(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0052851
(43) 공개일자 2024년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/005 (2006.01) *A61K 39/215* (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01) *A61P 31/14* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/005 (2013.01)
A61K 39/215 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7011460
(22) 출원일자(국제) 2022년09월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년04월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/076114
(87) 국제공개번호 WO 2023/039474
국제공개일자 2023년03월16일
(30) 우선권주장
63/241,722 2021년09월08일 미국(US)

(71) 출원인
다나-파버 캔서 인스티튜트 인크.
미국 메사추세츠 02215 보스턴 브룩클린 애비뉴 450
(72) 발명자
바렌스키 로렌 디
미국 02459 매사추세츠주 뉴턴 커먼웰스 애비뉴 811
버드 그레고리 에이치
미국 03076 뉴햄프셔주 펠험 스케닉 뷰 드라이브 15
(74) 대리인
김진희, 김태홍

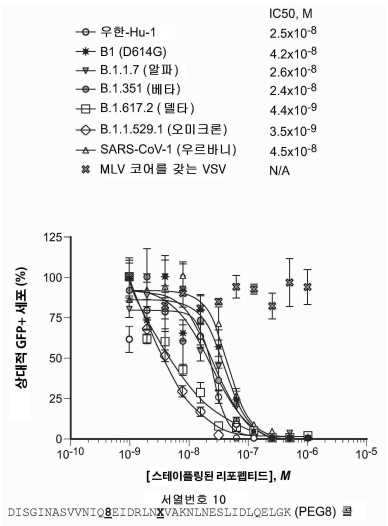
전체 청구항 수 : 총 154 항

(54) 발명의 명칭 **항바이러스성의 구조적으로 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드-콜레스테롤 접합체 및 이의 용도**

(57) 요 약

코로나바이러스 감염(예컨대, SARS-CoV-2에 의한 감염)을 방해하고 억제하거나 예방하는 데 유용한, 단독의 또는 PEG(n)-콜레스테롤 (또는 티오콜레스테롤) 모이어티에 접합된, 가교결합된 펩티드가 본원에 개시된다. 또한, 코로나바이러스 감염(예컨대, COVID-19)을 치료 및/또는 예방하는 방법이 개시된다.

대 표 도 - 도34



(52) CPC특허분류
A61K 47/554 (2017.08)
A61P 31/14 (2018.01)
A61K 2039/6018 (2013.01)
A61K 2039/6093 (2013.01)
C12N 2770/20022 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 6(DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 94% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서,

(i) 위치 14 및 21,

(ii) 위치 17 및 24,

(iii) 위치 21 및 28, 또는

(iv) 위치 24 및 31

로부터 선택되는 서열번호 6의 위치(서열번호 6의 위치 1은 N-말단 아스파르트산이고 위치 38은 C-말단 리신임)에 있는 아미노산은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체되고;

구조적으로 안정화된 펩티드는 38 내지 60개의 아미노산 길이, 임의적으로 38 내지 50개의 아미노산 길이이고;

구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 6에 제시된 서열과 적어도 70% 동일한 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 3

제1항에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 6에 제시된 서열과 적어도 80% 동일한 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 5

제1항에 있어서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드가 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 서열과 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78을 포함하는 SARS-CoV-2의 재조합 5-나선 다발(5-HB)에 결합하고, 치환은 **8** 및 **X**의 위치에서 이루어지지 않는 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 6

제1항에 있어서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드가 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열 또는 하나의 아미노산 치환이 있는 이의 변이체를 포함하고, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호

13(DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 17(DISGINASVVNIQKEIDRLN8VAKNLNXSLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 9

제4항, 제7항 및 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 8이 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X가 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드가 38 내지 45개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드가 38 내지 40개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 6의 위치 37 및/또는 38이 치환되지 않은 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

청구항 13

서열번호 10에 제시된 아미노산 서열의 적어도 19개의 인접한 아미노산을 포함하고 서열번호 10의 위치 3, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 25, 27, 29, 32, 34, 35, 37, 또는 38에 있는 아미노산 중 적어도 1 내지 18개가 임의의 다른 천연 또는 비-천연 아미노산으로 치환된 구조적으로 안정화된 펩티드로서, 서열번호 6의 위치 14 및 21의 비-천연 아미노산은 치환되지 않고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 45개의 아미노산 길이이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하고, 임의적으로 19개의 인접한 아미노산은, 위치 1181 및 1188이 올레핀 측쇄를 갖는 비-천연 아미노산으로 치환되는 것을 제외하고는 HR2의 위치 1179 내지 1197에 상응하는, 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 14

제13항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드가 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및/또는 콜레스테롤을 포함하고, PEG 및/또는 콜레스테롤은 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단에 연결된 접합체.

청구항 16

제15항에 있어서, PEG 및 콜레스테롤을 포함하는 접합체.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 콜레스테롤이 티오콜레스테롤인 접합체.

청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서, 접합체가 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 접합체.

청구항 19

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 접합체가 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 2-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 접합체.

청구항 20

접합체로서,

서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)과 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78을 포함하는 SARS-CoV-2의 재조합 5-나선 다발(5-HB)에 결합하고, **8** 및 **X**의 위치에서 치환이 이루어지지 않는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 21

접합체로서,

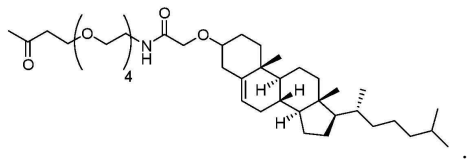
서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

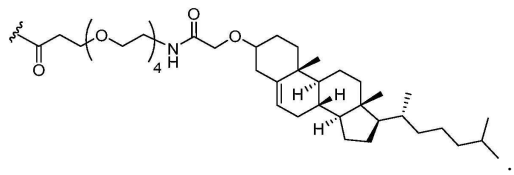
청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:



청구항 23

제20항 또는 제21항에 있어서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 갖는 것인 접합체:



청구항 24

접합체로서,

서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)과 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78을 포함하는 SARS-CoV-2의 재조합 5-나선 다발(5-HB)에 결합하고, **8** 및 **X**의

위치에서 치환이 이루어지지 않는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 25

접합체로서,

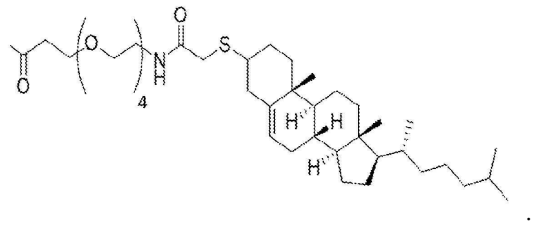
서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 26

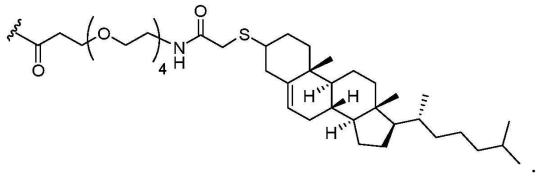
제24항 또는 제25항에 있어서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:



.

청구항 27

제24항 또는 제25항에 있어서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 갖는 것인 접합체:



.

청구항 28

접합체로서,

서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)과 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 29

접합체로서,

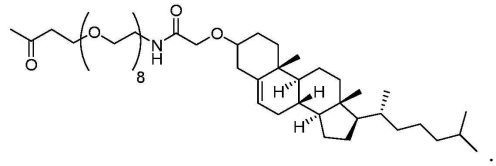
서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

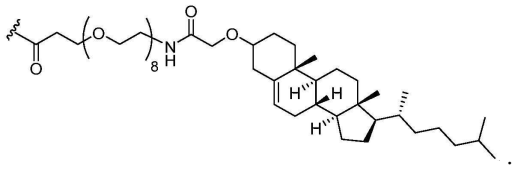
청구항 30

제28항 또는 제29항에 있어서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:



청구항 31

제28항 또는 제29항에 있어서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 갖는 것인 접합체:



청구항 32

접합체로서,

서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)과 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78을 포함하는 SARS-CoV-2의 재조합 5-나선 다발(5-HB)에 결합하고, **8** 및 **X**의 위치에서 치환이 이루어지지 않는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 33

접합체로서,

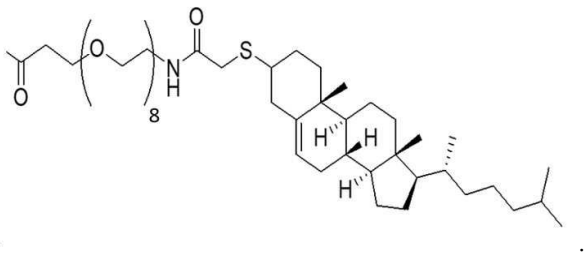
서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

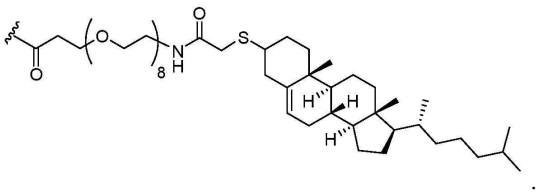
청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:



청구항 35

제32항 또는 제33항에 있어서, PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 갖는 것인 접합체:



청구항 36

접합체로서,

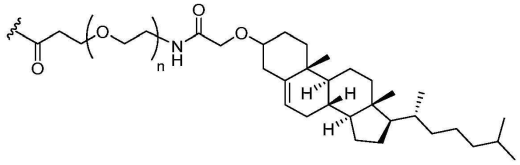
서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로서, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 임의적으로 (n) = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 37

제36항에 있어서, PEG(n)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 갖는 것인 접합체:



상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다.

청구항 38

접합체로서,

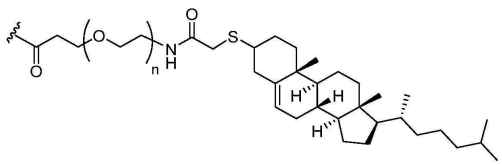
서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티로서, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 임의적으로 (n) = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티

를 포함하는 접합체.

청구항 39

제38항에 있어서, PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 갖는 것인 접합체:



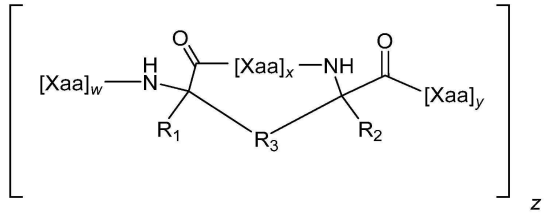
상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 임의적으로 (n) = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 8이 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X가 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기인 접합체.

청구항 41

하기 화학식:



을 포함하고, 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는, 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로서,

상기 식에서, 각각의 R_1 및 R_2는 H 또는 C1 내지 C10 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴알킬, 사이클로알킬알킬, 헤테로아릴알킬, 또는 헤테로사이클릴알킬이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고;

각각의 R_3은 독립적으로 알칸 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고;

z는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 42

제41항에 있어서, R_1이 알킬인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 43

제41항에 있어서, R_1이 메틸기인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, R_2가 알킬인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 45

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, R_2가 메틸기인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 46

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 알케닐인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 47

제41항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 염이 히드로클로라이드, 나트륨, 술페이트, 아세테이트, 포스페이트 또는 디포스페이트, 클로라이드, 칼륨, 말레에이트, 칼슘, 시트레이트, 메실레이트, 니트레이트, 타르트레이트, 알루미늄, 글루코네이트, 및 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 48

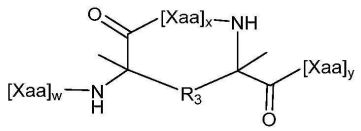
제41항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 최대 50개의 아미노산 길이, 임의적으로 최대 45개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 49

제41항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 38개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

청구항 50

하기로 정의되는 화학식 (I-A) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드:



상기 식에서,

R_3은 알케닐렌이고;

$[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

$[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

$[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

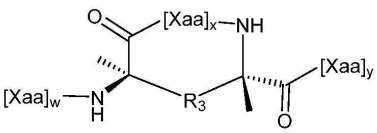
임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 51

제50항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 화학식 (I-A)로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 52

제50항에 있어서, 하기로 정의되는 화학식 (Ia) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드:



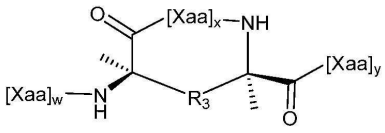
상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 53

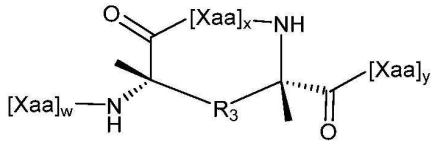
제52항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 화학식 (Ia)로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 54

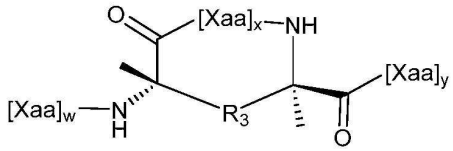
제50항에 있어서, 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드:



,



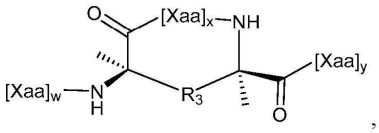
, 또는



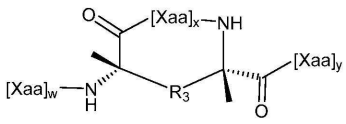
상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 55

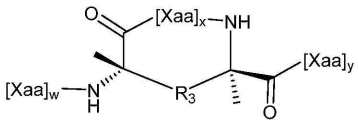
제50항에 있어서, 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 이루어지는 구조적으로 안정화된 펩티드:



,



,



상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 56

제50항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 C_{7-15} 알케닐렌인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 57

제50항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 C_{9-13} 알케닐렌인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 58

제50항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 C_{11} 알케닐렌인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 59

제50항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 $-(CH_2)_{3-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-7}-$인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 60

제50항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 $-(CH_2)_{5-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-4}-$인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 61

제50항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 $-(CH_2)_6-CH=CH-(CH_2)_3-$인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 62

제50항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기가 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 63

제50항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기가 $-N(H)C(O)CH_3$으로 대체되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 64

제50항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기가 $-C(O)NH_2$로 대체되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

청구항 65

제41항 내지 제64항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 PEG 및/또는 콜레스테롤을 포함하는 접합체.

청구항 66

제65항에 있어서, PEG 및 콜레스테롤을 포함하는 접합체.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, 콜레스테롤이 티오콜레스테롤인 접합체.

청구항 68

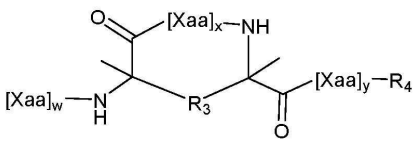
제65항 또는 제66항에 있어서, 접합체가 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 접합체.

청구항 69

제65항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 접합체가 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 접합체.

청구항 70

하기로 정의되는 화학식 (II) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



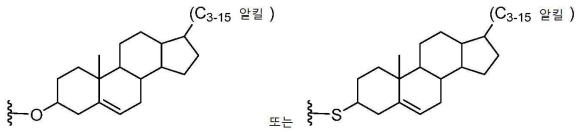
상기 식에서,

R_3은 알케닐렌이고;

R_4는 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고, **는 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이고;

R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

R_6은 하기 화학식 중 하나이고;



, 이들 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

[Xaa]$_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[Xaa]$_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[Xaa]$_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

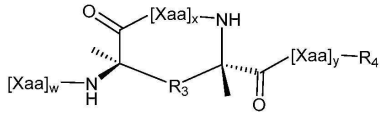
임의적으로 [Xaa]$_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 -C(O)NH_2로 대체된다.

청구항 71

제70항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 화학식 (II)로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 72

제70항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기로 정의되는 화학식 (IIa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



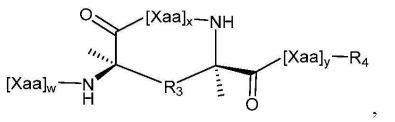
상기 식에서, 임의적으로 [Xaa]$_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 -C(O)NH_2로 대체된다.

청구항 73

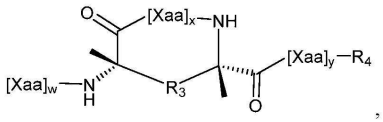
제72항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 화학식 (IIa)로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 74

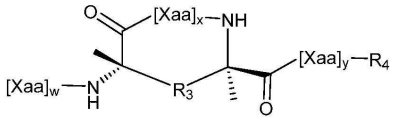
제70항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



,



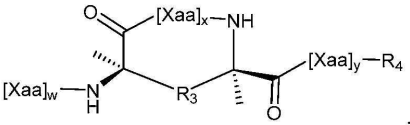
,



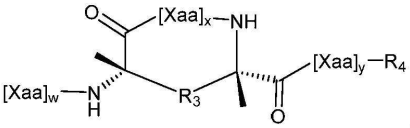
상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 75

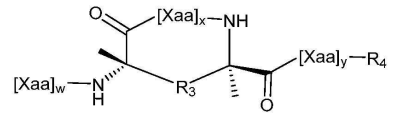
제70항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



,



,



상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 76

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 C_{7-15} 알케닐렌인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 77

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 C_{9-13} 알케닐렌인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 78

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 C_{11} 알케닐렌인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 79

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 $-(CH_2)_{3-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-7}-$인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 80

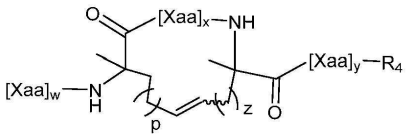
제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 $-(CH_2)_{5-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-4}-$인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 81

제70항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, R_3이 $-(CH_2)_6-CH=CH-(CH_2)_3-$인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 82

하기로 정의되는 화학식 (III) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:

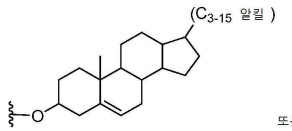


상기 식에서,

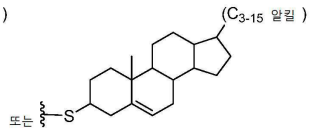
R_4는 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이고;

R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

R_6은 하기 화학식 중 하나이고;



또는



, 이들 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

$[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

$[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

$[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

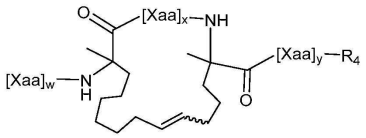
청구항 83

제82항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 화학식 (III)으로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 84

제82항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기로 정의되는 화학식 (IIIa) 또는 이의 약제학적으로 허용

되는 염을 포함하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

청구항 85

제70항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, R_4가 $**-C(O)-(C_{2-3}$ 알킬렌$)-[O-CH_2CH_2]_m-N(R_5)C(O)-(C_{1-2}$ 알킬렌$)-R_6$이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 86

제70항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, R_4가 $**-C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]_m-N(R_5)C(O)-(CH_2)-R_6$이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 87

제70항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기가 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 88

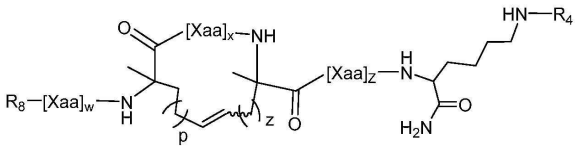
제70항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기가 $-N(H)C(O)CH_3$으로 대체되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 89

제70항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기가 $-C(O)NH_2$로 대체되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 90

화학식 (IV) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:

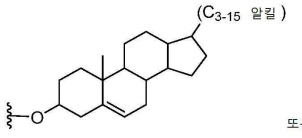


상기 식에서,

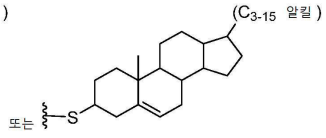
R_4는 $-C(O)-(C_{2-6}$ 알킬렌$)-[O-CH_2CH_2]_m-N(R_5)C(O)-(C_{1-6}$ 알킬렌$)-R_6$이고;

R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

R^6은 하기 화학식 중 하나이고;



또는



, 이들 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

R_8은 -C(O)-(C_{1-4} 알킬)이고;

$[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

$[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

$[Xaa]_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이고;

m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

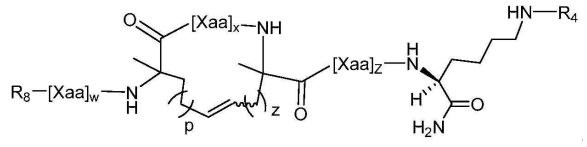
p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

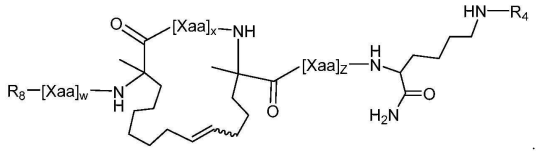
청구항 91

제90항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기로 정의되는 화학식 (IVa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



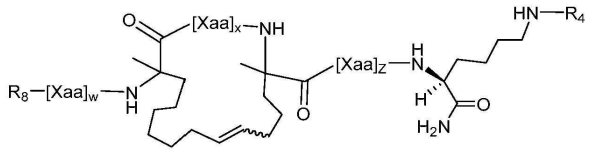
청구항 92

제90항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기로 정의되는 화학식 (IVb) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



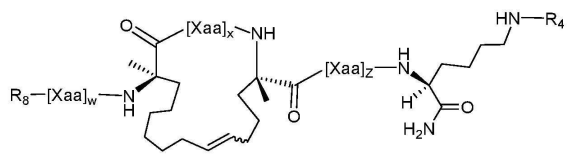
청구항 93

제90항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 하기로 정의되는 화학식 (IVc) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



청구항 94

하기로 정의되는 화학식 (V) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:

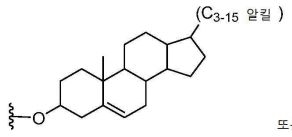


상기 식에서,

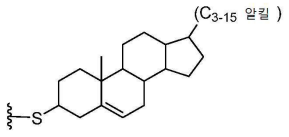
R_4는 -C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고;

R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

R^6은 하기 화학식 중 하나이고;



또는



, 이들 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

R_8은 -C(O)-(C_{1-4} 알킬)이고;

[Xaa]$_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[Xaa]$_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[Xaa]$_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이고;

m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

청구항 95

제90항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, R_8이 -C(O)CH_3인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 96

제70항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, R_4가 -C(O)-(C_{2-3} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-2} 알킬렌)-R_6인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

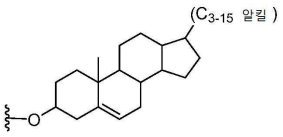
청구항 97

제70항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, R_4가 -C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(CH_2)-R_6인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 98

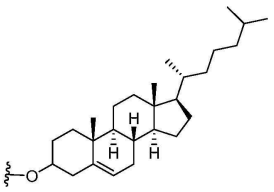
제70항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, R_5가 수소인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 99

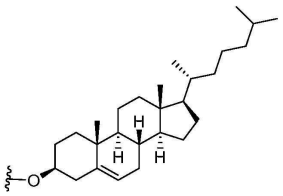
제70항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, R_6이 t개의 R_7에 의해 치환된 

인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

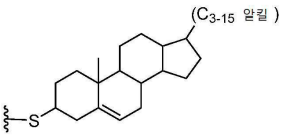
청구항 100

제70항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, R_6이 t개의 R_7에 의해 치환된  인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

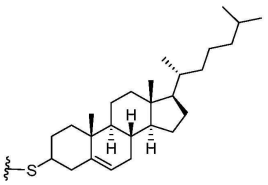
청구항 101

제70항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, R_6이 t개의 R_7에 의해 치환된  인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

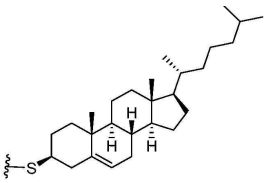
청구항 102

제70항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, R_6이 t개의 R_7에 의해 치환된  인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 103

제70항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, R_6이 t개의 R_7에 의해 치환된  인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 104

제70항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, R_6이 t개의 R_7에 의해 치환된  인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 105

제70항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, t가 0인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 106

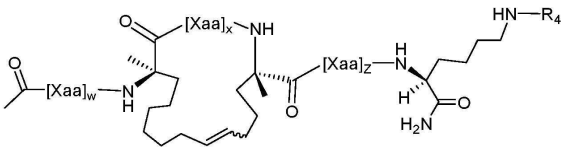
제70항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, m이 4인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

청구항 107

제70항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, m이 8인 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체.

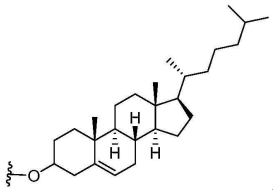
청구항 108

하기로 정의되는 화학식 (VI) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체:



상기 식에서,

R_4는 $-C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]_8-N(H)C(O)-(CH_2)-R_6$이고;

R_6은  이고;

$[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

$[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

$[Xaa]_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이다.

청구항 109

제1항 내지 제107항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 화합물.

청구항 110

제108항의 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 화합물.

청구항 111

코로나바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법으로서, 상기 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 제1항 내지 제108항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법.

청구항 112

코로나바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법으로서, 상기 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 서열번호 10을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법.

청구항 113

코로나바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법으로서, 상기 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 제1항 내지 제108항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법.

청구항 114

코로나바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법으로서, 상기 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 서열번호 10을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법.

청구항 115

코로나바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 치료학적 유효량의 제1항 내지 제108항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스, 또는 박쥐로부터 선택되는 것인, 상기 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법.

청구항 116

코로나바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법으로서, 상기 대상체에게 치료학적 유효량의 제1항 내지 제108항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스, 또는 박쥐로부터 선택되는 것인, 상기 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법.

청구항 117

제111항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 코로나바이러스 감염이 베타코로나바이러스에 의한 것인 방법.

청구항 118

제111항 내지 제117항 중 어느 한 항에 있어서, 코로나바이러스 감염이 SARS-CoV-2에 의한 감염에 의해 유발되는 것인 방법.

청구항 119

제111항 내지 제118항 중 어느 한 항에 있어서, 코로나바이러스 감염이 SARS-CoV-2의 변이체에 의한 감염에 의해 유발되는 것인 방법.

청구항 120

제119항에 있어서, 변이체가 우한-Hu-1, B.1.427/B.1.429, B.1.617.2, D614G B.1, 브라질 변이체 P.1, B.1.1.7, B.1.351, B.1.525, B.1.526, B.1.617.1, B.1.617.3, P.2, B.1.621, B.1.621.1, B.1.1.529, BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4 또는 BA.5로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 121

제119항에 있어서, 변이체가 B.1.351, 클러스터 5, 계통 B.1.1.207, 계통 B.1.1.7, 관심 202102/02 변이체, 계통 B.1.1.317, 계통 B.1.1.318, 계통 B.1.351, 계통 B.1.429, 계통 B.1.525, 계통 P.1(계통 B.1.1.28로도 공지됨), 계통 B.1.1.529, 계통 BA.1, 계통 BA.1.1, 계통 BA.2, 계통 BA.3, 계통 BA.4 계통 BA.5, D614G, E484K, N501Y, S477G/N, 또는 P681H로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 122

구조적으로 안정화된 펩티드를 제조하는 방법으로서, (a) 서열번호 6에 제시된 서열을 갖는 펩티드 또는 이의 변이체를 제공하는 단계, 및 (b) 펩티드를 가교결합시키는 단계, 및 임의적으로 구조적으로 안정화된 펩티드를 정제하는 단계를 포함하고, 임의적으로 펩티드의 가교결합은 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의한 것인, 구조적으로 안정화된 펩티드를 제조하는 방법.

청구항 123

제121항 또는 제122항에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드를 멸균 약제학적 조성물로 제제화하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 124

제1항 내지 제14항 및 제41항 내지 제64항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법으로서, (a) 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

청구항 125

헵타드 반복 도메인 2(HR2) 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법으로서, (a) HR2 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) HR2 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, 상기 HR2 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

청구항 126

제1항 내지 제14항 및 제41항 내지 제64항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법으로서, (a) 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 티오콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

청구항 127

HR2 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법으로서, (a) HR2 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) HR2 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 티오콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, 상기 HR2 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

청구항 128

제124항 내지 제127항 중 어느 한 항에 있어서, 유도체화 단계가

카르복시 티오콜레스테롤 또는 카르복시 콜레스테롤을 디클로로메탄(DCM)에 용해시켜 용액을 생성하는 단계; 및

염기, 브로모아세트산의 t-부틸 에스테르, 및 트리플루오로아세트산을 순서대로 용액에 첨가하는 단계

에 의한 고체상 합성에 의해 카르복시 티오콜레스테롤 또는 카르복시 콜레스테롤을 통합시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 129

제124항 내지 제127항 중 어느 한 항에 있어서, 유도체화 단계가

수지에 결합된 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 디메틸포름아미드(DMF)를 포함하는 용액 중의 피페리딘으로 처리하는 단계;

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 N-말단을 아세트산 무수물로 캡핑하는 단계;

구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단을 DMF 중의 히드라진으로 탈보호하는 단계;

구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 Fmoc 보호된 PEG(n) 아미노산으로 아실화하는 단계;

구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 가교결합시키는 단계; 및

구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 수지로부터 단리시키는 단계

를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 130

제129항에 있어서, n = 1-36이고, 임의적으로 n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 방법.

청구항 131

제123항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 6의 C-말단 리신이 수지-결합된 아민으로 치환되고, 임의적으로 서열번호 6의 C-말단 리신이 수지 결합 카르복실산 또는 티올로 추가로 치환되는 것인 방법.

청구항 132

제123항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 콜레스테롤이 티오콜레스테롤인 방법.

청구항 133

제123항 내지 제128항 중 어느 한 항에 있어서, 접합체가 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 방법.

청구항 134

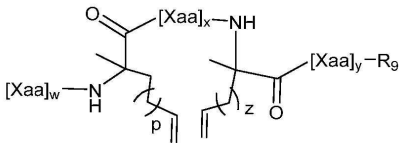
제123항 내지 제128항 중 어느 한 항에 있어서, 접합체가 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 방법.

청구항 135

제123항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 펩티드의 가교결합이 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의한 것인 방법.

청구항 136

하기로 정의되는 화학식 (VII) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 펩티드를 고리 폐쇄 복분해 조건에 적용하여 안정화된 펩티드를 제공하는 단계를 포함하는, 안정화된 펩티드를 합성하는 방법:



상기 식에서,

$[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

$[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

$[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

R_9는 -OH 또는 

이고;

p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

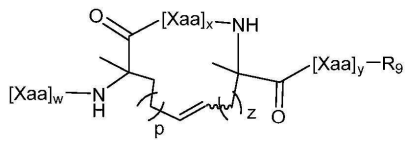
임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다.

청구항 137

제136항에 있어서, 고리 폐쇄 복분해 조건이 화학식 (IV)를 포함하는 상기 펩티드를 그룹스(Grubbs) 고리 폐쇄 복분해 루테늄 촉매에 노출시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 138

제136항 또는 제137항에 있어서, 안정화된 펩티드가 하기로 정의되는 화학식 (III) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 것인 방법:



상기 식에서,

$[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

$[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

$[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

R_9는 -OH 또는 

이고;

p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다.

청구항 139

제136항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서, p가 5인 방법.

청구항 140

제136항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, z는 3인 방법.

청구항 141

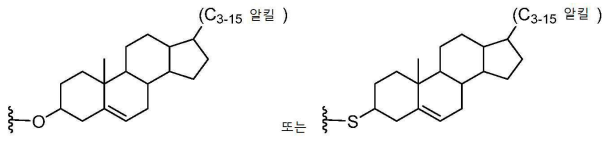
제136항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, 안정화된 펩티드의 C-말단 끝을 폴리에틸렌 글리콜 모이어티 및 콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 모이어티로 유도체화하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 142

제136항 내지 제140항 중 어느 한 항에 있어서, 안정화된 펩티드의 C-말단 끝을 유도체화하여 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-$N(R_5)C(O)$-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6 기를 도입하는 단계를 추가로 포함하는 방법으로서, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이고;

R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

R_6은 하기 화학식 중 하나이고;



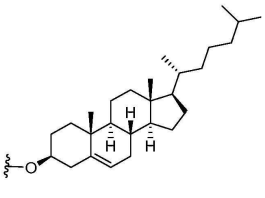
, 이들 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

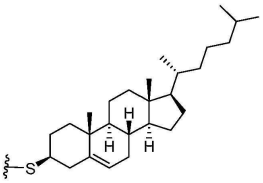
m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

t는 0, 1, 2, 또는 3인 방법.

청구항 143

제142항에 있어서, R_6이 t개의 R_7로 치환된  인 방법.

청구항 144

제142항에 있어서, R_6이 t개의 R_7로 치환된  인 방법.

청구항 145

제142항 내지 제144항 중 어느 한 항에 있어서, t가 0인 방법.

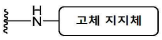
청구항 146

제142항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, m이 4인 방법.

청구항 147

제142항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, m이 8인 방법.

청구항 148

제142항 내지 제147항 중 어느 한 항에 있어서, R_9가 

인 방법.

청구항 149

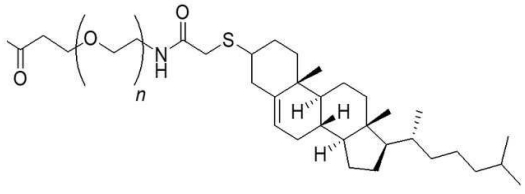
제1항 내지 제108항 중 어느 한 항의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 포함하는 나노입자 조성물로서, 임의적으로 나노입자 조성물은 PLGA 나노입자이고, 추가로 임의적으로 나노입자 조성물은 2:98 내지 100:0 범위의 PLGA 나노입자의 락트산:글리콜산 비를 포함하는 것인 나노입자 조성물.

청구항 150

제149항에 있어서, 키토산, 덱스트린, 또는 둘 다를 추가로 포함하는 나노입자 조성물.

청구항 151

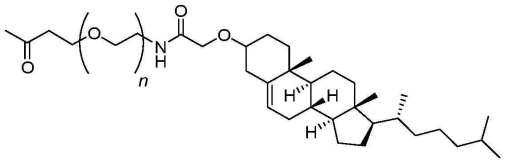
하기 화학식을 포함하는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하는 링커:



상기 식에서, n은 1-36이다.

청구항 152

하기 화학식을 포함하는 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하는 링커:



상기 식에서, n은 1-36이다.

청구항 153

제151항 또는 제152항에 있어서, n이 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 링커.

청구항 154

제151항 내지 제153항 중 어느 한 항에 있어서, PEG에 부착된 리신을 추가로 포함하는 링커.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2021년 9월 8일 출원된 미국 가출원 번호 63/241,722의 우선권에 대한 이익을 주장하며, 이는 전체가 인용에 의해 본원에 포함된다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 본 출원은 00530-0414WO1_SL_ST26.xml이라는 명칭의 XML 파일로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유한다. 2022년 9월 6일에 생성된 XML 파일의 크기는 74,442바이트이다. XML 파일의 자료는 전체가 인용에 의해 본원에 포함된다.

[0005] **기술 분야**

[0006] 본 개시내용은 단독의 또는 활성을 추가로 최적화하기 위해 생성된 PEG(n)-콜레스테롤 또는 PEG(n)-티오콜레스테롤 유도체화로 접합된 구조적으로 안정화된 SARS-CoV-2 항바이러스 펩티드 및 코로나바이러스 감염의 예방 및 치료에서 이러한 스테이플링된 펩티드 콜레스테롤 접합체를 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 우한(Wuhan) nCoV(2019-nCoV 또는 SARS-CoV-2로도 공지됨)로 유발된 COVID-19와 같은 새로운 코로나바이러스(nCoV) 발생으로 인한 감염을 예방, 치료 또는 완전히 치료하기 위한 항바이러스 치료제는 현재 존재하지 않는다. COVID-19는 세계보건기구(WHO)에 의해 고위험의 세계적인 보건 비상사태로 선포되었으며, 2022년 9월 현재 전 세계적으로 603,711,760건의 호흡기 질환 및 6,484,136명의 사망자를 발생시켰다. 후속 변이체는 백신, 항체 및 분자 치료제의 효능을 방해하는 것을 포함하여 지속적인 공중 보건 문제를 제기해 왔다.

[0008] SARS-CoV-2는 숙주 세포와 엮일 때 입체형태 변화를 겪어 숙주 및 바이러스 막을 합치는 6-나선 다발을 형성하는 표면 단백질을 함유한다. 바이러스 융합 과정의 펩티드 기반 억제가 기계적으로 실행 가능하고 임상적으로 효과적이지만(예컨대, 2003년 FDA에서 승인된 푸제온(Fuzeon)(즉, 엔푸르비르티드(enfurvirtide))), 생체내에서 생체활성 형태의 손실 및 빠른 단백질분해를 포함하여 펩티드의 생물물리학적 및 약리학적 책무(예컨대, 1일 2회 100 mg의 자가 주사)는 이 검증된 접근법의 보다 광범위한 적용을 제한하였다. 따라서, 발병을 효과적으로 완화하기 위해서는 COVID-19 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 새로운 전략이 시급히 필요하다.

발명의 내용

[0009] 본 출원은 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스) 감염의 예방 및/또는 치료를 위한

최적화되고 표적화된 예방제 및 치료제를 생성하기 위해 PEG(n)-콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤 유도체화 방법과 조합된 생체활성 나선의 구조를 요약하고 강화하는 펩티드 안정화 기술(예컨대, 스테이플링)을 개시하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 천연 펩티드에 "스테이플"(예컨대, 모든 탄화수소 스테이플)을 삽입함으로써, 생체활성 나선 구조가 복원될 수 있으며, 나선 구조의 코어에 불안정한 아미드 결합을 묻어두거나 신체의 프로테아제에 의한 인식 및 단백질분해를 방지하는 방식으로 아미드 결합을 억제함으로써 놀라운 프로테아제 저항성이 부여될 수 있다. 본원에서는, 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스)의 탄화수소 스테이플링되고 PEG(n)-콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤 유도체화된 펩티드 억제제가 개시된다. 이러한 구조적으로 안정화된 펩티드 억제제는 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스) 감염, 예컨대 COVID-19를 예방 및/또는 치료하는 데 사용된다.

[0010] 본 개시내용은 신규한 SARS-CoV-2 HR2 스테이플링된 펩티드를 기재한다. 일부 사례에서, HR2 스테이플링된 펩티드는 서열번호 6의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 또는 적어도 95% 동일하다. 일부 사례에서, HR2 스테이플링된 펩티드는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치에서 서열번호 10과 상이하다. 특정 경우에서, 서열번호 6은 스테이플 구축물 D, G, K 또는 N 중 어느 하나에 스테이플을 포함하도록 변형된다(**도 12** 참조). 일부 사례에서, 이러한 HR2 스테이플링된 펩티드는 SARS-CoV-2의 재조합 5-HB와 결합한다. 한 사례에서, SARS-CoV-2의 5-HB는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 특정 사례에서, 서열번호 6에 대한 치환은 나선의 비-상호작용 면 상의 잔기 중 하나 이상(**도 9** 참조) 또는 **도 24a**의 결합되지 않은 잔기 중 하나 이상에 대해 이루어진다. 일부 사례에서, HR2 스테이플링된 펩티드는 서열번호 10, 13, 17, 또는 20의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 또는 적어도 95% 동일하다. 일부 사례에서, HR2 스테이플링된 펩티드는 서열번호 10, 13, 17 또는 20에서 분자간 스테이플을 형성하는 2개의 비-천연 아미노산이 치환되지 않는 것을 제외하고는 서열번호 10, 13, 17 또는 20과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치에서 상이하다. 일부 사례에서, 이러한 HR2 스테이플링된 펩티드는 SARS-CoV-2의 재조합 5-HB와 결합한다. 한 사례에서, SARS-CoV-2의 5-HB는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 경우에서, 치환되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치는 알파 나선의 상호작용하지 않는 면 또는 상호작용하는 면과 상호작용하지 않는 면 사이의 경계에 있다(**도 9** 참조). 특정 사례에서, **도 24a**의 결합되지 않은 잔기 중 하나 이상에 치환이 이루어진다. 특정 사례에서, 서열번호 10, 13, 17 또는 20의 N- 및/또는 C-말단에 있는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산은 결실될 수 있다. 일부 사례에서, 스테이플링된 펩티드는 9, 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, 또는 50개의 아미노산 길이이다. 일부 경우에서, 서열번호 10(즉, DISGINASVVNIQ(서열번호 35))의 제1 스테이플링 아미노산 상류의 N-말단 아미노산 중 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13개)은 결실될 수 있다. 일부 경우에서, 서열번호 10(즉, VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 76)의 제2 스테이프링 아미노산 하류의 C-말단 아미노산 중 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 또는 16개)은 결실될 수 있다. 일부 경우에서, 스테이플링된 펩티드는 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 또는 적어도 95% 동일하고, 서열번호 10, 13, 17 또는 20에서 발견되는 분자간 스테이플을 형성하는 2개의 비-천연 아미노산을 갖는다. 일부 경우에서, 치환된 서열번호 4의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치는 알파 나선의 상호작용 면에 있다. 일부 경우에서, 치환된 서열번호 4의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치는 알파 나선의 상호작용하지 않는 면 또는 상호작용하는 면과 상호작용하지 않는 면 사이의 경계에 있거나(**도 9** 참조) **도 24a**의 결합되지 않은 잔기 중 하나 이상이다. 일부 사례에서, 이러한 HR2 스테이플링된 펩티드는 SARS-CoV-2의 재조합 5-HB와 결합한다. 한 사례에서, SARS-CoV-2의 5-HB는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0011] 일부 경우에서, 아미노산 서열은 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드는 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 서열과 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드는 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열 또는 하나의 아미노산 치환이 있는 이의 변이체를 포함하며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, 아미노산 서열은 서열번호 13(DISGINASVVNIQKEI**8**RLNEVA**X**NLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, **8**은

(R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, 아미노산 서열은 서열번호 17(DISGINASVVNIQKEIDRLN**8**VAKNLN**X**SLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, 아미노산 서열은 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, 아미노산 서열은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이다. 일부 경우에서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

[0012] 일부 경우에서, 상기 스테이플링된 펩티드 각각은 스테이플링된 펩티드의 C-말단에 GK 또는 K를 갖는다. 이러한 스테이플링된 펩티드 각각은 SARS-CoV-2 또는 이의 변이체에 의한 세포(예컨대, 폐 상피 세포)의 감염을 억제 및/또는 예방할 수 있다. 일부 경우에서, 스테이플링된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다. 일부 경우에서, 스테이플링된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포 감염을 예방한다. 일부 경우에서, 이러한 스테이플링된 펩티드는 콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤에 접합된다. 접합은 폴리에틸렌 글리콜과 같은 링커를 통해 이루어질 수 있다. 일부 경우에서, 링커는 PEG(n)이며, n = 1 내지 36이다. 일부 경우에서, n = 3-10, 12, 16, 20, 24 또는 36이다. 일부 경우에서, n = 4 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 경우에서, 링커는 펩티드 링커이다. 일부 경우에서, 링커의 길이는 $(PEG)_4$ 또는 $(PEG)_8$과 같거나 거의 같다. 일부 경우에서, 링커/콜레스테롤은 **도 12**에서 "*"로 표시된 구조를 갖는다. 이러한 스테이플링된 펩티드 및 스테이플링된 펩티드 접합체는 이를 필요로 하는 대상체에서 SARS-CoV-2 감염을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다. 일부 경우에서, 대상체는 인간 대상체이다.

[0013] 본 개시내용은 또한 PEG(n)-콜레스테롤 또는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하는 링커를 기재하며, n = 3 내지 36이다. 일부 경우에서, n = 3-10, 12, 16, 20, 24, 또는 36이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0014] 본 개시내용은 또한 링커(예컨대, PEG)를 통해 콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤에 접합된 스테이플링된 HR2 SARS-CoV-2 펩티드를 기재한다. 일부 경우에서, PEG의 3 내지 36개 반복이 있다. 스테이플링된 HR2 펩티드는 18 내지 60개의 아미노산 길이(예컨대, 19 내지 50개, 또는 38 내지 50개의 아미노산 길이)일 수 있다. 일부 경우에서, 펩티드는 서열번호 3과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 경우에서, 펩티드는 서열번호 4와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 경우에서, 치환된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치는 알파 나선의 상호작용 면에 있다. 일부 경우에서, 치환되는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 위치는 알파 나선의 상호작용하지 않는 면 또는 상호작용하는 면과 상호작용하지 않는 면 사이의 경계에 있다(**도 9** 참조). 일부 경우에서, 스테이플은 서열번호 10에서와 동일한 위치에 삽입된다. 일부 경우에서, 스테이플은 서열번호 13에서와 동일한 위치에 삽입된다. 일부 경우에서, 스테이플은 서열번호 17에서와 동일한 위치에 삽입된다. 일부 경우에서, 스테이플은 서열번호 20에서와 동일한 위치에 삽입된다. 일부 경우에서, 스테이플링된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다. 일부 경우에서, 스테이플링된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포 감염을 예방한다. 일부 경우에서, 스테이플링된 펩티드는 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0015] 제1 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 6(DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 94% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공한다. 일부 사례에서, (i) 위치 14 및 21, (ii) 위치 17 및 24, (iii) 위치 20 및 27, (iv) 위치 21 및 28, 또는 (v) 위치 24 및 31로부터 선택되는 서열번호 6의 위치(서열번호 6의 위치 1은 N-말단 아스파르트산이고 위치 38은 C-말단 리신임)에 있는 아미노산은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체된다. 한 사례에서, 위치 14 및 21은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체

된다. 한 사례에서, 위치 17 및 24는 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체된다. 한 사례에서, 위치 21 및 28은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체된다. 한 사례에서, 위치 24 및 31은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체된다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 36 내지 60개의 아미노산, 임의적으로 38 내지 50개의 아미노산 길이(예컨대, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60개의 아미노산 길이)이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 38개의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0016] 일부 경우에서, 구조적으로 안정화된 펩티드의 아미노산 서열은 서열번호 6에 제시된 서열과 적어도 70% 동일(예컨대, 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 94% 동일)하다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드의 아미노산 서열은 서열번호 6에 제시된 서열과 적어도 80% 동일(예컨대, 적어도 80%, 85%, 90% 또는 94% 동일)하다.

[0017] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드의 아미노산 서열은 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드의 아미노산 서열은 서열번호 13(DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드의 아미노산 서열은 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드의 아미노산 서열은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.

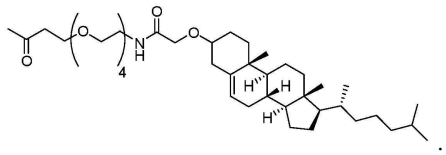
[0018] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드는 38 내지 45개(38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 또는 45개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드는 38 내지 40개(38, 39 또는 40개)의 아미노산 길이이다.

[0019] 일부 사례에서, 서열번호 6의 위치 37 및/또는 38은 치환되지 않는다.

