



등록특허 10-2753455



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월10일

(11) 등록번호 10-2753455

(24) 등록일자 2025년01월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7008 (2006.01) **A61K 31/165** (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) **A61P 29/00** (2023.01)
A61P 35/00 (2006.01) **A61P 37/00** (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/7008 (2013.01)
A61K 31/165 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7006602
- (22) 출원일자(국제) 2019년08월08일
 심사청구일자 2021년04월22일
- (85) 번역문제출일자 2021년03월04일
- (65) 공개번호 10-2021-0041036
- (43) 공개일자 2021년04월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/045742
- (87) 국제공개번호 WO 2020/033715
 국제공개일자 2020년02월13일
- (30) 우선권주장
 62/716,101 2018년08월08일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 Journal for ImmunoTherapy of Cancer,
 5:47/1-12, 2017.*
 US20170260594 A1
 US20150368349 A1
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
 세다르스-신나이 메디칼 센터
 미합중국 씨에이 90048-1865 로스엔젤레스 8700베
 버리 블레매드
- (72) 발명자
 무랄리 라마찬드란
 미국 90211 캘리포니아, 비버리 힐즈 에이피티.
 102, 엔. 스왈 드라이브 303
 맥널리 랜달
 미국 90013 캘리포니아, 로스 앤젤레스 에이피티.
 409, 더블유 15번 스트리트 315
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 위병갑

전체 청구항 수 : 총 9 항

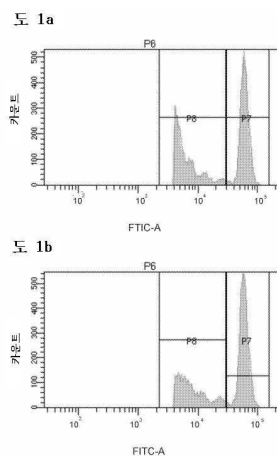
심사관 : 성선영

(54) 발명의 명칭 암 및 자가면역 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

암 및 자가면역 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법이 본원에 기재된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 1/00 (2018.01)

A61P 29/00 (2023.02)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

(72) 발명자

관 신레이

미국 90048 캘리포니아, 더블유. 헐리우드 에이피
티. 207, 벨톤 웨이 8711

유 존선

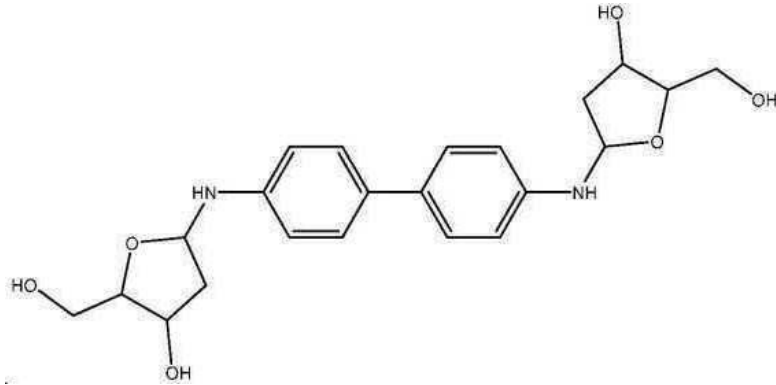
미국 90049 캘리포니아, 로스 앤젤레스 아쉬테일
플레이스 269

명세서

청구범위

청구항 1

GITR/GITRL 작용제를 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서,
상기 GITR/GITRL 작용제는 하기의 화합물:



인, 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 암은 T-세포/B-세포 림프종(호지킨 림프종 및/또는 비-호지킨 림프종), 뇌종양, 유방암, 결장암, 폐암, 간세포암, 위암, 췌장암, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 요로암, 갑상선암, 신장암, 암종, 피부암, 두경부암, 뇌암, 및 전립선암, 안드로겐-의존적 전립선암 및 안드로겐-독립적 전립선암인, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 피부암은 흑색종인, 조성물.

청구항 8

제 1항에 있어서, 상기 GITR/GITRL 작용제는 T-eff 세포를 농화(enriched) 또는 증식(expanded)하여 암을 예방 또는 치료하는 것이고, 상기 T-eff 세포는 T-reg의 존재 또는 부존재하에서 농화 또는 증식된 것인, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 T-eff 또는 T-reg 세포는 치료 대상에 대하여 자가(autologous)인, 조성물.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 T-eff 또는 T-reg 세포는 치료 대상에 대하여 동종이계(allogeneic)인, 조성물.

청구항 11

삭제

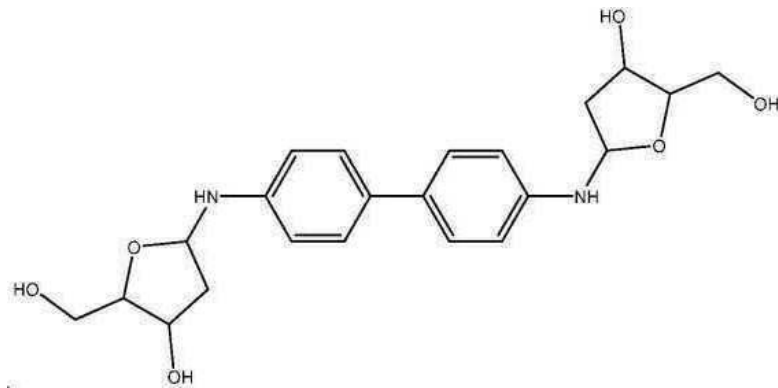
청구항 12

삭제

청구항 13

In vitro에서, T-eff 세포를 농화시키거나 증식시키는 방법으로서, 상기 방법은 T-reg 세포의 존재 하에 또는 부재 하에 상기 T-eff 세포를 GITR/GITRL 작용제와 접촉시키는 단계를 포함하는,

상기 GITR/GITRL 작용제는 하기의 화합물:



인 것인, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 T-reg 세포가 존재하는, 방법.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 T-eff 및 T-reg 세포는 1:1의 비율인 것인, 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시내용은 일반적으로, 암 및 염증성 질환, 예컨대 자가면역 질환을 치료하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 본원의 모든 공개문헌들은 각각의 개별 공개문헌 또는 특허 출원이 참조로서 포함되도록 구체적으로 그리고 개

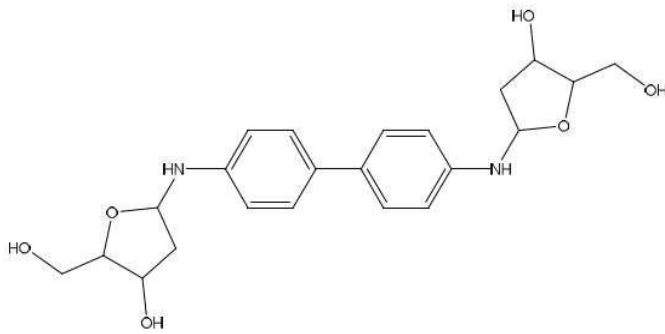
별적으로 표시되는 바와 동일한 정도까지 참조로서 포함된다. 하기 설명은 본 발명을 이해하는 데 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에 제공된 임의의 정보가 선행 기술이거나 본 청구된 발명과 관련이 있거나, 구체적으로 또는 함축적으로 참조된 임의의 공개문헌이 선행 기술이라는 것을 인정하는 것은 아니다.

- [0003] 조절 T 세포(Treg 세포)는 높은 수준의 글루코코르티코이드-유도 종양 괴사 인자-관련 수용체(GITR)를 발현하는 한편, 휴지기 T 세포는 낮은 수준을 발현하며 활성화 시 증가된다. GITR/GITR-리간드(GITRL) 상호작용의 조절은 면역 반응의 증강을 초래한다. GITR/GITRL을 조절하여 암 또는 자가면역 질환을 치료하는 제제에 대한 필요성이 당업계에 존재한다.
- [0004] GITR/GITRL은 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼가족(TNFRSF)의 구성원인 TNFRSF18이다. GITR/GITRL은 또한, 활성화-유도적 TNFRSF(AITR)로 지칭된다.
- [0005] 암 면역치료법은 암 진행에 대항하는 새로운 방법이다. 종양 부위에서의 면역 억제가 다양한 기질 세포(stromal cell), 예컨대 대식세포, 암-관련 섬유모세포에 의한 것이지만, 체크포인트-매개 T-세포 억제는 잠재적인 치료 표적으로 식별되었다. 체크포인트 분자는 PD-1, OX40, CTLA-4 및 GITR이다. 현재, Foxp3+ T 조절(Treg) 세포의 주요 조절제인 GITR을 표적화하는 분자를 제외한 이들 체크포인트 분자를 표적화한 항체-기반 치료제는 임상에 사용되고 있다.
- [0006] 이 기술의 혁신적인 양태는 면역치료법을 위한 치료 표적으로서 GITR 수용체 복합체를 도출하고 암-관련 면역 억제를 극복하기 위한 저분자 화합물을 도출하는 것으로부터 비롯되었다. 본 발명자들은 GITR-GITRL 수용체를 안정화시킴으로써 T-reg에 의해 매개되는 내성(tolerance)을 깰 수 있는 저분자를 도출하였다. 저분자 치료제의 개발은 Dr. Murali가 결정한 결정 구조에 기반하였다. PD-1/PD-L1 경로를 표적화하는 저분자가 제약 회사에 의해 보고되긴 하였지만, 이는 특이성의 결여로 인해 임상용으로는 개발되지 않았다. 본 발명자들은 GITRL에 특이적인 저분자를 생물물리적 검정법에 의해 도출하였다. 그러므로, 본 발명자들의 발명은 암에서 면역 억제를 깨뜨리거나 자가면역 질환에서 T-eff 세포를 감소시키는 새로운 방안을 제공한다. 저분자를 갖는다는 것은, 제제를 종양 특이적 방식으로 전달하는 이점을 제공하고, 이로써 현재의 체크포인트 저해제와 관련된 독성을 감소시킬 것이다.
- [0007] 암-관련 면역-억제 요소는 현재의 암 치료에 대한 임상 반응이 좋지 않은 원인이다. 특히 면역-억제 T 세포는 임상 반응이 좋지 않은 것에 지배적인 역할을 한다. 보편적으로 "체크포인트 저해제"로 지칭되는 이들 T 세포 집단을 표적화하는 제제는 암 면역치료법을 변화시켰다. 이 범주에서, PD-1 및 CTLA-4에 대한 항체들은 성공을 거두었다. 그러나, PD-1 또는 PD-L1 항체들에 대한 반응률(RR)은 단일 제제로서 약 15% 내지 30%에 머물러 있고, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 치료를 받은 많은 환자들은 면역-관련 부작용(IRAE), 예컨대 크론 질환, 홍반성 낭창(lupus erythematosus), 및 류마티스 관절염(Rosenberg 등, 2016)이 발생할 위험이 있다.
- [0008] 글루코코르티코이드-유도 TNF 계열-관련 단백질 리간드(GITRL)는, GITR 수용체를 통해 T 이펙터(Teff) 세포를 공동-자극시키고 T 조절(Treg) 세포의 억제 활성을 중화시키는 T-세포 사이토카인이고, Foxp3 발현을 저해하는 것으로 보인다.
- [0009] GITR 수용체 복합체는 Treg를 조절하는 데 있어서 이의 중심적인 역할로 인해, 자가면역 및 암을 치료하기 위한 최적의 치료 표적으로서 간주된다. 사실상, 최근, 항-GITR 항체인 MK-4166은 전임상 마우스 모델에서 확립된 흑색종 및 결장 종양을 근절시키는 것으로 나타났다(Mahne 등 2017).
- [0010] 공동자극성 사이토카인으로서, GITR 수용체 및 이의 리간드는 TNF/TNFR 슈퍼가족에 속하며, 이는 광범위하게 연구되어 왔다. GITR은 CD4+CD25+ 조절 T 세포 및 활성화된 T 세포 상에서 높은 수준으로 구성적으로 발현된다. GITR 리간드(GITRL)는 항원-제시 세포 상에서 구성적으로 발현된다. GITR을 통한 신호화는 Treg 억제를 강화시키거나 Treg 억제를 감소시켜, 감소된(diminished) T-이펙터 세포, 또는 자가-항원, 예를 들어 암/종양 세포를 인식하고 반응하는 T 이펙터 세포의 증강된 능력을 유발할 수 있다. GITR 신호화의 약물학적 조작은 항-종양 치료 및 자가면역에 잠재적으로 적용될 수 있다.

발명의 내용

- [0011] 하기 구현예 및 이의 양태는 전형적이고 예시적인 것으로 의미되지만 범위가 제한적이지 않은 시스템, 조성물 및 방법과 함께 기재되고 예시된다.

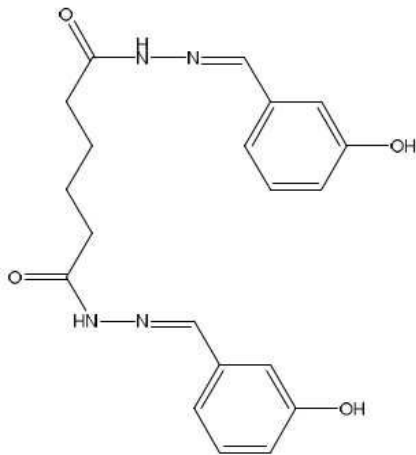
[0012] 본원에, 하기로부터 선택되는 화합물이 제공된다:



RMGL171102 로 명명됨

[0013]

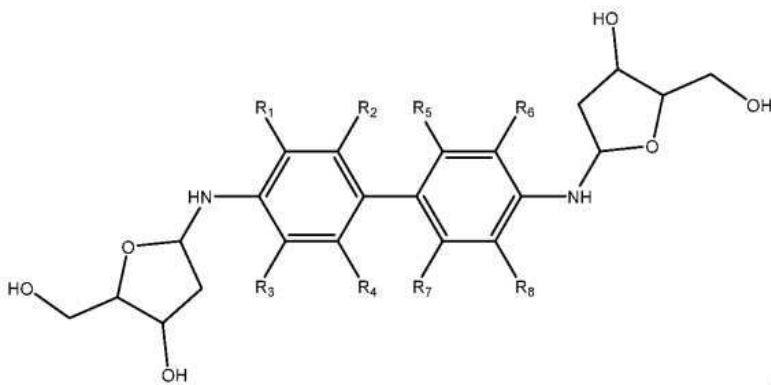
[0014] , 및



RMGL171104 로 명명됨.

[0015]

[0016] 또한, 화학식 (I)의 화합물:



(I),

[0017]

[0018] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 전구약물이 본원에 제공되고;

[0019] 여기서:

[0020] R₁은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0021] R₂는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0022] R₃은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0023] R₄는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0024] R₅는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

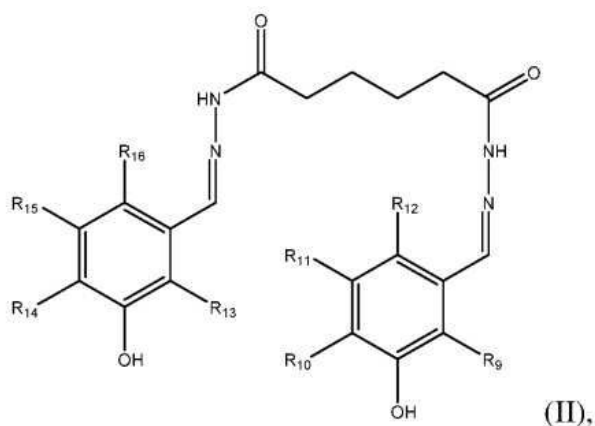
[0025] R₆은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0026] R₇은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이고;

[0027] R₈은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0028] 선택적으로 R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, 또는 R₈ 중 임의의 2개 이상은 함께 결합되어, 하나 이상의 고리를 형성할 수 있다.

[0029] 나아가, 화학식 (II)의 화합물:



[0030]

[0031] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 전구약물이 본원에 제공되고;

[0032] 여기서:

[0033] R₉은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0034] R₁₀은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0035] R₁₁은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0036] R₁₂은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0037] R₁₃은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0038] R₁₄은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0039] R₁₅은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이고;

[0040] R₁₆은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0041] 선택적으로 R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅, 또는 R₁₆ 중 임의의 2개 이상은 함께 결합되어, 하나 이상의 고리를 형성할 수 있다.

[0042] 화학식 II에 기재된 구조를 갖는 화합물 중 임의의 하나 이상으로부터 선택되는 GITR 길항제가 본원에 제공된다.

[0043] 나아가, 본원에 기재된 바와 같은 GITR 길항제를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 또한, 대상체에서 염증성 질환, 특히, 자가면역 질환을 치료하기 위해 GITR 길항제를 사용하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 치료적 유효량의, GITR 길항제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계에 의한 것이다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 자가면역 질환에 대한 기존의 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 다양한 구현예에서, GITR 길항제를 포함하는 조성물 및 기존의 치료제는 공동-투여되거나 순차적으로 투여된다.

[0044] 또한, 화학식 I에 기재된 구조를 갖는 화합물 중 임의의 하나 이상으로부터 선택되는 GITR 작용제가 본원에 제공된다.

- [0045] 또한, SEQ ID NO: 1, 및/또는 SEQ ID NO: 2 중 임의의 하나 이상 또는 모두로부터 선택되는 G1TR 작용제, 또는 이의 변이체, 유도체 또는 기능적 등가물이 본원에 제공된다.
- [0046] 나아가, 본원에 기재된 G1TR 작용제를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 또한, 대상체에서 암을 치료하기 위해 G1TR 작용제를 사용하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 치료적 유효량의, G1TR 작용제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계에 의한 것이다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 암에 대한 기존의 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 다양한 구현예에서, G1TR 작용제를 포함하는 조성물 및 기존의 치료제는 공동-투여되거나 순차적으로 투여된다.
- [0047] 일 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 치료적 유효량의, 본원에 기재된 바와 같은 G1TR/G1TRL 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0048] G1TR/G1TRL 작용제는 암에 대한 기존의 치료법과 함께 상기 대상체에게 공동-투여되거나 순차적으로 투여될 수 있다. 암은 T-세포/B-세포 림프종(호지킨 림프종 및/또는 비-호지킨 림프종), 뇌종양, 유방암, 결장암, 폐암, 간세포암, 위암, 췌장암, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 요로암, 갑상선암, 신장암, 암종, 피부암, 예전대 흑색종, 두경부암, 뇌암, 및 전립선암, 안드로겐-의존적 전립선암 또는 안드로겐-독립적 전립선암일 수 있다.
- [0049] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 치료적 유효량의, 농화되거나 증식되었던 T-eff 세포의 시료를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 여기서, T-eff 세포는 T-reg 세포의 존재 하에 또는 부재 하에 상기 T-eff 세포를 본원에 기재된 G1TR/G1TRL 작용제와 접촉시킴으로써 농화되거나 증식된다. T-eff 또는 T-reg 세포는 상기 대상체에게 자가(autologous)이거나 동종이계(allogeneic)일 수 있다.
- [0050] 또 다른 양태에서, 본 발명은 T-eff 세포를 농화시키거나 증식시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 T-reg 세포의 존재 하에 또는 부재 하에 상기 T-eff 세포를 본원에 기재된 G1TR/G1TRL 작용제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 바람직하게는, T-reg 세포가 존재한다. T-eff 및 T-reg 세포는 약 1:1의 출발비로 존재할 수 있다.
- [0051] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체에서 염증성 질환을 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 치료적 유효량의, 본원에 기재된 G1TR/G1TRL 길항제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 상기 염증성 질환은 자가면역 질환일 수 있다.
- [0052] G1TR/G1TRL 길항제는 상기 대상체에게 염증성 질환에 대한 기존의 치료법과 공동-투여되거나 순차적으로 투여될 수 있다. 자가면역 질환은 류마티스 관절염, 골관절염, 천식, 피부염, 건선, 낭포성 섬유증, 이식-후 후기 및 만성 고형 기관 거부, 다발성 경화증, 전신 홍반성 낭창, 쇼그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 다발성근염, 경피증, 애디슨 질환, 백반, 악성 빈혈, 사구체신염 및 폐 섬유증, 염증성 장질환, 자가면역 당뇨병, 당뇨병 망막병증, 비염, 허혈-재관류 손상, 혈관성형술-후 재협착증(post-angioplasty restenosis), 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 그레이브스 질환, 위장 알레르기, 결막염, 아테롬성 동맥경화증, 관상 동맥 질환, 협심증, 암 전이, 소동맥 질환, 이식편대숙주 질환, 또는 미토콘드리아 관련 증후군일 수 있다. 바람직하게는, 자가면역 질환은 염증성 장질환일 수 있다.
- [0053] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 대상체에서 염증성 질환을 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 생체내 T세포, 또는 생체내에서 또는 생체외에서 T-reg에 대해 농화되거나 증식되었던 조작된 T 세포를 투여함으로써 치료적 유효량의 본원에 기재된 G1TR/G1TRL 길항제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 여기서, T-reg 세포는 농화되거나 증식되고, T-eff 세포는 T-reg 세포의 존재 하에 또는 부재 하에 상기 T-eff 세포를 G1TR/G1TRL 길항제와 접촉시킴으로써 변형된다. T-eff 또는 T-reg 세포는 상기 대상체에 대해 자가이거나 동종이계일 수 있다.
- [0054] 또 다른 양태에서, 본 발명은 T-reg 세포를 농화시키거나 증식시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 T-eff 세포의 존재 하에 또는 부재 하에 T 세포를 G1TR/G1TRL 길항제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 바람직하게는, T-reg 세포는 초기에 존재한다. 그리고 T-eff 및 T-reg 세포는 약 1:1의 출발비로 존재할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0055] 예시적인 구현예는 참조된 도면에 예시되어 있다. 본원에 개시된 구현예 및 도면은 제약적이기 보다는 예시적인 것으로 간주되어야 한다.

도 1a 및 도 1b는 건강한 혈소판 공여자로부터 수집된 WBC 콘(cone)으로부터 PBMC가 분리된(Ficoll, GE

Healthcare) 결과를 도출한다. 세포는 세척되고 40 μ m 세포 여과기를 통과한 후, T 세포 표면 항체로 염색되었다. 그 후에, 세포는 세포 분류기(BD FACSARIA III) 상에 놓였다. 특이적인 세포 집단은 하기와 같이 수집되었다: $CD4^+CD25^-$ 세포(T 이펙터 세포), $CD4^+CD25^+CD45RA^+CD127^-$ 세포(T 조절 세포) 및 $CD3^-$ 세포(항원 제시 세포, APC로서 역할을 함). T 이펙터 세포는 CellTrace CFSE(Invitrogen)로 표지되며, 강하게 세척한 후, 세포 수를 카운팅하였다. 그 후에, 이펙터 세포 및 T-reg는 항-CD3(3 μ g/ml) 항-CD28(2 μ g/ml) 항체로 증강된 배양 배지(RPMI 1640, 10%FBS, Pen-Strep 및 1% NEAA)에서 1:1 비로 함께 혼합되었다. APC는 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 30분 동안 미토마이신(50 μ g/ml)으로 처리된 다음, 배양 믹스(APC:T-eff 2:1)에 증식 공동-자극자로서 첨가되었다. 세포 혼합물은 37°C, 5% CO₂에서 6일 동안 인큐베이션된 후, T 세포 표면 마커(CD4, CD25)로 재-염색되고 FACS 분석을 위해 보내졌다. (a) 완전 자극된 T-eff; (b) 완전 자극된 T-eff + T-reg(1:1).

도 2a 내지 도 2c는 (a) 완전 자극된 T-eff + 11702(5 μ l); (b) 완전 자극된 T-eff + 11702(25 μ l); (c) 완전 자극된 T-eff + 11702(50 μ l)에 대한 FACS 분석을 도출한다.

도 2d 내지 도 2f는 (a) 완전 자극된 T-eff + 11702(5 μ l) + T-reg; (b) 완전 자극된 T-eff + 11702(25 μ l) + T-reg; (c) 완전 자극된 T-eff + 11702(50 μ l) + T-reg에 대한 FACS 분석을 도출한다.

도 3a 내지 도 3c는 (a) 완전 자극된 T-eff + 11704(5 μ l); (b) 완전 자극된 T-eff + 11704(25 μ l); (c) 완전 자극된 T-eff + 11704(50 μ l)에 대한 FACS 분석을 도출한다.

도 3d 내지 도 3f는 (a) 완전 자극된 T-eff + 11704(5 μ l) + T-reg; (b) 완전 자극된 T-eff + 11704(25 μ l) + T-reg; (c) 완전 자극된 T-eff + 11704(50 μ l) + T-reg에 대한 FACS 분석을 도출한다.

도 4는 작용제 및 길항제 화합물의 효과 및 T 세포 이펙터 증식 변화에 미치는 효과의 요약 표를 도출한다. PBMC는 분리되었고, 특이적인 인간 T 세포 집단은 하기와 같이 수집되었다: $CD4^+CD25^-$ 세포(T 이펙터 세포), $CD4^+CD25^+CD45RA^+CD127^-$ 세포(T 조절 세포) 및 $CD3^-$ 세포(항원 제시 세포, APC로서 역할을 함). T 이펙터 세포는 CellTrace CFSE로 표지되며, 그 후에, 이펙터 세포 및 T-reg는 항-CD3(3 μ g/ml) 항-CD28(2 μ g/ml) 항체로 증강된 배양 배지(RPMI 1640, 10%FBS, Pen-Strep 및 1% NEAA)에서 1:1 비로 함께 혼합되었다. APC는 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 30분 동안 미토마이신(50 μ g/ml)으로 처리된 다음, 배양 믹스(APC:T-eff 2:1)에 증식 공동-자극자로서 첨가되며, 인큐베이션되고, FACS 분석을 위해 보내졌다. 분자 11702 작용제 및 11704 길항제는 5 μ M, 25 μ M 및 50 μ M의 농도 구배에서 각각 처리군에 첨가되었다.

도 5는 도 4의 표에 대한 요약 그래프 설정을 도출한다.

도 6a 내지 도 6c는, GITR 작용제 11702가 종양에서 T-eff 증식 및 T-reg 저해를 통해 흑색종 성장을 저해함을 도출한다. B16 흑색종의 이식 후, C57 BL 마우스는 11702 GITR 작용제 또는 DMSO 대조군으로 치료를 받았다. (a) 동물은 GITR 작용제 복강내 30 mg/kg 치료를 주당 2회 받은 후 더 오래 생존하였다($p=0.0333$, 로그 순위). (b) 종양 부피는 11702 치료 동물에서 저해되었다($p<0.05$, Anova). (c) 종양 침윤 림프구의 FAC 분석은 활성화된 CD4+ 세포의 존재가 증가되었고 이펙터 기억 세포독성 CD8+ T 세포가 증가되었음을 실증하였다. 이들 군은 둘 다 PD-1 발현이 증가되어, 증가된 IFN 감마가 PD-1의 상향조절을 유도함을 시사하고, 이 체제와 PD-1 체크포인트 차단과의 잠재적인 상승작용을 유발시킨다는 것을 나타내었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0056]

본원에서 인용된 모든 참조문헌들은 이들 전체가 완전히 제시된 바와 같이 참조로서 포함된다. 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 당업계의 당업자에 의해 보편적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 가진다. 분자생물학에서 보편적인 용어의 정의는 문헌[Benjamin Lewin, *Genes V*, published by Oxford University Press, 1994 (ISBN 0-19-854287-9)]; 문헌[Kendrew 등 (eds.), *The Encyclopedia of Molecular Biology*, published by Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9)]; 및 문헌[Robert A. Meyers (ed.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, published by VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8)]에서 찾을 수 있다. 문헌[Allen 등, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy 22nd ed.*, Pharmaceutical Press (September 15, 2012)]; 문헌[Hornyak 등, *Introduction to Nanoscience and Nanotechnology*, CRC Press (2008)]; 문헌[Singleton and Sainsbury, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd ed., revised ed.*, J. Wiley & Sons (New

York, NY 2006)]; 문헌[Smith, *March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure* 7th ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 2013)]; 문헌[Singleton, *Dictionary of DNA and Genome Technology* 3rd ed., Wiley-Blackwell (November 28, 2012)]; 및 문헌[Green and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 4th ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012)]는 본 출원에서 사용되는 많은 용어들에 대한 일반적인 지침을 당업자에게 제공한다. 항체를 제조하는 방법에 관한 참조문헌에 대해, 문헌[Greenfield, *Antibodies A Laboratory Manual* 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor NY, 2013)]; 문헌[Koller and Milstein, *Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion*, Eur. J. Immunol. 1976 Jul, 6(7):511-9]; 문헌[Queen and Selick, *Humanized immunoglobulins*, U. S. Patent No. 5,585,089 (1996 Dec); 및 문헌[Riechmann 등, *Reshaping human antibodies for therapy*, Nature 1988 Mar 24, 332(6162):323-7]을 참조한다.

[0057] 당업자는 본원에 기재된 것들과 유사하거나 등가인 많은 방법 및 물질들을 인식할 것이며, 이는 본 발명의 실시예에 사용될 수 있을 것이다. 본 발명의 다른 특징 및 이점은 본 발명의 구현예의 다양한 특징들을 예로서 예시하는 첨부된 도면과 함께 하기 상세한 설명으로부터 명확해질 것이다. 사실상, 본 발명은 기재된 방법 및 물질로 제한되지 않는다. 편의상, 명세서, 실시예 및 첨부된 청구항에서 본원에 이용되는 소정의 용어는 본원에서 수집된다.

[0058] 다르게 언급되거나 문맥으로부터 암시되지 않는 한, 하기 용어 및 어구는 아래에 제공된 의미를 포함한다. 분명하게 다르게 언급되거나 문맥으로부터 명확해지지 않는 한, 아래의 용어 및 어구는, 용어 또는 어구가 이것이 속하는 당업계에서 획득되었다는 의미를 배제하지 않는다. 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속한 당업계의 당업자에 의해 보편적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 가진다. 본 발명은 본원에 기재된 특정 방법, 프로토콜, 및 시약 등으로 제한되지 않고 그와 같이 다양해질 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 사용된 정의 및 용어는 특정 구현예를 설명하는 데 일조하고자 제공되며, 본 발명의 범위가 청구항에 의해서만 제한되기 때문에 청구된 발명을 제한하는 의도는 아니다.

[0059] 본원에 사용된 바와 같이, "RMGL171102", "RMGL171103" 및 "RMGL171104"는 각각 화합물 11702, 11703 및 11704로서 상호 교환적으로 지칭된다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같이, "세포 치료법"은 또한, 세포가 신체의 외부에서 성장되거나 처리된 다음 주사 또는 이식에 의해 환자로 되돌려지는 *생체외* 치료법으로서 간주된다. 처리된 세포는 환자에 대해 자가 또는 동종이제일 수 있다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "포함하는(comprising)" 또는 "포함한다(comprises)"는 구현예에 유용하며, 비명시된 요소가 유용하든 유용하지 않든 간에 이의 포함에 개방적인, 조성물, 방법, 및 이들의 각각의 구성요소(들)에 관하여 사용된다. 당업자는, 일반적으로 본원에 사용되는 용어가 일반적으로 "개방적인" 용어로서 의도됨을 이해할 것이다(예를 들어, 용어 "포함하는(including)"은 "포함하지만 이들로 제한되지 않는"으로 해석되어야 하고, 용어 "갖는"은 "적어도 ~을 갖는"으로서 해석되어야 하며, 용어 "포함한다(includes)"는 "포함하지만 이들로 제한되지 않는다" 등으로 해석되어야 함). 개방형(open-ended) 용어 "포함하는"은, 이 용어의 동의어로서 예컨대 포함하는, 함유하는 또는 갖는이 본원에서 본 발명을 기재하고 청구하는 데 사용되긴 하지만, 본 발명 또는 이의 구현예는 대안적으로, 대안적인 용어, 예컨대 "~로 구성되는" 또는 "~로 본질적으로 구성되는"을 사용하여 기재될 수 있다.

[0062] 다르게 언급되지 않는 한, 본 발명의 특정 구현예를 기재하는 맥락에서(특히 청구항의 맥락에서) 사용되는 용어 단수형("a", "an" 및 "the") 및 유사한 지칭은 단수형과 복수형 둘 다 망라하는 것으로 간주될 수 있다. 본원에서 값의 범위의 언급은 상기 범위 내에 속하는 각각의 개별값을 개별적으로 지칭하는 축약 방법으로서 역할을 하는 것으로 의도될 뿐이다. 본원에서 다르게 지시되지 않는 한, 각각의 개별 값은 이것이 본원에서 개별적으로 언급되는 바와 같이 명세서에 포함된다. 본원에 기재된 모든 방법들은 본원에서 다르게 지시되지 않는 한 또는 맥락에 의해 명료하게 다르게 상충되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원의 소정의 구현예에 대해 제공된 임의의 그리고 모든 실시예, 또는 예시적인 언어(예를 들어, "예컨대")의 사용은 본 출원을 더 양호하게 설명하는 것으로 의도될 뿐이고, 다르게 청구된 본 출원의 범위에 제한을 두지 않는다. 약어 "e.g"는 라틴어의 예를 들어로부터 파생되며, 본원에서 비제한적인 예를 지시하는 데 사용된다. 그러므로, 약어 "e.g"는 용어 "예를 들어"와 동의어이다. 명세서의 어떠한 언어도 본 출원의 실시예 필수적인 임의의 비-청구된 요소를 지시하는 것으로 간주되어서는 안된다.

