



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2019-0123351  
(43) 공개일자 2019년10월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 47/54 (2017.01) A61K 47/42 (2017.01)  
A61K 48/00 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
A61K 47/542 (2017.08)  
A61K 47/42 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7030864

(22) 출원일자(국제) 2018년03월21일  
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2019년10월18일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/023578

(87) 국제공개번호 WO 2018/175592  
국제공개일자 2018년09월27일

(30) 우선권주장  
62/475,185 2017년03월22일 미국(US)

(71) 출원인  
더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아  
미국 캘리포니아 94607-5200 오클랜드 12층 프랭클린 스트리트 1111

바이빌 홀딩스, 인코포레이티드  
미국 일리노이 우드리지 데이비 로드 2501 (우: 60517)

(72) 발명자  
롤로프, 알렉산더  
미국 92037 캘리포니아 샌디에고 노스 토리 파인스 로드 10300

지안네스키, 나탄 씨.  
미국 92037 캘리포니아 샌디에고 노스 토리 파인스 로드 10300  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인  
특허법인 남앤남

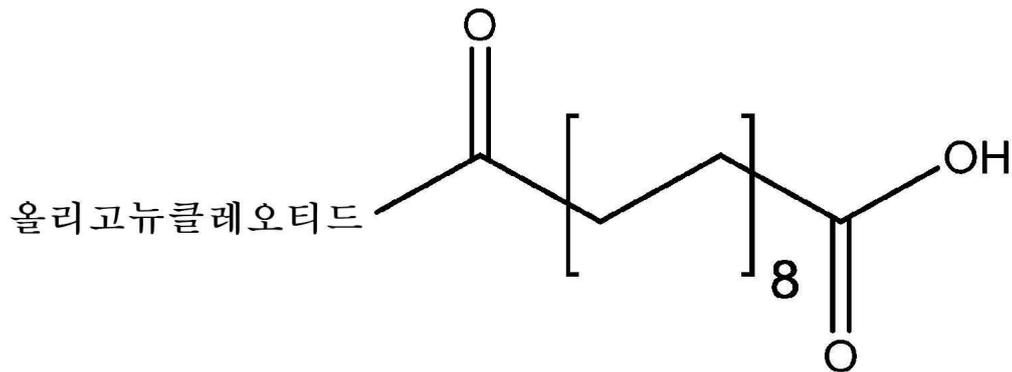
전체 청구항 수 : 총 40 항

(54) 발명의 명칭 **개질된 올리고뉴클레오티드 및 이의 치료 용도**

**(57) 요약**

본 개시 내용은 일반적으로 암을 포함하여 다양한 질환을 치료하는 데 유용한 뉴클레오티드-기반 화합물을 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시 내용은, 예를 들어, 그러한 화합물의 반감기를 향상시키는 것을 보조하거나 세포 침투(종양 세포로의 침투)를 보조하기 위해, 조작된 지방산 잔기를 포함하도록 화학적으로 개질된 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시 내용은 그러한 개질된 뉴클레오티드 및 단백질, 예컨대, 알부민 또는 이의 모사체를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 개시 내용은 상기 화합물 및 조성물의 다양한 용도를 제공한다.

**대표도** - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 48/00* (2013.01)

*A61K 9/0019* (2013.01)

*A61P 35/00* (2018.01)

(72) 발명자

**콜먼, 카산드라 이.**

미국 92037 캘리포니아 샌디에고 노스 토리 파인스  
로드 10300

**톰프슨, 매튜 피.**

미국 92037 캘리포니아 샌디에고 노스 토리 파인스  
로드 10300

**버틴, 폴 에이.**

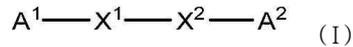
미국 60517 일리노이 우드리지 데이비 로드 2501

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

하기 화학식 (I)의 화합물:



상기 식에서,

$A^1$ 은 유기 기이거나;  $A^1$ 은 친수성 기 또는 수소 원자이고;

$A^2$ 는 올리고뉴클레오티드 모이어티이고;

$X^1$ 은 소수성 기이고;

$X^2$ 는 직접 결합, 유기 기, 또는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-S-S-$ ,  $-N=$ ,  $=N-$ ,  $-N(H)-$ ,  $-N=N-N(H)-$ ,  $-N(H)-N=N-$ ,  $-N(OH)-$ , 또는  $-N(=O)-$ 이다.

**청구항 2**

제1항에 있어서,  $A^1$ 이 카복실산 기, 카복실레이트 음이온, 또는 카복실레이트 에스테르인 화합물.

**청구항 3**

제2항에 있어서,  $A^1$ 이 카복실산 기인 화합물.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드 모이어티가 2 내지 200개의 뉴클레오티드 단위, 또는 3 내지 150개의 뉴클레오티드 단위, 또는 4 내지 100개의 뉴클레오티드 단위, 또는 5 내지 50개의 뉴클레오티드 단위, 또는 6 내지 40개의 뉴클레오티드 단위를 포함하는 화합물.

**청구항 5**

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드 모이어티가 포스페이트 모이어티 또는 티오포스페이트 모이어티를 통해  $X^2$ 에 컨쥬게이션되는 화합물.

**청구항 6**

제4항 또는 제5항에 있어서, 뉴클레오티드 단위가 리보스 모이어티 또는 데옥시리보스 모이어티를 포함하는 화합물.

**청구항 7**

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 뉴클레오티드 단위가 각각 아데닌 모이어티, 시토신 모이어티, 구아닌 모이어티, 티민 모이어티, 및 우라실 모이어티로 이루어진 군으로부터 선택된 질소성 염기 모이어티를 포함하는 화합물.

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 올리고뉴클레오티드 모이어티가 HA1, HA2, HA3, HA4, 또는 관련된 또는 관련 없는 siRNA, 마이크로RNA 모사체, 또는 안티센스(antisense) 서열, 및 임의의 상기 물질의 약제학적으로 허용되는 염인 화합물.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,  $X^1$ 이 치환되거나 비치환된  $C_{12-22}$  하이드로카빌렌인 화합물.

**청구항 10**

제9항에 있어서,  $X^1$ 이  $C_{12-22}$  알킬렌 기인 화합물.

**청구항 11**

제10항에 있어서,  $X^1$ 이  $-(CH_2)_{12}-$ ,  $-(CH_2)_{14}-$ ,  $-(CH_2)_{16}-$ ,  $-(CH_2)_{18}-$ ,  $-(CH_2)_{20}-$ , 또는  $-(CH_2)_{22}-$ 인 화합물.

**청구항 12**

제11항에 있어서,  $X^1$ 이  $-(CH_2)_{16}-$ 인 화합물.

**청구항 13**

제12항에 있어서,  $X^2$ 가  $-C(O)-O-Z^1-NH-$ ,  $-C(O)-O-Z^1-O-$ , 또는  $-C(O)-O-Z^1-S-$ 이고, 여기서  $Z^1$ 이  $-OH$ 로 1회 이상 치환되거나 비치환된  $C_{1-6}$  알킬렌 기인 화합물.

**청구항 14**

제13항에 있어서,  $Z^1$ 이 에틸렌 또는  $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ 인 화합물.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물; 및

인간 혈청 알부민 또는 서열이 인간 혈청 알부민의 서열과 적어도 50% 동일한 단백질인, 단백질을 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 단백질이 인간 혈청 알부민인, 약제학적 조성물.

**청구항 17**

제15항 또는 제16항에 있어서, 담체를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 담체가 물을 포함하는, 약제학적 조성물.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 화합물 및 단백질이 적어도  $10^2 M^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 M^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 M^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 M^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 서로 비-공유적으로 회합되는, 약제학적 조성물.

**청구항 20**

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 및 단백질이 담체에 의해 용매화되는, 약제학적 조성물.

**청구항 21**

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 하나 이상의 화합물 및 하나 이상의 단백질을 함유하고, 적어도 90중량%, 또는 적어도 95중량%, 또는 적어도 97중량%, 또는 적어도 99중량%

의, 조성물 중의 상기 화합물이 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 상기 단백질에 결합되는, 약제학적 조성물.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 적어도 90중량%, 또는 적어도 95중량%, 또는 적어도 97중량%, 또는 적어도 99중량%의, 조성물 중의 단백질-결합된 입자가, 동적 광 산란에 의해 측정하는 경우, 5 nm 이하, 또는 4 nm 이하의 반경을 갖는, 약제학적 조성물.

**청구항 23**

제17항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물이 포유동물, 예를 들어, 인간에 대한 비경구 투여에 적합한, 약제학적 조성물.

**청구항 24**

제17항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물이 포유동물, 예를 들어, 인간에 대한 정맥내 투여에 적합한, 약제학적 조성물.

**청구항 25**

올리고뉴클레오타이드 모이어티 및 단백질 결합 모이어티를 포함하는, 화합물;

인간 혈청 알부민 또는 서열이 인간 혈청 알부민의 서열과 적어도 50% 동일한 단백질인, 단백질; 및  
물을 포함하는, 담체를 포함하는, 약제학적 조성물로서,

상기 화합물 및 상기 단백질이 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수( $K_b$ )로 서로 비-공유적으로 회합되고,

상기 화합물 및 상기 단백질이 상기 담체에 의해 용매화되는, 약제학적 조성물.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 화합물이 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 화합물인, 약제학적 조성물.

**청구항 27**

제25항 또는 제26항에 있어서, 단백질이 인간 혈청 알부민인, 약제학적 조성물.

**청구항 28**

제25항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 하나 이상의 화합물 및 하나 이상의 단백질을 함유하고, 적어도 90중량%, 또는 적어도 95중량%, 또는 적어도 97중량%, 또는 적어도 99중량%의, 조성물 중의 상기 화합물이 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 상기 단백질에 결합되는, 약제학적 조성물.

**청구항 29**

제28항에 있어서, 적어도 90중량%, 또는 적어도 95중량%, 또는 적어도 97중량%, 또는 적어도 99중량%의, 조성물 중의 단백질-결합된 입자가, 동적 광 산란에 의해 측정하는 경우, 5 nm 이하, 또는 4 nm 이하의 반경을 갖는, 약제학적 조성물.

**청구항 30**

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물이 포유동물, 예를 들어, 인간에 대한 비경구 투여에 적합한, 약제학적 조성물.

**청구항 31**

제25항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 약제학적 조성물이 포유동물, 예를 들어, 인간에 대한 정맥내 투여에 적합한, 약제학적 조성물.

**청구항 32**

암을 치료하는 방법으로서,

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제15항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는 방법.

**청구항 33**

제32항에 있어서, 면역요법제를 대상체에게 투여함을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 34**

제33항에 있어서, 면역치료제를 대상체에게 투여하는 것이 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제15항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물을 대상체에게 투여하는 동시에, 또는 이의 전 또는 후의 3일 이하 이내에 수행되는 방법.

**청구항 35**

암 세포에서 세포자멸(apoptosis)을 유발하는 방법으로서,

상기 암 세포를 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제15항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물과 접촉시킴을 포함하는 방법.

**청구항 36**

암 종양의 증식을 억제하는 방법으로서,

상기 암 종양을 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제15항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물과 접촉시킴을 포함하는 방법.

**청구항 37**

약제로서의, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제15항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물의 용도.

**청구항 38**

암을 치료하기 위한, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물 또는 제15항 내지 제31항 중 어느 한 항의 조성물의 용도.

**청구항 39**

약제 제조에서의, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

**청구항 40**

암을 치료하기 위한 약제 제조에서의, 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은 2017년 3월 22일자 출원된 미국 가출원 제62/475,185호에 대한 우선권을 주장하고, 상기 출원은 본원에 기재된 바와 같이 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 개시 내용은 일반적으로 암을 포함하여 다양한 질환을 치료하는 데 유용한 뉴클레오티드-기반 화합물을 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시 내용은, 예를 들어, 그러한 화합물의 반감기를 향상시키는 것을 보조하거나 세포 침투(예를 들어, 중앙 세포로의 침투)를 보조하기 위해, 조작성 지방산 잔기를 포함하도록 화학적으로 개질된 올리고뉴클레오티드를 제공한다. 일부 양태에서, 본 개시 내용은 그러한 개질된 뉴클레오티드 및 단백질, 예컨대, 알부민 또는 이의 모사체를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 개시 내용은 상기 화합물 및 조성물의 다양한 용도를 제공한다.

**배경 기술**

[0005] 관련 기술의 설명

[0006] 올리고뉴클레오티드(ON)는 다양한 질환을 치료하기 위한 엄청난 가능성을 제공하는 화합물 부류로 대표된다. 대부분의 ON은 일종의 안티-센스(anti-sense) 메커니즘을 통해 작용하고, 그에 따라서 흔히 일종의 RNA 종과 관련된다. 예로는 갭머(gapmer), 입체 블록 ON, 안타고미르(antagomir), 소간섭 RNA(small interfering RNA: siRNA), 마이크로-RNA 모사체, 및 스플라이스 스위칭(splice switching) ON이 포함되지만, 이로 제한되지 않는다. 이론적인 의미에서, 그러한 화합물은 원인이 특정 유전자와 관련된 것으로 알려진 임의의 장애를 치료하는 데 사용될 수 있다. 그러한 질환은 다양한 암, 당뇨병, 근위축성 측색 경화증(amyotrophic lateral sclerosis: ALS), 듀시엔형 근이영양증(Duchenne muscular dystrophy), 척수성 근위축증(spinal muscular atrophy), 천식 및 관절염을 포함한다. 현재, 몇몇 ON 약물은 미국 식품 의약 관리국(United States Food and Drug Administration)으로부터 승인을 받았다: 사이토크갈로바이러스 망막염(cytomegalovirus retinitis) 치료용 포미비르센(fomivirsen); 동질 접합체적 가족성 콜레스테롤 혈증(homozygous familial hypercholesterolemia) 치료용 미포메르센(mipomersen); 듀시엔형 근이영양증 치료용 에테플리르센(eteplirsen); 및 척수성 근위축증 치료용 누시네르센(nusinersen).