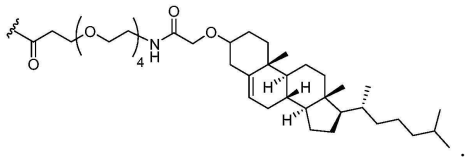
[0020] 제2 측면에서, 본 개시내용은 서열번호 10의 위치 3, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 25, 27, 29, 32, 34, 35, 37, 또는 38에 있는 아미노산 중 적어도 1 내지 18개가 임의의 다른 천연 또는 비-천연 아미노산으로 치환된 서열번호 10, 13, 17, 또는 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드에 관한 것이며, 서열번호 6의 각각 위치 14 및 21, 17 및 24, 21 및 28, 또는 24 및 31에 있는 비-천연 아미노산은 치환되지 않고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 45개 이하의 아미노산 길이이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0021] 제3 측면에서, 본 개시내용은 이전에 기재된 구조적으로 안정화된 폴리펩티드 중 어느 하나를 갖는(예컨대, 서열번호 7-21 중 어느 하나를 갖는) 접합체를 기재한다. 일부 사례에서, 접합체는 또한 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및/또는 콜레스테롤 모이어티(예컨대, 콜레스테롤, 티오콜레스테롤)을 포함한다. 일부 사례에서, PEG 및/또는 콜레스테롤은 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단에 연결된다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG 및 콜레스테롤을 포함한다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36(n = 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, 또는 36)이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG 및 티오콜레스테롤을 포함한다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36(n = 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, 또는 36)이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

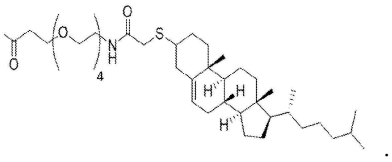
[0022] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK) 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재된다. 일부 사례에서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0023] 

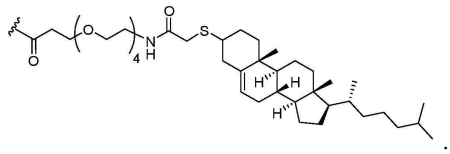
[0024] 일부 사례에서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0025] 

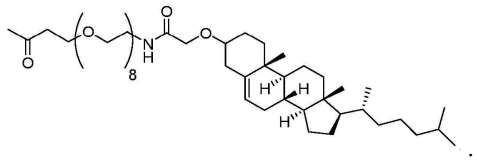
[0026] 추가적으로, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재된다. 일부 사례에서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0027] 

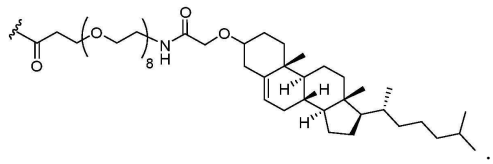
[0028] 일부 사례에서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0029] 

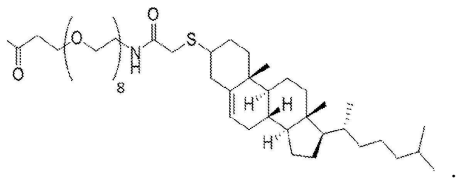
[0030] 추가적으로, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재된다. 일부 사례에서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0031] 

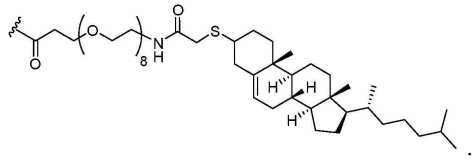
[0032] 일부 사례에서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0033] 

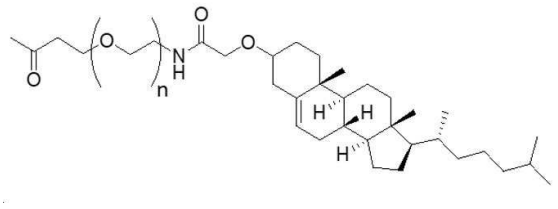
[0034] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재된다. 일부 사례에서, PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0035] .

[0036] 일부 사례에서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

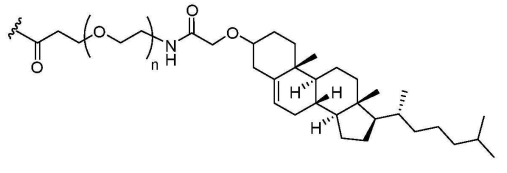
[0037] .

[0038] 추가적으로, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, PEG(n)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0039] ,

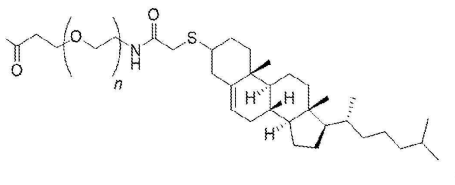
[0040] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0041] 일부 사례에서, PEG(n)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0042] ,

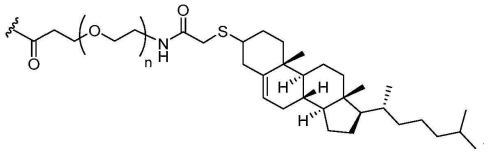
[0043] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0044] 마지막으로, 또한 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0045] ,

[0046] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0047] 일부 사례에서, PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

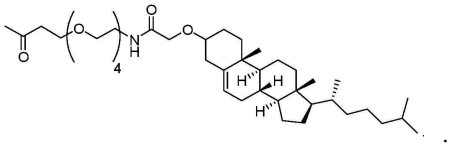
[0048] ,

[0049] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

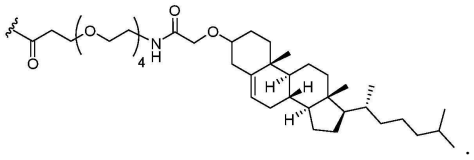
[0050] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나와 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

[0051] 일부 사례에서, 접합체는 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-콜레스테롤 모이어티를 포함하고, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

[0052] 일부 사례에서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0053] .

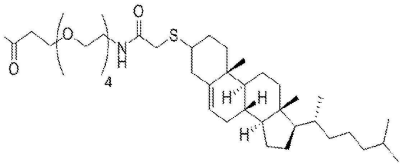
[0054] 일부 사례에서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

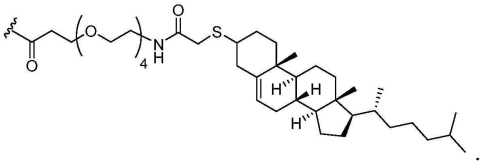
[0055] .

[0056] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나와 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

[0057] 일부 사례에서, 접합체는 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하고, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

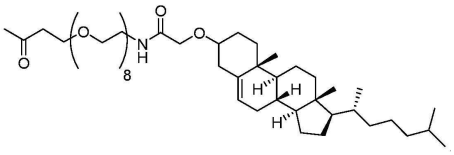
[0058] 일부 사례에서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

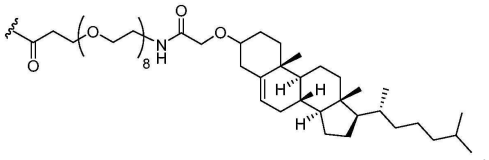
[0059] . 일부 사례에서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0060] .

[0061] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나와 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

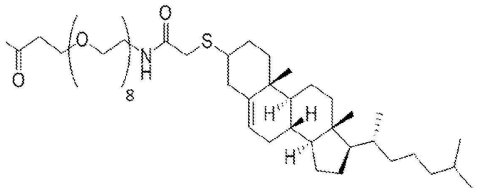
[0062] 일부 사례에서, 접합체는 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티를 포함하고, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다. 일부 사례에서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

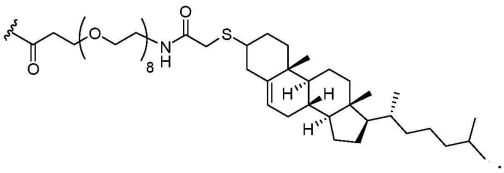
[0063] . 일부 사례에서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0064] .

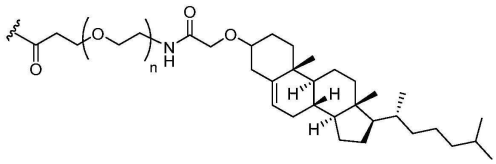
[0065] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나와 적어도 94% 동일한 아미노산 서열을 갖는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다. 일부 사례에서, 접합체는 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하고, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

[0066] 일부 사례에서, PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 포함한다:

[0067] . 일부 사례에서, PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

[0068] .

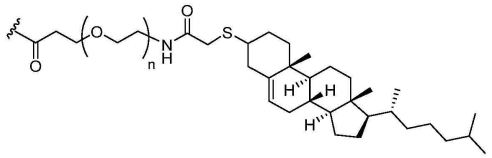
[0069] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, 8은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, X는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, PEG(n)-콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:



[0070]

[0071] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0072] 또한, 서열번호 10(DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK), 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 접합체가 본원에 기재되며, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티는 하기 화학식을 갖는다:

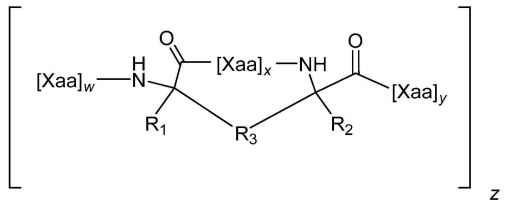


[0073]

[0074] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0075] 일부 사례에서, **8**은 (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌기이고, **X**는 (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌기이다.

[0076] 이어서, 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하고, 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는 구조적으로 안정화된 펩티드가 본원에 기재된다:



화학식 (I)

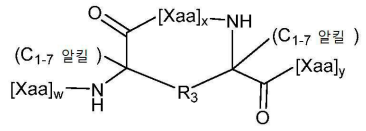
[0077]

[0078] 상기 식에서, 각각의 R_1 및 R_2는 H 또는 C1 내지 C10 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴알킬, 사이클로알킬알킬, 헤테로아릴알킬, 또는 헤테로사이클릴알킬이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고; 각각의 R_3은 독립적으로 알칸 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고; z는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고; 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이다.

[0079] 일부 사례에서, R_1은 알킬이다. 일부 사례에서, R_1은 메틸기이다. 일부 사례에서, R_3은 알킬이다. 일부 사례에서, R_3은 메틸기이다. 일부 사례에서, R_2는 알케닐이다. 일부 사례에서, R_2는 알킬이다. 일부 사례에서, R_2는 메틸기이다. 일부 사례에서, R_3은 알케닐이다. 일부 사례에서, 약제학적으로 허용되는 염은 히드로클로라이드, 나트륨, 술페이트, 아세테이트, 포스페이트 또는 디포스페이트, 클로라이드, 칼륨, 말레에이트, 칼슘, 시트레이트, 메실레이트, 니트레이트, 타르트레이트, 알루미늄, 글루코네이트, 및 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0080] 일부 사례에서, 본원에 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 약제학적으로 허용되는 염은 최대 50개(예컨대, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개)의 아미노산 길이, 임의적으로 최대 45개(예컨대, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 38개의 아미노산 길이이다.

[0081] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (I-1) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드가 본원에 기재된다:

[0082] 

[0083] 상기 식에서,

[0084] R_3은 알케닐렌이고;

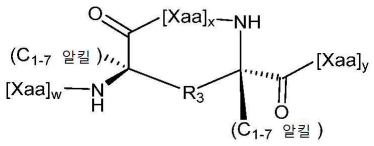
[0085] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0086] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0087] $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

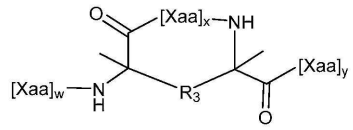
[0088] 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0089] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (I-1a)로 이루어진다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (I-1a) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0090] 

[0091] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (I-A)에 제시된 바와 같다.

[0092] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (I-A) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드가 본원에 기재된다:

[0093] 

[0094] 상기 식에서,

[0095] R_3은 알케닐렌이고;

[0096] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

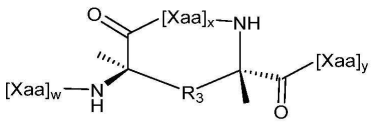
[0097] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0098] $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0099] 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0100] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (I-A)로 이루어진다.

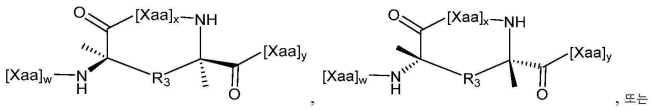
[0101] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (Ia) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

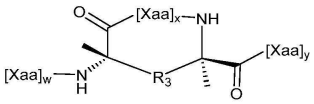
[0102] 

[0103] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (I-A)에 대해 제시된 바와 같다.

[0104] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (Ia)로 이루어진다.

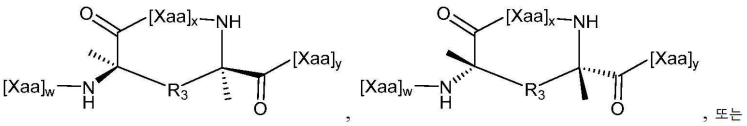
[0105] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

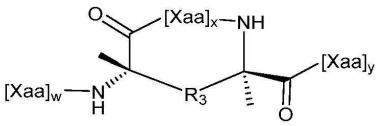
[0106] 

[0107] 

[0108] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (I-A)에 대해 제시된 바와 같다.

[0109] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 이루어진다:

[0110] 

[0111] 

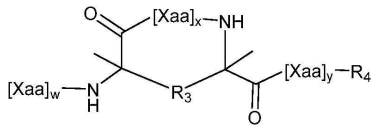
[0112] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (I-A)에 대해 제시된 바와 같다.

[0113] 일부 사례에서, R_3은 C_{7-15} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 C_{9-13} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 C_{11} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_{3-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-7}-$이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_{5-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-4}-$이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_6-CH=CH-(CH_2)_3-$이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기가 $-N(H)C(O)CH_3$으로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0114] 본 개시내용의 또 다른 특색은 화학식 (I)을 갖는 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 PEG 및/또는 콜레스테롤을 포함하는 접합체이다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG 및 콜레스테롤을 포함한다. 일부 사례에서, 콜레스테롤은 티오콜레스테롤이다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, 임의적으로 n은 1-36(n = 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, 또는 36)이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는

36이다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하며, n은 1-36(n = 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, 또는 36)이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0115] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (II) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 기재된다:

[0116] 

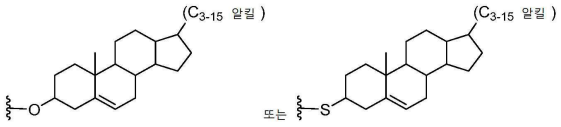
[0117] 상기 식에서,

[0118] R_3은 알케닐렌이고;

[0119] R_4는 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고, **는 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이고;

[0120] R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

[0121] R_6은 하기 화학식 중 하나이고;

[0122] 

, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

[0123] R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

[0124] [Xaa]$_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0125] [Xaa]$_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

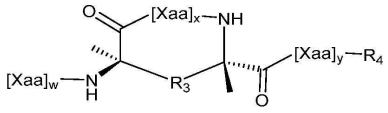
[0126] [Xaa]$_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0127] m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

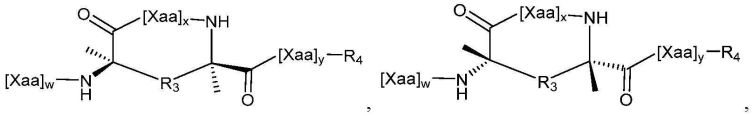
[0128] t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

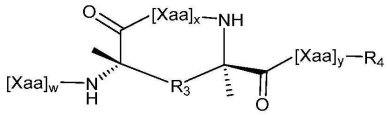
[0129] 임의적으로 [Xaa]$_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 -C(O)NH_2로 대체된다.

[0130] 일부 실시양태에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (II)로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IIa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0131] 

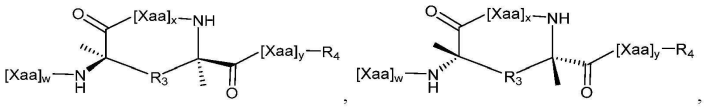
[0132] 상기 식에서, 임의적으로 [Xaa]$_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 -C(O)NH_2로 대체되고, 변수는 화학식 (II)에 대해 제시된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (IIa)로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

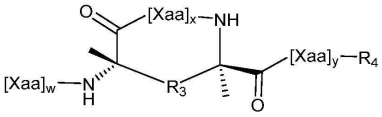
[0133] 

[0134] 

[0135] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (II)에 대해 제시된 바와 같다.

[0136] 일부 실시양태에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 이루어진다:

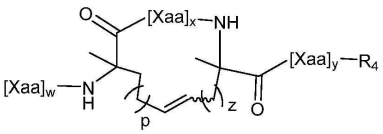
[0137] 

[0138] 

[0139] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (II)에 대해 제시된 바와 같다.

[0140] 일부 실시양태에서, R_3은 C_{7-15} 알케닐렌이다. 일부 실시양태에서, R_3은 C_{9-13} 알케닐렌이다. 일부 실시양태에서, R_3은 C_{11} 알케닐렌이다. 일부 실시양태에서, R_3은 $-(CH_2)_{3-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-7}-$이다. 일부 실시양태에서, R_3은 $-(CH_2)_{5-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-4}-$이다. 일부 실시양태에서, R_3은 $-(CH_2)_6-CH=CH-(CH_2)_3-$이다.

[0141] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (III) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 기재된다:

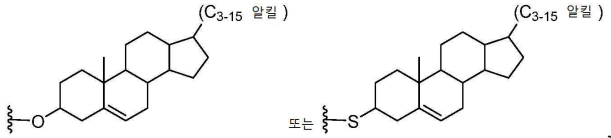
[0142] 

[0143] 상기 식에서,

[0144] R_4는 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-$N(R_5)$C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이고;

[0145] R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

[0146] R_6은 하기 화학식 중 하나이고;

[0147] 

, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

[0148] R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

[0149] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0150] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0151] $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0152] m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

[0153] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

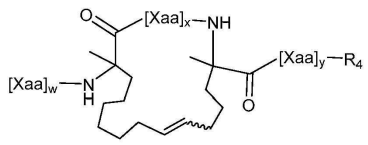
[0154] z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

[0155] t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0156] 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0157] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (III)으로 이루어진다.

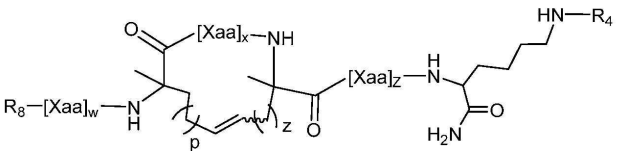
[0158] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IIIa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0159] 

[0160] 상기 식에서, 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체되고, 변수는 화학식 (III)에 대해 제시된 바와 같다.

[0161] 일부 사례에서, R_4는 $**-C(O)-(C_{2-3}$ 알킬렌$)-[O-CH_2CH_2]_m-N(R_5)C(O)-(C_{1-2}$ 알킬렌$)-R_6$이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, R_4는 $**-C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]_m-N(R_5)C(O)-(CH_2)-R_6$이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)CH_3$으로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0162] 또한, 화학식 (IV) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 기재된다:

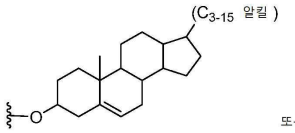
[0163] 

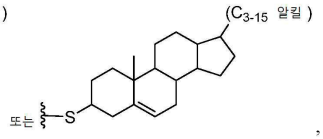
[0164] 상기 식에서,

[0165] R_4는 $-C(O)-(C_{2-6}$ 알킬렌$)-[O-CH_2CH_2]_m-N(R_5)C(O)-(C_{1-6}$ 알킬렌$)-R_6$이고;

[0166] R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

[0167] R^6은 하기 화학식 중 하나이고;

[0168] 

또는 

, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

[0169] R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

[0170] R_8은 -C(O)-(C_{1-4} 알킬)이고;

[0171] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0172] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0173] $[Xaa]_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이고;

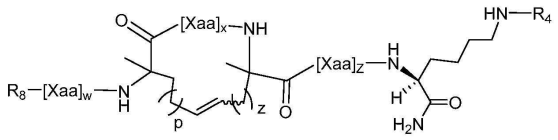
[0174] m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

[0175] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

[0176] z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

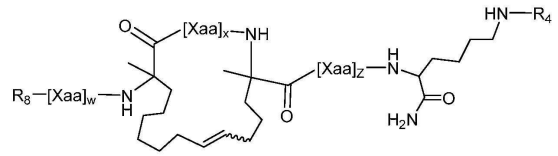
[0177] t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0178] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IVa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시된다:

[0179] 

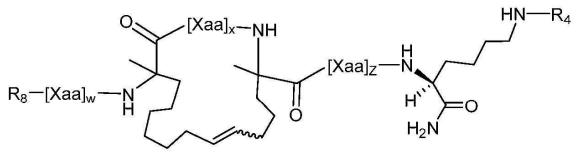
[0180] 상기 식에서, 변수는 화학식 (IV)에 대해 제시된 바와 같다.

[0181] 일부 경우에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IVb) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시된다:

[0182] 

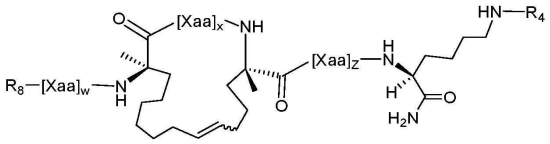
[0183] 상기 식에서, 변수는 화학식 (IV)에 대해 제시된 바와 같다.

[0184] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IVc) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시된다:

[0185] 

[0186] 상기 식에서, 변수는 화학식 (IV)에 대해 제시된 바와 같다.

[0187] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (V) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 기재된다:

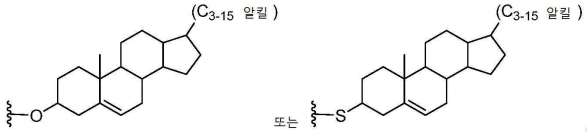
[0188] 

[0189] 상기 식에서,

[0190] R_4는 -C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고;

[0191] R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고;

[0192] R^6은 하기 화학식 중 하나이고;

[0193] 

, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

[0194] R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

[0195] R_8은 -C(O)-(C_{1-4} 알킬)이고;

[0196] [Xaa]$_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

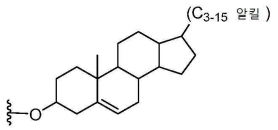
[0197] [Xaa]$_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0198] [Xaa]$_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이고;

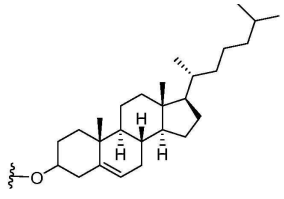
[0199] m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

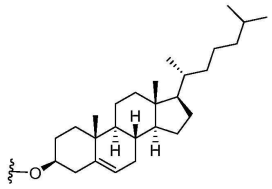
[0200] t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

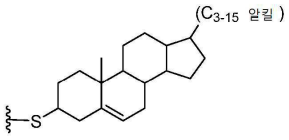
[0201] 일부 사례에서, R_8은 -C(O)CH_3이다. 일부 사례에서, R_4는 -C(O)-(C_{2-3} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-2} 알킬렌)-R_6이다. 일부 사례에서, R_4는 -C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(CH_2)-R_6이다. 일부 사례에서, R_5는 수소이다.

[0202] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 

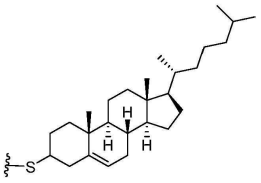
이다.

[0203] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 
이다.

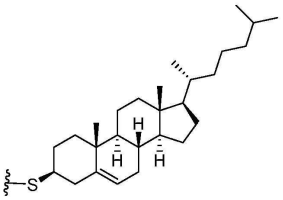
[0204] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 
이다.

[0205] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 

이다.

[0206] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 

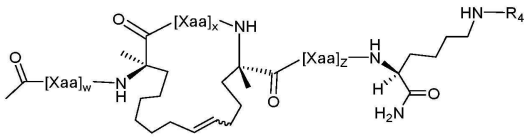
이다.

[0207] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 

이다.

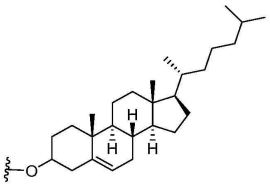
[0208] 일부 사례에서, t는 0이다. 일부 사례에서, m은 4이다. 일부 사례에서, m은 8이다.

[0209] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (VI) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 기재된다:

[0210] 

[0211] 상기 식에서,

[0212] R_4는 $-C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]_8-N(H)C(O)-(CH_2)-R_6$이고;

[0213] R_6은 

이고;

[0214] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0215] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0216] $[Xaa]_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이다.

[0217] 또한, 전술된 바와 같은 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 중 어느 하나 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 화합물이 본원에 기재된다.

[0218] 추가로, 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 중 어느 하나를 제조하고 사용하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 사례에서, 코로나 감염의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 (서열번호 7-21을 포함하는; 예컨대 서열번호 10 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나를 포함하는) 이전에 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 중 어느 하나를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 또한, 코로나 감염의 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 (서열번호 7-21을

포함하는; 예컨대 서열번호 10 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나를 포함하는) 이전에 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 중 어느 하나를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법이 본원에 제공된다.

[0219] 또한, 코로나 감염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료학적 유효량의 (서열번호 7-21을 포함하는; 예컨대 서열번호 10 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나를 포함하는) 이전에 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 중 어느 하나를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법이 본원에 기재된다. 또한, 코로나 감염의 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료학적 유효량의 (서열번호 7-21을 포함하는; 예컨대 서열번호 10 또는 서열번호 13, 17, 또는 20 중 어느 하나를 포함하는) 이전에 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 중 어느 하나를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법이 본원에 개시된다. 일부 사례에서, 대상체는 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스, 또는 박쥐로부터 선택된다.

[0220] 일부 사례에서, 코로나바이러스 감염은 베타코로나바이러스에 의한 것이다. 일부 사례에서, 코로나바이러스 감염은 알파코로나바이러스에 의한 것이다. 일부 사례에서, 코로나바이러스 감염은 SARS-CoV-2에 의한 감염에 의해 유발된다. 일부 사례에서, 코로나바이러스 감염은 SARS-CoV-2 변이체에 의한 감염에 의해 유발된다. 일부 사례에서, 변이체는 우한-Hu-1, B.1.427/B.1.429, B.1.617.2, D614G B.1, 또는 브라질 변이체 P.1로부터 선택된다. 일부 사례에서, 변이체는 오미크론 변이체이다. 일부 사례에서, 변이체는 B.1.351, 클러스터(Cluster) 5, 계통(Lineage) B.1.1.207, 계통 B.1.1.7, 관심 202102/02 변이체, 계통 B.1.1.317, 계통 B.1.1.318, 계통 B.1.351, 계통 B.1.429, 계통 B.1.525, 계통 P.1(계통 B.1.1.28로도 공지됨), 계통 B.1.1.529, 계통 BA.1, 계통 BA.1.1, 계통 BA.2, 계통 BA.3, 계통 BA.4 계통 BA.5, D614G, E484K, N501Y, S477G/N, 또는 P681H로부터 선택된다. 일부 사례에서, 변이체는 우한-Hu-1, B.1.427/B.1.429, B.1.617.2, D614G B.1, 브라질 변이체 P.1, B.1.1.7, B.1.351, B.1.525, B.1.526, B.1.617.1, B.1.617.3, P.2, B.1.621, B.1.621.1, B.1.1.529, BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4 또는 BA.5 중 하나를 포함한다.

[0221] 본원에 개시된 방법은 또한 구조적으로 안정화된 펩티드 중 하나를 제조하는 방법을 포함한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드를 제조하는 방법은 (a) 서열번호 6에 제시된 서열을 갖는 펩티드 또는 이의 변이체(예컨대, 서열번호 6의 위치 3, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 25, 27, 29, 32, 34, 35, 37, 또는 38에 있는 아미노산 중 적어도 1 내지 18개가 치환됨)에 제시된 서열을 갖는 펩티드를 제공하는 단계, 및 (b) 펩티드를 가교결합시키는 단계, 및 임의적으로 구조적으로 안정화된 펩티드를 정제하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 펩티드의 가교결합은 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의해 이루어진다. 일부 사례에서, 방법은 구조적으로 안정화된 펩티드를 멸균 약제학적 조성물로 제제화하는 단계를 추가로 포함한다.

[0222] 또한, 본원에 제공된 접합체 중 하나를 합성하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 사례에서, 본원에 제공된 접합체 중 하나를 합성하는 방법은 (a) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 본원에 제공된 접합체 중 하나를 합성하는 방법은 (a) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 티오콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함한다.

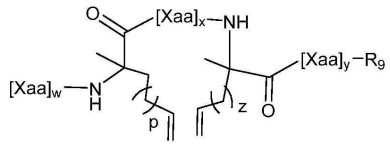
[0223] 또한, 헵타드 반복 도메인 2(heptad repeat domain 2: HR2) 폴리펩티드를 합성하는 방법이 본원에 제공된다. 일부 사례에서, 방법은 (a) HR2 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) HR2 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 방법은 (a) HR2 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) HR2 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 티오콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함한다.

[0224] 일부 사례에서, 유도체화 단계는 티오콜레스테롤을 디클로로메탄(DCM)에 또는 콜레스테롤을 테트라히드로푸란(THF)에 용해시켜 용액을 생성하는 단계; 및 염기, 브로모아세트산의 t-부틸 에스테르, 및 트리플루오로아세트산을 순서대로 용액에 첨가하는 단계에 의한 고체상 합성에 의해 카르복시 티오콜레스테롤 또는 카르복시 콜레스테롤을 통합시키는 것을 포함한다. 일부 사례에서, 유도체화 단계는 수지에 결합된 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 디메틸포름아미드(DMF)를 포함하는 용액 중의 피페리딘으로 처리하는 단계; 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 N-말단을 아세트산 무수물로 캡핑하는 단계; 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단을 DMF 중의 히드라진으로 탈보호하는 단계; 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 Fmoc 보호된 PEG(n) 아미노산으로 아실화하는 단계; 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 가교결합시키는 단계; 및 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 수지로부

터 단리시키는 단계를 추가로 포함한다.

[0225] 일부 사례에서, n = 1-36(n = 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, 또는 36)이다. 일부 사례에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 사례에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, 서열번호 6의 C-말단 리신은 수지-결합된 아민으로 치환되고, 임의적으로 서열번호 6의 C-말단 리신은 수지-결합된 카르복실산 또는 티올로 추가로 치환된다. 일부 사례에서, 콜레스테롤은 티오콜레스테롤이다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하며, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, 접합체는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하며, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, 펩티드의 가교결합은 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의해 이루어진다.

[0226] 또한, 하기로 정의되는 화학식 (VII) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 펩티드를 고리 폐쇄 복분해 조건에 적용하여 안정화된 펩티드를 제공하는 단계를 포함하는, 안정화된 펩티드를 합성하는 방법이 본원에 기재된다:



[0227]

[0228] 상기 식에서,

[0229] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0230] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0231] $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0232] R_9는 -OH 또는 

이고;

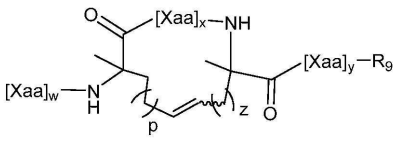
[0233] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

[0234] z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

[0235] 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다.

[0236] 일부 사례에서, 고리 폐쇄 복분해 조건은 화학식 (IV)를 포함하는 상기 펩티드를 그룹스(Grubbs) 고리 폐쇄 복분해 루테늄 촉매에 노출시키는 것을 포함한다.

[0237] 일부 사례에서, 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (III) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



[0238]

[0239] 상기 식에서,

[0240] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0241] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

[0242] $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0243] R_9는 -OH 또는 

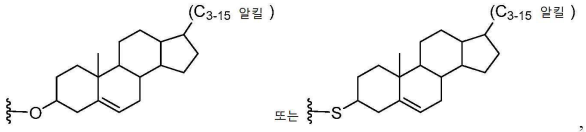
이고;

[0244] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

[0245] z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

[0246] 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다.

[0247] 일부 사례에서, p는 5이다. 일부 사례에서, z는 3이다. 일부 사례에서, 방법은 안정화된 펩티드의 C-말단 끝을 폴리에틸렌 글리콜 모이어티 및 콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 모이어티로 유도체화하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 사례에서, 방법은 안정화된 펩티드의 C-말단 끝을 유도체화하여 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6 기를 도입하는 단계를 추가로 포함하며, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이고; R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이고; R_6은 하기 화학식 중 하나이고;

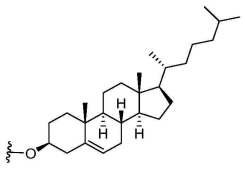
[0248] 

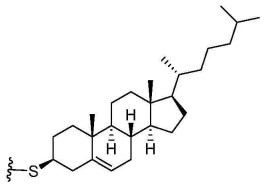
, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환되고;

[0249] R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타내고;

[0250] m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

[0251] t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0252] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 
이다.

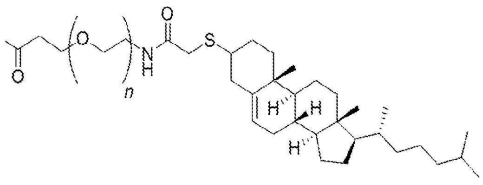
[0253] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된 
이다.

[0254] 일부 사례에서, t는 0이다. 일부 사례에서, m은 4이다. 일부 사례에서, m은 8이다. 일부 사례에서, R_9는 

이다. 일부 사례에서, 방법은 고체 지지체를 절단하는 단계를 추가로 포함한다.

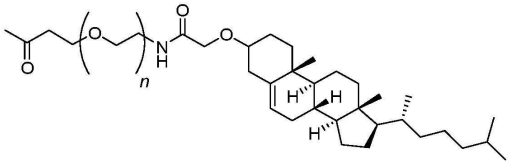
[0255] 또한, 나노입자 조성물이 본원에 기재된다. 일부 사례에서, 나노입자 조성물은 본원에 제공된 구조적으로 안정화된 펩티드(예컨대, 서열번호 10, 13, 17, 20), 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 포함한다. 일부 사례에서, 나노입자 조성물은 PLGA 나노입자이다. 일부 사례에서, 나노입자 조성물은 2:98 내지 100:0 범위의 PLGA 나노입자의 락트산:글리콜산 비를 포함한다. 일부 사례에서, 나노입자 조성물은 또한 키토산, 덱스트린, 또는 둘 다를 포함한다.

[0256] 또한, 하기 화학식을 갖는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하는 펩티드 링커가 본원에 기재된다:

[0257] 

[0258] 상기 식에서, n은 1-36이다.

[0259] 이어서, 하기 화학식을 포함하는 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하는 펩티드 링커가 본원에 기재된다:

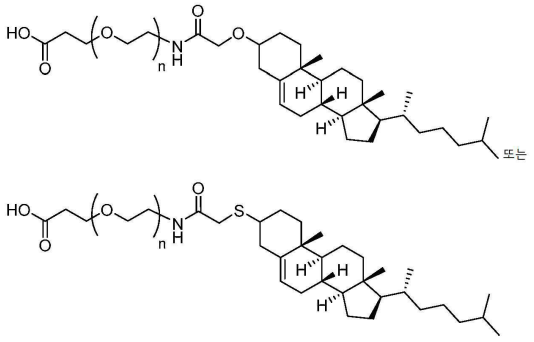


[0260]

[0261] 상기 식에서, n은 1-36이다.

[0262] 일부 사례에서, 펩티드 링커의 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 일부 사례에서, 펩티드 링커는 PEG에 부착된 리신을 포함한다.

[0263] 또한, 하기 화학식 중 하나를 갖는 화합물이 본원에 기재된다:



[0264]

[0265] 상기 식에서, n은 1-36이다. 일부 사례에서, n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0266] 일부 사례에서, 본원에 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 접합체에 대해, 8 = (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌이고; X = (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌이다. 일부 사례에서, 8 = (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌이고; X= (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌이다.

[0267] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 기술 분야의 숙련자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 개시내용의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 예시적인 방법 및 재료가 하기에 설명된다. 본원에 언급된 모든 공개문, 특허 출원, 특허 및 다른 참조문헌은 전체가 인용에 의해 포함된다. 상충되는 경우, 정의를 포함한 본 출원이 우선할 것이다. 재료, 방법 및 실시예는 예시일 뿐이며 제한하려는 의도는 없다.

[0268] 본 개시내용의 다른 특색 및 이점은 하기의 상세한 설명 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0269] **도 1**은 SARS-CoV-2 S 융합 억제제 펩티드의 작용 메커니즘을 도시한다.

도 2는 SARS-CoV-2의 S 단백질(서열번호 1)의 아미노산 서열을 제공한다.

도 3은 헵타드 반복 도메인 1(HR1)(서열번호 2) 및 헵타드 반복 도메인 2(HR2)(서열번호 3) 융합 도메인의 서열 조성을 포함한 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질의 개략도이다.

도 4는 SARS-CoV-2 및 SARS-CoV-1("SARS, C.2004") 바이러스의 HR1 및 HR2 영역 정렬을 나타내며, SARS-CoV-2 및 SARS-CoV-1의 HR2 영역 사이의 현저한 서열 동일성과 함께 서열 상동성을 강조한다.

도 5는 i, i+3; i, i+4; 및 i, i+7 위치에 걸친 스테이플을 갖는 탄화수소 스테이플링된 SARS-CoV-2 S 펩티드 보유 스테이플을 생성하는 데 사용될 수 있는 올레핀 테더를 함유하는 다양한 비-천연 아미노산을 나타낸다. 단일 스테이플 스캐닝은 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티에 대한 접합을 위한 단일 스테이플링된 SARS-CoV-2-19 HR2 펩티드의 라이브러리를 생성하는 데 사용된다.

도 6은 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티에 대한 접합을 위한 다중 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 라이브러리를 생성하기 위한 다중 스테이플링된 펩티드 및 스테이플 스캐닝의 다양한 스테이플 조성을 나타낸다.

도 7은 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티에 대한 접합을 위한 스티칭된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 라이브러리를 생성하기 위한 탠덤 스티칭된 펩티드의 다양한 스테이플 조성을 나타낸다.

도 8은 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티에 대한 접합을 위한 Ala 스캔, 스테이플 스캔 및 가변적 N- 및 C-말단 결실, 부가, 및 유도체화 라이브러리의 생성을 포함하여 SARS-CoV-2 융합 기구를 표적으로 하는 최적의 스테이플링된 펩티드 구축물을 설계, 합성 및 확인하기 위한 예시적인 접근법의 도해이다. 알라닌 및 스테이플 및 스티치 스캔을 포함한 단일 및 이중 스테이플링되고 스티칭된 구축물은 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티에 대한 접합 및 시험관내 및 생체내 분석에서의 적용을 위한 최적의 스테이플링된 펩티드를 확인하는 데 사용된다.

도 9는 양친매성 알파 나선(서열번호 4)으로 구조화된 SARS-CoV-2 HR2 도메인의 일부에 대한 나선형 바퀴 묘사로, 결합 계면의 둘레 및 비-상호작용 면에 측면 하전된 또는 극성 잔기를 갖는 주로 소수성인 결합 계면을 예시한다. 화살표는 소수성 순간을 나타낸다.

도 10은 콜레스테롤 함유 모이어티를 갖는 스테이플링된 펩티드의 용이한 수지상 유도체화를 위해 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤을 카르복실산으로 전환시키는 합성 도식을 나타낸다. DCM: 디클로로메탄; TFA: 트리플루오로아세트산.

도 11a-11b는 PEG 연결된 티오콜레스테롤 모이어티로의 스테이플링된 펩티드 서열(서열번호 74)의 수지상 유도체화를 위한 단계의 합성 도식(**도 11a**) 및 PEG 연결된 콜레스테롤 모이어티로의 스테이플링된 펩티드 서열(서열번호 74)의 수지상 유도체화를 위한 단계의 합성 도식(**도 11b**)을 나타낸다.

도 12는 N- 및 C-말단 서열 연장(예컨대, 아미노산 1168-1205) 및 다양한 PEG 링커 길이의 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티로의 C-말단 유도체화를 보유하는, 예시적인 스테이플링되지 않은 SARS-CoV-2 HR2 펩티드 서열(서열번호 5 및 6) 및 코어 템플릿 서열(아미노산 1178-1199)의 단일 i, i+7 스테이플 스캐닝에 의해 생성된 구조적으로 안정화된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드 서열(서열번호 7-21)을 나타낸다. 8 = (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌; 및 X= (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌..

도 13은, IXM 현미경으로 측정했을 때, 서열번호 5의 스테이플링되지 않은 HR2 서열은 진뱅크(GenBank) QHD43416.1에 상응하는 우한-Hu-1 형광 슈도바이러스에 대해 항바이러스 활성을 나타내지 않음을 나타낸다. 대조적으로, 서열번호 6의 펩티드를 생성하기 위한 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티로의 서열번호 5의 C-말단 유도체화는 용량 반응적 항바이러스 활성을 산출한다(슈도바이러스: 우한-Hu-1; 세포: 293T-ACE2; 펩티드: 5 μM에서 시작하여 연속 2배 희석, 판독: 72시간).

도 14는 수지 상에 부착된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 스테이플링된 HR2 펩티드(스테이플 D, 서열번호 10)가 일련의 SARS-CoV-2 슈도바이러스 변이체에 걸쳐 바이러스 접종 전 또는 후에 세포를 펩티드(1 μM)로 처리했는지 여부에 관계없이 슈도바이러스 검정에서 일관되고 강력한 항바이러스 활성을 나타냄을 나타낸다. 대조적으로, 상응하는 스테이플링되지 않은 펩티드(서열번호 6)는 바이러스 접종 후 적용되는 경우 비효과적이고 일련의 SARS-CoV-2 슈도바이러스로 변이체로 바이러스 접종 전에 적용하는 경우에도 스테이플링된 서열과 비교하여 더 적은 항바이러스 활성을 나타낸다(슈도바이러스: D614G B.1, 우한-Hu-1, B.1.526, B.1.427/B.1.429, B.1.1.7; 세포: 293T-ACE2; 72시간에 판독).

도 15는 수지 상에 부착된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 스테이플링되지 않은 HR2 펩티드 및 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타내며, 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드가 가장 강력한 용량 반응적 항바이러스 활성을 나타내고, 서열번호 6의 스테이플링되지 않은 펩티드가 뒤따른다. 서열번호 17(스테이플 K)의 스테이플링된 펩티드는 이 슈도바이러스 검정에서 가장 활성이 낮았다(슈도바이러스: B.1.526; 세포: 293T-ACE2; 1 μM에서 시작하여 연속 2배 희석; 판독: 72시간).

도 16은 수지 상에 부착된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다. SARS-CoV-2 슈도바이러스 검정에서, 서열번호 11, 14, 및 15(각각 스테이플 E, H, I)의 펩티드는 활성을 거의 또는 전혀 나타내지 않고, 서열번호 13 및 16(각각 스테이플 G 및 J)의 펩티드는 중간 정도의 활성을 나타내고, 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는 다양한 스테이플링된 HR2 펩티드

중에서 독특하고 강력한 활성을 갖는 것으로 나타난다(슈도바이러스: D614G B.1; 세포: 293T-ACE2; 100, 300, 1000 nM의 펩티드 용량; 48시간에 판독).

도 17은 수지 상에 부착된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다. 이 SARS-CoV-2 생 바이러스 검정에서, 서열번호 11, 14, 15(각각 스테이플 E, H, I)의 펩티드는 (X축에서 μM의 바이러스 농도로 측정 시) 활성을 거의 또는 전혀 나타내지 않고, 서열번호 도 13 및 16(스테이플 G 및 J)은 중간 정도의 활성을 나타내고, 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는, **도 15**에 나타낸 슈도바이러스 검정 결과와 일치하게, 다양한 스테이플링된 HR2 펩티드 중에서 독특하고 강력한 활성을 갖는 것으로 나타난다(생 바이러스: USA-WA1/2020; 세포: VeroB6; 펩티드 용량 범위 4-1000 nM(즉, 아래에서 위로 각각의 막대 그룹은 펩티드의 감소하는 2배 희석을 나타냄; 즉, 1000 nM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62.5 nM, 31.25 nM, 15.625 nM, 7.8125 nM, 3.90625 nM).

도 18a-18b는 SARS-CoV-2에 대한 C-말단 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 표시된 HR2 펩티드 서열(서열번호 7-21)의 i, i+7 스테이플 스캔의 차등적인 항바이러스 활성을 나타내며(바이러스: 생 베타 스트레인; 세포: VeroB6; 펩티드 용량 4 μM), 가장 활성인 펩티드 서열은 별표로 표시된다(**도 18a**). HR2 서열의 나선형 부분의 나선형 바퀴 묘사에 요약된 바와 같이, 스테이플 위치의 개별 서브세트는 강력한 항바이러스 활성(서열번호 10, 13, 17, 20)을 제공한다(**도 18b**).

도 19는 GFP 발현 SARS-CoV-2 오미크론 변이체 B.1.1.529.1(BA1) 슈도바이러스에 대한 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 10의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 항바이러스 활성을 나타낸다(세포; 293T-ACE2 세포, 2000 nM로부터 펩티드 연속 2배 희석, 48시간 판독).

도 20은 생 SARS-CoV-2 베타 및 델타 스트레인에 대한 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 10의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 항바이러스 활성을 나타낸다(세포: VeroB6; 펩티드 용량 범위 15-4000 nM(즉, 아래에서 위로 각각의 막대 그룹은 펩티드의 감소하는 2배 희석을 나타냄; 즉, 4000 nM, 2000 nM, 1000 nM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62.5 nM, 31.25 nM, 15.625 nM).

도 21은 SARS-CoV-2 우한-hu-1, SARS-CoV-2 오미크론 BA1.1.529.1(BA1), SARS-CoV-2 오미크론 BA1.1.529.2(BA2), 및 SARS-CoV-1(우르바니(Urbani))을 포함한 GFP 발현 SARS-CoV 슈도바이러스에 대해 측정된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 13의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 항바이러스 활성을 나타낸다(세포; 293T-ACE2 세포; 10 μM로부터 펩티드 연속 2배 희석; 48시간 판독).

도 22는 SSARS-CoV-2 우한-hu-1, SARS-CoV-2 오미크론 BA1.1.529.1(BA1), SARS-CoV-2 오미크론 BA1.1.529.2(BA2), 및 SARS-CoV-1(우르바니)을 포함한 GFP 발현 SARS-CoV 슈도바이러스에 대해 측정된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 20의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 항바이러스 활성을 나타낸다(세포; 293T-ACE2 세포; 10 μM로부터 펩티드 연속 2배 희석; 48시간 판독).

도 23은 생 SARS-CoV-2 베타 스트레인 바이러스에 대해 측정된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 13 및 서열번호 20의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 항바이러스 활성을 나타낸다(세포: VeroB6; 4 μM 투여).

도 24a-24b는 서열번호 10(위치 K1181 및 E1188에 걸친 스테이플 D)의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 서열 맵을 나타내며, 대안적으로 HR1 코어와 접촉되거나 결합되지 않은(용매에 노출됨) 아미노산 위치를 강조한다(**도 24a**). 돌연변이유발 연구는 슈도바이러스 검정에서 GFP 발현 SARS-CoV-1(우르바니)에 대해 C-말단 PEG4 티오콜레스테롤 모이어티를 갖는 서열번호 10과 관련하여 평가된 바와 같이 천연 잔기를 알라닌으로 치환함으로써 상대적으로 영향을 받지 않는 일련의 예시적인 위치를 밝혀내었다(세포; 293T-ACE2 세포; 1.25 μM로부터 펩티드 4배 연속 희석; 48시간 판독)(**도 24b**).

