(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0128298
(43) 공개일자 2023년09월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/107 (2006.01) *A61K 31/7088* (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01) *A61K 47/22* (2017.01)
A61K 47/34 (2017.01) *A61K 47/54* (2017.01)
A61K 47/69 (2017.01) *A61K 48/00* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) *C12N 15/88* (2017.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/1075 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7023621
(22) 출원일자(국제) 2021년12월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년07월11일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2021/062446
(87) 국제공개번호 WO 2022/144811
국제공개일자 2022년07월07일
(30) 우선권주장
63/199,471 2020년12월30일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
주식회사 바이오오케스트라
대전광역시 유성구 과학로 125, 바이오벤처센터 116호, 216호(어은동, 한국생명공학연구원)
(72) 발명자
류진협
대전광역시 서구 둔산북로 175, 5-1501
임유나
대전광역시 유성구 구즉로52번길 15, 105
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

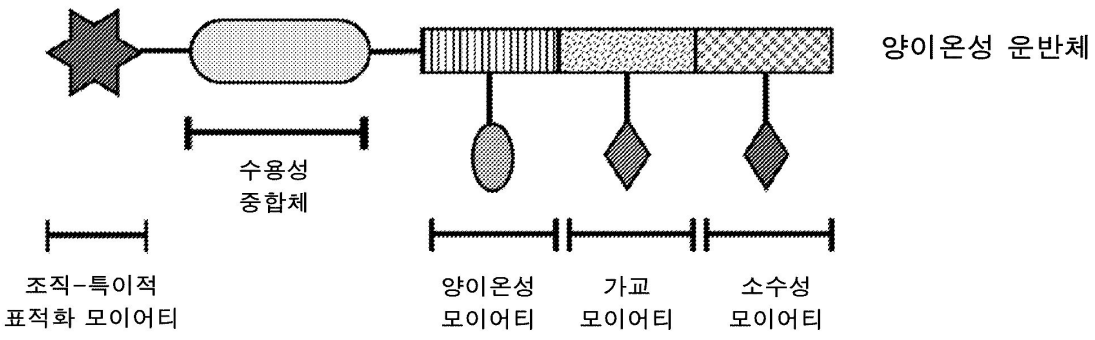
전체 청구항 수 : 총 109 항

(54) 발명의 명칭 **미셀 나노입자 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 개시내용은 (i) 수용성 중합체, (ii) 양전하성 운반체, (iii) 소수성 모이어티, 및 (iv) 가교 모이어티를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하며, 여기서 양이온성 운반체 단위가 양이온성 운반체 단위와 정전기적으로 상호작용하는 음이온성 페이로드(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드)와 혼합될 때, 생성된 조성물은 그 코어에 음이온성 페이로드를 캡슐화하는 미셀로 자가 조직화한다. 양이온성 운반체 단위는 미셀의 표면에 표시될 조직 특이적 표적화 모이어티를 추가로 포함할 수 있다. 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 포함하는 미셀, 양이온성 운반체 단위 및 미셀의 제조 방법, 미셀을 포함하는 약제학적 조성물, 및 또한 미셀을 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 질환 또는 병태의 치료 방법을 포함한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 47/34 (2013.01)
A61K 47/542 (2017.08)
A61K 47/6907 (2017.08)
A61K 48/0041 (2013.01)
A61P 25/28 (2018.01)
C12N 15/88 (2013.01)

(72) 발명자
민현수
세종특별자치시 남세종로 302, 604동 1303호 (소담동, 새샘마을6단지)
고한석
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동,1층-116 와 2층-216
김대훈
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동,1층-116 와 2층-216
조현정
대전광역시 유성구 과학로 125 한국생명공학연구원 벤처동,1층-116 와 2층-216

(30) 우선권주장
63/260,782 2021년08월31일 미국(US)
63/260,989 2021년09월08일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

양이온성 운반체 단위로서,

[CC]-L1-[CM]-L2-[HM] (도식 I);

[CC]-L1-[HM]-L2-[CM] (도식 II);

[HM]-L1-[CM]-L2-[CC] (도식 III);

[HM]-L1-[CC]-L2-[CM] (도식 IV);

[CM]-L1-[CC]-L2-[HM] (도식 V); 또는

[CM]-L1-[HM]-L2-[CC](도식 VI)

를 포함하고;

여기서,

CC는 양전하성 운반체 모이어티이고;

CM은 가교 모이어티이고;

HM은 소수성 모이어티이고; 그리고,

L1 및 L2는 독립적으로 선택적인 링커이며,

여기서, 상기 HM의 수는 [CC] 및 [CM]에 비해 약 50% 미만인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 HM의 수가 [CC] 및 [CM]에 비해 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 9%, 약 8%, 약 7%, 약 6%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2% 또는 약 1% 미만인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 HM의 수가 [CC] 및 [CM]에 비해 약 50% 내지 약 1%, 약 50% 내지 약 5%, 약 50% 내지 약 10%, 약 50% 내지 약 15%, 약 50% 내지 약 20%, 약 50% 내지 약 25%, 약 50% 내지 약 30%, 약 50% 내지 약 35%, 약 50% 내지 약 40%, 약 50% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 1%, 약 45% 내지 약 5%, 약 45% 내지 약 10%, 약 45% 내지 약 15%, 약 45% 내지 약 20%, 약 45% 내지 약 25%, 약 45% 내지 약 30%, 약 45% 내지 약 35%, 약 45% 내지 약 40%, 약 40% 내지 1%, 약 50% 내지 약 5%, 약 40% 내지 약 10%, 약 40% 내지 약 15%, 약 40% 내지 약 20%, 약 40% 내지 약 25%, 약 40% 내지 약 30%, 약 40% 내지 약 35%, 약 35% 내지 약 1%, 약 35% 내지 약 5%, 약 35% 내지 약 10%, 약 35% 내지 약 15%, 약 35% 내지 약 20%, 약 35% 내지 약 25%, 약 35% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 1%, 약 30% 내지 약 5%, 약 30% 내지 약 10%, 약 30% 내지 약 15%, 약 30% 내지 약 20%, 약 30% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 1%, 약 25% 내지 약 5%, 약 25% 내지 약 10%, 약 25% 내지 약 15%, 약 25% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 1%, 약 20% 내지 약 5%, 약 20% 내지 약 10%, 약 20% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 1%, 약 15% 내지 약 5%, 약 15% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 1%, 약 10% 내지 약 5%, 또는 약 5% 내지 약 1% 사이인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 HM의 수가 약 50% 내지 약 40%, 약 40% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 5%, 및 약 5% 내지 약 1% 사이인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 HM의 수가 약 50%, 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1%인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 단위는 음이온성 페이로드와 상호작용할 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 200개 미만의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 약 150개, 약 140개, 약 130개, 약 120개, 약 110개, 약 100개, 약 90개, 약 80개, 약 70개, 약 60개, 약 50개, 약 40개, 약 30개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 약 13개, 약 12개, 약 11개 또는 약 10개 미만의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 약 30 내지 약 10개, 약 25 내지 약 11개, 약 30 내지 약 15개, 약 25 내지 약 15개, 약 24 내지 약 15개, 또는 약 23 내지 약 15개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 10

제6항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 약 30개, 약 29개, 약 28개, 약 27개, 약 26개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개 또는 약 13개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 약 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 12

제6항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 mRNA, miRNA, miRNA 스폰지, 강인한 디코이 miRNA, 항미르(antimir), 작은 RNA, rRNA, siRNA, shRNA, gDNA, cDNA, pDNA, PNA, BNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 앱타머, 사이클릭 디뉴클레오타이드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 수용성 중합체(WP)를 추가로 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 [CC], [HM] 또는 [CM]에 부착되어 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 [CC], [HM] 또는 [CM]의 N 말단에 부착되어 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 16

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 [CC], [HM] 또는 [CM]의 C 말단에 부착되어 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 17

제13항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 하기를 포함하는, 양이온성 운반체 단위:

[WP]-L3-[CC]-L1-[CM]-L2-[HM] (도식 I');

[WP]-L3-[CC]-L1-[HM]-L2-[CM] (도식 II');

[WP]-L3-[HM]-L1-[CM]-L2-[CC] (도식 III');

[WP]-L3-[HM]-L1-[CC]-L2-[CM] (도식 IV');

[WP]-L3-[CM]-L1-[CC]-L2-[HM] (도식 V'); 또는

[WP]-L3-[CM]-L1-[HM]-L2-[CC] (도식 VI').

청구항 18

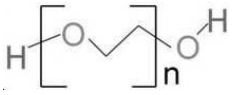
제13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(사카라이드), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 19

재13항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 폴리에틸렌 글리콜("PEG"), 폴리글리세롤 또는 폴리(프로필렌 글리콜)("PPG")을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 20

제13항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 하기 식을 포함하는, 양이온성 운반체 단위:



여기서 n은 1-1000임.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 n이 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 n이 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 또는 약 150 내지 약 160인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 23

제13항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 중합체가 선형, 분지형 또는 수지상인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 적어도 약 20개, 적어도 약 21개, 적어도 약 22개, 적어도 약 23개, 적어도 약 24개, 적어도 약 25개, 적어도 약 26개, 적어도 약 27개, 적어도 약 28개, 적어도 약 29개, 적어도 약 30개, 적어도 약 31개, 적어도 약 32개, 적어도 약 33개, 적어도 약 34개, 적어도 약 35개, 적어도 약 36개, 적어도 약 37개, 적어도 약 38개, 적어도 약 39개, 적어도 약 40개, 적어도 약 41개, 적어도 약 42개, 적어도 약 43개, 적어도 약 44개, 적어도 약 45개, 적어도 약 46개, 적어도 약 47개, 적어도 약 48개, 적어도 약 49개, 적어도 약 50개, 적어도 약 51개, 적어도 약 52개, 적어도 약 53개, 적어도 약 54개, 적어도 약 55개, 적어도 약 56개, 적어도 약 57개, 적어도 약 58개, 적어도 약 59개, 적어도 약 60개, 적어도 약 61개, 적어도 약 62개, 적어도 약 63개, 적어도 약 64개, 적어도 약 65개, 적어도 약 66개, 적어도 약 67개, 적어도 약 68개, 적어도 약 69개, 적어도 약 70개, 적어도 약 71개, 적어도 약 72개, 적어도 약 73개, 적어도 약 74개, 적어도 약 75개, 적어도 약 76개, 적어도 약 77개, 적어도 약 78개, 적어도 약 79개 또는 적어도 약 80개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 26

제24항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 50개, 적어도 60개, 적어도 약 70개, 적어도 약 80개, 적어도 약 90개, 적어도 약 100개, 적어도 약 110개, 적어도 약 120개, 적어도 약 130개, 적어도 약 140개, 또는 적어도 약 150개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 27

제24항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 10 내지 약 60개, 약 15 내지 약 60개, 약 20 내지 약 60개, 약 25 내지 약 60개, 약 30 내지 약 60개, 약 35 내지 약 60개, 약 40 내지 약 60개, 약 10 내지 약 55개, 약 15 내지 약 55개, 약 20 내지 약 55개, 약 25 내지 약 55개, 약 30 내지 약 55개, 약 35 내지 약 55개, 약 40 내지 약 55개, 약 10 내지 약 50개, 약 15 내지 약 50개, 약 20 내지 약 50개, 약 25 내지 약 50개, 약 30 내지 약 50개, 약 35 내지 약 50개, 약 40 내지 약 50개, 약 10 내지 약 45개, 약 15 내지 약 45개, 약 20 내지 약 45개, 약 25 내지 약 45개, 약 30 내지 약 45개, 약 35 내지 약 45개, 약 40 내지 약 45개, 약 10 내지 약 40개, 약 15 내지 약 40개, 약 20 내지 약 40개, 약 25 내지 약 40개, 약 30 내지 약 40개, 약 35 내지 약 40개, 약 10 내지 약 35개, 약 15 내지 약 35개, 약 20 내지 약 35개, 약 25 내지 약 35개, 약 30 내지 약 35개, 약 35 내지 약 35개, 약 40 내지 약 35개, 또는 약 40 내지 약 35개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 28

제24항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 10개, 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개 또는 약 60개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 29

제24항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 염기성 아미노산이 아르기닌, 리신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개 또는 약 60개의 리신을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 31

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 32개의 리신을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티가 가교제에 연결된 하나 이상의 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 33

제32항에 있어서, 상기 가교제가 티올 기, 티올 유도체 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 34

제32항에 있어서, 상기 가교제가 티올 기를 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 35

제32항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 아미노산이 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 적어도 24개, 적어도 25개, 적어도 26개, 적어도 27개, 적어도 28개, 적어도 29개, 적어도 30개, 적어도 31개, 적어도 32개, 적어도 33개, 적어도 34개, 적어도 35개, 적어도 36개, 적어도 37개, 적어도 38개, 적어도 39개 또는 적어도 40개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 아미노산이 약 1개 내지 약 40개, 약 5개 내지 약 40개, 약 10개 내지 약 40개, 약 15개 내지 약 40개, 약 20개 내지 약 40개, 약 1개 내지 약 35개, 약 5개 내지 약 35개, 약 10개 내지 약 35개, 약 15개 내지 약 35개, 약 20개 내지 약 35개, 약 1개 내지 약 30개, 약 5개 내지 약 30개, 약 10개 내지 약 30개, 약 15개 내지 약 30개, 약 20개 내지 약 30개, 약 1개 내지 약 25개, 약 5개 내지 약 25개, 약 10개 내지 약 25개, 약 15개 내지 약 25개, 약 20개 내지 약 25개, 약 1개 내지 약 20개, 약 5개 내지 약 20개, 약 10개 내지 약 20개, 약 15개 내지 약 20개, 약 1개 내지 약 15개, 약 5개 내지 약 15개, 약 10개 내지 약 15개, 약 1개 내지 약 10개, 약 5개 내지 약 10개, 또는 약 1개 내지 약 5개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 37

제32항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 아미노산이 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 또는 약 30개의 염기성 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 38

제32항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 상기 염기성 아미노산이 아르기닌, 리신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 39

제32항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 상기 염기성 아미노산이 약 5개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 25개, 약 30개, 또는 약 40개 리신을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 40

제32항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 상기 염기성 아미노산이 약 10개 내지 약 20개의 리신을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 41

제32항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교 모이어티 내의 상기 염기성 아미노산이 약 16개의 리신을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 면역 반응, 염증 반응, 및/또는 조직 미세환경을 조절할 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 면역 반응을 조정할 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 44

제42항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 종양이 있는 대상체에서 종양 미세환경을 조절할 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 45

제42항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 종양 미세환경에서 저산소증을 저해 또는 감소시킬 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 46

제42항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민, 또는 이의 임의의 조합에 연결된 하나 이상의 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 47

제42항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 염증 반응을 저해 또는 감소시킬 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 48

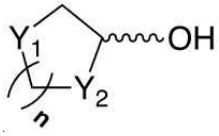
제47항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 비타민에 연결된 하나 이상의 아미노산인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 비타민이 사이클릭 고리 또는 사이클릭 헤테로 원자 고리 및 카르복실 기 또는 하이드록실 기를 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 50

제48항에 있어서, 상기 비타민이 하기 식을 포함하는, 양이온성 운반체 단위:



여기서, Y1 및 Y2는 각각 C, N, O 또는 S로부터 선택되고, n은 1 또는 2임.

청구항 51

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 비타민이 비타민 B3인 것인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 각각 비타민에 연결된, 적어도 약 2개, 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 적어도 약 20개, 적어도 약 21개, 적어도 약 22개, 적어도 약 23개, 적어도 약 24개, 적어도 약 25개, 적어도 약 26개, 적어도 약 27개, 적어도 약 28개, 적어도 약 29개, 적어도 약 30개, 적어도 약 31개, 적어도 약 32개, 적어도 약 33개, 적어도 약 34개, 적어도 약 35개, 적어도 약 36개, 적어도 약 37개, 적어도 약 38개, 적어도 약 39개, 적어도 약 40개, 적어도 약 41개, 적어도 약 42개, 적어도 약 43개, 적어도 약 44개, 적어도 약 45개, 적어도 약 46개, 적어도 약 47개, 적어도 약 48개, 적어도 약 49개, 적어도 약 50개, 적어도 약 51개, 적어도 약 52개, 적어도 약 53개, 적어도 약 54개, 적어도 약 55개, 적어도 약 56개, 적어도 약 57개, 적어도 약 58개, 적어도 약 59개, 적어도 약 60개, 적어도 약 61개, 적어도 약 62개, 적어도 약 63개, 적어도 약 64개, 적어도 약 65개, 적어도 약 66개, 적어도 약 67개, 적어도 약 68개, 적어도 약 69개, 적어도 약 70개, 적어도 약 71개, 적어도 약 72개, 적어도 약 73개, 적어도 약 74개, 적어도 약 75개, 적어도 약 76개, 적어도 약 77개, 적어도 약 78개, 적어도 약 79개, 또는 적어도 약 80개의 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 54

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 각각 비타민에 연결된, 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 50개, 적어도 60개, 적어도 약 70개, 적어도 약 80개, 적어도 약 90개, 적어도 약 100개, 적어도 약 110개, 적어도 약 120개, 적어도 약 130개, 적어도 약 140개, 또는 적어도 약 150개 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 55

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가, 각각 비타민에 연결된, 약 10 내지 약 60개, 약 15 내지 약 60개, 약 20 내지 약 60개, 약 25 내지 약 60개, 약 30 내지 약 60개, 약 35 내지 약 60개, 약 40 내지 약 60개, 약 10 내지 약 55개, 약 15 내지 약 55개, 약 20 내지 약 55개, 약 25 내지 약 55개, 약 30 내지 약 55개, 약 35 내지 약 55개, 약 40 내지 약 55개, 약 10 내지 약 50개, 약 15 내지 약 50개, 약 20 내지 약 50개, 약 25 내지 약 50개, 약 30 내지 약 50개, 약 35 내지 약 50개, 약 40 내지 약 50개, 약 10 내지 약 45개, 약 15 내지 약 45개, 약 20 내지 약 45개, 약 25 내지 약 45개, 약 30 내지 약 45개, 약 35 내지 약 45개, 약 40 내지 약 45개, 약 10 내지 약 40개, 약 15 내지 약 40개, 약 20 내지 약 40개, 약 25 내지 약 40개, 약 30 내지 약 40개, 약 35 내지 약 40개, 약 10 내지 약 35개, 약 15 내지 약 35개, 약 20 내지 약 35개, 약 25 내지 약 35개, 약 30 내지 약 35개, 약 35 내지 약 35개, 약 40 내지 약 35개, 또는 약 40 내지 약 35개의 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 56

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 각각 비타민에 연결된 약 10개, 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개, 또는 약 60개의 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 57

제53항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소수성 모이어티가 각각 비타민 B3에 연결된, 약 10개의 비타민 B3, 약 20개의 비타민 B3, 약 30개의 비타민 B3, 약 40개의 비타민 B3 또는 약 50개의 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 58

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 25개 내지 약 40개의 리신을 포함하고, 상기 가교 모이어티가 약 10개 내지 약 20개의 리신-티올을 포함하고, 상기 소수성 모이어티가 약 25

개 내지 약 40개의 리신-비타민 B3을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 59

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 30개 내지 약 35개의 리신을 포함하고, 상기 가교 모이어티가 약 13개 내지 약 20개의 리신-티올을 포함하고, 상기 소수성 모이어티가 약 30개 내지 약 35개의 리신-비타민 B3을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 60

제1항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 32개의 리신을 포함하고, 상기 가교 모이어티가 약 16개의 리신-티올을 포함하고, 상기 소수성 모이어티가 약 32개의 리신-비타민 B3을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 61

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 모이어티가 약 35개 내지 약 60개의 리신을 포함하고, 상기 가교 모이어티가 약 5개 내지 약 15개의 리신-티올을 포함하고, 상기 소수성 모이어티가 약 15개 내지 약 30개의 리신-비타민 B3을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 62

제17항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용성 생체중합체 모이어티가 약 120 내지 약 130개의 PEG 단위를 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 63

제1항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 표적화 모이어티(TM)를 추가로 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 조직을 표적화할 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 조직은 간, 뇌, 신장, 폐, 난소, 췌장, 갑상선, 유방, 위 또는 이들의 임의의 조합인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 66

제64항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 큰 중성 아미노산 수송체 1(LAT1)에 의해 수송될 수 있는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 아미노산인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 68

제66항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 분지쇄 또는 방향족 아미노산을 포함하는, 양이온성 운반체 단위.

청구항 69

제67항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 페닐알라닌, 발린, 류신 및/또는 이소류신인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 아미노산이 페닐알라닌인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 71

제63항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 수용성 중합체에 연결되는 것인, 양이온

성 운반체 단위.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 표적화 모이어티가 링커에 의해 상기 수용성 중합체에 연결되는 것인, 양이온성 운반체 단위.

청구항 73

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항의 양이온성 운반체 단위 및 음이온성 페이로드를 포함하는 미셀로서, 상기 양이온성 운반체 복합체의 양이온성 운반체 모이어티와 상기 음이온성 페이로드가 서로 회합되어 있는, 미셀.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 회합이 공유 결합인, 미셀.

청구항 75

제73항에 있어서, 상기 회합이 비-공유 결합인, 미셀.

청구항 76

제73항에 있어서, 상기 회합이 이온 결합인, 미셀.

청구항 77

제73항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하가 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하며, 상기 용액에서 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 상기 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율이 약 1:3 내지 약 3:1 사이인, 미셀.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하가 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하고, 상기 용액에서 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 상기 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율이 약 1:3, 약 1:2.5; 약 1:2, 약 1:1.5; 약 1:1, 약 1:0.5; 약 0.5:1, 약 1.5:1; 약 2:1, 약 2.5:1, 또는 약 3:1인, 미셀.

청구항 79

제77항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하가 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하고, 상기 용액에서 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 상기 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율이 약 1:1인, 미셀.

청구항 80

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 양이온성 운반체 단위가 DNase 및/또는 RNase에 의한 분해로부터 음이온성 페이로드를 보호할 수 있는, 미셀.

청구항 81

제73항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 공유 결합에 의해 상기 양이온 운반체 단위에 접합되지 않고/않거나 상기 음이온성 페이로드가 이온 상호작용을 통해서만 상기 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티와 상호작용하는, 미셀.

청구항 82

제73항 내지 제81항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드의 반감기가 미셀에 혼입되지 않은 유리 음이온성 페이로드의 반감기에 비해 연장되는, 미셀.

청구항 83

제73항에 있어서, 상기 미셀에서 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 음이온성 페이로드의 음전하의 이온 비율이 약 2:1, 약 1.9:1, 약 1.8:1, 약 1.7:1, 약 1.6:1, 약 1.5:1, 약 1.4:1, 약 1.3:1, 약 1.2:1, 약 1:1, 약 1:1.1, 약 1:1.2, 약 1:1.3, 약 1:1.4, 약 1:1.5, 약 1:1.6, 약 1:1.7, 약 1:1.8, 약 1:1.9, 또는 약 1:2인, 미셀.

청구항 84

제73항에 있어서, 상기 미셀에서 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 음이온성 페이로드의 음전하의 이온 비율이 약 3:1, 약 2.9:1, 약 2.8:1, 약 2.7:1, 약 2.6:1, 약 2.5:1, 약 2.4:1, 약 2.3:1, 약 2.2:1, 약 2.1:1, 약 1:2.1, 약 1:2.2, 약 1:2.3, 약 1:2.4, 약 1:2.5, 약 1:2.6, 약 1:2.7, 약 1:2.8, 약 1:2.9, 또는 약 1:3인, 미셀.

청구항 85

제73항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 미셀의 직경이 약 1nm 내지 100nm, 약 10nm 내지 약 100nm, 약 10nm 내지 약 90nm, 약 10nm 내지 약 80nm, 약 10nm 내지 약 70nm, 약 20nm 내지 약 100nm, 약 20nm 내지 약 90nm, 약 20nm 내지 약 80nm, 약 20nm 내지 약 70nm, 약 30nm 내지 약 100nm, 약 30nm 내지 약 90nm, 약 30nm 내지 약 80nm, 약 30nm 내지 약 70nm, 약 40nm 내지 약 100nm, 약 40nm 내지 약 90nm, 약 40nm 내지 약 80nm, 또는 약 40nm 내지 약 70nm 사이인, 미셀.

청구항 86

제73항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 음이온성 페이로드가 핵산을 포함하는, 미셀.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 핵산이 mRNA, miRNA, miRNA 스펀지, 강인한 디코이(tough decoy) miRNA, 항미르, 작은 RNA, rRNA, siRNA, shRNA, gDNA, cDNA, pDNA, PNA, BNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 앱타머, 사이클릭 디뉴클레오타이드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 미셀.

청구항 88

제86항 또는 제87항에 있어서, 상기 핵산이 적어도 하나의 뉴클레오사이드 유사체를 포함하는, 미셀.

청구항 89

제88항에 있어서, 상기 뉴클레오사이드 유사체가 잠금(Locked) 핵산(LNA); 2'-O-알킬-RNA; 2'-아미노-DNA; 2'-플루오로-DNA; 아라비노 핵산(ANA); 2'-플루오로-ANA, 헥시톨 핵산(HNA), 삽입 핵산(INA), 구속된 에틸 뉴클레오사이드(cEt), 2'-O-메틸 핵산(2'-OMe), 2'-O-메톡시에틸 핵산(2'-MOE), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 미셀.

청구항 90

제86항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 핵산이 5 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 미셀.

청구항 91

제90항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 서열이 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 또는 26개 뉴클레오타이드 길이인, 미셀.

청구항 92

제90항 또는 제91항에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 서열이 포스포디에스테르 연결, 포스포트리에스테르 연결, 메틸포스포네이트 연결, 포스포아미데이트 연결, 포스포로티오에이트 연결 및 이들의 조합을 포함하는 백본을 갖는 것인, 미셀.

청구항 93

제86항에 있어서, 상기 핵산이 서열번호 18(miR-485 3p 저해제)에 제시된 바와 같은 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 미셀.

청구항 94

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항의 양이온성 운반체 단위 및 음이온성 페이로드를 포함하는 조성물.

청구항 95

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항의 양이온성 운반체 단위, 제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀, 제94항의 조성물, 및 약제학적으로 허용되는 운반체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 96

제1항 내지 제72항 중 어느 한 항의 양이온성 운반체 단위를 제조하는 방법으로서, 양이온성 운반체 모이어티를 가교 모이어티 및 소수성 모이어티에 연결시키는 것을 포함하는, 방법.

청구항 97

제96항에 있어서, 수용성 중합체와 표적화 모이어티를 추가로 연결하는, 방법.

청구항 98

제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀을 제조하는 방법으로서, 용액에서 1:1의 이온 비율로 양이온성 운반체 단위를 음이온성 페이로드와 혼합하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 99

제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀을 제조하는 방법으로서, 용액에서 2:1의 이온 비율로 양이온성 운반체 단위와 음이온성 페이로드를 혼합하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 100

제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀을 제조하는 방법으로서, 용액에서 약 1:3 내지 약 3:1 사이의 이온 비율로 양이온성 운반체 단위를 음이온성 페이로드와 혼합하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 101

제100항에 있어서, 상기 미셀을 정제하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 102

치료를 필요로 하는 대상체의 질환 또는 병태를 치료하는 방법으로서, 제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀 또는 제94항의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 상기 미셀의 코어에 있는 상기 음이온성 페이로드가 미셀에 통합되지 않은 상응하는 음이온성 페이로드보다 더 긴 반감기를 나타내는 것인, 방법.

청구항 104

제102항 또는 제103항에 있어서, 상기 대상체가 포유동물인, 방법.

청구항 105

신경퇴행성 질환을 앓고 있는 대상체의 염증을 감소시키는 방법으로서, 제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 106

신경퇴행성 질환을 앓고 있는 대상체에서 신경발생을 회복 및/또는 유도하는 방법으로서, 제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 107

신경퇴행성 질환을 앓고 있는 대상체의 인지 기능을 개선시키는 방법으로서, 제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 108

제102항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신경퇴행성 질환이 알츠하이머병인, 방법.

청구항 109

알츠하이머병을 앓고 있는 대상체에서 아밀로이드 플라크 부담을 감소시키는 방법으로서, 제73항 내지 제93항 중 어느 한 항의 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 이 PCT 출원은 2020년 12월 30일에 출원된 미국 가출원 제63/199,471호, 2021년 8월 31일에 출원된 제63/260,782호 및 2021년 9월 8일에 출원된 제63/260,989호의 우선권을 주장하며, 이들 모두는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 전자 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0004] 본 출원과 함께 제출된 ASCII 텍스트 파일(이름: 4366_039PC03_Seqlisting_ST25; 크기: 15,966 바이트; 생성일: 2021년 12월 27일)에서 전자적으로 제출된 서열 목록의 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0005] 분야

[0006] 본 개시내용은 생리학적 투과 장벽, 예를 들어 뇌 혈액 장벽을 가로질러 음이온성 페이로드(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드)를 전달하는 데 사용될 수 있는 양이온성 운반체 단위 및 미셀 시스템을 제공한다.

배 경 기 술

[0007] 체내에는 특정 장벽이 존재하고, 이는 막을 통한 약물의 투과성을 제한한다. 따라서, 선택적 물질만이 이러한 유형의 막을 통과할 수 있다. 일부 중요하고 전문화된 생리학적 장벽은 혈액 뇌 장벽 및 세포막이다. 혈액-뇌 장벽(BBB)은 순환 혈액을 뇌 및 중추신경계(CNS)의 세포외액으로부터 분리하는 매우 선택적인 반투과성 경계이다. 혈액-뇌 장벽은 모세혈관 벽의 내피 세포, 모세혈관을 둘러싸는 성상세포 종단말추, 및 모세혈관 기저막에 매립된 혈관주위세포에 의해 형성된다. 이 시스템은 신경 기능에 중요한 글루코스 및 아미노산과 같은 분자의 선택적 수송 뿐만 아니라 수동 확산에 의한 물, 일부 기체 및 지용성 분자의 통과를 허용한다.

[0008] 혈액-뇌 장벽은 병원균의 통과, 혈액 내 용질의 확산, 및 척수액(CSF) 내로 큰 분자 또는 친수성 분자를 제한하면서, O_2, CO_2, 소수성 분자(예: 호르몬), 및 작은 극성 분자의 확산을 허용한다(Johansen 등, (2017) Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. Epub (4): 659-668). BBB는 큰 분자 신경치료제의 거의 100%와 모든 분자 약물의 98% 초과를 뇌로부터 배제한다. Daneman & Prat (2015) "The Blood Brain Barrier" Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 7(1):a020412. 뇌의 특정 영역으로 치료제 전달의 어려움을 극복하는 것은 대부분의 뇌 장애의 치료에 대한 주요 과제이다. 따라서 진단 및 요법에서 그렇지 않으면 효과적일 수 있는 치료 분자는 적당한 양으로 BBB를 횡단하지 않는다.

[0009] 세포내 표적화는 또한 시토졸(cytosol)에 도달하기 위해 외인성 분자가 먼저 세포막을 가로질러야 하기 때문에 종종 어려움이 있다. 세포막은 지용성이며 세포막을 통과할 수 있는 비극성 치료제에 대해 선택적으로 투과성이다. 한편, 올리고뉴클레오타이드와 같은 고 하전성 치료제는 세포막에 의해 효과적으로 배제된다.

[0010] 폴리뉴클레오타이드는 음전하성 막과 폴리뉴클레오타이드 상의 높은 음전하 사이의 전하 반발로 인해 세포막을 쉽게 투과하지 못한다. 그 결과, 폴리뉴클레오타이드는 생체이용률 및 세포로의 흡수가 불량하고, 전형적으로 1% 미만이다(Dheur 등, Nucleic Acid Drug Dev., 9:522(1999); Park 등, J Controlled Release, 93:188(2003)). 대부분의 폴리뉴클레오타이드는 일반적으로 5,000Da을 초과하므로, 세포막을 통해 쉽게 확산될 수 없으며 세포로의 흡수는 주로 세포흡수(pinocytic) 또는 세포내이입 과정에 제한된다. 일단 세포 내부에 들어가면, 폴리뉴클레오타이드는 리소좀 구획에 축적되어 세포질이나 핵으로의 접근을 제한할 수 있다. 비경구적으로 투여된 폴리뉴클레오타이드는 또한 세포질 내부와 외부 모두에서 빠른 뉴클레아제 분해에 매우 민감하다. 연구에 따르면, 정맥내 투여 후 혈액 내 폴리뉴클레오타이드의 급속한 분해가 나타나고. 반감기는 약 30분이다(Geary 등, J. Pharmacol. Exp. Ther. 296:890-897 (2001)).

[0011] 따라서, 폴리뉴클레오타이드, 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 전달에 직면한 문제는 대략 두 부분으로 나뉠 수 있다. 첫째, 치료용 폴리뉴클레오타이드는 세포질로 전달될 수 있는 방식으로 제형화되어야 하며, 둘째, 폴리뉴클레오타이드는 손상되지 않고 완전히 기능적으로 세포 핵에 도달해야 한다. 치료제로서의 올리고뉴클레오타이드 및 올리고뉴클레오타이드 유사체의 적용의 발전에도 불구하고, 개선된 약리학적 특성, 예를 들어 혈청 안정성, 올바른 기관, 조직 또는 세포로의 전달 및 막관통 전달을 제공하는 전달 시스템에 대한 필요성이 존재한다.

[0012] 핵산 및 올리고뉴클레오타이드의 막관통 전달을 개선하는 것을 목표로 하는 노력은 단백질 운반체, 항체 운반체, 리포좀 전달 시스템, 전기천공법, 직접 주사, 세포 융합, 바이러스 벡터 및 인산칼슘-매개 형질전환을 활용했다. 그러나, 이러한 기술 중 다수는 막관통 수송이 가능한 세포 유형 및 그러한 수송을 달성하는 데 필요한 조건에 의해 제한된다. 따라서, 내인성 용해 효소(예를 들어, RNase)에 대한 내성 및/또는 혈청 안정성을 개선하면서 투과 장벽(예를 들어, 원형질막 또는 BBB)을 가로질러 특정 표적 세포 또는 조직으로 하전된 치료제(예를 들어, 항미르(antimir)와 같은 안티센스 올리고뉴클레오타이드)를 선택적으로 유도할 수 있는 전달 시스템이 필요하다.

발명의 내용

[0013] 본 개시내용은 다음을 포함하는 양이온성 운반체 단위를 제공한다:

[0014] [CC]-L1-[CM]-L2-[HM] (도식 I);

[0015] [CC]-L1-[HM]-L2-[CM] (도식 II);

[0016] [HM]-L1-[CM]-L2-[CC] (도식 III);

[0017] [HM]-L1-[CC]-L2-[CM] (도식 IV);

[0018] [CM]-L1-[CC]-L2-[HM] (도식 V); 또는

[0019] [CM]-L1-[HM]-L2-[CC](도식 VI);

[0020] 여기서,

[0021] CC는 양전하성 운반체 모이어티이고;

[0022] CM은 가교 모이어티이고;

[0023] HM은 소수성 모이어티이고; 그리고,

[0024] L1 및 L2는 독립적으로 선택적인 링커이며,

[0025] 여기서, HM의 수는 [CC] 및 [CM]에 비해 약 50% 미만이다.

[0026] 일부 측면에서, HM의 수는 [CC] 및 [CM]에 비해 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 9%, 약 8%, 약 7%, 약 6%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 또는 약 1% 미만이다. 일부 측면에서, HM의 수는 [CC] 및 [CM]에 비해 약 50% 내지 약 1%, 약 50% 내지 약 5%, 약 50% 내지 약 10%, 약 50% 내지 약 15%, 약 50% 내지 약 20%, 약 50% 내지 약 25%, 약 50% 내지 약 30%, 약 50% 내지 약 35%, 약 50% 내지 약 40%, 약 50% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 1%, 약 45% 내지 약 5%, 약 45% 내지 약 10%, 약 45% 내지 약 15%, 약 45% 내지 약 20%, 약 45% 내지 약 25%, 약 45% 내지 약 30%, 약 45% 내지 약 35%, 약 45% 내지 약 40%, 약 40% 내지 1%, 약 50% 내지 약 5%, 약 40% 내지 약 10%, 약 40% 내지 약 15%, 약 40% 내지 약 20%, 약 40% 내지 약

25%, 약 40% 내지 약 30%, 약 40% 내지 약 35%, 약 35% 내지 약 1%, 약 35% 내지 약 5%, 약 35% 내지 약 10%, 약 35% 내지 약 15%, 약 35% 내지 약 20%, 약 35% 내지 약 25%, 약 35% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 1%, 약 30% 내지 약 5%, 약 30% 내지 약 10%, 약 30% 내지 약 15%, 약 30% 내지 약 20%, 약 30% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 1%, 약 25% 내지 약 5%, 약 25% 내지 약 10%, 약 25% 내지 약 15%, 약 25% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 1%, 약 20% 내지 약 5%, 약 20% 내지 약 10%, 약 20% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 1%, 약 15% 내지 약 5%, 약 15% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 1%, 약 10% 내지 약 5%, 또는 약 5% 내지 약 1%이다. 일부 측면에서, HM의 수는 약 50% 내지 약 40%, 약 40% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 5%, 및 약 5% 내지 약 1% 사이이다. 일부 측면에서, HM의 수는 약 50%, 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1%이다.

[0027] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 음이온성 페이로드와 상호작용할 수 있다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 길이가 200개 뉴클레오타이드 미만인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 길이가 약 150개, 약 140개, 약 130개, 약 120개, 약 110개, 약 100개, 약 90개, 약 80개, 약 70개, 약 60개, 약 50개, 약 40개, 약 30개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 약 13개, 약 12개, 약 11개, 또는 약 10개 뉴클레오타이드 미만인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 30개 내지 약 10개, 약 25개 내지 약 11개, 약 30개 내지 약 15개, 약 25개 내지 약 15개, 약 24개 내지 약 15개, 또는 약 23개 내지 약 15개 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 30개, 약 29개, 약 28개, 약 27개, 약 26개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 또는 약 13개 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 mRNA, miRNA, miRNA 스펀지, 강인한 디코이(tough decoy) miRNA, 항미르, 작은 RNA, rRNA, siRNA, shRNA, gDNA, cDNA, pDNA, PNA, BNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 앱타머, 사이클릭 디뉴클레오타이드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0028] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 수용성 중합체(WP)를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC], [HM] 또는 [CM]에 부착된다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC], [HM] 또는 [CM]의 N 말단에 부착된다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC], [HM] 또는 [CM]의 C 말단에 부착된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0029] [WP]-L3]-[CC]-L1-[CM]-L2-[HM] (도식 I');

[0030] [WP]-L3]-[CC]-L1-[HM]-L2-[CM] (도식 II');

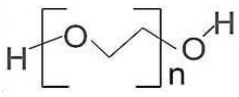
[0031] [WP]-L3]-[HM]-L1-[CM]-L2-[CC] (도식 III');

[0032] [WP]-L3]-[HM]-L1-[CC]-L2-[CM] (도식 IV');

[0033] [WP]-L3]-[CM]-L1-[CC]-L2-[HM] (도식 V'); 또는

[0034] [WP]-L3]-[CM]-L1-[HM]-L2-[CC] (도식 VI').

[0035] 일부 측면에서, 수용성 중합체는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(사카라이드), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜("PEG"), 폴리글리세롤 또는 폴리(프로필렌 글리콜)("PPG")을 포함한다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 다음을 포함한다:

[0036] 

[0037] 여기서 n은 1-1000이다.

[0038] 일부 측면에서, n은 적어도 약 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어

도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 또는 적어도 약 141이다. 일부 측면에서, n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 140 내지 약 150, 또는 약 150 내지 약 160이다.

[0039] 일부 측면에서, 수용성 중합체는 선형, 분지형 또는 수지상이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 적어도 약 20개, 적어도 약 21개, 적어도 약 22개, 적어도 약 23개, 적어도 약 24개, 적어도 약 25개, 적어도 약 26개, 적어도 약 27개, 적어도 약 28개, 적어도 약 29개, 적어도 약 30개, 적어도 약 31개, 적어도 약 32개, 적어도 약 33개, 적어도 약 34개, 적어도 약 35개, 적어도 약 36개, 적어도 약 37개, 적어도 약 38개, 적어도 약 39개, 적어도 약 40개, 적어도 약 41개, 적어도 약 42개, 적어도 약 43개, 적어도 약 44개, 적어도 약 45개, 적어도 약 46개, 적어도 약 47개, 적어도 약 48개, 적어도 약 49개, 적어도 50개, 적어도 약 51개, 적어도 약 52개, 적어도 약 53개, 적어도 약 54개, 적어도 약 55개, 적어도 약 56개, 적어도 약 57개, 적어도 약 58개, 적어도 약 59개, 적어도 약 60개, 적어도 약 61개, 적어도 약 62개, 적어도 약 63개, 적어도 약 64개, 적어도 약 65개, 적어도 약 66개, 적어도 약 67개, 적어도 약 68개, 적어도 약 69개, 적어도 약 70개, 적어도 약 71개, 적어도 약 72개, 적어도 약 73개, 적어도 약 74개, 적어도 약 75개, 적어도 약 76개, 적어도 약 77개, 적어도 약 78개, 적어도 약 79개 또는 적어도 약 80개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 50개, 적어도 60개, 적어도 약 70개, 적어도 약 80개, 적어도 약 90개, 적어도 약 100개, 적어도 약 110개, 적어도 약 120개, 적어도 약 130개, 적어도 약 140개, 또는 적어도 약 150개의 염기성 아미노산을 포함한다.

[0040] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 10 내지 약 60개, 약 15 내지 약 60개, 약 20 내지 약 60개, 약 25 내지 약 60개, 약 30 내지 약 60개, 약 35 내지 약 60개, 약 40 내지 약 60개, 약 10 내지 약 55개, 약 15 내지 약 55개, 약 20 내지 약 55개, 약 25 내지 약 55개, 약 30 내지 약 55개, 약 35 내지 약 55개, 약 40 내지 약 55개, 약 10 내지 약 50개, 약 15 내지 약 50개, 약 20 내지 약 50개, 약 25 내지 약 50개, 약 30 내지 약 50개, 약 35 내지 약 50개, 약 40 내지 약 50개, 약 10 내지 약 45개, 약 15 내지 약 45개, 약 20 내지 약 45개, 약 25 내지 약 45개, 약 30 내지 약 45개, 약 35 내지 약 45개, 약 40 내지 약 45개, 약 10 내지 약 40개, 약 15 내지 약 40개, 약 20 내지 약 40개, 약 25 내지 약 40개, 약 30 내지 약 40개, 약 35 내지 약 40개, 약 10 내지 약 35개, 약 15 내지 약 35개, 약 20 내지 약 35개, 약 25 내지 약 35개, 약 30 내지 약 35개, 약 35 내지 약 35개, 약 40 내지 약 35개, 또는 약 40 내지 약 35개의 염기성 아미노산을 포함한다.

[0041] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 50개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 10개, 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개 또는 약 60개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 리신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개 또는 약 60개의 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 32개의 리신을 포함한다.

[0042] 일부 측면에서, 가교 모이어티는 가교제에 연결된 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 가교제는 티올 기, 티올 유도체 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 티올 기를 포함한다.

[0043] 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 아미노산은 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 적어도 24개, 적어도 25개, 적어도 26개, 적어도 27개, 적어도 28개, 적어도 29개, 적어도 30개, 적어도 31개, 적어도 32개, 적어도 33개, 적어도 34개, 적어도 35개, 적어도 36개, 적어도 37개, 적어도 38개, 적어도 39개 또는 적어도 40개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 아미노산은 약 1개 내지 약 40개, 약 5개 내지 약 40개, 약 10개 내지 약 40개, 약 15개 내지 약 40개, 약 20개 내지 약 40개, 약 1개 내지 약 35개, 약 5개 내지 약 35개, 약 10개 내지 약 35개, 약 15개 내지 약 35개, 약 20개 내지 약 35개, 약 1개 내지 약 30개, 약 5개 내지 약 30개, 약 10개 내지 약 30개, 약 15개 내지 약 30개, 약 20개 내지 약 30개, 약 1개 내지 약 25개, 약 5개 내지 약 25개, 약 10개 내지 약 25개, 약 15개 내지 약 25개, 약 20개 내지 약 25개, 약 1개 내지 약 20개, 약 5개 내지 약 20개, 약 10개 내지 약 20개, 약 15개 내지 약 20개, 약 1개 내지

약 15개, 약 5개 내지 약 15개, 약 10개 내지 약 15개, 약 1개 내지 약 10개, 약 5개 내지 약 10개, 또는 약 1개 내지 약 5개의 염기성 아미노산을 포함한다.

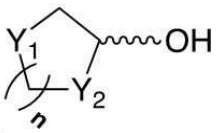
[0044] 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 아미노산은 약 5개, 약 6개, 약 7개, 약 8개, 약 9개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 21개, 약 22개, 약 23개, 약 24개, 약 25개, 약 26개, 약 27개, 약 28개, 약 29개, 또는 약 30개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 염기성 아미노산은 아르기닌, 리신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 염기성 아미노산은 약 5개, 약 10개, 약 11개, 약 12개, 약 13개, 약 14개, 약 15개, 약 16개, 약 17개, 약 18개, 약 19개, 약 20개, 약 25개, 약 30개, 또는 약 40개 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 염기성 아미노산은 약 10개 내지 약 20개의 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티 내의 염기성 아미노산은 약 16개의 리신을 포함한다.

[0045] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 면역 반응, 염증 반응 또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 면역 반응을 조절할 수 있다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 종양이 있는 대상체에서 종양 미세환경을 조절할 수 있다.

[0046] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 종양 미세환경에서 저산소증을 저해하거나 감소시킬 수 있다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 이미다졸 유도체, 아미노산, 비타민 또는 이들의 임의의 조합에 연결된 하나 이상의 아미노산을 포함한다.

[0047] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 염증 반응을 저해하거나 감소시킬 수 있다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 비타민에 연결된 하나 이상의 아미노산이다. 일부 측면에서, 비타민은 사이클릭 고리 또는 사이클릭 헤테로원자 고리 및 카르복실 기 또는 하이드록실 기를 포함한다.

[0048] 일부 측면에서, 비타민은 다음을 포함한다:

[0049] 

[0050] 여기서 Y_1 및 Y_2는 각각 C, N, O 및 S로부터 독립적으로 선택되고, n은 1 또는 2이다.

[0051] 일부 측면에서, 비타민은 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E, 비타민 M, 비타민 H 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 측면에서 비타민은 비타민 B3이다.

[0052] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민에 연결된, 적어도 약 2개, 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 적어도 약 20개, 적어도 약 21개, 적어도 약 22개, 적어도 약 23개, 적어도 약 24개, 적어도 약 25개, 적어도 약 26개, 적어도 약 27개, 적어도 약 28개, 적어도 약 29개, 적어도 약 30개, 적어도 약 31개, 적어도 약 32개, 적어도 약 33개, 적어도 약 34개, 적어도 약 35개, 적어도 약 36개, 적어도 약 37개, 적어도 약 38개, 적어도 약 39개, 적어도 약 40개, 적어도 약 41개, 적어도 약 42개, 적어도 약 43개, 적어도 약 44개, 적어도 약 45개, 적어도 약 46개, 적어도 약 47개, 적어도 약 48개, 적어도 약 49개, 적어도 약 50개, 적어도 약 51개, 적어도 약 52개, 적어도 약 53개, 적어도 약 54개, 적어도 약 55개, 적어도 약 56개, 적어도 약 57개, 적어도 약 58개, 적어도 약 59개, 적어도 약 60개, 적어도 약 61개, 적어도 약 62개, 적어도 약 63개, 적어도 약 64개, 적어도 약 65개, 적어도 약 66개, 적어도 약 67개, 적어도 약 68개, 적어도 약 69개, 적어도 약 70개, 적어도 약 71개, 적어도 약 72개, 적어도 약 73개, 적어도 약 74개, 적어도 약 75개, 적어도 약 76개, 적어도 약 77개, 적어도 약 78개, 적어도 약 79개, 또는 적어도 약 80개의 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민에 연결된, 적어도 20개, 적어도 30개, 적어도 40개, 적어도 50개, 적어도 60개, 적어도 약 70개, 적어도 약 80개, 적어도 약 90개, 적어도 약 100개, 적어도 약 110개, 적어도 약 120개, 적어도 약 130개, 적어도 약 140개 또는 적어도 약 150개의 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각이 비타민에 연결된 약 10 내지 약 60개, 약 15 내지 약 60, 약 20 내지 약 60, 약 25 내지 약 60, 약 30 내지 약 60개, 약 35 내지 약 60개, 약 40 내지 약 60개, 약 10 내지 약 55개, 약 15 내지 약 55개, 약 20 내지 약 55개, 약 25 내지 약 55개, 약 30 내지 약 55개, 약 35 내지 약 55개, 약 40 내지 약 55개,

약 10 내지 약 50개, 약 15 내지 약 50개, 약 20 내지 약 50개, 약 25 내지 약 50개, 약 30 내지 약 50개, 약 35 내지 약 50개, 약 40 내지 약 50개, 약 10 내지 약 45개, 약 15 내지 약 45개, 약 20 내지 약 45개, 약 25 내지 약 45개, 약 30 내지 약 45개, 약 35 내지 약 45개, 약 40 내지 약 45개, 약 10 내지 약 40개, 약 15 내지 약 40개, 약 20 내지 약 40개, 약 25 내지 약 40개, 약 30 내지 약 40개, 약 35 내지 약 40개, 약 10 내지 약 35개, 약 15 내지 약 35개, 약 20 내지 약 35개, 약 25 내지 약 35개, 약 30 내지 약 35개, 약 35 내지 약 35개, 약 40 내지 약 35개, 또는 약 40 내지 약 35개의 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민에 연결된 약 10개, 약 20개, 약 30개, 약 40개, 약 50개 또는 약 60개의 아미노산을 포함한다.

[0053] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된, 약 10개의 아미노산, 약 20개의 아미노산, 약 30개의 아미노산, 약 40개의 아미노산 또는 약 50개의 아미노산을 포함한다.

[0054] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 약 25개 내지 약 40개의 리신을 포함하고, 가교 모이어티는 약 10개 내지 약 20개의 리신-티올을 포함하고, 소수성 모이어티는 약 25개 내지 약 40개의 리신-비타민 B3을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 30개 내지 약 35개의 리신을 포함하고, 가교 모이어티는 약 13개 내지 약 20개의 리신-티올을 포함하고, 소수성 모이어티는 약 30개 내지 약 35개의 리신-비타민 B3을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 약 32개의 리신을 포함하고, 가교 모이어티는 약 16개의 리신-티올을 포함하고, 소수성 모이어티는 약 32개의 리신-비타민 B3을 포함한다.

[0055] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 약 35 내지 약 60개의 리신을 포함하고, 가교 모이어티는 약 5개 내지 약 15개의 리신-티올을 포함하고, 소수성 모이어티는 약 15개 내지 약 30개의 리신-비타민 B3을 포함한다.

[0056] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 수용성 생체중합체 모이어티를 포함하며, 여기서 수용성 생체중합체 모이어티는 약 120 내지 약 130개의 PEG 단위를 포함한다.

[0057] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 표적화 모이어티(TM)를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 조직을 표적화할 수 있다. 일부 측면에서, 조직은 간, 뇌, 신장, 폐, 난소, 췌장, 갑상선, 유방, 위 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 큰 중성 아미노산 수송체 1(LAT1)에 의해 수송될 수 있다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 아미노산이다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 분지쇄 또는 방향족 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 페닐알라닌, 발린, 류신 및/또는 이소류신이다. 일부 측면에서, 아미노산은 페닐알라닌이다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 수용성 중합체에 연결된다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 링커에 의해 수용성 중합체에 연결된다.

[0058] 또한, 본 개시내용은 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위 및 음이온성 페이로드를 포함하는 미셀을 제공하며, 여기서 상기 양이온성 운반체 복합체의 양이온성 운반체 모이어티와 음이온성 페이로드는 서로 회합되어 있다. 일부 측면에서, 회합(association)은 공유 결합이다. 다른 측면에서, 회합은 비공유 결합이다. 일부 측면에서, 회합은 이온 결합이다.

