



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0022884
(43) 공개일자 2019년03월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/70 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/70 (2013.01)
A61P 43/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2019-7004266(분할)
(22) 출원일자(국제) 2011년08월05일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2013-7005545
원출원일자(국제) 2011년08월05일
심사청구일자 2016년08월04일
(85) 번역문제출일자 2019년02월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/046857
(87) 국제공개번호 WO 2012/019165
국제공개일자 2012년02월09일
(30) 우선권주장
61/371,116 2010년08월05일 미국(US)

(71) 출원인
시애틀 지네틱스, 인크.
미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823
(72) 발명자
센터, 피터
미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.
21823 시애틀 지네틱스, 인크. 내
알리, 스테펜
미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.
21823 시애틀 지네틱스, 인크. 내
벤자민, 데니스
미국 98021 워싱턴 보텔 30번 드라이브 에스.이.
21823 시애틀 지네틱스, 인크. 내
(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 푸코스 유사체를 사용한 생체 내에서의 단백질 푸코실화 억제 방법

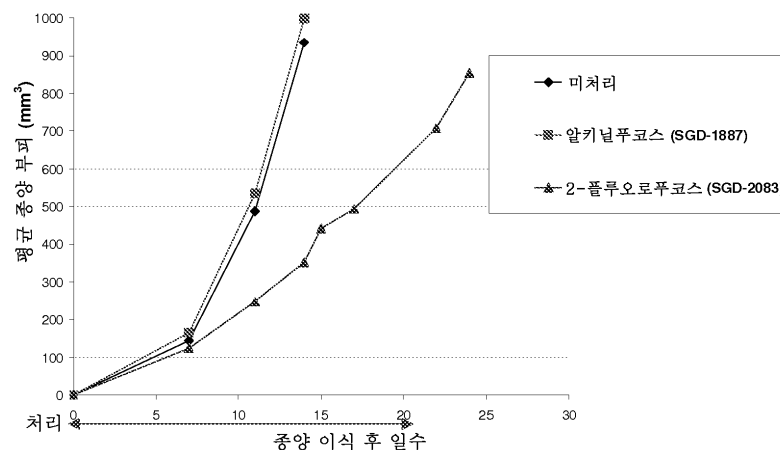
(57) 요약

본 발명은 푸코스 유사체의 투여에 의한, 생체 내에서의 항체를 비롯한 단백질의 푸코실화 억제를 위한 방법 및 조성물을 제공한다.

대표도 - 도8a

A

LS174t 세포 (결장 선암종)의 이중이식 시술 및 증가



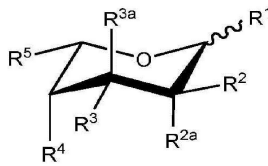
명세서

청구범위

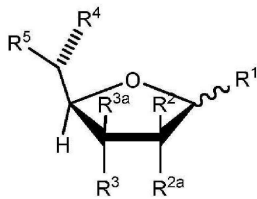
청구항 1

하기의 화학식 V 또는 VI 중 하나, 또는 그의 생물학적으로 허용되는 염 또는 용매화물로 이루어진 군에서 선택되는 푸코스 유사체의 유효량을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 화학식 V 또는 VI 각각이 알파 또는 베타 아노머 또는 상응하는 알도스 형태일 수 있고, 단백질 푸코실화가 상기 화학식 V 또는 VI의 푸코스 유사체의 투여 부재하에서의 단백질 푸코실화의 양에 비해 상기 포유동물에서 10% 이상 감소되는 것인, 포유동물에서의 단백질 푸코실화의 억제 방법.

<화학식 V>



<화학식 VI>



상기 식에서, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 , R^{3a} 및 R^4 각각은 $-OH$, $-OC(O)H$, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐, $-OC(O)$ 아릴, $-OC(O)$ 헤테로사이클, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐렌(아릴), $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐렌(헤테로사이클), $-OCH_2OC(O)$ 알킬, $-OCH_2OC(O)O$ 알킬, $-OCH_2OC(O)$ 아릴, $-OCH_2OC(O)O$ 아릴, $-OC(O)CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$, $-OC(O)CH_2CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$, $-O$ -트리- C_1-C_3 알킬실릴, $-OC_1-C_{10}$ 알킬, 및 소형 전자 Π 는 기로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 n 은 0-5에서 독립적으로 선택되는 정수이고;

R^5 는 $-CH_3$, $-CHX_2$, $-CH_2X$, 비치환이거나 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_1-C_4$ 알킬, 비치환이거나 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_2-C_4$ 알켄, 비치환이거나 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_2-C_4$ 알킨, $-CH=C(R^{10})(R^{11})$, $-C(CH_3)=C(R^{12})(R^{13})$, $-C(R^{14})=C=C(R^{15})(R^{16})$, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 $-C_3$ 카르보사이클, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_3$ 카르보사이클, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 C_3 헤테로사이클, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_3$ 헤테로사이클, $-CH_2N_3$, $-CH_2CH_2N_3$, 및 벤질옥시메틸로 이루어진 군에서 선택되는 구성원이거나, 또는 R^5 는 소형 전자 Π 는 기이고;

여기서 R^{10} 은 수소, 또는 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고;

R^{11} 은 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고;

R^{12} 은 수소, 할로겐, 또는 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고;

R^{13} 은 수소, 또는 비치환이거나 할로젠으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고;

R^{14} 는 수소 또는 메틸이고;

R^{15} 및 R^{16} 은 수소, 메틸 및 할로젠에서 독립적으로 선택되고;

X는 할로젠이고;

X'는 할로젠 또는 수소이고;

추가적으로, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 및 R^{3a} 각각은 임의로 수소이고; 임의로, 인접 탄소 원자 상의 2개의 R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 및 R^{3a} 가 조합되어 상기 인접 탄소 원자 간에 이중 결합을 형성하고;

단, (i) R^2 및 R^{2a} 가 모두 수소이거나, (ii) R^3 및 R^{3a} 가 모두 수소이거나, (iii) R^1 이 수소이거나, (iv) 상기 인접 탄소 원자 간에 이중 결합이 존재하거나, 또는 (v) R^5 가 벤질옥시메틸인 경우를 제외하고는, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 , R^{3a} , R^4 및 R^5 중 하나 이상은 소형 전자 끄는 기이거나, 또는 R^5 는 할로젠, 불포화 부위, 카르보사이클, 헤테로 사이클 또는 아지드를 포함함

발명의 설명

기술 분야

[0001] [관련 출원의 상호 참조]

[0002] 본 출원은 그 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 2010년 8월 5일자 U.S. 가출원 61/371,116의 우선권을 주장하는 바이다.

배경 기술

[0003] 6-데옥시-L-갈락토스로도 지칭되는 L-푸코스는 동물의 일부 N- 및 O-연결 글리칸 및 당지질 구성요소인 모노사 카라이드이다 (문헌 [Becker and Lowe, Glycobiology 13:41R-51R (2003)] 참조). 푸코스는 통상적으로 혈액형 항원, 셀렉틴 및 항체에 결합되는 글리칸을 포함한 글리칸에 말단 수식(terminal modification)으로서 첨가된다. 푸코스는 특이적 푸코실트랜스퍼라제에 의한 $\alpha(1,2)$ -, $\alpha(1,3)$ -, $\alpha(1,4)$ - 및 $\alpha(1,6)$ -결합을 통하여 글리칸에 결합될 수 있다. $\alpha(1,2)$ -푸코스 결합은 통상적으로 H-혈액형 항원과 관련되어 있다. $\alpha(1,3)$ - 및 $\alpha(1,4)$ -푸코스 결합은 루이스^x 항원의 수식과 관련되어 있다. $\alpha(1,6)$ -푸코스 결합은 항체상의 것들과 같은 N-연결 GlcNAc 분자와 관련되어 있다.

[0004] 단백질의 푸코실화는 포유동물 발생에 역할을 하는 것으로 여겨진다. FX 유전자의 표적 돌연변이에 있어서 동형접합성인 마우스는 치사 표현형을 포함한 다형질성 이상을 나타낸다. 이형접합성 교배로부터의 마우스의 복구 감소도 보고되어 있다 (문헌 [Becker et al., Mammalian Genome 14:130-139 (2003)]). 단백질 푸코실화의 이상이 암에서의 시알릴 루이스^x 및 시알릴 루이스^y의 상향-조절을 포함한 인간 질환과 관련되는 것으로 보고된 바도 있다. 이들 글리칸들은 E- 및 P-셀렉틴 분자에 대한 리간드이다. 그로부터, 암 세포에서의 시알릴 루이스^x 및 시알릴 루이스^y 글리칸의 증가가 내피에서의 E- 및 P-셀렉틴과의 상호작용을 통하여 전이를 증가시키는 것으로 추론된다. 푸코실화 글리칸의 증가는 류마티스 관절염에 걸린 환자에서도 관찰된 바 있다. 그러나, 현재 단백질 푸코실화 수준을 표적으로 하는 승인된 치료적 접근법은 존재하지 않는다.

발명의 내용

[0005] [발명의 개요]

[0006] 본원에서 기술되는 방법 및 조성물은 부분적으로 푸코스 유사체를 투여받은 동물이 단백질 푸코실화가 감소되었음을 나타내는 실시예에 제시되어 있는 예상치 못한 결과를 바탕으로 한다. 본원에서 기술되는 푸코스 유사체를 사용하여, 항체 및 기타 단백질들의 푸코실화가 조절될 수 있다.

[0007] 일 측면에서는, 탈푸코실화(defucosylated) 단백질의 생체내 생성을 위한 방법 및 조성물이 제공된다. 푸코스

유사체 (화학식 I, II, III, IV, V 또는 VI를 가지는 것)를 투여받은 동물, 예컨대 포유동물은 푸코실화가 감소된 세포 표면 단백질과 같은 단백질을 생성시킨다. 푸코실화의 감소는 각각 화학식 I, II, III, IV, V 또는 VI를 가지는 푸코스 유사체에 의해 처리되지 않은 동물에 대비한 것이다.

[0008] 관련 측면에서는, 코어 푸코실화가 감소된 항체 및 항체 유도체의 생체내 생성을 위한 방법 및 조성물이 제공된다. 푸코스 유사체 (화학식 I, II, III, IV, V 또는 VI를 가지는 것)를 투여받은 동물은 코어 푸코실화가 감소된 (즉, 당 사슬 환원 말단의 N-아세틸글루코사민을 통하여 Fc 영역에 결합된 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬의 N-아세틸글루코사민의 푸코실화가 감소된) 항체 및 항체 유도체를 생성시킨다. 코어 푸코실화의 감소는 각각 화학식 I, II, III, IV, V 또는 VI를 가지는 푸코스 유사체에 의해 처리되지 않은 동물에 대비한 것이다.

[0009] 또 다른 측면에서는, 푸코스 유사체를 함유하며 표적 동물 투여용으로 제제화된 제약 조성물이 제공된다. 푸코스 유사체는 생체 내에서 푸코실화를 억제하거나 감소시키기 위한 동물 투여용으로 제제화될 수 있다.

[0010] 하기의 상세한 설명, 구체적인 실시양태의 비-제한적인 실시예, 및 첨부 도면을 참조하면, 이들 및 기타 본 발명의 측면들이 더 완전하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 항체 푸코실화에 대한 푸코스 유사체 투여 (ip 주사를 통한)의 결과를 나타낸다. 점 블롯을 좌측 패널에 나타내었으며, 그래프를 우측 패널에 나타내었다. 항체 cAC10 표준 (하부 점 블롯, 좌측측 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 미처리 대조군 (하부 점 블롯, 좌측측으로부터 두 번째 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 및 알키닐 푸코스 (SGD-1887; 하부 점 블롯, 중앙 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 알키닐 푸코스 퍼아세테이트 (SGD-1890; 하부 점 블롯, 우측측으로부터 두 번째 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 및 2-플루오로푸코스 (SGD-2083; 하부 점 블롯, 좌측측 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼)에 대한 점 블롯 단백질 적재 수준 (상부 좌측) 및 푸코스-특이적 생물발광 (하부 좌측). 적재 수준에 대하여 보정한 후, %푸코실화를 우측의 그래프에 나타내었다.

도 2는 음용수를 통한 푸코스 유사체 투여의 항체 코어 푸코실화에 대한 효과를 나타낸다. 그래프는 기체 크로마토그래프 (GC)로 측정하였을 때의 항체의 %푸코실화를 나타내는데: 패널 A 및 B는 처리된 군으로부터 분리된 항-KLH 항체 (Ab)의 푸코실화 수준을 나타내는 반면, 패널 C 및 D는 나머지 (비-KLH-특이적) IgG 항체의 푸코실화 수준을 나타낸다. 패널 A 및 C는 정제된 항체 표준 곡선을 사용하여 측정된 각 동물의 %푸코실화를 나타낸다 (0-100% 푸코실화). 패널 B 및 D는 평균 미처리 대조군 값의 백분율로서의 처리된 군의 푸코실화 수준을 나타낸다.

