(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0082344
(43) 공개일자 2024년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/64 (2017.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01) *C07K 7/64* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6455 (2017.08)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7010933
(22) 출원일자(국제) 2022년08월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/075691
(87) 국제공개번호 WO 2023/034817
국제공개일자 2023년03월09일
(30) 우선권주장
63/239,645 2021년09월01일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
엔트라다 테라퓨틱스, 인크.
미국 02210 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
(72) 발명자
리, 시앙
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
치앤, 즈칭
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

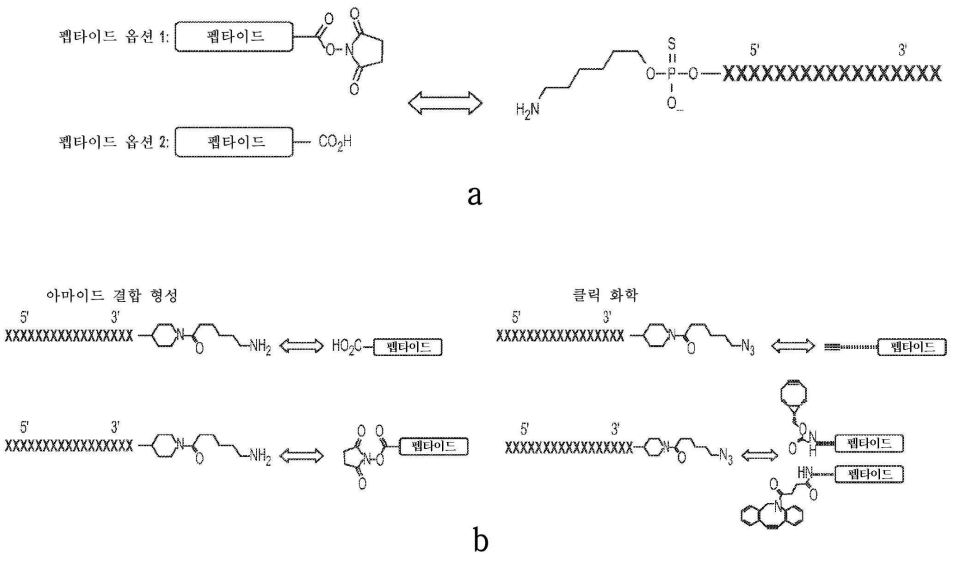
전체 청구항 수 : 총 58 항

(54) 발명의 명칭 **뒤센 근이영양증에서 엑손 44를 스키핑하기 위한 화합물 및 방법**

(57) 요 약

다양한 실시형태에서 (a) 환식 펩타이드; 및 (b) 안티센스 화합물을 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재되되, 안티센스 화합물은 pre-mRNA 서열의 DMD 유전자의 엑손 44를 표적으로 한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 21/00 (2018.01)
C07K 7/64 (2013.01)
C12N 15/113 (2013.01)
C12N 2310/11 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/3231 (2013.01)
C12N 2310/3233 (2013.01)
C12N 2310/3513 (2013.01)

(72) 발명자
케이라바디, 마보베
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
위스크, 마크
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
세투라만, 나타라잔
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
리안, 웬롱
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
기르겐라스, 마스웨타
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500
에스트렐라, 넬사
미국 매사추세츠 보스턴 원 디자인 센터 플레이스 스위트 17-500

(30) 우선권주장
63/239,671 2021년09월01일 미국(US)
63/290,960 2021년12월17일 미국(US)
63/292,685 2021년12월22일 미국(US)
63/298,565 2022년01월11일 미국(US)
63/268,577 2022년02월25일 미국(US)
63/268,580 2022년02월25일 미국(US)
63/362,294 2022년03월31일 미국(US)
63/362,423 2022년04월04일 미국(US)
63/337,560 2022년05월02일 미국(US)
63/354,456 2022년06월22일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

화합물로서,

(a) 환식 펩타이드; 및

(b) pre-mRNA 서열의 *DMD* 유전자의 엑손 44의 적어도 일부를 포함하는 표적 서열과 상보적인 안티센스 화합물(antisense compound: AC)

을 포함하는, 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 AC는 포스포로티오에이트(PS) 뉴클레오타이드, 포스포로다이아미데이트 모폴리노 뉴클레오타이드(PMO), 잠금 핵산(LNA), 펩타이드 핵산(PNA), 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 백본을 포함하는 뉴클레오타이드, 2'O-메톡시-에틸(2'-MOE) 뉴클레오타이드, 2',4' 제한 에틸(constrained ethyl: cEt) 뉴클레오타이드 또는 2'-데옥시-2'-플루오로-베타-D-아라비노핵산(2'F-ANA)을 포함하는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드 또는 핵산을 포함하는, 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 AC는 15개 내지 30개의 핵산을 포함하는, 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 상기 AC의 3' 말단에 접합된, 화합물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 상기 AC의 5' 말단에 접합된, 화합물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 상기 AC의 백본에 접합된, 화합물.

청구항 7

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드를 상기 AC에 접합시키는 링커를 추가로 포함하는, 화합물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 링커는 상기 AC의 5' 말단에 공유적으로 결합되는, 화합물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 링커는 상기 AC의 3' 말단에 공유적으로 결합되는, 화합물.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 링커는 상기 AC의 백본에 공유적으로 결합되는, 화합물.

청구항 11

제7항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 상기 환식 펩타이드에 존재하는 아미노산의 측쇄에 공유적으로 결합되는, 화합물.

청구항 12

제7항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 2가 또는 3가 C_1-C_{50} 알킬렌이되, 1개 내지 25개의 메틸렌기는 선택적으로 그리고 독립적으로 -N(H)-, -N(C_1-C_4 알킬)-, -N(사이클로알킬)-, -O-, -C(O)-, -C(O)O-, -S-, -S(O)-, -S(O)$_2$-, -S(O)$_2$N(C_1-C_4 알킬)-, -S(O)$_2$N(사이클로알킬)-, -N(H)C(O)-, -N(C_1-C_4 알킬)C(O)-, -N(사이클로알킬)C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(C_1-C_4 알킬), -C(O)N(사이클로알킬), 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 사이클로알켄일로 대체되는, 화합물.

청구항 13

제7항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는,

(i) 각각 선택적으로 치환된 하나 이상의 D 또는 L 아미노산 잔기;

(ii) 선택적으로 치환된 알킬렌;

(iii) 선택적으로 치환된 알켄일렌;

(iv) 선택적으로 치환된 알킨일렌;

(v) 선택적으로 치환된 카보사이클릴;

(vi) 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴;

(vii) 하나 이상의 -(R^{1}-J-R^{2})z"- 서브유닛으로서, 각각의 R^{1} 및 R^{2}는 각 경우에 독립적으로 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 및 헤테로사이클릴로부터 선택되고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, -NR^{3}C(O)-, S 및 O이고, R^{3}은 독립적으로 H, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 및 헤테로사이클릴로부터 선택되고, 이들 각각은 선택적으로 치환되고, z"는 1 내지 50의 정수인, 상기 -(R^{1}-J-R^{2})z"- 서브유닛;

(viii) -(R^{1}-J)z"- 또는 -(J-R^{1})z"-로서, 각각의 R^{1}은 각 경우에 독립적으로 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, -NR^{3}C(O)-, S 또는 O이고, R^{3}은 H, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이고, 이들 각각은 선택적으로 치환되고, z"는 1 내지 50의 정수인, 상기 -(R^{1}-J)z"- 또는 -(J-R^{1})z"; 또는

(ix) 이들의 조합

을 포함하는, 화합물.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 링커는,

(i) β 알라닌 및 라이신 잔기;

(ii) -(J-R^{1})z;

(iii) -(J-R^{2})x, 또는

(iv) 이들의 조합

을 포함하는, 화합물.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 각각의 R^{1} 및 R^{2}는 독립적으로 알킬렌이고, 각각의 J는 O이고, 각각의 x는 독립적으로 1 내지 20의 정수이고, 각각의 z는 독립적으로 1 내지 20의 정수인, 화합물.

청구항 16

제7항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는,

(i) $-(OCH_2CH_2)_x-$ 서브유닛으로서, x는 1 내지 20의 정수인, 상기 $-(OCH_2CH_2)_x-$ 서브유닛;

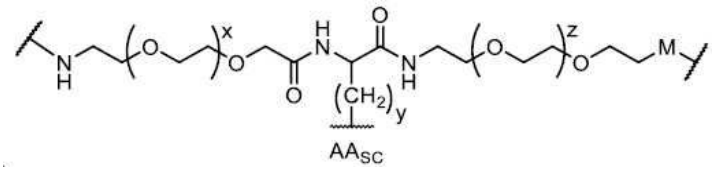
(ii) 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산, 5-아미노펜탄산 또는 6-아미노펜탄산 또는 이들의 조합 중 하나 이상의 잔기; 또는

(iii) (i)과 (ii)의 조합

을 포함하는, 화합물.

청구항 17

제7항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커는 하기 구조를 갖는, 화합물:



식 중,

x는 1 내지 20의 정수이고;

y는 1 내지 5의 정수이고;

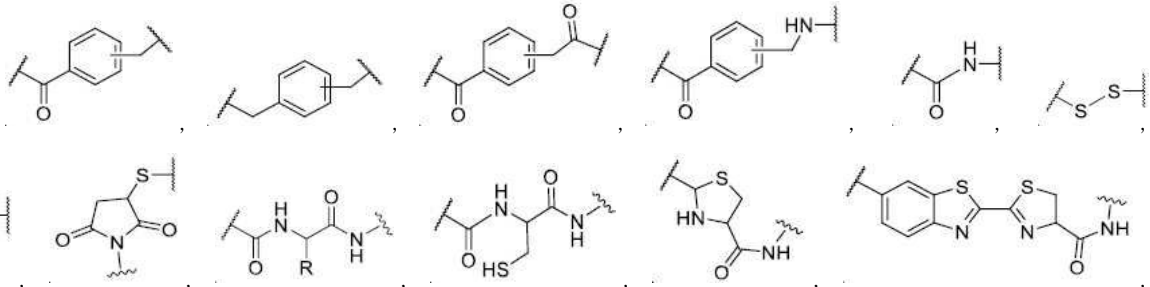
z는 1 내지 20의 정수이고;

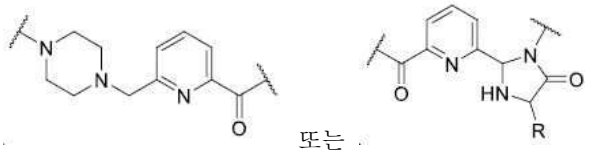
M은 결합 모이어티이고; 그리고

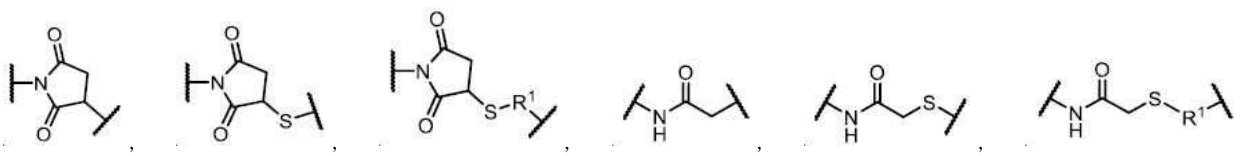
AA_{SC}는 상기 환식 펩타이드의 아미노산 잔기이다.

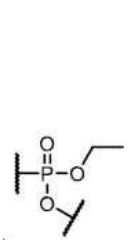
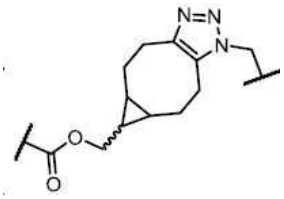
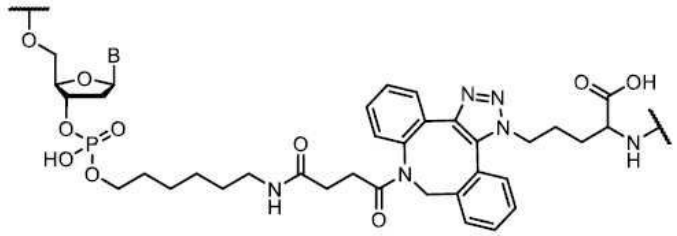
청구항 18

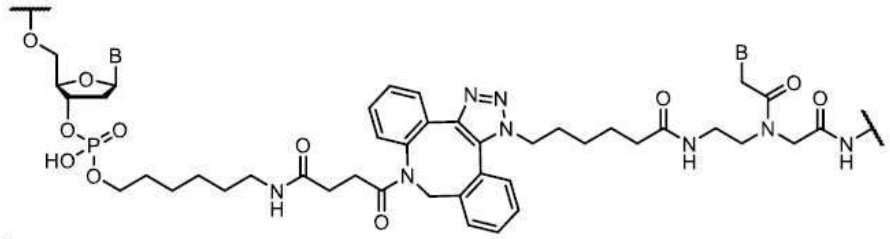
제17항에 있어서, 상기 M은,

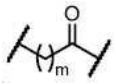
-C(O)-, 

 또는 이고, 식 중, R은 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이거나; M은




,

,

또는


이고,

식 중, R^1은 알킬렌, 사이클로알킬 또는  이되, m은 0 내지 10이고, 각각의 R은 독립적으로 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이고, 각각의 B는 독립적으로 핵염기로부터 선택되는, 화합물.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 M은 -C(O)-인, 화합물.

청구항 20

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, z는 11인, 화합물.

청구항 21

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, x는 1인, 화합물.

청구항 22

제17항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 링커의 아미노기에서 상기 링커에 접합된 환외 펩타이드(exocyclic peptide: EP)를 포함하는, 화합물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 EP는 2개 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 상기 EP는 4개 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 25

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산을 포함하는, 화합물.

청구항 26

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EP는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 라이신 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 27

제26항에 있어서, 각 라이신 잔기의 측쇄 상의 아미노기는 트라이플루오로아세틸(-$COCF_3$)기, 알릴옥시카보닐(Alloc), 1-(4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde) 또는 (4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로

헥스-1-일리덴-3)-메틸뷰틸(ivDde)기로 치환되는, 화합물.

청구항 28

제22항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환외 펩타이드(EP)는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신 및 메티오닌으로부터 선택되는, 화합물.

청구항 30

제23항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환외 펩타이드는 다음 서열 중 하나를 포함하는, 화합물:

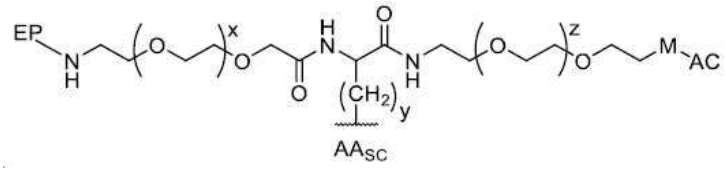
PKKKRKV; KR; RR; KKK; KGK; KBK; KBR; KRK; KRR; RKK; RRR; KKKK; KKRK; KRKK; KRRK; RKKR; RRRR; KGKK; KKGK; KKKKK; KKKRK; KBKBK; KKKRKV; PGKKRKV; PKGKRKV; PKKGRKV; PKKKGKV; PKKKRGV; 또는 PKKKRKG.

청구항 31

제22항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환외 펩타이드는 구조: Ac-P-K-K-K-R-K-V-를 갖는, 화합물.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 다음 구조를 포함하는, 화합물:



식 중,

x는 1 내지 20의 정수이고;

y는 1 내지 5의 정수이고;

z는 1 내지 20의 정수이고;

EP는 환외 펩타이드이고;

M은 결합 모이어티이고;

AC는 안티센스 화합물이고; 그리고

AA_{SC}는 상기 환식 펩타이드의 아미노산 잔기이다.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 4개 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함하되, 적어도 2개의 아미노산 잔기는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하고, 적어도 2개의 아미노산 잔기는 독립적으로 소수성 측쇄를 포함하는, 화합물.

청구항 34

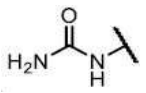
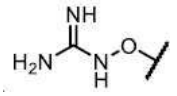
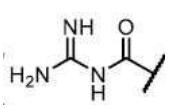
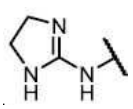
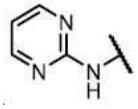
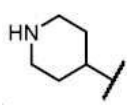
제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 35

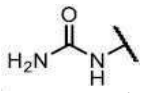
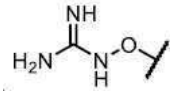
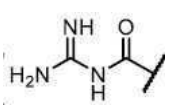
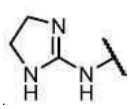
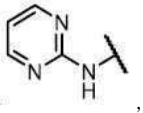
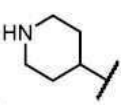
제33항 또는 제34항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 소수성 측쇄를 포함하는 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 잔

기를 포함하는, 화합물.

청구항 36

제33항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는  ,  ,  ,  ,  ,  또는  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 적어도 하나의 아미노산을 포함하는, 화합물.

청구항 37

제33항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는  ,  ,  ,  ,  ,  또는  또는 이의 양성자화된 형태로부터 선택되는 측쇄를 포함하는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 아미노산을 포함하는, 화합물.

청구항 38

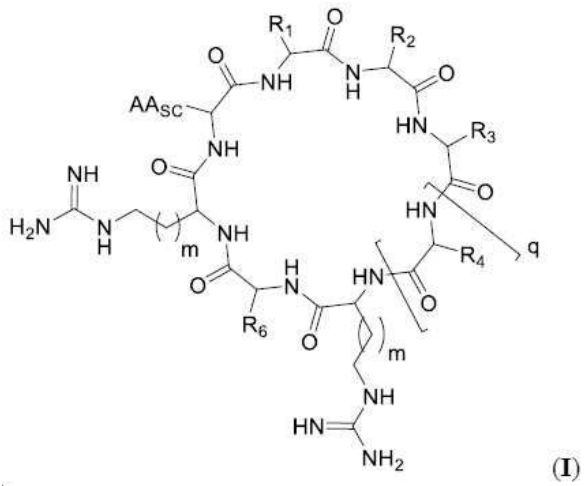
제33항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 적어도 하나의 글리신 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 39

제33항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 글리신 잔기를 포함하는, 화합물.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 하기 화학식 (I) 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는, 화합물:



(I)

식 중,

R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

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

R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

q는 1, 2, 3 또는 4이고; 그리고

각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이다.

청구항 41

제40항에 있어서, R_4는 H, 또는 아릴 또는 헤테로아릴기를 포함하는 측쇄인, 화합물.

청구항 42

제40항 또는 제41항에 있어서, 상기 아릴기를 포함하는 측쇄는 페닐알라닌의 측쇄인, 화합물.

청구항 43

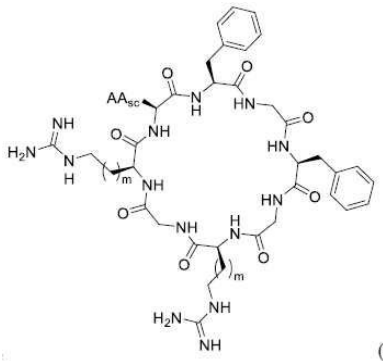
제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 2개는 페닐알라닌의 측쇄를 포함하는, 화합물.

청구항 44

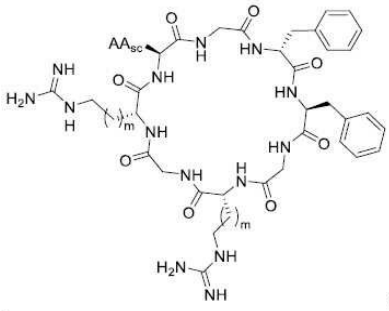
제40항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 2개는 H인, 화합물.

청구항 45

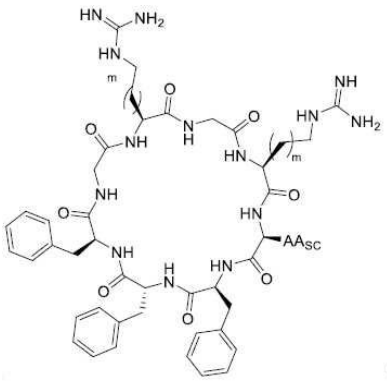
제40항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 하기 화학식 (I-1), (I-2), (I-3) 또는 (I-4)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는, 화합물:



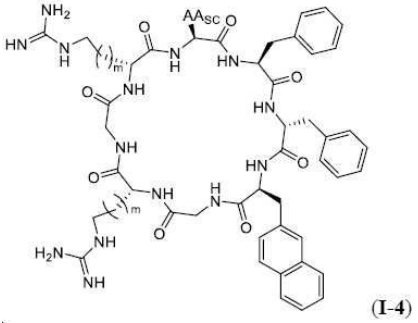
(I-1),



(I-2),



(I-3),



(I-4)

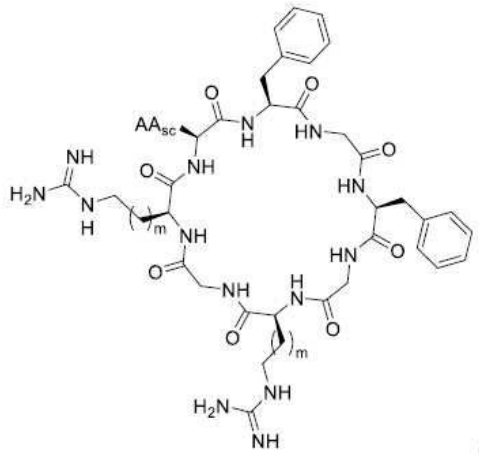
식 중,

AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고; 그리고

각각의 m은 독립적으로 및 0 내지 3의 정수이다.

청구항 46

제40항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 하기 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는, 화합물:



(I-1)

식 중,

AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고; 그리고

각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이다.

청구항 47

제40항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, AA_{SC}는 아스파라긴 잔기, 아스파테이트 잔기, 글루타민 잔기, 글루타메이트 잔기, 호모글루타메이트 잔기 또는 호모글루타민 잔기의 측쇄를 포함하는, 화합물.

청구항 48

제40항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, AA_{SC}는 글루타민의 측쇄를 포함하는, 화합물.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AC는 **표 6A** 내지 **표 6M**으로부터의 서열, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는, 화합물.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AC는 서열: 5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'를 포함하는, 화합물.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 FGFGRGRQ를 포함하는, 화합물.

청구항 52

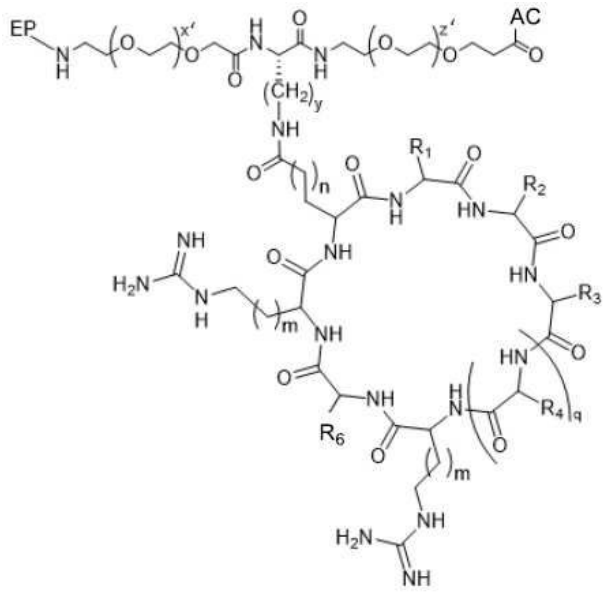
제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 GfFGrGrQ를 포함하는, 화합물.

청구항 53

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환식 펩타이드는 FfΦGRGRQ를 포함하는, 화합물.

청구항 54

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (C)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 갖는, 화합물:



(C)

식 중,

R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

EP는 본 명세서에 정의된 바와 같은 환외 펩타이드이고;

각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

n은 0 내지 2의 정수이고;

x'는 2 내지 20의 정수이고;

y는 1 내지 5의 정수이고;

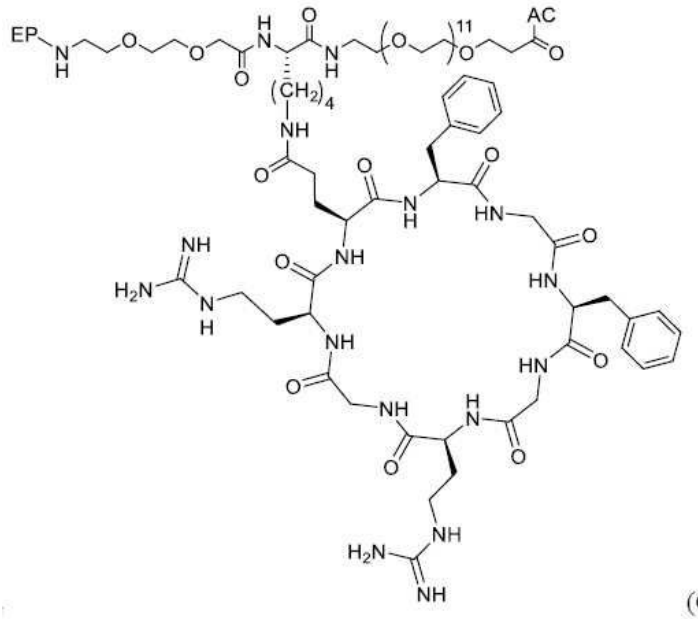
q는 1 내지 4의 정수이고;

z'는 2 내지 20의 정수이고;

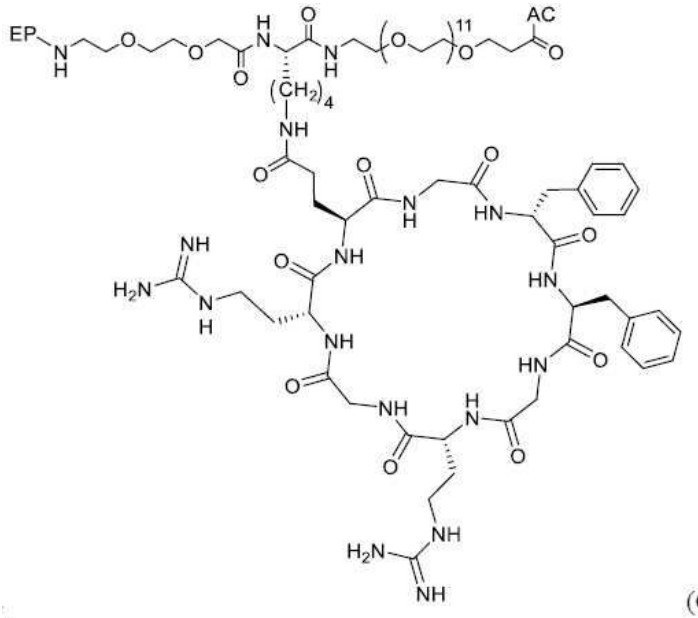
상기 AC는 pre-mRNA 서열의 *DMD* 유전자의 엑손 44의 적어도 일부를 포함하는 표적 서열과 상보적인 15개 내지 30개 핵산의 서열을 포함한다.

청구항 55

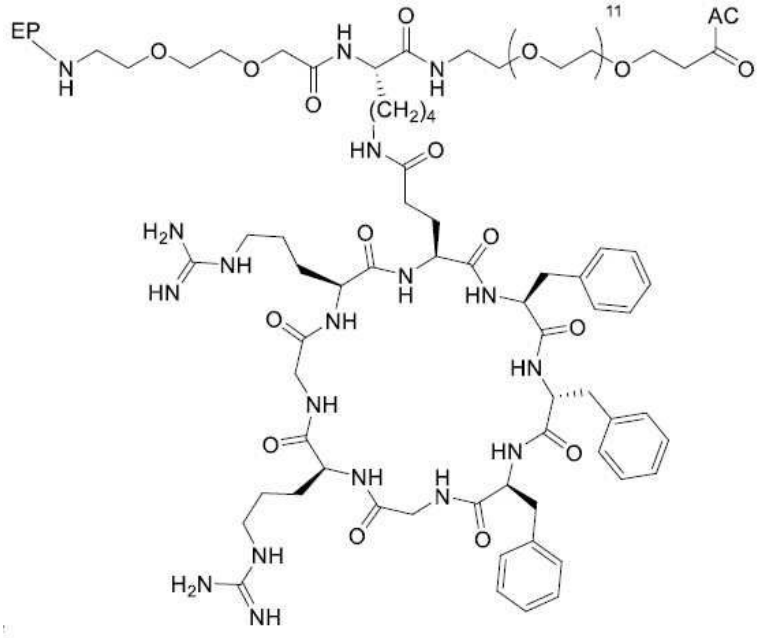
제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 화학식 (C-1), 화학식 (C-2), 화학식 (C-3) 또는 화학식 (C-4)의 구조:



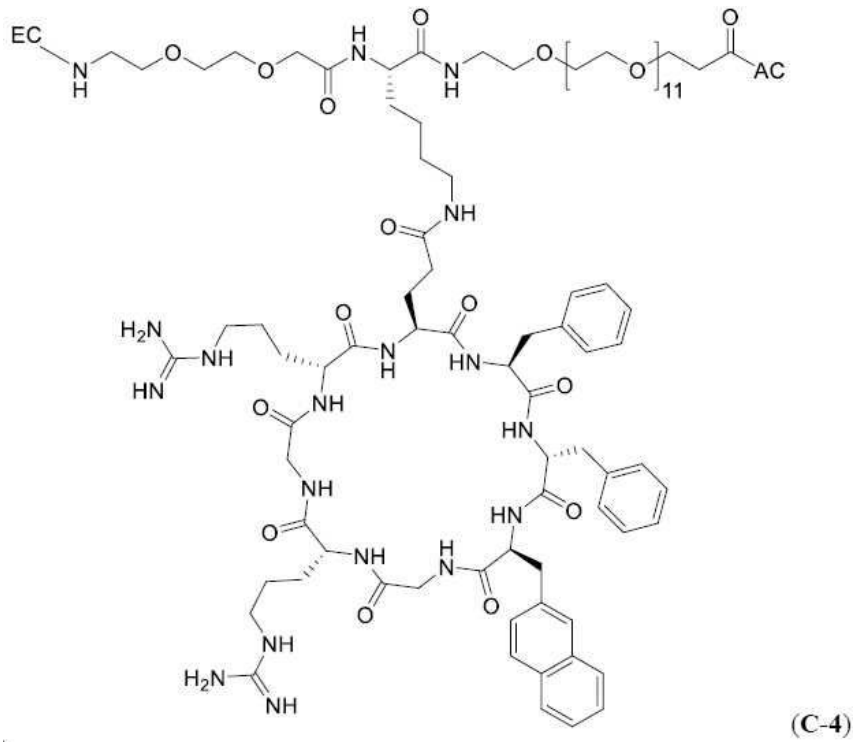
(C-1),



(C-2),



(C-3),



(C-4)

또는 이의 양성자화된 형태를 포함하되;

pre-mRNA 서열의 *DMD* 유전자의 엑손 44의 적어도 일부를 포함하는 표적 서열과 상보적인 15개 내지 30개 핵산의 서열을 포함하는, 화합물.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 57

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 세포.

청구항 58

DMD를 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제55항 중 어느 한 항의 화합물을 상기 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2021년 9월 1일자로 출원된 미국 특(허 가출원 제63/239,645호, 2022년 12월 22일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/292,685호, 2022년 2월 25일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/268,580호, 2022년 3월 31일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/362,294호, 2022년 4월 4일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/362,423호, 2022년 5월 2일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/337,560호, 2022년 6월 22일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/354,456호, 2021년 9월 1일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/239,671호, 2021년 12월 17일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/290,960호, 2022년 1월 11일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/298,565호 및 2022년 2월 25일자로 출원된 미국 특허 가출원 제63/268,577호의 출원일에 대한 우선권을 주장하며, 이들 기초출원의 내용은 전체가 참조에 의해 본 명세서에 특별히 원용된다.

배 경 기 술

[0002] 뒤센 근이영양증(Duchenne Muscular Dystrophy: DMD)은 단백질 디스트로핀의 변화로 인한 진행성 근육 퇴화 및 약화를 특징으로 하는 유전적 장애이다. 디스트로핀을 암호화하는 유전자인 *DMD*의 유전적 변형이 DMD를 유발한

다. 이러한 유전적 변형은 *DMD*의 리딩 프레임을 이동시켜 비기능적 절단 DMD 단백질을 생성한다. DMD 환자를 치료하는 한 가지 방법은 *DMD*의 리딩 프레임을 복원하는 화합물을 환자에게 전달하는 것을 수반한다. 안티센스 화합물은 비기능적 절단 DMD 단백질을 생성하는 *DMD*의 리딩 프레임의 이동과 연관된 내부 엑손 스키핑(skipping)에 의해 *DMD*의 리딩 프레임을 복원할 수 있다. 엑손 스키핑은 질환 상태에서 상실된 기능을 유지하는 디스트로핀 단백질을 생성한다.

[0003] 안티센스 올리고뉴클레오타이드 치료제의 사용에 있어서 중요한 문제는 전신 투여될 때 세포내 구획에 접근하는 능력이 제한된다는 점이다. 안티센스 화합물의 세포내 전달은 중합체, 양이온성 리포솜과 같은 운반체 시스템의 사용 또는 작제물의 화학적 변형, 예를 들어, 콜레스테롤 분자의 공유 부착에 의해 용이해질 수 있다. 그러나, 세포내 전달 효율은 여전히 낮으며, 이들 안티센스 화합물의 효능을 증가시키기 위한 개선된 전달 시스템이 여전히 필요하다.

[0004] 예를 들어, 비정상적 유전자 전사, 스플라이싱 및/또는 번역에 의해 유발되는 질환을 치료하기 위해 안티센스 화합물을 세포내 구획으로 전달하는 효과적인 조성물에 대한 충족되지 않은 요구가 있다.

발명의 내용

[0005] 핵산을 전달하기 위한 화합물이 본 명세서에 기재된다. 실시형태에서, 핵산은 안티센스 화합물(antisense compound: AC)이다. 실시형태에서, 안티센스 화합물은 뒤센 근이영양증(DMD)이 있는 대상체에서 엑손 44를 표적으로 한다.

[0006] 본 개시내용은,

[0007] (a) 세포 침투 펩타이드(cell penetrating peptide: CPP) 서열(예를 들어, 환식 펩타이드); 및

[0008] (b) pre-mRNA 서열에서 *DMD* 유전자의 엑손 44의 적어도 일부를 포함하는 표적 서열과 상보적인 안티센스 화합물(AC)

[0009] 을 포함하는 화합물에 관한 것이다. 실시형태에서, AC는 pre-mRNA 서열에서 *DMD* 유전자의 엑손 44의 적어도 일부, pre-mRNA 서열에서 *DMD* 유전자의 엑손 44에 측접하는 인트론 서열의 적어도 일부 또는 둘 다를 포함하는 표적 서열과 상보적이다. 실시형태에서, AC와 표적 서열의 혼성화는 *DMD* pre-mRNA의 스플라이싱 패턴을 변경하여 리딩 프레임을 복원하고 기능적 디스트로핀 단백질의 생산을 가능하게 한다.

[0010] 실시형태에서, AC는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드 또는 포스포로티오에이트(PS) 뉴클레오타이드, 포스포로다이아미데이트 모폴리노(PMO) 뉴클레오타이드, 잠금 핵산(LNA), 펩타이드 핵산(PNA), 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 백본, 2'O-메톡시-에틸(2'-MOE) 뉴클레오타이드, 2',4' 제한 에틸(constrained ethyl: cEt) 뉴클레오타이드 및 2'-데옥시-2'-플루오로-베타-D-아라비노핵산(2'F-ANA)을 포함하는 뉴클레오타이드로부터 선택되는 핵산을 포함한다. 실시형태에서, AC는 적어도 하나의 PMO(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개의 PMO, 그 안의 모든 범위를 포함)를 포함한다. 실시형태에서, AC의 각 뉴클레오타이드는 PMO이다.

[0011] 실시형태에서, AC는 다음 서열을 포함한다:

[0012] 5'-AAA CGC CGC CAT TTC TCA ACA GAT C-3'.

[0013] 실시형태에서, 환식 펩타이드는 FGFGRGRQ이다. 실시형태에서, 환식 펩타이드는 GfFGrGrQ이다. 실시형태에서, 환식 펩타이드는 FfΦGRGRQ이다.

[0014] 실시형태에서, EEV는 Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys-(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG12-OH이다.

[0015] 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 화합물을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0016] 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 화합물을 포함하는 세포에 관한 것이다.

[0017] 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 화합물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 DMD를 치료하는 방법에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0018] **도 1a** 및 **도 1b**는 치료적 모이어티, 예를 들어, 안티센스 화합물(AC)을 세포 침투 펩타이드(CPP)에 연결하기 위한 접합 화학을 보여준다. CPP는 AC의 5' 말단, 3' 말단 또는 백본에 접합될 수 있다.

도 2a 및 **도 2b**는 펩타이드로 나타낸 세포 침투 펩타이드(CPP)와 안티센스 화합물(AC)을 연결하기 위한 접합 화학을 보여주며, 여기서 CPP는 PEG4 링커를 포함하고, AC는 폴리에틸렌 글리콜(PEG2 또는 미니PeG) 모이어티를 포함하는 링커를 포함하지 않는 것(도 2a)과 포함하는 것(도 2b)을 보여준다. 도면에서 "R"은 팔미토일기를 나타낸다.

도 3은 대표적인 CPP를 사용한 엔도솜 탈출 비히클(endosomal escape vehicle: EEV) 디자인의 예를 보여준다. CPP는 본 명세서에 개시된 임의의 CPP를 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

도 4a는 EEV-PMO-MDX-23-1의 제조의 개략도를 보여준다. **도 4b**는 PMO-MDX-23-1로 처리된 마우스와 비교하여, EEV-PMO-MDX-23-1로 처리된 마우스가 내부 엑손인 엑손 23이 결여된 디스트로핀을 생산하였음을 보여주는 RT-PCR 분석이다. **도 4c**는 PMO-MDX-23-1 및 EEV-PMO-MDX-23-1의 투여 후 다양한 처리된 근육 그룹에서의 디스트로핀 엑손 스키핑 산물을 보여준다.

도 5a 내지 **도 5d**는 PMO-MDX-23-1 또는 EEV-PMO-MDX-23-1의 전달 후 대퇴사두근(**도 5a**), 전경골(tibialis anterior: TA)(**도 5b**), 횡경막(**도 5c**) 및 심장(**도 5d**)에서 MDX 마우스의 엑손 스키핑의 백분율을 보여준다.

도 6a 내지 **도 6d**는 EEV-PMO-MDX-23-1의 전달 후 전경골(TA)(**도 6a**), 대퇴사두근(**도 6b**), 횡경막(**도 6c**) 및 심장(**도 6d**)에서 MDX 마우스의 엑손 23 스플라이싱의 백분율을 보여준다.

도 7a 내지 **도 7d**는 PMO-MDX-23-1 또는 EEV-PMO-MDX-23-1의 전달 후 대퇴사두근(**도 7a**), 전경골(TA)(**도 7b**), 횡경막(**도 7c**) 및 심장(**도 7d**)에서 웨스턴 블롯에 의해 검출된 엑손 23 교정된 디스트로핀의 양을 보여준다.

도 8a 내지 **도 8d**는 10mpk 또는 30mpk EEV-PMO-MDX-23-1의 정맥내 전달 후 횡경막(**도 8a**), 심장(**도 8b**), 대퇴사두근(**도 8c**) 및 전경골(**도 8d**)에서 엑손 23 교정된 디스트로핀 및 α-액티닌의 웨스턴 블롯을 보여준다.

도 9a 내지 **도 9b**는 30mpk EEV-PMO-MDX-23-1 또는 30mpk PMO-MDX-23-1로 처리된 후 2주(**도 9a**) 및 4주(**도 9b**)에 MDX 마우스에서의 디스트로핀 수준을 보여준다.

도 10a 내지 **도 10d**는 30mpk의 PMO-MDX-23-1 또는 30mpk의 EEV-PMO-MDX-23-1이 투여된 MDX 마우스의 전경골(**도 10a**), 대퇴사두근(**도 10b**), 횡경막(**도 10c**) 및 심장(**도 10d**)에서의 엑손 23 교정의 백분율을 보여준다. EEV-PMO-MDX-23-1이 투여된 마우스는 PMO-MDX-23-1이 단독으로 투여된 마우스에 비해 향상된 스플라이싱 교정을 나타내었다.

도 11a 내지 **도 11c**는 *mdx* 마우스에서 EEV-PMO-MDX-23-1의 단일 IV 투여(40 mg/kg) 후 최대 8주까지 관찰된 심장(**도 11a**), 전경골(**도 11b**) 및 횡경막(**도 11c**)에서의 엑손 23 스키핑 및 디스트로핀 교정을 보여준다.

도 12a 내지 **도 12d**는 D2-*mdx* 모델에서 EEV-PMO-MDX-23-2의 반복 투여(20 mg/kg) 후 엑손 23 스키핑을 보여준다. **도 12a**(심장); **도 12b**(횡경막); **도 12c**(전경골); **도 12d**(삼두근)

도 13a 내지 **도 13c**는 D2-*mdx* 마우스가 PMO-MDX-23 단독과 비교하여 20 mg/kg EEV-PMO-MDX-23-2로 매달 처리하였을 때 정규화된 혈청 크레아틴 카이네이스(creatine kinase: CK) 수준(**도 12a**) 및 근육 기능의 상당한 개선(**도 12b** 내지 **도 12c**)을 나타내었음을 보여준다(ns: 유의하지 않음, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001).

도 14a 내지 **도 14d**는 2단계 RT-PCR에 의해 평가된 EEV-PMO-MDX-23-2주사 후 1주에 용량 의존적 엑손 스키핑을 보여준다. **도 14a**(삼두근); **도 14b**(전경골); **도 14c**(횡경막); **도 15d**(심장).

도 15a 내지 **도 15d**는 80mpk EEV-PMO-MDX-23-2 투여 후 효과의 지속 기간을 보여준다. **도 15a**(삼두근); **도 15b**(전경골); **도 15c**(횡경막); **도 15d**(심장).

도 16은 4개의 조직 모두(삼두근, 전경골, 횡경막 및 심장)에서의 누적 엑손 스키핑을 보여준다.

도 17은 D2.mdx 줄 매달림(wire hang) 데이터를 보여준다. 처리 12주 후, EEV-PMO-MDX23-1 80mpk Q2W로 처리된 동물은 WT 동물과 통계적으로 구별할 수 없는 줄 매달림 시간을 나타내었다. DBA WT 비히클(식염수); D2.mdx 비히클(식염수); D2.mdx EEV-PMO-MDX23-1; D2.mdx EEV-PMO-MDX23-2; D2.mdx PMO-MDX23(5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3').

도 18a 내지 **도 18d**는 MDX 마우스에서 투여 전(**도 18a**) 및 투여 후 4주(**도 18b**), 8주(**도 18c**) 및 12주(**도 18d**)에서의 크레아틴 카이네이스 활성을 보여준다.

도 19a 내지 **도 19b**는 D2MDX 마우스 투여 전(**도 19a**) 및 투여 후 12주(**도 19b**)의 악력을 보여준다.

도 20a 내지 **도 20d**는 EEV-PMO-DMD44-1(**도 5a**), EEV-PMO-DMD44-2(**도 5b**), EEV-PMO-DMD44-3(**도 5c**) 및 EEV-PMO-DMD44-4(**도 5d**)에 대한 합성 방식을 보여준다.

도 21은 1, 3 또는 10 μM EEV-PMO-DMD44-1; EEV-PMO-DMD44-2 또는 EEV-PMO-DMD-3으로 처리된 후 DMDΔ45 근육 세포에서의 디스트로핀 단백질 복원을 보여준다.

도 22a 및 **도 22b**는 IV 주사를 통해 EEV-PMO-DMD44-1(**도 7a**) 및 EEV-PMO-DMD44-2(**도 7b**)로 처리된 hDMD 마우스의 조직에서의 엑손 스키핑 및 약물 농도를 보여준다.

도 23a 내지 **도 23b**는 NHP 모델에서의 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 엑손 스키핑(**도 23a**) 및 약물 노출(**도 23b**)을 도시한다.

도 24a 내지 **도 24b**는 NHP 모델에서의 EEV-PMO-DMD44-2에 대한 엑손 스키핑(**도 24a**) 및 약물 노출(**도 24b**)을 도시한다.

도 25a 내지 **도 25b**는 EEV-PMO-DMD44-1로 처리된 DMD 환자 유래 근육 세포에서의 엑손 스키핑(**도 25a**) 및 디스트로핀의 복원(**도 25b**)을 보여준다.

도 26a 내지 **도 26c**는 EEV-PMO-DMD44-1을 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg 및 80 mg/kg으로 정맥내(IV) 투여한 후 hDMD 트랜스제닉 마우스의 심장(**도 26a**) 및 골격근(**도 26b** 및 **도 26c**)에서 용량 의존적 조직 노출 및 엑손 스키핑이 관찰되었음을 보여준다

도 27은 EEV-PMO-DMD44-1이 비-인간 영장류(NHP)에게 투여되었을 때 순환 반감기가 연장되었음을 보여준다.

도 28은 EEV-PMO-DMD44-1의 단일 용량이 30 mg/kg의 1시간 IV 주입 후 제7일에 골격근과 심장 모두에서 의미 있는 수준의 엑손 스키핑을 초래하였음을 보여준다.

도 29a 내지 **도 29c**는 EEV-PMO-DMD44-1 또는 엑손 44 스키핑 PMO에 접합된 R6(폴리아르기닌)의 단일 IV 투여(15 mg/kg) 후 hDystrophin 마우스의 심장(**도 29a**), 횡경막(**도 29b**) 및 삼두근(**도 29c**)에서의 엑손 스키핑을 도시한다.

도 30a 내지 **도 30e**는 심장(**도 30a**), 횡경막(**도 30b**), 전경골(**도 30c**), 비복근(**도 30d**) 및 삼두근(**도 30e**)에서 1단계 RT-PCR에 의해 검출된 최대 12주 동안 hDMD 마우스에서의 엑손 스키핑을 도시한다.

도 31은 단일 IV 투여 후 최대 12주 동안 NHP에서의 엑손 스키핑을 보여준다.

도 32a 내지 **도 32c**는 LC-MS/MS에 의해 결정된 THP 세포에서의 PMO 대 EEV-PMO 대 EEV-NLS-PMO의 국재화를 보여준다: 전체 세포 흡수(**도 32a**); 세포내 국재화(**도 32b**); 및 핵 흡수(**도 32c**).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] **화합물**

[0020] 뒤센 근이영양증(DMD)을 치료하기 위한 화합물이 본 명세서에 개시된다. 실시형태에서, DMD는 엑손 44의 돌연변이에 의해 발생한다. 실시형태에서, 화합물은 pre-mRNA 서열에서 *DMD* 유전자의 표적 서열과 상보적인 안티센스 화합물(AC)을 전달하도록 설계되되, 표적 서열은 엑손 44의 5' 측접 인트론의 적어도 일부, 엑손 44의 적어도 일부, 엑손 44의 3' 측접 인트론의 적어도 일부 또는 이들의 조합을 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 안티센스 화합물(AC)을 이를 필요로 하는 대상체에게 세포내로 전달하도록 설계된다.

[0021] 실시형태에서, 화합물은 AC가 결합하는 표적 pre-mRNA의 스플라이싱 패턴을 변경하여 재스플라이싱된 표적 단백질을 형성한다. 일 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 AC의 부재하에 표적 pre-mRNA의 스플라이싱에 의해 생성된 표적 단백질보다 더 기능적이다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 스플라이싱에 의해 생성된 표적 단백질의 기능과 비교하여 표적 단백질 기능을 적어도 약 1%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 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 99%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약

200%, 적어도 약 250%, 적어도 약 300%, 적어도 약 350%, 적어도 약 400%, 적어도 약 450%, 적어도 약 500% 이상 증가시킨다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 스플라이싱에 의해 생성된 표적 단백질의 기능과 비교하여 사이의 모든 값과 범위를 포함하여 표적 단백질 기능을 약 1%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99%, 약 100%, 약 150%, 약 200%, 약 250%, 약 300%, 약 350%, 약 400%, 약 450%, 약 500% 이상 증가시킨다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질의 기능의 적어도 약 1%, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 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% 또는 적어도 약 99% 및 최대 약 100%까지 기능을 복원시킨다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 사이의 모든 값과 범위를 포함하여 야생형 표적 단백질의 기능의 약 1%, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100%까지 기능을 복원시킨다.

[0022] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 화합물은 AC 모이어티 및 세포 침투 펩타이드(CPP) 모이어티를 갖는다. 실시형태에서, CPP 모이어티는 환식 (본 명세서에서 환식 펩타이드로 지칭됨)이다. 실시형태에서, 화합물은 생체내에서 세포막을 횡단하여 표적 pre-mRNA에 결합할 수 있다. 실시형태에서, 화합물은 a) 적어도 하나의 CPP 모이어티; 및 b) 적어도 하나의 AC를 포함하되, CPP는 직접 또는 간접적으로(예를 들어, 링커를 통해) AC에 커플링된다. 실시형태에서, 화합물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상의 AC 모이어티를 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상의 CPP 모이어티를 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 1개의 AC 모이어티를 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 2개의 AC 모이어티를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "커플링된"은 AC에 대한 CPP의 융합 및 AC에 대한 CPP의 화학적 접합을 포함하여 CPP와 AC 사이의 공유 또는 비공유 회합을 지칭할 수 있다. CPP를 AC에 비공유적으로 부착시키는 수단의 비제한적인 예는 스트렙타비딘/바이오틴 상호작용을 통해, 예를 들어, 바이오틴을 CPP에 접합시키고 AC를 스트렙타비딘에 융합시키는 것이다. 생성된 화합물에서, CPP는 바이오틴과 스트렙타비딘 사이의 비공유 회합을 통해 AC에 커플링된다.

[0023] 실시형태에서, CPP는 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 AC에 접합되어 CPP-AC 접합체를 형성한다. CPP에 대한 AC의 접합은 이러한 모이어티의 임의의 적절한 부위에서 발생할 수 있다. 실시형태에서, AC의 5' 또는 3' 말단은 CPP의 C-말단, N-말단 또는 아미노산의 측쇄에 접합될 수 있다. 실시형태에서, CPP는 환식 펩타이드이다.

[0024] 실시형태에서, AC는 AC의 5' 또는 3' 말단 상의 모이어티를 통해 CPP에 화학적으로 접합될 수 있다. 실시형태에서, AC는 CPP 상의 아미노산의 측쇄를 통해 CPP에 접합될 수 있다. 공유 결합을 형성할 수 있거나 그렇게 변형될 수 있는 CPP 상의 임의의 아미노산 측쇄는 AC를 CPP에 연결하는 데 사용될 수 있다. CPP 상의 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 실시형태에서, AC를 접합시키는 데 사용되는 CPP 상의 아미노산은 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴, 라이신, 오르니틴, 2,3-다이아미노프로피온산 또는 이의 유사체이다. 실시형태에서, 측쇄는 AC 또는 링커에 대한 결합으로 치환된다. 실시형태에서, 아미노산은 라이신 또는 이의 유사체이다. 실시형태에서, 아미노산은 글루탐산 또는 이의 유사체이다. 실시형태에서, 아미노산은 아스파르트산 또는 이의 유사체이다. 실시형태에서, CPP는 환식 펩타이드이다.

[0025] **엔도솜 탈출 비히클(EEV)**

[0026] 세포막을 통해 AC를 수송하는 데, 예를 들어, AC를 세포질 또는 세포의 핵으로 전달하는 데 사용될 수 있는 엔도솜 탈출 비히클(EEV)이 본 명세서에 제공된다. EEV는 세포 침투 펩타이드(CPP), 예를 들어, 환외 펩타이드(exocyclic peptide: EP)에 접합된 환식 세포 침투 펩타이드(cyclic cell penetrating peptide: cCPP)를 포함할 수 있다. EP는 조절 펩타이드(modulatory peptide: MP)와 상호교환적으로 지칭될 수 있다. EP는 핵 국재화 신호(nuclear localization signal: NLS)의 서열을 포함할 수 있다. EP는 AC에 커플링될 수 있다. EP는 cCPP에 커플링될 수 있다. EP는 AC 및 cCPP에 커플링될 수 있다. EP, AC, cCPP 또는 이들의 조합 사이의 커플링은 비공유적이거나 공유적일 수 있다. EP는 펩타이드 결합을 통해 cCPP의 N-말단에 부착될 수 있다. EP는 펩타이드 결합을 통해 cCPP의 C-말단에 부착될 수 있다. EP는 cCPP의 아미노산 측쇄를 통해 cCPP에 부착될 수 있다. EP는 cCPP의 글루타민 측쇄에 접합될 수 있는 라이신 측쇄를 통해 cCPP에 부착될 수 있다. EP는 AC의 5' 또는 3' 말단에 접합될 수 있다. EP는 링커에 커플링될 수 있다. 환외 펩타이드는 링커의 아미노기에 접합될 수 있다. EP는 cCPP 및/또는 EP 상의 측쇄를 통해 EP 및 cCPP의 C-말단을 통해 링커에 커플링될 수 있다. 그런 다음, 예를

들어, EP는 아마이드 결합을 통해 글루타민을 포함하는 cCPP에 커플링될 수 있는 말단 라이신을 포함할 수 있다. EP가 말단 라이신을 포함하고 라이신 측쇄를 사용하여 cCPP에 부착될 수 있는 경우, C- 또는 N-말단은 AC 상의 링커에 부착될 수 있다.

[0027] **환외 펩타이드**

[0028] 환외 펩타이드(EP)는 사이의 모든 범위와 값을 포함하여 2개 내지 10개의 아미노산 잔기, 예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. EP는 6개 내지 9개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. EP는 4개 내지 8개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.

[0029] 환외 펩타이드의 각 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 용어 "비천연 아미노산"은 천연 아미노산과 유사한 구조를 가져 천연 아미노산의 구조 및 반응성을 모방한다는 점에서 천연 아미노산의 동종체(congener)인 유기 화합물을 지칭한다. 비천연 아미노산은 변형된 아미노산 및/또는 아미노산 유사체일 수 있으며, 이는 20개의 일반적인 자연 발생적 아미노산 중 하나 또는 희귀한 천연 아미노산인 셀레노시스테인 또는 피롤리신이 아니다. 비천연 아미노산은 천연 아미노산의 D-이성질체일 수도 있다. 적합한 아미노산의 예는 알라닌, 알로소류신, 아르기닌, 시트룰린, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 나프틸알라닌, 페닐알라닌, 프롤린, 피로글루탐산, 세린, 트레오닌, 트립토판, 타이로신, 발린, 이들의 유도체 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이들 및 기타 아미노산은 본 명세서에 사용된 약어와 함께 **표 1**에 나열되어 있다. 예를 들어, 아미노산은 A, G, P, K, R, V, F, H, Nal 또는 시트룰린일 수 있다.

[0030] EP는 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기, 예를 들어, 적어도 하나의 라이신 잔기 및/또는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 적어도 하나의 아민노산 잔기를 포함할 수 있다. EP는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 포함하는 1개 또는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 구아니딘기를 포함하는 측쇄를 포함하는 아미노산 잔기는 아르기닌 잔기일 수 있다. 양성자화된 형태는 본 개시내용 전반에 걸쳐 이의 염을 의미할 수 있다.

[0031] EP는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개 이상의 라이신 잔기를 포함할 수 있다. EP는 2개, 3개 또는 4개의 라이신 잔기를 포함할 수 있다. 각 라이신 잔기의 측쇄 상의 아미노기는, 예를 들어, 트라이플루오로아세틸(-$COCF_3$), 알릴옥시카보닐(Alloc), 1-(4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥실리덴)에틸(Dde) 또는 (4,4-다이메틸-2,6-다이옥소사이클로헥스-1-일리덴-3)-메틸뷰틸(ivDde)기를 포함하는 보호기로 치환될 수 있다. 각 라이신 잔기 측쇄 상의 아미노기는 트라이플루오로아세틸(-$COCF_3$)기로 치환될 수 있다. 보호기는 아마이드 접합을 가능하게 하기 위해 포함될 수 있다. 보호기는 EP가 cCPP에 접합된 후에 제거될 수 있다.

[0032] EP는 소수성 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린, 프롤린, 알라닌, 류신, 아이소류신 및 메티오닌으로부터 선택될 수 있다. 소수성 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 발린 또는 프롤린일 수 있다.

[0033] EP는 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기, 예를 들어, 적어도 하나의 라이신 잔기 및/또는 적어도 하나의 아르기닌 잔기를 포함할 수 있다. EP는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개 이상의 라이신 잔기 및/또는 아르기닌 잔기를 포함할 수 있다.

[0034] EP는 KK, KR, RR, HH, HK, HR, RH, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKH, KHK, HKK, HRR, HRH, HHR, HBH, HHH, HHHH, KHKK, KKHK, KKKH, KHKH, HKHK, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, HBHBH, HBKBH, RRRRR, KKKKK, KKKRK, RKKKK, KRKKK, KKRKK, KKKKR, KBKBK, RKKKKG, KRKKKG, KKRKKG, KKKKRG, RKKKKB, KRKKKB, KKRKKB, KKKKRB, KKKRKV, RRRRRR, HHHHHH, RHRHRH, HRHRHR, KRKRKR, RKRKRK, RBRBRB, KBKBKB, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PKKGRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 또는 PKKKRKG를 포함할 수 있되, B는 베타-알라닌이다. EP의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.

[0035] EP는 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, KKKKK, KKKRK, KBKBK, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PKKGRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 또는 PKKKRKG를 포함할 수 있다. EP는 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR 또는 HBRBH를 포함할 수 있되, B는 베타-알라닌이다. EP의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.

[0036] EP는 KK, KR, RR, KKK, KGK, KBK, KBR, KRK, KRR, RKK, RRR, KKKK, KKRK, KRKK, KRRK, RKKR, RRRR, KGKK, KKGK, KKKKK, KKKRK, KBKBK, KKKRKV, PKKKRKV, PGKKRKV, PKGKRKV, PKKGRKV, PKKKGKV, PKKKRGV 또는 PKKKRKG로

이루어질 수 있다. EP는 PKKKRKV, RR, RRR, RHR, RBR, RBRBR, RBHBR 또는 HBRBH로 이루어질 수 있되, B는 베타-알라닌이다. EP의 아미노산은 D 또는 L 입체화학을 가질 수 있다.

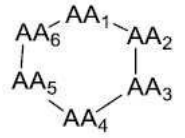
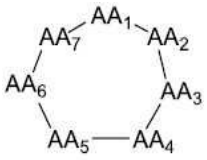
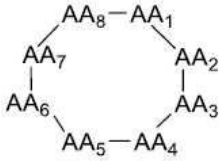
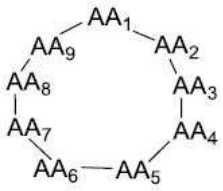
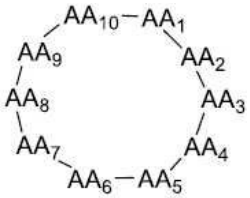
[0037] EP는 핵 국재화 서열(NLS)로 당업계에서 확인된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. EP는 핵 국재화 서열(NLS)로 당업계에서 확인된 아미노산 서열로 이루어질 수 있다. EP는 아미노산 서열 PKKKRKV를 포함하는 NLS를 포함할 수 있다. EP는 아미노산 서열 PKKKRKV를 포함하는 NLS로 이루어질 수 있다. EP는 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNKGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKKRK, RKLKKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 및 RKCLQAGMNLEARKTKK로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 NLS를 포함할 수 있다. EP는 NLSKRPAAIKKAGQAKKKK, PAAKRVKLD, RQRRNELKRSF, RMRKFKNKGKDTAELRRRRVEVSVELR, KAKKDEQILKRRNV, VSRKRPRP, PPKKARED, PQPKKKPL, SALIKKKKKMAP, DRLRR, PKQKKRK, RKLKKKIKKL, REKKKFLKRR, KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 및 RKCLQAGMNLEARKTKK로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 NLS로 이루어질 수 있다.

[0038] 모든 환외 서열은 또한 N-말단 아세틸기를 포함할 수 있다. 그러므로, 예를 들어, EP는 구조: Ac-PKKKRKV를 가질 수 있다.

[0039] **세포 침투 펩타이드(CPP)**

[0040] 세포 침투 펩타이드(CPP)는 6개 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 세포 침투 펩타이드는 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)일 수 있다. cCPP는 침투 세포막을 침투할 수 있다. 환외 펩타이드(EP)는 cCPP에 접합될 수 있고, 생성된 작제물은 엔도솜 탈출 비히클(EEV)로 지칭될 수 있다. cCPP는 AC가 세포막을 통과하도록 지시할 수 있다. cCPP는 AC를 세포의 세포질로 전달할 수 있다. cCPP는 AC를 표적(예를 들어, pre-mRNA)이 있는 세포 위치로 전달할 수 있다. cCPP를 AC에 접합시키기 위해, cCPP 상의 적어도 하나의 결합 또는 고립 전자 쌍이 대체될 수 있다.

[0041] cCPP의 아미노산 잔기의 총 수는 사이의 모든 범위와 하위범위를 포함하여 6개 내지 20개의 아미노산 잔기, 예를 들어, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개 또는 20개의 아미노산 잔기이다. cCPP는 6개 내지 13개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 본 명세서에 개시된 cCPP는 6개 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. 예로서, 6개 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는 cCPP는 임의의 하기 화학식 I-A 내지 I-E에 따른 구조:

[0042] 
I-A ,

I-B ,

I-C ,

I-D 또는

I-E

를 가질 수 있되, 식 중, AA_1, AA_2, AA_3, AA_4, AA_5, AA_6, AA_7, AA_8, AA_9 및 AA_{10}은 아미노산 잔기이다.

[0043] cCPP는 6개 내지 8개의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 8개의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0044] cCPP의 각 아미노산은 천연 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 용어 "비천연 아미노산"은 천연 아미노산과 유사한 구조를 가져 천연 아미노산의 구조 및 반응성을 모방한다는 점에서 천연 아미노산의 동종체인 유기 화합물을 지칭한다. 비천연 아미노산은 변형된 아미노산 및/또는 아미노산 유사체일 수 있으며, 이는 20개의 일반적인 자연 발생적 아미노산 중 하나 또는 희귀한 천연 아미노산인 셀레노시스테인 또는 피롤리신이 아니다. 비천연 아미노산은 천연 아미노산의 D-이성질체일 수도 있다. 적합한 아미노산의 예는 알라닌, 알로소류신, 아르기닌, 시트룰린, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 나프틸알라닌, 페닐알라닌, 프롤린, 피로글루탐산, 세린, 트레오닌, 트립토판, 타이로신, 발린, 이들의 유도체 또는 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이들 및 기타 아미노산은 본 명세서에 사용된 약어와 함께 **표 1**에 나열되어 있다.

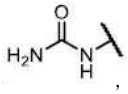
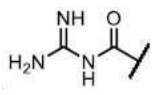
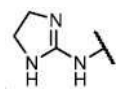
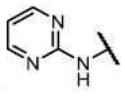
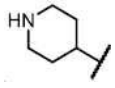
표 1

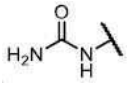
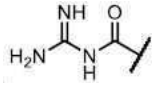
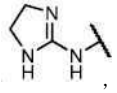
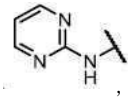
아미노산 약어

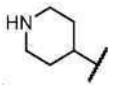
아미노산	약어* L-아미노산	약어* D-아미노산
알라닌	Ala(A)	ala(a)
알로-아이소류신	Aile	Aile
아르기닌	Arg(R)	arg(r)
아스파라긴	Asn(N)	asn(n)
아스파르트산	Asp(D)	asp(d)
시스테인	Cys(C)	cys(c)
시트룰린	Cit	Cit
사이클로헥실알라닌	Cha	cha
2,3-다이아미노프로피온산	Dap	dap
4-플루오로페닐알라닌	Fpa(Σ)	pfa
글루탐산	Glu(E)	glu(e)
글루타민	Gln(Q)	gln(q)
글리신	Gly(G)	gly(g)
히스티딘	His(H)	his(h)
호모프롤린(피페콜산이라고도 함)	Pip(Θ)	pip(ɵ)
아이소류신	Ile(I)	ile(i)
류신	Leu(L)	leu(l)
라이신	Lys(K)	lys(k)
메티오닌	Met(M)	met(m)
3-(2-나프틸)-알라닌	Nal(Φ)	nal(ϕ)
3-(1-나프틸)-알라닌	1-Nal	1-nal
노르류신	Nle(Ω)	nle
페닐알라닌	Phe(F)	phe(f)
페닐글리신	Phg(Ψ)	phg
4-(포스포노다이플루오로메틸)페닐알라닌	F_2Pmp(Λ)	$f_2$pmp
프롤린	Pro(P)	pro(p)
사르코신	Sar(Ξ)	sar
셀레노시스테인	Sec(U)	sec(u)
세린	Ser(S)	ser(s)
트레오닌	Thr(T)	thr(y)
타이로신	Tyr(Y)	tyr(y)
트립토판	Trp(W)	trp(w)
발린	Val(V)	val(v)
Tert-뷰틸-알라닌	Tle	tle
페니실라민	Pen	Pen
호모아르기닌	HomoArg	homoarg
나이코틴일-라이신	Lys(NIC)	lys(NIC)
트라이플루오로아세틸-라이신	Lys(TFA)	lys(TFA)
메틸-류신	MeLeu	meLeu
3-(3-벤조티엔일)-알라닌	Bta	bta

* 단일 문자 약어: 여기에 대문자로 표시된 경우 L-아미노산 형태를 나타내고, 소문자로 표시된 경우에는 D-아미노산 형태를 나타낸다.

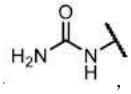
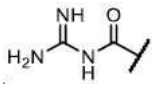
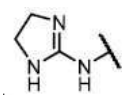
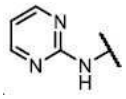
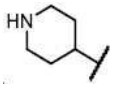
[0045]

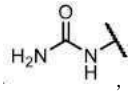
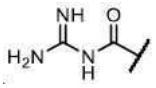
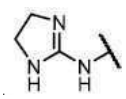
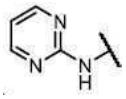
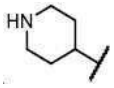
[0046] cCPP는 4개 내지 20개의 아미노산을 포함할 수 있되, (i) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖고; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 측쇄를 갖지 않거나  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖고; 그리고 (iii) 적어도 2개의 아미노산은 독립적으로 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는다.

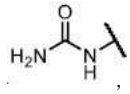
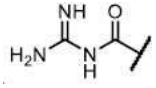
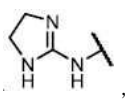
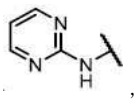
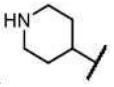
[0047] 적어도 2개의 아미노산은 측쇄를 갖지 않을 수 있거나  ,  ,  ,  ,

 ,  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 측쇄가 존재하지 않는 경우, 아미노산은 아민과 카복실산을 연결하는 탄소 원자(들)(예를 들어, $-CH_2-$)에 2개의 수소 원자를 갖는다.

[0048] 측쇄를 갖지 않는 아미노산은 글리신 또는 β-알라닌일 수 있다.

[0049] cCPP는 cCPP를 형성하는 6개 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있되, (i) 적어도 하나의 아미노산은 글리신, β-알라닌 또는 4-아미노뷰티르산 잔기일 수 있고; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 아릴 또는 헤테로아릴기를 포함하는 측쇄를 가질 수 있고; 그리고 (iii) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘기,  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0050] cCPP는 cCPP를 형성하는 6개 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있되, (i) 적어도 2개의 아미노산은 독립적으로 글리신, β-알라닌 또는 4-아미노뷰티르산 잔기일 수 있고; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 아릴 또는 헤테로아릴기를 포함하는 측쇄를 가질 수 있고; 및 (iii) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘기,  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0051] cCPP는 cCPP를 형성하는 6개 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있되, (i) 적어도 3개 아미노산은 독립적으로 글리신, β-알라닌 또는 4-아미노뷰티르산 잔기일 수 있고; (ii) 적어도 하나의 아미노산은 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 가질 수 있고; 및 (iii) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘기,  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다.

[0052] *글리신 및 관련 아미노산 잔기*

[0053] cCPP는 (i) 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 2개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개, 4개 또는 5개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0054] cCPP는 (i) 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 2개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개, 4개 또는 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 2개 또는 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 1개 또는 2개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다.

[0055] cCPP는 (i) 3개, 4개, 5개 또는 6개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개, 4개 또는 5개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0056] cCPP는 적어도 3개 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개, 4개, 5개 또는 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 6개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개, 4개 또는 5개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (i) 3개 또는 4개의 글리신 잔기를 포함할 수 있다.

[0057] 실시형태에서, cCPP의 글리신, β-알라닌 또는 4-아미노뷰티르산 잔기 중 어느 것도 연속되지 않는다. 2개 또는 3개의 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산 잔기는 연속될 수 있다. 2개의 글리신, β-알라닌 또는 4-아미노뷰티르산 잔기는 연속될 수 있다.

[0058] 실시형태에서, cCPP의 글리신 잔기 중 어느 것도 연속되지 않는다. cCPP의 각 글리신 잔기는 글리신일 수 없는 아미노산 잔기에 의해 분리될 수 있다. 2개 또는 3개의 글리신 잔기는 연속될 수 있다. 2개의 글리신 잔기는 연속될 수 있다.

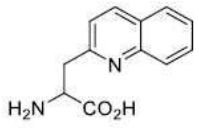
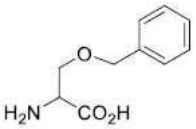
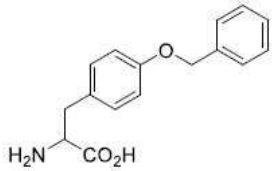
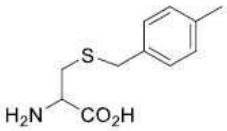
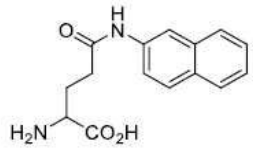
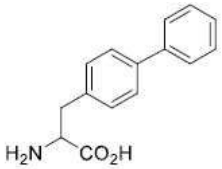
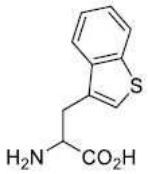
[0059] *방향족 또는 헤테로방향족기를 갖는 아미노산 측쇄*

[0060] cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개 또는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.

[0061] cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (ii) 방향족기를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개 또는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.

[0062] 방향족기는 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라센일일 수 있으며, 이들 각각은 선택적으로 치환된다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있으며, 이들 각각은 선택적으로 치환된다. 헤테로방향족기는 N, O 및 S로부터 선택되는 1개, 2개 또는 3개의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴 또는 아이소퀴놀릴일 수 있다.

[0063] 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 비스(호모나프틸알라닌), 호모나프틸알라닌, 나프틸알라닌, 페닐글리신, 비스(호모페닐알라닌), 호모페닐알라닌, 페닐알라닌, 트립토판, 3-(3-벤조티엔일)-알라닌, 3-(2-퀴놀릴)-알라닌, O-벤질세린, 3-(4-(벤질옥시)페닐)-알라닌, S-(4-메틸벤질)시스테인, *N*-(나프탈렌-2-일)글루타민, 3-(1,1'-바이페닐-4-일)-알라닌, 3-(3-벤조티엔일)-알라닌 또는 타이로신일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환기로 선택적으로 치환된다. 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 각각 독립적으로:

[0064] 
3-2(-퀴놀릴)-알라닌 ,

O-벤질 세린 ,

3-(4-(벤질옥시)페닐)-알라닌 ,

S-(4-메틸벤질)시스테인 ,

N5-(나프탈렌-2-일)글루타민 ,

3-(1,1' -바이페닐-4-일)-알라닌 및

3-(3-벤조티엔일)-알라닌 으로부터 선택될 수 있되, N-말단 상의 H 및/또는 C-말단 상의 H는 펩타이드 결합으로 대체된다.

[0065] 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각 독립적으로 페닐알라닌, 나프틸알라닌, 페닐글리신, 호모페닐알라닌, 호모나프틸알라닌, 비스(호모페닐알라닌), 비스-(호모나프틸알라닌), 트립토판 또는 타이로신의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환기로 선택적으로 치환된다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 타이로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티엔일알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-뷰틸-페닐알라닌, 4-피리딘일알라닌, 3-피리딘일알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 3-(9-안트릴)-알라닌의 잔기일 수 있다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 페닐알라닌, 나프틸알라닌, 페닐글리신, 호모페닐알라닌 또는 호모나프틸알라닌의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환기로 선택적으로 치환된다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 페닐알라닌, 나프틸알라닌, 호모페닐알라닌, 호모나프틸알라닌, 비스(호모나프틸알라닌) 또는 비스(호모나프틸알라닌)의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환기로 선택적으로 치환된다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기는 각각 독립적으로 페닐알라닌 또는 나프틸알라닌의 잔기일 수 있으며, 이들 각각은 하나 이상의 치환기로 선택적으로 치환된다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산 잔기는 페닐알라닌의 잔기일 수 있다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산 잔기는 페닐알라닌의 잔기일 수 있다. 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 각 아미노산 잔기는 페닐알라닌의 잔기일 수 있다.

[0066] 실시형태에서, 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 중 어느 것도 연속되지 않는다. 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산이 연속될 수 있다. 2개의 연속 아미노산은 반대의 입체화학을 가질 수 있다. 2개의 연속 아미노산은 동일한 입체화학을 가질 수 있다. 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 3개의 아미노산이 연속될 수 있다. 3개의 연속 아미노산은 동일한 입체화학을 가질 수 있다. 3개의 연속 아미노산은 교호성 입체화학을 가질 수 있다.

[0067] 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 아미노산 잔기는 L-아미노산일 수 있다. 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 아미노산 잔기는 D-아미노산일 수 있다. 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 아미노산 잔기는 D- 및 L-아미노산의 혼합물일 수 있다.

[0068] 선택적 치환기는, 예를 들어, 치환기를 갖지 않는 동일한 서열과 비교하여 cCPP의 세포질 전달 효율을 상당히 (예를 들어, 50% 초과) 감소시키지 않는 임의의 원자 또는 기일 수 있다. 선택적 치환기는 소수성 치환기 또는 친수성 치환기일 수 있다. 선택적 치환기는 소수성 치환기일 수 있다. 치환기는 소수성 아미노산 용매 접근 가능 표면적(본 명세서에 정의된 바와 같음)을 증가시킬 수 있다. 치환기는 할로겐, 알킬, 알켄일, 알킨일, 사이클로알킬, 사이클로알켄일, 사이클로알킨일, 헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, 아실, 알킬카바모일, 알킬카복스아미딜, 알콕시카보닐, 알킬티오 또는 아릴티오일 수 있다. 치환기는 할로겐일 수 있다.

