



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0066019  
(43) 공개일자 2023년05월12일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>A61K 9/107</i> (2006.01) <i>A61K 31/352</i> (2006.01)<br/> <i>A61K 31/473</i> (2006.01) <i>A61K 31/7084</i> (2006.01)<br/> <i>A61K 47/32</i> (2017.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <i>A61K 9/1075</i> (2013.01)<br/> <i>A61K 31/352</i> (2023.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-7010998<br/>                 (22) 출원일자(국제) 2021년09월08일<br/>                 심사청구일자 없음<br/>                 (85) 번역문제출일자 2022년03월30일<br/>                 (86) 국제출원번호 PCT/US2021/049365<br/>                 (87) 국제공개번호 WO 2022/055929<br/>                 국제공개일자 2022년03월17일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>                 63/075,560 2020년09월08일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>                 더 보드 오브 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 텍사스 시스템<br/>                 미국, 텍사스 78701, 오스틴, 210 웨스트 7 스트리트</p> <p>(72) 발명자<br/>                 가오 진밍<br/>                 미국, 텍사스 75230, 달라스, 6804 미모사 레인<br/>                 리 수신<br/>                 미국, 텍사스 75235, 달라스, 5940 포레스트 파크 로드 넘버2110</p> <p>(74) 대리인<br/>                 특허법인한일</p> |
|--|--|

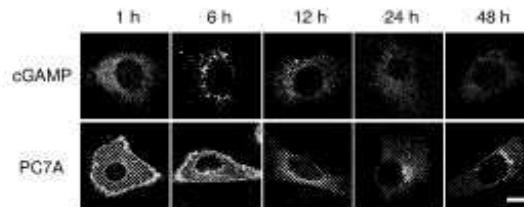
전체 청구항 수 : 총 51 항

(54) 발명의 명칭 다가 STING 활성화 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

암 치료에 유용한 치료용 pH 반응성 조성물이 본 명세서에 기재되어 있다. 본 조성물은 PC7A와 같은 STING 활성화 중합체 미셀을 cGAMP와 같은 비-펩타이드 STING 작용제와 조합하는 것을 포함한다. 암 치료에서 이러한 조성물을 투여하는 방법이 또한 개시된다. 이러한 방법은 고형 종양의 치료에서 종양내 주사에 의한 약제학적 조성물의 투여를 포함한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

*A61K 31/473* (2013.01)

*A61K 31/7084* (2013.01)

*A61K 47/32* (2013.01)

*A61P 35/00* (2018.01)

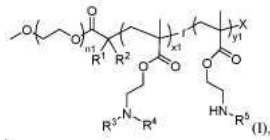
---

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

(i) 화학식 (I)의 블록 공중합체(block copolymer), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물:



(상기 식에서,

$n_1$ 은 10 내지 200의 정수이고;

$x_1$ 은 20 내지 300의 정수이고;

$y_1$ 은 0 내지 10의 정수이고;

X는 할로젠, -OH, 또는 -C(O)OH이고;

r은 블록 공중합체에서  $x_1$  및  $y_1$  블록 순서로 임의성(randomness)을 나타내고;

$R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이고;

$R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬,  $C_3-C_{10}$  사이클로알킬 또는 아릴이거나;

$R^3$  및  $R^4$ 는 이들이 부착되는 해당 질소와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 고리를 형성하고;

$R^5$ 는 수소 또는 -C(O)CH<sub>3</sub>임);

(ii) 비-펩타이드(non-peptide) STING 작용제

를 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 2**

제1항에 있어서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬인, 약제학적 조성물.

**청구항 3**

제1항 또는 제2항에 있어서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 -CH<sub>3</sub>인, 약제학적 조성물.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬인, 약제학적 조성물.

**청구항 5**

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 또는 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>인, 약제학적 조성물.

**청구항 6**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 이들이 부착되는 해당 질소와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 고리를 형성하는, 약제학적 조성물.

**청구항 7**

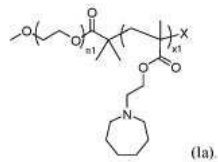
제1항 내지 제3항 또는 제6항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 함께 -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-인, 약제학적 조성물.

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, y<sub>1</sub>은 0인, 약제학적 조성물.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (I)의 블록 공중합체는 화학식 (Ia), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 구조를 갖는, 약제학적 조성물:



**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, n<sub>1</sub>은 60 내지 150 또는 100 내지 140의 정수인, 약제학적 조성물.

**청구항 11**

제10항에 있어서, n<sub>1</sub>은 100 내지 140인, 약제학적 조성물.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, x<sub>1</sub>은 50 내지 200, 60 내지 160, 또는 90 내지 140의 정수인, 약제학적 조성물.

**청구항 13**

제12항에 있어서, x<sub>1</sub>은 90 내지 140의 정수인, 약제학적 조성물.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, X는 할로젠인, 약제학적 조성물.

**청구항 15**

제14항에 있어서, X는 -Br인, 약제학적 조성물.

**청구항 16**

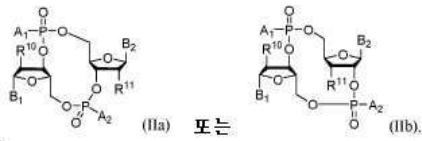
제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 비-펩타이드 STING 작용제는 사이클릭 디뉴클레오타이드(cyclic dinucleotide)인, 약제학적 조성물.

**청구항 17**

제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 cGAMP인, 약제학적 조성물.

**청구항 18**

제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 화학식 (IIa) 또는 화학식 (IIb)의 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 약제학적 조성물:



상기 식에서,

$A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 OH 또는 SH이고;

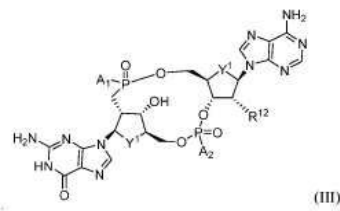
$B^1$  및  $B^2$ 는 각각 독립적으로 구아닌 또는 아데닌이고;

$R^{10}$ 은 H, 할로젠, OH,  $OCH_3$ 이고;

$R^{11}$ 은 할로젠 또는 OH이다.

**청구항 19**

제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 화학식 (III)의 구조를 갖는 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 약제학적 조성물:



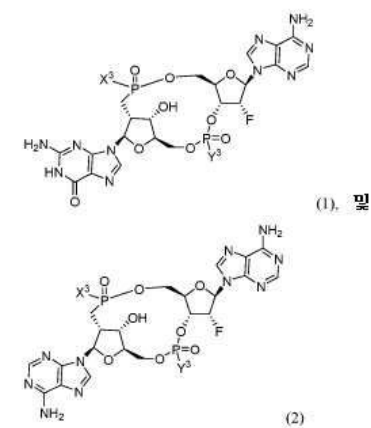
상기 식에서,

$A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 OH 또는 SH이고;

$Y^1$  및  $Y^2$ 는 각각 독립적으로 -CH- 또는 -O-이다.

**청구항 20**

제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는



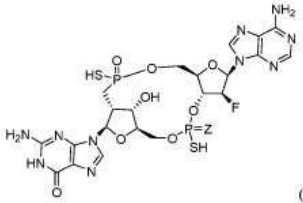
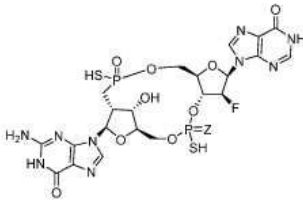
로부터 선택된 화합물

(상기 식에서,  $X^3$  및  $Y^3$ 은 각각 독립적으로 O 또는 S임); 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또

는 수화물인, 약제학적 조성물.

**청구항 21**

제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는

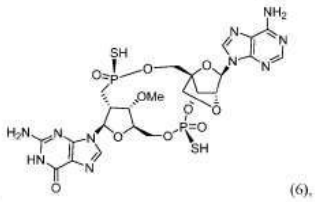
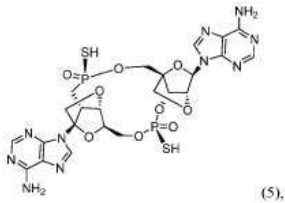


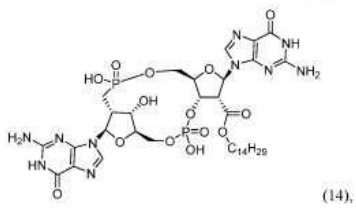
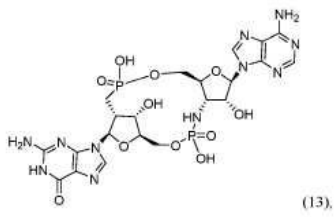
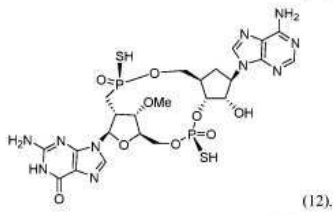
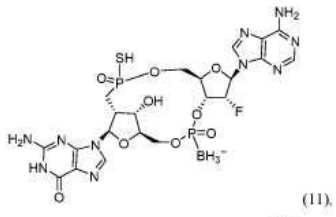
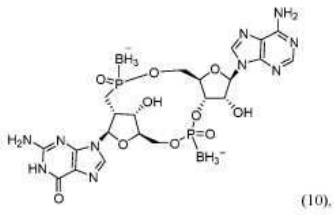
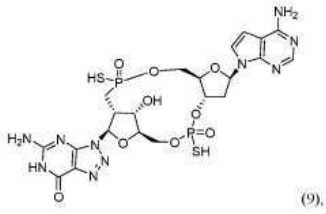
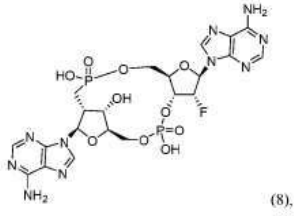
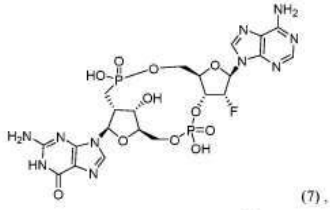
로부터 선택된 화합물

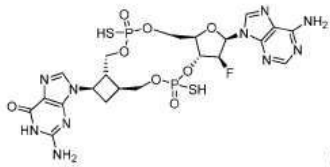
(상기 식에서, Z는 O 또는 S임); 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 약제학적 조성물.

**청구항 22**

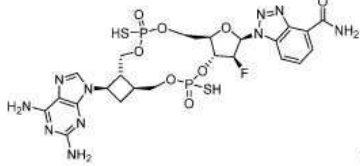
제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는







(15). 및

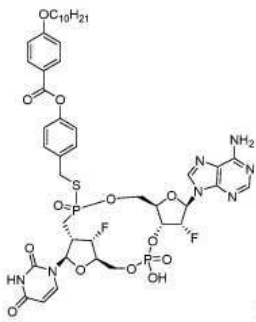


(16).

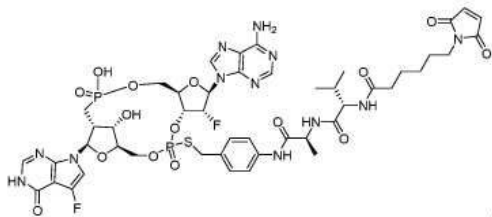
로부터 선택된 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 약제학적 조성물.

**청구항 23**

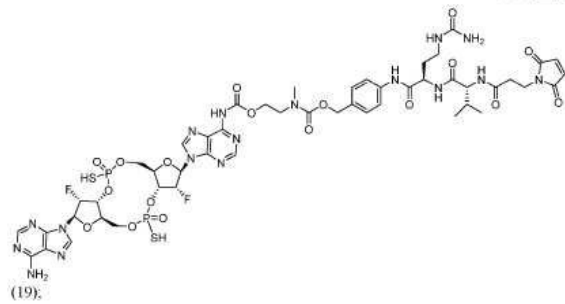
제16항에 있어서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는



(17).



(18). 또는

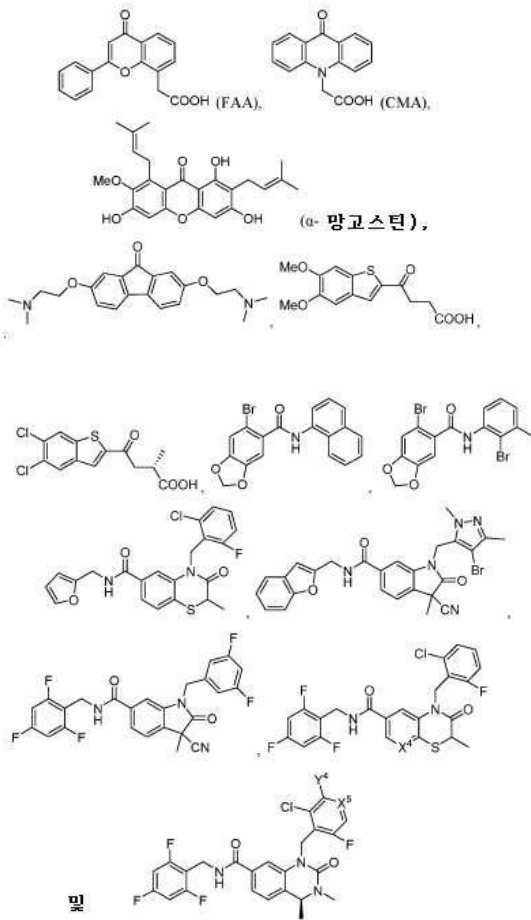


(19).

또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 24

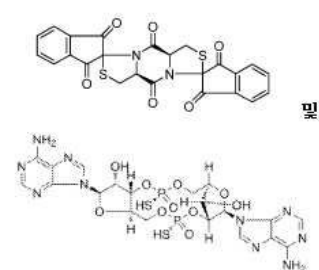
제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 비-궤타이드 STING 작용제는



(상기 식에서,  $X^4$ 는 CH 또는 N이고;  $X^5$ 는 CH 또는 N이고,  $Y^4$ 는  $NH_2$  또는  $CH_3$ 임)

또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

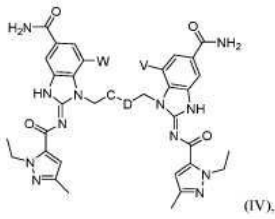
청구항 25



제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 비-궤타이드 STING 작용제는  
선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 26

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 비-궤타이드 STING 작용제는 화학식 (IV)의 구조를 갖는 화합물,  
또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물인, 약제학적 조성물:



상기 식에서,

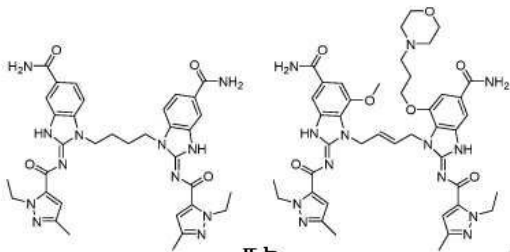
C-D는 알킬렌 또는 알케닐렌이고;

W는 H 또는 -OCH<sub>3</sub>이고;

V는 H 또는 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)알킬-(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)헤테로사이클이다.

**청구항 27**

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 비-펩타이드 STING 작용제는



인, 약제학적 조성물.

**청구항 28**

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 비-펩타이드 STING 작용제는 하나 이상의 미셀 (micelle) 내에서 블록 공중합체에 의해 캡슐화(encapsulation)되는, 약제학적 조성물.

**청구항 29**

제28항에 있어서, 미셀은 약 25 내지 약 50 nm의 직경을 갖는, 약제학적 조성물.

**청구항 30**

제28항에 있어서, 미셀은 1 μm 이하의 직경을 갖는, 약제학적 조성물.

**청구항 31**

제28항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 미셀은 pH 전이점(transition point)을 갖는, 약제학적 조성물.

**청구항 32**

제31항에 있어서, pH 전이점은 4 내지 8, 6 내지 7.5, 또는 4.5 내지 6.5인, 약제학적 조성물.

**청구항 33**

제31항에 있어서, 조성물은 0.25 또는 0.15 pH 단위 미만의 pH 반응을 갖는, 약제학적 조성물.

**청구항 34**

제28항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 1개, 2개 또는 3개의 상이한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 35**

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 비-펩타이드 STING 작용제는 미셀 내에서 블록 공중합

체에 의해 캡슐화되는, 약제학적 조성물.

**청구항 36**

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 블록 공중합체 및 비-펩타이드 STING 작용제는 혼합물로서 존재하는, 약제학적 조성물.

**청구항 37**

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 블록 공중합체 및 비-펩타이드 STING 작용제는 1:2 또는 1:1 몰 비(molar ratio)로 존재하는, 약제학적 조성물.

**청구항 38**

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 1개, 2개 또는 3개의 상이한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 39**

제35항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 당류 용액(saccharide solution)을 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 40**

제39항에 있어서, 당류 용액은 글루코스 용액인, 약제학적 조성물.

**청구항 41**

이를 필요로 하는 대상체(subject)에서 암을 치료하기 위한 방법으로서, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 42**

제41항에 있어서, 암은 고형 종양(solid tumor)인, 방법.

**청구항 43**

제41항에 있어서, 고형 종양은 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 약 95%만큼 크기가 감소하는, 방법.

**청구항 44**

제41항에 있어서, 암은 암종(carcinoma), 육종(sarcoma), 림프종(lymphoma), 백혈병(leukemia), 흑색종(melanoma), 중피종(mesothelioma), 다발성 골수종(multiple myeloma) 또는 정상피종(seminoma)인, 방법.

**청구항 45**

제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 유방암(breast cancer), 두경부 편평 세포 암종(head and neck squamous cell carcinoma)(HNSCC), 복막 전이(peritoneal metastasis), 폐암(lung cancer), 난소암(ovarian cancer), 전립선암(prostate cancer), 방광암(bladder cancer), 요도암(urethral cancer), 식도암(esophageal cancer), 결장직장암(colorectal cancer), 뇌암(brain cancer), 피부(skin) 또는 신장암(renal cancer)인, 방법.

**청구항 46**

제41항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제40항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물은 하나 이상의 추가 요법과 함께 투여되는, 방법.

**청구항 47**

제46항에 있어서, 하나 이상의 추가 요법은 체크포인트 요법(checkpoint therapy), 화학요법 또는 방사선 요법

인, 방법.

**청구항 48**

제46항에 있어서, 하나 이상의 추가 요법은 수술인, 방법.

**청구항 49**

대상체에서 STING 경로를 활성화시키는 방법으로서, 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 억제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 50**

제41항에 있어서, 억제학적 조성물은 피하로 또는 종양내로 투여되는, 방법.

**청구항 51**

제41항에 있어서, 종양은 고형 종양이고, 억제학적 조성물은 종양내 주사에 의해 투여되는, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 출원은 2020년 9월 8일에 출원된 미국 가출원 제 63/075,560호에 대한 우선권을 주장하며, 상기 문헌은 그 전문이 참조로 본 명세서에 포함된다.

[0002] **미국 연방 정부가 후원하는 연구에 대한 진술**

[0003] 본 발명은 미국 국립보건원에 의해 관리되는 승인 번호 U54 CA244719, R01 CA216839, 및 U01 CA218422 하에 미국 정부 지원으로 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에 대해 특정 권리를 갖는다.

**배경 기술**

[0004] 다기능 나노입자는 바이오센서, 진단 나노프로브 및 표적 약물 전달 계과 같은 광범위한 적용 분야에서 주목을 받아왔다. 이러한 연구는 다양한 생리적 계에서 체제 전달의 정확한 시공간적 제어를 통해 진단 및 요법에서 부작용을 감소시키면서 생물학적 특이성을 개선할 필요성에 의해 광범위하게 이루어졌다. 이러한 목표를 달성하기 위해 자극에 반응하는 나노플랫폼 개발에 많은 연구가 시도되었다. 전달 효율을 정확히 찾아내기 위해 활용된 환경 자극에는 pH, 온도, 효소 발현, 산화 환원 반응 및 광 유도가 포함된다. 이러한 활성화 신호 중에서 pH 측 발인자는 (a) 병리학적(예를 들어, 종양) 대 정상 조직 및 (b) 산성 세포내 구획의 두 가지 유형의 pH 차이를 기반으로 가장 광범위하게 연구된 자극 중 하나이다. 예를 들어, 종양 세포의 미세환경(약 pH 6.5)의 고유한 산도 때문에 다수의 pH 반응성 나노 계이 요법의 효능을 증가시키는 것으로 보고되었다.

[0005] 인터페론 유전자의 자극제(STING)는 감염 및 암 동안 선천성 면역에서 중심적인 역할을 한다. STING은 2',3'-사이클릭-GMP-AMP(cGAMP)에 의해 내생적으로 활성화되며, cGAMP 합성효소(cGAS)에 의해 위험 신호로서 세포질 DNA에 반응하여 합성되는 사이클릭 디뉴클레오타이드(cyclic dinucleotide)이다. STING의 활성화는 수지상 세포의 성숙과 이동을 촉진하고 자발적인 면역 반응을 위해 세포 독성 T 림프구와 자연 살해 세포를 자극하는 다각적 유형 I 인터페론(IFN- $\gamma$ ) 반응을 매개한다. 최근 몇 년 동안 STING은 암 면역요법을 위한 항종양 면역 경로를 활성화하는 중요한 표적으로 부상했다. 연구에서는 STING에 cGAMP를 추가할 때 반점 구조를 관찰했으며, 이는 올리고머화 또는 더 높은 수준의 구조가 활성화에 중요할 수 있음을 나타낸다. cGAMP를 STING이 위치한 표적 세포의 세포질로 전달하려는 치료적 시도는 작은 이중 음전하 분자로서의 고유한 특성으로 인해 제한되었다. 더욱이, cGAMP의 빠른 효소 분해 및 제거뿐만 아니라 표적의 독성은 추가 임상 적용을 방해했다. 따라서 억제학적 산업은 생물학적 이용 가능성 및 약리 활성을 향상시키기 위해 신규한 STING 작용제뿐만 아니라 천연 사이클릭 디뉴클레오타이드(CDN)의 화학적 변형에 많은 노력을 기울였다.

[0006] 선형 또는 사이클릭 3차 아민 구조를 갖는 pH 감응성 중합체는 STING-의존성 경로를 통해 강력한 백신 애주버트 효과를 나타냈다. 또한, 일부 pH 감응성 중합체(예를 들어, 7원 사이클릭 아민, PC7A)는 다가 STING 작용제로 작용할 수 있다. 이러한 pH 감응성 중합체는 cGAMP보다 더 연장된 사이토카인 발현으로 선천적 면역 활성화를 위해 STING의 중합체 유도 상분리를 통해 작용할 수 있다. 또한 pH 감응성 중합체(예를 들어, PC7A)에 의한 다

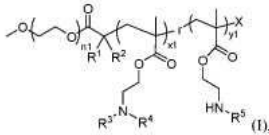
가 STING 활성화와 세포질 전달 또는 세포 고유 cGAMP 자극의 조합은 암 면역요법을 위한 항종양 면역을 탑재하는 상승작용적이고 강력한 전략을 제공한다.

**발명의 내용**

[0007] 일부 양상에서, 본 개시내용은 면역 반응을 생성하는데 사용될 수 있는 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 약제학적 조성물은 STING 및/또는 생체내 인터페론 수용체 경로를 활성화시켜 향상된 면역반응을 유도할 수 있다. 이러한 조성물은 암과 같은 다양한 질병 및 장애의 치료에 사용될 수 있다.

[0008] 특정 실시양태에서, 본 명세서에서는

[0009] (i) 화학식 (I)의 블록 공중합체(block copolymer), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물:



[0010]

[0011] (상기 식에서,

[0012]  $n_1$ 은 10 내지 200의 정수이고;

[0013]  $x_1$ 은 20 내지 300의 정수이고;

[0014]  $y_1$ 은 0 내지 10의 정수이고;

[0015] X는 할로겐, -OH, 또는 -C(O)OH이고;

[0016] r은 블록 공중합체에서  $x_1$  및  $y_1$  블록 순서로 임의성(randomness)을 나타내고;

[0017]  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 수소 또는 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이고;

[0018]  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬,  $C_3-C_{10}$  사이클로알킬 또는 아릴이거나;

[0019]  $R^3$  및  $R^4$ 는 이들이 부착되는 해당 질소와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 고리를 형성하고;

[0020]  $R^5$ 는 수소 또는 -C(O)CH<sub>3</sub>임);

[0021] (ii) 비-펩타이드(non-peptide) STING 작용제

[0022] 를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0023] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 블록 공중합체에서  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 실시양태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 -CH<sub>3</sub>이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 또는 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 이들이 부착되는 해당 질소와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 고리를 형성한다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 함께 -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 -CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-이다. 일부 실시양태에서,  $R^5$ 는 수소이다. 일부 실시양태에서,  $R^5$ 는 -C(O)CH<sub>3</sub>이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 사이클릭 디뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 cGAMP이다.