[0007] ON 약물의 효과적인 전달 및 표적화는 계속 문제를 제기하고 있다. 예를 들어, 포미비르센은 투여 후 뉴클레아제에 의한 분해를 방지하기 위한 뉴클레오티드 단위 사이의 합성 폴리뉴클레오티드 포스포포티오에이트 연결이다. 그러나, 그러한 화합물은 신체에서 취급되기 익숙한 화합물로 용이하게 대사되지 않으므로, 그러한 개질이 자체적인 문제를 제기한다. 또한, 다양한 단백질에 대한 비특이적 결합이 문제가 된다. 미포메르센과 같은 다른 것들은 표적 이탈 부작용(off-target side-effect)의 위험 때문에 블랙 박스 경고를 함유한다. 그리고, 다수의 그러한 화합물들은 표적 조직으로 이들을 전달하는 효과적인 수단이 없기 때문에 개발이 계속 정체된 채로 있다. 따라서, ON은 무수한 질환을 치료하는 데 큰 가능성을 제공하지만, 그러한 기대는 아직까지 전혀 실현되지 않고 있다.

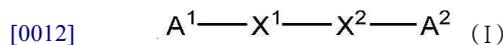
[0008] 따라서, 빠른 분해에 저항하고, 표적 이탈 부작용을 감소시키고/거나, 질환 상태 또는 병태에 의해 영향을 받는 특정 조직을 표적화하기 위해 ON을 전달하는 개선된 방식을 개발하는 것이 지속적으로 요구되고 있다.

**발명의 내용**

[0009] 개요

[0010] 본 개시 내용은 다음 중 하나 이상을 제공할 수 있는 개질된 ON 화합물 및 관련된 조성물을 제공한다: 투여 후 반감기 향상, 표적 이탈 활성으로부터의 부작용 감소, 및 질환이 되는 조직의 표적화 개선. 일부 구체예에서, 화합물은 ON의 전구약물이고, 이에 따라 전구약물은 질환이 있는 조직으로, 예컨대, 포유동물에서 고형 암 중앙으로 ON의 개선된 전달을 가능하게 하게 한다. 본 개시 내용은 또한 암을 포함하여 다양한 질환의 치료를 위한 그러한 화합물 및 조성물의 방법 및 용도를 제공한다.

[0011] 첫 번째 양태에서, 본 개시 내용은 하기 화학식 (I)의 화합물을 제공한다:



[0013] 상기 식에서, A<sup>1</sup>은 유기 기이거나, 친수성 기 또는 수소 원자이고; A<sup>2</sup>는 올리고뉴클레오티드 모이어티이고; X<sup>1</sup>은 소수성 기이고; X<sup>2</sup>는 직접 결합, 유기 기, 또는 -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -S-S-, -N=, =N-, -N(H)-, -N=N-N(H)-, -N(H)-N=N-, -N(OH)-, 또는 -N(=O)-로 이루어진 군으로부터 선택된 헤테로원자 기이다. 일부

구체예에서,  $A^1$ 은 친수성 기, 예컨대, 카복실산 기 (-COOH) 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다. 일부 구체예에서, 소수성 기는 치환되거나 비치환된  $C_{12-22}$  하이드로카블렌 기이다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 -O-, -NH-, 또는 유기 기, 예컨대, -NH-Z<sup>1</sup>-O-C(O)- 또는 -O-Z<sup>1</sup>-O-C(O)-이고, 여기서 Z<sup>1</sup>은 -OH에 의해 1회 이상 치환되거나 비치환된  $C_{1-6}$  알킬렌 기이다.

- [0014] 두 번째 양태에서, 본 개시 내용은 첫 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물; 및 단백질을 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 제공한다. 일부 구체예에서, 단백질은 알부민 또는 알부민 모사체이다.
- [0015] 세 번째 양태에서, 본 개시 내용은 첫 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물; 및 단백질(여기서, 단백질은 알부민 또는 알부민 모사체임); 및 담체(물 포함)를 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)로서, 화합물 및 단백질이 서로 비-공유적으로 회합되고; 화합물 및 단백질이 담체에 의해 용매화되는 조성물을 제공한다.
- [0016] 네 번째 양태에서, 본 개시 내용은 암을 치료하는 방법으로서, 임의의 상기 양태의 임의의 구체예의 화합물 또는 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는 방법을 제공한다. 이의 일부 추가의 구체예에서, 본 개시 내용은 하나 이상의 면역요법제를 대상체에게 투여함을 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0017] 다섯 번째 양태에서, 본 개시 내용은 암 세포에서 세포자멸(apoptosis)을 유발하는 방법으로서, 암 세포를 임의의 첫 번째 내지 세 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물 또는 조성물과 접촉시킴을 포함하는 방법을 제공한다. 이의 일부 추가의 구체예에서, 본 개시 내용은 암 세포에서 세포자멸을 유발하는 방법으로서, 암 세포를 하나 이상의 면역요법제와 접촉시킴을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0018] 여섯 번째 양태에서, 본 개시 내용은 암 종양의 성장을 억제하기 위한 방법으로서, 암 종양을 첫 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물과 접촉시킴을 포함하는 방법을 제공한다. 이의 일부 추가의 구체예에서, 본 개시 내용은 암 종양의 성장을 억제하는 방법으로서, 암 종양을 하나 이상의 면역요법제와 접촉시킴을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0019] 일곱 번째 양태에서, 본 개시 내용은 약제로서의 임의의 첫 번째 내지 세 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0020] 여덟 번째 양태에서, 본 개시 내용은 암을 치료하기 위한 임의의 첫 번째 내지 세 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다. 이의 일부 추가의 구체예에서, 본 개시 내용은 하나 이상의 면역요법제와 병행하는 용도를 포함하는 용도를 제공한다.
- [0021] 아홉 번째 양태에서, 본 개시 내용은 약제 제조에서의 임의의 첫 번째 내지 세 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0022] 열 번째 양태에서, 본 개시 내용은 암을 치료하기 위한 약제 제조에서의 임의의 첫 번째 내지 세 번째 양태의 임의의 구체예의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0023] 열한 번째 양태에서, 본 개시 내용은 첫 번째 및 두 번째 양태의 화합물 및 세 번째 및 네 번째 양태의 조성물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0024] 추가의 양태 및 구체예는 도면, 상세한 설명, 청구항, 및 요약에 제공되어 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0025] 하기 도면은 본원에 개시된 화합물, 조성물, 방법, 및 용도의 다양한 구체예를 예시하려는 목적으로 제공된 것이다. 도면은 단지 예시적인 목적으로 제공된 것이고, 임의의 바람직한 화합물 또는 조성물 또는 임의의 바람직한 방법 또는 용도를 기술하거나 청구된 발명의 범위에 어떠한 제한의 근원으로서 역할을 하려고 의도된 것이 아니다.

도 1은 화학식 (I)의 화합물의 비-제한적 예를 나타낸 것이고, 여기서 화합물은 장쇄 이염기산 모이어티를 포함하도록 개질된 올리고뉴클레오티드 모이어티를 포함한다.

도 2는 정제된 형태의 비-제한적인 화학식 (I)의 화합물의 (a) 분석용 HPLC 추적 (상단) 및 (b) MALDI-TOF 질량 스펙트럼 (하단)을 나타낸 것이다.

도 3은 정제된 형태의 비-제한적인 화학식 (I)의 화합물의 (a) 분석용 HPLC 추적 (상단) 및 (b) MALDI-TOF 질량

스펙트럼 (하단)을 나타낸 것이다.

도 4는 정제된 형태의 비-제한적인 화학식 (I)의 화합물의 (a) 분석용 HPLC 추적 (좌측) 및 (b) MALDI-TOF 질량 스펙트럼 (우측)을 나타낸 것이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

**[0026] 상세한 설명**

[0027] 하기 설명은 본원에 개시된 발명의 다양한 양태 및 구체예를 기술하는 것이다. 특정 구체예는 본 발명의 범위를 규정하고자 의도된 것이 아니다. 오히려, 구체예는 청구된 발명의 범위 내에 포함되는 다양한 조성물, 및 방법의 비-제한적 예를 제공한다. 설명은 당업자의 관점에서 읽혀져야 한다. 따라서, 당업자에게 잘 알려진 정보가 반드시 포함되지 않는다.

**[0028] 정의**

[0029] 하기 용어 및 어구는, 달리 본원에 제공되지 않는 한, 하기에 나타나 있는 의미를 갖는다. 본 개시 내용에는 본원에 분명하게 정의되지 않은 다른 용어 및 어구가 사용될 수 있다. 그러한 다른 용어 및 어구는 이들이 당업자에게 이러한 개시 내용의 문맥 내에서 가지게 될 의미를 가질 것이다. 일부 예에서, 용어 또는 어구는 단수형 또는 복수형으로 정의될 수 있다. 그러한 예에서, 단수형의 임의의 용어는, 달리 반대로 분명하게 지시되지 않는 한, 이의 복수형 상대 및 이의 반대를 포함할 수 있는 것으로 이해된다.

[0030] 본원에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 달리 분명하게 기재되지 않는 한 복수의 대상을 포함한다. 예를 들어, "하나의 치환체"에 대한 언급은 단수의 치환체뿐만 아니라 둘 이상의 치환체 등을 포함한다.

[0031] 본원에서 사용되는 "예를 들어", "예컨대", 또는 "~을 포함하는"은 더 많은 일반적인 주제를 더 명확하게 하는 예를 도입하고자 의도된 것이다. 달리 분명하게 지시되지 않는 한, 그러한 예는 본 개시 내용에 예시된 구체예를 이해하는 것을 돕기 위해서만 제공된 것이고, 어떠한 방식으로든 제한하고자 의도된 것도 아니다. 이러한 어구는 개시된 구체예에 대하여 바람직한 어떠한 종류를 나타낸 것이 아니다.

[0032] 본원에서 사용되는 "탄화수소"는, 포화되거나 불포화될 수 있고 방향족 기를 포함할 수 있는, 탄소 및 수소로 구성된 유기 기를 지칭한다. 용어 "하이드로카빌"은 일가 또는 다가 (예를 들어, 이가 이상) 탄화수소 모이어티를 지칭한다. 일부 경우에, 이가 하이드로카빌 기는 "하이드로카빌렌" 기로 지칭된다.

[0033] 본원에서 사용되는 "알킬"은 다중 정도의 치환이 허용되는 본원에서 추가로 기재되는 바와 같은 치환되거나 비치환될 수 있는 1 내지 30개의 탄소 원자를 지니는 직쇄 또는 분지쇄 포화 탄화수소를 지칭한다. 본원에서 사용되는 "알킬"의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 이소부틸, n-부틸, 2차-부틸, 3차-부틸, 이소펜틸, n-펜틸, 네오펀틸, n-헥실, 및 2-에틸헥실을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 일부 예에서, "알킬" 기는 이가일 수 있고, 이러한 경우에, 상기 기는 대안적으로 "알킬렌" 기로 지칭될 수 있다. 또한, 일부 예에서, 알킬 또는 알킬렌 기에서 하나 이상의 탄소 원자는 헤테로원자(예를 들어, 실현가능한 경우, N-옥사이드, 황 산화물, 이산화황, 및 카보닐 기를 포함하여, 질소, 산소, 또는 황으로부터 선택됨)로 치환될 수 있고, 각각 "헤테로알킬" 또는 "헤테로알킬렌" 기로 지칭된다. 비-제한적 예는 알킬 또는 알킬렌 기에서 탄소 원자가 산소로 치환된 기를 지칭하는 "옥시알킬" 또는 "옥시알킬렌" 기를 포함한다. 옥시알킬 또는 옥시알킬렌 기의 비-제한적 예는 카보닐 기를 함유하는 알킬 또는 알킬렌 사슬, 및 또한 알콕실레이트, 및 폴리알킬렌 옥사이드 등을 포함한다.

[0034] 임의의 기 또는 화합물에서 탄소 원자의 수는 용어로 표현될 수 있다. 따라서, "C<sub>z</sub>"는 z개의 탄소 원자를 지니는 화합물의 기를 지칭하고, "C<sub>x-y</sub>"는 x 내지 y개(포함)의 탄소 원자를 함유하는 기 또는 화합물을 지칭한다. 예를 들어, "C<sub>1-6</sub> 알킬"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 지니는 알킬 기를 나타내고, 예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 이소부틸, n-부틸, 2차-부틸, 3차-부틸, 이소펜틸, n-펜틸, 네오펀틸, 및 n-헥실을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 동일한 논리가 하기에서 정의되는 다른 유형의 작용기에 적용된다.

[0035] 본원에서 사용되는 "알케닐"은 다중 정도의 치환이 허용되는 본원에서 추가로 기재되는 바와 같은 치환되거나 비치환될 수 있는 2 내지 30개의 탄소 원자를 지니고 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 지니는 직쇄 또는 분지쇄 비-방향족 탄화수소를 지칭한다. 본원에서 사용되는 "알케닐"의 예는 에테닐, 2-프로페닐, 2-부테닐, 및 3-부테닐을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 일부 예에서, "알케닐" 기는 이가일 수 있고, 이러한 경우에 상기 기는 대안적으로 "알케닐렌" 기로 지칭될 수 있다. 또한, 일부 예에서, 알케닐 또는 알케닐렌 기에서 하나 이상의 탄소 원자는 헤테로원자로 치환될 수 있고(예를 들어, 실현가능한 경우, N-옥사이드, 황 산화물, 이산화

황, 및 카보닐 기를 포함하여, 질소, 산소, 또는 황으로부터 선택됨), 각각 "헤테로알케닐" 또는 "헤테로알케닐렌" 기로 지칭된다.