[0069] 이론에 얽매이지 않고, 더 높은 소수성 값을 갖는 방향족 또는 헤테로방향족기를 갖는 아미노산(즉, 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산)은 더 낮은 소수성 값을 갖는 아미노산에 비해 cCPP의 세포질 전달 효율을 개선시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 각 소수성 아미노산은 독립적으로 글리신보다 큰 소수성 값을 가질 수 있다. 각 소수성 아미노산은 독립적으로 알라닌보다 큰 소수성 값을 갖는 소수성 아미노산일 수

있다. 각 소수성 아미노산은 독립적으로 페닐알라닌 이상의 소수성 값을 가질 수 있다. 소수성은 당업계에 공지된 소수성 척도를 사용하여 측정될 수 있다. **표 2**에는 각각 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Eisenberg and Weiss (Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1984; 81(1):140-144), Engleman, et al. (Ann. Rev. of Biophys. Biophys. Chem. 1986; 1986(15):321-53), Kyte and Doolittle (J. Mol. Biol. 1982; 157(1):105-132), Hoop and Woods (Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1981; 78(6):3824-3828) 및 Janin (Nature. 1979; 277(5696):491-492)]에 의해 보고된 바와 같은 다양한 아미노산에 대한 소수성 값이 나열되어 있다. 소수성은 Engleman 등이 보고한 소수성 척도를 사용하여 측정될 수 있다.

표 2

아미노산 소수성

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

[0070]

[0071] 방향족 또는 헤테로방향족기의 크기는 cCPP의 세포질 전달 효율을 개선시키기 위해 선택될 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, 아미노산의 측쇄 상의 더 큰 방향족 또는 헤테로방향족기는 더 작은 소수성 아미노산을 갖는 동일한 서열에 비해 세포질 전달 효율을 개선시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 소수성 아미노산의 크기는 소수성 아미노산의 분자량, 소수성 아미노산의 입체 효과, 측쇄의 용매 접근 가능 표면적(solvent-accessible surface area: SASA) 또는 이들의 조합의 측면에서 측정될 수 있다. 소수성 아미노산의 크기는 소수성 아미노산의 분자량의 측면에서 측정될 수 있으며, 더 큰 소수성 아미노산은 분자량이 적어도 약 90 g/몰, 또는 적어도 약 130 g/몰 또는 적어도 약 141 g/몰인 측쇄를 갖는다. 아미노산의 크기는 소수성 측쇄의 SASA의 측면에서 측정될 수 있다. 소수성 아미노산은 알라닌 이상 또는 글리신 이상의 SASA를 갖는 측쇄를 가질 수 있다. 더 큰 소수성 아미노산은 알라닌 초과 또는 글리신 초과의 SASA를 갖는 측쇄를 가질 수 있다. 소수성 아미노산은 약 피페리딘-2-카복실산 이상, 약 트립토판 이상, 약 페닐알라닌 이상 또는 약 나프틸알라닌 이상의 SASA를 갖는 방향족 또는 헤테로방향족기를 가질 수 있다. 제1 소수성 아미노산(AA_{H1})은 적어도 약 200Å^2, 적어도 약 210Å^2, 적어도 약 220Å^2, 적어도 약 240Å^2, 적어도 약 250Å^2, 적어도 약 260Å^2, 적어도 약 270Å^2, 적어도 약 280Å^2, 적어도 약 290Å^2, 적어도 약 300Å^2, 적어도 약 310Å^2, 적어도 약 320Å^2 또는 적어도 약 330Å^{2}의 SASA를 갖는 측쇄를 가질 수 있다. 제2 소수성 아미노산(AA_{H2})은 적어도 약 200Å^2, 적어도 약 210Å^2, 적어도 약 220Å^2, 적어도 약 240Å^2, 적어도 약 250Å^2, 적어도 약 260Å^2, 적어도 약 270Å^2, 적어도 약 280Å^2, 적어도 약 290Å^2, 적어도 약 300Å^2, 적어도 약 310Å^2, 적어도 약 320Å^2 또는 적어도 약 330Å^{2}의 SASA를 갖는 측쇄를 가질 수 있다. AA_{H1} 및 AA_{H2}의 측쇄는 적어도 약 350Å^2, 적어도 약 360Å^2, 적어도 약 370Å^2, 적어도 약 380Å^2, 적어도 약 390Å^2, 적어도 약 400Å^2, 적어도 약 410Å^2, 적어도 약 420Å^2, 적어도 약 430Å^2, 적어도 약 440Å^2, 적어

도 약 450Å^2, 적어도 약 460Å^2, 적어도 약 470Å^2, 적어도 약 480Å^2, 적어도 약 490Å^2, 약 500Å^2 초과, 적어도 약 510Å^2, 적어도 약 520Å^2, 적어도 약 530Å^2, 적어도 약 540Å^2, 적어도 약 550Å^2, 적어도 약 560Å^2, 적어도 약 570Å^2, 적어도 약 580Å^2, 적어도 약 590Å^2, 적어도 약 600Å^2, 적어도 약 610Å^2, 적어도 약 620Å^2, 적어도 약 630Å^2, 적어도 약 640Å^2, 약 650Å^2 초과, 적어도 약 660Å^2, 적어도 약 670Å^2, 적어도 약 680Å^2, 적어도 약 690Å^2 또는 적어도 약 700Å^{2}의 합한 SASA를 가질 수 있다. AA_{H2}는 AA_{H1}의 소수성 측쇄의 SASA 이하인 SASA를 갖는 측쇄를 갖는 소수성 아미노산 잔기일 수 있다. 제한이 아닌 예로서, Nal-Arg 모티프를 갖는 cCPP는 Phe-Arg 모티프를 갖는 다른 동일한 cCPP와 비교하여 개선된 세포질 전달 효율을 나타낼 수 있고; Phe-Nal-Arg 모티프를 갖는 cCPP는 Nal-Phe-Arg 모티프를 갖는 다른 동일한 cCPP와 비교하여 개선된 세포질 전달 효율을 나타낼 수 있고; phe-Nal-Arg 모티프는 nal-Phe-Arg 모티프를 갖는 다른 동일한 cCPP와 비교하여 개선된 세포질 전달 효율을 나타낼 수 있다.

[0072] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "소수성 표면적" 또는 "SASA"는 용매에 접근 가능한 아미노산 측쇄의 표면적(제곱 옹거스트롬으로 보고됨; Å^2)으로 지칭된다. SASA는 Shrake 및 Rupley(*J Mol Biol*. **79** (2): 351-71, 전체가 모든 목적을 위해 참조에 의해 본 명세서에 원용됨)에 의해 개발된 '롤링 볼(rolling ball)' 알고리즘을 사용하여 계산될 수 있다. 이 알고리즘은 분자의 표면을 조사하기 위해 특정 반경의 용매 "스피어(sphere)"를 사용한다. 스피어의 전형적인 값은 1.4Å이며, 이는 물 분자의 반경에 가깝다.

[0073] 소정의 측쇄에 대한 SASA 값은 **표 3**에 나타나 있다. 본 명세서에 기재된 SASA 값은 모든 목적을 위해 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Tien, et al. (PLOS ONE 8(11): e80635. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080635)]에 의해 보고된 바와 같은 아래 표 **3**에 나열된 이론적인 값을 기반으로 한다.

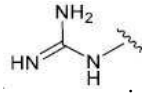
표 3

아미노산 SASA 값

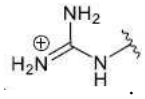
잔기	이론적	경험적	Miller 등(1987)	Rose 등(1985)
알라닌	129.0	121.0	113.0	118.1
아르기닌	274.0	265.0	241.0	256.0
아스파라긴	195.0	187.0	158.0	165.5
아스파테이트	193.0	187.0	151.0	158.7
시스테인	167.0	148.0	140.0	146.1
글루타메이트	223.0	214.0	183.0	186.2
글루타민	225.0	214.0	189.0	193.2
글리신	104.0	97.0	85.0	88.1
히스티딘	224.0	216.0	194.0	202.5
아이소류신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

[0074]

[0075] *구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기*

[0076] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 구아니딘은 하기 구조를 지칭한다: 

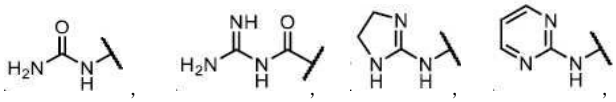
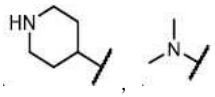
.

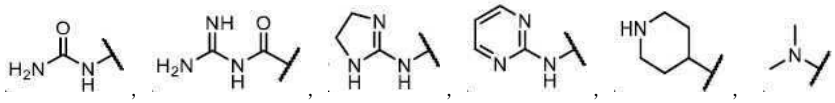
[0077] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 구아니딘의 양성자화된 형태는 하기 구조를 지칭한다:  .

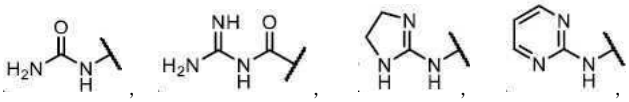
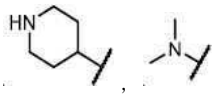
[0078] 구아니딘 대체기는 생리학적 pH 또는 그 이상에서 양으로 하전될 수 있는 아미노산의 측쇄 상의 작용기 또는 구아니디늄기의 수소 결합 공여 및 수용 활성을 반복할 수 있는 작용기를 지칭한다.

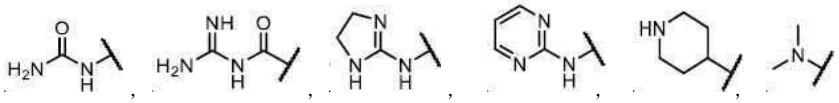
[0079] 구아니딘 대체기는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태와 연관된 독성을 감소시키면서 치료제의 세포 침투 및 전달을 용이하게 한다. cCPP는 구아니딘 또는 구아니디늄 대체기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 구아니딘 또는 구아니디늄 대체기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 구아니딘 또는 구아니디늄 대체기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 3개 아미노산을 포함할 수 있다.

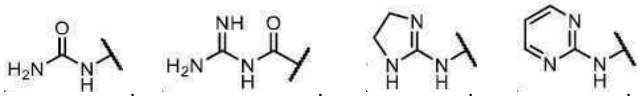
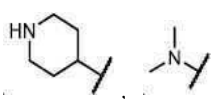
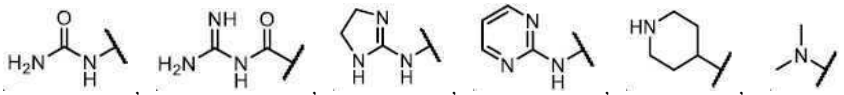
[0080] 구아니딘 또는 구아니디늄기는 구아니딘 또는 구아니디늄의 동배체(isostere)일 수 있다. 구아니딘 또는 구아니디늄 대체기는 구아니딘보다 덜 염기성일 수 있다.

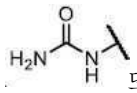
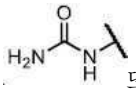
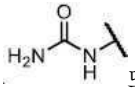
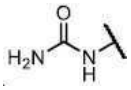
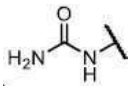
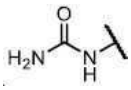
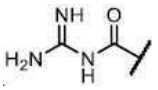
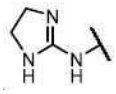
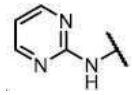
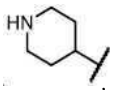
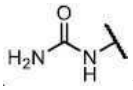
[0081] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 구아니딘 대체기는  ,  , 또는 이의 양성자화된 형태를 지칭한다.

[0082] 본 개시내용은 4개 내지 20개의 아미노산 잔기를 포함하는 cCPP에 관한 것이되, (i) 적어도 하나의 아미노산은 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖고; (ii) 적어도 하나의 아미노산 잔기는 측쇄를 갖지 않거나  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖고; (iii) 적어도 2개의 아미노산 잔기는 독립적으로 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는다.

[0083] 적어도 2개의 아미노산 잔기는 측쇄를 갖지 않거나  ,  , 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 측쇄가 존재하지 않는 경우, 아미노산 잔기는 아민과 카복실산을 연결하는 탄소 원자(들)(예를 들어, $-CH_2-$)에 2개의 수소 원자를 갖는다.

[0084] cCPP는 다음 모이어티 중 하나:  , 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0085] cCPP는 각각 독립적으로 다음 모이어티 중 하나  ,  , 또는 이의 양성자화된 형태를 갖는 적어도 2개의 아미노산을 포함할 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은  또는 이의 양성자화된 형

태로부터 선택되는 동일한 모이어티를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 적어도 하나의 아미노산은  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 1개, 2개, 3개 또는 4개의 아미노산은  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 하나의 아미노산은  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 2개의 아미노산은  또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다.  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태는 아미노산 측쇄의 말단에 부착될 수 있다.  는 아미노산 측쇄의 말단에 부착될 수 있다.

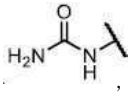
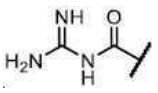
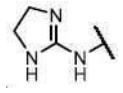
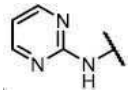
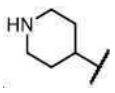
[0086] cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 6개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개, 4개 또는 5개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개, 3개 또는 4개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 2개 또는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 (iii) 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 3개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다.

[0087] 아미노산 잔기는 독립적으로 연속되지 않는 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 2개의 아미노산 잔기는 독립적으로 연속될 수 있는 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 3개의 아미노산 잔기는 독립적으로 연속될 수 있는 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 4개의 아미노산 잔기는 독립적으로 연속될 수 있는 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 가질 수 있다. 연속 아미노산 잔기는 동일한 입체화학을 가질 수 있다. 연속 아미노산은 교호성 입체화학을 가질 수 있다.

[0088] 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 아미노산 잔기는 L-아미노산일 수 있다. 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 아미노산 잔기는 D-아미노산일 수 있다. 구아니딘기, 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 독립적으로 갖는 아미노산 잔기는 L- 또는 D-아미노산의 혼합물일 수 있다.

[0089] 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 각 아미노산 잔기는 독립적으로 아르기닌, 호모아르기닌, 2-아미노-3-프로피온산, 2-아미노-4-구아니디노뷰티르산 또는 이의 양성자화된 형태의 잔기일 수 있

다. 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 각 아미노산 잔기는 독립적으로 아르기닌 또는 이의 양성자화된 형태의 잔기일 수 있다.

[0090] 구아니딘 대체기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 각 아미노산은 독립적으로  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다.

[0091] 이론에 얽매이지 않고, 구아니딘 대체기는 아르기닌에 비해 감소된 염기성을 갖고, 일부 경우에는 생리학적 pH에서 하전되지 않으며(예를 들어, -N(H)C(O)), 효과적인 막 회합 및 후속 내재화를 촉진하는 것으로 여겨지는 원형질막에 있는 인지질과 두자리(bidentate) 수소 결합 상호작용을 유지할 수 있는 것으로 가정된다. 양전하의 제거도 cCPP의 독성을 감소시키는 것으로 여겨진다.

[0092] 당업자라면 위의 비천연 방향족 소수성 아미노산의 N- 및/또는 C-말단이 본 명세서에 개시된 펩타이드에 혼입될 때 아마이드 결합을 형성한다는 것을 이해할 것이다.

[0093] cCPP는 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산 및 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산을 포함할 수 있되, 제1 글리신의 N-말단은 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산과 펩타이드 결합을 형성하고, 제1 글리신의 C-말단은 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산과 펩타이드 결합을 형성한다. 관례적으로, 용어 "제1 아미노산"은 종종 펩타이드 서열의 N-말단 아미노산을 지칭하지만, 본 명세서에서 사용되는 "제1 아미노산"은 cCPP에서 참조 아미노산을 또 다른 아미노산(예를 들어, "제2 아미노산")과 구별하는 데 사용되므로, 용어 "제1 아미노산"은 펩타이드 서열의 N-말단에 위치한 아미노산일 수 있거나 이를 지칭할 수 있다.

[0094] cCPP는 제2 글리신의 N-말단이 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산과 펩타이드 결합을 형성하고, 제2 글리신의 C-말단이 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산과 펩타이드 결합을 형성하는 것을 포함할 수 있다.

[0095] cCPP는 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산 및 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산을 포함할 수 있되, 제3 글리신의 N-말단은 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제1 아미노산과 펩타이드 결합을 형성하고, 제3 글리신의 C-말단은 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 제2 아미노산과 펩타이드 결합을 형성한다.

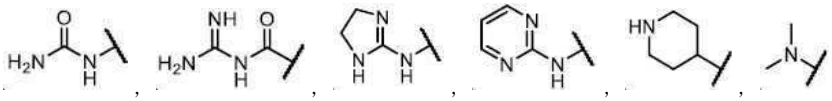
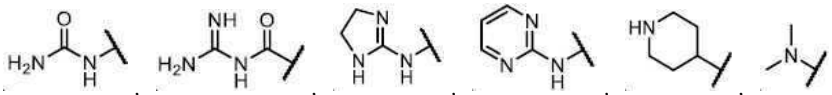
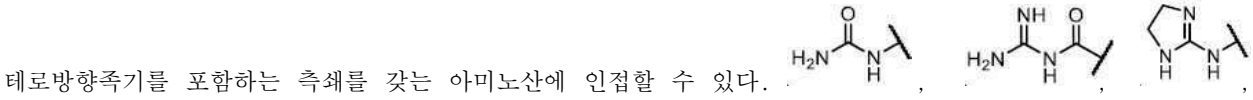
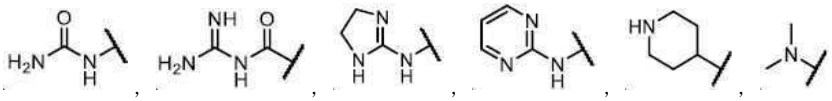
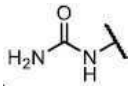
[0096] cCPP는 아스파라긴, 아스파르트산, 글루타민, 글루탐산 또는 호모글루타민의 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 아스파라긴의 잔기를 포함할 수 있다. cCPP는 글루타민의 잔기를 포함할 수 있다.

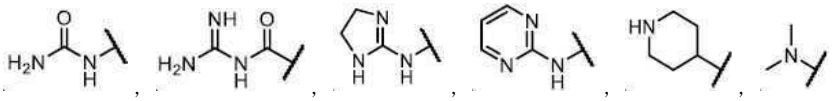
[0097] cCPP는 타이로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티엔일알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-뷰틸-페닐알라닌, 4-피리딘일알라닌, 3-피리딘일알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 3-(9-안트릴)-알라닌의 잔기를 포함할 수 있다.

[0098] 이론에 얽매이지 않고, cCPP의 아미노산의 카이랄성은 세포질 흡수 효율에 영향을 미칠 수 있는 것으로 여겨진다. cCPP는 적어도 하나의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 1개 내지 15개의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 1개 내지 10개의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 1개, 2개, 3개 또는 4개의 D 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 교호성 D 및 L 카이랄성을 갖는 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 동일한 카이랄성을 갖는 3개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 동일한 카이랄성을 갖는 2개의 연속 아미노산을 포함할 수 있다. 아미노산 중 적어도 2개는 반대의 카이랄성을 가질 수 있다. 반대의 카이랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 3개 아미노산은 서로에 대해 교호성 입체화학을 가질 수 있다. 서로에 대해 교호성 카이랄성을 갖는 적어도 3개 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 4개 아미노산은 서로에 대해 교호성 입체화학을 갖는다. 서로에 대해 교호성 카이랄성을 갖는 적어도 4개 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 아미노산 중 적어도 2개는 동일한 카이랄성을 가질 수 있다. 동일한 카이랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은 동일한 카이랄성을 갖고, 적어도 2개의 아미노산은 반대의 카이랄성을 갖는다. 반대의 카이랄성을 갖는 적어도 2개의 아미

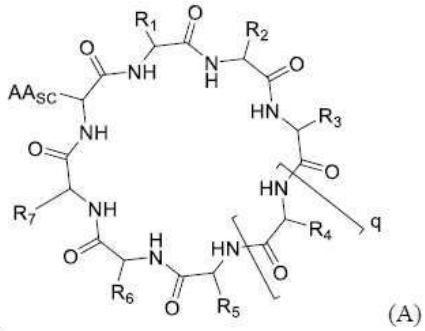
노산은 동일한 카이랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산에 인접할 수 있다. 따라서, cCPP의 인접한 아미노산은 임의의 다음 서열을 가질 수 있다: D-L; L-D; D-L-L-D; L-D-D-L; L-D-L-L-D; D-L-D-D-L; D-L-L-D-L; 또는 L-D-D-L-D. cCPP를 형성하는 아미노산 잔기는 모두 L-아미노산일 수 있다. cCPP를 형성하는 아미노산 잔기는 모두 D-아미노산일 수 있다.

[0099] 아미노산 중 적어도 2개는 상이한 카이랄성을 가질 수 있다. 상이한 카이랄성을 갖는 적어도 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 적어도 3개 아미노산은 인접한 아미노산에 대해 상이한 카이랄성을 가질 수 있다. 적어도 4개 아미노산은 인접한 아미노산에 대해 상이한 카이랄성을 가질 수 있다. 적어도 2개의 아미노산은 동일한 카이랄성을 갖고, 적어도 2개의 아미노산은 상이한 카이랄성을 갖는다. cCPP를 형성하는 하나 이상의 아미노산 잔기는 아카이랄(achiral)일 수 있다. cCPP는 3개, 4개 또는 5개의 아미노산의 모티프를 포함할 수 있되, 동일한 카이랄성을 갖는 2개의 아미노산은 아카이랄 아미노산에 의해 분리될 수 있다. cCPP는 다음 서열: D-X-D; D-X-D-X; D-X-D-X-D; L-X-L; L-X-L-X; 또는 L-X-L-X-L을 포함할 수 있되, X는 아카이랄 아미노산이다. 아카이랄 아미노산은 글리신일 수 있다.

[0100] 
또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산에 인접할 수 있다. 
또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 하나의 아미노산에 인접할 수 있다. 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산에 인접할 수 있다. 
또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 2개의 아미노산은 서로 인접할 수 있다. 2개의 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산은 서로 인접한다. cCPP는 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함할 수 있는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 연속 아미노산 및 
또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 비-인접한 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 방향족 또는 헤테로방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 연속 아미노산 및 
또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 비-인접한 아미노산을 포함할 수 있다. 인접한 아미노산은 동일한 카이랄성을 가질 수 있다. 인접한 아미노산은 반대의 카이랄성을 가질 수 있다. 아미노산의 다른 조합은 D 및 L 아미노산의 임의의 배열, 예를 들어, 전술한 단락에 기술된 임의의 서열을 가질 수 있다.

[0101] 
또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산은 구아니딘기 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 측쇄를 갖는 적어도 2개의 아미노산과 교대로 존재한다.

[0102] cCPP는 하기 화학식 (A)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:

[0103] 
(A)

[0104] 식 중,

[0105] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0106] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0107] R_4, R_5, R_6, R_7은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0108] R_4, R_5, R_6, R_7 중 적어도 하나는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산, 4-구아니디노-2-아미노뷰탄산, 아르기닌, 호모아르기닌, N-메틸아르기닌, N,N-다이메틸아르기닌, 2,3-다이아미노프로피온산, 2,4-다이아미노뷰탄산, 라이신, N-메틸라이신, N,N-다이메틸라이신, N-에틸라이신, N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌, 시트룰린, N,N-다이메틸라이신, β-호모아르기닌, 3-(1-피페리딘일)알라닌의 측쇄이고;

[0109] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고; 그리고

[0110] q는 1, 2, 3 또는 4이다.

[0111] 실시형태에서, R_4, R_5, R_6, R_7 중 적어도 하나는 독립적으로 아미노산의 비하전된 비방향족 측쇄이다. 실시형태에서, R_4, R_5, R_6, R_7 중 적어도 하나는 독립적으로 H 또는 시트룰린의 측쇄이다.

[0112] 실시형태에서, 6개 내지 12개의 아미노산을 갖는 환식 펩타이드를 포함하는 화합물이 제공되되, 환식 펩타이드의 적어도 2개의 아미노산은 하전된 아미노산이고, 환식 펩타이드의 적어도 2개의 아미노산은 방향족 소수성 아미노산이고, 환식 펩타이드의 적어도 2개의 아미노산은 비하전된 비방향족 아미노산이다. 실시형태에서, 환식 펩타이드의 적어도 2개의 하전된 아미노산은 아르기닌이다. 실시형태에서, 환식 펩타이드의 적어도 2개의 방향족 소수성 아미노산은 페닐알라닌, 나프타 알라닌(3-나프트-2-일-알라닌) 또는 이들의 조합이다. 실시형태에서, 환식 펩타이드의 적어도 2개의 비하전된 비방향족 아미노산은 시트룰린, 글리신 또는 이들의 조합이다. 실시형태에서, 화합물은 6개 내지 12개의 아미노산을 갖는 환식 펩타이드이되, 환식 펩타이드의 2개의 아미노산은 아르기닌이고, 적어도 2개의 아미노산은 페닐알라닌, 나프타 알라닌 및 이들의 조합으로부터 선택되는 방향족 소수성 아미노산이고, 적어도 2개의 아미노산은 시트룰린, 글리신 및 이들의 조합으로부터 선택되는 비하전된 비방향족 아미노산이다.

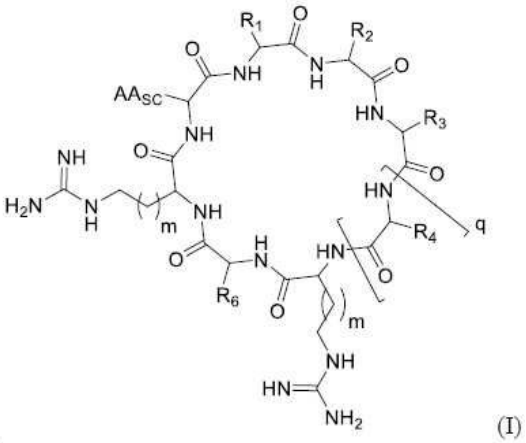
[0113] 실시형태에서, 화학식 (A)의 환식 펩타이드는 다음의 서열을 갖는 환식 펩타이드가 아니다:

CPP 서열		
FΦRRRQ	RRFRΦRQ	FΦRRRRQK
FΦRRRC	FRRRRΦQ	FΦRRRRQC
FΦRRRU	rRFRΦRQ	fΦRrRrRQ
RRRΦFQ	RRΦFRRQ	FΦRRRRRQ
RRRRΦF	CRRRRFWQ	RRRRΦFDΩC
FΦRRRR	FfΦRrRrQ	FΦRRR
FϕrRrRq	FFΦRRRRQ	FWRRR
FϕrRrRQ	RFRFRΦRQ	RRRΦF
FΦRRRRQ	URRRRFWQ	RRRWF
fΦRrRrQ	CRRRRFWQ	

여기서, F 는 L-페닐알라닌이고, f 는 D-페닐알라닌이고, Φ 는 L-3-(2-나프틸)-알라닌이고, Φ 는 D-3-(2-나프틸)-알라닌이고, R 은 L-아르기닌이고, r 은 D-아르기닌이고, Q 는 L-글루타민이고, q 는 D-글루타민이고, C 는 L-시스테인이고, U 는 L-셀레노시스테인이고, W 는 L-트립토판이고, K 는 L-라이신이고, D 는 L-아스파르트산이고, Ω 는 L-노르류신이다.

[0114]

[0115] cCPP는 하기 화학식 (I)의 구조 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있다:



(I)

[0116]

[0117] 식 중,

[0118] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0119] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0120] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0121] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0122] q는 1, 2, 3 또는 4이고; 그리고

[0123] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이다.

[0124] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H, -알킬렌-아릴 또는 -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H, -C_{1-3}알킬렌-아릴 또는 -C_{1-3}알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 -C_{1-3}알킬렌-아릴일 수 있다. C_{1-3}알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라센일로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H, -C_{1-3}알킬렌-Ph 또는 -C_{1-3}알킬렌-나프틸일 수 있다. R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H, -CH_2Ph 또는 -CH_2나프틸일 수 있다. R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 -CH_2Ph일

수 있다.

[0125] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 타이로신, 페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 트립토판, 3-벤조티엔일알라닌, 4-페닐페닐알라닌, 3,4-다이플루오로페닐알라닌, 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌, 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌, 호모페닐알라닌, β-호모페닐알라닌, 4-tert-뷰틸-페닐알라닌, 4-피리딘일알라닌, 3-피리딘일알라닌, 4-메틸페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0126] R_1은 타이로신의 측쇄일 수 있다. R_1 페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 1-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 2-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 트립토판의 측쇄일 수 있다. R_1은 3-벤조티엔일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-페닐페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 3,4-다이플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 β-호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-tert-뷰틸-페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-피리딘일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 3-피리딘일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 4-클로로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0127] R_2는 타이로신의 측쇄일 수 있다. R_2는 페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 1-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R_1은 2-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 트립토판의 측쇄일 수 있다. R_2는 3-벤조티엔일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-페닐페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 3,4-다이플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 β-호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-tert-뷰틸-페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-피리딘일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 3-피리딘일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 4-클로로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_2는 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0128] R_3은 타이로신의 측쇄일 수 있다. R_3은 페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 1-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 2-나프틸알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 트립토판의 측쇄일 수 있다. R_3은 3-벤조티엔일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-페닐페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 3,4-다이플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-트라이플루오로메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 β-호모페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-tert-뷰틸-페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-피리딘일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 3-피리딘일알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-메틸페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-플루오로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 4-클로로페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_3은 3-(9-안트릴)-알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0129] R_4는 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_4는 H, $-C_{1-3}$알킬렌-아릴 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_4는 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R_4는 H 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-아릴일 수 있다. C_{1-3}알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라센일로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R_4는 H, $-C_{1-3}$알킬렌-Ph 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-나프틸일 수 있다. R_4는 H, 또는 **표 1** 또는 **표 3**의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R_4는 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R_4는 H, $-CH_2Ph$ 또는 $-CH_2$나프틸일 수 있다. R_4는 H 또는 $-CH_2Ph$일 수 있다.

[0130] R_5는 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_5는 H, $-C_{1-3}$알킬렌-아릴 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_5는 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R_5는 H 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-아릴일 수 있다. C_{1-3}알킬렌은 메틸렌일

수 있다. 아릴은 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라센일로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R_5는 H, $-C_{1-3}$알킬렌-Ph 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-나프틸일 수 있다. R_5는 H, 또는 **표 1** 또는 **표 3**의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R_4는 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R_5는 H, $-CH_2Ph$ 또는 $-CH_2$나프틸일 수 있다. R_4는 H 또는 $-CH_2Ph$일 수 있다.

[0131] R_6은 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_6은 H, $-C_{1-3}$알킬렌-아릴 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_6은 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R_6은 H 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-아릴일 수 있다. C_{1-3}알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라센일로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R_6은 H, $-C_{1-3}$알킬렌-Ph 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-나프틸일 수 있다. R_6은 H, 또는 **표 1** 또는 **표 3**의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R_6은 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R_6은 H, $-CH_2Ph$ 또는 $-CH_2$나프틸일 수 있다. R_6 H 또는 $-CH_2Ph$일 수 있다.

[0132] R_7은 H, -알킬렌-아릴, -알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_7은 H, $-C_{1-3}$알킬렌-아릴 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-헤테로아릴일 수 있다. R_7은 H 또는 -알킬렌-아릴일 수 있다. R_7은 H 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-아릴일 수 있다. C_{1-3}알킬렌은 메틸렌일 수 있다. 아릴은 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. 헤테로아릴은 N, O 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. 아릴은 페닐, 나프틸 또는 안트라센일로부터 선택될 수 있다. 아릴은 페닐 또는 나프틸일 수 있다. 아릴은 페닐일 수 있다. 헤테로아릴은 피리딜, 퀴놀릴 및 아이소퀴놀릴일 수 있다. R_7은 H, $-C_{1-3}$알킬렌-Ph 또는 $-C_{1-3}$알킬렌-나프틸일 수 있다. R_7은 H, 또는 **표 1** 또는 **표 3**의 아미노산의 측쇄일 수 있다. R_7은 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. R_7은 H, $-CH_2Ph$ 또는 $-CH_2$나프틸일 수 있다. R_7은 H 또는 $-CH_2Ph$일 수 있다.

[0133] R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 1개, 2개 또는 3개는 $-CH_2Ph$일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 1개는 $-CH_2Ph$일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 2개는 $-CH_2Ph$일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 3개는 $-CH_2Ph$일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 $-CH_2Ph$일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 4개 이상은 $-CH_2Ph$일 수 없다.

[0134] R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 1개, 2개 또는 3개는 $-CH_2Ph$이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 1개는 $-CH_2Ph$이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 2개는 $-CH_2Ph$이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 3개는 $-CH_2Ph$이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 적어도 하나는 $-CH_2Ph$이다.

[0135] R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 1개, 2개 또는 3개는 H일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 1개는 H일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 2개는 H이다. R_1, R_2, R_3, R_5, R_6 및 R_7 중 3개는 H일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 H일 수 있다. R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 3개 이상은 $-CH_2Ph$일 수 없다.

[0136] R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 1개, 2개 또는 3개는 H이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 1개는 H이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 2개는 H이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 3개는 H이다. R_1, R_2, R_3 및 R_4 중 적어도 하나는 H이다.

[0137] R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 4-구아니디노-2-아미노뷰탄산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N-메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N,N-다이메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 2,3-다이아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 2,4-다이아미노뷰탄산, 라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N-메틸라이

신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N,N-다이메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N-에틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 시트룰린의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 N,N-다이메틸라이신, β-호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 하나는 3-(1-피페리딘일)알라닌의 측쇄일 수 있다.

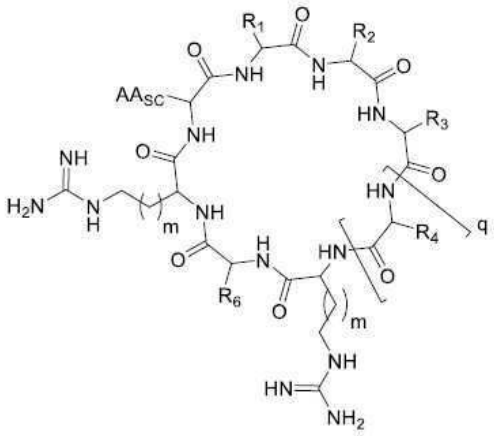
[0138] R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 4-구아니디노-2-아미노뷰탄산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N-메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N-다이메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 2,3-다이아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 2,4-다이아미노뷰탄산, 라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N-메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N-다이메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N-에틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 시트룰린의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 N,N-다이메틸라이신, β-호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 2개는 3-(1-피페리딘일)알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0139] R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 3-구아니디노-2-아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 4-구아니디노-2-아미노뷰탄산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N-메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N-다이메틸아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 2,3-다이아미노프로피온산의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 2,4-다이아미노뷰탄산, 라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N-메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N-다이메틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N-에틸라이신의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N,N-트라이메틸라이신, 4-구아니디노페닐알라닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 시트룰린의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 N,N-다이메틸라이신, β-호모아르기닌의 측쇄일 수 있다. R_4, R_5, R_6 및 R_7 중 적어도 3개는 3-(1-피페리딘일)알라닌의 측쇄일 수 있다.

[0140] AA_{SC}는 아스파라긴, 글루타민 또는 호모글루타민 잔기의 측쇄일 수 있다. AA_{SC}는 글루타민 잔기의 측쇄일 수 있다. cCPP는 AA_{SC}, 예를 들어, 아스파라긴, 글루타민 또는 호모글루타민의 잔기에 접합된 링커를 추가로 포함할 수 있다. 그러므로, cCPP는 아스파라긴, 글루타민 또는 호모글루타민 잔기에 접합된 링커를 추가로 포함할 수 있다. cCPP는 글루타민 잔기에 접합된 링커를 추가로 포함할 수 있다.

[0141] q는 1, 2 또는 3일 수 있다. q는 1 또는 2일 수 있다. q는 1일 수 있다. q는 2일 수 있다. q는 3일 수 있다. q는 4일 수 있다.

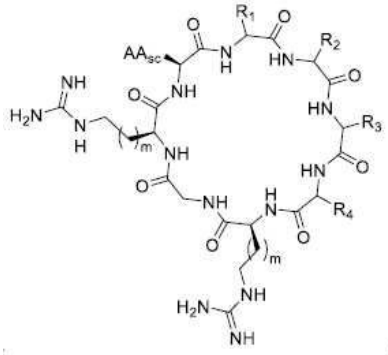
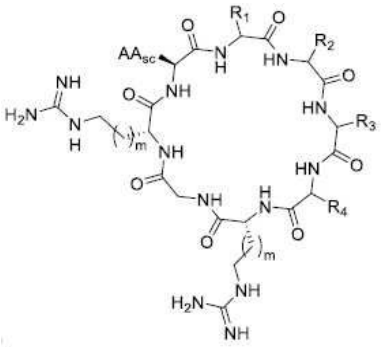
[0142] m은 1 내지 3일 수 있다. m은 1 또는 2일 수 있다. m은 0일 수 있다. m은 1일 수 있다. m은 2일 수 있다. m은 3일 수 있다.



(I)

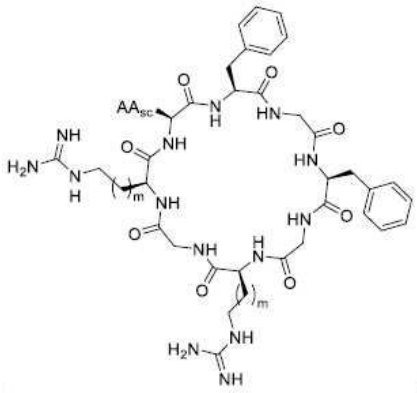
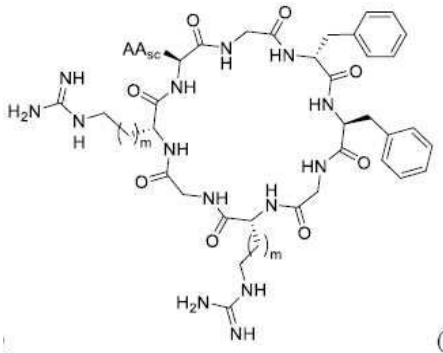
[0143] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I)의 구조: 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC}, R_1, R_2, R_3, R_4, R_7, m 및 q는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

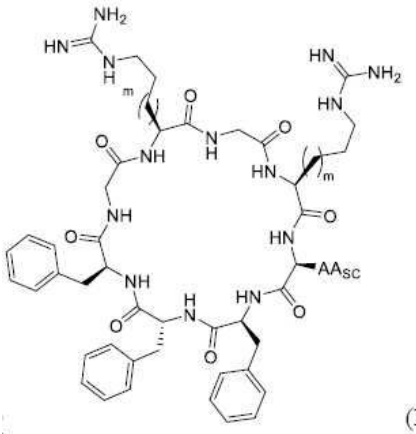
[0144] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-a) 또는 화학식 (I-b)의 구조:

[0145]  (I-a),  (I-b)

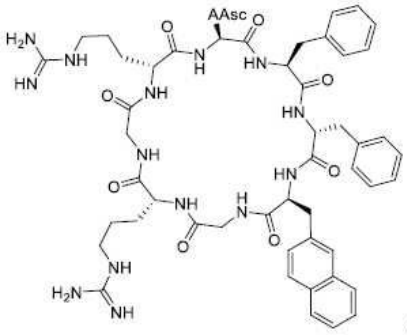
[0146] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC}, R_1, R_2, R_3, R_4 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0147] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-1), (I-2), (I-3) 또는 (I-4)의 구조:

[0148]  (I-1),  (I-2),



(I-3),

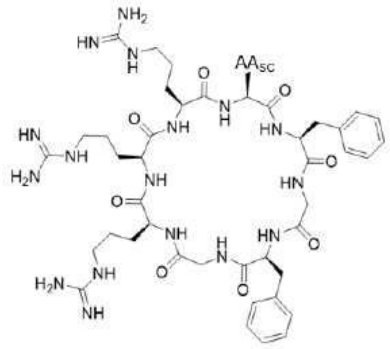


(I-4)

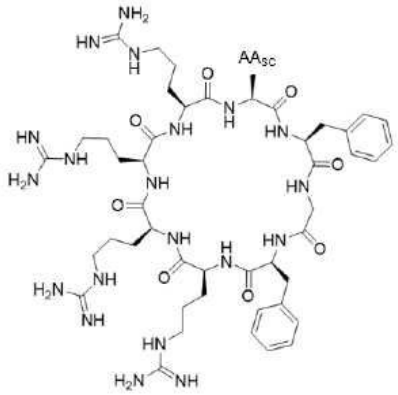
[0149] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0150] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-5) 또는 (I-6)의 구조:

[0151]



(I-5),

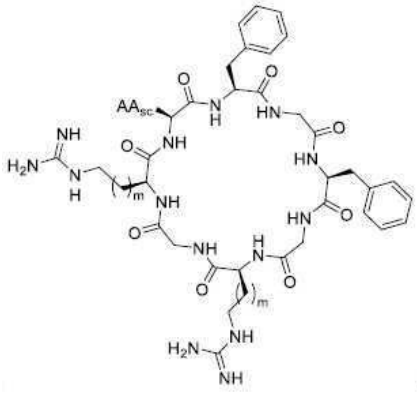


(I-6)

[0152] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC}는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0153] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-1)의 구조:

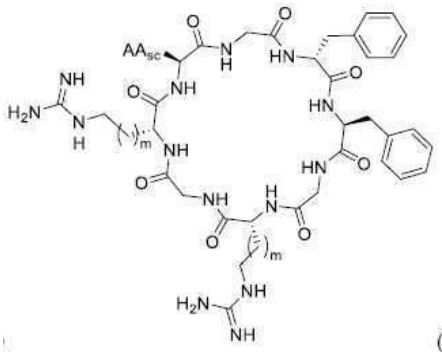
[0154]



(I-1)

[0155] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

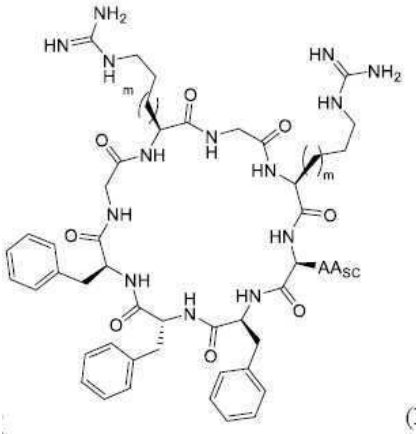
[0156] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-2)의 구조:



[0157] (I-2)

[0158] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

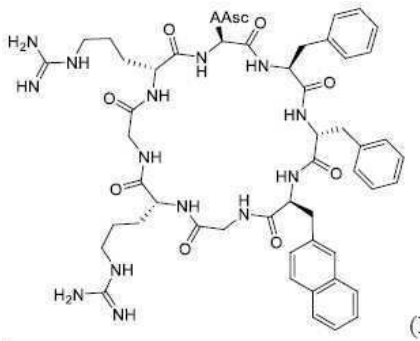
[0159] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-3)의 구조:



[0160] (I-3)

[0161] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

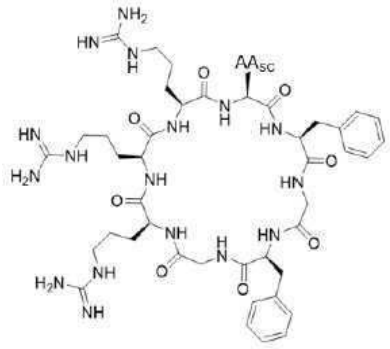
[0162] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-4)의 구조:



[0163] (I-4)

[0164] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0165] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-5)의 구조:

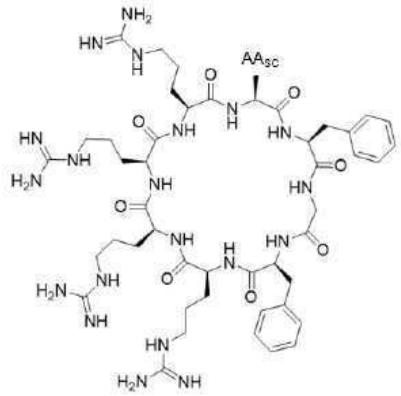


(I-5)

[0166]

[0167] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0168] 화학식 (A)의 cCPP는 하기 화학식 (I-6)의 구조:



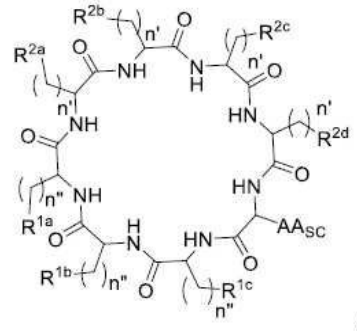
(I-6)

[0169]

[0170] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 m은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0171] cCPP는 다음 서열 중 하나를 포함할 수 있다: FGFGRGR; GfFGrGr, FfΦGRGR; FfFGRGR; 또는 FfΦGrGr. cCPP는 다음 서열 중 하나를 가질 수 있다: FGFGRGRQ; GfFGrGrQ, FfΦGRGRQ; FfFGRGRQ; 또는 FfΦGrGrQ.

[0172] 본 개시내용은 또한 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 cCPP에 관한 것이다:



(II)

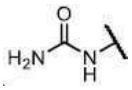
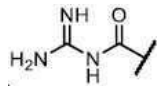
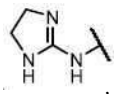
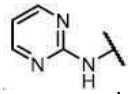
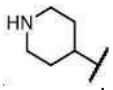
[0173]

[0174] 식 중,

[0175] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0176] R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6- 내지 14-원 아릴 또는 6- 내지 14-원 헤테로아릴이고;

[0177] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}는 독립적으로 아미노산 측쇄이고;

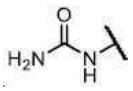
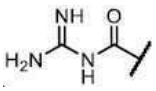
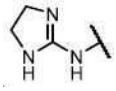
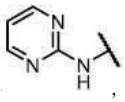
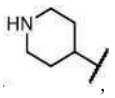
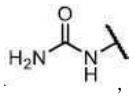
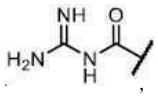
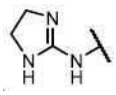
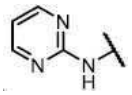
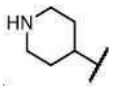
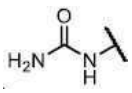
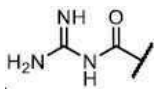
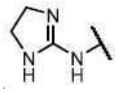
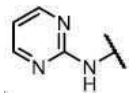
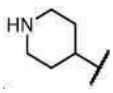
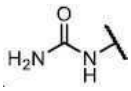
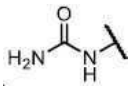
[0178] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태이고;

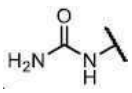
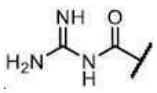
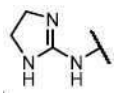
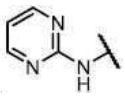
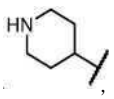
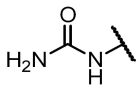
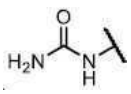
[0179] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태이고;

[0180] 각각의 n"는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4 또는 5의 정수이고;

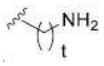
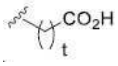
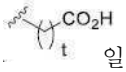
[0181] 각각의 n'은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고; 그리고

[0182] n'가 0이면, R^{2a}, R^{2b}, R^{2b} 또는 R^{2d}가 존재하지 않는다.

[0183] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 2개는  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 2개 또는 3개는  ,  ,  ,  ,  , 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 하나는  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 하나는  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}의 나머지 부분은 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 중 적어도 2개는  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}의 나머지 부분은 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다.

[0184] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}는 모두  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. 적어도 R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}는  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}의 나머지 부분은 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. 적어도 2개의 R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 기는  또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d}의 나머지 부분은 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태이다.

[0185] R^{2a}, R^{2b}, R^{2c} 및 R^{2d} 각각은 독립적으로 2,3-다이아미노프로피온산, 2,4-다이아미노뷰티르산, 오르니틴, 라이신, 메틸라이신, 다이메틸라이신, 트라이메틸라이신, 호모-라이신, 세린, 호모-세린, 트레오닌, 알로-트레오닌, 히스티딘, 1-메틸히스티딘, 2-아미노뷰테인다이오산, 아스파르트산, 글루탐산 또는 호모-글루탐산의 측쇄일 수 있다.

[0186] AA_{SC}는  또는  일 수 있되, t는 0 내지 5의 정수일 수 있다. AA_{SC}는  일 수 있되, t는 0 내지 5의 정수일 수 있다. t는 1 내지 5일 수 있다. t는 2 또는 3일 수 있다. t는 2일 수 있다. t는 3일 수 있다.

[0187] 본 명세서에 기재된 AC는 AA_{SC}에 커플링될 수 있다. 실시형태에서, 링커(L)는 AC를 AA_{SC}에 커플링시킨다. 실시형태에서, 링커(L)는 AC의 백본에 공유적으로 결합된다.

[0188] AA_{SC}는 아스파라긴, 글루타민 또는 호모글루타민 잔기의 측쇄일 수 있다. AA_{SC}는 글루타민 잔기의 측쇄일 수 있다. 환식 펩타이드는 AA_{SC}, 예를 들어, 아스파라긴, 글루타민 또는 호모글루타민의 잔기에 접합된 링커를 포함할 수 있다.

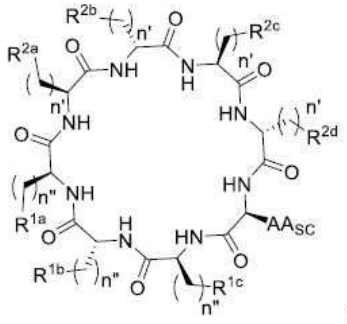
[0189] R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6- 내지 14-원 아릴일 수 있다. R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 N, O 또는 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 6- 내지 14-원 헤테로아릴일 수 있다. R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 페닐, 나프틸, 안트라센일, 피리딜, 퀴놀릴 또는 아이소퀴놀릴로부터 선택될 수 있다. R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 페닐, 나프틸 또는 안트라센일로부터 선택될 수 있다. R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 페닐 또는 나프틸일 수 있다. R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 피리딜, 퀴놀릴 또는 아이소퀴놀릴로부터 선택될 수 있다.

[0190] 각 n'는 독립적으로 1 또는 2일 수 있다. 각 n'는 1일 수 있다. 각 n'는 2일 수 있다. 적어도 하나의 n'는 0일 수 있다. 적어도 하나의 n'는 1일 수 있다. 적어도 하나의 n'는 2일 수 있다. 적어도 하나의 n'는 3일 수 있다. 적어도 하나의 n'는 4일 수 있다. 적어도 하나의 n'는 5일 수 있다.

[0191] 각 n"는 독립적으로 1 내지 3의 정수일 수 있다. 각 n"는 독립적으로 2 또는 3일 수 있다. 각 n"는 2일 수 있다. 각 n"는 3일 수 있다. 적어도 하나의 n"는 0일 수 있다. 적어도 하나의 n"는 1일 수 있다. 적어도 하나의 n"는 2일 수 있다. 적어도 하나의 n"는 3일 수 있다.

[0192] 각 n"는 독립적으로 1 또는 2일 수 있고, 각 n'는 독립적으로 2 또는 3일 수 있다. 각 n"는 1일 수 있고, 각 n'는 독립적으로 2 또는 3일 수 있다. 각 n"는 1일 수 있고, 각 n'는 2일 수 있다. 각 n"는 1이고, 각 n'는 3이다.

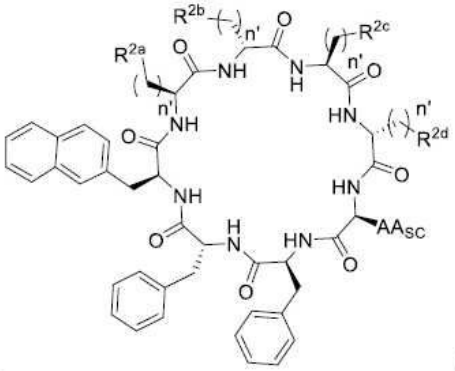
[0193] 화학식 (II)의 cCPP는 하기 화학식 (II-1)의 구조:

[0194] 

(II-1)

[0195] 를 가질 수 있되, 식 중, R^{1a}, R^{1b}, R^{1c}, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, R^{2d}, AA_{SC}, n' 및 n"는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0196] 화학식 (II)의 cCPP는 하기 화학식 (IIa)의 구조:

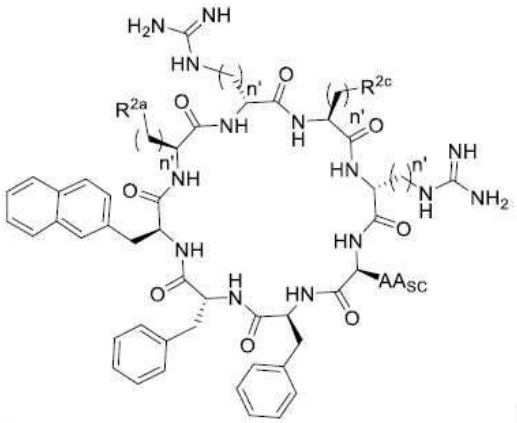


(IIa)

[0197]

[0198] 를 가질 수 있되, 식 중, R^{1a}, R^{1b}, R^{1c}, R^{2a}, R^{2b}, R^{2c}, R^{2d}, AA_{SC} 및 n'는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0199] 화학식 (II)의 cCPP는 하기 화학식 (IIb)의 구조:

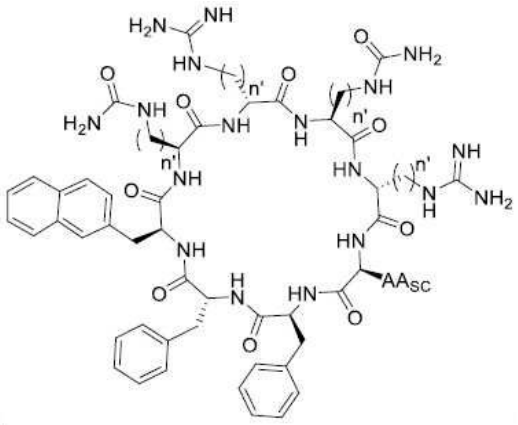


(IIb)

[0200]

[0201] 를 가질 수 있되, 식 중, R^{2a}, R^{2b}, AA_{SC} 및 n'는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0202] cCPP는 하기 화학식 (IIb)의 구조:

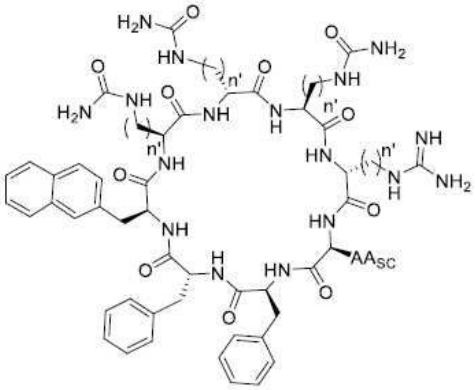
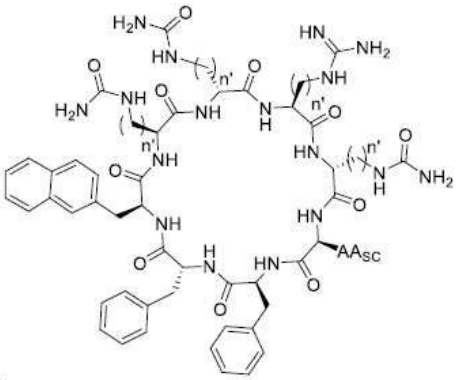
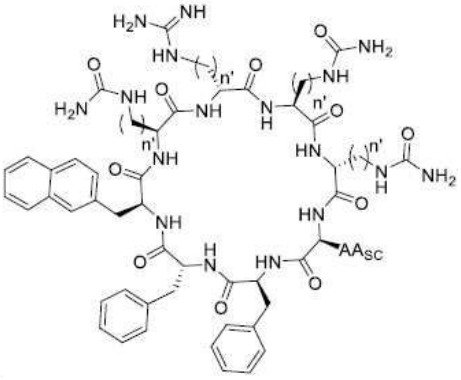
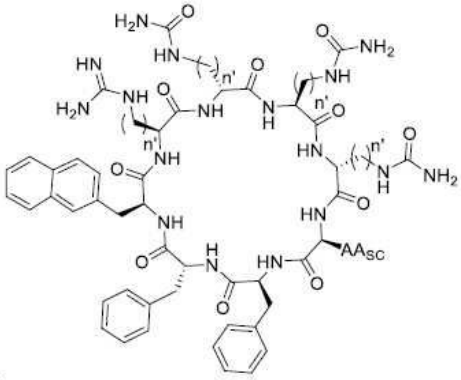


(IIc)

[0203]

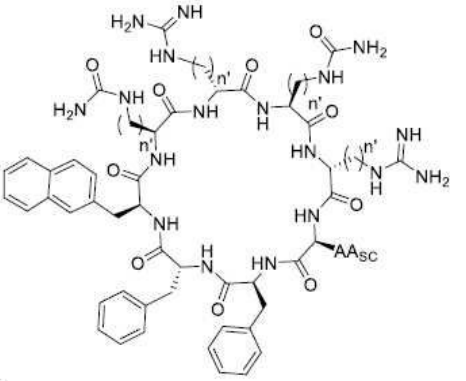
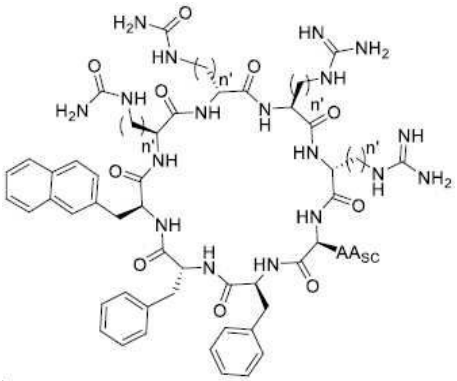
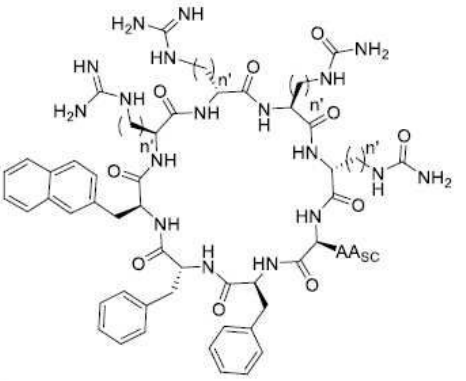
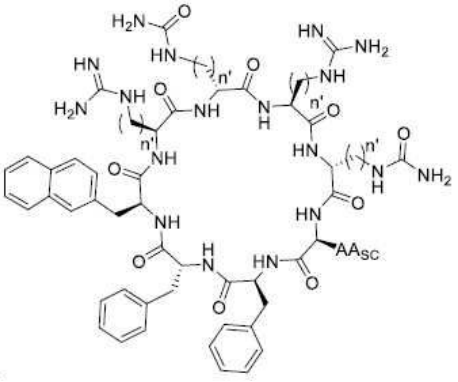
[0204] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되, 식 중, AA_{SC} 및 n'는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0205] 화학식 (IIa)의 cCPP는 다음 구조 중 하나:

[0206]  ,  ,  또는 

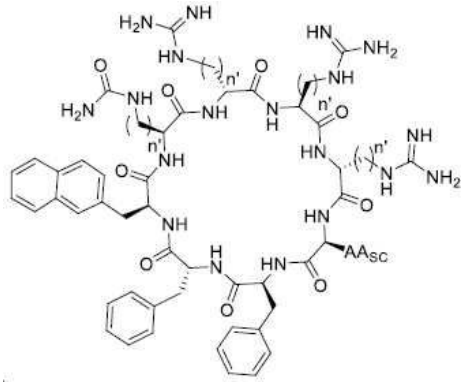
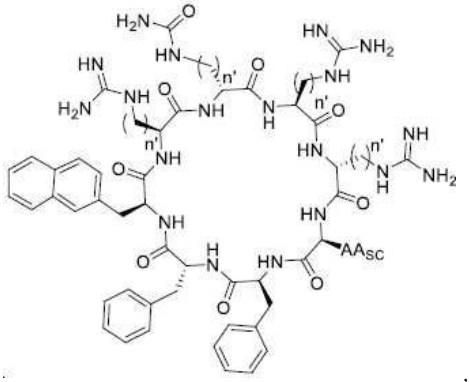
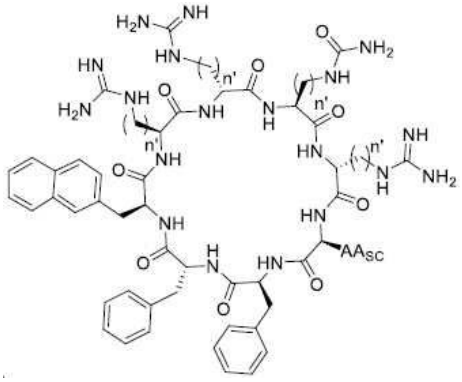
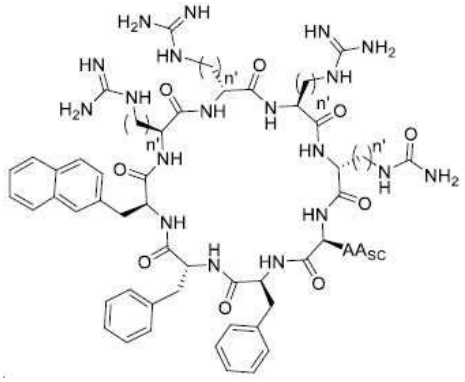
[0207] 를 갖되, 식 중, AA_{SC} 및 n은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0208] 화학식 (IIa)의 cCPP는 다음 구조 중 하나:

[0209]  ,  ,  또는 

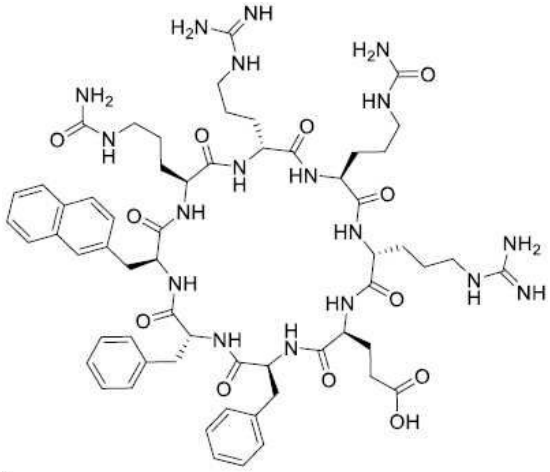
[0210] 를 갖되, 식 중, AA_{SC} 및 n은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0211] 화학식 (IIa)의 cCPP는 다음 구조 중 하나:

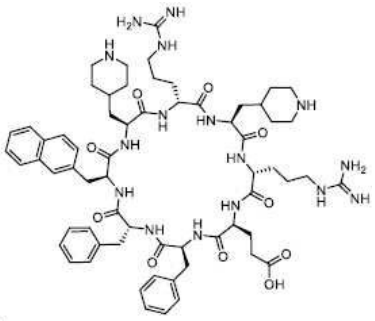
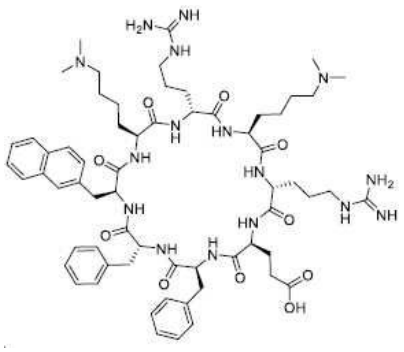
[0212]  ,  ,  또는 

[0213] 를 갖되, 식 중, AA_{SC} 및 n은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

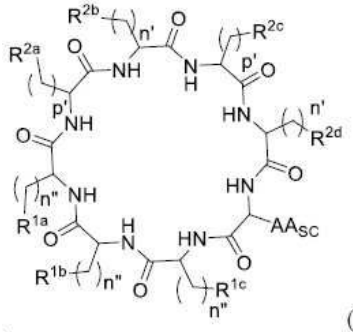
[0214] 화학식 (II)의 cCPP는 하기 구조를 가질 수 있다:

[0215]  .

[0216] 화학식 (II)의 cCPP는 하기 구조를 가질 수 있다:

[0217]  또는  .

[0218] cCPP는 하기 화학식 (III)의 구조:



(III)

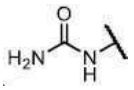
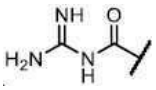
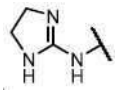
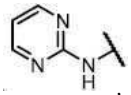
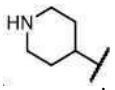
[0219]

[0220] 를 가질 수 있되,

[0221] 식 중,

[0222] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0223] R^{1a}, R^{1b} 및 R^{1c}는 각각 독립적으로 6- 내지 14-원 아릴 또는 6- 내지 14-원 헤테로아릴이고;

[0224] R^{2a} 및 R^{2c}는 각각 독립적으로 H,  ,  ,  ,  ,  ,  또는 이의 양성자화된 형태이고;

[0225] R^{2b} 및 R^{2d}는 각각 독립적으로 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태이고;

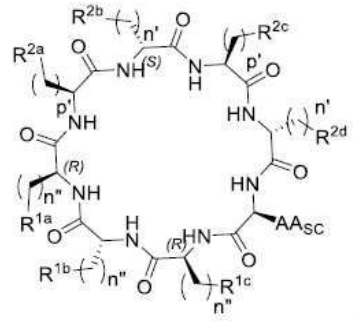
[0226] 각각의 n"는 독립적으로 1 내지 3의 정수이고;

[0227] 각각의 n'는 독립적으로 1 내지 5의 정수이고; 그리고

[0228] 각각의 p'는 독립적으로 정수 0 내지 5의 정수이다.

[0229] 본 명세서에 기재된 AC는 AA_{SC}에 커플링될 수 있다. 링커는 AC를 AA_{SC}에 커플링시킬 수 있다. 링커는 AC의 백본, AC의 5' 말단 또는 AC의 3' 말단에 공유적으로 결합될 수 있다.

[0230] 화학식 (III)의 cCPP는 하기 화학식 (III-1)의 구조:



(III-1)

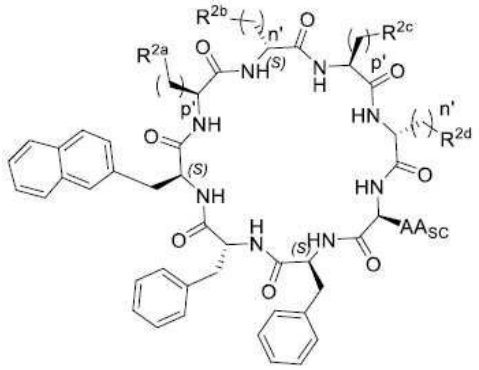
[0231]

[0232] 를 가질 수 있되,

[0233] 식 중,

[0234] AA_{SC}, R^{1a}, R^{1b}, R^{1c}, R^{2a}, R^{2c}, R^{2b}, R^{2d} n', n" 및 p'는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0235] 화학식 (III)의 cCPP는 하기 화학식 (IIIa)의 구조:



(IIIa)

[0236]

[0237] 를 가질 수 있되,

[0238] 식 중,

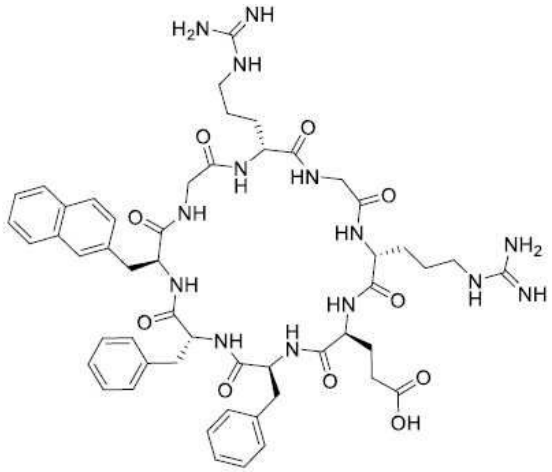
[0239] AA_{SC}, R^{2a}, R^{2c}, R^{2b}, R^{2d} n', n" 및 p'는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0240] 화학식 (III), (III-1) 및 (IIIa)에서, R^a 및 R^c는 H일 수 있다. R^a 및 R^c는 H일 수 있고, R^b 및 R^d는 각각 독립적으로 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있다. R^a는 H일 수 있다. R^b는 H일 수 있다. p'는 0일 수 있다. R^a 및 R^c는 H일 수 있고, 각 p'는 0일 수 있다.

[0241] 화학식 (III), (III-1) 및 (IIIa)에서, R^a 및 R^c는 H일 수 있고, R^b 및 R^d는 각각 독립적으로 구아니딘 또는 이의 양성자화된 형태일 수 있고, n"는 2 또는 3일 수 있고, 각 p'는 0일 수 있다.

[0242] p'는 0일 수 있다. p'는 1일 수 있다. p'는 2일 수 있다. p'는 3일 수 있다. p'는 4일 수 있다. p'는 5일 수 있다.

[0243] cCPP는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0244]

[0245] 화학식 (A)의 cCPP는 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0246]

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

[0247] 화학식 (A)의 cCPP는 다음으로부터 선택될 수 있다:

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

[0248]

[0249] 실시형태에서, cCPP는 다음으로부터 선택된다:

CPP 서열	CPP 서열	CPP 서열
FΦRRRQ	RRFRΦRQ	FΦRRRRQK
FΦRRRC	FRRRRΦQ	FΦRRRRQC
FΦRRRU	rRFRΦRQ	fΦRrRrRQ
RRRΦFQ	RRΦFRRQ	FΦRRRRRQ
RRRRΦF	CRRRRFWQ	RRRRΦFDΩC
FΦRRRR	FfΦRrRrQ	FΦRRR
FφrRrRq	FFΦRRRRQ	FWRRR
FφrRrRQ	RFRFRΦRQ	RRRΦF
FΦRRRRQ	URRRRFWQ	RRRWF
fΦRrRrQ	CRRRRFWQ	

Φ= L-나프틸알라닌; φ = D-나프틸알라닌; Ω = L-노르류신

[0250]

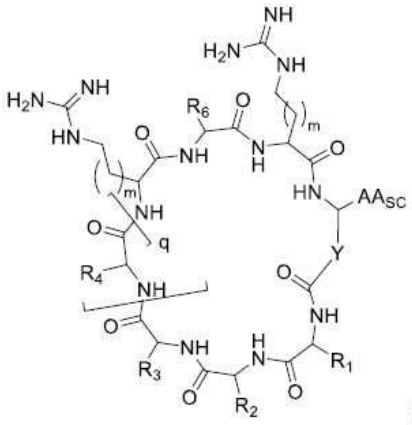
[0251] 실시형태에서, cCPP는 다음으로부터 선택되지 않는다:

CPP 서열	CPP 서열	CPP 서열
FΦRRRQ	RRFRΦRQ	FΦRRRRQK
FΦRRRC	FRRRRΦQ	FΦRRRRQC
FΦRRRU	rRFRΦRQ	fΦRrRrRQ
RRRΦFQ	RRΦFRRQ	FΦRRRRRQ
RRRRΦF	CRRRRFWQ	RRRRΦFDΩC
FΦRRRR	FfΦRrRrQ	FΦRRR
FφrRrRq	FFΦRRRRQ	FWRRR
FφrRrRQ	RFRFRΦRQ	RRRΦF
FΦRRRRQ	URRRRFWQ	RRRWF
fΦRrRrQ	CRRRRFWQ	

Φ = L-나프틸알라닌; φ = D-나프틸알라닌; Ω = L-노르류신

[0252]

[0253] cCPP는 하기 화학식 (D)의 구조:



(D)

[0254]

[0255] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되,

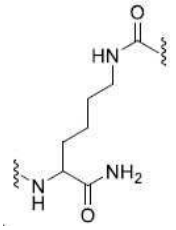
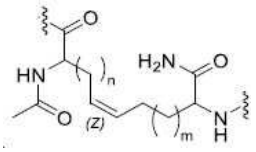
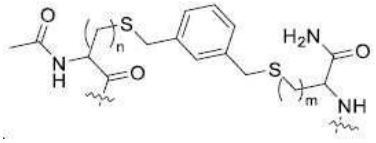
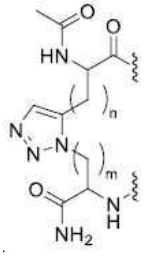
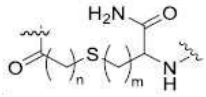
[0256] 식 중,

[0257] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0258] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0259] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0260] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

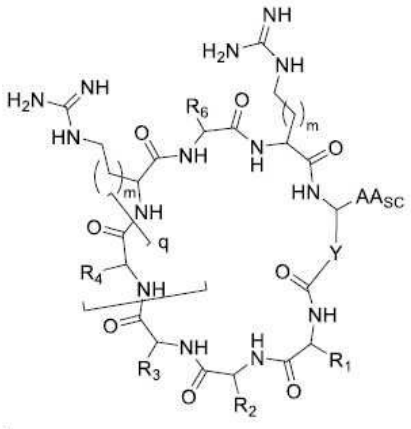
[0261] Y는  ,  ,  ,  , 또는  이고;

[0262] q는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0263] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고, 그리고

[0264] 각각의 n은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이다.

[0265] 화학식 (D)의 cCPP는 하기 화학식 (D-I)의 구조:

[0266] 
(D-I)

[0267] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되,

[0268] 식 중,

[0269] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

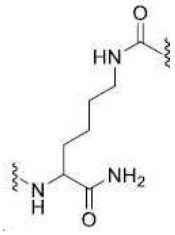
[0270] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0271] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

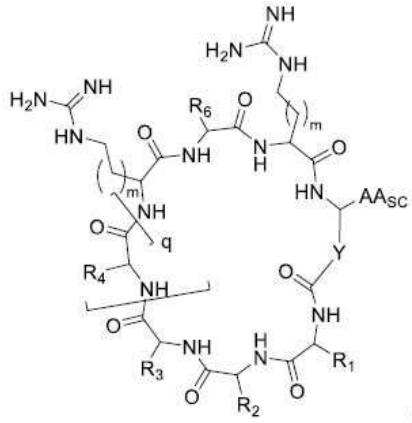
[0272] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0273] q는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0274] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고, 그리고

[0275] Y는  이다.

