 짝이온을 포함할 수 있다:



[0523]

[0524] 특정 구현예에서, 상기 조성물은 하기의 구조로 나타난 화합물을 포함한다:



[0525]

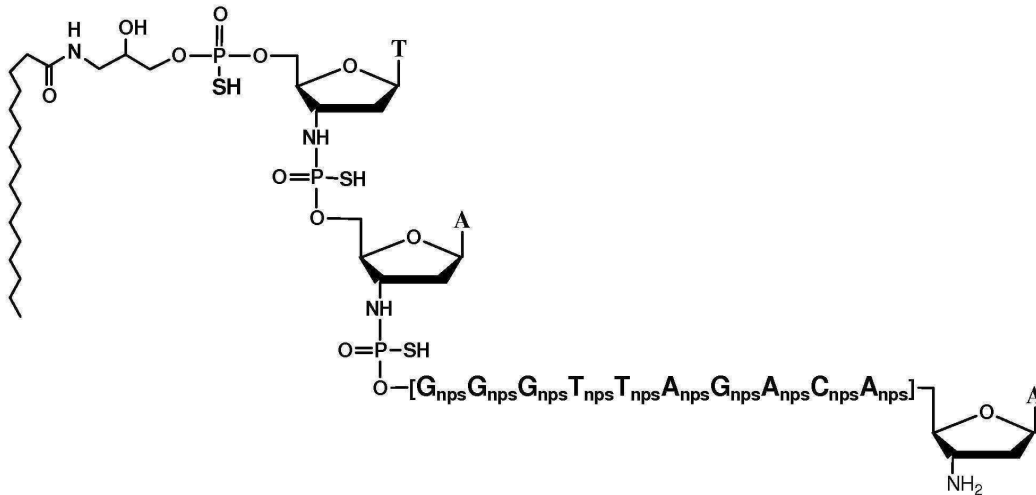
[0526] 또한, 올리고뉴클레오타이드-함유 화합물을 포함하는 화합물 활성 억제학적 성분 조성물이 또한 제공된다. 본원에 사용된 바와 같은 활성 억제학적 성분은 본원 발명의 제조 방법을 사용하여 제조되는 조성물을 언급하고, 여기서, 상기 조성물은 임의로 합성 후 하나 이상의 추가의 정제 단계에 적용될 수 있다. 일반적으로, 활성 억제학적 성분은 억제학적 조성물로 제형화하기 위해 적합한 조성물이다. 일부 경우에, 화합물 활성 억제학적 성분 조성물은 합성 후 정제되지 않아 상기 조성물의 올리고뉴클레오타이드 함유 성분은 올리고뉴클레오타이드 합성 동안에 제조된 생성물들을 반영한다.

[0527] 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 9중량% 미만을 갖고, 여기서, 상기 화합물은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유닛의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 뉴클레오타이드 서브유닛 중 적어도 2개는 N3'→P5' 티오포스포라미데이트 또는 옥소포스포라미데이트 상호 서브유닛 연결체(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이)에 의해 연결된다.

[0528] 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 9중량% 미만을 갖고, 여기서, 상기 화합물 또는 이의 억제학적으로 허용되는 염은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유닛의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 뉴클레오타이드 서브유닛 중 적어도 2개는 N3'→P5' 티오포스포라미데이트 또는 옥소포스포라미데이트 상호 서브유닛 연결체(예를 들어, 본원에 기

될 수 있는 것으로 이해된다.

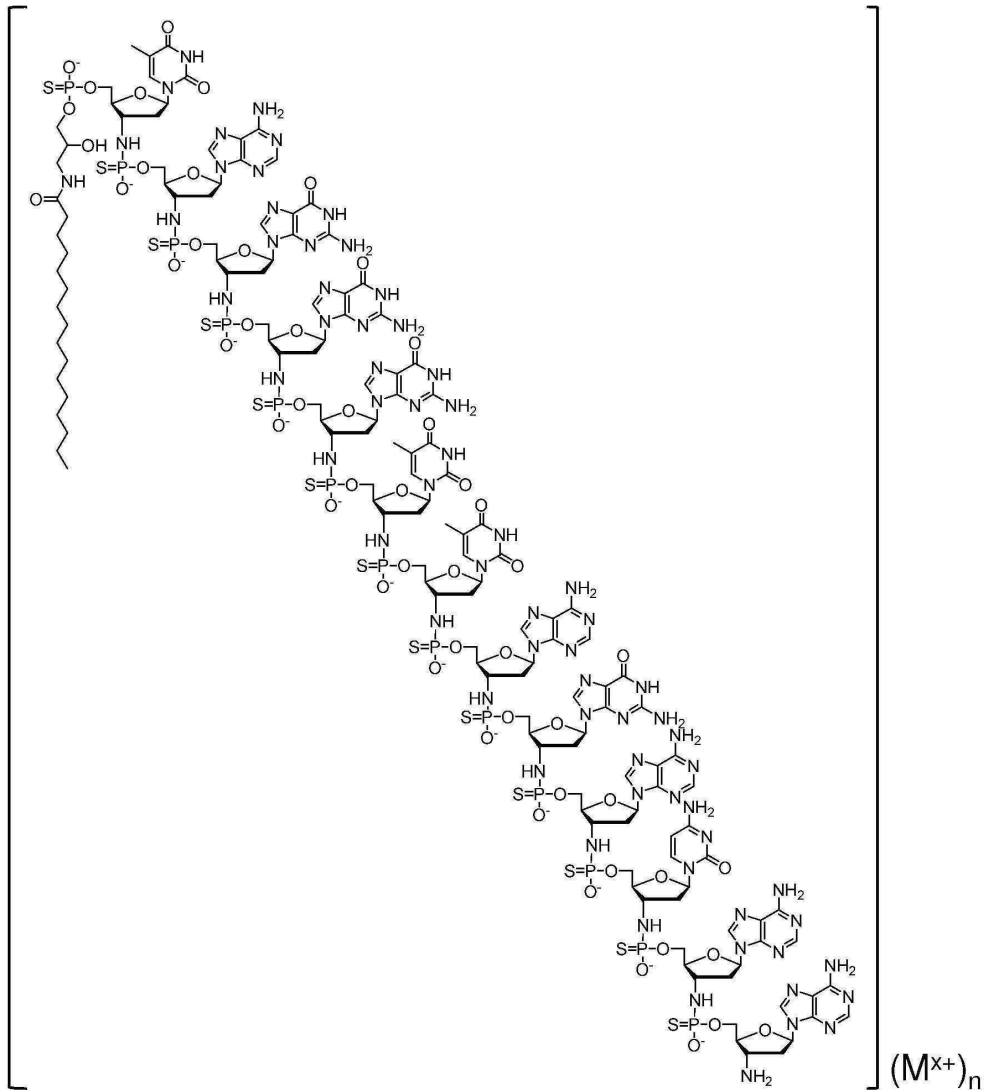
화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조를 갖는다:



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

식 중, "nps"는 티오포스포르아미데이트 연결체 $-NH-P(=O)(SH)-O-$ (또는 본원에 기재된 바와같이, 이의 호 변체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염)을 나타내고, 이는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소에 연결한다. 화합물 활성 약제학적 성분의 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 나트륨 염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 마그네슘 염과 같은 화합물의 2가 양이온 염을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 화합물의 알루미늄 염과 같은 화합물의 3가 양이온 염을 포함한다.

화합물 활성 억제학적 성분의 특정 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조로 나타내고, 식 중, 각각의 M^{x+} 은 독립적으로 수소 또는 염의 염의 간편한 짝이온이고, 각각의 x는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n은 5 내지 13의 정수, 예를 들어 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13이고, 예를 들어 n은 13이다:



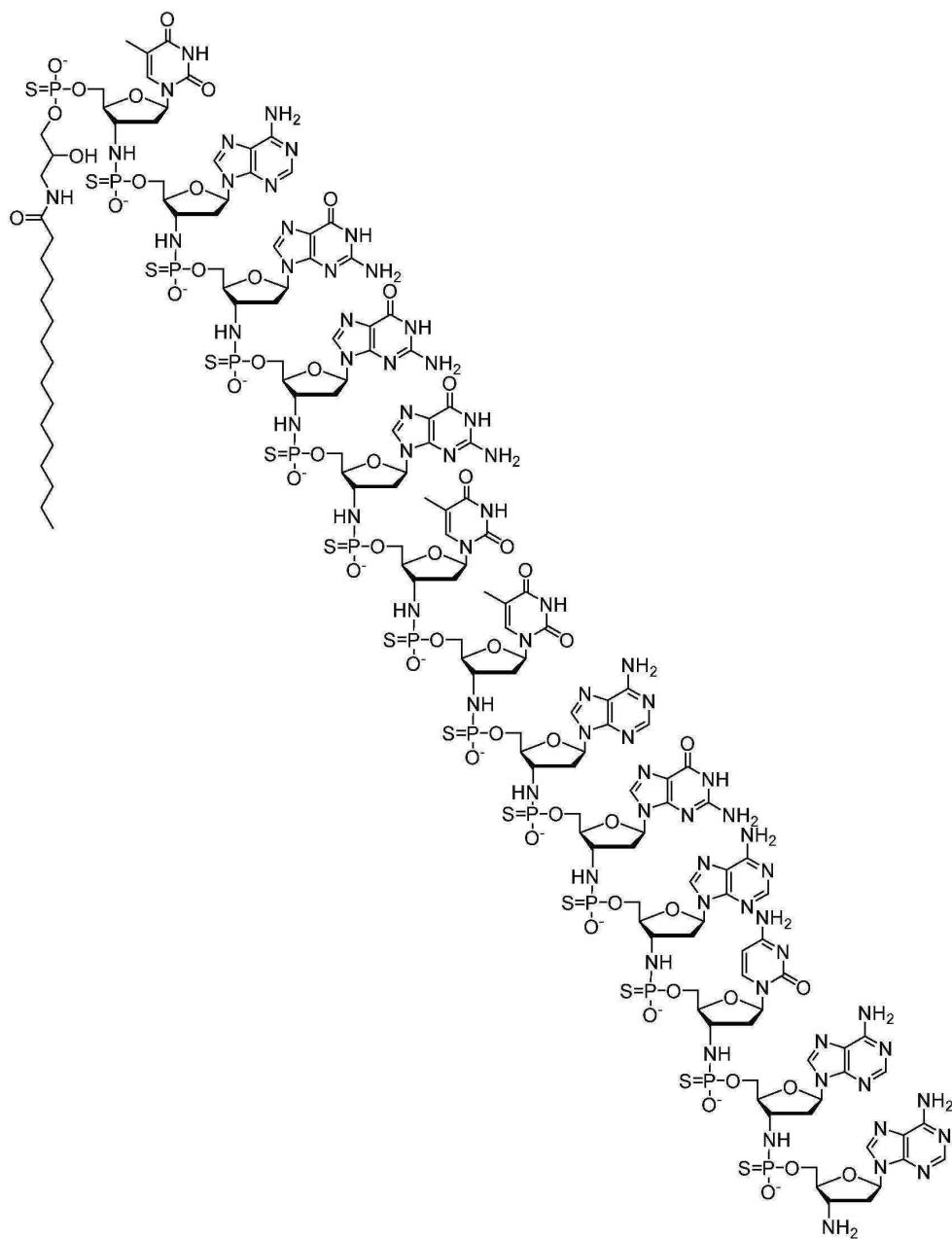
[0548]

[0549]

특정 경우에, 각각의 x 는 1이다. 특정 경우에, 각각의 x 는 독립적으로 1 또는 2이다. 특정 경우에, 각각의 x 는 독립적으로 1 또는 3이다. 특정 경우에, M^{x+} 는 수소이다.

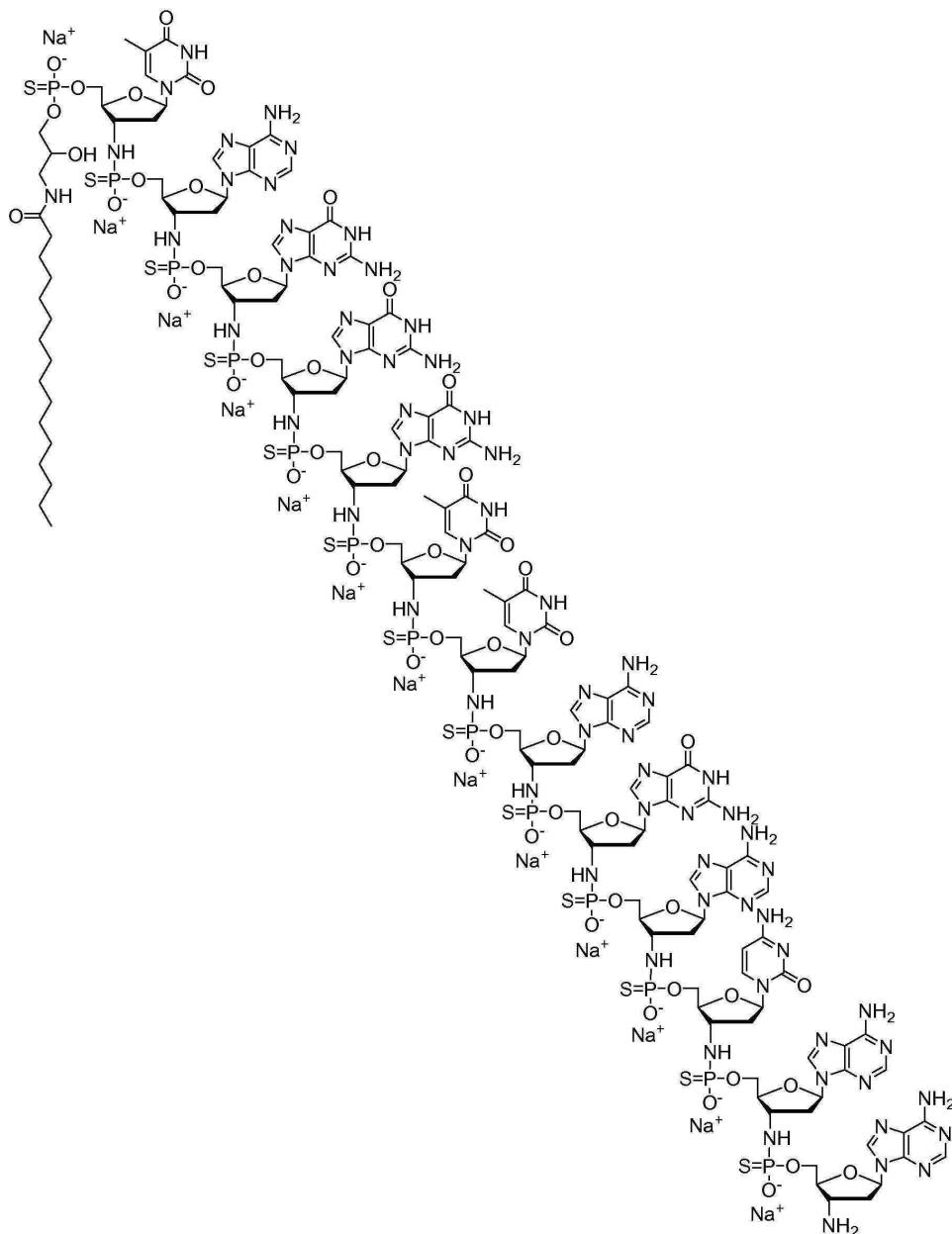
[0550]

화합물 활성 억제학적 성분의 특정 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조로 나타내고 염의 임의의간편한 양이온 짝이온을 포함할 수 있다:



[0551]

[0552] 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조로 나타낸다:



[0553]

[0554] 일부 구현예에서, 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 9중량% 미만, 예를 들어, (N-1) 생성물의 중량을 기준으로 8중량% 미만, 7중량% 미만, 6중량% 미만, 5중량% 미만, 4중량% 미만, 3중량% 미만, 2중량% 미만, 또는 심지어 1중량% 미만을 갖는다. 특정 구현예에서, 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 5중량% 미만을 갖는다. 특정 구현예에서, 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 2중량% 미만을 갖는다.

[0555] 일부 구현예에서, 상기 활성 억제학적 성분은 임의의 (N-x) 생성물의 9중량% 미만, 예를 들어, 임의의 (N-x) 생성물의 중량을 기준으로 8중량% 미만, 7중량% 미만, 6중량% 미만, 5중량% 미만, 4중량% 미만, 3중량% 미만, 2중량% 미만, 또는 심지어 1중량% 미만을 갖는다.

[0556] 일부 구현예에서, 화합물 활성 억제학적 성분은 총 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 9중량% 미만, 예를 들어, 총 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 중량을 기준으로, 예를 들어, 8중량% 미만, 7중량% 미만, 6중량% 미만, 5중량% 미만, 4중량% 미만, 3중량% 미만, 2중량% 미만, 또는 심지어 1중량% 미만을 갖는다.

[0557] 일부 구현예에서, 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 하기의 프로필을 갖는다:

[0558] N 생성물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 4 중량부 중 1중량부 미만; 및

- [0559] N 생성물에 상대적으로 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 100 중량부 중 적어도 10중량부.
- [0560] 제형
- [0561] 또한 올리고뉴클레오타이드 조성물을 포함하는 약제학적 조성물(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이)이 또한 제공된다. 올리고뉴클레오타이드 조성물(예를 들어, 본원에 기재된바와 같이)은 또한 표적 유전자의 과발현과 관련된 질환 조건에서 세포내 전사 또는 해독의 억제를 위한 약제학적 조성물로서 제형화될 수 있다.
- [0562] 일부 구현예에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 부형제 중에 제형화된 올리고뉴클레오타이드 조성물(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이)을 포함한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드 조성물은 (N-1) 생성물의 9중량% 미만을 갖는 화합물 활성약제학적 성분이고, 여기서, 상기 화합물은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된다.
- [0563] 본 발명은 텔로머라제 활성을 특이적으로 및 강력하게 억제할 수 있고 따라서 종양 세포와 같은 텔로머라제 양성 세포의 증식을 억제하기 위해 사용될 수 있는 화합물을 제공한다. 매우 광범위한 암 세포는 텔로머라제-양성인 것으로 나타났고, 이는 피부, 연결 조직, 지방 세포, 유방, 폐, 위, 췌장, 난소, 자궁경부, 자궁, 신장, 방광, 결장, 전립선, 중추 신경계(CNS), 망막 및 혈액학적 종양(예를 들어, 골수종, 백혈병 및 림프종) 암 기원의 세포를 포함한다. 목적하는 암은 골수섬유증, 혈소판증, 골수이형성 증후군 및 골수성 백혈병을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0564] 본원 발명의 화합물을 사용하여 혈액암 및 골수증식성 장애를 치료할 수 있고, 이는 본태성 혈소판증가증(ET), 진성적혈구증가증(PV) 만성 골수성 백혈병(CML), 골수섬유증(MF), 만성 호중구 백혈병, 만성 호산성 백혈병 및 급성 골수성 백혈병(AML)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원 발명의 화합물을 사용하여 골수이형성 증후군을 치료할 수 있고, 이는 불응성 빈혈, 과도한 blasts를 갖는 불응성 빈혈, 다계열형성이상 불응성혈구감소증, 단일계열형성이상 불응성혈구감소증, 및 만성 골수단구성 백혈병(CMML)과 같은 질환을 포함한다. 본원 발명의 화합물을 사용하여 하기의 PCT 특허 출원 번호에 기재된 것들과 같은 혈액학적 질환을 치료할 수 있다. 2013년 11월 15일자로 출원된 PCT/US13/070437, 이의 개시 내용은 이의 전문이 본원에 참조로 인용된다.
- [0565] 따라서, 본원에 제공된 화합물은 광범위의 악성종양을 치료하는데 널리 유용하다. 보다 중요하게, 본 발명의 화합물은 악성과 정상 세포를 고도로 구분하여, 분할 세포를 구분되게 사멸시키는 체제에 의존하여 대부분의 현재 화학치료학적 용법에서 존재하는 많은 해로운 부작용을 회피하는 치료를 제공하는데 효과적일 수 있다. 더욱이, 본원 발명의 화합물은 균등한 비접합된 올리고뉴클레오타이드 보다 강하고 이는 이들이 보다낮은 용량으로 투여되어 증진된 안정성을 제공하고 치료 비용을 상당히 감소시킬 수 있음을 의미한다. 따라서, 본원 발명의 하나의 측면은 환자에서 암을 치료하는 방법이고, 이는 본 발명의 치료학적 유효량의 화합물을 환자에게 투여함을 포함한다. 본 발명의 화합물을 포함하는 텔로머라제 억제제는 원발성 종양의 수술적 제거, 화학치료학적 체제 및 방사선 치료를 포함하는 다른 암 치료 방법과 연계하여 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 약제로서 사용하기 위한 본원에 제공된 화합물 및 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이전에 언급된 악성 종양 중 어느 하나를 치료하거나 예방하는데 사용하기 위해 본원에 제공된 화합물 및 조성물에 관한 것이다.
- [0566] 치료학적 적용을 위해, 본 발명의 화합물은 치료학적 유효량으로 약제학적으로 허용되는 담체와 제형화된다. 하나 이상의 본원 발명의 화합물(예를 들어, 상이한 L' 또는 O 성분을 갖는)은 임의의 소정의 제형 중에 포함될 수 있다. 약제학적 담체는 고체 또는 액체일 수 있다. 지질 담체는 용제, 에멀전, 현탁제 및 가압된 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 화합물은 약제학적으로 허용되는 액체 부형제 중에 용해되거나 현탁된다. 올리고뉴클레오타이드 제제의 비경구 투여를 위해 적합한 액체 담체의 예는 물(이는 첨가제, 예를 들어, 셀룰로스 유도체, 바람직하게 나트륨 카복시메틸 셀룰로스 용액을 함유할 수 있는), 포스페이트 완충 식염 용액(PBS), 알코올(1가 알코올 및 다가 알코올, 예를 들어, 글리콜을 포함하는) 및 이들의 유도체 및 오일(예를 들어, 분획화된 코코넛 오일 및 아라키스 오일)을 포함한다. 액체 담체는 하기를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 적합한 약제학적 첨가제를 함유할 수 있다: 가용화제, 현탁제, 유화제, 완충제, 증점제, 착색제, 점도 조절제, 방부제, 안정화제 및 삼투압 조절제.
- [0567] 화합물의 비경구 투여를 위해, 상기 담체는 또한 에틸 올레에이트 및 이소프로필 미리스테이트와 같은 오일성 에스테르일 수 있다. 멸균성 담체는 비경구 투여를 위한 멸균 액체 형태 조성물에 유용하다.
- [0568] 멸균 액체 약제학적 조성물, 용제 또는 현탁제는 예를 들어, 복강내 주사, 피하 주사, 정맥내 또는 국소적으로

사용될 수 있다. 상기 올리고뉴클레오타이드는 또한 정맥내 또는 혈관 스텐트를 통해 투여될 수 있다.

