(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0021016
(43) 공개일자 2021년02월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 417/14 (2006.01) *A61K 47/54* (2017.01)
A61K 47/55 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 7/06 (2006.01) *C07D 495/14* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 417/14 (2013.01)
A61K 47/55 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2021-7000928
(22) 출원일자(국제) 2019년06월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년01월12일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2019/065481
(87) 국제공개번호 WO 2019/238817
국제공개일자 2019년12월19일
(30) 우선권주장
62/684,265 2018년06월13일 미국(US)
62/835,953 2019년04월18일 미국(US)

(71) 출원인
암피스타 테라퓨틱스 엘티디
영국 엔더블유1 2엔디 런던 노쓰 가워 스트리트 158-160
(72) 발명자
출리 알레시오
영국 던디 디디2 1에이에프 스텝 로우 11
테스타 안드레아
영국 노스 래넉셔 엠엘1 5유에이치 뉴하우스 보니스 로드 암피스타 테라퓨틱스 엘티디
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
리앤목특허법인

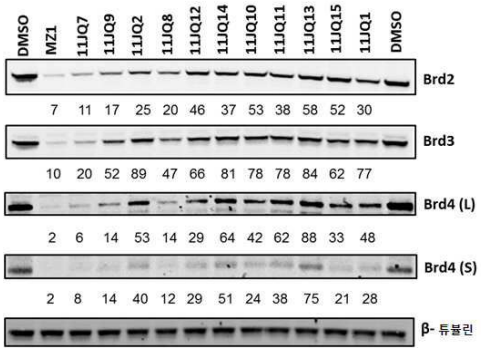
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 **Rpn11 표적화를 위한 이중작용성 분자**

(57) 요 약

본 발명은 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 제공한다. 본 발명에 따른 이중작용성 분자는 Rpn11 및 표적 단백질에 결합하여 표적 단백질 결합 파트너에 결합된 표적 단백질의 분해를 촉진한다. 본 발명은 또한 질병을 예방 또는 치료하기 위한 이중작용성 분자의 용도를 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 47/555 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 7/06 (2018.01)
C07D 495/14 (2013.01)
(72) 발명자
휴스 스캇
영국 노스 래넉셔 엠엘1 5유에이치 뉴하우스 보니스 로드 암피스타 테라퓨틱스 엘티디
부처 스티븐 피터
영국 피이28 0티엘 케임브리지셔 헌팅던 스토 롱가스팔드윅 로드 23

명 세 서

청구범위

청구항 1

표적 단백질 결합 파트너에 연결(link)된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합하는 것인 이중작용성 분자.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합하는 것인 이중작용성 분자.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 표 1에서 제공된 Rpn11 결합 분자의 군으로부터 선택되는 것인 이중작용성 분자.

청구항 5

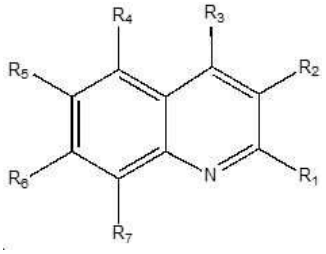
청구항 1에 있어서, 상기 표적 단백질 결합 파트너가 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적으로 하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 충격 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항체로 구성된 군에서 선택되는 것인 이중작용성 분자.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 링커가 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 링커, 탄화수소 링커, 알킬-에테르 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커인 것인 이중작용성 분자.

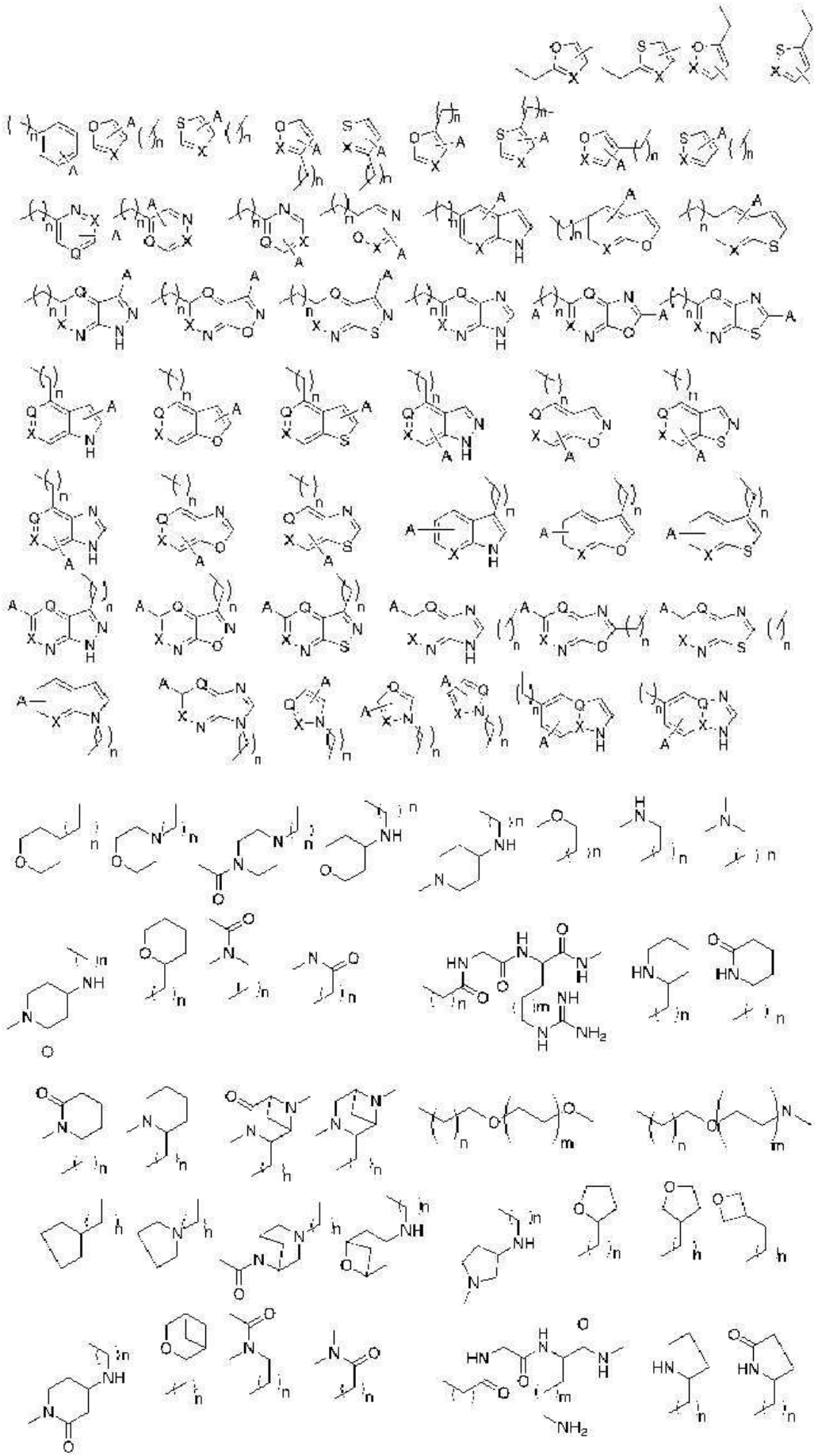
청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 I로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



R1 및 R6은 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO… 이고

R2, R3, R4 및 R5는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -Me, -F, -Cl, -Br,$-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO…로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고;

여기서 -A는 -H, -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, $-NO_2$, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$, $-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이고,

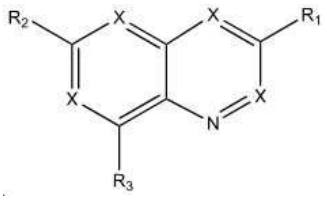
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고,

· R2, R3, R4 및 R5는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

· R7은 -SH, -NH2, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

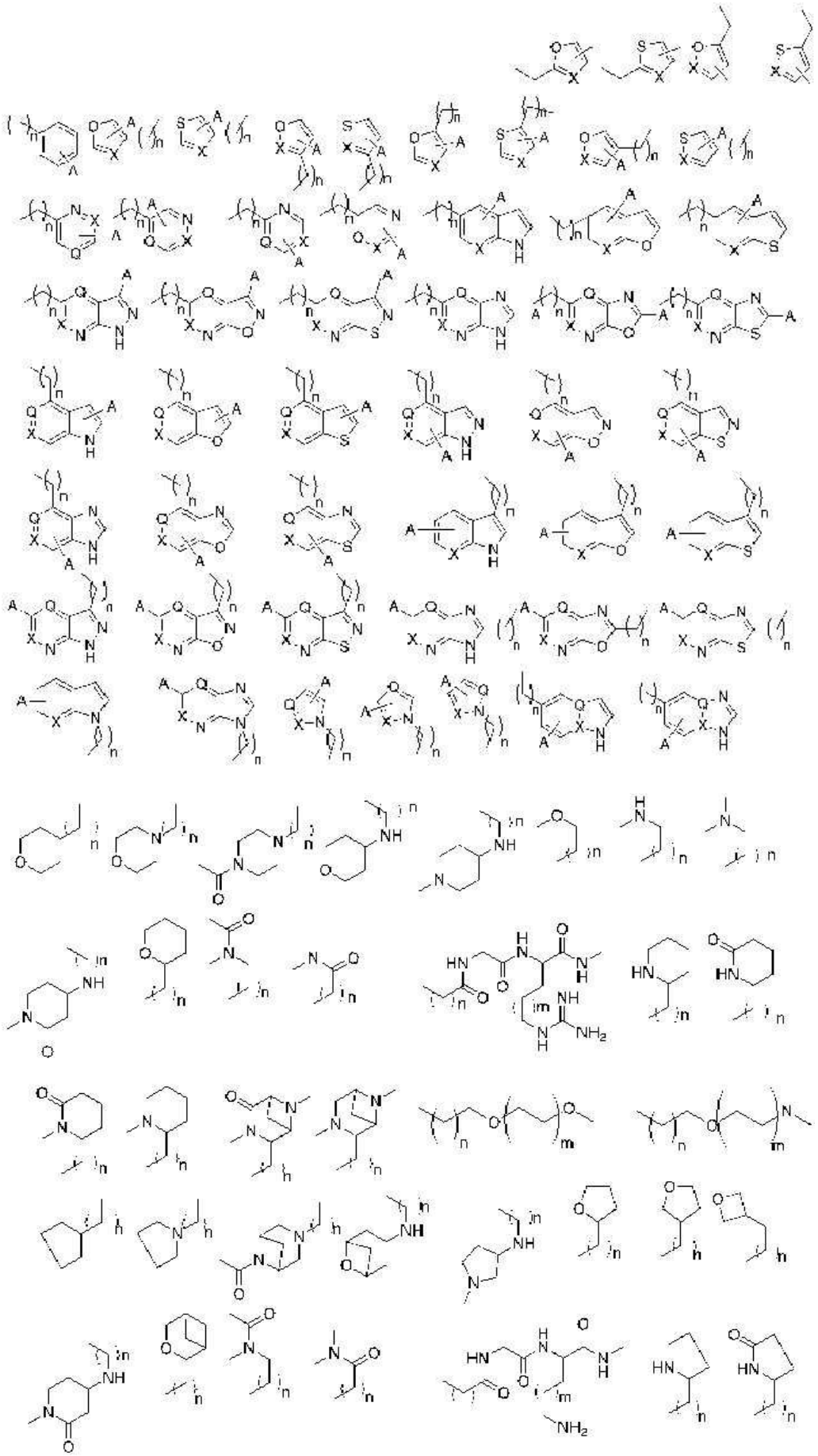
청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 II로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



· X = CH 또는 N

· R1 및 R2는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이고,

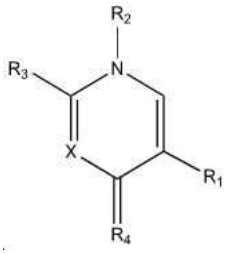
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

·R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

R3은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

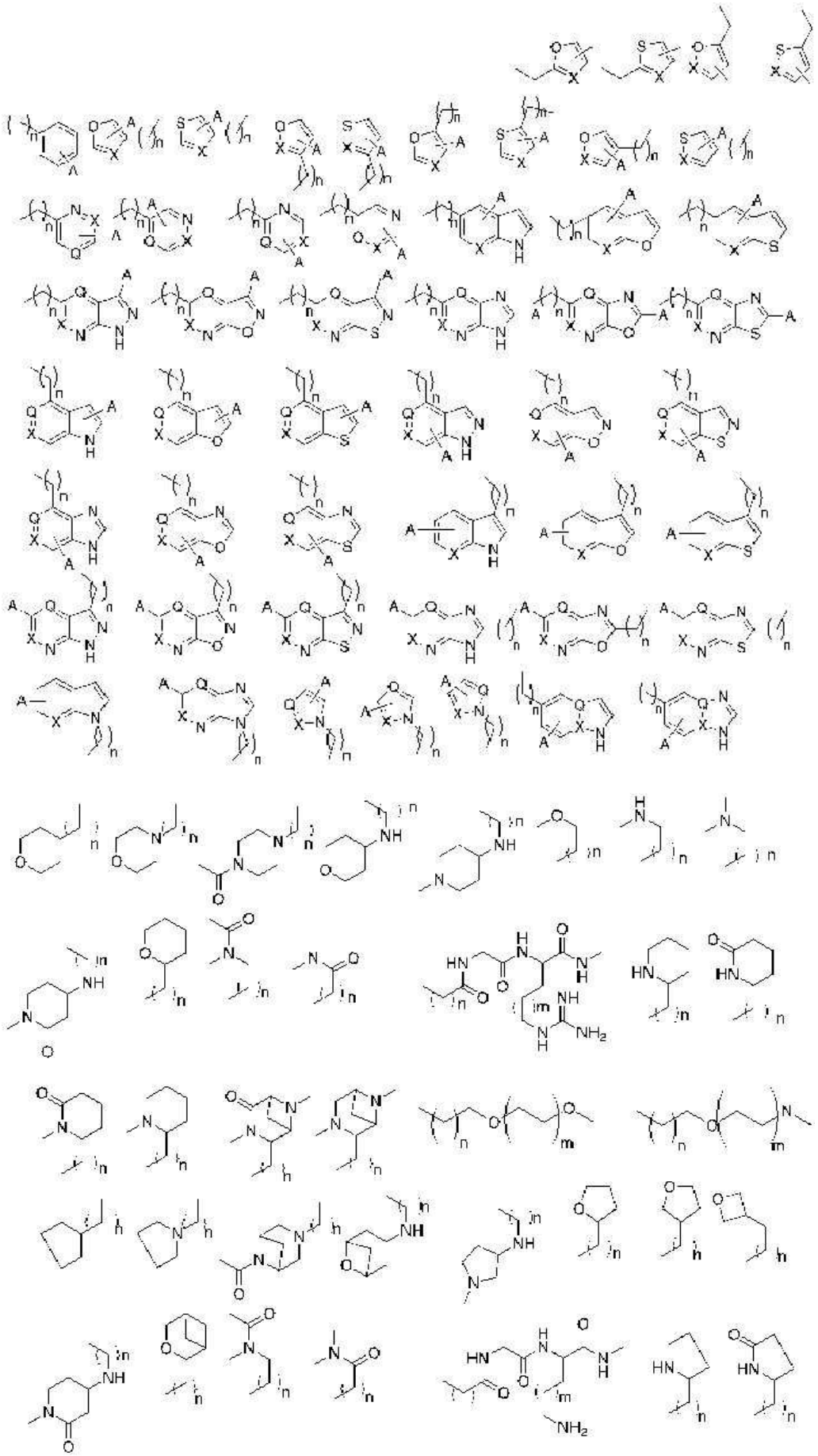
청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 III으로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



·R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

·R2 및 R3은 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

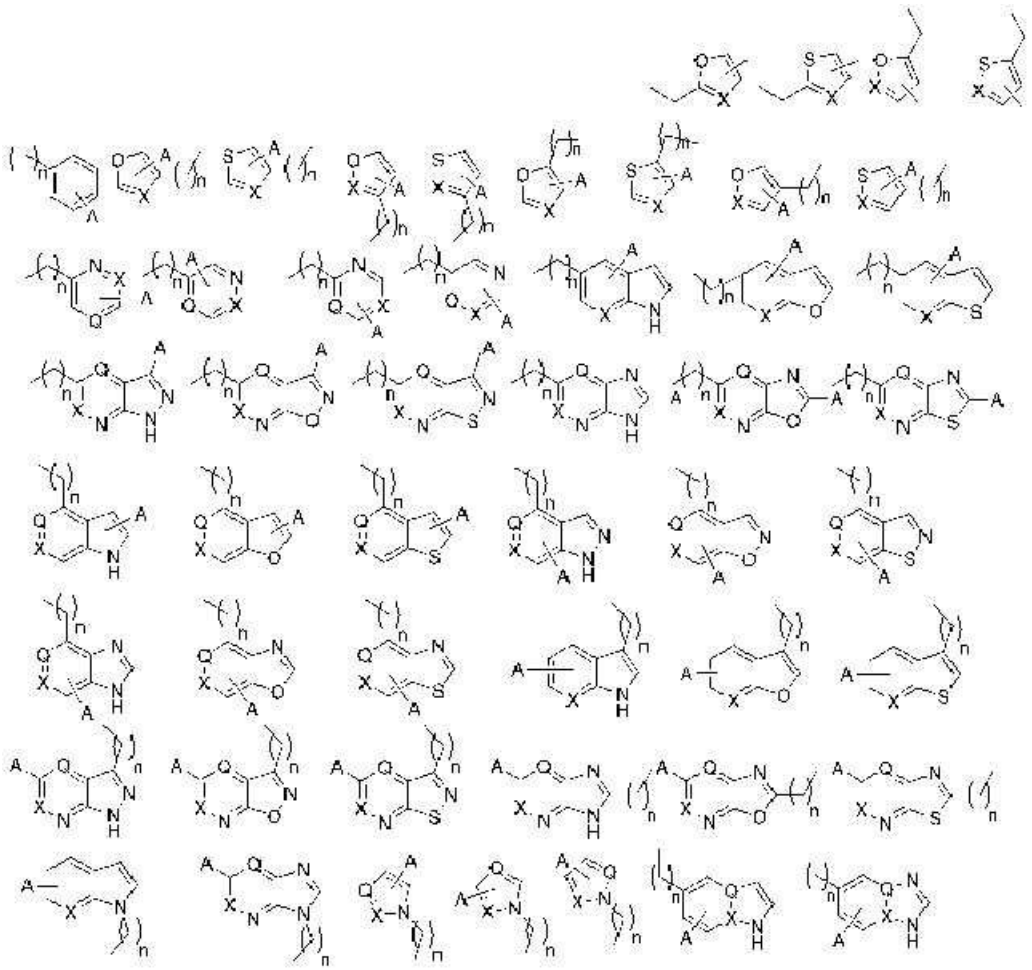
·R4는 O, S, NH이다.

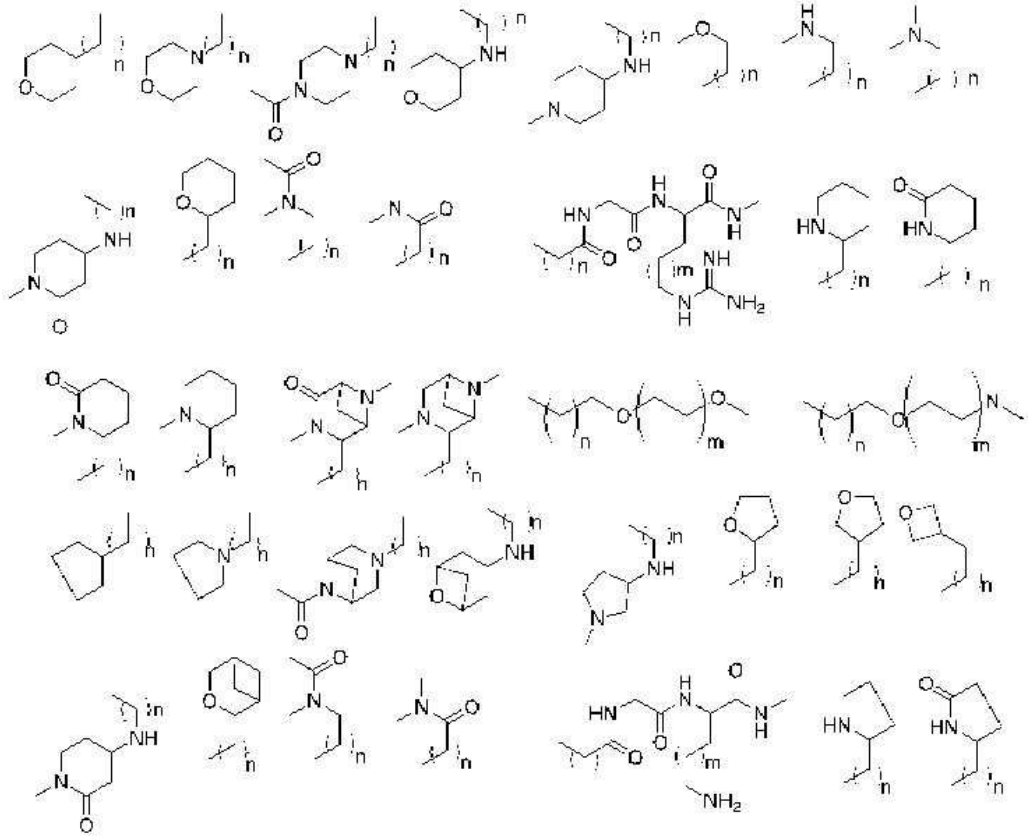
청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 IV로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



·R1, R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,





로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

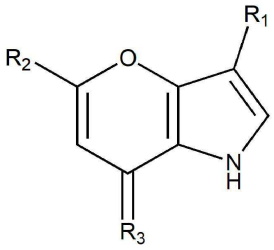
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고,

·R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

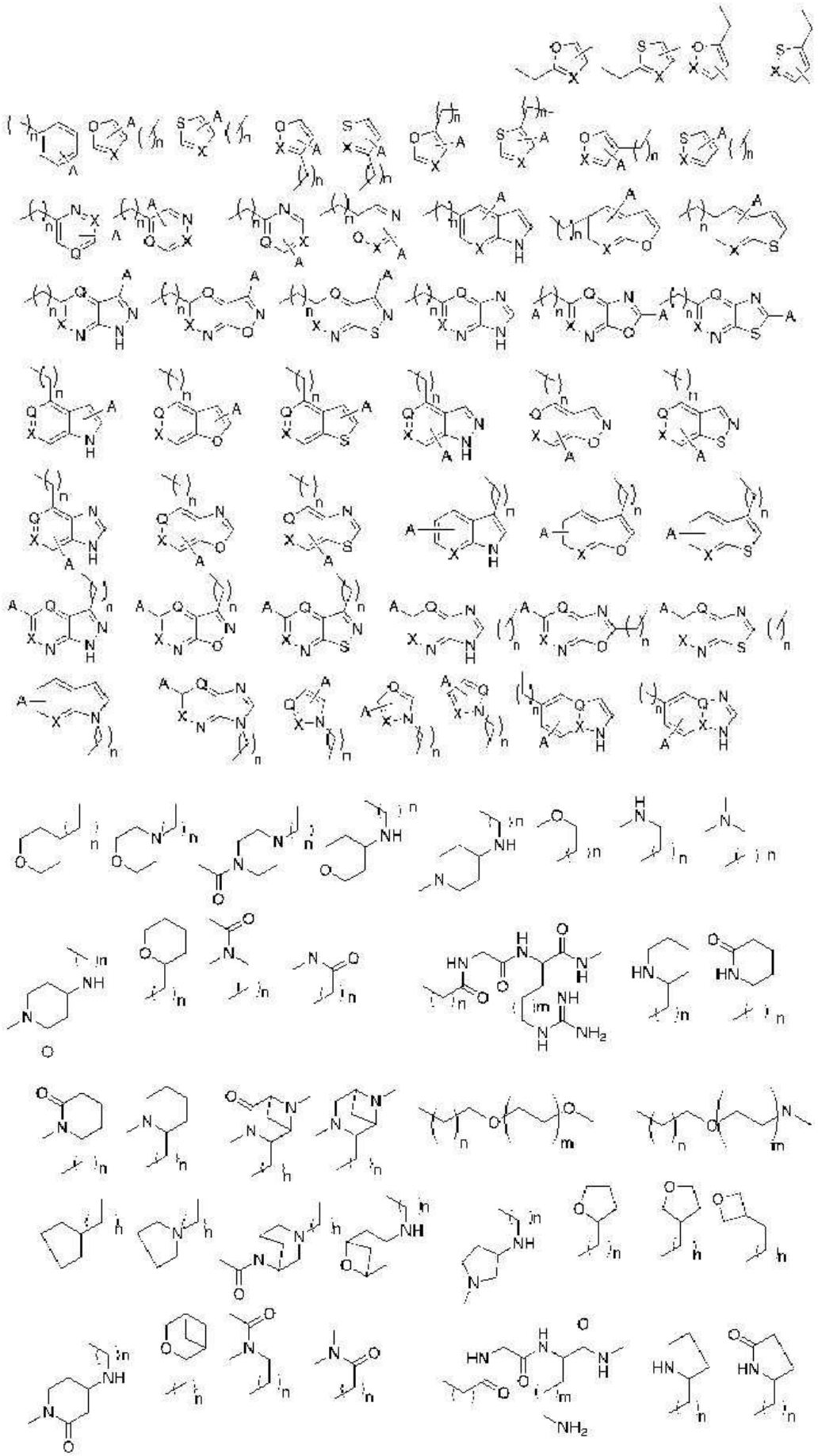
·R4는 O, S, NH, NCOY이다.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 V로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



·R1 및 R2는 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

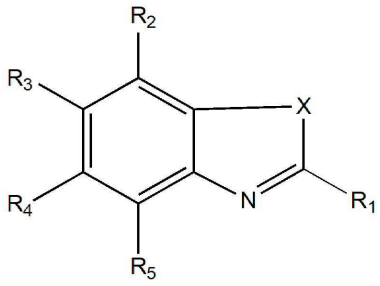
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

·R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

·R3은 O, S, NH, NCOY이다.

청구항 12

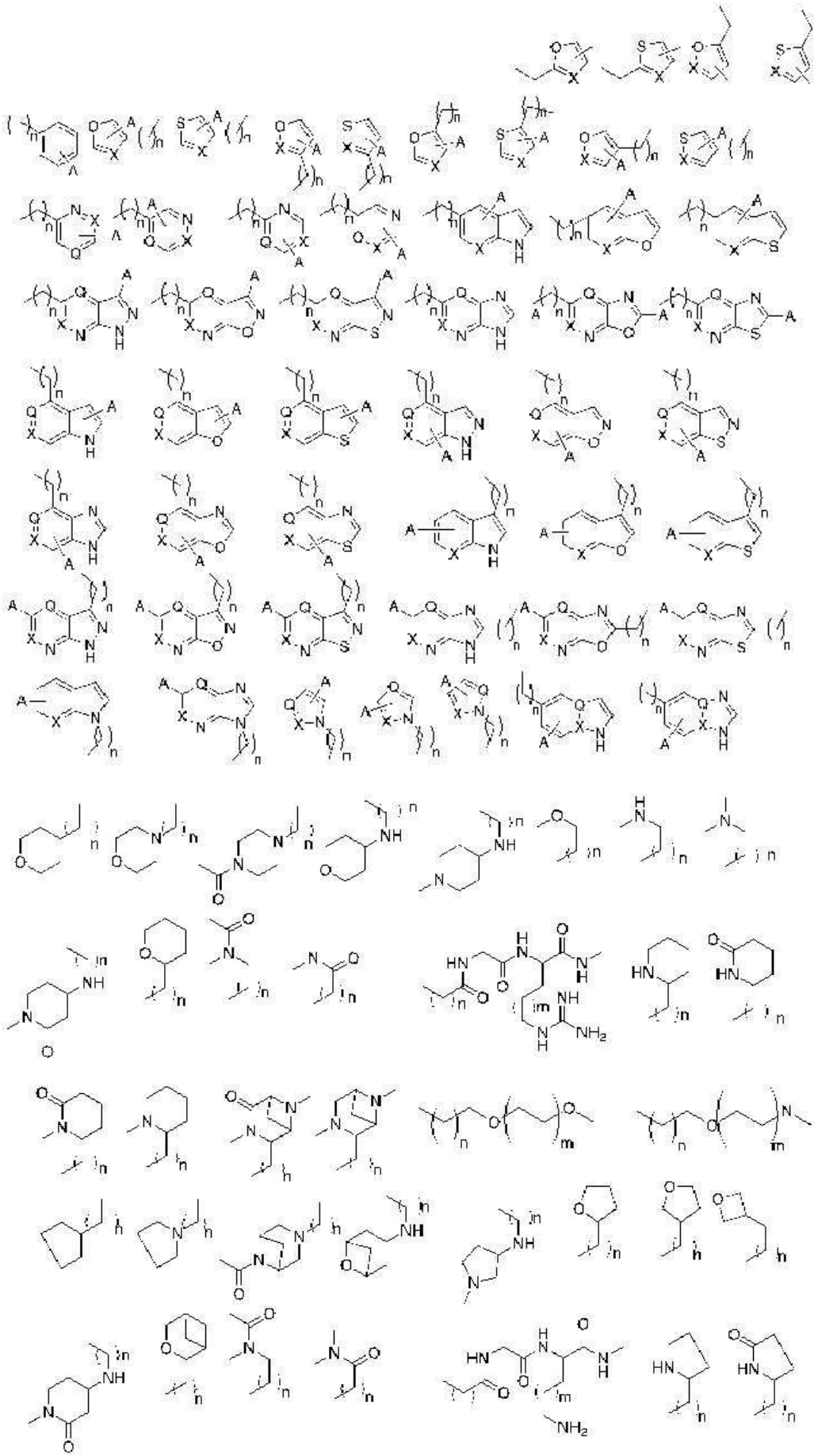
청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 VI로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



·X = NH, O, S, CH2이고,

·R1 및 R4는 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -CHO… 이고,

·R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

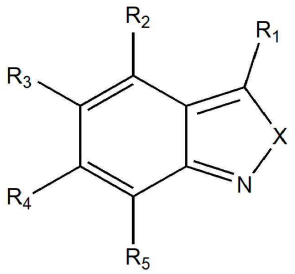
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고,

· R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

· R5는 -SH, -NH2, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

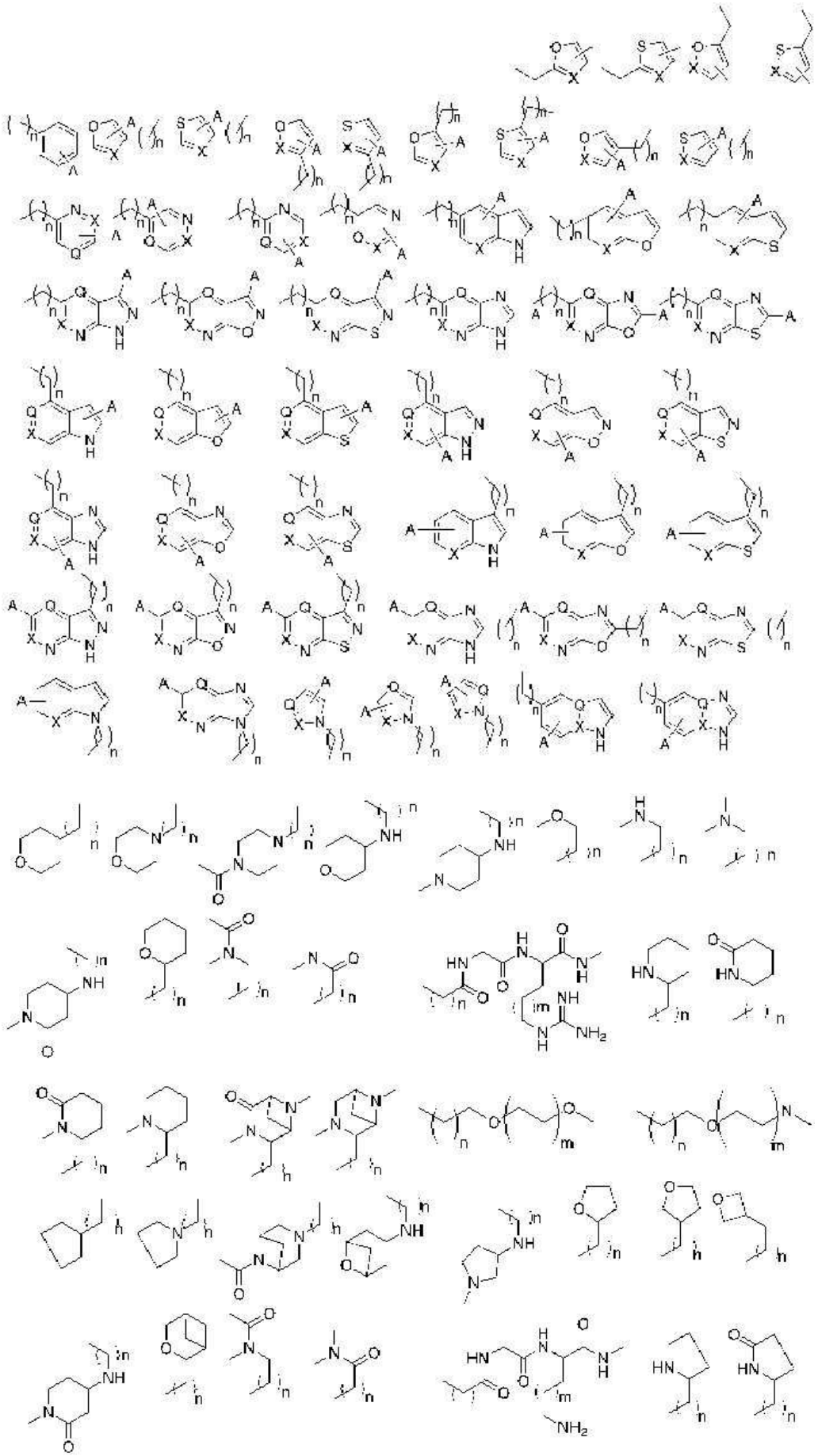
청구항 13

청구항 1에 있어서, 상기 Rpn11 결합 파트너가 화학식 VII로 표시되는 것인 이중작용성 분자:



· X = NH, O, S, CH2이고,

· R1, R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe , $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

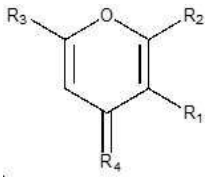
·R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

·R4는 우선적으로 -H이지만 또한 Me, F, Cl, Br, CF3, CHF_2, CH_2F, CN, OMe, SMe, SOMe, SO_2Me NH_2, NHMe, NO_2, CHO이고,

·R5는 -SH, -NH2, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

청구항 14

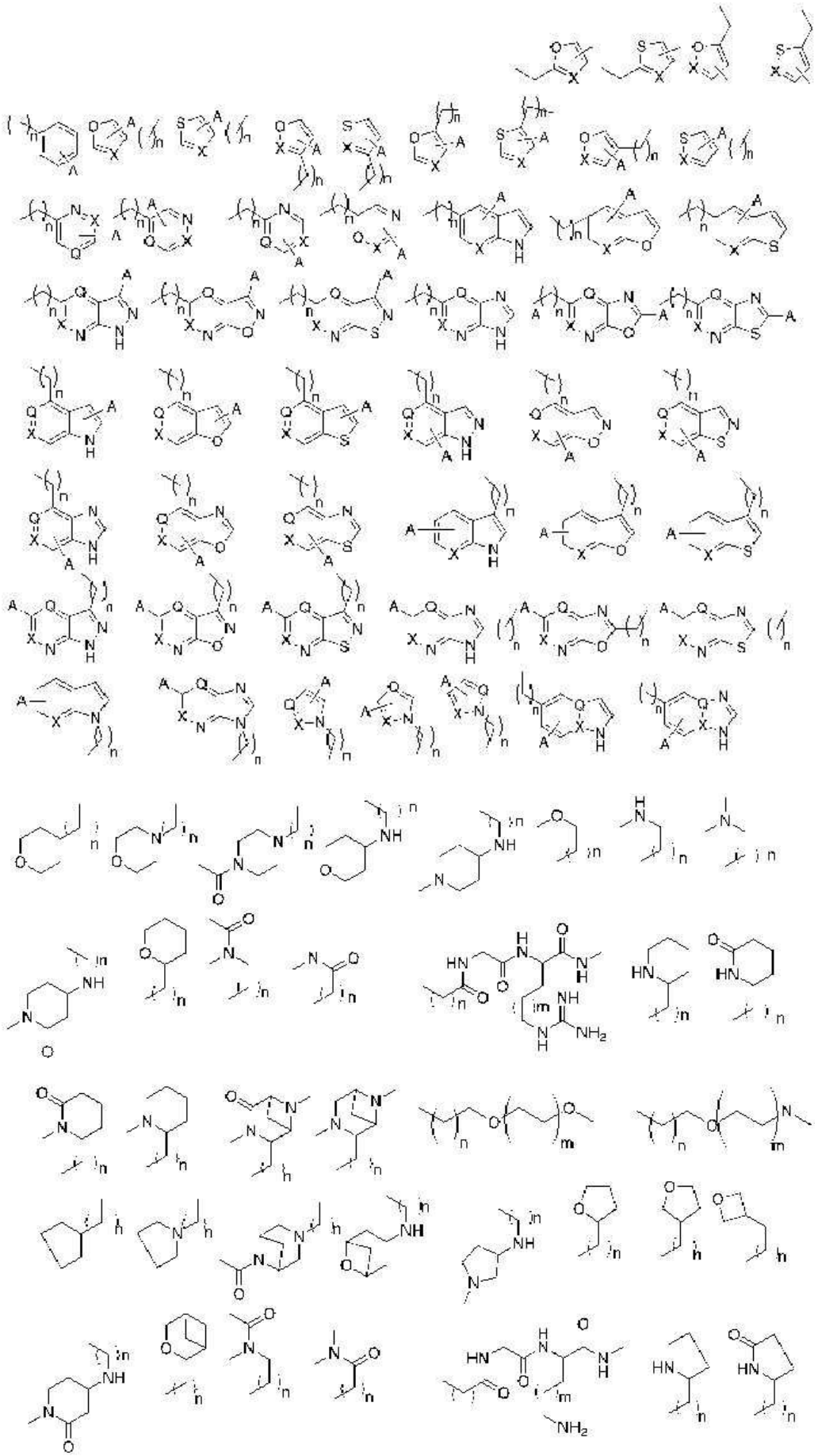
청구항 1에 있어서, Rpn11 결합 파트너가 화학식 VIII로 표시되는 것인 이중작용성 분자.



·R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY, NHCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

·R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택되고,

·R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, -CF3, -COOH, -CH2NH2, -CH3, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고; R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택된다.

청구항 15

화학식 (IX)의 화합물:

R11L-(CL)-TPL (IX),

여기서 -는 공유 결합을 의미하고;

R11L은 Rpn11에 결합하는 리간드이고,

CL은 공유결합 링커이고,

TPL은 표적 단백질에 결합하는 리간드이다.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 R11L은 표 1에서 제공된 Rpn11 리간드의 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 17

청구항 15에 있어서, 상기 R11L이 적어도 10nm의 친화도로 Rpn11에 결합하는 것인 화합물.

청구항 18

청구항 15에 있어서, 상기 R11L이 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합하는 것인 화합물.

청구항 19

청구항 15에 있어서, 상기 TPL은 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질에 결합하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 충격 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 또는 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 중 하나인 것인 화합물.

청구항 20

청구항 15에 있어서, CL은 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 링커, 탄화수소 링커, 알킬-에테르 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커인 것인 화합물.

청구항 21

화학식 (X)의 화합물 :

R11L-A-(CL)-B-TPL (X),

여기서 -는 공유 결합을 의미하고;

R11L은 Rpn11에 결합하는 리간드이고,

CL은 상이한 제 1 말단 A 및 제 2 말단 B를 갖는 공유결합 링커이고,

A 및 B는 독립적으로 아미드, 옥심, 케토, 탄소, 에테르, 에스테르, 또는 카바메이트고;

TPL은 표적 단백질에 결합하는 리간드이고, 및

R11L은 A에 공유결합으로 연결되고 TPL은 B에 공유결합으로 연결된다.

청구항 22

청구항 21에 있어서, TPL이 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질에 결합하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 충격 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 또는 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 중 하나인 것인 화합물.

청구항 23

화학식 (XI)의 화합물:

R11L-(CL)-Rx (XI),

여기서 -는 공유 결합을 의미하고;

R11L은 Rpn11에 결합하는 리간드이고,

CL은 Rx로 끝나는 공유결합 링커이고,

Rx는 리간드와 공유 화학 결합을 형성할 수 있고, 및

Rx는 PEG가 아니다.

청구항 24

청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합하는 것인 화합물.

청구항 25

청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합하는 것인 화합물.

청구항 26

청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, R11L이 표 1에서 제공된 Rpn11 리간드의 군으로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 27

청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, 상기 링커가 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커, 탄화수소 링커 또는 조합된 PEG, 알킬 링커인 것인 화합물.

청구항 28

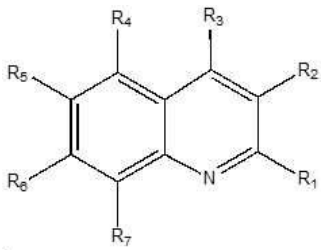
청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, 상기 링커가 옥심인 제 1 말단을 갖는 것인 화합물.

청구항 29

청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, 상기 링커가 아민인 제 2 말단을 갖는 것인 화합물.

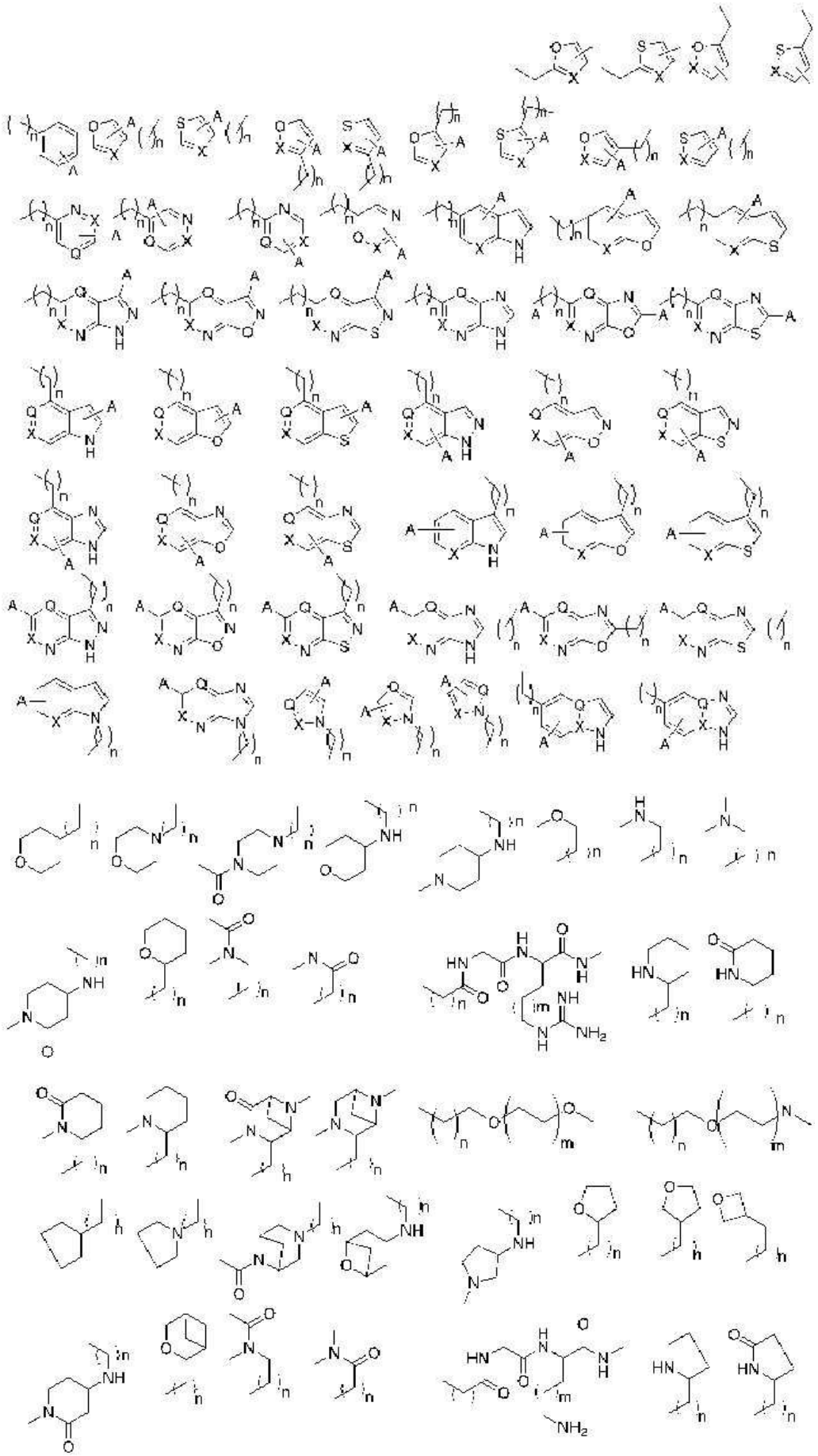
청구항 30

청구항 15, 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 화학식 I로 표시되는 것인 화합물:



R1 및 R6은 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO… 이고

R2, R3, R4 및 R5는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -Me, -F, -Cl, -Br,$-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO…로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고;

여기서, -A는 -H, -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, $-NO_2$, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$, $-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이고,

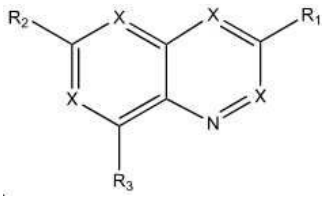
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고,

· R2, R3, R4 및 R5는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

· R7은 -SH, -NH2, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

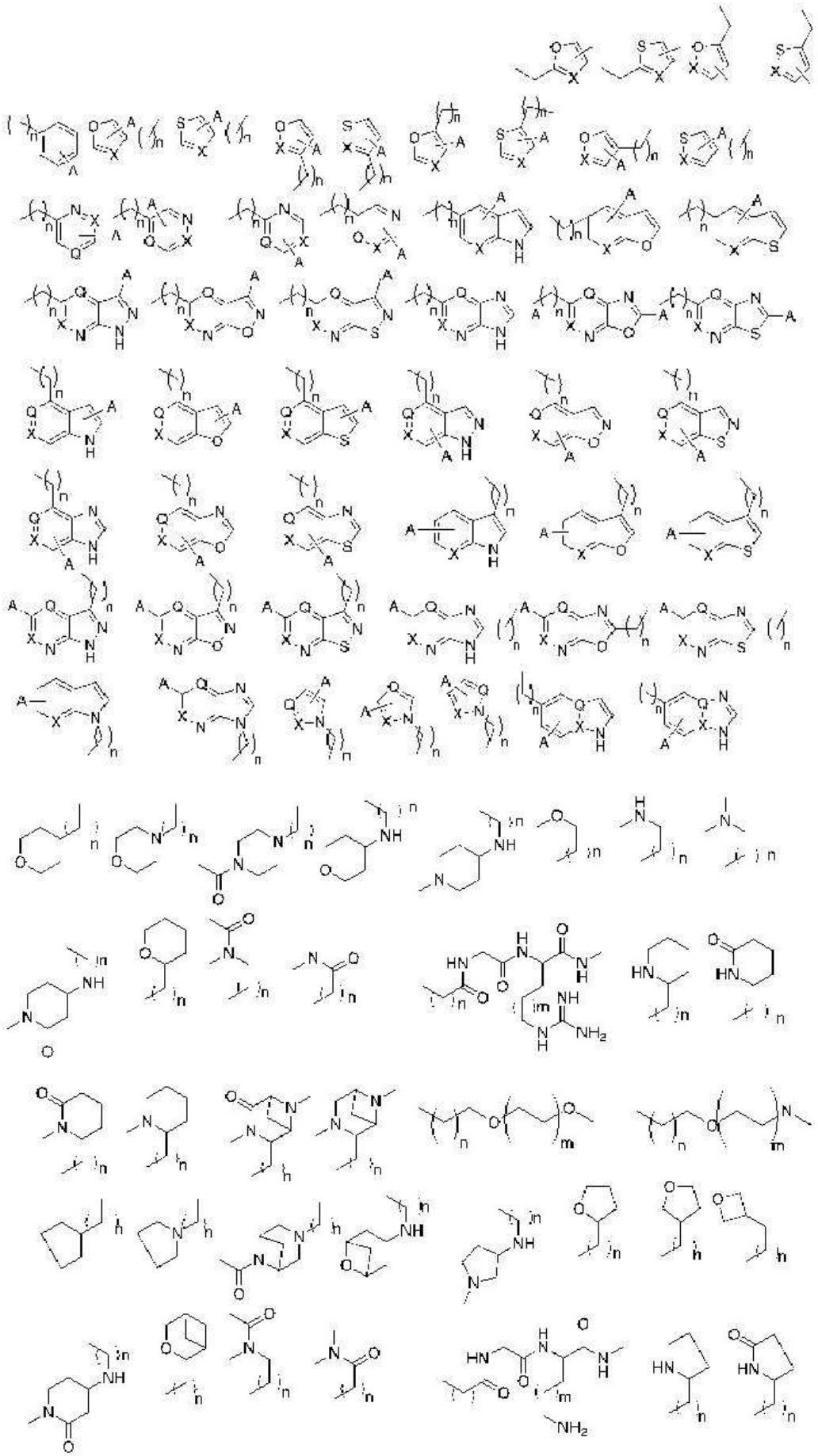
청구항 31

청구항 15, 또는 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 화학식 II로 표시되는 것인 화합물:



· X = CH 또는 N

· R1 및 R2는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

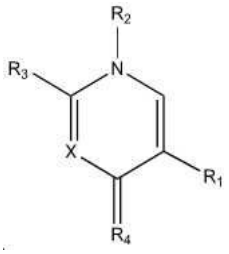
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

· R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

· R3은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

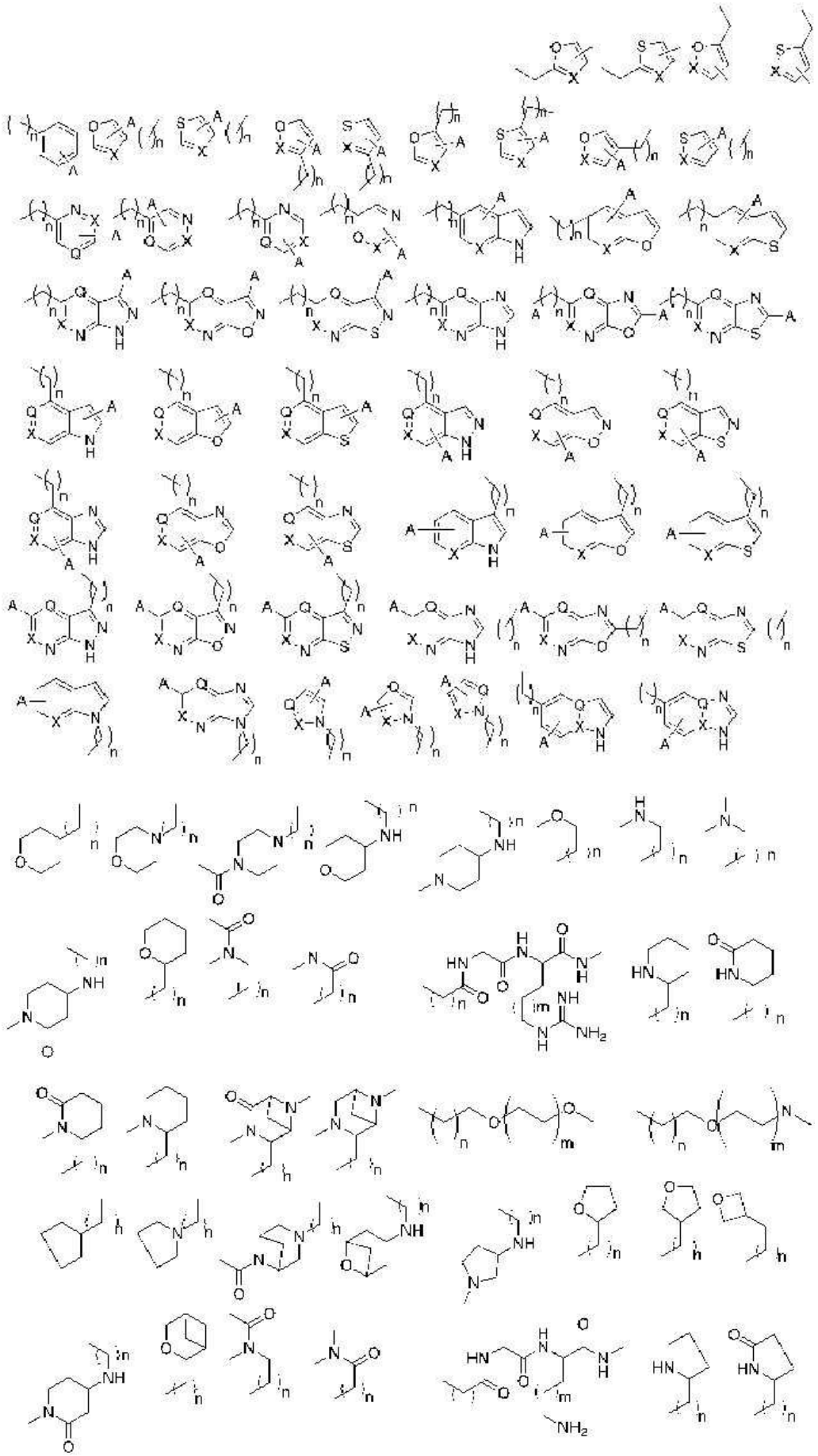
청구항 32

청구항 15, 또는 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 화학식 III으로 표시되는 것인 화합물:



· R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

· R2 및 R3은 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

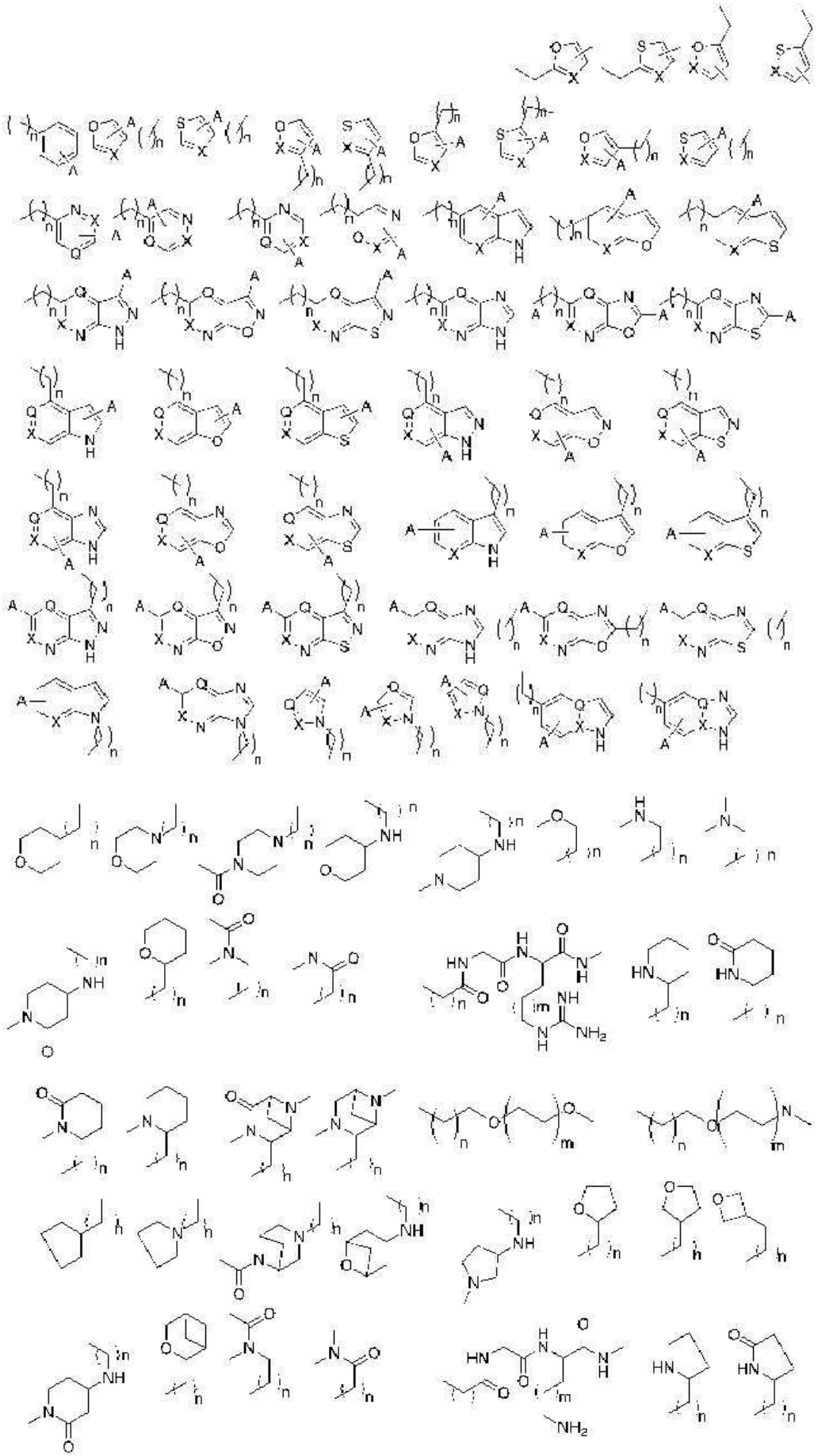
·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고; R4는 O, S, NH이다.

청구항 33

청구항 15, 또는 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, R11L이 화학식 IV로 표시되는 것인 화합물:



·R1, R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

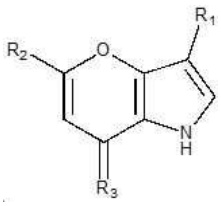
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고,

·R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

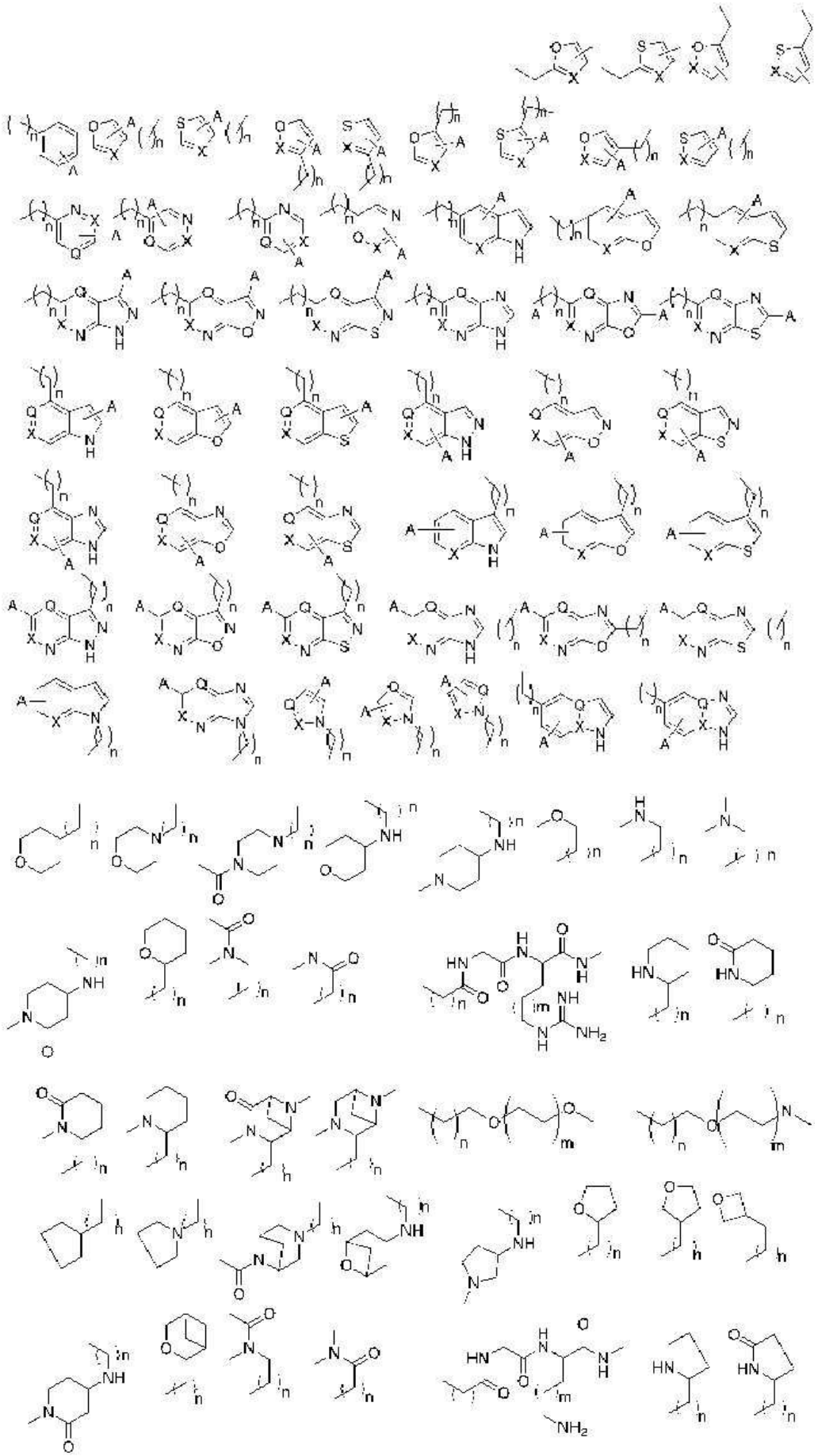
·R4는 O, S, NH, NCOY이다.

청구항 34

청구항 15, 또는 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, R11L이 화학식 V로 표시되는 것인 화합물:



·R1 및 R2는 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

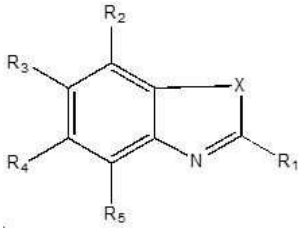
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

· R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

· R3은 O, S, NH, NCOY이다.

청구항 35

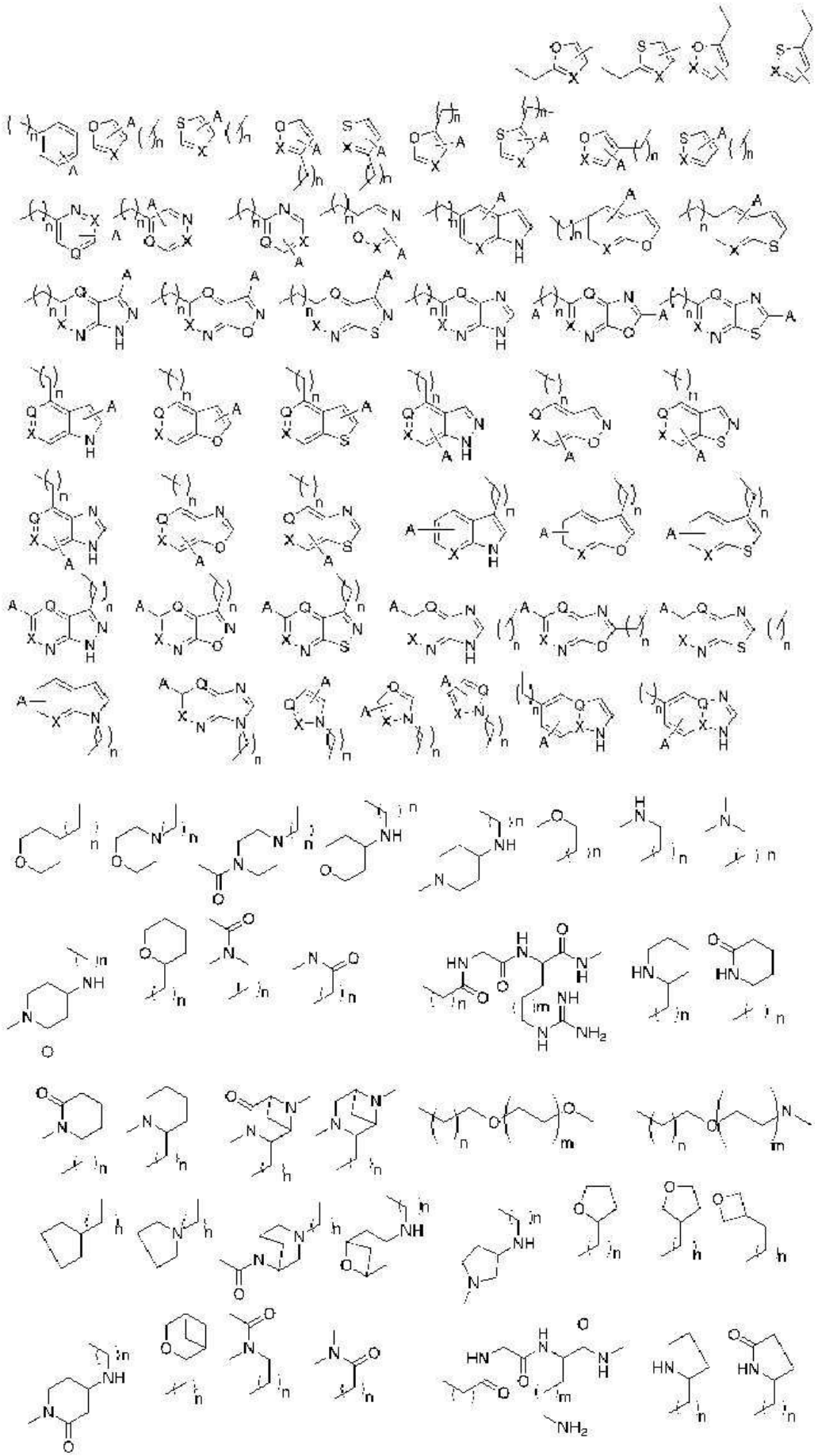
청구항 15, 청구항 21 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 화학식 VI로 표시되는 것인 화합물:



· X = NH, O, S, CH2이고,

· R1 및 R4는 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -CHO… 이고,

· R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

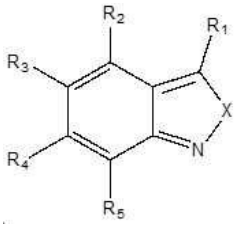
n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고,

·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

·R5는 -SH, -NH2, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

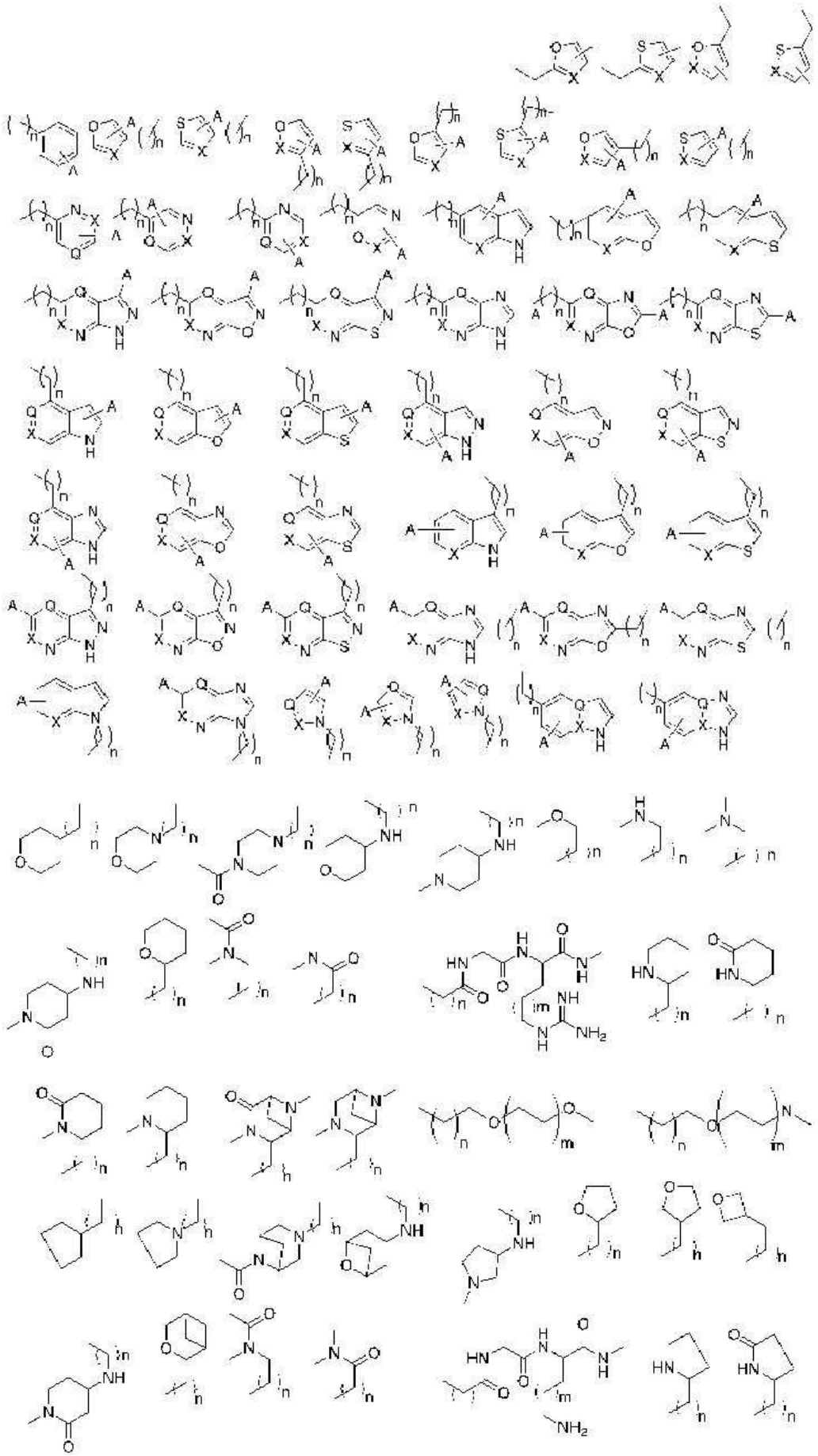
청구항 36

청구항 15, 또는 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 화학식 VII로 표시되는 것인 화합물:



·X = NH, O, S, CH2이고,

·R1, R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe , $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

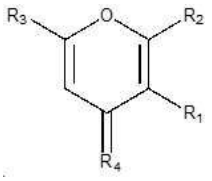
·R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

·R4는 우선적으로 -H이지만 또한 Me, F, Cl, Br, CF3, CHF_2, CH_2F, CN, OMe, SMe, SOMe, SO_2Me NH_2, NHMe, NO_2, CHO이고,

·R5는 -SH, -NH2, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

청구항 37

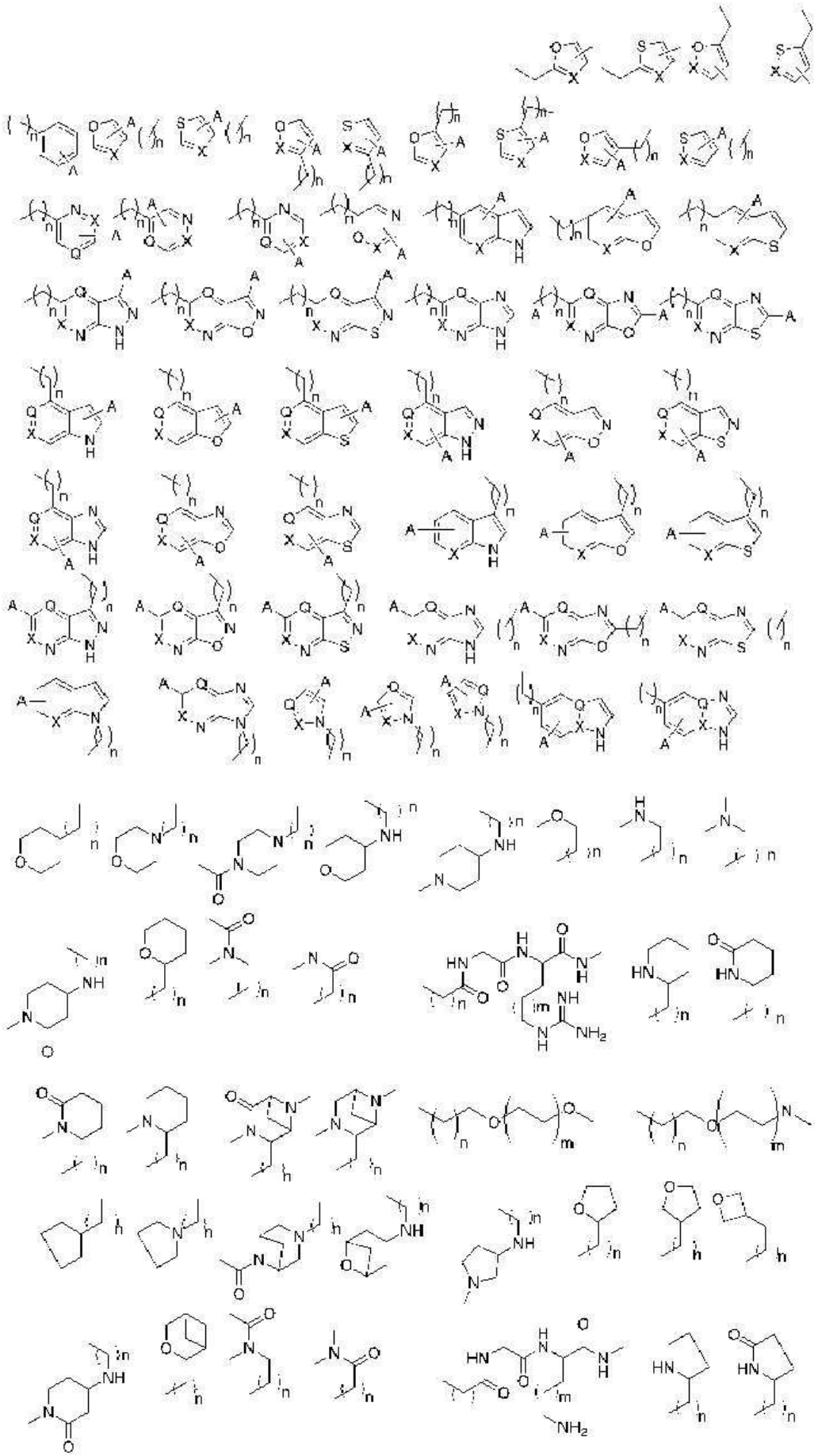
청구항 15, 또는 청구항 21, 또는 청구항 23에 있어서, 상기 R11L이 화학식 VIII로 표시되는 것인 화합물:



·R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY, NHCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

·R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택되고,

·R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, -CF3, -COOH, -CH2NH2, -CH3, -H, -F, -Cl, -Br, -CF3, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, -SO2Me, -NH2, -NHMe, -NMe2, NO2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 -CH3, -CH2-COO-,



로 구성된 군에서 선택되고,

여기서:

-A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

-X 및 Q는 N 또는 CH이다.

n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고; R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택된다.

청구항 38

세포를 청구항 1 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 따른 이중작용성 분자와 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 표적 단백질의 증가된 단백질분해(proteolysis)를 얻는 방법.

청구항 39

개체에게 청구항 1 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 따른 이중작용성 분자를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 표적 단백질의 증가된 단백질분해를 얻는 방법.

청구항 40

2 개의 공유결합으로 연결된(linked) 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자로서, 제 1 결합 파트너는 Rpn11에 결합하고 제 2 결합 파트너는 선택된 표적 단백질에 결합하는 이중작용성 분자를 제공하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 제 1 및 상기 제 2 결합 파트너를 제공하는 단계, 및 상기 제 1 및 제 2 결합 파트너를 공유결합으로 연결시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 41

표적 단백질의 단백질분해를 촉진하는 이중작용성 분자를 선택하는 방법:

a.후보 제 1 결합 파트너를 제공하고 상기 후보 제 1 결합 파트너가 Rpn11에 결합하는지 결정함으로써 제 1 결합 파트너를 선택하는 단계;

b.후보 제 2 결합 파트너를 제공하고 상기 후보 제 2 결합 파트너가 관심 표적 단백질에 결합하는지 결정함으로써 제 2 결합 파트너를 선택하는 단계;

c.상기 제 1 및 제 2 결합 파트너를 공유결합으로 부착하여 이중작용성 분자를 형성하는 단계;

d.세포를 상기 이중작용성 분자와 접촉시키는 단계;

e.상기 표적 단백질이 단백질분해를 겪는 지 여부를 결정하는 단계.

청구항 42

표적 단백질의 단백질분해를 촉진할 수 있는 이중작용성 분자를 선택하는 방법으로서,

(a) 표적 단백질 결합 파트너에 공유결합으로 결합된(linked) Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 제공하는 단계,

(b) 상기 이작용성 분자를, Rpn11 및 표적 단백질을 포함하는 시험 관 내의 또는 포유 동물의 세포와 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 접촉은 이중작용성 분자가 상기 Rpn11 및 상기 표적 단백질에 결합하도록 허용하는 것인 단계, 및

(c) 상기 세포에서 상기 표적 단백질의 단백질분해를 검출하는 단계로서, 여기서 검출된 단백질 분해는 상기 접촉의 부재하의 상기 표적 단백질의 단백질분해에 비해 상대적으로 증가된 것인 단계.

청구항 43

청구항 41 또는 청구항 42에 있어서, 상기 이중작용성 분자의 부재하에 상기 표적 단백질의 단백질분해를 측정하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 44

RPN11 분자 또는 그 상동체(homolog)를 갖는 진핵 생물 또는 원핵 생물에서 생체 내 단백질의 분해를 유도하는 방법으로서, 상기 RPN11에 의한 탈-유비퀴틴화를 억제하지 않고 청구항 1 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 따른 화합물을 상기 진핵 생물 또는 원핵 생물에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 45

청구항 1 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 따른 화합물을 포함하되, 상기 RPN11에 의한 탈-유비퀴틴화를 억제하지 않는, 세포, 조직 또는, 기관의 배양 배지.

청구항 46

청구항 1 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 따른 화합물로 표적 단백질의 분해를 유도하되, 상기 RPN11에 의한 탈-유비퀴틴화를 억제하지 않는 단계를 포함하는, 표적 단백질을 분해하는 방법.

청구항 47

청구항 1 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 따른 화합물 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 세포에서 단백질의 선택된 분해를 위한 이중작용성 분자에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 단백질의 분해는 세포 항상성을 유지하는 고도로 조절되고 필수적인 과정이다. 손상되거나 잘못 접히거나 과잉 단백질의 선택적 식별 및 제거는 부분적으로 유비퀴틴-프로테아좀 경로 (UPP)를 통해 이루어진다. UPP는 항원 프로세싱, 세포 자멸사(apoptosis), 세포 소기관의 생체적 생성(biogenesis), 세포 순환, DNA 전사 및 복구, 분화 및 발달, 면역 반응 및 염증, 신경 및 근육 퇴화, 신경망의 형태 형성, 세포 표면 수용체의 조절(modulation), 이온 채널 및 분비 경로, 스트레스 및 세포 외 조절자에 대한 반응, 리보솜 생체적 생성, 및 바이러스 감염을 포함한 거의 모든 세포 프로세스의 조절의 중심이다. 전형적으로 말단 라이신 잔기에 대한, E3 유비퀴틴 리가제에 의한 다중 유비퀴틴 분자의 공유결합적 부착은 프로테아좀 분해를 위해 단백질을 표시하는데, 여기서 단백질은 작은 펩티드로 소화되고 결국에는 새로운 단백질의 구성 요소로 역할하는 구성적 아미노산으로 분해된다. 결함이 있는 프로테아좀 분해는 특히 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병, 근이영양증, 심혈관 질환, 및 암을 비롯한 다양한 임상 장애와 관련이 있다.

[0003] 생체 내(in vivo)에서 다양한 단백질의 유비퀴틴화를 촉진하는 600 개 이상의 E3 유비퀴틴 리가제가 있다. E3 리가제는 HECT 도메인 E3, U-box E3, 모노머 RING E3 및 다중-서브유닛 Cullin-RING E3의 네 가지 패밀리로 나눌 수 있다. Bulatov et al. (*Biochem J.,* 2015, 467: 365-386), Li et al. (*PLOS One,* 2008, *3,* 1487), Berndsen et al. (*Nat. Struct. Mol. Biol.,* 2014, *21,* 301-307), Deshaies et al. (*Ann. Rev. Biochem.,* 2009, *78,* 399-434), Spratt et al. (*Biochem.* 2014, *458,* 421-437), and Wang et al. (*Nat. Rev. Cancer.,* 2014, *14,* 233-347). 참조

[0004] 단백질분해(proteolysis) 표적 키메라 (PROTAC) 화합물은 링커에 의해 결합된 두 개의 리간드로 구성된다 - 하나는 표적 단백질과 결합하는 리간드이고 다른 하나는 E3 유비퀴틴 리가제를 동원한다. 그리 하여, 표적 단백질은 E3 리가제로 가져와져서 유비퀴틴화되고 분해된다. (See Ottis, P. & Crews, C. M. *Proteolysis-Targeting Chimeras: Induced Protein Degradation as a Therapeutic Strategy. ACS Chem Biol* ***12,*** 892-898 (2017). 참조)

[0005] PCT / US2015 / 025813 (Arvinas), WO 2016/146985 (University of Dundee) 및 WO 2013/106643 (Yale University et al.)은 이미드계 및 히드록시프롤린계 PROTAC 이중작용성 화합물에 관한 것으로 이들은 분해를

위한 E3 유비퀴틴 리가제로 내인성 단백질을 동원하도록 의도된 것이다. US 2016/0176916, WO 2017/024318, WO 2017/024317 및 WO 2017/024319 (모든 Dana-Farber Cancer Institute)는 또한 알려진 E3 리가제 리간드를 사용하여 표적 단백질을 유비퀴틴화하고 분해하도록 지시하는 표적 단백질의 분해에 관한 것이다.