[0276] 화학식 (D)의 cCPP는 하기 화학식 (D-II)의 구조:



(D-II)

[0277]

[0278] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되,

[0279] 식 중,

[0280] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0281] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

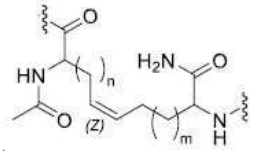
[0282] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0283] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

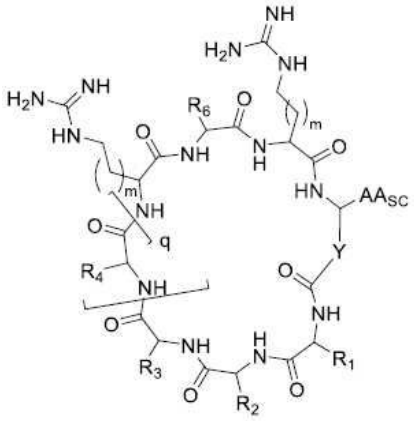
[0284] q는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0285] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고,

[0286] 각각의 n은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고, 그리고

[0287] Y는  이다.

[0288] 화학식 (D)의 cCPP는 하기 화학식 (D-III)의 구조:



[0289] (D-III)

[0290] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되,

[0291] 식 중,

[0292] R_1, R_2 및 R_3 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0293] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

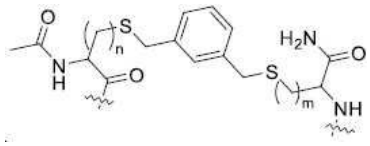
[0294] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0295] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

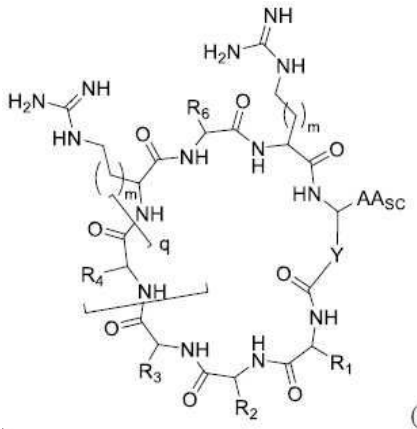
[0296] q는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0297] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고,

[0298] 각각의 n은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고, 그리고

[0299] Y는  이다.

[0300] 화학식 (D)의 cCPP는 하기 화학식 (D-IV)의 구조:



[0301] (D-IV)

[0302] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되,

[0303] 식 중,

[0304] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

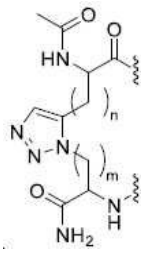
[0305] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0306] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

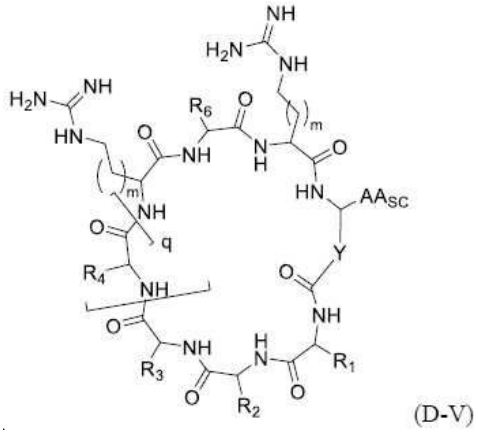
[0307] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0308] q는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0309] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고, 그리고

[0310] Y는  이다.

[0311] 화학식 (D)의 cCPP는 하기 화학식 (D-V)의 구조:

[0312] 
(D-V)

[0313] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되,

[0314] 식 중,

[0315] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

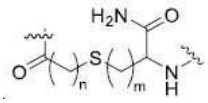
[0316] R_1, R_2 및 R_3 중 적어도 하나는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0317] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0318] AA_{SC}는 아미노산 측쇄이고;

[0319] q는 1, 2, 3 또는 4이고;

[0320] 각각의 m은 독립적으로 0, 1, 2 또는 3의 정수이고, 그리고

[0321] Y는  이다.

[0322] AA_{SC}는 링커에 접합될 수 있다.

[0323] *링커*

[0324] 본 개시내용의 cCPP는 링커에 접합될 수 있다. 링커는 AC를 cCPP에 연결시킬 수 있다. 링커는 cCPP의 아미노산의 측쇄에 부착될 수 있고, AC는 링커의 적합한 위치에 부착될 수 있다.

[0325] 링커는 cCPP를 하나 이상의 추가적인 모이어티, 예를 들어, 환외 펩타이드(EP) 및/또는 AC에 접합시킬 수 있는 임의의 적절한 모이어티일 수 있다. cCPP 및 하나 이상의 추가적인 모이어티에 대한 접합 전에, 링커는 2개 이상의 작용기를 가지며, 이들 각각은 독립적으로 cCPP 및 하나 이상의 추가적인 모이어티에 공유 결합을 형성할 수 있다. 링커는 AC의 5' 말단 또는 AC의 3' 말단에 공유적으로 결합될 수 있다. 링커는 AC의 5' 말단에 공유적으로 결합될 수 있다. 링커는 AC의 3' 말단에 공유적으로 결합될 수 있다. 링커는 본 명세서에 기재된 cCPP를 AC에 접합시키는 임의의 적절한 모이어티일 수 있다.

[0326] 링커는 탄화수소 링커를 포함할 수 있다.

[0327] 링커는 절단 부위를 포함할 수 있다. 절단 부위는 이황화물 또는 카스페이스-절단 부위(예를 들어, Val-Cit-PABC)일 수 있다.

[0328] 링커는 (i) 각각 선택적으로 치환된 하나 이상의 D 또는 L 아미노산; (ii) 선택적으로 치환된 알킬렌; (iii) 선택적으로 치환된 알켄일렌; (iv) 선택적으로 치환된 알킨일렌; (v) 선택적으로 치환된 카보사이클릴; (vi) 선택적으로 치환된 헤테로사이클릴; (vii) 하나 이상의 $-(R^{1}-J-R^{2})z"-$ 서브유닛(여기서, R^{1} 및 R^{2}는 각각 각 경우에 독립적으로 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 및 헤테로사이클릴로부터 선택되고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, $-NR^{3}C(O)-$, S 및 O이되, R^{3}은 독립적으로 H, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 및 헤테로사이클릴로부터 선택되며, 이들 각각은 선택적으로 치환되고, z"는 1 내지 50의 정수임); (viii) $-(R^{1}-J)z"-$ 또는 $-(J-R^{1})z"-$(여기서, R^{1}은 각각 각 경우에 독립적으로 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, $-NR^{3}C(O)-$, S 또는 O이되, R^{3}은 H, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이며, 이들 각각은 선택적으로 치환되고, z"는 1 내지 50의 정수임)를 포함할 수 있거나; (ix) 링커는 (i) 내지 (x) 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

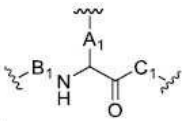
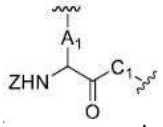
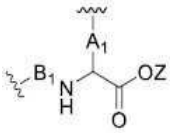
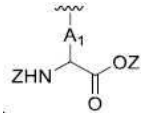
[0329] 링커는 하나 이상의 D 또는 L 아미노산 및/또는 $-(R^{1}-J-R^{2})z"-$(여기서, R^{1} 및 R^{2}는 각각 각 경우에 독립적으로 알킬렌이고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, $-NR^{3}C(O)-$, S 및 O이되, R^{4}는 독립적으로 H 및 알킬로부터 선택되고, z"는 1 내지 50의 정수임); 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0330] 링커는 $-(OCH_2CH_2)_{z'}-$(예를 들어, 스페이서로서)를 포함할 수 있되, z'는 1 내지 23의 정수, 예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23이다. $-(OCH_2CH_2)$ z'는 또한 폴리에틸렌 글리콜(PEG)로서 지칭될 수 있다.

[0331] 링커는 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 펩타이드를 포함할 수 있다. 링커는 $-(OCH_2CH_2)_{z'}-$(여기서, z'는 1 내지 23의 정수임) 및 펩타이드를 포함할 수 있다. 펩타이드는 2개 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 클릭 화학을 통해 반응할 수 있는 작용기(functional group: FG)를 추가로 포함할 수 있다. FG는 아자이드 또는 알킨일 수 있고, AC가 링커에 접합될 때 트라이아졸이 형성된다.

[0332] 링커는 (i) β 알라닌 잔기 및 라이신 잔기; (ii) $-(J-R^{1})z"$; 또는 (iii) 이들의 조합을 포함할 수 있다. 각각의 R^{1}은 독립적으로 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴일 수 있고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, $-NR^{3}C(O)-$, S 또는 O이되, R^{3}은 H, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이며, 이들 각각은 선택적으로 치환되고, z"는 1 내지 50의 정수일 수 있다. 각각의 R^{1}은 알킬렌일 수 있고, 각각의 J는 O일 수 있다.

[0333] 링커는 (i) β-알라닌, 글리신, 라이신, 4-아미노뷰티르산, 5-아미노펜탄산, 6-아미노헥산산의 잔기 또는 이들의 조합; 및 (ii) $-(R^{1}-J)z"-$ 또는 $-(J-R^{1})z"$를 포함할 수 있다. 각각의 R^{1}은 독립적으로 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴일 수 있고, 각각의 J는 독립적으로 C, NR^{3}, $-NR^{3}C(O)-$, S 또는 O이되, R^{3}은 H, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이며, 이들 각각은 선택적으로 치환되고, z"는 1 내지 50의 정수일 수 있다. 각각의 R^{1}은 알킬렌일 수 있고, 각각의 J는 O일 수 있다. 링커는 글리신, 베타-알라닌, 4-아미노뷰티르산, 5-아미노펜탄산, 6-아미노헥산산 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0334] 링커는 3가 링커일 수 있다. 링커 하기 구조:  ,  ,  또는  를 가질 수 있되, A_1, B_1 및 C_1은 독립적으로 탄화수소 링커(예를 들어, NRH-$(CH_2)_n$-COOH), PEG 링커(예를 들어, NRH-$(CH_2O)_n$-COOH, 여기서 R은 H, 메틸 또는 에틸임) 또는 하나 이상의 아미노산 잔기일 수 있고, Z는 독립적으로 보호기이다. 링커는 또한 이황화물 [NH_2-$(CH_2O)_n$-S-S-$(CH_2O)_n$-COOH] 또는 카스페이스-절단 부위(Val-Cit-PABC)를 포함하는 절단 부위를 혼입시킬 수 있다.

[0335] 탄화수소는 글리신 또는 베타-알라닌의 잔기일 수 있다.

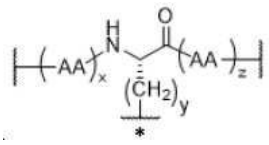
[0336] 링커는 2가일 수 있고, cCPP를 AC에 연결시킬 수 있다. 링커는 2가일 수 있고, cCPP를 환외 펩타이드(EP)에 연결시킬 수 있다.

[0337] 링커는 3가일 수 있고, cCPP를 AC 및 EP에 연결시킬 수 있다.

[0338] 링커는 2가 또는 3가 C_1-C_{50} 알킬렌일 수 있되, 1-25 메틸렌기는 선택적으로 그리고 독립적으로 -N(H)-, -N(C_1-C_4 알킬)-, -N(사이클로알킬)-, -O-, -C(O)-, -C(O)O-, -S-, -S(O)-, -S$(O)_2$-, -S$(O)_2$N(C_1-C_4 알킬)-, -S$(O)_2$N(사이클로알킬)-, -N(H)C(O)-, -N(C_1-C_4 알킬)C(O)-, -N(사이클로알킬)C(O)-, -C(O)N(H)-, -C(O)N(C_1-C_4 알킬), -C(O)N(사이클로알킬), 아릴, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬 또는 사이클로알켄일로 대체된다. 링커는 2가 또는 3가 C_1-C_{50} 알킬렌일 수 있되, 1-25 메틸렌기는 선택적으로 그리고 독립적으로 -N(H)-, -O-, -C(O)N(H)- 또는 이들의 조합으로 대체된다.

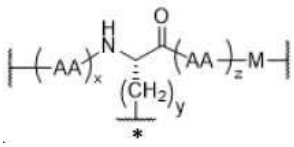
[0339] AC는 글루탐산을 글루타민으로 전환시키는 환식 펩타이드의 글루탐산에 커플링될 수 있다. 링커(L)는 AC를 환식 펩타이드의 글루타민/글루탐산에 커플링시킬 수 있다. 실시형태에서, 링커(L)는 AC의 백본에 공유적으로 결합된다.

[0340] 링커는 하기 구조:

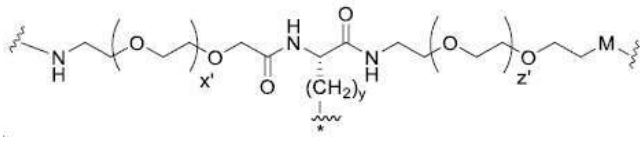
[0341]  를 가질 수 있되, 식 중, 각각의 AA는 독립적으로 아미노산 잔기이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; x는 1 내지 10의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z는 1 내지 10의 정수이다. x는 1 내지 5의 정수일 수 있다. x는 1 내지 3의 정수일 수 있다. x는 1일 수 있다. y는 2 내지 4의 정수일 수 있다. y는 4일 수 있다. z는 1 내지 5의 정수일 수 있다. z는 1 내지 3의 정수일 수 있다. z는 1일 수 있다. 각각의 AA는 독립적으로 글리신, β-알라닌, 4-아미노뷰티르산, 5-아미노펜탄산 및 6-아미노헥산산으로부터 선택될 수 있다.

[0342] cCPP는 링커("L")를 통해 AC에 부착될 수 있다. 링커는 결합기("M")를 통해 AC에 접합될 수 있다.

[0343] 링커는 하기 구조:

[0344]  를 가질 수 있되, 식 중, x는 1 내지 10의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z는 1 내지 10의 정수이고; 각각의 AA는 독립적으로 아미노산 잔기이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 본 명세서에 정의된 결합기이다.

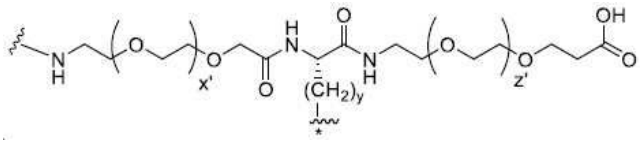
[0345] 링커는 하기 구조:



[0346]

[0347] 를 가질 수 있되, 식 중, x'는 1 내지 23의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z'는 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이고; M은 본 명세서에 정의된 결합기이다.

[0348] 링커는 하기 구조:



[0349]

[0350] 를 가질 수 있되, 식 중, x'는 1 내지 23의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z'는 1 내지 23의 정수이고; *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, AA_{SC}는 cCPP의 아미노산 잔기의 측쇄이다.

[0351] x는 사이의 모든 범위와 하위범위를 포함하여 1 내지 10의 정수, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일 수 있다.

[0352] x'는 사이의 모든 범위와 하위범위를 포함하여 1 내지 23의 정수, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23일 수 있다. x'는 5 내지 15의 정수일 수 있다. x'는 9 내지 13의 정수일 수 있다. x'는 1 내지 5의 정수일 수 있다. x'는 1일 수 있다.

[0353] y는 사이의 모든 범위와 하위범위를 포함하여 1 내지 5의 정수, 예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5일 수 있다. y는 2 내지 5의 정수일 수 있다. y는 3 내지 5의 정수일 수 있다. y는 3 또는 4일 수 있다. y는 4 또는 5일 수 있다. y는 3일 수 있다. y는 4일 수 있다. y는 5일 수 있다.

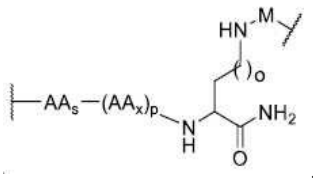
[0354] z는 사이의 모든 범위와 하위범위를 포함하여 1 내지 10의 정수, 예를 들어,1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10일 수 있다.

[0355] z'는 사이의 모든 범위와 하위범위를 포함하여 1 내지 23의 정수, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23일 수 있다. z'는 5 내지 15의 정수일 수 있다. z'는 9 내지 13의 정수일 수 있다. z'는 11일 수 있다.

[0356] 위에 논의된 바와 같이, 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 AC의 임의의 적합한 위치에서 AC에 공유적으로 결합될 수 있다. 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 AC의 3' 말단 또는 AC의 5' 말단에 공유적으로 결합될 수 있다. 링커 또는 M(여기서, M은 링커의 일부임)은 AC의 백본에 공유적으로 결합될 수 있다.

[0357] 링커는 cCPP 상의 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴 또는 라이신의 측쇄 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 감소된 측쇄)에 결합될 수 있다. 링커는 cCPP 상의 라이신 측쇄에 결합될 수 있다.

[0358] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0359] ,

[0360] 식 중,

[0361] M은 L을 AC에 접합시키는 기이고;

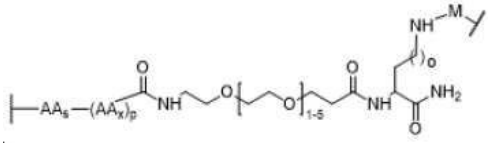
[0362] AA_s는 cCPP 상의 아미노산의 측쇄 또는 말단이고;

[0363] 각각의 AA_x는 독립적으로 아미노산 잔기이고;

[0364] o는 0 내지 10의 정수이고; 그리고

[0365] p는 0 내지 5의 정수이다.

[0366] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:

[0367] 

,

[0368] 식 중,

[0369] M은 L을 AC에 접합시키는 기이고;

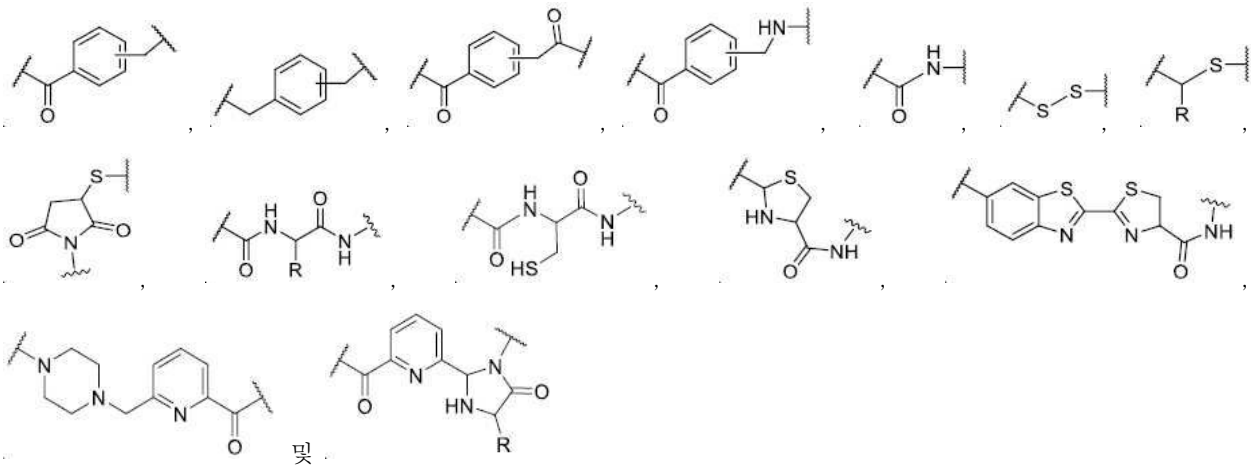
[0370] AA_s는 cCPP 상의 아미노산의 측쇄 또는 말단이고;

[0371] 각각의 AA_x는 독립적으로 아미노산 잔기이고;

[0372] o는 0 내지 10의 정수이고; 그리고

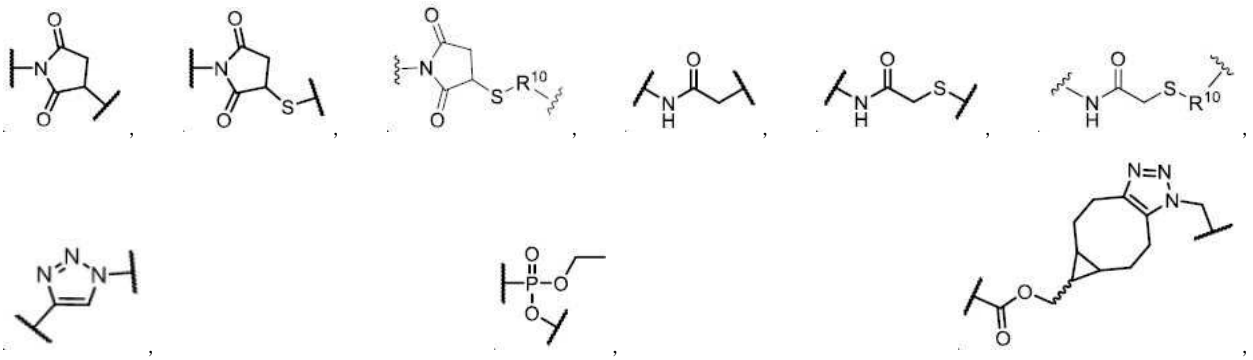
[0373] p는 0 내지 5의 정수이다.

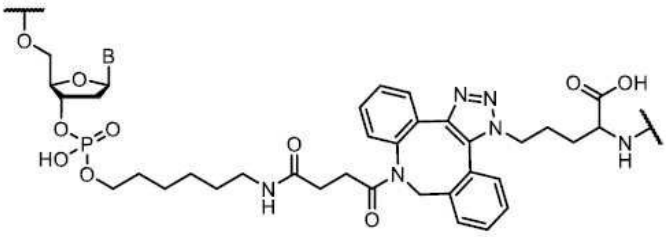
[0374] M은 알킬렌, 알켄일렌, 알킨일렌, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴을 포함할 수 있으며, 이들 각각은 선택적으로 치환된다. M은 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0375] 

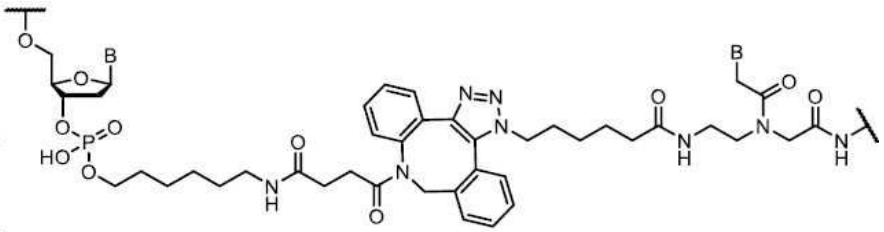
[0376] 식 중, R은 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이다.

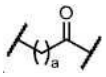
[0377] M은 다음으로부터 선택될 수 있다:

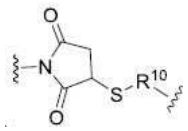
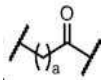
[0378] 

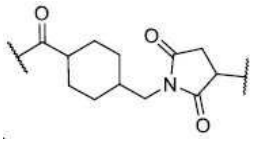


및



[0379] 식 중, R^{10}은 알킬렌, 사이클로알킬 또는  이고, a는 0 내지 10이다.

[0380] M은  일 수 있고, R^{10}은  일 수 있고, a는 0 내지 10이다. M은  일 수 있다.



[0381] M은 헤테로이작용성 가교제, 예를 들어, 일 수 있으며, 이는 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Williams et al. *Curr. Protoc Nucleic Acid Chem.* 2010, *42*, 4.41.1-4.41.20]에 개시되어 있다.

[0382] M은 -C(O)-일 수 있다.

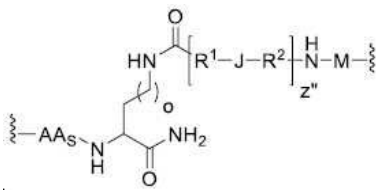
[0383] AA_s는 cCPP 상의 아미노산의 측쇄 또는 말단일 수 있다. AA_s의 비제한적인 예는 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴 또는 라이신, 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 감소된 측쇄)를 포함한다. AA_s 본 명세서에 정의된 바와 같은 AA_{SC}일 수 있다.

[0384] 각각의 AA_x는 독립적으로 천연 또는 비천연 아미노산이다. 하나 이상의 AA_x는 천연 아미노산일 수 있다. 하나 이상의 AA_x는 비천연 아미노산일 수 있다. 하나 이상의 AA_x는 β-아미노산일 수 있다. β-아미노산은 β-알라닌일 수 있다.

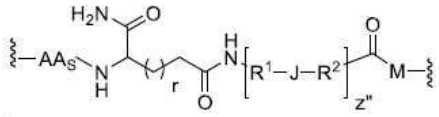
[0385] o는 0 내지 10의 정수, 예를 들어, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10일 수 있다. o는 0, 1, 2 또는 3일 수 있다. o는 0일 수 있다. o는 1일 수 있다. o는 2일 수 있다. o는 3일 수 있다.

[0386] p는 0 내지 5, 예를 들어, 0, 1, 2, 3, 4 또는 5일 수 있다. p는 0일 수 있다. p는 1일 수 있다. p는 2일 수 있다. p는 3일 수 있다. p는 4일 수 있다. p는 5일 수 있다.

[0387] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



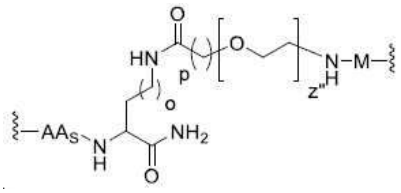
[0388] 또는

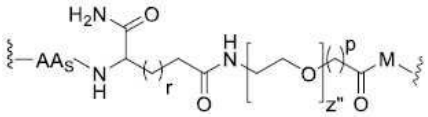
[0389] 
,

[0390] 식 중, M, AA_s, 각 $-(R^1-J-R^2)z"-$, o 및 z"는 본 명세서에 정의되어 있으며; r은 0 또는 1일 수 있다.

[0391] r은 0일 수 있다. r은 1일 수 있다.

[0392] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:

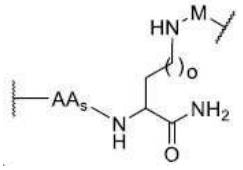
[0393] 
또는

[0394] 

[0395] 식 중, M, AA_s, o, p, q, r 및 z" 각각은 본 명세서에 정의된 바와 같을 수 있다.

[0396] z"는 사이의 모든 범위와 값을 포함하여 1 내지 50의 정수, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 및 50일 수 있다. z"는 5 내지 20의 정수일 수 있다. z"는 10 내지 15의 정수일 수 있다.

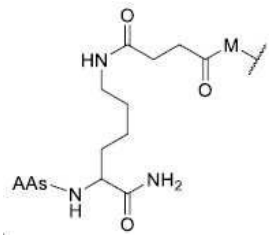
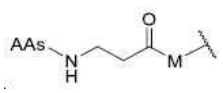
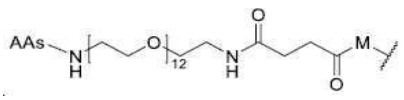
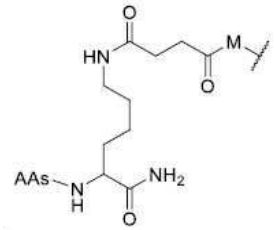
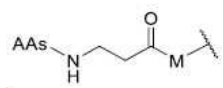
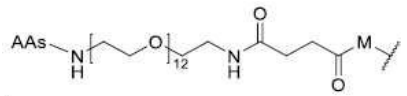
[0397] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:

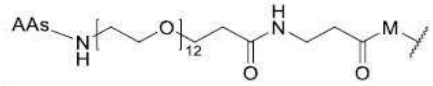
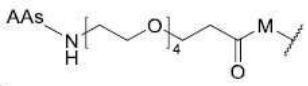
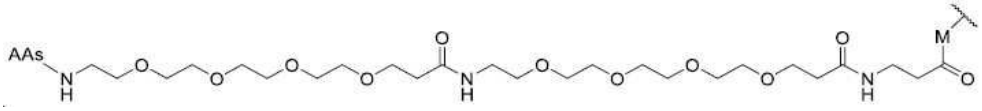
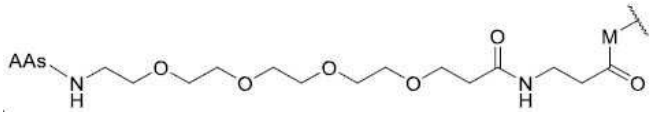
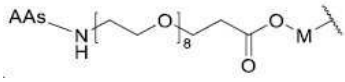
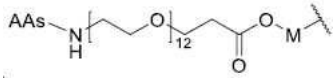
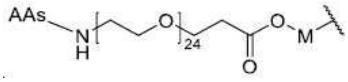
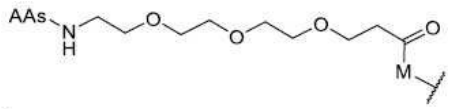
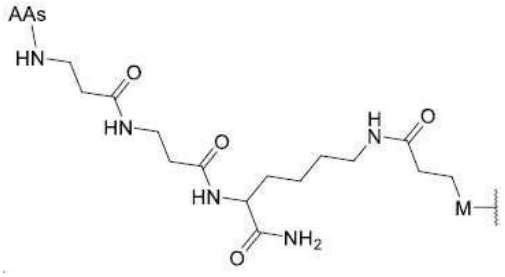
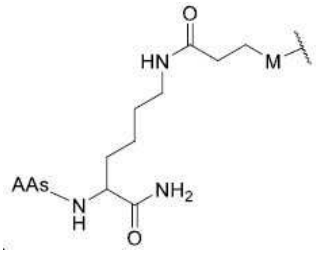
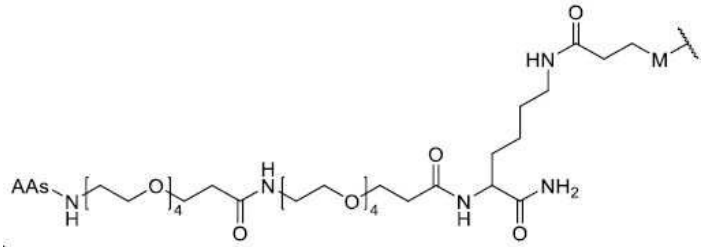
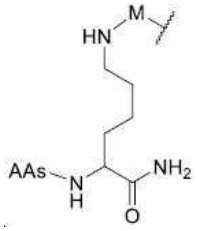
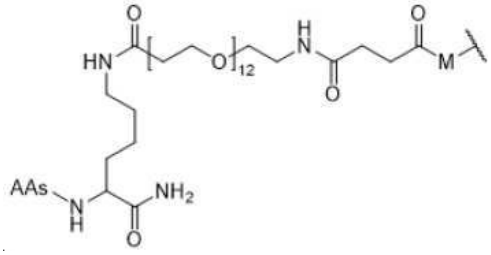
[0398] 
,

[0399] 식 중,

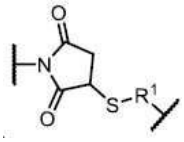
[0400] M, AA_s 및 o는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

[0401] 적합한 링커의 다른 비제한적인 예는 다음을 포함한다:

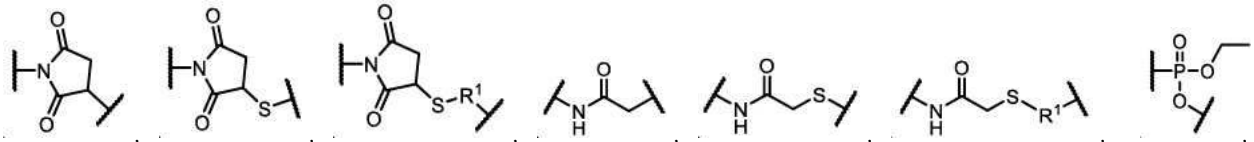
[0402] 
,

,

,

,

,

,

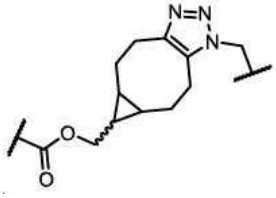
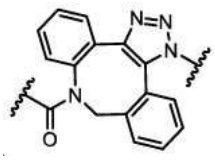
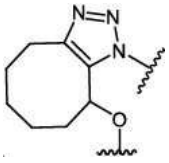
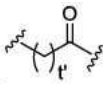
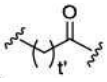

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

및


[0403] 식 중, M 및 AA_s는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

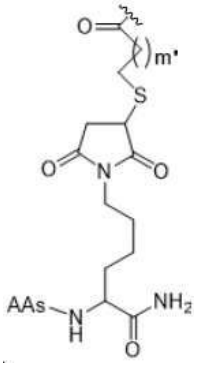
[0404] cCPP 및 L을 추가로 포함하는 pre-mRNA 서열의 표적과 상보적인 AC를 포함하는 화합물이 본 명세서에 제공되되, 링커는 결합기(M)를 통해 AC에 접합되고, M은  이다.

[0405] cCPP 및 안티센스 화합물(AC), 예를 들어, pre-mRNA 서열의 표적과 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 화합물이 본 명세서에 제공되되, 화합물은 L을 추가로 포함하고, 링커는 결합기(M)를 통해 AC에 접합되고, M은

[0406] 




로부터 선택되되; 식 중, R^1은 알킬렌, 사이클로알킬 또는 
이고, t'는 0 내지 10이고, 각각의 R은 독립적으로 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이고, R^1은 
이고, t'는 2이다.

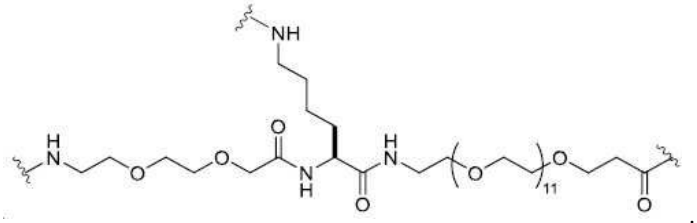
[0407] 링커는 하기 구조를 가질 수 있다:



[0408]

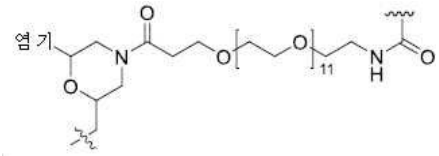
[0409] 식 중, AA_s는 본 명세서에 정의된 바와 같고, m'는 0 내지 10이다.

[0410] 링커는 하기 화학식일 수 있다:



[0411]

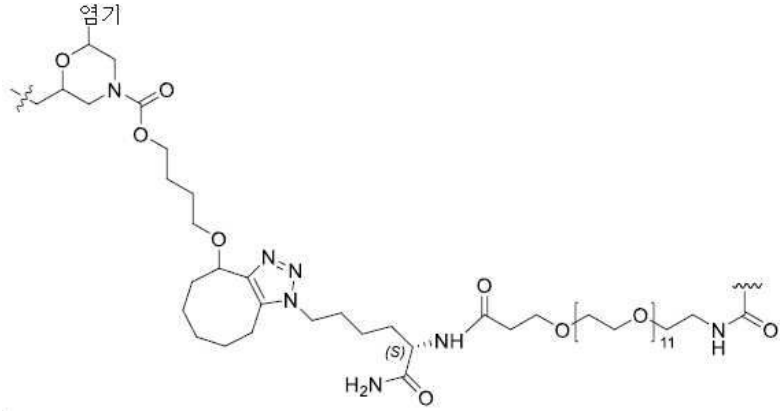
[0412] 링커는 하기 화학식일 수 있다:



[0413]

[0414] 식 중, "염기"는 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머의 3' 말단의 핵염기에 해당한다.

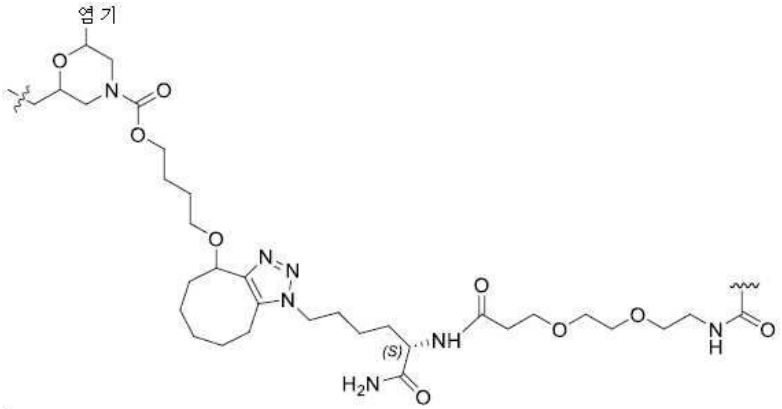
[0415] 링커는 하기 화학식일 수 있다:



[0416]

[0417] 식 중, "염기"는 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머의 3' 말단의 핵염기에 해당한다.

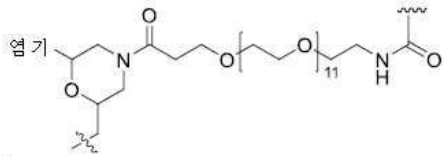
[0418] 링커는 하기 화학식일 수 있다:



[0419] ,

[0420] 식 중, "염기"는 카고 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머의 3' 말단의 핵염기에 해당한다

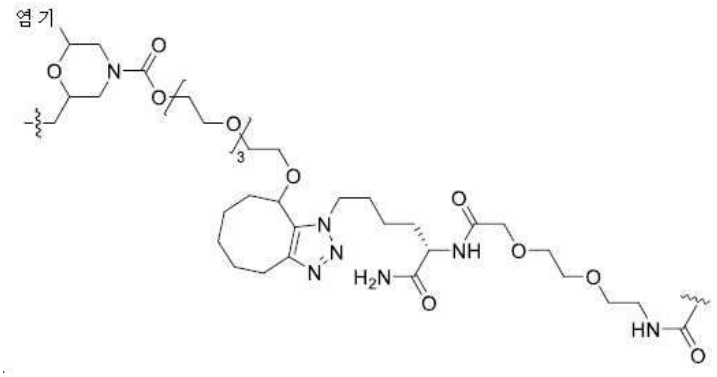
[0421] 링커는 하기 화학식일 수 있다:



[0422]

[0423] 식 중, "염기"는 카고 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머의 3' 말단의 핵염기에 해당한다

[0424] 링커는 하기 화학식일 수 있다:



[0425] .

[0426] 링커는 AC의 임의의 적합한 위치에서 카고에 공유적으로 결합될 수 있다. 링커는 공유적으로 카고의 3' 말단 또

는 AC의 5' 말단에 공유적으로 결합된다. 링커는 AC의 백본에 공유적으로 결합될 수 있다.

[0427] 링커는 cCPP 상의 아스파르트산, 글루탐산, 글루타민, 아스파라긴의 측쇄 또는 라이신 또는 글루타민 또는 아스파라긴의 변형된 측쇄(예를 들어, 아미노기를 갖는 감소된 측쇄)에 결합될 수 있다. 링커는 cCPP 상의 라이신 측쇄에 결합될 수 있다.

[0428] *cCPP-링커 접합체*

[0429] cCPP는 본 명세서에 정의된 링커에 접합될 수 있다. 링커는 본 명세서에 정의된 바와 같은 cCPP의 AA_{SC}에 접합될 수 있다.

[0430] 링커는 $-(OCH_2CH_2)_{z'}-$ 서브유닛(예를 들어, 스페이서로서)를 포함할 수 있되, z'는 1 내지 23의 정수, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23이다. $-(OCH_2CH_2)_{z'}$는 PEG로도 지칭된다. cCPP-링커 접합체는 **표 4**로부터 선택되는 구조를 가질 수 있다:

표 4

cCPP-링커 접합체

[0431]

사이클로(FfΦ-4gp-r-4gp-rQ)-PEG_4-K-NH_2
사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG_4-K-NH_2
사이클로(FfΦ-Pia-r-Pia-rQ)-PEG_4-K-NH_2
사이클로(FfΦ-Dml-r-Dml -rQ)-PEG_4-K-NH_2
사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)-PEG_{12}-OH
사이클로(fΦR-Cit-R-Cit-Q)-PEG_{12}-OH

[0432] 링커는 $-(OCH_2CH_2)_{z'}-$ 서브유닛(여기서, z'는 1 내지 23의 정수임) 및 펩타이드 서브유닛을 포함할 수 있다. 펩타이드 서브유닛은 2개 내지 10개의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP-링커 접합체는 **표 5**로부터 선택되는 구조를 가질 수 있다:

표 5

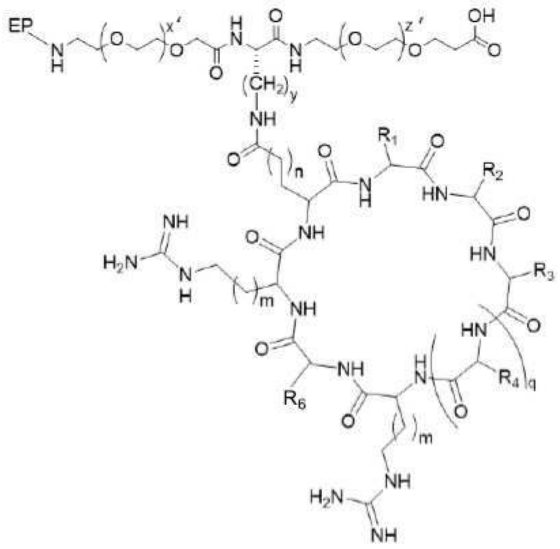
엔도솜 탈출 비히클(cCPP-링커 접합체)

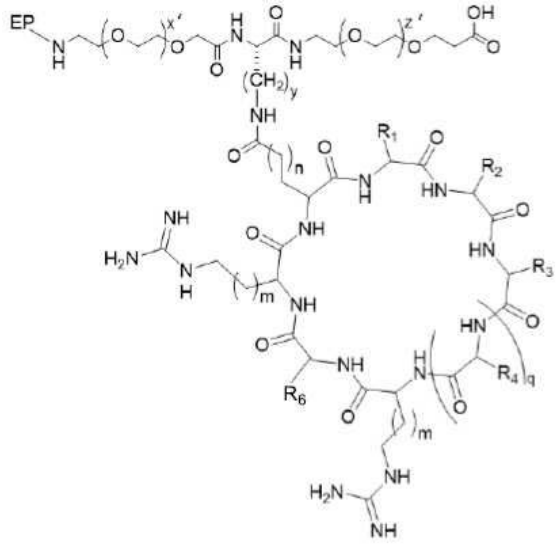
[0433]

Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-R-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-R-rQ])-PEG_{12}-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-K(사이클로(FfΦR-cit-R-cit-Q))-PEG_{12}-K(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-B-k(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG2-k(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG4-k(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-k(N_3)-NH_2
Ac-pkkkrkv-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-k(N_3)-NH_2
Ac-rrv-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-rQ])-PEG12-OH
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-k(N_3)-NH_2
Ac-PKKK-Cit-KV-PEG2-Lys(사이클로[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q])-PEG12-k(N_3)-NH_2
Ac-PKKKRKV-PEG2-Lys(*사이클로*[FfΦ-Cit-r-Cit-r-Q]-PEG12-K(N_3)-NH_2

[0434] cCPP-링커 접합체는 Ac-PKKKRKV-K(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG12-K(N_3)-NH_2일 수 있다.

[0435] 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP), 링커 및 환외 펩타이드(EP)를 포함하는 EEV가 제공된다. EEV는 하기 화학식 (B)의 구조:

[0436] 

[0437] 

(B)

[0438] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되,

[0439] 식 중,

[0440] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H, 또는 아미노산의 방향족 또는 헤테로방향족 측쇄이고;

[0441] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0442] EP는 본 명세서에 정의된 바와 같은 환외 펩타이드이고;

[0443] 각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

[0444] n은 0 내지 2의 정수이고;

[0445] x'는 1 내지 20의 정수이고;

[0446] y는 1 내지 5의 정수이고;

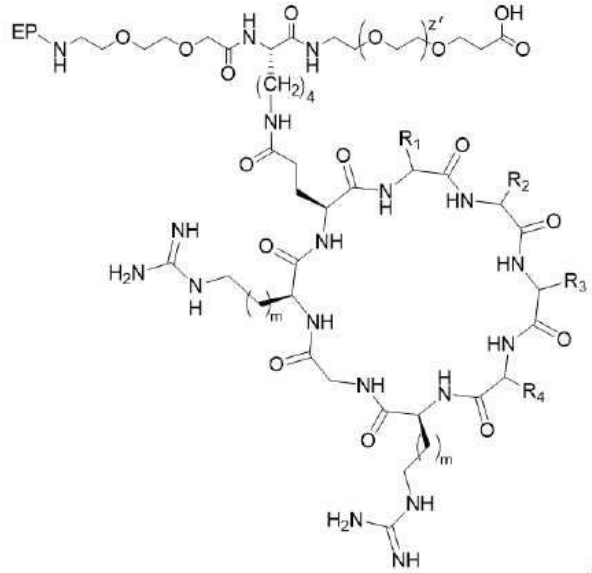
[0447] q는 1 내지 4이고; 그리고

[0448] z'는 1 내지 23의 정수이다.

[0449] R_1, R_2, R_3, R_4, R_6, EP, m, q, y, x', z'는 본 명세서에 기재된 바와 같다.

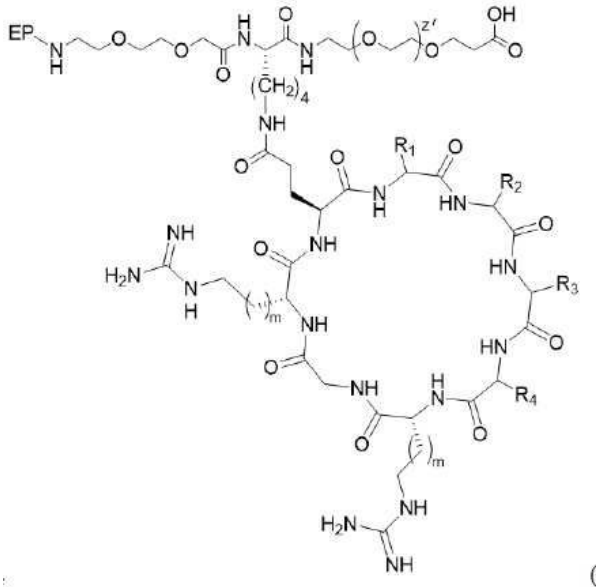
[0450] n은 0일 수 있다. n은 1일 수 있다. n은 2일 수 있다.

[0451] EEV는 하기 화학식 (B-a) 또는 (B-b)의 구조:



(B-a),

[0452]

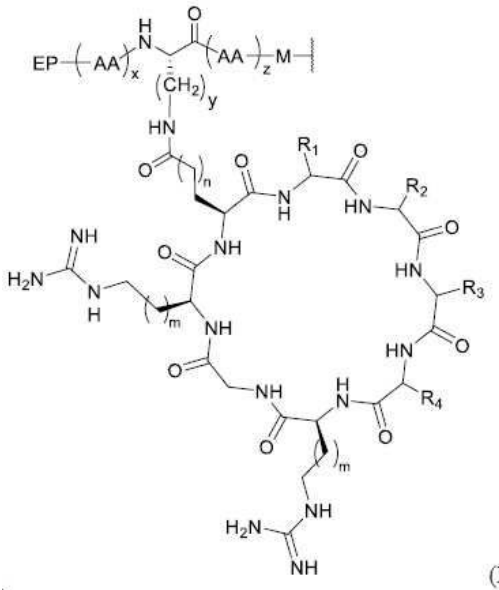


(B-b)

[0453]

[0454] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, EP, R^1, R^2, R^3, R^4, m 및 z'는 위의 화학식 (B)에서 정의된 바와 같다.

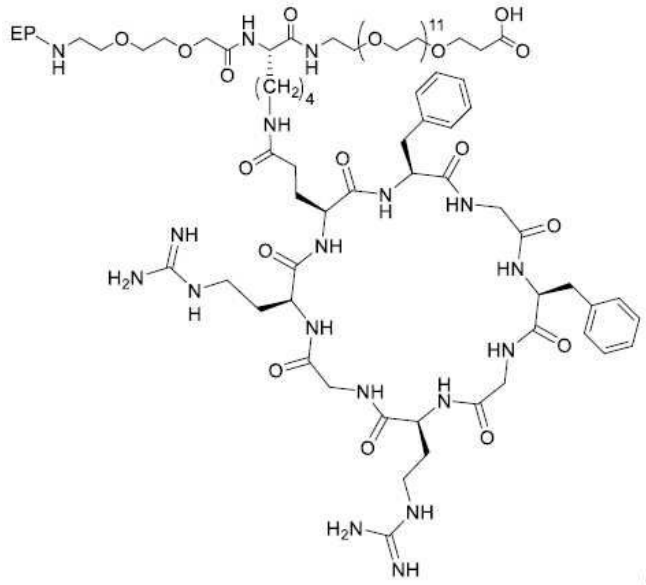
[0455] EEV는 하기 화학식 (B-c)의 구조:



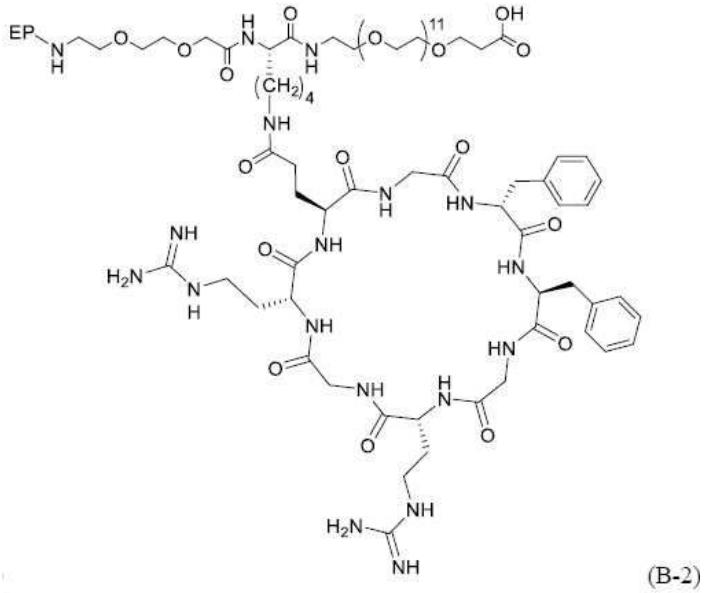
[0456] (B-c),

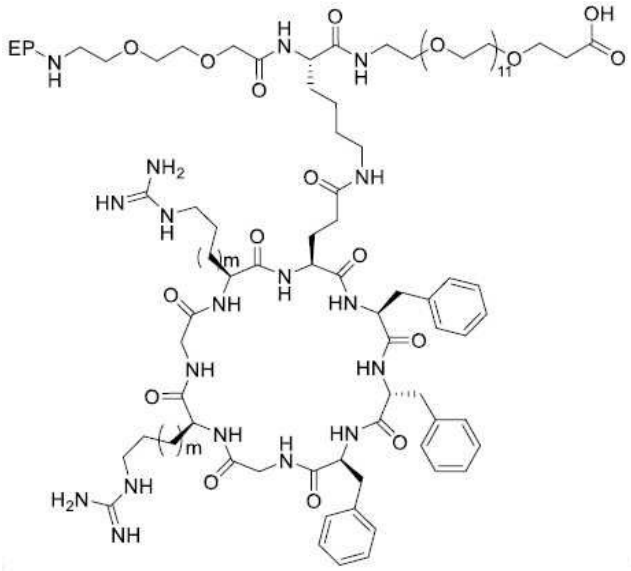
[0457] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, 식 중, EP, R^1, R^2, R^3, R^4 및 m은 위의 화학식 (B)에서 정의된 바와 같다; AA는 본 명세서에 정의된 바와 같은 아미노산이고; M은 본 명세서에 정의된 바와 같고; n은 0 내지 2의 정수이고; x는 1 내지 10의 정수이고; y는 1 내지 5의 정수이고; z는 1 내지 10의 정수이다.

[0458] EEV는 하기 화학식 (B-1), (B-2), (B-3) 또는 (B-4)의 구조:

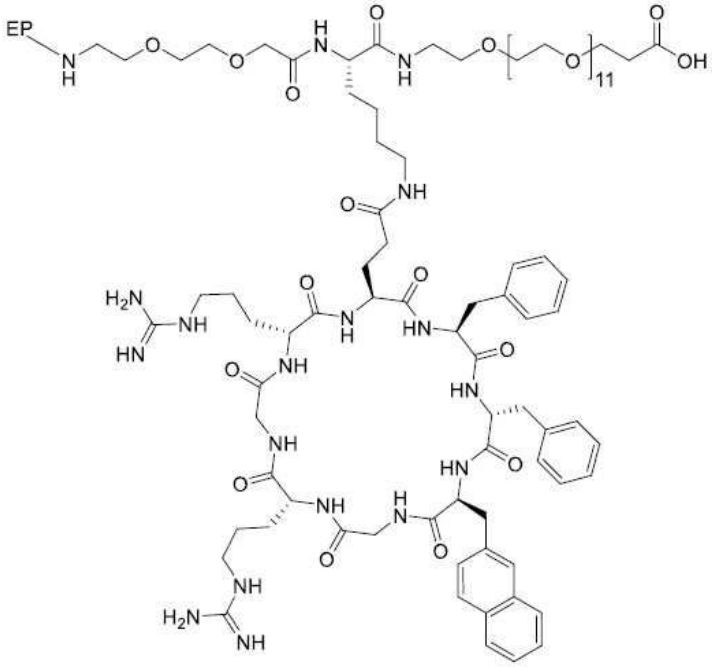


[0459] (B-1)

[0460]  (B-2),

[0461] 

(B-3),

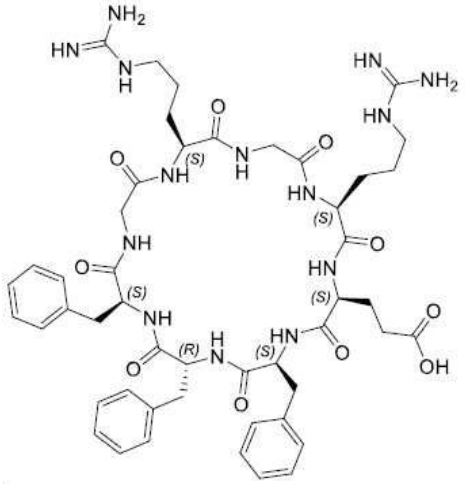
[0462] 

(B-4)

[0463] 또는 이의 양성자화된 형태를 가질 수 있되, EP는 위의 화학식 (B)에서 정의된 바와 같다.

[0464] EEV는 화학식 (B)를 포함할 수 있고, 다음 구조를 가질 수 있다: Ac-PKKKRKV-AEEA-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH 또는 Ac-PKKKRKV-AEEA-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH.

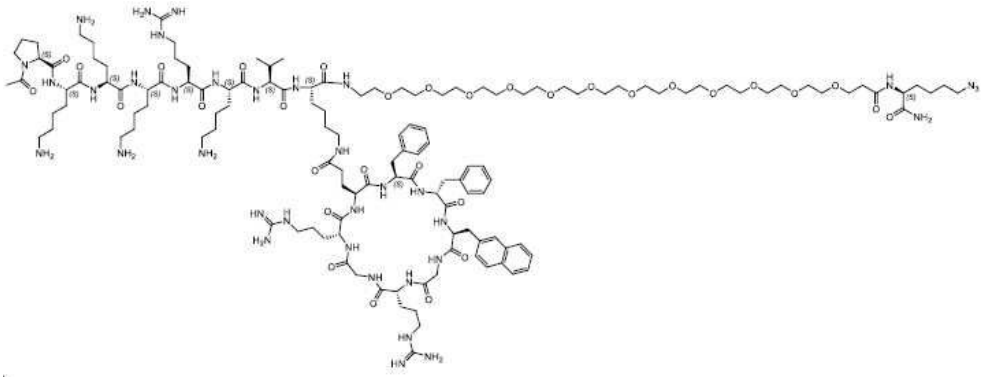
[0465] EEV는 하기 화학식의 cCPP를 포함할 수 있다:



[0466] .

[0467] EEV는 다음 화학식: Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(FfFGRGRQ)-미니PEG2-K(N3)를 포함할 수 있다.

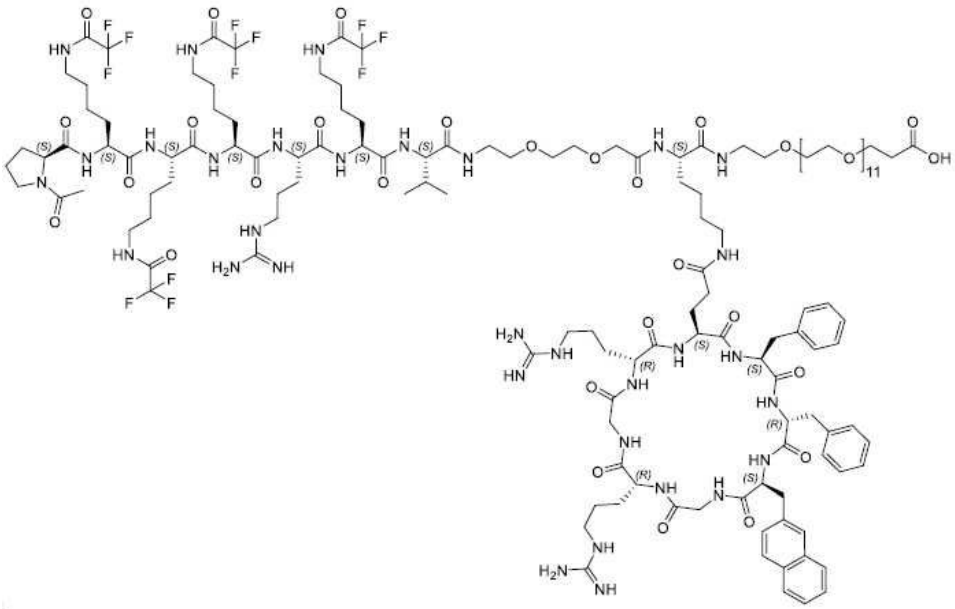
[0468] EEV는 다음과 같을 수 있다:



[0469] .

[0470] EEV는 Ac-PKKKRKV-K(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ)-PEG_{12}-K(N_3)-NH_2일 수 있다.

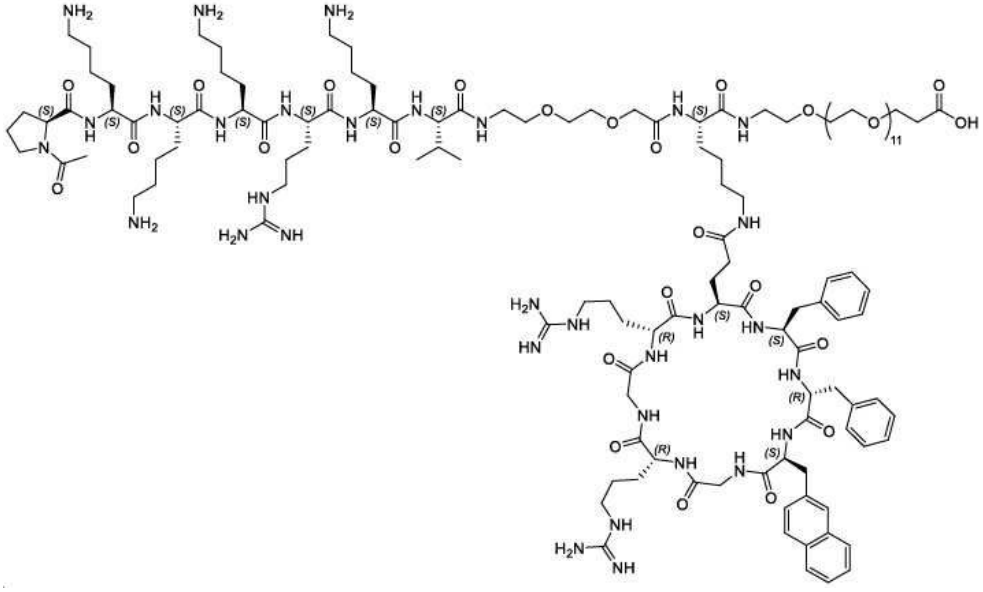
[0471] EEV는 다음과 같을 수 있다:



[0472] .

[0473] EEV는 Ac-P-K(Tfa)-K(Tfa)-K(Tfa)-R-K(Tfa)-V-AEEA-K(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ)-PEG_{12}-OH 또는 Ac-P-K(Tfa)-K(Tfa)-K(Tfa)-R-K(Tfa)-V-AEEA-K(사이클로(FGFGRGRQ)-PEG_{12}-OH일 수 있다.

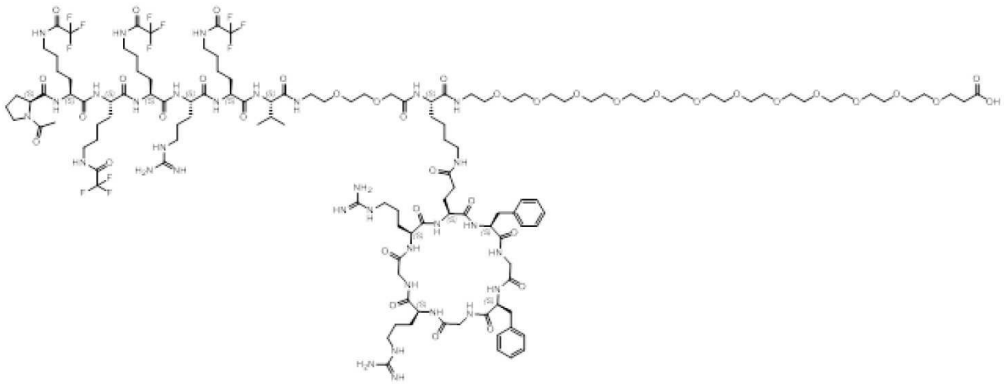
[0474] EEV는 다음과 같을 수 있다:



[0475] .

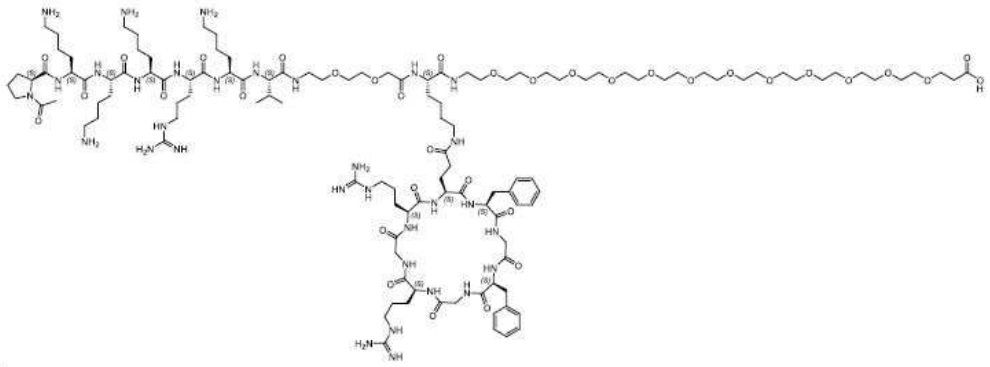
[0476] EEV는 Ac-PKKKRKV-미니PEG-K(사이클로(Ff-Na1-GrGrQ)-PEG12-OH일 수 있다.

[0477] EEV는 다음과 같을 수 있다:



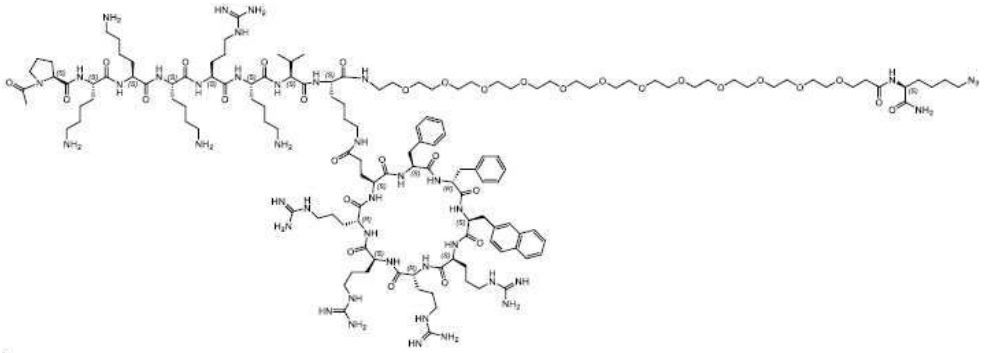
[0478] .

[0479] EEV는 다음과 같을 수 있다:



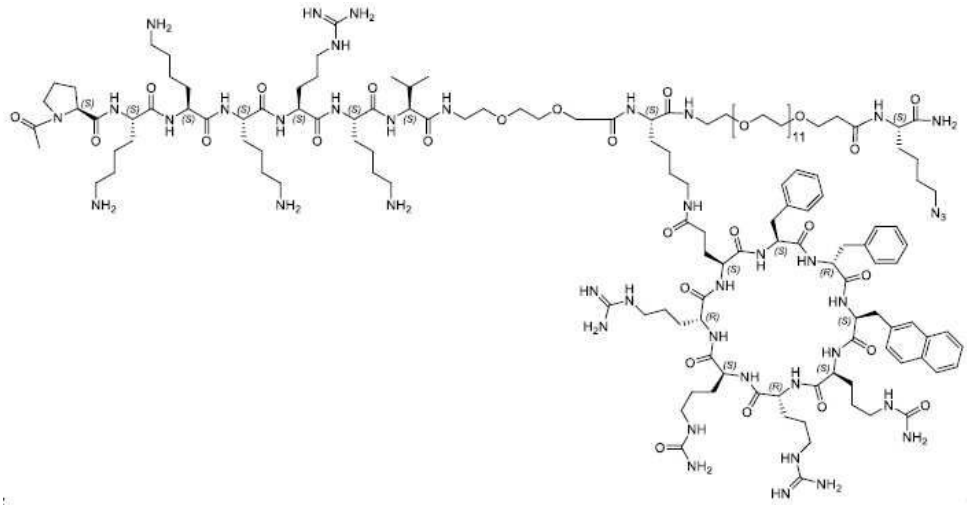
[0480] .

[0481] EEV는 다음과 같을 수 있다:



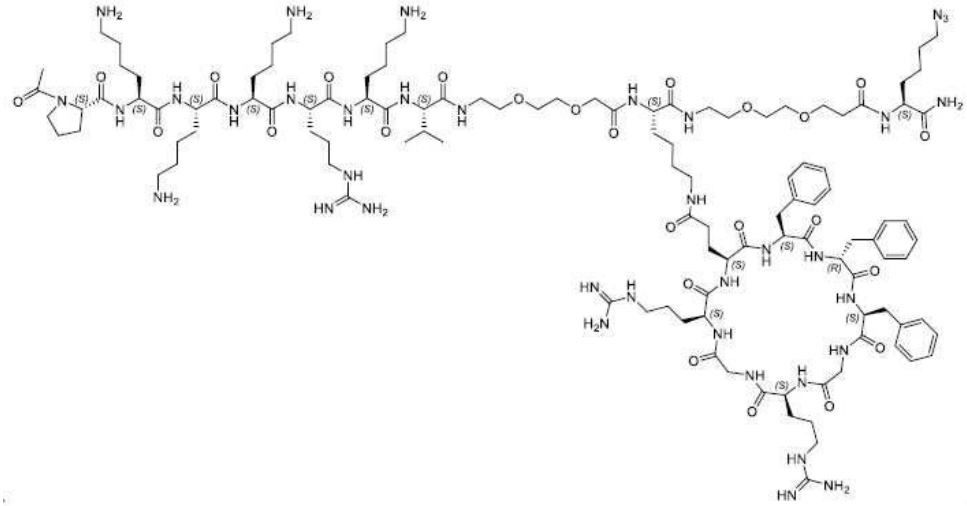
[0482]

[0483] EEV는 다음과 같을 수 있다:



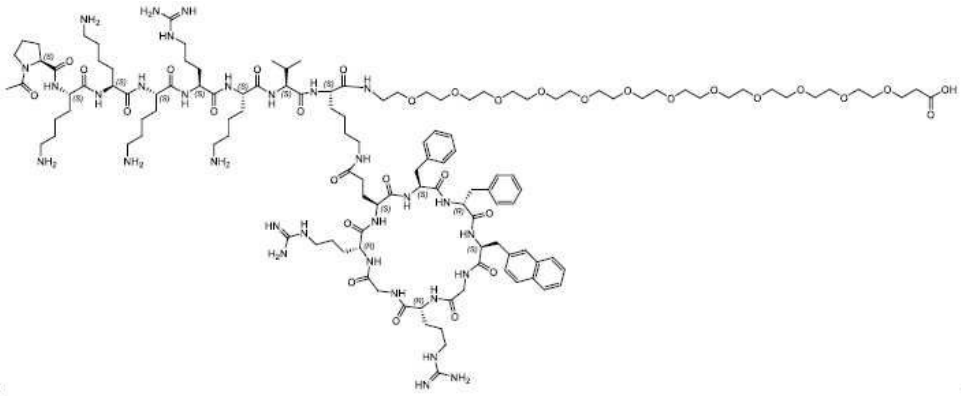
[0484]

[0485] EEV는 다음과 같을 수 있다:



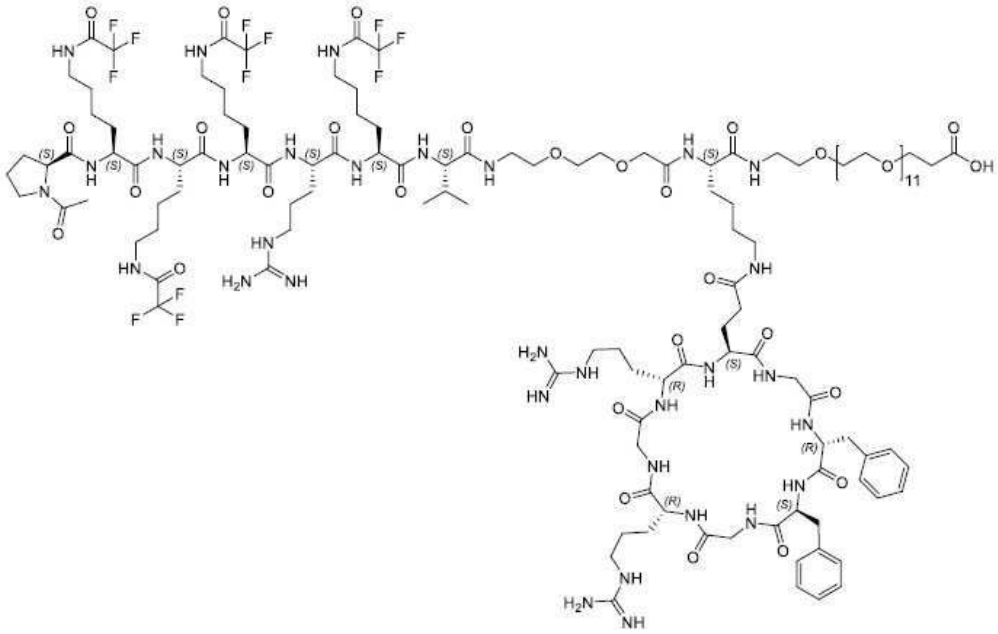
[0486]

[0487] EEV는 다음과 같을 수 있다:



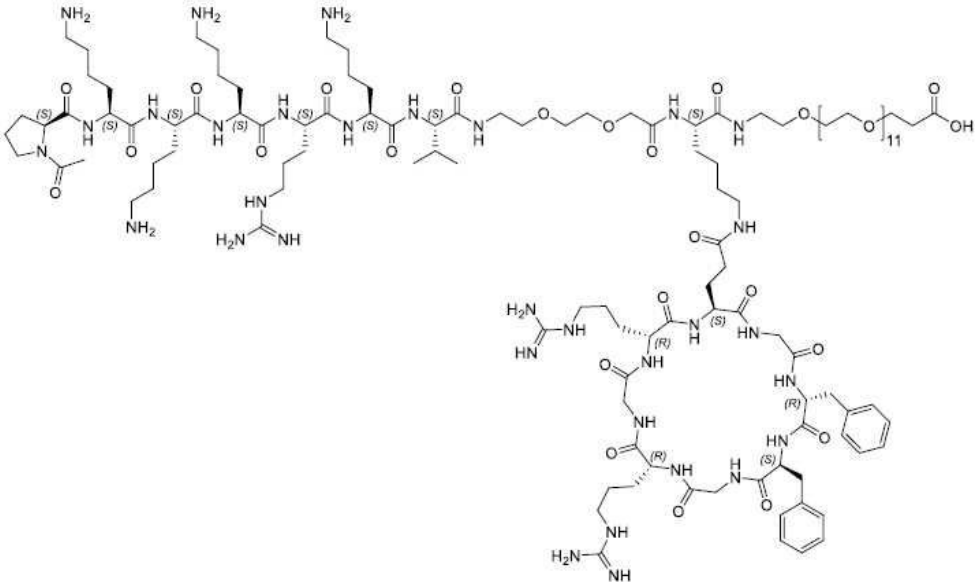
[0488]

[0489] EEV는 다음과 같을 수 있다:



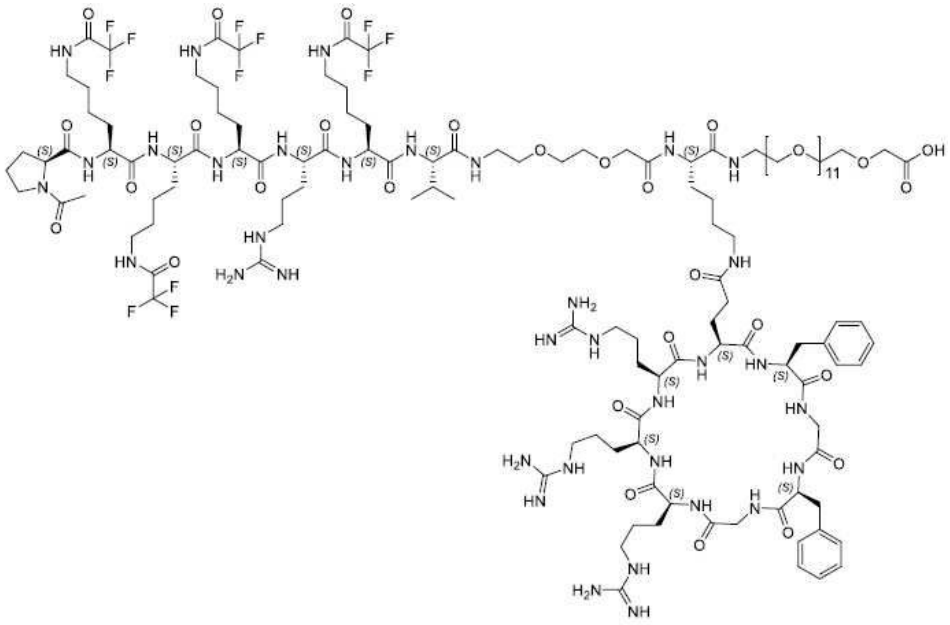
[0490]

[0491] EEV는 다음과 같을 수 있다:



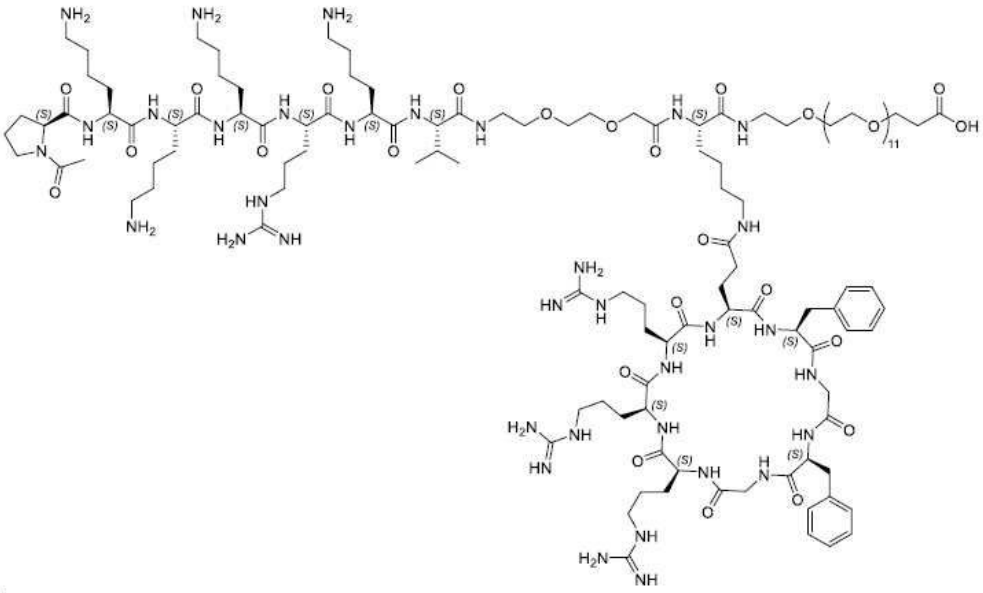
[0492]

[0493] EEV는 다음과 같을 수 있다:



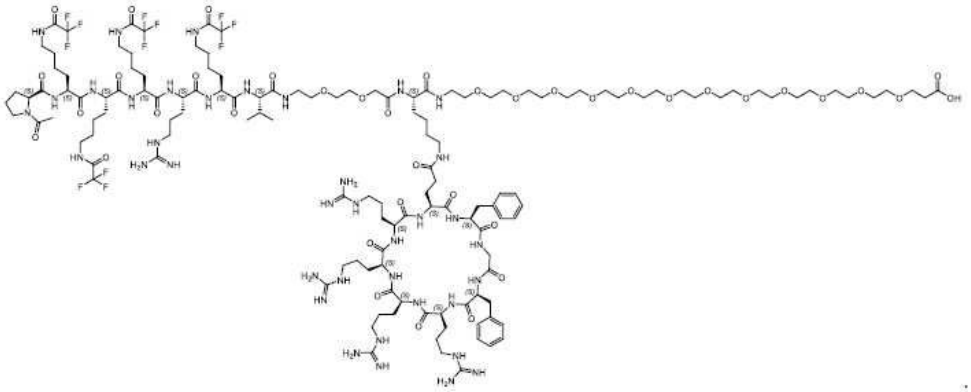
[0494]

[0495] EEV는 다음과 같을 수 있다:



[0496]

[0497] EEV는 다음과 같을 수 있다:



[0498]

[0499] Ac-rr-미니PEG2-Dap[사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ)]-PEG12-OH

[0500] Ac-frr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0501] Ac-rfr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0502] Ac-rbfbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0503] Ac-rrr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0504] Ac-rbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0505] Ac-rbrbr-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0506] Ac-hh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0507] Ac-hbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0508] Ac-hbhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0509] Ac-rbhbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0510] Ac-hbrbh-PEG2-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-PEG12-OH

[0511] Ac-rr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0512] Ac-frr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0513] Ac-rfr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0514] Ac-rbfbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0515] Ac-rrr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0516] Ac-rbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0517] Ac-rbrbr-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0518] Ac-hh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0519] Ac-hbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0520] Ac-hbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0521] Ac-rbhbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0522] Ac-hbrbh-Dap(사이클로(FfΦ-Cit-r-Cit-rQ))-b-OH

[0523] Ac-KKKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0524] Ac-KGKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0525] Ac-KKGK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0526] Ac-KKK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0527] Ac-KK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0528] Ac-KGK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0529] Ac-KBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0530] Ac-KBKBK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0531] Ac-KR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0532] Ac-KBR-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0533] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0534] Ac-PKKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0535] Ac-PGKKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0536] Ac-PKGKRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0537] Ac-PKKGRKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0538] Ac-PKKKGKV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0539] Ac-PKKKRGV-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0540] Ac-PKKKRKG-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0541] Ac-KKKRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2

[0542] Ac-KKRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2 및

[0543] Ac-KRK-미니PEG2-Lys(사이클로(Ff-Nal-GrGrQ))-미니PEG2-K(N3)-NH2.