도 3은 음용수를 통한 푸코스 유사체 투여의 항체 코어 푸코실화에 대한 효과를 나타낸다. 본 도면에서는, 비-KLH-특이적 항체의 푸코실화 수준을 나타내었다. cAC10 표준 (상부 및 하부 점 블롯, 좌측측 직사각형), 미처리 대조군 (상부 및 하부 점 블롯, 좌측측으로부터 두 번째 (상부) 및 우측측 직사각형), 및 2-플루오로푸코스 (상부 및 하부 점 블롯, 좌측측으로부터 두 번째 (하부) 및 우측측으로부터 두 번째 직사각형 (상부 및 하부))에 대하여 단백질 적재 수준의 점 블롯 (상부 좌측) 및 푸코스 특이적 생물발광 (하부 좌측)을 나타내었다. 적재 수준에 대하여 보정한 후, %푸코실화를 우측의 그래프에 나타내었다.

도 4는 음용수를 통하여 투여된 상이한 용량의 2-플루오로푸코스의 항체 코어 푸코실화에 대한 효과를 나타낸다. 점 블롯은 미처리 대조군 및 1, 10, 및 100 mM SGD-2083 (표시된 바와 같음)에 대한 단백질 적재 수준 (좌측) 및 푸코스 특이적 생물발광 (중앙)을 나타낸다. 미처리에 비교된 %푸코실화를 우측 그래프에 나타내었다.

도 5는 2-플루오로푸코스 투여의 순환 백혈구 및 호중구에 대한 효과를 나타낸다. 패널 A. 개별 마우스로부터 혈액 샘플을 수집한 후, 적혈구 배제를 위해 터크(Turk's) 용액을 사용하여 혈구계수기에서 계수함으로써, 백혈구 계수를 측정하였다. 패널 B. 호중구 계수를 측정하기 위하여, 유동 세포측정법에 의해 Gr-1+인 백혈구의 백분율을 측정하고, (A)에서 측정되는 총 세포 계수에 적용하였다. 패널 C. 개별 마우스로부터 림프절의 풀을 수집하고, 단일 세포 현탁액을 제조한 후, 혈구계수기에서 세포를 계수하였다. 기호들은 개별 마우스를 나타낸다 (군 당 n=3; 다이아몬드, 미처리; 정사각형, 1 mM 2-플루오로푸코스 (SGD-2083); 삼각형, 10 mM 2-플루오로푸코스; 원, 100 mM 2-플루오로푸코스).

도 6은 2-플루오로푸코스 투여의 호중구에의 E-선택틴 결합에 대한 효과를 나타낸다. 패널 A. 유동 세포측정법에 의한 호중구 식별의 예. 세포를 정방향으로 개폐하여, 생 백혈구를 포함하도록 측면 분산시킨 다음, Gr-1

염색을 도시하는 히스토그램에 적용함으로써, 호중구를 확인하였다. 양성 세포를 개폐하여, %양성 세포를 측정하고 (도 5B에서 세포 계수에 사용된 것), (B)의 히스토그램에 개폐를 적용하였다. 패널 B. 미처리 동물 (좌측), 및 100 mM로 경구 투여되는 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 사용하여 처리된 동물 (우측)로부터의 호중구에 결합되는 E-셀렉틴의 예. 회색 히스토그램은 E-셀렉틴 결합을 나타내며, 점선은 2차 시약 단독의 결합을 나타낸다. E-셀렉틴 결합에 대하여 기하 평균 형광 강도를 측정하였다. 패널 C. (B)에서와 같이 각 동물에 대하여 E-셀렉틴 결합의 기하 평균 형광 강도를 측정하고, 군들 사이에 비교하였다 (군 당 n=3; 오차 막대는 표준 편차를 나타냄).

도 7은 소정의 푸코스 유사체를 사용하여 배양된 세포주에 있어서의 단백질 푸코실화에 대한 효과를 나타낸다. LS174T, PC-3, 라모스, HL-60cy 및 Caki-1 세포주를 조사하였다.

도 8은 푸코스 유사체 투여의 마우스 이중이식 암 모델에 대한 효과를 나타낸다. LS174T, PC-3, 라모스, HL-60 및 Caki-1 세포주 (2-플루오로푸코스 (SGD-2083)으로 예비-처리됨)를 사용한 마우스 이중이식 모델의 결과를 각각 패널 A-E에 나타내었다. 미처리 LS174T 세포주를 사용한 마우스 이중이식 모델의 결과는 패널 F에 나타내었다.

도 9는 사멸된 A20 림프종 세포를 사용한 예비면역화에 이어지는 푸코스 유사체 (2-플루오로푸코스) 투여가 있거나 없는 생 A20 세포를 사용한 챌린지(challenge)를 기반으로 하는 종양 백신 모델의 연구 설계 (패널 A) 및 결과 (패널 B)를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

"항체"라는 용어는 (a) 이뮤노글로불린 폴리펩티드 및 면역학적으로 활성인 이뮤노글로불린 폴리펩티드의 일부, 즉 이뮤노글로불린 패밀리의 폴리펩티드, 또는 특이적 항원에 면역특이적으로 결합되는 항원 결합 부위(들)을 포함하며 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬(들)을 포함하는 Fc 도메인을 가지는 그의 단편, 또는 (b) 항원에 면역특이적으로 결합되는 그와 같은 이뮤노글로불린 폴리펩티드 또는 단편의 보존적 치환 유도체를 지칭한다. 항체에 대해서는 예를 들면 문헌 [Harlow & Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988)]에 일반적으로 기술되어 있다.

"항체 유도체"는 예를 들면 보통은 항체 또는 Fc 도메인 또는 영역과는 관련되지 않는 이종성 폴리펩티드 (예컨대 이종성 단백질의 리간드 결합 도메인)의 결합, 글리코실화 (코어 푸코실화가 아닌 다른 것), 탈글리코실화 (비-코어 푸코실화가 아닌 다른 것), 아세틸화, 인산화 또는 기타 수식에 의한 것과 같이 이종성 분자의 공유 결합에 의해 수식되는 상기 정의된 바와 같은 항체 (항체 단편 포함), 또는 복합 N-글리코시드 연결 당 사슬을 포함하는 항체의 Fc 도메인 또는 영역을 의미한다.

"모노클로날 항체"라는 용어는 임의의 진행 또는 원핵 세포 클론, 또는 파지 클론을 포함한 단일 세포 클론으로부터 유래하는 항체를 지칭하는 것으로서, 그것이 제조되는 방법을 지칭하지는 않는다. 따라서, "모노클로날 항체"라는 용어가 하이브리도마 기술을 통하여 생성되는 항체로 제한되는 것은 아니다.

"Fc 영역"이라는 용어는 항체의 불변 영역, 예를 들면 임의로 C_H4 도메인을 가지는 C_H1-힌지-C_H2-C_H3 도메인, 또는 그와 같은 Fc 영역의 보존적 치환 유도체를 지칭한다.

"Fc 도메인"이라는 용어는 항체의 불변 영역 도메인, 예를 들면 C_H1, 힌지, C_H2, C_H3 또는 C_H4 도메인, 또는 그와 같은 Fc 도메인의 보존적 치환 유도체를 지칭한다.

"항원"은 항체 또는 항체 유도체가 특이적으로 결합되는 분자이다.

"특이적 결합" 및 "특이적으로 결합되다"라는 용어는 항체 또는 항체 유도체가 고도로 선택적인 방식으로 그의 해당 표적 항원과 결합되려 하며, 다수의 다른 항원과는 그렇지 않음을 의미한다. 통상적으로, 항체 또는 항체 유도체는 약 1×10^{-7} M 이상, 바람직하게는 10^{-8} M 내지 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 또는 10^{-12} M의 친화도로 결합되며, 예정된 항원 또는 밀접하게 관련된 항원이 아닌 다른 비-특이적 항원 (예컨대 BSA, 카세인)에의 결합에 대한 그의 친화도에 비해 2-배 이상 더 큰 친화도로 예정된 항원에 결합된다.

"억제하다" 또는 "~의 억제"라는 용어는 측정가능한 양만큼 감소시키거나 완전히 예방하는 것을 의미한다.

본원에서 사용될 때, "알키닐 푸코스 피아세테이트"라는 용어는 문맥상 다르게 표시되지 않는 한,

(2S,3S,4R,5R,6S) 및 (2R,3S,4R,5R,6S) 이성질체를 포함한 6-에티닐-테트라히드로-2H-피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트, 및 (2S,3S,4R,5R) 및 (2R,3S,4R,5R) 이성질체를 포함한 5-((S)-1-히드록시프로프-2-이닐)-테트라히드로푸란-2,3,4-트리일 테트라아세테이트를 포함하여, R¹⁻⁴ 위치에 아세테이트 기를 가지는 소정 또는 모든 형태의 알킬닐 푸코스 (5-에티닐아라비노스) (하기 화학식 I 및 II 참조), 및 알도스 형태를 지칭한다. "알킬닐 푸코스 트리아세테이트", "알킬닐 푸코스 디아세테이트" 및 "알킬닐 푸코스 모노아세테이트"라는 용어는 각각 알킬닐 푸코스의 표시된 트리-, 디- 및 모노-아세테이트 형태를 지칭한다.

[0022] 문맥상 다르게 표시되지 않는 한, "알킬"이라는 용어는 다르게 특정되지 않는 경우, 1 내지 20개의 탄소 원자를 가지는 (그 이내 범위 및 구체적인 탄소 원자 수의 모든 조합 및 하위조합을 가짐) 비치환 포화 직쇄형 또는 분지형 탄화수소를 지칭한다. 1 내지 3개, 1 내지 8개 또는 1 내지 10개 탄소 원자의 알킬 기가 바람직하다. 알킬 기의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 2-펜틸, 3-펜틸, 2-메틸-2-부틸, n-헥실, n-헵틸, n-옥틸, n-노닐, n-데실, 3-메틸-2-부틸, 3-메틸-1-부틸, 2-메틸-1-부틸, 1-헥실, 2-헥실, 3-헥실, 2-메틸-2-펜틸, 3-메틸-2-펜틸, 4-메틸-2-펜틸, 3-메틸-3-펜틸, 2-메틸-3-펜틸, 2,3-디메틸-2-부틸, 및 3,3-디메틸-2-부틸이다.

[0023] 단독인지 또는 또 다른 기의 일부인지에 관계없이, 치환될 경우, 알킬 기는 비제한적으로 하기를 포함한 하나 이상의 기, 바람직하게는 1 내지 3개의 기 (및 할로겐에서 선택되는 임의의 추가 치환기)에 의해 치환될 수 있다: 할로겐, -O-(C₁-C₈ 알킬), -O-(C₂-C₈ 알케닐), -O-(C₂-C₈ 알키닐), 아릴, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ 및 -CN (여기서 각각의 R'는 독립적으로 -H, -C₁-C₈ 알킬, -C₂-C₈ 알케닐, -C₂-C₈ 알키닐, 또는 아릴에서 선택됨).

[0024] 문맥상 다르게 표시되지 않는 한, "알케닐" 및 "알키닐"이라는 용어는 2 내지 20개의 탄소 원자를 가지는 (그 이내 범위 및 구체적인 탄소 원자 수의 모든 조합 및 하위조합을 가짐) (2 내지 3개, 2 내지 4개, 2 내지 8개 또는 2 내지 10개의 탄소 원자가 바람직함) 비치환 또는 임의 치환의 (표시되어 있음) 직쇄형 및 분지형 탄소 사슬을 지칭한다. 알케닐 사슬은 사슬 중에 하나 이상의 이중 결합을 가지며, 알키닐 사슬은 사슬 중에 하나 이상의 삼중 결합을 가진다. 알케닐 기의 예에는 에틸렌 또는 비닐, 알릴, -1 부테닐, -2 부테닐, -이소부테닐, -1 펜테닐, -2 펜테닐, 3-메틸-1-부테닐, -2 메틸 2 부테닐, 및 -2,3 디메틸 2 부테닐이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 알키닐 기의 예에는 아세틸레닉, 프로파르길, 아세틸레닐, 프로피닐, -1 부티닐, -2 부티닐, -1 펜티닐, -2 펜티닐, 및 -3 메틸 1 부티닐이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 단독인지 또는 또 다른 기의 일부인지에 관계없이, 치환될 경우, 알케닐 및 알키닐 기는 비제한적으로 하기를 포함한 하나 이상의 기, 바람직하게는 1 내지 3개의 기 (및 할로겐에서 선택되는 임의의 추가 치환기)에 의해 치환될 수 있다: 할로겐, -O-(C₁-C₈ 알킬), -O-(C₂-C₈ 알케닐), -O-(C₂-C₈ 알키닐), -아릴, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ 및 -CN (여기서 각각의 R'는 독립적으로 H, -C₁-C₈ 알킬, -C₂-C₈ 알케닐, -C₂-C₈ 알키닐, 또는 아릴에서 선택됨).