[0006] 26S 프로테아좀은 세포질 단백질과 핵 단백질을 모두 분해하는 데 관여하는 대형 다중 서브유닛 복합체이다. 최소 32 개의 서로 다른 서브유닛으로 구성된다. 단백질 분해 활성 부위를 포함하는 중앙 20S 코어 원통형 입자는 한쪽 또는 양쪽 끝에서 19S 조절 입자로 캡핑되어 있다. 분해 챔버는 코어 입자의 중심을 따라 이어지는 채널을 통해 도달할 수 있다. 프로테아좀 억제제인 VelcadeR은 20S 내 중앙 촉매강을 표적으로 하는 다발성 골수종 치료를 위한 FDA 승인 약물이다. 채널의 입구는 좁기 때문에 접힌 단백질은 20S 코어 입자에 들어가고 절단되어 궁극적으로 분해되기 전에 적어도 부분적으로 펼쳐 져야 한다. 19S 조절 입자는 2 개의 서브-복합체로 배열되어 있는 적어도 19 개의 서브유닛으로 구성되어 있는데, 2 개의 서브-복합체 중 하나는 "뚜껑"으로 다른 하나는 "베이스"로 불린다. 그 조절 입자는 그의 기능을 정력적으로 지원하기 위해 ATP 가수 분해를 촉매하는 ATPase 서브유닛을 포함한다. 이러한 기능에는 분해 채널 입구 게이팅, 기질 인식 매개, 유비퀴틴 사슬의 단백질분해적 절단 (따라서 유비퀴틴화된 단백질 인식 후 유비퀴틴이 재활용됨), 점힘풀기 및 궁극적으로 20S 코어 입자로의 전위(translocation)가 포함된다.

발명의 내용

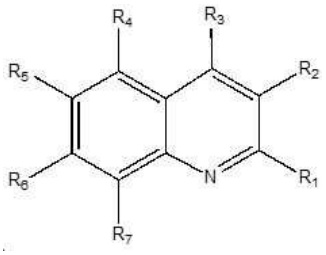
해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 세포에서 선택된 표적 단백질의 분해를 촉진하는 이중작용성 분자를 제공한다.

과제의 해결 수단

[0008] 한 구체예에서, 본 발명은 표적 단백질 결합 파트너에 링크된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 포함한다.

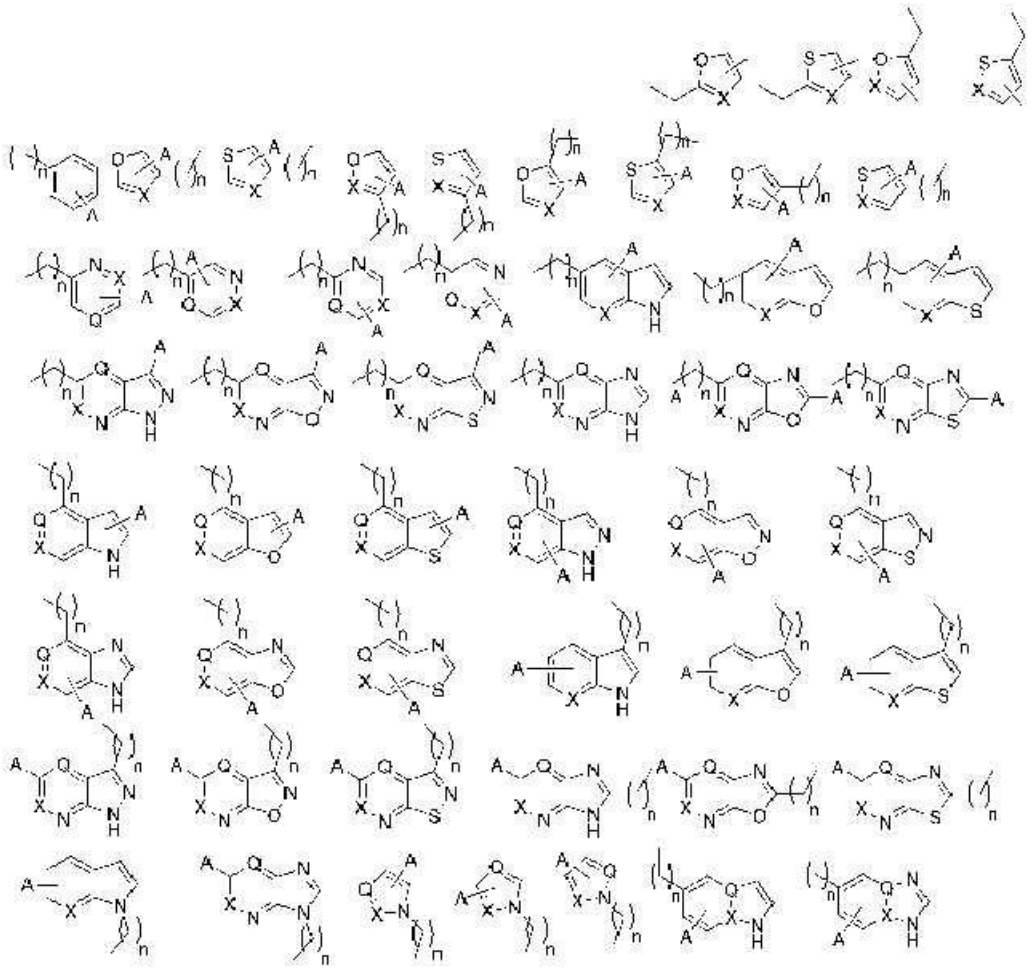
[0009] 바람직하게는, Rpn11 결합 파트너는 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합한다. 바람직하게는, Rpn11 결합 파트너는 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합한다. Rpn11 결합 파트너는 표 1에서 제공된 Rpn11 결합 분자의 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, 표적 단백질 결합 파트너는 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적으로 하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 충격 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항체로 구성된 군에서 선택될 수 있다. . 다른 바람직한 구체예에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 링커, 탄화수소 링커, 알킬-에테르 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커일 수 있다. 바람직하게는 Rpn11 결합 파트너가 화학식 I로 표시되는 이중작용성 분자

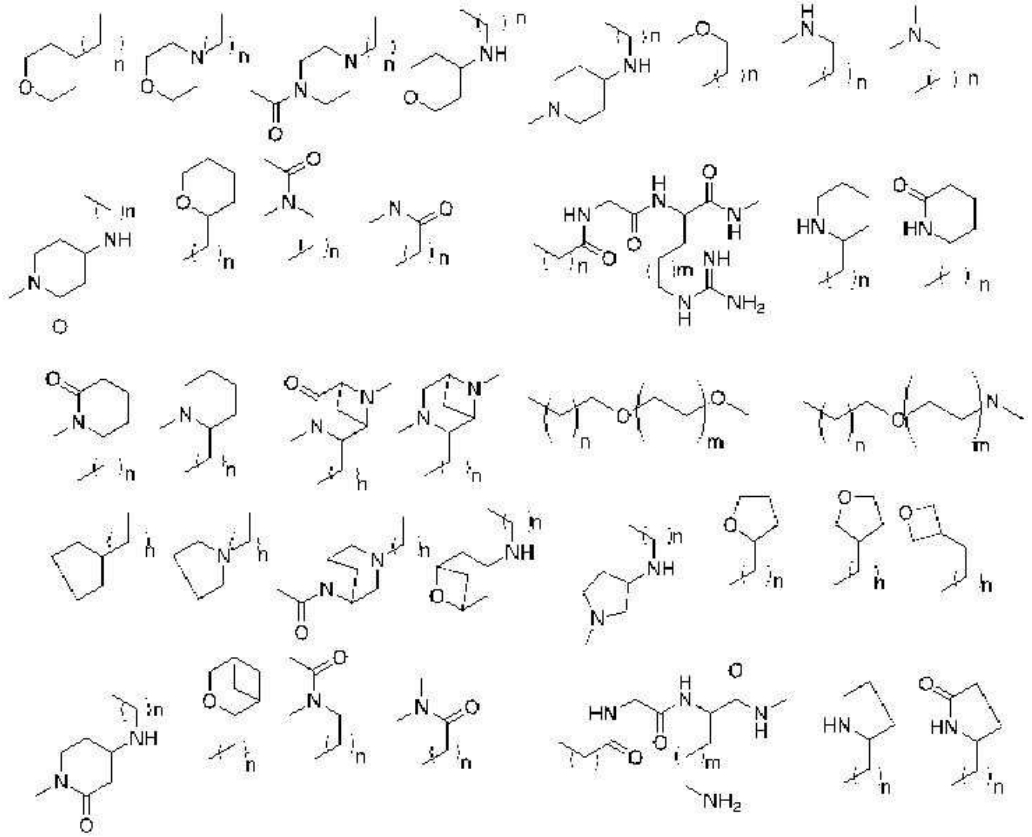


[0010]

[0011] R1 및 R6은 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO… 이고

[0012] R2, R3, R4 및 R5는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -Me, -F, -Cl, -Br,$-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO…로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0013] 

[0014] 

[0015] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0016] 여기서:

[0017] -A는 -H, -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, $-NO_2$, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$, $-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

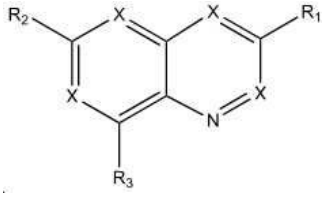
[0018] -X 및 Q는 N 또는 CH이고

[0019] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0020] · R2, R3, R4 및 R5는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

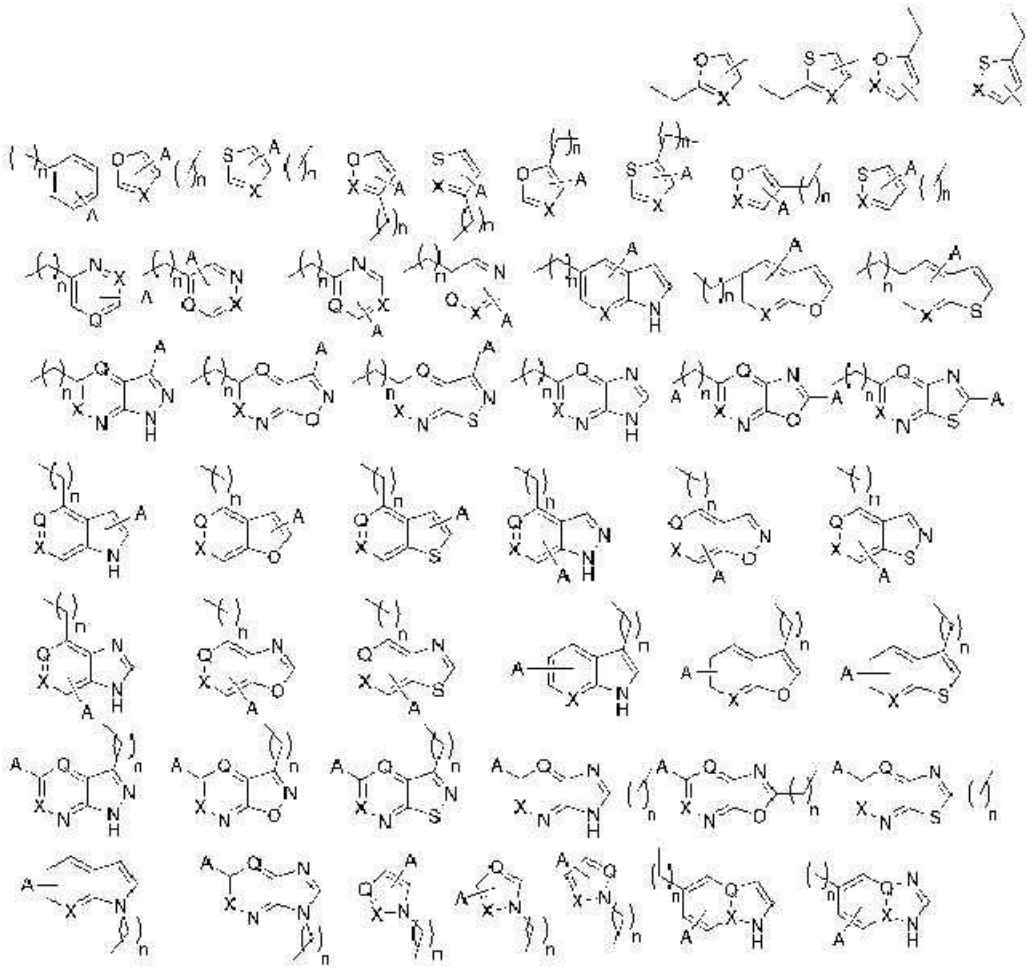
[0021] · R7은 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0022] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 II로 표시되는 파트너이다.

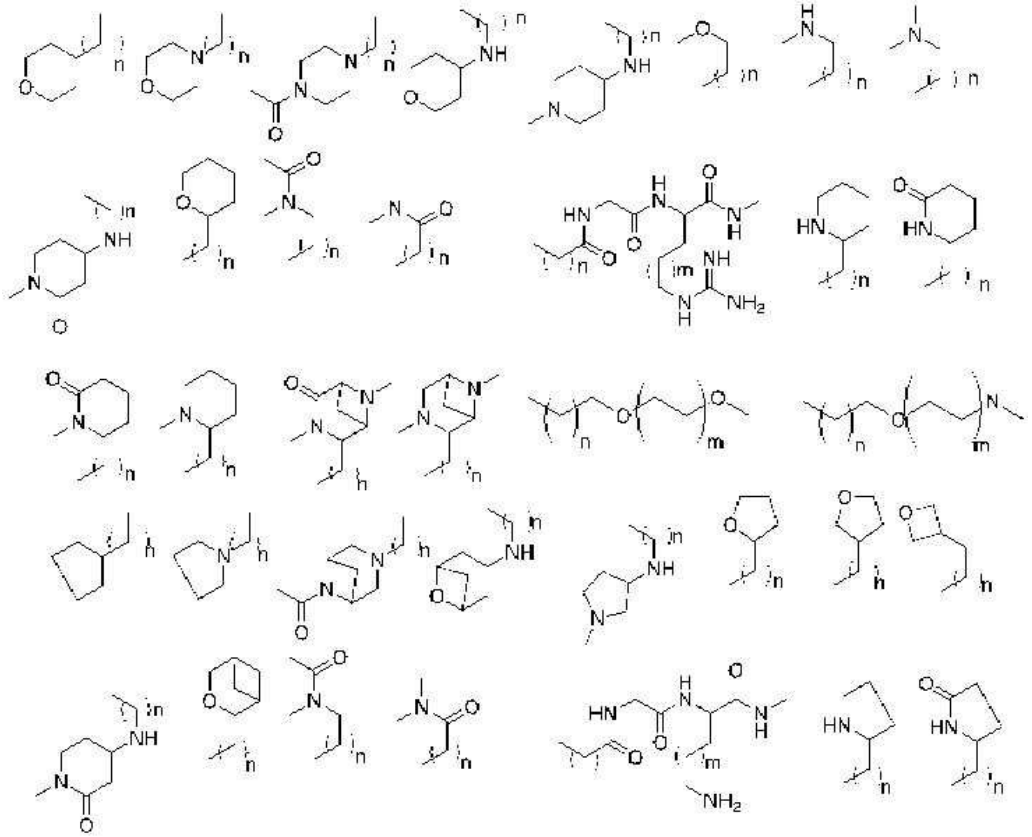
[0023] 

[0024] · X = CH 또는 N

[0025] · R1 및 R2는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



[0026]



[0027]

[0028] 로 구성되고,

[0029] 여기서:

[0030] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, -SONHNH2…이고

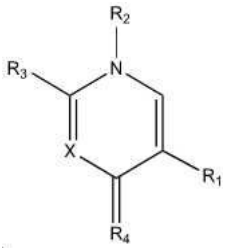
[0031] -X 및 Q는 N 또는 CH이고

[0032] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0033] · R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

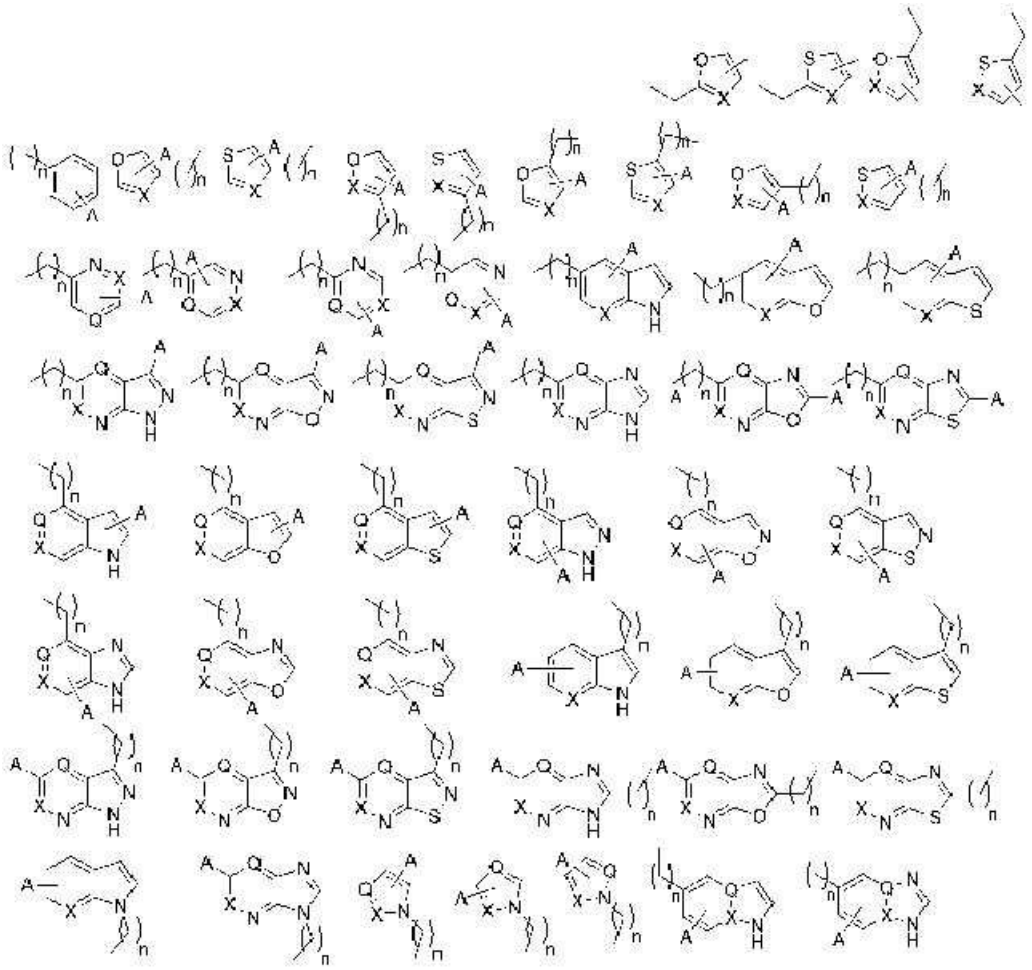
[0034] · R3은 -SH, -NH2, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

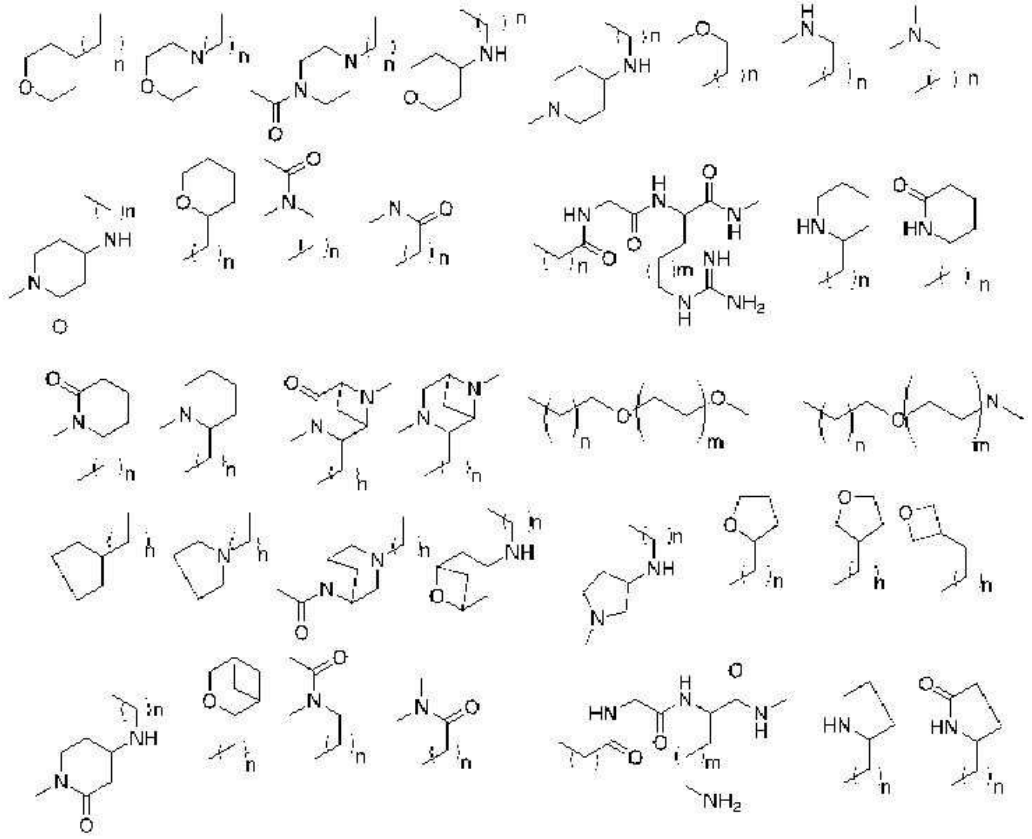
[0035] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 III으로 표시되는 파트너이다.

[0036] 

[0037] · R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0038] · R2 및 R3은 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0039] 

[0040] 

[0041] 로 구성된 군에서 선택되고

[0042] 여기서:

[0043] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

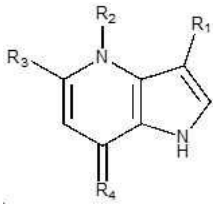
[0044] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0045] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

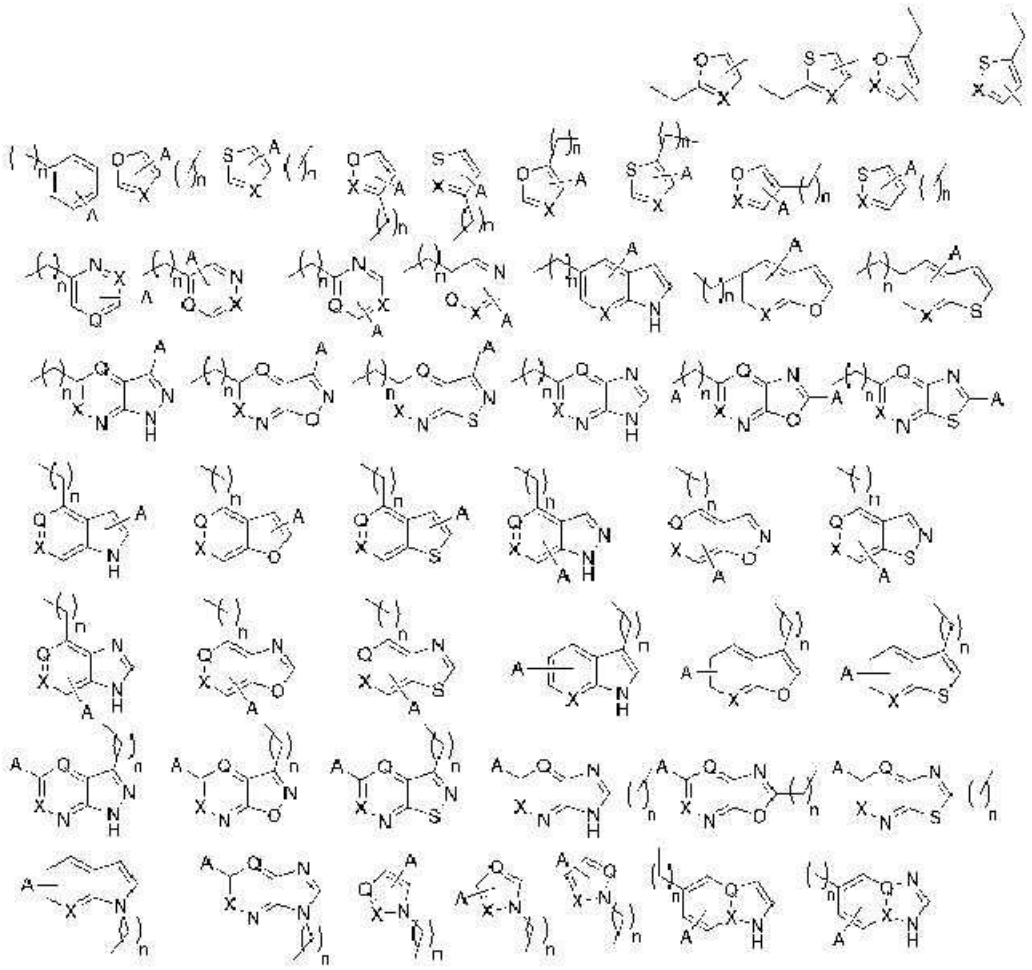
[0046] ·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

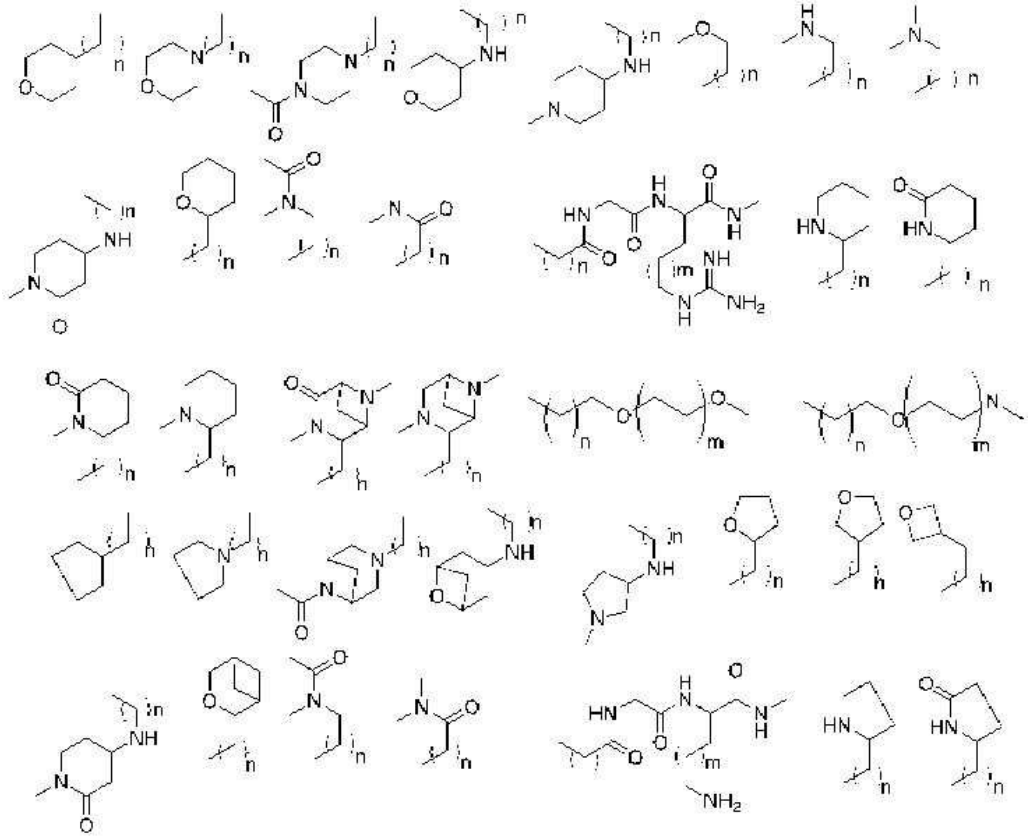
[0047] ·R4는 O, S, NH이다.

[0048] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 IV로 표시되는 파트너이다.

[0049] 

[0050] ·R1, R2 및 R3은 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0051] 



[0052]

[0053] 로 구성된 군에서 선택되고

[0054] 여기서:

[0055] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다.

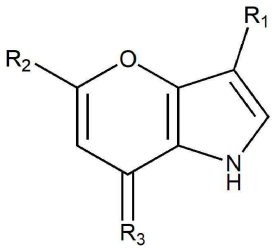
[0056] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0057] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4

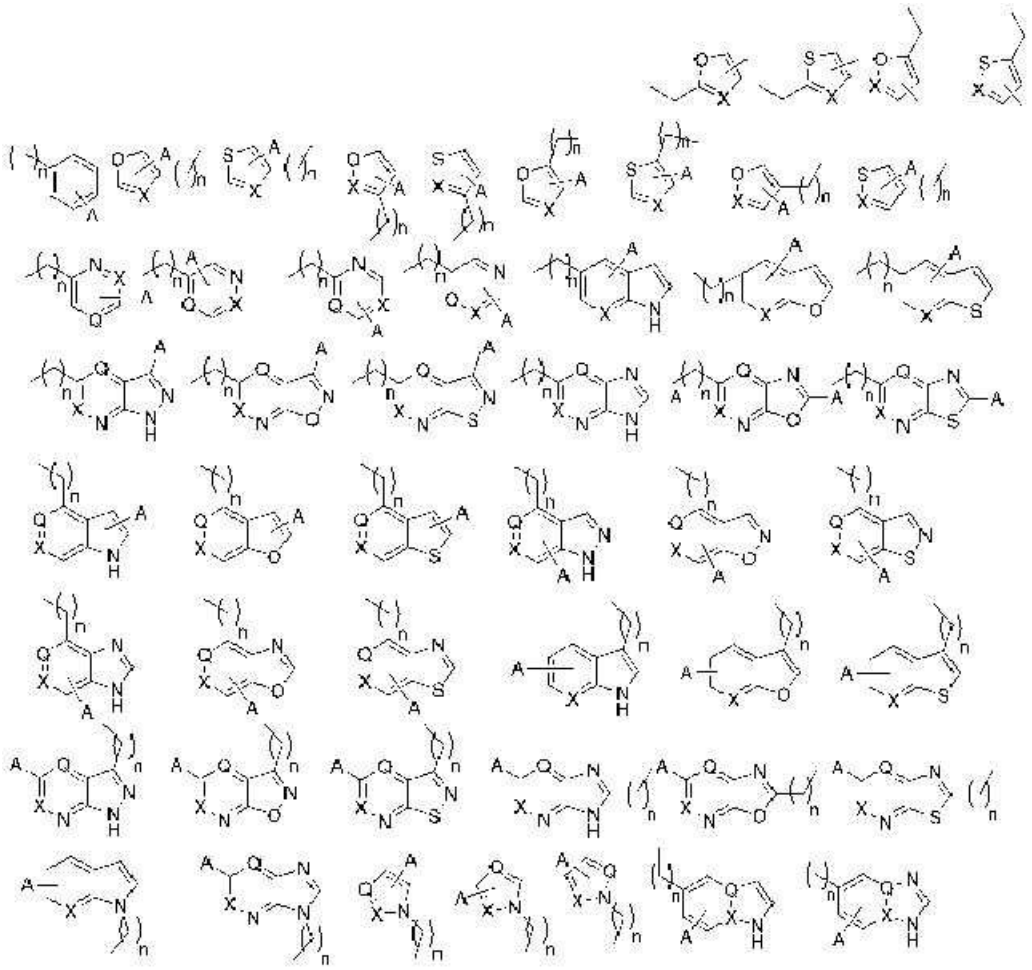
[0058] · R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

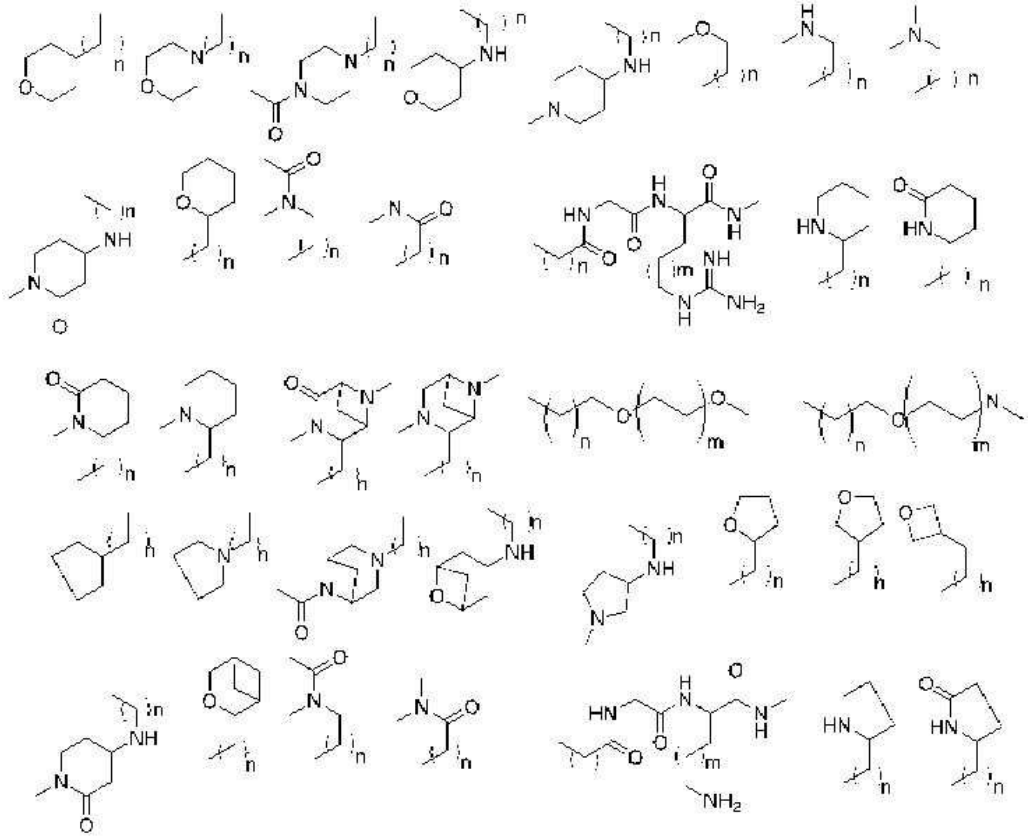
[0059] · R4는 O, S, NH, NCOY이다.

[0060] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 V로 표시되는 파트너이다.

[0061] 

[0062] · R1 및 R2는 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0063] 

[0064] 

[0065] 여기서 :

[0066] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다.

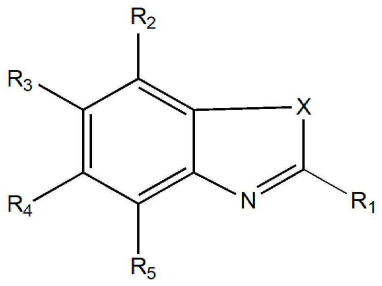
[0067] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0068] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4

[0069] · R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

[0070] R3은 O, S, NH, NCOY이다.

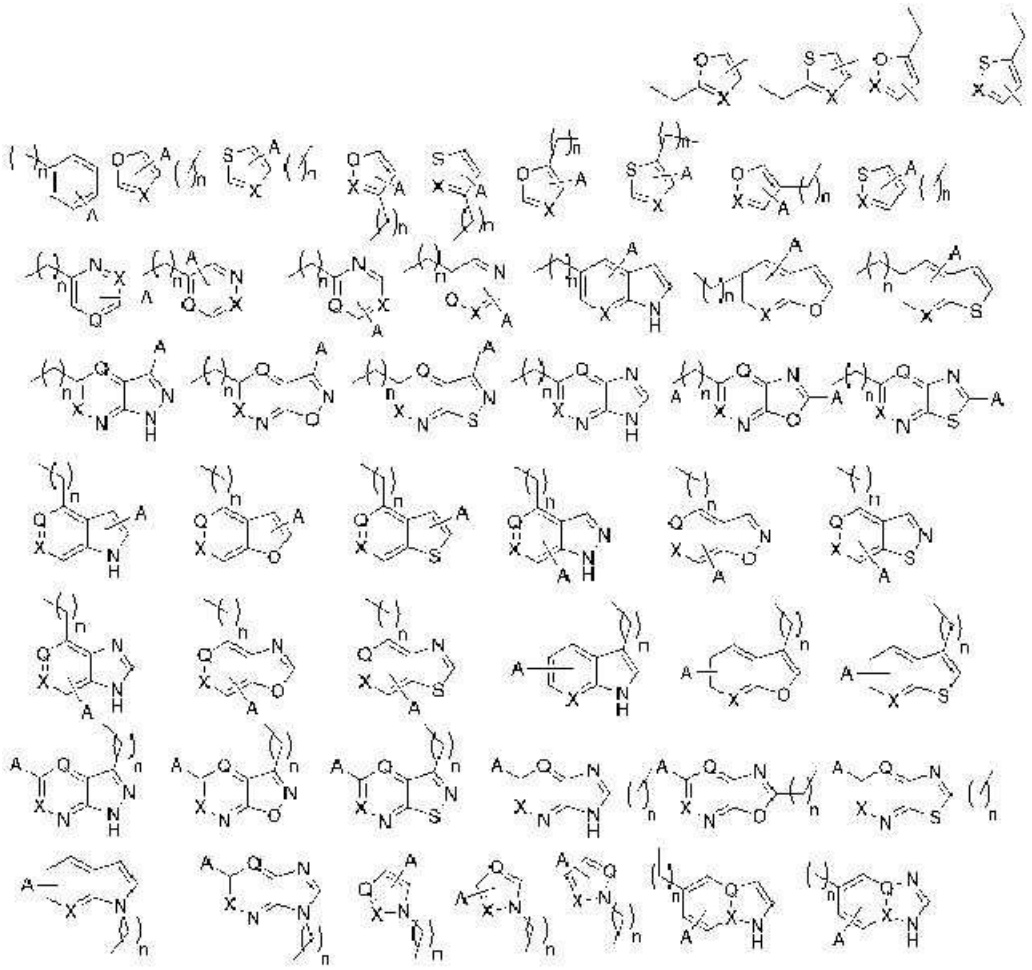
[0071] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 VI로 표시되는 파트너이다.

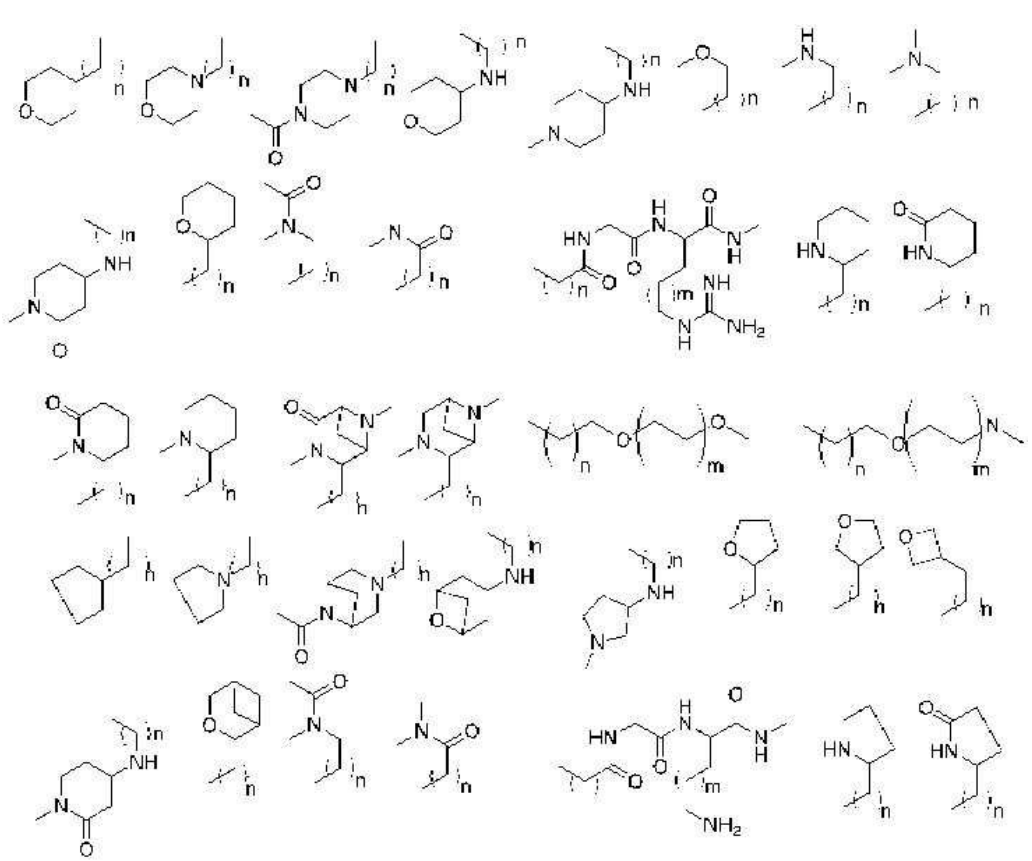
[0072] 

[0073] · X = NH, O, S, CH2

[0074] · R1 및 R4는 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -CHO… 이다.

[0075] · R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0076] 

[0077] 

[0078] 로 구성된 군에서 선택되고

[0079] 여기서:

[0080] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$이고

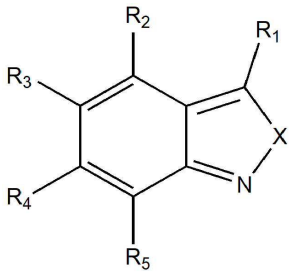
[0081] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0082] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0083] · R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

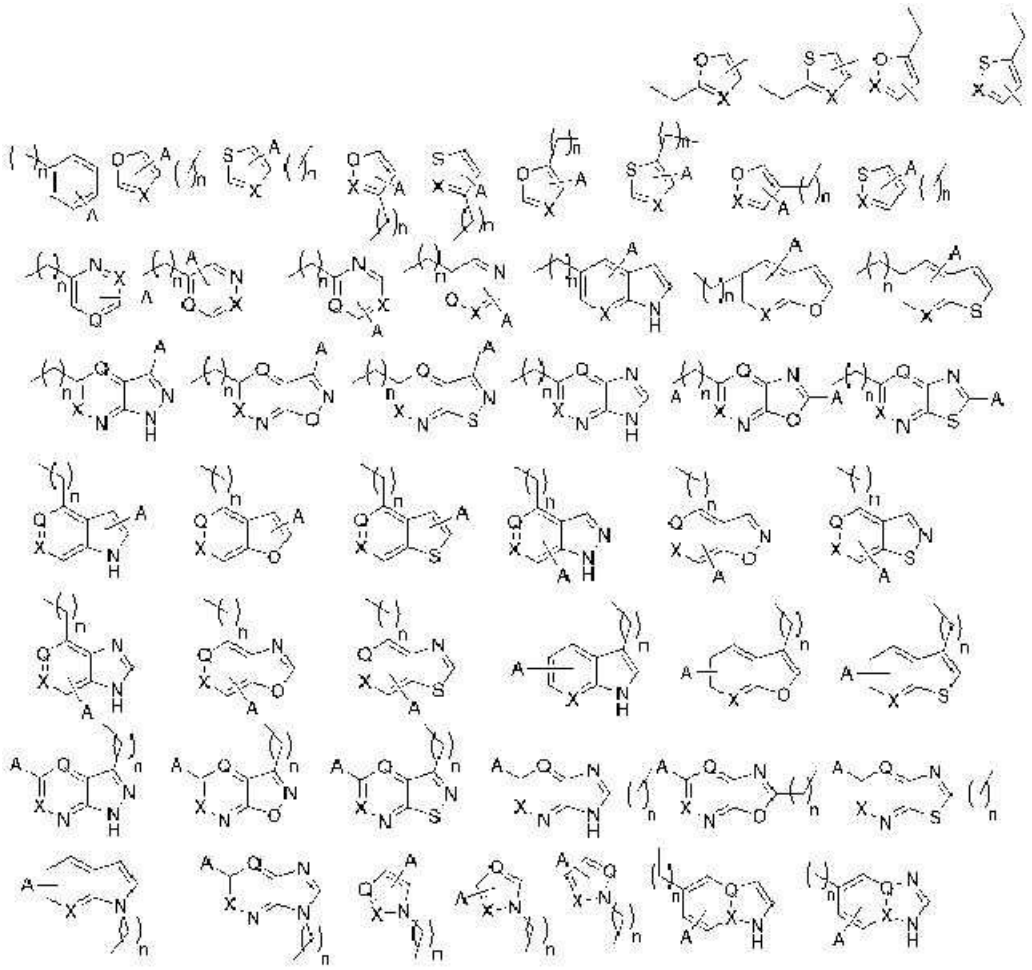
[0084] · R5는 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

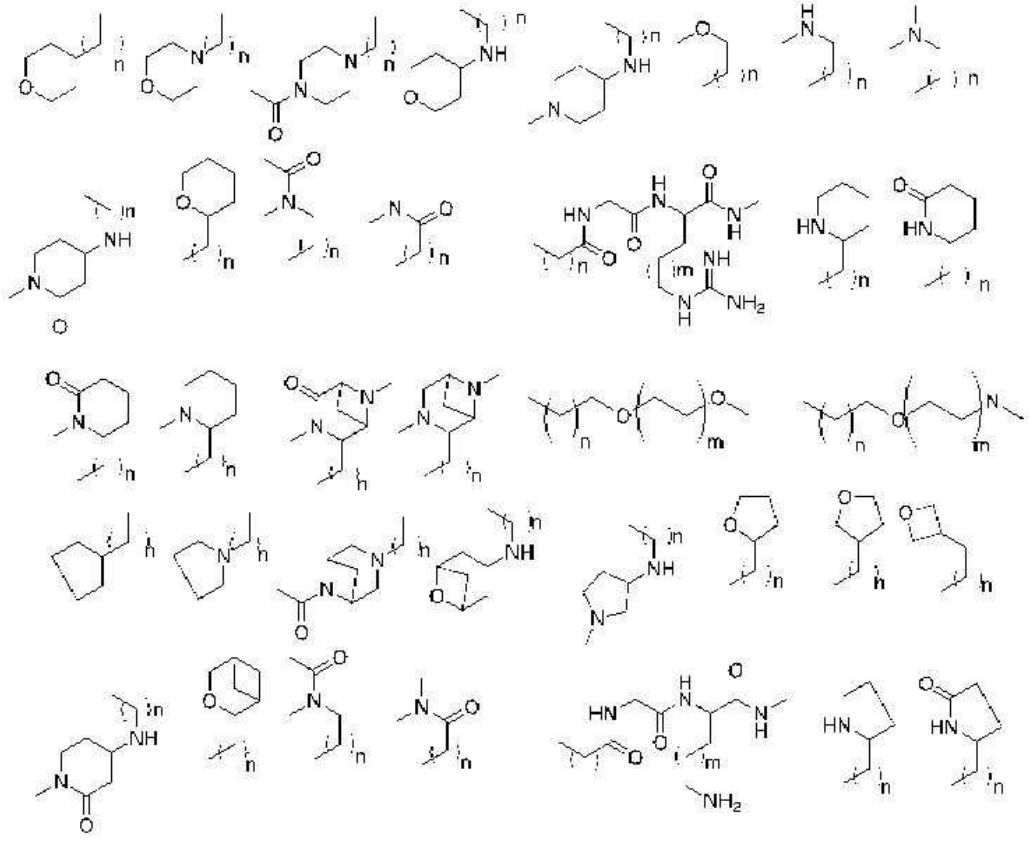
[0085] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 VII로 표시되는 파트너이다.

[0086] 

[0087] · X = NH, O, S, CH2

[0088] · R1, R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0089] 



[0090]

[0091] 로 구성된 군에서 선택되고

[0092] 여기서:

[0093] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe , $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다

[0094] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

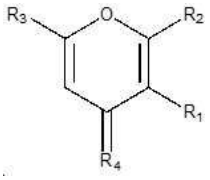
[0095] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0096] · R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

[0097] · R4는 우선적으로 -H이지만 또한 Me, F, Cl, Br, CF3, CHF_2, CH_2F, CN, OMe, SMe, SOMe, SO_2Me NH_2, NHMe, NO_2, CHO이고,

[0098] · R5는 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

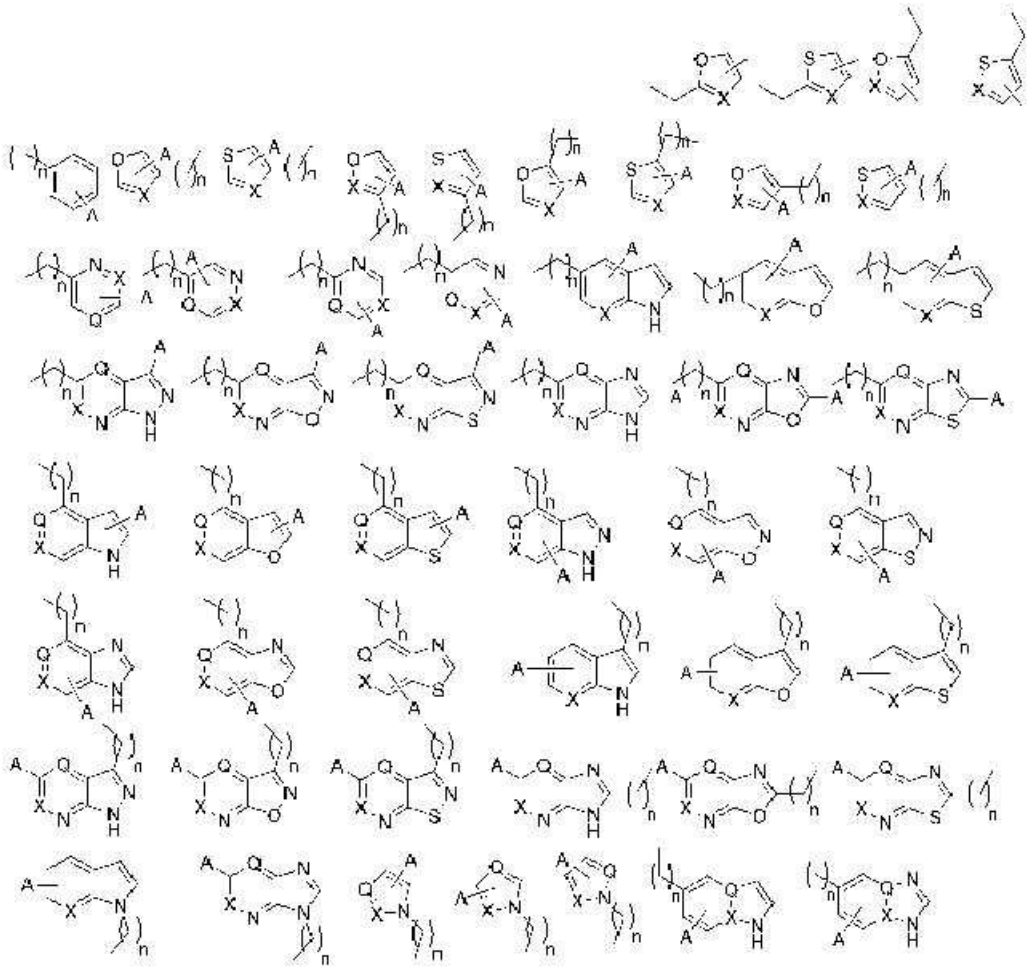
[0099] 다른 바람직한 구체예에서, Rpn11 결합 파트너는 화학식 VIII으로 표시되는 파트너이다.

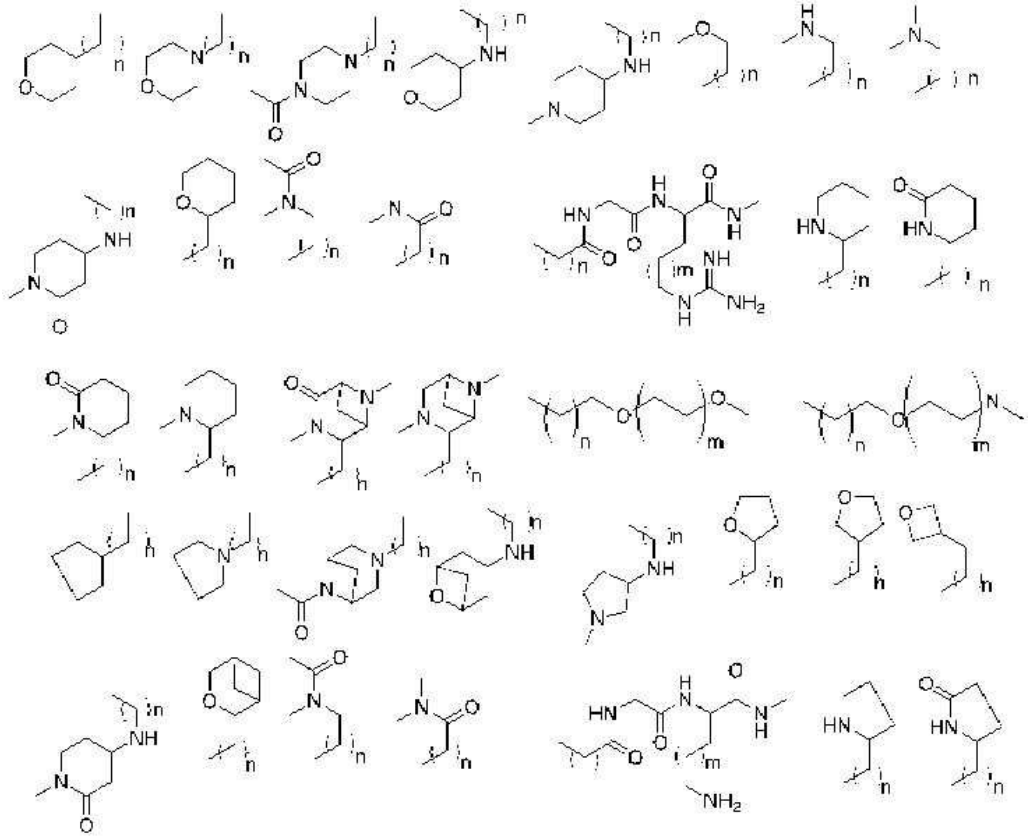
[0100] 

[0101] · R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY, NHCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0102] · R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택되고,

[0103] · R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, -CF3, -COOH, -CH2NH2, -CH3, -H, -F, -Cl, -Br, -CF3, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, -SO2Me, -NH2, -NHMe, -NMe2, NO2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 -CH3, -CH2-COO-,

[0104] 



[0105]

[0106] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0107] 여기서:

[0108] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

[0109] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0110] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0111] ·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고; R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택된다.

[0112] 본 발명은 또한 화학식 (IX)의 화합물을 포함한다:

[0113] R11L-(CL)-TPL (IX),

[0114] 여기서 -는 공유 결합을 의미하고;

[0115] 여기서 R11L은 Rpn11에 결합하는 리간드이고,

[0116] 여기서 CL은 공유결합적 링커이다.

[0117] 여기서 TPL은 표적 단백질에 결합하는 리간드이다.

[0118] R11L은 표 1에서 제공된 Rpn11 리간드의 군에서 선택될 수 있다. 바람직하게는, Rpn11 리간드는 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합한다. 바람직하게는, Rpn11 리간드는 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합한다. Rpn11 리간드는 표 1에서 제공된 Rpn11 결합 분자의 군에서 선택될 수 있다.

[0119] 바람직하게는, 표적 단백질 리간드는 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적으로 하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 쇼크 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 바람직한 구체예에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커, 탄화수소 링커, 알킬-에테르 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커일 수 있다.

[0120] 본 발명은 또한 화학식 (X)의 화합물을 포함한다:

[0121] R11L-A-(CL)-B-TPL (X),

[0122] 여기서 -는 공유 결합을 의미하고;

[0123] 여기서 R11L은 Rpn11에 결합하는 리간드이고,

[0124] 여기서 CL은 상이한 제 1 말단 A 및 제 2 말단 B를 갖는 공유결합적 링커이고, 여기서 A 및 B는 독립적으로 아미드, 옥심, 케토, 탄소, 에테르, 에스테르, 또는 카바메이트이고;

[0125] 여기서 TPL은 표적 단백질에 결합하는 리간드이고, 및

[0126] 여기서 R11L은 A에 공유결합적으로 링크되고 TPL은 B에 공유결합적으로 연결된다.

[0127] 바람직하게는, 표적 단백질 리간드는 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적으로 하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 쇼크 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 바람직한 구체예에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커, 탄화수소 링커, 알킬-에테르 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커일 수 있다.

[0128] 본 발명은 또한 화학식 XI의 화합물을 포함한다:

[0129] R11L-(CL)-Rx (XI),

[0130] 여기서 -는 공유 결합을 의미하고;

[0131] 여기서 R11L은 Rpn11에 결합하는 리간드이고,

[0132] 여기서 CL은 Rx로 끝나는 공유결합적 링커이고,

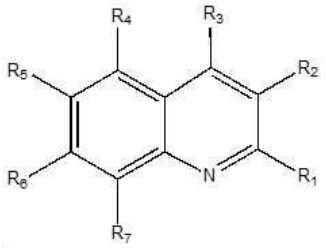
[0133] 여기서 Rx는 리간드와 공유결합적 화학 결합을 형성할 수 있고,

[0134] 여기서 Rx는 PEG가 아니다.

[0135] 바람직하게는, R11L은 표 1에서 제공된 Rpn11 리간드의 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, Rpn11 리간드는 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합한다. 바람직하게는, Rpn11 리간드는 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합한다. Rpn11 리간드는 표 1에서 제공된 Rpn11 결합 분자의 군에서 선택될 수 있다.

[0136] 바람직하게는, 표적 단백질 리간드는 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적으로 하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 쇼크 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 다른 바람직한 구체예에서, 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커, 탄화수소 링커, 알킬-에테르 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커일 수 있다. 바람직하게는, 링커는 옥심인 제 1 말단을 갖는다. 바람직하게는, 링커는 아민인 제 2 말단을 갖는다.

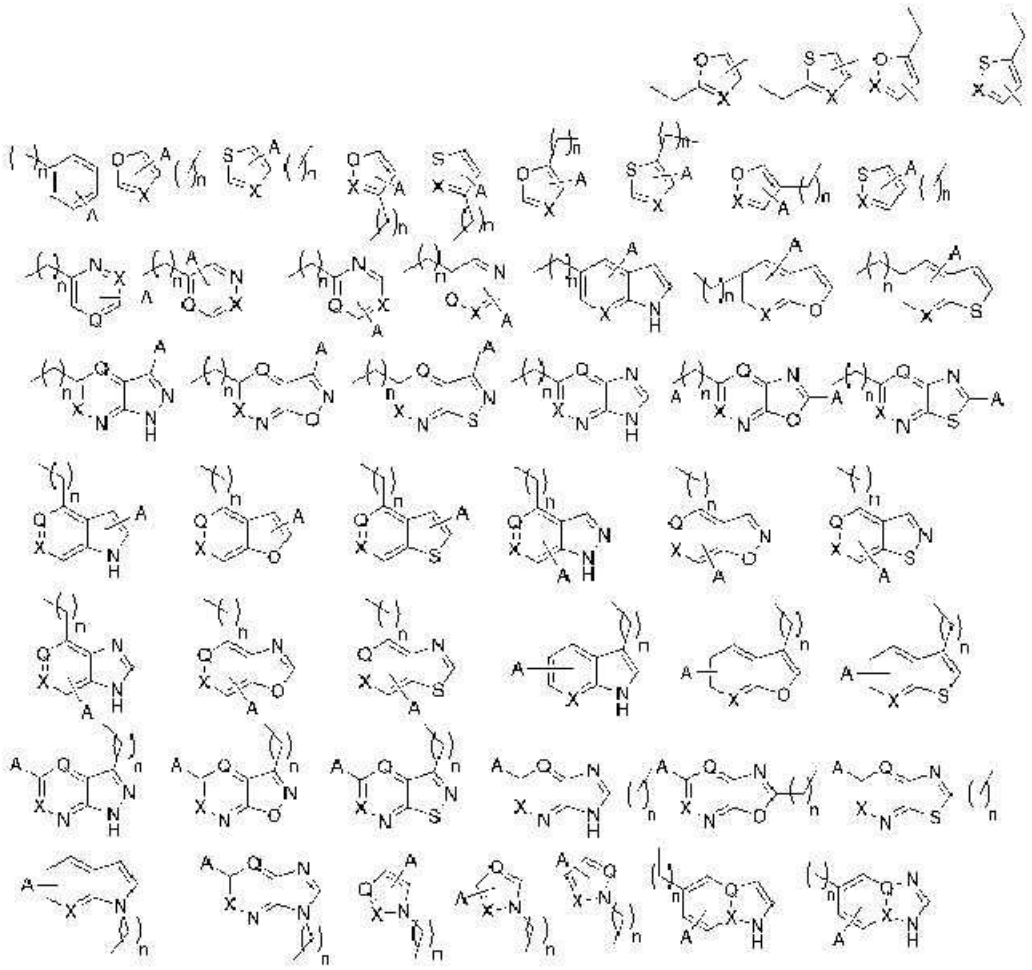
[0137] 바람직하게는, R11L은 화학식 I로 표시된다.

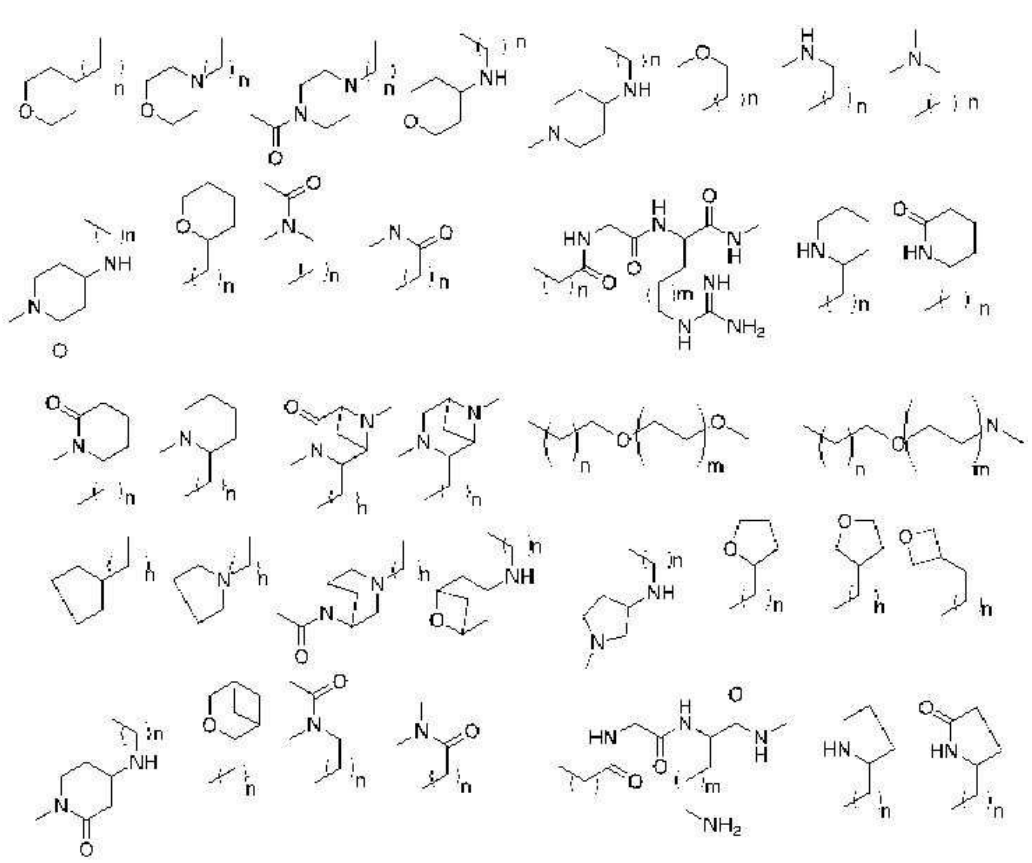


[0138]

[0139] R1 및 R6은 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO… 이고

[0140] R2, R3, R4 및 R5는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -Me, -F, -Cl, -Br,$-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO…로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0141] 

[0142] 

[0143] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0144] 여기서:

[0145] -A는 -H, -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, $-NO_2$, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$, $-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

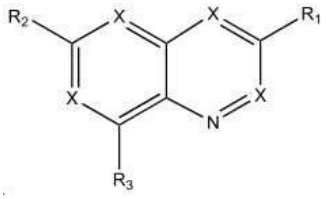
[0146] -X 및 Q는 N 또는 CH이고

[0147] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0148] · R2, R3, R4 및 R5는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

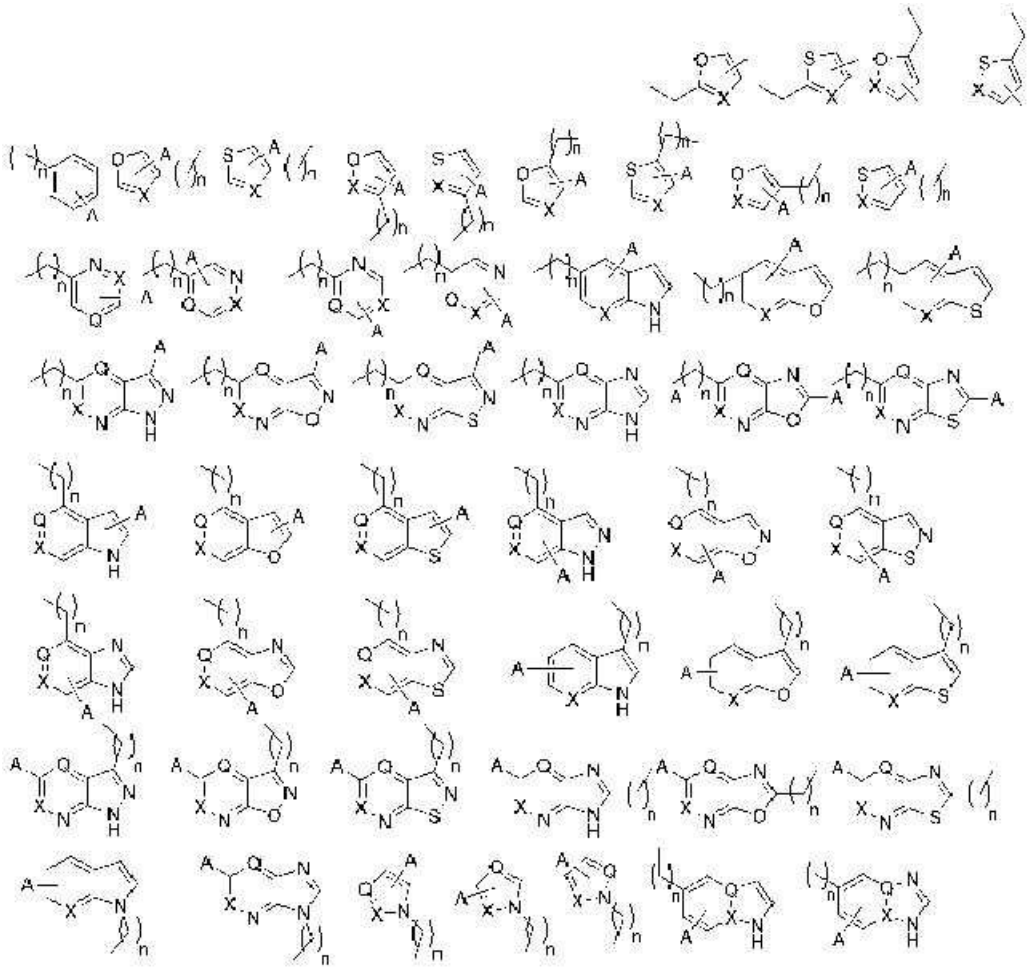
[0149] · R7은 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

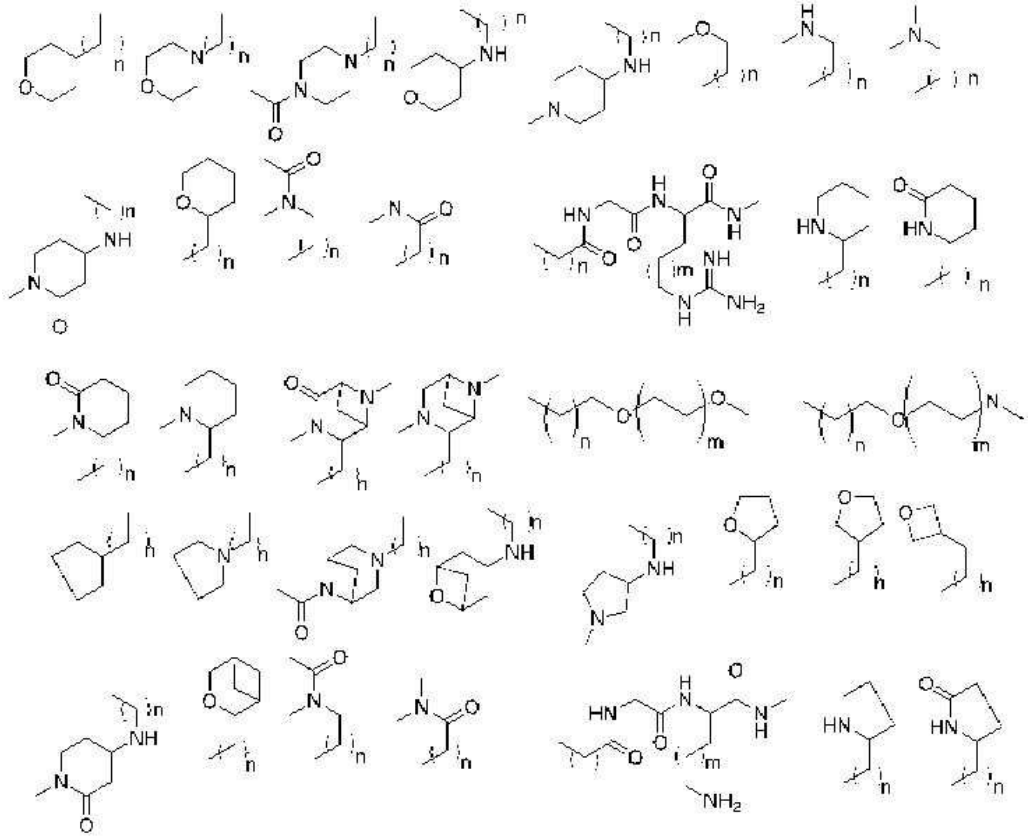
[0150] 바람직하게는, R11L은 화학식 II로 표시된다.

[0151] 

[0152] · X = CH 또는 N

[0153] · R1 및 R2는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0154] 

[0155] 

[0156] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0157] 여기서:

[0158] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, -SONHNH2…이고

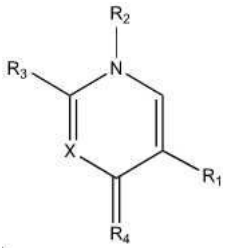
[0159] -X 및 Q는 N 또는 CH이고

[0160] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0161] · R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

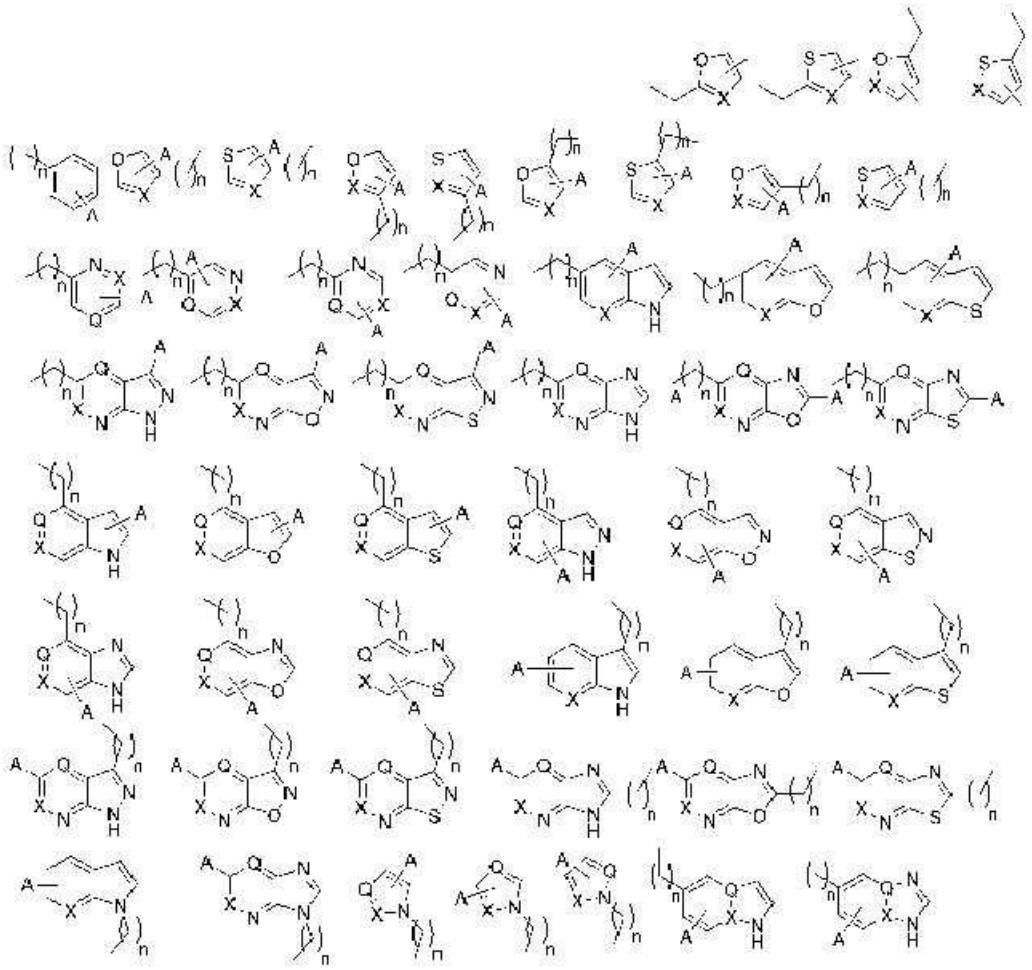
[0162] · R3은 -SH, -NH2, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

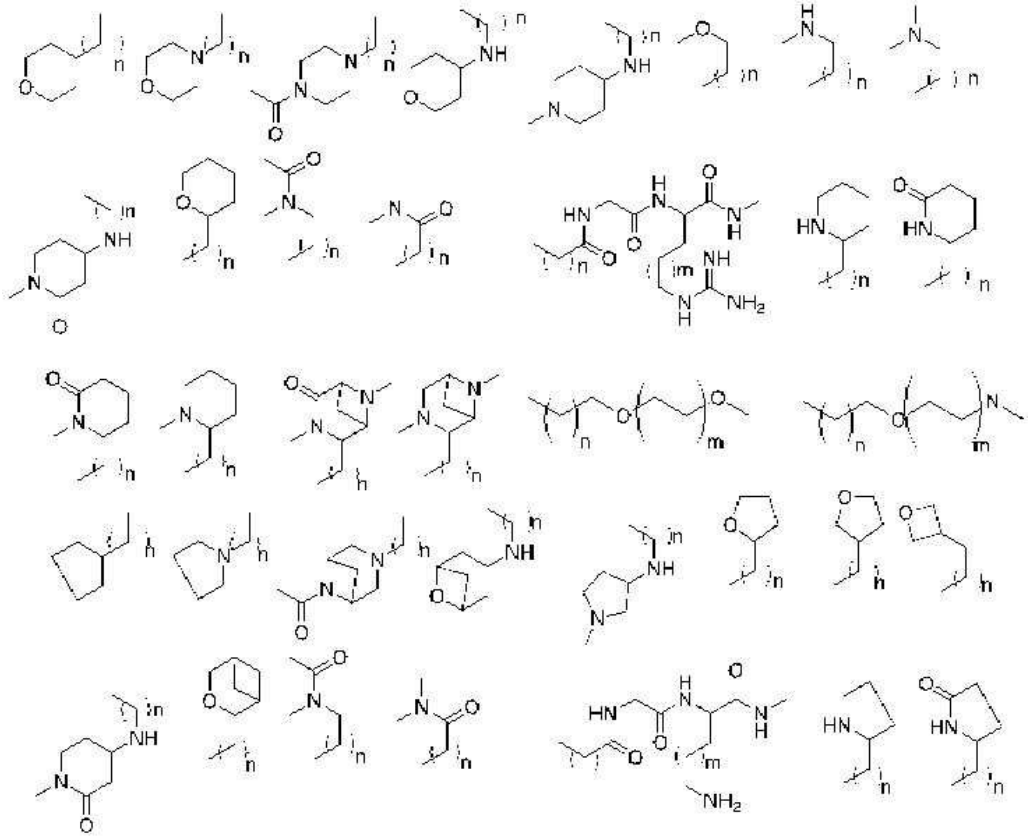
[0163] 바람직하게는, R11L은 화학식 III으로 표시된다.

[0164] 

[0165] · R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0166] · R2 및 R3은 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0167] 

[0168] 

[0169] 로 구성된 군에서 선택된다.

[0170] 여기서:

[0171] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

[0172] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

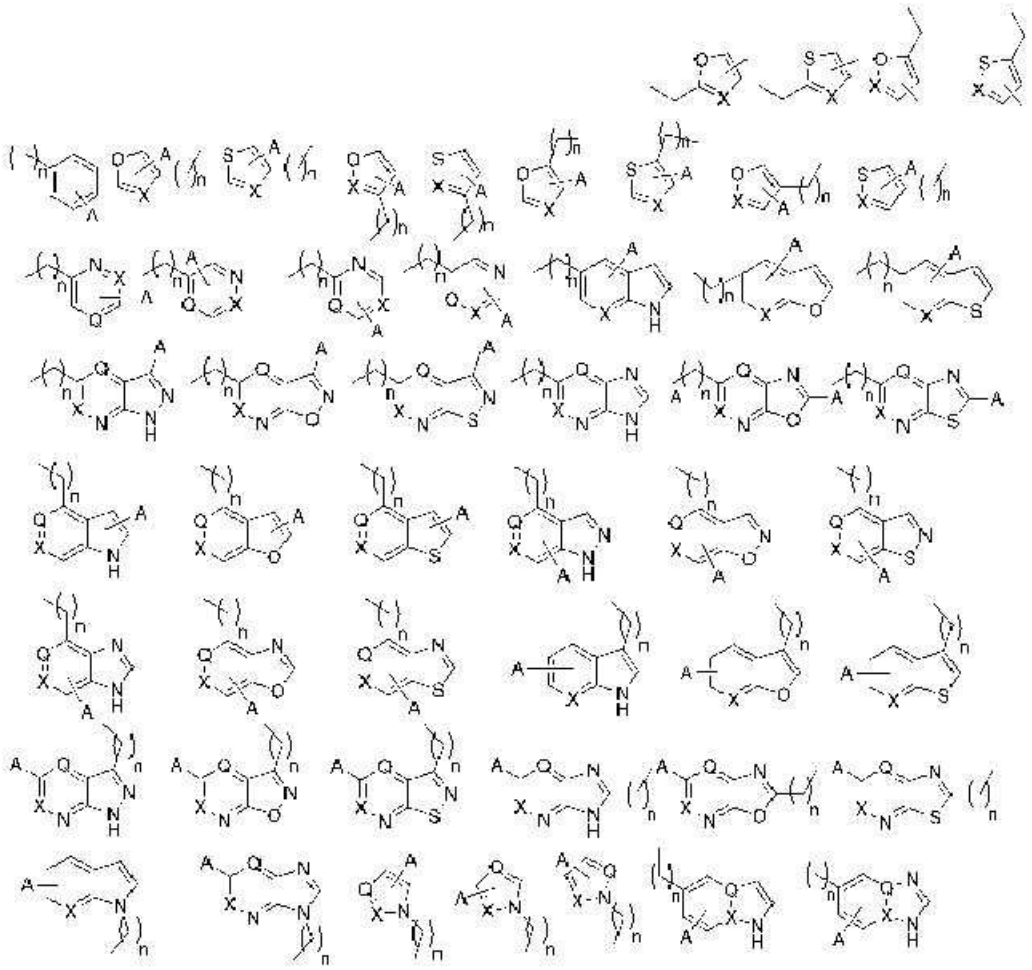
[0173] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

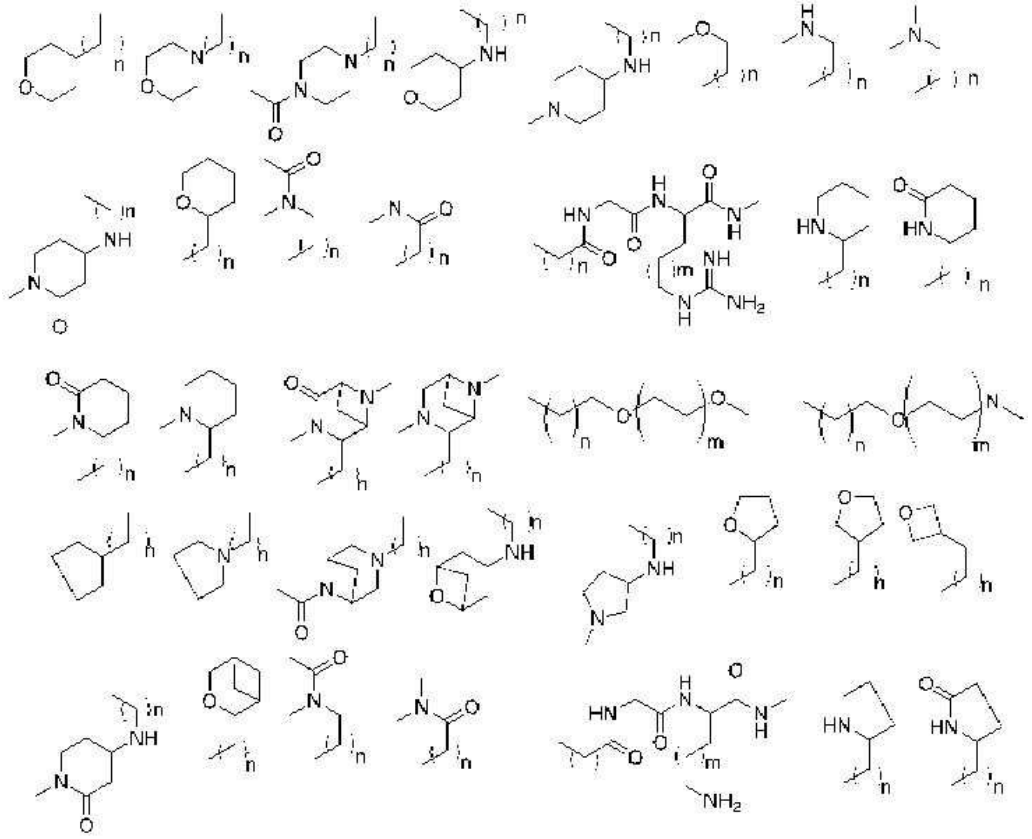
[0174] ·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고; ·R4는 O, S, NH이다.