도 25a-25e는 가변적 PEG 길이(n = 3-8)의 PEG-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다. PEG8 링커 모이어티를 보유하는 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는 이 슈도바이러스 검정에서 일련의 5개 SARS-CoV-2 변이체에 걸쳐 가장 강력한 용량 반응적 활성을 나타내고(X축에 나타낸 녹색 세포 수 또는 GFP 양성 백분율로 측정됨), PEG3은 가변적 PEG 링커 길이의 구축물 중에서 비교적 적은 활성을 갖는다(슈도바이러스/변이체: 우한-Hu-1(**도 25a**), B.1.427/B.1.429(**도 25b**), B.1.617.2(**도 25c**), D614G B.1(**도 25d**), 브라질 변이체 P.1(**도 25e**); 세포: 293T-ACE2; 1 μM에서 시작하여 연속 2배 희석(즉, 막대의 각각의 클러스터에 대해 아래에서 위로: 1 μM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62.5 nM, 31.25 nM, 15.625 nM, 7.8125 nM); 판독: 48시간).

도 26은 가변적 PEG 길이(n = 3-8)의 PEG-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드(스테이플 D, 서열번호 10)의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다. PEG8 링커 모이어티를 보유하는 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는 이 SARS-CoV-2 생 바이러스 검정에서 가장 강력한 용량 반응적 활성을 나타내며, PEG3은 가변적 PEG 링커 길이의 구축물 중에서 비교적 적은 활성을 갖는다(생 바이러스: 남아프리카 B.1.351; 세포: VeroB6; 펩티드 용량 범위 4-1000 nM; 즉, 막대의 각각의 클러스터에 대해 아래에서 위로 연속 2배 희석: 1000 nM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62.5 nM, 31.25 nM, 15.625 nM, 7.8125 nM, 3.90625 nM).

도 27은 GFP 발현 SARS-CoV-2 오미크론 변이체 B.1.1.529.1(BA1)에 대해 측정된 가변적 PEG 길이(n = 0, 3-20)의 PEG-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 10의 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다(세포: 293T-ACE2; 막대의 각각의 클러스터에 대해 아래에서 위로 3.3 μM에서 시작하여 연속 3배 희석: 3.3 μM, 1.1 μM, 367 nM, 122 nM, 41 nM, 13 nM, 4.5 nM, 1.5 nM; 판독: 48 h).

도 28은 GFP 발현 SARS-CoV-1(우르바니)에 대해 측정된 가변적 PEG 길이(n = 0, 3-20)의 PEG-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 10의 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다(세포: 293T-ACE2; 각각의 막대 클러스터에 대해 아래에서 위로 2 μM에서 시작하여 연속 2배 희석: 2 μM, 1 μM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62.5 nM, 31.2 nM, 15.6 nM; 판독: 48시간).

도 29는 생 SARS-CoV-2 베타 스트레인 바이러스에 대해 측정된, 가변적 PEG 길이(n = 0, 3-20)의 PEG-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 10의 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다(세포: VeroB6; 펩티드 용량 범위 7.8-1000 nM; 즉, 각각의 막대 클러스터에 대해 아래에서 위로 연속 2배 희석: 4000 nM, 2000 nM, 1000 nM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62.5 nM, 31.2 nM, 15.6 nM, 7.8 nM).

도 30은 가변적 PEG 길이(n = 3-8)의 PEG-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드(스테이플 D, 서열번호 10)가 뮤린 백혈병 바이러스(MLV) 코어를 갖는 수포성 구내염 바이러스(VSV) 슈도바이러스에 대해 비-특이적 항바이러스 활성을 나타내지 않는 반면, 상응하는 스테이플링되지 않은 펩티드(서열번호 6)는 일부 비-특이적 항바이러스 활성을 나타냄을 나타낸다(슈도바이러스: VSV; 세포: 293T-ACE2; 펩티드, 2.5 μM; 판독: 48시간).

도 31은 수지 상의 PEG4-티오콜레스테롤로 유도체화된 스테이플링되지 않은 펩티드(서열번호 6)가 이 SARS-CoV-2 생 바이러스 검정에서 GSGSGC-PEG4-콜레스테롤 모이어티를 갖는 용액에서 유도체화된 스테이플링되지 않은 펩티드(서열번호 71에 나타냄)와 비교하여 다소 개선된 항바이러스 활성을 나타냄을 나타낸다(생 바이러스: 남아프리카 B.1.351; 세포: VeroB6; 2배 희석으로 펩티드 용량 범위 4-1000 nM).

도 32는 수지 상의 PEG4-티오콜레스테롤로 유도체화된 스테이플링되지 않은 HR2 펩티드(서열번호 6) 및 스테이플링된 HR2 펩티드(서열번호 10)가 슈도바이러스 검정에서 293T-ACE2 세포에 적용될 때 비-특이적 세포독성을 나타내지 않는 반면, GSGSGC-PEG4-콜레스테롤 모이어티를 갖는 용액에서 유도체화된 상응하는 스테이플링되지 않은 HR2 펩티드는 투여 범위 내에서 세포를 사멸시킨다는 것을 나타낸다(슈도바이러스: D614G B.1; 세포: 293T-ACE2; 2500 nM에서 시작하여 연속 2배 희석(아래에서 위로, 2500 nM, 1250 nM, 630 nM, 315 nM, 158 nM, 78 nM); 판독: 48 h).

도 33은 C-말단에서 PEG8-콜(PEG8-Chol)로 유도체화되고 N-말단에서 아세틸 대신 FITC-β-Ala로 유도체화되고, 제3 HR2 기가 결여된 재조합 5-나선 다발(5HB)의 연속 희석액과 조합된 서열번호 10의 직접적 형광 편광 결합 곡선을 나타낸다. FITC-HR2 펩티드를 첨가하면 융합성 6-나선 다발이 완성된다 (펩티드: 5 nM; 1000 nM부터 5-HB 단백질 연속 희석).

도 34는 GFP 발현 SARS-CoV-2 변이체 슈도바이러스에 대한 C-말단에서 PEG8-콜로 유도체화된 서열번호 10의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다(293T-ACE2 세포; 1000 nM로부터 펩티드 연속 희석; 48시간 판독).

도 35는 GFP 발현 SARS-CoV-2 오미크론 변이체 슈도바이러스에 대한 C-말단에서 PEG8-콜로 유도체화된 서열번호 10의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다(293T-ACE2 세포; 250 nM로부터 펩티드 연속 희석; 48시간 판독).

도 36은 SARS-CoV-2 베타 및 델타 생 바이러스에 대한 C-말단에서 PEG8-콜로 유도체화된 서열번호 10의 차등적인 항바이러스 활성을 나타낸다(세포: Vero; 100 nM에서 시작하여 펩티드의 100 nM 연속 희석으로부터 펩티드 연속 희석; 48시간 판독).

도 37은 GFP 발현 알파코로나바이러스 NL63 슈도바이러스에 대해 C-말단에서 PEG8-콜로 유도체화된 서열번호 10의 항바이러스 활성을 나타낸다(293T-ACE2 세포; 10 μM로부터 펩티드 연속 3배 희석; 48시간 판독).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0270] 본 개시내용은 특히 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드가 하나 이상의 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스)에 선택적으로 결합하도록 설계될 수 있다는 발견에 기초한다. 따라서, 본 개시내용은 하나 이상의 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스)로의 감염을 치료, 감염에 대한 치료법을 개발, 및 감염을 예방하기 위한 신규한 방법(예컨대, 수지상 유도체화를 위해 콜레스테롤/티오콜레스테롤을 카르복실산으로 전환시키는 접근법) 및 조성물(예컨대, 펩티드, 안정화된 펩티드, 펩티드의 조합; 안정화된 펩티드의 조합; 펩티드 및 안정화된 펩티드의 조합; 및 이들의 콜레스테롤 접합체)을 제공한다. 따라서, 본원에 개시된 펩티드 및 조성물은 COVID-19를 예방 및/또는 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0271] 코로나바이러스 **펩티드**

[0272] 예시적인 코로나바이러스 표면 당단백질의 아미노산 서열은 **도 2**에 제공된다(또한 진뱅크 수탁 번호 QHD43416.1. 참조). SARS-CoV-2 S의 헵타드 반복 도메인 1(HR1)의 예시적인 아미노산 서열은 **도 3**에 서열번호 2에 나타나 있다. SARS-CoV-2 S의 헵타드 반복 도메인 2(HR2)의 예시적인 아미노산 서열도 **도 3**에 서열번호 3으로 나타나 있다.

[0273] SARS-CoV-2 S에서 HR2의 다른 예시적인 아미노산 서열은 표 1에 서열번호 5 및 6으로 제공된다.

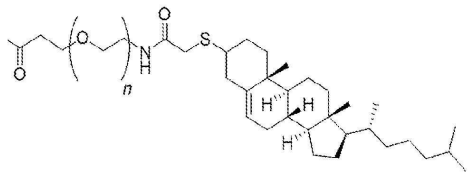
[0274] 특정 사례에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR1 또는 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 및 6)는 또한 (서열번호 5 및 6 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열에 대해) 하나 이상(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 또는 18개)의 아미노산 치환, 예컨대 하나 이상(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 또는 18개)의 보존적 및/또는 비-보존적 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 또한, 일부 사례에서, 서열번호 5 및 6의 적어도 2개(예컨대, 2, 3, 4, 5 또는 6개)의 아미노산은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 치환될 수 있다. 예컨대, 생성된 치환 유형은 2가지의 SARS 서열, SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2의 HR2 유사 영역의 정렬에 의해 유도될 수 있다(**도 4**). 다양할 수 있는 아미노산에 관해 하기의 구조적으로 안정화된 펩티드 섹션에 제공된 지침은 본원에 기재된 펩티드에도 동일하게 관련된다. 이러한 정렬에서 SARS-CoV-1과 SARS-CoV-2 사이에 변하지 않은 잔기는 변형되지 않거나 비-천연 아미노산 또는 보존적 아미노산으로 치환된다. SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2의 HR2 유사 영역에서 보존적 치환(예컨대, SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2의 이소류신이 류신 또는 메티오닌으로 대체됨)에 의해 대체된 것으로 발견된 정렬의 잔기는 대체되지 않거나 보존적 아미노산 치환으로 대체된다. SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2의 HR2 유사 영역 사이에 보존되지 않은 잔기는 임의의 아미노산으로 대체될 수 있다. 일부 사례에서, SARS-CoV-1 및 SARS-CoV-2의 HR2 유사 영역 사이에 보존되지만 HR2 나선의 비-상호작용 면에 위치된 잔기는 임의의 아미노산으로 대체될 수 있다(예컨대, **도 9, 24a** 및 **24b** 참조). 일부 사례에서, 서열번호 6에서의 돌연변이는 서열번호 6의 위치 14 및 21에서 만들어지지 않는다. 일부 사례에서, 서열번호 6에서의 돌연변이는 서열번호 6의 위치 17 및 24에서 만들어지지 않는다. 일부 사례에서, 서열번호 6에서의 돌연변이는 서열번호 6의 위치 20 및 27에서 만들어지지 않는다. 일부 사례에서, 서열번호 6에서의 돌연변이는 서열번호 6의 위치 21 및 28에서 만들어지지 않는다. 일부 사례에서, 서열번호 6에서의 돌연변이는 서열번호 6의 위치 24 및 31에서 만들어지지 않는다.

[0275] "보존적 아미노산 치환"은 치환이 하나의 아미노산을 유사한 측쇄를 갖는 다른 아미노산 잔기로 대체하는 것을 의미한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 당업계에서 정의되었다. 이러한 계열은 염기성 측쇄(예컨대, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예컨대, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예컨대, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예컨대, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타 분지된 측쇄(예컨대, 트레오닌, 발린, 이소류신), 방향족 측쇄(예컨대, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘), 및 산성 측쇄 및 이의 아미드(예컨대, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민)를 갖는 아미노산을 포함한다.

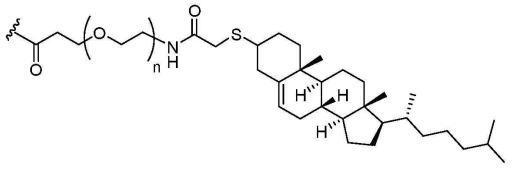
[0276] 일부 사례에서, 본원에 개시된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 펩티드의 N-말단에 부가된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 펩티드의 C-말단에 부가된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 펩티드의 N-말단에서 결실된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 개시된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 펩티드의 C-말단에서 결실된 적어도

1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 아미노산을 함유할 수 있다.

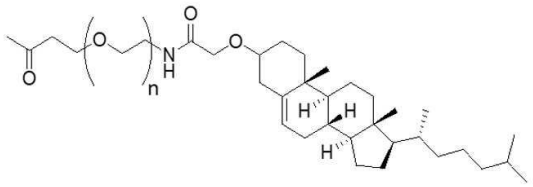
[0277] 일부 경우에서, 펩티드가 지질화된다. 일부 경우에서, 펩티드는 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 콜레스테롤을 포함하도록 변형된다. 일부 경우에서, 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 펩티드의 C-말단에 부착된 하기 화학식을 포함한다:



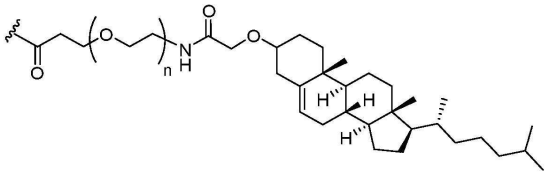
[0278] . 일부 경우에서, 전술된 화학식은 변형 가능한 탄소 원자를 통해 펩티드의 C-말단에 부착된다. 일부 경우에서, 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 펩티드의 C-말단에 부착된 하기 화학식을 포함한다:



[0279] . 일부 경우에서, 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 펩티드의 C-말단에 부착된 하기 화학식을 포함한다:



[0280] . 일부 경우에서, 전술된 화학식은 변형 가능한 탄소 원자를 통해 펩티드의 C-말단에 부착된다. 일부 경우에서, 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 펩티드의 C-말단에 부착된 하기 화학식을 포함한다:



[0281] . 일부 경우에서, 상기 화학식에서 n은 n = 1-36(n = 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, 또는 36)이다. 일부 사례에서, n = 4이다. 일부 사례에서, n = 8이다. 일부 사례에서, 화학식에서 황 원자는 산소 원자로 대체된다.

[0282] 일부 사례에서, 본원에 기재된 펩티드는 서열번호 6(DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 94% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 사례에서, 상기 (i)에 기재된 펩티드는 알파 나선형이고/이거나; (ii) 프로테아제 저항성이 있고/있거나; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합을 억제하고/하거나; (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다. 일부 사례에서, 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다.

[0283] 일부 사례에서, 펩티드는 서열번호 6에 대해 2 내지 18, 2 내지 17, 2 내지 16, 2 내지 15, 2 내지 14, 2 내지 13, 2 내지 12, 2 내지 11, 2 내지 10, 2 내지 9, 2 내지 8, 2 내지 7, 2 내지 6, 2 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 3, 또는 2개의 치환, 삽입, 및/또는 결실을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 사례에서, 펩티드는 서열번호 6에 대해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 또는 18개의 치환, 삽입, 및/또는 결실을 포함한다. 일부 사례에서, 상기에 기재된 바와 같은 서열번호 6에 대해 치환, 삽입 및/또는 결실을 갖는 펩티드는 (i) 알파 나선형이고/이거나; (ii) 프로테아제 저항성이고/이거나; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합을 억제하고/하거나; (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다. 일부 사례에서, 펩티드는 슈도바이

러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다.

[0284] 일부 사례에서, 펩티드는 36 내지 50개(예컨대, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일 사례에서, 펩티드가 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 콜레스테롤을 포함하도록 변형되는 경우, 펩티드는 19 내지 50개(예컨대, 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 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 펩티드는 19 내지 100, 38 내지 100, 19 내지 60, 38 내지 60, 19 내지 50, 38 내지 50, 19 내지 45, 38 내지 45, 19 내지 40 및 38 내지 40개의 아미노산 길이 범위이다.

[0285] 일부 사례에서, 상기 기재된 펩티드는 (i) 알파 나선형이고/이거나; (ii) 프로테아제 저항성이고/이거나; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합을 억제하고/하거나; (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다. 일부 사례에서, 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다.

[0286] **구조적으로 안정화된 펩티드**

[0287] HR2 영역의 일부에 기초한 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드가 본원에 개시된다. 일부 사례에서, 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드는 SARS-CoV-2 $HR2_{(1168-1205)}$(DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 6))로부터 유도된다. 일부 사례에서, 서열번호 9로부터 유도된 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드는 하기 표 1에 나타낸 바와 같은 SAH-SARS-CoV-2-A; SAH-SARS-CoV-2-B; SAH-SARS-CoV-2-C; SAH-SARS-CoV-2-D; SAH-SARS-CoV-2-E; SAH-SARS-CoV-2-F; SAH-SARS-CoV-2-G; SAH-SARS-CoV-2-H; SAH-SARS-CoV-2-I; SAH-SARS-CoV-2-J; SAH-SARS-CoV-2-K; SAH-SARS-CoV-2-L; SAH-SARS-CoV-2-M; SAH-SARS-CoV-2-N; 또는 SAH-SARS-CoV-2-O(예컨대, 서열번호 7-21)를 포함한다.

표 1

스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드

명칭	서열(X 및/또는 8은 측쇄가 가교 결합되어 내부적으로 가교 결합된 펩티드를 형성하는 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산을 지칭함)	서열 번호
SARS-CoV-2 HR2(1168-1203)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQEL	5
SARS-CoV-2 HR2(1168-1203)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQEL*	22
SARS-CoV-2 HR2(1168-1204)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELG	23
SARS-CoV-2 HR2(1168-1204)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELG*	24
SARS-CoV-2 HR2(1168-1205)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK	6
SARS-CoV-2	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK*	25

[0288]

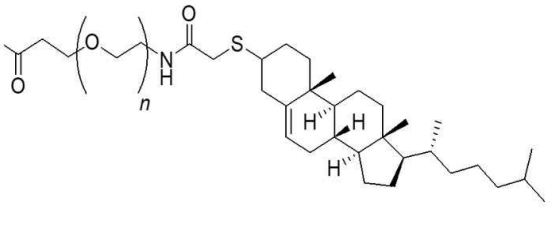
HR2(1168-1205)		
SAH-SARS-CoV-2 - A	DISGINASVV**8IQKEIDX**LNEVAKNLNESLIDLQELGK	7
SAH-SARS-CoV-2 - B	DISGINASVVN**8QKEIDRX**NEVAKNLNESLIDLQELGK	8
SAH-SARS-CoV-2 - C	DISGINASVVNI**8KEIDRLX**EVAKNLNESLIDLQELGK	9
SAH-SARS-CoV-2 - D	DISGINASVVNIQ**8EIDRLNX**VAKNLNESLIDLQELGK	10
SAH-SARS-CoV-2 - E	DISGINASVVNIQK**8IDRLNEX**AKNLNESLIDLQELGK	11
SAH-SARS-CoV-2 - F	DISGINASVVNIQKE**8DRLNEVX**KNLNESLIDLQELGK	12
SAH-SARS-CoV-2 - G	DISGINASVVNIQKEI**8RLNEVAX**NLNESLIDLQELGK	13

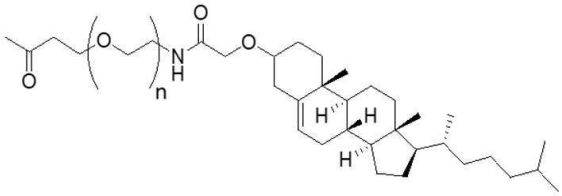
[0289]

SAH-SARS-CoV-2 -H	DISGINASVVNIQKEID**8LNEVAKX**LNESLIDLQELGK	14
SAH-SARS-CoV-2 -I	DISGINASVVNIQKEIDR**8NEVAKNX**NESLIDLQELGK	15
SAH-SARS-CoV-2 -J	DISGINASVVNIQKEIDRL**8EVAKNLX**ESLIDLQELGK	16
SAH-SARS-CoV-2 -K	DISGINASVVNIQKEIDRLN**8VAKNLNX**SLIDLQELGK	17
SAH-SARS-CoV-2 -L	DISGINASVVNIQKEIDRLNE**8AKNLNEX**LIDLQELGK	18
SAH-SARS-CoV-2 -M	DISGINASVVNIQKEIDRLNEV**8KNLNESX**IDLQELGK	19
SAH-SARS-CoV-2 -N	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA**8NLNESLX**DLQELGK	20
SAH-SARS-CoV-2 -O	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAK**8LNESLIX**LQELGK	21

[0290]

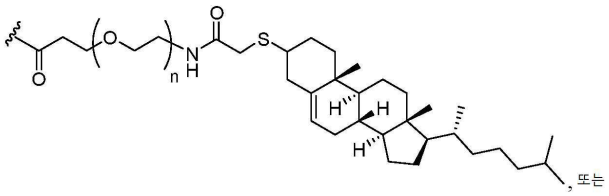
[0291] 표 1에서, "8" = (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌이고; "X" = (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌이고; * = PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티이다. 일부 사례에서, * = 하기에 나타낸 2개의 화학식 중 하나이고, n = 1-36(n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 또는 36)이다. 일부 사례에서, n = 4이다. 일부 사례에서, n = 8이다. "*"로 표시된 2개의 화학식은 하기를 포함한다:

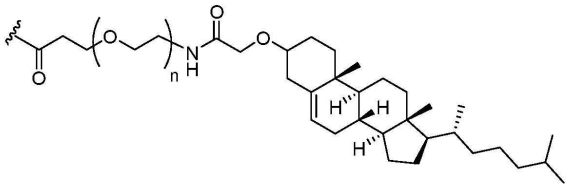

, 또는



[0292] .

[0293] 일부 경우에서, "*"로 표시된 2개의 화학식은 하기를 포함한다:


, 또는



[0294] .

[0295] 상기 펩티드는 N 및/또는 C-말단에 추가적인 아미노산(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산이 부가됨)을 포함하고/하거나 N 및/또는 C-말단 결실(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개의 아미노산이 결실됨)을 갖도록 변형될 수 있음이 이해되어야 한다. 일부 사례에서, 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드는 서열번호 4로부터 유도된다.

[0296] 본원에 사용된 굵게 표시되고 밑줄 친 서열(예컨대, 표 1)은 N- 및 C-말단의 스테이플링 아미노산 및 각각의 개시된 펩티드에 대한 스테이플 사이의 개재 서열을 확인한다는 것에 주목한다. 일부 사례(예컨대, 서열번호 7-21)에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 단일 스테이플링된 펩티드이다.

[0297] 일부 사례에서, 서열번호 6은 하나 이상의 변이체를 포함한다. 예컨대, 서열번호 6의 위치 25 또는 29가 치환되는 경우, 이는 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 치환되거나, 임의의 아미노산으로 치환된다. 일부 사례에서, 서열번호 6의 위치 1, 2, 5, 7, 8, 10, 12, 16, 17, 19, 23, 24, 26, 28, 30, 31, 33, 36 중 하나 이상이 치환되는 경우, 이는 보존적 아미노산 치환으로 치환된다. 일부 사례에서, 서열번호 6의 위치 3, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 27, 32, 34, 35, 37, 또는 38 중 하나 이상이 치환되는 경우, 이는 임의의 아미노산으로 대체된다.

[0298] 본 개시내용은 표 1에 나열된 각각의 모든 펩티드 및 구조적으로 안정화된 펩티드 뿐만 아니라 이의 변이체를 포괄한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 50개(예컨대, 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, 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 60개(예컨대, 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, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 100, 38 내지 100, 19 내지 60, 38 내지 60, 19 내지 50, 38 내지 50, 19 내지 45, 38 내지 45, 19 내지 40 및 38 내지 40개의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 상기 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기에 나열된 특성 중 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 갖는다: (i) 알파 나선형; (ii) 프로테아제 저항성; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합 억제; 및/또는 (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염 억제. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서

SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다.

[0299] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 13, 서열번호 17, 또는 서열번호 20에 대해 2 내지 18, 2 내지 17, 2 내지 16, 2 내지 15, 2 내지 14, 2 내지 13, 2 내지 12, 2 내지 11, 2 내지 10, 2 내지 9, 2 내지 8, 2 내지 7, 2 내지 6, 2 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 3, 또는 2개의 치환, 삽입, 및/또는 결실을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 사례에서, 상기 기재된 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 13, 서열번호 17, 또는 서열번호 20에 대해 치환, 삽입 및/또는 결실을 갖는 구조적으로 안정화된 펩티드는 (i) 알파 나선형이고/이거나; (ii) 프로테아제 저항성이 있고/있거나; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합을 억제하고/하거나; (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0300] 일부 사례에서, 표 1의 단일 스테이플링된 펩티드(예컨대, 서열번호 7-21) 중 하나와 비교하여 0-10개(0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개)의 아미노산 치환을 포함하는 펩티드가 본원에 개시된다. 일부 사례에서, 표 1의 단일 스테이플링된 펩티드(예컨대, 서열번호 7-21) 중 하나와 적어도 75%(예컨대, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 94%, 적어도 95%) 동일한 펩티드가 본원에 개시된다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 50개(예컨대, 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, 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 60개(예컨대, 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, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 100, 38 내지 100, 19 내지 60, 38 내지 60, 19 내지 50, 38 내지 50, 19 내지 45, 38 내지 45, 19 내지 40 및 38 내지 40개의 아미노산 길이 범위이다. 일부 경우에서, 상기 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기에 나열된 특성 중 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 갖는다: (i) 알파 나선형; (ii) 프로테아제 저항성; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합 억제; 및/또는 (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염 억제. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0301] 일부 사례에서, 스테이플링된 펩티드는 서열번호 5 또는 6의 적어도 2개(예컨대, 2, 3, 4, 5, 6개)의 아미노산이 스테이플을 형성할 수 있는 비-천연 아미노산으로 대체되는 것을 제외하고는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하거나 이로 이루어진 펩티드이다. 일부 사례에서, 비-천연 아미노산은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산이다. 일부 사례에서, 스테이플링된 펩티드는 서열번호 5 또는 6의 적어도 2개(예컨대, 2, 3, 4, 5, 6개)의 아미노산이 스테이플을 형성할 수 있는 비-천연 아미노산으로 대체되는 것을 제외하고는 서열번호 5 또는 6의 아미노산 서열 중 어느 하나를 포함하거나 이로 이루어진 펩티드이다. 일부 사례에서, 비-천연 아미노산은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 50개(예컨대, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 60개(예컨대, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 100, 38 내지 100, 19 내지 60, 38 내지 60, 19 내지 50, 38 내지 50, 19 내지 45, 38 내지 45, 19 내지 40 및 38 내지 40개의 아미노산 길이 범위이다. 일부 사례에서, 상기 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기에 나열된 특성 중 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 갖는다: (i) 알파 나선형; (ii) 프로테아제 저항성; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합 억제; 및/또는 (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염 억제. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0302] 일부 경우에서, 표 1의 변형되지 않은 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6) 중 하나와 비교하여 0-10개(0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개)의 아미노산 치환을 포함하는 펩티드가 본원에 개시된다. 일부 사례에서, 표 1의 변형되지 않은 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6) 중 하나와 적어도 75%(예컨대, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%) 동일한 펩티드가 본원에 개시된다. 일부 사례에서, 상기 기재된 치환은 보존적 치환이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 50개(예컨대, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 60개(예컨대, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 또는 60개)의 아미노산 길이이다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 100, 38 내지 100, 19 내지 60, 38 내지 60, 19 내지 50, 38 내지 50, 19 내지 45, 38 내지 45, 19 내지 40 및 38 내지 40개의 아미노산 길이 범위이다. 일부 경우에서, 상기 기재된 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기에 나열된 특성 중 하나 이상(1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 갖는다: (i) 알파 나선형; (ii) 프로테아제 저항성; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합 억제; 및/또는 (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염 억제. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0303] 일부 사례에서, 본원에 기재된 임의의 치환은 보존적 치환일 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 기재된 임의의 치환은 비-보존적 치환이다.

[0304] 일부 사례에서, 스테이플링 아미노산으로 사용될 수 있는 비-천연 아미노산은 하기와 같다: (R)-2-(2'-프로페닐)알라닌; (R)-2-(4'-펜테닐)알라닌; (R)- α -(7'-옥테닐)알라닌; (S)-α-(2'-프로페닐)알라닌; (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌; (S)-2-(7'-옥테닐)알라닌; α,α-비스(4'-펜테닐)글리신; 및 α,α-비스(7'-옥테닐)글리신.

[0305] 일부 실시양태에서, 내부 스테이플은 2개의 아미노산의 측쇄를 대체하며, 즉 각각의 스테이플은, 예컨대 6개의 아미노산에 의해 분리된 2개의 아미노산 사이에 있다. 일부 실시양태에서, 스테이플을 형성하는 아미노산은 스테이플의 위치 i 및 i+7 각각에 존재한다. 예컨대, 펩티드가 서열 . . . X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7, X8, X9 . . . 을 갖는 경우, X1과 X8(i와 i+7) 사이의 가교결합은 해당 펩티드의 유용한 탄화수소 스테이플링된 형태이다. i 및 i+4 스테이플, 다중 가교결합(예컨대, 2, 3, 4개 또는 그 초과) 또는 탠덤 스티치의 사용도 고려된다. 탄화수소 스테이플링된 펩티드의 제조 및 사용에 관한 추가 설명은, 예컨대 미국 특허 공개 번호 2012/0172285, 2010/0286057, 및 2005/0250680(이들 모두의 내용은 전체가 인용에 의해 본원에 포함됨)에서 찾아질 수 있다.

[0306] "펩티드 스테이플링"은 펩티드 쇄에 존재하는 2개의 올레핀 함유 측쇄(예컨대, 가교결합 가능한 측쇄)가 고리-폐쇄 복분해(RCM) 반응을 이용하여 공유적으로 결합(예컨대, "함께 스테이플링")되어 가교결합된 고리를 형성하는 합성 방법론에서 만들어진 용어이다(예컨대, 문헌(Blackwell et al., J. Org. Chem., 66: 5291-5302, 2001; Angew et al., Chem. Int. Ed. 37:3281, 1994) 참조). 구조적 안정화는, 예컨대 펩티드를 스테이플링함으로써 이루어질 수 있다(예컨대, 문헌(Walensky, *J. Med. Chem.*, 57:6275-6288 (2014), 전체가 인용에 의해 본원에 포함됨) 참조). 일부 경우에서, 스테이플은 탄화수소 스테이플이다.

[0307] 일부 사례에서, 본원에 사용된 스테이플은 락탐 스테이플; UV-고리화첨가 스테이플; 옥심 스테이플; 티오에테르 스테이플; 더블 클릭 스테이플; 비스-락탐 스테이플; 비스-아릴화 스테이플; 또는 이들 중 임의의 둘 이상의 조합이다. 본원에 기재된 안정화된 펩티드는 스테이플링된 펩티드 뿐만 아니라 다중 스테이플 또는 구조적 강화를 위한 임의의 다른 화학적 전략을 함유하는 펩티드를 포함한다(예컨대, 문헌(Balaram P. *Cur. Opin. Struct. Biol.* 1992;2:845; Kemp DS, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1996;118:4240; Orner BP, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2001;123:5382; Chin JW, et al., *Int. Ed.* 2001;40:3806; Chapman RN, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2004;126:12252; Horne WS, et al., *Chem., Int. Ed.* 2008;47:2853; Madden et al., *Chem Commun* (Camb). 2009 Oct 7; (37): 5588-5590; Lau et al., *Chem. Soc. Rev.*, 2015,44:91-102; and Gunnoo et al., *Org. Biomol. Chem.*, 2016,14:8002-8013, 각각은 전체가 인용에 의해 본원에 포함됨) 참조).

[0308] 펩티드는 천연의 2차 구조를 유지한다는 점에서 "구조적으로 안정화"된다. 예컨대, 스테이플링은 α-나선형 2차 구조를 갖는 경향이 있는 펩티드가 천연의 α-나선형 입체형태를 유지하도록 허용한다. 이 2차 구조는 단백질분해 절단 및 열에 대한 펩티드의 저항성을 증가시키고, 표적 결합 친화성, 소수성, 형질막 결합 및/또는 세포 투과성을 증가시킬 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 스테이플링된(가교결합된) 펩티드는 상응하는 스테이플링되지

않은(가교결합되지 않은) 펩티드에 비해 개선된 생물학적 활성 및 약리학을 갖는다.

[0309] 특정 사례에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드에 구조적 안정화(예컨대, 내부 가교결합, 예컨대 스테이플링)를 도입하기 위한 변형(들)은 SARS-CoV-2의 재조합 5-나선 다발 또는 상응하는 천연 융합 기구와 상호작용하지 않는 SARS-CoV-2 HR2 나선의 면에 위치될 수 있다. 대안적으로, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드에 안정화(예컨대, 내부 가교결합, 예컨대 스테이플링)를 도입하기 위한 변형(들)은 SARS-CoV-2의 5-나선 다발과 상호작용하는 SARS-CoV-2 HR2 나선의 면에 위치될 수 있다. 일부 경우에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 SARS-CoV-2 HR2 단백질의 상호작용 및 비-상호작용 나선형 면의 계면에 스테이플(예컨대, 탄화수소 스테이플)을 도입함으로써 안정화된다. 일부 경우에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 SARS-CoV-2 HR2 단백질의 소수성 상호작용 표면과 비-상호작용 면 사이의 경계에 스테이플(예컨대, 탄화수소 스테이플) 또는 스테이플들을 도입함으로써 안정화된다.

[0310] 일부 사례에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드에 구조적 안정화(예컨대, 내부 가교결합, 예컨대 스테이플링)를 도입하기 위한 변형은 하기 잔기에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 위치된다:

[0311] (i) 서열번호 6의 11 및 18;

[0312] (ii) 서열번호 6의 12 및 19;

[0313] (iii) 서열번호 6의 13 및 20;

[0314] (iv) 서열번호 6의 14 및 21;

[0315] (v) 서열번호 6의 15 및 22;

[0316] (vi) 서열번호 6의 16 및 23;

[0317] (vii) 서열번호 6의 17 및 24;

[0318] (viii) 서열번호 6의 18 및 25;

[0319] (ix) 서열번호 6의 19 및 26;

[0320] (x) 서열번호 6의 20 및 27;

[0321] (xi) 서열번호 6의 21 및 28;

[0322] (xii) 서열번호 6의 22 및 29;

[0323] (xiii) 서열번호 6의 23 및 30;

[0324] (xiv) 서열번호 6의 24 및 31; 또는

[0325] (xv) 서열번호 6의 25 및 32.

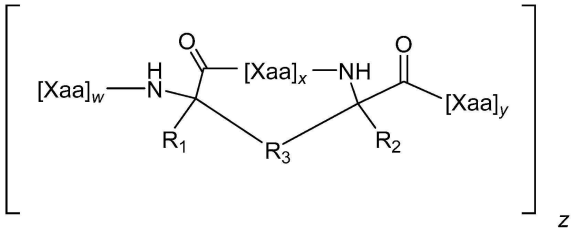
[0326] 특정 사례에서, 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 (서열번호 5 또는 6 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 대해) 하나 이상(예컨대, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 아미노산 치환, 예컨대 하나 이상(예컨대, 1, 2, 3, 4 또는 5개)의 보존적 및/또는 비-보존적 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 개시된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 펩티드의 N-말단에 부가된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 개시된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(예컨대, 서열번호 5 또는 6)는 또한 펩티드의 C-말단에 부가된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개 아미노산을 함유할 수 있다.

[0327] 일부 사례에서, 본원에 개시된 펩티드 중 어느 하나의 N-말단 아스파르트산은 -N(H)C(O)-(C1-4 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, 본원에 개시된 펩티드 중 어느 하나의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $C(O)NH_2$로 대체된다.

일부 사례에서, 서열번호 6, 서열번호 10, 또는 서열번호 20의 N-말단 아스파르트산은 -N(H)C(O)-(C1-4 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, 서열번호 6, 서열번호 10, 서열번호 13, 서열번호 17, 또는 서열번호 20의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $C(O)NH_2$로 대체된다.

[0328] 일부 사례에서, 본원에 개시된 임의의 펩티드의 C-말단 리신은 오르니틴(예컨대, L-오르니틴), L-2,3-디아미노프로피온산, L-2,7-디아미노헵탄산, 디아미노 부티르산(예컨대, L-2,4-디아미노 부티르산, 알파 탄소 아민을 갖는 아미노산, 또는 디아민으로 대체된다.

[0329] 한 측면에서, 구조적으로 안정화된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 하기 화학식 (I) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 (i) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합을 억제하고/하거나; (ii) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제한다:



화학식 (I)

[0330]

[0331] 상기 식에서,

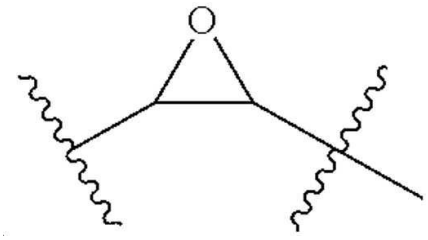
[0332] 각각의 R_1 및 R_2는 독립적으로 H 또는 C_1 내지 C_{10} 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴알킬, 사이클로알킬알킬, 헤테로아릴알킬, 또는 헤테로사이클릴알킬이고;

[0333] R_3은 알킬, 알케닐, 알키닐; $[R_4-K-R_4]_n$이고; 각각은 0-6개의 R_5로 치환되고;

[0334] R_4는 알킬, 알케닐, 또는 알키닐이고;

[0335] R_5는 할로, 알킬, OR_6, $N(R_6)_2$, SR_6, SOR_6, SO_2R_6, CO_2R_6, R_6, 형광 모이어티, 또는 방사성 동위원소이고;

[0336] K는 O, S, SO, SO_2, CO, CO_2, $CONR_6$, 또는



[0337] 이고;

[0338] R_6은 H, 알킬, 또는 치료제이고;

[0339] n은 1-4의 정수이고;

[0340] x는 2-10의 정수이고;

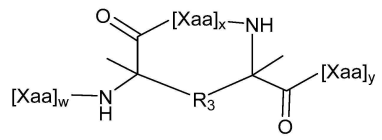
[0341] 각각의 y는 독립적으로 0-100의 정수이고;

[0342] z는 1-10의 정수(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10)이고;

[0343] 각각의 Xaa는 독립적으로 아미노산이고;

[0344] 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합한다.

[0345] 또 다른 측면에서, 구조적으로 안정화된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 화학식 (I-A)을 포함한다. 화학식(I-A)은 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 정의된다:

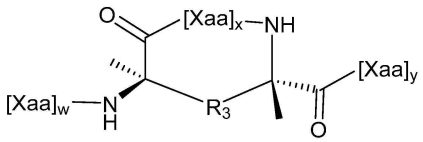


[0346] .

[0347] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (I-A)으로 이루어진다.

[0348] 일부 사례에서, 화학식 (I-A)의 R_3은 알케닐렌이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

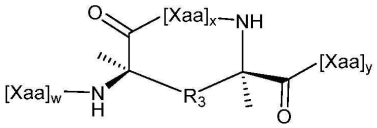
[0349] 또 다른 측면에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (Ia) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0350] 

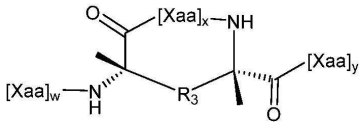
.

[0351] 한 측면에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 화학식 (Ia)로 이루어진다. 일부 사례에서, 화학식 (Ia)의 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

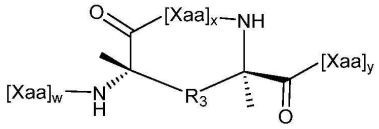
[0352] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하거나 이로 이루어진다:



화학식 (Ib),



화학식 (Ic),



화학식 (Id)

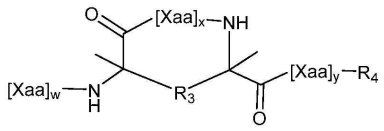
[0353] .

[0354] 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0355] 일부 사례에서, 화학식 (I)-(Id) 중 어느 하나(즉, I, Ia, Ib, Ic, Id)의 R_3은 C_{7-15} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 C_{9-13} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 C_{11} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_{3-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-7}-$이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_{5-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-4}-$이다. 일부 경우에서, R_3은 $-(CH_2)_6-CH=CH-(CH_2)_3-$이다.

[0356] 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)CH_3$으로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0357] 또 다른 측면에서, 하기로 정의되는 화학식 (II) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하거나 이로 이루어진 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 개시된다:

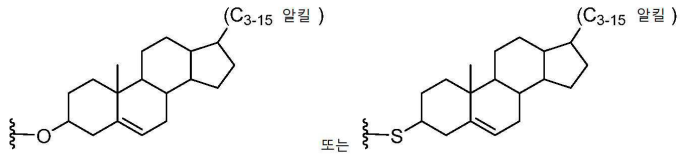


화학식 (II)

[0358] .

[0359] 일부 사례에서, 화학식 (II)의 R_3은 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_4는 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이고, **는 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이다.

[0360] 일부 사례에서, R_6은 하기 화학식 중 하나이고;

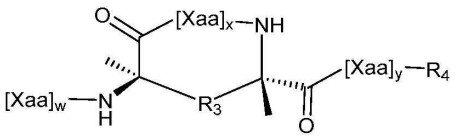
[0361] 

, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환된다.

[0362] 일부 사례에서, R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타낸다. 일부 사례에서, m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이다. 일부 사례에서, t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0363] 일부 사례에서, [Xaa]$_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체되고, 임의적으로 [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 -C(O)NH_2로 대체된다.

[0364] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IIa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하거나 이로 이루어진다:

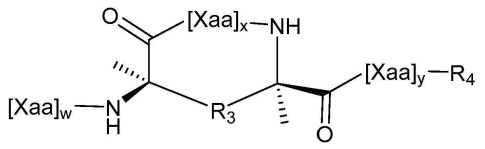


화학식 (IIa)

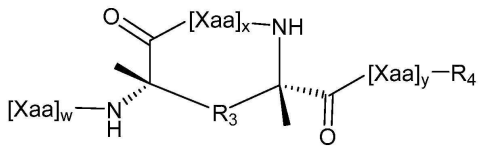
[0365]

[0366] 상기 식에서, 임의적으로 [Xaa]$_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, [Xaa]$_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 -C(O)NH_2로 대체된다.

[0367] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기 화학식 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하거나 이로 이루어진다:

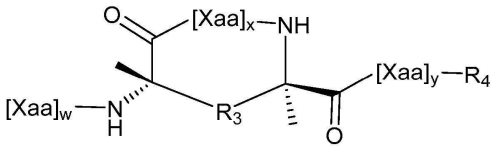


화학식 (IIb),



화학식 (IIc),

[0368] ,



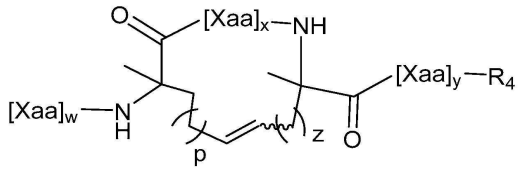
화학식 (IId)

[0369] .

[0370] 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0371] 일부 사례에서, 화학식 (II), (IIa), (IIb), (IIc), 또는 (IId)의 R_3은 C_{7-15} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 C_{9-13} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 C_{11} 알케닐렌이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_{3-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-7}-$이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_{5-7}-CH=CH-(CH_2)_{3-4}-$이다. 일부 사례에서, R_3은 $-(CH_2)_6-CH=CH-(CH_2)_3-$이다.

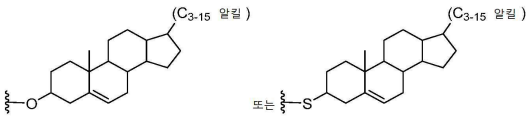
[0372] 일부 사례에서, 하기로 정의되는 화학식 (III) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하거나 이로 이루어진 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 개시된다:



화학식 (III)

[0373] .

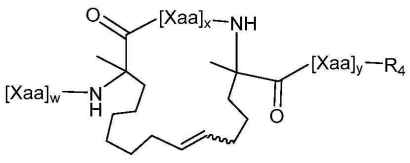
[0374] 일부 사례에서, R_4는 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-$N(R_5)C(O)-(C_{1-6}$ 알킬렌)-R_6이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이다. 일부 사례에서, R_6은 하기 화학식 중 하나이고;



[0375] , 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환된다.

[0376] 일부 사례에서, R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타낸다. 일부 사례에서, m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이다. 일부 사례에서, p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 사례에서, z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이다. 일부 사례에서, t는 0, 1, 2, 또는 3이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0377] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IIIa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하거나 이로 이루어진다:



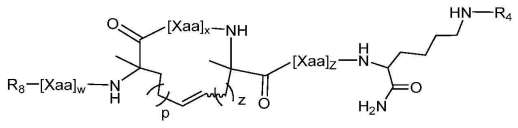
화학식 (IIIa)

[0378] .

[0379] 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$ 알킬)로 대체되고, 임의적으로 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다. 일부 사례에서, R_4는 **-C(O)-(C_{2-3} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-$N(R_5)C(O)-(C_{1-2}$ 알킬렌)-R_6이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, R_4는 **-C(O)-(CH_2CH_2)-$[O-CH_2CH_2]_m$-$N(R_5)C(O)-(CH_2)$-R_6이고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의

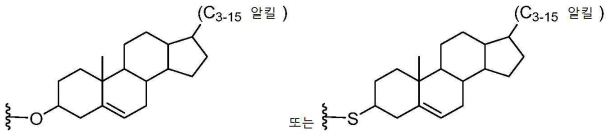
아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)CH_3$으로 대체된다. 일부 사례에서, $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 카르복실산기는 $-C(O)NH_2$로 대체된다.

[0380] 또 다른 측면에서, 하기 화학식 (IV) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 개시된다:



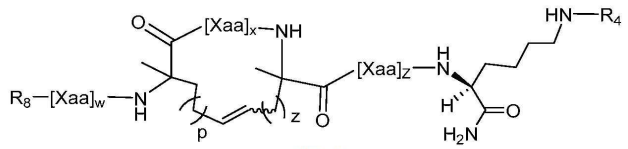
[0381] 화학식 (IV)

[0382] 일부 사례에서, R_4는 -C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-$N(R_5)$C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이다. 일부 사례에서, R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이다. 일부 사례에서, R_6은 하기 화학식 중 하나이고;

[0383] 
, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환된다.