[0569] 가압된 조성물을 위한 액체 담체는 할로겐화된 탄화수소 또는 다른 약제학적으로 허용되는 추진제일 수 있다. 상기 가압된 조성물은 또한 흡입을 통한 전달을 위해 캡슐화된 지질일 수 있다. 비강내 또는 기관지내 흡입 또는 통기에 의한 투여를 위해, 올리고뉴클레오타이드는 수성 또는 부분적 수용액으로 제형화될 수 있고 이어서 이는 에어로졸 형태로 사용될 수 있다.

[0570] 화합물은 활성 화합물을 함유하는 약제학적으로 허용되는 비히클과 함께 제형화함에 의해 용제, 크림 또는 로션으로서 국소적으로 투여될 수 있다.

[0571] 본 발명의 약제학적 조성물은 캡슐내 제형, 정제, 산제 또는 과립, 및 물 또는 비수성 매질내 현탁제 또는 용제로서 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 허용되는 투여 형태로 경구적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 약제학적 조성물 및/또는 제형은 담체, 윤활제, 희석제, 증점제, 향제, 유화제, 분산 보조제 또는 결합제를 포함할 수 있다. 경구용의 정제의 경우에, 통상적으로 사용되는 담체는 락토스 및 옥수수 전분을 포함한다. 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제가 또한 첨가될 수 있다. 캡슐 형태로 경구 투여하기 위해, 유용한 희석제는 락토스 및 무수 옥수수 전분을 포함한다. 수성 현탁제가 경구용으로 요구되는 경우, 활성 성분은 유화제 및 현탁제와 함께 조합된다. 목적하는 경우, 특정 감미제, 향제 또는 착색제가 또한 첨가될 수 있다.

[0572] 본 발명의 화합물은 세포 및 조직 침투를 위해 보다 우수한 특성을 갖지만 이들은 예를 들어, 리포솜담체 중에 보다 큰 이득을 제공하기 위해 제형화될 수 있다. 세포 흡수를 촉진시키기 위한 리포솜의 용도는 예를 들어, 하기 미국 문헌에 기재되어 있다. 특허 번호 제4,897,355호 및 미국 특허 번호 제4,394,448호. 수많은 공보는 리포솜의 제형 및 제제를 기재하고 있다. 화합물은 또한 추가의 침투 증진제, 예를 들어, 지방산 및 이들의 유도체를 포함하는, 상기된 지질 모이어티의 비접합된 형태와 혼합함에 의해 제형화될 수 있다. 예는 올레산, 라우르산, 카프르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 레시놀레이트, 모노올레인 (a.k.a. 1-모노올레오일-라크-글리세롤), 딜라우린, 카프틸산, 아리키돈산, 글리세릴 1-모노카프레이트, 1-도데실아자사이클로헥탄-2-온, 아살카르니틴, 아실콜린, 모노- 및 디-글리세라이드 및 이들의 약리학적으로 허용되는 염 (즉, 올레이트, 라우레이트, 카프레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 리놀레이트 등)을 포함한다.

[0573] 하나 이상의 침투 증진제를 포함하는 복합 제형이 사용될 수 있다. 예를 들어, 담즙 염은 복합 제형을 제조하기 위해 지방산과 조합하여 사용될 수 있다. 예시적 조합은 약 0.5 내지 5%의 농도로 일반적으로 사용되는, 나트륨 카프레이트, 또는 나트륨 라우레이트와 조합된, 약 0.5 내지 2%의 농도로 일반적으로 사용되는 케노데옥시콜산 (CDCA)을 포함한다.

[0574] 본 발명의 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 약제학적 조성물 및/또는 제형은 또한 킬레이팅제, 계면활성제 및 비-계면활성제를 포함할 수 있다. 킬레이팅제는 이나트륨 에틸렌디아민테트라아세테이트 (EDTA), 시트르산, 살리실레이트 (예를 들어, 나트륨 살리실레이트, 5-메톡시살리실레이트 및 호모바닐레이트), 콜라겐의 N-아실 유도체, 라우레스-9 및 베타-케톤의 N-아미노 아실 유도체(에나민)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 계면활성제는 예를 들어, 나트륨 라우릴 설페이트, 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르 및 폴리옥시에틸렌-20-세틸 에테르, 및 퍼플루오로케미칼 에멀전, 예를 들어, FC-43을 포함한다. 비-계면활성제는 예를 들어, 불포화 사이클릭 우레아, 1-알킬- 및 1-알케닐아자사이클로-알카논 유도체, 및 디클로페낙 나트륨, 인도메타신 및 페닐부타존과 같은 비-스테로이드 소염제를 포함한다.

[0575] 따라서, 본 발명의 또 다른 측면에서, 약제학적 조성물을 제형화하는 방법이 제공되고, 상기 방법은 본원에 기재된 바와 같은 화합물을 제공하고 상기 화합물을 약제학적으로 허용되는 부형제와 배합함을 포함한다. 바람직하게, 화합물은 하기된 바와 같이 약제학적 순도로 제공된다. 상기 방법은 추가로 부형제, 침투 증진제의 첨가 전 또는 후에 화합물로 첨가함을 포함할 수 있다.

[0576] 약제학적 조성물은 약제학적 순도 표준에 순응할 수 있다. 일부 경우에, 약제학적 제제 중에 활성 성분으로 사용하기 위해, 본원 발명의 화합물은 이들이 제조되는 혼합물에 존재하는 반응성 또는 잠재적 면역원성 성분들로부터 정제된다.

[0577] 약제학적 조성물은 단일 용량 또는 다중 용량 단위로 점적되고 캡핑될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 화합물을 사용한 치료를 위한 용량 요구는 사용되는 특정 조성물, 투여 경로, 제공된 증상의 중증도, 화합물의 형태 및 치료될 특정 대상체에 따라 다양하다.

- [0578] 본 발명의 약제학적 조성물은 임상적으로 목적하는 결과를 성취하기 위해 제형 및 유효량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 암의 치료를 위해, 목적하는 결과는 종양 매쓰에서의 감소 (축지 또는 이미지화에 의한 결정시; 예를 들어, 방사선 요법, 방사선뉴클레오타이드 스캔, CAT 스캔 또는 MRI에 의한 결정시), 종양 성장율의 감소, 전이 형성율의 감소 (예를 들어, 생검 표본의 조직화학적 분석에 의한 결정시), 생화학적 마커의 감소 (ESR과 같은 일반 마커, 및 혈청 PSA와 같은 종양-특이적 마커를 포함하는), 및 삶의 질의 개선(임상적 평가에 의한 결정시, 예를 들어, 카르노프스키 스코어), 진행으로 증가된 시간, 질환 부재 생존 및 전체 생존을 포함한다.
- [0579] 상기 효과를 성취하기 위해 요구되는 투여 당 화합물의 양 및 투여 수는 질환 징후, 치료받는 환자의 특성 및 투여 방식을 포함하는 많은 인자들에 의존하여 다양할 것이다. 일부 경우에, 상기 제형 및 투여 경로는 환부에서 1 μ M 내지 1 nM의 화합물의 국소 농도를 제공할 것이다.
- [0580] 일반적으로, 화합물은 임의의 해롭거나 악화된 부작용을 유발하는 것 없이 효과적임을 유지하는 농도에서 투여된다. 상기 농도는 하루 전반에 걸쳐 적합한 간격으로 간편한 서브유니트로의 분할된 용량의 투여에 의해또는 단일의 단위 용량의 투여에 의해 성취될 수 있다.
- [0581] **용도**
- [0582] 본 발명의 방법 및 조성물은 예를 들어, 상기된 바와 같이 다양한 적용에 사용된다. 목적하는 적용은 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다: 하기에 보다 상세하게 검토된 바와 같은 치료학적 적용, 진단학적 적용, 연구 적용, 및 스크리닝 적용.
- [0583] 본원 발명의 화합물은 다양한 치료학적 적용에 사용된다. 일부 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 방법은 치료학적 이득을 위해 제공하는 올리고뉴클레오타이드를 제조하기 위해 적용된다. 본 발명의 조성물을 사용하여 치료될 수 있는 질환의 유형은 제한이 없다. 예를 들어, 상기 조성물은 다수의 유전학적 질환의 치료를 위해 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원 발명의 방법 및 조성물은 안티센스 적용을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 본원 발명의 방법 및 조성물은 안티유전자 적용을 갖는다. 특정 구현예에서, 본원 발명의 방법 및 조성물은 하기 미국 문헌에 기재된 것들과 같은 텔로머라제 억제 적용을 갖는다: 미국 특허 제 6,835,826호, 및 미국 공보 제20120329858호, 이의 개시 내용은 이들의 전문이 본원에 참조로서 인용된다.
- [0584] 본원 발명의 화합물 및 방법은 임상적 진단, 예를 들어, 시험관내 진단 또는 생체내 종양 이미지화제의 개발을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 진단학적 적용에 사용된다. 상기 적용은 질환 조건, 이에 대한 민감성을 진단하거나 진단을 확인하는데 유용하다. 상기 방법은 또한 이전에 상기 질환으로 진단된 환자에서 질환 진행 및/또는 치료 반응을 모니터링하기 위해 유용하다.
- [0585] **실시예**
- [0586] 하기의 실시예는 본원 발명을 제조하고 사용하는 법의 완전한 개시 및 기재 내용을 당업자에게 제공하기 위해 제시되고 이는 발명자가 이들의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 제한하고자 하는 것이 아니고 이들은 하기 실험이 모두 또는 일부 수행된 실험인 것을 나타내도록 의도되지 않는다. 사용되는 수 (예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확도를 확신하기 위해 노력해 왔지만 일부 실험오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 나타내지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이고 압력은 대기압 또는 이의 근접 압력이다. "평균"이란 산술 평균을 의미한다. 표준 약어가 사용될 수 있고, 예를 들어, bp, 염기쌍(들); kb, 킬로염기(들); pI, 피코리터(들); s 또는 sec, 초(들); min, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로염기(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오타이드(들); i.m., 근육내(로); i.p. 복강내(로); s.c., 피하내(로) 등.
- [0587] **일반 합성 과정**
- [0588] 기재된 화합물을 합성하기 위해 유용한 통상적으로 공지된 화학적 합성 반응식 및 조건을 제공하는 많은 일반 참조문헌이 가용하다(문헌참조: 예를 들어, Smith 및 March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001; 또는 Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, Fourth Edition, New York: Longman, 1978).
- [0589] 본원에 기재된 바와 같은 화합물은 당업계에 공지된 임의의 정제 프로토콜에 의해 정제될 수 있고 이는 크로마토그래피, 예를 들어, HPLC, 정제용 박층 크로마토그래피, 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 및 이온 교환 크로마토그래피를 포함한다. 임의의 적합한 고정상이 사용될 수 있고 이는 정상 및 역상, 및 이온 수지를 포함한다. 특

정 구현예에서, 기재된 화합물은 실리카 겔 및/또는 알루미늄 크로마토그래피를 통해 정제한다. 문헌참조: 예를 들어, Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd Edition, ed. L. R. Snyder 및 J. J. Kirkland, John Wiley 및 Sons, 1979; 및 Thin Layer Chromatography, ed E. Stahl, Springer-Verlag, New York, 1969.

[0590] 본원 발명의 화합물의 제조를 위한 임의의 공정 동안에, 관련 임의의 분자상에서 민감성 또는 반응성그룹을 보호할 필요가 있고/있거나 요구될 수 있다. 이것은 표준 작업에서 기재된 바와 같은 통상적 보호 그룹의 수단으로 성취될 수 있다: 예를 들어, J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London 및 New York 1973, in T. W. Greene 및 P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross 및 J. Meienhofer), Academic Press, London 및 New York 1981, in "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4th edition, Vol. 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke 및 H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, 및 Basel 1982, and/or in Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. 상기 보호 그룹은 당업계로부터 공지된 방법을 사용한 간편한 후속적 단계에서 제거될 수 있다.

[0591] 본원 발명의 화합물은 시판되는 출발 물질 및/또는 통상적인 합성 방법에 의해 제조되는 출발 물질을 사용한 다양한 상이한 합성 경로를 통해 합성될 수 있다. 본원에 기재된 화합물을 합성하기 위해 사용될 수 있는 다양한 합성 경로의 예는 하기 반응식에 기재되어 있다.

[0592] 실시예 1

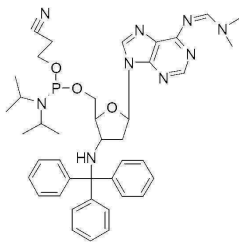
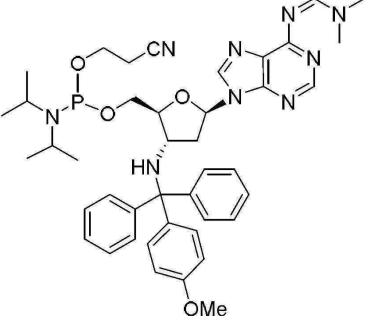
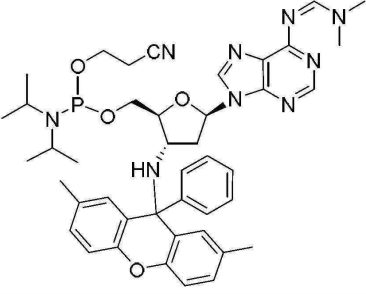
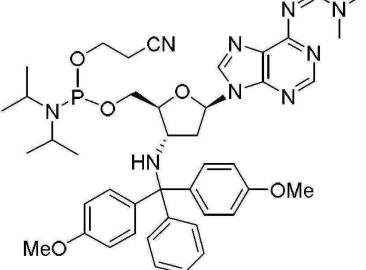
[0593] 이량체성 포스포르아미디트를 사용한 이메텔스타트 나트륨의 합성

[0594] 이메텔스타트 나트륨은 고품 지지체 (조절된 공극 유리 또는 중합체성 고품 지지체) 및 단량체 포스포르아미디트, 예를 들어, 하기의 서열 중 A^{Bz} 또는 A^{dmf}, C, G^{iBu} 및 T 아미디트를 사용하여 합성한다:

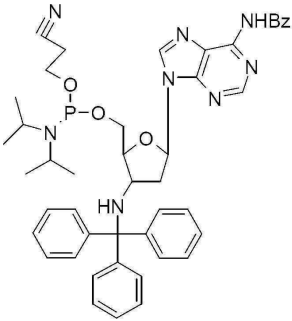
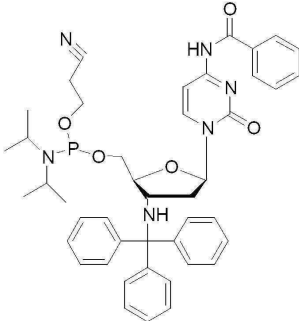
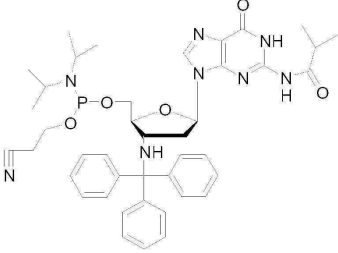
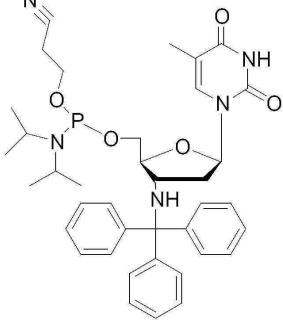
[0595] 5'-R-TAGGGTTAGACAA-NH₂-3' (서열번호 3) (여기서, R = 지질 링커 그룹)

[0596]

표 2: 아미디트 및 고형 지지체의 구조

약어 명칭	기재	구조
아미디트 A ^{dmf}	3'-트리틸아미노-N ₆ - 디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	
아미디트 A ^{dmf} (MMT)	3'- 모노메톡시트리틸아미 노-N ₆ - 디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	
아미디트 A ^{dmf} (픽실)	3'-(디메틸-치환된 픽실)아미노-N ₆ - 디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	
아미디트 A ^{dmf} (DMT)	3'- 디메톡시트리틸아미노- N ₆ -디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	

[0597]

약어 명칭	기재	구조
아미디트 A ^{Bz}	3'-트리틸아미노-N ⁶ -벤조일-2',3'-디데옥시아데노신-5'-(2-시아노에틸)-N,N-디이소프로필포스포르아미디트	
아미디트 C(Bz)	3'- 트리틸아미노-N-벤조일-2',3'-디데옥시시티딘 5'-(2-시아노에틸)-N,N-디이소프로필포스포르아미디트	
아미디트 G(iBu)	3'-트리틸아미노-N ² -이소부틸릴-2',3'-디데옥시구아노신-5'-(2-시아노에틸)-N,N-디이소프로필포스포르아미디트	
아미디트 T	3'-트리틸아미노-3'-데옥시티미딘 5'-(2-시아노에틸)-N,N-디이소프로필포스포르아미디트	

[0598]

약어 명칭	기재	구조
팔미토일-아미노글리세롤-고형 지지체	3-팔미토일아미도-1-O-(4,4'-디메톡시트리틸)-2-O-숙시닐 프로판디올 조절된 공극 유리 지지체	
또는		
NittoPhaseHL 팔미토일 400 중합체 고형 지지체	3-팔미토일아미도-1-O-(4,4'-디메톡시트리틸)-2-O-숙시닐 프로판디올 중합체 고형 지지체	

[0599]

[0600]

이메텔스타트 골격은 출발 포스포르아미디트와 유사한 NPS이고 따라서 커플링 효율은 대략 92%이다. 이량체 포스포르아미디트의 사용한 보다 적은 커플링 단계를 가능하게 하고 이는 합성 후 중간 단계에서 보다 높은 수율 및 순도를 유도할 수 있다. 하기의 이량체 포스포르아미디트는 합성 반응식 1에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 하기에 나타낸 바와 같이 제조하였다:

[0601]

TA, AA, GA, GG 및 GT.

[0602]

이량체 포스포르아미디트의 합성은 A, G 및 T 뉴클레오사이드에 대해 3개의 단량체 아미디트(4a 내지 4c, 반응식 1) 및 3개의 5'-TBDMS-3' 아미노 뉴클레오사이드 중간체(3a 내지 3c, 반응식 1)를 요구했다. TBDMS는 3급-부틸디메틸실릴이다. 상기 중간체 (3a 내지 3c, 반응식 1)는 2개 종류의 출발 물질인 5'-OH-3'-NH-Tr-2'-데옥시-N-벤조일 아데노신 (1a), 5'-OH-3'-NH-Tr-2' 데옥시-N-이소부틸릴 구아노신 (1b), 및 5'-OH-3'-아미노-티미딘 (2)으로부터 제조하였다. Tr 또는 Trt는 트리틸을 언급한다.