[0026] 문맥상 다르게 표시되지 않는 한, "알킬렌"이라는 용어는 1 내지 20개의 탄소 원자를 가지며 (그 이내 범위 및 구체적인 탄소 원자 수의 모든 조합 및 하위조합을 가짐) (1 내지 8개 또는 1 내지 10개의 탄소 원자가 바람직함), 모 알칸의 하나 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터의 2개 수소 원자의 제거에 의해 유도되는 2개의 1가 라디칼 중심을 가지는 비치환된 포화 분지쇄 또는 직쇄 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 통상적인 알킬렌에는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, 부틸렌, 펜틸렌, 헥실렌, 헵틸렌, 옥틸렌, 노닐렌, 데칼렌, 1,4-시클로헥실렌 등이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 단독인지 또는 또 다른 기의 일부인지에 관계없이, 치환될 경우, 알킬렌 기는 비제한적으로 하기를 포함한 하나 이상의 기, 바람직하게는 1 내지 3개의 기 (및 할로겐에서 선택되는 임의의 추가 치환기)에 의해 치환될 수 있다: 할로겐, -O-(C₁-C₈ 알킬), -O-(C₂-C₈ 알케닐), -O-(C₂-C₈ 알키닐), -아릴, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ 및 -CN (여기서 각각의 R'는 독립적으로 H, -C₁-C₈ 알킬, -C₂-C₈ 알케닐, -C₂-C₈ 알키닐, 또는 -아릴에서 선택됨).

- [0028] "알케닐렌"은 알케닐 기 (상기한 바와 같음)의 것으로써 모 알켄의 하나 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터의 2개 수소 원자의 제거에 의해 유도되는 2개의 1가 라디칼 중심을 가지는, 불포화 분지쇄 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. "알케닐렌" 기는 알케닐 기에 대하여 상기한 바와 같이, 치환되지 않거나 임의 치환 (표시되어 있음)될 수 있다. 일부 실시양태에서, "알케닐렌" 기는 치환되지 않는다.
- [0029] "알키닐렌"은 알키닐 기 (상기한 바와 같음)의 것으로써 모 알킨의 하나 또는 2개의 상이한 탄소 원자로부터의 2개 수소 원자의 제거에 의해 유도되는 2개의 1가 라디칼 중심을 가지는, 불포화 분지쇄 또는 직쇄 또는 시클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. "알키닐렌" 기는 알키닐 기에 대하여 상기한 바와 같이, 치환되지 않거나 임의 치환 (표시되어 있음)될 수 있다. 일부 실시양태에서, "알키닐렌" 기는 치환되지 않는다.
- [0030] 문맥상 다르게 표시되지 않는 한, "아릴"이라는 용어는 모 방향족 고리 시스템의 하나의 탄소 원자로부터의 하나의 수소 원자의 제거에 의해 유도되는 6-20개 탄소 원자의 (그 이내 범위 및 구체적인 탄소 원자 수의 모든 조합 및 하위조합을 가짐) 치환 또는 비치환된 1가 방향족 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 일부 아릴 기는 대표적인 구조에서 "Ar"로 표시된다. 통상적인 아릴 기에는 벤젠, 치환 벤젠, 페닐, 나프탈렌, 안트라센, 비페닐 등으로부터 유도되는 라디칼이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0031] 단독인지 또는 또 다른 기의 일부인지에 관계없이, 아릴 기는 비제한적으로 하기를 포함한 하나 이상, 바람직하게는 1 내지 5개, 또는 심지어는 1 내지 2개의 기에 의해 임의 치환될 수 있다: 할로젠, $-C_1-C_8$ 알킬, $-C_2-C_8$ 알케닐, $-C_2-C_8$ 알키닐, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-O-(C_2-C_8$ 알케닐), $-O-(C_2-C_8$ 알키닐), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-NO_2$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1-C_8$ 알킬, $-C_2-C_8$ 알케닐, $-C_2-C_8$ 알키닐, 또는 아릴에서 선택됨).
- [0032] 문맥상 다르게 표시되지 않는 한, "헤테로사이클"라는 용어는 3 내지 7개, 또는 3 내지 10개의 고리 원자 (고리 구성원으로도 지칭됨)를 가지며 하나 이상의 고리 원자는 N, O, P 또는 S에서 선택되는 헤테로원자인 (그 이내 범위, 및 구체적인 탄소 원자 및 헤테로원자 수의 모든 조합 및 하위조합을 가짐) 치환 또는 비치환된 모노시클릭 고리 시스템을 지칭한다. 헤테로사이클은 N, O, P 또는 S에서 독립적으로 선택되는 1 내지 4개의 고리 헤테로원자를 가질 수 있다. 헤테로사이클의 하나 이상의 N, C, 또는 S 원자는 산화될 수 있다. 모노시클릭 헤테로사이클은 바람직하게는 3 내지 7개의 고리 구성원 (예를 들면 2 내지 6개의 탄소 원자 및 N, O, P 또는 S에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3개의 헤테로원자)을 가진다. 헤테로원자를 포함하는 고리는 방향족 또는 비-방향족일 수 있다. 다르게 언급되지 않는 한, 헤테로사이클은 안정한 구조를 초래하는 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자에서 그의 펜던트 기에 결합된다.
- [0033] 헤테로사이클에 대해서는 문헌 [Paquette, "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968)], 특히 단원 1, 3, 4, 6, 7, 및 9; ["The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present)], 특히 권 13, 14, 16, 19, 및 28; 및 [J. Am. Chem. Soc. 82:5566 (1960)]에 기술되어 있다. "헤테로사이클" 기의 예에는 비제한적으로 예를 들자면 피리딘, 디히드로피리딘, 테트라히드로피리딘 (피페리딘), 티아졸릴, 피리미디닐, 푸라닐, 티에닐, 피롤릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 테트라졸릴, 푸코실, 아지르디닐, 아제티디닐, 옥시라닐, 옥세타닐, 및 테트라히드로푸라닐이 포함된다.
- [0034] 단독인지 또는 또 다른 기의 일부인지에 관계없이, 치환될 경우, 헤테로사이클 기는 비제한적으로 하기를 포함한 하나 이상의 기, 바람직하게는 1 내지 2개의 기에 의해 치환될 수 있다: $-C_1-C_8$ 알킬, $-C_2-C_8$ 알케닐, $-C_2-C_8$ 알키닐, 할로젠, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-O-(C_2-C_8$ 알케닐), $-O-(C_2-C_8$ 알키닐), $-아릴$, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1-C_8$ 알킬, $-C_2-C_8$ 알케닐, $-C_2-C_8$ 알키닐, 또는 아릴에서 선택됨).
- [0035] 비제한적으로 예를 들자면, 탄소-결합 헤테로사이클은 하기의 위치에서 결합될 수 있다: 피리딘의 2, 3, 4, 5, 또는 6 위치; 피리다진의 3, 4, 5, 또는 6 위치; 피리미딘의 2, 4, 5, 또는 6 위치; 피라진의 2, 3, 5, 또는 6 위치; 푸란, 테트라히드로푸란, 티오푸란, 티오펜, 피롤 또는 테트라히드로피롤의 2, 3, 4, 또는 5 위치; 옥사졸, 이미다졸 또는 티아졸의 2, 4, 또는 5 위치; 이속사졸, 피라졸 또는 이소티아졸의 3, 4, 또는 5 위치; 아지리딘의 2 또는 3 위치; 아제티딘의 2, 3, 또는 4 위치. 대표적인 탄소 결합 헤테로사이클에는 2-피리딘, 3-피

리딜, 4-피리딜, 5-피리딜, 6-피리딜, 3-피리다지닐, 4-피리다지닐, 5-피리다지닐, 6-피리다지닐, 2-피리미디닐, 4-피리미디닐, 5-피리미디닐, 6-피리미디닐, 2-피라지닐, 3-피라지닐, 5-피라지닐, 6-피라지닐, 2-티아졸릴, 4-티아졸릴, 또는 5-티아졸릴이 포함될 수 있다.

[0036] 비제한적으로 예를 들자면, 질소 결합 헤테로사이클에는 아지리딘, 아제티딘, 피롤, 피롤리딘, 2-피롤린, 3-피롤린, 이미다졸, 이미다졸리딘, 2-이미다졸린, 3-이미다졸린, 피라졸, 피라졸린, 2-피라졸린, 3-피라졸린, 피페리딘, 피페라진, 인돌, 인돌린 또는 1H-인다졸의 1 위치; 이소인돌 또는 이소인돌린의 2 위치; 및 모르폴린의 4 위치에서 결합될 수 있다. 더욱 더 통상적으로는, 질소 결합 헤테로사이클에는 1-아지리딜, 1-아제티딜, 1-피롤릴, 1-이미다졸릴, 1-피라졸릴, 및 1-피페리디닐이 포함된다.

[0037] 다르게 언급되지 않는 한, "카르보사이클"이라는 용어는 3 내지 6개의 고리 원자를 가지며 (그 이내 범위 및 구체적인 탄소 원자 수의 모든 조합 및 하위조합을 가짐) 모든 고리 원자가 탄소 원자인 치환 또는 비치환된 포화 또는 불포화 비-방향족 모노시클릭 고리 시스템을 지칭한다.

[0038] 단독인지 또는 또 다른 기의 일부인지에 관계없이, 치환될 경우, 카르보사이클 기는 예를 들면 비제한적으로 하기를 포함한 하나 이상의 기, 바람직하게는 1 또는 2개의 기 (및 할로겐에서 선택되는 임의의 추가 치환기)에 의해 임의 치환될 수 있다: 할로겐, $-C_1-C_8$ 알킬, $-C_2-C_8$ 알케닐, $-C_2-C_8$ 알키닐, $-O-(C_1-C_8$ 알킬), $-O-(C_2-C_8$ 알케닐), $-O-(C_2-C_8$ 알키닐), 아릴, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $=O$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ 및 $-CN$ (여기서 각각의 R' 는 독립적으로 H, $-C_1-C_8$ 알킬, $-C_2-C_8$ 알케닐, $-C_2-C_8$ 알키닐, 또는 아릴에서 선택됨).

[0039] 모노시클릭 카르보사이클 치환기의 예에는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 1-시클로펜트-1-에닐, 1-시클로펜트-2-에닐, 1-시클로펜트-3-에닐, 시클로헥실, 1-시클로헥스-1-에닐, 1-시클로헥스-2-에닐, 1-시클로헥스-3-에닐, 시클로헵틸, 시클로옥틸, -1,3-시클로헥사디에닐, -1,4-시클로헥사디에닐, -1,3-시클로헵타디에닐, -1,3,5-시클로헵타트리에닐, 및 -시클로옥타디에닐이 포함된다.

[0040] 임의의 구성요소 또는 임의의 화학식에서 소정의 변수가 1회를 초과하여 출현하는 경우, 각 출현시의 그의 정의는 다른 모든 것에서의 그의 정의와 무관하다. 치환기 및/또는 변수들의 조합은 해당 조합이 안정한 화합물을 초래하는 경우에만 허용된다.

[0041] 문맥상 다르게 표시되지 않는 한, 하이픈(-)은 펜던트 분자에 대한 결합 지점을 나타낸다. 따라서, $-(C_1-C_{10}$ 알킬렌)아릴" 또는 $-C_1-C_{10}$ 알킬렌(아릴)"이라는 용어는 알킬렌 라디칼이 알킬렌 라디칼의 임의의 탄소 원자에서 펜던트 분자에 결합되며, 알킬렌 라디칼의 탄소 원자에 결합되어 있는 수소 원자 중 하나가 본원에서 정의되는 바와 같은 아릴 라디칼로 치환된, 본원에서 정의되는 바와 같은 C_1-C_{10} 알킬렌 라디칼을 지칭한다.

[0042] 특정 기가 "치환되는" 경우, 그 기는 치환기 목록으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상의 치환기, 바람직하게는 1 내지 5개의 치환기, 더욱 바람직하게는 1 내지 3개의 치환체, 가장 바람직하게는 1 내지 2개의 치환기를 가질 수 있다. 그러나, 상기 기는 일반적으로는 할로겐에서 선택되는 어떠한 수의 치환기도 가질 수 있다.

[0043] 분자의 특정 위치에서의 임의의 치환기 또는 변수의 정의는 그 분자의 다른 곳에서의 그의 정의와 무관한 것으로 하고자 한다. 본 발명 화합물에서의 치환기 및 치환 양식은 활성이며 화학적으로 안정한 화합물 제공하고, 당업계에 알려져 있는 기술은 물론 본원에 제시되어 있는 방법들에 의해 용이하게 합성될 수 있도록, 당업자에 의해 선택될 수 있는 것으로 양해된다.

[0044] "제약상 허용되는"이라는 용어는 연방의 규제 기관 또는 주 정부에 의해 승인되었거나, 또는 동물, 더 구체적으로는 인간에서 사용하도록 U.S. 약전, 또는 기타 일반적으로 알려져 있는 약전에 목록화되어 있음을 의미한다. "제약상 상용성인 성분"이라는 용어는 푸코스 유사체가 함께 투여되는 제약상 허용되는 희석제, 아주반트, 부형제, 또는 비히클을 지칭한다.