[0036] 본원에서 사용되는 "사이클로알킬"은 다중 정도의 치환이 허용되는 본원에서 추가로 기재되는 바와 같은 치환되거나 비치환될 수 있는 3 내지 20개의 탄소 원자를 지니는 지방족 포화 또는 불포화 탄화수소 고리 시스템을 지칭한다. 일부 구체예에서, 상기 용어는 본원에서 추가로 기재되는 바와 같은 치환된 포화 탄화수소 고리 시스템만을 지칭한다. 본원에서 사용되는 "사이클로알킬"의 예는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헥세닐, 사이클로헵틸, 사이클로옥틸, 및 아다만틸 등을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 일부 예에서, "사이클로알킬" 기는 이가일 수 있고, 이러한 경우에 상기 기는 대안적으로 "사이클로알킬렌" 기로 지칭될 수 있다. 사이클로알킬 및 사이클로알킬렌 기는 또한 본원에서 "카보사이클릭 고리"로 지칭될 수 있다. 또한, 일부 예에서, 사이클로알킬 또는 사이클로알킬렌 기 중의 하나 이상의 탄소 원자는 헤테로원자(예를 들어, 실현가능한 경우, N-옥사이드, 황 산화물, 및 이산화황을 포함하여, 질소, 산소, 규소 또는 황으로부터 독립적으로 선택됨)로 치환될 수 있고, 각각 "헤테로사이클릴" 또는 "헤테로사이클릴렌" 기로 지칭된다. 용어 "헤테로사이클릭 고리"는 또한 이러한 용어 중 어느 하나와 서로 교환가능하게 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 사이클로알킬 및 헤테로사이클릴 기는 완전 포화된다. 일부 다른 구체예에서, 사이클로알킬 및 헤테로사이클릴 기는 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 함유할 수 있다.

[0037] 본원에서 사용되는 "할로젠", "할로젠 원자" 또는 "할로"는 불소, 염소, 브롬, 또는 요오드 원자를 지칭한다. 일부 구체예에서, 상기 용어는 불소 또는 염소 원자를 지칭한다.

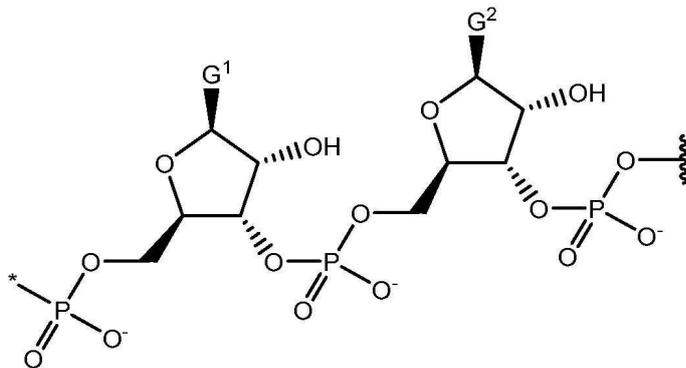
[0038] 본원에서 사용되는 용어 "유기 기", "유기 모이어티", 또는 "유기 잔기"는, 임의로 수소 원자, 할로젠 원자, 질소 원자, 산소 원자, 인 원자, 및 황 원자로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가의 원자를 함유하고, 공유 결합된 금속 또는 반금속 원자를 포함하지 않는, 적어도 하나의 탄소 원자를 지니는 일가 또는 다가 작용기를 지칭한다. 일부 구체예에서, 이러한 용어는 유기 기의 금속 염, 예컨대, 유기 음이온의 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 포함할 수 있다.

[0039] 본원에서 사용되는 용어 "약리단(pharmacophore)"은 임의의 유형의 유기 작용기를 지칭한다. 표준 약리단은 소수성 약리단, 수소-결합 공여 약리단, 수소-결합 받개 약리단, 양성 이온화가능한 약리단, 및 음성 이온화가능한 약리단이다. 화합물 내 유기 작용기의 분류는 당해 기술 분야에 공지된 표준 분류 시스템에 따라 수행된다.

[0040] 본원에서 사용되는 용어 "소수성 기", "소수성 모이어티" 또는 "소수성 잔기"는 소수성 약리단을 필수적으로 포함하는 유기 기를 지칭한다. 일부 구체예에서, 상기 용어는 소수성 약리단으로 이루어진 유기 기를 지칭한다.

[0041] 본원에서 사용되는 용어 "친수성 기", "친수성 모이어티" 또는 "친수성 잔기"는 수소 결합 도너, 수소 결합 억셉터, 음성 이온화가능한 기, 또는 양성 이온화가능한 기로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 약리단을 포함하는 유기 기를 지칭한다. 일부 구체예에서, 상기 용어는 수소 결합 도너, 수소 결합 억셉터, 음성 이온화가능한 기, 또는 양성 이온화가능한 기로 이루어진 군으로부터 선택된 약리단을 필수적으로 포함하는 유기 기를 지칭한다.

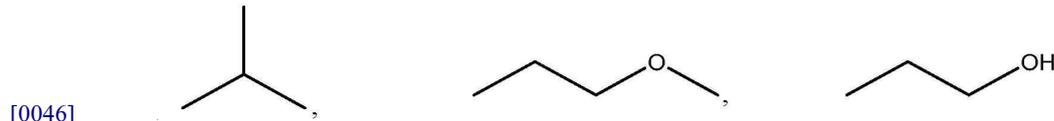
[0042] 본원에서 사용되는 용어 "올리고뉴클레오타이드 모이어티"는 함께 링킹된 둘 이상의 뉴클레오타이드 단위(일반적으로 2 내지 200개, 또는 4 내지 100개, 또는 5 내지 50개의 뉴클레오타이드 단위)를 포함하는 모이어티를 지칭한다. 그러한 "올리고뉴클레오타이드 모이어티"의 비-제한적 예는 하기 화학식의 모이어티이다:



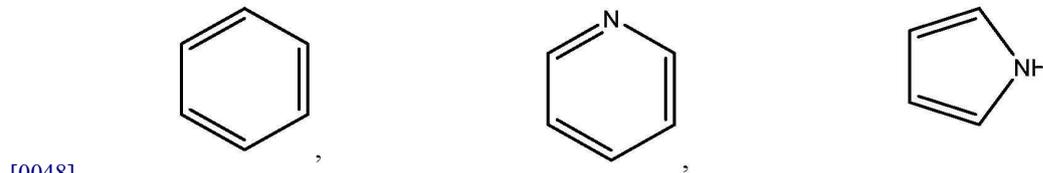
[0043] [0044] 상기 식에서, G<sup>1</sup> 및 G<sup>2</sup>는 염기 모이어티, 예를 들어, 퓨린- 및 피리미딘-기반 모이어티, 예컨대, 아데닌 모이어

티, 구아닌 모이어티, 시토신 모이어티, 티민 모이어티, 및 우라실 모이어티이고, 구불구불한 세로줄은 뉴클레오타이드 단위 및 포스포디에스테르 연결이 오른쪽으로 계속된다는 것을 지시한다. 용어 "올리고뉴클레오타이드 모이어티"는 그러한 화합물 또는 모이어티를 제조하기 위한 임의의 특정 절차로 제한되지 않는다는 것을 유의하라.

[0045] 화학 구조식을 그리는 다양한 방법이 본원에 이용된다. 일부 예에서, 결합 선-구조식 방법이 화합물 또는 모이어티를 도시하기 위해 이용된다. 결합 선-구조식 방법에서, 선은 화학적 결합을 나타내고, 탄소 원자는 분명하게 나타나지 않는다(그러나, 선의 교차에 의해 암시됨). 수소 결합도 이들이 헤테로원자에 부착되는 예를 제외하고 분명하게 나타나지 않는다. 그러나, 헤테로원자는 분명하게 나타난다. 따라서, 이러한 방법을 이용하여 하기가 나타나 있는 구조식은 2-메틸프로판, 1-메톡시프로판, 및 1-프로판올에 대한 것이다:



[0047] 이러한 방법에서, 방향족 고리는 전형적으로 단지 기여하는 공명 구조 중 하나로 표현된다. 따라서, 하기 구조식은 벤젠, 피리딘, 및 피롤에 대한 것이다:



[0049] 본원에서 사용되는 "단백질 결합 모이어티"는 25°C에서 물 중의 적어도 100 M<sup>-1</sup>의 결합 상수 (K<sub>b</sub>)를 지니는 단백질 상에서 하나 이상의 자리에 비-공유적으로 결합하는 모이어티이다.

[0050] 본원에서 사용되는 "아미노산"은 구조식 H<sub>2</sub>N-R<sup>x</sup>-COOH을 지니는 화합물을 지칭하고, 상기 식에서 R<sup>x</sup>은 유기 기이고, NH<sub>2</sub>는 R<sup>x</sup>와 임의로 조합될 수 있다(예를 들어, 프롤린의 경우에서와 같이). 상기 용어는 알파 아미노산, 베타 아미노산, 감마 아미노산, 및 델타 아미노산 등을 포함하지만 이로 제한되지 않는 임의의 공지된 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 용어는 알파 아미노산을 지칭할 수 있다.

[0051] 본원에서 사용되는 "하이드록시 산"은 구조식 HO-R<sup>y</sup>-COOH를 지니는 화합물을 지칭하고, 상기 식에서 R<sup>y</sup>는 유기 기이다. 비-제한적 예는 글리콜산, 락트산, 및 카프로락톤을 포함한다.

[0052] 본원에서 사용되는 "알칸올 아민"은 구조식 HO-R<sup>z</sup>-NH<sub>2</sub>를 지니는 화합물을 지칭하고, 상기 식에서 R<sup>z</sup>는 치환되거나 비치환된 알킬렌 기이다. 비-제한적 예는 에탄올 아민을 포함한다.

[0053] 본원에서 사용되는 "~을 투여하다" 또는 "~을 투여하는"은 대상체에 화합물 또는 조성물을 도입하는 것과 같은 도입을 의미한다. 이 용어는 어떠한 특이적인 방식의 전달로 제한되지 않고, 예를 들어, 피하 전달, 정맥내 전달, 근육내 전달, 대장내 전달, 주입 기술에 의한 전달, 경피 전달, 경구 전달, 비강 전달, 및 직장 전달을 포함할 수 있다. 게다가, 전달 방식에 좌우하여, 투여는, 예를 들어, 헬스-케어 전문가 (예를 들어, 의사, 간호사 등), 약사, 또는 대상체 (즉, 자기-투여)를 포함한 다양한 개체에 의해 수행될 수 있다.

[0054] 본원에서 사용되는 "~을 치료하다", "~을 치료하는" 또는 "치료"는 질환, 장애, 또는 병태의 성질 및 이의 특징적인 증상에 좌우하여 질환, 장애, 또는 병태의 진행의 지연; 질환, 장애, 또는 병태의 제어; 질환, 장애, 또는 병태에 특징적인 하나 이상의 증상들의 개선; 또는 질환, 장애, 또는 병태, 또는 이의 특징적인 증상의 재발의 지연 중 하나 이상을 지칭할 수 있다.

[0055] 본원에서 사용되는 "대상체"는, 이로 제한되지는 않지만, 인간, 말, 소, 양, 돼지, 마우스, 래트, 개, 고양이, 및 영장류, 예컨대, 침팬지, 고릴라, 및 히말라야 원숭이와 같은 임의의 포유동물을 지칭한다. 일부 구체예에서, "대상체"는 인간이다. 일부 그러한 구체예에서, "대상체"는 질환, 장애, 또는 병태의 특징적인 하나 이상의 증상을 나타내는 인간이다. 용어 "대상체"는 병원, 클리닉, 또는 연구 시설과 관련된 임의의 특정 신

분을 지니는 것을 필요로 하지 않는다(예를 들어, 입원 환자, 또는 연구 참가자 등).