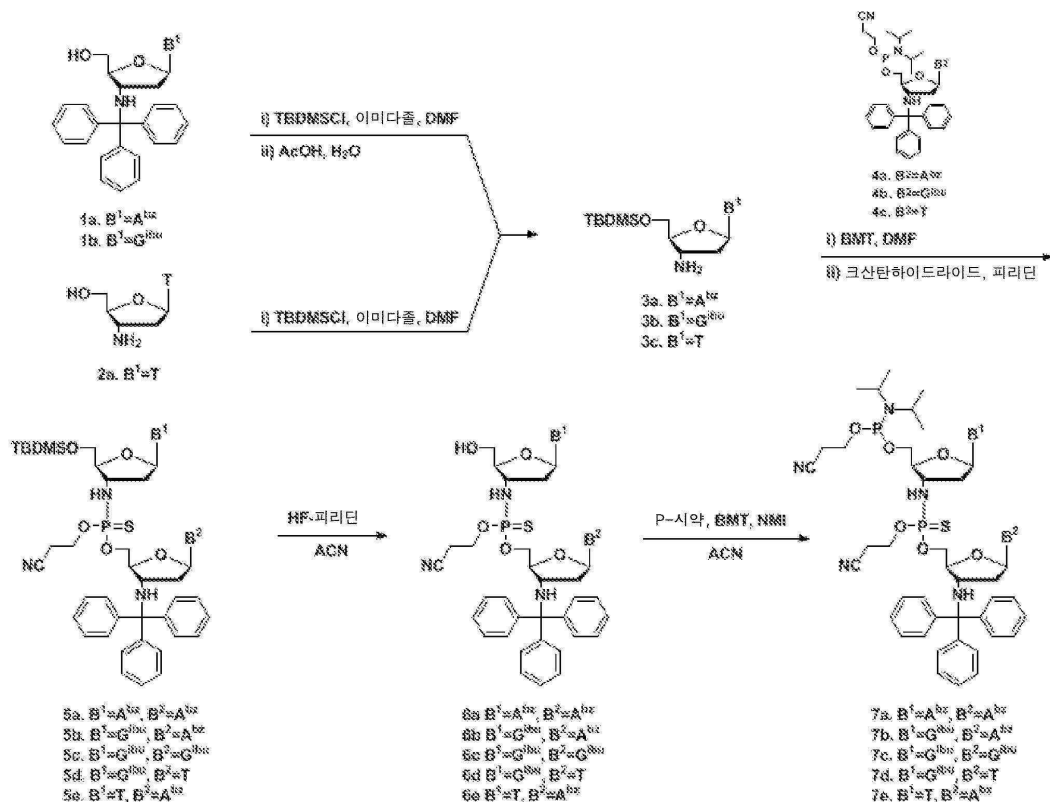
[0603]

1a 및 1b의 5'-하이드록실 그룹은 DMF(N,N-디메틸포름아미드) 중 t-부틸디메틸실릴 클로라이드 및 이미다졸을 사용하여 TBDMS 그룹으로 보호하고 이어서 3' 아미노 위치에서 트리틸 그룹은 물 중 아세트산으로 처리하여 탈 보호하였다. 수득한 중간체, 3a 내지 3c는 디메틸포름아미드 중에 활성화제로서 벤질메카토테트라졸(BMT)를 사용하여 상응하는 아미데이트 4a 내지 4c로 커플링시키고 이어서 후속적 황화(P III 내지 P V)는 크산탄 수소화물 및 피리딘(반응식 1)을 사용하여 수행하였다. 일반적으로, 황화 반응은 용이하게 완료하였다. 커플링 반응의 결과는 아미데이트의 수분, 반응 시간 및 등가물에 따라 다양하였다. 질소 또는 아르곤 가스 및 신속한 커플링 반응을 사용한 무수 조건은 장기 반응 시간이 P(V) 산화생성물과 같은 보다 많은 부작용 생성물을 유도하기 때문에 바람직할 수 있다. 이량체의 P (III) 중간체는 상이한 안정성을 갖는다. TA 중간체는 TLC 및 HPLC에 의한 반응 완료를 모니터링하기에 충분히 안정하였다. 다른 P (III) 중간체는 커플링 반응을 모니터링하기에 충분히 안정하지 못하였고 반응 완료는 황화가완료된 후 조사하였다 (반응식 1). P(V) 종은 이량체 AA, GA, GG 및 GT에 대해 보다 안정하였다. TA 이량체에 대해 (5e), 1.3 당량의 아미데이트 (4c)는 커플링을 위해 사용하였고 다른 4개의 이량체 (5a~5d)는 대략적으로 3당량의 아미데이트 등가물(4a 및 4b)(반응식 1)을 요구하였다. 아미데이트 단량체 4a-4c는 하기 미국 문헌에 기재된 방법을 채택함에 의해 제조한다: 특허 5,859,233.

[0604]

반응식 1. 이량체 아미데이트의 합성 반응식

[0605] (P-시약은 시아노에톡시-비스 (N,N-디이소프로필아미노)포스핀이다)



[0606]

[0607] 5'-하이드록실 그룹에서 TBDMS 보호 그룹은 아세트니트릴 중에 HF·피리딘을 사용하여 탈보호시키고 최종 포스 피틸화는 BMT 및 N-메틸이미다졸(NMI)의 존재하에 포스포틸화 시약으로 수행하여 이량체 티오포스포라미데이 트를 제조하였다(7a 내지 7e (반응식 1)). 최종 생성물 (7) 및 3개의 중간체 (3, 5, 6)는 칼럼 크로마토그래피 로 정제하였다. 수득된 양의 최종 아미데이트와의 반응의 단계 및 총 수율은 표 3에 열거한다. 5개의 이량체 아 미데이트에 대한 분석 결과의 개요는 표 4에 나타난다.

[0608] 표 3. 이량체 합성의 수율

이량체 (양)	5'-TBDMS-3'- 아미노 뉴클레오사이드	5'-TBDMS- 3'-NH-Tr- 이량체	5'-OH-3'- NH-Tr 이량체	이량체 아미데이트	총 수율 (%)
TA (2.9 g)	58 %	91 %	71 %	51 %	19.1 %
AA (1.7 g)	58 %	82 %	70 %	47 %	15.6 %
GA (3.4 g)	58 %	77 %	60 %	55 %	14.7 %
GG (1.9 g)	58 %	67 %	57 %	38 %	8.4 %
GT (1.8 g)	58 %	99 %	42 %	38 %	9.2 %

[0609]

표 4. 이량체 분석의 개요

이량체	순도 HPLC 에 의한	³¹ P-NMR	LCMS (Calc.)	양 (g)
TA	96.0 %	148.281(s), 148.193(s), 73.811(s), 73.723(s), 72.981(s), 72.592(s)	1169.4 (1169.23)	2.9
AA	95.8 %	148.262(m), 74.034(m), 72.774(d), 72.267(d)	1282.5 (1282.35)	1.7
GG	94.5 %	148.156(m), 74.244(s), 73.993(s), 72.912(s), 72.761(s)	1268.5 (Na) (1246.32)	1.9
GT	95.3 %	148.159(m), 73.993(s), 73.811(s), 73.295(s), 73.100(s)	1151.4 (1151.22)	1.8
GA	96.2 %	148.168(m), 148.011(s), 74.175(s), 73.942(s), 73.170(s), 72.906(s)	1264.5 (1264.33)	3.4

이량체 티오포스포로아미테이트의 합성 과정

1) 5'-TBDMS-3'-아미노 뉴클레오사이드 (아데노신 및 구아노신에 대해)의 제조.

a) 5'-OH-3'-NH-Tr-2'-데옥시뉴클레오사이드 (1.0eq) 및 이미다졸 (5.0eq)을 DMF 중에 용해시키고 60 ℃로 가열한다.

b) TBDMSCl (1.2eq)를 상기 가열 용액에 첨가하고 이어서 60 ℃에서 1시간 동안 교반한다.

c) 포화된 NaHCO₃ 수용액을 반응 혼합물에 첨가하고 이어서 에틸 아세테이트로 추출한다.

d) 상기 유기층을 포화된 NaHCO₃ 수용액 및 염수 용액으로 세척한다.

e) 건조를 위해 무수 Na₂SO₄ 를 분리된 유기층에 첨가하고 이어서 여과한다.

f) 여과물을 농축시킨다.

g) 80% 아세트산 수용액을 농축된 반응 혼합물에 첨가하고 이어서 주위 온도에서 1시간 동안 교반한다.

h) 상기 생성물 고체를 여과에 의해 제거함에 이어서 포화된 NaHCO₃ 수용액을 상기 여과물에 첨가하고 이어서 에틸 아세테이트로 4회 추출한다.

i) 상기 유기층은 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시킴에 이어서 상기 고체를 여과에 의해 제거하였다.

j) 상기 여과물을 농축시킴에 이어서 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제한다 (용출제: 에틸 아세테이트: 메탄올 =9:1 → 5:1).

k) 5'-TBDMS-3'-아미노 -2'-다옥시뉴클레오사이드는 백색 고체로서 수득한다.

2) 5'-TBDMS-3'-아미노 뉴클레오사이드 (티미딘에 대한)의 제조

a) 5'-OH-3'-아미노-2'-데옥시뉴클레오사이드 (1.0eq) 및 이미다졸 (5.0eq)을 DMF 중에 용해시킴에 이어서 60 ℃로 가열한다.

b) TBDMSCl (1.2eq)을 상기 가열 용액으로 첨가하고 이어서 60 ℃에서 1시간 동안 교반한다.

c) 포화된 NaHCO₃ 수용액을 반응 혼합물에 첨가함에 이어서 에틸 아세테이트로 4회 추출한다.

d) 무수물 Na₂SO₄ 를 건조를 위해 유기층으로 첨가하고 여과한다.

e) 여과물을 농축시켰다.

f) 상기 농축된 조 혼합물은 칼럼 크로마토그래피로 정제한다 (용출제: 에틸 아세테이트: 메탄올 =15:1 → 5:1).

- [0632] g) 5'-TBDMS-3'-아미노 티미딘 을 백색 고체로 수득한다.
- [0633] 3) 5'-TBDMS-3'-NH-Tr 이량체의 제조
- [0634] a) 수분을 제거하기 위해, 5'-TBDMS-3'-아미노 뉴클레오사이드 (1.0eq) 및 BMT (벤질머캅토테트라졸, 1.0~5.0eq)은 아세트니트릴로 3회 공비혼합시키고 이어서 N₂ 대기하에 주위 온도에서 DMF 중에 용해시킨다.
- [0635] b) DMF (단량체 아미데이트를 용해시키기 위해 최소량을 사용하여) 중의 단량체 아미데이트 (3.0eq) 를 상기 반응 용액에 적가하여 첨가하고 이어서 질소 대기하에 주위 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 단량체 아미데이트 는 하기 문헌에 기재된 방법에 따라 제조한다: 미국 특허 5,859,233.
- [0636] c) 크산탄 수소화물 (2.0eq) 및 피리딘 (4.0eq)을 상기 반응 용액에 첨가함에 이어서 질소 대기하에 주위 온도에서 1시간 동안 교반한다.
- [0637] d) 포화된 NaHCO₃ 수용액을 반응 혼합물에 첨가하고 이어서 에틸 아세테이트로 추출한다.
- [0638] e) 상기 수성층은 에틸 아세테이트로 추출한다.
- [0639] f) 상기 분리된 유기층을 배합하고 이어서 포화된 NaHCO₃ 수용액 및 염수 용액에 의해 세척한다.
- [0640] g) 무수물 Na₂SO₄를 건조를 위해 유기층에 첨가하고 여과하고 이어서 여과물을 농축시킨다.
- [0641] h) 상기 농축된 조 혼합물은 칼럼 크로마토그래피로 정제한다 (용출제: 에틸 아세테이트: 메탄올 =1.5:1 → EA 단독).
- [0642] i) 5'-TBDMS-3'-NH-Tr 이량체는 담황색 고체로서 수득한다.
- [0643] 4) 5'-OH-3'-NH-Tr 이량체의 제조
- [0644] a) 질소 대기하에 ACN (20ml) 중에 5'-TBDMS-3'-NH-Tr 이량체 (1.0eq)를 용해시키고 이어서 1.5시간 동안 주위 온도에서 교반시키면서 HF-피리딘 용액을 첨가한다.
- [0645] b) 포화된 NaHCO₃ 수용액을 반응 혼합물에 첨가함에 이어서 에틸 아세테이트로 추출한다.
- [0646] c) 분리된 유기층을 포화된 NaHCO₃ 수용액 및 염수 용액으로 세척한다.
- [0647] d) 무수물 Na₂SO₄ 를 건조 및 여과를 위해 유기층으로 첨가하고 이어서 여과물을 농축시킨다.
- [0648] e) 농축된 조 혼합물은 칼럼 크로마토그래피로 정제한다(용출제: 에틸 아세테이트, 메탄올, 메틸렌 클로라이드 조용매)
- [0649] f) 5'-OH-3'-NH-Tr 이량체는 백색 고체로서 수득한다.
- [0650] 5) 이량체 포스포로티오아미데이트(이량체 아미데이트)의 제조
- [0651] A) 임의의 수분을 제거하기 위해, 5'-하이드록시-3'-NH-Tr 이량체는 아세트니트릴에 의해 3회 공비혼합시킴에 이어서 질소 대기하에 주위 온도에서 ACN 중에 용해시킨다.
- [0652] b) BMT (1.3eq), NMI (N-메틸 이미다졸, 0.3eq) 및 포스포틸화 시약 (2.0eq)을 상기 반응 용액에 첨가하고 이어서 주위 온도에서 1시간 동안 교반시킨다.
- [0653] c) 포화된 NaHCO₃ 수용액을 반응 혼합물에 첨가하고 이어서 에틸 아세테이트로 추출한다.
- [0654] d) 분리된 유기층을 염수 용액으로 세척한다.
- [0655] e) 무수물 Na₂SO₄ 를 건조 및 여과를 위해 유기층으로 첨가하고 이어서 여과물을 농축시킨다.
- [0656] f) 메틸렌 클로라이드 (10mL) 중에 농축된 반응 혼합물을 용해시킴에 이어서 hexan을 첨가하여 고체를 침전시킨다.
- [0657] g) 상부 용액 층을 버려 포스포틸화 시약을 제거한다. (버리는 과정을 5회 반복한다).
- [0658] h) 잔류하는 고체를 칼럼 크로마토그래피로 정제한다 (용출제: 에틸 아세테이트, 아세톤, 메틸렌 클로라이드 조

용매)

i) 이량체는 백색 고체로서 수득한다.

이량체 아미데이트를 사용하는 이메텔스타트 합성

5개의 이량체 아미데이트는 이메텔스타트의 합성을 위한 빌딩 블록으로서 단량체 아미데이트 대신사용하였고 그 결과를 단량체의 아미데이트로부터 수득된 결과와 비교하였다. C 뉴클레오사이드를 이메텔스타트로 커플링시키기 위해, 단량체 빌딩 블록은 하기의 서열에 도시된바와 같이 사용하였다. 상기 합성은 Akta Oligopilot 100을 사용하여 140 μmole 스케일로 수행하였다.

5'R-TA GG GT TA GA C AA-NH₂ 3' (서열번호 3)

이량체 아미데이트는 이메텔스타트를 제조하기 위해 빌딩 블록으로서 사용하였다. 표 5a 및 5b에 열거된 시약 및 합성 파라미터를 사용하여, 5개의 이량체 아미데이트 (AA, TA, GG, GA, 및 GT) 및 상기된 바와 같은 하나의 단량체 아미데이트(c)를 커플링하여 낮은 로딩 CPG (PALM 0051, 64.6 $\mu\text{mol/g}$) 상에 이메텔스타트 서열을 제조한다. 커플링 시간은 500 초이고 10당량의 아미디트를 사용하였다. 고형상 합성 후, 지지체는 15시간 동안 에탄올성 암모늄 용액 (NH₄OH:EtOH=3:1(v/v))으로 65°C에서 처리한다. 조 생성물은 용매 증발에 의해 분리하고 UV 분광측정기 및 HPLC에 의해 분석한다.

표 5. 올리고뉴클레오타이드 합성에 대한 예시적 합성 파라미터 (A) 및 시약 조성물 (B). ACN은 아세토니트릴이다. DCA는 디클로로아세트산이다. PADS는 페닐아세틸 디설파이드이다. ETT는 5-에틸티오-1H-테트라졸이다.

A

B

단계	시약	시간	RPM	M
1	Wash	3.5	300	☐
2	Gas	4.0	400	
3	Debl	3.4	350	☐
4	Debl	2.0	250	☐
5	DWash	60.0		
6	Wash	12.0	350	☐
7	Activ	3.0	250	
8	COUPL			
9	Wash	300.0		
10	COUPL			
11	Activ	1.3	150	
12	Wash	200.0		
13	Wash	3.0	300	☐
14	Oxid	10.0	350	
15	Wash	300.0		
16	Oxid	10.0	350	
17	Wash	300.0		
18	Wash	6.0	350	☐
19	CapA	3.0	200	
20	CapB	1.5	150	
21	DWash	1.5		
22	CapA	1.5	150	
23	CapB	1.5	150	
24	DWash	1.5		
25	Wash	4.0	350	☐

시약 명칭	조성물
탈블록	톨루엔 중 5% DCA
아미디트	ACN 중의 0.2M
활성화제	ACN 중 0.5M ETT
티올화	ACN:LTD=1:1 중 0.2M PADS
Cap A	ACN 상의 20% NMI
Cap B	IBUA:LTD:ACN=1:1:8
DEA	ACN 중 20% DEA

Akta Oligopilot 100을 사용하여, 140 μmole 스케일 상에서 합성 전개는 단량체 블록 방법 및 이량체블록 블록 방법을 사용하여 수행하였다. 합성 전개를 위한 합성 조건은 표 5a-b에 열거된 것들과 유사하였다.

[0667] 표 6. 140 μ mole 스케일 합성 (AKTA Oligopilot 100)을 위한 합성 파라미터

파라미터		단량체를 사용하는 이메텔스타트 합성	이량체를 사용한 이메텔스타트 합성
탈블록 (톨루엔 중 5% DCA)	CT (min)	3 min (2 및 6 min)	3 min
	CV	11.2 CV	
	선형 유속 (cm/hr)	450 cm/hr	
커플링	아미데이트	0.1M, 2.5eq (마지막 2: 3.0eq)	0.1M, 2.5eq (마지막 AA: 3.0eq)
	활성화제	0.5M ETT (아미데이트:활성화제, 4:6)	
	제 1 커플링	이중 커플링	
	통류물에 대한 CT (min)	1.8 min	
	재활용을 위한 CT (min)	1.8 min (제 1: 4 min)	
티올화 (0.1M PADS AN:LTD=9:1 중)	CT (min)	5.27 min	
	CV	3.5 CV	
	선형 유속 (cm/hr)	80 cm/hr	
캡핑 (캡 A: AN 중 20% NMI, 캡 B: IBUA:LTD:AN =1:1:8)	CT (min)	1 min (제 1: 2 min)	
	CV	1 CV (제 1: 2 CV)	
	선형 유속 (cm/hr)	120 cm/hr	
DEA (AN 중 20% DEA)	CT (min)	10 min	
	CV	4.3 CV	
	선형 유속 (cm/hr)	52 cm/hr	

[0668]

[0669] HPLC-MS에 의한 올리고뉴클레오타이드의 분석은 5개의 이량체 블록이 합성을 위해 사용되는 경우FLP(전장 생성물) 순도가 상당히 개선되어 표 7 및 8에서 요약된 바와 같은 HPLC에 의한 순도가 72%임을 보여주었다. 단량체 블록을 사용하여 제조된 조 올리고는 단지 순도가 45% FLP임을 보여주었다. 추가로, 총 OD (광학 밀도)는 5,299에서 11,623으로 2배 이상 증가하여 조 수율은 3.34g/mmol이었다. (N-1) 생성물 수준 및 PO 내용물은 각각 11.2%에서 2.4%로 및 20%에서 5%로 감소하였다.

[0670] 이량체 블록을 사용한 이점은 제조 시간이 단축되고 고품상 합성 동안에 사용되는 용매 양이 감소됨을 포함한다.

[0671] 표 7. 140 μ mole 스케일 합성을 위한 분석 결과

특성		단량체 아미데이트를 사용한 이메텔스타트 합성	이량체 아미데이트를 사용한 이메텔스타트 합성
HPLC	FLP	44.4 %	74.0 %
	피크 1 후 (N-1) 생성물	11.0 %	2.4%
UV	TOD	5299	11623
	중량 (mg)	213 mg	468 mg
	g/mmol	1.52	3.34
LC/MS	FLP	70.3 %	71.9 %
	n-117	3.3 %	16.4 %
	n-133	6.5 %	6.7 %
	n-16	19.9 %	5.0 %

[0672]

[0673] 5개의 이량체 아미데이트의 합성은 성공적으로 완료되었고 수율은 1.7g 내지 3.4g으로 수득되는 5'-하이드록시-3'-아미노 뉴클레오사이드 또는 5'-하이드록시-3'-트리틸아미노 뉴클레오사이드로부터 9% 내지 19%이다. 각각의 단계에 대한 반응 조건의 최적화는 광범위하게 연구되지 않았다. 이메텔스타트의 이량체 블록 합성은 140 μ

mol 스케일 상에서 수행하였고 상기 결과는 단량체 아미테이트를 사용한 합성으로부터 수득된 데이터와 비교하였다. 이메텔스타트의 제조를 위한 이량체 블록 전략은 순도 및 수율이 상당히 개선되기 때문에 상당히 개선되는 것으로 나타났다: 예를 들어, 140 μ mol 스케일 (HPLC 순도: 이량체 74.0% (도 8), 단량체 44.4% (도 7), TOD에 의한 조 수율 (총 광학 밀도): 이량체 468 mg, 단량체 213 mg). 추가로, 보다 낮은 양의 npo 연결체가 생성되었고, 이는 이량체를 사용한 합성에서 커플링 단계가 보다 적었기 때문이다.