[0045] "소형 전자-끄는 기"는 치환기 결합 부위에서 예를 들면 수소 원자 또는 히드록시 기에 비해, 또는 푸코스의 그 부위에 존재하는 치환기에 비해 더 큰 전기음성도를 가지는 임의의 치환기를 지칭한다. 일반적으로, 소형 전자-끄는 기는 10개 이하의 원자 (수소가 아닌 다른 것)를 가지는데, 여기에는 니트로; 시아노 및 시아노알킬 (예컨대 $-CH_2CH_2CN$); 할로겐; 아세틸렌 또는 기타 알킨 또는 할로 알킨 (예컨대 $-C\equiv CCF_3$); 알켄 또는 할로 알켄; 알렌; 카르복실산, 그의 에스테르, 아마이드 및 할로 치환 형태; 술폰산 및 포스폰산, 그의 에스테르 및 아마이드,

및 할로 치환 형태; 할로알킬 기 (예컨대 $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$), 아실 및 할로아실 기 (예컨대 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 및 $-\text{C}(\text{O})\text{CF}_3$); 알킬술폰닐 및 할로알킬술폰닐 (예컨대 $-\text{S}(\text{O})_2\text{알킬}$ 및 $-\text{S}(\text{O})_2\text{할로알킬}$); 아릴옥시 (예컨대 페녹시 및 치환 페녹시); 아랄킬옥시 (예컨대 벤질옥시 및 치환 벤질옥시); 그리고 옥시란과 같은 기들이 포함된다. 바람직한 소형 전자-끄는 기는 8, 7 또는 6개 또는 그 이하의 원자 (수소가 아닌 다른 것)를 가지는 것들이다.

[0046] 푸코스 유사체는 통상적으로 원치않는 오염물로부터 실질적으로 순수하다. 이는 유사체가 통상적으로 약 50% w/w (중량/중량) 이상의 순도임은 물론, 방해 단백질 및 기타 오염물이 실질적으로 없음을 의미한다. 때로는 작용제는 약 80% w/w 이상, 더욱 바람직하게는 90% 또는 약 95% w/w 이상의 순도이다. 통상적인 정제 기술을 사용하면, 99% w/w 이상의 균질한 생성물이 수득될 수 있다.

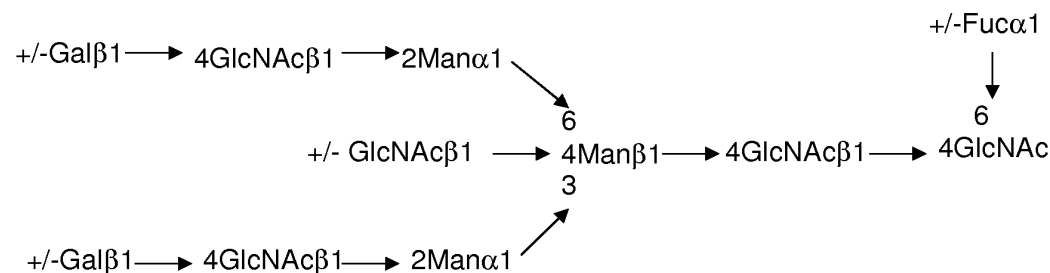
[0047] 일반사항

[0048] 본 발명은 동물에서 단백질 푸코실화를 감소시키기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 방법은 부분적으로 푸코스 유사체를 대상체 (예컨대 포유동물)에게 투여하는 것이 코어 푸코실화가 감소된 항체 또는 항체 유도체, 및 역시 푸코실화가 감소된 다른 단백질들을 초래한다는 것을 나타내는 실시예에 제시되어 있는 예상치 못한 결과를 바탕으로 한다. 단백질 맥락에서의 "감소된 푸코실화"는 일반적으로 $\alpha(1,2)-$, $\alpha(1,3)-$, $\alpha(1,4)-$ 및 $\alpha(1,6)-$ 결합을 통한 글리칸에의 푸코스 첨가의 감소를 지칭한다. 항체 맥락에서의 "코어 푸코실화"는 항체의 N-연결 글리칸의 환원 말단에서의 N-아세틸글루코사민 ("GlcNAc")에 대한 푸코스의 첨가 ("푸코실화")를 지칭한다. 항체 맥락에서의 "감소된 코어 푸코실화"는 항체의 N-연결 글리칸의 환원 말단에서의 N-아세틸글루코사민 ("GlcNAc")에 결합된 푸코스의 미처리 동물과 비교하였을 때의 감소를 지칭한다.

[0049] 본원에서 기술되는 다양한 측면에서, 푸코스 유사체가 투여되는 동물은 통상적으로 포유동물이며, 바람직하게는 인간이다. 따라서, 본 발명은 추가적으로 인간과 같은 포유동물에서 단백질 푸코실화를 감소시키기 위한 방법 및 조성물을 제공한다.

[0050] 다른 측면에서는, 유효량의 푸코스 유사체(들)가 동물에의 투여에 적합한 부형제와 혼합되어 있는, 푸코스 유사체와 제약 부형제의 제약 조성물이 제공된다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 임의로 장기 저장을 위하여 조성물 안정성을 향상시키는 안정화제를 포함하는 건조 형태 (예컨대 동결건조됨)이다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체와 제약 부형제의 제약 조성물은 포유동물에의 투여용으로 제제화된다. 일부 추가적인 실시양태에서, 푸코스 유사체와 제약 부형제의 제약 조성물은 인간에의 투여용으로 제제화된다.

[0051] 일부 실시양태에서는, 항체 Fc 영역 (또는 도메인)에 결합된 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬의 푸코실화가 감소된다. 본원에서 사용될 때, "복합 N-글리코시드-연결 당 사슬"은 통상적으로는 아스파라긴 297 (카바트 (Kabat)의 번호지정 시스템에 따름)에 결합되지만, 다른 아스파라긴 잔기에 복합 N-글리코시드 연결 당 사슬이 결합될 수도 있다. 본원에서 사용될 때, 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬은 주로 하기의 구조를 가지는 2안테나형(biantennary) 복합 당 사슬을 가진다:



[0052]

[0053] (여기서 \pm 는 당 분자가 존재하거나 부재할 수 있음을 표시하며, 숫자는 당 분자들 사이 결합의 위치를 표시함). 상기 구조에서, 아스파라긴에 결합되는 당 사슬 말단은 환원 말단 (우측임)으로 지칭되며, 반대 측은 비-환원 말단으로 지칭된다. 푸코스는 보통 통상적으로 $\alpha 1,6$ 결합 (GlcNAc의 6-위치가 푸코스의 1-위치에 결합됨)에 의해 환원 말단의 N-아세틸글루코사민 ("GlcNAc")에 결합된다. "Gal"은 갈락토스를 지칭하며, "Man"은 만노스를 지칭한다.

[0054] "복합 N-글리코시드-연결 당 사슬"에는 코어 구조의 비-환원 말단에 만노스만이 도입되어 있는 고만노스(high mannose) 유형의 당 사슬은 배제되나, 1) 코어 구조의 비-환원 말단 측이 하나 이상의 갈락토스-N-아세틸글루코사민 ("gal-GlcNAc"로도 지칭됨)의 분지를 가지며, Gal-GlcNAc의 비-환원 말단 측이 임의로 N-아세틸글루코사민 등을 양분하는 시알산을 가지는 복합 유형; 또는 2) 코어 구조의 비-환원 말단 측이 고만노스 N-글리코시드-연

결 당 사슬의 분지 및 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬 모두를 가지는 혼성 유형은 포함된다.

- [0055] 일부 실시양태에서는, "복합 N-글리코시드-연결 당 사슬"에는 코어 구조의 비-환원 말단 측이 0개, 1개 또는 그 초과인 갈락토스-N-아세틸글루코사민 ("gal-GlcNAc"로도 지칭됨)의 분지를 가지며, Gal-GlcNAc의 비-환원 말단 측이 추가적으로 임의로 N-아세틸글루코사민 등을 양분하는 시알산과 같은 구조를 가지는 복합 유형은 포함되나, 고만노스 성분을 가지는 사슬은 배제된다.
- [0056] 본 발명의 방법에 따르면, 푸코스 유사체의 투여 후, 통상적으로 미량의 푸코스만이 당 사슬(들) (예컨대 글리칸 또는 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬)에 도입된다. 예를 들면, 다양한 실시양태에서, 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물) 혈청 중 약 60% 미만, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 또는 약 1% 미만의 항체가 코어 푸코실화된다. 일부 실시양태에서는, 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 혈청 내 항체 중 실질적으로 어떤 것도 (즉 0.5% 미만) 코어 푸코실화되지 않는다.
- [0057] 일부 실시양태에서, 단백질 푸코실화는 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물)의 세포 표면 단백질에 있어서 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1% 감소되어 푸코실화된다. 일부 실시양태에서는, $\alpha(1,2)$ -결합을 통한 단백질 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물)의 세포 표면 단백질에 있어서 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1% 감소되어 푸코실화된다.
- [0058] 일부 실시양태에서는, $\alpha(1,3)$ -결합을 통한 단백질 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물)의 세포 표면 단백질에 있어서 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1% 감소되어 푸코실화된다. 일부 실시양태에서는, $\alpha(1,4)$ -결합을 통한 단백질 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물)의 세포 표면 단백질에 있어서 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1% 감소되어 푸코실화된다.
- [0059] 일부 실시양태에서는, $\alpha(1,6)$ -결합을 통한 단백질 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물)의 세포 표면 단백질에 있어서 약 60%, 약 50%, 약 40%, 약 30%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 또는 약 1% 감소되어 푸코실화된다.
- [0060] 일부 실시양태에서는, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물) 혈청에서의 백혈구의 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 이상, 약 50% 이상, 약 40% 이상, 약 30% 이상, 약 20% 이상, 약 15% 이상, 약 10% 이상, 또는 약 5% 이상 감소된다. 일부 실시양태에서는, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물) 혈청에서의 백혈구의 $\alpha(1,3)$ 결합을 통한 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 이상, 약 50% 이상, 약 40% 이상, 약 30% 이상, 약 20% 이상, 약 15% 이상, 약 10% 이상, 또는 약 5% 이상 감소된다. 일부 실시양태에서는, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물) 혈청에서의 백혈구의 $\alpha(1,4)$ 결합을 통한 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 이상, 약 50% 이상, 약 40% 이상, 약 30% 이상, 약 20% 이상, 약 15% 이상, 약 10% 이상, 또는 약 5% 이상 감소된다.
- [0061] 일부 실시양태에서는, 동물 (예컨대 인간과 같은 포유동물) 혈청에서의 항체의 푸코실화가 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 이상, 약 50% 이상, 약 40% 이상, 약 30% 이상, 약 20% 이상, 약 15% 이상, 약 10% 이상, 또는 약 5% 이상 감소된다.
- [0062] 소정 실시양태에서는, 미량의 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 대사물 또는 생성물)만이 항체, 항체 유도체 또는 기타 단백질 중 글리칸의 글리칸 (예컨대 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬(들))에 도입된다. 예를 들면, 다양한 실시양태에서, 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 또는 약 1% 미만의 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 대사물 또는 생성물)가 동물 혈청 중 항체의 글리칸으로 도입된다. 일부 실시양태에서는, 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 또는 약 1% 미만의 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 대사물 또는 생성물)가 동물의 세포 표면 단백질의 글리칸으로 도입된다.
- [0063] 일부 실시양태에서는, 푸코스 유사체를 투여받지 않는 동물과 비교하였을 때, 약 60% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 또는 약 1% 미만의 푸코스 유사체 (또는 푸코

스 유사체의 대사물 또는 생성물)가 동물 혈청 중 백혈구의 글리칸으로 도입된다.

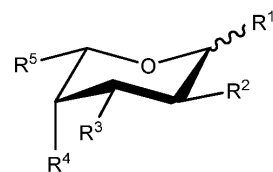
[0064] **푸코스 유사체**

[0065] 본 발명의 방법에 적합한 푸코스 유사체 (하기에 화학식 I, II, III, IV, V 및 VI로 확인되어 있음)는 항체 또는 항체 유도체의 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬의 코어 푸코실화를 억제하는 데에 효과적인 양으로 포유동물에게 안전하게 투여될 수 있는 것들이다. 시험관 내에서 숙주 세포에 의해 생성되는 항체 또는 항체 유도체의 복합 N-글리코시드-연결 당 사슬로의 푸코스의 도입을 감소시키는 푸코스 유사체가 공개된 US 특허 출원 2009-0317869에 기술되어 있다. 상기 푸코스 유사체는 비경구, 경구 또는 기타 적합한 투여 양식에 의해 대상 동물 (예컨대 포유동물)에게 제공될 수 있다.