[0024] 본 발명의 또 다른 양상은 이를 필요로 하는 대상체(subject)에서 암을 치료하는 방법으로서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는 약제학적 조성물의 약제학적 유효량을 대상체에게 투여하는

단계를 포함하는 방법이다. 일부 실시양태에서, 암은 고형 종양(solid tumor)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 종양은 암이고, 암은 유방(breast), 난소(ovarian), 전립선(prostate), 복막 전이(peritoneal metastasis), 결장직장(colorectal), 방광(bladder), 식도(esophageal), 두경부(head and neck)(HNSCC), 폐(lung), 뇌(brain), 신장(kidney) 또는 피부(skin)(흑색종(melanoma) 및 육종(sarcoma) 포함)의 암이다.

[0025] 본 발명의 또 다른 양상은 대상체에서 STING 경로를 활성화시키는 방법으로서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이다.

[0026] 본 명세서에 기재된 블록 공중합체, 미셀(micelle) 조성물 및 방법의 다른 목적, 특징 및 이점은 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나 상세한 설명 및 특정 실시예는 특정 실시양태를 나타내지만 단지 예시로서 제공된다는 것을 이해해야 하는데, 이는 본 발명의 사상 및 범위 내에서 다양한 변화 및 수정이 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이기 때문이다.

[0027] **참조 포함**

[0028] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 참조로 포함되는 것으로 표시된 것과 동일한 정도로 본 명세서에 참조로 포함된다.

**도면의 간단한 설명**

[0029] 본 발명의 다양한 양상은 특허 첨부된 청구범위에 기재되어 있다. 본 발명의 특징 및 이점에 대한 더 나은 이해는 본 개시내용의 원리가 활용되는 예시적인 실시양태를 설명하는 다음의 상세한 설명 및 아래의 첨부 도면을 참조함으로써 얻어질 것이다.

**도 1**은 PC7A 중합체가 cGAMP와 구별되는 시공간 특징으로 STING을 활성화한다는 것을 보여준다. **a**, cGAMP 또는 PC7A에 의해 프라이밍된 MEF 세포는 GFP-STING 점상 형성 및 고갈의 서로 다른 기하학적 및 시간적 패턴을 나타낸다. 세포를 먼저 cGAMP(10 μM, PEI는 세포질 전달에 사용됨) 또는 PC7A 미셀(10 μM)과 함께 1시간 동안 인큐베이션한 다음, 배지를 교체하고 세포를 이미징 전에 표시된 기간 동안 인큐베이션했다. 스케일 바, 10 μm. **b**, cGAMP로 처리된 THP1 세포는 TBK1/IRF3 인산화의 분출 효과에 이어 빠른 STING 분해를 나타내고, PC7A에 의한 처리는 지속적인 TBK1/IRF3 인산화 및 느린 STING 분해를 유도한다. **c**, 상대적인 ifn-β 및 cxcl10 mRNA 수준은 cGAMP와 비교하여 PC7A에 의한 THP1 세포에서 더 느리지만 연장된 STING 활성화를 나타낸다. 값은 평균 ± SD, n=3이다. **d**, STING-GFP는 cGAMP 처리 12시간 후 MEF에서 리소솜과 공동 위치화되어 빠른 분해를 지원한다. 이와 달리, PC7A는 공동 위치화 및 지속적인 GFP 형광의 부재로 표시되는 바와 같이 GFP-STING의 리소솜 분해를 억제한다. 스케일 바, 5 μm. **e**, cGAMP 및 PC7A는 ER에서 ERGIC 및 골지 소기관으로 유사한 STING 전위를 유도한다. 공동 위치화는 Pearson의 상관 계수로 정량화되었다. 상자 및 수염도, ± 최소/최대, n=20. 양원 스튜던트 t-테스트: \*, P < 0.05; \*\*\*, P < 0.001. **f**, STING 전위는 ER에서 골지로의 단백질 이동 억제제인 BFA가 cGAMP 또는 PC7A에 의한 TBK1/IRF3의 인산화를 방지하기 때문에 하류 신호 전달에 필요하다.

**도 2**는 PC7A 중합체가 STING 응축 및 면역 활성화를 유도함을 보여준다. **a**, PEPA와 달리 PC7A는 4시간 인큐베이션 후 STING(Cy5-표지) 상 응축을 유도한다. 스케일 바, 10 μm. **b**, STING(4 μM, Cy5-표지) 및 PC7A 중합체(2 μM, AMCA-표지)는 응축물 내에서 공동 위치화된다. 스케일 바, 5 μm. **c**, GFP-STING에서 TMR-PC7A로의 헤테로-FRET은 MEF 세포에서 STING과 PC7A의 공동 위치화를 설명한다. GFP-STING에서 TMR-PEPA로의 에너지 전달은 관찰되지 않았다. 도 1과 동일한 세포 배양 조건. GFP(λ<sub>ex</sub>/λ<sub>em</sub>=488/515nm) 및 TMR(555/580nm) 신호는 좌측 패널에 각각 녹색과 적색으로 표시된다. FRET 신호(488/580nm)는 우측 패널에 황색으로 표시된다. **d**, p-TBK1은 STING/PC7A 응축물에서 집합된다. 스케일 바, 10 μm. **e**, PEPA와 달리 PC7A는 ISG-THP1 세포에서 IFNβ-루시페라아제의 발현을 유도한다. 값은 평균 ± SD, n=3이다. 일원 ANOVA: ns, 유의하지 않음; \*\*, P < 0.01.

**도 3**은 PC7A 중합체가 다가 상호작용을 통해 STING 응축 및 면역 활성화를 유도함을 보여준다. **a**, 다가 상호작용을 통해 PC7A에 의해 유도되는 STING 올리고머화 및 응축의 개략도. **b**, PC7A는 MEF 세포에서 유리 GFP-STING과 비교하여 응축물에서 GFP-STING의 분자 이동성을 감소시킨다. PC7A 처리 24시간 후 표백을 수행하고, 150초에 걸쳐 복원을 모니터링하였다. 미처리(모의) 및 고정 세포를 각각 이동 및 고정 STING 대조군으로 사용했다. 값은 평균 ± SD, n=5이다. 일원 ANOVA: \*, P < 0.05; \*\*\*, P < 0.001. **c**, STING 및 PC7A의 생체분자 응축은 PC7A 원자가에 따른다. 적색 점은 상 분리를 나타내고 청색 점은 상 분리가 없음을 나타낸다. **d**, PC7A에 의해 유도된 STING 응축물의 크기 분포는 PC7A 원자가가 높을수록 증가한다. 응축물 크기를 최장축과 최단축의 평균 n=50으로 계산하였다. **e**, THP1 세포에서 STING 활성화는 PC7A(70)에 의해 유도된 최적의 cxcl10 발현과 함

계 PC7A 원자가와 상관관계가 있다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=3이다. 실험 c 내지 e에서, 상이한 반복 단위를 갖는 중합체를 동일한 C7A 모듈 농도로 사용하였다.

**도 4**는 PC7A 중합체에 의한 STING 응축 및 활성화가 cGAMP와는 별개의 결합 부위를 통해 발생함을 보여준다. **a-c**, STING에서 E296A/D297A의 돌연변이는 PC7A에 대한 반응으로 PC7A 친화도(**a**), 응축(**b**) 및 면역 활성화(**c**)를 제거한다. STING의 다른 돌연변이는 PC7A로 유도된 STING 활성화에 영향을 미치지 않는다. 돌연변이 부위는 STING 구조에 표시되며 cGAMP 결합 부위와 구별된다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=3이다. 일원 ANOVA: ns, 유의하지 않음; \*\*\*,  $P < 0.001$ . (**d-f**), PC7A는 여러 cGAMP 내성 STING 변이체에서 면역 활성을 유지한다. THP1 세포의 R232H 또는 HeLa 세포의 R238A/Y240A는 cGAMP 결합을 제거한다. Q273A/A277Q는 4량체 계면과 cGAMP 매개 STING 올리고머화를 방해하여 cGAMP에 의한 STING 활성화를 제거하지만 PC7A에 의한 것은 제거하지 않는다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=3이다. 양측 스튜던트 t-테스트: ns, 유의하지 않음; \*\*,  $P < 0.01$ . m: 모의; c: cGAMP; p: PC7A 중합체.

**도 5**는 PC7A 및 cGAMP가 종양 보유 마우스에서 상승작용적 항종양 효능을 나타냄을 보여준다. (**a-c**) TC-1 및 (**d-f**) MC38 종양 보유 마우스에 표시된 시점에서 5% 글루코스(모의), cGAMP(2.5  $\mu$ g), PC7A(50  $\mu$ g) 또는 cGAMP-부가된 PC7A 나노입자를 종양내 주사하였다. 평균 종양 부피(**a, d**), Kaplan-Meier 생존 곡선(**b, e**) 및 개별 종양 성장 곡선(**c, f**)의 거미 그래프가 표시된다. PC7A NP 또는 cGAMP는 단독으로 일정 정도의 면역 보호를 제공한다. cGAMP가 부가된 PC7A NP는 MC38 모델에서 종양이 없는 마우스 7마리 중 4마리와 생존율을 크게 개선하여 상승작용적인 항종양 면역 반응을 부여한다. 종양 성장 연구에서 값은 평균  $\pm$  SEM, 양측 스튜던트 t-테스트(모의 대비)를 나타낸다. 생존 연구에서 Mantel-Cox 테스트.

**도 6**은 PC7A 및 cGAMP가 새로운 인간 조직에서 상승작용적 STING 활성화를 나타냄을 보여준다. 유리 cGAMP만으로는 STING을 활성화할 수 없지만 PC7A NP 및 cGAMP가 부가된 PC7A NP는 효과적인 STING 활성화를 보여준다. 새로 외과적으로 절제된 전초립프절(SLN)(**a, b**) 또는 헛바닥의 편평 세포 암종(SCC-BOT)(**c-f**)을 다수의 절편(1 내지 5 mm<sup>3</sup>)으로 나누고 5% 글루코스, 유리 cGAMP, PC7A NP 또는 5% 글루코스 용액 중의 cGAMP-부가된 PC7A NP를 주사하였다. Ifn- $\beta$  및 cxcl10 유전자 발현을 24시간 인큐베이션 후 측정하였다. (**e, f**) CD45<sup>+</sup> 세포 집단은 CD45<sup>-</sup> 세포와 비교하여 향상된 수준의 STING 활성화를 나타낸다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=4이다. 양측 스튜던트 t-테스트: ns, 유의하지 않음; \*,  $P < 0.05$ , \*\*,  $P < 0.01$ , \*\*\*,  $P < 0.001$ .

**도 7**은 PC7A 중합체가 지속적인 면역 활성화를 유도하고 cGAMP와 비교하여 빠른 STING 분해를 방지함을 보여준다. (**a, b**), 유리 cGAMP 단독은 제한된 막 투과성으로 인해 ISG-THP1(**a**) 및 STING-GFP MEF 세포(**b**)에서 STING 활성화를 제한했다. 트랜스펙션 제제, 폴리에틸렌이민 또는 PEI가 달리 명시되지 않는 한 후속 연구에서 cGAMP의 세포질 전달을 돕기 위해 사용되었다. **c**, STING 단백질은 cGAMP 처리 후 12시간 이내에 빠르게 분해되고, PC7A는 48시간 동안 STING 분해를 방지한다. 공초점 현미경 이미지는 MEF에서 cGAMP 또는 PC7A 처리 후 시간이 지남에 따라 STING-GFP 및 리소좀의 다양한 정도의 공동 위치화를 보여준다. STING-GFP는 녹색으로 표시되고 리소좀은 적색으로 표시된 LysoTracker DND-99로 염색되었다. 스케일 바, 10  $\mu$ m. (**d, e**), PC7A 또는 바필로마이신(Bafilomycin) A1(Baf A1)에 의한 처리는 cGAMP-유도된 STING 반점과 리소좀의 융합을 감소시켰다. 스케일 바, 10  $\mu$ m. 값은 평균  $\pm$  SD, n = 3이다. 일원 ANOVA: ns, 유의하지 않음; \*\*,  $P < 0.01$ .

**도 8**은 PC7A 중합체가 ER-ERGIC-골지 전위를 통해 STING을 활성화함을 보여준다. **a**, STING-GFP는 cGAMP 또는 PC7A에 의한 치료 후 ERGIC 및 골지와 공동 위치화된다. STING-GFP MEF 세포를 먼저 PEI-cGAMP(10  $\mu$ M) 또는 PC7A 미셀(10  $\mu$ M)과 함께 1시간 동안 인큐베이션한 후 배지 교체를 수행하였다. p-TBK1, ER(Calnexin), ERGIC(P58), 골지(GM130) 또는 핵을 염색하기 전에 cGAMP 및 PC7A 처리 그룹의 세포를 각각 6시간 및 24시간 후에 고정했다. **b-d**, 브레펠딘 A(Brefeldin A)(BFA)는 THP1(**b, c**) 및 STING-GFP MEF(**d**) 세포에서 cGAMP 또는 PC7A 유도 STING 활성화를 제거한다. 억제된 그룹에서 세포를 cGAMP 또는 PC7A 첨가 전에 BFA(10  $\mu$ M)로 전처리하였다. 스케일 바, 10  $\mu$ m.

**도 9**는 PC7A 중합체가 PEPA 및 다른 중합체와 비교하여 STING-특이적 결합 친화도, 상 응축 및 면역 활성화를 나타냄을 보여준다. **a**, 원자 이동 라디칼 중합(ATRP) 방법을 사용하여 측쇄 구조가 다른 블록 공중합체의 도식적 합성. **b**, ITC는 STING과 다른 중합체 사이에 명백한 결합 친화도를 보여준다. 5개의 중합체를 사이클릭 또는 선형 측쇄를 기준으로 두 그룹으로 나누었다. 스튜던트 t-테스트: \*,  $P < 0.05$ . **c**, 동일한 백본 구조 및 동일한 pH 전이의 두 중합체인 PC7A 및 PEPA(6.9)는 ITC에 의해 측정된 바와 같이 STING에 대해 상이한 결합 친화도를 갖는다. **d**, PEPA 또는 cGAMP와 달리 PC7A는 세포 용해물로부터 STING 상 분리를 유도한다. STING-GFP MEF 세포

용해물을 cGAMP, PC7A 또는 PEPA로 4시간 동안 처리하였다. 스케일 바, 20  $\mu\text{m}$ . **e**, PC7A의 농도가 증가하는 STING 용액에서 나일 레드의 형광 스펙트럼은 소수성 생체분자 응축물의 형성을 시사한다. **f**, PC7A 3차 아민 블록은 중성 pH(7.4)에서 미셀의 소수성 핵에서 차폐되어 STING 및 상 응축과의 상호작용을 방지한다. 미셀은 pH 6.5에서 양이온 단량체로 해리되고 STING 상 분리를 유도한다. 새로 형성된 PC7A-STING 응축물은 pH가 7.4로 다시 적정될 때 응축물의 존재로 표시되는 바와 같이 pH 가역적이지 않다. 스케일 바, 20  $\mu\text{m}$ .

**도 10**은 PC7A 중합체가 STING 올리고머화 및 응축을 유도하고 두 종류는 상이한 복원 동역학을 발현함을 보여준다. **a**, 형광 스펙트럼은 PC7A 처리 후 FRET 쌍, TMR 및 Cy5(1:1 비율로 혼합)로 표시된 STING 이량체 사이의 헤테로-FRET를 보여준다(실선). PC7A 첨가 후 TMR 신호 감소 및 Cy5 신호 증가는 STING 올리고머화를 나타낸다. **b, c**, 응축물의 STING 단백질 또는 PC7A 중합체는 광표백(FRAP) 측정 후 형광 복원에 의해 서로 다른 교체 동역학을 나타낸다. STING(4  $\mu\text{M}$ , Cy5-표지) 및 PC7A 중합체(2  $\mu\text{M}$ , AMCA-표지)를 4시간 동안 인큐베이션하였다. 광표백 후, 복원을 120초에 걸쳐 관찰하였다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=5이다. 해당 영역의 형광 강도는 단일 지수 모델에 적합했다:  $I_t = I_0 + (I_\infty - I_0) \times (1 - e^{-kt})$ . 스케일 바, 2  $\mu\text{m}$ .

**도 11**은 더 긴 PC7A 사슬 길이가 더 큰 응축물 형성 및 더 느린 STING 복원을 유도한다는 것을 보여준다. **a**, 도식은 응축 정도를 테스트하는데 사용되는 정성 및 정량 방법을 보여준다. **b**, 표시된 농도의 PC7A 및 STING에 의해 유도된 응축물의 형광 이미지를 사용하여 상 다이어그램을 생성했다. PC7A(70)가 예로 사용된다. 스케일 바, 20  $\mu\text{m}$ . **c**, 더 높은 반복 단위의 PC7A는 더 큰 PC7A-STING 응축물의 형성을 유도한다. 스케일 바, 20  $\mu\text{m}$ . STING-PC7A 응축물의 **d**, 정도 및 **e**, 가역성은 반비례 관계이다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=3이다. **f**, FRAP 방법으로 결정된 PC7A 길이가 증가함에 따라 STING 복원율이 감소한다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=5이다. 모든 실험에서 STING(4  $\mu\text{M}$ , Cy5-표지) 및 PC7A 중합체(달리 언급되지 않는 한 140  $\mu\text{M}$  C7A 모듈 농도)를 분석 전에 4시간 동안 인큐베이션했다.

**도 12**는 높은 염 및 비특이적 단백질 농도가 STING-PC7A 응축을 방해한다는 것을 보여준다. **a, b**, 높은 염 농도(예를 들어, 600mM NaCl)는 PC7A-STING의 결합 및 응축을 제거한다. 스케일 바, 20  $\mu\text{m}$ . **c**, PC7A-STING 응축물은 소 혈청 알부민(BSA)의 존재 하에 수와 크기가 감소한다. 스케일 바, 20  $\mu\text{m}$ . **d**, BSA(BODIPY로 표시됨)는 PC7A-STING 응축물에서 제외된다(반점에 녹색 형광이 없음). 공초점 현미경으로 관찰하기 전에 STING, BSA 및 PC7A 중합체를 4시간 동안 혼합하였다. STING 또는 PC7A가 없는 대조군을 사용하여 응축물 형성에서 STING-PC7A 특이성을 확인했다. 스케일 바, 10  $\mu\text{m}$ . **b-d**에서의 실험은 STING 이량체(4  $\mu\text{M}$ , Cy5-표지) 및 PC7A(2  $\mu\text{M}$ )로 수행되었다. BSA 또는 BODIPY 표지 BSA(8  $\mu\text{M}$ )를 사용하였다.

**도 13**은 PC7A 중합체가 cGAMP와 다른 결합 부위를 통해 STING을 활성화한다는 것을 보여준다. **a-c**, 중성 Ala 잔기에 대한 E296D297의 돌연변이는 PC7A 중합체에 의한 ifn- $\beta$ /cxcl10 mRNA 발현을 제거하지만(**a**) cGAMP 자극된 STING 반응에는 영향을 미치지 않는다(**b, c**). 값은 평균  $\pm$  SD, n = 3이다. 일원 ANOVA: ns, 유의하지 않음; \*\*\*, P < 0.001. **d**, E296D297의 돌연변이는 PC7A 처리 후 세포내 p-TBK1 생성을 제거한다. 스케일 바, 10  $\mu\text{m}$ . **a-d**에서, HEK293T 세포를 사용 전 24시간 동안 WT 또는 돌연변이 STING-GFP 플라스미드로 형질감염시켰다. **e-h**, STING 돌연변이 HeLa 세포(R238A/Y240A, Q273A/A277Q)는 cGAMP 매개 STING 활성화를 제거하고(**e, f**), PC7A 매개 반응에는 영향이 적다(**g, h**). R238A/Y240A는 cGAMP 결합에 내성이 있고, 단일 또는 이중 Q273A/A277Q 돌연변이는 cGAMP 유도 STING 올리고머화의 사량체 계면을 방해한다. 값은 평균  $\pm$  SD, n=3이다. 일원 ANOVA: ns, 유의하지 않음; \*, P < 0.05; \*\*, P < 0.01; \*\*\*, P < 0.001.

**도 14**는 PC7A 나노입자가 종양 조직 및 배액 림프절(DLN) 모두에서 STING 활성화를 유도하고, 사이토카인 발현에서 cGAMP와 추가로 상승작용한다는 것을 보여준다. 표시된 치료 후 B16 흑색종(**a, b**) 또는 TC-1 종양(**c, d**) 마우스 모델에서 종양(**a, c**) 또는 DLN(**b, d**)의 Ifn $\beta$ , cxcl10, tnf  $\alpha$  및 irf7 유전자 발현. 값은 평균  $\pm$  SD, n = 6이다. 일원 ANOVA: ns, 유의하지 않음; \*, P < 0.05; \*\*, P < 0.01; \*\*\*, P < 0.001.

**도 15**는 종양 보유 동물의 면역요법에서 cGAMP-PC7A 나노입자가 항-PD1과 상승작용한다는 것을 보여준다. (**a-c**) 지시된 시점에 TC1 및 (**d-f**) MC38 종양 보유 마우스에 5% 글루코스(모의) 또는 cGAMP-부가된 PC7A NP를 종양내 주사하고, 식염수 또는 항-PD1(200  $\mu\text{g}$ )을 복강내 주사하였다. 평균 종양 부피(**a, d**), Kaplan-Meier 생존 곡선(**b, e**) 및 개별 종양 성장 곡선(**c, f**)의 거미 그래프가 표시된다. cGAMP-PC7A NP 처리는 면역 보호를 부여하여 4/7 MC38 마우스에서 종양이 없도록 하고 항-PD1과 추가로 상승작용하여 MC38 모델에서 100% 치료율을 달성한다. 종양 성장 연구에서 값은 평균  $\pm$  SEM, 양측 스튜던트 t-테스트를 나타낸다. 생존 연구에서 양측 Mantel-Cox 테스트. ns, 유의하지 않음; \*, P < 0.05, \*\*, P < 0.01, \*\*\*, P < 0.001 대 5% 글루코스 그룹.

도 16은 PC7A 및 cGAMP가 추가적인 인간 종양 조직에서 면역 활성화에 상승작용 효과를 나타냄을 보여준다. 5% 글루코스, 유리 cGAMP(80ng), PC7A NP(50 μg) 또는 5% 글루코스 용액 중 cGAMP가 부가된 PC7A NP 주사 후 외과적으로 절제된 헛바닥의 편평 세포 암종(SCC-BOT, 본문의 도 6에서 두 번째 SCC 환자)(a, b) 및 자궁경부 종양 조직(c, d)에서의 Ifn-β 및 cxcl10 유전자 발현. 값은 평균 ± SD이다. 양측 스튜던트 t-테스트: \*, P < 0.05, \*\*, P < 0.01, \*\*\*, P < 0.001.

도 17은 PC7A-유도된 STING 단계 응축 및 면역 활성화의 다이어그램을 나타낸다. PC7A NP는 세포내이입을 통해 세포로 유입되고, 이가 음전하 cGAMP 분자는 세포 투과성이 제한된다. pH 6.9 이하에서 엔도솜 성숙 및 산성화 시, PC7A NP는 양이온 단량체로 분해되고 엔도-리소솜에서 유출된다. 세포질에서 PC7A 단량체는 여러 STING 분자에 결합하여 ER에서 ER-골지 중간 구획(ERGIC) 및 골지 소기관으로 전위하는 동안 STING 올리고머화 및 응축을 유도한다. 이 과정에서 STING 응축물은 TBK1-IRF3 전사 전달계를 집합하고 유발하여 유형 I 인터페론(IFN) 및 기타 전염증성 사이토카인의 생성을 유도한다. 활성화된 STING은 결국 분해를 위해 리소솜으로 이동된다.

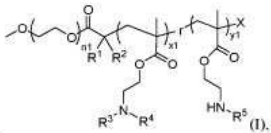
**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0030] 블록 공중합체 및 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 블록 공중합체는 디블록 공중합체이다. 일부 실시양태에서, 블록 공중합체는 비-펩타이드 STING 작용제를 캡슐화(encapsulation)하는 미셀을 형성한다.