[0544] EEV는 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0545] Ac-PKKKRKV-Lys(*사이클로*[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-K(N_3)-NH_2

[0546] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FfΦGrGrQ])-미니PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0547] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFGRGRQ])-미니PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0548] Ac-KR-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0549] Ac-PKKKGKV-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0550] Ac-PKKKRKG-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0551] Ac-KKKRK-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0552] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FFΦGRGRQ])-미니PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0553] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[βhFfΦGrGrQ])-미니PEG_2-K(N_3)-NH_2 및

[0554] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FfΦSrSrQ])-미니PEG_2-K(N_3)-NH_2.

[0555] EEV는 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0556] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*(GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0557] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFKRKRQ])-PEG_{12}-OH

[0558] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFRGRGQ])-PEG_{12}-OH

[0559] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFGRGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0560] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFGRrRQ])-PEG_{12}-OH

[0561] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH 및

[0562] Ac-PKKKRKV-미니PEG_2-Lys(*사이클로*[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH.

[0563] EEV는 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0564] Ac-K-K-K-R-K-G-미니PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0565] Ac-K-K-K-R-K-미니PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0566] Ac-K-K-R-K-K-PEG_4-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0567] Ac-K-R-K-K-K-PEG_4-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0568] Ac-K-K-K-K-R-PEG_4-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0569] Ac-R-K-K-K-K-PEG_4-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH 및

[0570] Ac-K-K-K-R-K-PEG_4-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH.

[0571] EEV는 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0572] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_2-K(N_3)-NH_2

[0573] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0574] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[GfFGrGrQ])-PEG_2-K(N_3)-NH_2 및

[0575] Ac- PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH.

[0576] 카고는 AC일 수 있고, EEV는 다음으로부터 선택될 수 있다:

[0577] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0578] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0579] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0580] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0581] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0582] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0583] Ac-PKKKRKV-PEG_2-K(*사이클로*[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0584] Ac-rr-PEG_2-K(*사이클로*[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0585] Ac-rr-PEG_2-K(*사이클로*[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0586] Ac-rr-PEG_2-K(*사이클로*[FfF-GRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0587] Ac-rr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0588] Ac-rr-PEG_2-K(*사이클로*[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0589] Ac-rr-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0590] Ac-rr-PEG_2-K(*사이클로*[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0591] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0592] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0593] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0594] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0595] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0596] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0597] Ac-rrr-PEG_2-K(*사이클로*[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0598] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0599] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0600] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0601] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0602] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0603] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0604] Ac-rhr-PEG_2-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0605] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0606] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0607] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0608] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0609] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0610] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0611] Ac-rbr-PEG_2-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0612] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0613] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0614] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0615] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0616] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0617] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0618] Ac-rbrbr-PEG_2-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0619] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0620] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0621] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0622] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0623] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0624] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0625] Ac-rbhbr-PEG_2-K(사이클로[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH

[0626] Ac-hbrbh-PEG_2-K(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0627] Ac-hbrbh-PEG_2-K(사이클로[FfΦCit-r-Cit-rQ])-PEG_{12}-OH

[0628] Ac-hbrbh-PEG_2-K(*사이클로*[FfFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0629] Ac-hbrbh-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH

[0630] Ac-hbrbh-PEG_2-K(*사이클로*[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH

[0631] Ac-hbrbh-PEG_2-K(*사이클로*[FGFGRRRQ])-PEG_{12}-OH 및

[0632] Ac-hbrbh -PEG_2-K(*사이클로*[FGFRRRRQ])-PEG_{12}-OH,

[0633] 여기서, b는 베타-알라닌이고, 환외 서열은 D 또는 L 입체화학일 수 있다.

[0634] 실시형태에서, 환식 펩타이드와 AC를 포함하는 화합물은 AC만을 포함하는 화합물에 비해 개선된 세포질 흡수 효율을 갖는다. 세포질 흡수 효율은 환식 펩타이드와 AC를 포함하는 화합물의 세포질 전달 효율을 AC 단독의 세포질 전달 효율과 비교함으로써 측정될 수 있다.

[0635] **안티센스 화합물**

[0636] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 화합물은 안티센스 화합물(AC)에 접합된 CPP(예를 들어, 환식 펩타이드)를 포함한다. 실시형태에서, AC는 표적 폴리뉴클레오타이드에 대해 지시되는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 용어 "안티센스 올리고뉴클레오타이드" 또는 간단히 "안티센스"는 표적화된 폴리뉴클레오타이드 서열과 상보적인 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 것을 의미한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 선택된 서열, 예를 들어, 표적 유전자 mRNA와 상보적인 DNA 또는 RNA의 단일 가닥이다.

[0637] 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 단백질 전사, 번역 및 발현의 하나 이상의 양태를 조절할 수 있다. 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 표적 pre-mRNA 내의 표적 서열에 대해 지시되어 pre-mRNA 스플라이싱의 하나 이상의 양태를 조절한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 스플라이싱의 조절은 스플라이싱된 mRNA 분자가 엑손 스키핑 또는 엑손 포함, 하나 이상의 엑손의 결실 또는 스플라이싱된 mRNA에서 일반적으로 발견되지 않는 서열(예를 들어, 인트론 서열)의 결실 또는 추가의 결과로서 엑손의 상이한 조합을 포함하도록 pre-mRNA 전사체의 처리를 변경하는 것을 지칭한다. 실시형태에서, pre-mRNA 분자의 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 혼성화는 돌연변이된 pre-mRNA 서열에 대한 천연 스플라이싱을 복원한다. 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 혼성화는 표적 pre-mRNA의 대체 스플라이싱을 초래한다. 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 혼성화는 하나 이상의 엑손의 엑손 포함 또는 엑손 스키핑을 초래한다. 실시형태에서, 스키핑된 엑손 서열은 프레임시프트 돌연변이, 넌센스 돌연변이 또는 미스센스 돌연변이를 포함한다. 실시형태에서, 스키핑된 엑손 서열은 핵산 결실, 치환 또는 삽입을 포함한다. 실시형태에서, 스키핑된 엑손 자체는 서열 돌연변이를 포함하지 않지만, 이웃하는 엑손은 프레임시프트 돌연변이 또는 넌센스 돌연변이를 초래하는 돌연변이를 포함한다. 실시형태에서, 표적 pre-mRNA 내 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드 혼성화는 성숙 mRNA 분자에 엑손 서열이 포함되는 것을 방지한다. 실시형태에서, 표적 pre-mRNA 내 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드 혼성화는 야생형 표적 단백질 이성질체의 우선적인 발현을 초래한다. 실시형태에서, 표적 pre-mRNA 내 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드 혼성화는 야생형 표적 단백질의 활성 단편을 포함하는 재스플라이싱된 표적 단백질의 발현을 초래한다.

[0638] 안티센스 메커니즘은 안티센스 올리고뉴클레오타이드 화합물과 표적 핵산의 혼성화를 통해 기능한다. 실시형태에서, 표적 서열에 혼성화되는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 표적 단백질의 발현을 억제한다. 실시형태에서, 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 혼성화는 하나 이상의 야생형 표적 단백질 이성질체의 발현을 억제한다. 실시형태에서, 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 혼성화는 표적 단백질의 발현을 상향 조절한다. 실시형태에서, 표적 서열에 대한 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 혼성화는 하나 이상의 야생형 표적 단백질 이성질체의 발현을 증가시킨다.

[0639] 실시형태에서, 안티센스 화합물은 상보적인 mRNA에 결합함으로써 유전자 발현을 저해할 수 있다. 표적 mRNA에 대한 결합은 번역에 관여하는 RNA 결합 단백질을 입체적으로 차단함으로써 상보적인 mRNA 가닥의 번역을 방지하거나 표적 mRNA의 분해를 유도함으로써 유전자 발현을 저해할 수 있다. 안티센스 DNA는 특정한 상보적인(코딩 또는 논코딩) RNA를 표적으로 하는 데 사용될 수 있다. 결합이 일어나면, DNA/RNA 하이브리드는 효소인 RNase H에 의해 분해될 수 있다. 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 약 10개 내지 약 50개의 뉴클레오타이드 또는 약 15개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드를 포함한다. 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드

는 표적 뉴클레오타이드 서열과 완전히 상보적이지 않을 수 있다.

[0640] 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 단백질 합성의 효과적이고 표적화된 저해제인 것으로 입증되었으며, 결과적으로, 표적화된 유전자에 의한 단백질 합성을 특이적으로 저해하는 데 사용될 수 있다. 단백질 합성을 저해하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 효능은 잘 확립되어 있다. 예를 들어, 폴리갈락타우로네이스 및 무스카린 유형 2 아세틸콜린 수용체의 합성은 각각의 mRNA 서열에 대해 지시된 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 의해 저해된다(미국 특허 5,739,119 및 미국 특허 5,759,829). 또한, 안티센스 저해의 예는 핵 단백질 사이클린, 다약제 내성 유전자(MDG1), ICAM-1, E-셀렉틴, STK-1, 선조체 GABAA 수용체 및 인간 EGF를 사용하여 입증되었다(문헌 [Jaskulski et ai, Science. 1988 Jun 10; 240(4858):1544-6; Vasanthakumar and Ahmed, Cancer Commun. 1989; 1(4):225-32; Peris et ai, Brain Res Mol Brain Res. 1998 Jun 15; 57(2):310-20]; 미국 특허 5,801,154; 미국 특허 5,789,573; 미국 특허 5,718,709 및 미국 특허 5,610,288). 또한, 다양한 비정상적인 세포 증식, 예를 들어, 암을 저해하고 치료하는 데 사용될 수 있는 안티센스 작제물이 기술되어 있다(미국 특허 5,747,470; 미국 특허 5,591,317 및 미국 특허 5,783,683).

[0641] 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열을 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 생산하도록 쉽게 적합화될 수 있다. 주어진 표적 서열에 특이적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드 서열의 선택은 선택된 표적 서열의 분석 및 2차 구조의 결정, Tm, 결합 에너지 및 상대적 안정성에 기초한다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 숙주 세포에서 표적 mRNA에 대한 특이적 결합을 감소시키거나 못하게 하는 2량체, 헤어핀 또는 다른 2차 구조를 형성하는 데 대한 상대적 무능력에 기초하여 선택될 수 있다. mRNA의 표적 영역은 AUG 번역 개시 코돈 또는 그 근처의 영역 및 mRNA의 5' 영역과 실질적으로 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 이러한 2차 구조 분석 및 표적 부위 선택 고려사항은, 예를 들어, 올리고 프라이머 분석 소프트웨어의 v.4(Molecular Biology Insights) 및/또는 BLASTN 2.0.5 알고리즘 소프트웨어(Altschul et ai, Nucleic Acids Res. 1997, 25(17):3389-402)를 사용하여 수행될 수 있다.

[0642] 본 개시내용에 따르면, 안티센스 화합물(AC)은, 예를 들어, 진핵생물 표적 pre-mRNA의 스플라이싱을 변경함으로써 표적 유전자의 스플라이싱, 번역 또는 발현의 하나 이상의 양태를 변경한다. 본 개시내용에 따른 AC는 표적 pre-mRNA 서열 내에서, 예를 들어, 엑손의 적어도 일부, 인트론의 적어도 일부 또는 둘 다를 포함하는 서열에서 발견되는 서열과 상보적인 핵산 서열을 포함한다. 이러한 AC의 사용은 특정 질환을 유발하는 유전자의 스플라이싱을 조절하는 능력을 갖는 직접적인 유전적 접근법을 제공한다. 안티센스 기술의 기본 원리는 표적 핵산에 혼성화되는 안티센스 화합물이 수많은 안티센스 메커니즘 중 하나를 통해 스플라이싱 또는 번역과 같은 유전자 발현 활성을 조절한다는 점이다. AC의 서열 특이성은 다양한 질환 중 어느 하나의 발병에 관여하는 pre-mRNA의 스플라이싱을 선택적으로 조절하는 치료법으로서 이 기법을 매우 매력적으로 만든다. 안티센스 기술은 하나 이상의 특정 유전자 산물의 발현을 변경하는 효과적인 수단이므로 다수의 치료, 진단 및 연구 응용분야에서 유용한 것으로 입증될 수 있다.

[0643] 본 명세서에 기재된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 포함할 수 있으며, 따라서 절대 입체화학의 측면에서 (R) 또는 (S), α 또는 β, 또는 (D) 또는 (L)로서 정의될 수 있는 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및 다른 입체이성질체 배열을 생성할 수 있다. 본 명세서에 제공된 안티센스 화합물에는 이러한 모든 가능한 이성질체뿐만 아니라 이들의 라세미 및 광학적으로 순수한 형태가 포함된다.

[0644] *안티센스 화합물 혼성화 부위*

[0645] 안티센스 메커니즘은 표적 핵산에 대한 안티센스 화합물의 혼성화에 의존한다. 실시형태에서, 본 개시내용은 표적 핵산과 상보적인 안티센스 화합물을 제공한다. 실시형태에서, 표적 핵산 서열은 pre-mRNA 분자에 존재한다. 실시형태에서, 표적 핵산 서열은 pre-mRNA 분자의 엑손에 존재한다. 실시형태에서, 표적 핵산 서열은 pre-mRNA 분자의 인트론에 존재한다.

[0646] Pre-mRNA 분자는 핵에서 만들어지며 번역을 위해 세포질로 수송되기 전 또는 도중에 처리된다. pre-mRNA이 처리는 전사체의 3' 말단에 5' 메틸화된 캡과 대략 200개 내지 250개의 염기 폴리(A) 꼬리의 추가를 포함한다. mRNA 처리의 다음 단계는 pre-mRNA의 스플라이싱이며, 이는 포유동물 mRNA의 90% 내지 95%가 성숙되는 과정에서 발생한다. 인트론(또는 개재 서열)은 성숙 mRNA의 코딩 서열에 포함되지 않은 1차 전사체(또는 이를 암호화하는 DNA)의 영역이다. 엑손은 성숙 mRNA가 세포질에 도달할 때 남아 있는 1차 전사체의 영역이다. 엑손은 함께 스플라이싱되어 성숙 mRNA 서열을 형성한다. 스플라이스 접합부는 "5' 스플라이스 부위" 또는 "스플라이스 공여체 부위(splice donor site)"라고 불리는 접합부의 5' 측면과 "3' 스플라이스 부위" 또는 "스플라이스 수용체 부위(splice acceptor site)"라고 불리는 3' 측면을 갖는 스플라이스 부위로도 지칭된다. 스플라이싱에서, 상류 엑

손의 3' 말단은 하류 엑손의 5' 말단에 연결된다. 따라서, 스플라이싱되지 않은 RNA(또는 pre-mRNA)는 인트론의 5' 말단에 엑손/인트론 접합부가 있고 인트론의 3' 말단에 인트론/엑손 접합부가 있다. 인트론이 제거된 후, 엑손은 때때로 성숙 mRNA의 엑손/엑손 접합부 또는 경계로 지칭되는 곳에서 연속된다. 숨겨진(Cryptic) 스플라이스 부위는 자주 사용되지 않지만 일반적인 스플라이스 부위가 차단되거나 이를 이용할 수 없을 때 사용될 수 있는 부위이다. 상이한 엑손의 조합을 함께 스플라이싱 하는 것으로 정의되는 대체 스플라이싱은 종종 단일 유전자로부터 여러 개의 mRNA 전사체를 생성한다.

[0647] 실시형태에서, AC는 스플라이스 부위의 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 스플라이스 부위의 일부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 스플라이스 부위의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 스플라이스 공여체 부위의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 스플라이스 수용체 부위의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 숨겨진 스플라이스 부위의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 엑손/인트론 접합부를 포함하는 서열과 혼성화된다.

[0648] Pre-mRNA 스플라이싱은 2개의 순차적인 생화학적 반응을 수반한다. 두 반응은 모두 RNA 뉴클레오타이드 사이의 스플라이세오솜 에스터 교환반응(spliceosomal transesterification)을 수반한다. 첫 번째 반응에서, 스플라이세오솜 조립 중에 정의되는 인트론 내의 특정 분기점 뉴클레오타이드의 2'-OH는 올가미형(lariat) 중간체를 형성하는 5' 스플라이스 부위에 있는 인트론의 첫 번째 뉴클레오타이드에 친핵성 공격을 수행한다. 두 번째 반응에서, 방출된 5' 엑손의 3'-OH는 3' 스플라이스 부위에 있는 인트론의 마지막 뉴클레오타이드에 친핵성 공격을 수행하여 엑손을 연결하고 인트론 올가미를 방출한다. Pre-mRNA 스플라이싱은 인트론 사일런서 서열(intronic silencer sequence: ISS) 및 말단 스템 루프(terminal stem loop: TSL) 서열에 의해 조절된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "인트론 사일런서 서열(ISS)" 및 "말단 스템 루프(TSL)"는 각각 pre-mRNA 내의 트랜스 작용(trans-acting) 단백질 인자의 결합에 의해 대체 스플라이싱을 제어함으로써 스플라이스 부위의 차등적 사용을 초래하는 인트론 및 엑손 내의 서열 요소를 지칭한다. 전형적으로, 인트론 사일런서 서열은 8개 내지 16개의 뉴클레오타이드이고, 엑손-인트론 접합부의 스플라이스 부위보다 덜 보존되어 있다. 말단 스템 루프 서열은 전형적으로 12개 내지 24개의 뉴클레오타이드이고, 12개 내지 24개의 뉴클레오타이드 서열 내에서 상보성 및 이에 따른 결합으로 인해 2차 루프 구조를 형성한다.

[0649] 실시형태에서, AC는 인트론 사일런서 서열의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 말단 스템 루프의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다.

[0650] 점 돌연변이로 인한 인간 유전 질환의 최대 50%는 비정상적인 스플라이싱으로 인해 발생한다. 이러한 점 돌연변이는 현재의 스플라이스 부위를 파괴하거나 또는 새로운 스플라이스 부위를 생성하여 상이한 엑손의 조합 또는 엑손의 결실로 구성된 mRNA 전사체를 생성할 수 있다. 점 돌연변이는 또한 숨겨진 스플라이스 부위를 활성화시키거나 조절 시스(cis) 요소(즉, 스플라이싱 인핸서 또는 사일런서)를 방해할 수 있다.

[0651] 실시형태에서, AC는 표적 유전자의 돌연변이로부터 생성된 비정상적인 스플라이스 부위의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 조절 요소의 일부 또는 전부를 포함하는 서열과 혼성화된다. 시스 조절 요소를 표적으로 하는 안티센스 화합물도 제공된다. 실시형태에서, 조절 요소는 엑손에 있다. 실시형태에서, 조절 요소는 인트론에 있다.

[0652] 실시형태에서, AC는 번역 개시 코돈 영역, 5' 캡 영역, 인트론/엑손 접합부, 코딩 서열, 번역 종결 코돈 영역, 또는 5'- 또는 3'-비번역 영역의 서열과 특이적으로 혼성화될 수 있다. 실시형태에서, AC는 pre-mRNA 스플라이스 부위, 엑손-엑손 접합부 또는 인트론-엑손 접합부의 일부 또는 전부와 혼성화될 수 있다. 실시형태에서, AC는 재배열 또는 결실로 인해 비정상적인 융합 접합부와 혼성화될 수 있다. 실시형태에서, AC는 대안적으로 스플라이싱된 mRNA의 특정 엑손과 혼성화될 수 있다.

[0653] 실시형태에서, AC는 AC의 길이로도 지칭될 수 있는 5개 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이의 서열과 혼성화된다. 실시형태에서, AC는 5개 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이, 예를 들어, 5개 내지 10개, 10개 내지 15개, 15개 내지 20개, 20개 내지 25개, 25개 내지 30개, 30개 내지 35개, 35개 내지 40개, 40개 내지 45개 또는 45개 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 적어도 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19

개 또는 약 20개, 및 최대 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개 또는 약 25개, 및 최대 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 약 30개, 약 31개, 약 32개, 약 33개, 약 34개, 약 35개, 약 36개, 약 37개, 약 38개, 약 39개 또는 약 40개 및 최대 약 41개, 약 42개, 약 43개, 약 44개, 약 45개, 약 46개, 약 47개, 약 48개, 약 49개 또는 약 50개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 10개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 15개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 16개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 17개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 18개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 19개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 20개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 21개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 22개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 23개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 24개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 25개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 26개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 27개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 28개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 29개의 뉴클레오타이드 길이이다. 실시형태에서, AC는 약 30개의 뉴클레오타이드 길이이다.

[0654] 실시형태에서, AC는 표적 핵산 서열과 100 퍼센트 미만으로 상보적일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "상보성 퍼센트"는 올리고머 화합물 또는 핵산의 상응하는 핵염기와 핵염기 상보성을 갖는 AC의 핵염기의 수를 AC의 총 길이(핵염기의 수)로 나눈 것을 지칭한다. 당업자는 안티센스 화합물의 활성을 제거하지 않고도 미스매치의 포함이 가능하다는 것을 인식하고 있다. 실시형태에서, AC는 AC의 표적 핵산에 대한 염기 페어링을 방해하는 최대 약 20%의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 실시형태에서, AC는 약 15% 이하, 약 10% 이하, 5% 이하의 미스매치를 포함하거나 또는 미스매치를 포함하지 않는다. 실시형태에서, AC는 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이하의 미스매치를 포함한다. 실시형태에서, AC는 표적 핵산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적이다. 올리고뉴클레오타이드의 상보성 퍼센트는 상보적인 핵염기의 수를 올리고뉴클레오타이드의 핵염기의 총 수로 나누어 계산된다. 올리고뉴클레오타이드 영역의 상보성 퍼센트는 해당 영역의 상보적인 핵염기의 수를 핵염기 영역의 총 수로 나누어 계산된다.

[0655] 실시형태에서, 뉴클레오타이드 친화성 변형을 혼입시키면 비변형된 화합물에 비해 더 많은 수의 미스매치가 허용된다. 유사하게는, 소정의 올리고뉴클레오타이드 서열은 다른 올리고뉴클레오타이드 서열보다 미스매치에 더 관용적일 수 있다. 당업자라면 용융 온도(melting temperature: Tm)를 결정하는 것과 같이 올리고뉴클레오타이드 사이 또는 올리고뉴클레오타이드와 표적 핵산 사이의 적절한 수의 미스매치를 결정할 수 있다. Tm 또는 ΔTm은 당업자에게 친숙한 기법에 의해 계산될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Freier et al. (Nucleic Acids Research, 1997, 25, 22: 4429-4443)]에 기술되어 있는 기법은 RNA:DNA 이중체의 용융 온도를 증가시키는 능력에 대해 뉴클레오타이드 변형을 평가할 수 있게 한다.

[0656] *안티센스 메커니즘*

[0657] 본 개시내용에 따른 AC는 단백질 전사, 번역 및 발현 중 하나 이상의 양태를 조절할 수 있다. 실시형태에서, 표적 pre-mRNA 내의 표적 서열에 혼성화되는 AC는 pre-mRNA 스플라이싱의 하나 이상의 양태를 조절한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 스플라이싱의 조절은 스플라이싱된 mRNA 분자가 엑손 스키핑 또는 엑손 포함, 하나 이상의 엑손의 결실 또는 스플라이싱된 mRNA에서 일반적으로 발견되지 않는 서열(예를 들어, 인트론 서열)의 결실 또는 추가의 결과로서 엑손의 상이한 조합을 포함하도록 pre-mRNA 전사체의 처리를 변경하는 것을 지칭한다. 실시형태에서, pre-mRNA 분자 내의 표적 서열에 대한 AC 혼성화는 돌연변이된 pre-mRNA 서열에 대한 천연 스플라이싱을 복원한다. 실시형태에서, AC 혼성화는 표적 pre-mRNA의 대체 스플라이싱을 초래한다. 실시형태에서, AC 혼성화는 하나 이상의 엑손의 엑손 포함 또는 엑손 스키핑을 초래한다. 실시형태에서, 스키핑된 엑손 서열은 프레임시프트 돌연변이, 넌센스 돌연변이 또는 미스센스 돌연변이를 포함한다. 실시형태에서, 스키핑된 엑손 서열은 핵산 결실, 치환 또는 삽입을 포함한다. 실시형태에서, 스키핑된 엑손 자체는 서열 돌연변이를 포함하지 않지만, 이웃하는 엑손은 프레임시프트 돌연변이 또는 넌센스 돌연변이를 초래하는 돌연변이를 포함한다. 실시형태에서, 서열 돌연변이를 포함하지 않는 엑손의 결실은 성숙 mRNA의 리딩 프레임을 복원한다. 실시형태에서, 표적 pre-mRNA 내의 표적 서열에 대한 AC 혼성화는 야생형 표적 단백질 이성질체의 우선적인 발현을 초래한다. 실시형태에서, 표적 pre-mRNA 내의 표적 서열에 대한 AC 혼성화는 야생형 표적 단백질의 활성 단편을 포함하는 재스플라이싱된 표적 단백질의 발현을 초래한다.

[0658] 안티센스 메커니즘은 안티센스 화합물과 표적 핵산의 혼성화를 통해 기능한다. 실시형태에서, 표적 서열에 혼성화되는 AC는 표적 단백질의 발현을 억제한다. 실시형태에서, 표적 서열에 혼성화되는 AC는 하나 이상의 야생형 표적 단백질 이성질체의 발현을 억제한다. 실시형태에서, 표적 서열에 혼성화되는 AC는 표적 단백질의 발현을

상향 조절한다. 실시형태에서, 표적 서열에 혼성화되는 AC는 하나 이상의 야생형 표적 단백질 이성질체의 발현을 증가시킨다.

[0659] 본 개시내용의 AC의 효능은 투여에 의해 영향을 받은 안티센스 활성을 평가함으로써 평가된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "안티센스 활성"은 안티센스 화합물과 이의 표적 핵산의 혼성화에 기인하는 임의의 검출 가능한 그리고/또는 측정 가능한 활성을 지칭한다. 이러한 검출 및 또는 측정은 직접적이거나 간접적일 수 있다. 실시형태에서, 안티센스 활성은 표적 단백질의 양을 검출하고/하거나 측정함으로써 평가된다. 실시형태에서, 안티센스 활성은 재스플라이싱된 표적 단백질의 양을 검출하고/하거나 측정함으로써 평가된다. 실시형태에서, 안티센스 활성은 표적 핵산 및/또는 절단된 표적 핵산 및/또는 대안적으로 스플라이싱된 표적 핵산의 양을 검출하고/하거나 측정함으로써 평가된다.

[0660] *안티센스 화합물 설계*

[0661] 본 개시내용에 따른 AC의 설계는 표적화되는 서열에 따라 달라질 것이다. 특정 표적 핵산 분자에 AC를 표적화하는 것은 다단계 과정일 수 있다. 과정은 일반적으로 발현이 조절될 표적 핵산을 식별하는 것부터 시작된다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "표적 핵산" 및 "표적 유전자를 암호화하는 핵산"은 선택된 표적 유전자를 암호화하는 DNA, 이러한 DNA로부터 전사되는 RNA(pre-mRNA 및 mRNA 포함) 그리고 또한 이러한 RNA로부터 유래되는 cDNA를 포함한다. 예를 들어, 표적 핵산은 발현이 특정 장애 또는 질환 상태와 연관된 세포 유전자(또는 유전자로부터 전사된 mRNA) 또는 감염원으로부터의 핵산 분자일 수 있다.

[0662] 당업자라면 안티센스 활성을 초래하는 서열을 확인하기 위해 다양한 핵염기 서열의 안티센스 화합물을 설계, 합성 및 스크리닝할 수 있을 것이다. 예를 들어, 그 중 하나는 표적 pre-mRNA의 스플라이싱을 변경하거나 표적 단백질의 발현을 저해하는 안티센스 화합물을 설계하는 것일 수 있다. 미리 선택된 표적 핵산에 대한 안티센스 활성을 위한 안티센스 화합물을 설계, 합성 및 스크리닝하기 위한 방법은, 예를 들어, 임의의 목적을 위해 전체가 참조에 의해 원용되어 있는 문헌["Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" Edited by Stanley T. Crooke, CRC Press, Boca Raton, Florida]에서 찾을 수 있다.

[0663] 실시형태에서, 안티센스 화합물은 변형된 뉴클레오사이드, 변형된 뉴클레오사이드간 연결 및/또는 접합기를 포함한다.

[0664] 실시형태에서, 안티센스 화합물은 "트라이사이클로-DNA(tc-DNA)"이며, 이는 백본의 구조적 유연성을 제한하고 비틀림 각도 γ의 백본 기하학을 최적화하기 위해 사이클로프로페인 고리의 도입에 의해 각 뉴클레오타이드가 변형되는 제한된(constrained) DNA 유사체의 클래스를 지칭한다. 동종염기성 아데닌- 및 티민 함유 tc-DNA는 상보적인 RNA와 월등히 안정적인 A-T 염기쌍을 형성한다.

[0665] *뉴클레오사이드*

[0666] 실시형태에서, 연결된 뉴클레오사이드를 포함하는 안티센스 화합물이 제공된다. 실시형태에서, 뉴클레오사이드의 일부 또는 전부는 변형된 뉴클레오사이드이다. 실시형태에서, 하나 이상의 뉴클레오사이드는 변형된 핵염기를 포함한다. 실시형태에서, 하나 이상의 뉴클레오사이드는 변형된 당을 포함한다. 화학적으로 변형된 뉴클레오사이드는 뉴클레이스 저항성, 약동학 또는 표적 RNA에 대한 친화성과 같은 하나 이상의 특성을 향상시키기 위한 안티센스 화합물에 혼입시키기 위해 일상적으로 사용된다.

[0667] 일반적으로, 핵염기는 또 다른 핵산의 염기에 수소 결합을 할 수 있는 하나 이상의 원자 또는 원자의 그룹을 포함하는 임의의 기이다. 퓨린 핵염기인 아데닌(A) 및 구아닌(G)과 피리미딘 핵염기인 티민(T), 사이토신(C) 및 우라실(U)과 같은 "비변형된" 또는 "천연" 핵염기 외에도, 당업자에게 공지된 많은 변형된 핵염기 또는 핵염기 모방체가 본 명세서에 기재된 화합물로 처리 가능하다. 용어 변형된 핵염기 및 핵염기 모방체는 중복될 수 있지만, 일반적으로 변형된 핵염기는, 예를 들어, 7-데아자 퓨린, 5-메틸 사이토신 또는 G-클램프와 같은 모 핵염기와 구조가 유사한 핵염기를 지칭하는 반면, 핵염기 모방체는, 예를 들어, 삼환식 페녹사진 핵염기 모방체와 같은 더 복잡한 구조를 포함할 것이다. 위에 언급된 변형된 핵염기를 제조하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0668] 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 AC는 변형된 당 모이어티를 갖는 하나 이상의 뉴클레오사이드를 포함한다. 실시형태에서, 천연 뉴클레오사이드의 퓨라노실 당 고리는 치환기의 추가, 2개의 비제미날(non-geminal) 고리 원자의 브리징을 통한 이환식 핵산(bicyclic nucleic acid: BNA)의 형성 및 4'-위치의 고리 산소에 대한 -S-, -N(R)- 또는 $-C(R_1)(R_2)$와 같은 원자 또는 기의 치환을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 방식으로 변형될

수 있다. 변형된 당 모이어티는 잘 알려져 있으며, 전형적으로 표적에 대해 안티센스 화합물의 친화성을 변경시키고/시키거나 뉴클레이스 저항성을 증가시키는 데 사용될 수 있다. 변형된 당의 대표적인 목록은 비이환식 치환된 당, 특히 2'-F, 2'-OCH_3 또는 2'-$O(CH_2)_2$-OCH_3 치환기를 갖는 비이환식 2'-치환된 당; 및 4'-티오 변형된 당을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 당은 특히 당 모방체 그룹으로 대체될 수도 있으며, 예를 들어, 퓨라노스 고리는 모폴린 고리로 대체될 수 있다. 변형된 당을 제조하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 이러한 변형된 당의 제조를 교시하고 있는 일부 대표적인 특허 및 간행물은 미국 특허: 4,981,957; 5,118,800; 5,319,080; 5,359,044; 5,393,878; 5,446,137; 5,466,786; 5,514,785; 5,519,134; 5,567,811; 5,576,427; 5,591,722; 5,597,909; 5,610,300; 5,627,053; 5,639,873; 5,646,265; 5,658,873; 5,670,633; 5,792,747; 5,700,920; 및 6,600,032; 및 WO 2005/121371을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0669] 실시형태에서, 뉴클레오사이드는 LNA(4'-(CH_2)-O-2' 브리지), 2'-티오-LNA(4'-(CH_2)-S-2' 브리지), 2'-아미노-LNA(4'-(CH_2)-NR-2' 브리지), ENA(4'-(CH_2)2-O-2' 브리지), 4'-$(CH_2)_3$-2' 브리지된 BNA, 4'-$(CH_2CH(CH_3))$-2' 브리지된 BNA" cEt(4'-$(CH(CH_3)$-O-2' 브리지) 및 cMOE BNA(4'-$(CH(CH_2OCH_3)$-O-2' 브리지)를 비롯한 이환식 변형된 당(BNA)을 포함한다. 소정의 이러한 BNA가 제조되었고, 특허 문헌뿐만 아니라 과학 문헌에도 개시되어 있으며(예를 들어, 문헌[Srivastava, et al. J. Am. Chem. Soc. 2007, ACS Advanced online publication, 10.1021/ja071106y, Albaek et al. J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740, Fluiter, et al. Chembiochem 2005, 6, 1104-1109, Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222]; WO 94/14226; WO 2005/021570; 문헌[Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039], WO 2007/090071 참조); BNA를 개시하고 있는 등록된 US 특허 및 공개된 출원의 예는, 예를 들어, 미국 특허 제7,053,207호; 제6,268,490호; 제6,770,748호; 제6,794,499호; 제7,034,133호; 및 제6,525,191호; 및 미국 특허 이전 공개 제2004-0171570호; 제2004-0219565호; 제2004-0014959호; 제2003-0207841호; 제2004-0143114호; 및 제20030082807호를 포함한다.

[0670] 리보실 당 고리의 2'-하이드록실기가 당 고리의 4' 탄소 원자에 연결됨으로써 2'-C,4'-C-옥시메틸렌 연결을 형성하여 이환식 당 모이어티를 형성하는 "잠금 핵산"(LNA)도 본 명세서에 제공된다(문헌[Elayadi et al., Curr. Opinion Invens. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8 1-7; 및 Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243]에서 검토됨; 또한 미국 특허: 6,268,490 및 6,670,461 참조). 연결은 2' 산소 원자와 4' 탄소 원자를 브리징하는 메틸렌(-CH_2-)기일 수 있으며, 이에 대해 LNA라는 용어가 이환식 모이어티에 대해 사용되고; 이 위치에 에틸렌기가 있는 경우에는 ENA™라는 용어가 사용된다(Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; ENA™: Morita et al., Bioorganic Medicinal Chemistry, 2003, 11, 2211-2226). LNA 및 다른 이환식 당 유사체는 상보적인 DNA 및 RNA(Tm = +3℃ 내지 +10℃)로 매우 높은 이중체 열 안정성, 3'-핵산외부가수분해성 분해에 대한 안정성 및 우수한 용해도 특성을 나타낸다. LNA를 포함하는 강력하고 무독성인 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 기술되어 있다(Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2000, 97, 5633-5638).

[0671] 또한 연구된 LNA의 이성질체는 3'-엑소뉴클레이스에 대해 개선된 안정성을 갖는 것으로 나타난 알파-L-LNA이다. 알파-L-LNA는 강력한 안티센스 활성을 보이는 안티센스 갭머(gapmer) 및 키메라에 혼입되었다(Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372).

[0672] LNA 단량체인 아데닌, 사이토신, 구아닌, 5-메틸-사이토신, 티민 및 우라실의 합성 및 제조와 이들의 올리고머화 및 핵산 인식 특성이 기술되어 있다(Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). LNA 및 이의 제조도 WO 98/39352 및 WO 99/14226에 기술되어 있다.

[0673] LNA의 유사체인 포스포로티오에이트-LNA 및 2'-티오-LNA도 제조되었다(Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222). 핵산 폴리머레이스용 기질로서 올리고데옥시리보뉴클레오타이드 이중체를 포함하는 잠금 뉴클레오사이드 유사체의 제조에 대해서도 기술되어 있다(Wengel 등, WO 99/14226). 신규한 구조적으로 제한된 고친화성 올리고뉴클레오타이드 유사체인 2'-아미노-LNA의 합성이 당업계에 기술되어 있다(Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). 또한, 2'-아미노- 및 2'-메틸아미노-LNA가 제조되었으며, 상보적인 RNA 및 DNA 가닥을 갖는 이중체의 열 안정성이 이전에 보고되었다.

[0674] *뉴클레오사이드간 연결*

[0675] 뉴클레오사이드 또는 그렇지 않으면 변형된 단량체 단위를 함께 연결하여 안티센스 화합물을 형성하는 뉴클레오

사이드간 연결기가 본 명세서에 기재된다. 뉴클레오사이드간 연결기의 2개의 주요 클래스는 인 원자의 존재 여부에 의해 정의된다. 대표적인 인 함유 뉴클레오사이드간 연결은 포스포다이에스터, 포스포트라이에스터, 메틸포스포네이트, 포스포라미데이트(포스포로다이아미데이트 포함) 및 포스포로티오에이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 대표적인 비-인 함유 뉴클레오사이드간 연결기는 메틸렌메틸이미노($-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$), 티오다이에스터($-O-C(O)-S-$), 티오노카바메이트($-O-C(O)(NH)-S-$); 실록세인($-O-Si(H)_2-O-$); 및 N,N'-다이메틸하이드라진($-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-$)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 비-인 뉴클레오사이드간 연결기를 갖는 안티센스 화합물은 올리고뉴클레오사이드로 지칭된다. 천연 포스포다이에스터 연결과 비교하여 변형된 뉴클레오사이드간 연결은 안티센스 화합물의 뉴클레이스 저항성을 변경, 전형적으로 증가시키는 데 사용될 수 있다. 카이랄 원자를 갖는 뉴클레오사이드간 연결은 라세미, 카이랄 또는 혼합물로 제조될 수 있다. 대표적인 카이랄 뉴클레오사이드간 연결은 알킬포스포네이트 및 포스포로티오에이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 인 함유 및 비-인 함유 연결의 제조 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0676] 실시형태에서, 포스페이트기는 당의 2', 3' 또는 5' 하이드록실 모이어티에 연결될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드를 형성할 때, 포스페이트기는 인접한 뉴클레오사이드를 서로 공유적으로 연결하여 선형 중합체 화합물을 형성한다. 올리고뉴클레오타이드 내에서, 포스페이트기는 일반적으로 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레오사이드간 백본을 형성하는 것으로 지칭된다. RNA 및 DNA의 정상적인 연결 또는 백본은 3'에서 5' 포스포다이에스터 연결이다.

[0677] *접합기*

[0678] 실시형태에서, AC는 하나 이상의 접합기의 공유 부착에 의해 변형된다. 일반적으로, 접합기는 약력학, 약동학, 결합, 흡수, 세포 분포, 세포 흡수, 전하 및 제거를 포함하지만 이에 제한되지 않는 부착된 AC의 하나 이상의 특성을 변형시킨다. 접합기는 화학 분야에서 일상적으로 사용되며, AC와 같은 모 화합물에 직접적으로, 또는 선택적 연결 모이어티 또는 연결기를 통해 연결된다. 접합기는 제한 없이 삽입제, 리포터 분자, 폴리아민, 폴리아마이드, 폴리에틸렌 글리콜, 티오에터, 폴리에터, 콜레스테롤, 티오콜레스테롤, 콜산 모이어티, 폴레이트, 지질, 인지질, 바이오틴, 페나진, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아다만테인, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린 및 염료를 포함한다. 실시형태에서, 접합기는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이고, PEG는 AC 또는 환식 펩타이드에 접합된다.

[0679] 접합기는 지질 모이어티, 예컨대, 콜레스테롤 모이어티(Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553); 콜산(Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1053); 티오에터, 예를 들어, 헥실-S-트라이틸티올(Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3, 2765); 티오콜레스테롤(Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533); 지방족 사슬, 예를 들어, 도데칸다이올 또는 운데실 잔기(Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 111; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49); 인지질, 예를 들어, 다이-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트라이에틸암모늄-1,2-다이-O-헥사데실-rac-글리세로-3-H-포스포네이트(Manoharan et al., Manoharan Lett., 1995, 36, 3651; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777); 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969); 아다만테인 아세트산(Manoharan et al., Manoharan Lett., 1995, 36, 3651); 팔미틸 모이어티(Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229); 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카보닐-옥시콜레스테롤 모이어티(Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923)를 포함한다.

[0680] 당업계에 공지된 것과 같은 연결기 또는 이작용성 연결 모이어티가 본 명세서에 제공된 화합물과 함께 포함될 수 있다. 연결기는, 예를 들어, AC와 같은 모 화합물의 선택적 부위에 화학적 작용기, 접합기, 리포터기 및 기타 그룹을 부착하는 데 유용하다. 실시형태에서, 이작용성 연결 모이어티는 2개의 작용기를 갖는 하이드로카빌 모이어티를 포함한다. 실시형태에서, 작용기 중 하나는 모 분자 또는 관심 화합물에 결합하도록 선택되고, 다른 하나는 화학적 작용기 또는 접합기와 같은 임의의 선택된 기에 본질적으로 결합하도록 선택된다. 본 명세서에 기재된 임의의 링커가 사용될 수 있다. 실시형태에서, 링커는 에틸렌 글리콜 또는 아미노산 단위와 같은 반복 단위의 사슬 구조 또는 올리고머를 포함한다. 이작용성 연결 모이어티에 사용되는 작용기의 예는 친핵성 기와 반응하기 위한 친전자체 및 친핵성 기와 반응하기 위한 친핵체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 실시형태에서, 이작용성 연결 모이어티는 아미노, 하이드록실, 카복실산, 티올, 불포화(예를 들어, 이중 또는 삼중 결합) 등을 포함한다. 이작용성 연결 모이어티의 일부 비제한적인 예는 8-아미노-3,6-다이옥사옥탄산(ADO), 석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥세인-1-카복실레이트(SMCC) 및 6-아미노헥산산(AHEX 또는 AHA)을 포함한다.

다른 연결기는 치환된 C_1-C_{10} 알킬, 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10} 알켄일 또는 치환 또는 비치환된 C_2-C_{10} 알킨일을 포함하지만 이에 제한되지 않되, 치환기의 비제한적인 목록은 하이드록실, 아미노, 알콕시, 카복시, 벤질, 페닐, 나이트로, 티올, 티오알콕시, 할로겐, 알킬, 아릴, 알켄일 및 알킨일을 포함한다.

[0681] 실시형태에서, AC는 10개의 아르기닌-세린 다이펩타이드 반복부에 연결될 수 있다. 스플라이싱 인핸서 인자의 인공적 동원을 위해 10개의 아르기닌-세린 다이펩타이드 반복부에 연결된 AC는 그렇지 않으면 스키핑될 돌연변이된 BRCA1 및 SMN2 엑손의 포함을 유도하기 위해 시험관내에서 적용되었다. 본 명세서에 참조에 의해 원용되어 있는 문헌[Cartegni and Krainer 2003]을 참조한다.

[0682] 실시형태에서, AC는 5개 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이(예를 들어, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개, 31개, 32개, 33개, 34개, 35개, 36개, 37개, 38개, 39개, 40개, 41개, 42개, 43개, 44개, 45개, 46개, 47개, 48개, 49개 또는 50개, 그 안의 모든 값과 범위를 포함)일 수 있다. 실시형태에서, AC는 5개 내지 10개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 10개 내지 15개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 15개 내지 20개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 20개 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 25개 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 30개 내지 35개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 35개 내지 40개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 40개 내지 45개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 실시형태에서, AC는 45개 내지 50개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다.

[0683] 실시형태에서, AC는 디스트로핀을 암호화하는 인간 DMD 유전자에 결합한다. 실시형태에서, AC는 DMD의 엑손 44의 적어도 일부에 결합한다. 실시형태에서, AC는 DMD의 엑손 44의 3' 측접의 적어도 일부에 결합한다. 실시형태에서, AC는 DMD의 엑손 44의 5' 측접 인트론의 적어도 일부에 결합한다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 약 18개 내지 약 30개의 핵산 길이, 예를 들어, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개 또는 약 30개의 핵산 길이이다.

[0684] 실시형태에서, 5'에서 3'까지 DMD의 엑손 44의 핵산 서열은 다음과 같다:

GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATT
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG(서열번호 1).

[0685]

[0686] 실시형태에서, 5'에서 3'까지 DMD의 엑손 44의 핵산 서열은 다음과 같다:

GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
AATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG (서열번호 2).

[0687]

[0688] 실시형태에서, 엑손 44의 서열은 서열번호 1의 5' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 실시형태에서, 엑손 44의 서열은 서열번호 2의 5' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 실시형태에서, 엑손 44의 서열은 서열번호 1의 3' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 실시형태에서, 엑손 44의 서열은 서열번호 2의 3' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0689] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 18개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 18량체임), 18량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번, 129번, 130번 또는 131번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 18개의 연속 뉴

클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 18량체임), 18량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번, 129번, 130번, 131번 또는 132번 위치에서 시작된다.

[0690] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 19량체임), 19량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번, 129번 또는 130번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 19개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 19량체임), 19량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번, 129번, 130번 또는 131번 위치에서 시작된다.

[0691] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 20량체임), 20량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번 또는 129번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 20개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 20량체임), 20량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번, 129번 또는 130번 위치에서 시작된다.

[0692] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 21량체임), 21량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번,

13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번 또는 128번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 21개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 21량체임), 21량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번, 128번 또는 129번 위치에서 시작된다.

[0693] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 22량체임), 22량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번 또는 127번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 22개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 22량체임), 22량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번, 127번 또는 128번 위치에서 시작된다.

[0694] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 23개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 23량체임), 23량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번 또는 126번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 23개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 23량체임), 23량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번,

61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번, 125번, 126번 또는 127번 위치에서 시작된다.

[0695] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 24개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 24량체임), 24량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번 또는 125번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 24개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 24량체임), 24량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번 또는 126번 위치에서 시작된다.

[0696] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 25개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 25량체임), 25량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번 또는 124번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 25개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 25량체임), 25량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번, 124번 또는 125번 위치에서 시작된다.

[0697] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 26개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 26량체임), 26량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번,

98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번 또는 123번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 26개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 26량체임), 26량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번, 122번, 123번 또는 124번 위치에서 시작된다.

[0698] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 27개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 27량체임), 27량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번 또는 122번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 27개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 27량체임), 27량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번 또는 122번 위치에서 시작된다.

[0699] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 28개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 28량체임), 28량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번 또는 121번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 28개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 28량체임), 28량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번, 121번 또는 122번 위치에서 시작된다.

[0700] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 29개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 29량체임), 29량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번,

30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번 또는 120번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 29개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 29량체임), 29량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번, 120번 또는 121번 위치에서 시작된다.

[0701] 실시형태에서, AC는 서열번호 1의 30개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 30량체임), 30량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 1의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번 또는 119번 위치에서 시작된다. 실시형태에서, AC는 서열번호 2의 30개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하되(예를 들어, AC는 30량체임), 30량체의 첫 번째 뉴클레오타이드는 서열번호 2의 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 6번, 7번, 8번, 9번, 10번, 11번, 12번, 13번, 14번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 20번, 21번, 22번, 23번, 24번, 25번, 26번, 27번, 28번, 29번, 30번, 31번, 32번, 33번, 34번, 35번, 36번, 37번, 38번, 39번, 40번, 41번, 42번, 43번, 44번, 45번, 46번, 47번, 48번, 49번, 50번, 51번, 52번, 53번, 54번, 55번, 56번, 57번, 58번, 59번, 60번, 61번, 62번, 63번, 64번, 65번, 66번, 67번, 68번, 69번, 70번, 71번, 72번, 73번, 74번, 75번, 76번, 77번, 78번, 79번, 80번, 81번, 82번, 83번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 90번, 91번, 92번, 93번, 94번, 95번, 96번, 97번, 98번, 99번, 100번, 101번, 102번, 103번, 104번, 105번, 106번, 107번, 108번, 109번, 110번, 111번, 112번, 113번, 114번, 115번, 116번, 117번, 118번, 119번 또는 120번 위치에서 시작된다.

[0702] 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 **표 6A** 내지 **표 6M**에 나타낸 핵산 서열 중 어느 하나, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열로부터 선택된다.

[0703] 실시형태에서, AC는 **표 6A** 내지 **표 6M**에 나타낸 핵산 서열 중 어느 하나로부터 선택되는 DMD의 엑손 44의 서열에 결합한다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 **표 6A** 내지 **표 6M** 내의 핵산 서열 중 어느 하나, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열로부터 선택된다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 하나 이상의 변형된 핵산, 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드간 연결 또는 이들의 조합을 포함한다. 실시형태에서, 엑손 44에 결합하는 AC는 하나 이상의 모폴린 고리, 하나 이상의 포스포로다이아미데이트 연결 또는 이들의 조합을 포함한다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 **표 6A** 내지 **표 6M** 내의 핵산 서열 중 어느 하나, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열로부터 선택되는 서열을 갖는 안티센스 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머(*PMO*)이다.

[0704] 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 5'- TGAAAACGCCGCCATTTCTCAACAG -3'이다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 5'-ACTGTTCAGCTTCTGTTAGCCACTG -3'이다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 하나 이상의 변형된 핵산, 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드간 연결 또는 이들의 조합을 포함한다. 실시형

태에서, 엑손 44에 결합하는 AC는 하나 이상의 모폴린 고리, 하나 이상의 포스포로다이아미데이트 연결 또는 이들의 조합을 포함한다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 5'- TGAAAACGCCGCCATTTCTCAACAG -3'인 서열을 갖는 안티센스 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머(*PMO*)이다. 실시형태에서, DMD의 엑손 44에 결합하는 AC는 5'-ACTGTTCAGCTTCTGTTAGCCACTG -3'인 서열을 갖는 안티센스 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머(*PMO*)이다.

표 6

[표 6A]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 18 량체 AC

핵산 서열(5'-3')
GGCGATTTGACAGATCTG
GCGATTTGACAGATCTGT
CGATTTGACAGATCTGTT
GATTTGACAGATCTGTTG
ATTTGACAGATCTGTTGA
TTTGACAGATCTGTTGAG
TTGACAGATCTGTTGAGA
TGACAGATCTGTTGAGAA
GACAGATCTGTTGAGAAA
ACAGATCTGTTGAGAAAT
CAGATCTGTTGAGAAATG
AGATCTGTTGAGAAATGG
GATCTGTTGAGAAATGGC
ATCTGTTGAGAAATGGCG
TCTGTTGAGAAATGGCGG
CTGTTGAGAAATGGCGGC
TGTTGAGAAATGGCGGCG
GTTGAGAAATGGCGGCGT
TTGAGAAATGGCGGCGTT
TGAGAAATGGCGGCGTTT
GAGAAATGGCGGCGTTTT
AGAAATGGCGGCGTTTTC
GAAATGGCGGCGTTTTCA
AAATGGCGGCGTTTTCAT
AATGGCGGCGTTTTCATT
ATGGCGGCGTTTTCATTA
TGGCGGCGTTTTCATTAT
GGCGGCGTTTTCATTATG
GCGGCGTTTTCATTATGA
CGGCGTTTTCATTATGAT
GGCGTTTTCATTATGATA
GCGTTTTCATTATGATAT
CGTTTTCATTATGATATA
GTTTTCATTATGATATAA
TTTTCATTATGATATAAA
TTTCATTATGATATAAAG
TTCATTATGATATAAAGA
TCATTATGATATAAAGAT
CATTATGATATAAAGATA
ATTATGATATAAAGATAT

[0705]

[0706]

핵산 서열(5' – 3')
TTATGATATAAAGATATT
TATGATATAAAGATATTT
ATGATATAAAGATATTTA
TGATATAAAGATATTTAA
GATATAAAGATATTTAAT
ATATAAAGATATTTAATC
TATAAAGATATTTAATCA
ATAAAGATATTTAATCAG
TAAAGATATTTAATCAGT
AAAGATATTTAATCAGTG
AAGATATTTAATCAGTGG
AGATATTTAATCAGTGGC
GATATTTAATCAGTGGCT
ATATTTAATCAGTGGCTA
TATTTAATCAGTGGCTAA
ATTTAATCAGTGGCTAAC
TTTAATCAGTGGCTAACA
TTAATCAGTGGCTAACAG
TAATCAGTGGCTAACAGA
AATCAGTGGCTAACAGAA
ATCAGTGGCTAACAGAAG
TCAGTGGCTAACAGAAGC
CAGTGGCTAACAGAAGCT
AGTGGCTAACAGAAGCTG
GTGGCTAACAGAAGCTGA
TGGCTAACAGAAGCTGAA
GGCTAACAGAAGCTGAAC
GCTAACAGAAGCTGAACA
CTAACAGAAGCTGAACAG
TAACAGAAGCTGAACAGT
AACAGAAGCTGAACAGTT
ACAGAAGCTGAACAGTTT
CAGAAGCTGAACAGTTTC
AGAAGCTGAACAGTTTCT
GAAGCTGAACAGTTTCTC
AAGCTGAACAGTTTCTCA
AGCTGAACAGTTTCTCAG
GCTGAACAGTTTCTCAGA
CTGAACAGTTTCTCAGAA
TGAACAGTTTCTCAGAAA
GAACAGTTTCTCAGAAAG
AACAGTTTCTCAGAAAGA
ACAGTTTCTCAGAAAGAC

핵산 서열(5' – 3')
CAGTTTCTCAGAAAGACA
AGTTTCTCAGAAAGACAC
GTTTCTCAGAAAGACACA
TTTCTCAGAAAGACACAA
TTCTCAGAAAGACACAAA
TCTCAGAAAGACACAAAT
CTCAGAAAGACACAAATT
TCAGAAAGACACAAATTC
CAGAAAGACACAAATTCC
AGAAAGACACAAATTCCT
GAAAGACACAAATTCCTG
AAAGACACAAATTCCTGA
AAGACACAAATTCCTGAG
AGACACAAATTCCTGAGA
GACACAAATTCCTGAGAA
ACACAAATTCCTGAGAAT
CACAAATTCCTGAGAATT
ACAAATTCCTGAGAATTG
CAAATTCCTGAGAATTGG
AAATTCCTGAGAATTGGG
AATTCCTGAGAATTGGGA
ATTCCTGAGAATTGGGAA
TTCCTGAGAATTGGGAAC
TCCTGAGAATTGGGAACA
CCTGAGAATTGGGAACAT
CTGAGAATTGGGAACATG
TGAGAATTGGGAACATGC
GAGAATTGGGAACATGCT
AGAATTGGGAACATGCTA
GAATTGGGAACATGCTAA
AATTGGGAACATGCTAAA
ATTGGGAACATGCTAAAT
TTGGGAACATGCTAAATA
TGGGAACATGCTAAATAC
GGGAACATGCTAAATACA
GGAACATGCTAAATACAA
GAACATGCTAAATACAAA
AACATGCTAAATACAAAT
ACATGCTAAATACAAATG
CATGCTAAATACAAATGG
ATGCTAAATACAAATGGT
TGCTAAATACAAATGGTA
GCTAAATACAAATGGTAT

[0707]

핵산 서열(5' – 3')
CTAAATACAAATGGTATC
TAAATACAAATGGTATCT
AAATACAAATGGTATCTT
AATACAAATGGTATCTTA
ATACAAATGGTATCTTAA
TACAAATGGTATCTTAAG

[0708]

[표 6B]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 19 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGT
GCGATTTGACAGATCTGTT
CGATTTGACAGATCTGTTG
GATTTGACAGATCTGTTGA
ATTTGACAGATCTGTTGAG
TTTGACAGATCTGTTGAGA
TTGACAGATCTGTTGAGAA
TGACAGATCTGTTGAGAAA
GACAGATCTGTTGAGAAAT
ACAGATCTGTTGAGAAATG
CAGATCTGTTGAGAAATGG
AGATCTGTTGAGAAATGGC
GATCTGTTGAGAAATGGCG
ATCTGTTGAGAAATGGCGG
TCTGTTGAGAAATGGCGGC
CTGTTGAGAAATGGCGGCG
TGTTGAGAAATGGCGGCGT
GTTGAGAAATGGCGGCGTT
TTGAGAAATGGCGGCGTTT
TGAGAAATGGCGGCGTTTT
GAGAAATGGCGGCGTTTTC
AGAAATGGCGGCGTTTTCA
GAAATGGCGGCGTTTTCAT
AAATGGCGGCGTTTTCATT
AATGGCGGCGTTTTCATTA
ATGGCGGCGTTTTCATTAT
TGGCGGCGTTTTCATTATG
GGCGGCGTTTTCATTATGA
GCGGCGTTTTCATTATGAT
CGGCGTTTTCATTATGATA
GGCGTTTTCATTATGATAT

[0709]

[0710]

핵산 서열(5' – 3')
GCGTTTTCATTATGATATA
CGTTTTCATTATGATATAA
GTTTTCATTATGATATAAA
TTTTCATTATGATATAAAG
TTTCATTATGATATAAAGA
TTCATTATGATATAAAGAT
TCATTATGATATAAAGATA
CATTATGATATAAAGATAT
ATTATGATATAAAGATATT
TTATGATATAAAGATATTT
TATGATATAAAGATATTTA
ATGATATAAAGATATTTAA
TGATATAAAGATATTTAAT
GATATAAAGATATTTAATC
ATATAAAGATATTTAATCA
TATAAAGATATTTAATCAG
ATAAAGATATTTAATCAGT
TAAAGATATTTAATCAGTG
AAAGATATTTAATCAGTGG
AAGATATTTAATCAGTGGC
AGATATTTAATCAGTGGCT
GATATTTAATCAGTGGCTA
ATATTTAATCAGTGGCTAA
TATTTAATCAGTGGCTAAC
ATTTAATCAGTGGCTAACA
TTTAATCAGTGGCTAACAG
TTAATCAGTGGCTAACAGA
TAATCAGTGGCTAACAGAA
AATCAGTGGCTAACAGAAG
ATCAGTGGCTAACAGAAGC
TCAGTGGCTAACAGAAGCT
CAGTGGCTAACAGAAGCTG
AGTGGCTAACAGAAGCTGA
GTGGCTAACAGAAGCTGAA
TGGCTAACAGAAGCTGAAC
GGCTAACAGAAGCTGAACA
GCTAACAGAAGCTGAACAG
CTAACAGAAGCTGAACAGT
TAACAGAAGCTGAACAGTT
AACAGAAGCTGAACAGTTT
ACAGAAGCTGAACAGTTTC
CAGAAGCTGAACAGTTTCT
AGAAGCTGAACAGTTTCTC

[0711]

핵산 서열(5' – 3')
GAAGCTGAACAGTTTCTCA
AAGCTGAACAGTTTCTCAG
AGCTGAACAGTTTCTCAGA
GCTGAACAGTTTCTCAGAA
CTGAACAGTTTCTCAGAAA
TGAACAGTTTCTCAGAAAG
GAACAGTTTCTCAGAAAGA
AACAGTTTCTCAGAAAGAC
ACAGTTTCTCAGAAAGACA
CAGTTTCTCAGAAAGACAC
AGTTTCTCAGAAAGACACA
GTTTCTCAGAAAGACACAA
TTTCTCAGAAAGACACAAA
TTCTCAGAAAGACACAAAT
TCTCAGAAAGACACAAATT
CTCAGAAAGACACAAATTC
TCAGAAAGACACAAATTCC
CAGAAAGACACAAATTCCT
AGAAAGACACAAATTCCTG
GAAAGACACAAATTCCTGA
AAAGACACAAATTCCTGAG
AAGACACAAATTCCTGAGA
AGACACAAATTCCTGAGAA
GACACAAATTCCTGAGAAT
ACACAAATTCCTGAGAATT
CACAAATTCCTGAGAATTG
ACAAATTCCTGAGAATTGG
CAAATTCCTGAGAATTGGG
AAATTCCTGAGAATTGGGA
AATTCCTGAGAATTGGGAA
ATTCCTGAGAATTGGGAAC
TTCCTGAGAATTGGGAACA
TCCTGAGAATTGGGAACAT
CCTGAGAATTGGGAACATG
CTGAGAATTGGGAACATGC
TGAGAATTGGGAACATGCT
GAGAATTGGGAACATGCTA
AGAATTGGGAACATGCTAA
GAATTGGGAACATGCTAAA
AATTGGGAACATGCTAAAT
ATTGGGAACATGCTAAATA
TTGGGAACATGCTAAATAC
TGGGAACATGCTAAATACA

[0712]

핵산 서열(5' – 3')
GGGAACATGCTAAATACAA
GGAACATGCTAAATACAAA
GAACATGCTAAATACAAAT
AACATGCTAAATACAAATG
ACATGCTAAATACAAATGG
CATGCTAAATACAAATGGT
ATGCTAAATACAAATGGTA
TGCTAAATACAAATGGTAT
GCTAAATACAAATGGTATC
CTAAATACAAATGGTATCT
TAAATACAAATGGTATCTT
AAATACAAATGGTATCTTA
AATACAAATGGTATCTTAA
ATACAAATGGTATCTTAAG

[표 6C]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 20 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTT
GCGATTTGACAGATCTGTTG
CGATTTGACAGATCTGTTGA
GATTTGACAGATCTGTTGAG
ATTTGACAGATCTGTTGAGA
TTTGACAGATCTGTTGAGAA
TTGACAGATCTGTTGAGAAA
TGACAGATCTGTTGAGAAAT
GACAGATCTGTTGAGAAATG
ACAGATCTGTTGAGAAATGG
CAGATCTGTTGAGAAATGGC
AGATCTGTTGAGAAATGGCG
GATCTGTTGAGAAATGGCGG
ATCTGTTGAGAAATGGCGGC
TCTGTTGAGAAATGGCGGCG
CTGTTGAGAAATGGCGGCGT
TGTTGAGAAATGGCGGCGTT
GTTGAGAAATGGCGGCGTTT
TTGAGAAATGGCGGCGTTTT
TGAGAAATGGCGGCGTTTTC
GAGAAATGGCGGCGTTTTCA
AGAAATGGCGGCGTTTTCAT
GAAATGGCGGCGTTTTCATT

[0713]

[0714]

핵산 서열(5' – 3')
AAATGGCGGCGTTTTCATTA
AATGGCGGCGTTTTCATTAT
ATGGCGGCGTTTTCATTATG
TGGCGGCGTTTTCATTATGA
GGCGGCGTTTTCATTATGAT
GCGGCGTTTTCATTATGATA
CGGCGTTTTCATTATGATAT
GGCGTTTTCATTATGATATA
GCGTTTTCATTATGATATAA
CGTTTTCATTATGATATAAA
GTTTTCATTATGATATAAAG
TTTTCATTATGATATAAAGA
TTTCATTATGATATAAAGAT
TTCATTATGATATAAAGATA
TCATTATGATATAAAGATAT
CATTATGATATAAAGATATT
ATTATGATATAAAGATATTT
TTATGATATAAAGATATTTA
TATGATATAAAGATATTTAA
ATGATATAAAGATATTTAAT
TGATATAAAGATATTTAATC
GATATAAAGATATTTAATCA
ATATAAAGATATTTAATCAG
TATAAAGATATTTAATCAGT
ATAAAGATATTTAATCAGTG
TAAAGATATTTAATCAGTGG
AAAGATATTTAATCAGTGGC
AAGATATTTAATCAGTGGCT
AGATATTTAATCAGTGGCTA
GATATTTAATCAGTGGCTAA
ATATTTAATCAGTGGCTAAC
TATTTAATCAGTGGCTAACA
ATTTAATCAGTGGCTAACAG
TTTAATCAGTGGCTAACAGA
TTAATCAGTGGCTAACAGAA
TAATCAGTGGCTAACAGAAG
AATCAGTGGCTAACAGAAGC
ATCAGTGGCTAACAGAAGCT
TCAGTGGCTAACAGAAGCTG
CAGTGGCTAACAGAAGCTGA
AGTGGCTAACAGAAGCTGAA
GTGGCTAACAGAAGCTGAAC
TGGCTAACAGAAGCTGAACA

[0715]

핵산 서열(5' – 3')
GGCTAACAGAAGCTGAACAG
GCTAACAGAAGCTGAACAGT
CTAACAGAAGCTGAACAGTT
TAACAGAAGCTGAACAGTTT
AACAGAAGCTGAACAGTTTC
ACAGAAGCTGAACAGTTTCT
CAGAAGCTGAACAGTTTCTC
AGAAGCTGAACAGTTTCTCA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAG
AAGCTGAACAGTTTCTCAGA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAA
GCTGAACAGTTTCTCAGAAA
CTGAACAGTTTCTCAGAAAG
TGAACAGTTTCTCAGAAAGA
GAACAGTTTCTCAGAAAGAC
AACAGTTTCTCAGAAAGACA
ACAGTTTCTCAGAAAGACAC
CAGTTTCTCAGAAAGACACA
AGTTTCTCAGAAAGACACAA
GTTTCTCAGAAAGACACAAA
TTTCTCAGAAAGACACAAAT
TTCTCAGAAAGACACAAATT
TCTCAGAAAGACACAAATTC
CTCAGAAAGACACAAATTCC
TCAGAAAGACACAAATTCCT
CAGAAAGACACAAATTCCTG
AGAAAGACACAAATTCCTGA
GAAAGACACAAATTCCTGAG
AAAGACACAAATTCCTGAGA
AAGACACAAATTCCTGAGAA
AGACACAAATTCCTGAGAAT
GACACAAATTCCTGAGAATT
ACACAAATTCCTGAGAATTG
CACAAATTCCTGAGAATTGG
ACAAATTCCTGAGAATTGGG
CAAATTCCTGAGAATTGGGA
AAATTCCTGAGAATTGGGAA
AATTCCTGAGAATTGGGAAC
ATTCCTGAGAATTGGGAACA
TTCCTGAGAATTGGGAACAT
TCCTGAGAATTGGGAACATG
CCTGAGAATTGGGAACATGC
CTGAGAATTGGGAACATGCT

핵산 서열(5' – 3')
TGAGAATTGGGAACATGCTA
GAGAATTGGGAACATGCTAA
AGAATTGGGAACATGCTAAA
GAATTGGGAACATGCTAAAT
AATTGGGAACATGCTAAATA
ATTGGGAACATGCTAAATAC
TTGGGAACATGCTAAATACA
TGGGAACATGCTAAATACAA
GGGAACATGCTAAATACAAA
GGAACATGCTAAATACAAAT
GAACATGCTAAATACAAATG
AACATGCTAAATACAAATGG
ACATGCTAAATACAAATGGT
CATGCTAAATACAAATGGTA
ATGCTAAATACAAATGGTAT
TGCTAAATACAAATGGTATC
GCTAAATACAAATGGTATCT
CTAAATACAAATGGTATCTT
TAAATACAAATGGTATCTTA
AAATACAAATGGTATCTTAA
AATACAAATGGTATCTTAAG

[0716]

[표 6D]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 21 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTG
GCGATTTGACAGATCTGTTGA
CGATTTGACAGATCTGTTGAG
GATTTGACAGATCTGTTGAGA
ATTTGACAGATCTGTTGAGAA
TTTGACAGATCTGTTGAGAAA
TTGACAGATCTGTTGAGAAAT
TGACAGATCTGTTGAGAAATG
GACAGATCTGTTGAGAAATGG
ACAGATCTGTTGAGAAATGGC
CAGATCTGTTGAGAAATGGCG
AGATCTGTTGAGAAATGGCGG
GATCTGTTGAGAAATGGCGGC
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTT

[0717]

[0718]

핵산 서열(5' – 3')
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
GAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
AGAAATGGCGGCGTTTTCATT
GAAATGGCGGCGTTTTCATTA
AAATGGCGGCGTTTTCATTAT
AATGGCGGCGTTTTCATTATG
ATGGCGGCGTTTTCATTATGA
TGGCGGCGTTTTCATTATGAT
GGCGGCGTTTTCATTATGATA
GCGGCGTTTTCATTATGATAT
CGGCGTTTTCATTATGATATA
GGCGTTTTCATTATGATATAA
GCGTTTTCATTATGATATAAA
CGTTTTCATTATGATATAAAG
GTTTTCATTATGATATAAAGA
TTTTCATTATGATATAAAGAT
TTTCATTATGATATAAAGATA
TTCATTATGATATAAAGATAT
TCATTATGATATAAAGATATT
CATTATGATATAAAGATATTT
ATTATGATATAAAGATATTTA
TTATGATATAAAGATATTTAA
TATGATATAAAGATATTTAAT
ATGATATAAAGATATTTAATC
TGATATAAAGATATTTAATCA
GATATAAAGATATTTAATCAG
ATATAAAGATATTTAATCAGT
TATAAAGATATTTAATCAGTG
ATAAAGATATTTAATCAGTGG
TAAAGATATTTAATCAGTGGC
AAAGATATTTAATCAGTGGCT
AAGATATTTAATCAGTGGCTA
AGATATTTAATCAGTGGCTAA
GATATTTAATCAGTGGCTAAC
ATATTTAATCAGTGGCTAACA
TATTTAATCAGTGGCTAACAG
ATTTAATCAGTGGCTAACAGA
TTTAATCAGTGGCTAACAGAA
TTAATCAGTGGCTAACAGAAG
TAATCAGTGGCTAACAGAAGC

[0719]