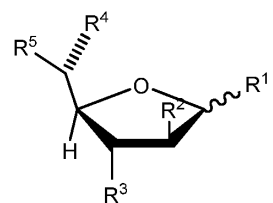
[0066] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 세포내 대사물 또는 생성물)는 푸코스 재이용 경로 (fucose salvage pathway)의 효소(들)를 억제한다. (본원에서 사용될 때, 세포내 대사물은 예를 들면 GDP-변형 유사체, 또는 완전히 또는 부분적으로 탈-에스테르화된 유사체일 수 있음. 생성물은 예를 들면 완전히 또는 부분적으로 탈-에스테르화된 유사체일 수 있음). 예를 들면, 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 세포내 대사물 또는 생성물)는 푸코키나제, 또는 GDP-푸코스-피로포스포릴라제의 활성을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 세포내 대사물 또는 생성물)는 푸코실트랜스퍼라제 (예컨대 1,2-푸코실트랜스퍼라제, 1,3-푸코실트랜스퍼라제, 1,4-푸코실트랜스퍼라제, 또는 1,6-푸코실트랜스퍼라제 (예컨대 FUT8 단백질))를 억제한다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 세포내 대사물 또는 생성물)는 푸코스의 신규(de novo) 합성 경로 내의 효소 활성을 억제할 수 있다. 예를 들면, 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 세포내 대사물 또는 생성물)는 GDP-만노스 4,6-데히드라타제 또는/또는 GDP-푸코스 신테타제의 활성을 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체 (또는 푸코스 유사체의 세포내 대사물 또는 생성물)는 푸코스 수송체 (예컨대 GDP-푸코스 수송체)를 억제할 수 있다.

[0067] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 하기의 화학식 I 또는 II를 가지거나, 유사체의 생물학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이며, 여기서 화학식 I 또는 II 각각은 알파 또는 베타 아노머 또는 상응하는 알도스 형태일 수 있다.

[0068] <화학식 I>



[0070] <화학식 II>



[0072] 상기 화학식에서, R^1 - R^4 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬, -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐, -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(아릴), -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(헤테로사이클), -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-트리- C_1 - C_3 알킬 실릴, -OC₁- C_{10} 알킬, -OCH₂OC(O) 알킬, -OCH₂OC(O) 알케닐, -OCH₂OC(O) 알키닐, -OCH₂OC(O) 아릴, -OCH₂OC(O) 헤테로사이클, -OCH₂OC(O)O 알킬, -OCH₂OC(O)O 알케닐, -OCH₂OC(O)O 알키닐, -OCH₂OC(O)O 아릴 및 -OCH₂OC(O)O 헤테로사이클로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 n은 0-5에서 독립적으로 선택되는 정수이고; R^5 는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (여기서 X는 F, Br, Cl 또는 I임),

-CHX₂ (여기서 각각의 X는 F, Br 또는 Cl임) 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0073] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중: R¹-R⁴ 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(아릴), -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O)CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -OC(O)CH₂CH₂O(CH₂CH₂O)_nCH₃, -O-트리-C₁-C₃ 실릴, -OC₁-C₁₀ 알킬, -OCH₂OC(O) 알킬, -OCH₂OC(O)O 알킬, -OCH₂OC(O) 아릴, 및 -OCH₂OC(O)O 아릴로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 n은 0-5에서 독립적으로 선택되는 정수이고; R⁵는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (여기서 X는 F, Br, Cl 또는 I임), -CHX₂ (여기서 각각의 X는 F, Br 또는 Cl임) 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0074] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R¹-R⁴ 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬, -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐, -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(아릴), -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐렌(아릴), -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐렌(아릴), -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R⁵는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (여기서 X는 F, Br, Cl 또는 I임), -CHX₂ (여기서 각각의 X는 F, Br 또는 Cl임) 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0075] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R¹-R⁴ 각각은 -O-트리-C₁-C₃ 실릴 및 -OC₁-C₁₀ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R⁵는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (여기서 X는 Br, Cl 또는 I임), 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0076] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중: R¹-R⁴ 각각은 -OCH₂OC(O) 알킬, -OCH₂OC(O) 알케닐, -OCH₂OC(O) 알키닐, -OCH₂OC(O) 아릴, -OCH₂OC(O) 헤테로사이클, -OCH₂OC(O)O 알킬, -OCH₂OC(O)O 알케닐, -OCH₂OC(O)O 알키닐, -OCH₂OC(O)O 아릴 및 -OCH₂OC(O)O 헤테로사이클로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R⁵는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, -CH₂X (여기서 X는 F, Br, Cl 또는 I임), -CHX₂ (여기서 각각의 X는 F, Br 또는 Cl임) 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0077] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R¹-R⁴ 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬, -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐, -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(아릴), -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐렌(아릴), -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐렌(아릴), -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R⁵는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂C≡CH, -C(O)OCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CN, -CH₂CN, 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0078] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R¹-R⁴ 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬, -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐, -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(아릴), -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐렌(아릴), -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐렌(아릴), -OC(O)C₁-C₁₀ 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O)C₂-C₁₀ 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O)C₂-C₁₀ 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R⁵는 -CH₂F, -CH₂I, -CH₂Br, 및 -CH₂Cl로 이루어진 군에서 선택된다.

- [0079] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬, -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐, -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(아릴), -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R^5 는 -CHF₂, -CHBr₂, 및 -CHCl₂로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0080] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬, -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐, -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(아릴), -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R^5 는 -C≡CH, -C≡CCH₃ 및 -CH₂C≡CH로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0081] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬, -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐, -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(아릴), -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R^5 는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -(CH₂)_n(CN) (여기서 n = 0 또는 1임) 및 -CO(O)CH₃으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0082] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬, -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐, -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(아릴), -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R^5 는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH₂CN 및 -CO(O)CH₃으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0083] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH, -OC(O)H, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬, -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐, -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐, -OC(O)아릴, -OC(O)헤테로사이클, -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(아릴), -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(아릴), -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬렌(헤테로사이클), -OC(O) C_2 - C_{10} 알케닐렌(헤테로사이클), 및 -OC(O) C_2 - C_{10} 알키닐렌(헤테로사이클)로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, R^5 는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CH₂CN, 및 -CO(O)CH₃으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^5 는 본원에서 정의되는 바와 같고, R^1 - R^4 각각은 히드록실 또는 -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬이다.
- [0085] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^5 는 본원에서 정의되는 바와 같고, R^1 - R^4 각각은 히드록실 또는 -OAc이다.
- [0086] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH 및 -OC(O) C_1 - C_{10} 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 -C≡CH, -C≡CCH₃, -CH(OAc)CH₃, -CH₂CN, -CO(O)CH₃, -CH₂F 및 -CHF₂로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0087] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1 - R^4 각각은 -OH 및 -OAc로 이루어진

군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-CH(OAc)CH_3$, $-CH_2CN$, $-CO(O)CH_3$, $-CH_2F$ 및 $-CHF_2$ 로 이루어진 군에서 선택된다.

[0088] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-C\equiv CH$, $-CH_2F$ 및 $-CHF_2$ 로 이루어진 군에서 선택된다.

[0089] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OAc$ 로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-C\equiv CH$, $-CH_2F$ 및 $-CHF_2$ 로 이루어진 군에서 선택된다.

[0090] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-C\equiv CH$ 이다.

[0091] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OAc$ 로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-C\equiv CH$ 이다.

[0092] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-CHF_2$ 이다.

[0093] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OAc$ 로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-CHF_2$ 이다.

[0094] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 이거나, 또는 $-OC(O)H$, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알키닐, $-OC(O)$ 아릴, $-OC(O)$ 헤테로사이클, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알키닐렌(아릴), $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알키닐렌(헤테로사이클), $-OC(O)CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$ (여기서 n 은 0-5임), 및 $-OC(O)CH_2CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$ (여기서 n 은 0-5임)로 이루어진 군에서 선택되는 에스테르이고; R^5 는 $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-CH_2C\equiv CH$, $-C(O)OCH_3$, $-CH(OAc)CH_3$, $-CN$, $-CH_2CN$, $-CH_2X$ (여기서 X 는 F, Br, Cl 또는 I임), $-CHX_2$ (여기서 각각의 X 는 F, Br 또는 Cl임) 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택된다.

[0095] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-CH_2X$ (여기서 X 는 F, Br, Cl 또는 I임)이다.

[0096] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OAc$ 로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-CH_2X$ (여기서 X 는 F, Br, Cl 또는 I임)이다.

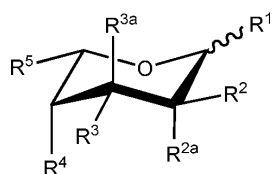
[0097] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-CH_2Br$ 이다.

[0098] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학식 I 또는 II를 가지며, 식 중 R^1-R^4 각각은 $-OH$ 및 $-OAc$ 로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고; R^5 는 $-CH_2Br$ 이다.

[0099] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 2000 달톤 미만의 분자량을 가진다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 1000 달톤 미만의 분자량을 가진다.

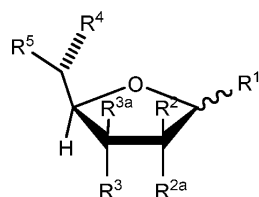
- [0100] 일부 실시양태에서, R^5 는 치환되지 않는다.
- [0101] 일부 실시양태에서, 각 R^1 - R^4 는 치환되지 않는다.
- [0102] 일부 실시양태에서, R^5 는 케톤 ($-C(O)$ 알킬)이 아니다.
- [0103] 일부 실시양태에서, R^5 는 $-CH(CH_3)OAc$ 가 아니다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 각 R^1 - R^4 가 $-OAc$ 인 경우, R^5 는 $-CH(CH_3)OAc$ 가 아니다.
- [0105] 일부 실시양태에서, R^5 는 $-C\equiv CH$ 가 아니다.
- [0106] 일부 실시양태에서, R^1 - R^4 중 어느 것이 $-OAc$ 인 경우, R^5 는 $-C\equiv CH$ 가 아니다.
- [0107] 일부 실시양태에서, R^1 - R^4 중 어느 것이 $-OC(O)$ 알킬인 경우, R^5 는 $-C\equiv CH$ 가 아니다.
- [0108] 일부 실시양태에서, 각 R^1 - R^4 가 $-OC(O)$ 알킬인 경우, R^5 는 $-C\equiv CH$ 가 아니다.
- [0109] 일부 실시양태에서, 각 R^1 - R^4 가 OH 인 경우, R^5 는 $-C\equiv CH_3$ 이 아니다.
- [0110] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 알키닐 푸코스 피아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 알키닐 푸코스 트리아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 알키닐 푸코스 디아세테이트이다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 알키닐 푸코스 피아세테이트, 알키닐 푸코스 트리아세테이트 및 알키닐 푸코스 디아세테이트의 혼합물이다.
- [0111] 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 알키닐 푸코스 피아세테이트, 알키닐 푸코스 트리아세테이트, 알키닐 푸코스 디아세테이트 및 알키닐 푸코스 모노아세테이트의 혼합물이다.
- [0112] 다양한 실시양태들 중 어느 것에서, 푸코스 유사체는 푸코스가 아니다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 알키닐 푸코스 피아세테이트가 아니다. 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 갈락토스 또는 L-갈락토스가 아니다.
- [0113] 또 다른 실시양태 군에서, 푸코스 유사체는 하기의 화학식 III 또는 IV를 가지거나, 그의 생물학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이며, 여기서 화학식 III 또는 IV 각각은 알파 또는 베타 아노머 또는 상응하는 알도스 형태일 수 있다.

[0114] <화학식 III>



[0115]

[0116] <화학식 IV>



[0117]

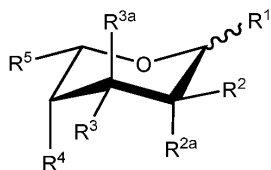
[0118] 상기 식에서, R^1 - R^4 각각은 플루오로, 클로로, $-OH$, $-OC(O)H$, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알키닐, $-OC(O)$ 아릴, $-OC(O)$ 헤테로사이클, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알키닐(아릴), $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(헤테로

사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐렌(헤테로사이클), $-OCH_2OC(O)$ 알킬, $-OCH_2OC(O)O$ 알킬, $-OCH_2OC(O)$ 아릴, $-OCH_2OC(O)O$ 아릴, $-OC(O)CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$, $-OC(O)CH_2CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$, $-O$ -트리- C_1-C_3 알킬실릴 및 $-OC_1-C_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 n 은 0-5에서 독립적으로 선택되는 정수이고;