[0175] 바람직하게는, R11L은 화학식 IV로 표시된다.

[0176] 

[0177] ·R1, R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0178] 



[0179]

[0180] 로 구성된 군에서 선택되고

[0181] 여기서:

[0182] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다.

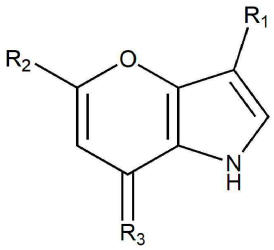
[0183] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0184] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

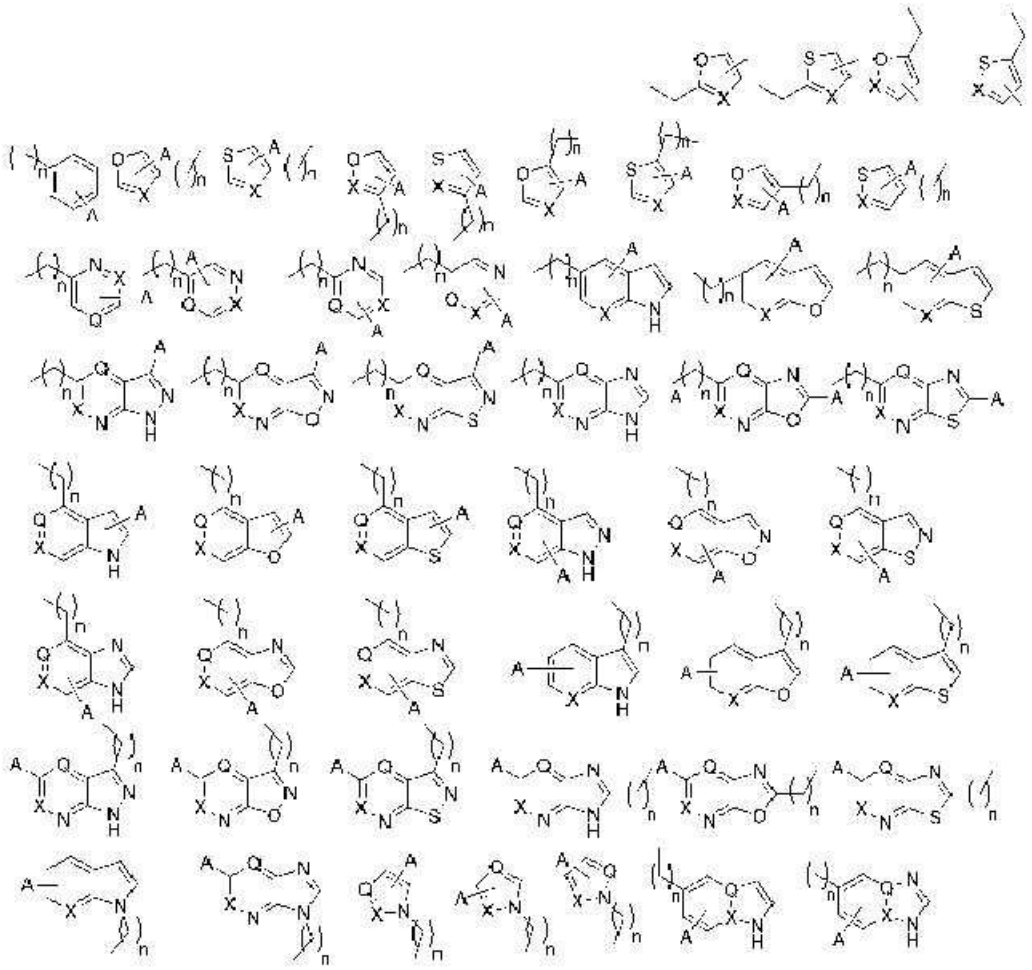
[0185] · R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

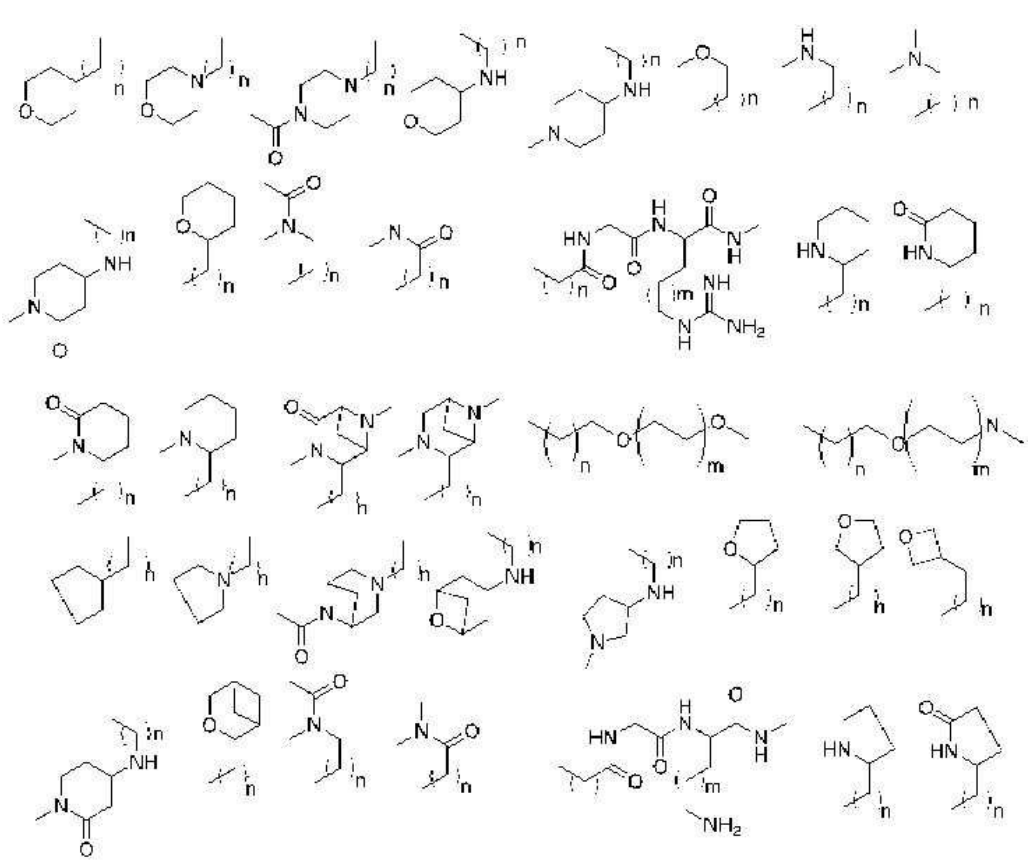
[0186] · R4는 O, S, NH, NCOY이다.

[0187] 바람직하게는 R11L은 화학식 V로 표시된다.

[0188] 

[0189] · R1 및 R2는 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0190] 

[0191] 

[0192] 로 구성된 군에서 선택된다.

[0193] 여기서:

[0194] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다.

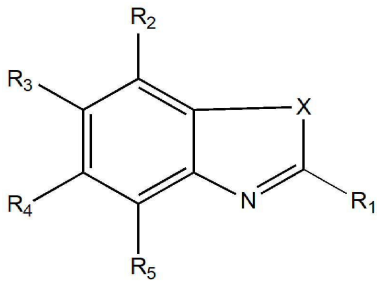
[0195] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0196] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0197] · R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

[0198] R3은 O, S, NH, NCOY이다.

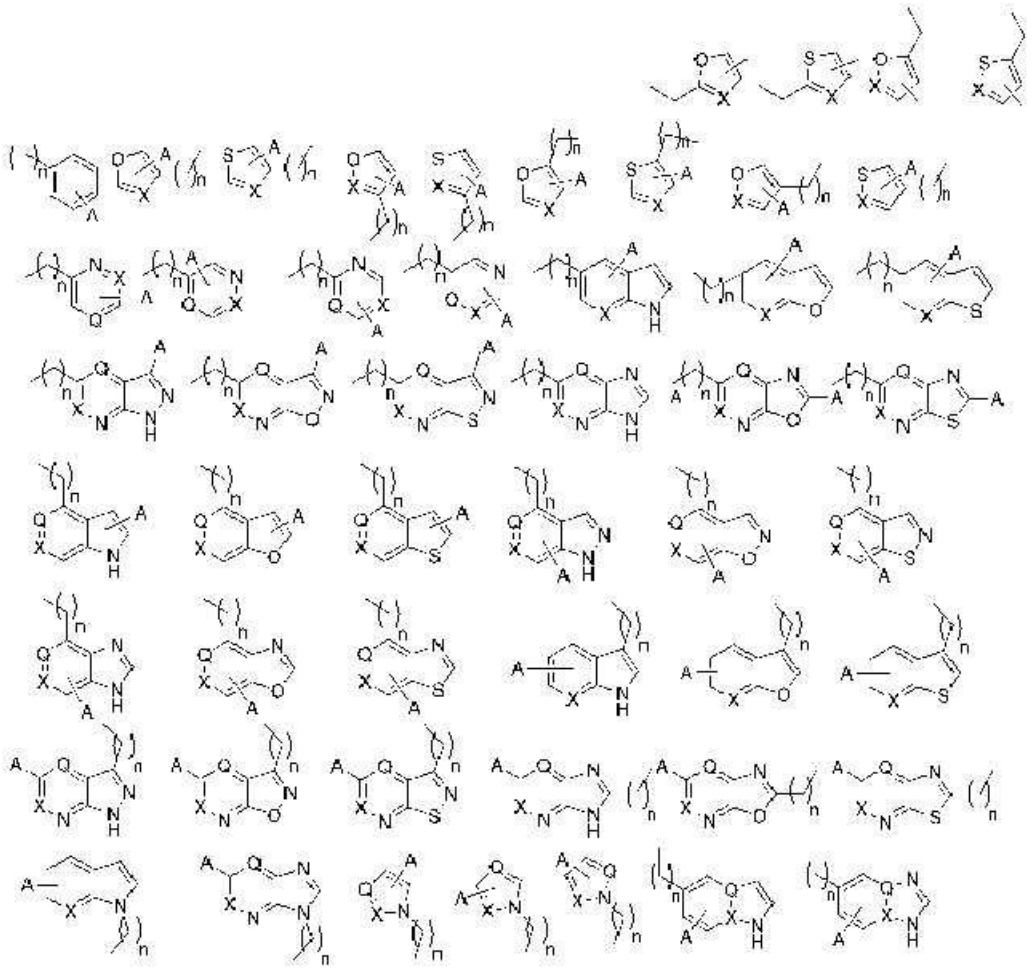
[0199] 바람직하게는, R11L은 화학식 VI로 표시된다.

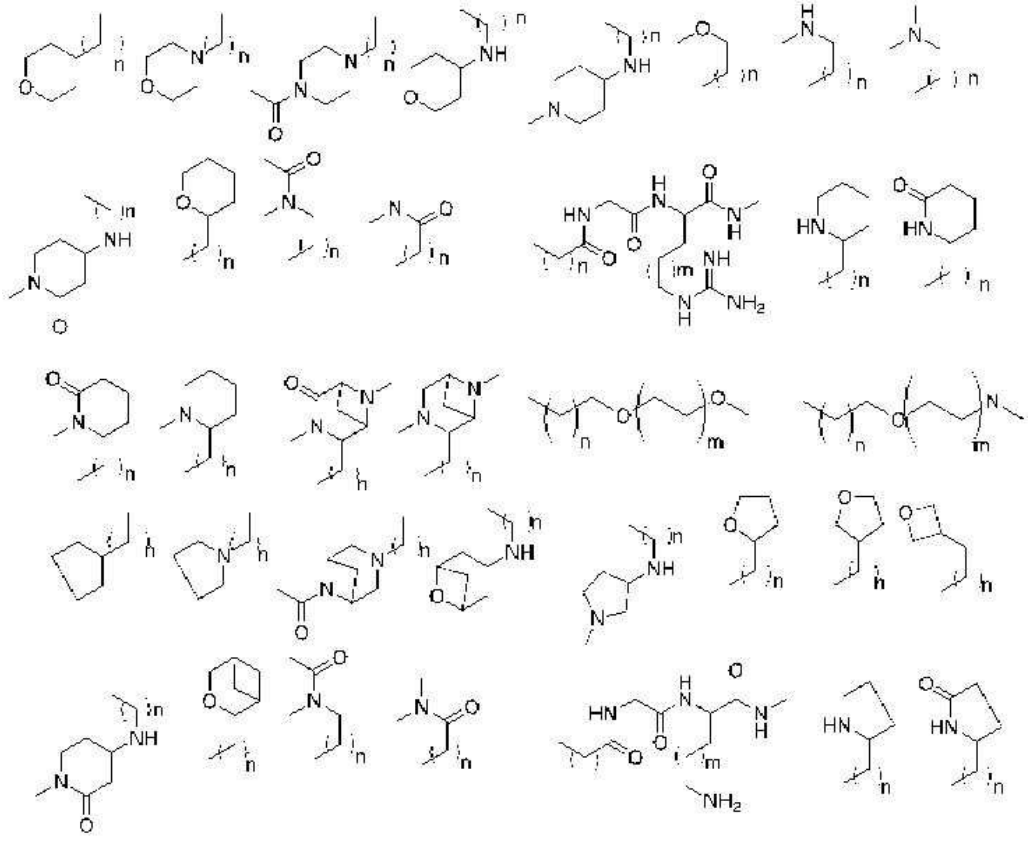
[0200] 

[0201] · X = NH, O, S, CH2

[0202] · R1 및 R4는 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -CHO… 이다.

[0203] · R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0204] 



[0205]

[0206] 로 구성된 군에서 선택되고

[0207] 여기서:

[0208] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$이고

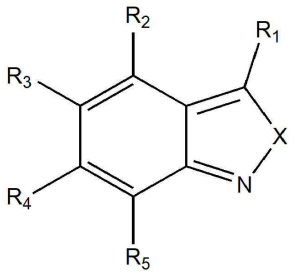
[0209] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0210] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0211] · R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

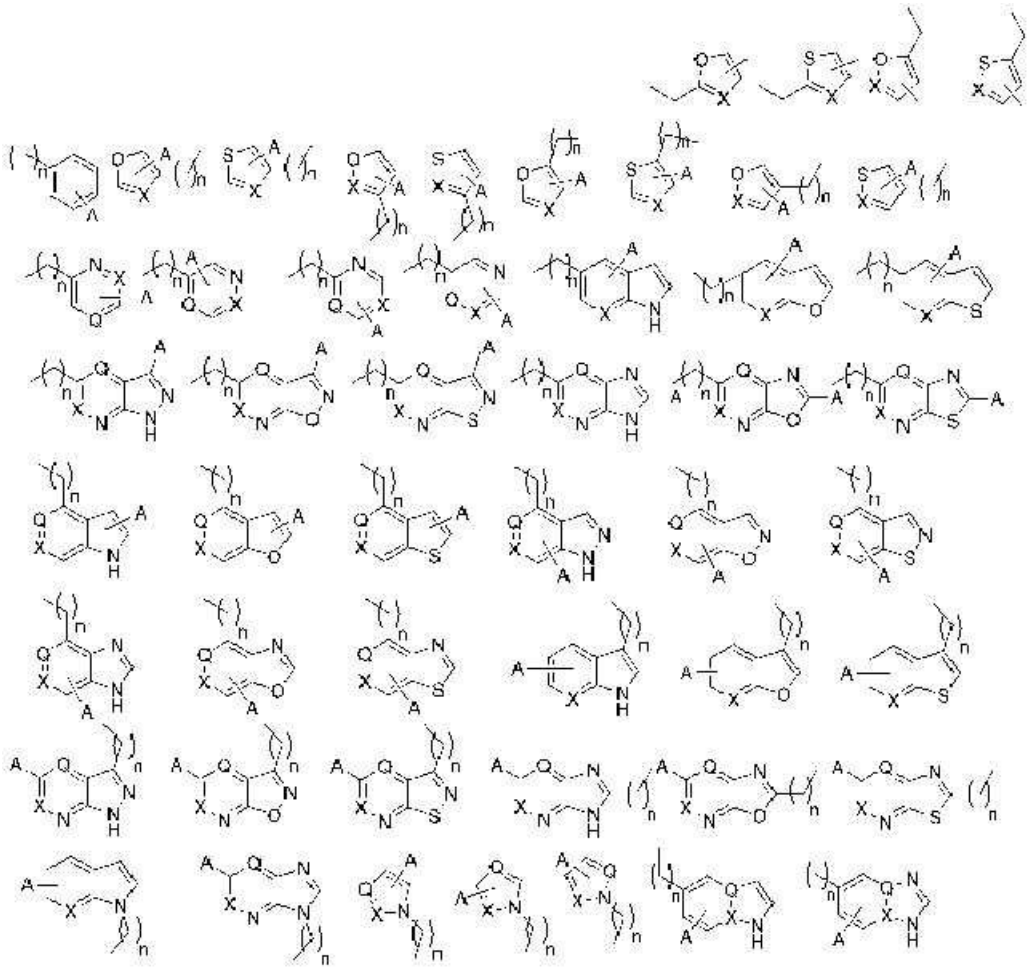
[0212] · R5는 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

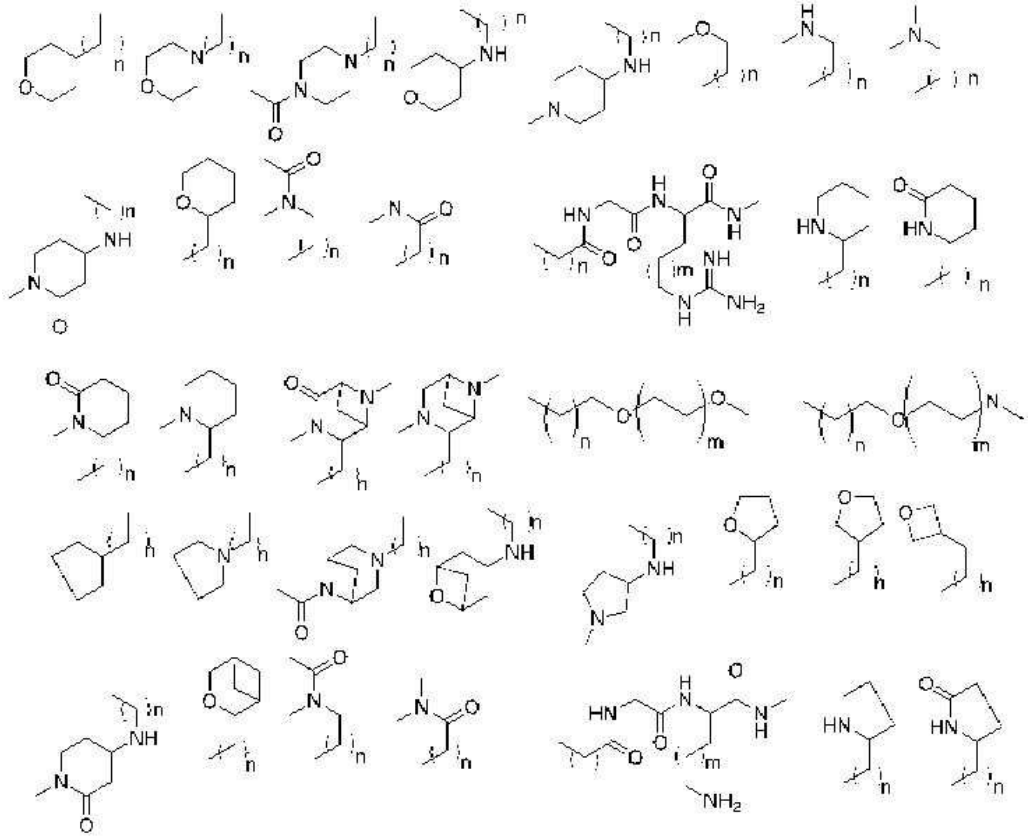
[0213] 바람직하게는, R11L은 화학식 VII로 표시된다.

[0214] 

[0215] · X = NH, O, S, CH2

[0216] · R1, R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0217] 

[0218] 

[0219] 로 구성된 군에서 선택되고

[0220] 여기서:

[0221] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe , $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다

[0222] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

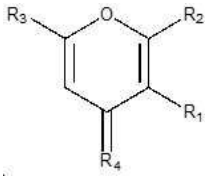
[0223] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0224] · R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

[0225] · R4는 우선적으로 -H이지만 또한 Me, F, Cl, Br, CF3, CHF_2, CH_2F, CN, OMe, SMe, SOMe, SO_2Me NH_2, NHMe, NO_2, CHO이고,

[0226] · R5는 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

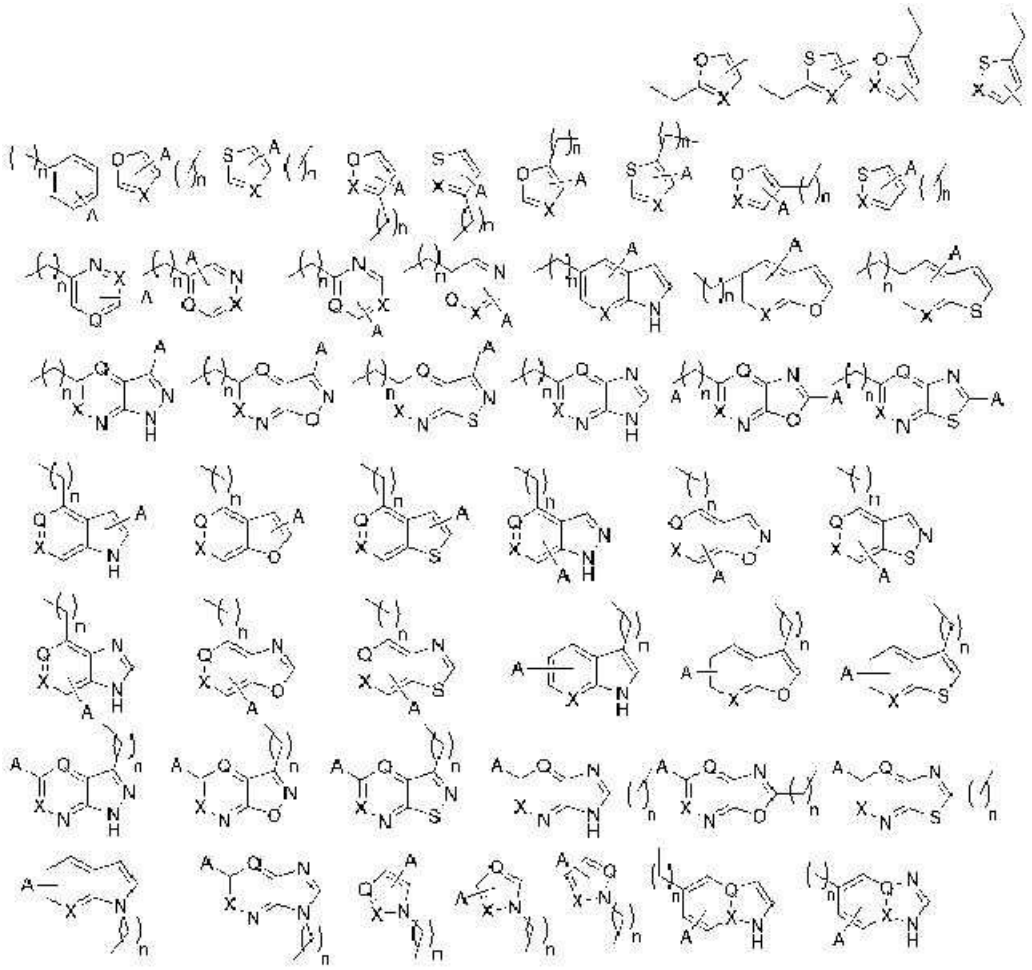
[0227] 바람직하게는, R11L은 화학식 VIII로 표시된다.

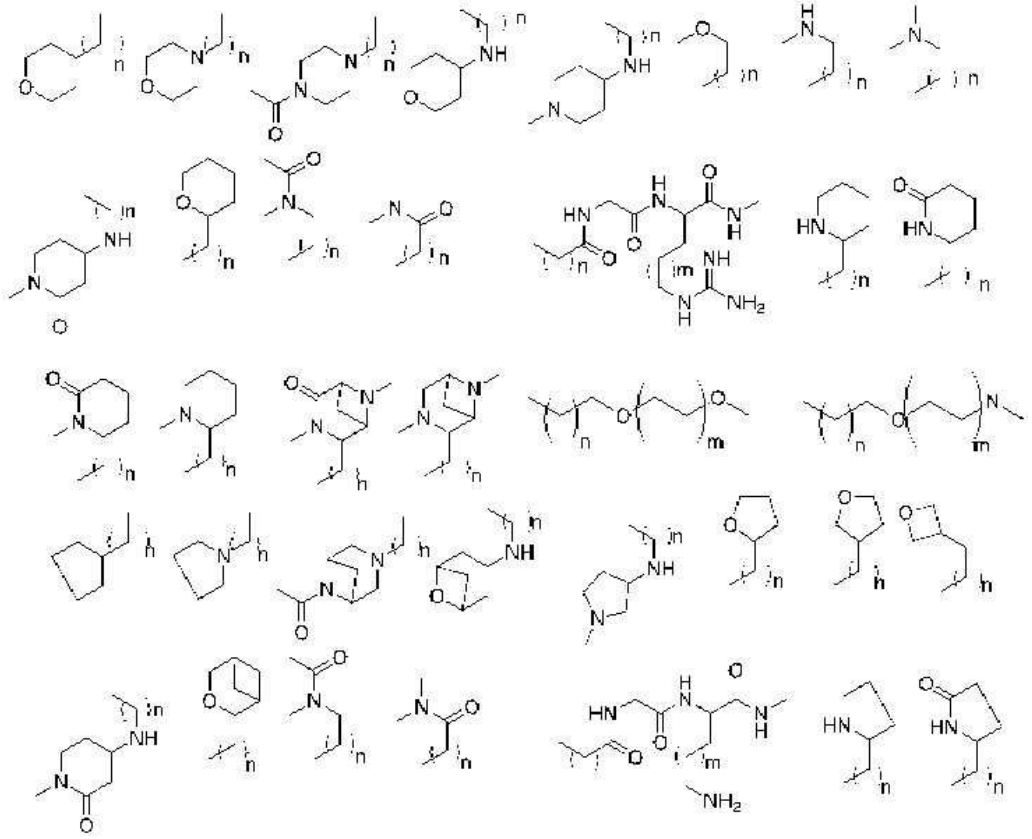
[0228] 

[0229] · R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY, NHCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0230] · R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택되고,

[0231] · R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, -CF3, -COOH, -CH2NH2, -CH3, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0232] 

[0233] 

[0234] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0235] 여기서:

[0236] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

[0237] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0238] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0239] ·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고; R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택된다.

[0240] 본 발명은 또한 세포에서 표적 단백질의 증가된 단백질분해를 얻는 방법을 포함하는데, 상기 방법은 상기 임의의 상기 화합물에 따른 이중작용성 분자와 세포를 접촉시키는 것을 포함한다.

[0241] 본 발명은 또한 개체에서 표적 단백질의 증가된 단백질분해를 얻는 방법을 포함하는데, 상기 방법은 상기 임의의 화합물에 따른 이중작용성 분자를 개체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0242] 본 발명은 또한 2 개의 공유결합적으로 링크된 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 제공하는 방법을 포함하며, 여기서 제 1 결합 파트너는 Rpn11에 결합하고 제 2 결합 파트너는 선택된 표적 단백질에 결합하며, 상기 방법은 제 1 및 제 2 결합 파트너를 제공하는 단계, 및 제 1 및 제 2 결합 파트너를 공유결합적으로 연결하는 단계를 포함한다.

[0243] 본 발명은 또한 표적 단백질의 단백질분해를 촉진하는 이중작용성 분자를 선택하는 방법을 포함한다:

[0244] a.후보 제 1 결합 파트너를 제공하고 상기 후보 제 1 결합 파트너가 Rpn11에 결합하는지 결정함으로써 제 1 결합 파트너를 선택하는 단계;

[0245] b.후보 제 2 결합 파트너를 제공하고 상기 후보 제 2 결합 파트너가 관심 표적 단백질에 결합하는지 결정함으로써 제 2 결합 파트너를 선택하는 단계;

[0246] c.상기 제 1 및 제 2 결합 파트너를 공유결합적으로 부착하여 이중작용성 분자를 형성하는 단계;

[0247] d.세포를 상기 이중작용성 분자와 접촉시키는 단계;

[0248] e.상기 표적 단백질이 단백질분해를 겪는 지 여부를 결정하는 단계.

[0249] 본 발명은 또한 표적 단백질의 단백질분해를 촉진할 수 있는 이중작용성 분자를 선택하는 방법을 포함하며 다음을 포함한다:

[0250] (a) 표적 단백질 결합 파트너에 공유결합적으로 결합된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 제공하는 단계,

[0251] (b) 상기 이중작용성 분자를 Rpn11 및 표적 단백질을 포함하는 시험 관 내의(in vitro) 또는 포유 동물의 세포와 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 접촉은 이중작용성 분자가 상기 Rpn11 및 상기 표적 단백질에 결합하도록 허용하는 것인 단계, 및

[0252] (c) 상기 세포에서 상기 표적 단백질의 단백질분해를 검출하는 단계로서, 여기서 검출된 단백질 분해는 상기 접촉의 부재하에 상기 표적 단백질의 단백질 분해에 비해 상대적으로 증가된 것인 단계.

[0253] 본 발명은 또한 이중작용성 분자의 부재하에 표적 단백질의 단백질분해를 측정하는 단계를 포함하는, 상기 방법 중 임의의 것을 포함한다.

[0254] 본 발명은 또한 RPN11 분자 또는 그의 상동체를 갖는 진핵 생물 또는 원핵 생물에서 생체 내 단백질의 분해를 유도하는 방법을 포함하는 것으로서 상기 RPN11에 의한 탈-유비퀴틴화를 억제하지 않고 본원에 기재된 바와 같은 화합물을 상기 진핵 생물 또는 원핵 생물에 투여하는 것을 포함한다.

[0255] 본 발명은 또한 세포, 조직 또는 기관 배양 배지를 포함하는 것으로서 상기 RPN11에 의한 탈-유비퀴틴화를 억제하지 않으면서 상기 화합물 중 임의의 것에 따른 화합물을 포함한다.

[0256] 본 발명은 또한 표적 단백질을 분해하는 방법을 포함하는 것으로서, 상기 방법은 상기 RPN11에 의한 탈-유비퀴

틴화를 억제하지 않고 상기 화합물 중 임의의 것에 따른 화합물로 표적 단백질의 분해를 유도하는 단계를 포함한다.

[0257] 본 발명은 또한 임의의 상기 화합물에 따른 화합물 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물을 포함한다.

[0258] 바람직하게는 이중작용성 분자는 Rpn11 결합 파트너-링커 -R로 표시되며, 여기서 링커는 -[(CH2)n-(V)m-(Z)p-(CH2)q]y이고

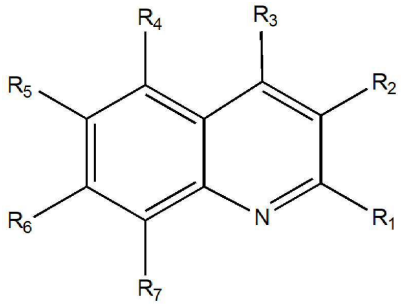
[0259] 여기서:

[0260] n, m, p, q 및 y = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8이고

[0261] V = O, S, NR1, CO, CONR1, CC, CH = CH, 여기서 R1 = H, 알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고

[0262] Z = 시클로 알킬, 아릴, 헤테로아릴이다.

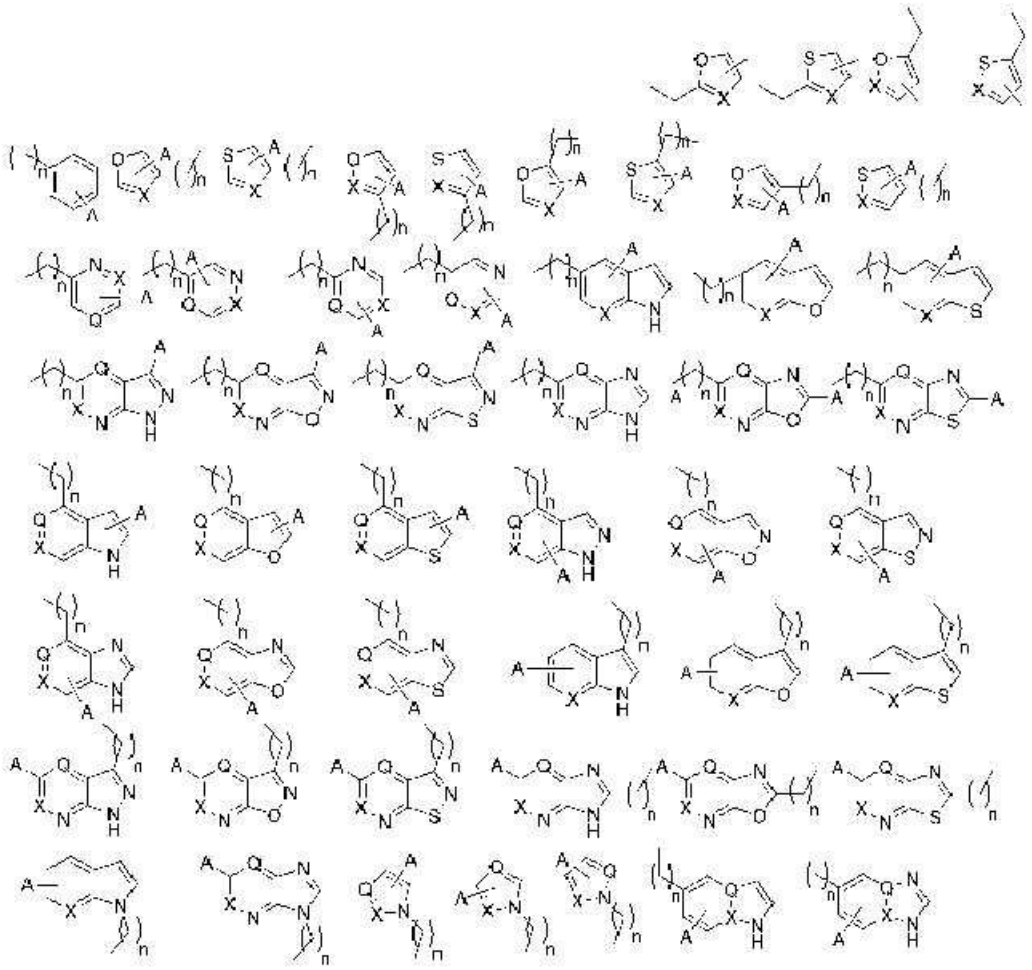
[0263] 바람직하게는, Rpn 11 (R11L) 결합 파트너는 화학식 I로 표시되고, 일부 구체예에서 상기 링커는 R2, R3, R4 및 R5로 구성된 군으로부터 선택된 위치를 통해 Rpn11 결합 파트너에 연결된다.

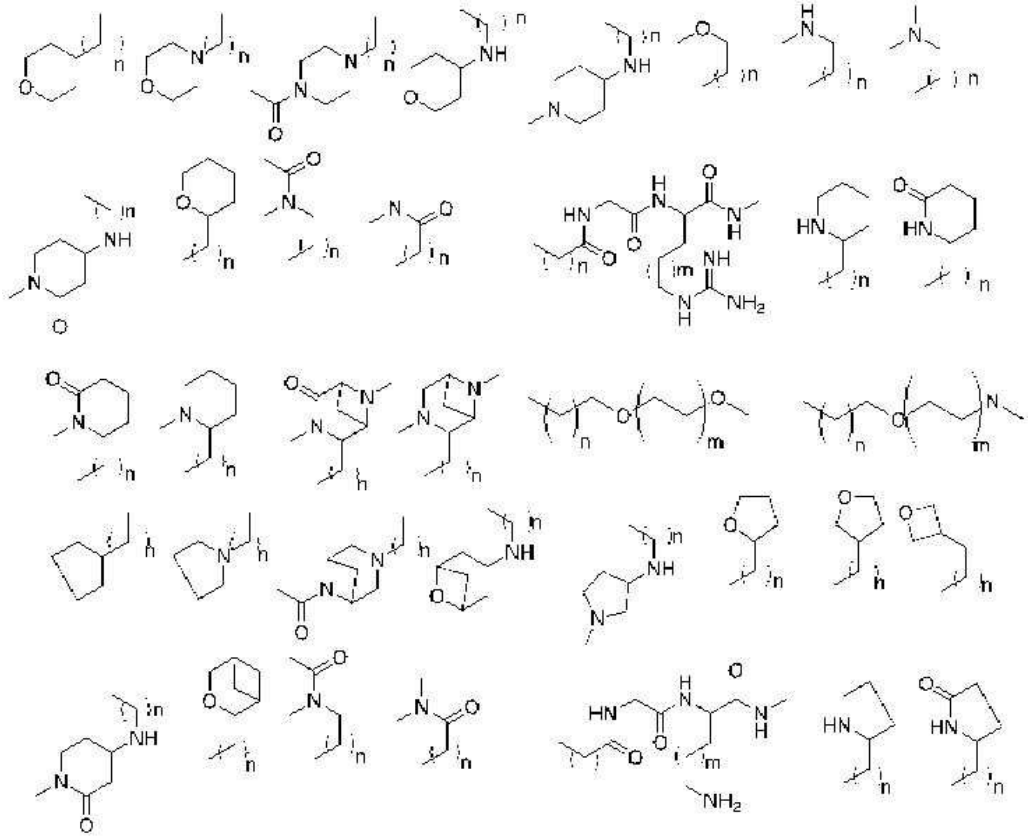


[0264]

[0265] · R1 및 R6은 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO… 이고

[0266] · R2, R3, R4 및 R5는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -Me, -F, -Cl, -Br,$-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO…로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0267] 

[0268] 

[0269] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0270] 여기서:

[0271] -A는 -H, -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, $-NO_2$, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$, $-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

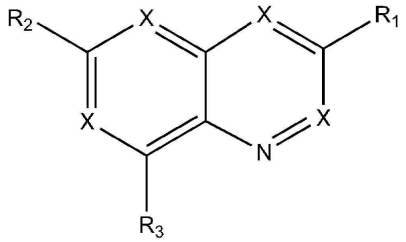
[0272] -X 및 Q는 N 또는 CH이고

[0273] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0274] · R2, R3, R4 및 R5는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

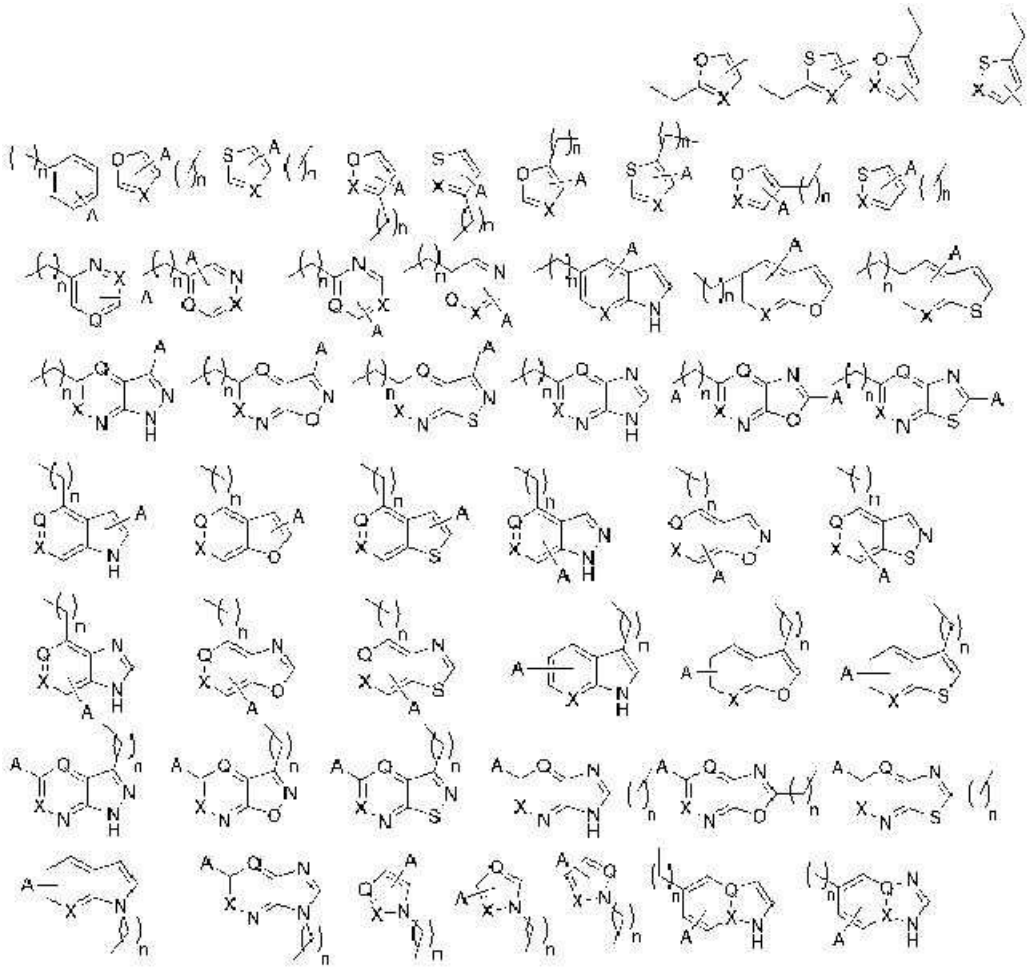
[0275] · R7은 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

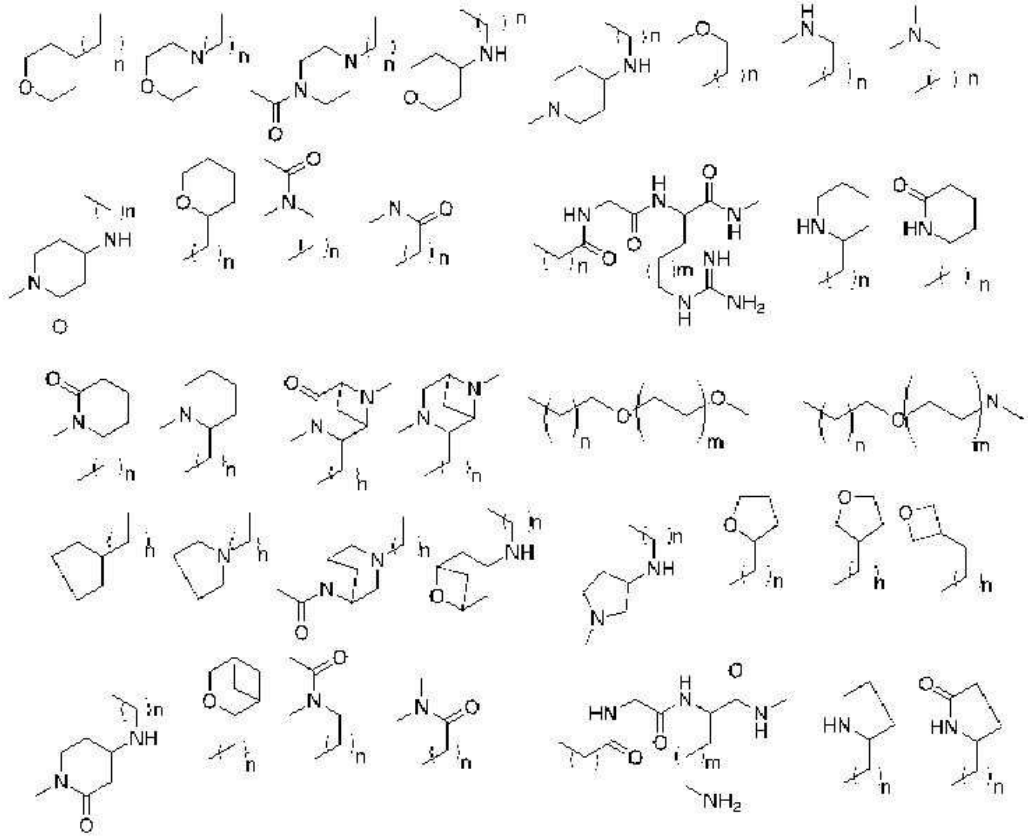
[0276] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 II로 표시된다.

[0277] 

[0278] · X = CH 또는 N

[0279] · R1 및 R2는 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0280] 

[0281] 

[0282] 로 구성되고,

[0283] 여기서:

[0284] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, -CF_3, -CHF_2, -CH_2F, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, -SO_2Me -NH_2, -NHMe, -NO_2, -COOH, -CHO, -$COCH_3$, -CO_2CH_3, -OCF_3, -$OCHF_2$, -OCH_2F, -SCF_3, -$SCHF_2$, -SCH_2F,-$CONH_2$, -$CONHCH_3$, -$CON(CH_3)_2$, -$CSNH_2$,- $SONH_2$, -SO_2NH_2, -SONHNH2…이고

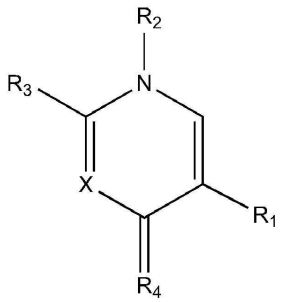
[0285] -X 및 Q는 N 또는 CH이고

[0286] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0287] · R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

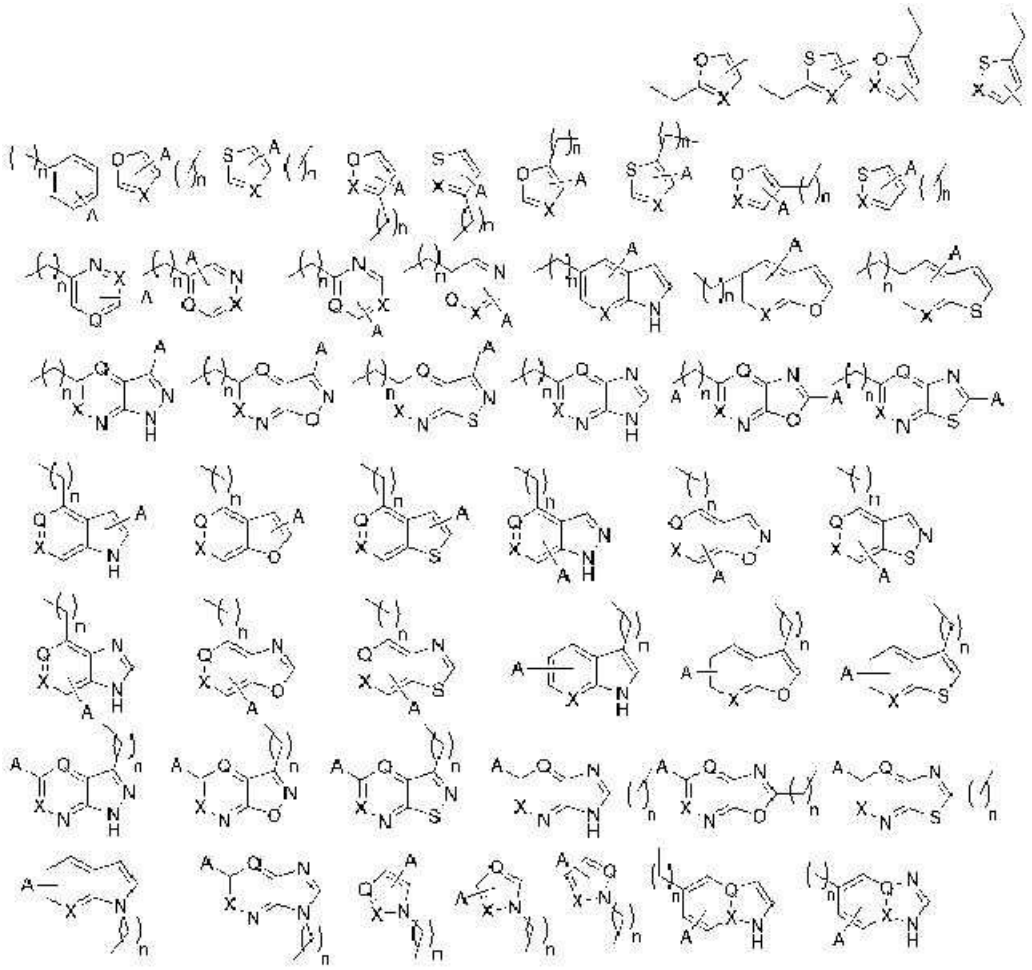
[0288] · R3은 -SH, -NH2, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

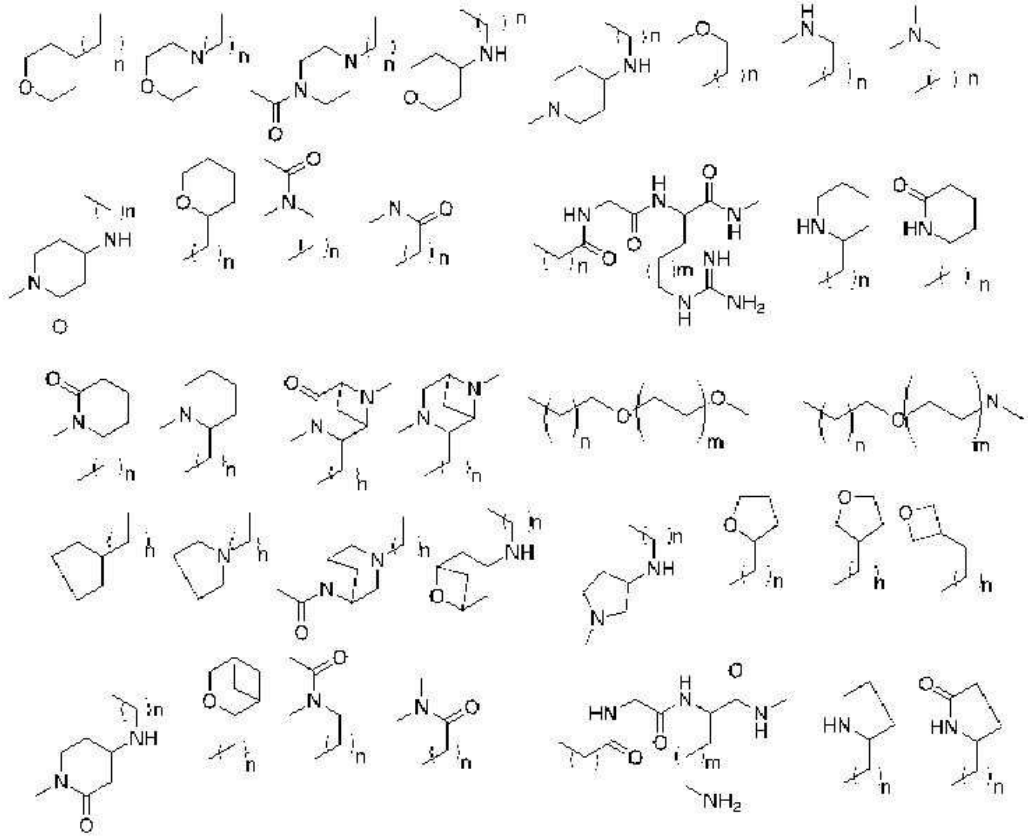
[0289] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 III으로 표시된다.

[0290] 

[0291] · R1은 -SH, -NH_2, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY로 구성된 군에서 선택되며 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0292] · R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH_3, -CF_3, -COOH, -CH_2NH_2, -CH_3, -H, -F, -Cl, -Br, -CF_3, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, -SO_2Me, -NH_2, -NHMe, -NMe_2, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH_2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 -CH_3, -CH_2-COO-,

[0293] 

[0294] 

[0295] 로 구성된 군에서 선택되고

[0296] 여기서:

[0297] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

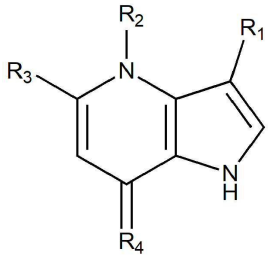
[0298] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0299] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0300] ·R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

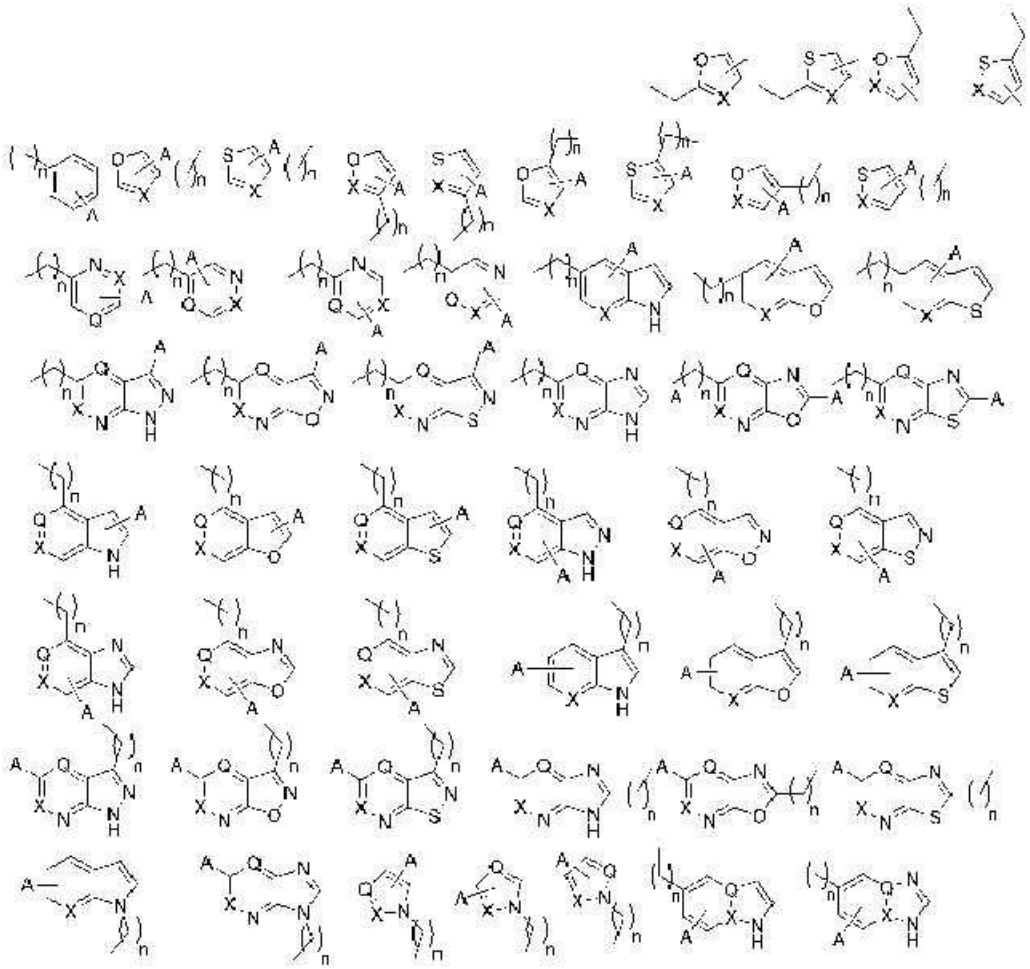
[0301] ·R4는 O, S, NH이다.

[0302] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 IV로 표시된다.

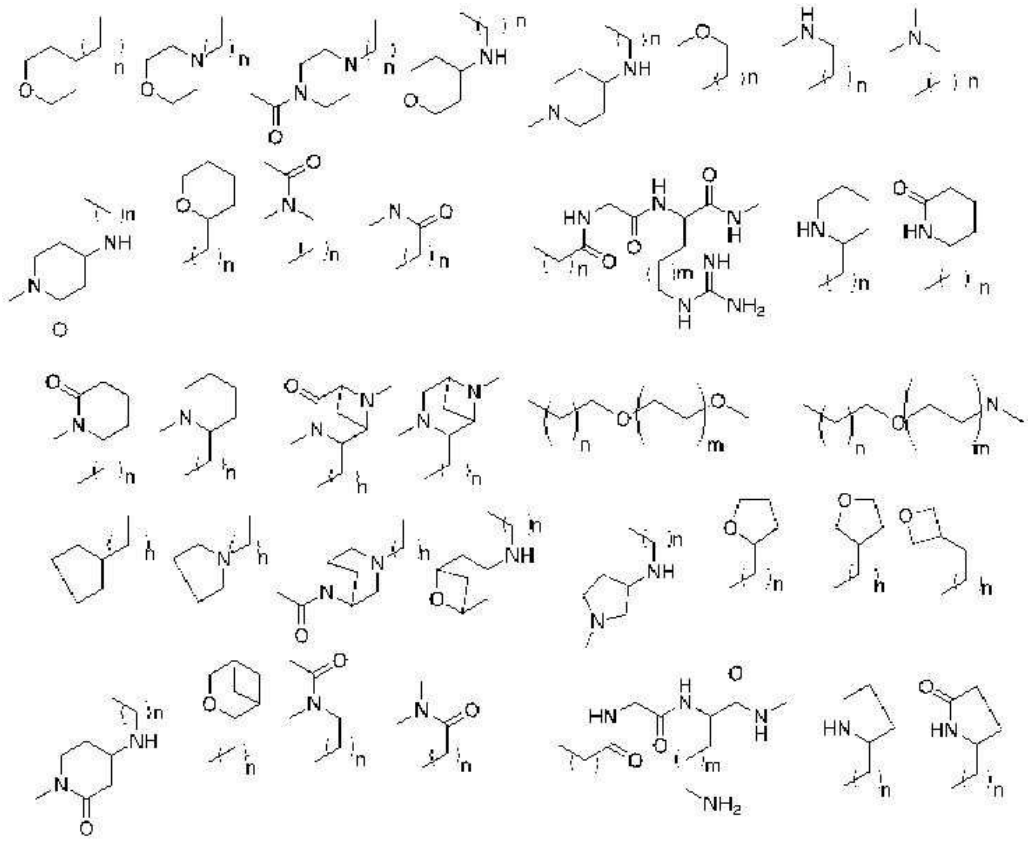


[0303]

[0304] ·R1, R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,



[0305]



[0306]

[0307] 로 구성된 군에서 선택되고

[0308] 여기서:

[0309] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다.

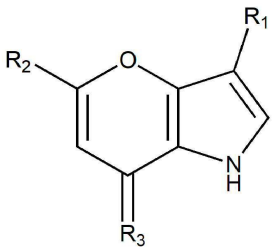
[0310] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0311] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0312] · R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

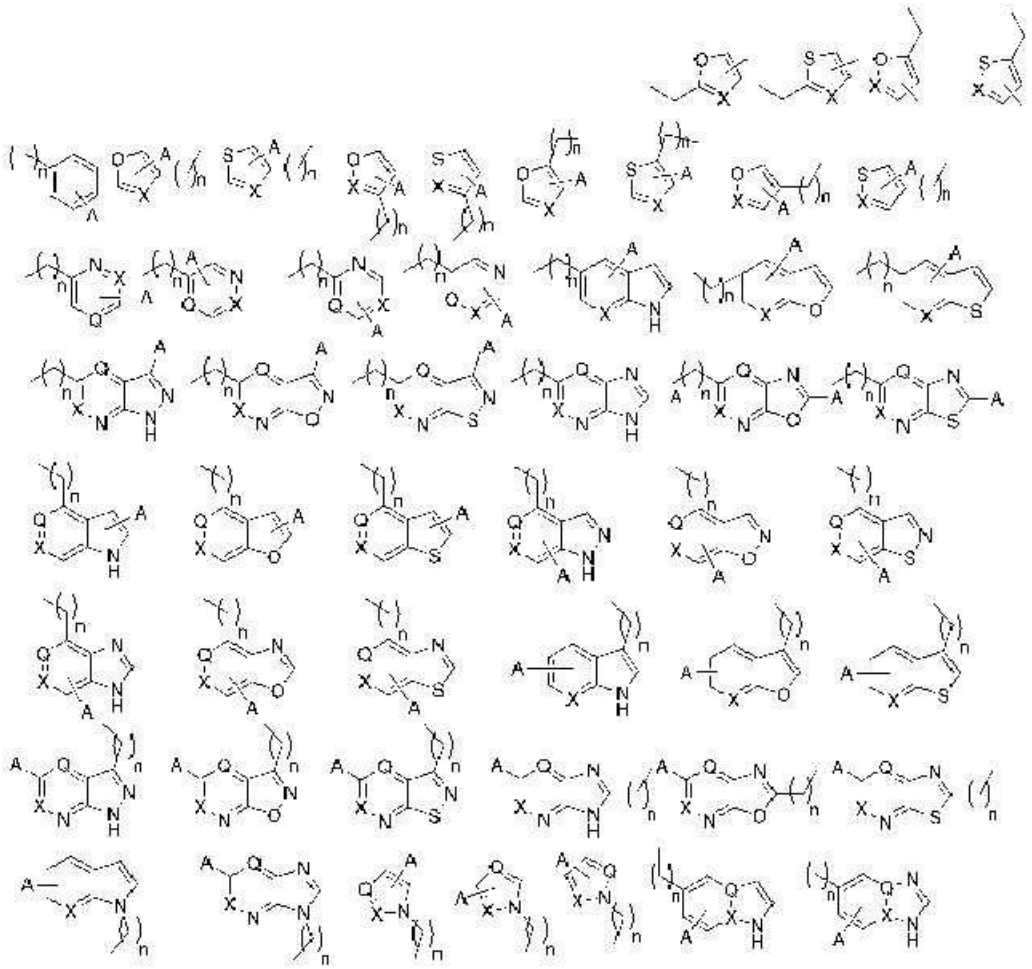
[0313] · R4는 O, S, NH, NCOY이다.

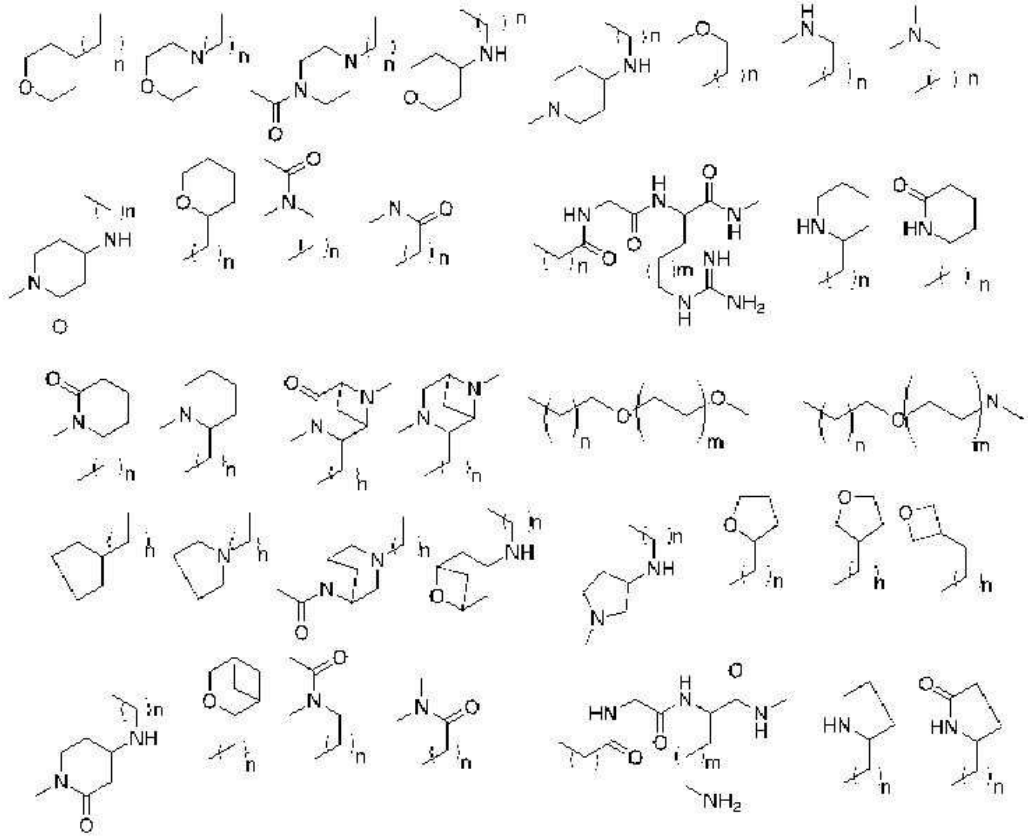
[0314] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 V로 표시된다.



[0315]

[0316] · R1 및 R2는 -CO-Z, $-OCH_3$, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0317] 

[0318] 

[0319] 로 구성된 군에서 선택된다.

[0320] 여기서:

[0321] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고

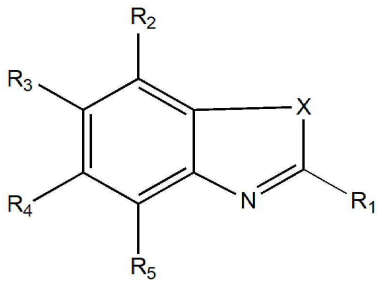
[0322] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0323] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0324] · R1 및 R2는 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

[0325] · R3은 O, S, NH, NCOY이다.

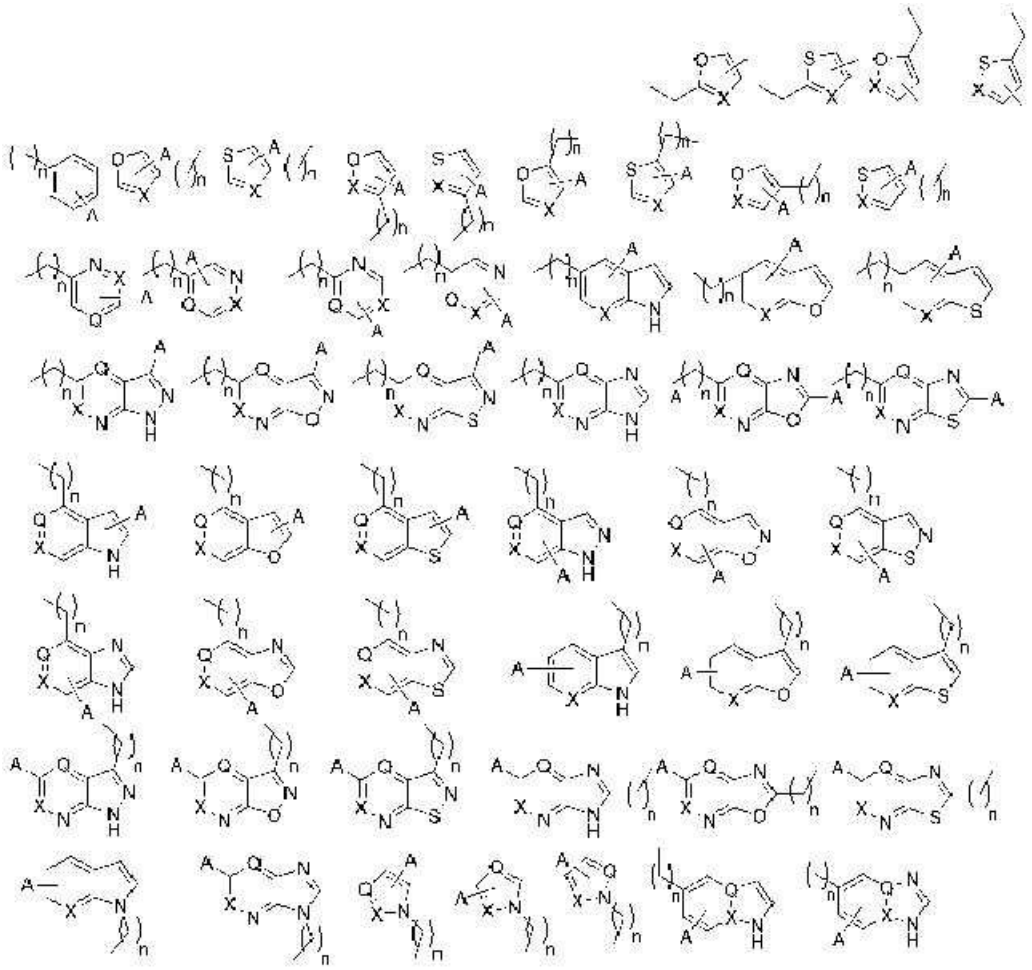
[0326] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 VI로 표시된다.

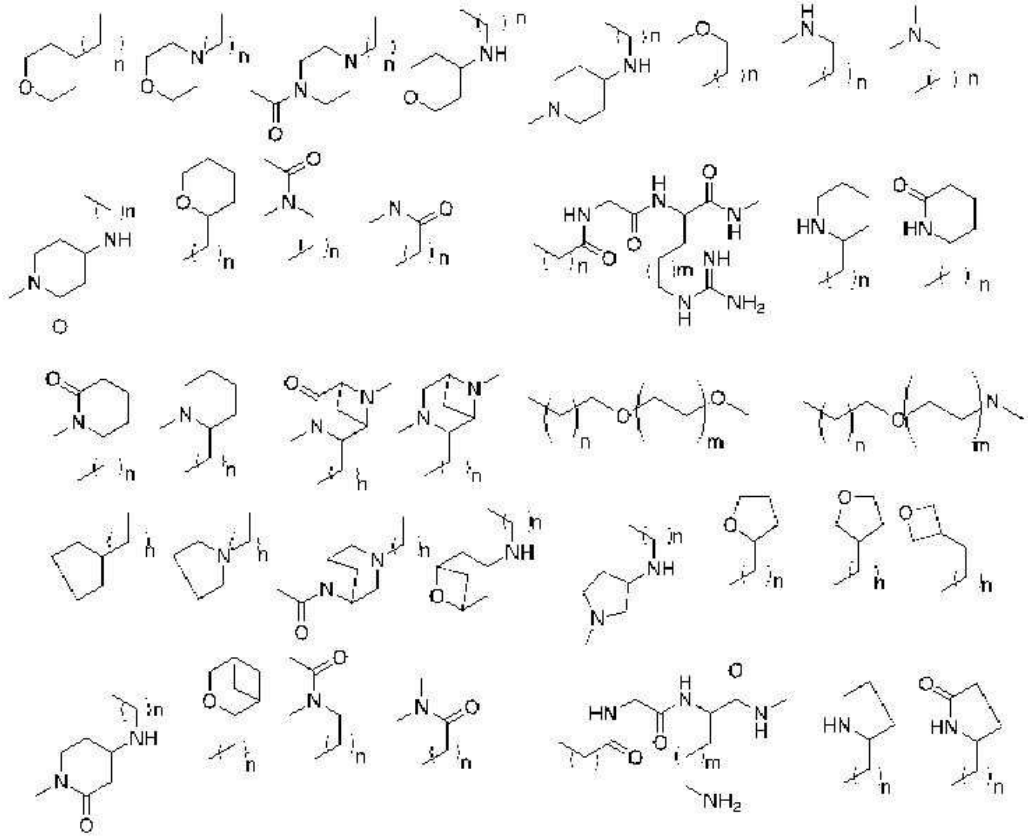
[0327] 

[0328] · X = NH, O, S, CH2

[0329] · R1 및 R4는 우선적으로 -H이지만 또한 -Me, -F, -Cl, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -CHO… 이고

[0330] · R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0331] 

[0332] 

[0333] 로 구성된 군에서 선택되고

[0334] 여기서:

[0335] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$이고

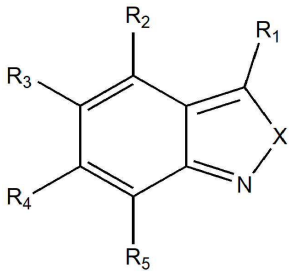
[0336] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0337] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0338] · R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

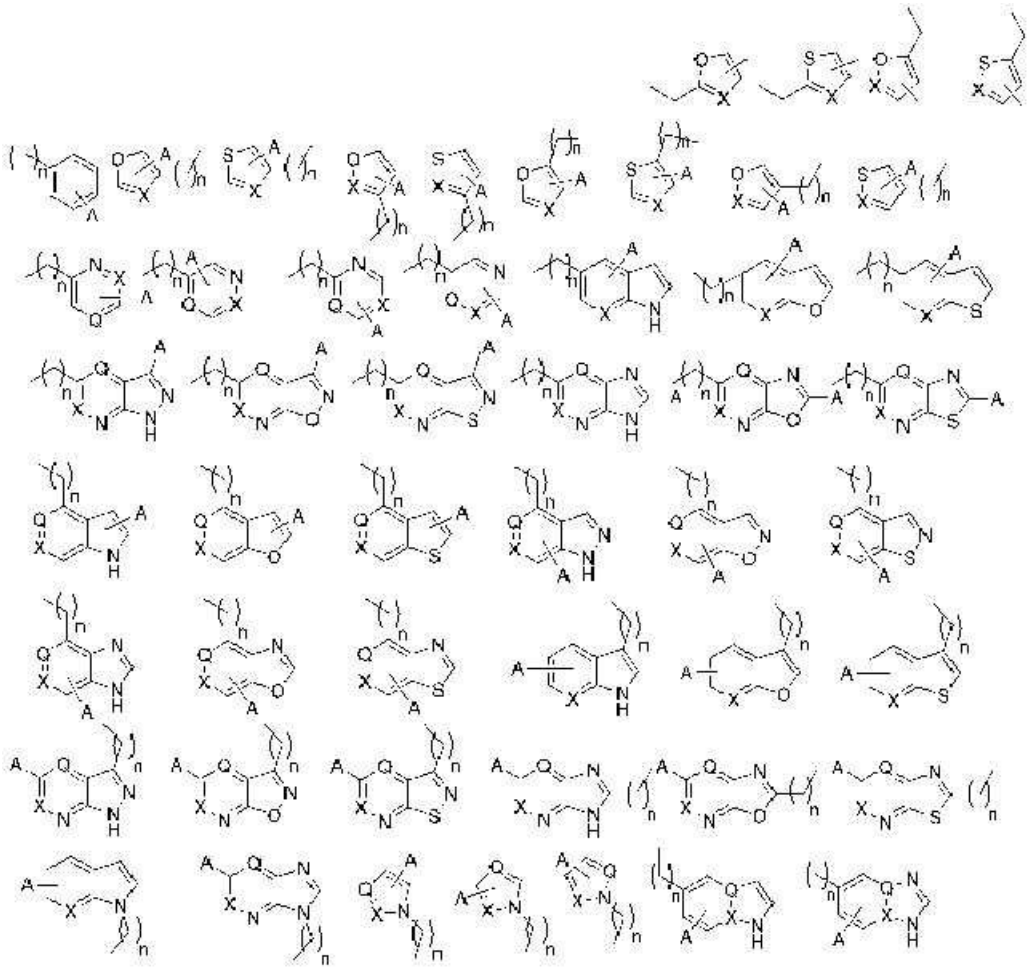
[0339] · R5는 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

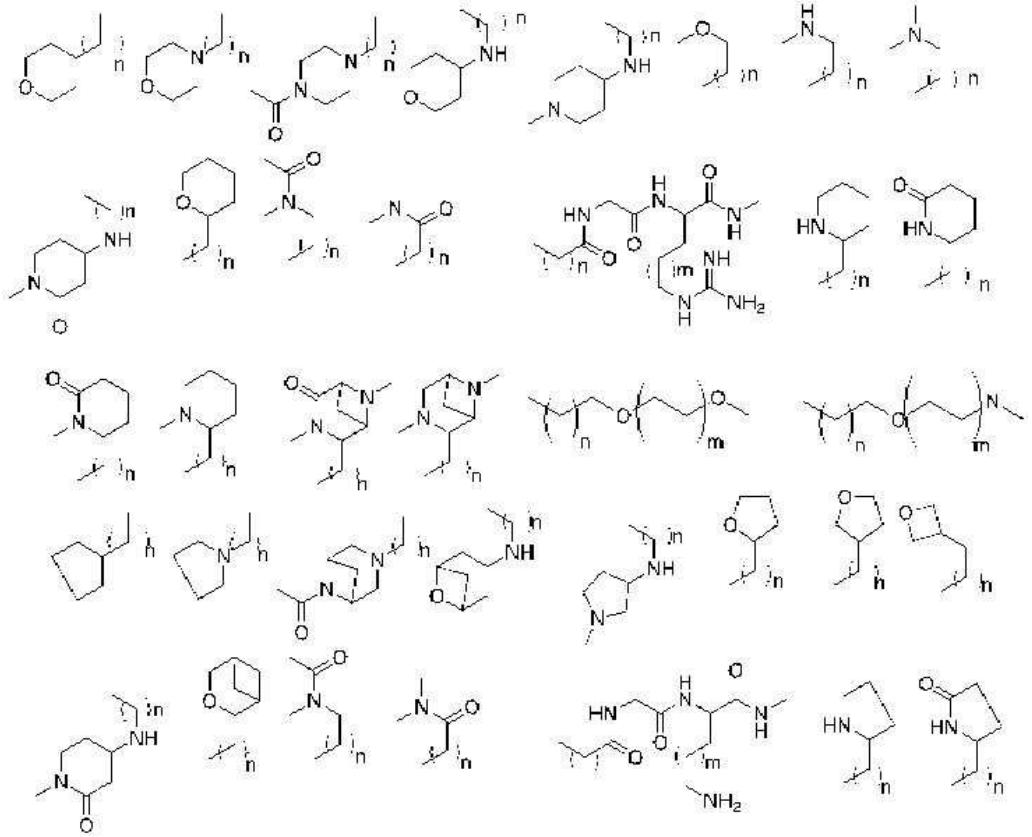
[0340] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 VII로 표시된다.

[0341] 

[0342] · X = NH, O, S, CH_2

[0343] · R1, R2 및 R3은 -CO-Z, OCH_3, $-CF_3$, -COOH, $-CH_2NH_2$, $-CH_3$, -H, -F, -Cl, -Br, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$, $-NH_2$, -NHMe, $-NMe_2$, NO_2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 $-NH_2$, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 $-CH_3$, $-CH_2$-COO-,

[0344] 



[0345]

[0346] 로 구성된 군에서 선택되고

[0347] 여기서:

[0348] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe , $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$, $-SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이다

[0349] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

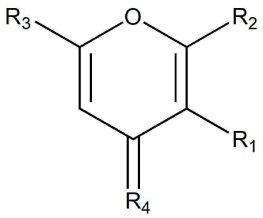
[0350] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0351] · R1, R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH_2-, HN-, CC-S- 링커이고;

[0352] · R4는 우선적으로 -H이지만 또한 Me, F, Cl, Br, CF3, CHF_2, CH_2F, CN, OMe, SMe, SOMe, SO_2Me NH_2, NHMe, NO_2, CHO이고,

[0353] · R5는 -SH, $-NH_2$, -OH, SSY, SCOY, OCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

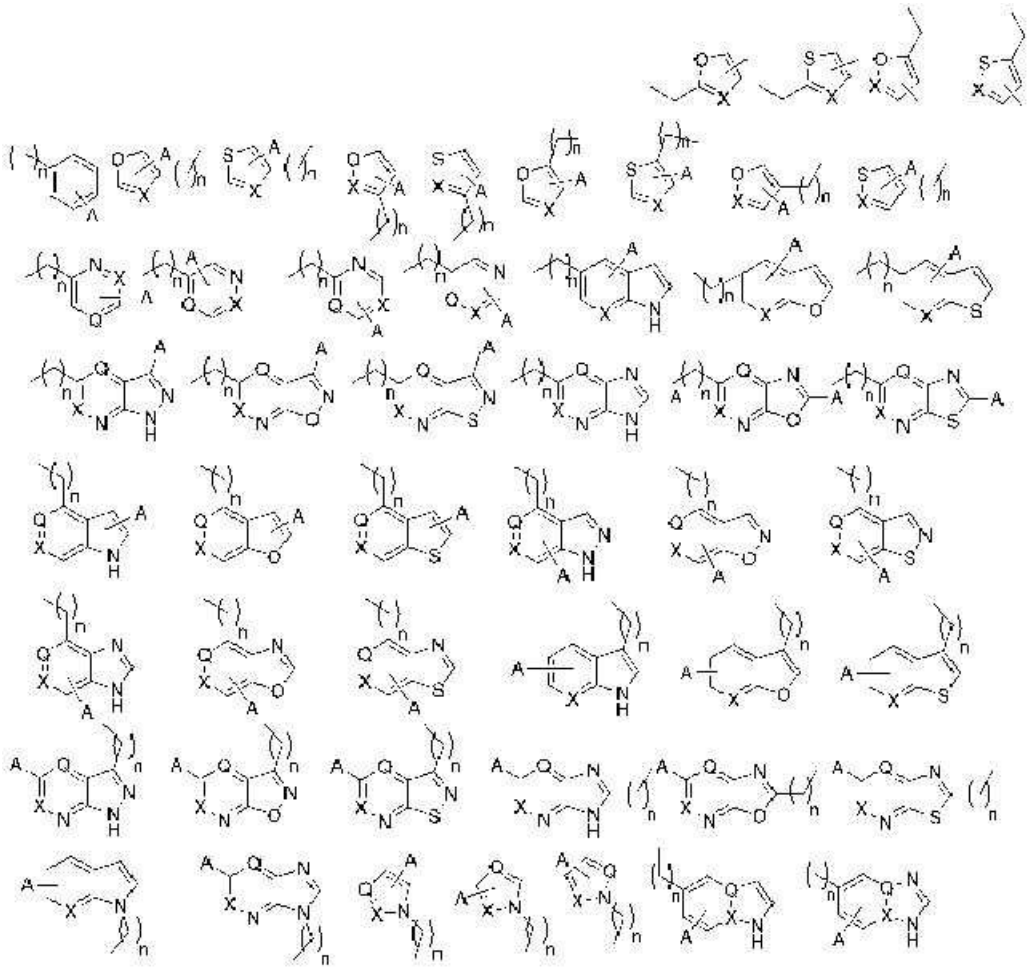
[0354] 바람직하게는, Rpn 11 결합 파트너는 화학식 VIII로 표시된다.

