



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0125268
(43) 공개일자 2022년09월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/08 (2019.01) A61P 1/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/08 (2021.08)
A61P 1/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7025943
(22) 출원일자(국제) 2021년01월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년07월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/012842
(87) 국제공개번호 WO 2021/142373
국제공개일자 2021년07월15일
(30) 우선권주장
62/959,854 2020년01월10일 미국(US)

(71) 출원인
프로타고니스트 테라퓨틱스, 인코포레이티드
미국 94560-1160 캘리포니아주 뉴왁 게이트웨이
블러바드 7707 스위트 140
(72) 발명자
굽타 수닐 쿠마르
미국 캘리포니아 94087 서니베일 엘소나 드라이브
1331
모디 니시트 바출랄
미국 캘리포니아 94087 서니베일 톨랜드 코트 587
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

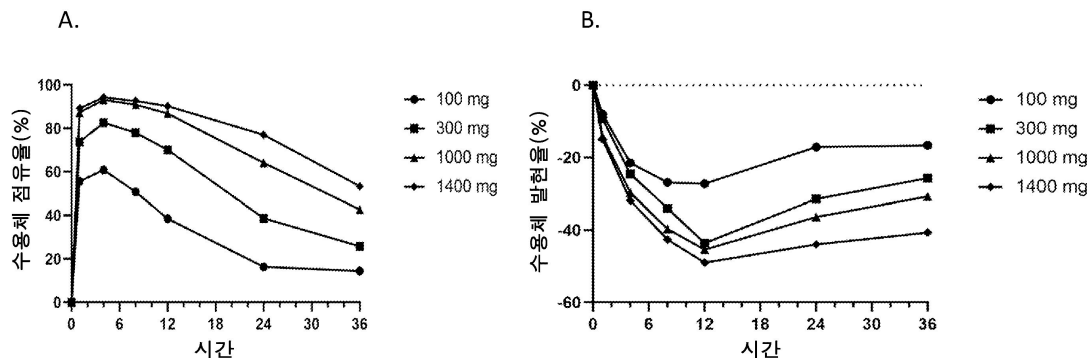
전체 청구항 수 : 총 67 항

(54) 발명의 명칭 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제를 사용한 염증성 장 질환의 치료 방법

(57) 요약

본 발명은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린에 결합하는 조작된 펩티드(예를 들어, 디설파이드 또는 티오에테르 분자내 결합을 포함하는 펩티드 단량체 및 이량체)로 염증성 장 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 한 측면에서, 본 개시내용은 치료를 필요로 하는 대상체의 염증성 장 질환(IBD)을 치료하는 방법을 제공하고, 이는 대상체에게 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 길항제는 약 100 mg 내지 약 500 mg의 용량으로, 1일 1회 또는 2회 환자에게 경구 투여되고, 여기서 길항제는 2개의 펩티드를 포함하는 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 29/00 (2018.01)

(72) 발명자

췁 샤울리

미국 캘리포니아 94043 마운틴 뷰 라센 애비뉴 263

리우 데이비드 와이.

미국 캘리포니아 94306 팔로 알토 페르네 애비뉴
201

마테아키스 래리 씨.

미국 캘리포니아 95014 쿠파티노 선라이즈 드라이브
20612

명세서

청구범위

청구항 1

치료를 필요로 하는 대상체의 염증성 장 질환(IBD)을 치료하는 방법으로서, 대상체에게 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 길항제는 약 100 mg 내지 약 500 mg의 용량으로, 1일 1회 또는 2회 환자에게 경구 투여되며, 여기서 상기 길항제는 2개의 펩티드를 포함하는 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이고; 여기서 2개의 펩티드 각각은 하기 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어지고:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 5);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 6);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 6);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 7);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 7);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 8); 또는

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 8);

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이의 티오에테르 결합 또는 2개의 Pen 사이의 디설파이드 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH (서열번호: 3)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH (서열번호: 4)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 7

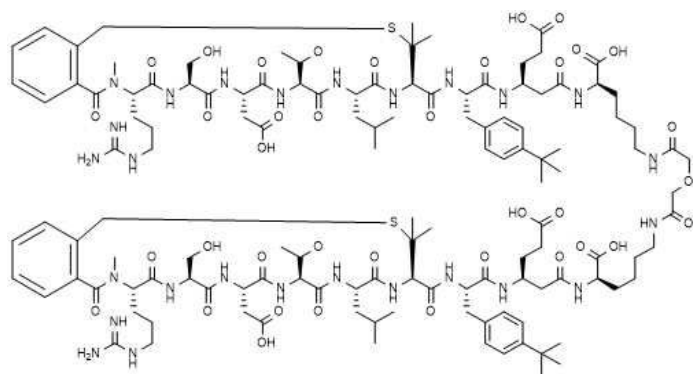
제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 8

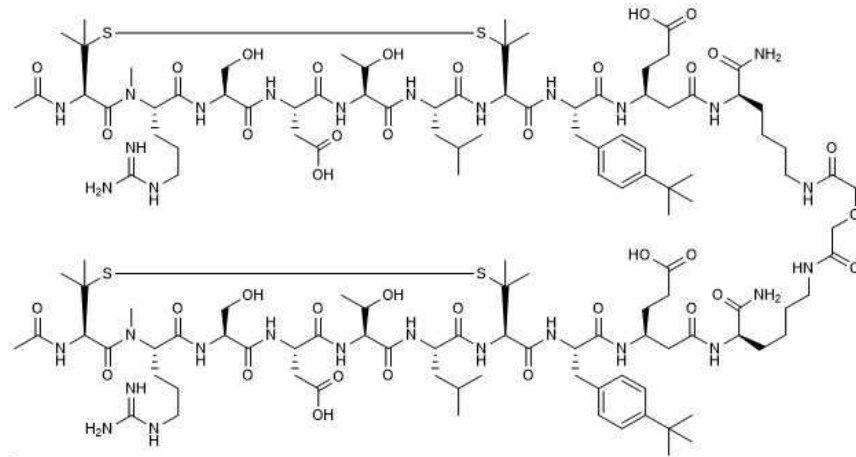
제 1항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 9

제 1항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 10

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 1)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 11

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH (서열번호: 2)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 12

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH (서열번호: 3)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 13

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH (서열번호: 4)로

이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 14

제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 15

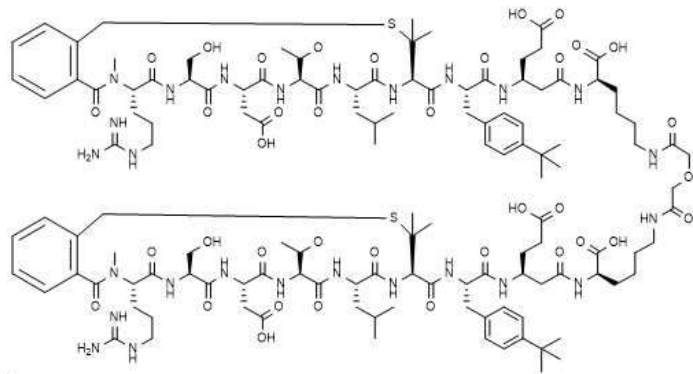
제 1항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 16

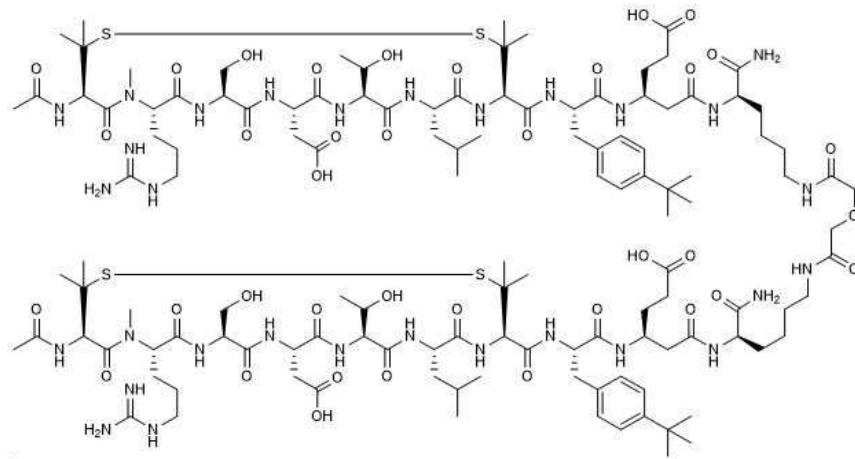
제 1항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 17

제 1항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 18

제 1항 내지 제 17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 약 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5, 또는 500.0 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 19

제 18항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 약 150 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 20

제 18항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 약 450 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 21

제 19항 또는 제 20항에 있어서, 상기 용량이 1일 2회 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 22

제 1항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물의 약제학적으로 허용되는 염이 아세트이트 염인, 방법.

청구항 23

제 1항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서, 투여된 투여량이, 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정할 때, 비-포화 혈액 수용체 점유율(%RO)을 초래하는, 방법.

청구항 24

제 23항에 있어서, 투여된 투여량이, 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정될 때, 90%RO 미만, 80%RO 미만, 70%RO 미만, 60%RO 미만, 또는 50%RO 미만을 초래하는, 방법.

청구항 25

제 1항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 위장관에서 MadCAM1-매개 T 세포 증식을 억제하는, 방법.

청구항 26

제 1항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 위장관에서 $CD4^+$ T 세포 상의 $\beta 7$ 의 세포 표면 발현을 감소시키는, 방법.

청구항 27

제 1항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이:

- i) $CD4^+$ T 기억 세포 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 내재화를 유도하고;
- ii) 위장관에서 MAdCAM1에 대한 $CD4^+$ T 기억 세포의 감소된 부착을 유발하고/거나
- iii) 위장관, 임의로 회장 고유판, 파이어의 패치, 장간막 림프절, 소장 및/또는 결장으로 T 세포의 귀환을 억제하는, 방법.

청구항 28

제 1항 내지 제 27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBD가 궤양성 대장염인, 방법.

청구항 29

제 1항 내지 제 27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IBD가 크론병인, 방법.

청구항 30

제 1항 내지 제 29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 대상체의 혈장에서 하기 약동학적 매개변수 중 하나 이상을 초래하는, 방법:

1-25의 $C_{max}(ng/mL)$;

1-5의 $T_{max}(h)$;

10-250의 $AUC_t(ng \cdot h/mL)$

10-300의 $AUC_{inf}(ng \cdot h/mL)$;

3-10의 $t_{1/2}(h)$;

30-130의 $AUC_{tau}(ng \cdot h/mL)$;

1-5의 $C_{최저}(ng/mL)$;

0.5-2.5의 축적 $C_{max}(ng \cdot mL)$; 및

.5-3.0의 축적 $AUC_t(ng \cdot h/mL)$.

청구항 31

제 1항 내지 제 30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 대상체의 혈장에서 하기 약력학적 매개변수 중 하나 이상을 초래하는, 방법:

50-100의 $RO_{max}(\%)$;

-20 내지 -60의 수용체 발현_{최대}의 변화(%);

-10 내지 -55의 수용체 발현의 평균 변화(%);

80-100의 정상 상태 $RO_{max}(\%)$;

50-95의 평균 $RO_{0-24}(\%h)$;

80-95의 평균 $RO_{0-12}(\%h)$; 및

70-90의 평균 $RO_{12-24}(\%h)$.

청구항 32

치료를 필요로 하는 대상체의 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 대상체에게 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 길항제는, 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정할 때, 비-포화 혈액 수용체 점유(%RO)를 초래하는 투여량으로 투여되는, 방법.

청구항 33

제 11항에 있어서, 상기 길항제가, 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정될 때, 90% 혈액 RO 미만, 80% 혈액 RO 미만, 70% 혈액 RO 미만, 60% 혈액 RO 미만, 또는 50% 혈액 RO 미만을 초래하는 투여량으로 투여되는, 방법.

청구항 34

제 32항 또는 제 33항에 있어서, 상기 길항제가 경구 투여, 비경구 투여, 피하 투여, 협측 투여, 비강 투여, 흡입에 의한 투여, 국소 투여, 및 직장 투여로부터 선택된 투여 경로를 위해 제형화된 약제학적 조성물 중에 존재하는, 방법.

청구항 35

제 32항 내지 제 34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 길항제가 경구 또는 직장으로 투여되는, 방법.

청구항 36

제 32항 내지 제 35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환 또는 장애가 염증성 장 질환(IBD), 성인 IBD, 소아 IBD, 청소년 IBD, 궤양성 대장염, 크론병, 체강 질병(비열대 스프루), 혈청음성 관절병증과 관련된 장병증, 현미경적 대장염, 교원성 대장염, 호산구성 위장염, 방사선 요법, 화학요법, 직장결장절제술 및 회장항문문합 후 낭염, 위장관암, 췌장염, 인슐린-의존성 당뇨병, 유방염, 담낭염, 담관염, 담관주위염, 만성 기관지염, 만성 부비동염, 천식, 원발성 경화성 담관염, GI관의 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염, 호산구성 천식, 호산구성 식도염, 위염, 대장염, 현미경적 대장염 및 이식편대숙주병(GVDH)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 37

제 32항 내지 제 36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 질환 또는 장애가 IBD인, 방법.

청구항 38

제 37항에 있어서, 상기 IBD가 궤양성 대장염인, 방법.

청구항 39

제 37항에 있어서, 상기 IBD가 크론병인, 방법.

청구항 40

제 32항 내지 제 39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 길항제가 2개의 펩티드를 포함하는 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이고; 여기서 2개의 펩티드 각각은 하기 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어지고:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 1);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH (서열번호: 2);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH (서열번호: 3);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH (서열번호: 4);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 5);

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 5);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 6);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 6);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH (서열번호: 7);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 7);

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH (서열번호: 8); 또는

Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 8);

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이의 티오에테르 결합 또는 2개의 Pen 사이의 디설파이드 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 41

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 1)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 42

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH (서열번호: 2)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 43

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH (서열번호: 3)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 44

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH (서열번호: 4)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 45

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 46

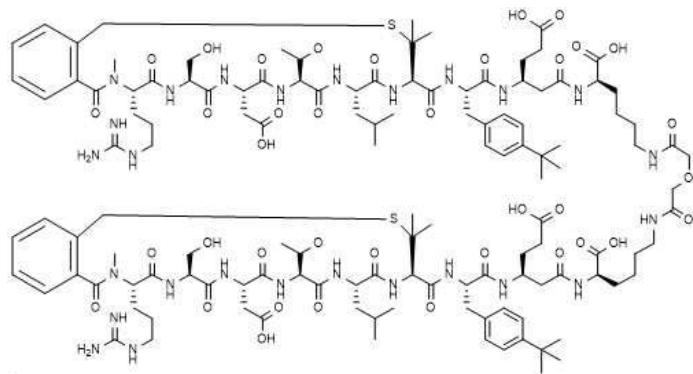
제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 47

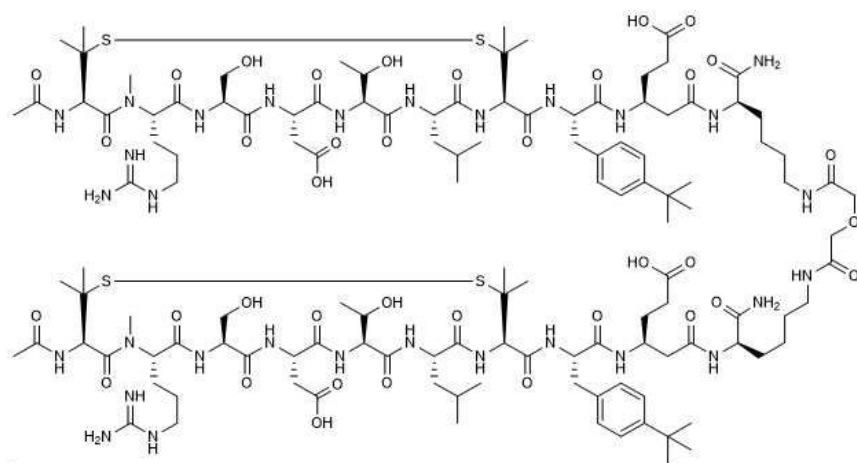
제 40항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 48

제 40항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 49

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 1)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 50

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH (서열번호: 2)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 51

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH (서열번호: 3)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 52

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH (서열번호: 4)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 53

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂ (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인, 방법.

청구항 54

제 40항에 있어서, 2개의 펩티드 각각이 하기 서열:

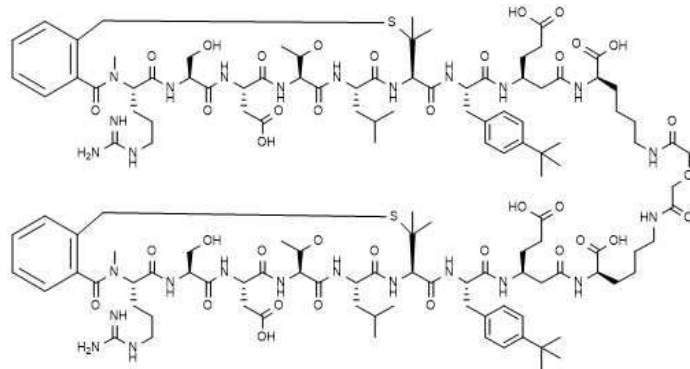
2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 5)로 이루어지고,

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)인,

방법.

청구항 55

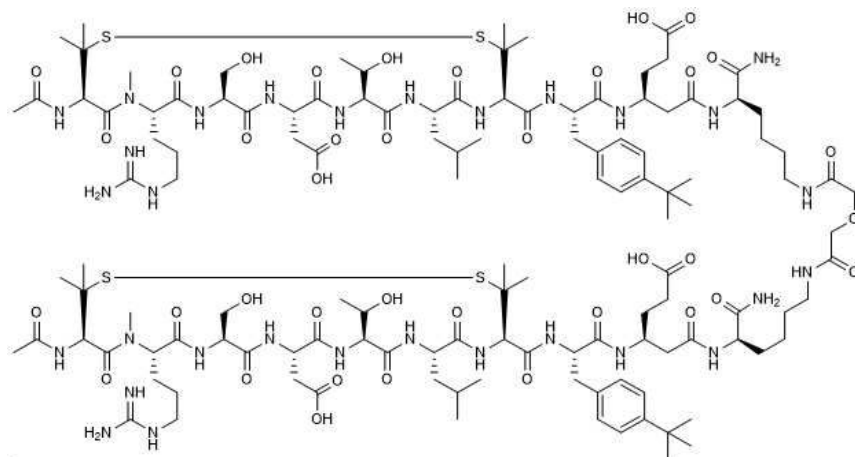
제 40항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 56

제 40항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 방법.

청구항 57

제 40항 내지 제 56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5 또는 500.0 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 58

제 57항에 있어서, 상기 용량이 1일 1회 또는 1일 2회 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 59

제 40항 내지 제 58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 펩티드 이량체 화합물의 약제학적으로 허용되는 염이 아세트레이트 염인, 방법.

청구항 60

제 40항 내지 제 59항 중 어느 한 항에 개시된 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포

함하는 약제학적 조성물.

청구항 61

제 60항에 있어서, 상기 조성물이 경구 전달용으로 제형화되고, 임의로 상기 조성물이 장용 코팅을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 62

제 40항 내지 제 59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이 제 33항 내지 제 35항 중 어느 한 항의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 63

제 32항 내지 제 59항 또는 제 62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 이 MAdCAM1에 대한 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 결합을 억제하는, 방법.

청구항 64

제 32항 내지 제 59항, 제 62항 또는 제 63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 약제학적 조성물이 병태를 개선 또는 완화하기에 충분한 간격으로 이를 필요로 하는 대상체에게 제공되는, 방법.

청구항 65

제 64항에 있어서, 상기 간격이 24시간, 매시간, 4시간마다, 매일 1회, 매일 2회, 매일 3회, 매일 4회, 격일, 매주, 2주마다 및 매월로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 66

제 64항 또는 제 65항에 있어서, 상기 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 약제학적 조성물이 초기 투여 후 1회 이상의 후속 투여로 제공되고, 임의의 2회 투여 사이의 최소 간격이 1일 미만이고, 여기서 각각의 투여는 유효량의 길항제를 포함하는, 방법.

청구항 67

제 66항에 있어서, 상기 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 상기 약제학적 조성물의 유효량이 하기 중 적어도 하나를 달성하기에 충분한 것인, 방법:

- a) $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 분자 상의 MAdCAM1 결합 부위의 약 50% 이상의 포화;
- b) 세포 표면 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 발현의 약 50% 이상의 억제; 및
- c) $\alpha 4\beta 7$ 분자 상의 MAdCAM1 결합 부위의 약 50% 이상의 포화 및 세포 표면 상의 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 발현의 약 50% 이상의 억제, 여기서 i) 포화는 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지되거나; ii) 억제는 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지되거나; 또는 iii) 포화 및 억제가 각각 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지됨.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2020년 1월 10일에 출원된 미국 가출원 번호 62/959,854에 대한 우선권을 주장하며; 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 본 출원은 EFS-Web을 통해 전자적으로 제출되고 있으며 .txt 형식의 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함한다. .txt 파일에는 2021년 1월 8일에 생성된 "PRTH_052_01WO_ST25.txt"라는 제목의 서열 목록이 포함되어 있으며

크기는 ~7킬로바이트이다. 이 .txt 파일에 포함된 서열 목록은 본 명세서의 일부이며 전체가 참조로 여기에 포함된다.

- [0005] 본 개시내용은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린에 결합하는 조작된 펩티드(예를 들어, 디설파이드 또는 티오에테르 분자내 결합을 포함하는 펩티드 단량체 및 이량체)를 사용하여 염증성 장 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0006] 인테그린은 세포 부착 및 이동에서 유전자 조절에 이르는 수많은 세포 과정에 관여하는 비공유 회합된 α/β 이중이량체 세포 표면 수용체이다(Dubree, *et al.*, Selective $\alpha 4\beta 7$ Integrin Antagonist and Their Potential as Anti-inflammatory Agents, *J. Med. Chem.* 2002, 45, 3451-3457). 인테그린의 차등적 발현은 세포의 부착 특성을 조절할 수 있어서, 상이한 염증 신호에 반응하여 상이한 백혈구 집단을 특정 기관으로 모집할 수 있다. 억제되지 않은 채로 두면, 인테그린-매개 부착 과정이 만성 염증 및 자가면역 질환을 유발할 수 있다.

- [0007] $\alpha 4$ 인테그린, $\alpha 4\beta 1$ 및 $\alpha 4\beta 7$ 은 위장관을 통한 림프구 이동에 필수적인 역할을 한다. 이들은 B 및 T 림프구를 포함한 대부분의 백혈구에서 발현되며, 여기서 각각의 1차 리간드, 혈관 세포 부착 분자(VCAM) 및 점막 어드레신 세포 부착 분자 1(MAdCAM1, mucosal addressin cell adhesion molecule 1)에 대한 결합을 통해 세포 부착을 매개한다. 단백질은 VCAM이 $\alpha 4\beta 1$ 및 더 적은 정도로 $\alpha 4\beta 7$ 모두에 결합하는 반면, MAdCAM1은 $\alpha 4\beta 7$ 에 대해 고도로 특이적이라는 점에서 결합 특이성이 다르다. $\alpha 4$ 서브유닛과 쌍을 이루는 것 외에도, $\beta 7$ 서브유닛은 αE 서브유닛과 이중이량체 복합체를 형성하여 $\alpha 4\beta 7$ 을 형성하며, 이는 주로 장, 폐 및 비뇨생식기의 상피내 림프구(IEL)에서 발현된다. $\alpha 4\beta 7$ 은 장의 수지상 세포에서도 발현된다. $\alpha 4\beta 7$ 이중이량체는 상피 세포의 E-카데린에 결합한다. IEL 세포는 상피 구획 내에서 면역 감시를 위한 메커니즘을 제공하는 것으로 생각된다. 따라서, $\alpha 4\beta 7$ 과 $\alpha 4\beta 7$ 을 함께 차단하는 것은 장의 염증 상태를 치료하는 데 유용한 방법이 될 수 있다.

- [0008] 특이적 인테그린-리간드 상호작용의 억제제는 다양한 자가면역 질환의 치료를 위한 항염증제로서 효과적인 것으로 나타났다. 예를 들어, $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 높은 결합 친화도를 나타내는 단일클론 항체는 크론병 및 궤양성 대장염(I_d)과 같은 위장 자가염증/자가면역 질환에 대한 치료 이점을 나타냈다. 그러나 이러한 치료법은 $\alpha 4\beta 1$ 인테그린-리간드 상호작용을 방해하여 환자에게 위험한 부작용을 초래했다. 소분자 길항제를 사용하는 요법은 동물 모델에서 유사한 부작용을 나타내어 이러한 기술의 추가 개발을 방해한다. $\alpha 4\beta 7$ 인테그린에 대한 높은 특이성 뿐만 아니라 높은 효능 및 안정성을 나타내는 보다 최근에 조작된 펩티드는 염증성 장 질환을 포함한 다양한 면역 장애의 치료에 효과적인 것으로 나타났다.

- [0009] 그러나, 염증성 장애를 치료하기 위해 $\alpha 4\beta 7$ 길항제 및 기타 제제를 사용하는 추가적인 방법이 당업계에 필요하다. 이러한 방법이 여기에 개시되어 있다.

발명의 내용

- [0010] 본 개시내용은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 신호전달과 관련된 다양한 질병 및 상태를 치료하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

- [0011] 한 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제를 투여하는 것을 포함하여, 이를 필요로 하는 대상체에서 염증성 장 질환(IBD)을 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 길항제는 약 100 mg 내지 약 500 mg의 용량으로, 1일 1회 또는 2회 환자에게 경구 투여되며, 여기서 길항제는 2개의 펩티드를 포함하는 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이고; 여기서 2개의 펩티드 각각은 하기의 임의의 서열(임의로 N-말단 Ac를 갖는)을 포함하거나 이로 이루어진다:

- [0012] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1);

- [0013] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2);

- [0014] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3);

- [0015] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4);

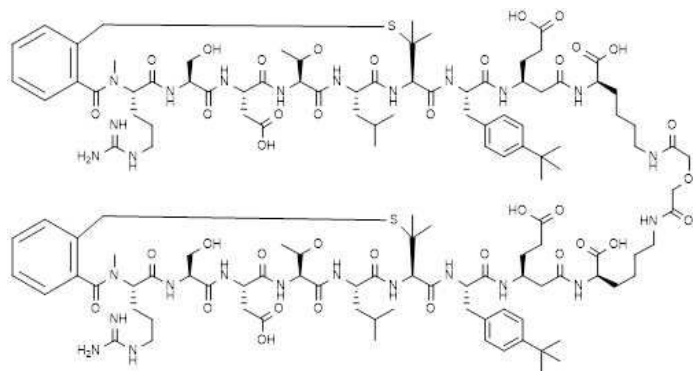
- [0016] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5);

- [0017] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 5);

- [0018] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 6);

- [0019] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 6);
- [0020] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 7);
- [0021] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 7);
- [0022] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 8); 또는
- [0023] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 8);
- [0024] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이의 티오에테르 결합 또는 2개의 Pen 사이의 디설파이드 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0025] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0026] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1),
- [0027] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0028] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0029] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2),
- [0030] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0031] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0032] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3),
- [0033] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0034] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0035] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4),
- [0036] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0037] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0038] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 5),
- [0039] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0040] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0041] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5),
- [0042] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

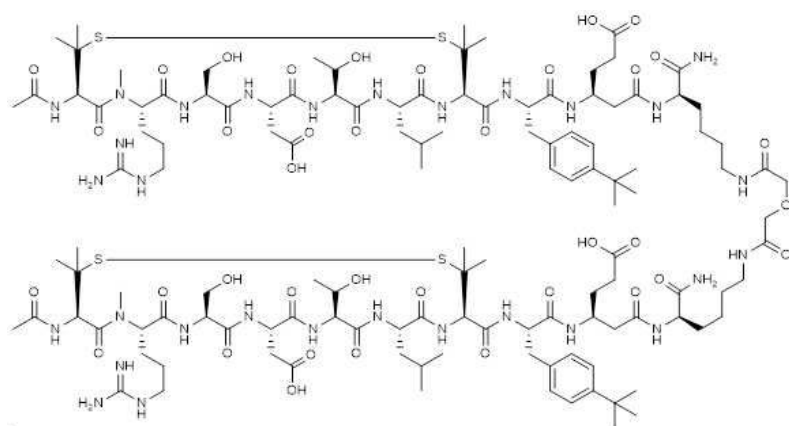
[0043] 한 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0044]

[0045] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0046] 한 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0047]

[0048] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0049] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0050] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1),

[0051] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0052] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0053] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2),

[0054] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0055] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0056] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3),

[0057] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0058] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0059] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4),

[0060] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는

2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0061] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0062] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열 번호: 5),

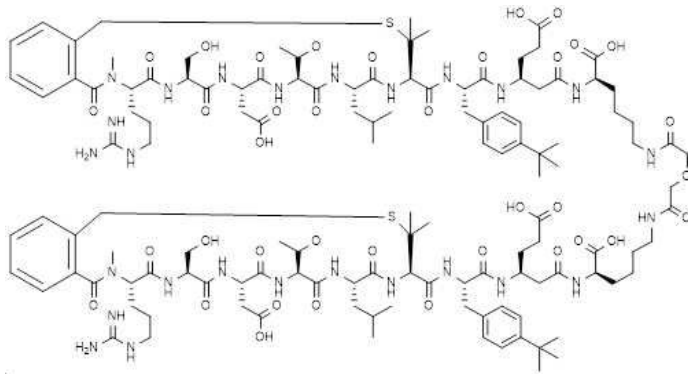
[0063] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0064] 한 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0065] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열 번호: 5),

[0066] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다. 본원에 개시된 펩티드 중 임의의 것은 N-말단 Ac를 포함할 수 있다.

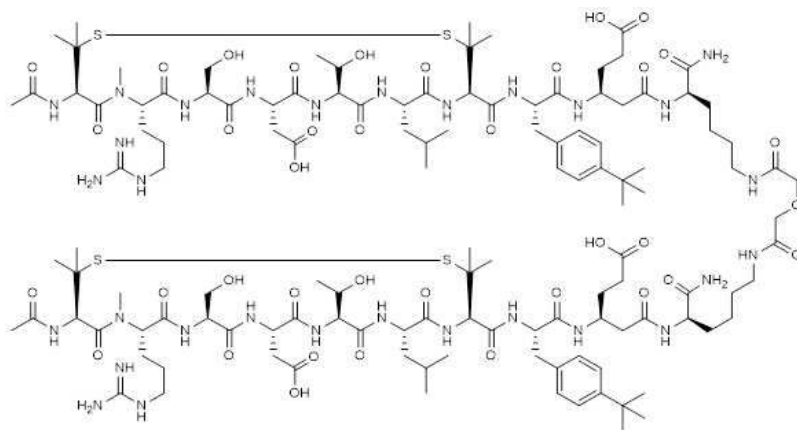
[0067] 한 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0068]

[0069] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0070] 한 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0071]

[0072] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0073] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 약 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5, 또는 500.0 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 한 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 약 150 mg 또는 약 450 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 특정 구현양태에서, 용량은 대상체에게 1일 2회 투여된다.

- [0074] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 아세테이트 염이다.
- [0075] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 투여된 투여량은 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정할 때 비-포화 혈액 수용체 점유율(%RO)을 초래한다. 일부 구현양태에서, 투여된 투여량은 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정할 때 90 %RO 미만, 80 %RO 미만, 70 %RO 미만, 60 %RO 미만, 또는 50 %RO 미만을 초래한다.
- [0076] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관에서 MadCAM1-매개 T 세포 증식을 억제한다.
- [0077] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관에서 CD4+ T 세포 상의 $\beta 7$ 의 세포 표면 발현을 감소시킨다.
- [0078] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은:
- [0079] i) CD4+ T 기억 세포 상에서 $\alpha 4 \beta 7$ 인테그린의 내재화를 유도하고;
- [0080] ii) 위장관에서 MadCAM1에 대한 CD4+ T 기억 세포의 감소된 부착을 유발하고; 및/또는
- [0081] iii) 위장관, 임의로 회장 고유판, 파이어의 패치(Peyer's Patches), 장간막 림프절, 소장 및/또는 결장으로 T 세포의 귀환을 억제한다.
- [0082] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, IBD는 궤양성 대장염이다.
- [0083] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, IBD는 크론병이다.
- [0084] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 대상체의 혈장에서 하기 약동학적 매개변수 중 하나 이상을 초래한다.
- [0085] 1-25의 $C_{max}(ng/mL)$;
- [0086] 1-5의 $T_{max}(h)$;
- [0087] 10-250의 $AUC_t(ng \cdot h/mL)$
- [0088] 10-300의 $AUC_{inf}(ng \cdot h/mL)$;
- [0089] 3-10의 $t_{1/2}(h)$;
- [0090] 30-130의 $AUC_{tau}(ng \cdot h/mL)$;
- [0091] 1-5의 $C_{\text{최저}}(ng/mL)$;
- [0092] 0.5-2.5의 측정 $C_{max}(ng \cdot mL)$; 및
- [0093] .5-3.0의 측정 $AUC_t(ng \cdot h/mL)$.
- [0094] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 대상체의 혈장에서 하기 약력학적 매개변수 중 하나 이상을 초래한다.
- [0095] 50-100의 $RO_{max}(\%)$;
- [0096] -20 내지 -60의 수용체 발현_{최대}의 변화(%);
- [0097] -10 내지 -55의 수용체 발현의 평균 변화(%);
- [0098] 80-100의 정상 상태 $RO_{max}(\%)$;
- [0099] 50-95의 평균 $RO_{0-24}(\%h)$;
- [0100] 80-95의 평균 $RO_{0-12}(\%h)$; 및
- [0101] 70-90의 평균 $RO_{12-24}(\%h)$.
- [0102] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 대상체에게 $\alpha 4 \beta 7$ 인테그린 길항제를 투여하는 것을 포함하여, 이를 필요로

하는 대상체에서 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 길항제는 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정할 때 비-포화 혈액 수용체 점유율(%R0)을 초래하는 투여량으로 투여된다. 특정 구현양태에서, 길항제는 임의로 길항제의 피크 혈액 또는 혈청 수준에서 측정할 때 90% 미만의 혈액 R0, 80% 미만의 혈액 R0, 70% 미만의 혈액 R0, 60% 미만의 혈액 R0, 또는 50% 미만의 혈액 R0를 초래하는 투여량으로 투여된다. 특정 구현양태에서, 길항제는 경구 투여, 비경구 투여, 피하 투여, 협측 투여, 비강 투여, 흡입에 의한 투여, 국소 투여 및 직장 투여로부터 선택된 투여 경로를 위해 제형화된 약제학적 조성물에 존재한다. 특정 실시양태에서, 길항제는 경구로 또는 직장으로 투여된다.

[0103] 개시된 방법 중 임의의 것의 특정 구현양태에서, 염증성 질환 또는 장애는 염증성 장 질환(IBM), 성인 IBM, 소아 IBM, 청소년 IBM, 궤양성 대장염, 크론병, 체강 질병(*nontropical Sprue*, 비열대 스프루), 혈청음성 관절병증과 관련된 장병증, 현미경적 대장염, 교원성 대장염, 호산구성 위장염, 방사선 요법, 화학요법, 직장결장절제술 및 회장항문문합 후 발생하는 낭염, 위장관암, 췌장염, 인슐린-의존성 당뇨병, 유방염, 담낭염, 담관염, 담관주위염, 만성 기관지염, 만성 부비동염, 천식, 원발성 경화성 담관염, GI관의 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염, 호산구성 천식, 호산구성 식도염, 위염, 대장염, 현미경적 대장염, 이식편대숙주병(GVDH)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현양태에서, 질환 또는 장애는 궤양성 대장염 또는 크론병과 같은 IBM이다.

[0104] 특정 구현양태에서, 길항제는 2개의 펩티드를 포함하는 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이고,

[0105] 여기서 2개의 펩티드 각각은 다음의 임의의 서열(임의로 N-말단 Ac 포함)을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0106] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1);

[0107] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2);

[0108] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3);

[0109] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4);

[0110] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5);

[0111] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열 번호: 5);

[0112] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 6);

[0113] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 6);

[0114] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 7);

[0115] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 7);

[0116] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 8); 또는

[0117] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 8);

[0118] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이의 티오에테르 결합 또는 2개의 Pen 사이의 디설파이드 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0119] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0120] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1),

[0121] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0122] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0123] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2),

[0124] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이

다.