- [0056] 본원에서 사용되는 용어 "화합물"은 유리 산, 유리 염기, 및 이의 염을 포함한다.
- [0057] 본원에서 사용되는 용어 "약제학적 조성물"은 통상적인 비-독성 담체, 희석제, 애주반트(adjutant), 및 비히클(vehicle) 등을 함유하는 단위 투여 제형으로, 예를 들어, 경구로, 국소로, 비경구로, 흡입 분무에 의해, 또는 직장으로 포유동물 숙주에게 투여될 수 있는 조성물을 나타내기 위해 사용된다. 본원에서 사용되는 용어 "비경구"는 피하 주사, 정맥내, 근육내, 대장내 주사, 또는 주입 기술에 의한 것을 포함한다.
- [0058] 또한, 화학식 (I)으로 표현되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 개별 거울상이성질체, 뿐만 아니라 이의 전체 또는 부분적 라세미 혼합물이 본 개시 내용의 범위 내에 포함된다. 또한, 화학식 (I)으로 표현되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 개별 거울상 이성질체, 뿐만 아니라 하나 이상의 입체위치가 반전된 이의 부분입체이성질체와의 혼합물이 본 개시 내용에 포함된다. 달리 명시되지 않는 한, 본원에 도시된 구조식은 또한 하나 이상의 동위원소 풍부 원소의 존재에서만 상이한 화합물을 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 수소 원자의 중수소 또는 삼중수소로의 치환, 또는 탄소 원자의 <sup>13</sup>C- 또는 <sup>14</sup>C-풍부 탄소로의 치환을 제외하고, 나타나 있는 구조식을 지니는 화합물은 본 개시 내용의 범위 내에 있다.
- [0059] 본원에서 사용되는 "혼합하다" 또는 "혼합되는" 또는 "혼합물"은 광범위하게 둘 이상의 조성물의 어떠한 조합을 지칭한다. 둘 이상의 조성물은 동일한 물리적 상태를 지니는 것을 필요로 하지 않으므로; 고체는, 예를 들어, 액체와 "혼합되어" 슬러리, 현탁물, 또는 용액을 형성시킬 수 있다. 추가로, 이 용어는 조성물의 어느 정도의 균질성 또는 균일성을 필요로 하지 않는다. 즉, 그러한 "혼합물"은 균질하거나 불균질할 수 있거나, 균일하거나 비균일할 수 있다. 또한, 상기 용어는 공업용 혼합기와 같이 혼합을 수행하는 어떠한 특정 장비의 사용을 필요로 하지 않는다.
- [0060] 본원에서 사용되는 "임의로"는 후속적으로 기재되는 사건(들)이 발생할 수 있거나 발생하지 않을 수 있다는 것을 의미한다. 일부 구체예에서, 임의의 사건은 발생하지 않는다. 일부 다른 구체예에서, 임의의 사건은 1회 이상 발생한다.
- [0061] 본원에서 사용되는 "치환된"은, 치환이 안정하거나 화학적으로 실현가능한 화합물을 야기한다는 것을 단서로 하여, 달리 명시되지 않는 한 다중 정도의 치환이 허용되는, 명명된 모이어티의 하나 이상의 수소 원자의 지명된 치환체 또는 치환체들로의 치환을 지칭한다. 안정한 화합물 또는 화학적으로 실현가능한 화합물은 수분 또는 다른 화학적으로 반응성인 조건의 부재하에 적어도 1주 동안 약 -80°C 내지 약 +40°C의 온도에서 유지되는 때에 화학적 구조가 실질적으로 변경되지 않는 화합물이다. 본원에서 사용되는 어구 "하나 이상으로 치환된..." 또는 "1회 이상 치환된..."은, 안정성 및 화학적 실현성의 상기 조건이 충족된다는 것을 단서로 하여, 1개 내지 이용가능한 결합 부위의 개수를 기초로 가능한 치환체의 최대 개수인 다수의 치환체를 지칭한다.
- [0062] 본원에서 사용되는 "~들을 포함하다" 또는 "~을 포함하다" 또는 "~을 포함하는" 또는 "~로 구성되는"은 기가 분명하게 나열되는 것들에 더하여 추가의 구성원을 포함할 수 있음을 의미하는 개방적인 기를 지칭한다. 예를 들어, 어구 "A를 포함하다"는 A가 존재해야 하지만 다른 구성원이 또한 존재할 수 있음을 의미한다. 용어 "~을 포함하다", "~을 지니다", 및 "~으로 구성되는" 및 이들의 문법적 변형어는 동일한 의미를 지닌다. 대조적으로, "~들로 이루어지다" 또는 "~으로 이루어지다" 또는 "~으로 이루어지는"은 폐쇄적인 기를 지칭한다. 예를 들어, 어구 "A로 이루어지다"는 A 및 단지 A만이 존재한다는 것을 의미한다. 본원에서 사용되는 어구 "~들을 필수적으로 포함하다", "~을 필수적으로 포함하다", 및 "~을 필수적으로 포함하는"은 개방적인 기이지만 청구된 주체의 기본적인 특징에 실질적으로 영향을 미치지 않을 추가의 지명되지 않은 구성원만을 포함하는 기를 지칭한다.
- [0063] 본원에서 사용되는 "또는"은 이의 가장 넓은 적절한 해석으로 제공되어야 하고, 둘 중 어느 하나/또는 구성으로 제한되지 않아야 한다. 따라서, 어구 "A 또는 B를 포함하는"은 A가 존재할 수 있지만 B는 존재하지 않을 수 있는, 또는 B가 존재하지만 A가 존재하지는 않는, 또는 A와 B 둘 모두가 존재한다는 것을 의미한다. 추가로, 예를 들어, A가 다중 구성원들, 예를 들어, A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub>를 지닐 수 있는 부류로 지정되는 경우, 그러한 부류의 하나 이상의 구성원이 동시에 존재할 수 있다.
- [0064] 본원에서 사용되는 표현된 다양한 작용기는 하이픈 또는 대시 (-) 또는 별표 (\*)와 조합되어 사용되는 대시를 지니는 작용기에서 부착점을 지니는 것으로 이해될 것이다. 다시 말해서, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> 또는 \*-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>의 경우에, 부착점은 맨 왼쪽에서 CH<sub>2</sub> 기인 것으로 이해될 것이다. 기가 별표 또는 대시 없이 나열되는 경우, 부착점은 나열된 기의 일반적인 원래의 의미로 지시된다.

- [0065] 본원에서 사용되는 다원자 이가 중은 왼쪽에서 오른쪽으로 읽어야 한다. 예를 들어, 명세서 또는 청구범위에서 A-D-E가 나열되고 D가 -OC(O)-로 정의되는 경우, D가 치환된 생성되는 기는 A-C(O)O-E가 아니고, A-OC(O)-E이다.
- [0066] 다른 용어는 이러한 세부항목에 포함되지 않을지라도 이러한 설명의 다른 부분에서 정의된다.
- [0067] **개질된 올리고뉴클레오티드**
- [0068] 적어도 하나의 양태에서, 본 개시 내용은 하기 화학식 (I)의 화합물을 제공한다:
- [0069] 
$$A^1-X^1-X^2-A^2 \quad (I)$$
- [0070] 상기 식에서,  $A^1$ 은 친수성 기 또는 수소 원자이거나, 유기 기이고;  $A^2$ 는 올리고뉴클레오티드 모이어티이고;  $X^1$ 은 소수성 기이고;  $X^2$ 는 직접 결합, 유기 기, 또는 -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -S-S-, -N=, =N-, -N(H)-, -N=N-N(H)-, -N(H)-N=N-, -N(OH)-, 또는 -N(=O)-로 이루어진 군으로부터 선택된 기이다.
- [0071] 일부 구체예에서,  $A^1$ 은 유기 기이다.  $A^1$ 은 어떠한 적합한 개수의 탄소 원자를 함유할 수 있다. 일부 구체예에서, 예를 들어,  $A^1$ 은 1 내지 100개의 탄소 원자, 또는 1 내지 50개의 탄소 원자, 또는 1 내지 25개의 탄소 원자, 또는 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유한다.  $A^1$ 은 또한 하나 이상의 헤테로원자, 예컨대, 질소, 산소, 황, 또는 인을 함유할 수 있다.
- [0072] 임의의 상기 구체예에 따른 일부 구체예에서,  $A^1$ 은 친수성 기 또는 모이어티이다. 친수성 기의 비-제한적 예는 카복실산 모이어티, 에스테르 모이어티, 아미드 모이어티, 우레아 모이어티, 아민 모이어티, 에테르 모이어티, 알코올 모이어티, 티오에테르 모이어티, 티올 모이어티, 케톤 모이어티, 알데하이드 모이어티, 설페이트 모이어티, 티오설페이트 모이어티, 설페이트 모이어티, 티오설페이트 모이어티, 포스페이트 모이어티, 포스포네이트 모이어티, 포스포네이트 모이어티, 포스파이트 모이어티, 보레이트 모이어티, 또는 보로네이트 모이어티를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.
- [0073] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $A^1$ 은 카복실산 기 (-COOH), 카복실레이트 음이온 (-COO<sup>-</sup>), 또는 카복실레이트 에스테르 (-COOR<sup>a</sup>, 여기서 R<sup>a</sup>는 유기 기, 예컨대, 알킬 또는 알콕실레이트 기임)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 그러한 구체예에서,  $A^1$ 은 카복실산 기이다. 일부 그러한 구체예에서,  $A^1$ 은 카복실레이트 에스테르 기이다.
- [0074] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 다른 구체예에서,  $A^1$ 은 수소 원자이다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 다른 구체예에서,  $A^1$ 은 하이드록실 (-OH) 기이다.
- [0075] 임의의 상기 언급된 구체예에서,  $X^1$ 은 어떠한 적합한 개수의 탄소 원자를 지니는 소수성 기일 수 있다. 일부 구체예에서, 예를 들어,  $X^1$ 은 1 내지 100개의 탄소 원자, 또는 1 내지 50개의 탄소 원자, 또는 1 내지 25개의 탄소 원자를 함유한다.
- [0076] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $X^1$ 은 치환되거나 비치환된 C<sub>8-30</sub> 하이드로카빌렌이다. 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은 치환되거나 비치환된 C<sub>12-22</sub> 하이드로카빌렌이다. 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은 C<sub>12-22</sub> 알킬렌이다. 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은 -(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>-, 또는 -(CH<sub>2</sub>)<sub>22</sub>-이다. 일부 다른 구체예에서,  $X^1$ 은 -(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>-이다. 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은 C<sub>12-22</sub> 알케닐렌이다. 일부 추가의 그러한 구체예에서,  $X^1$ 은 -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH=CH-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-이다.
- [0077] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은 치환되거나 비치환된 C<sub>12-22</sub> 하이드로카빌렌이다. 일부 그러한 구체예에서,  $X^1$ 은 C<sub>12-22</sub> 하이드로카빌렌이다. 일부 추가의 그러한 구체예에서,  $X^1$ 은 C<sub>14-22</sub> 알킬렌이다.

일부 추가의 그러한 구체예에서,  $X^1$ 은  $C_{16-22}$  하이드로카빌렌이다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $X^1$ 은  $C_{12-22}$  하이드로카빌렌이고, 여기서  $A^1$  및  $X^2$ (또는  $X^2$ 가 직접 결합인 경우,  $A^2$ )는 적어도 6개, 또는 적어도 8개, 또는 적어도 10개, 또는 적어도 12개, 또는 적어도 14개의 탄소 원자로 서로 분리된다. 일부 추가의 그러한 구체예에서,  $X^1$ 은  $C_{14-22}$  하이드로카빌렌이고, 여기서  $A^1$  및  $X^2$ (또는  $X^2$ 가 직접 결합인 경우,  $A^2$ )는 적어도 6개, 또는 적어도 8개, 또는 적어도 10개, 또는 적어도 12개, 또는 적어도 14개의 탄소 원자로 서로 분리된다. 일부 추가의 그러한 구체예에서,  $X^1$ 은  $C_{16-22}$  하이드로카빌렌이고, 여기서  $A^1$  및  $X^2$ (또는  $X^2$ 가 직접 결합인 경우,  $A^2$ )는 적어도 6개, 또는 적어도 8개, 또는 적어도 10개, 또는 적어도 12개, 또는 적어도 14개의 탄소 원자로 서로 분리된다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은  $C_{12-22}$  직쇄 알킬렌, 또는  $C_{14-22}$  직쇄 알킬렌, 또는  $C_{16-22}$  직쇄 알킬렌이다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 추가의 구체예에서,  $X^1$ 은  $C_{12-22}$  직쇄 알케닐렌, 또는  $C_{14-22}$  직쇄 알케닐렌, 또는  $C_{16-22}$  직쇄 알케닐렌이다.

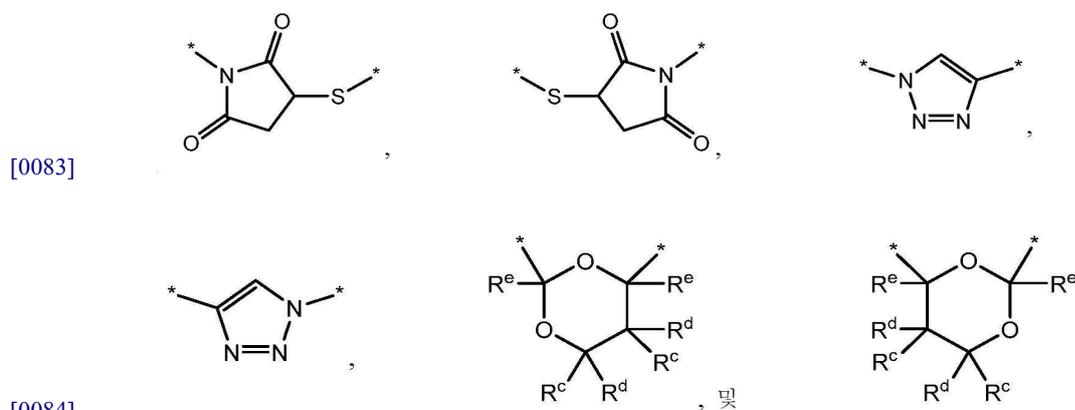
[0078] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 직접 결합이다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 다른 구체예에서,  $X^2$ 는 유기 기이다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 친수성 기이다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 헤테로알킬렌 기이다.

[0079]  $X^2$ 가 유기 기인 임의의 상기 언급된 구체예에서,  $X^2$ 는 어떠한 적합한 개수의 탄소 원자를 함유할 수 있다. 일부 구체예에서, 예를 들어,  $X^2$ 는 1 내지 100개의 탄소 원자, 또는 1 내지 50개의 탄소 원자, 또는 1 내지 25개의 탄소 원자, 또는 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유한다.

[0080]  $X^2$ 가 헤테로알킬렌 기인 임의의 상기 언급된 구체예에서,  $X^2$ 는 어떠한 적합한 개수의 탄소 원자를 함유할 수 있다. 일부 구체예에서, 예를 들어,  $X^2$ 는 1 내지 100개의 탄소 원자, 또는 1 내지 50개의 탄소 원자, 또는 1 내지 25개의 탄소 원자, 또는 1 내지 10개의 탄소 원자, 또는 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유한다.

[0081] 일부 상기 언급된 구체예에서,  $X^2$ 는 특정 기를 함유할 수 있다.  $X^2$ 가 함유할 수 있는 그러한 기의 일부 비-제한적 예는 폴리알킬렌 옥사이드 기, 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 다양한 폴리펩티드 사슬이다.

[0082] 일부 구체예에서,  $X^2$ 는  $-C(=O)-$ ,  $-C\equiv C-$ ,  $-C(H)=C(H)-$ ,  $-C(=O)-O-$ ,  $-O-C(=O)-$ ,  $-C(=O)-NH-$ ,  $-NH-C(=O)-$ ,  $-NH-C(=O)-O-$ ,  $-O-(C=O)-NH-$ ,  $-O-C(=O)-O-$ ,  $-C(=N-NH_2)-$ ,  $-C(=N-R^b)-$  (여기서,  $R^b$ 는 수소 원자 또는 알킬 기임),  $-C(=N-OH)-$ ,  $-NH-C(=O)-NH-$ ,  $-NH-C(=S)-NH-$ ,  $-NH-C(=S)-O-$ ,  $-O-C(=S)-NH-$ ,  $-NH-C(=O)-S-$ ,  $-S-C(=O)-NH-$ ,  $-NH-C(=S)-S-$ ,  $-S-C(=S)-NH-$ , 및 하기 나타나 있는 사이클릭 구조로 이루어진 군으로부터 선택된 유기 기이다:



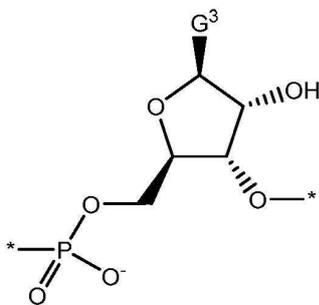
[0085] 상기 식에서,  $R^c$ ,  $R^d$ , 및  $R^e$ 는 각 경우에 독립적으로 수소 원자 또는  $C_{1-10}$  알킬이다. 일부 추가의 구체예에서,  $X^2$ 는  $-C(=O)-$ 이다.