[0059] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하는 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하며, 여기서 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 용액에서 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율은 약 1:3 내지 약 3:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하는 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하며, 여기서 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 용액에서 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율은 약 1:3, 약 1:2.5; 약 1:2, 약 1:1.5; 약 1:1, 약 1:0.5; 약 0.5:1, 약 1.5:1; 약 2:1, 약 2.5:1, 또는 약 3:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하는 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하며, 여기서 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 용액에서 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율은 약 1:3, 약 1:2.5; 약 1:2, 약 1:1.5; 약 1:1, 약 1:0.5; 약 0.5:1, 약 1.5:1; 약 2:1, 약 2.5:1, 또는 약 3:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하는 용액에서 음이온성 페이로드와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하며, 여기서 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하와 용액에서 음이온성 페이로드의 음전하의 전체 이온 비율은 약 1:1이다.

[0060] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 DNase 및/또는 RNase에 의한 분해로부터 음이온성 페이로드를 보호할 수 있다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 공유 결합에 의해 양이온성 운반체 단위에 접합되지 않고/않거나 음이온성 페이로드는 이온 상호작용을 통해서만 양이온성 운반체 단위의 양이온 운반체 모이어티와 상호작용한다.

[0061] 일부 측면에서, 음이온성 페이로드의 반감기는 미셀에 혼입되지 않은 유리 음이온성 페이로드의 반감기에 비해 연장된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 미셀 내의 음이온성 페이로드의 음전하의 이온 비율은 약 3:1, 약 2.9:1, 약 2.8:1, 약 2.7:1, 약 2.6:1, 약 2.5:1, 약 2.4:1, 약 2.3:1, 약 2.2:1, 약 2:1, 약 1.9:1, 약 1.8:1, 약 1.7:1, 약 1.6:1, 약 1.5:1, 약 1.4:1, 약 1.3:1, 약 1.2:1, 약 1.1:1, 약 1:1, 약 1:1.1, 약 1:1.2, 약 1:1.3, 약 1:1.4, 약 1:1.5, 약 1:1.6, 약 1:1.7, 약 1:1.8, 약 1:1.9, 약 1:2, 약 1:2.1, 약 1:2.2, 약 1:2.3, 약 1:2.4, 약 1:2.5, 약 1:2.6, 약 1:2.7, 약 1:2.8, 약 1:2.9, 또는 약 1:3이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 미셀 내의 음이온성 페이로드의 음전하의 이온 비율은 약 3:1 내지 약 1:3이다.

[0062] 일부 측면에서, 미셀의 직경은 약 1nm 내지 100nm, 약 10nm 내지 약 100nm, 약 10nm 내지 약 90nm, 약 10nm 내지 약 80nm, 약 10nm 내지 약 70nm, 약 20nm 내지 약 100nm, 약 20nm 내지 약 90nm, 약 20nm 내지 약 80nm, 약 20nm 내지 약 70nm, 약 30nm 내지 약 100nm, 약 30nm 내지 약 90nm, 약 30nm 내지 약 80nm, 약 30nm 내지 약 70nm, 약 40nm 내지 약 100nm, 약 40nm 내지 약 90nm, 약 40nm 내지 약 80nm, 또는 약 40nm 내지 약 70nm 사이이다.

[0063] 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 핵산을 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 mRNA, miRNA, miRNA 스펀지, 강인한 디코이(tough decoy) miRNA, 항미르, 작은 RNA, rRNA, siRNA, shRNA, gDNA, cDNA, pDNA, PNA, BNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 앱타머, 사이클릭 디뉴클레오타이드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 적어도 하나의 뉴클레오사이드 유사체를 포함한다. 일부 측면에서, 뉴클레오사이드 유사체는 잠금(Locked) 핵산(LNA); 2'-O-알킬-RNA; 2'-아미노-DNA; 2'-플루오로-DNA; 아라비노 핵산(ANA); 2'-플루오로-ANA, 헥시톨 핵산(HNA), 삽입 핵산(INA), 구속된 에틸 뉴클레오사이드(cEt), 2'-O-메틸 핵산(2'-OMe), 2'-O-메톡시에틸 핵산(2'-MOE), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0064] 일부 측면에서, 핵산은 5 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 뉴클레오타이드 서열은 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 또는 26개 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 측면에서, 뉴클레오타이드 서열은 포스포디에스테르 연결, 포스포트리에스테르 연결, 메틸포스포네이트 연결, 포스포아미데이트 연결, 포스포로티오에이트 연결 및 이들의 조합을 포함하는 백본을 갖는다. 일부 측면에서, 핵산은 서열번호 18(miR-485 3p 저해제)에 제시된 바와 같은 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0065] 본 개시내용은 또한 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위 및 음전하성 분자를 포함하는 조성물을 제공한다. 또한, 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위, 조성물 또는 미셀 및 약제학적으로 허용되는 운반체를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0066] 본 개시내용은 또한 양이온성 운반체 모이어티를 가교 모이어티 및 소수성 모이어티에 연결시키는 것을 포함하는 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위를 제조하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 방법은 수용성 중합체와 표적화 모이어티를 연결시키는 것을 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 미셀의 제조 방법은 용액에서 1:1의 이온 비율로 양이온성 운반체 단위를 음이온성 페이로드와 혼합하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 미셀의 제조 방법은 용액에서 2:1의 이온 비율로 양이온성 운반체 단위를 음이온성 페이로드와 혼합하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 미셀의 제조 방법은 용액에서 양이온성 운반체 단위를 음이온성 페이로드와 약 1:3 내지 약 3:1의 이온 비율로 혼합하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 방법은 미셀을 정제하는 것을 추가로 포함한다.

[0067] 본 개시내용은 또한 미셀 또는 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체의 질환 또는 병태를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 미셀 코어 중의 음이온성 페이로드는 미셀에 통합되지 않은 상응하는 음이온성 페이로드보다 더 긴 반감기를 나타낸다. 일부 측면에서, 대상체는 포유동물이다.

[0068] 본 개시내용은 또한 본원에 개시된 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 신경퇴행성 질환을 앓고 있는 대상체에서 염증을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0069] 본 개시내용은 또한 본원에 개시된 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 신경퇴행성 질환을 앓고 있는 대상체에서 신경발생을 회복 및/또는 유도하는 방법을 제공한다.

[0070] 본 개시내용은 또한 본원에 개시된 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 신경퇴행성 질환을 앓고 있는 대상체의 인지 기능을 개선시키는 방법을 제공한다.

[0071] 일부 측면에서, 신경퇴행성 질환은 알츠하이머병이다.

[0072] 본 개시내용은 또한 본원에 개시된 미셀의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 알츠하이머병을 앓고 있는 대상체에서 아밀로이드 플라크 부담을 감소시키는 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0073] **도 1a 내지 1d**는 본 개시내용의 운반체 단위 및 미셀의 예시적인 아키텍처를 도시한다. 예시적인 운반체 단위는 선택적인 조직-특이적 표적화 모이어티, 수용성 중합체, 및 양이온성 모이어티, 가교 모이어티 및 소수성 모이어티(각각 음이온성 페이로드와 상호작용할 수 있음)를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함한다(**도 1a**). 일부 측면에서, 양이온성 운반체 및 음이온성 페이로드는 묶이지 않고 정전기적으로 상호작용한다. **도 1b**는 음이온성 페이로드의 개략도를 보여준다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 및 음이온성 페이로드는 묶이고 정전기적으로 상호작용한다. **도 1c**는 **도 1a** 및 **도 1b**의 양이온성 운반체 및 음이온성 페이로드를 포함하는 미셀의 개략도를 보여준다. **도 1d**는 siRNA 및 콜레스테롤 접합된 siRNA(예를 들어, 음이온성 페이로드)의 개략도를 보여준다.

도 2a-2i는 양이온성 운반체 단위의 예시적인 조성을 보여준다. **도 2a**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 60개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 모든 리신 잔기는 변형되지 않는다(예를 들어, 양전하성 아민, 예를 들어, -NH3+를 함유함). **도 2b**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 45개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 30개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 15개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2c**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 60개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 나타내며, 여기서 30개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2d**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 60개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 30개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 4차 아민을 함유함), 10개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 20개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2e**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 나타내며, 여기서 60개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 4차 아민을 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 15개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2f**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 50개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 4차 아민을 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 25개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2g**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 45개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 4차 아민을 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2h**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 40개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 10개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 2i**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 35개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 15개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다.

도 3은 뉴클레오타이드 미셀 전달을 위한 조직 특이적 표적화 중합체 구조 및 운반체의 ^{1}H-NMR 특징을 보여준다. 표적화 모이어티("표적 분자"로 표지됨)에 상응하는 ^{1}H-NMR 차트는 표적화 모이어티(뇌 내피의 LAT1 표적에 결합하는 고리 구조를 함유하는 아미노산 모이어티)가 성공적으로 합성되었음을 보여준다. 2번째 ^{1}H-NMR 차트("중합체"로 표지됨)는 양이온성 PEG 블록 공중합체(양이온성 운반체 모이어티 및 소수성 모이어티도 포함함)도 합성되었음을 보여준다.

도 4a-4e는 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO) 미셀을 위한 양이온성 운반체 단위의 예시적인 조성을 보여준다. **도 4a**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 60개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 60개의 리신 잔기는 변형되지 않는다(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함). **도 4b**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 45개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 30개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 15개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 4c**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 60개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 30개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 4d**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 60개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 30개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 10개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 20개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 4e**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 35개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 15개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다.

도 5a-5e는 Zeta-sizer에 의해 측정된 양이온성 운반체 단위와 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO) 미셀의 상이한 조성에 대해 증가하는 N/P 비율에서의 입자 크기 및 계수율을 보여준다. **도 5a**는 화합물 A의 개략도를 보여준다(**도 4a** 참조). **도 5b**는 화합물 B의 개략도를 보여준다(**도 4b** 참조). **도 5c**는 화합물 C의 개략도를 보여준다(**도 4c** 참조). **도 5d**는 화합물 D의 개략도를 보여준다(**도 4d** 참조). **도 5e**는 화합물 I의 개략도를 보여준다(**도 4e** 참조). **도 5a-5e**는 21량체 뉴클레오타이드(예를 들어, 음이온성 페이로드) 및 양이온성 운반체 단위로서 화합물 A-D 및 I를 0.2-2.4의 N/P 비율로 포함하는 미셀의 계수율, 다분산 지수(PDI) 및 크기를 보여준다.

도 6은 miR-485 저해제(서열번호 18)("RNA"로 표지됨)를 캡슐화하는 미셀의 단일 뇌실내 투여 후 마우스 뇌 피질에서 SIRT1 및 PGC-1α의 발현이 증가함을 보여준다. miR-485 저해제-로딩된 미셀(100 μg/마우스) 투여 후 6, 24, 48 및 72시간째 SIRT1(왼쪽 그래프) 및 PGC-1α(오른쪽 그래프)의 발현 수준이 제공된다. SIRT1 및 PGC-1α 발현 수준은 대조군에 대해 정규화된 것으로 보여준다(즉, miR-485 저해제에 의해 처리되지 않은 마우스에서의 발현 수준). 제공된 백분율 값은 miR-485 저해제 투여 후 48시간째에 대조군에 비해 SIRT1 및 PGC-1α 발현의 평균 증가 백분율을 나타낸다. 제공된 p 값은 t 시험의 p 값을 나타낸다.

도 7은 RNA-로딩된 미셀, 즉 miR-485 저해제(서열번호 18)를 캡슐화하는 미셀의 단일 뇌실내 투여 후 마우스 뇌의 해마에서 SIRT1 및 PGC-1α의 발현이 증가함을 보여준다. miR-485 저해제(100μg/마우스) 투여 후 6, 24, 48 및 72시간째에 SIRT1(왼쪽 그래프) 및 PGC-1α(오른쪽 그래프)의 발현 수준이 제공된다. SIRT1 및 PGC-1α 발현 수준은 대조군에 대해 정규화된 것으로 제시된다(즉, miR-485 저해제로 처리되지 않은 마우스에서의 발현 수준). 제공된 백분율 값은 miR-485 저해제 투여 후 24시간째에 대조군에 비해 SIRT1 및 PGC-1α 발현의 평균 증가 백분율을 나타낸다. 제공된 p 값은 t 시험의 p 값을 나타낸다.

도 8은 miR-485 저해제(100 μg/마우스)를 함유하는 미셀의 단일 뇌실내 투여 후 마우스 뇌에서 CD36의 발현이 증가함을 보여준다. miR-485 저해제(100 μg/마우스) 투여 후 24, 48, 72 및 120시간 후 CD36의 발현 수준이 제공된다. CD36 발현은 대조군에 대해 정규화된 것으로 도시된다(즉, miR-485 저해제로 처리되지 않은 마우스에

서의 발현 수준). 제공된 백분율 값은 miR-485 저해제 투여 후 48시간째 대조군에 비해 CD36 발현의 평균 증가 백분율을 나타낸다. 제공된 p 값은 t 시험의 p 값을 나타낸다.

도 9는 콜레스테롤-접합된 siRNA와 본원에 기술된 운반체 단위 사이의 미셀 형성을 유도하는 분자력의 개략도를 보여준다.

도 10a-10d는 콜레스테롤-접합된 siRNA 미셀에 대한 양이온성 운반체 단위의 예시적인 조성을 나타낸다. **도 10a**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 60개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 15개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 10b**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 50개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 25개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 10c**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 45개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 10d**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 40개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 10개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다.

도 11a-11d는 각각 **도 10a-10d**의 미셀에 대한 중합체(예를 들어, 운반체 단위)와 콜레스테롤-접합된 siRNA 사이의 몰비 및 이들의 상응하는 크기(나노미터)를 보여준다.

도 12는 **도 10a-10d**에 보여준 운반체 단위에 대한 소수성 상호작용에 의한 미셀 캡슐화 효율의 변화를 나타내는 차트를 보여준다.

도 13은 최적의 콜레스테롤-접합된 siRNA(예를 들어, 14~30량체) 미셀 캡슐화를 위한 운반체 단위를 보여준다.

도 14는 siRNA와 중합체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 운반체 단위) 사이의 미셀 형성을 위한 분자력을 나타낸다.

도 15a-15e는 siRNA(예를 들어, 21량체) 미셀에 대한 양이온성 운반체 단위의 예시적인 조성을 보여준다. **도 15a**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 보여주며, 여기서 60개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 15개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 15b**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 나타내며, 여기서 50개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 25개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 15c**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 나타내며, 여기서 45개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 5개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 15d**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 나타내며, 여기서 40개의 리신 잔기는 변

형되지 않고(예를 들어, 양전하 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 10개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다. **도 15e**는 표적화 모이어티, 수용성 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 및 80개의 리신 잔기를 포함하는 양이온성 운반체 단위를 포함하는 운반체 단위를 나타내며, 여기서 35개의 리신 잔기는 변형되지 않고(예를 들어, 양전하성 아민, 예를 들어, $-NH_3^+$를 함유함), 15개의 리신 잔기는 가교를 위해 변형되고(예를 들어, 티올, 알킬 티올 또는 리신-티올에 연결됨), 30개의 리신 잔기는 소수성 모이어티(예를 들어, 비타민)를 함유하도록 변형된다.

도 16a-16e는 Zeta-sizer에 의해 측정된 양이온성 운반체 단위 및 siRNA(예를 들어, 21량체) 미셀의 상이한 조성에 대한 증가하는 N/P 비율에서의 입자 크기 및 계수율을 보여준다. **도 16a**는 화합물 E의 개략도를 보여준다(**도 15a** 참조). **도 16b**는 화합물 F의 개략도를 보여준다(**도 15b** 참조). **도 16c**는 화합물 G의 개략도를 보여준다(**도 15c** 참조). **도 16d**는 화합물 H의 개략도를 보여준다(**도 15d** 참조). **도 16e**는 화합물 I의 개략도를 보여준다(**도 15e** 참조). **도 16a-16e**는 또한 0.2-2.4의 N/P 비율로 21량체 뉴클레오타이드(예를 들어, 음이온성 페이로드) 및 양이온성 운반체 단위로서 화합물 E-I를 포함하는 미셀의 계수율 및 크기를 보여준다.

도 17a-17e는 각각 **도 15a-15e**(즉, 화합물 E, F, G, H 및 I)의 미셀에 대한 중합체(예를 들어, 운반체 단위)와 siRNA 사이의 몰비를 보여준다.

도 18은 최적의 siRNA(예를 들어, 14~30량체) 미셀 캡슐화를 위한 운반체 단위를 보여준다.

도 19는 상이한 농도에서 siRNA 미셀로 처리한 후 GL261 Red-FLuc 세포의 세포 생존력을 보여준다.

도 20a 및 **20b**는 IVIS®에 의해 측정된 루시퍼라제 검정을 사용한 siRNA 미셀의 시험관내 mRNA 녹다운 효능을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0074] 본 개시내용은 수용성 생체중합체 모이어티(예를 들어, PEG), 하전된 모이어티(예를 들어, 폴리리신), 가교 모이어티 및 소수성 모이어티를 포함하는 운반체 단위에 관한 것이다. 양이온성 운반체 단위는 단위가 음이온성 페이로드와 상호작용할 때 미셀로 패키징될 수 있으며, 여기서 페이로드는 미셀의 코어에 위치하고 수용성 생체중합체 모이어티는 용매를 향하고 있으며, 여기서 가교 모이어티는 한 단위를 다른 운반체 단위에 가교시키고, 소수성 모이어티는 미셀의 표면에 노출된다. 다양한 측면의 비제한적 예가 본 개시내용에 제시된다.

[0075] 본 개시내용을 더 상세하게 설명하기 전에, 본 개시내용이 기재된 특정 조성물 또는 공정 단계에 제한되지 않으며, 물론 그 자체가 달라질 수 있음을 이해해야 한다. 본 개시내용을 읽을 때 관련 기술분야의 기술자에게 분명한 바와 같이, 본원에 기술되고 예시된 각각의 개별 측면은 본 개시내용의 범위 또는 사상을 벗어나지 않고 임의의 다른 여러 측면의 특징으로부터 쉽게 분리되거나 특징과 조합될 수 있는 별개의 성분 및 특징을 갖는다. 임의의 언급된 방법은 언급된 이벤트의 순서 또는 논리적으로 가능한 임의의 다른 순서로 수행될 수 있다.

[0076] 본원에 제공된 제목은 본 명세서를 전체적으로 참조하여 정의될 수 있는 본 개시내용의 다양한 측면을 제한하는 것이 아니다. 본 개시내용의 범위는 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에 사용된 용어는 단지 특정 측면을 설명하기 위한 것이지 제한하려는 의도가 아님을 또한 이해해야 한다.

[0077] 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 본 명세서를 전체적으로 참조함으로써 보다 완전하게 정의된다.

[0078] **I. 정의**

[0079] 본 명세서가 보다 쉽게 이해될 수 있도록 하기 위해, 특정 용어가 먼저 정의된다. 추가적인 정의는 상세한 설명 전반에 걸쳐 제시된다.

[0080] 용어 "a" 또는 "an" 실체는 하나 이상의 해당 실체를 지칭한다는 점에 유의해야 하며; 예를 들어, "뉴클레오타이드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 나타내는 것으로 이해한다. 이와 같이, 용어 "a"(또는 "an"), "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다. 임의의 선택적 요소를 배제하도록 청구범위가 작성될 수 있다는 것도 유의한다. 이와 같이, 이 진술은 청구항 요소의 언급 또는 부정적인 제한의 사용과 관련하여 "오로지", "오직" 등과 같은 배타적 용어를 사용하기 위한 선행 근거로서 역할을 하기 위한 것이다.

[0081] 또한, 본원에서 사용되는 "및/또는"은 다른 것이 있거나 없는 2개의 특정 특징 또는 성분 각각의 특정한 개시로서 간주되어야 한다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용되는 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A"(단독) 및 "B"(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용되는 용어 "및/또는"은 다음 측면을 각각 포괄하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

[0082] 본원에서 "포함하는"이라는 용어로 측면들이 설명되는 경우, "로 이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진"에 의거하여 기술되는, 그렇지 않으면 유사한 측면들이 또한 제공되는 것으로 이해한다.

[0083] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시내용과 관련된 기술 분야의 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, 문헌[The Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, Revised, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press]은 관련 기술분야의 기술자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어의 일반 사전을 제공한다.

[0084] 단위, 접두어 및 기호는 국제 단위계(System International de Unites: SI) 허용 형식으로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 값의 범위가 언급되는 경우, 그 범위의 언급된 상한 및 하한 사이의 각각의 중간 정수 값 및 그 각각의 분수도, 이러한 값 사이의 각각의 하위범위와 함께 구체적으로 개시되는 것으로 이해되어야 한다. 임의의 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 범위에 포함되거나 범위로부터 제외될 수 있으며, 어느 한쪽 한계를 포함하는 범위, 양쪽 한계 모두를 포함하지 않는 범위, 또는 양쪽 한계 모두를 포함하는 범위 각각도 본 개시내용에 포괄된다. 따라서, 본원에 언급된 범위는 언급된 종점을 포함하여 범위 내의 모든 값에 대한 속기인 것으로 이해한다. 예를 들어, 1 내지 10의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 및 10으로 이루어지는 군으로부터의 임의의 수, 수의 조합 또는 하위범위를 포함하는 것으로 이해한다.

[0085] 값이 명시적으로 언급되는 경우, 언급된 값과 거의 동일한 정량 또는 양인 값도 본 개시내용의 범위 내에 있음이 이해되어야 한다. 조합이 개시되는 경우, 그 조합 요소의 각각의 하위조합도 구체적으로 개시되며 본 개시내용의 범위 내에 있다. 반대로, 상이한 요소 또는 요소 그룹이 개별적으로 개시되는 경우, 이들의 조합도 개시된다. 개시내용의 임의의 요소가 복수의 대안을 갖는 것으로 개시되는 경우, 각 대안이 단독으로 또는 다른 대안과 임의의 조합으로 배제되는 해당 개시내용의 예도 이에 의해 개시되며; 개시내용의 하나보다 많은 요소가 이러한 배제를 가질 수 있고, 이러한 배제를 갖는 요소의 모든 조합이 이에 의해 개시된다.

[0086] 뉴클레오타이드는 일반적으로 허용되는 단일 문자 코드로 지칭된다. 달리 표시되지 않는 한, 뉴클레오타이드 서열은 5'에서 3' 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 기록된다. 뉴클레오타이드는 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회에서 권장하는 일반적으로 알려진 1문자 기호로 본원에서 지칭된다. 따라서, 'a'는 아데닌을 나타내고, 'c'는 시토신을 나타내고, 'g'는 구아닌을 나타내고, 't'는 티민을 나타내고, 'u'는 우라실을 나타낸다.

[0087] 아미노산 서열은 아미노에서 카르복시 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 기록된다. 아미노산은 일반적으로 알려진 3문자 기호 또는 IUPAC-IUB 생화학 명명법 위원회에서 권장하는 1문자 기호에 의해 본원에서 지칭된다.

[0088] 용어 "약"은 대략, 대충, 대강 또는 ~의 영역에서를 의미하기 위해 본원에서 사용된다. "약"이라는 용어가 수치 범위와 함께 사용되는 경우, 이는 명시된 수치 값 위아래로 경계를 확장하여 해당 범위를 수정한다. 일반적으로, "약"이라는 용어는 예를 들어 위 또는 아래로(더 높거나 낮음) 10% 변동만큼 수치 값을 명시된 값 초과 및 미만으로 수정할 수 있다.

[0089] 용어 "투여", "투여하는" 및 이들의 문법적 변형은 약제학적으로 허용되는 경로를 통해 대상체에게 본 개시내용의 미셀과 같은 조성물을 도입하는 것을 지칭한다. 본 개시내용의 미셀과 같은 조성물을 대상체에 도입하는 것은 종양내, 경구, 폐, 비강내, 비경구(정맥내, 동맥내, 근육내, 복강내 또는 피하), 직장, 림프내, 경막내, 안구주위 또는 국소를 포함하는 임의의 적합한 경로로 이루어진다. 투여는 자기 투여 및 다른 사람에 의한 투여를 포함한다. 적합한 투여 경로는 조성물 또는 작용제가 이의 의도된 기능을 수행하도록 한다. 예를 들어, 적합한 경로가 정맥내인 경우, 조성물 또는 작용제를 대상체의 정맥 내로 도입함으로써 조성물이 투여된다.

[0090] 본원에서 사용되는 바와 같이, 하나 이상의 관심 값에 적용된 경우 "대략"이라는 용어는 명시된 기준 값과 유사한 값을 지칭한다. 특정 측면에서, 용어 "대략"은 달리 명시되지 않았거나 문맥에서 달리 분명하지 않은 한, 명시된 기준 값의 어느 한쪽 방향으로(초과 또는 미만) 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 또는 그 미만 이내에 속하는 값의 범위를 지칭한다(이러한 수가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우는 제외).

[0091] 본원에서 사용되는 바와 같이, "보존된"이라는 용어는 각각 비교되는 2개 이상의 서열의 동일한 위치에서 변경되지 않고 발생하는 것인, 폴리뉴클레오타이드 서열 또는 폴리펩타이드 서열 각각의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 잔기를 지칭한다. 상대적으로 보존되는 뉴클레오타이드 또는 아미노산은 서열의 다른 곳에서 나타나는 뉴클레오타이드 또는 아미노산보다 더욱 관련된 서열 중에서 보존되는 것이다.

[0092] 양이온성 운반체와 관련하여 사용되는 임의의 아미노산, 예를 들어 리신은 자신의 천연 측기(예를 들어, 리신의 경우 $-NH_3^+$)을 갖거나 변형된 측기를 가짐으로써 양전하를 소유한다. 가교 모이어티 또는 소수성 모이어티의 정황에서 사용되는 임의의 아미노산, 예를 들어 리신은 임의의 양전하를 소유하지 않을 수 있고, 가교제(예를 들어, 티올) 또는 소수성 작용제(예를 들어, 비타민 B3)에 각각 아미드 결합 또는 링커에 의해 연결될 수 있다.

[0093] 본원에서 사용되는 용어 "N/P 비율"은 양이온성 운반체 단위 및 음이온성 페이로드가 용액에서 함께 혼합될 때 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티 내 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드 내 포스페이트의 몰비를 의미한다.

[0094] 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 100% 동일하다면 "완전히 보존된" 또는 "동일한"이라고 한다. 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 적어도 70% 동일하거나, 적어도 80% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 또는 적어도 95% 동일하다면 "고도로 보존된"이라고 한다. 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 약 70% 동일하거나, 약 80% 동일하거나, 약 90% 동일하거나, 약 95% 동일하거나, 약 98% 동일하거나, 또는 약 99% 동일하다면 "고도로 보존된"이라고 한다. 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 적어도 30% 동일하거나, 적어도 40% 동일하거나, 적어도 50% 동일하거나, 적어도 60% 동일하거나, 적어도 70% 동일하거나, 적어도 80% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 또는 적어도 95% 동일하다면 "보존된"이라고 한다. 일부 측면에서, 2개 이상의 서열은 이들이 서로 약 30% 동일하거나, 약 40% 동일하거나, 약 50% 동일하거나, 약 60% 동일하거나, 약 70% 동일하거나, 약 80% 동일하거나, 약 90% 동일하거나, 약 95% 동일하거나, 약 98% 동일하거나, 또는 약 99% 동일하다면 "보존된" 것이라고 한다. 서열의 보존은 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드의 전체 길이에 적용될 수 있거나 이의 부분, 영역 또는 특징에 적용될 수 있다.

[0095] 본원에 사용된 용어 "~로부터 유래된"은 특정 분자 또는 유기체를 사용하거나, 또는 특정 분자 또는 유기체로부터의 정보(예를 들어, 아미노산 또는 핵산 서열)를 사용하여 단리되거나 제조되는 성분을 지칭한다. 예를 들어, 제2 핵산 서열로부터 유래된 핵산 서열은 제2 핵산 서열의 뉴클레오타이드 서열과 동일하거나 실질적으로 유사한 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다. 뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드의 경우, 유래된 종은 예를 들어 천연 발생 돌연변이유발, 인공 지시 돌연변이유발 또는 인공 무작위 돌연변이유발에 의해 수득될 수 있다. 뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드를 유도하기 위해 사용되는 돌연변이유발은 의도적으로 지시되거나 의도적으로 무작위적이거나 각각의 혼합일 수 있다. 첫 번째로부터 유래된 상이한 뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드를 생성하기 위한 뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드의 돌연변이유발은 무작위 이벤트(예를 들어, 중합효소 불충실성에 의해 유발됨)일 수 있고 유래된 뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드의 식별은 적절한 스크리닝 방법에 의해, 예를 들어, 본원에서 논의된 바와 같이 이루어질 수 있다. 폴리펩타이드의 돌연변이유발은 전형적으로 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드의 조작을 수반한다. 일부 측면에서, 제2 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열로부터 유래된 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열은 제2 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 각각에 대해 적어도 약 50%, 적어도 약 51%, 적어도 약 52%, 적어도 약 53%, 적어도 약 54%, 적어도 약 55%, 적어도 약 56%, 적어도 약 57%, 적어도 약 58%, 적어도 약 59%, 적어도 약 60%, 적어도 약 61%, 적어도 약 62%, 적어도 약 63%, 적어도 약 64%, 적어도 약 65%, 적어도 약 66%, 적어도 약 67%, 적어도 약 68%, 적어도 약 69%, 적어도 약 70%, 적어도 약 71%, 적어도 약 72%, 적어도 약 73%, 적어도 약 74%, 적어도 약 75%, 적어도 약 76%, 적어도 약 77%, 적어도 약 78%, 적어도 약 79%, 적어도 약 80%, 적어도 약 81%, 적어도 약 82%, 적어도 약 83%, 적어도 약 84%, 적어도 약 85%, 적어도 약 86%, 적어도 약 87%, 적어도 약 88%, 적어도 약 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100%의 서열 동일성을 갖고, 여기서 제1 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열은 제2 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열의 생물학적 활성을 보유한다.

[0096] 용어 "상보적" 및 "상보성"은 왓슨-크릭 염기쌍형성 규칙에 의해 서로 관련된 올리고머와 표적 유전자 사이 또는 2 이상의 올리고머(즉, 각각 핵염기 서열을 포함함)를 지칭한다. 예를 들어, 핵염기 서열 "T-G-A(5'→3')"는 핵염기 서열 "A-C-T(3'→ 5')"에 상보적이다. 상보성은 주어진 핵염기 서열의 모든 핵염기보다 적은 핵염기가 염기쌍 규칙에 따라 다른 핵염기 서열에 매칭되는 "부분적"일 수 있다. 예를 들어, 일부 측면에서, 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이의 상보성은 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90% 또는 약 95%일 수 있다.

또는, 예를 계속 들기 위해, 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이에는 "완전한" 또는 "완벽한"(100%) 상보성이 있을 수 있다. 핵염기 서열 사이의 상보성 정도는 서열 사이의 혼성화의 효율 및 강도에 유의미한 영향을 미친다.

[0097] 용어 "하류"는 기준 뉴클레오타이드 서열에 대해 3'에 위치하는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 특정 측면에서, 하류 뉴클레오타이드 서열은 전사 시작점을 따르는 서열에 관한 것이다. 예를 들어, 유전자의 해독 개시 코돈은 전사 시작 부위의 하류에 위치한다.

[0098] 용어 "부형제" 및 "운반체"는 상호 교환적으로 사용되며 화합물의 투여를 추가로 용이하게 하기 위해 약제학적 조성물에 첨가되는 불활성 물질을 지칭한다.

[0099] 본원에서 사용되는 용어 "상동성"은 중합체 분자, 예를 들어 핵산 분자(예: DNA 분자 및/또는 RNA 분자) 사이 및/또는 폴리펩타이드 분자 사이의 전반적인 관련도를 지칭한다. 일반적으로 "상동성"이라는 용어는 두 분자 사이의 진화적 관계를 암시한다. 따라서, 상동성인 두 분자는 공통의 진화 조상을 가질 것이다. 본 개시내용의 정황에서, 용어 상동성은 동일성 및 유사성 모두를 포괄한다.

[0100] 일부 측면에서, 중합체 분자는 분자 내 단량체의 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99%가 동일(정확히 동일한 단량체)하거나 또는 유사(보존적 치환)하다면 서로 "상동성"인 것으로 간주된다. 용어 "상동성"은 필연적으로 적어도 2개의 서열(폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 서열) 사이의 비교를 지칭한다.

[0101] 본원에서 사용되는 용어 "동일성"은 중합체 분자 사이, 예를 들어 폴리펩타이드 분자 또는 폴리뉴클레오타이드 분자(예를 들어 DNA 분자 및/또는 RNA 분자) 사이의 전반적인 단량체 보존을 지칭한다. 임의의 추가 수식어가 없이 "동일한"이라는 용어는, 예를 들어, 단백질 A가 단백질 B와 동일하다는 것은 서열이 100% 동일함(100% 서열 동일성)을 암시한다. 두 서열을 예를 들어, "70% 동일한"이라고 설명하면, 이는 예를 들어 "70% 서열 동일성"을 갖는 것으로 설명하는 것과 같다.

[0102] 예를 들어, 2개의 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열의 동일성 백분율의 계산은 2개의 서열을 최적의 비교 목적을 위해 정렬함으로써 수행될 수 있다(예를 들어, 최적의 정렬을 위해 제1 및 제2 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열 중 하나 또는 둘 모두에 갭(gap)이 도입될 수 있고, 동일하지 않은 서열은 비교 목적에서 무시될 수 있음). 특정 측면에서, 비교 목적을 위해 정렬된 서열의 길이는 기준 서열 길이의 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 약 100%이다. 그런 다음 해당 아미노산 위치의 아미노산 또는 폴리뉴클레오타이드의 경우 염기를 비교한다.

[0103] 제1 서열의 위치가 제2 서열의 상응하는 위치와 동일한 아미노산에 의해 점유될 때, 이 분자들은 해당 위치에서 동일하다. 2개의 서열 사이의 동일성 백분율은 두 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각 갭의 길이를 고려하여 서열들이 공유하는 동일한 위치의 수의 함수이다. 서열의 비교 및 두 서열 사이의 동일성 백분율의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성할 수 있다.

[0104] 단백질 및 뉴클레오타이드 서열 모두의 정렬을 위해 다양한 공급원으로부터 적합한 소프트웨어 프로그램이 이용 가능하다. 서열 동일성 백분율을 결정하기에 적합한 1가지 프로그램은 미국 정부의 국립 생명공학 정보 센터 BLAST 웹 사이트(blast.ncbi.nlm.nih.gov)에서 이용 가능한 프로그램의 BLAST 제품군의 일부인 b12seq이다. b12seq는 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 두 서열 간의 비교를 수행한다. BLASTN은 핵산 서열을 비교하는 데 사용되는 반면, BLASTP는 아미노산 서열을 비교하는 데 사용된다. 다른 적합한 프로그램은 예를 들어 EMBOSS 생물정보학 프로그램 제품군의 일부인 Needle, Stretcher, Water 또는 Matcher이며, 이는 또한 유럽 생물정보학 협회(EBI)로부터 www.ebi.ac.uk/Tools/psa에서 이용 가능하다.

[0105] 서열 정렬은 MAFFT, Clustal(ClustalW, Clustal X 또는 Clustal Omega), MUSCLE 등과 같은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 수행할 수 있다.

[0106] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 기준 서열과 정렬되는 단일 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드 표적 서열 내의 상이한 영역은 각각 그들 자신의 서열 동일성 백분율을 가질 수 있다. 서열 동일성 백분율 값은 소수점 1자리까지 반올림된다는 점에 유의한다. 예를 들어 80.11, 80.12, 80.13 및 80.14는 80.1로 반내림되고 80.15, 80.16, 80.17, 80.18 및 80.19는 80.2로 반올림된다. 또한 길이 값은 항상 정수일 것임을 유의한다.

[0107] 특정 측면에서, 제2 아미노산 서열(또는 핵산 서열)에 대한 제1 아미노산 서열(또는 핵산 서열)의 동일성 백분율(%ID)은 ID% = 100 x (Y/ Z)로서 계산되고, 여기서 Y는 제1 및 제2 서열의 정렬에서 동일한 매치로서 채점된 아미노산 잔기(또는 핵염기)의 수(육안 검사 또는 특정 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬됨)이고 Z는 제2 서열 내의 총 잔기 수이다. 제1 서열의 길이가 제2 서열보다 긴 경우, 제2 서열에 대한 제1 서열의 동일성 백분율은 제1 서열에 대한 제2 서열의 동일성 백분율보다 높을 것이다.

[0108] 관련 기술분야의 기술자는 서열 동일성 백분율을 계산하기 위한 서열 정렬의 생성이 1차 서열 데이터에 의해서만 구동되는 이원성 서열-서열 비교에 제한되지 않는다는 것을 인식할 것이다. 또한, 서열 정렬은 구조적 데이터(예를 들어, 결정학적 단백질 구조), 기능적 데이터(예를 들어, 돌연변이의 위치), 또는 계통발생학적 데이터와 같은 이종 공급원으로부터의 데이터와 서열 데이터를 통합함으로써 생성될 수 있음이 인식될 것이다. 다중 서열 정렬을 생성하기 위해 이종 데이터를 통합하는 적합한 프로그램은 T-Coffee로서, 이는 www.tcoffee.org에서 이용 가능하고, 대안적으로 예를 들어 EBI에서 이용 가능하다. 또한, 서열 동일성 백분율을 계산하는 데 사용되는 최종 정렬은 자동 또는 수동으로 보조될 수 있음을 이해할 것이다.

[0109] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "단리된", "정제된", "추출된" 및 이들의 문법적 변형은 상호 교환적으로 사용되며 하나 이상의 정제 과정을 거친 본 개시내용의 원하는 조성물의 제조 상태를 지칭한다. 일부 측면에서, 본원에 사용된 바와 같이 단리 또는 정제하는 것은 오염물을 함유하는 샘플로부터 본 개시내용의 조성(예를 들어, 이의 분획)을 제거, 부분적으로 제거하는 과정이다. 일부 측면에서, 단리된 조성물은 검출가능한 바람직하지 않은 활성을 갖지 않거나, 대안적으로 바람직하지 않은 활성의 수준 또는 양이 허용가능한 수준 또는 양 이하이다. 다른 측면에서, 단리된 조성물은 허용가능한 양 및/또는 농도 및/또는 활성 이상으로 본 개시내용의 원하는 조성물의 양 및/또는 농도를 갖는다. 다른 측면에서, 단리된 조성물은 조성물이 수득되는 출발 물질에 비해 농축된다. 이러한 농축은 출발 물질에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.9%, 적어도 약 99.99%, 적어도 약 99.999%, 적어도 약 99.9999%, 또는 99.9999% 초과일 수 있다. 일부 측면에서, 단리된 제제에는 잔류 생물학적 생성물이 실질적으로 없다. 일부 측면에서, 단리된 제제에는 임의의 오염성 생물학적 물질이 100% 없거나, 적어도 약 99% 없거나, 적어도 약 98% 없거나, 적어도 약 97% 없거나, 적어도 약 96% 없거나, 적어도 약 95% 없거나, 적어도 약 94% 없거나, 적어도 약 93% 없거나, 적어도 약 92% 없거나, 적어도 약 91% 없거나 또는 적어도 약 90% 없다. 잔류 생물학적 생성물은 비생물적 물질(화학 물질 포함) 또는 원치 않는 핵산, 단백질, 지질 또는 대사 산물을 포함할 수 있다.

[0110] 본원에서 사용되는 용어 "연결된"은 제1 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오타이드 서열이 각각 제2 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오타이드 서열에 공유 또는 비공유적으로 접합된 것을 지칭한다. 제1 아미노산 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 제2 아미노산 또는 폴리뉴클레오타이드 서열에 직접 접합되거나 병치될 수 있거나, 대안적으로 개재 서열이 제1 서열을 제2 서열에 공유적으로 접합시킬 수 있다. 용어 "연결된"은 5'-말단 또는 3'-말단에서 제1 폴리뉴클레오타이드 서열과 제2 폴리뉴클레오타이드 서열의 융합을 의미할 뿐만 아니라 제2 폴리뉴클레오타이드 서열(또는 제1 폴리뉴클레오타이드 서열, 각각)의 임의의 2개의 뉴클레오타이드 내로 전체 제1 폴리뉴클레오타이드 서열(또는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열)의 삽입도 포함한다. 제1 폴리뉴클레오타이드 서열은 포스포디에스테르 결합 또는 링커에 의해 제2 폴리뉴클레오타이드 서열에 연결될 수 있다. 링커는 예를 들어 폴리뉴클레오타이드일 수 있다.

[0111] 용어 "miRNA" 또는 "miR" 또는 "마이크로RNA"는 상호교환적으로 사용되며 RNA 기반 유전자 조절에 관여하는 진핵생물에서 발견되는 마이크로RNA 분자를 지칭한다. 이 용어는 전구체로부터 처리된 단일 가닥 RNA 분자를 지칭하는 데 사용될 것이다. 본 개시내용과 관련된 miRNA의 명칭 및 이의 서열은 본원에 제공된다. 마이크로RNA는 불완전한 염기 쌍형성을 통해 표적 mRNA를 인식하고 이에 결합하여 표적 mRNA의 불안정화 또는 해독 저해를 야기하여 표적 유전자 발현을 하향 조절한다. 역으로, miRNA 결합 부위를 포함하는 분자(일반적으로 miRNA의 시드(seed) 영역에 상보적인 서열을 포함하는 분자)를 통해 miRNA를 표적화하는 것은 표적 유전자의 상향 조절을 야기하는 miRNA-유도 해독 저해를 감소시키거나 저해할 수 있다.

[0112] 용어 "미스매치" 또는 "미스매치들"은 염기 쌍형성 규칙에 따라 표적 프리-mRNA에 매치되지 않는 올리고머 핵염기 서열 내의 하나 이상의 핵염기(근접하거나 분리되든 간에)를 지칭한다. 완벽한 상보성이 종종 바람직하지만, 일부 측면은 표적 프리-mRNA에 대해 하나 이상, 그러나 바람직하게는 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 미스매치를 포함할 수 있다. 올리고머 내 임의의 위치에서의 변형이 포함된다. 특정 측면에서, 본 개시내용의 안티센스 올리고머는 말단 근처의 핵염기 서열의 변이, 내부에서의 변이를 포함하고, 존재하는 경우 전형적으로 5' 및/또는

3' 말단의 약 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 서브유닛 내에 있다. 특정 측면에서, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 제거될 수 있고 여전히 표적 상의 결합을 제공할 수 있다.

[0113] 본원에서 사용되는 용어 "조절하다", "변형시키다" 및 이의 문법적 변형은 일반적으로 특정 농도, 수준, 발현, 기능 또는 거동에 적용될 때, 길항제 또는 작동제로서 작용하는 것과 같이, 특정 농도, 수준, 발현, 기능 또는 거동을 증가시키거나 감소시켜, 예를 들어, 직접 또는 간접적으로 촉진/자극/상향 조절 또는 방해/저해/하향 조절함으로써, 변경시키는 능력을 지칭한다. 일부 경우에, 조절제(modulator)는 대조군에 비해, 또는 일반적으로 예상되는 활성의 평균 수준에 비해, 또는 활성의 대조군 수준에 비해 특정 농도, 수준, 활성 또는 기능을 증가 및/또는 감소시킬 수 있다.

[0114] "핵산", "핵산 분자", "뉴클레오타이드 서열", "폴리뉴클레오타이드" 및 이들의 문법적 변형은 상호교환적으로 사용되며, 단일 가닥 형태 또는 이중 가닥 나선형의 리보뉴클레오사이드(아데노신, 구아노신, 우리딘 또는 시티딘; "RNA 분자") 또는 데옥시리보뉴클레오사이드(데옥시아데노신, 데옥시구아노신, 데옥시티미딘 또는 데옥시시티딘; "DNA 분자")의 포스페이트 에스테르 중합체 형태, 또는 이의 임의의 포스포에스테르 유사체, 예컨대, 포스포로티오에이트 및 티오에스테르를 지칭한다. 단일 가닥 핵산 서열은 단일 가닥 DNA(ssDNA) 또는 단일 가닥 RNA(ssRNA)를 지칭한다. 이중 가닥 DNA-DNA, DNA-RNA 및 RNA-RNA 나선이 가능하다. 용어 핵산 분자, 특히 DNA 또는 RNA 분자는 분자의 1차 및 2차 구조만을 지칭하며, 임의의 특정 3차 형태로 제한하지 않는다. 따라서, 이 용어는 특히 선형 또는 원형 DNA 분자(예: 제한 단편), 플라스미드, 슈퍼코일 DNA 및 염색체에서 발견되는 이중 가닥 DNA를 포함한다. 특정 이중 가닥 DNA 분자의 구조를 논의할 때, 서열은 전사되지 않은 DNA 가닥(즉, mRNA와 상동성인 서열을 갖는 가닥)과 함께 5'에서 3' 방향으로의 서열만을 제공하는 일반 관습에 따라 본원에 기재될 수 있다. "재조합 DNA 분자"는 분자생물학적 조작을 거친 DNA 분자이다. DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 플라스미드 DNA, 합성 DNA 및 반합성 DNA를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 개시내용의 "핵산 조성물"은 본원에 기술된 하나 이상의 핵산을 포함한다.

[0115] 본원에 사용된 "비경구 투여" 및 "비경구적으로 투여된"이라는 어구는 일반적으로 주사에 의한 장내 및 국소 투여 이외에 다른 투여 방식을 의미하며, 제한 없이 정맥내, 근육내, 동맥내, 경막내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.

[0116] 용어 "약제학적으로 허용되는 운반체", "약제학적으로 허용되는 부형제" 및 이들의 문법적 변형은 미국 연방 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 인간을 포함한 동물에 사용하기 위해 미국 약전에 열거된 임의의 작용제, 뿐만 아니라 대상체에 대한 조성물의 투여를 금지할 정도로 바람직하지 않은 생리학적 효과의 생성을 유발하지 않고 투여된 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저지하지 않는 임의의 운반체 또는 희석제를 포괄한다. 약제학적 조성물을 제조하는데 유용하고 일반적으로 안전하고 무독성이며 바람직한 부형제 및 운반체가 포함된다.

[0117] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약제학적 조성물"은 본원에 기술된 하나 이상의 화합물, 예를 들어 약제학적으로 허용되는 운반체 및 부형제와 같은 하나 이상의 다른 화학 성분과 혼합되거나 섞이거나, 그에 현탁된 본 개시내용의 미셀을 지칭한다. 약제학적 조성물의 1가지 목적은 대상체에게 미셀 제제의 투여를 용이하게 하는 것이다.

[0118] 본원에서 사용되는 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 리보뉴클레오타이드, 데옥시리보뉴클레오타이드, 이들의 유사체 또는 이들의 혼합물을 포함하는 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭한다. 이 용어는 분자의 1차 구조를 지칭한다. 따라서, 이 용어는 삼중, 이중 및 단일 가닥의 데옥시리보핵산("DNA"), 뿐만 아니라 삼중, 이중 및 단일 가닥의 리보핵산("RNA")을 포함한다. 이는 또한 예를 들어 알킬화 및/또는 캡핑에 의해 변형된 폴리뉴클레오타이드 및 변형되지 않은 형태의 폴리뉴클레오타이드를 포함한다.

[0119] 보다 구체적으로, 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 폴리데옥시리보뉴클레오타이드(2-데옥시-D-리보스 함유), 폴리리보뉴클레오타이드(D-리보스 함유), 예를 들어, 스플라이싱 여부에 관계 없이, tRNA, rRNA, hRNA, siRNA 및 mRNA, 퓨린 또는 피리미딘 염기의 N- 또는 C-글리코사이드인 임의의 다른 유형의 폴리뉴클레오타이드, 및 노르뮤클레오타이드(normucleotide) 백본을 함유하는 기타 중합체, 예를 들어 폴리아미드(예: 펩타이드 핵산 "PNA") 및 폴리모르폴리노 중합체, 및 DNA 및 RNA에서 발견되는 것과 같이, 염기 쌍형성 및 염기 스태킹을 허용하는 구성으로 중합체가 핵염기를 함유한다면, 기타 합성 서열-특이적 핵산 중합체를 포함한다.

[0120] 본 개시내용의 일부 측면에서 폴리뉴클레오타이드는 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오타이드와 같은 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 측면에서, 올리고뉴클레오타이드는 RNA이다. 일부 측면에서, RNA는 합성 RNA이다. 일부 측면에서, 합성 RNA는 적어도 하나의 비천연 핵염기를 포함한다. 일부 측면에서, 특정 부류의 모

든 핵염기는 비천연 핵염기로 대체되었다(예를 들어, 본원에 개시된 폴리뉴클레오타이드 내의 모든 우리딘은 비천연 핵염기, 예를 들어, 5-메톡시우리딘으로 대체될 수 있음).

[0121] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 중합체는 변형된 아미노산을 포함할 수 있다. 이 용어는 또한 자연적으로 또는 개입; 예를 들어, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 표지 성분과의 접합과 같은 임의의 다른 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포괄한다. 또한, 이 정의에는, 예를 들어, 아미노산의 하나 이상의 유사체(예를 들어 호모시스테인, 오르니틴, p-아세틸페닐알라닌, D-아미노산 및 크레아틴과 같은 비천연 아미노산 포함)를 함유하는 폴리펩타이드, 뿐만 아니라 관련 기술분야에 공지된 다른 변형도 포함된다. 본원에서 사용되는 용어 "폴리펩타이드"는 임의의 크기, 구조 또는 기능의 단백질, 폴리펩타이드 및 펩타이드를 지칭한다. 폴리펩타이드는 유전자 산물, 천연 발생 폴리펩타이드, 합성 폴리펩타이드, 동족체, 오르토로그, 파라로그, 단편 및 전술한 것의 기타 등가물, 변이체 및 유사체를 포함한다. 폴리펩타이드는 단일 폴리펩타이드이거나, 이량체, 삼량체 또는 사량체와 같은 다분자 복합체일 수 있다. 이들은 또한 단일 사슬 또는 다중 사슬 폴리펩타이드를 포함할 수도 있다. 가장 일반적으로, 이황화 연결은 다중 사슬 폴리펩타이드에서 발견된다. 폴리펩타이드라는 용어는 또한 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 천연 발생 아미노산의 인공적인 화학적 유사체인 아미노산 중합체에 적용될 수도 있다. 일부 측면에서, "펩타이드"는 50개 이하의 아미노산 길이, 예를 들어 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개 아미노산 길이일 수 있다.

[0122] 본원에서 사용되는 용어 "방지하다", "방지하는" 및 이의 변형은 질환, 장애 및/또는 병태의 개시를 부분적으로 또는 완전히 지연시키는 것; 특정 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 특징 또는 임상 징후의 개시를 부분적으로 또는 완전히 지연시키는 것; 특정 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상, 특징 또는 징후의 개시를 부분적으로 또는 완전히 지연시키는 것; 특정 질환, 장애 및/또는 병태로부터의 진행을 부분적으로 또는 완전히 지연시키는 것; 및/또는 질환, 장애 및/또는 병태와 연관된 병리 발달의 위험을 감소시키는 것을 지칭한다. 일부 측면에서, 결과를 방지하는 것은 예방적 치료를 통해 달성된다.

[0123] 본원에서 사용되는 "예방적"은 질환 또는 병태의 개시를 방지하거나 질환 또는 병태와 연관된 증상을 방지 또는 지연시키기 위해 사용되는 치료 또는 행동 방침을 지칭한다.

[0124] 본원에서 사용되는 바와 같이, "예방"은 건강을 유지하고 출혈 에피소드의 개시를 방지하거나 또는 지연시키기 위해, 또는 질환 또는 병태와 연관된 증상을 방지하거나 또는 지연시키기 위해 취해지는 조치를 지칭한다.

[0125] 본원에서 사용되는 바와 같이, "유사성"이라는 용어는 중합체 분자 사이, 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 분자(예: DNA 분자 및/또는 RNA 분자) 사이 및/또는 폴리펩타이드 분자 사이의 전반적인 관련성을 지칭한다. 중합체 분자의 서로에 대한 유사성 백분율의 계산은 유사성 백분율의 계산이 관련 기술분야에서 이해되는 보존적 치환을 고려한다는 점을 제외하고는 동일성 백분율의 계산과 동일한 방식으로 수행될 수 있다. 유사성 백분율은 사용된 비교 척도, 즉 아미노산이, 예를 들어 진화적 근접성, 전하, 부피, 유연성, 극성, 소수성, 방향족성, 등전점, 항원성 또는 이들의 조합에 따라 비교되는지 여부에 따르는 것으로 이해한다.