[0674] 이량체 대한 커플링 효율 (140 μ mol 스케일 합성)은 이량체 합성이 96% 커플링 효율을 가짐을 보인 반면 단량체 합성은 94% 이다. 이량체에 대한 단지 7개의 커플링이 있었기 때문에 이량체에 대한 FLP는 71.6% 였고, 이는 이론적으로 계산된 전장 생성물에 대한 72%에 근사치이고 13개 커플링을 갖는 단량체는 44%로 이론적으로 예측된 것에 대해 45.6%의 FLP인 것으로 보고되었다.

[0675] 표 8. 140 μ mol 스케일 합성을 위한 결과의 분석

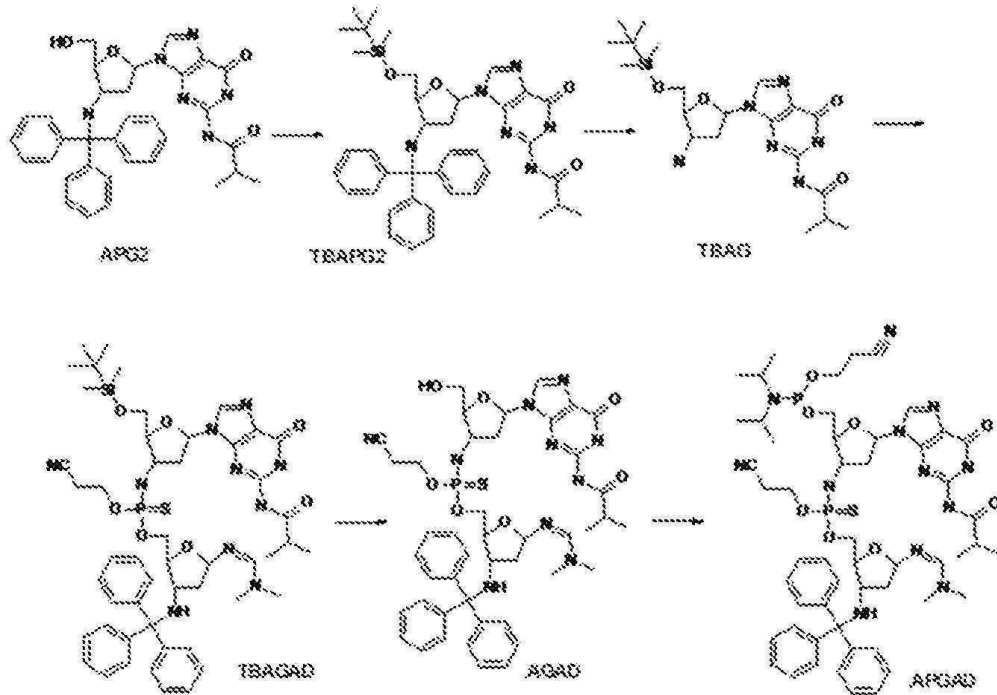
단량체 합성의 생성물	체류 시간 (min)	% 면적 단량체 합성	이량체 합성의 생성물	체류 시간 (min)	% 면적 이량체 합성
표적	38.2	44.4	표적	37.9	74.0
피크 1 후 N-1 (N-G)	39.8	11.0	피크 1 후 N-1 (N-C)	39.8	2.5
피크 2 후 N-2+iBu, N-2, N-G+페닐아세틸	41.2	6.3	피크 2 후 N-2+iBu, N-2, N-G+페닐아세틸	41.3	3.9
피크 3 후 N-2+페닐아세틸, N-3 (N-A-A-C)	42.9	6.9	피크 3 후 N-2+페닐아세틸, N-3 (N-A-A-C)	42.4	5.1
피크 4 후 N-3+페닐아세틸	44.7	6.0	피크 4 후 N-3+페닐아세틸	44.5	1.6
총 비-표적 올리고뉴클레오타이드	39.8 – 54.7	49.5	총 비-표적 올리고뉴클레오타이드	39.7 – 53.1	19.8

[0676]

[0677] "+페닐아세틸"은 산화 시약과의 반응으로부터 유래된 생성물을 나타낸다

[0678] 보다 적은 커플링 단계를 사용하는 이메텔스타트 합성은 상당히 보다 높은 전장 생성물 순도 및 수율들을 제공한다. 불순물의 분리는 이메텔스타트의 보다 용이한 정제를 제공하고, 여기에는 보다 높은 순도의 이메텔스타트를 갖는 조성물을 제조하기 위한 HPLC에서 주요 피크 근처에서 근접하여 전개하는 적은 양의 소수 생성물이 있다. 상기 개선은 이메텔스타트 나트륨의 제조를 위한 상품의 비용을 저렴하게 하는 것이 요구될 수 있고, 예를 들어, 상품의 비용은 제조 스케일에서 수행되는 경우 30-40% 적을 수 있다.

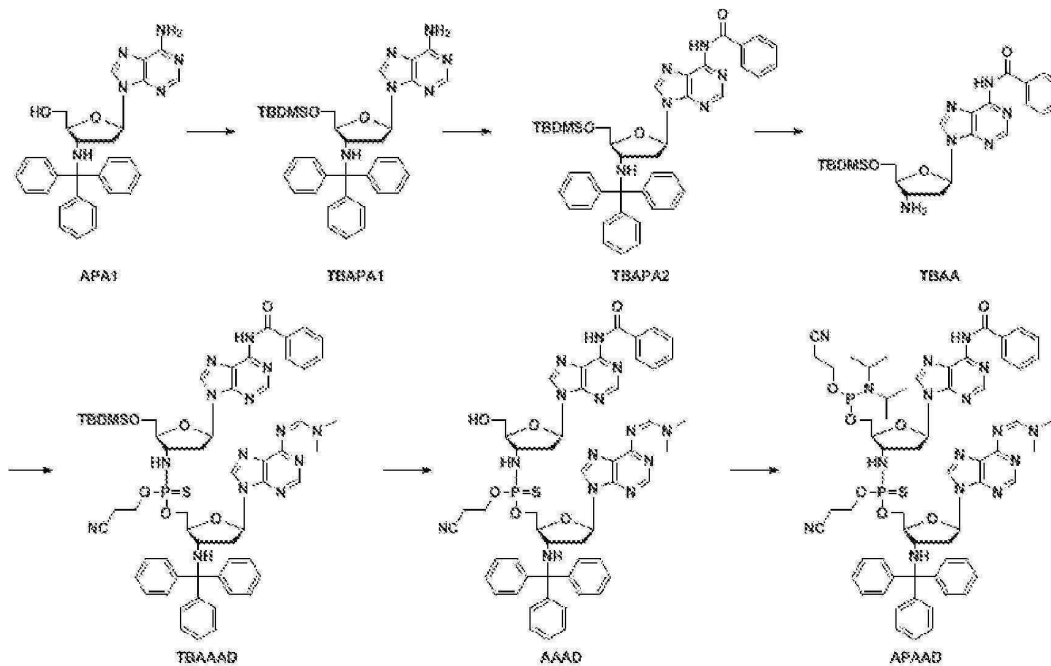
[0679] 반응식 2. GA 이량체 아미데이트의 합성 반응식



[0680]

[0681] 85g의 TBAG는 반응식 2에 나타난 단계를 통해 본원에 기재된 방법에 따라 300g의 APG2로부터 제조하였다.

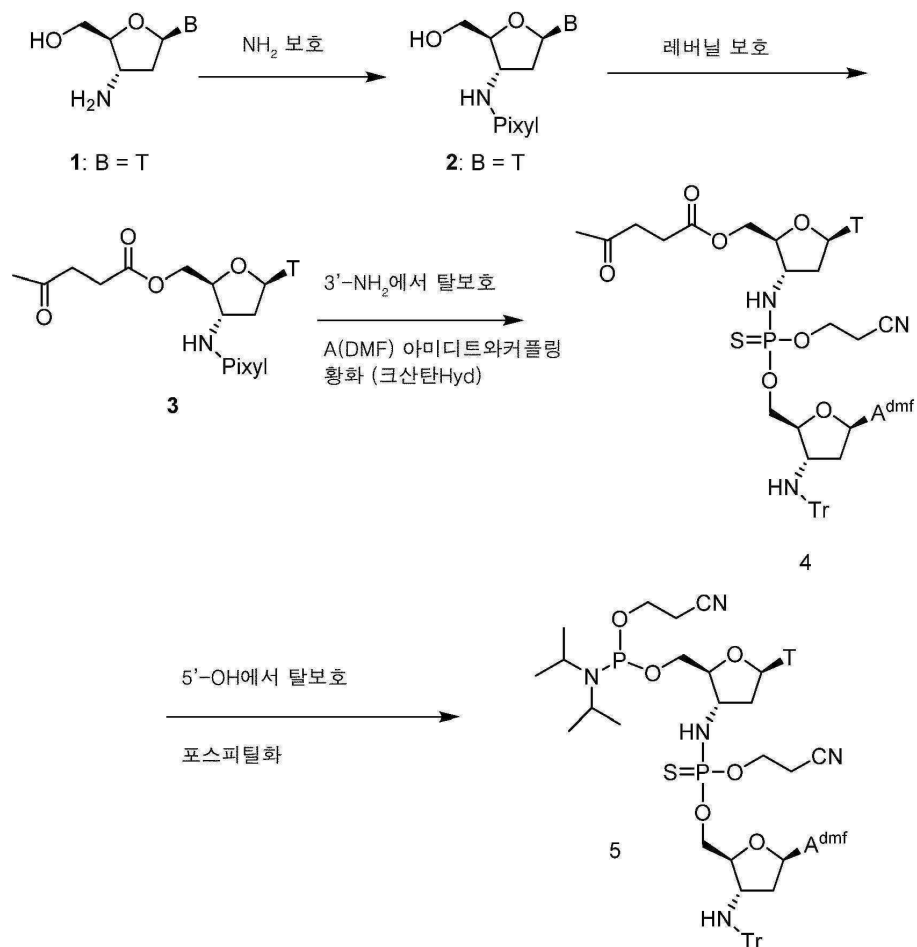
[0682] 반응식 3. AA 이량체 아미데이트의 합성 반응식



[0683]

[0684] 430 g의 TBAPA1은 800g의 조 APA1로부터 수득하였고 (순도: 46%), 이는 반응식 3에 보여지는 단계를 통해 본원에 기재된 방법에 따라 수행하였다.

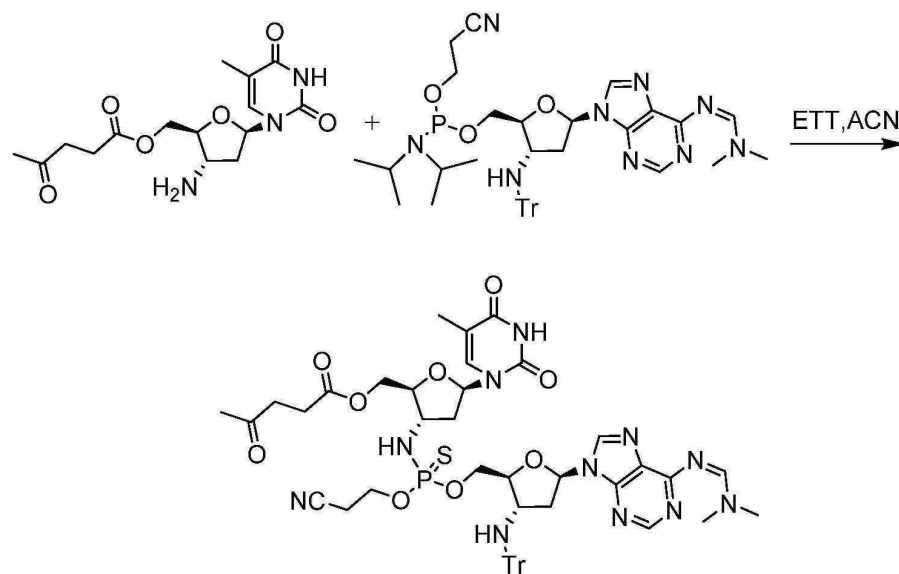
[0685] 반응식 4. TA 이량체 아미데이트의 합성.



[0686]

[0687] TA 이량체 아미데이트 (5)는 100mg에서 1g까지의 합성 스케일에서 반응식 4에 보여지는 단계를 통해 본원에 기재된 방법에 따라 제조하였다.

[0688] 반응식 5. 이량체 아미데이트 합성 동안에 커플링 및 황화



[0689]

[0690] 표 9. 이량체 아미데이트 합성 동안에 커플링 및 황화

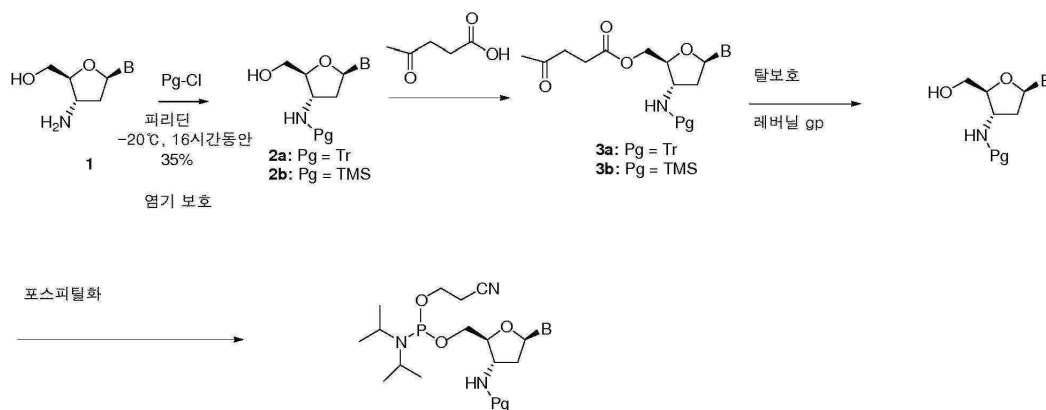
엔트리	출발 물질 양	Mol. 시약의 당량	용매 유형 및 양	반응 시간/온도	Pdt. 수율 중량	분석
1	100 mg	ETT (1.0 eq), 크산탄 수소화물 (2.0 eq), 피리딘 (1.5 mL)	아세트니트릴 (5.0 mL)	3 + 2 h 동안 RT.	300mg (조)	LCMS
2	100 mg	0.4M ETT (2.0 mL), 크산탄 수소화물 (1.2 eq), 피리딘 (2.0 mL)	순수	3 + 2 h 동안 RT.	350mg (조)	LCMS

[0691]

[0692] 다양한 뉴클레오사이드 단량체는 이량체 화합물의 제조에 사용되는 본원에 기재된 방법에 따라 제조하였다.

[0693]

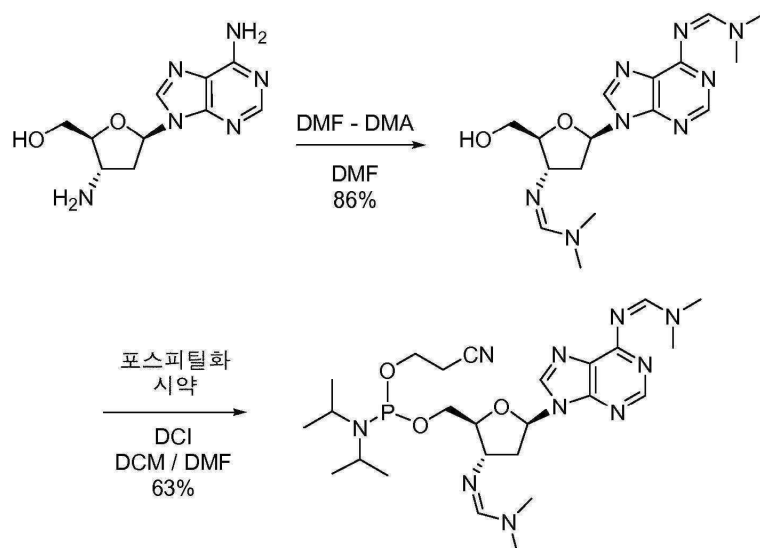
반응식 6: 레불리네이트 보호된 단량체의 합성



[0694]

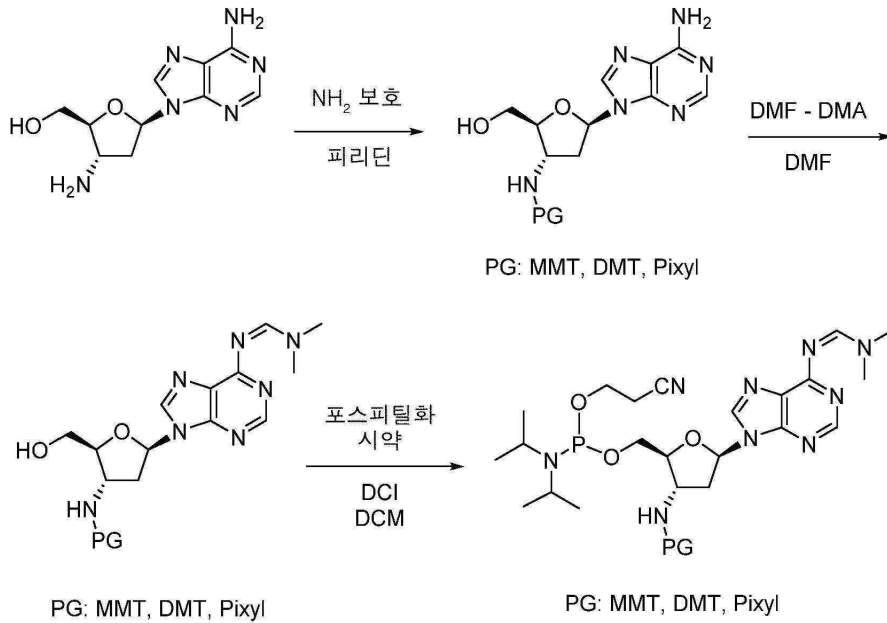
[0695]

반응식 7: 비스-DMF A 아미디트의 합성



[0696]

[0697] 반응식 8: MMT, DMT 및 픽실 단량체 (A 아미디트)에 대한 합성 반응식:



[0698]

아미디트 A^{dmf} (MMT)	3'- 모노메톡시트리틸아미 노-N ₆ - 디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	
아미디트 A^{dmf} (픽실)	3'-(디메틸-치환된 픽실)아미노-N ₆ - 디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	
아미디트 A^{dmf} (DMT)	3'- 디메톡시트리틸아미노- N ₆ -디메틸포름아미디노- 2',3'-디데옥시아데노신- 5'-(2-시아노에틸)-N,N- 디이소프로필 포스포르아미디트	

[0699]

[0700]

본 발명은 이의 특정 구현예를 참조로 기재되었지만 이는 다양한 변화가 본 발명의 진정한 취지 및 범위부터 벗어나는 것 없이 만들어질 수 있고 이의 등가물이 대체될 수 있다는 것은 당업자에 의해 이해될 것이다. 추가로, 많은 변형은 특정 상황, 물질, 물질의 조성물, 공정, 공정 단계 또는 단계들을 본원 발명의 목적, 취지 및 범위에 맞게 하기 위해 만들어 질 수 있다. 모든 상기 변형은 여기에 첨부된 청구항의 범위 내에 있는 것으로

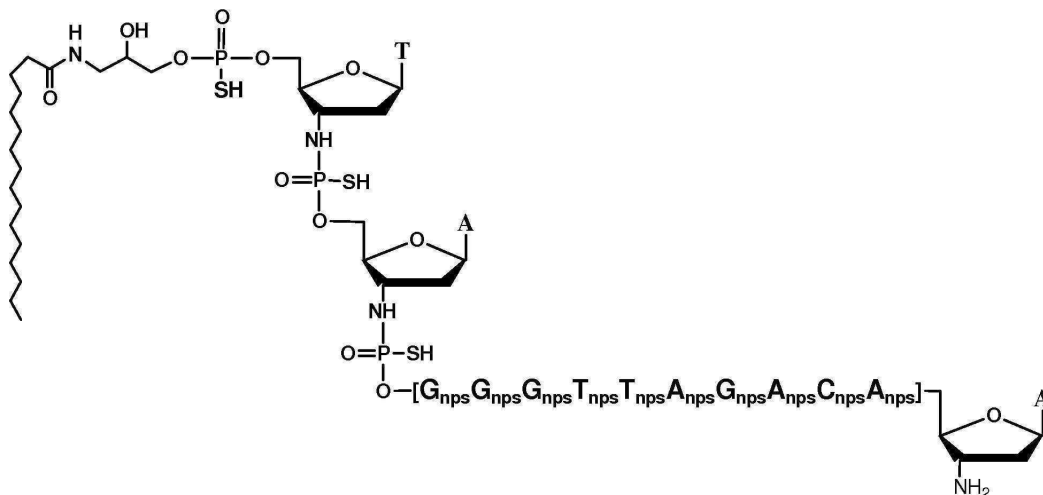
의도된다.

[0701] 구현예

[0702] 본원의 개시 내용은 화합물 또는 그것의 염에 상대적으로 (N-1) 생성물의 **4 중량부** 중 1 미만의 중량부를 갖는 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 화합물은 10개 이상의 뉴클레오사이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고 상기 뉴클레오사이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결되어 있다. 조성물의 일부 구현예에서, 상기 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체는 하기 구조를 갖는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체이다: 3'-NH-P(S)(OR)-O-5' 식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹, 또는 그것의 염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0703] 조성물의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오사이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 조성물의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 13개 이상의 뉴클레오사이드 서브유니트를 포함하는 서열을 포함한다. 조성물의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 3 내지 50개 연속 뉴클레오사이드 서브유니트를 포함한다. 조성물의 일부 구현예에서, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오사이드 서브유니트는 모두 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된다. 조성물의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열을 포함한다: GTTAGGGTTAG (서열번호 4), TAGGGTTAGACAA (서열번호 3) 및 CAGTTAGGGTTAG (서열번호 5). 조성물의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 3' 아미노 또는 3' 하이드록실 말단 그룹을 포함한다.