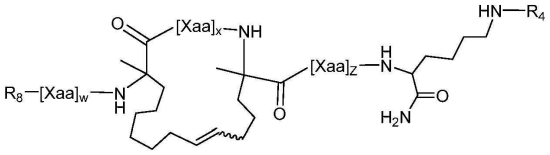
[0384] 일부 사례에서, R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타낸다. 일부 사례에서, R_8은 -C(O)-(C_{1-4} 알킬)이다. 일부 사례에서, m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이다. 일부 사례에서, p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 사례에서, z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이다. 일부 사례에서, t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

[0385] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IVa) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시된다:



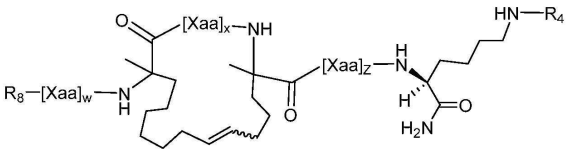
[0386] 화학식 (IVa)

[0387] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IVb) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시된다:



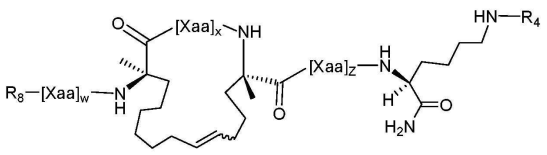
[0388] 화학식 (IVb)

[0389] 일부 사례에서, 구조적으로 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (IVc) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시된다:



[0390] 화학식 (IVc)

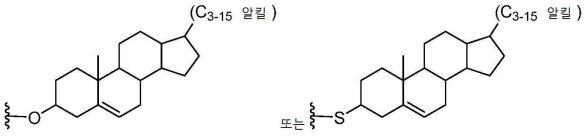
[0391] 일부 사례에서, 하기로 정의되는 화학식 (V) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 개시된다:



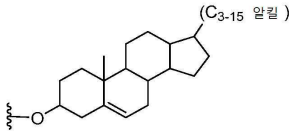
화학식 (V)

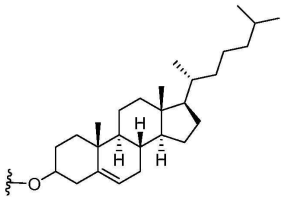
[0392] .

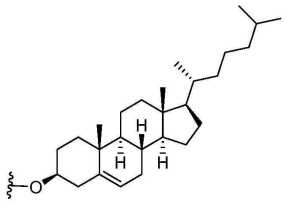
[0393] 일부 사례에서, R_4는 -C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6이다. 일부 사례에서, R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이다. 일부 사례에서, R_6은 하기 화학식 중 하나이고;

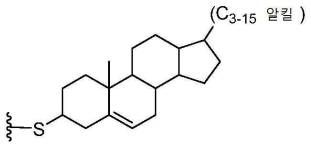
[0394] 
, 임의적으로 각각은 t개의 R_7로 치환된다.

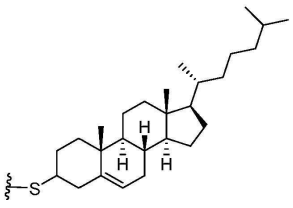
[0395] 일부 사례에서, R_7은 각각의 경우에 독립적으로 C_{1-3} 알킬, 히드록실, 또는 C_{1-3} 알콕실을 나타낸다. 일부 사례에서, R_8은 -C(O)-(C_{1-4} 알킬)이다. 일부 사례에서, [Xaa]$_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고; [Xaa]$_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고; [Xaa]$_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이다. 일부 사례에서, m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이다. 일부 사례에서, t는 0, 1, 2, 또는 3이다.

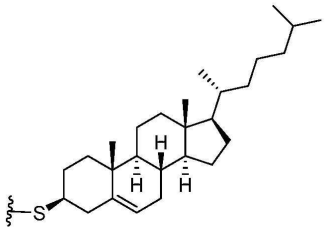
[0396] 일부 사례에서, R_8은 -C(O)CH_3이다. 일부 사례에서, R_4는 -C(O)-(C_{2-3} 알킬렌)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-2} 알킬렌)-R_6이다. 일부 사례에서, R_4는 -C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]$_m$-N(R_5)C(O)-(CH_2)-R_6이다. 일부 사례에서, R_5는 수소이다. 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된  이다.

[0397] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된  이다.

[0398] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된  이다.

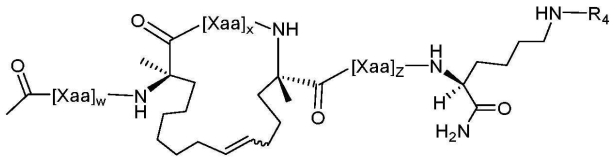
[0399] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된  이다.

[0400] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된  이다.

[0401] 일부 사례에서, R_6은 t개의 R_7로 치환된  이다.

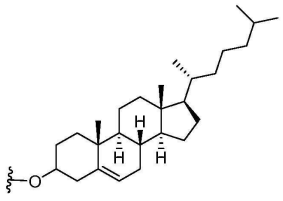
[0402] 일부 사례에서, t는 0이다. 일부 사례에서, m은 4이다. 일부 사례에서, m은 8이다.

[0403] 또 다른 측면에서, 하기로 정의되는 화학식 (VI) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체가 본원에 개시된다:



화학식 (VI)

[0404] .

[0405] 일부 사례에서, R_4는 $-C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]_8-N(H)C(O)-(CH_2)-R_6$이다. 일부 사례에서, R_6은  이다.

[0406] 일부 사례에서, $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고; $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고; $[Xaa]_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이다.

[0407] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 $[Xaa]_w$, 화학식 (I)의 [Xaa]x, 및 화학식 (I), (Ia), (II), (IIa)의 각각의 $[Xaa]_w$는 표 2의 구축물 1-15 중 어느 하나에 대해 기재된 바와 같다. 예컨대, 표 2의 구축물 1의 $[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, 및 $[Xaa]_y$를 포함하는 안정화된 펩티드의 경우, $[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, 및 $[Xaa]_y$는 각각 DISGINASVV(서열번호 26), IQKEID(서열번호 27), 및 LNEVAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 28)이다. 또 다른 예로서, 표 2의 구축물 2의 $[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, 및 $[Xaa]_y$를 포함하는 안정화된 펩티드의 경우, $[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, 및 $[Xaa]_y$는 각각 DISGINASVVN(서열번호 29), QKEIDR(서열번호 30), 및 NEVAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 31)이다.

표 2

화학식 (I) 구축물 1-15에 대한 $[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, 및 $[Xaa]_y$ 서열

구축물	$[Xaa]_w$	$[Xaa]_x$	$[Xaa]_y$
1	DISGINASVV (서열번호 26)	IQKEID (서열번호 27)	LNEVAKNLNESLIDL QELGK (서열번호 28)
2	DISGINASVVN (서열번호 29)	QKEIDR (서열번호 30)	NEVAKNLNESLIDLQ ELGK (서열번호 31)

[0408]

구축물	$[Xaa]_w$	$[Xaa]_x$	$[Xaa]_y$
3	DISGINASVVNI (서열번호 32)	KEIDRL (서열번호 33)	EVAKNLNESLIDLQE LGK (서열번호 34)
4	DISGINASVVNIQ (서열번호 35)	EIDRLN (서열번호 36)	VAKNLNESLIDLQEL GK (서열번호 37)
5	DISGINASVVNIQK (서열번호 38)	IDRLNE (서열번호 39)	AKNLNESLIDLQELG K (서열번호 40)
6	DISGINASVVNIQKE (서열번호 41)	DRLNEV (서열번호 42)	KNLNESLIDLQELGK (서열번호 43)
7	DISGINASVVNIQKEI (서열번호 44)	RLNEVA (서열번호 45)	NLNESLIDLQELGK (서열번호 46)
8	DISGINASVVNIQKEID (서열번호 47)	LNEVAK (서열번호 48)	LNESLIDLQELGK (서열번호 49)
9	DISGINASVVNIQKEID R (서열번호 50)	NEVAKN (서열번호 51)	NESLIDLQELGK (서열번호 52)
10	DISGINASVVNIQKEID RL (서열번호 53)	EVAKNL (서열번호 54)	ESLIDLQELGK (서열번호 55)
11	DISGINASVVNIQKEID RLN (서열번호 56)	VAKNLN (서열번호 57)	SLIDLQELGK (서열번호 58)
12	DISGINASVVNIQKEID RLNE (서열번호 59)	AKNLNE (서열번호 60)	LIDLQELGK (서열번호 61)
13	DISGINASVVNIQKEID RLNEV (서열번호 62)	KNLNES (서열번호 63)	IDLQELGK (서열번호 64)
14	DISGINASVVNIQKEID RLNEVA (서열번호 65)	NLNESL (서열번호 66)	DLQELGK (서열번호 67)
15	DISGINASVVNIQKEID RLNEVAK (서열번호 68)	LNESLI (서열번호 69)	LQELGK (서열번호 70)

[0409]

[0410] 특정 사례에서, 상기 표 2에 제시된 서열은 적어도 하나(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개)의 아미노산 치환 또는 결실을 가질 수 있다. SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 본원에 기재된 임의의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0411] 일부 사례에서, 상기 표 2에 제시된 서열을 포함하는 화학식 (I)은 하기에 나열된 특성 중 하나 이상을 가질 수 있다: (i) 재조합 SARS-CoV-2 5-나선 다발 S 단백질 및/또는 상응하는 천연 융합 기구에 결합; (ii) 알파 나선형; (iii) 프로테아제 저항성; (iv) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합 억제; 및/또는 (v) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염 억제. 일부 사례에서, 화합물은 서열번호 78의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 폴리펩티드에 결합

한다.

[0412] 화학식 (I)의 테더는 알킬, 알케닐, 또는 알키닐 모이어티(예컨대, C_5, C_8, C_{11}, 또는 C_{12} 알킬, C_5, C_8, 또는 C_{11} 알케닐, 또는 C_5, C_8, C_{11}, 또는 C_{12} 알키닐)을 포함할 수 있다. 테더링된 아미노산은 알파 이치환(예컨대, C_1-C_3 또는 메틸)될 수 있다.

[0413] 화학식 (I)의 일부 사례에서, x는 2, 3, 또는 6이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, 각각의 y는 독립적으로 0 내지 15, 또는 3 내지 15의 정수이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_6 알킬이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_1 및 R_2는 각각 독립적으로 C_1-C_3 알킬이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_1 및 R_2 중 적어도 하나는 메틸이다. 예컨대 R_1 및 R_2는 모두 메틸일 수 있다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_3은 알킬(예컨대, C_8 알킬)이고 x는 3이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_3은 C_{11} 알킬이고 x는 6이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_3은 알케닐(예컨대, C_8 알케닐)이고 x는 3이다. 화학식 (I)의 일부 사례에서, x는 6이고 R_3은 C_{11} 알케닐이다. 일부 사례에서, R_3은 직쇄 알킬, 알케닐 또는 알키닐이다. 일부 사례에서, R_3은 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH-CH-CH_2-CH_2-CH_2-$이다.

[0414] 한 측면에서, 구조적으로 안정화된 COVID-19 HR2 펩티드는 화학식 (I), 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하고,

[0415] 각각의 R_1 및 R_2는 H 또는 C_1 내지 C_{10} 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴알킬, 사이클로알킬알킬, 헤테로아릴알킬, 또는 헤테로사이클릴알킬이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고;

[0416] 각각의 R_3은 독립적으로 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고;

[0417] z는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

[0418] (a) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVV(서열번호 26)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 IQKEID(서열번호 27)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 LNEVAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 28)이고;

[0419] (b) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVN(서열번호 29)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 QKEIDR(서열번호 30)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 NEVAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 31)이고;

[0420] (c) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNI(서열번호 32)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 KEIDRL(서열번호 33)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 EVAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 34)이고;

[0421] (d) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0422] (e) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQK(서열번호 38)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 IDRLNE(서열번호 39)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 AKNLNESLIDLQELGK(서열번호 40)이고;

[0423] (f) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKE(서열번호 41)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 DRLNEV(서열번호 42)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 KNLNESLIDLQELGK(서열번호 43)이고;

[0424] (g) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEI(서열번호 44)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 RLNEVA(서열번호 45)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 NLNESLIDLQELGK(서열번호 46)이고;

[0425] (h) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEID(서열번호 47)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 LNEVAK(서열번호 48)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 LNESLIDLQELGK(서열번호 49)이고;

[0426] (i) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDR(서열번호 50)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 NEVAKN(서열번호 51)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 NESLIDLQELGK(서열번호 52)이고;

[0427] (j) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDRL(서열번호 53)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 EVAKNL(서열번호 54)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 ESLIDLQELGK(서열번호 55)이고;

[0428] (k) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDRLN(서열번호 56)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 VAKNLN(서열번호 57)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 SLIDLQELGK(서열번호 58)이고;

[0429] (l) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDRLNE(서열번호 59)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 AKNLNE(서열번호 60)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 LIDLQELGK(서열번호 61)이고;

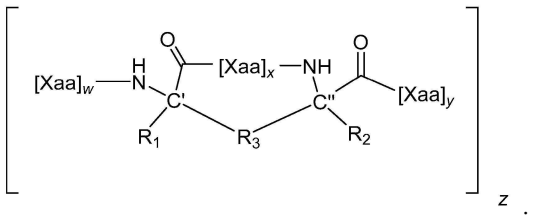
[0430] (m) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDRLNEV(서열번호 62)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 KNLNES(서열번호 63)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 IDLQELGK(서열번호 64)이고;

[0431] (n) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA(서열번호 65)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 NLNESL(서열번호 66)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 DLQELGK(서열번호 67)이고;

[0432] (o) 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAK(서열번호 68)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 LNESLI(서열번호 69)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 LQELGK(서열번호 70)이고,

[0433] 구조적으로 안정화된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 재조합 SARS-CoV-2 5-나선 다발 S 단백질 및/또는 상응하는 천연 융합 기구에 결합한다. 일부 사례에서, R_1은 알킬이다. 일부 사례에서, R_1은 메틸기이다. 일부 사례에서, R_3은 알킬이다. 일부 사례에서, R_3은 메틸기이다. 일부 사례에서, R_2는 알케닐이다. 일부 사례에서, z는 1이다.

[0434] 화학식 (I)의 또 다른 측면에서, 2개의 알파, 알파 이치환된 입체중심은 둘 다 R 배열 또는 S 배열(예컨대, i, i+4 가교결합)이거나, 하나의 입체중심은 R이고 다른 하나는 S이다(예컨대, i, i+7 가교결합). 따라서, 화학식 (I)은 하기와 같이 표현된다:

[0435] 

[0436] C' 및 C" 이치환된 입체중심은 둘 다 R 배열일 수 있거나 둘 다 S 배열일 수 있다. 화학식 (I)에서 x가 6인 경우, C' 이치환된 입체중심은 R 배열이고 C" 이치환된 입체중심은 S 배열이다. 화학식 (I)의 R_3 이중 결합은 E 또는 Z 입체화학적 배열일 수 있다.

[0437] 화학식 (I)의 일부 사례에서, R_3은 $[R_4-K-R_4]_n$이고; R_4는 직쇄 알킬, 알케닐 또는 알키닐이다.

[0438] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용된 용어 "알킬"은 직쇄 또는 분지형일 수 있는 포화된 탄화수소 기를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 알킬기는 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 4, 또는 1 내지 3개의 탄소 원자를 함유한다. 알킬 모이어티의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 2-메틸-1-부틸, 3-펜틸, n-헥실, 1,2,2-트리메틸프로필, n-헵틸 등과 같은 화학기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 알킬기는 메틸, 에틸 또는 프로필이다. 용어 "알킬렌"은 연결 알킬기를 지칭한다.

[0439] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용된 "알케닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 알킬기를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 알케닐 모이어티는 2 내지 6 또는 2 내지 4개의 탄소 원자를 함유한다. 예시적인 알케닐기는 에테닐, n-프로페닐, 이소프로페닐, n-부테닐, sec-부테닐 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용어 "알케닐렌"은 연결 알케닐기(예컨대, -CH=CH- 또는 $-CH_2CH_2CH=CHCH_2CH_2-$ 기)를 지칭한다.

[0440] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용된 "알키닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 알킬기를 지칭한다. 예시적인 알키닐기는 에티닐, 프로핀-1-일, 프로핀-2-일 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는

다. 일부 실시양태에서, 알키닐 모이어티는 2 내지 6 또는 2 내지 4개의 탄소 원자를 함유한다.

[0441] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용된 "알키닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중 결합을 갖는 알킬기를 지칭한다. 예시적인 알키닐기는 에티닐, 프로핀-1-일, 프로핀-2-일 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 알키닐 모이어티는 2 내지 6 또는 2 내지 4개의 탄소 원자를 함유한다.

[0442] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용된 용어 "사이클로알킬알킬"은 화학식 사이클로알킬-알킬-의 기를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 알킬 부분은 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 또는 1개의 탄소 원자(들)를 갖는다. 일부 실시양태에서, 알킬 부분은 메틸렌이다. 일부 실시양태에서, 사이클로알킬 부분은 3 내지 10개의 고리 구성원 또는 3 내지 7개의 고리 구성원을 갖는다. 일부 실시양태에서, 사이클로알킬기는 모노사이클릭 또는 바이사이클릭이다. 일부 실시양태에서, 사이클로알킬 부분은 모노사이클릭이다. 일부 실시양태에서, 사이클로알킬 부분은 C_{3-7} 모노사이클릭 사이클로알킬기이다.

[0443] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 용된 용어 "헤테로아릴알킬"은 화학식 헤테로아릴-알킬-의 기를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 알킬 부분은 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 또는 1개의 탄소 원자(들)를 갖는다. 일부 실시양태에서, 알킬 부분은 메틸렌이다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴 부분은 질소, 황 및 산소로부터 독립적으로 선택되는 1, 2, 3 또는 4개의 헤테로원자를 갖는 모노사이클릭 또는 바이사이클릭기이다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴 부분은 5 내지 10개의 탄소 원자를 갖는다.

[0444] 본원에 사용된 용어 "치환된"은 수소 원자가 비-수소기로 대체되는 것을 의미한다. 주어진 원자에서의 치환은 원자가에 의해 제한된다는 것을 이해해야 한다.

[0445] 본원에서 단독으로 또는 다른 용어와 조합하여 사용된 "할로" 또는 "할로겐"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 포함한다. 일부 실시양태에서, 할로는 F 또는 Cl이다.

[0446] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 서열번호 5 또는 6 중 어느 하나의 아미노산 서열 (또는 이의 변형된 버전)을 포함하는 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드를 기재하며, 6개의 아미노산에 의해 분리된 2개의 아미노산의 측쇄는 내부 스테이플로 대체된다.

[0447] 스테이플링된 펩티드는 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, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100개의 아미노산 길이일 수 있다. 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 19-45개(즉, 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, 45개)의 아미노산 길이이다. 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 36-45개(즉, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 또는 45개)의 아미노산 길이이다. 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 38-45개(즉, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 또는 45개)의 아미노산 길이이다. 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 36-42개(즉, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42개)의 아미노산 길이이다. 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 38-42개(즉, 38, 39, 40, 41, 42개)의 아미노산 길이이다. 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 36개의 아미노산 길이이다. 또 다른 특정 실시양태에서, 스테이플링된 펩티드는 38개의 아미노산 길이이다. 예시적인 COVID-19 HR2 스테이플링된 펩티드는 표 1 및 2에 나타나 있으며 화학식 (I)에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, COVID-19 HR2 스테이플링된 펩티드는 서열번호 7-21 중 어느 하나의 아미노산 서열의 스테이플링된 버전(예컨대, 각각 서열번호 7-21 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드에서 수행된 고리 폐쇄 복분해 반응의 생성물)을 포함하거나 이로 이루어진다. 한 실시양태에서, SARS-CoV-2 HR2 스테이플링된 펩티드는 서열번호 5의 아미노산 서열의 스테이플링 버전(예컨대, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드에서 수행된 고리 폐쇄 복분해 반응의 생성물)을 포함하거나 이로 이루어진다. 한 실시양태에서, SARS-CoV-2 HR2 스테이플링된 펩티드는 서열번호 6의 아미노산 서열의 스테이플링된 버전(예컨대, 서열번호 6의 아미노산을 포함하는 펩티드에서 수행된 고리 폐쇄 복분해 반응의 생성물)을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0448] 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 11 및 18에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 12 및 19에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 13 및 20에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 14 및 21에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 15 및 22에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티

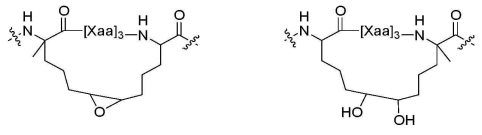
드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 16 및 23에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 17 및 24에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 18 및 25에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 19 및 26에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 20 및 27에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 21 및 28에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 22 및 29에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 23 및 30에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 24 및 31에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다. 특정 실시양태에서, 각각 6개의 아미노산으로 분리된 2개의 아미노산은 서열번호 6의 위치 25 및 32에 상응하는 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 아미노산 위치에 있다.

[0449] 탄화수소 테더가 본원에 제공되어 있지만, 본원에 기재된 구조적으로 안정화된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드에는 다른 테더도 사용될 수 있다. 예컨대, 테더는 에테르, 티오에테르, 에스테르, 아민, 또는 아미드, 또는 트리아졸 모이어티 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 일부 경우에서, 자연 발생 아미노산 측쇄는 테더에 통합될 수 있다. 예컨대, 테더는 세린의 히드록실, 시스테인의 티올, 리신의 1차 아민, 아스파르테이트 또는 글루타메이트의 산, 또는 아스파라긴 또는 글루타민의 아미드와 같은 작용기와 커플링될 수 있다. 따라서, 2개의 비-자연 발생 아미노산을 커플링하여 만든 테더를 사용하는 대신 자연 발생 아미노산을 사용하여 테더를 만드는 것이 가능하다. 단일 비-천연 아미노산을 자연 발생 아미노산과 함께 사용하는 것도 가능하다. 트리아졸 함유(예컨대, 1,4 트리아졸 또는 1,5 트리아졸) 가교결합이 사용될 수 있다(예컨대, 문헌(Kawamoto *et al.* 2012 *Journal of Medicinal Chemistry* 55:1137; WO 2010/060112) 참조). 또한, 상이한 유형의 스테이플링을 수행하는 다른 방법은 당업계에 널리 공지되어 있으며 본원에 기재된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드와 함께 사용될 수 있다(예컨대, 문헌(*Lactam stapling*: Shepherd *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 127:2974-2983 (2005); *UV-cycloaddition stapling*: Madden *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* Lett., 21:1472-1475 (2011); *Disulfide stapling*: Jackson *et al.*, *Am. Chem. Soc.*,113:9391-9392 (1991); *Oxime stapling*: Haney *et al.*, *Chem. Commun.*, 47:10915-10917 (2011); *Thioether stapling*: Brunel and Dawson, *Chem. Commun.*, 552-2554 (2005); *Photoswitchable stapling*: J. R. Kumita *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97:3803-3808 (2000); *Double-click stapling*: Lau *et al.*, *Chem. Sci.*, 5:1804-1809 (2014); *Bis-lactam stapling*: J. C. Phelan *et al.*,, *J. Am. Chem. Soc.*, 119:455-460 (1997); and *Bis-arylation stapling*: A. M. Spokoyny *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 135:5946-5949 (2013)) 참조).

[0450] 또한, 테더의 길이는 다양할 수 있다는 것이 구상된다. 예컨대, 2차 알파 나선 구조에 상대적으로 높은 수준의 제약을 제공하는 것이 바람직한 경우 더 짧은 길이의 테더를 사용할 수 있는 반면, 일부 사례에서 2차 알파 나선 구조에 대해 더 적은 제약을 제공하는 것이 바람직하므로 더 긴 테더가 필요할 수 있다.

[0451] 추가적으로, 주로 알파 나선의 단일 면에 있는 테더를 제공하기 위해 아미노산 *i* 내지 *i+7*에 걸친 테더가 본원에서 제공되지만, 테더는 아미노산 수의 임의의 조합에 걸쳐 합성될 수 있으며 또한 다수의 테더를 도입하기 위해 조합하여 사용될 수 있다.

[0452] 일부 사례에서, 본원에 기재된 탄화수소 테더(즉, 가교결합)는 추가로 조작될 수 있다. 한 사례에서, 탄화수소 알케닐 테더의 이중 결합(예컨대, 루테늄 촉매된 고리 폐쇄 복분해(RCM)을 이용하여 합성됨)은 (예컨대, 에폭시화, 아미노히드록실화 또는 디히드록실화를 통해) 산화되어 하기 화합물 중 하나를 제공할 수 있다:

[0453] 

.

[0454] 에폭사이드 모이어티 또는 유리 히드록실 모이어티 중 하나가 추가로 작용화될 수 있다. 예컨대, 에폭사이드는 친핵체로 처리될 수 있으며, 이는, 예컨대 치료제를 부착하는 데 사용될 수 있는 추가 작용기를 제공한다. 이러

한 유도체화는 대안적으로 펩티드의 아미노 또는 카르복시 말단의 합성 조작에 의해 또는 아미노산 측쇄를 통해 달성될 수 있다. 다른 작용제, 예컨대 펩티드가 세포에 진입하는 것을 촉진하는 작용제가 작용화된 테더에 부착될 수 있다.

[0455] 일부 사례에서, 알파 나선 2차 구조의 안정성을 개선하기 위해 알파 이치환된 아미노산이 펩티드에 사용된다. 그러나, 알파 이치환된 아미노산은 필수가 아니며 (예컨대, 테더링된 아미노산에서) 모노-알파 치환체를 사용하는 경우도 구상된다.

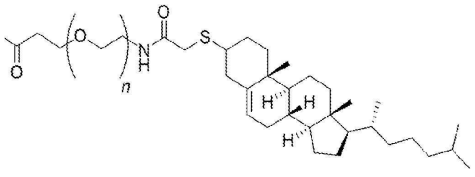
[0456] 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드는 약물, 독소, 폴리에틸렌 글리콜의 유도체; 제2 펩티드; 탄수화물 등을 포함할 수 있다. 중합체 또는 다른 작용제가 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드에 연결되는 경우, 조성물이 실질적으로 균질한 것이 바람직할 수 있다.

[0457] 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 분자를 부가하면 펩티드의 약동학 및 약력학 특성을 개선할 수 있다. 예컨대, PEG화는 신장 청소율을 감소시켜 보다 안정적인 혈장 농도가 초래될 수 있다. PEG는 수용성 중합체이며 하기 화학식과 같이 펩티드에 연결된 것으로 표시될 수 있다:

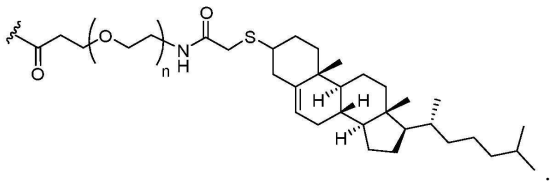
[0458] $XO\text{--}(CH_2CH_2O)_n\text{--}CH_2CH_2\text{--}Y$

[0459] 상기 식에서, n은 2 내지 10,000이고, X는 H 또는 말단 변형, 예컨대 C_{1-4} 알킬이고; Y는 아민기(리신의 엡실론 아민 또는 N-말단을 포함하지만 이에 제한되지 않음)에 대한 아미드, 카르바메이트 또는 우레아 연결이다. Y는 또한 티올기(시스테인의 티올기를 포함하지만 이에 제한되지 않음)에 대한 말레이미드 연결일 수 있다. PEG를 펩티드에 직접적으로 또는 간접적으로 연결하는 다른 방법은 당업자에게 공지되어 있다. PEG는 선형 또는 분지형일 수 있다. 다양한 작용화된 유도체를 포함한 다양한 형태의 PEG가 시판된다.

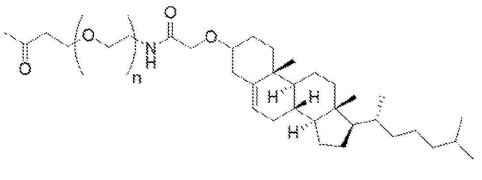
[0460] 일부 사례에서, 본원에 사용된 PEG는 펩티드(예컨대, 스테이플링된 펩티드; 예컨대, 서열번호7-21) 중 하나와 콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤 모이어티 사이의 링커 또는 스페이서로서 작용한다. 일부 사례에서, PEG 분자는 하기 화학식을 포함하며, n = 1-36(n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 또는 36)이다:

[0461] 

[0462] 일부 사례에서, PEG 분자는 하기 화학식을 포함하며, n = 1-36(n = 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, 또는 36)이다:

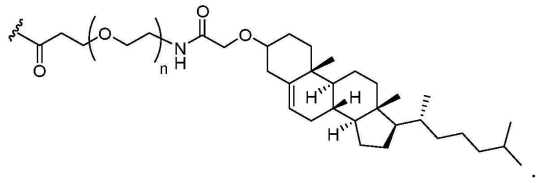
[0463] 

[0464] 일부 사례에서, PEG 분자는 하기 화학식을 포함하며, n = 1-36(n = 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, 또는 36)이다:

[0465] 

[0466] 일부 사례에서, PEG 분자는 하기 화학식을 포함하며, n = 1-36(n = 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, 또는 36)이

다:

[0467] 

[0468] 일부 사례에서, 상기 화학식 각각에 대해, n = 4이다. 일부 사례에서, 상기 화학식 각각에 대해, n = 5이다. 일부 사례에서, 상기 화학식 각각에 대해, n = 6이다. 일부 사례에서, 상기 화학식 각각에 대해, n = 7이다. 일부 사례에서, 상기 화학식 각각에 대해, n = 8이다.

[0469] 일부 사례에서, PEG 분자는 콜레스테롤 모이어티를 포함한다. 일부 사례에서, 콜레스테롤 모이어티는 티오콜레스테롤이다. 일부 사례에서, 티오콜레스테롤의 티오에테르 모이어티의 황은 산소 원자로 대체되어 콜레스테롤 유도체화에서 에테르 모이어티를 생성한다.

[0470] 백본에 분해 가능한 연결을 갖는 PEG가 사용될 수 있다. 예컨대, PEG는 가수분해되는 에스테르 연결로 제조될 수 있다. 분해 가능한 PEG 연결을 갖는 접합체는 WO 99/34833; WO 99/14259, 및 미국 6,348,558에 기재되어 있다.

[0471] 특정 실시양태에서, 거대분자 중합체(예컨대, PEG)는 중간체 링커를 통해 본원에 기재된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드에 부착된다. 특정 실시양태에서, 링커는 펩티드 결합에 의해 연결된 1 내지 20개의 아미노산으로 제조되며, 아미노산은 20개의 자연 발생 아미노산으로부터 선택된다. 이러한 아미노산 중 일부는 당업자에 의해 잘 이해되는 바와 같이 글리코실화될 수 있다. 다른 실시양태에서, 1 내지 20개의 아미노산은 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민 및 리신으로부터 선택된다. 다른 실시양태에서, 링커는 글리신 및 알라닌과 같이 입체적으로 방해받지 않는 대부분의 아미노산으로 제조된다. 비-펩티드 링커도 가능하다. 예컨대, $-NH(CH_2)_nC(O)-$(n = 2-20)와 같은 알킬 링커가 사용될 수 있다. 이러한 알킬 링커는 저급 알킬(예컨대, C_1-C_6) 저급 아실, 할로겐(예컨대, Cl, Br), CN, NH_2, 페닐 등과 같은 임의의 비-입체 장애기에 의해 추가로 치환될 수 있다. 미국 특허 번호 5,446,090은 이작용성 PEG 링커 및 각각의 PEG 링커 말단에 펩티드를 갖는 접합체를 형성하는 데 있어서의 이의 용도를 기재한다.

[0472] 일부 실시양태에서, 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드는 또한, 예컨대 점막부착, 막 결합을 추가로 촉진하거나 생체내 안정성을 증가시키기 위해 변형될 수 있다. 예컨대, 구조적으로 안정화된 펩티드를 아실화 또는 PEG화하면 생체이용률이 증가하고/하거나, 혈액 순환이 증가하고/하거나, 약동학이 변경되고/되거나, 면역원성이 변경되고/되거나, 필요한 투여 빈도가 감소된다.

[0473] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드는 (예컨대, 안정화되지 않은 펩티드에 비해) 세포막에 결합하거나 세포막을 침투하는 향상된 능력을 갖는다. 예컨대, 국제 공개 번호 WO 2017/147283(전체가 인용에 의해 본원에 포함됨)을 참조한다.

[0474] **치료 방법**

[0475] 본 개시내용은 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스) 감염 또는 코로나바이러스 질환(예컨대, COVID-19)을 예방 및/또는 치료하기 위해 본원에 기재된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 (또는 상기 구조적으로 안정화된 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함하는 약제학적 조성물) 중 임의의 것을 사용하는 방법을 기재한다. 본원에 사용된 용어 "치료하다" 또는 "치료하는"은 대상체(예컨대, 인간) 또는 다른 종(예컨대, 애완동물; 농장 동물; 가축)이 앓고 있는 질환 또는 감염을 완화, 억제 또는 개선하는 것을 지칭한다. 일부 사례에서, 대상체는 동물이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 비-영장류(예컨대, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트 등) 또는 영장류(예컨대, 원숭이 또는 인간)와 같은 포유동물이다. 일부 사례에서, 대상체는 가축(예컨대, 개 또는 고양이)이다. 일부 사례에서, 대상체는 코로나바이러스를 퍼뜨리는 박쥐 또는 다른 종이다. 일부 사례에서, 대상체는 인간이다. 특정 실시양태에서, 이러한 용어는 비-인간 동물(예컨대, 돼지, 말, 소, 고양이 또는 개와 같은 비-인간 동물)을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 이러한 용어는 애완동물 또는 농장 동물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 이러한 용어는 인간을 지칭한다.

[0476] 본원에 기재된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 (또는 펩티드를 포함하는 조성물)는 코로나바이러스(예컨대, 베타코로나바이러스) 감염을 갖는 대상체(예컨대, 인간 대상체 또는 상기 기

재된 바와 같은 종)를 치료하는 데 유용할 수 있다. 본원에 기재된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 (또는 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함하는 조성물)는 또한 코로나바이러스 질환을 갖는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종을 치료하는 데 유용할 수 있다. 본원에 기재된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 (또는 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함하는 조성물)는 또한 코로나바이러스 질환을 갖는 대상체를 치료하는 데 유용할 수 있으며, 대상체는 비-영장류(예컨대, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트 등) 또는 영장류(예컨대, 원숭이 또는 인간)와 같은 포유동물이다.

[0477] 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 감염은 229E(알파 코로나바이러스); NL63(알파 코로나바이러스); OC43(베타 코로나바이러스); HKU1(베타 코로나바이러스); 중동 호흡기 증후군(MERS); SARS-CoV; 또는 SARS-CoV-2 중 하나의 감염이다. 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 감염은 D614G B.1(RVP-702), 우한-Hu-1 QHD43416.1(RVP-701), 뉴욕 변이체 B.1.526(RVP-726) Iota, 캘리포니아 변이체 B.1.526(RVP-713), 또는 E484K를 갖는 UK 변이체 B.1.1.7(RVP-717) 중 하나로부터 선택되는 SARS-CoV-2 변이체의 감염이다. 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 질환은 COVID-19 감염에 의해 유발된다.

[0478] 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 감염은 우한-Hu-1, B.1.427/B.1.429, B.1.617.2, D614G B.1, 브라질 변이체 P.1, B.1.1.7, B.1.351, B.1.525, B.1.526, B.1.617.1, B.1.617.3, P.2, B.1.621, B.1.621.1, B.1.1.529, BA.1, BA.1.1, BA.2, BA.3, BA.4 또는 BA.5 중 하나의 감염이다. 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 감염은 B.1.351, 클러스터 5, 계통 B.1.1.207, 계통 B.1.1.7, 관심 202102/02 변이체, 계통 B.1.1.317, 계통 B.1.1.318, 계통 B.1.351, 계통 B.1.429, 계통 B.1.525, 계통 P.1(계통 B.1.1.28로도 공지됨), 계통 B.1.1.529, 계통 BA.1, 계통 BA.1.1, 계통 BA.2, 계통 BA.3, 계통 BA.4 계통 BA.5, D614G, E484K, N501Y, S477G/N, 또는 P681H 중 하나의 감염이다.

[0479] 본원에 기재된 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 (또는 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함하는 조성물)는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에서 코로나바이러스(예컨대, 베타코로나바이러스) 감염을 예방하는 데 유용할 수 있다. 본원에 기재된 펩티드-콜레스테롤 접합체 (또는 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함하는 조성물)는 또한 대상체(예컨대, 인간 대상체) 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에서 코로나바이러스 질환을 예방하는 데 유용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 감염은 229E(알파 코로나바이러스); NL63(알파 코로나바이러스); OC43(베타 코로나바이러스); HKU1(베타 코로나바이러스); 중동 호흡기 증후군(MERS); SARS-CoV; 또는 SARS-COVID-19 중 하나의 감염이다. 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 질환은 COVID-19 감염에 의해 유발된다.

[0480] 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에게 표 1 또는 2에 기재된 펩티드 또는 이의 변이체가 투여된다. 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에게 서열번호 6 또는 이의 변형된 버전을 포함하거나 이로 이루어진 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드-콜레스테롤 접합체가 투여된다. 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체에게 서열번호 5 또는 이의 변형된 버전을 포함하거나 이로 이루어진 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드-콜레스테롤 접합체가 투여된다.

[0481] 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에게 표 1에 기재된 서열번호 7-21을 갖는 펩티드-콜레스테롤 접합체 중 어느 하나 또는 (본원에 기재된 바와 같은) 이의 변이체가 투여된다. 이러한 펩티드-콜레스테롤 접합체의 가능한 변형은 구조적으로 안정화된 펩티드 섹션에 기재되어 있다. 이러한 서열의 변이체는 하기 특성 중 적어도 하나(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5개)를 갖는다: (i) 알파 나선형; (ii) 프로테아제 저항성; (iii) SARS-CoV-2와 숙주 세포의 융합 억제; 및/또는 (iv) SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염 억제. 일부 사례에서, 변이체를 갖는 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방한다. 특정 실시양태에서, 치료는 인간 대상체 사이의 전염을 차단하기 위해 이루어진다. 일부 경우에서, 치료는 인간 대상체 집단의 감염 확산을 제어한다.

[0482] 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에게 서열번호 7-21을 갖는 펩티드-콜레스테롤 접합체 중 어느 하나에 대해 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 95% 동일성을 갖는 펩티드가 투여된다. 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에게 서열번호 7-21을 갖지만 1-10개(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개)의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 갖는 펩티드-콜레스테롤 접합체 중 어느 하나가 투여

된다. 특정 실시양태에서, 이를 필요로 하는 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체에게 서열번호 10, 13, 17, 또는 20 중 어느 하나를 포함하는 아미노산 서열을 갖지만 1-10개(예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개)의 아미노산 치환, 삽입, 및/또는 결실을 갖는 펩티드-콜레스테롤 접합체 중 어느 하나가 투여된다.

[0483] 일부 실시양태에서, 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체는 코로나바이러스(예컨대, 베타코로나바이러스)에 감염된다. 일부 실시양태에서, 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체는 코로나바이러스(예컨대, 베타코로나바이러스)에 감염될 위험이 있다. 일부 실시양태에서, 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체는 코로나바이러스 질환(예컨대, 베타코로나바이러스)이 발생할 위험이 있다. 일부 사례에서, 그 또는 그녀 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체가 코로나가 활발히 발생하고 있는 지역(예컨대, 시, 주, 국가)(예컨대, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40명 또는 그 초과의 사람이 코로나바이러스에 감염된 것으로 진단된 지역)에 거주하는 경우, 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체는 코로나바이러스에 감염될 위험이 있거나 코로나바이러스 질환이 발생할 위험이 있다. 일부 경우에서, 그 또는 그녀 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체가 코로나가 활발하게 발생하고 있는 제2 지역(예컨대, 시, 주, 국가) 인근 지역(예컨대, 접경 시, 주, 국가)(예컨대, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40명 또는 그 초과의 사람이 코로나바이러스에 감염된 것으로 진단된 제2 지역 인근 지역(예컨대, 접경))에 거주하는 경우, 인간 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체는 코로나바이러스에 감염되거나 코로나바이러스 질환이 발생할 위험이 있다. 특정 실시양태에서, 코로나바이러스 질환은 SARS-CoV-2 감염에 의해 유발된다. 특정 실시양태에서, 대상체 또는 본원에 제공된 또 다른 종으로부터의 대상체는 COVID-19를 갖거나 발생할 위험이 있다.

[0484] 일반적으로, 방법은 대상체 또는 본원에 제공된 다른 종으로부터의 대상체를 선택하는 단계, 대상체 또는 본원에 제공된 다른 종으로부터의 대상체에게 유효량의 본원의 구조적으로 안정화된(예컨대 스테이플링된) 펩티드 중 하나 이상을, 예컨대 약제학적 조성물로 또는 조성물로서 투여하는 단계, 및 임의적으로 코로나바이러스 감염 또는 코로나바이러스 질환의 예방 또는 치료에 필요한 경우 투여를 반복하는 단계를 포함하며, 경구, 비강내, 정맥내, 진피내, 피하, 근육내, 또는 피부, 비강, 부비동, 안구, 구인두, 호흡수 및 폐 투여를 포함하여 국소적으로 투여될 수 있다. 일부 경우에서, 투여는 비강 점막, 부비동 점막, 구인두 점막 또는 폐를 포함한 호흡수에의 적용을 포함하는 국소 호흡 적용에 의한 것이다. 일부 사례에서, 국소 적용은 피부 또는 눈에의 적용을 포함한다. 예컨대, 대상체가 코로나바이러스(예컨대, SARS-CoV-2와 같은 베타코로나바이러스) 감염에 걸릴 위험이 있거나 감염되어 있다는 결정에 기초하여 치료를 위해 대상체가 선택될 수 있다. 본 개시내용의 펩티드-콜레스테롤 접합체를 사용하여 대상체가 코로나바이러스에 감염되었는지의 여부를 결정할 수 있다. 일부 사례에서, 본원에 기재된 펩티드-콜레스테롤 접합체는 생체이용률을 증가시키고/시키거나, 혈액 순환을 증가시키고/시키거나, 약동학을 변경하고/하거나, 면역원성을 감소시키고/시키거나, 필요한 투여 빈도를 감소시킨다.

[0485] 임의의 특정 환자 또는 대상체에 대한 특정 용량 및 치료 레지먼은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별, 식이, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합, 질환, 병태 또는 증상의 중증도 및 경과, 질환, 병태 또는 증상에 대한 환자 또는 대상체의 성향, 및 의사 또는 수의사의 판단을 포함한 다양한 인자에 의존할 것이다.

[0486] 유효량은 1회 이상의 투여, 적용 또는 용량으로 투여될 수 있다. 치료 화합물의 치료학적 유효량(즉, 유효용량)은 선택된 치료 화합물에 따라 달라진다. 조성물은 1일 1회 이상 내지 격일 1회를 포함하여 1주 1회 이상 투여될 수 있다. 당업자는 질환 또는 장애에 걸릴 위험 또는 중증도, 이전 치료, 대상체의 전반적인 건강 및/또는 연령, 및 존재하는 다른 질환을 포함하지만 이에 제한되지 않는 특정 요인이 대상체를 효과적으로 치료하는 데 필요한 용량 및 시기에 영향을 미칠 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 치료학적 유효량의 본원에 기재된 치료 화합물을 사용한 대상체의 치료는 단일 치료 또는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 예컨대, 유효량은 적어도 1회 투여될 수 있다.

[0487] **약제학적 조성물**

[0488] 본원에 기재된 임의의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 중 하나 이상은 약제학적 조성물로서 또는 약제학적 조성물에 사용하기 위해 제제화될 수 있다. 약제학적 조성물은 본원에 기재된 치료 또는 예방 방법에 사용될 수 있다(상기 참조). 특정 실시양태에서, 약제학적 조성물은 1 내지 10, 1 내

지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 또는 1개의 아미노산 치환, 삽입, 또는 결실을 제외하고는 표 1에 제시된 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함한다. 아미노산 서열에 대한 이러한 변화는 이러한 펩티드의 상호작용하지 않는 알파 나선형 면(즉, 코로나바이러스 6-나선 다발 융합 기구와 상호작용하지 않는 아미노산) 및/또는 상호작용하는 알파 나선형 면(즉, 코로나바이러스 6-나선 다발 융합 기구와 상호작용하는 아미노산)에서 이루어질 수 있다. 이러한 조성물은 임의의 경로, 예컨대 식품의약청(FDA)에 의해 승인된 임의의 경로를 통해 대상체에 투여하기 위해 제제화되거나 적응될 수 있다. 예시적인 방법은 FDA의 CDER 데이터 표준 매뉴얼, 버전 번호 004(fda.give/cder/dsm/DRG/drg00301.htm에서 이용 가능)에 기재되어 있다. 예컨대, 조성물은 흡입(예컨대, 경구 및/또는 비강 흡입(예컨대, 분무기 또는 스프레이를 통해)), 주사(예컨대, 정맥내, 동맥내, 진피하, 복강내, 근육내 및/또는 피하)에 의한 투여; 및/또는 경구 투여, 경점막 투여 및/또는 국소 투여(국소(예컨대, 비강) 스프레이, 점안액 및/또는 용액 포함)를 위해 제제화되거나 적응될 수 있다.

[0489] 일부 사례에서, 약제학적 조성물은 유효량의 하나 이상의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "유효량" 및 "치료에 유효한"은 투여 과정에서 의도한 효과 또는 생리학적 결과(예컨대, 감염 치료)를 유발하는 데 효과적인 기간(급성 또는 만성 투여 및 주기적 또는 연속 투여 포함) 동안 사용되는 본원에 기재된 하나 이상의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 또는 약제학적 조성물의 양 또는 농도를 지칭한다.

[0490] 본 발명의 약제학적 조성물은 본원에 기재된 하나 이상의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체 및 임의의 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 비히클을 포함할 수 있다. 일부 사례에서, 의약품은 질환 또는 질환 증상의 조절을 달성하는 데 효과적인 양으로 하나 이상의 추가 치료제를 추가로 포함할 수 있다.

[0491] 용어 "약제학적으로 허용되는 담체 또는 보조제"는 본 발명의 화합물과 함께 환자 또는 본원에 제공된 또 다른 종의 대상체에게 투여될 수 있고 이의 약리학적 활성을 파괴하지 않고 치료량의 화합물을 전달하기에 충분한 용량으로 투여할 때 무독성인 담체 또는 보조제를 지칭한다.

[0492] 일부 사례에서, 본 개시내용의 약제학적 조성물은 아세테이트, 시트레이트 및/또는 말레에이트 중 하나 이상을 포함한다. 일부 사례에서, 약제학적 조성물은 물 또는 포스페이트 완충 식염수(PBS)를 포함할 수 있다. 일부 사례에서, 약제학적 조성물은 키토산을 포함할 수 있다.

[0493] 본원에 개시된 약제학적 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 염을 포함할 수 있다. 일부 사례에서, 약제학적으로 허용되는 염은 히드로클로라이드, 나트륨, 술페이트, 아세테이트, 포스페이트 또는 디포스페이트, 클로라이드, 칼륨, 말레에이트, 칼슘, 시트레이트, 메실레이트, 니트레이트, 타르트레이트, 알루미늄, 글루코네이트, 및 이들의 임의의 조합을 포함하는 염을 포함한다.

[0494] 본 발명의 약제학적 조성물은 임의의 통상적인 무독성 약제학적으로 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클를 함유할 수 있다. 일부 경우에서, 제제의 pH는 제제화된 화합물 또는 이의 전달 형태의 안정성을 향상시키기 위해 약제학적으로 허용되는 산, 염기 또는 버퍼로 조정될 수 있다. 본원에 사용된 용어 비경구는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 동맥내, 윤활막내, 흉골내, 척수강내, 병변내 및 두개내 주사 또는 주입 기술을 포함한다.