- [0063] "선택적인" 또는 "선택적으로"는, 후속적으로 기재된 상황이 발생할 수 있거나 발생하지 않을 수 있어서, 설명이 상기 상황이 발생하는 경우와 발생하지 않는 경우를 포함함을 의미한다.
- [0064] 본원에 사용된 바와 같이 용어 "제제" 또는 "제제들"은 본원에 기재된 바와 같은 본 발명의 단백질, 펩타이드, 펩티도미메틱(peptidomimetic), 화합물, 화학적 화합물, 저분자, 유기 화합물, 무기 화합물, 안티센스 화합물, 항체, 프로테아제 저해제, 호르몬, 케모카인, 사이토카인, 또는 화합물 중 임의의 하나 이상, 또는 다른 관심 분자를 의미한다. 일 구현예에서, 제제는 GPCR 작용제(예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2에 제시된 서열을 갖는 펩타이드, 또는 화학식 I의 구조를 갖는 제제, 특히 RMGL171102로 명명된 화합물(즉, 화합물 11702))이다. 추가의 구현예에서, 제제는 GPCR 길항제(예를 들어, 화학식 II의 구조를 갖는 제제)이다. 추가의 구현예에서, 제제는 RMGL171104로 명명된 GPCR 길항제(즉, 화합물 11704)이다.
- [0065] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료", "치료하는" 또는 "호전"은 질환, 장애 또는 의학적 병태에 대하여 사용될 때, 치료적 치료와 예방적 또는 방지적 조치 둘 다를 지칭하며, 여기서, 목적은 증상 또는 병태의 진행 또는 중증도를 예방하거나, 역전시키거나, 개선하거나, 호전시키거나, 저해하거나, 줄이거나, 늦추거나 중단시키는 것이다. 용어 "치료하는"은 병태의 적어도 하나의 부작용 또는 증상을 감소시키거나 개선하는 것을 포함한다. 치료는 일반적으로, 하나 이상의 증상 또는 임상적 마커가 감소된다면 "효과적"이다. 대안적으로, 치료는 질환, 장애 또는 의학적 병태의 진행이 감소되거나 중지된다면 "효과적"이다. 즉, "치료"는 증상 또는 마커의 향상뿐만 아니라, 치료의 부재 시 예상될 증상의 진행 또는 악화의 중단 또는 적어도 서행을 포함한다. 또한, "치료"는, 이러한 치료가 궁극적으로 실패하더라도 유익한 결과를 추구 또는 수득하거나, 개체가 병태를 발병시킬 기회를 낮추는 것을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 개체는 이미 병태를 갖고 있는 개체뿐만 아니라 병태를 갖기 쉬운 개체 또는 병태가 예방되어야 하는 개체를 포함한다.
- [0066] 본원에 사용된 바와 같이, 장애 또는 병태를 "예방하는" 치료제는, 통계적 시료에서, 비처리된 대조군 시료와 비교하여 처리된 시료에서 장애 또는 병태의 발생을 감소시키거나, 비처리된 대조군 시료와 비교하여 장애 또는 병태의 하나 이상의 증상의 개시(onset)를 지연시키거나 이의 중증도를 감소시키는 화합물을 지칭한다.
- [0067] 용어 "저하시키다", "감소된", "감소" 또는 "저해하다"는 모두 본원에서, 특성, 수준 또는 다른 매개변수를 통계적으로 유의한 양만큼 저하시키거나 줄이는 것을 의미하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, "감소시키다", "감소", "저하시키다" 또는 "저해하다"는 전형적으로, 기준 수준(예를 들어, 주어진 치료의 부재)과 비교하여 적어도 10%만큼의 저하를 의미하고, 예를 들어, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 이상만큼의 저하를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "감소" 또는 "저해"는 기준 수준과 비교하여 완전한 저해 또는 감소를 포괄하지 않는다. "완전 저해"는 기준 수준과 비교하여 100% 저해이다. 저하는 바람직하게는, 주어진 장애가 없는 개체에 대해 정상적인 범위 내에 있는 것으로 허용된 수준까지 하락할 수 있다.
- [0068] 용어 "증가된", "증가시키다", "증강시키다" 또는 "활성화시키다"는 모두 본원에서, 특성, 수준 또는 다른 매개변수를 통계적으로 유의한 양만큼 증가시키는 것을 의미하는 데 사용되며; 임의의 의심의 여지를 없애기 위해, 용어 "증가된", "증가시키다", "증강시키다" 또는 "활성화시키다"는 기준 수준과 비교하여 적어도 10%만큼의 증가, 예를 들어, 기준 수준과 비교하여 100% 증가 또는 10% 내지 100% 사이의 임의의 증가를 포함하여 적어도 약 20%, 또는 적어도 약 30%, 또는 적어도 약 40%, 또는 적어도 약 50%, 또는 적어도 약 60%, 또는 적어도 약 70%, 또는 적어도 약 80%, 또는 적어도 약 90% 이하, 또는 기준 수준과 비교하여 적어도 약 2-배, 또는 적어도 약 3-배, 또는 적어도 약 4-배, 또는 적어도 약 5-배 또는 적어도 약 10-배 증가, 적어도 약 20-배 증가, 적어도 약 50-배 증가, 적어도 약 100-배 증가, 적어도 약 1000-배 증가 이상을 의미한다.
- [0069] 본원에 사용된 바와 같이, "암" 또는 "종양"은 신체 기관 및 시스템의 정상적인 기능화를 방해하는 세포의 비제어된 성장을 지칭한다. 암 또는 종양을 갖는 대상체는 상기 대상체의 신체에 존재하는 객관적으로 측정 가능한 암세포를 갖는 대상체이다. 이 정의에는 양성 및 악성 암, 뿐만 아니라 휴면 종양 또는 미세전이가 포함된다. 이의 원래의 위치로부터 이동하고 중요 기관(vital organ)에 집중되는 암은 결국, 유병(affected) 기관의 기능적 저하를 통해 대상체의 사망을 유발할 수 있다. 암의 예는 B-세포 림프종(호지킨 림프종 및/또는 비-호지킨 림프종), 뇌종양, 유방암, 결장암, 폐암, 간세포암, 위암, 췌장암, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 요로암, 갑상선암, 신장암, 암종, 흑색종, 두경부암, 뇌암, 및 안드로겐-의존적 전립선암 및 안드로겐-독립적 전립선암을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 전립선암을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.

- [0070] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 질환 또는 장애의 적어도 하나 이상의 증상을 저하시키기 위한 본원에 개시된 바와 같은 하나 이상의 GTR 작용제 또는 GTR 길항제의 양, 또는 하나 이상의 GTR 작용제 또는 GTR 길항제를 포함하는 약학적 조성물의 양을 지칭하고, 요망되는 효과를 제공하기에 충분한 약물학적 조성물의 양에 관한 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, 어구 "치료적 유효량"은 임의의 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 이익/위험 비(benefit/risk ratio)로 장애를 치료하기에 충분한 조성물의 양을 의미한다.
- [0071] 본원에 사용된 바와 같이 "펩티도미메틱"은 단백질 기능을 모방하도록 설계된 소형 단백질-유사 사슬이다. 이들 펩티도미메틱은 기존의 펩타이드의 변형 또는 기지의 펩타이드를 모방하도록 새로 설계될 수 있다. 이들 펩티도미메틱은 예를 들어, 펩토이드(peptoid) 및/또는 β -펩타이드 및/또는 D-펩타이드일 수 있다.
- [0072] "재조합 바이러스"는 입자 내로의 이중성 핵산 작제물의(예를 들어, 첨가 또는 삽입에 의해) 유전적으로 변경된 바이러스를 지칭한다.
- [0073] "유전자" 또는 "코딩 서열" 또는 특정 단백질이나 펩타이드를 "인코딩하는" 서열은 적절한 조절 서열의 제어 하에 배치될 때 시험관내에서 또는 생체내에서 전사되고(DNA의 경우) 폴리펩타이드로 번역되는(mRNA의 경우) 핵산 분자이다. 유전자의 경계는 5'(즉, 아미노) 말단에서 개시 코돈 및 3'(즉, 카복시) 말단에서 번역 정지 코돈에 의해 결정된다. 유전자는 원핵 또는 진핵 mRNA로부터의 cDNA 서열, 원핵 또는 진핵 DNA로부터의 게놈 DNA 서열, 및 심지어 합성 DNA 서열을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 전사 종결 서열은 통상 유전자 서열에 대해 3'에 위치할 것이다.
- [0074] 용어 "제어 요소"는, 수혜자 세포에서 코딩 서열의 복제, 전사 및 번역을 총괄적으로 제공하는 프로모터 영역, 폴리아데닐화 신호, 전사 종결 서열, 업스트림 조절 도메인, 복제 기원, 내부 리보솜 진입 부위("IRES"), 인핸서 등을 총괄하여 지칭한다. 선택된 코딩 서열이 적절한 숙주 세포에서 복제, 전사 및 번역될 수 있는 한, 이들 제어 요소가 모두 항상 존재할 필요는 없다.
- [0075] 용어 "프로모터 영역"은 이의 통상적인 의미에서 DNA 조절 서열을 포함한 뉴클레오타이드 영역을 지칭하는 데 사용되며, 여기서, 조절 서열은 RNA 폴리머라제에 결합하고 다운스트림(3'-방향) 코딩 서열의 전사를 개시할 수 있는 유전자로부터 유래된다.
- [0076] "작동적으로 연결된"은, 기재된 구성요소들이 이들의 통상적인 기능을 수행하도록 배치되는 요소들의 배열을 지칭한다. 그러므로, 코딩 서열에 작동적으로 연결된 제어 요소는 코딩 서열의 발현에 영향을 줄 수 있다. 제어 요소는, 이들 요소가 코딩 서열의 발현을 지시하는 작용을 하는 한 상기 코딩 서열과 인접해 있을 필요는 없다. 그러므로, 예를 들어, 전사되었지만 아직 번역되지 않은 개입 서열은 프로모터 서열과 코딩 서열 사이에 존재할 수 있고, 상기 프로모터 서열은 상기 코딩 서열에 "작동적으로 연결"된 것으로 여전히 간주될 수 있다.
- [0077] "유전자 이전" 또는 "유전자 전달"은 외래 DNA를 숙주 세포 내로 신뢰할 만하게 삽입시키기 위한 방법 또는 시스템을 지칭한다. 이러한 방법은 비-통합된 이전된 DNA의 일시적인 발현, 이전된 레플리콘(replicon)(예를 들어, 에피솜(episome))의 염색체외 복제 및 발현, 또는 숙주 세포의 게놈 DNA 내로의 이전된 유전자 물질의 통합을 초래할 수 있다. 유전자 이전은 후천성 및 선천성 질환들의 치료를 위한 독특한 접근법을 제공한다. 포유류 세포 내로의 유전자 이전을 위해 많은 시스템들이 개발되어 왔다. 예를 들어, 미국 특허 제5,399,346호를 참조한다. 유전자 이전에 잘 알려진 비히클의 예는 아데노바이러스 및 재조합 아데노바이러스(RAD), 아데노-관련 바이러스(AAV), 단순 포진 바이러스 1형(HSV-1), 및 렌티바이러스(LV)를 포함한다.
- [0078] 본원에 사용된 바와 같이, "유전적으로 변형된 세포", "유전적으로 조작된 세포" 또는 "변형된 세포"는 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2 중 임의의 하나 이상의 서열을 갖는 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 유도체, 약학적 증가물, 펩티도미메틱 또는 유사체를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 발현하는 세포를 지칭한다.
- [0079] 본원에 사용된 바와 같이, "네이키드(naked) DNA"는 발현을 위해 적절한 배향에서 적합한 발현 벡터에서 클로닝된 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2 중 임의의 하나 이상의 서열을 갖는 폴리펩타이드 또는 이의 변이체, 유도체, 약학적 증가물, 펩티도미메틱 또는 유사체를 인코딩하는 DNA를 지칭한다. 사용될 수 있는 바이러스 벡터는 SIN 렌티바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 거품형성(foamy) 바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스(AAV) 벡터, 하이브리드 벡터 및/또는 플라스미드 트랜스포존(transposon)(예를 들어 슬리핑 뷰티(sleeping beauty) 트랜스포존 시스템) 또는 인테그라제-기반 벡터 시스템을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명의 대안적인 구현예와 함께 사용될 수 있는 다른 벡터는 당업자에게 명확할 것이다.
- [0080] 본원에 사용된 바와 같이, "폴리뉴클레오타이드"는 DNA, RNA, cDNA(보체 DNA), mRNA(메신저 RNA), rRNA(리보솜

RNA), shRNA(소형 헤어핀 RNA), snRNA(소형 핵 RNA), snoRNA(짧은 인 RNA), miRNA(microRNA), 게놈 DNA, 합성 DNA, 합성 RNA, 및/또는 tRNA를 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.

[0081] 용어 "형질주입"은 본원에서 세포에 의한 외래 DNA의 흡수를 지칭하는 데 사용된다. 외인성 DNA가 세포막 내부에 도입되었을 때 상기 세포는 "형질주입"되었다. 많은 형질주입 기법들이 일반적으로 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Graham 등 Virology, 52:456 (1973)]; 문헌[Sambrook 등 Molecular Cloning, a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York (1989)]; 문헌[Davis 등, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier (1986)], 및 문헌[Chu 등 Gene 13:197 (1981)]을 참조한다. 이러한 기법은 하나 이상의 외인성 DNA 모이어티, 예컨대 플라스미드 벡터 및 다른 핵산 분자를 적합한 숙주 세포 내로 도입하는 데 사용될 수 있다. 상기 용어는 유전자 물질의 안정한 흡수와 일시적인 흡수 둘 다 지칭한다.

[0082] 본원에 사용된 바와 같이, "벡터", "클로닝 벡터" 및 "발현 벡터"는, 폴리뉴클레오타이드 서열(예를 들어, 외래 유전자)이 숙주 세포 내로 도입되어, 숙주를 형질전환시키고 도입된 서열의 발현(예를 들어, 전사 및 번역)을 촉진할 수 있는 비히클을 지칭한다. 벡터는 플라스미드, 파지, 바이러스 등을 포함한다.

[0083] "유익한 결과" 또는 "요망되는 결과"는, 질환 병태의 중증도를 줄이거나 개선하는 것, 질환 병태가 악화되는 것을 예방하는 것, 질환 병태를 치유하는 것, 질환 병태가 발병하는 것을 예방하는 것, 환자가 질환 병태를 발병시킬 기회를 낮추는 것, 이환율(morbidity) 및 사망률(mortality)을 저하시키는 것, 및 환자의 삶 또는 기대 수명을 연장시키는 것을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지는 않는다. 비제한적인 예로서, "유익한 결과" 또는 "요망되는 결과"는 하나 이상의 증상(들)의 개선, 결손(deficit) 정도의 저하, 암의 안정화된(즉, 악화되지 않는) 상태, 암의 지연 또는 서행, 및 암과 관련된 증상의 호전 또는 경감일 수 있다.

[0084] 본원에 사용된 바와 같이, "질환", "병태" 및 "질환 병태"는 임의의 형태의 암 또는 자가면역 질환을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지는 않는다.

[0085] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "투여하는"은 요망되는 부위에서 제제 또는 조성물의 적어도 부분적인 위치화를 초래하는 방법 또는 경로에 의한, 대상체 내로의 본원에 개시된 바와 같은 제제 또는 조성물의 배치를 지칭한다. "투여 경로"는 경구, 국부(topical), 에어로졸, 비강내, 흡입에 의한, 항문, 항문내, 항문주위, 경점막, 경피, 비경구, 경장(enteral) 또는 국소를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 당업계에 알려진 임의의 투여 경로를 지칭할 수 있다. "비경구"는 일반적으로 종양내, 두개내, 심실내, 척추강내(intrathecal), 경막외, 경막내, 안와내, 주입, 관절낭내, 심장내, 피부내, 근육내, 복강내, 폐내, 척수내, 흉골내, 척추강내, 혈관내, 정맥내, 동맥내, 지주막하, 피막하, 피하, 경점막, 또는 경기관(transtracheal)을 포함하여 주사와 관련된 투여 경로를 지칭한다. 비경구 경로를 통해, 제제 또는 조성물은 주입 또는 주사를 위한 용액 또는 현탁액의 형태이거나, 동결건조된 분말로서 존재할 수 있다. 경장 경로를 통해, 제제 또는 조성물은 방출조절(controlled release)을 가능하게 하는 캡슐, 젤 캡슐, 정제, 당(sugar)-코팅된 정제, 시럽, 현탁액, 용액, 분말, 과립, 에멀전, 미소구체 또는 나노구체 또는 지질 소낭 또는 중합체 소낭의 형태일 수 있다. 국소 경로를 통해, 제제 또는 조성물은 에어로졸, 로션, 크림, 젤, 연고, 현탁액, 용액 또는 에멀전 형태일 수 있다. 일 구현예에서, 제제 또는 조성물은 분말 형태로 제공되고 액체, 예컨대 물과 혼합되어 음료를 형성할 수 있다. 본 발명에 따르면, "투여하는"은 자가-투여일 수 있다. 예를 들어, 대상체가 본원에 개시된 바와 같은 조성물을 소비하는 것은 "투여하는" 것으로 간주된다.

[0086] 본원에 사용된 바와 같이, "대상체"는 인간 또는 동물을 의미한다. 통상 동물은 척추동물, 예컨대 영장류, 설치류, 가축 또는 경기 동물(game animal)이다. 영장류는 침팬지, 시노물구스 원숭이, 거미 원숭이, 및 마카크(macaque), 예를 들어, 레수스(Rhesus)를 포함한다. 설치류는 마우스, 래트, 마멋, 페렛, 토끼 및 햄스터를 포함한다. 가축 및 경기 동물은 소, 말, 돼지, 사슴, 들소, 버팔로, 고양이과 종, 예를 들어, 애완용 고양이, 및 개과 종, 예를 들어, 개, 여우, 늑대를 포함한다. 용어, "환자", "개체" 및 "대상체"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 일 구현예에서, 대상체는 포유류이다. 포유류는 인간, 비-인간 영장류, 마우스, 래트, 개, 고양이, 말, 또는 소일 수 있지만, 이들 예로 제한되지는 않는다. 게다가, 본원에 기재된 방법은 가축 및/또는 애완 동물을 치료하는 데 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 대상체는 인간이다.

[0087] 본원에 사용된 바와 같이, "포유류"는 제한없이 인간 및 비인간 영장류, 예컨대 침팬지 및 다른 유인원 및 원숭이 종; 농장 동물, 예컨대 소, 양, 돼지, 염소 및 말; 가축, 예컨대 개 및 고양이; 설치류, 예컨대 마우스, 래트 및 기니피그를 포함한 실험 동물 등을 포함하여 포유류(Mammalia) 강(class)의 임의의 구성원을 지칭한다. 상기 용어는 특정 연령을 의미하지 않는다. 그러므로, 성체 및 신생 대상체, 뿐만 아니라 태아가 이 용어의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

- [0088] 대상체는 치료를 필요로 하는 병태(예를 들어, 암 또는 자가면역 질환) 또는 상기 병태와 관련된 하나 이상의 합병증을 앓고 있거나 갖고 있는 것으로 이전에 진단되었거나 식별되었고, 선택적으로, 병태 또는 상기 병태와 관련된 하나 이상의 합병증에 대한 치료를 이미 받은 개체일 수 있다. 대안적으로, 대상체는 또한, 병태 또는 상기 병태와 관련된 하나 이상의 합병증을 갖는 것으로 이전에 진단되지 않았던 개체일 수 있다. 예를 들어, 대상체는 병태 또는 상기 병태와 관련된 하나 이상의 합병증에 대한 하나 이상의 위험 인자를 나타내는 개체 또는 위험 인자를 나타내지 않는 대상체일 수 있다. 예를 들어, 대상체는 병태 또는 상기 병태와 관련된 하나 이상의 합병증에 대한 하나 이상의 증상을 나타내는 개체 또는 증상을 나타내지 않는 대상체일 수 있다. 특정 병태에 대한 진단 또는 치료를 "필요로 하는 대상체"는 해당 병태를 갖는 것으로 의심되거나, 해당 병태를 갖고 있는 것으로 진단되거나, 해당 병태에 대해 이미 치료되거나 치료되고 있거나, 해당 병태에 대해 치료되지 않거나, 해당 병태를 발병시킬 위험에 있는 대상체일 수 있다.
- [0089] "위험에 있는"이란, 정상 대상체와 비교하여, 또는 대조군과 비교하여 예를 들어, 환자 집단이 증가된 위험에 있음을 의미하는 것으로 의도된다. 그러므로, 특정 마커를 보유하는 대상체는 특정 질환 또는 장애에 대한 증가된 위험을 가질 수 있고, 추가의 시험을 필요로 하는 것으로 식별될 수 있다. "증가된 위험" 또는 "상승된 위험"은 예를 들어, 대상체가 장애를 갖고 있는 확률의 임의의 통계적으로 유의한 증가를 의미한다. 상기 위험은, 비교가 이루어지는 대조군에 비해 바람직하게는 적어도 10%, 더욱 바람직하게는 적어도 20%, 더욱 더 바람직하게는 적어도 50%만큼 증가된다.
- [0090] 면역억제성 약물은 신체의 면역계 반응을 저하시키는 능력을 갖는 임의의 제제 또는 화합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역억제성 약물은 코르티코스테로이드이다. 다른 구현예에서, 면역억제성 약물은 저분자(예컨대 사이클로스포린) 또는 모노클로날 항체(예컨대 사이토카인 차단제)이다.
- [0091] 비-스테로이드성 항-염증성 약물(NSAID): 프로스타글란딘의 생성을 저해함으로써 작용하는 항-염증성 제제의 일 유형이다. NSAIDS는 항-염증성, 진통제 및 해열제 작용을 발휘한다. NSAIDS의 예는 이부프로펜(ibuprofen), 케토프로펜(ketoprofen), 피록시캠(piroxicam), 나프록센(naproxen), 설린닥(sulindac), 아스피린, 콜린 서브살리실레이트, 디플루니살(diflunisal), 페노프로펜(fenoprofen), 인도메타신(indomethacin), 메클로페나메이트(meclofenamate), 살살레이트(salsalate), 톨메틴(tolmetin) 및 마그네슘 살리실레이트를 포함한다.
- [0092] 용어 "통계적으로 유의한" 또는 "유의하게"는 통계적인 유의성을 지칭하고, 일반적으로 기준 수준으로부터 멀어지는 적어도 2의 표준 편차(2SD)를 의미한다. 상기 용어는 차이가 존재한다는 통계적인 증거를 의미한다. 상기 용어는, 귀무 가설(null hypothesis)이 실제로 참일 때, 상기 귀무 가설을 거절하는 결정을 할 확률로서 정의된다.
- [0093] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "공동-투여하다"는 서로 24시간의 기간 이내에, 예를 들어, 임상 치료 요법의 부분으로서 2개 이상의 치료법들 또는 2개 이상의 치료제들(예를 들어, GITS 작용제와 추가 항암 치료법; 또는 GITS 길항제와 항-자가면역 질환 치료법)의 투여를 지칭한다. 다른 구현예에서, "공동-투여하다"는 서로 12시간 이내, 6시간 이내, 5시간 이내, 4시간 이내, 3시간 이내, 2시간 이내, 1시간 이내, 45분 이내, 30분 이내, 20분 이내, 15분 이내, 10분 이내, 또는 5분 이내의 투여를 지칭한다. 다른 구현예에서, "공동-투여하다"는 동일한 또는 상이한 경로에 의해 투여되는 단일 제형의 일부로서 또는 다중 제형으로서 동시에 투여하는 것을 지칭한다. 예를 들어, GITS 작용제 및 추가 항암 치료법이 상이한 약학적 조성물에서 또는 상이한 시기에 투여될 때, 투여 경로는 동일하거나 상이할 수 있다. 예를 들어, GITS 길항제 및 추가 항-자가면역 질환 치료법이 상이한 약학적 조성물에서 또는 상이한 시기에 투여될 때, 투여 경로는 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0094] **GITS/GITRL에의 화합물의 결합 특성**
- [0095] 소정의 구현예에서, 본 발명은 올리고머의 계면에 결합하는 글루코코르티코이드-유도 수용체 리간드(GITRL)에 결합하는 화합물에 관한 것이다. GITRL-올리고머의 계면에 위치한 아미노산 잔기는 Zhou 등(PNAS, 2008)에 의해 1000 nM 이상, 바람직하게는 100 nM 이상, 더욱 바람직하게는 10 nM 이상의 친화도를 갖는 것으로 기재되었다.
- [0096] 소정의 구현예에서, 본 발명은 상기 언급된 화합물, 또는 상기 언급된 화합물과 상이한 화합물 중 하나에 관한 것으로서, 인간 GITRL이 하기와 같은 야생형 GITRL 서열의 L42, L44, M71, I72, Q73, T74, K80, I81, Q82, N83, G86, T87, Y88, G114, I116, L118, N120, P121, Q122, F123, I124 및 S125로 이루어진 군으로부터 선택되는 1개 초과인 아미노산에 결합하는 화합물이 나타내는 친화도보다 적어도 약 10-배 초과인, 야생형 GITRL에 대한 친화도를 나타낸다.

MTLHPSPITCEFLFSTALISPKMCLSHLENMPLSHSRTQGAQRSSWKLWLFCSIVMLLFLC
SFSWLIFLQLETAKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYG
QVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDITDLIFNSEHQV
LKNNTYWGIIILLANPQFIS (SEQ ID NO:3)

[0097]

[0098]

본 발명의 화합물은 GITRL에 결합한다. 바람직하게는, 상기 화합물은 10 μ M 이하의 친화도(예를 들어, K_d)로 GITRL에 결합한다. 본 개시내용을 제한하지 않으면서, 결합 활성은 이들의 세포 표면 상에서 GITRL을 발현하는 세포에의 화합물의 결합 또는 정제된 또는 부분적으로 정제된 GITRL에의 화합물의 결합에 의해 결정될 수 있다. 결합은 비제한적인 예로서, 네이티브 GITRL 또는 재조합 GITRL 또는 이들의 단편을 사용하여 결정될 수 있다. 화합물의 결합은 당업자에게 잘 알려진 방법을 사용하여 결정될 수 있다. GITRL에의 화합물의 결합 활성을 결정하는 바람직한 방법은 표면 플라즈몬 공명, 등온 적정 열량측정법(isothermal titration calorimetry), ELISA 또는 미세규모 열영동(microscale thermophoresis)이다.

[0099]

바람직한 구현예에서, 화합물은 GITRL의 돌연변이체 또는 이의 돌연변이체 단편에 대해 화합물이 나타내는 결합보다 적어도 약 10-배 초과, 야생형 GITRL 또는 이의 단편에의 결합을 나타낸다. GITRL의 돌연변이체 또는 이의 돌연변이체 단편에 대해 화합물이 나타내는 결합과 비교하여 약 100-배 초과, GITRL 또는 이의 단편에의 결합을 나타내는 화합물이 더욱 바람직하다. GITRL의 돌연변이체 또는 이의 돌연변이체 단편에 대해 화합물이 나타내는 결합과 비교하여 약 1000-배 초과, GITRL 또는 이의 단편에의 결합을 나타내는 화합물이 가장 바람직하다.

[0100]

상응하는 돌연변이체 GITRL 또는 이의 단편과 비교하여 야생형 GITRL 또는 이의 단편에의 상기 언급된 더 큰 결합을 나타내는 화합물이 추가로 바람직하며, 여기서, 상기 돌연변이체는 L42, L44, M71, I72, Q73, T74, K80, I81, Q82, N83, G86, T87, Y88, G114, I116, L118, N120, P121, Q122, F123, I124 및 S125로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산에서 치환을 갖는다. L114 내지 S125에서 치환을 갖는 돌연변이체가 추가로 바람직하다.

[0101]

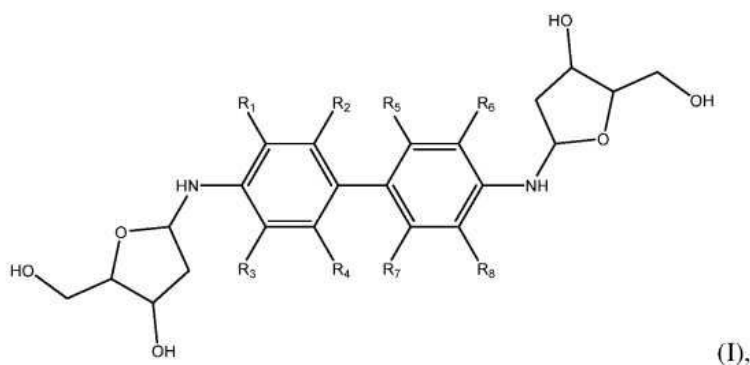
GITR/GITRL의 저분자 변형체

[0102]

화학식 (I)의 화합물

[0103]

다양한 구현예에서, 본 발명은 화학식 (I)의 화합물:



[0104]

[0105]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 전구약물을 제공하며;

[0106]

여기서:

[0107]

R_1 은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0108]

R_2 는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0109]

R_3 은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0110]

R_4 는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0111]

R_5 는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

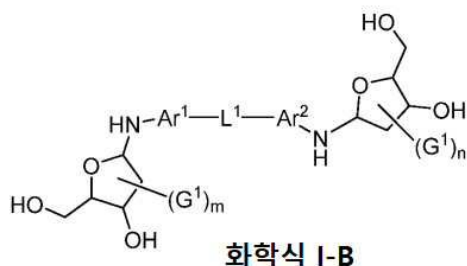
[0112] R₆은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0113] R₇은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이고;

[0114] R₈은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0115] 선택적으로 R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, 또는 R₈ 중 임의의 2개 이상은 함께 결합되어, 하나 이상의 고리를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 선택적으로 치환된 치환기는 할로젠(예를 들어, F, Cl), -OH, -CN, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 알콕시, C₃₋₆ 사이클로알킬, C₃₋₆ 사이클로알콕시, 페닐, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1, 2 또는 3개의 고리 헤테로원자를 함유하는 5-원 또는 6-원 헤테로아릴, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1 또는 2개의 고리 헤테로원자를 함유하는 4-원 내지 7-원 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택될 수 있으며, 여기서, 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 사이클로알킬, 사이클로알콕시, 페닐, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴은 F, -OH, 옥소(적용 가능하다면), C₁₋₄ 알킬, 플루오로-치환된 C₁₋₄ 알킬, C₁₋₄ 알콕시 및 플루오로-치환된 C₁₋₄ 알콕시로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의, 예를 들어, 1, 2 또는 3개의 치환기로 선택적으로 치환된다.

[0116] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 I-B의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 전구 약물을 제공하며;



[0117]

[0118] 여기서:

[0119] Ar¹ 및 Ar²는 각각 독립적으로, 선택적으로 치환된 아릴(예를 들어, 페닐) 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴(예를 들어, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 4개의 고리 헤테로원자를 갖는 5-원 또는 6-원 헤테로아릴)이며,

[0120] L¹은 결합, 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 알킬렌 링커, -O-, -NH-, 보호된 -NH-, 또는 선택적으로 치환된 C₁₋₆ 헤테로알킬렌 링커이며,

[0121] G¹은 각각의 경우, -OH, 할로젠(예를 들어, F), C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 알콕시, C₃₋₆ 사이클로알콕시로부터 독립적으로 선택되며, 여기서, 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시 및 사이클로알콕시는 -OH, C₁₋₄ 알킬, 및 -F로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 3개의 치환기로 선택적으로 치환되고,

[0122] m 및 n은 각각 독립적으로, 0 내지 3(예를 들어, 0, 1 또는 2)의 정수이다.

[0123] 전형적으로, 화학식 I-B에서 L¹은 결합이다. L¹이 결합일 때, Ar¹ 및 Ar²는 임의의 2개의 이용 가능한 위치들을 통해 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, Ar¹과 Ar²는 둘 다 6-원 방향족 고리이고, 바람직하게는 상기 연결은 화학식 I-B에서 Ar¹에 부착된 -NH- 기에 대해 오르토인 Ar² 및/또는 Ar²에 부착된 -NH- 기에 대해 오르토인 Ar¹을 초래하지 않는다. 일부 구현예에서, Ar¹과 Ar²는 둘 다 6-원 방향족 고리이고, 바람직하게는 상기 연결은 화학식 I-B에서 Ar¹에 부착된 -NH- 기에 대해 파라인 Ar² 및/또는 Ar²에 부착된 -NH- 기에 대해 파라인 Ar¹을 초래한다.

[0124] 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L¹은 결합이 아니다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L¹은 비치

환된 직쇄 C_{1-6} 알킬렌 링커, 예컨대 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$ 등일 수 있다. 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L^1 은 비치환된 분지형 C_{2-6} 알킬렌 링커일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 비치환된 분지형 C_2 알킬렌은 $-CH(CH_3)-$ 로서 이해되어야 한다. 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L^1 은 $-O-$ 이다. 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L^1 은 $-NH-$ 또는 보호된 $-NH-$ 이다. 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L^1 은 산소 또는 질소 원자일 수 있는 1 또는 2개의 헤테로원자를 함유하는 비치환된 C_{1-6} 헤테로알킬렌 링커일 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L^1 은 $-O-CH_2-$, $-O-(CH_2)_2-$, $-O-(CH_2)_2-O-$, $-NH-(CH_2)_2-O-$ 등일 수 있다. 일부 구현예에서, Ar^1 과 Ar^2 는 둘 다 6-원 방향족 고리이고, L^1 은 화학식 I-B에서 Ar^1 에 부착된 $-NH-$ 기에 대해 *para* 및/또는 Ar^2 에 부착된 $-NH-$ 기에 대해 *para*일 수 있다.

[0125] 일부 구현예에서, Ar^1 과 Ar^2 는 둘 다 선택적으로 치환된 페닐일 수 있다. 일부 구현예에서, Ar^1 과 Ar^2 는 둘 다, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 예컨대 1개의 헤테로원자를 갖는 5-원 헤테로아릴, 예컨대 티오펜일 또는 푸라닐, 1 또는 2개의 질소 원자를 갖는 6-원 헤테로아릴, 예컨대 피리딜, 피리미딜, 피리다지닐, 피라지닐, 또는 2 또는 3개의 헤테로원자를 갖는 5-원 헤테로아릴, 예컨대 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 이속사졸릴, 이소티아졸릴 등일 수 있다. 일부 구현예에서, Ar^1 및 Ar^2 중 1개는 선택적으로 치환된 페닐이고, Ar^1 및 Ar^2 중 다른 1개는 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 예컨대 1개의 헤테로원자를 갖는 5-원 헤테로아릴, 예컨대 티오펜일 또는 푸라닐, 1 또는 2개의 질소 원자를 갖는 6-원 헤테로아릴, 예컨대 피리딜, 피리미딜, 피리다지닐, 피라지닐, 또는 2 또는 3개의 헤테로원자를 갖는 5-원 헤테로아릴, 예컨대 옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 이속사졸릴, 이소티아졸릴 등이다.