핵산 서열(5' – 3')
AATCAGTGGCTAACAGAAGCT
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
AGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
GTGGCTAACAGAAGCTGAACA
TGGCTAACAGAAGCTGAACAG
GGCTAACAGAAGCTGAACAGT
GCTAACAGAAGCTGAACAGTT
CTAACAGAAGCTGAACAGTTT
TAACAGAAGCTGAACAGTTTC
AACAGAAGCTGAACAGTTTCT
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
TGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
GAACAGTTTCTCAGAAAGACA
AACAGTTTCTCAGAAAGACAC
ACAGTTTCTCAGAAAGACACA
CAGTTTCTCAGAAAGACACAA
AGTTTCTCAGAAAGACACAAA
GTTTCTCAGAAAGACACAAAT
TTTCTCAGAAAGACACAAATT
TTCTCAGAAAGACACAAATTC
TCTCAGAAAGACACAAATTCC
CTCAGAAAGACACAAATTCCT
TCAGAAAGACACAAATTCCTG
CAGAAAGACACAAATTCCTGA
AGAAAGACACAAATTCCTGAG
GAAAGACACAAATTCCTGAGA
AAAGACACAAATTCCTGAGAA
AAGACACAAATTCCTGAGAAT
AGACACAAATTCCTGAGAATT
GACACAAATTCCTGAGAATTG
ACACAAATTCCTGAGAATTGG
CACAAATTCCTGAGAATTGGG
ACAAATTCCTGAGAATTGGGA
CAAATTCCTGAGAATTGGGAA

핵산 서열(5' – 3')
AAATTCCTGAGAATTGGGAAC
AATTCCTGAGAATTGGGAACA
ATTCCTGAGAATTGGGAACAT
TTCCTGAGAATTGGGAACATG
TCCTGAGAATTGGGAACATGC
CCTGAGAATTGGGAACATGCT
CTGAGAATTGGGAACATGCTA
TGAGAATTGGGAACATGCTAA
GAGAATTGGGAACATGCTAAA
AGAATTGGGAACATGCTAAAT
GAATTGGGAACATGCTAAATA
AATTGGGAACATGCTAAATAC
ATTGGGAACATGCTAAATACA
TTGGGAACATGCTAAATACAA
TGGGAACATGCTAAATACAAA
GGGAACATGCTAAATACAAAT
GGAACATGCTAAATACAAATG
GAACATGCTAAATACAAATGG
AACATGCTAAATACAAATGGT
ACATGCTAAATACAAATGGTA
CATGCTAAATACAAATGGTAT
ATGCTAAATACAAATGGTATC
TGCTAAATACAAATGGTATCT
GCTAAATACAAATGGTATCTT
CTAAATACAAATGGTATCTTA
TAAATACAAATGGTATCTTAA
AAATACAAATGGTATCTTAAG

[0720]

[표 6E]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 22 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGA
GCGATTTGACAGATCTGTTGAG
CGATTTGACAGATCTGTTGAGA
GATTTGACAGATCTGTTGAGAA
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAA
TTTGACAGATCTGTTGAGAAAT
TTGACAGATCTGTTGAGAAATG
TGACAGATCTGTTGAGAAATGG
GACAGATCTGTTGAGAAATGGC
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCG

[0721]

[0722]

핵산 서열(5' – 3')
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
GAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
AAATGGCGGCGTTTTCATTATG
AATGGCGGCGTTTTCATTATGA
ATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
TGGCGGCGTTTTCATTATGATA
GGCGGCGTTTTCATTATGATAT
GCGGCGTTTTCATTATGATATA
CGGCGTTTTCATTATGATATAA
GGCGTTTTCATTATGATATAAA
GCGTTTTCATTATGATATAAAG
CGTTTTCATTATGATATAAAGA
GTTTTCATTATGATATAAAGAT
TTTTCATTATGATATAAAGATA
TTTCATTATGATATAAAGATAT
TTCATTATGATATAAAGATATT
TCATTATGATATAAAGATATTT
CATTATGATATAAAGATATTTA
ATTATGATATAAAGATATTTAA
TTATGATATAAAGATATTTAAT
TATGATATAAAGATATTTAATC
ATGATATAAAGATATTTAATCA
TGATATAAAGATATTTAATCAG
GATATAAAGATATTTAATCAGT
ATATAAAGATATTTAATCAGTG
TATAAAGATATTTAATCAGTGG
ATAAAGATATTTAATCAGTGGC
TAAAGATATTTAATCAGTGGCT
AAAGATATTTAATCAGTGGCTA
AAGATATTTAATCAGTGGCTAA
AGATATTTAATCAGTGGCTAAC
GATATTTAATCAGTGGCTAACA

[0723]

핵산 서열(5' – 3')
ATATTTAATCAGTGGCTAACAG
TATTTAATCAGTGGCTAACAGA
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
GAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
AACAGTTTCTCAGAAAGACACA
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
AGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
GTTTCTCAGAAAGACACAAATT
TTTCTCAGAAAGACACAAATTC
TTCTCAGAAAGACACAAATTCC
TCTCAGAAAGACACAAATTCCT
CTCAGAAAGACACAAATTCCTG
TCAGAAAGACACAAATTCCTGA
CAGAAAGACACAAATTCCTGAG
AGAAAGACACAAATTCCTGAGA
GAAAGACACAAATTCCTGAGAA
AAAGACACAAATTCCTGAGAAT
AAGACACAAATTCCTGAGAATT

핵산 서열(5' – 3')
AGACACAAATTCCTGAGAATTG
GACACAAATTCCTGAGAATTGG
ACACAAATTCCTGAGAATTGGG
CACAAATTCCTGAGAATTGGGA
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
CAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
AAATTCCTGAGAATTGGGAACA
AATTCCTGAGAATTGGGAACAT
ATTCCTGAGAATTGGGAACATG
TTCCTGAGAATTGGGAACATGC
TCCTGAGAATTGGGAACATGCT
CCTGAGAATTGGGAACATGCTA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAA
TGAGAATTGGGAACATGCTAAA
GAGAATTGGGAACATGCTAAAT
AGAATTGGGAACATGCTAAATA
GAATTGGGAACATGCTAAATAC
AATTGGGAACATGCTAAATACA
ATTGGGAACATGCTAAATACAA
TTGGGAACATGCTAAATACAAA
TGGGAACATGCTAAATACAAAT
GGGAACATGCTAAATACAAATG
GGAACATGCTAAATACAAATGG
GAACATGCTAAATACAAATGGT
AACATGCTAAATACAAATGGTA
ACATGCTAAATACAAATGGTAT
CATGCTAAATACAAATGGTATC
ATGCTAAATACAAATGGTATCT
TGCTAAATACAAATGGTATCTT
GCTAAATACAAATGGTATCTTA
CTAAATACAAATGGTATCTTAA
TAAATACAAATGGTATCTTAAG

[0724]

[표 6F]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 23 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAG
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGA
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAA
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAA
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAAT

[0725]

[0726]

핵산 서열(5' – 3')
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATG
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
AATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
TGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
GGCGGCGTTTTCATTATGATATA
GCGGCGTTTTCATTATGATATAA
CGGCGTTTTCATTATGATATAAA
GGCGTTTTCATTATGATATAAAG
GCGTTTTCATTATGATATAAAGA
CGTTTTCATTATGATATAAAGAT
GTTTTCATTATGATATAAAGATA
TTTTCATTATGATATAAAGATAT
TTTCATTATGATATAAAGATATT
TTCATTATGATATAAAGATATTT
TCATTATGATATAAAGATATTTA
CATTATGATATAAAGATATTTAA
ATTATGATATAAAGATATTTAAT
TTATGATATAAAGATATTTAATC
TATGATATAAAGATATTTAATCA
ATGATATAAAGATATTTAATCAG
TGATATAAAGATATTTAATCAGT
GATATAAAGATATTTAATCAGTG
ATATAAAGATATTTAATCAGTGG
TATAAAGATATTTAATCAGTGGC
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCT

핵산 서열(5' – 3')
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
AAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
AGATATTTAATCAGTGGCTAACA
GATATTTAATCAGTGGCTAACAG
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACA
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATT
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAG

[0727]

[0728]

핵산 서열(5' - 3')
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
GAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
AAAGACACAAATTCCTGAGAATT
AAGACACAAATTCCTGAGAATTG
AGACACAAATTCCTGAGAATTGG
GACACAAATTCCTGAGAATTGGG
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
AAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
AATTCCTGAGAATTGGGAACATG
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
TGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
GAGAATTGGGAACATGCTAAATA
AGAATTGGGAACATGCTAAATAC
GAATTGGGAACATGCTAAATACA
AATTGGGAACATGCTAAATACAA
ATTGGGAACATGCTAAATACAAA
TTGGGAACATGCTAAATACAAAT
TGGGAACATGCTAAATACAAATG
GGGAACATGCTAAATACAAATGG
GGAACATGCTAAATACAAATGGT
GAACATGCTAAATACAAATGGTA
AACATGCTAAATACAAATGGTAT
ACATGCTAAATACAAATGGTATC
CATGCTAAATACAAATGGTATCT
ATGCTAAATACAAATGGTATCTT
TGCTAAATACAAATGGTATCTTA
GCTAAATACAAATGGTATCTTAA
CTAAATACAAATGGTATCTTAAG
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAA

[표 6G]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 24 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAA
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAA
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAAT
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATG
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
GCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
CGTTTTCATTATGATATAAAGATA
GTTTTCATTATGATATAAAGATAT
TTTTCATTATGATATAAAGATATT
TTTCATTATGATATAAAGATATTT
TTCATTATGATATAAAGATATTTA
TCATTATGATATAAAGATATTTAA
CATTATGATATAAAGATATTTAAT
ATTATGATATAAAGATATTTAATC
TTATGATATAAAGATATTTAATCA

[0729]

[0730]

핵산 서열(5' – 3')
TATGATATAAAGATATTTAATCAG
ATGATATAAAGATATTTAATCAGT
TGATATAAAGATATTTAATCAGTG
GATATAAAGATATTTAATCAGTGG
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGC
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT

[0731]

핵산 서열(5' – 3')
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
GAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
AGAATTGGGAACATGCTAAATACA
GAATTGGGAACATGCTAAATACAA
AATTGGGAACATGCTAAATACAAA
ATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
TTGGGAACATGCTAAATACAAATG
TGGGAACATGCTAAATACAAATGG
GGGAACATGCTAAATACAAATGGT
GGAACATGCTAAATACAAATGGTA
GAACATGCTAAATACAAATGGTAT
AACATGCTAAATACAAATGGTATC
ACATGCTAAATACAAATGGTATCT
CATGCTAAATACAAATGGTATCTT
ATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
TGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
GCTAAATACAAATGGTATCTTAAG

[표 6H]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 25 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAA
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAA
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAAT
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAATG
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
GCGTTTTCATTATGATATAAAGATA
CGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
GTTTTCATTATGATATAAAGATATT
TTTTCATTATGATATAAAGATATTT
TTTCATTATGATATAAAGATATTTA
TTCATTATGATATAAAGATATTTAA
TCATTATGATATAAAGATATTTAAT
CATTATGATATAAAGATATTTAATC
ATTATGATATAAAGATATTTAATCA

[0732]

[0733]

핵산 서열(5' – 3')
TTATGATATAAAGATATTTAATCAG
TATGATATAAAGATATTTAATCAGT
ATGATATAAAGATATTTAATCAGTG
TGATATAAAGATATTTAATCAGTGG
GATATAAAGATATTTAATCAGTGGC
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT

[0734]

핵산 서열(5' - 3')
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACA
AGAATTGGGAACATGCTAAATACAA
GAATTGGGAACATGCTAAATACAAA
AATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATG
TTGGGAACATGCTAAATACAAATGG
TGGGAACATGCTAAATACAAATGGT
GGGAACATGCTAAATACAAATGGTA
GGAACATGCTAAATACAAATGGTAT
GAACATGCTAAATACAAATGGTATC
AACATGCTAAATACAAATGGTATCT
ACATGCTAAATACAAATGGTATCTT
CATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
ATGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
TGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG
TGAAAACGCCGCCATTTCTCAACAG
AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC
AACGCCGCCATTTCTCAACAGATCT

[표 6I]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 26 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAA
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAAT
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATG
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGATA
GCGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
CGTTTTCATTATGATATAAAGATATT
GTTTTCATTATGATATAAAGATATTT
TTTTCATTATGATATAAAGATATTTA

[0735]

[0736]

핵산 서열(5' – 3')
TTTCATTATGATATAAAGATATTTAA
TTCATTATGATATAAAGATATTTAAT
TCATTATGATATAAAGATATTTAATC
CATTATGATATAAAGATATTTAATCA
ATTATGATATAAAGATATTTAATCAG
TTATGATATAAAGATATTTAATCAGT
TATGATATAAAGATATTTAATCAGTG
ATGATATAAAGATATTTAATCAGTGG
TGATATAAAGATATTTAATCAGTGGC
GATATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA

핵산 서열(5' - 3')
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATACA
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACAA
AGAATTGGGAACATGCTAAATACAAA
GAATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
AATTGGGAACATGCTAAATACAAATG
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATGG
TTGGGAACATGCTAAATACAAATGGT
TGGGAACATGCTAAATACAAATGGTA
GGGAACATGCTAAATACAAATGGTAT
GGAACATGCTAAATACAAATGGTATC
GAACATGCTAAATACAAATGGTATCT
AACATGCTAAATACAAATGGTATCTT
ACATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
CATGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
ATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG

[0737]

[표 6J]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 27 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAAT
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATG
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATA
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
GCGTTTTCATTATGATATAAAGATATT
CGTTTTCATTATGATATAAAGATATTT
GTTTTCATTATGATATAAAGATATTTA

[0738]

[0739]

핵산 서열(5' - 3')
TTTTCATTATGATATAAAGATATTTAA
TTTCATTATGATATAAAGATATTTAAT
TTCATTATGATATAAAGATATTTAATC
TCATTATGATATAAAGATATTTAATCA
CATTATGATATAAAGATATTTAATCAG
ATTATGATATAAAGATATTTAATCAGT
TTATGATATAAAGATATTTAATCAGTG
TATGATATAAAGATATTTAATCAGTGG
ATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGC
TGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
GATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA

[0740]

핵산 서열(5' – 3')
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACA
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAA
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAA
AGAATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
GAATTGGGAACATGCTAAATACAAATG
AATTGGGAACATGCTAAATACAAATGG
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGT
TTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTA
TGGGAACATGCTAAATACAAATGGTAT
GGGAACATGCTAAATACAAATGGTATC
GGAACATGCTAAATACAAATGGTATCT
GAACATGCTAAATACAAATGGTATCTT
AACATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
ACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
CATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG

[표 6K]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 28 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATG
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATA
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATT
GCGTTTTCATTATGATATAAAGATATTT
CGTTTTCATTATGATATAAAGATATTTA
GTTTTCATTATGATATAAAGATATTTAA

[0741]

[0742]

핵산 서열(5' – 3')
TTTTCATTATGATATAAAGATATTTAAT
TTTCATTATGATATAAAGATATTTAATC
TTCATTATGATATAAAGATATTTAATCA
TCATTATGATATAAAGATATTTAATCAG
CATTATGATATAAAGATATTTAATCAGT
ATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTG
TTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGG
TATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGC
ATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
TGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
GATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA

[0743]

핵산 서열(5' – 3')
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAA
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAA
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
AGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATG
GAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGG
AATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGT
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTA
TTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTAT
TGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATC
GGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCT
GGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTT
GAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
AACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
ACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG

[표 6L]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 29 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGG
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATA
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATT
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATTT
GCGTTTTCATTATGATATAAAGATATTTA
CGTTTTCATTATGATATAAAGATATTTAA
GTTTTCATTATGATATAAAGATATTTAAT
TTTTCATTATGATATAAAGATATTTAATC

[0744]

[0745]

핵산 서열(5' - 3')
TTTCATTATGATATAAAGATATTTAATCA
TTCATTATGATATAAAGATATTTAATCAG
TCATTATGATATAAAGATATTTAATCAGT
CATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTG
ATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGG
TTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGC
TATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
ATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
TGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
GATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT

[0746]

핵산 서열(5' – 3')
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACA
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAA
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATG
AGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGG
GAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGT
AATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTA
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTAT
TTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATC
TGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCT
GGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTT
GGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
GAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
AACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG

[표 6M]

DMD 의 엑손 44 에 결합하는 30 량체 AC

핵산 서열(5' – 3')
GGCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGC
GCGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCG
CGATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGG
GATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGC
ATTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCG
TTTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGT
TTGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTT
TGACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTT
GACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTT
ACAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTC
CAGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCA
AGATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCAT
GATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATT
ATCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTA
TCTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTAT
CTGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATG
TGTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGA
GTTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGAT
TTGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATA
TGAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATAT
GAGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATA
AGAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAA
GAAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAA
AAATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAG
AATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGA
ATGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGAT
TGGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATA
GGCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATAT
GCGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATT
CGGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATTT
GGCGTTTTCATTATGATATAAAGATATTTA
GCGTTTTCATTATGATATAAAGATATTTAA
CGTTTTCATTATGATATAAAGATATTTAAT
GTTTTCATTATGATATAAAGATATTTAATC
TTTTCATTATGATATAAAGATATTTAATCA
TTTCATTATGATATAAAGATATTTAATCAG
TTCATTATGATATAAAGATATTTAATCAGT
TCATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTG
CATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGG
ATTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGC

[0747]

[0748]

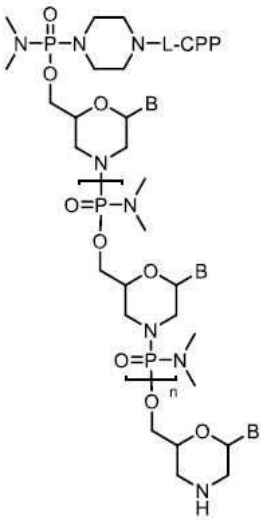
핵산 서열(5' - 3')
TTATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCT
TATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTA
ATGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAA
TGATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAAC
GATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACA
ATATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAG
TATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGA
ATAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAA
TAAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAG
AAAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGC
AAGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCT
AGATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTG
GATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGA
ATATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAA
TATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAAC
ATTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACA
TTTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAG
TTAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGT
TAATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTT
AATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTT
ATCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTC
TCAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCT
CAGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTC
AGTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCA
GTGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAG
TGGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGA
GGCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAA
GCTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAA
CTAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAG
TAACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGA
AACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGAC
ACAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACA
CAGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACAC
AGAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACA
GAAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAA
AAGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAA
AGCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAAT
GCTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATT
CTGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTC
TGAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCC
GAACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCT
AACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTG
ACAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGA

핵산 서열(5' – 3')
CAGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAG
AGTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGA
GTTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAA
TTTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAAT
TTCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATT
TCTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTG
CTCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGG
TCAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGG
CAGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGA
AGAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAA
GAAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAAC
AAAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACA
AAGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACAT
AGACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATG
GACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGC
ACACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCT
CACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTA
ACAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAA
CAAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAA
AAATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAAT
AATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATA
ATTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATAC
TTCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACA
TCCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAA
CCTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAA
CTGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAAT
TGAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATG
GAGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGG
AGAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGT
GAATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTA
AATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTAT
ATTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATC
TTGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCT
TGGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTT
GGGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTA
GGAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAA
GAACATGCTAAATACAAATGGTATCTTAAG
XGAAAACGCCGCCAXXXCXCAACAGAXCXG, 여기서 X=U 또는 T임
TGAAAACGCCGCCATTTCTCAACAGATCTG

[0749]

[0750] 실시형태에서, 표 6A 내지 표 6M의 AC, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 본 명세서에 기재된 임의의 AC는 포스포로티오에이트(PS) 뉴클레오타이드, 포스포로다이아미데이트 모폴리노(PMO) 뉴클레오타이드, 잠금 핵산(LNA), 펩타이드 핵산(PNA), 2'-O-메틸(2'-OMe) 변형된 백본을 포함하는 뉴클레오타이드, 2'O-메톡시-에틸(2'-MOE) 뉴클레오타이드, 2',4' 제한 에틸(cEt) 뉴클레오타이드 및 2'-데옥시-2'-플루오로-베타-D-아라비노핵산(2'F-ANA)으로부터 선택되는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드 또는 핵산을 포함한다. 실시형태에서, AC와 표적 서열의 혼성화는 엑손 44의 스플라이싱을 촉진하거나 유도한다. 실시형태에서, AC는 적어도 하나의 포스포로다이아미데이트 모폴리노(PMO) 뉴클레오타이드를 포함한다. 실시형태에서, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개, 27개, 28개, 29개, 30개 이상의 뉴클레오타이드가 변형된다. 실시형태에서, AC의 각 뉴클레오타이드 포스포로다이아미데이트 모폴리노(PMO) 뉴클레오타이드이다.

[0751] 실시형태에서, 화합물은 다음 구조를 갖는다:



[0752]

[0753] 식 중,

[0754] CPP는 본 명세서에 기재된 환식 펩타이드(세포 침투 펩타이드로도 지칭됨)이고;

[0755] L은 링커이고;

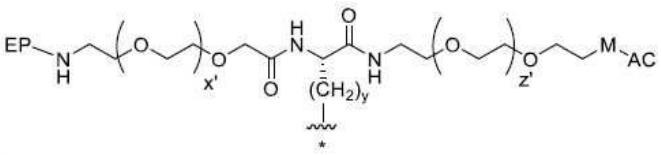
[0756] B는 각각 독립적으로 표적 서열의 염기와 상보적인 핵염기이고; 그리고

[0757] n은 1 내지 50의 정수이다. 실시형태에서, B와 n의 합은 표 6A 내지 표 6M에 나타낸 서열, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열에 해당한다.

[0758] **AC에 접합된 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)**

[0759] 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)는 AC에 접합될 수 있다.

[0760] AC는 링커를 통해 cCPP에 접합될 수 있다. 카고 모이어티는 말단 카보닐기의 링커에 접합되어 다음 구조를 제공할 수 있다:

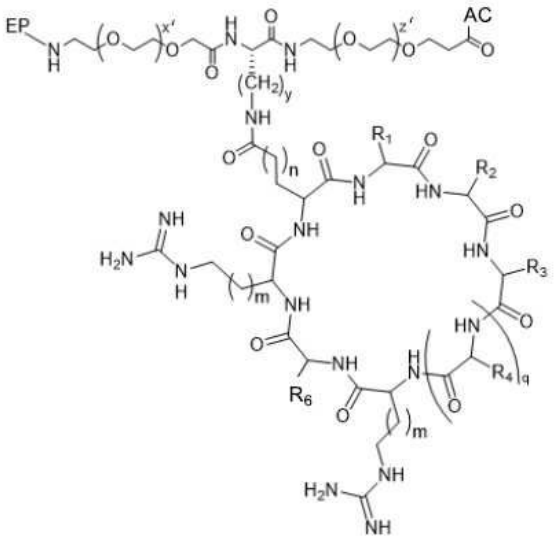


[0761] ,

[0762] 식 중,

[0763] EP는 환외 펩타이드이고, M, AA_{SC}, AC, x', y 및 z'는 위에서 정의된 바와 같고, *는 AA_{SC}에 대한 부착점이고, x'는 1일 수 있다. y는 4일 수 있다. z'는 11일 수 있다. $-(OCH_2CH-_2)_{x'}-$ 및/또는 $-(OCH_2CH-_2)_{z'}-$는 독립적으로, 예를 들어, 글리신, 베타-알라닌, 4-아미노뷰티르산, 5-아미노펜탄산, 6-아미노헥산산 또는 이들의 조합을 포함하는 하나 이상의 아미노산으로 대체될 수 있다.

[0764] 엔도솜 탈출 비히클(EEV)은 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP), 환외 펩타이드(EP) 및 링커를 포함할 수 있고, AC에 접합되어 하기 화학식 (C)의 구조:



(C)

[0765]

[0766] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함하는 EEV-접합체를 형성할 수 있되,

[0767] 식 중,

[0768] R_1, R_2 및 R_3은 각각 독립적으로 H 또는 방향족기를 포함하는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기일 수 있고;

[0769] R_4 및 R_6은 독립적으로 H 또는 아미노산 측쇄이고;

[0770] EP는 본 명세서에 정의된 바와 같은 환외 펩타이드이고;

[0771] AC는 본 명세서에 정의된 바와 같고;

[0772] 각각의 m은 독립적으로 0 내지 3의 정수이고;

[0773] n은 0 내지 2의 정수이고;

[0774] x'는 2 내지 20의 정수이고;

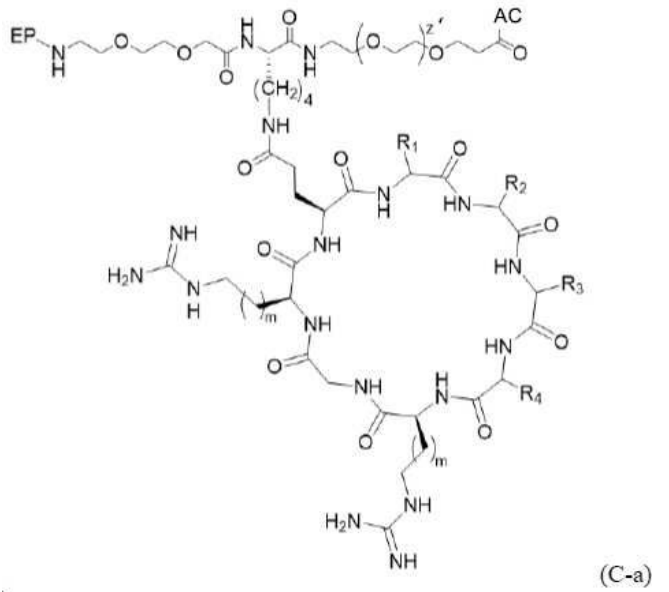
[0775] y는 1 내지 5의 정수이고;

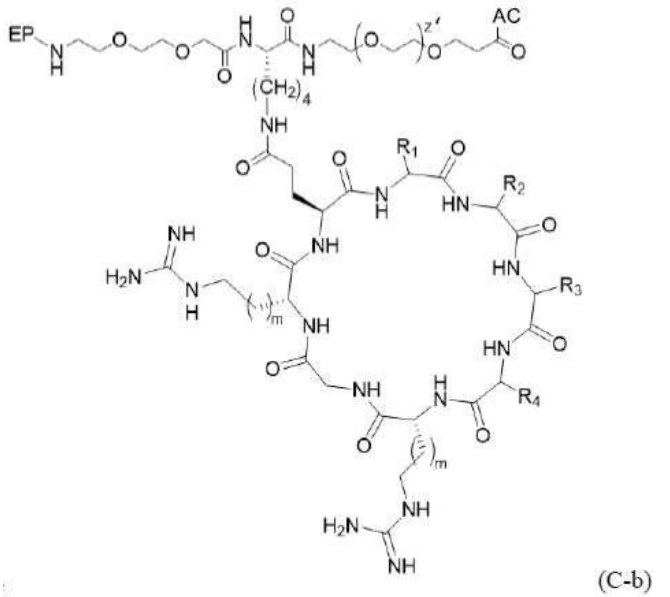
[0776] q는 1 내지 4의 정수이고; 그리고

[0777] z'는 2 내지 20의 정수이다.

[0778] R_1, R_2, R_3, R_4, EP, AC, m, n, x', y, q 및 z'는 본 명세서에 정의된 바와 같다.

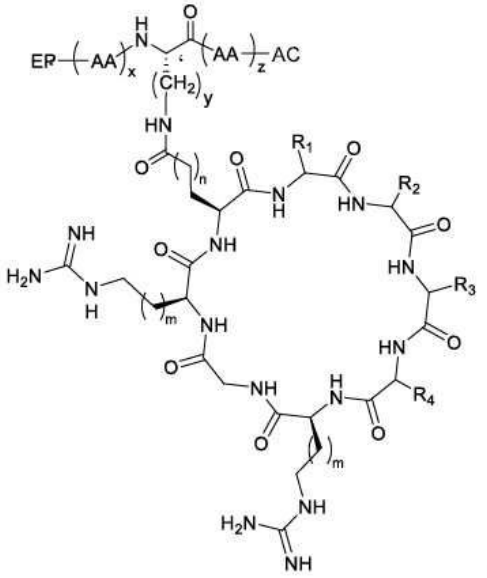
[0779] EEV는 AC에 접합될 수 있고, EEV-접합체는 하기 화학식 (C-a) 또는 (C-b)의 구조:

[0780] 
(C-a),

[0781] 
(C-b)

[0782] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, EP, m 및 z는 위의 화학식 (C)에서 정의된 바와 같다.

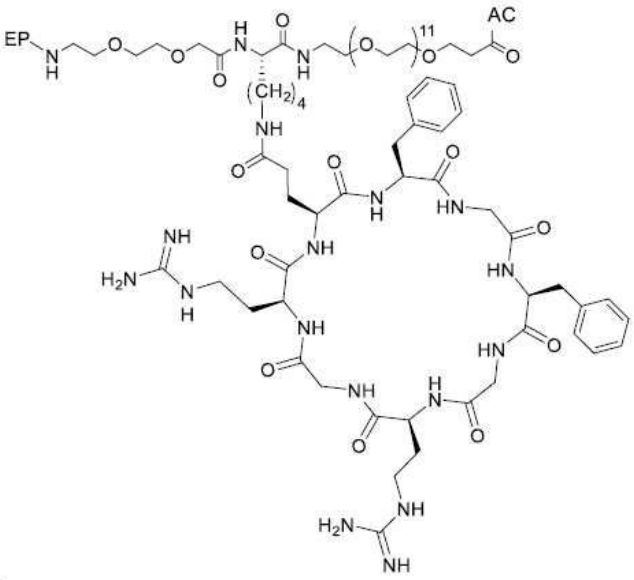
[0783] EEV는 AC에 접합될 수 있고, EEV-접합체는 하기 화학식 (C-c)의 구조:



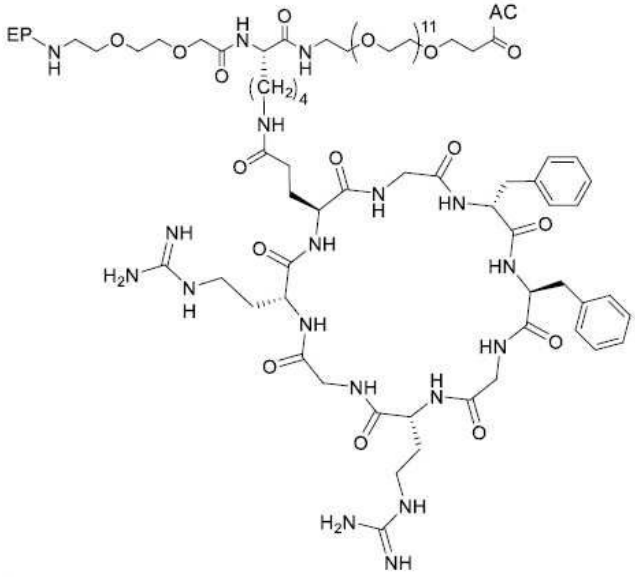
[0784] (C-c),

[0785] 또는 이의 양성자화된 형태를 포함할 수 있되, EP, R^1, R^2, R^3, R^4 및 m은 위의 화학식 (III)에서 정의된 바와 같고; AA는 본 명세서에 정의된 바와 같은 아미노산일 수 있고; n은 0 내지 2의 정수일 수 있고; x는 1 내지 10의 정수일 수 있고; y는1 내지 5의 정수일 수 있고; z는 1 내지 10의 정수일 수 있다.

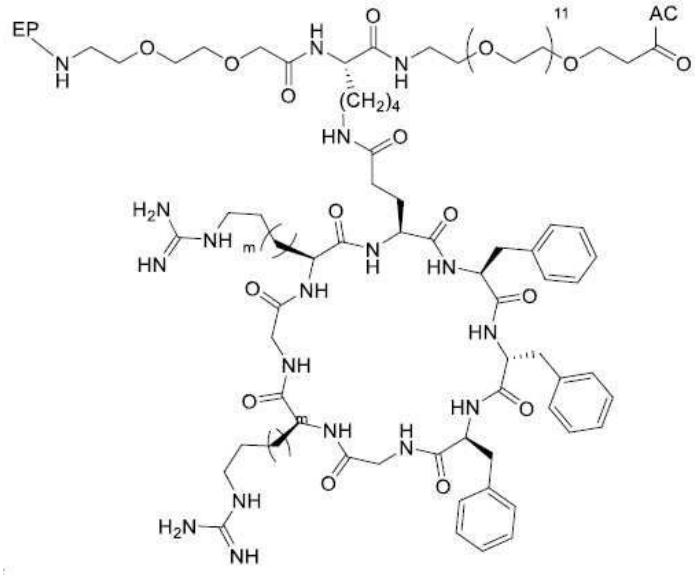
[0786] EEV는 올리고뉴클레오타이드 AC에 접합될 수 있고, EEV-올리고뉴클레오타이드 접합체는 하기 화학식 (C-1), (C-2), (C-3) 또는 (C-4)의 구조를 포함할 수 있다:



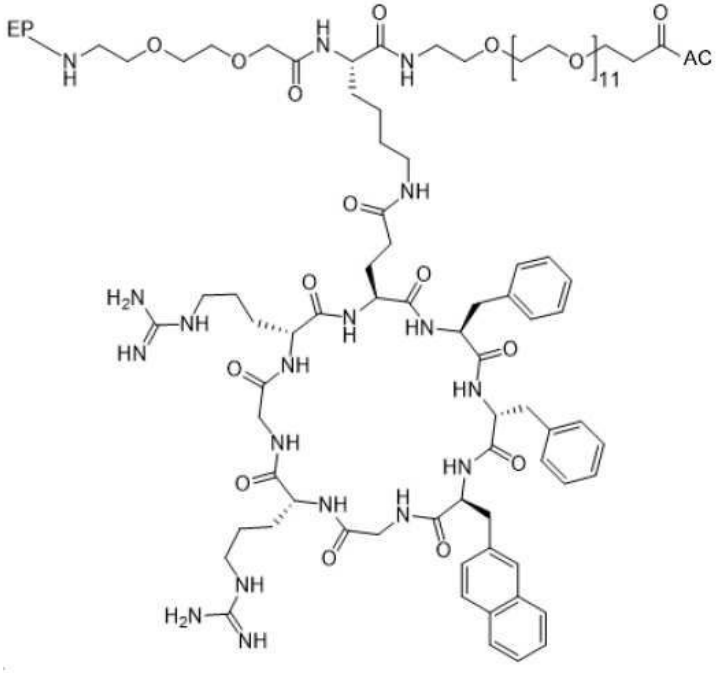
[0787] (C-1),

[0788] 

(C-2),

[0789] 

(C-3),

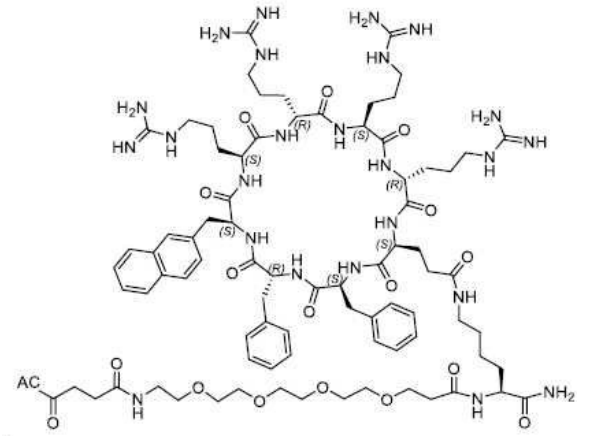
[0790] 

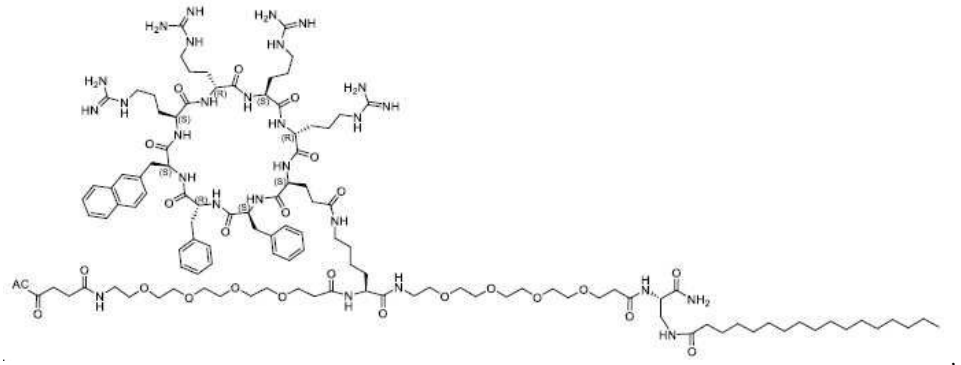
(C-4).

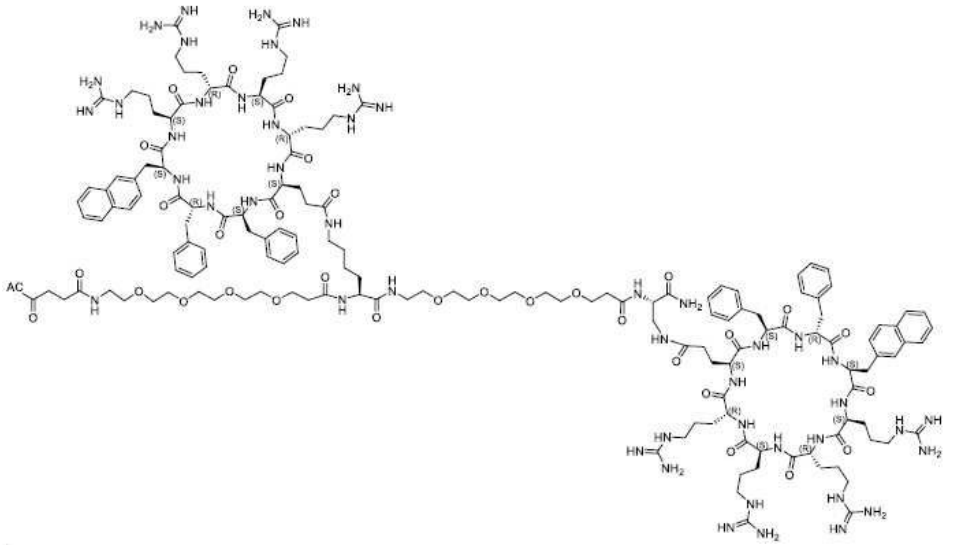
[0791] 위의 화학식에서, EP는 환외 펩타이드이고, AC는 pre-mRNA 서열의 *DMD* 유전자의 엑손 44의 적어도 일부를 포함하는 표적 서열과 상보적인 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드의 서열을 가질 수 있다. 실시형태에서, AC는 **표 6A** 내지 **표 6M**에 나타낸 올리고뉴클레오타이드, 이의 역 상보체 또는 이와 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 핵산 서열 동일성을 갖는 서열로부터 선택될 수 있다.

[0792] 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 화합물은 다량체를 형성한다. 실시형태에서, 다량체화는 비공유 상호작용, 예를 들어, 소수성 상호작용, 이온 상호작용, 수소 결합 또는 쌍극자-쌍극자 상호작용을 통해 발생한다. 실시형태에서, 화합물은 2량체, 3량체, 4량체, 5량체, 6량체, 7량체, 8량체 또는 9량체를 형성한다. 실시형태에서, 화합물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 환식 펩타이드를 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 AC를 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개의 EP를 포함한다. 실시형태에서, 화합물은 1개 내지 10개의 환식 펩타이드와 1개 내지 10개의 AC를 포함한다. In 실시형태에서, 화합물은 1개 내지 10개의 환식 펩타이드, 1개 내지 10개의 AC 또는 1개 내지 10개의 EP를 포함한다.

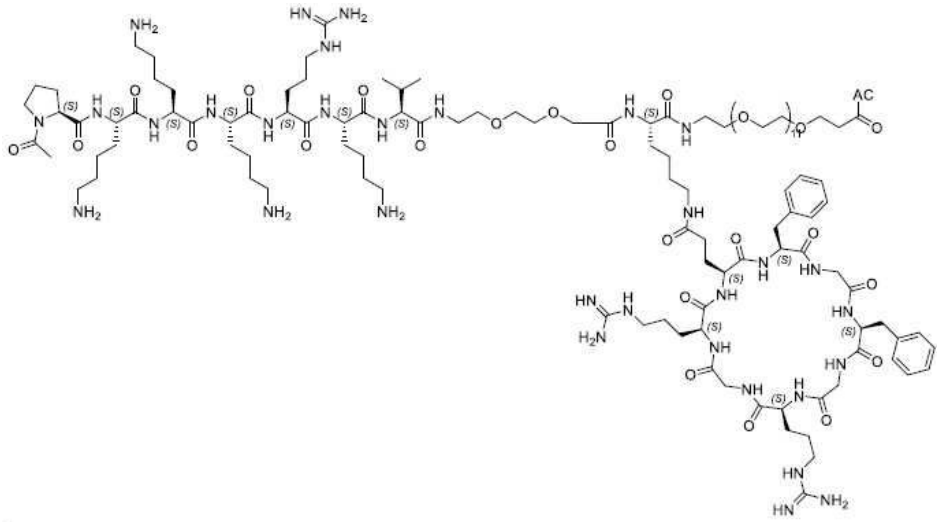
[0793] 실시형태에서, 본 개시내용의 화합물은 다음 구조 중 어느 하나를 포함한다. 아래 화합물은 단지 예시일 뿐이며, 아래 구조 중 어느 하나의 환식 펩타이드, 링커 및 AC 중 어느 하나는 본 명세서에 기재된 환식 펩타이드, 링커 또는 AC 중 어느 하나로 대체될 수 있다.

[0794] 
,

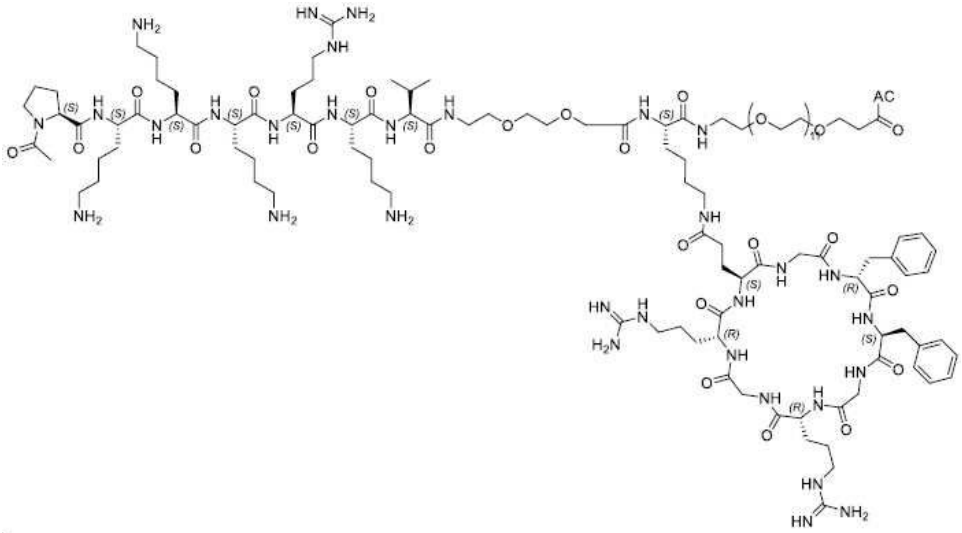

,



,



또는



.

[0795] **세포질 전달 효율**

[0796] 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)에 대한 변형은 세포질 전달 효율을 개선시킬 수 있다. 개선된 세포질 흡수 효율은 변형된 서열을 갖는 cCPP의 세포질 전달 효율을 대조군 서열과 비교함으로써 측정될 수 있다. 대조군 서열은 변형된 서열(아르기닌, 페닐알라닌 및/또는 글리신을 포함하지만 이에 제한되지 않음)에 특정 대체 아미노산 잔기를 포함하지 않지만 그 외에는 동일하다.

[0797] 실시형태에서, 환식 펩타이드와 AC를 포함하는 화합물은 AC만을 포함하는 화합물에 비해 개선된 세포질 흡수 효

율을 갖는다. 세포질 흡수 효율은 환식 펩타이드와 AC를 포함하는 화합물의 세포질 전달 효율을 AC 단독의 세포질 전달 효율과 비교함으로써 측정될 수 있다.

[0798] 본 명세서에서 사용되는 세포질 전달 효율은 세포막을 통과하여 세포의 세포질로 들어가는 cCPP의 능력을 지칭한다. cCPP의 세포질 전달 효율은 반드시 수용체 또는 세포 유형에 따라 달라지는 것은 아니다. 세포질 전달 효율은 절대 세포질 전달 효율 또는 상대 세포질 전달 효율을 지칭할 수 있다.

[0799] 절대 세포질 전달 효율은 성장 배지 내 cCPP(또는 cCPP-AC 접합체)의 농도에 대한 cCPP(또는 cCPP-AC 접합체)의 세포질 농도의 비이다. 상대 세포질 전달 효율은 세포질 내 대조군 cCPP의 농도와 비교하여 세포질 내 cCPP의 농도를 지칭한다. 정량화는 cCPP를 형광 표지(예를 들어, FITC 염료 사용)하고 당업계에 잘 알려진 기법을 사용하여 형광 강도를 측정함으로써 달성될 수 있다.

[0800] 상대 세포질 전달 효율은 (i) 세포 유형(예를 들어, HeLa 세포)에 의해 내재화된 본 발명의 cCPP의 양과 (ii) 동일한 세포 유형에 의해 내재화된 대조군 cCPP의 양을 비교함으로써 결정된다. 상대 세포질 전달 효율을 측정하기 위해, 세포 유형은 cCPP의 존재하에 특정 기간(예를 들어, 30분, 1시간, 2시간 등) 동안 인큐베이션될 수 있으며, 그 후 세포에 의해 내재화된 cCPP의 양이 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 형광 현미경을 사용하여 정량화된다. 별도로, 동일한 농도의 대조군 cCPP는 동일한 기간 동안 세포 유형의 존재하에 인큐베이션되고, 세포에 의해 내재화된 대조군 cCPP의 양이 정량화된다.

[0801] 상대 세포질 전달 효율은 세포내 표적에 대해 변형된 서열을 갖는 cCPP의 IC_{50}을 측정하고 변형된 서열을 갖는 cCPP의 IC_{50}을 대조군 서열(본 명세서에 기재된 바와 같음)과 비교함으로써 결정될 수 있다.

[0802] cCPP의 상대 세포질 전달 효율은 사이클로(FfΦRrRrQ)에 비해 그 사이의 모든 값과 하위범위를 포함하여 약 50% 내지 약 450%, 예를 들어, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 100%, 약 110%, 약 120%, 약 130%, 약 140%, 약 150%, 약 160%, 약 170%, 약 180%, 약 190%, 약 200%, 약 210%, 약 220%, 약 230%, 약 240%, 약 250%, 약 260%, 약 270%, 약 280%, 약 290%, 약 300%, 약 310%, 약 320%, 약 330%, 약 340%, 약 350%, 약 360%, 약 370%, 약 380%, 약 390%, 약 400%, 약 410%, 약 420%, 약 430%, 약 440%, 약 450%, 약 460%, 약 470%, 약 480%, 약 490%, 약 500%, 약 510%, 약 520%, 약 530%, 약 540%, 약 550%, 약 560%, 약 570%, 약 580% 또는 약 590%의 범위일 수 있다. cCPP의 상대 세포질 전달 효율은 사이클로를 포함하는 환식 펩타이드(FfΦRrRrQ)에 비해 약 600% 초과하여 개선될 수 있다.

[0803] 절대 세포질 전달 효능은 그 사이의 모든 값과 하위범위를 포함하여 약 40% 내지 약 100%, 예를 들어, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%이다.

[0804] 본 개시내용의 cCPP는 다른 동일한 서열과 비교하여 세포질 전달 효율을 그 사이의 모든 값과 하위범위를 포함하여 약 1.1배 내지 약 30배, 예를 들어, 약 1.2배, 약 1.3배, 약 1.4배, 약 1.5배, 약 1.6배, 약 1.7배, 약 1.8배, 약 1.9배, 약 2.0배, 약 2.5배, 약 3.0배, 약 3.5배, 약 4.0배, 약 4.5배, 약 5.0배, 약 5.5배, 약 6.0배, 약 6.5배, 약 7.0배, 약 7.5배, 약 8.0배, 약 8.5배, 약 9.0배, 약 10배, 약 10.5배, 약 11.0배, 약 11.5배, 약 12.0배, 약 12.5배, 약 13.0배, 약 13.5배, 약 14.0배, 약 14.5배, 약 15.0배, 약 15.5배, 약 16.0배, 약 16.5배, 약 17.0배, 약 17.5배, 약 18.0배, 약 18.5배, 약 19.0배, 약 19.5배, 약 20배, 약 20.5배, 약 21.0배, 약 21.5배, 약 22.0배, 약 22.5배, 약 23.0배, 약 23.5배, 약 24.0배, 약 24.5배, 약 25.0배, 약 25.5배, 약 26.0배, 약 26.5배, 약 27.0배, 약 27.5배, 약 28.0배, 약 28.5배, 약 29.0배 또는 약 29.5배 개선시킬 수 있다.

[0805] **재스플라이싱된 표적 단백질**

[0806] "표적 단백질"은 표적 유전자의 전사 및 번역으로부터 생성된 아미노산 서열이다. 본 명세서에서 사용되는 "재스플라이싱된 표적 단백질"은 표적 유전자로부터 전사된 표적 pre-mRNA에 대한 AC의 결합의 결과로서 암호화된 단백질을 지칭한다. "야생형 표적 단백질"은 야생형 표적 유전자에 의해 암호화된 표적 pre-mRNA의 적절한 스플라이싱으로부터 생성된 자연 발생적이고 정확하게 번역된 단백질 이성질체를 지칭한다. 본 화합물 및 방법은 야생형 표적 단백질과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함하는 재스플라이싱된 표적 단백질을 생성할 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 일부 야생형 표적 단백질 활성을 유지한다. 실시형태에서, 본 화합물의 투여에 의해 생성된 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질과 상동성이다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질과 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 91 %, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99% 및 최대 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질과 실질적으로 동일하다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질의 아미노산 서열은 야생형 표적 단백질의 아미노산 서열과 적어도 50% 동일하다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질의 아미노산 서열은 야생형 표적 단백질의 아미노산 서열과 적어도 75% 동일하다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질의 아미노산 서열은 야생형 표적 단백질의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일하다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질의 단축된 버전이다.

[0807] 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 표적 유전자의 전사 및 번역과 연관된 질환의 하나 이상의 표현형 또는 증상을 구제할 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 표적 단백질의 발현과 연관된 질환의 하나 이상의 표현형 또는 증상을 구제할 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질의 활성 단편이다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질과 실질적으로 유사한 방식으로 기능한다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 세포가 야생형 표적 단백질을 발현하는 유사한 세포와 실질적으로 유사하게 기능하게 할 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 표적 유전자 또는 표적 단백질과 연관된 질환을 치료하지 않지만 질환의 하나 이상의 증상을 개선한다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 표적 단백질 기능을 적어도 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 15%, 약 205, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90% 또는 약 95% 및 최대 약 100% 개선시킨다.

[0808] 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질의 크기로부터 약 1개 이상의 아미노산, 예를 들어, 약 5개, 약 10개, 약 15개, 약 20개, 약 25개, 약 30개, 약 35개, 약 40개, 약 45개, 약 50개, 약 55개, 약 60개, 약 65개, 약 70개, 약 75개, 약 80개, 약 90개, 약 95개, 약 100개, 약 105개, 약 110개, 약 115개, 약 120개, 약 125개, 약 130개, 약 135개, 약 140개, 약 145개, 약 150개, 약 155개, 약 160개, 약 165개, 약 170개, 약 175개 또는 약 180개 이상의 아미노산만큼 감소된 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0809] 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 표적 단백질에 비해 개선된 하나 이상의 특성을 가질 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질에 비해 개선된 하나 이상의 특성을 가질 수 있다. 실시형태에서, 효소 활성 또는 안정성은 표적 pre-mRNA의 다양한 스플라이싱을 촉진함으로써 향상될 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 또 다른 야생형 표적 단백질 이성질체에 비해 개선된 특성을 갖는 야생형 표적 단백질 이성질체와 동일하거나 실질적으로 유사한 서열을 가질 수 있다.

[0810] 실시형태에서, 표적 단백질의 하나 이상의 특성은 재스플라이싱된 표적 단백질에 존재하지 않거나(제거됨) 감소된다. 실시형태에서, 야생형 표적 단백질의 하나 이상의 특성은 재스플라이싱된 표적 단백질에 존재하지 않거나(제거됨) 감소된다. 감소되거나 제거될 수 있는 특성의 비제한적인 예는 면역원성, 혈관신생성, 혈전형성성, 응집 및 리간드-결합 활성을 포함한다.

[0811] 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질에 대해 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 실시형태에서, 치환은 보존적 치환 또는 비보존적 치환일 수 있다. 보존적 아미노산 치환의 예는 다음 그룹 중 하나에 속하는 하나의 아미노산을 또 다른 아미노산으로 치환하는 것을 포함한다: 염기성 아미노산(아르기닌, 라이신 및 히스티딘), 산성 아미노산(글루탐산 및 아스파르트산), 극성 아미노산(글루타민 및 아스파라긴), 소수성 아미노산(류신, 아이소류신 및 발린), 방향족 아미노산(페닐알라닌, 트립토판 및 타이로신) 및 작은 아미노산(글리신, 알라닌, 세린, 트레오닌 및 메티오닌). 실시형태에서, 구조적으로 유사한 아미노산은 잔기의 전하를 반전시키기 위해 치환된다(예를 들어, 글루탐산을 글루타민으로 또는 그 반대로, 아스파라긴을 아스파르트산으로 또는 그 반대로). 실시형태에서, 타이로신은 페닐알라닌으로 치환되거나 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 아미노산 치환의 다른 비제한적인 예는, 예를 들어, 문헌[H. Neurath and R. L. Hill, 1979, *In, The Proteins*, Academic Press, New York]에 기술되어 있다. 일반적인 치환은 Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu 및 Asp/Gly이다.

[0812] 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질과 비교하여 하나 이상(예를 들어, 여러)의 위치에 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함할 수 있다. 실시형태에서, 재스플라이싱된 표적 단백질 아미노산 서열의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입의 수는 200개 이하, 150개 이하, 100개 이하, 50개 이하, 40개 이하, 30개 이하, 20개 이하 또는 10개 이하, 예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개이다.

[0813] **치료 방법**

[0814] 실시형태에서, 본 개시내용의 AC는 뒤센 근이영양증(DMD)으로 진단된 환자에게 그 안과 그 사이의 모든 값과 범위를 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg, 예를 들어, 약 0.1 mg/kg, 약 0.2 mg/kg, 약 0.3 mg/kg, 약 0.4 mg/kg, 약 0.5 mg/kg, 약 0.6 mg/kg, 약 0.7 mg/kg, 약 0.8 mg/kg, 약 0.9 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 9 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 11 mg/kg, 약 12 mg/kg, 약 13 mg/kg, 약 14 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 16 mg/kg, 약 17 mg/kg, 약 18 mg/kg, 약 19 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 21 mg/kg, 약 22 mg/kg, 약 23 mg/kg, 약 24 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 26 mg/kg, 약 27 mg/kg, 약 28 mg/kg, 약 29 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 31 mg/kg, 약 32 mg/kg, 약 33 mg/kg, 약 34 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 36 mg/kg, 약 37 mg/kg, 약 38 mg/kg, 약 39 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 41 mg/kg, 약 42 mg/kg, 약 43 mg/kg, 약 44 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 46 mg/kg, 약 47 mg/kg, 약 48 mg/kg, 약 49 mg/kg, 약 50 mg/kg, 약 51 mg/kg, 약 52 mg/kg, 약 53 mg/kg, 약 54 mg/kg, 약 55 mg/kg, 약 56 mg/kg, 약 57 mg/kg, 약 58 mg/kg, 약 59 mg/kg, 약 60 mg/kg, 약 61 mg/kg, 약 62 mg/kg, 약 63 mg/kg, 약 64 mg/kg, 약 65 mg/kg, 약 66 mg/kg, 약 67 mg/kg, 약 68 mg/kg, 약 69 mg/kg, 약 70 mg/kg, 약 71 mg/kg, 약 72 mg/kg, 약 73 mg/kg, 약 74 mg/kg, 약 75 mg/kg, 약 76 mg/kg, 약 77 mg/kg, 약 78 mg/kg, 약 79 mg/kg, 약 80 mg/kg, 약 81 mg/kg, 약 82 mg/kg, 약 83 mg/kg, 약 84 mg/kg, 약 85 mg/kg, 약 86 mg/kg, 약 87 mg/kg, 약 88 mg/kg, 약 89 mg/kg, 약 90 mg/kg, 약 91 mg/kg, 약 92 mg/kg, 약 93 mg/kg, 약 94 mg/kg, 약 95 mg/kg, 약 96 mg/kg, 약 97 mg/kg, 약 98 mg/kg, 약 99 mg/kg, 약 100 mg/kg, 약 110 mg/kg, 약 120 mg/kg, 약 130 mg/kg, 약 140 mg/kg, 약 150 mg/kg, 약 160 mg/kg, 약 170 mg/kg, 약 180 mg/kg, 약 190 mg/kg, 약 200 mg/kg, 약 210 mg/kg, 약 220 mg/kg, 약 230 mg/kg, 약 240 mg/kg, 약 250 mg/kg, 약 260 mg/kg, 약 270 mg/kg, 약 280 mg/kg, 약 290 mg/kg, 약 300 mg/kg, 약 310 mg/kg, 약 320 mg/kg, 약 330 mg/kg, 약 340 mg/kg, 약 350 mg/kg, 약 360 mg/kg, 약 370 mg/kg, 약 380 mg/kg, 약 390 mg/kg, 약 400 mg/kg, 약 410 mg/kg, 약 420 mg/kg, 약 430 mg/kg, 약 440 mg/kg, 약 450 mg/kg, 약 460 mg/kg, 약 470 mg/kg, 약 480 mg/kg, 약 490 mg/kg, 약 500 mg/kg, 약 510 mg/kg, 약 520 mg/kg, 약 530 mg/kg, 약 540 mg/kg, 약 550 mg/kg, 약 560 mg/kg, 약 570 mg/kg, 약 580 mg/kg, 약 590 mg/kg, 약 600 mg/kg, 약 610 mg/kg, 약 620 mg/kg, 약 630 mg/kg, 약 640 mg/kg, 약 650 mg/kg, 약 660 mg/kg, 약 670 mg/kg, 약 680 mg/kg, 약 690 mg/kg, 약 700 mg/kg, 약 710 mg/kg, 약 720 mg/kg, 약 730 mg/kg, 약 740 mg/kg, 약 750 mg/kg, 약 760 mg/kg, 약 770 mg/kg, 약 780 mg/kg, 약 790 mg/kg, 약 800 mg/kg, 약 810 mg/kg, 약 820 mg/kg, 약 830 mg/kg, 약 840 mg/kg, 약 850 mg/kg, 약 860 mg/kg, 약 870 mg/kg, 약 880 mg/kg, 약 890 mg/kg, 약 900 mg/kg, 약 910 mg/kg, 약 920 mg/kg, 약 930 mg/kg, 약 940 mg/kg, 약 950 mg/kg, 약 960 mg/kg, 약 970 mg/kg, 약 980 mg/kg, 약 990 mg/kg 또는 약 1000 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0815] 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 뒤센 근이영양증(DMD)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 뒤센 근이영양증을 치료하는 방법을 제공한다. 실시형태에서, 표적 유전자는 *DMD*이다. 실시형태에서, 표적 서열은 *DMD*의 엑손 44의 적어도 일부, *DMD*의 엑손 44에 측접하는 3' 인트론의 적어도 일부, *DMD*의 엑손 44에 측접하는 5' 인트론의 적어도 일부 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0816] 다양한 실시형태에서, 치료는 대상체에서의 하나 이상의 증상의 부분적 또는 완전한 완화, 개선, 경감, 저해, 발병 지연, 중증도 및/또는 발생의 감소를 지칭한다.

[0817] 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 화합물을 투여하는 단계를 포함하는, 표적 유전자의 발현의 변경을 필요로 하는 대상체에서 표적 유전자의 발현을 변경시키기 위한 방법이 제공된다. 실시형태에서, 치료는 표적 단백질의 더 낮은 발현을 초래한다. 실시형태에서, 치료는 재스플라이싱된 표적 단백질의 발현을 초래한다. 실시형태에서, 치료는 야생형 표적 단백질 이성질체의 우선적인 발현을 초래한다.

[0818] 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 치료는 대상체에서 표적 단백질의 발현을 치료 전 대상체 또는 치료를 받지 않은 유사한 질환이 있는 한 명 이상의 대조군 개체의 표적 단백질의 평균 수준과 비교하여 약 5% 이상, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및 약 100% 감소시킨다. 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 치료는 대상체에서 재스플라이싱된 표적 단백질의 발현을 치료 전 대상체 또는 치료를 받지 않은 유사한 질환이 있는 한 명 이상의 대조군 개체의 표적 단백질의 평균 수준과 비교하여 약 5% 이상, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및 약 100% 증가시킨다. 실시형태에서, 본 개시내용에 따른 치료는 대상체에서 야생형 표적 단백질 이성질체의 발현을 치료 전 대상체 또는 치료를 받지 않은 유사한 질환이 있는 한

명 이상의 대조군 개체의 표적 단백질의 평균 수준과 비교하여 약 5% 이상, 예를 들어, 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 65%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95% 및 약 100% 증가시키거나 감소시킨다.

[0819] 본 명세서에서 사용되는 용어 "개선하다", "증가하다", "감소하다", "줄다" 등은 대조군과 관련된 값을 나타낸다. 실시형태에서, 적합한 대조군은 본 명세서에 기재된 치료의 개시 전 동일한 개체에서의 측정 또는 본 명세서에 기재된 치료를 받지 않은 대조군 개체(또는 다수의 대조군 개체)에서의 측정과 같은 기준선 측정이다. "대조군 개체"는 동일한 질환을 앓고 있는 개체로, 치료 중인 개체와 연령 및/또는 성별이 거의 동일하다(치료받는 개체 및 대조군 개체(들)의 질환 단계가 비슷하도록 보장하기 위해).

[0820] 치료 중인 개체("환자" 또는 "대상체"로도 지칭됨)는 질환이 있거나 질환이 발생할 가능성이 있는 개체(태아, 유아, 아동, 청소년 또는 성인)이다. 개체는 비정상적 유전자 발현 또는 비정상적 유전자 스플라이싱에 의해 매개되는 질환을 가질 수 있다. 다양한 실시형태에서, 질환이 있는 개체는 질환을 앓고 있지 않은 개체에서의 정상적인 단백질 발현 또는 활성 수준의 약 1% 내지 99%인 야생형 표적 단백질 발현 또는 활성 수준을 가질 수 있다. 실시형태에서, 범위는 정상적인 티미딘 포스포릴레이스 발현 또는 활성 수준의 약 80% 내지 99%, 약 65% 내지 80%, 약 50% 내지 65%, 약 30% 내지 50%, 약 25% 내지 30%, 약 20% 내지 25%, 약 15% 내지 20%, 약 10% 내지 15%, 약 5% 내지 10% 또는 약 1% 내지 5%를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 실시형태에서, 개체는 정상적인 야생형 표적 단백질 발현 또는 활성 수준보다 약 1% 내지 약 500% 더 높은 표적 단백질 발현 또는 활성 수준을 가질 수 있다. 실시형태에서, 범위는 약 1% 내지 10%, 약 10% 내지 50%, 약 50% 내지 100%, 약 100% 내지 200%, 약 200% 내지 300%, 약 300% 내지 400%, 약 400% 내지 500% 또는 약 500% 내지 1000% 더 높은 표적 단백질 발현 또는 활성 수준을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0821] 실시형태에서, 개체는 최근에 질환 진단을 받은 개체이다. 전형적으로, 질환의 영향을 최소화하고 치료의 이점을 최대화하기 위해서는 조기 치료(진단 후 가능한 빨리 치료 시작)가 중요하다.

[0822] 실시형태에서, DMD에 대한 본 개시내용의 화합물 및 AC의 효능은 DMD의 동물 모델에서 평가된다. 동물 모델은 질환의 발병기전을 연구하기 위한 귀중한 자원이며, 디스트로핀 관련 활성을 테스트하기 위한 수단을 제공한다. 실시형태에서, 둘 다 디스트로핀 음성인 mdx 마우스와 골든 리트리버 근이영양증(GRMD) 개(예를 들어, 문헌[Collins & Morgan, Int J Exp Pathol 84: 165-172, 2003] 참조)가 본 개시내용의 화합물을 평가하는 데 사용된다. 실시형태에서, C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J(B110/mdx) 또는 D2.B10-Dmdmdx/J(D2/mdx) 마우스 모델이 본 개시내용의 화합물을 평가하는 데 사용된다. 실시형태에서, 인간 DMD 유전자를 보유하고 마우스 Dmd 유전자(hDMD/Dmd-null 마우스)가 결여되어 있는 트랜스제닉 마우스가 본 개시내용의 화합물을 평가하는 데 사용된다. 이 마우스는 수컷 hDMD 마우스(Jackson Laboratory(메인주 바 하버 소재)로부터 입수 가능함)와 암컷 DMD-null 마우스를 이종 교배하여 생성될 수 있다. 다음 참고문헌 각각은 이러한 모델을 기술하고 있으며 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있다: 문헌[J Neuromuscul Dis. 2018; 5(4): 407-417.; Proc Natl Acad Sci U S A. 1984; 81(4):1189-92.; Am J Pathol. 2010; 176(5):2414-24.; J Clin Invest. 2009; 119(12):3703-12]; 국제공개 제WO2019014772호. 이들 및 기타 동물 모델도 다양한 디스트로핀 단백질의 기능적 활성을 측정하는 데 사용될 수 있다.

[0823] 실시형태에서, 시험관내 모델이 본 개시내용의 조성물의 효능을 평가하는 데 사용된다. 실시형태에서, 시험관내 모델은 불멸화된 근육 세포 모델이다. 이 모델은 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 다음 논문에 기술되어 있다: 문헌[Nguyen et al. J Pers Med. 2017 Dec; 7(4):13].

[0824] **제조 방법**

[0825] 본 명세서에 기재된 화합물은 유기 합성 분야의 당업자에게 공지된 다양한 방식으로 제조될 수 있거나 당업자가 이해하는 바와 같이 이에 대한 변형을 통해 제조될 수 있다. 본 명세서에 기재된 화합물은 쉽게 입수 가능한 출발 물질로부터 제조될 수 있다. 최적의 반응 조건은 사용되는 특정 반응물 또는 용매에 따라 달라질 수 있지만, 이러한 조건은 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0826] 본 명세서에 기재된 화합물에 대한 변형은 각 화합물에 대해 기술된 바와 같은 다양한 구성성분의 추가, 차감 또는 이동을 포함한다. 유사하게는, 하나 이상의 카이랄 중심이 분자에 존재하는 경우, 분자의 카이랄성이 변경될 수 있다. 추가적으로, 화합물 합성은 다양한 화학기의 보호 및 탈보호를 수반할 수 있다. 보호 및 탈보호의 사용과 적절한 보호기의 선택은 당업자에 의해 결정될 수 있다. 보호기의 화학적 성질은, 예를 들어, 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용되어 있는 문헌[Wuts and Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 4th

Ed., Wiley & Sons, 2006]에서 찾을 수 있다.

[0827] 개시된 화합물 및 조성물을 제조하는 데 사용되는 출발 물질 및 시약은 Aldrich Chemical Co.,(위스콘신주 밀워키 소재), Acros Organics(뉴저지주 모리스 플레인스 소재), Fisher Scientific(펜실베니아주 피츠버그 소재), Sigma(미주리주 세인트 루이스 소재), Pfizer(뉴욕주 뉴욕 소재), GlaxoSmithKline(노스캐롤라이나주 롤리 소재), Merck(뉴저지주 화이트하우스 스테이션 소재J), Johnson & Johnson(뉴저지주 뉴 브런즈윅 소재), Aventis(뉴저지주 브리지워터 소재), AstraZeneca(델라웨어주 윌밍턴 소재), Novartis(스위스 바젤 소재), Wyeth(뉴저지주 매디슨 소재), Bristol-Myers-Squibb(뉴욕주 뉴욕 소재), Roche(스위스 바젤 소재), Lilly(인디애나주 인디애나폴리스 소재), Abbott(일리노이주 애보트 파크 소재), Schering Plough(뉴저지주 케닐워스 소재) 또는 Boehringer Ingelheim(독일 잉겔하임 소재)과 같은 상업적 공급업체로부터 입수 가능하거나 문헌[Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5 and Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991); March's Advanced Organic Chemistry, (John Wiley and Sons, 4th Edition); 및 Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989)]과 같은 참고문헌에 제시되어 있는 절차에 따라 당업자에게 공지된 방법에 의해 제조된다. 본 명세서에 개시된 약제학적 담체와 같은 다른 물질은 상업적인 공급원으로부터 얻을 수 있다.

[0828] 본 명세서에 기재된 화합물을 생성하기 위한 반응은 유기 합성 분야의 당업자에 의해 선택될 수 있는 용매에서 수행될 수 있다. 용매는 반응이 수행되는 조건, 즉, 온도 및 압력하에서 출발 물질(반응물), 중간체 또는 생성물과 실질적으로 비반응성일 수 있다. 반응은 하나의 용매 또는 하나 초과의 용매의 혼합물에서 수행될 수 있다. 생성물 또는 중간체 형성은 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법에 따라 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 생성물 형성은 핵자기공명 분광법(예를 들어, ^{1}H 또는 ^{13}C), 적외선 분광법, 분광광도법(예를 들어, UV-가시광선) 또는 질량 분석법과 같은 분광학 수단 또는 크로마토그래피 예컨대, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 또는 박층 크로마토그래피와 같은 크로마토그래피에 의해 모니터링될 수 있다.

[0829] 개시된 화합물은 아미노산 α-N-말단이 산 또는 염기 보호기에 의해 보호되는 고체상 펩타이드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이러한 보호기는 성장하는 펩타이드 사슬의 파괴 또는 그 안에 포함된 임의의 카이랄 중심의 라세미화 없이 쉽게 제거될 수 있으면서도 펩타이드 연결 형성의 조건에 안정적인 특성을 가져야 한다. 적합한 보호기는 9-플루오렌일메틸옥시카보닐(Fmoc), t-뷰틸옥시카보닐(Boc), 벤질옥시카보닐(Cbz), 바이페닐아이소프로필옥시카보닐, t-아밀옥시카보닐, 아이소보르닐옥시카보닐, α,α-다이메틸-3,5-다이메톡시벤질옥시카보닐, o-나이트로페닐설펜일, 2-사이아노-t-뷰틸옥시카보닐 등이다. 9-플루오렌일메틸옥시카보닐(Fmoc) 보호기가 개시된 화합물의 합성에 특히 바람직하다. 다른 바람직한 측쇄 보호기는 라이신 및 아르기닌과 같은 측쇄 아미노기의 경우, 2,2,5,7,8-펜타메틸크로만-6-설폰일(pmc), 나이트로, p-톨루엔설폰일, 4-메톡시벤젠-설폰일, Cbz, Boc 및 아다만틸옥시카보닐; 타이로신의 경우, 벤질, o-브로모벤질옥시-카보닐, 2,6-다이클로로벤질, 아이소프로필, t-뷰틸(t-Bu), 사이클로헥실, 사이클로펜틸 및 아세틸(Ac); 세린의 경우, t-뷰틸, 벤질 및 테트라하이드로피란일; 히스티딘의 경우, 트라이틸, 벤질, Cbz, p-톨루엔설폰일 및 2,4-다이나이트로페닐; 트립토판의 경우, 폼일; 아스파르트산 및 글루탐산의 경우, 벤질 및 t-뷰틸; 및 시스테인의 경우, 트라이페닐메틸(트라이틸)이다. 고체상 펩타이드 합성 방법에서, α-C-말단 아미노산은 적합한 고체 지지체 또는 수지에 부착된다. 위의 합성에 유용한 적합한 고체 지지체는 단계적 축합-탈보호 반응의 시약 및 반응 조건에 불활성일 뿐만 아니라 사용되는 매질에 불용성인 물질이다. α-C-말단 카복시 펩타이드의 합성을 위한 고체 지지체는 Applied Biosystems(캘리포니아주 포스터 시티 소재)로부터 입수 가능한 4-하이드록시메틸페녹시메틸-코폴리(스타이렌-1% 다이바이닐벤젠) 또는 4-(2',4'-다이메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸)페녹시아세트아미도에틸 수지이다. α-C-말단 아미노산은 4-다이메틸아미노피리딘(DMAP), 1-하이드록시벤조트라이아졸(HOBT), 벤조트라이아졸-1-일옥시-트리스(다이메틸아미노)포스포늄헥사플루오로포스페이트(BOP) 또는 비스(2-옥소-3-옥사졸리딘일)포스핀 클로라이드(BOPCl)를 사용하거나 사용하지 않고 N,N'-다이사이클로헥실카보다이이미드(DCC), N,N'-다이아이소프로필카보다이이미드(DIC) 또는 O-벤조트라이아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(HBTU)에 의해 수지에 커플링되고, 다이클로로메테인 또는 DMF와 같은 용매에서 10℃ 내지 50℃에서 약 1시간 내지 약 24시간 동안 커플링이 매개된다. 고체 지지체가 4-(2',4'-다이메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸)페녹시-아세트아미도에틸 수지인 경우, Fmoc기는 위에 기재된 바와 같이 α-C-말단 아미노산과의 커플링 전에 2차 아민, 바람직하게는 피페리딘으로 절단된다. 탈보호된 4(2',4'-다이메톡시페닐-Fmoc-아미노메틸)페녹시-아세트아미도에틸 수지에 커플링시키기 위한 한 가지 방법은 DMF 중 O-벤조트라이아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(HBTU, 1당량)와 1-하이드록시벤조트라이아졸(HOBT, 1당량)이다. 연속적인 보호된 아미노산의 커플링은 자동 폴리펩타이드 합성기에서 수

행될 수 있다. 일례에서, 성장하는 펩타이드 사슬의 아미노산의 α-N-말단은 Fmoc로 보호된다. 성장하는 펩타이드의 α-N-말단측으로부터 Fmoc 보호기의 제거는 2차 아민, 바람직하게는 피페리딘을 사용한 처리에 의해 달성된다. 그런 다음, 각각의 보호된 아미노산은 약 3배 몰 과량으로 도입되고, 커플링은 바람직하게는 DMF에서 수행된다. 커플링제는 O-벤조트라이아졸-1-일-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄헥사플루오로포스페이트(HBTU, 1당량) 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(HOBT, 1당량)일 수 있다. 고체상 합성 종료 시, 폴리펩타이드는 수지로부터 제거되고, 연속적으로 또는 단일 작업으로 탈보호된다. 폴리펩타이드의 제거 및 탈보호는 수지 결합된 폴리펩타이드를 티오아니솔, 물, 에테인다이티올 및 트라이플루오로아세트산을 포함하는 절단 시약으로 처리함으로써 단일 작업으로 달성될 수 있다. 폴리펩타이드의 α-C-말단이 알킬아마이드인 경우, 수지는 알킬아민에 의한 아미노분해에 의해 절단된다. 대안적으로, 펩타이드는, 예를 들어, 메탄올을 사용한 에스터 교환반응에 이어 아미노분해 또는 직접 트랜스아미드화에 의해 제거될 수 있다. 보호된 펩타이드는 이 시점에서 정제되거나 다음 단계에서 직접 취해질 수 있다. 측쇄 보호기의 제거는 위에 기재된 절단 칵테일을 사용하여 달성될 수 있다. 완전히 탈보호된 펩타이드는 다음 유형 중 일부 또는 전부를 사용하는 일련의 크로마토그래피 단계에 의해 정제될 수 있다: 약염기성 수지(아세테이트 형태)에서의 이온 교환; 비유도체화 폴리스타이렌-다이바이닐벤젠(예를 들어, Amberlite XAD)에 대한 소수성 흡착 크로마토그래피; 실리카 겔 흡착 크로마토그래피; 카복시메틸셀룰로스에 대한 이온 교환 크로마토그래피; 예를 들어, Sephadex G-25, LH-20 또는 역류 분배에서의 분배 크로마토그래피; 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 특히 옥틸- 또는 옥타데실실릴-실리카 결합상 칼럼 팩킹에서의 역상 HPLC.