[0495] 일부 사례에서, 본원에 개시된 하나 이상의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체는, 예컨대 담체 단백질에 추가로 접합될 수 있다. 이러한 접합된 조성물은 일가 또는 다가일 수 있다. 예컨대, 접합된 조성물은 담체 단백질에 접합된 본원에 개시된 하나의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 접합된 조성물은 담체에 추가로 접합된 본원에 개시된 2개 이상의 구조적으로 안정화된(예컨대, 스테이플링된) 펩티드-콜레스테롤 접합체를 포함할 수 있다.

[0496] 본원에 사용된 바와 같이, 2개의 실체가 서로 "접합"될 때, 이들은 직접적 또는 간접적인 공유적 또는 비-공유적 상호작용에 의해 연결된다. 특정 실시양태에서, 회합은 공유적이다. 다른 실시양태에서, 회합은 비-공유적이다. 비-공유적 상호작용은 수소 결합, 반 데르 발스 상호작용, 소수성 상호작용, 자기적 상호작용, 정전기적 상호작용 등을 포함한다. 간접적 공유 상호작용은 2개의 실체가 임의적으로 링커기를 통해 공유적으로 연결될 때 발생한다.

[0497] 담체 단백질은 대상체의 안정성, 반감기, 조직 노출 및/또는 면역원성을 증가시키거나 향상시키는 임의의 단백

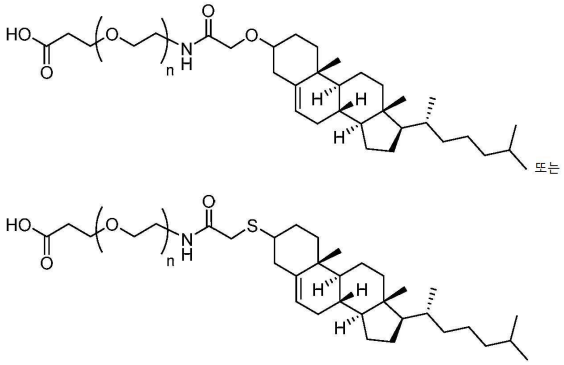
질을 포함할 수 있다. 예시적인 담체 단백질은 당업계에 기재되어 있다(예컨대, 문헌(Fattom *et al.*, *Infect. Immun.*, 58:2309-2312, 1990; Devi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7175-7179, 1991; Li *et al.*, Infect. Immun. 57:3823-3827, 1989; Szu *et al.*, *Infect. Immun.* 59:4555-4561, 1991; Szu *et al.*, *J. Exp. Med.* 166:1510-1524, 1987; and Szu *et al.*, *Infect. Immun.* 62:4440-4444, 1994) 참조). 중합체 담체는 하나 이상의 1차 및/또는 2차 아미노기, 아지도기 또는 카르복실기를 함유하는 천연 또는 합성 물질일 수 있다. 담체는 수용성일 수 있다.

[0498] **PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로 유도체화된 스테이플링된 또는 스티칭된 펩티드의 제조 방법**

[0499] 한 측면에서, 본 개시내용은 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로 유도체화된 구조적으로 안정화된 펩티드를 제조하는 방법을 기재한다. 완전 수지상 합성 방법은 (a) 올레핀 측쇄를 갖는 적어도 2개의 비-천연 아미노산을 포함하는 펩티드(예컨대, 서열번호 7-21)를 제공하는 단계, (b) 펩티드를, 일부 사례에서, 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의해 가교결합시키는 단계, 및 (c) 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤 모이어티에 연결된 가변적 길이의 PEG 링커로 수지 상의 C-말단을 유도체화하는 단계를 포함한다.

[0500] 일부 사례에서, 방법은 수지로부터 구조적으로 안정화된 펩티드를 절단하는 단계를 포함한다. 구조적으로 안정화된 수지를 절단하는 것은 당업계에 공지되어 있다. 일부 사례에서, 절단은 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤 모이어티에 연결된 가변적 길이의 PEG 링커로 수지 상의 C-말단을 유도체화하기 전에 발생한다(예컨대, 문헌(de Vries *et al.*, *Science*, 2021 Mar 26;371(6536):1379-138, and Figueira *et al.*, *J. Virol.* 91, e01554-16 (2016), 각각은 전체가 인용에 의해 포함됨) 참조). 다른 측면에서, 절단은 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤 모이어티에 연결된 가변적 길이의 PEG 링커로 수지 상의 C-말단을 유도체화하는 단계 후에 수행된다.

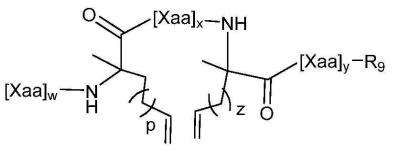
[0501] 절단 단계가 유도체화 단계 이전에 수행되는 경우, 방법은 하기 화학식 중 하나를 갖는 화합물의 사용을 포함한다:



[0502]

[0503] 상기 식에서, n은 1-36이다. 일부 사례에서, n은 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다. 따라서, 상기 화학식 중 하나를 갖는 화합물도 본원에 개시된다.

[0504] 일부 측면에서, 하기로 정의되는 화학식 (VII) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 펩티드를 고리폐쇄 복분해 조건에 적용하여 안정화된 펩티드를 제공하는 단계를 포함하는, 안정화된 펩티드(즉, 본원에 개시된 임의의 펩티드; 예컨대 서열번호 10)를 합성하는 방법도 본원에 개시된다:



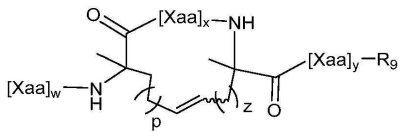
[0505] .

[0506] 일부 사례에서, $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고; $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고; $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, 및 $[Xaa]_y$는 표 2에 개시된다. 일부 사례에서, R_9는 -OH 또는 

이다. 일부 사례에서, p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 사례에서, z는 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 일부 사례에서, $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 $-N(H)C(O)-(C_{1-4}$

알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, 고리 폐쇄 복분해 조건은 화학식 (IV)를 포함하는 상기 펩티드를 그룹스 고리 폐쇄 복분해 루테늄 촉매에 노출시키는 것을 포함한다.

[0507] 일부 사례에서, 안정화된 펩티드는 하기로 정의되는 화학식 (III) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:

[0508] 

[0509] 상기 식에서,

[0510] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0511] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

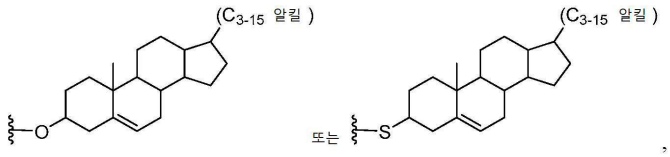
[0512] $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 37)이고;

[0513] R_9는 -OH 또는 

이고;

[0514] p는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

[0515] z는 2, 3, 4, 5, 또는 6이고; 임의적으로 $[Xaa]_w$의 N-말단 아스파르트산의 아미노기는 -N(H)C(O)-(C_{1-4} 알킬)로 대체된다. 일부 사례에서, p는 4이다. 일부 사례에서, p는 5이다. 일부 사례에서, p는 6이다. 일부 사례에서, z는 3이다. 일부 사례에서, 방법은 폴리에틸렌 글리콜 모이어티 및 콜레스테롤 또는 티오콜레스테롤 모이어티를 포함하는 모이어티로 안정화된 펩티드의 C-말단 끝을 유도체화하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 방법은 안정화된 펩티드의 C-말단 끝을 유도체화하여 **-C(O)-(C_{2-6} 알킬렌)-$[O-CH_2CH_2]_m$-N(R_5)C(O)-(C_{1-6} 알킬렌)-R_6 기를 도입하는 단계를 추가로 포함하고, **는 $[Xaa]_y$의 C-말단 리신의 측쇄의 아미노기에 대한 부착점이다. 일부 사례에서, R_5는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이다. 일부 사례에서, R_6은 하기 화학식 중 하나이고:

[0516] 

,

[0517] m은 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 16이고;

[0518] t는 0, 1, 2, 또는 3이다. 일부 사례에서, m은 4이다. 일부 사례에서, m은 8이다. 일부 사례에서, R_9는 

이다. 일부 사례에서, 펩티드는 절단된다.

[0519] 일부 사례에서, 상기 방법은 안정화된 펩티드 또는 이의 염을 멸균 약제학적 조성물로 제제화하는 단계를 추가로 포함한다.

[0520] *스테이플링된 펩티드 합성*: Fmoc 기반 고체상 펩티드 합성을 이용하여 모든 탄화수소 스테이플링된 펩티드를 생성하기 위한 본 발명자들이 보고한 방법에 따라 스테이플링된 펩티드 융합 억제제를 합성하였다(Bird et al., *Curr. Protocol. Chem, Biol.*, 3(3):99-117 (2011; Bird et al., *Methods Enzymol.*, 446:369-86(2008)). 다양한 스테이플 길이를 달성하기 위해, α-메틸, α-알케닐 아미노산은 i, i+7 포지셔닝의 경우 하나의 S-펜테닐 알라닌 잔기(S5) 및 하나의 R-옥테닐 알라닌 잔기(R8)의 사용과 같이 별개의 위치에 특정 쌍으로 도입되었다. 스테이플링 반응을 위해, 디클로로에탄에 용해된 그룹스 1세대 루테늄 촉매를 수지 결합된 펩티드에 첨가하였다. 최대한의 전환을 보장하기 위해 3 내지 5회의 스테이플링이 수행되었다. PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티를 부착시킨 후(하기 참조), 트리플루오로아세트산을 사용하여 펩티드를 수지로부터 절단하고, 헥산:에테르(1:1) 혼합물을 사용하여 침전시키고, 공기 건조시키고, LC-MS로 정제하였다. 모든 펩티드는 아미노산 분석으로 정량화되었다.

[0521] *스티칭된 펩티드 합성*: 본원에 기재된 스티칭된 펩티드를 합성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 그럼에도 불구하고, 하기의 예시적인 방법이 이용될 수 있다. 본원에 기재된 화합물을 합성하는 데 유용한 합성 화학 변환 및 보호기 방법론(보호 및 탈보호)은 당업계에 공지되어 있으며, 예컨대 문헌(Bird et al., ACS Chem Biol. (2020) 15(6):1340-1348; Hilinski et al., J Am Chem Soc. (2014) 136(35):12314-22; R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3d. Ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); and L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995), 및 이의 후속판)에 기재된 것과 같은 것을 포함한다.

[0522] *수지상 합성 접근법을 이용하여 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤로 스테이플링된 또는 스티칭된 펩티드의 C-말단 유도체화*: 고체상 합성에 의한 펩티드 유도체화를 위한 카르복시 티오콜레스테롤 또는 카르복시 콜레스테롤 시약을 생성하기 위해, 티오콜레스테롤을 디클로로메탄(DCM)에 용해시키거나 콜레스테롤을 테트라히드로푸란(THF)에 0.1 M로 용해시키고, 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 3 eq의 염기(티오콜레스테롤의 경우 디이소프로필에틸아민, 콜레스테롤의 경우 수소화나트륨 또는 칼륨 t-부톡사이드)를 교반하면서 첨가하였다. 이어서, 5 eq의 브로모아세트산의 t-부틸 에스테르를 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 40℃에서 30분 동안 교반하였다. 2부피의 트리플루오로아세트산(용매 기준)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 반응 진행을 $KMnO_4$ 염색과 함께 TLC(티오콜레스테롤의 경우 19:1 Hex:EtOAc, 콜레스테롤의 경우 3:1 Hex:EtOAc)로 모니터링하였다. 예컨대, (티오)콜레스테롤은 이동을 ~20% 늦추는 (티오)에테르를 사용하여 용매와 함께 전방으로 이동하고, TFA 가수분해는 해당 지점을 기준선으로 가져왔다. 반응 혼합물을 5 vol 물에 첨가하고, 1 vol DCM을 첨가하였다. 용매층을 0.1 M HCl, 식염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시켰다. 로토밥(Rotovap)으로 용매를 제거하여 오렌지색 중유를 산출하고 추가의 정제 없이 사용하였다. 수율은 거의 정량적이었다. 순도는 올레핀 양성자 대 새로운 CH_2 싱글렛의 NMR에 의해 90%보다 큰 것으로 결정되었다. 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤로의 펩티드 유도체화를 위해, 완성된 수지 결합된 펩티드 서열을 20% 피페리딘/DMF로 처리한 후 아세트산 무수물로 캡핑하여 N-말단 아민을 차단한 후, DMF 중 2% 히드라진으로 각각 10분 동안 5x 처리하여 C-말단 측쇄 리신 아민을 드러내었다. 아민을 Fmoc 보호된 PEG(n) 아미노산(예컨대, n = 1-36(예컨대, 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 또는 36))으로 아실화하고, 이 시점에서 그룹스(I) 촉매로 각각 2시간 동안 3x 처리하여 올레핀을 가교결합시켰다. 완료 시, Fmoc를 PEG 시약의 C-말단 NH로부터 제거시키고, 아민을 카르복시-티오콜레스테롤 (또는 카르복시-콜레스테롤)로 30분 동안 아실화하였다. TFA 절단을 통해 우수한 순도의 조 생성물을 산출하고 이를 반분취용 HPLC를 사용하여 추가로 정제하였다.

[0523] 본 발명의 펩티드 서열은 당업자에게 널리 공지된 화학적 합성 방법에 의해 제조될 수 있다(예컨대, 문헌(Fields et al., Chapter 3 in Synthetic Peptides: A User's Guide, ed. Grant, W. H. Freeman & Co., New York, N.Y., 1992, p. 77) 참조). 따라서, 예컨대 어플라이드 바이오시스템스(Applied Biosystems) 펩티드 합성기 모델 430A 또는 431에서 측쇄 보호된 아미노산을 사용하여 t-Boc 또는 Fmoc 화학으로 보호된 α-NH2를 사용하여 자동화된 메리필드(Merrifield) 고체상 합성 기술을 이용하여 펩티드를 합성할 수 있다.

[0524] 본원에 기재된 펩티드를 제조하는 하나의 방식은 고체상 펩티드 합성(SPPS)을 사용하는 것이다. C-말단 아미노산은 링커 분자와의 산 불안정 결합을 통해 가교결합된 폴리스티렌 수지에 부착된다. 이 수지는 합성에 사용되는 용매에 불용성이므로 과잉 시약 및 부산물을 상대적으로 간단하고 빠르게 세척해낼 수 있다. N-말단은 산에서는 안정하지만 염기에 의해 제거 가능한 Fmoc 기로 보호된다. 모든 측쇄 작용기는 염기에 안정하고 산에 불안정한 기로 보호된다.

[0525] 천연 화학적 리게이션을 이용하여 개별 합성 펩티드를 결합함으로써 더 긴 펩티드를 만들 수 있다. 연결 아미노산의 삽입은, 예컨대 문헌(Young and Schultz, J Biol Chem. 2010 Apr 9; 285(15): 11039-11044)에 기재된 바와 같이 수행될 수 있다. 대안적으로, 더 긴 합성 펩티드는 널리 공지된 재조합 DNA 기술에 의해 합성될 수 있다. 이러한 기술은 자세한 프로토콜과 함께 널리 공지된 표준 매뉴얼에 제공된다. 본 발명의 펩티드를 코딩하는 유전자를 구축하기 위해, 아미노산 서열을 역번역하여 바람직하게는 유전자가 발현될 유기체에 최적인 코돈을 사용하여 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 서열을 수득한다. 이어서, 전형적으로 필요한 경우 펩티드 및 임의의 조절 요소를 코딩하는 올리고뉴클레오티드를 합성함으로써 합성 유전자를 제조한다. 합성 유전자를 적합한 클로닝 벡터에 삽입하고 숙주 세포에 형질감염시킨다. 이어서, 선택된 발현 시스템 및 숙주에 적합한 조건 하에서

펩티드를 발현시킨다. 펩티드를 표준 방법에 따라 정제하고 특성화한다.

[0526] 펩티드는, 예컨대 어드벤스트 켐테크(Advanced Chemtech) 또는 기로스 프로테인 테크놀로지즈(Gyros Protein Technologies)로부터 입수 가능한 고처리량 다중 채널 조합 합성기를 사용하여 고처리량 조합 방식으로 제조될 수 있다. 펩티드 결합은, 예컨대 펩티드의 생리학적 안정성을 증가시키기 위해 레트로-인버소 결합(C(O)-NH); 환원된 아미드 결합(NH-CH2); 티오메틸렌 결합(S-CH2 또는 CH2-S); 옥소메틸렌 결합(O-CH2 또는 CH2-O); 에틸렌 결합(CH2-CH2); 티오아미드 결합(C(S)-NH); 트랜스-올레핀 결합(CH=CH); 플루오로 치환된 트랜스-올레핀 결합(CF=CH); 케토메틸렌 결합(C(O)-CHR) 또는 CHR-C(O)(여기서 R은 H 또는 CH3임); 및 플루오로-케토메틸렌 결합(C(O)-CFR 또는 CFR-C(O)(여기서 R은 H, F 또는 CH3임)에 의해 대체될 수 있다.

[0527] 펩티드는 아세틸화, 아미드화, 비오티닐화, 신나모일화, 파르네실화, 플루오레세인화, 포르밀화, 미리스토일화, 팔미토일화, 및 특히 본원에 개시된 수지상 방법을 이용하는 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤 변형을 포함한 다른 지질화, 포스포릴화(Ser, Tyr 또는 Thr), 스테아로일화, 숙시닐화 및 술푸릴화에 의해 추가로 변형될 수 있다. 상기 지적된 바와 같이, 펩티드는 가변적 길이의 링커 원자 또는 모이어티, 예컨대 가변적 길이의 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티; 알킬기(예컨대, C1-C20 직쇄 또는 분지형 알킬기); 지방산 라디칼; 및 이들의 조합에 접합되거나 이를 함유할 수 있다. 가변적 길이의 올레핀 측쇄를 함유하는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산은 공지된 방법에 의해 합성될 수 있다(Williams et al. J. Am. Chem. Soc., 113:9276, 1991; Schafmeister et al., J. Am. Chem Soc., 122:5891, 2000; and Bird et al., Methods Enzymol., 446:369, 2008; Bird et al, Current Protocols in Chemical Biology, 2011). 일부 사례에서, 스티칭된 펩티드는 i, i+4, 및 i+4 및 i+8 사이의 킨케이지(kinkage)를 포함한다. 이러한 스티칭된 펩티드는 서열번호 4 또는 서열번호 6과 관련하여 제조될 수 있다. 일부 사례에서, 스테이플 또는 스티치를 형성하는 아미노산은 각각 스티치의 i, i+4, i+8 위치에 있는 (R)-2-(4'-펜테닐)알라닌, 2,2-비스(4-펜테닐)글리신 및 (S)-2-(4'-펜테닐)알라닌이다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 R-옥테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌), 하나의 비스-펜테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(4'-펜테닐)글리신), 및 하나의 R-옥테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌이 사용된다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 S-옥테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌), 하나의 비스-펜테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(4'-펜테닐)글리신), 및 하나의 R-옥테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌)이 사용된다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 S-옥테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌), 하나의 비스-펜테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(4'-펜테닐)글리신), 및 하나의 S-옥테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌)이 사용된다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 R-펜테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌), 하나의 비스-옥테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(7'-옥테닐)글리신), 및 하나의 S-펜테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌)이 사용된다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 R-펜테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌), 하나의 비스-옥테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(7'-옥테닐)글리신), 및 하나의 R-펜테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌)이 사용된다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 S-펜테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌), 하나의 비스-옥테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(7'-옥테닐)글리신), 및 하나의 R-펜테닐 알라닌(예컨대, (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌)이 사용된다. 일부 사례에서, i+7에 연결된 i, i+14에 연결된 i+7 스티치가 사용되는 펩티드의 경우(나선의 4회전이 안정화됨): 하나의 S-펜테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌), 하나의 비스-옥테닐 글리신(예컨대, α,α-비스(7'-옥테닐)글리신), 및 하나의 S-펜테닐 알라닌(예컨대, (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌)이 사용된다. R-옥테닐 알라닌은 출발 키랄 보조제가 R-알킬-입체이성질체를 부여한다는 점을 제외하고는 동일한 경로를 사용하여 합성된다. 또한, 5-요오도펜텐 대신 8-요오도옥텐이 사용된다. 억제제는 MBHA 수지 또는 린크 아미드 AM(Rink Amide AM) 수지 상에서 고체상 펩티드 합성(SPPS)을 이용하여 고체 지지체에서 합성된다(예컨대, WO 2010/148335 참조).

[0528] Fmoc 보호된 α-아미노산(올레핀 아미노산 N-Fmoc-α,α-비스(4'-펜테닐)글리신, (S)-N-Fmoc-α-(4'-펜테닐)알라닌, (R)-N-Fmoc-α-(7'-옥테닐)알라닌, (R)-N-Fmoc-α-(7'-옥테닐)알라닌, 및 (R)-N-Fmoc-α-(4'-펜테닐)알라닌) 제외), 2-(6-클로로-1-H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸아미늄 헥사플루오로포스페이트(HCTU) 및 린크 아미드 MBHA는, 예컨대 노바바이오켐(Novabiochem, San Diego, CA)에서 시판된다. 디메틸포름아미드(DMF), N-메틸-2-피롤리디논(NMP), N,N-디이소프로필에틸아민(DIEA), 트리플루오로아세트산(TFA), 1,2-디클로로에탄(DCE), 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC) 및 피페리딘은, 예컨대 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)에

서 시판된다. 올레핀 아미노산 합성은 당업계에 보고되어 있다(Williams et al., Org. Synth., 80:31, 2003).

[0529] 또한, 본원에 개시된 펩티드를 수득(예컨대, 합성), 스티칭 및 정제하는 데 적합한 방법도 당업계에 공지되어 있다(예컨대, 문헌(Bird et. al., *Methods in Enzymol.*, 446:369-386 (2008); Bird et al, *Current Protocols in Chemical Biology*, 2011; Walensky et al., *Science*, 305:1466-1470 (2004); Schafmeister et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 122:5891-5892 (2000); 미국 특허 출원 번호 12/525,123, 2010.03.18 출원; 및 미국 특허 번호 7,723,468, 2010.05.25 허여, 각각은 전체가 인용에 의해 본원에 포함됨) 참조).

[0530] 일부 사례에서, 펩티드에는 스티칭되지 않거나 스테이플링되지 않은 펩티드 오염물질이 실질적으로 없거나 단리된다. 펩티드를 정제하는 방법은, 예컨대 고체상 지지체 상에서 펩티드를 합성하는 단계를 포함한다. 고리화 후, 펩티드 및 스테이플링된 펩티드 단리 및 정제를 위한 다수의 대안적 용매 및 정제 계획이 당업계에 공지되어 있으며, DMSO, DMSO/디클로로메탄 혼합물, DMSO/NMP 혼합물, 또는 DMSO를 포함하지 않는 혼합물을 포함하지만 이에 제한되지 않는 용매를 사용할 수 있다. DMSO/디클로로메탄 또는 DMSO/NMP 혼합물은 약 30%, 40%, 50% 또는 60% DMSO를 포함할 수 있다. 특정 사례에서, 50%/50% DMSO/NMP 용액이 사용된다. 용액을 1, 6, 12 또는 24시간의 기간 동안 인큐베이션할 있고, 이후 수지를, 예컨대 디클로로메탄 또는 NMP로 세척할 수 있다. 한 사례에서, 수지를 NMP로 세척한다. 진탕하고 용액으로 불활성 가스를 버블링하는 작업을 수행할 수 있다.

[0531] 본 개시내용의 C-말단 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤로 유도체화된 스티칭된 또는 스테이플링된 펩티드의 특성은, 예컨대 하기 및 실시예에 기재된 방법을 이용하여 검정될 수 있다.

[0532] **PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로 유도체화된 스테이플링된 HR2 펩티드의 특징규명 및 항-SARS-CoV-2 활성을 결정하기 위한 검정**

[0533] ***α-나선성을 결정하기 위한 검정***: 화합물을 수용액(예컨대, pH 7의 5 μM 인산칼륨 용액 또는 증류수 H_2O, 25-50 μM 농도로)에 용해시킨다. 원편광 이색성(CD) 스펙트럼은 표준 측정 파라미터(예컨대, 온도 20℃; 파장 190-260 nm; 단계 분해능 0.5 nm; 속도 20 nm/sec; 누적 10; 반응 1초; 대역폭 1 nm, 경로 길이 0.1 cm)를 사용하여 분광편광계(예컨대, Jasco J-710, Aviv)에서 수득된다. 각각의 펩티드의 α-나선 함량은 평균 잔기 타원율을 모델 나선형 데카펩티드에 대해 보고된 값으로 나눔으로써 계산된다(Yang et al., *Methods Enzymol.*, 1986).

[0534] ***용융 온도(Tm)를 결정하기 위한 검정***: 가교결합되거나 변형되지 않은 템플릿 펩티드를 증류된 H_2O 또는 다른 버퍼 또는 용매(예컨대, 최종 농도 50 μM)에 용해시키고, 표준 파라미터(예컨대, 파장 222 nm; 단계 분해능, 0.5 nm; 속도, 20 nm/sec; 누적, 10; 반응, 1초; 대역폭, 1 nm; 온도 증가 속도: 1℃/min; 경로 길이, 0.1 cm)를 사용하여 분광편광계(예컨대, Jasco J-710, Aviv)에서 온도 범위(예컨대, 4 내지 95 ℃)에 걸친 타원율 변화를 측정하여 Tm을 결정한다.

[0535] ***시험관내 프로테아제 저항성 검정***: 펩티드 백본의 아미드 결합은 프로테아제에 의한 가수분해에 민감하여 펩티드 화합물은 생체내에서 급속한 분해에 취약하다. 그러나, 펩티드 나선 형성은 전형적으로 아미드 백본을 묻고/묻거나 비틀고/비틀거나 차폐하므로 단백질분해 절단을 방지하거나 실질적으로 지연시킬 수 있다. 본 발명의 펩티드모방 거대고리를 시험관내 효소적 단백질분해(예컨대 트립신, 키모트립신, 펩신)에 적용하여 상응하는 가교결합되지 않거나 대안적으로 스테이플링된 폴리펩티드와 비교하여 분해 속도의 임의의 변화를 평가할 수 있다. 예컨대, 펩티드모방 거대고리 및 상응하는 가교결합되지 않은 폴리펩티드를 트립신 아가로스와 함께 인큐베이션하고, 원심분리 및 후속 HPLC 주입에 의해 다양한 시점에서 반응을 켄칭시켜 280 nm에서 자외선 흡수에 의해 잔류 기질을 정량화한다. 간략하게, 펩티드모방 거대고리 및 펩티드모방 전구체(5 mcg)를 트립신 아가로스(Pierce)(S/E ~125)와 함께 0, 10, 20, 90 및 180분 동안 인큐베이션한다. 고속 탁상 원심분리에 의해 반응을 켄칭시키고; 단리된 상청액 중에 남아 있는 기질을 280 nm에서 HPLC 기반 피크 검출로 정량화한다. 단백질분해 반응은 1차 동역학을 나타내며, 속도 상수 k는 ln[S] 대 시간의 플롯으로부터 결정된다.

[0536] 펩티드모방 거대고리 및/또는 상응하는 가교결합되지 않은 폴리펩티드를 각각 신선한 마우스, 래트 및/또는 인간 혈청(예컨대, 1-2 mL)과 함께 37℃에서, 예컨대 0, 1, 2, 4, 8 및 24시간 동안 인큐베이션할 수 있다. 상이한 거대고리 농도의 샘플을 혈청으로 연속 희석으로 제조할 수 있다. 온전한 화합물의 수준을 결정하기 위해, 하기 절차를 이용할 수 있다: 예컨대, 100 μL의 혈청을 2 ml 원심분리 튜브에 옮긴 다음 10 μL의 50% 포름산 및 500 μL의 아세토니트릴을 첨가하고 4+/-2℃에서 10분 동안 14,000 RPM으로 원심분리하여 샘플을 추출한다. 이어서, 상층액을 새로운 2 ml 튜브로 옮기고, N_2<10 psi, 37℃ 하에서 터보밥(Turbovap)에서 증발시킨다. 샘플을 100 μL의 50:50 아세토니트릴:물에 재구성하고, LC-MS/MS 분석한다. 생체외 안정성을 시험하기 위한 동등하

거나 유사한 절차가 공지되어 있으며, 혈청 내 거대고리의 안정성을 결정하는 데 이용될 수 있다.

[0537] *혈장 안정성 검정*: 스테이플링된 펩티드 안정성은 리튬 헤파린 튜브에 수집된 새로 채취된 마우스 혈장에서 시험될 수 있다. 10 μM의 개별 펩티드를 첨가한 500 μl의 혈장으로 삼중 인큐베이션을 설정한다. 샘플을 궤도 진탕기에서 37℃에서 부드럽게 진탕하고, 0, 5, 15, 30, 60, 240, 360 및 480분에 25 μl의 분취량을 제거하고, 100 μl의 10% 메탄올:10% 물:80% 아세토니트릴을 함유하는 혼합물에 첨가하여 펩티드의 추가 분해를 정지시킨다. 샘플을 검정 기간 동안 얼음 위에 놓아둔 다음, 멀티스크린 솔비너트(MultiScreen Solvinert) 0.45 μm 저결합 친수성 PTFE 플레이트(Millipore)로 옮긴다. 여과액을 LC-MS/MS로 직접적으로 분석한다. 펩티드를 사이엑스(Sciex) 5500 질량 분광계를 사용하여 이중 또는 삼중 하전된 이온으로 검출한다. 남은 펩티드의 백분율은 크로마토그래피 피크 면적의 감소에 의해 결정되고 반감기를 계산하기 위해 로그 변환된다.

[0538] ***생체내 프로테아제 저항성 검정***: 펩티드 스테이플링의 주요 이익은 시험관내 프로테아제 저항성을 현저하게 개선된 생체내 약동학으로 이동하는 것이다. 액체 크로마토그래피/질량 분광측정 기반 분석 검정은 혈장 내 스테이플링된 펩티드 수준을 검출하고 정량화하는 데 이용된다. 약동학적 분석을 위해, 펩티드를 멸균 수성 5% 덱스트로스(1 mg/mL)에 용해시키고, 볼루스 꼬리 정맥 또는 복강내 주사(예컨대, 5, 10, 25, 50 mg/kg)를 통해 C57BL/6 마우스(Jackson Laboratory)에 투여한다. 각각의 시점에서 5마리의 동물에게 투여한 후 5, 30, 60, 120 및 240분에 안와후 천자에 의해 혈액을 수집한다. 원심분리(2,500 xg, 5분, 4℃) 후 혈장을 수집하고 검정할 때까지 -70℃에서 저장한다. 혈장 내 펩티드 농도는 전기분무 이온화 질량 분광측정 검출과 함께 역상 고성능 액체 크로마토그래피로 측정된다(Aristoteli *et al.*, *Journal of Proteome Res.*, 2007; Walden *et al.*, *Analytical and Bioanalytical Chem.*, 2004). 연구 샘플은 1.0 내지 50.0 μg/mL 농도 범위의 혈장 내 펩티드의 일련의 7가지 보정 표준, 내부 표준의 첨가와 함께 및 없이 검정된 약물이 없는 혈장, 3개의 품질 관리 샘플(예컨대, 3.75, 15.0 및 45.0 μg/mL)과 함께 검정된다. 표준 곡선은 각각의 보정 표준의 공지된 약물 농도에 대한 분석물/내부 표준 크로마토그래피 피크 면적 비를 플로팅하여 구축된다. 선형 최소 제곱 회귀는 보정 표준의 수에 대해 정규화된 분석물 농도의 역수에 비례하여 가중치를 부여하여 수행된다. 최적선의 기울기 및 y절편 값을 사용하여 연구 샘플의 약물 농도를 계산한다. 혈장 농도-시간 곡선은 윈논린 프로페셔널(WinNonlin Professional) 5.0 소프트웨어(Pharsight Corp., Cary, NC)를 사용하여 표준 비구획 방법으로 분석되어 초기 및 말기 혈장 반감기, 피크 혈장 수준, 총 혈장 청소율 및 겉보기 분포량과 같은 약동학적 파라미터를 산출한다.

[0539] 국소 투여(즉, 점비) 후 비점막 및 비강내 적용 또는 분무 후 호흡기 점막에서 본 발명의 스테이플링된 펩티드의 지속성을 바이러스 융합 및 전파의 감염 전 및 후 차단과 관련하여 조사한다. 마우스를 SARS-CoV-2로의 비강내 감염 이전에 일련의 간격으로 점비 또는 분무기를 통한 단일 치료에 노출시키고, 점막 감염으로부터의 보호 기간(상기 기재된 바와 같이 조직학적으로 또는 하기에 기재된 바와 같이 PCR로 평가됨)을 사용하여 본원에 기재된 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤로 유도체화된 스테이플링된 펩티드 구축물의 상대적인 점막 안정성 및 예방 효능을 측정한다.

[0540] ***시험관내 결합 검정***: 억셉터 단백질에 대한 펩티드모방 거대고리 및 펩티드모방 전구체의 결합 및 친화성을 평가하기 위해, 예컨대 형광 편광 검정(FPA)을 이용할 수 있다. FPA 기술은 편광 및 형광 트레이서를 사용하여 분자 배향 및 이동성을 측정한다. 편광으로 여기되면, 분자 또는 펩티드에 부착되고 이어 겉보기 분자량이 높은 단백질에 결합된 형광 트레이서(예컨대, FITC)(예컨대, 큰 단백질에 결합된 FITC 표지된 펩티드)는 더 작은 분자 또는 펩티드 단독에 부착된 형광 트레이서(예컨대, 용액에서 자유로운 FITC 표지된 펩티드)와 비교하여 단백질 결합 시 더 느린 속도로 인해 더 높은 수준의 편광된 형광을 방출한다.

[0541] ***펩티드-단백질 상호작용의 길항제를 특성화하기 위한 시험관내 변위 검정***: 펩티드와 억셉터 단백질 사이의 상호작용을 길항하는 화합물의 결합 및 친화성을 평가하기 위해, 예컨대 플루오레세인화된 펩티드 또는 템플릿 펩티드 서열로부터 유도된 펩티드모방 거대고리를 활용하는 형광 편광 검정(FPA)이 이용된다. FPA 기술은 편광 및 형광 트레이서를 사용하여 분자 배향 및 이동성을 측정한다. 편광으로 여기되면, 분자에 부착되고 이어 겉보기 분자량이 높은 단백질에 결합된 형광 트레이서(예컨대, FITC)(예컨대, 큰 단백질에 결합된 FITC 표지된 펩티드)는 FITC 유도체화된 분자 단독(예컨대, 용액에서 자유로운 FITC 표지된 펩티드)과 비교하여 더 느린 속도로 인해 더 높은 수준의 편광된 형광을 방출한다. 플루오레세인화된 펩티드와 억셉터 단백질 사이의 상호작용을 길항하는 표지되지 않은 스테이플링된 펩티드 및 이의 접합체와 같은 화합물은 경쟁적 결합 FPA 실험에서 검출될 것이며, 상호작용을 방해하는 화합물의 차등적 효능을 정량화하고 비교할 수 있다.

[0542] ***5-나선 다발 단백질 생성 및 형광 편광 검정***: gp41 5-HB의 설계에 따라 짧은 펩티드 링커에 의해 연결된 헤어핀

의 SARS-CoV-2 S 삼량체의 코어를 포함하는 6개 나선 중 5개를 함유하는 C-말단 Hexa-His 태그 부착된 재조합 5-나선 다발(5HB) 단백질이 설계된다(Root *et al*. *Science*, 291(5505):884-8 (2001); Bird *et al*., *J Clin Invest*. 2014 May;124(5):2113-24). 플라스미드를 에쉐리키아 콜리(*Escherichia coli*) BL21(DE3)로 형질전환시키고, 루리아 (Luria) 브로쓰에서 배양하고, 37℃에서 밤새 0.1 M 이소프로필 β-D-티오갈락토시드로 유도한다. 세포를 5,000 g에서 20분 동안 원심분리하여 수거하고, 버퍼 A(100 mM NaH2PO4, 20 mM 트리스, 8 M 우레아, pH 7.4)에 재현탁시키고, 4℃에서 밤새 교반하여 용해시킨다. 혼합물을 원심분리(30분 동안 35,000 g)로 정화하고, 실온에서 니켈-니트릴로트리아세테이트(Ni-NTA) 아가로스(Qiagen) 컬럼에 결합시킨다. 결합된 5-HB를 버퍼 A(pH 6.3)로 세척하고, 버퍼 A(pH 4.5)로 용출하고, PBS(50 mM 인산나트륨, 100 mM NaCl; pH 7.5)로 희석(1:2)하여 재생시키고, 10-kDa 아미콘 센트리콘(Amicon centricon)(7회 희석 및 재농축)에서 농축시켜 대략 1 mg/ml 단백질 용액을 산출한다. 단백질의 순도는 SDS-PAGE로 평가되고 >90%인 것으로 결정된다. 본 발명의 펩티드의 플루오레세인화된 유도체(25 nM)를 실온 결합 버퍼(50 mM 인산나트륨, 100 mM NaCl; pH 7.5)에서 지시된 농도의 5-HB 단백질과 함께 인큐베이션한다. 평형 상태(예컨대 10분)에서의 직접 결합 활성을 스펙트라막스(SpectraMax) M5 마이크로플레이트 판독기(BMG Labtech)를 사용하여 형광 편광으로 측정한다. 경쟁적 결합 검정을 위해, 직접 결합에 대한 EC90을 반영하는 고정 농도의 FITC-펩티드 및 5-HB 단백질을 아세틸화된 SAH-SARS-CoV-2 펩티드의 연속 희석액과 함께 인큐베이션하여 비교 분석을 위한 경쟁 곡선을 생성한다. 결합 검정을 삼중으로 실행하고, Kis를 프리즘(Prism) 소프트웨어(GraphPad)를 사용하여 경쟁 결합 등온선의 비선형 회귀 분석에 의해 계산한다.

[0543] ***SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한 결합 활성을 스크리닝하기 위한 검정***: 일부 사례에서, 본원에 개시된 방법은 직접적 및 경쟁적 스크리닝 검정을 포함한다. 예컨대, 방법은 작용제가 SARS-CoV-2(예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발)에 대한 본원에 개시된 펩티드 및 접합체 중 하나 이상의 결합을 변경(예컨대, 감소)하는지의 여부를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 일부 사례에서, 방법은 (i) (예컨대, 작용제의 부재 하에서) 본원에 개시된 하나 이상의 펩티드 및 이의 접합체와 SARS-CoV-2(예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발) 사이의 결합 수준을 결정하는 단계; 및 (ii) 작용제의 존재 하에서 하나 이상의 펩티드(예컨대, (i)의 하나 이상의 펩티드)와 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2 사이의 결합 수준을 검출하는 단계로서, 하나 이상의 펩티드와 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2 사이의 결합 수준의 변화(예컨대, 감소)는 해당 작용제가 SARS-CoV-2에 결합하는 후보임을 나타내는 단계; 및 (iii) 후보 작용제를 선택하는 단계를 포함한다. 일부 사례에서, 단계 (i)는 하나 이상의 펩티드를 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2와 접촉시키고 하나 이상의 펩티드와 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2 사이의 결합 수준을 검출하는 것을 포함한다. 일부 사례에서, 단계 (ii)는 하나 이상의 펩티드 및 작용제를 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2를 접촉시키고 하나 이상의 펩티드와 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2 사이의 결합 수준을 검출하는 것을 포함한다. (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2는 동시에 또는 상이한 시간에 하나 이상의 펩티드 및 작용제와 접촉될 수 있다(예컨대, 하나 이상의 펩티드는 작용제 전 또는 후에 (예컨대, SARS-CoV-2 5-나선 다발에 대한) SARS-CoV-2와 접촉될 수 있음). 일부 실시양태에서, 후보 작용제를 적합한 동물 모델(예컨대, COVID-19의 동물 모델)에 투여하여 작용제가 동물에서 COVID-19 감염 수준을 감소시키는지의 여부를 결정한다.

[0544] 일부 사례에서, 펩티드 및 SARS-CoV-2 나선 다발 중 하나 또는 둘 다는 표지를 포함하여 펩티드 및/또는 SARS-CoV-2 나선 다발의 검출을 가능하게 할 수 있다. 일부 사례에서, 펩티드는 표지를 포함한다. 일부 사례에서, SARS-CoV-2 나선 다발은 표지를 포함한다. 일부 사례에서, 펩티드 및 SARS-CoV-2 나선 다발 둘 다는 표지를 포함한다. 표지는 형광 표지, 방사성 동위원소 표지 또는 효소 표지를 포함하지만 이에 제한되지 않는 당업계에 공지된 임의의 표지일 수 있다. 일부 사례에서, 표지 자체가 직접적으로 검출될 수 있다(예컨대, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지). 일부 사례에서(예컨대, 효소 표지의 경우), 표지는, 예컨대 직접적으로 검출 가능한 화학 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변경을 촉매함으로써 간접적으로 검출 가능하다.

[0545] ***ELISA에 의한 경쟁적 SARS-CoV-2 5-HB 결합 검정***: 마이크로웰을 뉴트라비딘(4 μg/ml)을 함유하는 50 μl의 PBS로 4℃에서 밤새 코팅한다. 웰을 0.05% 트윈(Tween) 20(PBS-T)을 함유하는 PBS로 2회 세척하고, PBS-T 중 4% BSA로 37℃에서 45분 동안 차단한다. 이어서, 50 μl의 250 nM 비오티닐화된 PEG_2-SARS-CoV-2 HR2(서열번호 6)를 1% BSA를 갖는 PBS-T에 첨가하고, 1시간 동안 진탕하면서 인큐베이션한 후, 300 μl의 PBS-T로 4x 세척한다. 이어서, 1% BSA를 갖는 50 μL의 PBS-T에 50 nM의 재조합 5-HB를 함유하는 10 μM에서 시작하는 본 발명의 스테이플링된 펩티드의 1:2 연속 희석액을 플레이트에 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 진탕한 후, 300 μl의 PBS-T로 4x 세척한다. 마지막으로, 6X His 태그-HRP 접합에 대한 염소 폴리클로날의 1:5000 희석액 50 μL를 첨가한다. RT에서 40분 동안 인큐베이션한 후, 웰을 5회 세척하고, 50 μl의 테트라메틸벤지딘(TMB) 용액을 첨가

하여 전개하였다. 20분 후, 50 μl의 H_2SO_4(2 M)를 첨가하여 TMB 용액을 함유하는 웰을 정지시키고, 450 nm에서의 흡광도를 마이크로플레이트 판독기(Molecular Devices)에서 판독한다. 최대 신호의 절반(IC50)에 상응하는 경쟁자 펩티드의 농도를 프리즘 소프트웨어(Graphpad)를 사용하여 생성된 결합 곡선을 보간하여 결정한다. 각각의 펩티드 경쟁자는 적어도 2개의 개별 실험에서 삼중으로 시험된다.

[0546] ***세포 국소화 검정***: 세포 상 또는 세포 내에서 펩티드 또는 가교결합된 폴리펩티드의 국소화를 측정하기 위해, 온전한 세포를 37℃에서 혈청이 없는 배지 또는 인간 혈청이 보충된 배지에서 4시간 동안 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤(5 μM)로 유도체화된 플루오레세인화된 가교결합된 폴리펩티드와 함께 인큐베이션하고, 배지로 2회 세척하고, 트립신(0.25%)과 함께 37℃에서 10분 동안 인큐베이션한다. 세포를 다시 세척하고, PBS에 재현탁한다. 예컨대, 팍스칼리버(FACSCalibur) 유동 세포측정기 또는 셀로믹스(Cellomics)의 KineticScan^{RTM} HCS 판독기를 사용하여 세포 형광을 분석한다.

[0547] ***항바이러스 효능 검정***: 생 SARS-CoV-2 바이러스 감염을 예방 및 치료하는 데 있어서 본 발명의 펩티드-콜레스테롤 접합체의 효율은 단층 세포 배양으로 평가된다. 에볼라바이러스에 대한 이전 스크린을 기반으로 SARS-CoV-2에 대한 바이러스 검출 플랫폼이 개발되었다(Anantpadma M. et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(8):4471-81. Epub 2016/05/11. doi: 10.1128/AAC.00543-16. PubMed PMID: 27161622; PMCID: PMC4958205). 384 웰 형식으로 플레이팅된 Vero E6 세포를 스테이플링된 펩티드의 연속 희석액(예컨대, 1-5 μM 시작 용량)으로 1시간 동안 처리하고, 삼중으로 수행한 후, SARS-CoV-2(예컨대, 10-25% 세포의 제어 감염(검정에서 시험 화합물의 동적 범위를 평가하기 위해 미리 결정된 최적 감염성)을 달성하기 위해 SARS-CoV-2(예컨대, USA-WA1/2020[야생형], 남아프리카 B.1.351[베타 스트레인]) 또는 인도 B.1.617.2[델타 스트레인])로 4시간 챌린지한다. 이어서, 감염된 세포를 세척하고, 4% 파라포름알데히드로 고정하고, PBS로 다시 세척하고, 항-SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드 모노클로날 항체에 이어 항-Ig 2차 항체(Alexa Fluor 488, Life Technologies)로 면역염색하고, 세포체를 HCS CellMask 블루로 대조염색한다. 세포를 니콘 Ti 이클립스(Nikon Ti Eclipse) 자동 현미경 상의 z-평면에 걸쳐 이미지화하고, 셀프로필러(CellProfiler) 소프트웨어로 분석하고, 감염된 세포를 전체 세포로 나누어 감염 효율을 계산한다. 대조 세포독성 검정을 셀-타이터 글로(Cell-Titer Glo, Promega) 및 LDH 방출(Roche) 검정을 이용하여 수행한다.

[0548] 대안적인 접근법으로, qPCR 기반 바이러스 검출을 ACE2를 발현하는 천연 감수성 인간 유래된 Huh770 및 Calu-371 세포 및 또한 SARS-CoV-2 바이러스(예컨대, USA-WA1/2020, 홍콩 VM20001061)에 감염된 마르텍 라이프 사이언시스(MatTek Life Sciences)의 일차 폐 상피 및 폐포 세포 모델에 사용한다. 배양된 세포를 본 발명의 스테이플링된 펩티드-콜레스테롤 접합체의 연속 희석액으로 1시간 동안 처리한 후, SARS-CoV-2 바이러스로 챌린지한다. 배양 상층액을 샘플링하고, RNAse 억제제 존재 하에 바이러스를 용해시키고, RT 및 qPCR을 기재된 바와 같이 수행한다(Suzuki *et al*. *J Vis Exp*. 2018(141). Epub 2018/11/20. doi: 10.3791/58407). CDC 검증된 BHQ 켄칭된 염료 쌍 프라이머를 IDT에서 구입하고, 게놈 등가를 Ct 값으로부터 계산한다.