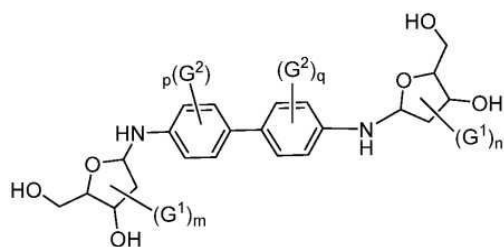
[0126] 일부 구현예에서, 본원에서 "선택적으로 치환된" 아릴 또는 헤테로아릴 기, 예컨대 선택적으로 치환된 페닐은 비치환될 수 있거나, 할로젠(예를 들어, F, Cl), $-OH$, $-CN$, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알키닐, C_{1-4} 알콕시, C_{3-6} 사이클로알킬, C_{3-6} 사이클로알콕시, 페닐, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1, 2 또는 3개의 고리 헤테로원자를 함유하는 5-원 또는 6-원 헤테로아릴, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1 또는 2개의 고리 헤테로원자를 함유하는 4-원 내지 7-원 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의, 예를 들어, 1, 2 또는 3개의 치환기로 치환될 수 있으며, 여기서, 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 사이클로알킬, 사이클로알콕시, 페닐, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴은 F, $-OH$, 옥소(적용 가능하다면), C_{1-4} 알킬, 플루오로-치환된 C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시 및 플루오로-치환된 C_{1-4} 알콕시로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의, 예를 들어, 1, 2 또는 3개의 치환기로 선택적으로 치환된다.

[0127] 본원에 사용된 바와 같이, 명확하게 다르게 언급되지 않는 한, 치환기 및/또는 변수들의 조합은 이러한 조합이 화학적으로 허용되고 안정한 화합물을 초래하는 경우에만 허용 가능하다. "안정한" 화합물은, 제조 및 단리될 수 있고 이의 구조 및 특성이 유지되거나 본원에 기재된 목적(예를 들어, 대상체에게의 치료적 투여)을 위해 화합물의 사용을 허용하기에 충분한 기간 동안 본질적으로 변하지 않은 채 유지되도록 야기될 수 있는 화합물이다.

[0128] 일부 구현예에서, m 은 0이다. 일부 구현예에서, n 은 0이다. 일부 구현예에서, m 과 n 은 둘 다 0이다.

[0129] 일부 구현예에서, m 및 n 중 적어도 하나는 0이 아니다. 일부 구현예에서, G^1 은 각각의 경우, $-OH$, F, 메틸, 에틸, CF_3 , 사이클로프로필, 사이클로부틸, 메톡시, 또는 에톡시로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, m 과 n 은 둘 다 1이고, 2개의 G^1 기들은 동일하거나 상이할 수 있다. G^1 은 존재할 때, 테트라하이드로푸란 고리의 임의의 4개의 고리 탄소에 부착될 수 있다.

[0130] 일부 구현예에서, 화학식 I-B에서 L^1 은 결합이고, 화학식 I-B의 화합물은 화학식 I-B-1을 갖는 것을 특징으로 할 수 있으며:



화학식 I-B-1

[0131]

[0132]

여기서:

[0133]

G^2 는 각각의 경우, -OH, 할로젠(예를 들어, F), CN, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{2-4} 알키닐, C_{1-4} 알콕시, C_{3-6} 사이클로알콕시로부터 독립적으로 선택되며, 여기서, 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시 및 사이클로알콕시는 -OH, C_{1-4} 알킬, 및 -F로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 3개의 치환기로 선택적으로 치환된다.

[0134]

p 및 q는 각각 독립적으로, 0 내지 4(예를 들어, 0, 1, 또는 2)의 정수이고;

[0135]

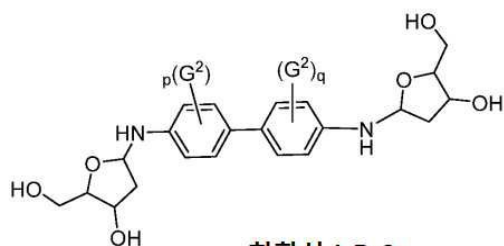
G^1 , m, 및 n은 본원에 정의되어 있다.

[0136]

일부 구현예에서, p는 0이다. 일부 구현예에서, q는 0이다. 일부 구현예에서, p 및 q 중 적어도 하나는 0이 아니다. 일부 구현예에서, p와 q는 둘 다 0이다. 일부 구현예에서, G^2 는 각각의 경우 독립적으로, -OH, F, Cl, Br, I, CN, 1 내지 3개의 불소로 선택적으로 치환되는 C_{1-4} 알킬(예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 등), 사이클로프로필, 사이클로부틸, 1 내지 3개의 불소로 선택적으로 치환되는 C_{1-4} 알콕시(예를 들어, 메톡시, 에톡시 등), 사이클로프로폭시, 또는 사이클로부톡시일 수 있다. 일부 구현예에서, m은 0이다. 일부 구현예에서, n은 0이다. 일부 구현예에서, m과 n은 둘 다 0이다. 일부 구현예에서, m과 n 중 적어도 하나는 0이 아니다. 일부 구현예에서, G^1 은 각각의 경우, -OH, F, 메틸, 에틸, CF_3 , 사이클로프로필, 사이클로부틸, 메톡시, 또는 에톡시로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, m과 n은 둘 다 1이고, 2개의 G^1 기들은 동일하거나 상이할 수 있다.

[0137]

일부 구현예에서, m과 n은 둘 다 0이고, 화학식 I-B의 화합물은 화학식 I-B-2를 갖는 것을 특징으로 할 수 있으며:



화학식 I-B-2

[0138]

[0139]

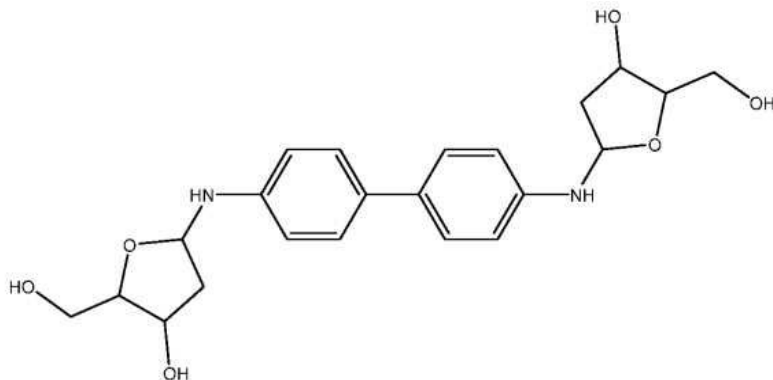
여기서, G^2 , p 및 q는 본원에 정의되어 있다. 일부 구현예에서, p는 0이다. 일부 구현예에서, p와 q는 둘 다 0이다. 일부 구현예에서, q는 0이다. 일부 구현예에서, p 및 q 중 적어도 하나는 0이 아니다. 일부 구현예에서, p 및 q는 동일하다. 일부 구현예에서, p 및 q는 상이하다. 일부 구현예에서, p는 0, 1, 2, 또는 3일 수 있다. 일부 구현예에서, q는 0, 1, 2, 또는 3일 수 있다. 일부 구현예에서, G^2 는 각각의 경우 독립적으로, -OH, F, Cl, Br, I, CN, 1 내지 3개의 불소로 선택적으로 치환되는 C_{1-4} 알킬(예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 등), 사이클로프로필, 사이클로부틸, 1 내지 3개의 불소로 선택적으로 치환되는 C_{1-4} 알콕시(예를 들어, 메톡시, 에톡시 등), 사이클로프로폭시, 또는 사이클로부톡시일 수 있다.

[0140]

본원에 기재된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 포함할 수 있고, 그러므로, 다양한 이성질체 형태들, 예를

들어, 거울상이성질체 및/또는 부분입체이성질체로 존재할 수 있다. 예를 들어, 기재된 화합물은 개별적인 거울상이성질체, 부분입체이성질체 또는 기하이성질체 형태로 존재할 수 있거나, 라세미 혼합물 및 하나 이상의 입체이성질체에서 농화된 혼합물을 포함하여 입체이성질체들의 혼합물 형태로 존재할 수 있다. 이성질체는 카이랄 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 및 카이랄 염의 형성과 결정화를 포함하여 당업자에게 알려진 방법에 의해 혼합물로부터 분리될 수 있거나; 바람직한 이성질체는 비대칭 합성에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Jacques 등, *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981)]; 문헌[Wilensky 등, *Tetrahedron* 33:2725 (1977)]; 문헌[Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962)]; 및 문헌[Wilensky, *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972)]를 참조한다. 본 개시내용은 추가로, 본원에 기재된 화합물을, 다른 이성질체가 실질적으로 없는 개별 이성질체로서 그리고 대안적으로 라세미 혼합물을 포함하여 다양한 이성질체들의 혼합물로서 포괄한다.

[0141] 일부 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물은

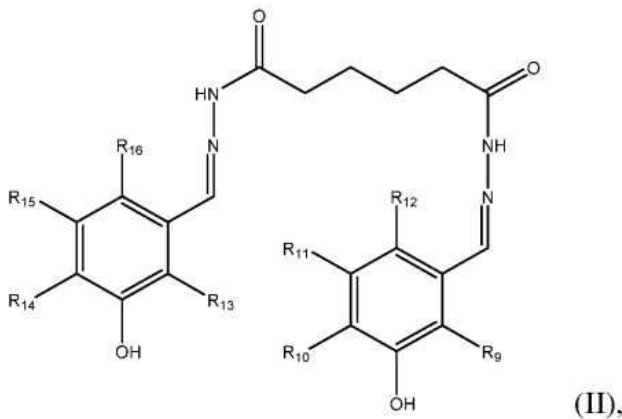


[0142]

[0143] 이다.

[0144] 화학식 (II)의 화합물

[0145] 다양한 구현예에서, 본 발명은 화학식 (II)의 화합물:



[0146]

[0147] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 전구약물을 제공하고;

[0148] 여기서:

[0149] R₉는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0150] R₁₀은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0151] R₁₁은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0152] R₁₂는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0153] R₁₃은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

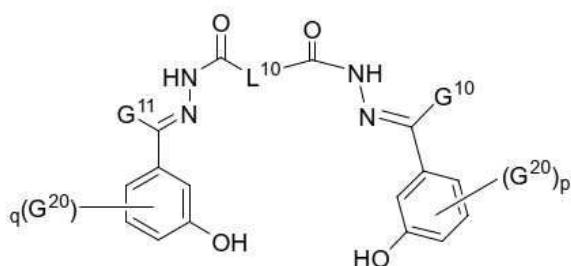
[0154] R₁₄는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0155] R₁₅는 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이고;

[0156] R₁₆은 수소 또는 선택적으로 치환된 치환기이며;

[0157] 선택적으로 R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅, 또는 R₁₆ 중 임의의 2개 이상은 함께 결합되어, 하나 이상의 고리를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 선택적으로 치환된 치환기는 할로젠(예를 들어, F, Cl), -OH, -CN, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 알콕시, C₃₋₆ 사이클로알킬, C₃₋₆ 사이클로알콕시, 페닐, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1, 2 또는 3개의 고리 헤테로원자를 함유하는 5-원 또는 6-원 헤테로아릴, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1 또는 2개의 고리 헤테로원자를 함유하는 4-원 내지 7-원 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택될 수 있으며, 여기서, 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 사이클로알킬, 사이클로알콕시, 페닐, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴은 F, -OH, 옥소(적용 가능하다면), C₁₋₄ 알킬, 플루오로-치환된 C₁₋₄ 알킬, C₁₋₄ 알콕시 및 플루오로-치환된 C₁₋₄ 알콕시로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의, 예를 들어, 1, 2 또는 3개의 치환기로 선택적으로 치환된다.

[0158] 일부 구현예에서, 본 발명은 화학식 II-B의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르 또는 전구 약물을 제공하며;



화학식 II-B,

[0159]

[0160] 여기서:

[0161] L¹⁰은 선택적으로 치환된 C₁₋₁₀ 알킬렌 링커, 선택적으로 치환된 C₃₋₁₀ 사이클로알킬렌 링커, 선택적으로 치환된 페닐렌, 선택적으로 치환된 헤테로아릴렌, 선택적으로 치환된 C₁₋₁₀ 헤테로알킬렌 링커, 또는 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴렌이며,

[0162] G¹⁰ 및 G¹¹은 독립적으로, 수소 또는 선택적으로 치환된 C₁₋₄ 알킬이며,

[0163] p 및 q는 독립적으로, 0 내지 4(예를 들어, 0, 1 또는 2)의 정수이며,

[0164] G²⁰은 각각의 경우, 할로젠(예를 들어, F, Cl), -OH, -CN, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 알콕시, C₃₋₆ 사이클로알킬, C₃₋₆ 사이클로알콕시, 페닐, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1, 2 또는 3개의 고리 헤테로원자를 함유하는 5-원 또는 6-원 헤테로아릴, O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택되는 1 또는 2개의 고리 헤테로원자를 함유하는 4-원 내지 7-원 헤테로사이클릴로부터 독립적으로 선택되며, 여기서, 각각의 알킬, 알케닐, 알키닐, 알콕시, 사이클로알킬, 사이클로알콕시, 페닐, 헤테로아릴, 및 헤테로사이클릴은 F, -OH, 옥소(적용 가능하다면), C₁₋₄ 알킬, 플루오로-치환된 C₁₋₄ 알킬, C₁₋₄ 알콕시 및 플루오로-치환된 C₁₋₄ 알콕시로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의, 예를 들어, 1, 2 또는 3개의 치환기로 선택적으로 치환된다.

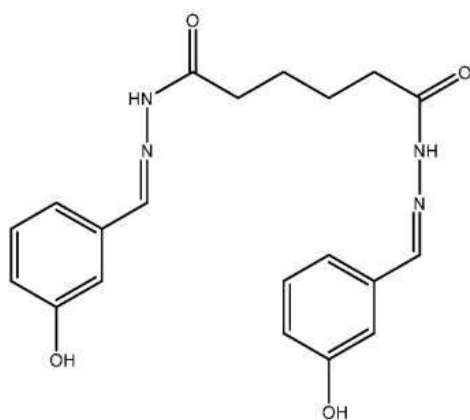
[0165] 일부 구현예에서, 화학식 II-B에서 L¹⁰은 비치환된 C₁₋₁₀ 알킬렌 링커, 예컨대 비치환된 직쇄 C₁₋₁₀ 알킬렌(예를 들

어, C₃₋₆ 알킬렌) 링커 또는 비치환된 분지형 C₁₋₁₀ 알킬렌 링커이다.

[0166] 일부 구현예에서, G^{10} 과 G^{11} 은 둘 다 수소이다. 일부 구현예에서, G^{10} 및 G^{11} 은 독립적으로, 수소 또는 C_{1-4} 알킬 (예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필 등)이다.

[0167] 일부 구현예에서, p 는 0이다. 일부 구현예에서, p 와 q 는 둘 다 0이다. 일부 구현예에서, q 는 0이다. 일부 구현예에서, p 및 q 중 적어도 하나는 0이 아니다. 일부 구현예에서, p 및 q 는 동일하다. 일부 구현예에서, p 및 q 는 상이하다. 일부 구현예에서, p 는 0, 1, 2, 또는 3일 수 있다. 일부 구현예에서, q 는 0, 1, 2, 또는 3일 수 있다. 일부 구현예에서, G^{20} 은 각각의 경우 독립적으로, -OH, F, Cl, Br, I, CN, 1 내지 3개의 불소로 선택적으로 치환되는 C_{1-4} 알킬(예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 등), 사이클로프로필, 사이클로부틸, 1 내지 3개의 불소로 선택적으로 치환되는 C_{1-4} 알콕시(예를 들어, 메톡시, 에톡시 등), 사이클로프로폭시, 또는 사이클로부톡시일 수 있다.

[0168] 일부 구현예에서, 화학식 (II)의 화합물은



[0170] 이다.

[0171] 본 발명의 화합물의 비제한적인 구현에는 본원의 표 1에 제공된다.

표 1

표 1. G1TR 및 G1TRL 수용체 복합체 조절제

화합물 ID	화합물
RMGL171102 (즉, 11702)	
RMGL171103 (즉, 11703)	
RMGL171104 (즉, 11704)	

[0172]

[0173]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알킬"은 탄소 원자의 사슬을 갖는 직선형 또는 분지형, 포화된 지방족 라디칼을 의미한다. C_x 알킬 및 C_x-C_y 알킬이 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y는 사슬 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_1-C_6 알킬은 1 내지 6개 탄소의 사슬을 갖는 알킬(예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 펜틸, 네오펜틸, 헥실 등)을 포함한다. 또 다른 라디칼(예를 들어, 아릴알킬에서와 같이)과 함께 표시된 알킬은 제시된 원자 수를 갖는 직선형 또는 분지형, 포화된 알킬 2가 라디칼을 의미하거나, 원자가 제시되어 있지 않을 때 결합을 의미하며, 예를 들어, (C_6-C_{10}) 아릴 (C_0-C_3) 알킬은 페닐, 벤질, 페네틸, 1-페닐에틸 3-페닐프로필 등을 포함한다. 알킬의 백본에 선택적으로, 하나 이상의 헤테로원자, 예컨대 N, O, 또는 S가 삽입될 수 있다.

[0174]

바람직한 구현예에서, 직쇄 또는 분지쇄 알킬은 이의 백본(예를 들어, 직쇄의 경우 C_1-C_{30} , 분지쇄의 경우 C_3-C_{30})에 30개 이하, 더욱 바람직하게는 20개 이하의 탄소 원자를 갖는다. 마찬가지로, 바람직한 사이클로알킬은 이의 고리 구조에 3 내지 10개의 탄소 원자를 갖고, 더욱 바람직하게는 고리 구조에 5, 6 또는 7개의 탄소를 갖는다. 명세서, 실시예 및 청구항 전체에서 사용된 바와 같이, 용어 "알킬"(또는 "저급 알킬")은 "비치환된 알킬"과 "치환된 알킬" 둘 다 포함하는 것으로 의도되고, 치환된 알킬은 탄화수소 백본의 하나 이상의 탄소 상의 수소를 대체하는 하나 이상의 치환기를 갖는 알킬 모이어티를 지칭한다.

[0175]

탄소 수가 다르게 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, "저급 알킬"은 상기 정의된 바와 같지만 이의 백본 구조에 1 내지 10개의 탄소, 더욱 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 알킬기를 의미한다. 마찬가지로

가지로, "저급 알케닐" 및 "저급 알키닐"은 유사한 사슬 길이를 갖는다. 출원 전체에서, 바람직한 알킬기는 저급 알킬이다. 바람직한 구현예에서, 본원에서 알킬로서 지정된 치환기는 저급 알킬이다.

[0176] 치환된 알킬의 치환기의 비제한적인 예는 할로젠, 하이드록시, 니트로, 티올, 아미노, 아지도, 이미노, 아미도, 포스포릴(포스포네이트 및 포스포네이트 포함), 설포닐(설페이트, 설포아미도, 설파모일 및 설포네이트 포함), 및 실릴기, 뿐만 아니라 에테르, 알킬티오, 카르보닐(케톤, 알데하이드, 카르복실레이트, 및 에스테르 포함), $-CF_3$, $-CN$ 등을 포함할 수 있다.

[0177] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알케닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 불포화된 직쇄, 분지쇄 또는 환식 탄화수소 라디칼을 지칭한다. C_x 알케닐 및 C_x-C_y 알케닐이 전형적으로 사용되고, 여기서, X 및 Y는 사슬 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_2-C_6 알케닐은 2 내지 6개 탄소의 사슬 및 적어도 하나의 이중 결합을 갖는 알케닐, 예를 들어, 비닐, 알릴, 프로페닐, 이소프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 3-부테닐, 2-메틸알릴, 1-헥세닐, 2-헥세닐, 3-헥세닐 등)을 포함한다. 또 다른 라디칼(예를 들어, 아릴알케닐에서와 같이)과 함께 표시된 알케닐은 제시된 원자의 수를 갖는 직선형 또는 분지형, 알케닐 2가 라디칼을 의미한다. 알케닐의 백본에 선택적으로, 하나 이상의 헤테로원자, 예컨대 N, O, 또는 S가 삽입될 수 있다.

[0178] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알키닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 불포화된 탄화수소 라디칼을 지칭한다. C_x 알키닐 및 C_x-C_y 알키닐이 전형적으로 사용되고, 여기서, X 및 Y는 사슬 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_2-C_6 알키닐은 2 내지 6개 탄소의 사슬 및 적어도 하나의 삼중 결합을 갖는 알키닐, 예를 들어, 에틸닐, 1-프로피닐, 2-프로피닐, 1-부티닐, 이소펜티닐, 1,3-헥사-디인-일, n-헥시닐, 3-펜티닐, 1-헥센-3-인일 등을 포함한다. 또 다른 라디칼(예를 들어, 아릴알키닐에서와 같이)과 함께 표시된 알키닐은 제시된 원자의 수를 갖는 직선형 또는 분지형, 알키닐 2가 라디칼을 의미한다. 알키닐의 백본에 선택적으로, 하나 이상의 헤테로원자, 예컨대 N, O, 또는 S가 삽입될 수 있다.

[0179] 용어 "알킬렌", "알케닐렌" 및 "알키닐렌"은 2가 알킬, 알케닐, 및 알키닐 라디칼을 지칭한다. 접두사 C_x 및 C_x-C_y 가 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y는 사슬 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_1-C_6 알킬렌은 메틸렌($-CH_2-$), 에틸렌($-CH_2CH_2-$), 트리메틸렌($-CH_2CH_2CH_2-$), 테트라메틸렌($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), 2-메틸테트라메틸렌($-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_2-$), 펜타메틸렌($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) 등을 포함한다.

[0180] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알킬리텐"은 일반적인 화학식 $=CR_aR_b$ 를 갖는 직선형 또는 분지형 불포화된, 지방족, 2가 라디칼을 의미한다. R_a 및 R_b 의 비제한적인 예는 각각 독립적으로, 수소, 알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 또는 치환된 알케닐이다. C_x 알킬리텐 및 C_x-C_y 알킬리텐이 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y는 사슬 내 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_2-C_6 알킬리텐은 메틸리텐($=CH_2$), 에틸리텐($=CHCH_3$), 이소프로필리텐($=C(CH_3)_2$), 프로필리텐($=CHCH_2CH_3$), 알릴리텐($=CH-CH=CH_2$) 등을 포함한다.

[0181] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "헤테로알킬"은 적어도 하나의 헤테로원자를 함유하는 직선형 또는 분지쇄, 또는 환식 탄소-함유 라디칼, 또는 이들의 조합을 지칭한다. 적합한 헤테로원자는 O, N, Si, P, Se, B, 및 S를 포함하지만 이들로 제한되지는 않으며, 여기서, 인 및 황 원자는 선택적으로 산화되고, 질소 헤테로원자는 선택적으로 4차화된(quaternized). 헤테로알킬은 알킬기에 대해 상기 정의된 바와 같이 치환될 수 있다.

[0182] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "할로젠" 또는 "할로"는 불소, 염소, 브롬 및 요오드로부터 선택되는 원자를 지칭한다. 용어 "할로젠 방사성동위원소" 또는 "할로 동위원소"는 불소, 염소, 브롬 및 요오드로부터 선택되는 원자의 방사성 핵종을 지칭한다.

[0183] 단리된 기 또는 더 큰 기의 부분으로서 "할로젠-치환된 모이어티" 또는 "할로-치환된 모이어티"는 하나 이상의 "할로" 원자에 의해 치환된 본원에 기재된 바와 같은 지방족, 치환족, 또는 방향족 모이어티를 의미하며, 이러한 용어는 본 출원에 정의된 바와 같다. 예를 들어, 할로-치환된 알킬은 할로알킬, 디할로알킬, 트리할로알킬, 퍼할로알킬 등을 포함한다(예를 들어, 할로치환된 (C_1-C_3) 알킬은 클로로메틸, 디클로로메틸, 디플루오로메틸, 트리플루오로메틸($-CF_3$), 2,2,2-트리플루오로에틸, 퍼플루오로에틸, 2,2,2-트리플루오로-1,1-디클로로에틸 등을 포함함).

[0184]

용어 "아릴"은 단환식, 이환식, 또는 삼환식 융합된 방향족 고리 시스템을 지칭한다. C_x 아릴 및 C_x-C_y 아릴이 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y 는 고리 시스템 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_6-C_{12} 아릴은 고리 시스템에 6 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 아릴을 포함한다. 전형적인 아릴기는 피리디닐, 피리미디닐, 푸라닐, 티에닐, 이미다졸릴, 티아졸릴, 피라졸릴, 피리다지닐, 피라지닐, 트리아지닐, 테트라졸릴, 인돌릴, 벤질, 페닐, 나프틸, 안트라세닐, 아줄레닐, 플루오레닐, 인다닐, 인테닐, 나프틸, 페닐, 테트라하이드로나프틸, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티오프라닐, 벤조티오펜, 벤족사졸릴, 벤족사졸리닐, 벤즈티아졸릴, 벤즈트리아졸릴, 벤즈테트라졸릴, 벤즈이속사졸릴, 벤즈이소티아졸릴, 벤즈이미다졸리닐, 카르바졸릴, 4aH 카르바졸릴, 카르볼리닐, 크로마닐, 크로메닐, 신놀리닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 2H,6H-1,5,2-디티아지닐, 디하이드로푸로[2,3-b]테트라하이드로푸란, 푸라닐, 푸라자닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 이미다졸릴, 1H-인다졸릴, 인돌레닐, 인돌리닐, 인돌리지닐, 인돌릴, 3H-인돌릴, 이사티오닐, 이소벤조푸라닐, 이소크로마닐, 이소인다졸릴, 이소인돌리닐, 이소인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 메틸렌디옥시페닐, 모르폴리닐, 나프티리디닐, 옥타하이드로이소퀴놀리닐, 옥사디아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 옥사졸리디닐, 옥사졸릴, 옥신돌릴, 피리미디닐, 페난트리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사티닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 피페라지닐, 피페리디닐, 피페리도닐, 4-피페리도닐, 피페로닐, 프테리디닐, 퓨리닐, 피라닐, 피라지닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피라졸릴, 피리다지닐, 피리도옥사졸, 피리도이미다졸, 피리도티아졸, 피리디닐, 피리딜, 피리미디닐, 피롤리디닐, 피롤리닐, 2H-피롤릴, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 4H-퀴놀리지닐, 퀴녹살리닐, 퀴누클리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라졸릴, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,2,5-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 티안트레닐, 티아졸릴, 티에닐, 티에노티아졸릴, 티에노옥사졸릴, 티에노이미다졸릴, 티오펜 및 크산테닐 등을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 각각의 고리의 1, 2, 3, 또는 4개의 수소 원자는 치환기에 의해 치환될 수 있다.

[0185]

용어 "헤테로아릴"은 단환식이라면 1 내지 3개의 헤테로원자, 이환식이라면 1 내지 6개의 헤테로원자, 또는 삼환식이라면 1 내지 9개의 헤테로원자를 갖는 방향족 5-원 내지 8-원 단환식, 8-원 내지 12-원 융합된 이환식, 또는 11-원 내지 14-원 융합된 삼환식 고리 시스템을 지칭하며, 상기 헤테로원자는 O, N, 또는 S로부터 선택된다(예를 들어, 각각 단환식, 이환식 또는 삼환식이라면, 탄소 원자 및 1 내지 3개, 1 내지 6개, 또는 1 내지 9개의 N, O, 또는 S의 헤테로원자). C_x 헤테로아릴 및 C_x-C_y 헤테로아릴이 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y 는 고리 시스템 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_4-C_9 헤테로아릴은 고리 시스템에 4 내지 9개의 탄소 원자를 갖는 헤테로아릴을 포함한다. 헤테로아릴은 벤조[b]푸란, 벤조[b] 티오펜, 벤즈이미다졸, 이미다조[4,5-c]피리딘, 퀴나졸린, 티에노[2,3-c]피리딘, 티에노[3,2-b]피리딘, 티에노[2,3-b]피리딘, 인돌리진, 이미다조[1,2a]피리딘, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 프탈라진, 퀴녹살린, 나프티리딘, 퀴놀리진, 인돌, 이소인돌, 인다졸, 인돌린, 벤족사졸, 벤조피라졸, 벤조티아졸, 이미다조[1,5-a]피리딘, 피라졸로[1,5-a]피리딘, 이미다조[1,2-a]피리미딘, 이미다조[1,2-c]피리미딘, 이미다조[1,5-a]피리미딘, 이미다조[1,5-c]피리미딘, 피롤로[2,3-b]피리딘, 피롤로[2,3c]피리딘, 피롤로[3,2-c]피리딘, 피롤로[3,2-b]피리딘, 피롤로[2,3-d]피리미딘, 피롤로[3,2-d]피리미딘, 피롤로[2,3-b]피라진, 피라졸로[1,5-a]피리딘, 피롤로[1,2-b]피리다진, 피롤로[1,2-c]피리미딘, 피롤로[1,2-a]피리미딘, 피롤로[1,2-a]피라진, 트리아조[1,5-a]피리딘, 프테리딘, 퓨린, 카르바졸, 아크리딘, 페나진, 페노티아젠, 페녹사진, 1,2-디하이드로피롤로[3,2,1-hi]인돌, 인돌리진, 피리도[1,2-a]인돌, 2(1H)-피리디논, 벤즈이미다졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티오프라닐, 벤조티오펜, 벤족사졸릴, 벤족사졸리닐, 벤즈티아졸릴, 벤즈트리아졸릴, 벤즈테트라졸릴, 벤즈이속사졸릴, 벤즈이소티아졸릴, 벤즈이미다졸리닐, 카르바졸릴, 4aH-카르바졸릴, 카르볼리닐, 크로마닐, 크로메닐, 신놀리닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 2H,6H-1,5,2-디티아지닐, 디하이드로푸로[2,3-b]테트라하이드로푸란, 푸라닐, 푸라자닐, 이미다졸리디닐, 이미다졸리닐, 이미다졸릴, 1H-인다졸릴, 인돌레닐, 인돌리닐, 인돌리지닐, 인돌릴, 3H-인돌릴, 이사티오닐, 이소벤조푸라닐, 이소크로마닐, 이소인다졸릴, 이소인돌리닐, 이소인돌릴, 이소퀴놀리닐, 이소티아졸릴, 이속사졸릴, 메틸렌디옥시페닐, 모르폴리닐, 나프티리디닐, 옥타하이드로이소퀴놀리닐, 옥사디아졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,2,5-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 옥사졸리디닐, 옥사졸릴, 옥세파닐, 옥세타닐, 옥신돌릴, 피리미디닐, 페난트리디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사티닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 피페라지닐, 피페리디닐, 피페리도닐, 4-피페리도닐, 피페로닐, 프테리디닐, 퓨리닐, 피라닐, 피라지닐, 피라졸리디닐, 피라졸리닐, 피라졸릴, 피리다지닐, 피리도옥사졸, 피리도이미다졸, 피리도티아졸, 피리디닐, 피리딜, 피리미디닐, 피롤리디닐, 피롤리닐, 2H-피롤릴, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 4H-퀴놀리지닐, 퀴녹살리

닐, 퀴누클리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라졸릴, 6H-1,2,5-티아디아지닐, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,2,5-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 티안트레닐, 티아졸릴, 티에닐, 티에노티아졸릴, 티에노옥사졸릴, 티에노이미다졸릴, 티오펜릴 및 크산테닐로부터 유래된 것들을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 일부 전형적인 헤테로아릴기는 피리딜, 푸릴 또는 푸라닐, 이미다졸릴, 벤즈이미다졸릴, 피리미디닐, 티오펜릴 또는 티에닐, 피리다지닐, 피라지닐, 퀴놀리닐, 인돌릴, 티아졸릴, 나프티리디닐, 2-아미노-4-옥소-3,4-디하이드로프테리딘-6-일, 테트라하이드로이소퀴놀리닐 등을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 각각의 고리의 1, 2, 3, 또는 4개의 수소 원자는 치환기에 의해 치환될 수 있다.

[0186] 용어 "사이클릴" 또는 "사이클로알킬"은 3 내지 12개의 탄소, 예를 들어, 3 내지 8개의 탄소, 예를 들어, 3 내지 6개의 탄소를 갖는 포화된 및 부분적으로 불포화된 환식 탄화수소 기를 지칭한다. C_x 사이클릴 및 C_x-C_y 사이클릴이 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y는 고리 시스템 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_3-C_8 사이클릴은 고리 시스템에 3 내지 8개의 탄소 원자를 갖는 사이클릴을 포함한다. 사이클로알킬기는 추가로, 예를 들어, 1, 2, 3, 또는 4개의 치환기로 선택적으로 치환될 수 있다. C_3-C_{10} 사이클릴은 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헥세닐, 2,5-사이클로헥사디에닐, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 비사이클로[2.2.2]옥틸, 아다만탄-1-일, 데카하이드로나프틸, 옥소사이클로헥실, 디옥소사이클로헥실, 티오사이클로헥실, 2-옥소비사이클로[2.2.1]헵트-1-일 등을 포함한다.