[0126] 용어 "대상체", "환자", "개체" 및 "숙주" 및 이들의 변형은 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 진단, 치료 또는 요법을 필요로 하는, 인간, 가축(예를 들어, 개, 고양이 등), 농장 동물(예를 들어, 소, 양, 돼지, 말 등) 및 실험실 동물(예를 들어, 원숭이, 래트, 마우스, 토끼, 기니피그 등), 특히 인간을 제한 없이 포함하는 임의의 포유동물 대상체를 지칭한다. 본원에 기재된 방법은 인간 요법 및 수의학적 적용 모두에 적용가능하다.

[0127] 본원에 사용된 바와 같이, "필요로 하는 대상체"라는 어구는 예를 들어 지혈을 개선하기 위해, 본 개시내용의 미셀을 투여함으로써 이익을 얻을 대상체, 예컨대 포유동물 대상체를 포함한다.

[0128] 본원에서 사용되는 "전신 투여", "전신 투여되는", "말초 투여" 및 "말초 투여되는"이라는 어구는 환자의 계내로 들어가 대사 및 기타 유사 과정을 거치도록 하는 중추신경계로의 직접 투여보다는 화합물, 약물 또는 기타 물질의 다른 투여, 예를 들어 피하 투여를 의미한다.

[0129] 본원에서 사용되는 용어 "치료적 유효량"은 필요로 하는 대상체에게 원하는 치료 효과, 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 생성하기에 충분한, 본 개시내용의 미셀을 포함하는 시약 또는 약제학적 화합물의 양이다. 치료적 유효량은 예방이 요법으로 간주될 수 있기 때문에 "예방적 유효량"일 수 있다.

[0130] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료" 또는 "치료하는"은 예를 들어 질환 또는 병태의 중증도 감소; 질환 과정의 기간 감소; 질환 또는 병태와 연관된 하나 이상의 증상의 호전 또는 제거; 질환 또는 병태의 필수적인 치유 없이 질환 또는 병태를 가진 대상체에게 유익한 효과의 제공을 지칭한다. 이 용어는 또한 질환 또는 병태

또는 이의 증상의 예방 또는 방지를 포함한다. 한 측면에서, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 대상체에서 항원에 대한 면역 반응을 유도하는 것을 의미한다.

[0131] 용어 "상류"는 기준 뉴클레오타이드 서열에 대해 5'에 위치하는 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다.

[0132] **II. 운반체 단위**

[0133] 본 개시내용은 미셀로 자가 조립되거나 미셀에 혼입될 수 있는 운반체 단위를 제공한다. 본 개시내용의 운반체 단위는 수용성 생체중합체 모이어티(예를 들어, PEG), 하전된 운반체 모이어티, 가교 모이어티 및 소수성 모이어티를 포함한다. 일부 측면에서, 하전된 운반체 모이어티는 **도 1a-1d** 및 **도 2a-2i**에 예시된 바와 같이 양이온성(예를 들어, 폴리리신)이다. 일부 측면에서, 양전하성 운반체 모이어티 및 음이온성 페이로드는 서로 정전기적으로 상호작용할 수 있다. 양전하성 운반체 모이어티와 음전하성 페이로드가 함께 혼합되면, 이들은 서로 중화되어 운반체 단위:페이로드 복합체를 산출할 수 있다. 생성된 운반체 단위:페이로드 복합체는 수용성 생체중합체 모이어티를 포함하는 "헤드(head)" 및 음이온성 페이로드에 정전기적으로 결합된 양이온성 운반체 모이어티를 포함하는 "테일(tail)"을 가질 수 있다.

[0134] 운반체 단위:페이로드 복합체는 단독으로 또는 다른 분자와 조합으로 자가-회합하여 음이온성 페이로드가 미셀의 코어에 위치하고 수용성 생체중합체 모이어티가 용매를 향하는 미셀을 산출할 수 있다. "본 개시내용의 미셀"이라는 용어는 고전적인 미셀뿐만 아니라 작은 입자, 작은 미셀, 미셀, 막대형 구조 또는 폴리머좀(polymersome)도 포괄한다. 폴리머좀이 내강 공간을 포함한다는 점을 고려하여, 고전적 미셀의 "코어"와 관련된 모든 개시내용은 본 개시내용의 운반체 단위를 포함하는 폴리머좀의 내강 공간에도 동등하게 적용가능한 것으로 이해되어야 한다.

[0135] 본 개시내용의 운반체 단위는 또한 하나 이상의 선택적 링커를 통해 수용성 생체중합체 모이어티에 공유 연결된 표적화 모이어티(예를 들어, 표적화 리간드)를 포함할 수 있다. 일단 미셀이 형성되면 표적화 모이어티는 미셀의 표면에 위치할 수 있고 미셀을 특정 표적 조직, 특정 세포 유형으로 전달할 수 있고/있거나 생리학적 장벽(예를 들어, 세포 원형질막 또는 BBB)을 가로질러 수송을 용이하게 할 수 있다(**도 1c**). 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 하나보다 많은 유형의 표적화 모이어티를 포함할 수 있다.

[0136] 본 개시내용의 운반체 단위는 또한 하전된 양이온성 운반체 모이어티에 공유 연결된 소수성 모이어티(HM)를 포함할 수 있다. 소수성 모이어티는 예를 들어 치료적, 공동-치료적 효과를 갖거나, 또는 표적 세포 또는 표적 조직의 항상성에 긍정적인 영향을 미칠 수 있다. 일부 측면에서, HM은 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, HM은 소수성 분자(예를 들어, 비타민)에 연결된 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, HM은 소수성 분자(예를 들어, 비타민)에 공유 연결된 하나 이상의 리신 잔기를 포함한다.

[0137] 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 운반체 단위에 공유 연결되지 않는다. 그러나, 다른 측면에서, 양이온성 페이로드는 양이온성 운반체 단위, 예를 들어 절단 가능한 링커와 같은 링커에 공유 연결될 수 있다.

[0138] 다양한 측면의 비제한적 예가 본 개시내용에 제시된다. 본 개시내용은 특히 예를 들어 핵산과 같은 음이온성 페이로드를 전달하기 위한 양이온성 운반체 단위의 용도에 관한 것이다. 그러나, 본 개시내용은 운반체 모이어티와 페이로드의 전하를 역전시키거나(즉, 양이온 페이로드를 전달하기 위해 운반체 단위 내 음이온성 운반체 모이어티를 사용함), 또는 각각 음이온성 또는 양이온성 운반체 모이어티와 정전기적으로 상호작용할 양이온성 또는 음이온성 어댑터에 연결된 중성 페이로드를 사용함으로써, 각각 양이온성 페이로드의 전달 또는 중성 페이로드의 전달에 동일하게 적용될 수 있음은 관련 기술분야의 기술자에게 분명할 것이다.

[0139] 따라서, 한 측면에서, 본 개시내용은 도식 I 내지 도식 VI의 양이온성 운반체 단위를 제공한다:

[0140] [CC]-L1-[CM]-L2-[HM] (도식 I);

[0141] [CC]-L1-[HM]-L2-[CM] (도식 II);

[0142] [HM]-L1-[CM]-L2-[CC] (도식 III);

[0143] [HM]-L1-[CC]-L2-[CM] (도식 IV);

[0144] [CM]-L1-[CC]-L2-[HM] (도식 V); 또는

[0145] [CM]-L1-[HM]-L2-[CC] (도식 VI);

[0146] 여기서,

[0147] CC는 양이온성 운반체 모이어티, 예를 들어, 폴리리신이고;

[0148] CM은 가교 모이어티이고;

[0149] HM은 소수성 모이어티, 예를 들어, 비타민, 예를 들어, 비타민 B3이고; 그리고,

[0150] L1 및 L2는 독립적으로 선택적인 링커이며,

[0151] 여기서, HM의 수는 [CC] 및 [CM]에 비해 약 50% 미만이다.

[0152] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 수용성 중합체(WP)를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC], [HM] 및/또는 [CM]에 부착된다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC], [HM] 또는 [CM]의 N 말단에 부착된다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC]의 N 말단에 부착된다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC], [HM] 또는 [CM]의 C 말단에 부착된다. 일부 측면에서, 수용성 중합체는 [CC]의 C 말단에 부착된다.

[0153] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0154] [WP]-L3-[CC]-L1-[CM]-L2-[HM] (도식 I');

[0155] [WP]-L3-[CC]-L1-[HM]-L2-[CM] (도식 II');

[0156] [WP]-L3-[HM]-L1-[CM]-L2-[CC] (도식 III');

[0157] [WP]-L3-[HM]-L1-[CC]-L2-[CM] (도식 IV');

[0158] [WP]-L3-[CM]-L1-[CC]-L2-[HM] (도식 V'); 또는

[0159] [WP]-L3-[CM]-L1-[HM]-L2-[CC] (도식 VI').

[0160] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 음이온성 페이로드와, 예를 들어 정전기적으로, 상호작용할 수 있다.

[0161] 상기 제시된 도식 I' 내지 VI'의 작제물의 일부 측면에서, [WP] 성분은 적어도 하나의 표적화 모이어티에 연결될 수 있고, 즉 $[T]_n$-[WP]-...이며, 여기서 n은 정수, 예를 들어, 1, 2 또는 3이다.

[0162] **도 2a-2i**는 본 개시내용의 예시적인 양이온성 운반체 단위의 개략도를 나타낸다. 단순화를 위해, **도 2a-2i**의 단위는 선형으로 표현되었다. 그러나, 일부 측면에서, 운반체 단위는, 예를 들어 (i) 양전하성 단위(예를 들어, 폴리리신)를 포함하는 중합체 CC 모이어티 및 (ii) CC 모이어티의 N 또는 C 말단에 부착된 CM(예를 들어, 가교제에 연결된 리신, 예를 들어 리신-티올) 및 (iii) CM의 N 또는 C 말단에 부착된 HM(예를 들어, 소수성 작용제에 연결된 리신, 예를 들어 비타민 B3에 연결된 리신)을 이용하여 분지형 스캐폴드 배열(**도 3** 참조)로 조직화된 CC, CM 및 HM 모이어티를 포함할 수 있다.

[0163] 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위가 음이온성 페이로드(예를 들어, 핵산)와 약 5:약 1의 이온 비율로 혼합될 때, 즉 음이온성 페이로드의 음전하의 수가 양이온성 운반체 모이어티의 양전하의 수보다 약 1:약 5로 약 5배 더 높을 때, 즉 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 수가 음이온성 페이로드의 음전하 수보다 약 5배 더 높을 때, 주로 정전기적 상호작용을 통해 양이온성 운반체 모이어티의 양전하에 의한 음이온성 페이로드의 음전하의 중화는 변경되지 않은 친수성 부분(WP 부분 포함)과 실질적으로 더욱 소수성인 부분(양이온성 운반체 모이어티 + 소수성 모이어티 및 가교 모이어티와 음이온성 페이로드 사이의 회합으로 인해 초래됨)을 갖는 양이온성 운반체 단위:음이온성 페이로드 복합체의 형성을 야기한다.

[0164] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 자신의 양전하를, 음이온성 페이로드의 음전하와 상호작용할 양이온성 운반체 모이어티의 양전하에 기여할 수 있다. 양이온성 운반체 모이어티와 음이온성 페이로드 사이의 상호작용(예를 들어, 정전기적 상호작용)에 대한 언급은 또한 양이온성 운반체 모이어티 + 소수성 모이어티의 전하와 음이온성 페이로드의 전하 사이의 상호작용을 포괄하는 것으로 이해해야 한다.

[0165] 음이온성 페이로드의 음전하와의 정전기적 상호작용을 통한 양전하의 중화로 인한 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티의 소수성 증가는 양친매성 복합체를 초래한다. 이러한 양친매성 복합체는 단독으로 또는 다른 양친매성 성분과 조합으로 미셀로 자가 조직화될 수 있다. 생성된 미셀은 용매를 향하는 WP 모이어티(즉, WP 모이어티는 미셀의 외부 표면을 향함)를 포함하는 반면(**도 1c**), CC, CM 및 HM 모이어티 뿐만 아니라 회합된 페이로드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, "항미르" 또는 이들의 임의의 조합)는 미셀의 코어에 있다.

[0166] 일부 특정 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0167] (a) WP 모이어티, 여기서 수용성 생체중합체는 화학식 III(하기 참조)의 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이고, 여기서 *n*은 약 120 내지 약 PEG 130 사이임(예를 들어, PEG는 PEG5000 또는 PEG6000임);

[0168] (b) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 예를 들어 약 30 내지 약 40개의 리신(예를 들어, n이 약 30 내지 약 40 사이인 선형 폴리(L-리신)n), 폴리에틸렌이민(PEI), 또는 키토산을 포함함;

[0169] (c) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 10 내지 약 20개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제, 예를 들어 10-20개의 리신-티올에 연결되어 있음, 및

[0170] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 30 내지 약 40개의 리신을 가지며, 이들 각각은 비타민 B3 단위에 연결되어 있음.

[0171] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0172] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 35개의 리신, 예를 들어 약 32개의 리신을 포함함;

[0173] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 15개의 리신 내지 약 20개의 리신, 예를 들어, 16개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0174] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 30 내지 약 35개의 리신, 예를 들어 약 32개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0175] 일부 특정 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0176] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 25개 내지 약 35개의 리신, 예를 들어 약 30개, 31개 또는 32개의 리신을 포함함;

[0177] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 15개의 리신 내지 약 20개의 리신, 예를 들어 15, 16 또는 17개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0178] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 25 내지 약 35개의 리신, 예를 들어 약 30, 31 또는 32개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0179] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0180] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 60개의 리신, 예를 들어 약 60개의 리신을 포함함;

[0181] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 5개의 리신 내지 약 15개의 리신, 예를 들어 5개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0182] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 15 내지 약 30개의 리신, 예를 들어 약 15개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0183] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0184] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 60개의 리신, 예를 들어 약 50개의 리신을 포함함;

[0185] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 5개의 리신 내지 약 15개의 리신, 예를 들어, 5개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0186] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 15 내지 약 30개의 리신, 예를 들어 약 25개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0187] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0188] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 60개의 리신, 예를 들어 약 45개의 리신을 포함함;

[0189] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 5개의 리신 내지 약 15개의 리신, 예를 들어, 5개의 리신을 포함

하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0190] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 15 내지 약 30개의 리신, 예를 들어 약 30개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0191] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0192] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 60개의 리신, 예를 들어 약 40개의 리신을 포함함;

[0193] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 5개의 리신 내지 약 15개의 리신, 예를 들어, 10개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0194] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 15 내지 약 30개의 리신, 예를 들어 약 30개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0195] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0196] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티는 약 30 내지 약 60개의 리신, 예를 들어 약 35개의 리신을 포함함;

[0197] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티는 약 5개의 리신 내지 약 15개의 리신, 예를 들어, 15개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제(예를 들어, 리신-티올)에 연결되어 있음; 및

[0198] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 약 15 내지 약 30개의 리신, 예를 들어 약 30개의 리신을 포함하고, 이들 각각은 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있음.

[0199] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0200] (a) CC 모이어티, 여기서 양이온성 운반체 모이어티의 수는 전하(예를 들어, siRNA 전하)의 수/2이고, 예를 들어, 14량체 내지 31량체의 경우 약 13 내지 약 30임;

[0201] (b) CM 모이어티, 여기서 가교 모이어티(예를 들어, 리신-티올)의 수는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 또는 그 이상임; 및

[0202] (c) HM 모이어티, 여기서 소수성 모이어티는 소수성 작용제(예를 들어, 리신-비타민 B3)에 연결되어 있고, CM 모이어티와 HM 모이어티의 비율은 1:3임,

[0203] 여기서, (음전하/2)(X) + CM 수(Y) + HM 수(Z)의 총 수는 17 초과이다.

[0204] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 양이온성 운반체 단위의 WP 모이어티에 부착된 적어도 하나의 표적화 모이어티를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 미셀의 표면 상에서 표시되는 표적화 모이어티의 수 및/또는 밀도는 표적화 모이어티를 갖는 양이온성 운반체 단위 대 표적화 모이어티를 갖지 않는 양이온성 운반체 단위의 특정 비율을 사용함으로써 조절될 수 있다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티를 갖는 양이온성 운반체 단위 대 표적화 모이어티를 갖지 않는 양이온성 운반체 단위의 비율은 적어도 약 1:5, 적어도 약 1:10, 적어도 약 1:20, 적어도 약 1:30, 적어도 약 1:40, 적어도 약 1:50, 적어도 약 1:60, 적어도 약 1:70, 적어도 약 1:80, 적어도 약 1:90, 적어도 약 1:100, 적어도 약 1:120, 적어도 약 1:140, 적어도 약 1:160, 적어도 약 1:180, 적어도 약 1:200, 적어도 약 1:250, 적어도 약 1:300, 적어도 약 1:350, 적어도 약 1:400, 적어도 약 1:450, 적어도 약 1:500, 적어도 약 1:600, 적어도 약 1:700, 적어도 약 1:800, 적어도 약 1:900, 또는 적어도 약 1:1000이다.

[0205] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0206] (i) 수송체 LAT1(예: 페닐알라닌)을 표적으로 하는 표적화 모이어티(A),

[0207] (ii) PEG인 수용성 중합체,

[0208] (iii) 리신인 양이온성 중합체 블록을 포함하는 양이온성 운반체 모이어티,

[0209] (iv) 가교 모이어티에 연결된 리신인 가교 중합체 블록을 포함하는 가교 모이어티, 및

[0210] (v) 비타민 B3에 연결된 리신인 소수성 중합체 블록을 포함하는 소수성 모이어티.

[0211] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0212] (i) 수송체 LAT1(예: 페닐알라닌)을 표적으로 하는 표적화 모이어티(A),

[0213] (ii) PEG인 수용성 중합체, 여기서 n=100-200, 예를 들어 100-150, 예를 들어 120-130임,

[0214] (iii) 양이온성 중합체 블록, 예를 들어 폴리리신을 포함하는 양이온성 운반체 모이어티,

[0215] (iv) 가교 모이어티에 연결된 리신인 가교 중합체 블록을 포함하는 가교 모이어티, 및

[0216] (v) 비타민 B3에 연결된 리신인 소수성 중합체 블록을 포함하는 소수성 모이어티.

[0217] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0218] (i) 수송체 LAT1(예: 페닐알라닌)을 표적으로 하는 표적화 모이어티(A),

[0219] (ii) PEG인 수용성 중합체, 여기서 n=100-200, 예를 들어 100-150, 예를 들어 120-130임,

[0220] (iii) 양이온성 중합체 블록, 예를 들어 10-100개의 리신, 예를 들어 10-50개의 리신, 예를 들어 30-40개의 리신을 포함하는 양이온성 운반체 모이어티,

[0221] (iv) 가교 모이어티에 연결된 리신인 가교 중합체 블록을 포함하는 가교 모이어티, 및

[0222] (v) 비타민 B3에 연결된 리신인 소수성 중합체 블록을 포함하는 소수성 모이어티.

[0223] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0224] (i) 수송체 LAT1(예: 페닐알라닌)을 표적으로 하는 표적화 모이어티(A),

[0225] (ii) PEG인 수용성 중합체, 여기서 n=100-200, 예를 들어 100-150, 예를 들어 120-130임,

[0226] (iii) 양이온성 중합체 블록, 예를 들어 10-100개의 리신, 예를 들어 10-50개의 리신, 예를 들어 30-40개의 리신을 포함하는 양이온성 운반체 모이어티,

[0227] (iv) 가교 모이어티에 연결된 리신, 예를 들어 10-30 리신-티올, 예를 들어, 10-20 리신-티올인 가교 중합체 블록을 포함하는 가교 모이어티, 및

[0228] (v) 비타민 B3에 연결된 리신인 소수성 중합체 블록을 포함하는 소수성 모이어티.

[0229] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다음을 포함한다:

[0230] (i) 수송체 LAT1(예: 페닐알라닌)을 표적으로 하는 표적화 모이어티(A),

[0231] (ii) PEG인 수용성 중합체, 여기서 n=100-200, 예를 들어 100-150, 예를 들어 120-130임,

[0232] (iii) 양이온성 중합체 블록, 예를 들어 10-100개의 리신, 예를 들어 10-50개의 리신, 예를 들어 30-40개의 리신을 포함하는 양이온성 운반체 모이어티,

[0233] (iv) 가교 모이어티에 연결된 리신, 예를 들어 10-30개 리신-티올, 예를 들어, 10-20개 리신-티올인 가교 중합체 블록을 포함하는 가교 모이어티, 및

[0234] (v) 비타민 B3에 연결된 리신, 예를 들어 10-50개 리신-비타민 B3, 예를 들어 30-40개 리신-비타민 B3인 소수성 중합체 블록을 포함하는 소수성 모이어티.

[0235] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 HM을 포함하고, 여기서 HM의 수는 [CC] 및 [CM] 대비 약 50% 내지 약 1%, 약 50% 내지 약 5%, 약 50% 내지 약 10%, 약 50% 내지 약 15%, 약 50% 내지 약 20%, 약 50% 내지 약 25%, 약 50% 내지 약 30%, 약 50% 내지 약 35%, 약 50% 내지 약 40%, 약 50% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 1%, 약 45% 내지 약 5%, 약 45% 내지 약 10%, 약 45% 내지 약 15%, 약 45% 내지 약 20%, 약 45% 내지 약 25%, 약 45% 내지 약 30%, 약 45% 내지 약 35%, 약 45% 내지 약 40%, 약 40% 내지 1%, 약 50% 내지 약 5%, 약 40% 내지 약 10%, 약 40% 내지 약 15%, 약 40% 내지 약 20%, 약 40% 내지 약 25%, 약 40% 내지 약 30%, 약 40% 내지 약 35%, 약 35% 내지 약 1%, 약 35% 내지 약 5%, 약 35% 내지 약 10%, 약 35% 내지 약 15%, 약 35% 내지 약 20%, 약 35% 내지 약 25%, 약 35% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 1%, 약 30% 내지 약 5%, 약 30% 내지 약 10%, 약 30% 내지 약 15%, 약 30 내지 약 20%, 약 30% 내지 약 25%, 약 25% 내지 약 1%, 약 25% 내지 약 5%, 약 25% 내지 약 10%, 약 25% 내지 약 15%, 약 25% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 1%, 약 20% 내지 약 5%, 약 20% 내지 약 10%, 약 20% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 1%, 약 15% 내지 약 5%, 약 15% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 1%, 약 10% 내지 약 5%, 또는 약 5% 내지 약 1% 사이이다. 일부 측면에서, HM의 수는 약 50% 내지 약 40%, 약 40%

내지 약 30%, 약 30% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 5%, 또는 약 5% 내지 약 1% 사이이다. 일부 측면에서, HM의 수는 약 50%, 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1%이다. 일부 측면에서, HM의 수는 [CC] 및 [CM] 대비 약 40%이다. 일부 측면에서, HM의 수는 [CC] 및 [CM] 대비 [HM]의 백분율로서 표현된다.

[0236] 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 miR-485-3p를 표적으로 하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드 페이로드, 예를 들어 AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC(서열번호 18)와 상호작용한다. 일부 양태에서, 페이로드와 복합체화된 운반체 단위는 미셀을 형성한다.

[0237] 일부 측면에서, 비타민 B3 단위는 적합한 접합 시약, 예를 들어, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드(EDC) 및 N-하이드록시 숙신이미드(NHS)의 존재 하에, 예를 들어, 리신의 NH_2 기와 비타민 B3의 COOH 기 사이의 커플링 반응에 의해, HM 모이어티의 측쇄로 도입된다.

[0238] 본 개시내용은 본 개시내용의 운반체 단위(예를 들어, 양이온성 운반체 단위)를 포함하는 조성물을 제공한다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 페이로드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, "항미르" 또는 이들의 임의의 조합과 같은 음이온성 페이로드)에 비-공유 부착된 본 개시내용의 운반체 단위(예를 들어, 양이온성 운반체 단위 단위)를 포함하는 복합체를 제공하며, 여기서 운반체 단위와 페이로드는 정전기적으로 상호작용한다. 다른 측면에서, 본 개시내용은 페이로드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드, siRNA, shRNA, "항미르(antimir)" 또는 이들의 임의의 조합과 같은 음이온성 페이로드)에 공유 부착된 본 개시내용의 운반체 단위(예를 들어, 양이온성 운반체 단위 단위)를 포함하는 접합체를 제공하고, 여기서 운반체 단위 및 페이로드는 정전기적으로 상호작용한다. 일부 측면에서, 운반체 단위 및 페이로드는 절단가능한 링커를 통해 연결될 수 있다. 일부 측면에서, 운반체 단위 및 페이로드는 정전기적으로 상호작용하는 것 외에도 공유적으로 상호작용할 수 있다(예를 들어, 정전기적 상호작용 후에 운반체 단위 및 페이로드는 이황화 결합 또는 절단 가능한 결합을 통해 "잠금"될 수 있다).

[0239] 일부 특정 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 약 120 내지 약 130개 단위를 갖는 PEG를 포함하는 수용성 중합체, 약 30 내지 약 40개의 리신 단위를 갖는 폴리리신을 포함하는 양이온성 운반체 모이어티, 약 10 내지 약 20개의 리신-티올 단위를 포함하는 가교 모이어티, 및 비타민 B3 단위에 연결된 약 30 내지 약 40개의 리신을 포함하는 소수성 모이어티를 포함한다.

[0240] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티와 적어도 하나의 이온 결합을 통해(즉, 정전기적 상호작용을 통해) 양이온성 운반체 단위와 상호작용하는, 음전하성 페이로드(예를 들어, 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드), siRNA, shRNA, "항미르", 또는 이들의 임의의 조합)와 회합한다.

[0241] 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위의 특정 성분은 이하에 상세히 개시된다.

[0242] **a. 수용성 생체중합체**

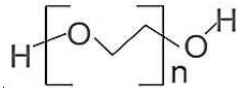
[0243] 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 적어도 하나의 수용성 생체중합체를 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "수용성 생체중합체"는 생체적합성, 생물학적 불활성, 비면역원성, 무독성 및 친수성 중합체, 예를 들어 PEG를 지칭한다.

[0244] 일부 측면에서, 수용성 중합체는 폴리(알킬렌 글리콜), 폴리(옥시에틸화 폴리올), 폴리(올레핀 알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(하이드록시알킬메타크릴아미드), 폴리(하이드록시알킬메타크릴레이트), 폴리(사카라이드), 폴리(α-하이드록시산), 폴리(비닐 알코올), 폴리글리세롤, 폴리포스파젠, 폴리옥사졸린("POZ") 폴리(N-아크릴로일모르폴린), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 수용성 생체중합체는 선형, 분지형 또는 수지상이다.

[0245] 일부 측면에서, 수용성 생체중합체는 폴리에틸렌 글리콜("PEG"), 폴리글리세롤("PG") 또는 폴리(프로필렌 글리콜)("PPG")을 포함한다. PPG는 PEG보다 독성이 적어 현재 많은 생물학적 제품은 PEG 대신 PPG에서 생산된다.

[0246] 일부 측면에서, 수용성 생체중합체는 화학식 R^3-$(O-CH_2-CH_2)_n$- 또는 R^3-$(O-CH_2-CH_2)_n$-O-로 특징지어지는 PEG를 포함하며, 여기서 R^3은 수소, 메틸 또는 에틸이고 n은 2 내지 200의 값을 갖는다. 일부 측면에서, PEG는 하기 화학식을 갖는다:

[0247] (화학식 III)

[0248] 

[0249] 여기서 n은 1 내지 1000이다.

[0250] 일부 측면에서, PEG의 n은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 189, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199 또는 200의 값을 갖는다.

[0251] 일부 측면에서, n은 적어도 약 10, 적어도 약 20, 적어도 약 30, 적어도 약 40, 적어도 약 50, 적어도 약 60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 적어도 약 100, 적어도 약 110, 적어도 120, 적어도 약 130, 적어도 약 140, 적어도 약 150, 적어도 약 160, 적어도 약 170, 적어도 약 180, 적어도 약 190, 적어도 약 200, 적어도 약 210, 적어도 약 220, 적어도 약 230, 적어도 약 240, 적어도 약 250, 적어도 약 260, 적어도 약 270, 적어도 약 280, 적어도 약 290, 적어도 약 300, 적어도 약 310, 적어도 약 320, 적어도 약 330, 적어도 약 340, 적어도 약 350, 적어도 약 360, 적어도 약 370, 적어도 약 380, 적어도 약 390, 적어도 약 400, 적어도 약 410, 적어도 약 420, 적어도 약 430, 적어도 약 440, 적어도 약 450, 적어도 약 460, 적어도 약 470, 적어도 약 480, 적어도 약 490, 적어도 약 500, 적어도 약 510, 적어도 약 520, 적어도 약 530, 적어도 약 540, 적어도 약 550, 적어도 약 560, 적어도 약 670, 적어도 약 580, 적어도 약 590, 적어도 약 600, 적어도 약 610, 적어도 약 620, 적어도 약 630, 적어도 약 640, 적어도 약 650, 적어도 약 660, 적어도 약 670, 적어도 약 680, 적어도 약 690, 적어도 약 700, 적어도 약 710, 적어도 약 720, 적어도 약 730, 적어도 약 740, 적어도 약 750, 적어도 약 760, 적어도 약 770, 적어도 약 780, 적어도 약 790, 적어도 약 800, 적어도 약 810, 적어도 약 820, 적어도 약 830, 적어도 약 840, 적어도 약 850, 적어도 약 860, 적어도 약 870, 적어도 약 880, 적어도 약 890, 적어도 약 900, 적어도 약 910, 적어도 약 920, 적어도 약 930, 적어도 약 940, 적어도 약 950, 적어도 약 960, 적어도 약 970, 적어도 약 980, 적어도 약 990, 또는 약 1000이다.

[0252] 일부 측면에서, n은 약 50 내지 약 100, 약 100 내지 약 150, 약 150 내지 약 200, 약 200 내지 약 250, 약 250 내지 약 300, 약 300 내지 약 350, 약 350 내지 약 400, 약 400 내지 약 450, 약 450 내지 약 500, 약 500 내지 약 550, 약 550 내지 약 600, 약 600 내지 약 650, 약 650 내지 약 700, 약 700 내지 약 750, 약 750 내지 약 800, 약 800 내지 약 850, 약 850 내지 약 900, 약 900 내지 약 950, 또는 약 950 내지 약 1000 사이이다.

[0253] 일부 측면에서, n은 적어도 약 80, 적어도 약 81, 적어도 약 82, 적어도 약 83, 적어도 약 84, 적어도 약 85, 적어도 약 86, 적어도 약 87, 적어도 약 88, 적어도 약 89, 적어도 약 90, 적어도 약 91, 적어도 약 92, 적어도 약 93, 적어도 약 94, 적어도 약 95, 적어도 약 96, 적어도 약 97, 적어도 약 98, 적어도 약 99, 적어도 약 100, 적어도 약 101, 적어도 약 102, 적어도 약 103, 적어도 약 104, 적어도 약 105, 적어도 약 106, 적어도 약 107, 적어도 약 108, 적어도 약 109, 적어도 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 적어도 약 141, 적어도 약 142, 적어도 약 143, 적어도 약 144, 적어도 약 145, 적어도 약 146, 적어도 약 147, 적어도 약 148, 적어도 약 149, 적어도 약 150, 적어도 약 151, 적어도 약 152, 적어도 약 153, 적어도 약 154, 적어도 약 155, 적어도 약 156, 적어도 약 157, 적어도 약 158, 적어도 약 159, 또는 적어도 약 160이다.

[0254] 일부 측면에서, n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120

내지 약 130, 약 130 내지 약 140, 약 140 내지 약 150, 약 150 내지 약 160, 약 85 내지 약 95, 약 95 내지 약 105, 약 105 내지 약 115, 약 115 내지 약 125, 약 125 내지 약 135, 약 135 내지 약 145, 약 145 내지 약 155, 약 155 내지 약 165, 약 80 내지 약 100, 약 100 내지 약 120, 약 120 내지 약 140, 약 140 내지 약 160, 약 85 내지 약 105, 약 105 내지 약 125, 약 125 내지 약 145, 또는 약 145 내지 약 165이다.

[0255] 일부 측면에서, n은 약 100 내지 약 150이다. 일부 측면에서, n은 약 100 내지 약 140이다. 일부 측면에서, n은 약 100 내지 약 130이다. 일부 측면에서, n은 약 110 내지 약 150이다. 일부 측면에서, n은 약 110 내지 약 140이다. 일부 측면에서, n은 약 110 내지 약 130이다. 일부 측면에서, n은 약 110 내지 약 120이다. 일부 측면에서, n은 약 120 내지 약 150이다. 일부 측면에서, n은 약 120 내지 약 140이다. 일부 측면에서, n은 약 120 내지 약 130이다. 일부 측면에서, n은 약 130 내지 약 150이다. 일부 측면에서, n은 약 130 내지 약 140이다.

[0256] 따라서, 일부 측면에서, PEG는 분지형 PEG이다. 분지형 PEG에는 중심 코어 기에서 나오는 3 내지 10개의 PEG 사슬이 있다. 특정 측면에서, PEG 모이어티는 단분산 폴리에틸렌 글리콜이다. 본 발명의 정황에서, 단분산 폴리에틸렌 글리콜(mdPEG)은 단일의 정의된 사슬 길이 및 분자량을 갖는 PEG이다. mdPEG는 전형적으로 크로마토그래피에 의한 중합 혼합물로부터의 분리에 의해 생성된다. 특정 화학식에서, 단분산 PEG 모이어티는 약어 mdPEG로 지정된다.

[0257] 일부 측면에서, PEG는 성상(Star) PEG이다. 성상 PEG는 중심 코어 기에서 나오는 10 내지 100개의 PEG 사슬을 갖는다. 일부 측면에서, PEG는 Comb PEG이다. Comb PEG에는 중합체 백본에 정상적으로 접목된 다수의 PEG 사슬이 있다.

[0258] 특정 측면에서, PEG는 약 1000 g/mol 내지 약 2000 g/mol, 약 2000 g/mol 내지 약 3000 g/mol, 약 3000 g/mol 내지 약 4000 g/mol, 약 4000 g/mol 내지 약 5000 g/mol, 약 5000 g/mol 내지 약 6000 g/mol, 약 6000 g/mol 내지 약 7000 g/mol, 또는 7000 g/mol 내지 약 8000 g/mol 사이의 몰 질량을 갖는다.

[0259] 일부 측면에서, PEG는 PEG_{100}, PEG_{200}, PEG_{300}, PEG_{400}, PEG_{500}, PEG_{600}, PEG_{700}, PEG_{800}, PEG_{900}, PEG_{1000}, PEG_{1100}, PEG_{1200}, PEG_{1300}, PEG_{1400}, PEG_{1500}, PEG_{1600}, PEG_{1700}, PEG_{1800}, PEG_{1900}, PEG_{2000}, PEG_{2100}, PEG_{2200}, PEG_{2300}, PEG_{2400}, PEG_{2500}, PEG_{1600}, PEG_{1700}, PEG_{1800}, PEG_{1900}, PEG_{2000}, PEG_{2100}, PEG_{2200}, PEG_{2300}, PEG_{2400}, PEG_{2500}, PEG_{2600}, PEG_{2700}, PEG_{2800}, PEG_{2900}, PEG_{3000}, PEG_{3100}, PEG_{3200}, PEG_{3300}, PEG_{3400}, PEG_{3500}, PEG_{3600}, PEG_{3700}, PEG_{3800}, PEG_{3900}, PEG_{4000}, PEG_{4100}, PEG_{4200}, PEG_{4300}, PEG_{4400}, PEG_{4500}, PEG_{4600}, PEG_{4700}, PEG_{4800}, PEG_{4900}, PEG_{5000}, PEG_{5100}, PEG_{5200}, PEG_{5300}, PEG_{5400}, PEG_{5500}, PEG_{5600}, PEG_{5700}, PEG_{5800}, PEG_{5900}, PEG_{6000}, PEG_{6100}, PEG_{6200}, PEG_{6300}, PEG_{6400}, PEG_{6500}, PEG_{6600}, PEG_{6700}, PEG_{6800}, PEG_{6900}, PEG_{7000}, PEG_{7100}, PEG_{7200}, PEG_{7300}, PEG_{7400}, PEG_{7500}, PEG_{7600}, PEG_{7700}, PEG_{7800}, PEG_{7900}, 또는 PEG_{8000}이다. 일부 측면에서, PEG는 PEG_{5000}이다. 일부 측면에서, PEG는 PEG_{6000}이다. 일부 측면에서, PEG는 PEG_{4000}이다.

[0260] 일부 측면에서, PEG는 단분산성이고, 예를 들어, $mPEG_{100}$, $mPEG_{200}$, $mPEG_{300}$, $mPEG_{400}$, $mPEG_{500}$, $mPEG_{600}$, $mPEG_{700}$, $mPEG_{800}$, $mPEG_{900}$, $mPEG_{1000}$, $mPEG_{1100}$, $mPEG_{1200}$, $mPEG_{1300}$, $mPEG_{1400}$, $mPEG_{1500}$, $mPEG_{1600}$, $mPEG_{1700}$, $mPEG_{1800}$, $mPEG_{1900}$, $mPEG_{2000}$, $mPEG_{2100}$, $mPEG_{2200}$, $mPEG_{2300}$, $mPEG_{2400}$, $mPEG_{2500}$, $mPEG_{1600}$, $mPEG_{1700}$, $mPEG_{1800}$, $mPEG_{1900}$, $mPEG_{2000}$, $mPEG_{2100}$, $mPEG_{2200}$, $mPEG_{2300}$, $mPEG_{2400}$, $mPEG_{2500}$, $mPEG_{2600}$, $mPEG_{2700}$, $mPEG_{2800}$, $mPEG_{2900}$, $mPEG_{3000}$, $mPEG_{3100}$, $mPEG_{3200}$, $mPEG_{3300}$, $mPEG_{3400}$, $mPEG_{3500}$, $mPEG_{3600}$, $mPEG_{3700}$, $mPEG_{3800}$, $mPEG_{3900}$, $mPEG_{4000}$, $mPEG_{4100}$, $mPEG_{4200}$, $mPEG_{4300}$, $mPEG_{4400}$, $mPEG_{4500}$, $mPEG_{4600}$, $mPEG_{4700}$, $mPEG_{4800}$, $mPEG_{4900}$, $mPEG_{5000}$, $mPEG_{5100}$, $mPEG_{5200}$, $mPEG_{5300}$, $mPEG_{5400}$, $mPEG_{5500}$, $mPEG_{5600}$, $mPEG_{5700}$, $mPEG_{5800}$, $mPEG_{5900}$, $mPEG_{6000}$, $mPEG_{6100}$, $mPEG_{6200}$, $mPEG_{6300}$, $mPEG_{6400}$, $mPEG_{6500}$, $mPEG_{6600}$, $mPEG_{6700}$, $mPEG_{6800}$, $mPEG_{6900}$, $mPEG_{7000}$, $mPEG_{7100}$, $mPEG_{7200}$, $mPEG_{7300}$, $mPEG_{7400}$, $mPEG_{7500}$, $mPEG_{7600}$, $mPEG_{7700}$, $mPEG_{7800}$, $mPEG_{7900}$, 또는 $mPEG_{8000}$이다. 일부 측면에서, mPEG는 $mPEG_{5000}$이다. 일부 측면에서, mPEG는 $mPEG_{6000}$이다. 일부 측면에서, mPEG는 $mPEG_{4000}$이다.

[0261] 일부 측면에서, 수용성 생체중합체 모이어티는 화학식 $((R_3-O-(CH_2-CHOH-CH_2O)n-)$로 표시되는 폴리글리세롤(PG)이며, 여기서 R_3은 수소, 메틸 또는 에틸이고, n은 3 내지 200의 값을 갖는다. 일부 측면에서, 수용성 생체중합체 모이어티는 R^5가 수소인 화학식 $(R^3-O-(CH_2-CHOR^5-CH_2-O)_n-)$로 표시되는 분지형 폴리글리세롤, 또는 R^3이 수소, 메틸 또는 에틸인 화학식 $(R^3-O-(CH_2-CHOH-CH_2-O)_n-)$로 표시되는 선형 글리세롤 사슬이다. 일부

측면에서, 수용성 생체중합체 모이어티는 R^5가 수소인 화학식 ($R^3-O-(CH_2-CHOR^5-CH_2-O)_n-$)로 기술되는 초분지형 폴리글리세롤, 또는 R^6이 수소인 화학식 ($R^3-O-(CH_2-CHOR^6-CH_2-O)_n-$)로 기술되는 글리세롤 사슬, 또는 R^7이 수소인 화학식 ($R^3-O-(CH_2-CHOR^7-CH_2-O)_n-$)로 기술되는 글리세롤 사슬, 또는 화학식 ($R^3-O-(CH_2-CHOH-CH_2-O)_n-$)로 기술되고 R^3이 수소, 메틸 또는 에틸인 선형 글리세롤 사슬이다. 초분지형 글리세롤 및 이의 합성 방법은 문헌[Oudshorn 등. (2006) Biomaterials 27:5471-5479; Wilms 등(20100 Acc. Chem. Res. 43, 129-41], 및 여기서 인용된 참고문헌에 기술되어 있다.

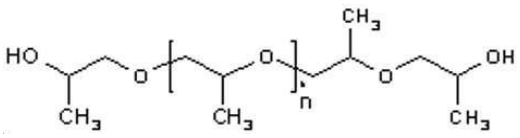
[0262] 특정 측면에서, PG는 약 1000 g/mol 내지 약 2000 g/mol, 약 2000 g/mol 내지 약 3000 g/mol, 약 3000 g/mol 내지 약 4000 g/mol, 약 4000 g/mol 내지 약 5000 g/mol, 약 5000 g/mol 내지 약 6000 g/mol, 약 6000 g/mol 내지 약 7000 g/mol, 또는 7000 g/mol 내지 약 8000 g/mol 사이의 몰 질량을 갖는다.

[0263] 일부 측면에서, PG는 PG_{100}, PG_{200}, PG_{300}, PG_{400}, PG_{500}, PG_{600}, PG_{700}, PG_{800}, PG_{900}, PG_{1000}, PG_{1100}, PG_{1200}, PG_{1300}, PG_{1400}, PG_{1500}, PG_{1600}, PG_{1700}, PG_{1800}, PG_{1900}, PG_{2000}, PG_{2100}, PG_{2200}, PG_{2300}, PG_{2400}, PG_{2500}, PG_{2600}, PG_{2700}, PG_{2800}, PG_{2900}, PG_{3000}, PG_{3100}, PG_{3200}, PG_{3300}, PG_{3400}, PG_{3500}, PG_{3600}, PG_{3700}, PG_{3800}, PG_{3900}, PG_{4000}, PG_{4100}, PG_{4200}, PG_{4300}, PG_{4400}, PG_{4500}, PG_{4600}, PG_{4700}, PG_{4800}, PG_{4900}, PG_{5000}, PG_{5100}, PG_{5200}, PG_{5300}, PG_{5400}, PG_{5500}, PG_{5600}, PG_{5700}, PG_{5800}, PG_{5900}, PG_{6000}, PG_{6100}, PG_{6200}, PG_{6300}, PG_{6400}, PG_{6500}, PG_{6600}, PG_{6700}, PG_{6800}, PG_{6900}, PG_{7000}, PG_{7100}, PG_{7200}, PG_{7300}, PG_{7400}, PG_{7500}, PG_{7600}, PG_{7700}, PG_{7800}, PG_{7900}, 또는 PG_{8000}이다. 일부 측면에서, PG는 PG_{5000}이다. 일부 측면에서, PG는 PG_{6000}이다. 일부 측면에서, PG는 PG_{4000}이다.

[0264] 일부 측면에서, PG는 단분산성이며, 예를 들어, mPG_{100}, mPG_{200}, mPG_{300}, mPG_{400}, mPG_{500}, mPG_{600}, mPG_{700}, mPG_{800}, mPG_{900}, mPG_{1000}, mPG_{1100}, mPG_{1200}, mPG_{1300}, mPG_{1400}, mPG_{1500}, mPG_{1600}, mPG_{1700}, mPG_{1800}, mPG_{1900}, mPG_{2000}, mPG_{2100}, mPG_{2200}, mPG_{2300}, mPG_{2400}, mPG_{2500}, mPG_{1600}, mPG_{1700}, mPG_{1800}, mPG_{1900}, mPG_{2000}, mPG_{2100}, mPG_{2200}, mPG_{2300}, mPG_{2400}, mPG_{2500}, mPG_{2600}, mPG_{2700}, mPG_{2800}, mPG_{2900}, mPG_{3000}, mPG_{3100}, mPG_{3200}, mPG_{3300}, mPG_{3400}, mPG_{3500}, mPG_{3600}, mPG_{3700}, mPG_{3800}, mPG_{3900}, mPG_{4000}, mPG_{4100}, mPG_{4200}, mPG_{4300}, mPG_{4400}, mPG_{4500}, mPG_{4600}, mPG_{4700}, mPG_{4800}, mPG_{4900}, mPG_{5000}, mPG_{5100}, mPG_{5200}, mPG_{5300}, mPG_{5400}, mPG_{5500}, mPG_{5600}, mPG_{5700}, mPG_{5800}, mPG_{5900}, mPG_{6000}, mPG_{6100}, mPG_{6200}, mPG_{6300}, mPG_{6400}, mPG_{6500}, mPG_{6600}, mPG_{6700}, mPG_{6800}, mPG_{6900}, mPG_{7000}, mPG_{7100}, mPG_{7200}, mPG_{7300}, mPG_{7400}, mPG_{7500}, mPG_{7600}, mPG_{7700}, m PG_{7800}, mPG_{7900}, 또는 mPG_{8000}이다.

[0265] 일부 측면에서, 수용성 생체중합체는 폴리(프로필렌 글리콜)("PPG")을 포함한다. 일부 측면에서, PPG는 n이 1 내지 1000의 값을 갖는 다음 화학식을 특징으로 한다.

[0266] (화학식 IV)

[0267] 

[0268] 일부 측면에서, PPG의 n은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 189, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199 또는 200의 값을 갖는다.

[0269] 일부 측면에서, PPG의 n은 적어도 약 10, 적어도 약 20, 적어도 약 30, 적어도 약 40, 적어도 약 50, 적어도 약

60, 적어도 약 70, 적어도 약 80, 적어도 약 90, 적어도 약 100, 적어도 약 110, 적어도 120, 적어도 약 130, 적어도 약 140, 적어도 약 150, 적어도 약 160, 적어도 약 170, 적어도 약 180, 적어도 약 190, 적어도 약 200, 적어도 약 210, 적어도 약 220, 적어도 약 230, 적어도 약 240, 적어도 약 250, 적어도 약 260, 적어도 약 270, 적어도 약 280, 적어도 약 290, 적어도 약 300, 적어도 약 310, 적어도 약 320, 적어도 약 330, 적어도 약 340, 적어도 약 350, 적어도 약 360, 적어도 약 370, 적어도 약 380, 적어도 약 390, 적어도 약 400, 적어도 약 410, 적어도 약 420, 적어도 약 430, 적어도 약 440, 적어도 약 450, 적어도 약 460, 적어도 약 470, 적어도 약 480, 적어도 약 490, 적어도 약 500, 적어도 약 510, 적어도 약 520, 적어도 약 530, 적어도 약 540, 적어도 약 550, 적어도 약 560, 적어도 약 670, 적어도 약 580, 적어도 약 590, 적어도 약 600, 적어도 약 610, 적어도 약 620, 적어도 약 630, 적어도 약 640, 적어도 약 650, 적어도 약 660, 적어도 약 670, 적어도 약 680, 적어도 약 690, 적어도 약 700, 적어도 약 710, 적어도 약 720, 적어도 약 730, 적어도 약 740, 적어도 약 750, 적어도 약 760, 적어도 약 770, 적어도 약 780, 적어도 약 790, 적어도 약 800, 적어도 약 810, 적어도 약 820, 적어도 약 830, 적어도 약 840, 적어도 약 850, 적어도 약 860, 적어도 약 870, 적어도 약 880, 적어도 약 890, 적어도 약 900, 적어도 약 910, 적어도 약 920, 적어도 약 930, 적어도 약 940, 적어도 약 950, 적어도 약 960, 적어도 약 970, 적어도 약 980, 적어도 약 990, 또는 약 1000이다.

[0270] 일부 측면에서, PPG의 n은 약 50 내지 약 100, 약 100 내지 약 150, 약 150 내지 약 200, 약 200 내지 약 250, 약 250 내지 약 300, 300 내지 약 350, 약 350 내지 약 400, 약 400 내지 약 450, 약 450 내지 약 500, 약 500 내지 약 550, 약 550 내지 약 600, 약 600 내지 약 650, 약 650 및 약 700, 약 700 내지 약 750, 약 750 내지 약 800, 약 800 내지 약 850, 약 850 내지 약 900, 약 900 내지 약 950, 또는 약 950 내지 약 1000 사이이다.

[0271] 일부 측면에서, PPG의 n은 적어도 약 80, 적어도 약 81, 적어도 약 82, 적어도 약 83, 적어도 약 84, 적어도 약 85, 적어도 약 86, 적어도 약 87, 적어도 약 88, 적어도 약 89, 적어도 약 90, 적어도 약 91, 적어도 약 92, 적어도 약 93, 적어도 약 94, 적어도 약 95, 적어도 약 96, 적어도 약 97, 적어도 약 98, 적어도 약 99, 적어도 약 100, 적어도 약 101, 적어도 약 102, 적어도 약 103, 적어도 약 104, 적어도 약 105, 적어도 약 106, 적어도 약 107, 적어도 약 108, 적어도 약 109, 적어도 110, 적어도 약 111, 적어도 약 112, 적어도 약 113, 적어도 약 114, 적어도 약 115, 적어도 약 116, 적어도 약 117, 적어도 약 118, 적어도 약 119, 적어도 약 120, 적어도 약 121, 적어도 약 122, 적어도 약 123, 적어도 약 124, 적어도 약 125, 적어도 약 126, 적어도 약 127, 적어도 약 128, 적어도 약 129, 적어도 약 130, 적어도 약 131, 적어도 약 132, 적어도 약 133, 적어도 약 134, 적어도 약 135, 적어도 약 136, 적어도 약 137, 적어도 약 138, 적어도 약 139, 적어도 약 140, 적어도 약 141, 적어도 약 142, 적어도 약 143, 적어도 약 144, 적어도 약 145, 적어도 약 146, 적어도 약 147, 적어도 약 148, 적어도 약 149, 적어도 약 150, 적어도 약 151, 적어도 약 152, 적어도 약 153, 적어도 약 154, 적어도 약 155, 적어도 약 156, 적어도 약 157, 적어도 약 158, 적어도 약 159, 또는 적어도 약 160이다.

[0272] 일부 측면에서, PPG의 n은 약 80 내지 약 90, 약 90 내지 약 100, 약 100 내지 약 110, 약 110 내지 약 120, 약 120 내지 약 130, 약 130 내지 약 140, 약 140 내지 약 150, 약 150 내지 약 160, 약 85 내지 약 95, 약 95 내지 약 105, 약 105 내지 약 115, 약 115 내지 약 125, 약 125 내지 약 135, 약 135 내지 약 145, 약 145 내지 약 155, 약 155 내지 약 165, 약 80 내지 약 100, 약 100 내지 약 120, 약 120 내지 약 140, 약 140 내지 약 160, 약 85 내지 약 105, 약 105 내지 약 125, 약 125 내지 약 145, 또는 약 145 내지 약 165이다.