[0549] 또 다른 접근법에서, 본 발명의 스테이플링된 펩티드-콜레스테롤 접합체의 항바이러스 활성을 슈도타이핑된 바이러스를 사용하여 평가한다. 293T-hsACE2 안정 세포주(Cat# C-HA101) 및 슈도타이핑된 SARS-CoV-2 바이러스[RVP-701G(우한-Hu-1) RVP-702G(D614G B.1, 20A) RVP-706G(UK 변이체 B.1.1.7, 20I/501Y.V1) RVP-724G(남아프리카, 변이체 △3 B.1.351,20H/501Y.V2) RVP-763G(인도 변이체, B.1.617.2) RVP-768G(BA.1) RVP-770G(BA.2) RVP-801G(SARS-CoV-1 우르바니) RVP-1002G(MLV 코어를 갖는 VSV) 리포터를 사용한다(Integral Molecular). 중화 검정을 제조사의 프로토콜에 따라 수행한다. MLV 코어 및 GFP 리포터를 갖는 슈도타이핑된 VSV 바이러스를 이러한 검정에 대한 바이러스 특이성 대조군으로 사용한다. 간단히 설명하면, 펩티드의 연속 2배 희석액(시작 용량 500 또는 1000 nM)을 384 웰 검정색 투명 바닥 플레이트에서 37℃에서 1시간 동안 5 μL 슈도타이핑된 SARS-CoV-2-GFP와 함께 인큐베이션한 후, 10% FBS DMEM, 페놀 레드가 없는 배지 중의 30 μL의 1,000개 293T-hsACE2 세포를 첨가하고, 48시간 또는 72시간 동안 가습된 인큐베이터에 둔다. 훽스트(Hoechst) 33342(세포 투과성 핵 염료) 및 DRAQ7(세포 불투과성 핵 염료)을 첨가하고, 플레이트를 몰리큘라 디바이시스 이미지엑스프레스 마이크로 콘포커스 레이저(Molecular Devices ImageXpress Micro Confocus Laser)에서 10x 배율로 이미지화한다. GFP(+) 세포를 계산하고, 총 GFP(+) 세포 또는 GFP(+) 세포 백분율을 프리즘 소프트웨어(Graphpad)를 사용하여 플로팅한다. 세포독성을 DRAQ7(+) 훽스트 33342(+) 대 DRAQ7(-) 훽스트 33342(+) 세포의 비로 결정한다.

[0550] SARS-CoV-2 감염을 예방하기 위한 리드(lead) 스테이플링된 펩티드-콜레스테롤 복합체의 능력을 평가하기 위해, K18-hACE2(Jackson Laboratory) 마우스(아암당 n = 10, 수컷 5마리, 암컷 5마리)를 비강내 또는 구인두 경로로

스테이플링된 펩티드-콜레스테롤 접합체 또는 비히클로 처리하고, 4-24시간 후 10^4 PFU의 바이러스 용량을 비강내로 접종한다. 부검에 의한 평가를 위해 4일 후(바이러스혈증의 피크) 마우스를 안락사시키고, 바이러스 로드를 티슈라이저(Qiagen)를 사용하여 기재된 바와 같이 제조된 폐 균질물의 상청액 샘플로부터 qPCR에 의해 정량화한다(Bao L *et al*. *Nature*. 2020. Epub 2020/05/08; doi: 10.1038/s41586-020-2312-y). 확립된 SARS-CoV-2 감염을 치료하거나 완화하기 위한 리드 스테이플링된 펩티드의 능력을 평가하기 위해, K18-hACE2 마우스(아암당 n = 10, 수컷 5마리, 암컷 5마리)를 제1일에 10^4 PFU의 바이러스 용량으로 비강내 접종한 후, 10일 동안(제2-12일) 스테이플링된 펩티드 또는 비히클로 매일 구인두 또는 복강내 처리를 실시한다. 대안적 설계에서, 증상 또는 양성 시험 유도된 요법 시작을 시뮬레이션하기 위해 접종 후 3-5일까지 투여를 연기한다. 체중 및 임상 징후를 기록하기 위해 마우스를 지속적으로 모니터링하고, 질환 진행을 >10% 체중 감소, 호흡 곤란 및/또는 성장 실패로 채점한다. 이어서, 가장 효과적인 화합물 및 경로에 대한 용량을 예방 및 치료 연구 둘 다에서 리파이닝하여 마우스를 보호하기 위한 최소 용량을 결정한다. 4개의 처리군(n = 10; 수컷 5마리, 암컷 5마리)이 원래 용량을 받은 다음 3개의 점진적으로 낮아진 용량을 4배 증분으로 받는다는 것을 제외하고 동일한 실험 설계를 이용한다. SARS-CoV-2 감염의 대안적 동물 모델(예컨대, 햄스터, 흰족제비)를 또한 사용한다.

[0551] ***임상 시험***: 인간 치료를 위한 본 발명의 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤로 유도체화된 스테이플링된 펩티드의 적합성을 결정하기 위해, 임상 시험을 수행할 수 있다. 예컨대, SARS-CoV-2 감염에 노출되었거나 SARS-CoV-2 감염으로 진단된 환자를 선택하여 처리군 및 하나 이상의 대조군으로 분리하고, 처리군에는 본 발명의 펩티드가 투여되고 대조군은 위약 또는 공지된 항바이러스 약물을 받는다. 따라서, 본 발명의 펩티드-콜레스테롤 접합체의 치료 안전성 및 효능을 증상 예방, 증상 해소 시간 및/또는 전반적인 감염 중증도와 같은 인자에 관해 환자군을 비교함으로써 평가할 수 있다. 또 다른 예에서, 감염되지 않은 환자를 확인하고, 가교결합된 폴리펩티드 또는 위약을 제공한다. 처리한 후, 환자를 추적한다. 두 예 모두에서, 본 발명의 스테이플링된 펩티드-콜레스테롤 접합체로 처리된 SARS-CoV-2 노출된 환자군은 감염 발생을 피할 수 있거나, SARS-CoV-2 감염을 갖는 환자군은 위약으로 처리된 환자 대조군과 비교하여 증상 또는 중증도의 해소 또는 완화를 나타낼 것이다.

[0552] ***열거된 실시양태***: 본 개시내용은 하기의 예시적인 열거된 실시양태를 제공한다.

[0553] 실시양태 1. 서열번호 6(DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 서열과 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 94% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드로서,

[0554] (i) 위치 14 및 21,

[0555] (ii) 위치 17 및 24,

[0556] (iii) 위치 20 및 27;

[0557] (iv) 위치 21 및 28; 또는

[0558] (v) 위치 24 및 31

[0559] 로부터 선택되는 서열번호 6의 위치(서열번호 6의 위치 1은 N-말단 아스파르트산이고 위치 38은 C-말단 리신임)에 있는 아미노산은 올레핀 측쇄를 갖는 α,α-이치환된 비-천연 아미노산으로 대체되고;

[0560] 구조적으로 안정화된 펩티드는 38 내지 60개의 아미노산 길이, 임의적으로 38 내지 50개의 아미노산 길이이고;

[0561] 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0562] 실시양태 2. 실시양태 1에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 6에 제시된 서열과 적어도 70% 동일한 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0563] 실시양태 3. 실시양태 1에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 6에 제시된 서열과 적어도 80% 동일한 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0564] 실시양태 4. 실시양태 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0565] 실시양태 5. 실시양태 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호

13(DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0566] 실시양태 6. 실시양태 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 아미노산 서열이 서열번호 17(DISGINASVVNIQKEIDRLN8VAKNLNXSLIDLQELGK)에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0567] 실시양태 7. 실시양태 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드가 38 내지 45개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0568] 실시양태 8. 실시양태 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 구조적으로 안정화된 폴리펩티드가 38 내지 40개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0569] 실시양태 9. 실시양태 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 6의 위치 37 및/또는 38이 치환되지 않은 것인 구조적으로 안정화된 폴리펩티드.

[0570] 실시양태 10. 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열의 적어도 19개의 인접한 아미노산을 포함하고 서열번호 10의 위치 3, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 18, 20, 22, 25, 27, 29, 32, 34, 35, 37, 또는 38에 있는 아미노산 중 적어도 1 내지 18개가 임의의 다른 천연 또는 비-천연 아미노산으로 치환된 구조적으로 안정화된 펩티드로서, 서열번호 6의 위치 14 및 21의 비-천연 아미노산은 치환되지 않고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 19 내지 45개의 아미노산 길이이고, 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드는 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하고, 임의적으로 19개의 인접한 아미노산은 위치 1181 및 1188이 올레핀 측쇄를 갖는 비-천연 아미노산으로 치환되는 것을 제외하고는 HR2의 위치 1179 내지 1197에 상응하는 구조적으로 안정화된 펩티드.

[0571] 실시양태 11. 실시양태 10에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드가 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 구조적으로 안정화된 펩티드가 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드.

[0572] 실시양태 12. 실시양태 1 내지 11 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드 및 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및/또는 콜레스테롤을 포함하고, PEG 및/또는 콜레스테롤은 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단에 연결된 접합체.

[0573] 실시양태 13. 실시양태 12에 있어서, PEG 및 콜레스테롤을 포함하는 것인 접합체.

[0574] 실시양태 14. 실시양태 12 또는 13에 있어서, 콜레스테롤이 티오콜레스테롤인 접합체.

[0575] 실시양태 15. 실시양태 12 또는 13에 있어서, 접합체가 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8인 접합체.

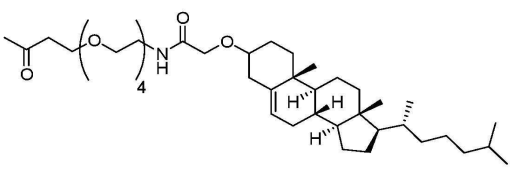
[0576] 실시양태 16. 실시양태 12 내지 14 중 어느 하나에 있어서, 접합체가 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 2-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 일부 경우에서, n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 접합체.

[0577] 실시양태 17. 하기를 포함하는 접합체:

[0578] 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및

[0579] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-콜레스테롤 모이어티.

[0580] 실시양태 18. 실시양태 17에 있어서, PEG(4)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:

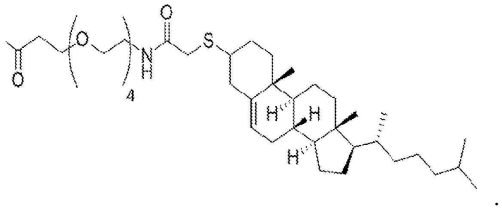
[0581] .

[0582] 실시양태 19. 하기를 포함하는 접합체:

[0583] 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및

[0584] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티.

[0585] 실시양태 20. 실시양태 19에 있어서, PEG(4)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:

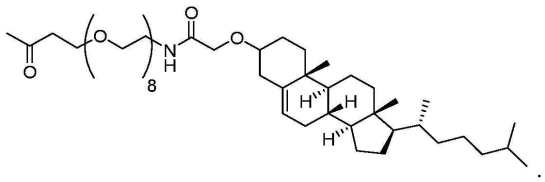
[0586] .

[0587] 실시양태 21. 하기를 포함하는 접합체:

[0588] 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및

[0589] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티.

[0590] 실시양태 22. 실시양태 21에 있어서, PEG(8)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:

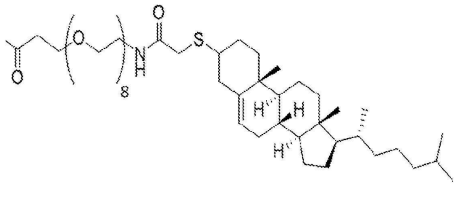
[0591] .

[0592] 실시양태 23. 하기를 포함하는 접합체:

[0593] 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및

[0594] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티.

[0595] 실시양태 24. 실시양태 23에 있어서, PEG(8)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:

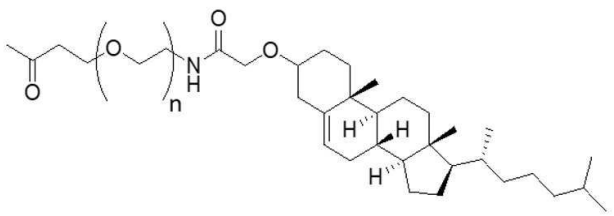
[0596] .

[0597] 실시양태 25. 하기를 포함하는 접합체:

[0598] 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및

[0599] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로서, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 일부 경우에서 n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티.

[0600] 실시양태 26. 실시양태 25에 있어서, PEG(n)-콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:

[0601] 

[0602] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 일부 경우에서 n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22,

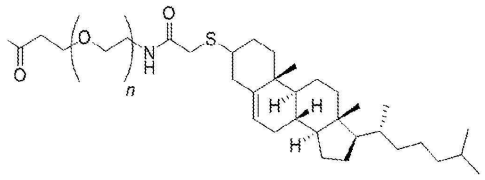
24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0603] 실시양태 27. 하기를 포함하는 접합체:

[0604] 서열번호 10(DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK)의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드, 및

[0605] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단 리신에 연결된 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티로서, (n) = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 일부 경우에서 n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36인 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티.

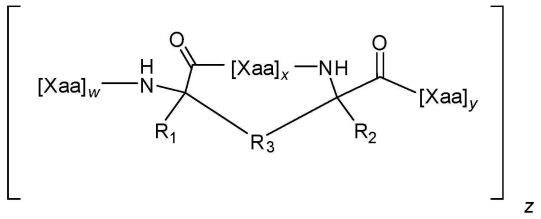
[0606] 실시양태 28. 실시양태 27에 있어서, PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티가 하기 화학식을 포함하는 것인 접합체:



[0607]

[0608] 상기 식에서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8이고, 일부 경우에서 n = 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 또는 36이다.

[0609] 실시양태 29. 하기 화학식을 포함하고, 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 억제하고/하거나 슈도바이러스 및/또는 생 SARS-CoV-2 바이러스 검정에서 SARS-CoV-2에 의한 세포의 감염을 예방하는, 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



화학식 (I)

[0610]

[0611] 상기 식에서,

[0612] 각각의 R_1 및 R_2는 H 또는 C1 내지 C10 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴알킬, 사이클로알킬알킬, 헤테로아릴알킬, 또는 헤테로사이클릴알킬이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고;

[0613] 각각의 R_3은 독립적으로 알칸 알킬렌, 알케닐렌, 또는 알키닐렌이고, 이들 중 임의의 것은 치환되거나 비치환되고;

[0614] z는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

[0615] 각각의 $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 34)이고, 각각의 $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 35)이고, 각각의 $[Xaa]_y$는 VAKNLNESLIDLQELGK(서열번호 36)이다.

[0616] 실시양태 30. 실시양태 29에 있어서, R_1이 알킬인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0617] 실시양태 31. 실시양태 29에 있어서, R_1이 메틸기인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0618] 실시양태 32. 실시양태 29에 있어서, R_3이 알킬인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0619] 실시양태 33. 실시양태 29에 있어서, R_3이 메틸기인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0620] 실시양태 34. 실시양태 29에 있어서, R_2가 알케닐인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되

는 염.

[0621] 실시양태 35. 실시양태 29 내지 34 중 어느 하나에 있어서, 약제학적으로 허용되는 염이 히드로클로라이드, 나트륨, 술페이트, 아세테이트, 포스페이트 또는 디포스페이트, 클로라이드, 칼륨, 말레에이트, 칼슘, 시트레이트, 메실레이트, 니트레이트, 타르트레이트, 알루미늄, 글루코네이트, 및 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0622] 실시양태 36. 실시양태 29 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 최대 50개의 아미노산 길이, 임의적으로 최대 45개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0623] 실시양태 37. 실시양태 29 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 38개의 아미노산 길이인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

[0624] 실시양태 38. 실시양태 29 내지 37 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 PEG 및/또는 콜레스테롤을 포함하는 접합체.

[0625] 실시양태 39. 실시양태 38에 있어서, PEG 및 콜레스테롤을 포함하는 것인 접합체.

[0626] 실시양태 40. 실시양태 38 또는 39에 있어서, 콜레스테롤이 티오콜레스테롤인 접합체.

[0627] 실시양태 41. 실시양태 38 또는 39에 있어서, 접합체가 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, 임의적으로 n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8인 접합체.

[0628] 실시양태 42. 실시양태 38 내지 40 중 어느 하나에 있어서, 접합체가 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8인 접합체.

[0629] 실시양태 43. 실시양태 1 내지 42 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 화합물.

[0630] 실시양태 44. 코로나바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 실시양태 1 내지 43 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법.

[0631] 실시양태 45. 코로나바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 실시양태 1 내지 43 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 인간 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법.

[0632] 실시양태 46. 코로나바이러스 감염의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료학적 유효량의 실시양태 1 내지 43 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스, 또는 박쥐로부터 선택되는, 상기 대상체에서 코로나바이러스 감염을 치료하는 방법.

[0633] 실시양태 47. 코로나바이러스 감염의 예방을 필요로 하는 대상체에게 치료학적 유효량의 실시양태 1 내지 43 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 투여하는 단계를 포함하고, 대상체는 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스, 또는 박쥐로부터 선택되는, 상기 대상체에서 코로나바이러스 감염을 예방하는 방법.

[0634] 실시양태 48. 실시양태 46 또는 47에 있어서, 코로나바이러스 감염이 베타코로나바이러스에 의한 것인 방법.

[0635] 실시양태 49. 실시양태 46 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 코로나바이러스 감염이 SARS-CoV-2에 의한 감염에 의해 유발되는 것인 방법.

[0636] 실시양태 50. 실시양태 46 내지 49 중 어느 하나에 있어서, 코로나바이러스 감염이 SARS-CoV-2의 변이체에 의한 감염에 의해 유발되는 것인 방법.

[0637] 실시양태 51. 실시양태 50에 있어서, 변이체가 우한-Hu-1, B.1.427/B.1.429, B.1.617.2, D614G B.1, 또는 브라질 변이체 P.1로부터 선택되는 것인 방법.

[0638] 실시양태 52. (a) 서열번호 6에 제시된 서열을 갖는 펩티드 또는 이의 변이체를 제공하는 단계, 및 (b) 펩티드를 가교결합시키는 단계, 및 임의적으로 구조적으로 안정화된 펩티드를 정제하는 단계를 포함하는, 구조적으로 안정화된 펩티드를 제조하는 방법.

[0639] 실시양태 53. 실시양태 52에 있어서, 펩티드의 가교결합이 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의한 것인 방법.

[0640] 실시양태 54. 실시양태 52 또는 53에 있어서, 구조적으로 안정화된 펩티드를 멸균 약제학적 조성물로 제제화하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

[0641] 실시양태 55. (a) 실시양태 1 내지 11 및 29 내지 37 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

[0642] 실시양태 56. (a) 헵타드 반복 도메인 2(HR2) 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) HR2 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, HR2 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

[0643] 실시양태 57. (a) 실시양태 1 내지 11 및 29 내지 37 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 티오콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, 상기 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

[0644] 실시양태 58. (a) HR2 폴리펩티드를 제공하는 단계; 및 (b) HR2 폴리펩티드의 수지 결합된 아민을 수지 상의 카르복실산을 함유하는 PEG 및/또는 티오콜레스테롤로 유도체화하는 단계를 포함하는, HR2 폴리펩티드를 포함하는 접합체를 합성하는 방법.

[0645] 실시양태 59. 실시양태 55 내지 58 중 어느 하나에 있어서, 유도체화 단계가

[0646] 티오콜레스테롤을 디클로로메탄(DCM)에 또는 콜레스테롤을 테트라히드로푸란(THF)에 용해시켜 용액을 생성하는 단계; 및

[0647] 염기, 브로모아세트산의 t-부틸 에스테르, 및 트리플루오로아세트산을 순서대로 용액에 첨가하는 단계; 또는 대안적으로 조합된 단계를 워크업 또는 컬럼 크로마토그래피 후에 순차적으로 수행할 수 있는 단계

[0648] 에 의한 고체상 합성에 의해 카르복시 티오콜레스테롤 또는 카르복시 콜레스테롤을 통합시키는 것을 포함하는 것인 방법.

[0649] 실시양태 60. 실시양태 55 내지 59 중 어느 하나에 있어서, 유도체화 단계가

[0650] 수지에 결합된 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 디메틸포름아미드(DMF)를 포함하는 용액 중의 피페리딘으로 처리하는 단계;

[0651] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 N-말단을 아세트산 무수물로 캡핑하는 단계;

[0652] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드의 C-말단을 DMF 중의 히드라진으로 탈보호하는 단계;

[0653] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 Fmoc 보호된 PEG(n) 아미노산으로 아실화하는 단계;

[0654] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 가교결합시키는 단계; 및

[0655] 구조적으로 안정화된 폴리펩티드를 수지로부터 단리시키는 단계

[0656] 를 추가로 포함하는 것인 방법.

[0657] 실시예 61. 실시양태 60에 있어서, n = 1-36인 방법.

[0658] 실시양태 62. 실시양태 60 또는 61에 있어서, n = 4, 5, 6, 7, 또는 8인 방법.

[0659] 실시양태 63. 실시양태 55 내지 62 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 6의 C-말단 리신이 수지-결합된 아민으로 치환되고, 임의적으로 서열번호 6의 C-말단 리신이 수지 결합 카르복실산 또는 티올로 추가로 치환되는 것인 방법.

[0660] 실시양태 64. 실시양태 55 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 콜레스테롤이 티오콜레스테롤인 방법.

[0661] 실시양태 65. 실시양태 55 내지 63 중 어느 하나에 있어서, 접합체가 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8인 방법.

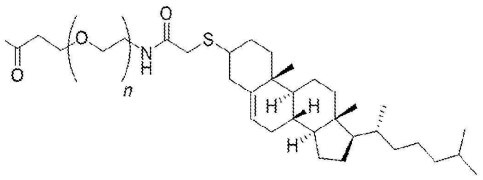
[0662] 실시양태 66. 실시양태 55 내지 64 중 어느 하나에 있어서, 접합체가 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하고, n은 1-36이고, 임의적으로 n은 4, 5, 6, 7, 또는 8인 방법.

[0663] 실시양태 67. 실시양태 55 내지 66 중 어느 하나에 있어서, 펩티드의 가교결합이 루테늄 촉매된 복분해 반응에 의한 것인 방법.

[0664] 실시양태 68. 실시양태 1 내지 43 중 어느 하나의 구조적으로 안정화된 펩티드, 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 접합체를 포함하는 나노입자 조성물로서, 임의적으로 나노입자 조성물은 PLGA 나노입자이고, 추가로 임의적으로 나노입자 조성물은 2:98 내지 100:0 범위의 PLGA 나노입자의 락트산:글리콜산 비를 포함하는 나노입자 조성물.

[0665] 실시양태 69. 실시양태 68에 있어서, 키토산, 덱스트린, 또는 둘 다를 추가로 포함하는 것인 나노입자 조성물.

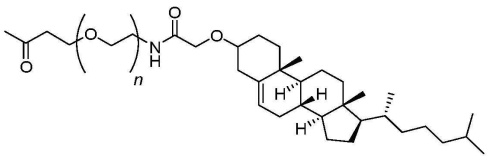
[0666] 실시양태 70. 하기 화학식을 포함하는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 포함하는 링커:



[0667]

[0668] 상기 식에서, n은 1-36이다.

[0669] 실시양태 71. 하기 화학식을 포함하는 PEG(n)-콜레스테롤을 포함하는 링커:



[0670]

[0671] 상기 식에서, n은 1-36이다.

[0672] 실시양태 72. 실시양태 70 또는 71에 있어서, n이 4, 5, 6, 7, 또는 8인 링커.

[0673] 실시양태 73. 실시양태 70 내지 72 중 어느 하나에 있어서, PEG에 부착된 리신을 추가로 포함하는 것인 링커.

[0674] 실시양태 74. 실시양태 1 내지 28 중 어느 하나에 있어서, 각각

[0675] 8 = (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌 또는 (R)-α-(4'-펜테닐)알라닌이고;

[0676] X = (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌 또는 (S)-α-(7'-옥테닐)알라닌인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 접합체.

[0677] 실시양태 75. 실시양태 1 내지 28 중 어느 하나에 있어서,

[0678] 8 = (R)-α-(7'-옥테닐)알라닌이고;

[0679] X= (S)-α-(4'-펜테닐)알라닌인 구조적으로 안정화된 펩티드 또는 접합체.

[0680] **실시예**

[0681] 하기 실시예는 청구된 발명을 더 잘 설명하기 위해 제공되며 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 특정 재료가 언급되는 정도는 단지 예시를 위한 것이며 본 발명을 제한하려는 의도는 아니다. 당업자는 독창적인 능력을 발휘하지 않고 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 동등한 수단 또는 반응물을 개발할 수 있다.

[0682] ***실시예 1: C-말단 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로 유도체화된 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드의 설계 및 합성***

[0683] 코로나바이러스와 숙주 세포의 융합을 차단할 수 있는 펩티드를 설계하기 위해(**도 1**), 차등적으로 국소화된 화학적 스테이플을 보유하고 C-말단에서 PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로 유도체화된 일련의 스테이플링된 펩티드를 설계한 후, 고체상 합성에 의해 수지 상에서 합성하였다. 차등적으로 국소화된 화학적 스테이플은 천연 잔기를 α,α-이치환된 비-천연 올레핀 잔기(예컨대, 선택된 i, i+7 위치에 도입된 S-

펜테닐 알라닌의 경우 "X", R-옥테닐 알라닌의 경우 "8", 또는 선택된 i, i+4 위치 각각에 도입된 S-펜테닐 알라닌의 경우 "X") 및 이중 스테이플 또는 스티치 형태의 이들의 조합으로 대체하고 이어 루테늄 촉매된 올레핀 복분해를 수행함으로써(**도 5-7** 참조) 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2의 표면(S) 당단백질의 서열의 SARS-CoV-2 HR2 도메인(즉, 아미노산 1168-1205)(**도 2-4** 참조) 내 및 바람직하게는 알파 나선형 영역 내(즉, 아미노산 1179-1197; **도 9** 참조) 내에 위치되었다. SARS-CoV-2 융합 기구를 표적으로 하는 최적의 스테이플링된 펩티드 구축물을 설계, 합성 및 확인하는 본 발명자들의 접근법은 Ala 스캔(예컨대, 돌연변이체), 스테이플 스캔, 가변적 N- 및 C-말단 결실, 부가 및 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티에 대한 접합을 위한 유도체화 라이브러리를 포함한다(**도 8** 참조). 일부 바람직한 설계는 코어 SARS-CoV-2 HR2 나선(예컨대, 서열번호 4)의 비-상호작용 양친매성 면 또는 나선의 양친매성 면과 소수성 상호작용 면의 경계 위치에 스테이플을 통합시킨다(**도 9** 참조).

[0684] PEG(n)-티오콜레스테롤 또는 PEG(n)-콜레스테롤 모이어티로의 C-말단 유도체화를 보유하는 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 구축물은, 2개의 자연 발생 아미노산을 2개의 α 나선 회전에 걸쳐 있는 스테이플을 생성하기 위해 i, i+7 위치(즉, 측면 7개 아미노산)에서 비-천연 (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐아미노)-2-메틸-데크-9-엔산(R8) 및 S-2-(4'-펜테닐) 알라닌(S5) 아미노산으로 또는 하나의 α-나선 회전에 걸쳐 있는 스테이플을 생성하기 위해 i, i+4 위치에서 2개의 S5 비-천연 아미노산으로 대체함으로써 설계되었다. α,α-이치환된 아미노산의 비대칭 합성은 이전에 자세히 기재된 바와 같이 수행되었다(Schafmeister et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2000; Walensky et al., *Science*, 2004; Bird et al. *Current Protocols in Chemical Biology*, 2011, 각각은 전체가 인용에 의해 포함됨).

[0685] "스테이플 스캐닝"은 상호작용에 중요한 잔기 및 결합 표면을 각각 확인하기 위해 수행되었으며, 이는 최적화된 구축물 및 음성 대조 돌연변이체의 설계를 결정한다. 펩티드 N-말단은 실험 적용에 따라 아세틸 또는 형광단(예컨대, FITC, 로다민)으로 캡핑되었다.

[0686] 이중 스테이플링된 펩티드는 2개의 S5-S5, 2개의 R8-S5 또는 가교결합 비-천연 아미노산의 다른 조합을 도입함으로써 생성되었다. 유사한 원리를 이용하여 다중 스테이플링된 또는 스티칭된 펩티드가 생성된다.

[0687] 수지 상에서 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤로의 펩티드 유도체화를 가능하게 하기 위해, 카르복시-티오콜레스테롤 또는 카르복시-콜레스테롤을 상기 기재된 절차에 따라 합성하였다(방법 및 **도 10** 참조). 완성된 수지 결합된 펩티드를 (아세트산 무수물을 사용하여) 아세틸기로 캡핑한 후 2% 히드라진으로 처리하여 C-말단 측쇄 리신 아민을 탈보호하였다. 아민을 Fmoc 보호된 PEG(n) 아미노산(예컨대, n = 1-36; 예컨대, 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, 또는 36)으로 아실화하였으며, 이 시점에서 그룹스(I) 촉매로 처리하여 올레핀을 가교결합시켰다. Fmoc를 PEG(n) 아미노산의 C-말단 NH 및 카르복시-티오콜레스테롤 또는 카르복시-콜레스테롤로 아실화된 아민으로부터 제거시켰다. 최종 펩티드 생성물을 펩티드 탈보호 및 절단, 및 역상 고성능 액체 크로마토그래피/질량 분광측정(LC/MS)에 의한 정제 후 수득하였다. **도 11a-11b**의 전체 합성 도식을 참조한다. 합성 도식을 사용하여 생성된 PEG(n)-티오콜레스테롤 및 PEG(n)-콜레스테롤로 유도체화된 예시적인 i, i+7 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드는 **도 12**에 나열되어 있다.

[0688] ***실시예 2: 슈도타입 및 생 바이러스 검정에서 항바이러스 활성을 달성하기 위해 C-말단 PEG4-티오콜레스테롤을 보유하는 최적으로 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 확인***

[0689] 본 발명자들은 먼저 서열번호 6(C-말단 PEG4-티오콜레스테롤을 갖는 스테이플링되지 않은 펩티드)을 생성하기 위해 서열번호 5(C-말단 아미드를 갖는 스테이플링되지 않은 펩티드)의 C-말단에 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 부착하는 본 발명자들의 화학 도식을 적용하여 비활성 HR2 펩티드를 우한-Hu-1 슈도바이러스, 293T-ACE2 세포 및 500 nM에서 시작하는 펩티드 연속 2배 희석을 사용하는 슈도바이러스 검정에서 용량 반응적 항바이러스 활성을 나타내는 활성 구축물로 변환시켰다는 것을 입증하였다(**도 13** 참조). 이어서, 본 발명자들은 수지에 부착된 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 스테이플링된 HR2 펩티드(스테이플 D, 서열번호 10)가 세포가 D614G B.1, 우한-Hu-1, B.1.526, B.1.427, B.1.1.7을 포함한 일련의 SARS-CoV-2 슈도바이러스 변이체에 걸쳐 바이러스 접종 전 또는 후에 세포를 펩티드(1 μM)로 처리했는지의 여부에 관계 없이 슈도바이러스 검정에서 일관되고 강력한 항바이러스 활성을 나타낸다는 것을 입증하였다(**도 14** 참조). 대조적으로, PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 상응하는 스테이플링되지 않은 펩티드(서열번호 6)는 바이러스 접종 후 적용될 때 비효과적이었고, 동일한 시리즈의 SARS-CoV-2 슈도바이러스 변이체로 바이러스 접종 전에 적용되었을 때에도 스테이플링된 서열과 비교하여 더 적은 항바이러스 활성을 나타내었다(**도 14** 참조).

[0690] 본 발명자들은 슈도바이러스 검정(슈도바이러스: B.1.526; 세포: 293T-ACE2; 1 mM에서 시작하여 연속 희석)에서 스테이플되지 않은 구축물(서열 번호: 6)과 HR2 나선의 비-상호작용 친수성 면에 i, i+7 스테이플을 보유하는 2개의 스테이플링된 구축물(서열번호 10 및 17)을 비교하였다. 서열번호 10(스테이플 D)의 스테이플링된 HR2 펩티드는 가장 강력한 용량 반응적 항바이러스 활성을 나타내었으며, 서열번호 6의 스테이플링되지 않은 펩티드가 뒤를 이었고; 특히, 서열번호 17(스테이플 K)의 스테이플링된 펩티드는 이의 스테이플이 HR2 나선의 비-상호작용 면에 국한되어 있음에도 불구하고 슈도바이러스 검정에서 가장 활성이 낮았다(**도 15** 참조). 이러한 데이터는 최적의 스테이플 위치(들)를 찾는 것이 예측 불가능하다는 것을 강조하며, 이는 실험적으로 결정되어야 한다.

[0691] 분석을 확장하기 위해, 본 발명자들은 다음으로 수지에 부착된 C-말단 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 평가하였다. SARS-CoV-2 슈도바이러스 검정(슈도바이러스: D614G B.1; 세포: 293T-ACE2; 100, 300, 1000 nM의 펩티드 용량)에서, 서열번호 11, 14, 및 15(각각 스테이플 E, H, I)의 펩티드는 활성을 거의 또는 전혀 나타내지 않았고, 서열번호 13 및 16(각각 스테이플 G 및 J)의 펩티드는 중간 정도의 활성을 나타내었고, 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는 다양한 스테이플링된 HR2 펩티드 중에서 독특하고 강력한 활성을 갖는 것으로 나타났다(**도 16** 참조). 이어서, 본 발명자들은 생 SARS-CoV-2 검정에서 이러한 펩티드 활성 계층을 확증하려고 하였다. 본 발명자들은 C-말단 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 동일한 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드의 차등적인 항바이러스 활성을 시험하였다. 이러한 SARS-CoV-2 생 바이러스 검정(생 바이러스: USA-WA1/2020; 세포: VeroB6; 펩티드 용량 범위 8-1000 nM)에서, 서열번호 11, 14, 15(스테이플 E, H, I)의 펩티드는 활성을 거의 또는 전혀 나타내지 않았고 서열번호 13, 16(스테이플 G, J)의 펩티드는 중간 정도의 활성을 나타낸 반면, 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는, **도 16**에 나타난 슈도바이러스 검정 결과와 일치하게, 다양한 스테이플링된 HR2 펩티드 중에서 독특하고 강력한 활성을 갖는 것으로 나타났다(**도 17** 참조). HR2 서열의 알파 나선형 부분을 통해 완전한 i, i+7 스테이플 스캔을 수행한 후 SARS-CoV-2 베타 스트레인을 사용하는 생 바이러스 검정에서 생성된 구축물을 시험하면서, 본 발명자들은 서열번호 10(스테이플 D)이 3개의 추가적인 스테이플 위치(각각의 스테이플 위치 G, K, 및 N을 갖는 서열번호 13, 17, 20)와 함께 가장 강력한 항바이러스 활성을 나타낸다는 것을 다시 발견하였다(**도 18a**). 강력한 항바이러스 활성을 제공하는 선택된 소수의 구축물(서열번호 10, 13, 17, 20)은 나선형 바퀴 묘사(**도 18b**)에 의해 입증되는 바와 같이 HR2 알파 나선형 표면의 초점 영역에 개별적으로 공동 국소화된다. 슈도바이러스 검정에서 시험된 SARS-CoV-2 변이체 중에서 C-말단 PEG4 티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 10(스테이플 D)에 상응하는 스테이플링된 리포펩티드가 오미크론 변이체에 대해 가장 활성이 높았고(**도 19**), 베타 및 델타를 포함한 SARS-CoV-2 생 바이러스 스트레인에 대해서도 강력한 항바이러스 활성이 입증되었다(**도 20**). C-말단 PEG4 티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호 13 및 20에 상응하는 추가적인 구축물도 다양한 SARS-CoV-2 변이체 및 SARS-CoV-1 슈도바이러스 및 생 SARS-CoV-2 베타 스트레인 바이러스에 대해 일관된 항바이러스 활성을 입증하였다(**도 21-23**). 대안적으로 HR1 코어와 접촉하거나 용매에 노출되는 HR2 서열 내의 돌연변이유발에 대한 내성(**도 24a**)은 SARS-CoV-1 슈도바이러스 검정에서 항바이러스 효능을 유지함으로써 드러난 바와 같이 C-말단 PEG4 티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 서열번호10의 예시적인 알라닌 치환에 대해 입증되었다(**도 24b**).

[0692] 종합하면, 이러한 데이터는 (1) HR2 펩티드의 C-말단에 수지상 방법론을 이용하여 PEG4-티오콜레스테롤 모이어티를 부착하는 것이 강력한 용량 반응적 항바이러스 활성을 부여할 수 있고; (2) 스테이플링은 스테이플링되지 않은 유사체에 비해 펩티드 활성을 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라 배양물에서 바이러스 접종 전 또는 후의 투여 여부에 관계없이 항바이러스 활성을 달성할 수 있고; (3) 확증적인 슈도바이러스 및 생 바이러스 검정을 통해 활성이 더 적거나 없는 차등적으로 i, i+7 스테이플링된 펩티드의 전체 패널 중에서 선택된 소수의 독특하게 강력한 스테이플링된 HR2 펩티드(서열번호 10, 13, 17 및 20)를 효과적으로 확인하였다는 것을 나타내며, 이는 강력한 항바이러스 활성을 달성하기 위한 최적의 스테이플 위치를 식별하는 것은 예측 불가능하며 SARS-CoV-2 항바이러스 검정에서 실험적으로 결정되어야 함을 강조한다.

[0693] ***실시예 3: 슈도타입 및 생 바이러스 검정에서 항바이러스 활성을 달성하기 위해 C-말단 PEG(n)-티오콜레스테롤을 보유하는 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드 내에서 최적의 PEG 링커 길이의 결정***

[0694] 스테이플링된 HR2 펩티드를 티오콜레스테롤 또는 콜레스테롤 모이어티에 연결하기 위한 최적의 PEG 쇄 길이를 결정하기 위해, 상기 기재된 합성 방법에 따라 일련의 PEG(n) 유사체(여기서, n은 3, 4, 5, 6임)를 생성하였다. 서열번호 10(스테이플 D) 및 가변적 길이의 PEG-링커로 사이를 둔 티오콜레스테롤을 보유하는 이러한 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드 시리즈의 항바이러스 활성은 일련의 5개의 SARS-CoV-2 변이체(우한-Hu-1, B.1.427/B.1.429, B.1.617.2, D614G B.1, 브라질 변이체 P.1; 세포: 293T-ACE2; 1 μM에서 시작하여 연속

희석)에 걸쳐 슈도바이러스 검정으로 조사되었다. PEG8 링커를 보유하는 서열번호 10(스테이플 D)의 펩티드는 이 슈도바이러스 검정에서 가장 강력한 용량 반응적 활성을 나타내었다(**도 25a-25e** 참조).

[0695] 이어서, 본 발명자들은 생 SARS-CoV-2 검정으로 PEG(n) 링커 길이에 기반하여 펩티드 활성 계층을 확증하려고 하였다. 본 발명자들은 SARS-CoV-2 생 바이러스 검정(생 바이러스: 남아프리카 B.1.351; 세포: VeroB6; 1000 내지 4 nM의 펩티드 연속 2배 희석 용량 범위)으로 수지 상에 구축된 n = 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8 PEG 모이어티의 PEG(n) 링커 및 부착된 C-말단 티오콜레스테롤을 보유하는 서열번호 10(스테이플 D)의 동일한 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드 시리즈의 차등적인 항바이러스 활성을 시험하였다. 슈도바이러스 검정의 경우, PEG8 링커 모이어티를 보유하는 구축물은 이 SARS-CoV-2 생 바이러스 검정에서 가장 강력한 용량 반응적 활성을 나타내었다(**도 26** 참조).

[0696] 이어서, 본 발명자들은 n = 10, 12, 14, 16 및 20에 상응하는 더 긴 PEG(n) 링커를 보유하는 서열번호 10(스테이플 D)의 일련의 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드를 생성하였다. SARS-CoV-2 오미크론(**도 27**) 및 SARS-CoV-1(**도 28**) 슈도바이러스 검정, 및 생 SARS-CoV-2 베타 스트레인(**도 29**) 바이러스 검정에서, 보다 긴 링커 길이가 효과적이었으며, 일부 경우에서는 PEG8 링커 길이보다 훨씬 더 효과적이었다. 종합하면, 본 발명자들은 스테이플링된 HR2 펩티드와 티오콜레스테롤 유도체화 사이의 PEG 링커 길이를 최적화하여 슈도바이러스 및 생 바이러스 검정에서 입증되는 바와 같이 항바이러스 활성을 최대화할 수 있으며, PEG8 및 더 긴 PEG 길이가 최고의 활성을 갖고, 일련의 다른 구축물과 비교하여 PEG0 및 PEG3이 가장 덜 강력한 활성을 나타낸다는 것을 발견하였다. PEG8 및 더 긴 링커의 우월성 및 PEG4-8 및 더 긴 종에 비해 PEG3의 열등함은 예측 가능하지 않았으며 SARS-CoV-2 항바이러스 검정에서 실험적 결정이 필요하였다.

[0697] ***실시예 4: C-말단 PEG(n)-티오콜레스테롤을 보유하는 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 항바이러스 작용 메커니즘의 특이성***

[0698] SARS-CoV-2 바이러스에 대한 본 발명의 펩티드의 특이성을 조사하기 위해, 가변적 PEG 길이(n = 3-8)의 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 일련의 i, i+7 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드(스테이플 D, 서열번호 10)를 MLV 코어를 갖는 VSV의 슈도바이러스 검정으로 시험하였다. 상응하는 스테이플링되지 않은 펩티드는 일부 비-특이적 항바이러스 활성을 나타낸 반면(2.5 μM 투여, 48시간), n = 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8의 PEG 링커를 갖는 PEG(n)-티오콜레스테롤을 보유하는 스테이플링된 HR2 구축물 중 어떠한 것도 항-VSV 슈도바이러스 활성을 나타내지 않았다(**도 30** 참조).

[0699] 이어서, 본 발명자들은 수지 상에 합성적으로 생성된 PEG(n)-티오콜레스테롤 모이어티를 보유하는 본 발명의 스테이플링되지 않거나 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드가 항바이러스 용량 유효 범위에서 세포독성을 나타내는지의 여부를 조사하였다. 본 발명의 서열번호 6의 펩티드를 GSGSGC 링커 및 용액에서 C-말단에 부착된 PEG4-콜레스테롤을 보유하는 대안적으로 합성된 스테이플링되지 않은 HR2 구축물(DeVries et al, Science, 2021)과 비교하여, 본 발명자들은 상기 기재된 수지상 방법에 따라 생성된 서열번호 6의 스테이플링되지 않은 HR2 펩티드가 생 바이러스 검정에서 비교적 향상된 항바이러스 활성을 나타내었다는 것을 발견하였다(생 바이러스: 남아프리카 B.1.351; 세포: VeroB6; 펩티드 용량 범위 4-1000 nM)(**도 31** 참조). 또한, 서열번호 6의 스테이플링되지 않은 HR2 펩티드 및 서열번호 10(스테이플 D, PEG4-티오콜레스테롤)의 상응하는 i, i+7 스테이플링된 HR2 펩티드는 DRAQ7 및 훽스트 33342 염색으로 측정되는 바와 같이 항바이러스 용량 유효 범위에 걸쳐 세포독성 활성을 나타내지 않은 반면, GSGSGC 링커 및 C-말단 부착된 PEG4-콜레스테롤을 보유하는 스테이플링되지 않은 HR2 펩티드(DeVries et al, Science, 2021)는 투여 범위 내에서 세포를 사멸하였다(슈도바이러스: D614G B.1; 세포: 293T-ACE2; 1 μM에서 시작하여 연속 2배 희석; 판독: 48시간)(**도 32** 참조).

[0700] ***실시예 5: C-말단 PEG8-콜을 보유하는 스테이플링된 SARS-CoV-2 HR2 펩티드의 변이체 전반에 걸친 SARS-CoV-2 5-HB 결합 활성 및 광범위한 SARS-CoV-2 항바이러스 활성***

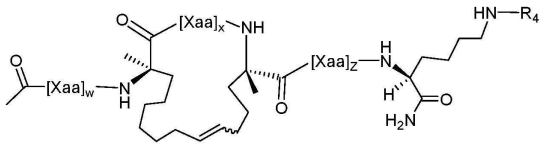
[0701] 직접적인 형광 편광 결합 검정은 융합성 6-나선 다발을 완성하는 FITC 스테이플링된 리포펩티드의 첨가로 SARS-CoV-2의 재조합 5-나선 다발(5-HB)에 대한 C-말단에서 PEG8-콜로 유도체화되고 N-말단에서 아세틸 대신 FITC-β-Ala로 유도체화된 서열번호 10에 상응하는 조성물의 스테이플링된 리포펩티드의 낮은 나노몰 결합 친화성을 밝

MQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSGGS
GGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSSGGQKLIANQFNSAI
GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSGGSGGDISGINASVVN
IQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSSGGQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASA
LGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSSSGGHHHHHH (서열번호 78)

혔다(펩티드: 5 nM; 서열 의 5-HB 단백질, 1000 nM로부터 연속 희석)(**도 33**). C-말단에서 PEG8-콜로 유도체화된 서열번호 10의 스테이플링된 리포펩티드는 (a) 다양한 SARS-CoV-2 변이체 슈도바이러스(293-ACE2 세포, GFP 발현 슈도바이러스, 펩티드(1000 nM부터 연속 희석), 48시간 판독)(**도 34**); (b) 오미크론 변이체(293T-ACE2 세포, GFP 발현 슈도바이러스, 펩티드(250 nM로부터 연속 희석), 48시간 판독)(**도 35**); (c) SARS-CoV-2 베타 및 델타 생 바이러스(Vero 세포, 펩티드(100 nM부터 연속 희석), 48시간 판독)(**도 36**); 및 (d) 알파코로나바이러스 NL63과 같은 일반적인 인간 코로나바이러스(**도 37**)에 대해 강력한 항바이러스 활성을 나타내었다.

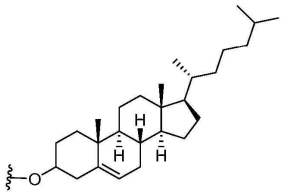
[0702] ***실시예 6: C-말단 PEG(8)-콜레스테롤 모이어티로 유도체화된 스테이플링된 SARS-CoV-2 펩티드의 제조***

[0703] 상기 실시예 1에 기재된 절차에 기초하여 하기 화학식으로 표시되는 구조적으로 안정화된 펩티드 접합체 화합물을 제조하였다:

[0704] 

[0705] 상기 식에서,

[0706] R_4는 $-C(O)-(CH_2CH_2)-[O-CH_2CH_2]_8-N(H)C(O)-(CH_2)-R_6$이고;

[0707] R_6은  이고;

[0708] $[Xaa]_w$는 DISGINASVVNIQ(서열번호 35)이고;

[0709] $[Xaa]_x$는 EIDRLN(서열번호 36)이고;

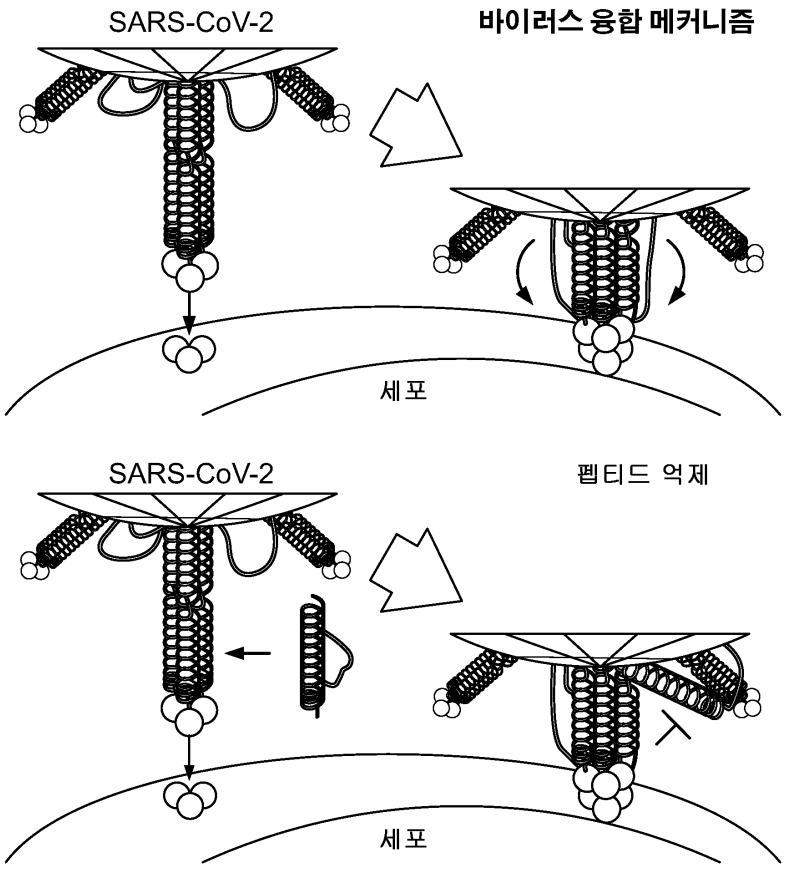
[0710] $[Xaa]_z$는 VAKNLNESLIDLQELG(서열번호 77)이다.