[0187] 아릴 및 헤테로아릴은 하나 이상의 위치에서 하나 이상의 치환기, 예를 들어, 할로젠, 알킬, 아랄킬, 알케닐, 알키닐, 사이클로알킬, 하이드록실, 아미노, 니트로, 설퍼딜, 이미노, 아미도, 포스페이트, 포스포네이트, 포스피네이트, 카르보닐, 카르복실, 실릴, 에테르, 알킬티오, 설폰, 케톤, 알데하이드, 에스테르, 헤테로사이클릴, 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티, $-CF_3$, $-CN$ 등으로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0188] 용어 "헤테로사이클릴"은 단환식이라면 1 내지 3개의 헤테로원자, 이환식이라면 1 내지 6개의 헤테로원자, 또는 삼환식이라면 1 내지 9개의 헤테로원자를 갖는 비(非)방향족 4-원 내지 8-원 단환식, 8-원 내지 12-원 이환식, 또는 11-원 내지 14-원 삼환식 고리 시스템을 지칭하며, 상기 헤테로원자는 O, N, 또는 S로부터 선택된다(예를 들어, 각각 단환식, 이환식 또는 삼환식이라면, 탄소 원자 및 1 내지 3개, 1 내지 6개, 또는 1 내지 9개의 N, O, 또는 S의 헤테로원자). C_x 헤테로사이클릴 및 C_x-C_y 헤테로사이클릴이 전형적으로 사용되며, 여기서, X 및 Y는 고리 시스템 내의 탄소 원자의 수를 나타낸다. 예를 들어, C_4-C_9 헤테로사이클릴은 고리 시스템 내에 4 내지 9개의 탄소 원자를 갖는 헤테로사이클릴을 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 고리의 1, 2 또는 3개의 수소 원자는 치환기에 의해 치환될 수 있다. 전형적인 헤테로사이클릴기는 피페라지닐, 피롤리디닐, 디옥사닐, 모르폴리닐, 테트라하이드로푸라닐, 피페리딜, 4-모르폴릴, 4-피페라지닐, 피롤리디닐, 퍼하이드로피롤리디닐, 1,4-디아자퍼하이드로에피딜, 1,3-디옥사닐, 1,4-디옥사닐 등을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.

[0189] 용어 "이환식" 및 "삼환식"은 단일 결합에 의해 융합된, 브릿지된, 또는 결합된 다환식 고리 조립체를 지칭한다.

[0190] 용어 "사이클릴알킬렌"은 2가 아릴, 헤테로아릴, 사이클릴, 또는 헤테로사이클릴을 의미한다.

[0191] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "융합된 고리"는, 고리 둘 다에 공통적인 고리 원자들이 서로 직접 결합될 때, 또 다른 고리에 결합되어 이환식 구조를 갖는 화합물을 형성하는 고리를 지칭한다. 보편적인 융합된 고리의 비-배제적인 예는 데칼린, 나프탈렌, 안트라센, 페난트렌, 인돌, 푸란, 벤조푸란, 퀴놀린 등을 포함한다. 융합된 고리 시스템을 갖는 화합물은 포화된, 부분적으로 포화된, 사이클릴, 헤테로사이클릴, 방향족, 헤테로방향족 등일 수 있다.

[0192] 단독으로 또는 또 다른 라디칼과 조합되어 사용되는 바와 같이, 용어 "카르보사이클릴"은 3 내지 14개의 탄소 원자로 구성된 단환식, 이환식 또는 삼환식 고리 구조를 의미한다. 일부 구현예에서, 카르보사이클릴의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다.

[0193] 용어 "카르보사이클"은 완전히 포화된 고리 시스템 및 포화된 고리 시스템 및 부분적으로 포화된 고리 시스템 및 방향족 고리 시스템 및 비-방향족 고리 시스템 및 불포화된 고리 시스템 및 부분적으로 불포화된 고리 시스템을 지칭한다. 용어 "카르보사이클"은 단환식, 이환식, 다환식, 스피로환식, 융합된, 브릿지된, 또는 연결된 고리 시스템을 포괄한다. 일부 구현예에서, 카르보사이클의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 카르보사이클은 선택적으로 하나 이상의 헤테로원자를 포함한다. 일부 구현

예에서, 헤테로원자는 N, O, S, 또는 P로부터 선택된다.

[0194] 용어 "환식", "환식 기" 및 "고리" 또는 "고리들"은 카르보사이클을 의미하며, 이는 치환될 수 있거나 치환되지 않을 수 있고 선택적으로 하나 이상의 헤테로원자를 포함할 수 있는 완전히 포화된, 포화된, 부분적으로 포화된, 불포화된, 부분적으로 불포화된 비-방향족 또는 방향족일 수 있다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 N, O, S, 또는 P로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 고리의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 고리 또는 고리들은 단환식, 이환식, 다환식, 스피로환식, 융합된, 브릿지된, 또는 연결된 것일 수 있다.

[0195] 용어 "스피로-사이클로알킬"(스피로)은 고리가 탄소 원자를 통해 분자에 연결된 스피로환식 고리를 의미하고, 여기서, 생성된 카르보사이클은 알킬렌기에 의해 형성된다. 용어 "스피로-C₃-C₈-사이클로알킬"(스피로)은 고리가 탄소 원자를 통해 분자에 연결된 3-원 내지 8-원, 스피로환식 고리를 의미하고, 여기서, 생성된 3-원 내지 8-원 카르보사이클은 2 내지 7개의 탄소 원자를 갖는 알킬렌기에 의해 형성된다. 용어 "스피로-C₅-사이클로알킬"(스피로)은 고리가 탄소 원자를 통해 분자에 연결된 5-원, 스피로환식 고리를 의미하고, 여기서, 생성된 5-원 카르보사이클은 4개의 탄소 원자를 갖는 알킬렌기에 의해 형성된다.

[0196] 용어 "스피로-사이클로알케닐"(스피로)은 고리가 탄소 원자를 통해 분자에 연결된 스피로환식 고리를 의미하고, 여기서, 생성된 카르보사이클은 알케닐렌기에 의해 형성된다. 용어 "스피로-C₃-C₈-사이클로알케닐"(스피로)은 고리가 탄소 원자를 통해 분자에 연결된 3-원 내지 8-원, 스피로환식 고리를 의미하고, 여기서, 생성된 3-원 내지 8-원 카르보사이클은 2 내지 7개의 탄소 원자를 갖는 알케닐렌기에 의해 형성된다. 용어 "스피로-C₅-사이클로알케닐"(스피로)은 고리가 탄소 원자를 통해 분자에 연결된 5-원, 스피로환식 고리를 의미하고, 여기서, 생성된 5-원 카르보사이클은 4개의 탄소 원자를 갖는 알케닐렌기에 의해 형성된다.

[0197] 용어 "스피로-헤테로사이클릴"(스피로)은 하나 이상의 헤테로원자를 함유할 수 있으며 고리가 탄소 원자를 통해 또는 질소 원자가 존재한다면 선택적으로 질소 원자를 통해 분자에 연결될 수 있는 포화된 또는 불포화된 스피로환식 고리를 의미한다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 O, N, S, 또는 P로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 O, S, 또는 N이다. 용어 "스피로-C₃-C₈-헤테로사이클릴"(스피로)은 하나 이상의 헤테로원자를 함유할 수 있고 고리가 탄소 원자를 통해 또는 질소 원자가 존재한다면 선택적으로 질소 원자를 통해 분자에 연결될 수 있는 3-원 내지 8-원, 포화된 또는 불포화된, 스피로환식 고리를 의미한다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 O, N, S, 또는 P로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 O, S, 또는 N이다. 용어 "스피로-C₅-헤테로사이클릴"(스피로)은 하나 이상의 헤테로원자를 함유할 수 있고 고리가 탄소 원자를 통해 또는 질소 원자가 존재한다면 선택적으로 질소 원자를 통해 분자에 연결될 수 있는 5-원, 포화된 또는 불포화된, 스피로환식 고리를 의미한다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 O, N, S, 또는 P로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 헤테로원자는 O, S, 또는 N이다.

[0198] 일부 구현예에서, 스피로환식 고리의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-사이클로알킬의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-C₃-C₈-사이클로알킬의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-C₅-사이클로알킬의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-사이클로알케닐의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-C₃-C₈-사이클로알케닐의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-C₅-사이클로알케닐의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-헤테로사이클의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-C₃-C₈-헤테로사이클의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다. 일부 구현예에서, 스피로-C₅-헤테로사이클의 하나 이상의 수소 원자는 치환기에 의해 선택적으로 치환될 수 있다.

[0199] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "카르보닐"은 라디칼 -C(O)-를 의미한다. 카르보닐 라디칼은 여러 가지 치환기들로 추가로 치환되어, 산, 산 할라이드, 아마이드, 에스테르, 케톤 등을 포함하여 상이한 카르보닐기를 형성할 수 있음을 주지한다.

[0200] 용어 "카르복시"는 라디칼 -C(O)O-를 의미한다. 카르복시 모이어티를 함유하는 본원에 기재된 화합물은 이의

보호된 유도체를 포함할 수 있으며, 즉, 산소가 보호기로 치환된 유도체를 포함할 수 있음을 주지한다. 카르복시 모이어티에 적합한 보호기는 벤질, tert-부틸 등을 포함한다. 용어 "카르복실"은 -COOH를 의미한다.

- [0201] 용어 "시아노"는 라디칼 -CN을 의미한다.
- [0202] 용어, "헤테로원자"는 탄소 원자가 아닌 원자를 지칭한다. 헤테로원자의 특정 예는 질소, 산소, 황 및 할로젠을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. "헤테로원자 모이어티"는, 모이어티가 부착된 원자가 탄소가 아닌 모이어티를 포함한다. 헤테로원자 모이어티의 예는 $-N=$, $-NR^N-$, $-N^+(O^-)=$, $-O-$, $-S-$ 또는 $-S(O)_2-$, $-OS(O)_2-$, 및 $-SS-$ 를 포함하며, 여기서, R^N 은 H 또는 추가의 치환기이다.
- [0203] 용어 "하이드록시"는 라디칼 -OH를 의미한다.
- [0204] 용어 "이민 유도체"는 모이어티 $-C(NR)-$ 을 포함하는 유도체를 의미하며, 여기서, R은 질소에 대해 알파인 수소 또는 탄소 원자를 포함한다.
- [0205] 용어 "니트로"는 라디칼 $-NO_2$ 를 의미한다.
- [0206] "옥사지방족", "옥사지환족" 또는 "옥사방향족"은, 하나 이상의 산소 원자($-O-$)가 각각 지방족, 지환족, 또는 방향족의 탄소 원자들 사이에 위치하는 경우를 제외하고는, 본원에 정의된 바와 같은 지방족, 지환족, 또는 방향족을 의미한다.
- [0207] "옥소지방족", "옥소지환족" 또는 "옥소방향족"은, 카르보닐기로 치환된, 본원에 정의된 바와 같은 지방족, 지환족, 또는 방향족을 의미한다. 카르보닐기는 알데하이드, 케톤, 에스테르, 아마이드, 산, 또는 산 할라이드일 수 있다.
- [0208] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "옥소"는 치환기 $=O$ 를 의미한다.
- [0209] 본원에 사용된 바와 같이, 용어, "방향족"은, 구성원 원자가 불포화된 고리 시스템을 이루며, 고리 시스템 내의 모든 원자들이 sp^2 혼성화되고 pi 전자의 총수가 $4n+2$ 와 동일한 모이어티를 의미한다. 방향족 고리는, 고리 원자가 단지 탄소 원자가 되는 것일 수 있거나(예를 들어, 아릴) 탄소 및 비-탄소 원자를 포함할 수 있다(예를 들어, 헤테로아릴).
- [0210] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치환된"은, "치환기"에 대한 정의에서 하기에 나열되거나 다르게 명시된 치환기들의 군으로부터 독립적으로 선택되는 치환기에 의한, 치환된 모이어티 상에서의 하나 이상의(전형적으로, 1, 2, 3, 4 또는 5개의) 수소 원자의 독립적인 대체를 지칭한다. 일반적으로, 비-수소 치환기는, 치환되는 것으로 명시된 주어진 모이어티의 원자에 결합될 수 있는 임의의 치환기일 수 있다. 치환기의 예는 아실, 아실아미노, 아실옥시, 알데하이드, 지환족, 지방족, 알칸설폰아미도, 알칸설폰닐, 알카릴, 알케닐, 알콕시, 알콕시카르보닐, 알킬, 알킬아미노, 알킬카르바노일, 알킬렌, 알킬리덴, 알킬티오, 알킬닐, 아마이드, 아마도, 아미노, 아마이드, 아미노알킬, 아랄킬, 아랄킬설폰아미도, 아렌설폰아미도, 아렌설폰닐, 방향족, 아릴, 아릴아미노, 아릴카르바노일, 아릴옥시, 아지도, 카르바모일, 카르보닐, 케톤을 포함한 카르보닐, 카르복시, 카르복실레이트, CF_3 , 시아노(CN), 사이클로알킬, 사이클로알킬렌, 에스테르, 에테르, 할로알킬, 할로젠, 할로젠, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 하이드록시, 하이드록시알킬, 이미노, 이미노케톤, 케톤, 머캅토, 니트로, 옥사알킬, 옥소, 옥소알킬, 포스포릴(포스포네이트 및 포스포네이트를 포함함), 실릴기, 설폰아미도, 설폰닐(설페이트, 설페모일 및 설폰네이트를 포함함), 티올, 및 우레이도 모이어티를 포함하지만 이들로 제한되지는 않으며, 이들은 각각 선택적으로 또한 치환되거나 비치환될 수 있다. 일부 경우, 2개의 치환기들은 이들이 부착되는 탄소(들)와 함께 고리를 형성할 수 있다. 일부 경우, 2개 이상의 치환기들은 이들이 부착되는 탄소(들)와 함께 하나 이상의 고리를 형성할 수 있다.
- [0211] 치환기는 필요하다면 보호될 수 있고, 당업계에서 보편적으로 사용되는 임의의 보호기가 이용될 수 있다. 보호기의 비제한적인 예는 예를 들어, 문헌[Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 44th Ed., Wiley & Sons, 2006]에서 찾을 수 있다.
- [0212] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "알콕실" 또는 "알콕시"는 이에 부착된 산소 라디칼을 갖는 상기 정의된 바와 같은 알킬기를 지칭한다. 대표적인 알콕실기는 메톡시, 에톡시, 프로필옥시, tert-부톡시, n-프로필옥시, 이소-프로필옥시, n-부틸옥시, 이소-부틸옥시 등을 포함한다. "에테르"는 산소에 의해 공유 연결된 2개의 탄화수소들

이다. 이에 따라, 해당 알킬을 에테르로 만드는 알킬의 치환기는 알콕실이거나 알콕실과 닮아 있으며, 예컨대 -O-알킬, -O-알케닐, 및 -O-알키닐 중 하나로 표시될 수 있다. 아록시는 -O-아릴 또는 O-헤테로아릴로 표시될 수 있으며, 여기서, 아릴 및 헤테로아릴은 하기 정의된 바와 같다. 알콕시기 및 아록시기는 알킬에 대해 상기 기재된 바와 같이 치환될 수 있다.

- [0213] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아릴킬"은 아릴기(예를 들어, 방향족 또는 헤테로방향족기)로 치환된 알킬기를 지칭한다.
- [0214] 용어 "알킬티오"는 이에 부착된 황 라디칼을 갖는 상기 정의된 바와 같은 알킬기를 지칭한다. 바람직한 구현예에서, "알킬티오" 모이어티는 -S-알킬, -S-알케닐, 및 -S-알키닐 중 하나로 표시된다. 대표적인 알킬티오기는 메틸티오, 에틸티오 등을 포함한다. 용어 "알킬티오"는 또한, 사이클로알킬기, 알켄기, 사이클로알켄기, 및 알킨기를 포괄한다. "아릴티오"는 아릴 또는 헤테로아릴기를 지칭한다.
- [0215] 용어 "설피닐"은 라디칼 $-SO-$ 를 의미한다. 설피닐 라디칼은 여러 가지 치환기들로 추가로 치환되어, 설피산, 설피아미드, 설피닐 에스테르, 설피록사이드 등을 포함하여 상이한 설피닐기를 형성할 수 있음을 주지한다.
- [0216] 용어 "설포닐"은 라디칼 $-SO_2-$ 를 의미한다. 설포닐 라디칼은 여러 가지 치환기들로 추가로 치환되어, 설포산($-SO_3H$), 설포아미드, 설포네이트 에스테르, 설포 등을 포함하여 상이한 설포닐기를 형성할 수 있음을 주지한다.
- [0217] 용어 "티오키아르보닐"은 라디칼 $-C(S)-$ 를 의미한다. 티오키아르보닐 라디칼은 여러 가지 치환기들로 추가로 치환되어, 티오산, 티오아미드, 티오에스테르, 티오케톤 등을 포함하여 상이한 티오키아르보닐기를 형성할 수 있음을 주지한다.
- [0218] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "아미노"는 $-NH_2$ 를 의미한다. 용어 "알킬아미노"는 질소에 부착된 적어도 하나의 직선형 또는 분지형 불포화된 지방족, 사이클릴, 또는 헤테로사이클릴 라디칼을 갖는 질소 모이어티를 의미한다. 예를 들어, 대표적인 아미노기는 $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-NH(C_1-C_{10}알킬)$, $-N(C_1-C_{10}알킬)_2$ 등을 포함한다. 용어 "알킬아미노"는 "알케닐아미노", "알키닐아미노", "사이클릴아미노" 및 "헤테로사이클릴아미노"를 포함한다. 용어 "아릴아미노"는 질소에 부착된 적어도 하나의 아릴 라디칼을 갖는 질소 모이어티, 예를 들어 $-NH아릴$, 및 $-N(아릴)_2$ 를 의미한다. 용어 "헤테로아릴아미노"는 질소에 부착된 적어도 하나의 헤테로아릴 라디칼을 갖는 질소 모이어티, 예를 들어 $-NH헤테로아릴$, 및 $-N(헤테로아릴)_2$ 를 의미한다. 선택적으로, 질소와 함께 2개의 치환기들은 또한 고리를 형성할 수 있다. 다르게 지시되지 않는 한, 아미노 모이어티를 함유하는 본원에 기재된 화합물은 이의 보호된 유도체를 포함할 수 있다. 아미노 모이어티에 적합한 보호기는 아세틸, tert부톡시카르보닐, 벤질옥시카르보닐 등을 포함한다.
- [0219] 용어 "아미노알킬"은, 하나 이상의 치환된 또는 비치환된 질소 원자($-N-$)가 알킬, 알케닐, 또는 알키닐의 탄소 원자들 사이에 위치한 경우를 제외하고는, 상기 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐, 및 알키닐을 의미한다. 예를 들어, (C_2-C_6) 아미노알킬은 2 내지 6개의 탄소 및 이들 탄소 원자 사이에 위치한 하나 이상의 질소 원자를 포함하는 사슬을 지칭한다.
- [0220] 용어 "알콕시알콕시"는 $-O-(알킬)-O-(알킬)$, 예컨대 $-OCH_2CH_2OCH_3$ 등을 의미한다.
- [0221] 용어 "알콕시카르보닐"은 $-C(O)O-(알킬)$, 예컨대 $-C(=O)OCH_3$, $-C(=O)OCH_2CH_3$ 등을 의미한다.
- [0222] 용어 "알콕시알킬"은 $-(알킬)-O-(알킬)$, 예컨대 $-CH_2OCH_3$, $-CH_2OCH_2CH_3$ 등을 의미한다.
- [0223] 용어 "아릴옥시"는 $-O-(아릴)$, 예컨대 $-O-페닐$, $-O-피리디닐$ 등을 의미한다.
- [0224] 용어 "아릴알킬"은 $-(알킬)-(아릴)$, 예컨대 벤질(즉, $-CH_2페닐$), $-CH_2-피리디닐$ 등을 의미한다.
- [0225] 용어 "아릴알킬옥시"는 $-O-(알킬)-(아릴)$, 예컨대 $-O-벤질$, $-O-CH_2-피리디닐$ 등을 의미한다.
- [0226] 용어 "사이클로알킬옥시"는 $-O-(사이클로알킬)$, 예컨대 $-O-사이클로헥실$ 등을 의미한다.
- [0227] 용어 "사이클로알킬알킬옥시"는 $-O-(알킬)-(사이클로알킬)$, 예컨대 $-OCH_2사이클로헥실$ 등을 의미한다.
- [0228] 용어 "아미노알콕시"는 $-O-(알킬)-NH_2$, 예컨대 $-OCH_2NH_2$, $-OCH_2CH_2NH_2$ 등을 의미한다.

- [0229] 용어 "모노- 또는 디-알킬아미노"는 각각 -NH(알킬) 또는 -N(알킬)(알킬), 예컨대 -NHCH₃, -N(CH₃)₂ 등을 의미한다.
- [0230] 용어 "모노- 또는 디-알킬아미노알콕시"는 각각 -O-(알킬)-NH(알킬) 또는 -O-(알킬)-N(알킬)(알킬), 예컨대 -OCH₂NHCH₃, -OCH₂CH₂N(CH₃)₂ 등을 의미한다.
- [0231] 용어 "아릴아미노"는 -NH(아릴), 예컨대 -NH-페닐, -NH-피리디닐 등을 의미한다.
- [0232] 용어 "아릴알킬아미노"는 -NH-(알킬)-(아릴), 예컨대 -NH-벤질, -NHCH₂-피리디닐 등을 의미한다.
- [0233] 용어 "알킬아미노"는 -NH(알킬), 예컨대 -NHCH₃, -NHCH₂CH₃ 등을 의미한다.
- [0234] 용어 "사이클로알킬아미노"는 -NH-(사이클로알킬), 예컨대 -NH-사이클로헥실 등을 의미한다.
- [0235] 용어 "사이클로알킬알킬아미노"는 -NH-(알킬)-(사이클로알킬), 예컨대 -NHCH₂-사이클로헥실 등을 의미한다.
- [0236] 일부 보편적으로 사용되는 약어는 하기이다: Me는 메틸이며, Et는 에틸이며, Ph는 페닐이고, t-Bu는 tert-부틸이다.
- [0237] 본원에 제공된 모든 정의들에 관하여, 상기 정의는 명시된 것들을 능가하여 추가의 치환기가 포함될 수 있다는 의미에서 개방형인 것으로 해석되어야 함을 주지한다. 따라서, C₁ 알킬은, 하나의 탄소 원자가 존재하지만 탄소 원자 상의 치환기가 어떤 것인지를 나타내지 않음을 나타낸다. 따라서, C₁ 알킬은 메틸(즉, -CH₃)뿐만 아니라 -CR_aR_bR_c를 포함하며, 여기서, R_a, R_b, 및 R_c는 각각 독립적으로, 수소, 또는 탄소에 대해 알파인 원자가 헤테로 원자 또는 시아노인 임의의 다른 치환기일 수 있다. 따라서, CF₃, CH₂OH 및 CH₂CN은 모두 C₁ 알킬이다.
- [0238] 다르게 언급되지 않는 한, 본원에서 도시된 구조는, 하나 이상의 동위원소적으로 농화된 원자의 존재에서만 상이한 화합물을 포함하는 것으로 의미된다. 예를 들어, 중수소 또는 삼중수소에 의한 수소 원자의 대체, 또는 ¹³C-농화된 또는 ¹⁴C-농화된 탄소에 의한 탄소 원자의 대체를 제외하고는 본 구조를 갖는 화합물이 본 발명의 범위 내에 있다.
- [0239] 합성 제조. 다양한 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 본 발명의 화합물은 당업자에게 이용 가능한 임의의 합성 방법을 사용하여 합성될 수 있다. 다양한 구현예에서, 본원에 개시된 본 발명의 화합물은 유기 합성 분야의 당업자에게 알려진 여러 가지 방식들로 합성이 본원에 기재된 것과 전형적인 화합물과 유사하게 제조될 수 있다. 이들 화합물을 제조하는 데 사용되는 출발 물질은 상업적으로 입수 가능하거나 기지의 방법에 의해 제조될 수 있다. 화합물의 제조는 다양한 화학기들의 보호 및 탈-보호를 수반할 수 있다. 보호 및 탈-보호에 대한 필요성, 및 적절한 보호기의 선택은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 보호기의 화학은 예를 들어, 문헌 [Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 44th. Ed., Wiley & Sons, 2006]에서 찾을 수 있으며, 이는 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다. 본 발명의 화합물의 다양한 구현예들을 제조하는 데 사용되는 합성 방법의 비제한적인 예는 본원의 실시예 섹션에서 개시된다. 본원에 기재된 과정의 반응은 유기 합성 분야의 당업자에 의해 쉽게 선택될 수 있는 적합한 용매에서 수행될 수 있다. 적합한 용매는, 반응이 수행되는 온도, 즉, 용매의 동결점 내지 용매의 비등점의 범위일 수 있는 온도에서 출발 물질(반응물), 중간산물, 또는 생성물과 실질적으로 비반응성일 수 있다. 주어진 반응은 하나의 용매 또는 하나 초과 용매들의 혼합물에서 수행될 수 있다. 특정 반응 단계에 따라, 특정 반응 단계에 적합한 용매가 선택될 수 있다.
- [0240] 중합체의 용도. 다양한 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 본 발명의 화합물은 예를 들어, 화합물의 제어된 전달을 위해 중합체 매트릭스에 공액될 수 있다. 상기 화합물은 공유 결합 또는 비-공유 회합을 통해 공액될 수 있다. 화합물이 중합체 매트릭스에 공유 연결되는 소정의 구현예에서, 연결은 생물학적 조건 하에 절단 가능한 모이어티(예를 들어, 에스테르, 아마이드, 카르보네이트, 카르바메이트, 이미드 등)를 포함할 수 있다. 소정의 구현예에서, 공액된 화합물은 본원에 개시된 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염, 에스테르, 또는 전구약물일 수 있다. 본원에 개시된 바와 같은 화합물은 치료제의 전달을 위한 당업계에 알려진 임의의 유형의 중합체 매트릭스와 회합될 수 있다.
- [0241] **GITR/GITRL 수용체 복합체의 작용제**
- [0242] 나아가, GITR의 펩타이드 작용제가 본원에 제공된다. 일 구현예에서, GITR의 펩타이드 작용제는 SEQ ID NO:1로

제시된 서열을 갖는 펩타이드 또는 이의 돌연변이체 또는 기능적 등가물을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된다.

GAMASQLETAKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDITDLIFNSEHQVLKNNTYWGIIILLANPQFIS(GSGSGSGS)_nKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDITDLIFNSEHQVLKNNTYWGIIILLANPQFIS(GSGSGSGS)_nKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDITDLIFNSEHQVLKNNTYWGIIILLANPQFIS(SEQ ID NO:1), 여기서,

n은 1 내지 4 이다.

또 다른 구현예에서, GITR의 펩타이드 작용제는 서열 KEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDITDLIFNSEHQVLKNNTYWGIIILLANPQFIS(SEQ ID NO:4)를 갖는 펩타이드를 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된 펩타이드는 기능적 GITR 올리고머의 단량체(예를 들어, 삼량체)에 결합한다. 일부 구현예에서, GITR 작용제는 SEQ ID NO:4의 올리고머이며, 여기서, SEQ ID NO:4로 제시된 서열을 포함하는 각각의 단량체는 링커 서열을 통해 연결된다. 전형적인 구현예에서, 상기 링커는 GSGSGSGS(SEQ ID NO:5)이다. 본원에 제시된 바와 같이, SEQ ID NO:1은 SEQ ID NO:4의 올리고머를 포함하며, 여기서, SEQ ID NO:4의 각각의 단량체는 SEQ ID NO:5로 제시된 서열을 갖는 링커를 통해 연결된다.

또 다른 구현예에서, GITR의 펩타이드 작용제는 SEQ ID NO:2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드 또는 이의 돌연변이체 또는 기능적 등가물을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된다.

TGGRNSIRYSELAPLFDTRVYLVDNKSTDVASLNYQNDHSNFLTTVIQNNDYSPGEASTQTINLDDRRSHWGGDLKTIHTNMPNVNEFMFTNKFKARVMVSRSLTKDKQVELKYEWVEFTLPEGNYSETMTIDLMNNAIVEHYLKVGRQNGVLES DIGVKFDTRNFRLGFDPVITGLVMPGVYTNEAFHPDIILLPGCGVDFTHSRLSNLLGIRKRQPFQEGFRITYDDLEGGNIPALLVDVAYQASLKDDTEQGGDGAGGGNSGSGAEENSNAAMQPVEDMNDHAINGSTFATRAEEKRAEAEAAEAAAAPAAQPEVEKPQKKPVIKPLTEDSKKRSYNLISNDSTFTQYRSWYLAYNYGDPQTGIRSWTLLCTPDVTCGSEQVYWSLPDMMQDPVTFRSTSQISNFPVVGAE LLPVHKS SFYNDQAVYSQLIRQFTSLTHVFNRFENQILARPPAPTITTVSENVPALTDHGTLPLRNSIGGVQRTITDARRRTPYVYKALGIVSPRVLSSRT(GSGSGSGS)_nGAMASQLETAKEPCMAKFGPLPSKWQMASSEPPCVNKVSDWKLEILQNGLYLIYGQVAPNANYNDVAPFEVRLYKNKDMIQTLTNKSKIQNVGGTYELHVGDITDLIFNSEHQVLKNNTYWGIIILLANPQFISGSHHHHHH(SEQ ID NO:2)

여기서, 밑줄친 NGS 서열은 글리코실화 부위이고; n은 1 내지 4이다.

나아가, GITR 작용제를 포함하는 조성물이 본원에 제공된다. 일 구현예에서, 상기 조성물은 SEQ ID NO: 1로 제시된 펩타이드를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 조성물은 SEQ ID NO: 2로 제시된 펩타이드를 포함한다. 치료적으로 투여될 때, GITR의 펩타이드 작용제는, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드를 포함하고 약학적으로 허용 가능한 용액 또는 담체를 추가로 포함하는 조성물이다.

본 발명의 추가 비제한적인 구현예

일부 구현예에서, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된 펩타이드, 또는 이의 유사체, 약학적 등가물 및/또는 펩티도미메틱은 변형된 펩타이드이다. "변형된 펩타이드"는 본 발명의 펩타이드 내로의 락탐-브릿지, 헤드-투-테일 고리화, 합성 비-네이티브 아미노산, 치

환된 아미노산을 포함하여 비-천연 아미노산의 혼입을 포함할 수 있거나, 펩타이드 내로의 하나 이상의 D-아미노산(또는 조성물의 다른 구성요소, 단, 프로테아제 인식 서열은 제외)의 혼입이 소정의 상황에서 바람직하다. D-아미노산-함유 펩타이드는 L-아미노산-함유 형태와 비교하여 시험관내에서 또는 생체내에서 증가된 안정성을 나타낸다. 그러므로, D-아미노산을 혼입하는 펩타이드의 작제는, 더 큰 생체내 또는 세포내 안정성이 요망되거나 필요할 때 특히 유용할 수 있다. 더욱 구체적으로, D-펩타이드는 내인성 펩티다제 및 프로테아제에 내성이며, 이로써, 연결된 약물 및 공액체의 더 양호한 경구 경상피(trans-epithelial) 및 경피 전달, 막-영구(membrane-permanent) 복합체의 향상된 생체이용률(추가 논의에 대해서는 하기 참조), 및 연장된 혈관내 및 간질성(interstitial) 수명을, 이러한 특성들이 바람직할 때 제공한다. D-이성질체 펩타이드의 사용은 또한, 연결된 약물 및 다른 카고(cargo) 분자의 경피 및 경구 경상피 전달을 증강시킬 수 있다. 추가로, D-펩타이드는 T 헬퍼 세포로의 주 조직적합성 복합체 클래스 II-한정 제시를 위해 효율적으로 가공될 수 없고, 따라서, 전체 유기체에서 체액성 면역 반응을 유도하는 경향이 낮다. 따라서, 펩타이드 공액체는 예를 들어, 세포 투과 펩타이드 서열의 D-이성질체 형태, 절단 부위의 L-이성질체 형태, 및 치료적 펩타이드의 D-이성질체 형태를 사용하여 작제될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 개시된 바와 같은 펩타이드는 L 및 D 아미노산을 포함하며, 여기서, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 이하의 D-아미노산이 포함된다. 소정의 양태에서, 펩타이드는 10개 초과 D-아미노산을 포함하고, 소정의 양태에서, 펩타이드의 모든 아미노산들은 D-아미노산이다.

[0251] 일부 구현예에서, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된 펩타이드, 또는 이의 유사체, 약학적 등가물 및/또는 펩티도미메틱은 상기 펩타이드 또는 이의 유사체, 약학적 등가물 및/또는 펩티도미메틱의 레트로-인버소(retro-inverso) 펩타이드이다. "레트로-인버소 펩타이드"는 적어도 하나의 위치 상에서 펩타이드 결합의 방향의 역전(reversal), 즉, 아미노산의 측쇄에 대하여 아미노-말단 및 카르복시-말단의 역전을 갖는 펩타이드를 지칭한다. 그러므로, 레트로-인버소 유사체는 네이티브 펩타이드 서열에서와 같이 측쇄의 위상 배치(topology)를 대략 유지시키면서도 펩타이드 결합의 역전된 말단 및 역전된 방향을 갖는다. 레트로-인버소 펩타이드는 L-아미노산 또는 D-아미노산, 또는 L-아미노산과 D-아미노산의 혼합물을 함유할 수 있으며, 이때 최대 모든 아미노산들은 D-이성질체이다. 부분 레트로-인버소 펩타이드 유사체는, 서열 중 일부만 역전되고 거울상이성질체성 아미노산 잔기로 대체되는 폴리펩타이드이다. 이러한 유사체의 레트로-인버티드(retro-inverted) 부분이 역전된 아미노 말단 및 카르복실 말단을 갖기 때문에, 레트로-인버티드 부분의 측면에 존재하는 아미노산 잔기는 각각 측쇄-유사 α-치환된 저미날(geminal)-디아미노메탄 및 말로네이트에 의해 대체된다. 레트로-인버소 형태의 세포 투과 펩타이드는 자연 형태처럼 막을 가로질러 전파하는 데 있어서 효율적으로 작동하는 것으로 밝혀졌다. 레트로-인버소 펩타이드 유사체의 합성은 문헌[Bonelli, F. 등, Int J Pept Protein Res. 24(6):553-6 (1984)]; 문헌[Verdini, A and Viscomi, G. C, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1:697-701 (1985)]; 및 미국 특허 제6,261,569호에 기재되어 있으며, 이들은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다. 부분 레트로-인버소 펩타이드 유사체의 고체상 합성 과정은 (EP 97994-B)에 기재되었고, 이 또한 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0252] 본원에 기재된 펩타이드(SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된 펩타이드)의 다른 변이체는 보존적으로 치환된 서열을 포함할 수 있으며, 이는 원래의 펩타이드의 하나 이상의 아미노산 잔기가 상이한 잔기에 의해 대체되고, 보존적으로 치환된 펩타이드가 요망되는 생물학적 활성을 보유하며, 즉, 원래의 펩타이드와 본질적으로 동등한 GITR(예를 들어, SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO:2)의 작용제로서 작용함을 의미한다. 보존적 치환의 예는 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO:2로 제시된 펩타이드의 2차 및/또는 3차 구조를 변경시키지 않는 아미노산의 치환, 전반적인 또는 국소적인 소수성 특징을 변화시키지 않는 치환, 전반적인 또는 국소적인 전하를 변화시키지 않는 치환, 동등한 측쇄 크기의 잔기에 의한 치환, 또는 유사한 반응성 기를 갖는 측쇄에 의한 치환을 포함한다.