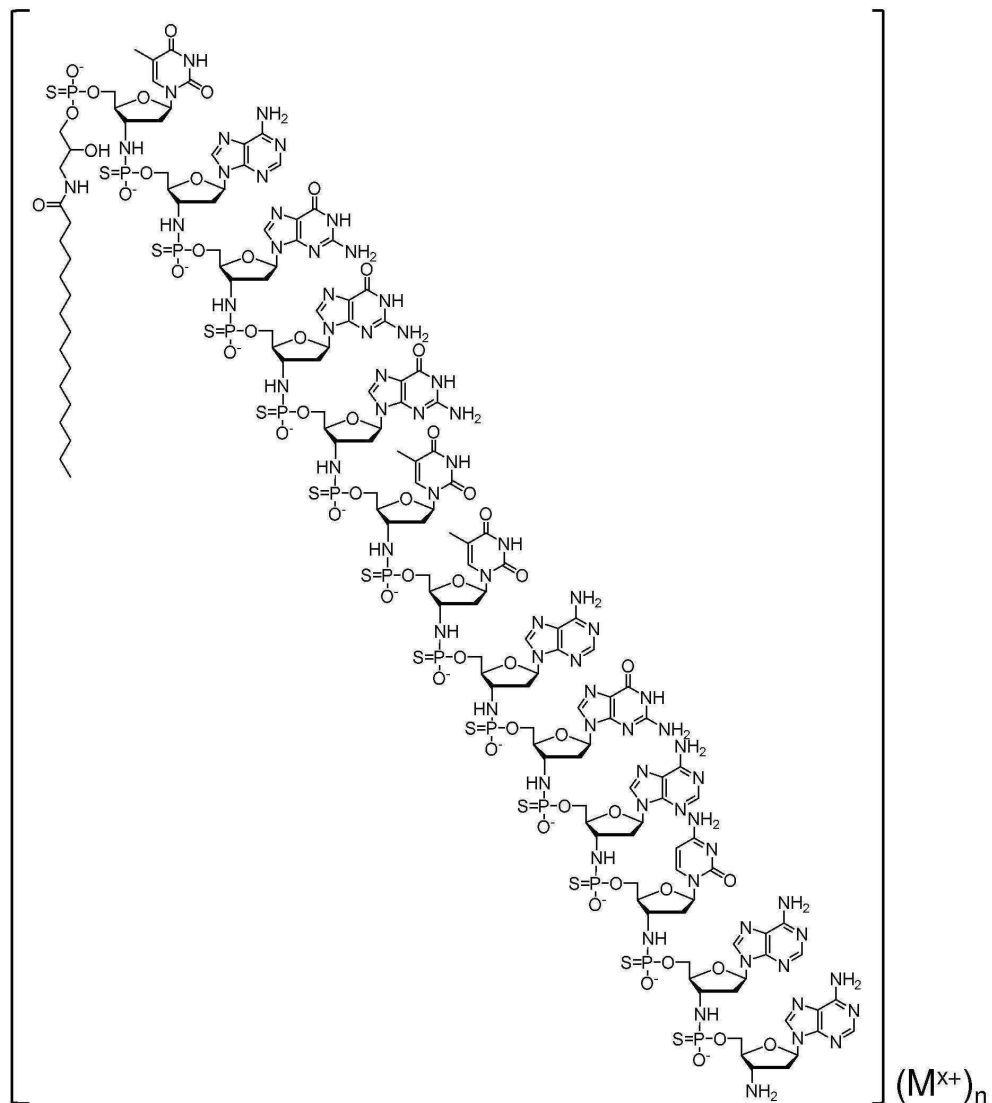
[0704] 조성물의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조:



[0705]

[0706] 또는 그것의 염을 가지며; 식 중, "nps"는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포르아미데이트 연결체 -NH-P(=O)(SH)-O-를 나타낸다. 조성물의 일부 구현예에서, 상기 염은 약제학적으로 허용되는 염이다.

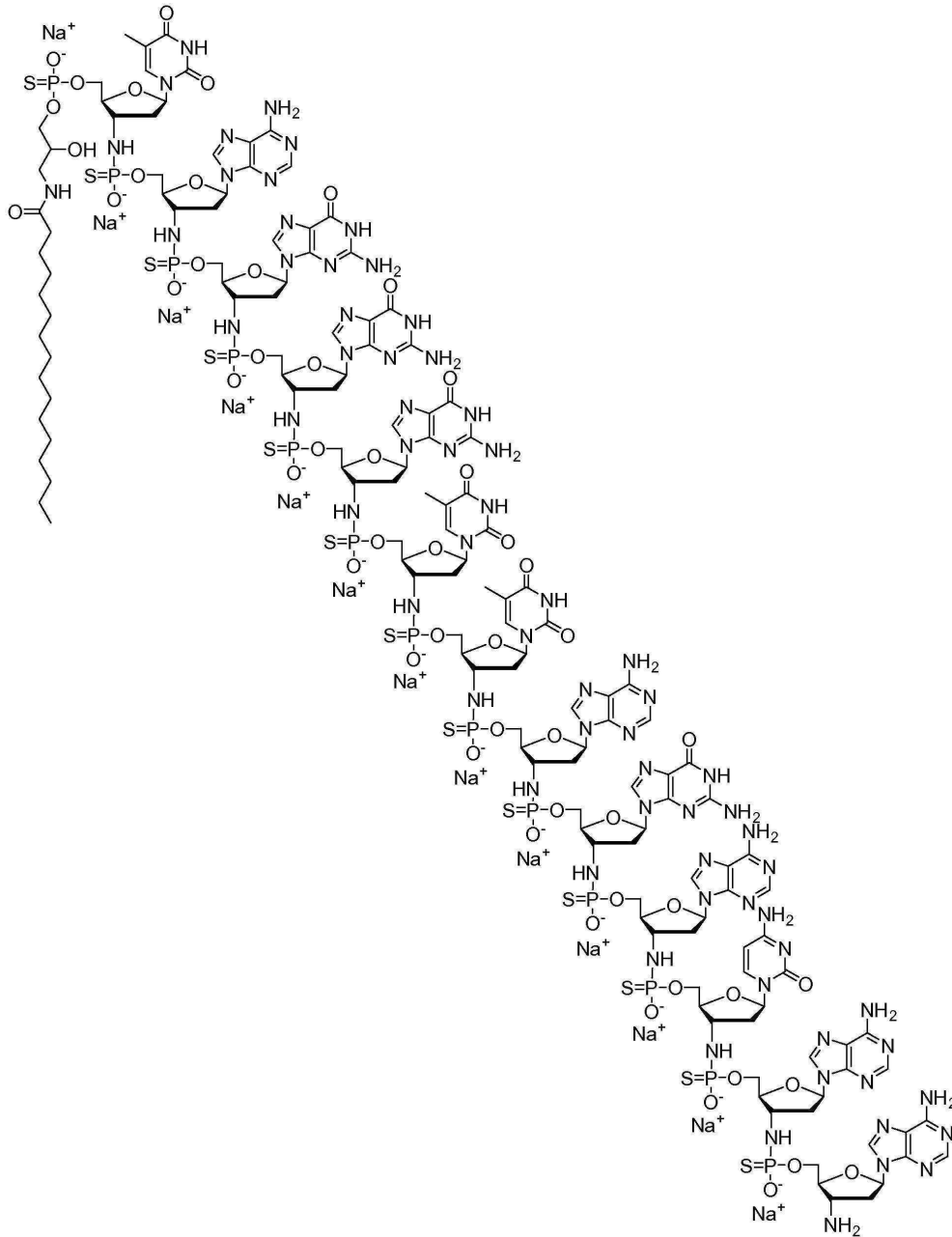
[0707] 조성물의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조를 갖는다:



[0708]

[0709] 식 중, 각각의 M^{x+} 는 독립적으로 수소 또는 염의 짝이온이고, 각각의 x 는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n 은 5 내지 13의 정수이다. 특정 경우에, M^{x+} 는 수소이다.

[0710] 조성물의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조를 갖는다:



[0711]

[0712] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 6중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 10중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 20중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 상기 화합물에 상대적으로 임의의 (N-x) 생성물의 4 중량부 중 1 미만의 중량부를 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 상기 화합물에 상대적으로 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 총 100 중량부 중 40 미만의 중량부를 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 조성물은 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 하기의 프로필을 갖는다: 상기 화합물에 상대적으로 (N-1) 생성물의 4 중량부 중 1 미만의 중량부; 상기 화합물에 상대적으로 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 100 중량부 중 적어도 10중량부를 갖는다.

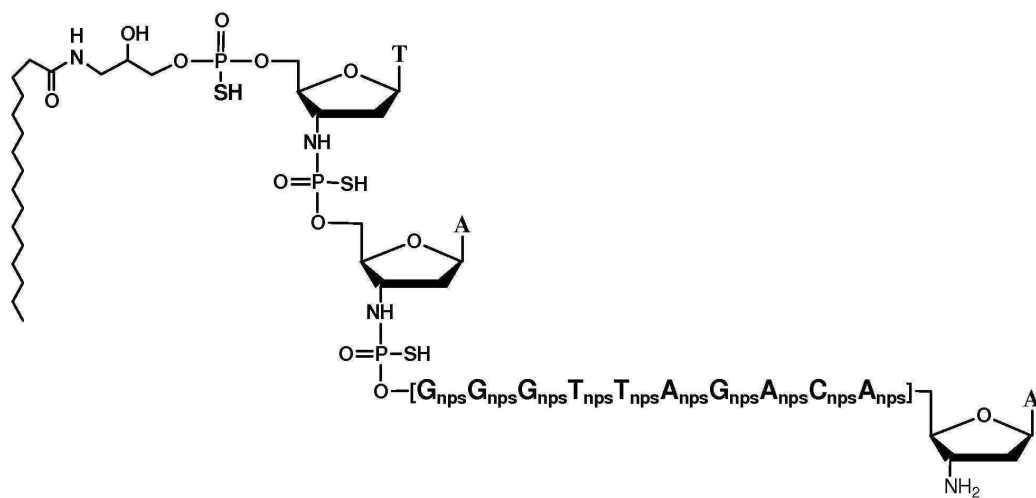
[0713] 본원 발명의 개시 내용은 (N-1) 생성물의 11중량% 미만을 갖는 화합물 활성 억제학적 성분을 제공하고, 여기서, 상기 화합물 또는 이의 억제학적으로 허용되는 염은 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 이상의 뉴클레오타이드 서브유니트의 서열을 갖는 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서, 뉴클레오타이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 포스포라미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된다.

[0714] 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 뉴클레오타이드 서브유

니트는 모두 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체에 의해 연결된다. 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체는 하기 구조를 갖는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유닛 연결체이다: 3'-NH-P(S)(OR)-O-5' 식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹 또는 이의 억제학적으로 허용되는 염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0715] 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분에 상보적인 10개 내지 50개 연속 뉴클레오사이드 서브유닛을 포함한다. 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 서열을 포함한다: GTTAGGGTTAG (서열번호 4); TAGGGTTAGACAA (서열번호 3); 및 CAGTTAGGGTTAG (서열번호 5). 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 3' 아미노 또는 3'-하이드록실 말단 그룹을 포함한다.

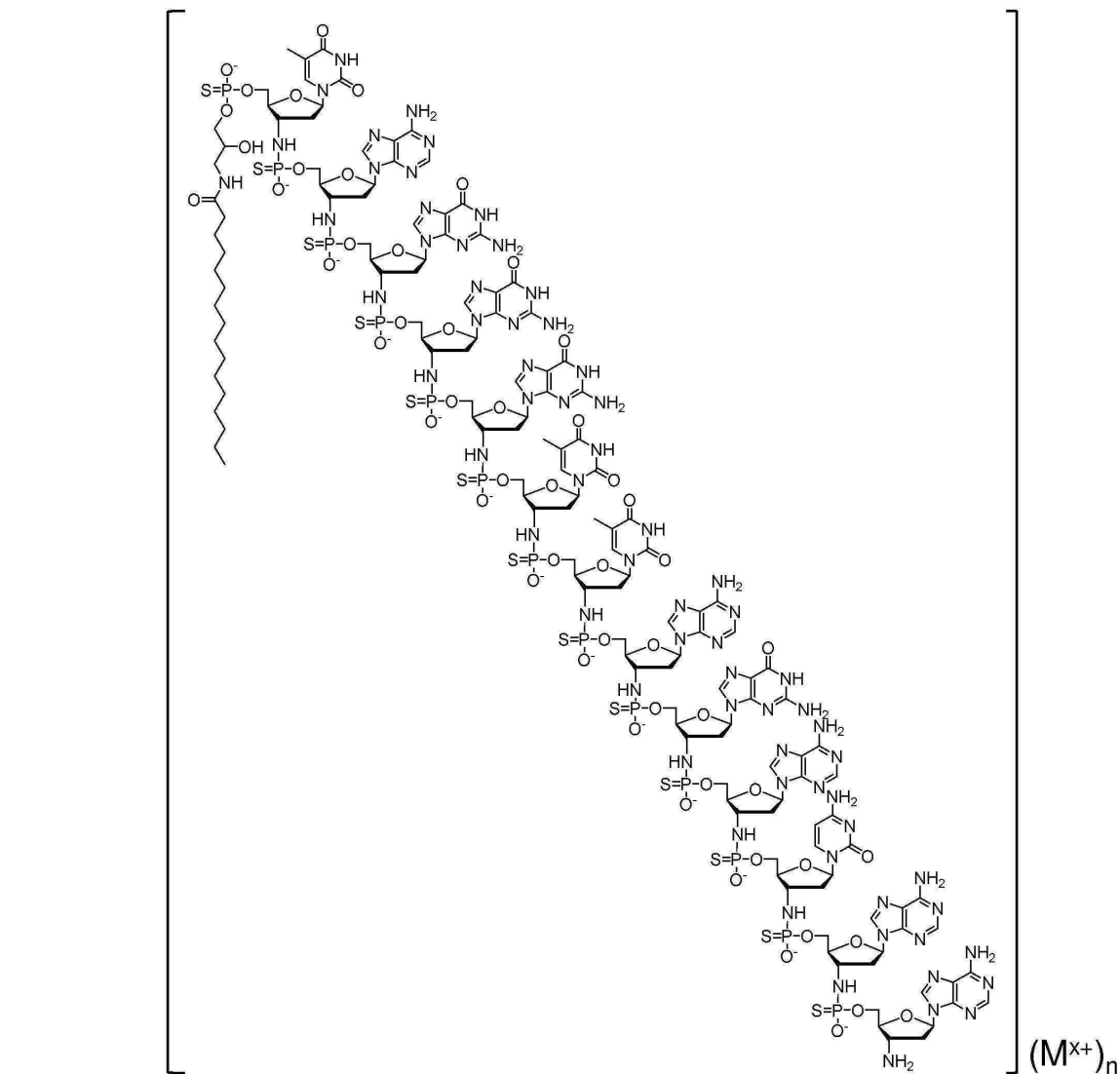
[0716] 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기:



[0717]

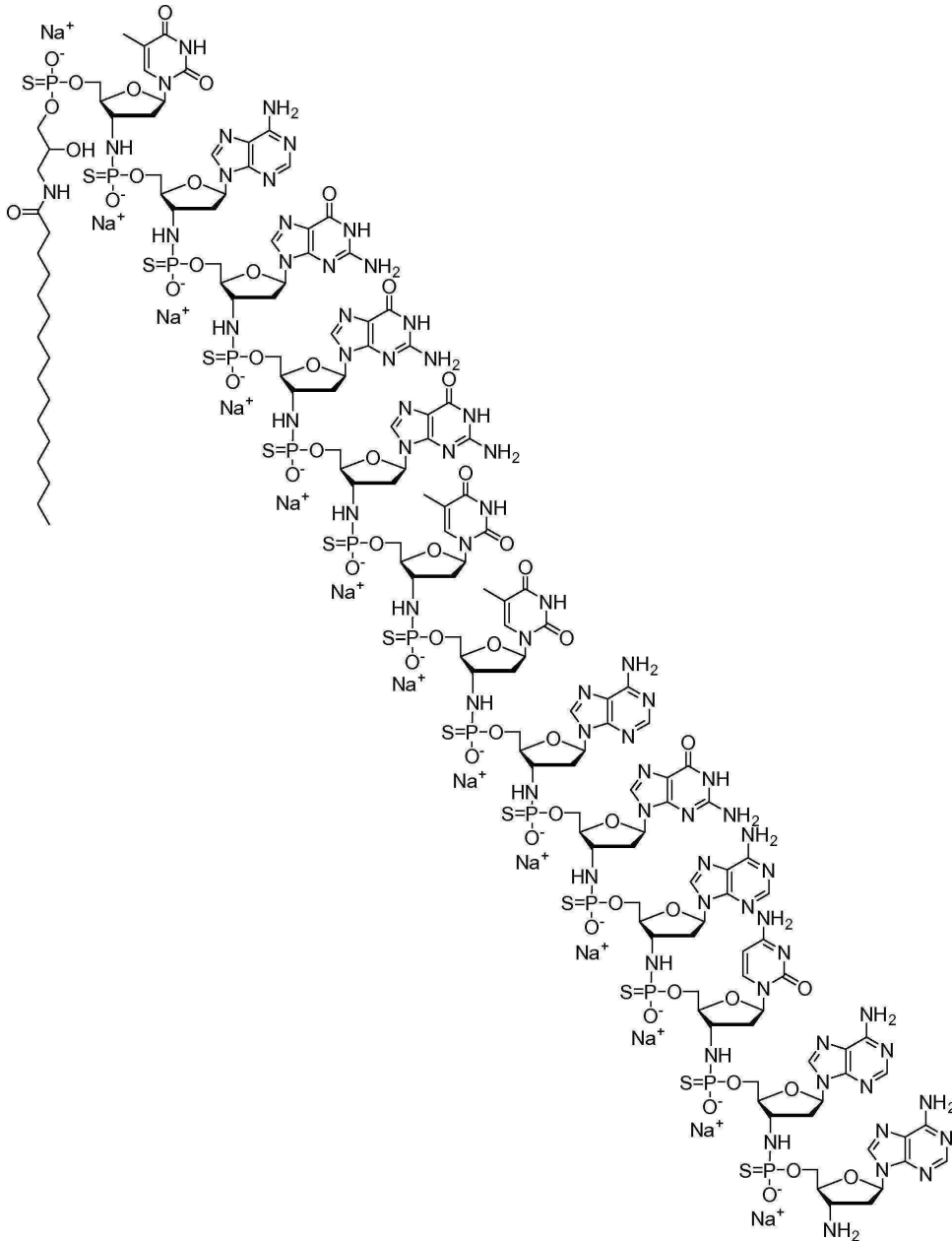
[0718] 또는 그것의 억제학적으로 허용가능한 염을 가지며; 식 중, "nps"는 하나의 뉴클레오타이드 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포르아미데이트 연결체 -NH-P(=O)(SH)-O-를 나타낸다.

[0719] 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조를 갖는다:



식 중, 각각의 M^{x+} 는 독립적으로 수소 또는 억제학적으로 허용되는 염의 짝이온이고, 각각의 x 는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n 은 5 내지 13의 정수이다. 특정 경우에, M^{x+} 는 수소이다.

[0722] 화합물 활성 억제학적 성분의 일부 구현예에서, 상기 화합물은 하기의 구조를 갖는다:



[0723]

[0724] 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 9중량% 미만을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-1) 생성물의 5중량% 미만을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 임의의 (N-x) 생성물의 11% 미만을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 총 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 45중량% 미만을 갖는다. 일부 구현예에서, 상기 화합물 활성 억제학적 성분은 (N-x) 폴리뉴클레오타이드-함유 생성물의 하기프로필을 갖는다: (N-1) 생성물의 5중량% 미만; 및 (N-2) 및 (N-3) 생성물의 적어도 10중량%.

[0725]

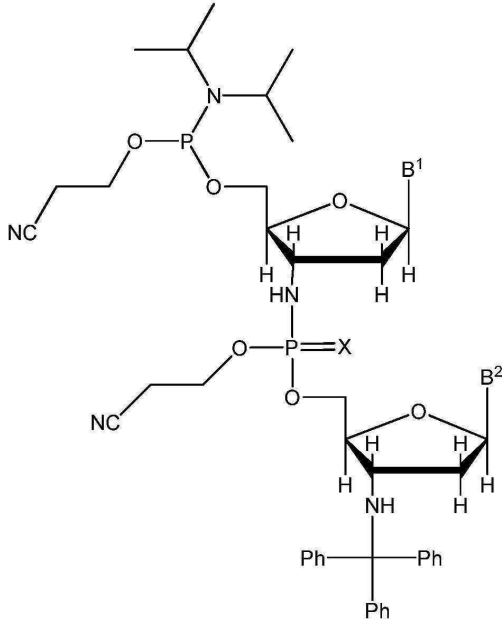
또한 억제학적으로 허용되는 부형제에 제형화된 조성물(예를 들어, 본원에 기재된 구현예 중 임의의 하나의)을 포함하는 억제학적 조성물이 제공된다. 또한 억제학적으로 허용되는 부형제 중에 제형화된 화합물 활성 억제학적 성분(예를 들어, 본원에 기재된 구현예 중 임의의 하나의)를 포함하는 억제학적 조성물이 제공된다.