[0711] **기타 실시양태**

[0712] 본 발명은 이의 상세한 설명과 함께 설명되었지만, 전술된 설명은 첨부된 청구범위의 범위에 의해 정의되는 본 발명의 범위를 설명하기 위한 것이지 제한하려는 것이 아니다. 다른 측면, 이점 및 변형은 하기의 청구범위의 범위 내에 있다.

도면

도면1



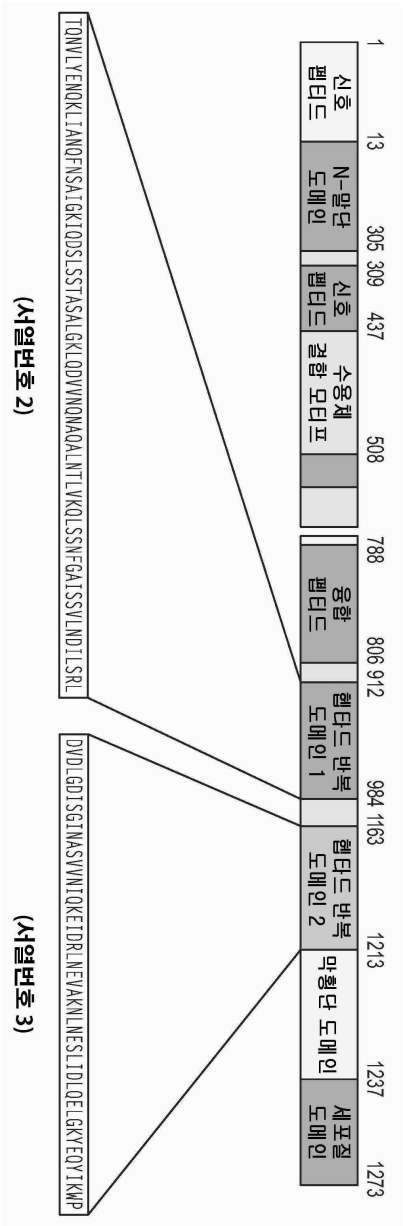
도면2

>QHD43416 (L=1273)

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS
TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNI
IRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNK
SWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGY
FKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLT
PGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETK
CTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASV
YAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSF
VIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYN
YLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPT
NGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTG
VLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITP
GTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCL
IGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG
AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECS
NLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGF
NFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLI
CAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAM
QMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQD
VVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGR
LQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM
SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGT
HWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKE
ELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDL
QELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSC
GSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT

(서열번호 1)

도면3



도면4

HR1

서열번호 2

912-TQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRL-984 (SARS-CoV-2)
TQNVLYENQK IANQFN AI IQ+SL T ALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRL 상동성
894-TQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRL-966 (SARS, c.2004)

서열번호 72

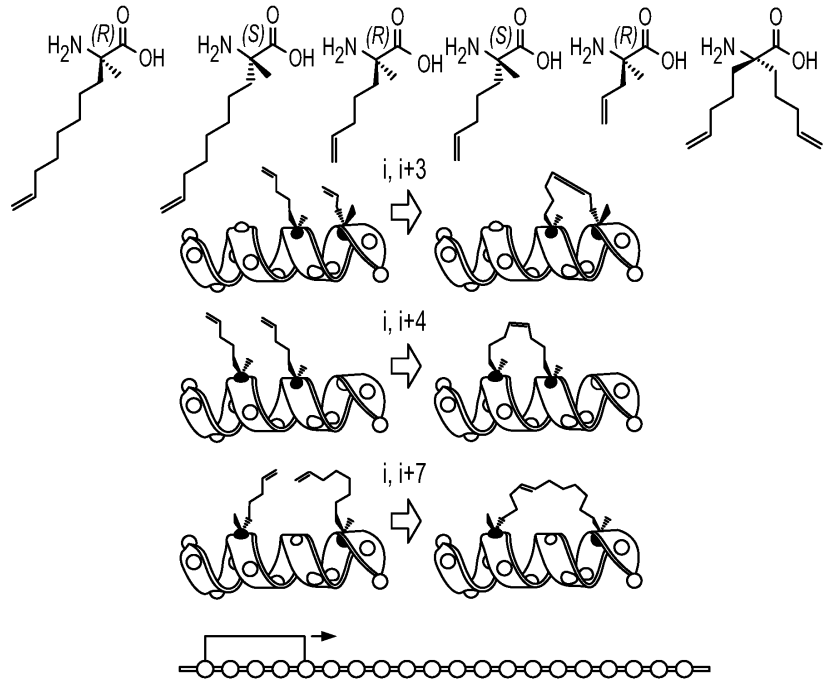
HR2

서열번호 3

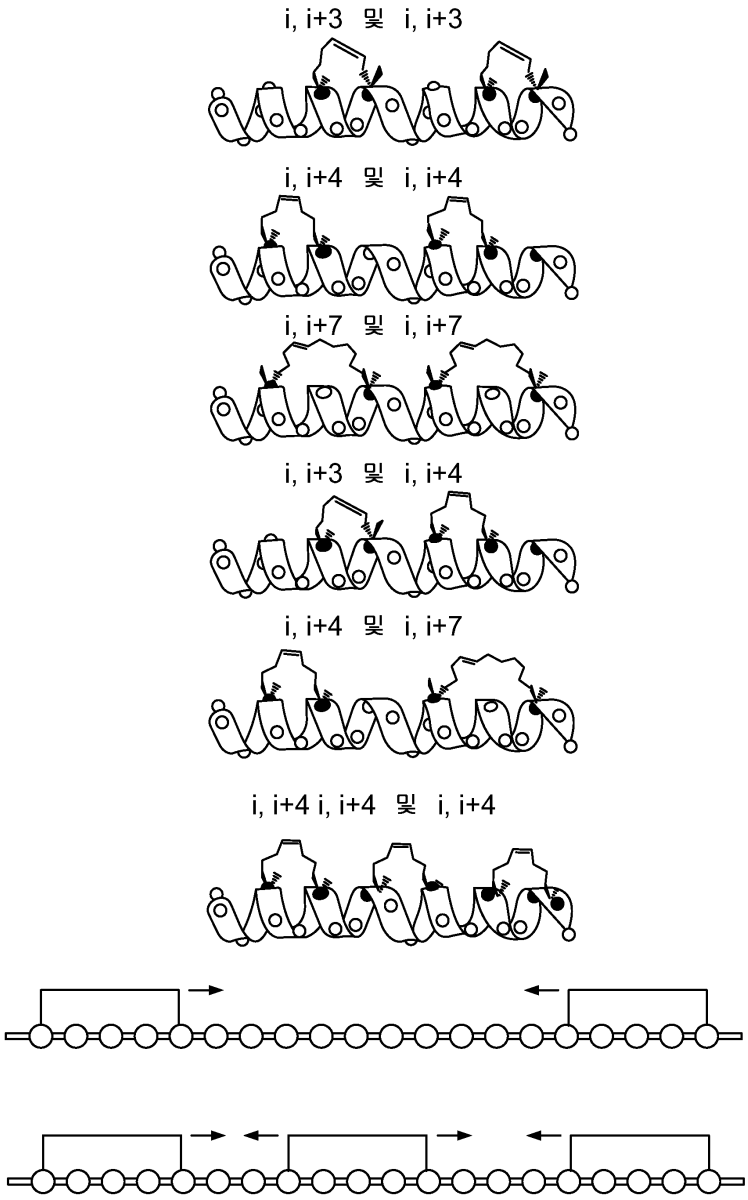
1163-DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP-1213 (SARS-CoV-2)
DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP 상동성
1145-DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP-1195 (SARS, c.2004)

서열번호 73

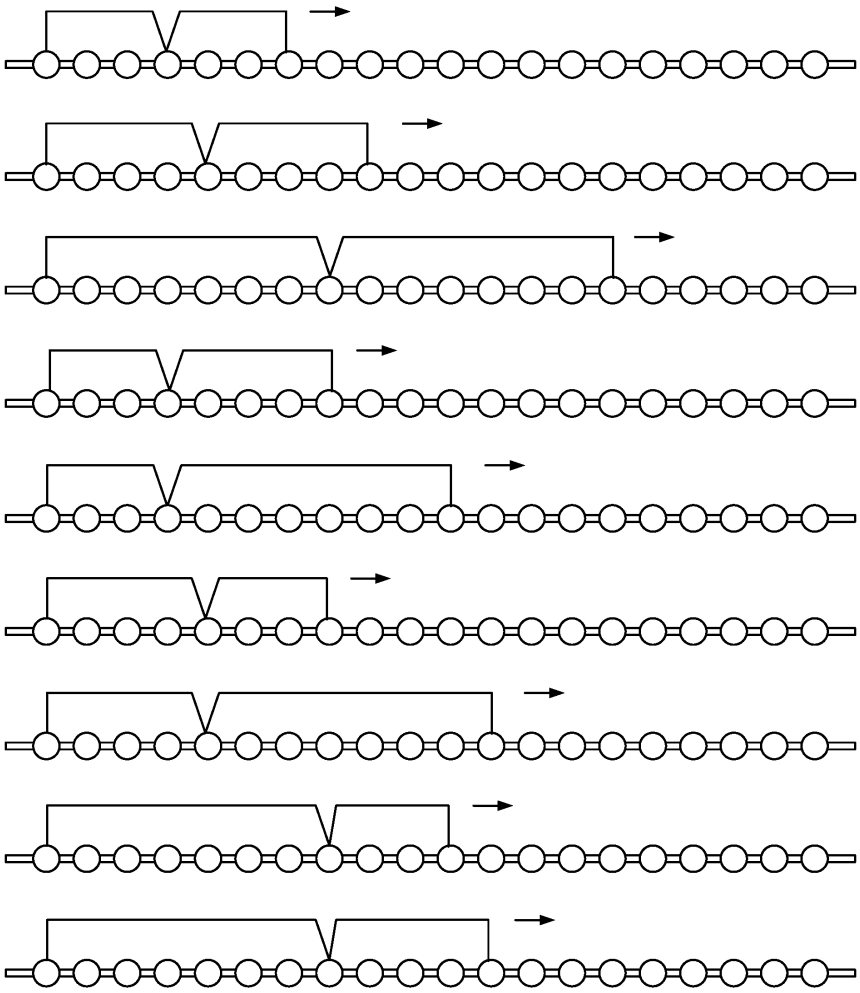
도면5



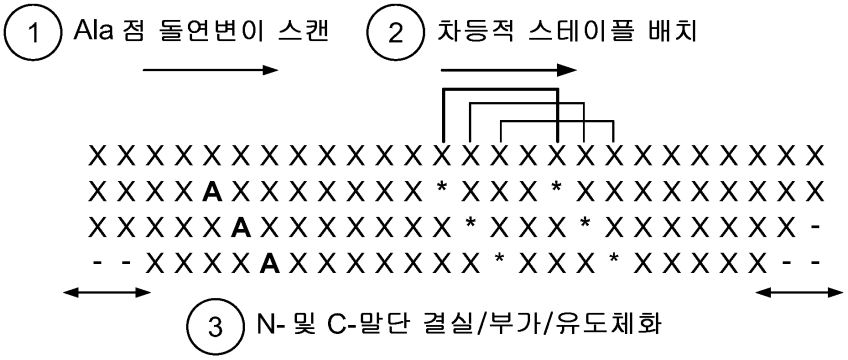
도면6



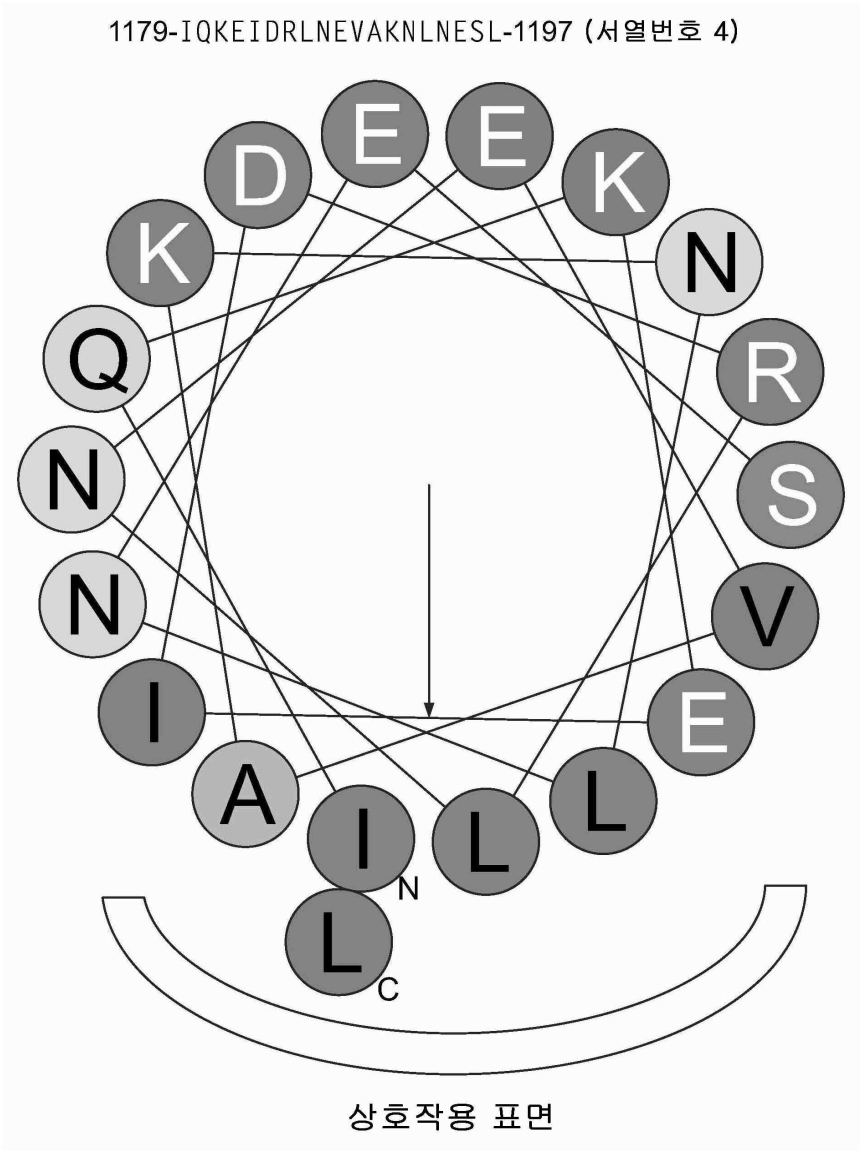
도면7



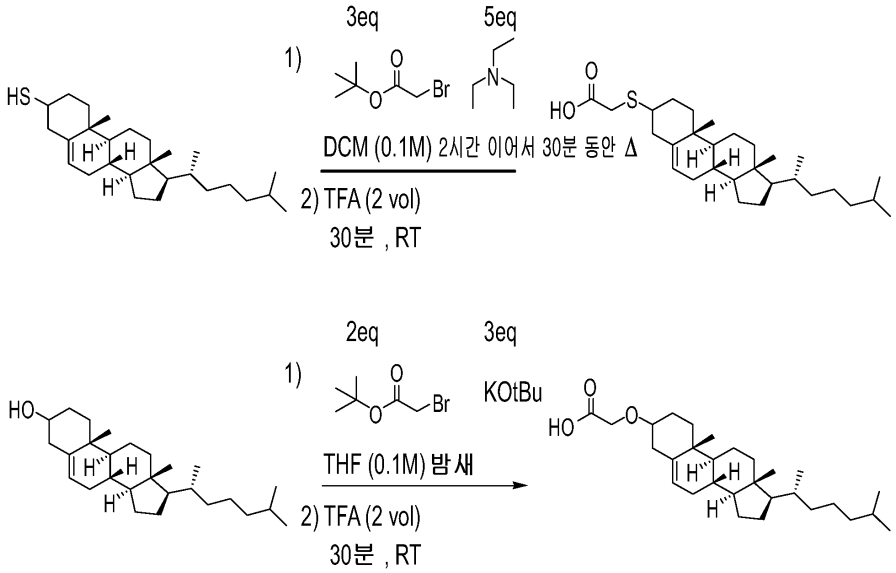
도면8


1 Ala 점 돌연변이 스캔
2 차등적 스테이플 배치
X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X X
X X X X A X X X X X X X * X X X * X X X X X X X X X
X X X X X A X X X X X X X X * X X X * X X X X X X X -
- - X X X X A X X X X X X X * X X X * X X X X X - -
3 N- 및 C-말단 결실/부가/유도체화

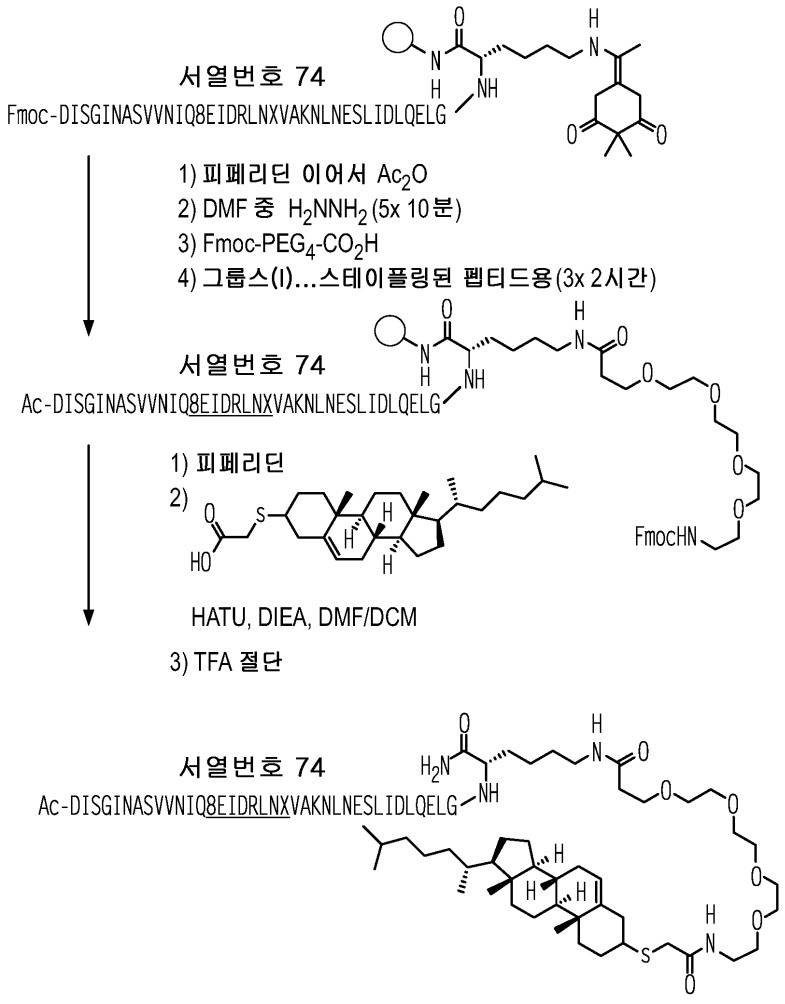
도면9


1179-IQKEIDRLNEVAKNLNESL-1197 (서열번호 4)
E
E
D
K
K
N
Q
R
N
S
N
V
I
E
A
L
I
L
N
L
C
상호작용 표면

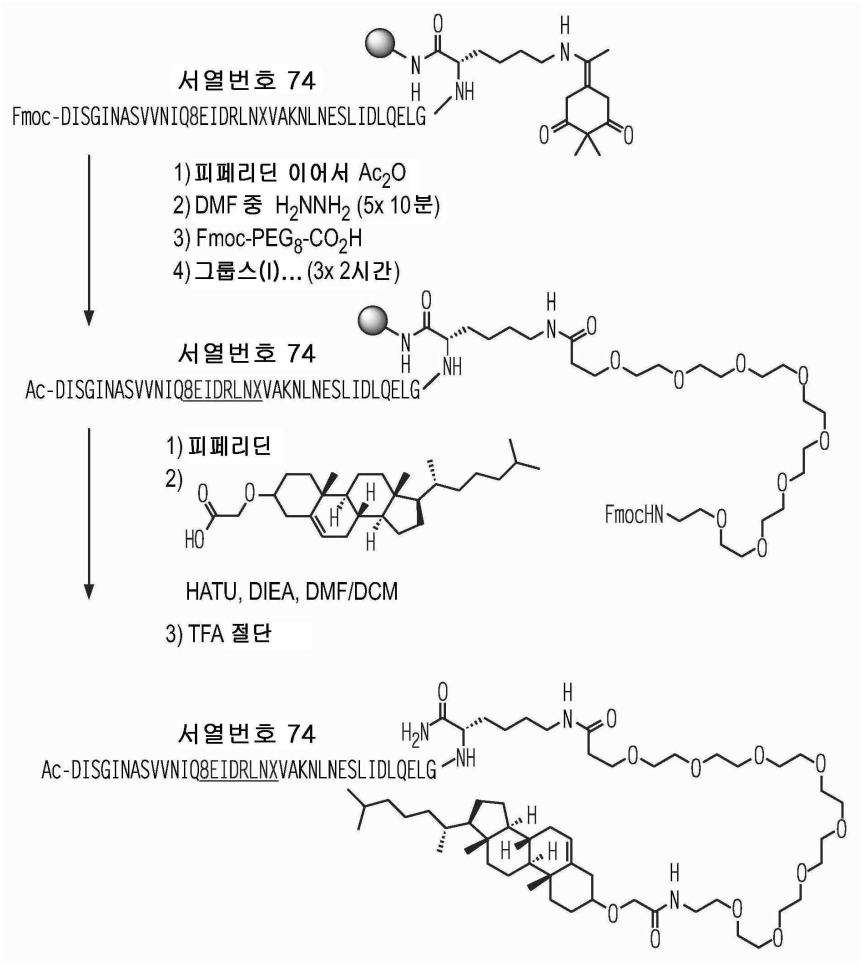
도면10


3eq
5eq
1)
DCM (0.1M) 2시간 이어서 30분 동안 Δ
2) TFA (2 vol)
30분 , RT
2eq
3eq
1)
KOtBu
THF (0.1M) 밤새
2) TFA (2 vol)
30분 , RT

도면11a


서열번호 74
Fmoc-DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG
1) 피페리딘 이어서 Ac2O
2) DMF 중 H2NNH2 (5x 10분)
3) Fmoc-PEG4-CO2H
4) 그룹스(I)...스테이플링된 펩티드용 (3x 2시간)
서열번호 74
Ac-DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG
1) 피페리딘
2)
FmocHN
HATU, DIEA, DMF/DCM
3) TFA 절단
서열번호 74
Ac-DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG

도면11b

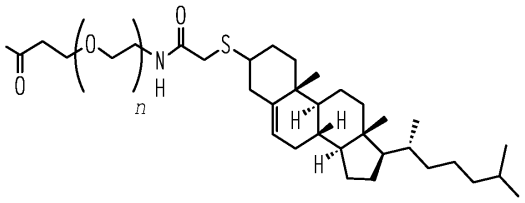

서열번호 74
Fmoc-DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG
1) 피페리딘 이어서 Ac2O
2) DMF 중 H2NNH2 (5x 10분)
3) Fmoc-PEG8-CO2H
4) 그룹스(I)... (3x 2시간)
서열번호 74
Ac-DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG
1) 피페리딘
2)
HATU, DIEA, DMF/DCM
3) TFA 절단
서열번호 74
Ac-DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG

도면12

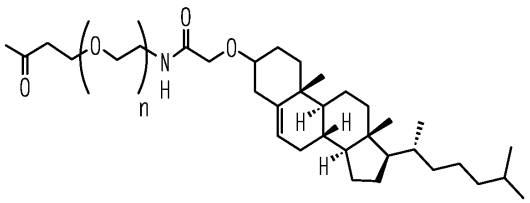
i, i+7 스테이플링된 코어 템플릿 서열 + N- 및 C-말단 연장(aa 1168-1205) 및 PEG-티오콜레스테롤 또는 PEG-콜레스테롤 모이어티로 C-말단 유도체화:

DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQEL	(서열번호 5) 스테이플링되지 않음
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQEL GK*	(서열번호 6) 스테이플링되지 않음
DISGINASVV8IQKEIDXLNEVAKNLNESLIDLQEL GK*	(서열번호 7) 스테이플 A
DISGINASVVN8QKEIDRXNEVAKNLNESLIDLQELG K*	(서열번호 8) 스테이플 B
DISGINASVVNI8KEIDRLXEVAKNLNESLIDLQELG K*	(서열번호 9) 스테이플 C
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELG K*	(서열번호 10) 스테이플 D
DISGINASVVNIQK8IDRLNEXAKNLNESLIDLQELG K*	(서열번호 11) 스테이플 E
DISGINASVVNIQKE8DRLNEVXKNLNESLIDLQELG K*	(서열번호 12) 스테이플 F
DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELG K*	(서열번호 13) 스테이플 G
DISGINASVVNIQKEID8LNEVAKXLNESLIDLQELG K*	(서열번호 14) 스테이플 H
DISGINASVVNIQKEIDR8NEVAKNXNESLIDLQELG K*	(서열번호 15) 스테이플 I
DISGINASVVNIQKEIDRL8EVAKNLXESLIDLQELG K*	(서열번호 16) 스테이플 J
DISGINASVVNIQKEIDRLN8VAKNLNXSLIDLQELG K*	(서열번호 17) 스테이플 K
DISGINASVVNIQKEIDRLNE8AKNLNEXLIDLQELG K*	(서열번호 18) 스테이플 L
DISGINASVVNIQKEIDRLNEV8KNLNESXIDLQELG K*	(서열번호 19) 스테이플 M
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA8NLNESLXDLQELG K*	(서열번호 20) 스테이플 N
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAK8LNESLIXLQELG K*	(서열번호 21) 스테이플 O

* =

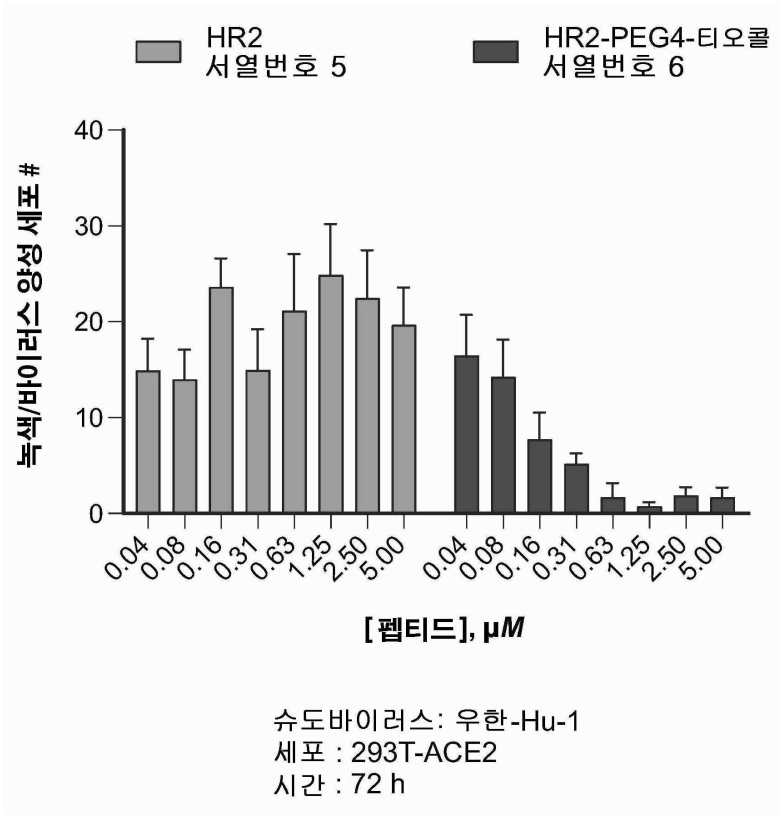


또는

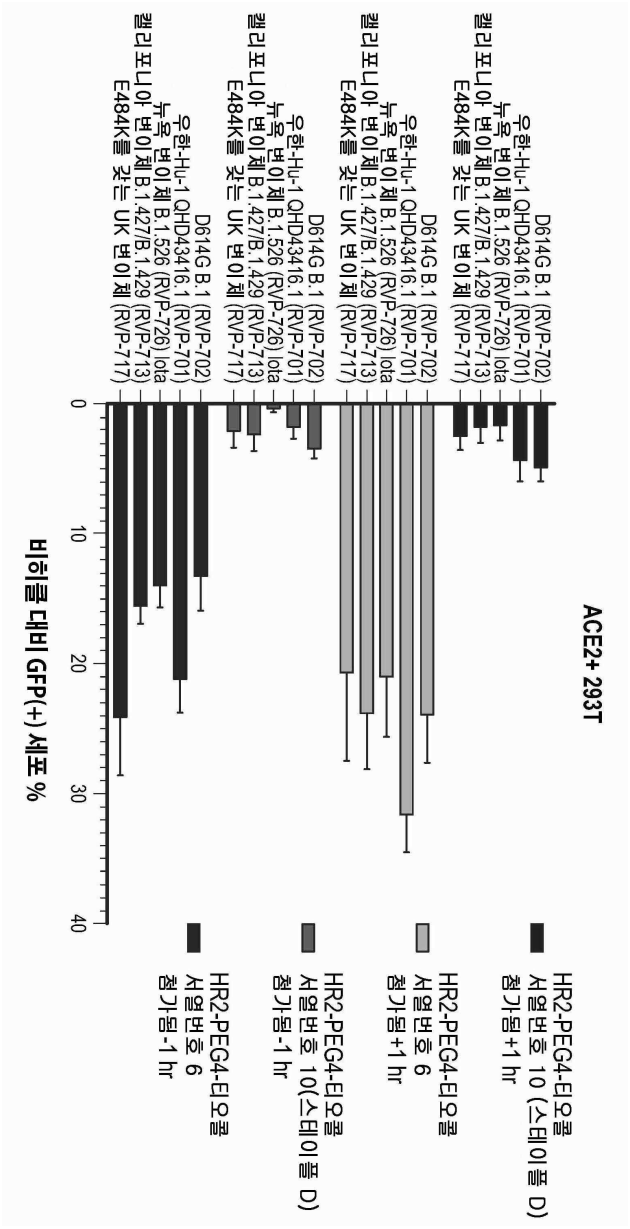


n = 1-36

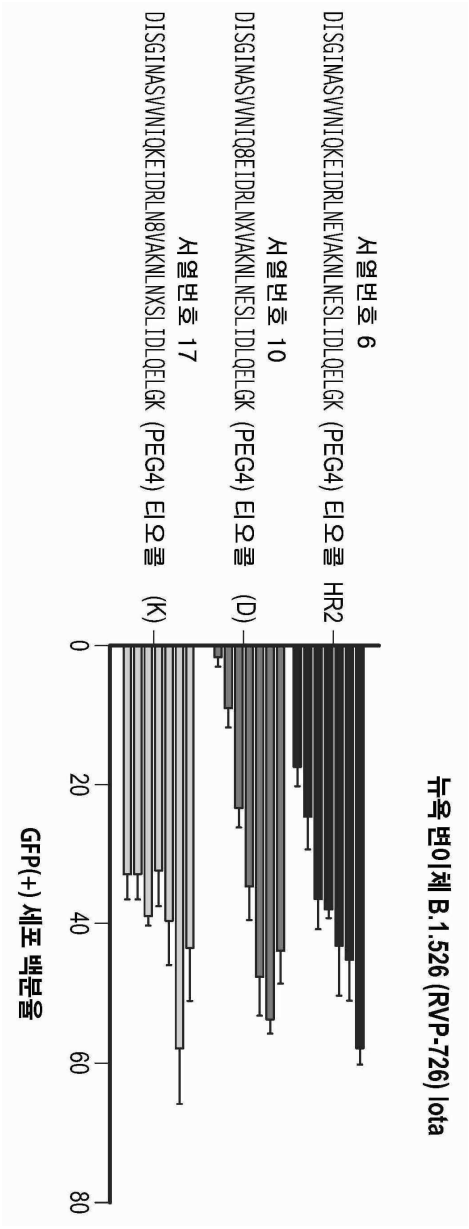
도면13


HR2
서열번호 5
HR2-PEG4-티오콜
서열번호 6
녹색/바이러스 양성 세포 #
40
30
20
10
0
0.04
0.08
0.16
0.31
0.63
1.25
2.50
5.00
[펩티드], μM
슈도바이러스: 우한-Hu-1
세포 : 293T-ACE2
시간 : 72 h

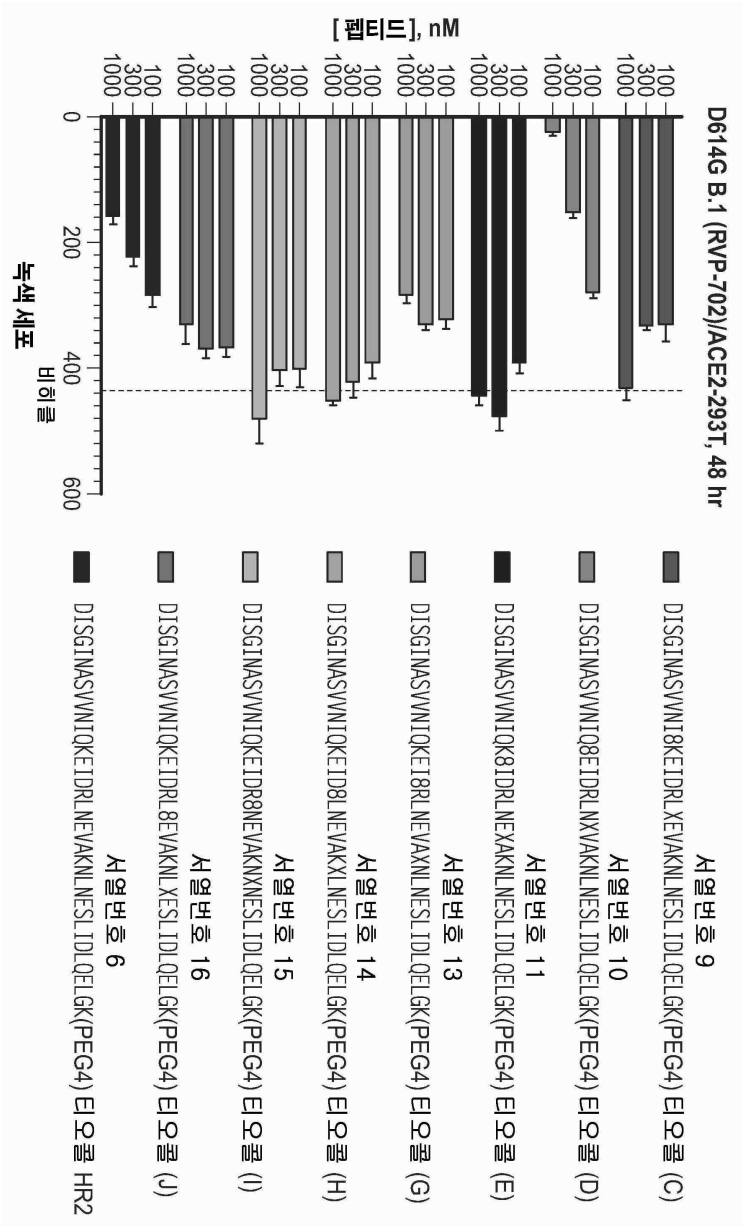
도면14


ACE2+ 293T
비히클 대비 GFP(+) 세포 %
0
10
20
30
40
D614G B.1 (RVP-702)
우한-Hu-1 QHD43416.1 (RVP-701)
뉴욕 변이체 B.1.526 (RVP-726) Iota
캘리포니아 변이체 B.1.427/B.1.429 (RVP-713)
E484K를 갖는 UK 변이체 (RVP-717)
D614G B.1 (RVP-702)
우한-Hu-1 QHD43416.1 (RVP-701)
뉴욕 변이체 B.1.526 (RVP-726) Iota
캘리포니아 변이체 B.1.427/B.1.429 (RVP-713)
E484K를 갖는 UK 변이체 (RVP-717)
D614G B.1 (RVP-702)
우한-Hu-1 QHD43416.1 (RVP-701)
뉴욕 변이체 B.1.526 (RVP-726) Iota
캘리포니아 변이체 B.1.427/B.1.429 (RVP-713)
E484K를 갖는 UK 변이체 (RVP-717)
D614G B.1 (RVP-702)
우한-Hu-1 QHD43416.1 (RVP-701)
뉴욕 변이체 B.1.526 (RVP-726) Iota
캘리포니아 변이체 B.1.427/B.1.429 (RVP-713)
E484K를 갖는 UK 변이체 (RVP-717)
HR2-PEG4-티오콜
서열번호 10 (스테이플 D)
첨가됨+1 hr
HR2-PEG4-티오콜
서열번호 6
첨가됨+1 hr
HR2-PEG4-티오콜
서열번호 10(스테이플 D)
첨가됨-1 hr
HR2-PEG4-티오콜
서열번호 6
첨가됨-1 hr

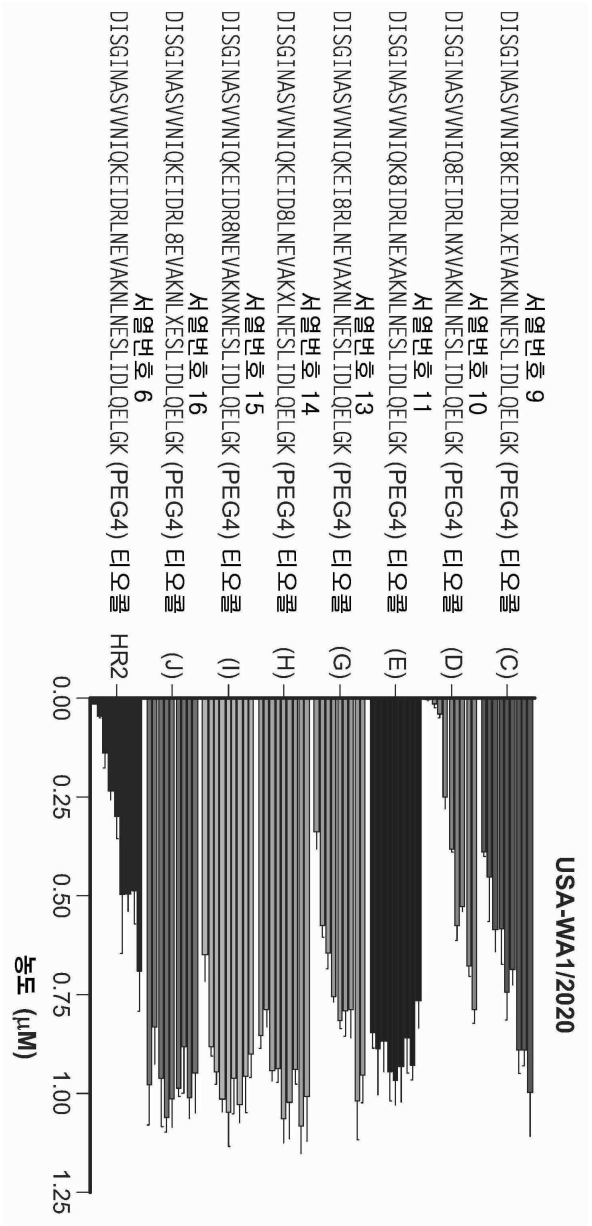
도면15


서열번호 6
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 17
DISGINASVVNIQKEIDRLN8VAKNLNXSLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (K)
뉴욕 변이체 B.1.526 (RVP-726) Iota
GFP(+) 세포 백분율
0
20
40
60
80

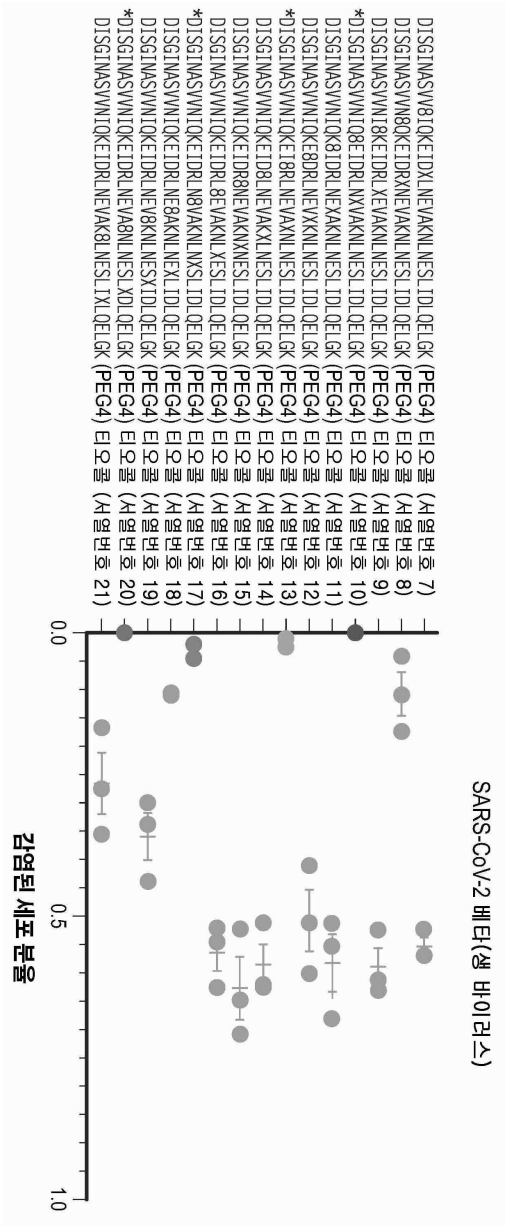
도면16


D614G B.1 (RVP-702)/ACE2-293T, 48 hr
[펩티드], nM
100
300
1000
0
200
400
600
녹색 세포
비히클
서열번호 9
DISGINASVVNIQKEIDRLXEVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (C)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (D)
서열번호 11
DISGINASVVNIQK8IDRLNEXAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (E)
서열번호 13
DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (G)
서열번호 14
DISGINASVVNIQKEID8LNEVAKXLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (H)
서열번호 15
DISGINASVVNIQKEIDR8NEVAKNXNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (I)
서열번호 16
DISGINASVVNIQKEIDRL8EVAKNLXESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (J)
서열번호 6
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 HR2

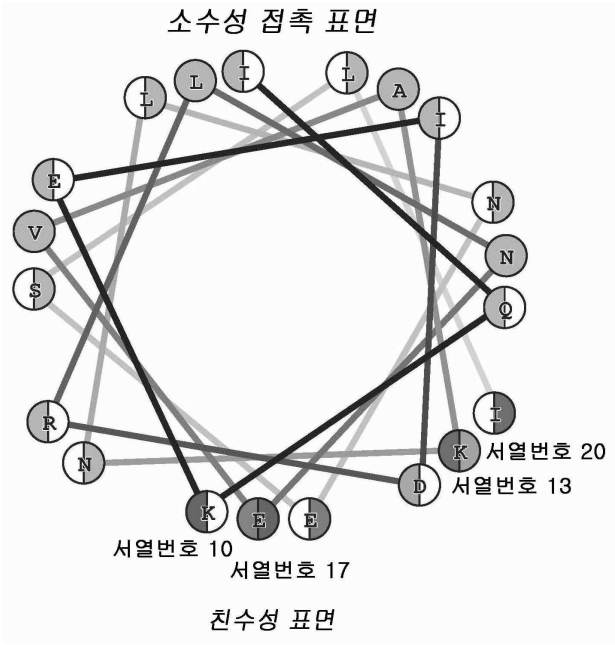
도면17


USA-WA1/2020
농도 (μM)
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
1.25
HR2
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
(J)
DISGINASVVNIQKEIDRL8EVAKNLXESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 16
(I)
DISGINASVVNIQKEIDR8NEVAKNXNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 15
(H)
DISGINASVVNIQKEID8LNEVAKXLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 14
(G)
DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 13
(E)
DISGINASVVNIQK8IDRLNEXAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 11
(D)
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 10
(C)
DISGINASVVNI8KEIDRLXEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 9
서열번호 6

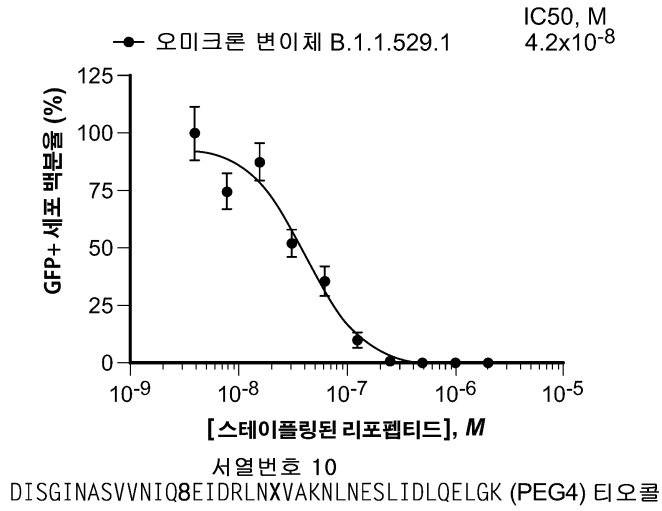
도면18a


DISGINASVVI8IQKEIDXLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 7)
DISGINASVVN8QKEIDRXNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 8)
DISGINASVVNI8KEIDRLXEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 9)
*DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 10)
DISGINASVVNIQK8IDRLNEXAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 11)
DISGINASVVNIQKE8DRLNEVXKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 12)
*DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 13)
DISGINASVVNIQKEID8LNEVAKXLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 14)
DISGINASVVNIQKEIDR8NEVAKNXNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 15)
DISGINASVVNIQKEIDRL8EVAKNLXESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 16)
*DISGINASVVNIQKEIDRLN8VAKNLNXSLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 17)
DISGINASVVNIQKEIDRLNE8AKNLNEXLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 18)
DISGINASVVNIQKEIDRLNEV8KNLNESXIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 19)
*DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA8NLNESLXDLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 20)
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAK8LNESLIXLQELGK (PEG4) 티오콜 (서열번호 21)
0.0
0.5
1.0
감염된 세포 분율
SARS-CoV-2 베타(생 바이러스)