[0125] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0126] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3),

[0127] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0128] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0129] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4),

[0130] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0131] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0132] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열 번호: 5),

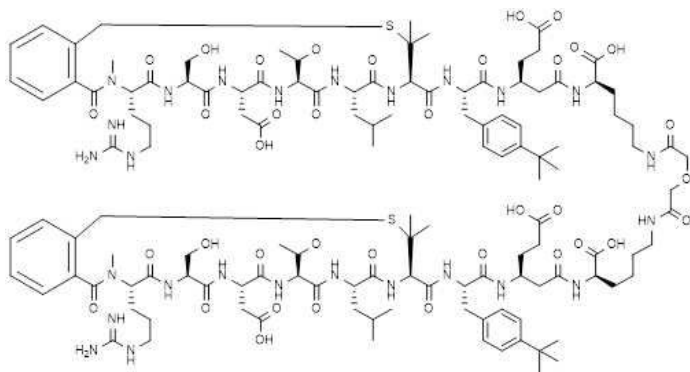
[0133] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0134] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0135] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열 번호: 5),

[0136] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

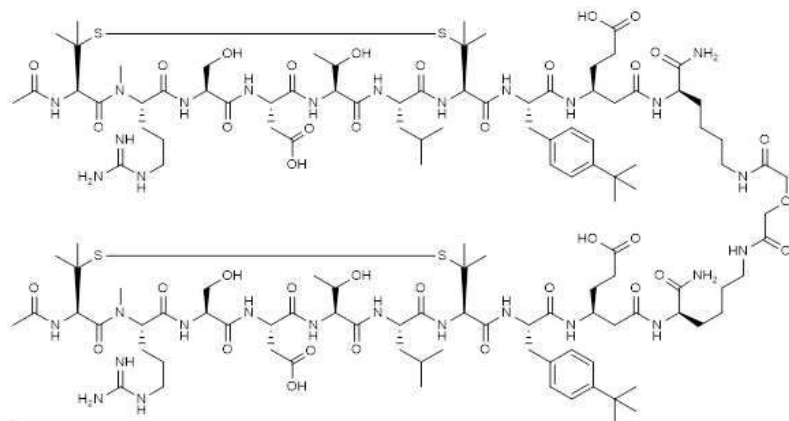
[0137] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0138]

[0139] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0140] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0141]

[0142] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0143] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0144] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1),

[0145] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0146] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0147] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2),

[0148] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0149] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0150] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3),

[0151] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0152] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0153] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4),

[0154] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

[0155] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0156] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열 번호: 5),

[0157] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

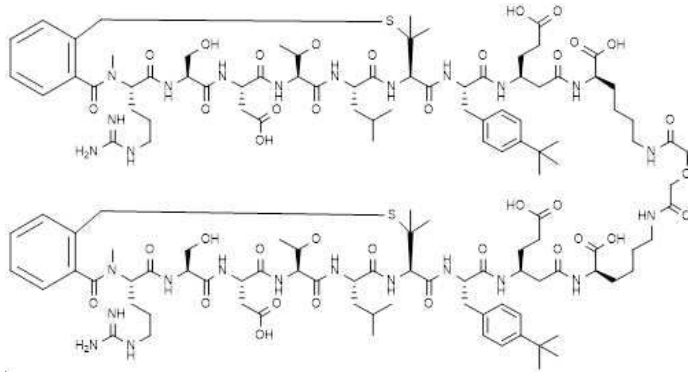
[0158] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0159] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열 번호: 5),

[0160] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는

2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

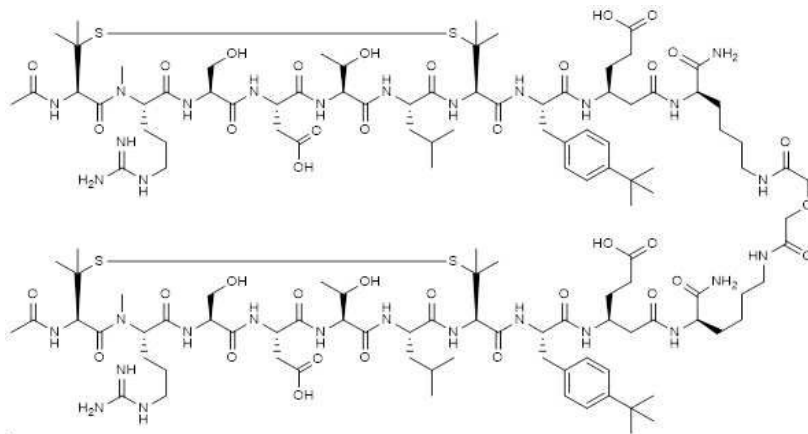
[0161] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0162]

[0163] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0164] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



[0165]

[0166] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0167] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5, 또는 500.0 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 특정 구현양태에서, 용량은 1일 1회 또는 2회 대상체에게 투여된다.

[0168] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 아세트이트 염이다.

[0169] 관련된 측면에서, 본 개시내용은 제 39항 내지 제 58항 중 어느 한 항에 개시된 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 특정 구현양태에서, 조성물은 경구 전달용으로 제형화되며, 임의로 조성물은 장용 코팅을 포함한다. 특정 구현양태에서, 방법은 본원에 개시된 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0170] 본원에 개시된 방법 및 조성물의 특정 구현양태에서, 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은 MAdCAM1에 대한 $\alpha 4 \beta 7$ 인테그린의 결합을 억제한다.

[0171] 본원에 개시된 방법 및 조성물의 특정 구현양태에서, 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 약제학적 조성물은 상태를 개선하거나 완화시키기에 충분한 간격으로 이를 필요로 하는 대상체에게 제공된다. 특정 구현양태에서, 간격은 24시간, 매시간, 4시간마다, 매일 1회, 매일 2회, 매일 3회, 매일 4회, 격일, 매주, 격주 및 매월로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현양태에서, 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 약제학적 조성물은 초기 투여 후 1회 이상의 후속 투여로 제공되고, 임의의 2회 투여 사이의 최소 간격은 1일 미만의 기간이고, 여기서 각각의 투여량은 유효량의 길항제를 포함한다. 일부 구현양태에서, 길항제 또는 이

의 약제학적으로 허용되는 염 또는 약제학적 조성물의 유효량은 하기 중 적어도 하나를 달성하기에 충분하다.

- [0172] a) $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 분자 상의 MAdCAM1 결합 부위의 약 50% 이상의 포화;
- [0173] b) 세포 표면 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 발현의 약 50% 이상의 억제; 및
- [0174] c) $\alpha 4\beta 7$ 분자 상의 MAdCAM1 결합 부위의 약 50% 이상의 포화 및 세포 표면 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 발현의 약 50% 이상의 억제, 여기서 i) 포화는 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지되거나; ii) 억제는 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지되거나; 또는 iii) 포화 및 억제가 각각 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지된다.

도면의 간단한 설명

- [0175] 도 1은 표시된 처리에 대한 반응에서 T 세포 증식 및 화합물 A 또는 베돌리주맵에 의한 T 세포 증식 억제를 보여주는 표이다.

도 2는 항-CD3 또는 항-CD3 + MAdCAM 처리에 대한 반응에서 $CD45RO^{-}$ 미경험 및 $CD45RO^{+}$ 기억 T-세포를 보여주는 표이다.

도 3a-b는 연속적인 증식 주기에서 증가된 $\beta 7$ 발현(도 3a) 및 화합물 A의 존재 하에 분할되지 않은 $CD4^{+}$ T-세포에서 $\beta 7$ 의 감소된 표면 발현을 보여주는 표를 제공한다(도 3b).

도 4는 화합물 A 처리 시 5명의 공여자에서 표면 $\beta 7$ 발현의 감소를 보여주는 그래프이다.

도 5a-c는 항-CD3 + MAdCAM1 처리 후 사이토카인 방출 및 하기 사이토카인에 대한 화합물 A에 의한 억제를 보여주는 그래프이다: IFN γ (도 5a), IL-23(도 5b), 및 GM-CSF(도 5c).

도 6a-c는 항-CD3 + MAdCAM1 처리 후 사이토카인 방출 및 하기 사이토카인에 대한 화합물 A에 의한 억제를 보여주는 그래프이다: IL-10(도 6a), IL-5(도 6b) 및 TNF γ (도 6c).

도 7은 표시된 용량의 화합물 A의 투여 후 전혈 및 파이어의 패치에서 % 수용체 점유율(RO)을 나타내는 그래프이다. 그래프 아래의 표는 %RO를 제공한다.

도 8은 표시된 양의 화합물 A로 처리된 6마리의 개별 동물에 대한 전혈 및 파이어의 패치에서 %RO를 제공한다(상단 패널). 14일째의 %RO는 하단 패널에 제공된다.

도 9는 표시된 용량의 화합물 A의 투여 후 혈장 및 파이어의 패치에서 화합물 A 농도(좌측 패널) 및 표시된 용량의 화합물 A의 투여 후 전혈 및 파이어의 패치에서 화합물 A의 %RO(우측 패널)를 나타내는 그래프를 제공한다.

도 10은 처리 후 다양한 시점에서 혈장 및 표시된 조직에서 검출된 화합물 A의 농도를 나타내는 그래프를 제공한다. 하단 패널은 확장된 스케일로 플롯된 상단 패널로부터의 데이터를 나타낸다.

도 11은 마우스에서 30 mg/kg의 단일 PO 용량 투여 후 화합물 A에 대한 다양한 약동학적 매개변수를 요약한 그래프이다.

도 12는 표시된 처리 후 표시된 표면 마커를 갖는 배양된 세포의 백분율을 나타내는 그래프이다. 각 세포 유형에 대해 왼쪽에서 오른쪽으로 4개의 막대는 위에서 아래로 왼쪽에 표시된 처리에 해당한다.

도 13은 표시된 처리 후 표시된 표면 마커를 갖는 배양된 세포의 백분율을 나타내는 그래프이다. 각 세포 유형에 대해 왼쪽에서 오른쪽으로 4개의 막대는 위에서 아래로 왼쪽에 표시된 처리에 해당한다.

도 14는 화합물 C 또는 화합물 D로 처리된 PBMC에서 $\alpha 4\beta 7$ 세포 표면 발현을 나타내는 그래프이다. FMO는 염색 대조군으로 사용된다.

도 15는 시간 0에서 화합물 A로 처리된 $CD4^{+}$ T 기억 세포 상에서 시간-의존적 $\alpha 4\beta 7$ 세포 표면 발현을 보여주는 그래프이다.

도 16은 표시된 농도의 화합물 A를 처리한 $CD4^{+}$ T 기억 세포 상에서 농도-의존적 $\alpha 4\beta 7$ 세포 표면 발현을 나타낸 그래프이다.

도 17은 표시된 농도의 화합물 A를 처리한 $CD4^{+}$ T 기억 세포 상에서 농도-의존적 $\alpha 4\beta 7$ 세포 표면 발현을 나타

낸 그래프이다.

도 18은 표시된 농도의 화합물 A로 처리된 CD4+ T 기억 세포 상에서 MAdCAM1에 대한 부착의 농도-의존적 감소를 보여주는 그래프이다.

도 19는 MAdCAM1에 대한 부착 감소율(%) 및 $\alpha 4\beta 7$ 발현 감소율(%) 사이의 상관관계를 나타내는 그래프이다.

도 20은 화합물 A 처리 후 $\alpha 4\beta 7$ 발현이 하향 조절되고, 처리 종료 후 $\alpha 4\beta 7$ 발현이 회복됨을 나타내는 그래프이다.

도 21은 표시된 양의 화합물 A의 단일 투여 후 시간 경과에 따른 평균 혈장 농도를 나타내는 그래프이다.

도 22a-b는 표시된 양의 화합물 A의 단일 투여 후 시간 경과에 따른 수용체 점유율(%) (도 22a) 및 수용체 발현율(%) (도 22b)을 나타내는 그래프이다.

도 23a-b는 액체 용액 또는 속방형 정제로서 450 mg 화합물 A를 투여한 후 시간 경과에 따른 화합물 A의 평균 정상 상태 혈장 농도(도 23a) 및 수용체 점유율(%) (도 23b)를 나타내는 그래프이다.

도 24는 화합물 A 투여 후의 화합물 A의 혈장 농도 및 수용체 점유율(%)의 상관관계를 나타내는 그래프이다.

도 25는 표시된 용량의 화합물 A를 투여한 후 전혈 및 파이어의 패치에서 평균 수용체 점유율(%)을 나타내는 그래프이다. 관련 수치가 표에 제공되어 있다.

도 26은 표시된 용량의 화합물 A를 투여한 후 혈장(좌측 패널) 및 파이어의 패치(우측 패널)에서 화합물 A의 용량-의존적 농도를 나타내는 그래프를 제공한다.

도 27은 표시된 용량의 화합물 A로 처리한 후 개별 동물에서 수용체 점유를 나타내는 표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0176] 궤양성 대장염은 혈변, 복부 경련 및 피로를 특징으로 하는 완화 및 재발 과정을 갖는 만성 염증성 장 질환(IBD)이다. 발병기전은 유전적으로 민감한 개체의 위장 항원 및 환경적 요인에 대한 부적절한 면역 반응에서 기인하는 것으로 생각된다. 가장 높은 유병률은 유럽과 북미에서 보고된다. 궤양성 대장염은 환자의 삶의 질에 심각한 부정적인 영향을 미치고 의료 시스템에 높은 경제적 부담을 준다.
- [0177] 궤양성 대장염과 같은 염증성 장 질환은 코르티코스테로이드, 5-아미노살리실레이트 및 면역억제제로 관리되어 왔으며, 보다 최근에는 염증의 특이적 매개체를 표적으로 하는 생물학적 제제를 사용하여 관리되었다. 궤양성 대장염의 장기 치료를 위한 치료 옵션은 제한적이다. 설파살라진, 올살라진, 발살라지드 및 다양한 형태의 메살라민(예를 들어, 아사콜, 펜타사, 리알다, 카나사)과 같은 5-아미노살리실레이트는 경증에서 중등도 질환에만 효과가 있는 반면, 중증 질환이 있는 환자는 생물학적 제제로 시작할 수 있다. TNF- α 에 대한 여러 단일클론 항체(예를 들어, 인플릭시맙, 아달리무맙, 굴리무맙 및 세르톨리주맙)가 현재 이용가능하다. IL-12/IL-23에 대한 우스테키누맙, 범-JAK 억제제인 토파시티닙과 같은 염증 반응에 관여하는 다른 사이토카인을 표적으로 하는 제제는 현재 염증성 장 질환에 사용할 수 있는 치료 옵션의 일부이며, 여러 IL-23 및 SIP1 억제제도 현재 임상 연구 중이다.
- [0178] 광범위한 치료 옵션에도 불구하고, 염증성 장 질환의 치료에는 여전히 한계가 있으며 사용가능한 약제가 위험하지 않은 것은 아니다. TNF- α 억제제는 환자의 대략 1/5 내지 1/3에서 효과가 없으며, 초기 이점을 보인 치료 환자의 10-15%는 매년 반응을 잃을 수 있다. 피부 반응은 또한 항-TNF 치료에서 가장 흔한 부작용이다. 여기에는 주사 부위 반응, 피부 감염, 건선 및 루푸스-유사 증후군과 같은 면역-매개 합병증 및 드물게 피부암이 포함된다. 토파시티닙은 감염 위험을 증가시킬 수 있으며 혈전증 또는 혈전색전성 사건의 위험을 증가시킬 수 있다. 국소 염증 반응의 완화는 유효할 수 있다는 인식이 증가하고 있다. 경구 투여된 부테소나이드 및 5-ASA는 국소적으로 효과가 있으며, 인터루킨 10의 국소 작용 경구 생물학적 융합 단백질인 AMT-101 및 JAK 억제제인 TD-1473을 포함하는 다양한 국소 작용제가 가능성을 보였거나 임상 조사가 진행 중이다. 경구 투여를 통한 국소 전달은 전신 부작용을 증가시키지 않으면서 더 높은 용량의 약물이 표적 부위에 전달되도록 할 수 있다.
- [0179] 인테그린은 세포 부착 분자로서 기능하는 이종이량체이다. $\alpha 4$ 인테그린, $\alpha 4\beta 1$ 및 $\alpha 4\beta 7$ 은 위장관 전체의 림프구 이동에 필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이들은 B 및 T 림프구, 단핵구 및 수지상 세포를 포함한 대부분의 백혈구에서 발현되며, 여기서 이들은 각각의 1차 리간드, 즉 혈관 세포 부착 분자(VCAM) 및 점막 어드레신 세포 부착 분자 1(MAdCAM1)에 대한 결합을 통해 세포 부착을 매개한다. VCAM과 MAdCAM1은 결합 특이성

이 다르며, VCAM은 $\alpha 4\beta 1$ 과 $\alpha 4\beta 7$ 모두에 결합하는 반면, MAdCAM1은 $\alpha 4\beta 7$ 에 매우 특이적이다.

- [0180] 백혈구의 위장관(GI)으로의 동원에 주로 관여하는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린은 순환하는 T 및 B 림프구의 작은 집단의 세포 표면에 존재한다. 이의 주요 리간드인 MAdCAM1은 장 혈관계의 내피에서 선택적으로 발현되고 염증 조직에서 증가된 농도로 존재한다.
- [0181] 본 개시내용은, 예를 들어 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 펩티드 이량체 길항제를 사용하여 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린을 억제함으로써 IBD를 치료하는 방법을 제공하며, 이는 여기에 개시된 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 구체적으로, 본 개시내용은 궤양성 대장염을 포함한 IBD 치료에 효과적인 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제의 경구 투여량을 제공한다. 또한, 본 개시는 MAdCAM1-매개 T 세포 증식의 억제, $\beta 7$ (및 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린)의 T 세포 발현 감소, T 세포에 대한 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 내재화, T 세포의 위장관 조직으로의 귀환 감소, T 세포에 의한 사이토카인 방출 감소, MAdCAM1에 대한 T 세포의 부착 감소, 및 위장관 염증 감소와 같은 길항제의 생물학적 활성과 관련된 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제의 약동학 및 약력학 매개변수를 제공한다. 특정 구현양태에서 T 세포는 CD4+ T 기억 세포이다.
- [0182] 또한, IBD를 치료하기 위한 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제의 사용을 뒷받침하는 메카니즘은 순환하는 T 세포에서 발현되는 $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 길항제의 결합을 포함하여, T 세포가 GI 내피 세포 상에 발현된 MAdCAM1에 결합하는 것을 방지함으로써 IBD 환자의 염증이 있는 위장관 점막으로 T 세포의 혈관의 이동을 방지한다고 이전에 믿어졌다. 따라서, T 세포의 결합 및 염증이 있는 위장 점막으로의 이동을 차단하기 위해, 최대 혈액 수용체 점유율(% RO), 예를 들어 80% RO 초과, 90% RO 초과 또는 100% RO에 가까운 달성이 목표이었다.
- [0183] 이에 반해, 본 발명자들은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제가 국소 효과를 발휘하여 염증이 있는 위장관 점막과 같은 염증 조직 내의 염증을 억제하는 대안적인 메카니즘을 확인하였다. 첨부된 실시예에 개시된 바와 같이, 염증 조직에 존재하는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 직접적인 결합 및 자극을 통해 발생하는 MAdCAM1-매개 CD4+ T 세포 증식 및 사이토카인 생성을 억제할 수 있다. 이러한 국소 효과는 혈액 수용체 점유 포화를 필요로 하지 않지만, 대신에 내시경적 개선 또는 조직학적 개선과 같은 치료 효과를 달성하기에 하위-포화 용량의 길항제의 경구 투여가 충분하다는 것이 본원에서 입증된다. 따라서, 본 개시내용은 특히, 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물을 포함하나 이에 제한되지 않는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제의 하위-포화 혈액 수용체 점유량을 대상체에게 경구 제공하는 것을 포함하여 IBD를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0184] 특정 측면에서, 본 개시내용은, 예를 들어 MAdCAM1을 발현하는 세포 또는 조직에서 $\alpha 4\beta 7$ 의 생물학적 기능과 관련된 상태를 치료하는데 사용하기 위한 항염증제 및/또는 면역억제제로서 $\alpha 4\beta 7$ 길항제 티오에테르 펩티드 단량체 및 이량체를 사용하는 방법을 제공한다.
- [0185] 본 발명의 측면은 인테그린 길항제 활성, 즉 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린에 대해 높은 특이성을 나타내는 고리화된, 디설파이드 또는 티오에테르 펩티드 화합물에 관한 것이다. 특정 구현양태에서, 본 발명의 각각의 펩티드는 디설파이드 또는 티오에테르 결합을 통해 고리화된 구조를 형성하도록 가교할 수 있는 다운스트림 천연 또는 비천연 아미노산 및 업스트림 변형된 아미노산 또는 방향족기를 포함한다. 본 발명의 펩티드는 치료제로서 경구 투여될 때 증가된 안정성을 입증한다.
- [0186] 추가의 관련된 구현양태에서, 본 발명은 인테그린 $\alpha 4\beta 7$ 의 생물학적 기능과 관련된 질병 또는 상태를 치료 또는 예방하는 방법을 제공하며, 이 방법은 유효량의 본 발명의 펩티드 분자 또는 본 발명의 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하는 것을 포함한다. 특정 구현양태에서, 질병 또는 상태는 염증성 장 질환이다. 특정 구현양태에서, 염증성 장 질환은 궤양성 대장염 또는 크론병이다. 특정 구현양태에서, 펩티드 분자는 MAdCAM1에 대한 $\alpha 4\beta 7$ 의 결합을 억제한다. 특정 구현양태에서, 펩티드 분자 또는 약제학적 조성물은 상태를 개선하기에 충분한 간격으로 이를 필요로 하는 대상체에게 제공된다. 특정 구현양태에서, 간격은 24시간, 매시간, 4시간마다, 매일 1회, 매일 2회, 매일 3회, 매일 4회, 격일, 매주, 격주 및 매월로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현양태에서, 펩티드 분자 또는 약제학적 조성물은 초기 투여 후 1회 이상의 후속 투여로 제공되고, 임의의 2회 투여 사이의 최소 간격은 1일 미만의 기간이고, 여기서 각각의 투여는 펩티드 분자의 유효량을 포함한다. 특정 구현양태에서, 펩티드 분자 또는 약제학적 조성물의 유효량은 하기 중 적어도 하나를 달성하기에 충분하다: a) $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 분자 상의 MAdCAM1 결합 부위의 약 50% 이상의 포화; b) 세포 표면 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 발현의 약 50% 이상의 억제; 및 c) $\alpha 4\beta 7$ 분자 상의 MAdCAM1 결합 부위의 약 50% 이상의 포화 및 세포 표면 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 발현의 약 50% 이상의 억제, 여기서 i) 포화는 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지되고; ii) 억제는 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지되고; 또는 iii) 포화 및 억제가 각각 1일 2회 이하의 투여 빈도와 일치하는 기간 동안 유지된다. 특정 구현양태에서, 펩티드 분

자는 경구, 비경구 또는 국소 투여된다.

[0187] 정의

[0188] 본원에 사용된 바와 같이, 단수 형태 "하나", 및 "그"는 문맥이 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수 참조를 포함한다.

[0189] 용어 "포함하는"이 본원에서 사용될 때, 본 발명은 또한 용어 "포함하는"은 "본질적으로 이루어지는" 또는 "이루어지는"으로 대체되는 동일한 구현양태를 포함하는 것으로 이해된다.

[0190] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 하기 용어들은 지시된 의미를 갖는다:

[0191] 본원에 사용된 용어 "펩티드"는 펩티드 결합에 의해 함께 연결된 2개 이상의 아미노산의 서열을 포함하는 구조를 광범위하게 지칭한다. 특정 구현양태에서, 이는 펩티드 결합에 의해 함께 연결된 2개 이상의 아미노산의 서열을 지칭한다. 이 용어는 특정 길이의 아미노산 중합체를 의미하지 않으며, 폴리펩티드가 재조합 기술, 화학적 또는 효소적 합성을 사용하여 생산되는지, 또는 자연적으로 발생하는지 여부를 암시하거나 구별하려는 의도도 아님을 이해해야 한다. 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "펩티드"는 펩티드 단량체 및 펩티드 이량체 둘 모두를 포함한다.

[0192] 본원에 사용된 용어 "단량체"는 또한 "펩티드 단량체", "펩티드 단량체 분자" 또는 "단량체 펩티드"로 지칭될 수 있다. "단량체"라는 용어는 펩티드 결합에 의해 함께 연결된 2개 이상의 아미노산의 단일 서열을 나타낸다.

[0193] 본원에 사용된 용어 "이량체"는 각각의 C- 또는 N-말단에서 연결된 2개의 단량체 펩티드 서브유닛(예를 들어, 티오에테르 단량체 펩티드)을 포함하는 펩티드를 광범위하게 지칭한다. 본 발명의 이량체는 인테그린 길항제로서 기능하는 동종이량체 또는 이종이량체를 포함할 수 있다. 용어 "이량체"는 또한 본원에서 "펩티드 이량체", "펩티드 이량체 분자", "이량체 펩티드" 또는 "이량체 화합물"로 지칭될 수 있다. 용어 "단량체 펩티드 서브유닛"은 또한 본원에서 "단량체 서브유닛", "펩티드 단량체 서브유닛", "펩티드 서브유닛", "펩티드 이량체 서브유닛", "이량체 서브유닛", "단량체 서브유닛" 또는 "펩티드 이량체의 서브유닛"으로 지칭될 수 있다.

[0194] 본원에 사용된 용어 "티오에테르"는 업스트림 아미노산 또는 방향족 산 기, 및 다운스트림 황-함유 아미노산, 또는 이의 등배전자체(isostere), 즉 C-S 결합 사이에 형성된 고리화된 공유 결합을 지칭한다.

[0195] 본원에 사용된 용어 "링커"는 2개의 티오에테르 단량체 서브유닛을 함께 연결하여 이량체를 형성할 수 있는 화학 구조를 광범위하게 지칭한다.

[0196] 본원에 사용된 용어 "L-아미노산"은 펩티드의 "L" 이성질체 형태를 지칭하고, 역으로 용어 "D-아미노산"은 펩티드의 "D" 이성질체 형태를 지칭한다. 본원에 기재된 아미노산 잔기는 "L" 이성질체 형태인 것이 바람직하지만, 원하는 기능이 펩티드에 의해 유지되는 한, "D" 이성질체 형태의 잔기는 임의의 L-아미노산 잔기를 대신 치환할 수 있다.

[0197] 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "NH₂"는 폴리펩티드의 아미노 말단에 존재하는 유리 아미노 기를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "OH"는 펩티드의 카르복시 말단에 존재하는 유리 카르복실기를 지칭한다. 또한, 본원에 사용된 용어 "Ac"는 폴리펩티드의 N-말단의 아실화를 통한 아세틸 보호를 의미한다. 표시된 경우, "NH₂"는 아미노산의 유리 아미노기 측쇄를 의미한다. 지시된 경우, 본원에 사용된 용어 "Ac"는 NH₂ 기로 아미노산의 아실화를 지칭한다.

[0198] 본원에 사용된 용어 "카르복시"는 -CO₂H를 지칭한다.

[0199] 본원에 사용된 용어 "등배전자체" 또는 "등배전자체 대체"는 특정 아미노산과 유사한 화학적 및/또는 구조적 특성을 갖는 임의의 아미노산 또는 기타 유사체 모이어티를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 아미노산의 "등배전자체" 또는 "적합한 등배전자체"는 동일한 부류의 또 다른 아미노산이며, 여기서 아미노산은 물과 같은 극성 용매와 접촉하는 측쇄의 성향에 기초하여 다음 부류에 속한다: 소수성(물과 접촉하는 경향이 낮음), 극성 또는 하전된(물과 에너지적으로 유리한 접촉). 하전된 아미노산 잔기는 라이신(+), 아르기닌(+), 아스파르테이트(-) 및 글루타메이트(-)를 포함한다. 극성 아미노산에는 세린, 트레오닌, 아스파라긴, 글루타민, 히스티딘 및 티로신이 포함된다. 소수성 아미노산은 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판, 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 아미노산 글리신은 측쇄가 없고 위의 부류 중 하나로 지정하기 어렵다. 그러나 글리신은 종종 루프 내에서 단백질 표면에서 발견되어 이러한 영역에 높은 유연성을 제공하며 등배전자체도 유사한 특징을 가

질 수 있다. 프롤린은 반대 효과가 있어 폴리펩티드 사슬의 분절에 특정 비틀림 각도를 부과하여 단백질 구조에 강성을 제공한다.

- [0200] 본원에 사용된 용어 "고리화된"은 폴리펩티드 분자의 한 부분이 폴리펩티드 분자의 다른 부분에 연결되어, 예를 들어 디설파이드 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 닫힌 고리를 형성하는 반응을 지칭한다. 특정 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체의 펩티드 단량체 및 단량체 서브유닛은 분자내 디설파이드 또는 티오에테르 결합을 통해 고리화된다.
- [0201] 본원에 사용된 용어 "수용체"는 특정 화학 기 또는 분자에 대해 친화성을 갖는 세포 표면 또는 세포 내부에서 분자의 화학 군을 지칭한다. 펩티드 분자 및 표적화된 인테그린 사이의 결합은 유용한 진단 도구를 제공할 수 있다.
- [0202] 본원에 사용된 용어 "인테그린-관련 질병"은 인테그린 결합의 결과로 나타나는 징후를 나타내며, 이는 인테그린 길항제의 투여를 통해 치료될 수 있다.
- [0203] 본원에 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 과도한 독성, 자극성, 및 알레르기 반응 없이 질병의 치료에 적합한 수용성 또는 유용성 또는 분산성인 본 발명의 화합물의 염 또는 쥘비터이온성 형태를 나타내며; 합리적인 이익/위험 비율에 알맞고 의도된 용도에 효과적인 것을 지칭한다. 염은 화합물의 최종 분리 및 정제 동안 또는 아미노기를 적절한 산과 반응시켜 별도로 제조할 수 있다. 대표적인 산 부가염은 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 시트레이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 바이설파이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포설포네이트, 디글루코네이트, 글리세로포스페이트, 헤미설파이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 포르메이트, 푸마레이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시에탄설포네이트(이세티오네이트), 락테이트, 말레에이트, 메시틸렌설포네이트, 메탄설포네이트, 나프틸렌설포네이트, 니코티네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼설파이트, 3-페닐프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 트리클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 포스페이트, 글루타메이트, 바이카보네이트, 파라-톨루엔설포네이트, 운데카노에이트를 포함한다. 또한, 본 발명의 화합물에서 아미노기는 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 디메틸, 디에틸, 디부틸 및 디아밀 설파이트; 데실, 라우릴, 미리스틸, 및 스테릴 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드; 및 벤질 및 페네틸 브로마이드로 4급화될 수 있다. 치료적으로 허용되는 부가염을 형성하기 위해 사용될 수 있는 산의 예는 염산, 브롬화수소산, 황산 및 인산과 같은 무기산, 및 옥살산, 말레산, 숙신산 및 시트르산과 같은 유기산을 포함한다.
- [0204] 본원에 사용된 용어 "N(알파)메틸화"는 일반적으로 N-메틸화로도 지칭되는 아미노산의 알파 아민의 메틸화를 기술한다.
- [0205] 본원에 사용된 용어 "아실화 유기 화합물"은 펩티드 분자의 C- 및/또는 N-말단을 아실화하는데 사용될 수 있는 카르복실산 작용기를 갖는 다양한 화합물을 지칭한다. 아실화 유기 화합물의 비제한적인 예는 시클로프로필아세트산, 4-플루오로벤조산, 4-플루오로페닐아세트산, 3-페닐프로피온산, 숙신산, 글루타르산, 시클로헥탄 카르복실산, 글루타르산, 숙신산, 3,3,3-트리플루오로프로피온산, 3-플루오로메틸부티르산을 포함한다.
- [0206] 모든 펩티드 서열은 α-N-말단 아미노산 잔기가 왼쪽에 있고 α-C-말단이 오른쪽에 있는 일반적으로 허용되는 규칙에 따라 작성된다. 본원에 사용된 용어 "α-N-말단"은 펩티드 내 아미노산의 유리 α-아미노기를 의미하고, 용어 "α-C-말단"은 펩티드에서 아미노산의 유리 α-카르복실산 말단을 의미한다.
- [0207] 본원에 사용된 용어 "아미노산" 또는 "임의의 아미노산"은 천연 발생 아미노산(예를 들어, α-아미노산), 천연 아닌 아미노산, 변형된 아미노산 및 비천연 아미노산을 포함하는 임의의 모든 아미노산을 지칭한다. 여기에는 D- 및 L-아미노산이 모두 포함된다. 천연 아미노산에는, 예를 들어 펩티드 사슬로 결합하여 방대한 단백질 배열의 빌딩-블록을 형성하는 23개 아미노산과 같이 자연에서 발견되는 아미노산이 포함된다. 박테리아 외피와 일부 항생제에서 약간의 D-아미노산이 발생하지만, 이들은 주로 L 입체 이성질체이다. "비-표준" 천연 아미노산은 피롤리신(메탄생성 유기체 및 기타 진핵생물에서 발견되는), 셀레노시스테인(많은 비진핵생물 및 대부분의 진핵생물에 존재) 및 N-포르밀메티오닌(세균, 미토콘드리아 및 엽록체에서 시작 코돈 AUG에 의해 코딩)이다. "천연 아닌" 또는 "비-천연" 아미노산은 자연적으로 발생하거나 화학적으로 합성되는 비-단백질성 아미노산(즉, 자연적으로 코딩되거나 유전 코드에서 발견되지 않는 아미노산)이다. 140개 이상의 천연 아미노산이 알려져 있으며 수천 가지 이상의 조합이 가능하다. "천연 아닌" 아미노산의 예에는 β-아미노산(β^1 및 β^2), 호모-아미노산, 프롤린 및 피루브산 유도체, 3-치환된 알라닌 유도체, 글리신 유도체, 고리-치환된 페닐알라닌 및 티로신 유도체,

선형 코어 아미노산, 디아미노산, D-아미노산, 알파-메틸 아미노산 및 N-메틸 아미노산이 포함된다. 천연 아닌 또는 비-천연 아미노산에는 변형된 아미노산도 포함된다. "변형된" 아미노산은 아미노산 상에 자연적으로 존재하지 않는 기, 기들, 또는 화학적 모이어티를 포함하도록 화학적으로 변형된 아미노산(예를 들어, 천연 아미노산)을 포함한다.

[0208] 일반적으로, 본원에서 사용되는 자연 발생 및 비-자연 발생 아미노아실 잔기의 명칭은 문헌에 제시된 유기 화학 명명법에 관한 IUPAC 위원회 및 생화학적 명명법에 관한 IUPAC-IUB 위원회에서 제안한 명명 규칙을 따른다 ("Nomenclature of α -Amino Acids (Recommendations, 1974)" Biochemistry, 14(2), (1975)). 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에 사용된 아미노산 및 아미노아실 잔기의 명칭 및 약어가 그러한 제안과 상이한 정도까지는 독자에게 명백할 것이다. 본 발명을 설명하는 데 유용한 일부 약어는 하기 표 1에 정의되어 있다.