[0086] 일부 구체예에서,  $X^2$ 는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-S-S-$ ,  $-N=$ ,  $=N-$ ,  $-N(H)-$ ,  $-N=N-N(H)-$ ,  $-N(H)-N=N-$ ,  $-N(OH)-$ , 및  $-N(O)-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 기이다.

[0087] 일부 구체예에서,  $X^2$ 는  $-O-$ ,  $-NH-$ ,  $-S-$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 모이어티, 알킬렌 글리콜로부터 형성된 하나 이상의 모이어티, 알칸올 아민으로부터 형성된 하나 이상의 단위, 아미노산으로부터 선택된 하나 이상의 단위, 및 하이드록시 산으로부터 형성된 하나 이상의 단위를 포함한다. 따라서, 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 알킬렌 글리콜로부터 형성된 하나 이상의 모이어티, 예컨대, 1 내지 25개의 에틸렌 글리콜 단위를 지니는 짧은 폴리(에틸렌 글리콜) 사슬을 포함한다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 아미노산으로부터 형성된 하나 이상의 모이어티, 예컨대, 1 내지 25개의 아미노산 단위를 지니는 올리고펩티드 사슬을 포함한다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 하이드록시 산으로부터 형성된 하나 이상의 모이어티, 예컨대, 글리콜산, 락트산, 또는 카프로락톤으로부터 형성된 모이어티를 포함한다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 1 내지 25개의 에틸렌 글리콜 단위를 지니는 폴리(에틸렌 글리콜) 사슬 및 1 내지 25개의 아미노산 단위를 지니는 올리고펩티드, 및 임의로 하이드록시 산으로부터 형성된 하나 이상의 단위의 조합을 포함한다. 일부 구체예에서,  $X^2$ 는  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-NH-$ , 또는 유기 기, 예컨대,  $-C(O)-O-Z^1-NH-$ ,  $-C(O)-O-Z^1-O-$ ,  $-C(O)-O-Z^1-S-$ 이고, 여기서  $Z^1$ 은  $-OH$ 로 1회 이상 치환되거나 비치환된  $C_{1-6}$  알킬렌 기이다. 일부 그러한 구체예에서,  $Z^1$ 은 에틸렌이다. 일부 그러한 구체예에서,  $Z^1$ 은  $-CH_2-CH(OH)-CH_2-$ 이다.

[0088] 상기 구체예에서,  $A^2$ 는 상술된 정의에 따른 어떠한 적합한 임의의 상기 구체예에서,  $X^2$ 의 선택은 화학적으로 불안정하거나 불가능한 화합물이 제조되는 것을 방지하기 위해서  $X^2$ 가 올리고뉴클레오티드 모이어티에 링킹되는 작용기의 유형에 좌우될 것이다. 당업자는 화학적으로 안정한 화합물을 생성시키는  $X^2$ 와  $A^1$ 의 조합을 선택할 수 있고, 여기서 화학적으로 안정한 화합물은 수분 또는 다른 화학적으로 반응성인 조건의 부재하에 적어도 1주일 동안 약  $-80^\circ\text{C}$  내지 약  $+40^\circ\text{C}$ 의 온도에서 유지될 때 화학적 구조가 실질적으로 변경되지 않는 화합물이다. 올리고뉴클레오티드 모이어티일 수 있다. 그러한 올리고뉴클레오티드 모이어티는 어떠한 적합한 수의 뉴클레오티드 단위를 함유할 수 있다. 일부 구체예에서, 올리고뉴클레오티드 모이어티는 2 내지 200개의 뉴클레오티드 단위, 또는 3 내지 150개의 뉴클레오티드 단위, 또는 4 내지 100개의 뉴클레오티드 단위, 또는 5 내지 50개의 뉴클레오티드 단위, 또는 6 내지 40개의 뉴클레오티드 단위를 포함한다.

[0089] 본원에서 사용되는 용어 "뉴클레오티드 단위"는 포스페이트-기반 모이어티, 사이클릭 하이드록시-치환된 에테르 모이어티, 및 질소성 염기로부터 형성된 모이어티를 지칭한다. 일반적으로, 포스페이트-기반 모이어티 및 질소성 염기는 사이클릭 하이드록실-치환된 에테르의 사이클릭 에테르 기의 상이한 위치에서 치환체를 형성시키고, 올리고뉴클레오티드 모이어티에서, 모이어티의 골격은 포스페이트-기반 모이어티 및 사이클릭 하이드록실-치환된 에테르 모이어티로부터 형성된 교대기를 포함한다. 하기 화학식의 모이어티는 그러한 뉴클레오티드 단위의 비-제한적 예를 나타낸 것이고, 여기서  $G^3$ 은 질소성 염기로부터 형성된 모이어티, 예컨대, 아데닌 모이어티, 시토신 모이어티, 구아닌 모이어티, 티민 모이어티, 또는 우라실 모이어티이다:

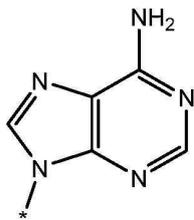


[0090]

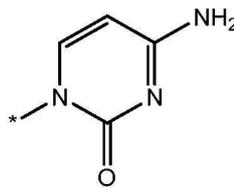
[0091] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서, 포스페이트-기반 모이어티는 상기 도시된 바와 같은 포스페이트 모이어티이다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 산소 원자는 황으로 치환되어 포스포리티오에이트 모이어티를 형성시킬 수 있다. 그러한 포스포리티오에이트 모이어티의 예는  $-P(=S)(O^-)-O-$ 와 같은 모이어티를 포함한다. 일부 다른 구체예에서, 포스페이트의 음이온성 산소 원자는 유기 기, 예컨대, 알킬 또는 알킬옥시 기로 치환된다.

[0092] 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서, 사이클릭 하이드록시-치환된 에테르 모이어티는 사이클릭 리보스 모이어티(예를 들어, 상기 도시된 것과 같은) 또는 2-데옥시리보스 모이어티(여기서, 리보스 상의 2' 위치는 비치환됨)이다. 둘 모두의 경우에, 1' 위치에서의 -OH 기는 질소성 염기 모이어티로 치환된다. 일부 구체예에서, 사이클릭 하이드록시-치환된 에테르 모이어티는 리보스 모이어티이고, 여기서 2' 위치에서의 하이드록실 기는 유기 기, 예컨대, 메톡시 기, 메톡시에톡시 기, 또는 아미노에톡시 기로 치환된다. 일부 구체예에서, 사이클릭 하이드록시-치환된 에테르 모이어티는 리보스 모이어티이고, 여기서 2' 위치에서의 하이드록실 기는 할로젠 원자, 예컨대, 불소로 치환된다. 일부 구체예에서, 특히 특정 뉴클레오타이드 단위가 올리고뉴클레오타이드 사슬에서 말단 단위인 경우, 2' 위치에서의 하이드록실 기는 질소성 염기, 예컨대, 티민으로 치환된다. 일부 그러한 구체예에서, 말단 뉴클레오타이드의 리보스 또는 데옥시리보스의 3' 위치는 하이드록실 기이다. 사이클릭 하이드록시-치환된 에테르 모이어티가 리보스 모이어티, 데옥시리보스 모이어티, 또는 상기 중 어느 하나의 유도체인 구체예에서, 올리고뉴클레오타이드는 일반적으로 상기 도시된 바와 같은 5' 및 3' 위치를 통해 링킹에 의해 형성된다. 일부 그러한 구체예에서,  $-X^2-X^1-A^1$  모이어티는 5' 위치와 가장 가깝게 컨주게이션된다(예를 들어, 포스페이트-기반 모이어티를 통해).

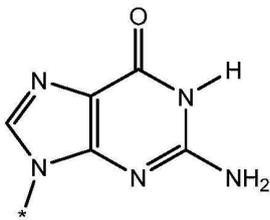
[0093] 일부 구체예에서, 질소성 염기 모이어티는 아데닌 모이어티, 구아닌 모이어티, 시토신 모이어티, 티민 모이어티, 및 우라실 모이어티로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 다른 구체예에서, 질소성 염기는 또한 상기의 특정 모사체, 예컨대, 디하이드로우라실로부터 선택될 수 있다. 아데닌 및 구아닌 모이어티는 전형적으로 이미다졸 고리 상에서 N-H 기를 통해 리보스 또는 데옥시리보스 모이어티에 연결된다. 질소성 염기 모이어티의 예는 하기에 그리고 하기 페이지에 도시되어 있다.



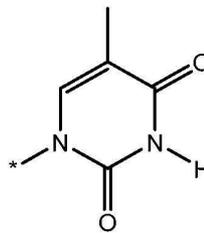
아데닌 모이어티



시토신 모이어티

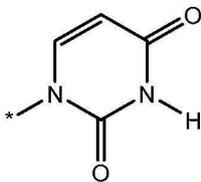


구아닌 모이어티



티민 모이어티

[0094]



우라실 모이어티

[0095]

[0096] 임의의 상기 언급된 구체예에 따른 올리고뉴클레오타이드 모이어티는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있다. 이중-가닥 구체예에서, 상보성 올리고뉴클레오타이드는 수소 결합 및/또는  $\pi$ -적층을 통해 올리고뉴클레오타이드 모이어티에 비-공유적으로 결합된다. 그러한 구체예에서,  $-X^2-X^1-A^1$  모이어티는 두 가닥 중 하나(예를 들어, 패신저 가닥(passenger strand)에 컨주게이션되고, 이는 염기 쌍 간의 수소 결합 및/또는  $\pi$ -적층을 통해 다른 가닥(예를 들어, 가이드 가닥(guide strand))에 비-공유적으로 결합된다.

[0097]  $-X^2-X^1-A^1$ 의 선택은 올리고뉴클레오타이드 모이어티에 대한 연결의 성질에 좌우될 수 있다.

[0098]  $-X^2-X^1-A^1$ 이, 일반적으로 올리고뉴클레오타이드 모이어티에 연결되는 때의 경우와 같이, C(=O) 기에 또는 P(=O) 기에 또는 P(S) 기에 연결되는 구체예에서, 이후  $-X^2-X^1-A^1$ 은  $-O-(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OH$ ;  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OCH_3$ ;  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OCH_3$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-CH_3$ ;  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-CH_3$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_{n3}(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ; 및  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $C(=O)-O-[(CH_2)_2-O]_{n3}(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고; 여기서  $n1$ 은 12 내지 24의 정수이고,  $n2$ 는 13 내지 25의 정수이고,  $n3$ 는 1 내지 25의 정수이다. 일부 추가의 그러한 구체예에서,  $-X^2-X^1-A^1$ 은  $-O-(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OH$ ;  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OCH_3$ ; 및  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OCH_3$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 추가의 그러한 구체예에서,  $-X^2-X^1-A^1$ 은  $-O-(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(CH_2)_{n2}-C(=O)-OH$ ;  $-NH-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OH$ ; 및  $-O-(C_{1-6}$  알킬렌)- $O-C(=O)-(CH_2)_{n1}-C(=O)-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $n1$ 은 14 내지 22, 또는 16 내지 20의 정수이다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $n2$ 는 15 내지 23, 또는 17 내지 21의 정수이다. 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서,  $n3$ 는 1 내지 15, 또는 1 내지 10, 또는 1 내지 6의 정수이다. 일부 그러한 구체예에서,  $-X^2-X^1-A^1$ 은  $-O-(CH_2)_{n3}-OH$ 이고, 여기서  $n3$ 은 14 내지 26의 정수, 또는 16 내지 24의 정수, 또는 18 내지 22의 정수이다.

[0099] 임의의 상기 구체예에 기재된 화합물은 또한 약제학적으로 허용되는 염으로 존재할 수 있다. 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 생물학적이 아니거나 달리 요망되지 않은 화합물의 염을 지칭하고, 유리 염기를 적합한 유기 또는 무기 산과 반응시킴으로써 또는 산을 적합한 유기 또는 무기 염기와 반응시킴으로써 일반적으로 제조된다. 대표적인 염은 다음 염들을 포함한다: 아세테이트, 벤젠설포네이트, 벤조에이트, 바이카보네이트, 바이설페이트, 바이타르트레이트, 보레이트, 브로마이드, 칼슘 에데테이트, 캄실레이트, 카보네이트, 클로라이드, 클라불라네이트, 시트레이트, 디하이드로클로라이드, 에데테이트, 에디실레이트, 에스톨레이트, 에실레이트, 푸마레이트, 글루셉테이트, 글루코네이트, 글루타메이트, 글리콜릴아르사닐레이트, 핵실레조르시네이트, 하이드라민, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 하이드록시나프토포에이트, 아이오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 락토바이오네이트, 라우레이트, 말레이트, 말레에이트, 만델레이트, 메실레이트, 메틸브로마이드, 메틸니트레이트, 메틸설페이트, 모노포타슘 말레에이트, 무케이트, 나프실레이트, 니트레이트, N-메틸글루타민, 옥살레이트, 파모에이트 (엠보네이트), 팔미테이트, 판토테네이트, 포스페이트/디포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 칼륨, 살리실레이트, 나트륨, 스테아레이트, 수바세테이트, 석시네이트, 탄네이트, 타르트레이트, 테오클레이트, 토실레이트, 트리에티오다이드, 트리메틸암모늄, 및 발레레이트.  $-COOH$ 와 같은 산성 치환체가 존재하는 경우, 투여형으로서의 사용을 위해, 암모늄, 모르폴리늄, 나트륨, 칼륨, 바륨, 및 칼슘 염 등이 형성될 수 있다. 염기성 기, 예컨대, 아미노 또는 염기성 헤테로아릴 라디칼, 예컨대, 피리딜이 존재하는 경우, 산성 염, 예컨대, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 포스페이트, 설페이트, 트리플루오로아세테이트, 트리클로로아세테이트, 아세테이트, 옥살레이트, 말레에이트, 피루베이트, 말로네이트, 석시네이트, 시트레이트, 타트타레이트, 푸마레이트, 만델레이트, 벤조에이트, 신나메이트, 메탄설포네이트, 에탄설포네이트, 및 피크레이트 등이 형성될 수 있다.