도면18b



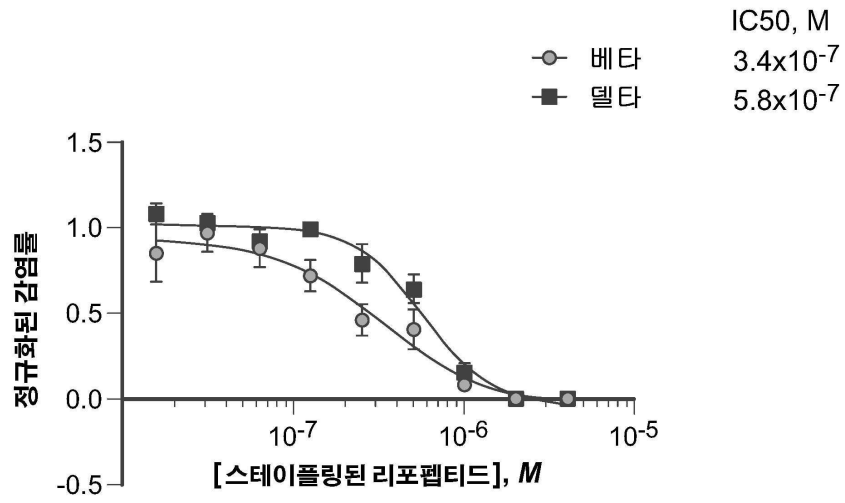
도면19



서열번호 10

DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜

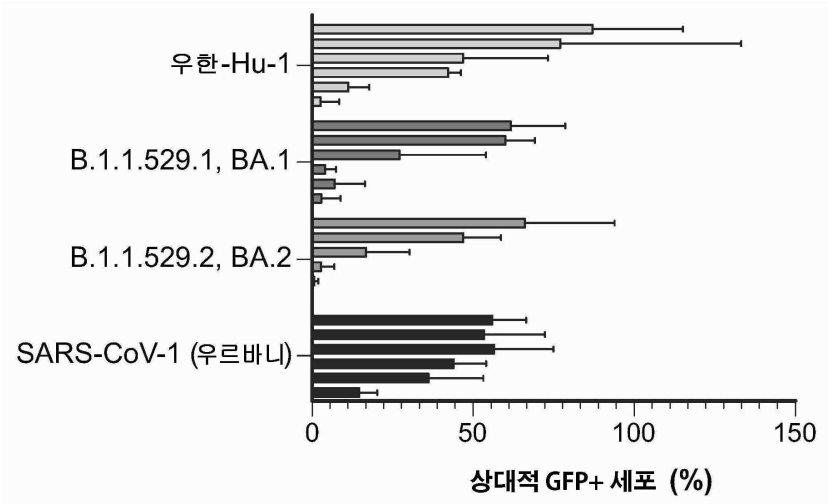
도면20



서열번호 10

DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜

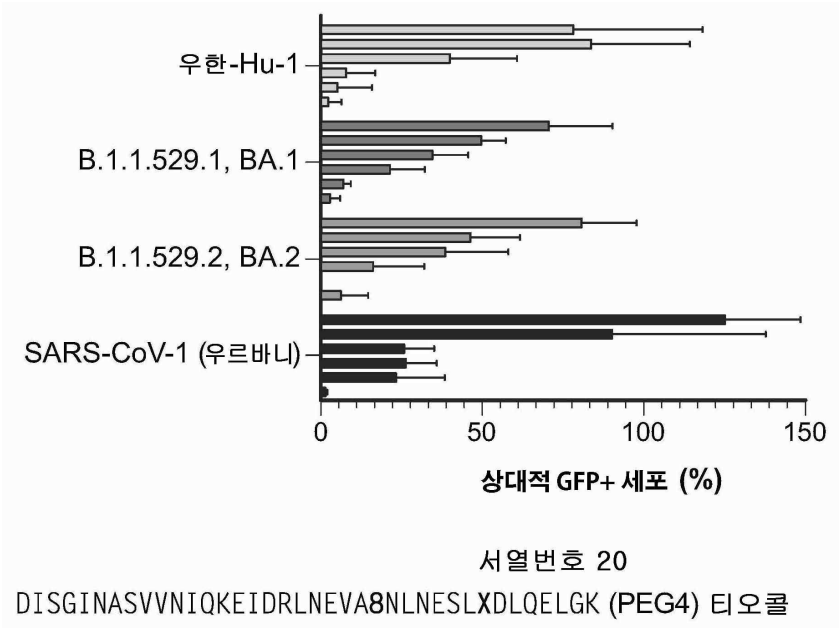
도면21



서열번호 13

DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜

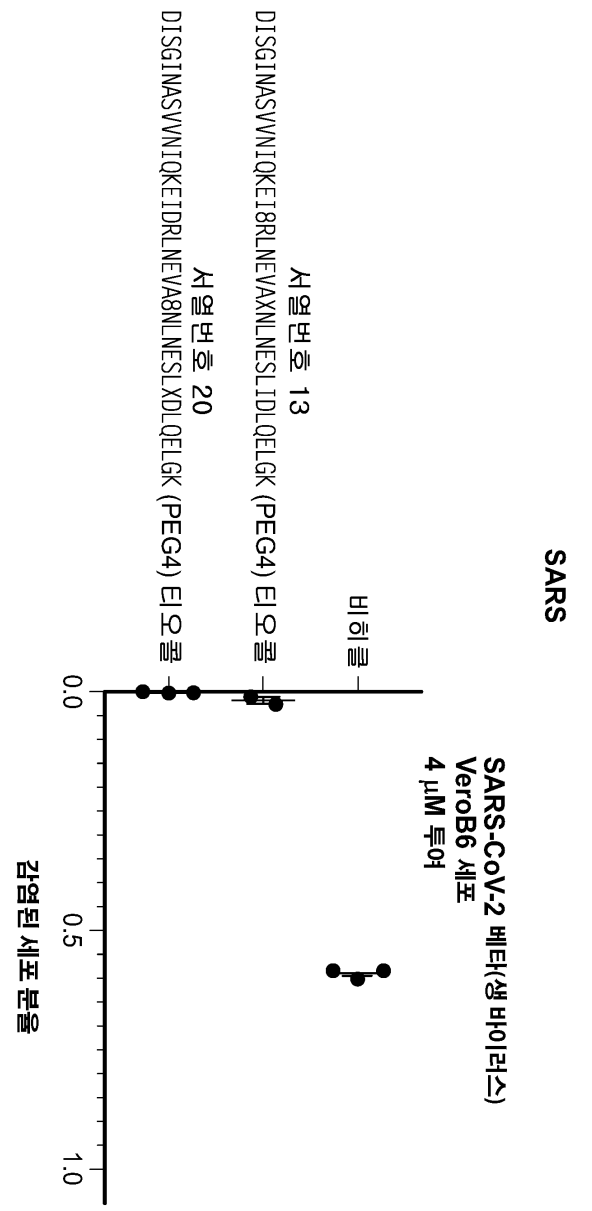
도면22



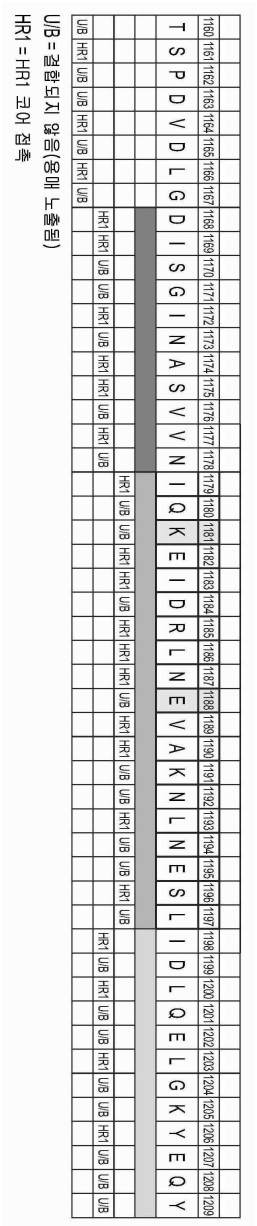
서열번호 20

DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA8NLNESLXDLQELGK (PEG4) 티오콜

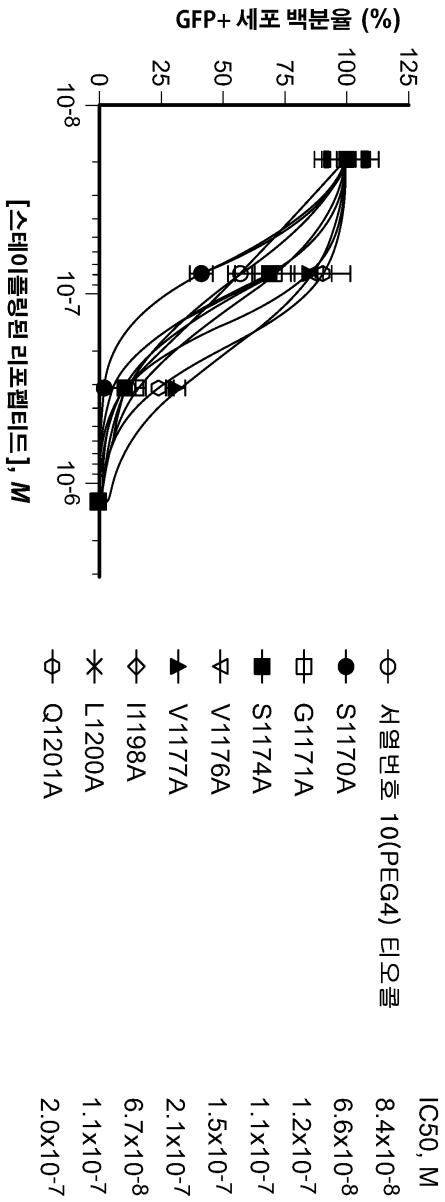
도면23


SARS
SARS-CoV-2 베타(생 바이러스)
VeroB6 세포
4 μM 투여
감염된 세포 분율
0.0
0.5
1.0
비히클
서열번호 13
DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜
서열번호 20
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA8NLNESLXDLQELGK (PEG4) 티오콜

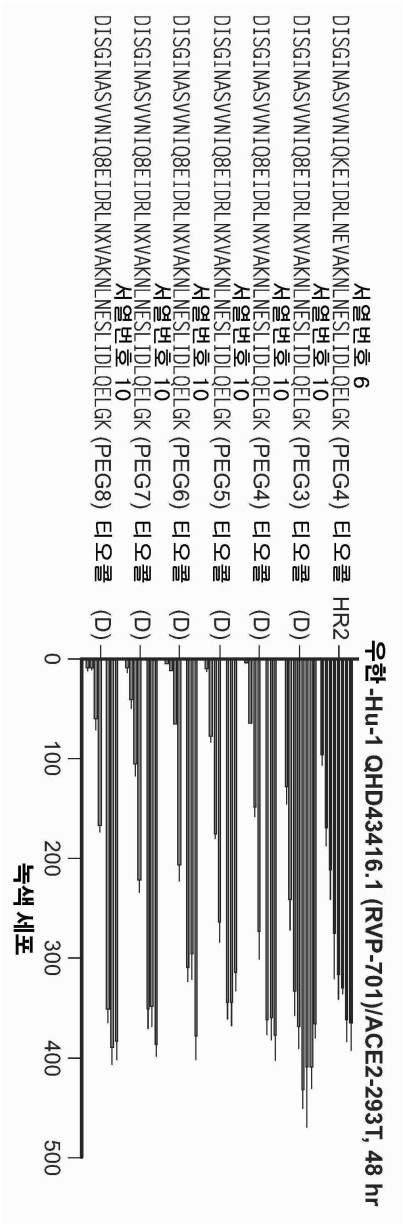
도면24a



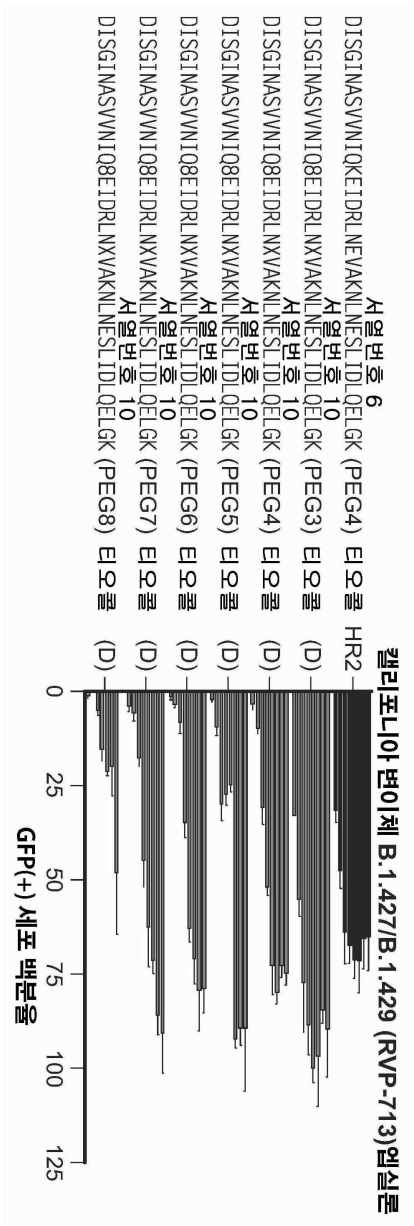
도면24b


GFP+ 세포 백분율 (%)
0
25
50
75
100
125
10-8
10-7
10-6
[스테이플링된 리포펩티드], M
서열번호 10(PEG4) 티오콜
S1170A
G1171A
S1174A
V1176A
V1177A
I1198A
L1200A
Q1201A
IC50, M
8.4x10-8
6.6x10-8
1.2x10-7
1.1x10-7
1.5x10-7
2.1x10-7
6.7x10-8
1.1x10-7
2.0x10-7

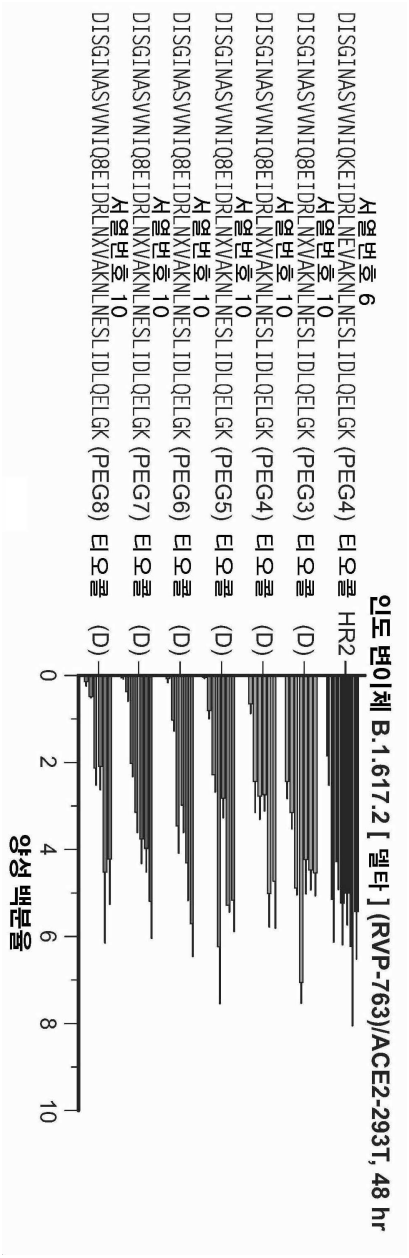
도면25a


우한-Hu-1 QHD43416.1 (RVP-701)/ACE2-293T, 48 hr
녹색 세포
0
100
200
300
400
500
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2 (D)
서열번호 6
DISGINASVVNIQKEIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)

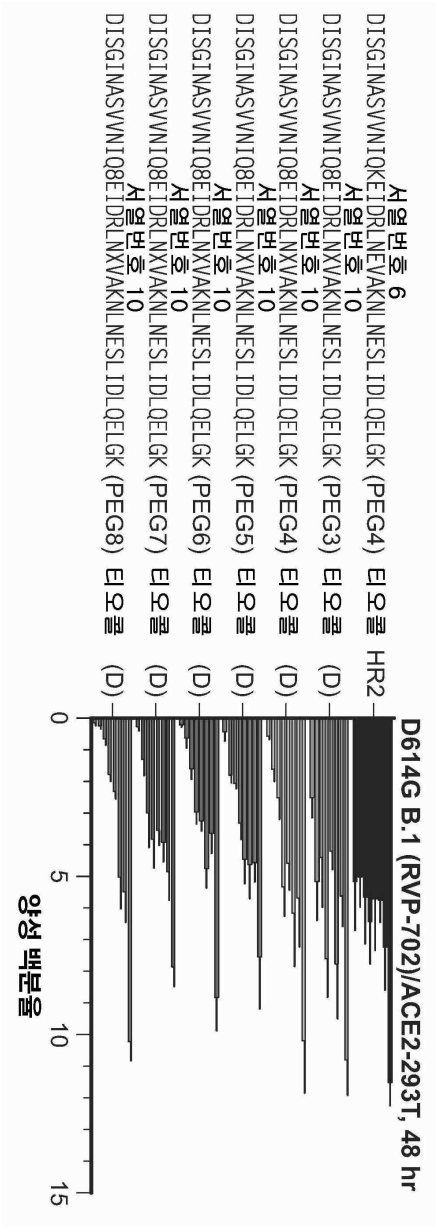
도면25b


캘리포니아 변이체 B.1.427/B.1.429 (RVP-713)엡실론
GFP(+) 세포 백분율
0
25
50
75
100
125
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2
서울번호 6
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)

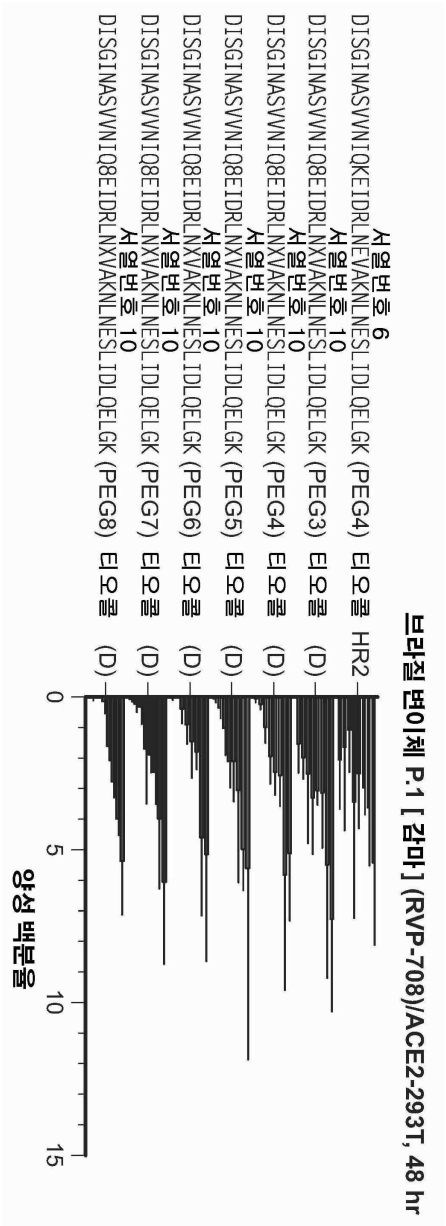
도면25c


인도 변이체 B.1.617.2 [델타] (RVP-763)/ACE2-293T, 48 hr
형광 백분율 양성
0
2
4
6
8
10
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2 (D)
서울번호 6
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서울번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)

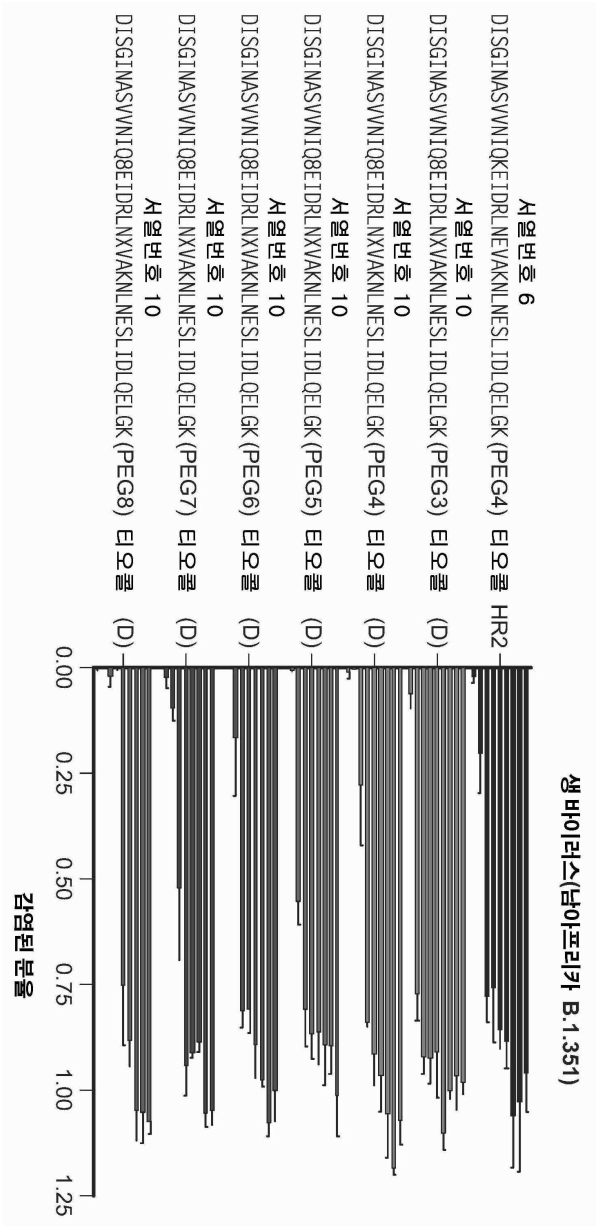
도면25d


D614G B.1 (RVP-702)/ACE2-293T, 48 hr
상대 루시퍼라제 활성
0
5
10
15
HR2 티오콜 (D)
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 6
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)

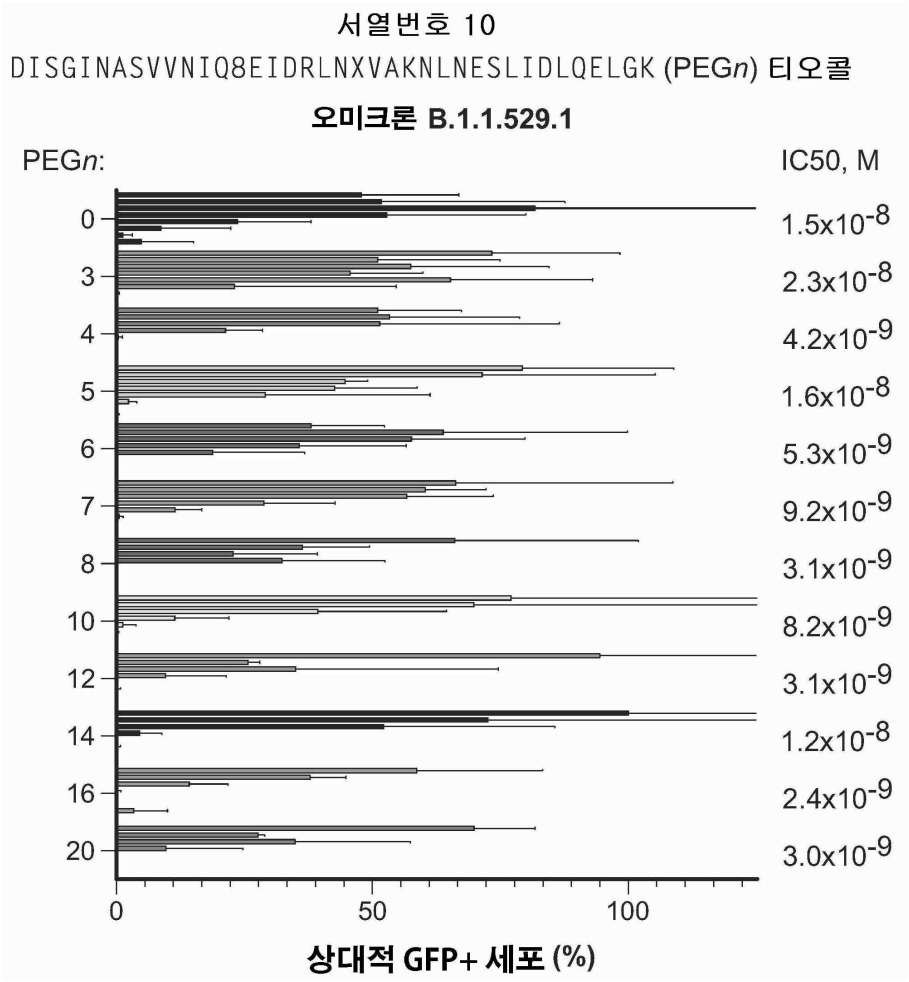
도면25e


브라질 변이체 P.1 [감마] (RVP-708)/ACE2-293T, 48 hr
양성 백분율
0
5
10
15
서열 번호 6
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2 (D)
서열 번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서열 번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열 번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서열 번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서열 번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서열 번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)

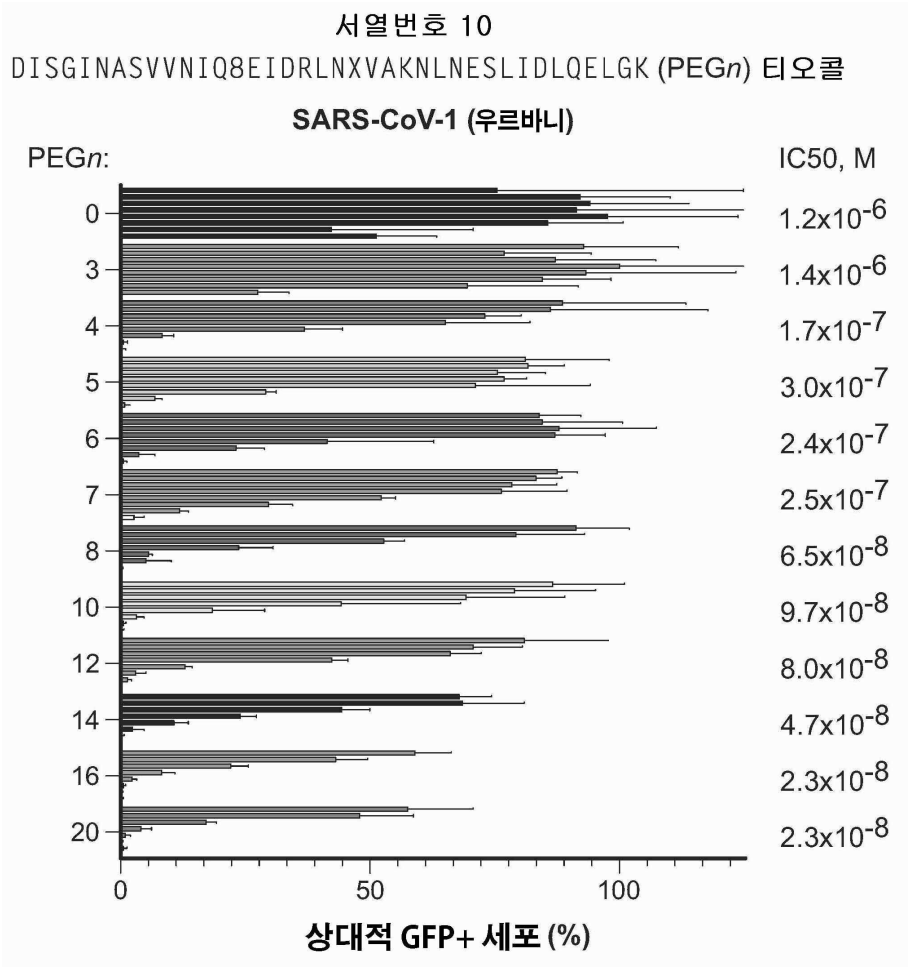
도면26


서열번호 6 DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2
서열번호 10 DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서열번호 10 DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 10 DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서열번호 10 DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서열번호 10 DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서열번호 10 DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)
생 바이러스(남아프리카 B.1.351)
감염된 분율
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
1.25

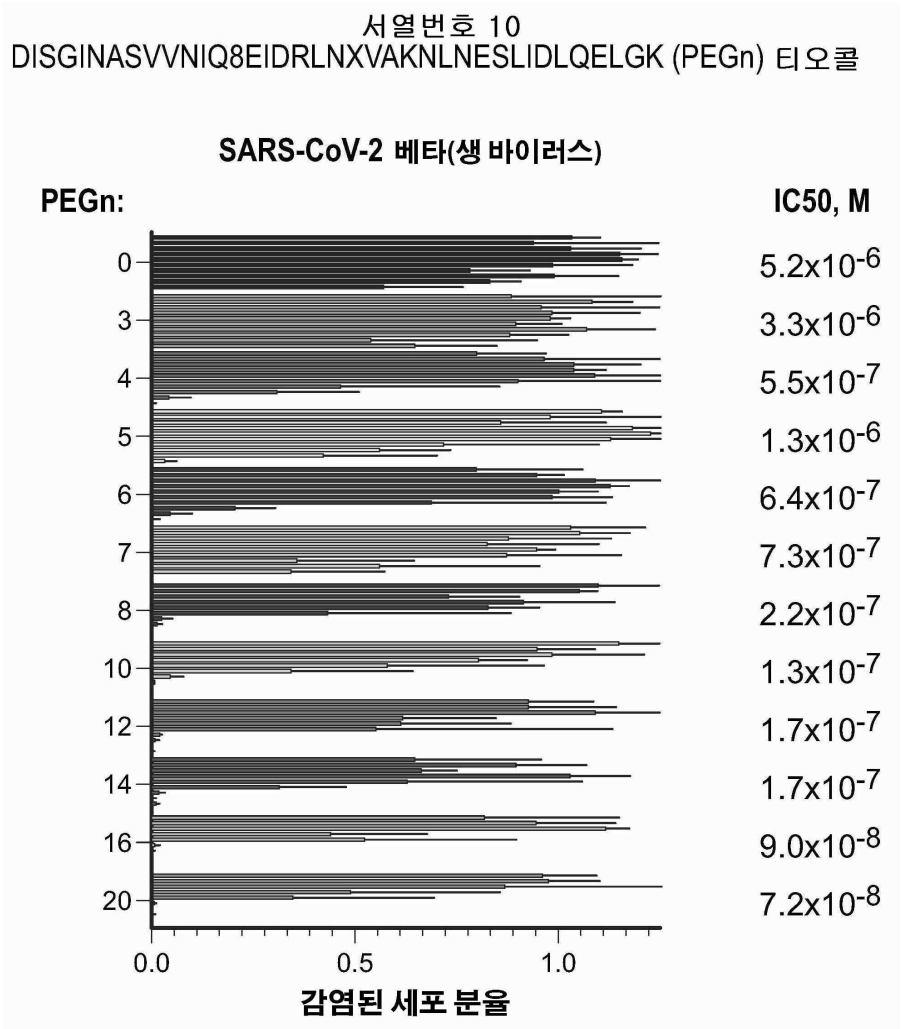
도면27


서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEGn) 티오콜
오미크론 B.1.1.529.1
PEGn:
IC50, M
0
3
4
5
6
7
8
10
12
14
16
20
1.5x10-8
2.3x10-8
4.2x10-9
1.6x10-8
5.3x10-9
9.2x10-9
3.1x10-9
8.2x10-9
3.1x10-9
1.2x10-8
2.4x10-9
3.0x10-9
0
50
100
상대적 GFP+ 세포 (%)

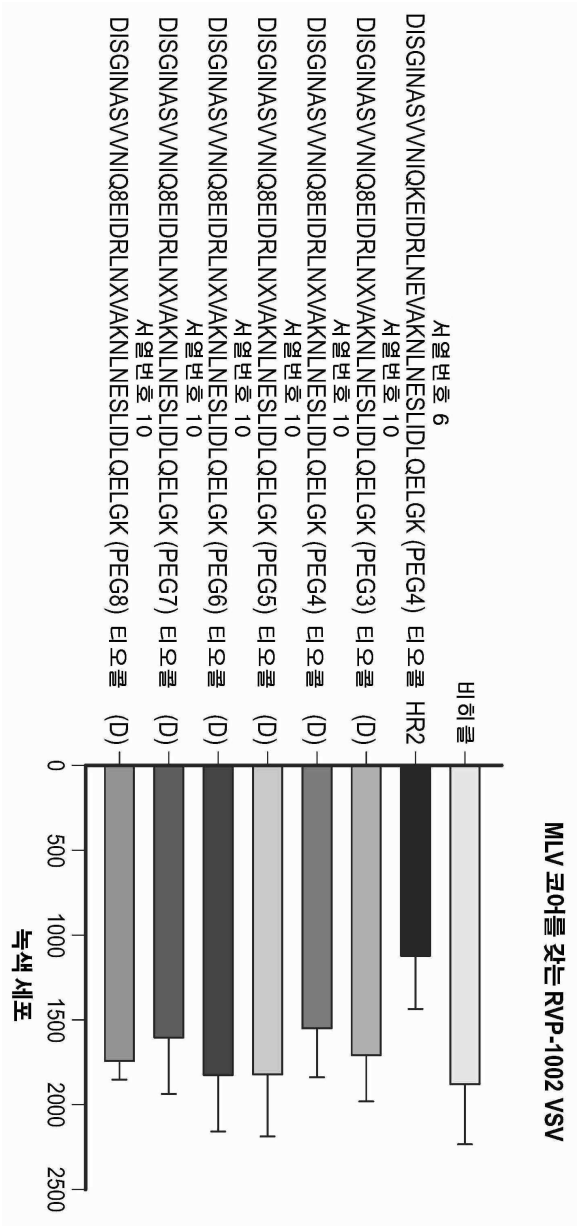
도면28


서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEGn) 티오콜
SARS-CoV-1 (우르바니)
PEGn:
IC50, M
0
3
4
5
6
7
8
10
12
14
16
20
1.2x10-6
1.4x10-6
1.7x10-7
3.0x10-7
2.4x10-7
2.5x10-7
6.5x10-8
9.7x10-8
8.0x10-8
4.7x10-8
2.3x10-8
2.3x10-8
0
50
100
상대적 GFP+ 세포 (%)

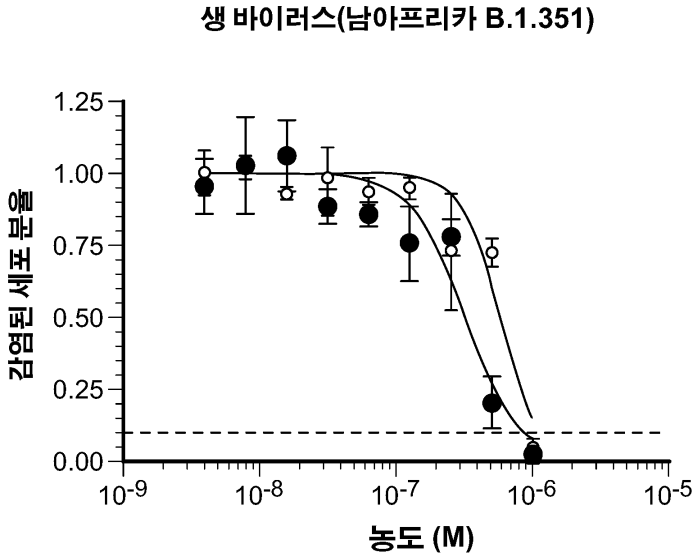
도면29


서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEGn) 티오콜
SARS-CoV-2 베타(생 바이러스)
PEGn:
IC50, M
0
3
4
5
6
7
8
10
12
14
16
20
5.2x10-6
3.3x10-6
5.5x10-7
1.3x10-6
6.4x10-7
7.3x10-7
2.2x10-7
1.3x10-7
1.7x10-7
1.7x10-7
9.0x10-8
7.2x10-8
0.0
0.5
1.0
감염된 세포 분율

도면30


MLV 코어를 갖는 RVP-1002 VSV
녹색 세포
0
500
1000
1500
2000
2500
비히클
DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 HR2
서열번호 6
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG3) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG5) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG6) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG7) 티오콜 (D)
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 티오콜 (D)

도면31



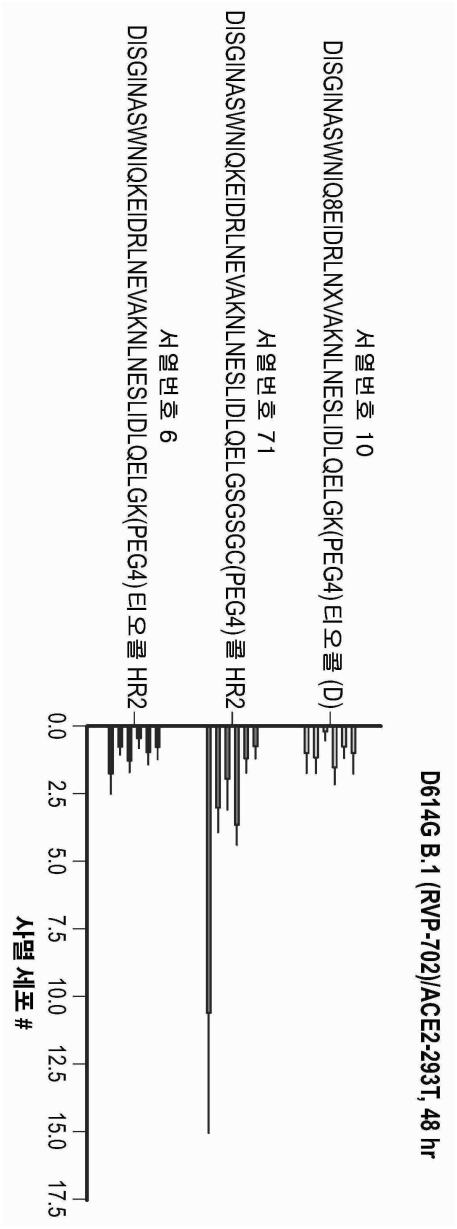
서열번호 10

● DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4) 티오콜 HR2

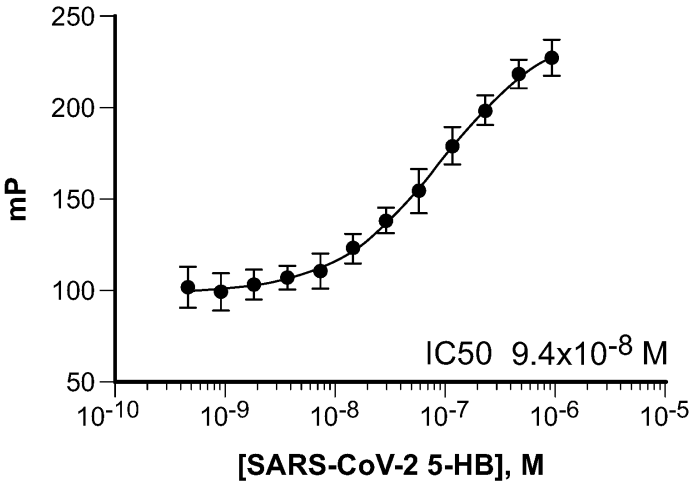
서열번호 71

○ DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSGSG (PEG4) 콜 HR2

도면32


D614G B.1 (RVP-702)/ACE2-293T, 48 hr
서열번호 10
DISGINASWNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 (D)
서열번호 71
DISGINASWNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSGSGC(PEG4)콜 HR2
서열번호 6
DISGINASWNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)티오콜 HR2
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
사멸 세포 #

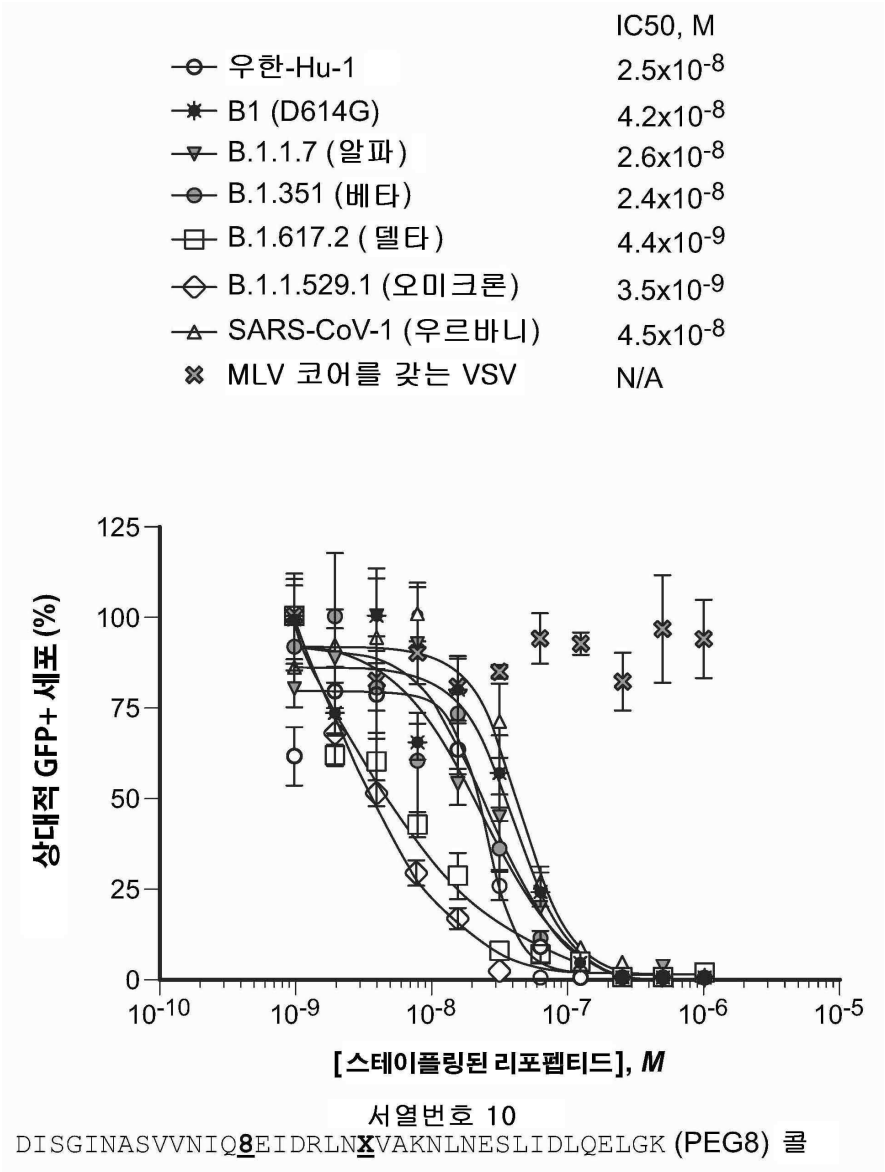
도면33



서열번호 10

DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 콜

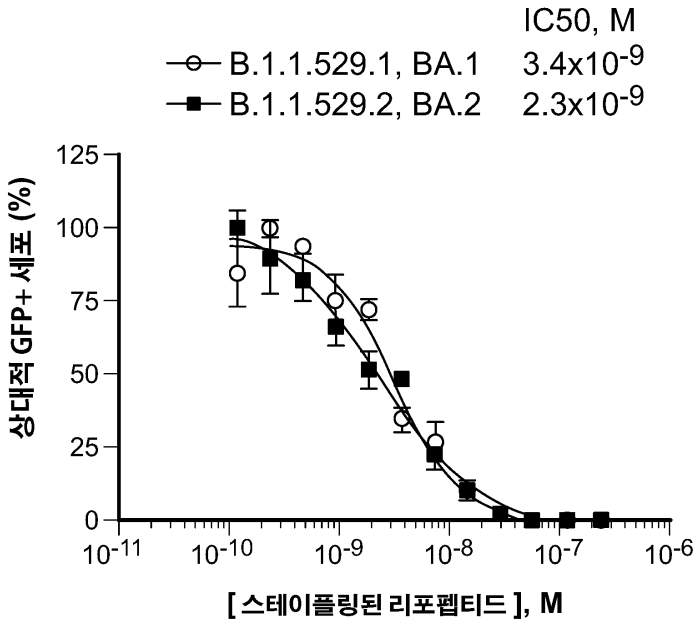
도면34



서열번호 10

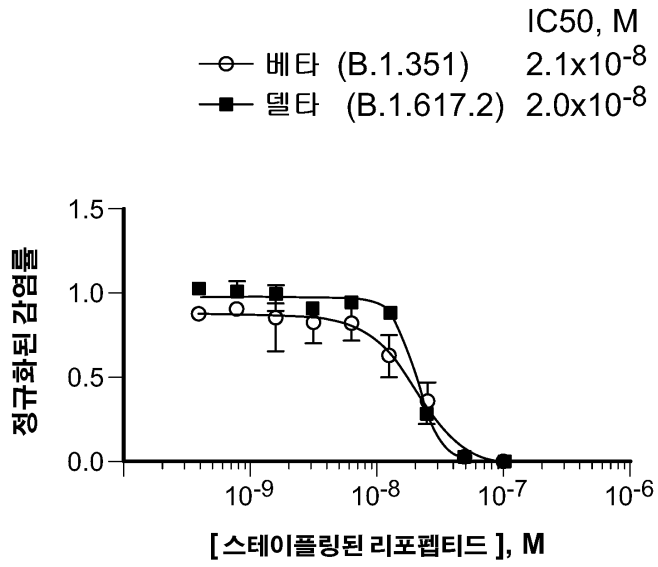
DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 콜

도면35



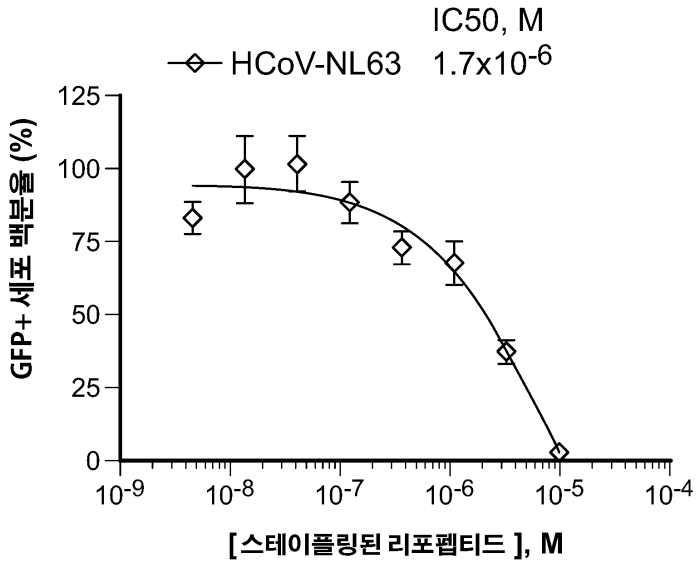
서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 콜

도면36



서열번호 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 콜

도면37



서열번호 10

DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) 콜

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.