[0031] **I. 조성물**

[0032] 특정 실시양태에서, 본 명세서에서는

[0033] (i) 화학식 (I)의 블록 공중합체, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물:



[0034]

(상기 식에서,

[0036] n<sub>1</sub>은 10 내지 200의 정수이고;

[0037] x<sub>1</sub>은 20 내지 300의 정수이고;

[0038] y<sub>1</sub>은 0 내지 10의 정수이고;

[0039] r은 블록 공중합체에서 x<sub>1</sub> 및 y<sub>1</sub> 블록 순서로 임의성을 나타내고;

[0040] X는 할로젠, -OH, 또는 -C(O)OH;

[0041] R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 각각 독립적으로 수소 또는 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

[0042] R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 사이클로알킬 또는 아릴이거나;

[0043] R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 이들이 부착되는 해당 질소와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 고리를 형성하고;

[0044] R<sup>5</sup>는 수소 또는 -C(O)CH<sub>3</sub>임);

[0045] (ii) 비-펩타이드 STING 작용제

[0046] 를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0047] (i) 블록 공중합체

[0048] 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 화학식 (I)의 블록 공중합체, 또는 약제학적으로 허용 가능한, 염, 용매 화물, 또는 수화물을 포함한다.

[0049] 화학식 (I)의 일부 실시양태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 실시양태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로  $-CH_3$ ,  $-CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_3$ , 또는  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로  $-CH_3$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로 수소이다.

[0050] 화학식 (I)의 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 실시양태에서, 알킬은 직쇄 또는 분지쇄 알킬이다. 일부 실시양태에서, 알킬은 직쇄 알킬이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로  $-CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_3$ , 또는  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 이다.

[0051] 일부 실시양태에서, 알킬은 분지쇄 알킬이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로  $-CH(CH_3)_2$  또는  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로  $-CH(CH_3)_2$ 이다.

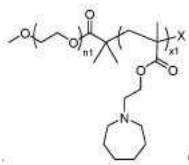
[0052] 화학식 (I)의 블록 공중합체의 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된  $C_3-C_{10}$  사이클로알킬 또는 아릴이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 또는 사이클로헵틸이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 각각 독립적으로 선택적으로 치환된 페닐이다.

[0053] 화학식 (I)의 블록 공중합체의 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 이들이 부착되는 해당 질소와 함께 선택적으로 치환된 5 내지 7원 고리를 형성한다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 함께  $-CH_2(CH_2)_2CH_2-$ ,  $-CH_2(CH_2)_3CH_2-$ , 또는  $-CH_2(CH_2)_4CH_2-$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 함께  $-CH_2(CH_2)_2CH_2-$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 함께  $-CH_2(CH_2)_3CH_2-$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^3$  및  $R^4$ 는 함께  $-CH_2(CH_2)_4CH_2-$ 이다.

[0054] 화학식 (I)의 블록 공중합체의 일부 실시양태에서,  $R^5$ 는 수소이다. 일부 실시양태에서,  $R^5$ 는  $-C(O)CH_3$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^5$ 는 아세틸이다.

[0055] 화학식 (I)의 블록 공중합체의 일부 실시양태에서,  $y_1$ 은 1 내지 10, 1 내지 9, 1 내지 8, 1 내지 7, 1 내지 6, 1 내지 5, 1 내지 4, 1 내지 3, 1 내지 2, 또는 상기 범위 내의 도출 가능한 임의의 범위의 정수이다. 일부 실시양태에서,  $y_1$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9이다. 일부 실시양태에서,  $y_1$ 은 1, 2, 또는 3이다. 일부 실시양태에서,  $y_1$ 은 0이다.

[0056] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 블록 공중합체는 화학식 (Ia), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매 화물, 또는 수화물의 구조를 갖는다:



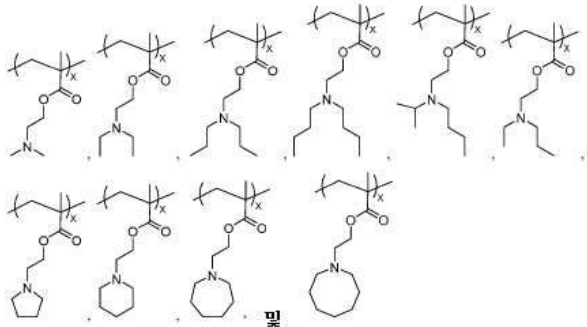
[0057] 일부 실시양태에서, 블록 공중합체는 디블록 공중합체이다. 일부 실시양태에서, 블록 공중합체는 친수성 중합체 절편 및 소수성 절편을 포함한다.

[0059] 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 절편은 폴리(에틸렌 옥사이드) (PEO)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 절편은 약 2 kD 내지 약 10 kD 크기이다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 절편은 약 2 kD 내지 약 5 kD 크기이다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 절편은 약 3 kD 내지 약 8 kD 크기이다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 절편은 약 4 kD 내지 약 6 kD 크기이다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 절편은 약 5 kD 크기

이다.

[0060] 일부 실시양태에서,  $n_1$ 은 1 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 15, 15 내지 20, 20 내지 25, 25 내지 30, 30 내지 35, 35 내지 40, 40 내지 45, 45 내지 50, 50 내지 55, 55 내지 60, 60 내지 65, 65 내지 70, 70 내지 75, 75 내지 80, 80 내지 85, 85 내지 90, 90 내지 95, 95 내지 99, 100 내지 109, 110 내지 119, 120 내지 129, 130 내지 139, 140 내지 149, 150 내지 159, 160 내지 169, 170 내지 179, 180 내지 189, 190 내지 199 또는 상기 범위 내의 도출 가능한 임의의 범위의 정수이다. 일부 실시양태에서,  $n_1$ 은 60 내지 150, 100 내지 140, 또는 110 내지 120의 정수이다. 일부 실시양태에서,  $n_1$ 은 100 내지 140의 정수이다.

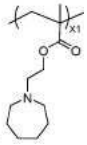
[0061] 일부 실시양태에서, 블록 공중합체는 소수성 중합체 절편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 소수성 중합체 절편은 다음으로부터 선택된다:



[0062]

[0063] 상기 식에서,  $x$ 는 총 약 20 내지 300이다.

[0064] 일부 실시양태에서, 소수성 절편은 디부틸 아민을 포함한다. 일부 실시양태에서, 소수성 절편은 사이클릭 아민을 포함한다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 아민은 5 내지 8원 사이클릭 아민이다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 아민은 7원 사이클릭 아민 (PC7A)이다. 일부 실시양태에서, 소수성 절편은 다음을 포함한다:



[0065]

[0066] 일부 실시양태에서,  $x_1$ 은 1 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 15, 15 내지 20, 20 내지 25, 25 내지 30, 30 내지 35, 35 내지 40, 40 내지 45, 45 내지 50, 50 내지 55, 55 내지 60, 60 내지 65, 65 내지 70, 70 내지 75, 75 내지 80, 80 내지 85, 85 내지 90, 90 내지 95, 95 내지 99, 100 내지 109, 110 내지 119, 120 내지 129, 130 내지 139, 140 내지 149, 150 내지 159, 160 내지 169, 170 내지 179, 180 내지 189, 190 내지 199 또는 상기 범위 내의 도출 가능한 임의의 범위의 정수이다. 일부 실시양태에서,  $x_1$ 은 50 내지 200, 60 내지 160, 또는 90 내지 140의 정수이다. 일부 실시양태에서,  $x_1$ 은 90 내지 140의 정수이다.

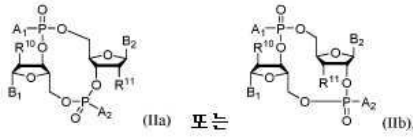
[0067] 일부 실시양태에서,  $X$ 는 말단기이다. 일부 실시양태에서, 말단 캡핑기는 원자 이동 라디칼 중합(ATRP) 반응의 산물이다. 예를 들어, 원자 이동 라디칼 중합(ATRP)이 사용되는 경우 말단 캡핑 기는  $-Br$ 과 같은 할로젠일 수 있다. 일부 실시양태에서,  $X$ 는  $Br$ 이다. 일부 실시양태에서,  $X$ 는 독립적으로  $-OH$ 이다. 일부 실시양태에서, 각각의  $X$ 는 산이다. 일부 실시양태에서,  $X$ 는  $-C(O)OH$ 이다. 일부 실시양태에서,  $X$ 는  $H$ 이다. 말단 기는 선택적으로 적절할 모이어티와의 중합 후에 추가로 변형될 수 있다.

[0068] *(ii) 비-펩타이드 STING 작용제*

[0069] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 소분자이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 디뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 합성 사이클릭 디뉴클레오타이드(CDN)이다. 일부 실시양태에서, CDN은 천연 발생 또는 합성 CDN이다. CDN은 2' 하이드록실 또는 4' 하이드록실 부위에서 변형될 수 있다. 일부 예에서, CDN은 2' 탄소에 결합된 산소 분자가 메틸렌기에 의해 4' 탄소에 연결된 잠기거나 가교된 리보스 변형(예를 들어, 잠긴 핵산 또는 LNA)의 2' 하이드록실기, 따라서 2'-C,4'-C-옥시-메틸렌

-연결된 바이사이클릭 리보뉴클레오타이드 단량체를 형성한다.

[0070] 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 화학식 (IIa) 또는 화학식 (IIb), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 구조를 갖는다:



[0071]

상기 식에서,

[0073]  $A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 OH 또는 SH이고;

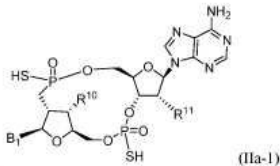
[0074]  $B^1$  및  $B^2$ 는 각각 독립적으로 구아닌 또는 아데닌이고;

[0075]  $R^{10}$ 은 H, 할로젠, OH,  $OCH_3$ 이고;

[0076]  $R^{11}$ 은 할로젠 또는 OH이다.

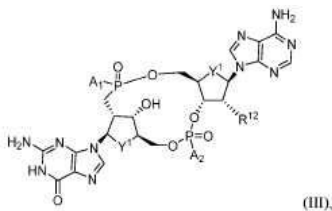
[0077] 화학식 (IIa) 또는 (IIb), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 일부 실시양태에서,  $R^{10}$ 은 OH 또는  $OCH_3$ 이다. 일부 실시양태에서,  $R^{10}$ 은 플루오로 또는 클로로이다. 일부 실시양태에서,  $R^{11}$ 은 OH이다. 일부 실시양태에서,  $R^{11}$ 은 플루오로 또는 클로로이다. 일부 실시양태에서,  $A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 OH이다. 일부 실시양태에서,  $A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 SH이다. 일부 실시양태에서,  $B^1$  및  $B^2$ 는 각각 독립적으로 구아닌이다. 일부 실시양태에서,  $B^1$  및  $B^2$ 는 각각 독립적으로 아데닌이다. 일부 실시양태에서,  $B^1$  또는  $B^2$  중 하나는 구아닌이고, 다른 하나는 아데닌이다.

[0078] 일부 실시양태에서, 화학식 (IIa)의 사이클릭 디뉴클레오타이드는 화학식 (IIa)(1), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 구조를 갖는다:



[0079]

[0080] 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 화학식 (III), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 구조를 갖는다:



[0081]

상기 식에서,

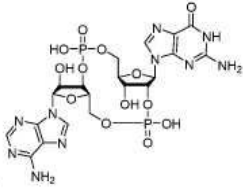
[0083]  $A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 OH 또는 SH이고;

[0084]  $Y^1$  및  $Y^2$ 는 각각 독립적으로 -CH- 또는 -O-이다.

[0085] 화학식 (III), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 일부 실시양태에서,  $A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 OH이다. 일부 실시양태에서,  $A^1$  및  $A^2$ 는 각각 독립적으로 SH이다. 일부 실시양태에서,  $Y^1$  및

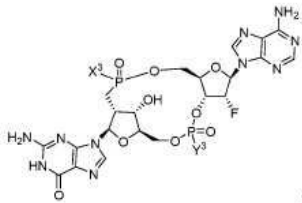
$Y^2$ 는 각각 독립적으로 -O이다. 일부 실시양태에서,  $Y^1$  및  $Y^2$ 는 각각 독립적으로 -CH이다. 일부 실시양태에서,  $Y^1$  또는  $Y^2$  중 하나는 -O이고, 다른 하나는 -CH이다.

[0086] 자연 발생 사이클릭 디뉴클레오타이드는 CDG, CDA, 3',3'-cGAMP 및 2',3'-cGAMP를 포함한다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 사이클릭 구아노신 모노포스페이트-아데노신 모노포스페이트(사이클릭 GMP-AMP 또는 cGAMP), 또는 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다. cGAMP는 STING의 존형 I형 인터페론 반응을 유도하는 내인성 2차 메신저로 기능한다. cGAMP는 또한 마우스에서 항원 특이적 항체 및 T 세포 반응의 생성을 촉진하는 효과적인 애주버트인 것으로 나타났다. 일부 실시양태에서, cGAMP는 2',3'-cGAMP이다. 일부 실시양태에서, cGAMP는 하기 구조, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 수화물을 갖는다:

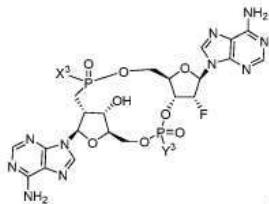


[0087]

[0088] 일부 실시양태에서 사이클릭 디뉴클레오타이드는



(1) 또는

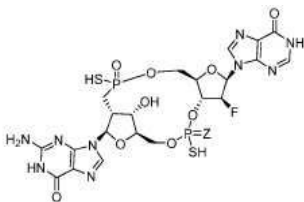


(2)

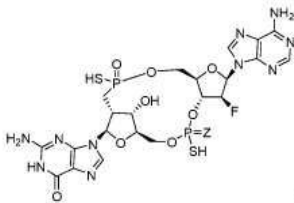
[0089] 로부터 선택된 화합물

[0090] (상기 식에서,  $X^3$  및  $Y^3$ 는 각각 독립적으로 OH, SH, 또는  $BH_3$ 임); 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0091] 일부 실시양태에서 사이클릭 디뉴클레오타이드는



(3) 또는

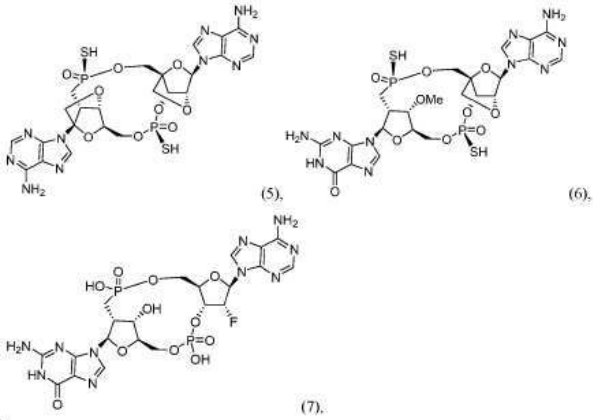


(4)

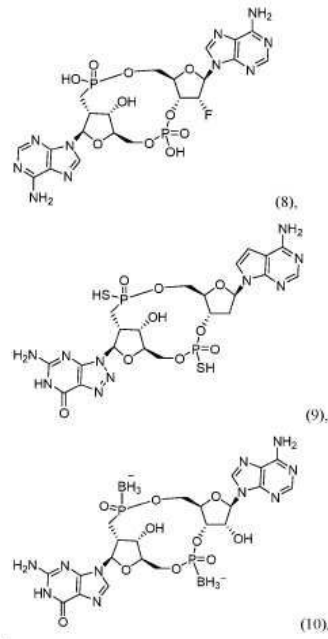
[0092] 로부터 선택된 화합물

[0093] (상기 식에서, Z는 O 또는 S임); 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

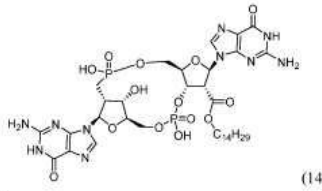
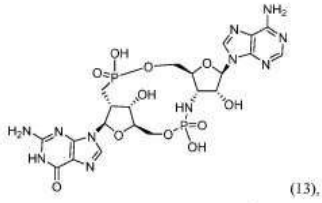
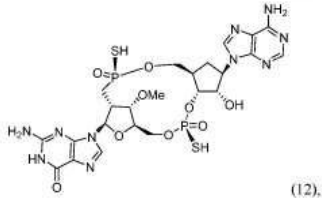
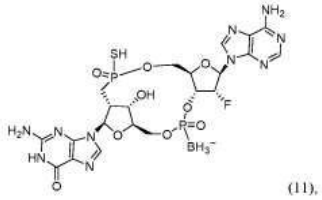
[0094] 일부 실시양태에서 사이클릭 디뉴클레오타이드는



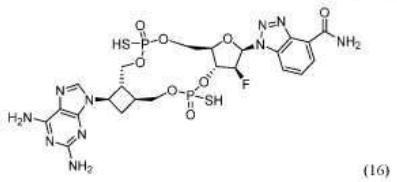
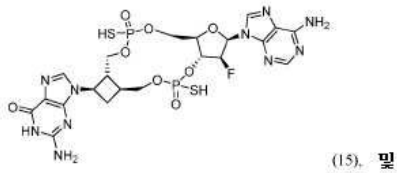
[0095]



[0096]



[0097]



[0098]

로부터 선택된 화합물;

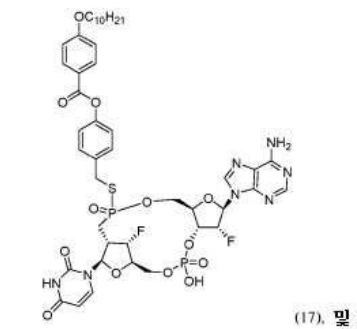
[0099]

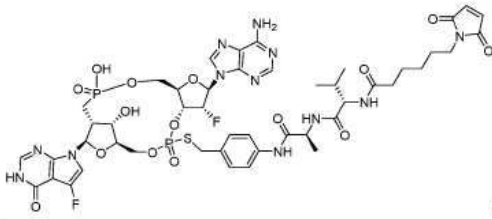
또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0100]

일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 추가로 변형된다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 S-알킬화된 디뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는

[0101]

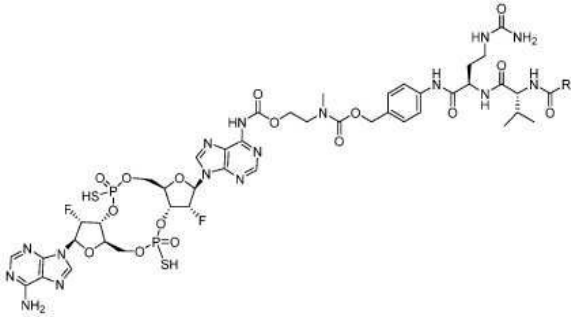




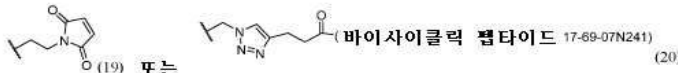
[0102] (18) 으로부터 선택된 화합물

[0103] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0104] 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는

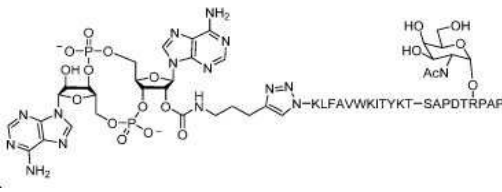


[0105] 로부터 선택된 화합물



[0106] (상기 식에서, R은 (19) 또는 (20) 임); 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

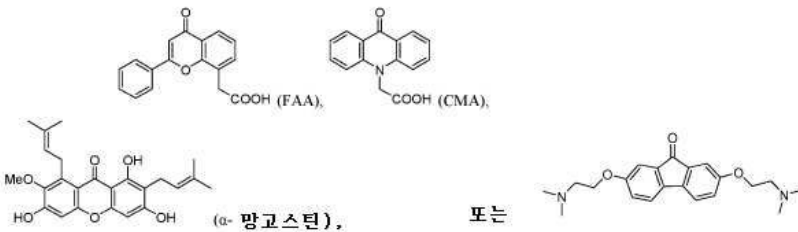
[0107] 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는 글리코펩타이드 항원과 조합하여 폴리오 바이러스로부터 유래된 T 세포 에피토펜 KLFVAVWKITYKDT로 변형된다. 일부 실시양태에서, 사이클릭 디뉴클레오타이드는:



[0108] (21);

[0109] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

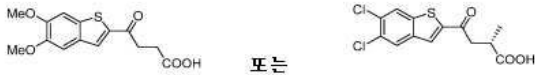
[0110] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 사이클릭 디뉴클레오타이드가 아니다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 플라본 아세트산(FAA), 10-카복시메틸-9-아크리다논(CMA) 또는 α-망고스틴과 같은 소분자이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는



[0111] 로부터 선택된 화합물;

[0112] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

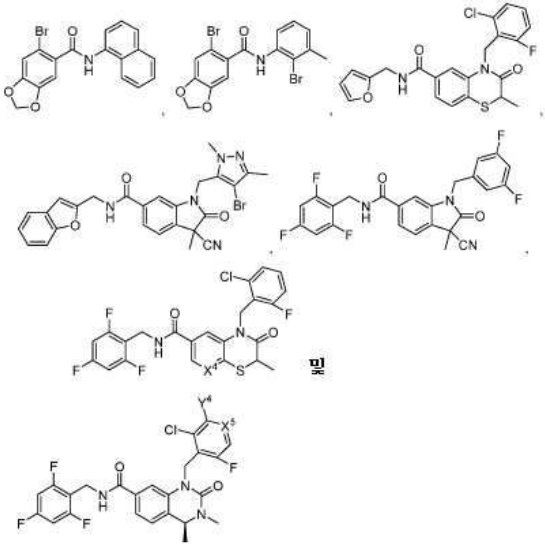
[0113] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 벤조티오펜과 같은 소분자이다. 일부 실시양태에서, 소분자 STING 작용제는



[0114] 로부터 선택된 화합물;

[0115] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0116] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는

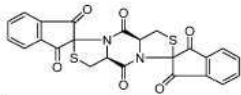


[0117] 로부터 선택된 화합물

[0118] (상기 식에서,  $X^4$ 는 CH 또는 N이고,  $X^5$ 는 CH 또는 N이고,  $Y^4$ 는  $NH_2$  또는  $CH_3$ 임);

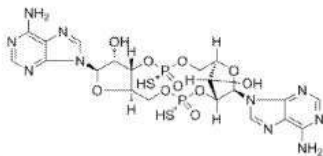
[0119] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0120] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는



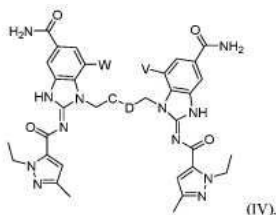
[0121] 이다.

[0123] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 ADU-S100, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다. 일부 실시양태에서, ADU-100은 다음 구조를 갖는다:



[0124]

[0125] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 아미도벤즈이미다졸이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 화학식 (IV), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 구조를 갖는다:



[0126]

[0127]

상기 식에서,

[0128]

C-D는 알킬렌 또는 알케닐렌이고;

[0129]

W는 H 또는 -OCH<sub>3</sub>이고;

[0130]

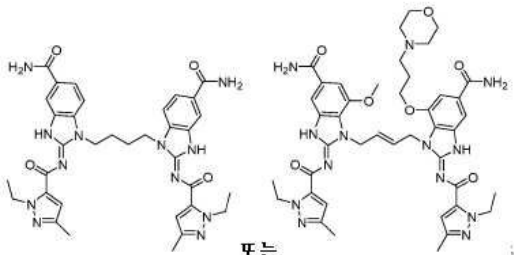
V는 H 또는 -O-(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)알킬-(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)헤테로사이클이다.

[0131]

화학식 (IV), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물의 일부 실시양태에서, C-D는 C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌이다. 일부 실시양태에서, C-D는 C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알케닐렌이다. 일부 실시양태에서, C-D는 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- 또는 -CH=CH-이다. 일부 실시양태에서, W는 수소이다. 일부 실시양태에서, W는 -OCH<sub>3</sub>이다. 일부 실시양태에서, V는 수소이다. 일부 실시양태에서, V는 -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬틸이다.

[0132]

일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는



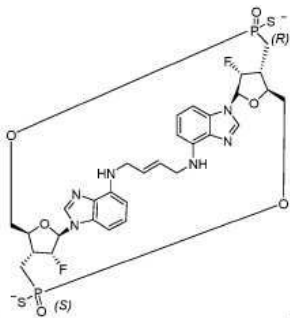
[0133]

또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물로부터 선택된다.