[0830] PEG기와 같은 위의 중합체는 단백질을 활성화된 중합체 분자와 반응시키는 데 사용되는 임의의 적합한 조건하에서 AC에 부착될 수 있다. 아실화, 환원성 알킬화, Michael 첨가반응, 티올 알킬화 또는 PEG 모이어티 상의 반응성기(예를 들어, 알데하이드, 아미노, 에스터, 티올, α-할로아세틸, 말레이미도 또는 하이드라지노기)를 통해 AC 상의 반응성기(예를 들어, 알데하이드, 아미노, 에스터, 티올, a-할로아세틸, 말레이미도 또는 하이드라지노기)로의 다른 화학 선택적 접합부/결찰 방법을 포함하는 당업계에 공지된 임의의 수단이 사용될 수 있다. 수용성 중합체를 하나 이상의 단백질에 연결시키는 데 사용될 수 있는 활성화기는 제한 없이 설폰, 말레이미드, 설피드릴, 티올, 트라이플레이트, 트레실레이트, 아지디린, 옥시레인, 5-피리딜 및 알파 할로겐화 아실기(예를 들어, α-아이오도 아세트산, α-브로모아세트산, α-클로로아세트산)를 포함한다. 환원성 알킬화에 의해 AC에 부착되는 경우, 선택된 중합체는 중합도가 제어되도록 단일 반응성 알데하이드를 가져야 한다. 예를 들어, 문헌 [Kinstler et al., Adv. Drug. Delivery Rev. 54: 477-485 (2002); Roberts et al., Adv. Drug Delivery Rev. 54: 459-476 (2002); 및 Zalipsky et al., Adv. Drug Delivery Rev. 16: 157-182 (1995)]을 참조한다.

[0831] AC를 CPP에 직접 공유적으로 연결시키기 위해, CPP의 적절한 아미노산 잔기는 아미노산의 선택된 측쇄 또는 N- 또는 C-말단과 반응할 수 있는 유기 유도체화제와 반응할 수 있다. 펩타이드 또는 접합체 모이어티 상의 반응성기는, 예를 들어, 알데하이드, 아미노, 에스터, 티올, α-할로아세틸, 말레이미도 또는 하이드라지노기를 포함한다. 유도체화제는, 예를 들어, 말레이미도벤조일 설포석신이미드 에스터(시스테인 잔기를 통한 접합), N-하이드록시석신이미드(라이신 잔기를 통해), 글루타르알데하이드, 석신산 무수물 또는 당업계에 공지된 다른 작용제를 포함한다.

[0832] 올리고머 안티센스 화합물을 합성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 본 개시내용은 AC를 합성하는 방법에 의해 제한되지 않는다. 실시형태에서, 예를 들어, 포스포다이에스터 및 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 연결을 비롯한 뉴클레오사이드간 연결을 형성하는 데 유용한 반응성 인기(phosphorus group)를 갖는 화합물이 본 명세서에 제공된다. 전구체 또는 안티센스 화합물의 제조 및/또는 정제 방법은 본 명세서에 제공된 조성물 또는 방법을 제한하지 않는다. DNA, RNA 및 안티센스 화합물의 합성 및 정제 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0833] 변형 및 비변형된 뉴클레오사이드의 올리고머화는 DNA(Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Ed. Agrawal (1993), Humana Press) 및/또는 RNA(Scaringe, Methods (2001), 23, 206-217. Gait et al., Applications of Chemically synthesized RNA in RNA: Protein Interactions, Ed. Smith (1998), 1-36. Gallo et al., Tetrahedron (2001), 57, 5707-5713)에 대한 문헌의 절차에 따라 일상적으로 수행될 수 있다.

[0834] 본 명세서에 제공된 안티센스 화합물은 잘 알려진 기법 고체상 합성을 통해 편리하고 일상적으로 제조될 수 있다. 이러한 합성을 위한 장비는, 예를 들어, Applied Biosystems(캘리포니아주 포스터 시티 소재)를 비롯한 여러 공급업체에서 판매된다. 당업계에 공지된 이러한 합성을 위한 임의의 다른 수단이 추가적으로 또는 대안적으로 사용될 수 있다. 포스포로티오에이트 및 알킬화 유도체와 같은 올리고뉴클레오타이드를 제조하기 위해 유사한 기법을 사용하는 것이 잘 알려져 있다. 본 발명은 안티센스 화합물 합성 방법에 의해 제한되지 않는다.

[0835] 올리고뉴클레오타이드 정제 및 분석 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 분석 방법은 모세관 전기영동(CE) 및 전

기분무-질량분석법을 포함한다. 이러한 합성 및 분석 방법은 다중-웰 플레이트에서 수행될 수 있다. 본 발명의 방법은 올리고머 정제 방법에 의해 제한되지 않는다.

[0836] **투여 방법**

[0837] 개시된 화합물 및 이를 포함하는 조성물의 생체내 적용은 현재 또는 장래에 당업자에게 공지된 임의의 적합한 방법 및 기법에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 개시된 화합물은 생리학적으로 또는 약제학적으로 허용 가능한 형태로 제형화될 수 있고, 예를 들어, 경구 및 비경구 투여 경로를 포함하여 당업계에 공지된 임의의 적합한 경로에 의해 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 비경구는 주사에 의한 것과 같은 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내 및 경막내 투여를 포함한다. 개시된 화합물 또는 조성물의 투여는 단일 투여일 수 있거나 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있는 연속적이거나 별개의 간격으로 투여될 수 있다.

[0838] 본 명세서에 개시된 화합물 및 이를 포함하는 조성물은 또한 리포솜 기술, 서방성 캡슐, 이식형 펌프 및 생분해성 용기를 사용하여 투여될 수 있다. 이러한 전달 방법은 유리하게는 장기간에 걸쳐 균일한 투여량을 제공할 수 있다. 화합물은 또한 염 유도체 형태 또는 결정 형태로 투여될 수 있다.

[0839] 본 명세서에 개시된 화합물은 약제학적으로 허용 가능한 조성물을 제조하기 위한 공지된 방법에 따라 제형화될 수 있다. 제형은 당업자에게 잘 알려져 있으며 쉽게 이용 가능한 다수의 출처에 상세하게 기술되어 있다. 예를 들어, 문헌[*Remington's Pharmaceutical Science* by E.W. Martin (1995)]은 개시된 방법과 관련하여 사용될 수 있는 제형을 기술하고 있다. 일반적으로, 본 명세서에 개시된 화합물은 화합물의 효과적인 투여를 용이하게 하기 위해 유효량의 화합물이 적합한 담체와 조합되도록 제형화될 수 있다. 사용되는 조성물은 또한 다양한 형태일 수 있다. 이는, 예를 들어, 정제, 알약, 분말, 액체 용액 또는 현탁액, 좌약, 주사용 및 주입용 용액 및 스프레이와 같은 고체, 반고체 및 액체 투여 형태를 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료적 적용 방식에 따라 다르다. 조성물은 또한 바람직하게는 당업자에게 공지된 종래의 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 희석제를 포함한다. 화합물과 함께 사용하기 위한 담체 또는 희석제의 예는 에탄올, 다이메틸 설폭사이드, 글리세롤, 알루미나, 전분, 식염수 및 등가의 담체 및 희석제를 포함한다. 목적하는 치료적 치료를 위한 이러한 제형(투여)의 투여를 제공하기 위해, 본 명세서에 개시된 조성물은 유리하게는 담체 또는 희석제를 포함하는 총 조성물의 중량을 기준으로 하나 이상의 대상 화합물의 전체의 약 0.1중량% 내지 100중량%를 포함할 수 있다.

[0840] 투여에 적합한 제형은, 예를 들어, 항산화제, 완충액, 정균제 및 제형을 의도된 수용자의 혈액과 등장성으로 만드는 용질을 포함할 수 있는 수성 멸균 주사 용액; 및 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함한다. 제형은 단위 용량 또는 다중 용량 용기, 예를 들어, 밀봉된 앰풀 및 바이알로 제공될 수 있고, 사용 전 멸균 액체 담체, 예를 들어, 주사용수의 조건만을 필요로 하는 냉동 건조(동결건조) 상태로 보관될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 멸균 분말, 과립, 정제 등으로부터 제조될 수 있다. 특히 위에 언급된 성분에 더하여, 본 명세서에 개시된 조성물은 해당 제형의 유형과 관련하여 당해 분야에서 통상적인 다른 작용제를 포함할 수 있음을 이해하여야 한다.

[0841] 본 명세서에 개시된 화합물 및 이를 포함하는 조성물은 세포와의 직접 접촉 또는 담체 수단을 통해 세포에 전달될 수 있다. 화합물 및 조성물을 세포에 전달하기 위한 담체 수단은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 리포솜 모이어티에 조성물을 캡슐화하는 것을 포함한다. 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물을 세포에 전달하기 위한 또 다른 수단은 표적 세포에 전달하기 위해 표적화되는 단백질 또는 핵산에 화합물을 부착시키는 것을 포함한다. 미국 특허 제6,960,648호와 미국 공개 제20030032594호 및 제20020120100호는 또 다른 조성물에 커플링될 수 있고 조성물이 생물학적 막을 가로질러 전위되도록 하는 아미노산 서열을 개시하고 있다. 미국 공개 제20020035243호도 세포내 전달을 위해 세포막을 가로질러 생물학적 모이어티를 수송하기 위한 조성물을 기술하고 있다. 화합물은 또한 중합체에 혼입될 수 있으며, 이의 예는 두개내 종양용 폴리(D-L 락타이드-코-글리콜라이드) 중합체; 20:80 몰비의 폴리[비스(p-카복시페녹시) 프로페인:세바스산](GLIADEL에서 사용됨); 콘드로이틴; 키틴; 및 키토산을 포함한다.

[0842] 약제학적으로 허용 가능한 염 또는 이의 전구약물을 포함하는 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물은 주입 또는 주사에 의해 정맥내로, 근육내로 또는 복강내로 투여될 수 있다. 활성제 또는 이의 염의 용액은 선택적으로 무독성 계면활성제와 혼합된 물에서 제조될 수 있다. 분산액은 또한 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜, 트라이아세틴 및 이들의 혼합물 및 오일에서 제조될 수 있다. 일반적인 보관 및 사용 조건하에서, 이들 제제는 미생물의 성장을 방지하기 위한 방부제를 포함할 수 있다.

[0843] 주사 또는 주입에 적합한 약제학적 투여 형태는 활성 성분을 포함하는 멸균 수성 용액 또는 분산액 또는 멸균

분말을 포함할 수 있으며, 이는 선택적으로 리포솜에 캡슐화된 멸균 주사용 또는 주입용 용액 또는 분산액의 즉석 제조에 적합하다. 최종 투여 형태는 제조 및 보관 조건하에서 멸균되고, 유동적이며 안정적이어야 한다. 액체 담체 또는 비히클은, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 식물성 오일, 무독성 글리세릴 에스터 및 이들의 적합한 혼합물을 포함하는 용매 또는 액체 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 리포솜의 형성, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지 또는 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 선택적으로, 미생물 활동의 방지는 다양한 기타 항균제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로뷰탄올, 페놀, 소르브산, 티메로살 등에 의해 이루어질 수 있다. 많은 경우에, 등장화제, 예를 들어, 당, 완충액 또는 소듐 클로라이드를 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사용 조성물의 장기간 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0844] 멸균 주사용 용액은 필요에 따라 위에 열거된 다양한 기타 성분과 함께 적절한 용매에 필요한 양으로 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제를 혼입시킨 후 필터 멸균시킴으로써 제조된다. 멸균 주사용 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조 기법이며, 이전에 멸균 여과된 용액에 존재하는 활성 성분과 임의의 추가적인 목적하는 성분의 분말을 생성한다.

[0845] 본 명세서에 개시된 화합물 및 작용제 및 약제학적 조성물의 유용한 투여량은 동물 모델에서 시험관내 활성 및 생체내 활성을 비교함으로써 결정될 수 있다. 마우스 및 다른 동물에서의 유효 투여량을 인간에 외삽하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0846] 조성물의 투여를 위한 투여량 범위는 증상 또는 장애가 영향을 받는 목적하는 효과를 생성하기에 충분히 큰 범위이다. 투여량은 원치 않는 교차 반응, 아나필락시스 반응 등과 같은 부작용을 일으킬 정도로 커서는 안 된다. 일반적으로, 투여량은 환자의 연령, 병태, 성별 및 질환의 정도에 따라 달라질 것이며, 당업자에 의해 결정될 수 있다. 투여량은 임의의 금기증이 있는 경우 개별 의사에 의해 조정될 수 있다. 투여량은 다양할 수 있으며, 하루 또는 며칠 동안 매일 1회 이상의 용량 투여로 투여될 수 있다.

[0847] 또한, 약제학적으로 허용 가능한 담체와 조합하여 본 명세서에 개시된 화합물을 포함하는 약제학적 조성물이 개시된다. 일정량의 화합물을 포함하는 경구, 국소 또는 비경구 투여용으로 적합화된 약제학적 조성물은 바람직한 양태를 구성한다. 환자, 특히 인간에게 투여되는 용량은 합리적인 기간에 걸쳐 치명적인 독성 없이 환자에게 치료적 반응을 달성하기에 충분하여야 하며, 바람직하게는 허용 가능한 수준을 초과하는 부작용 또는 이환율을 유발하지 않아야 한다. 당업자라면 대상체의 상태(건강), 대상체의 체중, 동시 치료의 종류(있는 경우), 치료 빈도, 치료 계수(therapeutic ratio)뿐만 아니라 병리학적 병태의 중증도 및 단계를 포함하는 다양한 인자에 따라 달라질 것이라는 점을 인식할 것이다.

[0848] 또한, 하나 이상의 용기에 본 명세서에 개시된 화합물을 포함하는 키트가 개시된다. 개시된 키트는 선택적으로 약제학적으로 허용 가능한 담체 및/또는 희석제를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 다른 성분, 부속물 또는 보조제를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 작용제와 같은 하나 이상의 항암제를 포함한다. 일 실시형태에서, 키트는 키트의 화합물 또는 조성물을 투여하는 방법을 설명하는 지침 또는 패키징 물질을 포함한다. 키트의 용기는 임의의 적합한 물질, 예를 들어, 유리, 플라스틱, 금속 등일 수 있고, 임의의 적합한 크기, 모양 또는 구성일 수 있다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제는 정제, 알약 또는 분말 형태와 같은 고체로서 키트에 제공된다. 또 다른 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제는 액체 또는 용액으로서 키트에 제공된다. 일 실시형태에서, 키트는 액체 또는 용액 형태로 본 명세서에 개시된 화합물 및/또는 작용제를 포함하는 앰풀 또는 주사기를 포함한다.

[0849] 본 발명의 다수의 실시형태가 설명되었다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변형이 이루어질 수 있음이 이해될 것이다. 따라서, 다른 실시형태도 하기 청구범위의 범위 내에 있다.

[0850] **소정의 정의**

[0851] 상세한 설명 및 첨부된 청구범위에 사용되는 바와 같이, "단수 형태"는 문맥에서 달리 명시하지 않는 한 복수 형태를 포함한다. 따라서, 예를 들어, "조성물"에 대한 언급은 2개 이상의 이러한 조성물의 혼합물을 포함하고, "작용제"에 대한 언급은 2개 이상의 이러한 작용제의 혼합물을 포함하고, "성분"에 대한 언급은 2개 이상의 이러한 성분의 혼합물 등을 포함한다.

[0852] 숫자 값 바로 앞에 올 때 용어 "약"은 범위(예를 들어, 해당 값의 ±10%)를 의미한다. 예를 들어, 본 개시내용

의 문맥이 다르게 나타내거나 이러한 해석과 일치하지 않는 한, "약 50"은 45 내지 55를 의미할 수 있고, "약 25,000"은 22,500 내지 27,500 등을 의미할 수 있다. 예를 들어, "약 49, 약 50, 약 55, …"와 같은 숫자 값의 목록에서, "약 50"은 이전 값과 후속 값 사이의 간격(들)의 절반 미만, 예를 들어, 49.5 이상 52.5 이하까지 확장되는 범위를 의미한다. 또한, 어구 "약 미만"의 값 또는 "약 초과"의 값은 본 명세서에 제공된 용어 "약"의 정의를 고려하여 이해되어야 한다. 유사하게는, 일련의 숫자 값 또는 값의 범위(예를 들어, "약 10, 20, 30" 또는 "약 10 내지 30") 앞에 올 때 용어 "약"은 각각 일련의 모든 값 또는 범위의 끝점을 지칭한다.

[0853] 본 명세서에서 사용되는 용어 "환식 세포 침투 펩타이드" 또는 "cCPP"는 안티센스의 전달을 용이하게 하는 펩타이드를 지칭한다.

[0854] 용어 "미니PEG", "PEG2" 및 "AEEA"는 2-[2-[2-아미노에톡시]에톡시]아세트산을 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다.

[0855] 본 명세서에서 사용되는 용어 "엔도솜 탈출 비히클"(EEV)은 화학적 연결(즉, 공유 결합 또는 비공유 상호작용)에 의해 링커 및/또는 환외 펩타이드(EP)에 접합된 cCPP를 지칭한다. EEV는 화학식 (B)의 EEV일 수 있다.

[0856] 본 명세서에서 사용되는 용어 "EEV-접합체"는 화학적 연결(즉, 공유 결합 또는 비공유 상호작용)에 의해 AC에 접합된 본 명세서에 정의된 엔도솜 탈출 비히클을 지칭한다. AC는 EEV에 의해 세포에 전달될 수 있다. EEV-접합체는 화학식 (C)의 EEV-접합체일 수 있다.

[0857] 본 명세서에서 사용되는 용어 "환외 펩타이드"(EP) 및 "조절 펩타이드"(MP)는 본 명세서에 개시된 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)에 접합될 수 있는 펩타이드 결합에 의해 연결된 2개 이상의 아미노산 잔기를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용될 수 있다. EP는 본 명세서에 개시된 환식 펩타이드에 접합될 때 EP는 화합물의 조직 분포 및/또는 잔류를 변경할 수 있다. 전형적으로, EP는 적어도 하나의 양으로 하전된 아미노산 잔기, 예를 들어, 적어도 하나의 라이신 잔기 및/또는 적어도 하나의 아르기닌 잔기를 포함한다. EP의 비제한적인 예는 본 명세서에 기재되어 있다. EP는 당업계에서 "핵 국재화 서열"(NLS)로 확인된 펩타이드일 수 있다. 핵 국재화 서열의 비제한적인 예는 PKKKRKV의 7개의 아미노산 서열인 최소 기능적 단위인 SV40 바이러스 대형 T-항원의 핵 국재화 서열, NLSKRPAAIKKAGQAKKKK 서열을 갖는 뉴클레오플라스민 이분형 NLS, PAAKRVKLD 또는 RQRRNELKRSF의 아미노산 서열을 갖는 c-myc 핵 국재화 서열, 임포틴-알파로부터의 IBB 도메인의 RMRKFKNKGKDTAELRRRRVEVSVELRKAKKDEQILKRRNV 서열, 근종 T 단백질의 VSRKRPRP 및 PPKKARED 서열, 인간 p53의 PQPKKKPL 서열, 마우스 c-abl IV의 SALIKKKKKMAP 서열, 인플루엔자 바이러스 NS1의 DRLRR 및 PKQKKRK 서열, 간염 바이러스 델타 항원의 RKLKKKIKKL 서열과 마우스 Mx1 단백질의 REKKKFLKRR 서열, 인간 폴리(ADP-리보스) 폴리머레이스의 KRKGDEVDGVDEVAKKKSKK 및 스테로이드 호르몬 수용체(인간) 글루코코르티코이드의 RKCLQAGMNLEARKTKK 서열을 포함한다. 국제 공개 제2001/038547호는 NLS의 추가적인 예를 기술하고 있으며, 이는 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

[0858] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "링커" 또는 "L"은 하나 이상의 모이어티(예를 들어, 환외 펩타이드(EP) 및 AC를 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)에 공유적으로 결합시키는 모이어티를 지칭한다. 링커는 천연 또는 비천연 아미노산 또는 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 링커는 cCPP를 AC에 결합시켜 본 명세서에 개시된 화합물을 형성하기에 적합한 2개 이상의 적절한 작용기를 포함하는 합성 화합물일 수 있다. 링커는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티를 포함할 수 있다. 링커는 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. cCPP는 링커를 통해 AC에 공유적으로 결합될 수 있다.

[0859] 본 명세서에서 사용되는 용어 "올리고뉴클레오타이드"는 복수의 연결된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오사이드를 포함하는 올리고머 화합물을 지칭한다. 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드는 변형될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 리보핵산(RNA) 또는 데옥시리보핵산(DNA)을 포함할 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 천연 및/또는 변형된 핵염기, 당 및 공유 뉴클레오사이드간 연결로 구성될 수 있으며, 비핵산 접합체를 추가로 포함할 수 있다.

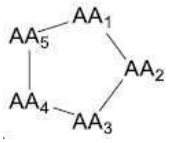
[0860] 용어 "펩타이드", "단백질", 및 "폴리펩타이드"는 한 아미노산의 카복실기에 의해 또 다른 아미노산의 알파 아미노기에 연결된 2개 이상의 아미노산을 포함하는 천연 또는 합성 분자를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다. 2개 이상의 아미노산 잔기가 한 아미노산의 카복실기에 의해 알파 아미노기에 연결될 수 있다. 폴리펩타이드의 2개 이상의 아미노산은 펩타이드 결합에 의해 연결될 수 있다. 폴리펩타이드는 2개 이상의 아미노산이 펩타이드 결합 이외의 결합에 의해 공유적으로 부착되는 펩타이드 백본 변형을 포함할 수 있다. 폴리펩타이드는 폴리펩타이드에 통합될 수 있는 하나 이상의 비천연 아미노산, 아미노산 유사체 또는 다른 합성 분자를 포함할

수 있다. 용어 폴리펩타이드는 자연적으로 발생하는 아미노산 및 인공적으로 발생하는 아미노산을 포함한다. 용어 폴리펩타이드는 항체, 효소, 수용체, 가용성 단백질 등과 같은 치료적 단백질을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 예를 들어, 약 2개 내지 약 100개의 아미노산 잔기를 포함하는 펩타이드뿐만 아니라 약 100개 초과의 아미노산 잔기 또는 약 1000개 초과의 아미노산 잔기를 포함하는 단백질을 포함한다.

[0861] 용어 "치료적 폴리펩타이드"는 치료적, 예방적 또는 다른 생물학적 활성을 갖는 폴리펩타이드를 지칭한다. 치료적 폴리펩타이드는 임의의 적합한 방식으로 생산될 수 있다. 예를 들어, 치료적 폴리펩타이드는 자연 발생적 환경으로부터 단리되거나 정제될 수 있고, 화학적으로 합성될 수 있고, 재조합적으로 생산될 수 있거나 또는 이들의 조합일 수 있다.

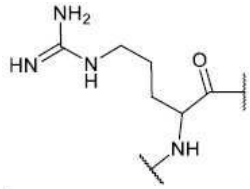
[0862] 용어 "소분자"는 약리학적 활성을 갖고 분자량이 약 2000달톤 미만, 또는 약 1000달톤 미만 또는 약 500달톤 미만인 유기 화합물을 지칭한다. 소분자 치료제는 전형적으로 화학적 합성에 의해 제조된다.

[0863] 본 명세서에서 사용되는 용어 "연속"은 공유 결합에 의해 연결된 2개의 아미노산을 지칭한다. 예를 들어,



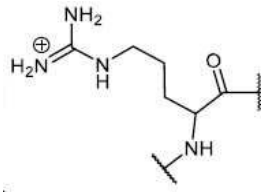
와 같은 대표적인 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)의 맥락에서, AA_1/AA_2, AA_2/AA_3, AA_3/AA_4 및 AA_5/AA_1은 연속 아미노산 쌍의 예시이다.

[0864] 본 명세서에서 사용되는 화학 종의 잔기는 특정 생성물에 존재하는 화학 종의 유도체를 지칭한다. 생성물을 형성하기 위해, 종의 적어도 하나의 원자는 또 다른 모이어티에 대한 결합으로 대체되어 생성물이 화학 종의 유도체 또는 잔기를 포함하게 된다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 환식 세포 침투 펩타이드(cCPP)는 하나 이상의 펩타이드 결합의 형성을 통해 그 안에 혼입된 아미노산(예를 들어, 아르기닌)을 갖는다. cCPP에 혼입된 아미노산은 잔기 또는 간단히 아미노산으로 지칭될 수 있다. 따라서, 아르기닌 또는 아르기닌 잔기는



를 지칭한다.

[0865] 용어 "이의 양성자화된 형태"는 아미노산의 양성자화된 형태를 지칭한다. 예를 들어, 아르기닌의 측쇄 상의 구아니딘기는 양성자화되어 구아니디늄기를 형성할 수 있다. 아르기닌의 양성자화된 형태의 구조는



이다.

[0866] 본 명세서에서 사용되는 용어 "카이랄성"은 원자의 3차원 공간 배열이 다른 하나 초과의 입체이성질체를 갖는 분자를 지칭하며, 여기서 하나의 입체이성질체는 다른 입체이성질체의 겹쳐질 수 없는 거울상이다. 글리신을 제외한 아미노산은 카복실기에 인접한 카이랄 탄소 원자를 갖는다. 용어 "거울상이성질체"는 카이랄성인 입체이성질체를 지칭한다. 카이랄 분자는 "D" 및 "L" 거울상이성질체를 갖는 아미노산 잔기일 수 있다. 글리신과 같이 카이랄 중심이 없는 분자는 "아카이랄"로 지칭될 수 있다.

[0867] 본 명세서에서 사용되는 용어 "소수성"은 물에 용해되지 않거나 물에 대한 최소한의 용해도를 갖는 모이어티를 지칭한다. 일반적으로, 중성 모이어티 및/또는 비극성 모이어티 또는 주로 중성 및/또는 비극성인 모이어티는 소수성이다. 소수성은 아래 본 명세서에 개시된 방법 중 하나에 의해 측정될 수 있다.

[0868] 본 명세서에서 사용되는 "방향족"은 $4n + 2$ π 전자를 갖는 불포화된 환식 분자를 지칭하되, n은 임의의 정수이다. 용어 "비방향족"은 방향족의 정의 내에 속하지 않는 임의의 불포화된 환식 분자를 지칭한다.

[0869] "알킬", "알킬 사슬" 또는 "알킬기"는 1개 내지 4개의 탄소 원자를 갖고 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착되는 완전히 포화된 직선형 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 1개 내지 40개의 임의의 수

의 탄소 원자를 포함하는 알킬이 포함된다. 최대 40개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_{40} 알킬이고, 최대 10개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_{10} 알킬이고, 최대 6개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_6 알킬이고, 최대 5개의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C_1-C_5 알킬이다. C_1-C_5 알킬은 C_5 알킬, C_4 알킬, C_3 알킬, C_2 알킬 및 C_1 알킬(즉, 메틸)을 포함한다. C_1-C_6 알킬은 C_1-C_5 알킬에 대해 위에 기재된 모든 모이어티를 포함하지만 C_6 알킬도 포함한다. C_1-C_{10} 알킬은 C_1-C_5 알킬 및 C_1-C_6 알킬에 대해 위에 기재된 모든 모이어티를 포함하지만, C_7, C_8, C_9 및 C_{10} 알킬도 포함한다. 유사하게는, C_1-C_{12} 알킬은 전술한 모든 모이어티를 포함하지만, C_{11} 및 C_{12} 알킬도 포함한다. C_1-C_{12} 알킬의 비제한적인 예는 메틸, 에틸, *n*-프로필, *i*-프로필, *sec*-프로필, *n*-뷰틸, *i*-뷰틸, *sec*-뷰틸, *t*-뷰틸, *n*-펜틸, *t*-아밀, *n*-헥실, *n*-헵틸, *n*-옥틸, *n*-논일, *n*-데실, *n*-운데실 및 *n*-도데실을 포함한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0870] "알킬렌", "알킬렌 사슬" 또는 "알킬렌기"는 1개 내지 40개의 탄소 원자를 갖는 완전히 포화된 직선형 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. C_2-C_{40} 알킬렌의 비제한적인 예는 에틸렌, 프로필렌, *n*-뷰틸렌, 에텐일렌, 프로펜일렌, *n*-뷰텐일렌, 프로핀일렌, *n*-뷰틴일렌 등을 포함한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬렌 사슬은 선택적으로 치환될 수 있다.

[0871] "알켄일", "알켄일 사슬" 또는 "알켄일기"는 2개 내지 40개의 탄소 원자를 갖고 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 직선형 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 각 알켄일기는 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착된다. 2개 내지 40개의 임의의 수의 탄소 원자를 포함하는 알켄일기가 포함된다. 최대 40개의 탄소 원자를 포함하는 알켄일기는 C_2-C_{40} 알켄일이고, 최대 10개의 탄소 원자를 포함하는 알켄일은 C_2-C_{10} 알켄일이고, 최대 6개의 탄소 원자를 포함하는 알켄일기는 C_2-C_6 알켄일이고, 최대 5개의 탄소 원자를 포함하는 알켄일은 C_2-C_5 알켄일이다. C_2-C_5 알켄일은 C_5 알켄일, C_4 알켄일, C_3 알켄일 및 C_2 알켄일을 포함한다. C_2-C_6 알켄일은 C_2-C_5 알켄일에 대해 위에 기재된 모든 모이어티를 포함하지만 C_6 알켄일도 포함한다. C_2-C_{10} 알켄일은 C_2-C_5 알켄일 및 C_2-C_6 알켄일에 대해 위에 기재된 모든 모이어티를 포함하지만, C_7, C_8, C_9 및 C_{10} 알켄일도 포함한다. 유사하게는, C_2-C_{12} 알켄일은 전술한 모든 모이어티를 포함하지만, C_{11} 및 C_{12} 알켄일도 포함한다. C_2-C_{12} 알켄일의 비제한적인 예는 에텐일(바이닐), 1-프로펜일, 2-프로펜일(알릴), 아이소-프로펜일, 2-메틸-1-프로펜일, 1-뷰텐일, 2-뷰텐일, 3-뷰텐일, 1-펜텐일, 2-펜텐일, 3-펜텐일, 4-펜텐일, 1-헥센일, 2-헥센일, 3-헥센일, 4-헥센일, 5-헥센일, 1-헵텐일, 2-헵텐일, 3-헵텐일, 4-헵텐일, 5-헵텐일, 6-헵텐일, 1-옥텐일, 2-옥텐일, 3-옥텐일, 4-옥텐일, 5-옥텐일, 6-옥텐일, 7-옥텐일, 1-노넨일, 2-노넨일, 3-노넨일, 4-노넨일, 5-노넨일, 6-노넨일, 7-노넨일, 8-노넨일, 1-데센일, 2-데센일, 3-데센일, 4-데센일, 5-데센일, 6-데센일, 7-데센일, 8-데센일, 9-데센일, 1-운데센일, 2-운데센일, 3-운데센일, 4-운데센일, 5-운데센일, 6-운데센일, 7-운데센일, 8-운데센일, 9-운데센일, 10-운데센일, 1-도데센일, 2-도데센일, 3-도데센일, 4-도데센일, 5-도데센일, 6-도데센일, 7-도데센일, 8-도데센일, 9-도데센일, 10-도데센일 및 11-도데센일을 포함한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0872] "알켄일렌", "알켄일렌 사슬" 또는 "알켄일렌기"는 2개 내지 40개의 탄소 원자를 갖고 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 직선형 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. C_2-C_{40} 알켄일렌의 비제한적인 예는 에텐, 프로펜, 뷰텐 등을 포함한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알켄일렌 사슬은 선택적일 수 있다.

[0873] "알콕시" 또는 "알콕시기"는 -OR기를 지칭하되, R은 본 명세서에 정의된 바와 같은 알킬, 알켄일, 알킨일, 사이클로알킬 또는 헤테로사이클릴이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알콕시기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0874] "아실" 또는 "아실기"는 -C(O)R기를 지칭하되, R은 본 명세서에 정의된 바와 같은 수소, 알킬, 알켄일, 알킨일, 카보사이클릴 또는 헤테로사이클릴이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 아실은 선택적으로 치환될 수 있다.

[0875] "알킬카바모일" 또는 "알킬카바모일기"는 -O-C(O)-NR_aR_b기를 지칭하되, R_a 및 R_b는 동일하거나 상이하고, 독립적으로 본 명세서에 정의된 바와 같은 알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴이거나 R_aR_b는 함께 본 명세서에 정의된 바와 같은 사이클로알킬기 또는 헤테로사이클릴기를 형성할 수 있다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되

지 않는 한, 알킬카바모일기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0876] "알킬카복스아미딜" 또는 "알킬카복스아미딜기"는 -C(O)-NR_aR_b기를 지칭하되, R_a 및 R_b는 동일하거나 상이하고, 독립적으로 본 명세서에 정의된 바와 같은 알킬, 알켄일, 알킨일, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 사이클로알켄일, 사이클로알킨일 또는 헤테로사이클릴기이거나 R_aR_b는 함께 본 명세서에 정의된 바와 같은 사이클로알킬기를 형성할 수 있다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬카복스아미딜기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0877] "아릴"은 수소, 6개 내지 18개의 탄소 원자 및 적어도 하나의 방향족 고리를 포함하는 탄화수소 고리 시스템 라디칼을 지칭한다. 본 발명의 목적을 위해, 아릴 라디칼은 융합되거나 브리지된 고리 시스템을 포함할 수 있는 단환식, 이환식, 삼환식 또는 테트라환식 고리 시스템일 수 있다. 아릴 라디칼은 아세안트릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난트릴렌, 안트라센, 아줄렌, 벤젠, 크리센, 플루오란텐, 플루오렌, *as*-인다센, *s*-인다센, 인데인, 인덴, 나프탈렌, 페날렌, 페난트렌, 플레이아덴, 피렌 및 트라이페닐렌으로부터 파생되는 아릴 라디칼을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 용어 "아릴"은 선택적으로 치환되는 아릴 라디칼을 포함하는 것을 의미한다.

[0878] "헤테로아릴"은 수소 원자, 1개 내지 13개의 탄소 원자, 질소, 산소 및 황으로부터 선택되는 1개 내지 6개의 헤테로원자 및 적어도 하나의 방향족 고리를 포함하는 5- 내지 20-원 고리 시스템 라디칼을 지칭한다. 본 발명의 목적을 위해, 헤테로아릴 라디칼은 융합되거나 브리지된 고리 시스템을 포함할 수 있는 단환식, 이환식, 삼환식 또는 테트라환식 고리 시스템일 수 있고; 헤테로아릴 라디칼의 질소, 탄소 또는 황 원자는 선택적으로 산화될 수 있고; 질소 원자는 선택적으로 4차화될 수 있다. 예는 아제핀일, 아크리딘일, 벤즈이미다졸릴, 벤조티아졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조다이옥솔릴, 벤조퓨란일, 벤조옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아다이아졸릴, 벤조[*b*][1,4]다이옥세핀일, 1,4-벤조다이옥산일, 벤조나프토퓨란일, 벤족사졸릴, 벤조다이옥솔릴, 벤조다이옥신일, 벤조피란일, 벤조피라논일, 벤조퓨란일, 벤조퓨라논일, 벤조티엔일(벤조티오페닐), 벤조트라이아졸릴, 벤조[4,6]이미다조[1,2-a]피리딘일, 카바졸릴, 신놀린일, 다이벤조퓨란일, 다이벤조티오페닐, 퓨란일, 퓨라논일, 아이소티아졸릴, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌릴, 인다졸릴, 아이소인돌릴, 인돌린일, 아이소인돌린일, 아이소퀴놀릴, 인돌리진일, 아이속사졸릴, 나프티리딘일, 옥사다이아졸릴, 2-옥소아제핀일, 옥사졸릴, 옥시란일, 1-옥시도피리딘일, 1-옥시도피리미딘일, 1-옥시도피라진일, 1-옥시도피리다진일, 1-페닐-1*H*-피롤릴, 페나진일, 페노티아진일, 페녹사진일, 프탈라진일, 프테리딘일, 퓨린일, 피롤릴, 피라졸릴, 피리딘일, 피라진일, 피리미딘일, 피리다진일, 퀴나졸린일, 퀴녹살린일, 퀴놀린일, 퀴누클리딘일, 아이소퀴놀린일, 테트라하이드로퀴놀린일, 티아졸릴, 티아다이아졸릴, 트라이아졸릴, 테트라졸릴, 트라이아진일 및 티오페닐(즉, 티엔일)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로아릴기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0879] 본 명세서에 사용되는 용어 "치환된"은 적어도 하나의 원자가 F, Cl, Br 및 I와 같은 할로겐 원자와 같지만 이에 제한되지 않는 비수소 원자; 하이드록실기, 알콕시기 및 에스터기와 같은 기의 산소 원자; 티올기, 티오알킬기, 설폰기, 설폰일기 및 설폭사이드기와 같은 기의 황 원자; 아민, 아마이드, 알킬아민, 다이알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 다이아릴아민, N-옥사이드, 이미드 및 엔아민과 같은 기의 질소 원자; 트라이알킬실릴기, 다이알킬아릴실릴기, 알킬다이아릴실릴기 및 트라이아릴실릴기와 같은 기의 규소 원자; 및 다양한 다른 기의 다른 헤테로원자로 대체되는 임의의 위의 기(즉, 알킬, 알켄일, 알킨일, 사이클로알킬, 사이클로알켄일, 사이클로알킨일, 헤테로사이클릴, 아릴, 헤테로아릴, 알콕시, 아릴옥시, 아실, 알킬카바모일, 알킬카복스아미딜, 알콕시카보닐, 알킬티오 또는 아릴티오)를 의미한다. "치환된"은 또한 하나 이상의 원자가 옥소, 카보닐, 카복실 및 에스터기의 산소; 및 이민, 옥심, 하이드라존 및 나이트릴과 같은 기의 질소와 같은 헤테로원자에 대한 더 높은 차수의 결합(예를 들어, 이중- 또는 삼중-결합)으로 대체된 임의의 위의 기를 의미한다. 예를 들어, "치환된"은 하나 이상의 원자가 -NR_gR_h, -$NR_gC(=O)R_h$, -$NR_gC(=O)NR_gR_h$, -$NR_gC(=O)OR_h$, -$NR_gSO_2R_h$, -$OC(=O)NR_gR_h$, -OR_g, -SR_g, -SOR_g, -SO_2R_g, -OSO_2R_g, -SO_2OR_g, =NSO_2R_g 및 -$SO_2NR_gR_h$로 대체된 임의의 위의 기를 포함한다. "치환된"은 또한 하나 이상의 수소 원자가 -$C(=O)R_g$, -$C(=O)OR_g$, -$C(=O)NR_gR_h$, -$CH_2SO_2R_g$, -$CH_2SO_2NR_gR_h$로 대체된 임의의 위의 기를 의미한다. 상기에서, R_g 및 R_h는 동일하거나 상이하고, 독립적으로 수소, 알킬, 알켄일, 알킨일, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알켄일, 사이클로알킨일, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 할로알켄일, 할로알킨일, 헤테로사이클릴, *N*-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, *N*-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. "치환된"은 또한 하나 이상의 원자가 아미노, 사이아노, 하이드록실, 이미노, 나이트로, 옥소, 티옥소, 할로, 알킬, 알켄일, 알킨일, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬,

사이클로알킬, 사이클로알켄일, 사이클로알킨일, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 할로알켄일, 할로알킨일, 헤테로사이클릴, *N*-헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴, *N*-헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬기로 대체된 임의의 위의 그룹을 의미한다. "치환된"은 또한 측쇄 상의 하나 이상의 원자가 알킬, 알켄일, 알킨일, 아실, 알킬카복스아미딜, 알콕시카보닐, 카보사이클릴, 헤테로사이클릴, 아릴 또는 헤테로아릴로 대체된 아미노산을 의미할 수 있다. 또한, 전술한 치환기 각각은 또한 위의 치환기 중 하나 이상으로 선택적으로 치환될 수 있다.

[0880] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "대상체"는 개체를 의미한다. 따라서, "대상체"는 사육 동물(예를 들어, 고양이, 개 등), 가축(예를 들어, 소, 말, 돼지, 양, 염소 등), 실험실 동물(예를 들어, 마우스, 토끼, 래트, 기니피그 등) 및 새를 포함할 수 있다. "대상체"는 또한 영장류 또는 인간과 같은 포유동물을 포함할 수 있다. 따라서, 대상체는 인간 또는 수의 환자일 수 있다. 용어 "환자"는, 예를 들어, 의사의 치료를 받는 대상체를 지칭한다.

[0881] 용어 "저해하다"는 활성, 반응, 병태, 질환 또는 기타 생물학적 매개변수의 감소를 지칭한다. 이는 활성, 반응, 병태 또는 질환의 완전한 제거를 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 이는 또한, 예를 들어, 천연 또는 대조군 수준과 비교하여 활성, 반응, 병태 또는 질환의 10%의 감소를 포함할 수 있다. 따라서, 감소는 천연 또는 대조군 수준과 비교하여 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 또는 그 사이의 임의의 감소량일 수 있다.

[0882] "감소시키다", 또는 "감소시키는" 또는 "감소"와 같은 이 단어의 다른 형태는 이벤트 또는 특징(예를 들어, 종양 성장)을 줄이는 것을 의미한다. 이는 전형적으로 일부 표준 또는 예상되는 값과 관련이 있는 것으로 이해되며, 즉, 이는 상대적이지만 표준 또는 상대적 값을 참조하는 데 항상 필요한 것은 아니다. 예를 들어, "종양 성장을 감소시키다"는 표준 또는 대조군(예를 들어, 치료되지 않은 종양)에 비해 종양의 성장 속도를 감소시키는 것을 의미한다.

[0883] 용어 "치료"는 질환, 병리학적 병태 또는 장애를 치료, 개선, 안정화 또는 예방하려는 의도로 환자를 의학적으로 관리하는 것을 지칭한다. 이 용어는 적극적 치료, 즉, 질환, 병리학적 병태 또는 장애의 개선을 명확하게 지향하는 치료를 포함하고, 또한, 원인 치료, 즉, 연관된 질환, 병리학적 병태 또는 장애 원인의 제거를 지향하는 치료를 포함한다. 또한, 이 용어는 완화적 치료, 즉, 질환, 병리학적 병태 또는 장애의 치료보다는 증상의 경감을 위해 고안된 치료; 예방적 치료, 즉, 연관된 질환, 병리학적 병태 또는 장애의 발병을 최소화하거나 부분적으로 또는 완전히 저해하기 위한 치료; 및 지지적 치료, 즉, 연관된 질환, 병리학적 병태 또는 장애의 개선을 지향하는 또 다른 특정 요법을 보충하기 위해 사용되는 치료를 포함한다.

[0884] 용어 "치료적으로 유효한"은 사용된 조성물의 양이 질환 또는 장애의 하나 이상의 원인 또는 증상을 개선시키기에 충분한 양임을 지칭한다. 이러한 개선에는 감소 또는 변경만 필요할 뿐 반드시 제거할 필요는 없다.

[0885] 용어 "약제학적으로 허용 가능한"은 타당한 의학적 판단의 범위 내에서 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0886] 용어 "담체"는 화합물 또는 조성물과 조합될 때 의도된 용도 또는 목적을 위해 화합물 또는 조성물의 제조, 보관, 투여, 전달, 유효성, 선택성 또는 임의의 다른 특징을 돕거나 촉진하는 화합물, 조성물, 물질 또는 구조를 의미한다. 예를 들어, 담체는 활성 성분의 임의의 분해를 최소화하고 대상체에서 임의의 부작용을 최소화하도록 선택될 수 있다.

[0887] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀션뿐만 아니라 사용 직전에 멸균 주사용 용액 또는 분산액으로 재구성하기 위한 멸균 분말을 지칭한다. 적합한 수성 및 비수성 담체, 희석제, 용매 또는 비히클의 예는 물, 에탄올, 폴리올(예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 카복시메틸셀룰로스 및 이들의 적합한 혼합물, 식물성 오일(예컨대, 올리브유) 및 에틸 올리에이트와 같은 주사용 유기 에스터를 포함한다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅 물질의 사용, 분산액의 경우 필요한 입자 크기의 유지 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 이들 조성물은 또한 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제와 같은 보조제를 포함한다. 파라벤, 클로로뷰탄올, 페놀, 소르브산 등과 같은 다양한 항균제 및 항진균제를 포함시켜 미생물 작용을 방지할 수 있다. 당, 소듐 클로라이드 등과 같은 등장화제를 포함시키는 것이 바람직할 수도 있다. 주사용 제형은, 예를 들어, 세균 보유 필터를 통한 여과에 의해 또는 사용 직전에 멸균수 또는 다른 멸균 주사용 매질에 용해되거나 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물의 형태의 멸균제를 혼입시킴으로써 멸균될 수 있다. 적합한 불활성 담체는 락

토스와 같은 당을 포함할 수 있다.

[0888] 본 명세서에서 사용되는 용어 "서열 동일성"은 동일하고 동일한 상대적 위치에 있는 2개의 폴리펩타이드 서열 사이의 아미노산의 백분율을 지칭한다. 이와 같이, 하나의 폴리펩타이드 서열은 또 다른 폴리펩타이드 서열과 비교하여 소정의 백분율의 서열 동일성을 갖는다. 서열 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열이 테스트 서열과 비교되는 참조 서열의 역할을 한다. 당업자라면 2개의 서열이 일반적으로 상응하는 위치에 동일한 잔기를 포함하는 경우 "실질적으로 동일한" 것으로 간주된다는 것을 이해할 것이다. 실시형태에서, 2개의 아미노산 서열 사이의 서열 동일성은 출원일 당시 존재하는 버전의 EMBOSS 패키지(EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, *Trends Genet.* 16: 276-277)의 Needle 프로그램에서 실행되는 Needleman-Wunsch 알고리즘(Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453)을 사용하여 결정될 수 있다. 사용되는 매개변수는 갭 개방 패널티 10, 갭 확장 패널티 0.5 및 EBLOSUM62(BLOSUM62의 EMBOSS 버전) 치환 행렬이다. "가장 긴 동일성"(-nobrief 옵션을 사용하여 얻음)으로 표시된 Needle의 결과는 동일성 퍼센트로 사용되며, 다음과 같이 계산된다: (동일한 잔기×100)/(정렬의 길이 - 정렬의 갭의 총 수).

[0889] 실시형태에서, 서열 동일성은 출원일 당시 존재하는 버전의 Smith-Waterman 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0890] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "서열 상동성"은 상동성이며 동일한 상대적 위치에 있는 2개의 폴리펩타이드 서열 사이의 아미노산의 백분율을 지칭한다. 이와 같이, 하나의 폴리펩타이드 서열은 또 다른 폴리펩타이드 서열과 비교하여 소정의 백분율의 서열 상동성을 갖는다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 2개의 서열은 상응하는 위치에 상동성 잔기를 포함하는 경우 일반적으로 "실질적으로 상동성"인 것으로 간주된다. 상동성 잔기는 동일한 잔기일 수 있다. 대안적으로, 상동성 잔기는 적절하게 유사한 구조적 및/또는 기능적 특징을 갖는 동일하지 않은 잔기일 수 있다. 예를 들어, 당업자에게 잘 알려져 있는 바와 같이, 소정의 아미노산은 전형적으로 "소수성" 또는 "친수성" 아미노산 및/또는 "극성" 또는 "비극성" 측쇄를 갖는 아미노산으로 분류되며, 한 아미노산의 동일한 유형의 다른 아미노산으로의 치환은 종종 "상동성" 치환으로 간주될 수 있다.

[0891] 당업계에 잘 알려져 있는 바와 같이, 아미노산 서열은 출원일 당시 존재하는 BLASTP, gapped BLAST 및 PSI-BLAST와 같은 상용 컴퓨터 프로그램에서 이용 가능한 것들을 포함하여 임의의 다양한 알고리즘을 사용하여 비교될 수 있다. 이러한 프로그램의 예는 문헌[Altschul, et al., Basic local alignment search tool, *J. Mol. Biol.*, 215(3): 403-410, 1990; Altschul, et al., *Methods in Enzymology*; Altschul, et al., "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997; Baxevanis, et al., *Bioinformatics A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, Wiley, 1998; 및 Misener, et al., (eds.), *Bioinformatics Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999]에 기술되어 있다. 상동성 서열을 확인하는 것 외에도, 위에 언급된 프로그램은 전형적으로 상동성의 정도에 대한 표시를 제공한다.

[0892] 본 명세서에서 사용되는 용어 "안티센스 화합물" 및 "AC"는 (AC)가 혼성화되는 표적 핵산 분자와 적어도 부분적으로 상보적인 중합체 핵산 구조(올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드로도 지칭될 수 있음)를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다. AC는 표적 pre-mRNA 가닥의 표적 서열과 상보적인 서열을 포함하는 짧은(실시형태에서, 50개 미만의 염기쌍) 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 상동체일 수 있다. AC는 천연 핵산, 합성 핵산, 핵산 상동체 또는 임의의 이들의 조합으로 형성될 수 있다. 실시형태에서, AC는 올리고뉴클레오사이드를 포함한다. 실시형태에서, AC는 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 실시형태에서, AC는 접합기를 포함한다. AC의 비제한적인 예는 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 외부 가이드 서열(external guide sequence: EGS) 올리고뉴클레오타이드, 대체 스플라이서, siRNA, 올리고뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오사이드, 올리고뉴클레오타이드 유사체, 올리고뉴클레오타이드 모방체 및 이들의 키메라 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이와 같이, 이들 화합물은 단일 가닥, 이중 가닥, 원형, 분지형 또는 헤어핀의 형태로 도입될 수 있으며, 내부 또는 말단 벌지 또는 루프와 같은 구조적 요소를 포함할 수 있다. 올리고머 이중 가닥 화합물은 혼성화되어 이중 가닥 화합물을 형성하는 2개의 가닥일 수 있거나 전체 또는 부분적 이중 가닥 화합물의 형성을 가능하게 하는 충분한 자가 상보성을 갖는 단일 가닥일 수 있다. 실시형태에서, AC는 표적 핵산의 발현을 조절(증가, 감소 또는 변경)할 수 있다. 포스포로다이아미데이트 모폴리노(PMO)와 같은 중합체 핵산 구조에 다양한 변형이 이루어질 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 AC는 PMO와 같은 본 명세서에 기재된 임의의 변형을 포함한다.

[0893] 본 명세서에서 사용되는 용어 "pre-mRNA" 및 "1차 전사체"는 DNA 전사 직후에 새로 합성된 진핵생물 mRNA 분자

를 지칭한다. pre-mRNA는 5' 캡으로 캐핑되고, 3' 폴리-A 꼬리로 변형되고, 스플라이싱되어 성숙 mRNA 서열을 생성하여야 한다.

[0894] 본 명세서에서 사용되는 용어 "표적화하는" 또는 "표적화된"은 안티센스 화합물(AC)과 표적 핵산 분자 또는 표적 핵산 분자의 영역의 회합을 지칭한다. 실시형태에서, AC는 생리학적 조건하에서 표적 핵산에 혼성화될 수 있다. 실시형태에서, AC는 표적 핵산 내의 특정 부분 또는 부위, 예를 들어, 특정 엑손 또는 인트론 또는 엑손 또는 인트론 내의 선택된 핵염기 또는 모티프와 같은 적어도 하나의 식별 가능한 구조, 기능 또는 특징을 갖는 표적 핵산의 부분을 표적화한다.

[0895] 본 명세서에서 사용되는 용어 "표적 핵산" 및 "표적 서열"은 안티센스 화합물이 결합하거나 혼성화되는 핵산 서열을 갖는 핵산 분자를 지칭한다. 표적 핵산은 RNA(pre-mRNA 및 mRNA 또는 이의 일부를 포함하지만 이에 제한되지 않음), 이러한 RNA로부터 유래되는 cDNA뿐만 아니라 miRNA와 같은 비번역 RNA를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 실시형태에서, 표적 핵산은 이의 발현이 특정 장애 또는 질환 상태와 연관된 세포 유전자(또는 이러한 유전자로부터 전사된 mRNA) 또는 감염원으로부터의 핵산 분자일 수 있다. 실시형태에서, 표적 핵산은 표적 RNA이다. 실시형태에서, 표적 핵산은 표적 mRNA이다. 실시형태에서, 표적 핵산은 표적 pre-mRNA이다.

[0896] 본 명세서에서 사용되는 용어 "스플라이싱" 및 "처리"는 인트론이 제거되고 엑손이 연결되는 전사 후 pre-mRNA의 변형을 지칭한다. 스플라이싱은 스플라이세오솜으로 지칭되는 5개의 작은 핵 리보핵산단백질(snRNP)로 구성된 큰 RNA-단백질 복합체에 의해 촉매되는 일련의 반응에서 발생한다. 인트론 내에서, 3' 스플라이스 부위, 5' 스플라이스 부위 및 분지 부위가 스플라이싱에 필요하다. snRNP의 RNA 구성요소는 인트론과 상호작용하며 촉매작용에 관여할 수 있다.

[0897] 본 명세서에서 사용되는 용어 "엑손"은 스플라이싱 후 전형적으로 성숙 mRNA에 포함되는 pre-mRNA의 일부를 지칭한다.

[0898] 본 명세서에서 사용되는 용어 "인트론"은 스플라이싱 후 전형적으로 성숙 mRNA로부터 제외되는 pre-mRNA의 일부를 지칭한다.

[0899] 본 명세서에서 사용되는 용어 "측접"은 관련 엑손의 바로 상류(5') 또는 바로 하류(3')에 위치하는 인트론을 지칭한다. 예를 들어, 엑손 44의 5' 측접 인트론은 엑손 44의 바로 상류에 있는(즉, 이의 5' 말단에 직접 커플링된) 인트론을 지칭한다. 예를 들어, 엑손 44의 3' 측접 인트론은 엑손 44의 바로 하류에 있는(즉, 이의 5' 말단에 직접 커플링된) 인트론을 지칭한다.

[0900] "표적 pre-mRNA"는 AC가 혼성화되는 표적 서열을 포함하는 pre-mRNA이다.

[0901] "표적 mRNA"는 표적 pre-mRNA 서열의 스플라이싱으로부터 생성된 mRNA 서열이다. 실시형태에서, 표적 mRNA는 기능적 단백질을 암호화하지 않는다. 실시형태에서, 표적 mRNA는 하나 이상의 인트론 서열을 유지한다.

[0902] 본 명세서에서 사용되는 용어 "유전자"는 유전자 산물의 발현과 관련된 5' 프로모터 영역 및 임의의 인트론 및 엑손 영역 및 유전자 산물의 발현과 관련된 3' 비번역 영역("UTR")을 포함하는 핵산 서열을 갖는 핵산 분자를 지칭한다.

[0903] 본 개시내용의 "표적 유전자"는 표적 pre-mRNA를 암호화하는 유전자를 지칭한다.

[0904] "표적 단백질"은 표적 mRNA에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 지칭한다. 실시형태에서, 표적 단백질은 기능적 단백질이 아닐 수 있다.

[0905] "야생형 표적 단백질"은 표적 유전자의 야생형, 정상 또는 돌연변이되지 않은 버전에 의해 생성된 천연의 기능적 단백질 이성질체를 지칭한다. 야생형 표적 단백질은 또한 적절하게 스플라이싱된 표적 pre-mRNA로부터 생성된 단백질을 지칭한다.

[0906] 본 명세서에서 사용되는 용어 "전사체"는 DNA로부터 전사되는 RNA 분자를 지칭하며, mRNA, 성숙 mRNA, pre-mRNA 및 부분적으로 처리된 RNA를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0907] 본 명세서에서 사용되는 "재스플라이싱된 표적 단백질"은 AC가 혼성화되는 표적 pre-mRNA의 스플라이싱으로부터 생성된 mRNA에 의해 암호화되는 단백질을 지칭한다. 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질과 동일할 수 있거나, 야생형 표적 단백질과 상동성일 수 있거나, 야생형 표적 단백질의 기능적 변이체일 수 있거나 또는 야생형 표적 단백질의 활성 단편일 수 있다.

[0908] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "기능적 단편" 또는 "활성 단편"은 전장 야생형 표적 단백질의 하나 이상의 활성과 같은 활성을 나타내거나 또 다른 활성을 보유하는 진핵생물 야생형 표적 단백질의 일부를 지칭한다. 실시형태에서, 야생형 표적 단백질의 적어도 하나의 생물학적 활성을 공유하는 재스플라이싱된 표적 단백질은 야생형 표적 단백질의 활성 단편으로 간주된다. 활성은 야생형 표적 단백질과 비교하여 활성의 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99%, 약 100%, 약 200%, 약 300%, 약 400%, 약 500% 이상(이들 값 사이의 모든 값과 범위를 포함)의 활성을 포함하지만 이에 제한되지 않는 전장 야생형 표적 단백질의 활성의 임의의 백분율(즉, 그 이상 또는 그 이하)일 수 있다. 따라서, 실시형태에서, 활성 단편은 야생형 표적 단백질의 하나 이상의 생물학적 활성의 적어도 일부를 유지할 수 있다. 실시형태에서, 활성 단편은 야생형 표적 단백질의 하나 이상의 생물학적 활성을 향상시킬 수 있다.

[0909] 본 명세서에서 사용되는 용어 "뉴클레오사이드"는 핵염기 및 당을 포함하는 글리코실아민을 의미한다. 뉴클레오사이드는 천연 뉴클레오사이드, 무염기성 뉴클레오사이드, 변형된 뉴클레오사이드 및 모방 염기 및/또는 당 기를 갖는 뉴클레오사이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. "천연 뉴클레오사이드" 또는 "비변형된 뉴클레오사이드"는 천연 핵염기 및 천연 당을 포함하는 뉴클레오사이드이다. 천연 뉴클레오사이드는 RNA 및 DNA 뉴클레오사이드를 포함한다.

[0910] 본 명세서에서 사용되는 용어 "천연 당"은 RNA(2'-OH) 또는 DNA(2'-H)에서 자연 발생적 형태가 변형되지 않은 뉴클레오사이드의 당을 지칭한다.

[0911] 본 명세서에서 사용되는 용어 "뉴클레오타이드"는 당에 공유적으로 연결된 포스페이트기를 갖는 뉴클레오사이드를 지칭한다. 뉴클레오타이드는 임의의 다양한 치환기로 변형될 수 있다.

[0912] 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵염기"는 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드의 염기 부분을 지칭한다. 핵염기는 또 다른 핵산의 염기에 수소 결합을 할 수 있는 임의의 원자 또는 원자단을 포함할 수 있다. 천연 핵염기는 RNA 또는 DNA에서 자연 발생적 형태가 변형되지 않은 핵염기이다.

[0913] 본 명세서에서 사용되는 용어 "헤테로환식 염기 모이어티"는 헤테로환을 포함하는 핵염기를 지칭한다.

[0914] 본 명세서에서 사용되는 "올리고뉴클레오사이드"는 뉴클레오사이드간 연결이 인 원자를 포함하지 않는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0915] 본 명세서에서 사용되는 용어 "올리고뉴클레오타이드"는 복수의 연결된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오사이드를 포함하는 올리고머 화합물을 지칭한다. 소정의 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드가 변형된다. 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 리보핵산(RNA) 또는 데옥시리보핵산(DNA)을 포함한다. 실시형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 천연 및/또는 변형된 핵염기, 당 및 공유 뉴클레오사이드간 연결로 구성되며, 비핵산 접합체를 추가로 포함할 수 있다.

[0916] 본 명세서에서 사용되는 "뉴클레오사이드간 연결"은 인접한 뉴클레오사이드 사이의 공유 연결을 지칭한다.

[0917] 본 명세서에서 사용되는 "천연 뉴클레오타이드간 연결"은 3'에서 5' 포스포다이에스터 연결을 지칭한다.

[0918] 본 명세서에서 사용되는 용어 "변형된 뉴클레오사이드간 연결"은 자연 발생적 뉴클레오사이드간 연결 이외의 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드 사이의 임의의 연결을 지칭한다.

[0919] 본 명세서에서 사용되는 용어 "키메라 안티센스 화합물" 또는 "키메라 AC"는 동일한 올리고머 화합물 내의 다른 당, 핵염기 및 뉴클레오사이드간 연결과 비교하여 차별적으로 변형된 적어도 하나의 당, 핵염기 및/또는 뉴클레오사이드간 연결을 갖는 안티센스 화합물을 지칭한다. 나머지 당, 핵염기 및 뉴클레오사이드간 연결은 독립적으로 변형되거나 또는 변형되지 않을 수 있다. 일반적으로, 키메라 올리고머 화합물은 단리된 위치에 있을 수 있거나 특정 모티프를 정의할 영역에서 함께 그룹화될 수 있는 변형된 뉴클레오사이드를 가질 것이다. 변형 및 또는 모방기의 임의의 조합은 본 명세서에 기재된 바와 같은 키메라 올리고머 화합물을 포함할 수 있다.

[0920] 본 명세서에서 사용되는 용어 "혼합된 백본 안티센스 올리고뉴클레오타이드"는 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 뉴클레오사이드간 연결이 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 적어도 하나의 다른 뉴클레오타이드간 연결과 다른 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0921] 본 명세서에서 사용되는 용어 "핵염기 상보성"은 또 다른 핵염기와 염기 페어링을 할 수 있는 핵염기를 지칭한다. 예를 들어, DNA에서, 아데닌(A)은 티민(T)과 상보적이다. 예를 들어, RNA에서, 아데닌(A)은 우라실(U)과 상

보적이다. 실시형태에서, 상보적인 핵염기는 표적 핵산의 핵염기와 염기 페어링을 할 수 있는 안티센스 화합물의 핵염기를 지칭한다. 예를 들어, 안티센스 화합물의 소정의 위치에 있는 핵염기가 표적 핵산의 소정의 위치에 있는 핵염기와 수소 결합을 할 수 있다면, 올리고뉴클레오타이드와 표적 핵산 사이의 수소 결합의 위치는 해당 핵염기쌍에서 상보적인 것으로 간주된다.

[0922] 본 명세서에서 사용되는 용어 "비상보적 핵염기"는 서로 수소 결합을 형성하지 않거나 달리 혼성화를 지원하지 않는 핵염기의 쌍을 지칭한다.

[0923] 본 명세서에서 사용되는 용어 "상보적"은 핵염기 상보성을 통해 또 다른 올리고머 화합물 또는 핵산에 혼성화하는 올리고머 화합물의 능력을 지칭한다. 실시형태에서, 안티센스 화합물 및 이의 표적은 각 분자 내의 충분한 수의 상응하는 위치가 서로 결합할 수 있는 핵염기에 의해 점유되어 안티센스 화합물과 표적 사이의 안정적인 회합을 가능하게 할 때 서로 상보적이다. 당업자는 회합을 유지하는 올리고머 화합물의 능력을 제거하지 않고도 미스매치의 포함이 가능하다는 것을 인식한다. 따라서, 미스매치된(즉, 표적의 상응하는 뉴클레오타이드와 상보적인 핵염기가 아닌) 최대 약 20%의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있는 안티센스 화합물이 본 명세서에 기재된다. 바람직하게는, 안티센스 화합물은 약 15% 이하, 보다 바람직하게는 약 10% 이하, 가장 바람직하게는 5% 이하의 미스매치를 포함하거나 미스매치를 포함하지 않는다. 나머지 뉴클레오타이드는 핵염기 상보적이거나 달리 혼성화를 방해하지 않는다(예를 들어, 범용 염기). 당업자라면 본 명세서에 제공된 화합물이 표적 핵산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100% 상보적인 핵염기임을 인식할 것이다.

[0924] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "혼성화"는 상보적인 올리고머 화합물(예를 들어, 안티센스 화합물 및 이의 표적 핵산)의 페어링을 의미한다. 특정 메커니즘에 얽매이지 않고, 페어링의 가장 일반적인 메커니즘은 상보적인 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드 염기(핵염기) 사이의 Watson-Crick, Hoogsteen 또는 역 Hoogsteen 수소 결합일 수 있는 수소 결합을 수반한다. 예를 들어, 천연 염기 아데닌은 수소 결합의 형성을 통해 쌍을 이루는 천연 핵염기 티미딘 및 우라실과 상보적인 핵염기이다. 천연 염기 구아닌은 천연 염기 사이토신 및 5-메틸 사이토신과 상보적인 핵염기이다. 혼성화는 다양한 환경하에서 발생할 수 있다.

[0925] 본 명세서에서 사용되는 용어 "특이적으로 혼성화하다"는 올리고머 화합물이 또 다른 핵산 부위에 혼성화하는 것보다 더 큰 친화도로 하나의 핵산 부위에 혼성화하는 능력을 지칭한다. 실시형태에서, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 하나 초과의 표적 부위에 특이적으로 혼성화된다. 실시형태에서, 올리고머 화합물은 엄격한 혼성화 조건하에서 표적과 특이적으로 혼성화한다.

[0926] 용어 "조절하다", "조절하는" 및 "조절"은 조절 전의 발현, 기능 또는 활성의 수준과 비교할 때 발현, 기능 또는 활성의 교란을 지칭한다. 조절은 발현, 기능 또는 활성의 증가(자극 또는 유도) 또는 감소(저해 또는 감소)를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 조절은 pre-mRNA 처리 동안 스플라이스 부위 선택의 교란을 포함할 수 있다.

[0927] 용어 "저해하다", "저해하는" 또는 "저해"는 활성, 발현, 기능 또는 다른 생물학적 매개변수의 감소를 지칭하며, 활성, 발현, 기능 또는 다른 생물학적 매개변수의 완전한 제거를 포함하지만 이를 필요로 하지는 않는다. 저해는, 예를 들어, 대조군과 비교하여 활성, 반응, 병태 또는 질환의 적어도 약 10% 감소를 포함할 수 있다. 실시형태에서, 유전자 또는 단백질의 발현, 활성 또는 기능은 통계적으로 유의미한 양만큼 감소한다.

[0928] 본 명세서에서 사용되는 용어 "발현"은 유전자의 코딩된 정보가 세포에 존재하고 작동하는 구조로 전환되는 모든 기능과 단계를 지칭한다. 이러한 구조는 전사 및 번역의 산물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0929] 본 명세서에서 사용되는 용어 "2'-변형된" 또는 "2'-치환된"은 2' 위치에 H 또는 OH 이외의 치환기를 포함하는 당을 의미한다. 2'-변형된 단량체는 알릴, 아미노, 아지도, 티오, O-알릴, O-C_1-C_{10} 알킬, -OCF_3, O-$(CH_2)_2$-O-CH_3, 2'-O$(CH_2)_2SCH_3$, O-$(CH_2)_2$-O-N$(R_m)(R_n)$ 또는 O-CH_2-C(=O)-N$(R_m)(R_n)$과 같은 2'-치환기를 갖는 BNA 및 단량체(예를 들어, 뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드)를 포함하지만 이에 제한되지 않되, 각각의 Rm 및 Rn은 독립적으로 H, 또는 치환 또는 비치환된 C_1-C_{10} 알킬이다.

[0930] 본 명세서에서 사용되는 용어 "MOE"는 2'-O-메톡시에틸 치환기를 지칭한다.

[0931] 본 명세서에서 사용되는 용어 "고친화성 변형된 뉴클레오타이드"는 변형이 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 화합물의 표적 핵산에 대한 친화성을 증가시키도록 적어도 하나의 변형된 핵염기, 뉴클레오사이드간 연결 또는 당 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드를 지칭한다. 고친화성 변형은 BNA, LNA 및 2'-MOE를 포함하지만

이에 제한되지 않는다.

[0932] 본 명세서에서 사용되는 용어 "모방체"는 AC에서 당, 핵염기 및/또는 뉴클레오사이드간 연결을 치환하는 기를 지칭한다. 일반적으로, 모방체는 당 또는 당-뉴클레오사이드간 연결 조합 대신에 사용되며, 핵염기는 선택된 표적에 대한 혼성화를 위해 유지된다. 당 모방체의 대표적인 예는 사이클로헥센일 또는 모폴리노를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 당-뉴클레오사이드간 연결 조합에 대한 모방체의 대표적인 예는 비하전된 아카이랄 연결에 의해 연결된 펩타이드 핵산(PNA) 및 모폴리노기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 예에서, 모방체는 핵염기 대신에 사용된다. 대표적인 핵염기 모방체는 당업계에 잘 알려져 있으며, 삼환식 페녹사진 유사체 및 범용 염기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다(Berger et al., Nuc Acid Res. 2000, 28:2911-14, 참조에 의해 본 명세서에 원용됨). 당, 뉴클레오사이드 및 핵염기 모방체의 합성 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0933] 본 명세서에서 사용되는 용어 "이환식 뉴클레오사이드" 또는 "BNA"는 뉴클레오사이드의 퓨라노스 부분이 퓨라노스 고리의 두 원자를 연결하는 브리지를 포함하여 이환식 고리 시스템을 형성하는 뉴클레오사이드를 지칭한다. BNA는 α-L-LNA, β-D-LNA, ENA, 옥시아미노 BNA(2'-O-N(CH_3)-CH_2-4') 및 아미노옥시 BNA(2'-N(CH_3)-O-CH_2-4')를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0934] 본 명세서에서 사용되는 용어 "4'에서 2' 이환식 뉴클레오사이드"는 퓨라노스 고리의 두 원자를 연결하는 브리지가 퓨라노스 고리의 4' 탄소 원자와 2' 탄소 원자를 브리징하여 이환식 고리 시스템을 형성하는 BNA를 지칭한다.

[0935] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "잠금 핵산" 또는 "LNA"는 리보실 당 고리의 2'-하이드록실기가 메틸렌기를 통해 당 고리의 4' 탄소 원자에 연결되어 2'-C,4'-C-옥시메틸렌 연결을 형성하도록 변형된 뉴클레오타이드를 지칭한다. LNA는 α-L-LNA 및 β-D-LNA를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0936] 본 명세서에서 사용되는 용어 "캡 구조" 또는 "말단 캡 모이어티"는 AC의 양쪽 말단에 혼입된 화학적 변형을 지칭한다.

[0937] 본 명세서에서 사용되는 용어 "투여 단위"는 약제가 제공되는 형태를 지칭한다. 실시형태에서, 투여 단위는 동결건조된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 바이알이다. 실시형태에서, 투여 단위는 재구성된 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 바이알이다.

[0938] 본 발명의 다수의 실시형태가 설명되었다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변형이 이루어질 수 있음이 이해될 것이다. 다른 실시형태는 다음 청구범위의 범위 내에 있다.

[0939] 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자의 기술 수준을 나타낸다. 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물 또는 특허 출원이 참조에 의해 원용되도록 구체적이고 개별적으로 표시된 것과 동일한 정도로 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

[0940] **실시예**

[0941] 실시예 1. 올리고뉴클레오타이드와 세포 침투 펩타이드의 접합.

[0942] **세포 침투 펩타이드에 대한 올리고뉴클레오타이드의 접합. 도 1a**에 도시된 바와 같이, 5' 포스포로티오에이트 말단에 (NH2-$(CH2)_5$-CH2-) 링커가 있는 올리고뉴클레오타이드를 펩타이드 상의 카복실레이트 또는 N-하이드록시석신이미드 에스터(NHS 에스터) 작용기를 통해 CPP에 접합시켰다. **도 1b**에 도시된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드를 아마이드 결합 형성(왼쪽) 또는 클릭 화학을 통해 세포 침투 펩타이드(CPP)에 접합시켰다. 링커/CPP를 올리고뉴클레오타이드의 5' 말단 또는 3' 말단에 구축하였다.

[0943] **PEG 스페이서를 사용한 올리고뉴클레오타이드-펩타이드 접합체의 합성. 도 2a** 및 **도 2b**에 도시된 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드-펩타이드 접합체를 올리고뉴클레오타이드 모이어티와 펩타이드 사이에 삽입되는 PEG(폴리에틸렌 글리콜) 링커를 사용하지 않고(도 2a) 그리고 사용하여(도 2b) 합성하였다. 도면에서 "R"은 팔미토일기를 나타낸다.

[0944] **다양한 유전자 표적에 대한 올리고뉴클레오타이드-펩타이드 접합체의 합성**. 예시적인 안티센스 화합물(AC), 예를 들어, DMD의 엑손 44를 표적으로 하는 **표 6A** 내지 **표 6M**의 것들 또는 이의 역 상보체 또는 **표 7**에 나타낸 AC를 본 명세서에 개시된 CPP 또는 EEV에 접합시켰다. 실시형태에서, AC를 FfΦRrRrQ의 아미노산 서열을 갖는 환식 펩타이드에 접합시켰다(EEV-1). 실시형태에서, AC를 지질기(R1)에 접합된 FfΦRrRrQ 아미노산 서열을 갖는 환식 펩타이드에 접합시켰다(EEV-1(R1)). 실시형태에서, AC를 사이클로(FfΦRrRrQ)-PEG12-OH 서열을 갖는 엔도

솜 탈출 비히클(EEV)에 접합시켰다. 실시형태에서, AC를 FGFGRGRQ 아미노산 서열을 갖는 환식 펩타이드에 접합시켰다. 실시형태에서, AC를 Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys-(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG12-OH 서열을 갖는 EEV에 접합시켰다.