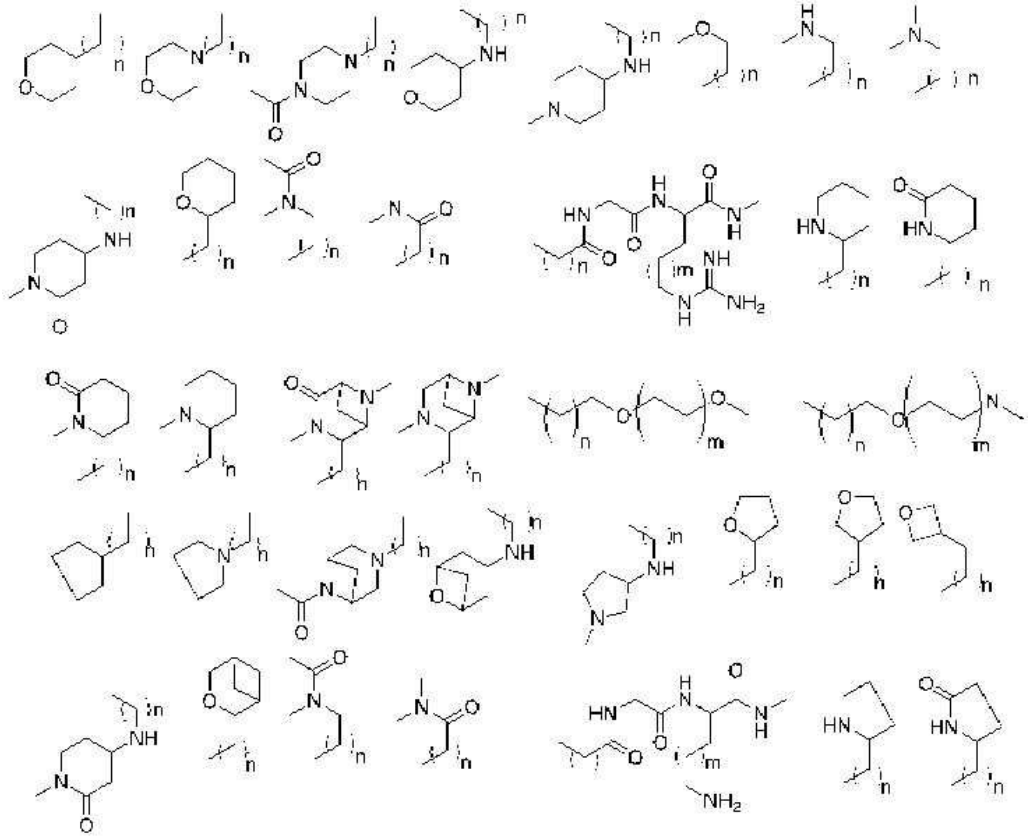
[0355] 

[0356] · R1은 -SH, $-NH_2$, -OH, -SSY, -SCOY, -OCOY, NHCOY로 구성된 군에서 선택되며, 여기서 Y는 상기한 바와 같다.

[0357] · R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택되고,

[0358] · R2 및 R3은 -CO-Z, -OCH3, -CF3, -COOH, -CH2NH2, -CH3, -H, -F, -Cl, -Br, -CF3, -CHF2, -CH2F, -CN, -OH, -OMe, -SMe, -SOMe, -SO2Me, -NH2, -NHMe, -NMe2, NO2, CHO로 구성된 군에서 선택되고; Z는 -NH2, -NHY, -OH 및 -OY로 구성된 군에서 선택되고; Y는 -CH3, -CH2-COO-,

[0359] 

[0360] 

[0361] 로 구성된 군에서 선택되고,

[0362] 여기서:

[0363] -A는 -H, -Me, -Cl, -F, -Br, -I, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, -CN, -OMe, -SMe, -SOMe, $-SO_2Me$ $-NH_2$, -NHMe, $-NO_2$, -COOH, -CHO, $-COCH_3$, $-CO_2CH_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, $-OCH_2F$, $-SCF_3$, $-SCHF_2$, $-SCH_2F$,$-CONH_2$, $-CONHCH_3$, $-CON(CH_3)_2$, $-CSNH_2$,- $SONH_2$, $-SO_2NH_2$, $-SONHNH_2$…이고,

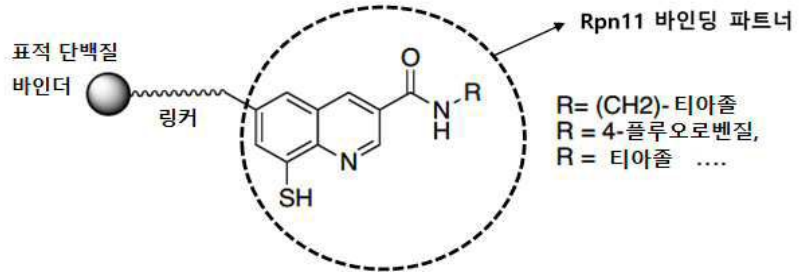
[0364] -X 및 Q는 N 또는 CH이다.

[0365] n = 0, 1, 2, 3 또는 4; m = 0, 1, 2, 3 또는 4이고

[0366] · R2 및 R3은 단백질 바인더에 연결된 CONH-, O-, CH2-, HN-, CC-S- 링커이고;

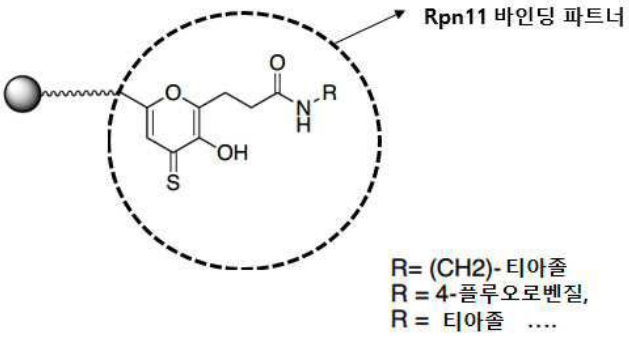
[0367] · R4는 -S, -NH, -O로 구성된 군에서 선택된다.

[0368] 한 구체예에서, 이중작용성 분자는 다음과 같다.



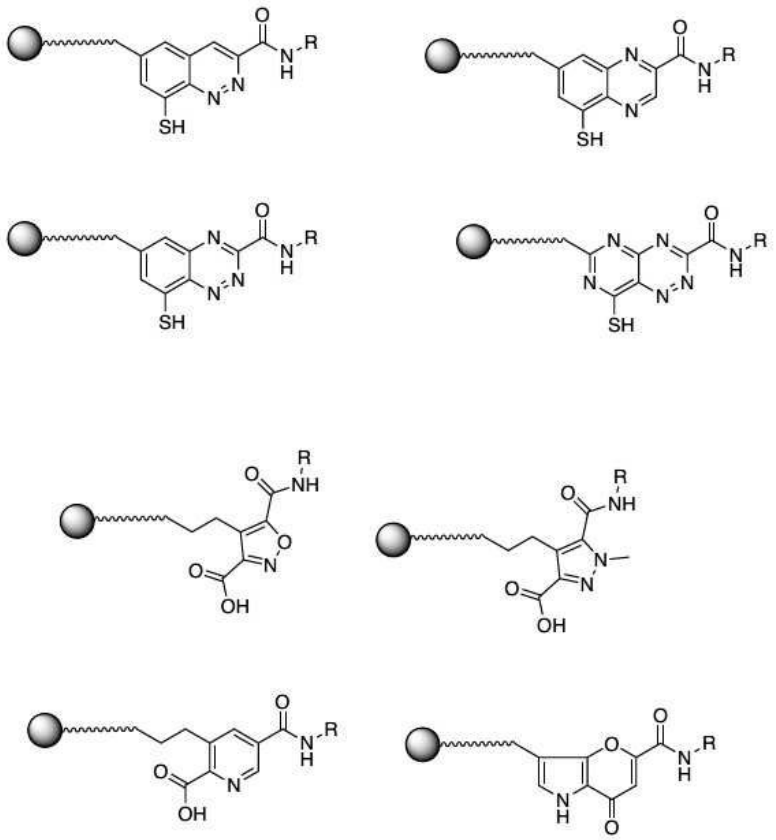
[0369]

[0370] 한 구체예에서, 이중작용성 분자는 다음과 같다.



[0371]

[0372] 한 구체예에서, 이중작용성 분자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된다.



[0373]

[0374] 여기서

R= (CH2)-티아졸
R = 4-플루오로벤질,
R = 티아졸 ....

[0375]

[0376] 바람직하게는, Rpn11 결합 파트너는 표적 단백질 결합 파트너에 공유 결합되지 않을 경우 10nM-10μM 범위의 친화도로 Rpn11에 결합한다. 보다 바람직하게는, Rpn11 결합 파트너는 표적 단백질 결합 파트너에 공유 결합되지 않을 경우 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합한다.

[0377] 바람직하게는, Rpn11 결합 파트너는 표적 단백질 결합 파트너에 공유 결합되지 않을 경우 1nM-1μM의 해리 상수 (Kd) 범위로 Rpn11에 결합한다. 보다 바람직하게는, Rpn11 결합 파트너는 표적 단백질 결합 파트너에 공유 결합되지 않을 경우 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합한다.

[0378] Rpn11 결합 파트너는 표 1에서 제공된 Rpn11 결합 분자의 군으로부터 선택될 수 있다.

[0379] 표적 단백질 결합 파트너는 키나제 억제제, 포스파타제 억제제, BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적화하는 화합물, HDM2/MDM2 억제제, 열 충격 단백질 90 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스퍼라제 억제제 및 항체로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0380] 이중작용성 분자는 표적 단백질의 단백질분해를 촉진한다.

[0381] 바람직하게는, 상기 링커는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 링커, 탄화수소 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커이다. 바람직하게는, 상기 링커는 옥심인 제 1 말단을 갖고 /갖거나 상기 링커는 아민인 제 2 말단을 갖는다. 상기 링커는 2 내지 12 개의 PEG 반복을 포함할 수 있고/있거나 2 내지 12 $(CH_2)n$ 반복을 포함할 수 있다.

[0382] 본 발명은 또한 링커에 연결된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 결합 분자를 포함하며, 여기서 링커는 제 2 결합

파트너에 연결할 수 있다.

[0383] 이 결합 분자에서 Rpn11 결합 파트너는 10nM-10μM 범위의 친화도로 Rpn11에 결합할 수 있다. Rpn11 결합 파트너는 적어도 10nM의 친화도로 Rpn11에 결합할 수 있다.

[0384] 이 결합 분자에서 Rpn11 결합 파트너는 1nM-1μM의 해리 상수 (Kd) 범위로 Rpn11에 결합할 수 있다. Rpn11 결합 파트너는 1μM 미만의 Kd로 Rpn11에 결합할 수 있다.

[0385] Rpn11 결합 파트너는 표 1에서 제공된 Rpn11 결합 분자의 군으로부터 선택될 수 있다.

[0386] 바람직하게는, 상기 링커는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 링커, 탄화수소 링커, 또는 조합된 PEG, 알킬 링커이다. 바람직하게는, 상기 링커는 옥심인 제 1 말단을 갖고/갖거나 상기 링커는 아민인 제 2 말단을 갖는다. 상기 링커는 2 내지 12 개의 PEG 반복을 포함할 수 있고/있거나 2 내지 12 $(CH_2)n$ 반복을 포함할 수 있다.

[0387] 본 발명은 또한 세포에서 표적 단백질의 증가된 단백질 분해를 얻는 방법을 포함하며, 상기 방법은 표적 단백질 결합 파트너에 링크된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자와 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0388] 본 발명의 방법은 또한 표적 단백질 결합 파트너에 링크된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 개체에게 투여함으로써 개체에서 표적 단백질의 증가된 단백질분해를 얻는 방법을 포함한다.

[0389] 본 발명은 또한 2 개의 공유결합적으로 링크된 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 제공하는 방법을 포함하며, 여기서 제 1 결합 파트너는 Rpn11에 결합하고 제 2 결합 파트너는 선택된 표적 단백질에 결합하는데, 상기 방법은 제 1 및 제 2 결합 파트너를 제공하는 단계, 및 제 1 및 제 2 결합 파트너를 공유결합적으로 링크하는 단계를 포함한다.

[0390] 본 발명은 또한 표적 단백질의 단백질분해를 촉진하는 이중작용성 분자를 선택하는 방법을 포함한다:

[0391] a. 후보 제 1 결합 파트너를 제공하고 상기 후보 제 1 결합 파트너가 Rpn11에 결합하는지 결정함으로써 제 1 결합 파트너를 선택하는 단계;

[0392] b. 후보 제 2 결합 파트너를 제공하고 상기 후보 제 2 결합 파트너가 관심 표적 단백질에 결합하는지 결정함으로써 제 2 결합 파트너를 선택하는 단계;

[0393] c. 상기 제 1 및 제 2 결합 파트너를 공유결합적으로 부착하여 이중작용성 분자를 형성하는 단계;

[0394] d. 세포를 상기 이중작용성 분자와 접촉시키는 단계;

[0395] e. 상기 표적 단백질이 단백질분해를 겪는 지 여부를 결정하는 단계.

[0396] 본 발명의 방법은 또한 표적 단백질의 단백질분해를 촉진할 수 있는 이중작용성 분자를 선택하는 방법을 포함하는데 이는 다음을 포함한다:

[0397] (a) 표적 단백질 결합 파트너에 공유결합적으로 결합된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 제공하는 단계,

[0398] (b) 상기 이중작용성 분자를, Rpn11 및 표적 단백질을 포함하는 시험 관 내의 또는 포유 동물의 세포와 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 접촉은 이중작용성 분자가 상기 Rpn11 및 상기 표적 단백질에 결합하도록 허용하는 것인 단계, 및

[0399] (c) 상기 세포에서 상기 표적 단백질의 단백질분해를 검출하는 단계로서, 여기서 검출된 단백질 분해는 (b)에서 상기 접촉의 부재하에 표적 단백질의 단백질분해에 상대적으로 검출된 단백질분해가 증가된 것인 단계.

[0400] 상기 방법은 또한 이중작용성 분자의 부재하에 표적 단백질의 단백질분해를 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0401] 본 발명은 또한 이중작용성 분자의 라이브러리를 포함하는데, 상기 라이브러리는 복수의 이중작용성 분자를 포함하고, 복수의 이중작용성 분자는 선택된 표적 단백질 결합 파트너에 공유결합적으로 링크된 복수의 Rpn11 결합 파트너를 포함한다. 따라서 표적 단백질 결합 파트너는 미리 선택되며 Rpn11 결합 파트너는 미리 결정되지 않는다. 상기 라이브러리는 표적 단백질 분해를 촉진하는데 있어서 이중작용성 분자의 후보 Rpn11 결합 파트너의 활성을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0402] 본 발명은 또한 이중작용성 분자의 라이브러리를 포함하는데, 상기 라이브러리는 복수의 이중작용성 분자를 포함하고, 상기 복수의 이중작용성 분자는 복수의 표적 단백질 결합 요소 및 선택된 Rpn11 결합 파트너를 포함한

다. 따라서 Rpn11 결합 파트너는 미리 선택되어 있으며 표적 단백질은 미리 결정되지 않는다. 상기 라이브러리는 추정 된 표적 단백질 결합 파트너의 활성 및 표적 단백질 분해를 촉진하기 위한 표적 단백질의 결합제로서의 그 가치를 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0403] 본 발명은 또한 표적 단백질의 단백질분해를 촉진하는 이중작용성 분자를 확인하기 위해 후보 이중작용성 분자의 라이브러리를 스크리닝하는 방법을 제공한다. 이 방법은 라이브러리로부터의 이중작용성 분자 풀과 함께 세포를 배양하는 단계; 세포에서 표적 단백질의 양을 모니터링하는 단계; 세포에서 표적 단백질의 양의 감소를 제공하는 이중작용성 분자의 서브 풀을 확인하는 단계; 확인된 서브 풀로부터의 이중작용성 분자와 세포를 인큐베이트하는 단계; 세포에서 표적 단백질의 양을 모니터링하는 단계; 및 세포에서 표적 단백질의 양의 감소를 제공하는 이중작용성 분자를 확인하는 단계를 포함한다.

[0404] 이들 및 추가적인 본 발명의 조성물 및 방법은 다음의 상세한 설명 및 청구 범위에서 찾아진다.

도면의 간단한 설명

[0405] 도 1은 1μM 화합물로 HEK293 세포를 4 시간 처리한 후 Brd2, Brd3 및 Brd4의 면역 블롯 분석을 보여준다. MZ1은 양성 대조군으로 사용되었다. 각 레인 아래에 보고된 값은 평균 0.1 % DMSO 대조군에 비해 BET 풍부함을 나타낸다.

도 2는 11JQ7 (모 화합물) 또는 11JQ16 (전구약물)의 표시된 농도로 HEK293 세포를 4 시간 처리한 후 Brd4의 면역 블롯 분석을 보여준다. 각 레인 아래에 보고된 값은 0.1 % DMSO 대조군에 비해 BET 풍부함을 나타낸다.

도 3은 HEK293 세포를 1μM 11JQ15 (활성 화합물) 또는 11JQ17 (비활성 tert-부틸)로 4 시간 처리한 후 Brd4의 대표적인 면역 블롯 분석을 보여준다. 밴드 강도는 튜불린 로딩 대조군으로 정규화되었고 0.1 % DMSO 비히클 강도의 %로 보고되었다. 분해 데이터는 Prism (Graphpad, 버전 8)을 사용하여 플롯되고 분석되었으며, 여기서 막대는 3 개의 독립적인 실험의 평균±SEM이다.

도 4는 11JQ16 또는 11JQ15의 증가시키는 농도로 HEK293 세포를 4 시간 처리한 후 Brd2, Brd3 및 Brd4 단백질 수준의 면역 블롯 분석을 보여준다. MZ1 및 11JQ17은 양성 및 음성 대조군 각각에 대해 1μM로 사용되었다.

도 5는 11JQ16 또는 11JQ15로 다양한 시점에 HEK293 세포를 1μM로 처리한 후 Brd2, Brd3 및 Brd4 단백질 수준의 면역 블롯 분석을 보여준다. MZ1 및 11JQ17은 양성 및 음성 대조군 각각에 대해 1μM (4h)에서 사용되었다.

도 6a는 10μM 보르테 조밉, 10μM 캡지민 및 10μM JQ1의 존재 및 부재하에 1μM 11JQ15 또는 MZ1로 HEK293 세포를 4 시간 처리한 후 Brd4 단백질 수준의 대표적인 면역 블롯을 보여준다. 도 6b에서 Brd4 밴드 강도는 튜불린 로딩 대조군으로 정규화되었고 평균 0.1 % DMSO 비히클 강도의 %로 보고되었다. 각 막대는 중복으로 수행된 세 가지 독립적인 실험의 평균 ± SEM이다 (n = 3). 도 6C는 10μM 보르테조밉, 20μM 캡지민, 및 10μM JQ1의 존재 및 부재하에 HeLa 세포를 1μM 11JQ16 또는 MZ1로 4 시간 처리한 후 Brd4 단백질 수준의 면역 블롯을 보여준다.

도 7은 편향되지 않은 TMT-표지 단백질체학에 의한 선택적 BET 브로모도메인 분해를 보여준다. HEK293 세포를 DMSO, 1 μM 11JQ15 또는 1 μM 11JQ17로 4 시간 동안 처리하였다. 도 7 (왼쪽)은 11JQ15를 DMSO 처리에 대비한 7882 단백질의 풍부도의 배수 변화뿐만 아니라 각각의 p-값 (t- 검정, n = 3)을 보여준다. 도 7 (오른쪽)은 1μM 11JQ17을 DMSO 처리 (n = 3)에 대비한 7882 단백질의 풍부도의 배수 변화를 보여준다.

도 8은 CellTiter-Glo 분석 (Promega)을 사용하여 측정된 것으로서 1μM 캡지민계 대표 화합물로 처리한 후 MV4-11 세포에서의 항 증식 효과를 보여준다. JQ1 및 캡지민 (CPZ)은 병렬로 실행되었으며 MZ1 및 11JQ18은 각각 양성 및 음성 대조군으로 사용되었다.

도 9는 BET 억제제 JQ1에 대비하여 증가하는 농도의 11JQ16으로 처리한 후 MV4-11 세포에서 Brd4, c-MYC, 절단된 PARP (C-PARP) 수준의 대표적인 면역 블롯을 보여준다. 11JQ18은 음성 대조군으로서 사용되었다.

도 10은 정제된 인간 Rpn11-Rpn8 헤테로다이머로의 캡지민계 화합물의 ITC 적정을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0406] 본 발명은 Rpn11 및 선택된 표적 단백질에 동시에 결합할 수 있고 그에 따라 단백질분해에 의한 표적 단백질의 분해를 촉진할 수 있는 이중작용성 분자를 제공한다.

[0407] 선택된 표적 단백질을 프로테아좀에 동원하여 단백질 분해를 겪는 것과 관련된 조성물 및 방법이 설명된다. 이것은 Rpn11 및 선택된 표적 단백질 모두에 결합하는 이중작용성 분자를 사용하여 본 발명에 따라 달성된다. 따라서, 본 발명은 표적 단백질의 결합 파트너에 연결된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중 결합 작용을 갖는 분자를 제공한다. 본 발명은 프로테아좀에 의한 선택된 표적 단백질의 분해를 촉진한다.

[0408] **정의:**

[0409] 본원에 사용된 "이중작용성 분자"는 각 말단에 작용기를 가지며, 여기서 제 1 작용기는 Rpn11 결합 파트너이고, 제 2 작용기는 표적 단백질 결합 파트너이다. 이중작용성 분자는 Rpn11 및 선택된 표적 단백질에 동시에 결합할 수 있다.

[0410] "유비퀴틴화"라는 용어는 주어진 단백질의 유비퀴틴 결찰(ligation) 과정을 지칭하며, 이에 의해 단백질은 하나 이상의 유비퀴틴 분자를 단백질에 공유결합적으로 부착시킨다 (이것은 일반적으로 단백질의 표면 라이신 잔기에, 또는 그것의 N-말단에 유비퀴틴의 부착을 통해 발생한다). 유비퀴틴 분자의 공유결합적 부착은 프로테아좀 분해를 위해 단백질을 표시하는 것이며, 그 결과 단백질이 작은 펩티드로 소화된다.

[0411] "유비퀴틴-독립적 분해"라는 용어는 단백질분해 전에 표적 단백질의 유비퀴틴화를 필요로하지 않는 선택된 표적 단백질의 단백질분해를 의미한다.

[0412] 반대로 명확하게 표시되지 않는 한, 하나 이상의 단계 또는 행위를 포함하는 본 명세서에서 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 행위의 순서는 그 방법이 나열한 단계 또는 행위의 순서로 반드시 제한되는 것은 아님을 이해해야한다.

[0413] 청구 범위 및 상기 명세서에서, "포함하는", "포함하는", "운송하는", "갖는", "함유하는", "이루어지는", "보유하는", "갖는", 등은 개방형, 즉 이에 제한되지 않는 포함을 의미하는 것으로 이해되어야한다. "구성되는" 및 "본질적으로 구성되는"의 전환구만이 미국 특허청 MPEP(Manual of Patent Examining Procedures),섹션 2111.03에 명시된대로 각각 폐쇄 또는 반폐쇄 전환구이다.

[0414] "병용-투여"및 "병용-투여하는"라는 용어는 치료제가 환자내에 동일한 시간에 어느 정도 존재하는 한 동시적 투여 (동일한 시간에 2 개 이상의 치료제의 투여) 및 시간 가변 투여 (추가적인 치료제(들)의 투여 시간과 상이한 시간에 하나 이상의 치료제의 투여)를 모두 지칭한다.

[0415] "용매화물"이란 용어는 1종 이상의 용매 분자와 함께 특정 화합물의 약학적으로 허용가능한 형태로서, 그러한 화합물의 생물학적 효과를 유지하는 것을 말한다. 용매화물의 예는 용매, 예를 들어, 물(수화물을 형성하기 위함), 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, 디메틸 술폭시드, 에틸 아세테이트, 아세트산, 에탄올아민, 또는 아세톤과 조합된 본 발명의 화합물을 포함한다. 또한, 둘 이상의 용매와 함께 조합된 본 발명의 화합물과 같은 용매화물 혼합물(solvate mixtures)의 제형이 포함된다.

[0416] 각각의 표현, 예를 들어, 알킬, m, n 등의 정의는, 임의의 구조에서 한번 이상 일어나는 경우, 동일한 구조 내의 다른 곳에서 그것의 정의와 독립적인 것으로 의도되었다.

[0417] "치환" 또는 "치환된"은 그러한 치환은 치환된 원자 및 치환기의 허용된 원자가에 따르며, 상기 치환은 안정한 화합물, 예를 들면, 재배열, 고리화, 제거 또는 다른 반응에 의해서와 같이 자발적으로 전환되지 않는 화합물을 초래한다는 암시적 단서를 포함한다는 것을 이해할 것이다.

[0418] "치환된"이라는 용어는 또한 유기 화합물의 허용가능한 모든 치환기를 포함하는 것으로 고려된다. 넓은 측면에서, 상기 허용가능한 치환기는 유기 화합물의 비고리형(acyclic) 및 고리형(cyclic), 가지형(branched) 및 비가지형(unbranched), 탄소고리형(carbocyclic) 및 헤테로고리형(heterocyclic), 방향족(aromatic) 및 비방향족(nonaromatic) 치환기를 포함한다. 예시적인 치환기로는, 예를 들면, 하기 본원에 기재된 치환기를 포함한다. 허용되는 치환기는 적절한 유기 화합물에 대해 하나 이상 및 동일하거나 상이할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 질소와 같은 헤테로원자는 수소 치환기, 및/또는 헤테로원자의 원자가를 만족시키는 본원에 기재된 유기 화합물의 임의의 허용가능한 치환기를 가질 수 있다. 본 발명은 유기 화합물의 허용가능한 치환기에 의해 임의의 방식으로 제한되도록 의도된 것이 아니다.

[0419] 아래 나열된 기 중 어느 하나에 붙을 때 "저급"이라는 용어는 기가 7개 미만의 탄소(즉, 6개 이하의 탄소)를 함유함을 나타낸다. 예를 들어, "저급 알킬"은 1-6개의 탄소를 함유하는 알킬기를 의미하고, "저급 알케닐"은 2-6개의 탄소를 함유하는 알케닐기를 의미한다.

[0420] 본 명세서에서 "불포화"라는 용어는 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합 또는 탄소-탄소 삼중 결합을 가지는 화합물 및/또는 기에 관한 것이다.

[0421] 본 명세서에서 "지방족(aliphatic)"이라는 용어는 선형 또는 가지형이지만 고리형(비고리형(acyclic) 또는 "개방 사슬(open-chain)"이라고도 알려져있음)이 아닌 화합물 및/또는 기에 관한 것이다.

[0422] 본 명세서에서 "시클릭"이라는 용어는 하나의 고리, 또는 2개 이상의 고리(예: 스피로, 융합, 가교)를 가지는 화합물 및/또는 기에 관한 것이다. "모노시클릭"은 하나의 고리를 갖는 화합물 및/또는 기를 의미하며; "바이시클릭"은 두 개의 고리가 있는 화합물/또는 기를 의미한다.

[0423] "방향족"이란 용어는 4n+2개의 전자를 함유하는 고리적으로 컨쥬게이트된 분자 모이어티를 특징으로 하는 평면 또는 다환구조를 말하며, n은 정수의 절대값이다. 융합된, 또는 결합된 고리를 함유하는 방향족 분자는 또한 바이시클릭 방향족 고리(bicyclic aromatic ring)로 불린다. 예를 들어, 탄화수소 고리 구조에서 헤테로 원자를 함유하는 바이시클릭 방향족 고리를 바이시클릭 헤테로아릴 고리라고 칭한다.

[0424] 본 명세서에서 "탄화수소"라는 용어는 전적으로 수소와 탄소로 구성된 유기화합물을 의미한다.

[0425] 본 발명의 목적을 위해, 화학 원소는 원소 주기율표 (CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87, inside cover)에 따라 확인된다.

[0426] 본 명세서에서 사용하는 "헤테로원자"라는 용어는 당해 기술분야에서 인정하는 용어로서, 탄소 또는 수소 이외의 다른 임의의 원소의 원자를 의미한다. 예시적인 헤테로원자는 붕소, 질소, 산소, 인, 황 및 셀레늄을 포함한다.

[0427] "알킬"이란 용어는 1 내지 20, 1 내지 15, 또는 1 내지 10개의 탄소원자를 함유하는 지방족 또는 고리형 탄화수소 라디칼을 의미한다. 알킬의 대표적인 예로는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펜틸, n-헥실, 2-메틸시클로펜틸, 1-(1-에틸시클로프로필)에틸 및 1-시클로헥실에틸을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0428] "시클로알킬"이란 용어는 3 내지 15, 3 내지 10, 또는 3 내지 7개의 탄소 원자를 함유하는 시클릭 탄화수소 라디칼을 의미하는 알킬의 서브세트이다. 시클로알킬의 대표적인 예로는 시클로프로필 및 시클로부틸을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0429] 본 명세서에서 "알케닐"이란 용어는 2 내지 10개의 탄소를 함유하고 2개의 수소가 제거되어 형성된 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼을 의미한다. 알케닐의 대표적인 예로는 에테닐, 2-프로페닐, 2-메틸-2-프로페닐, 3-부테닐, 4-펜테닐, 5-헥세닐, 2-헵테닐, 2-메틸-1-헵테닐, 및 3-데세닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0430] 본 명세서에서 "알키닐"이란 용어는 2 내지 10개의 탄소원자를 함유하고 하나 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 15라디칼을 의미한다. 알키닐의 대표적인 예로는 아세틸레닐, 1-프로피닐, 2-프로피닐, 3-부티닐, 2-펜티닐, 및 1-부티닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0431] "알킬렌"이란 용어는 당해 기술분야에서 인정되며, 본 명세서에서 사용되는 것은 상기 정의된 바와 같은 알킬기의 2개의 수소 원자를 제거하여 수득되는 디라디칼(diradical)에 관한 것이다.

[0432] 본 명세서에서 사용하는 "카르보시클릴"이란 용어는, 완전히 포화되거나 하나 이상의 불포화 결합을 갖는 3 내지 12개의 탄소 원자를 함유하는 모노시클릭 또는 멀티시클릭(예: 바이시클릭, 트리시클릭 등) 탄화수소 라디칼을 의미하며, 의심의 여지를 피하기 위하여 불포화도는 방향족 고리계(예: 페닐)를 초래하지 않는다. 카르보시클릴기의 예는 1-시클로프로필, 1-시클로부틸, 2-시클로펜틸, 1-시클로펜테닐, 3-시클로헥실, 1-시클로헥세닐 및 2-시클로펜테닐메틸을 포함한다.

[0433] 본 명세서에서 사용되는 "헤테로시클릴"이란 용어는 완전히 포화될 수 있거나 하나 이상의 불포화 단위를 함유할 수 있는 모노시클릭, 바이시클릭 및 트리시클릭 고리를 포함하나 이에 한정되지 않는 비-방향족 고리계의 라디칼을 의미하며, 의심의 여지를 피하기 위해 불포화도는 방향족 고리계를 초래하지 않고, 질소, 산소 또는 황과 같은 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 3 내지 12개의 원자를 갖는다. 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되어서는 안 되는 예시의 목적들을 위하여, 하기 화합물들은 헤테로시클릭 환들의 예들이다: 아지리디닐, 아지리닐, 옥시라닐, 티이라닐, 티레닐, 디옥시라닐, 디아지리닐, 아제티닐, 옥세타닐, 옥세티닐, 티에타닐, 티에티닐, 디아제티디닐, 디옥세타닐, 디옥세테닐, 디티에타닐, 디티에티닐, 푸릴, 디옥살라닐, 피롤릴, 옥사졸릴,

티아졸릴, 이미다졸릴, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 트리아지닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 티오페닐, 피라졸릴, 테트라졸릴, 피리딜, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐, 테트라지닐, 퀴놀리닐, 이소퀴놀리닐, 퀴녹살리닐, 퀴나졸리닐, 피리도피라지닐, 벤족사졸릴, 벤조티오페닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조티아졸릴, 벤즈옥사디아졸릴, 벤즈티아디아졸릴, 인돌릴, 벤즈트리아졸릴, 나프티리디닐, 아제핀, 아제티디닐, 모르폴리닐, 옥소피페리디닐, 옥소피롤리디닐, 피페라지닐, 피페리디닐, 피롤리디닐, 퀴니클루디닐, 티오모르폴리닐, 테트라히드로피라닐 및 테트라히드로푸라닐.

[0434] 본 발명의 헤테로시클릴기는 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 할로알킬, 플루오로알킬, 히드록시, 알콕시, 알키에닐옥시, 알키닐옥시, 카르보시클릴옥시, 헤테로시클릴옥시, 할로알콕시, 플루오로알킬옥시, 설피드릴, 알킬티오, 할로알킬티오, 플루오로알킬티오, 알키에닐티오, 알키닐티오, 설폰산, 알킬술포닐, 할로알킬술포닐, 플루오로알킬술포닐, 알케닐술포닐, 알키닐술포닐, 알콕시술포닐, 할로알콕시술포닐, 플루오로알콕시술포닐, 알케닐옥시술포닐, 알키닐옥시술포닐, 아미노술포닐, 설피닉산, 알킬설피닐, 할로알킬설피닐, 플루오로알킬설피닐, 알케닐설피닐, 알키닐설피닐, 알콕시설피닐, 할로알콕시설피닐, 플루오로알콕시설피닐, 알케닐옥시설피닐, 알키닐옥시설피닐, 아미노설피닐, 포르밀, 알킬카르보닐, 할로 알킬카르보닐, 플루오로알킬카르보닐, 알케닐카르보닐, 알키닐카르보닐, 카르복실, 알콕시카르보닐, 할로알콕시카르보닐, 플루오로알콕시카르보닐, 알케닐옥시카르보닐, 알키닐옥시카르보닐, 알킬카르보닐옥시, 할로 알킬카르보닐옥시, 플루오로알킬카르보닐옥시, 알케닐카르보닐옥시, 알키닐카르보닐옥시, 알킬술포닐옥시, 할로 알킬술포닐옥시, 플루오로알킬술포닐옥시, 알케닐술포닐옥시, 알키닐술포닐옥시, 할로알콕시술포닐옥시, 플루오로알콕시술포닐옥시, 알케닐옥시술포닐옥시, 알키닐옥시술포닐옥시, 알킬설피닐옥시, 할로 알킬설피닐옥시, 플루오로알킬설피닐옥시, 알케닐설피닐옥시, 알키닐설피닐옥시, 알콕시설피닐옥시, 할로 알콕시설피닐옥시, 플루오로알콕시설피닐옥시, 알케닐옥시설피닐옥시, 알키닐옥시설피닐옥시, 아미노설피닐옥시, 아미노, 아미도, 아미노술포닐, 아미노설피닐, 시아노, 니트로, 아지도, 포스피닐, 포스포릴, 실릴, 실릴옥시, 및 알킬렌 모이어티(예, 메틸렌)를 통해 헤테로시클릴기에 결합된 상기 치환기 중 임의의 것으로 구성된 군에서 독립적으로 선택된 0, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환기로 치환되어 있다.

[0435] 본 명세서에서 사용되는 "아릴"이란 용어는 페닐, 나프틸, 페난트레닐, 또는 안트라세닐기를 의미한다. 본 발명의 아릴기는 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 할로알킬, 플루오로알킬, 히드록시, 알콕시, 알키에닐옥시, 알키닐옥시, 카르보시클릴옥시, 헤테로시클릴옥시, 할로알콕시, 플루오로알킬옥시, 설피드릴, 알킬티오, 할로알킬티오, 플루오로알킬티오, 알키에닐티오, 알키닐티오, 설폰산, 알킬술포닐, 할로알킬술포닐, 플루오로알킬술포닐, 알케닐술포닐, 알키닐술포닐, 알콕시술포닐, 할로알콕시술포닐, 플루오로알콕시술포닐, 알케닐옥시술포닐, 알키닐옥시술포닐, 아미노술포닐, 설피닉산, 알킬설피닐, 할로알킬설피닐, 플루오로알킬설피닐, 알케닐설피닐, 알키닐설피닐, 알콕시설피닐, 할로알콕시설피닐, 플루오로알콕시설피닐, 알케닐옥시설피닐, 알키닐옥시설피닐, 아미노설피닐, 포르밀, 알킬카르보닐, 할로알킬카르보닐, 플루오로알킬카르보닐, 알케닐카르보닐, 알키닐카르보닐, 카르복실, 알콕시카르보닐, 할로알콕시카르보닐, 플루오로알콕시카르보닐, 알케닐옥시카르보닐, 알키닐옥시카르보닐, 알킬카르보닐옥시, 할로 알킬카르보닐옥시, 플루오로알킬카르보닐옥시, 알케닐카르보닐옥시, 알키닐카르보닐옥시, 알킬술포닐옥시, 할로 알킬술포닐옥시, 플루오로알킬술포닐옥시, 알케닐술포닐옥시, 알키닐술포닐옥시, 할로알콕시술포닐옥시, 플루오로알콕시술포닐옥시, 알케닐옥시술포닐옥시, 알키닐옥시술포닐옥시, 알킬설피닐옥시, 할로 알킬설피닐옥시, 플루오로알킬설피닐옥시, 알케닐설피닐옥시, 알키닐설피닐옥시, 알콕시설피닐옥시, 할로 알콕시설피닐옥시, 플루오로알콕시설피닐옥시, 알케닐옥시설피닐옥시, 알키닐옥시설피닐옥시, 아미노설피닐옥시, 아미노, 아미도, 아미노술포닐, 아미노설피닐, 시아노, 니트로, 아지도, 포스피닐, 포스포릴, 실릴, 실릴옥시, 및 알킬렌 모이어티(예, 메틸렌)를 통해 헤테로시클릴기에 결합된 상기 치환기 중 임의의 것으로 구성된 군에서 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환기로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0436] 상기 "아릴렌"이란 용어는 당해 기술분야에서 인정되는 것으로서, 본 명세서에서 사용되는 것은 상기 정의된 바와 같은 아릴 고리의 2개의 수소 원자를 제거하여 수득되는 디라디칼에 관한 것이다.

[0437] 본 명세서에서 사용되는 "아릴알킬" 또는 "아랄킬"은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 알킬기를 통해 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 아릴기를 의미한다.

[0438] 아랄킬의 대표적인 예로는 벤질, 2-페닐에틸, 3-페닐프로필, 및 2-나프트-2-일에틸을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0439] 본 명세서에서 "바이아릴(biaryl)"이란 아릴-치환된 아릴, 아릴-치환된 헤테로아릴, 헤테로아릴-치환된 아릴 또는 헤테로아릴-치환된 헤테로아릴을 의미하며, 여기서 상기 아릴 및 헤테로아릴은 본 명세서에서 정의한 바와

같다. 대표적인 예로는 4-(페닐) 페닐 및 4-(4-메톡시페닐)피리디닐을 포함한다.

[0440] 본 명세서에서 "헤테로아릴"이란 용어는 질소, 산소 또는 황과 같은 적어도 하나의 헤테로 원자를 포함하는 3 내지 12개의 원자를 갖는 모노시클릭, 바이시클릭 및 트리시클릭 고리를 포함하지만 이에 한정되지 않는 방향족 고리계의 라디칼을 포함한다. 다음은 예시를 위한 것이지만, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다: 아미노벤즈이미다졸, 벤즈이미다졸, 아자인돌릴, 벤조(b)티에닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤즈옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤즈옥사디아졸릴, 푸라닐, 이미다졸릴, 이미다조피리디닐, 인돌릴, 인돌리닐, 인다졸릴, 이소인돌리닐, 이속사졸릴, 이소티아졸릴, 이소퀴놀리닐, 옥사디아졸릴, 옥사졸릴, 퓨리닐, 피라닐, 피라지닐, 피라졸릴, 피리디닐, 피리미디닐, 피롤릴, 피롤로[2,3-d]피리미디닐, 피라졸로[3,4-d]피리미디닐, 퀴놀리닐, 퀴나졸리닐, 트리아졸릴, 티아졸릴, 티오페닐, 테트라히드로인돌릴, 테트라졸릴, 티아디아졸릴, 티에닐, 티오모르폴리닐, 트리아졸릴 또는 트로파닐.

[0441] 본 발명의 헤테로아릴기는 알킬, 알케닐, 알키닐, 할로, 할로알킬, 플루오로알킬, 히드록시, 알콕시, 알키에닐옥시, 알키닐옥시, 카르보시클릴옥시, 헤테로시클릴옥시, 할로알콕시, 플루오로알킬옥시, 설피드릴, 알킬티오, 할로알킬티오, 플루오로알킬티오, 알키에닐티오, 알키닐티오, 설폰산, 알킬술포닐, 할로알킬술포닐, 플루오로알킬술포닐, 알케닐술포닐, 알키닐술포닐, 알콕시술포닐, 할로알콕시술포닐, 플루오로알콕시술포닐, 알케닐옥시술포닐, 알키닐옥시술포닐, 아미노술포닐, 설피닉산, 알킬설피닐, 할로알킬설피닐, 플루오로알킬설피닐, 알케닐설피닐, 알키닐설피닐, 알콕시설피닐, 할로알콕시설피닐, 플루오로알콕시설피닐, 알케닐옥시설피닐, 알키닐옥시설피닐, 아미노설피닐, 포르밀, 알킬카르보닐, 할로알킬카르보닐, 플루오로알킬카르보닐, 알케닐카르보닐, 알키닐카르보닐, 카르복실, 알콕시카르보닐, 할로알콕시카르보닐, 플루오로알콕시카르보닐, 알케닐옥시카르보닐, 알키닐옥시카르보닐, 알킬카르보닐옥시, 할로 알킬카르보닐옥시, 플루오로알킬카르보닐옥시, 알케닐카르보닐옥시, 알키닐카르보닐옥시, 알킬술포닐옥시, 할로 알킬술포닐옥시, 플루오로알킬술포닐옥시, 알케닐술포닐옥시, 알키닐술포닐옥시, 할로알콕시술포닐옥시, 플루오로알콕시술포닐옥시, 알케닐옥시술포닐옥시, 알키닐옥시술포닐옥시, 알킬설피닐옥시, 할로 알킬설피닐옥시, 플루오로알킬설피닐옥시, 알케닐설피닐옥시, 알키닐설피닐옥시, 알콕시설피닐옥시, 할로 알콕시설피닐옥시, 플루오로알콕시설피닐옥시, 알케닐옥시설피닐옥시, 알키닐옥시설피닐옥시, 아미노설피닐옥시, 아미노, 아미도, 아미노술포닐, 아미노설피닐, 시아노, 니트로, 아지도, 포스피닐, 포스포릴, 실릴, 실릴옥시, 및 알킬렌 모이어티(예, 메틸렌)를 통해 헤테로아릴기에 결합된 상기 치환기 중 임의의 것으로 구성된 군에서 독립적으로 선택된 0, 1, 2, 3, 4 또는 5개의 치환기로 치환되어 있다.

[0442] "헤테로아릴렌"이란 용어는 당해 기술분야에서 인정되는 것으로서, 본 명세서에서 사용되는 것은 상기 정의된 바와 같은 헤테로아릴 고리의 2개의 수소 원자를 제거하여 수득되는 디라디칼에 관한 것이다.

[0443] 본 명세서에서 사용되는 "헤테로아릴알킬" 또는 "헤테로아랄킬"이란 본 명세서에서 정의된 바와 같은 알킬기를 통해 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 바와 같은 헤테로아릴을 의미한다. 헤테로아릴알킬의 대표적인 예로는 피리딘-3-일메틸 및 2-(티엔-2-일) 에틸을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0444] 본 명세서에서 사용되는 "융합된 바이시클릴"이란 용어는 2개의 고리가 오르토-융합되고, 각각의 고리가 2개의 융합 원자를 포함하는 총 4개, 5개, 6개 또는 7개의 원자(즉, 탄소 및 헤테로원자)를 함유하고, 각각의 고리가 완전히 포화되거나, 하나 이상의 불포화기를 함유할 수 있거나, 또는 완전히 불포화된 것(예를 들어, 어떤 경우에는 방향족)일 수 있는 바이시클릭 고리계의 라디칼을 의미한다. 의심의 여지를 피하기 위해, 융합된 바이시클릴에서의 불포화의 정도는 아릴 또는 헤테로아릴 모이어티를 초래하지 않는다. "할로" 또는 "할로겐"이란 용어는 -Cl, -Br, -I 또는 -F를 의미한다.

[0445] "할로알킬"이란 용어는 본 명세서에서 정의한 바와 같은 알킬기로서, 적어도 하나의 수소가 본 명세서에서 정의한 바와 같은 할로겐으로 교체되어 있는 것을 의미한다. 할로알킬의 대표적인 예로는 클로로메틸, 2-플루오로에틸, 트리플루오로메틸, 펜타플루오로에틸 및 2-클로로-3-플루오로펜틸을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0446] "플루오로알킬"이란 용어는 본 명세서에서 정의된 알킬기로서, 수소의 일부 또는 전부가 불소로 치환되어 있는 것을 의미한다.

[0447] 본 명세서 중 "할로알킬렌"이란 용어는 상기 정의된 바와 같은 할로알킬기의 2개의 수소 원자가 제거되어 수득된 디라디칼에 관한 것이다.

[0448] 본 명세서에서 사용하는 "히드록시"라는 용어는 -OH기를 의미한다.

[0449] 본 명세서에서 사용하는 "알콕시"라는 용어는 산소 원자를 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서

정의한 바와 같은 알킬기를 의미한다. 알콕시의 대표적인 예로는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 2-프로폭시, 부톡시, tert-부톡시, 펜틸옥시, 및 헥실옥시를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. "알키에닐옥시", "알키닐옥시", "카르보시클릴옥시", 및 "헤테로시클릴옥시"도 마찬가지로 정의된다.

[0450] 본 명세서에서 사용되는 "할로알콕시"라는 용어는 본 명세서에서 정의된 바와 같은 알콕시기를 의미하는데, 적어도 하나의 수소가 본 명세서에서 정의된 바와 같은 할로겐으로 교체되어 있는 것이다. 할로알콕시의 대표적인 예로는 클로로메톡시, 2-플루오로에톡시, 트리플루오로메톡시, 및 펜타플루오로에톡시를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. "플루오로알킬옥시"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0451] 본 명세서에서 사용하는 "아릴옥시"라는 용어는 산소를 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 아릴기를 의미한다. 본 명세서에서 사용하는 "헤테로아릴옥시"라는 용어는 산소를 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 헤테로아릴기를 의미한다. "헤테로아릴옥시"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0452] 본 명세서에서 사용하는 "아릴알콕시" 또는 "아릴알킬옥시"란 용어는 산소를 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 아릴알킬기를 의미한다. "헤테로아릴알콕시"라는 용어도 마찬가지로 정의된다. 아릴옥시 및 헤테로아릴알콕시의 대표적인 예로는 2-클로로페닐메톡시, 3-트리플루오로메틸-페닐에톡시, 및 2,3-디메틸피리디닐메톡시를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0453] 본 명세서에서 사용하는 "설프히드릴(sulfhydryl)" 또는 "티오(thio)"라는 용어는 -SH기를 의미한다.

[0454] 본 명세서에서 사용하는 "알킬티오"라는 용어는 황을 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 알킬기를 의미한다. 알킬티오의 대표적인 예로는 메틸티오, 에틸티오, tert-부틸티오, 및 헥실티오를 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다. "할로알킬티오", "플루오로알킬티오", "알키에닐티오", "알키닐티오", "카르보시클릴티오", 및 "헤테로시클릴티오"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0455] 본 명세서에서 사용하는 "아릴티오"라는 용어는 황을 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 아릴기를 의미한다. "헤테로아릴티오"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0456] 본 명세서에서 사용하는 "아릴알킬티오" 또는 "아랄킬티오"라는 용어는 황을 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에 정의된 아릴알킬기를 의미한다. "헤테로아릴알킬티오"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0457] 본 명세서에서 사용하는 "술포닐"이란 용어는 -S(=0)2-기를 의미한다.

[0458] 본 명세서에서 사용하는 "술폰산"이란 용어는 -S(=0)20H기를 의미한다.

[0459] 본 명세서에서 사용하는 "알킬술포닐"라는 용어는 본 명세서에서 정의된 술포닐기를 통하여 모 분자 모이어티에 부가된, 본 명세서에서 정의된 알킬기를 의미한다. 알킬술포닐의 대표적인 예로는 메틸술포닐 및 에틸술포닐을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. "할로알킬술포닐", "플루오로알킬술포닐", "알케닐술포닐", "알키닐술포닐", "카르보시클릴술포닐", "헤테로시클릴술포닐", "아릴술포닐", "아랄킬술포닐", "헤테로아릴술포닐" 및 "헤테로아랄킬술포닐"이란 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0460] 본 명세서에서 사용되는 "알콕시술포닐"이란 용어는 본 명세서에서 정의된 술포닐기를 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 알콕시기를 의미한다.

[0461] 알콕시술포닐의 대표적인 예로는 메톡시술포닐, 에톡시술포닐 및 프로폭시술포닐을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. "할로알콕시술포닐", "플루오로알콕시술포닐", "알케닐옥시술포닐", "알키닐옥시술포닐", "카르보시클릴옥시술포닐", "헤테로시클릴옥시술포닐", "아릴옥시술포닐", "아랄킬옥시술포닐", "헤테로아릴옥시술포닐" 및 "헤테로아랄킬옥시술포닐"이라는 용어들도 마찬가지로 정의된다.

[0462] 트리플릴(triflyl), 토실(tosyl), 메실(mesyl) 및 노나플릴(nonaflyl)라는 용어는 관련 업계에 인식되어 있으며, 각각 트리플루오로메탄술포닐, p-톨루엔술포닐, 메탄술포닐, 및 노나플루오로부탄술포닐기를 의미한다. 트리플레이트, 토실레이트, 메실레이트, 및 노나플레이트라는 용어는 당해 기술분야에 인식되어 있으며, 각각 트리플루오로메탄술포네이트 에스테르, p-톨루엔술포네이트 에스테르, 메탄술포네이트 에스테르 및 노나플루오로부탄술포네이트 에스테르 작용기 및 상기 기를 함유하는 분자를 지칭한다.

[0463] 본 명세서에서 사용하는 "아미노술포닐"이라는 용어는 술포닐기를 통하여 모 분자 모이어티에 부가된, 본 명세서에서 정의된 아미노기를 의미한다.

[0464] 본 명세서에서 사용하는 "술피닐"이라는 용어는 -S(=O)- 기를 의미한다. 술피닐 기는 술포닐 기에 대해 상기 정의된 바와 같다. 본 명세서에서 사용하는 "술핀산(sulfinic acid)"이라는 용어는 - S(=O)OH를 의미한다.

[0465] "옥시"라는 용어는 -O- 기를 의미한다.

[0466] 본 명세서에서 사용하는 "카르보닐"이란 용어는 -C(=O)- 기를 의미한다.

[0467] 본 명세서에서 사용하는 "티오카르보닐"이란 용어는 -C(=5)- 기를 의미한다.

[0468] 본 명세서에서 사용하는 "포르밀"이란 용어는 -C(=O)수소기를 의미한다.

[0469] 본 명세서에서 사용하는 "아실"이란 용어는 -C(=O)R형태의 임의의 기 또는 라디칼을 의미하며, 여기서 R은 유기기이다. 아실기의 예로는 아세틸기(-C(=O)CH3)이다.

[0470] 본 명세서에서 사용하는 "알킬카르보닐"이란 용어는 본 명세서에서 정의된 카르보닐기를 통하여 모 분자 모이어티에 부가된, 본 명세서에서 정의된 알킬기를 의미한다. 알킬카르보닐의 대표적인 예로는 아세틸, 1-옥소프로필, 2,2-디메틸-1-옥소프로필, 1-옥소부틸, 및 1-옥소펜틸을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. "할로알킬카르보닐", "플루오로알킬카르보닐", "알케닐카르보닐", "알키닐카르보닐", "카르보시클릴카르보닐", "헤테로시클릴카르보닐", "아릴카르보닐", "아랄킬카르보닐", "헤테로아릴카르보닐", 및 "헤테로아랄킬카르보닐"이라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0471] 본 명세서에서 사용하는 "카르복실"라는 용어는 -CO_2H기를 의미한다.

[0472] 본 명세서에서 사용하는 "알콕시카르보닐"이라는 용어는 본 명세서에서 정의된 카르보닐기를 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 알콕시기를 의미한다. 알콕시카르보닐의 대표적인 예로는 메톡시카르보닐, 에톡시카르보닐, 및 tert-부톡시카르보닐을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0473] "할로알콕시카르보닐", "플루오로알콕시카르보닐", "알케닐옥시카르보닐", "알키닐옥시카르보닐", "카르보시클릴옥시카르보닐", "헤테로시클릴옥시카르보닐", "아릴옥시카르보닐", "아랄킬옥시카르보닐", "헤테로아릴옥시카르보닐", 및 "헤테로아랄킬옥시카르보닐"이라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0474] 본 명세서에서 사용하는 "알킬카르보닐옥시"라는 용어는 산소 원자를 통해 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의한 알킬카르보닐기를 의미한다. 알킬카르보닐옥시의 대표적인 예로는 아세틸옥시, 에틸카르보닐옥시, 및 tert-부틸카르보닐옥시를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. "할로알킬카르보닐옥시", "플루오로알킬카르보닐옥시", "알케닐카르보닐옥시", "알키닐카르보닐옥시", "카르보시클릴카르보닐옥시", "헤테로시클릴카르보닐옥시", "아릴카르보닐옥시", "아랄킬카르보닐옥시", "헤테로아릴카르보닐옥시", 및 "헤테로아랄킬카르보닐옥시"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0475] 본 명세서에서 사용하는 "알킬술포닐옥시"라는 용어는 산소 원자를 통해 모 분자 모이어티에 부가된, 본 명세서에서 10개의 정의된 알킬술포닐기를 의미한다. "할로알킬술포닐옥시", "플루오로알킬술포닐옥시", "알케닐술포닐옥시", "알키닐술포닐옥시", "아릴술포닐옥시", "헤테로아랄킬술포닐옥시", "알케닐옥시술포닐옥시", "헤테로시클릴옥시술포닐옥시", "카르보시클릴술포닐옥시", "아랄킬술포닐옥시", "할로알콕시술포닐옥시", "알키닐옥시술포닐옥시", "아릴옥시술포닐옥시", "헤테로시클릴술포닐옥시", "헤테로아릴술포닐옥시", "플루오로알콕시술포닐옥시", "카르보시클릴옥시술포닐옥시", "아랄킬옥시술포닐옥시", "헤테로아릴옥시술포닐옥시" 및 "헤테로아랄킬옥시술포닐옥시"라는 용어도 마찬가지로 정의된다.

[0476] 본 명세서에서 사용하는 "아미노" 또는 "아민"이란 용어는 -NH2 및 이의 치환된 유도체를 의미하며, 여기서 수소 중 하나 또는 둘 다는 독립적으로 알킬, 할로알킬, 플루오로알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보시클릴, 헤테로시클릴, 아릴, 아랄킬, 헤테로아릴, 헤테로아랄킬, 알킬카르보닐, 할로알킬카르보닐, 플루오로알킬카르보닐, 알케닐카르보닐, 알키닐카르보닐, 카르보시클릴카르보닐, 헤테로시클릴카르보닐, 아릴카르보닐, 아랄킬카르보닐, 헤테로아릴카르보닐, 헤테로아랄킬카르보닐 및 상기 정의된 술포닐 및 술피닐 기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환기로 교체되어 있고; 또는 (질소를 포함하는 고리를 형성하기 위하여) 두 수소가 함께 알킬렌기로 대체되어 있다. 대표적인 예로는 메틸아미노, 아세틸아미노, 및 디메틸아미노를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0477] 본 명세서에서 사용하는 "아미도"라는 용어는 카르보닐을 통하여 모 분자 모이어티에 부가되는, 본 명세서에서 정의된 아미노기를 의미한다.

[0478] 본 명세서에서 사용되는 "시안"이라는 용어는 -CN 기를 의미한다.

[0479] 본 명세서에서 사용하는 "니트로"라는 용어는 -NO2기를 의미한다.

[0480] 본 명세서에서 사용하는 "아지도"라는 용어는 -N3기를 의미한다.

[0481] 본 명세서에서 사용하는 "포스피닐" 또는 "포스피노"라는 용어는 -PH3 및 이의 치환된 유도체를 포함하며, 여기서 상기 수소 중 1, 2 또는 3개는 독립적으로 알킬, 할로알킬, 플루오로알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보시클릴, 헤테로시클릴, 아릴, 아랄킬, 헤테로아릴, 헤테로아랄킬, 알콕시, 할로알콕시, 플루오로알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 카르보시클릴옥시, 헤테로시클릴옥시, 아릴옥시, 아랄킬옥시, 헤테로아릴옥시, 헤테로아랄킬옥시, 및 아미노로 이루어진 군에서 선택되는 치환기로 교체되어 있다.

[0482] 본 명세서에서 사용하는 "포스포릴"이라는 용어는 -P(=O)OH2 및 이의 치환된 유도체를 의미하며, 여기서 히드록실 중 하나 또는 둘다는 독립적으로 알킬, 할로알킬, 플루오로알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보시클릴, 헤테로시클릴, 아릴, 아랄킬, 헤테로아릴, 헤테로아랄킬, 알콕시, 할로알콕시, 플루오로알킬옥시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 카르보시클릴옥시, 헤테로시클릴옥시, 아릴옥시, 아랄킬옥시, 헤테로아릴옥시, 헤테로아랄킬옥시, 및 아미노로 이루어진 군에서 선택되는 치환기로 교체되어 있다.

[0483] 본 명세서에서 사용하는 "실릴"이라는 용어는 H3Si 및 이의 치환된 유도체를 포함하며, 여기서 수소 중 1, 2 또는 3개는 독립적으로 알킬, 할로알킬, 플루오로알킬, 알케닐, 알키닐, 카르보시클릴, 헤테로시클릴, 아릴, 아랄킬, 헤테로아릴, 및 헤테로아랄킬로부터 선택된 치환기로 교체되어 있다. 대표적인 예로는 트리메틸실릴(TMS), tert-부틸디페닐실릴(TBDPS), tert-부틸디메틸실릴(TBS/TBDMS), 트리이소프로필실릴(TIPS) 및 [2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸(SEM)을 포함한다.

[0484] 본 명세서에서 사용하는 "실릴옥시"라는 용어는 산소 원자를 통해 모 분자에 부가된, 본 명세서에서 정의된 실릴기를 의미한다.

[0485] 약어 Me, Et, Ph, Tf, Nf, Ts, Ms, Cbz 및 Boc는 각각 메틸, 에틸, 페닐, 트리플루오로메탄술포닐, 노나플루오로부탄술포닐, p-톨루엔술포닐 메탄술포닐, 카르보벤질옥시 및 tert-부틸옥시카르보닐을 나타낸다. 당해 분야의 통상의 지식을 가진 유기 화학자에 의해 사용되는 약어의 더욱 포괄적인 목록은 the Journal of Organic Chemistry 의 각 볼륨의 첫 번째 호에 나타나는데 이 목록은 일반적으로 약어의 표준 목록(Standard List of Abbreviations)이라는 제목의 표에 제시되어 있다.

[0486] '단백질-발현 관련 질환'은 병리가 적어도 부분적으로 부적절한 단백질 발현(예: 잘못된 시기 및/또는 잘못된 세포에서의 발현), 과도한 단백질 발현 또는 돌연변이 단백질의 발현과 관련된 질환 또는 장애를 의미한다. 한 구체예에서, 돌연변이 단백질 질환은 돌연변이 단백질이 세포, 조직, 또는 기관의 정상적인 생물학적 활성을 간섭할 때 야기된다.

[0487] '돌연변이 단백질'이란 참조(야생형) 단백질에 비해 1차, 2차 또는 3차 구조에 영향을 미치는 변형을 가진 단백질을 의미한다.

[0488] "증가시킨다"란 적어도 약 10%, 15%, 25%, 50%, 75%, 또는 100%의 양성적 변형을 의미한다.

[0489] "감소시킨다"란 적어도 약 10%, 25%, 50%, 75%, 또는 100%의 음성적 변형을 의미한다.

[0490] '선택적 분해'란 표적 단백질에 우선적으로 영향을 주어 다른 단백질에 실질적인 영향을 주지 않도록 하는 분해를 의미한다. 다양한 구체예에서, 약 45%, 35%, 25%, 15%, 10%, 또는 5% 미만의 비-표적화된 단백질이 분해된다.

[0491] Rpn11은 유비퀴틴 사슬과 기질 사이의 연결부에서 절단되어 유비퀴틴화된 기질로부터 폴리유비퀴틴 사슬을 제거하여 재순환을 위해 유비퀴틴을 방출하는 것을 돕는 탈유비퀴틴화 효소이다. Rpn11에 의해 촉매되는 유비퀴틴 재순환 단계는 단백질의 분해를 위해 필요하다. Rpn11은 메탈로프로테아제이다. (Perez et al. 2017 J. Med. Chem. 60:1343-1361 및 US2017050931). Rpn11은 단백질 기질이 언폴드되고 분해되기 전에 폴리-유비퀴틴 사슬로부터 유비퀴틴 분자를 가수분해하는 메탈로프로테아제 활성을 나타낸다. 인간 Rpn11은 또한 PSMD14 및 POH1으로 공지되어 있다.

[0492] ***Rpn11 뉴클레오티드 및 아미노산 서열 (인간)***

[0493] PSMD14-000487

[0494] Rpn11 뉴클레오티드 서열

[0495] atggacagacttcttagacttggaggaggtatgcctggactgggccaggggccacctacagatgctcctg

[0496] cagtggacacagcagaacaagtctatatctcttccctggcactgttaaaaatgttaaaacatggccgtgc

[0497] tggagttccaatggaagttatgggtttgatgcttggagaatttgttgatgattataccgtcagagtgatt

[0498] gatgtgtttgctatgccacagtcaggaacaggtgtcagtgtggaggcagttgatccagtgttccaagcta

[0499] aaatgttggatatgttgaagcagacaggaaggccggagatggttgttggttggtatcacagtcaccctgg

[0500] ctttggttgttggctttctggtgtggatatcaacactcagcagagctttgaagccttgtcggagagagct

[0501] gtggcagtggttgtggatcccattcagagtgtaaaaggaaaggttgttattgatgccttcagattgatca

[0502] atgctaatatgatggtcttaggacatgaaccaagacaaacaacttcgaatctgggtcacttaaacaagcc

[0503] atctatccaggcattaattcatggactaaacagacattattactccattactattaactatcggaaaaat

[0504] gaactggaacagaagatgttgctaaatttgcataagaagagttggatggaaggtttgacacttcaggact

[0505] acagtgaacattgtaaacacaatgaatcagtggtaaaagagatgttggaattagccaagaattacaataa

[0506] ggctgtagaagaagaagataagatgacacctgaacagctggcaataaagaatgttggcaagcaggacccc

[0507] aaacgtcatttggaggaacatgtggatgtacttatgacctcaaatattgtccagtgtttagcagctatgt

[0508] tggatactgtcgtatttaaataa

[0509] Rpn11 아미노산 서열

[0510] MDRLLRLGGGMPGLGQGPPTDAPAVDTAEQVYISSLALLKMLKHGRAGVPMEVMGLMLGE

[0511] FVDDYTVRVIDVFAMPQSGTGVSVEAVDPVFQAKMLDMLKQTGRPEMVVGWYHSHPGFGC

[0512] WLSGVDINTQQSFEALSERAVAVVVDPIQSVKGKVVIDAFRLINANMMVLGHEPRQTTSN

[0513] LGHLNKPSIQALIHGLNRHYYSITINYRKNELEQKMLLNLHKKSWMEGLTLQDYSEHCKH

[0514] NESVVKEMLELAKNYNKAVEEEDKMTPEQLAIKNVGKQDPKRHLEEHVDVLMTSNIVQCL

[0515] AAMLDTVVFK

[0516] ----------

[0517] "**선택된 표적 단백질**"은 관련 분야 통상의 기술자가 세포 또는 포유동물, 예를 들어, 인간 대상에서 선택적으로 분해 및/또는 억제하고자 하는 단백질이다. 본 발명에 따르면, 표적 단백질의 분해는 표적 단백질이 본원에 개시된 이중작용성 분자에 종속될 때 일어날 것이다. 표적 단백질의 분해는 단백질 수준을 감소시키고 세포 내에서 표적 단백질의 효과를 감소시킬 것이다. 본 발명에 의해 제공되는 단백질 수준의 조절은 환자의 세포 내의 단백질의 수준을 낮춤으로써 표적 단백질을 통해 조절되는 질병 상황(disease state) 또는 상태(condition)의 치료를 제공한다.

[0518] "**표적 단백질 결합 파트너**"란 선택된 표적 단백질에 결합하는 파트너를 말한다. 표적 단백질 결합 파트너는 표적 단백질에 선택적으로 결합하는 분자이다. 본 발명에 따른 이중작용성 분자는 표적 단백질이 이중작용성 분자에 의해 결합되지 않은 경우보다 단백질분해에 더 민감하도록 충분한 결합 친화도로 표적 단백질에 결합하는 표적 단백질 결합 파트너를 포함한다.

[0519] "**선택된 표적 단백질**"이란 용어는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 단백질의 분해를 위해 표적이 되도록 선택한 단백질을 말한다.

[0520] "**링커**"란 가장 단순한 형태로 -CH2-의 반복 서브유닛을 포함하는 알킬링커를 말하는데, 여기서 반복 수는 1 내지 50, 예를 들어, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-19, 1-18, 1-17, 1-16, 1-15, 1-14, 1-13, 1-12, 1-11, 1-10, 1-9. 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 및 1-2이다. 상기 용어 "링커"는 또한 에틸렌 글리콜(C2H4O)의 반복 서브유닛을 포함하는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커로서, 예를 들어, 약 1-50개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 가지며, 예를 들어, 반복 수가 1 내지 100, 예를 들어, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-19, 1-18, 1-17, 1-16, 1-15, 1-14,

1-13, 1-12, 1-11, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 및 1-2 인 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 링커를 의미한다. '**링커**'는 표적 단백질 결합 파트너와 Rpn11 결합 파트너가 특정 거리 내에 있도록 길이와 유연성이 있는 것이 바람직하다. 예를 들어, 링커를 통해 연결된 본 발명의 이중작용성 분자의 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너는 18-95Å, 예를 들어, 2-4개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해 18-25Å, 4-6개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해 25-33Å, 6-8개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해 33-39Å, 8-12개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해 39-53Å 및 12-24개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해 53 내지 95Å의 거리만큼 분리될 수 있다.

[0521] 하나의 구체예에서, 링커를 통해 연결된 본 발명의 이중작용성 분자의 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너는 7 내지 80개의 원자, 예를 들면, 2-4개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해서는 7-13개의 원자, 4-6개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해서는 13-19개의 원자, 6-8개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해서는 19-25개의 원자, 8-12개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해서는 25-41개의 원자 및 12-24개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커에 대해서는 41-80개의 원자의 거리에 의해 분리될 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 단일 원자, 예를 들어, $-CH_2-$ 또는 -O-이다. 일부 구체예에서, 링커는 펩티드 링커이다.

[0522] 본 발명의 링커는 링커에서 회전가능한 결합의 수에 상응하는 유연성의 정도를 가질 수 있다. 회전가능한 결합은 비말단 중원자에 결합된 단일 비고리 결합(single non-ring bond)으로 정의된다. 아미드(C-N) 결합은 높은 회전 에너지 장벽으로 인해 회전 가능하지 않은 것으로 간주된다. 본 발명은 유연성의 특정 정도 또는 범위를 갖는 링커를 제공한다. 이러한 링커는 링커의 유연성을 감소시키기 위해 고리, 이중 결합 및 아미드를 포함하여 설계될 수 있다. 높은 정도의 유연성을 갖는 링커는 비치환된 PEG 또는 알킬 링커일 수 있다.

[0523] 본 발명은 또한 전구약물(pro-drug)을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "전구약물"란 일부 생리적 화학적 과정(예를 들어, 생리적 pH에 도달되는 전구약물이 원하는 약물 형태로 전환됨)에 의해 생체 내에서 모약으로 전환되는 작용제를 의미한다. 전구약물은 일부 상황에서 모 약물보다 투여하기가 더 쉬울 수 있기 때문에 종종 유용하다. 이들은, 예를 들어, 경구 투여(oral administration)에 의해 생체이용가능할 수 있는 반면, 모 약물은 그렇지 않다. 전구약물은 또한 모 약물(parent drug)에 비해 약리학적 조성물에서 개선된 용해도를 가질 수 있다. 전구약물의 비제한적인 예로는 본 발명의 화합물일 수 있으며, 이는 에스테르("pro-drug")로서 투여되어 수용해도가 유익하지 않은 세포막에 대해 투과를 촉진하지만, 일단 수용해도가 유익한 세포 내에서는 카르복실산으로 대사적으로 가수분해된다. 전구약물은 유용한 속성을 많이 갖는다. 예를 들어, 전구약물은 최종 약물보다 더 수용성일 수 있고, 이에 의해 약물의 정맥내 투여를 용이하게 한다. 전구약물은 또한 최종 약물보다 더 높은 수준의 경구 생체이용률(oral bioavailability)을 가질 수 있다. 투여 후, 전구약물은 효소적으로 또는 화학적으로 절단되어 혈액 또는 조직에서 최종 약물을 전달한다.

[0524] 절단 시 상응하는 유리 산을 방출하는 예시적인 전구약물, 및 본 발명의 화합물의 그러한 가수분해가능한 에스테르-형성 잔기는 카르복실산 치환기 (예를 들어, -C(0)2H 또는 카르복실산을 함유하는 잔기)를 포함하지만, 이에 제한되지 않으며, 여기서 유리 수소는 (Ci-C4)알킬, (C2-Ci2)알카노일옥시메틸, (C4-C9)1-(알카노일옥시)에틸, 5 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 1-메틸-1-(알카노일옥시)-에틸, 3 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알콕시카르보닐옥시메틸, 4 내지 7개의 탄소 원자를 갖는 1-(알콕시카르보닐옥시)에틸, 5 내지 8개의 탄소 원자를 갖는 1-메틸-l-(알콕시카르보닐옥시)에틸, 3 내지 9개의 탄소 원자를 갖는 N-(알콕시카르보닐)아미노메틸, 4 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 1-(N-(알콕시카르보닐)아미노)에틸, 3-프탈리딜, 4-크로토노락토닐, 감마-부틸로락톤-4-일, 디-N,N-(Ci-C2)알킬아미노(C2-C3)알킬 (디메틸아미노 에틸과 같은 것), 카르바모일-(Ci-C2)알킬, N,N-디(Ci-C2)-알킬카르바모일 -(Ci- C2)알킬 및 피페리디노 -, 피롤리디노 - 또는 모르폴리노 (C2-C3)알킬로 대체되어 있다.

[0525] 다른 예시적인 전구약물은 히드록실 또는 아민 치환기의 유리 수소가 (C1-C6)알카노일옥시메틸, 1((C1-C6)알카노일옥시)에틸, 1-메틸-14(Ci-C6)알카노일옥시)에틸, (C1-C6)알콕시카르보닐-옥시메틸, N-(Ci-C6)알콕시카르보닐아미노-메틸, 숙시노일, (C1-C6)알카노일, a-아미노(C1-C4)알카노일, 아릴옥틸 및 a-아미노아실, 또는 a-아미노아실-a-아미노아실로 교체되어 있는 본 발명의 화합물의 알콜 또는 아민을 방출하며, 여기서 상기 a-아미노아실 모이어티는 독립적으로 단백질에서 발견되는 임의의 천연 L-아미노산, -P(0)(OH)2, -P(0)(O(C1-C6)알킬)2 또는 글리코실(탄수화물의 헤미아세탈의 히드록실의 탈착에 기인하는 라디칼)이다.

[0526] 본 명세서에서 사용하는 "보호기"라는 용어는 원하지 않는 화학적 변형으로부터 잠재적으로 반응성인 작용기를 보호하는 일시적인 치환기를 의미한다. 이러한 보호기의 예는 각각 카르복실산의 에스테르, 알코올의 실릴 에테

르, 및 알데히드 및 케톤의 아세탈 및 케탈을 포함한다. 보호기 화학 분야를 검토하였다(Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991). 본 발명의 화합물의 보호된 형태는 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0527] 본 명세서에서 사용하는 "화학적으로 보호된 형태"라는 용어는 하나 이상의 반응성 작용기가 바람직하지 않은 화학 반응으로부터 보호되는, 즉 보호된 또는 보호기(마스크된 또는 마스킹 기라고도 함)의 형태인 화합물에 관한 것이다. 활성 화합물을 화학적으로 보호된 형태로 제조, 정제 및/또는 취급하는 것이 편리하거나 바람직할 수 있다.

[0528] 반응성 작용기를 보호함으로써, 보호기에 영향을 주지 않고 다른 비보호된 반응성 작용기와 관련된 반응을 수행할 수 있는데 상기 보호기는, 일반적으로 후속단계에서, 분자의 나머지 부분에 실질적으로 영향을 주지 않으면서 제거될 수 있다. 예를 들어, Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green and P. Wuts, Wiley, 1991), 및 Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green and P. Wuts; 3rd Edition; John Wiley and Sons, 1999) 참조.

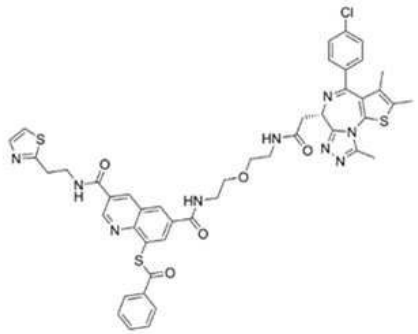
[0529] 예를 들어, 히드록시기는 에테르(-OR) 또는 에스테르(-OC(=O)R)로서, 예를 들어, t-부틸에테르; 벤질, 벤즈히드릴(디페닐메틸), 또는 트리틸 (트리페닐메틸) 에테르; 트리메틸실릴 또는 t-부틸디메틸실릴 에테르; 또는 아세틸 에스테르(-OC(=O)CH3,OAc) 로서 보호될 수 있다.

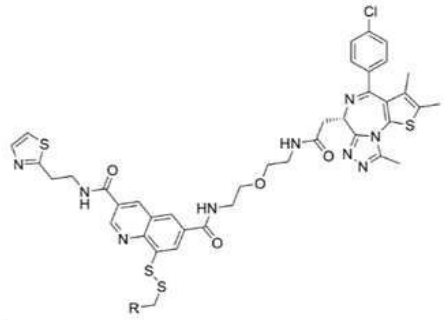
[0530] 예를 들어, 알데히드기 또는 케톤기는 각각 아세탈 또는 케탈로서 보호될 수 있으며, 여기서 카르보닐기(C(=O))는 예를 들어, 1차 알코올과의 반응에 의해 디에테르(C(OR)2)로 전환된다. 알데히드 또는 케톤기는 산의 존재하에 과량의 물을 사용하여 가수분해에 의해 쉽게 재생된다.

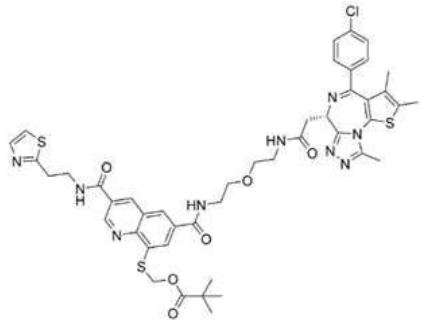
[0531] 예를 들어, 아민기는 아미드(-NRC(=O)R) 또는 우레탄(-NRC(=O)OR)으로서, 예를 들어, 메틸아미드(-NHC(=O)CH3); 벤질옥시 아미드(-NHC(=O)OCH2C6H5NHCbz); t-부톡시아미드(- NHC=(=O)OC(CH3)3, -NHBoc); 2-바이페닐-2-프로폭시아미드(- NHC(=O)OC(CH3)2C6H4C6H5NHBoc), 9-플루오레닐메톡시 아미드(-NHFmoc), 6-니트로베라트릴옥시 아미드(-NHNvoc), 2-트리메틸실릴에틸옥시 아미드(-NHTeoc), 2,2,2-트리클로로에틸옥시 아미드(-NHTroc), 알릴옥시 아미드(-NHAlloc), 2-(페닐설포닐)에틸옥시 아미드(-NHPsec)로서; 또는, 적절한 경우(예를 들어, 시클릭 아민) 니트록시드 라디칼로서 보호될 수 있다.

[0532] 예를 들어, 카르복실산기는 에스테르(ester) 또는 아미드(amide)로서, 예를 들어, 벤질 에스테르로서; t-부틸 에스테르; 메틸 에스테르; 또는 메틸 아미드로서 보호될 수 있다. 예를 들어, 티올기는 티오에테르(-SR)로서, 예를 들어, 벤질 티오에테르; 또는 아세트아미도메틸 에테르(-SCH2NHC(=O)CH3)로서 보호될 수 있다.

[0533] 화학적 보호기의 절단 또는 가수분해에 의해 활성화되는 전구약물의 일부 대표적인 예들은 다음과 같다.

[0534] 

[0535] 

[0536] 

[0537] 저산소증 활성화 전물약물 (Hypoxia Activated Pro-Drugs)

[0538] 본 발명의 전구약물은 또한 저산소증-활성화 전구약물을 포함할 수 있다. 낮은 산소(저산소증)의 영역은 질병 상태, 박테리아 감염 및 종양 환경을 포함하는 다양한 범위의 생물학적 환경에서 발생한다. 종양 발생 동안, 산소 공급은 빠르게 성장-제한 인자(growth-limiting factor)가 되는데, 이는 대사적으로 활성인 종양 세포의 많은 수 때문이다. 부적절한 산소 공급의 문제에 반응하여, 혈관신생(angiogenesis)의 과정은 종양 맥관(vasculature)을 생성하기 위해 개시된다. 그러나, 이러한 맥관은 많은 이상 특징을 가지며, 종양을 겨우 지속시킨다 할지라도 이는 또한 저산소증의 영역을 초래하고, 여기서 종양 세포의 가장 공격적인 분획만이 생존할 수 있다. 이들 저산소 영역은 기능성 용기로부터 100㎛ 이상의 거리에서 발생하며, 이들은 만성 및 급성 둘 다일 수 있다. 저산소성 세포는 방사선 치료에 대해 내성인데, 세포 사멸에 필요한 방사선에 의해 유도되는 DNA 손상이 산소 의존적인 방식으로 일어나기 때문이다. 저산소성 세포는 가장 공격적인 종양 분획을 포함하고, 이들은 환자 예후를 개선하기 위한 치료를 위해 가장 중요하다. 본 발명의 전구약물은 저산소증(hypoxia)과 정상 산소증(normoxia) 사이의 화학적 환경에서 상당한 차이를 이용하여 본 발명의 약물 화합물을 이러한 치료적으로 어려운 종양 영역에 표적화한다.

[0539] 본 명세서에서 사용하는 "저산소증 활성화 전구약물(Hypoxia activated prodrug)" 또는 "HAP"라는 용어는 해당 약물에 비해 활성이 낮거나 비활성인 전구약물을 의미하며, 약물과 하나 이상의 생환원성 기를 포함한다. HAP는 비제한적으로 단일 전자 전달 효소 (예컨대 시토크롬 P450 환원효소) 및 2개의 전자 전달 (또는 하이드라이드 전달) 효소를 비롯한 다양한 환원제 및 환원 효소에 의해 활성화되는 전구약물을 포함한다. 일부 구체예에서, HAP는 2-니트로이미다졸 유발 저산소증-활성화 전구약물이다. HAP들의 예로는 비제한적으로 TH-302 및 TH-281을 포함한다. TH-302의 합성 방법은 본 명세서에 참고로 포함되는 US 2010/0137254 및 US 2010/0183742에 기재되어 있다.