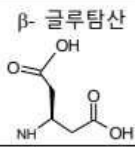
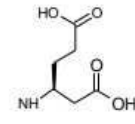
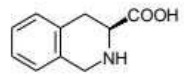
[0209] 표 1. 약어

약어	정의
DIG	디글리콜산 (링커)
Dap	디아미노프로피온산
Dab	디아미노부티르산
Pen	페니실라민
Sar	사르코신
Cit	시트룰린
Cav	카바닌
4-Guan	4- 구아니딘-페닐알라닌
N-Me-Arg; N(알파)메틸화	N- 메틸-아르기닌
Ac-	아세틸
2-Nal	2-나프틸알라닌
1-Nal	1-나프틸알라닌
Bip	비페닐알라닌
O-Me-Tyr	티로신 (O-메틸)
N-Me-Lys	N-메틸-라이신
N-Me-Lys (Ac)	N-Me-아세틸 (ϵ) 라이신
Ala (3,3 디페닐)	3,3 디페닐 알라닌
NH ₂	유리 아민
CONH ₂	아미드
COOH	산
Phe (4-F)	4-플루오로-페닐알라닌

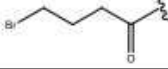
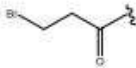
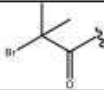
[0210]

PEG13	13 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 이작용성 PEG 링커
PEG25	25 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 이작용성 PEG 링커
PEG1K	1000Da 의 폴리에틸렌 글리콜 분자량을 갖는 이작용성 PEG 링커
PEG2K	2000Da 의 폴리에틸렌 글리콜 분자량을 갖는 이작용성 PEG 링커
PEG3.4K	3400Da 의 폴리에틸렌 글리콜 분자량을 갖는 이작용성 PEG 링커
PEG5K	5000Da 의 폴리에틸렌 글리콜 분자량을 갖는 이작용성 PEG 링커
IDA	β -Ala-이미노디아세트산 (링커)
IDA-Palm	β -Ala (팔미틸)-이미노디아세트산
HPhe	호모 페닐알라닌
Ahx	아미노헥사노산
DIG-OH	글리콜 모노산
트리아진	아미노 프로필 트리아진 이산
Boc-트리아진	Boc- 트리아진 이산
트리플루오로부티르산	4,4,4-트리플루오로부티르산으로 아실화
2-메틸-트리플루오로부티르산	2-메틸-4,4,4-부티르산으로 아실화
트리플루오로펜타노산	5,5,5-트리플루오로펜타노산으로 아실화
1,4- 페닐렌디아세트산	<i>p</i> - 페닐렌디아세트산(링커)
1,3 - 페닐렌디아세트산	<i>m</i> - 페닐렌디아세트산(링커)
DTT	디티오프레옴
Nle	노르류신
β -HTrp	β - 호모트리포판
β -HPhe	β - 호모페닐알라닌

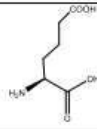
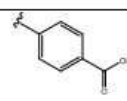
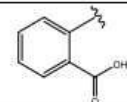
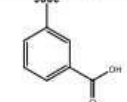
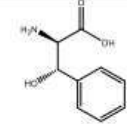
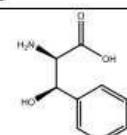
[0211]

Phe(4-CF ₃)	4-트리플루오로메틸 페닐알라닌
β-Glu	β-글루탐산 
β-HGlu 베타-호모-Glu	β-호모글루탐산 
2-2-인단	2-아미노인단-2-카르복실산
1-1-인단	1-아미노인단-1-카르복실산
Cpa	시클로펜틸 알라닌
Orn	오르니틴
Aoc	2-아미노 옥타노산
Cba	시클로부틸 알라닌
HCha	호모시클로헥실 알라닌
시클로부틸	시클로부틸 알라닌
β-HPhe, B-H-K	β-호모페닐알라닌
HLeu, 호모-Leu, hK,	호모류신
Gla	감마-카복시-글루탐산
Tic	(3S)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실산 

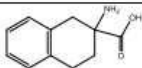
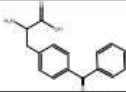
[0212]

Phe(4CF ₃)	L-Phe(4-CF ₃)-OH Phe(4-트리플루오로메틸 3-(4-트리플루오로메틸-페닐)프로피온산
Phe(2,4-diCl)	(S)- 2-아미노-3-(2,4-디클로로페닐)프로피온산
Phe(3,4-diCl)	(S)- 2-아미노-3-(3,4-디클로로페닐)프로피온산
Pen(=O)	페니실라민 설록사이드
Aic	아미노인단-2-카르복실산
Phe(2-카보밀)	L-2-카바모일페닐알라닌
Phe(3-카보밀)	L-3-카바모일페닐알라닌
Phe(4-COOH)	(4-카복시- <i>tert</i> -부틸)-L-페닐알라닌
Phe(4-Ome)	(S)-4-메톡시페닐알라닌
Phe(4tBu)	(S)- 2-아미노-3-(4- <i>tert</i> -부틸-페닐)프로피온산
Phe(4-F)	4-플루오로-L-페닐알라닌
Glu(OMe)	L-글루탐산 g-메틸 에스테르
알파-브로모부티릴	
알파-브로모프로페닐; 프로피오닐	
알파-브로모이소부티릴	

[0213]

알파-H-E; 알파-hGlu	 호모 글루탐산
F(2-Me)	2-메틸 페닐알라닌
4-벤질	
2-벤질	
3-벤질	
에리트로-b-F-S	 에리트로-β-페닐세린
트레오-b-F-S	 트레오-β-페닐세린
F(2-CF3)	2-트리플루오로메틸-페닐알라닌
F(CF3)	4-트리플루오로메틸-페닐알라닌
F(4-Me); 4-Me-F	4-메틸 페닐알라닌
F(3-Me)	3-메틸 페닐알라닌
알파-hGlu	호모글루탐산

[0214]

ATC	 D-L-2 -아미노테트라린-2-카르복실산
BPA	
b-Me-F	
β-디메틸-F	
2- 클로로벤조일	
N-Me-E	N-메틸 글루탐산
k(Ac)	Nε-아세틸-D-라이신
k(PEG8)	PEG8 접합된 (Nε)-D-Lys
N-Me-k(Ac)	N-메틸 Nε-아세틸-D-라이신
N-Me-K(Ac)	N-메틸 Nε-아세틸-라이신
F(4-tBu); F(4tBu)	4-t 부틸-페닐알라닌
C(티오에테르 프로판)	S-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -S
l(D-L)	D-류신
β- 아지도-Ala-OH	β-아지도-알라닌
Aoc	8-아미노-옥타노산

[0215]

[0216]

[0217]

펩티드 길항제

본 발명은 일반적으로 인테그린 길항제 활성을 갖는 것으로 밝혀진 고리형 펩티드, 예를 들어 디설파이드 및 티오에테르 펩티드에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 분자내 결합, 예를 들어 디설파이드 또는 티오에테르 결합, 예를 들어 분자내 디설파이드 또는 티오에테르 결합을 통해 고리화된 구조를 형성하는 다양한 펩티드에 관한 것이다. 본원에 제공된 개시내용은 일반적으로 디설파이드 또는 티오에테르 분자내 결합을 갖는 펩티드에 관한 것이지만, 상이한 성질의 분자내 결합을 포함하는 것을 포함하여 α4β7 인테그린의 다른 고리형 펩티드 길항제 및 또한 2개의 펩티드 단량체 서브유닛 사이의 결합을 포함하는 α4β7 인테그린의 고리형 펩티드 길항제는 또한 본원에 개시된 방법을 실행하는데 사용될 수 있는 것으로 이해된다. 특정 구현양태는 인테그린 길항제 활성을 갖는 디설파이드 또는 티오에테르 펩티드 단량체에 관한 것이다. 일부 구현양태는 이중- 또는 동중-단량체 티오에테르 펩티드 서브유닛을 포함하는 인테그린 길항제 활성을 갖는 디설파이드 또는 티오에테르 펩티드 이량체에 관한 것으로, 여기서 디설파이드 또는 티오에테르 펩티드 서브유닛은 그들의 C- 또는 N-말단에서 연결된다. 펩티드, 펩티드 단량체 또는 펩티드 서브유닛의 고리화된 구조는 아래에서 논의되는 바와 같이 펩티드 분자의 효능, 선택성 및 안정성을 증가시키는 것으로 나타났다. 일부 구현양태에서, 펩티드 단량체의 이량체화는 비-이량체화된 펩티드와 비교하여 효능, 선택성, 및/또는 안정성을 증가시킨다. 본원에 개시된 방법에 따라 사용될 수 있는 예시적인 펩티드 및 이의 속은 다음 특허 출원 간행물에 제공되며, 이들 각각은 그 전체가 참조로 포함된다: PCT 출원 공개 번호 WO 2014/059213, WO 2014/165448, WO 2014/165449, WO 2015/176035, WO 2016/054411, 및 WO 2016/054445.

[0218]

일부 예에서, 단량체 펩티드는 유리 아민을 포함하는 C- 및/또는 N-말단(또는 유리 아민을 포함하는 C- 및 N-말단 모두)을 추가로 포함한다. 유사하게, 펩티드 이량체는 유리 아민을 포함하는 하나 이상의 C- 또는 N-말단을 포함할 수 있다. 따라서, 사용자는 PEG화, 예를 들어, 작은 PEG화(예를 들어, PEG4-PEG13)와 같은 변형 기를 포함하도록 말단 중 하나를 변형할 수 있다. 사용자는 아실화를 통해 말단 중 하나를 추가로 변형할 수 있다.

예를 들어, 일부 경우에 펩티드 분자의 N- 및 C-말단 중 적어도 하나는 2-Me-트리플루오로부틸, 트리플루오로펜틸, 아세틸, 옥토닐, 부틸, 펜틸, 헥실, 팔미틸, 트리플루오로메틸 부티르산, 시클로펜탄 카르복실산, 시클로프로필아세트산, 4-플루오로벤조산, 4-플루오로페닐 아세트산, 3-페닐프로피온산으로 이루어진 군으로부터 선택된 아실화 유기 화합물로 아실화된다. 일부 경우에, 본 발명의 펩티드 분자는 유리 카르복시 말단 및 유리 아미노 말단을 모두 포함하고, 이로써 사용자는 원하는 변형을 달성하기 위해 펩티드를 선택적으로 변형할 수 있다. 달리 표시되지 않는 한, 본원에 개시된 티오에테르 펩티드, 예를 들어 티오에테르 단량체의 C-말단 잔기는 아미드 또는 산인 것으로 추가로 이해된다. 따라서 당업자는 본 발명의 티오에테르 펩티드가 원하는 대로 선택적으로 변형될 수 있음을 이해할 것이다.

[0219] 펩티드 이량체와 관련하여, 단량체 서브유닛은 이량체화되어 펩티드 이량체 분자를 형성하는 것, 예를 들어 단량체 서브유닛은 본원에 정의된 바와 같은 적합한 링커 모이어티에 의해 연결되거나 이량체화하는 것이 이해된다. 일부 단량체 서브유닛은 둘 다 유리 아민을 포함하는 C- 및 N-말단을 갖는 것으로 보여진다. 따라서, 사용자는 C-말단 또는 N-말단 유리 아민을 제거하기 위해 단량체 서브유닛의 한쪽 말단을 변형할 수 있으며, 이로써 나머지 유리 아민에서 이량체화를 허용할 수 있다. 따라서, 단량체 서브유닛 중 일부는 C-말단에 유리 카르복시 또는 아미드 및 유리 아미노 말단 둘 다를 포함하여, 사용자가 원하는 말단에서 이량체화를 달성하기 위해 서브유닛을 선택적으로 변형할 수 있다. 따라서 당업자는 본 발명의 단량체 서브유닛이 원하는 이량체화를 위한 단일의 특정 아민을 달성하도록 선택적으로 변형될 수 있음을 이해할 것이다.

[0220] 달리 표시되지 않는 한, 본원에 개시된 단량체 서브유닛의 C-말단 잔기는 -OH 또는 -NH₂를 포함하는 것으로 추가로 이해된다. 추가로, C-말단에서의 이량체화는 당업계에서 일반적으로 이해되는 바와 같이 아민 작용기를 갖는 측쇄를 갖는 적합한 아미노산을 사용함으로써 촉진될 수 있는 것으로 이해된다. 특정 구현양태에서, 링커는 각각의 펩티드 단량체 서브유닛의 C-말단 아미노산에서 작용성 아민기에 결합하여 이량체를 형성한다. N-말단 잔기와 관련하여, 이량체화는 말단 잔기의 유리 아민을 통해 달성될 수 있거나, 당업계에서 일반적으로 이해되는 바와 같이 유리 아민을 갖는 적합한 아미노산 측쇄를 사용함으로써 달성될 수 있다는 것이 일반적으로 이해된다.

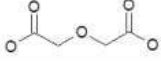
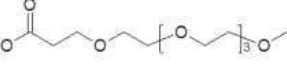
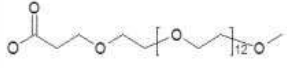
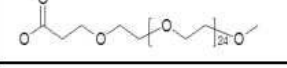
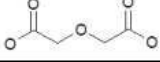
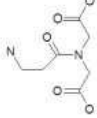
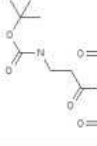
[0221] 본 발명의 펩티드 단량체 및 이량체, 또는 이의 펩티드 서브유닛은 하나 이상의 말단 변형기를 추가로 포함할 수 있다. 적어도 하나의 구현양태에서, 펩티드의 말단 끝은 DIG, PEG4, PEG13, PEG25, PEG1K, PEG2K, PEG4K, PEG5K, 400Da 내지 40,000Da의 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜, 분자량 40,000Da 내지 80,000Da의 PEG, IDA, ADA, 글루타르산, 숙신산, 이소프탈산, 1,3-페닐렌디아세트산, 1,4-페닐렌디아세트산, 1,2-페닐렌디아세트산, AADA, 및 적합한 지방족, 방향족 및 헤테로방향족으로 이루어진 비제한적인 군으로부터 선택된 말단 변형기를 포함하도록 변형된다.

[0222] 본원에 기재된 펩티드 이량체, 펩티드 이량체 서브유닛 또는 펩티드 단량체의 일부 구현양태에서, N-말단은 적합한 링커 모이어티 또는 다른 변형기를 추가로 포함한다. 본원에 기재된 펩티드 단량체의 일부 구현양태에서, N-말단은 추가로 아실화될 수 있다.

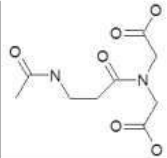
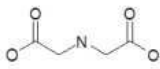
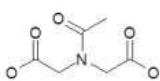
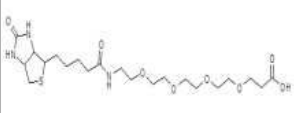
[0223] 말단 변형 기의 비제한적인 예가 표 2에 제공되어 있다.

[0224]

표 2. 예시적인 말단 변형 기

약어	설명	구조
DIG	디글리콜산,	
PEG4	4 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 이작용성 PEG 링커	
PEG13	13 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 PEG	
PEG25	25 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 PEG	
PEG1K	1000Da의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜	
PEG2K	2000Da의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜	
PEG3.4K	3400Da의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜	
PEG5K	5000Da의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜	
DIG	디글리콜산,	
IDA	β -Ala-이미노디아세트산	
Boc-IDA	Boc- β -Ala-이미노디아세트산	

[0225]

Ac-IDA	아세틸-β-Ala-이미노디아세트산	
GTA	글루타르산	
PMA	페밀산	
AZA	아젤라산	
DDA	도데칸디오산	
ADA	아미노 디아세트산	
AADA	n-아세틸 아미노 아세트산	
PEG4-비오틴	PEG4- 비오틴(제품번호 10199, QuantaBioDesign)	

[0226]

[0227]

본 발명의 링커 모이어티는 본원의 교시와 양립가능한 임의의 구조, 길이 및/또는 크기를 포함할 수 있다. 적어도 하나의 구현양태에서, 링커 모이어티는 DIG, PEG4, PEG4-비오틴, PEG13, PEG25, PEG1K, PEG2K, PEG3.4K, PEG4K, PEG5K, IDA, ADA, Boc-IDA, 글루타르산, 이소프탈산, 1,3-페닐렌디아세트산, 1,4-페닐렌디아세트산, 1,2-페닐렌디아세트산, 트리아진, Boc-트리아진, IDA-비오틴, PEG4-비오틴, AADA, 적합한 지방족, 방향족, 헤테로방향족 및 대략 400Da 내지 대략 40,000Da 또는 대략 40,000Da 내지 대략 80,000Da의 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜 기반 링커로 이루어진 비제한적인 군으로부터 선택된다.

[0228]

링커가 IDA, ADA 또는 유리 아민을 갖는 임의의 링커인 경우, 이는 2-me-트리플루오로부틸, 트리플루오로펜틸, 아세틸, 옥토닐, 부틸, 펜틸, 헥실, 팔미틸, 라우릴, 올레오일, 라우릴, 트리플루오로메틸 부티르산, 시클로펜탄 카르복실산, 시클로프로필아세트산, 4-플루오로벤조산, 4-플루오로페닐아세트산, 3-페닐프로피온산, 테트라헤드로-2H-피란-4카르복실산, 숙신산, 글루타르산, 10 내지 20 탄소 단위를 갖는 직쇄 지방족산, 콜린산 및 기타 담즙산으로 이루어진 군으로부터 선택된 아실화 유기 화합물로 아실화될 수 있다. 일부 경우에는 작은 PEG(PEG4-PEG13), Glu 또는 Asp가 아실화 전에 스페이서로 사용된다.

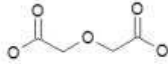
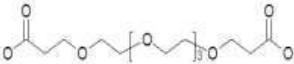
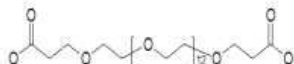
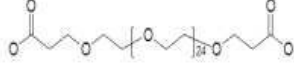
[0229]

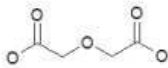
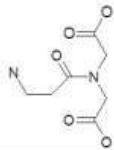
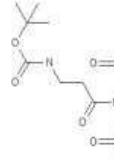
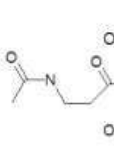
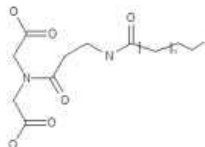
특정 구현양태에서, 링커는 2개의 황 함유 C- 또는 N-말단 아미노산을 연결함으로써 2개의 단량체 서브유닛을 연결한다. 일부 구현양태에서, 2개의 황 함유 아미노산은 디할라이드, 지방족 사슬 또는 PEG를 포함하는 링커에 의해 연결된다. 특정 구현양태에서, 링커는 각 단량체 서브유닛의 C-말단에서 황 함유 C-말단 아미노산을 연결함으로써 2개의 단량체 서브유닛을 연결한다. 일부 구현양태에서, 2개의 황 함유 아미노산은 동종이작용성 말레이미드 가교결합제, 디할라이드, 1,2-비스(브로모메틸)벤젠, 1,2-비스(클로로메틸)벤젠, 1,3-비스(브로모-

메틸)벤젠, 1,3-비스(클로로모메틸)벤젠, 1,4-비스(브로모모메틸)벤젠, 1,4-비스(클로로모메틸)벤젠, 3,3'-비스-브로모메틸-비페닐, 또는 2,2'-비스-브로모메틸-비페닐을 포함하는 링커에 의해 연결된다. 특정 할로아세틸 가교결합제는 요오도아세틸 또는 브로모아세틸 기를 함유한다. 이들 동종이작용성 링커는 PEG 또는 지방족 사슬을 포함하는 스페이서를 함유할 수 있다.

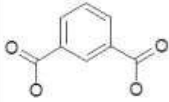
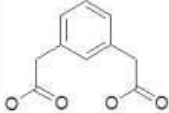
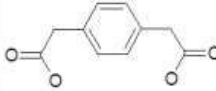
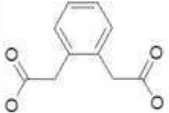
적합한 링커 모이어티의 비제한적 예는 표 3에 제공되어 있다.

표 3. 예시적인 링커 모이어티

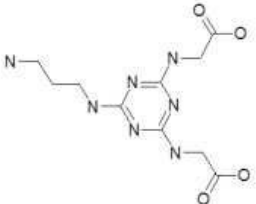
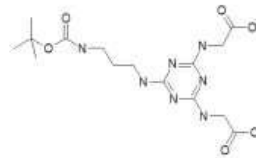
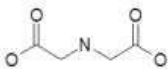
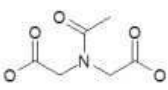
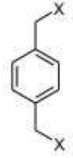
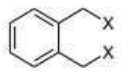
약어	설명	구조
DIG	디글리콜산	
PEG4	4 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 이작용성 PEG 링커	
PEG13	13 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 이작용성 PEG 링커	
PEG25	25 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 이작용성 PEG 링커	
PEG1K	1000Da의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜을 갖는 이작용성 PEG 링커	

PEG2K	2000Da 의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜을 갖는 이작용성 PEG 링커	
PEG3.4K	3400Da 의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜을 갖는 이작용성 PEG 링커	
PEG5K	5000Da 의 분자량의 폴리에틸렌 글리콜을 갖는 이작용성 PEG 링커	
DIG	디글리콜산	
IDA	β -Ala-이미노디아세트산	
Boc-IDA	Boc- β -Ala-이미노디아세트산	
Ac-IDA	Ac- β -Ala-이미노디아세트산	
IDA-Palm	팔미틸 β -Ala-이미노디아세트산	

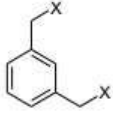
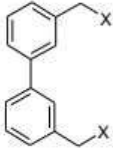
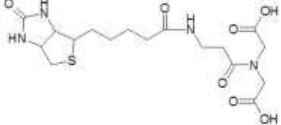
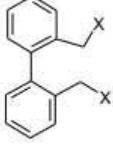
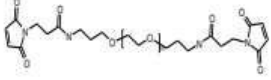
[0233]

GTA	글루타르산	
PMA	페말산	
AZA	아젤라산	
DDA	도데칸디오산	
IPA	이소프탈산	
1,3-PDA	1,3-페닐렌디아세트산	
1,4-PDA	1,4-페닐렌디아세트산	
1,2-PDA	1,2-페닐렌디아세트산	

[0234]

트리아진	아미노 프로필 트리아진 이산	
Boc-트리아진	Boc-트리아진 이산	
ADA	아미노 디아세트산	
AADA	n-아세틸 아미노아세트산	
PEG4-비오틴	PEG4-비오틴(제품번호 10199, QuantaBioDesign)	
1,4 BMB	1,4-비스(할로-모메틸)벤젠	 X=Cl, Br
1,2 BMB	1,2-비스(할로-모메틸)벤젠	 X=Cl, Br

[0235]

1,3 BMB	1,3-비스(할로-모메틸)벤젠,	 X=Cl, Br
1,3 BMBip	3,3'-비스-할로메틸-비페닐	 X= Cl, Br
IDA-비오틴	N-비오틴-β-Ala-이미노디아세트산	
2,2 BMBip	2,2'-비스-할로메틸-비페닐	 X=Cl, Br
BMal	비스-Mal-dPEG	 n=1 내지 20

[0236]

[0237]

당업자는 특정 아미노산 및 기타 화학적 모이어티가 다른 분자에 결합될 때 변형된다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 아미노산 측쇄는 다른 아미노산 측쇄와 분자내 가교를 형성할 때 변형될 수 있다. 또한, 호모-Ser-Cl이 Cys 또는 Pen과 같은 아미노산에 티오에테르 결합을 통해 결합하면 Cl 모이어티가 방출된다. 따라서, 본원에 사용된 바와 같이, 본 발명의 펩티드 이량체(예를 들어, 위치 Xaa⁴ 또는 위치 Xaa¹⁰)에 존재하는 아미노산 또는 변형된 아미노산, 예컨대 호모-Ser-Cl에 대한 언급은 분자내 결합을 형성하기 전과 후 모두에 펩티드에 존재하는 이러한 아미노산 또는 변형된 아미노산의 형태를 포함하는 것을 의미한다.

[0238]

특정 구현양태에서, 본원에 개시된 방법은 α4β7 인테그린의 하기 펩티드 길항제 중 임의의 것을 사용하여 실시되지만, 본원에 개시된 방법은 여기에 참조로 포함된 PCT 출원에 개시된 것을 포함하여 다른 펩티드 길항제를 사용하여 실시될 수 있음이 이해된다.

[0239]

일부 구현양태에서, 펩티드 길항제는 2개의 펩티드, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 펩티드 이량체 화합물이고; 여기서 2개의 펩티드 각각은 다음의 서열 중 임의의 것을 포함하거나 이로 이루어진다:

[0240]

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1);

[0241]

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2);

[0242]

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3);

[0243]

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4);

[0244]

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5); 또는

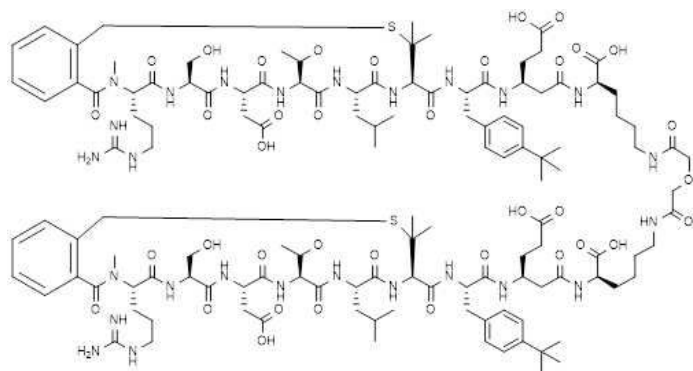
[0245]

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열 번호: 5);

- [0246] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH (서열번호: 6);
- [0247] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 6);
- [0248] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 7);
- [0249] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 7);
- [0250] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 8); 또는
- [0251] Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 8);
- [0252] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이의 티오에테르 결합 또는 2개의 Pen 사이의 디설파이드 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다. 펩티드는 또한 N-말단 Ac를 포함할 수 있다.
- [0253] 임의의 펩티드 길항제 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 아세테이트 염이다.
- [0254] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0255] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1),
- [0256] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0257] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0258] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2),
- [0259] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0260] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0261] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3),
- [0262] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0263] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0264] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4),
- [0265] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0266] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0267] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 5),
- [0268] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0269] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열로 이루어진다:
- [0270] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5),
- [0271] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

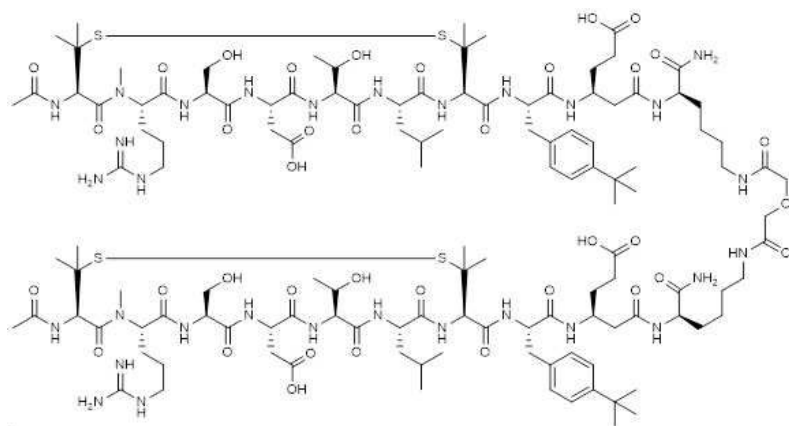
다.

특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 1),

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Gly-(D-Lys)-OH(서열번호: 2),

여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

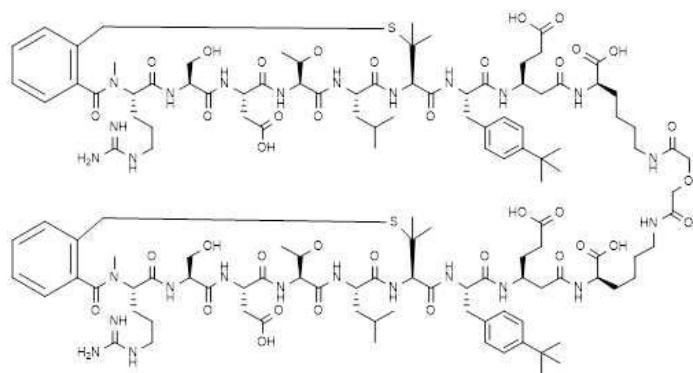
특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-Pro-(D-Lys)-OH(서열번호: 3),

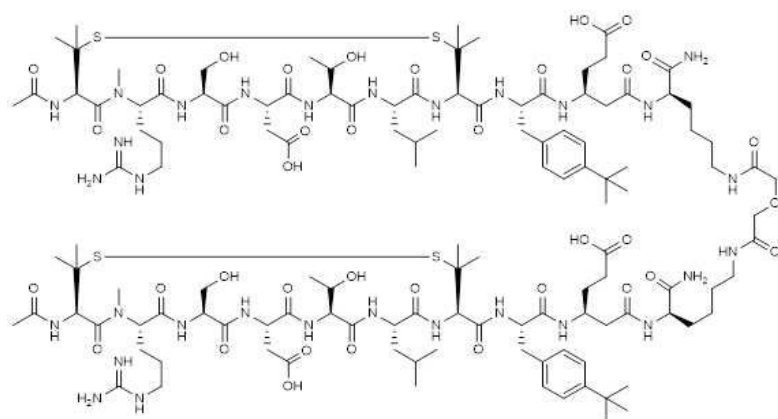
여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.

특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:

- [0288] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Pro)-(D-Lys)-OH(서열번호: 4),
- [0289] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0290] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:
- [0291] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂(서열번호: 5),
- [0292] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0293] 특정 구현양태에서, 2개의 펩티드 각각은 다음 서열을 포함하거나 이로 이루어진다:
- [0294] 2-메틸벤조일-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-Phe(4-tBu)-(β-호모-Glu)-(D-Lys)-OH(서열번호: 5),
- [0295] 여기서, 2개의 펩티드 각각은 2-메틸벤조일 및 Pen 사이에 티오에테르 결합을 포함하고, 여기서 2개의 펩티드는 2개의 펩티드의 D-Lys 아미노산에 결합된 링커 모이어티에 의해 연결되고, 링커 모이어티는 디글리콜산(DIG)이다.
- [0296] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



- [0297] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.
- [0298] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.
- [0299] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염은



- [0300] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.
- [0301] 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.
- [0302] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 화합물은 첨부된 실시예에 기재된 바와 같은 화합물 A 또는 화합물 B이다.
- [0303] 펩티드 생물학적 활성
- [0304] 특정 구현양태에서, 본원에 개시된 펩티드 분자는 α4β7 결합에 대한 증가된 친화도, α4β1에 대한 증가된 선택성, 및 감소된 조건 하에 위장 환경 뿐만 아니라 모의 장액(SIF)에서 증가된 안정성을 갖는다. 이 새로운 길

항제 분자는 $\alpha 4\beta 7$ 과 높은 결합 친화력을 나타내어서, $\alpha 4\beta 7$ 및 MAdCAM1 리간드 사이의 결합을 방지한다. 따라서, 이러한 펩티드 분자는 다양한 실험에서 염증 과정을 제거 및/또는 감소시키는 데 효과적인 것으로 나타났다.

[0305] 펩티드 단량체 및 이량체 분자는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린과 결합하거나 회합하여 $\alpha 4\beta 7$ 및 MAdCAM1 리간드 사이의 결합을 방해하거나 차단한다. 특정 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 이량체 및 단량체 분자는 $\alpha 4\beta 7$ 및 MAdCAM1 리간드 사이의 결합을 억제하거나 감소시킨다. 특정 구현양태에서, 본 발명의 펩티드는 음성 대조군 펩티드와 비교하여 $\alpha 4\beta 7$ 및 MAdCAM1 리간드의 결합을 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 감소시킨다. 결합을 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있고 본원에 기술되어 있으며, 예를 들어 ELISA 검정을 포함한다.

[0306] 특정 구현양태에서, 펩티드 단량체 또는 이량체 분자는 $< 500 \text{ nM}$, $< 250 \text{ nM}$, $< 100 \text{ nM}$, $< 50 \text{ nM}$, $< 25 \text{ nM}$, 또는 $< 10 \text{ nM}$ 의 IC50을 갖는다. 활성을 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며 첨부된 실시예에 기재된 방법을 포함한다.

[0307] 일부 구현양태에서, 펩티드 단량체 또는 이량체 분자는 모의 장액(SIF)에 노출될 때 180분 초과와 반감기를 갖는다. 일부 구현은 약 1분 내지 약 180분의 반감기를 포함하는 펩티드 단량체 또는 이량체 분자를 추가로 제공한다. 유사하게, 이러한 펩티드는 DTT(디티오프레이톨) 검정에서 테스트할 때 반감기가 >120 분인 감소된 조건에서 위 환경에 안정하다.

[0308] 특정 구현양태에서, 펩티드 단량체 또는 이량체 분자는 대조군 펩티드와 비교하여 증가된 안정성, 증가된 위장 안정성, 및/또는 모의 장액(SIF)에서 증가된 안정성을 갖는다. 특정 구현양태에서, 대조군 펩티드는 펩티드 단량체 또는 이량체 분자와 동일하거나 고도로 관련된 아미노산 서열(예를 들어, $> 90\%$ 서열 동일성)을 갖지만 티오에테르 결합을 통해 고리화된 구조를 형성하지 않는 펩티드이다. 이량체 분자와 관련된 일부 구현양태에서, 대조군 펩티드는 이량체화되지 않는다. 특정 구현양태에서, 펩티드 단량체 또는 이량체 분자 및 대조군 펩티드 사이의 유일한 차이점은 펩티드가 하나 이상의 아미노산 잔기를 펩티드 내로 도입하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고, 여기서 도입된 잔기(들)는 펩티드의 다른 잔기와 티오에테르 결합을 형성한다.

[0309] 펩티드의 안정성을 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 특정 구현양태에서, 펩티드(예를 들어, 본원에 기재된 펩티드 단량체 또는 이량체)의 안정성은, 예를 들어 첨부된 실시예에 기재된 바와 같이 SIF 검정을 사용하여 결정된다. 특정 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 단량체 또는 이량체 분자는 SIF에 노출될 때 주어진 조건 세트(예를 들어, 온도) 하에 1분 초과, 10분 초과, 20분 초과, 30분 초과, 60분 초과, 90분 초과, 120분 초과, 3시간 초과, 또는 4시간 초과와 반감기를 갖는다. 특정 실시양태에서, 온도는 약 25°C , 약 4°C , 또는 약 37°C 이고, pH는 생리학적 pH, 또는 pH 약 7.4이다.

[0310] 일부 구현양태에서, 반감기는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 시험관내에서 측정되며, 예를 들어 일부 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 단량체 또는 이량체 분자의 안정성은 펩티드를 37°C 에서 예열된 인간 혈청(Sigma)과 인큐베이션하여 결정된다. 다양한 시점, 일반적으로 최대 24시간에서 샘플을 채취하고 혈청 단백질에서 펩티드 단량체 또는 이량체를 분리한 다음 LC-MS를 사용하여 관심 있는 펩티드 단량체 또는 이량체의 존재를 분석함으로써 샘플의 안정성을 분석한다.

[0311] 특정 구현양태에서, 펩티드 이량체 또는 단량체 분자는 $\alpha 4\beta 7$ -매개 염증을 억제하거나 감소시킨다. 관련 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 단량체 또는 이량체는 T 세포, 예를 들어 MAdCAM1에 반응하는 GI 점막의 T 세포에 의한 하나 이상의 사이토카인(본원에 개시된 것을 포함함)의 $\alpha 4\beta 7$ -매개 분비 또는 방출을 억제하거나 감소시킨다. 사이토카인 분비의 억제 및 신호전달 분자의 억제를 결정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0312] 특정 구현양태에서, 펩티드 단량체 또는 이량체 분자는 증가된 결합 선택성을 입증한다. 특정 예에서, 펩티드 단량체 또는 이량체는 단량체 또는 이량체가 $\alpha 4\beta 1$ 에 결합하는 것보다 적어도 2배, 3배, 5배 또는 10배 더 큰 친화도로 $\alpha 4\beta 7$ 에 결합한다.

[0313] 일부 구현양태에서, 펩티드 단량체 또는 이량체 분자는 다양한 천연 아미노 아실 잔기를 N-메틸화된 유사체 잔기로 치환한 결과로서 증가된 효능을 입증한다. 특정 구현양태에서, 효능은, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같이 결정된 $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 결합의 IC50으로 측정되는 반면, 일부 구현양태에서 효능은, 예를 들어 세포 부착 검정에 따른 기능적 활성을 나타낸다.

[0314] 특정 구현양태에서, 본 발명의 펩티드의 이들 우수한 특성 중 임의의 것은 대조군 펩티드와 비교하여 측정된다.

- [0315] 제조 방법
- [0316] 본 발명의 펩티드(예를 들어, 펩티드 단량체 또는 펩티드 이량체)는, 예를 들어 PCT 출원 공개 번호 WO 2014/059213, WO 2014/165448, WO 2014/165449, WO 2015/176035, WO 2016/054411, 또는 WO 2016/054445에 개시된 바와 같이 당업자에게 공지된 기술에 의해 합성될 수 있다. 이러한 기술에는 상업적으로 이용가능한 로봇 단백질 합성기(예를 들어, Protein Technologies의 심포니(Symphony) 다중 펩티드 합성기)의 사용이 포함된다. 일부 구현양태에서, 신규 펩티드 단량체 또는 이량체 서브유닛은 본원에 기재된 기술을 사용하여 합성 및 정제된다.
- [0317] 치료 방법 및 약제학적 조성물
- [0318] 일부 구현양태에서, 본 발명은, 예를 들어 MAdCAM1에 대한 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 결합을 특징으로 하는 상태 또는 징후로 고통받는 개체 또는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 개체 또는 대상체에게 인테그린 길항제, 예를 들어 본원에 기재된 펩티드 분자를 제공하거나 투여하는 것을 포함한다. 특정 구현양태에서, 대상체 또는 개체는 포유동물, 예를 들어 인간 또는 개, 고양이 또는 말과 같은 비-인간 포유동물이다. 인테그린 길항제는 약제학적 조성물, 예를 들어 본원에 개시된 것들 중 임의의 것에 존재할 수 있는 것으로 이해된다. 추가로, 예를 들어 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 방해 또는 MAdCAM1 신호전달, 또는 MAdCAM1에 대한 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 결합을 억제하는 다른 제제가 본 명세서에 개시된 길항제에 대한 대안으로 사용될 수 있음을 이해한다.
- [0319] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관에서 CD4+ T 세포 상의 $\beta 7$ 의 세포 표면 발현을 감소시킨다.
- [0320] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관에서 MAdCAM1-매개 T 세포 증식을 억제한다.
- [0321] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관에서 CD4+ T 세포 상의 $\beta 7$ 의 세포 표면 발현을 감소시킨다.
- [0322] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 CD4+ T 기억 세포 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 내재화를 유도한다.
- [0323] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관에서 MAdCAM1에 대한 CD4+ T 기억 세포의 감소된 부착을 야기한다.
- [0324] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 위장관, 임의로 회장 고유관 및/또는 파이어의 패치에 대한 T 세포의 귀환을 억제한다.
- [0325] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 IBD를 치료하는 데 사용되며, 임의로 IBD는 궤양성 대장염 또는 크론병이다.
- [0326] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 대상체의 혈장에서 하기 약동학적 매개변수 중 하나 이상을 초래한다.
- [0327] 1-25, 임의로 4-12의 $C_{max}(ng/mL)$;
- [0328] 1-5, 임의로 2-4의 $T_{max}(h)$;
- [0329] 10-250, 임의로 50-150의 $AUC_t(ng.h/mL)$
- [0330] 10-300, 임의로 30-250의 $AUC_{inf}(ng.h/mL)$;
- [0331] 3-10, 임의로 4-10의 $t_{1/2}(h)$;
- [0332] 30-130의 $AUC_{tau}(ng.h/mL)$;
- [0333] 1-5의 $C_{최저}(ng/mL)$;
- [0334] 0.5-2.5, 임의로 2-3의 측정 $C_{max}(ng.mL)$; 및
- [0335] .5-3.0의 측정 $AUC_t(ng.h/mL)$.
- [0336] 이들 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 본원에 개시된 길항제, 임의로 화합물 A 또는 화합물 A를 1일 2회 약 150 mg 또는 1일 2회 약 450 mg의 용량으로 경구 제공하는 것을 포함한다.
- [0337] 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 대상체의 혈장에서 하기 약력학적 매개변수 중 하나 이상을

초래한다.