[0253] 다른 예는 종들에 걸쳐 모(parent) 서열에서 진화적으로 보존되지 않았던 아미노산의 치환을 수반한다. 유리하게는, 일부 구현예에서, 이들 보존된 아미노산 및 구조는 보존적으로 치환된 서열을 생성시킬 때 변경되지 않는다.

[0254] 주어진 아미노산은 유사한 물리화학적 특징을 갖는 잔기에 의해 대체될 수 있으며, 예를 들어, 또 다른 지방족 잔기를 하나의 지방족 잔기(예컨대 서로에 대해 Ile, Val, Leu, 또는 Ala)로 치환하거나 또 다른 지방족 잔기를 하나의 극성 잔기(예컨대 Lys과 Arg; Glu과 Asp; 또는 Gln과 Asn 사이)로 치환할 수 있다. 다른 이러한 보존적 치환, 예를 들어, 유사한 소수성 특징을 갖는 전체 영역의 치환 또는 유사한 측쇄 부피를 갖는 잔기의 치환이 잘 알려져 있다. 보존적 아미노산 치환을 포함하는 단리된 펩타이드는, 요망되는 활성, 예를 들어, GITR(예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2)의 작용제로서의 기능이 보유되는지 확인하기 위해 시험될 수 있다.

- [0255] 아미노산은 이의 측쇄의 특성에서의 유사성에 따라 군으로 나뉠 수 있다(문헌[A. L. Lehninger, in Biochemistry, second ed., pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)]에서): (1) 비-극성: Ala(A), Val(V), Leu(L), Ile(I), Pro(P), Phe(F), Trp(W), Met(M); (2) 비하전된 극성: Gly(G), Ser(S), Thr(T), Cys(C), Tyr(Y), Asn(N), Gln(Q); (3) 산성: Asp(D), Glu(E); (4) 염기성: Lys(K), Arg(R), His(H). 대안적으로, 자연 발생 잔기는 보편적인 측쇄 특성을 기반으로 군으로 나뉠 수 있다: (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Trp; (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln, Ala, Tyr, His, Pro, Gly; (3) 산성: Asp, Glu; (4) 염기성: His, Lys, Arg; (5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe, Pro, His, 또는 하이드록시프롤린. 비-보존적 치환은 이들 클래스 중 하나의 구성원을 또 다른 클래스로 바꾸는 것을 수반할 것이다.
- [0256] 본원에 기재된 변이체에 사용하기에 특히 바람직한 보존적 치환은 하기와 같다: Ala으로부터 Gly으로 또는 Ser으로; Arg으로부터 Lys으로; Asn으로부터 Gln으로 또는 His으로; Asp으로부터 Glu으로 또는 Asn으로; Cys으로부터 Ser으로; Gln으로부터 Asn으로; Glu으로부터 Asp으로; Gly으로부터 Ala으로 또는 Pro으로; His으로부터 Asn으로 또는 Gln으로; Ile으로부터 Leu으로 또는 Val으로; Leu으로부터 Ile으로 또는 Val으로; Lys으로부터 Arg으로, Gln으로 또는 Glu으로; Met으로부터 Leu으로, Tyr으로 또는 Ile으로; Phe으로부터 Met으로, Leu으로, 또는 Tyr으로; Ser으로부터 Thr으로; Thr으로부터 Ser으로; Trp으로부터 Tyr으로, 또는 Phe으로; Tyr으로부터 Phe으로, 또는 Trp으로; 및/또는 Phe으로부터 Val으로, Tyr으로, Ile으로, 또는 Leu으로의 치환. 일반적으로, 보존적 치환은 유사한 물리화학적 특성의 잔기로의 잔기 교환(즉, 소수성 아미노산으로부터 또 다른 소수성 잔기로의 치환)을 포괄한다.
- [0257] 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드의 적절한 배열(conformation)을 유지시키는 데 관여하지 않는 임의의 시스테인 잔기 또한, 일반적으로 세린으로 치환되어, 분자의 산화적 안정성을 향상시키고 일탈적인 가교를 방지할 수 있다. 대조적으로, 시스테인 결합(들)은 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드에 첨가되어, 상기 펩타이드의 안정성을 향상시키거나 다량체화를 용이하게 할 수 있다.
- [0258] 본원에 사용된 바와 같이, "기능적 단편"은 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 아미노산을 포함하는 펩타이드의 단편 또는 분절(segment)이고, GITR의 작용제(예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2)로서 작용할 수 있다. 기능적 단편은, 이들 단편이 GITR의 작용제(예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2)로서의 기능을 보존하는 한 본원에 개시된 서열의 보존적 치환을 포함할 수 있다. 이는, 펩타이드의 모(예를 들어, 원래의) 버전의 적어도 30%, 적어도 40% 또는 적어도 50%만큼의 기능 증가를 검출함으로써 시험될 수 있다.
- [0259] 세포 내로의 펩타이드의 안정성, 생체이용률, 및/또는 전달을 증강시키기 위해, 상기 펩타이드는 변형될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 적어도 하나의 펩타이드 결합 대체를 포함할 수 있다. 단일 펩타이드 결합 또는 다중 펩타이드 결합, 예를 들어, 2개 결합, 3개 결합, 4개 결합, 5개 결합, 또는 6개 이상의 결합, 또는 모든 펩타이드 결합들은 대체될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 하나의 유형의 펩타이드 결합 대체 또는 다중 유형의 펩타이드 결합 대체, 예를 들어, 2개 유형, 3개 유형, 4개 유형, 5개 유형, 또는 그 이상의 유형의 펩타이드 결합 대체를 포함할 수 있다. 펩타이드 결합 대체의 비제한적인 예는 우레아, 티오우레아, 카르바메이트, 설폰일 우레아, 트리플루오로에틸아민, 오르토-(아미노알킬)-페닐아세트산, 파라-(아미노알킬)-페닐아세트산, 메타-(아미노알킬)-페닐아세트산, 티오아미드, 테트라졸, 보로닉 에스테르, 올레핀기, 및 이들의 유도체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 펩타이드(SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 포함하거나, 이로 구성되거나, 이로 본질적으로 구성된 펩타이드) 또는 이의 변이체, 유도체, 약학적 등가물, 펩티도미메틱 또는 유사체는 대상체에서의 잔류(retention)를 증가시키는 제제와 공액된다. 잔류를 증가시키는 제제의 예는 셀룰로스, 지방산, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 이들의 조합을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.
- [0260] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 살아 있는 유기체에 의해 생성되는 폴리펩타이드 및/또는 단백질에서 보편적으로 발견되는 자연 발생 아미노산, 예를 들어, Ala(A), Val(V), Leu(L), Ile(I), Pro(P), Phe(F), Trp(W), Met(M), Gly(G), Ser(S), Thr(T), Cys(C), Tyr(Y), Asn(N), Gln(Q), Asp(D), Glu(E), Lys(K), Arg(R), 및 His(H)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 대안적인 아미노산을 포함할 수 있다. 대안적인 아미노산의 비제한적인 예는 D-아미노산; 베타-아미노산; 호모시스테인, 포스포세린, 포스포트레오닌, 포스포티로신, 하이드록시프롤린, 감마-카르복시글루타메이트; 히푸릭산(hippuric acid), 옥타하이드로인돌-2-카르복실산, 스타틴, 1,2,3,4,-테트라하이드로이소퀴놀린-3-카르복실산, 페니실라민(3-머캅토-D-발린), 오르니틴, 시트룰린, 알파-메틸-알라닌, 파라-벤조일페닐알라닌, 파라-아미노 페닐알라닌, p-플루오로페닐알라닌, 페닐글리신, 프로파길글리신, 사르코신, 및 tert-부틸

글리신), 디아미노부티르산, 7-하이드록시-테트라하이드로이소퀴놀린 카르복실산, 나프틸알라닌, 비페닐알라닌, 사이클로헥실알라닌, 아미노-이소부티르산, 노르발린, 노르류신, tert-류신, 테트라하이드로이소퀴놀린 카르복실산, 피페콜산(pipelicolic acid), 페닐글리신, 호모페닐알라닌, 사이클로헥실글리신, 테하이드로류신, 2,2-디에틸글리신, 1-아미노-1-사이클로헥탄카르복실산, 1-아미노-1-사이클로헥산카르복실산, 아미노-벤조산, 아미노-나프토산(naphthoic acid), 감마-아미노부티르산, 디플루오로페닐알라닌, 니페코트산(nipecotic acid), 알파-아미노 부티르산, 티에닐-알라닌, t-부틸글리신, 트리플루오로발린; 헥사플루오로류신; 플루오르화된 유사체; 아자이드-변형된 아미노산; 알킨-변형된 아미노산; 시아노-변형된 아미노산; 및 이들의 유도체를 포함한다.

[0261] 일부 구현예에서, 단리된 펩타이드는 변형될 수 있으며, 예를 들어, 모이어티는 펩타이드를 포함하는 하나 이상의 아미노산에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 하나 이상의 모이어티 분자, 예를 들어, 펩타이드당 1개 이상의 모이어티 분자, 펩타이드당 2개 이상의 모이어티 분자, 펩타이드당 5개 이상의 모이어티 분자, 펩타이드당 10개 이상의 모이어티 분자 또는 펩타이드당 더 많은 모이어티 분자를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 하나 이상의 유형의 변형 및/또는 모이어티, 예를 들어, 1개 유형의 변형, 2개 유형의 변형, 3개 유형의 변형, 또는 더 많은 유형의 변형을 포함할 수 있다. 변형 및/또는 모이어티의 비제한적인 예는 PEG화; 글리코실화; HES화; ELP화; 지질화; 아세틸화; 아마이드화; 단부-캡핑(end-capping) 변형; 시아노기; 포스포릴화; 및 고리화를 포함한다. 일부 구현예에서, 단부-캡핑 변형은 N-말단에서의 아세틸화, N-말단 아실화, 및 N-말단 포르밀화를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 단부-캡핑 변형은 C-말단에서의 아마이드화, C-말단 알코올, 알데하이드, 에스테르, 및 티오에스테르 모이어티의 도입을 포함할 수 있다.

[0262] 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 제2 기능적 분자, 펩타이드 및/또는 폴리펩타이드에 커플링되고/되거나 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 표적화 분자에 커플링된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는, 상기 펩타이드와 표적화 분자를 융합 펩타이드로서, 선택적으로는 이들 사이에 개입된 펩타이드 링커 서열과 함께 발현시킴으로써 상기 표적화 분자에 커플링된다. 본원에 사용된 바와 같이 "표적화 분자"는 특이적인 세포 또는 조직 유형에 결합하거나 이에 의해 결합될 수 있는 임의의 분자, 예를 들어, 펩타이드, 항체 또는 이의 단편, 항원, 표적화된 리포솜, 또는 저분자일 수 있다.

[0263] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 융합 펩타이드 또는 폴리펩타이드일 수 있다. 융합 폴리펩타이드는 본원에 기재된 펩타이드의 아미노산 서열(SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2)을 포함하는 펩타이드, 이의 변이체, 기능적 단편, 전구약물, 또는 유사체를 포함하는 제1 도메인과 융합 펩타이드의 적어도 제2 도메인 사이에 개재된 펩타이드 링커 도메인을 포함할 수 있다. 상기 제1 펩타이드 도메인은 N-말단 도메인 또는 C-말단 도메인이거나, 구성분 부분의 단편 완료 후 파트너 도메인이 형성되는 경우 내부 서열일 수 있다. 융합 단백질을 합성하거나 생성하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "융합 단백질"은 2개 이상의 단백질들의 재조합 단백질을 지칭한다. 융합 단백질은 예를 들어, 하나의 단백질을 인코딩하는 핵산 서열이 또 다른 단백질을 인코딩하는 핵산에 결합되어, 이들이 단일 개방형 리딩 프레임에 이루어져 세포 내에서 모든 의도된 단백질들을 보유하는 단일 폴리펩타이드로 번역될 수 있게 됨으로써 생성될 수 있다. 단백질의 배열 순서는 다양할 수 있다. 융합 단백질은 에피토프 태그 또는 반감기 익스텐더(half-life extender)를 포함할 수 있다. 에피토프 태그는 비오틴, FLAG 태그, c-myc, 헤마글루티닌, His6, 디콕시게닌, FITC, Cy3, Cy5, 녹색 형광 단백질, V5 에피토프 태그, GST, β -갈락토시다제, AU1, AU5, 및 아비딘을 포함한다. 반감기 익스텐더는 Fc 도메인 및 혈청 알부민을 포함한다.

[0264] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드(예를 들어, SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드)는 약학적으로 허용 가능한 전구약물일 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "전구약물"은 일부 화학적 또는 생리학적 과정(예를 들어, 효소적 과정 및 대사적 가수분해)을 통해 치료제로 전환될 수 있는 화합물을 지칭한다. 그러므로, 용어 "전구약물"은 또한, 약학적으로 허용 가능한 생물학적 활성 화합물의 전구체를 지칭한다. 전구약물은 대상체에게 투여될 때 불활성일 수 있지만, 즉, 에스테르일 수 있지만, *생체* 내에서 활성 화합물로 전환되며, 예를 들어, 가수분해에 의해 유리(free) 카르복실산 또는 유리 하이드록실로 전환된다. 전구약물 화합물은 종종 유기체에서 용해도, 조직 적합성(compatibility) 또는 지연된 방출의 이점을 제공한다. 용어 "전구약물"은 또한, 이러한 전구약물이 대상체에게 투여될 때 *생체* 내에서 활성 화합물을 방출하는 임의의 공유 결합된 담체를 포함하는 것으로 의미된다. 활성 화합물의 전구약물은, 일상적인 조작에서 또는 *생체* 내에서 모 활성 화합물로 변형이 절단되도록, 활성 화합물에 존재하는 작용기를 변형시킴으로써 제조될 수 있다. 전구약물은, 하이드록시, 아미노 또는 머캡토 기가 임의의 기에 결합되고, 활성 화합물의 전구약물이 대

상체에게 투여될 때, 절단되어 각각 유리 하이드록시, 유리 아미노 또는 유리 머캡토 기를 형성하는 화합물을 포함한다. 전구약물의 예는 활성 화합물 내의 알코올의 아세테이트, 포르메이트 및 벤조에이트 유도체 또는 아민 작용기의 아세타미드, 포름아미드 및 벤즈아미드 유도체 등을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 문헌 [Harper, "Drug Latentiation" in Jucker, ed. *Progress in Drug Research* 4:221-294 (1962)]; 문헌 [Morozowich et al, "Application of Physical Organic Principles to Prodrug Design" in E. B. Roche ed. *Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs*, APHA Acad. Pharm. Sci. 40 (1977)]; 문헌 [Bioreversible Carriers in Drug in Drug Design, Theory and Application, E. B. Roche, ed., APHA Acad. Pharm. Sci. (1987)]; 문헌 [Design of Prodrugs, H. Bundgaard, Elsevier (1985)]; 문헌 [Wang 등 "Prodrug approaches to the improved delivery of peptide drug" in *Curr. Pharm. Design*. 5(4):265-287 (1999)]; 문헌 [Pauletti 등 (1997) Improvement in peptide bioavailability: Peptidomimetics and Prodrug Strategies, *Adv. Drug. Delivery Rev.* 27:235-256]; 문헌 [Mizen 등 (1998) "The Use of Esters as Prodrugs for Oral Delivery of (3-Lactam antibiotics," *Pharm. Biotech.* 11,:345-365]; 문헌 [Gagnault 등 (1996) "Designing Prodrugs and Bioprecursors I. Carrier Prodrugs," *Pract. Med. Chem.* 671-696]; 문헌 [Asgharnejad, "Improving Oral Drug Transport", in *Transport Processes in Pharmaceutical Systems*, G. L. Amidon, P. I. Lee and E. M. Topp, Eds., Marcell Dekker, p. 185-218 (2000)]; 문헌 [Balant 등, "Prodrugs for the improvement of drug absorption via different routes of administration", *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 15(2): 143-53 (1990)]; 문헌 [Balimane and Sinko, "Involvement of multiple transporters in the oral absorption of nucleoside analogues", *Adv. Drug Delivery Rev.*, 39(1-3): 183-209 (1999)]; 문헌 [Browne, "Fosphenytoin (Cerebyx)", *Clin. Neuropharmacol.* 20(1): 1-12 (1997)]; 문헌 [Bundgaard, "Bioreversible derivatization of drugs— principle and applicability to improve the therapeutic effects of drugs", *Arch. Pharm. Chemi* 86(1): 1-39 (1979)]; 문헌 [Bundgaard H. "Improved drug delivery by the prodrug approach", *Controlled Drug Delivery* 17: 179-96 (1987)]; 문헌 [Bundgaard H. "Prodrugs as a means to improve the delivery of peptide drugs", *Arfv. Drug Delivery Rev.* 8(1): 1-38 (1992)]; 문헌 [Fleisher 등 "Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs", *Arfv. Drug Delivery Rev.* 19(2): 115-130 (1996)]; 문헌 [Fleisher 등 "Design of prodrugs for improved gastrointestinal absorption by intestinal enzyme targeting", *Methods Enzymol.* 112 (Drug Enzyme Targeting, Pt. A): 360-81, (1985)]; 문헌 [Farquhar D, 등, "Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups", *Pharm. Sci.*, 72(3): 324-325 (1983)]; 문헌 [Freeman S, 등, "Bioreversible Protection for the Phospho Group: Chemical Stability and Bioactivation of Di(4-acetoxy-benzyl) Methylphosphonate with Carboxyesterase," *Chem. Soc., Chem. Commun.*, 875-877 (1991)]; 문헌 [Friis and Bundgaard, "Prodrugs of phosphates and phosphonates: Novel lipophilic alphaacyloxyalkyl ester derivatives of phosphate- or phosphonate containing drugs masking the negative charges of these groups", *Eur. J. Pharm. Sci.* 4: 49-59 (1996)]; 문헌 [Gangwar 등, "Pro-drug, molecular structure and percutaneous delivery", *Des. Biopharm. Prop. Prodrugs Analogs*, [Symp.] Meeting Date 1976, 409-21. (1977)]; 문헌 [Nathwani and Wood, "Penicillins: a current review of their clinical pharmacology and therapeutic use", *Drugs* 45(6): 866-94 (1993)]; 문헌 [Sinhbabu and Thakker, "Prodrugs of anticancer agents", *Adv. Drug Delivery Rev.* 19(2): 241-273 (1996)]; 문헌 [Stella 등, "Prodrugs. Do they have advantages in clinical practice?", *Drugs* 29(5): 455-73 (1985)]; 문헌 [Tan 등 "Development and optimization of anti-HIV nucleoside analogs and prodrugs: A review of their cellular pharmacology, structure-activity relationships and pharmacokinetics", *Adv. Drug Delivery Rev.* 39(1-3): 117-151 (1999)]; 문헌 [Taylor, "Improved passive oral drug delivery via prodrugs", *Adv. Drug Delivery Rev.*, 19(2): 131-148 (1996)]; 문헌 [Valentino and Borchardt, "Prodrug strategies to enhance the intestinal absorption of peptides", *Drug Discovery Today* 2(4): 148-155 (1997)]; 문헌 [Wiebe and Knaus, "Concepts for the design of anti-HIV nucleoside prodrugs for treating cephalic HIV infection", *Adv. Drug Delivery Rev.*: 39(1-3):63-80 (1999)]; 문헌 [Waller 등, "Prodrugs", *Br. J. Clin. Pharmac.* 28: 497-507 (1989)]을 참조하며, 이들은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0265]

일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 약학적으로 허용 가능한 용매화물일 수 있다. 용어 "용매화물"은 고체 상태의 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드를 지칭하며, 여기서, 적합한 용매의 분자는 결정 격자에 혼입된다. 치료적 투여에 적합한 용매는 투여되는 투약량에서 생리학적으로 내약성이 있다. 치료적 투여에 적합한 용매의 예는 에탄올 및 물이다. 물이 용매일 때, 용매화물은 수화물로 지칭된다. 일반적

으로, 용매화물은 화합물을 적절한 용매에 용해시키고, 용매화물을 냉각에 의해 또는 반응매(antisolvent)를 사용하여 단리함으로써 형성된다. 용매화물은 전형적으로, 주위 조건 하에 건조되거나 공비혼합된다.

[0266] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 단리된 펩타이드는 비-결정질, 즉, 비정질 고체 형태일 수 있다.

[0267] 일 양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 핵산을 포함하는 벡터가 본원에 기재된다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 숙주 세포로의 전달을 위해 또는 상이한 숙주 세포들 사이에서의 이전을 위해 설계된 핵산 작제물을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 벡터는 바이러스 또는 비-바이러스일 수 있다. 용어 "벡터"는 적절한 제어 요소와 회합될 때 복제를 할 수 있고 유전자 서열을 세포로 이전시킬 수 있는 임의의 유전적 요소를 포괄한다. 벡터는 클로닝 벡터, 발현 벡터, 플라스미드, 파지, 트랜스포존, 코스미드, 염색체, 바이러스, 비리온 등을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지는 않는다. 외인성 유전자를 표적 포유류 세포로 이전시키는 데 유용한 많은 벡터들이 이용 가능하다. 상기 벡터는 에피솜, 예를 들어, 플라스미드, 바이러스-유래 벡터, 예컨대 사이토메갈로바이러스, 아데노바이러스 등일 수 있거나, 상동성 재조합 또는 랜덤 통합, 예를 들어, 레트로바이러스-유래 벡터, 예컨대 MMLV, HIV-1, ALV 등을 통해 표적 세포 게놈 내로 통합될 수 있다. 많은 바이러스 벡터들이 당업계에 알려져 있고, 세포 내로의 핵산 조절 화합물의 담체로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산을 함유하는 작제물은 세포 내로의 감염 또는 형질도입을 위해, 비-복제성, 결함 바이러스 게놈, 예컨대 아데노바이러스, 아데노-관련 바이러스(AAV), 또는 단순 포진 바이러스(HSV), 또는 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터를 포함한 다른 것들 내로 통합되고 패키지(package)될 수 있다. 대안적으로, 작제물은 에피솜 복제를 할 수 있는 벡터, 예를 들어, EPV 및 EBV 벡터 내로 혼입될 수 있다. 벡터 내로 혼입되는 핵산은, 발현 제어 서열이 해당 폴리뉴클레오타이드 서열의 전사 및 번역을 제어하고 조절 하도록 발현 제어 서열에 작동적으로 연결될 수 있다.

[0268] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "발현 벡터"는 벡터 상의 전사 조절 서열에 연결된 서열로부터 RNA 또는 폴리펩타이드의 발현을 지시하는 벡터를 지칭한다. 발현되는 서열은 종종 세포에 대해 이중성일 것이지만 본질적으로 그런 것은 아닐 것이다. 발현 벡터는 추가 요소를 포함할 수 있으며, 예를 들어, 발현 벡터는 2개의 복제 시스템들을 가질 수 있어서, 발현 벡터가 2개의 유기체들, 예를 들어, 발현을 위해 인간 세포에서 그리고 클로닝 및 증폭을 위해 원핵 숙주에서 유지되게 할 수 있다.

[0269] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "형질주입"은 외인성 핵산, 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 핵산 서열을 세포 내로 도입하기 위한 방법, 예컨대 화학적 방법을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 형질주입은 외인성 핵산을 세포 내로 도입하는 바이러스-기반 방법을 포괄하지 않는다. 형질주입 방법은 물리적 처리(전기천공, 나노입자, 자기주입(magnetofection)), 및 화학-기반 형질주입 방법을 포함한다. 화학-기반 형질주입 방법은 사이클로텍스트린, 중합체, 리포솜, 나노입자, 양이온성 지질 또는 이들의 혼합물(예를 들어, DOPA, 리포펙타민 및 업티펙틴(UptiFectin)), 및 양이온성 중합체, 예컨대 DEAE-텍스트란 또는 폴리에틸렌아민을 사용하는 방법을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.

[0270] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "바이러스 벡터"는 바이러스 기원의 적어도 하나의 요소를 포함하고 바이러스 벡터 입자 내로 패키징되는 역량을 가진 핵산 벡터 작제물을 지칭한다. 상기 바이러스 벡터는 비-필수 바이러스 유전자 대신에 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 핵산을 함유할 수 있다. 벡터 및/또는 입자는 시험관내에서 또는 생체내에서 임의의 핵산을 세포 내로 이전시키기 위해 이용될 수 있다. 수많은 형태의 바이러스 벡터들이 당업계에 알려져 있다. 용어 "복제 부적격"은 바이러스 벡터에 관하여 사용될 때, 바이러스 벡터가 이의 게놈을 추가로 복제하고 패키징할 수 없음을 의미한다. 예를 들어, 대상체의 세포가 복제 부적격 재조합 아데노-관련 바이러스(rAAV) 비리온으로 감염될 때, 이중성 유전자(이식유전자로도 알려져 있음)는 환자의 세포에서 발현되지만, rAAV는 복제 결함이 있고(예를 들어, 바이러스를 패키징하기 위한 필수적인 단백질을 인코딩하는 약세서리 유전자가 결여되어 있음), 바이러스 입자는 환자의 세포에서 형성될 수 없다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "형질도입"은 외인성 핵산을 세포 내로 도입하기 위해 바이러스 입자 또는 바이러스를 사용하는 것을 지칭한다.

[0271] 레트로바이러스, 예컨대 렌티바이러스는 관심 제제를 인코딩하는 핵산 서열의 전달에 편리한 플랫폼을 제공한다. 선택된 핵산 서열은 당업계에 알려진 기법을 사용하여 벡터 내로 삽입되고 레트로바이러스 입자에서 패키징될 수 있다. 그 후에, 재조합 바이러스는 예를 들어, 시험관내에서 또는 생체외에서 단리되고 세포에 전달될 수 있다. 레트로바이러스 시스템은 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 제5,219,740호; 문헌[Kurth and Bannert (2010) "Retroviruses: Molecular Biology, Genomics and Pathogenesis" Calster Academic Press (ISBN:978-1-90455-55-4)]; 및 문헌[Hu and Pathak Pharmacological Reviews 2000 52:493-

512]에 기재되어 있으며; 이들은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0272]

일부 구현예에서, 관심 뉴클레오타이드 서열은 아데노바이러스-기반 발현 벡터 내로 삽입된다. 숙주 게놈 내로 통합되는 레트로바이러스와는 달리, 아데노바이러스는 염색체외에서 지속되므로, 삽입형 돌연변이형성과 관련된 위험을 최소화한다(문헌[Haj-Ahmad and Graham (1986) J. Virol. 57:267-74]; 문헌[Bett 등 (1993) J. Virol. 67:5911-21]; 문헌[Mittereder 등 (1994) Human Gene Therapy 5:717-29]; 문헌[Seth 등 (1994) J. Virol. 68:933-40]; 문헌[Barr 등 (1994) Gene Therapy 1:51-58]; 문헌[Berkner, K. L. (1988) BioTechniques 6:616-29]; 및 문헌[Rich 등 (1993) Human Gene Therapy 4:461-76]). 아데노바이러스 벡터는 유전자 치료법에서 몇몇 이점들을 가진다. 이들 아데노바이러스 벡터는 광범위하게 다양한 세포를 감염시키며, 넓은 숙주-범위를 갖고, 높은 감염도 효율을 나타내며, 이중성 서열의 발현을 높은 수준으로 지시하고, *생체내*에서 이들 서열의 장기간 발현을 달성한다. 상기 바이러스는 세포-프리(free) 비리온으로서 완전히 감염적이어서, 생산자 세포주의 주입이 필요하지 않다. 안전성과 관련하여, 아데노바이러스는 몇몇 인간 병상(pathology)과 관련이 없으며, 상기 바이러스로부터 유래된 재조합 벡터는 바이러스 게놈의 초기-영역 1("E1")의 결실에 의해 복제 결함이 될 수 있다. 아데노바이러스는 또한, 상대적으로 용이하게 다량 생성될 수 있다. 모든 이들 이유에서, 적어도 E1 영역이 결실되고 관심 유전자에 의해 대체되었던 인간 아데노바이러스로부터 유래된 벡터는 전임상상(pre-clinical phase) 및 임상상(clinical phase)에서 유전자 치료법 실험에 널리 사용되어 왔다. 본원에 기재된 조성물 및 방법과 함께 사용되기 위한 아데노바이러스 벡터는 제한없이, 아데노바이러스의 임의의 40개 초과 혈청형 군주(strain), 예컨대 혈청형 2, 5, 12, 40 및 41을 포함하여 임의의 다양한 아데노바이러스 혈청형으로부터 유래될 수 있다. 본원에 기재된 방법에서 사용되는 아데노바이러스 벡터는 일반적으로 복제-결합적이고, 적합한 프로모터의 제어 하에 관심 서열을 함유한다. 예를 들어, 그 전체가 참조로서 본원에 포함된 미국 특허 제6,048,551호는 라우스 육종 바이러스(RSV) 프로모터의 제어 하에 인간 유전자를 포함하는 복제-결합적 아데노바이러스 벡터를 기재한다. 상이한 프로모터 시스템을 포함하고 다양한 혈청형의 다른 재조합 아데노바이러스는 당업자에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 그 전체가 참조로서 본원에 포함된 미국 특허 제6,306,652호를 참조한다. 핵산 서열의 전달을 위한 다른 유용한 아데노바이러스-기반 벡터는, 미국 특허 제6,306,652호에 기재된 바와 같은, 캡시드화에 필요한 바이러스 게놈의 적어도 일부(캡시드화 신호), 뿐만 아니라 ITR의 적어도 기능적 일부 또는 유도체의 적어도 하나의 복사체(copy)를 보유하는 "최소(minimal)" 아데노바이러스 벡터; 및 바이러스 게놈의 대부분이 제거되었고 바이러스 단백질을 본질적으로 생성하지 않는 "거트리스(gutless)"(헬퍼-의존적) 아데노바이러스를 포함하지만 이들로 제한되지는 않으며, 이러한 벡터는 단일 투여 후 1년에 걸쳐 유전자 발현이 지속되게 할 수 있다(문헌[Wu 등 (2001) Anesthes. 94:1119-32]; 문헌[Parks (2000) Clin. Genet. 58:1-11]; 문헌[Tsai 등 (2000) Curr. Opin. Mol. Ther. 2:515-23]).

[0273]

일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 아데노-관련 바이러스-기반 발현 벡터 내로 삽입된다. AAV는 데펜도바이러스(Dependovirus) 속에 속하고 다른 바이러스에서 발견되지 않는 몇몇 특질들을 갖는 파보바이러스이다. AAV는 비-분열 세포를 포함하여 광범위한 숙주 세포를 감염시킬 수 있다. AAV는 상이한 종들로부터의 세포를 감염시킬 수 있다. AAV는 임의의 인간 또는 동물 질환과 관련이 없었고, 통합 시 숙주 세포의 생물학적 특성을 변경시키는 것으로 보이지 않는다. 사실상, 인간 집단 중 80% 내지 85%는 바이러스에 노출되었던 것으로 추정된다. 마지막으로, AAV는 광범위한 물리적 및 화학적 조건에서 안정적이어서, 생성, 저장 및 수송을 용이하게 한다. AAV는 헬퍼-의존적 바이러스이며; 즉, AAV는 야생형에서 AAV 비리온을 형성하기 위해 헬퍼 바이러스(예를 들어, 아데노바이러스, 헤르페스바이러스 또는 백시나)에 의한 공동-감염을 필요로 한다. 헬퍼 바이러스에 의한 공동-감염의 부재 시, AAV는, 바이러스 게놈이 숙주 세포 염색체 내로 삽입되지만 감염성 비리온이 생성되지 않는 잠복 상태를 확립한다. 헬퍼 바이러스에 의한 후속적인 감염은 통합된 게놈을 구제하여, 상기 게놈이 복제되고 이의 게놈을 감염성 AAV 비리온 내로 패키징되게 한다. AAV가 상이한 종들로부터의 세포를 감염시킬 수 있는 한편, 헬퍼 바이러스는 숙주 세포와 동일한 종의 것이어야 한다. 그러므로, 예를 들어, 인간 AAV는 개과 아데노바이러스로 공동-감염된 개과 세포에서 복제될 것이다. 아데노-관련 바이러스(AAV)는 유전자 치료법에서 성공적으로 사용되어 왔다. AAV는 AAV 게놈의 내부 비반복부(즉, rep 및 cap 유전자)를 결실시키고 이중성 서열(이 경우, 체제를 인코딩하는 서열)을 ITR들 사이에 삽입함으로써 관심 유전자를 전달하도록 조작되었다. 이중성 서열은 전형적으로, 적절한 조건 하에 환자의 표적 세포에서 발현을 구동할 수 있는 이중성 프로모터(구성적, 세포-특이적, 또는 유도적)에 기능적으로 연결된다. 관심 체제를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 재조합 AAV 비리온은 미국 특허 제5,139,941호; 제5,622,856호; 제5,139,941호; 제6,001,650호; 및 제6,004,797호에 기재된 바와 같은 당업계에서 인식된 여러 가지 기법들을 사용하여 생성될 수 있으며, 이들 각각의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다. 헬퍼 바이러스-프리 rAAV 스톡(stock)을 제조하는 데 필요한 벡터 및 세포주는 AAV 헬퍼-프리 시스템(카탈로그 번호 240071)(미국 캘리포니아주 산타 클

라라 소재의 Agilent Technologies)으로서 상업적으로 입수 가능하다.