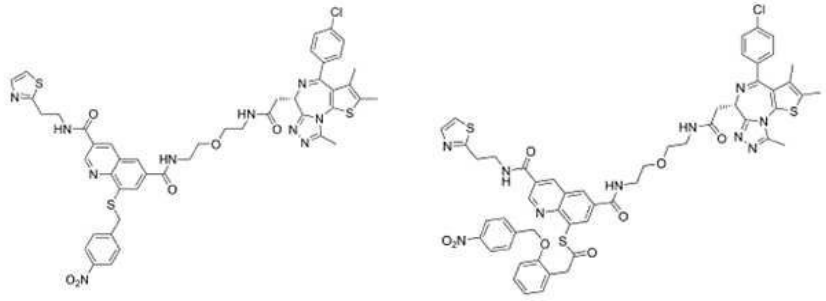
[0540] 본 발명의 표적 약물은 관련 분야 통상의 기술자에게 공지된 기술을 이용하여 저산소증 활성화 전구약물로 쉽게 전환할 수 있다. 예를 들어, O' Connor 등은 Chk1 및 Aurora A 키나제 억제제의 저산소증 민감성 전구약물을 공지의 Chk1 및 Aurora A 키나제 억제제에 생환원성 4-니트로벤질 기를 부가함으로써 생성할 수 있고, 이에 의해 관련 치료 화합물을 저산소증의 영역에 표적화하는 목적을 달성할 수 있음을 보여주었다. 많은 저산소증 활성화 전구약물은 생환원성 기능성(bioreductive functionality)으로서 1-메틸-2-니트로이미다졸 기를 사용한다. 5개의 별개의 화학적 모이어티, 니트로 기, 퀴논, 방향족 N-옥시드, 지방족 N-옥시드 및 전이 금속은 생환원에 민감한 것으로 확인되었다. 이들의 광범위한 용도를 고려할 때, 니트로아릴계 화합물은 생환원성 전구약물의 개발에서 사용하기에 가장 적합하다. 4-니트로벤질 및 1-메틸-2-니트로이미다졸 기에 추가적으로, 니트로푸란-및 니트로티오펜-계 기가 또한 생환원성 화합물의 기초로서 사용되었다. 원칙적으로, 어떤 생환원성 기를 사용할지

를 선택할 때 가장 중요한 고려사항은 생환원을 겪을 성향 및 이 과정이 일어나는 산소 농도이다. 또한, 약물 성분이 좋은 이탈기(leaving group)가 되는 성향은 전구약물로부터 방출되는 속도에서 역할을 한다. 4-니트로벤질, 니트로푸란-및 니트로티오펜-계 기를 생물학적 활성 화합물에 부착시키는데 필요한 시약은 상업적 공급원으로부터 용이하게 입수가능하다. O' Connor 등은 또한 생물학적으로 활성인 화합물에 부착시키기 위한 유용한 합성 핸들을 갖는 다양한 유도체의 합성을 위한 최적화된 프로토콜을 기술한다(O' Connor et al., *Nat Protoc. 2016 Apr;11(4):781-94*, 그 내용은 전체가 본원에 참고로 포함됨).

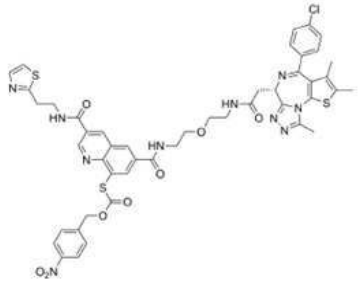
[0541] Sun 등 (*Clin Cancer Res. 2012 Feb 1;18(3):758-70*, 그 내용은 전체가 본원에 참고로 포함됨) 은 최적화된 저산소증 활성화 전구약물에 대한 설계 기준을 설명하고 있는데, 이는 적절한 종양 전달 및 침투를 보장하기 위한 약동학적 특성; 환원제의 산소 농도에 독립적인 활성화 또는 비활성화에 대한 안정성; 중증 저산소 종양 조직에서만 활성화되고 약간 저산소증의 정상 조직에서는 그렇지 않은 높은 저산소증 선택성, 및 전구약물을 활성화시키기에 충분히 저산소성이 아닌 인접 종양 세포가 확산성 효과자 모이어티에 의해 표적화되는, 방관자 효과(bystander effect)를 포함할 수 있다. 일부 초기 예는 퀴논 생환원성 약물, 예컨대 포르피로마이신, N-옥시드, 예컨대 티라파자민, 및 니트로방향족 작용제, 예컨대 CI-1010을 포함한다. 임상시험으로 진행된 전구약물의 일부 예로는 티라파자민, PR104, AQ4N, 및 TH-302(28-31)를 포함한다. TH-302(1-메틸-2-니트로-1H-이미다졸5-일) N, NO-비스(2-브로모에틸) 디아미도포스페이트는 이소포스포라미드 머스타드의 브롬화 버전의 2-니트로이미다졸-링크된 전구약물이다. TH-302의 2-니트로이미다졸 잔기는 세포내 1-전자 환원효소의 기질이고, 깊은 저산소 조건에서 환원될 때, Br-IPM을 방출한다. 인간 암 세포주를 사용한 시험관내 세포독성 및 클론원성 검정은 TH-302가 정상산소 조건(normoxic conditions) 하에 세포독성 활성이 거의 없고 저산소 조건 하에 세포독성 효능이 크게 향상되었음을 보여준다. TH-302의 니트로이미다졸 모이어티는 표적 약물 화합물 내로 통합되어 본 발명의 전구약물 화합물을 생성할 수 있다.

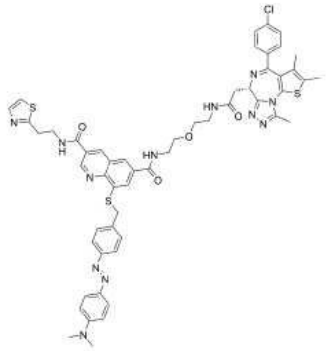
[0542] Rui Zhu 등(*J. Med. Chem. 2011, 54, 7720-7728*; 그 내용은 전체가 본원에 참고로 포함됨)은 저산소증-활성화된 전구약물 화합물의 개발을 위한 모이어티로서 4-니트로벤질옥시카르보닐 유도체의 사용을 기재하고 있다. Rui Zhu 등은 저산소증 민감성 또는 저산소증 활성화 전구약물을 생성하기 위해 표적 약물에 부착될 수 있는 3개의 상이한 모이어티를 개시한다. 이들은 4-니트로벤질 (6-(벤질옥시)-9H-퓨린-2-일)카바메이트 (1) 및 이의 모노메틸 (2) 및 gem-디메틸 유사체를 포함한다. Rui Zhu 등은 또한 전구약물의 생성에 사용되는 모이어티를 선택하기 위한 바람직한 형질에 대해 교시한다. 이들은 (a) 니트로 기의 환원의 용이성 및 정도, (b) 측쇄에 대한 니트로 기의 상대적 위치, 및 (c) 니트로 기가 히드록실아미노 또는 아미노 작용기로 일단 전환되면, C가 벤질릭 탄소인 C O 결합의 단편화하는 것의 용이성을 포함한다.

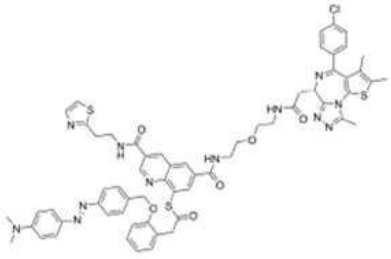
[0543] 종양 미세환경에서 발견되는 저산소증에 의해 활성화되는 전구-약물의 일부 대표적인 예는 다음과 같다.

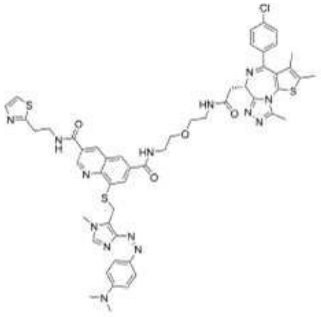


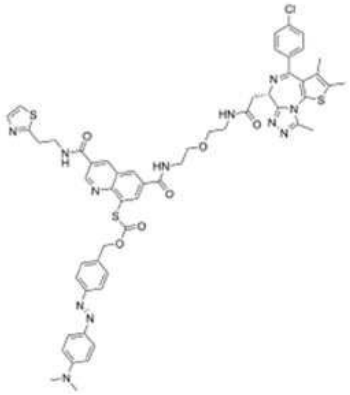
[0544]

[0545] 

[0546] 





[0547] 

[0548] pH에 민감한 전구약물

[0549] 본 발명의 전구약물은 또한 pH 민감성 전구약물을 포함할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 "pH 민감성 전구약물"이란 용어는 해당 약물에 비해 활성이 낮거나 비활성인 전구약물을 의미하며, 약물과 하나 이상의 pH 불안정성 기를 포함한다. 산성 미세환경에 노출될 때 pH 민감성 전구약물은 pH 불안정성 기의 절단을 겪으며, 이에 의해 표적 약물을 활성화시키고 부위 지정 방출(site directed release)을 용이하게 한다. pH 민감성 전구약물은 하나 이상의 pH 민감성 모이어티 및 치료제를 포함하는 경구 투여에 적합한 위체류 특성을 포함할 수 있으며, 여기서 pH 민감성 모이어티는 소장 또는 산성 종양 미세환경 또는 엔도좀 또는 리소좀 환경(~pH 5)의 증가된 pH에서 치료 표적 약물의 방출을 허용한다.

[0550] pH-촉발된 약물 방출은 암에 대해 탁월한 종류의 치료법이며, 광범위하게 사용되고 있다. 암세포의 엔도좀(endosome)(pH 5.0~6.5) 및 리소솜(lysome)(pH 4.5~5.0)의 pH 값은 생리학적 pH 7.4보다 더 산성인 것으로 잘 알려져 있다. pH 민감성 링키지의 도입으로 표적 약물은 폴리머 주골격에 컨쥬게이트될 수 있으며, 이는 암세포로 내재화 될 때 저장소 역할을 할 수 있다. 분해시 치료적 함량(payload) 는 원래 활성 형태로 직접 방출되어 치료 효과를 제공한다.

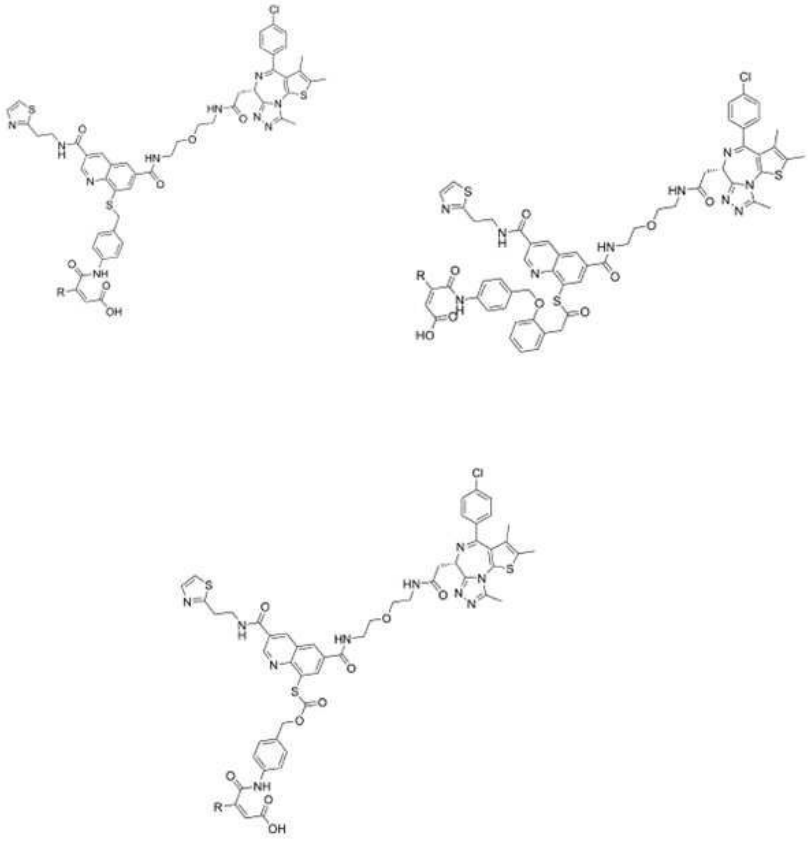
[0551] 근적외선광(NIR)을 이용한 광열요법(PTT, Photothermal Therapy)은 암 조직 파괴에 조합된 효과를 제공하기 위해 화학요법의 강력한 보조제로 여겨져 왔다. 또한, PTT에서 발생하는 열은 세포대사(cell metabolism) 및 세포막의 투과성을 악화시킬 수 있고 이는 암세포의 약물 섭취를 용이하게 하여 치료 효과를 증가시킬 수 있다.

[0552] 본 발명의 표적 약물은 관련분야 통상의 기술자에게 잘 알려진 기술을 사용하여 pH 민감성 전구약물로 쉽게 전환될 수 있다. 예를 들어, Sun 등 (*Mol. Pharmaceutics 2018, 15, 3343-3355*; 그 내용은 전체가 본원에 참고로 포함됨)은 암 세포에 대한 DOX (독소루비신) 및 SN38 (7-에틸-10-히드록실 캄프토테신)의 동시 전달을 위한 목적단백질이 없고(cargo-free) pH-반응성 나노약물을 제조하는 간단한 방법을 기술한다. 이 목적단백질 부재(cargo-free) 나노약물은 전구약물(PEG-CH=N-DOX) 및 SN38로 이루어져 있다. PEG 및 DOX 간의 pH 민감성 모이어티 또는 이민 링커는 산성 조건에서 급속한 약물 방출을 촉진한다. 이러한 pH 민감성 전구약물은 향상된 EPR(permeability and retention) 효과를 통해 효과적인 세포 흡수 능력, 높은 종양 투과능, 및 향상된 수동적 표적화 능력을 나타낸다. 이러한 pH 민감성 이민 링커는 당업자에게 공지된 표준 합성 화학 공정을 사용하여 pH 민감성 전구약물을 생성하기 위해 본 발명의 표적 약물에 부착될 수 있다.

[0553] 유사하게, Zhang 등 (*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 128 (2018) 260-271*, 그 내용은 전체가 본원에 참고로 포함됨) 은 NIR-촉발 상승작용 화학광열 요법에 대한 pH-민감성 전구약물 컨쥬게이트된 폴리도파민을 기술한다. 화학요법과 광열요법(photothermal therapy, PTT)의 조합은 종양의 효율적인 의료 치료에 매우 바람직한 것으로 나타난다. Zhang 등은 RAFT(reversible addition-fragmentation transfer) 전략을 사용하여 CPT(pH-sensitive camptothecin) 전구약물 모노머와 MPC의 중합에 의해 CPT(camptothecin) 함유 폴리머 전구약물을 제조할 수 있음을 교시하고 있다. 상기 pH 민감성 폴리머 전구약물을 화학요법에 광열 요법의 조합을 위한 아미드화 화학에 의해 폴리도파민(PDA) 나노입자의 표면상에 결박시켰다. 산성 미세환경에서 다중작용성 나노입자로부터 빠르게 방출된 활성 CPT는 이중작용성 실릴 에테르 링키지의 절단에 기인한다. 한편, PDA는 근적외선(NIR) 광 에너지를 높은 효율로 열로 변환할 수 있는데, 이는 생성된 나노 입자를 광열 치료에 효과적인 플랫폼으로 만들 수 있다. 시험관내 분석은 PDA@PCPT 나노입자가 HeLa 세포에 의해 효율적으로 흡수되고 CPT를 암 세포의 핵으로 전달할 수 있음을 확인하였다. 세포 생존력 검정은 808 nm 광 조사 하에 HeLa 암 세포에 대한 시험관내 세포독성이 명백함을 나타냈다. 유의적인 종양 퇴행(tumor regression)은 또한 PDA@PCPT 나노입자로부터 제공된 병용 요법으로 종양-함유 마우스 모델에서 관찰되었다.

[0554] 본 발명의 표적 약물로부터 생성된 본 발명의 pH 민감성 전구약물은 다음과 같은 독특한 특징을 나타낼 것이다. (1) 전구약물계 폴리머좀은 조기 방출(premature release)의 문제를 회피한다; (2) PDA 코어는 약물-담체 역할을 하는 것 이외에, 고유의 광안정성(intrinsic photostability) 및 우수한 광열 변환 효율을 갖는다; (3) 본 발명의 표적 약물은 pH-민감성 실릴 에테르 결합을 통해 폴리머에 링크될 것이며, 이는 특히 암 세포의 미세환경하 보다 낮은 pH 에서 절단될 수 있다; 그리고 (4) 국소 고열증을 생산하고, 방출되는 약물은 상승적으로 암 세포를 사멸시키고 종양 성장을 억제할 수 있다. 따라서, 당업자는 pH 불안정성 링커 또는 실릴 에테르 결합 또는 이민 링커와 같은 pH 불안정성 모이어티를 표적 약물에 부착시킴으로써 당해 분야 통상의 기술자에게 공지된 표준 합성 화학 공정을 사용하여 pH 민감성 전구약물을 생성할 수 있다.

[0555] 종양 미세환경 또는 리좀(lysomes) 또는 엔도좀(endosomes)에서 발견되는 pH 변화에 의해 활성화되는 전구약물의 일부 대표적인 예가 하기에 제시된다.



[0556]

[0557] 전구약물의 다른 예는 활성화된 이중 결합(마이클 수용체로서)이 대사 활성화에 참여함을 드러낼 수 있다. 예로는 Mannich 염기, 베타 술폰, 술폭시드 또는 술폰아미드 유도체, 베타 카르바메이트 및 카르보네이트 유도체 및 전자 수용기(electron withdrawing group)에 대한 기타 베타 이탈기를 포함한다.

[0558] "환자" 및 "개체"라는 용어는 본 발명에 따른 조성물로써 예방적 치료(prophylactic treatment)를 포함하는 치료가 제공되는 포유동물, 특정 구체예에서 인간 또는 길들여진 동물(domesticated animal)을 설명하기 위해 명세서 전반에 걸쳐 상호교환적으로 사용된다. 본 발명의 특정 구체예에서, 환자라는 용어는 그 용어의 사용이 문맥으로부터 달리 언급되거나 암시되지 않는 한 인간 환자를 의미한다.

[0559] "유효하다"라는 용어는 그것이 의도하는 용도의 상황 내에서 사용되었을 때 의도한 결과에 영향을 미치는 화합물, 조성물 또는 성분의 양을 기술하기 위해 사용된다. 유효하다는 용어는 본원에서 달리 기재되거나 사용되지 않는 한 모든 다른 유효량(effective amount) 또는 유효 농도 (effective concentration)의 용어를 포함한다.

[0560] 달리 규정하지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하는 의미를 갖는다. 다음 참조는 본 발명에서 사용되는 많은 용어에 대한 일반적인 정의를 당해 분야의 통상의 기술자에게 제공한다: Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991); and Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991). 본 명세서에서 특별한 언급이 없는 한, 하기의 용어들은 하기에 따른 의미를 가진다.

[0561] 값의 범위가 제공되는 경우, 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않는 한 (예를 들어, 그 범위 내에 들어오는 개개의 탄수 원자수가 제공되는 많은 탄소 원자를 포함하는 기의 경우와 같이) 각각의 중간의 값(intervening value)은 그 범위의 상한 및 하한 사이에서 하한 단위의 10 분의 1까지이며 그 서술된 범위 내에서 다르게 서술되거나 중간의 값은 본 발명 내에 포함되는 것으로 이해된다. 이들 더 작은 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 더 작은 범위에 포함될 수 있으며, 언급된 범위에서 특별히 제외된 제한에 따라 역시 본 발명에 포함된다. 명시된 범위가 한계 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우, 포함된 한계 둘 중 하나를 제외한 범위도 본 발명에 포함된다.

[0562] 본 발명은 본 발명에 대한 다음의 상세한 설명 및 여기에 포함된 실시예를 참조하여 보다 쉽게 이해될 수 있다.

[0563] 본 명세서에서 언급된 모든 간행물은 간행물이 인용되는 방법 및/또는 자료를 개시하고 설명하기 위해 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 명세서에서 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 이전에 그것의 공개한 것에 대해서만 제공된다. 본 명세서의 어떠한 것도 선행 발명으로 인해 본 발명이 그러한 간행물보다 선행할 자격이 없음을 인정하는 것으로 해석되어서는 안된다. 또한, 여기에 제공된 게시 날짜는 실제의 게시 날짜와 다를 수 있는 바 독립적인 확인이 필요할 수 있다.

[0564] ***Rpn11* 결합 파트너**

[0565] 본 발명의 Rpn11 결합 파트너는 1pM-1mM 범위, 또는 그 하위 범위 100nM-100μM, 100nM-1μM, 100nM-10μM, 10nM-100μM, 10nM-50μM 10nM-10μM, 10nM-5μM, 10nM-1μM, 10nM-100nM, 1nM-100μM, 1nM-10μM, 1nM-1μM, 1nM-100nM, 1nM-10nM, 1μM-100 μM 및 1μM-10 μM의 IC50으로 Rpn11 에 결합한다. IC50은 당해 기술분야에 잘 알려진 방법, 예를 들어, 유비퀴틴-로다민 110 가수 분해 분석에 따라 결정된다.

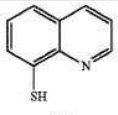
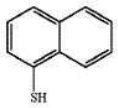
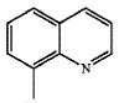
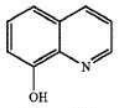
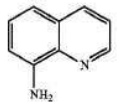
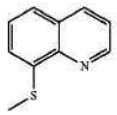
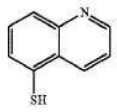
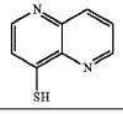
[0566] 본 발명의 Rpn11 결합 파트너 및 Rpn11의 Kd는 1pM-1mM 범위, 또는 그 하위 범위 100nM-100μM, 100nM-1μM, 100nM-10 μM, 10nM-100μM, 10nM-50μM, 10nM-10μM, 10nM-5μM, 10nM-1μM, 10nM-100nM, 1nM-100μM, 1nM-10μM, 1nM-1μM, 1nM-100nM, 1nM-10nM, 1μM-100 μM 및 1μM-10 μM에 있다. Kd는 예를 들어, 결합을 직접 평가하기 위한 등온 열량계 (ITC) 및 표면 플라스몬 공명 (SPR)과 같이 관련 업계에 잘 알려진 방법에 따라 결정된다.

[0567] Rpn11에 대한 Rpn11 결합 파트너의 결합은 가역적일 수 있다.

[0568] Rpn11에 대한 Rpn11결합 파트너의 결합은 비가역적일 수 있다.

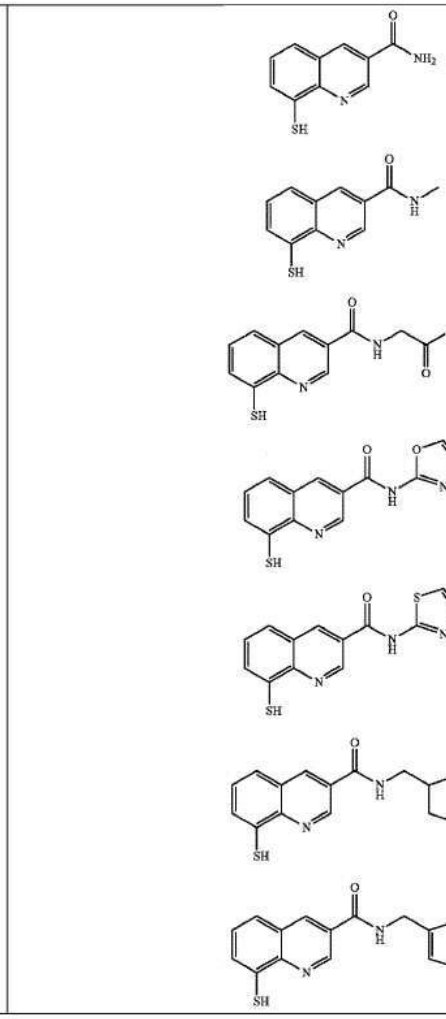
[0569] 본 발명에 따른 유용한 Rpn11 결합 파트너는하기 표 1에 제시된 분자를 포함한다.

[0570] [표 1] *Rpn11 결합 파트너에는 다음이 포함되지만 이에 국한되지는 않는다.*

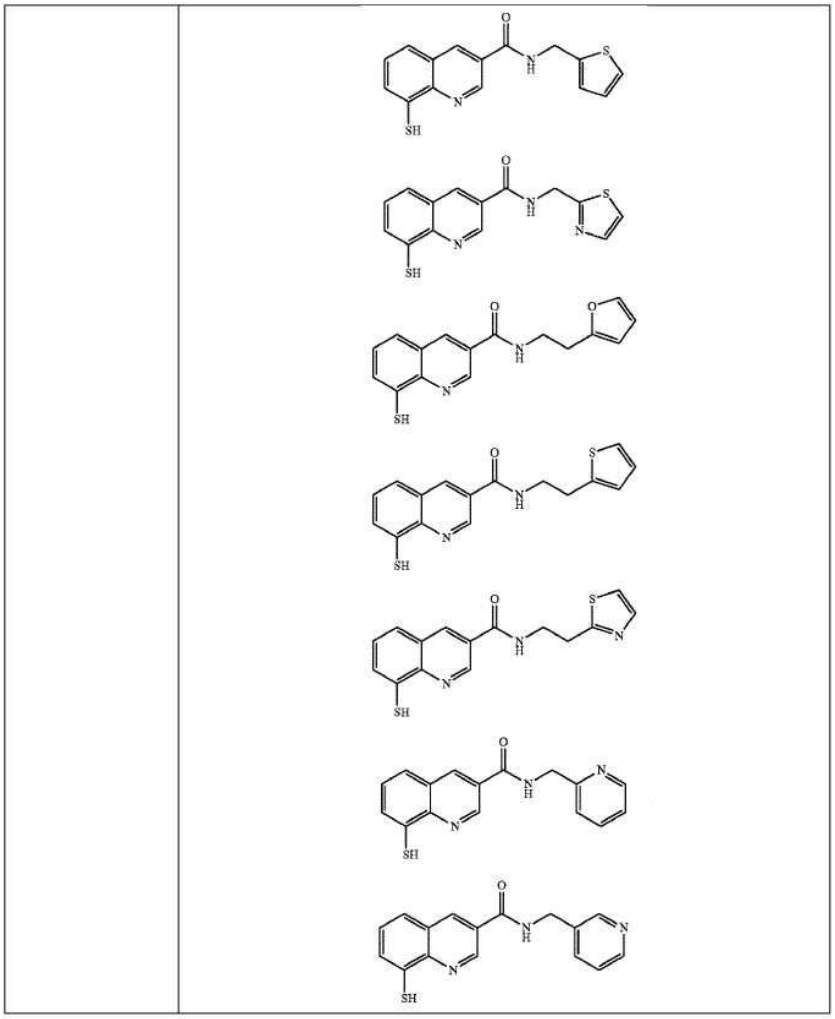
간행물	개시된 화합물
US 2017/0050931	 8TQ       

[0571]

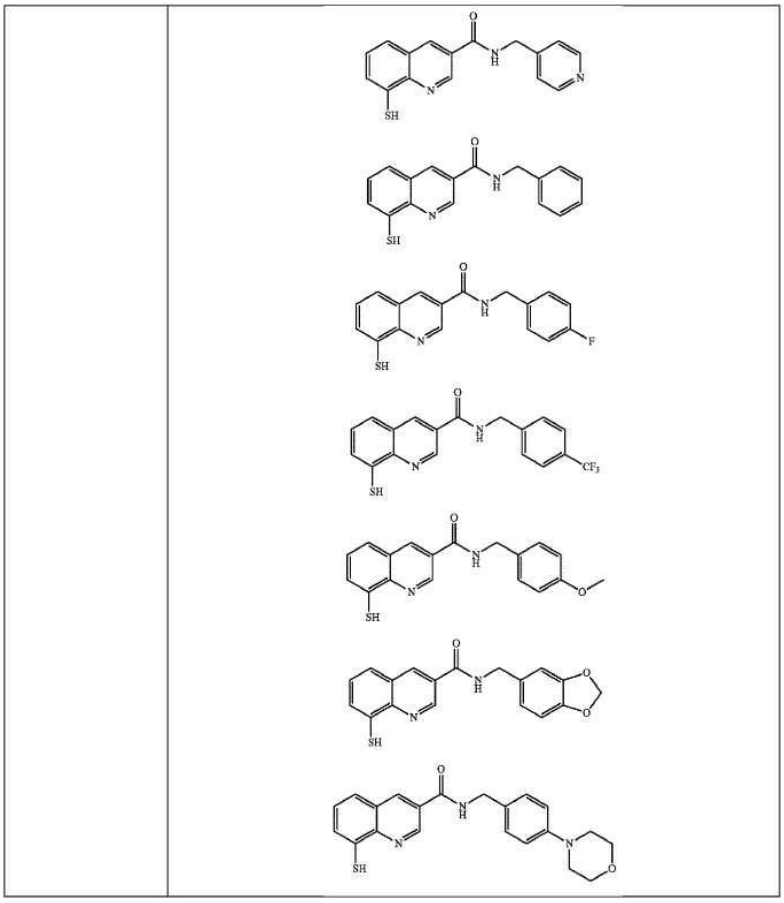
[0572]

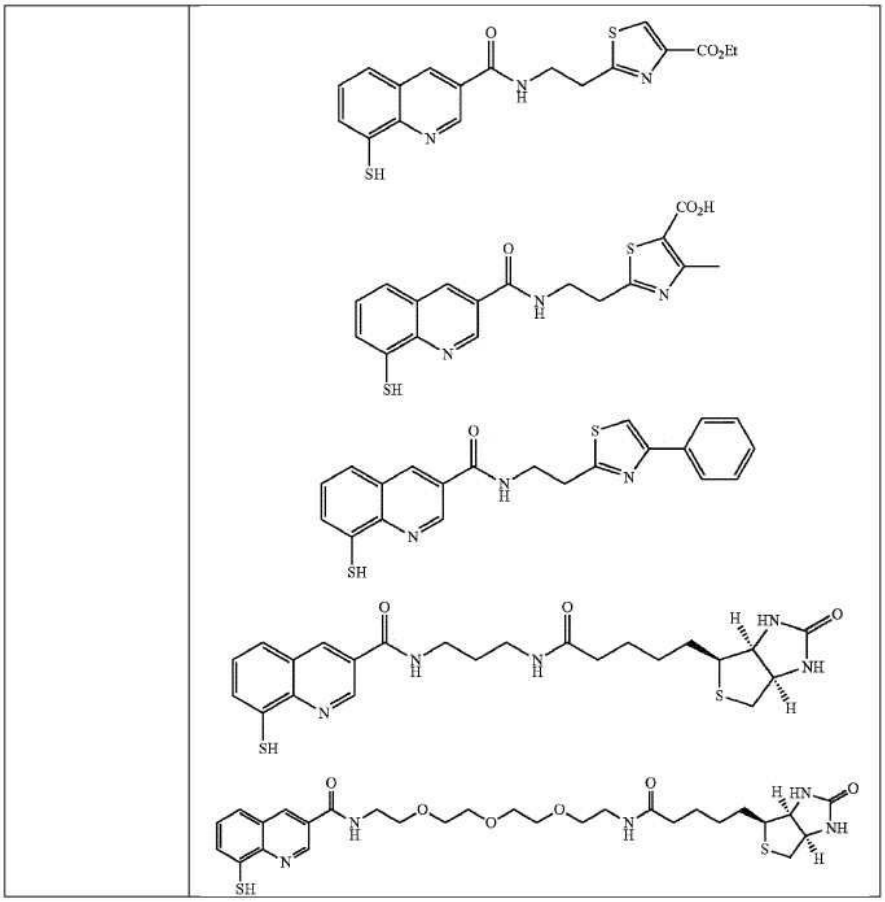
[0573]



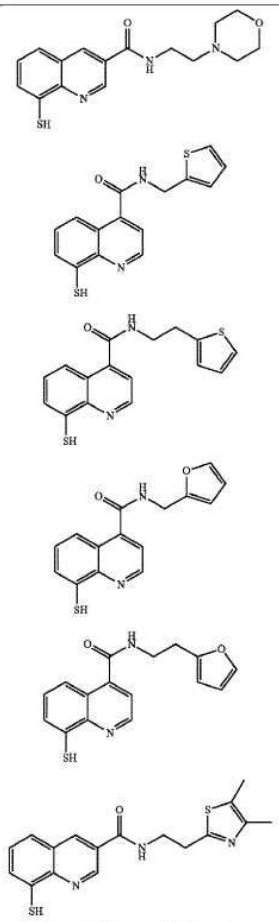
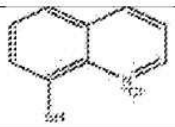
[0574]



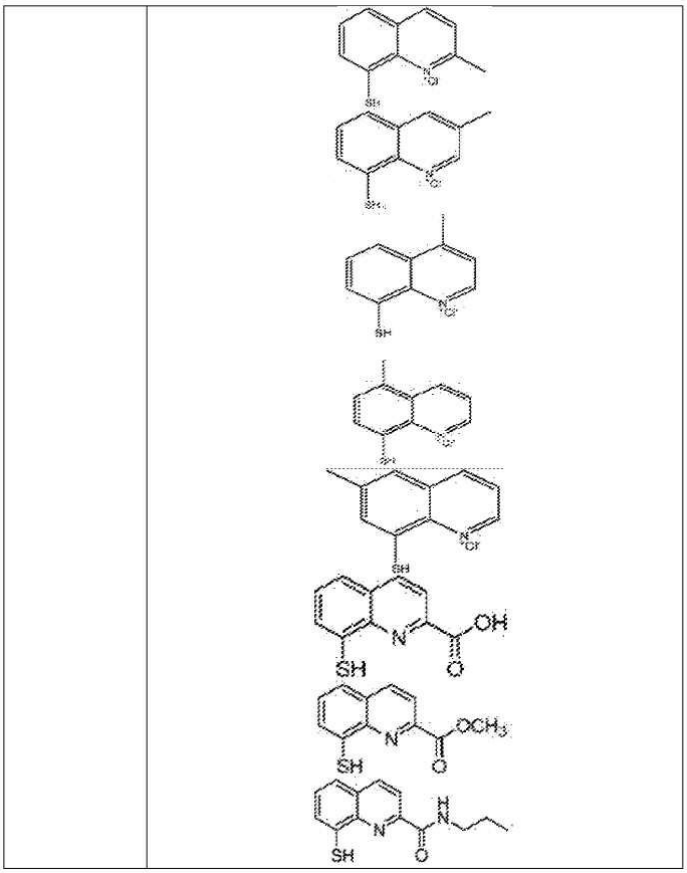
[0575]



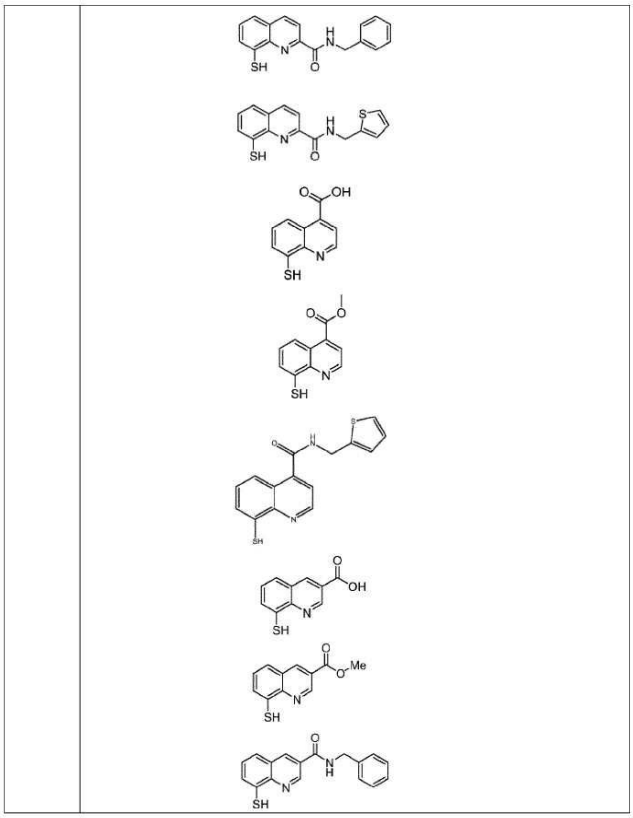
[0576]

	
US 2014/0235548	

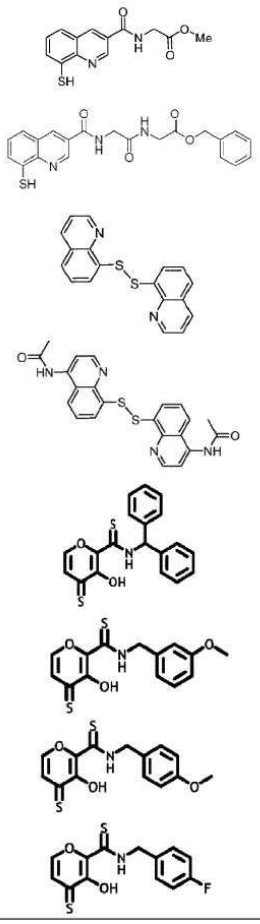
[0577]



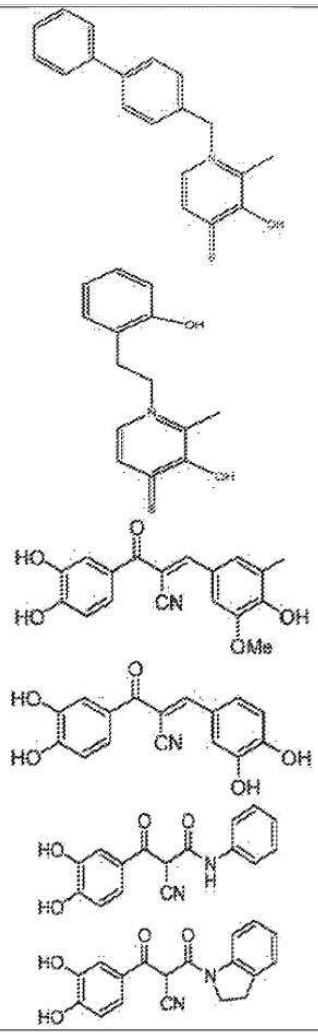
[0578]



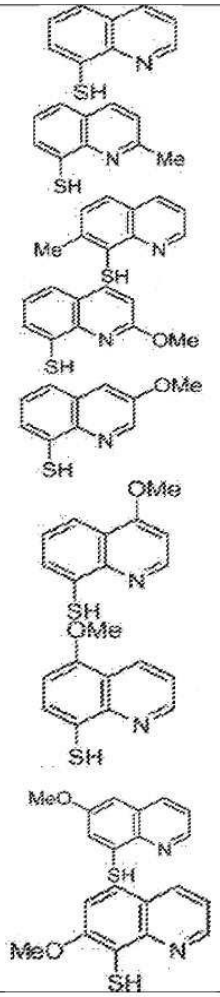
[0579]

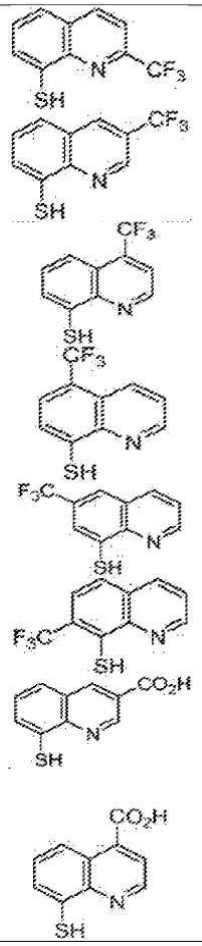
[0580]

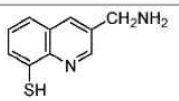
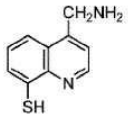
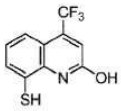
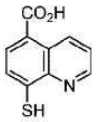
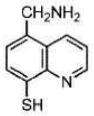
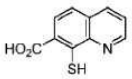
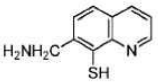
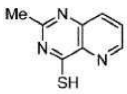
[0581]

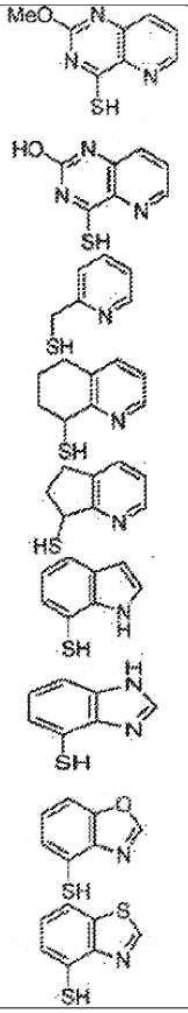
[0582]

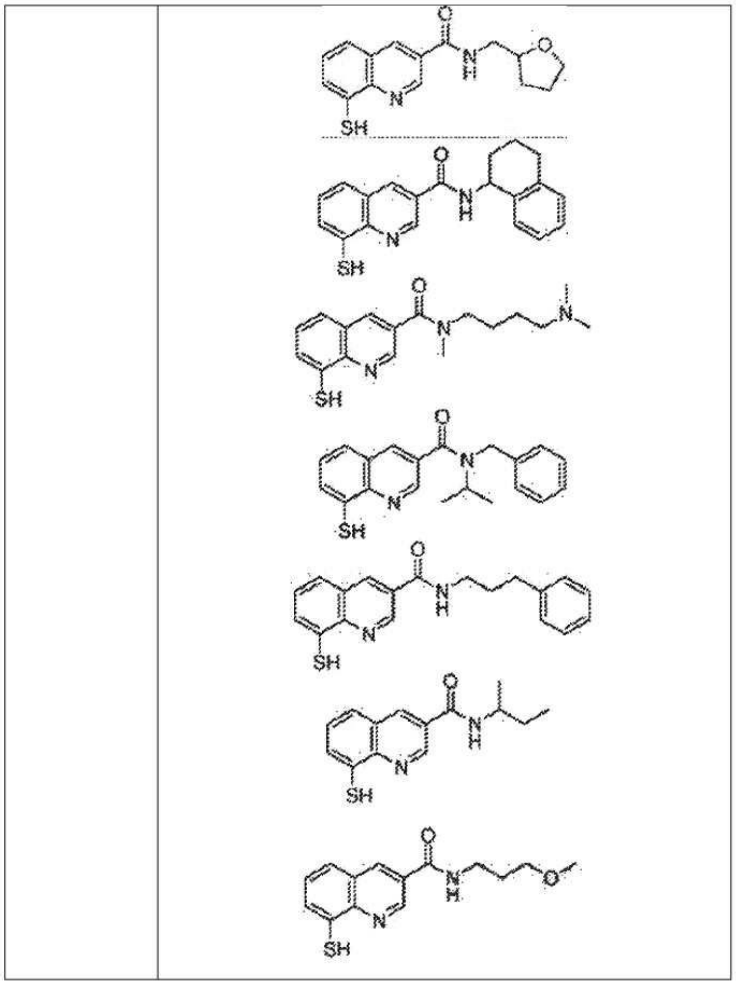
[0583]

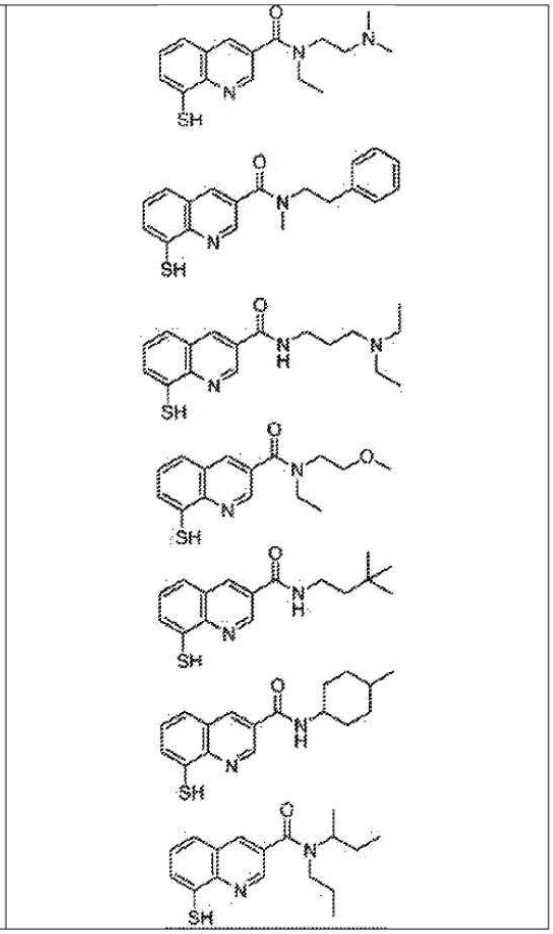
[0584]

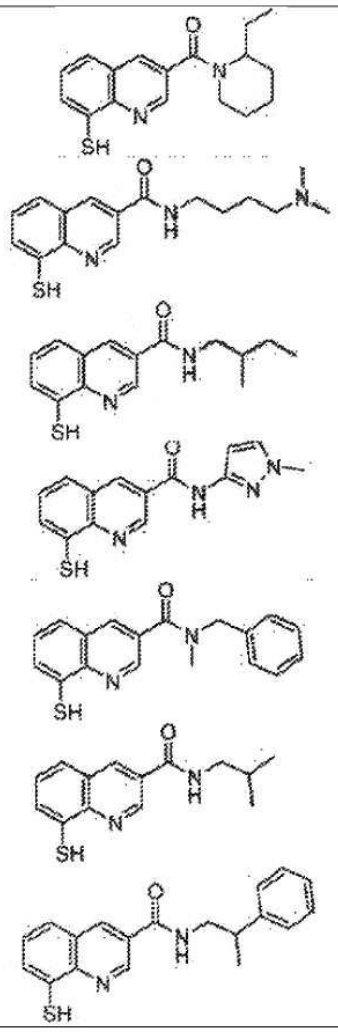
[0585]



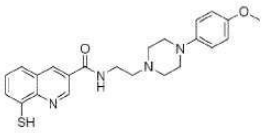
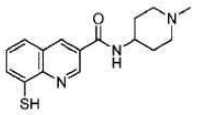
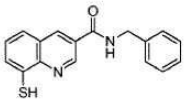
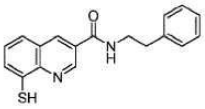
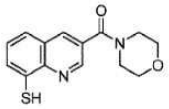
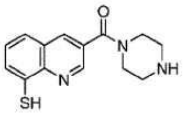
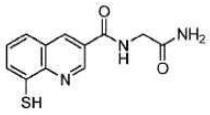
[0586]



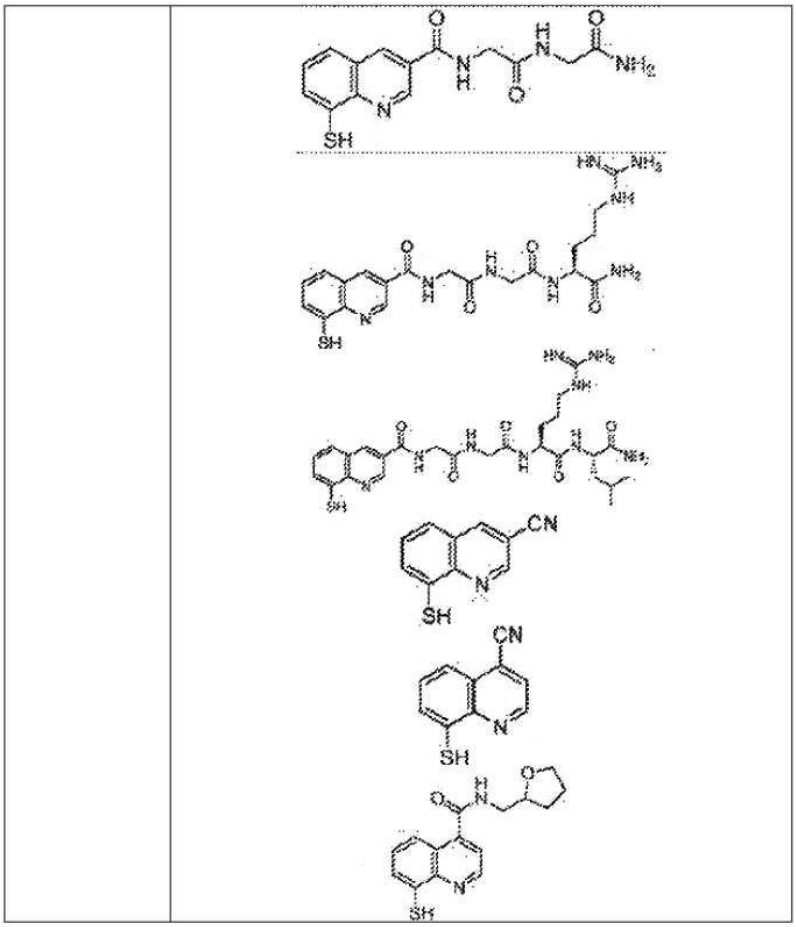
[0587]

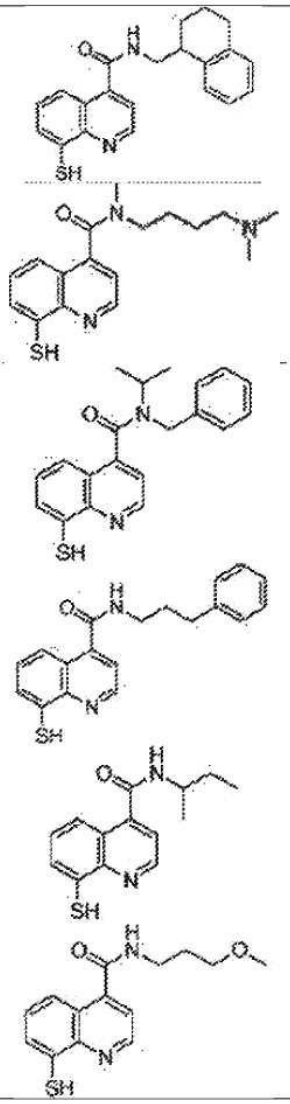
[0588]

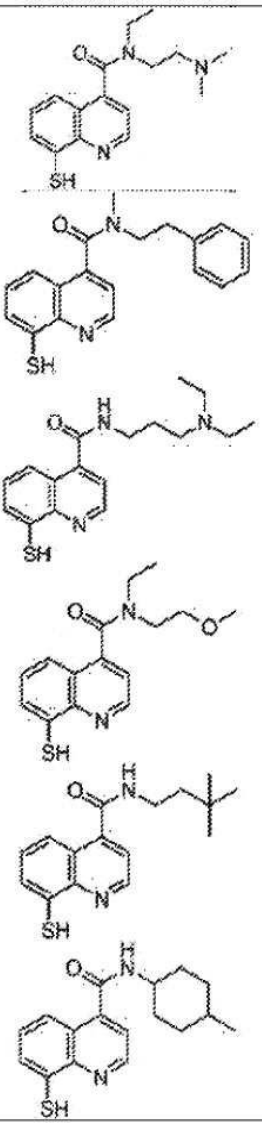
[0589]



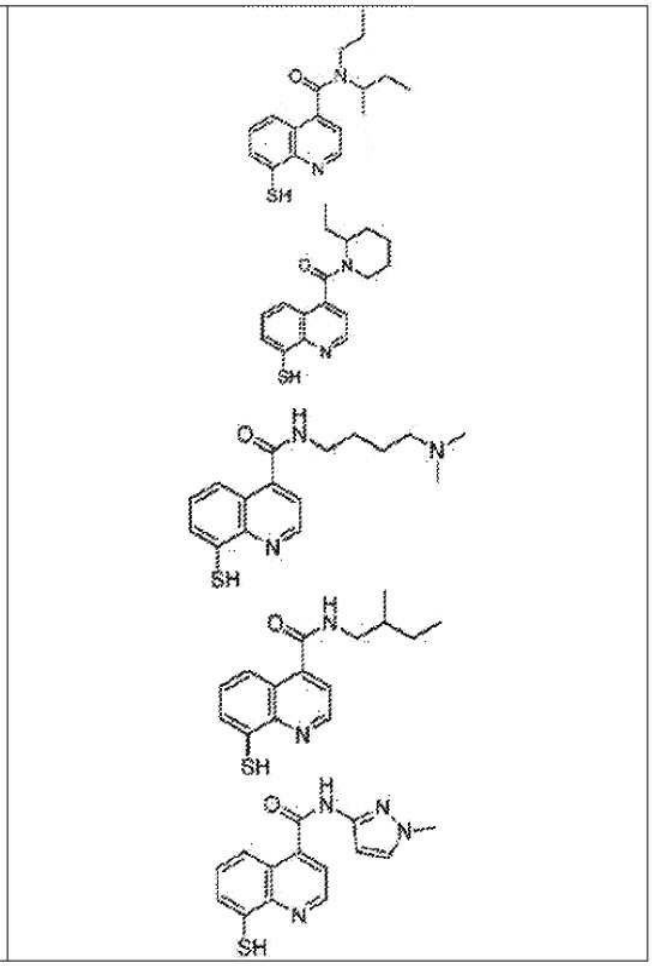
[0590]

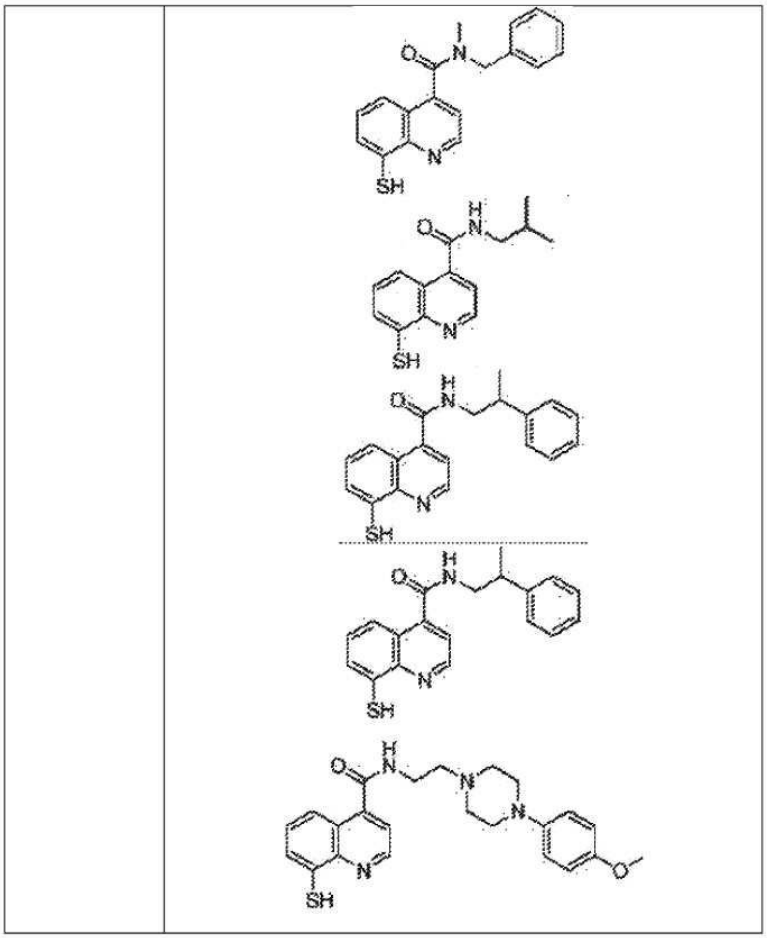
[0591]

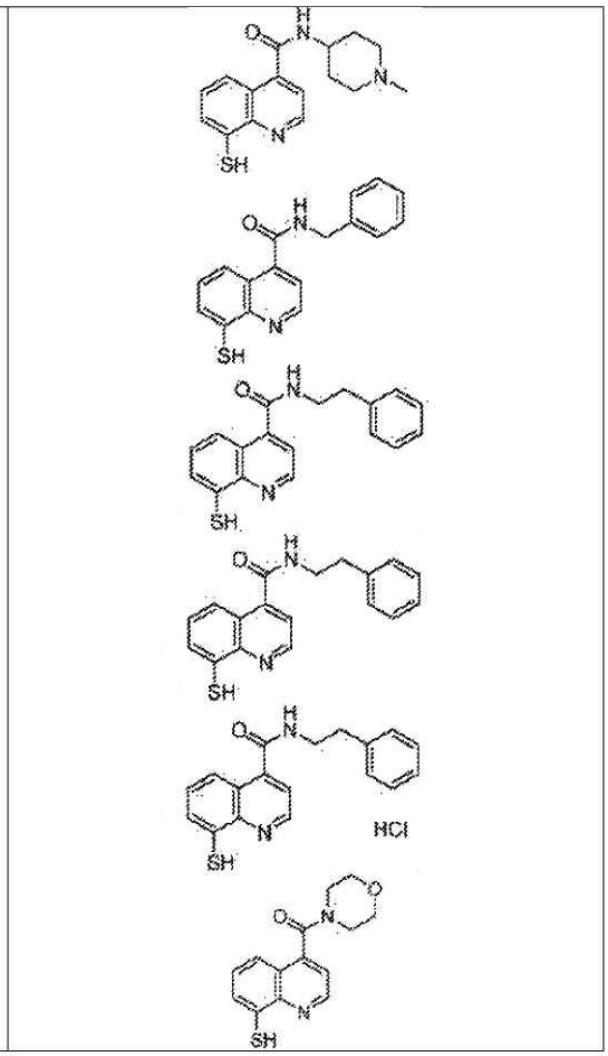
[0592]

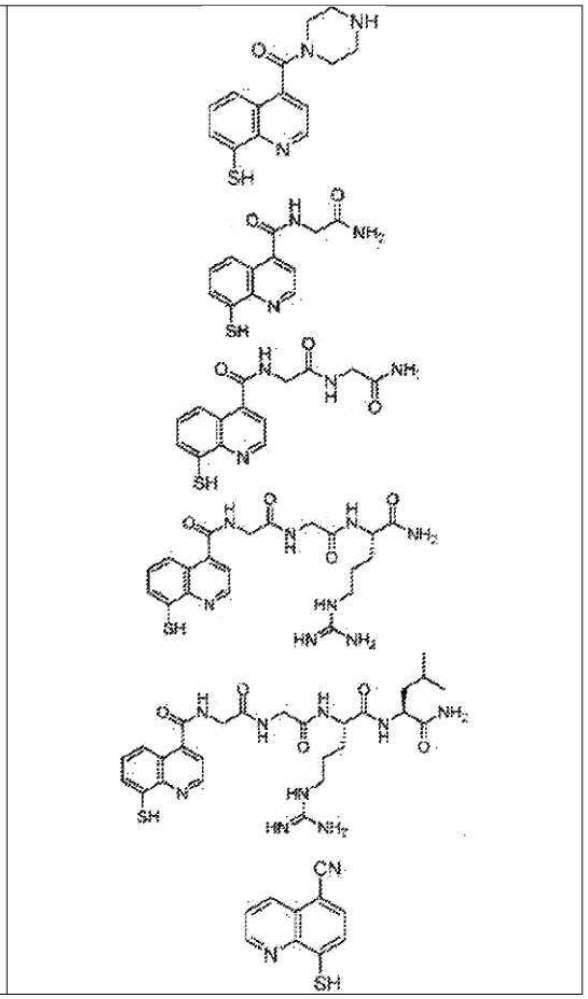
[0593]



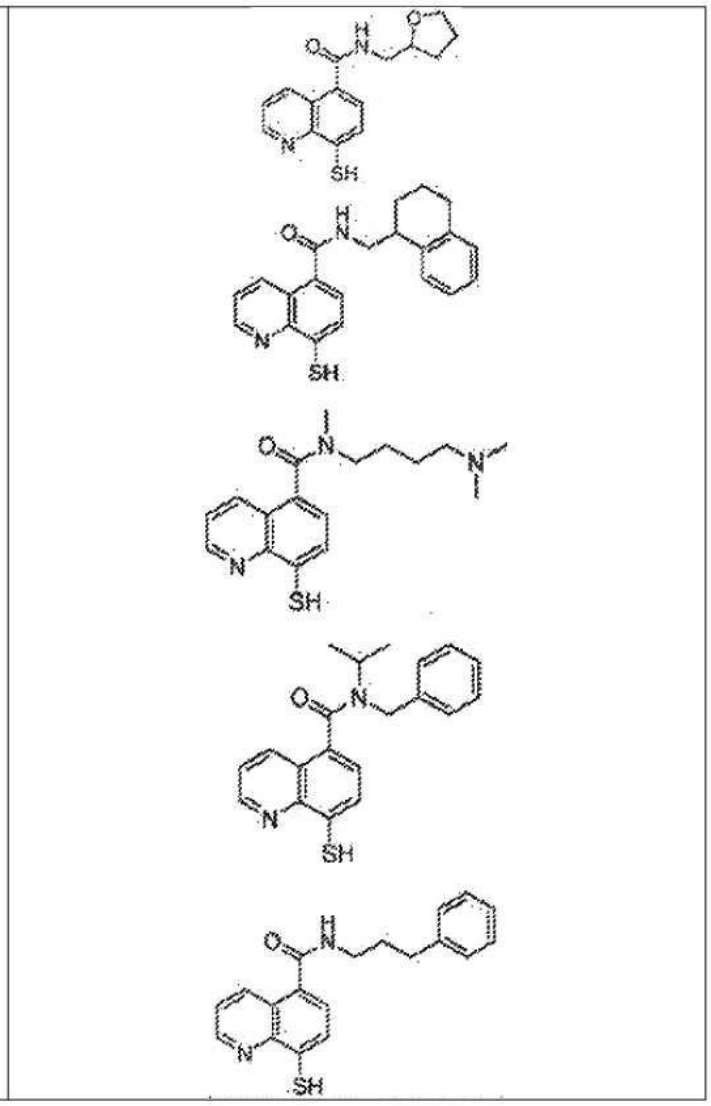
[0594]

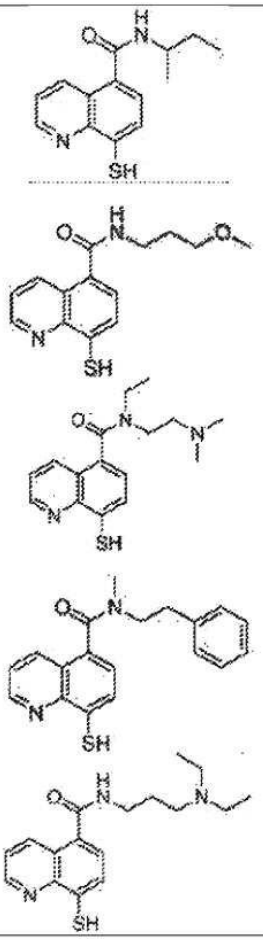
[0595]

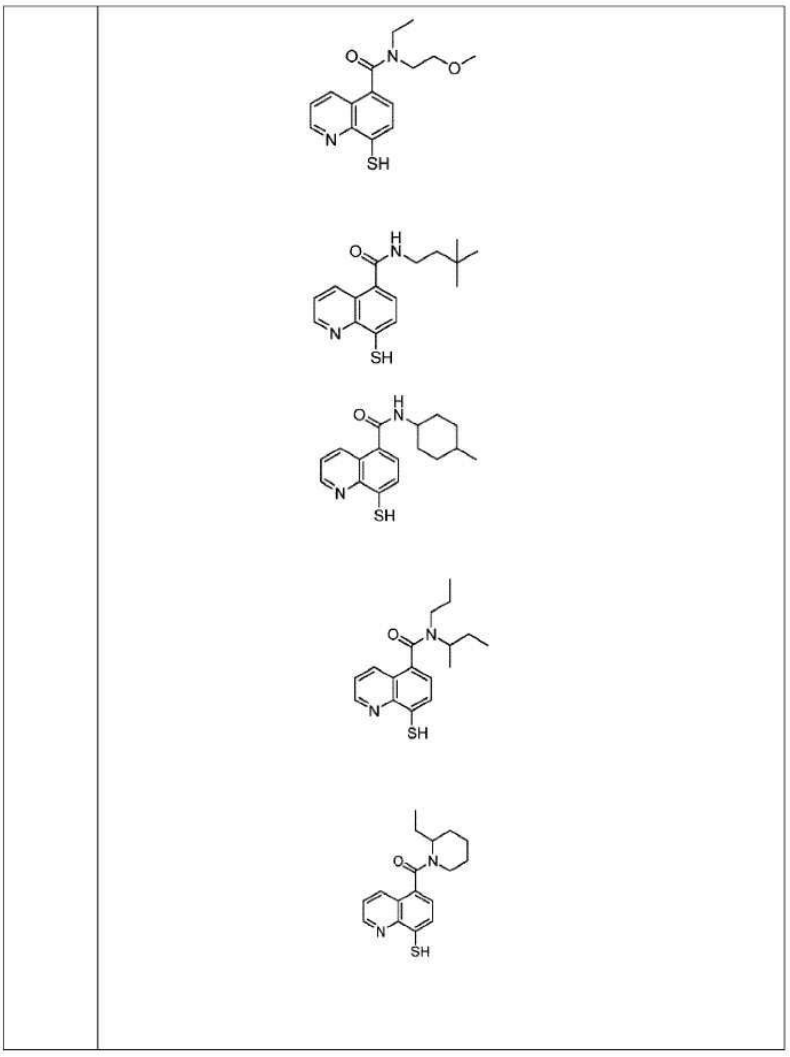
[0596]

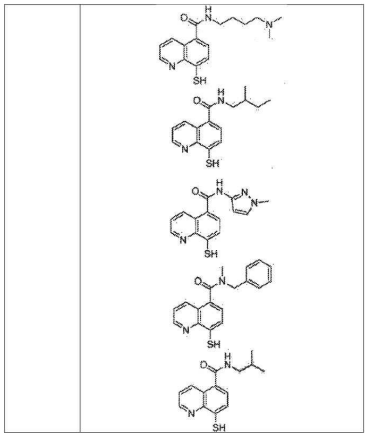
[0597]

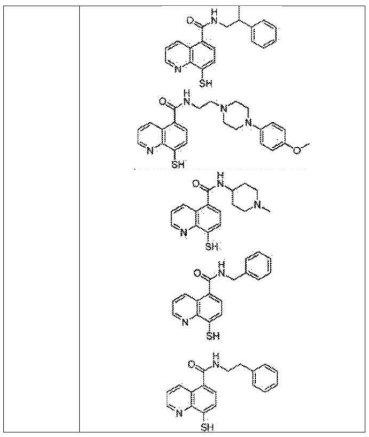
[0598]



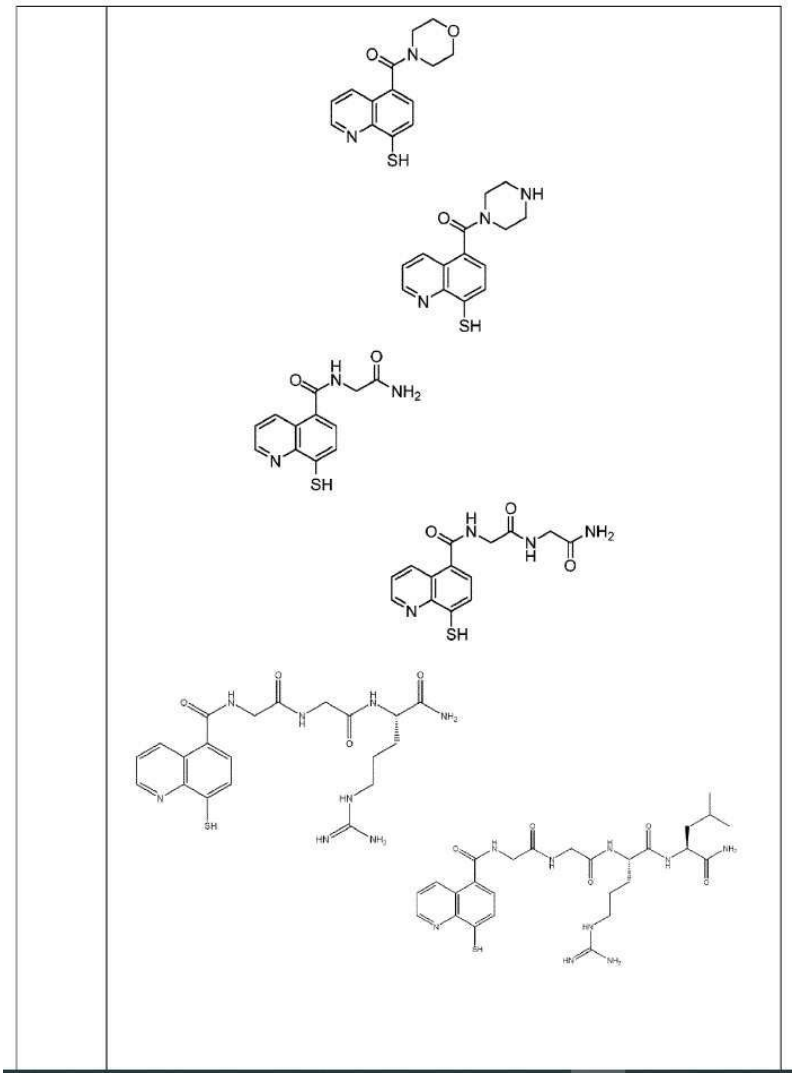
[0599]



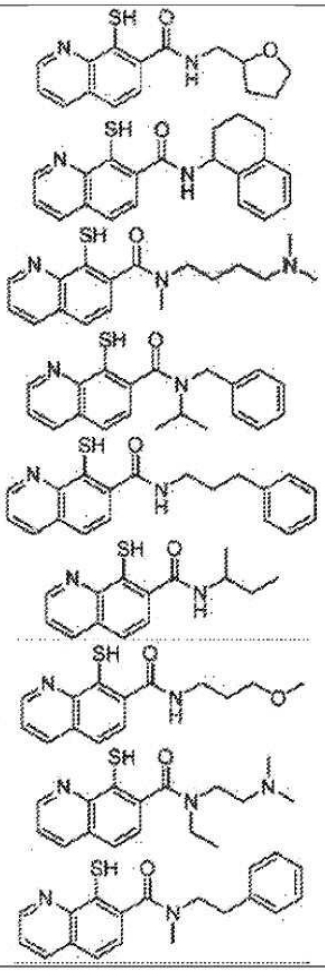
[0600]



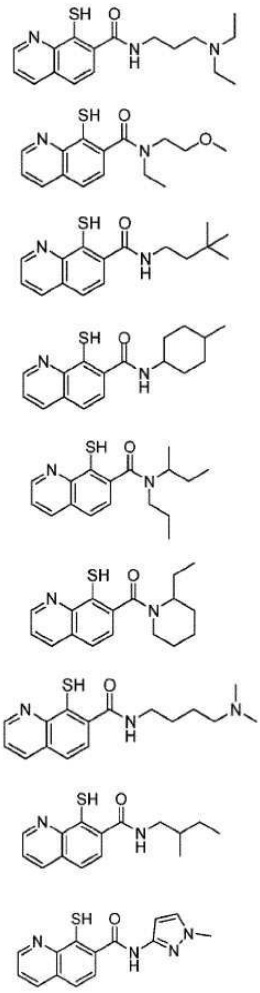
[0601]



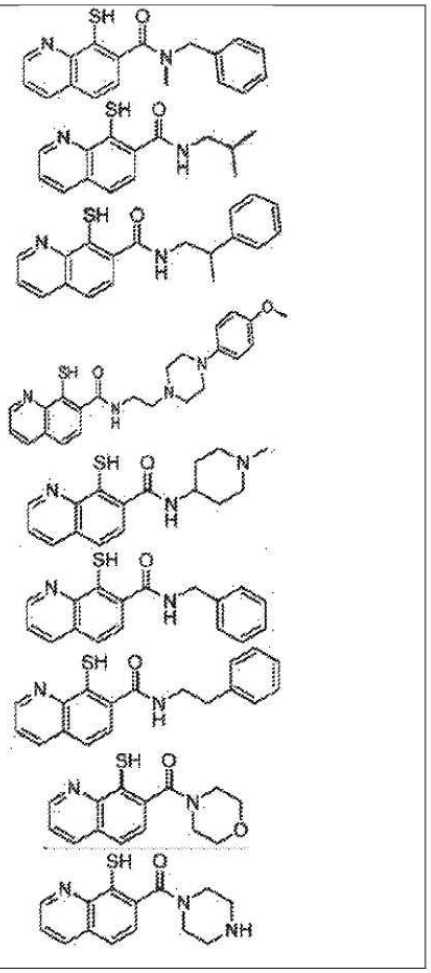
[0602]

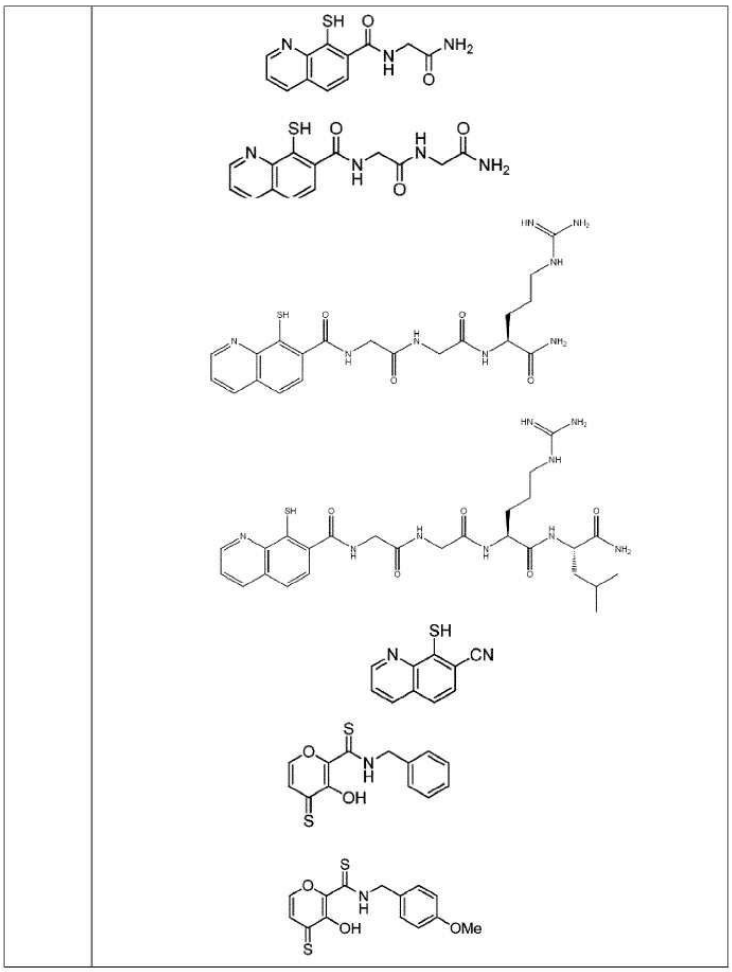
[0603]

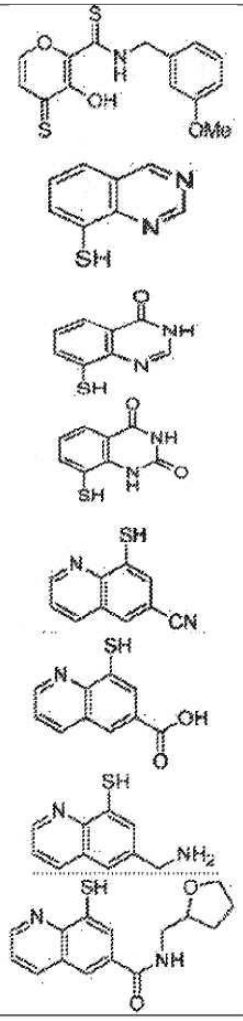
[0604]

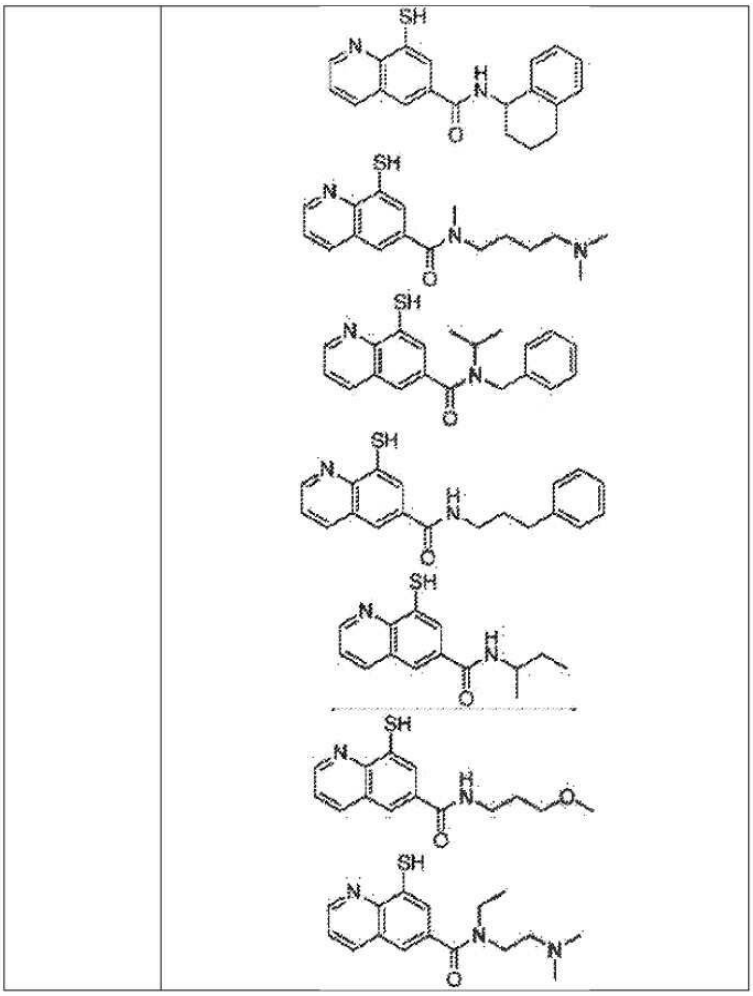
[0605]



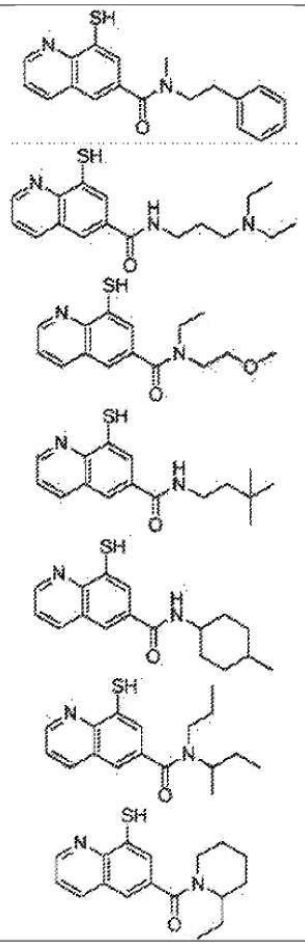
[0606]

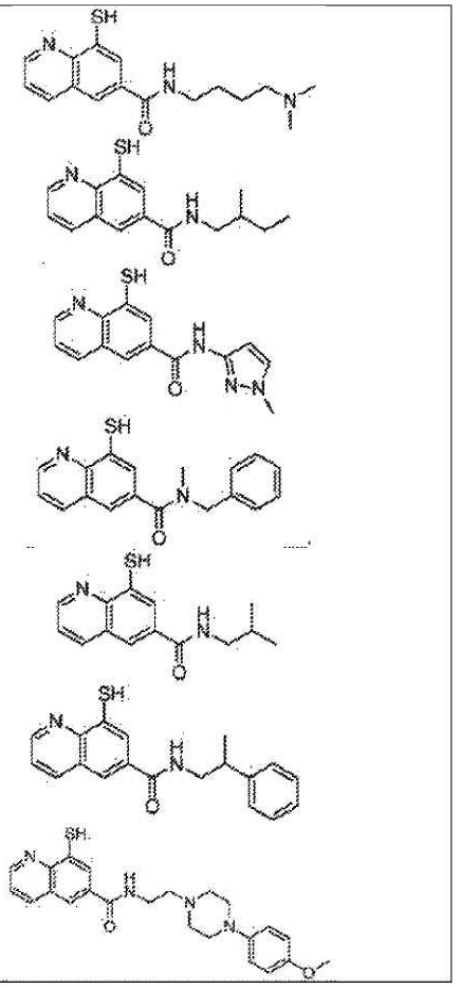
[0607]