[0134]

[0135]

일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는



[0136]

또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물이다.

[0137]

[0138]

## II. 미셀, 혼합물, 및 조성물

[0139]

일부 실시양태에서, 비펩타이드 STING 작용제는 블록 공중합체를 포함하는 미셀 내에 캡슐화된다. 일부 실시양태에서, 미셀은 다양한 단량체로부터의 하나 이상의 상이한 유형의 블록 공중합체 성분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 블록 공중합체를 포함하는 미셀에 의해 비공유적으로 캡슐화된다.

[0140]

일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 하나 이상의 미셀을 포함하며, 각각의 미셀은 (i) 화학식 (I)의 블록 공중합체 및 (ii) 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 미셀은 2개, 3개 또는 그 이상의 상이한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 미셀은 2개 또는 3개의 상이한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 미셀은 동일한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다.

[0141]

암 요법에서 미셀의 사용은 부분적으로 미셀의 크기로 인해 항종양 효능을 향상시키고 건강한 조직에 대한 독성을 감소시킬 수 있다. 특정 화학요법제와 같은 소분자는 정상 조직과 종양 조직 모두에 유입될 수 있지만 비표적화된 미셀 나노입자는 누출이 있는 중앙 맥관 구조를 우선적으로 교차할 수 있다. 미셀의 크기는 통상적으로 나노미터 규모(즉, 직경이 약 1 nm 내지 1 μm)일 것이다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 1 μm 미만의 직경을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 10 내지 약 200nm의 크기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 20

내지 약 100nm의 크기를 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 30 내지 약 50nm의 크기를 갖는다.

[0142] 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 미셀 내에 캡슐화되지 않는다. 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 (i) 화학식 (I)의 블록 공중합체 및 (ii) 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는 성분의 혼합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 혼합물은 2개, 3개 또는 그 이상의 상이한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 혼합물은 2개 또는 3개의 상이한 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 혼합물은 하나의 별개의 유형의 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 혼합물은 다양한 단량체로부터의 하나 이상의 상이한 유형의 블록 공중합체 성분을 포함한다.

[0143] 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 10:1, 5:3, 5:2, 5:1, 4:1, 3:2, 3:1, 2:1; 1:1, 또는 그 안의 임의의 조합의 몰 비(molar ratio)의 (i) 화학식 (I)의 블록 공중합체 및 (ii) 비-펩타이드 STING 작용제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 2:1 또는 1:1 몰 비를 포함한다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 소분자이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 사이클릭 디뉴클레오타이드이다. 일부 실시양태에서, 비-펩타이드 STING 작용제는 cGAMP이다.

[0144] 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 식염수 또는 당류 용액(saccharide solution)을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 당류 또는 염수 용액은 완충제이다. 일부 실시양태에서, 당류 용액은 글루코스 용액이다. 일부 실시양태에서, 염수 용액은 염화나트륨 용액이다.

[0145] pH 반응성 조성물

[0146] 일부 실시양태에서, 약제학적 조성물은 pH 반응성 조성물이다. 본 명세서에 개시된 pH 반응성 조성물은 블록 공중합체 및 비-펩타이드 STING 작용제를 포함하는 하나 이상의 pH 반응성 미셀 및/또는 나노입자를 포함한다. 각각의 블록 공중합체는 친수성 중합체 절편 및 소수성 중합체 절편을 포함하며, 소수성 중합체 절편은 pH 감응성을 부여하기 위해 이온화 가능한 아민기를 포함한다. 이러한 pH 감응성은 약물 전달 치료제로 적합한 조성물을 제공하기 위해 이용된다.

[0147] 미셀은 특정 세포 또는 미세환경을 표적화하기 위해 생리적 범위 내에서 상이한 pH 전이 값을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 5 내지 약 8의 pH 전이값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 5 내지 약 6의 pH 전이값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 6의 pH 전이값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 7 내지 약 8의 pH 전이값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 6.3 내지 약 6.9의 pH 전이값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 5.0 내지 약 6.2의 pH 전이 값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 5.9 내지 약 6.2의 pH 전이 값을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 5.0 내지 약 5.5의 pH 전이 값을 갖는다. 일부 실시양태에서, pH 전이점(transition point)은 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 또는 5.5이다.

[0148] 본 발명의 pH 감응성 미셀 조성물은 pH 반응이 매우 넓은(즉, 2 pH 단위) 다른 pH 감응성 조성물과 달리 좁은 pH 전이 범위를 갖는 것이 유리할 수 있다. 이 pH 전이는 미셀이 해리되어 포함물을 방출하거나 포토포어(즉, 인도시아닌 그린 염료(indocyanine green dye))를 활성화하는 전이점이다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 1 pH 단위 미만의 pH 전이 범위를 갖는다. 다양한 실시양태에서, 미셀은 약 0.9 미만, 약 0.8 미만, 약 0.7 미만, 약 0.6 미만, 약 0.5 미만, 약 0.4 미만, 약 0.3 미만, 약 0.2 미만, 약 0.1 pH 단위 미만의 pH 전이 범위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 0.5 pH 단위 미만의 pH 전이 범위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 0.25 pH 단위 미만의 pH 전이 범위를 갖는다. 좁은 pH 전이 범위는 pH의 미묘한 변화와 함께 비-펩타이드 STING 작용제와 같은 치료 포함물을 완전히 방출할 수 있는 더 가파른 pH 반응을 유리하게 제공한다.

[0149] **III. 사용 방법**

[0150] 암세포가 글루코스를 우선적으로 흡수하여 이를 락트산 또는 다른 산으로 전환시키는 바르부르크 효과(Warburg effect)로 알려진 호기성 해당작용은 모든 고형 암에서 발생한다. 락트산 또는 기타 산은 모노카복실레이트 이동체 또는 기타 이동체 때문에 세포외 공간에 우선적으로 축적된다. 결과적으로 세포외 공간의 산성화는 추가적인 종양 침입 및 전이를 위한 세포외 기질의 재건을 촉진한다.

[0151] 본 명세서에 제공된 일부 실시양태는 생리적 pH(7.35 내지 7.45)에서 미셀을 형성하는 화합물을 기재한다. 일부 실시양태에서, 본 명세서에 기재된 화합물은 치료제에 비공유적으로 접합된다. 일부 실시양태에서, 미셀은  $2 \times 10^7$  달톤 초과 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약  $2.7 \times 10^7$  달톤의 분자량을 갖는다. 일부 실시양태에서, 치료제는 생리적 pH(7.35 내지 7.45)(예를 들어, 혈액 순환 동안)에서 미셀 핵 내에 격리된다. 일부 실시양태에서, 미셀이 산성 환경(예를 들어, 종양 조직)에 접할 때, 미셀은 약  $3.7 \times 10^4$  달톤의 평균 분자량을 갖는다.

개별 화합물로 해리되어 치료제를 방출할 수 있다. 일부 실시양태에서, 미셀은 pH 전이점 미만의 pH(예를 들어, 중양 미세환경의 산성 상태)에서 해리된다.

- [0152] 일부 실시양태에서, 치료제는 미셀의 내부에 혼입될 수 있다. 특정 pH 조건(예를 들어, 중양 및 세포내이입 구획에 존재하는 산성 pH)은 빠른 양성자화 및 미셀의 단량체로의 해리를 유도하여 치료제(예를 들어, 약물)를 방출할 수 있다. 일부 실시양태에서, 미셀은 생리적 pH(pH 7.4)에서 안정한 약물 캡슐화를 제공하지만, 산성 환경에서 약물을 빠르게 방출할 수 있다.
- [0153] 일부 예에서, 본 명세서에 기재된 pH 감응성 미셀 조성물은 좁은 pH 전이 범위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 명세서에 기재된 미셀은 1 pH 단위 미만의 pH 전이 범위( $\Delta$ pH10 내지 90%)를 갖는다. 다양한 실시양태에서, 미셀은 약 0.9 미만, 약 0.8 미만, 약 0.7 미만, 약 0.6 미만, 약 0.5 미만, 약 0.4 미만, 약 0.3 미만, 약 0.2 미만, 약 0.1 pH 단위 미만의 pH 전이 범위를 갖는다. 일부 실시양태에서, 미셀은 약 0.5 pH 단위 미만의 pH 전이 범위를 갖는다. 일부 실시양태에서, pH 전이 범위는 0.25 pH 단위 미만이다. 일부 실시양태에서, pH 전이 범위는 0.15 pH 단위 미만이다. 가파른 전이점은 미셀이 산성 중양 미세 환경과 분리되도록 한다.
- [0154] 이러한 미셀은 약물 전달제 및 STING 작용제로 사용될 수 있다. 약물을 포함하는 미셀은 암, 또는 다른 질병을 치료하는데 사용될 수 있으며, 약물은 국부적인 pH 차이(예를 들어, 생리적 pH(7.4)와 다른 pH)로 인해 적절한 위치로 전달될 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료되는 장애는 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 고형 종양을 포함한다. 일부 실시양태에서, 종양은 원발성 종양(들)의 전이로부터의 2차 종양이다. 일부 실시양태에서, 약물-전달은 림프절 또는 복막 또는 흉막 표면으로 이루어질 수 있다.
- [0155] 일부 실시양태에서 이를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 치료 유효량의 본 명세서에 개시된 임의의 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 있다.
- [0156] 일부 실시양태에서, 암은 암종(carcinoma), 육종(sarcoma), 림프종(lymphoma), 백혈병(leukemia), 흑색종(melanoma), 중피종(mesothelioma), 다발성 골수종(multiple myeloma) 또는 정소피종(seminoma)이다.
- [0157] 일부 실시양태에서, 암은 방광, 혈액, 뼈, 뇌, 유방, 중추신경계, 자궁경부, 결장, 자궁내막, 식도, 담낭, 위장관, 생식기, 비뇨생식관, 두부, 신장, 후두, 간, 폐, 근육 조직, 자궁경부, 구강 또는 코 점막, 난소, 췌장, 전립선, 피부, 비장, 소장, 대장, 위, 고환 또는 갑상선의 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암(breast cancer), 두경부 편평 세포 암종(head and neck squamous cell carcinoma)(HNSCC), 폐암(lung cancer), 난소암(ovarian cancer), 전립선암(prostate cancer), 방광암(bladder cancer), 요도암(urethral cancer), 식도암(esophageal cancer), 결장직장암(colorectal cancer), 복막 전이(peritoneal metastasis), 신장암(renal cancer) 또는 뇌(brain), 피부(skin)(흑색종(melanoma) 및 육종(sarcoma) 포함)이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC), 식도암, 결장직장암 또는 신장암이다.
- [0158] 일부 실시양태에서, 암은 고형 종양이다.
- [0159] 일부 실시양태에서, 종양은 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 25%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 또는 약 90% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 50% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 60% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 70% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 75% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 80% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 85% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 90% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 95% 감소된다. 일부 실시양태에서, 종양은 약 99% 감소된다.
- [0160] 인터페론 유전자 자극제(STING)는 자가면역 및 암 면역치료의 표적으로서 많은 관심을 받고 있다. 그러나 소분자 작용제를 사용하는 초기 단계 임상 시험은 제한된 항종양 효능을 나타내며 투여량 제한 독성이 있다.
- [0161] 또 다른 양상에서, 환자에서 STING 경로를 활성화시키는 방법으로서, 본 명세서에 기재된 억제학적 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 있다.
- [0162] 일부 실시양태에서 대상체에서 STING 경로를 활성화시키는 방법으로서, 대상체에게 치료 유효량의 본 명세서에 기재된 바와 같은 억제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 있다.
- [0163] 일부 실시양태에서, 대상체는 포유류이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다.
- [0164] 일부 실시양태에서, 본 방법은 조성물을 1회 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 조성물을 2회 이상 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 암 수술 전에 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0165] **IV. 조합 요법**

[0166] 또 다른 양상에서, 본 명세서에 개시된 억제학적 조성물은 하나 이상의 추가 요법과 함께 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 방법은 2차 항암 요법을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 2차 항암 요법은 수술, 화학요법, 방사선 요법, 유전자 요법 또는 제2 면역요법이다. 일부 실시양태에서, 2차 항암 요법은 제2 면역요법이다. 일부 실시양태에서, 제2 면역요법은 체크포인트 요법(checkpoint therapy)이다. 일부 실시양태에서, 2차 항암 요법은 방사선 요법이다. 일부 실시양태에서, 2차 요법은 수술이다.

[0167] **V. 키트**

[0168] 본 개시내용은 또한 키트를 제공한다. 본 명세서에 개시된 임의의 구성요소는 키트로 조합될 수 있다. 특정 실시양태에서 키트는 본 명세서에 기재된 이전의 실시양태의 조성물을 포함한다.

[0169] 본 키트는 일반적으로 적어도 하나의 바이알, 시험관, 플라스크, 병, 주사기 또는 성분이 배치될 수 있고 바람직하게는 적절하게 분취될 수 있는 다른 용기를 포함할 것이다. 키트에 하나 이상의 구성 요소가 있는 경우 키트에는 일반적으로 추가 구성 요소를 별도로 배치할 수 있는 두 번째, 세 번째 또는 기타 추가 용기도 포함된다. 그러나, 구성 요소들의 다양한 조합이 용기에 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 일련의 모든 미셀 집단은 단일 용기에 조합된다. 다른 실시양태에서, 일련의 미셀 집단의 일부 또는 전부는 별도의 용기에 제공된다.

[0170] 본 개시내용의 키트는 또한 통상적으로 상업적 판매를 위해 밀폐된 다양한 용기를 포함하기 위한 패키징을 포함할 것이다. 이러한 포장에는 적절한 용기가 보관되는 카드보드 또는 사출 또는 취입 성형 플라스틱 포장이 포함될 수 있다. 키트에는 키트 구성 요소를 사용하기 위한 지침이 포함될 수도 있다. 지침에는 구현할 수 있는 변용예가 포함될 수 있다.

[0171] **정의**

[0172] 다음의 설명에서, 다양한 실시양태의 완전한 이해를 제공하기 위해 특정한 특정 세부사항이 제시된다. 그러나, 당업자는 본 발명이 이러한 세부사항 없이 실시될 수 있음을 이해할 것이다. 다른 경우에, 실시양태의 설명을 불필요하게 모호하게 하는 것을 피하기 위해 잘 알려진 구조는 상세하게 도시되거나 기재되지 않았다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위 전체에 걸쳐 용어 "~를 포함하다" 및 "~를 포함한다" 및 "~를 포함한다"와 같은 변용예는 개방적이고 포괄적인 의미, 즉, "~를 포함한다"로 해석되어야 한다. 또한 본 명세서에 제공된 명칭은 편의를 위한 것이며 청구된 발명의 범위나 의미로 해석되지 않는다.

[0173] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 내용이 달리 명시하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 또한 "또는"이라는 용어는 일반적으로 내용상 달리 명시하지 않는 한 "및/또는"을 포함하는 의미로 사용된다는 점에 유의해야 한다.

[0174] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 하기 용어는 달리 나타내지 않는 한 다음과 같은 의미를 갖는다:

[0175] "옥소"는 =O 치환기를 지칭한다.

[0176] "티옥소"는 =S 치환기를 지칭한다.

[0177] "알킬"은 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착되는, 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 10개 이하의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬로 지칭되며, 마찬가지로 예를 들어 6개 이하의 탄소 원자를 포함하는 알킬은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬이다. 다른 수의 탄소 원자를 포함하는 알킬(및 본 명세서에 정의된 다른 모이어티)은 유사하게 표시된다. 알킬기는 다음에 제한되는 것은 아니나, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>9</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알킬, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 알킬 및 C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> 알킬을 포함한다. 대표적인 알킬기는 다음에 제한되는 것은 아니나, 메틸, 에틸, *n*-프로필, 1-메틸에틸 (*i*-프로필), *n*-부틸, *i*-부틸, *s*-부틸, *n*-펜틸, 1,1-디메틸에틸 (*t*-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실, 1-에틸-프로필을 포함한다. 일부 실시양태에서, 알킬은 메틸, 에틸, *s*-부틸 또는 1-에틸-프로필이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬 기는 하기 기재된 바와 같이 선택적으로 치환될 수 있다. "알킬렌" 또는 "알킬렌 사슬"은 분자의 나머지 부분을 라디칼 기에 연결하는 직쇄 또는 분지쇄 2가 탄화수소 사슬을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 알킬렌은 -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, 또는 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-이다. 일부 실시양태에서, 알킬

렌은  $-CH_2-$ 이다. 일부 실시양태에서, 알킬렌은  $-CH_2CH_2-$ 이다. 일부 실시양태에서, 알킬렌은  $-CH_2CH_2CH_2-$ 이다.

[0178] "알콕시"는 R이 정의된 바와 같은 알킬 라디칼인 화학식  $-OR$ 의 라디칼을 지칭한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알콕시기는 하기 기재된 바와 같이 선택적으로 치환될 수 있다. 대표적인 알콕시기는 다음에 제한되는 것은 아니나, 메톡시, 에톡시, 프로톡시, 부톡시, 펜톡시를 포함한다. 일부 실시양태에서, 알콕시는 메톡시이다. 일부 실시양태에서, 알콕시는 에톡시이다.

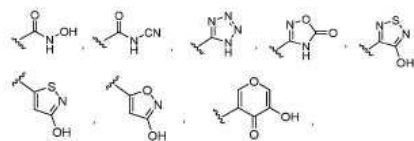
[0179] "헤테로알킬렌"은 알킬의 하나 이상의 탄소 원자가 O, N 또는 S 원자로 대체된 상기 기재된 바와 같은 알킬 라디칼을 지칭한다. "헤테로알킬렌" 또는 "헤테로알킬렌 사슬"은 라디칼 기에 분자의 나머지 부분을 연결하는 직쇄 또는 분지쇄 2가 헤테로알킬 사슬을 지칭한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로알킬 또는 헤테로알킬렌 기는 하기에 기재된 바와 같이 선택적으로 치환될 수 있다. 대표적인 헤테로알킬기는 다음에 제한되는 것은 아니나  $-OCH_2OMe$ ,  $-OCH_2CH_2OMe$ , 또는  $-OCH_2CH_2OCH_2CH_2NH_2$ 를 포함한다. 대표적인 헤테로알킬렌 기는 다음에 제한되는 것은 아니나  $-OCH_2CH_2O-$ ,  $-OCH_2CH_2OCH_2CH_2O-$ , 또는  $-OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2O-$ 를 포함한다.

[0180] "알킬아미노"는 화학식  $-NHR$  또는  $-NRR$ 의 라디칼을 지칭하며, 각각의 R은 독립적으로 상기 정의된 바와 같은 알킬 라디칼이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬아미노 기는 하기 기재된 바와 같이 선택적으로 치환될 수 있다.

[0181] 용어 "방향족"은  $4n+2 \pi$  전자를 포함하는 비편재화된  $\pi$ -전자 계를 갖는 평면 고리를 지칭하며, n은 정수이다. 방향족은 선택적으로 치환될 수 있다. 용어 "방향족"은 아릴 기(예를 들어, 페닐, 나프탈레닐) 및 헤테로아릴 기(예를 들어, 피리디닐, 퀴놀리닐)을 모두 포함한다.

[0182] "아릴"은 고리를 형성하는 각각의 원자가 탄소 원자인 방향족 고리를 지칭한다. 아릴기는 선택적으로 치환될 수 있다. 아릴기의 예는 다음에 제한되는 것은 아니나, 페닐 및 나프탈레닐을 포함한다. 일부 실시양태에서, 아릴은 페닐이다. 구조에 따라 아릴 기는 모노라디칼 또는 디라디칼(즉, 아릴렌 기)일 수 있다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 용어 "아릴" 또는 접두사 "아르"(예를 들어, "아르알킬")는 선택적으로 치환된 아릴 라디칼을 포함하는 것을 의미한다.

[0183] "카복시"는  $-CO_2H$ 를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 카복시 모이어티는 카복실산 모이어티와 유사한 물리적 및/또는 화학적 특성을 나타내는 작용기 또는 모이어티를 지칭하는 "카복실산 생동등체"로 대체될 수 있다. 카복실산 생동등체는 카복실산 기와 유사한 생물학적 특성을 갖는다. 카복실산 모이어티를 갖는 화합물은 카복실산 생동배체와 교체된 카복실산 모이어티를 가질 수 있고 카복실산 포함 화합물과 비교할 때 유사한 물리적 및/또는 생물학적 특성을 가질 수 있다. 예를 들어, 일 실시양태에서, 카복실산 생동등체는 카복실산 기와 대략 동일한 정도로 생리적 pH에서 이온화할 것이다. 카복실산의 생동등체의 예는 다음에 제한되는 것은 아니나:



[0184] 등을 포함한다.

[0186] "사이클로알킬"은 고리를 형성하는 각각의 원자(즉, 골격 원자)가 탄소 원자인 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 비방향족 라디칼을 지칭한다. 사이클로알킬은 포화되거나 부분적으로 불포화될 수 있다. 사이클로알킬은 방향족 고리와 융합될 수 있다(이 경우 사이클로알킬은 비방향족 고리 탄소 원자를 통해 결합됨). 사이클로알킬 기는 3 내지 10개의 고리 원자를 갖는 기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 사이클로알킬은  $C_3-C_6$  사이클로알킬이다. 일부 실시양태에서, 사이클로알킬은 3- 내지 6-원 사이클로알킬이다. 대표적인 사이클로알킬은 다음에 제한되는 것은 아니나, 3 내지 10개의 탄소 원자, 3 내지 8개의 탄소 원자, 3 내지 6개의 탄소 원자, 또는 3 내지 5개의 탄소 원자를 갖는 사이클로알킬을 포함한다. 모노사이클릭 사이클로알킬 라디칼은 예를 들어 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 및 사이클로옥틸을 포함한다. 일부 실시양태에서, 모노사이클릭 사이클로알킬은 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸 또는 사이클로헥실이다. 폴리사이클릭 라디칼은 예를 들어 아다만틸, 노르보르닐, 데칼리닐 및 3,4-디하이드로나프탈렌-1(2H)-온을 포함한다. 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 사이클로알킬 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0187] "융합된"은 기존 고리 구조에 융합된 본 명세서에 기재된 임의의 고리 구조를 지칭한다. 융합 고리가 헤테로사

이클릴 고리 또는 헤테로아릴 고리인 경우, 융합 헤테로사이클릴 고리 또는 융합 헤테로아릴 고리의 일부가 되는 기존 고리 구조 상의 임의의 탄소 원자는 질소 원자로 대체될 수 있다.

[0188] "할로" 또는 "할로겐"은 브로모, 클로로, 플루오로 또는 요오도를 지칭한다.

[0189] "할로알킬"은 상기 정의된 바와 같은 하나 이상의 할로 라디칼, 예를 들어 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 플루오로메틸, 트리클로로메틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 1,2-디플루오로에틸, 3-브로모-2-플루오로프로필, 1,2-디브로모에틸 등에 의해 치환된 상기 정의된 바와 같은 알킬 라디칼을 지칭한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 할로알킬 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0190] "할로알콕시"는 상기 정의된 바와 같은 하나 이상의 할로 라디칼, 예를 들어 트리플루오로메톡시, 디플루오로메톡시, 플루오로메톡시, 트리클로로메톡시, 2,2,2-트리플루오로에톡시, 1,2-디플루오로에톡시, 3-브로모-2-플루오로프로폭시, 1,2-디브로모에톡시 등에 의해 치환된 상기 정의된 바와 같은 알콕시 라디칼을 지칭한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 할로알콕시기는 선택적으로 치환될 수 있다.