[0726]

본원의 기재 내용은 폴리뉴클레오타이드를 합성하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 하기의 단계를 포함한다: (a) 고형상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오타이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 유리된 3' 아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포라미데이트-5'-포스포라미데이트 이량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포라미데이트 연결체를 형성하는 단계; 및 (c) 상기 연결체를 산화시키는 단계.

[0727] 일부 구현예에서, 상기 방법은 다음을 추가로 포함한다: (a) 고정상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 3' 아미노 그룹을 친핵성 촉매의 존재하에 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포르아미디트 단량체와 접촉시켜 상호 뉴클레오사이드 N 3'→P5' 포스포르아미디트 연결체를 형성하는 단계; 및 (c) 상기 연결체를 산화시키는 단계. 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 연결체를 산화시키는 것은 황화시켜 티오포스포르아미데이트 연결체를 생성함을 포함한다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 연결체의 산화는 옥소포스포르아미데이트 연결체를 생성한다.

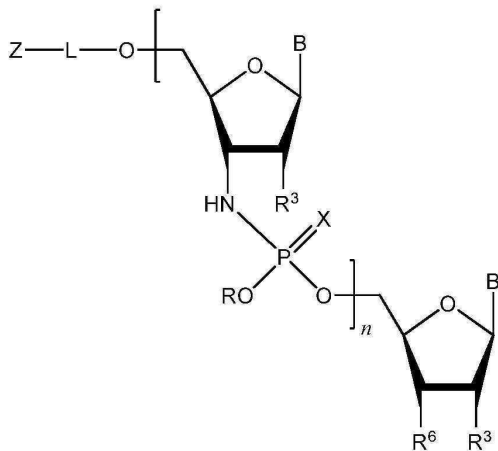
[0728] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트 -5'-포스포르아미디트 이량체는 하기의 화학식을 갖는다:



[0729]

[0730] 식 중, X는 O 또는 S이고 B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체인, 방법. 상기 방법의 일부 구현예에서, B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택된다. 상기 방법의 일부 구현예에서, B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(isobutyryl), T 및 U로부터 선택된다. 상기 방법의 일부 구현예에서, X는 S이다.

[0731] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드 또는 그것의 염은 하기 화학식을 갖는다:



[0732]

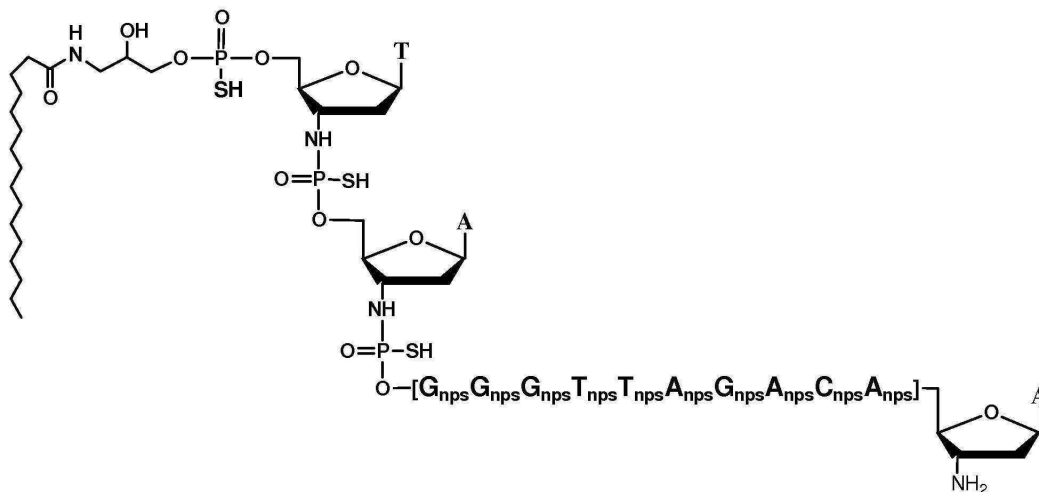
[0733] 식 중: 각각의 B는 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘 또는 이의 유사체이고; 각각의 X는 독립적으로 산소 또는 황이고; 각각의 R³은 수소, 플루오로, 또는 하이드록실, 알콕시, 치환된 알콕시 또는 보호된 하이드록실이고; L은 임의의 링커이고; Z는 H, 지질, 지지체, 담체, 올리고뉴클레오타이드, PEG, 폴리펩타이드, 검출가능한 표지, 또는 태그이고; R⁶은 아미노, 하이드록실, 보호된 아미노, 보호된 하이드록시,

-O-L-Z 또는 -NH-L-Z이고; R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴, 또는 포스페이트 보호 그룹이고; n은 1 내지 1000의 정수이고; 상기 방법은 하기의 단계를 포함한다: (a) 고행상 지지체에 부착된 말단 뉴클레오사이드의 보호된 3' 아미노 그룹을 탈보호하여 유리된 3' 아미노 그룹을 형성하는 단계; (b) 유리된 3' 아미노 그룹을 하기 중 어느 하나: (i) 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포르아미데이트-5'-포스포르아미데이트 이량체; 또는

[0734] (ii) 3'-보호된 아미노뉴클레오사이드-5'-포스포르아미데이트 단량체와 친핵성 촉매의 존재하에 반응시켜 상호 뉴클레오사이드 N3'→P5' 포스포르아미데이트 연결체를 형성하는 단계; (c) 상기 연결체를 산화시키는 단계; 및 (d) 상기 폴리뉴클레오타이드가 합성될 때까지 단계 (a) 내지 (c)를 반복하는 단계(여기서, 상기 단계 (a) 내지 (c)를 반복하는 단계가 단계(b)(i)를 적어도 1회 수행함을 포함한다).

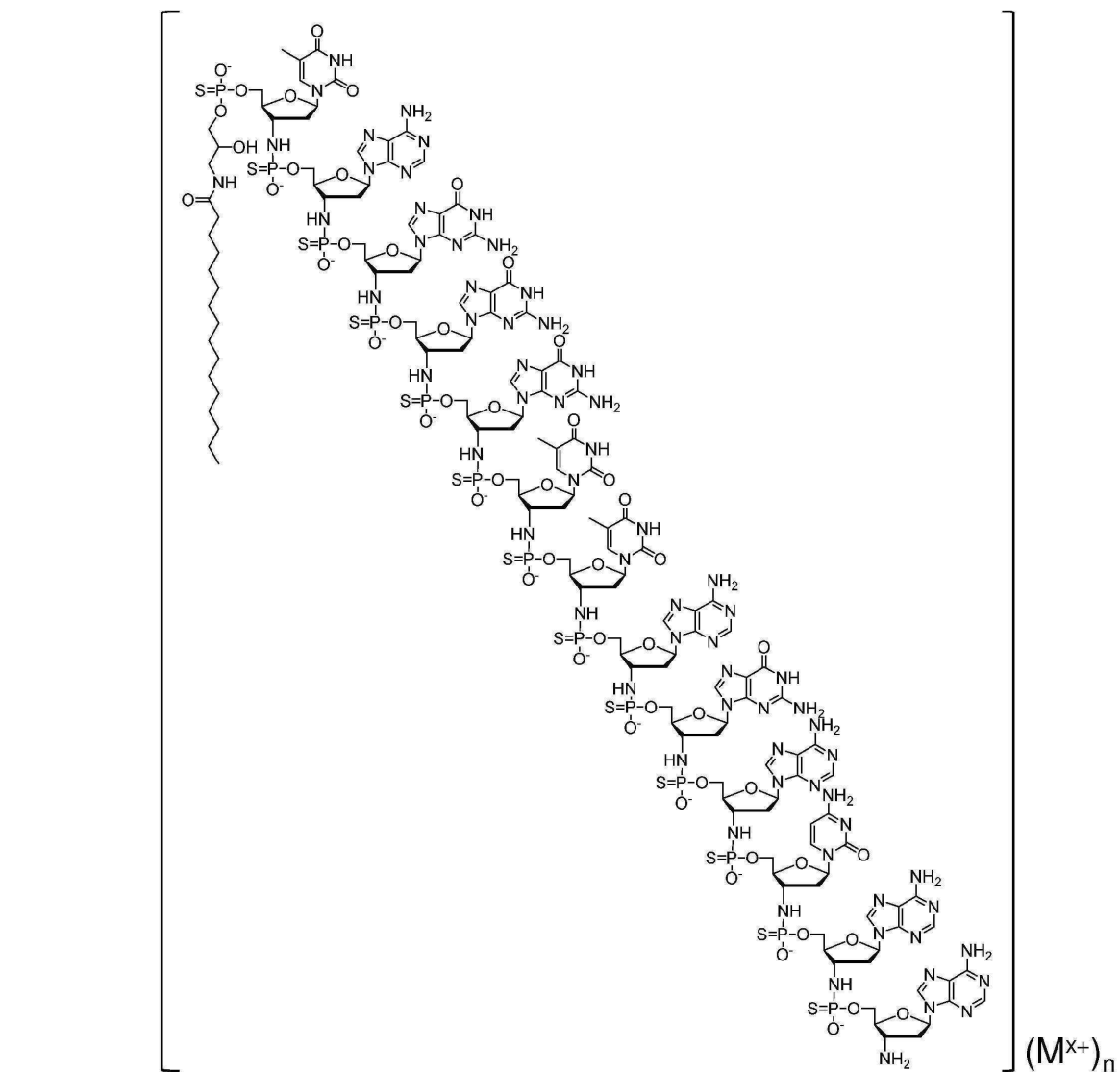
[0735] 방법의 일부 구현예에서, 연결체를 산화시키는 단계는 황화시켜 티오포스포르아미데이트 연결체를 생성함을 포함한다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 연결체의 산화는 옥소포스포르아미데이트 연결체를 생성한다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 인간 텔로머라제의 RNA 성분 상보적인 뉴클레오사이드 서브유니트의 서열을 포함하고, 여기서, 뉴클레오사이드 서브유니트의 적어도 2개는 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체에 의해 연결된다. 상기 방법의 일부 구현예에서, N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체는 하기의 구조를 갖는 N3'→P5' 티오포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체이다: 3'-NH-P(S)(OR)-O-5' 식 중, R은 수소, 알킬, 치환된 알킬, 아릴, 치환된 아릴 및 포스페이트 보호 그룹 또는 그것의 염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0736] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 서열 TAGGGTTAGACAA를 포함한다. 상기 방법의 일부 구현예에서, TAGGGTTAGACAA 서열의 모든 상호 뉴클레오사이드 상호 서브유니트 연결체는 N3'→P5' 포스포르아미데이트 상호 서브유니트 연결체이다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 하기의 구조:



[0737] 또는 그것의 염을 가지며; 식 중, "nps"는 하나의 뉴클레오사이드의 3'-탄소를 인접한 뉴클레오사이드의 5'-탄소로 연결하는 티오포스포르아미데이트 연결체 -NH-P(=O)(SH)-O-를 나타낸다.

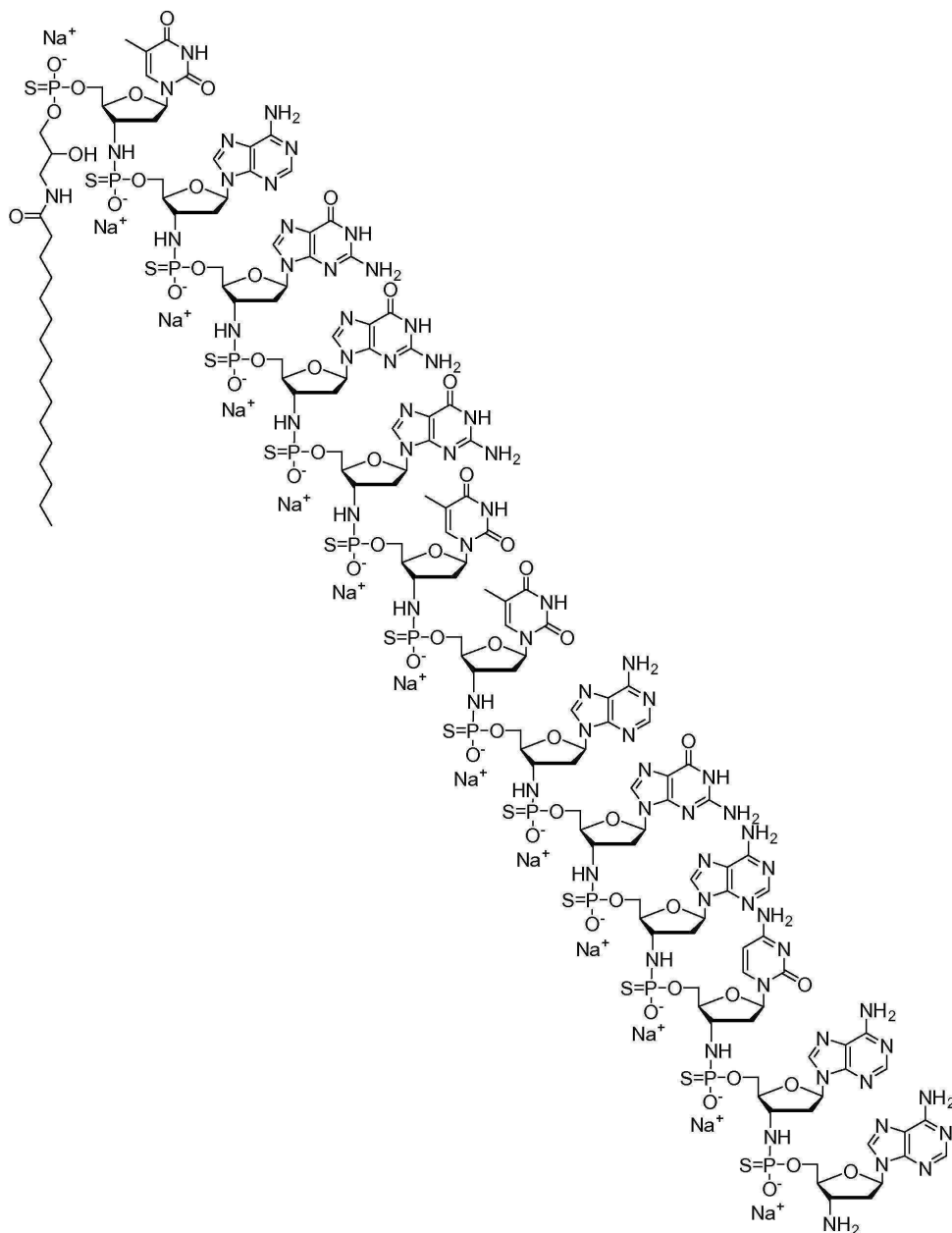
[0739] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 하기의 구조를 갖는다:



[0740]

[0741] 식 중, 각각의 M^{x+}는 독립적으로 수소 또는 약제학적으로 허용되는 염의 짝이온이고, 각각의 x는 독립적으로 1, 2 또는 3이고 n은 5 내지 13의 정수이다. 특정 경우에, M^{x+}는 수소이다.

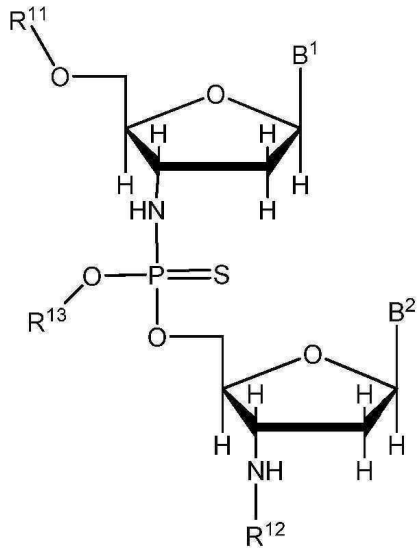
[0742] 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 하기의 구조를 갖는다:



[0743]

[0744] 상기 방법의 일부 구현예에서, TAGGGTTAGACAA 서열의 C11 뉴클레오타이드 잔기는 3'-보호된 아미노뉴클레오타이드-5'-포스포라미디트 단량체로부터 유래한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 하기의 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 티오포스포라미데이트-5'-포스포라미디트 이량체 TA, GG, GT, TA, GA 및 AA 및 3'-보호된 아미노뉴클레오타이드-5'-포스포라미디트 단량체 C의 고품상 지지체로의 연속적 커플링을 포함한다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 3'-보호된 아미노-디뉴클레오타이드 포스포라미디트-5'-포스포라미디트 이량체는 하기의 화학식 X^1X^2 로 나타내고, 여기서, X^1 및 X^2 는 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택된다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 상기 3'-보호된 아미노뉴클레오타이드-5'-포스포라미디트 이량체는 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택된다.

[0745] 본원의 개시 내용은 화학식 (II)로 나타낸 디뉴클레오타이드 티오포스포라미데이트 화합물 또는 그것의 염을 제공한다:



화학식 (II)

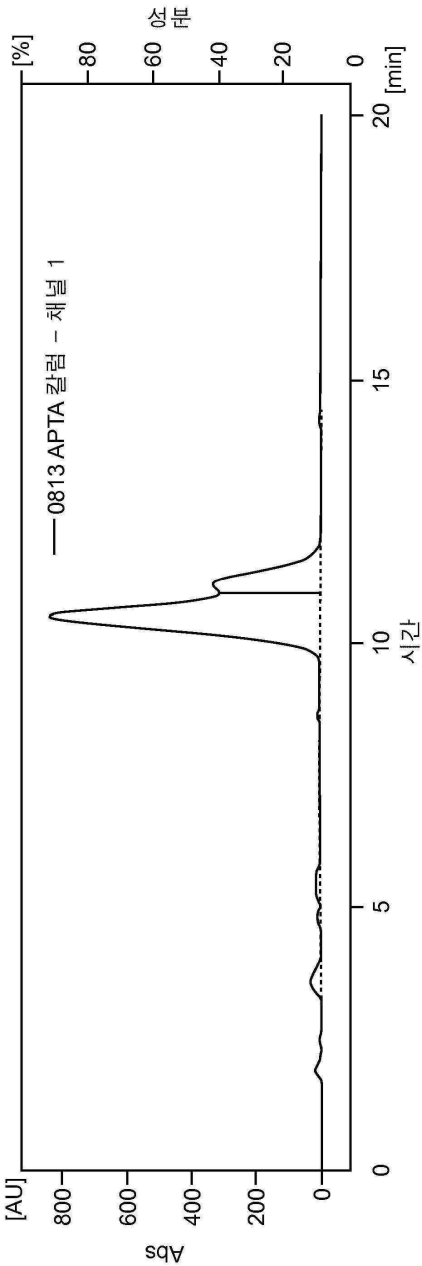
식 중: B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 퓨린, 보호된 퓨린, 피리미딘 또는 보호된 피리미딘, 또는 이의 유사체이고; R¹¹은 수소, 보호 그룹 또는 포스포라미디트 그룹이고; R¹² 및 R¹³은 각각 독립적으로 수소 또는 보호 그룹이다.

상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 보호된 아데닌, 보호된 사이토신, 보호된 구아닌, 티민 및 우라실로부터 선택된다. 화합물의 일부 구현예에서, B¹ 및 B²는 각각 독립적으로 A(Bz), A(DMF), C(Bz), G(이소부티릴), T 및 U로부터 선택된다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, R¹¹은 5'-포스포라미디트이고; R¹²는 보호 그룹이고 R¹³은 보호 그룹이다. 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²는 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²는 C(Bz)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²는 G(이소부티릴)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²는 T이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 A(Bz) 또는 A(DMF)이고 B²는 U이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 C(Bz)이고 B²는 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 C(Bz)이고 B²는 C(Bz)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 C(Bz)이고 B²는 G(이소부티릴)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 C(Bz)이고 B²는 T이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 C(Bz)이고 B²는 U이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 G(이소부티릴)이고 B²는 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 G(이소부티릴)이고 B²는 C(Bz)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 G(이소부티릴)이고 B²는 G(이소부티릴)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 G(이소부티릴)이고 B²는 T이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 G(이소부티릴)이고 B²는 U이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 T 또는 U이고 B²는 A(Bz) 또는 A(DMF)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 T 또는 U이고 B²는 C(Bz)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 T 또는 U이고 B²는 G(이소부티릴)이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 T 또는 U이고 B²는 T이다. 상기 화합물의 일부 구현예에서, B¹은 T 또는 U이고 B²는 U이다.

상기 지적된 구현예의 모든 가능한 조합은 본원 발명의 범위 내에 포괄되는 것으로 고려된다.