표 7

DMD 의 엑손 44 를 표적으로 하는 AC

올리고 화학	설계
PMO-1	5'-GGCCAAACCTCGGCTTACTG AAAT-3'
PMO-2	5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3'
PMO-3	5'-XGAAAACGCCGCCAXXXCXCAACAGAXCXG-3', 여기서 X 는 U 또는 T 임
PMO-4	5'-TGAAAACGCCGCCATTTCTCAACAGATCTG-3'
PMO-5	5'-TGAAAACGCCGCCATTTCTCAACAG-3'
PMO-6	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'
PMO-7	5'-AACGCCGCCATTTCTCAACAGATCT-3'

[0945]

[0946] **실시예 2. DMD의 마우스 모델에서 디스트로핀의 엑손 23 스플라이싱 교정을 위해 올리고뉴클레오타이드에 접합된 세포-침투 펩타이드의 용도.**

[0947] **마우스.** 본 연구에서는 X 염색체 상의 디스트로핀 근이영양증 유전자(*Dmd*)의 엑손 23 내의 2983번 위치의 종결 코돈에 생성된 C에서 T로의 돌연변이를 포함하는 MDX 마우스(Sicinski et al. (1989) "The molecular basis of muscular dystrophy in the mdx mouse: a point mutation. Science. 244(4912):1578-80)를 사용하였다. 이 돌연변이 대립유전자를 발현하는 마우스는 절단된 디스트로핀 단백질을 생성하므로 뒤센 근이영양증("DMD")의 모델이다.

[0948] **연구 설계.** MDX 마우스를 사용하여 엑손 23을 스키핑하고 이에 따라 DMD를 치료하는 조성물의 능력을 평가하였다. 본 연구에 사용된 AC는 엑손 23을 표적으로 하는 다음 서열: 5'-GCTATTACCTTAACCCA-3'(PMO-MDX-23)을 갖는 포스포로다이아미데이트 모폴리노 올리고머(PMO)였다. PMO-MDX-23을 사이클로(FfΦRrRrQ)-PEG12-OH(EEV-1) 서열을 갖는 엔도솜 탈출 비히클(EEV)에 접합시켜 EEV-PMO 접합체(EEV-PMO-MDX-23)를 형성하였다. EEV가 없는 PMO는 PMO-MDX-23으로 지칭한다. EEV-PMO-MDX-23의 제조에 대한 개략도가 **도 4a**에 도시되어 있다.

[0949] EEV-PMO-MDX-23 및 PMO-MDX-23을 다음 용량: 1mpk, 3mpk, 10mpk, 30mpk; (mpk: 화합물의 mg/체중 kg)으로 MDX 마우스에 근육내로(IM) 또는 정맥내로(IV) 투여하였다. 총 RNA를 조직 샘플로부터 추출하고, RT-PCR로 분석하여 스플라이싱 교정의 효율을 시각화하였다.

[0950] **RT-PCR 및 웨스턴 블롯에 의한 스플라이싱 교정의 검출. 도 4b**에 도시된 바와 같이, EEV-PMO-MDX-23(1mpk, IM 또는 3mpk, IM)으로 처리된 MDX 마우스는 엑손 23이 없는 디스트로핀을 생성한 반면, PMO-MDX-23 단독으로 처리된 MDX 마우스는 엑손 23을 포함하는 디스트로핀만을 생성하였다(비처리된 대조군과 유사함).

[0951] MDX 마우스에게 10mpk의 PMO-MDX-23 및 EEV-PMO-MDX-23을 정맥내로(IV) 투여하였다. 도 **4c**에 도시된 다양한 근육 그룹(예를 들어, 대퇴사두근, 전경골, 횡경막 및 심장)의 디스트로핀 생성물은 PMO-MDX-23의 단독 전달과 대조적으로, MDX 마우스에 EEV-PMO-MDX-23을 전달하면 대퇴사두근, 전경골, 횡경막 및 심장에서 교정된 디스트로핀 스플라이싱(예를 들어, 절단된(excised) 엑손 23이 있는 디스트로핀)이 발생함을 보여준다.

[0952] **도 5a** 내지 **도 5d**는 엑손 스키핑 효능에 대한 다음 IV 투여 양생법의 효과를 보여준다: 10mpk 또는 30mpk를 1주

에 1회 투여. 특히, 30mpk EEV-PMO-MDX-23을 1주에 1회 투여하면 4개의 모든 조직: 대퇴사두근(**도 5a**), 전경골(**도 5b**), 횡경막(**도 5c**) 및 심장(**도 5d**)에서 엑손 스키핑의 백분율이 가장 높았다.

[0953] **도 6a** 내지 **도 6d**는 EEV-PMO-MDX-23의 10mpk를 주당 2회, 10mpk를 주당 2회, 10mpk를 2주당 1회 그리고 30mpk를 주당 1회 투여한 후 전경골(**도 6a**), 대퇴사두근(**도 6b**), 횡경막(**도 6c**) 및 심장(**도 6d**)에서의 엑손 23 스플라이스 교정의 백분율(RT-PCR에 의해 결정됨)을 보여준다.

[0954] **도 7a** 내지 **도 7d**는 PMO-MDX-23 또는 EEV-PMO-MDX-23의 전달 후 대퇴사두근(**도 7a**), 전경골(TA)(**도 7b**), 횡경막(**도 7c**) 및 심장(**도 7d**)에서의 웨스턴 블롯에 의해 검출된 엑손-23 교정된 디스트로핀의 양을 보여준다.

[0955] **도 8a** 내지 **도 8d**는 10mpk 또는 30mpk EEV-PMO-MDX-23-1의 정맥내 전달 후 횡경막(**도 8a**), 심장(**도 8b**), 대퇴사두근(**도 8c**) 및 전경골(**도 8d**)에서의 엑손 23 교정된 디스트로핀 및 α-액티닌의 웨스턴 블롯을 보여준다.

[0956] **도 9a** 내지 **도 9b**는 30mpk EEV-PMO-MDX-23 또는 30mpk PMO-MDX-23로 처리된 후 2주(**도 9a**) 및 4주(**도 9b**)에 MDX 마우스에서의 디스트로핀 수준을 보여준다.

[0957] **도 10a** 내지 **도 10d**는 30mpk의 PMO-MDX-23 또는 30mpk의 EEV-PMO-MDX-23을 투여한 MDX 마우스의 전경골(**도 10a**), 대퇴사두근(**도 10b**), 횡경막(**도 10c**) 및 심장(**도 10d**)에서의 엑손 23 교정의 백분율을 보여준다. EEV-PMO-MDX-23을 투여한 마우스는 PMO-MDX-23 단독을 투여한 마우스에 비해 향상된 스플라이싱 교정을 나타내었다.

[0958] **도 11a** 내지 **도 11c**는 *mdx* 마우스에서 EEV-PMO-MDX-23의 단일 IV 투여(40 mg/kg) 후 최대 8주까지 관찰된 심장(**도 11a**), 전경골(**도 11b**) 및 횡격막(**도 11c**)에서의 엑손 23 스키핑 및 디스트로핀 교정의 높고 지속적인 수준을 보여준다.

[0959] **실시예 3. DMD의 D2-*mdx* 마우스 모델에서 디스트로핀의 엑손 23 스플라이싱 교정을 위한 올리고뉴클레오타이드에 접합된 세포-침투 펩타이드의 용도.**

[0960] **마우스.** 본 연구에서는 D2-*mdx* 마우스 모델을 사용하였다(Fukada et al. (2010) "Genetic background affects properties of satellite cells and mdx phenotypes. Am. J. Path.176(5):2414-24).

[0961] EEV-PMO-MDX-23-2(EEV = Ac-PKKKRKV-미니PEG-K(사이클로(GfFGrGrQ))-PEG_{12}-OH; PMO = 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3') 또는 PMO-MDX-23-2(5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3')의 20 mg/kg을 월간 반복 투여한 후 다양한 근육 그룹(n=6)에서 견고한 엑손 23 스키핑이 관찰되었다. **도 12a** 내지 **도 12d**는 D2-*mdx* 마우스가 심장(**도 12a**), 횡경막(**도 12b**), 전경골(**도 12c**) 및 삼두근(**도 12d**)에서 광범위한 디스트로핀 발현 및 근육의 온전한 복원을 나타냄을 보여준다.

[0962] 사르코글리칸은 디스트로핀 및 기타 디스트로핀 연관 단백질과 상호작용하여 디스트로핀 연관 당단백질 복합체(dystrophin-associated glycoprotein complex: DAGC)를 형성한다. DAGC는 수축 유도성 손상으로부터 육종을 보호한다. D2-*mdx* 마우스 모델에서, 디스트로핀의 손실은 알파-사르코글리칸의 손실로 이어진다. D2-*mdx* 마우스를 PMO-MDX-23-2 또는 EEV-PMO-MDX-23-2의 4×Q4W(20 mg/kg) IV 주사로 처리하였다. EEV-PMO-MDX-23-2 처리된 근육은 디스트로핀 또는 알파-사르코글리칸의 제한된 복원을 보인 PMO-MDX-23-2 처리된 마우스와 대조적으로 디스트로핀 및 알파-사르코글리칸 둘 다의 거의 완전한 복원을 보여주었다(데이터 미제시).

[0963] D2-*mdx* 마우스에게 20 mg/kg의 PMO-MDX-23-2 또는 EEV-PMO-MDX-23-2(매월)를 투여하였다. 크레아틴 카이네이스(CK) 수준(**도 13a**) 및 기능적 판독(줄 매달림 시간(**도 13b**) 및 정규화된 악력(**도 13c**))을 야생형(DBA/2J) 및 비히클(식염수) 처리된 마우스와 비교하였다. EEV-PMO-MDX-23을 사용한 처리는 PMO-MDX-23-2 단독과 비교하였을 때 혈청 CK 수준을 정규화하고 근육 기능을 크게 개선하였다(**도 13a** 내지 **도 13c**).

[0964] **실시예 4: EEV-PMO-MDX-23-2 투여 후 D2MDX 마우스에 대한 지속기간 및 반복 투여 효과**

[0965] **방법:** D2/MDX 마우스에게 D2/MDX 마우스 모델에서 엑손 23 스키핑을 유도하는 20mpk, 40mpk 또는 80mpk의 EEV-PMO-MDX-23-2(EEV = Ac-PKKKRKV-미니PEG-K(사이클로(GfFGrGrQ))-PEG_{12}-OH; PMO = 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3') 또는 PMO-MDX-23-2(5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3')를 투여하였다. 단일 투여 지속기간의 효과를 테스트하고 단일 투여 범위를 검색하기 위해 1주, 2주, 4주 및 8주에 조직을 채취하였다. D2/MDX 마우스에서 4주 동안 매주 40mpk를 투여하고, 반복 투여 효과를 테스트하기 위해 최종 투여 후 1주 후에 희생시켰다.

[0966] **결과:** 단일 투여 후 4개의 모든 조직에서 엑손 스키핑(**도 14a** 내지 **도 14d**)뿐만 아니라 디스트로핀 생성이 관찰

되었다. 엑손 스키핑은 2주 주사 후 후 제2주에 최고조에 달하였으며, 골격근에서는 적어도 8주 동안 유지되었다: **도 15a**(삼두근) 및 **도 15b**(전경골). 엑손 스키핑의 감소가 횡경막(**도 15c**) 및 심장(**도 15d**)에서 4주 및 8주 후에 관찰되었다. 4주 투여 후, 4개의 모든 조직, 특히 심장 근육(**도 16**)에서 누적 엑손 스키핑이 관찰되었다(조직은 마지막 투여 후 1주에 수집하였음).

[0967] **실시예 5: D2MDX의 기능 검정**

[0968] **방법:** 수컷 D2/MDX 및 DBA/2J(야생형) 마우스(그룹당 n=8)의 6개의 그룹에 비히클(식염수)인 PMO-MDX-2(5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3') 또는 엑손 23을 표적으로 하는 2개의 EEV-PMO 작제물 중 하나(EEV-PMO-MDX23-2: EEV = Ac-PKKKRKV-미니PEG-K(사이클로(GfFGrGrQ))-PEG_{12}-OH; PMO = 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3'; 및 EEV-PMO-MDX-23-3: EEV = Ac-PKKKRKV-Lys(Ff ΦGrGrQ)-PEG_{12}-K(N_3)-NH_2; PMO = 5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3'-C4COT)를 2주마다 총 6회 용량으로 정맥내로 투여하였다. C4COT = 사이클로옥트-2-인-1-O-$(CH_2)_4$-O-C(O). 투여량은 도면에 나열되어 있다. 크레아틴 카이네이스 수준, 악력 및 줄에 매달린 시간(wire-hang time)을 4주마다 총 4회 결정하였다.

[0969] **결과:** EEV-PMO-MDX-23-2 80mpk Q2W 처리에 대한 매달린 시간은 첫 번째 주사 후 2주까지 나머지 그룹보다 약간 더 높았으며, 비히클 D2.mdx 그룹에 비해 첫 번째 주사 후 4주 및 8주에 증가하는 통계적으로 유의미한 개선을 계속 보여준다(**도 17**). 처리 12주 후, EEV-PMO-MDX-23-2 80mpk Q2W는 WT 동물과 통계적으로 구별할 수 없었다(**도 17**). 로딩 용량(각각 80mpk 및 30mpk)을 사용한 EEV-PMO-MDX-23-2 40pmk Q2W 및 EEV-PMO-MDX-23-3 15mpk Q2W 처리는 첫 번째 치료 후 8주에 시작하여 표현형 개선의 징후가 처음으로 명백해지는 처리 12주까지 안정 상태를 유지하는 비히클 D2.mdx 그룹에 비해 상당히 더 높은 줄 매달림 시간을 보여주었다(**도 17**). PMO-MDX-23-2 단독 처리는 비히클 D2.mdx 그룹 및 비히클 대조군 그룹과 동일한 경향을 따르는 것으로 나타났다.

[0970] 4개의 시점: 투여 전 및 4주, 8주 및 12주에서 혈청 크레아틴 카이네이스(CK) 수준을 결정하였다. EEV-PMO-MDX-23-2 또는 EEV-PMO-MDX-23-3로 처리된 마우스는 야생형에 가까운 혈청 CK의 상당한 감소를 보여주었다. PMO-MDX-23-2로 처리된 마우스는 투여 후 모든 시점에서 유의미한 감소를 나타내지 않았다(**도 18a** 내지 **도 18c**).

[0971] 투여 전(**도 19a**) 및 12주(**도 19b**)에 악력을 측정하였다. 처리된 마우스에서 악력의 용량 의존적 증가가 관찰되었다. 비히클 및 PMO 처리된 마우스는 유의미한 개선을 나타내지 않았다.

[0972] **실시예 6. hDMD의 엑손 44의 스플라이싱 교정을 위한 올리고뉴클레오타이드에 접합된 세포-침투 펩타이드의 용도**

[0973] **목적:** 본 연구는 안티센스 화합물 및 세포 침투 펩타이드를 포함하는 화합물의 효과를 연구하기 위해 hDMD와 CD1 마우스 모델 및 NHP 모델을 사용한다. 화합물 각각은 환외 서열 PKKKRKV를 포함하였다.

[0974] **평가된 화합물**: EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2 및 EEV-PMO-DMD44-3을 본 연구에서 평가하였다. 이들 화합물에 대한 서열 정보는 **표 8**에 나타나 있다.

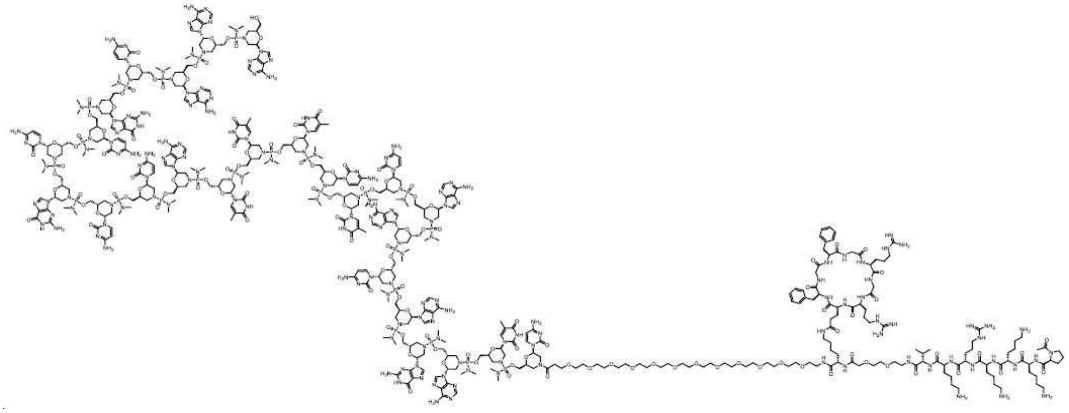
표 8

[0975] **EEV 화합물**

화합물	펩타이드 서열	AC의 핵산 서열 (5'-3')	Chem
EEV-PMO-DMD44-1	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys-(사이클로[FGFGRGRQ])-PEG_{12}-OH	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'	PMO
EEV-PMO-DMD44-2	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[GfFGrGrQ])-PEG_{12}-OH	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'	PMO
EEV-PMO-DMD44-3	Ac-PKKKRKV-AEEA-Lys(사이클로[FfΦGrGrQ])-PEG_{12}-OH	5'-AAACGCCGCCATTTCTCAACAGATC-3'	PMO
EEV-PMO-MDX-23-3	Ac-PKKKRKV-Lys(Ff-GrGrQ)-PEG12-K(N_3)-NH_2	5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-3'-C4COT	PMO

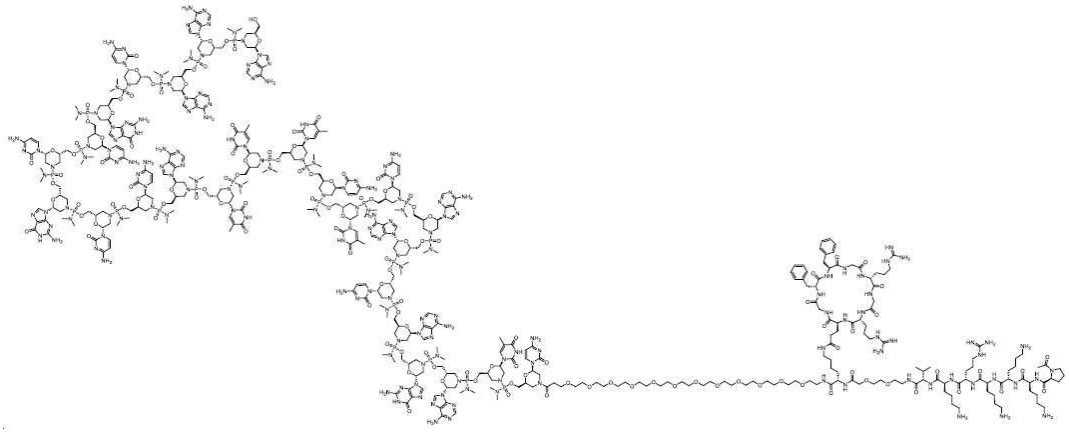
[0976] EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2 및 EEV-PMO-DMD44-3의 구조가 아래에 제공되어 있다. **도 20a** 내지 **도 20d**는 EEV-PMO-DMD44-1(**도 20a**), EEV-PMO-DMD44-2(**도 20b**), EEV-PMO-DMD44-3(**도 20c**) 및 EEV-PMO-MDX-23-3(**도 20d**)에 대한 합성 반응식을 제공한다.

[0977] EEV-PMO-DMD44-1



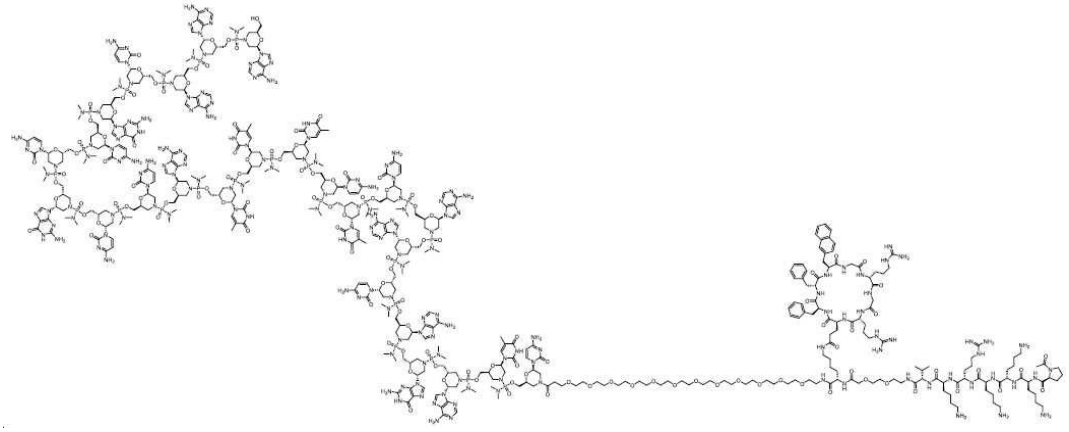
[0978]

[0979] EEV-PMO-DMD44-2



[0980]

[0981] EEV-PMO-DMD44-3



[0982]

[0983] **화합물 합성 및 정제:** 다음 절차에 따라 화합물을 합성하였다. TFA-라이신 보호된 cCPP를 **표 8**의 AC와 반응시킨 후 탈보호시켜 cCPP-AC 접합체를 얻었다. 간략하게는, cCPP를 DMSO(10mM, 1.8㎖) 중 HATU(2.0당량) 및 DIPEA(2.0당량)와 반응시켜 사전 활성화시켰다. 실온에서 10분 후, 사전 활성화된 용액을 DMSO(10mM, 1.8㎖) 중 AC의 용액과 합하고, 완전히 혼합하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 반응은 BEH C18 칼럼(130Å, 1.7㎛, 2.1㎜×50㎜), 완충액 A: 물 (0.1% FA), 완충액 B: 아세토나이트릴(0.1% FA), 유속: 0.4 ㎖/분을 사용하여 2% 완충액 B에서 시작하여 3.4분에 걸쳐 최대 98%까지 증가시키면서 LCMS(Q-TOF)로 모니터링하였다. 완료되면, 반응 혼합물을 0.2M KCl(aq) pH 12(36㎖)로 희석하여 TFA-보호된 라이신의 현장 탈보호를 개시하였다. 반응은 위에 언급된 분석 방법을 사용하여 LCMS(Q-TOF)로 모니터링하였다. 미정제 혼합물을 C18 역상 칼럼(Oligo clarity 칼럼, 150㎜*21.2㎜)에 직접 로딩하였다. 그런 다음, 미정제 생성물을 용매로서 0.1% FA와 아세토나이트릴을 포함하는 물과 20 ㎖/분의 유속을 사용하여 60분에 걸쳐 5% 내지 20%의 구배를 사용하여 정제하

였다. 목적하는 생성물을 포함하는 분획을 풀링하고, 용액의 pH를 0.5M NaOH를 사용하여 7로 조정하였다. 용액을 동결시키고 동결건조시켜 백색 분말을 얻었다. 폼에이트염을 물 중 1M NaCl로 cCPP-AC 접합체를 재구성하여 염화물로 교환하고, 3-kD MW-컷오프 아미콘 튜브(20분 내지 40분 동안 3500rpm으로 원심분리)를 통해 반복 세척하였다. 이 과정을 1M NaCl로 3회, 식염수(0.9% NaCl, 멸균, 내독소 없음)로 3회 수행하였다. 적절한 염 농도를 확인하기 위해 마지막 여과액의 전도도를 평가하였다. 식염수를 사용하여 목적하는 제형 농도로 용액을 추가로 희석하고, 생물안전성 캐비닛에서 멸균 여과하였다. 각 제형의 농도를 여과 후 다시 측정하였다.

[0984] EEV-PMO-DMD44-1을 74% 수율로 얻었다. 각 제형의 순도 및 동일성을 액체 크로마토그래피-질량 분석법 4중극자 비행 시간 질량 분석법(QTOF-LCMS)으로 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-1은 RP-FA에 따르면 99% 순수하고 CEX에 따르면 78% 순수한 것으로 결정되었다. $C_{411}H_{661}N_{173}O_{130}P_{24}$에 대한 *MW* 계산치는 10849.26이었다. QTOF-LCMS에 의해 확인된 *MW*는 10850.95였다. 내독소 양, 잔류물이 없는 펩타이드, FA 함량 및 pH에 대해 제형을 추가로 검정하였다.

[0985] EEV-PMO-DMD44-2를 70% 수율로 얻었다. 각 제형의 순도 및 동일성을 QTOF-LCMS로 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-2는 RP-FA에 따르면 99% 순수하고 CEX에 따르면 78% 순수하였다. $C_{411}H_{661}N_{173}O_{130}P_{24}$에 대한 *MW* 계산치는 10849.26이었다. QTOF-LCMS에 의해 확인된 *MW*는 10850.88이었다.

[0986] EEV-PMO-DMD44-3을 68% 수율로 얻었다. 각 제형의 순도 및 동일성을 QTOF-LCMS로 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-3은 RP-FA에 따르면 86.3% 순수하였다(불순물은 미반응 AC였음). $C_{422}H_{669}N_{173}O_{130}P_{24}$에 대한 *MW* 계산치는 10989.45였다. QTOF-LCMS에 의해 확인된 *MW*는 10990.07이었다.

[0987] ***hDMD 마우스 모델:*** hDMD 마우스는 Jackson Lab(STOCK Tg(DMD)72Thoen/J; 스톡 번호: 018900)에서 주문하여 자체 사육하였다. Transnetyx에서 반접합성 마우스의 유전자형을 추가로 분석하였다. 모든 그룹에게 정맥내(iv) 주사를 통해 동물당 5 ml/kg을 투여하고, 주사 후 제5일에 희생시켰다. 모든 동물을 CO_2 질식에 의해 안락사시킨 후 심장 천자를 통해 말단 혈액을 채혈하였다. 얻을 수 있는 최대 부피의 전혈을 리튬 헤파린 튜브에 수집하고, 혈장으로 처리하였다. 혈장의 일부는 테스트 시설(IDEXX)에서 임상 화학에 대해 분석하였고, 나머지는 명목상 -70℃에서 냉동 보관하였다. 조직(삼두근, TA, 횡경막, 심장, 신장, 간, 뇌)을 수거하고, 액체 질소에서 급속 냉동시키고, 엑손 스키핑 및 약물 농도 측정에 대한 추가 평가를 위해 -80℃에서 보관하였다. 동물의 연령을 일치시키고, **표 9**에 따라 여덟(8)개의 치료 그룹으로 지정하였다. 그룹 1-1(호모 hDMD 마우스 3마리, 6주령), 1-2(호모 hDMD 마우스 3마리, 6주령), 1-3(수컷 1마리, 암컷 1마리, 반 hDMD(hemi hDMD), 11주령), 1-4(수컷 1마리, 암컷 1마리, 반 DMD, 11주령)에는 각각 10, 20, 40 및 80 체중 킬로그램당 밀리그램(mpk)의 EEV-PMO-DMD44-1을 투여하였다. 그룹 2-1(호모 hDMD 마우스 3마리, 6주령), 2-2(호모 hDMD 마우스 3마리, 6주), 2-3(수컷 1마리, 암컷 1마리, 반 hDMD, 11주), 2-4(수컷 1마리, 암컷 1마리, 반 DMD, 11주)에는 각각 10mpk, 20mpk, 40mpk 및 80mpk의 EEV-PMO-DMD44-2를 투여하였다. 모든 동물은 예정된 안락사 시간까지 생존하였다. 프로토콜에 따라 조직을 수집하였다. 다양한 조직 샘플에서 AC 및 cCPP-AC의 양을 LC-MS로 정량화하였다. 다양한 조직에서의 엑손 스키핑을 RT-PCR 및 엑손 44 교정의 정량화로 분석하였다.

표 9

hDMD 실험의 실험적 설계

그룹	동물 수	테스트 제품	용량 수준 mg/kg	용량 부피(5mL/kg)	투여 양생법	종료 시점
1-1	3	EEV-PMO-DMD44-1	10	5	IV	주사 후 5일
1-2	3	EEV-PMO-DMD44-1	20			
1-3	3	EEV-PMO-DMD44-1	40			
1-4	3	EEV-PMO-DMD44-1	80			
2-1	2	EEV-PMO-DMD44-2	10			
2-2	2	EEV-PMO-DMD44-2	20			
2-3	2	EEV-PMO-DMD44-2	40			
2-4	2	EEV-PMO-DMD44-2	80			

[0988]

[0989] *CD1 마우스 모델:* EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2의 내약성을 7주령의 CD1 수컷 마우스를 사용하여 평가하였다. 이는 Charles River Lab에서 주문하였으며, 수령 후 주사 전 5일 동안 적응시켰다. 동물을 연령 일치시키고, **표 10**에 따라 아홉(9)개의 치료 그룹으로 지정하였다. 그룹 1(마우스 3마리, 식염수); 그룹 2-1(마우스 3마리), 2-2(마우스 2마리), 2-3(마우스 2마리), 2-4(마우스 2마리), 2-5(마우스 3마리), 2-6(마우스 3마리)에는 각각 80mpk, 100mpk, 120mpk, 160mpk, 200mpk 및 300mpk의 EEV-PMO-DMD44-1을 투여하였다. 그룹 3-1(마우스 3마리), 3-2(마우스 2마리), 3-3(마우스 2마리), 3-4(마우스 2마리), 3-5(마우스 3마리), 3-6(마우스 3마리)에는 각각 80mpk, 100mpk, 120mpk, 160mpk, 200mpk 및 300mpk의 EEV-PMO-DMD44-2를 투여하였다.

표 10

CD1 마우스에서의 내약성 연구의 실험적 설계

그룹	동물 수	테스트 제품	용량 수준 mg/kg	용량 부피(5mL/kg)	투여 양생법	종료 시점
1	3	식염수	–	5	IV	주사 후 7일
2-1	3	EEV-PMO-DMD44-1	80			
2-2	2	EEV-PMO-DMD44-1	100			
2-3	2	EEV-PMO-DMD44-1	120			
2-4	2	EEV-PMO-DMD44-1	160			
2-5	3	EEV-PMO-DMD44-1	200			
2-6	3	EEV-PMO-DMD44-1	300			
3-1	2	EEV-PMO-DMD44-2	80			
3-2	2	EEV-PMO-DMD44-2	100			
3-3	2	EEV-PMO-DMD44-2	120			
3-4	2	EEV-PMO-DMD44-2	160			
3-5	3	EEV-PMO-DMD44-2	200			
3-6	3	EEV-PMO-DMD44-2	300			

[0990]

[0991] ***NHP 모델:*** 화합물(EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2)당 한 마리의 암컷 동물에게 **표 11**에 따라 10 ㎖/kg의 투여 부피로 60분간 IV 주입에 의해 투여하였다. 각 테스트 제품은 4 mg/㎖의 식염수로 제형화하였다. 추가 PK 분석을 위해 **표 12**에 표시된 시간에 혈액 및 소변을 채취하였다. 주사 후 제2일에 이두근에 대한 생검을 수행하였다. 주사 후 제7일에 동물을 희생시키고, 골격근(대퇴사두근, 횡경막, 이두근, 삼각근, 전경골(TiA), 평활근(식도, 대동맥, 결장) 및 심장 근육(심실, 심방)을 채취하여 분쇄한 후, 엑손 스키핑 및 조직에서의 생체분포에 대한 평가를 위해 -80℃에서 보관하였다.

표 11

NHP 연구의 실험적 설계

그룹	동물의 성별	테스트 제품	용량 수준 mg/kg	용량 부피(5mL/kg)	투여 양생법	종료 시점
1	암컷	EEV-PMO-DMD44-1	40	10	IV 주입	주사 후 7일
2	암컷	EEV-PMO-DMD44-2	40			

[0992]

표 12

NHP 연구 시점

그룹	매트릭스	검출 인자	혈액 부피	샘플 부피	투여 후 샘플링 시점
1-2	혈청	사이토카인 패널 IL-2/4/5/6/10/13/TNFα/IFN-γ	0.5 mL	2 x 100 µL	투여 전(0 시간), 1.5 시간(완전 주입후 30 분), 2 시간 및 7 일
	혈액	혈액학	0.5 mL	0.5 mL	투여 전(0 시간), 주입 중 5 분(0.083 시간), 24 시간 및 7 일
	혈청	마그네슘을 포함한 임상화학	1 mL	400 µL	투여 전(0 시간), 주입 중 5 분(0.083 시간), 24 시간 및 7 일
	혈액	응고	1.8 mL	1.8 mL	투여 전(0 시간), 주입 중 5 분(0.083 시간), 24 시간 및 7 일
	소변	크레아티닌을 포함한 소변검사		4 mL	투여 전(0 시간), 및 25 시간 내지 29 시간 및 7 일
	소변 및 대변*	의뢰할 추가적인 수집물		4 mL	투여 전(0), 0 시간 내지 6 시간, 6 시간 내지 12 시간, 12 시간 내지 24 시간, 24 시간 내지 48 시간
	근육*	상완이두근의 생검 부위당 2 개의 코어		2x(30-50) mg	2 일
	혈장*	의뢰자에게 보내는 PK 분석 샘플	0.5 mL	2X 100 µL	투여 전(0 시간), 주입 중 30 분(0.5 시간), 주입 중 55 분(0.92 시간), 65 분(1.083 시간), 1.5 시간, 3 시간, 9 시간, 25 시간, 39 시간, 97 시간 및 169 시간(7 일)
	1. 주입 시작점으로부터 시간. 2. 임상 화학, 응고 및 소변검사의 투여 전 테스트는 투여 1 주일 전에 수행함.				

[0993]

[0994] ***생물분석적 샘플 분석:*** 조직을 해동시키고, 무게를 측정하고, 1x 프로테이스 저해제 칵테일(ThermoFisher Scientific, Ref# 1860932)이 첨가된 RIPA 완충액으로 균질화시켰다(w/v, 1/5). 균질화물을 4℃에서 5분 동안 5000rpm으로 원심분리하였다. 상청액을 H_2O, 아세토나이트릴 및 MeOH의 혼합물로 침전시키고, 4℃에서 15분 동안 15000rpm으로 원심분리하였다. Triple Quad Sciex 4500 기기와 통합된 Shimadzu UPLC를 사용하는 LC-MS/MS 분석을 위해 상청액을 주입 플레이트로 옮겼다. LC-MS/MS 검정의 동적 범위는 25 ng/g 조직 내지 50,000 ng/g 조직이었다. LC-MS/MS 방법에 대한 자세한 내용은 여기 및 표 **13**에 요약되어 있다. 간략하게는, UPLC는 Waters Acquity UPLC BEH C4, 300A, 1.7㎛, 2.1×150㎜, 완충액 A: H_2O, 0.2% FA, 완충액 B: H_2O 중 95% 아세토나이트릴, 0.2% FA, 유속(0.3 ㎖/분) 및 칼럼 온도 50℃를 사용하여 작동시켰다. 2% 완충액 B를 사용하여 10분 실행하고, 3.5분 동안 최대 35%까지 증가시킨 후, 1분 동안 90%, 2.5분 동안 90% 구배를 유지하고, 마지막으로 2분 동안 2% 구배에서 실행하였다. MRM 방법은 양극성(positive polarity)으로 7.5분 동안; 터보 스프레이 이온 공급원; 커튼 가스: 25; 충돌 가스: 6; 이온 스프레이 전압: 5500; 온도: 500; 이온 공급원 가스1: 60; 이온 공급원 가스2: 60으로 확립되었다. **표 13**의 밑줄이 그어진 행은 온전한 및 상응하는 대사산물(235-PEG12)의 정량화에 사용하였다.

표 13

LC-MS/MS 검정

분석물	Q1 질량 (Da)	전하 상태 (m/z)	Q3 질량 (Da)	시간 (msec)	DP(볼트)	EP(볼트)	CE(볼트)	CXP(볼트)
EEV-PMO-DMD44-1/EEV-PMO-DMD44-2	835.6	13	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
EEV-PMO-DMD44-1/EEV-PMO-DMD44-2	776.0	14	112.0	300.0	80.0	8.0	80.0	10.0
EEV-PMO-DMD44-1/EEV-PMO-DMD44-2	724.3	15	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
M1	879.0	10	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
M1	799.2	11	112.0	50.0	80.0	8.0	80.0	10.0
M1/245-PEG12	732.7	12	112.0	300.0	80.0	8.0	80.0	10.0
IS	863.8	12	112.0	100.0	80.0	8.0	80.0	10.0

[0995]

[0996] *RT-PCR에 의한 엑손 스키핑 분석*: hDMD 마우스 및 NHP는 전장 인간 디스트로핀 mRNA를 발현한다. AC의 전달은 스플라이싱을 변경하여 엑손 44 스키핑 후 디스트로핀 mRNA를 단축시킬 수 있다. 1㎖의 RLT 용해 완충액(Qiagen, Cat# 79216)을 사용하여 조직을 균질화하였다. 스플라이싱 교정 과정의 검출은 조직으로부터 추출된 RNA가 먼저 cDNA로 역전사되는 RT-PCR로 측정하고, 다음 프라이머 세트: 정방향 프라이머 5'-GCTCAGGTCGGATTGACATT-3' 및 역 프라이머 5'-GGGCAACTCTTCCACCAGTA-3'를 사용하여 1단계 RT-PCR로 추가 분석하였다. 스플라이싱 교정이 없는 조직의 RT-PCR 판독은 641bp의 유전자 단편 그리고 스플라이싱 교정 후에 나타난 새로운 493bp 유전자 단편을 나타내었다. 스키핑된 전사체 및 스키핑되지 않은 전사체에 해당하는 밴드의 상대적 강도의 정량화를 AC 유도성 엑손-44-스키핑 효능을 평가하였다. RT-PCR에 의해 검출된 스플라이싱 교정의 정도(백분율)를 다음 방정식을 사용하여 계산하였다: 교정 % =(493bp 단편 밴드의 강도)/(493bp 단편 밴드의 강도 + 641bp 단편 밴드의 강도).

[0997] **결과: 환자의 근관에서 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2 및 EEV-PMO-DMD44-3의 효능(도 21)**: 각각 인간 디스트로핀(DMD) 엑손 44를 표적으로 하는 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2 및 EEV-PMO-DMD44-3을 DMD 환자 유래 근육 세포에서 DMD 엑손 44 스키핑에 대해 평가하였다. 간략하게는, 엑손 45 결실을 보유하는 환자 유래 근육아세포(DMDΔ45)를 2% 말 혈청과 1% 닭 배아 추출물이 보충된 PromoCell 골격근 세포 성장 배지에서 24시간 동안 1μM, 3μM 및 10μM의 EEV-PMO-DMD44-1, EEV-PMO-DMD44-2 및 EEV-PMO-DMD44-3으로 처리하였다. 24시간 후, 화합물 함유 성장 배지를 DMEM/2% 말 혈청으로 교체하고, 5일 동안 인큐베이션하여 근아세포 융합 및 근관으로의 분화를 촉진시켰다. 엑손 44 스키핑을 평가하기 위한 RNA 추출을 위해, 또는 프로테이스 저해제를 포함하는 RIPA 완충액에서의 단백질 추출 및 디스트로핀 단백질 복원의 Simple Western 분석을 위해 세포를 세척하고 수거하였다. 디스트로핀 수준은 HSP90에 대해 정규화하였으며, 비처리된 건강한 샘플에 대해 표시하였다. 데이터는 평균±SD(n=3-4)로 표시하였다. 비처리된 DMDΔ45 환자 유래 세포는 기준선에서 약 10%의 자발적 DMD 엑손

44 스키핑 및 약 4%의 디스트로핀 단백질을 발현한다. 3가지 화합물은 모두 용량 의존적 방식으로 강력한 엑손 스키핑 및 디스트로핀 단백질 복원을 나타내었다.

[0998] **도 22a** 및 **도 22b**는 IV 주사를 통해 EEV-PMO-DMD44-1(**도 22a**) 및 EEV-PMO-DMD44-2(**도 22b**)가 투여된 hDMD 마우스에서의 엑손 스키핑을 보여준다. 심각한 부작용은 관찰되지 않았다. 마우스는 모두 주사 후, 주사 후 24시간 및 희생일 이전에 정상이었다. 간 및 신장 독성을 측정하는 임상 화학(알칼리성 포스파테이스(Alkaline Phosphatase: ALP), 아스파테이트 트랜스아미네이스(Aspartate transaminase: AST), 알라닌 아미노트랜스퍼레이스(Alanine Aminotransferase: ALT), 알부민, 혈액 요소 질소(Blood Urea nitrogen: BUN), 크레아티닌, 칼슘, 인, 클로라이드, 포타슘, 소듐, BUN/크레아티닌, 마그네슘)뿐만 아니라 용혈 및 지질혈증 지수를 IV 주사 후 제5일에 평가하였다. EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2 처리된 마우스에서의 임상 화학 평가에 의해 유의미한 독성은 검출되지 않았다. 다양한 근육 그룹에서의 조직 농도 및 엑손 스키핑을 10mpk, 20mpk, 40mpk 및 80mpk의 IV 투여 후 제5일에 평가하였다. 각각 심장/삼두근/TiA/횡경막 조직에서의 EEV-PMO-DMD44-1의 각 용량에 대해 다음과 같은 엑손 스키핑이 달성되었다: 10mpk(0%, 6%, 12%, 6%); 20mpk(0%, 22, 36%, 33%); 40mpk(20%, 94%, 99%, 82%); 80mpk(79%, 97%, 99%, 98%). 각각 심장/삼두근/TiA/횡경막 조직에서의 EEV-PMO-DMD44-2의 각 용량에 대해 다음과 같은 엑손 스키핑이 달성되었다: 10mpk(0%, 17%, 22%, 14%); 20mpk(2%, 44, 58%, 35%); 40mpk(17%, 92%, 95%, 83%); 80mpk(79%, 98%, 99%, 99%). 전체 크기 인간 DMD 유전자를 보유하는 트랜스제닉 뮤린 모델의 심장 및 골격근에서 EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2 모두에 대해 강한 용량 의존적 축적 및 강력한 엑손 스키핑이 관찰되었다. 더 낮은 용량인 10mpk 및 20mpk에서, EEV-PMO-DMD44-2 약물 노출 및 효능은 EEV-PMO-DMD44-1보다 약간 더 높았다. 그러나, 이 효과는 40mpk 용량에서 감소하기 시작하였으며, 두 화합물 모두 모든 골격근에서 동일한 높은 수준의 엑손 스키핑(80% 이상)을 나타내었다. EEV-PMO-DMD44-1에 대한 해당 조직 농도는 100 ng/g 내지 300 ng/g 조직 범위인 반면, EEV-PMO-DMD44-2의 경우 이 범위는 약간 더 높은 수치인 300 ng/g 내지 500 ng/g 조직 농도로 이동하였다. 흥미롭게도, 심장에서의 EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2 모두에 대한 최소 유효 용량은 각각 그램당 170ng 및 350ng의 조직 농도에 해당하는 40mpk로 달성되었다.

[0999] EEV-PMO-DMD44-1은 80mpk, 100mpk, 160mpk, 200mpk 및 300mpk의 용량으로 CD1 마우스에 투여된 모든 용량에서 내약성이 매우 우수하였다. 주사 후 1시간에 완전히 해결된 일시적인 증상만 관찰되었다. 주사 후 제1일 및 제7일에는 바이오마커 이상이 관찰되지 않았다. EEV-PMO-DMD44-2은 내약성이 낮았다. EEV-PMO-DMD44-2의 최고 용량인 300mpk에서는 3마리의 마우스 중 1마리가 주사 후 1시간 내지 3시간 이내에 죽었다. EEV-PMO-DMD44-2의 보다 낮은 용량인 200mpk에서는, 3마리의 마우스 중 1마리가 심각한 증상(자극에 반응하지 않음, 귀가 뒤로 젖혀짐, 호흡이 느려짐, 올바른 자세를 유지하지 어려움)을 나타내었다. 이러한 증상은 점차 악화되어 근육 경련을 동반하였다. 160mpk 및 80mpk의 더 낮은 용량에서는 증상이 관찰되지 않았다. 놀랍게도, 100mpk에서는 마우스 3마리의 마우스 중 1마리가 주사 후 2시간에 지연된 증상을 나타내었지만; 주사 후 제1일 및 제7일에는 완전히 정상이었다.

[1000] cCPP-AC 접합체의 엑손 스키핑 효능을 추가로 입증하기 위해, NHP를 사용하였다. 구체적으로, 온전한 근육 조직을 가지고 있는 사이노몰구스 원숭이에게 내약성이 우수한 EEV-PMO-DMD44-1 또는 EEV-PMO-DMD44-2를 40 mg/kg으로 60분간 IV 주입하였다. 보다 구체적으로, 동물은 처리 45분부터 메스꺼움을 경험하였으나 이는 처리 후 대략 3시간 후에 상당히 해소되었으며, 동물은 더 기민해지고 덜 구부정해지고 식이를 먹었다. 투여 후 대략 20시간에 동물은 동물을 표현형적으로 "정상"이게 하는 밝고, 기민하고 빠른 반응을 보였고(bright, alert, and responsive: BAR), 케이지에 비스킷이 하나도 남지 않았으며, 식이를 먹는 것이 관찰되었다.

[1001] 주사 후 제2일 및 제7일에 임상 화학 패널에서는 어떠한 이상도 관찰되지 않았다. 다양한 조직에서의 엑손 44 스키핑 백분율을 표준 프로토콜에 따라 분석하였다. **도 23a** 내지 **도 23b**는 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 엑손 스키핑(**도 23a**) 및 약물 노출(**도 23b**)을 도시한다. **도 24a** 내지 **도 24b**는 EEV-PMO-DMD44-2에 대한 엑손 스키핑(**도 24a**) 및 약물 노출(**도 24b**)을 도시한다. 두 화합물 모두 주사 후 제7일에 IV 투여된 40mpk의 다양한 근육 그룹에 걸친 우수한 엑손 스키핑 수준을 보여주었다. EEV-PMO-DMD44-1은 효능의 관점에서 TiA, 횡경막에서 탁월한 성능을 보였고, 심실 및 심방에서는 덜 두드러졌다. 모든 골격근에서 78% 이상의 엑손 스키핑이 달성되었으며, 횡경막에서는 최대 98.4%가 달성되었다. 심장 조직에서, 40mpk의 EEV-PMO-DMD44-1은 심실 및 심방에서 각각 31.9% 및 23.4%를 나타내었다. 평활근에서는, 식도가 57.1%로 가장 높은 효능을 보였다. EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-2는 모두 약리학적으로 관련된 농도로 다양한 조직에 분포된다. 심장 조직의 심실 및 심방, 특히 식도 및 결장과 같은 일부 경우에, 동일한 조직 농도가 동일한 기능적 전달이 되지는 않았다. 이는 다양한 조직에서의 엔도솜 탈출 수준이 상이할 수 있음을 나타낼 수 있다. 그럼에도 불구하고, 골격근에서는 그램당 대략

200ng의 조직 농도가 80% 이상의 강력한 엑손 스키핑과 상관관계가 있는 반면, 심장 조직에서는 그램당 800ng 내지 1000ng의 조직 농도가 심방 및 심실에서 대략 결합된 50%의 엑손 스키핑과 상관관계가 있다. 단일 용량인 40mpk의 cCPP-AC 접합체만으로 50%의 엑손 스키핑은 심장 조직이 전달하기에 더 까다로운 조직이며 DMD와 같은 신경근 장애의 치료에 중요한 조직이기 때문에 매우 고무적이다.

[1002] ***환자 유래 근육 세포:*** 엑손 44 스키핑을 위한 화합물(EEV-PMO-DMD44-1)을 DMD 환자 유래 근육 세포에 첨가하고, DMD 전사체 교정을 위한 인간 서열 특이적 PMO를 테스트하기 위해 전장 인간 디스트로핀 유전자를 발현하는 hDMD 트랜스제닉 마우스에 투여하였다. **도 25a**는 EEV-PMO-DMD44-1로 처리된 DMD 환자 유래 근육 세포에서의 강력한 용량 의존적 엑손 스키핑 및 디스트로핀의 복원을 보여준다. 용량 의존적 엑손 44 스키핑 및 디스트로핀 단백질 복원이 비처리된 환자 유래 세포 및 건강한 세포 둘 다와 비교하여 EEV-PMO-DMD44-1로 처리된 DMD 환자 유래 근육 세포에서 관찰되었다(각각 최대 100% 및 43.7%). **도 25b**는 10 mg/kg 내지 80 mg/kg 범위의 다양한 수준의 상승하는 IV 용량의 EEV-PMO-DMD44-1을 투여한 후 전장 인간 *DMD* 유전자의 통합된 카피를 보유하는 트랜스제닉 마우스의 심장 및 골격근에서의 용량 의존적 조직 노출 및 엑손 스키핑을 보여준다. 엑손 스키핑 및 조직 노출은 각각 투여 후 제5일에 평가하였다. 번역 관련 용량(translationally relevant dose)에서 최대 80%의 조직 노출 및 최대 100%의 엑손 스키핑의 용량 의존적 수준이 관찰되었다.

[1003] 용량 의존적 조직 노출 및 엑손 스키핑이 10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg 및 80 mg/kg의 EEV-PMO-DMD44-1의 정맥내(IV) 투여 후 hDMD 트랜스제닉 마우스의 심장(**도 26a**), 전경골(**도 26b**) 및 횡경막(**도 26c**)에서 관찰되었다.

[1004] EEV-PMO-DMD44-1의 단일 30 mg/kg IV 용량(1시간 주입)을 NHP에 투여하였으며, EEV-PMO-DMD44-1에 대한 연장된 순환 반감기가 NHP의 혈장에서 최대 50시간 동안 관찰되었다(데이터 미제시). 이러한 약동학적 프로파일은 연장된 조직 노출, 표적 참여 및 약력학 효과에 대한 기회를 시사한다. IV 주입 후 제7일에, EEV-PMO-DMD44-1 처리된 NHP로부터 단리된 다양한 근육 그룹에 걸쳐 강력한 엑손 44 스키핑이 관찰되었다(**도 11b**). 따라서, EEV-PMO-DMD44-1이 투여된 NHP에서 연장된 반감기와 높은 수준(이두근에서 거의 90%)의 엑손 스키핑이 관찰되었다.

[1005] **도 27**은 EEV-PMO-DMD44-1에 대한 연장된 순환 반감기가 NHP에서 관찰되었음을 보여준다.

[1006] **도 28**은 EEV-PMO-DMD44-1의 단일 30 mg/kg IV 용량이 NHP의 골격근 및 심장 모두에서 의미 있는 수준의 엑손 스키핑을 초래하여 번역 잠재력에 대한 신뢰를 제공한다는 것을 보여준다. 30 mg/kg의 1시간 IV 주입 후 제7일에, 강력한 엑손 44 스키핑이 EEV-PMO-DMD44-1 처리된 NHP로부터 단리된 다양한 근육 그룹에 걸쳐 관찰되었다.

[1007] 이러한 결과는 강력한 번역 데이터 세트를 나타낸다. 엑손 스키핑은 심장 및 골격근에서 유망한 디스트로핀 생산으로 번역된다. 디스트로핀 생산은 기능적 개선을 가져오기에 충분하다. 디스트로핀 생산은 단일 주사 후 4주 이상 지속되었다.

[1008] ***hDMD 마우스:*** 인간 이영양성 마우스에게 EEV-PMO-DMD44-1 또는 동일한 엑손 44 스키핑 PMO에 접합된 R6(폴리아르기닌) 선형 펩타이드를 15 mg/kg으로 IV 투여하였다. 심장(**도 29a**), 횡경막(**도 29b**) 및 삼두근(**도 29c**)에서의 엑손 스키핑은 R6-PMO 처리된 마우스에서의 20% 미만의 엑손 스키핑과 비교하여 EEV-PMO-DMD-44 처리된 마우스에서는 60% 내지 대략 95%였다.

[1009] **실시예 7. CD1 마우스에서의 EEV-PMO-DMD44-1의 약동학 연구**

[1010] CD1 마우스 모델을 사용하여 EEV-PMO-DMD44-1 및 EEV-PMO-DMD44-1의 주요 대사산물인 PMO-DMD44-1에 대한 혈장, 신장 및 전경골 약물 노출(AUC)을 연구하였다.

[1011] 5주령 내지 7주령의 마우스를 정맥내 주사를 통해 80mpk의 EEV-PMO-DMD44-1 또는 PMO-DMD44-1로 처리하였다. 다양한 시점에서 마우스를 채혈하고/하거나 희생시켰다.

[1012] **표 14**, **표 15** 및 **표 16**은 각각 혈장, 신장 및 전경골에서 관찰된 약동학적 특성을 보여준다. 표의 경우: AUC_{last} = 0에서부터 마지막 정량화 가능한 농도까지의 곡선 아래 면적; D = 용량; C_{max} = 최대 혈청 또는 혈장 농도; T_{max} = C_{max}에 도달하는 시간; CL = 총 혈장, 혈청 또는 혈액 제거율; $t_{1/2}$ = 제거 반감기; V_{ss} = 평형 상태에서의 겉보기 분포용적; Q_h = 간 혈류(mℓ/분/kg).

[1013] 대사산물에 대한 AUC 값은 신장에 비해 전경골에서 약 1000배 더 낮다. 혈장 내 대사산물 평균 체류 시간(mean residence time: MRT) 값은 소변 배설 전 조직에서 혈장으로 이동한 결과 조직 MRT 값과 직접적으로 관련될 수 있다.

표 14

혈장 약동학적 특성

	EEV-PMO-DMD44-1	PMO-DMD44-1
AUC_{last}(nM*hr)	7768	522
AUC_{last}/D	1053	71
C_{max}(nM)	9322	6
C_{max}/D	1264	0.8
T_{max}(hr)	0.1	48
CL(mL/분/kg)	16	-
Q_h(%)	18	-
$t_{½}$(hr)	21	56
MRT_{last}(hr)	1.0	60.4
V_{ss}(mL/kg)	983	-

[1014]

표 15

신장 약동학적 특성

	EEV-PMO-DMD44-1	PMO-DMD44-1
AUC_{last}(pmol/g*hr)	36171	8508417
AUC_{last}/D	4905	1153875
C_{max}(pmol/g)	4805	84778
C_{max}/D	652	11497
T_{max}(hr)	4	72
$t_{½}$(hr)	6	102
MRT_{last}(hr)	9	75

[1015]

표 16

동종 전경골 약동학적 특성

	EEV-PMO-DMD44-1	PMO-DMD44-1
AUC_{last}(pmol/g*hr)	-	8126
AUC_{last}/D	-	1102
C_{max}(pmol/g)	10	118
C_{max}/D	1	16
T_{max}(hr)	4	24
$t_{½}$(hr)	-	113
MRT_{last}(hr)	-	61

[1016]

[1017] **실시예 8: hDMD에 대한 효능 연구**

[1018] **방법:** 6개 그룹(n=5)의 수컷 hDMD 마우스를 80mpk의 EEV-PMO(EEV-PMO-DMD44-1)로 처리하였다. 조직을 투여 후 1주, 2주 및 4주에 수집하였다. 삼두근, TA, 횡경막, 심장 및 비복근의 5개의 조직에서 RT-PCR로 엑손 스키핑을 결정하였다.

[1019] **결과:** 횡경막, TA, 위장 및 삼두근에서는, 엑손 스키핑이 적어도 12주 동안 유지되었다(**도 30b** 내지 **도 30e**). 엑손 스키핑의 감소는 4주에 심장에서 관찰되었다(**도 30a**).

[1020] **실시예 9: NHP에 대한 지속 효과**

[1021] **방법:** 6마리의 NHP에 45mpk의 단일 용량의 EEV-PMO-DMD44-1을 1시간 동안 IV 주입으로 투여하였다. **도 31**에 도시된 시점에서 이두근 생검을 수행하였다. 엑손 스키핑을 RT-PCR로 결정하였다

[1022] **결과: 도 31**에 도시된 바와 같이, 엑손 스키핑은 2일 후에 관찰되었으며, 대략 1주에 최고조에 이르렀다. 엑손 스키핑은 단일 IV 투여 후 최대 12주 동안 지속되었다(겉보기 $t_{1/2}$ = 14일). 거의 최고의 효능은 투여 후 제2에 관찰되었다.

[1023] **실시예 10: 국재화**

[1024] 3개의 작제물인 PMO 단독(PMO), EEV(EEV-PMO)에 접합된 PMO 및 EEV와 핵 국재화 신호(EEV-NLS-PMO)에 접합된 PMO의 세포내 국재화를 결정하였다. 이들 작제물에 대한 서열 정보는 **표 17**에 나타나 있다.

표 17

작제물

[1025]

PMO:	5'-GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAA T-3'
EEV-PMO:	*사이클로*(FfΦRrRrQ)-PEG_{12}-NH-CH_2-CH_2-C(O)- 3'TAAAGTCCATTCGGCTCCAAACCGG5'
EEV-NLS-PMO	Ac-PKKKRKV-Lys[*사이클로*(FfΦRrRrQ)]-PEG_{12}-Lys(아자이드- 사이클로옥트-2-인-1-O-$(CH_2)_4$-O-C(O))- 3'TAA AGT CCA TTC GGC TCC AAA CCG G5'

[1026] 간략하게는, THP-1 단핵구를 3μM의 PMO, EEV-PMO 또는 EEV-NLS-PMO와 접촉시키고, 24시간 동안 인큐베이션하고, LC-MS로 검사하였다.

[1027] **도 32a**는 PMO 대 EEV-PMO 대 EEV-NLS-PMO의 전체 세포 흡수를 보여준다. EEV-PMO 및 EEV-NLS-PMO는 모두 PMO 단독과 비교하여 세포 흡수가 상당히 증가한 것으로 나타났다.

[1028] • EEV-PMO 대 PMO: 약 3배

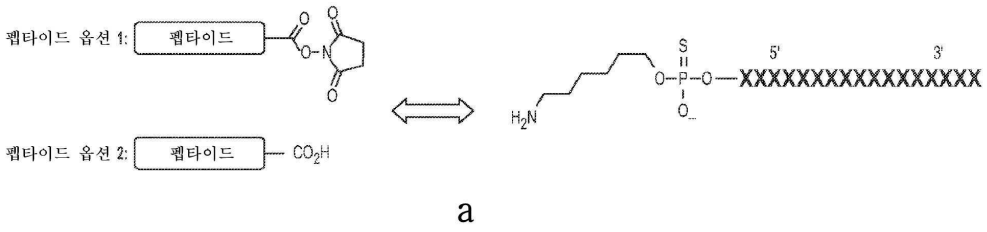
[1029] • EEV-NLS-PMO 대 PMO: 약 58배

[1030] • EEV-NLS-PMO 대 EEV-PMO: 약 19배

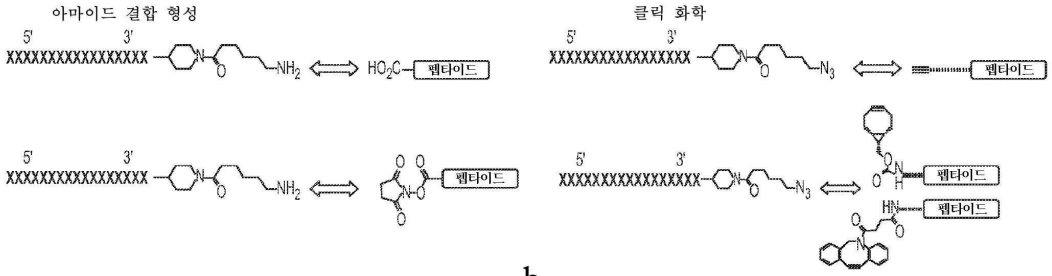
[1031] **도 32b**는 LC-MS/MS를 사용하여 결정된 THP 세포에서의 PMO 대 EEV-PMO 대 EEV-NLS-PMO의 세포내 국재화를 보여준다. **도 32b**에 도시된 바와 같이, EEV-PMO는 PMO-단독과 비교하여 개선된 세포 투과성을 보여준다. NLS를 첨가하면 세포 투과성이 추가로 개선되었다. **도 32c**는 3개의 작제물의 핵 흡수를 보여준다.

도면

도면1

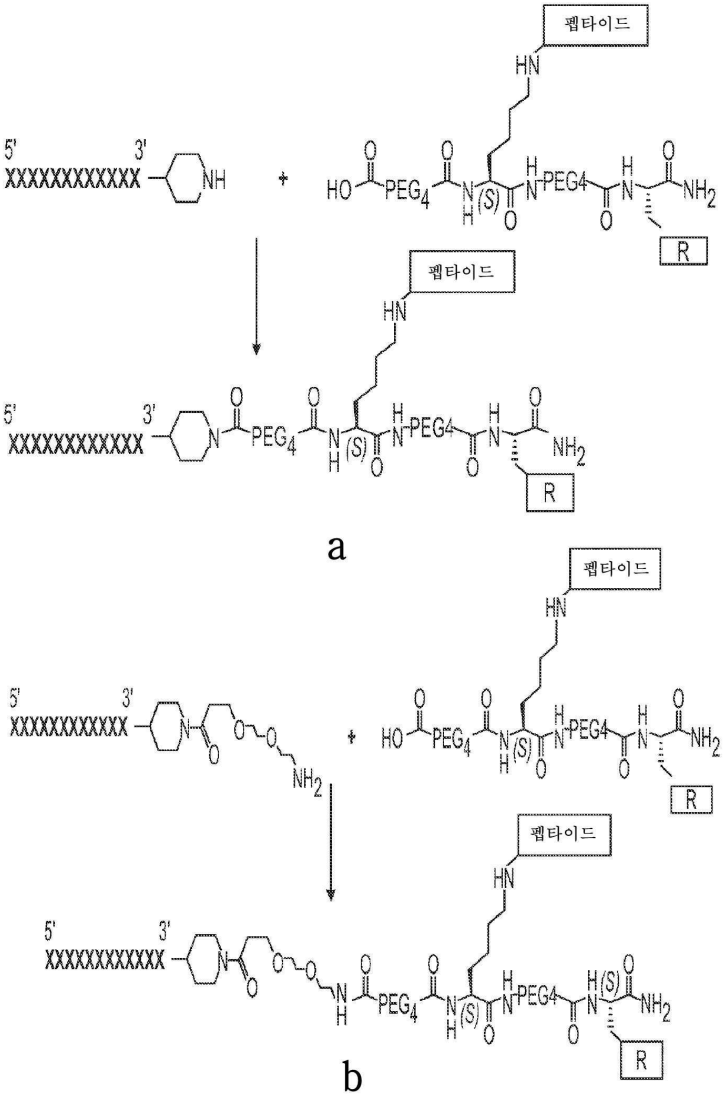

펩타이드 옵션 1:
펩타이드
펩타이드 옵션 2:
펩타이드
CO2H
5'
3'
XXXXXXXXXXXXXXXXX
H2N

a

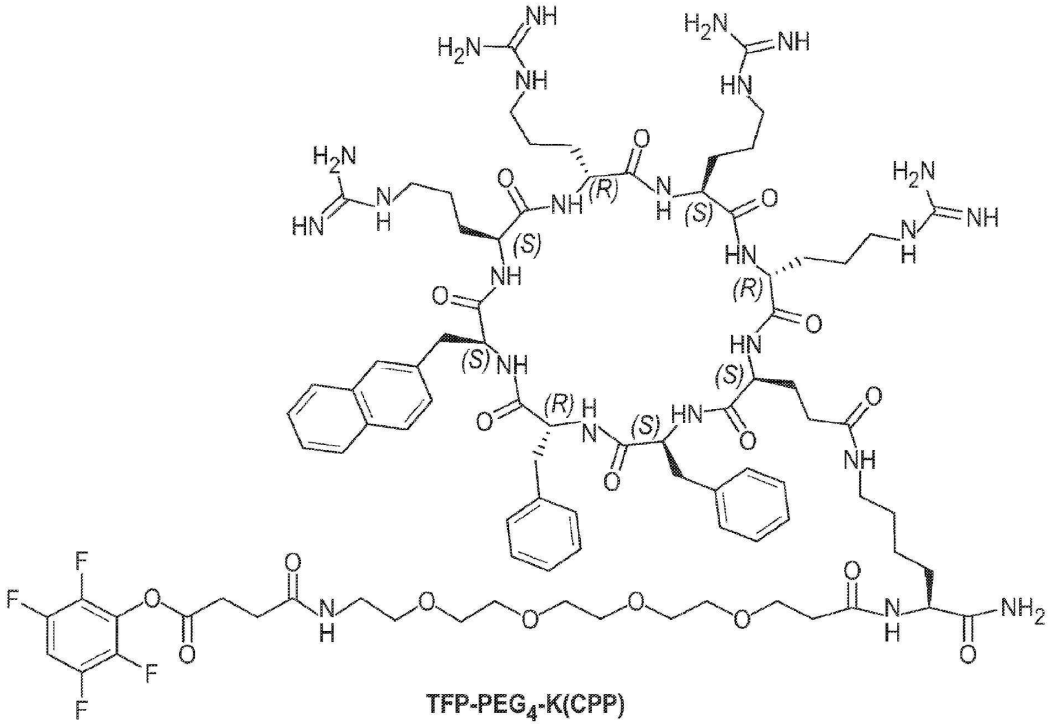

아마이드 결합 형성
클릭 화학
5'
3'
XXXXXXXXXXXXXXXXX
NH2
HO2C
펩타이드
N3

b

도면2

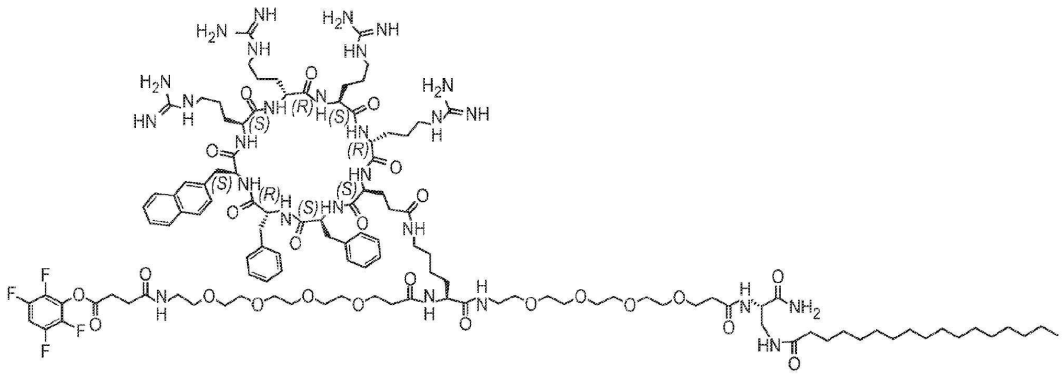


도면3aa



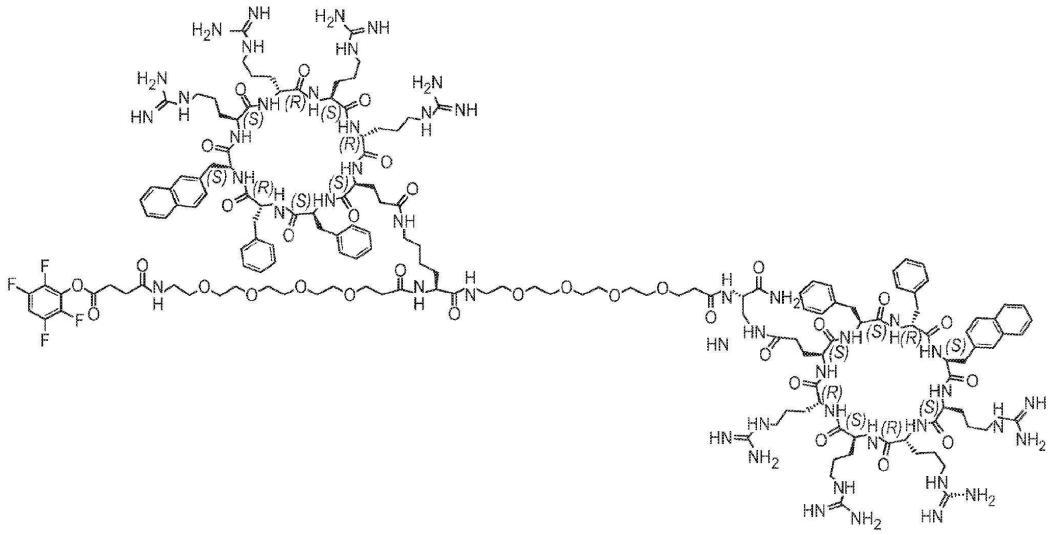
TFP-PEG$_4$-K(CPP)

도면3ab



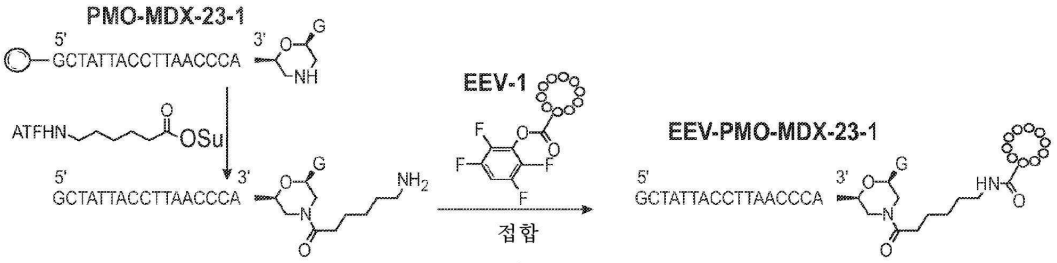
TFP-PEG$_4$-K(CPP)-PEG$_4$-Dap(팔미토일)

도면3ac

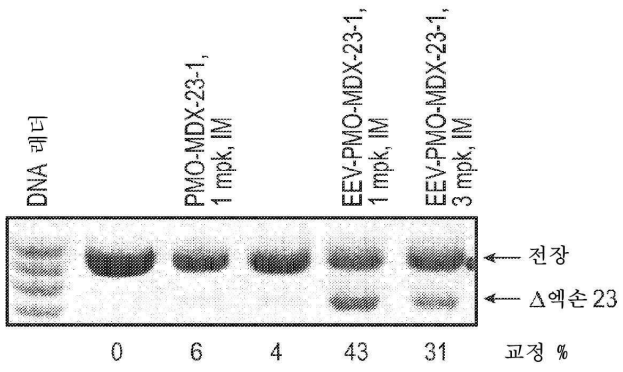


TFP-PEG$_4$-K(CPP)-PEG$_4$-Dap (CPP)