- [0338] 50-100, 임의로 90-100의 $RO_{max}(\%)$;
- [0339] 50-95, 임의로 65-95의 평균 $RO(\%)$;
- [0340] -20 내지 -60, 임의로 -35 내지 -60의 수용체 발현^{최대}의 변화(%);
- [0341] -10 내지 -55, 임의로 -25 내지 -55의 수용체 발현의 평균 변화(%);
- [0342] 80-100의 정상 상태 $RO_{max}(\%)$;
- [0343] 75-90 또는 50-95, 임의로 65-95의 평균 $RO_{0-24}(\%h)$;
- [0344] 80-95의 평균 $RO_{0-12}(\%h)$; 및
- [0345] 70-90의 평균 $RO_{12-24}(\%h)$.
- [0346] 이들 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 본원에 개시된 길항제, 임의로 화합물 A 또는 화합물 A를 1일 2회 약 150 mg 또는 1일 2회 약 450 mg의 용량으로 경구 제공하는 것을 포함한다.
- [0347] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 대상체는 순환하는 T 세포에서 혈액 수용체, 예를 들어 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 수용체를 포화시키지 않는 용량 또는 양의 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제(또는 기타 제제)로 제공된다. 따라서, 용량 또는 양은 하부-포화 혈액 수용체 점유율($\%RO$)을 초래하는 것이다. 특정 구현양태에서, 용량은 90% 미만, 80% 미만, 70% 미만, 60% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만 또는 10% 미만의 $\%RO$ 를 초래한다. 특정 구현양태에서, $\%RO$ 는 50% 미만 또는 40% 미만이다. $\%RO$ 는 약물 수준 또는 최대 $\%RO$ 에서 측정될 수 있다. 특정 구현양태에서, 최대 RO 는 투여 후 약 4시간에 측정되는 반면, 최저 수준은 투여 후 약 24시간에 발생한다. 특정 구현양태에서, 방법은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 화합물 A 또는 화합물 B를 사용하여 실시된다. 특정 구현양태에서, 용량은 경구로 또는 국소적으로, 예를 들어 직장으로 제공된다. 특정 구현양태에서, 대상체에게 이 용량이 1일 1회 또는 2회 제공된다.
- [0348] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 대상체는 위장 조직에서 T 세포 $\alpha 4\beta 7$ 의 높은 길항제 수준 및/또는 점유를 달성하는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제(또는 기타 제제)의 용량 또는 양을 제공받는다. 특정 구현양태에서, 용량은 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 적어도 50%, 적어도 40%, 또는 적어도 30%의 GI 점막에서 T 세포 $\alpha 4\beta 7$ 의 점유를 초래한다. 특정 구현양태에서, 방법은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 화합물 A 또는 화합물 B를 사용하여 실시된다. 특정 구현양태에서, 용량은 경구로 또는 국소적으로, 예를 들어 직장으로 제공된다. 특정 구현양태에서, 대상체에게 이 용량이 1일 1회 또는 2회 제공된다.
- [0349] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 대상체에게 1.0 미만, 0.9 미만, 0.8 미만, 0.7 미만, 0.6 미만, 또는 0.5 미만의 혈액 내 $\%RO$ /페이어의 패치(또는 다른 GI 조직) 내 $\%RO$ 의 비율을 달성하는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제(또는 기타 제제)의 용량 또는 양을 제공받는다.
- [0350] 특정 구현양태에서, 대상체는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5, 또는 500.0 mg 중 임의의 용량 또는 양으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 350.0, 400.0, 450.0, 또는 500.0 mg 중 임의의 용량 또는 양으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 또는 130 mg 중 임의의 용량으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 85, 90, 95, 100, 105, 110, or 115 mg 중 임의의 용량으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 95, 100, 또는 105 mg 중 임의의 용량으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 100 mg의 용량으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 100 mg 내지 약 500 mg 범위의 용량, 임의로 1일 1회 또는 1일 2회 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 200 mg 내지 약 1000 mg 범위의 용량을 제공받고, 임의로 1일 1회 용량으로 또는 1일 2회 분할 용량(예를 들어, 양의 절반)으로 투여된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 1일 약 100 mg 내지 약 1500 mg 범위의 용량을 제공받고, 임의로 1일 1회 용량으로 또는 1일 2회 분할 용량(예를 들어, 양의 절반)으로 투여된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 100 mg 내지 약 1500 mg 범위의 용량으로 1일 1회 또는 1일 2회 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 1일

1회 또는 2회 약 100, 150, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 또는 500 mg 중 임의의 용량을 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000 mg 중 임의의 용량으로 매일 임의로 1일 1회 용량 또는 분할 용량(예를 들어, 양의 절반) 1일 2회 제공받는다. 일부 구현양태에서, 임의로 1일 2회 약 450 mg 또는 약 150 mg이 제공된다. 특정 구현양태에서, 대상체는 임의로 경구로 1일 2회 이러한 용량을 제공받는다. 특정 구현양태에서, 대상체에게 이 용량이 1일 1회 또는 2회 제공된다. 일부 구현양태에서, 이 용량은 분할되고 절반은 1일 2회 투여된다. 특정 구현양태에서, 용량은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 화합물 A 또는 화합물 B를 포함한다. 특정 구현양태에서, 용량은 임의로 궤양성 대장염과 같은 IBD를 치료하기 위해 경구로 또는 국소적으로, 예를 들어 직장으로 제공된다.

[0351] 본원에 개시된 방법 중 임의의 특정 구현양태에서, 대상체는 임의로 1일 2회 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5 또는 100.0 mg 중 어느 하나의 용량 또는 양이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게는 약 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 또는 37.5 mg의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 약 5 mg 내지 약 130 mg 범위의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 약 5 mg 내지 약 50 mg 범위의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 약 5 mg 내지 약 12.5 mg 범위의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 약 8 mg의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 1일 2회 약 150 mg의 용량 또는 1일 2회 약 450 mg의 용량이 제공된다. 특히 구현양태에서, 대상체는 임의로 경구로 이러한 용량 중 임의의 것을 1일 2회 제공받는다. 특정 구현양태에서, 대상체는 1일 1회 또는 2회 이러한 용량 중 임의의 것을 제공받는다. 특정 구현양태에서, 이는 1일 2회 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 약 8 mg의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체에게는 1일 2회 약 150 mg의 용량 또는 1일 2회 약 450 mg의 용량이 제공된다. 특정 구현양태에서, 용량은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 화합물 A 또는 화합물 B를 포함한다. 특정 실시양태에서, 용량은 경구로 또는 국소적으로, 예를 들어 직장으로, 예를 들어 좌제에 의해 제공된다. 일부 구현양태에서, 임의로 궤양성 대장염과 같은 IBD를 치료하기 위해 대상체에게 화합물 A 또는 화합물 B를 1일 2회 약 150 mg의 용량 또는 1일 2회 약 450 mg의 용량을 경구로 제공한다.

[0352] 본원에 개시된 방법의 특정 구현양태에서, 방법은 염증성 질환 또는 장애를 앓고 있는 개체 또는 대상체를 치료하기 위한 것이다. 특정 구현양태에서, 상태는 위장계의 염증성 상태이다. 특정 구현양태에서, 대상체는 하위-포화 혈액 수용체 점유율(%RO)을 초래하는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린 길항제의 용량 또는 양으로 투여되거나 제공된다. 특정 구현양태에서, 방법은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 화합물 A 또는 화합물 B를 사용하여 실시된다. 특정 구현양태에서, 용량은 경구로 또는 국소적으로, 예를 들어 직장으로 제공된다. 특정 구현양태에서, 대상체에게 이 용량이 1일 1회 또는 2회 제공된다.

[0353] 특정 구현양태에서, 질환 또는 장애는 염증성 장 질환(IBD), 성인 IBD, 소아 IBD, 청소년 IBD, 궤양성 대장염, 크론병, 체강 질환(비열대 스프루), 혈청음성 관절병증과 관련된 장병증, 현미경적 대장염, 교원성 대장염, 호산구성 위장염, 방사선 요법, 화학요법, 직장결장절제술 및 회장항문 문합 후 발생하는 낭염, 위장관암, 췌장염, 인슐린-의존성 당뇨병, 유방염, 담낭염, 담관염, 담관주위염, 만성 기관지염, 만성 부비동염, 천식, 원발성 경화성 담관염, 위장관의 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 감염, 호산구성 천식, 호산구성 식도염, 위염, 대장염, 현미경적 대장염, 및 이식편대숙주병(GVDH)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현양태에서, 질환 또는 장애는 IBD이다. 일부 구현양태에서, IBD는 궤양성 대장염이다. 일부 구현양태에서, IBD는 크론병이다. 일부 구현양태에서, 대상체는 궤양성 대장염 또는 크론병을 치료하기 위해 화합물 A 또는 화합물 B를 경구로 제공한다.

[0354] 특정 구현양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어, 화합물 A 또는 화합물 B를 대상체에게 경구 투여하는 것을 포함하여, 이를 필요로 하는 대상체에서 IBD를 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 화합물은 하위-포화 혈액 수용체 점유, 예를 들어 50%RO 미만을 초래하는 투여량으로 투여된다. 특정 구현양태에서, IBD는 궤양성 대장염 또는 크론병이다. 특정 구현양태에서, 대상체는 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5, 또는 500.0 mg 중 임의의 용량 또는 양으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 350.0, 400.0, 450.0, 또는 500.0 mg 중 임의의 용량 또는 양으로 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 또는 130 mg 중 임의의 용량을 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 85, 90, 95, 100, 105, 110, 또는 115 mg 중 임의의 용량을 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약

95, 100, 또는 105 mg 중 임의의 용량을 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체에게 약 100 mg의 용량이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 100 mg 내지 약 500 mg 범위의 용량, 임의로 1일 1회 또는 1일 2회 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 200 mg 내지 약 1000 mg 범위의 용량을 제공받고, 임의로 1일 1회 용량으로 또는 1일 2회 분할 용량(예를 들어, 양의 절반)으로 투여된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 1일 약 100 mg 내지 약 1500 mg 범위의 용량을 제공받고, 임의로 1일 1회 용량으로 또는 1일 2회 분할 용량(예를 들어, 양의 절반)으로 투여된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 약 100 mg 내지 약 1500 mg 범위의 용량으로 1일 1회 또는 1일 2회 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 1일 1회 또는 2회 약 100, 150, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 또는 500 mg 중 임의의 용량을 제공받는다. 일부 구현양태에서, 대상체는 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000 mg 중 임의의 용량으로 임의로 1일 1회 용량 또는 분할 용량(예를 들어, 양의 절반) 1일 2회 제공받는다. 일부 구현양태에서, 임의로 1일 2회 약 450 mg 또는 약 150 mg이 제공된다. 일부 구현양태에서, 대상체는 궤양성 대장염(UC) 또는 크론병을 치료하기 위해 1일 2회 약 150 mg의 용량 또는 1일 2회 약 450 mg의 용량의 화합물 A 또는 화합물 B를 경구로 제공받는다. 특정 구현양태에서, 방법은 궤양성 대장염에 대한 대상체를 치료하는 데 사용된다. 특정 구현양태에서, 대상체는 중등도 내지 중증 활성 UC를 갖는다. 특정 구현양태에서, 대상체는 UC의 생검 확인된 진단을 갖는다. 특정 구현양태에서, 대상체는 실시예에 개시된 포함 기준 중 하나 이상(또는 모두)을 충족하고, 실시예에 개시된 배제 기준 중 하나 이상(또는 어느 것도)을 충족하지 않는다.

[0355] 특정 구현양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어, 화합물 A 또는 화합물 B를 대상체에게 경구 투여하는 것을 포함하여, 이를 필요로 하는 대상체에서 IBD(예를 들어, 궤양성 대장염 또는 크론병)를 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 화합물은 대상체의 혈장에서 충족되는 하기 약동학적 매개변수 중 하나 이상을 초래하는 투여량으로 투여된다:

[0356] 1-25, 임의로 4-12의 $C_{max}(ng/mL)$;

[0357] 1-5, 임의로 2-4의 $T_{max}(h)$;

[0358] 10-250, 임의로 50-150의 $AUC_t(ng.h/mL)$

[0359] 10-300, 임의로 30-250의 $AUC_{inf}(ng.h/mL)$;

[0360] 3-10, 임의로 4-10의 $t_{1/2}(h)$;

[0361] 30-130의 $AUC_{tau}(ng.h/mL)$;

[0362] 1-5의 $C_{회귀}(ng/mL)$;

[0363] 0.5-2.5, 임의로 2-3의 측정 $C_{max}(ng.mL)$; 및

[0364] .5-3.0의 측정 $AUC_t(ng.h/mL)$.

[0365] 이들 방법의 특정 구현양태에서, IBD는 궤양성 대장염 또는 크론병이다. 특정 실시양태에서, 약동학적 매개변수는 투여 후 1시간 이내, 2시간 이내, 3시간 이내, 4시간 이내, 6시간 이내, 8시간 이내, 또는 12시간 이내에 충족된다. 특정 구현양태에서, 약동학적 매개변수는 투여 후 적어도 1시간, 적어도 2시간, 적어도 3시간, 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 8시간, 또는 적어도 12시간 동안 유지된다.

[0366] 특정 구현양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어, 화합물 A 또는 화합물 B를 대상체에게 경구 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 IBD를 치료하는 방법을 제공하며, 여기서 화합물은 대상체의 혈장에서 다음 약력학적 매개변수 중 하나 이상을 초래하는 투여량으로 투여된다:

[0367] 50-100, 임의로 90-100의 $RO_{max}(\%)$;

[0368] 50-95, 임의로 65-95의 평균 $RO(\%)$;

[0369] -20 내지 -60, 임의로 -35 내지 -60의 수용체 발현_{최대}의 변화(%);

[0370] -10 내지 -55, 임의로 -25 내지 -55의 수용체 발현의 평균 변화(%);

[0371] 80-100의 정상 상태 $RO_{max}(\%)$;

[0372] 75-90의 평균 $RO_{0-24}(h)$;

- [0373] 80-95의 평균 $RO_{0-12}(\%h)$; 및
- [0374] 70-90의 평균 $RO_{12-24}(\%h)$.
- [0375] 이들 방법의 특정 구현양태에서, IBD는 궤양성 대장염 또는 크론병이다. 특정 실시양태에서, 약동학적 매개변수는 투여 후 1시간 이내, 2시간 이내, 3시간 이내, 4시간 이내, 6시간 이내, 8시간 이내, 또는 12시간 이내에 충족된다. 특정 구현양태에서, 약동학적 매개변수는 투여 후 적어도 1시간, 적어도 2시간, 적어도 3시간, 적어도 4시간, 적어도 6시간, 적어도 8시간, 또는 적어도 12시간 동안 유지된다.
- [0376] 특정 구현양태에서, 본원에 개시된 방법은 대상체에서 $\alpha 4\beta 7$ 의 활성(부분적으로 또는 완전히)을 감소시킨다. 특정 구현양태에서, 방법은 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린을 포함하는 T 세포의 증식, 예를 들어 대상체의 위장 조직, 예를 들어 위장 점막에 존재하는 T 세포의 증식을 감소시킨다. 추가 구현양태에서, 방법은 대상체의 T 세포, 예를 들어 대상체의 위장 조직 내의 T 세포, 예를 들어, $\beta 7^+$ T 세포에 의한 사이토카인의 생성 또는 방출을 억제한다. 특정 구현양태에서, 방법은 첨부 도면에 개시된 임의의 사이토카인, 예를 들어 IFN γ 감마, 인터류킨-6(IL-6), IL-8, IL-12/23p40, IL-15, IL-16, IL-13, 혈관 내피 성장 인자(VEGF), 과립구-대식세포 집락-자극 인자(GM-CSF), 종양 괴사 인자 알파(TNF알파) 또는 종양 괴사 인자 베타(TNF베타)의 생성 또는 방출을 감소시킨다. 특정 구현양태에서, 본원에 개시된 방법은 T 세포에 의한 사이토카인의 생성 또는 방출을 억제하며, 그의 방출은 대상체, 예를 들어 위장관 점막과 같은 위장관 조직에서 점막 혈관 어드레신 세포 부착 분자 1(MadCAM1)에 결합함으로써 촉진된다. 특정 구현양태에서, T 세포는 CD45RO-미경형 또는 CD45RO+ 기억 T-세포이다. 특정 구현양태에서, T 세포는 $\beta 7^+$ 이다.
- [0377] 추가의 관련된 구현양태에서, 본 발명은 생물학적 기능 $\alpha 4\beta 7$ 과 관련된 상태를 앓고 있는 대상체, 예를 들어 포유동물 또는 인간을 치료하는 방법을 포함하며, MadCAM1을 발현하는 조직, 예를 들어, 위장관 점막과 같은 위장관 조직에서 $\alpha 4\beta 7$ 의 생물학적 기능을 (부분적으로 또는 완전히) 억제하기에 충분한 양으로 본원에 기재된 펩티드 분자를 대상체에게 제공하거나 투여하는 것을 포함한다. 특정 구현양태에서, 대상체는 MadCAM1을 발현하는 조직에서 $\alpha 4\beta 7$ 의 생물학적 기능을 적어도 부분적으로 억제하기에 충분한 유효량의 펩티드 단량체 또는 펩티드 이량체를 제공받는다. 특정 구현양태에서, 상태는 염증성 장 질환이다.
- [0378] 추가 구현양태에서, 본 발명은 대상체, 예를 들어 포유동물에게 본원에 기재된 유효량의 펩티드 이량체 또는 펩티드 단량체를 제공하거나 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법을 포함하며, 여기서 질병 또는 상태가 염증성 장 질환(IBD)(성인 IBD, 소아 IBD 및 청소년 IBD 포함), 궤양성 대장염, 크론병, 체강 질병(비열대성 스프루), 혈청음성 관절병증과 관련된 장병증, 현미경적 대장염, 교원성 대장염, 호산구성 위장염, 방사선 요법, 화학요법, 직장결장절제술 및 회장항문문합 후 낭염, 위장관암, 췌장염, 인슐린-의존성 당뇨병, 유방염, 담낭염, 담관염, 담관주위염, 만성 기관지염, 만성 부비동염, 천식, 원발성 경화성 담관염, GI 관의 인간 면역 결핍 바이러스(HIV) 감염, 호산구성 천식, 호산구성 식도염, 위염, 대장염, 현미경적 대장염 및 이식편대숙주병(GVDH)(장내 GVDH 포함)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 본원에 기재된 임의의 치료 방법의 특정 구현양태에서, 대상체는 이러한 질환 또는 상태 중 하나로 진단되거나 발병할 위험이 있는 것으로 간주된다.
- [0379] 본원에 기재된 임의의 치료 방법의 특정 구현양태에서, 펩티드 분자(또는 펩티드 분자를 포함하는 약제학적 조성물)는 경구, 정맥내, 복막, 피내, 피하, 근육내, 경막내, 흡입, 기화, 분무, 설하, 협측, 비경구, 직장, 질 및 국소로 이루어진 군으로부터 선택된 투여 형태에 의해 개체에게 투여된다.
- [0380] 특정 구현양태에서, 본 개시내용은 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 312.5, 325.0, 337.5, 350.0, 362.5, 375, 387.5, 400.0, 412.5, 425.0, 437.5, 450.0, 462.5, 475, 487.5, 또는 500.0 mg 중 어느 하나를 포함하는 본원에 개시된 펩티드 이량체 화합물의 단위 투여 형태를 제공한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75, 87.5, 100.0, 112.5, 125.0, 137.5, 150.0, 162.5, 175, 187.5, 200.0, 212.5, 225.0, 237.5, 250.0, 262.5, 275, 287.5, 300.0, 350.0, 400.0, 450.0, 또는 500.0 mg 중 어느 하나를 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 또는 130 mg 중 어느 하나를 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 85, 90, 95, 100, 105, 110, 또는 115 mg 중 어느 하나를 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 95, 100, 또는 105 mg 중 어느 하나를 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 100 mg을 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 100 내지 500 mg을 포함한다. 특정 구현양

태에서, 단위 투여 형태는 약 100, 150, 200, 250, 300, 250, 400, 450 또는 500 mg 중 어느 하나를 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 450 mg 또는 약 150 mg을 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 본원에 개시된 것들 중 임의의 것을 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다. 특정 구현양태에서, 이는, 예를 들어 정제로서 경구 투여용으로 제형화된다. 특정 구현양태에서, 이는 직장 투여용으로, 예를 들어 좌제로서 제형화된다. 일부 구현양태에서, 단위 투여 형태는 약 450 mg 또는 약 150 mg의 화합물 A 또는 화합물 B (또는 이의 약제학적으로 허용되는 염)를 포함한다. 특정 구현양태에서, 단위 투여 형태는 펩티드 이량체 화합물, 예를 들어 본원에 개시된 것들 중 임의의 것을 포함하는 약제학적 조성물을 포함한다.

[0381] 특정 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 분자는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 추가로 포함하는 약제학적 조성물에 존재한다. 특정 구현양태에서, 이들은 액체 또는 고체로서 제형화된다. 특정 구현양태에서, 이들은 정제 또는 캡슐로서, 또는 액체 현탁액으로서 제형화된다. 본 발명의 일부 구현양태는 서방형 매트릭스에 현탁된 본 발명의 $\alpha 4 \beta 7$ 인테그린 길항제 펩티드 분자로 개체를 치료하는 방법을 추가로 제공한다. 본원에 사용된 서방형 매트릭스는 효소 또는 산-염기 가수분해 또는 용해에 의해 분해될 수 있는 물질, 일반적으로 중합체로 만들어진 매트릭스이다. 일단 체내에 삽입되면 매트릭스는 효소 및 체액에 의해 작용된다. 서방형 매트릭스는 바람직하게는 리포솜, 폴리락티드(폴리락탄), 폴리글리콜리드(글리콜산의 중합체), 폴리락티드 코-글리콜리드(락탄산과 글리콜산의 공중합체) 폴리무수물, 폴리(오르토)에스테르, 폴리펩티드, 히알루론산, 콜라겐, 콘드로이틴 설페이트, 카복실산, 지방산, 인지질, 다당류, 핵산, 폴리아미노산, 페닐알라닌, 티로신, 이소류신과 같은 아미노산, 폴리뉴클레오타이드, 폴리비닐 프로피렌, 폴리비닐피롤리돈 및 실리콘과 같은 생분해성 물질로부터 선택된다. 특히 생분해성 매트릭스는 폴리락티드, 폴리글리콜리드 또는 폴리락티드 코-글리콜리드(락탄산과 글리콜산의 공중합체) 중 하나의 매트릭스이다.

[0382] 일부 측면에서, 본 발명은 경구 전달용 약제학 조성물을 제공한다. 본 발명의 다양한 구현양태 및 펩티드 분자 조성물은 본원에 기재된 임의의 방법, 기술 및/또는 전달 비히클에 따라 경구 투여를 위해 제조될 수 있다. 추가로, 당업자는 본 발명의 펩티드 분자 조성물이 본원에 개시되지 않은 시스템 또는 전달 비히클에 변형되거나 통합될 수 있지만, 아직 당업계에 널리 공지되어 있고 작은 펩티드 분자의 경구 전달에 사용하기에 적합하다는 것을 이해할 것이다.

[0383] 본 발명의 펩티드와 함께 사용하기에 적합한 경구 투여 형태 또는 단위 용량은 펩티드 활성 약물 성분, 비약물 성분 또는 부형제의 혼합물 뿐만 아니라 성분 또는 포장으로 간주될 수 있는 기타 제사용 불가능한 재료를 포함할 수 있다. 경구 조성물은 액체, 고체 및 반고체 투여 형태 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 일부 구현양태에서, 유효량의 본원에 기재된 펩티드 분자의 유효량을 포함하는 경구 투여 형태가 제공되며, 여기서 투여 형태는 적어도 하나의 환제, 정제, 캡슐, 젤, 페이스트, 음료, 및 시럽을 포함한다. 일부 경우에, 대상체의 소장에서 티오에테르 펩티드 분자의 자연 방출을 달성하도록 설계되고 구성된 경구 투여 형태가 제공된다.

[0384] 한 구현양태에서, 본 발명의 펩티드를 포함하는 경구 약제학적 조성물은 소장에서 펩티드 분자의 방출을 지연시키도록 설계된 장용 코팅을 포함한다. 일부 경우에, 본 발명의 약제학적 조성물은 약 5.0 이상의 pH에서 위액에 가용성인 장용 코팅을 포함하는 것이 바람직하다. 적어도 하나의 구현양태에서, 히드록시프로필메틸 셀룰로오스 프탈레이트, 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트 및 셀룰로오스 아세테이트 트리멜리테이트 및 유사한 셀룰로오스 유도체를 포함하는 셀룰로오스 유도체 및 기타 탄수화물 중합체의 유사한 유도체와 같은 해리성 카르복실기를 갖는 중합체를 포함하는 장용 코팅을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

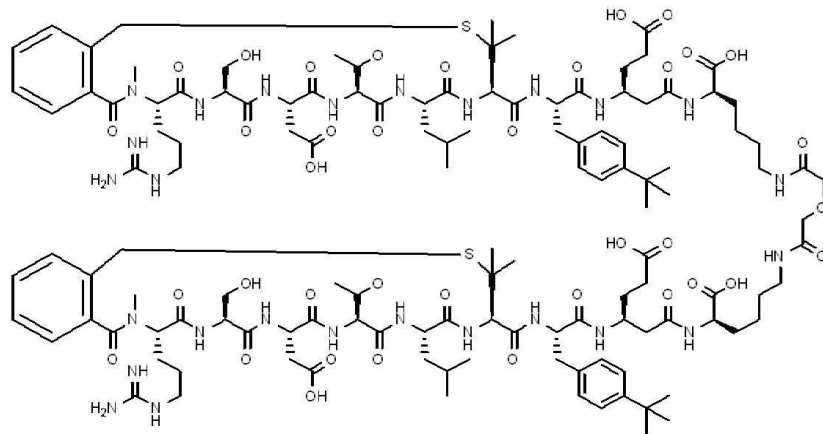
[0385] 한 구현양태에서, 본원에 기재된 펩티드 분자를 포함하는 약제학적 조성물은 장용 코팅으로 제공되며, 장용 코팅은 대상체의 하부 위장관 내에서 제어된 방식으로 약제학적 조성물을 보호 및 방출하고 전신 부작용을 피하도록 설계된다. 장용 코팅에 더하여, 본 발명의 펩티드 분자는 캡슐화, 코팅, 결합 또는 호환되는 경구 약물 전달 시스템 또는 구성 요소 내에서 달리 연결될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 분자는 중합체성 하이드로겔, 나노입자, 미소구체, 미셀 및 기타 지질 시스템 중 적어도 하나를 포함하는 지질 담체 시스템으로 제공된다.

[0386] 소장에서 펩티드 분해를 극복하기 위해, 본 발명의 일부 구현은 본 발명에 따른 펩티드 분자가 함유된 하이드로겔 중합체 담체 시스템을 포함하며, 이에 의해 하이드로겔 중합체는 소장에서의 단백질 분해로부터 펩티드를 보호한다. 본 발명의 펩티드 분자는 용해 동역학을 증가시키고 펩티드의 장 흡수를 향상시키도록 설계된 담체 시스템과의 호환가능한 사용을 위해 추가로 제형화될 수 있다. 이러한 방법에는 리포솜, 미셀 및 나노입자를 사용하여 펩티드의 위장관 투과를 증가시키는 것이 포함된다.

- [0387] 다양한 생체반응 시스템은 또한 본 발명의 하나 이상의 티오에테르 펩티드 분자와 조합되어 경구 전달용 약제학적 제제를 제공할 수 있다. 일부 구현양태에서, 본 발명의 펩티드 분자는 경구 투여용 치료제를 제공하기 위해 수소 결합 기를 갖는 하이드로겔 및 점막접착성 중합체(예를 들어, PEG, 폴리(메타크릴)산[PMAA], 셀룰로오스, Eudragit®, 키토산 및 알기네이트)와 같은 생체반응 시스템과 조합하여 사용된다. 다른 구현양태는 본원에 개시된 펩티드 분자에 대한 약물 체류 시간을 최적화하거나 연장하는 방법을 포함하며, 여기서 펩티드 분자의 표면은 수소 결합, 연결된 묶임을 갖는 중합체 또는/및 소수성 상호작용을 통해 점막부착 특성을 포함하도록 변형된다. 이들 변형된 펩티드 분자는 본 발명의 원하는 특징에 따라 대상체 내에서 증가된 약물 체류 시간을 입증할 수 있다. 더욱이, 표적화된 점막부착 시스템은 장세포 및 M-세포 표면의 수용체에 특이적으로 결합하여 펩티드 분자를 함유하는 입자의 흡수를 더욱 증가시킬 수 있다.
- [0388] 다른 구현양태는 본원에 기재된 펩티드 분자의 경구 전달 방법을 포함하며, 여기서 펩티드 분자는 세포주변 또는 세포횡단 투과를 증가시켜 장 점막을 가로질러 펩티드의 수송을 촉진하는 투과 증진제와 조합되어 사용된다. 예를 들어, 한 구현양태에서 투과 증진제는 본원에 기재된 펩티드 분자와 조합되며, 여기서 투과 증진제는 장쇄 지방산, 담즙염, 양친매성 계면활성제, 및 킬레이트제 중 적어도 하나를 포함한다. 한 구현양태에서, 나트륨 N-[(하이드록시벤조일)아미노]카프릴레이트를 포함하는 투과 증진제는 본 발명의 펩티드 분자와 약한 비공유 결합을 형성하는 데 사용되며, 여기서 투과 증진제는 일단 혈액 순환에 도달하면 막 수송 및 추가 해리를 촉진한다. 또 다른 구현양태에서, 펩티드 분자는 올리고아르기닌에 접합되어 다양한 세포 유형으로 펩티드의 세포 침투를 증가시킨다. 추가로, 적어도 하나의 구현양태에서 비공유 결합이 본원에 기재된 펩티드 분자 및 시클로덱스트린(CD) 및 덴드리머로 이루어진 군으로부터 선택되는 투과 증진제 사이에 제공되며, 여기서 투과 증진제는 펩티드 응집을 감소시키고 안정성 및 펩티드 분자에 대한 용해도를 증가시킨다.
- [0389] 본원에 기술된 치료 또는 전달 시스템 중 적어도 하나에서 사용되는 경우, 본 발명의 펩티드 분자 중 하나의 치료학적 유효량은 순수한 형태로, 또는 이러한 형태가 존재하는 경우 약제학적 허용되는 염 형태로 사용될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, 본 발명의 화합물의 "치료학적 유효량"은 임의의 의학적 치료에 적용되는 원하는 이점/위험 비율로 인테그린-관련 질환을 치료하기 위한(예를 들어, IBD와 관련된 염증을 감소시키기 위한) 펩티드 분자의 충분한 양을 기술하는 것을 의미한다. 그러나, 본 발명의 화합물 및 조성물의 총 1일 사용량은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 주치의에 의해 결정될 것임을 이해할 것이다. 특정 환자에 대한 특정 치료 유효용량 수준은 다음을 포함하는 다양한 요인에 따라 달라질 것이다: a) 치료되는 장애 및 장애의 중증도; b) 사용된 특정 화합물의 활성; c) 사용된 특정 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별 및 식단; d) 사용된 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 배설 속도; e) 치료 기간; f) 사용된 특정 화합물과 함께 또는 동시에 사용되는 약물 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사 요소.
- [0390] 대안적으로, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 조합하여 관심 펩티드 분자를 함유하는 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제는 모든 유형의 무독성 고체, 반고체 또는 액체 충전제, 희석제, 캡슐화 물질 또는 제형 보조제를 지칭한다. 조성물은 비경구적으로, 수조내로, 질내로, 복강내로, 직장내로, 국소로(분말, 연고, 점적제, 좌약 또는 경피 패치에 의해), 직장으로, 또는 협측으로 투여될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비경구"는 정맥내, 근육내, 복강내, 흉골내, 피하, 피내 및 관절내 주사 및 주입을 포함하는 투여 방식을 지칭한다.
- [0391] 직장 또는 질 투여용 조성물은 바람직하게는 본 발명의 화합물을 실온에서 고체이지만 체온에서는 액체가 되어서 직장이나 질강에서 녹아 활성 화합물을 방출하는 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌약 왁스와 같은 적절한 비자극성 부형제 또는 담체와 혼합함으로써 제조될 수 있는 좌약이다.
- [0392] 단일 또는 분할 용량으로 인간 또는 다른 포유동물 숙주에게 투여되는 본 발명의 조성물의 총 1일 용량은, 예를 들어 1일 0.0001 내지 300 mg/kg 체중, 보다 일반적으로 1 내지 300 mg/kg 체중의 양일 수 있다.
- [0393] **실시예**
- [0394] **실시예 1**
- [0395] **화합물 A는 MADCAM1-매개 CD4⁺ T 세포 증식을 차단한다.**
- [0396] α4β7 인테그린의 경구 위장관(GI)-제한 펩티드 길항제인 화합물 A는 염증성 장 질환(IBD)의 치료를 위해 개발되고 있다. 점막 어드레신 세포 부착 분자-1(MAdCAM1)에 대한 α4β7 결합의 차단은 염증이 있는 GI 점막으로 혈액 T 세포의 혈관외 이동을 방지함으로써 IBD를 치료하는 것으로 생각된다. 화합물 A가 GI 염증을 감소시키는 메커니즘을 추가로 조사하기 위해 다음 실험을 수행하였다. 구체적으로, MAdCAM1-매개 CD4⁺ T-세포 증식 및 사

이토카인 생성을 억제하는 화합물 A의 능력을 평가함으로써 $\alpha 4\beta 7$ 의 국소 GI-작용 기능의 가능성을 평가하였다.

[0397] 화합물 A:



[0398] ((2-벤질)-(N-Me-R)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-(Phe(4-tBu))-(β -호모-Glu)-(D-Lys)-(OH)₂(서열번호: 5) 및 링커 -
[0399] DIG 디글리콜산.

[0400] 건강한 인간 공여자로부터 PBMC를 정제하고 CD4⁺ T 세포의 농축을 수행하였다. 1차 CD4⁺ T-세포를 형광 표지하고 플레이트 결합된 항-CD3 단독으로 또는 억제제가 있거나 없는(또는 음성 대조군) MAdCAM1과 함께 인큐베이션하였다: 3일 동안 화합물 A(1 μ M), 음성 대조군으로서 불활성 유사체(1 μ M), 또는 베돌리주맵(500 ng/mL). 표현형, T-헬퍼(Th) 하위집합의 분포 및 %RO 분석은 갓 염색된 살아있는 샘플의 유세포 분석에 의해 수행되었다.

[0401] 항-CD3과 조합된 MAdCAM1은 인큐베이션 3일 후 항-CD3 단독(n=7, 12-87%)과 비교하여 CD4⁺ T-세포의 증식을 현저하게 향상시켰다(도 1). 화합물 A는 MAdCAM1-매개 증식을 완전히 폐지하였다(도 1). 억제 수준은 베돌리주맵에 의한 억제와 유사하였다(도 1). $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 화합물 A 결합에 대한 의존성을 나타내며, 불활성 유사체(음성 대조군; NEG)에서는 차단이 관찰되지 않았다. 화합물 A에 의한 억제는 화합물 A의 활성화에 의존적이었다. 화합물 A에 의한 억제는 농도 의존적이었다. 4명의 독립적인 인간 공여자의 평균 IC₅₀은 4.4 nM이었다(표 4).