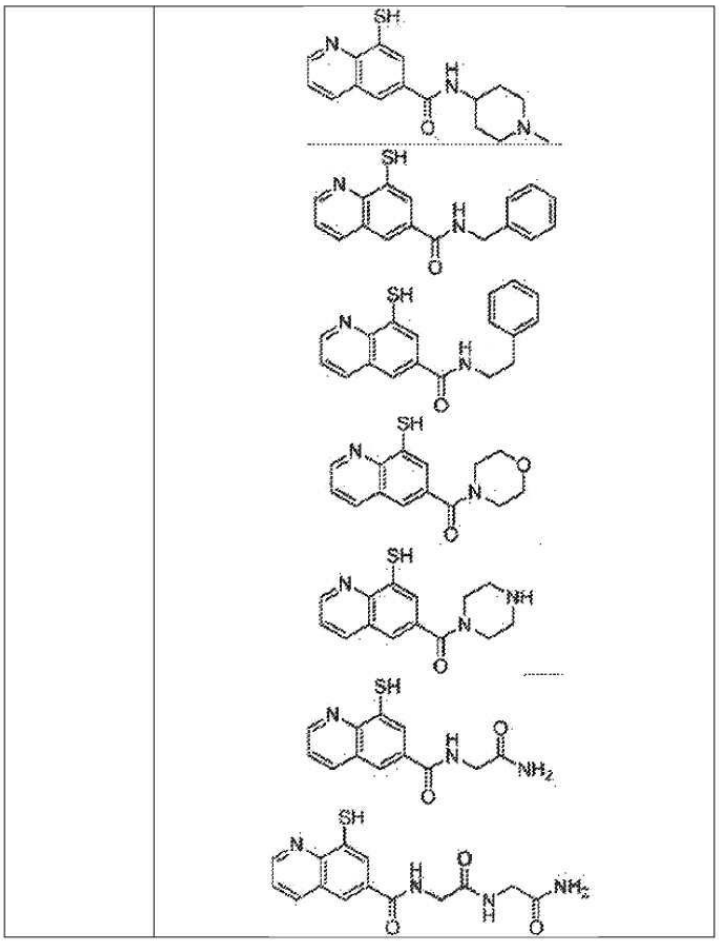
[0608]

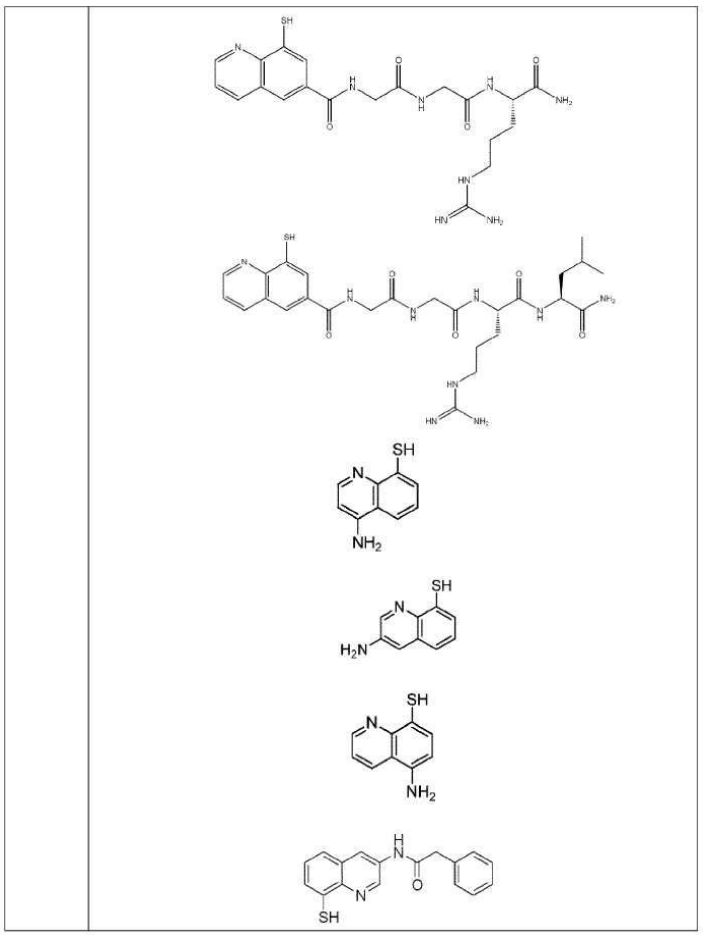
[0609]

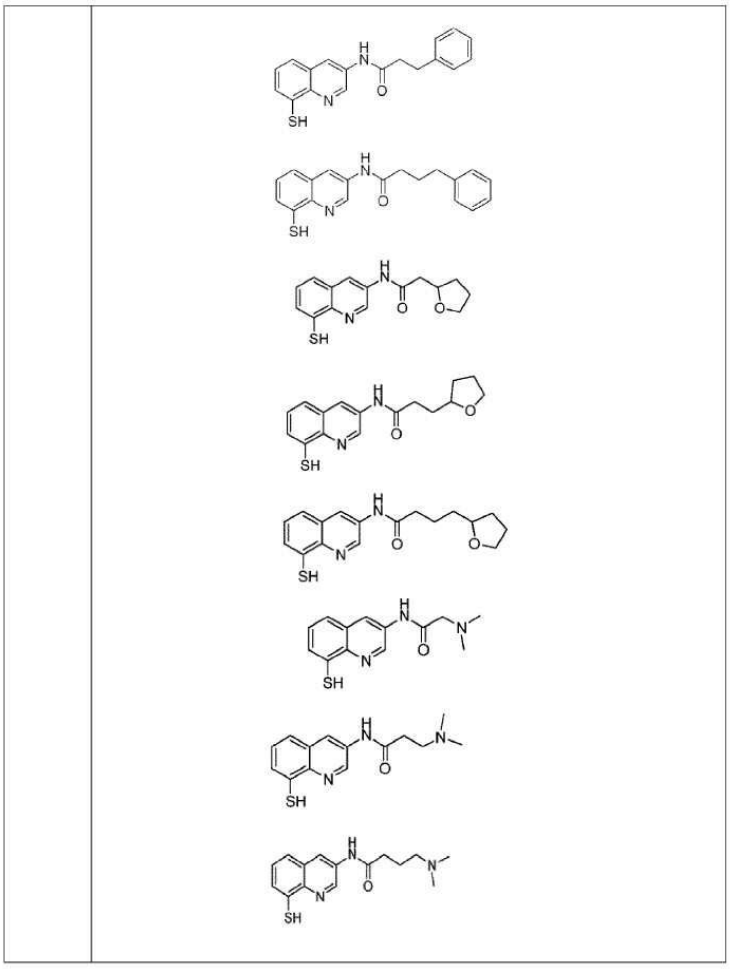
[0610]



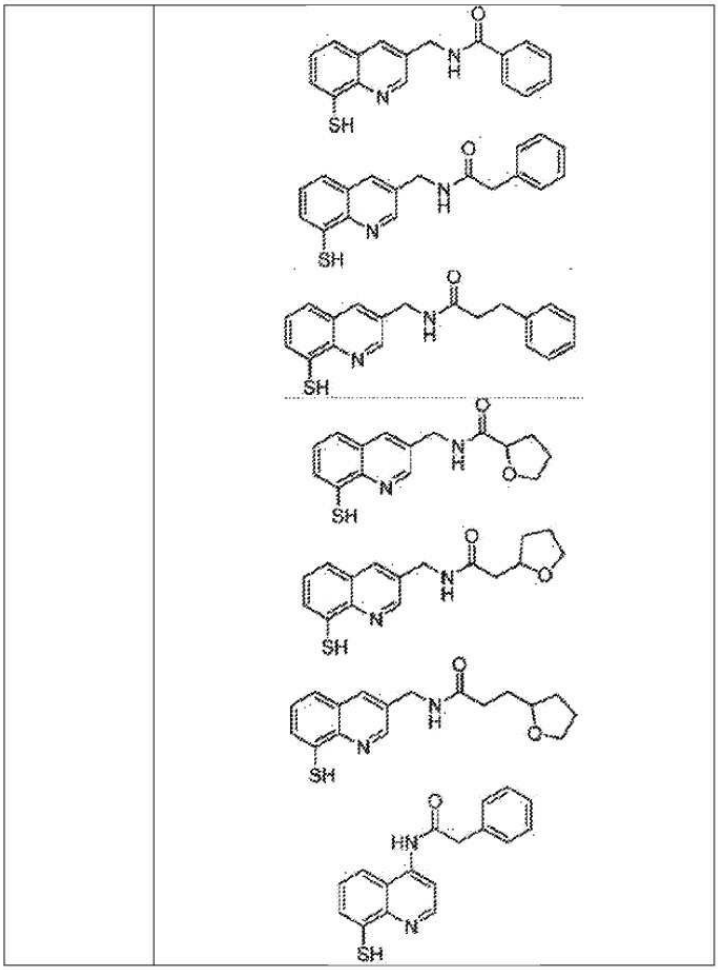
[0611]



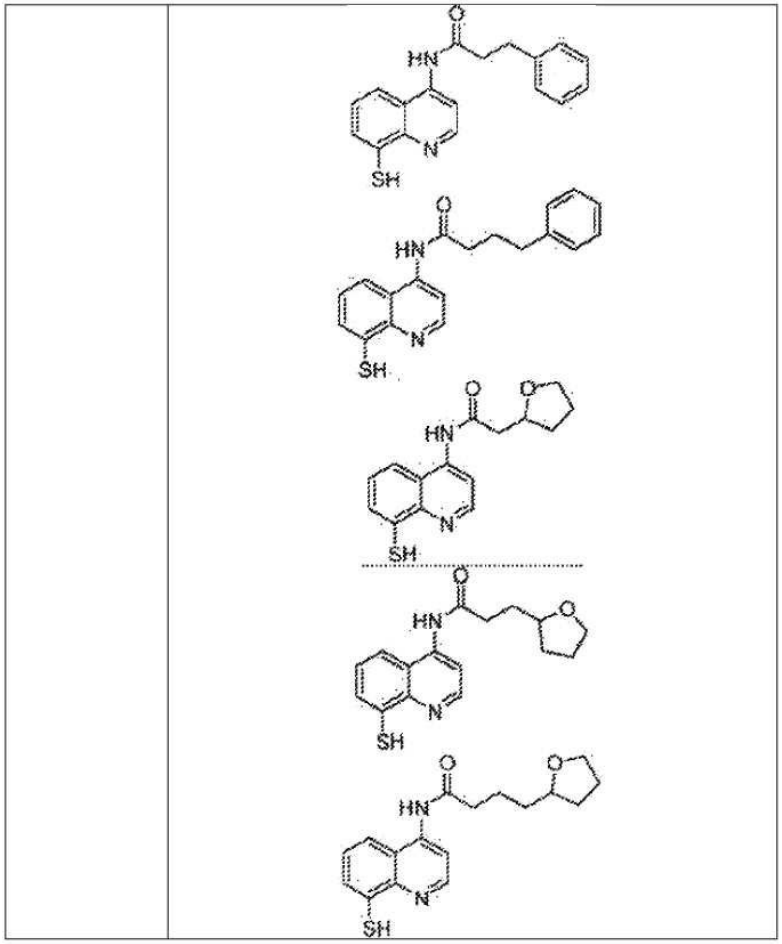
[0612]



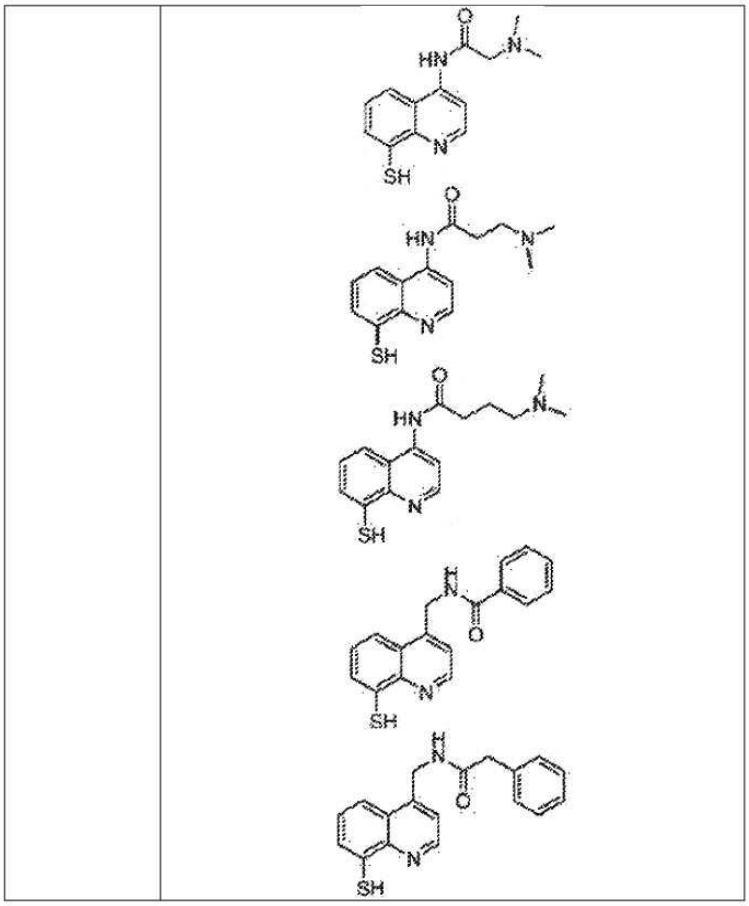
[0613]



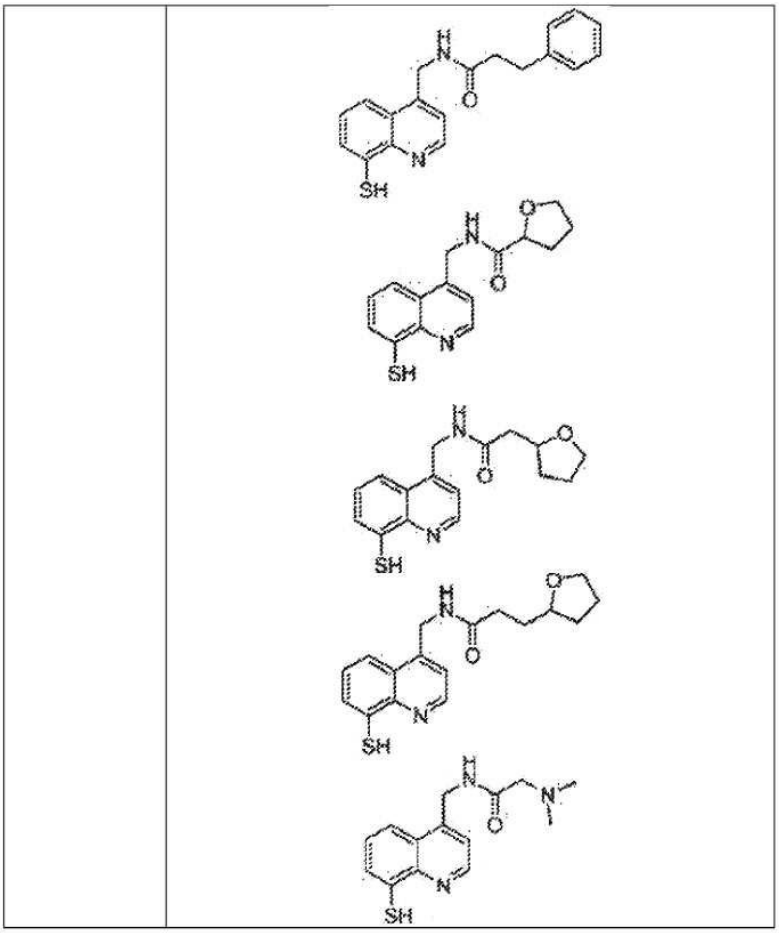
[0614]



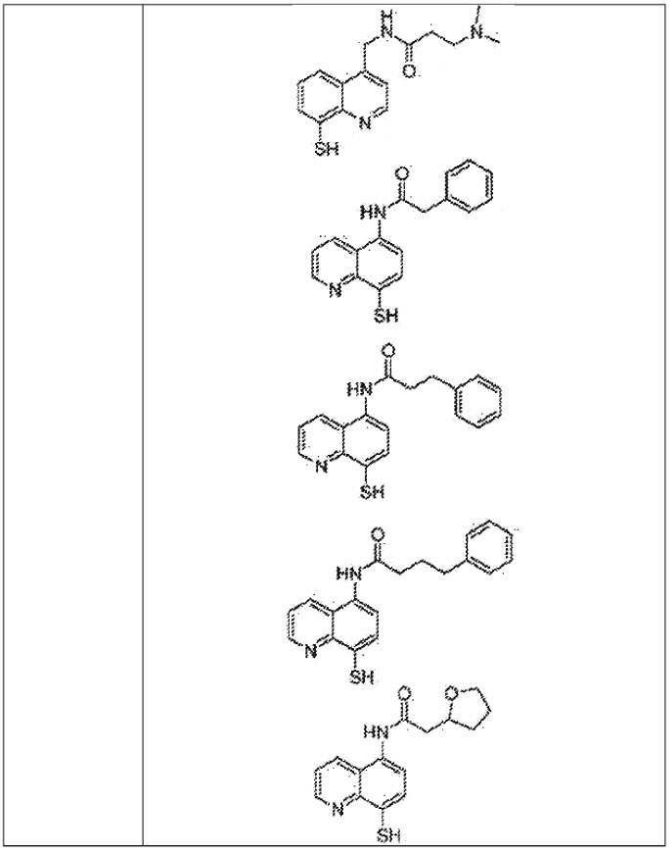
[0615]



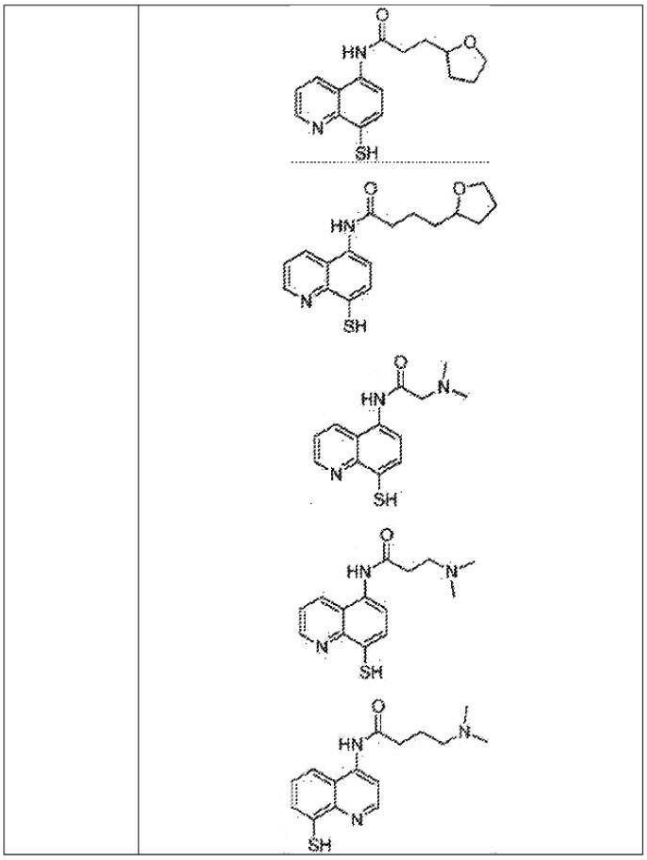
[0616]



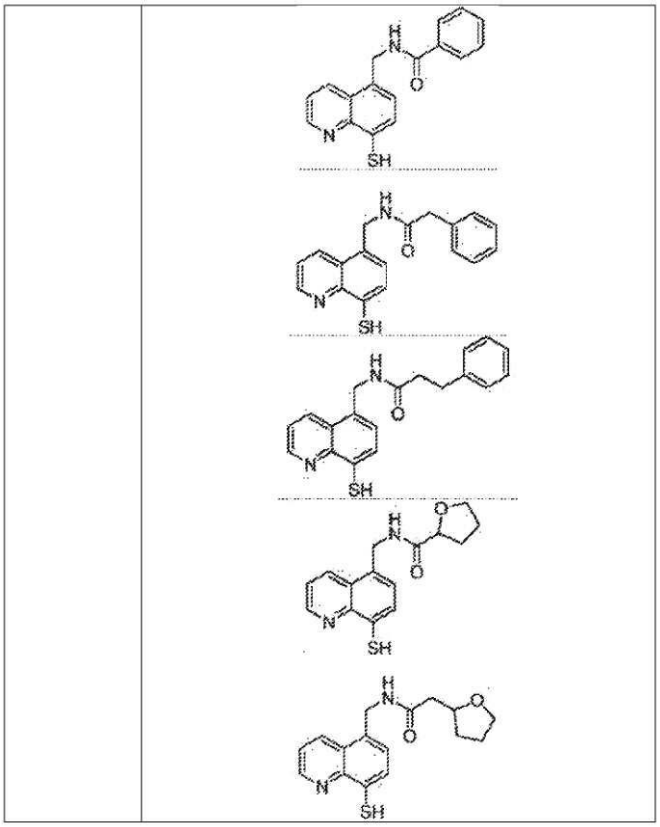
[0617]



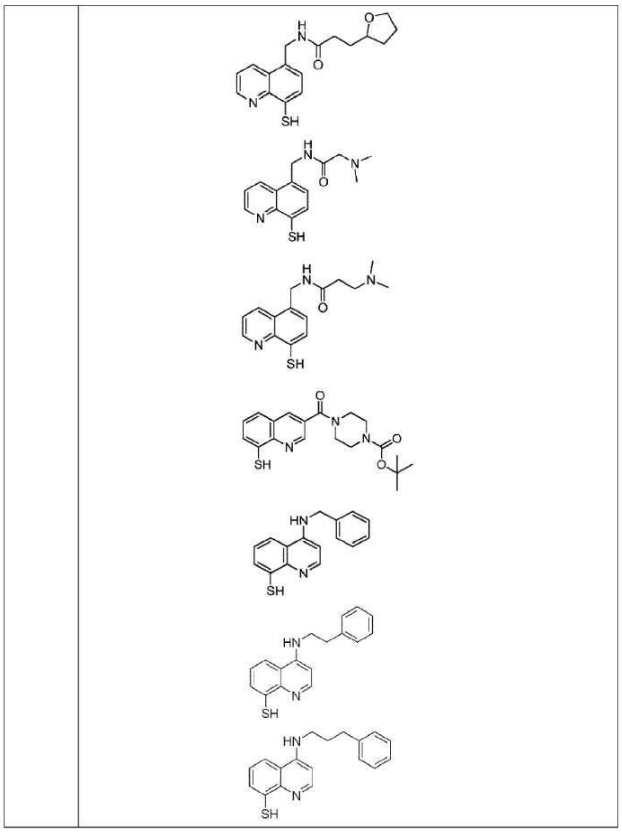
[0618]



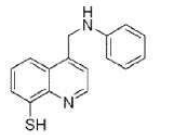
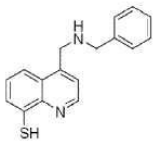
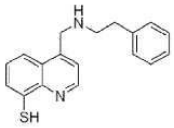
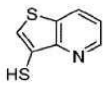
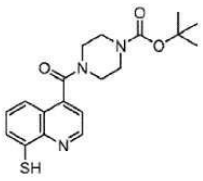
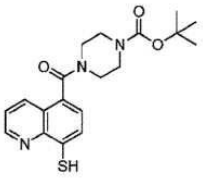
[0619]



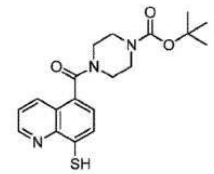
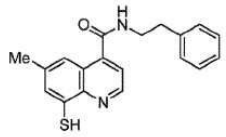
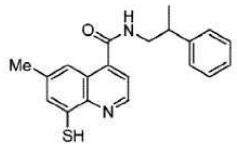
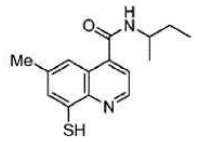
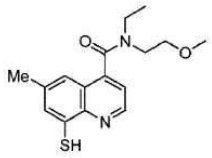
[0620]



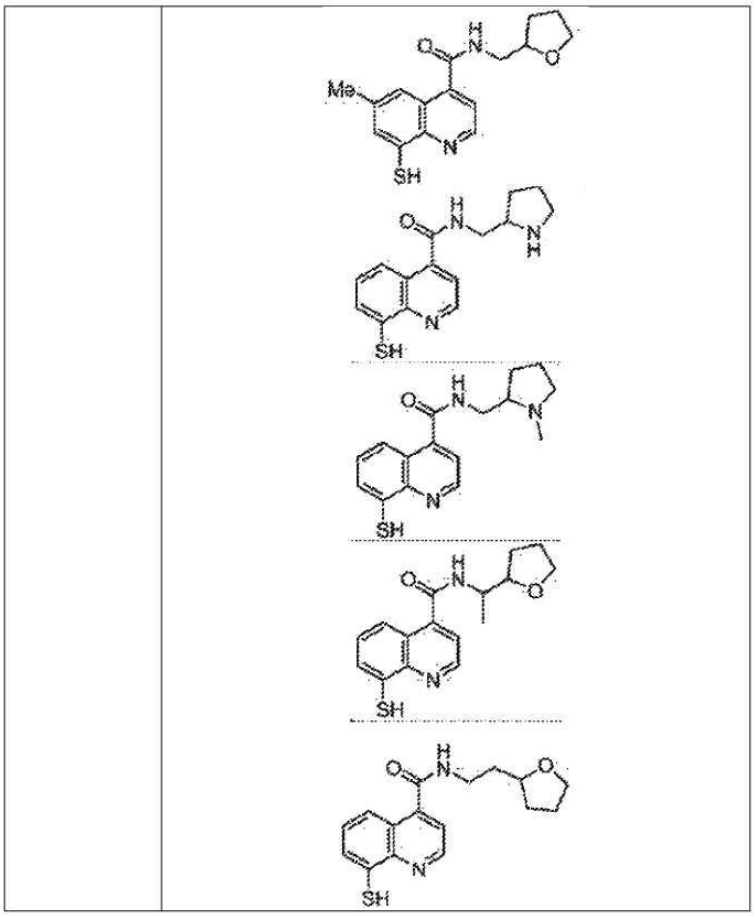
[0621]

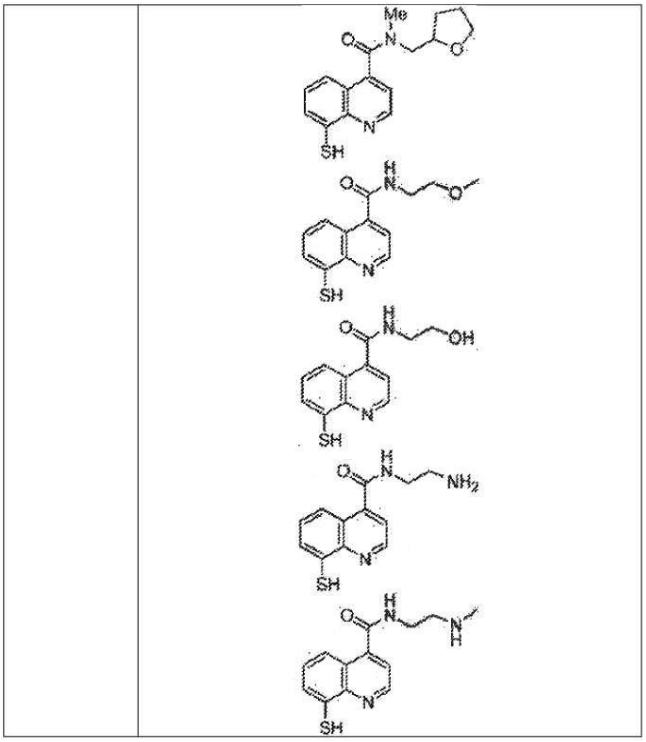
[0622]

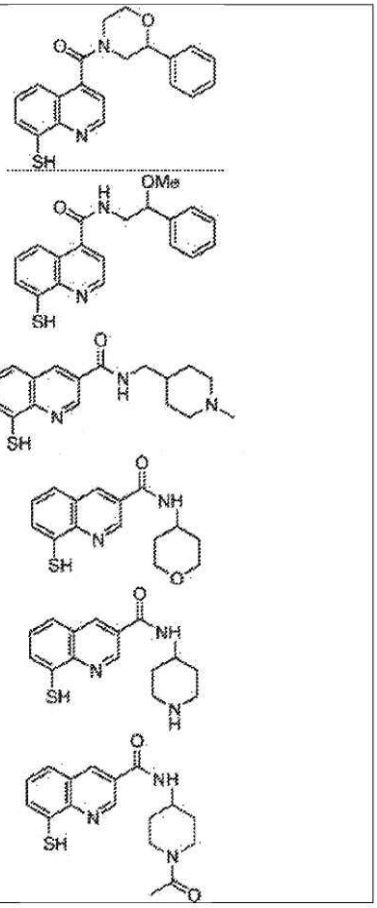
[0623]



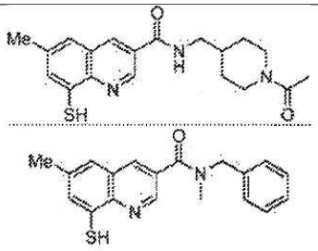
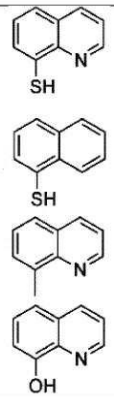
[0624]

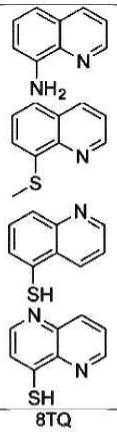
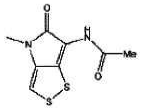


[0625]

[0626]

	 Carfilzomib MLN-4924
Li et al. *Nat Chem Biol*. 2017 May;13(5):486-493	Quinilone-8-thiol (8TQ) Capzimin
Lauinger et al. *Nat Chem Biol*. 2017 Jul;13(7):709-714	Thiolutin
Perez et al. *J Med Chem*. 2017 Feb 23;60(4):1343-1361	

	
Chen et al. Cancer Metastasis Rev. 2017 Dec;36(4):655-668.	8TQ  capzimin  Thiolutin 

[0627]

[0628] 본 발명은 또한 항-Rpn11 항체 및 이의 단편인 Rpn11 결합 파트너, Fv 항체, 디아 바디, VH 및/또는 VL 도메인 항체와 같은 단일 도메인 항체, 및 항체 단편을 이들이 원하는 생물학적 활성(Rpn11에 결합)을 나타내는 한 제공한다. 항체는 예를 들어, 온전한 면역 글로불린 또는 다양한 펩티다제의 소화에 의해 생성된 다수의 잘 특성화된 단편으로 존재한다. 따라서, 예를 들어, 펩신은 힌지 영역에서 이황화 결합 아래에서 항체를 분해하여, 그 자체가 이황화 결합에 의해 VH-CH1에 연결된 경쇄인 Fab의 다이머인 F (ab)' 2를 생성한다. F (ab)'2는 온화한 조건 하에서 환원되어 힌지 영역에서 이황화 결합을 끊어 F (ab)' 2 다이머를 Fab' 모노머로 전환할 수 있다. Fab'모노머는 필수적으로 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab이다 (Fundamental Immunology (Paul ed., 3d ed. 1993). 다양한 항체 단편이 온전한 항체의 소화의 측면으로 정의되지만, 통상의 기술자는 이러한 단편이 화학적으로 또는 재조합 DNA 방법론을 사용하여 새로 합성될 수 있음을 인식할 것이다. 따라서, 본 명세서에 사용된 항체라는 용어는 또한 전체 항체의 개질에 의해 생성된 항체 단편, 또는 재조합 DNA 방법론 (예를 들어, 단일 사슬 Fv)을 사용하여 새로 합성 된 것 또는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 확인된 것 (예를 들어, , McCafferty et al, *Nature* 1990 348:552-554 참조)을 또한 포함한다.

[0629] 표적 단백질 결합 파트너에 링크된 Rpn11 결합 항체를 포함하는 이중작용성 분자는 예를 들어, Tsuchikama 등 (*Protein Cell*, 2018, 9(1):33-46)에서 제공된 바와 같이 당해 기술분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

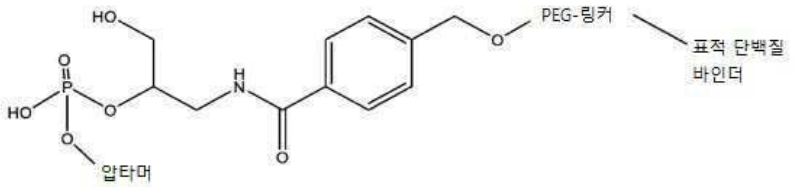
[0630] 본 발명에 따라 유용한 항-Rpn11 항체는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

생성물	회사	카탈로그 번호
프로테아좀 19S Rpn11 / S13 서브유닛 (인간) 폴리클론 항체	엔조 생명 과학, Inc. (Enzo Life Sciences, Inc.)	BML-PW9625-0100
항-26S 프로테아좀 조절 서브유닛 Rpn11 항체	MilliporeSigma	ABE390
항-26S 프로테아좀 조절 서브유닛 Rpn11, 클론 7C7.1	MilliporeSigma	MABE881
P43588 의 N 말단에 대한 항체 조합 (효모 유비퀴틴 카르복실-말단 가수 분해 효소 Rpn11)	Abmart	X1-P43588

[0631]

[0632] 본 발명은 또한 압타머인 Rpn11 결합 파트너를 제공한다. 표적 단백질 결합 파트너에 연결된 Rpn11 결합 압타머를 포함하는 이중작용성 분자는 예를 들어, Wang et al., dx.doi.org/10.1021/ja4117395 | J. Am. Chem. Soc. 2014, 136, 2731-2734 에 제공된 바와 같이 당해업계에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

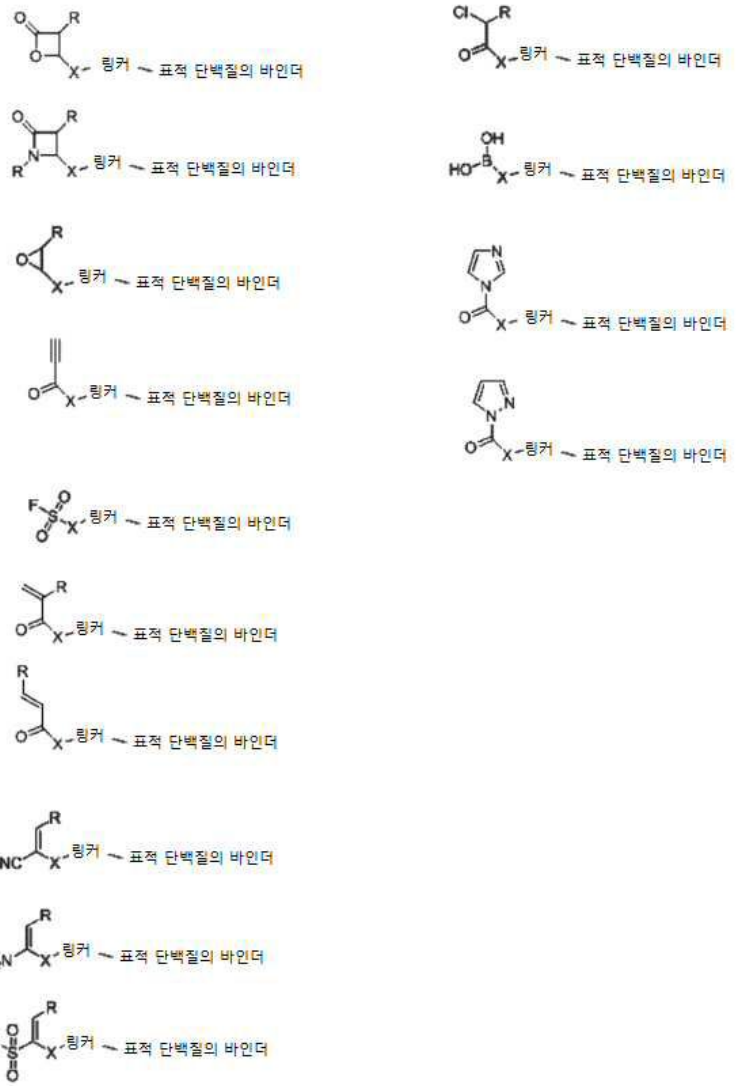
[0633] 하나의 구체예에서, 링커를 통해 표적 단백질 결합 파트너에 연결된 Rpn11 결합 파트너, 즉 압타머를 포함하는 이중작용성 분자는 하기에 나타낸 일반적인 구조를 갖는다:



[0634]

[0635] 본 발명은 또한 예를 들어, 미국 특허 제9,670,482호에 기재된 바와 같이 이환식 또는 다중특이적 펩티드 분자인 Rpn11 결합 파트너를 제공한다. 이러한 이환식 펩타이드 분자는 저 분자량 (1.5-2kDa)이고 유연하며 화학적으로 합성된다.

[0636] 아래 제시된 구조는 제 1 및 제 2 결합 파트너의 공유 결합을 허용하여 본 발명에 따른 이중작용성 분자를 생성한다: 아래 제시된 구조에서, X는 Rpn11 결합 파트너를 나타낸다.



[0637]

[0638] **표적 단백질 결합 파트너**

[0639] 표적 단백질 결합 파트너는 위에서 설명한 바와 같이 친화성 또는 Kd로, 선택된 표적 단백질에 결합하는 분자(단백질, 펩티드, 단백질의 리간드, DNA 또는 RNA 또는 결합된 DNA/RNA 분자와 같은 핵산)이다.

[0640] 용어 "표적 단백질 결합 파트너"는 표적 단백질에 결합하는 분자, 예를 들어, 소분자, 항체, 압타머, 펩티드, 표적 단백질의 리간드를 포함한다. 표적 결합 파트너는 링커를 통해 Rpn11 결합 파트너에 직접 공유적으로 링크되거나 연결되어 표적 단백질의 분해를 촉진하는 이중작용성 분자를 형성한다.

[0641] 본 발명에 따른 표적 단백질 결합 파트너는 단백질에 결합하고 소분자일 수 있다. 주어진 표적 단백질의 활성을 억제하는 것으로 알려진 소분자는 본 발명에 따라 유용하며 키나제 억제제, 인간 BET 브로모 도메인-함유 단백질을 표적화하는 화합물, Hsp90 억제제, HDM2 및 MDM2 억제제, HDAC 억제제, 인간 라이신 메틸트랜스페라제 억제제, 혈관 신생 억제제, 핵 호르몬 수용체 화합물, 면역 억제 화합물, 및 아릴 탄화수소 수용체 (AHR)를 표적으로하는 화합물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명에 유용한 예시적인 소분자 억제제 표적 단백질 모이어티가 아래에 제공된다.

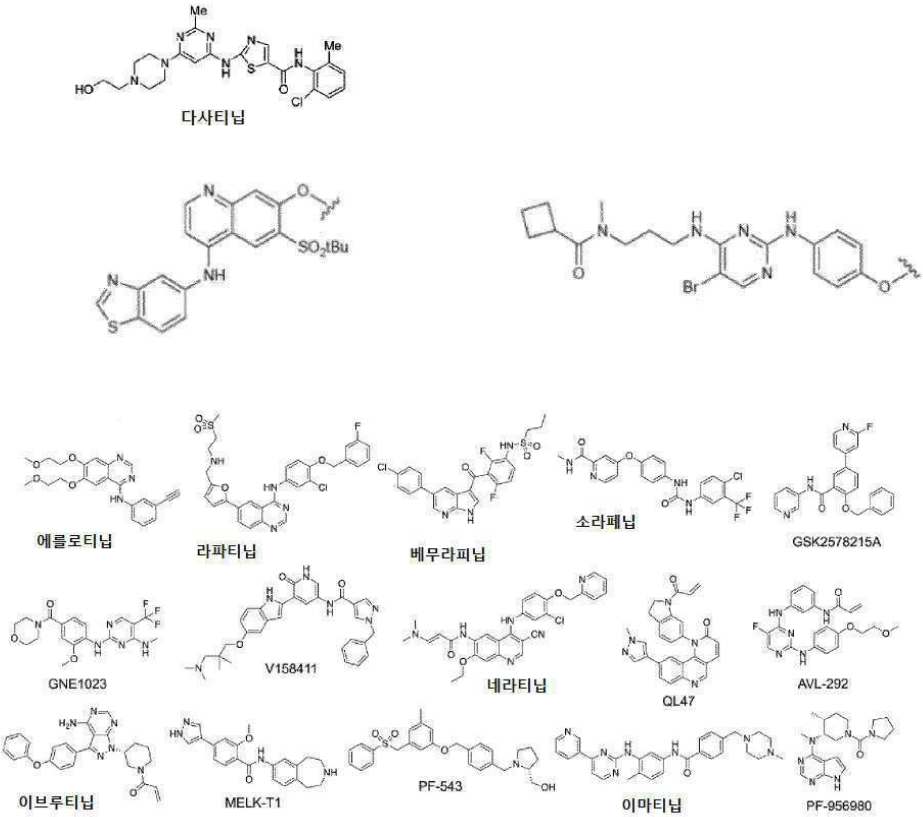
[0642] 표적 단백질 파트너는 또한 관심 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다. 본 명세서에서 사용된 용어 "항체"(Ab)는 그것이 원하는 결합 활성을 나타내는 한에서 단일 클론 항체, 다중 클론 항체, 다중 특이적 항체 (예 : 이중 특이적 항체), 인간화 또는 인간 항체, Fv 항체, 디아바디, 단일 도메인 (VH, VL 도메인) 항체, 및 항체 단편을 포함한다. "항체"는 단백질의 에피토프에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드를 의미한다. 경쇄는 카파 또는 람다로 분류된다. 중쇄는 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론으로 분류되며, 이들은 차례로 면역 글로불린의 종류인 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE를 각각 정의한다.

[0643] 항체는 예를 들어, 온전한 면역 글로불린 또는 다양한 펩티다제로의 소화에 의해 생성된 다수의 잘 특성화된 단편으로 존재한다. 따라서, 예를 들어, 펩신은 힌지 영역에서 이황화 결합 아래에서 항체를 소화하여 그 자체가 이황화 결합에 의해 VH-CH1에 연결된 경쇄인 Fab의 다이머인 F(ab)'2를 생성한다. F(ab)'2는 온화한 조건 하에서 환원되어 힌지 영역에서 이황화 결합을 끊어 F(ab)' 2 다이머를 Fab'모노머로 전환할 수 있다. Fab'모노머는 필수적으로 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab이다 (Fundamental Immunology (Paul ed., 3d ed. 1993). 다양한 항체 단편이 온전한 항체의 소화 측면에서 정의되지만, 통상의 기술자는 이러한 단편이 화학적으로 또는 재조합 DNA 방법론을 사용하여 새로 합성될 수 있음을 인식할 것이다. 따라서, 본 명세서에 사용된 용어 항체는 또한 전체 항체의 변형에 의해 생성된 항체 단편, 또는 재조합 DNA 방법론 (예를 들어, 단일 사슬 Fv)을 사용하여 새로 합성된 것 또는 파지 디스플레이 라이브러리를 사용하여 확인된 것 (예를 들어, , McCafferty et al, 1990, *Nature*, 348:552-554)을 포함한다.

[0644] 본 발명은 또한 할로알킬기인 표적 단백질 결합 파트너를 제공하는데, 여기서 알킬기는 일반적으로 크기가 약 1 또는 2 개의 탄소 내지 약 12 개의 탄소 길이, 예를 들어, 2 내지 10 개의 탄소 길이, 3 개의 탄소 내지 약 8 개의 탄소 길이, 4 개의 탄소 내지 약 6 개의 탄소 길이이다. 할로알킬기는 일반적으로 선형 알킬기(분지쇄 알킬기도 사용될 수 있음)이며, 하나 이상의 할로겐기, 바람직하게는 단일 할로겐기, 종종 단일 염화물기로 말단 캡핑되어 있다. 본 발명에서 사용하기 위한 기인 할로알킬 PT는 바람직하게는 화학 구조-(CH_2)v-Halo로 표시되며, 여기서 v는 2 내지 약 12, 통상 약 3 내지 약 8, 더 통상적으로는 약 4 내지 약 6의 정수이다. Halo는 할로겐일 수 있지만 바람직하게는 Cl 또는 Br이고, 더 자주로는 Cl이다.

[0645] 본 발명은 또한 표적 단백질 결합 파트너의 약학적으로 허용되는 염, 거울상 이성질체, 용매화물 및 다형체(polymorphs)를 포함한다.

[0646] 키나제 억제제인 표적 단백질 결합 파트너는 아래 제시된 분자 및 이의 유도체 중 어느 하나를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:

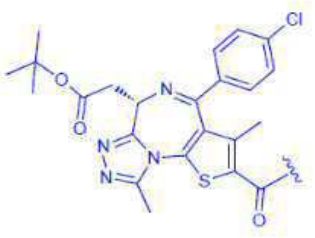


[0647]

[0648] Jones et al. 소분자 키나제 하향 조절제(Small-Molecule Kinase Downregulators) (2017, *Cell Chem. Biol.*, 25 : 30-35) 참조.

[0649] BET 단백질을 표적으로하는 표적 단백질 결합 파트너는 아래 표시된 분자 및 이의 유도체를 포함하지만 이에 제

한되지는 않는다:



[0650]

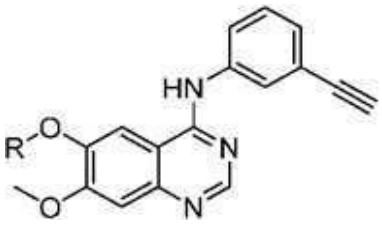
[0651] JQ1

[0652] 추가적인 BET 억제제는 Romero, F.ㅏ., Taylor, A.미디엄., 크로포드, T. 디., Tsui, V., 코트, A., Magnuson, S. *Disrupting Acetyl-Lysine Recognition : Progress in the Development of Bromodomain Inhibitors (2016 J. Med. Chem., 59 (4), 1271-1298).* 에 기술되어 있다.

[0653] **L. 키나제 및 포스파타제 억제제:**

[0654] 본 명세서에 사용된 키나제 억제제는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

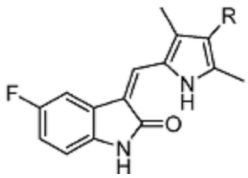
[0655] 1. 에를로티닙 유도체 티로신 키나제 억제제:



[0656]

[0657] 여기서 R은 예를 들어, 에테르기를 통해 부착된 링커이다;

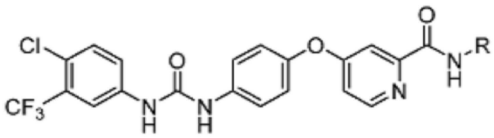
[0658] 2. 키나제 억제제 수니티닙 (유도체화됨):



[0659]

[0660] (R이 예를 들어, 피롤 모이어티에 부착된 링커로서 유도체화됨);

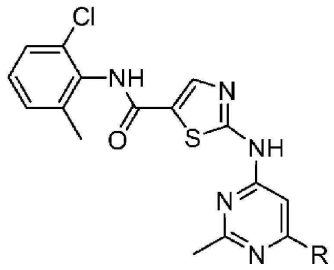
[0661] 3. 키나제 억제제 소라페닙 (유도체화됨):



[0662]

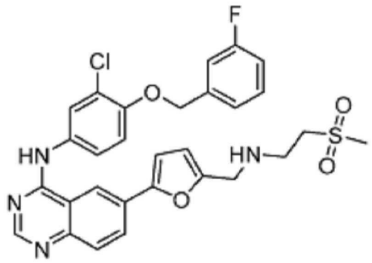
[0663] (R이 예를 들어, 아미드 부분에 부착된 링커로서 유도체화됨);

[0664] 4. 키나제 억제제 데사티닙 (유도체화됨):

[0665] 

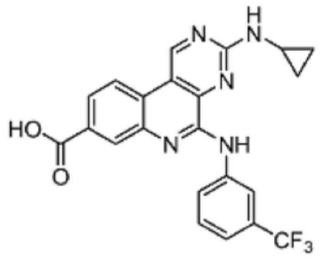
[0666] (R이 예를 들어, 피리미딘에 부착된 링커로서 유도체화됨);

[0667] 5. 키나제 억제제 라파티닙 (유도체화됨):

[0668] 

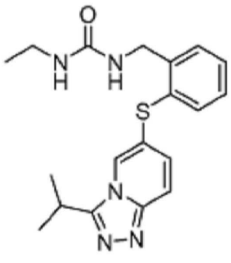
[0669] (예를 들어, 술포닐 메틸기의 말단 메틸을 통해 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0670] 6. 키나제 억제제 U09-CX-5279 (유도체화됨):

[0671] 

[0672] 예를 들어, 아민 (아닐린), 카르복실산 또는 아민 알파를 통해 시클로프로필기, 또는 시클로프로필기에 링커가 부착되어 유도체화됨;

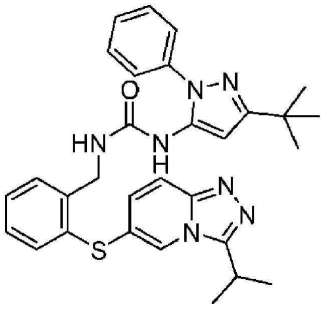
[0673] 7. Millan, et al., Design and Synthesis of Inhaled P38 Inhibitors for Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, (2011,] *MED.CHEM.* 54:7797)에서 확인된 키나제 억제제로서, 다음 구조를 갖는 키나제 억제제 Y1W 및 Y1X (유도체화됨) 포함:

[0674] 

[0675] YIX

[0676] (1-에틸-3-(2-{[3-(1-메틸에틸)[1,2,4]트리아졸로[4,3-a]피리딘-6-일]설파닐}벤질)우레아

[0677] 예를 들어, i 프로필기를 통해 링커가 부착되어유도체화됨;



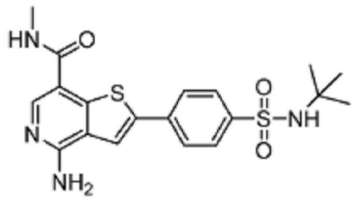
[0678]

[0679] Y1W

[0680] 1-(3-tert-부틸-1-페닐-1H-피라졸-5-일)-3-(2-{[3-(1-메틸에틸)[1,2,4]트라이아졸로[4,3-a]피리딘-6-일]설파닐}벤질)우레아

[0681] 예를 들어, 바람직하게는 i-프로필기 또는 t-부틸기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0682] 8. Schenkel, et al., Discovery of Potent and Highly Selective Thienopyridine Janus Kinase 2 Inhibitors (2011, J. *Med. Chem.*, 54(24):8440-8450)에서 확인된 키나제 억제제로서 다음 구조를 갖는 화합물 6TP 및 OTP (유도체화됨) 포함:

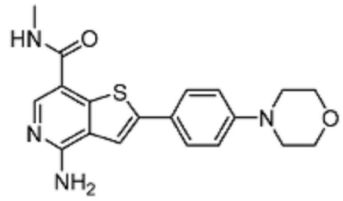


[0683]

[0684] 6TP

[0685] 4-아미노-2-[4-(tert-부틸술파모일)페닐]-N-메틸티에노[3,2-c]피리딘-7-카르복사미드 티에노피리딘 19

[0686] 예를 들어, 아미드 모이어티에 결합된 말단 메틸기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;



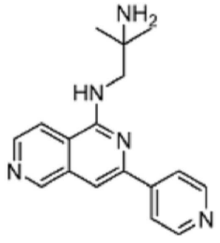
[0687]

[0688] OTP

[0689] 4-아미노-N-메틸-2-[4-(모르폴린-4-일)페닐]티에노[3,2-c]피리딘-7-카르복사미드 티에노피리딘 8

[0690] 예를 들어, 아미드 모이어티에 결합된 말단 메틸기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0691] 9. Van Eis, et al., "2,6-Naphthyridines as potent and selective inhibitors of the novel protein kinase C isozymes", *(2011 Dec., Biorg. Med. Chem. Lett.,15,21(24):7367-72)*에서 확인되는 키나제 억제제로서, 다음 구조를 갖는 키나제 억제제 07U 포함:



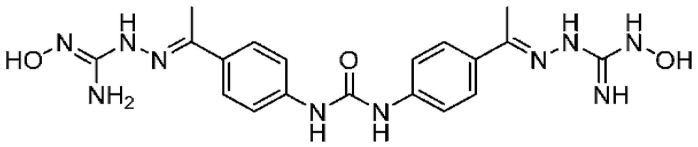
[0692]

[0693] 07U

[0694] 2-메틸-N-1-[3-(피리딘-4-일)-2,6-나프티리딘-1-일]프로판-1,2-디아민

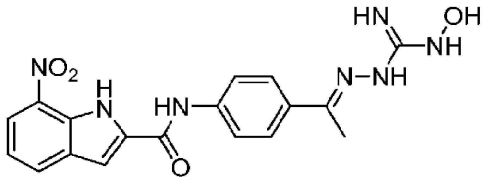
[0695] 예를 들어, 2 차 아민 또는 말단 아미노기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0696] 10. Lountos, et al., "Structural Characterization of Inhibitor Complexes with Checkpoint Kinase 2 (Chk2), a Drug Target for Cancer Therapy", *(2011, J. Struct.. Biol.,*176:292*)*에서 확인되는 키나제 억제제로서, 다음 구조를 갖는 키나제 억제제 YCF 포함:

[0697] 

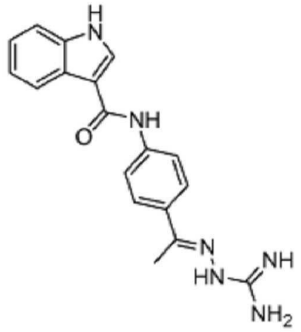
[0698] 예를 들어, 말단 히드록실기 중 하나를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0699] 11. Lountos, et al., "Structural Characterization of Inhibitor Complexes with Checkpoint Kinase 2 (Chk2), a Drug Target for Cancer Therapy", *(2011, J. 구조체. Biol.176292)*에서 확인되는 키나제 억제제로서, 다음 구조를 갖는 키나제 억제제 XK9 및 NXP (유도체화됨) 포함:

[0700] 

[0701] XK9

[0702] N-{4-[(1E)-N-(N-히드록시카르바미미도일)에탄히드라조노일]페닐}-7-니트로-1H-인돌-2-카르복사미드;

[0703] 

[0704] NXP

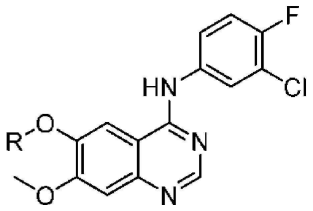
[0705] N-{4-[(1E)-N-카르바미미도일에탄히드라조노일]페닐}-1H-인돌-3-카르복사미드

[0706] 예를 들어, 말단 히드록실기(XK9) 또는 히드라존기(NXP)을 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0707] 12. 키나제 억제제 아파티닙 (유도체화됨) (N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-7-[[(3S)-테트라히드로-3-푸라닐]옥시]-6-퀴나졸리닐]-4(디메틸아미노)-2-부텐아미드)(예를 들어, 지방족 아민기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0708] 13. 키나제 억제제 포스타마티닙 (유도체화됨) ([6-({5-플루오로-2-[(3,4,5-트리메톡시페닐)아미노]피리미딘-4-일}아미노)-2,2-디메틸-3-옥소-2,3-디히드로-4H-피리도[3,2-b]-1,4-옥사진-4-일]메틸인산이나트륨6수화물) (예를 들어, 메톡시기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0709] 14. 키나제 억제제 게피티닙 (유도체화됨) (N-(3-클로로-4-플루오로-페닐)-7-메톡시-6-(3-모르폴린-4-일프로폭시)퀴나졸린-4-아민):

[0710] 

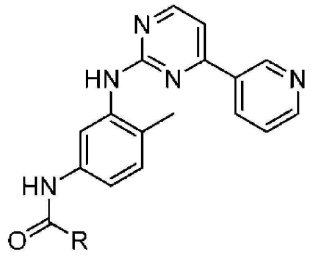
[0711] (예를 들어, 메톡시 또는 에테르기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0712] 15. 키나제 억제제 렌바티닙 (유도체화됨) (4-[3-클로로-4-(시클로프로필 카르바모일아미노)페녹시]-7-메톡시-퀴놀린-6-카르복사미드) (예를 들어, 시클로프로필기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0713] 16. 키나제 억제제 반데타닙 (유도체화됨) (N-(4-브로모-2-플루오로페닐)-6-메톡시-7-[(1-메틸피페리딘-4-일)메톡시]퀴나졸린-4-아민) (예를 들어, 메톡시 또는 히드록실기를 통해 링커가 부착됨);

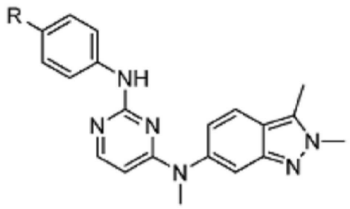
[0714] 17. 키나제 억제제 베무라페닙 (유도체화됨) (프로판-1-술폰산{3-[5-(4-클로로페닐)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-카르보닐]-2,4-디플루오로-페닐}-아미드) (예를 들어, 술포닐 프로필기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨,);

[0715] 18. 키나제 억제제 글리벡(Gleevec) (이마티닙이라고도 알려짐) (유도체화됨):

[0716] 

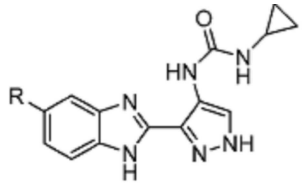
[0717] (R은 예를 들어, 아미드기 또는 아닐린 아민기를 통해 부착된 링커로서 유도체화됨);

[0718] 19. 키나제 억제제 파조파닙 (유도체화됨) (VEGFR3 억제제):

[0719] 

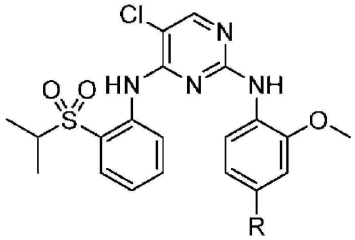
[0720] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티에 또는 아닐린 아민기를 통해 부착된 링커로서 유도체화됨);

[0721] 20. 키나제 억제제 AT-9283 (유도체화됨) Aurora 키나제 억제제

[0722] 

[0723] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티에 부착된 링커임);

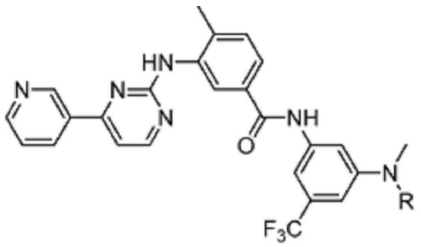
[0724] 21. 키나제 억제제 TAE684 (유도체화됨) ALK 억제제



[0725]

[0726] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티에 부착된 링커임);

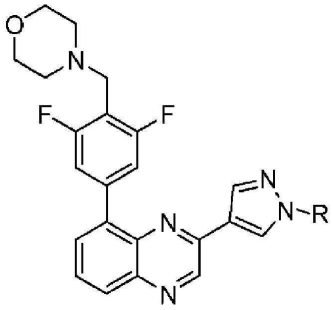
[0727] 22. 키나제 억제제 닐로타닙 (유도체화됨) Abl 억제제:



[0728]

[0729] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티 또는 아닐린 아민기에 부착된 링커로서 유도체화됨);

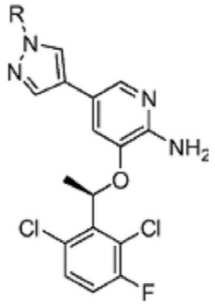
[0730] 23. 키나제 억제제 NVP-BSK805 (유도체화됨) JAK2 억제제



[0731]

[0732] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티 또는 디아졸기에 부착된 링커로서 유도체화됨);

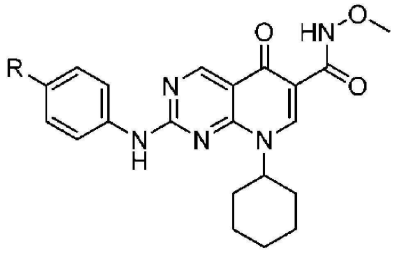
[0733] 24. 키나제 억제제 크리조티닙(crizotinib) 유도체화된 Alk 억제제



[0734]

[0735] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티 또는 디아졸기에 부착된 링커로서 유도체화됨);

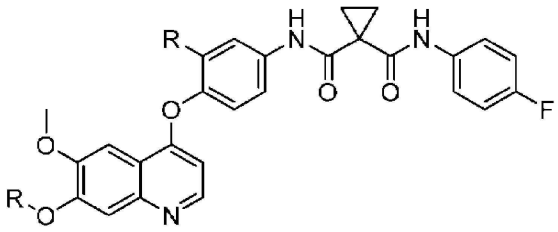
[0736] 25. 키나제 억제제 JNJ FMS (유도체화됨) 억제제



[0737]

[0738] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티에 부착된 링커로서 유도체화됨);

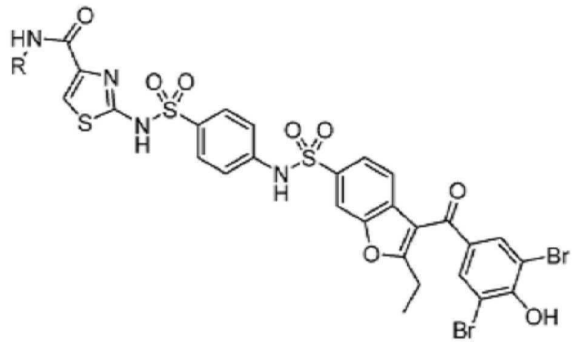
[0739] 26. 키나제 억제제 포레티닙(foretinib) (유도체화됨) Met 억제제



[0740]

[0741] (R은 예를 들어, 페닐 모이어티 또는 퀴놀린 모이어티상의 히드록실 또는 에테르기에 부착된 링커로서 유도체화됨);

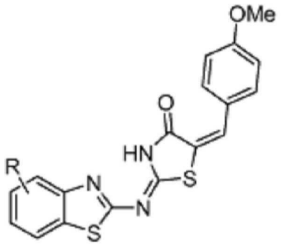
[0742] 27. 알로스테릭 단백질 티로신 포스파타제 억제제 PTP1B (유도체화됨):



[0743]

[0744] 예를 들어, 표시된 바와 같이 R에 링커가 부착되어 유도체화됨;

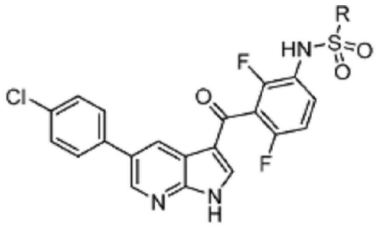
[0745] 28. 티로신 포스파타제의 SHP-2 도메인 억제제 (유도체화됨):



[0746]

[0747] 예를 들어, R에서 링커가 부착되어 유도체화됨;

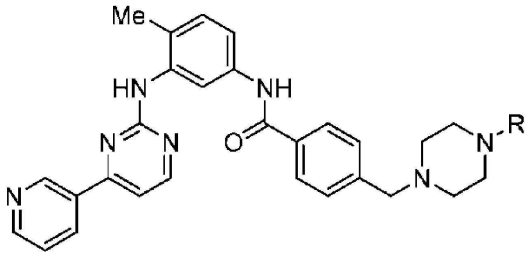
[0748] 29. BRAF (BRAF^{V600E})/MEK의 억제제 (유도체화됨):



[0749]

[0750] 예를 들어, R에서 링커가 부착되어 유도체화됨;

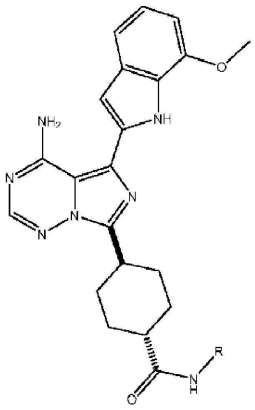
[0751] 30. 티로신 키나제 ABL의 억제제 (유도체화됨)



[0752]

[0753] 예를 들어, R에서 링커가 부착되어 유도체화됨;

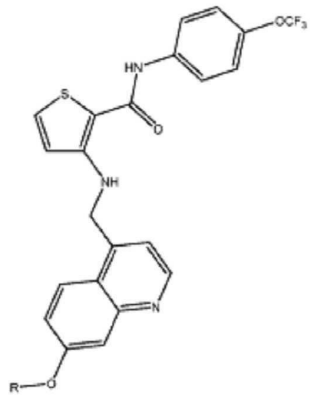
[0754] 31. 키나제 억제제 OSI-027 (유도체화됨) mTORC1/2 억제제



[0755]

[0756] 예를 들어, R에서 링커가 부착되어 유도체화됨;

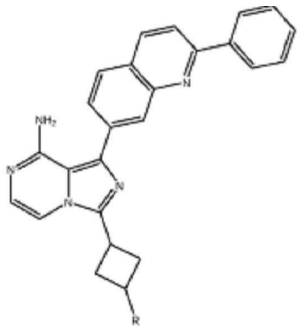
[0757] 32. 키나제 억제제 OSI-930 (유도체화됨) c-Kit/KDR 억제제



[0758]

[0759] 예를 들어, R에 링커가 부착되어 유도체화됨; 및

[0760] 33. 키나제 억제제 OSI-906 (유도체화됨) IGF1R/IR 억제제



[0761]

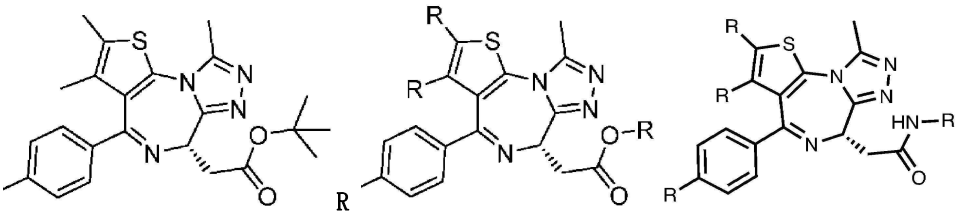
[0762] 예를 들어, R에서 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0763] ("R"이 피페라진 모이어티상에서 링커의 부착을 위한 부위를 나타내는 것으로서 유도체화됨).

[0764] **II. 인간 BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적으로 하는 화합물:**

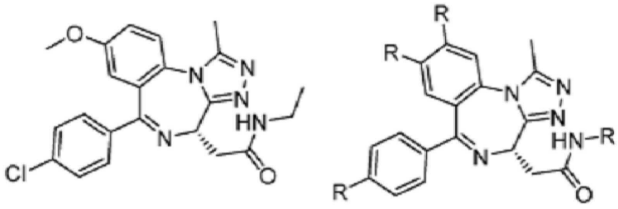
[0765] 인간 BET 브로모도메인-함유 단백질을 표적화하는 화합물은 아래에 기술된 바와 같은 표적과 관련된 화합물을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 여기서 "R"은 링커 부착을 위한 부위를 나타내고 예컨대 다음과 같다:

[0766] JQl, Filippakopoulos et al. Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature* (2010):



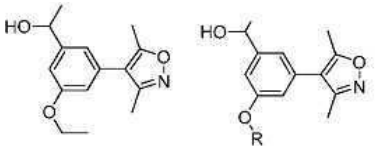
[0767]

[0768] 2. I-BET, Nicodeme et al. Supression of Inflammation by a Synthetic Histone Mimic. *Nature* (2010). Chung et al. Discovery and Characterization of Small Molecule Inhibitors of the BET Family Bromodomains. J. Med Chem. (2011):



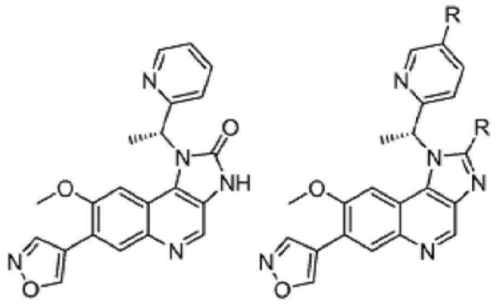
[0769]

[0770] 3. Compounds described in Hewings et al. 3,5-Dimethylisoxazoles Act as Acetyl-lysine Bromodomain Ligands. *(2011, J. Med. Chem.54:6761-6770)*.



[0771]

[0772] 4. I-BET151, Dawson et al. Inhibition of BET Recruitment to Chromatin as an Effective Treatment for MLL-fusion Leukemia. *Nature (2011)*:

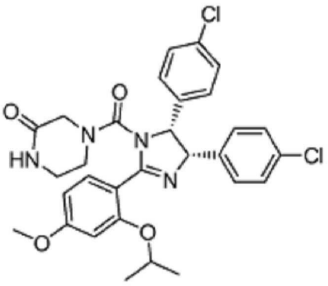
[0773] 

[0774] (여기서 R은 각 경우에 링커의 부착 부위를 지정한다.)

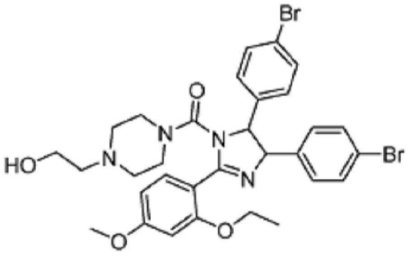
[0775] III. HDM2/MDM2 억제제 :

[0776] 본 발명의 HDM2/MDM2 억제제는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

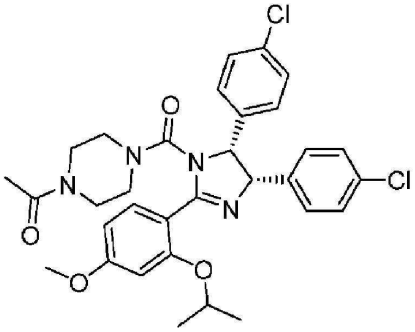
[0777] 1. *Vassilev et al., In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2*, (*2004, Science, 303844-848*), and Schneekloth, *et al., Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics*, (2008, *Biorg. Med. Chem. Lett.,18:5904-5908)*에서 확인되는 HDM2/MDM2 억제제, 여기서는 하기 기재된 바와 같은 화합물 nutlin-3, nutlin-2 및 nutlin-1 (유도체화됨), 뿐만 아니라 그의 모든 유도체 및 유사체을 포함한다:

[0778] 

[0779] (예를 들어 메톡시기 또는 히드록실기에서 링커가 부착되어 유도체화됨);

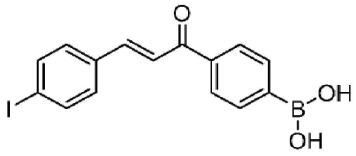
[0780] 

[0781] (예를 들어 메톡시기 또는 히드록실기에서 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0782] 

[0783] (예를 들어, 메톡시기를 통해 또는 히드록실기로서 링커가 부착되어 유도체화됨); 및

[0784] 2. 트랜스-4-요오도-4'-보라닐-칼콘



[0785]

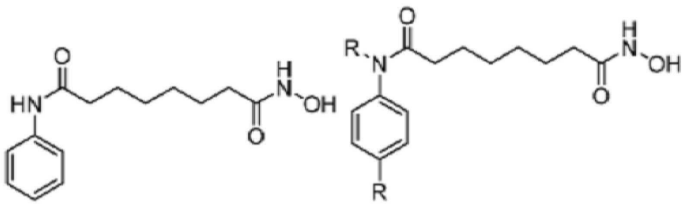
[0786] (예를 들어, 히드록시기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨).

[0787] **IV. HDAC 억제제 :**

[0788] HDAC 억제제 (유도체화됨)는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다:

[0789] 1. Finnin,M.S. et al. *Structures of Histone Deacetylase Homologue Bound*

[0790] *to the TSA and SAHA Inhibitors.* (1999, *Nature,* 40:188-193).



[0791]

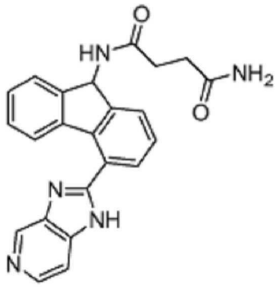
[0792] ("R"이 링커의 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화) 및

[0793] 2. PCT WO0222577 ("데아세틸라제 억제제")의 화학식 I로 정의된 화합물 (예를 들어, 히드록실기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨);

[0794] **V. 열충격 단백질 90 (HSP90) 억제제:**

[0795] 본 발명에 따라 유용한 HSP90 억제제는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

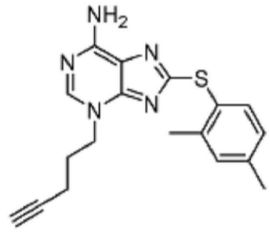
[0796] 1. Vallee, *et al.,* "Tricyclic Series of Heat Shock Protein 90 (HSP90) Inhibitors Part I: Discovery of Tricyclic Imidazo[4,5-C]Pyridines as Potent Inhibitors of the HSP90 Molecular Chaperone (*2011, J.Med.Chem., 54:7206)*에서 확인된 HSP90 억제제로서 YKB (N-[4-(3H-이미다조[4,5-C]피리딘-2-일)-9H-플루오렌-9-일]-숙신 아미드)를 포함:



[0797]

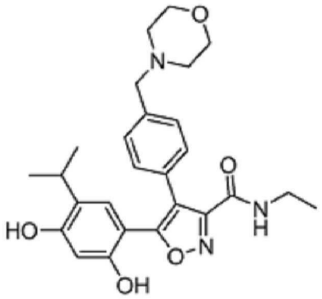
[0798] 예를 들어 말단 아미드기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0799] 2. HSP90 억제제 p54 (개질됨) (8-[(2,4-디메틸페닐)설파닐]-3]펜트-4-인-1-일-3H-푸린-6-아민):

[0800] 

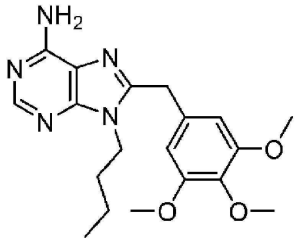
[0801] 예를 들어 말단 아세틸렌기를 통해 링커가 부착되어 있음;

[0802] 3. HSP90 억제제 (개질됨), Brough, *et al.*, "4,5- Diarylisoxazole HSP90 Chaperone Inhibitors: Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer", (*2008,]. Med.Chem., 51:196*)에서 확인되는 것으로서, 다음 구조를 갖는 화합물 2GJ (5-[2,4- dihydroxy-5-(1-methylethyl)phenyl]-n-ethyl-4-[4-(morpholin-4-ylmethyl)phenyl]isoxazole- 3-carboxamide) 포함:

[0803] 

[0804] 예를 들어, 아미드기를 통해 (아민에서 또는 아민의 알킬기에서) 링커가 부착되어 유도체화됨;

[0805] 4. HSP90 억제제 (개질됨) Wright, *et al.*, Structure- Activity Relationships in Purine-Based Inhibitor Binding to HSP90 Isoforms, *(2004 Jun., Chem Biol. 11(6):775-85)*, 에서 확인되는 것으로서 다음 구조를 갖는 HSP90 억제제 PU3 포함:

[0806] 

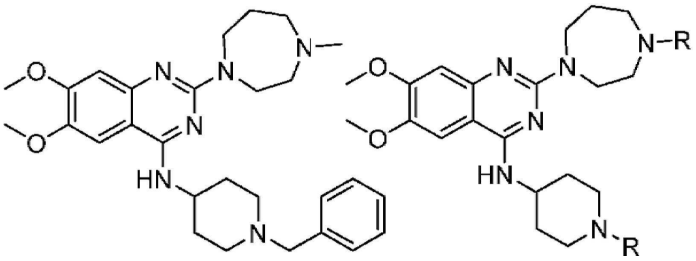
[0807] 여기서는 예를 들어 부틸기를 통해 링커가 부착되어 있음; 및

[0808] 5. HSP90 억제제 겔다나마이신(geldanamycin) ((4E,6Z,8S,9S,10E,12S,13R,14S,16R)-13-히드록시-8,14,19-트리메톡시-4,10,12,16- 테트라메틸-3,20,22-트리옥소-2-아자비시클로[16.3. 1] (유도체화됨) 또는 그의 임의의 유도체 (예를 들어 17-알킬아미노-17-데스메톡시겔다나마이신("17- AAG") 또는 17-(2-디메틸아미노에틸)아미노-17-데스메톡시겔다나마이신 ("17-DMAG")) (예를 들어 아미드기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨).

[0809] **VI. 인간 라이신 메틸트랜스페라제:**

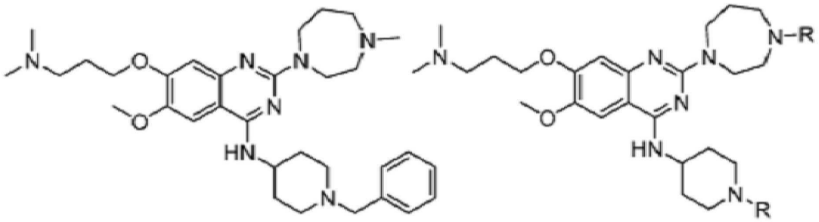
[0810] 인간 라이신 메틸트랜스페라제 억제제는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

[0811] 1. Chang et al. Structural Basis for G9a-Like protein Lysine Methyltransferase Inhibition by BIX-1294 *(2009, Nat. Struct. Biol.,16(3):312)*.

[0812] 

[0813] ("R"은 예를 들어 링커의 부착을 위한 부위를 저정하고 유도체화됨);

[0814] 2. Liu, F. et al Discovery of a 2,4-Diamino-7-aminoalkoxyquinazoline as a Potent and Selective Inhibitor of Histone Methyltransferase G9a. *(2009, J. Med. Chem.,52(24):7950)*.

[0815] 

[0816] ("R"은 예를 들어 링커의 부착을 위한 잠재적 부위를 저정하고 유도체화됨);

[0817] 3. 아자시티딘 (유도체화됨) (4-아미노-1-D-리보푸라노실-1,3,5-트리아진-2(1H)-온) (예를 들어, 히드록시 또는 아미노기를 통해 링커가 부착되어 유도체화됨); 및

[0818] 4. 데시타빈 (유도체화됨) (4-아미노-1-(2-데옥시-b-D-에리트로-펜토푸라노실) -1,3,5-트리아진-2(1H)-온) (예를 들어, 히드록시기 또는 아미노기를 통하여 링커가 부착되어 유도체화됨).

[0819] **VII. 혈관 신생 억제제 (Angiogenesis Inhibitors) :**

[0820] 혈관 신생 억제제에는 다음이 포함되지만 이에 국한되지는 않는다:

[0821] 1. GA-1 (유도체화됨) 및 이의 유도체 및 유사체, Sakamoto, *et al.,* Development of Protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation, *(2003 Dec.,Mol. Cell Proteomics,2(12):1350-1358)*에 기재된 바와 같은 구조 및 링커에 대한 결합을 갖고 있음;

[0822] 2. 에스트라디올 (유도체화됨), 이는 Rodriguez-Gonzalez, et al., Targeting steroid hormone receptors for ubiquitination and degrading in breast and prostate cancer, (2008, *Oncogene* 27 : 7201-7211)에 일반적으로 설명된 링커에 결합될 수 있는 것임;

[0823] 3. 에스트라디올, 테스토스테론 (유도체화됨) 및 관련 유도체로서 DHT 및 그것의 유도체 및 유사체를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, Sakamoto, *et al.,* Development of Protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation, *(2003 Dec., Mol. Cell Proteomics, 2(12):1350-1358)* 에 일반적으로 기재된 바와 같은 구조 및 링커에 대한 결합을 갖고 있음; 및

[0824] 4. 오발리신, 푸마길린 (유도체화됨), 및 그것들의 유도체 및 유사체로서 Sakamoto, et al., Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1- Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation *(2001 Jul., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98(15):8554-8559)* 및 미국특허 제 7,208,157호에 일반적으로 기재된 바와 같은 구조 및 링커에 대한 결합을 갖고 있음.

[0825] **VIII. 면역 억제 화합물 (Immunosuppressive Compounds) :**

[0826] 면역 억제 화합물에는 다음이 포함되지만 이에 국한되지는 않는다:

[0827] 1. AP21998 (유도체화됨), 이는 Schneekloth, *et al.,* Chemical Genetic Control of Protein Levels: Selective in Vivo Targeted Degradation *(2004, J. Am. Chem. Soc., 126:3748-3754)*에 일반적으로 기재된 바와 같은 구조 및 링커에 대한 결합을 갖고 있음;

[0828] 2. 글루코코르티코이드 (예를 들어, 히드로코르티손, 프레드니손, 프레드니솔론 및 메틸프레드니솔론) (예를 들어 임의의 히드록실에 링커가 결합되어 유도체화됨) 및 베클로메타손 디프로피오네이트 (예를 들어 프로피오네이트에 링커가 결합되어 유도체화됨);

[0829] 3. 메토트렉세이트 (예를 들어 말단 히드록실 중 하나에 링커가 결합될 수 있고 유도체화됨);

[0830] 4. 시클로스포린 (예를 들어 부틸기 중 하나에서 링커가 결합될 수 있고 유도체화됨);

[0831] 5. 타크로리무스 (FK-506) 및 라파마이신 (예를 들어 메톡시기 중 하나에서 링커기가 결합될 수 있고 유도체화됨); 및

[0832] 6. 악티노마이신 (예를 들어 이소프로필기 중 하나에서 링커가 결합될 수 있고 유도체화됨).

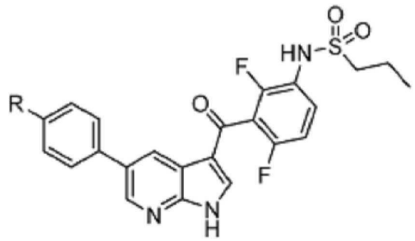
[0833] **IX. 아릴 탄화수소 수용체 (AHR)를 표적으로하는 화합물:**

[0834] 아릴 탄화수소 수용체 (AHR)를 표적으로하는 화합물은 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

[0835] 1. 아피게닌 (Apigenin) (Lee, et al., Targeted Degradation of the Aryl Hydrocarbon Receptor by the PROTAC Approach: A Useful Chemical Genetic Tool, ChemBioChem Volume 8, Issue 17, pages 2058-2062, November 23, 2007에 일반적으로 설명된대로 링커에 결합하는 방식으로 유도체화됨); 및

[0836] 2. SR1 및 LGC006 (Boitano, *et al.*, Aryl Hydrocarbon Receptor Antagonists Promote the Expansion of Human Hematopoietic Stem Cells *(2010 Sep., Science, 329(5997):1345-1348* 에 일반적으로 설명된대로 링커가 결합하도록 유도체화됨).