[0100] 상기 화합물은 문헌[Sudhir Agrawal, *Protocols for Oligonucleotides and Analogs - Synthesis and Properties (Methods in Molecular Biology, Volume 20, 1993, Springer-Verlag New York, LLC)*; Piet Herdewijn, *Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications (Methods in Molecular Biology, Volume 288, 2005, Edition 1, Humana Press)*; 및 John Goodchild, *Therapeutic Oligonucleotides: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Volume 764, 2011, Edition 1, Humana Press, Springer Science+Business Media, LLC)*]에 예시된 방법과 같은 표준 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. 특정 비-제한적 예는 하기에서 실시예에 나타나 있다.

[0101] 표 3 (이하)은 본 개시 내용에 의해 고려되는 화합물의 다양한 예를 나타낸 것이다. 표 3은 본 개시 내용의 화합물을 함께 형성시키는  $-X^2-X^1-A^1$ 와  $A^2$ - 모이어티의 다양한 조합을 나타낸 것이다. 표 1은  $A^2$ - 모이어티에 대한

예시적인 예 모이어티를 나타낸 것이고, 여기서  $A^2$ 는 나타나 있는 모이어티일 수 있거나, 또한 이의 약제학적으로 허용되는 염일 수 있다. 표 2는  $-X^2-X^1-A^1$ 에 대한 예시적인 예 모이어티를 나타낸 것이다. 표 3은 함께 취해져서 본 개시 내용의 화합물을 형성시킬 수 있는 표 1 및 2로부터의 모이어티의 비-제한의 예시적인 조합을 나타낸 것이다. 표 3에 개시된 화합물은 실시예에 예시된 것과 유사한 방법에 의해, 그리고 당업자에게 알려진 일반적인 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. 그러한 화합물을 제조하기에 적합한 방법은 문헌[Sudhir Agrawal, *Protocols for Oligonucleotides and Analogs - Synthesis and Properties (Methods in Molecular Biology, Volume 20, 1993, Springer-Verlag New York, LLC)*; Piet Herdewijn, *Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications (Methods in Molecular Biology, Volume 288, 2005, Edition 1, Humana Press)*; 및 John Goodchild, *Therapeutic Oligonucleotides: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Volume 764, 2011, Edition 1, Humana Press, Springer Science+Business Media, LLC)*]에 예시되어 있다.

[0102]

표 1

<b>A<sup>2</sup>- 모이어티</b>	
HA1	<p>항-서마이빈 siRNA (서마이빈은 다양한 암에서 과발현된 유전자임):</p> <p>패신저 가닥: 5'-GGACCACCGCAUCUCUACAdTdT-3'</p> <p>가이드 가닥: 5'-UGUAGAGAUGCGGUGGUCCdTdT-3'</p> <p>또는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 버전, 또는, 예를 들어, 포스포로티오에이트, 2'-플루오로-리보스, 2'-O-메틸-리보스 등과 같은 안정화 개질을 함유하는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 또는 비-표지된 버전</p>
HA2	<p>마이크로 RNA-122 모사체 (miR-122는 간세포 암종에서 억제됨):</p> <p>5'-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-3'</p> <p>또는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 버전, 또는, 예를 들어, 포스포로티오에이트, 2'-플루오로-리보스, 2'-O-메틸-리보스 등과 같은 안정화 개질을 함유하는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 또는 비-표지된 버전</p>
HA3	<p>항-β1 인테그린 서브유닛 siRNA (인테그린은 녹아웃될 경우 간세포 암종 성장을 억제하는 것으로 밝혀진 필수 세포의 매트릭스 수용체임(참조: Bogorad et al., Nat. Commun. 2014, 5, 3869)):</p> <p>패신저 가닥: 5'-AGAUGAGGUUUAAUUUGAAdTdT-3'</p> <p>가이드 가닥: 5'-UUCAAAUUGAACCUCAUCUdTdT-3'</p> <p>또는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 버전, 또는, 예를 들어, 포스포로티오에이트, 2'-플루오로-리보스, 2'-O-메틸-리보스 등과 같은 안정화 개질을 함유하는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 또는 비-표지된 버전</p>
HA4	<p>항-αv 인테그린 서브유닛 siRNA (인테그린은 녹아웃될 경우 간세포 암종 성장을 억제하는 것으로 밝혀진 필수 세포의 매트릭스 수용체임(참조: Bogorad et al., Nat. Commun. 2014, 5, 3869)):</p> <p>패신저 가닥: 5'-GCUUGAAAGAUCAUAAUCAdTdT-3'</p> <p>가이드 가닥: 5'-UGAUUAUGAUCUUUCAAGCdTdT-3'</p> <p>또는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 버전, 또는, 예를 들어, 포스포로티오에이트, 2'-플루오로-리보스, 2'-O-메틸-리보스 등과 같은 안정화 개질을 함유하는 이들의 임의의 형광단/발색단-표지된 또는 비-표지된 버전</p>

[0103]

[0104] 표 2

	<u>-X<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>-A<sup>1</sup> 모이어티</u>
HB1	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> -C(=O)-OH
HB1	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -C(=O)-OH
HB3	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>19</sub> -C(=O)-OH
HB4	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> -CH=CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -C(=O)-OH

[0105]

	<u>-X<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>-A<sup>1</sup> 모이어티</u>
HB5	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -C(=O)-OH
HB6	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> -C(=O)-OH
HB7	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> -C(=O)-OH
HB8	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH=CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -C(=O)-OH
HB9	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -C(=O)-OH
HB10	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> -C(=O)-OH
HB11	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> -C(=O)-OH
HB12	-O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH=CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -C(=O)-OH
HB13	-NH-CH <sub>2</sub> -C(=O)-O-[(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-] <sub>6</sub> C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -C(=O)-OH
HB14	-NH-CH <sub>2</sub> -C(=O)-O-[(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-] <sub>6</sub> C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> -C(=O)-OH
HB15	-NH-CH <sub>2</sub> -C(=O)-O-[(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-] <sub>6</sub> C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> -C(=O)-OH
HB16	-NH-CH <sub>2</sub> -C(=O)-O-[(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-] <sub>6</sub> C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH=CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -C(=O)-OH
HB17	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -C(=O)-O-CH <sub>3</sub>
HB18	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> -C(=O)-O-CH <sub>3</sub>
HB19	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> -C(=O)-O-CH <sub>3</sub>
HB20	-NH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-C(=O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH=CH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -C(=O)-O-CH <sub>3</sub>

[0106]

[0107] 표 3

화합물 No.	A <sup>2</sup> - 모이어티	<u>-X<sup>2</sup>-X<sup>1</sup>-A<sup>1</sup> 모이어티</u>
1-20	HA1	각각 HB33, HB34, HB35, HB36, HB37, HB38, HB39, HB40, HB41, HB42, HB43, HB44, HB45, HB46, HB47, HB48, HB49, HB50, HB51, HB52
21-40	HA2	각각 HB33, HB34, HB35, HB36, HB37, HB38, HB39, HB40, HB41, HB42, HB43, HB44, HB45, HB46, HB47, HB48, HB49, HB50, HB51, HB52
41-60	HA3	각각 HB33, HB34, HB35, HB36, HB37, HB38, HB39, HB40, HB41, HB42, HB43, HB44, HB45, HB46, HB47, HB48, HB49, HB50, HB51, HB52
61-80	HA4	각각 HB33, HB34, HB35, HB36, HB37, HB38, HB39, HB40, HB41, HB42, HB43, HB44, HB45, HB46, HB47, HB48, HB49, HB50, HB51, HB52

[0108]

[0109] 약제학적 조성물

- [0110] 특정 양태에서, 임의의 상기 구체예의 화합물은 어떠한 적합한 방식으로 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다. 일반적으로, 임의 치료를 위한 화합물로서, 그러한 약제학적 제형은 비경구 투여, 예컨대, 정맥내 또는 동맥내 투여에 적합한 수성 제형이다.
- [0111] 적어도 하나의 양태에서, 본 개시 내용은 하나 이상의 화학식 (I)의 화합물 (임의의 상기 구체예에 따름) 및 단백질을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 구체예에서, 단백질은 알부민 또는 알부민 모사체이다. 일부 그러한 구체예에서, 단백질은 인간 혈청 알부민 (human serum albumin: HSA) 또는 이의 모사체, 즉, 서열이 HSA의 서열과 적어도 50% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 60% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 70% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 80% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 90% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 95% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 97% 동일한, HSA의 서열과 적어도 99% 동일한 단백질이다. 일부 구체예에서, 단백질은 인간 혈청 알부민이다.
- [0112] 임의의 상기 구체예의 특정 구체예에서, 약제학적 조성물은 또한 담체, 예컨대, 액체 담체를 포함한다. 일부 구체예에서, 담체는 물을 포함한다. 예를 들어, 일부 그러한 구체예에서, 물은 약제학적 조성물 중의 액체 물질의 총 부피를 기준으로 적어도 50부피%, 또는 적어도 60부피%, 또는 적어도 70부피%, 또는 적어도 80부피%, 또는 적어도 90부피%를 구성한다. 담체는 또한 다른 액체 구성성분, 예컨대, 비경구 투여를 위한 수성 약제학적 제형에 흔히 포함되는 액체 구성성분을 포함할 수 있다.
- [0113] 수성 담체를 지니는 특정 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물은 약제학적 제형에서 단백질에 비-공유적으로 결합된다. 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물 및 단백질 (예를 들어, 인간 혈청 알부민)은 수성 조성물에 25°C에서 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 서로 비-공유적으로 회합된다.
- [0114] 수성 담체를 지니는 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물 및 단백질은 담체에 의해 용매화된다. 일부 그러한 구체예에서, 적어도 90중량%, 또는 적어도 95중량%, 또는 적어도 97중량%, 또는 적어도 98중량%, 또는 적어도 99중량%의, 조성물 중의 화학식 (I)의 화합물은 수성 조성물에 25°C에서 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 단백질에 비-공유적으로 결합된다. 일부 추가의 그러한 구체예에서, 조성물은 응집체 또는 나노입자를 실질적으로 함유하지 않는다. 예를 들어, 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서, 5중량% 이하, 또는 4중량% 이하, 또는 3중량% 이하, 또는 2중량% 이하, 또는 1중량% 이하의, 수성 조성물 중의 단백질-화합물 (즉, 단백질과 하나 이상의 화학식 (I)의 화합물 간의 비-공유적으로 결합된 컨주게이트)은, 동적 광 산란 (dynamic light scattering)에 의해 측정하는 경우, 7 nm 초과와 반경, 또는 5 nm 초과와 반경, 또는 4 nm 초과와 반경을 지닌다.
- [0115] 화학식 (I)의 화합물은 제형에서 단백질에 대해 어떠한 적합한 몰비를 지닐 수 있다. 예를 들어, 임의의 상기 구체예의 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물 대 단백질의 몰비는 1:10 내지 20:1, 또는 1:5 내지 15:1, 또는 1:2 내지 10:1의 범위이다. 임의의 상기 구체예의 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물 대 단백질의 몰비는 약 1:1이거나, 약 2:1이거나, 약 3:1이거나, 약 4:1이거나, 약 5:1이거나, 약 6:1이거나, 약 7:1이고, 여기서 용어 "약"은 이러한 예에서  $\pm 0.5:1$ 를 의미하므로, "약 5:1"은 4.5:1 내지 5.5:1의 범위를 나타낸다.
- [0116] 적어도 하나의 양태에서, 본 개시 내용은 올리고뉴클레오티드 모이어티 및 단백질 결합 모이어티를 포함하는 화합물; 단백질 (단백질은 알부민 또는 알부민 모사체임); 및 담체 (물 포함)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0117] 일부 구체예에서, 단백질은 인간 혈청 알부민 (HSA) 또는 이의 모사체, 즉, 서열이 HSA의 서열과 적어도 50% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 60% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 70% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 80% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 90% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 95% 동일한, 또는 HSA의 서열과 적어도 97% 동일한, HSA의 서열과 적어도 99% 동일한 단백질이다. 일부 구체예에서, 단백질은 인간 혈청 알부민이다.
- [0118] 상기 언급된 바와 같이, 일부 구체예에서, 담체는 물을 포함한다. 예를 들어, 일부 그러한 구체예에서, 물은 약제학적 조성물 중의 액체 물질의 총 부피를 기준으로 적어도 50부피%, 또는 적어도 60부피%, 또는 적어도 70부피%, 또는 적어도 80부피%, 또는 적어도 90부피%를 구성한다. 담체는 또한 다른 액체 구성성분, 예컨대, 비경구 투여를 위한 수성 약제학적 제형에 흔히 포함되는 액체 구성성분을 포함할 수 있다.