[0402] 표 4. 4명의 공여자의 IC₅₀

N=3 공여자	IC50 (nM)
공여자 7	1.6
공여자 8	3.7
공여자 9	5.2
공여자 11	8.0
평균	3.5
표준 편차	1.8

[0403] 면역 표현형은 CD45RO⁻ 미경험 및 CD45RO⁺ 기억 T-세포 둘 모두에서 증식이 발생하고 미경험 T 세포를 기억 세포 표현형으로 이동시키는 것으로 밝혀졌다(도 2). 증식은 증가된 $\beta 7$ 발현을 나타내는 연속적인 증식 주기를 갖는 $\beta 7^+$ 집단으로 제한되었다(도 3a). 화합물 A의 존재 하에 분화되지 않은 CD4⁺ T-세포에서 $\beta 7$ 의 표면 발현이 낮아졌으며, 이는 화합물 A에 의한 내재화를 나타낸다(도 3b 및 도 4; 5명의 공여자에서 테스트된). 증식된 기억 T 세포 중에서, IFN γ -생성 Th1 하위집합의 백분율이 IL-17A 생성 Th17 및 IL-4 생성 Th2 하위집합보다 높았다(표 5).

표 5. 증식된 CD4⁺ T 세포의 특성

인간 공여자 ID	CD4 ⁺ T-세포		
	Th1-IFN γ	Th2-IL-4	Th17-IL-17A
활성화 없음	7.4%	0.3%	0.5%
항-CD3	47%	2.2%	2.8%
항-CD3+MAdCAM1	15%	0.6%	1.1%
항-CD3+MAdCAM1 +1 μ M 화합물 A	15%	0.7%	0.6%

$\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM1 상호작용은 $\beta 7^+CD4^+$ T-세포 증식 및 사이토카인 방출을 촉진하였고, 이는 T-세포 트래피킹과 무관하게 IBD 환자의 병든 장에서 발생하는 만성 염증 반응에 기여할 수 있다. $\alpha 4\beta 7$ 을 통한 MAdCAM1-매개 신호 전달의 화합물 A 억제제는 경구 GI-제한 접근법에 대한 잠재적인 치료 이점을 뒷받침하며, 이로써 화합물 A는 국소적으로 전달되고 GI에서 $\alpha 4\beta 7$ 기능을 직접 차단한다.

실시예 2

화합물 A는 MAdCAM1-매개 사이토카인 생산을 차단한다

화합물 A가 GI 염증을 감소시키는 메커니즘을 추가로 조사하기 위해 하기 실험을 수행하였다. 구체적으로, 정상 의 건강한 공여자로부터 분리된 T 세포에 대해 사이토카인 프로파일링을 수행했다.

PBMC를 3명의 건강한 인간 공여자(공여자 7, 10 및 11)로부터 정제하고, CD4⁺ T 세포의 농축을 수행하였다. 1차 CD4⁺ T-세포는 형광 표지되었고 플레이트 결합된 항-CD3 단독, MAdCAM1과 함께 플레이트 결합된 항-CD3, 또는 MAdCAM1 및 다양한 양의 화합물 A와 함께 플레이트 결합된 항-CD3과 함께 인큐베이션되었다. 상청액 사이토카인 수준은 MSD 또는 다양한 농도의 화합물 A의 존재 하에 항-CD3 단독 및 항-CD3+MAdCAM1에 대한 루미넥스 플랫폼 다중 검정에 의해 정량화하였다.

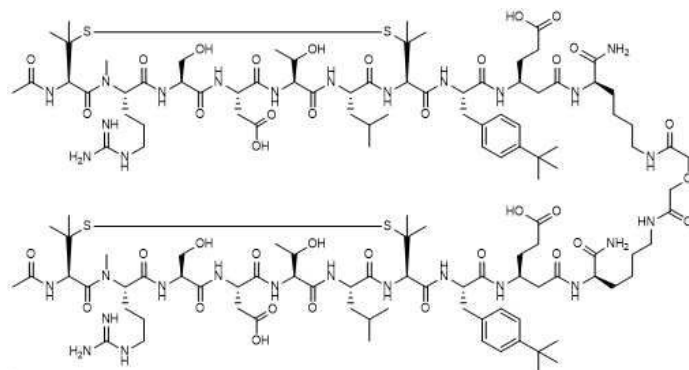
다중 프로파일링은 MAdCAM1에 의해 방출이 촉진된 IFN γ , IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF 및 TNF α 를 포함하는 여러 사이토카인을 확인했다(도 5a-c 및 6a-c). MAdCAM1-매개 사이토카인 생산은 농도-의존적 방식으로 화합물 A에 의해 억제되었다. 화합물 A에 의한 특정 사이토카인의 MAdCAM1-매개 생성의 농도-의존적 및 완전한 억제가 도 5a-c 및 도 6a-c에 도시되어 있다. $\alpha 4\beta 7$ -MAdCAM1 상호작용은 $\beta 7^+CD4^+$ T-세포 증식 및 사이토카인 방출을 촉진하여, T-세포 트래피킹과 무관하게 IBD 환자의 병든 장에서 발생하는 만성 염증 반응에 기여할 수 있다. $\alpha 4\beta 7$ 을 통한 MAdCAM1-매개 신호전달의 화합물 A 억제제는 경구 GI-제한 접근법에 대한 치료 이점을 뒷받침하며, 이에 따라 화합물 A는 국소적으로 전달되고 GI에서 $\alpha 4\beta 7$ 기능을 직접 차단한다.

실시예 3

마우스에서 수용체 점유

화합물 A 유사체, 화합물 B가 투여된 마우스에서 전혈 및 파이어의 패치의 수용체 점유를 조사하기 위해 다음 실험을 수행하였다.

화합물 B:



- [0418] (Ac-Pen-(N-Me-Arg)-Ser-Asp-Thr-Leu-Pen-(Phe(4-tBu))-(β -호모-Glu)-(D-Lys)-NH₂)₂ (서열번호: 6) 및 링커 = DIG (디글리콜산)
- [0419] 세 군의 암컷 C57BL/6 마우스(군당 N=6)를 비히클(군 1), 화합물 B(30 mg/kg, PO, QD; 군 2) 또는 화합물 B(30 mg/kg, PO, QD, 군 3)로 처리하였다. 투여 1시간 후, 마우스를 안락사시키고 전혈/혈장 및 파이어의 패치를 수집하였다. 파이어의 패치는 세척 단계 없이 2% FBS가 포함된 1 mL RPMI 배지에 분산되었다. 파이어의 패치(총 1 mL 중 100 μ L)의 전혈 및 단일 세포 현탁액을 유세포 분석에 제출하여 $\alpha 4\beta 7$ 수용체 점유를 결정했다. %RO = (1-(% 양성 테스트 샘플/% 양성 중앙 비히클 대조군))*100. 단일 세포 현탁액(총 1 mL의 500 μ L)에 분산된 혈장 및 파이어의 패치도 약물 노출에 대해 분석되었다.
- [0420] 두 용량 군 모두에서 전혈과 비교하여 파이어의 패치에서 상당히 더 높은 수용체 점유가 있었다(도 7). 용량 그룹 간의 전혈 또는 파이어의 패치의 수용체 점유 수준은 비슷했다. 3 및 30 mg/kg 용량 모두에서 일부 동물의 파이어의 패치에서 완전한(100%) 수용체 점유가 있었다(도 8, 상단). 다양한 용량의 화합물 B에 대한 %RO가 도 8 하단에 도시되어 있다. PK 및 PD 데이터는 화합물 B 용량이 표시되면서 도 9에 도시되어 있다.
- [0421] 화합물 A를 사용하여 유사한 실험을 수행했다. 두 용량 그룹 모두에서 전혈과 비교하여 파이어의 패치에서 상당히 더 높은 수용체 점유가 있었다. 3 mg/kg 용량과 비교할 때 30 mg/kg 용량에서 전혈(P<0.01) 및 파이어의 패치(P<0.001)에서 상당히 더 높은 수용체 점유가 있었다(도 25). 화합물 A가 화합물 B보다 더 큰 활성을 갖지만 동일한 용량을 사용했기 때문에 정량적으로 크지는 않지만, 효과는 화합물 B에서 관찰된 것과 동일하였다. 또한 혈장 및 파이어의 패치 둘 모두에서 화합물 A 농도의 상당한 용량-의존적 증가가 있었다(도 26). 화합물 A 농도는 두 용량 수준 모두에서 혈장보다 파이어의 패치에서 상당히 더 높았다. 도 27에 도시된 바와 같이, 화합물 A가 투여된 동물의 전혈 및 파이어의 패치에서 수용체 점유율의 용량 의존적 증가가 있었다. 30 mg/kg 용량에서 동물의 파이어의 패치에서 완전한(100%) 수용체 점유가 있었다.
- [0422] **실시예 4**
- [0423] **마우스에서 화합물 A 조직 노출**
- [0424] 본 연구는 건강한 C57BL/6 암컷 마우스에서 PO 투여 후 화합물 A의 혈장, 파이어의 패치(PP), 장간막 림프절(MLN), 소장 및 결장 조직 노출을 결정하기 위해 수행되었다.
- [0425] 12마리의 치료 경험이 없는 C57BL/6 암컷 마우스를 연구에 배정하였다. 동물을 밤새 금식시키고 10 mL/kg의 용량 부피로 경구 위관 영양법(PO)에 의해 30 mg/kg 화합물 A의 단일 용량을 투여하였다. 투여 후 1, 3 및 6시간(h)에, 시점당 4마리의 마우스가 말기 출혈을 받고 안락사되었고; 파이어의 패치(PP), 장간막 림프절(MLN), 소장 및 결장을 각 동물에서 수집했다. 혈액은 혈장으로 처리되었고; 적격 액체 크로마토그래피 탠덤 질량 분석법(LC-MS/MS) 방법을 사용하여 화합물 A 수준의 약동학(PK) 분석을 위해 혈장 및 조직 샘플이 제출되었다.
- [0426] 혈장 및 조직에서 화합물 A의 농도는 적격 액체 크로마토그래피 탠덤 질량 분석법(LC-MS/MS)을 사용하여 분석하였다. 처리된 혈장 및 조직 샘플은 AB/MDS Sciex API 4000 질량 분석기에서 분석되었다. 다중 반응-모니터링(MRM) 모드에서 양이온을 모니터링했다. 정량은 피크 면적비로 하였다.
- [0427] PK 데이터 분석은 피닉스 윈논린(Phoenix WinNonlin) 8.1(Certara USA Inc.)에서 비-구획 분석(NCA)을 사용하여 수행되었다. 정량의 하한 미만의 모든 농도 값은 약동학 분석을 위해 0으로 처리되었다. 관찰에 의해 최대 농도(C_{max}) 및 C_{max}까지의 걸보기 시간(t_{max})을 얻었다. 농도 대 시간 곡선 아래 면적(AUC)은 선형 사다리꼴 방법에 의해 구했다. 모든 농도 데이터 및 PK 매개변수는 값이 1보다 크면 최대 3개의 유효 숫자로 보고되고 값이 1보다 작으면 소수점 3자리까지 보고되었다. 시간 매개변수는 소수점 이하 두 자리까지 보고되었다. 농도 데이터는 엑셀(Microsoft)을 사용하여 플로팅되었다.
- [0428] 각 동물에서 화합물 A의 혈장 및 조직 농도의 평균값은 도 10에 플롯되어 있다. 결과적인 PK 매개변수는 도 11에 제공된다. 30 mg/kg의 단일 PO 투여 후, 피크 화합물 A 노출은 MLN, PP 및 소장에서 1시간, 혈장에서 3시간, 결장에서 6시간에 관찰되었다. 평균 C_{max} 값은 소장(13300 ng/g)에서 가장 컸으며 PP와 결장에서 평균 값이 약 2배 더 낮았다. 이러한 위장 수준은 혈장(19.0 ng/mL) 및 MLN(56.8 ng/g)보다 훨씬 더 높았다(100배 이상). 유사하게, 소장, PP 및 결장의 평균 AUC 값(각각 48600, 37900 및 15700 ng/g)은 혈장(95.4 ng/mL) 및 MLN(226 ng/g)보다 훨씬 더 컸다(60배 이상). 이들 결과는 건강한 암컷 마우스에서 PO를 투여할 때, 화합물 A가 제한된 혈장 및 림프절 노출을 갖는다는 것을 입증하였다. 투여량 분석(데이터는 표시되지 않음)은 투여 용액이 공칭 농도의 97.6%임을 입증했다.

[0429] **실시예 5**

[0430] **화합물 A는 배양된 T-세포의 장 귀환을 억제한다**

[0431] 올-트랜스-레티노산(ATRA)의 존재 하에 배양된 T 세포는 장 귀환 수용체 CCR9, 인테그린 $\alpha 4$ ($\alpha 4$) 및 인테그린 $\beta 7$ ($\beta 7$)을 상향 조절하고, 우선적으로 장 조직(회장 고유판 및 파이어의 패치)으로 귀환시킨다. 이 연구의 목표는 화합물 A의 존재 하에 배양된 T 세포의 장 귀환을 분석하는 것이었다.

[0432] 정제된 CD3+ 세포를 B6.SJL(CD45.1+) 공여자 마우스로부터 분리하고, 항-CD3/항-CD28 비드 및 IL-2의 존재 하에 배양하여 T 세포 활성화 및 증식을 유도하였다. 일부 배양 조건에서, 화합물 A 및/또는 ATRA를 첨가했다. 생체 내에서 세포를 추적하기 위해, ATRA- 및 ATRA+ 세포를 각각 CMFDA 및 CTFR로 표지했다. 그런 다음 이러한 표지된 세포를 C57BL/6(CD45.2+) 수용주 마우스에 공동-주입했다. 연구에는 4개 군의 수용주 마우스가 있었다:

[0433] ● 비히클(음성 대조군)

[0434] ● 항-VLA-4(항-VLA-4로 생체 내 처리, 양성 대조군)

[0435] ● 화합물 A, 100 nM(테스트, 배양물에서)

[0436] ● 화합물 A, 1000 nM(테스트, 배양물에서)

[0437] 수용주 마우스의 비장, 파이어의 패치(PP), 회장 고유판(LP)에서 ATRA- 및 ATRA+ 세포의 비율을 유세포 분석에 의해 측정하여 세포 귀환을 평가하였다.

[0438] ATRA+/DMSO의 존재 하에 배양된 세포("ATRA+/DMSO 세포")는 ATRA의 부재 하에 배양된 세포("ATRA- 세포")보다 예상대로 장 귀환 수용체 CCR9 및 인테그린 $\alpha 4$ 및 $\beta 7$ 을 발현하는 세포의 비율이 더 높았다. ATRA+/화합물 A 세포는 ATRA+/DMSO 세포보다 인테그린 $\beta 7$ + 세포의 비율이 더 낮았다. 비히클 군 마우스의 비장은 ATRA+ 세포보다 더 큰 비율의 ATRA-를 가졌고, 그 마우스의 LP는 ATRA- 세포보다 더 큰 비율의 ATRA+를 가졌으며, 이는 이 군에 대해 예상되는 바와 같이 ATRA+ 세포가 장으로 우선적으로 귀환함을 확인시켜준다. 비히클-처리된 마우스와 비교하여, 항-VLA-4 처리된 마우스는 LP에서 ATRA+ 세포의 비율이 대략 10배 더 낮고 PP에서 ATRA+ 세포의 비율이 대략 2배 더 낮았다. 이러한 결과는 항-VLA-4 처리가 이 양성 대조군에 대해 예상된 바와 같이 ATRA+ 세포의 장 귀환을 감소시켰음을 확인시켜 주었다. 화합물 A, 1000 nM 군은 비히클 군보다 비장 및 LP에서 CD45.1+ 세포의 비율이 상당히 더 작았다. 또한, 두 화합물 A 군은 비히클에 비해 LP에서 ATRA+ 세포의 비율이 더 작았고, 감소는 1000 nM 군에 대해 통계적으로 유의미했다.

[0439] **방법:**

[0440] 18마리(18)의 B6.SJL(CD45.1+) 공여자 마우스를 연구 시작 전 3 내지 9주 동안 적응시켰고 배양 설정(0일)에서 11 내지 16주령이었다. 0일째에, 공여자 마우스로부터 비장 및 림프절 세포를 분리하고 풀링했다. CD3+ 세포는 STEMCELL 테크놀로지 키트 카탈로그 번호 19851을 사용하여 농축되었다. 농축된 세포의 순도는 유세포 분석에 의해 확인되었다.

[0441] 이어서, 세포의 대략 44%를 항-CD3/CD28 비드(Dynabeads, ThermoFisher 11453D)의 존재 하에 1.5×10^6 /mL에서 1:1 세포 대 비드 비율(ATRA-, 하기 표 4)로 배양하였다. 나머지 세포는 세포 농도가 2×10^6 /mL이고, 화합물 A 또는 DMSO 중 하나를 배양물에 첨가한 것을 제외하고는 동일한 조건 하에 배양하였다. 그런 다음 올-트랜스 레티노산(ATRA)를 0.1 μ M의 농도로 이러한 배양물에 첨가했다. 하기 표 6은 배양 조건을 요약한 것이다.

표 6 - 배양 조건

배양조건	사용된 세포의 비율	테스트 화합물	테스트 화합물 농도	ATRA
ATRA-	44%	-	-	없음
ATRA+/DMSO	28%	비히클 (DMSO)	-	있음
ATRA+/화합물 A, 100 nM	14%	화합물 A	100 nM	있음
ATRA+/화합물 A, 1000 nM	14%	화합물 A	1000 nM	있음

1일에, IL-2를 모든 배양물에 첨가하여 30 U/mL의 농도에 도달하도록 하였다.

2일부터 4일까지, 하기 농도를 유지하면서 새로운 배지를 첨가함으로써 배양물을 필요에 따라 확장시켰다:

- 모든 배양에 대해 30U/mL의 IL-2
- ATRA+ 배양물을 위한 0.1 μ M의 ATRA
- ATRA+ 배양물을 위한 0.1% DMSO
- 표 4에 나열된 화합물 A

5일째에, 각 배양물로부터의 세포를 염색하고 표 7에 열거된 시약을 사용하여 유세포 분석에 의해 분석하였다.

표 7 - 장 귀환 수용체 발현 평가를 위한 유세포 분석 패널

착색	마커
AF-700	CD4
FITC	CD44
PerCP-Cy5.5	CD62L
PE	PS/2 (α 4, CD49d)
APC	FIB504 (β 7) BioLegend
PE Cy7	CCR9
APC-Cy7	살아있는 세포

삼십팔(38)마리의 C57BL/6(CD45.2+) 수용주 마우스는 연구 시작(0일) 전 9주 동안 순응하였고 세포 이식(5일) 시점에서 16주령이었다. 4일째에, 수용주 마우스를 군에 걸쳐 유사한 평균 체중을 달성하기 위해 균형 잡힌 방식으로 군에 할당했다.

5일째에, 자색으로 세포 배양물로부터 CD3/CD28 비드를 제거한 후, ATRA+ 세포는 CFTR로 표지되었고, ATRA- 세포는 CMFDA로 표지되었다. 그런 다음 각 배양 조건의 세포를 계수했다. 각 군에 대해 ATRA- 세포 및 ATRA+ 배양 조건 중 하나의 세포를 하기 표 8에 따라 1:1 비율로 혼합하고 수용주 마우스에 옮겼다. 각 유형의 세포 대략 1300만 개(총 2600만 개 세포)를 각 마우스에 정맥내 주사했다.

표 8 - 치료 요법

군	# 마우스	군 명칭	이동된 세포	생체 내 치료	목적
1	10	비히클	ATRA+/DMSO	-	음성 대조군
2	8	항-VLA-4	ATRA+/DMSO	항-VLA-4	양성 대조군
3	10	화합물 A, 100 nM	ATRA+/화합물 A 100 nM	-	테스트
4	10	화합물 A, 1000 nM	ATRA+/화합물 A 1000 nM	-	테스트

군 2의 마우스에 세포 이식 전 5일째에 항-VLA-4를 1회 투여했다. 항-VLA-4(PS/2) 항체는 BioXCell에서 구입했

으며 필요할 때까지 -80℃에서 보관했다. 항체를 멸균 PBS로 1 mg/mL의 최종 농도로 희석하고 10 mg/kg으로 복강내 투여하였다. 다른 군에는 생체 내 치료가 투여되지 않았다.

세포 이동 후 20시간 내지 22시간 후에 모든 마우스를 안락사시키고 그들의 혈액, 비장, 파이어의 패치 및 소장을 수집하였다. 각 마우스의 혈액에서 약 50 μ L의 혈장을 분리하고 추가 분석이 있을 때까지 드라이 아이스에서 저장했다.

하기 조직으로부터의 세포를 유세포 분석을 위해 각 마우스로부터 분리하였다:

● 비장

● 파이어 패치

● 회장 고유관

분리된 세포를 계수하고 항-CD45.1 항체 및 생/사 염색으로 염색하였다. 그런 다음 유세포 분석을 위해 세포를 획득하고 각 조직에서 CD45.1+, ATRA+ 및 ATRA- 세포의 비율을 결정했다.

배양 기간의 마지막에, 유세포 분석은 ATRA- 세포보다 훨씬 적은 비율의 ATRA+/DMSO 세포가 장 귀환 수용체 CCR9 및 인테그린 α 4 및 β 7를 발현함을 보여주었다(도 12 및 13). 이러한 발견은 ATRA의 존재 하에 배양된 세포가 예상대로 장 귀환 수용체를 상향조절한다는 것을 확인시켜주었다. ATRA+/화합물 A 배양물은 ATRA+/DMSO 배양물보다 더 적은 비율의 인테그린 β 7+ 세포를 가졌다(도 12). 인테그린 α 4의 발현도 ATRA+/DMSO 배양물에 비해 ATRA+/화합물 A 배양물에서 더 낮았지만, CCR9의 발현은 영향을 받는 것으로 보이지 않았다(도 13). 이러한 결과는 화합물 A가 상향 조절, 하향 조절된 발현을 억제하거나 인테그린 β 7 및 α 4의 검출을 방해함을 나타낸다. 조직 귀환 분석의 결과는 표 9-13에 나와 있다.

표 9 - 분리된 세포의 총 수($\times 10^3$)

군	분리된 세포 총 수 ($\times 10^3$)		
	비장	파이어의 패치	회장 LP
비히클	119308 +/- 27168	1628 +/- 618	1560 +/- 641
항-VLA-4	137208 +/- 17709	335 +/- 368	892 +/- 409
p 값	0.1743	0.0004*	0.0395*
화합물 A, 100 nM	100650 +/- 10215	673 +/- 295	2005 +/- 1276
p 값	0.0571	0.0003	0.3372
화합물 A, 1000 nM	90617 +/- 13418	775 +/- 360	1730 +/- 1023
p 값	0.0078*	0.0014*	0.6612

*p<0.05 대 비히클

표 10 - CD45.1+ 세포/ 10^3 살아있는 세포

군	CD45.1+ 세포/ 10^3 살아있는 세포 +/- SD		
	비장	파이어의 패치	회장 LP
비히클	12.7 +/- 2.2	0.6 +/- 0.1	5.9 +/- 1.9
항-VLA-4	14.0 +/- 1.7	0.7 +/- 0.3	1.0 +/- 0.5
p 값	0.2407	0.3859	<0.0001*
화합물 A, 100 nM	12.1 +/- 1.4	0.6 +/- 0.3	4.6 +/- 1.8
p 값	0.4878	0.5628	0.1463
화합물 A, 1000 nM	10.6 +/- 1.9	0.6 +/- 0.1	3.8 +/- 1.7
p 값	0.0333*	0.4282	0.0192*

*p<0.05 대 비히클

표 11 - 비장의 ATRA+ 세포 및 ATRA- 세포/ 10^3 살아있는 세포

군	ATRA+/10 ³ 살아있는 세포 +/- SD	p 값	ATRA-/10 ³ 살아있는 세포 +/- SD	p 값
비히클	2.9 +/- 0.7		9.5 +/- 1.5	
항-VLA-4	3.7 +/- 0.5	0.0343*	10.1 +/- 1.2	0.0343*
화합물 A, 100 nM	2.9 +/- 0.3	0.9734	9.0 +/- 1.1	0.3824
화합물 A, 1000 nM	2.4 +/- 0.5	0.9734	8.0 +/- 1.4	0.0347*

*p<0.05 대 비히클

표 12 - 파이어의 패치의 ATRA+ 세포 및 ATRA- 세포/ 10^3 살아있는 세포

군	ATRA+/10 ³ 살아있는 세포 +/- SD	p 값	ATRA-/10 ³ 살아있는 세포 +/- SD	p 값
비히클	0.2 +/- 0.0		0.2 +/- 0.0	
항-VLA-4	0.1 +/- 0.1	0.0003*	0.4 +/- 0.2	0.0096*
화합물 A, 100 nM	0.3 +/- 0.2	0.1800	0.2 +/- 0.2	0.6378
화합물 A, 1000 nM	0.3 +/- 0.1	0.2762	0.2 +/- 0.1	0.4493

*p<0.05 대 비히클

표 13 - 회장 LP의 ATRA+ 세포 및 ATRA- 세포/ 10^3 살아있는 세포

군	ATRA+/10 ³ 살아있는 세포 +/- SD	p 값	ATRA-/10 ³ 살아있는 세포 +/- SD	p 값
비히클	5.1 +/- 1.7		0.7 +/- 0.5	
항-VLA-4	0.5 +/- 0.5	0.0000*	0.4 +/- 0.2	0.2937
화합물 A, 100 nM	4.3 +/- 1.7	0.2887	0.3 +/- 0.1	0.0278*
화합물 A, 1000 nM	3.5 +/- 1.8	0.0512**	0.2 +/- 0.1	0.0151*

*p<0.05 대 비히클

**p<0.10

비히클 군의 비장, 파이어의 패치 및 회장 고유판(LP)에서 분리된 세포의 수는 예상한 대로였다(표 9). 또한, 이들 조직으로부터 분리된 CD45.1+ 세포의 비율은 이 모델에 대해 예상된 바와 같았다(표 10).

비히클 군의 비장은 ATRA+ 세포보다 더 큰 비율의 ATRA-를 갖고(표 11), 고유판(LP)은 ATRA- 세포보다 더 큰 비율의 ATRA+를 갖고(표 13), 이는 ATRA+ 세포가 이 군에 대해 예상대로 내장으로 우선적으로 귀환했음을 확인시켜준다.

항-VLA-4 군은 비히클 마우스에 비해 LP에서 ATRA+ 세포의 비율이 대략 1/10이고 PP에서 ATRA+ 세포의 비율이 대략 1/2이었으며(표 13 및 12), 이는 처리가 이 양성 대조군에 대해 예상되는 바와 같이 ATRA+ 세포의 장 귀환을 감소시켰다는 것을 확인시켜준다.

항-VLA-4 군은 비히클 군보다 파이어의 패치 및 회장 고유판으로부터 분리된 세포가 상당히 더 적었다(표 9). 이것은 일반적으로 항-VLA-4 처리된 마우스, 특히 파이어의 패치에서 관찰된다.

이 군의 비장에서 ATRA+ 세포의 비율은 비히클 군에서보다 상당히 더 높았다. 이것은 항-VLA-4 처리된 마우스에서 종종 관찰되며, ATRA+ 세포가 장으로 귀환하는 것을 차단하고 결과적으로 비장에 축적되기 때문일 수 있다.

ATRA+ 세포의 비율은 비히클 군보다 화합물 A 군의 마우스의 LP에서 더 작은 것으로 밝혀졌다. 이러한 감소는 용량 의존적이었고 1000 nM 화합물 A로 처리된 세포에 대해 통계적으로 유의미했다.

화합물 A, 1000 nM 군은 비히클 군보다 비장에서 분리된 세포가 상당히 적은 반면, 100 nM 및 1000 nM 군은 모두 파이어의 패치로부터 분리된 세포가 훨씬 더 적었다(표 9).

화합물 A, 1000 nM 군은 또한 비히클 군보다 비장 및 LP에서 상당히 더 작은 비율의 CD45.1+ 세포를 가졌다(표

10).

[0489] 전반적으로, 이러한 결과는 화합물 A로 처리된 세포가 장 조직으로의 귀환을 손상시켰음을 시사한다.

[0490] 실시예 6

[0491] 화합물 A는 인테그린 $\beta 7$ 의 상향 조절을 억제한다

[0492] 펩티드 화합물 A의 내재화 활성을 평가하기 위해 유세포 분석-기반 시험관내 검정을 사용하였다. 연구는 화합물 A가 시간- 및 용량-의존적 방식으로 인간 1차 세포에서 $\alpha 4\beta 7$ 의 내재화를 특이적으로 유발함을 보여주었다. 화합물 A는 또한 $\alpha 4\beta 7$ 발현의 감소를 유발하여, 결과적으로 $CD4^+$ T 기억 세포에 의한 MAdCAM1에 대한 부착 감소를 초래한다; 평균 최대 39% 감소가 $\alpha 4\beta 7$ 발현에서 관찰되었으며, 그 결과 MAdCAM1에 대한 부착이 평균 최대 37% 감소했다. 또한, 화합물 A의 제거 후 추가 5일 인큐베이션 후에 화합물 A의 발현이 대조군 수준으로 회복되었다.

[0493] 방법

[0494] 인간 공여자의 혈액 샘플은 IRB-승인 연구 프로토콜에 따라 스탠포드 혈액 센터(Stanford Blood Center)(Stanford, CA)에서 입수했다. 혈액을 BD 배큐테이너(Vacutainer) 나트륨 헤파린 혈액 수집 튜브(BD Biosciences, Cat# 362753)로 채혈했다. 제조사의 프로토콜에 따라 SepMate-50 튜브와 LymphoPrep을 사용하여 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 혈액에서 분리했다. $CD4^+$ T 기억 세포는 제조업체의 프로토콜에 따라 EasySep 키트(StemCell Technologies)를 사용하여 PBMC 분리 후 농축되었다.

[0495] 특이성을 결정하기 위해, 인간 PBMC를 100 nM 화합물 C(화합물 A의 유사체), 화합물 D(화합물 A의 불활성 삼중 돌연변이체 펩티드 유사체) 또는 펩티드 없이 37°C에서 24시간 동안 완전 배양 배지에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 각 반응의 세포 분취량을 $\alpha 4\beta 7$ 발현에 대해 염색하였다.

[0496] 시간- 및 용량-의존성을 결정하기 위해, 정제된 인간 $CD4^+$ T 기억 세포를 다양한 시간 범위(0, 1, 2, 4, 6, 24, 28, 30 및 48시간)에서 10 nM 화합물 A와 함께 또는 화합물 A의 다른 농도(0, 0.01, 0.1, 1 및 10 nM)를 사용하여 완전 배양 배지에서 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 각 반응의 세포 분취량을 $\alpha 4\beta 7$ 발현에 대해 염색하였다.

[0497] $\alpha 4\beta 7$ 발현 및 MAdCAM1 부착에 대한 효과를 결정하기 위해, 정제된 인간 $CD4^+$ T 기억 세포를 다양한 농도의 화합물 A(0, 0.01, 0.1, 1 및 10 nM)와 함께 완전한 배양 배지에서 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 세포를 광범위하게 세척하여 과잉 펩티드를 제거하였다. 각 반응에 대해, 세포의 분취물은 $\alpha 4\beta 7$ 발현에 대해 염색되었고, 별도의 분취물은 MAdCAM1에 대한 부착에 대해 테스트되었다.

[0498] 세척 후 회복을 측정하기 위해, 인간 PBMC를 완전한 배양 배지($MnCl_2$ 가 없는)에서 37°C에서 24시간 동안 10 nM 화합물 A와 함께 인큐베이션하였다. 펩티드 첨가 전 및 24시간 후에 세포의 분취량을 수집하고 $\alpha 4\beta 7$ 발현을 위해 염색했다. 그 후, 세포를 광범위하게 세척하여 과량의 펩타이드를 제거하고 추가 7일 동안 신선한 완전 배양 배지($MnCl_2$ 가 없는)에서 인큐베이션하였다. 펩티드 세척 후 1일, 2일, 4일, 5일, 7일에 $\alpha 4\beta 7$ 발현을 위해 분취물을 염색했다.

[0499] 펩티드 인큐베이션 후, 유세포 분석을 위한 제조에서 각 반응의 분취물을 $\alpha 4\beta 7$ 의 표면 발현에 대해 염색하였다. 세포를 4°C에서 30분 동안 염색하고, 0.5% BSA(PBS/BSA)가 함유된 DPBS에서 두 번 세척하고, 스트렙타비딘 BV421(1:1000으로 희석)과 함께 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하고, PBS/BSA에서 두 번 세척한 다음 분석을 위해 PBS/BSA에 재현탁했다. 관련이 있는 경우 "형광 마이너스 원"(FMO, fluorescence minus one) 샘플을 염색 대조군으로 사용했다.

[0500] 샘플은 405 nm(보라색), 488 nm(청색), 561 nm(황록색) 및 640 nm(빨간색)의 레이저가 장착된 BD(Franklin Lakes, NJ) FACSVerse 유세포 분석기에서 유세포 분석에 의해 분석되었다. $CD4^+$ T 기억 세포는 $CD4^+$, $CD45RA^-$, $CD197^+$ 림프구로 확인되었다. $CD4^+$ T 기억 세포 내의 $\alpha 4\beta 7$ 발현은 베돌리주맙 BV421 복합체로 염색을 기반으로 확인되었다; 염색을 BD FACSuite 소프트웨어 버전 1.0.5를 사용하여 분석했다. 해당되는 경우, 값을 펩티드가 없는 대조군으로 정규화하고 표시된 매개변수의 변화를 평가할 수 있도록 백분율로 표시했다. 프리즘(Prism) 소프트웨어(버전 7; GraphPad, La Jolla, CA)를 사용하여 데이터를 플롯하고 분석했다.

[0501] 결과

[0502] 인간 PBMC를 100 nM 화합물 B, 화합물 C 또는 펩티드 없이 인큐베이션하고 $\alpha 4\beta 7$ 발현에 대해 염색하였다. 화합물 C 또는 비-펩티드 대조군이 아니라, 화합물 B와 인큐베이션은 $\alpha 4\beta 7$ 의 내재화를 야기하였다(도 14). 이러한 데이터는 내재화가 $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 펩티드 결합에 의존함을 나타낸다.

[0503] 정제된 인간 $CD4^+$ T 기억 세포를 10 nM 화합물 A와 함께 시간 범위(0 내지 48시간) 또는 화합물 A 농도(0 내지 10 nM)와 함께 24시간 동안 인큐베이션하고, $\alpha 4\beta 7$ 발현에 대해 염색하였다. 결과는 $\alpha 4\beta 7$ 의 화합물 A 유도 내재화가 각각 시간(도 15) 및 농도(도 16) 의존적임을 보여준다. PBMC를 사용하여 유사한 결과를 얻었다(데이터는 표시되지 않음).

[0504] 정제된 인간 $CD4^+$ T 기억 세포를 다양한 농도의 화합물 A와 함께 인큐베이션한 다음, 세척하여 과량의 펩티드를 제거하였다. 각 반응에서 분리된 분취량을 $\alpha 4\beta 7$ 발현에 대해 염색하고 MAdCAM1 부착에 대해 테스트하고 값을 각 검정에 대해 각각의 "펩티드 없는 처리" 대조군에 대해 정규화했다. 데이터는 화합물 A가 $\alpha 4\beta 7$ 의 발현을 감소시켰고(5.4 내지 24.7% 감소 범위가 펩티드 없는 대조군으로 정규화됨) MAdCAM1에 대한 부착(펩티드 없는 대조군에 비해 18.4% 내지 36.4% 범위로 감소)을 감소시켰다(각각 도 17 및 도 18). 이러한 효과는 0.968의 R-제곱 값을 나타내는 강한 상관관계가 있었다(도 19). 두 번째 공여자의 정제된 인간 $CD4^+$ T 기억 세포를 사용하여 검정을 반복했을 때 유사한 상관관계가 얻어졌다(R 제곱 0.940, 완전한 데이터는 표시되지 않음). 2명의 공여자로부터 얻은 데이터는 표 1에 나타난 바와 같이, $\alpha 4\beta 7$ 발현에서 39%의 평균 최대 감소 및 MAdCAM1에 대한 부착에서 37%의 평균 최대 감소를 나타냈다.