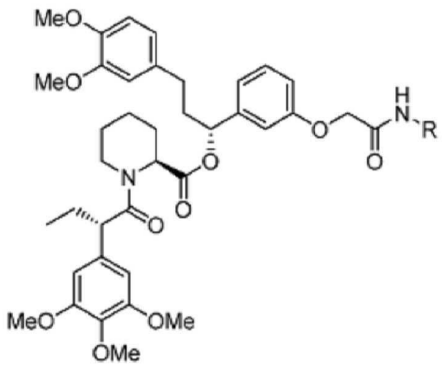
[0837] **X. RAF 수용체 (키나제)를 표적으로하는 화합물:**

[0838] 

[0839] PLX4032

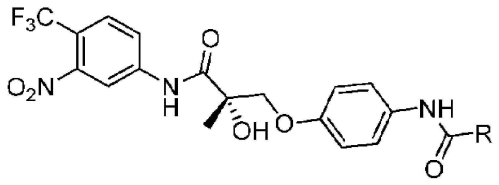
[0840] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨).

[0841] **XI. FKBP를 표적으로하는 화합물:**

[0842] 

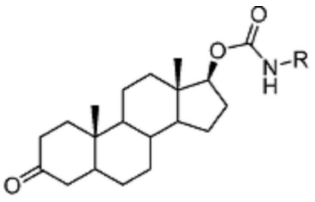
[0843] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨).

[0844] 2. 안드로겐 수용체의 SARM 리간드 (유도체화됨)

[0845] 

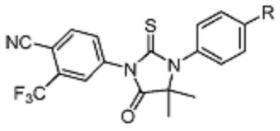
[0846] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨).

[0847] 3. 안드로겐 수용체 리간드 DHT (유도체화됨)

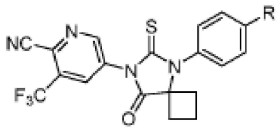
[0848] 

[0849] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨).

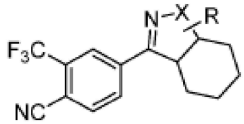
[0850] 4. MDV3100 리간드 (유도체화됨)

[0851] 

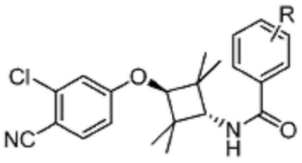
[0852] 5. ARN-509 리간드 (유도체화됨)

[0853] 

[0854] 6. 헥사히드로벤즈이속사졸

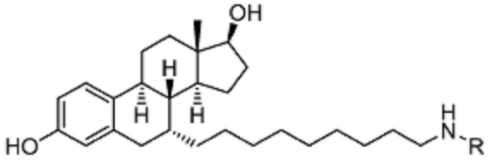
[0855] 

[0856] 7. 테트라메틸시클로부탄

[0857] 

[0858] <u>XIII. 에스트로겐 수용체 (ER) ICI-182780을 표적으로 하는 화합물</u>

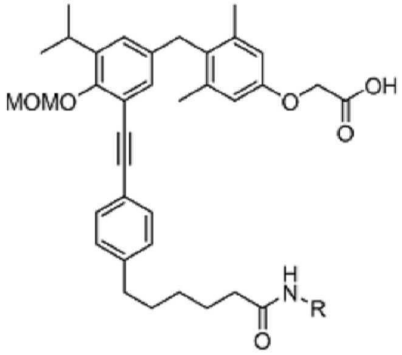
[0859] 1. 에스트로겐 수용체 리간드

[0860] 

[0861] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨).

[0862] **XIV. 갑상선 호르몬 수용체 (TR)를 표적으로 하는 화합물**

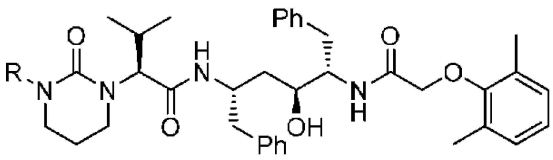
[0863] 1. 갑상선 호르몬 수용체 리간드 (유도체화됨)

[0864] 

[0865] ("R"이 링커 부착 부위를 지정하고 MOMO가 메톡시메톡시기를 나타내어 유도체화됨).

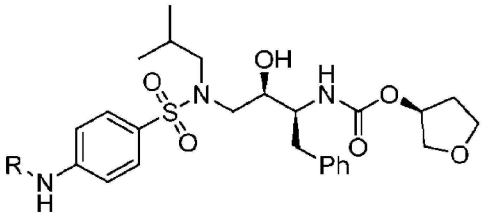
[0866] **XV. HIV 프로테아제를 표적으로하는 화합물**

[0867] 1. HIV 프로테아제의 억제제 (유도체화됨)

[0868] 

[0869] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨). 2010, *J. Med. Chem.*, 53:521-538 참조.

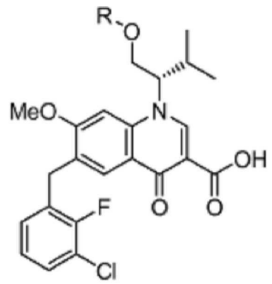
[0870] 2. HIV 프로테아제의 억제제

[0871] 

[0872] ("R"이 링커 부착을 위한 잠재적 부위를 지정하여 유도체화됨). *2010, J. Med. Chem.*, 53 : 521-538참조.

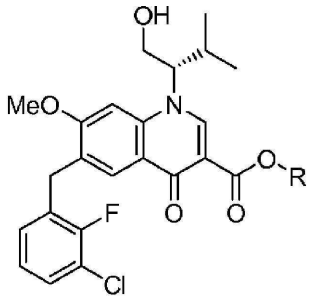
[0873] **XVI. HIV 인테그라제를 표적으로하는 화합물**

[0874] 1. HIV 인테그라제의 억제제 (유도체화됨)

[0875] 

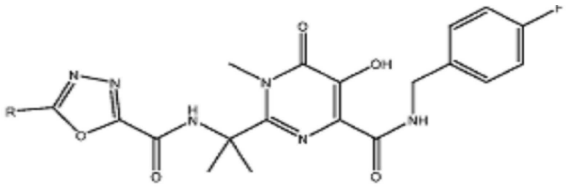
[0876] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨). 2010, *J. Med. Chem.*,53:6466참조.

[0877] 2. HIV 인테그라제의 억제제 (유도체화됨)



[0878]

[0879] 3. HIV 인테그라제 Isetntress의 억제제 (유도체화됨)

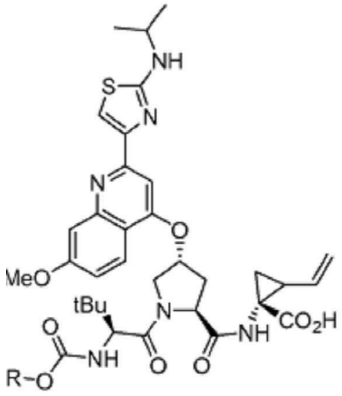


[0880]

[0881] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨). 2010, *J. Med. Chem.*, 53:6466참조.

[0882] **XVII. HCV 프로테아제를 표적으로하는 화합물**

[0883] 1. HCV 프로테아제의 억제제 (유도체화됨)

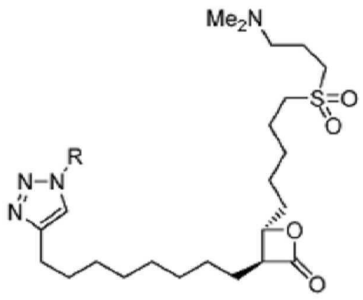


[0884]

[0885] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨).

[0886] **XVIII. 아실-단백질 티오에스테라제-1 및 -2 (APT1 및 APT2)를 표적으로하는 화합물**

[0887] 1. APT1 및 APT2의 억제제 (유도체화됨)



[0888]

[0889] ("R"이 링커 부착을 위한 부위를 지정하여 유도체화됨). 2011, *Angew. Chem. Int. Ed.*,50:9838-9842 참조.

[0890] **표적 단백질**

[0891] 본 발명에 따라 유용한 "표적 단백질"은 세포에서 증가된 단백질분해를 위해 관련분야의 통상의 기술자에 의해 선택된 단백질 또는 폴리펩티드를 포함한다.

[0892] 본 발명에 따라 유용한 표적 단백질은 단백질 또는 펩티드를 포함하되, 이의 단편, 이의 유사체 및/또는 이의 상동체를 포함한다. 표적 단백질은 구조적, 조절적, 호르몬적, 효소적, 유전적, 면역학적, 수축성, 저장, 수송, 및 신호 전달을 포함하는 생물학적 기능 또는 활성을 갖는 단백질 및 펩티드를 포함한다. 특정 구체예에서, 표적 단백질은 구조적 단백질, 수용체, 효소, 세포 표면 단백질, 촉매 활성, 아로마타제 활성, 운동 활성, 헬리카제 활성, 대사 과정 (동화 작용 및 이화 작용), 항산화 활성, 단백질분해, 생합성, 키나제 활성 단백질, 산화환원 효소 활성, 전이 효소 활성, 가수 분해 효소 활성, 리아제 활성, 이성체화 효소 활성, 리가제 활성, 효소 조절 활성, 신호 전달 활성, 구조 분자 활성, 결합 활성 (단백질, 지질 탄수화물), 수용체 활성, 세포 운동성, 막 융합, 세포 소통, 생물학적 과정 조절, 발달, 세포 분화, 자극에 대한 반응, 행동 단백질, 세포 부착 단백질, 세포 사멸에 관여하는 단백질, 수송에 관련된 단백질 (단백질 수송자 활성, 핵 수송, 이온 수송자 활성, 채널 수송자 활성 포함), 담체 활성, 투과 효소 활성, 분비 활성, 전자 수송자 활성, 발병기전 (pathogenesis), 샤페론 조절자 활성, 핵산 결합 활성, 전사 조절자 활성, 세포 외 조직 및 생물 발생 활성, 번역 조절자 활성을 포함한다. 관심 단백질은 미생물, 바이러스, 진균 및 기생충을 포함하는, 인간, 기타 동물을 포함하는, 가축, 미생물, 바이러스, 진균 및 기생충을 포함하는 진핵 생물 및 원핵 생물, 특히 약물 요법의 표적으로부터의 단백질을 포함한다.

[0893] 표적 단백질은 또한 인간 치료 약물에 대한 표적을 포함한다. 여기에는 예를 들어 B7.1 및 B7, TNFR1, TNFR2, NADPH 산화 효소, Bcll/Bax 및 세포 사멸(apoptosis) 경로의 다른 파트너들, C5a 수용체, HMG-CoA 환원 효소, PDE V 포스포디에스테라제 유형, PDE IV 포스포디에스테라 제 4 형, PDE I, PDEII, PDEIII, 스쿠알렌 시클라제 억제제, CXCR1, CXCR2, 산화 질소 (NO) 합성효소, 사이클로-옥시게나제 1, 사이클로-옥시게나제 2, 5HT 수용체, 도파민 수용체, G 단백질, 즉, Gq, 히스타민 수용체, 5-리폭시게나제, 트립타제 세린 프로테아제, 티미딜레이트 합성효소, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제, 트리파노좀의 GAPDH, 글리코겐 포스포릴라제, 탄산 탈수효소, 케모카인 수용체, JAK STAT, RXR 및 유사체, HIV 1 프로테아제, HIV 1 인테그라제 , 인플루엔자, 뉴라미미다제, B 형 간염 역전사 효소, 나트륨 채널, 다중 약물 내성 (MDR), 단백질 P-당단백질 (및 MRP), 티로신 키나제, CD23, CD124, 티로신 키나제 p56 lck, CD4, CD5, IL-2 수용체, IL-1 수용체, TNF-alphaR , ICAM1, Cat+ 채널, VCAM, VLA-4 인테그린, 셀렉틴, CD40/CD40L, 뉴오키닌 및 수용체, 이노신 모노포스페이트 탈수소 효소, p38 MAP 키나제, Ras/Raf/MEK/ERK 경로, 인터루킨-1 전환 효소, 카스파 제, HCV, NS3 프로테아제, HCV NS3 RNA 헬리카제, 글리시나미드 리보뉴클레오티드 포르밀 트랜스페라제, 리노바이러스 3C 프로테아제, 단순 헤르페스 바이러스-1 (HSV-I), 프로테아제, 사이토메갈로바이러스 (CMV) 프로테아제, 폴리 (ADP-리보스)폴리메라제, 사이클린 의존성 키나제, 혈관 내피 성장 인자, 옥시토신 수용체, 마이크로솜 전달 단백질 억제제, 담즙산 수송 억제제, 5 알파 환원 효소 억제제, 안지오텐신 11, 글리신 수용체, 노르아드레날린 재흡수 수용체, 엔도텔린 수용체, 뉴로펩티드 Y 및 수용체, 에스트로겐 수용체, 안드로겐 수용체, 아데노신 수용체, 아데노신 키나아제 및 AMP 데아미나제, 퓨린성 수용체 (P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2X1-7), 파네실트랜스페라제, 제라닐제라닐 트랜스페라제, TrkA, NGF에 대한 수용체, 베타-아밀로이드, 티로신 키나제 Flk-IIKDR, 비트로넥틴 수용체, 인테그린 수용체, Her-21 neu, 텔로머라제 저해, 세포질 포스포리파제 A2 및 EGF 수용체 티로신 키나아제를 포함하여 다양한 다유전자성 질환에서 기능 복원에 사용될 수 있는 단백질을 포함한다. 추가적인 단백질 표적은 예를 들어, 엑디손 20-모노옥시게나제, GABA 게이트된 클로라이드 채널의 이온 채널, 아세틸콜린 에스테라제, 전압-민감성 나트륨 채널 단백질, 칼슘 방출 채널 및 클로라이드 채널을 포함한다. 또 다른 표적 단백질은 아세틸 -CoA 카르복실라제, 아데닐로숙시네이트 합성 효소, 프로토포르피리노겐 산화 효소, 및 에놀피루빌시키메이트-포스페이트 합성 효소를 포함한다.

[0894] 본 발명의 표적 결합 파트너는 또한 할로알칸 데할로게나제 효소일 수 있다. 클로로알칸 펩티드 결합 모이어티 (종종 C2-C10 알킬 할로기인 C1-C12)를 함유하는 본 발명에 따른 화합물은 2011년 12월 6일에 출원된 PCT/US2012/063401 및 2012년 6월 14일에 WO 2012/078559로 공개되었으며, 그 내용이 본 명세서에 참고로 포함되는 융합 단백질 또는 관련 진단 단백질에 사용되는 할로알칸 데할로게나제 효소를 저해 및/또는 분해하는데에 사용될 수 있다.

[0895] **본 발명에 따른 이중작용성 분자는 표적 단백질 결합 파트너 및 Rpn11의 결합 파트너를 포함한다.**

[0896] **Rpn11의 제공:**

[0897] Rpn11는 다음과 같이 제공할 수 있다. Rpn11은 효모 오르토로그와 동일한 방식으로 PSMD7(Rpn8)을 갖는 다이머

로서 발현된다(Worden et al, NSMB 2014; DOI: 10.1038/nsmb.2771 참조). GST- 및 헥사히스티딘-태그된, 전장 PSMD14 (각각 DU22812 및 DU22813)를 함유하는 플라스미드는 Dundee 대학의 신호 전달 및 치료학과 (Division of Signal Transduction and Therapeutics; DSTT)로부터 구입하였다. PSMD7에 대한 유전자(Rpn8, AKA)는 Addgene(플라스미드 #22558)으로부터 구입하였다. PCR 증폭되고 클로닝된 PSMD7 및 PSMD14의 도메인은 MPN(Mpr1, Pad1 N-말단) 또는 JAMM(JAB1/MPN/Mov34 메탈로효소) 도메인 및 C-말단 도메인을 포함한다. 이들 도메인의 부분은 또한 증폭되고 클로닝될 수 있다. 예를 들어, PSDM14의 잔기 2-243 및 PSMD7의 잔기 1-180을 PCR에 의해 증폭시키고, TEV-절단가능한 헥사히스티딘 태그를 함유하는 pCDFDuet™-1 (또는 동급) 벡터에 클로닝하였다.

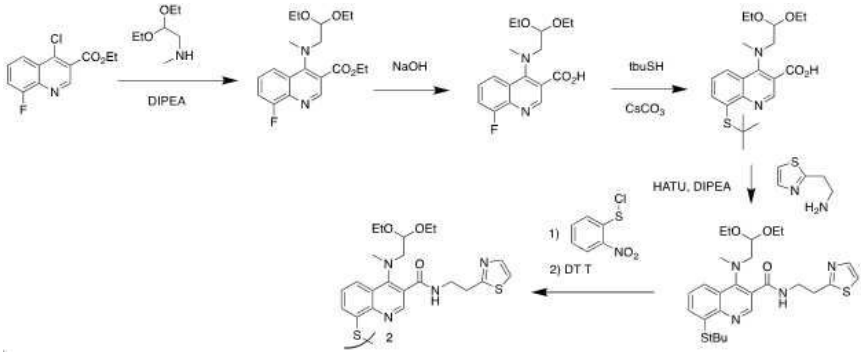
[0898] Rpn11은 당해업계에 공지된 방법에 따라 발현 및 정제될 수 있다. Rpn11을 발현하고 정제하는 방법은 다음 프로토콜을포함한다:

[0899] Rpn11을 발현하는 구조체를 대장균 BL21(DE3) 세포로 형질전환시키고, 약 0.8의 OD600이 달성될 때까지 37℃에서 성장시킨다. 이어서, 온도를 낮추고, IPTG의 첨가에 의해 단백질 발현을 유도한다. 세포를 유도 후 16시간에 수확하고 프로테아제 억제제를 함유하는 결합 완충액에 재현탁시킨다. 세포를 프렌치 프레스로 용해시킨 후, 원심분리에 의해 정화시킨다.

[0900] GST-태그된 단백질은 Lee et al, Sci Rep 2015; DOI: 10.1038/srep10757의 수정된 방법에 따라 정제한다. 글루타티온 세파로스 4B 수지를 사용한 친화성 크로마토그래피를 수행한다. GST-태그의 온-컬럼 절단(on-column cleavage)은 PreScission 프로테아제를 사용하여 수행한다. 생성된 단백질은 탈염 컬럼을 사용하여 저염 완충액으로 전달한다. 음이온 교환 크로마토그래피는 Resource Q (또는 동급) 컬럼을 사용하여 수행한 다음 Superdex75 16-600 (또는 동급) 컬럼을 사용하여 크기 배제 크로마토그래피를 수행한다.

[0901] His-태그된 단백질은 Worden et al, NSMB 2014; DOI: 10.1038/nsmb.2771로부터 수정된 방법을 통해 정제된다. Ni-NTA 수지를 사용한 친화성 크로마토그래피를 수행한다. 생성된 물질은 TEV 프로테아제로 밤새 절단한다. 두 번째 친화성 컬럼은 절단된 His 태그를 제거하는데에 사용한다. 결과 물질은 탈염 컬럼을 사용하여 저염 완충액으로 옮긴다. Resource Q (또는 동급) 컬럼을 사용한 음이온 교환 크로마토그래피를 수행한 다음 Superdex75 16-600 (또는 동급) 컬럼을 사용하는 크기 배제 크로마토그래피를 수행한다.

[0902] 컨쥬게이션을 위해 사용되는 Rpn11 결합 파트너는 또한 다음과 같이 합성할 수도 있다:



[0903]

[0904] **본 발명에 따른 유용한 링커**

[0905] 본 발명에 따른 유용한 링커는 표적 단백질 결합 파트너가 결합하는 표적의 분해를 생성된 분자가 유도할 수 있도록 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너를 연결한다. 하나의 구체예에서, 링커는 제 1 및 제 2 말단을 갖고, 한쪽 말단에서 Rpn11 결합 파트너에 공유결합되고 다른 말단에서는 표적 결합 파트너에 공유결합된다.

[0906] 링커의 제 1 및 제 2 말단은 대칭 또는 비대칭인 링커를 제공하기 위해 동일하거나 상이할 수 있다. 링커의 말단은 무엇보다 아미드, 옥심, 케토기, 탄소, 에테르, 에스테르, 카바메이트 중에서 선택된 작용기를 가질 수 있다. 링커는 하나 이상의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 갖는 PEG 링커, 하나 이상의 CH_2기를 포함하는 알킬 링커, 술폭시드, 고리, 예를 들어 페닐 고리 또는 피리미딘 고리, 트리아졸, 에테르, PEG 변이체를 및 이들의 조합을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 링커는 교대 (-CH_2-에틸렌 글리콜- 단위)를 포함한다.

[0907] 하나의 구체예에서 "링커"는 아민 및/또는 옥심 작용기를 가지며, 특히, 본 발명은 비대칭 연결을 제공하기 위

해 링커의 반대쪽 말단에 위치하는 아민 및 옥심 둘 다를 갖는 링커를 제공한다. 본 발명의 하나의 구체예에서, 링커는 절단 불가능한 직쇄 폴리머이다. 다른 구체예에서, 링커는 화학적으로 절단 가능한 직쇄 폴리머이다. 추가 구체예에서, 링커는 절단 불가능하고 선택적으로 치환된 탄화수소 폴리머이다. 또 다른 구체예에서, 링커는 광 불안정성의 선택적으로 치환된 탄화수소 폴리머이다.

[0908] 특정 구체예에서 링커는 1-12 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 예를 들어 1-10 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 1-8 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 2-12 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 2-8 개의 에틸렌글리콜 서브유닛, 3-8 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 3-6 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛 및 1 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 2 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 3 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 4 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 5 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 6 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 7 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 8 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 9 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 10 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛, 11 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛 또는 12 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 갖는 치환 또는 비치환된 폴리에틸렌 글리콜 링커이다..

[0909] 특정 구체예에서 링커는 1-12 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 예를 들어 1-10개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 1-8 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 2-12 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 2-8개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 3-8개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 3-6 개의 $-CH_2-$ 서브유닛 및 1 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 2 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 3 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 4 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 5 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 6 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 7 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 8 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 9 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 10 개의 $-CH_2-$ 서브유닛, 11 개의 $-CH_2-$ 서브유닛 또는 12 개의 $-CH_2-$ 서브유닛을 갖는 치환 또는 비치환된 알킬 링커이다.

[0910] 링커는 링커를 따라 임의의 지점에서 O, P, S, N 또는 Si 원자를 포함하는 치환된 PEG 링커 또는 치환된 알킬 링커를 포함할 수 있다. 링커는 또한 링커를 따라 임의의 지점에서 아릴, 알킬렌, 알킬, 벤질, 헤테로사이클, 트리아졸, 술폭시드 또는 페닐기의 조합으로 치환될 수 있다.

[0911] 일부 구체예에서, 링커는 PEG 서브유닛 및 알킬-에테르 사슬의 조합, 예를 들어, $(-(CH_2CH_2)_{1-11}-O-(CH_2CH_2)_{1-11}-O-)$ 또는 $(-(CH_2CH_2)_{1-11}-O-)$ 등...을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 CH2 서브유닛 및 산소의 조합, 예를 들어 알킬-에테르, $(-(CH_2)_{1-11}-O-(CH_2)_{1-11}-O-)$ 또는 $(-(CH_2)_{1-11}-O-)$ 등...을 포함한다. 일부 구체예에서 링커는 PEG 서브유닛 및 고리 구조의 조합을 포함한다. 다른 구체예에서, 링커는 CH2 서브유닛과 고리 구조의 조합을 포함한다.

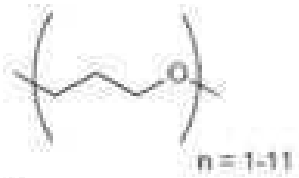
[0912] 링커는 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너가 18-95Å, 예를 들어 2-4 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커의 경우 18-25Å, 4-6 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커의 경우 25-33Å, 6-8 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커의 경우 33-39Å, 8-12 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커의 경우 39-53Å, 및 12-24 개의 에틸렌 글리콜 서브유닛을 포함하는 링커의 경우 53 내지 95Å 의 거리만큼 분리되도록 하는 길이이다. 하나의 구체예에서, 링커를 통해 연결된 본 발명의 이중작용성 분자의 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너는 2 개의 원자, 3 개의 원자, 4 개의 원자, 5 개의 원자, 6 개의 원자, 7 개의 원자, 8 개의 원자, 9 개의 원자, 10 개의 원자, 11 개의 원자, 12 개의 원자, 13 개의 원자, 14 개의 원자, 15 개의 원자, 16 개의 원자, 17 개의 원자, 18 개의 원자, 19 개의 원자, 20 개의 원자, 21 개의 원자, 22 개의 원자, 23 개의 원자, 24 개의 원자, 25 개 원자, 26 개 원자, 27 개 원자, 28 개 원자, 29 개 원자, 30 개 원자. 원자 40 개의 원자, 원자 50 개의 원자, 원자 60 개의 원자, 70 개의 원자, 80 개의 원자, 90 개 이상의 원자 거리만큼 분리되어 있을 수 있다.

[0913] 본 발명에 따른 유용한 링커의 길이, 안정성 및 유연성은 본 발명에 따른 이중작용성 분자의 두 결합 파트너 사이에 주어진 간격 또는 거리를 허용하고; 차례로, 주어진 분자의 두 결합 파트너 사이의 간격은 이중작용성 분자에 의해 결합된 표적 단백질이 표적 단백질의 분해를 용이하게하는 구조를 가정하도록 허용한다.

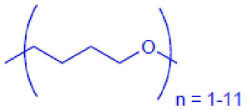
[0914] 본 발명에 따른 링커는 순수한 물질 또는 용액으로 저장될 때 분해 또는 절단을 겪지 않는다면 안정한 것으로 간주된다. 본 발명에 따른 링커는 대사되지 않으면 생물학적으로 안정한 것으로 간주된다..

[0915] 특정 구체예에서, 결합 파트너는 하나 이상의 링커를 통해 연결된다. 일부 구체예에서, 결합 파트너는 공유결합에 의해 직접 연결되고; 이러한 직접 연결은 "링커"라는 용어 내에 있다.

[0916] 본 발명에 따라 유용한 링커는 다음을 포함하지만 이에 제한되지 않는다:

[0917] 

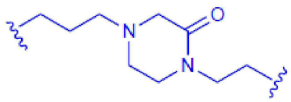
[0918] 또는

[0919] 

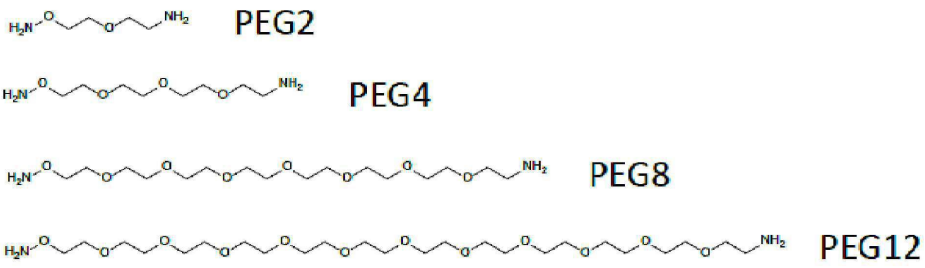
[0920] 및 이들의 조합, 예를 들어,

[0921] 

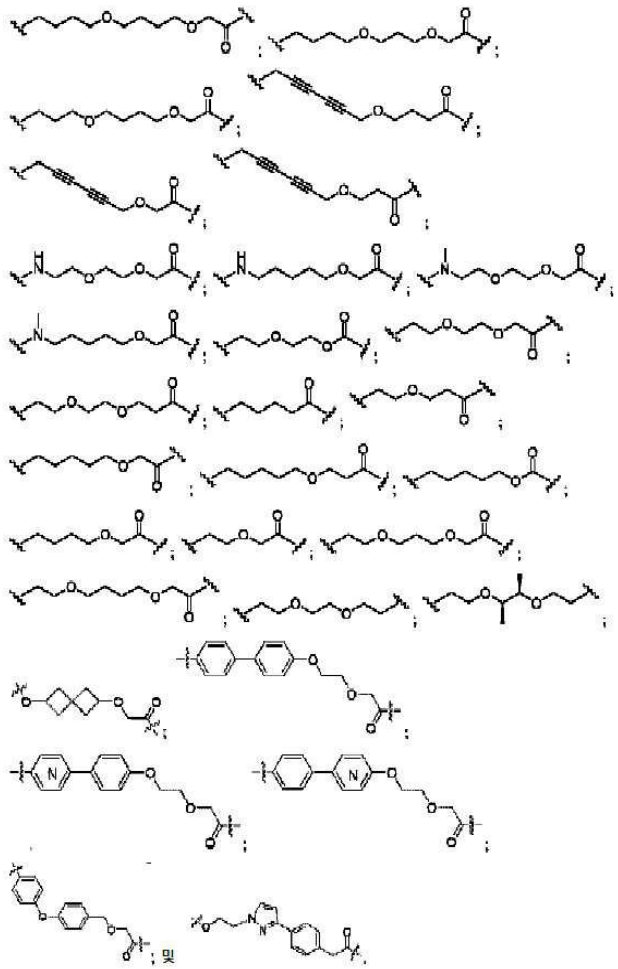
[0922] 본 발명에 따른 링커는 예를 들어 다음과 같은 고리 구조를 포함할 수 있다.

[0923] 

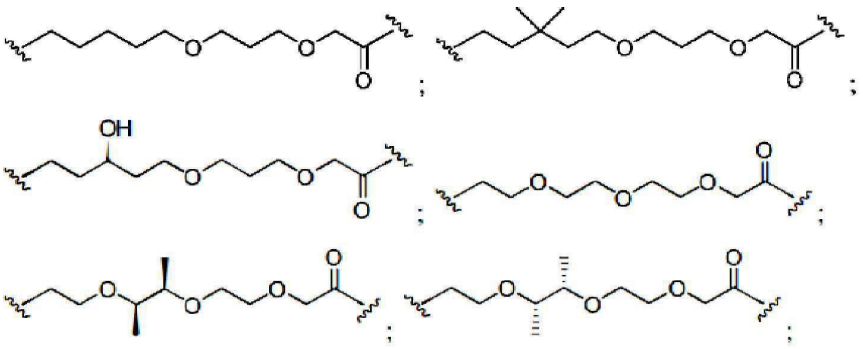
[0924] 본 발명에 따라 유용한 링커는 한 말단에 옥심을 갖고 다른 말단에 아민을 갖는 PEG 링커, 예를 들어 다음과 같은 것을 포함할 수 있다.

[0925] 

[0926] 본 발명에 따른 링커는 다음으로부터 선택된 링커를 포함할 수 있다:

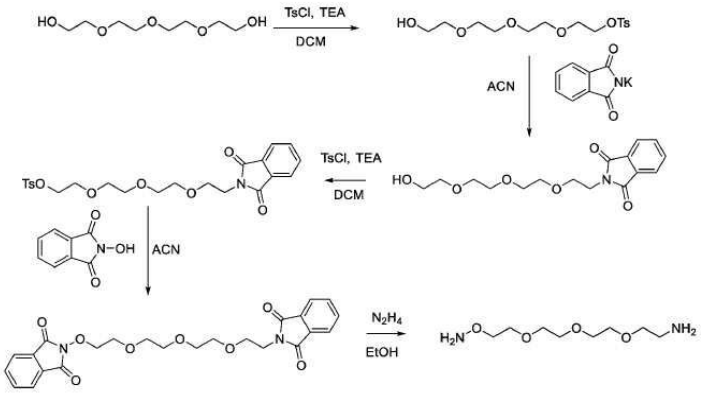


[0927]



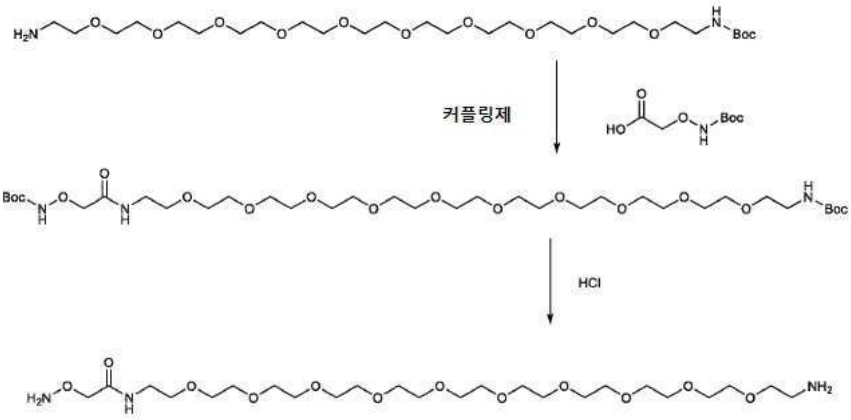
[0928]

[0929] 본 발명에 따른 링커는 PEG를 모노-토실화한 다음 90 ℃에서 DMF 또는 ACN에서 칼륨 팔리이미드와 모노-토실화 PEG를 반응시켜 제조할 수 있다. 그 반응의 생성물은 토실화 또는 메실화되고 염기로서 TEA의 존재하에 N-히드록시 프탈리이미드와 반응한다. 최종 탈보호는 환류 에탄올에서 과량의 히드라진 수화물로 처리하여 달성할 수 있다.



[0930]

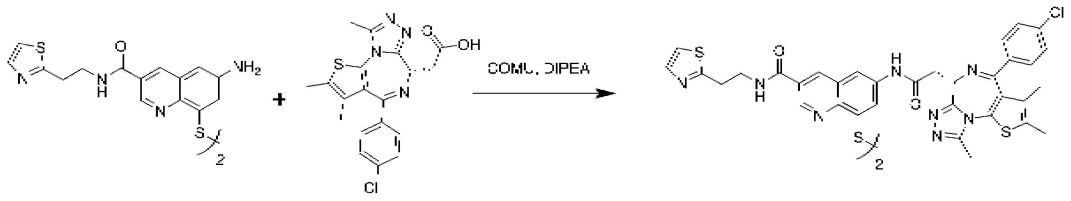
[0931] 본 발명에 따른 링커는 또한 모노-BOC 보호 PEG 아민을 Boc-아미노옥시아세트산 및 아미드 커플링 시약과 반응시켜 제조할 수 있다. 생성물은 예를 들어, HCl의 존재하에 탈보호된 산이다.



[0932]

[0933] 본 발명은 이중작용성 분자를 제공하는데, 여기서는 결합 파트너가 직접 연결되고 예를 들어, 다음과 같이 합성되는 것이다:

[0934] *Rpn11-BET* 표적화 컨쥬게이트의 합성 :



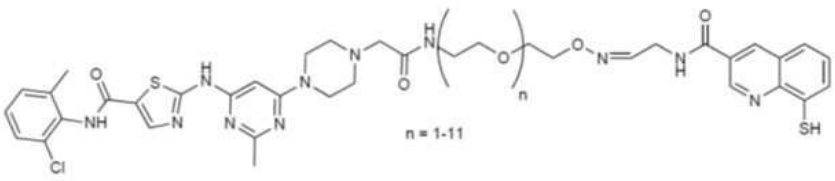
[0935]

[0936] **예시적인 분자**

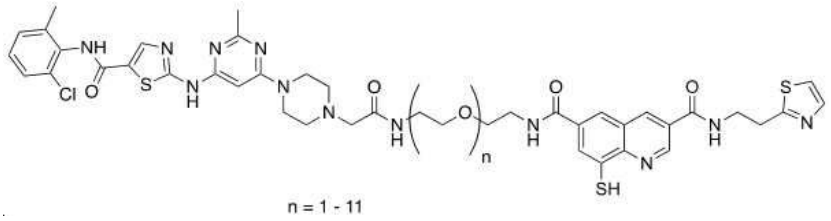
[0937] 본 발명은 예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 Rpn11 결합 파트너 및 표적 단백질 결합 파트너를 갖는 분자를 제공한다.

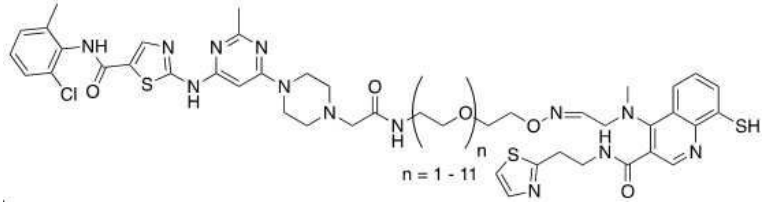
[0938] *Rpn11 결합 파트너를 포함하는 키나아제-표적화 분자*

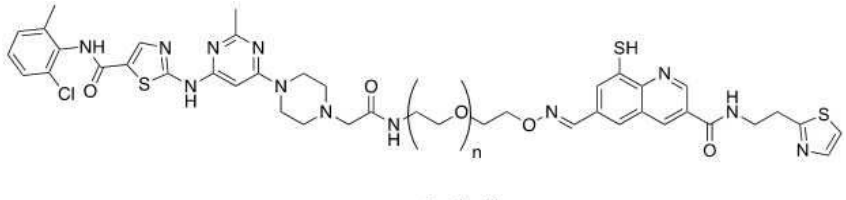
[0939] 본 발명은 Rpn11 결합 파트너 및 키나아제-표적화 파트너를 포함하는 분자를 제공한다. 예시적인 구조는 다음과 같다.

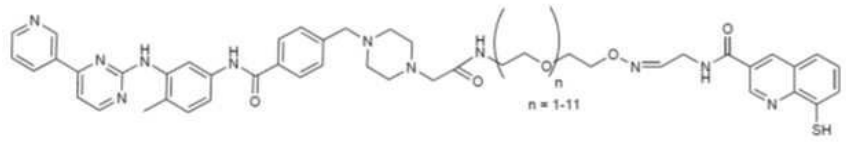


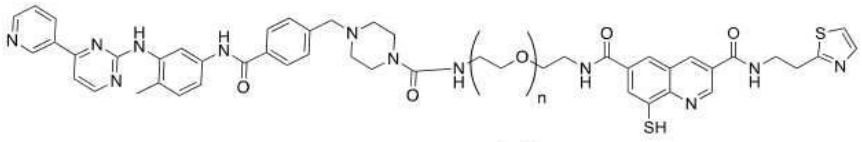
[0940]

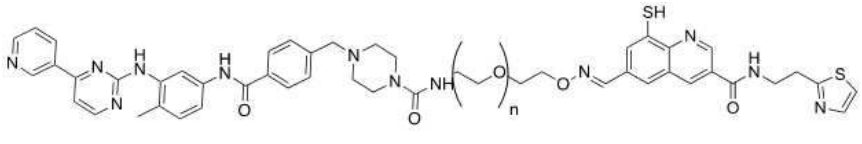
[0941] 

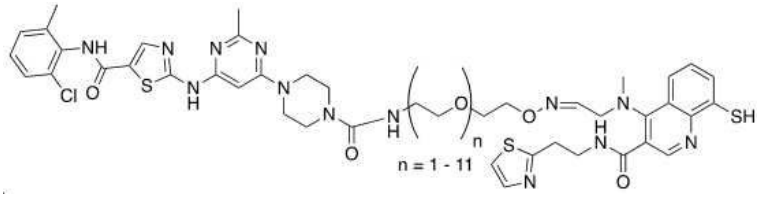
[0942] 

[0943] 

[0944] 

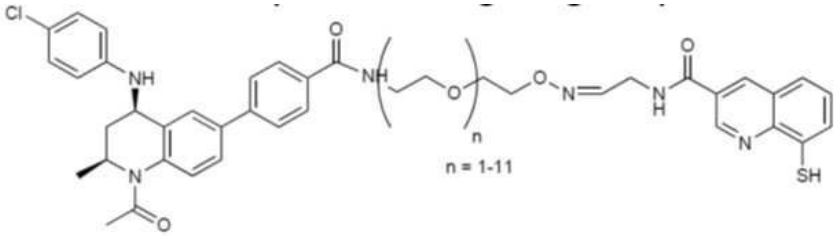
[0945] 

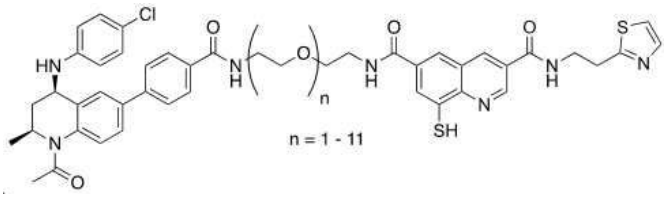
[0946] 

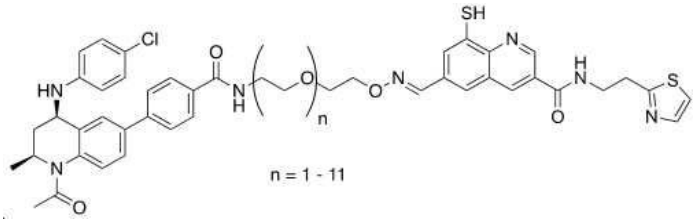
[0947] 

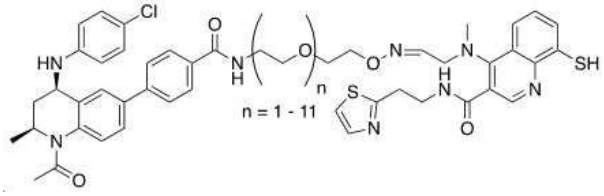
[0948] *Rpn11 결합 파트너를 포함하는 BET-표적화 분자*

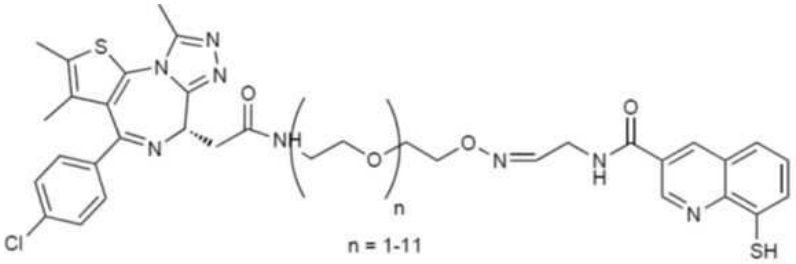
[0949] 본 발명은 Rpn11 결합 파트너 및 BET- 표적화 파트너를 포함하는 분자를 제공한다. 예시적인 구조는 다음과 같다.

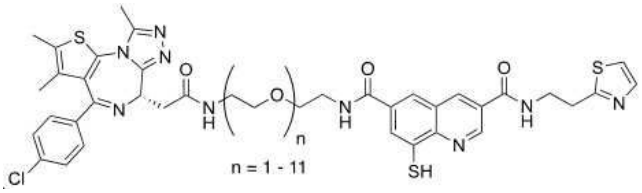
[0950] 

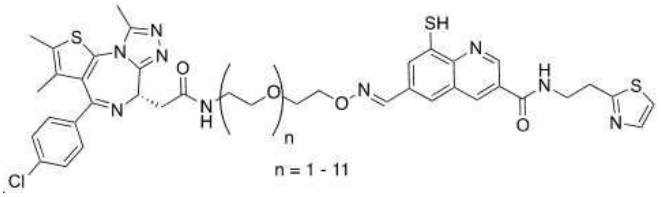
[0951] 

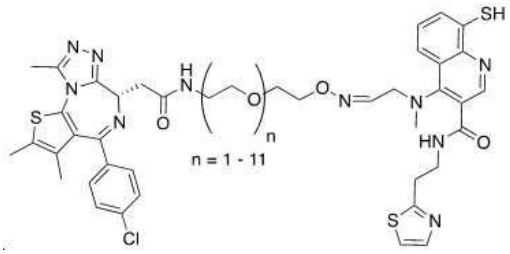
[0952] 

[0953] 

[0954] 

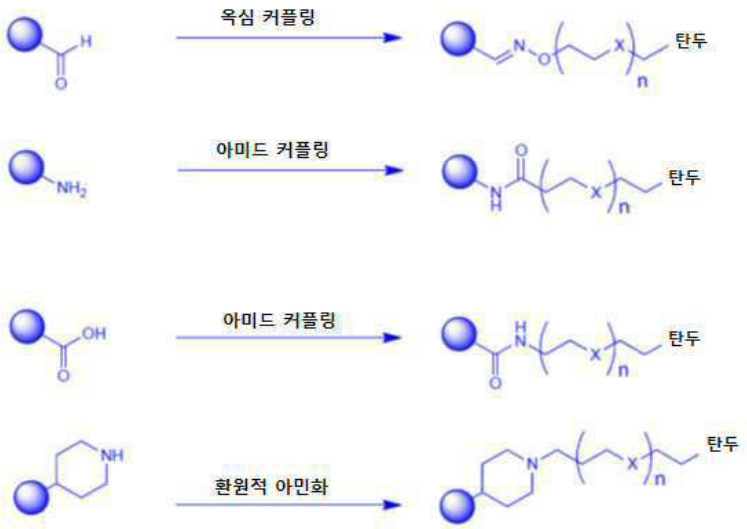
[0955] 

[0956] 

[0957] 

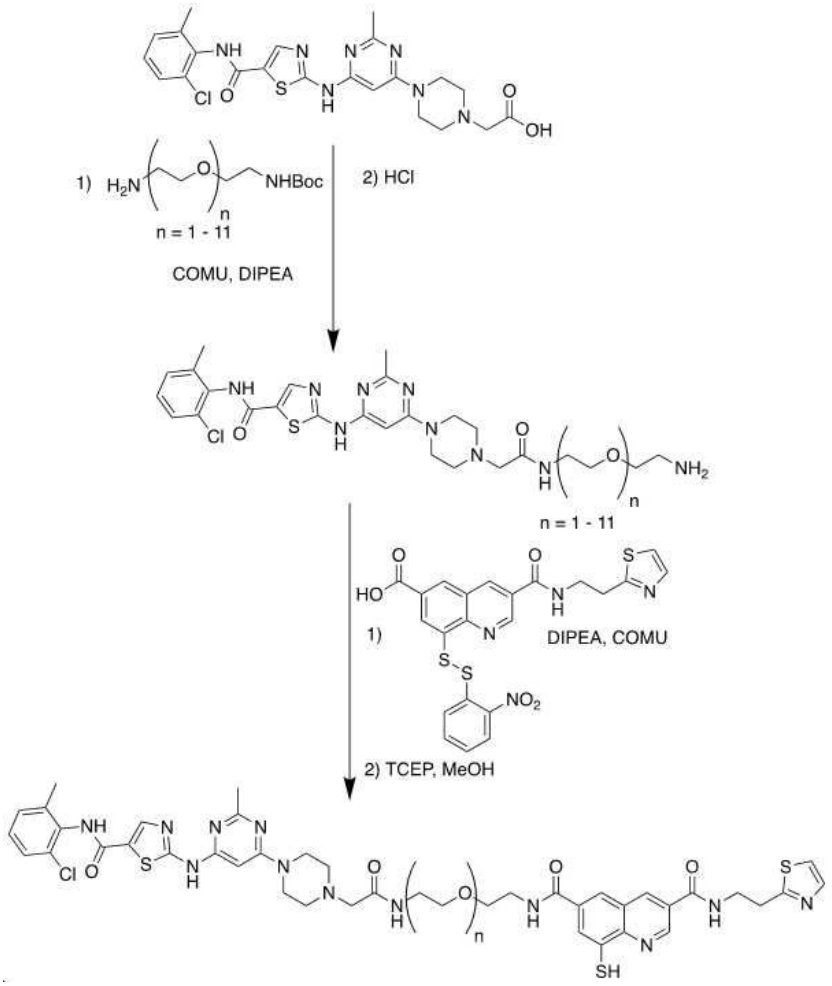
[0958] **합성 방법**

[0959] 당해 기술분야에 잘 알려진 합성 방법을 사용하여 본 발명의 분자를 합성한다. 본 발명의 분자는 예를 들어, 옥심, 아미드 커플링 또는 환원성 아민화에 의해 합성할 수 있다.

[0960] 

[0961] 표적 단백질 결합 파트너에 연결된 Rnp11 결합 파트너를 포함하는 본 발명의 이중작용성 분자는 아래 제시된 방법 중 어느 하나에 따라 합성할 수 있다. 그러나, 대안적인 합성 방법도 또한 사용할 수 있다.

[0962] **양쪽 말단에 아민을 갖는 PEG 링커를 통해 다사티닙에 연결된 또 다른 캡지민 유도체인 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 BCR/Abl 키나제 표적화 이중작용성 분자의 합성.**



[0963]

[0964] 이러한 이중작용성 분자는 예를 들어, 아미드 커플링 시약, 예를 들어, HATU, COMU, HBTU, HCTU, PyBOP, EDC, DCC, DIC; 염기, 즉 TEA, DIPEA, NMM 및 적합한 용매, 즉 DCM, DMF, NMP, THF를 사용하여 제조할 수 있다. 그 후, 첫 번째 Boc 탈보호는 적절한 용매, 즉 DCM, MeOH, 디옥산, 에탄올, 디에틸에테르에서 산, 예를 들어, HCl 또는 TFA를 사용하여 달성된다. 두 번째 커플링 반응 후, 최종 탈보호는 환원제, 예를 들어, TCEP, 또는 DTT, 또는 다른 이황화물 환원제를 사용하여 달성된다.

[0965] **분해를 위해 표적 단백질 결합 파트너에 연결된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자의 사용**

[0966] 본 발명은 표적 단백질 결합 파트너에 연결된 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 이중작용성 분자를 사용하여 관심의 표적 단백질을 분해하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 시험관 내(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*)에서 사용할 수 있다. 상기 방법은 관심의 표적 단백질, 예를 들어, 표적 단백질의 분해를 허용하는 조건 하에서 그리고 일정 기간 동안, 관심의 단리된 표적 단백질 또는 관심의 표적 단백질을 포함하는 세포를 본 발명의 이중작용성 분자와 접촉시키는 것을 포함한다.

[0967] **표적 단백질의 분해를 결정하기**

[0968] 분해는 본 발명의 이중작용성 분자의 존재 및 부재하에 표적 단백질의 양을 측정하고 비교함으로써 결정된다. 분해는 예를 들어, 이중작용성 분자로 처리되거나 처리되지 않은 세포에 대한 면역 블롯팅 분석, 웨스턴 블롯 분석 및 ELISA를 수행하여 결정될 수 있다. 단백질분해의 성공은 특정 시점에서 분해 된 단백질의 양으로 제공된다. 본 발명의 이중작용성 분자가 존재하는 특정 시점에서 단백질 양의 감소가 관찰되면 분해가 발생한다.

[0969] 보다 구체적으로, 24 시간 이상, 예를 들어, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 42 시간, 48 시간, 54 시간, 60 시간, 66 시간 및 72 시간 이내에서 본 발명의 이중작용성 분자 1nM 내지 10 μM, 예를 들어, 1nM, 10nM, 100nM, 1 μM, 및 10 μM의 존재 하에 단백질 양의 적어도 10 %, 예를 들어, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % 또는 100 % 감소가 관찰된다면 분해가 발생한 것이다:

[0970] **약학적 조성물**

[0971] 특정 구체예에서, 본 발명은 본 발명의 분자를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 분자는 분자의 표적 단백질 결합 파트너에 결합하는 표적 단백질의 분해를 유도하기 위해 분자의 충분한 부분이 세포에 들어가도록 허용하는 수단에 의해 적절하게 제형화되고 세포의 환경에 도입될 수 있으며, 세포 기능을 증가 또는 감소시킨다. 본 발명의 분자는 포스페이트 완충 식염수 용액과 같은 완충 용액 내에서 제형화될 수 있다. 이러한 조성물은 일반적으로 분자 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 명세서에서 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 약학적 투여와 양립 가능한 식염수, 용매, 분산 매질, 코팅, 항균 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 보충 활성 화합물도 또한 조성물에 포함될 수 있다.

[0972] 약학적 조성물은 의도된 투여 경로와 양립할 수 있도록 제형화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어 정맥내, 피내, 피하, 경구 (예를 들어, 흡입), 경피 (국소), 경점막 및 직장 투여를 포함한다. 비경구, 피내 또는 피하 적용에 사용되는 용액 또는 현탁액에는 다음 성분이 포함될 수 있다: 주사용수, 식염수, 고정 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 합성 용매와 같은 멸균 희석제; 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 항균제; 아스코르브산 또는 중아황산나트륨과 같은 항산화제; 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 킬레이트제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충액 및 염화나트륨 또는 덱스트로스와 같은 긴장성 조절 제제. pH는 염산 또는 수산화 나트륨과 같은 산 또는 염기로 조정할 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기 또는 유리 또는 플라스틱으로 만든 다회 용량 바이알에 넣을 수 있다.

[0973] 주사용으로 적합한 약학적 조성물은 멸균된 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조(extemporaneous preparation)를 위한 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 정맥 내 투여에 적합한 담체는 생리 식염수, 정균수, Cremophor EL. TM. (BASF, Parsippany, N.J.) 또는 인산염 완충 식염수 (PBS)를 포함한다. 모든 경우에 조성물은 무균이어야하고 주사가 용이할 정도로 유동적이어야한다. 제조 및 보관 조건 하에서 안정적이어야 하며 박테리아 및 곰팡이와 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존되어야한다. 담체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 사용, 분산의 경우 필요한 입자 크기의 유지 및 계면 활성제의 사용에 의해 적절한 유동성이 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등과 같은 다양한 항균 및 항진균제에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에 등장제, 예를 들어 당, 만니톨과 같은 폴리알콜, 소르비톨, 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사 가능한 조성물의 장기간 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 도모할 수 있다.

[0974] 멸균 주사용 용액은 필요에 따라 상기 열거된 성분의 하나 또는 조합과 함께 적절한 용매에 필요한 양의 활성 화합물을 혼입시킨 다음 여과 멸균함으로써 제조할 수 있다. 일반적으로 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질과 위에서 열거한 다른 필요 성분을 포함하는 멸균 비히클에 통합하여 제조한다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조로서, 활성 성분의 분말과 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 원하는 임의의 추가 성분을 생성한다.

[0975] 경구 조성물은 일반적으로 불활성 희석제 또는 식용 담체를 포함한다. 경구 치료 투여의 목적을 위해, 활성 화합물은 부형제와 혼입될 수 있고 정제, 트로키 또는 캡슐, 예를 들어 젤라틴 캡슐의 형태로 사용될 수 있다. 구강용 조성물은 또한 구강 세정제로 사용하기 위한 유체 담체를 사용하여 제조할 수 있다. 약제학적으로 적합한 결합제 및/또는 보조제 물질이 조성물의 일부로 포함될 수 있다. 정제, 알약, 캡슐, 트로키 등은 다음 성분 또는 유사한 성질의 화합물 중 임의의 것을 함유할 수 있다: 바인더, 예컨대 미세결정질 셀룰로스, 트라가칸트 검 또는 젤라틴; 전분 또는 락토스와 같은 부형제, 알긴산, 프리모겔 또는 옥수수 전분과 같은 붕해제; 마그네슘 스테아레이트 또는 스테로테스와 같은 윤활제; 콜로이드성 이산화 규소와 같은 활택제; 수크로스 또는 사카린과 같은 감미제; 또는 페퍼민트, 메틸 살리실레이트, 또는 오렌지 향료와 같은 향료.

[0976] 흡입에 의한 투여를 위해 화합물은 적절한 추진제, 예를 들어 이산화탄소와 같은 가스, 또는 네불라이저를 함유하는 압력 용기 또는 디스펜서로부터 에어로졸 스프레이의 형태로 전달된다. 이러한 방법에는 미국특허 제6,468,798호에 기재된 것을 포함한다.

[0977] 전신 투여는 또한 경점막 또는 경피 수단에 의해 이루어질 수 있다. 경점막 또는 경피 투여의 경우, 침투할 장벽에 적합한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 당해 기술분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 경점막 투여용, 세제, 담즙 염, 및 푸시드산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강 스프레이 또는 좌약을 사용하여 수행 할 수 있다. 경피 투여를 위해 활성 화합물은 당해 기술분야에 일반적으로 알려진 바와 같이 연고, 고약, 겔 또는 크림으로 제형화된다.

[0978] 화합물은 또한 좌약 (예를 들어, 코코아 버터 및 기타 글리세리드와 같은 통상적 인 좌약베이스와 함께) 또는 직장 전달을 위한 체류 관장의 형태로 제조될 수 있다.

[0979] 화합물은 또한 McCaffrey et al. (2002), Nature, 418(6893), 38-9 (hydrodynamic transfection); Xia et al. (2002), Nature Biotechnol., 20(10), 1006-10 (viral-mediated delivery); or Putnam (1996), Am. J. Health Syst. Pharm. 53(2), 151-160, erratum at Am. J. Health Syst. Pharm. 53(3), 325 (1996)에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지 않는 당해 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 형질 감염 또는 감염에 의해 투여할 수 있다.

[0980] 하나의 구체예에서, 활성 화합물은 신체로부터의 신속한 제거로부터 화합물을 보호할 담체와 함께 제조되는데 이는 임플란트 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함하여 제어된 방출 제제와 같은 것이다. 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산과 같은 생분해성, 생체적합성 폴리머를 사용할 수 있다. 이러한 제형은 표준 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 물질은 또한 Alza Corporation 및 Nova Pharmaceuticals, Inc.로부터 상업적으로 구할 수 있다. 리포좀 현탁액 (바이러스 항원에 대한 단일 클론 항체로 감염된 세포를 표적으로하는 리포좀 포함)도 제약상 허용되는 담체로 사용할 수 있다. 이들은 예를 들어, 미국특허 제 4,522,811호에 기재되어 있는 바와 같이 관련업계의 통상의 기술장게 알려진 방법에 따라 제조할 수 있다.

[0981] 이러한 화합물의 독성 및 치료 효능은 예를 들어 LD_{50} (집단의 50 %까지의 치사량) 및 ED_{50} (집단의 50 %에서 치료적으로 유효한 용량)의 결정과 같이 세포 배양 또는 실험 동물에서 표준 제약 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 선량 비율이 치료 지수이며 LD_{50}/ED_{50} 비율로 표현할 수 있다. 높은 치료 지수를 나타내는 화합물이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 화합물을 사용할 수 있지만 감염되지 않은 세포에 대한 잠재적인 손상을 최소화하고 그에 따른 부작용을 줄이기 위해 이러한 화합물을 감염된 조직 부위로 표적화하는 전달 시스템을 설계하는 데에 주의를 기울여야한다.

[0982] 세포 배양 분석 및 동물 연구에서 얻은 데이터는 인간에게 사용하기 위한 다양한 용량을 제형화하는 데 사용할 수 있다. 이러한 화합물의 투여량은 바람직하게는 독성이 거의 또는 전혀없는 ED_{50}을 포함하는 순환 농도 범위 내에 있다. 투여량은 사용되는 투여 형태 및 사용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 달라질 수 있다. 본 발명의 방법에 사용되는 화합물의 경우, 치료적 유효 용량은 세포 배양 분석으로부터 초기에 추정할 수 있다. 용량은 세포 배양에서 결정된 바와 같이 IC_{50} (즉, 증상의 최대 절반 저해를 달성하는 시험 화합물의 농도)을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 이러한 정보는 인간의 유용한 용량을 보다 정확하게 결정하는데에 사용될 수 있다. 혈장 내 수준은 예를 들어 고성능 액체 크로마토그래피로 측정할 수 있다.

[0983] 본 명세서에 정의된 바와 같이, 본 발명의 분자의 치료적 유효량 (즉, 유효 투여량)은 선택된 분자에 따라 달라진다. 예를 들어, 약 1pg 내지 1000mg 범위의 단일 용량이 투여될 수 있다; 일부 구체예에서, 10, 30, 100, 또는 1000 pg, 또는 10, 30, 100, 또는 1000 ng, 또는 10, 30, 100, 또는 1000 μg, 또는 10, 30, 100 또는 1000 mg이 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 1-5g의 조성물이 투여할 수 있다. 조성물은 1 일 1 회 이상부터 1 주일에 1 회 이상 투여할 수 있으며 격일로 한 번씩을 포함한다. 숙련된 기술자는 개체를 효과적으로 치료하기 위해 필요한 용량 및 시기에 특정 요인이 영향을 미칠 수 있음을 인식할 것인데 이에는 질병 또는 장애의 중증도, 이전의 치료, 개체의 일반적인 건강 및/또는 연령 및 기타 기존 질환을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 더욱이, 본 발명의 분자의 치료적 유효량으로 개체를 치료하는 것은 단일 치료를 포함할 수 있거나, 바람직하게는 일련의 치료를 포함할 수 있다.

[0984] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 이중작용성 분자의 투여량은 5 mg/kg/주 내지 500 mg/kg/주, 예를 들어 5 mg/kg/주, 10 mg/kg/주, 15 mg/kg/주, 20 mg/kg/주, 25 mg/kg/주, 30 mg/kg/주, 35 mg/kg/주, 40 mg/kg/주, 45 mg/kg/주, 50 mg/kg/주, 55mg/kg/주, 60mg/kg/주, 65mg/kg/주, 70mg/kg/주, 75mg/kg/주, 80mg/kg/주, 85mg/kg/주, 90mg/kg/주, 95mg/kg/주, 100mg/kg/주, 150mg/kg/주, 200mg/kg/주, 250mg/kg/주, 300mg/kg/주, 350mg/kg/주, 400mg/kg/주, 450mg/kg/주 및 500mg/kg/주의 범위 내에 있다. 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 이중작용성 분자의 투여량은 10 mg/kg/주 내지 200 mg/kg/주, 20 mg/kg/주 내지 150 mg/kg/주 또는 25 mg/kg/주 내지 100 mg/kg/주의 범위 내에 있다. 특정 구체예에서, 이중작용성 분자는 2 주 내지 6 개월, 예를 들어 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 9 주, 10주, 11 주, 12 주, 13 주, 26 주, 6 개월, 8 개월, 10 개월 또는 1 년 이상 동안 주당 1x 회 투여된다. 특정 구체예에서, 분자는 주당 2x 회 투여된다. 다른 구체예에서,

이중작용성 분자는 격주로 투여된다. 특정 구체예에서, 이중작용성 분자는 정맥 내로 투여된다.

[0985] 본 발명의 분자는 약리학적 유효량의 분자 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물로 제형화할 수 있다. 약리학적 또는 치료학적 유효량은 의도된 약리학적, 치료적 또는 예방적 결과를 생성하는 데 효과적인 이중작용성 분자 작용제의 양을 의미한다. "약리학적 유효량" 및 "치료학적 유효량" 또는 간단히 "유효량"이라는 어구는 의도된 약리학적, 치료적 또는 예방적 결과를 생성하는 데 효과적인 이중작용성 분자의 양을 지칭한다. 예를 들어, 주어진 임상 치료가 질병 또는 장애와 관련된 측정 가능한 매개 변수가 20 % 이상 감소 할 때 효과적인 것으로 간주된다면, 그 질병 또는 장애를 치료하기 위한 약물의 치료적 유효량은 해당 매개 변수를 최소 20 % 감소시키기에 필요한 양이다.

[0986] 본 발명의 적절하게 제형화된 약학적 조성물은 정맥 내, 근육 내, 복강 내, 피하, 경피, 기도 (에어로졸), 직장, 질 및 국소 (협측 및 설하 포함) 투여를 포함하는 비경구 경로와 같은 당해 기술분야에 공지된 임의의 수단에 의해 투여할 수 있다. 관리. 일부 구체예에서, 약학적 조성물은 정맥 내 또는 비경구 주입 또는 주사에 의해 투여된다.

[0987] 일반적으로 분자의 적절한 투여량 단위는 하루당 수용자의 체중 kg 당 0.001 내지 0.25mg의 범위, 또는 1 일당 체중 1kg 당 0.01 내지 20마이크로그램의 범위, 또는 1 일당 체중 kg 당 0.01 내지 10 마이크로그램의 범위, 또는 1 일 체중 1kg 당 0.10 내지 5 마이크로그램의 범위, 또는 1 일당 체중 kg 당 0.1 내지 2.5 마이크로그램의 범위이다. 분자를 포함하는 약학적 조성물은 1 일 1 회 투여할 수 있다. 그러나, 치료제는 또한 하루 종일 적절한 간격으로 투여되는 2, 3, 4, 5, 6 또는 그 이상의 하위 용량을 포함하는 투여 단위로 투여할 수 있다. 이 경우 총 일일 투여량 단위를 달성하려면 각 하위 투여량에 포함된 분자가 그에 따라 더 작아야한다. 투여 단위는 또한, 예를 들어, 수일 기간에 걸쳐 분자의 지속적이고 일관된 방출을 제공하는 통상적인 지속 방출 제형을 사용하여 수일에 걸쳐 단일 용량으로 배합될 수 있다. 지속 방출 제형은 당해 기술분야에 잘 알려져있다. 이 구체예에서, 투여량 단위는 일일 투여량의 상응하는 배수를 포함한다. 제형에 관계없이, 약학적 조성물은 예를 들어 분자의 표적 단백질 결합 파트너에 결합된 표적 단백질의 분해를 유도하고, 특정 구체예에서 세포 기능의 변화를 유발하는 표적 단백질의 분해를 유도하도록 활성이기에 충분한 양의 분자를 함유해야 한다. 조성물은 분자의 복수 단위의 합이 함께 충분한 용량을 포함하는 방식으로 배합할 수 있다.

[0988] 세포 배양 분석 및 동물 연구에서 데이터를 얻어 인간에게 적합한 용량 범위를 제형화할 수 있다. 본 발명의 조성물의 투여량은 독성이 거의 또는 전혀 없는 ED50 (공지된 방법으로 결정됨)을 포함하는 순환 농도 범위 내에 있다. 투여량은 사용되는 투여 형태 및 사용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 달라질 수 있다. 본 발명의 방법에 사용되는 화합물의 경우, 치료적 유효 용량은 세포 배양 분석으로부터 초기에 추정될 수 있다. 용량은 세포 배양에서 결정된 바와 같이 IC50을 포함하는 화합물의 순환 혈장 농도 범위 (즉, 증상의 최대 절반 저해를 달성하는 시험 화합물의 농도)를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화할 수 있다. 이러한 정보는 인간의 유용한 용량을 보다 정확하게 결정하는 데 사용될 수 있다. 혈장 내 분자 수준은 표준 방법, 예를 들어 고성능 액체 크로마토그래피로 측정할 수 있다.

[0989] 약학적 조성물은 투여 지침과 함께 키트, 용기, 팩, 또는 디스펜서에 포함될 수 있다.

[0990] **치료 방법**

[0991] 본 발명은 표적 단백질의 과발현에 의해 전체적으로 또는 부분적으로 야기되는 질환 또는 장애의 위험이 있는 (또는 이에 민감한) 개체를 치료하는 예방방법 및 치료 방법을 둘다 제공한다.

[0992] 본 명세서에 사용된 "치료" 또는 "치료하는"은 질병 또는 장애, 질병 또는 장애의 증상, 또는 질병에 대한 소인을 치료, 치유, 완화, 경감, 변경, 구제, 개선, 개량 또는 영향을 주기 위한 목적으로 환자에게 치료제 (예를 들어, 본 발명의 분자)의 적용 또는 투여, 또는 단리된 조직 또는 세포주에 대한 치료제의 적용 또는 투여로 정의되는데, 상기 환자는 질병 또는 장애, 질병 또는 장애의 증상, 또는 질병 또는 장애에 대한 소인을 갖고 있는 것이다.

[0993] 한 측면에서, 본 발명은 개체에게 치료제 (예를 들어, 본 발명의 분자)를 투여함으로써 상기 기재된 바와 같은 질환 또는 장애를 개체에서 예방하는 방법을 제공한다. 질병에 걸릴 위험이있는 개체는 예를 들어 본 명세서에 기술된 진단 또는 예후 분석 중 임의의 하나 또는 조합에 의해 식별될 수 있다. 예방제의 투여는 예를 들어, 개체에서 바이러스 입자의 검출 또는 질병 또는 장애의 특징적인 증상의 발현 이전에 일어날 수 있으며, 따라서 질병 또는 장애가 예방되거나, 대안적으로 진행이 지연된다.

[0994] 본 발명의 또 다른 측면은 개체를 치료적으로 치료하는 방법, 즉 질환 또는 장애의 증상의 발병을 변경하는 방

법에 관한 것이다. 이들 방법은 시험관내(in vitro) 또는 대안적으로 생체 내(in vivo)에서 (예를 들어, 본 발명의 분자를 개체에게 투여함으로써) 수행될 수 있다.

[0995] 치료(treatment)의 예방 및 치료(therapeutic) 방법과 관련하여, 이러한 치료는 약리유전학(Pharmacogenomics) 분야에서 얻은 지식을 기반으로 특별히 맞춤화되거나 수정할 수 있다. 본 명세서에 사용된 "약리유전학"은 유전자 시퀀싱, 통계적 유전학 및 유전자 발현 분석과 같은 게놈 기술을 임상 개발 및 시장에서 약물에 적용하는 것을 의미한다. 보다 구체적으로, 이 용어는 환자의 유전자가 약물에 대한 자신의 반응을 결정하는 방법 (예: 환자의 "약물 반응 표현형" 또는 "약물 반응 유전자형")에 대한 연구를 의미한다. 약리유전학을 사용하면 임상의 또는 의사가 치료의 혜택을 가장 많이 받는 환자에게 예방적 또는 치료적 치료를 목표로 삼고 독성 약물 관련 부작용을 경험하는 환자의 치료를 피할 수 있다.

[0996] 적절한 동물 모델에서 치료제를 테스트할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기술 된 분자는 약제를 사용한 치료의 효능, 독성, 또는 부작용을 결정하기 위해 동물 모델에서 사용될 수 있다. 대안적으로, 치료제는 이러한 작용제의 작용 메커니즘을 결정하기 위해 동물 모델에서 사용할 수 있다. 예를 들어, 동물 모델에서 제제를 사용하여 이러한 제제를 사용한 치료의 효능, 독성, 또는 부작용을 결정할 수 있다. 대안적으로, 동물 모델에서 그러한 작용제의 작용 메커니즘을 결정하기 위해 작용제를 사용할 수 있다.

[0997] 본 발명의 이중작용성 분자는 선택된 표적 단백질의 단백질분해(proteolysis)를 증가시키는 데 유용하다. 단백질이 표적된 단백질분해를 위해 선택되는데 이는 세포에서 그 단백질의 양을 줄이기 위해서이다. 세포에서 주어진 표적 단백질의 양의 감소는 주어진 질병의 해로운 영향을 치료, 예방, 또는 감소시키기 위해 유리할 수 있다. 어떤 경우에는 주어진 질병은 세포에서 주어진 표적 단백질의 증가된 양의 존재를 포함한다. 이중작용성 분자를 세포 또는 본 발명의 개체에 투여한 후, 질병의 하나 이상의 증상이 감소되거나 제거되면 개체는 질병에 대해 치료된다고 한다.

[0998] **동물 모델**

[0999] 선택된 표적 단백질의 단백질분해를 촉진하는 활성에 대해 이중작용성 분자를 테스트하기 위해 분자를 동물에게 투여하고 동물에 대한 영향을 평가할 수 있다. 본 발명에 따른 유용한 동물 모델은 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:

[1000]

동물 모델	치료 영역
B6C3F1 마우스	심혈관
CB6F1 마우스	심혈관
CD2F1 (CDF1) 마우스	심혈관
Dahl/염 민감성 쥐(래트)	심혈관
DBA/2 마우스	심혈관
FHH 쥐	심혈관
하틀리 기니피그	심혈관
IAF 털이없는 기니피그	심혈관
LVG 골든 시리아 햄스터	심혈관
몽골 게르빌	심혈관
뉴질랜드 흰 토끼	심혈관
비만 경향 CD 쥐	심혈관
비만 내성 CD 쥐	심혈관
자발적 고혈압 (SHR) 쥐	심혈관
자발적 고혈압성 심부전 (SHHF) 쥐	심혈관
자발적 고혈압 비만 (SHROB) 쥐	심혈관
SHRSP (자발성 고혈압성 뇌졸중 경향) 쥐	심혈관
SS-13BN 쥐	심혈관
Wistar Furth 쥐	심혈관
Wistar IGS 쥐	심혈관
위스타 교토 (WKY) 쥐	심혈관
주커 쥐	심혈관
B10.A/Cr 마우스	염증
루이스 쥐	염증
Ly5.1 마우스	염증
NCG 마우스	염증
OT I 마우스	염증
OT II 마우스	염증
SJL-Elite 마우스	염증

Wistar IGS 쥐	염증
C57BL/6-무균(Germ-Free) 마우스	대사 질환
ZDF 쥐	대사 질환
C57BL/6-무균 마우스	신경 과학
AKR 마우스	종양학
무흉선 누드 마우스	종양학
BALB/c 누드 마우스	종양학
BDIX 쥐	종양학
버팔로 쥐	종양학
C57BL/6- 무균 마우스	종양학
CD-1 누드 마우스	종양학
코펜하겐 쥐	종양학
Fox Chase CB17 마우스	종양학
Fox Chase SCID 베이지 마우스	종양학
Fox Chase SCID 마우스	종양학
Immortomouse	종양학
NCG 마우스	종양학
NCI SCID/NCr 마우스	종양학
NIH-III 누드 마우스	종양학
NMRI 누드 마우스	종양학
노블 쥐	종양학
NOD SCID 마우스	종양학
NU/NU 누드 마우스	종양학
OFA 쥐	종양학
RNU 쥐	종양학
SCID 무모(Hairless) 유사유전자형(Congenic) (SHC) 마우스	종양학
SCID 무모 아웃브레드 (SHO) 마우스	종양학
스위스 누드 마우스	종양학
Wistar Furth 쥐	종양학

[1001]

[1002] 본 발명의 실시는 달리 지시되지 않는 한, 관련 업계의 기술 내에 있는 화학, 분자 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 유전학, 면역학, 세포 생물학, 세포 배양 및 트랜스제닉 생물학의 통상적인 기술을 사용한다. 예를 들어, Maniatis et al., 1982, Molecular Cloning (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.); Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, 2nd Ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.); Sambrook and Russell, 2001, Molecular Cloning, 3rd Ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.); Ausubel et al., 1992), Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, including periodic updates); Glover, 1985, DNA Cloning (IRL Press, Oxford); Anand, 1992; Guthrie and Fink, 1991; Harlow and Lane, 1988, Antibodies, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.); Jakoby and Pastan, 1979; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155 (Wu et al. eds.), Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); Riott, Essential Immunology, 6th Edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988; Hogan et al., Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986); Westerfield, M., The zebrafish book. A guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio), (4th Ed., Univ. of Oregon Press, Eugene, 2000) 참조.

[1003] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 물질이 아래에 기재된다. 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고 문헌은 그 전체가 참고로서 통합된다. 상충되는 경우 정의를 포함하여 본 명세서가 우선한다.

[1004] 재료, 방법 및 실시예는 단지 예시일 뿐이며 여기에 설명된 본 발명의 다양한 구체예를 제한하려는 의도는 아니

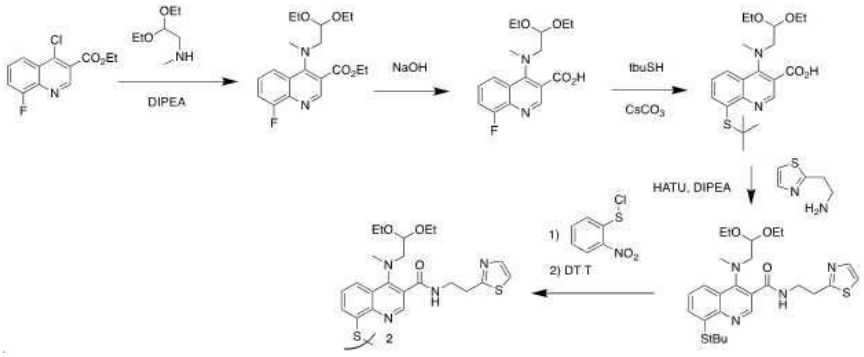
다.

[1005] **실시예**

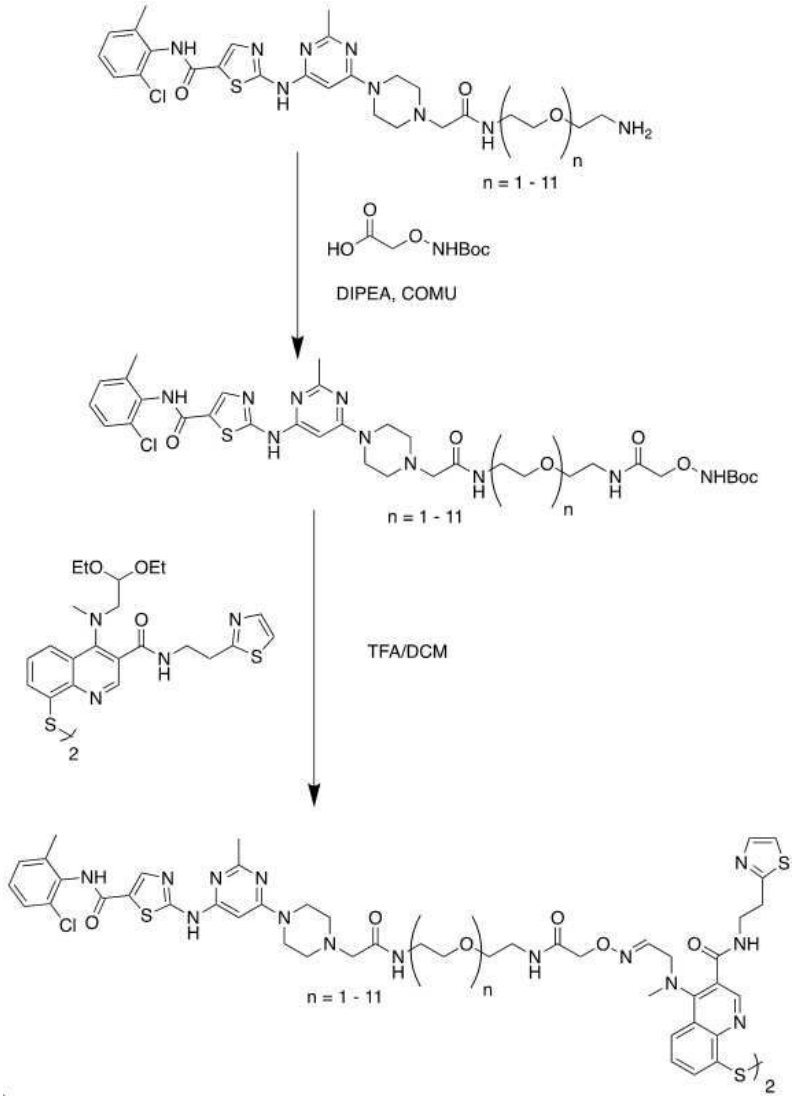
[1006] *실시예 1 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 키나제 표적화 분자의 합성*

[1007] 링커를 통해 Rpn11 결합 파트너에 연결된 키나제를 표적으로하는 표적 단백질 결합 파트너를 포함하는 본 발명의 분자는 하나의 구체예에서 다음 방법에 의해 생성된다. 링커를 통해 Rpn11 결합 파트너에 연결된 키나제 파트너를 표적으로하는 표적 단백질 결합 파트너를 포함하는 본 발명의 이중작용성 분자를 합성하기 위해, Rpn11 결합 파트너는 아미노옥시-함유 링커와 반응할 수 있는 알데히드기로 기능화되고 이어서 아미드 커플링 조건 하에서 키나제 억제제-카르복실산 유도체로 원하는 이중작용성 분자를 수득한다.

[1008] Rpn11, 결합 파트너를 포함하는 키나제 표적화 분자의 합성을 위한 출발 성분은 예를 들어, 다음 합성 반응식에 따라 제조된다:

[1009] 

[1010] 다음 합성 반응식은 Rpn11, 결합 파트너를 포함하는 키나제 표적화 분자를 함성하기 위해 사용된다.

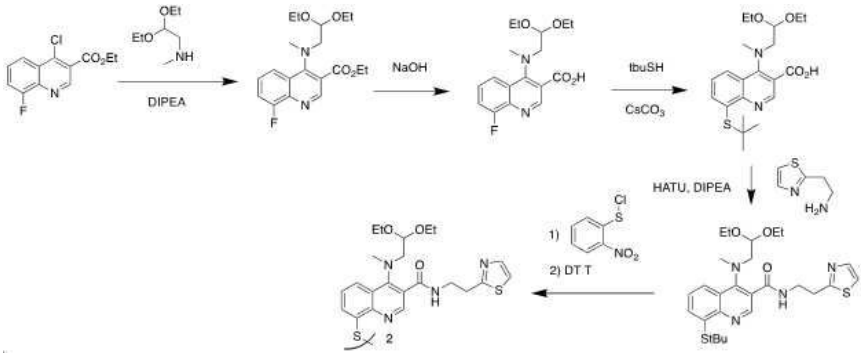


[1011]

[1012] *실시예 2 Rpn11 결합 파트너를 포함하는 BET- 표적화 분자의 합성*

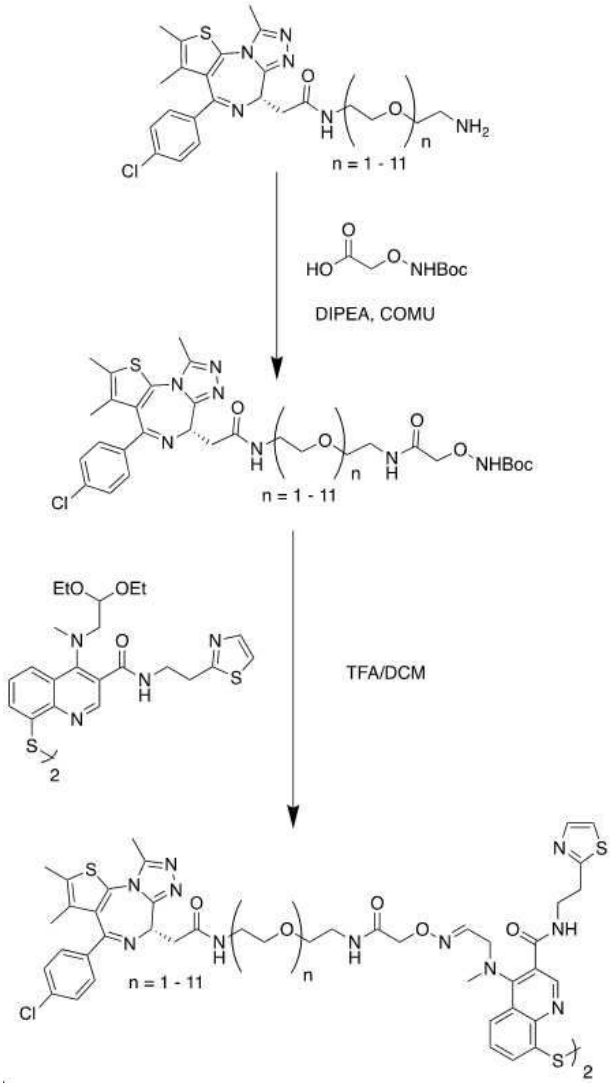
[1013] 링커를 통해 Rpn11 결합 파트너에 연결된 BET를 표적으로하는 표적 단백질 결합 파트너를 포함하는 본 발명의 분자는 다음 방법에 의해 생성된다. Rpn11 결합 파트너를 포함하는 BET- 표적화 분자를 합성하기 위해, Rpn11 결합 파트너는 알데히드 기로 기능화되고, 아미노옥시-함유 링커와 반응한 다음 아미드 커플링 조건 하에서 키나제 억제제-카르복실산 유도체와 반응하여 원하는 이중작용성 분자를 생성한다.