도면4ab

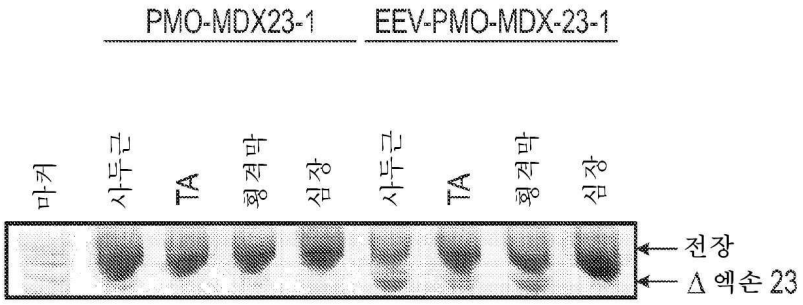


a

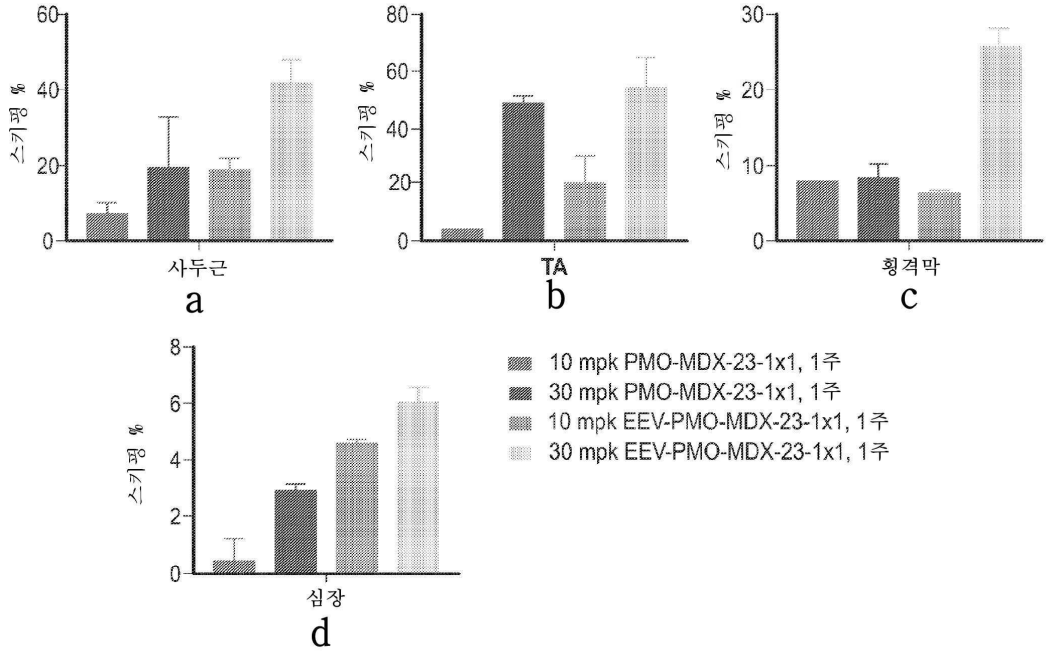


b

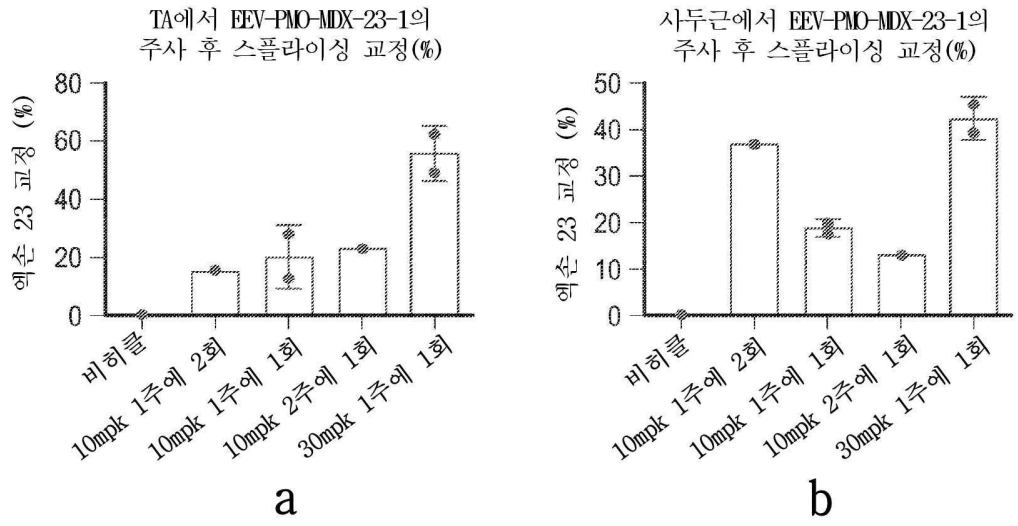
도면4c



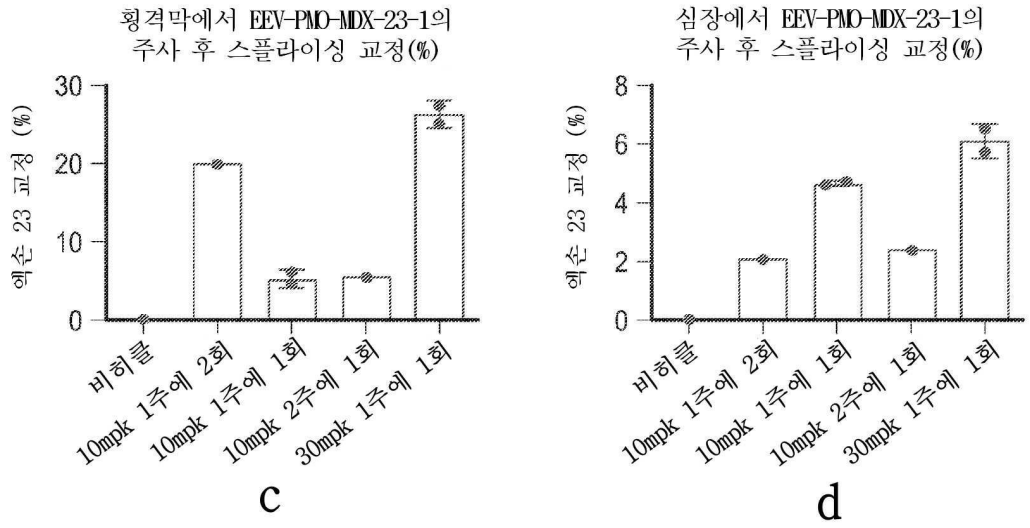
도면5



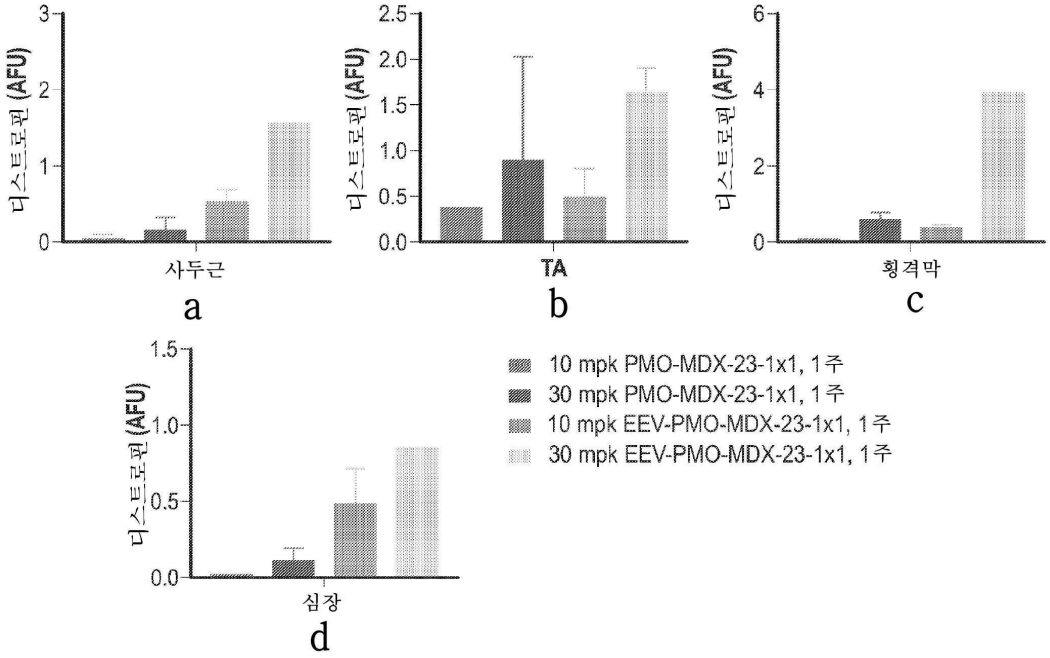
도면6ab



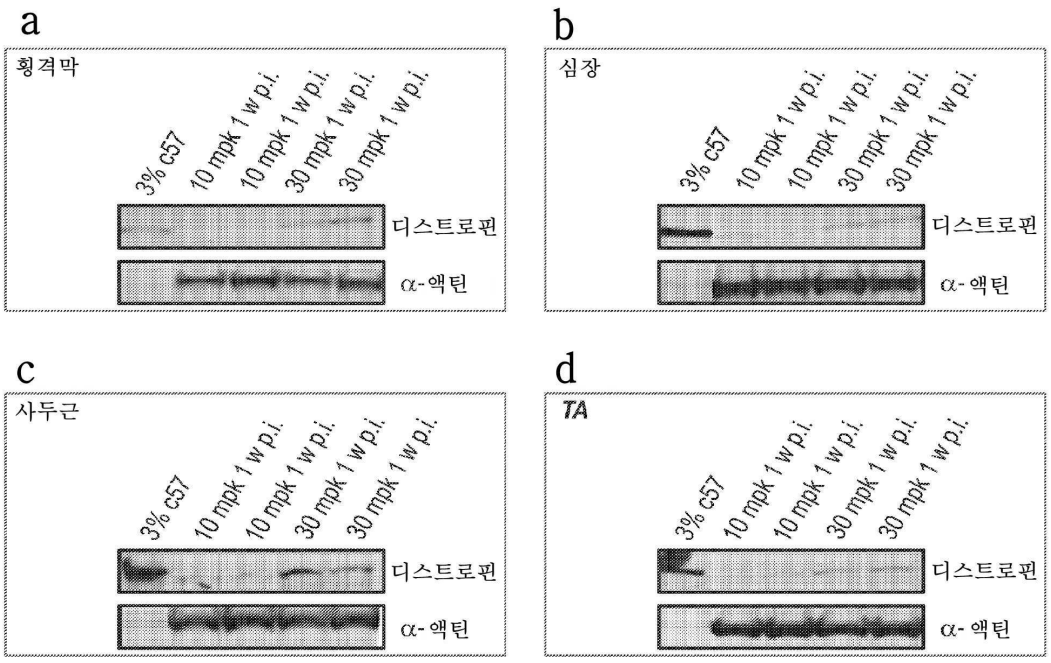
도면6cd


횡격막에서 EEV-PMO-MDX-23-1의
주사 후 스플라이싱 교정(%)
엑손 23 교정 (%)
30
20
10
0
비히클
10mpk 1주에 2회
10mpk 1주에 1회
10mpk 2주에 1회
30mpk 1주에 1회
c
심장에서 EEV-PMO-MDX-23-1의
주사 후 스플라이싱 교정(%)
엑손 23 교정 (%)
8
6
4
2
0
비히클
10mpk 1주에 2회
10mpk 1주에 1회
10mpk 2주에 1회
30mpk 1주에 1회
d

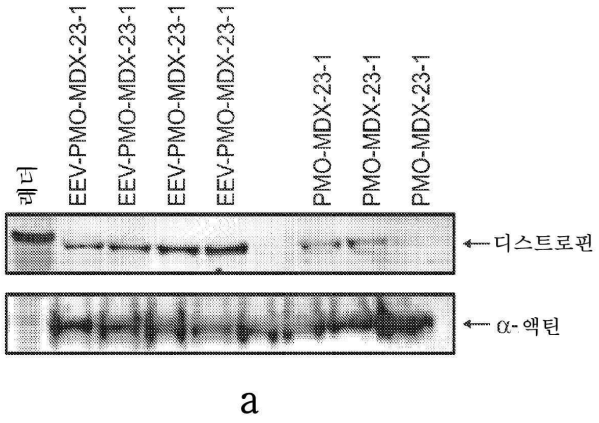
도면7


디스트로핀 (AFU)
사두근
a
TA
b
횡격막
c
심장
d
10 mpk PMO-MDX-23-1x1, 1주
30 mpk PMO-MDX-23-1x1, 1주
10 mpk EEV-PMO-MDX-23-1x1, 1주
30 mpk EEV-PMO-MDX-23-1x1, 1주

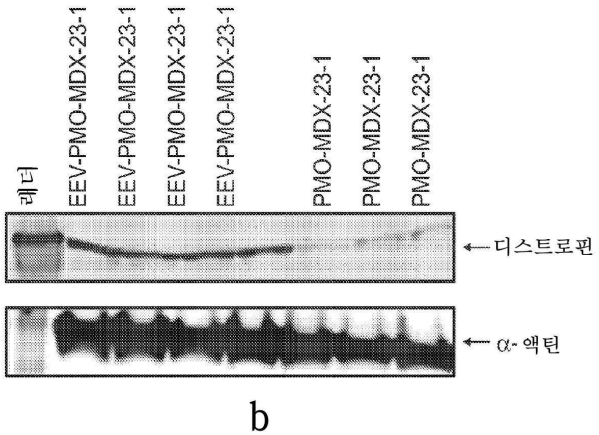
도면8


a
횡격막
3% c57
10 mpk 1 w p.i.
10 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
디스트로핀
α-액틴
b
심장
3% c57
10 mpk 1 w p.i.
10 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
디스트로핀
α-액틴
c
사두근
3% c57
10 mpk 1 w p.i.
10 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
디스트로핀
α-액틴
d
TA
3% c57
10 mpk 1 w p.i.
10 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
30 mpk 1 w p.i.
디스트로핀
α-액틴

도면9

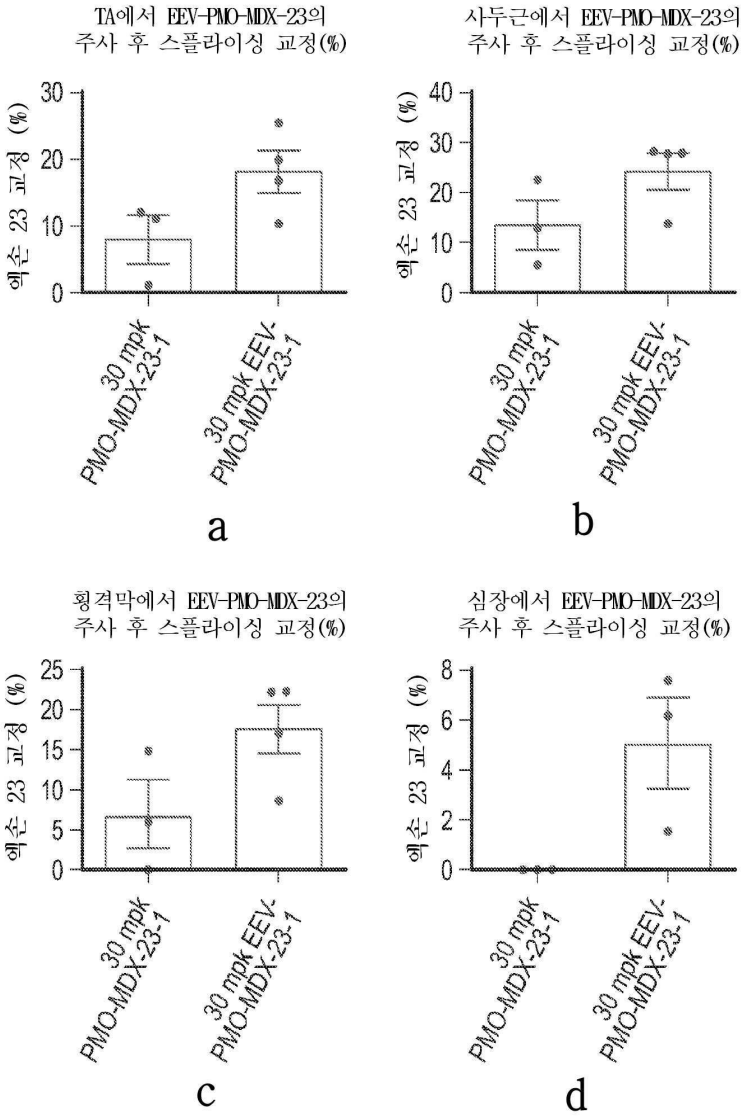

레티
EEV-PMO-MDX-23-1
EEV-PMO-MDX-23-1
EEV-PMO-MDX-23-1
EEV-PMO-MDX-23-1
PMO-MDX-23-1
PMO-MDX-23-1
PMO-MDX-23-1
디스트로핀
α-액틴

a

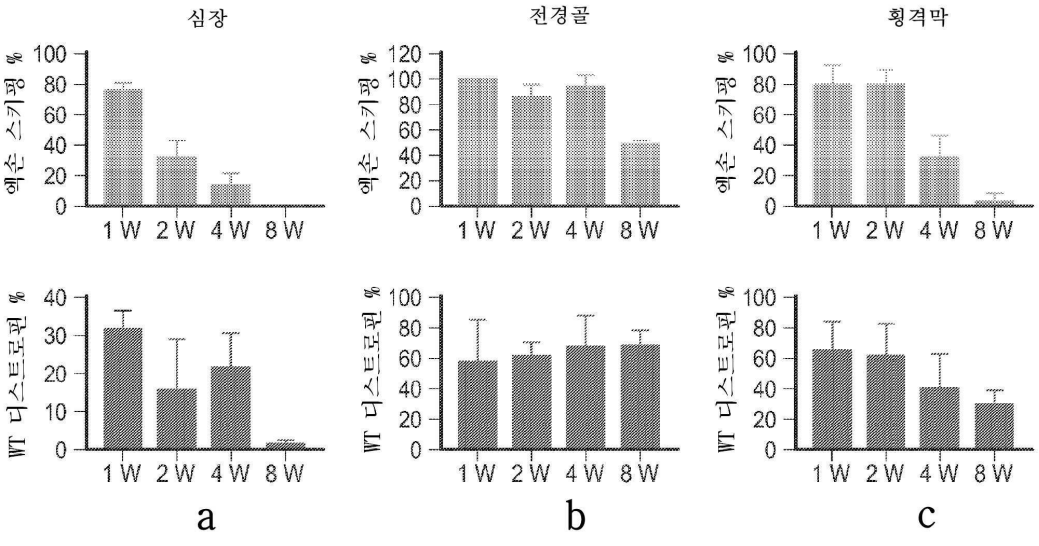

레티
EEV-PMO-MDX-23-1
EEV-PMO-MDX-23-1
EEV-PMO-MDX-23-1
EEV-PMO-MDX-23-1
PMO-MDX-23-1
PMO-MDX-23-1
PMO-MDX-23-1
디스트로핀
α-액틴

b

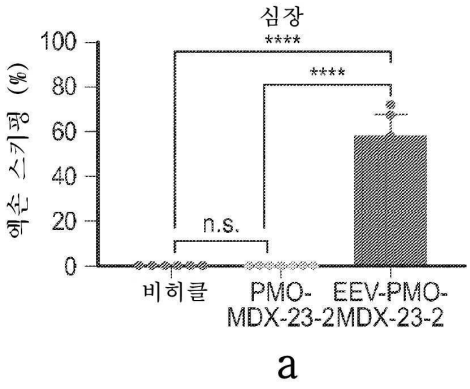
도면10


TA에서 EEV-PMO-MDX-23의
주사 후 스플라이싱 교정(%)
엑손 23 교정 (%)
30 mpk PMO-MDX-23-1
30 mpk EEV-PMO-MDX-23-1
a
사두근에서 EEV-PMO-MDX-23의
주사 후 스플라이싱 교정(%)
엑손 23 교정 (%)
30 mpk PMO-MDX-23-1
30 mpk EEV-PMO-MDX-23-1
b
횡격막에서 EEV-PMO-MDX-23의
주사 후 스플라이싱 교정(%)
엑손 23 교정 (%)
30 mpk PMO-MDX-23-1
30 mpk EEV-PMO-MDX-23-1
c
심장에서 EEV-PMO-MDX-23의
주사 후 스플라이싱 교정(%)
엑손 23 교정 (%)
30 mpk PMO-MDX-23-1
30 mpk EEV-PMO-MDX-23-1
d

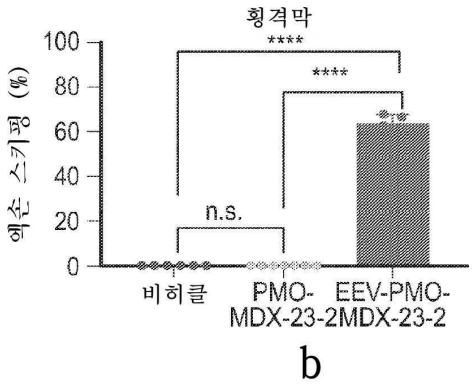
도면11


심장
전경골
횡격막
엑손 스키핑 %
WT 디스트로핀 %
1 W 2 W 4 W 8 W
a
b
c

도면12ab

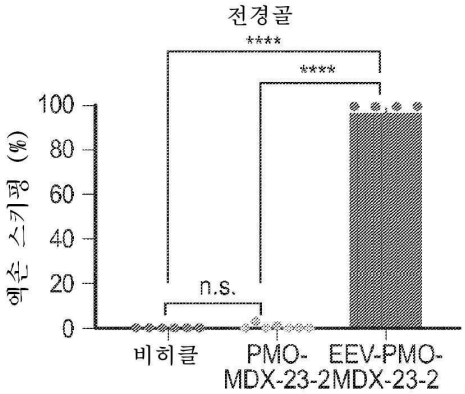


a

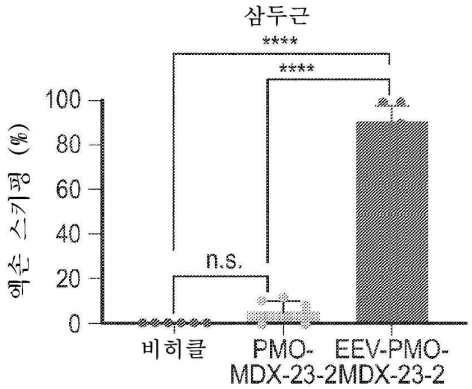


b

도면12cd

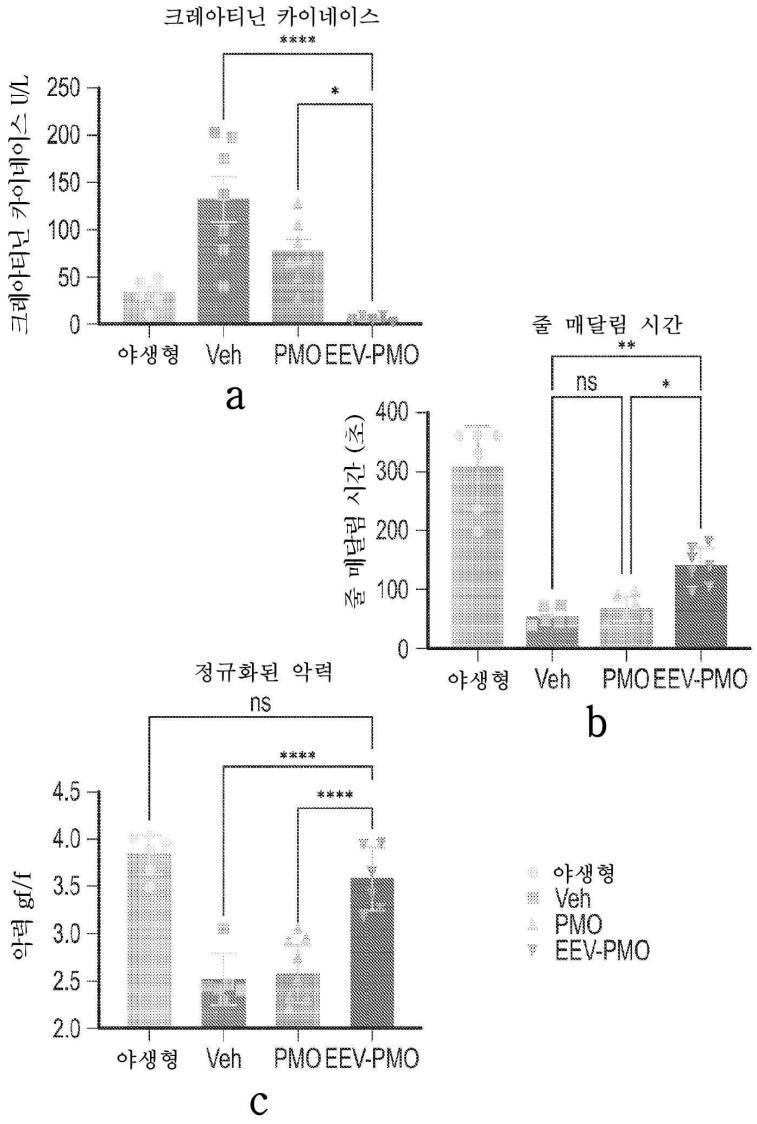


c

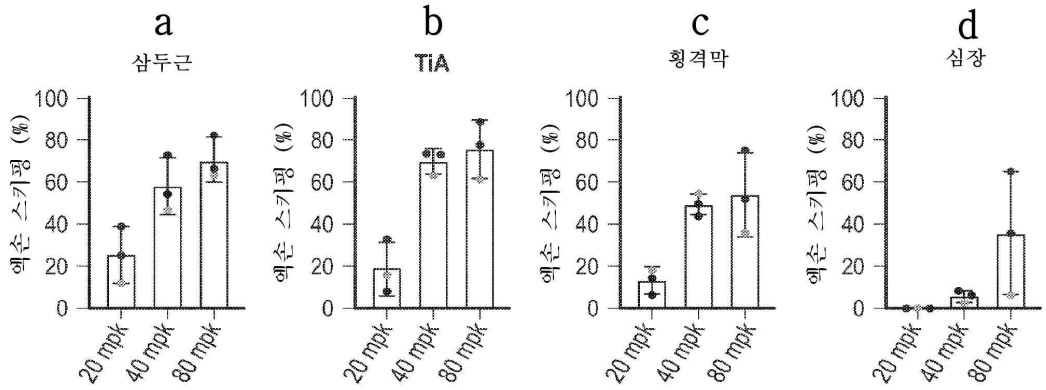


d

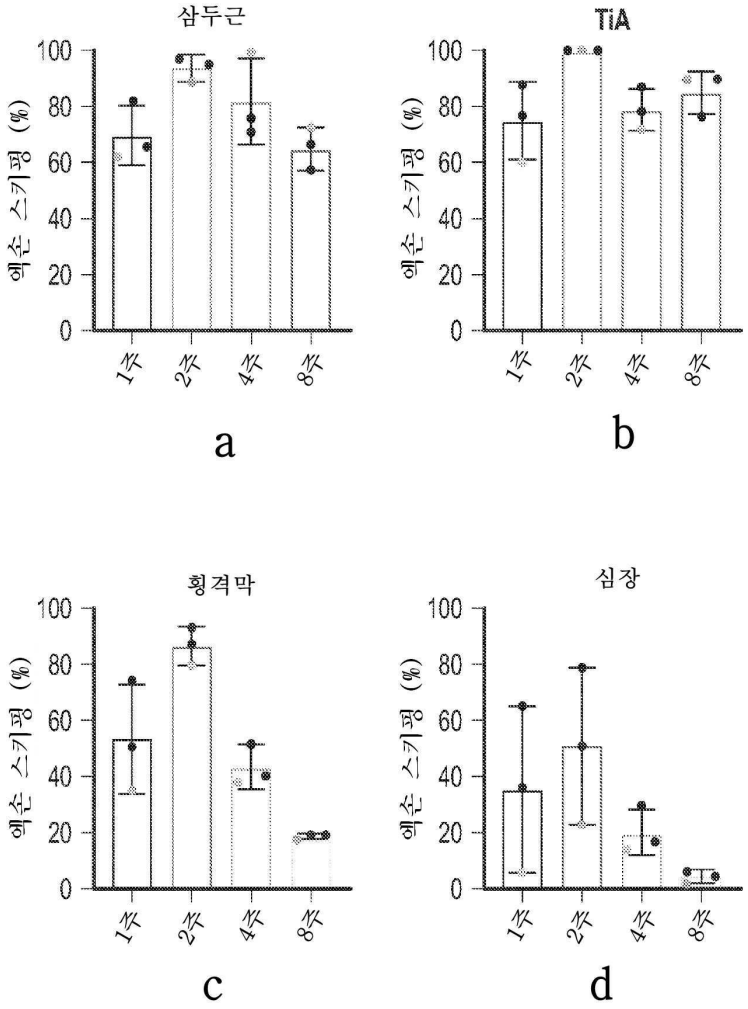
도면13


크레아티닌 카이네이스
****
*
크레아티닌 카이네이스 U/L
250
200
150
100
50
0
야생형
Veh
PMO
EEV-PMO
a
줄 매달림 시간
**
ns
*
줄 매달림 시간 (초)
400
300
200
100
0
야생형
Veh
PMO
EEV-PMO
b
정규화된 악력
ns
****
****
악력 gf/f
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
야생형
Veh
PMO
EEV-PMO
c
야생형
Veh
PMO
EEV-PMO

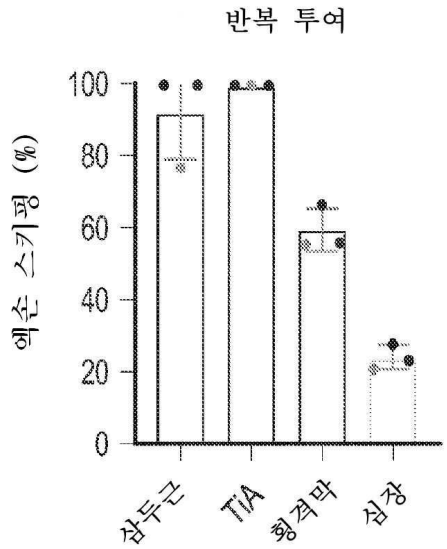
도면14


a
삼두근
b
TiA
c
횡격막
d
심장
엑손 스키핑 (%)
100
80
60
40
20
0
20 mpk
40 mpk
80 mpk

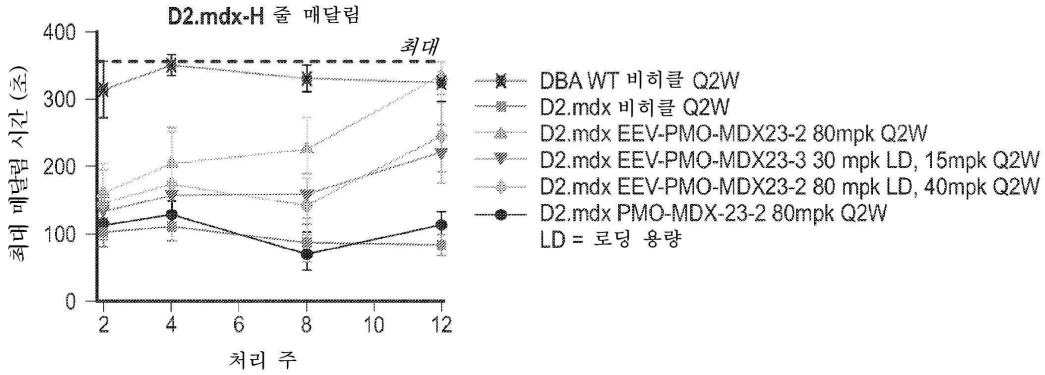
도면15


삼두근
TiA
횡격막
심장
엑손 스키핑 (%)
0
20
40
60
80
100
1주
2주
4주
8주
a
b
c
d

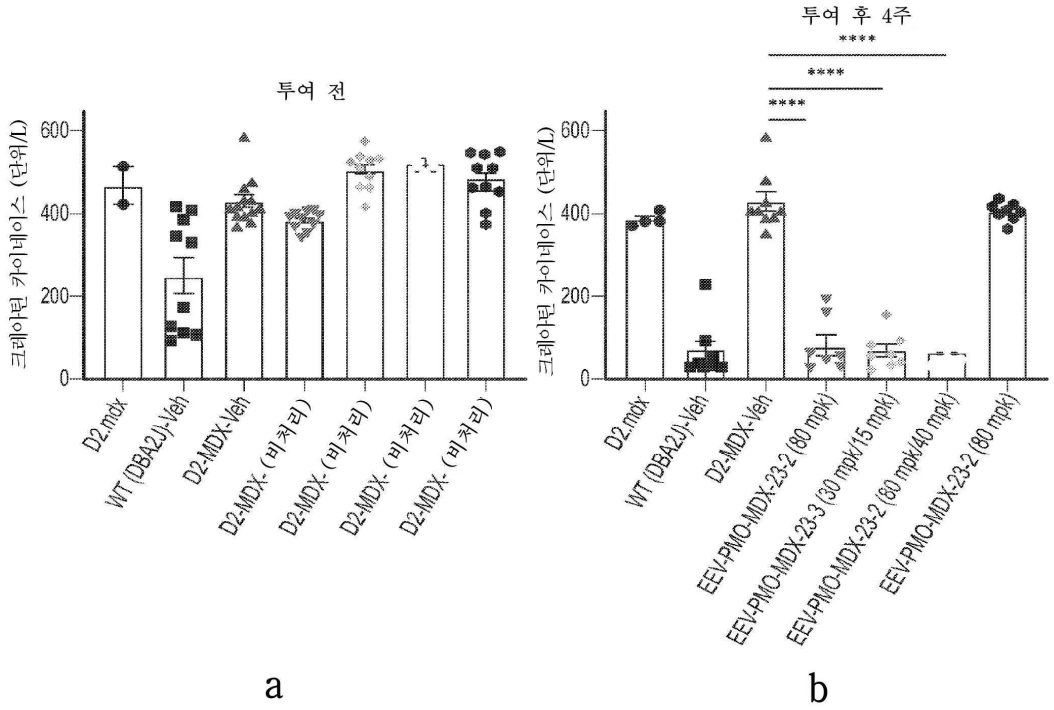
도면16


반복 투여
엑손 스키핑 (%)
0
20
40
60
80
100
삼두근
TiA
횡격막
심장

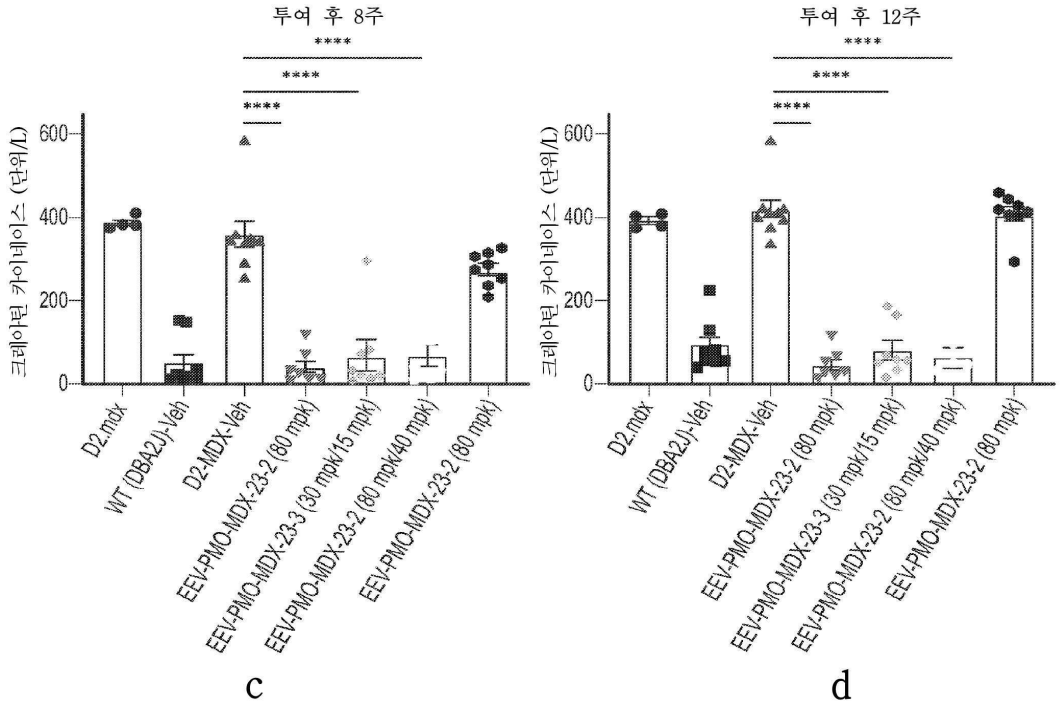
도면17


D2.mdx-H 줄 매달림
최대
최대 매달림 시간 (초)
400
300
200
100
0
2
4
6
8
10
12
처리 주
DBA WT 비히클 Q2W
D2.mdx 비히클 Q2W
D2.mdx EEV-PMO-MDX23-2 80mpk Q2W
D2.mdx EEV-PMO-MDX23-3 30 mpk LD, 15mpk Q2W
D2.mdx EEV-PMO-MDX23-2 80 mpk LD, 40mpk Q2W
D2.mdx PMO-MDX-23-2 80mpk Q2W
LD = 로딩 용량

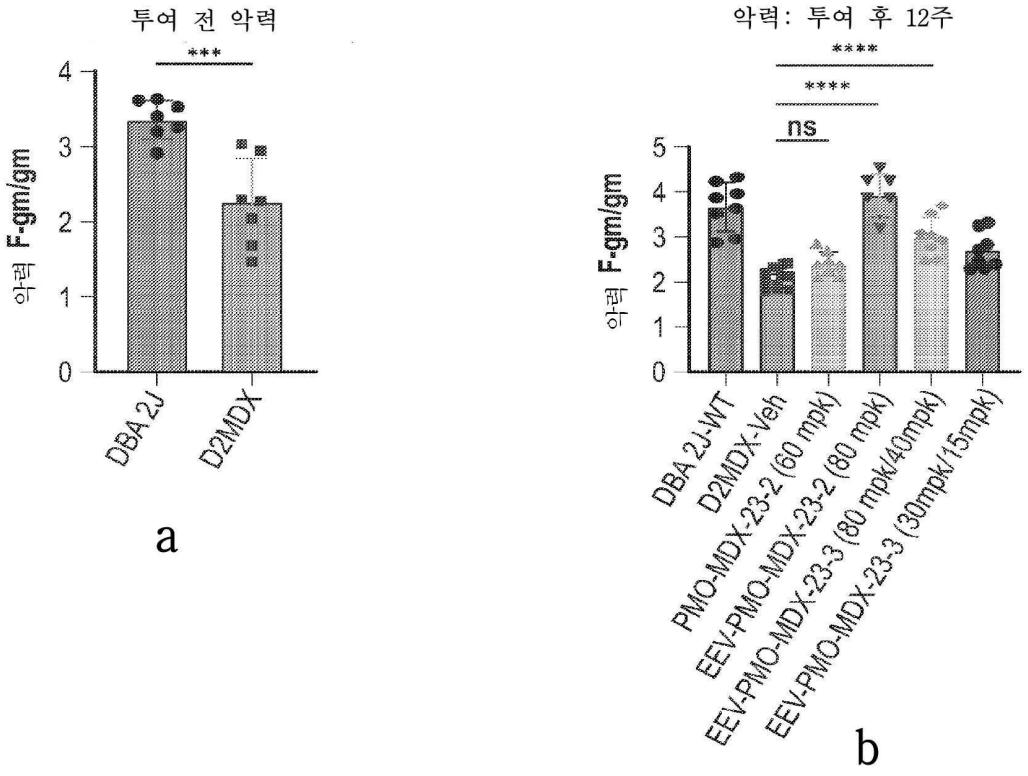
도면18ab


투여 전
크레아틴 카이네이스 (단위/L)
600
400
200
0
D2.mdx
WT (DBA2J)-Veh
D2-MDX-Veh
D2-MDX- (비처리)
D2-MDX- (비처리)
D2-MDX- (비처리)
D2-MDX- (비처리)
a
투여 후 4주
****
****
****
크레아틴 카이네이스 (단위/L)
600
400
200
0
D2.mdx
WT (DBA2J)-Veh
D2-MDX-Veh
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-3 (30 mpk/15 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk/40 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
b

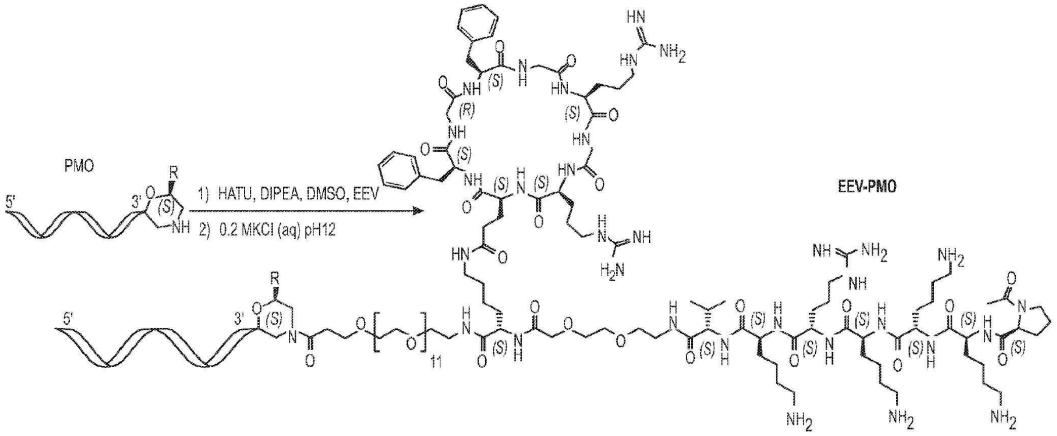
도면18cd


투여 후 8주
****
****
****
크레아틴 카이네이스 (단위/L)
600
400
200
0
D2.mdx
WT (DBA2J)-Veh
D2-MDX-Veh
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-3 (30 mpk/15 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk/40 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
c
투여 후 12주
****
****
****
크레아틴 카이네이스 (단위/L)
600
400
200
0
D2.mdx
WT (DBA2J)-Veh
D2-MDX-Veh
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-3 (30 mpk/15 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk/40 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
d

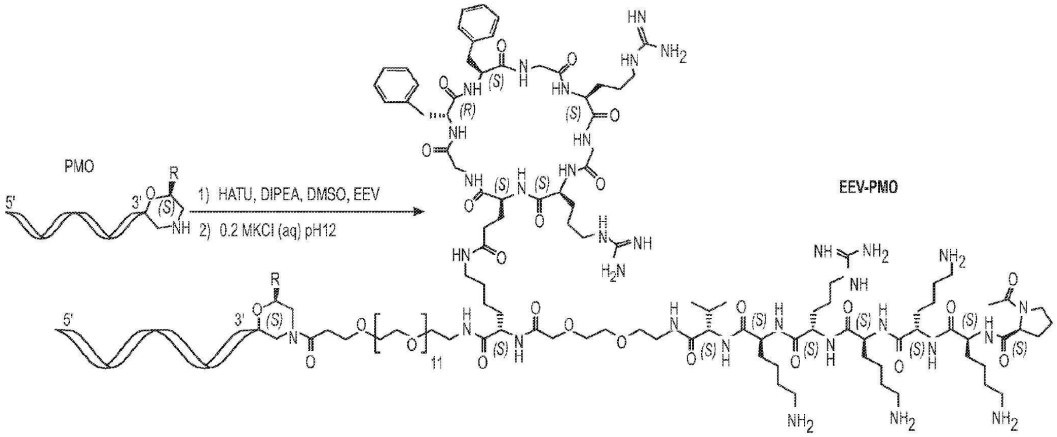
도면19


투여 전 악력
***
악력 F-gm/gm
4
3
2
1
0
DBA 2J
D2MDX
a
악력: 투여 후 12주
****
****
ns
악력 F-gm/gm
5
4
3
2
1
0
DBA 2J-WT
D2MDX-Veh
PMO-MDX-23-2 (60 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-2 (80 mpk)
EEV-PMO-MDX-23-3 (80 mpk/40mpk)
EEV-PMO-MDX-23-3 (30mpk/15mpk)
b

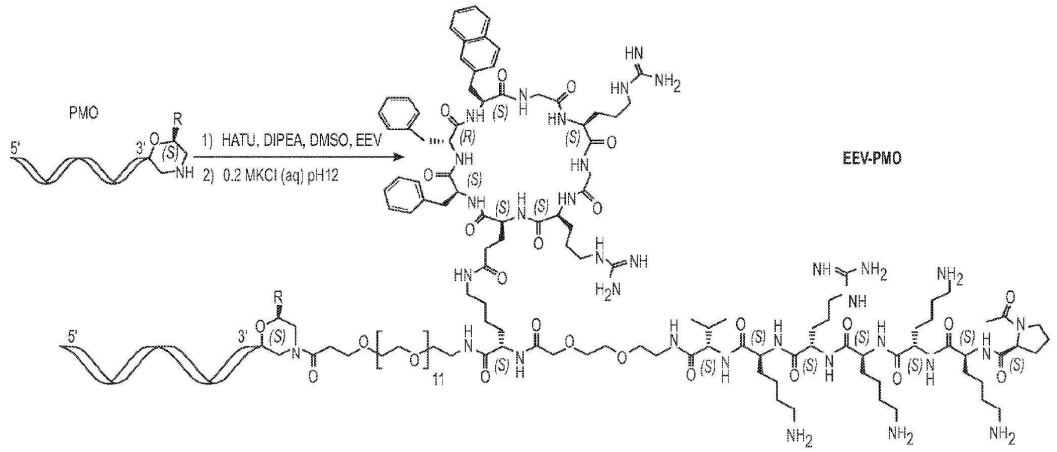
도면20a



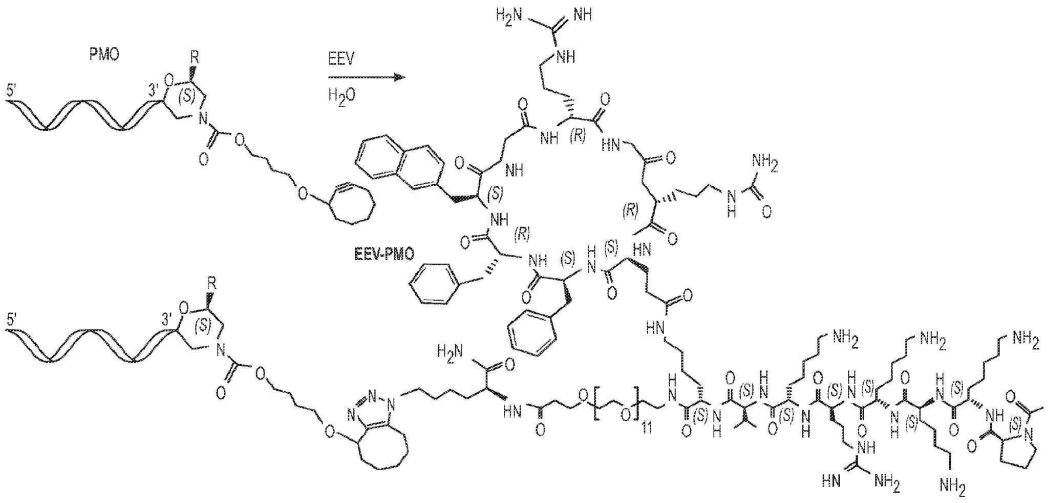
도면20b



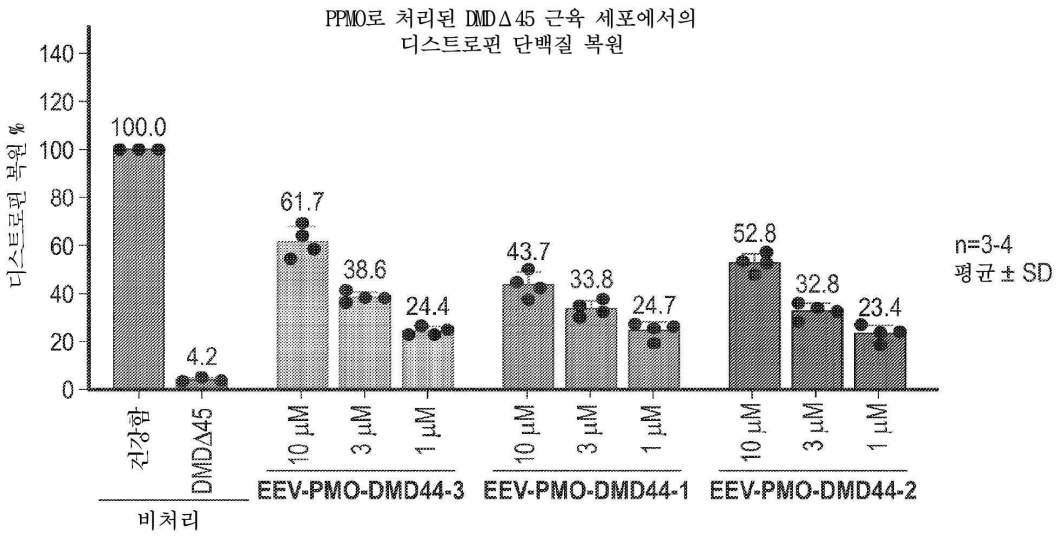
도면20c



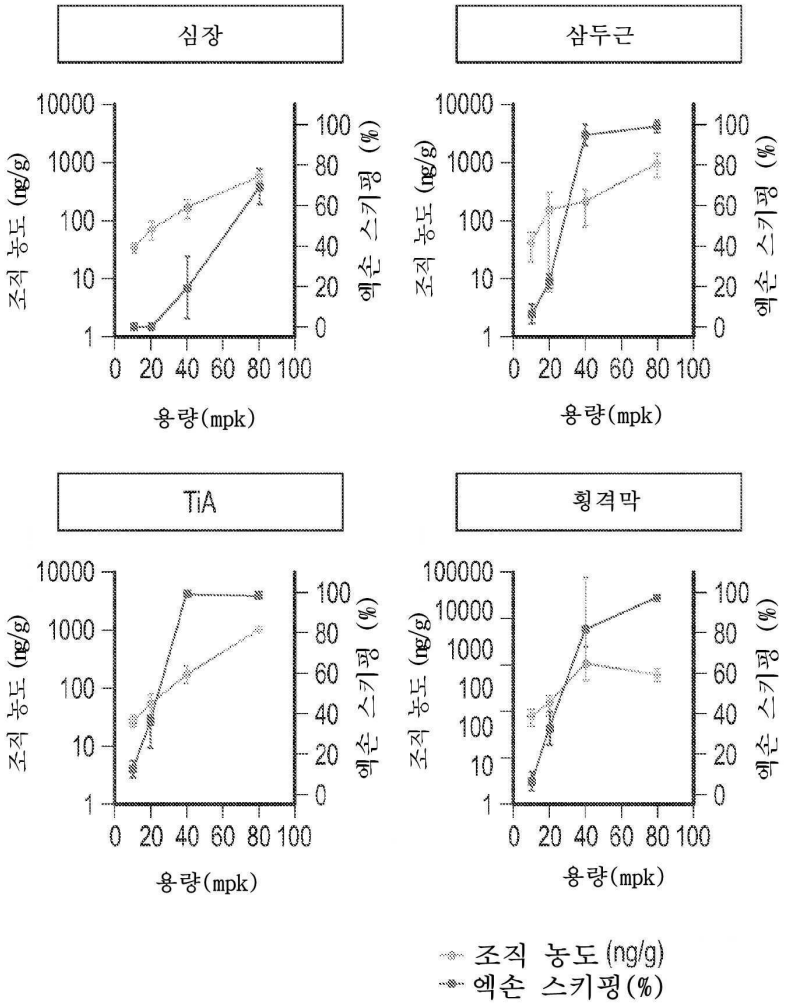
도면20d


PMO
EEV
H_2O
EEV-PMO

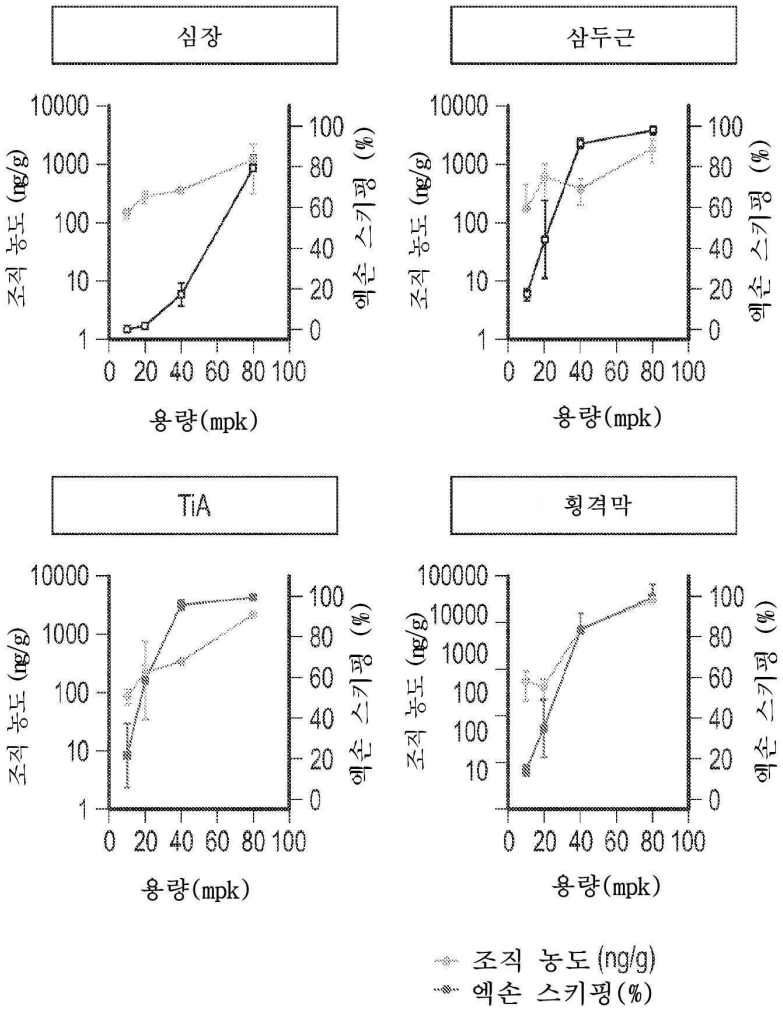
도면21


PPMO로 처리된 DMDΔ45 근육 세포에서의
디스트로핀 단백질 복원
디스트로핀 복원 %
100.0
4.2
61.7
38.6
24.4
43.7
33.8
24.7
52.8
32.8
23.4
n=3-4
평균 ± SD
건강함
DMDΔ45
10 μM
3 μM
1 μM
EEV-PMO-DMD44-3
EEV-PMO-DMD44-1
EEV-PMO-DMD44-2
비처리

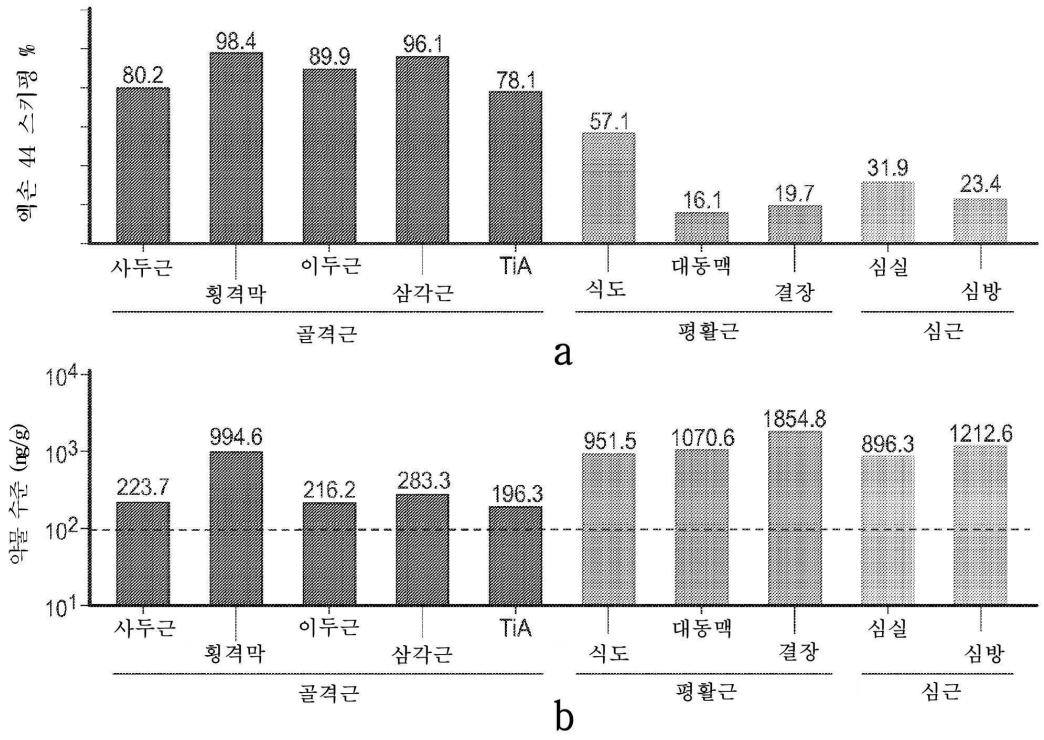
도면22a



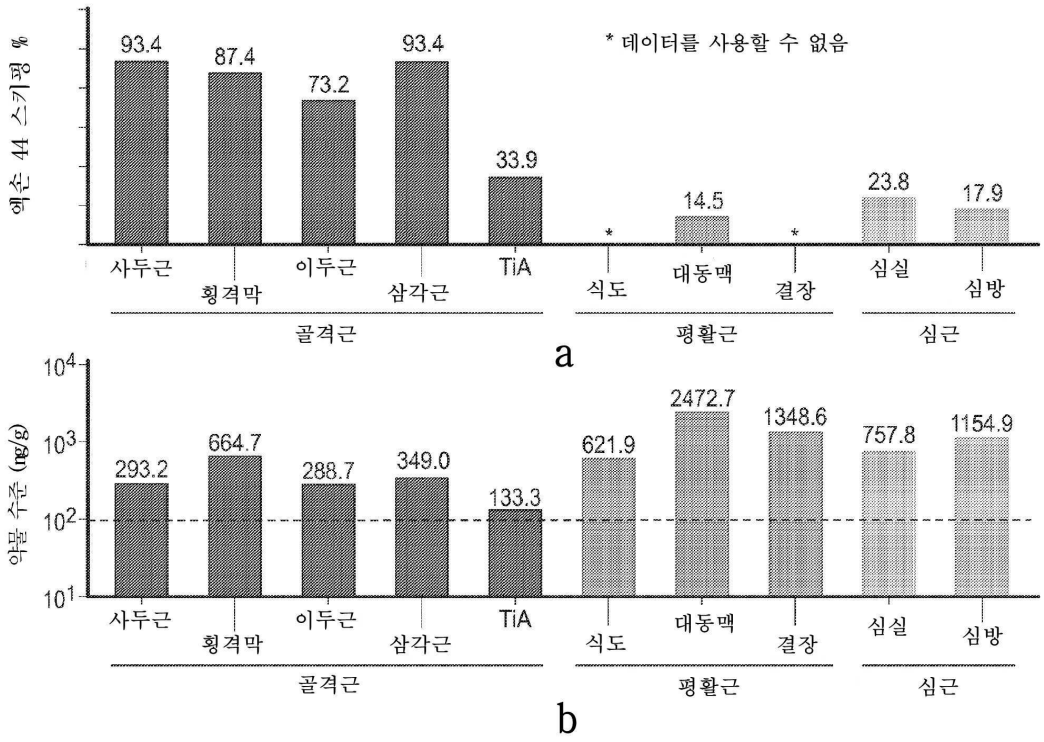
도면22b



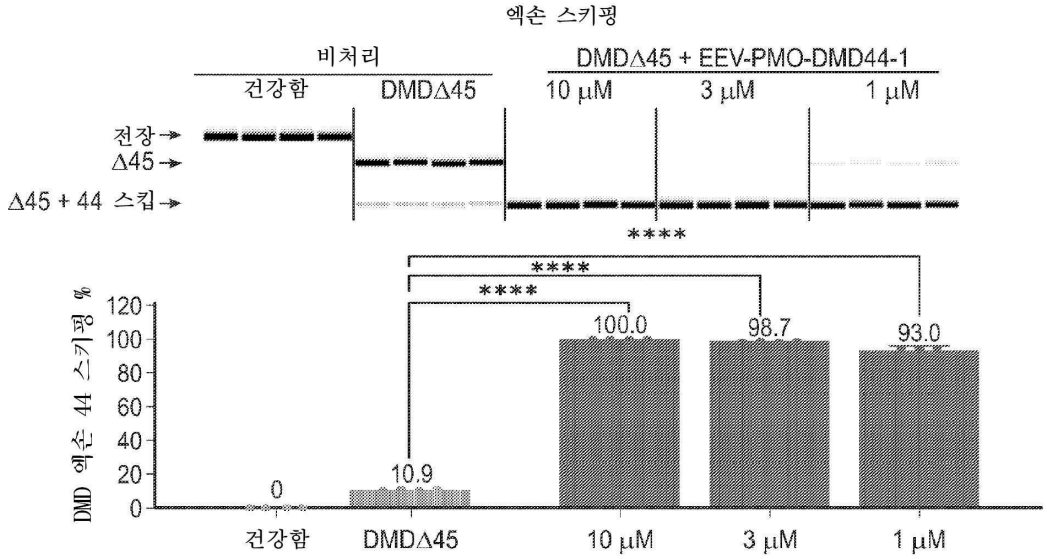
도면23


엑손 44 스키핑 %
80.2
98.4
89.9
96.1
78.1
57.1
16.1
19.7
31.9
23.4
사두근
횡격막
이두근
삼각근
TiA
식도
대동맥
결장
심실
심방
골격근
평활근
심근
a
약물 수준 (ng/g)
10^4
10^3
10^2
10^1
223.7
994.6
216.2
283.3
196.3
951.5
1070.6
1854.8
896.3
1212.6
사두근
횡격막
이두근
삼각근
TiA
식도
대동맥
결장
심실
심방
골격근
평활근
심근
b

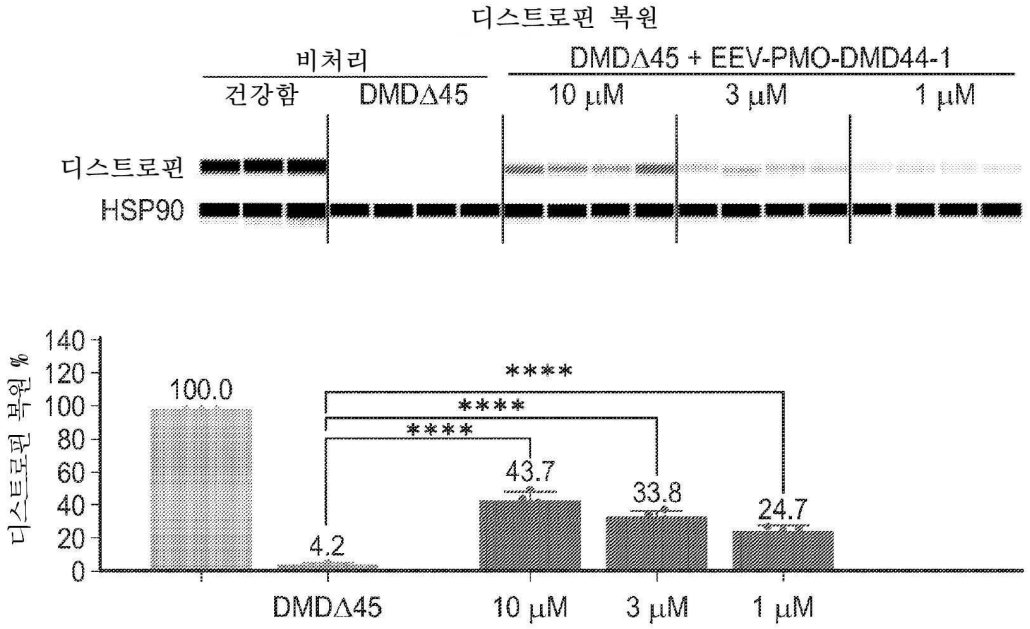
도면24


엑손 44 스키핑 %
93.4
87.4
73.2
93.4
33.9
* 데이터를 사용할 수 없음
14.5
23.8
17.9
사두근
횡격막
이두근
삼각근
TiA
식도
대동맥
결장
심실
심방
골격근
평활근
심근
a
약물 수준 (ng/g)
10^4
10^3
10^2
10^1
293.2
664.7
288.7
349.0
133.3
621.9
2472.7
1348.6
757.8
1154.9
사두근
횡격막
이두근
삼각근
TiA
식도
대동맥
결장
심실
심방
골격근
평활근
심근
b

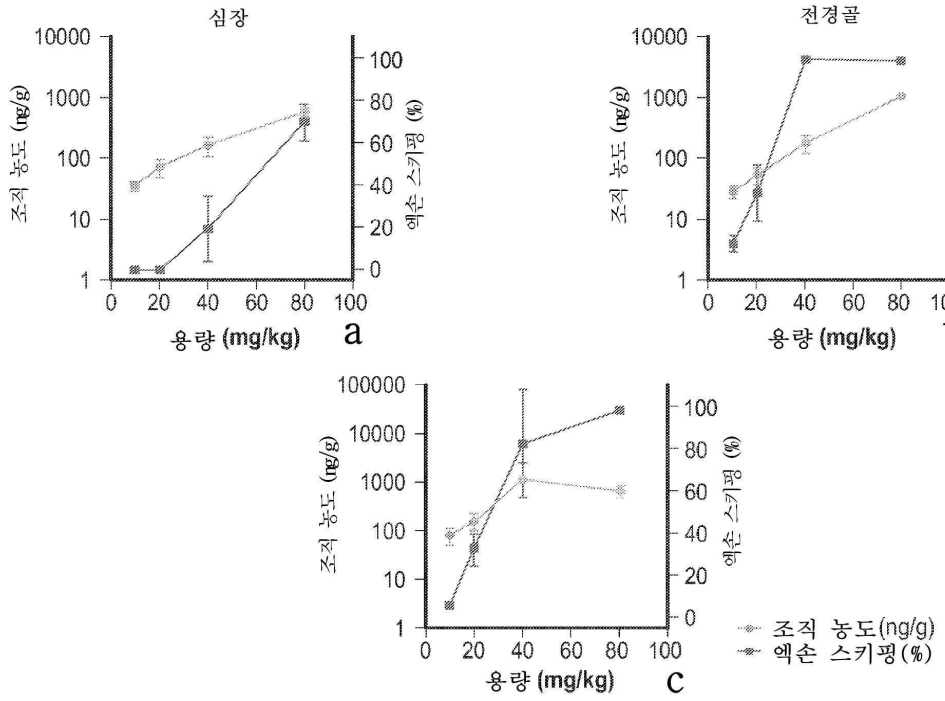
도면25a


엑손 스키핑
비처리
DMDΔ45 + EEV-PMO-DMD44-1
건강함
DMDΔ45
10 μM
3 μM
1 μM
전장
Δ45
Δ45 + 44 스킵
****
****
****
DMD 엑손 44 스키핑 %
120
100
80
60
40
20
0
0
10.9
100.0
98.7
93.0
건강함
DMDΔ45
10 μM
3 μM
1 μM

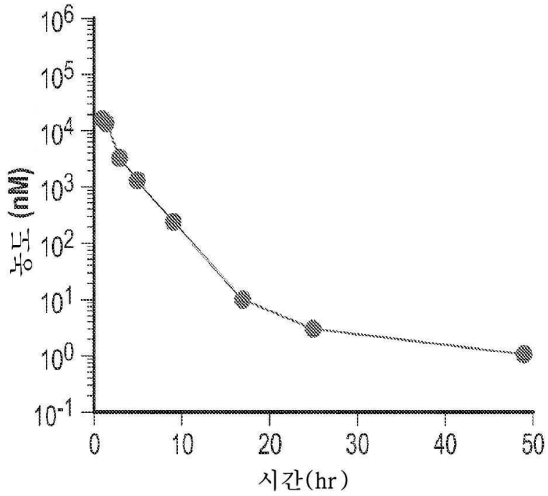
도면25b


디스트로핀 복원
비처리
DMDΔ45 + EEV-PMO-DMD44-1
건강함
DMDΔ45
10 μM
3 μM
1 μM
디스트로핀
HSP90
디스트로핀 복원 %
140
120
100
80
60
40
20
0
100.0
4.2
43.7
33.8
24.7
****
****
****
DMDΔ45
10 μM
3 μM
1 μM

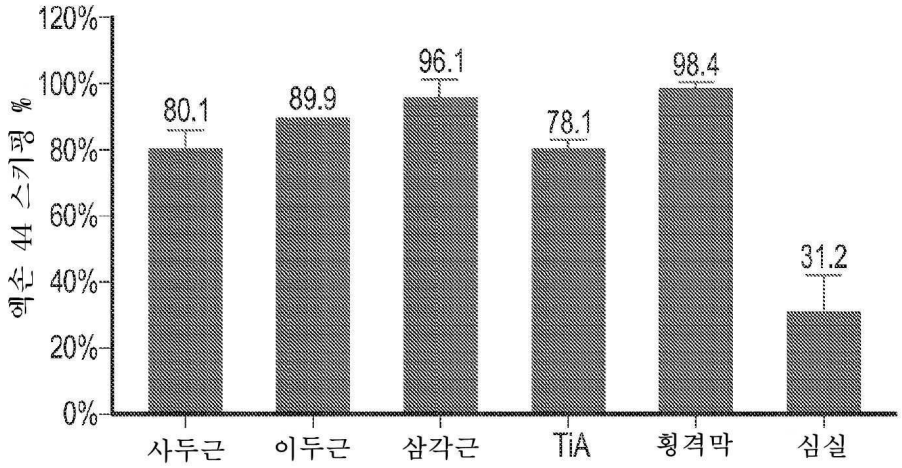
도면26


심장
조직 농도 (ng/g)
엑손 스키핑 (%)
용량 (mg/kg)
a
전경골
조직 농도 (ng/g)
엑손 스키핑 (%)
용량 (mg/kg)
b
조직 농도 (ng/g)
엑손 스키핑 (%)
용량 (mg/kg)
c
조직 농도(ng/g)
엑손 스키핑(%)

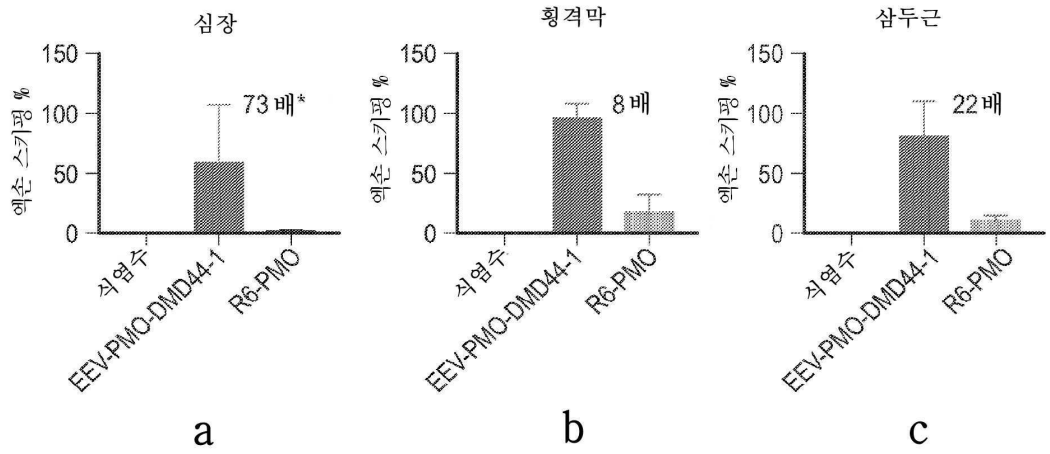
도면27


농도 (nM)
시간(hr)

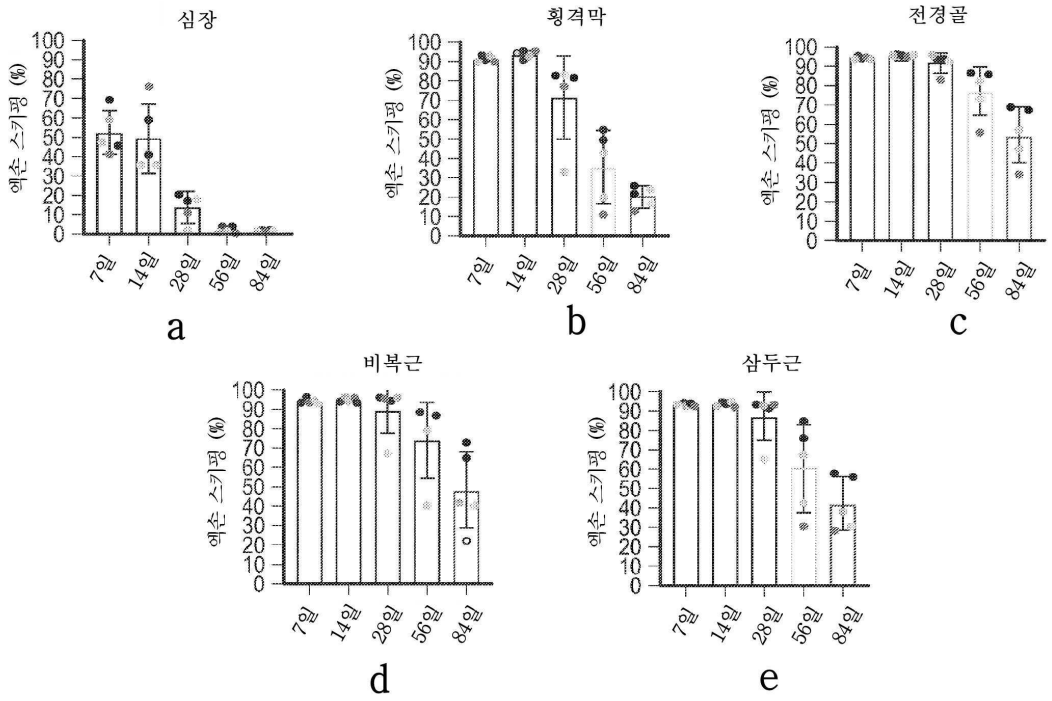
도면28


120%
100%
80%
60%
40%
20%
0%
엑손 44 스키핑 %
80.1
89.9
96.1
78.1
98.4
31.2
사두근
이두근
삼각근
TiA
횡격막
심실

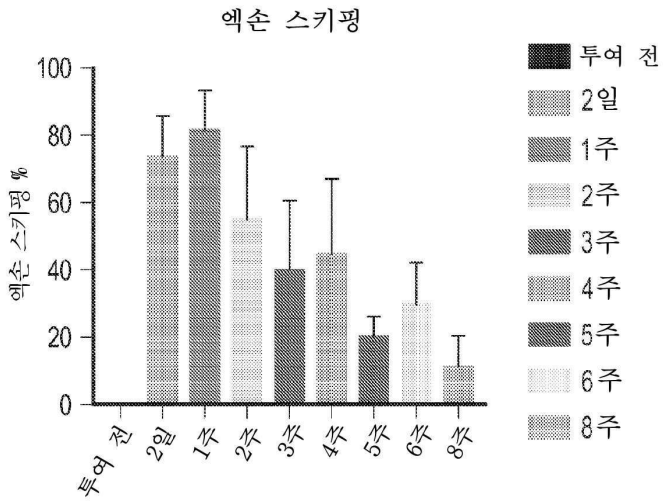
도면29


심장
횡격막
삼두근
엑손 스키핑 %
150
100
50
0
73 배*
8 배
22 배
식염수
EEV-PMO-DMD44-1
R6-PMO
a
b
c

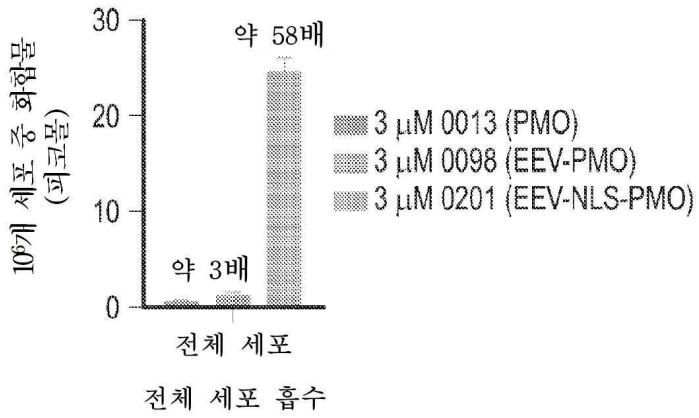
도면30


심장
횡격막
전경골
비복근
삼두근
엑손 스키핑 (%)
7일
14일
28일
56일
84일
a
b
c
d
e

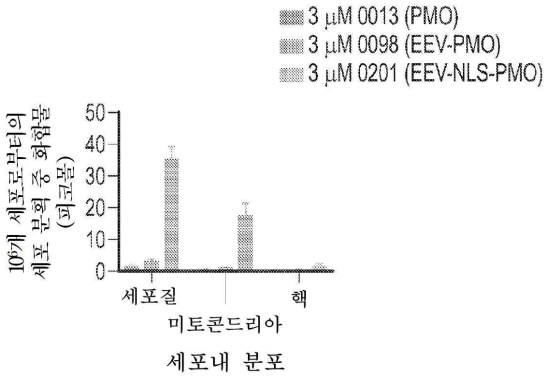
도면31


엑손 스키핑
엑손 스키핑 %
투여 전
2일
1주
2주
3주
4주
5주
6주
8주

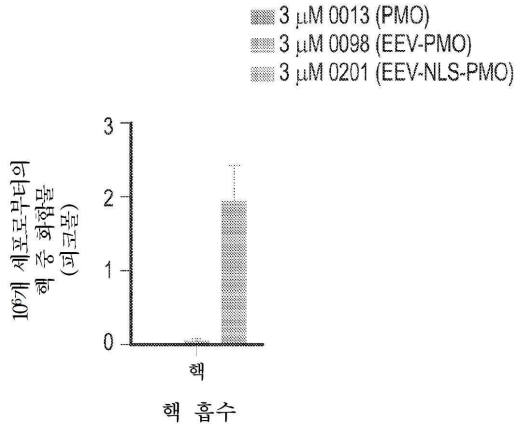
도면32a



도면32bc



b



c

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.