[0505] 표 14: $\alpha 4\beta 7$ 발현 및 MAdCAM1에 대한 부착의 최대 감소

공여자	최대 $\alpha 4\beta 7$ 발현 감소(%)*	최대 부착 감소(%)*
1	53	38
2	25	36
평균	39	37

[0506]

*펩티드 없는 대조군의 백분율로 정규화됨.

[0507]

[0508] 인간 PBMC를 $MnCl_2$ 가 없는 배양 배지에서 10 nM 화합물 A 또는 펩티드 없이 인큐베이션한 다음, 세척하여 과량의 펩티드를 제거하고, $MnCl_2$ 가 없는 새로운 배지에 재현탁시켰다. 24시간에 MFI(5090 MFI)로 측정된 $\alpha 4\beta 7$ 발현은 FMO 대조군(4219 MFI)과 비교하여 단지 20.6%만 상이었다. 화합물 A를 제거한 후, 인큐베이션을 계속하고 1일, 2일, 4일, 5일 및 7일에 $\alpha 4\beta 7$ 발현을 위해 분취물을 제거하고 염색했다. 결과는 추가 인큐베이션의 4-5일 후에 펩티드의 존재하에서 $\alpha 4\beta 7$ 발현의 하향 조절이 거의 대조군 수준으로 회복됨을 보여주었다(도 20).

[0509] 결론

[0510] 이 연구는 화합물 A가 시간- 및 용량-의존적 방식으로 인간 1차 세포에서 $\alpha 4\beta 7$ 의 내재화를 특이적으로 유발함을 보여주었다. 화합물 A에 의한 $\alpha 4\beta 7$ 발현의 감소는 $CD4^+$ T 기억 세포에 의한 MAdCAM1에 대한 감소된 부착과 높은 상관관계가 있었다. 화합물 A에 의한 세포 상의 $\alpha 4\beta 7$ 의 내재화는 대조군 발현 수준을 완전히 회복하기 위해 4-5일의 추가 인큐베이션을 필요로 하였다.

[0511] 실시예 7

[0512] 정상 건강한 지원자에서 화합물 A의 단일 및 다중 상승 용량에 대한 무작위 이중 맹검 위약 대조 연구

[0513] 궤양성 대장염은 혈변, 복부 경련 및 피로를 특징으로 하는 완화 및 재발 과정을 갖는 만성 염증성 장 질환이다. 병인은 위장 항원에 대한 부적절한 면역 반응과 유전적으로 민감한 개체의 환경 유발 요인으로 인해 발생하는 것으로 생각된다.

[0514] 순환 기억 T- 및 B-림프구의 세포 표면에 존재하는 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린은 주로 위장 점막 및 관련 림프 조직으로의 백혈구 동원에 관여한다. $\alpha 4\beta 7$ 의 주요 리간드인 점막 어드레신 세포 부착 분자(MAdCAM1)는 위장 혈관계의 내 피에서 선택적으로 발현되고 염증 조직에서 증가된 농도로 존재한다.

[0515] 베돌리주맙은 스테로이드, 면역억제제 또는 중양 피사 인자(TNF) 억제제와 같은 하나 이상의 통상적인 치료법에

반응하지 않는 성인 환자의 중등도 내지 중증 궤양성 대장염 및 크론병의 치료를 위해 승인된 $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 정맥내 투여된 인간화 IgG 단일클론 항체이다. 주사 치료의 불편함과 잠재적인 전신 위험으로 인해, $\alpha 4\beta 7$ 인테그린을 선택적으로 표적으로 하는 GI-제한 경구 치료제는 궤양성 대장염 환자에게 상당한 이점을 제공할 수 있다. 화합물 A는 백혈구 상의 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린에 특이적으로 결합하고 동물 연구에서 최소 전신 흡수(<1%)를 나타내는 경구적으로 안정적인 펩티드이다. 이 연구는 건강한 남성 대상체에서 경구 화합물 A의 안전성, 내약성, 약동학 및 약력학을 조사했다.

[0516] 건강한 지원자에서 2개의 약동학/약력학 연구가 수행되었다. 연구 1은 단일 용량으로 화합물 A 100-1400 mg 또는 위약을 투여받은 40명의 남성과 다중 용량으로 화합물 A 100-1000 mg 또는 위약을 투여받은 57명의 남성을 대상으로 한 최초의 인간 연구였다. 연구 2는 10명의 대상체를 대상으로 1일 2회 450 mg 화합물 A의 다중 용량을 액체 용액 및 속방성 정제로 비교하는 무작위 교차 연구였다.

[0517] 치료-발생 유해 사례로 인해 중단된 대상체는 없었다. 펩티드의 위장-제한 특성과 일치하여 전신 노출은 최소화되었다; AUC에서 대략적인 용량 비례 증가가 있었다. 1일 1회 투여 시 최소 축적이 있었고 약동학의 시간-의존적 변화가 없었다. 고지방 식사 후 화합물 A의 투여는 피크 혈장 농도 및 AUC를 감소시켰다. 온전한 약물의 소변 배설은 최소(<0.1%)였으며 온전한 화합물 A의 대변 배설은 용량-관련 증가가 있었다. 혈액 수용체 점유의 용량-의존적 증가 및 혈액 수용체 발현의 감소가 관찰되어 표적 결합을 뒷받침하였다. 1일 2회 투여는 낮은 혈장 변동(143%)으로 지속된 수용체 점유를 초래하였다.

[0518] 화합물 A는 일반적으로 낮은 전신 노출로 단일 및 다중 경구 투여 후에 잘 용인되었다. 1일 2회 투여는 지속적인 약동학 및 약력학을 초래하였으며, 이는 효능 연구에 대한 추가 조사를 뒷받침하였다.

[0519] 방법

[0520] 연구 설계

[0521] 단일 임상 센터에서 2개의 연구가 수행되었다.

[0522] 연구 1은 화합물 A의 액체 용액 제형의 안전성, 내약성, 약동학 및 약력학을 평가하기 위한 건강한 남성 지원자에 대한 인간 연구의 세 파트로 이루어진 첫 번째 연구였다.

[0523] 파트 1은 4개의 동등한 코호트로 나누어진 40명의 남성에서 화합물 A의 단일 상승 용량에 대한 무작위, 위약 대조, 이중 맹검 연구였다. 용량 증량은 100 mg, 300 mg, 1000 mg, 1400 mg에서 진행되었다. 300 mg 용량 코호트의 대상체는 한 번은 공복 상태에서 치료를 받았고 두 번째 경우에는 교차 방식으로 고지방 식사 후에 치료를 받았다. 고지방 식사는 버터에 튀긴 계란 2개, 베이컨 2줄, 버터를 바른 토스트 2장, 헤시 브라운 감자 4온스, 전유 240 ml로 구성되어 있다. 파트 1 동안 대상체들은 섭식 치료 동안 300 mg 용량 코호트의 대상체를 제외하고 투약 전 10시간 및 투약 후 4시간 동안 물을 제외한 음식과 음료를 삼가했다.

[0524] 파트 2는 5개의 코호트로 동등하게 분할된 50명의 남성 대상체에서의 무작위, 위약-대조, 이중 맹검 다중 상승 용량 연구였다. 대상체는 14일 동안 화합물 A 또는 위약을 1일 1회 투여받았다. 파트 2에서 평가된 용량에는 100 mg, 300 mg 및 1000 mg이 포함된다. 파트 2 동안, 대상체의 2개 코호트(100 mg 및 300 mg)은 각 투여 약 30분 전에 음식을 받았고 대상체의 다른 2개 코호트(300 mg 및 100 mg)는 투약 전 10시간 및 투약 후 1시간 동안 음식을 삼갔다. 파트 2의 9명의 대상체의 추가 코호트는 화합물 A의 약동학 및 약력학에 대한 식사 시간의 영향을 평가하기 위해 교차 방식으로 300 mg 화합물 A를 받았다. 이 코호트의 대상체는 화합물 A 투약 후 30, 60 또는 90분에 식사를 받았다. .

[0525] 파트 3은 5일 동안 액체 용액으로서 화합물 A의 900 mg 1일 1회 및 450 mg 1일 2회 투여의 공개-라벨, 무작위, 교차 다중-투여량 비교였다. 파트 3의 대상체는 화합물 A의 투여 전 10시간 및 투여 후 1시간 동안 음식을 삼가했다.

[0526] 두 번째 연구는 건강한 남성 및 여성에서 1일 2회 450 mg 화합물 A로 투여된 액체 제형 및 정제 제형을 비교하는 5일 다중 용량 약동학 및 약력학 연구였다. 대상체들은 매일 아침 투여 전 10시간 및 투여 후 1시간 동안, 저녁 투여 전후 1시간 동안 음식을 삼가했다.

[0527] 연구 프로토콜, 대상체 정보 및 동의서 양식은 독립적인 인간 연구 윤리 위원회에서 검토 및 승인했다. 연구는 인간 대상체를 포함하는 생물 의학 연구에 관한 헬싱키 선언 및 조화에 관한 국제 회의 우수 임상 관행 지침 지침에 따라 수행되었으며 모든 연구 절차는 과학적 및 의학적으로 자격을 갖춘 인력에 의해 수행되었다. 연구의

성격, 목적, 잠재적 위험과 이점을 설명하는 서면 동의서는 연구 관련 활동에 앞서 대상체에 의해 제공되었다.

[0528] 연구 대상체

[0529] 두 연구 모두 스크리닝 및 등록을 위해 유사한 절차를 사용했다. 대상체는 등록 후 21일 이내에 스크리닝되었다. 적격 대상체는 18-30 kg/m² 사이의 체질량 지수(BMI)를 포함하여 18 내지 55세이며, 전신 건강이 양호하고 유의미한 병력 또는 신체 검사에서 임상적으로 유의한 이상이 없는 사람이었다. 인간을 대상으로 한 최초 연구(연구 1)는 남성만 등록한 반면, 정제 제형을 평가하는 연구(연구 2)는 남성 및 임상 시험 촉진 및 조정 그룹에 기반하여 연구 동안 및 연구의 마지막 투여 후 90일 동안 매우 효과적인 피임 방법을 사용하기로 동의한 여성을 등록했다.

[0530] 임상적으로 유의미한 내분비, 위장 심혈관, 혈액학, 간, 면역학, 신장 호흡기 또는 비뇨생식기 이상 또는 질병의 병력이 있거나 신장 기능 장애(혈청 크레아티닌 >106 umol/L 또는 추정된 크레아티닌 청소율 <80 mL/분) 또는 알려진 아미노트랜스퍼라제 또는 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 값이 정상 상한의 >1.2배를 포함하여 임상적으로 상당한 실험실 이상을 가진 대상체는 제외되었다.

[0531] 절차

[0532] 연구 1: 연구의 단일 및 다중 상승 용량 단계는 용량 코호트당 10명의 대상체에서 순차적 용량 증량으로 구성되었다. 참가자는 8:2의 비율로 60 mL 경구 용액으로 화합물 A 또는 상응하는 위약을 받도록 무작위로 지정되었다. 용량 용액은 50 mM 인산염 완충액 pH 7.4에서 제형화되었고 자격을 갖춘 약사가 매주 제조했다. 예상 농도 범위 이상의 투여 용액은 2-8°C에서 보관할 때 3개월 동안 안정적인 것으로 입증되었다.

[0533] 약동학에 대한 혈액 샘플은 투여 전 및 단일 투여 후 48시간 동안 수집되었다. 다중 상승 용량 단계에서 혈액 샘플을 1-3일 및 14-16일에 얻었다; 8일째에 샘플을 투여 전, 4시간 및 12시간에 얻었다. MAD의 10일째에 대상체는 투여 후 0-6, 6-12, 12-18 및 18-24시간 간격 동안 모든 소변을 수집해야 했으며 11일째에 대상체는 대변 샘플을 수집해야 했다.

[0534] 다음 용량 수준으로 진행하기로 한 결정은 더 낮은 용량의 허용가능한 안전성 및 내약성에 기초하여 조사자 및 안전성 모니터링 위원회에 의해 내려졌다.

[0535] 연구 2: 이 연구는 화합물 A의 즉시-방출(IR) 정제 및 액체 용액의 안전성, 내약성, 약동학 및 약력학을 결정하기 위한 무작위, 공개-라벨, 2회 치료, 2회 기간, 다중 용량 연구였다. 이 연구를 통해 사람을 대상으로 한 최초 연구에서 조사한 액체 제형과 고체 용량 제형을 비교할 수 있었다. 대상체는 5일 동안 450 mg 화합물 A를 1일 2회(BID) 12시간마다 투여되는 1개의 300 mg 및 1개의 150 mg 용량 강도 IR 정제 및 5일 동안 450 mg 화합물 A를 BID로 12시간마다 투여되는 액체 용액으로서 무작위 방식으로 투여받았다.

[0536] 투약

[0537] 인간 단일 및 다중 용량 연구에서 첫 번째 시작 용량은 랫트 및 사이노몰구스 원숭이에 대한 28일 독성 연구로부터의 관찰되지 않은 효과 수준(NOEL) 및 사이노몰구스 원숭이에서 관찰된 수용체 점유율을 고려한 것에 기초하였다. 랫트와 원숭이에서 측정된 NOEL은 표준 상대성장 스케일링 척도 및 10배 안전 한계를 사용하여 약 145 mg의 인간 등가 용량으로 번역되었다. 약 3배의 초기 단계적 증량과 함께 100 mg의 시작 용량이 선택되었다.

[0538] 정제 및 경구 용액 제형을 비교하는 연구 2를 위해 선택된 용량은 연구 1의 파트 3으로부터의 약동학 및 약력학적 프로파일 및 중등도 내지 중증 폐양성 대장염 환자의 효능 연구에서 계획된 예상 용량에 기초하였다.

[0539] 분석 방법

[0540] 연구 1로부터의 혈장, 소변 및 대변 샘플 및 연구 2로부터의 혈장 및 소변 샘플에서 화합물 A의 농도는 검증된 고성능 액체 크로마토그래피 탠덤 질량 분석법(LC/MS/MS) 방법을 사용하여 분석되었다. 약물 및 내부 표준물질은 단백질을 침전 절차에 의해 매트릭스에서 추출되었다. 정량 한계는 혈장, 소변 및 대변에서 각각 0.2 ng/mL, 20 ng/mL 및 100 ng/mL였다. 샘플 안정성은 모든 매트릭스에 대해 최소 100일 및 4회의 동결-해동 주기 동안 입증되었다. 교정 곡선에 대한 결정 계수는 모든 매트릭스에 대해 적어도 0.99이었다. 검정간 정확도(%편향)는 혈장의 경우 -2.2% 내지 1.0%, 소변의 경우 -3.8% 내지 9.0%, 대변의 경우 -5.0-5.2% 범위였다. 검정간 정밀도(%CV)는 혈장의 경우 3.7-7.7%, 소변의 경우 2.8-7.0%, 대변의 경우 1.2-5.2% 범위였다. 발생한 샘플의 재분석은 유효한 재분석이 있는 샘플의 >88%가 분석 방법이 허용가능함을 나타내는 허용 기준을 충족함을 나타낸다.

- [0541] **연구 종료점**
- [0542] 1차 종료점은 인간을 대상으로 한 최초 연구로 화합물 A에 대한 단일 및 다중 투여 후 안전성 및 내약성 평가였다. 2차 목적은 약동학 및 약력학을 특성화하고, 화합물 A 약동학에 대한 고지방 식사의 효과를 평가하고, 1일 2회 및 1일 1회 투여량을 비교한다. 안전성 평가, 유해 사례 및 실험실 평가는 위약 및 각 화합물 A 용량에 대해 기술적으로 요약되어 있다.
- [0543] 경구 용액과 정제 제형을 비교하는 두 번째 연구에 대한 종료점은 약동학 및 약력학이었다.
- [0544] **약동학 분석**
- [0545] 약동학적 매개변수는 피닉스 윈논린(Phoenix WinNonlin)(Certara, Princeton NJ)을 사용하여 비구획 방법에 의해 추정되었다. 피크 혈장 농도(C_{max}) 및 피크 혈장 농도까지의 시간(T_{max})을 관찰 값으로 하였다. 제거율은 최종 로그-선형 위상에서 최소-자승 회귀의 기울기로부터 추정되었다. 시간 0에서 마지막 정량화가능한 농도(AUC_t)까지의 혈장 농도-시간 곡선 아래의 면적은 선형 사다리꼴 방법에 의해 추정되었으며 마지막 정량화 가능한 농도를 제거율로 나누어 무한대(AUC_{∞})로 외삽했다. 정상 상태 혈장 농도의 변동은 $(C_{max} - C_{min}) / C_{평균}$ 로 계산되었다.
- [0546] **$\alpha 4\beta 7$ 수용체 점유 및 수용체 발현에 대한 약력학적 검정**
- [0547] 수용체 점유와 같은 번역 바이오마커는 전임상 연구 및 베돌리주맵²⁷⁻²⁸에 대한 임상 시험에서 사용을 통해 약력학적 마커로서 검증되었다. 이 연구에서 유세포 분석-기반 검정은 화합물 A에 의해 점유되는 세포 표면 상에서 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린의 양 또는 화합물 A에 의한 결합에 대한 반응으로 순환하는 림프구의 세포 표면에서 $\alpha 4\beta 7$ 발현의 양을 정량화하도록 설계되었다. 간략하게, 이 검정에서, 각각의 헤파린 처리된 전혈 샘플은 100% 수용체 점유율을 위한 "차단된" 대조군 역할을 하는 표지되지 않은 경쟁 펩티드의 포화량으로 먼저 처리되거나 또는 경구 투여된 화합물 A에 의한 차단 수준을 측정하기 위한 "차단되지 않은" 샘플 역할을 하는 펩티드 없음으로 처리된다. 인큐베이션 후, 혈액이 Alexa647-표지된 펩티드의 하위-포화 농도로 염색되고, 이어서 세포 표면 마커 패널(CD45, CD3, CD4, CD45RA, CD19, IgD 및 항- $\alpha 4\beta 7$ 항체 베돌리주맵)로 염색된다. 염색이 완료된 후, 샘플을 적혈구 용해 및 고정 완충액으로 처리하고, 세척하고 유세포 분석기에서 수집한다. 기억 CD4 T 세포를 발현하는 $\alpha 4\beta 7$ 에 대한 수용체 점유를 정량화하기 위해, 베돌리주맵+ 기억 CD4+ T 세포 내 Alexa647-표지된 펩티드의 중앙 형광 강도(MFI)를 사용했다. 수용체 점유는 다음 공식에 따라 계산되었다: $[\% RO] = (1 - ([\text{비차단된}] - [\text{차단된}]) / ([\text{기준선 비차단된}] - [\text{기준선 차단된}])) \times 100$.
- [0548] $\alpha 4\beta 7$ 의 발현은 비차단된 샘플로부터의 기억 CD4+ T 세포 내의 베돌리주맵의 MFI에 의해 정의된다. 수용체 발현(RE)은 베돌리주맵 염색에 대한 기준선으로부터 MFI의 백분율 변화로 계산되었다.
- [0549] **통계 분석**
- [0550] 공식적인 샘플 크기 추정은 수행되지 않았다. 단일 및 다중 상승 용량 연구에서 각각의 용량 코호트에서 8명의 대상체는 경구 화합물 A를 투여받았고 2명의 대상체는 위약을 투여받았다. 즉시-방출 정제 제형을 경구 용액과 비교하는 두 번째 연구에 10명의 대상체가 등록되었다. 각 연구의 등록은 내약성 및 안전성을 평가하고 화합물 A의 약동학 및 약력학을 특성화하기에 적절한 것으로 간주되었다.
- [0551] **결과**
- [0552] **대상체 특성 및 성향**
- [0553] 총 97명의 건강한 남성 대상체가 연구 1에 등록되었으며, 40명의 대상체는 단일 용량 단계에 등록되었고 57명의 대상체는 다중 용량 단계에 등록되었다. 95명의 대상체는 계획한 대로 화합물 A 또는 위약의 투여를 완료했다. 2명의 대상체는 안전과 관련이 없는 개인적인 이유로 동의를 철회했고; 한 대상체는 임상실에 남아 있기를 원하지 않았고 두 번째 대상체는 정맥 캐놀라에 불편함을 느꼈다. 평균 연령은 단일 투여 단계에서 28.7세, 다중 투여 단계에서 30.9세였다.
- [0554] 10명의 대상체가 연구 2에 등록되었고 9명의 대상체가 두 치료를 모두 완료했다. 한 대상체는 연구 약물과 관련이 없는 것으로 간주된 급성 편도선염의 유해 사례로 인해 경구 용액 치료 후 1일째에 연구를 중단했다.
- [0555] **안전성 및 내약성**
- [0556] 총 23개의 TEAE가 단일 상승 용량 단계 동안 14명의 대상체에 의해 보고되었다. TEAE를 경험한 13명의 대상체

중 12명은 화합물 A(21건)를 받았고 2명은 위약(2건)을 받았다. 모든 TEAE는 치료와 관련이 있는 것으로 간주되지 않은 100 mg 화합물 A로 치료된 대상체에서 심한 두통을 제외하고는 경증 또는 중등도였다. 모든 대상체는 AE로부터 회복되었고 AE로 인해 철회된 대상체는 없었다. 호흡수 또는 활력 징후, 임상 실험실 매개변수(혈액학, 응고, 혈청 화학 또는 요검사) 또는 심전도 또는 QTc 간격의 해석에서 임상적으로 관련된 변화가 관찰되지 않았다.

[0557] 안전성 및 내약성

[0558] 화합물 A의 다중 용량을 받은 군의 30명의 대상체는 총 68개의 AE를 보고하였다. 2건을 제외한 모든 발생은 심각도가 경미했다. 상기도 감염에 대한 1건의 보고는 중등도의 것으로 특징지어졌고, 임상실에서 퇴원한 후 발생한 인플루엔자에 대한 1건의 보고는 중등도로 분류되어 심각한 유해 사례로 간주되었다. 위약을 투여받은 4명의 대상체는 주로 위장 장애인 총 6개의 경증 TEAE를 보고했다. 다중 상승 용량 단계에서 2명 이상의 대상체에서 보고된 치료-발생 유해 사례에는 복부 불편, 고창, 상기도 감염, 요통, 현기증 및 두통이 포함되었다. 신경계 장애, 특히 두통이 가장 흔히 보고된 TEAE였다. 호흡수, 활력 징후, 임상 실험실 매개변수 또는 심전도에서 임상적으로 관련된 변화가 관찰되지 않았다.

[0559] 안전성 및 내약성

[0560] 경구 용액에 대한 즉시-방출 정제의 투여량을 비교하는 연구 2에 등록된 10명의 대상체 중, 9명의 대상체가 두 치료를 모두 완료했다. 한 대상체는 연구 중단을 초래한 치료와 관련이 없는 중등도 편도선염의 부작용을 경험했다. 치료로 인한 유해사례의 발생률은 두 치료에서 유사했다. 가장 흔한 유해사례는 두통이었고 다른 모든 유해사례는 한 명의 대상체에서만 보고되었다.

[0561] 안전성 및 내약성

[0562] 약동학

[0563] 화합물 A의 단일 투여 후 평균 혈장 농도-시간 프로파일이 도 21에 제시되어 있다. 화합물 A의 단일 용량 약동학은 표 15에 요약되어 있다.

[0564] 표 15: 화합물 A의 단일 용량 약동학(평균±SD)

	100 mg (N=8)	300 mg 금식 (N=8)	300 mg 고지방식 (N=8)	1000 mg (N=8)	1400 mg (N=8)
C _{max} (ng/mL)	2.11±1.15	6.55±3.38	1.58±0.71	15.3±4.11	23.5±19.0
T _{max} (h) ^a	2.0 (1.0, 4.0)	3.0 (1.0, 8.0)	4.0 (2.0, 4.0)	4.0 (0.5, 4.0)	4.0 (1.0, 12.0)
AUC _t (ng h/mL)	12.9±7.27	44.3±21.5	11.5±4.62	138±33.7	257±173
AUC _{inf} (ng h/mL)	16.5±8.70 ^b	57.6±23.6 ^b	- ^c	151±31.7 ^d	260±176
t _{1/2} (h)	3.05±0.71 ^b	4.02±1.37 ^b	- ^c	5.26±0.91 ^d	5.74±1.35

[0565]

[0566] ^a 중앙값(최소, 최대)

[0567] ^b N=4

[0568] ^c 데이터 부족으로 보고되지 않음

[0569] ^d N=7

[0570] 피크 혈장 농도까지의 중앙 시간은 2 내지 4시간이었다. 평균 피크 화합물 A 혈장 농도(C_{max})는 화합물 A 용량이 100 mg에서 1400 mg으로 증가함에 따라 2.11 ng/mL에서 23.5 ng/mL로 증가하고, AUC_{inf}는 16.5 ng.h/mL에서 260 ng.h/mL로 증가했다. 100 mg 내지 1400 mg 화합물 A의 용량 범위에 걸쳐 AUC_{inf}의 용량 비례 증가 및 C_{max}의 용량 비례 증가보다 약간 작은 증가가 있었다. 더 낮은 용량(100 및 300 mg)에서의 평균 제거 반감기는 3.1 내지 4.0 시간이었고 고용량(1000 및 1400mg)에서는 5.3 내지 5.7시간이었다.

[0571] 안전성 및 내약성

[0572] 다중 투여 후 화합물 A의 약동학은 표 16에 요약되어 있다.

[0573] 표 16: 화합물 A의 다중-투여 약동학(평균±SD)

	100 mg 금식 (N=8)		300 mg 금식 (N=8)		300 mg 금식 (N=8)		1000 mg 금식 (N=8)	
	1 일	14 일	1 일	14 일	1 일	14 일	1 일	14 일
C _{max} (ng/mL)	0.745±0.409	0.898±0.454	2.32±1.34	2.80±1.66	7.23±4.29	4.72±1.85	13.8±3.86	17.1±6.05
T _{max} (h) ^a	4.0 (2.0, 8.0)	4.0 (2.0, 4.0)	4.0 (1.0, 4.0)	4.0 (4.0, 8.0)	2.0 (0.5, 2.0)	2.0 (1.0, 4.0)	2.0 (0.25, 4.0)	2.0 (1.0, 4.0)
AUC _t (ng·h/mL)	4.58±3.12	5.87±3.38	16.4±10.8	21.0±9.9	42.9±17.9	39.5±11.5	141±43.6	184±81.8
AUC _{inf} (ng·h/mL)	9.81 ^b	8.33 ^b	39.7 ^b	- ^c	46.3±19.2	43.9±13.0 ^d	157±55.7	207±125
t _{1/2} (h)	3.85 ^b	7.40 ^b	7.96 ^b	- ^c	5.16±1.92	7.31±3.86 ^d	6.60±1.99	7.70±3.69

[0574]

[0575] ^a 중앙값(최소, 최대)

[0576] ^b N=1

[0577] ^c 데이터 부족으로 보고되지 않음

[0578] ^d N=7

[0579] 제 14일에 금식 조건에서 100 및 300 mg 용량 군에 대해 C_{max} 및 AUC_{inf}에서 대략적인 용량-비례 증가가 있었고, 제 14일에 금식 조건에서 300 mg 내지 1000 mg 용량 군 사이에 증가가 있었다. 피크 혈장 농도까지의 중앙 시간은 2 내지 4시간 범위였다. 평균 제거 반감기는 5.2 내지 7.7시간이었다. 반감기와 일관되게 1일 및 14일에 300 mg 및 1000 mg에서 개별 대상체에 대한 C_{max} 및 AUC_t 값을 비교한 결과 1일 1회 투여 시 최소(≤30%) 축적이 제안되었다. 1일의 AUC_{inf} 값과 14일의 AUC_t 값을 비교하면 화합물 A의 약동학에서 시간-의존적 변화가 없음을 알 수 있다.

[0580] 다중 상승 용량 단계 동안, 300 mg 및 1000 mg 용량 군에서 수행된 바와 같이 소변 및 대변이 24시간 수집되었다. 화합물 A의 작은 부분만이 24시간 동안 소변에서 온전하게 회복되었으며, 300 mg 금식, 300 mg 금식 및 1000 mg 용량 군에서 각각 0.028%, 0.056% 및 0.056%의 회수율을 보였다. 화합물 A의 24시간 대변 회수율에서 용량-관련 증가가 있었고, 화합물 A는 각각 300 mg 금식, 300 mg 금식 및 1000 mg 용량 그룹에서 0.73%, 1.78% 및 16.8%로 온전하게 회수되었다.

[0581] 음식의 효과

[0582] 화합물 A의 약동학에 대한 고지방 식사의 효과는 연구 1의 단일 상승 용량 부분 동안 300 mg에서 교차 방식으로 평가되었다.

[0583] 고지방 식사를 섭취한 후 30분 이내에 화합물 A를 투여하면 금식 상태에 비해 피크 농도 및 노출이 감소하였다(표 13). 평균 화합물 A 피크 혈장 농도는 금식 상태에서 6.55 ng/mL, 금식 상태에서 1.58 ng/mL이었다. 고지방 식사 후 피크 농도에 이르는 평균 시간은 1시간 지연되었다.

[0584] 화합물 A 투여와 식사 섭취 사이의 간격의 효과는 연구 1에서 조사되었다. 대상체는 300 mg 화합물 A의 단일 투여 후 30, 60, 또는 90분에 식사를 받았다. 피크 혈장 농도까지의 중앙시간은 30분, 60분, 90분 처리군에 대해 1, 2, 4시간이었다. 화합물 A 투여 후 30분과 비교하여 60분 또는 90분 지연 사이에 미미한 차이로 식사가 60분과 90분 지연되었을 때 C_{max} 및 AUC_t 값이 약간 증가했다. 30분 지연과 비교하여 음식의 60분 지연에 대해 기록된 더 유리한 C_{max} 및 AUC_t 값에 기초하여, 다중 상승 용량의 추가 코호트에 대한 투여는 화합물 A의 투여 전후에 1시간의 금식 간격을 통합했다.

[0585] 표 16은 연구 1의 다중 상승 용량 단계의 일부로서 화합물 A를 투여한 후 1시간 이내에 식사를 삼가하는 것과 비교하여 밤새 금식한 후 300 mg 화합물 A의 약동학의 비교를 제시한다. 피크 농도까지의 중앙 시간은 밤새 금

식 후 4시간이었지만, 화합물 A를 투여한 후 1시간 후에 음식을 섭취한 경우 2시간이었다. 피크 혈장 농도는 화합물 A를 밤새 금식한 후 투여했을 때가 투여 후 1시간에 음식을 투여했을 때에 비해 더 낮았다(1일차 C_{max}는 투여 1시간 후 금식 및 금식의 경우 각각 7.23 ng/mL 및 2.32 ng/mL이었다).

1일 1회 및 1일 2회 투여의 약동학

투여 요법의 효과는 연구 1의 파트 3에서 무작위 교차 방식으로 5일 동안 1일 1회 900 mg 및 5일 동안 1일 2회에 450 mg따라 평가되었다.

도 25는 화합물 A의 900 mg 1일 1회 및 450 mg 1일 2회 투여 후 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다. 1일 1회 및 1일 2회 투여를 비교하는 약동학의 요약이 표 17에 제시되어 있다.

표 17: 1일 1회 및 1일 2회 투여 후 화합물 A의 약동학(평균±SD)

	900 mg 1 일 1 회 (N=7)		450 mg 1 일 2 회 (N=8)	
	1 일	5 일	1 일	5 일
C _{max} (ng/mL)	22.8±16.9	14.2±4.84	5.98±1.61	9.96±5.82
T _{max} (h) ^a	2.0 (1.0, 8.0)	2.0 (1.0, 4.0)	2.0 (2.0, 4.0)	2.0 (1.0, 4.0)
AUC _t (ng·h/mL)	159±70.5	140±74.4	77.6±37.1	132±106
AUC _{inf} (ng·h/mL)	176±98.5	160±96.5	^{a,b}	-
AUC _{tau} (ng·h/mL)	159±70.5	140±74.4	41.5±10.7	72.1±54.7
t _{1/2} (h)	5.27±2.40	6.24±2.97	-	-
C _{trough} (ng/mL)	-	1.78±2.3	-	3.25±3.5
축적 C _{max}	-	0.87±0.5	-	1.56±0.6
축적 AUC _t	-	0.88±0.3	-	1.66±0.9
변동 (%)	-	245±81	-	143±42

^a 중앙값(최소, 최대)

^b 데이터 부족으로 보고되지 않음

피크 농도는 1일 및 5일에 두 투여 요법 모두에 대해 2시간의 중앙값에서 기록되었다. 정상-상태 피크 농도는 1일 1회 투여의 경우 14.2 ng/mL이고 1일 2회 투여의 경우 9.96 ng/mL였다. 투여 간격에 대한 곡선 아래 용량 조정 면적은 두 치료 요법에 대해 비슷했다. 화합물 A의 반감기와 일치하게, 1일 1회 투여 시 축적이 최소였고 1일 2회 투여 시 축적이 대략 1.6 내지 1.7배였다. 450 mg 화합물 A를 액체 용액으로 1일 2회 투여하면 1일 1회 900mg과 비교하여 더 낮은 피크 대 최저 변동(143% 대 245%) 및 더 높은 최저 농도(3.25 ng/mL 대 1.78 ng/mL)에 의해 반영되는 바와 같이 지속적인 혈장 농도가 나타났다(표 18).

화합물 A의 액체 용액 및 즉시-방출 정제 제형의 약동학

사람을 대상으로 한 최초 연구에서 사용된 액체 용액과 비교하여 5일 동안 450 mg으로 1일 2회 투여된 화합물 A의 즉시-방출 정제의 정상-상태 약동학은 표 18에 요약되어 있다.

[0596] 표 18: 액체 용액 및 IR 정제로서 450 mg을 1일 2회 경구 투여한 후 화합물 A의 정상-상태 약동학(평균±SD)

	액체 용액 450 mg BID (N=9)	IR 정제 450 mg BID (N=9)
C _{max} (ng/mL)	9.36±4.81	7.67±2.97
T _{max} (h) ^a	2.0 (1.0, 8.0)	2.0 (2.0, 4.0)
AUC ₀₋₂₄ (ng h/mL)	106±34.7	86.3±30.9
AUC ₀₋₁₂ (ng h/mL)	65.6±38.6	53.8±20.9
AUC ₁₂₋₂₄ (ng h/mL)	39.3±15.2	32.4±11.4
생체이용률 (%)	-	85.3±36.2
측정 C _{max}	1.25±0.46	2.19±1.0
측정 AUC	1.36±0.33	1.57±0.43
C _{최저} (ng/mL)	1.98±0.83	1.86±0.97

[0597]

[0598] ^a 중앙값(최소, 최대)

[0599] 도 23a는 두 제형에 대한 평균 정상-상태 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다. 두 제형 모두 피크 농도에 대한 유사한 중앙값 시간(2시간)을 가졌으나, 피크 농도는 액체 용액과 비교하여 IR 정제의 경우 약 20% 더 낮았다. IR 정제 제형은 액체 용액에 비해 약 85%의 생체이용률을 가졌다. 정제 제형의 1일 2회 투여는 C_{max}를 기준으로 대략 2배 및 AUC를 기준으로 1.6배의 축적을 초래하였다. 화합물 A의 정상-상태 최저 농도는 IR 정제 및 액체 용액에 대해 유사하였다(각각 1.86 ng/mL 및 1.98 ng/mL).

[0600] 약력학

[0601] 화합물 A의 단일 용량 후 평균 수용체 점유율 및 평균 수용체 발현에 의해 측정된 $\alpha 4\beta 7^{+}$ 기억 CD4⁺ T 세포의 평균 약력학은 표 19에 요약되어 있다.

[0602] 표 19: 화합물 A의 단일 투여 후 약력학(평균±SD)

	위약(N=8)	100 mg (N=8)	300 mg (N=8)	1000 mg (N=8)	1400 mg (N=8)
수용체 점유					
RO _{max} (%)	8.6±7.0	61.8±10.8	83.4±7.92	93.6±2.04	94.8±3.55
RO에 대한 T _{max} (h)	12±11	3.8±2.2	4.6±2.3	4.1±1.9	4.6±3.2
평균 RO (%)	1.7±4.9	38.9±12.5	64.3±6.6	81.0±3.5	86.0±6.8
수용체 발현					
RE _{max} (%)	-5.06±11.7	-28.2±7.97	-43.6±3.69	-45.4±3.70	-49.0±8.20
RE에 대한 T _{max} (h)	18±9.1	11±6.0	12±0	12±0	12±0
평균 RE (%)	-1.7±4.9	-21.6±7.1	-32.4±3.0	-36.3±2.9	-40.3±6.9

[0603]

[0604] RO_{max} 최대 수용체 점유, RE_{max} 최대 수용체 발현

[0605] 단일 용량 후의 평균 수용체 점유율 및 평균 수용체 발현의 시간 경과를 도 22a-b에 제시되어 있다. 피크 $\alpha 4\beta 7^{+}$ 기억 CD4⁺ T 세포 수용체 점유까지의 평균 시간은 대략 4시간이었다. 평균 피크 수용체 점유율은 100 mg에서 61.8%에서 1400 mg에서 94.8%로 용량-관련된 방식으로 증가했다. 1000 mg 및 1400 mg 용량 코호트에 대한 피크 수용체 점유율은 유사했으며, 이는 수용체 점유율 포화가 약 1000 mg 화합물 A의 단일 용량에 의해 달성되었음을 나타낸다. 수용체 발현의 평균 변화(RE_{max})는 용량에 따라 100 mg 화합물 A에 대해 -28.2%에서 1400 mg 용량 군에 대해 -49.0% 범위로 증가했다(표 19).