[0273] 따라서, 일부 측면에서 PPG는 분지형 PPG이다. 분지형 PPG에는 중심 코어 기에서 나오는 3 내지 10개의 PPG 사슬이 있다. 특정 측면에서, PPG 모이어티는 단분산 폴리에틸렌 글리콜이다. 본 발명의 정황에서, 단분산 폴리에틸렌 글리콜(mdPPG)은 단일의 정의된 사슬 길이 및 분자량을 갖는 PPG이다. mdPEG는 전형적으로 크로마토그래피에 의한 중합 혼합물로부터의 분리에 의해 생성된다. 특정 화학식에서 단분산 PPG 모이어티는 약어 mdPPG로 지정된다.

[0274] 일부 측면에서, PPG는 성상 PPG이다. 성상 PPG에는 중심 코어 기에서 나오는 10 내지 100개의 PPG 사슬이 있다. 일부 측면에서 PPG는 Comb PPG이다. Comb PPG에는 중합체 백본에 정상적으로 접목된 다수의 PPG 사슬이 있다.

[0275] 특정 양태에서, PPG는 약 1000 g/mol 내지 약 2000 g/mol, 약 2000 g/mol 내지 약 3000 g/mol, 약 3000 g/mol 내지 약 4000 g/mol, 약 4000 g/mol 내지 약 5000 g/mol, 약 5000 g/mol 내지 약 6000 g/mol, 약 6000 g/mol 내지 약 7000 g/mol, 또는 7000 g/mol 내지 약 8000 g/mol의 몰 질량을 갖는다.

[0276] 일부 측면에서, PPG는 PPG_{100}, PPG_{200}, PPG_{300}, PPG_{400}, PPG_{500}, PPG_{600}, PPG_{700}, PPG_{800}, PPG_{900}, PPG_{1000}, PPG_{1100}, PPG_{1200}, PPG_{1300}, PPG_{1400}, PPG_{1500}, PPG_{1600}, PPG_{1700}, PPG_{1800}, PPG_{1900}, PPG_{2000}, PPG_{2100}, PPG_{2200}, PPG_{2300}, PPG_{2400}, PPG_{2500}, PPG_{1600}, PPG_{1700},

PPG_{1800}, PPG_{1900}, PPG_{2000}, PPG_{2100}, PPG_{2200}, PPG_{2300}, PPG_{2400}, PPG_{2500}, PPG_{2600}, PPG_{2700}, PPG_{2800}, PPG_{2900}, PPG_{3000}, PPG_{3100}, PPG_{3200}, PPG_{3300}, PPG_{3400}, PPG_{3500}, PPG_{3600}, PPG_{3700}, PPG_{3800}, PPG_{3900}, PPG_{4000}, PPG_{4100}, PPG_{4200}, PPG_{4300}, PPG_{4400}, PPG_{4500}, PPG_{4600}, PPG_{4700}, PPG_{4800}, PPG_{4900}, PPG_{5000}, PPG_{5100}, PPG_{5200}, PPG_{5300}, PPG_{5400}, PPG_{5500}, PPG_{5600}, PPG_{5700}, PPG_{5800}, PPG_{5900}, PPG_{6000}, PPG_{6100}, PPG_{6200}, PPG_{6300}, PPG_{6400}, PPG_{6500}, PPG_{6600}, PPG_{6700}, PPG_{6800}, PPG_{6900}, PPG_{7000}, PPG_{7100}, PPG_{7200}, PPG_{7300}, PPG_{7400}, PPG_{7500}, PPG_{7600}, PPG_{7700}, PPG_{7800}, PPG_{7900}, 또는 PPG_{8000}이다. 일부 측면에서, PPG는 PPG_{5000}이다. 일부 측면에서, PPG는 PPG_{6000}이다. 일부 측면에서, PPG는 PPG_{4000}이다.

[0277] 일부 측면에서, PPG는 단분산성이며, 예를 들어, $mPPG_{100}$, $mPPG_{200}$, $mPPG_{300}$, $mPPG_{400}$, $mPPG_{500}$, $mPPG_{600}$, $mPPG_{700}$, $mPPG_{800}$, $mPPG_{900}$, $mPPG_{1000}$, $mPPG_{1100}$, $mPPG_{1200}$, $mPPG_{1300}$, $mPPG_{1400}$, $mPPG_{1500}$, $mPPG_{1600}$, $mPPG_{1700}$, $mPPG_{1800}$, $mPPG_{1900}$, $mPPG_{2000}$, $mPPG_{2100}$, $mPPG_{2200}$, $mPPG_{2300}$, $mPPG_{2400}$, $mPPG_{2500}$, $mPPG_{1600}$, $mPPG_{1700}$, $mPPG_{1800}$, $mPPG_{1900}$, $mPPG_{2000}$, $mPPG_{2100}$, $mPPG_{2200}$, $mPPG_{2300}$, $mPPG_{2400}$, $mPPG_{2500}$, $mPPG_{2600}$, $mPPG_{2700}$, $mPPG_{2800}$, $mPPG_{2900}$, $mPPG_{3000}$, $mPPG_{3100}$, $mPPG_{3200}$, $mPPG_{3300}$, $mPPG_{3400}$, $mPPG_{3500}$, $mPPG_{3600}$, $mPPG_{3700}$, $mPPG_{3800}$, $mPPG_{3900}$, $mPPG_{4000}$, $mPPG_{4100}$, $mPPG_{4200}$, $mPPG_{4300}$, $mPPG_{4400}$, $mPPG_{4500}$, $mPPG_{4600}$, $mPPG_{4700}$, $mPPG_{4800}$, $mPPG_{4900}$, $mPPG_{5000}$, $mPPG_{5100}$, $mPPG_{5200}$, $mPPG_{5300}$, $mPPG_{5400}$, $mPPG_{5500}$, $mPPG_{5600}$, $mPPG_{5700}$, $mPPG_{5800}$, $mPPG_{5900}$, $mPPG_{6000}$, $mPPG_{6100}$, $mPPG_{6200}$, $mPPG_{6300}$, $mPPG_{6400}$, $mPPG_{6500}$, $mPPG_{6600}$, $mPPG_{6700}$, $mPPG_{6800}$, $mPPG_{6900}$, $mPPG_{7000}$, $mPPG_{7100}$, $mPPG_{7200}$, $mPPG_{7300}$, $mPPG_{7400}$, $mPPG_{7500}$, $mPPG_{7600}$, $mPPG_{7700}$, $mPPG_{7800}$, $mPPG_{7900}$, 또는 $mPPG_{8000}$이다. 일부 측면에서, mPPG는 $mPPG_{5000}$이다. 일부 측면에서, mPPG는 $mPPG_{6000}$이다. 일부 측면에서, mPPG는 $mPPG_{4000}$이다.

[0278] **b. 양이온성 운반체**

[0279] 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 적어도 하나의 양이온성 운반체 모이어티를 포함한다. 용어 "양이온성 운반체"는 음이온성 페이로드(또는 페이로드에 부착된 음이온성 운반체)와 상호작용하고 정전기적으로 결합할 수 있는 복수의 양전하를 포함하는 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위의 모이어티 또는 부분을 지칭한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 상의 양전하 또는 양전하 기의 수는 음이온성 페이로드(또는 페이로드에 부착된 음이온성 운반체) 상의 음전하 또는 음전하 기의 수와 유사하다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체는 생체중합체, 예를 들어 펩타이드(예를 들어, 폴리리신)를 포함한다.

[0280] 일부 측면에서, 양이온성 운반체는 하나 이상의 염기성 아미노산(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 또는 이들의 조합)을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체는 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 적어도 약 20개, 적어도 약 21개, 적어도 약 22개, 적어도 약 23개, 적어도 약 24개, 적어도 약 25개, 적어도 약 26개, 적어도 약 27개, 적어도 약 28개, 적어도 약 29개, 적어도 약 30개, 적어도 약 31개, 적어도 약 32개, 적어도 약 33개, 적어도 약 34개, 적어도 약 35개, 적어도 약 36개, 적어도 약 37개, 적어도 약 38개, 적어도 약 39개, 적어도 약 40개, 적어도 약 41개, 적어도 약 42개, 적어도 약 43개, 적어도 약 44개, 적어도 약 45개, 적어도 약 46개, 적어도 약 47개, 적어도 약 48개, 적어도 약 49개, 적어도 약 50개, 적어도 약 51개, 적어도 약 52개, 적어도 약 53개, 적어도 약 54개, 적어도 약 55개, 적어도 약 56개, 적어도 약 57개, 적어도 약 58개, 적어도 약 59개, 적어도 약 60개, 적어도 약 61개, 적어도 약 62개, 적어도 약 63개, 적어도 약 64개, 적어도 약 65개, 적어도 약 66개, 적어도 약 67개, 적어도 약 68개, 적어도 약 69개, 적어도 약 70개, 적어도 약 71개, 적어도 약 72개, 적어도 약 73개, 적어도 약 74개, 적어도 약 75개, 적어도 약 76개, 적어도 약 77개, 적어도 약 78개, 적어도 약 79개, 또는 적어도 약 80개의 염기성 아미노산, 예를 들어, 리신, 아르기닌, 또는 이의 조합을 포함한다.

[0281] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 30개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 35개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 40개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 45개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 50개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 55개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 60개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 65개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는

적어도 약 70개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 75개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 적어도 약 80개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다.

[0282] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 약 30 내지 약 1000개, 약 30 내지 약 900개, 약 30 내지 약 800개, 약 30 내지 약 700개, 약 30 내지 약 600개, 약 30 내지 약 500개, 약 30 내지 약 400개, 약 30 내지 약 300개, 약 30 내지 약 200개, 약 30 내지 약 100개, 약 40 내지 약 1000개, 약 40 내지 약 900개, 약 40 내지 약 800개, 약 40 내지 약 700개, 약 40 내지 약 600개, 약 40 내지 약 500개, 약 40 내지 약 400개, 약 40 내지 약 300개, 약 40 내지 약 200개, 또는 약 40 내지 약 100개의 염기성 아미노산, 예를 들어, 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 염기성 아미노산, 예를 들어 리신은 4차 아민(예를 들어, 양전하)을 소유하도록 변형되지 않는다.

[0283] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 약 30 내지 약 100개, 약 30 내지 약 90개, 약 30 내지 약 80개, 약 30 내지 약 70개, 약 30 내지 약 60개, 약 30 내지 약 50개, 약 30 내지 약 40개, 약 40 내지 약 100개, 약 40 내지 약 90개, 약 40 내지 약 80개, 약 40 내지 약 70개, 약 40 내지 약 60개, 약 70 내지 약 80개, 약 75 내지 약 85개, 약 65 내지 약 75개, 약 65 내지 약 80개, 약 60 내지 약 85개, 또는 약 40 내지 약 500개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다.

[0284] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 약 100 내지 약 1000개, 약 100 내지 약 900개, 약 100 내지 약 800개, 약 100 내지 약 700개, 약 100 내지 약 600개, 약 100 내지 약 500개, 약 100 약 400개, 약 100 내지 약 300개, 약 100 내지 약 200개, 약 200 내지 약 1000개, 약 200 내지 약 900개, 약 200 내지 약 800개, 약 200 내지 약 700개, 약 200 내지 약 600개, 약 200 내지 약 500개, 약 200 내지 약 400개, 약 200 내지 약 300개, 약 300 내지 약 1000개, 약 300 내지 약 900개, 약 300 내지 약 800개, 약 300 내지 약 700개, 약 300 내지 약 600개, 약 300 내지 약 500개, 약 300 내지 약 400개, 약 400 내지 약 1000개, 약 400 내지 약 900개, 약 400 내지 약 800개, 약 400 내지 약 700개, 약 400 내지 약 600개, 약 400 내지 약 500개, 약 500 내지 약 1000개, 약 500 약 900개, 약 500 내지 약 800개, 약 500 내지 약 700개, 약 500 내지 약 600개, 약 600 내지 약 1000개, 약 600 내지 약 900개, 약 600 내지 약 800개, 약 600 내지 약 700개, 약 700 내지 약 1000개, 약 700 내지 약 900개, 약 700 내지 약 800개, 약 800 내지 약 1000개, 약 800 내지 약 900개, 또는 약 900 내지 약 1000개의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신을 포함한다.

[0285] 일부 측면에서, 염기성 아미노산, 예를 들어 리신, 아르기닌, 히스티딘 또는 이들의 조합의 수는 음이온성 페이로드의 길이 및/또는 음이온성 페이로드의 전하(예를 들어, 단일 가닥 핵산 또는 이중 가닥 핵산)에 기초하여 조정될 수 있다. 예를 들어, 더 긴 서열을 갖는 음이온성 페이로드는 더 높은 수의 염기성 아미노산, 예를 들어 리신과 쌍을 이룰 수 있다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 중 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르 중 포스페이트의 몰 비(N/P 비율)가 약 1.0, 약 1.1, 약 1.2, 약 1.3, 약 1.4, 약 1.5, 약 1.6, 약 1.7, 약 1.8, 약 1.9, 약 2.0, 약 2.1, 약 2.2, 약 2.3, 약 2.4, 약 2.5, 약 2.6, 약 2.7, 약 2.8, 약 2.9, 또는 약 3이도록 계산될 수 있다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 중 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 중 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르 중 포스페이트에 대한 몰비(N/P 비율)가 약 1.3 내지 약 1.7, 예를 들어 약 1.5이도록 계산된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 내 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르 내 포스페이트의 몰 비(N/P 비율)가 약 1.4이도록 계산된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 내 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르 내 포스페이트의 몰비(N/P 비율)가 약 1.6이도록 계산된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 내 양성자화 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르 내 포스페이트의 몰비(N/P 비율)가 약 1.3이도록 계산된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 내 양성자화 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르 내 포스페이트의 몰 비(N/P 비율)가 약 1.7이도록 계산된다.

[0286] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 내 양성자화된 아민 대 음이온성 페이로드, 예를 들어 콜레스테롤 접합된 siRNA 내 포스페이트의 몰비(N/P 비율)가 약 1.0이도록 계산된다.

[0287] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 내 염기성 아미노산, 예를 들어 리신의 수는 중합체 내 양성자화된 아민

대 음이온성 페이로드, 예를 들어 siRNA 내 포스페이트의 몰비(N/P 비율)가 약 2.0이도록 계산된다.

[0288] 관련 기술분야의 기술자는 양이온성 운반체 모이어티의 역할이 정전기적 상호작용을 통해 페이로드 상의 음전하(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 포스페이트 백본의 음전하)를 중화시키는 것이므로, 일부 측면(예를 들어, 페이로드가 항미르와 같은 핵산인 경우)에서, 양이온성 운반체의 길이, 양이온성 운반체 상의 양전하 기의 수, 및 양이온성 운반체 상에 존재하는 전하의 분포 및 배향은 페이로드 분자 상의 길이 및 전하 분포에 따라 달라질 것이라는 것을 이해할 것이다.

[0289] 일부 측면에서, 양이온성 운반체는 약 5 내지 약 10개, 약 10 내지 약 15개, 약 15 내지 약 20개, 약 20 내지 약 25개, 약 25 내지 약 30개, 약 30 내지 약 35개, 약 35 내지 약 40개, 약 40 내지 약 45개, 약 45 내지 약 50개, 약 50 내지 약 55개, 약 55 내지 약 60개, 약 60 내지 약 65개, 약 내지 약 70개, 약 70 내지 약 75개, 또는 약 75 내지 약 80개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 30 내지 약 50개의 염기성 아미노산을 포함한다. 일부 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 70 내지 약 80개의 염기성 아미노산을 포함한다.

[0290] 일부 측면에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 리신, 히스티딘, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 염기성 아미노산은 D-아미노산이다. 일부 측면에서, 염기성 아미노산은 L-아미노산이다. 일부 측면에서, 양전하성 운반체는 D-아미노산 및 L-아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, 염기성 아미노는 적어도 하나의 비천연 아미노산 또는 이의 유도체를 포함한다. 일부 측면에서, 염기성 아미노산은 아르기닌, 리신, 히스티딘, L-4-아미노메틸-페닐알라닌, L-4-구아니딘-페닐알라닌, L-4-아미노메틸-N-이소프로필-페닐알라닌, L-3-피리딜-알라닌, L-트랜스-4-아미노메틸사이클로헥실-알라닌, L-4-피페리디닐-알라닌, L-4-아미노사이클로헥실-알라닌, 4-구아니디노부티르산, L-2-아미노-3-구아니디노프로피온산, DL-5-하이드록시리신, 피롤리신, 5-하이드록시-L-리신, 메틸리신, 하이푸신, 또는 이들의 임의의 조합이다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 40개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 50개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 60개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 70개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 80개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 30개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 40개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 38개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 32개의 리신을 포함한다. 특정 측면에서, 양전하성 운반체는 약 35개의 리신을 포함한다.

[0291] 다른 측면에서, 양이온성 운반체는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 적어도 20개, 적어도 21개, 적어도 22개, 적어도 23개, 적어도 24개, 적어도 25개, 적어도 26개, 적어도 27개, 적어도 28개, 적어도 29개, 적어도 30개, 적어도 31개, 적어도 32개, 적어도 33개, 적어도 34개, 적어도 35개, 적어도 36개, 적어도 37개, 적어도 38개, 적어도 39개, 적어도 40개, 적어도 41개, 적어도 42개, 적어도 43개, 적어도 44개, 적어도 45개, 적어도 46개, 적어도 47개, 적어도 48개, 적어도 49개, 적어도 50개, 적어도 51개, 적어도 52개, 적어도 53개, 적어도 54개, 적어도 55개, 적어도 56개, 적어도 57개, 적어도 58개, 적어도 59개, 적어도 60개, 적어도 61개, 적어도 62개, 적어도 63개, 적어도 64개, 적어도 65개, 적어도 66개, 적어도 67개, 적어도 68개, 적어도 69개, 적어도 70개, 적어도 71개, 적어도 72개, 적어도 73개, 적어도 74개, 적어도 75개, 적어도 76개, 적어도 77개, 적어도 78개, 적어도 79개, 또는 적어도 80개의 양이온성 기(예를 들어, 아미노기)를 포함하는 중합체 또는 공중합체를 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체는 약 5 내지 약 10개의 양이온성 기, 약 10 내지 약 15개의 양이온성 기, 약 15 내지 약 20개의 양이온성 기, 약 20 내지 약 25개의 양이온성 기, 약 25 내지 약 30개의 양이온성 기, 약 30 내지 약 35개의 양이온성 기, 약 35 내지 약 40개의 양이온성 기, 약 40 내지 약 45개의 양이온성 기, 약 45 내지 약 50개의 양이온성 기, 약 50 내지 약 55개의 양이온성 기, 약 55 내지 약 60개의 양이온성 기, 약 60 내지 약 65개의 양이온성 기, 약 65 내지 약 70개의 양이온성 기, 약 70 내지 약 75개의 양이온성 기, 또는 약 45 내지 약 50개의 양이온성 기(예를 들어, 아미노 기)를 포함하는 중합체 또는 공중합체를 포함한다. 일부 특정 측면에서, 양이온성 운반체는 30 내지 약 50개의 양이온성 기(예를 들어, 아미노 기)를 포함하는 중합체 또는 공중합체를 포함한다. 일부 특정 측면에서, 양이온성 운반체는 70 내지 약 80개의 양이온성 기(예를 들어, 아미노 기)를 포함하는 중합체 또는 공중합체를 포함한다. 일부 측면에서, 중합체 또는 공중합체는 아크릴레이트, 폴리알코올 또는 다당류이다.

[0292] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 단일 페이로드 분자에 결합한다. 다른 측면에서, 양이온성 운반체

모이어티는 동일하거나 상이할 수 있는 다수의 페이로드 분자에 결합할 수 있다.

[0293] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 이온 비율이 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 약 2.9:1, 약 2.8:1, 약 2.7:1, 약 2.6:1, 약 2.5:1, 약 2.4:1, 약 2.3:1, 약 2.2:1, 약 2.1:1, 약 2:1, 약 1.9:1, 약 1.8:1, 약 1.7:1, 약 1.6:1, 약 1.5:1, 약 1.4:1, 약 1.3:1, 약 1.2:1, 약 1.1:1, 약 1:1, 약 1:1.1, 약 1:1.2, 약 1:1.3, 약 1:1.4, 약 1:1.5, 약 1:1.6, 약 1:1.7, 약 1:1.8, 약 1:1.9, 약 1:2, 약 1:2.1, 약 1:2.2, 약 1:2.3, 약 1:2.4, 약 1:2.5, 약 1:2.6, 약 1:2.7, 약 1:2.8, 약 1:2.9, 약 1:3, 약 1:4, 또는 약 1:5이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 전하 비율이 1:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 전하 비율이 2:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 전하 비율이 3:2이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 전하 비율이 2:3이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 양전하 및 핵산 페이로드의 음전하는 전하 비율이 1:1이다.

[0294] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 말단 기가 반응성 기인 자유 말단을 갖는다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 자유 말단(예를 들어, 폴리-리신 양이온성 운반체 모이어티의 C-말단)을 가지며, 여기서 말단 기는 아미노($-NH_2$) 기이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티는 말단 기가 설프하이드릴 기인 자유 말단을 갖는다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 모이어티의 반응성 기는 소수성 모이어티, 예를 들어 비타민 B3 소수성 모이어티에 부착된다.

[0295] **c. 가교 모이어티**

[0296] 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 적어도 하나의 가교 모이어티를 포함한다. 용어 "가교 모이어티"는 가교를 형성할 수 있는 복수의 작용제를 포함하는 중합체 블록의 모이어티 또는 부분을 지칭한다. 일부 측면에서, 가교를 형성할 수 있는 작용제의 수는 가교제의 측쇄를 갖는 아미노산을 포함한다. 일부 측면에서, CM은 생체중합체, 예를 들어, 가교제에 연결된 펩타이드(예를 들어, 폴리리신)를 포함한다.

[0297] 일부 측면에서, 가교 모이어티는 하나 이상의 아미노산(예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 또는 이들의 조합)을 포함한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 3, 적어도 약 4, 적어도 약 5, 적어도 약 6, 적어도 약 7, 적어도 약 8, 적어도 약 9, 적어도 약 10, 적어도 약 11, 적어도 약 12, 적어도 약 13, 적어도 약 14, 적어도 약 15, 적어도 약 16, 적어도 약 17, 적어도 약 18, 적어도 약 19, 적어도 약 20, 적어도 약 21, 적어도 약 22, 적어도 약 23, 적어도 약 24, 적어도 약 25, 적어도 약 26, 적어도 약 27, 적어도 약 28, 적어도 약 29, 또는 적어도 약 30개의 아미노산, 예를 들어, 리신, 아르기닌 또는 이의 조합을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다.

[0298] 일부 측면에서, 가교 모이어티의 리신은 중성 전하를 소유한다(예를 들어, 3차 아민 함유). 일부 측면에서, 가교 모이어티의 리신은 리신이 중성 전하를 소유하도록 티올(예를 들어, 리신-티올) 및 3차 아민을 함유한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 3차 아민을 통해 가교를 형성한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 티올을 통해 가교를 형성한다. 본원에 사용된 바와 같이, 가교 모이어티의 정황에서 "리신"은 가교 모이어티의 리신이 운반체 단위의 전체 전하에 기여하지 않도록 중성 전하를 갖는 리신(예를 들어, 3차 아민 함유)을 지칭한다. 일부 측면에서, 가교 모이어티의 리신은 아미드 결합을 통해 가교제에 연결된다.

[0299] 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 5개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 10개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 11개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 12개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 13개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 14개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 15개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 16개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 17개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 18개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 19개의 아미노산, 예를 들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다. 일부 측면에서, 가교 모이어티는 적어도 약 20개의 아미노산, 예를

들어 리신을 포함하고, 이들 각각은 가교제에 연결된다.

[0300] 일부 측면에서, 가교제는 티올이다. 일부 측면에서, 가교제는 티올 유도체이다.

[0301] **c. 소수성 모이어티**

[0302] 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 적어도 하나의 소수성 모이어티를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "소수성 모이어티"는 예를 들어 (i) 페이로드의 치료 또는 예방 활성을 보완하고, (ii) 페이로드의 치료 또는 예방 활성을 조절하고, (iii) 표적 조직 또는 표적 세포에서 치료제 및/또는 예방제로서 기능하고, (iv) 생리적 장벽, 예를 들어, BBB 및/또는 원형질막을 가로지르는 양이온성 운반체 단위의 수송을 촉진하고, (v) 표적 조직 또는 표적 세포의 항상성을 개선하고, (vi) 양이온 운반체 모이어티에 양전하 기를 기여하거나, (vii) 이들의 임의의 조합을 할 수 있는 분자 실체를 지칭한다.

[0303] 일부 측면에서, 소수성 모이어티의 리신은 중성 전하를 소유한다(예를 들어, 3차 아민 함유). 일부 측면에서, 소수성 모이어티의 리신은 티올(예를 들어, 리신-티올) 및 3차 아민을 함유하여 리신이 중성 전하를 소유하도록 한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 소수성 모이어티의 리신이 운반체 단위의 전체 전하에 기여하지 않도록 3차 아민(예를 들어, 중성 전하성 아민)을 통해 비타민에 연결된다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 티올을 통해 비타민에 연결되어 소수성 모이어티의 리신은 운반체 단위의 전체 전하에 기여하지 않는다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티의 리신은 아미드 결합을 통해 비타민에 연결된다.

[0304] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 예를 들어 면역 반응, 염증 반응 또는 조직 미세환경을 조절할 수 있다.

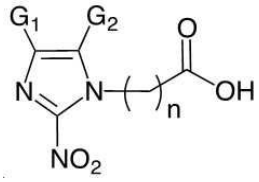
[0305] 일부 측면에서, 면역 반응을 조절할 수 있는 소수성 모이어티는 예를 들어 티로신 또는 도파민을 포함할 수 있다. 티로신은 L-DOPA로 변환된 후, 2단계 효소 반응을 통해 도파민으로 전환될 수 있다. 정상적으로, 파킨슨병 환자의 도파민 수치는 낮다. 따라서, 일부 측면에서 티로신은 파킨슨병 치료에 사용되는 양이온성 운반체 단위의 소수성 모이어티이다. 트립토판은 식욕, 감정, 및 운동, 인지 및 자율 기능에 역할을 하는 것으로 생각되는 신경전달물질인 세로토닌으로 전환될 수 있다. 따라서, 일부 측면에서, 낮은 세로토닌 수준과 관련된 질환 또는 병태의 치료에 사용되는 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 소수성 모이어티로서 트립토판을 포함한다.

[0306] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 예를 들어 종양 미세환경에서 저산소증을 저해하거나 감소시킴으로써 종양이 있는 대상체에서 종양 미세환경을 조절할 수 있다.

[0307] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 예를 들어 이미다졸 유도체, 비타민 또는 이들의 임의의 조합에 연결된 아미노산을 포함한다.

[0308] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 다음을 포함하는 이미다졸 유도체에 연결된 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다:

[0309] (화학식 VI)

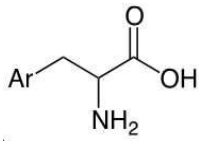
[0310] 

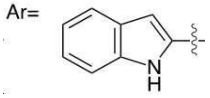
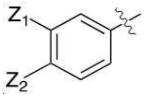
[0311] 여기서, G_1 및 G_2는 각각 독립적으로 H, 방향족 고리 또는 1-10개의 알킬이거나, 또는 G_1 및 G_2는 함께 방향족 고리를 형성하고, 여기서 n은 1-10이다.

[0312] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 니트로이미다졸에 연결된 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 니트로이미다졸은 항생제로서 기능한다. 니트로이미다졸의 니트로헤테로사이클은 저산소 세포에서 환원적으로 활성화될 수 있고, 그 다음 산화환원 재순환을 거치거나 세포독성 산물로 분해된다. 환원은 보통 혐기성 박테리아 또는 무산소 조직에서만 일어나므로, 인간 세포나 호기성 박테리아에 상대적으로 거의 영향을 미치지 않는다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 메트로니다졸, 티니다졸, 니모라졸, 디메트리다졸, 프레토마니드, 오르니다졸, 메가졸, 아자니다졸, 벤즈니다졸, 니트로이미다졸, 또는 이들의 임의의 조합에 연결된 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다.

[0313] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 다음에 연결된 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다.

[0314] (화학식 VII)

[0315] 

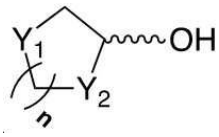
[0316] 여기서 Ar은  또는  이고,

[0317] 여기서 Z1 및 Z2는 각각 H 또는 OH이다.

[0318] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 염증 반응을 저해하거나 감소시킬 수 있다.

[0319] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 비타민에 연결된 아미노산(예를 들어, 리신)이다. 일부 측면에서, 비타민은 사이클릭 고리 또는 사이클릭 헤테로원자 고리 및 카르복실 기 또는 하이드록실 기를 포함한다. 일부 측면에서, 비타민은 다음을 포함한다:

[0320] (화학식 VIII)

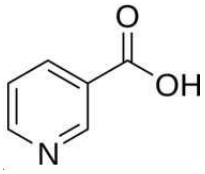
[0321] 

[0322] 여기서 Y1 및 Y2는 각각 C, N, O 또는 S이고, n은 1 또는 2이다.

[0323] 일부 측면에서, 비타민은 비타민 A(레티놀), 비타민 B1(티아민 클로라이드), 비타민 B2(리보플라빈), 비타민 B3(니아신아미드), 비타민 B6(피리독살), 비타민 B7(비오틴), 비타민 B9(엽산), 비타민 B12(코발라민), 비타민 C(아스코르브산), 비타민 D2, 비타민 D3, 비타민 E(토코페롤), 비타민 M, 비타민 H, 이들의 유도체, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0324] 일부 측면에서, 비타민은 비타민 B3(니아신 또는 니코틴산으로도 알려짐)이다.

[0325] (화학식 IX)

[0326] 

[0327] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 적어도 약 2개, 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 6개, 적어도 약 7개, 적어도 약 8개, 적어도 약 9개, 적어도 약 10개, 적어도 약 11개, 적어도 약 12개, 적어도 약 13개, 적어도 약 14개, 적어도 약 15개, 적어도 약 16개, 적어도 약 17개, 적어도 약 18개, 적어도 약 19개, 적어도 약 20개, 적어도 약 21개, 적어도 약 22개, 적어도 약 23개, 적어도 약 24개, 적어도 약 25개, 적어도 약 26개, 적어도 약 27개, 적어도 약 28개, 적어도 약 29개, 적어도 약 30개, 적어도 약 31개, 적어도 약 32개, 적어도 약 33개, 적어도 약 34개, 적어도 약 35개, 적어도 약 36개, 적어도 약 37개, 적어도 약 38개, 적어도 약 39개, 또는 적어도 약 40개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함하고, 이들 각각은 비타민 B3에 연결된다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 30개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 31개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 32개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 33개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 34개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 35개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 36개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 37개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다.

일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 38개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 39개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 40개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다.

[0328] 일부 측면에서, 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 20 내지 약 25개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 25 내지 약 30개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 30 내지 35개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 35 내지 40개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 40 내지 약 45개의 아미노산(예를 들어, 리신), 또는 각각 비타민 B3에 연결된 약 45 내지 약 50개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다. 일부 측면에서 소수성 모이어티는 각각 비타민 B3에 연결된 약 20 내지 약 30개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 30 내지 약 40개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 40 내지 약 50개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 25 내지 약 35개의 아미노산(예를 들어, 리신), 각각 비타민 B3에 연결된 약 35 내지 약 45개의 아미노산(예를 들어, 리신)을 포함한다.

[0329] 니아신은 생체내에서 조효소 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타이드(NAD) 및 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오타이드 포스페이트(NADP)의 전구체이다. NAD는 효소 NAD+ 키나제의 존재 하에서 인산화에 의해 NADP로 전환된다. NADP와 NAD는 많은 수소 전달 과정에 참여하는 많은 탈수소효소의 조효소이다. NAD는 지방, 탄수화물, 단백질 및 알코올의 이화 작용뿐만 아니라 세포 신호전달 및 DNA 복구에 중요하며, NADP는 주로 지방산 및 콜레스테롤 합성과 같은 동화작용 반응에 중요하다. 높은 에너지 요구량(뇌) 또는 높은 회전율(장, 피부) 기관은 일반적으로 이들의 결핍에 가장 취약하다.

[0330] 니아신은 NIACR1의 활성화를 통해 뇌, 위장관, 피부 및 혈관 조직을 포함한 다양한 조직에서 현저한 항염증 효과를 생성한다. 니아신은 신경 염증을 약화시키는 것으로 밝혀졌고 다발성 경화증 및 파킨슨병과 같은 신경면역 장애를 치료하는 데 효능이 있을 수 있다. Offermanns & Schwaninger (2015) Trends in Molecular Medicine 21:245-266; Chai 등 (2013) Current Atherosclerosis Reports 15:325; Graff 등 (2016) Metabolism 65:102-13; 및 Wakade & Chong (2014) Journal of the Neurological Sciences 347:34-8을 참조하고, 이들은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0331] **d. 표적화 모이어티**

[0332] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 선택적으로 링커를 통해 수용성 중합체에 연결되는, 표적화 모이어티를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "표적화 모이어티"라는 용어는 특정 생물학적 물질 또는 부위에 결합하는 생체인식 분자를 지칭한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 특정 표적 분자(예를 들어, 수용체를 표적으로 하는 리간드 또는 표면 단백질을 표적으로 하는 항체), 조직(예를 들어, 미셀을 특정 기관 또는 조직, 예를 들어, 간, 뇌 또는 내피로 우선적으로 운반하는 분자)에 대해 특이적이거나, 또는 생리학적 장벽을 통한 수송을 용이하게 한다(예를 들어, 뇌 혈액 장벽 또는 원형질막을 통한 수송을 용이하게 할 수 있는 펩타이드 또는 기타 분자).

[0333] 본 개시내용에 따른 페이로드(예를 들어, 뉴클레오타이드 분자, 예를 들어 마이크로RNA에 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드)를 표적화하기 위해, 표적화 모이어티는 양이온성 운반체 단위에, 그리고 이에 따라 미셀의 외부 표면에 커플링될 수 있고, 반면 미셀은 코어 내에 포획된 페이로드를 갖는다.

[0334] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 본 개시내용의 미셀을 조직으로 표적화할 수 있는 표적화 모이어티이다. 일부 측면에서, 조직은 간, 뇌, 신장, 폐, 난소, 췌장, 갑상선, 유방, 위 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 측면에서, 조직은 암 조직, 예를 들어 간암, 뇌암, 신장암, 폐암, 난소암, 췌장암, 갑상선암, 유방암, 위암 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0335] 특정 측면에서, 조직은 간이다. 특정 측면에서, 간을 표적화하는 표적화 모이어티는 콜레스테롤이다. 다른 측면에서, 간을 표적화하는 표적화 모이어티는 아시알로당단백질 수용체-표적화 모이어티에 결합하는 리간드이다. 일부 측면에서, 아시알로당단백질 수용체-표적화 모이어티는 GalNAc 클러스터를 포함한다. 일부 측면에서, GalNAc 클러스터는 1가, 2가, 3가 또는 4가 GalNAc 클러스터이다.

[0336] 또 다른 측면에서, 조직은 췌장이다. 일부 측면에서, 췌장을 표적화하는 표적화 모이어티는 췌장 세포 상의 $\alpha v \beta 3$ 인테그린 수용체를 표적화하는 리간드를 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 아르기닐글리실아스파르트산(RGD) 펩타이드 서열(L-아르기닐-글리실-L-아스파르트산; Arg-Gly-Asp)을 포함한다.

[0337] 일부 측면에서, 조직은 중추 신경계의 조직, 예를 들어 신경 조직이다. 일부 측면에서, 중추 신경계를 표적화하

는 표적화 모이어티는 큰-중성 아미노산 수송체 1(LAT1)에 의해 수송될 수 있다. LAT1(SLC7A5)은 큰 중성 아미노산과 많은 의약품의 흡수를 위한 수송체이다. LAT1은 L-도파 또는 가바펜틴과 같은 약물을 수송할 수 있다.

[0338] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 글루코스 수송체 1(또는 GLUT1)에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 글루코스, 예를 들어 D-글루코스를 포함한다. 용질 운반체 패밀리 2, 촉진된 글루코스 수송체 구성원 1(SLC2A1)로도 알려진 GLUT1은 인간에서 SLC2A1 유전자에 의해 암호화되는 단일운반기(uniporter) 단백질이다. GLUT1은 포유류 세포의 원형질막을 통한 글루코스 수송을 촉진한다. 이 유전자는 포유류의 혈액-뇌 장벽에서 주요 글루코스 수송체를 암호화한다.

[0339] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 갈락토스, 예를 들어 D-갈락토스를 포함하며, 이는 BBB를 횡단하기 위해 GLUT1 수송체에 결합할 수 있다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 아세틸콜린에스테라제 저해제(AChEI) 및/또는 EAAT 저해제에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 글루탐산을 포함한다. 아세틸콜린에스테라제는 콜린에스테라제 효소 계열의 주요 구성원인 효소이다. 아세틸콜린에스테라제 저해제(AChEI)는 아세틸콜린에스테라제가 아세틸콜린을 콜린과 아세테이트로 분해하는 것을 저해하여 중추신경계, 자율신경절 및 신경근 접합부에서 신경전달물질인 아세틸콜린의 작용 수준과 지속 시간을 모두 증가시키는 저해제이고, 이는 아세틸콜린 수용체에서 풍부하다. 아세틸콜린에스테라제 저해제는 2가지 유형의 콜린에스테라제 저해제 중 하나이고; 다른 하나는 부티릴-콜린에스테라제 저해제이다.

[0340] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GABA이고, 이는 BBB를 횡단하기 위해 GABA 수용체에 결합할 수 있다. GABA 수용체는 성숙한 척추동물 중추신경계의 주요 저해 화합물인 신경전달물질 감마-아미노부티르산(GABA)에 반응하는 수용체 부류이다. GABA 수용체에는 GABAA와 GABAB의 2가지 부류가 있다. GABAA 수용체는 리간드 개폐 이온 채널(이온성 수용체라고도 함)이고; 반면 GABAB 수용체는 대사성 수용체라고도 하는 G 단백질-커플링된 수용체이다.

[0341] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 LAT1에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 티로신을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 LAT1에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 리신을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 LAT1에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 글루타민을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GABA 수용체, LAT1, CNS 역전사효소 저해제 및/또는 도파민(DA) 수용체에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 페닐알라닌을 포함한다. 도파민 수용체는 척추동물 중추신경계(CNS)에서 두드러지는 G 단백질-커플링된 수용체 부류이다. 도파민 수용체는 G-단백질 커플링 뿐만 아니라 다른 단백질(도파민 수용체 상호작용 단백질) 상호작용을 통한 신호전달을 통해 여러 이펙터를 활성화한다. 신경전달물질인 도파민은 도파민 수용체의 주요 내인성 리간드이다.

[0342] 도파민 수용체는 동기 부여, 즐거움, 인지, 기억, 학습 및 미세한 운동 제어뿐만 아니라 신경내분비 신호전달의 조절을 포함하는 많은 신경학적 과정에 연루되어 있다. 비정상적인 도파민 수용체 신호전달 및 도파민성 신경 기능은 여러 신경정신 장애에 연루되어 있다. 따라서 도파민 수용체는 일반적인 신경계 약물 표적이다; 항정신병약은 종종 도파민 수용체 길항제인 반면, 정신자극제는 전형적으로 도파민 수용체의 간접적인 작동제이다.

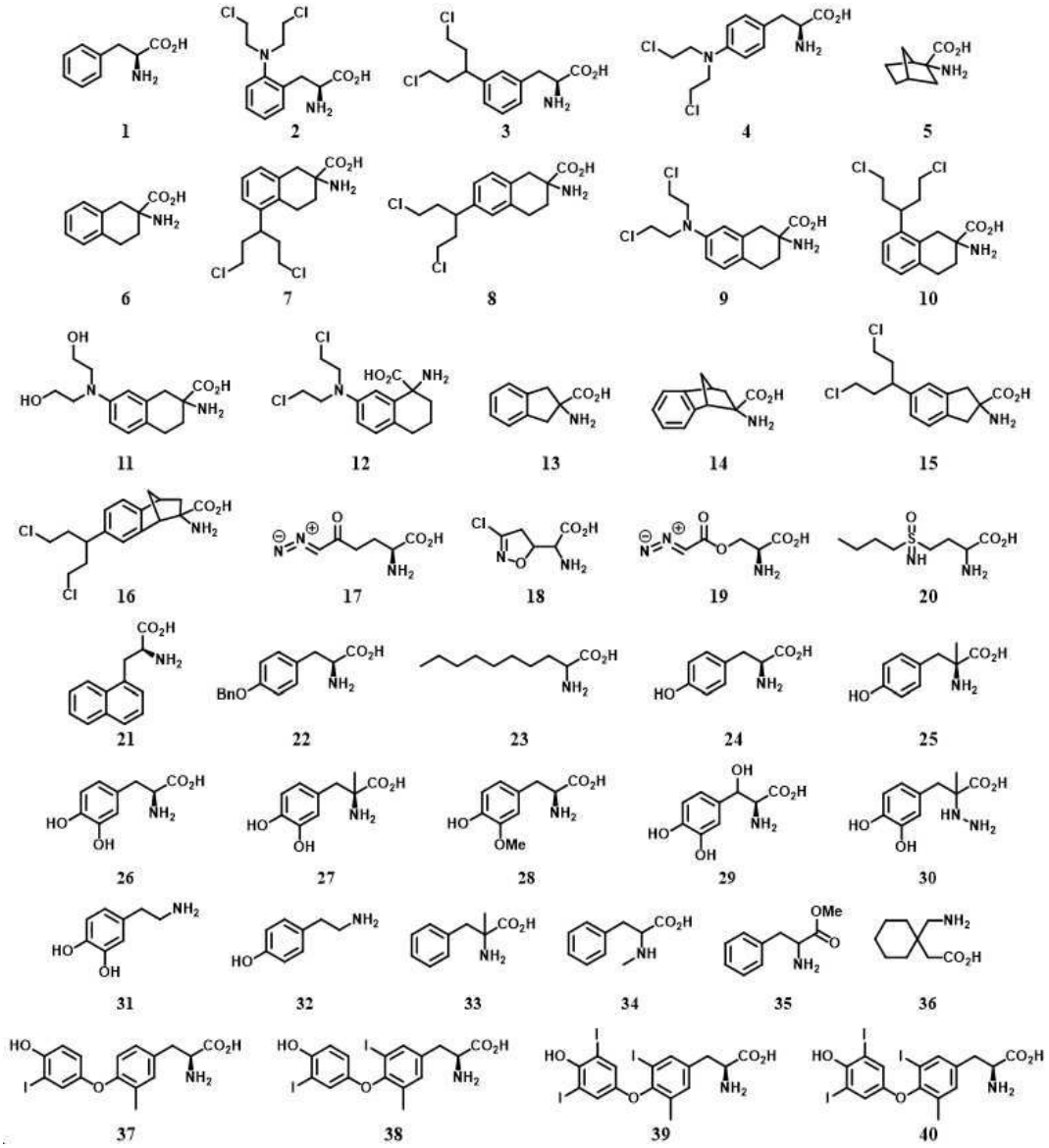
[0343] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 CNS 역전사효소 저해제에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 발린을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GABA 수용체 및/또는 CNS 역전사효소 저해제에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 트립토판을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GABA 수용체 및/또는 CNS 역전사효소 저해제에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 류신을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GABA 수용체 및/또는 CNS 역전사효소 저해제에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 메티오닌을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GABA 수용체에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 히스티딘을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 CNS 역전사효소 저해제에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 이소류신을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GSH 수송체에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 글루타티온을 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 GSH 수송체에 결합하고 BBB를 횡단할 수 있는 글루타티온-Met를 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 산화질소 합성효소(NOS)에 결합하고 BBB에 결합할 수 있는 우레아/티오우레아를 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 REDOX 메커니즘에 의해 BBB를 횡단할 수 있는 NAD+/NADH를 포함한다. 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 퓨린을 포함하고 BBB를 횡단할 수 있다. CNS 표적화를 위한 표적화 모이어티의 추가 예는 전체가 본원에 참고로 포함되는 문헌[Sutera 등 (2016): Small endogenous molecules as moiety to improve targeting of CNS drugs, Expert Opinion on Drug Delivery, DOI: 10.1080/17425247.2016.1208651]에 제시되어 있다.

[0344] 일부 측면에서, 표적화 모이어티에 의해 표적화된 조직은 백본근이다. 일부 측면에서, 백본근을 표적화하는 표적화 모이어티는 큰-중성 아미노산 수송체 1(LAT1)에 의해 수송될 수 있다.

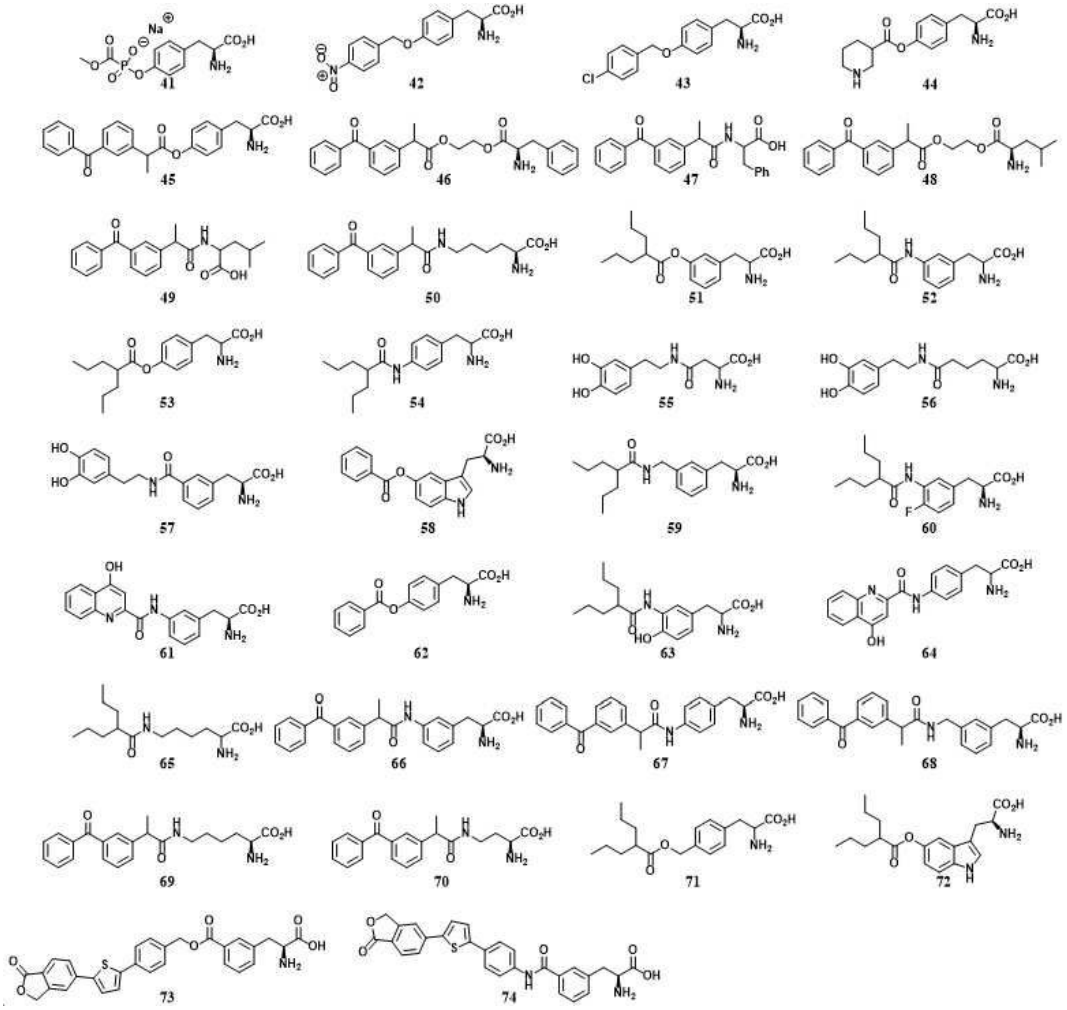
[0345] 이것은 T-세포, 암 세포 및 뇌 내피 세포를 포함하는 수많은 세포 유형에서 발현된다. LAT1은 뇌 미세혈관 내피 세포에서 높은 수준으로 지속적으로 발현된다. 용질 운반체는 주로 BBB에 위치하므로, 본 개시내용의 미셀을 LAT1에 표적화하는 것은 BBB를 통한 전달을 허용한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀을 LAT1 수송체로 표적화하는 표적화 모이어티는 아미노산, 예를 들어 분지쇄 또는 방향족 아미노산이다. 일부 측면에서, 아미노산은 발린, 류신 및/또는 이소류신이다. 일부 측면에서, 아미노산은 트립토판 및/또는 티로신이다. 일부 측면에서, 아미노산은 트립토판이다. 다른 측면에서, 아미노산은 티로신이다.

[0346] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 트립토판, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 티록신, 멜팔란, L-DOPA, 가바펜틴, 3,5-I-디요오도티로신, 3-요오도-I-티로신, 펜클로닌, 아시비신, 류신, BCH, 메티오닌, 히스티딘, 발린 또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택되는 LAT1 리간드이다.

[0347] 일부 측면에서, LAT1 리간드는 이하에 제시된 바와 같은 [1] 1-페닐알라닌, [2] o-사르콜리신, [3] m-사르콜리신, [4] 멜팔란, [5] 2-아미노-2-노르보르난카르복실산(BCH), [6] (±)-2-아미노-1,2,3,4-테트라하이드로-2-나프토산, [7] dl-2-NAM-5, [8] dl-2-NAM-6, [9] dl-2-NAM-7, [10] dl-2-NAM-8, [11] dl-탈염소화된-NAM, [12] dl-1-NAM-7, [13] (±)-2-아미노인단-2 카르복실산, [14] (±)-2-아미노벤조-비사이클로-[2.2.1]헵탄-2'-엑소-카르복실산, [15] (±)-2-아미노-(비스-2-클로로에틸)-5-아미노인단-2-카르복실산, [16] (±)-2-엔도-아미노-비스(2-클로로에틸)-7'-아미노벤조비사이클로[2.2.1]헵탄-2-엑소-카르복실산, [17] 1-6-디아조-5-옥소노르류신(l-DON), [18] 아시비신, [19] 아자세린, [20] 부티오닌 설폭시민(BSO), [21] 1-1-나프틸알라닌, [22] o-벤질-l-티로신, [23] l-2-아미노-노난산, [24] l-티로신, [25] α-메틸티로신, [26] l-DOPA, [27] α-메틸도파, [28]] 3-o-메틸도파, [29] 드록시도파, [30] 카르비도파, [31] 도파민, [32] 티라민, [33] α-메틸페닐알라닌, [34] N-메틸페닐알라닌, [35] 페닐알라닌 메틸 에스테르, [36] 가바펜틴, [37] 3,3'-디요오도티로닌, [38] l-T3, [39] 3',5',3-트리요오도티로닌(rl-T3), 또는 [40], l-T4, 또는 이의 임의의 조합이다.