- [0274] 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 핵산 분자를 전달하는 데 유용한 추가 바이러스 벡터는 백시나 바이러스 및 조류 포스(pox)바이러스를 포함하여 포스 계통의 바이러스로부터 유래된 것들을 포함한다. 대안적으로, 조류포스 바이러스, 예컨대 계두(fowlpox) 바이러스 및 카나리아 두창(canarypox) 바이러스는 유전자를 전달하는 데 사용될 수 있다. 인간 및 다른 포유류 종의 세포에서 조류포스 벡터의 사용은, 조류포스 속의 구성원이 민감한 조류 종에서만 생산적으로 복제될 수 있기 때문에 안전성의 측면에서 유리하다. 재조합 조류포스바이러스를 생성하는 방법은 당업계에 알려져 있고, 유전적 재조합을 이용하며, 예를 들어, WO 91/12882호; WO 89/03429호; 및 WO 92/03545호를 참조한다.
- [0275] 분자 공액체 벡터, 예컨대 아데노바이러스 키메라 벡터 또한, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 서열의 전달에 사용될 수 있다(문헌[Michael 등 (1993) J. Biol. Chem. 268:6866-69] 및 문헌[Wagner 등 (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6099-6103]). 알파바이러스 속의 구성원, 예를 들어, 신드비스(Sindbis) 및 셈리키 삼림열(Semliki Forest) 바이러스가 또한, 핵산 서열을 전달하기 위한 바이러스 벡터로서 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Dubensky 등 (1996) J. Virol. 70:508-19]; WO 95/07995호; WO 96/17072호 참조).
- [0276] 일부 구현예에서, 벡터는 펩타이드에 작동적으로 연결된 신호 펩타이드를 추가로 포함한다. 신호 펩타이드는, 막 내로의 또는 막을 통한 단백질의 통과를 제공하는 말단적으로(통상 N-말단적으로) 위치한 펩타이드 서열이다. 상이한 신호 펩타이드는 상이한 적용에 사용될 수 있다. 예를 들어, 단리된 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드의 생성을 위한 세포성 시스템에 관하여, 분비 신호 펩타이드는 증가된 수율 및 정제 용이성을 가능하게 할 수 있다. 추가의 예로서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 생성하고 대상체에게 치료 목적으로 투여되는 세포에 관하여, 다중 신호 펩타이드, 예를 들어, 제1 세포로부터의 분비를 위한 펩타이드 신호화, 제2 세포에 의한 내재화를 위한 펩타이드 신호화, 및 핵 위치화를 위한 최종 펩타이드 신호화는 표적 환경에 도달하는 펩타이드의 양을 증가시킬 수 있다. 추가의 예로서, 예를 들어, 유전자 치료법 적용에 관하여, 핵 위치화를 위한 펩타이드 신호화는 표적 환경에 도달하는 펩타이드의 양을 증가시킬 수 있다. 신호 펩타이드는 당업계에 알려져 있다. 포유류 세포에서 사용하기 위한 핵 위치화 신호(NLS) 펩타이드의 비제한적인 예는; SV40 거대 T-항원 NLS; 핵플라스민 NLS; K-K/R-X-K/R 공통(consensus) NLS를 포함한다. 추가 신호 펩타이드는 당업계에 알려져 있고, 신호 펩타이드의 선택은 세포 유형, 성장 조건, 및 펩타이드의 요망되는 도착지에 의해 영향을 받을 수 있다.
- [0277] 일 양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 발현하는 세포가 본원에 기재된다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 벡터를 발현하는 세포는 폴리펩타이드의 생성에 적합한 세포이다. 폴리펩타이드의 생성에 적합한 세포는 원핵 또는 진핵 세포, 예를 들어, 박테리아, 바이러스, 효모, 진균류, 포유류 세포, 곤충 세포, 식물 세포 등일 수 있다. 비제한적인 예로서, 단백질의 생성을 위한 세포, 예를 들어, 박테리아 세포(BL21 유래 세포 - 카탈로그 번호 60401-1, Lucigen; 미국 위스콘신주 미들턴 소재 및 포유류 세포(293 F 세포 - 카탈로그 번호 11625-019, Invitrogen; 미국 뉴욕주 그랜드 아일랜드 소재)가 상업적으로 입수 가능하다.
- [0278] 재조합 분자, 예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 벡터는 형질전환, 특히 형질도입, 공액, 지질주입(lipofection), 원형질 융합, 동원(mobilization), 입자 충돌(particle bombardment), 전기천공(문헌[Neumann 등, "Gene Transfer into Mouse Lyoma Cells by Electroporation in High Electric Fields," *EMBO J.* 1(7):841-845 (1982)]; 문헌[Wong 등, "Electric Field Mediated Gene Transfer," *Biochem Biophys Res Commun* 107(2):584-587 (1982)]; 문헌[Potter 등, "Enhancer-dependent Expression of Human Kappa Immunoglobulin Genes Introduced into Mouse pre-B Lymphocytes by Electroporation," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81(22):7161-7165 (1984)], 이들은 그 전체가 참조로서 본원에 포함됨), 폴리에틸렌 글리콜-매개 DNA 흡수(문헌[Joseph Sambrook & David W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* cp. 16 (2d ed. 1989)], 이는 그 전체가 참조로서 본원에 포함됨), 또는 다른 엔터티(entity)(예를 들어, 미니세포, 세포, 리소솜, 또는 키메라 유전자를 함유하는 다른 융합 가능한 지질-표면체)와의 원형질 융합(문헌[Fraley 등, "Liposome-mediated Delivery of Tobacco Mosaic Virus RNA into Tobacco Protoplasts: A Sensitive Assay for Monitoring Liposome-protoplast Interactions," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79(6):1859-1863 (1982)], 이는 그 전체가 참조로서 본원에 포함됨)을 통해 세포 내로 도입될 수 있다. 그 후에, 숙주 세포는 적절한 배지 내에서, 그리고 관심 단백질 또는 폴리펩타이드의 발현에 적합한 조건 하에 배양된다. 배양 후, 세포는 물리적 또는 화학적 수단에 의해 교란되고, 단백질 또는 폴리펩타이드는 생성된 조 추출물로부터 정제된다.

대안적으로, 배양은, 단백질 또는 폴리펩타이드가 재조합 숙주 세포의 성장 배지 내로 분비되고 상기 단백질 또는 폴리펩타이드가 상기 성장 배지로부터 분리되는 조건을 포함할 수 있다. 대안적인 방법은 적합하게 사용될 수 있다.

[0279] 펩타이드는 또한, 아췌반트에 부착될 수 있다. 용어 "아췌반트"는 접종 후 면역 반응을 증강시키고/거나 적절한 흡수율을 촉진하는 화합물 또는 혼합물을 지칭하고, 본원에 사용된 바와 같이 임의의 흡수-촉진 체제를 포괄한다. 아췌반트의 비제한적인 예는 케모카인(예를 들어, 데펜신(defensin), HCC-1, HCC4, MCP-1, MCP-3, MCP4, MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-1 δ , MIP-3 α , MIP-2, RANTES); 케모카인 수용체의 다른 리간드(예를 들어, CCR1, CCR-2, CCR-5, CCR6, CXCR-1); 사이토카인(예를 들어, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17(A-F), IL-18; IFN α , IFN- γ ; TNF- α ; GM-CSF); TGF- β , FLT-3 리간드; CD40 리간드; 이들 사이토카인에 대한 수용체의 다른 리간드; 제한없이, IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-18, 및 TNF를 포함하여 Th1 사이토카인; 제한없이, IL-4, IL-5, IL-10, 및 IL-13을 포함하여 Th2 사이토카인; 및 제한없이, IL-17(A 내지 F), IL-23, TGF- β 및 IL-6을 포함하여 Th17 사이토카인; 박테리아 DNA 또는 올리고뉴클레오타이드 내의 면역자극성 CpG 모티프; 리포다당류의 유도체, 예컨대 모노포스포릴 지질 A(MPL); 무라밀 디펩타이드(MDP) 및 이들의 유도체(예를 들어, 무라부타이드(murabutide), 트레오닐-MDP, 무라밀 트리펩타이드, N-아세틸-무라밀-1-트레오닐-D-이소글루타민(thr-MDP); N-아세틸-노르-무라밀-1-알라닐-D-이소글루타민(노르-MDP로 지칭되는 CGP 11637); N-아세틸무라밀-L-알라닐-D-이소글루타미닐-L-알라니-ne-2-(1'-2'-디팔미토일-sn-글리세로-3하이드록시포스포릴옥시)-에틸아민(CGP 19835A, MTP-PE로 지칭됨)); MF59(국제 공보 제WO 90/14837호 참조); 폴리[디(카르복실라토페녹시)포스파젠](PCPP 중합체; Virus Research Institute, USA); 2% 스쿠알렌/Tween 80 에멀전 중 박테리아로부터 추출된 3개의 구성요소, 모노포스포릴 지질 A, 트레할로스 디마이콜레이트 및 세포벽 골격(MPL+TDM+CWS)을 함유하는 RIBI(GSK); OM-174(지질 A와 관련된 글루코사민 이당류; OM Pharma SA, Meyrin, Switzerland); 열 충격 단백질 및 이의 유도체; eIF4a의 리슈마니아(Leishmania) 상동체 및 이의 유도체; 박테리아 ADP-리보실화 외독소 및 이의 유도체(예를 들어, 유전적 돌연변이체, A 및/또는 B 서브유닛-함유 단편, 화학적으로 독소이드화된(toxoided) 버전); 박테리아 ADP-함유 리보실화 외독소 또는 이의 유도체를 함유하는 화학적 공액체 또는 유전적 재조합; C3d 텐덤 어레이(tandem array); 지질 A 및 이의 유도체(예를 들어, 모노포스포릴 또는 디포스포릴 지질 A, 지질 A 유사체, AGP, ASO2, ASO4, DC-Chol, Detox, OM-174); ISCOMS 및 사포닌(예를 들어, Quil A, QS-21, Stimulon®(Cambridge Bioscience, Worcester, MA)); 스쿠알렌; 슈퍼항원; 또는 염(예를 들어, 알루미늄 하이드록사이드 또는 포스페이트, 칼슘 포스페이트)을 포함한다. 또한, 다른 유용한 아췌반트에 대해 문헌[Nohria 등 *Biotherapy*, 7:261-269, 1994]; 문헌[Richards 등, in *Vaccine Design*, Eds. Powell 등, Plenum Press, 1995]; 및 문헌[Pashine 등, *Nature Medicine*, 11:S63-S68, 4/2005])을 참조한다. 아췌반트의 추가 예는 RIBI 아췌반트 시스템(Ribi Inc., Hamilton, MT.), 명반(alum), 미네랄 젤, 예컨대 알루미늄 하이드록사이드 젤, 수-중-유 에멀전, 유-중-수 에멀전, 예컨대 프로인트(Freund's) 완전 및 불완전 아췌반트, 블록 공동-중합체(CytRx, Atlanta GA), QS-21(Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), 및 SAF-M(Chiron, Emeryville CA), AMPHIGEN® 아췌반트, 사포닌, Quil A 또는 다른 사포닌 분획, 모노포스포릴 지질 A, 및 아비리딘(Avridine) 지질-아민 아췌반트, 및 METASTIM®을 포함할 수 있다. 다른 적합한 아췌반트는 예를 들어, 표면 활성 성분, 예컨대 라이소레스틴(lysolecithin), 플루로닉 폴리올, 다가음이온(polyanion), 펩타이드, 오일 또는 탄화수소 에멀전, 키홀 림펫 헤모사이아닌(keyhole limpet hemocyanin), 디니트로페놀, 및 다른 것들을 포함할 수 있다.

[0280] 일부 구현예에서, 세포는 본원에 기재된 펩타이드를 발현하도록 유전적으로 조작될 수 있고, 유전적으로 조작된 세포는 세포 치료법에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포 치료법은 또한, *생체외* 치료법으로서 간주될 수 있다. 사용될 수 있는 세포의 예는 수지상 세포, T-림프구(T-세포), 미접촉(naive) T 세포(T_N), 기억 T 세포(예를 들어, 중심 기억 T 세포(T_{CM}), 이펙터 기억 세포(T_{EM})), 자연 살해 세포, 조혈 줄기세포 및/또는 치료적으로 관련된 자손을 야기할 수 있는 만능 배아/유도 줄기세포를 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 일 구현예에서, 유전적으로 조작된 세포는 자가 세포이다. 예로서, 본 발명의 개별 T-세포는 CD4+/CD8-, CD4-/CD8+, CD4-/CD8- 또는 CD4+/CD8+일 수 있다. T-세포는 CD4+/CD8- 세포와 CD4-/CD8+ 세포의 혼합 집단 또는 단일 클론 집단일 수 있다. CD4+ T-세포는 *시험관내*에서 펩타이드를 발현하는 세포(예를 들어 CD20+ 및/또는 CD19+ 종양 세포)와 함께 공동-배양될 때 IL-2, IFN γ , TNF α 및 다른 T-세포 이펙터 사이토카인을 생성할 수 있다. CD8⁺ T-세포는 *시험관내*에서 표적 세포와 함께 공동-배양될 때 항원-특이적 표적 세포를 용해시킬 수 있다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD45RA⁺ CD62L⁺ 미접촉 세포, CD45RO⁺ CD62L⁺ 중심 기억 세포, CD62L⁻ 이펙터 기억 세포 또는 이들의 조합 중 임의의 하나 이상일 수 있다(문헌[Berger 등, Adoptive transfer of virus-specific and

tumor-specific T cell immunity. *Curr Opin Immunol* 2009 21(2)224-232]).

[0281] 일부 구현예에서, 내약화된 항원 제시 세포는 세포 치료법에 사용될 수 있다. 예는 B 세포, 수지상 세포, 대식 세포 등을 포함한다. 상기 세포는 인간을 포함하여 임의의 기원으로부터 유래될 수 있다. 상기 세포는 본원에 기재된 펩타이드를 사용하여 내약화될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 세포는 사이토카인의 존재 하에 내약화된다.

[0282] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 생성하는 세포는 예를 들어, 암을 치료하거나, 저해하거나, 이의 중증도를 감소시키고/거나 진행을 서행시키기 위해 대상체에게 투여될 수 있다(SEQ ID NO: 1 및/또는 SEQ ID NO: 2).

[0283] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 함유하는 나노입자가 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 펩타이드와 함께 사용될 나노입자는 문헌[Levine 등, Polymersomes: A new multi-functional tool for cancer diagnosis and therapy. *Methods* 2008 Vol 46 pg 25-32]에 기재된 바와 같거나 문헌[S Jain, 등, Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *Br J Radiol.* 2012 Feb; 85(1010): 101-113]에 기재된 바와 같을 수 있다.

[0284] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 펩타이드를 인코딩하는 벡터를 발현하는 세포는 대상체, 예를 들어, 당뇨병(예컨대 2형 진성 당뇨병)의 치료, 저해, 이의 중증도의 감소 및/또는 진행의 서행을 위해 유전자 치료법이 투여된 대상체의 세포일 수 있다. 유전자 치료법을 위한 벡터는 본원 어디에서나 기재된 바와 같은 바이러스 또는 비-바이러스 벡터를 포함할 수 있다.

[0285] 약학적 조성물

[0286] 다양한 구현예에서, 본 발명은 약학적 조성물을 제공하며, 상기 약학적 조성물은 하나 이상의 본 발명의 화합물; 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 갖는 조성물을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 화합물은 GITR의 하나 이상의 작용제(예를 들어, SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드 또는 이의 변이체, 유도체 또는 기능적 등가물, 또는 화학식 I의 화합물)이다. 또 다른 구현예에서, 상기 화합물은 GITR의 하나 이상의 길항제(예를 들어, 화합물, 화학식 II의 화합물)이다.

[0287] 대상체에게의 투여를 위해, 본원에 기재된 조성물은 약학적으로 허용 가능한 조성물에서 제공될 수 있다. 이들 약학적으로 허용 가능한 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체(첨가제) 및/또는 희석제와 함께 제형화되는 본원에 기재된 바와 같은 GITR의 작용제 또는 길항제로서 작용할 수 있는 펩타이드 및/또는 화합물을 포함한다. 하기에 상세히 기재된 바와 같이, 본 발명의 약학적 조성물은 하기에 적응된 것들을 포함하여 고체 또는 액체 형태의 투여를 위해 특수하게 제형화될 수 있다: (1) 경구 투여, 예를 들어, 드렌치(drench)(수성 또는 비-수성 용액 또는 현탁액), 위관 영양(gavage), 로젠지(lozenge), 당제(dragee), 캡슐, 알약, 정제(예를 들어, 협측, 설하, 및 진신 흡수를 위해 표적화된 것들), 볼루스(bolus), 분말, 과립, 혀에 적용하기 위한 페이스트; (2) 비경구 투여, 예를 들어, 멸균 용액 또는 현탁액, 또는 서방성(sustained-release) 제형으로서 예를 들어, 피하, 근육내, 정맥내 또는 경막외 주사에 의한 비경구 투여; (3) 국소 적용, 예를 들어, 피부에 적용되는 크림, 연고, 또는 지효성(controlled-release) 패치 또는 스프레이; (4) 직장내로, 예를 들어, 페사리(pessary), 크림 또는 폼(foam)으로서; (5) 설하로; (6) 안구내로; (7) 경피로; (8) 경점막으로; 또는 (9) 비강내로. 추가로, 화합물은 약물 전달 시스템을 사용하여 환자에게 이식되거나 주사될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Urquhart, 등, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 24: 199-236 (1984)]; 문헌[Lewis, ed. "Controlled Release of Pesticides and Pharmaceuticals" (Plenum Press, New York, 1981)]; 미국 특허 제3,773,919호; 및 미국 특허 제35 3,270,960호를 참조하며, 이들 모두의 내용은 참조로서 본원에 포함된다.

[0288] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용 가능한"은 합리적인 의학적 판단 범위 내에서, 합리적인 이익/위험 비에 비례하여, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 다른 문제점이나 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용되기에 적합한 이들 화합물, 물질, 조성물, 및/또는 투약 형태를 지칭한다.

[0289] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로-허용 가능한 담체"는 주제 화합물을 신체의 하나의 기관 또는 부분으로부터 신체의 또 다른 기관 또는 부분으로 운반하거나 수송하는 데 관여하는 약학적으로-허용 가능한 물질, 조성물 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 제조 보조제(예를 들어, 윤활제, 탈크 마그네슘, 칼슘 또는 아연 스테아레이트, 또는 스테아르산), 또는 용매 캡슐화 물질을 의미한다. 각각의 담체는 제형의 다른 성분과 용화성이고 환자에게 유해하지 않다는 의미에서 "허용 가능"해야 한다. 약학적으로-허용 가능한 담체로서 역할을 할 수 있는 물질의 일부 예는, (1) 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스;

(2) 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; (3) 셀룰로스, 및 이의 유도체, 예컨대 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; (4) 분말화된 트라가칸트; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 소듐 라우릴 설페이트 및 탈크; (8) 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌제 왁스; (9) 오일, 예컨대 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; (10) 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜; (11) 폴리올, 예컨대 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG); (12) 에스테르, 예컨대 에틸 올레레이트 및 에틸 라우레이트; (13) 한천; (14) 완충제, 예컨대 마그네슘 하이드록사이드 및 알루미늄 하이드록사이드; (15) 알긴산; (16) 발열원-프리 수 (pyrogen-free water); (17) 등장성 식염수; (18) 링거액; (19) 에틸 알코올; (20) pH 완충 용액; (21) 폴리에스테르, 폴리카르보네이트 및/또는 폴리무수물; (22) 별킹제, 예컨대 폴리펩타이드 및 아미노산 (23) 혈청 구성요소, 예컨대 혈청 알부민, HDL 및 LDL; (22) C₂-C₁₂ 알코올, 예컨대 에탄올; 및 (23) 약학적 제형에 이용되는 다른 무독성 용해성 성분을 포함한다. 습윤제, 착색제, 방출제, 코팅제, 감미제, 풍미제, 향료 제제, 보존제 및 향산화제가 또한 제형에 존재할 수 있다. 예컨대 "부형제", "담체", "약학적으로 허용 가능한 담체" 등은 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0290] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 또한, 경구 투여용 에멀전 또는 시럽으로 캡슐화되거나, 정제되거나 제조될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 고체 또는 액체 담체는 조성물을 증강시키거나 안정화시키기 위해, 또는 조성물의 제조를 용이하게 하기위해 첨가될 수 있다. 액체 담체는 시럽, 땅콩유, 올리브유, 글리세린, 식염수, 알코올 및 물을 포함한다. 고체 담체는 전분, 락토스, 칼슘 설페이트, 이수화물, 테라 알바(terra alba), 마그네슘 스테아레이트 또는 스테아르산, 탈크, 펙틴, 아카시아, 한천 또는 젤라틴을 포함한다. 담체는 또한, 서방성 물질, 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트를 단독으로 또는 왁스와 함께 포함할 수 있다.

[0291] 약학적 조성물은 분말 형태를 위한 건조 밀링(milling), 혼합, 및 배합; 필요할 때, 정제 형태를 위한 밀링, 혼합, 과립화, 및 압축; 또는 경질 젤라틴 캡슐 형태를 위한 밀링, 혼합 및 충전을 수반하는 종래의 약학 기법에 따라 제조된다. 액체 담체가 사용될 때, 조제물은 시럽, 엘릭서, 에멀전 또는 수성 또는 비-수성 현탁액의 형태로 있을 것이다. 이러한 액체 제형은 직접적으로 p.o. 투여되거나 연질 젤라틴 캡슐 내로 충전될 수 있다.

[0292] 환자에게 투여되기 전에, 제형제(formulant)는 조성물에 첨가될 수 있다. 액체 제형이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 이들 제형제는 오일, 중합체, 비타민, 탄수화물, 아미노산, 염, 완충제, 알부민, 계면활성제, 별킹제 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0293] 탄수화물 제형제는 당 또는 당 알코올, 예컨대 단당류, 이당류, 또는 다당류, 또는 수용성 글루칸을 포함한다. 당류 또는 글루칸은 프룩토스, 텍스트로스, 락토스, 글루코스, 만노스, 소르보스, 자일로스, 말토스, 수크로스, 텍스트란, 풀룰란, 텍스트린, 알파 및 베타 사이클로덱스트린, 가용성 전분, 하이드록스에틸 전분 및 카르복시메틸셀룰로스, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. "당 알코올"은 -OH 기를 갖는 C4 내지 C8 탄화수소로서 정의되고, 갈락티톨, 이노시톨, 만니톨, 자일리톨, 소르비톨, 글리세롤, 및 아라비톨을 포함한다. 상기 언급된 이들 당 또는 당 알코올은 개별적으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 당 또는 당 알코올이 수성 조제물에서 가용성인 한, 사용되는 양에는 고정된 한계가 없다. 일 구현예에서, 당 또는 당 알코올 농도는 1.0 w/v% 내지 7.0 w/v%, 더욱 바람직하게는 2.0 w/v% 내지 6.0 w/v%이다.

[0294] 아미노산 제형제는 좌선성(L; levorotary) 형태의 카르니틴, 아르기닌, 및 베타인을 포함하지만; 다른 아미노산도 첨가될 수 있다.

[0295] 중합체 제형제는 평균 분자량이 2,000 내지 3,000인 폴리비닐피롤리돈(PVP), 또는 평균 분자량이 3,000 내지 5,000인 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.

[0296] 또한, 동결건조 전에 또는 재구성 후에 용액에서 pH 변화를 최소화하기 위해 조성물에서 완충제를 사용하는 것이 바람직하다. 시트레이트, 포스페이트, 숙시네이트, 및 글루타메이트 완충제 또는 이들의 혼합물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 대부분의 임의의 생리학적 완충제가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 농도는 0.01 내지 0.3 molar이다. 제형에 첨가될 수 있는 계면활성제는 EP 제270,799호 및 제268,110호에 나타나 있다.

[0297] 순환형 반감기를 증가시키기 위한 또 다른 약물 전달 시스템은 리포솜이다. 리포솜 전달 시스템을 제조하는 방법은 문헌[Gabizon 등, Cancer Research (1982) 42:4734]; 문헌[Cafiso, Biochem Biophys Acta (1981) 649:129]; 및 문헌[Szoka, Ann Rev Biophys Eng (1980) 9:467]에서 논의되어 있다. 다른 약물 전달 시스템은 당업계에 알려져 있고, 예를 들어, 문헌[Poznansky 등, DRUG DELIVERY SYSTEMS (R. L. Juliano, ed., Oxford,

N.Y. 1980), pp. 253-315]; 문헌[M. L. Poznansky, Pharm Revs (1984) 36:277]에 기재되어 있다.

- [0298] 액체 약학적 조성물이 제조된 후, 이 조성물은 분해를 방지하고 멸균성을 보존하기 위해 동결건조될 수 있다. 액체 조성물을 동결건조하는 방법은 당업자에게 알려져 있다. 사용 직전에, 상기 조성물은 멸균 희석제(예를 들어, 링거액, 증류수, 또는 멸균 식염수)로 재구성될 수 있으며, 이는 추가 성분을 포함할 수 있다. 재구성 시, 상기 조성물은 당업자에게 알려진 방법을 사용하여 대상체에게 투여된다.
- [0299] 본 발명의 조성물은 종래의, 잘-알려진 멸균화 기법에 의해 멸균될 수 있다. 생성된 용액은 사용을 위해 패키징되거나 무균 조건 하에 여과되고 동결건조될 수 있으며, 동결건조된 조제물은 투여 전에 멸균 용액과 조합될 수 있다. 상기 조성물은 약학적으로-허용 가능한 보조 성분, 예컨대 pH 조정 및 완충 체제, 긴장성 조정제 등, 예를 들어, 소듐 아세테이트, 소듐 락테이트, 소듐 클로라이드, 포타슘 클로라이드, 칼슘 클로라이드, 및 안정화제(예를 들어, 1% 내지 20% 말토스 등)를 필요하다면 대략적인 생리학적 조건까지 함유할 수 있다.
- [0300] 본원에 사용된 바와 같이, 어구 "치료적 유효량"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 이익/위험 비로 동물에서 세포의 적어도 서브-집단에서 일부 요망되는 치료 효과를 발휘하기에 효과적인 제제, 화합물, 물질, 또는 이들을 포함하는 조성물의 양을 의미한다. 치료적 유효량의 결정은 당업자의 역량 내에서 잘 이루어진다. 일반적으로, 치료적 유효량은 대상체의 병력, 연령, 상태, 뿐만 아니라 대상체에서 의학적 병태의 중증도 및 유형, 및 투여에 따라 다양할 수 있다.
- [0301] 단일 투약 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 본원에 기재된 바와 같은 G1TR의 작용제 또는 길항제로서 작용할 수 있는 펩타이드 및/또는 화합물을 포함하는 조성물의 양은 일반적으로, 치료 효과를 발휘하는 제제의 양일 것이다. 일반적으로, 100 퍼센트 중에서, 이 양은 제제의 약 0.01% 내지 99%, 바람직하게는 약 5% 내지 약 70%, 가장 바람직하게는 10% 내지 약 30%의 범위일 것이다.
- [0302] 독성 및 치료적 효능은 예를 들어, LD₅₀(집단 중 50%까지 치사인 용량) 및 ED₅₀(집단 중 50%에서 치료적으로 효과적인 용량)을 결정하기 위해 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성과 치료 효과 사이의 용량비는 치료 지수(therapeutic index)이고, 상기 치료 지수는 LD₅₀/ED₅₀ 비로서 표현될 수 있다. 큰 치료 지수를 나타내는 조성물이 바람직하다.
- [0303] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 ED는 유효 용량을 나타내고, 동물 모델과 함께 사용된다. 용어 EC는 유효 농도를 나타내고, 시험관내 모델과 함께 사용된다.
- [0304] 세포 배양 검정법 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 인간에서 사용하기 위한 투약량의 범위를 제형화하는 데 사용될 수 있다. 이러한 화합물의 투약량은 바람직하게는, 독성이 거의 없거나 전혀 없이 ED₅₀을 포함하는 순환형 농도 범위 내에 있다. 투약량은 이용되는 투약 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 다양할 수 있다.
- [0305] 치료적 유효 용량은 초기에 세포 배양 검정법으로부터 추정될 수 있다. 용량은 세포 배양물에서 결정된 바와 같이 IC₅₀(즉, 증상의 반치(half-maximal) 저해를 달성하는 치료제의 농도)을 포함하는 순환형 혈장 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 혈장 내 수준은 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다. 임의의 특정 투약량의 효과는 적합한 생물검정법에 의해 모니터링될 수 있다.
- [0306] 투약량은 치료의 관찰된 효과를 적합화하기 위해 의사에 의해 결정되고 필요하다면 조정될 수 있다. 일반적으로, 상기 조성물은, 제제가 1 µg/kg 내지 150 mg/kg, 1 µg/kg 내지 100 mg/kg, 1 µg/kg 내지 50 mg/kg, 1 µg/kg 내지 20 mg/kg, 1 µg/kg 내지 10 mg/kg, 1 µg/kg 내지 1 mg/kg, 100 µg/kg 내지 100 mg/kg, 100 µg/kg 내지 50 mg/kg, 100 µg/kg 내지 20 mg/kg, 100 µg/kg 내지 10 mg/kg, 100 µg/kg 내지 1 mg/kg, 1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 1 mg/kg 내지 50 mg/kg, 1 mg/kg 내지 20 mg/kg, 1 mg/kg 내지 10 mg/kg, 10 mg/kg 내지 100 mg/kg, 10 mg/kg 내지 50 mg/kg, 또는 10 mg/kg 내지 20 mg/kg의 용량으로 주어지도록 투여된다. 본원에 주어진 범위는 모든 중간 범위들을 포함하며, 예를 들어, 1 mg/kg 내지 10 mg/kg의 범위는 1 mg/kg 내지 2 mg/kg, 1 mg/kg 내지 3 mg/kg, 1 mg/kg 내지 4 mg/kg, 1 mg/kg 내지 5 mg/kg, 1 mg/kg 내지 6 mg/kg, 1 mg/kg 내지 7 mg/kg, 1 mg/kg 내지 8 mg/kg, 1 mg/kg 내지 9 mg/kg, 2 mg/kg 내지 10 mg/kg, 3 mg/kg 내지 10 mg/kg, 4 mg/kg 내지 10 mg/kg, 5 mg/kg 내지 10 mg/kg, 6 mg/kg 내지 10 mg/kg, 7 mg/kg 내지 10 mg/kg, 8 mg/kg 내지 10 mg/kg, 9 mg/kg 내지 10 mg/kg 등을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 나아가, 상기 주어진 값까지의 중간 범위 또한 본 발명의 범위 내에 있으며, 예를 들어, 1 mg/kg 내지 10 mg/kg 범위에서 용량은 예컨대 2 mg/kg 내지 8 mg/kg, 3 mg/kg 내지 7 mg/kg, 4 mg/kg 내지 6 mg/kg 등의 범위인 것으로 이해되어야 한다.