도면

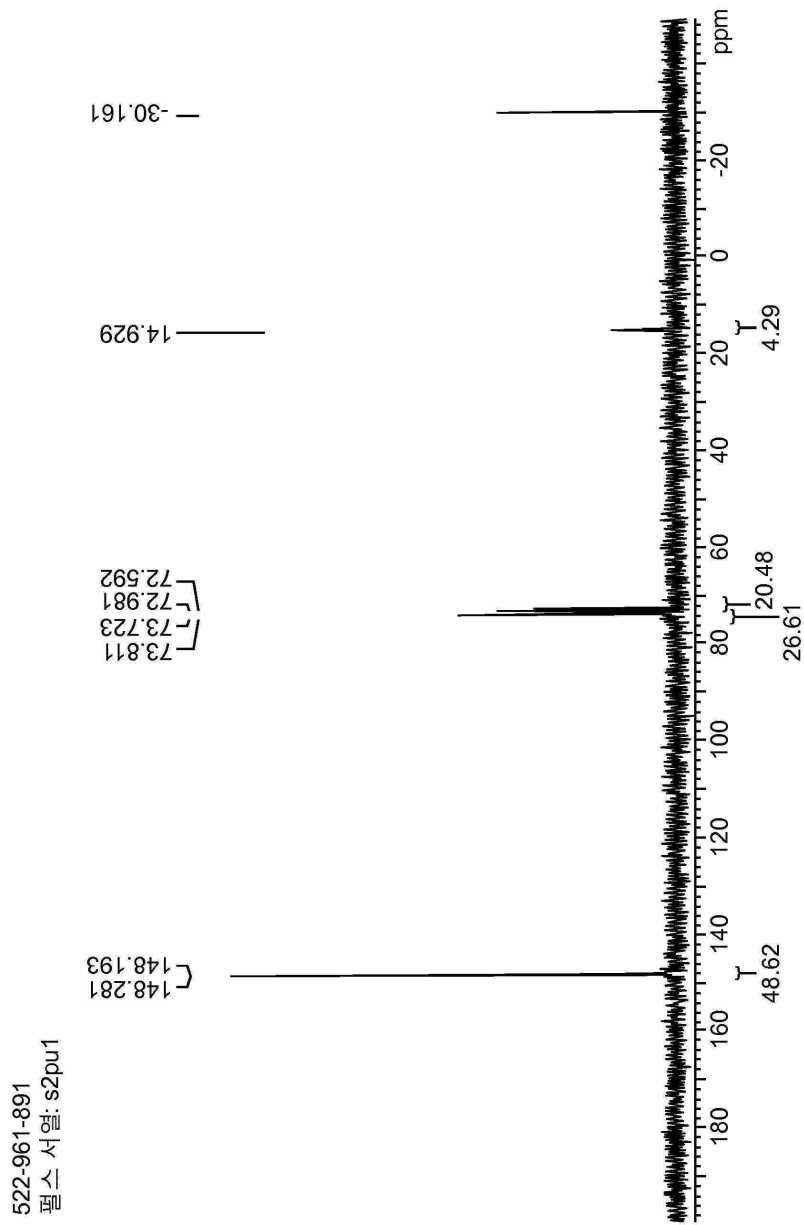
도면1a



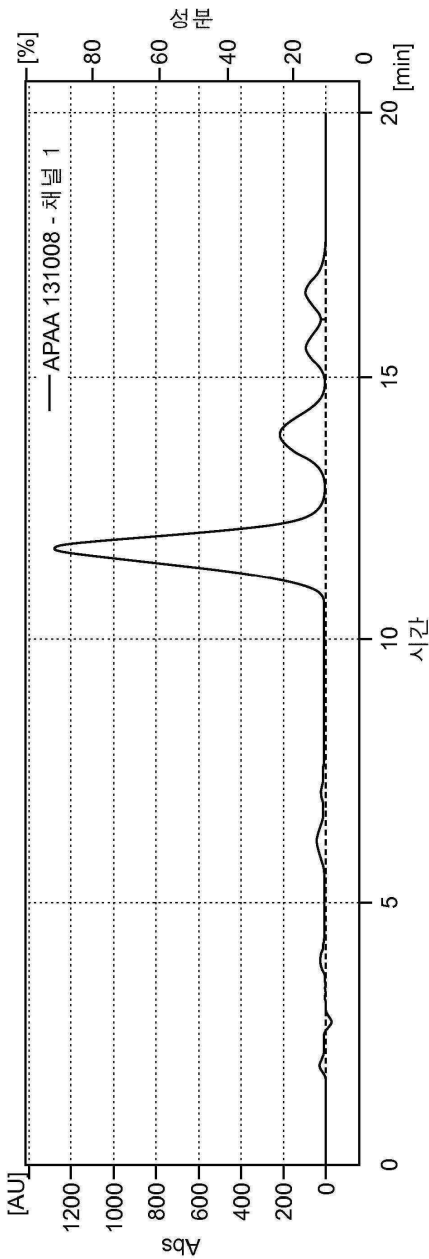
결과 표 (Uncal - 0813 APTA 칼럼 - 채널 1)

	체류 시간 [min]	면적 [mV.s]	높이 [mV]	면적 [%]
1	3.557	926.835	32.478	2.2
2	4.853	248.330	7.706	0.6
3	5.427	430.800	12.110	1.0
4	8.593	12.505	0.485	0.0
5	10.503	30344.332	839.556	73.4
6	11.120	9320.006	331.485	22.6
7	14.610	41.645	1.230	0.1
	총	41324.453	1225.050	100.0

도면1b



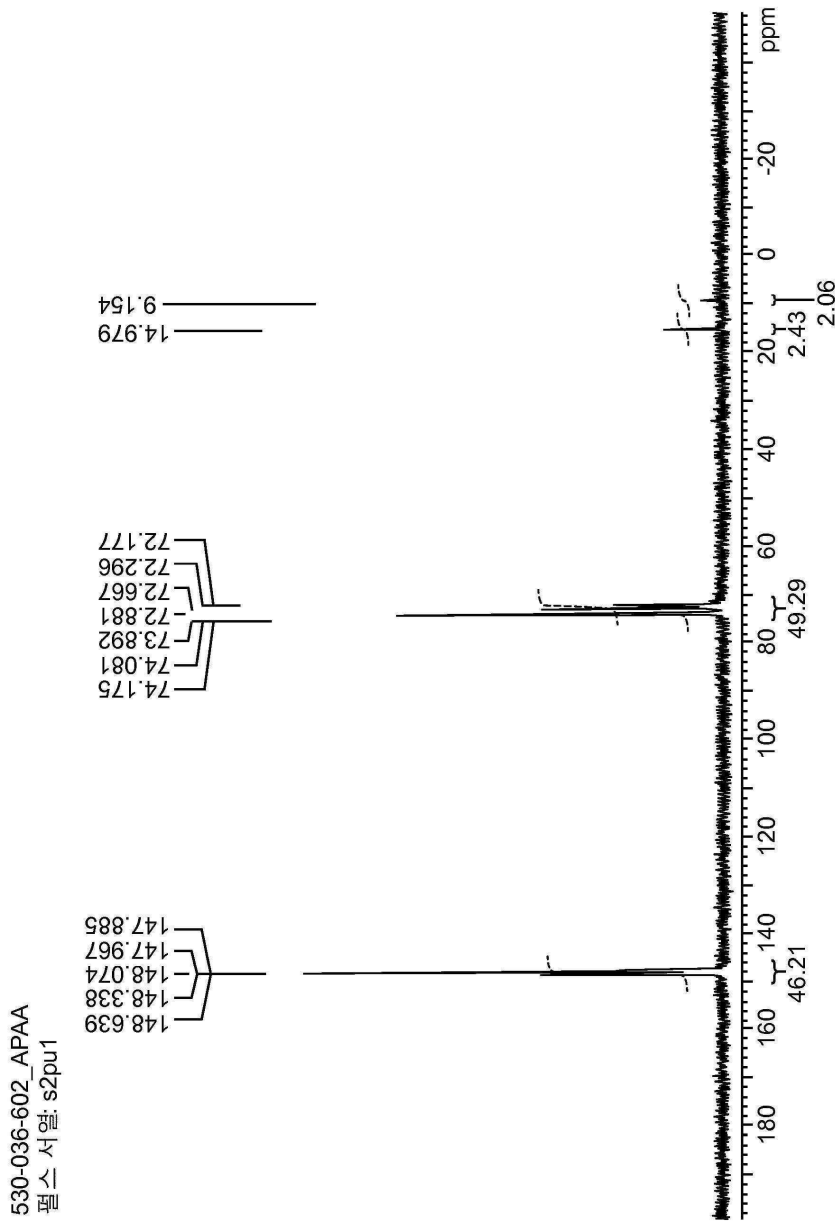
도면2a



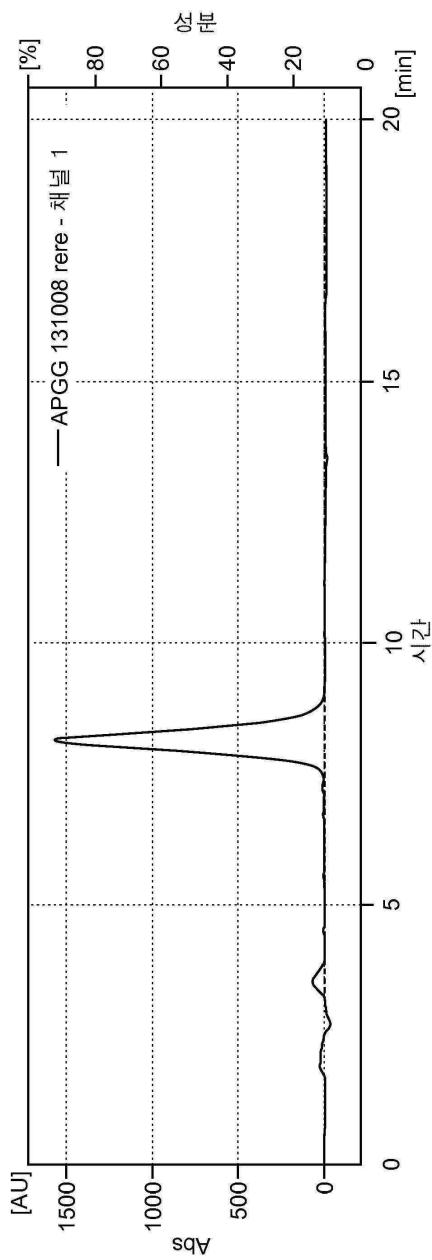
결과 표 (Uncal - APAA 131008 - 채널 1)

	체류 시간 [min]	면적 [mV.s]	높이 [mV]	면적 [%]
1	3.890	683.024	21.161	0.9
2	6.157	1547.356	37.841	2.1
3	7.043	832.950	15.650	1.1
4	9.713	33.979	0.981	0.0
5	11.740	53142.367	1282.119	71.5
6	13.903	10883.314	214.185	14.6
7	15.543	3501.138	93.342	4.7
8	16.587	3742.492	93.843	5.0
	총	74366.620	1759.121	100.0

도면2b



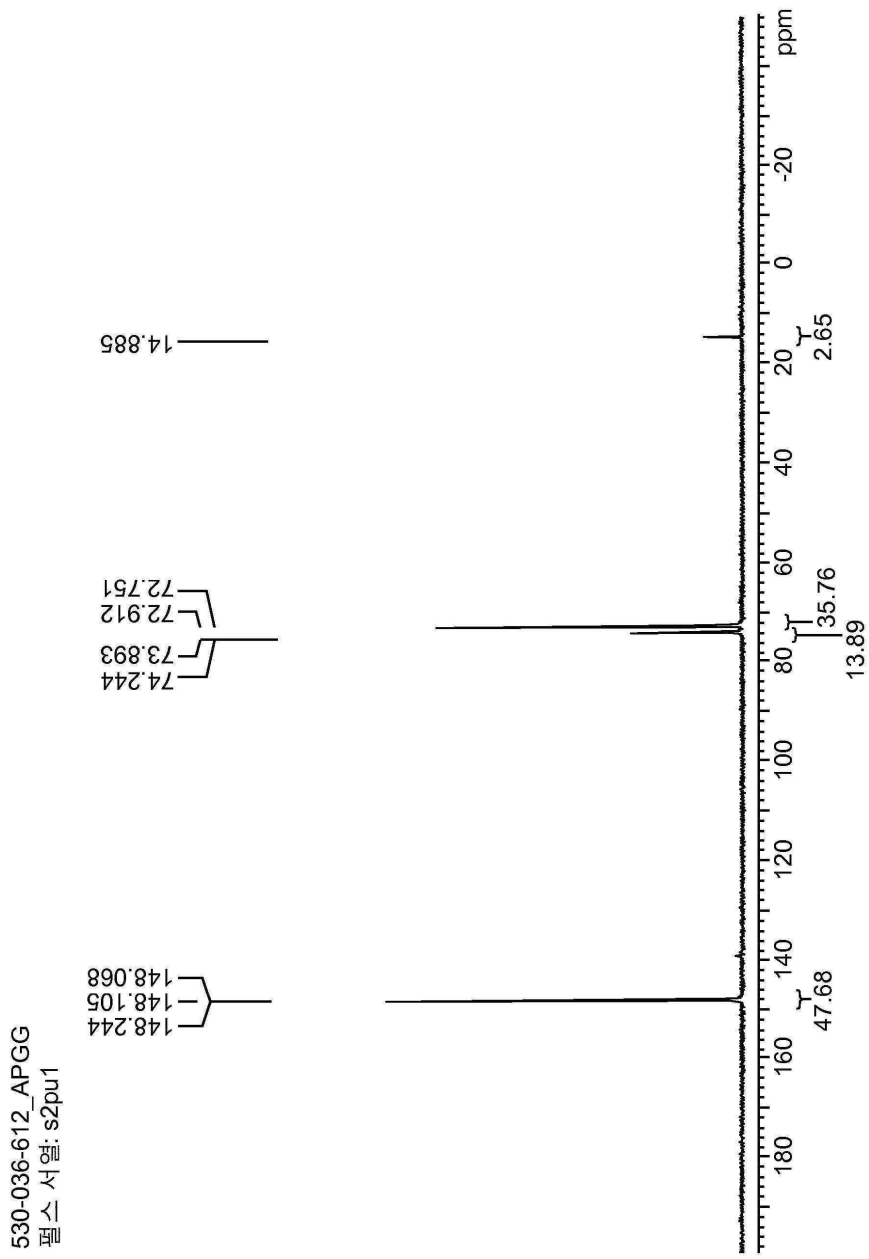
도면3a



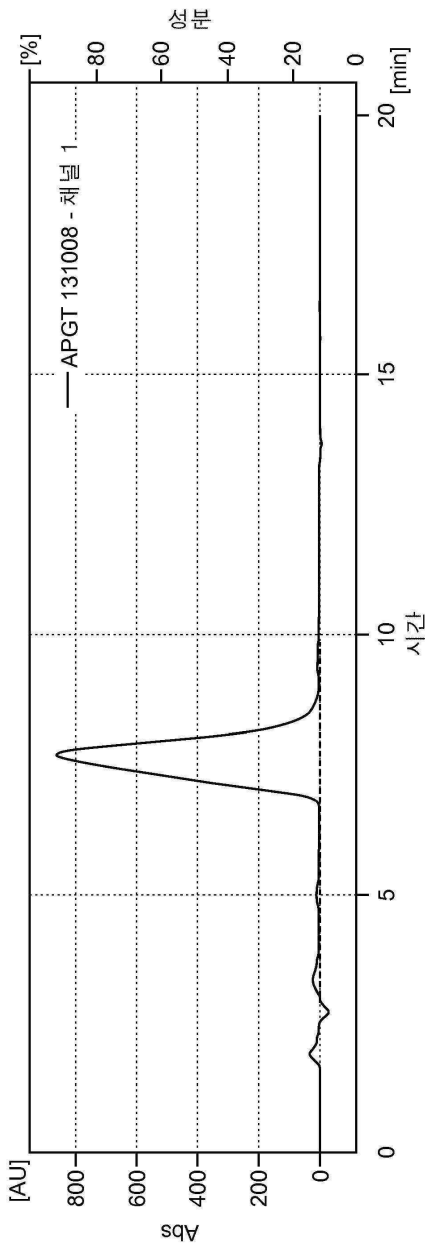
결과 표 (Uncal - APGG 131008 rere - 채널 1)

	채류 시간 [min]	면적 [mV.s]	높이 [mV]	면적 [%]
1	3.530	1726.515	70.546	3.6
2	4.473	167.636	5.052	0.3
3	5.543	111.014	4.805	0.2
4	6.220	84.336	3.982	0.2
5	7.487	387.810	16.415	0.8
6	8.120	45390.847	1580.744	94.5
7	10.147	31.679	1.149	0.1
8	11.213	111.591	3.775	0.2
	총	48011.427	1686.468	100.0

도면3b



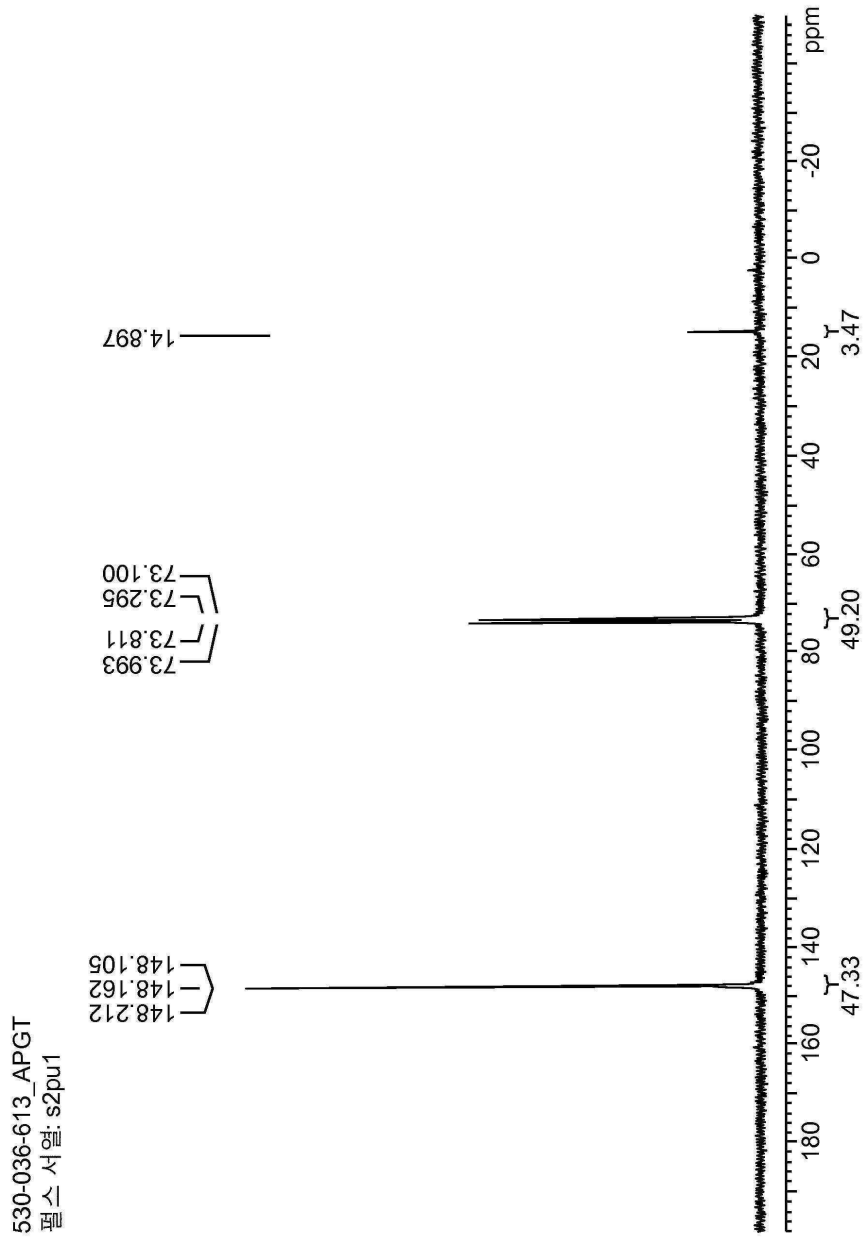
도면4a



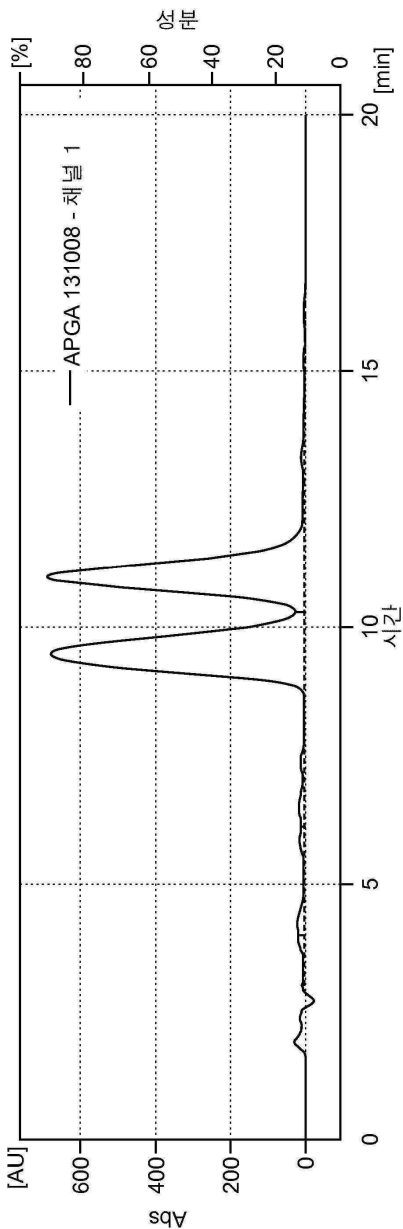
결과 표 (Uncal - APTG 131008 - 채널 1)