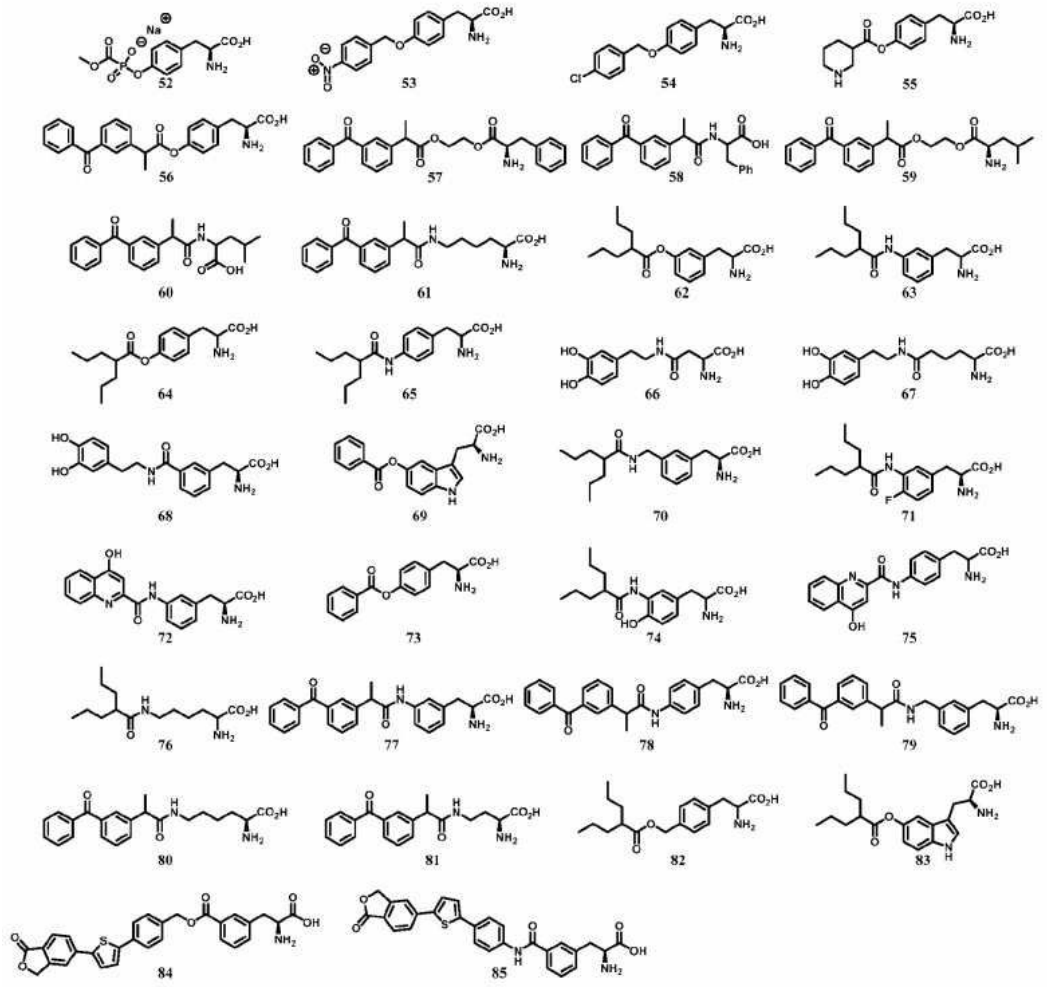

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40

[0348]

[0349] 

[0350] , 또는 이들의 임의의 조합.

[0351] 일부 측면에서, LAT1 리간드는 하기에 제시된 LAT1-표적화 전구약물이다.

[0352] 

[0353] 또는 이들의 임의의 조합.

[0354] 본원에 전체가 참고로 포함되는 문헌[Singh & Ecker (2018) "Insights into the Structure, Function, and Ligand Discovery of the Large Neutral Amino Acid Transporter 1, LAT1," Int. J. Mol. Sci. 19:1278; Geier 등. (2013) "Structure-based ligand discovery for the Large-neutral Amino Acid Transporter 1, LAT-1," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110:5480-85; 및 Chien 등. (2018) "Reevaluating the Substrate Specificity of the L-type Amino Acid Transporter (LAT1)," J. Med. Chem. 61:7358-73] 참조.

[0355] 표적화 모이어티의 비제한적 예는 이하에 기재된다.

[0356] *i. 리간드*

[0357] 리간드는 다른 물질에 대해 선택적인(또는 특이적) 친화성을 갖는 선택적으로 결합가능한 물질로 정의되는 표적화 모이어티의 한 유형으로서 기능한다. 리간드는 반드시는 아니지만 일반적으로 더 큰 특이적 결합 바디 또는 "결합 파트너" 또는 "수용체"에 의해 인식되고 결합된다. 표적화에 적합한 리간드의 예는 무엇보다도 항원, 합텐, 비오틴, 비오틴 유도체, 렉틴, 갈락토사민 및 푸코실아민 모이어티, 수용체, 기질, 조효소 및 보조인자이다.

[0358] 본 개시내용의 미셀에 적용될 때 리간드는 이의 상응하는 항체 또는 이의 분획에 의해 또는 그에 대해 결합될 수 있는 항원 또는 합텐을 포함한다. 또한, 바이러스 항원 또는 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제 및 뉴클레오캡시드, 예를 들어, 임의의 DNA 및 RNA 바이러스, AIDS, HIV 및 간염 바이러스, 아데노바이러스, 알파바이러스, 아레나바이러스, 코로나바이러스, 플라비바이러스, 헤르페스바이러스, 믹소바이러스, 온코르나바이러스, 파포바바이러스, 파라믹소바이러스, 파보바이러스, 피코르나바이러스, 폭스바이러스, 레오바이러스, 랍도바이러스, 리노바이러스, 토가바이러스 및 바이로이드의 것; 임의의 박테리아 항원, 예를 들어, 그람 음성 및 그람 양성 박테

리아, 악티노박터, 아크로모박터, 박테로이데스, 클로스트리듐, 클라미디아, 엔테로박테리아, 헤모필러스, 락토바실러스, 나이제리아, 스타플로코커스, 또는 스트렙토코커스의 것; 임의의 진균 항원, 예컨대, 아스퍼질러스, 칸디다, 콕시디오데스, 진균종, 조균류, 및 효모의 것; 임의의 마이코플라스마 항원; 임의의 리케차 항원; 임의의 원생동물 항원; 임의의 기생충 항원; 임의의 인간 항원, 예를 들어, 혈액 세포, 바이러스 감염 세포, 유전자 마커, 심장 질환, 종양 단백질, 혈장 단백질, 보체 인자, 류마티스 인자가 포함된다. 무엇보다도 알파-태아단백질, 전립선 특이 항원(PSA) 및 CEA, 암 마커 및 종양 단백질과 같은 암 및 종양 항원이 포함된다.

[0359] 본 개시내용의 미셀을 표적화하기 위한 리간드로 기능할 수 있는 다른 물질은 특정 비타민(즉, 엽산, B_{12}), 스테로이드, 프로스타글란딘, 탄수화물, 지질, 항생제, 약물, 디곡신, 살충제, 마취제, 신경전달물질, 및 리간드로서 기능하도록 사용되거나 변형된 물질이다.

[0360] 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 단백질 또는 단백질 단편(예를 들어, 호르몬, 독소), 및 세포 친화성을 갖는 합성 또는 천연 폴리펩타이드를 포함한다. 리간드는 또한 재조합 DNA, 유전자 및 분자 공학을 통해 생산되는 라이게이터에 대해 선택적 친화성을 갖는 다양한 물질을 포함한다. 달리 언급된 경우를 제외하고, 본 개시내용의 리간드는 또한 본원에 전체가 참고로 포함되는 미국 특허 제3,817,837호에 정의된 리간드를 포함한다.

[0361] *ii. 라이게이터*

[0362] 라이게이터는 특이적 결합 바디 또는 "파트너" 또는 "수용체"로서 본 개시내용에서 정의된 표적화 모이어티의 한 유형으로서 기능하며, 반드시 그런 것은 아니지만 일반적으로 이것이 결합할 수 있는 리간드보다 크다. 본 개시내용의 목적상, 이는 특정 리간드와 선택적 친화성 결합을 할 수 있는 특정 물질(substance) 또는 물질(material) 또는 화학물질 또는 "반응물"일 수 있다. 라이게이터는 항체, 비단백 결합 바디 또는 "특정 반응체"와 같은 단백질일 수 있다.

[0363] 본 개시내용에 적용될 때, 라이게이터는 항체를 포함하며, 이는 모든 부류의 항체, 단클론 항체, 키메라 항체, Fab 분획, 이의 단편 및 유도체를 포함하는 것으로 정의된다. 용어 "항체"는 천연이거나 또는 부분적으로 또는 전체적으로 합성 생성된 것이든지 간에 면역글로불린, 및 이의 단편을 포함한다. 이 용어는 또한 면역글로불린 결합 도메인에 상동성인 결합 도메인을 갖는 임의의 단백질을 커버한다. "항체"는 항원에 특이적으로 결합하고 인식하는 면역글로불린 유전자 또는 이의 단편으로부터의 프레임워크 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 추가로 포함한다. 용어 항체의 사용은 전체 항체, 다클론, 단클론 및 재조합 항체, 이들의 단편을 포함하는 것을 의미하며, 단일 사슬 항체, 인간화 항체, 뮤린 항체, 키메라, 마우스-인간, 마우스-영장류, 영장류-인간 단클론 항체, 항이디오타입 항체, 항체 단편, 예컨대, scFv, scFab, $(scFab)_2$, $(scFv)_2$, Fab, Fab' 및 $F(ab')_2$, $F(ab1)_2$, Fv, dAb 및 Fd 단편, 디아바디 및 항체 관련 폴리펩타이드를 추가로 포함한다. 항체는 원하는 생물학적 활성이나 기능을 나타내는 한 이중특이 항체 및 다중특이 항체를 포함한다. 본 개시내용의 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 분자이다. 일부 측면에서, 항체는 나노바디이다. 일부 측면에서, 항체는 ADC이다. 용어 "항체-약물 접합체" 및 "ADC"는 상호교환적으로 사용되며 치료제(때때로 본원에서 작용제, 약물 또는 활성 약제학적 성분으로 언급됨)에 연결된, 예를 들어 공유 연결된 항체를 지칭한다. 본 개시내용의 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 항체-약물 접합체이다.

[0364] 특정 조건 하에서, 본 개시내용은 라이게이터로서 다른 물질을 사용하는 데에도 적용 가능하다. 예를 들어, 표적화에 적합한 다른 라이게이터로는 천연 발생 수용체, 임의의 헤마글루티닌 및 호르몬, 비타민, 약물, 항생제, 암 마커, 유전적 마커, 바이러스 및 조직적합성 마커에 특이적으로 결합하는 세포막 및 핵 유도체를 포함한다. 라이게이터의 또 다른 그룹으로는 폴리에틸렌이민(PEI)과 같은 임의의 RNA 및 DNA 결합 물질 및 히스톤 및 프로타민과 같은 폴리펩타이드 또는 단백질을 포함한다.

[0365] 다른 라이게이터로는 또한 효소, 특히 세포 표면 효소, 예컨대 뉴라미니다제, 혈장 단백질, 아비딘, 스트렙타비딘, 칼론, 캐비탄드, 티로글로불린, 내인성 인자, 글로불린, 킬레이터, 계면활성제, 유기금속 물질, 스타필로코커스 단백질 A, 단백질 G, 리보솜, 박테리오파지, 사이토크롬, 렉틴, 특정 수지 및 유기 중합체를 포함한다.

[0366] 표적화 모이어티는 또한 재조합 DNA, 유전자 및 분자 공학을 통해 생성되는 임의의 세포, 조직 또는 미생물의 표면에 대해 친화성을 갖는 임의의 단백질, 단백질 단편 또는 폴리펩타이드와 같은 다양한 물질을 포함한다. 따라서, 일부 측면에서, 표적화 모이어티는 본 개시내용의 미셀을 특정 조직(즉, 간 조직 또는 뇌 조직), 특정 유형의 세포(예를 들어, 특정 유형의 암 세포) 또는 생리학적 구획 또는 생리학적 장벽(예를 들어, BBB)으로 유도한다.

[0367] *e. 링커*

[0368] 전술한 바와 같이, 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위는 예를 들어 **도 2a-i**에 도시된 바와 같이 하나 이상의 링커를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "링커"는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 서열(예를 들어, 합성 펩타이드 또는 폴리펩타이드 서열), 또는 주요 기능이 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위에서 2개의 모이어티를 연결하는 것인 비-펩타이드 링커를 지칭한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 조직-특이적 표적화 모이어티(TM)를 수용성 중합체(WS)와 연결하는 적어도 하나의 링커, 수용성 생체중합체(WP)를 양이온성 운반체(CC) 또는 소수성 모이어티(HM) 또는 가교 모이어티(CM)와 연결하는 적어도 하나의 링커, 양이온성 운반체(CC)를 소수성 모이어티(HM)와 연결하는 적어도 하나의 링커, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 2개 이상의 링커는 직렬로 연결될 수 있다.

[0369] 다중 링커가 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위에 존재하는 경우, 각각의 링커는 동일하거나 상이할 수 있다. 일반적으로, 링커는 양이온성 운반체 단위에 유연성을 제공한다. 링커는 전형적으로 절단되지 않는다; 그러나 특정 측면에서 이러한 절단이 바람직할 수 있다. 따라서, 일부 측면에서 링커는 링커 서열 내에 위치하거나 링커 서열의 어느 한쪽 말단에서 링커 측면에 위치할 수 있는 하나 이상의 프로테아제-절단가능한 부위를 포함할 수 있다.

[0370] 한 측면에서, 링커는 펩타이드 링커이다. 일부 측면에서, 펩타이드 링커는 적어도 약 2개, 적어도 약 3개, 적어도 약 4개, 적어도 약 5개, 적어도 약 10개, 적어도 약 15개, 적어도 약 20개, 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 35개, 적어도 약 40개, 적어도 약 45개, 적어도 약 50개, 적어도 약 55개, 적어도 약 60개, 적어도 약 65개, 적어도 약 70개, 적어도 약 75개, 적어도 약 80개, 적어도 약 85개, 적어도 약 90개, 적어도 약 95개, 또는 적어도 약 100개 아미노산을 포함할 수 있다.

[0371] 일부 측면에서, 펩타이드 링커는 적어도 약 110개, 적어도 약 120개, 적어도 약 130개, 적어도 약 140개, 적어도 약 150개, 적어도 약 160개, 적어도 약 170개, 적어도 약 180개, 적어도 약 190개, 또는 적어도 약 200개의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0372] 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 적어도 약 200개, 적어도 약 250개, 적어도 약 300개, 적어도 약 350개, 적어도 약 400개, 적어도 약 450개, 적어도 약 500개, 적어도 약 550개, 적어도 약 600개, 적어도 약 650개, 적어도 약 700개, 적어도 약 750개, 적어도 약 800개, 적어도 약 850개, 적어도 약 900개, 적어도 약 950개, 또는 적어도 약 1,000개의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0373] 펩타이드 링커는 1개 내지 약 5개의 아미노산, 1개 내지 약 10개의 아미노산, 1개 내지 약 20개의 아미노산, 약 10개 내지 약 50개의 아미노산, 약 50개 내지 약 100개의 아미노산, 약 100개 내지 약 200개의 아미노산, 약 200개 내지 약 300개의 아미노산, 약 300개 내지 약 400개의 아미노산, 약 400개 내지 약 500개의 아미노산, 약 500개 내지 약 600개의 아미노산, 약 600개 내지 약 700개 아미노산, 약 700개 내지 약 800개 아미노산, 약 800개 내지 약 900개 아미노산, 또는 약 900개 내지 약 1000개 아미노산을 포함할 수 있다.

[0374] 펩타이드 링커의 예는 관련 기술분야에 잘 알려져 있다. 일부 측면에서, 링커는 글리신/세린 링커이다. 일부 측면에서, 펩타이드 링커는 화학식 [(Gly)n-Ser]m에 따른 글리신/세린 링커이고, 여기서 n은 1 내지 100의 임의의 정수이고, m은 1 내지 100의 임의의 정수이다. 다른 측면에서, 글리신/세린 링커는 화학식 [(Gly)x-Sery]z(서열번호 1)에 따르며, 여기서 x는 1 내지 4의 정수이고, y는 0 또는 1이며, z는 1 내지 50의 정수이다. 한 측면에서, 펩타이드 링커는 서열 Gn을 포함하고, 여기서 n은 1 내지 100의 정수일 수 있다. 특정 측면에서, 펩타이드 링커의 서열은 GGGG(서열번호 2)이다.

[0375] 일부 측면에서, 펩타이드 링커는 서열 (GlyAla)n(서열번호 3)을 포함할 수 있고, 여기서 n은 1 내지 100의 정수이다. 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 서열 (GlyGlySer)n(서열번호 4)을 포함할 수 있고, 여기서 n은 1과 100 사이의 정수이다.

[0376] 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 서열 (GGGS)n(서열번호 5)을 포함한다. 또 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 서열 (GGS)n(GGGGS)n(서열번호 6)을 포함한다. 이 경우 n은 1-100의 정수일 수 있다. 다른 경우에, n은 1 내지 20의 정수, 즉 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20일 수 있다.

[0377] 링커의 예로는 GGG, SGGSGGS(서열번호 7), GGSGGSGGSGGSGGG(서열번호 8), GGSGGSGGGGSGGGGS(서열번호 9), GGSGGSGGSGGSGGSGGS(서열번호 10), 또는 GGGGSGGGGSGGGGS(서열번호 11)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 다른 측면에서, 링커는 폴리-G 서열(GGGG)n(서열번호 12)이며, 여기서 n은 1-100의 정수일 수 있다.

[0378] 한 측면에서, 펩타이드 링커는 합성, 즉 비-천연 발생이다. 한 측면에서, 펩타이드 링커는 천연적으로 연결되지 않거나 천연에서 유전자적으로 융합되어 있지 않은 아미노산의 제2 선형 서열에 아미노산의 제1 선형 서열을 연결하거나 유전자적으로 융합시키는 아미노산 서열을 포함하는 펩타이드(또는 폴리펩타이드)(예를 들어, 천연 또는 비-천연 발생 펩타이드)를 포함한다. 예를 들어, 한 측면에서 펩타이드 링커는 천연 발생의 폴리펩타이드의 변형된 형태(예를 들어, 첨가, 치환 또는 결실과 같은 돌연변이를 포함함)인 비-천연 발생의 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 또 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 비-천연 발생의 아미노산을 포함할 수 있다. 또 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 천연에서 발생하지 않는 선형 서열에서 발생하는 천연 발생의 아미노산을 포함할 수 있다. 또 다른 측면에서, 펩타이드 링커는 천연 발생의 폴리펩타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0379] 일부 측면에서, 링커는 비-펩타이드 링커를 포함한다. 다른 측면에서, 링커는 비-펩타이드 링커로 이루어진다. 일부 측면에서, 비-펩타이드 링커는, 예를 들어, 말레이미도 카프로일(MC), 말레이미도 프로파노일(MP), 메톡실 폴리에틸렌글리콜(MPEG), 숙신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)-사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), m-말레이미도 벤조일-N-하이드록시숙신이미드 에스테르(MBS), 숙신이미딜 4-(p-말레이미도페닐)부티레이트(SMPB), N-숙신이미딜(4-요오도아세틸)아미노벤조네이트(SIAB), 숙신이미딜 6-[3-(2-피리딜디티오)-프로피온아미드]헥사노에이트(LC-SPDP), 4-숙신이미딜옥시카르보닐-알파-메틸-알파-(2-피리딜디티오)톨루엔(SMPT) 등일 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제7,375,078호 참조).

[0380] 링커는 관련 기술분야에 공지된 기술(예를 들어, 화학적 접합, 재조합 기술 또는 펩타이드 합성)을 사용하여 폴리펩타이드 서열에 도입될 수 있다. 변형은 DNA 서열 분석으로 확인할 수 있다. 일부 측면에서, 링커는 재조합 기술을 사용하여 도입될 수 있다. 다른 측면에서, 고상 펩타이드 합성을 사용하여 링커를 도입할 수 있다. 특정 측면에서, 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위는 재조합 기술을 사용하여 도입된 하나 이상의 링커 및 관련 기술분야에 공지된 고상 펩타이드 합성 또는 화학적 접합 방법을 사용하여 도입된 하나 이상의 링커를 동시에 함유할 수 있다. 일부 측면에서, 링커는 절단 부위를 포함한다.

[0381] **III. 페이로드**

[0382] 본원에 사용된 용어 "페이로드"는 생물학적 활성 분자, 예를 들어, 스스로 또는 어댑터를 통해 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위와 상호작용할 수 있는 치료제를 지칭하고, 본 개시내용의 미셀의 코어 내에 포함되어 있다.

[0383] 다른 생물학적 활성 분자는 항-바이러스 약물, 핵산 및 기타 항-바이러스 물질, 예를 들어, 임의의 DNA 및 RNA 바이러스, AIDS, HIV 및 간염 바이러스, 아데노바이러스, 알파바이러스, 아레나바이러스, 코로나바이러스, 플라비바이러스, 헤르페스바이러스, 믹소바이러스, 온코르나바이러스, 파포바바이러스, 파라믹소바이러스, 파보바이러스, 피코마바이러스, 폭스바이러스, 리오바이러스, 타브도바이러스, 라이노바이러스, 토가바이러스 및 바이로이드에 대항하는 것; 임의의 항박테리아 약물, 핵산 및 기타 항-박테리아 물질, 예를 들어, 그람 음성 및 그람 양성 박테리아, 아시네토박터, 아크로모박터, 박테로이데스, 클로스트리듐, 클라미디아, 엔테로박테리아, 헤모필러스, 락토바실러스, 나이제리아, 스타필로코커스, 또는 스트렙토코커스에 대항하는 것; 임의의 항진균 약물, 핵산 및 기타 항-진균 물질, 예컨대, 아스퍼질러스, 칸디다, 콕시디오데스, 진균종, 조균류, 및 효모에 대항하는 것; 마이코플라스마 및 리케챠에 대한 임의의 약물, 핵산 및 기타 물질; 임의의 항-원생동물 약물, 핵산 및 기타 성분; 임의의 항-기생충 항원, 핵산 및 기타 물질; 무엇보다도 심장 질환, 종양, 및 바이러스 감염 세포에 대항하는 임의의 약물, 핵산 및 기타 성분이다.

[0384] ***(a) 핵산***

[0385] 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(페이로드)는 핵산, 예를 들어 RNA 또는 DNA이다. 본 개시내용의 미셀을 사용하여 전달하기에 적합한 핵산 활성제는 중합효소 연쇄 반응(PCR), 혼성화 또는 DNA 시퀀싱에 사용되는 프로브 및 프라이머와 같은 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 모든 유형의 RNA 및 모든 유형의 DNA를 포함한다. 일부 측면에서, 핵산은 mRNA, miRNA, miRNA 스펀지, 강인한 디코이 miRNA(TD), 항미르(antagomir), 작은 RNA, rRNA, siRNA, shRNA, gDNA, cDNA, pDNA, PNA, BNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 앱타머, 사이클릭 디뉴클레오타이드, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0386] 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(페이로드)는 짧은 간섭 RNA(siRNA)를 포함하며, 이는 서열-특이적 전사후 유전자 침묵을 유도하여 유전자 발현을 감소시키거나 심지어 저해할 수 있는 이중 가닥 RNA이다. 예를 들어, siRNA는 siRNA와 표적 RNA 사이의 서열 동일성 영역 내에서 mRNA와 같은 동종 RNA 분자의 특이적 분해를 촉발할 수 있다. 비제한적인 예시적인 siRNA는 그 전문이 참고로 포함되는 WO 02/44321에 개시되어 있다. 일부 측면에

서, siRNA는 길이가 약 20-27개의 염기쌍일 수 있다.

[0387] 일부 측면에서, siRNA는 화학적으로 변형될 수 있다. 일부 측면에서, siRNA는 콜레스테롤에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, 콜레스테롤은 siRNA의 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 말단에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, 콜레스테롤은 siRNA의 센스 또는 안티센스 가닥의 5' 말단에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, 콜레스테롤은 siRNA의 센스 또는 안티센스 가닥의 3' 및 5' 말단 모두에 접합될 수 있다.

[0388] 본원에 사용된 바와 같이, siRNA의 전하 수는 뉴클레오타이드 수-2이다.

[0389] 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(예를 들어, 음이온성 페이로드)는 짧은 헤어핀 RNA(shRNA)를 포함한다. 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자는 miRNA 또는 miRNA 저해제(항miR)를 포함한다. 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(예를 들어, 음이온성 페이로드)는 10-30개 뉴클레오타이드 길이, 예를 들어 14-25개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(예를 들어, 음이온성 페이로드)는 16-30개 뉴클레오타이드, 18-25개 뉴클레오타이드, 특히 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25개 뉴클레오타이드의 길이를 갖는다. 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(예를 들어, 음이온성 페이로드)는 길이가 200개 미만인 뉴클레오타이드를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 150개 미만, 약 140개, 약 130개, 약 120개, 약 110개, 약 100개, 약 90개, 약 80개, 약 70개, 약 60개, 약 50개, 약 40개, 약 30개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 약 13개, 약 12개, 약 11개, 또는 약 10개 미만의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 30개 내지 약 10개, 약 25개 내지 약 11개, 약 30개 내지 약 15개, 약 25개 내지 약 15개, 약 24개 내지 약 15개, 또는 약 23개 내지 약 15개 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 30개, 약 29개, 약 28개, 약 27개, 약 26개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개 또는 약 13개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 약 22개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0390] miRNA에 대한 서열은 예를 들어 miRBase 레지스트리(Griffiths-Jones, 등, Nucleic Acids Res., 36(Database Issue):D154-D158 (2008); Griffiths-Jones, 등, Nucleic Acids Res., 36(Database Issue):D140-D144 (2008); Griffiths-Jones, 등, Nucleic Acids Res., 36(Database Issue):D109-D111 (2008)) 및 기타 공개적으로 접근 가능한 데이터베이스를 통해 공개적으로 이용 가능하다.

[0391] 일부 측면에서, miRNA 저해제는 리보핵산(RNA) 또는 데옥시리보핵산(DNA)의 올리고머 또는 중합체 또는 이들의 변형물이다. 일부 측면에서, miRNA 길항제는 항미르이다. 항미르는 예를 들어 Stoffel 등의 US2007/0213292에 기술된 miRNA 저해제의 특정 부류이다. 항미르는 RNase 보호에 대한 다양한 변형 및 향상된 조직 및 세포 흡수와 같은 약리학적 특성을 함유하는 RNA 유사 올리고뉴클레오타이드이다. 항미르는 당의 완전한 2'-O-메틸화, 포스포로티오에이트 백본 및 3'-말단에서 콜레스테롤-모이어티를 갖는다는 점에서 정상 RNA와 상이하다.

[0392] 항미르 및 기타 miRNA 저해제의 비제한적 예는 WO2009/020771, WO2008/091703, WO2008/046911, WO2008/074328, WO2007/090073, WO2007/027775, WO2007/027894, WO2007/021896, WO2006/093526, WO2006/112872, WO2007/112753, WO2007/112754, WO2005/023986, 또는 WO2005/013901에 기술되어 있고, 이들 모두는 본원에 참고로 포함된다.

[0393] 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 mRNA, miRNA, miRNA 스펀지, 강인한 디코이 miRNA, 항미르, 작은 RNA, rRNA, siRNA, shRNA, gDNA, cDNA, pDNA, PNA, BNA, 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO), 앱타머, 사이클릭 디뉴클레오타이드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 siRNA이다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 mRNA이다. 일부 측면에서, 음이온성 페이로드는 PNA이다.

[0394] 일부 측면에서, 핵산은 포스포디에스테르 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 및 당-포스페이트 "백본"이 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로아미데이트, 알킬 포스포트리에스테르 또는 메틸포스포네이트 연결과 같은 "백본 유사체"에 의해 대체되었거나 유도체화된 임의의 올리고뉴클레오타이드이다. 일부 측면에서, 핵산 활성제는 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 및 설파메이트, 3'-티오포름아세탈, 메틸렌(메틸이미노)(MMI), 3'-N-카바메이트 또는 모르폴리노 카바메이트와 같은 비-인 백본 유사체를 갖는 임의의 올리고뉴클레오타이드 또는 올리고데옥시뉴클레오타이드이다.

[0395] 일부 측면에서, 생물학적 활성 분자(페이로드)는 항미르이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항미르", "항 마이크로RNA", "항 miRNA" 및 이의 변이체는 원하는 반응을 위해 세포에서 마이크로RNA(miRNA) 기능을 중화

시키는 데 사용되는 분자(예를 들어, 합성적으로 생성된 분자)를 지칭한다. miRNA는 RNA 절단 또는 해독 억제에 관여하는 mRNA에 대한 상보적 서열(약 20-22bp)이다. 세포에서 mRNA를 조절하는 miRNA를 제어함으로써 항미르(항-miRNA 올리고뉴클레오타이드, AMO 또는 antagomir라고도 함)는 특정 세포 장애에 대한 치료뿐만 아니라 추가 조절로서 사용될 수 있다. 이 조절은 miRNA에 대한 혼성화뿐만 아니라 입체 차단 메커니즘을 통해 발생할 수 있다.

[0396] 항미르와 miRNA 사이의 신체 내에서의 이러한 상호작용은 과다/과소 발현이 발생하거나 miRNA의 이상이 암호 문제를 야기하는 장애의 치료법을 위한 것일 수 있다. 인간이 마주하는 일부 miRNA 연관 장애로는 암, 근육 질환, 자가면역 장애 및 바이러스를 포함한다.

[0397] 항미르의 다양한 성분은 항미르의 결합 친화성 및 효능에 영향을 미치도록 조작될 수 있다. 항미르의 2'-당은 불소 및 다양한 메틸 기로 치환되도록 변형될 수 있으며, 거의 모두가 결합 친화성을 증가시킨다. 그러나, 이들 변형된 2'-당 항미르 중 일부는 세포 성장에 부정적인 영향을 야기한다. 5'-3' 포스포디에스테르 백본 연결을 포스포로티오에이트(P-S) 백본 연결로 변형시키는 것도 표적 친화성에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. P-S 돌연변이를 사용하면 올리고뉴클레오타이드의 Tm을 감소시키는 것으로 밝혀졌고, 이는 더 낮은 표적 친화성을 야기한다. 항미르에 대한 마지막 요구 사항은 미스매치 특이성 및 길이 제한이다. "씨드"(공유) 서열을 공유하고 한쌍의 추가 뉴클레오타이드만이 다른, 동일한 계열의 miRNA로 인해, 하나의 항미르는 다수의 miRNA 서열을 잠재적으로 표적화할 수 있다. 항미르 또는 miRNA 서열의 하나 이상의 예는 다음 표에 나와 있다.

표 1.

[0398]

miRNA 서열번호	표적 점수	miRNA 명칭	성숙 miRNA 서열	항미르 서열번호	인공 miRNA 저해제 서열 (항미르)
13	95	hsa-miR-204-5p	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	15	AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA
14	89	hsa-miR-132-3p	UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG	16	CGACCAUGGCUGUAGACUGUUA

[0399] 일부 측면에서, 페이로드는 5 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드이다. 일부 측면에서, 폴리뉴클레오타이드는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 측면에서, 뉴클레오타이드 서열은 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 또는 26개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는다. 일부 측면에서, 페이로드는 200개 미만의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 페이로드는 약 150개, 약 140개, 약 130개, 약 120개, 약 110개, 약 100개, 약 90개, 약 80개, 약 70개, 약 60개, 약 50개, 약 40개, 약 30개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 약 13개, 약 12개, 약 11개, 또는 약 10개 미만의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 페이로드는 약 30개 내지 약 10개, 약 25개 내지 약 11개, 약 30개 내지 약 15개, 약 25개 내지 약 15개, 약 24개 내지 약 15개, 또는 약 23개 내지 약 15개의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 페이로드는 약 30개, 약 29개, 약 28개, 약 27개, 약 26개, 약 25개, 약 24개, 약 23개, 약 22개, 약 21개, 약 20개, 약 19개, 약 18개, 약 17개, 약 16개, 약 15개, 약 14개, 또는 약 13개 뉴클레오타이드 길이를 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0400] 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 hsa-miR-485, 예를 들어, hsa-miR-485-3p를 표적화하는 뉴클레오타이드 서열이다. 일부 측면에서, hsa-miR-485-3p는 서열 GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU(서열번호 17)를 갖는다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC(서열번호 18)을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이것으로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T일 수 있다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC(서열번호 18)을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이것으로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열이고, 여기서 뉴클레오타이드 서열은 1개의 미스매치, 2개의 미스매치, 3개의 미스매치 또는 4개의 미스매치를 갖는다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC(서열번호 18)를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이것으로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열이고, 여기서 뉴클레오타이드 서열은 1개 또는 2개의 미스매치를 갖는다. 다른 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 hsa-miR-485-3p의 씨드 서열(UCAUACA; 서열번호

19)을 표적화하는 뉴클레오타이드 서열이다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 UCAUACA(서열번호 19)를 포함하는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T(씨드의 보체)일 수 있고, 여기서 뉴클레오타이드 서열은 약 10개 뉴클레오타이드 내지 30개 뉴클레오타이드(예를 들어, 10개 내지 25개, 10개 내지 24개, 10개 내지 23개, 10개 내지 22개, 10개 내지 21개, 10개 내지 20개, 10개 내지 19개 또는 10개 내지 18개) 길이이다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 UGUAUGA(서열번호 20)를 포함하는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T(씨드의 보체)일 수 있고, 여기서 뉴클레오타이드 서열은 씨드 서열의 보체의 5' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개 또는 20개의 핵산 및/또는 씨드 서열의 보체의 3' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개 또는 20개의 핵산을 포함한다.

[0401] 일부 측면에서, 페이로드는 5'-UGAUAUGA-3'(서열번호 23), 5'-GUGUAUGA-3'(서열번호 24), 5'-CGUGUAUGA-3'(서열번호 25), 5'-CCGUGUAUGA-3'(서열번호 26), 5'-GCCGUGUAUGA-3'(서열번호 27), 5'-AGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 28), 5'-GAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 29), 5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 30), 5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 31), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 32), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 33), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 34), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 35), 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(서열번호 36); 5'-UGUAUGAC-3'(서열번호 37), 5'-GUGUAUGAC-3'(서열번호 38), 5'-CGGUAUUGAC-3'(서열번호 39), 5'-CCGUGUAUGAC- 3'(서열번호 40), 5'-GCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 41), 5'-AGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 42), 5'-GAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 43), 5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 44), 5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 45), 5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 46), 5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 47), 5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 48), 5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 49), 또는 5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호 50)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열이다.

[0402] 일부 측면에서, 페이로드는 5'-TGTATGA-3'(서열번호 51), 5'-GTGTATGA-3'(서열번호 52), 5'-CGGTATGA-3'(서열번호 53), 5'-CCGTGTATGA-3'(서열번호 54), 5'-GCCGTGTATGA-3'(서열번호 55), 5'-AGCCGTGTATGA-3'(서열번호 56), 5'-GAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 57), 5'-AGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 58), 5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 59), 5 '-GGAGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 60), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 61), 5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 62), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 63), 5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(서열번호 64); 5'-TGTATGAC-3'(서열번호 65), 5'-GGTGTTATGAC-3'(서열번호 66), 5'-CGTGTATGAC-3'(서열번호 67), 5'-CCGTGTTATGAC- 3'(서열번호 68), 5'-GCCGTGTATGAC-3'(서열번호 69), 5'-AGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 70), 5'-GAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 71), 5'-AGAGCCGTGTTATGAC-3'(서열번호 72), 5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 73), 5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 74), 5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 75), 5'-GAGGAGGAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 76), 5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 77), 또는 5'-GAGAGAGAGAGCCGTGTATGAC-3'(서열번호 78)을 포함하는 뉴클레오타이드 서열이다.

[0403] 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 hsa-miR-204, 예를 들어 hsa-miR-204-5p를 표적화하는 뉴클레오타이드 서열이다. hsa-miR-204-5p는 표 1에서 UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU(서열번호 13)로 제시된다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA(서열번호 15)를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이것으로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T일 수 있다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA(서열번호 15)를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이것으로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T일 수 있고 뉴클레오타이드 서열은 1개의 미스매치, 2개의 미스매치, 3개의 미스매치 또는 4개의 미스매치를 갖는다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA(서열번호 15)를 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이것으로 이루어지는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T일 수 있고 뉴클레오타이드 서열은 1개 또는 2개의 미스매치를 갖는다. 다른 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 hsa-miR-204-5p의 씨드 서열(UCCCUUU; 서열번호 21)을 표적화하는 뉴클레오타이드 서열이다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AAAGGGA(서열번호 22)(씨드의 보체)를 포함하는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 U는 선택적으로 T일 수 있고 뉴클레오타이드 서열은 약 10개 뉴클레오타이드 내지 30개 뉴클레오타이드(예를 들어, 10개 내지 25개, 10개 내지 24개, 10개 내지 23개, 10개 내지 22개, 10개 내지 21개, 10개 내지 20개, 10개 내지 19개 또는 10개 내지 18개) 길이이다. 일부 측면에서, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 AAAGGGA(서열번호 22)(씨드의 보체)를 포함하는 뉴클레오타이드 서열이며, 여기서 뉴클레오타이드 서열은 씨드 서열의 보체의 5' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 또는 20개의 핵산 및/또는 씨드 서열의 보체의 3' 말단에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개,

8개, 9개, 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 또는 20개의 핵산을 포함한다.

[0404] ***i. 화학적으로 변형된 폴리뉴클레오타이드***

[0405] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)는 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오사이드 및/또는 뉴클레오타이드를 포함한다. 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드가 화학적으로 변형된 경우, 폴리뉴클레오타이드는 "변형된 폴리뉴클레오타이드"로 지칭될 수 있다.

[0406] "뉴클레오사이드"는 유기 염기(예를 들어, 퓨린 또는 피리미딘) 또는 이의 유도체(또한 본원에서 "핵염기"로도 지칭됨)와 조합으로 당 분자(예를 들어, 오탄당 또는 리보스) 또는 이의 유도체를 함유하는 화합물을 지칭한다.

[0407] "뉴클레오타이드"는 포스페이트 기를 포함하는 뉴클레오사이드를 지칭한다. 변형된 뉴클레오타이드는 하나 이상의 변형된 또는 비-천연 뉴클레오사이드를 포함하기 위해, 예를 들어 화학적으로, 효소적으로 또는 재조합적 방법과 같은 임의의 유용한 방법에 의해 합성될 수 있다.

[0408] 폴리뉴클레오타이드는 연결된 뉴클레오사이드의 영역 또는 영역들을 포함할 수 있다. 이러한 영역은 가변 백본 연결을 가질 수 있다. 연결은 표준 포스포디에스테르 연결일 수 있으며, 이 경우 폴리뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 영역을 포함할 것이다.

[0409] 본원에 개시된 변형된 폴리뉴클레오타이드는 다양한 별개의 변형을 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 변형된 폴리뉴클레오타이드는 1개, 2개 또는 그 이상(선택적으로 상이한)의 뉴클레오사이드 또는 뉴클레오타이드 변형을 함유한다. 일부 측면에서, 변형된 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 바람직한 특성, 예를 들어, 미변형된 폴리뉴클레오타이드와 비교 시, 개선된 열적 또는 화학적 안정성, 감소된 면역원성, 감소된 분해, 표적 마이크로RNA에 대한 증가된 결합, 다른 마이크로RNA 또는 다른 분자에 대한 감소된 비특이적 결합을 나타낼 수 있다.

[0410] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 화학적으로 변형된다. 폴리뉴클레오타이드와 관련하여 본원에서 사용되는 용어 "화학적 변형" 또는 적절한 경우 "화학적으로 변형된"은 아데노신(A), 구아노신(G), 우리딘(U), 티미딘(T) 또는 시티딘(C) 리보뉴클레오사이드 또는 데옥시리보뉴클레오사이드에 대하여 이들의 위치, 패턴, 백분율 또는 집단, 예를 들어, 비제한적으로 이의 핵염기, 당, 백본, 또는 이들의 임의의 조합에서의 변형을 지칭한다.

[0411] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르)는 모든 또는 임의의 동일한 뉴클레오사이드 유형의 균일한 화학적 변형 또는 모든 또는 임의의 동일한 뉴클레오사이드 유형에서 동일한 출발 변형의 하향 적정에 의해 생성된 변형 집단, 또는 모든 임의의 동일한 뉴클레오사이드 유형이지만 무작위 혼입에 의한 화학적 변형의 측정된 백분율을 가질 수 있다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르)는 전체 폴리뉴클레오타이드 전반에 걸쳐 동일한 뉴클레오사이드 유형의 2개, 3개, 또는 4개의 균일한 화학적 변형(예컨대, 모든 우리딘 및/또는 모든 시티딘 등이 동일한 방식으로 변형됨)을 가질 수 있다.

[0412] 변형된 뉴클레오타이드 염기 쌍형성은 표준 아데닌-티민, 아데닌-우라실 또는 구아닌-시토신 염기쌍, 뿐만 아니라 뉴클레오타이드 및/또는 비-표준 또는 변형된 염기를 포함하는 변형된 뉴클레오타이드 사이에 형성된 염기쌍을 포괄하고, 여기서 수소 결합 공여체와 수소 결합 수용체의 배열은 비표준 염기와 표준 염기 사이 또는 2개의 상보적인 비표준 염기 구조 사이에 수소 결합을 허용한다. 이러한 비표준 염기 쌍형성의 한 예는 변형된 핵염기 이노신과 아데닌, 시토신 또는 우라실 사이의 염기 쌍형성이다. 염기/당 또는 링커의 임의의 조합은 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드에 혼입될 수 있다.

[0413] 관련 기술분야의 기술자는 달리 언급된 것을 제외하고, 본 출원에 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열이 대표적인 DNA 서열에서의 "T"를 언급할 것이지만, 서열이 RNA를 나타내는 경우 "T"는 "U"로 치환될 것이다. 예를 들어, 본 개시내용의 TD는 RNA, DNA, 또는 RNA 및 DNA 단위 모두를 포함하는 혼성 분자로서 투여될 수 있다.

[0414] 일부 측면에서, 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)는 적어도 2개(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 18, 20 또는 그 이상)의 변형된 핵염기의 조합을 포함한다.

[0415] 일부 측면에서, 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)에서 핵염기, 당, 백본 연결, 또는 이들의 임의의 조합은 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어

도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100% 변형된다.

[0416] *1. 염기 변형*

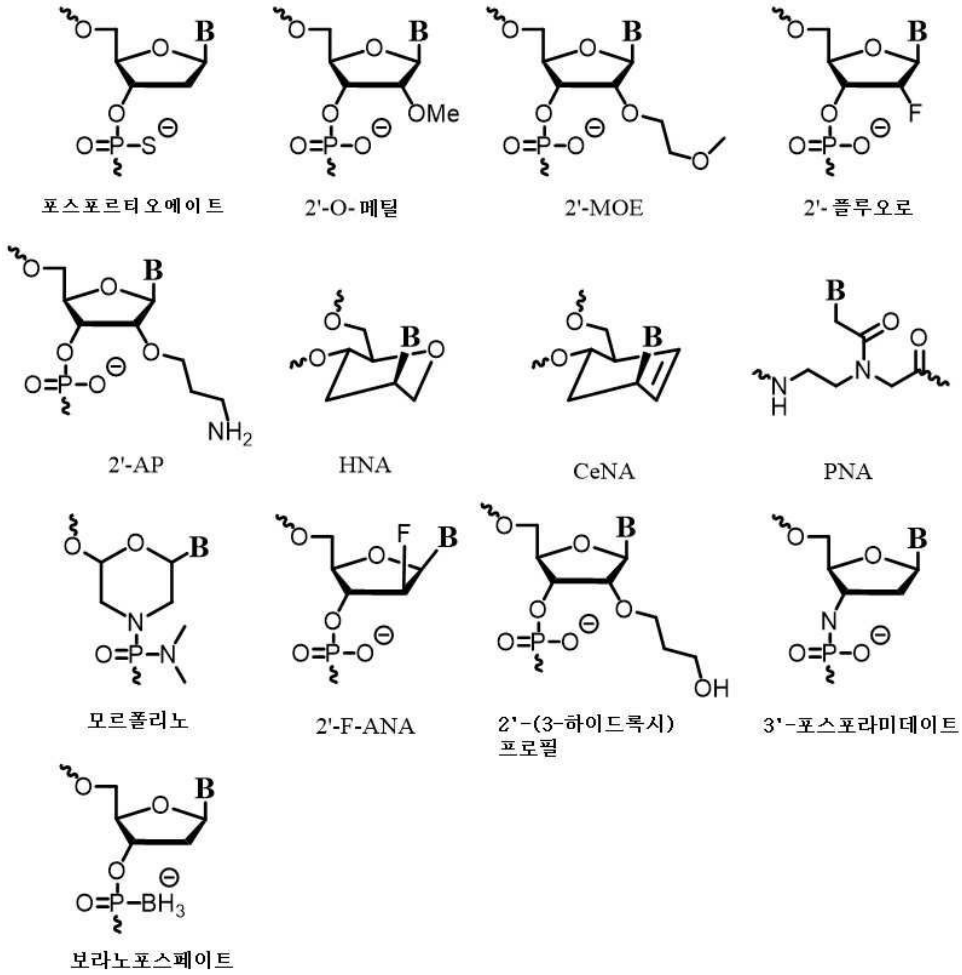
[0417] 특정 측면에서, 화학적 변형은 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)의 핵염기에서 이루어진다. 일부 측면에서, 적어도 하나의 화학적으로 변형된 뉴클레오사이드는 변형된 우리딘(예를 들어, 슈도우리딘(ψ), 2-티오우리딘(s2U), 1-메틸-슈도우리딘(m1ψ), 1-에틸-슈도우리딘(e1ψ), 또는 5-메톡시-우리딘(mo5U)), 변형된 시토신(예를 들어, 5-메틸-시티딘(m5C)) 변형된 아데노신(예를 들어, 1-메틸-아데노신(m1A), N6-메틸-아데노신(m6A), 또는 2-메틸-아데닌(m2A)), 변형된 구아노신(예를 들어, 7-메틸-구아노신(m7G) 또는 1-메틸-구아노신(m1G)), 또는 이들의 조합이다.

[0418] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)는 특정 변형을 위해 균일하게 변형(예를 들어, 완전 변형, 전체 서열에 걸쳐 변형)된다. 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드는 동일한 유형의 염기 변형, 예를 들어 5-메틸-시티딘(m5C)에 의해 균일하게 변형될 수 있으며, 이는 폴리뉴클레오타이드 서열 내의 모든 시토신 잔기가 5-메틸-시티딘(m5C)으로 대체된 것을 의미한다. 유사하게, 폴리뉴클레오타이드는 상기 제시된 임의의 것과 같은 변형된 뉴클레오사이드로의 대체에 의해 서열에 존재하는 임의의 유형의 뉴클레오사이드 잔기에 대해 균일하게 변형될 수 있다.

[0419] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)는 적어도 2개(예를 들어, 2, 3, 4개 이상)의 변형된 핵염기의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)에서 핵염기의 한 유형의 적어도 약 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%가 변형된 핵염기이다.

[0420] **2. 백본 변형**

[0421] 일부 측면에서, 페이로드는 "본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드"(예를 들어 항미르, 예를 들어 miR485 항미르를 포함함)를 포함할 수 있으며, 여기서 폴리뉴클레오타이드는 뉴클레오사이드 사이의 연결에 대해 임의의 유용한 변형을 포함한다. 본 발명의 조성물에 유용한 백본 변형을 포함하는 이러한 연결은 다음을 포함하나 이에 제한되지 않는다: 3'-알킬렌 포스포네이트, 3'-아미노 포스포라미데이트, 알켄 함유 백본, 아미노알킬포스포라미데이트, 아미노알킬포스포트리에스테르, 보라노포스페이트, $-CH_2-O-N(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-NH-CH_2-$, 키랄 포스포네이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌(메틸이미노), 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 백본, 메틸렌이미노 및 메틸렌하이드라지노 백본, 모르폴리노 연결, $-N(CH_3)-CH_2-CH_2-$, 헤테로원자 뉴클레오사이드간 연결을 가진 올리고뉴클레오사이드, 포스피네이트, 포스포라미데이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 연결, 포스포로티오에이트, 포스포트리에스테르, PNA, 실록산 백본, 설파메이트 백본, 설파이드 설폭사이드 및 설폰 백본, 설포네이트 및 설폰아미드 백본, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르 및 티오노포스포라미데이트.



[0422]

[0423] 일부 측면에서, 상기 개시된 백본 연결의 존재는 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)의 안정성(예를 들어, 열 안정성) 및/또는 분해(예를 들어, 효소 분해)에 대한 저항성을 증가시킨다. 일부 측면에서, 안정성 및/또는 분해에 대한 저항성은 변형이 없는 상응하는 폴리뉴클레오타이드(기준 또는 대조용 폴리뉴클레오타이드)에 비해 변형된 폴리뉴클레오타이드에서 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 증가한다

[0424] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드((예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)의 백본 연결의 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 또는 100%가 변형된다(예를 들어, 이들 모두가 포스포로티오에이트임).

[0425] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 또는 21개 백본 연결이 변형된다(예를 들어, 포스포로티오에이트).

[0426] 일부 측면에서, 백본은 포스포디에스테르 연결, 포스포트리에스테르 연결, 메틸포스포네이트 연결, 포스포라미데이트 연결, 포스포로티오에이트 연결, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 연결을 포함한다.

[0427] ***3. 당 변형***

[0428] 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)에 통합될 수 있는 변형된 뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드는 핵산의 당에서 변형될 수 있다. 따라서, 일부 측면에서, 페이로드는 핵산을 포함하고, 여기서 핵산은 적어도 하나의 뉴클레오사이드 유사체(예를 들어, 당 변형을 갖는 뉴클레오사이드)를

포함한다.

[0429] 일부 측면에서, 당 변형은 표적 miRNA에 대한 폴리뉴클레오타이드의 결합 친화성을 증가시킨다. LNA 또는 2'-치환된 당과 같이 폴리뉴클레오타이드에 친화성-향상 뉴클레오타이드 유사체를 혼입시키면, 폴리뉴클레오타이드의 길이를 줄일 수 있고, 비-특이적 또는 비정상적인 결합이 발생하기 전에 폴리뉴클레오타이드 크기의 상한을 감소시킬 수도 있다.

[0430] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어 miR485 항미르)에서 뉴클레오타이드의 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 100%는 당 변형(예를 들어, LNA)을 함유한다.

[0431] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22개 뉴클레오타이드 단위는 당 변형된다(예를 들어, LNA).

[0432] 일반적으로, RNA는 산소를 갖는 5-원 고리인 당 기 리보스를 포함한다. 예시적인 비제한적인 변형된 뉴클레오타이드는 리보스에서 산소의 대체(예를 들어, S, Se, 또는 메틸렌 또는 에틸렌과 같은 알킬렌으로); 이중 결합의 부가(예를 들어, 리보스를 사이클로펜테닐 또는 사이클로헥세닐로 대체); 리보스의 고리 수축(예를 들어, 사이클로부탄 또는 옥세탄의 4원 고리 형성); 리보스의 고리 확장(예를 들어, 포스포라미데이트 백본을 추가로 갖는 안하이드로헥시톨, 알트리톨, 만니톨, 사이클로헥사닐, 사이클로헥세닐 및 모르폴리노의 경우와 같이 추가 탄소 또는 헤테로원자를 갖는 6원 또는 7원 고리를 형성); 다중환 형태(예를 들어, 트리사이클로; 및 "비잠금" 형태, 예컨대, 글리콜 핵산(GNA)(예: R-GNA 또는 S-GNA, 여기서 리보스는 포스포디에스테르 결합에 부착된 글리콜 단위로 대체됨), 트레오즈 핵산(TNA, 여기서 리보스는 α-L-트레오푸라노실-(3'→2')로 대체됨) 및 펩타이드 핵산(PNA, 여기서 2-아미노-에틸-글리신 연결은 리보스 및 포스포디에스테르 백본을 대체함))를 포함한다. 당 기는 또한 리보스에 있는 상응하는 탄소와 반대되는 입체화학적 배열을 가진 하나 이상의 탄소를 함유할 수 있다. 따라서, 폴리뉴클레오타이드 분자는 예를 들어 당으로서 아라비노스를 함유하는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0433] 리보스의 2' 하이드록실 기(OH)는 다수의 상이한 치환체에 의해 변형되거나 대체될 수 있다. 2'-위치에서의 예시적인 치환은 H, 할로, 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알킬; 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시; 선택적으로 치환된 C_{6-10} 아릴옥시; 선택적으로 치환된 C_{3-8} 사이클로알킬; 선택적으로 치환된 C_{3-8} 사이클로알콕시; 선택적으로 치환된 C_{6-10} 아릴옥시; 선택적으로 치환된 C_{6-10} 아릴-C_{1-6} 알콕시, 선택적으로 치환된 C_{1-12} (헤테로사이클릴)옥시; 당(예를 들어, 리보스, 오탄당, 또는 본원에 기재된 임의의 것); 폴리에틸렌글리콜(PEG), $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$로서, 여기서 R은 H 또는 선택적으로 치환된 알킬이고, n은 0 내지 20(예를 들어, 0 내지 4, 0 내지 8, 0 내지 10, 0 내지 16, 1 내지 4, 1 내지 8, 1 내지 10, 1 내지 16, 1 내지 20, 2 내지 4, 2 내지 8, 2 내지 10, 2 내지 16, 2 내지 20, 4 내지 8, 4 내지 10, 4 내지 16, 및 4 내지 20)의 정수임; 2'-하이드록실이 C_{1-6} 알킬렌 또는 C_{1-6} 헤테로알킬렌 가교에 의해 동일한 리보스 당의 4'-탄소에 연결된 "잠금" 핵산(LNA)으로서, 여기서 예시적인 가교가 메틸렌, 프로필렌, 에테르, 아미노 가교, 아미노알킬, 아미노알콕시, 아미노 및 아미노산을 포함하는 것인 잠금 핵산을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0434] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)에 존재하는 뉴클레오사이드 유사체는 예를 들어, 2'-O-알킬-RNA 단위, 2'-OMe-RNA 단위, 2'-O-알킬-SNA, 2'-아미노-DNA 단위, 2'-플루오로-DNA 단위, LNA 단위, 아라비노 핵산(ANA) 단위, 2'-플루오로-ANA 단위, HNA 단위, INA(삽입 핵산) 단위, 2'MOE 단위, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 측면에서, LNA는 예를 들어 옥시-LNA(예컨대, 베타-D-옥시-LNA 또는 알파-L-옥시-LNA), 아미노-LNA(예컨대, 베타-D-아미노-LNA 또는 알파-L-아미노-LNA), 티오-LNA(예컨대, 베타-D-티오0-LNA 또는 알파-L-티오-LNA), ENA(예컨대, 베타-D-ENA 또는 알파-L-ENA) 또는 이의 임의의 조합이다.