- [0119] R^{2a} 및 R^{3a} 각각은 H, F 및 Cl로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고;
- [0120] R^5 는 $-CH_3$, $-CHF_2$, $-CH=C=CH_2$, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-CH_2C\equiv CH$, $-C(O)OCH_3$, $-CH(OAc)CH_3$, $-CN$, $-CH_2CN$, $-CH_2X$ (여기서 X는 F, Br, Cl 또는 I임), 및 메톡시란으로 이루어진 군에서 선택되고;
- [0121] R^5 가 $-CH=C=CH_2$, $-CH_2F$ 또는 $-CHF_2$ 가 아닌 다른 것인 경우, R^1 , R^2 , R^3 , R^{2a} 및 R^{3a} 중 하나 이상은 플루오로 또는 클로로이다.
- [0122] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 은 F이다.
- [0123] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^2 는 F이다.
- [0124] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^3 는 F이다.
- [0125] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 및 R^2 는 각각 F이다.
- [0126] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^2 및 R^{2a} 는 각각 F이다.
- [0127] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬에서 각각 독립적으로 선택되며; R^2 는 F이고; R^5 는 $-CH_3$ 이다.
- [0128] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OAc$ 에서 각각 독립적으로 선택되며; R^2 는 F이고; R^5 는 $-CH_3$ 이다.
- [0129] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬에서 각각 독립적으로 선택되며; R^2 는 F이고; R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 H이며; R^5 는 $-CH_3$ 이다.
- [0130] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OAc$ 에서 각각 독립적으로 선택되며; R^2 는 F이고; R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 H이며; R^5 는 $-CH_3$ 이다.
- [0131] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬에서 각각 독립적으로 선택되며; R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 H이고; R^5 는 $-CHF_2$ 이다.
- [0132] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OAc$ 에서 각각 독립적으로 선택되며; R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 H이고; R^5 는 $-CHF_2$ 이다.
- [0133] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬에서 각각 독립적으로 선택되며; R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 H이고; R^5 는 $-CH_2F$ 이다.
- [0134] 화학식 III 또는 IV의 일부 실시양태에서, R^1 , R^2 , R^3 및 R^4 는 $-OH$ 및 $-OAc$ 에서 각각 독립적으로 선택되며; R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 H이고; R^5 는 $-CH_2F$ 이다.
- [0135] 또 다른 실시양태 군에서, 푸코스 유사체는 하기의 화학식 V 또는 VI를 가지거나, 그의 생물학적으로 허용되는 염 또는 용매화물이며, 여기서 화학식 V 또는 VI 각각은 알파 또는 베타 아노머 또는 상응하는 알도스 형태일

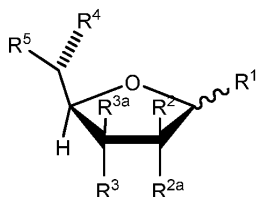
수 있고, 생체 내에서 생성되는 단백질, 항체 또는 항체 유도체는 푸코스 유사체의 부재하에 생체 내에서 생성되는 단백질, 항체 또는 항체 유도체에 비해 푸코실화가 감소된다.

[0136] <화학식 V>



[0137]

[0138] <화학식 VI>



[0139]

[0140] 상기 식에서, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 , R^{3a} 및 R^4 각각은 $-OH$, $-OC(O)H$, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐, $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐, $-OC(O)$ 아릴, $-OC(O)$ 헤테로사이클, $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(아릴), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐렌(아릴), $-OC(O)C_1-C_{10}$ 알킬렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알케닐렌(헤테로사이클), $-OC(O)C_2-C_{10}$ 알킬닐렌(헤테로사이클), $-OCH_2OC(O)$ 알킬, $-OCH_2OC(O)O$ 알킬, $-OCH_2OC(O)$ 아릴, $-OCH_2OC(O)O$ 아릴, $-OC(O)CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$, $-OC(O)CH_2CH_2O(CH_2CH_2O)_nCH_3$, $-O$ -트리- C_1-C_3 알킬실릴, $-OC_1-C_{10}$ 알킬, 및 소형 전자 Π 는 기로 이루어진 군에서 독립적으로 선택되고, 여기서 각각의 n 은 0-5에서 독립적으로 선택되는 정수이고;

[0141] R^5 는 $-CH_3$, $-CHX_2$, $-CH_2X$, 비치환이거나 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_1-C_4$ 알킬, 비치환이거나 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_2-C_4$ 알켄, 비치환이거나 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_2-C_4$ 알킨, $-CH=C(R^{10})(R^{11})$, $-C(CH_3)=C(R^{12})(R^{13})$, $-C(R^{14})=C=C(R^{15})(R^{16})$, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 $-C_3$ 카르보사이클, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_3$ 카르보사이클, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 C_3 헤테로사이클, 비치환이거나 메틸 또는 할로겐으로 치환된 $-CH(X')-C_3$ 헤테로사이클, $-CH_2N_3$, $-CH_2CH_2N_3$, 및 벤질옥시메틸로 이루어진 군에서 선택되는 구성원이거나, 또는 R^5 는 소형 전자 Π 는 기이고; 여기서 R^{10} 은 수소, 또는 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고; R^{11} 은 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고; R^{12} 는 수소, 할로겐, 또는 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고; R^{13} 은 수소, 또는 비치환이거나 할로겐으로 치환된 C_1-C_3 알킬이고; R^{14} 는 수소 또는 메틸이고; R^{15} 및 R^{16} 은 수소, 메틸 및 할로겐에서 독립적으로 선택되고; X 는 할로겐이고; X' 는 할로겐 또는 수소이고;

[0142] 추가적으로, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 및 R^{3a} 각각은 임의로 수소이고; 임의로, 인접 탄소 원자 상의 2개의 R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 및 R^{3a} 가 조합되어 상기 인접 탄소 원자 간에 이중 결합을 형성하고;

[0143] 단, (i) R^2 및 R^{2a} 가 모두 수소이거나, (ii) R^3 및 R^{3a} 가 모두 수소이거나, (iii) R^1 이 수소이거나, (iv) 상기 인접 탄소 원자 간에 이중 결합이 존재하거나, 또는 (v) R^5 가 벤질옥시메틸인 경우를 제외하고는, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 , R^{3a} , R^4 및 R^5 중 하나 이상은 소형 전자 Π 는 기이거나, 또는 R^5 는 할로겐, 불포화 부위, 카르보사이클, 헤테로사이클 또는 아지드를 포함한다.

[0144] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, R^{2a} 및 R^{3a} 는 각각 수소이다.

- [0145] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, R^5 는 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}=\text{CHCH}_3$, -시클로프로필, -옥시란, 메틸로 치환된 -옥시란, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{CH}_2\text{I}$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}=\text{C}=\text{CH}_2$, $-\text{CH}_2\text{N}_3$ 및 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ 으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0146] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, 소형 전자 Π 는 기는 플루오로, 클로로, 브로모, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}=\text{C}=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{CCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1-\text{C}_4$ 알킬, $-\text{CH}(\text{OAc})\text{CH}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{X}$ (여기서 X는 Br, Cl 또는 I임) 및 메톡시란에서 선택된다.
- [0147] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, R^5 는 $-\text{CH}_3$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CH}_2\text{Br}$, 및 $-\text{CHF}_2$ 로 이루어진 군에서 선택된다. 일부 다른 실시양태에서, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 , R^{3a} 및 R^4 각각은 $-\text{OH}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{H}$, 및 $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_1-\text{C}_{10}$ 알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택된다.
- [0148] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, 소형 전자 Π 는 기는 플루오로, 클로로, 브로모, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}=\text{C}=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{CCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OC}_1-\text{C}_4$ 알킬, $-\text{CH}(\text{OAc})\text{CH}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{X}$ (여기서 X는 Br, Cl 또는 I임) 및 메톡시란에서 선택된다.
- [0149] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, R^1 , R^2 , R^{2a} , R^3 , R^{3a} 및 R^4 중 2개 이상은 독립적으로 선택된 소형 전자 Π 는 기이다.
- [0150] 화학식 V 및 VI의 일부 실시양태에서, 푸코스 유사체는 표 1, 2 또는 3의 화합물들에서 선택된다.
- [0151] **제약 조성물**
- [0152] 화학식 I, II, III, IV, V 및 VI의 푸코스 유사체 (이하 "푸코스 유사체")는 치료 적용을 위하여 제제화될 수 있다. 푸코스 유사체는 치료적 또는 예방적 유효량의 푸코스 유사체 및 1종 이상의 제약상 상용성인 (허용되는) 성분을 포함하는 제약 조성물로 제제화될 수 있다. 예를 들어, 제약 또는 비-제약 조성물은 통상적으로 1종 이상의 담체 (예를 들면 멸균 액체, 예컨대 물, 그리고 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들을 포함한 오일, 예컨대 땅콩 오일, 대두 오일, 미네랄 오일, 참깨 오일 등)를 포함한다. 제약 조성물이 정맥내로 투여되는 경우에는, 물이 좀 더 통상적인 담체이다. 염수 용액 및 수성 텍스트로스와 및 글리세롤 용액 역시 특히 주사가능 용액을 위한 액체 담체로서 사용될 수 있다. 적합한 부형제에는 예를 들면 아미노산, 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아르산나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다. 원할 경우, 조성물은 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수도 있다. 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 환제, 캡슐, 분말, 지속-방출 제제 등의 형태를 취할 수 있다. 적합한 제약 담체의 예가 이.더블유. 마틴(E.W. Martin)의 문헌 ["Remington's Pharmaceutical Sciences"]에 기술되어 있다. 그와 같은 조성물은 통상적으로 환자에의 적정한 투여를 위한 형태를 제공하도록, 적합한 양의 담체와 함께, 보통 정제된 형태인 치료 유효량의 푸코스 유사체를 함유하게 된다. 제제는 투여 양식에 부합한다.
- [0153] 본원에서 기술되는 제약 조성물은 조성물이 동물 (예컨대 포유동물)에게 투여되는 것을 가능케 하는 임의의 형태일 수 있다. 본원에서 기술되는 제약 조성물은 조성물이 포유동물에게 투여되는 것을 가능케 하는 임의의 형태일 수 있다. 본원에서 기술되는 제약 조성물은 조성물이 인간에게 투여되는 것을 가능케 하는 임의의 형태일 수 있다.
- [0154] 조성물은 고체 또는 액체의 형태일 수 있다. 통상적인 투여 경로에는 비제한적으로 경구, 비경구, 설하, 및 안구의 것이 포함된다. 비경구 투여에는 피하 주사, 정맥내, 근육내, 흉골내 주사 또는 주입 기술들이 포함된다. 바람직하게는, 조성물은 비경구 또는 경구로 투여된다. 본 제약 조성물은 동물에 대한 조성물의 투여시 푸코스 유사체가 생체이용가능하게 되는 것을 가능케 하도록 제제화될 수 있다. 조성물은 하나 이상 투여 단위의 형태를 취할 수도 있는데, 이 경우 예를 들면 정제는 단일 투여 단위일 수 있으며, 고체 형태인 푸코스 유사체의 용기가 다수의 투여 단위들을 보유하고 있을 수 있다.
- [0155] 제약 조성물을 제조하는 데에 사용되는 물질은 사용되는 양에서 비-독성일 수 있다. 제약 조성물에서의 활성 성분(들)의 최적 투여량이 다양한 요인들에 따라 달라지게 된다는 것은 당업자에게는 당연한 것일 것이다. 관련 요인에는 비제한적으로 동물의 유형 (예컨대 인간), 구체적인 푸코스 유사체의 형태, 투여 방식, 사용되는

조성물, 및 치료되는 질환 또는 이상의 중증도가 포함된다.