- [0307] 일부 구현예에서, 상기 조성물은 제제 또는 이의 대사물이 15분, 30분, 1시간, 1.5시간, 2시간, 2.5시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간, 9시간, 10시간, 11시간, 12시간 이상의 투여 후, 500 nM 미만, 400 nM 미만, 300 nM 미만, 250 nM 미만, 200 nM 미만, 150 nM 미만, 100 nM 미만, 50 nM 미만, 25 nM 미만, 20, nM 미만, 10 nM 미만, 5 nM 미만, 1 nM 미만, 0.5 nM 미만, 0.1 nM 미만, 0.05 nM 미만, 0.01 nM 미만, 0.005 nM 미만, 0.001 nM 미만의 *생체내* 농도를 갖게 하는 투약량으로 투여된다.
- [0308] 치료 기간 및 빈도에 관하여, 치료가 치료 이익을 제공할 때를 결정하기 위해, 투약량을 증가 또는 저하시키거나, 투여 빈도를 증가 또는 저하시키거나, 치료를 중단시키거나, 치료를 재개하거나 치료 요법에 다른 변경을 할지의 여부를 결정하기 위해, 숙련된 임상가가 대상체를 모니터링하는 것이 전형적이다. 투약 스케줄은 많은 임상 인자들, 예컨대 폴리펩타이드에 대한 대상체의 민감성에 따라 1주 1회 내지 매일로 다양할 수 있다. 요망되는 용량은 매일 또는 3일, 4일, 5일 또는 6일마다 투여될 수 있다. 요망되는 용량은 한꺼번에 또는 서브용량, 예를 들어, 2 내지 4개의 서브용량으로 나뉘어서 투여되고, 기간에 걸쳐, 예를 들어, 하루를 통한 적절한 간격에서 또는 다른 적절한 스케줄로 투여될 수 있다. 이러한 서브용량은 단위 투약 형태로서 투여될 수 있다. 본원에 기재된 양태의 일부 구현예에서, 투여는 만성이며, 예를 들어, 수주 또는 수개월의 기간에 걸쳐 매일 하나 이상의 용량이다. 투약 스케줄의 예는 1주, 2주, 3주, 4주, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 또는 6개월 이상의 기간에 걸쳐 매일, 매일 2회, 매일 3회 또는 매일 4회 이상의 투여이다.
- [0309] 본원에서 사용된 바와 같이, 세포를 제제(예를 들어, 본원에 개시된 화합물)와 접촉시키는 것에 관하여 "접촉시키는"은, 제제를 표적 세포 상에, 세포 내에 또는 세포에 인접하여 배치시키기에 적합한 임의의 방법을 지칭한다. 예를 들어, 세포가 *시험관내*에 있을 때, 세포와 제제의 접촉은 상기 제제를 상기 세포를 함유하는 배양 배지에 첨가하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 세포가 *생체내*에 있을 때, 세포와 제제의 접촉은 상기 제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0310] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "투여"는, 요망되는 효과가 발휘되도록 요망되는 부위에 제제 또는 조성물의 적어도 부분적인 위치화를 초래하는 방법 또는 경로에 의해 대상체 내로 본원에 개시된 바와 같은 제제 또는 조성물을 배치하는 것을 지칭한다. 본 발명의 방법에 적합한 투여 경로는 국소 투여와 전신 투여 둘 다 포함한다. 일반적으로, 국소 투여는 대상체의 전신과 비교하여 특정 위치로 더 많은 조성물이 전달되게 하는 반면, 전신 투여는 본질적으로 대상체의 전신으로의 전달을 초래한다.
- [0311] "투여 경로"는 경구, 국소, 에어로졸, 비강내, 흡입을 통한, 항문, 항문내, 항문주위, 경점막, 경피, 비경구, 경장, 또는 국소를 포함하지만 이들로 제한되지 않는, 당업계에 알려진 임의의 투여 경로를 지칭할 수 있다. "비경구"는 종양내, 두개내, 심실내, 척추강내, 경막외, 경막내, 안와내, 주입, 관절낭내, 심장내, 피부내, 근육내, 복강내, 폐내, 척수내, 흉골내, 척추강내, 혈관내, 정맥내, 동맥내, 지주막하, 피막하, 피하, 경점막, 또는 경기관을 포함하여 일반적으로 주사와 관련된 투여 경로를 지칭한다. 비경구 경로를 통해, 제제 또는 조성물은 주입을 또는 주사를 위한 용액 또는 현탁액 형태로, 또는 동결건조된 분말로서 존재할 수 있다. 경장 경로를 통해, 제제 또는 조성물은 캡슐, 젤 캡슐, 정제, 당-코팅된 정제, 시럽, 현탁액, 용액, 분말, 과립, 에멀전, 미소구체, 단백질성 또는 비-단백질성 구성요소로 이루어진 나노입자 또는 나노구체, 또는 방출조절을 가능하게 하는 지질 소낭 또는 중합체 소낭 형태로 존재할 수 있다. 국소 경로를 통해, 제제 또는 조성물은 에어로졸, 로션, 크림, 젤, 연고, 현탁액, 용액 또는 에멀전 형태로 존재할 수 있다. 일 구현예에서, 제제 또는 조성물은 분말 형태로 제공되고 액체, 예컨대 물과 혼합되어 음료를 형성할 수 있다. 본 발명에 따르면, "투여"는 자가-투여일 수 있다. 예를 들어, 대상체가 본원에 개시된 바와 같은 조성물을 소모하는 것은 "투여"로서 간주된다.
- [0312] 전형적인 투여 방식은 주사, 주입, 설치, 흡입, 또는 섭취를 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. "주사"는 제한없이, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 심실내, 관절낭내, 안와내, 심장내, 피부내, 복강내, 경기관(transtracheal), 피하, 표피하(subcuticular), 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 뇌척수내, 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다. 본원에 기재된 다양한 양태들의 일부 구현예에서, 상기 조성물은 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다.
- [0313] 본원에 사용된 바와 같이, "약학적으로 허용 가능한 염"은 본원에 기재된 임의의 화합물의 염 형태로 이용되는 상기 화합물을 포괄하는 것으로 의도되며, 특히 여기서, 상기 염은 유리 형태의 화합물 또는 상이한 염 형태의 화합물과 비교하여 향상된 약물동력학적 특성을 상기 화합물에 부여한다. 약학적으로 허용 가능한 염 형태는 또한, 이것이 이전에 소유하지 않았던 화합물 상에 바람직한 약물동력학적 특성을 초기에 부여할 수 있고, 신체에서 이의 치료 활성과 관련하여 화합물의 약력학에 심지어 긍정적으로 영향을 줄 수 있다. 선호할 만하게 영향을 받을 수 있는 약물동력학적 특성의 일례는, 화합물이 세포막을 가로질러 수송되는 방식이며, 이는 다시 말해 화

합물의 흡수, 분포, 생물형질전환 및 배출에 직접적이고 긍정적으로 영향을 줄 수 있다. 약학적 조성물의 투여 경로가 중요하고 다양한 해부학적, 생리학적 및 병리학적 인자들이 생체이용률에 결정적으로 영향을 줄 수 있지만, 화합물의 용해도는 통상, 상기 화합물이 이용되는 이의 특정 염 형태의 특징에 좌우된다. 당업자는, 화합물의 수용액이 치료를 받는 대상체의 신체 내로 화합물의 가장 신속한 흡수를 제공할 것인 한편, 지질 용액 및 현탁액, 뿐만 아니라 고체 투약 형태는 화합물의 덜 신속한 흡수를 초래할 것임을 이해할 것이다.

[0314] 약학적으로 허용 가능한 염은 무기산, 예컨대 황산, 설파산, 인산, 질산 등으로부터 유래된 염; 및 유기산, 예컨대 아세트산, 프로피온산, 숙신산, 글리콜산, 스테아르산, 락트산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 아스코르브산, 팔미트산, 말레산, 하이드록시말레산, 페닐아세트산, 글루탐산, 벤조산, 살리실산, 설파닐산, 2-아세톡시벤조산, 푸마르산, 톨루엔설폰산, 메탄설폰산, 에탄 디설폰산, 옥살산, 이소티오산 등으로부터 제조된 염을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Berge 등, "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66:1-19 (1977)]를 참조하며, 이의 내용은 그 전체가 참조에 의해 본원에 포함된다. 전형적인 염은 또한, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 설페이트, 비설페이트, 포스페이트, 니트레이트, 아세테이트, 숙시네이트, 발레레이트, 올레이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 라우레이트, 벤조에이트, 락테이트, 포스페이트, 토실레이트, 시트레이트, 말레레이트, 푸마레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 나프틸레이트, 메실레이트, 글루코헵토네이트, 락토비오네이트, 및 라우릴설포네이트 염 등을 포함한다. 본 개시내용의 화합물과 함께 염을 형성할 수 있는 적합한 산은 무기산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 과염소산, 질산, 티오시안산, 황산, 인산 등; 및 유기산, 예컨대 1,2-에탄디설폰산, 2-하이드록시에탄설폰산, 2-나프탈렌설폰산, 3-페닐프로피온산, 4-메틸비사이클로[2.2.2]옥트-2-엔-1-카르복실산, 4,4'-메틸렌비스(3-하이드록시-2-엔-1-카르복실산), 아세트산, 안트라닐산, 벤젠설폰산, 벤조산, 캄포설폰산, 신남산, 시트르산, 사이클로헥탄프로피온산, 에탄설폰산, 포름산, 푸마르산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 헵탄산, 하이드록시나프토산, 락트산, 라우릴 황산, 말레산, 말론산, 만델산, 메탄설폰산, 뮌콘산, 나프탈렌 설폰산, o-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 옥살산, p-클로로벤젠설폰산, 프로피온산, p-톨루엔설폰산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 설파닐산, 타르타르산, 3차 부틸아세트산, 트리플루오로아세트산, 트리메틸아세트산 등을 포함한다. 본 개시내용의 화합물과 염을 형성할 수 있는 적합한 염기는 무기 염기, 예컨대 소듐 하이드록사이드, 암모늄 하이드록사이드, 소듐 카르보네이트, 칼슘 하이드록사이드, 포타슘 하이드록사이드 등; 및 유기 염기, 예컨대 모노-, 디- 및 트리-알킬 및 아릴 아민(예를 들어, 트리에틸아민, 디이소프로필 아민, 메틸 아민, 디메틸 아민, N-메틸글루카민, 피리딘, 피콜린, 디사이클로헥실아민, N,N'-디벤질에틸렌디아민 등), 및 선택적으로 치환된 에탄올-아민(예를 들어, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민 등)을 포함한다.

[0315] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "전구약물"은 일부 화학적 또는 생리학적 과정(예를 들어, 효소적 과정 및 대사적 가수분해)을 통해 본원에 기재된 화합물로 전환될 수 있는 화합물을 지칭한다. 그러므로, 용어 "전구약물"은 또한, 약학적으로 허용 가능한 생물학적 활성 화합물의 전구체를 지칭한다. 전구약물은 대상체에게 투여될 때 불활성일 수 있지만, 즉, 에스테르일 수 있지만, *생체내에서* 활성 화합물로 전환되며, 예를 들어, 가수분해에 의해 유리 카르복실산 또는 유리 하이드록실로 전환된다. 전구약물 화합물은 종종 유기체에서 용해도, 조직 용화성 또는 지연된 방출의 이점을 제공한다. 용어 "전구약물"은 또한, 이러한 전구약물이 대상체에게 투여될 때 *생체내에서* 활성 화합물을 방출하는 임의의 공유 결합된 담체를 포함하는 것으로 의미된다. 본원에 기재된 바와 같이, 활성 화합물의 전구약물은, 일상적인 조작에서 또는 *생체내에서* 모 활성 화합물로 변형이 절단되도록, 활성 화합물에 존재하는 작용기를 변형시킴으로써 제조될 수 있다. 전구약물은, 하이드록시, 아미노 또는 머캅토기가 임의의 기에 결합되고, 활성 화합물의 전구약물이 대상체에게 투여될 때, 절단되어 각각 유리 하이드록시, 유리 아미노 또는 유리 머캅토기를 형성하는 화합물을 포함한다. 예를 들어, 하이드록시기를 포함하는 화합물은 에스테르로서 투여될 수 있어서 *생체내에서* 가수분해에 의해 하이드록시 화합물로 전환된다. *생체내에서* 하이드록시 화합물로 전환될 수 있는 적합한 에스테르는 아세테이트, 시트레이트, 락테이트, 타르트레이트, 말로네이트, 옥살레이트, 살리실레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 푸마레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 말레레이트, 메틸렌-비스-b-하이드록시나프토에이트, 겐티세이트, 이세티오네이트, 디-p-톨루오일타르트레이트, 메탄설포네이트, 에탄설포네이트, 벤젠설포네이트, p-톨루엔설포네이트, 사이클로헥실설파메이트, 퀴네이트 아미노산의 에스테르 등을 포함한다. 유사하게는, 아민기를 포함하는 화합물은 아마이드, 예를 들어, 아세타미드, 포름아미드 및 벤즈아미드로서 투여될 수 있으며, 이는 *생체내에서* 가수분해에 의해 아민 화합물로 전환된다. 문헌[Harper, "Drug Latentiation" in Jucker, ed. *Progress in Drug Research* 4:221-294 (1962)]; 문헌[Morozowich 등, "Application of Physical Organic Principles to Prodrug Design" in E. B. Roche ed. *Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs*, APHA Acad. Pharm. Sci. 40 (1977)]; 문헌[Bioreversible Carriers in Drug in Drug Design, Theory and Application, E. B. Roche, ed.,

APHA Acad. Pharm. Sci. (1987)]; 문헌[*Design of Prodrugs*, H. Bundgaard, Elsevier (1985)]; 문헌[Wang 등 "Prodrug approaches to the improved delivery of peptide drug" in *Curr. Pharm. Design*. 5(4):265-287 (1999)]; 문헌[Pauletti 등 (1997) Improvement in peptide bioavailability: Peptidomimetics and Prodrug Strategies, *Adv. Drug. Delivery Rev.* 27:235-256]; 문헌[Mizen 등 (1998) "The Use of Esters as Prodrugs for Oral Delivery of (3-Lactam antibiotics," *Pharm. Biotech.* 11,:345-365]; 문헌[Gagnault 등 (1996) "Designing Prodrugs and Bioprecursors I. Carrier Prodrugs," *Pract. Med. Chem.* 671-696]; 문헌[Asgharnejad, "Improving Oral Drug Transport" in *Transport Processes in Pharmaceutical Systems*, G. L. Amidon, P. I. Lee and E. M. Topp, Eds., Marcel Dekker, p. 185-218 (2000)]; 문헌[Balant 등, "Prodrugs for the improvement of drug absorption via different routes of administration" *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 15(2): 143-53 (1990)]; 문헌[Balimane and Sinko, "Involvement of multiple transporters in the oral absorption of nucleoside analogues" *Adv. Drug Delivery Rev.*, 39(1-3): 183-209 (1999)]; 문헌[Browne, "Fosphenytoin (Cerebyx)" *Clin. Neuropharmacol.* 20(1): 1-12 (1997)]; 문헌[Bundgaard, "Bioreversible derivatization of drugs— principle and applicability to improve the therapeutic effects of drugs" *Arch. Pharm. Chemi* 86(1): 1-39 (1979)]; 문헌[Bundgaard H. "Improved drug delivery by the prodrug approach" *Controlled Drug Delivery* 17: 179-96 (1987)]; 문헌[Bundgaard H. "Prodrugs as a means to improve the delivery of peptide drugs" *Arfv. Drug Delivery Rev.* 8(1): 1-38 (1992)]; 문헌[Fleisher 등 "Improved oral drug delivery: solubility limitations overcome by the use of prodrugs" *Arfv. Drug Delivery Rev.* 19(2): 115-130 (1996)]; 문헌[Fleisher 등 "Design of prodrugs for improved gastrointestinal absorption by intestinal enzyme targeting" *Methods Enzymol.* 112 (Drug Enzyme Targeting, Pt. A): 360-81, (1985)]; 문헌[Farquhar D, 등, "Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups" *Pharm. Sci.*, 72(3): 324-325 (1983)]; 문헌[Freeman S, 등, "Bioreversible Protection for the Phospho Group: Chemical Stability and Bioactivation of Di(4-acetoxy-benzyl) Methylphosphonate with Carboxyesterase," *Chem. Soc., Chem. Commun.*, 875-877 (1991)]; 문헌[Friis and Bundgaard, "Prodrugs of phosphates and phosphonates: Novel lipophilic alphaacyloxyalkyl ester derivatives of phosphate- or phosphonate containing drugs masking the negative charges of these groups" *Eur. J. Pharm. Sci.* 4: 49-59 (1996)]; 문헌[Gangwar 등, "Pro-drug, molecular structure and percutaneous delivery" *Des. Biopharm. Prop. Prodrugs Analogs*, [Symp.] Meeting Date 1976, 409-21. (1977)]; 문헌[Nathwani and Wood, "Penicillins: a current review of their clinical pharmacology and therapeutic use" *Drugs* 45(6): 866-94 (1993)]; 문헌[Sinhbababu and Thakker, "Prodrugs of anticancer agents" *Adv. Drug Delivery Rev.* 19(2): 241-273 (1996)]; 문헌[Stella 등, "Prodrugs. Do they have advantages in clinical practice?" *Drugs* 29(5): 455-73 (1985)]; 문헌[Tan 등 "Development and optimization of anti-HIV nucleoside analogs and prodrugs: A review of their cellular pharmacology, structure-activity relationships and pharmacokinetics" *Adv. Drug Delivery Rev.* 39(1-3): 117-151 (1999)]; 문헌[Taylor, "Improved passive oral drug delivery via prodrugs" *Adv. Drug Delivery Rev.*, 19(2): 131-148 (1996)]; 문헌[Valentino and Borchardt, "Prodrug strategies to enhance the intestinal absorption of peptides" *Drug Discovery Today* 2(4): 148-155 (1997)]; 문헌[Wiebe and Knaus, "Concepts for the design of anti-HIV nucleoside prodrugs for treating cephalic HIV infection" *Adv. Drug Delivery Rev.*: 39(1-3):63-80 (1999)]; 문헌[Waller 등, "Prodrugs" *Br. J. Clin. Pharmacol.* 28: 497-507 (1989)]을 참조하며, 이들 모두의 내용은 그 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0316] 암을 치료하는 방법

[0317] 다양한 구현예에서, 본 발명은 치료, 저해, 감소, 예방 및/또는 서행을 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나, 저해하거나, 이의 중증도를 감소시키거나, 전이를 예방하고/거나 진행을 서행시키는 방법을 제공한다. 상기 방법은 치료적 유효량의 GITR의 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 작용제는 SEQ ID NO: 1로 제시된 서열을 갖는 펩타이드이다. 또 다른 구현예에서, 상기 작용제는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드이다. 추가의 구현예에서, 상기 방법은 치료적 유효량의, SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 GITR 작용제는 암에 대한 기존의 치료법과 조합되어 투여된다. 일부 구현예에서, GITR 작용제 및 기존의 치료법은 공동-투여되거나 순차적으로 투여된다. 일 구현예에서, GITR 작용제는 암에 대한 기존의 치료법의 투여 전에 투여된다. 일부 구현예에서, GITR 작용제는 암에 대한 기존의 치료법의 투여 후에 투여된다. 추가의 구현예에서, GITR 작용제는 암에 대한 현재의 치료법과 공동-투여된다.

- [0318] 또한, 중앙 미세환경에서 조절 T 세포(Treg 세포)를 감소시키는 방법이 본원에 제공된다. 상기 방법은 치료적 유효량의 GITR의 작용제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 작용제는 SEQ ID NO: 1로 제시된 서열을 갖는 펩타이드이다. 또 다른 구현예에서, 상기 작용제는 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드이다. 추가의 구현예에서, 상기 방법은 치료적 유효량의, SEQ ID NO: 1 및 SEQ ID NO: 2로 제시된 서열을 갖는 펩타이드를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0319] 일부 구현예에서, 암을 치료하는 데 사용하기 위한 GITR 작용제는 화학식 I에 제시된 구조를 갖는 화합물이다.
- [0320] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 T-이펙터 세포에 대해 농화되었던 세포 시료를 암을 앓고 있는 환자에게 투여하는 것에 관한 것이며, 여기서, 농화는 상기 T-이펙터 세포를 T-reg 세포와 함께 또는 없이 예컨대 화학식 I로 제시된 GITR 작용제와 접촉시킴으로써 달성된다. T-이펙터 또는 T-reg 세포는 환자에 대해 자가 또는 동종이계일 수 있다. 특히, GITR 작용제는 RMGL171102, 즉, 11702 화합물일 수 있다.
- [0321] 전형적인 구현예에서, 암은 B-세포 림프종(호지킨 림프종 및/또는 비-호지킨 림프종), 뇌종양, 유방암, 결장암, 폐암, 간세포암, 위암, 췌장암, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 요로암, 갑상선암, 신장암, 암종, 흑색종, 두경부암, 뇌암, 및 전립선암, 안드로겐-의존적 전립선암 및 안드로겐-독립적 전립선암, 특히, 흑색종 또는 림프종이다.
- [0322] **자가면역 질환을 치료하는 방법**
- [0323] 또한, 치료, 저해 또는 감소를 필요로 하는 대상체에서 자가면역 질환을 치료하거나, 저해하거나 이의 중증도를 감소시키는 방법이 본원에 제공된다. 상기 방법은 치료적 유효량의 GITR 길항제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0324] 일부 구현예에서, 염증성 질환, 예컨대 자가면역 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 GITR 길항제는 화학식 II로 제시된 구조를 갖는 화합물이다.
- [0325] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 T-reg 세포에 대해 농화되었던 세포 시료를 염증성 질환, 특히 자가면역 질환을 앓고 있는 환자에게 투여하는 것에 관한 것이며, 여기서, T-eff 세포는 변형되었으며, 상기 농화는 상기 T-이펙터 세포를 T-reg 세포와 함께 또는 없이 예컨대 화학식 II로 제시된 GITR 길항제와 접촉시킴으로써 달성된다. T-이펙터 또는 T-reg 세포는 환자에 대해 자가 또는 동종이계일 수 있다. 특히, GITR 길항제는 RMGL171104, 즉, 11704 화합물일 수 있다.
- [0326] 일부 구현예에서, GITR 길항제는 자가면역 질환에 대한 기존의 치료법과 조합되어 투여된다. 일부 구현예에서, GITR 길항제 및 기존의 치료법은 공동-투여되거나 동시에 투여된다. 일 구현예에서, GITR 길항제는 자가면역 질환에 대한 기존의 치료법의 투여 전에 투여된다. 일부 구현예에서, GITR 길항제는 자가면역 질환에 대한 기존의 치료법의 투여 후에 투여된다. 추가의 구현예에서, GITR 길항제는 염증성 질환 또는 자가면역 질환에 대한 현재의 치료법과 공동-투여된다.
- [0327] 전형적인 구현예에서, 염증성 질환은 급성 또는 만성 췌장염이고, 자가면역 질환은 류마티스 관절염, 골관절염, 천식, 피부염, 건선, 낭포성 섬유증, 이식-후 후기 및 만성 고형 기관 거부, 다발성 경화증, 전신 홍반성 낭창, 쇼그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 다발성근염, 경피증, 에디슨 질환, 백반, 악성 빈혈, 사구체신염 및 폐 섬유증, 염증성 장질환, 자가면역 당뇨병, 당뇨 망막병증, 비염, 허혈-재관류 손상, 혈관성형술-후 재협착증, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 그레이브스 질환, 위장 알레르기, 결막염, 아테롬성 동맥경화증, 관상 동맥 질환, 협심증, 암 전이, 소동맥 질환, 이식편대숙주 질환, 또는 미토콘드리아 관련 증후군, 특히, 관절염 또는 기관 이식이다.
- [0328] **병용 치료법**
- [0329] 전형적인 구현예에서, 암에 대한 기존의 치료(본원에 기재된 바와 같이 GITR 작용제와 병용되기 위한)는 화학치료법, 방사선 치료법, 호르몬 치료법, 수술, 면역치료법 또는 이들의 조합을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.
- [0330] 일부 구현예에서, 화학치료제는 세포독성 항생제, 항대사물, 항-유사분열제, 알킬화제, 비소 화합물, DNA 토포 이소머라제 저해제, 타산, 뉴클레오사이드 유사체, 식물 알칼로이드, 및 독소; 및 이들의 합성 유도체 중 임의의 하나 이상으로부터 선택될 수 있다. 전형적인 화합물은 알킬화제: 트레오설판(treosulfan) 및 트로포스파미드(trofosphamide); 식물 알칼로이드: 빈블라스틴, 파클리탁셀, 도세탁셀; DNA 토포이소머라제 저해제: 데옥소루비신, 에피루비신, 에토포사이드, 캄토테신, 토포테칸, 이리노테칸, 테니포사이드, 크리스나톨(crisnatol), 및

미토마이신; 항-폴레이트: 메토크세이트, 마이코페놀산, 및 하이드록시우레아; 피리미딘 유사체: 5-플루오로우라실, 독시플루리딘, 및 시토신 아라비노사이드; 퓨린 유사체: 머캅토피린 및 티오구아닌; DNA 항대사물: 2'-데옥시-5-플루오로우리딘, 아피디콜린 글리시네이트(aphidicolin glycinate), 및 피라졸로이미다졸; 및 항-유사분열제: 할리콘드린(halichondrin), 콜히친(colchicine), 및 리족신(rhizoxin)을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 하나 이상의 화학치료제(예를 들어, FLAG, CHOP)를 포함하는 조성물이 또한 사용될 수 있다. FLAG는 플루다라빈, 시토신 아라비노사이드(Ara-C) 및 G-CSF를 포함한다. CHOP는 사이클로포스파미드, 빈크리스틴, 데옥소루비신, 및 프레드니손을 포함한다. 또 다른 구현예에서, PARP(예를 들어, PARP-1 및/또는 PARP-2) 저해제가 사용되고, 이러한 저해제는 당업계에 잘 알려져 있다(예를 들어, 올라파립(Olaparib), ABT-888, BSI-201, BGP-15(N-Gene Research Laboratories, Inc.); INO-1001(Inotek Pharmaceuticals Inc.); PJ34(Soriano 등, 2001; Pacher 등, 2002b); 3-아미노벤즈아미드(Trevigen); 4-아미노-1,8-나프탈이미드(Trevigen); 6(5H)-페난트리딘(Trevigen); 벤즈아미드(미국 특허 제Re 36,397호); 및 NU1025(Bowman 등)).

[0331] 다양한 구현예에서, 방사선 치료법은 이온화 방사선일 수 있다. 방사선 치료법은 또한, 감마선, X-선, 또는 양성자 빔일 수 있다. 방사선 치료법의 예는 외부-빔 방사선 치료법, 방사성동위원소(I-125, 팔라듐, 이리듐)의 간질(interstitial) 이식, 방사성동위원소, 예컨대 스트론튬-89, 흉부 방사선 치료법, 복강내 P-32 방사선 치료법, 및/또는 전체 복부 및 골반 방사선 치료법을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 방사선 치료법의 일반적인 개요를 위해, 문헌[Hellman, Chapter 16: Principles of Cancer Management: Radiation Therapy, 6th edition, 2001, DeVita 등, eds., J. B. Lippencott Company, Philadelphia]를 참조한다. 방사선 치료법은 외부 빔 방사선 또는 텔레-치료법으로서 투여될 수 있으며, 여기서, 방사선은 원격 소스로부터 조사된다. 방사선 치료는 또한, 내부 치료법 또는 근접치료법(brachytherapy)으로서 투여될 수 있으며, 여기서, 방사선원은 신체 내부에서 암 세포 또는 종양 덩어리에 근접하여 배치된다. 또한, 감광제, 예컨대 헤마토포르핀 및 그의 유도체, 베르토포르핀(Vertoporphin)(BPD-MA), 프탈로시아닌, 감광제 Pc4, 데메톡시-하이포크렐린 A; 및 2BA-2-DMHA를 포함하는 광역학적 치료법의 용도가 포괄된다.

[0332] 다양한 구현예에서, 면역치료법은 예를 들어, 암 백신 및/또는 감작된(sensitized) 항원 제시 세포의 사용을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 치료법은 종양 미세환경에서 세포를 표적화하거나 면역 세포를 표적화하는 것을 포함한다. 면역치료법은, 암 항원 또는 질환 항원에 대한 예비-형성된 항체의 투여(예를 들어, 종양 항원으로의, 선택적으로 화학치료제 또는 독소에 연결된 모노클로날 항체의 투여)에 의해 달성되는 숙주의 단기간 보호를 위한 수동 면역을 수반할 수 있다. 면역치료법은 또한, 암 세포주의 세포독성 림프구-인식 에피토프를 사용하는 것에 초점을 맞출 수 있다.

[0333] 다양한 구현예에서, 호르몬 치료법은 예를 들어, 호르몬 작용제, 호르몬 길항제(예를 들어, 플루타미드, 비칼루타미드, 타목시펜, 탈록시펜, 류프롤라이드 아세테이트(LUPRON), LH-RH 길항제), 호르몬 생합성 및 가공의 저해제, 및 스테로이드(예를 들어, 텍사메타손, 레티노이드, 델타이드, 베타메타손, 코르티솔, 코르티손, 프레드니손, 데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 미네랄로코르티코이드, 에스트로겐, 테스토스테론, 프로게스틴), 비타민 A 유도체(예를 들어, 모두(all)-trans 레티노산(ATRA)); 비타민 D3 유사체; 항게스타겐(antigestagen)(예를 들어, 미페프리스톤(mifepristone), 오나프리스톤(onapristone)), 또는 항안드로겐(예를 들어, 사이프로테론 아세테이트(cyproterone acetate)을 포함할 수 있다.

[0334] 일부 구현예에서, 자가면역 질환에 대한 기존의 치료법은 물리적 치료법, 비-스테로이드성 항-염증성 약물(NSAID), 코르티코스테로이드, 질환-변형 항-염증성 약물(DMARD), 항-사이토카인 치료법, 세포내-신호화 경로의 저해, 공동자극 저해, T 세포 기능의 생물학적 저해제, B-세포 아네르기(anergy) 및 결실, 조절 T 세포, 줄기세포 이식 및/또는 조절 줄기세포 이식을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다.

[0335] 소정의 상황에서, 단독으로서 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 G1TR 작용제 또는 G1TR 길항제의 효과가 그 자체로서는 덜 최적일 수 있고/거나 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 G1TR 작용제 또는 G1TR 길항제와 기능적으로 상호작용하는 별도의 경로에서 작동하는 치료법과 병용되어 상승작용적이거나 더욱 고도로 효과적일 수 있기 때문에, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 G1TR 작용제 또는 G1TR 길항제는 다른 현재의 또는 미래의 약물 치료법과 병용될 수 있다. 소정의 상황에서, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 G1TR 작용제 또는 G1TR 길항제와 추가 약물 치료법의 합동 투여는 추가 약물 치료법의 용량을 감소시켜, 이 양은 단독치료법에서 사용될 때 치료 효과를 달성하는 양보다 적어진다.

[0336] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 하나 이상의 G1TR 작용제는 체크포인트 저해제와 병용(순차적으로 또는 동시에)될 수 있다. 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 G1TR 작용제와 함께 사용되기 위한 면역 체크포인트 저

해제의 예는 항-PD-1 항체, 예컨대 램브롤리주맵(Lambrolizumab)(MK-3475), 니볼루맵(Nivolumab)(BMS-936558) 및 피딜리주맵(Pidilizumab)(CT-011), 항-PD-L1 항체, 예컨대 MPDL3280A(RG7446), MEDI4736 및 BMS-936559, 항-PD-L2 항체, B7-DC-Fc 융합 단백질, 예컨대 AMP-224, 항-CTLA-4 항체, 예컨대 트레멜리무맵(tremelimumab)(CP-675,206) 및 이필리무맵(ipilimumab)(MDX-010), B7/CD28 수용체 슈퍼계통에 대한 항체, 항-인돌아민(2,3)-디옥시게나제(IDO) 항체, 항-IDO1 항체, 항-IDO2 항체, 트립토판, 트립토판 미메틱, 1-메틸 트립토판(1-MT)), 인독시모드(Indoximod)(D-1-메틸 트립토판(D-1-MT)), L-1-메틸 트립토판(L-1-MT), TX-2274, 하이드록시아미딘 저해제, 예컨대 INCB024360, 항-TIM-3 항체, 항-LAG-3 항체, 예컨대 BMS-986016, MHC 클래스 II-유도 수지상 세포 활성화를 작용시키는 재조합 가용성 LAG-3Ig 융합 단백질, 예컨대 IMP321, 항-KIR2DL1/2/3 또는 항-KIR 항체, 예컨대 릴릴루맵(lirilumab)(IPH2102), 우렐루맵(urelumab)(BMS-663513), 항-포스포티딜세린(항-PS) 항체, 예컨대 바비투시맵(Bavituximab), N-글리코틸-GM3 강글리오사이드에 대한 인간 모노클로날 항체에 대한 항-이디오타입(idiotype) 무린 모노클로날 항체, 예컨대 라코투모맵(Racotumomab)(이전에 1E10으로서 알려져 있음), 항-OX40R 항체, 예컨대 IgG CD134 mAb, 항-B7-H3 항체, 예컨대 MGA271, 및 면역 체크포인트 유전자를 침묵화시킴으로써 암을 치료하도록 설계된 소형 간섭(si) RNA-기반 암 백신을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는다. 추가 정보는 문헌[Creelan BC (Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer, Cancer Control. 2014 Jan;21(1):80-9)] 및 문헌[Jane de Lartigue (Another Immune Checkpoint Emerges as Anticancer Target, Published online by onclive.com, Tuesday, September 24, 2013)]에서 찾을 수 있으며, 이들은 그 전체가 완전히 제시된 바와 같이 참조로서 본원에 포함된다. 일부 구현예에서, 면역 체크포인트 저해제는 PD-1에 대한 항체, PD-L1에 대한 항체, PD-L2에 대한 항체, CTLA-4에 대한 항체, KIR에 대한 항체, IDO1에 대한 항체, IDO2에 대한 항체, TIM-3에 대한 항체, LAG-3에 대한 항체, OX40R에 대한 항체, 및 PS에 대한 항체, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0337] 다양한 구현예에서, 본원에 기재된 바와 같은 GITR 길항제는 Treg 세포의 수준을 증가시키는 기존의 치료법과 병용될 수 있다. 전형적인 구현예에서, GITR 길항제는 모노클로날 항체를 포함한 TNF 저해제, 예컨대 인플릭시맵(infliximab)(Remicade), 아달리무맵(adalimumab)(Humira), 세르톨리주맵 페골(certolizumab pegol)(Cimzia), 및 골리무맵(golimimumab)(Simponi), 또는 순환형 수용체 융합 단백질, 예컨대 에타네르셉트(etanercept)(Enbrel)와 병용(순차적으로 또는 동시에)될 수 있다.

[0338] 키트

[0339] 다양한 구현예에서, 본 발명은 암 및 염증성 질환, 예컨대 자가면역 질환을 치료하기 위한 키트를 제공한다. 상기 키트는 하나 이상의 GITR 작용제(암 치료용) 또는 GITR 길항제(자가면역 질환 치료용) 및 사용 설명서를 포함한다.

[0340] 본 발명의 키트에 배치되는 구성요소의 정확한 성질은 이의 의도된 목적에 좌우된다. 일 구현예에서, 상기 키트는 특히 인간 대상체를 위해 구성된다. 추가의 구현예에서, 상기 키트는 수의학적 적용, 농장 동물, 가축, 및 실험 동물과 같지만 이들로 제한되지 않는 대상체를 치료하기 위해 구성된다.

[0341] 사용 설명서는 상기 키트에 포함될 수 있다. "사용 설명서"는 전형적으로, 요망되는 성과를 발휘하기 위해, 예컨대 암 또는 자가면역 질환을 치료하기 위해 키트의 구성요소를 사용하는 데 이용되는 기법을 설명하는 실재의 표현을 포함한다. 선택적으로, 상기 키트는 또한, 당업자에 의해 쉽게 인식될 바와 같은 다른 유용한 구성요소, 예컨대 측정 툴, 희석제, 완충액, 약학적 조성물, 약학적으로 허용 가능한 담체, 주사기 또는 다른 유용한 용품을 함유한다.

[0342] 키트에서 조립되는 물질 또는 구성요소는 이들의 작동성 및 유용성을 보존하는 임의의 편리하고 적합한 방식으로 저장되어 실행자에게 제공될 수 있다. 예를 들어, 구성요소는 용해, 탈수 또는 동결건조된 형태로 있을 수 있으며; 구성요소는 실온, 냉장 온도 또는 냉동 온도에서 제공될 수 있다. 구성요소는 전형적으로, 적합한 패키지 물질(들)에 함유된다. 본원에 이용되는 바와 같이, 어구 "패키지 물질"은 키트의 내용물, 예컨대 본 발명의 조성물 등을 담는 데 사용되는 하나 이상의 물리적 구조물을 지칭한다. 패키지 물질은 바람직하게는 멸균, 오염원없는 환경을 제공하기 위해 잘-알려진 방법에 의해 작제된다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "패키지"는 개별적인 키트 구성요소를 담을 수 있는 적합한 고체 매트릭스 또는 물질, 예컨대 유리, 플라스틱, 종이, 호일 등을 지칭한다. 패키지 물질은 일반적으로, 키트 및/또는 이의 구성요소의 내용물 및/또는 목적을 나타내는 외부 표지를 갖는다.