[0435] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드에 존재하는 뉴클레오사이드 유사체는 잠금 핵산(LNA); 2'-O-알킬-RNA; 2'-아미노-DNA; 2'-플루오로-DNA; 아라비노 핵산(ANA); 2'-플루오로-ANA, 헥시톨 핵산(HNA), 삽입 핵산(INA), 구속된 에틸 뉴클레오사이드(cEt), 2'-O-메틸 핵산(2'-OMe), 2'-O-메톡시에틸 핵산(2'-MOE), 또는

이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0436] 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, 항미르, 예를 들어, miR485 항미르)는 변형된 RNA 뉴클레오타이드 유사체(예를 들어, LNA) 및 DNA 단위 둘 모두를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 갭머(gapmer)이다. 예를 들어, 미국 특허 제8,404,649호; 제8,580,756호; 제8,163,708호; 제9,034,837호 참조; 이들 모두는 전체가 본원에 참고로 포함된다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 마이크로미르(micromir)이다. 미국 특허 출원 공개 제US20180201928호 참조, 이는 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0437] **IV. 미셀**

[0438] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 포함하는 미셀을 제공한다. 본 개시내용의 미셀은 본 개시내용의 양이온 운반체 단위 및 음전하성 페이로드를 포함하며, 여기서 음전하성 페이로드 및 양이온성 운반체 단위는 서로 회합된다. 일부 측면에서, 회합은 공유 결합을 포함한다. 다른 측면에서, 회합은 공유 결합을 포함하지 않는다. 다른 측면에서, 회합은 이온 결합을 통해, 즉 정전기적 상호작용을 통해 이루어진다. 일부 측면에서, 음전하성 페이로드(예를 들어, DNA 및/또는 RNA)는 공유 결합에 의해 양이온성 운반체 단위에 접합되지 않으며/또는 음전하성 페이로드는 이온 상호 작용을 통해 양이온성 운반체 단위의 양이온성 운반체 모이어티와 상호작용한다.

[0439] 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위 및 미셀은 분해(예를 들어, DNase 및/또는 RNase에 의한)로부터 페이로드(예를 들어, DNA 및/또는 RNA)를 보호한다. 첫째, 양이온성 운반체 단위는 정전기적 상호 작용을 통해 페이로드를 보호할 수 있다. 둘째, 미셀은 페이로드를 미셀의 코어에 격리시켜, 즉 DNase 및/또는 RNase가 닿지 않게 한다. 일부 측면에서, 순환 효소(예를 들어, 뉴클레아제)로부터 페이로드의 보호는 유리 페이로드와 비교하여 음전하성 페이로드(예를 들어, DNA 및/또는 RNA)의 반감기를 증가시킬 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 페이로드의 캡슐화는 페이로드의 혈장 반감기를 유리 페이로드와 비교하여 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배, 적어도 약 22배, 적어도 약 23배, 적어도 약 24배, 적어도 약 25배, 적어도 약 26배, 적어도 약 27배, 적어도 약 28배, 적어도 약 29배, 또는 적어도 약 30배 증가시킬 수 있다.

[0440] 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양전하, 특히 양이온성 운반체 모이어티의 전하는 용액에서 음전하성 페이로드(예를 들어, 핵산)와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하고, 여기서 양이온성 운반체 단위, 특히 이의 양이온성 운반체 모이어티와 음전하성 페이로드(예를 들어, 핵산) 사이의 전체 이온 비율은 약 1:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 양전하, 특히 양이온성 운반체 모이어티의 전하는 용액에서 음전하성 페이로드(예를 들어, 핵산)와 혼합될 때 미셀을 형성하기에 충분하며, 여기서 양이온성 운반체 단위, 특히 이의 양이온성 운반체 모이어티와 음전하성 페이로드(예를 들어, 핵산) 사이의 전체 이온 비율은 약 2:1이다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위, 특히 이의 양이온성 운반체 모이어티와 음전하성 페이로드(예를 들어, 핵산) 사이의 전체 이온 비율은 1:1보다 높고, 즉, 과량의 양이온성 운반체 단위가 사용된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위, 특히 이의 양이온성 운반체 모이어티와 음전하성 페이로드(예를 들어, 핵산) 사이의 전체 이온 비율은 1:1 미만이고, 즉 과량의 음전하성 페이로드가 사용된다.

[0441] 일부 측면에서, 적합한 완충액(예를 들어, PBS)과 조합 시, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위와 페이로드(예를 들어, 항미르와 같은 안티센스 올리고뉴클레오타이드) 사이에 형성된 복합체는 자가 조직화하여 미셀을 산출한다.

[0442] 미셀은 하나 이상의 양친매성 분자로 구성된 수용성 또는 콜로이드성 구조 또는 응집체이다. 양친매성 분자는 적어도 하나의 친수성(극성) 모이어티와 적어도 하나의 소수성(비극성) 모이어티를 함유하는 분자이다. "고전적 미셀"은 친수성 층 또는 "쉘"로 둘러싸인 단일의 중심인, 주로 소수성 구역 또는 "코어"를 갖는다. 수성 용액에서 미셀은 주변 용매와 접촉하는 양친매성 분자의 친수성 "헤드" 영역과 응집체를 형성하여, 미셀 코어에 양친매성 분자의 소수성 단일-테일 영역을 격리시킨다. 미셀은 모양이 대략 구형이다. 다른 모양, 예를 들어, 타원체, 실린더, 막대형 구조 또는 폴리머좀도 가능하다. 개시된 미셀의 모양 및 크기, 및 이에 따라 로딩 용량은 수용성 생체중합체(예를 들어, PEG)와 양이온성 운반체(예를 들어, 폴리 리신) 사이의 비율을 변경하여 변형시킬 수 있다. 비율에 따라 운반체 단위는 작은 입자, 작은 미셀, 미셀, 막대형 구조 또는 폴리머좀으로 조직화될 수 있다. 따라서, "본 개시내용의 미셀"이라는 용어는 고전적인 미셀뿐만 아니라 작은 입자, 작은 미셀, 미셀,

막대형 구조 또는 폴리머좀을 포괄한다.

[0443] 본 개시내용의 미셀은 소수성 및 친수성 모이어티를 함유하는 단일 단분자 중합체 또는 극성(즉, 수성) 용액에서 임계 미셀 농도(CMC) 이상에서 형성되는 많은 양친매성(즉, 계면활성제) 분자를 함유하는 응집체 혼합물로 구성될 수 있다. 미셀은 모이어티가 주로 소수성 내부 코어와 주로 친수성 외부를 제공하도록 배향된, 하나 이상의 양친매성 분자로부터 자가-조립된다.

[0444] 본 개시내용의 미셀은 크기가 5 내지 약 2000 나노미터 범위일 수 있다. 일부 측면에서, 미셀의 직경은 약 10nm 내지 약 200nm 사이이다. 일부 측면에서, 미셀의 직경은 약 1nm 내지 약 100nm, 약 10nm 내지 약 100nm, 약 10nm 내지 약 90nm, 약 10nm 내지 약 80nm, 약 10nm 내지 약 70nm, 약 20nm 내지 약 100nm, 약 20nm 내지 약 90nm, 약 20nm 내지 약 80nm, 약 20nm 내지 약 70nm, 약 30nm 내지 약 100nm, 약 30nm 내지 약 90nm, 약 30nm 내지 약 80nm, 약 30nm 내지 약 70nm, 약 40nm 내지 약 100nm, 약 40nm 내지 약 90nm, 약 40nm 내지 약 80nm, 또는 약 40nm 내지 약 70nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 30nm 내지 약 60nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 15nm 내지 약 90nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 15nm 내지 약 80nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 15nm 내지 약 70nm이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 15nm 내지 약 60nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 15nm 내지 약 50nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 20nm 내지 약 60nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 20nm 내지 약 50nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 20nm 내지 약 40nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 25nm 내지 약 35nm 사이이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 직경은 약 32 nm이다.

[0445] 일부 측면에서, 미셀은 단일 유형의 항미르, 예를 들어 miR485 항미르를 포함할 수 있다. 다른 측면에서, 미셀은 1종보다 많은 항미르, 예를 들어 (i) 동일한 miRNA를 표적화하는 상이한 아키텍처를 갖는 항미르; (ii) 상이한 miRNA를 표적화하는 상이한 아키텍처를 갖는 항미르; (iii) 동일한 miRNA를 표적화하는 동일한 아키텍처를 갖는 항미르; 또는 (iv) 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0446] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 1종의 양이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 1종 초과의 양이온성 운반체 단위(예를 들어, 표적 세포의 표면 상의 상이한 수용체를 표적화함)를 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 상이한 표적화 모이어티, 상이한 양이온성 운반체 모이어티(예를 들어, 상이한 페이로드를 수용하기 위해), 및/또는 상이한 소수성 및/또는 가교 단위를 갖는 양이온성 운반체 단위를 포함할 수 있다.

[0447] 페이로드를 갖는 미셀을 형성하기 위해, 상이한 유형의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위가 함께 조합될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 미셀은 혈액 뇌 장벽을 표적으로 하기 위해, 표적화 모이어티에 연결된 양이온성(또는 음이온성) 운반체 단위 및 표적화 모이어티에 연결되지 않은 양이온성(또는 음이온성) 운반체 단위를 포함할 수 있다. 일부 측면에서, 미셀은 약 50 내지 약 200개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 미셀은 약 50 내지 약 150개, 약 50 내지 약 140개, 약 50 내지 약 130개, 약 50 내지 약 120개, 약 50 내지 약 110개, 또는 약 50 내지 약 100개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 일부 측면에서, 미셀은 약 60 내지 약 200개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 미셀은 약 60 내지 약 150개, 약 60 내지 약 140개, 약 60 내지 약 130개, 약 60 내지 약 120개, 약 60 내지 약 110개, 약 60 내지 약 100개, 약 60 내지 약 90개, 약 60 내지 약 80개, 또는 약 60 내지 약 70개의 양이온 또는 음이온 운반체 단위를 포함한다. 일부 측면에서, 미셀은 약 70 내지 약 200개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 미셀은 약 70 내지 약 150개, 약 70 내지 약 140개, 약 70 내지 약 130개, 약 70 내지 약 120개, 약 70 내지 약 110개, 약 70 내지 약 100개, 약 70 내지 약 90개, 또는 약 70 내지 약 80개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 일부 측면에서, 미셀은 약 80 내지 약 200개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 미셀은 약 80 내지 약 150개, 약 80 내지 약 140개, 약 80 내지 약 130개, 약 80 내지 약 120개, 약 80 내지 약 110개, 약 80 내지 약 100개, 또는 약 80 내지 약 90개의 양이온성 또는 음이온 운반체 단위를 포함한다. 일부 측면에서, 미셀은 약 90 내지 약 200개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 미셀은 약 90 내지 약 150개, 약 90 내지 약 140개, 약 90 내지 약 130개, 약 90 내지 약 120개, 약 90 내지 약 110개, 또는 약 90 내지 약 100개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 일부 측면에서, 미셀은 약 100 내지 약 200개의 양이온성 또는 음이온성 운반체 단위를 포함한다. 다른 측면에서, 미셀은 약 100 내지 약 150개, 약 100 내지 약 140개, 약 100 내지 약 130개, 약 100 내지 약 120개, 약 100 내지 약 110개, 또는 약 100 내지 약 100개의 양이온성 또는 음이

온성 운반체 단위를 포함한다.

[0448] 본 개시내용은 또한 (i) 뉴클레오타이드 서열(예를 들어, 약 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24개 뉴클레오타이드 길이의 올리고뉴클레오타이드) 및 (ii) 본원에 기재된 양이온성 운반체 단위를 포함하는 미셀을 포함한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 (i) 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, miRNA, 또는 miRNA 저해제(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 약 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24개 뉴클레오타이드 길이), 및 (ii) 약 80 내지 약 120개(예를 들어, 약 85 내지 약 115개, 약 90 내지 약 110개, 약 95 내지 약 105개)의 본원에 기재된 양이온성 운반체 단위, 예를 들어, 도식 I-VI, 도식 I'-VI', 또는 이들의 조합(도 **2a-2i** 참조)을 포함하는 미셀을 포함하기도 한다.

[0449] 일부 측면에서, 미셀은 (i) 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, miRNA 또는 miRNA 저해제(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 약 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24개 뉴클레오타이드 길이), 및 (ii) 약 80 내지 약 120개(예를 들어, 약 80개, 약 85개, 약 90개, 약 95개, 약 100개, 약 105개 또는 약 110개)의 본원에 기재된 양이온성 운반체 단위, 예를 들어, 선택적인 [CC]-L1-[CM]-L2-[HM](**도 2** 참조)을 포함하는 미셀을 포함한다. 일부 측면에서, 미셀은 (i) 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, miRNA, 또는 miRNA 저해제(예를 들어, 올리고뉴클레오타이드 약 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24개 뉴클레오타이드 길이), 및 (ii) 약 90 내지 약 110개, 예를 들어 약 100개의 양이온성 운반체 단위를 포함하고, 여기서 (a) 약 45 내지 약 90개, 예를 들어 약 80개의 양이온성 운반체 단위는 [CC]-L1-[CM]-L2-[HM] 및 (b) 약 45 내지 약 55개, 예를 들어 약 50개의 양이온성 운반체 단위는 WP-CC-CM을 포함하고, 여기서 TM은 페닐 알라닌이고, WP는 $(PEG)_{5000}$이고, CC는 약 40개 내지 약 50개의 리신, 예를 들어 약 45개, 약 46개, 약 47개, 약 48개, 약 49개 또는 약 50개의 리신이고, 여기서 약 5개 내지 약 15개의 리신, 약 10개의 리신 각각은 비타민 B3(니코틴아미드)에 융합된다.

[0450] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (i) 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, siRNA(예를 들어, 21량체), 및 (ii) 약 35 내지 약 60개(예를 들어, 약 35개, 약 40개, 약 45개, 약 50개, 약 55개 또는 약 60개)의 본원에 기재된 양이온성 운반체 단위를 포함하는 미셀에 관한 것이고, 여기서 양이온성 운반체와 siRNA 사이의 전하 비율은 약 2.0이다(**도 15a-15e** 및 **17a-17e** 참조).

[0451] 일부 측면에서, 본 개시내용은 (i) 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어, 콜레스테롤 접합된 siRNA(예를 들어, 21량체), 및 (ii) 약 35 내지 약 60개(예를 들어, 약 35개, 약 40개, 약 45개, 약 50개, 약 55개 또는 약 60개)의 본원에 기재된 양이온성 운반체 단위를 포함하는 미셀에 관한 것으로, 여기서 양이온성 운반체와 siRNA 사이의 전하 비율은 약 1.0이다(**도 8a-8d** 및 **9a-9d** 참조).

[0452] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 (i) 뉴클레오타이드 서열, 예를 들어 miR485-3p 저해제, 예를 들어 5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(서열번호18), 및 (ii) 약 100개의 양이온성 운반체 단위를 포함하고, 여기서 (a) 약 50개의 양이온성 운반체 단위는 TM-WP-CC-AM을 포함하고 (b) 약 50개의 양이온성 운반체 단위는 WP-CC-CM을 포함하며, 여기서 TM은 페닐 알라닌이고, WP는 $(PEG)_{5000}$이고, CC는 약 47개의 리신이고, 여기서 약 10개의 리신 각각은 비타민 B3(니코틴아미드)에 융합된다.

[0453] 일부 측면에서, 미셀은 단일 페이로드(예를 들어, 단일 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어, 항미르)를 포함할 수 있다. 다른 측면에서, 미셀은 하나보다 많은 페이로드(예를 들어, 다중 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 다중 항미르)를 포함할 수 있다.

[0454] **V. 제조 방법**

[0455] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위 및 미셀의 제조 방법을 제공한다. 일반적으로, 본 개시내용은 예를 들어 실시예 섹션에 기재된 바와 같이 양이온성 운반체 단위를 합성하는 것을 포함하는 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 제조하는 방법을 제공한다. 본원에서 사용되는 용어 "합성하는"은 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 양이온성 운반체 단위를 조립하는 것을 지칭한다. 예를 들어, 단백질 성분(예를 들어, 항체 표적화 모이어티)은 재조합적으로 제조될 수 있고 이어서 양이온성 운반체 단위의 다른 성분에 접합될 수 있다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위의 각각의 성분은 관련 기술분야에 공지된 방법, 예를 들어 재조합 단백질 생산, 고체상 펩타이드 또는 핵산 합성, 화학적 합성, 효소적 합성 또는 이들의 임의의 조합을 사용하여 제조될 수 있으며, 생성된 성분은 관련 기술분야에 공지된 화학적 및/또는 효소적 방법을 사용하여 접합될 수 있다.

[0456] 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위는 오염물을 제거하기 위해 정제될 수 있다. 일부 측면에서, 양이온성 운반

체 단위는 양이온성 운반체 단위의 균일한 집단을 포함한다. 그러나, 다른 측면에서, 양이온성 운반체 단위는 다수의 종을 포함할 수 있다(예를 들어, 이들 중 일부는 표적화 모이어티를 포함하고, 일부는 표적화 모이어티 없이 나머지 모이어티를 포함함). 일부 측면에서, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위의 제조는 동결건조 또는 재구성에 적합한 임의의 다른 건조 저장 형태를 포함한다. 일부 측면에서, 건조 형태의 양이온성 운반체 단위의 제조는 페이로드(예를 들어, 핵산)와 양이온성 운반체 단위의 조합 후에 일어난다.

[0457] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀을 제조하는 방법은 양이온성 운반체 단위를 음전하성 페이로드(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 항미르와 같은 핵산)와 1:1의 이온 비율로 혼합하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체 단위 및 음전하성 페이로드는 용액에서 조합된다. 일부 측면에서, 용액에서 양이온성 운반체와 음전하성 페이로드의 조합 후, 생성된 용액은 동결건조되거나 건조된다. 일부 측면에서, 양이온성 운반체와 음전하성 페이로드의 조합은 건조 형태로 수행된다.

[0458] 단위 n 또는 m의 수가 각 경우마다 1,000 단위 이하일 수 있는, 수용성 중합체(A, 예를 들어, PEG) 내의 단량체 단위의 수 n 대 양이온성 운반체 모이어티(B, 예를 들어, 폴리 리신) 내의 단량체 단위(예를 들어, 리신)의 수 m의 비율은 생성된 미셀의 크기 및 모양에 영향을 미친다. 0.5의 mB/(nA+mB) 비율에서, 수득되는 미셀은 고전적 미셀이다. mB/(nA+mB)가 0.5 초과이면, 수득되는 미셀은 막대형 미셀 또는 폴리머좀이다. mB/(nA+mB)가 0.5 미만이면, 수득되는 미셀은 작은 미셀 또는 작은 입자이다.

[0459] 본 개시내용의 미셀은 관련 기술분야에 공지된 임의의 기술, 예를 들어 볼텍싱, 압출 또는 초음파처리를 사용하여 생성될 수 있다. 미셀의 형성은 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 포함하는 용액의 임계 미셀 농도(CMC)를 초과하는 조건을 적용하는 것에 의존적이다. 특정 농도 값에 도달하면 계면활성제는 회합하고 스스로 미셀과 같은 보다 복잡한 단위로 조직화하기 시작한다. 본 개시내용의 양이온성 운반체를 포함하는 용액의 CMC는 CMC 주변에서 뚜렷한 전이를 보여주는 임의의 물리적 특성(예를 들어, 표면 장력)에 의해 결정될 수 있다.

[0460] 잘 알려진 Smith-Ewart 이론은 CMC 초과 시 미셀의 형성을 야기하는 핵형성된 입자의 수가 계면활성제(본 개시내용에서, 음이온성 페이로드에 복합체화 또는 회합된 양이온성 운반체 단위) 농도에 0.6 제곱으로 비례한다고 예측한다. 이는 주어진 계면활성제에 대해 일반적으로 계면활성제 농도의 증가에 따라 형성되는 미셀의 수가 증가하기 때문이다.

[0461] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 예를 들어 오염물을 제거하고/하거나 균일한 미셀 집단(예를 들어, 동일한 크기를 갖는 미셀, 또는 동일한 페이로드 또는 동일한 표적화 모이어티를 갖는 미셀)을 생성하기 위해 정제될 수 있다.

[0462] **VI. 약제학적 조성물**

[0463] 본 개시내용은 또한 대상체에게 투여하기에 적합한 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위 및/또는 미셀(즉, 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 포함하는 미셀)을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 위에서 논의한 바와 같이, 본 개시내용의 미셀은 균질할 수 있다(즉, 모든 미셀은 동일한 표적화 모이어티 및 동일한 페이로드를 갖는 동일한 유형의 양이온성 운반체 단위를 포함함). 그러나, 다른 측면에서, 미셀은 다중 표적화 모이어티, 다중 페이로드 등을 포함할 수 있다.

[0464] 약제학적 조성물은 일반적으로 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위 및/또는 미셀 및 대상체에게 투여하기에 적합한 형태의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 운반체를 포함한다. 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 운반체는 투여되는 특정 조성물에 의해, 뿐만 아니라 조성물을 투여하기 위해 사용되는 특정 방법에 의해 부분적으로 결정된다.

[0465] 본 개시내용의 미셀을 포함하는 약제학적 조성물의 적합한 제형은 매우 다양하다(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990) 참조). 약제학적 조성물은 일반적으로 미국 식품의약국의 모든 GMP(Good Manufacturing Practice) 규정을 완전히 준수하고 멸균 상태로 제형화된다. 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 본원에 기재된 하나 이상의 미셀을 포함한다.

[0466] 특정 측면에서, 본원에 기재된 미셀은 약제학적으로 허용되는 운반체에서 하나 이상의 추가 치료제와 공동투여된다. 일부 측면에서, 본원에 기재된 미셀을 포함하는 약제학적 조성물은 추가 치료제(들)의 투여 전에 투여된다. 다른 측면에서, 본원에 기재된 미셀을 포함하는 약제학적 조성물은 추가 치료제(들)의 투여 후에 투여된다. 추가 측면에서, 본원에 기재된 미셀을 포함하는 약제학적 조성물은 추가 치료제(들)와 동시에 투여된다.

[0467] 일부 측면에서, 약제학적 운반체는 미셀 형성 후 첨가된다. 다른 측면에서, 약제학적 운반체는 미셀 형성 전에

첨가된다.

[0468] 허용가능한 운반체, 부형제 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자(예를 들어, 동물 또는 인간)에게 무독성이며, 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 산화방지제; 보존제(예컨대, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 포함하는 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0469] 운반체 또는 희석제의 예는 물, 염수, 링거 용액, 덱스트로스 용액 및 5% 인간 혈청 알부민을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 약제학적 활성 물질에 대한 이러한 매질 및 화합물의 사용은 관련 기술분야에 잘 알려져 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 화합물이 본원에 개시된 양이온성 운반체 단위 또는 미셀과 비상용성인 경우를 제외하고, 조성물에 이들의 사용이 고려된다.

[0470] 보조 치료제가 또한 본 개시내용의 조성물에 혼입될 수 있다. 전형적으로, 약제학적 조성물은 의도된 투여 경로와 상용성이도록 제형화된다. 본원에 기재된 미셀은 비경구, 국소, 정맥내, 경구, 피하, 동맥내, 피내, 경피, 직장, 두개골내, 복강내, 비강내, 종양내, 근육내 경로로 또는 흡입제로서 투여될 수 있다. 특정 측면에서, 본원에 기재된 약제학적 조성물 미셀은 정맥내로, 예를 들어, 주사에 의해 투여된다. 본원에 기재된 미셀은 선택적으로 본원에 기재된 미셀이 의도하는 질환, 장애 또는 병태를 치료하는데 적어도 부분적으로 효과적인 다른 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0471] 용액 또는 현탁액은 다음 성분을 포함할 수 있다: 물, 식염수, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 합성 용매와 같은 멸균 희석제; 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 항균 화합물; 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨과 같은 산화방지제; 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 킬레이트 화합물; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충제 및 염화나트륨 또는 덱스트로스와 같은 장성 조정용 화합물. pH는 염산 또는 수산화나트륨과 같은 산 또는 염기로 조정할 수 있다. 이 제제는 앰플, 일회용 주사기 또는 유리나 플라스틱으로 만든 다회 용량 바이알에 봉입될 수 있다.

[0472] 주사용으로 적합한 약제학적 조성물은 멸균 수용액(수용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여를 위해 적합한 운반체로는 생리 식염수, 정균수, Cremophor EL™(BASF, 뉴저지주 파시파니) 또는 인산염 완충 식염수(PBS)를 포함한다. 조성물은 일반적으로 멸균성이고 쉽게 주사할 수 있는 정도까지 유체이다. 운반체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용, 분산액의 경우 필요한 입자 크기의 유지 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항균 및 항진균 화합물, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 원하는 경우, 등장성 화합물, 예를 들어 당, 다가알코올, 예컨대, 만니톨, 소르비톨, 및 염화나트륨이 조성물에 첨가될 수 있다. 주사용 조성물의 장기적인 흡수는 흡수를 지연시키는 화합물, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 유발될 수 있다.

[0473] 본 개시내용의 약제학적 조성물은 종래의 잘 알려진 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있다. 수성 용액은 사용을 위해 포장되거나 무균 조건 하에서 여과되고 동결건조될 수 있으며, 동결건조된 제제는 투여 전에 멸균 수성 용액과 조합된다.

[0474] 멸균 주사 용액은 필요에 따라 본원에 열거된 성분 중 하나 또는 조합과 함께 적절한 용매에 유효량으로 본원에 기재된 미셀을 혼입시킴으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 본원에 기재된 미셀을 기본 분산 매질 및 임의의 원하는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클에 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사 용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우에, 제조 방법은 사전에 멸균-여과된 용액으로부터 활성 성분 및 임의의 추가 필요 성분의 분말을 산출하는 진공 건조 및 동결건조이다. 본원에 기재된 미셀은 본원에 기재된 미셀의 지속 또는 박동성 방출을 허용하는 방식으로 제형화될 수 있는 데포 주사 또는 이식 제제의 형태로 투여될 수 있다.

[0475] 본원에 기재된 미셀을 포함하는 조성물의 전신 투여는 또한 경점막 수단에 의한 것일 수 있다. 경점막 투여의

경우, 투과되는 장벽에 적절한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 경점막 투여를 위해 세제, 담즙산염 및 푸시딘산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는, 예를 들어, 비강 스프레이의 사용을 통해 달성될 수 있다.

[0476] 특정 측면에서, 본원에 기술된 미셀을 포함하는 약제학적 조성물은 약제학적 조성물로부터 이익을 얻을 대상체에게 정맥내 투여된다. 특정 측면에서, 조성물은 림프계에, 예를 들어 림프내 주사 또는 결절내 주사(예를 들어, Senti 등, PNAS 105(46): 17908 (2008) 참조), 또는 근육내 주사, 피하 주사, 종양내 주사, 흉선으로의 직접 주사에 의해 투여되거나 또는 간으로 투여된다.

[0477] 특정 측면에서, 본원에 기술된 미셀을 포함하는 약제학적 조성물은 액체 현탁액으로 투여된다. 특정 측면에서, 약제학적 조성물은 투여 후 데포를 형성할 수 있는 제형으로 투여된다. 특정한 바람직한 측면에서, 데포는 본원에 기술된 미셀을 순환 내로 천천히 방출하거나 데포 형태로 남아 있다.

[0478] 전형적으로, 약제학적으로 허용되는 조성물은 오염물이 없도록 고도로 정제되고, 생체적합성이며 독성이 없으며, 대상체에게 투여하기에 적합하다. 물이 운반체의 구성요소인 경우, 물은 내독소와 같은 오염물이 없도록 고도로 정제되고 처리된다.

[0479] 약제학적으로 허용되는 운반체는 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아검, 인산칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산칼슘, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로오스, 메틸하이드록시 벤조에이트, 프로필하이드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및/또는 미네랄 오일일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 약제학적 조성물은 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미 증진제, 유화제, 현탁제 및/또는 보존제를 추가로 포함할 수 있다.

[0480] 본원에 기재된 약제학적 조성물은 본원에 기재된 미셀 및 선택적으로 약제학적 활성 작용제 또는 치료제를 포함한다. 치료제는 생물학적 작용제, 소분자 작용제 또는 핵산 작용제일 수 있다.

[0481] 본원에 기술된 미셀을 포함하는 투여량 형태가 제공된다. 일부 측면에서, 제형은 정맥내 주사를 위한 액체 현탁액으로 제형화된다.

[0482] 본원에 개시된 미셀 또는 미셀을 포함하는 약제학적 조성물은 다른 약물과 동시에 사용될 수 있다. 구체적으로, 본 개시내용의 미셀 또는 약제학적 조성물은 호르몬 치료제, 화학요법제, 면역요법제, 세포성장인자 또는 세포성장인자 수용체의 작용을 저해하는 약제 등과 같은 약제와 함께 사용될 수 있다.

[0483] **VII. 치료 및 사용 방법**

[0484] 본 개시내용은 또한 대상체, 예를 들어 인간 대상체와 같은 포유동물에게 본 개시내용의 미셀 또는 이의 조합을 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 본 개시내용은 치료적 유효량의 본 개시내용의 미셀 또는 본 개시내용의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 필요로 하는 대상체의 신경퇴행성 장애 또는 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0485] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 정맥내, 근육내, 동맥내, 경막내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내 및 흉골내 주사 및 주입을 통해 투여될 수 있다.

[0486] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 본원에 개시된 질환 및 병태의 치료에 적합한 다른 약제 또는 치료와 동시에 사용될 수 있다.

[0487] 본 개시내용은 또한 페이로드, 예를 들어 핵산(예를 들어, 항미르)과 같은 음이온성 페이로드를 본 개시내용의 미셀에 혼입시키는 것을 포함하는, 전달을 위해 페이로드를 캡슐화하는 방법을 제공한다.

[0488] 본 개시내용은 또한 페이로드, 예를 들어 핵산(예를 들어, 항미르)과 같은 음이온성 페이로드를 본 개시내용의 미셀 내로 혼입시키는 것을 포함하는, 페이로드의 분해(예를 들어, 뉴클레아제-매개의 분해) 저항성을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0489] 일부 측면에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 미셀, 예를 들어 표적화 모이어티로서 트립토판 및/또는 티로신을 포함하는 미셀을 투여하는 것을 포함하는 혈액 뇌 장벽(BBB)을 횡단하는 방법을 제공한다. 항-miRNA가 로딩된 본 개시내용의 미셀은 상기 개시된 바와 같은 BBB 수용체, 예를 들어 LAT1을 표적으로 할 수 있다. 미셀이 수용체 매개 트랜스사이토시스를 통해 BBB를 가로질러 전위되고 뇌 세포(예를 들어, 뉴런, 성상세포 또는 미세아교세포)에 의한 세포 흡수를 겪는 즉시, 페이로드(예를 들어, 항미르)는 방출되어 세포내 표적과 상호작용할 것이

다(예를 들어, 항미르는 표적 마이크로RNA에 결합하고 RNAse H 매개의 분해를 촉발할 수 있음).

[0490] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 페이로드의 캡슐화는 페이로드의 분해 저항성을 유리 페이로드(즉, 미셀 내가 아닌 것, 예를 들어, 용액 중에 유리 상태인 것)에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 증가시킬 수 있다.

[0491] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 페이로드의 캡슐화는 페이로드의 분해 저항성을 유리 페이로드에 비해 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배, 적어도 약 22배, 적어도 약 23배, 적어도 약 24배, 적어도 약 25배, 적어도 약 26배, 적어도 27배, 적어도 약 28배, 적어도 약 29배 또는 적어도 약 30배 증가시킬 수 있다.

[0492] 본 개시내용은 또한 페이로드, 예를 들어 핵산(예를 들어, 항미르)과 같은 음이온성 페이로드를 본 개시내용의 미셀 내로 혼입시키는 것을 포함하는 투여 동안(예를 들어, 대상체의 혈류내 동안) 페이로드의 안정성을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0493] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에서 페이로드의 캡슐화는 유리 페이로드에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 적어도 약 100% 페이로드의 안정성을 증가(예를 들어, 뉴클레아제에 대한 저항성을 증가)시킬 수 있다.

[0494] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀 내 페이로드의 캡슐화는 유리 페이로드에 비해 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배, 적어도 약 22배, 적어도 약 23배, 적어도 약 24배, 적어도 약 25배, 적어도 약 26배, 적어도 약 27배, 적어도 약 28배, 적어도 약 29배, 또는 적어도 약 30배 페이로드의 안정성을 증가(예를 들어, 뉴클레아제에 대한 저항성을 증가)시킬 수 있다.

[0495] 본 개시내용은 또한 페이로드, 예를 들어, 핵산(예를 들어, 항미르)과 같은 음이온성 페이로드를 본 개시내용의 미셀에 혼입시키는 것을 포함하는 페이로드의 혈장 반감기를 증가시키는 방법을 제공한다.

[0496] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에서 페이로드의 캡슐화는 페이로드의 혈장 반감기를 유리 페이로드에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 200%, 적어도 약 300%, 적어도 약 400%, 적어도 약 500%, 적어도 약 600%, 적어도 약 700%, 적어도 약 800%, 적어도 약 900%, 적어도 약 1000%, 적어도 약 1100%, 적어도 약 1200%, 적어도 약 1300%, 적어도 약 1400%, 적어도 약 1500%, 적어도 약 1600%, 적어도 약 1700%, 적어도 약 1800%, 적어도 약 1900%, 또는 적어도 약 2000% 증가시킬 수 있다.

[0497] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀 내 페이로드의 캡슐화는 페이로드의 혈장 반감기를 유리 페이로드에 비해 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배, 적어도 약 22배, 적어도 약 23배, 적어도 약 24배, 적어도 약 25배, 적어도 약 26배, 적어도 약 27배, 적어도 약 28배, 적어도 약 29배, 또는 적어도 약 30배 증가시킬 수 있다.

[0498] 일부 측면에서, 캡슐화된 페이로드는 본원에 개시된 항미르, 예를 들어, 서열번호 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 또는 이의 변이체 또는 유도체(예를 들어, 서열번호 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 대해 적어도 약 70% 동일성을 갖는 올리고뉴클레오타이드)이며, 여기서 본 개시내용의 미셀 내 항미르의 캡슐화는 항미르의 혈장 반감기를 유리의 항미르에 비해 적어도 약 10배, 적어도 약 12배, 적어도 약 14배, 적어도 약 16배, 적어도 약 18배 또는 적어도 약 20배 증가시킨다. 하나의 특정 측면에서, 캡슐화된 페이로드는 본원에 개시된

항미르, 예를 들어, 서열번호 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 또는 이의 변이체 또는 유도체(예를 들어, 서열번호 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드에 대해 적어도 약 70% 동일성을 갖는 올리고뉴클레오타이드)이며, 여기서 본 개시내용의 미셀 내 항미르의 캡슐화는 항미르의 혈장 반감기를 유리 항미르의 혈장 반감기에 비해 적어도 약 20배 증가시킨다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 캡슐화된 항미르의 혈장 반감기는 적어도 약 30분, 적어도 약 40분, 적어도 약 50분, 적어도 약 60분, 적어도 약 70분, 적어도 약 80분, 적어도 약 90분, 적어도 약 100분, 또는 적어도 약 120분이다. 하나의 특정 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 캡슐화된 항미르(예를 들어, 서열번호 18의 안티센스 올리고뉴클레오타이드)의 혈장 반감기는 적어도 약 90분이다.

[0499] 본 개시내용은 또한 페이로드, 예를 들어 음이온성 페이로드, 예를 들어 핵산(예를 들어, 항미르)을 본 개시내용의 미셀 내로 혼입시키는 것을 포함하는, 생리학적 장벽, 예컨대 BBB 또는 원형질막을 통한 페이로드의 투과, 전달, 이동 또는 수송을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0500] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 페이로드의 캡슐화는 생리학적 장벽, 예를 들어, BBB 또는 원형질막을 통한 페이로드의 투과, 전달, 이동 또는 수송을 유리 페이로드에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 100% 증가시킬 수 있다.

[0501] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀에 페이로드의 캡슐화는 생리학적 장벽, 예를 들어 BBB 또는 원형질막을 통한 페이로드의 투과, 전달, 이동 또는 수송을 유리 페이로드에 비해 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 21배, 적어도 약 22배, 적어도 약 23배, 적어도 약 24배, 적어도 약 25배, 적어도 약 26배, 적어도 약 27배, 적어도 약 28배, 적어도 약 29배 또는 적어도 약 30배 증가시킨다.

[0502] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 줄기 세포를 표적화하는데, 예를 들어 치료 분자(예를 들어, 치료 폴리뉴클레오타이드) 또는 유전자 요법 성분을 전달하는데 사용될 수 있다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 미셀은 특정 유형의 암, 예를 들어 신경교종, 유방암, 췌장암, 간암, 피부암 또는 자궁경부암에 특이적인 마커를 표적화할 수 있고 페이로드로서 치료 분자(예를 들어, 치료용 폴리뉴클레오타이드, 펩타이드 또는 작은 분자)를 운반할 수 있다.

[0503] 특정 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 췌장암을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀을 췌장 조직으로 유도하는 표적화 모이어티는 사이클릭 RGD 펩타이드이다. 다른 측면에서, 본 개시내용의 미셀을 췌장 조직으로 유도하는 표적화 모이어티는 정상 또는 암성 췌장 세포의 표면에서 우세하게 또는 배타적으로 발현되는 바이오마커이다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀의 페이로드는 K-Ras를 표적화하는 올리고뉴클레오타이드이며, 여기서 췌장 조직으로 페이로드의 전달은 K-Ras의 발현을 효과적으로 감소시킨다.

[0504] 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 신경퇴행성 질환, 예를 들어 알츠하이머병의 증상을 치료하거나 호전시키기 위해 사용될 수 있다. 일부 측면에서, 본 개시내용의 미셀은 알츠하이머병 신경 조직에서 과발현되는 분자, 예를 들어 miRNA-485-3p를 표적으로 하는 페이로드, 예를 들어 항미르를 포함한다. 따라서, 일부 측면에서, 알츠하이머병 환자에게 본 개시내용의 미셀(예를 들어, BBB를 가로질러 미셀을 효과적으로 수송하기 위한 LAT1 표적화 모이어티 및 miRNA-485-3p를 표적화하는 항미르 페이로드를 포함하는 미셀)의 투여는 아폽토시스, 미토콘드리아 기능 상실 또는 염증과 같은 알츠하이머병의 증상을 방지하거나 호전시킬 수 있다.

[0505] 일부 측면에서, 본 개시내용은 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 미셀을 투여하는 것을 포함하는, 염증, 예를 들어 신경염증을 감소시키는 방법을 제공하며, 여기서 미셀은 대상체의 염증, 예를 들어 신경염증을 효과적으로 감소시킬 수 있는 치료제를 포함한다. 일부 측면에서, 신경염증은 피질 염증이다. 일부 측면에서, 신경염증은 해마 염증이다. 일부 측면에서, 치료제는 miRNA-485-3p를 표적으로 하는 항미르(예를 들어, 서열번호 18의 항미르 또는 이의 단편 또는 변이체)이며, 여기서 항미르는 대상체에서 miRNA-485-3p의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0506] 일부 측면에서, 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 본 개시내용의 미셀의 투여는 본 개시내용의 미셀로 처리되지 않은 대상체 또는 대상체 집단에서 관찰되는 신경염증 수준에 비해, 신경염

증의 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%로 신경염증의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0507] 일부 측면에서, 본 개시내용은 알츠하이머병을 앓고 있는 대상체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 미셀을 투여하는 것을 포함하는, 알츠하이머병을 앓고 있는 대상체에서 아밀로이드 플라크 부담을 감소시키는 방법을 제공하며, 여기서 미셀은 대상체에서 아밀로이드 플라크 부담을 효과적으로 감소시킬 수 있는 치료제를 포함한다. 일부 측면에서, 치료제는 대상체에서 항미르가 miRNA-485-3p의 수준을 감소시킬 수 있는, miRNA-485-3p(예를 들어, 서열번호 18의 항미르 또는 이의 단편 또는 변이체)를 표적으로 하는 항미르이다.

[0508] 일부 측면에서, 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 본 개시내용의 미셀의 투여는 본 개시내용의 미셀로 처리되지 않은 대상체 또는 대상체 집단에서 관찰되는 아밀로이드 플라크 부담에 비해, 대상체내 아밀로이드 플라크 부담을 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100% 감소시킬 수 있다.

[0509] 일부 측면에서, 본 개시내용은 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 미셀을 투여하는 것을 포함하는, 대상체의 신경발생을 회복 및/또는 유도하는 방법을 제공하며, 여기서 미셀은 대상체에서 신경발생을 효과적으로 회복 및/또는 유도할 수 있는 치료제를 포함한다. 일부 측면에서, 치료제는 miRNA-485-3p를 표적으로 하는 항미르(예를 들어, 서열번호 18의 항미르 또는 이의 단편 또는 변이체)이며, 여기서 항미르는 대상체에서 miRNA-485-3p의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0510] 일부 측면에서, 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 본 개시내용의 미셀의 투여는 본 개시내용의 미셀로 처리되지 않은 대상체 또는 대상체의 집단에서 관찰되는 신경발생 수준에 비해, 대상체의 신경발생을 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 또는 약 100% 회복시키고/거나 유도할 수 있다.

[0511] 일부 측면에서, 본 개시내용은 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 치료적 유효량의 본 개시내용의 미셀을 투여하는 것을 포함하는, 대상체의 인지 기능을 개선시키는 방법을 제공하며, 여기서 미셀은 대상체의 인지 기능을 효과적으로 개선시킬 수 있는 치료제를 포함한다. 일부 측면에서, 치료제는 miRNA-485-3p를 표적으로 하는 항미르(예를 들어, 서열번호 18의 항미르 또는 이의 단편 또는 변이체)이며, 여기서 항미르는 대상체에서 miRNA-485-3p의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0512] 일부 측면에서, 신경퇴행성 질환(예를 들어, 알츠하이머병)을 앓고 있는 대상체에게 본 개시내용의 미셀의 투여는 대상체의 인지 기능을 본 개시내용의 미셀로 처리되지 않은 대상체 또는 대상체 집단에서 관찰되는 인지 기능에 비해 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95% 또는 약 100% 증가시킬 수 있다.

[0513] **VIII. 키트**

[0514] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위, 미셀 또는 약제학적 조성물 및 선택적으로 사용 설명서를 포함하는 키트 또는 제조 제품을 제공한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 하나 이상의 용기에 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위, 미셀 또는 약제학적 조성물을 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위, 미셀 또는 약제학적 조성물 및 브로셔를 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위, 미셀 또는 약제학적 조성물 및 사용 설명서를 포함한다. 관련 기술분야의 기술자는 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위, 미셀 또는 약제학적 조성물, 또는 이들의 조합이 관련 기술분야에 공지된 확립된 키트 형식 중 하나에 쉽게 혼입될 수 있음을 쉽게 인식할 것이다.

[0515] 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 용기(예를 들어, 유리 바이알)에 건조 형태로 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 포함하고, 선택적으로 건조 양이온성 운반체 단위를 수화하기에 적합한 용매를 갖는 바이알, 및

선택적으로 양이온성 운반체 단위의 수화 및 미셀의 형성에 대한 설명서를 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 미셀의 음이온성 페이로드(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오타이드)를 갖는 적어도 하나의 추가 용기(예를 들어, 유리 바이알)를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 건조 형태의 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위 및 동일한 용기 또는 상이한 용기에 또한 건조 형태의 미셀의 음이온성 페이로드를 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 용액에 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위를 포함하고, 동일한 용기 또는 상이한 용기에 또한 용액 중의 미셀의 음이온성 페이로드를 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 용액 중의 본 개시내용의 미셀 및 사용 설명서를 포함한다. 일부 측면에서, 키트 또는 제조 제품은 건조 형태의 본 개시내용의 미셀 및 사용 설명서(예를 들어, 재구성 및 투여 설명서)를 포함한다.

[0516] 본 개시내용의 실시는 달리 나타내지 않는 한 관련 기술분야의 기술 내에 있는 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 트랜스제닉 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 및 면역학의 통상적인 기술을 이용할 것이다. 이러한 기술은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌[Sambrook 등, ed. (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual(제2판; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook 등, ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; Mullis 등 미국 특허 제4,683,195호; Hames and Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Hames and Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation; Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986); Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; 논문인 Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu 등, eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155; Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986);); Crooke, Antisense drug Technology: Principles, Strategies and Applications, 2nd Ed. CRC Press (2007) 및 Ausubel 등. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)을 참조한다.

[0517] 상기 언급된 모든 참고문헌, 뿐만 아니라 본원에 언급된 모든 참고문헌은 그 전체가 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0518] 하기 실시예는 제한이 아닌 예시로서 제공된다.

[0519] **실시예**

[0520] **실시예 1**

[0521] **양이온성 운반체의 합성**

[0522] **(a) 알킨 변형된 티로신의 합성:** 아세토니트릴(4.0 ml) 중 N-(tert-부톡시카보닐)-L-티로신 메틸 에스테르(Boc-Tyr-OMe)(0.5g, 1.69mmol) 및 K_2CO_3(1.5 당량, 2.54 mmol)의 혼합물을 프로파길 브로마이드(1.2 당량, 2.03 mmol)에 적가했다. 반응 혼합물을 60℃에서 16시간 동안 가열했다. 반응 후 반응 혼합물을 물과 에틸아세테이트(EA)를 사용하여 추출했다. 그 후, 유기층을 염수 용액으로 세척했다.

[0523] 미정제 물질은 플래쉬 컬럼(헥산 10% 중 EA)으로 정제했다. 다음으로, 생성된 생성물을 테트라하이드로푸란(7.0ml) 및 6.0M HCl(7.0ml)에 용해시키고, 65℃에서 16시간 동안 가열했다. 디옥산을 제거하고 EA로 추출했다. 그 다음, pH가 7이 될 때까지 혼합물에 NaOH(1.0 M) 수용액을 첨가했다. 반응물을 증발기로 농축하고 0℃에서 12,000 rpm으로 원심분리했다. 침전물을 탈이온수로 세척하고 사용 전에 동결건조했다.

[0524] **(b) (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신)(PEG-PLL)(화합물 A)의 합성:** 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신)은 거대개시제로서 아지도 PEG(N_3-PEG)를 사용하여 Lys(TFA)-NCA의 개환 중합에 의해 합성했다. 요약하면, N_3-PEG(600mg, 0.12mmol) 및 Lys(TFA)-NCA(1447mg, 5.4mmol)를 1M 티오우레아 및 DMF를 함유하는 DMF에 별도로 용해했다. Lys(TFA)-NCA 용액을 미세주사기 바늘로 N_3-PEG 용액에 적가하고, 반응 혼합물을 37℃에서 3일 동안 교반했다. 반응 병을 Ar 및 진공으로 퍼징했다. 모든 반응은 Ar 분위기 하에서 수행했다.

[0525] 반응 후, 혼합물은 과량의 디에틸 에테르에 침전시켰다. 혼합물을 여과하고 진공 건조 후 생성물이 백색 분말로

서 수득되었다. PEG-PLL(TFA)에서 TFA 기의 탈보호를 위해 N_3-PEG-PLL(500 mg)을 메탄올(60 mL) 및 1N NaOH(6 mL)에 용해하고, 교반하면서 중합체 용액에 적가했다. 혼합물을 37℃에서 교반하면서 1일 동안 유지시켰다. 반응 혼합물을 10mM HEPES 및 증류수에 대해 4회 투석했다. N_3-PEG-PLL(NH_2)의 백색 분말이 동결건조 후에 수득되었다. PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{46}$, PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{58}$ 및 PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{80}$도 시약의 공급량을 제어함으로써 이 합성 방법을 통해 중합되었다. PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{58}$의 개략도는 **도 2a**(화합물 A)에 도시되어 있다.

[0526] **(c) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-리신/니코틴아미드)(PEG5K-PLL46(Nic15))(화합물 B)의 합성:** 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기를 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드) ((MeO- 또는) N_3-PEG_{5K}-PLL_{46}(Nic_{15}))를 EDC/NHS의 존재 하에 PEG_{5K}-PLL_{46}-NH_2 및 니코틴산의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0527] PEG_{5K}-PLL_{46}-NH_2, 151.6mg) 및 니코틴산(107.8mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 1.4 당량)을 탈이온수 및 메탄올(1:1)의 혼합물에 별도로 용해했다. EDC(251.8mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 2.0당량)를 니코틴산 용액에 첨가하고 NHS(151.2mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 2.0당량)를 혼합물에 단계적으로 첨가했다.

[0528] 실온에서 인큐베이션후 30분 후, 반응 혼합물을 N_3-PEG-PLL(NH_2) 용액에 첨가했다. 반응 혼합물을 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지했다. 미정제 생성물을 24시간 동안 탈이온수에 대해 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45㎛)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-PLL_{46}(Nic_{15})의 개략도가 **도 2b**에 도시되어 있다.

[0529] **(d) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드)(PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{30}))(화합물 C)의 합성**: 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기를 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드) ((MeO- 또는) N_3-PEG_{5K}-PLL_{56}(Nic_{30}))를 EDC/NHS의 존재 하에 PEG_{5K}-PLL_{56}-NH_2 및 니코틴산의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0530] PEG_{5K}-PLL_{56}-NH_2, 300mg) 및 니코틴산(234.3mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 2.0 당량)을 탈이온수 및 메탄올(1:1)의 혼합물에 별도로 용해했다. EDC(729.7mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 3.0당량)를 니코틴산 용액에 첨가하고 NHS(438.1mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 3.0당량)를 혼합물에 단계적으로 첨가했다.

[0531] 실온에서 인큐베이션후 30분 후, 반응 혼합물을 N_3-PEG-PLL(NH_2) 용액에 첨가했다. 반응 혼합물을 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지했다. 미정제 생성물을 24시간 동안 탈이온수에 대해 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45㎛)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{30})의 개략도가 **도 2c**에 도시되어 있다.

[0532] **(e) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{23}/SH_8))(화합물 D)의 합성:** 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기를 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드) ((MeO- 또는) N_3-PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{23}/SH_8))를 EDC/NHS의 존재 하에 PEG_{5K}-PLL_{56}-NH_2 및 니코틴산의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0533] PEG_{5K}-PLL_{56}-NH_2, 150mg) 및 니코틴산(57.5mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 0.8 당량)을 탈이온수 및 메탄올(1:1)의 혼합물에 별도로 용해했다. EDC(134.0mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 1.2당량)를 니코틴산 용액에 첨가하고 NHS(80.4mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 1.2당량)를 혼합물에 단계적으로 첨가했다.