- [0156] 제약상 허용되는 담체 또는 비히클은 미립자이고, 그에 따라 조성물은 예를 들면 정제 또는 분말 형태일 수 있다. 담체(들)는 액체이고, 조성물은 예를 들면 경구 시럽 또는 주사가능 액체일 수 있다.
- [0157] 경구 투여를 의도하는 경우, 조성물은 바람직하게는 고체 또는 액체 형태이며, 여기서 고체 또는 액체 중 어느 하나로서 본원에서 고려되는 형태에는 반-고체, 반-액체, 현탁액 및 겔 형태가 포함된다.
- [0158] 경구 투여용 고체 조성물로서, 조성물은 분말, 과립, 압축 정제, 환제, 캡슐, 츄잉 껌, 웨이퍼 등의 형태로 제제화될 수 있다. 그와 같은 고체 조성물은 통상적으로 1종 이상의 불활성 희석제를 함유한다. 또한, 하기 중 1종 이상이 존재할 수 있다: 결합제 예컨대 카르복시메틸셀룰로스, 에틸 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 또는 젤라틴; 부형제 예컨대 전분, 락토스 또는 텍스트린, 붕해제 예컨대 알긴산, 알긴산나트륨, 프리모겔(Primogel), 옥수수 전분 등; 윤활제 예컨대 스테아르산마그네슘 또는 스테로텍스(Sterotex); 활택제 예컨대 콜로이드성 이산화규소; 감미제 예컨대 수크로스 또는 사카린, 향미제 예컨대 페퍼민트, 메틸 살리실레이트 또는 오렌지 향료, 및 착색제.
- [0159] 조성물이 캡슐, 예컨대 젤라틴 캡슐의 형태인 경우, 그것은 상기 유형의 물질들 이외에도 폴리에틸렌 글리콜, 시클로텍스트린 또는 지방 오일과 같은 액체 담체를 함유할 수 있다.
- [0160] 조성물은 액체, 예를 들면 엘릭시르, 시럽, 용액, 에멀전 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 액체는 경구 투여 또는 주사에 의한 전달에 유용할 수 있다. 경구 투여를 의도하는 경우, 조성물은 1종 이상의 감미제, 보존제, 염료/착색제 및 향미 증진제를 포함할 수 있다. 주사에 의한 투여 (상기한 바와 같음)를 위한 조성물에는, 계면활성제, 보존제, 습윤제, 분산제, 현탁화제, 완충제, 안정화제 및 등장화제 중 1종 이상이 포함될 수도 있다.
- [0161] 액체 조성물은 그것이 용액, 현탁액 또는 다른 유형의 형태인지 여부에 관계없이 하기 중 1종 이상을 포함할 수도 있다: 멸균 희석제 예컨대 주사용수, 염수 용액, 바람직하게는 생리 염수, 링거 용액, 등장성 염화나트륨, 고정 오일 예컨대 용매 또는 현탁 매질로 기능할 수 있는 합성 모노 또는 디글리세리드, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 시클로텍스트린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 용매; 항박테리아제 예컨대 벤질 알콜 또는 메틸 파라벤; 항산화제 예컨대 아스코르브산 또는 나트륨 비술파이트; 킬레이팅제 예컨대 에틸렌디아민테트라아세트산; 완충제 예컨대 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트, 그리고 장성의 조절을 위한 작용제 예컨대 염화나트륨 또는 텍스트로스. 생리 염수가 바람직한 아주반트이다. 주사가능 조성물은 바람직하게는 멸균된다.
- [0162] 상기에 나타난 바와 같이, 특정 장애 또는 이상의 치료에 효과적인 푸코스 유사체의 양은 장애 또는 이상의 특성에 따라 달라지게 되는 것으로서, 표준의 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 최적 투여량 범위를 확인하는 것을 돕기 위하여, 임의로 시험관내 또는 생체내 검정이 사용될 수 있다. 조성물에 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각성에 따라서도 달라지게 되는 바, 진료의의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다.
- [0163] 조성물은 적합한 투여량이 수득되게 되도록 유효량의 푸코스 유사체를 포함한다. 통상적으로, 이와 같은 양은 조성물 중량 기준 약 0.01% 이상의 푸코스 유사체이다. 경구 투여를 의도하는 경우, 이와 같은 양은 조성물의 약 0.1 중량% 내지 약 80 중량%의 범위로 가변적일 수 있다. 바람직한 경구 조성물은 조성물 중량 기준 약 4% 내지 약 50%의 푸코스 유사체를 포함할 수 있다. 본 발명의 바람직한 조성물은 비경구 투여 단위가 약 0.01 중량% 내지 약 2 중량%의 푸코스 유사체를 함유하도록 제조된다.
- [0164] 정맥내 투여의 경우, 조성물은 동물 체중 kg 당 약 1 내지 약 250 mg의 푸코스 유사체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여되는 양은 푸코스 유사체 약 1 내지 약 25 mg/kg(체중)의 범위일 것이다. 바람직하게는, 투여되는 양은 푸코스 유사체 약 4 내지 약 25 mg/kg(체중)의 범위일 것이다.
- [0165] 일반적으로, 동물에게 투여되는 푸코스 유사체의 투여량은 통상적으로 약 0.1 mg/kg 내지 약 250 mg/kg(동물 체중)이다. 바람직하게는, 동물에게 투여되는 투여량은 약 0.1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg(동물 체중) 사이, 더욱 바람직하게는 동물 체중의 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 사이이다.
- [0166] 조성물은 적합한 투여량이 수득되게 되도록 유효량의 푸코스 유사체를 포함한다. 통상적으로, 이와 같은 양은 조성물 중량 기준 약 0.01% 이상의 푸코스 유사체이다. 경구 투여를 의도하는 경우, 이와 같은 양은 조성물의 약 0.1 중량% 내지 약 80 중량%의 범위로 가변적일 수 있다. 바람직한 경구 조성물은 조성물 중량 기준 약 4% 내지 약 50%의 푸코스 유사체를 포함할 수 있다. 본 발명의 바람직한 조성물은 비경구 투여 단위가 약 0.01 중량% 내지 약 2 중량%의 푸코스 유사체를 함유하도록 제조된다.

- [0167] 정맥내 투여의 경우, 조성물은 동물 체중 kg 당 약 1 내지 약 250 mg의 푸코스 유사체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 투여되는 양은 푸코스 유사체 약 1 내지 약 25 mg/kg(체중)의 범위일 것이다. 바람직하게는, 투여되는 양은 푸코스 유사체 약 4 내지 약 25 mg/kg(체중)의 범위일 것이다.
- [0168] 일반적으로, 푸코스 유사체 또는 그의 제약 조성물은 원하는 효과에 따라 매일, 매주, 2주마다 또는 매월 일정으로 투여될 수 있다. 푸코스 유사체 또는 그의 제약 조성물은 약 1 내지 5, 약 1 내지 약 10, 약 1 내지 약 15, 또는 그 초과 사이클로 투여될 수 있으며, 여기서 각 사이클은 기간이 1개월이다. 각 사이클 중의 투여는 매일, 2일마다, 주당 2회, 매주, 2주마다, 3주마다 1회 또는 매월 제공될 수 있다. 사이클은 임의로 단백질(예컨대 항체 또는 기타 단백질)의 푸코실화가 증가하는 휴지 기간을 포함할 수 있다. 다르게는, 휴지 기간은 사이클 사이에 포함될 수 있다. 그와 같은 휴지 기간은 필수 기능과 연관된 단백질 푸코실화의 회복을 가능케 할 수 있다.
- [0169] 푸코스 유사체 또는 그의 제약 조성물의 바람직한 투여 양식은 진료의의 재량의 몫으로서, 부분적으로는 의학적 이상의 부위(예컨대 암 또는 자가면역 질환의 부위)에 따라 달라지게 된다. 일 실시양태에서, 푸코스 유사체 또는 조성물은 비경구로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 푸코스 유사체 또는 조성물은 경구로 투여된다.
- [0170] 구체적인 실시양태에서는, 치료를 필요로 하는 영역에 국소적으로 1종 이상의 푸코스 유사체 또는 조성물을 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이는 예를 들면 비제한적으로 수술 동안의 국소 주입; 국소 적용; 주사; 또는 이식에 의해 성취될 수 있는데, 여기서 상기 이식은 막 예컨대 시알라스틱(sialastic) 막 또는 섬유를 포함하여, 다공성, 비-다공성 또는 젤라틴성인 물질의 것이다. 일 실시양태에서, 투여는 암, 종양 또는 신생물 또는 전-신생물(pre-neoplastic) 조직의 부위(또는 전 부위)에서의 직접 주사에 의한 것일 수 있다.
- [0171] 또 다른 실시양태에서, 투여는 자가면역 질환의 소견 부위(또는 전 부위)에서의 직접 주사에 의한 것일 수 있다.
- [0172] 또 다른 실시양태에서, 푸코스 유사체는 소포, 특히 리포솜 내에서 전달될 수 있다(문헌 [Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990)]; [Treat et al., in *LIPOSOMES IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASE AND CANCER*, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989)]; [Lopez-Berestein, *ibid.*, pp. 317-327] 참조; 전반적으로 상기 참조).
- [0173] 또 다른 실시양태에서, 푸코스 유사체 또는 조성물은 제어 방출 시스템 중에서 전달될 수 있다. 일 실시양태에서는, 펌프가 사용될 수 있다(전기한 문헌 [Langer]; [Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987)]; [Buchwald et al., *Surgery* 88:507 (1980)]; [Saudek et al., *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989)] 참조). 또 다른 실시양태에서는, 중합체 물질이 사용될 수 있다(문헌 [MEDICAL APPLICATIONS OF CONTROLLED RELEASE, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974)]; [CONTROLLED DRUG BIOAVAILABILITY, DRUG PRODUCT DESIGN AND PERFORMANCE, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984)]; [Ranger and Peppas, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61 (1983)] 참조; 또한 문헌 [Levy et al., *Science* 228:190 (1985)]; [During et al., *Ann. Neurol.* 25:351 (1989)]; [Howard et al., *J. Neurosurg.* 71:105 (1989)] 참조). 랑거(Langer)의 개관(문헌 [*Science* 249:1527-1533 (1990)])에 논의되어 있는 다른 제어-방출 시스템들이 사용될 수 있다.
- [0174] "담체"라는 용어는 그에 의해 푸코스 유사체가 투여되는 희석제, 아주반트 또는 부형제를 지칭한다. 그와 같은 제약 담체는 액체, 예컨대 물, 및 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들을 포함한 오일, 예컨대 땅콩 오일, 대두 오일, 미네랄 오일, 참깨 오일 등일 수 있다. 담체는 염수, 아카시아 검, 젤라틴, 전분 페이스트, 활석, 케라틴, 콜로이드성 실리카, 우레아 등일 수 있다. 또한, 보조제, 안정화제, 증점제, 윤활제 및 착색제가 사용될 수 있다. 일 실시양태에서, 동물에게 투여될 때, 푸코스 유사체 또는 조성물 및 제약상 허용되는 담체는 멸균된다. 푸코스 유사체가 정맥내로 투여되는 경우에는, 물이 바람직한 담체이다. 염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이 특히 주사가 용액을 위한 액체 담체로서 사용될 수도 있다. 적합한 제약 담체에는 또한 부형제 예컨대 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다. 원할 경우, 본 발명의 조성물은 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수도 있다.
- [0175] **생체 내에서 항체 및 기타 단백질 푸코실화를 감소시키기 위한 푸코스 유사체를 사용한 치료 방법**
- [0176] 본원에서 제공되는 바와 같은 화학식 I, II, III, IV, V 및 VI의 푸코스 유사체(이하 '푸코스 유사체')는 동물

에서 암, 자가면역 질환 또는 감염성 질환을 치료하는 데에 유용하다.

[0177] 암의 치료

[0178] 푸코스 유사체는 환자에서 암을 치료하는 데에 유용하다. 그를 필요로 하는 동물 (예를 들면 포유동물, 예컨대 인간)에 대한 푸코스 유사체의 투여는 종양 세포(들) 또는 암 세포(들)의 증식의 억제, 또는 동물 (예를 들면 인간 환자)에서의 암의 치료를 초래할 수 있다. 따라서, 푸코스 유사체는 동물 암의 치료를 위한 다양한 환경에서 사용될 수 있다.

[0179] 푸코스 유사체는 또한 코어 푸코실화가 결핍된 항체의 생체내 생성을 강화하는 데에 유용하다. 환자에서 암 표적에 대비한 그와 같은 항체의 비율을 증가시키는 것은 종양 세포(들) 또는 암 세포(들)의 증식의 억제, 또는 동물 (예를 들면 인간 환자)에서의 암의 치료를 초래할 수 있다. 따라서, 푸코스 유사체는 동물 암의 치료를 위한 다양한 환경에서 사용될 수 있다.

[0180] 푸코스 유사체를 사용하여 치료될 수 있는 구체적인 암의 유형에는 고형 종양 및 혈액 악성종양이 포함된다. 그와 같은 암에는 하기가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다: (1) 비제한적으로 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 윤활막종, 증피종, 유잉 종양, 평활근육종, 횡문근육종, 결장암, 결장직장암, 신장암, 췌장암, 골암, 유방암, 난소암, 전립선암, 식도암, 위암, 구강암, 비암, 인후암, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 한선 암종, 피지선 암종, 유두 암종, 유두 선암종, 낭선암종, 수질 암종, 기관지 암종, 신세포 암종, 간 담관 암종, 용모막 암종, 고환종, 배아 암종, 율름 암종, 자궁경부암, 자궁암, 고환암, 소세포 폐 암종, 방광 암종, 폐암, 상피 암종, 신경교종, 교모 세포종, 다형성 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 핑지교종, 수막종, 피부암, 흑색종, 신경모세포종, 및 망막모세포종을 포함한 고형 종양; (2) 비제한적으로 급성 림프모구성 백혈병 "ALL", 급성 림프모구성 B-세포 백혈병, 급성 림프모구성 T-세포 백혈병, 급성 골수모구성 백혈병 "AML", 급성 전골수구성 백혈병 "APL", 급성 단핵모구성 백혈병, 급성 적백혈병성 백혈병, 급성 거대핵모구성 백혈병, 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 비립프구성 백혈병, 급성 미분화 백혈병, 만성 골수구성 백혈병 "CML", 만성 림프구성 백혈병 "CLL", 모발상 세포 백혈병, 다발성 골수종, 급성 및 만성 백혈병, 예컨대 림프모구성 골수성 및 림프구성 골수구성 백혈병을 포함한 혈액-계 암; 및 (3) 호지킨병, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 발덴스트롬(Waldenstrom) 마크로글로불린혈증, 중쇄병, 및 진성 적혈구증가증과 같은 림프종.

[0181] 암의 다중-양식 요법

[0182] 비제한적으로 종양을 포함한 암, 전이, 또는 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 임의의 질환 또는 장애가 그에 대한 치료 또는 예방을 필요로 하는 동물 (예를 들면 포유동물, 예컨대 인간)에 대한 상기에 제공된 바와 같은 화학식 I, II, III, IV, V 또는 VI 중 어느 것의 푸코스 유사체의 투여에 의해 치료 또는 예방될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 푸코스 유사체 및 임의로 화학요법제를 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 일 실시양태에서, 상기 화학요법제는 그것을 이용한 암의 치료가 불응성이라고 밝혀진 바 없는 것이다. 또 다른 실시양태에서는, 화학요법제는 그것을 이용한 암의 치료가 불응성인 것으로 밝혀진 바 있는 것이다. 푸코스 유사체는 암의 치료로서 수술을 받은 바도 있는 동물에게 투여될 수 있다.