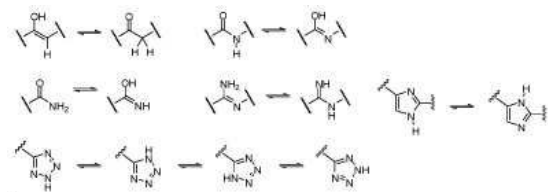
[0191] "헤테로사이클로알킬" 또는 "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릭 고리"는 2 내지 13개의 탄소 원자 및 질소, 산소, 및 황으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로원자를 포함하는, 안정한 3 내지 14원 비방향족 고리 라디칼을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> 헤테로사이클로알킬이다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 헤테로사이클로알킬이다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 3- 내지 8원 헤테로사이클로알킬이다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 3- 내지 7원 헤테로사이클로알킬이다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 3- 내지 6원 헤테로사이클로알킬이다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 3- 내지 5원 헤테로사이클로알킬이다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로사이클로알킬 라디칼은 융합(아릴 또는 헤테로아릴 고리와 융합될 때, 헤테로사이클로알킬은 비방향족 고리 원자를 통해 결합됨) 또는 가교 고리계를 포함할 수 있는 모노사이클릭 또는 바이사이클릭 고리계일 수 있다. 헤테로사이클릴 라디칼의 질소, 탄소 또는 황 원자는 선택적으로 산화될 수 있다. 질소 원자는 선택적으로 4차화될 수 있다. 헤테로사이클로알킬 라디칼은 부분적으로 또는 완전히 포화된다. 이러한 헤테로사이클로알킬 라디칼의 예는 다음에 제한되는 것은 아니나, 디옥솔라닐, 티에닐[1,3]디티아닐, 테카하이드로이소퀴놀릴, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 이속사졸리디닐, 모르폴리닐, 옥타하이드로인돌릴, 옥타하이드로이소인돌릴, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 옥사졸리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 퀴누클리디닐, 티아졸리디닐, 테트라하이드로푸릴, 트리티아닐, 테트라하이드로피라닐, 티오모르폴리닐, 티아모르폴리닐, 1-옥소-티오모르폴리닐, 1,1-디옥소 티오모르폴리닐을 포함한다. 용어 헤테로사이클로알킬은 또한 다음에 제한되는 것은 아니나, 단당류, 이당류 및 올리고당류를 포함하는 탄수화물의 모든 고리 형태를 포함한다. 달리 언급되지 않는 한, 헤테로사이클로알킬은 고리에 2 내지 10개의 탄소를 갖는다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 고리에 2 내지 8개의 탄소를 갖는다. 일부 실시양태에서, 헤테로사이클로알킬은 고리에 2 내지 8개의 탄소 및 1 또는 2개의 N 원자를 갖는다. 헤테로사이클로알킬의 탄소 원자 수를 언급할 때, 헤테로사이클로알킬의 탄소 원자 수는 헤테로사이클로알킬을 구성하는 원자(헤테로 원자 포함)(즉, 헤테로사이클로알킬 고리의 골격 원자)의 총 수와 동일하지 않음을 이해한다. 명세서에서 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로사이클로알킬 기는 선택적으로 치환될 수 있다.

[0192] "헤테로아릴"은 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 하나 이상의 고리 헤테로원자를 포함하는 아릴 기를 지칭한다. 헤테로아릴은 모노사이클릭 또는 바이사이클릭이다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 5 내지 또는 6-원 헤테로아릴이다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 5원 헤테로아릴이다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 6원 헤테로아릴이다. 모노사이클릭 헤테로아릴의 예시적인 예는 피리디닐, 이미다졸릴, 피리미디닐, 피라졸릴, 트리아졸릴, 피라지닐, 테트라졸릴, 푸릴, 티에닐, 이속사졸릴, 티아졸릴, 옥사졸릴, 이소티아졸릴, 피롤릴, 피리다지닐, 트리아지닐, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 푸라자닐, 인돌리진, 인돌, 벤조푸란, 벤조티오펜, 인다졸, 벤즈이미다졸, 퓨린, 퀴놀리진, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 신놀린, 프탈라진, 퀴나졸린, 퀴녹살린, 1,8-나프티리딘 및 프테리딘을 포함한다. 모노사이클릭 헤테로아릴의 예시적인 예는 피리디닐, 이미다졸릴, 피리미디닐, 피라졸릴, 트리아졸릴, 피라지닐, 테트라졸릴, 푸릴, 티에닐, 이속사졸릴, 티아졸릴, 옥사졸릴, 이소티아졸릴, 피롤릴, 피리다지닐, 트리아지닐, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴 및 푸라자닐을 포함한다. 바이사이클릭 헤테로아릴의 예시적인 예는 인돌리진, 인돌, 벤조푸란, 벤조티오펜, 인다졸, 벤즈이미다졸, 퓨린, 퀴놀리진, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 신놀린, 프탈라진, 퀴나졸린, 퀴녹살린, 1,8-나프티리딘 및 프테리딘을 포함한다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 티아졸릴, 티에닐, 티아디아졸릴 또는 푸릴이다. 일부 실시

양태에서, 헤테로아릴은 고리에 0 내지 4개의 N 원자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 고리에 1 내지 4개의 N 원자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 고리에 0 내지 4개의 N 원자, 0 내지 1개의 O 원자 및 0 내지 1개의 S 원자를 포함한다. 일부 실시양태에서, 헤테로아릴은 고리에 1 내지 4개의 N 원자, 0 내지 1개의 O 원자 및 0 내지 1개의 S 원자를 포함한다.

[0193] 용어 "선택적으로 치환된" 또는 "치환된"은 언급된 기가 알킬, 할로알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클로알킬, -OH, 알콕시, 아릴옥시, 알킬티오, 아릴티오, 알킬술폰사이드, 아릴술폰사이드, 알킬술폰, 아릴술폰, -CN, 알킨, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬알킨, 할로젠, 아실, 아실옥시, -CO<sub>2</sub>H, -CO<sub>2</sub>알킬, 니트로 및 아미노(단일 및 이중치환된 아미노 기(예를 들어, -NH<sub>2</sub>, -NHR, -N(R)<sub>2</sub>) 포함) 및 이의 보호된 유도체로부터 개별적으로 독립적으로 선택된 하나 이상의 추가 기(들)에 의해 치환될 수 있음을 의미한다. 일부 실시양태에서, 임의의 치환기는 알킬, 알콕시, 할로알킬, 사이클로알킬, 할로젠, -CN, -NH<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>3</sub>), -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -CO<sub>2</sub>H, 및 -CO<sub>2</sub>알킬로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 선택적 치환기는 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, 및 -OCF<sub>3</sub>로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 선택적 치환기는 플루오로, 클로로, -CH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, 및 -OCF<sub>3</sub>로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 치환된 기는 전술한 기 중 1개 또는 2개로 치환된다. 일부 실시양태에서, 지방족 탄소 원자(방향족 탄소 원자를 제외한 비사이클릭 또는 사이클릭, 포화 또는 불포화 탄소 원자) 상의 선택적 치환기는 옥소(=O)를 포함한다.

[0194] "호변이성질체"는 분자의 한 원자에서 동일한 분자의 다른 원자로의 양성자 이동을 지칭한다. 본 명세서에 제시된 화합물은 호변이성질체로 존재할 수 있다. 호변이성질체는 단일 결합과 인접한 이중 결합의 전환을 수반하는 수소 원자의 이동에 의해 상호 전환 가능한 화합물이다. 호변이성질체가 가능한 결합 배열에서는 호변이성질체의 화학적 평형이 존재할 것이다. 본 명세서에 개시된 화합물의 모든 호변이성질체 형태가 고려된다. 호변이성질체의 정확한 비율은 온도, 용매 및 pH를 포함하는 여러 요인에 따라 달라진다. 호변이성질체 상호전환의 일부 예는 다음과 같다:



[0195] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "공동-투여" 등은 선택된 치료제를 단일 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 의미하고, 제제가 동일하거나 다른 투여 경로 또는 동시에 또는 다른 시간에 투여되는 치료 요법을 포함하도록 의도된다.

[0196] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 치료되는 질병 또는 병태의 하나 이상의 증상을 일정 정도 경감시킬 투여되는 제제 또는 화합물의 충분한 양을 의미한다. 결과는 질병의 징후, 증상 또는 원인의 감소 및/또는 완화 또는 생물학적 계의 임의의 다른 적절한 변경일 수 있다. 예를 들어, 치료 용도를 위한 "유효량"은 질병 증상의 임상적으로 상당한 감소를 제공하는데 필요한 본 명세서에 개시된 바와 같은 화합물을 포함하는 조성물의 양이다. 임의의 개별 사례에서 적절한 "유효" 양은 투여량 증량 연구와 같은 기술을 사용하여 결정할 수 있다.

[0197] 달리 명시되지 않는 한, 본 출원에서 사용된 다음 용어는 아래에 제공된 정의를 갖는다. "~를 포함하는"이라는 용어와 "~를 포함하다", "~를 포함한다" 및 "~에 포함된다"와 같은 다른 형태의 사용은 제한이 아니다. 본 명세서에 사용된 섹션 제목은 구성 목적으로만 사용되며 기재 대상을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0198] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "약제학적으로 허용 가능한"은 블록 공중합체의 생물학적 활성 또는 특성을 손상시키지 않고 비교적 비독성인 담체 또는 희석제와 같은 물질을 의미하며, 즉, 상기 물질은 부적절한 생물학적 효과를 일으키거나 그것이 포함된 조성물의 임의의 성분과 유해한 방식으로 상호작용하지 않고 개체에 투여된다.

[0199] 용어 "약제학적으로 허용 가능한 염"은 적합한 음이온과 조합된 치료 활성제의 양이온 형태, 또는 대안적 실시양태에서 적절한 양이온과 조합된 치료 활성제의 음이온 형태로 구성되는 치료 활성제의 형태를 지칭한다. 문헌 [Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use. International Union of Pure and

Applied Chemistry, Wiley-VCH 2002. S.M. Berge, L.D. Bighley, D.C. Monkhouse, J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19. P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, Weinheim/ Zürich: Wiley-VCH/VHCA, 2002]. 약제학적 염은 일반적으로 비이온 종류보다 위액과 장액에 더 잘 용해되고 더 빨리 용해되어, 고품 투여 형태에 유용하다. 또한 용해도는 종종 pH의 함수이기 때문에 소화관의 한 부분 또는 다른 부분에서 선택적 용해가 가능하며 이 기능은 지연 및 지속 방출 형태의 한 양상으로 조작될 수 있다. 또한 염 형성 분자가 중성 형태와 평형을 이룰 수 있기 때문에 생체막 통과를 조절할 수 있다.

[0201] 일부 실시양태에서, 약제학적으로 허용 가능한 염은 블록 공중합체를 산과 반응시켜 얻어진다. 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 블록 공중합체(즉, 유리 염기 형태)는 염기성이며 유기산 또는 무기산과 반응한다. 무기산은 다음에 제한되는 것은 아니나, 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산 및 메타인산을 포함한다. 유기산에는 다음에 제한되는 것은 아니나, 1-하이드록시-2-나프토산; 2,2-디클로로아세트산; 2-하이드록시에탄술폰산; 2-옥소글루타르산; 4-아세트아미도벤조산; 4-아미노살리실산; 아세트산; 아디프산; 아스코르브산(L); 아스파르트산(L); 벤젠술폰산; 벤조산; 캄포산(+); 캄포-10-술폰산(+); 카프르산(데칸산); 카프로산(헥산산); 카프릴산(옥탄산); 탄산; 신남산; 시트르산; 시클라민산; 도데실황산; 에탄-1,2-디술폰산; 에탄술폰산; 포름산; 푸마르산; 갈락타르산; 젠티식산; 글루코헵톤산(D); 글루콘산(D); 글루쿠론산(D); 글루탐산; 글루타르산; 글리세로인산; 글리콜산; 히푸르산; 이소부티르산; 락트산(DL); 락토바이오닉산; 라우르산; 말레산; 말산(-L); 말론산; 만델산(DL); 메탄술폰산; 나프탈렌-1,5-디술폰산; 나프탈렌-2-술폰산; 니코틴산; 올레산; 옥살산; 팔미트산; 파모산; 인산; 프로피온산; 피로글루탐산(-L); 살리실산; 세박산; 스테아르산; 숙신산; 황산; 타르타르산(HL); 티오시안산; 툴루엔술폰산(p); 및 운데실렌산을 포함한다.

[0202] 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 블록 공중합체는 클로라이드 염, 술페이트 염, 브로마이드 염, 메실레이트 염, 말레레이트 염, 시트레이트 염 또는 포스페이트 염으로서 제조된다.

[0203] 일부 실시양태에서, 약제학적으로 허용 가능한 염은 화학식 (I)의 블록 공중합체를 염기와 반응시켜 얻어진다. 일부 실시양태에서, 화학식 (I)의 블록 공중합체는 산성이며 염기와 반응한다. 이러한 상황에서, 화학식 (I)의 블록 공중합체의 산성 양성자는 금속 이온, 예를 들어 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 또는 알루미늄 이온으로 대체된다. 일부 경우에, 본 명세서에 기재된 블록 공중합체는 다음에 제한되는 것은 아니나, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민, 메글루민, N-메틸글루카민, 디사이클로헥실아민, 트리스(하이드록시메틸)메틸아민과 같은 유기 염기와 배위된다. 다른 경우에, 본 명세서에 기재된 블록 공중합체는 다음에 제한되는 것은 아니나, 아르기닌, 리신 등과 같은 아미노산과 염을 형성한다. 산성 양성자를 포함하는 블록 공중합체와 염을 형성하는데 사용되는 허용 가능한 무기 염기는 다음에 제한되는 것은 아니나, 수산화알루미늄, 수산화칼슘, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼륨, 수산화나트륨, 수산화리튬 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 명세서에서 제공되는 블록 공중합체는 나트륨염, 칼슘염, 칼륨염, 마그네슘염, 벨라민염, N-메틸글루카민염 또는 암모늄염으로서 제조된다.

[0204] 약제학적으로 허용 가능한 염에 대한 언급은 용매 첨가 형태를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 실시양태에서, 용매화물은 화학량론적 또는 비화학량론적 양의 용매를 포함하고, 물, 에탄올 등과 같은 약제학적으로 허용 가능한 용매로 결정화하는 과정 동안 형성된다. 용매가 물일 때 수화물이 형성되고 용매가 알코올일 때 알코올레이트가 형성된다. 본 명세서에 기재된 화합물의 용매화물은 본 명세서에 기재된 과정 동안 편리하게 제조 또는 형성된다. 또한, 본 명세서에서 제공되는 화합물은 비용매화 및 용매화 형태로 선택적으로 존재한다.

[0205] 본 명세서에 기재된 방법 및 제형은 N-옥사이드(적절한 경우) 또는 화학식 (I)의 구조를 갖는 블록 공중합체의 약제학적으로 허용 가능한 염뿐만 아니라 동일한 유형의 활성을 갖는 이러한 화합물의 활성 대사산물의 사용을 포함한다.

[0206] 또 다른 실시양태에서, 본 명세서에 기재된 화합물은 동위원소적으로(예를 들어, 방사성동위원소) 또는 다음에 제한되는 것은 아니나, 발색단 또는 형광 모이어티, 생물발광 표지 또는 화학발광 표지를 포함하는 또 다른 다른 수단에 의해 표지된다.

[0207] 본 명세서에 기재된 화합물은 동위원소 표지된 화합물을 포함하며, 이는 본 명세서에 제시된 다양한 화학식 및 구조에 열거된 것과 동일하지만 하나 이상의 원자가 자연에서 일반적으로 발견되는 원자 질량 또는 질량수와 상이한 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체된다. 본 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 황, 플루오린 염소, 요오드, 인의 동위원소, 예를 들어 <sup>2</sup>H, <sup>3</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>18</sup>O, <sup>17</sup>O, <sup>35</sup>S, <sup>18</sup>F, <sup>36</sup>Cl, <sup>123</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>32</sup>P 및 <sup>33</sup>P를 포함한다. 일 양상에서, 본 명세서에 기재된 동위원소-표지된 화

합물, 예를 들어  $^3\text{H}$  및  $^{14}\text{C}$ 와 같은 방사성 동위원소가 혼입된 화합물은 약물 및/또는 기질 조직 분포 분석에 유용하다. 일 양상에서, 중수소와 같은 동위원소로의 치환은 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요구와 같은 보다 큰 대사 안정성으로부터 발생하는 특정 치료 이점을 제공한다.

[0208] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "pH 반응성 계", "pH 반응성 조성물", "미셀", "pH-반응성 미셀", "pH-감응성 미셀", "pH-활성성 미셀" 및 "pH-활성성 미셀(pHAM) 나노입자"는 pH(예를 들어, 특정 pH 이상 또는 이하)에 따라 해리되는 하나 이상의 화합물을 포함하는 미셀을 나타내기 위해 본 명세서에서 상호용된다. 비제한적 예로서, 특정 pH에서 화학식 (I)의 블록 공중합체는 실질적으로 미셀 형태이다. pH가 변화함에 따라(예를 들어, 감소), 미셀은 해리되기 시작하고, pH가 추가로 변화함에 따라(예를 들어, 추가 감소), 화학식 (I)의 블록 공중합체는 실질적으로 해리된(미셀이 아닌) 형태로 존재한다.

[0209] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "pH 전이 범위"는 미셀이 해리되는 pH 범위를 나타낸다.

[0210] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "pH 전이 값"(pH)은 미셀의 절반이 해리되는 pH를 나타낸다.

[0211] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "투여하다", "투여하는", "투여" 등의 용어는 적절한 생물학적 작용 부위에 화합물 또는 조성물을 전달하는데 사용될 수 있는 방법을 지칭한다. 이러한 방법에는 다음에 제한되는 것은 아니나, 경구 경로, 십이지장내 경로, 비경구 주사(정맥내, 피하, 복강내, 근육내, 혈관내, 종양내 또는 주입 포함), 국소 및 직장 투여가 포함된다. 당업자는 본 명세서에 기재된 화합물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 투여 기술에 익숙하다. 일부 실시양태에서, 본 명세서에 기재된 화합물 및 조성물은 경구 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 정맥내로 투여된다.

[0212] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "공동-투여" 등은 선택된 치료제를 단일 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 의미하고, 제제가 동일하거나 다른 투여 경로 또는 동시에 또는 다른 시간에 투여되는 치료 요법을 포함하도록 의도된다.

[0213] 본 명세서에 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 투여되는 제제 또는 화합물의 충분한 양을 지칭하며, 이는 치료되는 질병 또는 병태의 증상 중 하나 이상을 일정 정도 경감시킬 것이다. 결과는 질병의 징후, 증상 또는 원인의 감소 및/또는 완화 또는 생물학적 계의 기타 적절한 변경을 포함한다. 예를 들어, 치료 용도를 위한 "유효량"은 질병 증상의 임상적으로 상당한 감소를 제공하는데 필요한 본 명세서에 개시된 바와 같은 화합물을 포함하는 조성물의 양이다. 임의의 개별 사례에서 적절한 "유효"량은 투여량 증량 연구와 같은 기술을 사용하여 선택적으로 결정된다.

[0214] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "향상시키다" 또는 "향상시키는"은 적절한 효과의 효능 또는 지속 시간을 증가시키거나 연장시키는 것을 의미한다. 따라서, 치료제의 효과를 향상시키는 것과 관련하여, "향상"이라는 용어는 계에 대한 다른 치료제의 효과를 효능 또는 지속 시간에서 증가시키거나 연장시키는 기능을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "향상-유효량"은 적절한 계에서 또 다른 치료제의 효과를 증진시키기에 적합한 양을 지칭한다.

[0215] 용어 "대상체" 또는 "환자"는 포유류를 포함한다. 포유류의 예는 다음에 제한되는 것은 아니나, 포유류 부류의 임의의 구성원, 인간, 침팬지와 같은 비인간 영장류, 및 기타 유인원 및 원숭이 종; 소, 말, 양, 염소, 돼지와 같은 농장 동물; 토끼, 개, 고양이 등의 가축; 랫트, 마우스 및 기니아피그 등과 같은 설치류를 포함하는 실험 동물을 포함한다. 일 양상에서, 포유류는 인간이다.

[0216] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질병 또는 병태의 적어도 하나의 증상을 경감, 제거 또는 완화시키는 것, 추가 증상을 예방하는 것, 질병 또는 병태를 억제하는 것, 예를 들어, 질병 또는 병태의 발생의 저지, 질병 또는 병태의 완화, 질병 또는 병태의 퇴행 유발, 질병 또는 병태로 인한 상태의 완화, 또는 질병 또는 병태의 증상의 예방적 및/또는 치료적 중단을 포함한다.

[0217] 청구범위에서 용어 "또는"의 사용은 명시적으로 대안만을 언급하거나 대안이 상호 배타적이지 않는 한 "및/또는"을 의미하는데 사용되지만, 본 개시내용은 대안 및 "및/또는"을 지칭하는 정의를 지원한다. 본 출원 전체에서, "약"이라는 용어는 값이 값을 결정하기 위해 사용되는 장치 또는 방법에 대한 표준 오차를 포함함을 나타내기 위해 사용된다. 오랜 특허법에 따라 단수형("a" 및 "an")은 청구범위 또는 명세서에서 "~를 포함하는"이라는 단어와 함께 사용될 때 특별히 언급되지 않는 한 하나 이상을 나타낸다.

[0218] 실시예

- [0219] 본 명세서에 기재된 블록 공중합체 및 미셀은 표준 합성 기술을 사용하거나 당업계에서 공지된 방법을 사용하여 합성된다.
- [0220] 달리 나타내지 않는 한, 질량 분광법, NMR, HPLC, 단백질 화학, 생화학, 재조합 DNA 기술 및 약리학의 통상적인 방법이 사용된다.
- [0221] 블록 공중합체는 예를 들어 문헌[March's Advanced Organic Chemistry, 6th Edition, John Wiley and Sons, Inc.]에 기재된 것과 같은 표준 유기 화학 기술을 사용하여 제조된다.
- [0222] 본 명세서에서 사용되는 일부 약어는 다음과 같다:
- [0223] DCM: 디클로로메탄
- [0224] DMAP: 4-디메틸아미노피리딘
- [0225] DMF: 디메틸 포름아미드
- [0226] DMF-DMA: N,N-디메틸포름아미드 디메틸 아세탈
- [0227] EDCI: 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드
- [0228] EtOAc: 에틸 아세테이트
- [0229] EtOH: 에탄올
- [0230] MeOH: 메탄올
- [0231] PMDETA: N,N,N',N'',N'''-펜타메틸디에틸렌트리아민
- [0232] CDI 카보닐디이미다졸
- [0233] TEA: 트리에틸아민
- [0234] Hr 시간
- [0235] ISR 발생 샘플 재분석
- [0236] IV 정맥내
- [0237] kg 킬로그램
- [0238] mg 밀리그램
- [0239] mL 밀리리터
- [0240]  $\mu$ g 마이크로그램
- [0241]  $\mu$ m 미크론
- [0242] NC 계산되지 않음
- [0243] NR 보고되지 않음
- [0244] 적합한 PEG 중합체는 구입하거나 (예를 들어, Sigma Aldrich) 당업계에서 공지된 방법에 따라 합성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체를 소수성 단량체의 중합을 위한 개시제로 사용하여 블록 공중합체를 형성할 수 있다. 예를 들어, 2-메타크릴로일옥시에틸 포스포릴콜린(MPC) 중합체(예를 들어, 좁게 분포된 MPC 중합체)는 에틸 2-브로모-2-메틸프로파노에이트(예를 들어, Sigma Aldrich)와 같은 상업적으로 입수 가능한 소분자 개시제를 사용하여 원자 이동 라디칼 중합(ATRP)에 의해 제조될 수 있다. 이러한 생성된 MPC 중합체를 원자 이동 라디칼 중합(ATRP) 또는 가역적 부가-단편 사슬 이동(RAFT) 방법을 사용하여 합성될 수 있는 블록 중합체를 형성하기 위해 다른 단량체와 추가로 공중합하기 위한 거대분자 ATRP 개시제로 사용될 수 있다.
- [0245] **실시예 1. 합성 및 특성화**
- [0246] **중합체의 합성.** 2-헥사메틸렌이미노에틸 메타크릴레이트(C7A-MA), 2-(4-메틸피페리딘렌이미노)에틸 메타크릴레이트(C6S1A-MA), 2-헵타메틸렌이미노에틸 메타크릴레이트(C8A-MA), 2-디이소프로필아미노에틸 메타크릴레이트(DPA-MA) 및 2-에틸프로필아미노에틸 메타크릴레이트(EPA-MA)를 포함하는 단량체를 합성하였다. PEG-b-PR 공중

합체를 원자 이동 라디칼 중합(ATRP) 방법을 사용하여 합성하였다. 70개의 반복 단위가 있는 폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(2-헥사메틸렌이미노에틸 메타크릴레이트), PC7A(70)를 질차를 설명하기 위한 예로 사용한다. 먼저, C7A-MA (1.5 g, 7 mmol), MeO-PEG<sub>114</sub>-Br (0.5 g, 0.1 mmol, Sigma Aldrich), 및 PMDETA (21  $\mu$ L, 0.1 mmol, Sigma Aldrich)를 2-프로판올 혼합물 (2mL) 및 디메틸포름아미드(2mL)에 Schlenk 플라스크에서 용해시켰다. 동결-펌프-해동의 3주기로 산소를 제거한 다음 CuBr(14mg, 0.1mmol, Alfa Aesar)을 질소 보호 하에 첨가했다. 중합을 진공에서 40°C에서 밤새 수행하였다. 중합 후, 반응 혼합물을 테트라하이드로퓨란(10 mL)에 희석한 다음 중성 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 컬럼을 통과시켜 촉매를 제거하였다. 유기 용매를 회전 증발에 의해 제거하였다. 잔류물을 증류수에 서 투석하고 동결건조하여 백색 분말을 얻었다. 합성 후, 산물을 <sup>1</sup>H NMR 및 겔 투과 크로마토그래피로 특성화하였다. PC6S1A, PC8A, PDPA 및 PEPA를 포함한 4개의 다른 중합체를 모두 70개의 반복 단위로 합성하였다. 반복 단위가 다른 PC7A 중합체를 C7A-MA 단량체 대 MeO-PEG<sub>114</sub>-Br 개시제의 초기 비율을 조정하여 합성하였다.