[0606] 화합물 A의 다중 투여 후 $\alpha 4\beta 7^{+}$ 기억 CD4⁺ T 세포 수용체 점유율이 표 20에 제시되어 있다.

표 20: 화합물 A의 다중 용량 약력학(평균±SD)

	위약(N=8)		100 mg 금식 (N=8)		300 mg 금식 (N=8)		300 mg 금식 (N=8)		1000 mg 금식 d (N=8)	
	1 일	14 일	1 일	14 일	1 일	14 일	1 일	14 일	1 일	14 일
수용체 점유										
RO _{max} (%)	10.6±15.0	16.3±21.2	46.8±11.2	55.5±8.82	70.4±7.39	78.9±5.89	77.8±5.13	79.7±5.40	91.3±2.93	95.6±0.97
T _{max} for RO (h)	9.5±4.8	21±17	6.0±3.7	5.0±2.8	4.0±0	4.0±0	4.0±0	4.0±0	7.0±4.1	4.0±0
평균 RO (%)	5.0±13.0	8.0±15.8	30.0±7.7	40.5±7.5	47.2±7.5	57.8±3.9	53.9±6.5	61.1±6.0	77.1±3.7	81.5±15.5
수용체 발현										
RE _{max} (%)	-0.85±12.7	-9.8±19.8	-17.4±7.5	-29.1±7.2	-28.4±4.4	-37.2±4.7	-33.1±5.2	-41.5±5.9	-43.1±4.0	-57.3±2.9
T _{max} for RE (h)	12.0±8.3	9.5±8.0	14.0±4.2	12.0±0	12.0±0	12.0±0	12.0±0	6.0±3.7	12.0±0	4.0±0
평균 RE (%)	0.06±7.8	-5.9±11.0	-12.3±6.6	-23.8±6.9	-20.1±3.4	-31.7±4.0	-25.1±4.4	-37.7±5.2	-33.9±3.4	-51.3±3.1

RO_{max} 최대 수용체 점유, RE_{max} 최대 수용체 발현

화합물 A의 다중 용량 후 평균 피크 기억 T 세포 수용체 점유는 대략 4시간에 피크를 달성하였다. 다중 용량 코호트의 1일째에 평균 수용체 점유율은 단일 용량 코호트에서 상응하는 용량과 유사하였다. 1일에 300 mg 및 1000 mg 후 평균 피크 수용체 점유율은 각각 77.8% 및 91.3%였다. 14일 동안 계속해서 매일 투여하면 피크 수용체 점유율이 약간 증가했다. 14일째에, 300 mg 및 1000 mg 이후의 평균 피크 수용체 점유율은 각각 79.7% 및 95.6%였다.

고지방 식사를 섭취한 후 30분 이내에 화합물 A를 투여하면 약동학에 대한 고지방 식사와 일치하는 약력학적 효과가 감소되었다. 고지방 식사 후 30분 이내에 화합물 A를 투여한 경우 61.4%에 비해 공복 상태에서 화합물 A 300 mg 후 피크 수용체 점유율은 83.4%였다. 화합물 A 투여 후 60분 동안 음식을 지연시키는 것은 투여 후 30분 이내에 식사를 섭취하거나 고지방 식사 후에 화합물 A를 투여하는 것과 비교하여 약력학적 프로파일을 개선하였다. 화합물 A를 공복 상태에서 섭취하거나 화합물 A 투여 후 60분에 음식을 투여한 경우 정상-상태(14일) 약력학적 효과에는 비교적 작은 차이가 있었다(표 15).

900 mg 1일 1회 및 450 mg 1일 2회의 약력학적 효과를 연구 1의 다중 상승 용량 단계의 일부로 조사하였다. 투여 요법에 의한 수용체 점유에 대한 약력학적 효과의 요약이 표 21에 제시되어 있다.

표 21: 1일 1회 및 1일 2회 수용체 점유 약력학 요약(평균±SD)

	900 mg QD (N=7)		450 mg BID (N=8)	
	1 일	5 일	1 일	5 일
수용체 점유				
RO _{max} (%)	94.5±2.61	94.9±1.97	86.5±4.11	91.9±3.42
RO에 대한 T _{max} (h)	5.4±3.9	3.3±6.2	16±6.2	2.3±1.6
평균 RO (%)	80.7±6.7	79.2±8.7	76.4±8.4	85.3±7.3
수용체 발현				
RE _{max} (%)	-47.3±5.0	-50.1±5.3	-42.6±4.6	-47.3±4.3
RE에 대한 T _{max} (h)	13±1.4	11±3.9	19±4.7	5.6±5.1
평균 RE (%)	-38.3±4.9	-44.6±6.3	-33.4±4.4	-44.3±4.2

^a N=7

1일차에, 450 mg 1일 2회 요법의 경우 86.5%에 비해 900 mg 1일 1회 요법은 94.5%의 평균 피크 수용체 점유율을 가졌다. 두 치료 요법 모두 5일째에 유사한 피크 수용체 점유율을 나타내었지만(900mg QD 및 450mg BID에 대해 각각 94.9% 및 91.9%), 1일 2회 요법은 보다 지속적인 약력학적 효과를 제공했다. 특히, 5일째 AUEC는 1일 1회 요법에 비해 1일 2회 요법에서 더 높았다. 5일차의 24시간 효과 곡선 아래 면적(AUEC)을 기반으로 한 평균 수용체 점유율은 1일 2회 요법의 경우 85.3%, 1일 1회 요법의 경우 79.2%였다. BID 요법은 또한 피크 및 최저 수용체 점유율의 최소 차이에 의해 언급된 바와 같이 지속적인 효과를 제공했다. 또한, 450 mg BID 치료에 대한 최저점에서의 수용체 점유의 대상체간 변동성은 900 mg QD 치료에 대한 26.3%-33.6%에 비해 5일째에 11.3%-

15.2%였으며, 이는 BID 요법에 대해 보다 일관된 효과를 시사한다.

[0617] IR 정제 또는 액체 용액으로서 1일 2회 화합물 A에 따른 정상-상태 $CD4^+ \alpha 4\beta 7$ 기억 T 세포 수용체 점유율 약력학을 도 23b에 제시하였다. 정상 상태 수용체 점유 약력학은 표 22에 요약되어 있다.

[0618] 표 22: 액체 용액 및 IR 정제로서 450 mg을 1일 2회 경구 투여한 후 화합물 A의 정상 상태 약력학(평균 $\pm$ SD)

	액체 용액 450 mg BID (N=9)	IR 정제 450 mg BID (N=9)
RO _{max} (%)	93.8 $\pm$ 2.82	91.9 $\pm$ 4.56
T _{max} for RO (h)	4.0 (1.0, 8.0)	4.0 (1.0, 8.0)
평균 RO ₀₋₂₄ (%·h)	85.8 $\pm$ 4.3	83.6 $\pm$ 5.6
평균 RO ₀₋₁₂ (%·h)	89.7 $\pm$ 5.6	86.4 $\pm$ 5.2
평균 RO ₁₂₋₂₄ (%·h)	83.5 $\pm$ 6.6	80.8 $\pm$ 6.0

[0619]

[0620] RO_{max} 최대 수용체 점유, RE_{max} 최대 수용체 발현

[0621] 피크 수용체 점유는 두 제형 모두에 대해 4시간에 기록되었다. IR 정제에 대한 평균 정상-상태 피크 수용체 점유율은 91.9%였으며 평균 24시간 수용체 점유율은 83.6%였으며, 이에 비해 액체 용액의 경우 93.8%의 피크 수용체 점유율 및 평균 24시간 수용체 점유율이 85.8%였다.

[0622] 약동학-약력학적 상관관계

[0623] 생체내 화합물 A 혈장 농도-수용체 점유 관계는 S자형 Emax(Hill) 모델을 사용하여 특성화하였다(도 24). 수용체 점유에 대한 추정된 IC₅₀ 및 IC₈₀은 각각 0.69 ng/mL 및 5.9 ng/mL였다.

[0624] 논의

[0625] 화합물 A는 케양성 대장염 환자를 위한 잠재적인 경구 요법으로서 2상 연구에서 개발되고 있는 백혈구 상의 $\alpha 4\beta 7$ 인테그린에 특이적으로 결합하는 경구 장내 제한된 펩티드이다. 펩티드의 GI-제한 특성 및 향상된 위장 안정성은 국소 효과를 허용하고 전신 노출과 관련된 유해사례 가능성을 최소화하면서 효능을 향상시킬 가능성이 있다.

[0626] 이들 연구의 1차 목적은 단일 및 다중 투여 후 화합물 A의 안전성/내약성을 평가하는 것이었다. 2차 목적은 단일 및 다중 상승 경구 용량 투여 후 화합물 A의 약동학적 및 약력학적 프로파일을 평가하기 위해; 약동학 및 약동학에 대한 식품의 영향을 평가하기 위해; 1일 1회 및 1일 2회 투여량을 비교하기 위해; 및 화합물 A의 속방성 제형의 약동학 및 약력학을 설명하기 위한 것이었다.

[0627] 화합물 A는 사람을 대상으로 한 최초 연구에서 14일 동안 1일 1회 최대 1400 mg의 단일 용량 및 최대 1400 mg의 다중 용량 후 내약성이 우수했다. TEAE는 가장 낮은 용량의 화합물 A(100 mg)의 단일 투여 후 심각한 두통에 대한 1건의 보고와 1일 1회 900 mg 투여 후 보고된 인플루엔자 보고를 제외하고 모두 경미했다. TEAE 중 어느 것도 연구에서 대상체를 철회하지 않았다. 반복 투여 후 2명 이상의 대상체에서 관찰된 치료 관련 유해사례에는 복부 불편, 고창, 상기도 감염, 요통, 현기증 및 두통이 포함되었으며, 두통이 가장 빈번하게 보고된 TEAE였다. 화합물 A를 사용한 치료는 활력 징후, 임상 실험실 값의 임상적으로 의미 있는 변화와 관련하여 어떠한 안전성 발견을 초래하지 않았으며 QTc 연장 증거는 관찰되지 않았다. 화합물 A를 IR 정제로 또는 액체 용액으로 1일 2회 투여한 후 치료 발생 유해 사례 프로파일에는 차이가 없었다.

[0628] 단일 경구 투여 후, 화합물 A는 대략 4시간에 기록된 최대 혈장 농도와 함께 적당한 흡수율을 가졌다. 화합물 A AUC의 증가는 대략 용량-비례적인, 반면 C_{max}의 증가는 용량 비례보다 약간 적었다. 화합물 A는 단일 및 다중 투여 후 낮은 전신 노출을 나타내었다. 최종 반감기는 금식 상태에서 3.1 내지 5.7시간, 금식 상태에서 5.2 내지 7.7시간이었다. 말기 반감기와 일치하여 1일 1회 및 1일 2회 투여 시 화합물 A의 축적은 각각 약 0.9배 및 1.6배였다. 유사한 AUC_{inf} 1일 및 14일의 AUC_t에 의해 입증되는 바와 같이 시간-의존적 약동학이 없었다(보충 표 4).

[0629] 화합물 A 투여 후 $\alpha 4\beta 7$ 수용체 점유의 용량 의존적 증가가 있었고, 900 mg의 용량으로 90% 초과 평균 피크

수용체 점유율에 도달하였다. 100 mg 및 1000 mg 화합물 A의 1일 1회 투여 후 최저 수용체 점유율은 각각 약 25.4% 및 78.6%, 450 mg 화합물 A 1일 2회 투여 후 79.2%였다. 이러한 수용체 점유 데이터는 화합물 A 농도가 1일 1회 또는 2회 투여를 허용하기에 충분한 수준으로 유지됨을 나타낸다. PK/PD 상관관계는 0.69 ng/mL의 추정 IC₅₀ 및 5.9 ng/mL의 IC₈₀으로 완전한 수용체 점유율에서 점근선과 함께 농도-의존적 수용체 점유율을 보여주었다. 인간에서 언급된 수용체 점유에 대한 추정된 IC₅₀(0.69 ng/mL)은 재조합 MAdCAM1(0.73 ng/mL)에 대해 인간 말초 혈액 단핵 세포로부터 분리된 α4β7을 발현하는 기억 CD4⁺ T 세포에 대한 화합물 A의 효능과 매우 유리하게 비교된다.

[0630] 경구 투여 후 화합물 A의 전신 농도는 일반적으로 낮았고, 이는 약물의 장내 제한된 성질 및 마우스 및 사이노물구스 원숭이에서 관찰된 매우 낮은 경구 생체이용률(<1%)과 일치하였다. 경구 투여 후 화합물 A의 대변 회수율이 용량-의존적으로 증가했는데, 이는 300 mg에서 약 1-2%에서 1000 mg에서 16.8% 범위였다. 화합물 A는 작은 디설파이드-함유 고리형 펩티드이다. 경구 투여된 펩티드는 위의 pH <2에서 십이지장의 pH 8에 이르는 pH 조건 뿐만 아니라 위 가수분해효소(펩신), 췌장 가수분해효소(트립신, 키모트립신, 엘라스타제, 아미노펩티다아제, 카르복시펩티다아제 A 및 B), 장 브러시-경계 막 결합 효소(카르복시펩티다아제, 엔도펩티다아제, 아미노펩티다아제)²⁹와 같은 단백질 분해효소를 포함하는, 위장관을 따라 가혹한 환경에 직면한다. 위장의 높은 산성 환경은 3차원 구조의 불안정화를 통해 펩티드 약물의 분해를 초래한다. 위장관에서 펩티드 및 단백질 안정성은 국소 작용이든 전신 전달이든 경구 투여와 관련된 고유한 문제이다. 수많은 연구에서 아미노산 서열, 분자 크기, pH 및 효소 작용을 포함한 위장 환경의 노출과 같은 다양한 요인이 펩티드 안정성 및 경구 흡수 가능성을 결정하는 데 핵심적인 역할을 한다고 밝혔다. 설파이드 결합 연결을 통한 고리화 및 N-메틸화는 효소 분해에 대한 약간의 내성을 제공하고 또한 화합물 A의 경구 흡수를 개선할 수 있다.

[0631] 경구 투여 후 혈장에서 낮은 검출가능한 온전한 농도의 존재는 화합물 A가 위장관 벽을 횡단할 수 있음을 나타낸다. 또한, 대략 0.03% 내지 0.06%의 약물이 소변에서 온전한 상태로 검출되었다. 경구 투여된 펩티드는 전형적으로 낮은 경구 생체이용률을 갖는다. 화합물 A의 전신 농도는 낮지만, 1일 1회 또는 1일 2회 투여 후 최저점에서 80% 초과 수 수용체 점유율을 달성하고 유지하기에 충분했다.

[0632] 고지방 식사 후 30분 이내에 화합물 A의 투여는 화합물 A의 경구 흡수를 감소시켰다. 전신 노출과 대변 회수 사이에 직접적인 상관관계는 없었지만, 방향적으로, 데이터는 고지방 식사 다음 흡수 감소에 상응함을 나타내었고, 대변 회수 증가가 있었다.

[0633] 화합물 A의 즉시-방출 정제 제형의 정상 상태 약동학 및 약력학 프로파일은 일반적으로 인간 최초 연구에 사용된 액체 제형과 유사하였다. IR 정제로 화합물 A 450 mg을 1일 2회 투여하면 약동학이 지속되고 평균 수용체 점유율이 ~84%로 나타났다.

[0634] 결론

[0635] 화합물 A는 97명의 건강한 남성 지원자에게 투여되었다. 파트 1에서는 최대 1일 최대 1400 mg의 화합물 A의 단일 상승 용량 및 식품의 효과를 연구했다; 파트 2에서는 최대 1000 mg까지 다중 상승 용량을 최대 14일 동안 1일 1회 용량으로 테스트했다. 추가로, 5일 동안 1일 1회 900 mg 화합물 A를 5일 동안 1일 2회 450 mg 화합물 A와 비교하였다. 연구 약물은 내약성이 우수했다; 용량-제한 독성은 관찰되지 않았다. 한 가지 예외를 제외하고 모든 유해 사례는 경증에서 중등도의 심각도였다. 심각한 것으로 특징지어지는 인플루엔자의 한 가지 심각한 유해 사례는 화합물 A를 받은 지 약 36시간 후에 대상체에서 연구 약물과 관련될 가능성이 있는 것으로 보고되었다. 진단은 독감 면봉 검사에 의해 확인된 인플루엔자 A였다. 대상체는 사건 없이 회복되었다.

[0636] 단일 및 다중 투여 모두에 대한 최대 허용 용량은 시험된 최고 용량이었으며, 단일 용량으로서 1400 mg 및 다중 용량으로서 1000 mg이었다. 단일 및 다중 투여 모두에 대한 최소 혈장 노출이 관찰되어 약물이 대부분 GI-제한되었음을 확인했다. 혈액 수용체 점유의 용량-의존적 증가 및 수용체 발현의 감소가 관찰되었고, 따라서 건강한 지원자에서 화합물 A의 표적 결합 및 약리학적 활성을 뒷받침하였다.

[0637] 정제 제형의 사용을 지원하기 위해, 5일 동안 1일 2회 투여되는 경구 용액 또는 5일 동안 1일 2회 투여되는 즉시-방출 정제로서 450 mg을 투여한 후 10명의 건강한 대상체에서 다중 용량 교차 약동학 및 약력학 연구가 수행되었다. 평균적으로, IR 정제는 5일째에 용액보다 약간 더 낮은 피크 화합물 A 혈장 농도 및 AUC 값(~15-18%)을 가졌고, 차이는 임상적으로 의미있지 않다. 평균 정상 상태 피크 수용체 점유율은 두 제형 모두에 대해 >90%였고 5일째에 24시간 효과 곡선 아래 면적(AUEC)을 기반으로 한 평균 수용체 점유율은 2개의 제형에 대해 비슷했

다.

[0638] 단일 및 다중 상승 용량 후, 화합물 A는 광범위한 용량 범위에 걸쳐 건강한 대상체에게 경구 투여될 때 안전하고 잘 용인되었다. GI-제한 펩티드와 일치하게, 화합물 A는 1일 1회 또는 2회 투여를 지원하는 약동학적 프로파일로 전신 노출이 낮았다. 화합물 A를 1일 2회 투여하면 수용체 점유가 지속되었다. 건강한 대상체에서 화합물 A의 안전성, 내약성 및 PK/PD 프로파일은 염증성 장 질환에 대한 이 새로운 위장-제한 표적 치료제의 지속적인 임상 평가를 뒷받침한다.

[0639] **실시예 8**

[0640] **중등도에서 중증의 활동성 궤양성 대장염이 있는 대상체에서 경구 화합물 A의 안전성 및 효능을 평가하기 위한 무작위 이중 맹검 위약 대조 연구**

[0641] 중등도 내지 중증 궤양성 대장염을 갖는 인간 환자에서 2상 무작위, 이중 맹검, 위약 대조 임상 연구를 수행하여 경구 화합물 A를 사용한 치료의 안전성, 내약성 및 효능을 입증하였다. 연구는 또한 경구 화합물 A를 사용한 치료에 대한 약동학(PK) 및 약력학(PD) 및 바이오마커 반응을 평가하였다.

[0642] **연구 설계**

[0643] 이것은 두 파트로 된 연구이다: 파트 1은 중등도 내지 중증 활성 UC를 갖는 환자에서 무작위, 이중 맹검, 위약 대조, 병렬 설계 12주 유도 치료 기간이고; 파트 2는 파트 1을 성공적으로 완료한 대상체를 포함하는 40주의 연장된 치료 기간이다. 파트 1에 대한 12주차 방문을 완료한 대상체는 파트 2에 들어갈 자격이 있다.

[0644] **파트 1: 유도 치료 기간(ITP):**

[0645] 파트 1은 중등도 내지 중증 활성 UC를 갖는 성인 대상체에서 12주 무작위, 이중 맹검, 위약 대조, 병렬 설계 연구이다. 적격 대상은 1:1:1로 화합물 A 450 mg 1일 2회(BID), 화합물 A 150 mg BID 또는 위약 BID로 무작위 배정된다. 대상체는 생검으로 확인된 UC 진단을 받아야 한다. 포함 기준을 충족하기 위해, 적격 대상체는 UC에 대한 이전의 기존 요법(즉, 코르티코스테로이드, 아미노살리실레이트 또는 면역조절제)에 대한 이전의 부적절한 초기 반응, 반응 상실 또는 불내성 또는 새로운 생물학적 요법(즉, TNF α 길항제 또는 IL12/23 길항제)에 대한 이전의 부적절한 초기 반응, 반응 상실 또는 불내성을 가지고 있어야 한다. 이전 베톨리주맙 치료 이력이 있는 대상체는 제외된다. 무작위화는 TNF α 길항제 또는 IL-12/23 길항제에 대한 이전 실패에 의해 계층화될 것이다.

[0646] 적격 대상은 다음 포함 기준을 충족한다:

[0647] ● 18세(또는 18세 이상인 경우 최소 국가별 동의 연령) 내지 75세의 남성 및 여성 대상체;

[0648] ● 대상체는 연구 절차를 이해하고 서면 동의를 통해 연구 참여에 동의한다.

[0649] ● UC와 일치하는 생검 결과의 적절한 문서화로 뒷받침되는 UC 진단

[0650] ● 중등도에서 중증 활성 UC; 및

[0651] ● 경구 아미노살리실레이트(5-ASA), 코르티코스테로이드, 면역조절제 또는 생물학적 제제(베톨리주맙 제외) 중 적어도 하나에 대해 부적절한 반응, 반응 상실 또는 불내성이 입증된 경우,

[0652] 적격 대상체는 다음 제외 기준을 충족하지 않는다:

[0653] ● 현재 크론병(CD), 불확정성 대장염(IC), 현미경적 대장염, 허혈성 대장염, 방사선 대장염 진단을 받은 대상자;

[0654] ● 완전히 제거된 저등급 이형성 병변 이외의 결장 이형성증의 병력;

[0655] ● 선별 4주 이내에 입원 또는 IV 항생제/항감염 치료 또는 선별 2주 이내에 경구 항생제/항감염 치료가 필요한 활성 세균, 바이러스, 진균 또는 마이코박테리아 감염의 병력;

[0656] ● 베톨리주맙, 나탈리주맙, 또는 $\alpha 4\beta 7$ 또는 $\beta 1$ 인테그린을 표적으로 하거나 연구 동안 계획된 임의의 제제를 사용한 이전 치료;

[0657] ● C. 디피실레(C. difficile)에 대한 대변 검사 양성;

[0658] ● 만성 재발성 또는 심각한 감염;

- [0659] ● 알려진 1차 또는 2차 면역결핍;
- [0660] ● 임신 또는 수유 중인 여성 또는 연구 중 또는 연구 약물의 마지막 투여 후 30일 이내에 임신을 고려하고 있는 경우; 및
- [0661] ● 주요 신경 장애의 병력.
- [0662] 적격 대상체는 화합물 A 450 mg 1일 2회(BID), 화합물 A 450 150mg BID 또는 위약 BID로 1:1:1로 무작위화된다.
- [0663] 파트 2: 연장된 치료 기간(ETP):
- [0664] 수정 메이요 스코어의 구성요소를 포함하여 파트 1에 대한 12주차 방문을 완료한 대상체는 파트 2에 들어갈 자격이 있을 것이다. 모든 파트 1 완료자는 조사관의 재량에 따라 연장된 치료 기간인 파트 2에 들어갈 자격이 있을 것이다. 대상체는 맹검 방식으로 적절한 확장 치료 부문에 배정될 것이다. 파트 2로 계속되는 모든 대상체는 화합물 A를 받게 될 것이다.
- [0665] 테스트 생성물(들), 용량 및 투여 방식:
- [0666] 화합물 A(300 mg 및 150 mg) 및 상응하는 위약 정제는 경구 투여될 것이다. 화합물 A의 강점과 위약은 모두 동일한 모양을 갖는다.
- [0667] 결과 분석:
- [0668] 1차 결과 측정은 위약과 비교하여 12주차에 임상 관해를 달성한 대상체의 비율을 포함한다. 임상 관해는 수정 메이요 스코어(메이요 스코어에서 3개의 하위 점수 합계)를 사용하여 결정된다.
- [0669] ● 대변 빈도 하위점수(SFS)
- [0670] ● 직장 출혈 하위점수(RBS)
- [0671] ● 내시경 하위점수(ESS)
- [0672] 2차 결과 측정은 위약에 대한 개별적으로 화합물 A 고용량 및 저용량 간의 비교를 포함한다:
- [0673] ● 내시경 개선이 있는 대상체의 비율.
- [0674] ● 내시경 관해를 달성한 대상체의 비율.
- [0675] ● 조직학적 개선이 있는 대상체의 비율.
- [0676] ● 조직학적 관해를 달성한 대상체의 비율.
- [0677] ● 점막 치유가 있는 대상체의 비율.
- [0678] 다른 결과 측정은 52주차에 임상 관해를 달성한 대상체의 비율을 포함한다. 임상 관해는 수정 메이요 점수(메이요 점수로부터 3개의 하위 점수의 합)를 사용하여 결정된다:
- [0679] ● 대변 빈도 하위점수(SFS)
- [0680] ● 직장 출혈 하위점수(RBS)
- [0681] ● 내시경 하위점수(ESS).
- [0682] 효능 평가
- [0683] 효능은 적어도 부분적으로 메이요 점수에 기초하여 평가된다. 메이요 점수는 대변 빈도 하위점수(SFS, Stool Frequency Subscore), 직장 출혈 하위점수(RBS, Rectal Bleeding Subscore), 내시경 하위점수(ESS, Endoscopic Subscore), 의사의 종합 평가(PGA, Physician's Global Assessment)의 4가지 구성 요소를 포함한다. 각 개별 점수의 범위는 0에서 3까지이며 숫자가 높을수록 심각도가 높음을 나타낸다.
- [0684] ● 완전한 메이요 점수는 모든 4개의 하위점수(SFS, RBS, ESS 및 PGA)의 합계이며 범위는 0에서 12점이다.
- [0685] ● 수정 메이요 점수는 3개의 하위점수(SFS, RBS 및 ESS)의 합계이다. 수정 메이요 점수 범위는 0에서 9점이다.
- [0686] ● 부분 메이요 점수는 3가지 하위 점수(SFS, RBS 및 PGA)의 합계이고 0에서 9점 범위이다.

[0687] ● 내시경 하위 점수(ESS) ≤ 1 (1의 점수에 마손도를 포함되지 않도록 수정됨).

[0688] 결과

[0689] 임의의 용량의 화합물 A를 사용한 치료가 안전할 것으로 예상되며, 450 mg BID 또는 150 mg BID를 사용한 치료는 완전한 메이요 점수, 수정된 메이요 점수 및/또는 위약을 사용한 치료와 비교한 부분 메이요 점수에서 통계적으로 상당한 개선을 나타낼 것이며, 따라서 궤양성 대장염 치료에 대한 화합물 A의 이러한 용량의 효과를 입증한다.

[0690] 본 명세서에서 언급되고/되거나 출원 데이터 시트에 열거된 상기 모든 미국 특허, 미국 특허 출원 공개, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비특허 간행물은 전체적으로 참고로 본원에 포함된다.

[0691] 본 발명은 본 명세서에서 광범위하게 설명되고 이하에서 청구되는 바와 같은 구조, 방법, 또는 다른 본질적인 특징으로부터 벗어나지 않고 다른 특정 형태로 구현될 수 있다. 설명된 구현양태들은 모든 면에서 단지 예시적인 것으로 간주되어야 하며 제한적인 것은 아니다. 따라서, 본 발명의 범위는 전술한 설명보다는 첨부된 청구범위에 의해 표시된다. 청구 범위의 동등성의 의미 및 범위 내에서 발생하는 모든 변경 사항은 해당 범위 내에 포함되어야 한다.

도면

도면1

	CD4+ T 세포 증식(%)										증식 억제(%)									
	공여자	3	4	5	7	9	10	11	3	4	5	7	9	10	11					
활성화 없음		0.07	0.1	0.6	0.1	0.1	0.4	0.7												
항-CD3		0.72	0.8	0.6	1.4	2.6	2.5	6.3												
항-CD3 + MAdCAM		24.8	12.3	27.5	41.8	67.8	67.4	87.2												
항-CD3 + MAdCAM + 1uM 화합물 A		0.2	0.2	0.5	0.5	0.5	0.3	1.9	102	104	100	102	103	103	105					
항-CD3 + MAdCAM + 1uM NEG		22.3	11.6	26.3					10.1	6.3	4.7									
항-CD3 + MAdCAM + Vedo		0.4	0.3	0.7					101	104	100									

도면2

	CD4+ T 세포 비-증식 (%)			CD4+ T 세포 증식(%)		
	3	4	5	3	4	5
공여자						
항-CD3						
CD45RO-	57.58	46.3	60.8	NA	NA	NA
CD45RO+	42.4	53.7	38.6	NA	NA	NA
기억/미경험	0.7	1.2	0.6	NA	NA	NA
항-CD3 + MAdCAM						
CD45RO-	50.2	38.3	53.0	31.9	19.9	27.0
CD45RO+	49.8	61.7	47.0	68.1	80.1	73.0
기억/미경험	1.0	1.6	0.9	2.1	4.0	2.7

도면3

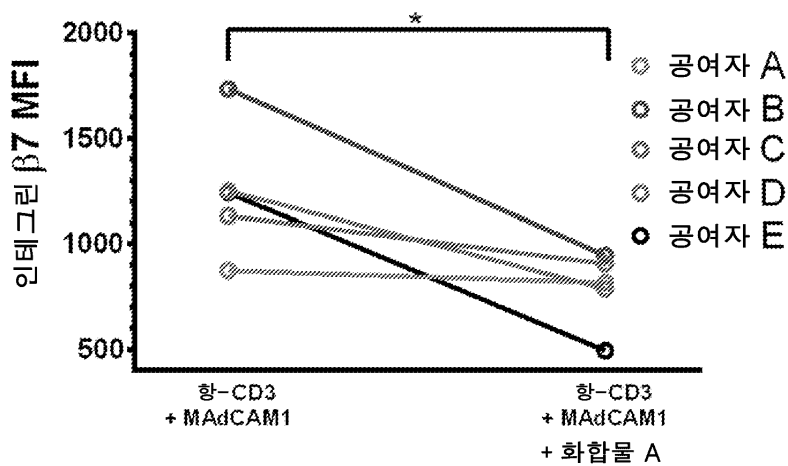
B.

β7 MFI	비분할된 β7+ CD4+ T-세포				
	A	B	C	D	E
0 nM 화합물 A	873	1735	1132	1250	1242
1 μM 화합물 A	816	945	906	787	493
퍼센트 변화	-6.5%	-46%	-20%	-37%	-60%

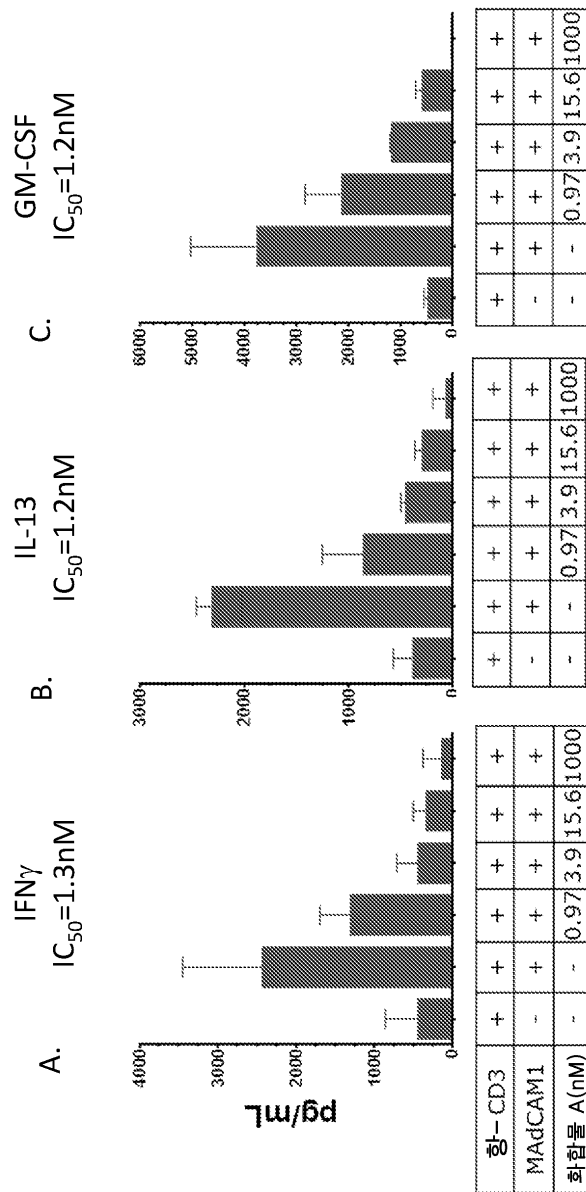
A.

	분할된 CD4+ T-세포				
	A	B	C	D	E
% β7+	98.9	94.5	99.9	99.9	99.7
β7 MFI-1	5,692	5,549	4,299	3,671	5,441
β7 MFI-2	7,312	7,137	5,773	5,628	7,641
β7 MFI-3	7,742	7,537	6,599	6,973	9,699
β7 MFI-4	6,807	6,990	6,949	8,038	11,141

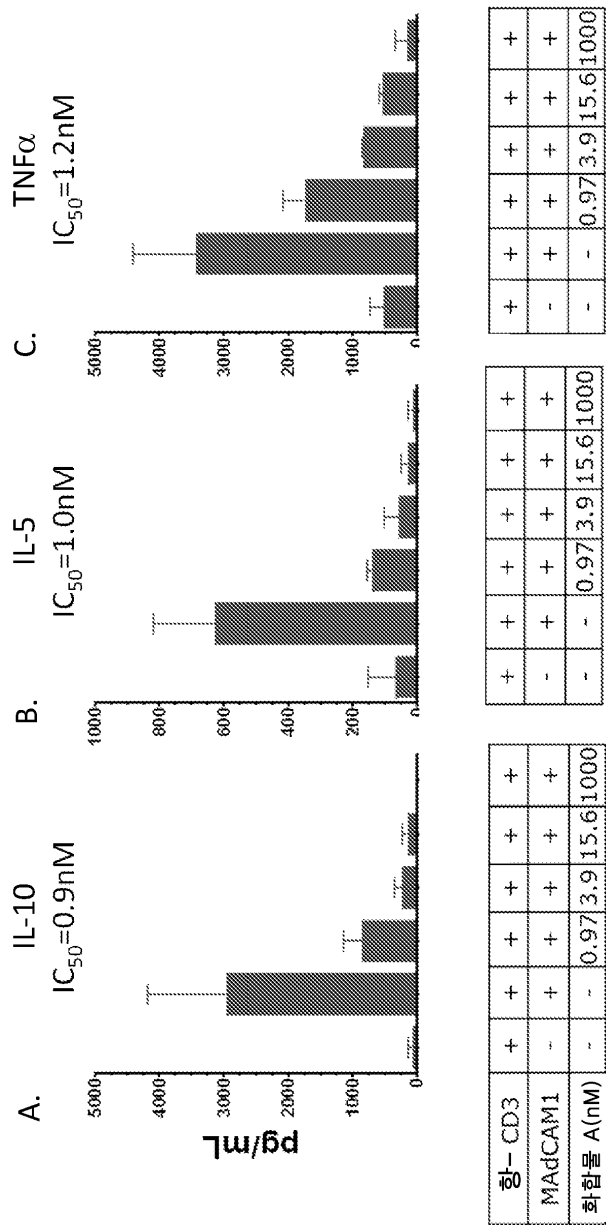
도면4



도면5

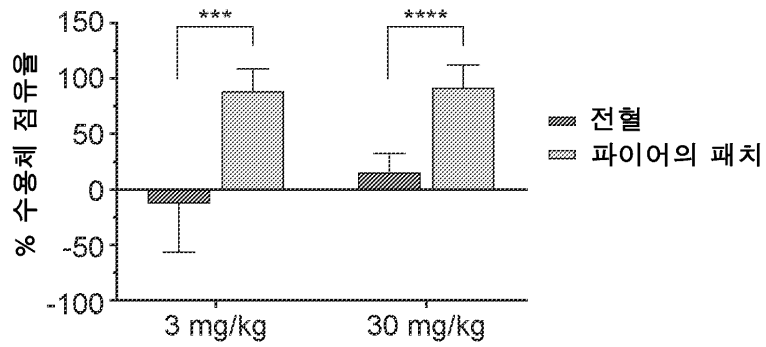


도면6



도면7

% 평균 수용체 점유율(% 양성)



쌍을 이루지 않은 t-테스트를 사용하여 수행된 통계적 분석
 : $P < 0.001$, *: $P < 0.0001$.