- [0119] 특정 구체예에서, 화합물은 약제학적 제형에서 단백질에 비-공유적으로 결합된다. 일부 구체예에서, 화합물 및 단백질 (예를 들어, 인간 혈청 알부민)은 수성 조성물에 25°C에서 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 서로 비-공유적으로 회합된다.
- [0120] 수성 담체를 지니는 일부 구체예에서, 화합물 및 단백질은 담체에 의해 용매화된다. 일부 그러한 구체예에서, 적어도 90중량%, 또는 적어도 95중량%, 또는 적어도 97중량%, 또는 적어도 98중량%, 또는 적어도 99중량%의, 조성물 중의 화학식 (I)의 화합물은 수성 조성물에 25°C에서 적어도  $10^2 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의 결합 상수 ( $K_b$ )로 단백질에 비-공유적으로 결합된다. 일부 추가의 그러한 구체예에서, 조성물은 응집체 또는 나노입자를 실질적으로 함유하지 않는다. 예를 들어, 임의의 상기 언급된 구체예의 일부 구체예에서, 5중량% 이하, 또는 4중량% 이하, 또는 3중량% 이하, 또는 2중량% 이하, 또는 1중량% 이하의, 수성 조성물 중의 단백질-화합물 (즉, 단백질과 하나 이상의 화학식 (I)의 화합물 간의 비-공유적으로 결합된 컨주게이트)은, 동적 광 산란에 의해 측정하는 경우, 7 nm 초과와 반경, 또는 5 nm 초과와 반경, 또는 4 nm 초과와 반경을 지닌다.
- [0121] 화학식 (I)의 화합물은 제형에서 단백질에 대해 어떠한 적합한 물비를 지닐 수 있다. 예를 들어, 임의의 상기 구체예의 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물 대 단백질의 물비는 1:10 내지 20:1, 또는 1:5 내지 15:1, 또는 1:2 내지 10:1의 범위이다. 임의의 상기 구체예의 일부 구체예에서, 화학식 (I)의 화합물 대 단백질의 물비는 약 1:1이거나, 약 2:1이거나, 약 3:1이거나, 약 4:1이거나, 약 5:1이거나, 약 6:1이거나, 약 7:1이고, 여기서 용어 "약"은 이러한 예에서  $\pm 0.5:1$ 을 의미하므로, "약 5:1"은 4.5:1 내지 5.5:1의 범위를 나타낸다.
- [0122] 임의의 상기 양태 및 구체예의 약제학적 조성물은 또한 특정 추가의 구성성분, 예컨대, 비경구 투여를 위해 약제학적 조성물에서 흔히 사용되는 것들을 포함할 수 있다.
- [0123] **방법 및 용도**
- [0124] 임의의 상기 구체예의 화합물 또는 조성물은 암 및 관련 장애의 치료에 유용하다. 따라서, 이러한 화합물 및 조성물은 암 종양이 있거나 있었던 대상체에 대한 투여를 위해 사용될 수 있다.
- [0125] 따라서, 특정 양태에서, 본 개시 내용은 암을 치료하는 방법으로서, 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물 또는 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구체예에서, 대상체는 그러한 치료를 필요로 하는 대상체, 예를 들어, 그러한 치료를 필요로 하는 인간이다.
- [0126] 일부 양태에서, 본 개시 내용은 암 세포에서 세포자멸을 유발하는 방법으로서, 암 세포를 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물 또는 조성물과 접촉시킴을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0127] 일부 양태에서, 본 개시 내용은 암 종양의 증식을 억제하는 방법으로서, 암 종양을 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물 또는 조성물과 접촉시킴을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0128] 일부 양태에서, 본 개시 내용은 약제로서의 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0129] 일부 양태에서, 본 개시 내용은 암을 치료하기 위한 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물 또는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0130] 일부 양태에서, 본 개시 내용은 약제 제조에서의 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물의 용도를 제공한다.
- [0131] 일부 양태에서, 본 개시 내용은 암을 치료하기 위한 약제 제조에서의 임의의 상기 양태 및 구체예의 화합물의 용도를 제공한다.
- [0132] **병행 요법**
- [0133] 임의의 상기 구체예의 화합물 및 조성물은 면역요법제, 예컨대, 관문 억제제, 톨 유사 수용체 조절제, 및, 이로 제한되지는 않지만, 알렘투주맙, 아테졸리주맙, 이필리무맙, 오파투무맙, 니볼루맙, 펨브롤리주맙, 및 리톡시맙을 포함하여, 다양한 항체와 함께 사용하는 경우에 유용하다.
- [0134] **실시예**
- [0135] 하기 실시예는 본원에 개시된 화합물, 조성물, 및 방법의 특정 예시적인 구체예를 나타낸 것이다. 이러한 실시

예들은 어떠한 방식으로 제한하는 것으로 이해되지 않아야 한다. 실시예들은 어떠한 바람직한 구체예를 나타내는 것으로, 또는 추가 연구를 위한 어떠한 방향을 지시하는 것으로 이해되지 않아야 한다.

[0136] 실시예에는 특정의 일반적인 화학물질에 대하여 약어가 사용될 수 있다. 하기 약어들은 지시된 화합물을 지칭한다.

DMF	= 디메틸포름아미드
DCM	= 디클로로메탄
NMR	= 핵 자기 공명
HPLC	= 고성능 액체 크로마토그래피
RP-HLPC	= 역상 고성능 액체 크로마토그래피
LRMS	= 액체 크로마토그래피 / 저분해능 질량 분광기
HRMS	= 액체 크로마토그래피 / 고분해능 질량 분광기
Tips	= 트리아이소프로필실릴
DMAP	= 4-(디메틸아미노)피리딘
EDC	= 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드
THF	= 테트라하이드로푸란
Dipea	= N,N-다이소프로필에틸아민
HATU	= 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로-[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트
DCC	= N,N'-디사이클로헥실카보디이미드
HSA	= 인간 혈청 알부민

[0137]

[0138] 실시예 1 - 올리고뉴클레오티드 실시예

[0139]

[0139] 올리고뉴클레오티드의 고체상 합성

[0140]

첫 번째 5'-Dmt-보호된 뉴클레오티드를 갖는 1 μmol의 CPG(1000 Å 공극 크기, Glen Research)가 로딩된 합성 컬럼에 ABI 394 DNA/RNA 합성기(Applied Biosystems)에서 올리고뉴클레오티드를 합성하였다. 모든 시아노에틸 포스포르아미다이트(CEPA)를 Glen Research로부터 구매하였다: DNA 뉴클레오티드를 위한 Dmt-dT-CEPA (10-1030), RNA 뉴클레오티드를 위한 Dmt-A<sup>Ac</sup>-TOM-CEPA (10-3004) 및 Dmt-G<sup>Ac</sup>-TOM-CEPA, 및 2'F-RNA 뉴클레오티드를 위한 Dmt-2'F-C<sup>Ac</sup>-CEPA (10-3415) 및 Dmt-2'F-U-CEPA (10-3430)(2'F-피리미딘의 존재는 올리고뉴클레오티드 서열에서 위치자<sup>F</sup>에 의해 지시됨). 5'-아미노-개질제-5 (10-1905)를 패신저 가닥 상에 말단 아민을 위치시키는 데 사용하였다. 3'-플루오레세인-표지된 서열을 3'-플루오레세인-dT-CPG (20-2056)에서 합성하였다. 4,5-디시아노이미다졸 (DCC) 및 5-(벤질티오)-1H-테트라졸 (BTT)을 각각 DNA 및 RNA/2'F-RNA의 합성을 위한 활성화제로서 사용하였다. 캡핑을 아세트니트릴 (Cap Mix A) 중의 THF/피리딘/아세트산 무수물 및 THF (Cap Mix B) 중의 16% 1-메틸 이미다졸로 수행하였다. 각각의 사이클에서, 인을 THF/피리딘/물 중의 0.02 M 요오드로의 처리에 의해 산화시켰다. 모든 5'-트리틸 보호기를 DCM 중 3% 트리클로로아세트산으로 절단하였다. 커플링 사이클은 다음 단계로 이루어졌다: 탈트리틸화, 커플링, 캡핑, 및 산화. 탈트리틸화 시간은 60초이고, 커플링 시간은 DNA 및 5'-아미노-개질제의 경우에 30초이고, RNA/2'F-RNA의 경우에 180초였다. 캡핑을 5초 동안 수행하고, 산화를 15초

동안 수행하였다. 모든 세척 및 시약 전달 단계를 기기의 디폴트 합성 사이클에 주어진 바와 같이 수행하였다.

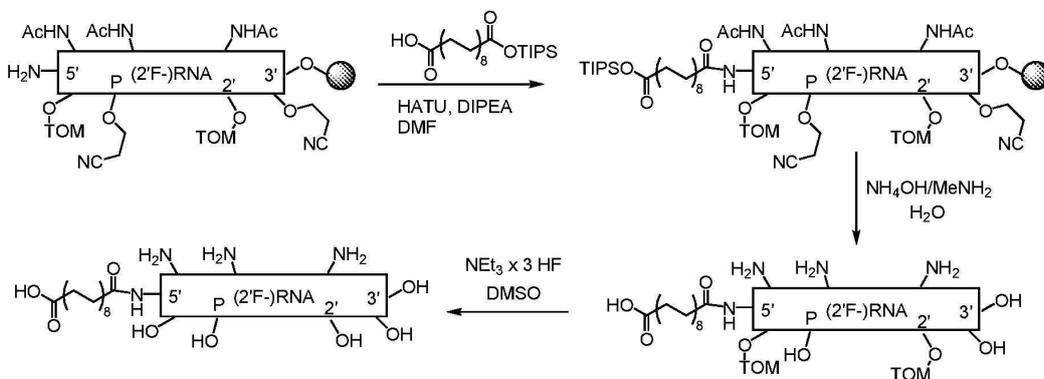
[0141] **아민-개질된 핵산의 5'-말단에 대한 옥타도데칸디오산(ODDA)의 컨쥬게이션**

[0142] 커플링 전, 5'-아미노개질제의 말단 Mmt 보호기를 황색 Mmt-양이온이 더 이상 옥안으로 관찰 가능하지 않을 때 까지(약 3 내지 4.5분) DCM 중의 3% 트리클로로아세트산으로 지지체-결합된 완전 보호된 핵산을 플라싱시킴으로써 절단하였다. 지지체를 DCM 및 아세토니트릴로 세척하고, 아르곤 스트림하에 간단히 건조시켰다. 잔여 용매를 데시케이터에서 제거하였다.

[0143] 소분자와의 컨쥬게이션: 무수 DMF 중의 10 당량의 ODDA-모노-트리소프로필실릴 에스테르 (ODDA-TIPS), 9 당량의 HATU 및 30 당량의 DIPEA의 용액을 5분 동안 예비-활성화시키고, 이어서 5'-아미노개질된 핵산 서열을 갖는 건조된 지지체에 첨가하였다. 합성 컬럼을 2시간 동안 웨이킹하고, 지지체를 NMP 및 DCM으로 세척하고, 진공에서 건조시켰다. 커플링 반응을 새로 활성화된 ODDA-TIPS로 1회 반복하였다(2시간). 지지체를 NMP 및 DCM으로 광범위하게 세척하여 미반응된 카복실산을 플라싱하고, 진공에서 건조시켰다. 지지체를 컨쥬게이트가 절단되고 탈보호될 때까지 데시케이터에서 저장하였다.

[0144] **고체 지지체로부터의 방출 및 핵산 컨쥬게이션의 탈보호**

[0145] CPG-결합된 올리고뉴클레오티드의 방출 및 핵염기의 탈보호, 뿐만 아니라 시아노에틸 보호기의 제거를 AMA(30% 암모늄 하이드록사이드, 40% 수성 메틸아민, 1:1, v:v)에서 지지체를 함침시킴으로써 수행하였다. 피발로일-보호된 플루오레세인 염료가 서열에 존재하는 경우, 등부피의 40% 수성 메틸아민이 첨가되기 전에 지지체를 먼저 실온에서 1시간 동안 30% 암모늄 하이드록사이드로 처리하여 피발로일 보호기를 제거하였다. 고체 지지체를 함유하는 AMA 용액을 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하여 탈보호를 완료하였다. 원심분리 후, 상청액을 제거하고, 지지체를 4 × 200 μL의 물로 세척하였다. 합한 용액을 이질소의 스트림하에 건조시켰다(2'F-RNA 뉴클레오티드가 서열에 존재하는 경우에 열은 피해야 함). 2'TOM 보호기를 제거하기 위해, 잔류물을 115 μL의 무수 DMSO(65°C에서 5분)에 재용해시키고, 60 μL의 무수 트리에틸아민을 첨가하였다. 75 μL의 트리에틸아민 하이드로플루오라이드 착물(NEt<sub>3</sub> × 3 HF)을 첨가하고, 용액을 65°C에서 2.5시간 동안 인큐베이션하였다. 그 후에, 용액을 냉동고에서 간단히 냉각시키고, 25 μL의 3 M 소듐 아세테이트를 첨가하였다. 올리고뉴클레오티드를 1 mL의 부탄올로 침전시키고, -20°C에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 현탁액을 10 min 동안 원심분리하고 (12000 rcf), 상청액을 제거하였다. 침전물을 2 × 750 μL의 에탄올로 세척하고, 진공 원심분리에 의해 간단히 건조시켰다. 미정제 올리고뉴클레오티드를 물에 용해시키고, 분석용 HPLC에 의해 분석하고, 반분취용 HPLC에 의해 정제하였다. 생성물 함유 분획을 진공 원심분리에 의해 ≤ 10 mL로 감소시키고, 올리고뉴클레오티드를 Sep-Pak<sup>®</sup> C-18 카트리지를 사용하여 탈염시켰다. 카트리지를 10 mL의 아세토니트릴로 세척하고, 10 mL의 물로 평형시켰다. 올리고뉴클레오티드는 로딩시키고, 10 mL의 물로 세척하고, 약 6 mL의 물:아세토니트릴(1:1, v:v)로 용리시키고, 감압하에 건조시키고, 물에 재용해시켰다. UV-vis 분광기를 통해 농도를 결정하고, 생성물 동일성 및 순도를 분석용 HPLC 및 MALDI-TOF-MS에 의해 확인하였다. 샘플을 분취하고, -20°C에서 저장하였다. 합성식은 하기 도시에 있다.