[0247] 염료-접합 공중합체의 합성은 유사한 질차를 따랐다. 1차 아미노 기(아미노에틸 메타크릴레이트 또는 AMA-MA, Polysciences)를 AMA-MA 단량체 대 개시제의 공급 비율(3:1)을 제어하여 각 중합체 사슬에 도입하였다. 합성 후, PEG-b-(PR-r-AMA)를 디메틸포름아미드에 용해시키고, 염료-N-하이드록실숙신이미달 에스테르를 첨가하였다 (1차 아미노기에 대해 3몰 당량, Lumiprobe). 밤새 반응시킨 후, 공중합체를 초원심분리(MW = 10kD 컷오프)로 3회 정제하여 유리 염료 분자를 제거했다. 산물을 동결건조하고 -80°C에서 보관하였다.

[0248] **미셀 나노입자의 제조.** 세포 연구를 위한 미셀 나노입자를 용매 증발법에 따라 제조하였다. 간략하게, 중합체(4 mg)를 먼저 메탄올(0.4 mL)에 용해시킨 다음 초음파 처리 하에 증류수(3.6 mL)에 적가하였다. 새로운 증류수로 3회 한외여과(MW = 100 kD 컷오프)로 메탄올을 제거했다. 멸균 PBS를 첨가하여 스톱 용액으로서 농도를 200  $\mu$ M 로 조정하였다.

[0249] pH 4에서 5% D-글루코스를 포함하는 PC7A 중합체 용액에 2'3'-cGAMP를 혼합한 다음, NaOH를 사용하여 pH 7.4로 조정하여 cGAMP-부가된 나노입자를 제조하였다. 미셀 형성 후, 나노입자를 크기 및 크기 분포를 측정하기 위해 동적 광산란에 의해 분석하였다. cGAMP 부가 효율(>90%)을 HPLC로 정량화했다.

[0250] **제조함 STING 단백질의 발현, 정제 및 표지.** pET-SUMO 벡터(UT Southwestern의 Z. J. Chen 박사 제공)에 인코딩된 His<sub>6</sub> 태그를 포함하는 인간 STING C-말단 도메인(CTD, 139-379 사이의 아미노산 서열) 플라스미드를 주형으로 사용하고 Q<sub>5</sub> 부위 지정 돌연변이유발 키트(NEB)를 사용하여 E296A/D297A, D319A/D320A, 및 E336A/E337A/E339A/E340A 돌연변이를 생성하였다. 에세리키아 콜라이(*Escherichia coli*)(E. 콜라이)에서 균주 BL21/pLys에서 0.8mM 이소프로필- $\beta$ -D-티오갈락토사이드(IPTG)로 16°C에서 18시간 동안 WT 또는 돌연변이 단백질의 과발현을 유도하였다. 박테리아 세포를 수집하고, 현탁시키고(50mM Tris-Cl, 300mM NaCl, 20mM 이미다졸, pH 8.0), 얼음 위에서 초음파 처리하여 파괴시켰다. 세포 파편을 20,000g에서 4°C에서 1시간 동안 원심분리하여 제거했다. 상청액을 Ni<sup>2+</sup>-니트릴로트리아세테이트 친화도 수지(Ni-NTA, QIAGEN)에 부가하였다. 4°C에서 4시간 인큐베이션 후, 수지를 세척 완충액(50mM Tris-Cl, 1M NaCl, 20mM 이미다졸, pH 8.0)으로 3회 세정하였다. 그런 다음 ULP1 SUMO 프로테아제를 사용하여 4°C에서 밤새 단백질을 분해하여 SUMO 태그를 제거했다. 용출 완충액(20mM Tris-Cl, 50mM NaCl, 20mM 이미다졸, pH 7.5)으로 단백질을 용출시켰다. 이어서, 용출된 단백질을 Superdex 200 컬럼(GE Healthcare)을 사용하여 크기 배제 크로마토그래피를 수행하고, 분획을 수집하여, 농축하고, 25mM HEPES 및 150mM NaCl을 포함하는 완충액(pH 7.5)에 대해 여막 분석하였다. 염료 접합을 위해 단백질 용액을 NaHCO<sub>3</sub>(pH 8.4)에서 Cy5-NHS와 4°C에서 밤새 혼합했다. 유리 염료 분자를 탈염 컬럼(7K, Thermo Scientific)을 사용하여 제거했다. 염료 표지된 단백질을 수집하고 농축하여 상분리 연구에 사용했다.

[0251] **등온 적정 열량계(ITC).** MicroCal VP-ITC를 사용하여 단백질과 중합체 간의 결합 친화도를 측정했다. STING 이량체 농도를 12.5  $\mu$ M에서, PC7A(70)를 10  $\mu$ M에서 유지하였다. 적정을 25mM HEPES 및 150mM NaCl을 포함하는 완충액(pH 6.5)에서 20°C에서 수행하였다. 29회 주입을 3분 간격으로 수행하였다. 적정 추적을 NITPIC에 의해 혼합시키고 곡선은 SEDFIT에 의해 조정하고 수치를 GUSSI 소프트웨어 (<http://biophysics.swmed.edu/MBR/software.html>)를 사용하여 준비하였다.

[0252] **나일 레드 분석(Nile Red assay).** 나일 레드 분석을 단백질-단백질 상호작용 및 단백질 구조의 중단을 연구하는 데 사용한다. 요약하면, 나일 레드(최종 농도 5  $\mu$ M, Thermo Scientific), STING 이량체(2.1  $\mu$ M) 및 PC7A(0, 0.6, 1.2, 3, 6 또는 12  $\mu$ M)를 4시간 동안 혼합했다. 최대 여기 파장과 형광 강도를 형광 분광 광도계(Hitachi F-7000 모델)에 기록했다.

[0253] **상 응축 분석.** 야생형(WT) 또는 돌연변이 인간 STING CTD(Cy5-표지)를 25°C에서 96-웰 유리판(mPEG-실란으로 코팅됨)에서 다양한 반복 단위의 PC7A 중합체와 혼합했다. 4시간 후, 혼합물을 13,000g에서 5분 동안 원심분리하고 상청액을 다른 플레이트로 옮겼다. 상청액의 형광 강도를 플레이트 판독기(CLARIOstar)로 측정하였다. 데이터는 최소 3개의 독립적인 측정값을 나타낸다. 응축도(D)를 다음 식으로 계산하였다:

$$D_i = \frac{F_0 - F_i}{F_0}$$

[0254] 상기 식에서,  $F_i$ 는 특정 그룹  $i$ 에 대한 상청액의 형광 강도이고  $F_0$ 은 PC7A 첨가의 부재 하에 동일한 농도에서의 Cy5-STING 강도이다.

[0255] 상 가역성 분석을 위해, STING CTD(Cy5-표지) 및 PC7A 중합체를 먼저 혼합하였다. 응축물 형성 후, 혼합물을 pH = 6.5 HEPES 완충액에서 10배 희석하고, 플레이트 진탕기에서 24시간 동안 진탕시켰다. 상청액의 형광 강도를 측정하고 가역성(R)을 다음 식으로 계산하였다:

$$R_i = \frac{D_i - D_{Ri}}{D_i}$$

[0257] 상기 식에서,  $D_{Ri}$ 는 24시간 복원 후의 새로운 DPS 값이다.

[0259] 현미경 검사를 위해, STING 단백질(Cy5-표지)을 4-웰 유리 챔버(Thermo Scientific, mPEG-실란으로 코팅됨)에서 25°C에서 PC7A 중합체와 혼합하고, 이미지를 Zeiss 700 공초점 레이저 스캐닝 현미경으로 140초 시간 과정으로 4초 간격으로 획득했다. 크기를 각 응축물의 가장 긴 축과 가장 짧은 축의 평균으로 계산하였다.

[0260] **실시예 2. 동물 및 세포.**

[0261] 모든 동물을 특정 병원균이 없는 조건 하에 동물 시설에서 유지하였고 모든 동물 절차는 윤리 준수로 수행되었다. 암컷 C57BL/6 마우스(생후 6 내지 8주령)를 UT Southwestern 육종 핵에서 얻었다.

[0262] STING-GFP MEF, HEK293T (ATCC), B16F10 (ATCC), MC38 (ATCC), TC-1을 10% 태아 소 혈청(FBS)이 보충된 완전 DMEM 배지에서 배양했다. THP-1 세포(ATCC)를 10% FBS 및 0.05mM  $\beta$ -머캅토에탄올( $\beta$ -ME)이 보충된 RPMI 배지에서 배양하였다. 모든 세포를 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 성장시켰다. THP-1 단핵구를 사용 전에 포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트(PMA, 150nM, InvivoGen)에 의해 대식세포로 분화시켰다.

[0263] 세포 돌연변이 유발 분석에서, GFP 태그 전장 WT STING 플라스미드를 주형으로 사용하여 E296A/D297A, D319A/D320A, 및 E336A/E337A/E339A/E340A 돌연변이를 생성했다. HEK293T 세포를 전장 WT 또는 돌연변이 STING-GFP 플라스미드를 포함하는 리포펙타민 2000(Invitrogen)으로 24시간 동안 형질감염시키고 사용 전 12시간 동안 복원시켰다. WT 또는 R232H THP-1 리포터 세포는 Invitrogen에서 구입했다. R238A/Y240A 및 단일 또는 이중 Q273A/A277Q Hela 돌연변이를 cGAMP 내성 STING 돌연변이 세포로 사용하였다.

[0264] **현미경 검사.** 세포를 4-웰 유리 챔버에서 성장시키고 표시된 시간 동안 cGAMP 또는 PC7A 중합체로 처리하였다. STING 분해 분석에서 LysoTracker Red DND-99(Thermo Scientific)를 사용하여 살아있는 세포의 리소좀을 염색했다. STING 이동 분석에서 세포를 4% 파라포름알데히드에 고정된 다음 투과시키고, 면역형광키트(Cell Signaling)를 사용하여 ER (Calnexin, Abcam), ERGIC (p58, Sigma Aldrich), 골지 (GM130, BD Biosciences), 또는 p-TBK1 (Ser 172, Cell Signaling)에 대해 염색했다. 샘플을 Dapi 염색(Thermo Scientific)을 사용하여 긴 금 안티페이드(prolong gold antifade)에 장착하고 63x 오일 대물렌즈가 장착된 Zeiss 700 공초점 레이저 스캐닝 현미경을 사용하여 이미지화했다. ImageJ를 Pearson의 상관 계수로 공동 위치를 정량화하는데 사용하였다. 데이터는 적어도 20개의 세포를 나타낸다. 억제제 분석에서 세포를 cGAMP/PC7A 첨가 전에 브레펠딘 A(BFA, 10  $\mu$ M, Selleckchem)로 1시간 동안 전처리하였다.

[0265] **광표백(FRAP) 실험 후 형광 복원.** FRAP 방법은 생체대분자의 확산 및 교체 특성을 결정하기 위한 다목적 도구이다. 체외 및 세포 FRAP 실험 모두 Zeiss 700 공초점 레이저 스캐닝 현미경에서 25°C에서 수행하였다. 일반적인 절차에서, 응축의 2  $\mu$ m 직경 반점을 633nm 레이저를 사용하여 5초 동안 100% 레이저 출력으로 광표백하였다. 4초 간격으로 150초의 시간 경과에 따라 이미지를 획득했다. 해당 영역(ROI)의 형광 강도를 표백되지 않은 대조군 영역에 의해 보정한 다음 ROI의 사전 표백 강도로 정규화하였다. 샘플당 적어도 5개의 ROI를 측정하였다. 표

백된 반점의 평균 강도를 단일 지수 모델에 적용했다.

- [0266] **웨스턴 블롯 분석.** 모든 용액은 Bio-Rad에서 구입했으며 STING, p-STING(S366), p-TBK1(Ser 172) 및 p-IRF3(Ser 369)에 대한 항체는 Cell Signaling에서 구입했다. 간략하게, 세포를 SDS 샘플 완충액(프로테아제 및 포스파타아제 억제제 카테일 포함)에서 용해시키고 변성을 위해 가열하였다. 상청액을 4-15% Mini-PROTEAN 겔(Bio-Rad)에 부가하고 50V에서 20분 동안 구동시킨 다음 100V에서 60분 동안 구동시켰다. 전기 이동을 얼음 위에서 60분 동안 100V를 사용하여 수행하였다. 이동 후 막을 실온에서 1시간 동안 5% 무지방 우유 또는 BSA(인산화 단백질)에서 차단하고 4°C에서 밤새 1차 항체와 함께 인큐베이션하였다. HRP 연결 2차 항체(Bio-Rad)를 X선 필름(GE Healthcare)에서 검출하기 전에 실온에서 1시간 동안 사용하였다. 막을 스트리핑 완충액(stripping buffer)에서 30분 동안 스트리핑하고 β-액틴(Sigma Aldrich) 검출에 재사용했다.
- [0267] **RT-qPCR.** 총 RNA를 RNeasy 미니 키트(QIAGEN)를 사용하여 세포 또는 인간 조직에서 추출하였다. RNA 양과 특질을 NanoDrop(DeNovix DS-11)을 사용하여 확인하였다. 게놈 DNA를 제거하고 iScript™ gDNA clear cDNA 합성 키트(Bio-Rad)를 사용하여 cDNA를 합성했다. Bio-Rad SoAdvanced™ 범용 SYBR 그린 슈퍼믹스 및 CFX 연결 실시간 시스템을 PCR 분석에 사용했다. 결과를 β-액틴 또는 GAPDH에 의해 보정하였다. DNA 프라이머는 다음과 같이 나열된다:
- [0268] 마우스 ifn-β: ATGAGTGGTGGTTCAGGC (서열번호 1), TGACCTTCAAAATGCAGTAGATTCA (서열번호 2).
- [0269] 마우스 cxcl10: GGAGTGAAGCCACGCACAC (서열번호 3), ATGGAGAGAGGCTCTCTGCTGT (서열번호 4).
- [0270] 마우스 irf7: AGTCTAAACAGCGCCCGTA (서열번호 5), GGTCGGGTGTAGTTGAGGA (서열번호 6).
- [0271] 마우스 tnf-α: TGATGAGAGGGAGGCCATTTG (서열번호 7), TCTCCTTGGGGTGAGTCTGT (서열번호 8).
- [0272] 마우스 β-액틴: ACACCCGCCACCAGTTCGC (서열번호 9), ATGGGGTACTTCAGGGTCAGGATA (서열번호 10).
- [0273] 인간 ifn-β: GTCTCCTCCAAATGCTCTC (서열번호 11), ACAGGAGCTTCTGACACTGA (서열번호 12).
- [0274] 인간 cxcl10: TGGCATTCAAGGAGTACCTC (서열번호 13), TTGTAGCAATGATCTCAACACG (서열번호 14).
- [0275] 인간 β-액틴: GGACTTCGAGCAAGAGATGG (서열번호 15), AGGAAGGAAGGCTGGAAGAG (서열번호 16).
- [0276] 인간 gapdh: ATGACATCAAGAAGGTGGTG (서열번호 17), CATACCAGGAAATGAGCTTG (서열번호 18).
- [0277] **실시예 3. 종양 보유 마우스에서 STING 활성화의 평가.**
- [0278] 마우스 우측 옆구리에 B16F10 흑색종 세포( $1.0 \times 10^5$ ) 또는 TC-1 세포( $1.0 \times 10^5$ )를 피하 접종하였다. 상이한 제제(50 μL의 5% 글루코스, 50 μg PC7A 중합체, 0.5 또는 2.5 μg cGAMP, 또는 50 μg PC7A 나노입자 내 2.5 μg cGAMP를 포함한 제형, 각 그룹에 대해 n = 6)의 종양내 주사를 종양 크기가  $100 \pm 20 \text{ mm}^3$ 에 도달했을 때 수행하였다. 주사 후 1일에 마우스를 안락사시키고, 종양 및 배액 림프절을 수집하였다. 총 RNA를 TRIzol(Invitrogen)으로 추출하였고 인터페론 자극 유전자(ifn-β, cxcl10, tnf-α, irf7)의 발현을 RT-qPCR을 통해 측정하였다.
- [0279] **종양 요법 실험.** 마우스의 우측 옆구리에 MC38 세포( $1.0 \times 10^6$ ) 또는 TC-1 세포( $1.0 \times 10^5$ )를 피하 접종하였다. 종양의 크기를 디지털 캘리퍼를 통해 격일로 측정하였고, 종양 부피를  $0.5 \times \text{길이} \times \text{너비}^2$ 로 계산하였다. 약  $50 \text{ mm}^3$ 의 크기에 도달하면 종양에 다양한 STING 작용제(50 μL의 5% 글루코스, 50 μg PC7A 중합체, 2.5 μg cGAMP 또는 50 μg PC7A 나노입자 내 2.5 μg cGAMP)를 주입하고 일부 그룹에는 비교 또는 상승작용 평가를 위한 200 μg 체크포인트 억제제(항-mPD-1, BioXcell, BE0146)를 복강내 주사하였다. 마우스에 4d 간격 처리에 의해 MC38 모델에서 3회, TC-1 모델에서 4회 주사하였다. 마우스를  $2,000 \text{ mm}^3$ 의 종양 양 종점에서 안락사하였다.
- [0280] **절제된 인간 조직에서 STING 활성화의 평가.** 환자들은 UT Southwestern Institutional Review Board의 승인을 받은 연구용 생물 표본 사용에 동의했다. 새로 절제된 인체 조직(허벅지의 편평 세포 암종, 자궁경부 종양 조직 및 감시 림프절)을 세정하고 메스를 사용하여 여러 절편(1 내지  $5 \text{ mm}^3$ )으로 나눈 후 절제 30분 이내에 5% 글루코스 대조군, 유리 cGAMP(80ng), PC7A 중합체(50 μg) 또는 5% 글루코스 용액 중 cGAMP가 부가된 PC7A 나노입자(50 μg PC7A 나노입자 내 80ng cGAMP)를 사용하여 다수의 부위에 주사하였다. 각 절편을 24시간 동안 24-웰 플레이트에서 0.5 mL RPMI 1640 배지(10% 열 불활성화 인간 혈청, 1% 인슐린-트랜스페린-셀레늄, 1% 글루타맥스

및 1% 페니실린-스트렙토마이신이 보충됨)에서 배양하였다. RNA를 단리하고 이전에 기재한대로 RT-qPCR을 수행했다. CD45 선택을 위해 중앙 조직을 37°C에서 45분 동안 1 mg/mL 콜라게나제 IV 및 0.2 mg/mL DNase I(Sigma Aldrich)로 먼저 분해한 다음, 단일 세포를 얻기 위해 70 μm 나일론 셀 스트레이너를 통과시켰다. RT-qPCR 분석 전에 제조업체의 지침에 따라 CD45 TIL 마이크로비드 및 MS 컬럼(Miltenyi Biotec)을 사용하여 자기 분리를 통해 CD45<sup>+</sup> 백혈구 및 CD45<sup>-</sup> 세포 집단을 수집했다.

[0281] **실시예 4. STING을 사용한 PC7A의 결과.**

[0282] **PC7A 중합체는 cGAMP와 구별되는 시공간 특성으로 STING을 활성화한다.** PC7A로 유도된 STING 활성화가 cGAMP와 어떻게 다른지 이해하기 위해 GFP로 표지된 STING의 세포내 분포와 치료에 대한 반응으로 살아있는 세포의 하류 신호를 조사했다. PC7A에 의해 유도된 STING 반점 형성 및 성숙의 시간적 특성은 cGAMP에 의해 유도된 것과는 다르다. cGAMP에 의해 프라임하면 STING 반점 형성이 빠르게 일어나 강력한 면역 반응을 생성하고 자극 약 6 시간 후에 피크에 도달한 다음 급속한 분해와 그에 따른 면역 침묵화가 발생한다(도 1a 내지 도 1c). 이와 달리, PC7A는 48시간 동안 인터페론 자극 유전자(ifn-β 및 cxcl10)의 지속적인 발현과 함께 강력한 STING 활성화 특성을 유발한다. STING 분해는 48시간에서도 STING 반점과 리소좀의 제한된 융합에 의해 표시되는 것처럼 PC7A 자극 후에 지연된다(도 1d 및 도 7c). 지연된 STING 분해의 유사한 효과가 리소좀 산성화를 차단하는 액포 H<sup>+</sup> ATPase 억제제인 바필로마이신 A1(Baf A1)과 사전 인큐베이션된 cGAMP 처리 세포와 cGAMP와 PC7A 조합으로 처리된 세포에서 관찰되었다(도 7d, 도 7e). 전반적으로, 이러한 데이터는 PC7A의 엔도-리소좀 pH 완충 기능이 느린 STING 분해의 원인일 수 있음을 시사한다.

[0283] 반점 형성의 크기 및 동역학의 차이에도 불구하고, cGAMP 또는 PC7A 처리로 인한 세포내 STING 지점은 소포체(ER)에서 ER-골지 중간 구획(ERGIC) 및 골지 소기관으로의 유사한 전위 과정을 따른다(도 1e 및 도 8a). 이동 중에 STING은 집합체를 형성하고 TANK 결합 키나제 1(TBK1)과 인터페론 조절 인자 3(IRF3, 도 1f)을 인산화하여 I형 IFN의 하류 생성을 개시한다. ER과 골지 사이의 단백질 이동을 차단하는 브레펠린 A(BFA)의 존재 하에서 cGAMP와 PC7A는 모두 p-TBK1/p-IRF3 생성 및 전염증성 사이토카인 발현을 유발하지 못한다(도 1f 및 도 8b 내지 도 8d).

[0284] **PC7A는 STING에 결합하여 생체분자 응축물을 형성한다.** PC7A 매개 STING 집합체화 및 활성화의 생물리학적 메커니즘을 조사하기 위해 PC7A와 STING(인간 AA137-379, C-말단 도메인) 간의 결합 친화도를 등온 열량계(ITC)로 측정했다. STING은 PC7A(겉보기 K<sub>d</sub>=72 nM)에 강력하게 결합하지만 PEPA(겉보기 K<sub>d</sub>=671 nM, 도 9a 내지 도 9c)와 같은 동일한 백분을 가진 다른 중합체에는 약하게 결합한다. 특히, 사이클릭 측쇄가 있는 중합체는 선형 유사체보다 STING에 더 높은 친화도를 나타내며 PC7A의 7원 고리가 가장 강한 결합을 유도한다. PC7A가 시험관내에서 STING의 집합체화를 유도하기에 충분한지를 조사하기 위해, 시아닌-5(Cy5)-표지된 STING CTD 이량체를 pH 6.5에서 PC7A 또는 PEPA와 함께 인큐베이션했다(PC7A와 PEPA 모두 6.9에서 겉보기 pK<sub>a</sub>를 가지며 pH 6.5에서 양이온 단량체로 유지됨). STING에 대한 결합 친화도가 낮아 PEPA를 음성 대조군으로 사용하였다. Cy5-STING과 PC7A를 혼합하면 액체 방울이 몇 분 안에 관찰되었고 시간이 지남에 따라 성장했으며 약 85%의 STING 단백질이 4시간 후 응축물에 존재했다(도 2a, 도 2b). 아미노메틸쿠마린 아세테이트(AMCA)로 표지된 PC7A와 함께 Cy5-STING을 인큐베이션하면 PC7A와 STING 반점이 공동 위치함을 확인할 수 있다(도 2b). PC7A 인큐베이션 후 GFP-STING-발현 세포 용해물에서도 유사한 응축물이 관찰되었다(도 9d). 생체 분자 응축물은 소수성이며, 이는 Nile-Red 분석에서 증가된 형광 강도와 적색 편이된 최대 방출 파장으로 확인되는 바와 같다(도 9e). GFP-STING에서 테트라메틸로다민(TMR)-PC7A로의 형광 공명 에너지 전달(FRET)은 인간 STING 과발현 마우스 배아 섬유아세포(MEF)에서 PC7A와 STING으로 구성된 생체분자 응축물의 형성을 추가로 확인한다(도 2c). 하류 단백질 산물인 p-TBK1도 이 거대분자 집합체에서 발견되었다(도 2d). 이와 달리, 이러한 연구에서 PEPA가 사용되었을 때 명백한 STING 응축 또는 활성화는 관찰되지 않았다(도 2 및 도 9d). pH 7.4에서 pK<sub>a</sub>(6.9) 이상의 PC7A 중합체의 미셀화 및 PEG 차폐로 인해 PC7A-STING 응축물이 거의 형성되지 않았다(도 9f). 세포내이입 후, PC7A 미셀은 엔도솜 성숙 동안 양이온 단량체로 해리되어 엔도솜 유출 및 세포질 STING 응축 및 활성화를 가능하게 한다. PC7A 단량체가 STING 과 함께 응축물에 결합되면 중합체는 더 이상 미셀을 형성할 수 없으며 점상 형성의 pH 의존성을 나타내지 않는다(도 9f).