[1014] Rpn11, 결합 파트너를 포함하는 키나제 표적화 분자의 합성을 위한 출발 성분은 예를 들어, 다음 합성 반응식에 따라 제조된다:



[1015]

[1016] Rpn11 결합 파트너를 포함하는 BET-표적화 분자는 다음과 같이 합성된다:



[1017]

[1018] *실시예 3 Rpn11 및 표적 단백질에 이중작용성 분자의 결합*

[1019] 본 발명의 이중작용성 분자의 Rpn11 및 관심 표적 단백질에 대한 결합은 예를 들어, 제조업체의 프로토콜(Promega)에 따른 NanoBRETTM 단백질-단백질 상호 작용 시스템, 또는 세포 열 이동 분석 (CETSA)을 사용하여 결정되며 웨스턴 블롯 또는 질량 분석(mass spectrometry)의 분석이 이어진다.

[1020] Rpn11 결합 파트너의 Rpn11에 대한 결합 분석을 위해 등온 열량계 (ITC) 및 표면 플라스몬 공명 (SPR)을 사용하여 결합 파트너가 PSMD14 및 PSMD7 (각각 Rpn11 및 Rpn8)의 다이머에 결합하는 것을 직접 평가할 수 있다. Oregon Green 표지된 테트라-유비퀴틴 기질의 변위를 포함하는 확립된 방법과 유사한, 분자의 더 높은 처리 테스트량을 촉진하기 위해 형광 편광 (FP) 분석도 또한 사용할 수 있다 (Li et al. (Nat. Chem. Biol. 2017; DOI: 10.1038/nchembio.2326) 또는 Ub-LysGly^{TAMRA} (DOI: 10.1016/j.molcel.2014.12.039).

[1021] 등온 열량계 (ITC) 및/또는 표면 플라즈몬 공명 (SPR)은 또한 표적 단백질에 대한 분자의 결합을 직접 평가하기 위해 사용할 수 있다.

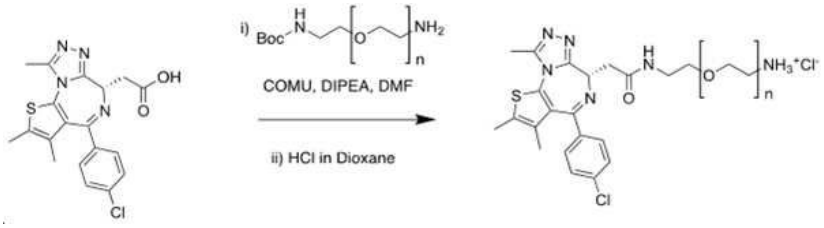
[1022] *실시예 4 표적 단백질의 분해*

[1023] 표적 단백질 분해는 본 발명의 이중작용성 분자의 존재 및 부재하에 표적 단백질의 양을 측정함으로써 결정될 수 있다. 분해는 예를 들어, 이중작용성 분자로 처리되거나 처리되지 않은 세포에 대한 면역 블롯팅 분석, 웨스턴 블롯 분석 및 ELISA를 수행하여 결정된다. 단백질 분해의 성공은 특정 시점에서 분해된 단백질의 양으로 제공된다. 본 발명의 이중작용성 분자가 존재하는 특정 시점에서 단백질 양의 감소가 관찰된다면 분해가 발생한 것이다.

[1024] *실시예 5 억제제-링커 컨쥬게이트의 제조*

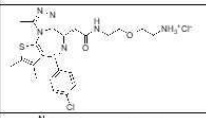
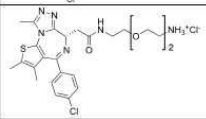
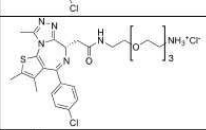
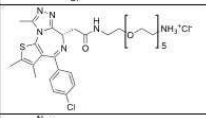
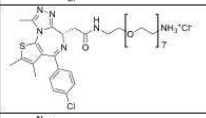
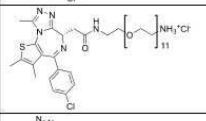
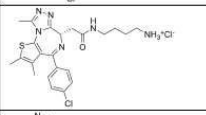
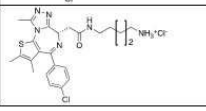
[1025] 시판되는 화학 물질은 Apollo Scientific, Sigma-Aldrich, Fluorochem 또는 Manchester Organics에서 구입했으며 추가 정제없이 사용되었다. 모든 반응은 무수 용매를 사용하여 수행되었다. 분취용 HPLC는 Waters X-Bridge C18 컬럼 (100mm × 19mm; 5μm 입자 크기, 유속 25mL/분)이 있는 Gilson 분취용 HPLC에서 15분에 걸쳐 0.01 % v/v의 포름산을 함유한 수중의 5 %에서 95 % v/v까지의 아세토니트릴의 구배를 사용하여 (방법 1) 또는 15분에 걸쳐 0.01 % v/v의 수성 수산화 암모늄과 함께 수중에서 5 %에서 95 % v/v까지의 아세토니트릴의 구배를 사용하여 (방법 2) 수행되었다.

[1026] 액체 크로마토그래피-질량 분석 (LC-MS) 분석은 Bruker Daltonics MicroTOF에 연결된 Agilent HPLC 1100 시리즈 또는 Agilent Technologies 6130 사중극자 분광계에 연결된 Agilent Technologies 1200 시리즈 HPLC로 수행되었다. LC-MS의 경우 사용된 분석 컬럼은 Waters X-bridge C18 컬럼 (50mm × 2.1mm × 3.5mm 입자 크기); 유속, 물/MeCN + 0.01 % HCOOH의 이동상으로 0.5 mL/분 (방법 1A); 95/5 물/MeCN을 처음에 0.5 분 동안 유지한 다음 3.5 분에 걸쳐 물/MeCN 95/5에서 5/95으로 선형 구배를 유지하고 이후 2 분 동안 유지했다. 모든 화합물의 순도는 앞에서 설명한 분석 LC-MS 시스템을 사용하여 평가되었으며 순도는 >95 %였다.

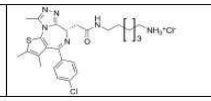
[1027] 

[1028] DMF (1mL) 중 모노-Boc 보호된 디아민 링커 (0.1mmol, 1eq) 및 JQ1-COOH (40mg, 0.1mmol, 1eq) 용액에 COMU (43mg, 1mmol, 1eq) 및 DIPEA (48 mircoL)를 가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반한 다음 빙냉수로 급냉시켰다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하고 조 혼합물을 분취 HPLC (방법 2)로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 감압하에 증발시키고 잔류물을 DCM (1 mL)에 용해시키고 디옥산 (4M, 1 mL) 중 무수 HCl 용액으로 처리하였다. 1 시간 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고 잔류물을 동결 건조하여 과량의 산을 제거했다. 분석 데이터 (HRMS)는 하기 표 II에 제공된다.

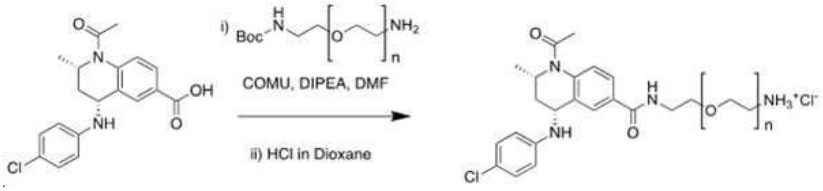
[1029]

예	구조	m/z [M + H] +
S1		487.1605
S2		531.1867
S3		: 575.2129
S4		663.2653
S5		751.3178
S6		927.4226
S7		471.1656
S8		485.1812

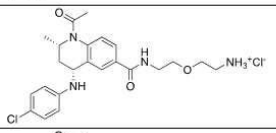
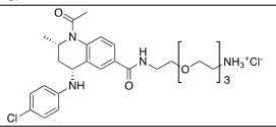
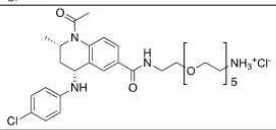
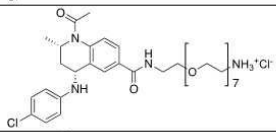
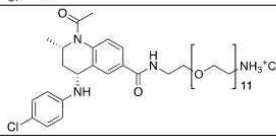
[1030]

S9		499.1969

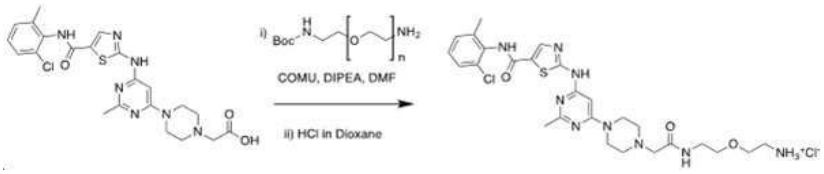
[1031]



[1032] DMF (1mL) 중에서 모노-Boc 보호된 디아민 링커 (0.1mmol, 1eq) 및 iBET726 (36mg, 0.1mmol, 1eq) 용액에 COMU (43mg, 0.1mmol, 1eq) 및 DIPEA (48 mircoL)이 추가되었다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반한 다음 빙 냉수로 급냉시켰다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하고 조 혼합물을 분취 HPLC(방법 2)로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 감압하에 증발시키고 잔류물을 DCM (1 mL)에 용해시키고 디옥산 (4M, 1 mL) 중 무수 HCl 용액으로 처리하였다. 1 시간 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고 잔류물을 동결 건조하여 과량의 산을 제거했다. 분석 데이터 (HRMS)는 하기 표 III에 제공된다.

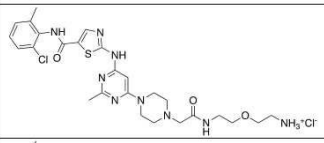
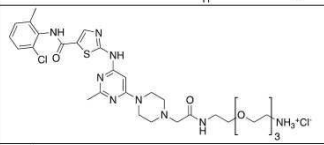
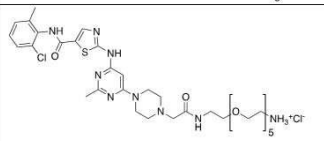
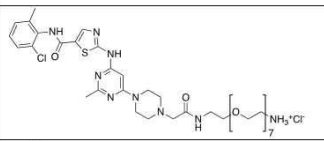
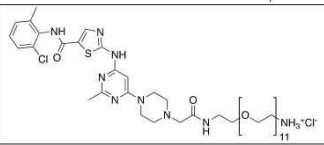
예	구조	m/z [M + H] +
S10		445.1928
S11		533.2452
S12		621.2977
S13		709.3501
S14		885.4550

[1033]

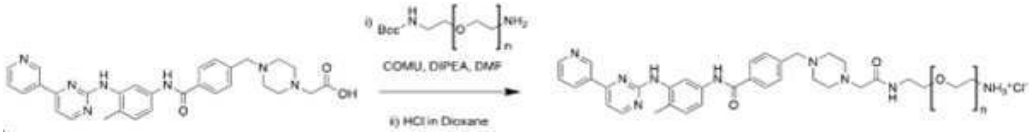


[1034]

[1035] DMF (1 mL) 중 모노-Boc 보호된 디아민 링커 (0.1 mmol, 1 eq) 및 다사티닙-COOH (50 mg, 0.1 mmol, 1 eq) 용액에 COMU (43 mg, 0.1 mmol, 1 eq) 및 DIPEA (48 μL)를 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반한 다음 빙 냉수로 급냉시켰다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하고 조 혼합물을 분취 HPLC (방법 2)로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 감압하에 증발시키고 잔류물을 DCM (1 mL)에 용해시키고 디옥산 (4M, 1 mL) 중 무수 HCl 용액으로 처리하였다. 1 시간 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고 잔류물을 동결 건조하여 과량의 산을 제거했다. 분석 데이터 (HRMS)는 하기 표 IV에 제공된다.

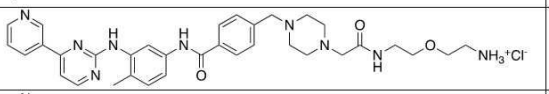
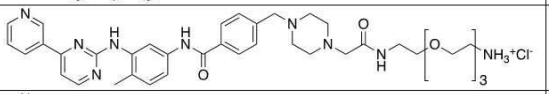
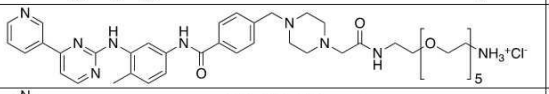
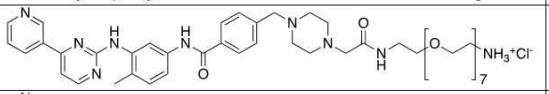
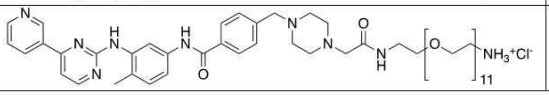
예	구조	m/z [M + H] +
S15		588.2194
S16		676.2718
S17		764.3242
S18		852.3767
S19		1028.4815

[1036]

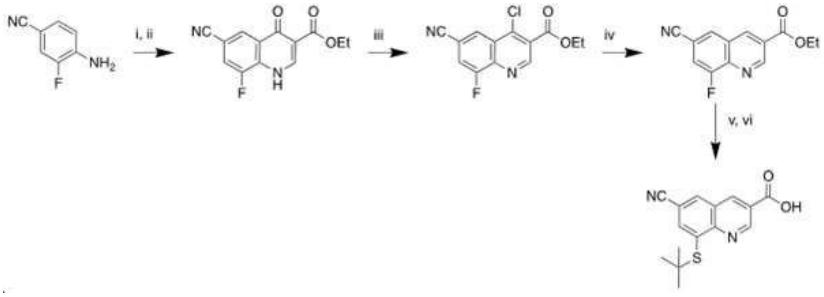
[1037] 

[1038] DMF (1 mL) 중 모노-Boc 보호된 디아민 링커 (0.1 mmol, 1 eq) 및 이마티닙-COOH (54 mg, 0.1 mmol, 1 eq)의 용액에 COMU (43 mg, 0.1 mmol, 1 eq) 및 DIPEA (48 μL)를 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반한 다음 빙 냉수로 급냉시켰다. 휘발성 물질을 진공에서 제거하고 조 혼합물을 분취 HPLC (방법 2)로 정제하였다. 원하는 생성물을 함유하는 분획을 감압하에 증발시키고 잔류물을 DCM (1 mL)에 용해시키고 디옥산 (4M, 1 mL) 중 무수 HCl 용액으로 처리하였다. 1 시간 후, 휘발성 물질을 감압 하에서 제거하고 잔류물을 동결 건조하여 과량의 산을 제거했다. 분석 데이터 (HRMS)는 하기 표 V에 제공된다.

[1039]

예	구조	m/z [M + H] +
S20		624.3332
S21		712.3857
S22		800.4381
S23		888.4905
S24		1064.5954

[1040] *실시예 6 - 8-(tert-부틸티오)-6-시아노퀴놀린-3-카르복실산의 제조*

[1041] 

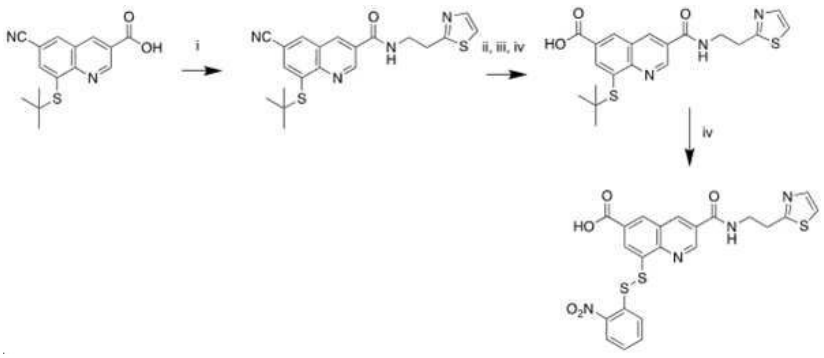
[1042] 디에틸 2-에톡시메틸렌말로네이트(10 mmol), 디에틸 2 에톡시메틸렌 말로네이트(11 mmol), 및 톨루엔(30 mL)의 혼합물을 5시간 동안 환류시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 냉각시키고, 3 N H2SO4 (100 mL)로 세척하였다. 그 후 톨루엔을 증류했다. 혼합물을 강하게 긁어 고체 생성물을 얻었다. 이 생성물 (5 g)을 280℃에서 2시간 동안 디페닐에테르 (50 mL)와 환류시켰다. 이후 냉각하여 소량의 석유에테르 (100 mL)를 첨가한 후 1시간 동안 교반하였다. 생성물인 에틸 6-시아노-8-플루오로-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트를 여과에 의해 단리하였다.

[1043] 조 에틸 6-시아노-8-플루오로-4-옥소-1,4-디하이드로퀴놀린-3-카르복실레이트를 POCl3에 현탁시키고, 혼합물을 100℃에서 밤새 가열하였다. 냉각된 용액을 진공에서 농축시키고, 생성된 갈색 오일을 CH2Cl2 (500 ml) 및 물 (250 ml) 사이에 분배시켰다. 유기 추출물을 Na2SO4를 통해 건조시키고, 진공에서 농축시켜 갈색 오일을 수득하였으며, 이를 헵탄 중 EtOAc의 구배로 용리하는 실리카 겔 상에서 크로마토그래피하였다.

[1044] 아세토니트릴 중 에틸 4-클로로-6-시아노-8-플루오로퀴놀린-3-카르복실레이트 (1 eq), Et3SiH (2 eq), Pd(PPh3)2Cl2 (0.05 eq)의 혼합물을 80℃에서 3시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 여과하고 (셀라이트), 오일로 농축시키고, 10% NH4OH로 희석하고, 메틸렌 클로라이드로 추출하였다. 유기 추출물을 10% NH4OH로 세척하고, 건조하고(MgSO4), 농축하여 노란색 고체로서 에틸 6-시아노-8-플루오로퀴놀린-3-카르복실레이트 (40g, 0.18mol, 95%)를 얻었다.

[1045] DMF 중의 에틸 6-시아노-8-플루오로퀴놀린-3-카르복실레이트 (1 당량)의 용액에 tBuSH 및 Cs2CO3 (3 당량)을 가하였다. 혼합물을 130 oC에서 18시간 동안 교반하였다. 용액을 증발 건조시키고, 조 물질을 물에 취하고 침전물이 형성될 때까지 6M HCl로 산성화시켰다(pH 2). 침전물을 여과하고 진공하에 건조시켰다. 조 물질 (1 eq)을 에탄올에 용해시키고, 출발 물질의 소모될 때까지 실온에서 LiOH (1 M, 2 eq)로 처리하였다. 반응 혼합물을 조심스럽게 pH = 4로 산성화시키고, 휘발물을 제거하고, 생성물 8-(tert-부틸티오)-6-시아노퀴놀린-3-카르복실산을 결정화에 의해 단리하였다.

[1046] 실시예 7 8-((2-니트로페닐)디술파닐)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산의 제조



[1047]

[1048] 반응식 X1: i) 2-(티아졸-2-일)에탄-1-아민, COMU, DIPEA, DMF; ii) MeOH 중 NaOMe, 이어서 수성 HCl, 이어서 LiOH; iv) 아세트산 중의 2-니트로페닐 하이포클로로티오이트.

[1049] DMF (50 mL/mmol) 중 8-(tert-부틸티오)-6-시아노퀴놀린-3-카르복실산 (1 eq) 및 2-(티아졸-2-일)에탄-1-아민 (1 eq)의 용액에 COMU (1 eq) 및 DIPEA (3 eq)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 출발 물질이 소모될 때까지 실온에서 교반하였다. 이어서, 조 혼합물을 얼음물에 붓고, 생성물 8-(tert-부틸티오)-6-시아노-N-(2-(티아졸-2-일)에틸)퀴놀린-3-카르복사미드를 여과에 의해 단리하였다.

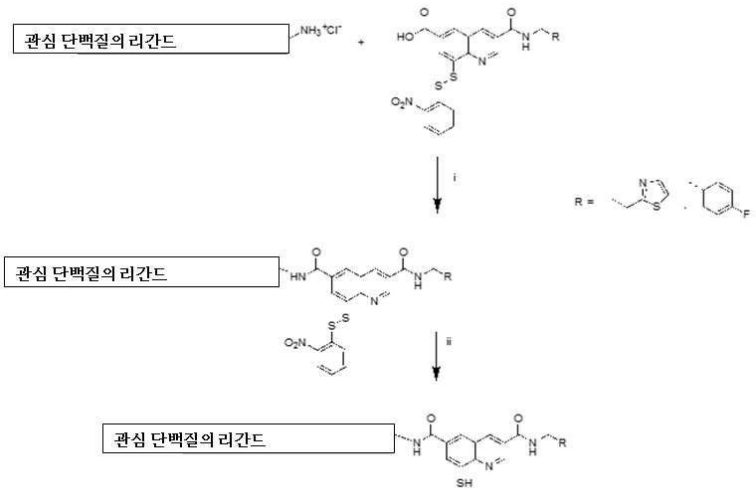
[1050] 무수 메탄올 중 8-(tert-부틸티오)-6-시아노-N-(2-(티아졸-2-일)에틸)퀴놀린-3-카르복사미드의 혼합물에, 나트륨 메톡시드의 용액 (1,1 당량, 메탄올 중 1 M) 을 0 oC에서 적가하였다. 반응물을 서서히 실온까지 밤새 가온시켰다. 반응 혼합물의 HPLC 분석 (방법 1A)은 이미노 에테르로의 완전한 전환을 나타냈다. 2M HCl을 pH = 2가 될 때까지 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. HPLC 분석 (방법 1A)은 이미노 에테르의, 상응하는 메틸 에스테르로의 전환을 나타내었다. 이 시점에서, 1M NaOH의 용액을 pH = 11이 될 때까지 적가하였다. 혼합물을 HPLC 분석(방법 1A)이 원하는 산의 형성을 나타낼 때까지 교반하였다. 물을 첨가하고, 1 M HCl로 반응 혼합물을 조심스럽게 산성화 (pH = 4)하여 침전물을 형성하고, 이를 클로로포름 중 이소프로판올 (10%)의 혼합물로 추출하였다. 유기 추출물을 MgSO4 상에서 건조시키고, FCC (DCM 중 MeOH의 구배)에 의해 정제하여 분석적으로 순수한 8-(tert-부틸티오)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산을 생성하였다.

[1051] 아세트산 (100 mL/mmol) 중 8-(tert-부틸티오)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산 (1 eq)의 혼합물을 2-니트로페닐 하이포클로로티오이트로 2시간 동안 처리하였다. HPLC 분석 (방법 1A)은 원하는 생성물로의 완전한 전환을 나타내었고, 이는 반응 혼합물을 과량의 얼음물 (iced water)로 처리함으로써 단리되었다. 생성물을 여과에 의해 분리하고, 진공 하에 건조시켰다.

[1052] *실시예 8 - 3-((4-플루오로벤질)카르바모일)-8-((2-니트로페닐)디술파닐)퀴놀린-6-카르복실산*

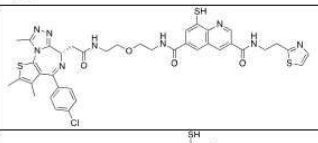
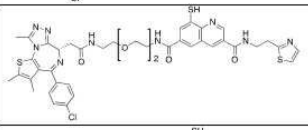
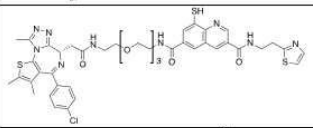
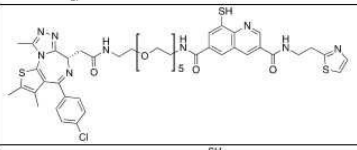
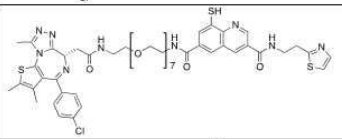
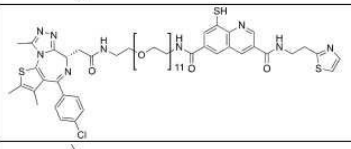
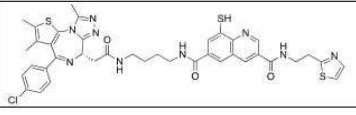
[1053] 8-((2-니트로페닐)디술파닐)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산의 제조에 대해 기재된 것과 동일한 절차를 사용하여 8-(tert-부틸티오)-6-시아노퀴놀린-3-카르복실산 및 4-플루오로벤질 아민으로부터 상기 유도체를 제조하였다.

[1054] *실시예 9-캡지민 컨쥬게이트의 제조*

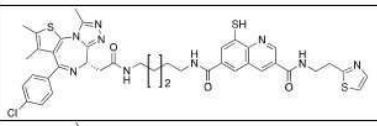
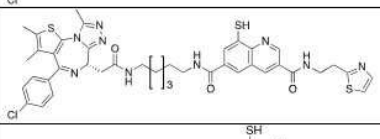
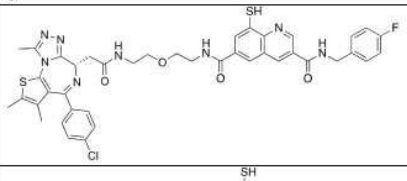
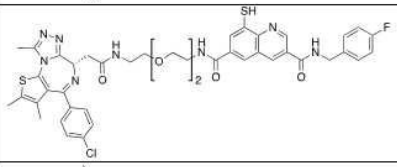
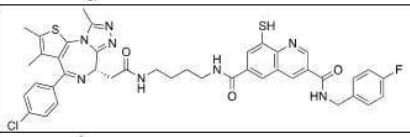
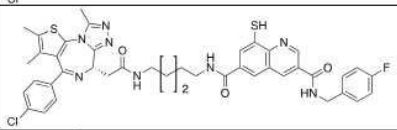
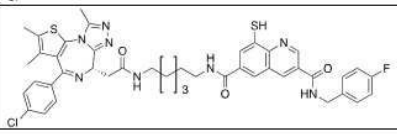


[1055]

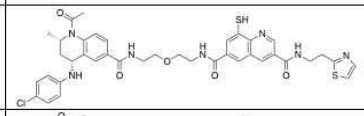
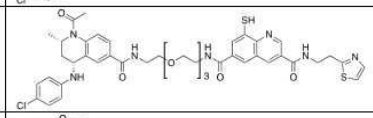
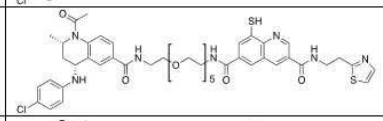
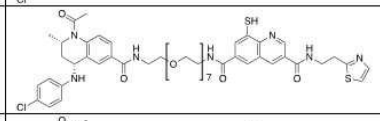
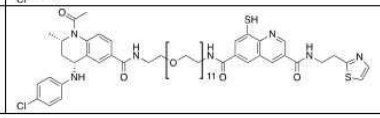
[1056] 반응식 X2: i) COMU, DIPEA, DMF; ii) DMF, MeOH DMF(0.05 M) 중의 탄두-링커 아민 (0.01 mmol)의 용액에, 8-((2-니트로페닐)디술파닐)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산 (또는 3-((4-플루오로벤질)카르바모일)-8-((2-니트로페닐)디술파닐)퀴놀린-6-카르복실산) (0.01 mmol), COMU (0.01 mmol) 및 DIPEA (0.05 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후, 물을 첨가하고 용매를 진공하에 제거하였다. 조 물질을 역상 HPLC (방법 1)로 정제하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 정제된 컨쥬게이트를 메탄올 (1 mL)에 용해시켰다. TCEP (0.05 mmol)을 첨가하고 실온에서 2시간 동안 반응시킨 후 제조용 HPLC (방법 1)에 직접 주입하여 최종 화합물을 얻었다. 분석 데이터(HRMS)는 하기 표 VI-IX에 제공된다.

예	구조	m/z [M + H] +
11JQ1		828.1897
11JQ2		872.2160
11JQ3		916.2422
11JQ4		1004.2946
11JQ5		1092.3470
11JQ6		1268.4519
11JQ7		812.1948

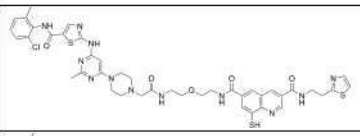
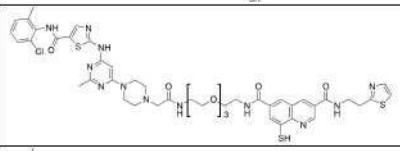
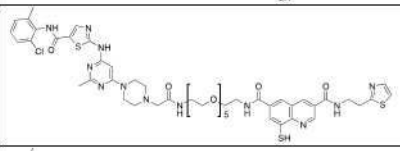
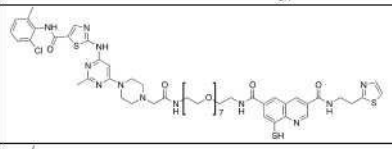
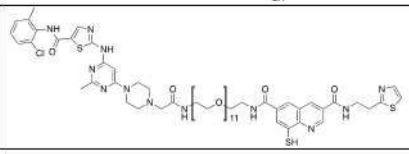
[1057]

11JQ8		826.2105
11JQ9		840.2261
11JQ10		825.2130
11JQ11		869.2392
11JQ12		809.2181
11JQ13		823.2337
11JQ14		837.2494

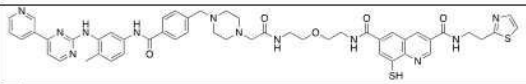
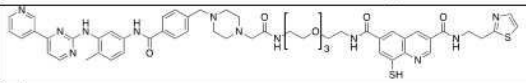
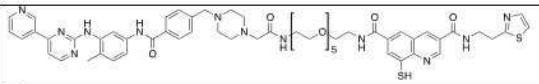
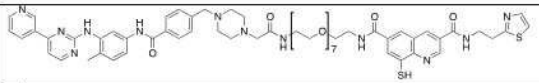
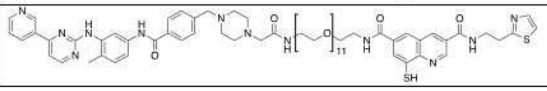
[1058]

예	구조	m / z [M + H] +
11IB1		786.2221
11IB2		874.2745
11IB3		962.3269
11IB4		1050.3794
11IB5		1226.4842

[1059]

예	구조	m / z [M + H] +
11DA1		929.2487
11DA2		1017.3011
11DA3		1105.3535
11DA4		1193.4059
11DA5		1369.5108

[1060]

예	구조	m / z [M + H] +
11IM1		965.3625
11IM2		1053.4149
11IM2		1141.4674
11IM3		1229.5198
11IM4		1405.6247

[1061]

[1062] *실시예 10 - 캅지민 접합체-벤조일 에스테르 전구약물의 제조*

[1063] 방법 1.

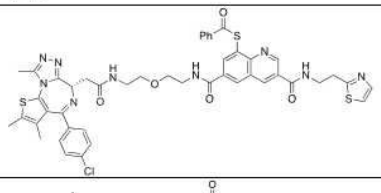
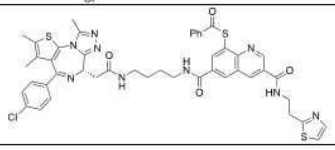
[1064] DMF (0.05 M) 중 탄두-링커 아민 (0.01 mmol)의 용액에 8-((2-니트로페닐)디술파닐)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산

[1065] (0.01 mmol), COMU (0.01 mmol) 및 DIPEA (0.05 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후, 물을 첨가하고 용매를 진공하에 제거하였다. 조 물질을 역상 HPLC (방법 1)로 정제하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 정제된 컨쥬게이트를 메탄올 (1 mL)에 용해시켰다. TCEP (0.05 mmol)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 2시간 동안 반응하도록 두었다. 메탄올을 진공하에 제거하고, 조 혼합물을 무수 DCM (3 mL)에 현탁시켰다. TEA를 pH = 10이 될 때까지 첨가한 후 염화벤질 (0.07 mmol)을 적가하였다. 실온에서 1시간 후, HPLC 분석은 티오에스테르의 형성을 나타냈다. 용매를 감압 하에 제거하고, 조 물질을 메탄올에 용해시킨 후, 제조용 HPLC(방법 1)에 주입하여 최종 화합물을 수득하였다.

[1066] 방법 2.

[1067] 아세토니트릴/물 8:2 (100 mL/mmol) 중 8-((2-니트로페닐)디술파닐)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀

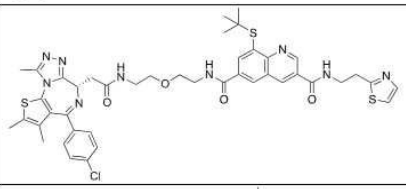
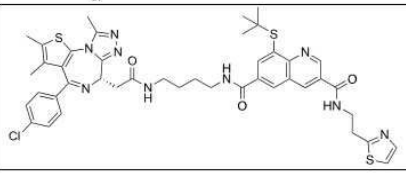
린-6-카르복실산 (1 eq) 혼합물에 TCEP (염산염, 3eq)를 첨가하였다. 30분 후, HPLC 분석 (방법 1A)은 유리 티올의 형성을 나타냈다. 벤조일 클로라이드 (1.5 eq)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 반응하도록 두었다. 조 물질을 감압 농축하고 메탄올에 용해시킨 후, 제조용 HPLC(방법 1)에 주입하여 순수한 8-(벤조일티오)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카바모일)퀴놀린-6-카르복실산을 얻었다. DMF (0.05 M) 중 탄두-링커 아민 (0.01 mmol)의 용액에 8-(벤조일티오)-3-((2-(티아졸-2-일)에틸)카르바모일)퀴놀린-6-카르복실산 (0.01 mmol), COMU (0.01 mmol) 및 DIPEA (0.05 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 반응하도록 두었고, 용매를 진공하에 제거하였다. 조 물질을 역상 HPLC (방법 1)로 정제하였다. 분석 데이터(HRMS)는 하기 표 X에 나타내었다.

예	구조	m/z [M + H] +
11JQ15		932.2160
11JQ16		916.2210

[1068]

[1069] *실시예 11 - 음성 대조군 및 8-티오퀴놀린 컨쥬게이트의 제조*

[1070] DMF (0.05 M) 중 탄두-링커 아민 (0.01 mmol)의 용액에 8-(tert-부틸티오)-6-시아노퀴놀린-3-카르복실산 (0.01 mmol), COMU (0.01 mmol), 및 DIPEA (0.05 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에 1시간 동안 반응하도록 두었고, 이후 물을 첨가하고 용매를 진공하에 제거하였다. 조 물질을 역상 HPLC (방법 1)로 정제하여 최종 화합물을 수득하였다.

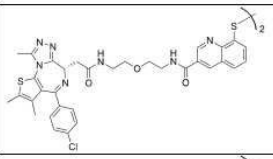
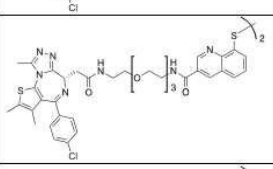
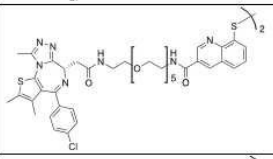
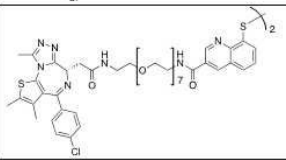
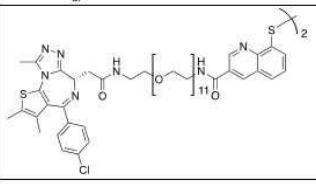
예	구조	m/z [M + H] +
11JQ17		884.2523
11JQ18		868.2574

[1071]

[1072] 8-티오퀴놀린 컨쥬게이트의 제조:

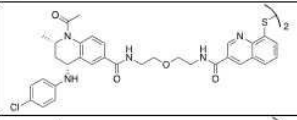
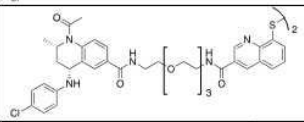
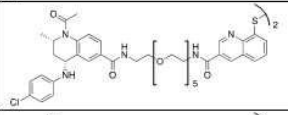
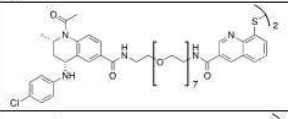
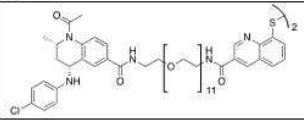
[1073] DMF (0.05 M) 중 탄두-링커 아민 (0.01 mmol)의 용액에, 8,8'-디술판디일비스(퀴놀린-3-카르복실산) (0.005 mmol), COMU (0.01 mmol) 및 DIPEA (0.05 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 반응하도록 둔 후, 물을 첨가하고 용매를 진공하에 제거하였다. 조 물질을 역상 HPLC (방법 1)로 정제하였다. 용매를 감압하에 제거하여 원하는 생성물을 얻었다. 분석 데이터(HRMS)는 하기 표 XIa 내지 XId에 제공된다.

[1074] [표 XIa]

예	구조	m/z [M + 2H] ++
19JQ19		673.1697
11JQ20		761.2221
11JQ21		849.2745
11JQ22		937.3269
11JQ23		1113.4318

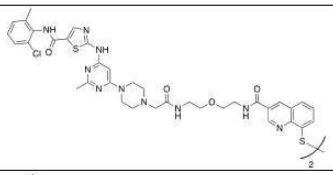
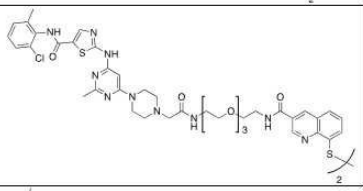
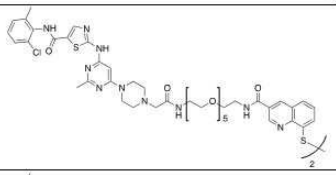
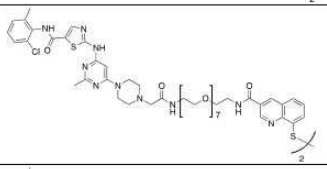
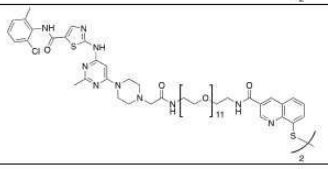
[1075]

[1076] [표 XIb]

예	구조	[M + 2H] ++
11IB6		631.2020
11IB7		719.2544
11IB8		807.3069
11IB9		895.3593
11IB10		1071.4642

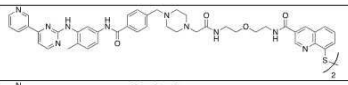
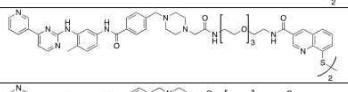
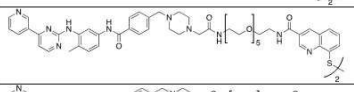
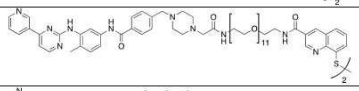
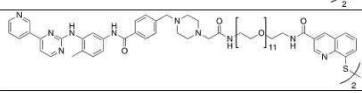
[1077]

[1078] [표 XIc]

예	구조	m / z [M + 2H] ++
11DA6		774.2286
11DA7		862.2810
11DA8		950.3334
11DA9		1038.3859
11DA10		1214.4907

[1079]

[1080] [표 XId]

예	구조	m / z [M + 2H] ++
11IM6		810.3424
11IM7		898.3949
11IM8		986.4473
11IM9		1074.4997
11IM10		1250.6046

[1081]

[1082] *실시예 12 - 캅지민(capzimin)계 대표적인 화합물에 의한 브로모- 및 엑스트라-말단 도메인 단백질(BET) 단백질의 분해*

[1083] 세포 배양. HeLa (CCL-2) 및 HEK293 (CRL-1573) 세포를 ATCC에서 구입하여 10 % FBS, 100 μg/mL 페니실린/스트렙토마이신 및 L-글루타민이 보충된 DMEM 배지 (Gibco)에서 배양하였다. 세포는 37 ℃ 및 5 % CO2에서 성장시켰으며 30 계대 이하로 유지하였다. 모든 세포주는 Lonza의 MycoAlert 키트를 사용하여 마이코플라스마 오염에 대해 일상적으로 테스트되었다.

[1084] HeLa (5×10^5) 및 HEK293 (1×10^6) 세포는 최종 DMSO 농도가 0.1 % v/v 인 1 μM 화합물로 처리하기 전에 표준 6-웰 플레이트 (2mL 배지)에 밤새 파종하였다. 6 시간 인큐베이션 후, 세포를 DPBS (Gibco)로 세척하고 cOmplete Mini EDTA-free 프로테아제 억제제 칵테일 (Roche) 및 벤조나아제가 보충된 85 μL RIPA 완충액

(Sigma-Aldrich)을 사용하여 용해하였다. 용해물을 원심 분리 (20000g, 10 분, 4 ℃)로 명확히하고(clarify), 상층액의 총 단백질 함량을 Bradford 비색 분석을 사용하여 정량했다. 샘플은 동일한 양의 총 단백질과 LDS 샘플 완충액 (Invitrogen)를 사용하여 준비하였다.

[1085] 면역블롯팅(Immunoblotting). 단백질을 NuPage 4-12 % Bis-Tris 겔에서 SDS-PAGE로 분리한 후 습식 전이를 사용하여 Amersham Protran 0.45 NC 니트로셀룰로오스 막 (GE Healthcare)으로 전달했다. 0.1 % Tween-20과 함께 Tris 완충 식염수 (TBS)에서 5 % w/v 밀크를 사용하여 막을 차단했다. 블롯은 항-Brd2 (Abcam ab139690, 1 : 2,000 희석), 항-Brd3 (Abcam ab50818, 1 : 500 희석), 및 항-Brd4 (Abcam ab128874, 1 : 1,000 희석) 1차 항체를 사용하여 적절하게 프로브되었다 (4 ℃에서 밤새). 다음날, 블롯을 TBST로 세척하고 항-튜불린 hFAB-로다민 (BioRad, 12004166) 1 차 항체, 및 항-토끼 IRDye 800CW (Licor 1 : 10,000 희석) 또는 항-마우스 IRDye 800CW (Licor 1 : 10,000 희석) 2 차 항체와 함께 인큐베이션(RT에서 1 시간)했다. 블롯은 Bio-Rad ChemiDoc MP Imaging System을 사용하여 현상하였고 밴드 정량화는 Image Studio 소프트웨어 (LiCor)를 사용하여 수행하였다. 밴드 강도는 튜불린 로딩 컨트롤로 정규화하였고 평균 0.1 % DMSO 비히클 강도의 %로 보고되었다. 분해 데이터는 Prism (Graphpad, 버전 8)을 사용하여 플롯하고 분석하였다.

[1086] 도 1의 HEK293 용해물로부터의 대표적인 웨스턴 블롯은 1μM 화합물로 6 시간 처리한 후 Brd2, Brd3 및 Brd4 단백질 수준의 고갈을 보여준다. MZ1은 양성 대조군으로 사용되었다. 각 레인 아래에 보고된 값은 평균 0.1 % DMSO 대조군에 비해 BET의 풍부함을 나타낸다. 모든 대표적인 화합물은 PROTAC MZ1의 효능에 근접하는 몇 가지 화합물(예를 들면, 11JQ7)과 함께 BRD2, BRD3 및 BRD4의 고갈을 나타낸다.

[1087] *실시예 13 벤조일 에스테르 전구약물의 활성*

[1088] HEK293 (1 x 106) 세포를 DMSO, 11JQ7 또는 11JQ16 화합물과 함께 원하는 농도 (1 nM - 10 μM)에서, 0.1% v/v의 최종 DMSO 농도로 인큐베이션시켰다. 4시간의 처리 시간 후, 세포를 RIPA 완충액으로 용해시키고 Brd4 및 â-튜뷸린에 대해 면역블롯팅하였다. 각 레인 아래에 보고된 값은 0.1% DMSO 대조군에 비해 BET 풍부도를 나타낸다. 유사한 수준의 BRD4 고갈이 벤조일 에스테르 전구약물과 모 분자 둘 다에서 관찰된다. 결과는 도 2에 나타나어 있다.

[1089] *실시예 14 11JQ15의 음성 SAR*

[1090] HEK293 (1 x 10^6) 세포를 DMSO, 1 μM 11JQ15 또는 1 μM 11JQ17과 함께 0.1 % v/v의 최종 DMSO 농도로 4 시간 동안 인큐베이트하였다. 3회의 독립적인 처리 (n = 3)로부터의 세포를 RIPA 완충액으로 용해하고 Brd4 및 β-튜불린에 대해 면역 블롯팅했다. 밴드 강도를 튜불린 로딩 대조군(tubulin loading control)으로 정규화하고, 0.1% DMSO 비히클 강도의 %로 기록하였다. 분해 데이터는 Prism (그래프패드, 버전 8)을 사용하여 플롯팅하고 분석하였으며, 여기서 막대는 3개의 독립적인 실험의 평균 ± SEM이다. Brd4 수준의 현저한 고갈이 11JQ15에서 관찰되지만, tert-부틸-캡핑된 등가물, 11JQ17로 처리한 후에는 최소의 고갈이 있었다. 결과는 도 3에 나타나 있다.

[1091] *실시예 15 캡지민계 대표 화합물에 의한 농도-의존적 BET 분해*

[1092] HeLa (5 x 10^5) 및 HEK293 (1 x 10^6) 세포를 원하는 농도 (1 nM - 10 μM)의 화합물로 처리하기 전에 표준 6-웰 플레이트 (2 mL 배지)에 밤새 파종하였는데, 최종 DMSO 농도는 0.1 % v/v이었다. 4 시간 처리 시간 후, 세포를 DPBS (Gibco)로 세척하고 cOmplete Mini EDTA-free 프로테아제 억제제 칵테일 (Roche) 및 벤조나아제가 보충된 85 μL RIPA 완충액 (Sigma-Aldrich)을 사용하여 용해하였다. 용해물을 원심 분리 (20,000g, 10 분, 4 ℃)에 의해 명확히 하였고 상청액의 총 단백질 함량은 Bradford 비색 분석을 사용하여 정량하였다. 샘플은 동일한 양의 총 단백질과 LDS 샘플 완충액(Invitrogen)을 사용하여 제조하였다. 밴드 강도를 튜불린 로딩 대조군(tubulin loading control)으로 정규화하고, 평균 0.1% DMSO 비히클 강도의 %로 기록하였다. 분해 데이터는 Prism (Graphpad, version 8)을 사용하여 플롯팅하고 분석하였다.

[1093] 도 4의 대표적인 블롯은 증가하는 농도의 11JQ16 또는 11JQ15로 처리한 후 Brd2, Brd3 및 Brd4 단백질 수준의 고갈을 보여준다. MZ1 및 11JQ17은 각각 양성 및 음성 대조군에 대해 1μM에서 사용되었다.표 XII는 대표적인 화합물 (11JQ17, 11JQ1, 11JQ15, 11JQ12, 11JQ7, 및 11JQ16)에 대한 DC50 파라미터를 나타내는데, 여기서: Dmax는 관찰된 최대 분해이고, DC50은 Dmax의 50%에 도달하는데 필요한 농도이다. 표에서 D_{max}: + (D_{max} ≤ 25%); ++ (26%≤ D_{max} ≤ 50%); +++ (51%≤ D_{max} ≤ 70%); ++++ (71%≤ D_{max}) ; DC_{50}: A (DC_{50} ≤ 50 nM); B (51nM ≤

DC_{50} ≤ 500 nM); C (501nM ≤ DC_{50}).

[1094] **표 XII. 캡지민계 대표 화합물에 의한 농도-의존적 분해**

	표적	HEK293		HeLa	
		D_{max} (%)	DC_{50}	D_{max} (%)	DC_{50}
11JQ17	Brd2	+	-	+	-
	Brd3	+	-	+	-
	Brd4 (L)	+	-	+	-
	Brd4 (S)	+	-	+	-
11JQ1	Brd2	++++	B	++	B
	Brd3	+++	C	+++	C
	Brd4 (L)	++++	B	++++	B
	Brd4 (S)	++++	B	++++	B
11JQ15	Brd2	++	B	++	B
	Brd3	++	B	++	B
	Brd4 (L)	+++	B	+++	B
	Brd4 (S)	+++	B	+++	B
11JQ12	Brd2	++	C	++	C
	Brd3	++	C	+	C
	Brd4 (L)	++++	B	++++	C
	Brd4 (S)	++++	B	++++	C
11JQ7	Brd2	++++	B	++++	C
	Brd3	++++	C	++++	B
	Brd4 (L)	++++	B	++++	A
	Brd4 (S)	++++	B	++++	A
11JQ16	Brd2	++++	B	+++	B
	Brd3	++++	A	+++	C
	Brd4 (L)	++++	A	++++	B
	Brd4 (S)	++++	A	++++	B

[1095]

[1096] *실시예 16 캡지민계 대표 화합물에 의한 시간-의존적 BET 분해*

[1097] HEK293 (0.5×10^6) 세포를 1 μM 농도의 화합물로 처리하기 전에 표준 6-웰 플레이트 (2mL 배지)에 밤새 파종하였는데, 최종 DMSO 농도가 0.1 % v/v 이었다. 원하는 시간 (0 - 24 시간) 동안 인큐베이션한 후, 세포를 DPBS (Gibco)로 세척하고 complete Mini EDTA-free 프로테아제 억제제 칵테일 (Roche) 및 벤조나아제가 보충된 85 μL RIPA 완충액 (Sigma-Aldrich)을 사용하여 용해하였다. 용해물을 원심 분리 (20,000g, 10 분, 4 ℃)에 의해 명확히 하였고 상청액의 총 단백질 함량은 Bradford 비색 분석을 사용하여 정량하였다. 샘플은 동일한 양의 총 단백질과 LDS 샘플 완충액(Invitrogen)을 사용하여 제조하였다. 밴드 강도를 튜불린 로딩 대조군(tubulin loading control)으로 정규화하고, 평균 0.1% DMSO 비히클 강도의 %로 기록하였다. 분해 데이터는 Prism (Graphpad, version 8)을 사용하여 플롯팅하고 분석하였다.

[1098] 도 5의 대표적인 블롯은 11JQ16 또는 11JQ15로 다양한 시점에서 1 μM 처리 후 Brd2, Brd3 및 Brd4 단백질 수준의 고갈을 보여준다. MZ1 및 11JQ17은 각각 양성 및 음성 대조군을 위해 1 μM (4 h)에서 사용되었다. 표 XIII은 HEK293 세포에서 대표적인 화합물에 대한 시간 과정 파라미터를 나타내며, 여기서: Dmax는 관찰된 최대 분해이고, T1/2 (h)는 Dmax의 50%에 도달하는데 필요한 시간이고, Abs이다. T1/2 (h)는 DMSO에 비해 상대적으로 단백질의 50%를 고갈시키는데 필요한 시간이다.

[1099] **표 XIII. 캡지민계 대표 화합물에 의한 시간 의존적 분해**

	표적	HEK293			HeLa		
		D_{max} (%)	$T_{1/2}$ (h)	Abs. $T_{1/2}$ (h)	D_{max} (%)	$T_{1/2}$ (h)	Abs. $T_{1/2}$ (h)
11JQ1	Brd2	60	1.0	3.5	ND		
	Brd3	90	2.7	3.5	ND		
	Brd4 (L)	95	1.6	1.7	ND		
	Brd4 (S)	95	2	1.9	ND		
11JQ15	Brd2	50	1.1	5.7	ND		
	Brd3	70	1.5	2.6	ND		
	Brd4 (L)	90	0.8	1.1	90	3.5	4.3
	Brd4 (S)	90	0.9	1.2	90	2.8	3.3
11JQ7	Brd2	80	1.8	3.2	50	4	4
	Brd3	95	2.9	3.4	ND		
	Brd4 (L)	98	1.2	1.2	100	2.3	2.4
	Brd4 (S)	99	1.9	1.9	100	3	3.1
11JQ16	Brd2	75	1.7	2.7	ND		
	Brd3	95	1.6	1.9	ND		
	Brd4 (L)	98	1.0	1.0	ND		
	Brd4 (S)	95	0.6	0.6	ND		

ND = 결정되지 않음

[1100]

[1101] *실시예 17: 캡지민계 대표 화합물의 기계론적 평가*

[1102] HeLa (5×10^5) 및 HEK293 (1×10^6) 세포를 억제제 (10 μM 보르테조밉, 10 μM 캡지민, 10 μM JQ1)로 전처리하기 전에 밤새 표준 6-웰 플레이트 (2 mL 배지)에 파종하였다. 0.5시간 사전-인큐베이션 시간 후, 세포를 비히클, 1 μM MZ1 또는 1 μ 11JQ15로 후속적으로 처리하여 0.2% v/v의 최종 총 DMSO 농도를 수득하였다. 4 시간 인큐베이션후, 세포를 DPBS (Gibco)로 세척하고 complete Mini EDTA-free 프로테아제 억제제 칵테일 (Roche) 및 벤조나아제가 보충된 85 μL RIPA 완충액 (Sigma-Aldrich)을 사용하여 용해하였다. 용해물을 원심분리(20000 g, 10분, 4 C)에 의해 명확히 하고, 상청액의 총 단백질 함량을 브래드포드 비색 분석을 사용하여 정량하였다. 샘플을 동일한 양의 총 단백질 및 LDS 샘플 완충액 (Invitrogen)을 사용하여 제조하였다.

[1103] 도 6A에서 HEK293 용해물의 대표적인 블롯은 10 μM 보르테조밉, 10 μM 캡지민, 및 10 μM JQ1의 존재 및 부재하에, 1 μM 11JQ15 또는 MZ1으로 4시간 처리한 후 Brd4 단백질 수준의 고갈을 보여준다. 각 막대는 중복(n = 3)으로 수행된 3가지 독립적인 실험의 평균 ± SEM이다.

[1104] 11JQ15에 의한 분해는 보르테조밉 및 JQ1의 존재 하에 완전히 차단되었고, 캡지민의 존재하에 상당히 차단되었다($p < 0.01$; paired t-test). 대안적으로, MZ1 분해는 보르테조밉 및 JQ1에 의해서만 차단되었다. 이들 데이타는 분해가 프로테아좀 의존적임을 시사한다.

[1105] *실시예 18 : TMT-표지 MS에 의한 편향되지 않은 전체 프로테옴 분석*

[1106] HEK293 (2.2×10^6) 세포를 최종 DMSO 농도가 0.1 % v/v를 위해 1μM 농도의 화합물로 처리하기 전에 표준 10 cm 플레이트 (10mL 배지)에 밤새 파종하였다. 4시간 인큐베이션후, 세포를 DPBS(Gibco)로 2x로 세척하고, cOmplete Mini EDTA-free 프로테아제 억제제 칵테일 (Roche) 및 벤조나아제로 보충된 500μL 용해 완충액 (100 mM Tris, 4%(w/v) SDS, pH 8.0)를 이용하여 용해시켰다. 용해물을 간단히 초음파처리(2 x 10 s)하고, 원심분리(20000g, 10분, 4℃)로 명확히 하고, 상청액의 총 단백질 함량을 BCA 분석(Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 정량하였다.

[1107] 샘플 처리, 소화(digestion), 탈염, 표지 및 분획화는 앞서 기재된 바와 같이 Fingerprint Proteomics (University of Dundee)에서 수행하였다 [Gadd et al. 10.1038/nchembio.2329]. 도 7은 11JQ15을 DMSO 처리(왼쪽)에 대비하고 1μM 11JQ17을 DMSO 처리 (오른쪽)에 대비한 7882 단백질의 풍부도의 배 변화 뿐만 아니라, 이들의 각각의 p-값 (t-test; n = 3)을 나타낸다. 활성 화합물 11JQ15의 존재하에 Brd2, Brd3 및 Brd4의 선택적 분해가 있음이 분명하다. tert-부틸 등가물 (11JQ17)은 BET 고갈을 나타내지 않는데 이는 기능성 캡지민계 대표 화합물이 분해에 필요함을 시사하는 것이다.

[1108] *실시예 19: 캡지민계 대표 화합물에 의한 세포 생존력상의 영향*

[1109] 대표적인 화합물 및 기타 화합물의 항 증식 효과는 CellTiter-Glo 분석 (Promega)을 사용하여 측정하였다. MV4-

11 세포를 멸균된 흰색의 투명한 바닥이 있는 384-웰 세포 배양 마이크로플레이트 (Greiner Bio-one)에서 RPMI 배지에서 2 배(2X) 농도 및 25μl의 부피로 인큐베이트했다. 다음날, 테스트 화합물을 RPMI 배지에서 2 배(2X) 농도로 연속 희석한 다음 세포에 첨가하여 최종 부피를 50μl로 만들었다. 72 시간 인큐베이션 후 25 μl의 CellTiter-Glo 시약을 각 웰에 첨가했다. 15 분 인큐베이션 후 Pherastar FS에서 발광 신호를 판독했다. 분석 성분의 최종 농도는 다음과 같다: 3 x 10^5 cells/mL, 0.05 % DMSO, 5 μM 이하 화합물. 데이터 (도 8)를 처리하고 Prism 8 (그래프패드)을 사용하여 선량-반응 곡선을 생성했다.

[1110] 데이터는 JQ1 및 비활성 11JQ18과 구별되는 11JQ7 및 11JQ16에 대한 세포 독성 프로파일을 보여주는데, 이는 표적 저해 보다는 표적 분해와 일치한다. 캡지민만이 세포 독성이 현저히 낮음을 보여준다.

[1111] *실시예 20: MV4-11 세포에서 c-MYC 수준 및 PARP 절단에 대한 캡지민계 대표 화합물의 효과.*

[1112] MV4-11 (0.7 x 10^6 세포/mL)을 원하는 농도의 화합물과 0.1 % v/v의 최종 DMSO 농도로 처리하기 전에 밤새 10cm 플레이트 (10 % FBS 및 L-글루타민으로 보충된 10mL DMEM)에 파종했다. 6 시간 배양 후, 세포를 DPBS (Gibco)로 2 회(2x) 세척하고 cOmplete Mini EDTA-free 프로테아제 억제제 칵테일 (Roche) 및 벤조나아제가 보충된 85μL RIPA 완충액 (Sigma-Aldrich)을 사용하여 용해하였다. 용해물은 원심 분리 (20,000g, 10 분, 4 ℃)에 의해 명확히 하였고 상청액의 총 단백질 함량은 Bradford 비색 분석을 사용하여 정량하였다. 샘플은 동일한 양의 총 단백질과 LDS 샘플 완충액 (Invitrogen)를 사용하여 제조하였다. 면역블롯 분석을 위해 다음 항체가 사용되었다: 항-Brd4 (ab128874, 1 : 1,000 희석), 항-c-myc (ab32072, 1 : 1,000 희석), 항- CPARP (CST-9541T, 1:1,000 희석), 및 항-튜불린 hFAB-로다민 (BioRad , 12004166, 1 : 10,000 희석).

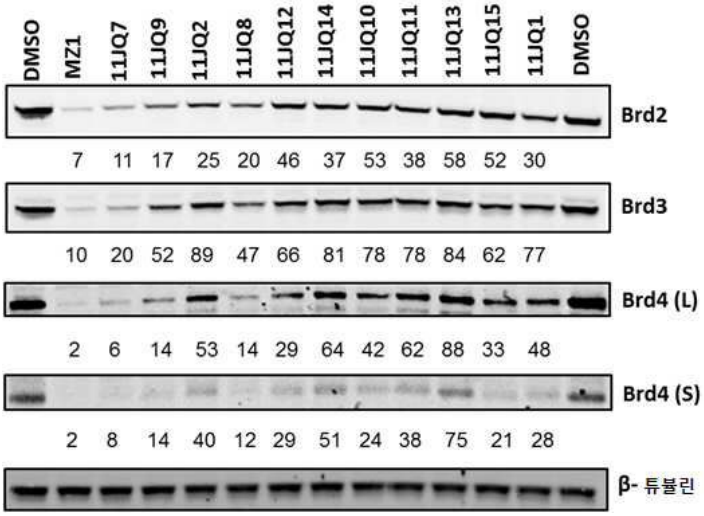
[1113] 도 9의 대표적인 면역블롯은 증가하는 농도의 11JQ16으로 처리한 후 Brd4 및 c-MYC 수준의 고갈 및 절단된 PARP의 상응하는 증가를 보여준다. C-PARP의 증가는 억제제 (JQ1) 단독 및 음성 대조군 (11JQ18)보다 상당히 큰데, 이는 억제보다는 표적 분해와 일치하는 것이다.

[1114] *실시예 21. 캡지민계 대표 화합물은 인간 Rpn11에 결합한다.*

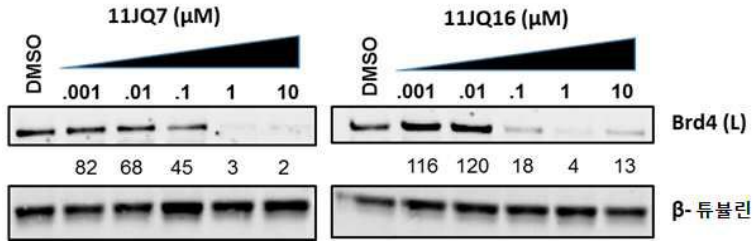
[1115] 등온 적정 열량측정법(ITC)을 사용하여 Rpn8(잔기 1-179)과 공발현되는 정제된 인간 Rpn11(잔기 2-239)에 대한 캡지민 결합을 측정하였다. ITC200 미세열량계(25℃, 750 rpm)에서 세포 내 단백질(40μM) 및 주사기 내 리간드(400μM)로 적정하였다. ITC 완충액(20 mM 비스-트리스 프로판, 100 mM NaCl, 1 mM 트리스(2-카르복시에틸)포스핀(TCEP), pH 7.5)을 사용하여 2%의 최종 DMSO 농도로 용액을 제조하였다. 주행은 120 s 시간 간격으로 0.5 μL/s의 속도로 2 μL의 단백질 용액의 19 주입(injection)으로 구성되었다. 0.4 μL의 초기 주입은 데이터 분석(data analysis) 동안 만들어지고 폐기되었다. MicroCal PEIQ-ITC 분석 소프트웨어를 사용하여 단일 결합-부위 모델에 데이터를 맞추어 해리 상수 Kd(675 nM), 화학양론 N(1.04) 및 결합 ΔH 의 엔탈피(-2.3 kcal/mol)를 얻었다.

도면

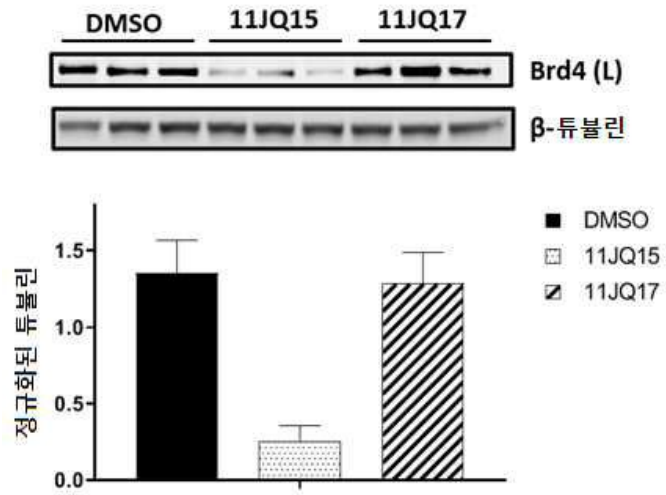
도면1



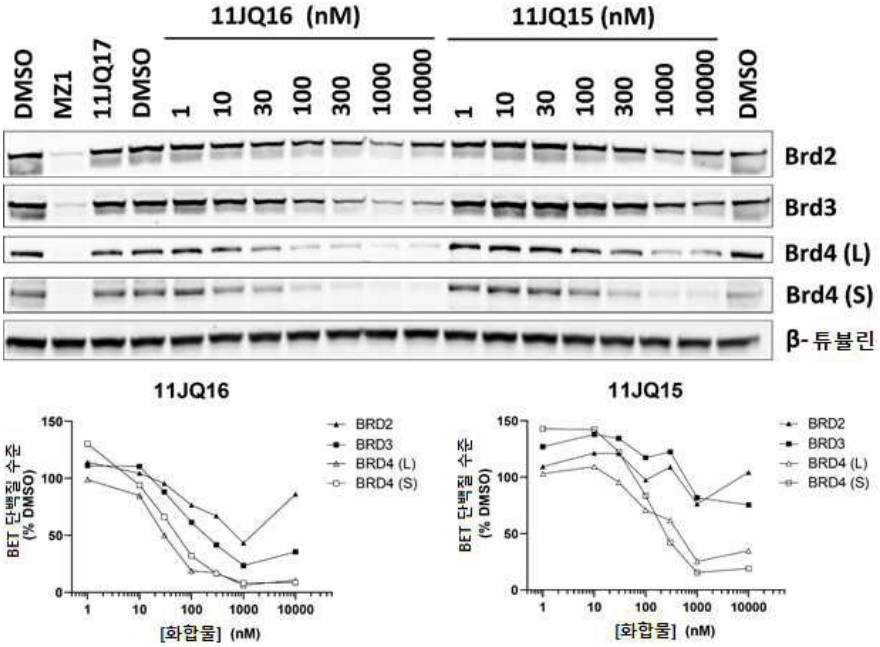
도면2



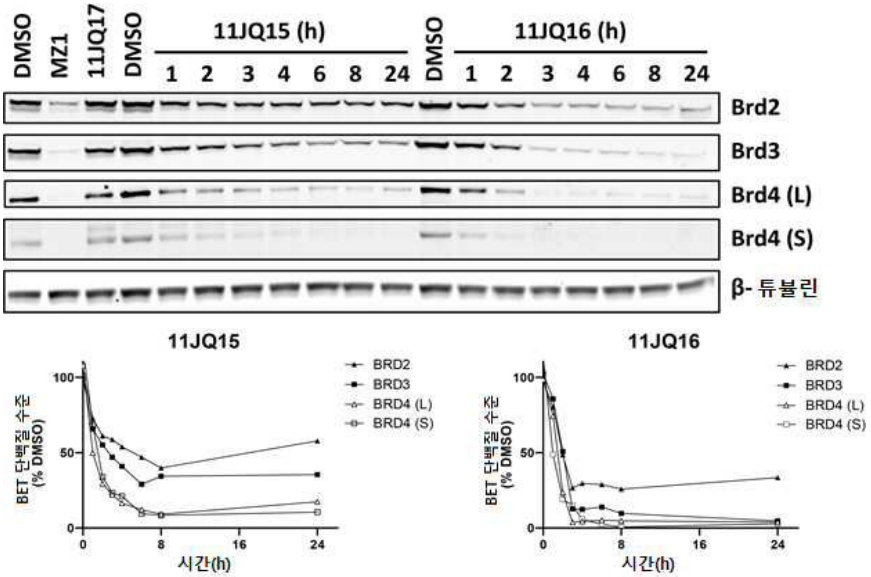
도면3



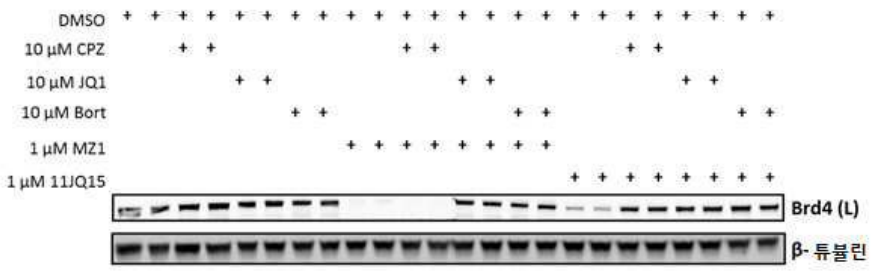
도면4


11JQ16 (nM)
11JQ15 (nM)
DMSO
MZ1
11JQ17
DMSO
1
10
30
100
300
1000
10000
1
10
30
100
300
1000
10000
DMSO
Brd2
Brd3
Brd4 (L)
Brd4 (S)
β-튜뷸린
11JQ16
11JQ15
BET 단백질 수준 (% DMSO)
BRD2
BRD3
BRD4 (L)
BRD4 (S)
[화합물] (nM)

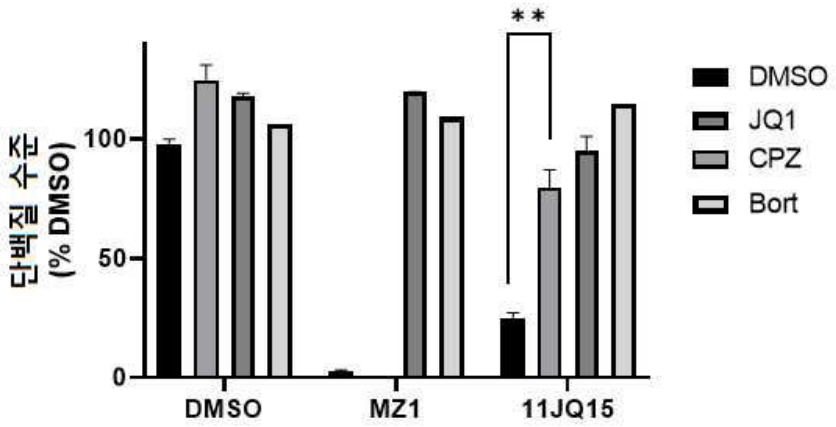
도면5


DMSO
MZ1
11JQ17
DMSO
11JQ15 (h)
1 2 3 4 6 8 24
DMSO
11JQ16 (h)
1 2 3 4 6 8 24
Brd2
Brd3
Brd4 (L)
Brd4 (S)
β-튜뷸린
11JQ15
11JQ16
BET 단백질 수준 (% DMSO)
BRD2
BRD3
BRD4 (L)
BRD4 (S)
시간(h)

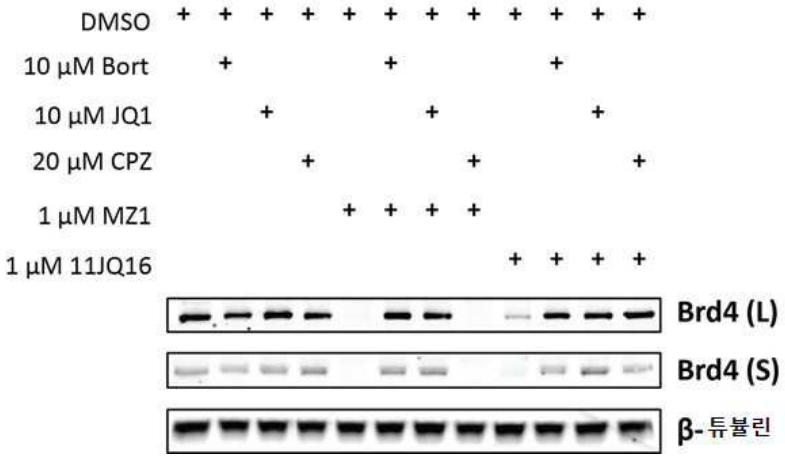
도면6a


DMSO
10 μM CPZ
10 μM JQ1
10 μM Bort
1 μM MZ1
1 μM 11JQ15
Brd4 (L)
β-튜뷸린

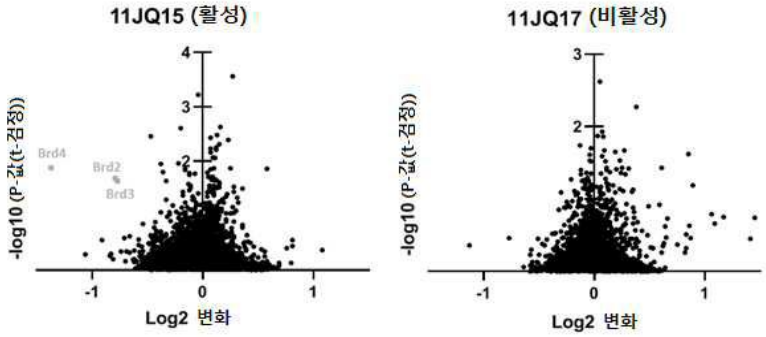
도면6b



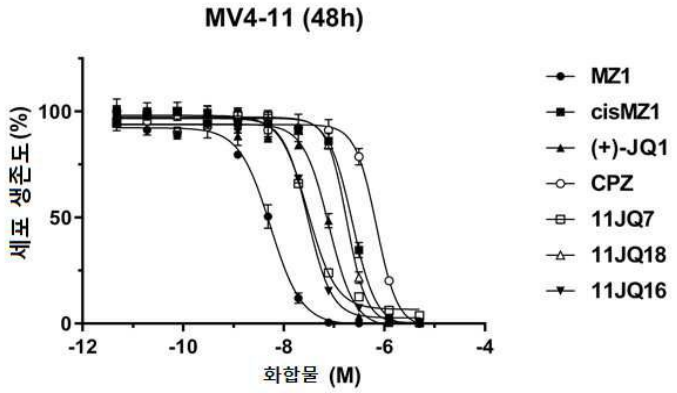
도면6c



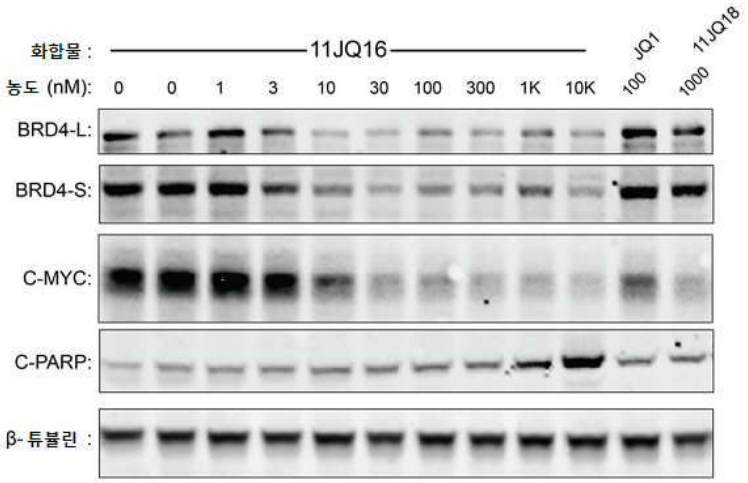
도면7



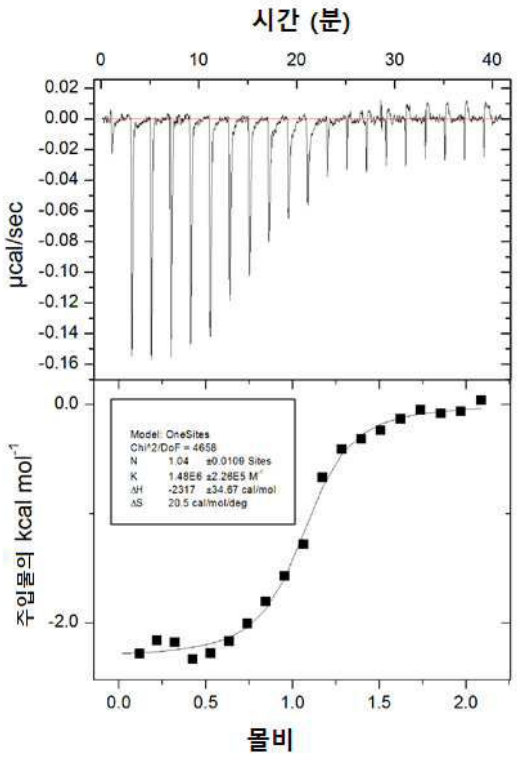
도면8


MV4-11 (48h)
세포 생존도 (%)
100
50
0
-12
-10
-8
-6
-4
화합물 (M)
MZ1
cisMZ1
(+)-JQ1
CPZ
11JQ7
11JQ18
11JQ16

도면9


화합물 :
11JQ16
JQ1
11JQ18
농도 (nM):
0
0
1
3
10
30
100
300
1K
10K
100
1000
BRD4-L:
BRD4-S:
C-MYC:
C-PARP:
β-튜불린 :

도면10



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> University of Dundee

CIULLI, Alessio

TESTA, Andrea

HUGHES, Scott

BUTCHER, Steven P

<120> Bifunctional Molecules for Protein Degradation

<130> 44900-10202

<150> US 62/684,265

<151> 2018-06-13

<150> US 62/835,953

<151> 2018-04-18

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 933

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atggacagac ttcttagact tggaggaggt atgcctggac tgggccaggg gccacctaca 60

gatgctcctg cagtggacac agcagaacaa gtctatatct cttccctggc actgttaaaa 120

atgttaaaac atggccgtgc tggagttcca atggaagtta tgggtttgat gcttggagaa 180

tttgttgatg attataccgt cagagtgatt gatgtgtttg ctatgccaca gtcaggaaca 240

ggtgtcagtg tggaggcagt tgatccagtg ttccaagcta aaatgttgga tatgttgaag 300

cagacaggaa ggccggagat ggttgttggt tggtatcaca gtcaccctgg ctttggttgt 360

tggctttctg gtgtggatat caacactcag cagagctttg aagccttgtc ggagagagct 420

gtggcagtgg ttgtggatcc cattcagagt gtaaaaggaa aggttgttat tgatgccttc 480

agattgatca atgctaatat gatggtctta ggacatgaac caagacaaac aacttcgaat 540

ctgggtcact taaacaagcc atctatccag gcattaattc atggactaaa cagacattat 600

tactccatta ctattaacta tcggaaaaat gaactggaac agaagatgtt gctaaatttg 660

cataagaaga gttggatgga aggtttgaca cttcaggact acagtgaaca ttgtaaacac 720

aatgaatcag tggtaaaaga gatgttggaa ttagccaaga attacaataa ggctgtagaa 780

gaagaagata agatgacacc tgaacagctg gcaataaaga atgttggcaa gcaggacccc 840

aaacgtcatt tggaggaaca tgtggatgta cttatgacct caaatattgt ccagtgttta 900

gcagctatgt tggatactgt cgtatttaaa taa 933

<210> 2

<211> 310

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Arg Leu Leu Arg Leu Gly Gly Gly Met Pro Gly Leu Gly Gln
1 5 10 15

Gly Pro Pro Thr Asp Ala Pro Ala Val Asp Thr Ala Glu Gln Val Tyr
20 25 30

Ile Ser Ser Leu Ala Leu Leu Lys Met Leu Lys His Gly Arg Ala Gly
35 40 45

Val Pro Met Glu Val Met Gly Leu Met Leu Gly Glu Phe Val Asp Asp

50 55 60

Tyr Thr Val Arg Val Ile Asp Val Phe Ala Met Pro Gln Ser Gly Thr

65 70 75 80

Gly Val Ser Val Glu Ala Val Asp Pro Val Phe Gln Ala Lys Met Leu

85 90 95

Asp Met Leu Lys Gln Thr Gly Arg Pro Glu Met Val Val Gly Trp Tyr

100 105 110

His Ser His Pro Gly Phe Gly Cys Trp Leu Ser Gly Val Asp Ile Asn

115 120 125

Thr Gln Gln Ser Phe Glu Ala Leu Ser Glu Arg Ala Val Ala Val Val

130 135 140

Val Asp Pro Ile Gln Ser Val Lys Gly Lys Val Val Ile Asp Ala Phe

145 150 155 160

Arg Leu Ile Asn Ala Asn Met Met Val Leu Gly His Glu Pro Arg Gln

165 170 175

Thr Thr Ser Asn Leu Gly His Leu Asn Lys Pro Ser Ile Gln Ala Leu

180 185 190

Ile His Gly Leu Asn Arg His Tyr Tyr Ser Ile Thr Ile Asn Tyr Arg

195 200 205

Lys Asn Glu Leu Glu Gln Lys Met Leu Leu Asn Leu His Lys Lys Ser

210 215 220

Trp Met Glu Gly Leu Thr Leu Gln Asp Tyr Ser Glu His Cys Lys His

225 230 235 240

Asn Glu Ser Val Val Lys Glu Met Leu Glu Leu Ala Lys Asn Tyr Asn

245 250 255

Lys Ala Val Glu Glu Glu Asp Lys Met Thr Pro Glu Gln Leu Ala Ile

260 265 270

Lys Asn Val Gly Lys Gln Asp Pro Lys Arg His Leu Glu Glu His Val

275 280 285

Asp Val Leu Met Thr Ser Asn Ile Val Gln Cys Leu Ala Ala Met Leu

290 295 300

Asp Thr Val Val Phe Lys

305 310