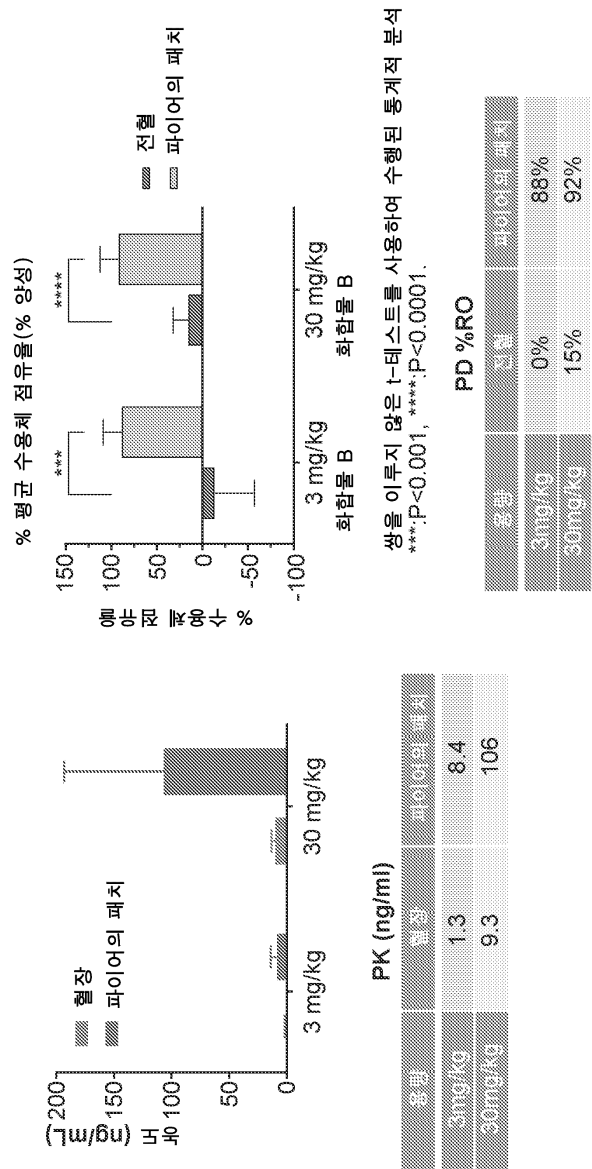
용량	전혈	파이어의 패치
3mg/kg	0%	88%
30mg/kg	15%	92%

도면8

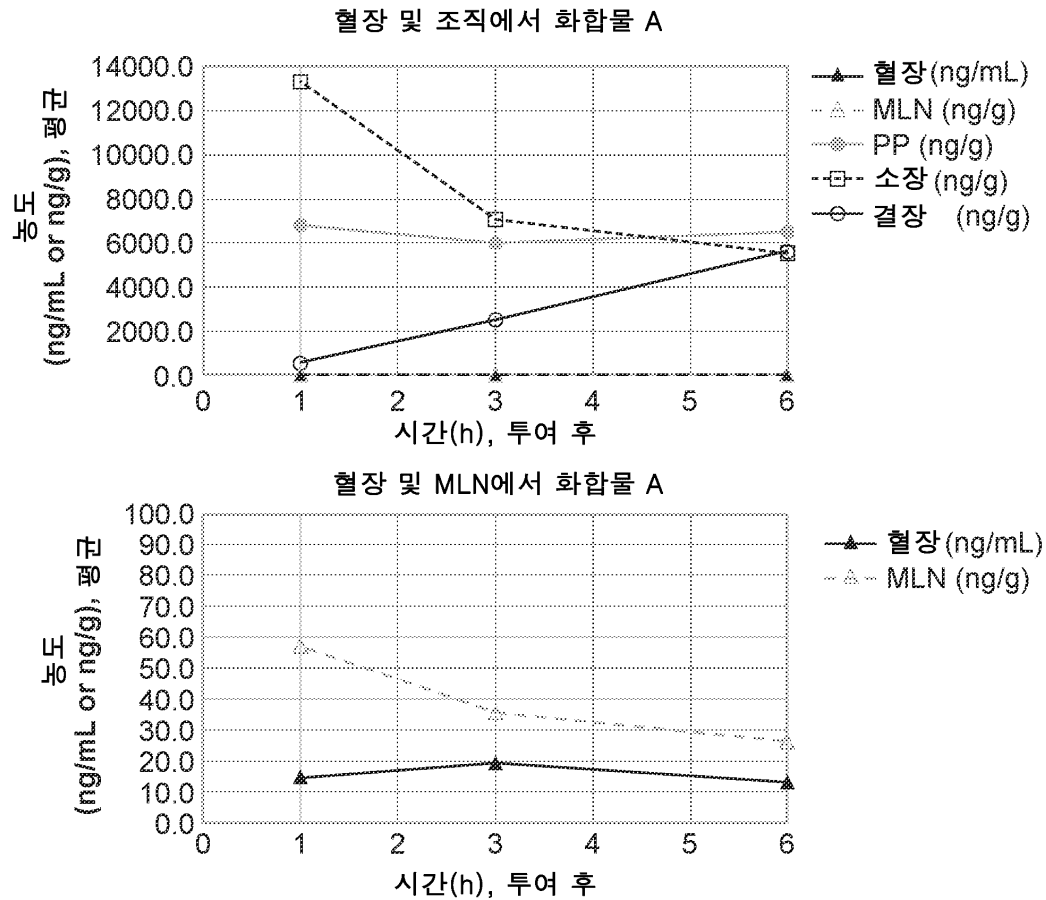
수용체 선공-개별 동물												
진혈												
파이어어의 패치												
용량	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#1	#2	#3	#4	#5	#6
3 mg/kg	-76.878	49.7714	7.05421	6.40105	-18.615	-44.415	88.7	100	47.3	93.5	100	100
30 mg/kg	15.872	9.66688	35.4017	15.872	-13.325	28.4781	50.9	100	100	100	100	100

1491명, N=100			
진혈 (mg)	특이	T-255N25	AUC _{0-100%}
100	58	24	971
300	80	44	1487
1000	96	76	1957

도면9



도면10



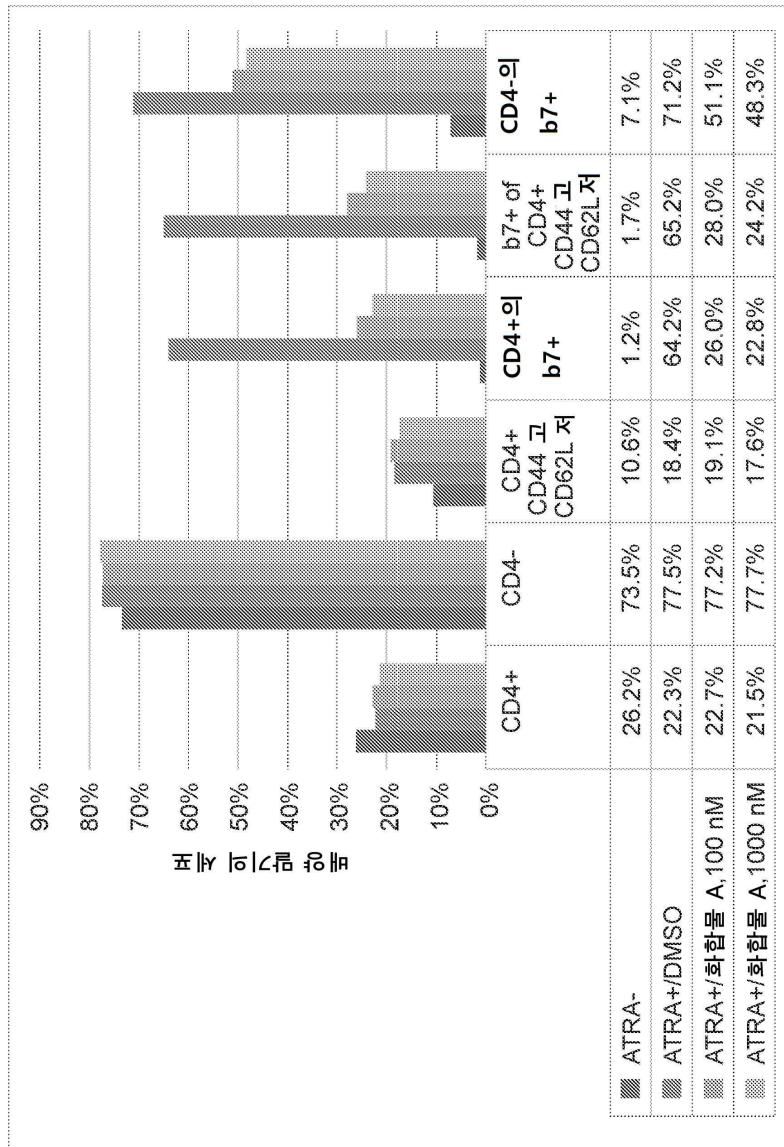
도면11

표 7: 마우스에서 30 mg/kg의 단일 PO 용량 투여 후 화합물 A에 대한 다양한 PK 매개변수

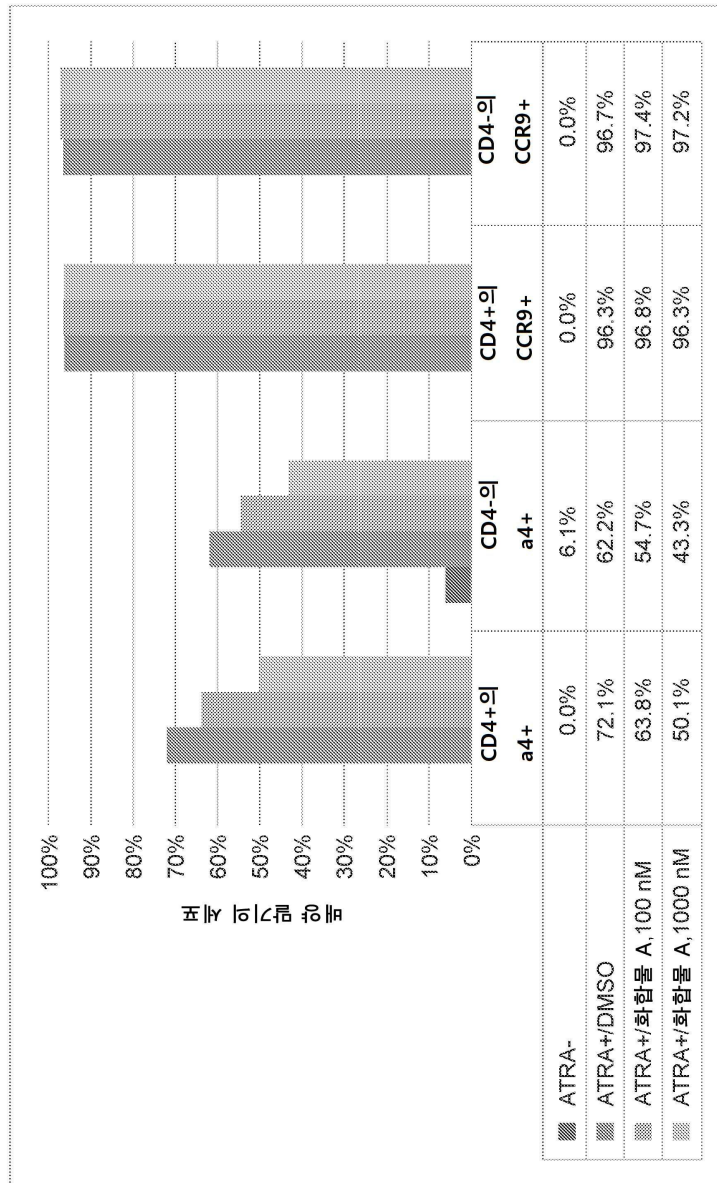
조직	용량	t_{max}	C_{max}	AUC
	mg/kg	시간	ng/mL 또는 ng/g	h*ng/mL
혈장	30	3.00	19.0	95.4
MLN	30	1.00	56.8	226
PP	30	1.00	6790	37900
소장	30	1.00	13300	48600
결장	30	6.00	5580	15700

MLN, 장간막림프절. PP, 파이어의 패치

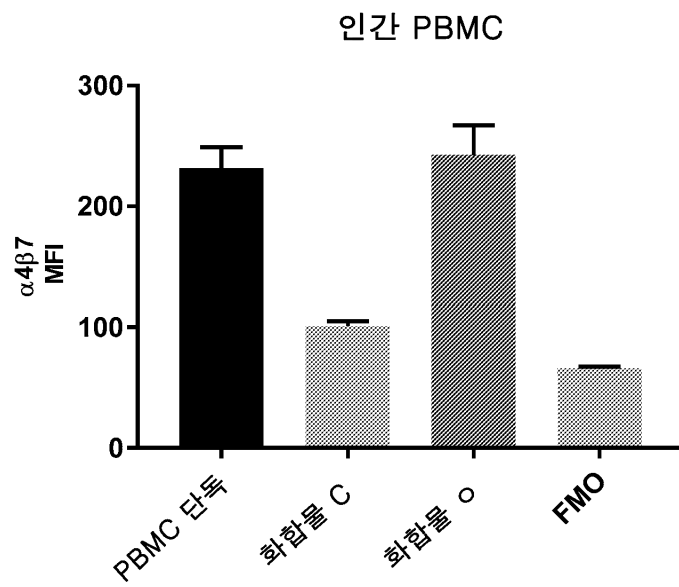
도면12



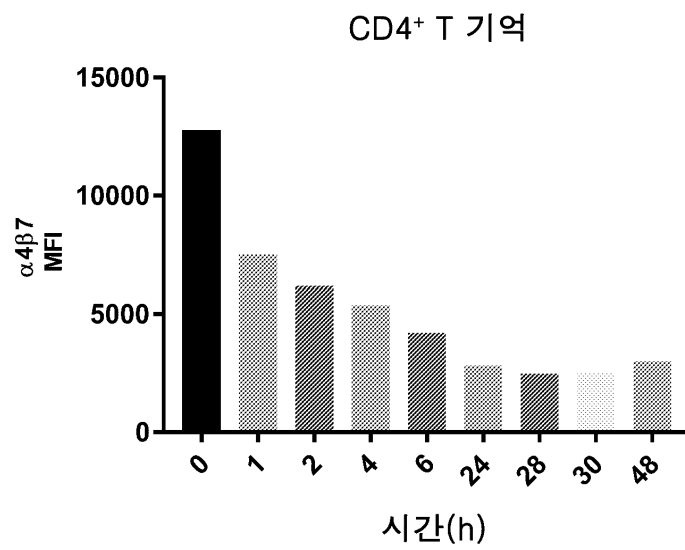
도면13



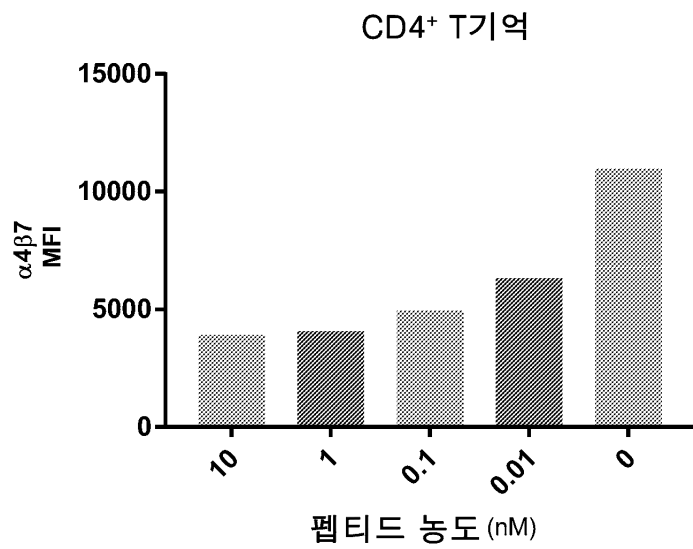
도면14



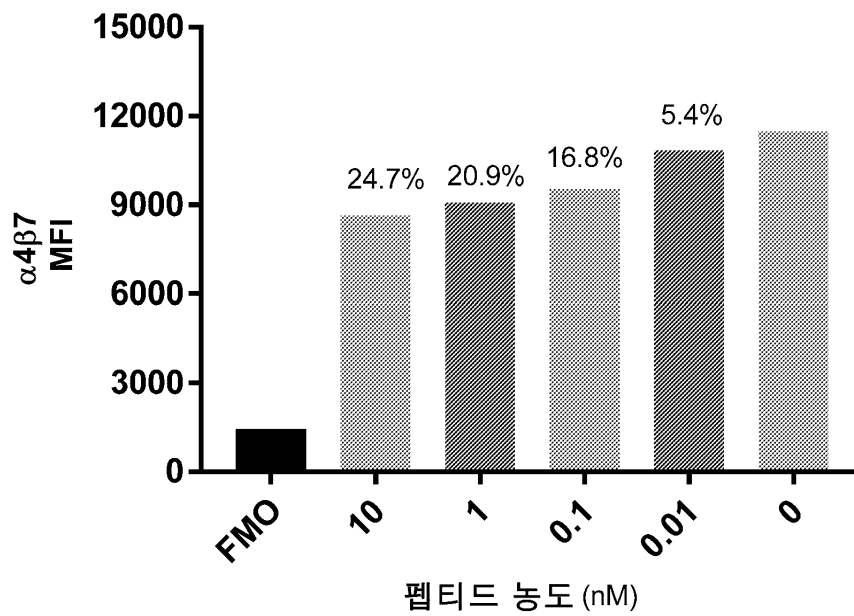
도면15



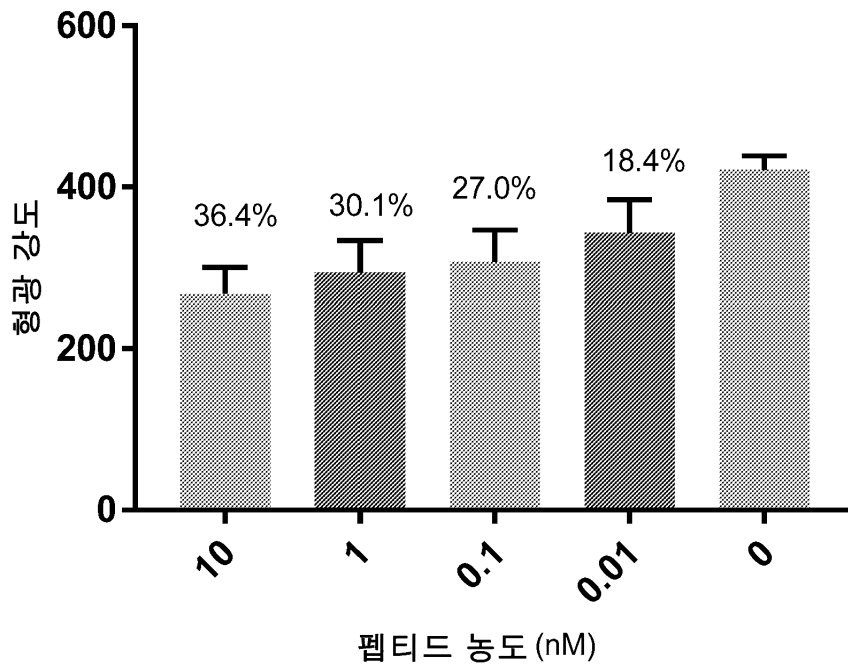
도면16



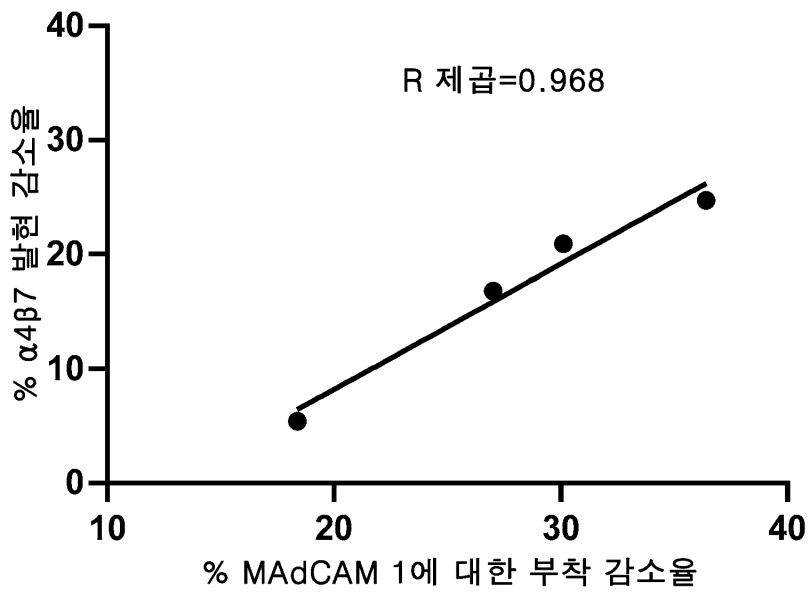
도면17



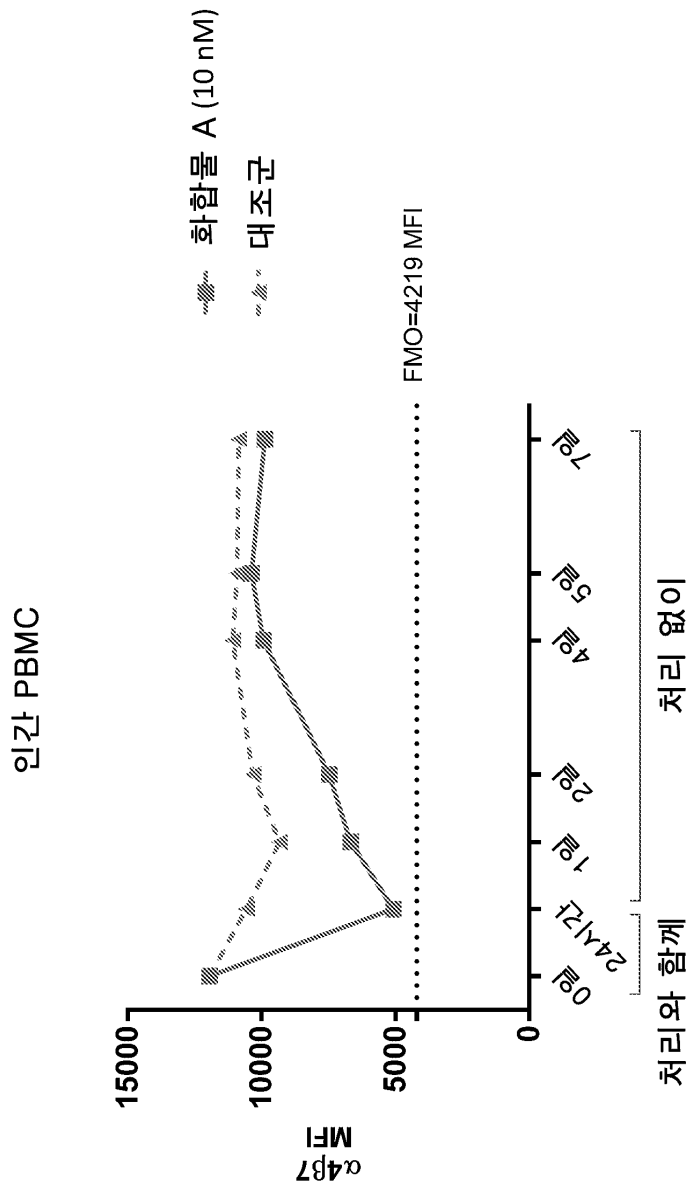
도면18



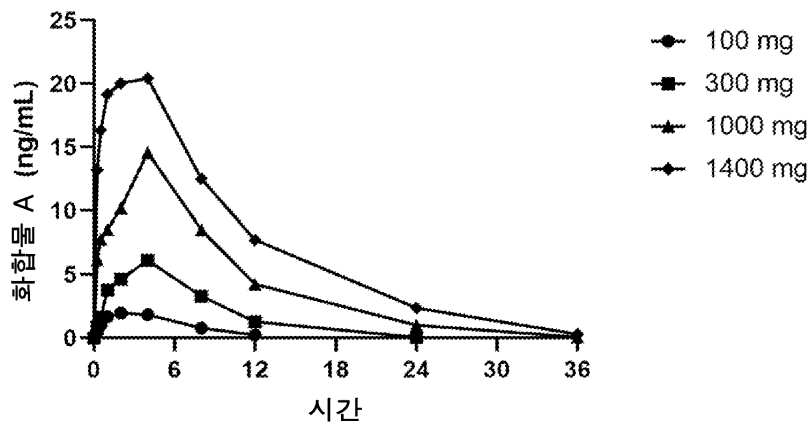
도면19



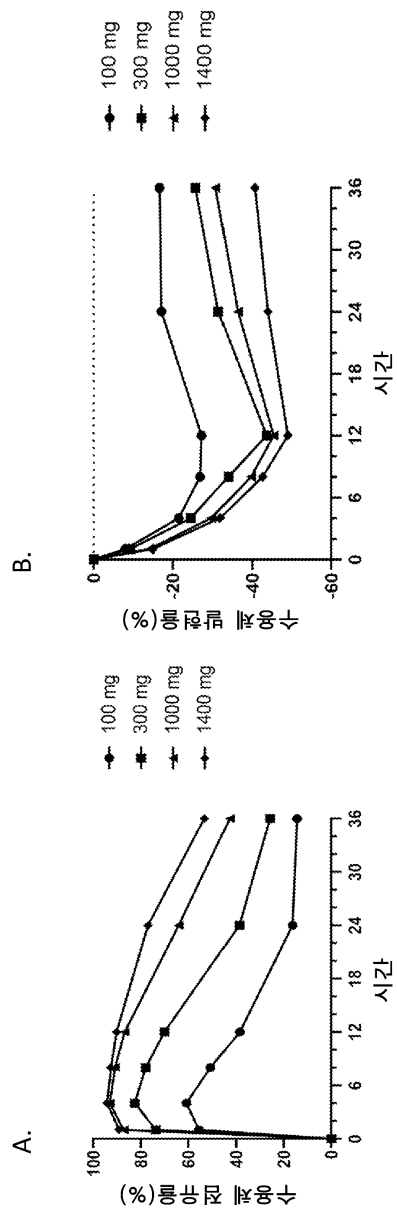
도면20



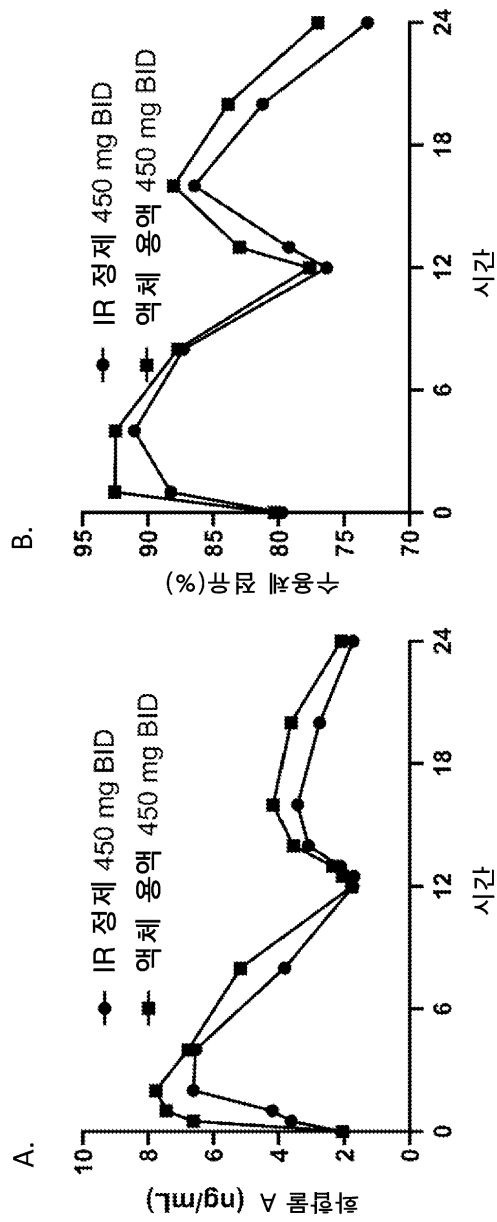
도면21



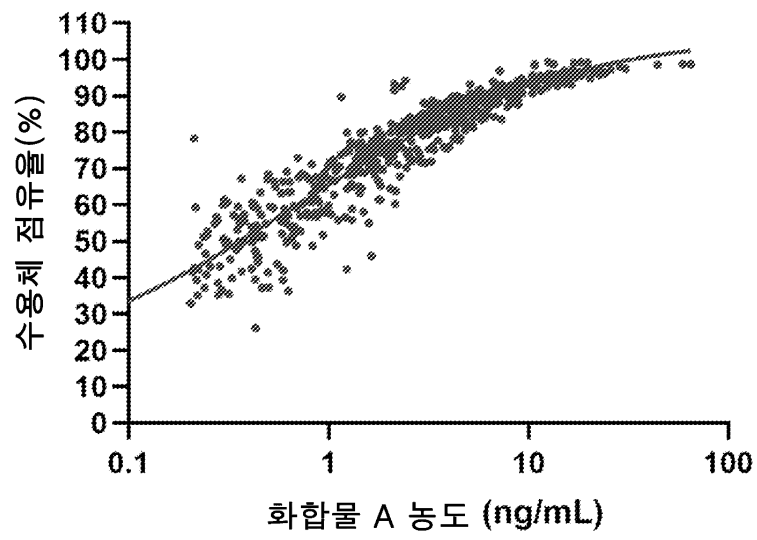
도면22



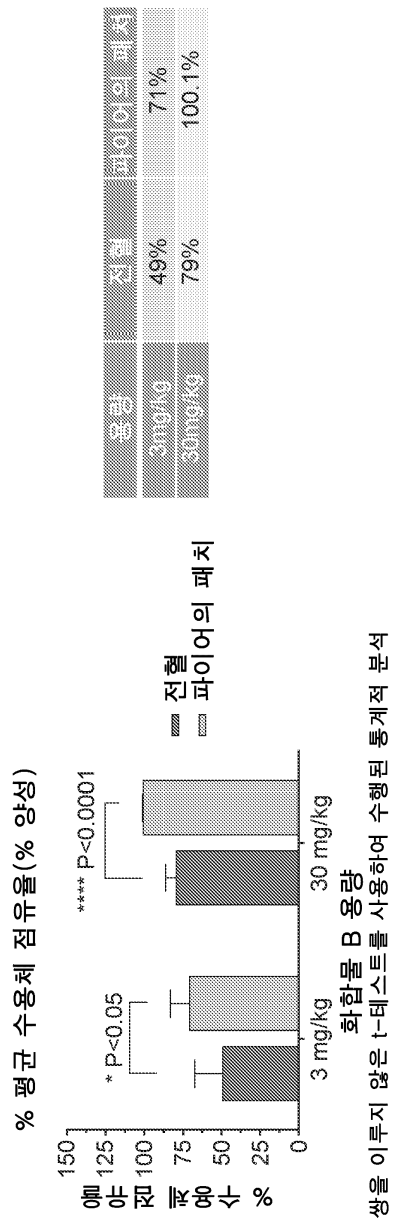
도면23



도면24

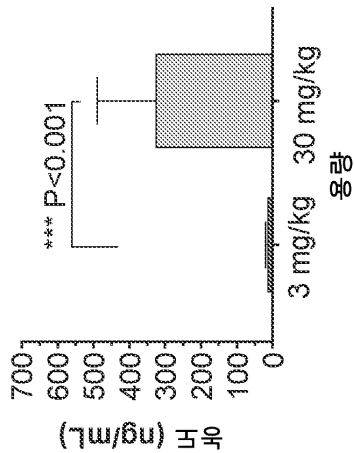


도면25

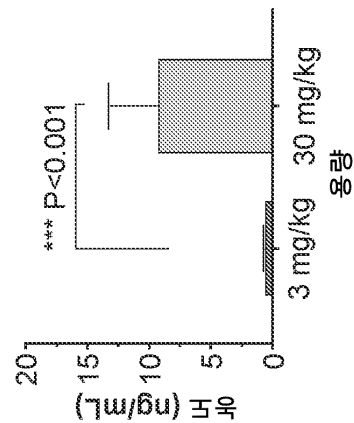


도면26

파이어의 폐치에서 화합물 A 의 농도



혈장에서 화합물 A 의 농도



평균 화합물 A 의 농도(ng/mL)	
혈장	파이어의 폐치
3mg/kg	11.8 ± 5.6932
30mg/kg	326 ± 163.02

도면27

수용체 점유-거멸 동물												
진열												
파이어의 패치												
용량	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#1	#2	#3	#4	#5	#6
3 mg/kg	54.08	46.65	41.64	3.31	76.47	27.91	56.79	74.54	55.13	75.3	87.98	74.21
30 mg/kg	81.97	85.3	66.14	80.78	83.04	79.6	100.89	100.63	100.63	100.99	100.16	100.99

$$\%RO = (1 - (\%양성 테스트 샘플 / \%양성 중앙 비히클 대조군)) * 100$$

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Protagonist Therapeutics, Inc.

Cheng, Xiaoli

Liu, David Y.

Mattheakis, Larry C.

Gupta, Suneel Kumar

Modi, Nishit Bachulal

<120> METHODS FOR TREATING INFLAMMATORY BOWEL DISEASES WITH

alpha4beta7 INTEGRIN ANTAGONISTS

<130> PRTH-052/01WO 321085-2350

<150> US 62/959,854

<151> 2020-01-10

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Made in lab - peptide antagonist

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is N-Methyl-Arginine

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> N-Methyl-Arginine modified with 2-methylbenzoyl

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is penicillamine

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is beta-homoglutamic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> D form Glu

<220><221> MOD_RES

<222>

(10)..(10)

<223> D form Lys

<400> 1

Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Glu Lys

1 5 10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Made in lab - peptide antagonist

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is N-Methyl-Arginine

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> N-Methyl-Arginine modified with 2-methylbenzoyl

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is penicillamine

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is beta-homoglutamic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D form Lys

<400> 2

Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Gly Lys

1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Made in lab - peptide antagonist

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)
 <223> Xaa is N-Methyl-Arginine
 <220><221> MOD_RES
 <222>
 > (1)..(1)
 <223> N-Methyl-Arginine modified with 2-methylbenzoyl
 <220><221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa is penicillamine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid
 <220><221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa is beta-homoglutamic acid
 <220><221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> D form Lys
 <400> 3
 Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Pro Lys
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Made in lab - peptide antagonist
 <220><221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa is N-Methyl-Arginine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N-Methyl-Arginine modified with 2-methylbenzoyl
 <220><221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)

<223> Xaa is penicillamine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid
 <220><221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa is beta-homoglutamic acid
 <220><221> MOD_RES

 <222> (9)..(9)
 <223> D form Pro
 <220><221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> D form Lys
 <400> 4
 Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Pro Lys
 1 5 10
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Made in lab - peptide antagonist
 <220><221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa is N-Methyl-Arginine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> N-Methyl-Arginine modified with 2-methylbenzoyl
 <220><221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)

 <223> Xaa is penicillamine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is beta-homoglutamic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> D form Lys

<400> 5

Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Lys

1 5

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Made in lab - peptide antagonist

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Penicillamine

<220><221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is N-Methyl-Arginine

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is penicillamine

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is beta-homoglutamic acid

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> D form Lys

<400> 6

Xaa Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Lys

1 5 10

<210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Made in lab - peptide antagonist
 <220><221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa is Penicillamine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is N-Methyl-Arginine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa is penicillamine
 <220><221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid
 <220><221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa is beta-homoglutamic acid
 <220>
 ><221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> D form Lys
 <400> 7
 Xaa Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Pro Lys

1 5 10

<210> 8
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Made in lab - peptide antagonist
 <220><221> MOD_RES

```

<222> (1)..(1)
<223> Xaa is Penicillamine
<220><221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Xaa is N-Methyl-Arginine
<220><221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Xaa is penicillamine
<220><221> MOD_RES
<222>
> (8)..(8)
<223> Xaa is (S)-2-amino-3-(4-tert-butyl-phenyl)propionic acid
<220><221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> Xaa is beta-homoglutamic acid
<220><221> MOD_RES
<222> (10)..(10)
<223> D form Pro
<220><221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> D form Lys
<400> 8
Xaa Xaa Ser Asp Thr Leu Xaa Xaa Xaa Pro Lys
1 5 10

```