	채류 시간 [min]	면적 [mV.s]	높이 [mV]	면적 [%]
1	3.333	944.000	23.530	2.1
2	4.980	412.032	9.308	0.9
3	5.543	321.186	6.399	0.7
4	7.650	42081.239	864.466	95.3
5	9.353	388.891	5.485	0.9
	총	44147.348	909.188	100.0

도면4b



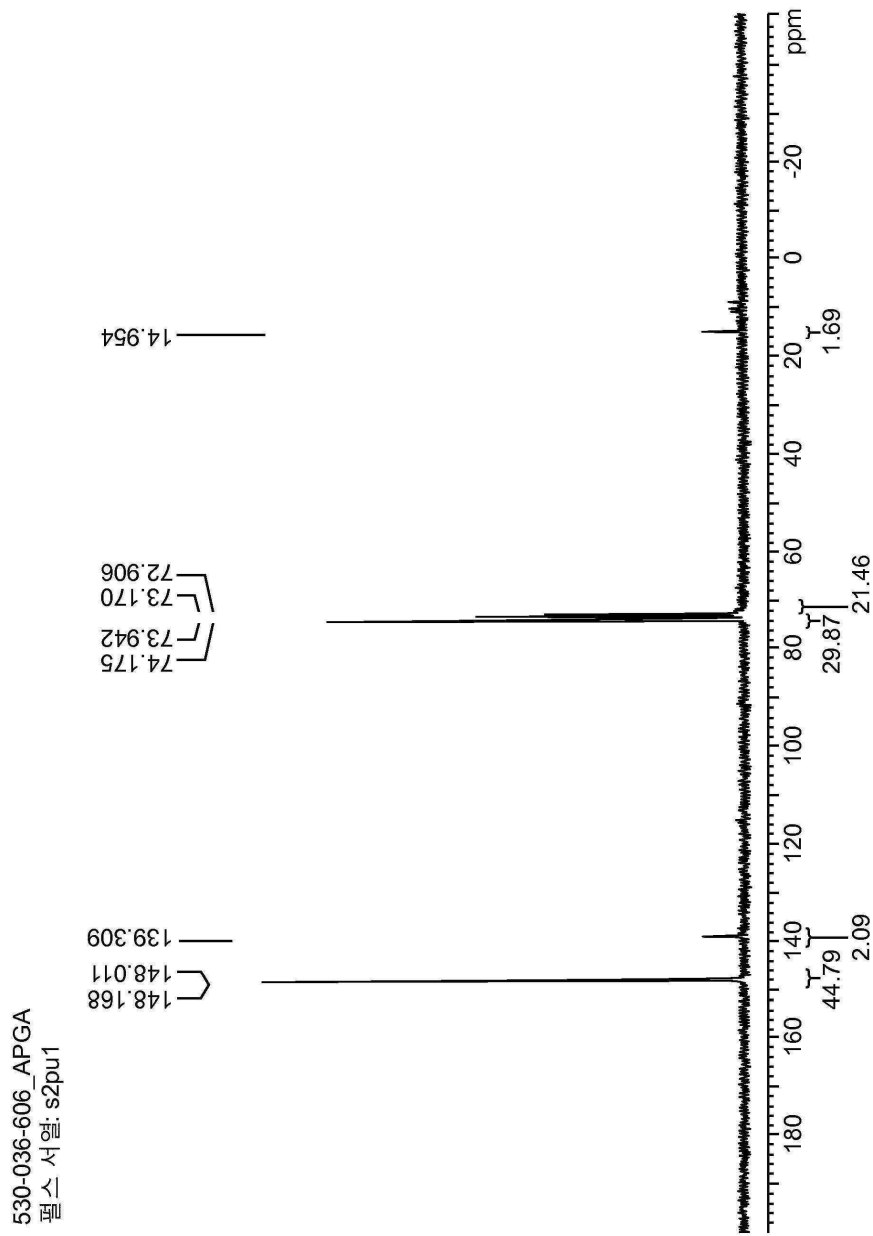
도면5a



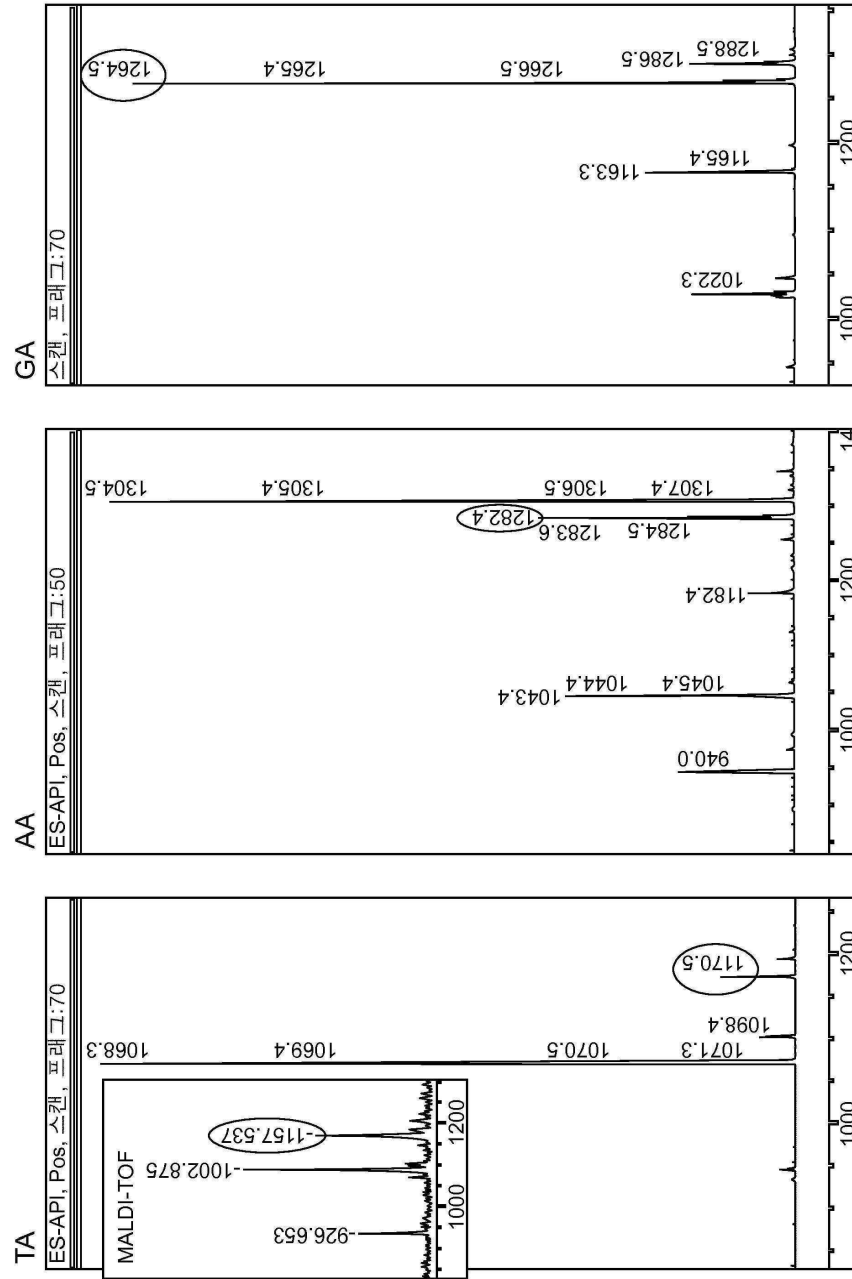
결과 표 (Uncal - APGA 131008 - 채널 1)

	체류 시간 [min]	면적 [mV.s]	높이 [mV]	면적 [%]
1	3.940	244.344	14.351	0.4
2	4.233	539.181	16.577	0.9
3	5.843	297.336	10.208	0.5
4	6.467	496.091	13.150	0.8
5	7.343	245.806	7.818	0.4
6	9.463	30522.359	670.507	51.8
7	10.980	26153.247	679.925	44.4
8	13.297	175.913	5.393	0.3
9	15.070	90.029	2.819	0.2
10	16.083	106.327	2.935	0.2
	총	58870.634	1423.682	100.0

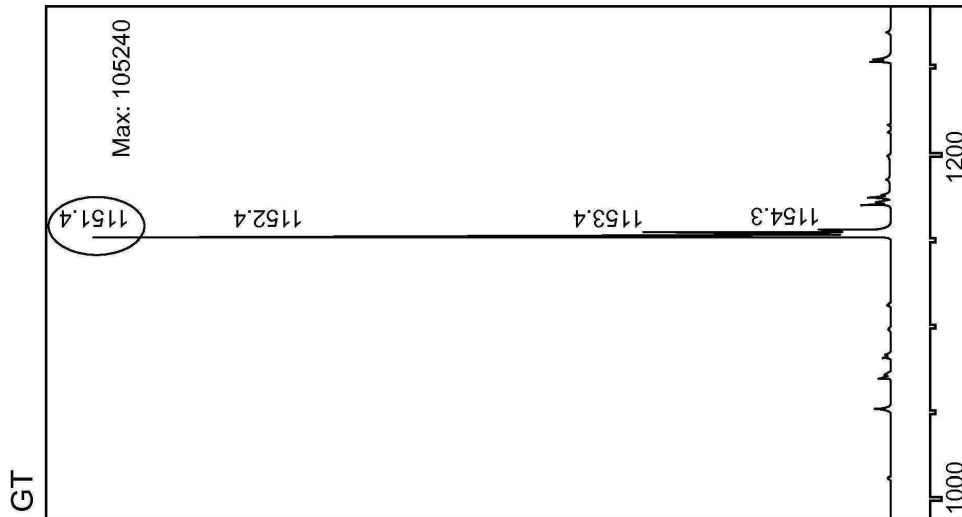
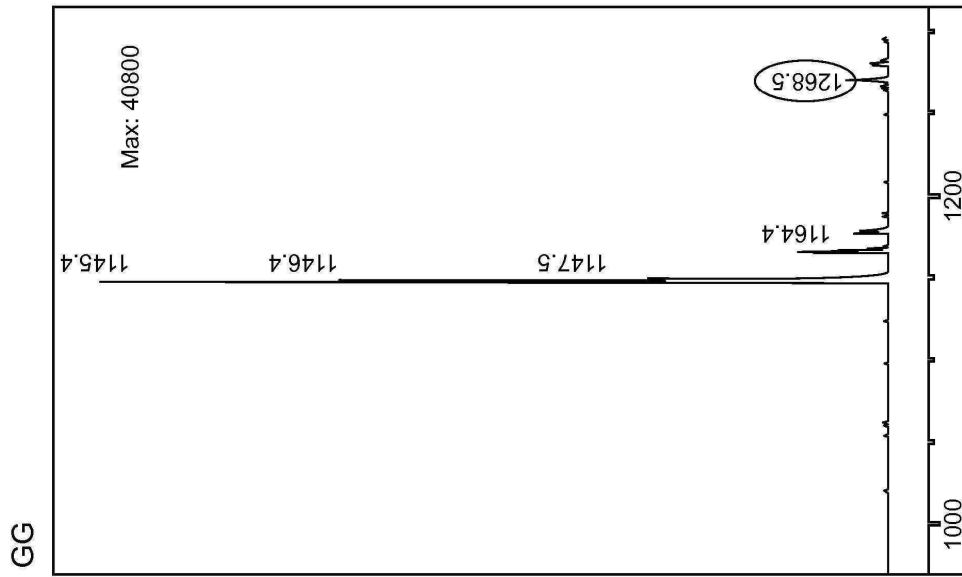
도면5b



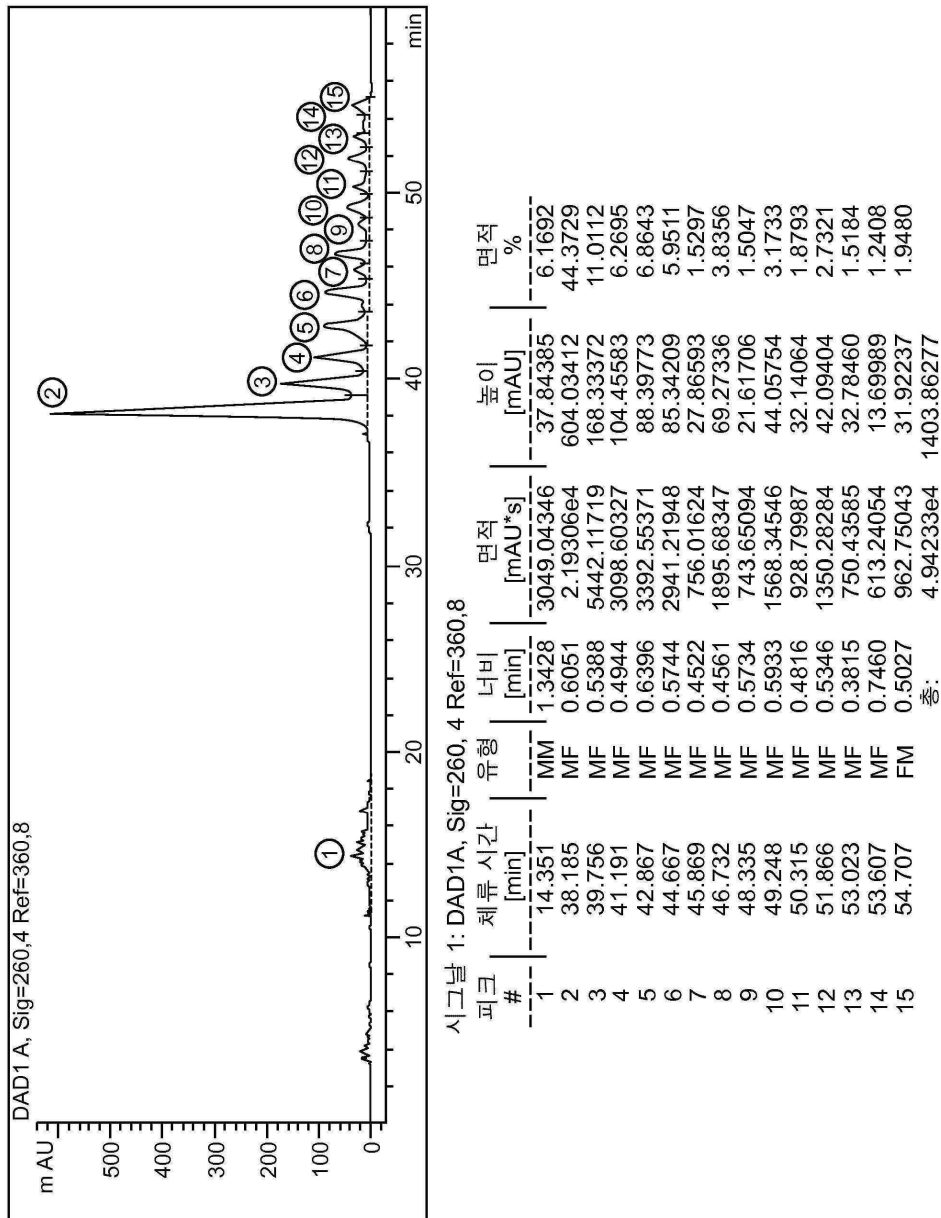
도면6a



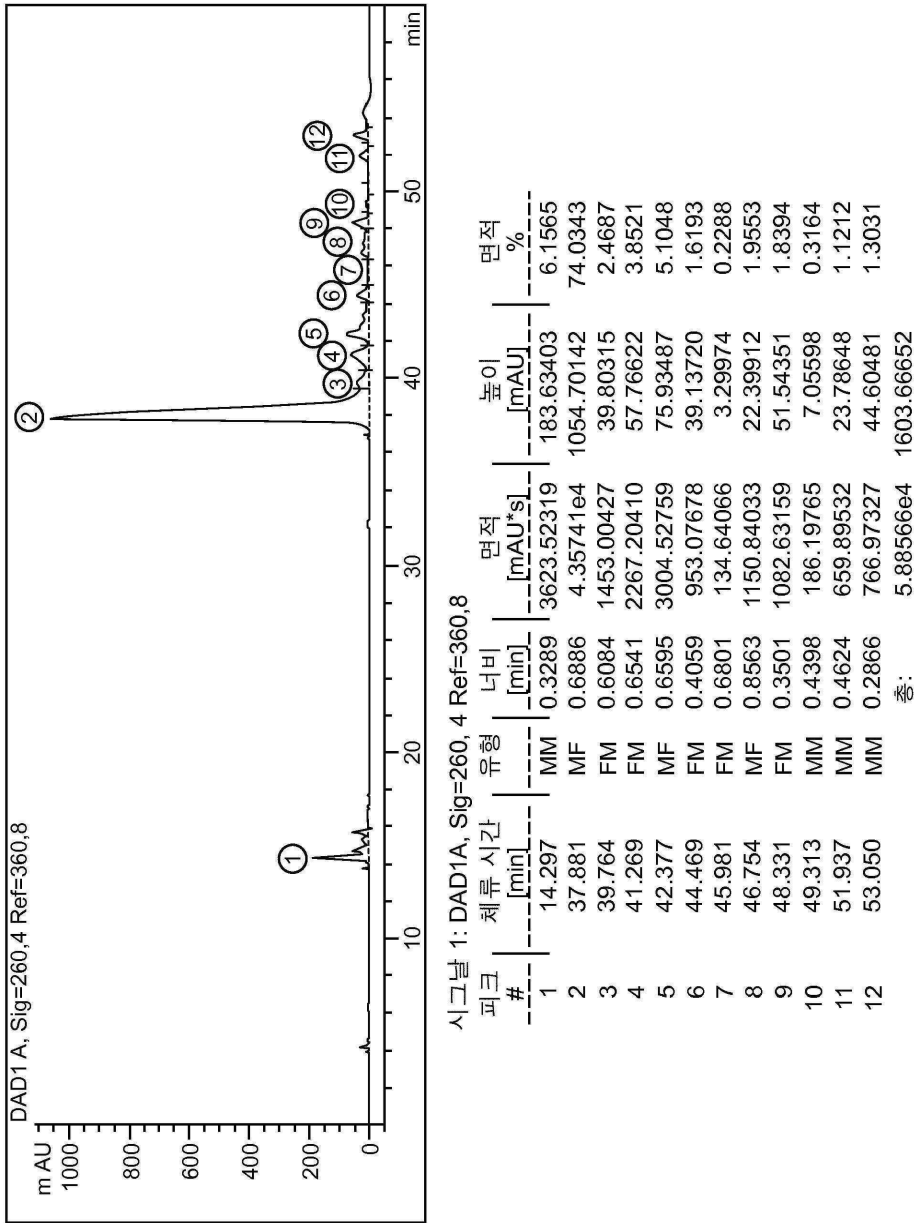
도면6b



도면7



도면8



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Ramiya, Premchandran H.
- <120> Oligonucleotide Compositions and Methods
of Making the Same
- <130> GERN-185WO
- <150> US 61/987,396
- <151> 2014-05-01
- <150> US 62/151,909
- <151> 2015-04-23

<160> 19

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 451

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 1

ggguugcgga gggugggccu gggaggggug guggccauuu uuugucuaac ccuaacugag 60
aagggcguag gcgccgugcu uuugcucccc gcgcgcuguu uuucucgcug acuuucagcg 120

ggcggaaaag ccucggccug ccgccuucca ccguucauuc uagagcaaac aaaaaauguc 180
agcugcuggc ccguucgccc cucccgggga ccugcggcgg gucgccugcc cagccccga 240
accccgccug gaggccgagg ucggcccgagg gcuucuccgg aggcacccac ugccaccgag 300
aagaguuggg cucugucagc cgcgggucuc ucgggggcga gggcgagguu caggccuuuc 360
aggccgcagg aagaggaacg gagcgagucc ccgcgcgcgg cgcgauuccc ugagcugugg 420
gacgugcacc caggacucgg cucacacaug c 451

<210> 2

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 2

cuaacccuaa c 11

<210> 3

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 3

tagggttaga caa 13

<210> 4	
<211> 11	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 4	
gtaggtta g	11
<210> 5	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 5	
cagtaggt tag	13
<210> 6	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 6	
gctctagaat gaacgtgga aggcggcagg	30
<210> 7	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 7	
gtggaaggcg gcagg	15
<210> 8	
<211> 13	

<212>

DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 8

ggaaggcggc agg

13

<210> 9

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 9

gtggaaggcg gca

13

<210> 10

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 10

gtggaaggcg g

11

<210> 11

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 11

cgggtggaagg cgg

13

<210> 12

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 12

acggtggaag gcg 13

<210> 13

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 13

aacggtggaa ggcggc 16

<210> 14

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 14

atgaacggtg gaaggcgg 18

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide

<400> 15

acattttttg ttgctctag 20

<210> 16

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 16	
gtaggtta gac	13
<210> 17	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 17	
gtaggtta gacaa	15
<210> 18	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 18	
cccttctcag tt	12
<210> 19	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic polynucleotide	
<400> 19	
cgcccttc ag	12