[0534] 실온에서 인큐베이션후 30분 후, 반응 혼합물을 N_3-PEG-PLL(NH_2) 용액에 첨가했다. 반응 혼합물을 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지했다. 둘째, 3,3'-디티오디프로피온산(25.4mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 0.2당량), EDC(34.7mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 0.3당량) 및 NHS(20.8mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 0.3당량)를 MeOH에 용해하고 반응 혼합물에 직접 첨가했다. 혼합물을 37℃에서 4시간 동안 교반한 후, 반응물을 MeOH에 대해 2시간 동안 투석(MWCO = 7,000 내지 8,000)하고, 1,4-디티오트리톨(DTT, 13.0 mg, PEG-PLL의 NH_2에 대해 0.14 당량)을 막에

직접 첨가하여 중합체 측쇄의 이황화 결합을 절단했다. 막을 30분 동안 인큐베이션하고, 50% MeOH에 대해 2시간 동안 투석하고, 탈이온수에 대해 24시간 동안 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45㎛)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-$PLL_{58}(Nic_{23}/SH_8)$의 개략도는 **도 2d**에 도시되어 있다.

[0535] **(f) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{14}/SH_6)$)(화합물 E)의 합성:** 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기를 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)((MeO- 또는) N_3-PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{14}/SH_6)$)를 EDC/NHS의 존재 하에 니코틴산 및 3,3'-디티오디프로피온산으로부터 PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0536] PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2(200.0mg), 니코틴산(Nic, 22.1mg, 17 당량), 3,3'-디티오디프로피온산(DTDPA, 10.2mg, 4.5 당량), N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸 카르보디이미드 염산염(EDC, 52.5 mg, 25 당량), N-하이드록시 숙신이미드(NHS, 31.5 mg, 25 당량) 및 트리에틸아민(TEA, 30.0 μL, 20 당량)을 20mL의 디메틸 설폭사이드에 별도로 용해했다.

[0537] 반응 혼합물을 교반하면서 37℃에서 16시간 동안 유지했다. 반응이 끝난 후, 미정제 생성물을 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석(MWCO = 7,000 내지 8,000)하고, 1,4-디티오트리톨(DTT, 22.5 mg, 13 당량)을 중합체 측쇄의 이황화 결합을 절단하기 위해 막에 직접 첨가했다. 막을 30분 동안 인큐베이션하고, 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석하고, 탈이온수에 대해 24시간 동안 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45㎛)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{14}/SH_6)$)의 개략도는 **도 2e**에 도시되어 있다.

[0538] **(g) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{23}/SH_6)$)(화합물 F)의 합성**: 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기를 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는)아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)((MeO- 또는) N_3- PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{23}/SH_6)$)은 EDC/NHS의 존재 하에 니코틴산(NA) 및 3,3'-디티오디프로피온산(DTDPA)으로부터 PEG_{5K}- PLL_{80}-NH_2의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0539] PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2(200mg), NA(36.8mg, 27.5 당량), DTDPA(8.7mg, 4 당량), EDC(78.3mg, 37.5 당량), NHS(47.0mg, 37.5 당량), 및 트리에틸아민(TEA, 50.1 μL, 33 당량)을 20 mL의 디메틸 설폭사이드에 별도로 용해시켰다. 반응 혼합물을 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지시켰다. 반응이 끝난 후, 미정제 생성물을 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석했다(MWCO = 7,000 내지 8,000). 1,4-디티오트리톨(DTT, 19.0 mg, 11 당량)을 막에 직접 첨가하여 중합체 측쇄의 이황화 결합을 절단했다. 막은 30분 동안 인큐베이션하고, 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석하고, 탈이온수에 대해 24시간 동안 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45㎛)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{23}/SH_6)$의 개략도는 **도 2f**에 도시되어 있다.

[0540] **(h) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{28}/SH_8)$)(화합물 G)의 합성**: 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기는 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는)아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)((MeO- 또는) N_3- PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{28}/SH_8)$)를 EDC/NHS의 존재 하에 니코틴산(NA) 및 3,3'-디티오디프로피온산(DTDPA)으로부터 PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0541] PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2(200.0mg), NA(44.2mg, 33 당량), DTDPA(7.8mg, 3.4 당량), EDC(91.2mg, 44 당량), NHS(54.8mg, 44 당량), 및 트리에틸아민(TEA, 60.0 μL, 40 당량)을 20 mL의 디메틸 설폭사이드에 별도로 용해했다. 반응 혼합물을 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지시켰다. 반응이 끝난 후, 미정제 생성물을 탈이온수에 대해 2 시간 동안 투석하고(MWCO = 7,000 내지 8,000), 1,4-디티오트리톨(DTT, 17.3 mg, 10 당량)을 막에 직접 첨가하여 중합체 측쇄의 이황화 결합을 절단했다. 막은 30분 동안 인큐베이션하고, 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석하고, 탈이온수에 대해 24시간 동안 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45㎛)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{28}/SH_8)$의 개략도는 대상체의 신경발생을 에 도시되어 있다.

[0542] **(i) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(PEG_{5K}-**

$PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{11})$)(화합물 H)의 합성: 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기는 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는) 아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)((MeO- 또는) N_3- PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{11})$)를 EDC/NHS의 존재 하에 니코틴산(NA) 및 3,3'-디티오디프로피온산(DTDPA)으로부터 PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0543] PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2(200.0mg), NA(44.2mg, 33 당량), DTDPA(15.7mg, 7 당량), EDC(99.8mg, 48 당량), NHS(59.9mg, 48 당량) 및 트리에틸아민(TEA, 60.0 μL, 40 당량)을 20 mL의 디메틸 설폭사이드에 별도로 용해시켰다. 반응 혼합물은 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지시켰다. 반응이 끝난 후, 미정제 생성물을 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석했고(MWCO = 7,000 내지 8,000), 1,4-디티오트리톨(DTT, 34.6 mg, 21 당량)을 막에 직접 첨가하여 중합체 측쇄의 이황화 결합을 절단했다. 막은 30분 동안 인큐베이션하고, 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석하고, 탈이온수에 대해 24시간 동안 투석했다. 용액은 주사기 필터(0.45μm)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{11})$의 개략도는 **도 2h**에 도시되어 있다.

[0544] **(j) (메톡시 또는) 아지도 폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15})$)(화합물 I)의 합성**: 미셀의 안정성을 향상시키기 위해, 니코틴아미드 및 티올 말단 기를 보조 모이어티로서 중합체 백본에 도입시켰다. 먼저, (메톡시 또는)아지도-폴리(에틸렌 글리콜)-*b*-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)((MeO- 또는) N_3- PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{15})$)를 EDC/NHS의 존재 하에 니코틴산(NA) 및 3,3'-디티오디프로피온산(DTDPA)으로부터 PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2의 화학적 변형에 의해 합성했다.

[0545] PEG_{5K}-PLL_{80}-NH_2(200.0mg), NA(44.2mg, 33 당량), DTDPA(23.6mg, 10 당량), EDC(108.4mg, 52 당량), NHS(65.1mg, 52 당량) 및 트리에틸아민(TEA, 60.0 μL, 40 당량)을 20 mL의 디메틸 설폭사이드에 별도로 용해시켰다. 반응 혼합물을 교반하면서 16시간 동안 37℃에서 유지시켰다. 반응 종료 후, 미정제 생성물을 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석했고(MWCO = 7,000 내지 8,000), 1,4-디티오트리톨(DTT, 51.9 mg, 31 당량)을 막에 직접 첨가하여 중합체 측쇄의 이황화 결합을 절단했다. 막은 30분 동안 인큐베이션하고, 탈이온수에 대해 2시간 동안 투석하고, 탈이온수에 대해 24시간 동안 투석했다. 용액을 주사기 필터(0.45μm)로 여과하고 2일 동안 동결건조했다. PEG_{5K}-$PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15})$의 개략도는 **도 2i**에 도시되어 있다.

[0546] **(k) 페닐 알라닌-폴리(에틸렌 글리콜)-b-폴리(L-리신/니코틴아미드/머캅토프로판아미드)(Phe-PEG-PLL(Nic/SH))의 합성**: 혈류를 통해 뇌 내피 조직을 표적화하기 위해, 페닐알라닌(LAT1 표적화 아미노산)을 구리 촉매의 존재 하에 N_3-PEG-PLL(Nic/ss)과 알킨 변형된 티로신 사이의 클릭 반응에 의해 도입시켰다.

[0547] 요약하면, N_3-PEG-PLL(Nic/ss)(30mg, 3.2μmol) 및 알킨 변형된 페닐 알라닌(1.31mg, 6.4μmol)을 탈이온수에 용해시켰다. 이어서, CuSO4·H2O(0.172 mg, 0.69 μmol) 및 아스코르브산(0.3 mg, 1.7 μmol)을 혼합 용액에 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하면서 유지시켰다. 반응 후 혼합물을 투석막(MWCO = 7,000)으로 옮기고 1일 동안 탈이온수로 투석했다. 동결건조 후 최종 생성물을 수득했다.

[0548] **실시예 2**

[0549] **다중이온 복합체(PIC) 미셀 제조**

[0550] 실시예 1에 기술된 바와 같이 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위가 생성된 즉시, 미셀이 생산되었다. 본 실시예에 기재된 미셀은 안티센스 올리고뉴클레오타이드 페이로드와 조합된 양이온성 운반체 단위를 포함했다.

[0551] MeO- 또는 Phe-PEG-PLL(Nic)(예를 들어, 화합물 D) 및 miRNA(예를 들어, 서열번호 18)를 혼합하여 나노 크기의 PIC 미셀을 제조했다. PEG-PLL(Nic)은 HEPES 완충액(10mM)에 0.5 mg/mL로 용해했다. 그런 다음 RNAse가 없는 물 중 miRNA 용액(22.5μM)을 중합체 용액과, 중합체 대 miRNA 1:1 N/P 비율(양전하/음전하)로 혼합했다.

[0552] 중합체 대 항-miRNA의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화함으로써, 즉 중합체 내 아민(본 개시내용의 운반체) 대 항-miRNA 중 포스페이트(페이로드) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 중합체(운반체)와 항-miRNA(페이로드)의 혼합물을 3000 rpm에서 다중-볼텍스에 의해 90초 동안 격렬하게 혼합했고, 실온에서 30분 동안 유지시켜 미셀을 안정화시켰다.

[0553] 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634 nm 파장을 이용하여 Zeta-sizer로 측정했다. 항-miRNA 로딩된 미셀은 낮은 PDI 분포 하에 입자 크기가 60nm 미만이었고, 이는 복합체가 균질한 입자임을 시사했다. 분포의 피크는

32nm에서 나타났다.

[0554] 미셀(항-miR485-3p 저해제(서열번호 18) 농도 10μM)을 사용하기 전에 4℃에서 저장했다. MeO- 또는 Phe- 미셀은 동일한 방법을 사용하여 제조했고, 다른 양의 Phe-함유 미셀(25% 내지 75%)도 미셀 제조 동안 두 중합체를 혼합하여 제조했다.

[0555] **실시예 3**

[0556] **다중이온 복합체(PIC) 미셀 제조**

[0557] **ASO 페이로드**

[0558] 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위가 실시예 1에 기재된 바와 같이 생성된 즉시, 미셀을 생산했다. 본 실시예에 기재된 미셀은 ASO 페이로드와 조합된 양이온성 운반체 단위를 포함했다.

[0559] **(a) MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{58}$(화합물 A)에 의한 N 대 P 비율의 최적화**: 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{58}$ 및 ASO를 혼합시켜 제조했다. PEG_{5K}-PLL(NH_3^+/Cl^-)$_{58}$을 HEPES 완충액(10mM)에 2.5mg/mL(스톡 용액)로 용해시켰다. 적절한 N 대 P 비율 농도를 달성하기 위해 중합체 스톡 용액을 희석했다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 ASO 용액(22.5μM)을 ASO 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. 중합체와 ASO의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스에 의해 1분 동안 격렬하게 혼합하고, 실온에서 30분 동안 유지시켜 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. **도 5a** 참조.

[0560] **(b) MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{46}(Nic_{15})(화합물 B)에 의한 N 대 P 비율의 최적화**: 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{46}(Nic_{15})djl ASO를 혼합하여 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{46}(Nic_{15})를 HEPES 완충액(10mM)에 2.5mg/mL(스톡 용액)로 용해시켰다. 적절한 N 대 P 비율 농도를 달성하기 위해 중합체 스톡 용액을 희석했다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 ASO 용액(22.5μM)을 ASO 대 중합체의 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. 중합체와 ASO의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. **도 5b** 참조.

[0561] **(c) MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{30})(화합물 C)에 의한 N 대 P 비율의 최적화**: 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{30}) 및 ASO를 혼합하여 제조했다. MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{30})은 HEPES 완충액(10mM)에 2.5 mg/mL(스톡 용액)로 용해했다. 이 중합체 스톡 용액은 적절한 N 대 P 비율 농도를 달성하도록 희석했다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 ASO 용액(22.5μM)을 ASO 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. 중합체와 ASO의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. **도 5c** 참조.

[0562] **(d) ASO 및 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{23}/SH_8)(화합물 D)로 제형화된 미셀**: 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{23}/SH_8)과 ASO를 혼합하여 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{58}(Nic_{23}/SH_8)을 400mM DTT 용액(10mM HEPES 완충액 중)에 2.5 mg/mL(스톡 용액)로 용해했다. 10mM의 HEPES 완충액을 사용하여 적절한 N 대 P 비율 농도를 달성하도록 중합체 스톡 용액을 희석했다. 중합체 용액을 교반하면서 30분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 ASO 용액(22.5μM)을 ASO 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. 중합체 대 siRNA의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N) 및 ASO 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정되었다. 최적의 N 대 P 비율은 1.4였다. 중합체와 siRNA의 혼합물은 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. **도 5d** 참조.

[0563] **(e) ASO 및 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15})(화합물 I)로 제형화된 미셀**: 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15})와 ASO를 혼합하여 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15})는 200mM DTT 용액(10mM HEPES 완충액 중)에 0.78 mg/mL로 용해시켰다. 중합체 용액을 교반하면서 30분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 ASO 용액(22.5μM)을 ASO 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대

한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)과 ASO 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 최적의 N 대 P 비율은 1.4였다. 중합체와 siRNA의 혼합물은 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(ASO 농도 15μM)은 사용하기 전에 4℃에서 보관했다. 도 5e 참조.

[0564] **실시예 4**

[0565] **미셀을 이용한 miR-485 저해제의 뇌로의 전달**

[0566] 본원에 개시된 미셀에서 miR-485 저해제의 전달을 추가로 평가하기 위해, SIRT1, PGC-1α 및 CD36의 발현은 miR-485 저해제를 함유하는 미셀(실시예 2 참조)의 단일 투여량(100 μg/마우스; 5 mg/kg)을 KOATECH(한국)에서 구입한 야생형 수컷 Crl:CD1(ICR) 마우스에 투여(뇌실내 투여를 통해)한 후 시험했다. SIRT1, PGC-1α 및 CD36은 miR-485 저해제에 의해 상향 조절되는 것으로 가정되었다. 대조군 동물은 miR 대조군을 투여 받았다. 투여 후 다양한 시점에서 동물을 희생시켰고, SIRT1, PGC-1α 및 CD36의 발현 수준을 웨스턴 블롯을 사용하여 뇌의 피질 및 해마 영역 모두에서 평가했다.

[0567] **도 6**, **7**, 및 **8**에 도시된 바와 같이, miR-485 저해제를 함유하는 미셀의 단일 투여는 피질 및 해마 모두에서 SIRT1, PGC-1α 및 CD36 발현을 급격히 증가시켰다. SIRT1의 경우, 피크 발현은 투여 후 약 48시간에 피질에서(대조 동물의 발현에 비해 대략 300% 증가) 및 투여 후 약 24시간에 해마에서(대조군에 비해 대략 150% 증가) 관찰되었다(각각 **도 6** 및 **7** 참조). PGC-1 α에 대한 피크 발현은 또한 피질에서 투여 후 약 48시간(대조군에 비해 약 100% 증가) 및 해마에서 투여 후 약 24시간(대조군에 비해 약 50% 증가)에도 관찰되었다. CD36에 대해서도 유사한 결과가 관찰되었다(**도 8** 참조).

[0568] **실시예 5**

[0569] **다중이온 복합체(PIC) 미셀 제조**

[0570] **siRNA 페이로드**

[0571] 본 개시내용의 양이온성 운반체 단위가 실시예 1에 기술된 바와 같이 생성되면, 미셀을 생산했다. 본 실시예에 기재된 미셀은 siRNA 페이로드와 조합된 양이온성 운반체 단위를 포함했다.

[0572] **siRNA 및 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{11})(화합물 H)로 제형화된 미셀:** 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{11}) 및 siRNA를 혼합하여 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{15}/SH_6)은 200mM DTT 용액(10mM HEPES 완충액 중)에 1 mg/mL로 용해시켰다. 중합체 용액을 교반하면서 30분 동안 인큐베이션했다. RNase가 없는 물 중 siRNA 용액(15μM)을 siRNA 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)와 siRNA 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 최적의 N 대 P 비율은 1.6이었다. 중합체와 siRNA의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(10 μM의 siRNA 농도)은 사용하기 전에 4℃에서 저장했다.

[0573] **siRNA 및 PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15})(화합물 I)로 제형화된 미셀**: MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{30}/SH_{15}) 및 siRNA를 혼합하여 나노 크기의 PIC 미셀을 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{22}/SH_6)을 200mM DTT 용액(10mM의 HEPES 완충액 중)에 0.87 mg/mL로 용해시켰다. 중합체 용액을 교반하면서 30분 동안 인큐베이션했다. RNase가 없는 물 중 siRNA 용액(15μM)을 siRNA 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)과 siRNA 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 최적의 N 대 P 비율은 1.0이었다. 중합체와 siRNA의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(10 μM의 siRNA 농도)은 사용하기 전에 4℃에서 저장했다.

[0574] **실시예 6**

[0575] **다중이온 복합체(PIC) 미셀 제조**

[0576] **siRNA-콜레스테롤 페이로드**

[0577] **siRNA-콜레스테롤 및 PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{14}/SH_6)(화합물 E)로 제형화된 미셀**: MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{15}/SH_6) 및 siRNA를 혼합하여 나노 크기의 PIC 미셀을 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{15}/SH_6)을 200mM DTT 용액(10mM HEPES 완충액 중)에 0.63 mg/mL로 용해시켰다. 그리고 중합체 용액을 교반하면서 30분 동안 인큐베이션했다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 siRNA 용액(15μM)을 siRNA 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)와 siRNA 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 최적의 N 대 P 비율은 1.6이었다. 중합체와 siRNA의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(10 μM의 siRNA 농도)은 사용하기 전에 4℃에서 저장했다.

[0578] **siRNA-콜레스테롤 및 PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{22}/SH_6)(화합물 F)로 제형화된 미셀**: MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{22}/SH_6) 및 siRNA를 혼합하여 나노 크기의 PIC 미셀을 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{22}/SH_6)을 200mM DTT 용액(10mM의 HEPES 완충액 중)에 0.74 mg/mL로 용해시켰다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 siRNA 용액(15μM)을 siRNA 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)와 siRNA 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 최적의 N 대 P 비율은 1.6이었다. 중합체와 siRNA의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(10 μM의 siRNA 농도)은 사용하기 전에 4℃에서 저장했다.

[0579] **siRNA-콜레스테롤 및 PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{28}/SH_7)(화합물 G)로 제형화된 미셀**: 나노 크기의 PIC 미셀은 MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{28}/SH_7)과 siRNA를 혼합하여 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{28}/SH_7)을 200mM DTT 용액(10mM HEPES 완충액 중)에 0.89mg/mL로 용해시켰다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 siRNA 용액(15μM)을 siRNA 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)와 siRNA 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정되었다. 최적의 N 대 P 비율은 1.6이었다. 중합체와 siRNA의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(10 μM의 siRNA 농도)은 사용하기 전에 4℃에서 저장했다.

[0580] **siRNA-콜레스테롤 및 PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{10})(화합물 H)로 제형화된 미셀**: MeO- 또는 Phe-PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{10})와 siRNA를 혼합하여 나노 크기의 PIC 미셀을 제조했다. PEG_{5K}-PLL_{80}(Nic_{31}/SH_{10})을 200mM DTT 용액(10mM HEPES 완충액 중)에 1.03 mg/mL로 용해시켰다. 그런 다음, RNase가 없는 물 중 siRNA 용액(15μM)을 siRNA 대 중합체 2:1(v/v) 비율로 중합체 용액과 혼합했다. siRNA에 대한 중합체의 혼합 비율은 미셀 형성 조건을 최적화하여, 즉 중합체 중 아민(N)와 siRNA 중 포스페이트(P) 사이의 비율을 최적화함으로써 결정했다. 최적의 N 대 P 비율은 1.6이었다. 중합체와 siRNA의 혼합물을 3000 rpm에서 멀티-볼텍스로 1분 동안 격렬하게 혼합하고 실온에서 30분 동안 유지하여 미셀을 안정화시켰다. 입자 크기 분포 및 산란광 강도(SLI)는 634nm 파장으로 Zeta-sizer로 측정했다. 미셀(10 μM의 siRNA 농도)은 사용하기 전에 4℃에서 저장했다.

[0581] **실시예 7**

[0582] **시험관내 세포독성**

[0583] **세포 배양**: GL261 Red-FLuc 세포는 37℃ 가습 5% CO2 인큐베이터에서 10% FBS 및 항생제(스트렙토마이신 100 μg/mL 및 페니실린 100U/mL, Gibco, 미국)가 보충된 둘베코 변형 이글 배지(DMEM, Gibco, 미국)에서 인큐베이션했다.

[0584] **세포 세포독성**: 웰당 10,000개 세포 밀도의 세포를 96-웰 플레이트에 파종하고 처리 전에 24시간 동안 성장시켰다. 세포를 미셀을 함유하는 siLuc로 처리하고 48시간 동안 성장시켰다. 세포 생존력은 세포 계수 키트-8(CCK-8) 검정을 사용하여 결정했다. CCK-8 용액(웰당 10ul)은 세포에 첨가하고 1시간 동안 인큐베이션했다. 450nm 파장에서 마이크로플레이트 판독기(ELISA)로 흡광도를 결정했다.

[0585] 결과: siRNA 로딩된 미셀의 세포독성은 GL261 Red-Fluc 세포 및 세포 생존력 검정을 사용하여 평가했다. 96-플레이트에 세포를 파종한 후, 다양한 농도의 siRNA 로딩된 미셀(10nM 내지 1000nM의 siRNA 농도)을 플레이트에 첨가했다. 대조군으로 PBS 또는 H_2O_2도 세포에 별도로 첨가했다. 그 결과 H_2O_2 처리군에서는 낮은 세포 생존력을

보인 반면, 미셀 처리군에서는 특히 높은 미셀 농도에서도 세포사멸이 관찰되지 않았다. 이 결과는 siRNA가 로딩된 미셀이 10nM과 1000nM 사이의 siRNA 농도 범위에서 세포독성이 없음을 시사했다. **도 19** 참조.

[0586] **실시예 8**

[0587] **시험관내 mRNA 녹다운 루시퍼라제(KD-Luc) 검정**

[0588] **세포 배양**: GL261 Red-FLuc 세포를 37℃, 가습된 5% CO2 인큐베이터에서 10% FBS 및 항생제(스트렙토마이신 100㎍/mL 및 페니실린 100U/mL, Gibco, 미국)가 보충된 둘베코 변형 이글 배지(DMEM, Gibco, 미국)에서 인큐베이션했다.

[0589] **시험관내 생물발광 이미징(BLI)**: 루시퍼라제 활성을 측정하기 위해, GL261_Luc 세포($1x10^4$/웰)를 96-웰 플레이트에 플레이팅했다. 세포를 상이한 농도의 미셀을 함유하는 siLuc로 처리했다. 48시간 배양 후, 세포를 PBS로 3회 세척했다. D-루시페린은 15 ug/ml의 최종 농도로 배양 배지에 첨가했다. 5분 인큐베이션 후, IVIS® Lumina LT 시리즈 III(Caliper) 이미저를 사용하여 발광 이미지의 광자 수를 수득했다. Living Image 소프트웨어(버전 2.6)를 사용하여 데이터를 분석했다.

[0590] **결과**: siRNA 로딩된 미셀의 시험관내 mRNA 녹다운은 루시퍼라제 검정을 사용하여 평가했다. 세포는 96-웰 플레이트에 파종하고 상이한 농도의 siRNA 로딩된 미셀을 각 웰에 첨가했다. 5분 인큐베이션 후, 세포의 발광 강도를 IVIS®로 측정했다. 세포의 발광 강도는 더 높은 농도의 siRNA 로드 미셀이 사용될수록 감소했다. **도 20a-20b** 참조.

[0591] 발명의 내용 및 요약서 섹션이 아닌, 상세한 설명 섹션은 청구항을 해석하는데 사용되도록 의도된 것임이 이해되어야 한다. 발명의 내용 및 요약서 섹션은 발명자(들)가 고려한 본 개시내용의 모든 것은 아니지만 하나 이상의 예시적 측면을 설명할 수 있으며, 따라서 어떤 방식으로든 본 개시내용 및 첨부된 청구범위를 제한하려고 의도된 것이 아니다.

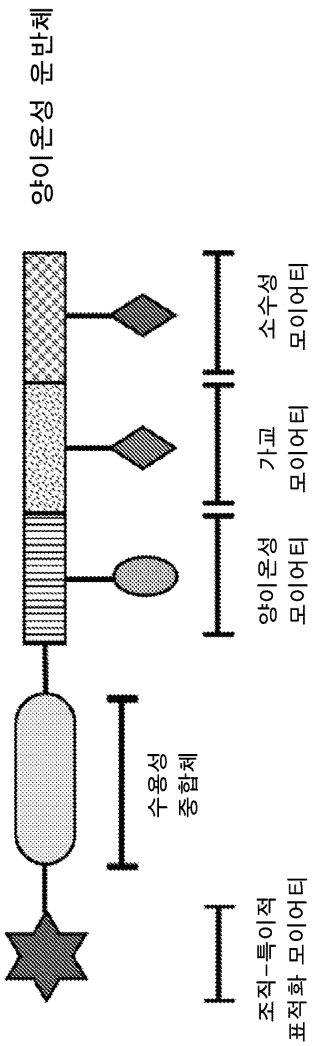
[0592] 이상 본 개시내용은 특정 기능 및 그 관계의 구현을 예시하는 기능적 빌딩 블록의 도움을 받아 기술되었다. 이러한 기능적 빌딩 블록의 경계는 설명의 편의를 위해 본원에 임의적으로 정의되었다. 특정된 기능 및 이의 관계가 적절하게 수행되는 한 대체 경계가 정의될 수 있다.

[0593] 특정 실시양태에 대한 전술한 설명은 다른 사람들이 과도한 실험 없이, 본 개시내용의 일반 개념에서 벗어남이 없이 그러한 특정 실시양태를 다양한 적용예에 쉽게 수정 및/또는 개조할 수 있도록 본 개시내용의 일반 특성을 충분히 드러낼 것이다. 따라서, 그러한 개조 및 수정은 본원에 제시된 교시 및 지침에 기초하여 개시된 실시양태의 등가물의 의미 및 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 본원의 어구학 또는 용어론은 설명을 위한 것이며 제한이 아닌 것으로 이해되어야 하며, 따라서 본 명세서의 용어론 또는 어구학은 교시 및 지침에 비추어 숙련된 기술자에 의해 해석되어야 한다.

[0594] 본 발명의 폭 및 범위는 임의의 전술한 예시적인 실시양태에 의해 제한되어서는 안 되며, 다음 청구범위 및 그 등가물에 따라서만 정의되어야 한다.

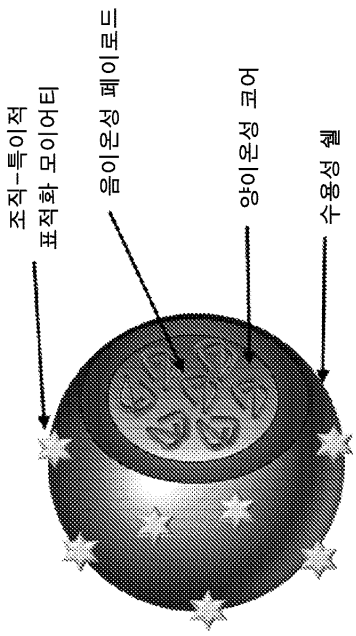
도면

도면1a

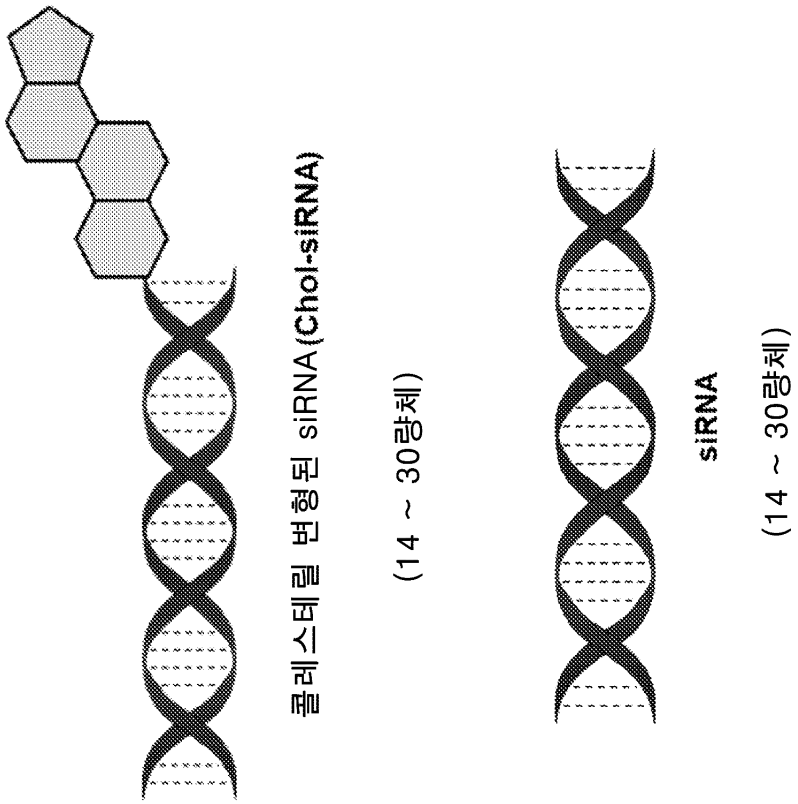


도면1b

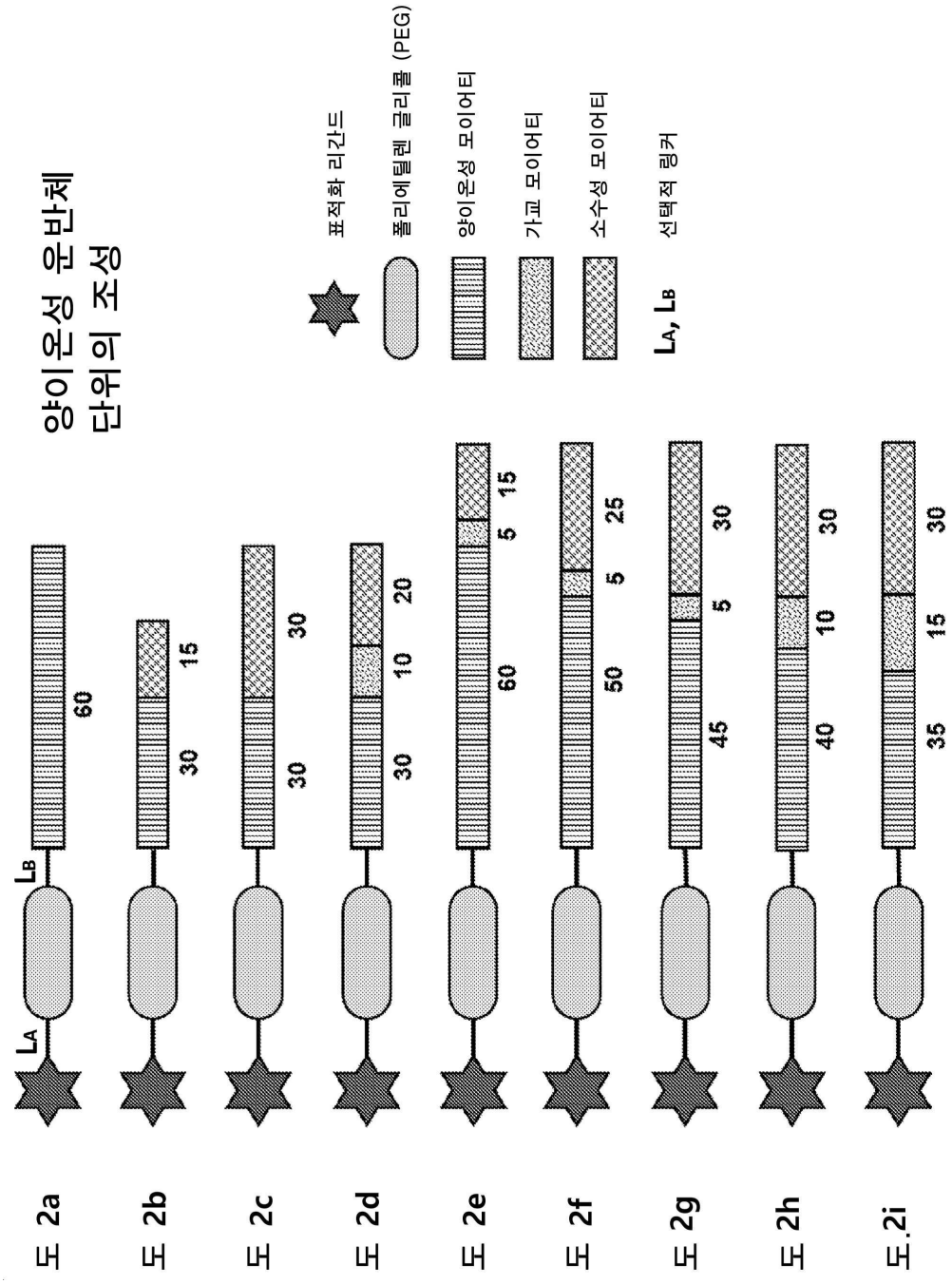
도면1c



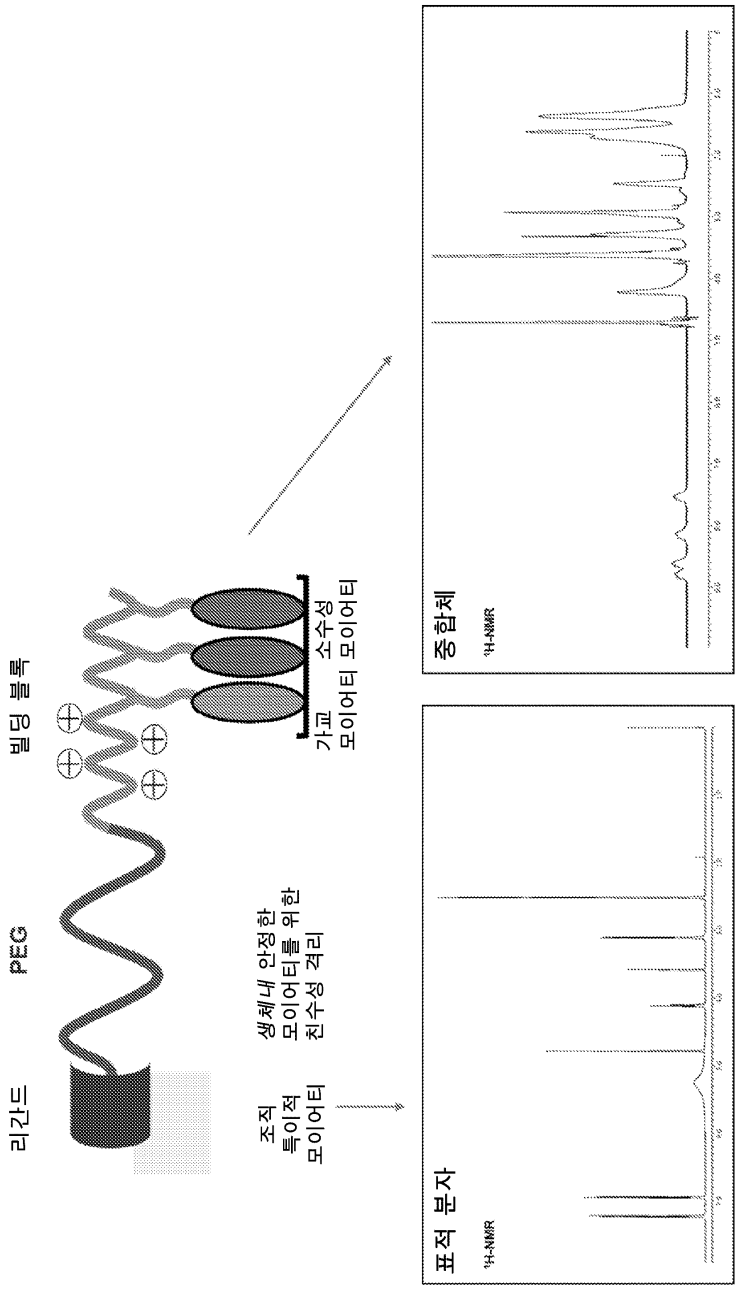
도면1d



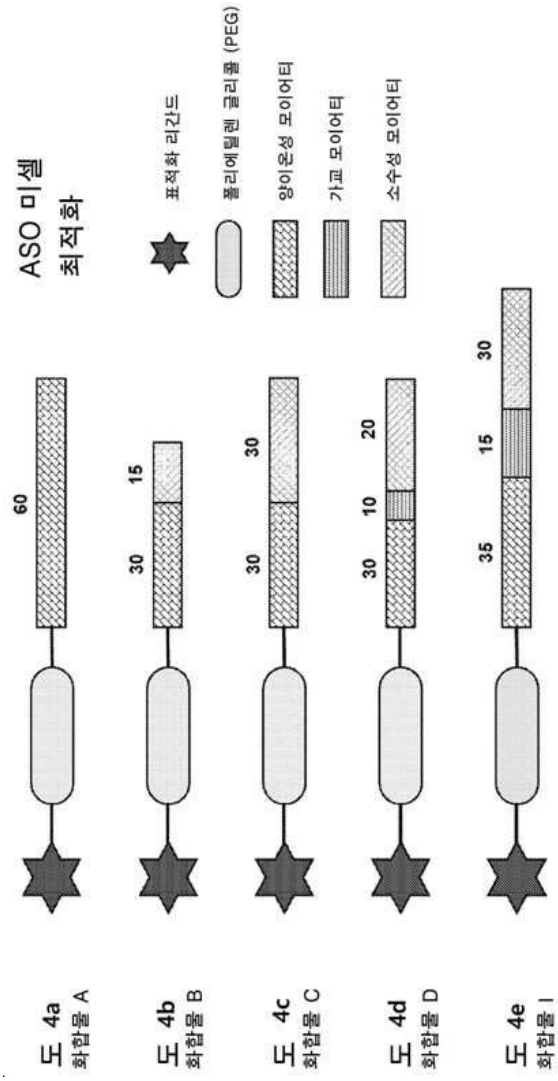
도면2


양이온성 운반체
단위의 조성
표적화 리간드
폴리에틸렌 글리콜 (PEG)
양이온성 모이어티
가교 모이어티
소수성 모이어티
선택적 링커
LA, LB
LA
LB
60
30
15
30
30
30
10
20
30
60
5
15
50
5
25
45
5
30
40
10
30
35
15
30
도 2a
도 2b
도 2c
도 2d
도 2e
도 2f
도 2g
도 2h
도 2i

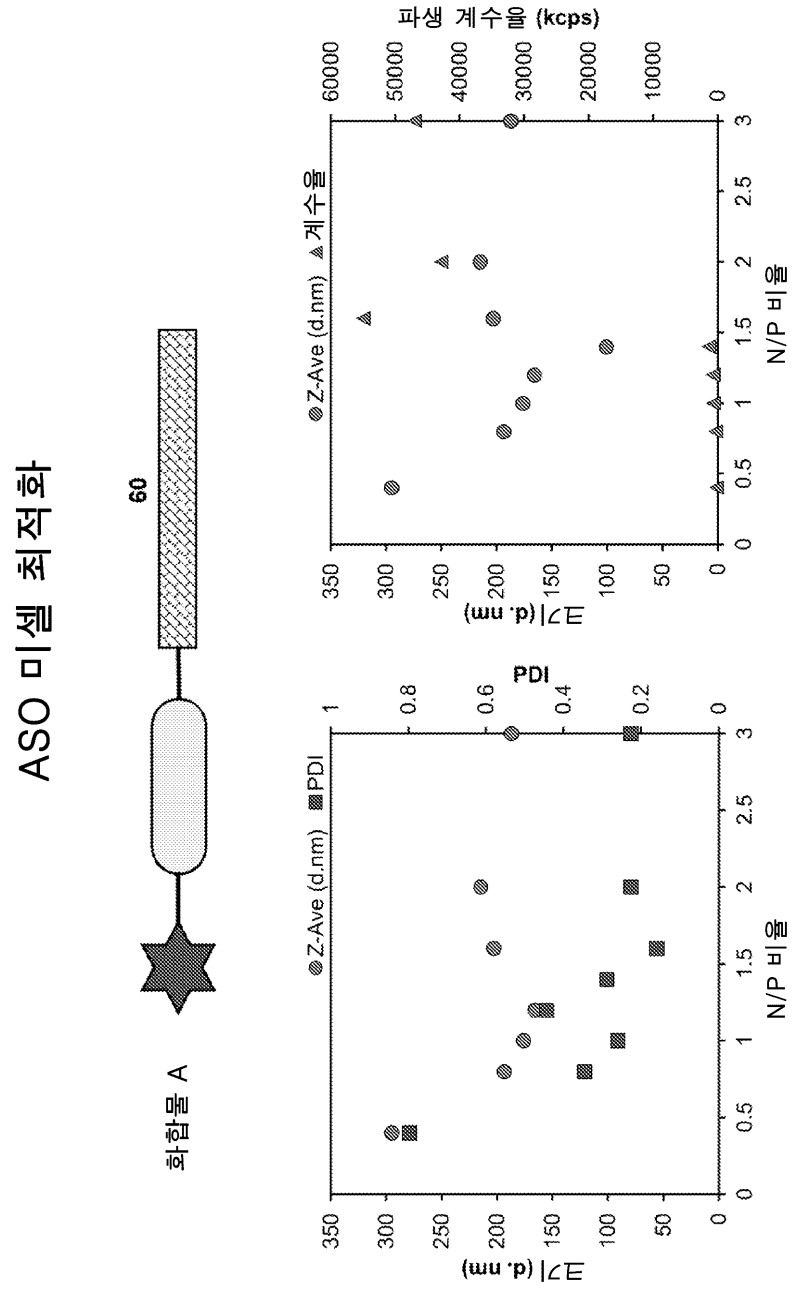
도면3


리간드
PEG
빌딩 블록
조직 특이적 모이어티
생체내 안정한 모이어티를 위한 친수성 격리
가교 모이어티
소수성 모이어티
표적 분자
중합체

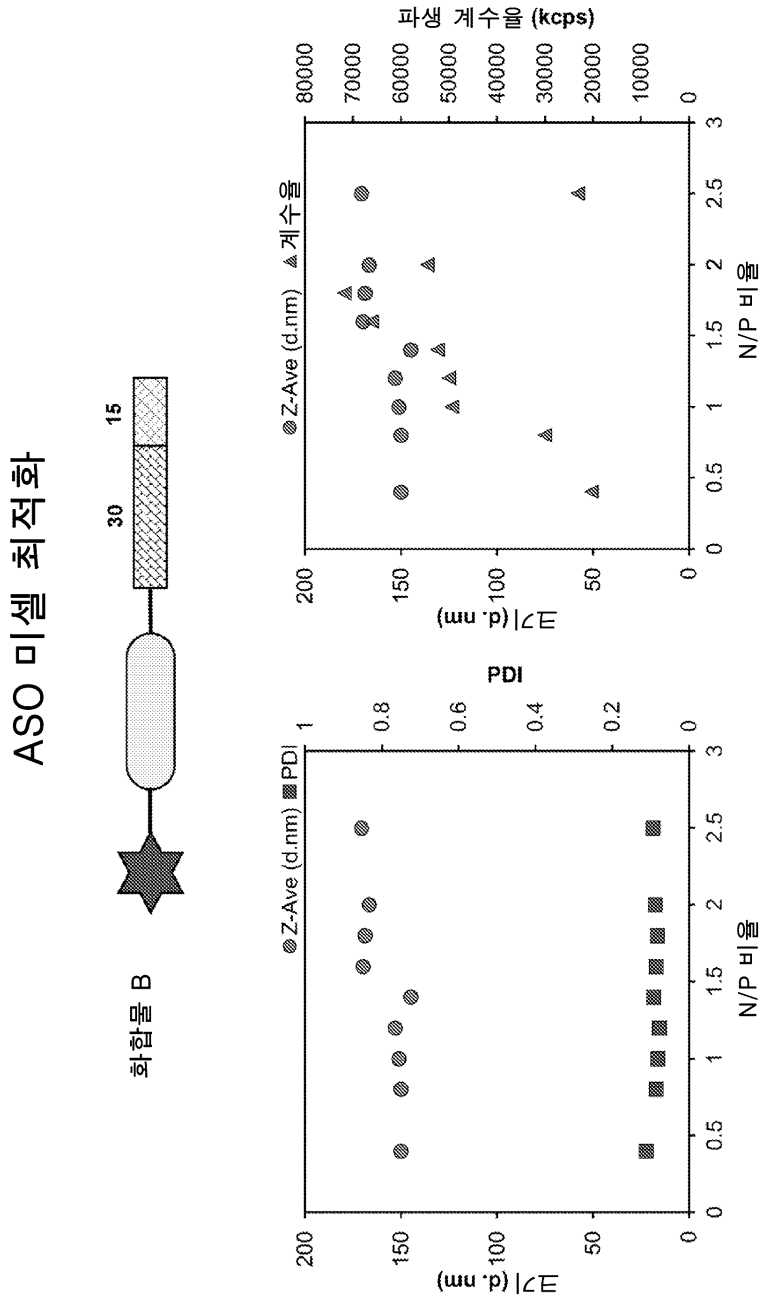
도면4


ASO 미셀
최적화
표적화 리간드
폴리에틸렌 글리콜 (PEG)
양이온성 모이어티
가교 모이어티
소수성 모이어티
60
30 15
30 30
30 10 20
35 15 30
도 4a
화합물 A
도 4b
화합물 B
도 4c
화합물 C
도 4d
화합물 D
도 4e
화합물 I

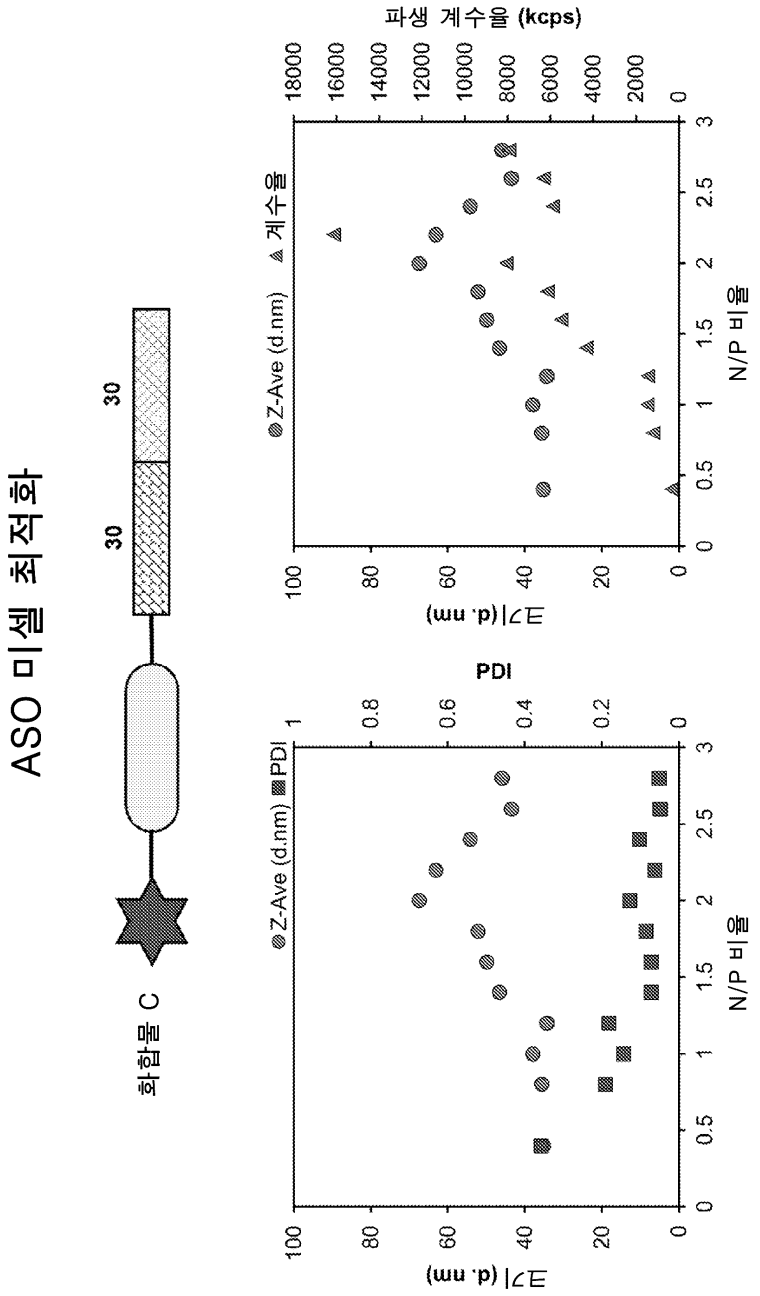
도면5a


ASO 미셀 최적화
60
화합물 A
Z-Ave (d.nm)
PDI
N/P 비율
Z-Ave (d.nm)
계수율
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율

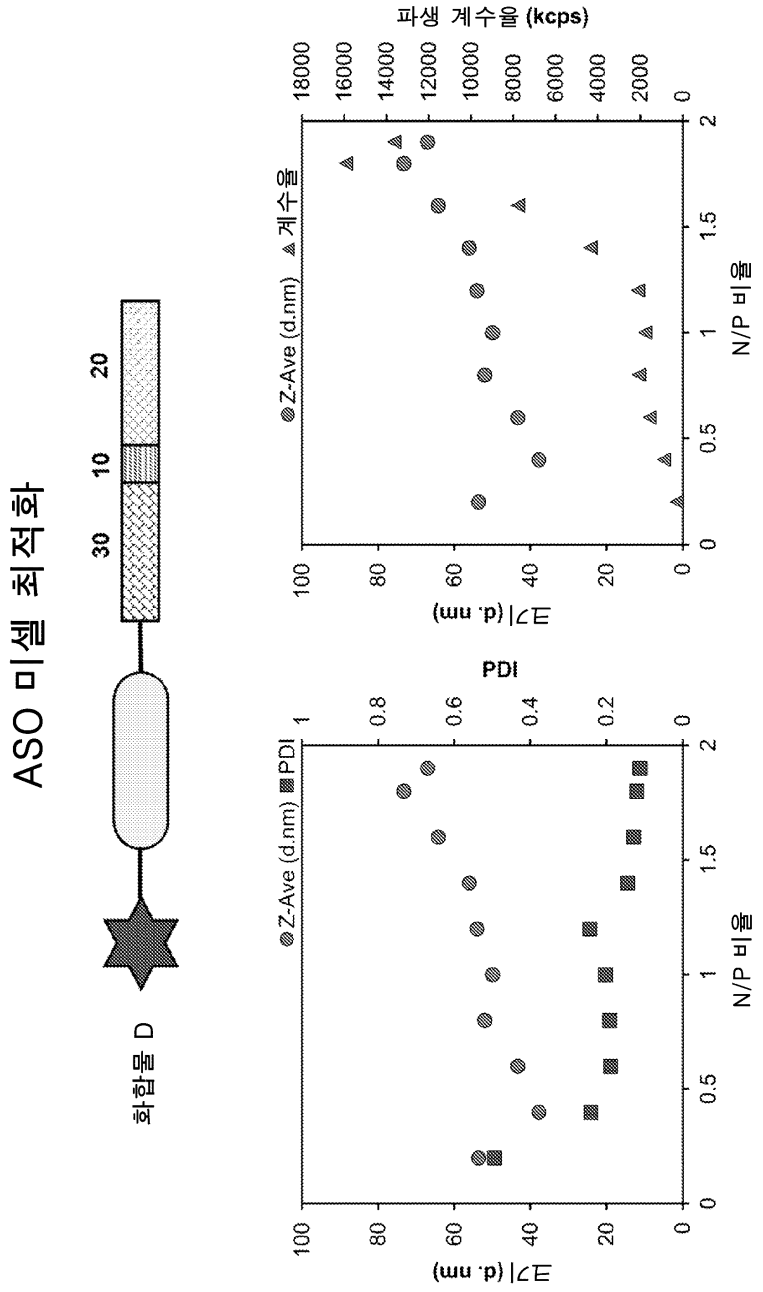
도면5b


ASO 미셀 최적화
화합물 B
30
15
Z-Ave (d.nm)
PDI
N/P 비율
Z-Ave (d.nm)
계수율
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율