[0285] **PC7A는 다가 상호작용을 통해 STING 활성화를 유도한다.** cGAMP 결합 시 STING 올리고머화는 하류 TBK1 및 IRF3 단백질의 집합 및 활성화에 관여한다. PC7A 중합체는 초분자 스캐폴드 기능을 할 수 있으며 활성화를 위해 STING 분자를 다중화하기 위해 다가 상호작용에 직접 관여할 수 있다(도 3a). 이 생각을 테스트하기 위해 STING 단백질을 FRET 쌍(TMR 및 Cy5)을 사용하여 표지하고 두 가지 다르게 표지된 단백질을 1:1 비율로 혼합했다.

PC7A의 첨가 시, TMR에서 Cy5로의 강한 에너지 전달이 관찰되었으며(도 10a), 이는 PC7A에 대한 다가 결합 후 STING 이량체의 근접성을 나타낸다. STING-PC7A 응축물에 대한 광표백 후 형광 복원(FRAP) 실험에 의해 PC7A 중합체와 STING 단백질이 모두 주변 분자와 교체 가능하지만 PC7A는 STING보다 더 느린 복원율을 나타내는 것으로 밝혀졌다(도 3b 및 도 10b, 도 10c).

[0286] 결합 원자의 효과를 조사하기 위해, 반복 단위 PC7A(n)의 수가 증가하는 일련의 PC7A 중합체는 합성된 C7A 메타크릴레이트 단량체의 n 반복 단위를 갖는 중합체를 지칭한다. 증가하는 길이의 PC7A를 응축을 위한 20개의 반복 단위의 최소 요구를 나타내는 상 다이어그램을 생성하기 위해 시험관내 농도 매트릭스에서 STING 이량체와 함께 인큐베이션하였다(도 3c). PC7A(10)의 경우 상 분리가 관찰되지 않았다. PC7A 중합도가 높을수록 더 큰 응축물이 생성되었다(도 3d 및 도 11a 내지 도 11c). PC7A(110)의 경우, PC7A(20)가 사용되었을 때 17%와 비교하여, 90% 이상의 STING 단백질이 응축물에서 발견되었다(도 11d). 중합도가 더 높은 PC7A는 상 가역성이 더 낮고 광표백 후 STING의 복원 속도가 더 느리다(도 11e, 도 11f). 살아있는 세포에서 응축물 형성과 STING 활성화 사이의 관계를 조사하기 위해 처리된 THP1 세포를 다양한 길이의 PC7A로 처리하고 cxcl10의 mRNA 발현 수준을 비교했다. 더 긴 중합체는 더 높은 cxcl10 발현을 유도했으며, 피크 수준은 PC7A의 70개 반복 단위에서 관찰되었다(도 3e). 사슬 길이의 추가 연장(예를 들어, 110)은 cxcl10 발현을 감소시켰는데, 예상컨대 과도한 교차연결 및 저조한 분자 동역학을 가진 대형 응축물의 약한 신호전달 기능 때문일 것이다.

[0287] PC7A는 cGAMP-결합 홈과는 다른 표면 부위에 결합한다. STING-PC7A 응축물은 고농도의 염이나 다른 단백질의 존재에 감응성이다. STING-PC7A 응축물은 NaCl의 생리적 농도(150mM)에서 성공적으로 형성되었지만, 염 농도를 600mM로 높였을 때 상 분리는 관찰되지 않았다(도 12a, 도 12b). 소 혈청 알부민(BSA)이 STING과 PC7A의 혼합물에 첨가되었을 때 응축물의 수와 크기가 감소했다(도 12c). PC7A 유도 응축물의 특이성을 추가로 조사하기 위해 STING을 붕소-디피로메텐(BODIPY) 염료로 Cy5 및 BSA로 표지했다. PC7A가 존재하는 경우 응축물에는 Cy5-STING만이 존재하고, 대부분의 BODIPY-BSA는 제외되었다(도 12d). 대조군으로서 BSA/PC7A 또는 STING/BSA의 혼합물은 응축물을 형성하지 않았다.

[0288] PC7A-STING 상호작용 및 계산 모델링에 대한 pH(도 9f) 및 염 효과(도 12a, 도 12b)에 기반하여, STING 상의 음으로 하전된 표면 부위가 PC7A 결합에 원인이 될 수 있는 것으로 보인다. 이를 테스트하기 위해 STING 돌연변이는 α5 내지 β5 내지 α6 영역에서 알라닌으로 대체된 여러 개의 음전하 아미노산으로 구성되었으며 시험관내 및 살아있는 세포 모두에서 PC7A 결합 친화도, 상 응축 및 STING 활성화를 조사했다. 놀랍게도, α5 나선에 있는 두 개의 산성 잔기(E296A/D297A)의 돌연변이는 중합체 결합과 생체분자 응축을 제거하기에 충분했지만, 두 개의 다른 돌연변이(D319A/D320A 및 E336A/E337A/E339A/E340A)는 한계 효과를 나타냈다(도 4a, 도 4b). 그런 다음 HEK293T 세포를 돌연변이 STING 플라스미드로 형질감염시키고 하루 활성화를 측정했다. PC7A 결합 및 응축의 제거와 일치하게, E296A/D297A 돌연변이는 응축 구조를 형성하고 세포에서 TBK1 인산화 및 ifn-β/cxcl10 발현을 유도하는데 부재했다(도 4c 및 도 13a, 도 13d). 이와 달리, 이러한 STING 돌연변이는 cGAMP-매개 STING 활성화에 영향을 미치지 않았다(도 13b, 도 13c). 함께, 이러한 데이터는 cGAMP 결합 부위와 구별되는 STING의 α5 나선에 있는 E<sup>296,297</sup>D 부위가 PC7A 결합 및 유도된 활성화에 관여한다는 것을 시사한다.

[0289] 내인성 STING 작용제(cGAMP 또는 다른 CDN)는 4가닥 역평행 β 시트(인간 AA 219-249)의 입구로 도포된 STING 이량체 계면에 결합한다. 인간 인구의 약 14%에서 발생하는 천연 STING 변이체(R232H)는 소분자 STING 작용제에 대해 감소된 반응을 나타낸다. PC7A는 cGAMP 결합 홈과 다른 STING 부위에 결합하기 때문에 PC7A의 생물학적 활성을 STING R232H 변이체를 포함하는 THP1 세포에서 테스트하였다. cGAMP 반응이 이러한 세포에서 예상대로 제거되었고, PC7A는 여전히 IFN-β-Luc 발현을 상승시킬 수 있었다(도 4d). 돌연변이 HeLa 세포(각각 cGAMP 결합을 제거하거나 cGAMP 결합 시 STING 올리고머화를 방지하는 R238A/Y240A 또는 Q273A/A277Q 돌연변이)에 대한 추가 연구는 지속적인 PC7A 유도 STING 활성화를 보여주고, cGAMP 매개 효과는 제거되었다(도 4e, 도 4f 및 도 13e 내지 도 13h). 종합적으로, 이러한 결과는 PC7A가 cGAMP 비의존적 메커니즘을 통해 STING을 자극함을 보여준다.

[0290] PC7A는 생체내에서 항종양 면역 반응을 촉진하고 cGAMP와 상승작용을 한다. PC7A 중합체의 항종양 면역성을 피하 종양(100 ± 20 mm<sup>3</sup>)에서 평가하였다. B16-F10 흑색종 종양 모델을 보유한 C57BL/6 마우스를 PC7A 나노입자(50 μg) 또는 유리 cGAMP(저 투여량: 0.5 μg; 고 투여량: 2.5 μg)의 단일 종양내 주사로 처리하고, 24시간 후 인터페론 자극된 유전자(ifn-β, cxcl10, tnf-α 및 irf7, 도 14a)의 발현을 측정했다. 예상대로 유리 cGAMP는 저 투여량 투여 시 인터페론 자극 유전자 발현을 유도하지 못하였고, PC7A는 발현을 5 내지 30배 증가시켰다. 또한, cGAMP-부가된 PC7A NP의 주사 시, ifn-β의 발현이 거의 100배 증가하여 STING 활성화에 상승작용 효과가

있음을 나타낸다. 이 효과는 PC7A NP에 의한 cGAMP의 세포질 전달뿐만 아니라 세포 고유 및 비정규적 메커니즘을 통해 매개될 가능성이 높다. 중요하게도, PC7A NP 및 cGAMP-부가된 PC7A NP는 종양뿐만 아니라 배액 림프절에서도 강력한 면역 자극을 생성했다(도 14b). 이에 비해 고 투여량 cGAMP를 종양 내 주사한 후 종양 내 국소 STING 활성화에도 불구하고 배액 림프절에서 최소한의 STING 활성화가 검출되었다. 유사한 STING-활성화 효과가 인간 유두종 바이러스(HPV) E6/7 TC-1 종양 모델에서 관찰되었다(도 14c, 도 14d).

[0291] 동물 종양 모델에서 항종양 효능을 평가하기 위해, 피하 종양의 크기가 50 mm<sup>3</sup>에 도달했을 때 유리 cGAMP, PC7A NP 또는 cGAMP-부가된 PC7A NP의 종양내 주사를 수행하였다. TC-1 종양이 있는 마우스에 4회(도 5a 내지 도 5c), 뮤린 결장직장 MC38 종양이 있는 마우스에 3회 주사하였다(도 5d 내지 도 5f). 5% 글루코스 용액을 주사한 마우스를 음성 대조군으로 사용하였다(모든 처리군은 5% 글루코스 용액으로 제조됨). TC-1 모델에서 대조군의 모든 마우스는 26일 이내에 치사되었다. cGAMP 또는 PC7A 단독은 약간의 면역 보호를 부여하여 종양 생존 기간을 각각 4일 또는 8일 연장했다. cGAMP가 부가된 PC7A NP 그룹은 강력한 종양 성장 억제와 상당한 생존 이점을 제공했다. MC38 종양이 있는 마우스에서 더 나은 치료 결과가 관찰되었으며, cGAMP-부가된 PC7A NP로 치료한 7마리의 마우스 중 4마리는 80일 후에 종양이 없는 상태로 유지되었다.

[0292] 이전 연구는 증가된 I형 IFN 생성과 PD-1<sup>+</sup> 세포독성 T 림프구의 증가된 종양 침윤 사이의 연관성을 보여주었다. cGAMP가 부가된 PC7A NP에 의한 STING 활성화는 PD-1 차단과 상승작용 효과를 유발할 수 있다. 이 조합은 TC-1 종양을 보유한 마우스의 50% 이상이 45일 이상 생존하면서 상당히 개선된 효능을 제공했다(도 15a 내지 도 15c). cGAMP-PC7A NP 및 항-PD-1 요법의 조합은 MC38 모델에서 훨씬 더 강력한 보호를 부여했으며, 80일 후에 마우스의 100%가 종양이 없는 상태로 유지되었다(도 15d 내지 도 15f).

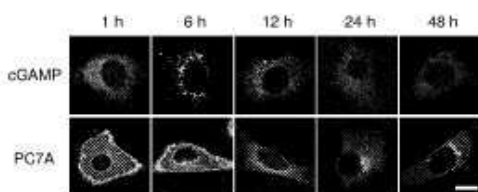
[0293] 면역 가능성을 조사하기 위해, 인간 조직에서 STING 활성화를 조사했다. 헛바닥, 자궁경부 종양 조직 및 감시 림프절에서 새로 절제된 편평 세포 암종에 cGAMP, PC7A NP 또는 cGAMP가 부가된 PC7A NP를 주사하고 세포 배양 배지에서 37 °C, 24시간 동안 인큐베이션하였으며, IFN 관련 유전자 발현이 검출되었다. 유리 cGAMP는 제한된 생체이용률로 인해 대조군에 비해 ifn-β 및 cxc110 mRNA 발현에 미미한 영향을 미쳤다. 이와 달리, PC7A NP는 하류 신호를 5 내지 20배 증가시켰다. 사이토카인 발현의 증가(100 내지 200배, 도 6a 내지 도 6d 및 도 16)가 모든 조직 유형에서 cGAMP-부가된 PC7A NP로 관찰되었다. 종양의 CD45<sup>+</sup> 골수 세포 집단은 CD45<sup>-</sup> 세포보다 PC7A NP 및 cGAMP-부가된 PC7A NP 처리에 의해 더 높은 수준의 STING 활성화를 나타냈으며(도 6e, 도 6f), 이는 암세포 대신 백혈구가 나노 입자에 의한 STING 매개 면역 조절의 주요 표적임을 나타낸다.

[0294] 따라서 PC7A 및 cGAMP의 종양내 주사는 예상치 못한 상승작용적 항종양 효능을 제공하는 것으로 관찰되었다. 본 발명자들은 PC7A 및 유사한 STING 활성화 중합체를 사용하는 cGAMP의 전달이 종양내 주사로 가장 효과적이라고 고려한다. 본 발명자들은 STING 활성화 중합체를 사용한 cGAMP의 전달을 통해 관찰된 상승작용적 활성이 종양에 근접한 피하 주사에서는 덜 유의하고 정맥내 주사에서는 나타나지 않음을 관찰하였다. 따라서, cGAMP와 같은 비펩타이드 STING 작용제와 함께 PC7A와 같은 STING 활성화 pH 감응성 중합체를 종양에 근접한 피하 또는 종양내 투여하는 방법이 개시되어 있다.

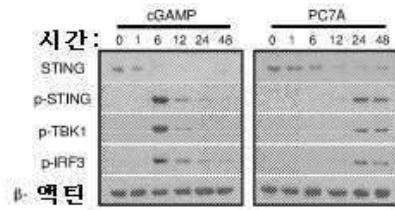
[0295] 본 명세서에 기재된 실시예 및 실시양태는 단지 예시를 위한 것이고, 이에 비추어 다양한 수정 또는 변경이 당업자에게 제안될 것이며 본 출원의 사상 및 범위 및 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함되어야 함을 이해해야 한다. 본 명세서에 인용된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 그 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다.

**도면**

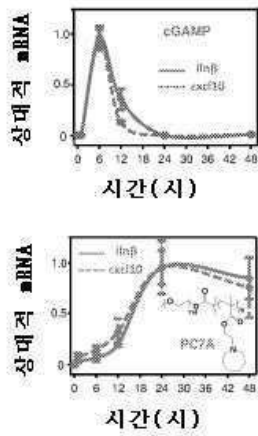
**도면1a**



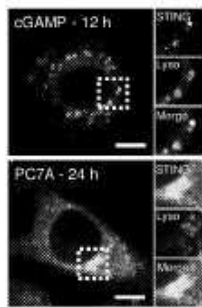
도면1b



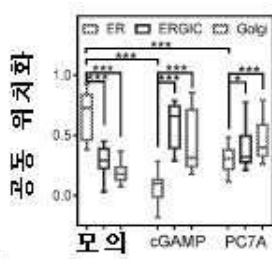
도면1c



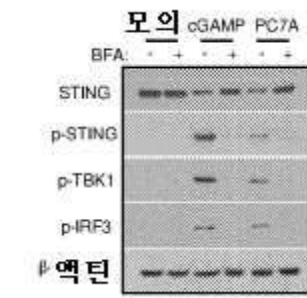
도면1d



도면1e



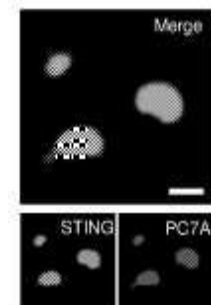
도면1f



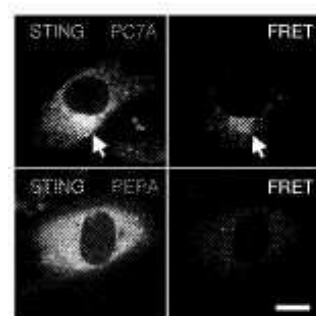
도면2a



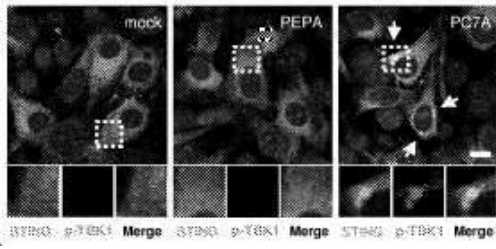
도면2b



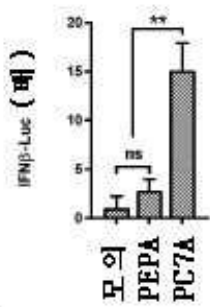
도면2c



도면2d



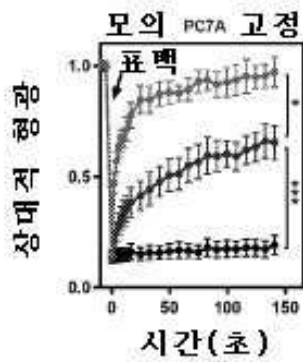
도면2e



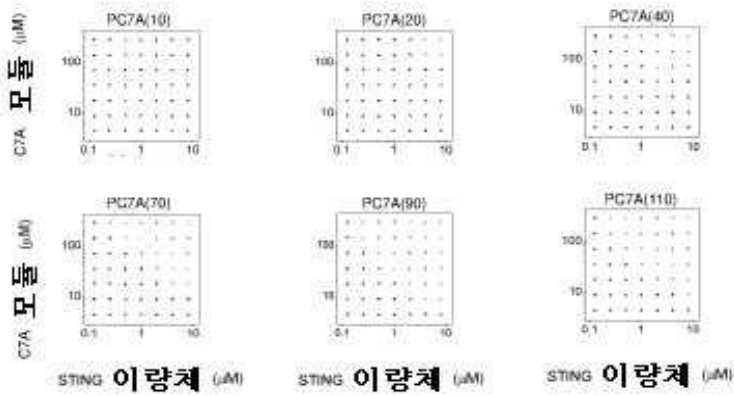
도면3a



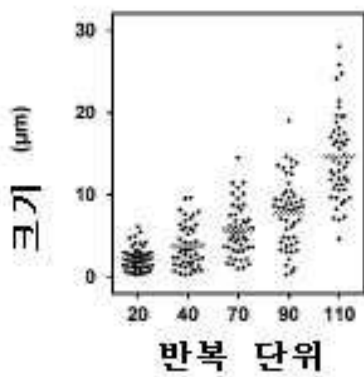
도면3b



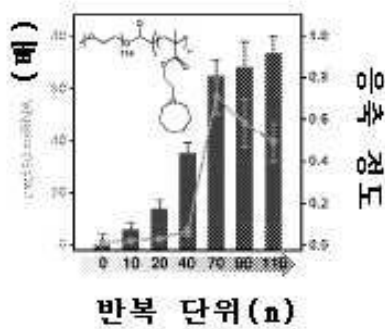
도면3c



도면3d

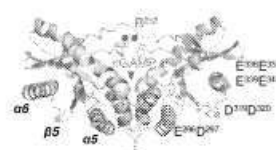


도면3e

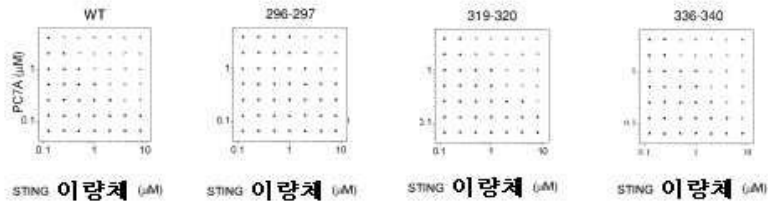


도면4a

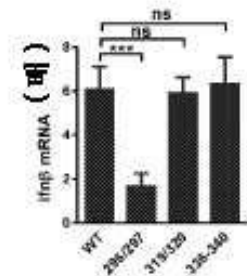
STING	Kd
WT	72 nM
E <sup>200</sup> A-D <sup>207</sup> A	N/A
D <sup>118</sup> A-D <sup>120</sup> A	147 nM
E <sup>316</sup> A-E <sup>337</sup> A-E <sup>339</sup> A-E <sup>340</sup> A	83 nM