[0146]

[0147] **고성능 액체 크로마토그래피(High performance liquid chromatography: HPLC)**

[0148] 올리고뉴클레오티드 샘플의 HPLC를 55°C에서 phenomenex® clarity 5u Oligo-RP 컬럼(반분취용 HPLC의 경우 250 × 10.00 mm 또는 분석용 HPLC의 경우 150 × 4.60 mm, 5 마이크론)이 장착된 Hitachi Elite LaChrom 기기에서 수행하였다. 흡광도를 260 nm에서 측정하였다. 샘플을 선형 구배로 용매 A(90% 50 mM 수성 트리에틸암모늄

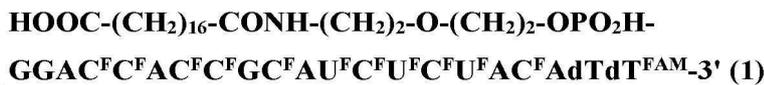
아세트레이트(pH 7.0), 10% 메탄올) 및 B(메탄올)를 이용하여 용리시켰다(구배 I: 60 min 이내에 0% B → 80% B, 유량: 4 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 II: 60 min 이내에 0% B → 70% B, 유량: 4 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 III: 60 min 이내에 0% B → 40% B, 유량: 4 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 IV: 60 min 이내에 0% B → 25% B, 유량: 4 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 V: 50 min 이내에 0% B → 80% B, 유량: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 VI: 50 min 이내에 0% B → 70% B, 유량: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 VII: 50 min 이내에 0% B → 40% B, 유량: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 구배 VIII: 50 min 이내에 0% B → 30% B, 유량: 1 mL·min<sup>-1</sup>).

[0149] 매트릭스-보조 레이저 탈착 이온화 시간 비행형 질량 분광기(Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry: MALDI-TOF-MS)

[0150] 질량 스펙트럼을 네가티브 모드로 Bruker Biflex IV MALDI-TOF 기기에서 UCSD Chemistry & Biochemistry 분자 질량 분광기 설비로 기록하였다. 2',4',6'-트리하이드록시아세트페논 단수화물 (THAP) 및 3-하이드록시피콜린산 (3-HPA)의 혼합물을 매트릭스로서 사용하였다. 25 mg의 3-HPA를 500 μL의 물/아세트니트릴 (1:1, v:v)에 용해시키고, 이 용액 중 454 μL를 45 μL의 100 mg·ml<sup>-1</sup> 수성 디암모늄 하이드로젠 시트레이트로 희석함으로써 3-HPA 매트릭스를 제조하였다. 15 mg의 THAP를 150 μL의 아세트니트릴 (포화 용액, 용매화는 소니케이션에 의해 보조됨)에 용해시키고, 이 용액 중 100 μL를 100 μL의 23 mg·ml<sup>-1</sup> 수성 디암모늄 하이드로젠 시트레이트 (69 μL의 100 mg·ml<sup>-1</sup> 수성 디암모늄 하이드로젠 시트레이트를 231 μL의 물로 희석함으로써 수득됨)로 희석함으로써 THAP 매트릭스를 제조하였다. 올리고뉴클레오티드 샘플을 MALDI-MS 분석 전에 ZipTip C18 피펫 팁 (Merck Millipore)을 이용하여 탈염시켰다. ZipTip을 물/아세트니트릴 (1:1, v:v, 5× 10 μL)로 세척하고, 0.1 M TEAA 완충액 (5×10 μL)으로 평형시킨 후, 농축된 스톱 용액 (10 내지 20 × 10 μL)을 흡입하고 배출시킴으로써 올리고뉴클레오티드를 ZipTip에 흡수시켰다. 결합된 올리고뉴클레오티드를 0.1 M TEAA 완충액 (5× 10 μL)으로 세척함으로써 암모늄 염으로 전달하고, 물 (7× 10 μL)로 세척함으로써 탈염시키고, 마지막으로 2.5 μL의 THAP 매트릭스를 배출시켰다. 이 용액을 예비-결정화된 3-HPA 매트릭스 (1 μL) 위에 스폿팅하였다(1 μL). 기기를 동일한 표적 플레이트 상에 스폿팅된 두 개의 구매된 올리고뉴클레오티드로 구성된 표준물로 보정하였다. 값은 질량-대-전하 비율(mass-to-charge ratio: m/z)로 주어져 있다.

[0151] 핵산 컨주게이트의 합성 및 특징화

[0152] 3'-플루오레세인 표지를 갖는 서바이빈(Survivin) siRNA ODDA-컨주게이션된 패신저 가닥:



[0154] 화합물 1을 핵산의 고체상 합성에 대한 일반적인 프로토콜에 따라 1 μmol의 dT<sup>FAM</sup>-로딩된 CPG에서 합성하고, 분취용 HPLC를 통해 정제하였다.

[0155] 수율: OD<sub>495 nm</sub> = 5.2, 69 nmol, 7%.

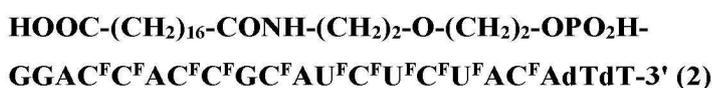
[0156] ε<sub>495 nm</sub> = 75000 L·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>, M<sub>w</sub> = 7585.0 g·mol<sup>-1</sup>.

[0157] 분석용 HPLC: 구배 VI.

[0158] MALDI-TOF-MS (m/z): [M-H]<sup>-</sup>: 7581.3 (계산치: 7584.0), [M-2H]<sup>2-</sup>: 3785.9 (계산치: 3791.5).

[0159] 도 2는 정제된 화합물의 (a) 분석용 HPLC 추적 (상단) 및 (b) MALDI-TOF 질량 스펙트럼 (하단)을 나타낸 것이다.

[0160] 서바이빈 siRNA ODDA-컨주게이션된 패신저 가닥:



[0162] 화합물 2를 핵산의 고체상 합성에 대한 일반적인 프로토콜에 따라 1 μmol의 dT-로딩된 CPG에서 합성하였다. 비

드를 반으로 분할하고, ODDA-TIPS를 일반적인 프로토콜에 따라 커플링하였다. 2를 분취용 HPLC를 통해 정제하였다.

[0163] 수율:  $OD_{260\text{ nm}} = 10.2$ , 44 nmol, 9%.

[0164]  $\epsilon_{260\text{ nm}} = 232178\text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,  $M_w = 7073.5\text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

[0165] 분석용 HPLC: 구배 VI.

[0166] MALDI-TOF-MS (m/z):  $[M-H]^+$ : 7070.6 (계산치: 7072.5),  $[M-2H]^{2-}$ : 3531.4 (계산치: 3535.8).

[0167] 도 3은 정제된 화합물의 (a) 분석용 HPLC 추적 (상단) 및 (b) MALDI-TOF 질량 스펙트럼 (하단)을 나타낸 것이다.

[0168] 서바이빈 siRNA 5'-하이드록실화된 가이드 가닥:

[0169] **5'-U<sup>F</sup>GU<sup>F</sup>AGAGAU<sup>F</sup>GC<sup>F</sup>GGU<sup>F</sup>GGU<sup>F</sup>C<sup>F</sup>C<sup>F</sup>dTT-3' (3)**

[0170] 3을 핵산의 고체상 합성에 대한 일반적인 프로토콜에 따라 1  $\mu\text{mol}$ 의 dT-로딩된 CPG에서 합성하였다. 비드를 반으로 분할하였다. 3을 분취용 HPLC를 통해 5'-OH RNA로서 정제하였다.

[0171] 수율:  $OD_{260\text{ nm}} = 16.0$ , 64 nmol, 6%.

[0172]  $\epsilon_{260\text{ nm}} = 249575\text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,  $M_w = 6758.0\text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

[0173] 분석용 HPLC: 구배 VII.

[0174] MALDI-TOF-MS (m/z):  $[M-H]^+$ : 6755.8 (계산치: 6757.0),  $[M-2H]^{2-}$ : 3374.9 (계산치: 3378.0).

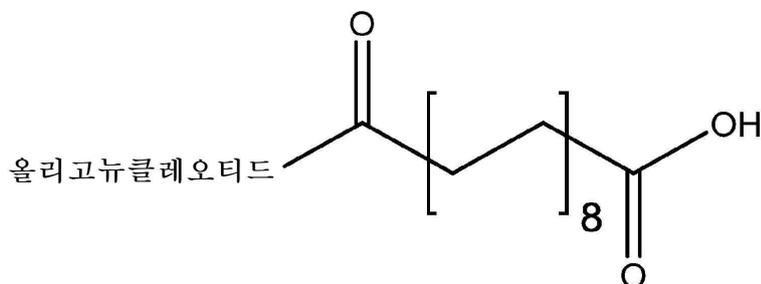
[0175] 도 4는 정제된 화합물의 (a) 분석용 HPLC 추적 (좌측) 및 (b) MALDI-TOF 질량 스펙트럼 (우측)을 나타낸 것이다.

[0176] ODDA-RNA-HSA 복합체의 제형화

[0177] 단일 또는 이중-가닥 RNA를, 새로 구성된 HSA (600  $\mu\text{M}$ 의 최종 농도)를 함유하는 PBS 완충액 (1x 최종 농도)에서 요망되는 농도 (겔 이동 검정의 경우: 10  $\mu\text{M}$ , 순환 시간 연구의 경우: 75  $\mu\text{M}$ )로 용해시켰다. 용액을 실온에서 밤새 인큐베이션하여 평형을 보장하였다.

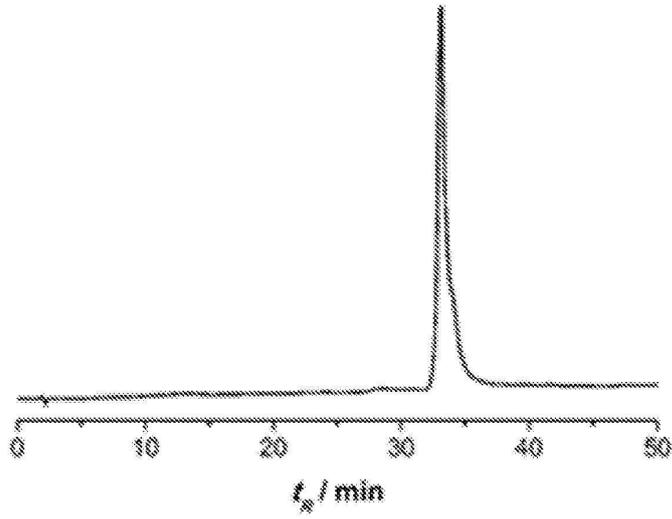
## 도면

### 도면1

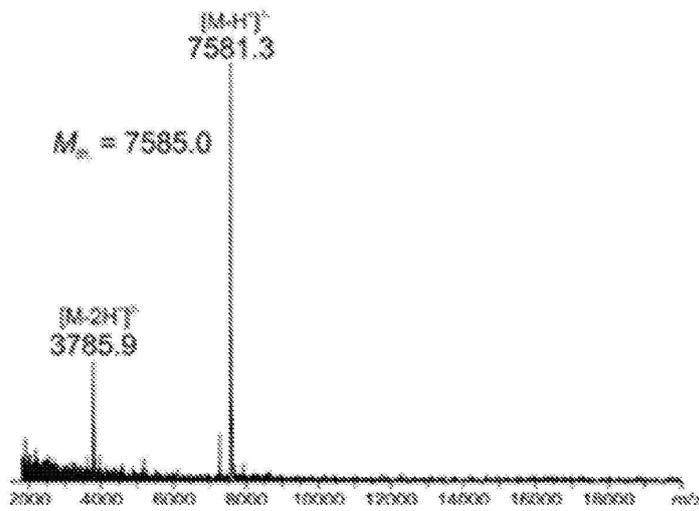


도면2

(a)

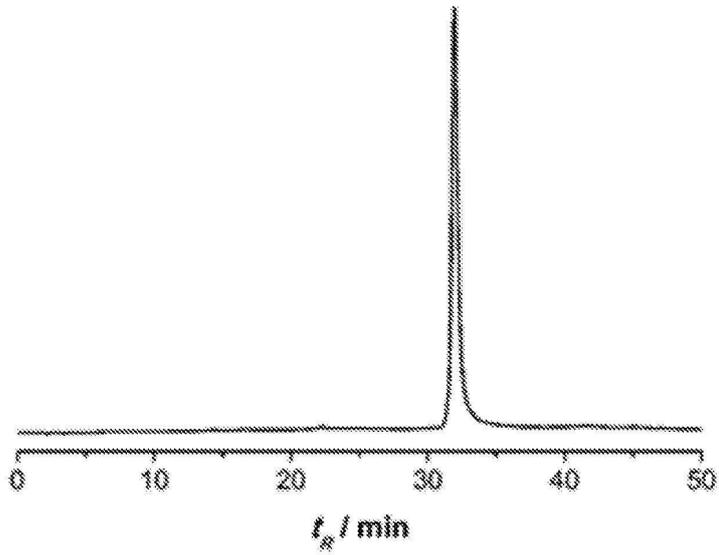


(b)

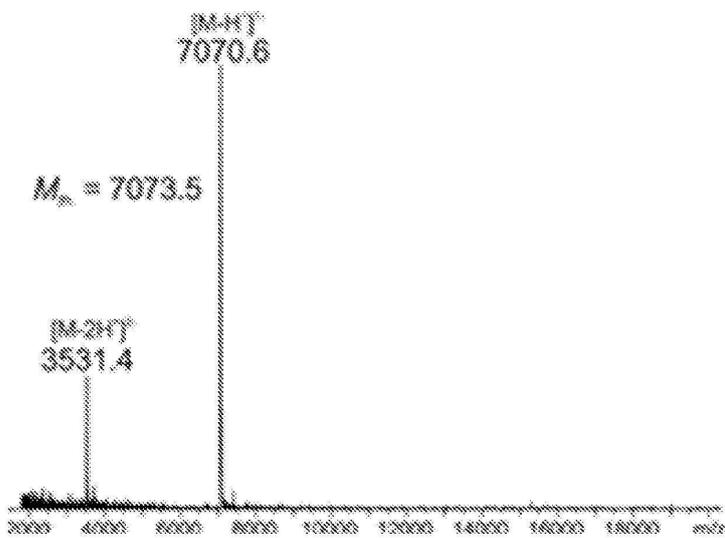


도면3

(a)

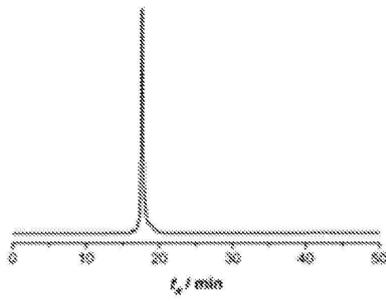


(b)



도면4

(a)



(b)