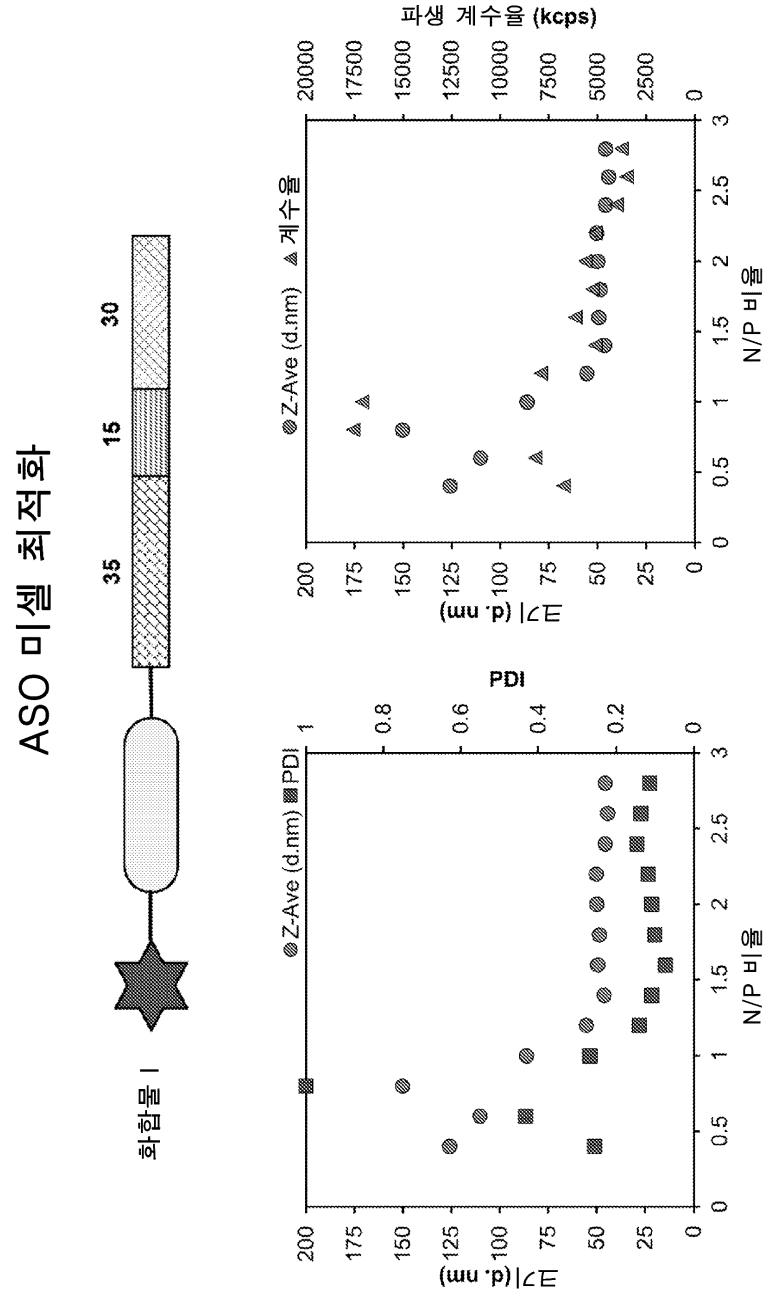
도면5c



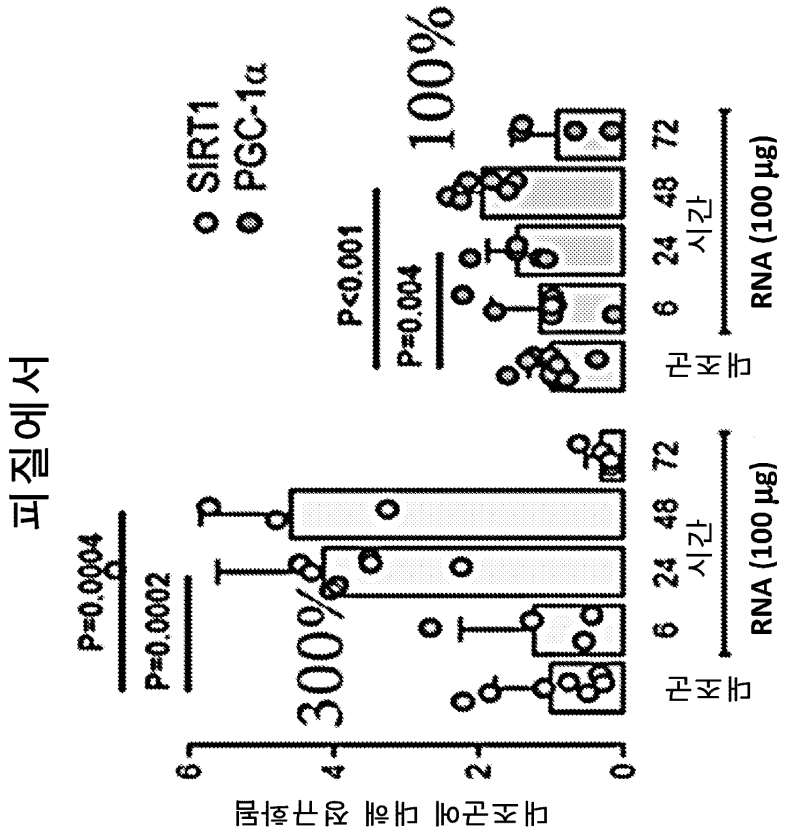
도면5d


ASO 미셀 최적화
30
10
20
화합물 D
Z-Ave (d.nm)
PDI
N/P 비율
Z-Ave (d.nm)
계수율
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율

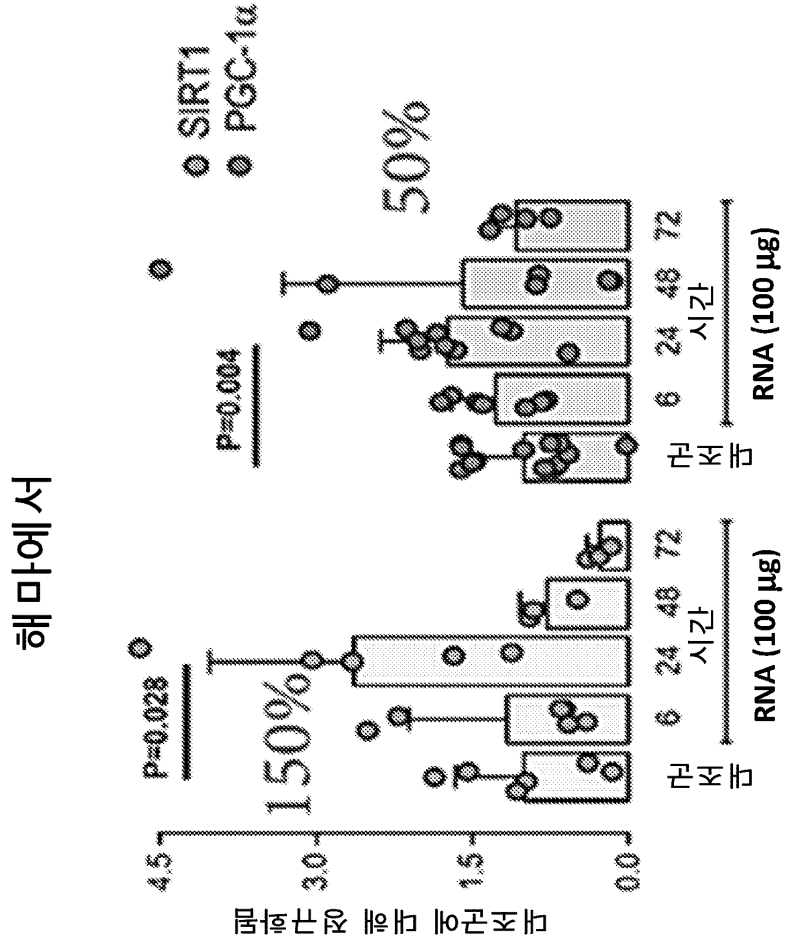
도면5e


ASO 미셀 최적화
35
15
30
화합물 I
Z-Ave (d.nm)
PDI
N/P 비율
Z-Ave (d.nm)
계수율
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율

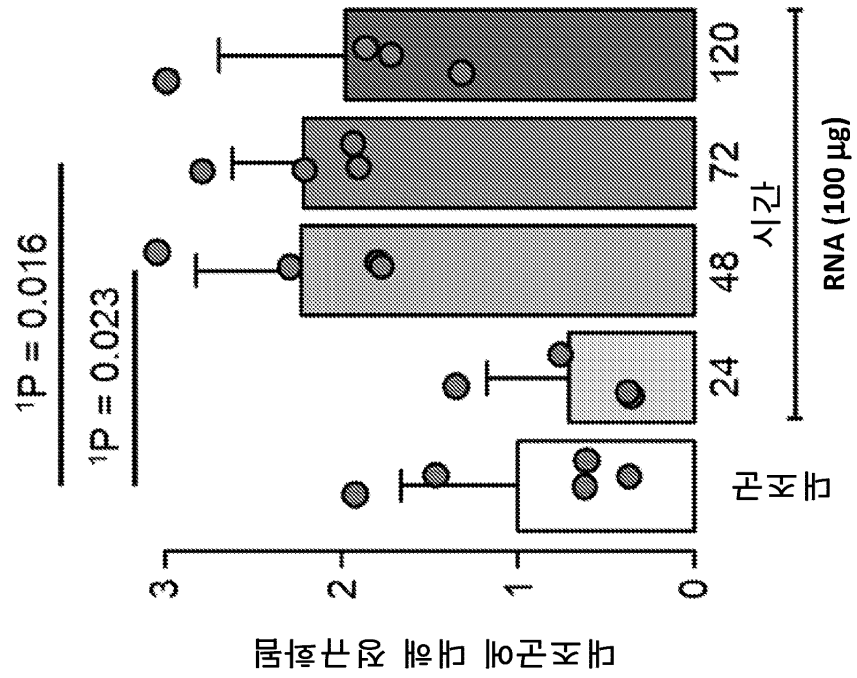
도면6


피질에서
SIRT1
PGC-1α
P=0.0004
P=0.0002
300%
P<0.001
P=0.004
100%
대조군에 대해 정규화됨
6
24
48
72
시간
대조군
RNA (100 μg)

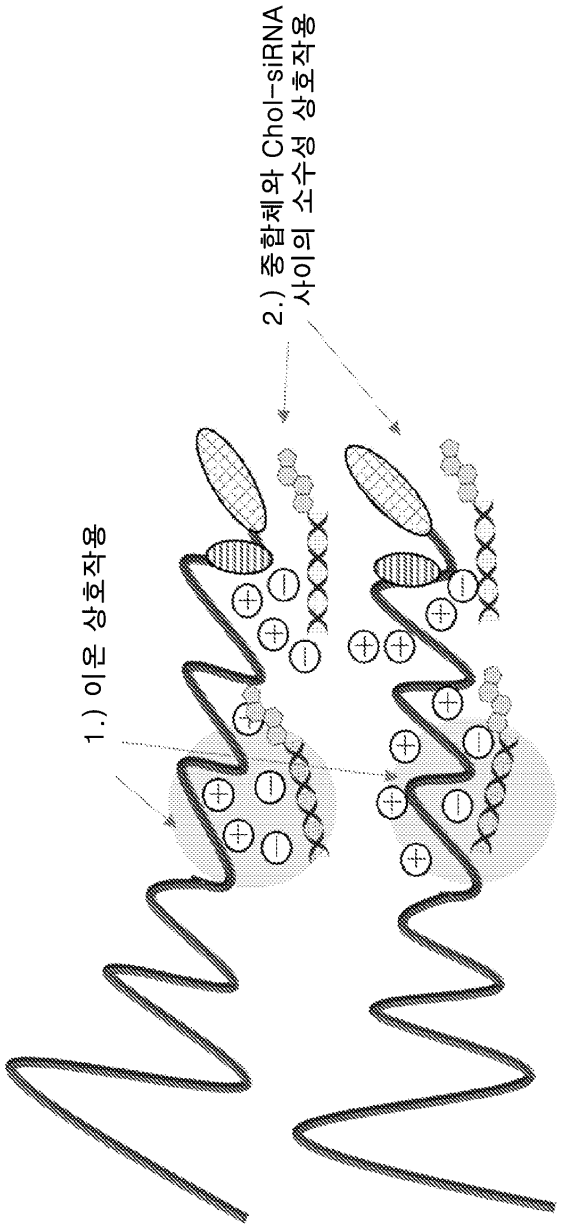
도면7


해마에서
SIRT1
PGC-1α
P=0.004
50%
P=0.028
150%
대조군
6 24 48 72
시간
RNA (100 μg)
대조군에 대해 정규화됨
4.5
3.0
1.5
0.0

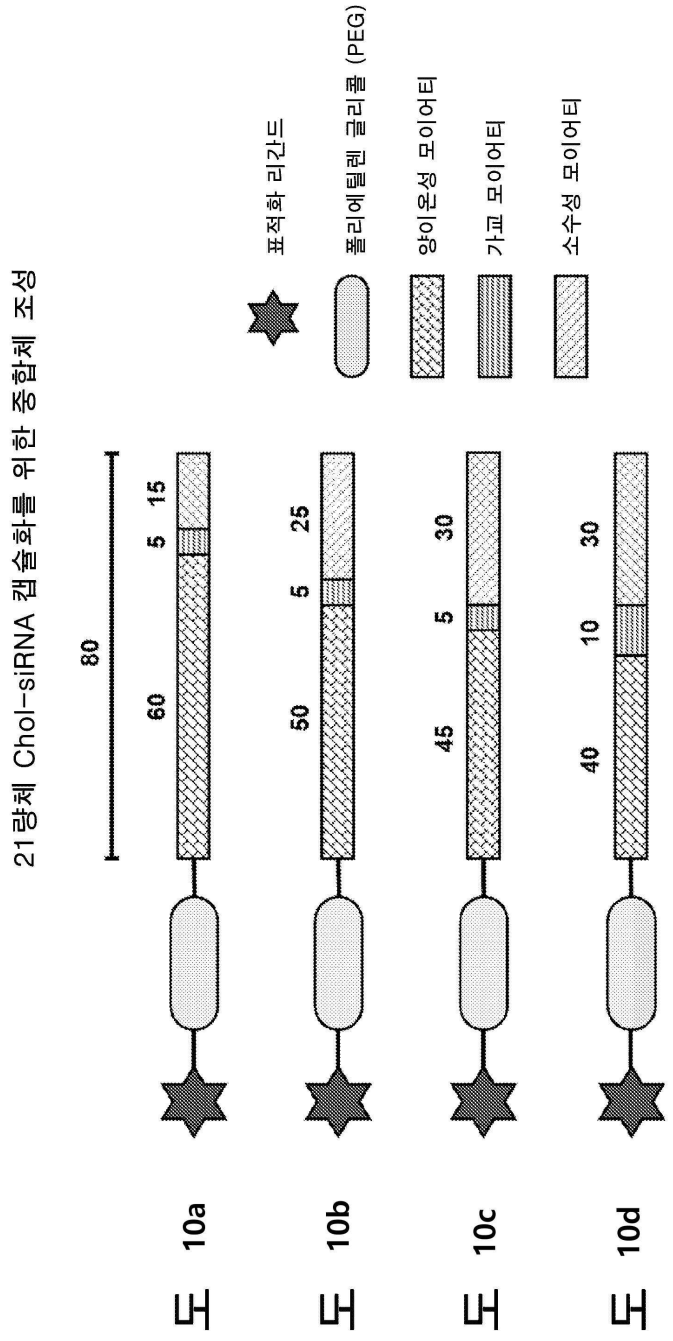
도면8


1P = 0.016
1P = 0.023
대조군
24 48 72 120
시간
RNA (100 μg)
대조군에 대해 정규화됨
3
2
1
0

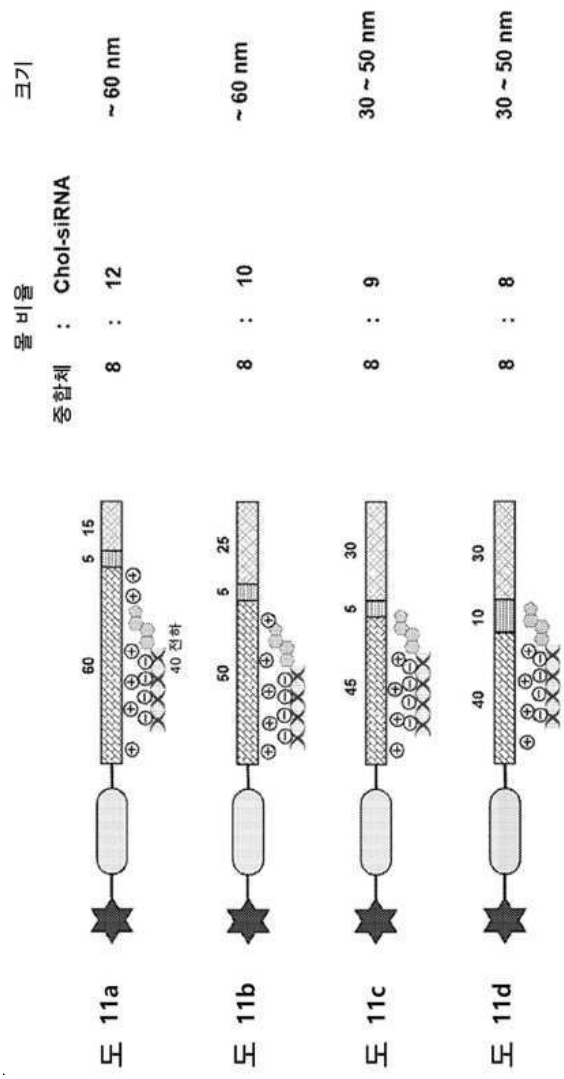
도면9



도면10


21량체 Chol-siRNA 캡슐화를 위한 중합체 조성
표적화 리간드
폴리에틸렌 글리콜 (PEG)
양이온성 모이어티
가교 모이어티
소수성 모이어티
80
60
5
15
50
5
25
45
5
30
40
10
30
도 10a
도 10b
도 10c
도 10d

도면11

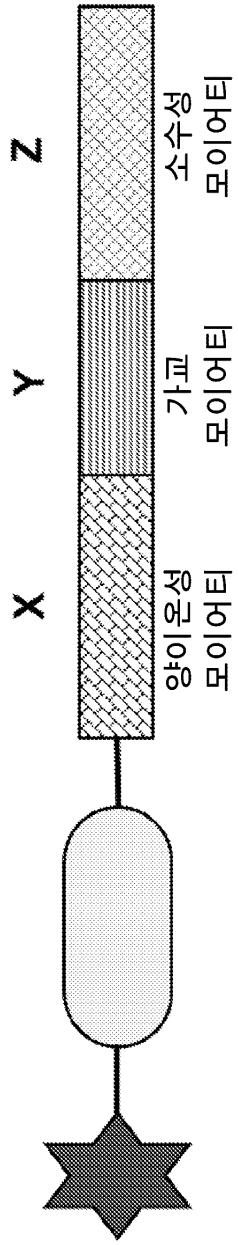


도 11a 도 11b 도 11c 도 11d

도면12

DP	양이온성 모이어티	가교 모이어티	소수성 모이어티	캡슐화 효율	소수성 상호작용
80	60	5	15	←	→
80	50	5	25		
80	45	5	30		
80	40	10	30		

도면13



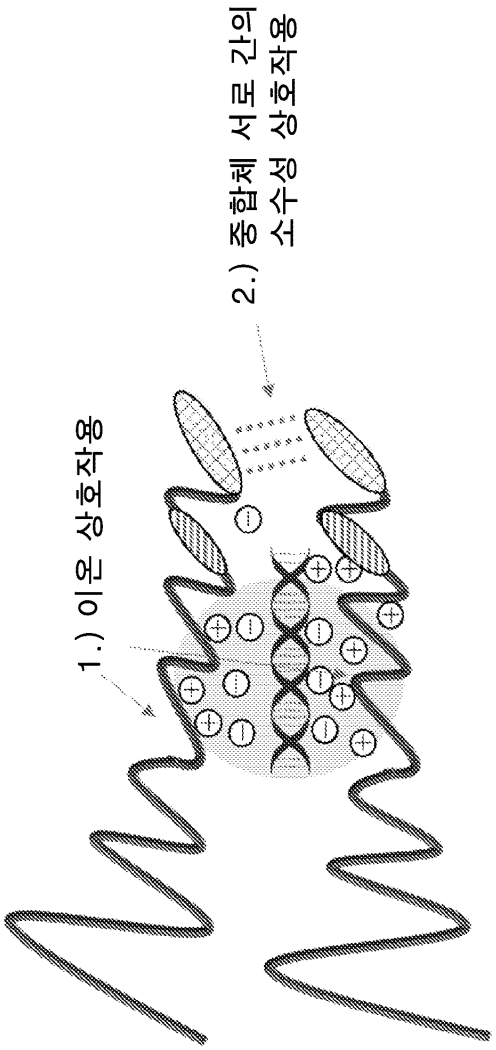
$30 \leq X + Y + Z$

X = Chol-siRNA 중 전하의 수,

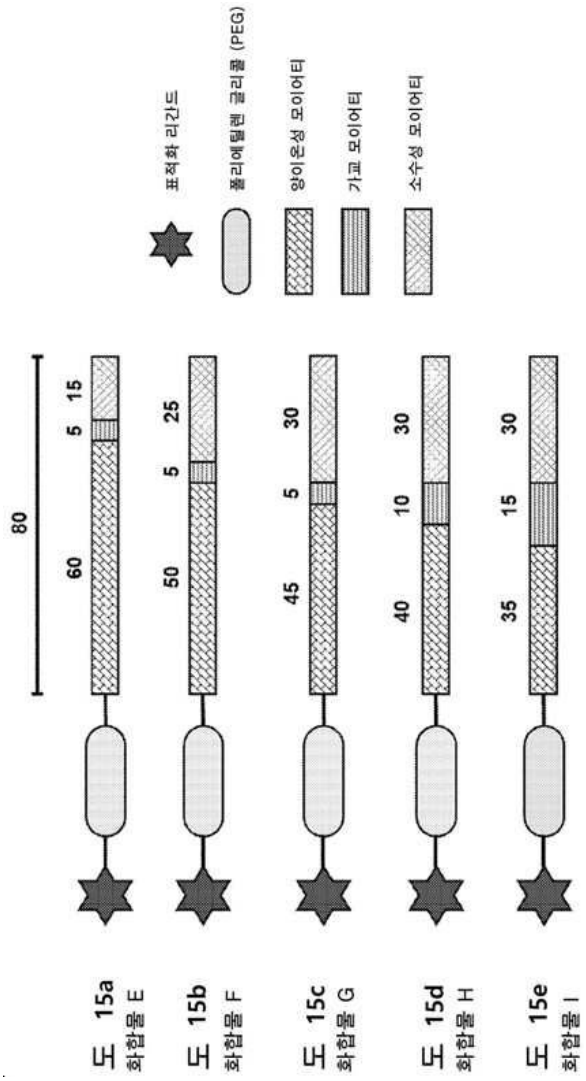
$Y \geq 1$,

Y : Z = 1:3

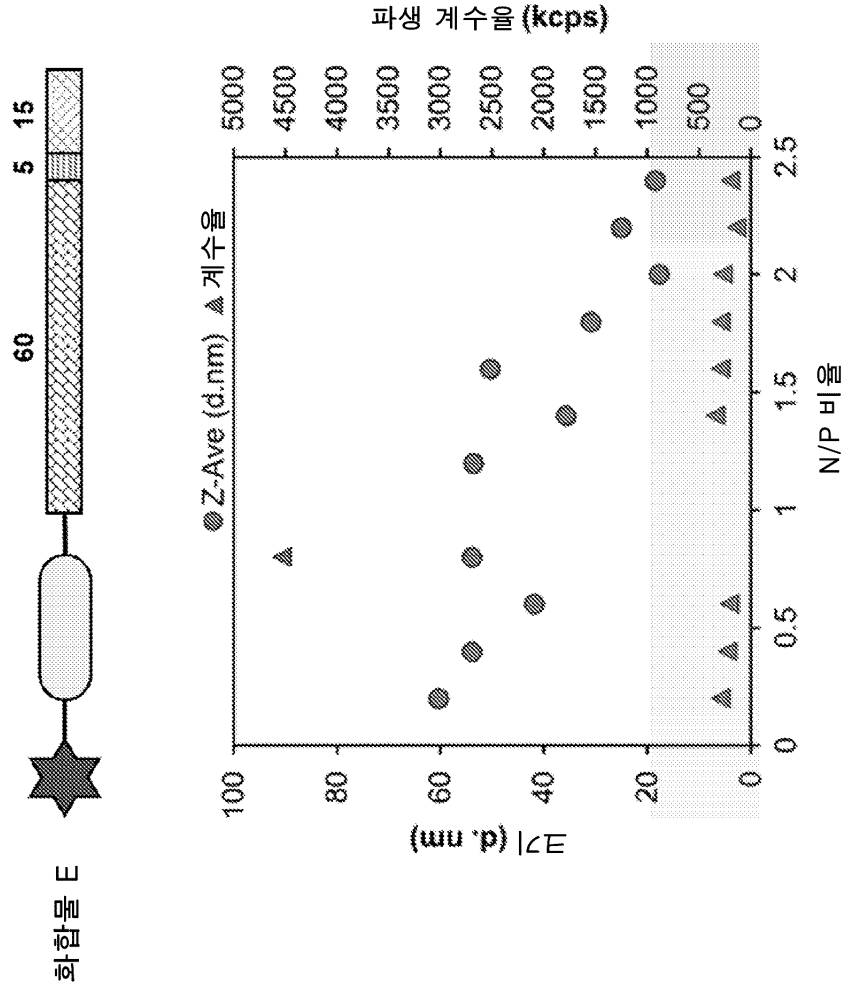
도면14



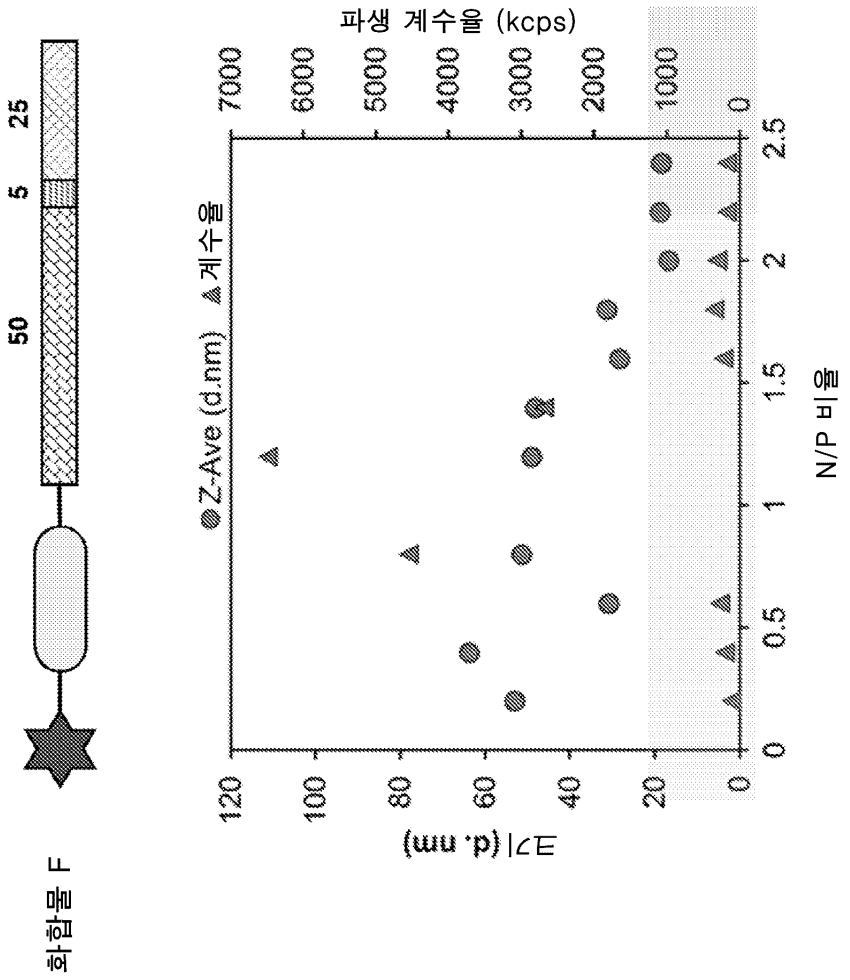
도면15


표적화 리간드
폴리에틸렌 글리콜 (PEG)
양이온성 모이어티
기교 모이어티
소수성 모이어티
80
60
5
15
50
5
25
45
5
30
40
10
30
35
15
30
도 15a
화합물 E
도 15b
화합물 F
도 15c
화합물 G
도 15d
화합물 H
도 15e
화합물 I

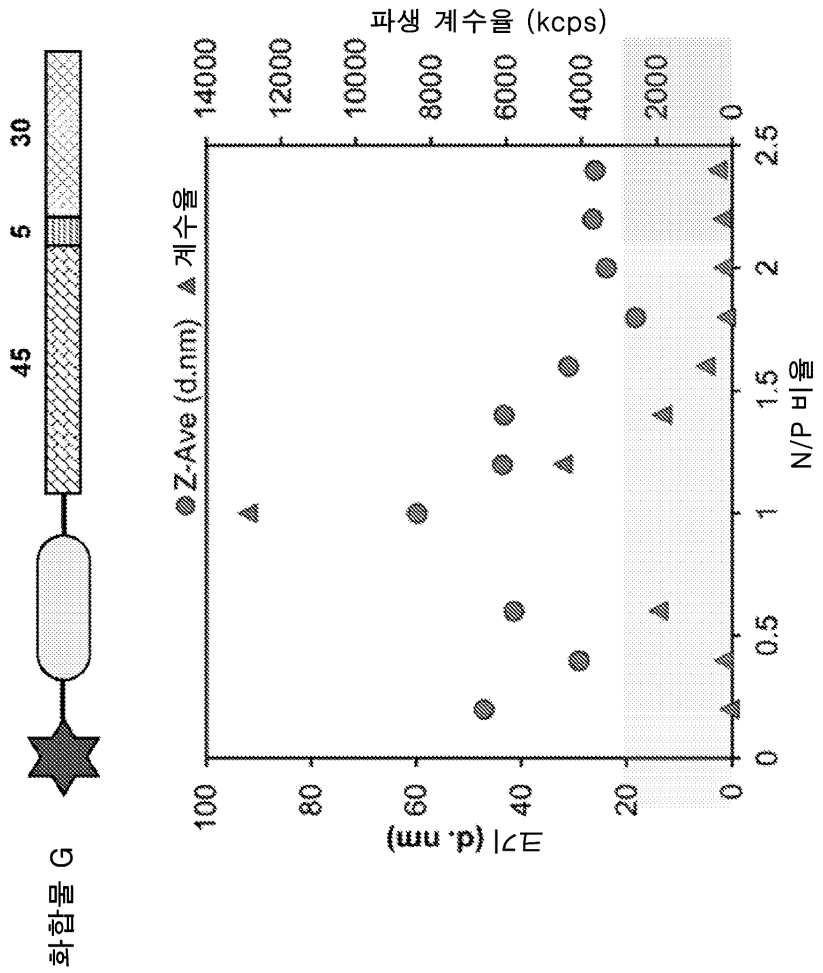
도면16a


화합물 E
60
5
15
Z-Ave (d.nm)
계수율
크기 (d. nm)
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율
100
80
60
40
20
0
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
0.5
1
1.5
2
2.5

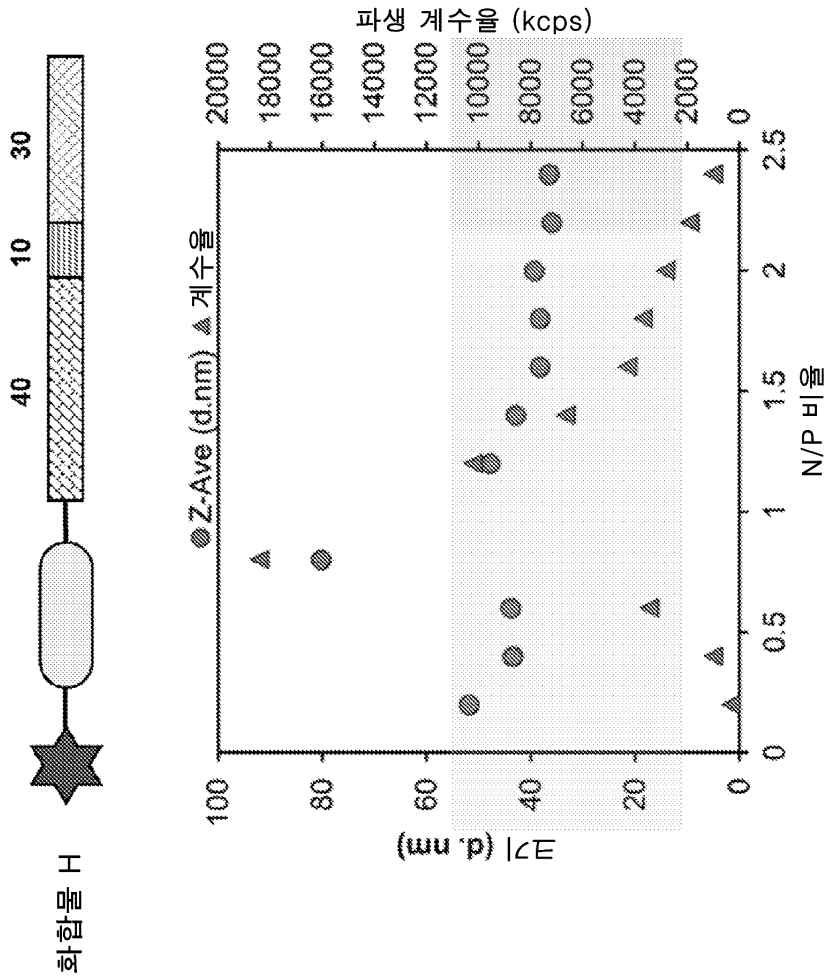
도면16b


화합물 F
50
5
25
Z-Ave (d.nm)
계수율
크기 (d. nm)
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율
120
100
80
60
40
20
0
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
0.5
1
1.5
2
2.5

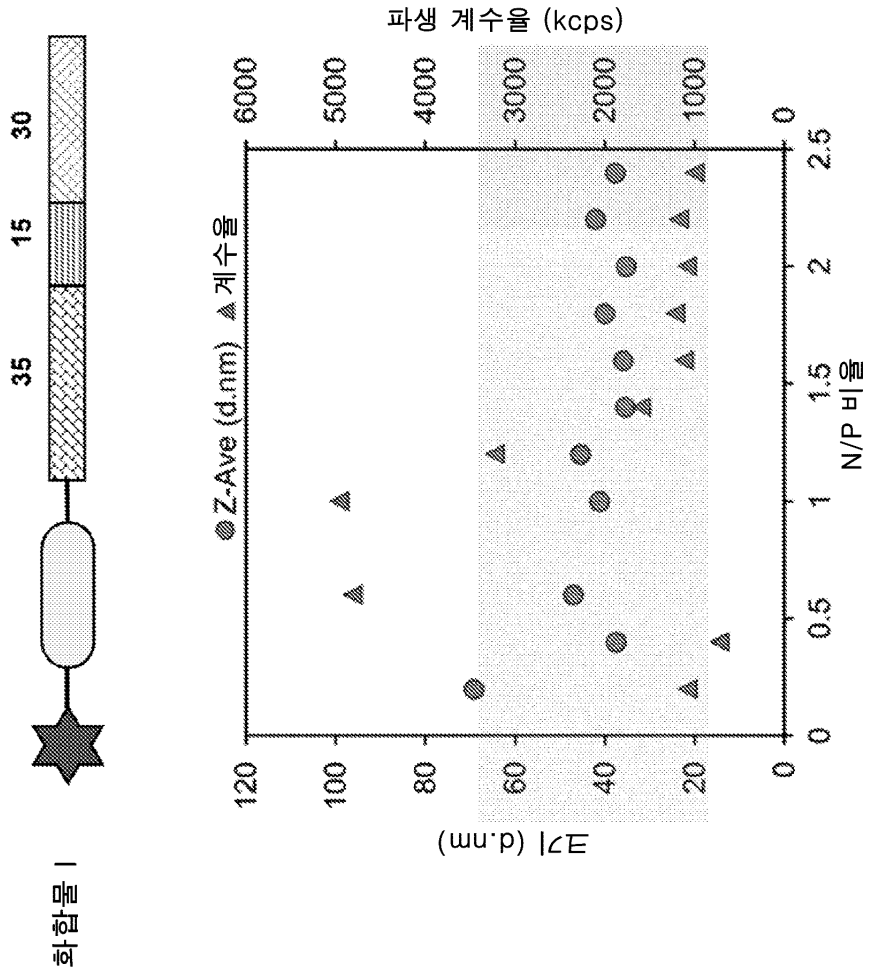
도면16c


화합물 G
45
5
30
Z-Ave (d.nm) ▲ 계수율
파생 계수율 (kcps)
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
100
80
60
40
20
0
크기 (d. nm)
0
0.5
1
1.5
2
2.5
N/P 비율

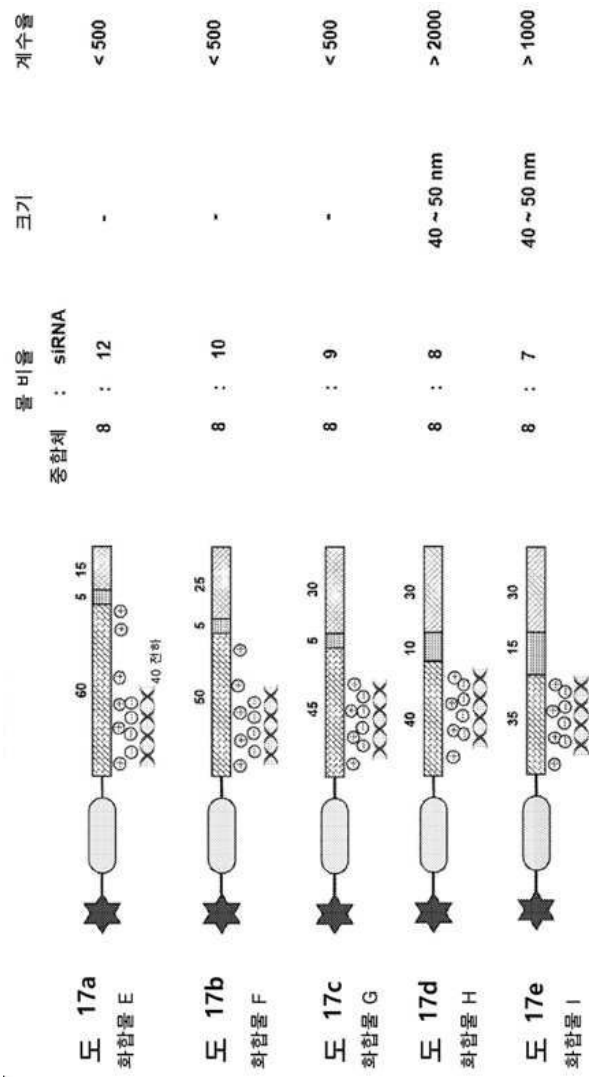
도면16d


화합물 H
40
10
30
Z-Ave (d.nm) ▲ 계수율
파생 계수율 (kcps)
20000
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
100
80
60
40
20
0
0
0.5
1
1.5
2
2.5
N/P 비율
크기 (d. nm)

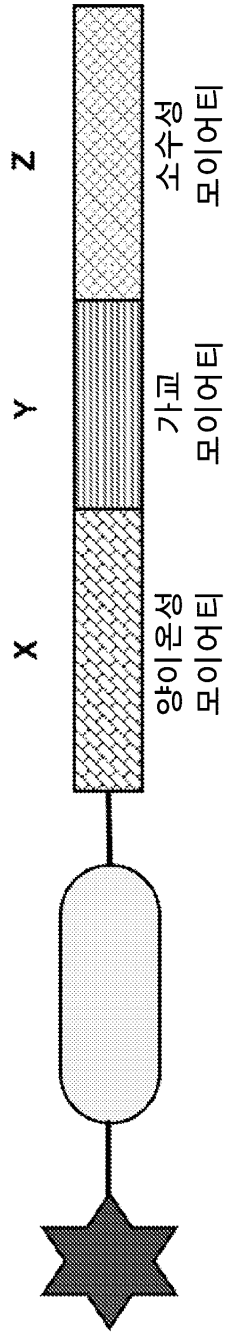
도면16e


화합물 I
35
15
30
Z-Ave (d.nm) ▲ 계수율
파생 계수율 (kcps)
N/P 비율
크기 (d.nm)
120
100
80
60
40
20
0
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.5
1
1.5
2
2.5

도면17


도 17a
화합물 E
60
5
15
40 전하
중합체 : siRNA
8 : 12
크기
-
계수율
< 500
도 17b
화합물 F
50
5
25
8 : 10
-
< 500
도 17c
화합물 G
45
5
30
8 : 9
-
< 500
도 17d
화합물 H
40
10
30
8 : 8
40 ~ 50 nm
> 2000
도 17e
화합물 I
35
15
30
8 : 7
40 ~ 50 nm
> 1000

도면18



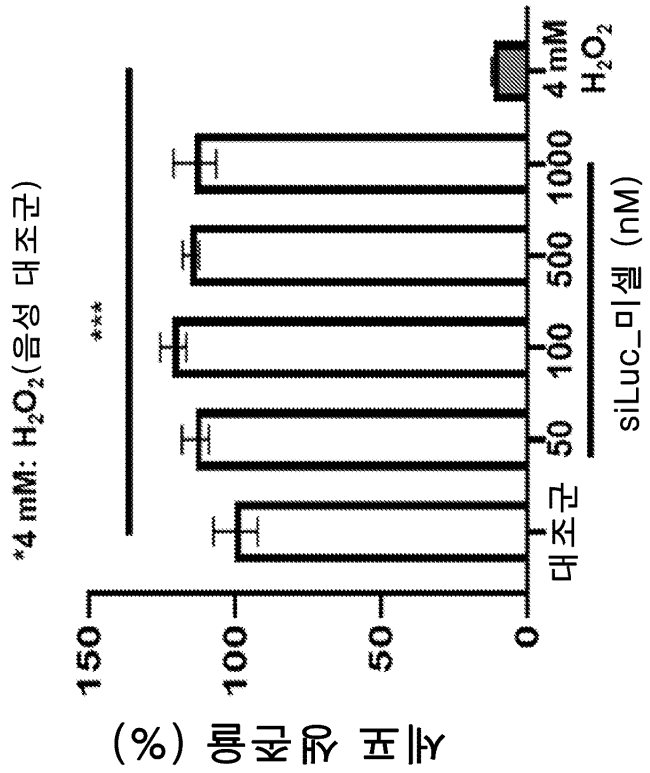
$$17 \leq X + Y + Z$$

$$X = \frac{\text{siRNA 중 전하의 수}}{2}$$

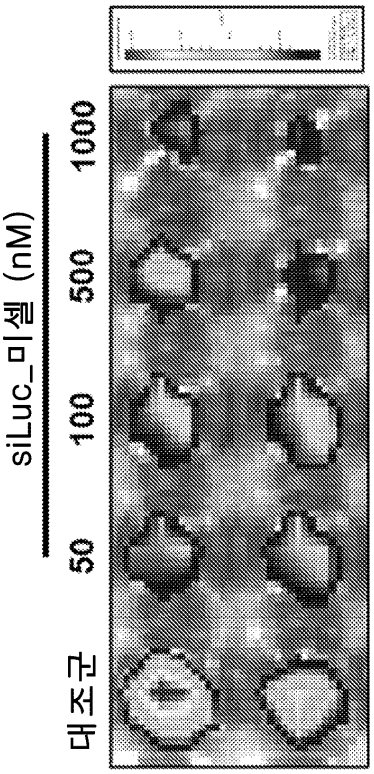
$$Y \geq 1,$$

$$Y : Z = 1:3$$

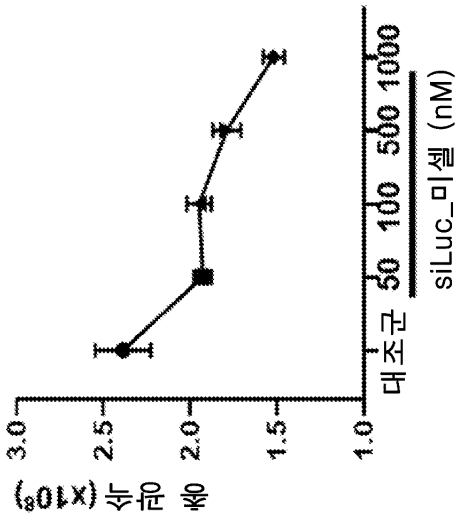
도면19


세포 생존율 (%)
150
100
50
0
대조군
50
100
500
1000
4 mM
H_2O_2
siLuc_미셀 (nM)
***
*4 mM: H_2O_2(음성 대조군)

도면20a


대조군
50
100
500
1000
siLuc_미셀 (nM)

도면20b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Biorchestra Co., Ltd.

<120> MICELLAR NANOPARTICLES AND USES THEREOF

<130> 4366.039PC03

<150> US63/199,471

<151> 2020-12-30

<150> US63/260,782

<151> 2021-08-31

<150> US63/260,989

<151> 2021-11-08

<160> 78

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> poly-G linker

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Wherein Gly can be repeated 1 to 4 times

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Wherein the entire unit can be repeated 1 to 50 times

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Wherein Ser can be present or absent

<400> 1

Gly Ser

1

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<400> 2

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 3

<211> 2

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Wherein the entire until can be repeted 1 to 100 times

<400> 3

Gly Ala

1

<210> 4

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(3)

<223> Wherein the entire unit can be repeated 1 to 100 times

<400> 4

Gly Gly Ser

1

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> Wherein the entire unit can be repeated 1 to 100 times

<400> 5

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(3)

<223> Wherein the subsequence can be repeated 1 to 100 times

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(8)

<223> Wherein the subsequence can be repeated 1 to 100 times

<400> 6

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<400> 7

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<400> 8

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5 10 15

<210> 9

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<400> 9

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 10

<211

> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<400> 10

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Ser

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> peptide linker

<400> 11

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 12

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Poly-G linker sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> wherein the unit can be repeated 1 to 100 times

<400> 12

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 13

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> has-miR-204-5p

<400> 13

uucccuuugu cauccuaugc cu 22

<210> 14

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hsa-miR-132-3p

<400> 14

uaacagucua cagccauggu cg 22

<210> 15

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antiMIR nucleotide sequence

<400> 15

aggcauagga ugacaaaggg aa 22

<210> 16

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hsa-miR-485-3p

<400> 16

cgaccauggc uguagacugu ua 22

<210> 17

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antiMIR nucleotide sequence

<400> 17

gucauacacg gcucuccucu cu 22

<210> 18

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antiMIR nucleotide sequence

<400> 18

agagaggaga gccguguaug ac 22

<210> 19

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> has-miR-485-3p

<400> 19

ucauaca 7

<210> 20

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antiMIR nucleotide sequence

<400> 20

uguauga 7

<210> 21

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> has-miR-204-5p

<400> 21

ucccuuu 7

<210> 22

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> antiMIR nucleotide sequence

<400> 22

aaaggga 7

<210> 23

<211> 7

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 23

uguauga 7

<210> 24

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 24

guguauga 8

<210> 25

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 25

cguguauga 9

<210> 26

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 26

ccguguauga 10

<210> 27

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 27

gccguguaug a 11

<210> 28

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 28

agccguguau ga 12

<210> 29

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 29

gagccgugua uga 13

<210> 30

<211> 14

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 30

agagccgugu auga 14

<210> 31

<211> 15

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 31

gagagccgug uauga 15

<210> 32

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 32

ggagagccgu guauga 16

<210> 33

<211> 17

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 33

aggagagccg uguauga 17

<210> 34

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 34

gaggagagcc guguauga 18

<210> 35

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 35

agaggagagc cguguauga 19

<210> 36

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 36

gagaggagag ccguguauga 20

<210> 37

<211> 8

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 37

uguaugac 8

<210> 38

<211> 9

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 38

guguaugac 9

<210> 39

<211> 10

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 39

cguguaugac 10

<210> 40

<211> 11

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 40

ccguguauga c 11

<210> 41

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 41

gccguguaug ac 12

<210> 42

<211> 13

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 42

agccguguau gac 13

<210> 43

<211> 14

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 43

gagccgugua ugac 14

<210> 44

<211> 15

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 44

agagccgugu augac 15

<210> 45

<211> 16

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 45

gagagccgug uaugac 16

<210> 46

<211> 17

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 46

ggagagccgu guaugac 17

<210> 47

<211> 18

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 47

aggagagccg uguaugac 18

<210> 48

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 48

gaggagagcc guguaugac 19

<210> 49

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 49

agaggagagc cguguaugac 20

<210> 50

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 50

gagaggagag ccguguauga c 21

<210> 51

<211> 7

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 51

tgtatga 7

<210> 52

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 52

gtgtatga 8

<210> 53

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 53

cgtgtatga 9

<210> 54

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 54

ccgtgtatga 10

<210> 55

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 55

gccgtgtatg a 11

<210> 56

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 56

agccgtgtat ga 12

<210> 57

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 57

gagccgtgta tga 13

<210> 58

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 58

agagccgtgt atga 14

<210> 59

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 59

gagagccgtg tatga 15

<210> 60

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 60

ggagagccgt gtatga 16

<210> 61

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 61

aggagagccg tgtatga 17

<210> 62

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 62

gaggagagcc gtgtatga 18

<210> 63

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 63

agaggagagc cgtgtatga 19

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 64

gagaggagag ccgtgtatga 20

<210> 65

<211> 8

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 65

tgtatgac 8

<210> 66

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 66

gtgtatgac 9

<210> 67

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 67

cgtgtatgac 10

<210> 68

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 68

ccgtgtatga c 11

<210> 69

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 69

gccgtgtatg ac 12

<210> 70

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 70

agccgtgtat gac 13

<210> 71

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 71

gagccgtgta tgac 14

<210> 72

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 72

agagccgtgt atgac 15

<210> 73

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 73

gagagccgtg tatgac 16

<210> 74

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 74

ggagagccgt gtatgac 17

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 75

aggagagccg tgtatgac 18

<210> 76

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 76

gaggagagcc gtgtatgac 19

<210> 77

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 77

agaggagagc cgtgtatgac 20

<210> 78

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Antimir Sequence

<400> 78

gagaggagag ccgtgtatga c 21