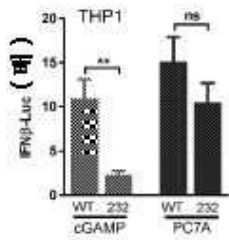
도면4b



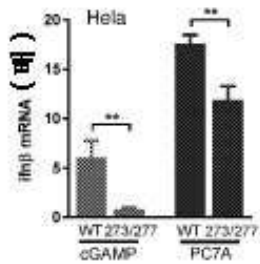
도면4c



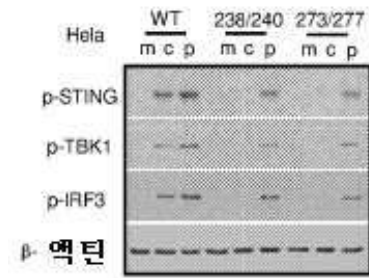
도면4d



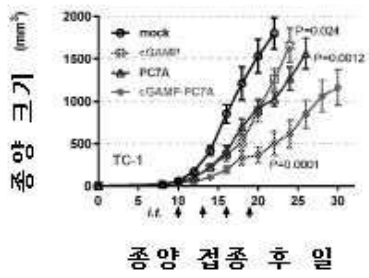
도면4e



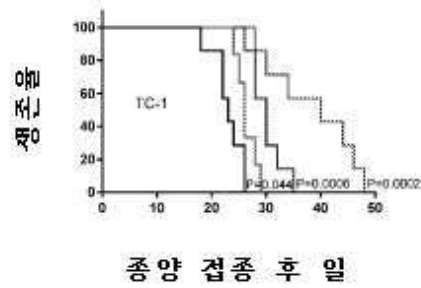
도면4f



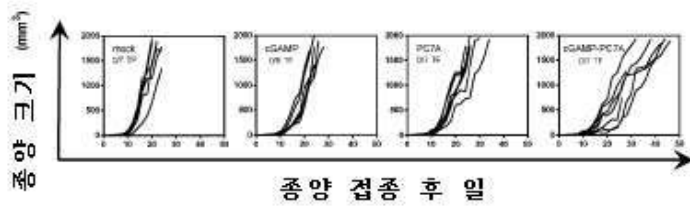
도면5a



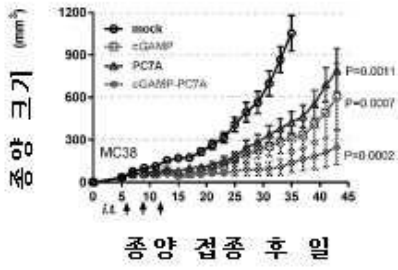
도면5b



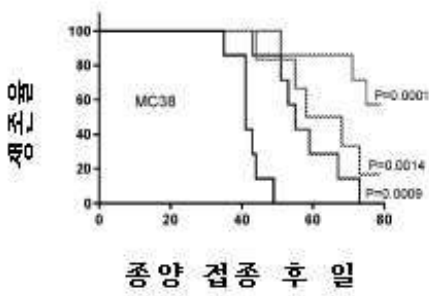
도면5c



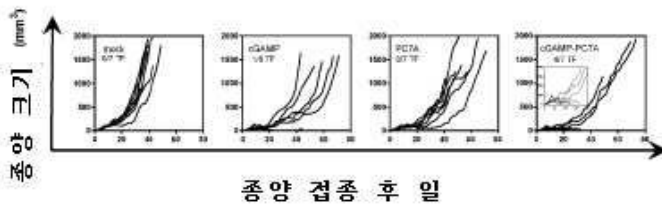
도면5d



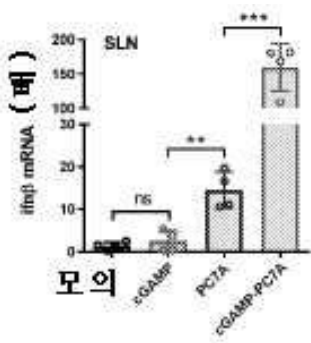
도면5e



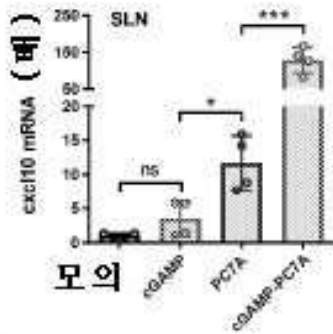
도면5f



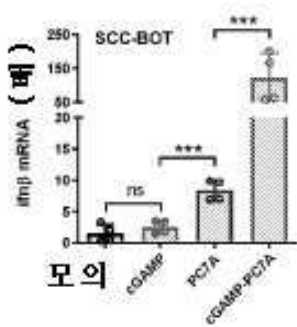
도면6a



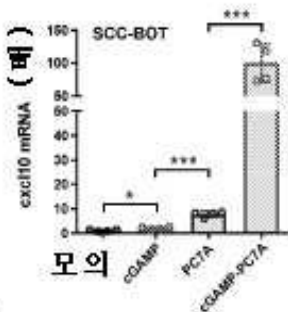
도면6b



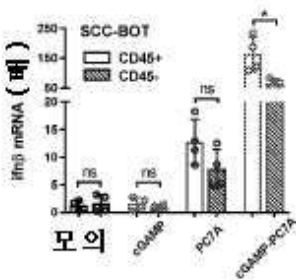
도면6c



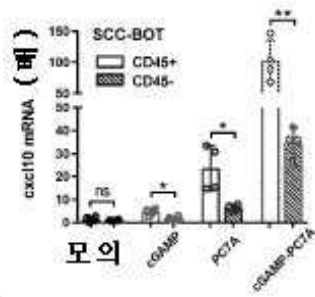
도면6d



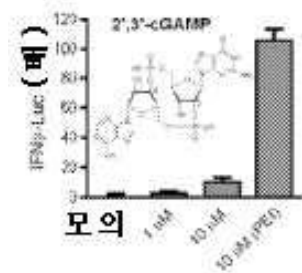
도면6e



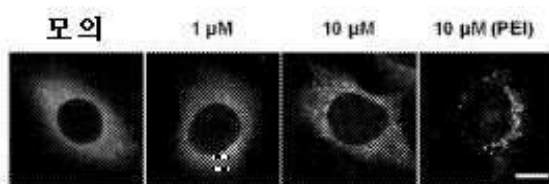
도면6f



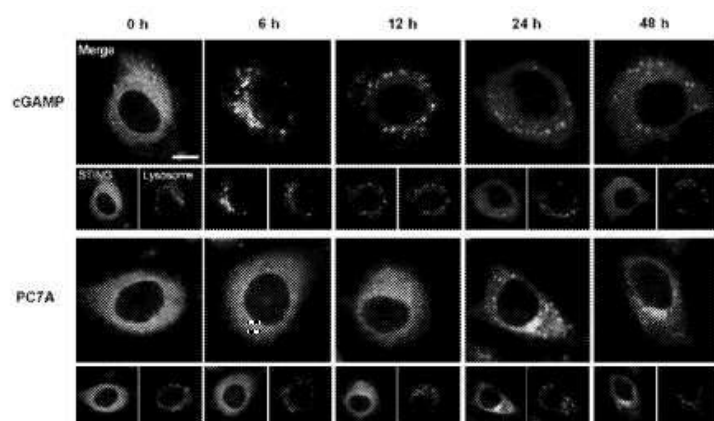
도면7a



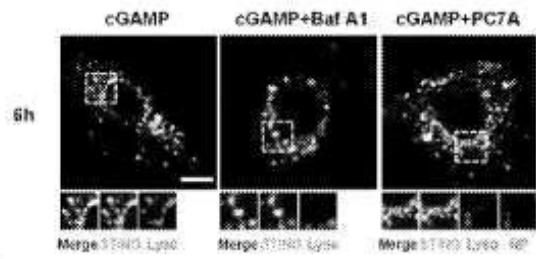
도면7b



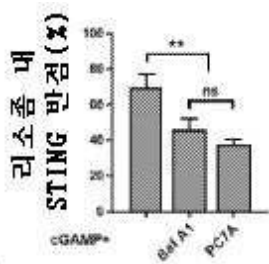
도면7c



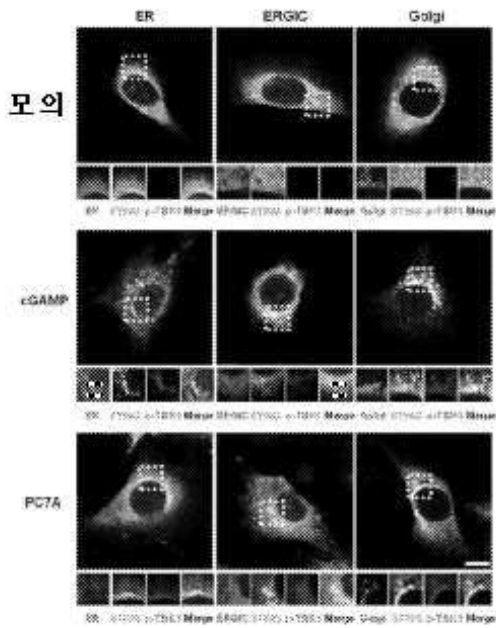
도면7d



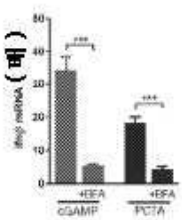
도면7e



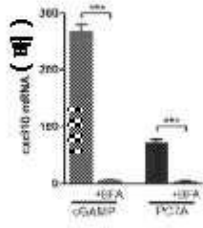
도면8a



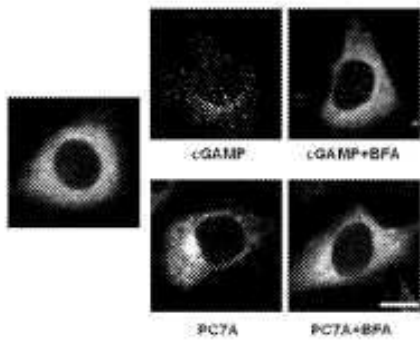
도면8b



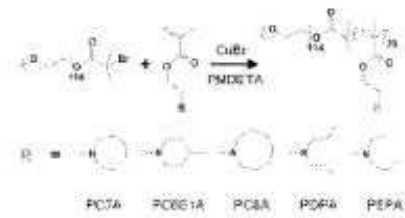
도면8c



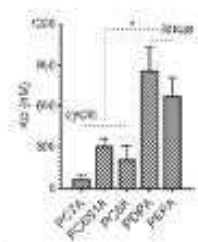
도면8d



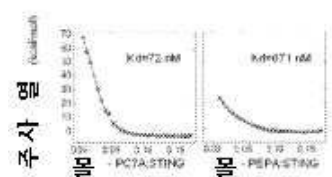
도면9a



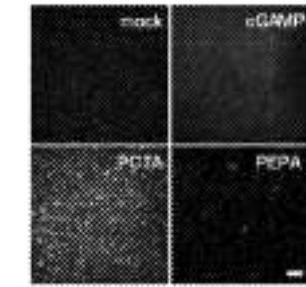
도면9b



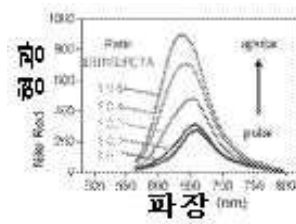
도면9c



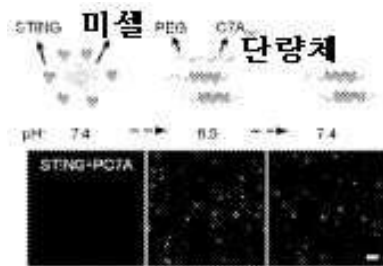
도면9d



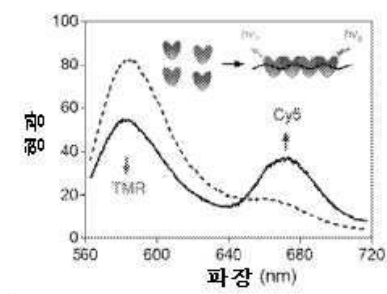
도면9e



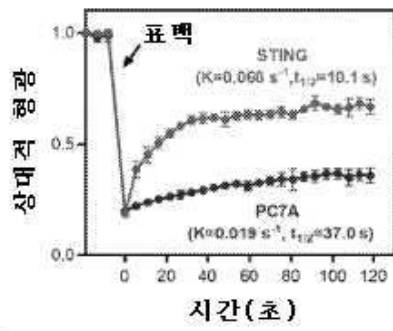
도면9f



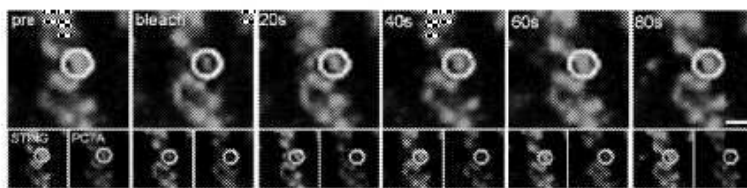
도면10a



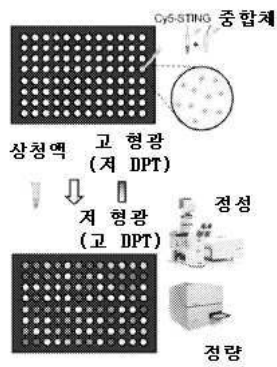
도면10b



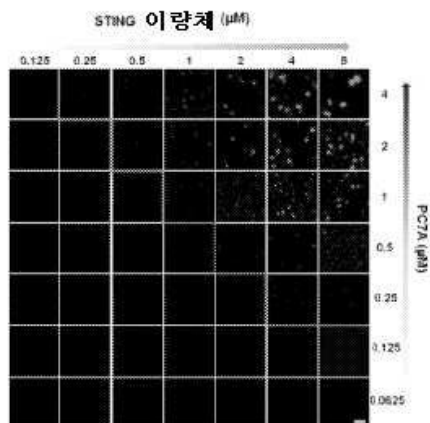
도면10c



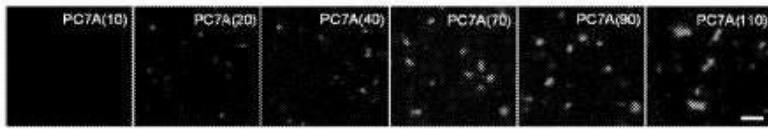
도면11a



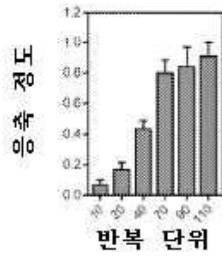
도면11b



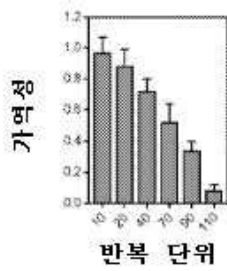
도면11c



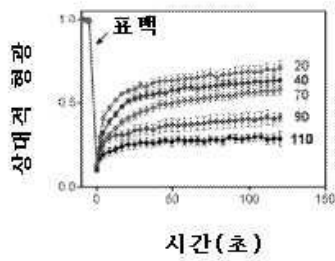
도면11d



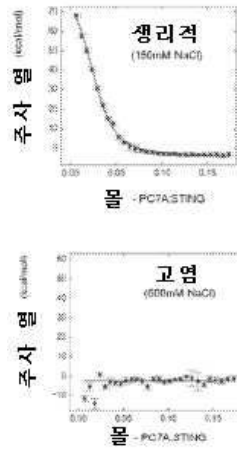
도면11e



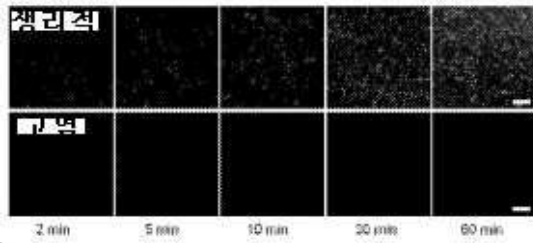
도면11f



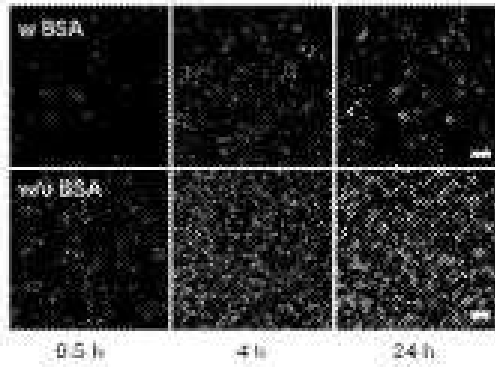
도면12a



도면12b



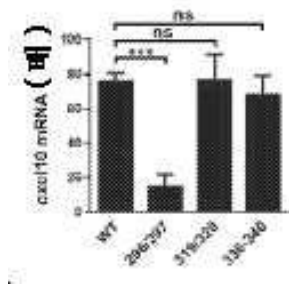
도면12c



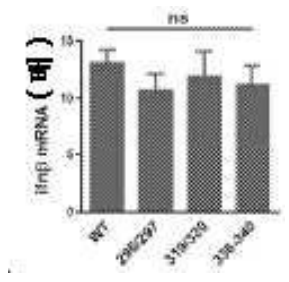
도면12d



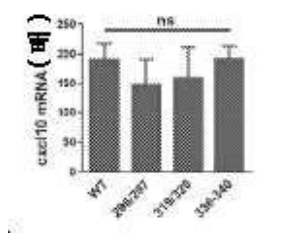
도면13a



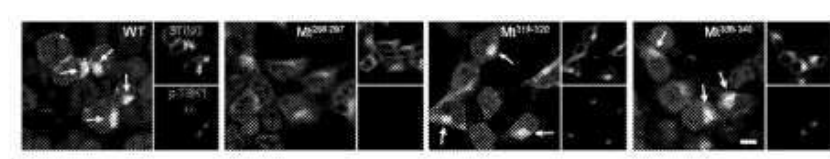
도면13b



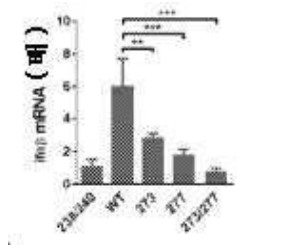
도면13c



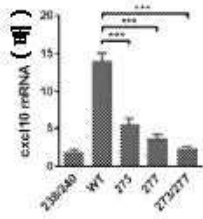
도면13d



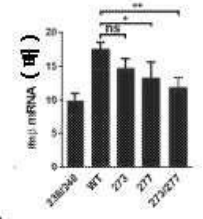
도면13e



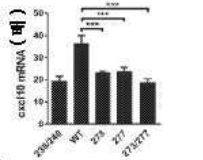
도면13f



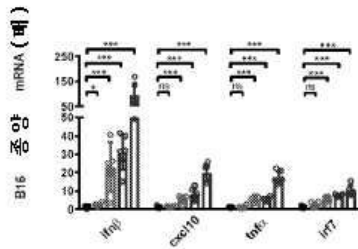
도면13g



도면13h

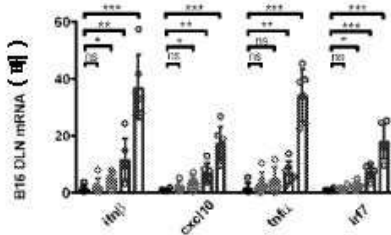


도면14a



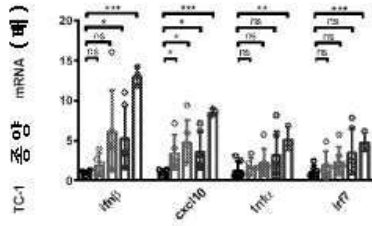
모의 cGAMP-0.5µg cGAMP-2.5µg PC7A-50µg cGAMP2.5µg+PC7A50µg

도면14b



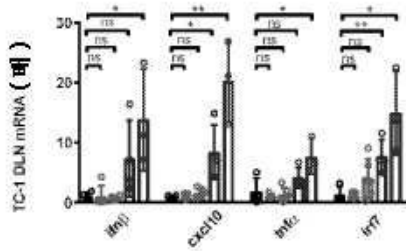
모의 cGAMP-0.5µg cGAMP-2.5µg PC7A-50µg cGAMP2.5µg+PC7A50µg

도면14c



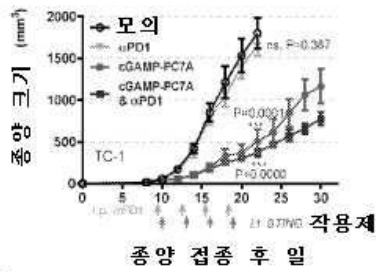
모의 cGAMP-0.5µg cGAMP-2.5µg PC7A-80µg cGAMP2.5µg+PC7A50µg

도면14d

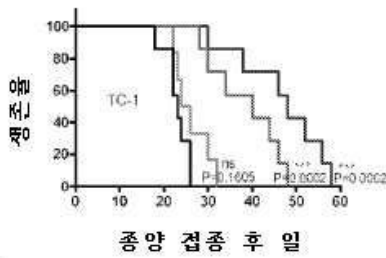


모의 cGAMP-0.5µg cGAMP-2.5µg PC7A-80µg cGAMP2.5µg+PC7A50µg

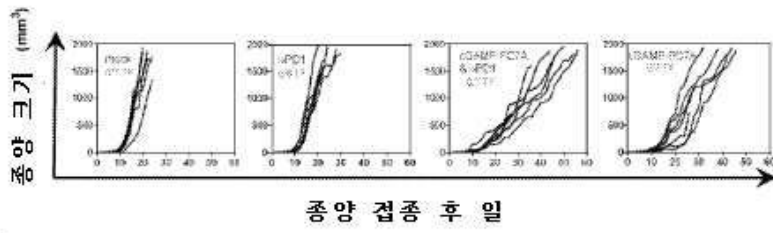
도면15a



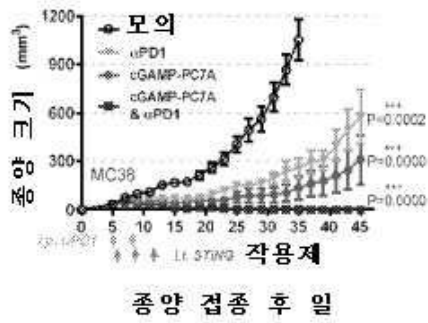
도면15b



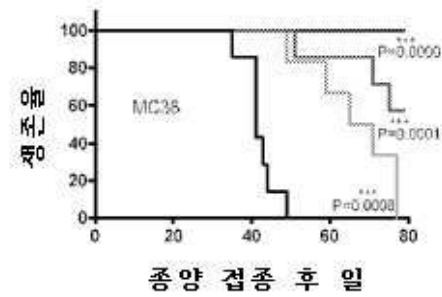
도면15c



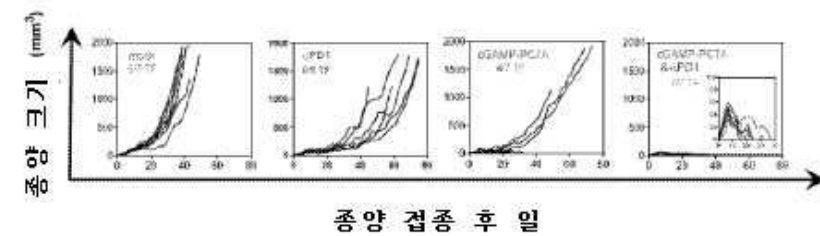
도면15d



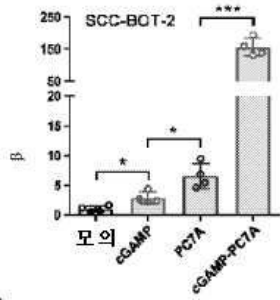
도면15e



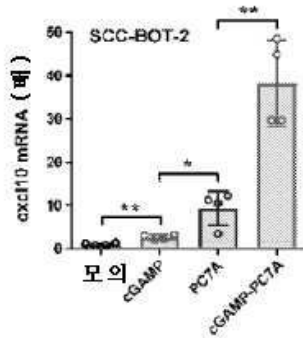
도면15f



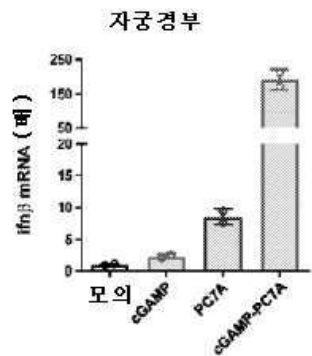
도면16a



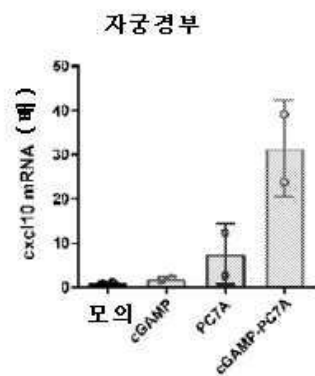
도면16b



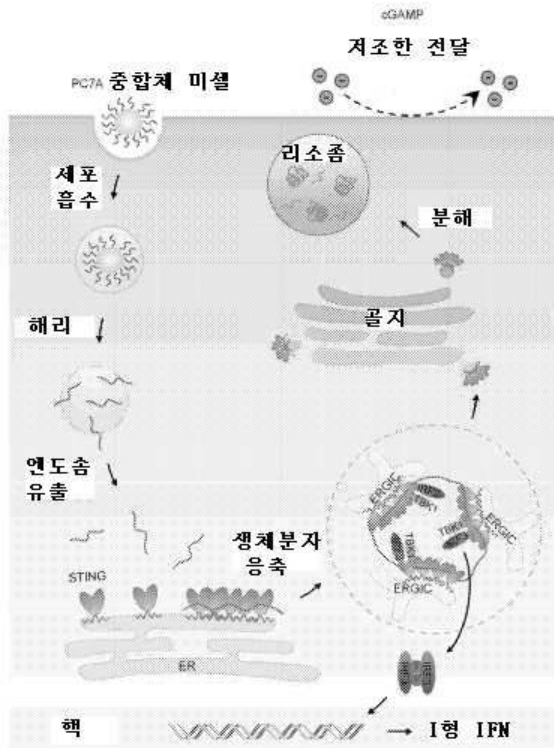
도면16c



도면16d



도면17



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> The Board of Regents of the University of Texas System

<120> POLYVALENT STING ACTIVATING COMPOSITIONS AND USES THEREOF

<130> UTFD.P3829W0

<150> US 63/075,560

<151> 2020-09-08

<160> 18

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 1

atgagtgggtg gttgcaggc

19

<210> 2

<211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 2  
 tgacctttca aatgcagtag attca 25  
 <210> 3  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 3  
 ggagtgaagc cacgcacac 19  
 <210> 4  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 4  
 atggagagag gctctctgct gt 22  
  
 <210> 5  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 5  
 agtctaaaca gcgccccgta 20  
 <210> 6  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 6

ggtcgggtgt agtttgagga 20  
 <210> 7  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 7  
 tgatgagagg gaggccattt g 21  
  
 <210> 8  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 8  
 tctcctttgg ggtgagtctg t 21  
 <210> 9  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 9  
 acaccgcca ccagttcgc 19  
 <210> 10  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 10  
 atgggtact tcagggtcag gata 24  
  
 <210> 11  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 11  
 gtctcctcca aattgctctc 20  
 <210> 12  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 12  
 acaggagctt ctgacactga 20  
 <210> 13  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 13  
 tggcattcaa ggagtacctc 20  
 <210> 14  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 14  
 ttgtagcaat gatctcaaca cg 22  
 <210> 15  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic oligonucleotide  
 <400> 15  
 ggacttcgag caagatgg 20  
 <210> 16  
 <211> 20  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 16

aggaaggaag gctggaagag

20

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 17

atgacatcaa gaagtggtg

20

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 18

cataccagga aatgagcttg

20