[0343] 상기 기재된 다양한 방법 및 기법들은 본 출원을 수행하는 많은 방식들을 제공한다. 당연히게도, 기재된 모든 목적 또는 이점들이 본원에 기재된 임의의 특정 구현예에 따라 반드시 달성될 수 있는 것은 아니라는 것을 이해

해야 한다. 그러므로, 예를 들어, 당업자는 상기 방법이 본원에 교시되거나 시사된 바와 같은 다른 목적 또는 이점을 본질적으로 달성하지 않으면서 본원에 교시된 바와 같은 하나의 이점 또는 이점들의 군을 달성하거나 최적화하는 방식으로 수행될 수 있음을 인식할 것이다. 여러 가지 대안들이 본원에서 언급된다. 일부 바람직한 구현에는 구체적으로 하나의, 또 다른, 또는 몇몇 특질들을 포함하는 한편, 다른 구현에는 구체적으로 하나의, 또 다른, 또는 몇몇 특질들을 배제하는 한편, 더욱 다른 구현에는 하나의, 또 다른, 또는 몇몇 유리한 특질들의 포함에 의해 특정 특질을 완화시키는 것으로 이해되어야 한다.

[0344] 더욱이, 당업자는 상이한 구현예로부터 다양한 특질들의 적응성을 인식할 것이다. 유사하게는, 상기 논의된 다양한 요소, 특질 및 단계들, 뿐만 아니라 각각의 이러한 요소, 특질 또는 단계에 대한 다른 기지의 등가물은 당업자가 본원에 기재된 원리에 따라 방법을 수행하도록 다양한 조합으로 이용될 수 있다. 다양한 요소, 특질 및 단계들 중에서도, 일부는 구체적으로 포함될 것이고, 다른 것은 다양한 구현예에서 구체적으로 배제될 것이다.

[0345] 출원이 소정의 구현예 및 실시예의 맥락에서 개시되긴 하였지만, 당업자는 본 출원의 구현예가 구체적으로 개시된 구현예를 넘어 다른 대안적인 구현예 및/또는 이의 용도 및 변형 및 등가물까지 연장됨을 이해할 것이다.

[0346] 본 출원을 수행하기 위해 본 발명자들에게 알려진 최상의 방식을 포함하여 본 출원의 바람직한 구현예가 본원에 기재되어 있다. 이들 바람직한 구현예에 대한 변화는 상기 설명을 읽을 때 당업자에게 명확해질 것이다. 당업자는 이러한 변화를 적절하게 이용할 수 있고, 출원은 본원에 구체적으로 기재된 것과 다르게 실시될 수 있는 것으로 고려된다. 이에 따라, 본 출원의 많은 구현예들은 적용 가능한 범규에 의해 허용되는 바와 같이 본원에 첨부된 청구항에서 언급된 주제의 모든 변형 및 등가물들을 포함한다. 더욱이, 이의 모든 가능한 변화에서 상기 기재된 요소들의 임의의 조합은 본원에서 다르게 지시되지 않는 한 또는 문맥에 의해 다르게 분명하게 상충되지 않는 한 출원에 의해 포괄된다.

[0347] 본원에서 언급된 모든 특허, 특허 출원, 특허 출원의 공보, 및 기타 물질, 예컨대 기사, 서적, 명세서, 간행물, 문헌, 물품 등은 이와 관련된 임의의 수행 파일 이력을 제외하고는 모든 목적을 위해 그 전체가 이 참조로서 본원에 포함되며, 이들 중 임의의 것은 본 문헌과 일관되지 않거나 상충하거나, 이들 중 임의의 것은 본 문헌과 현재 또는 이후에 관련된 청구항의 가장 넓은 범위에 관하여 제한적인 영향을 가질 수 있다. 예로서, 임의의 통합된 물질과 관련되고 본 문헌과 관련된 용어의 설명, 정의, 및/또는 용도 사이에 임의의 불일치 또는 상충이 있는 경우, 본 문헌에서의 용어의 설명, 정의, 및/또는 용도가 우선해야 한다.

[0348] 본원에 개시된 출원의 구현예는 출원의 구현예의 원리를 예시하는 것으로 이해되어야 한다. 이용될 수 있는 다른 변형은 출원의 범위 내에 있을 수 있다. 그러므로, 예로서, 비제한적으로, 출원의 구현예의 대안적인 구성은 본원의 교시에 따라 이용될 수 있다. 이에, 본 출원의 구현예는 정확하게 제시되고 기재된 것으로 제한되지 않는다.

[0349] 본 발명의 다양한 구현예는 상세한 설명에서 상기에 기재되어 있다. 이들 상세한 설명이 상기 구현예를 직접적으로 설명하고 있긴 하지만, 당업자는 본원에 제시되고 기재된 구체적인 구현예에 대한 변형 및/또는 변화를 인지할 수 있는 것으로 이해된다. 본 설명의 범위 내에 속하는 임의의 이러한 변형 또는 변화가 마찬가지로 그 안에 포함되는 것으로 의도된다. 구체적으로 주지되지 않는 한, 명세서 및 청구항의 단어 및 어구는 적용 가능한 분야(들)의 당업자에게 통상적이고 익숙한 의미로 제공되는 것이 발명자들의 의도이다.

[0350] 본 출원의 출원 당시 출원인에게 알려진 본 발명의 다양한 구현예의 상기 설명이 제시되었고, 예시 및 설명의 목적을 위한 것이다. 본 설명은 본 발명을 철저하거나 개시된 정확한 형태로 제한하려는 것이 아니며, 상기 교시에 비추어 많은 수정 및 변형이 가능하다. 기재된 구현예는 본 발명의 원리 및 이의 실제 적용을 설명하고, 다른 당업자가 고려되는 특정 용도에 적합한 다양한 구현예 및 다양한 수정으로 본 발명을 이용할 수 있도록 하는 역할을 한다.. 따라서, 본 발명은 본 발명을 수행하기 위해 개시된 특정 구현예로 국한되지 않는 것으로 의도된다.

[0351] **실시예**

[0352] 하기 실시예는 청구된 발명을 더 잘 예시하기 위해 제공되고, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 구체적인 물질이 언급되는 정도까지, 이는 예시의 목적을 위한 것일 뿐이고 본 발명을 제한하려는 의도가 아니다. 당업자는 본 발명의 역량의 실행 없이 그리고 본 발명의 범위로부터 벗어나지 않으면서 동등한 수단 또는 반응물을 개발할 수 있다.

[0353] **실시예 1 - G1TR 작용제는 인간 혈액에서 Treg 집단을 감소시킨다**

- [0354] 항원 제시 세포에 의한 T 세포 활성화의 설정에서 Treg 세포와 혼합되었을 때 T 세포 억제 검정법에서 $CD4^+CD25^-$ CFES⁺ 집단(T 이펙터 세포)을 측정하였다. 대조군 결과는, T 조절 세포가 T 세포 증식을 15% 저해할 수 있음을 보여준다. GITR 작용제 효과는 용량 의존적이고, T 이펙터 세포 및 이의 활성화의 증식은 Treg의 존재 하에 더욱 효과적이고, 이는 T 이펙터 및 Treg에 미치는 이의 영향을 시사한다. GITRL 길항제 11704는 용량 의존적이고, T 이펙터 세포 및 이의 활성화의 철회(retroaction)는 Treg의 존재 하에 더욱 효과적이고, 이는 T 이펙터 및 Treg에 미치는 이의 영향을 시사한다.
- [0355] **실시예 2 - T 세포 억제 검정법(시험관내 인간 세포)**
- [0356] **실시예 2.1 - 방법**
- [0357] 건강한 혈소판 공여자로부터 채혈한 WBC 콘으로부터 BMC를 분리하였다(Ficoll, GE Healthcare). 세포를 세척하고, 40 μ m 세포 여과기에 통과시킨 후, T 세포 표면 항체로 염색하였다. 그 후에, 상기 세포를 세포 분류기(BD FACSARIA III) 상에 놓았다. 특이적인 세포 집단은 하기와 같이 수집하였다: $CD4^+CD25^-$ 세포(T 이펙터 세포), $CD4^+CD25^+CD45RA^+CD127^-$ 세포(T 조절 세포) 및 $CD3^-$ 세포(항원 제시 세포, APC로서 역할을 함). T 이펙터 세포를 CellTrace CFSE(Invitrogen)로 표지하며, 강하게 세척한 후, 세포 수를 카운팅하였다. 그 후에, 이펙터 세포 및 T-reg를 항-CD3(3 μ g/ml) 항-CD28(2 μ g/ml) 항체로 증강된 배양 배지(RPMI 1640, 10%FBS, Pen-Strep 및 1% NEAA)에서 1:1 비로 함께 혼합하였다. APC를 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 30분 동안 미토마이신(50 μ g/ml)으로 처리한 다음, 배양 믹스(APC:T-eff 2:1)에 증식 공동-자극자로서 첨가하였다. 세포 혼합물을 37°C, 5% CO₂에서 6일 동안 인큐베이션한 후, T 세포 표면 마커(CD4, CD25)로 재-염색하고 FACS 분석을 위해 보냈다(도 1a 및 도 1b, 도 4 및 도 5).
- [0358] 분자 11702 및 11704를 각각 5 μ M, 25 μ M 및 50 μ M의 농도 구배에서 처리군에 첨가하였다.
- [0359] **실시예 2.2 - 결과**
- [0360] FACS 결과는 $CD4^+CD25^-$ CFES⁺ 집단(T 이펙터 세포)에 초점을 맞춘다. CFES 형광은 별개의 피크를 보여주고, 각각의 피크는 T 림프구 증식의 1세대를 나타낸다. T 세포가 증식하고 복제됨에 따라, CFSE 피크는 좌측까지 성공적으로 연장되고 덜 형광으로 된다(음성 범위로 함). 더 많은 세포 집단이 좌측으로 이동할수록, 증식은 더 강해진다.
- [0361] 대조군 결과는, T 조절 세포가 T 세포 증식을 15% 저해할 수 있음을 보여준다.
- [0362] **실시예 3 - T 이펙터 세포에 미치는 RMGL171102의 효과**
- [0363] RMGL171102(Chembridge, Inc. San Diego, ID 번호 5483007)를 T 이펙터(T-reg 없음)에 첨가하면, 분자 단독은 모든 3개의 농도들에서 T 세포 증식을 가속화하는 강한 효과를 보여주는 한편, 가장 효과적인 용량은 약 25 μ M 이다(기준선과 비교하여 증식된 집단의 61.7%, 5 μ M에서 47.4% 및 50 μ M에서 52% 증가)(도 2a 내지 도 2c, 도 4 및 도 5).
- [0364] T-reg 군(RMGL171102+T-reg) 내에서 결과는 T 대조군(분자 없음)과 비교하여 T 세포 증식의 훨씬 더 강한 자극을 보여준다: 5 μ M에서 34.4%, 25 μ M에서 96.7% 및 50 μ M에서 107.1% 증가(도 2d 내지 도 2f, 도 4 및 도 5).
- [0365] **실시예 4 - T-세포에 미치는 RMGL171104의 효과**
- [0366] RMGL171104 단독(Chembridge, Inc. San Diego, ID 번호 5470140)을 T 이펙터(T-reg 없음)에 첨가하면, 50 μ M의 농도에서 T 세포 증식의 저해(39.1% 저하)를 보여주는 한편, 5 μ M 및 25 μ M에서는 T 이펙터 세포에 유의한 효과를 갖지 않는다(도 3a 내지 도 3c, 도 4 및 도 5).
- [0367] T-reg가 관여함에 따라, 분자는 25 μ M에서 T 세포 증식의 더욱 효과적인 저해(33.9% 저하) 및 50 μ M에서 가장 효과적인 저해(기준선과 비교하여 증식의 55.9% 저하)를 보여주기 시작한다(도 3d 내지 도 3f, 도 4 및 도 5).
- [0368] **실시예 5 - GITR 작용제 11702는 종양에서 Teff 증식 및 Treg 저해를 통해 흑색종 성장을 저해한다**
- [0369] B16 흑색종의 이식 후, C57 BL 마우스를 11702 GITR 작용제 또는 DMSO 대조군으로 치료하였다. 도 6은 (a) 주당 2회 GITR 작용제 복강내 30 mg/kg 치료 후 동물이 더 오래 생존하였음을 도시한다($p=0.0333$, 로그 순위). (b) 종양 부피는 11702 치료 동물에서 저해되었다($p<0.05$, Anova). (c) 종양 침윤 림프구의 FACS 분석은 활성화된

CD4+ 세포의 존재가 증가되었고 이펙터 기억 세포독성 CD8+ T 세포가 증가되었음을 실증하였다. 이들 군 둘 다 PD-1 발현이 증가되어 증가된 IFN 감마가 PD-1의 상향조절을 유도하였음을 시사하고, 이 제제와 PD-1 체크포인트 차단제의 잠재적인 상승작용을 유발시킨다는 것을 나타내었다.

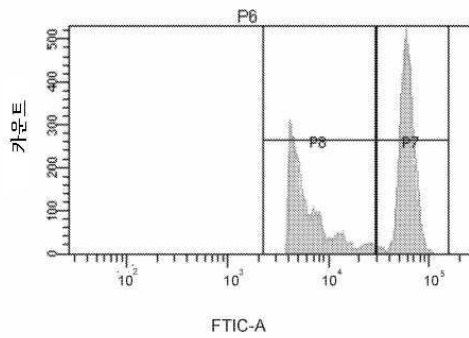
[0370]

본 발명의 특정 구현예가 제시되고 기재되긴 하였지만, 당업자는 본원의 교시에 기반하여, 변화 및 변형이 본 발명 및 이의 더 넓은 양태로부터 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있고, 따라서, 첨부된 청구항이 본 발명의 진정한 사상 및 범위 내에서 모든 이러한 변화 및 변형을 이의 범위 내에 포함한다는 것을 알 수 있다.

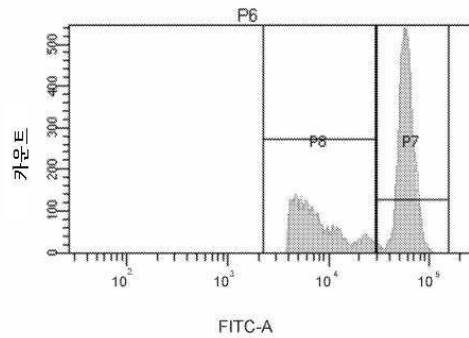
도면

도면1

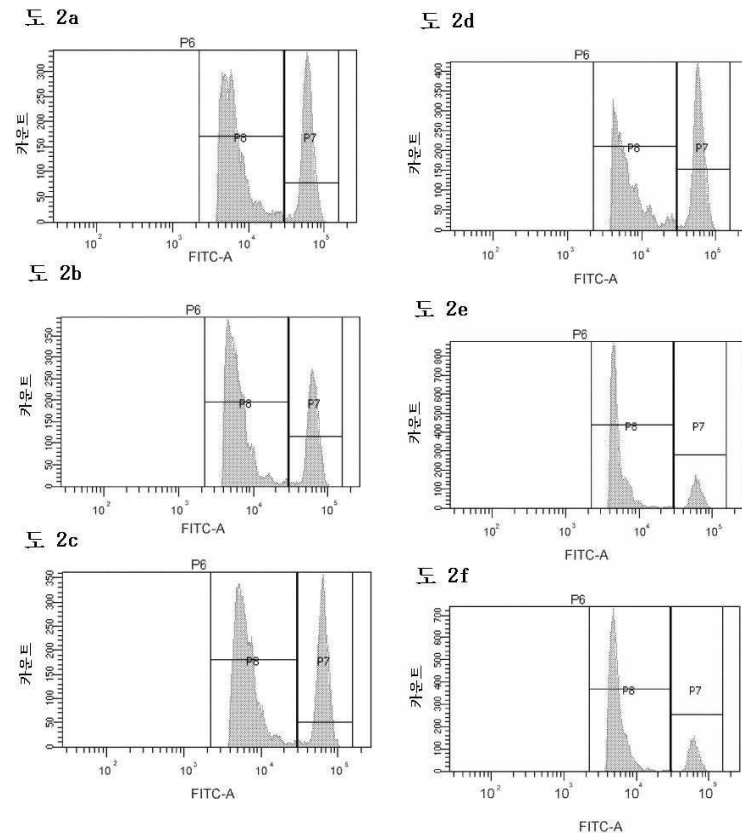
도 1a



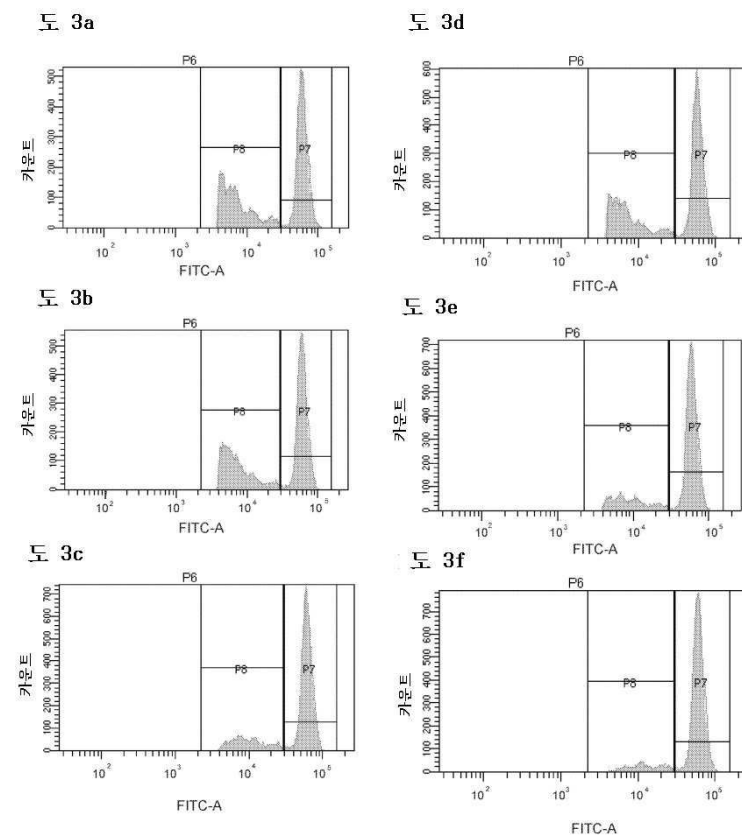
도 1b



도면2



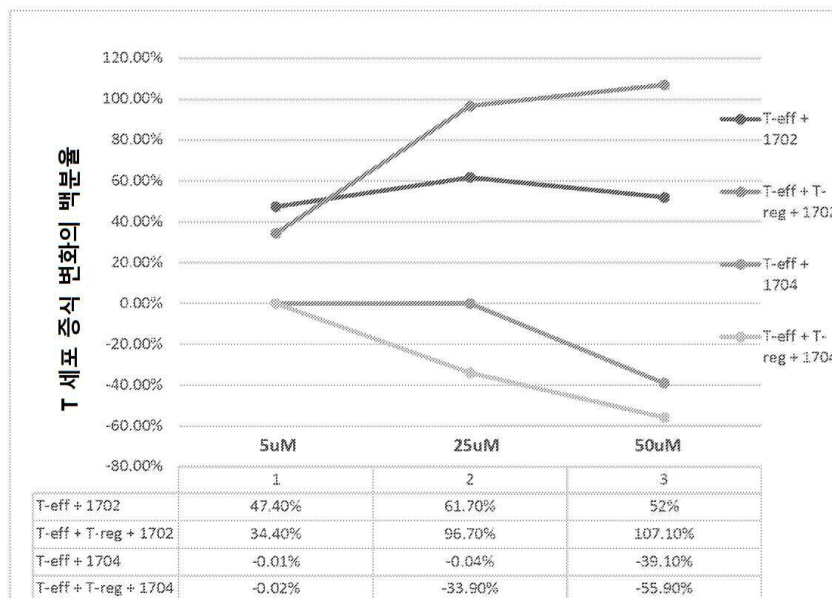
도면3



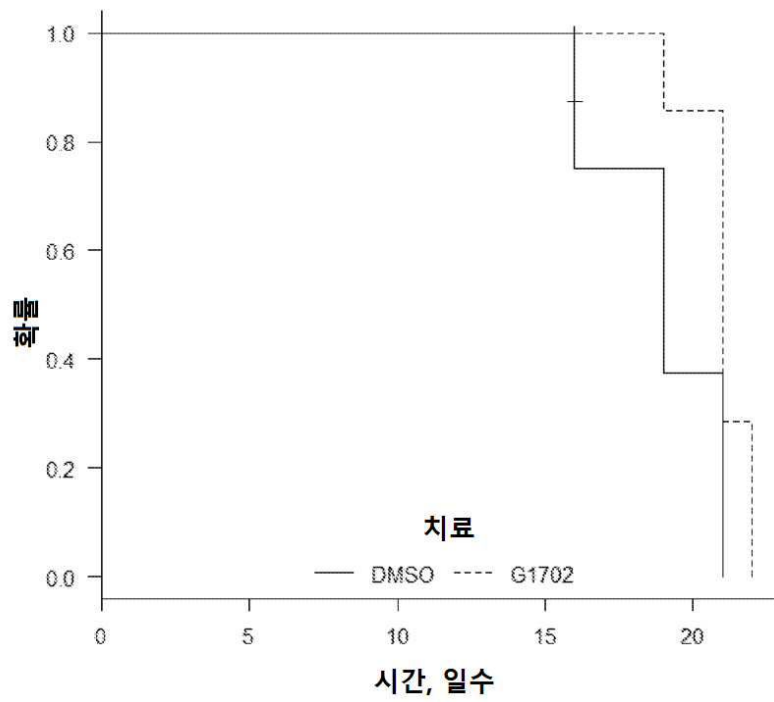
도면4

	증식된 집단 의 백분율	변화		증식된 집단 의 백분율	변화
T-eff 단독	47.79	-	T-eff + T-reg	38.95	-
T-eff + 1702 (5uM)	61.61	47.4% ↑	T-eff + T-reg + 1702 (5uM)	52.34	34.4% ↑
T-eff + 1702 (25uM)	67.57	61.7% ↑	T-eff + T-reg + 1702 (25uM)	76.63	96.7% ↑
T-eff + 1702 (50uM)	63.52	52% ↑	T-eff + T-reg + 1702 (50uM)	80.66	107.1% ↑
T-eff + 1704 (5uM)	41.37	0.01% ↓	T-eff + T-reg + 1704 (5uM)	37.99	0.02% ↓
T-eff + 1704 (25uM)	40.27	0.04% ↓	T-eff + T-reg + 1704 (25uM)	25.74	33.9% ↓
T-eff + 1704 (50uM)	25.43	39.1% ↓	T-eff + T-reg + 1704 (50uM)	17.17	55.9% ↓

도면5

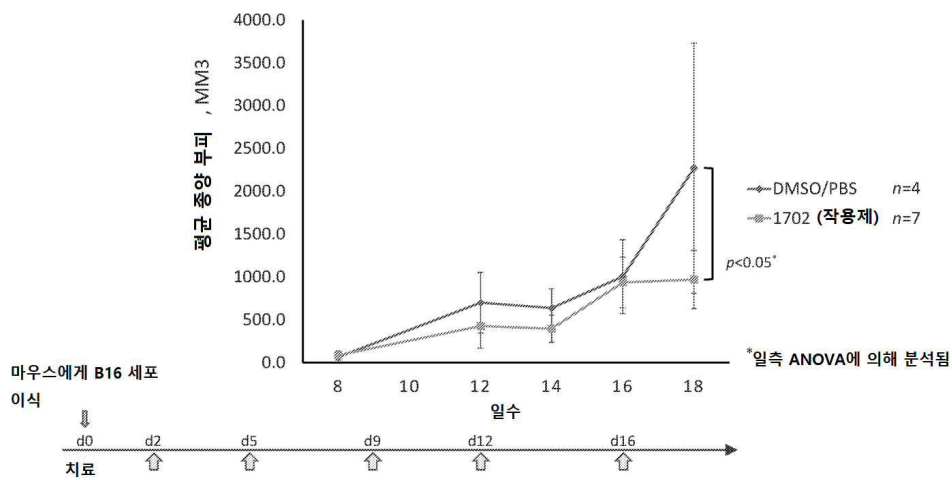


도면6a



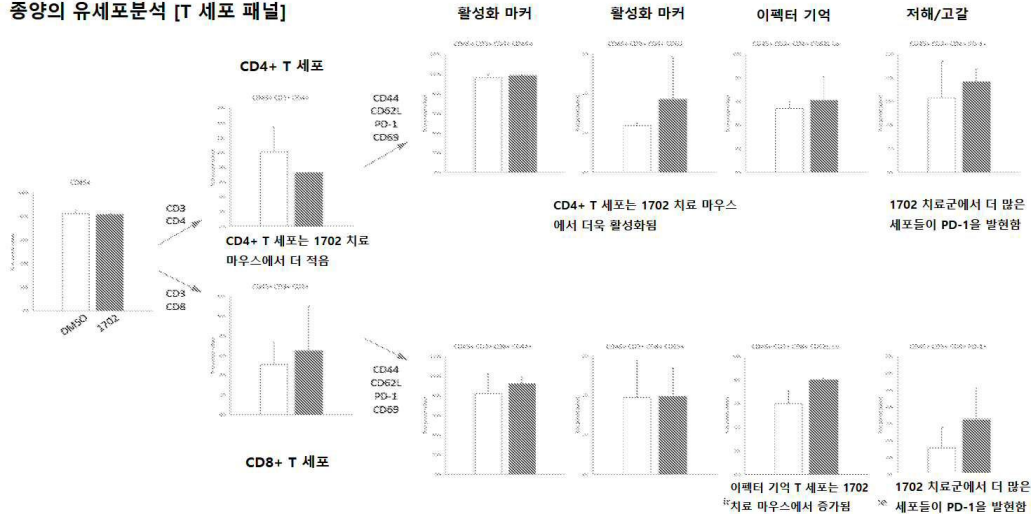
도면6b

평균 종양 부피 (제18일까지 생존한 11 마리의 마우스에 대해서만)



도면6c

종양의 유세포분석 [T 세포 패널]



서열 목록

- <110> Cedars-Sinai Medical Center
- <120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING CANCER AND AUTOIMMUNE DISEASES
- <130> 13500-04PCT2
- <150> 62/716,101
- <151> 2018-08-08
- <160> 5
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 395
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> agonist to GITR/GITRL
- <400> 1

Gly Ala Met Ala Ser Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys Met Ala

1 5 10 15

Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser Glu Pro

20 25 30

Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu Gln Asn

35 40 45

Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn Tyr Asn

50 55 60
 Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys Asp Met Ile
 65 70 75 80
 Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly Thr Tyr
 85 90 95

 Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser Glu His
 100 105 110
 Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu Ala Asn
 115 120 125
 Pro Gln Phe Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Lys Glu Pro
 130 135 140
 Cys Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser
 145 150 155 160
 Ser Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile

 165 170 175
 Leu Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala
 180 185 190
 Asn Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys
 195 200 205
 Asp Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly
 210 215 220
 Gly Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn
 225 230 235 240

 Ser Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu
 245 250 255
 Leu Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
 260 265 270
 Lys Glu Pro Cys Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln
 275 280 285
 Met Ala Ser Ser Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys
 290 295 300

Leu Glu Ile Leu Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala

305 310 315 320

Pro Asn Ala Asn Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr

325 330 335

Lys Asn Lys Asp Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln

340 345 350

Asn Val Gly Gly Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu

355 360 365

Ile Phe Asn Ser Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly

370 375 380

Ile Ile Leu Leu Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser

385 390 395

<210> 2

<211> 671

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> agonist of GITR/GITRL

<400> 2

Thr Gly Gly Arg Asn Ser Ile Arg Tyr Ser Glu Leu Ala Pro Leu Phe

1 5 10 15

Asp Thr Thr Arg Val Tyr Leu Val Asp Asn Lys Ser Thr Asp Val Ala

20 25 30

Ser Leu Asn Tyr Gln Asn Asp His Ser Asn Phe Leu Thr Thr Val Ile

35 40 45

Gln Asn Asn Asp Tyr Ser Pro Gly Glu Ala Ser Thr Gln Thr Ile Asn

50 55 60

Leu Asp Asp Arg Ser His Trp Gly Gly Asp Leu Lys Thr Ile Leu His

65 70 75 80

Thr Asn Met Pro Asn Val Asn Glu Phe Met Phe Thr Asn Lys Phe Lys

85 90 95

Ala Arg Val Met Val Ser Arg Ser Leu Thr Lys Asp Lys Gln Val Glu

100	105	110	
Leu Lys Tyr Glu Trp Val Glu Phe Thr Leu Pro Glu Gly Asn Tyr Ser			
115	120	125	
Glu Thr Met Thr Ile Asp Leu Met Asn Asn Ala Ile Val Glu His Tyr			
130	135	140	
Leu Lys Val Gly Arg Gln Asn Gly Val Leu Glu Ser Asp Ile Gly Val			
145	150	155	160
Lys Phe Asp Thr Arg Asn Phe Arg Leu Gly Phe Asp Pro Val Thr Gly			
165	170	175	
Leu Val Met Pro Gly Val Tyr Thr Asn Glu Ala Phe His Pro Asp Ile			
180	185	190	
Ile Leu Leu Pro Gly Cys Gly Val Asp Phe Thr His Ser Arg Leu Ser			
195	200	205	
Asn Leu Leu Gly Ile Arg Lys Arg Gln Pro Phe Gln Glu Gly Phe Arg			
210	215	220	
Ile Thr Tyr Asp Asp Leu Glu Gly Gly Asn Ile Pro Ala Leu Leu Asp			
225	230	235	240
Val Asp Ala Tyr Gln Ala Ser Leu Lys Asp Asp Thr Glu Gln Gly Gly			
245	250	255	
Asp Gly Ala Gly Gly Gly Asn Asn Ser Gly Ser Gly Ala Glu Glu Asn			
260	265	270	
Ser Asn Ala Ala Ala Ala Ala Met Gln Pro Val Glu Asp Met Asn Asp			
275	280	285	
His Ala Ile Asn Gly Ser Thr Phe Ala Thr Arg Ala Glu Glu Lys Arg			
290	295	300	
Ala Glu Ala Glu Ala Ala Ala Glu Ala Ala Ala Pro Ala Ala Gln Pro			
305	310	315	320
Glu Val Glu Lys Pro Gln Lys Lys Pro Val Ile Lys Pro Leu Thr Glu			
325	330	335	
Asp Ser Lys Lys Arg Ser Tyr Asn Leu Ile Ser Asn Asp Ser Thr Phe			
340	345	350	

Thr Gln Tyr Arg Ser Trp Tyr Leu Ala Tyr Asn Tyr Gly Asp Pro Gln
 355 360 365
 Thr Gly Ile Arg Ser Trp Thr Leu Leu Cys Thr Pro Asp Val Thr Cys
 370 375 380
 Gly Ser Glu Gln Val Tyr Trp Ser Leu Pro Asp Met Met Gln Asp Pro
 385 390 395 400

 Val Thr Phe Arg Ser Thr Ser Gln Ile Ser Asn Phe Pro Val Val Gly
 405 410 415
 Ala Glu Leu Leu Pro Val His Ser Lys Ser Phe Tyr Asn Asp Gln Ala
 420 425 430
 Val Tyr Ser Gln Leu Ile Arg Gln Phe Thr Ser Leu Thr His Val Phe
 435 440 445
 Asn Arg Phe Pro Glu Asn Gln Ile Leu Ala Arg Pro Pro Ala Pro Thr
 450 455 460
 Ile Thr Thr Val Ser Glu Asn Val Pro Ala Leu Thr Asp His Gly Thr

 465 470 475 480
 Leu Pro Leu Arg Asn Ser Ile Gly Gly Val Gln Arg Val Thr Ile Thr
 485 490 495
 Asp Ala Arg Arg Arg Thr Cys Pro Tyr Val Tyr Lys Ala Leu Gly Ile
 500 505 510
 Val Ser Pro Arg Val Leu Ser Ser Arg Thr Gly Ser Gly Ser Gly Ser
 515 520 525
 Gly Ser Gly Ala Met Ala Ser Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys
 530 535 540

 Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser
 545 550 555 560
 Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu
 565 570 575
 Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn
 580 585 590
 Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys Asp
 595 600 605

Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly

610 615 620

Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser

625 630 635 640

Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu

645 650 655

Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser Gly Ser His His His His His His

660 665 670

<210> 3

<211> 199

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> wild type GITRL

<400> 3

Met Thr Leu His Pro Ser Pro Ile Thr Cys Glu Phe Leu Phe Ser Thr

1 5 10 15

Ala Leu Ile Ser Pro Lys Met Cys Leu Ser His Leu Glu Asn Met Pro

20 25 30

Leu Ser His Ser Arg Thr Gln Gly Ala Gln Arg Ser Ser Trp Lys Leu

35 40 45

Trp Leu Phe Cys Ser Ile Val Met Leu Leu Phe Leu Cys Ser Phe Ser

50 55 60

Trp Leu Ile Phe Ile Phe Leu Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys

65 70 75 80

Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser

85 90 95

Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu

100 105 110

Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn

115 120 125

Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys Asp

130 135 140
Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly
145 150 155 160
Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser
165 170 175
Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu
180 185 190
Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser

195
<210> 4
<211> 123

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> agonist to G1TR/G1TRL
<400> 4

Lys Glu Pro Cys Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln
1 5 10 15
Met Ala Ser Ser Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys
20 25 30
Leu Glu Ile Leu Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala
35 40 45
Pro Asn Ala Asn Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr

50 55 60
Lys Asn Lys Asp Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln
65 70 75 80
Asn Val Gly Gly Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu
85 90 95
Ile Phe Asn Ser Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly
100 105 110
Ile Ile Leu Leu Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser
115 120

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1

5