[0183] 일 실시양태에서, 추가적인 치료 방법은 방사선 요법이다.

[0184] 구체적인 실시양태에서, 푸코스 유사체는 화학요법제 또는 방사선 요법과 동시에 투여된다. 또 다른 구체적인 실시양태에서, 화학요법제 또는 방사선 요법은 푸코스 유사체의 투여 전 또는 후, 바람직하게는 푸코스 유사체의 투여 1시간 이상, 5시간, 12시간, 1일, 1주, 2주, 3주, 1개월, 또는 수개월 (예컨대 3개월까지) 전 또는 후에 투여된다.

[0185] 화학요법제는 일련의 기간 동안 투여될 수 있으며, 본원에서 제공되는 화학요법제 중 어느 하나, 또는 그의 조합일 수 있다. 방사선과 관련하여서는, 치료될 암의 유형에 따라, 어떠한 방사선 요법 프로토콜도 사용될 수 있다. 비제한적으로 예를 들면, x-선 방사선이 투여될 수 있는데; 구체적으로 심부 종양에는 고-에너지 메가볼테이지 (1 MeV 에너지를 초과하는 방사선)가 사용될 수 있으며, 피부암에는 전자 빔 및 오르토틀테이지 x-선 방사선이 사용될 수 있다. 라듐, 코발트 및 기타 원소의 방사성 동위원소와 같은 감마-선 방출 방사성동위원소가 투여될 수도 있다.

[0186] 추가적으로, 본 발명은 화학요법 또는 방사선 요법이 너무 독성이라고 입증되었거나 입증될 수 있는, 예를 들면 치료되는 대상체에 대하여 허용되지 않거나 견딜 수 없는 부작용을 초래하는 화학요법 또는 방사선 요법에 대한

대안으로서의 푸코스 유사체를 사용한 암의 치료 방법을 제공한다. 어떤 치료가 허용가능하거나 견딜만한 것으로 밝혀지는지에 따라, 치료되는 동물은 임의로 수술, 방사선 요법 또는 화학요법과 같은 또 다른 암 치료에 의해 치료될 수 있다.

[0187] 암의 다중-약물 요법

[0188] 본 발명에는 유효량의 푸코스 유사체 및 항암제인 치료제를 암의 치료를 필요로 하는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 방법이 포함된다. 적합한 항암제에는 메토틱렉세이트, 탁솔, L-아스파라기나제, 메르캅토피린, 티오구아닌, 히드록시우레아, 시타라빈, 시클로포스파미드, 이포스파미드, 니트로소우레아, 시스플라틴, 카르보플라틴, 미토마이신, 다카르바진, 프로카르비진, 토포테칸, 질소 머스타드, 시톡산, 에토포시드, 5-플루오로우라실, BCNU, 이리노테칸, 캄프토테신, 블레오마이신, 독소루비신, 이다루비신, 다우노루비신, 닥티노마이신, 플리카마이신, 미톡산트론, 아스파라기나제, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈, 파클리탁셀, 및 도세탁셀이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직한 실시양태에서, 항암제에는 알킬화제, 질소 머스타드 (시클로포스파미드, 이포스파미드, 트로포스파미드, 클로람부실), 니트로소우레아 (카르무스틴 (BCNU), 로무스틴 (CCNU)), 알킬술포네이트 (부술포, 트레오술포), 트리아젠 (다카르바진), 백금 함유 화합물 (시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴), 식물 알칼로이드 (빈카 알칼로이드 - 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신, 비노렐빈), 탁소이드 (파클리탁셀, 도세탁셀), DNA 토포이소머라제 억제제, 에피도도필린 (에토포시드, 테니포시드, 토포테칸, 9-아미노캄프토테신, 캄프토테신), 크리스나톨, 미토마이신 (미토마이신 C); 항대사제 예컨대 항-폴레이트: DHFR 억제제: 메토틱렉세이트, 트리메트렉세이트; IMP 데히드로제나제 억제제: 미코페놀산, 티아조푸린, 리바비린, EICAR; 리보뉴클레오타이드 리덕타제 억제제: 히드록시우레아 데페록사민; 피리미딘 유사체: 우라실 유사체: 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 독시플루리딘, 라티트렉세드; 시토신 유사체: 시타라빈 (ara C), 시토신 아라비노시드, 플루다라빈; 퓨린 유사체: 메르캅토피린, 티오구아닌; 호르몬 요법: 수용체 길항제: 항-에스트로겐제: 타목시펜, 탈록시펜, 메게스트롤; LHRH 효능제: 고스크르클린, 류프롤리드 아세테이트; 항-안드로겐제: 플루타미드, 비칼루타미드; 레티노이드/텔로이드: 비타민 D3 유사체: EB 1089, CB 1093, KH 1060; 광역학 요법: 베르토포르핀 (BPD-MA), 프탈로시아닌, 감광제 Pc4, 데메톡시-히포크렐린 A (2BA-2-DMHA); 시토카인: 인터페론-알파, 인터페론-감마; 종양 괴사 인자: 기타: 이소프레닐화 억제제: 로바스타틴; 도파민계 신경독소: 1-메틸-4-페닐피리디늄 이온; 세포 주기 억제제: 스타우로스포린; 악티노마이신: 악티노마이신 D, 닥티노마이신; 블레오마이신: 블레오마이신 A2, 블레오마이신 B2, 페플로마이신; 안트라사이클린: 다우노루비신, 독소루비신 (아드리아마이신), 이다루비신, 에피루비신, 피라루비신, 조루비신, 미톡산트론; MDR 억제제: 베라파밀; 및 Ca^{2+} ATPase 억제제: 탐시가르긴이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0189] 암의 아주반트 요법

[0190] 푸코스 유사체는 암 백신과 조합되어 아주반트로서 사용될 수 있다. 본원에서 사용될 때의 "암 백신"이라는 용어는 종양 세포에 대한 특이적인 면역 반응을 유도하고/거나 강화함으로써 종양 세포를 선택적으로 손상시키는 화합물을 의미한다. 암 백신은 예를 들면 TAA 또는 TSA의 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 포함하는 약제, 및 TAA 또는 TSA의 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 함유하는 제약 조성물일 수 있다. 본원에서 사용될 때, TSA는 "종양-특이적 항원"을 지칭하며, TAA는 종양-관련 항원을 지칭한다. TSA는 암 세포 특유의 분자이다. TAA는 암 세포와 정상 세포에 의해 공유되나, 다르게 발현되는 분자이다.

[0191] 암 백신의 투여량은 백신에 대한 면역 반응의 자극 정도에 따라 적절하게 변형되어 결정될 수 있다. 일반적으로, 그것은 활성 성분으로서 0.01 내지 100 mg/일/성인 인간, 바람직하게는 0.1 내지 10 mg/일/성인 인간이다. 암 백신은 수일마다 내지 수개월마다 1회 투여될 수 있다. 투여는 피하, 정맥내, 또는 근육내와 같이, 의료 용도를 위한 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질 투여용으로 잘 알려져 있는 방법에 따라 수행될 수 있다. 투여 동안 면역 반응을 유도 및/또는 강화하기 위하여, 담체와 연계되거나 연계되지 않은 적절한 아주반트의 존재 또는 부재하에 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질이 사용될 수 있다. 담체는 그것이 자체로서 인체에 대하여 유해 효과를 발휘하지 않고 항원성을 강화할 수 있는 한 제한되지 않는다; 셀룰로스, 중합체성 아미노산, 알부민 등이 담체의 예로 제시될 수 있다. 아주반트는 펩티드 백신 접종에 일반적으로 사용되는 것들일 수 있는데, 프로인트 불완전 아주반트 (FIA), 알루미늄 아주반트 (ALUM), 보르데텔라 백일해 백신, 미네랄 오일 등이 예로서 제시될 수 있다. 또한, 제제는 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 제제화하는 데에 적합한 잘 알려져 있는 방법을 적용하는 것에 의해 적합하게 선택될 수 있다.

[0192] 다르게는, 효과적인 암 백신 효과는 또한 환자의 말초 혈액으로부터 단핵 세포의 분획을 수집하고, 그것을 본 발명의 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질과 인큐베이션한 다음, CTL의 유도 및/또는 CTL의 활성화가 관찰된 단핵

세포의 분획을 환자의 혈액으로 복귀시키는 것에 의해서도 수득될 수 있다. 푸코스 유사체는 단핵 세포의 재투여 동안 또는 후에 공동-투여될 수 있다. 단핵 세포 농도, 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질의 농도, 배양 시간 등과 같은 배양 조건들은 단순히 연구를 반복하는 것에 의해 결정될 수 있다. 인터류킨-2와 같이 림프구의 성장을 강화하는 능력을 가지는 물질이 배양 동안에 첨가될 수도 있다.

[0193] 자가면역 질환의 치료

[0194] 푸코스 유사체는 자가면역 질환을 조절하거나 또는 자가면역 질환을 치료함으로써 증상 및/또는 자가면역 반응을 감소시키는 데에 유용하다. 따라서, 푸코스 유사체는 동물에서의 자가면역 질환의 치료를 위한 다양한 환경에서 사용될 수 있다.

[0195] 일 실시양태에서, 푸코스 유사체는 특정 자가면역 질환과 관련된 자가-면역 항체를 하향-조절 또는 하향-조정한다.

[0196] 푸코스 유사체를 사용하여 치료될 수 있는 자가면역 질환의 구체적인 유형에는 Th2-림프구 관련 장애 (예를 들면 아토피성 피부염, 아토피성 천식, 비결막염, 알레르기성 비염, 오멘 증후군, 전신성 경화증, 및 이식편 대 숙주 질환); Th1-림프구 관련 장애 (예를 들면 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 건선, 쇼그렌 증후군, 하시모토 갑상선염, 그레이브병, 원발성 담즙성 간경변, 베게너 육아종증, 및 결핵); 활성화된 B 림프구-관련 장애 (예를 들면 전신 홍반성 루푸스, 궤양성 결장 증후군, 류마티스 관절염, 및 유형 I 당뇨병); 및 하기에 개시되는 것들이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다:

[0197] 활성 만성 간염, 에디슨병, 알레르기성 폐포염, 알레르기 반응, 알레르기성 비염, 알포트 증후군, 과민증, 강직성 척추염, 항-인지질 증후군, 관절염, 회충증, 아스페르길루스증, 아토피성 알레르기, 아토피성 피부염, 아토피성 비염, 베켓병, 조류사육자병, 기관지 천식, 카플란 증후군, 심근병증, 복강병, 샤가스병, 만성 사구체신염, 코간 증후군, 저온 응집병, 선천성 풍진 감염, 크레스트 증후군, 크론병, 한랭글로불린혈증, 쿠싱 증후군, 피부근염, 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 이튼-램버트 증후군, 에코바이러스 감염, 뇌척수염, 내분비성 안병증, 엡스타인-바 바이러스 감염, 말 식노(Equine Heaves), 홍반, 에반스 증후군, 펠티 증후군, 섬유근육통, 폭스 섬모체염, 위선 위축, 위장관 알레르기, 거대 세포 동맥염, 사구체신염, 궤양성 결장 증후군, 이식편 대 숙주 질환, 그레이브병, 길랑-바레병, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-셴라인 자색반, 특발성 부신 위축증, 특발성 폐 섬유증, IgA 신장병증, 염증성 장 질환, 인슐린-의존성 당뇨병, 연소성 관절염, 연소성 당뇨병 (유형 I), 램버트-이튼 증후군, 제염염, 편평 태선, 루푸스성 간염, 루푸스 림프구감소증, 메니에르병, 혼합 결합 조직 질환, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 악성 빈혈, 다분비선 증후군, 초로 치매, 원발성 무감마글로불린혈증, 원발성 담관 간경변, 건선, 건선성 관절염, 레이노드 현상, 재발성 유산, 라이트 증후군, 류마티스성 열, 류마티스 관절염, 샘프터 증후군, 주혈흡충증, 슈미트 증후군, 공피증, 술만 증후군, 쇼그렌 증후군, 강직 증후군, 교감성 안염, 전신 홍반성 루푸스, 타카야수 동맥염, 측두 동맥염, 갑상선염, 혈소판감소증, 갑상선종독증, 독성 표피 괴사증, 유형 B, 인슐린 저항성 유형 I 당뇨병, 궤양성 대장염, 포도막염 백반증, 발렌스트롬 마크로글로불린혈증, 및 베게너 육아종증.

[0198] 자가면역 질환의 다중-약물 요법

[0199] 본 발명은 또한 유효량의 푸코스 유사체, 및 임의로 자가면역 질환 치료용으로 알려져 있는 치료제를 자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 동물 (예컨대 포유동물)에게 투여하는 것을 포함하는, 자가면역 질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시양태에서, 항-자가면역 질환 작용제에는 시클로스포린, 시클로스포린 A, 미코페닐레이트, 모페틸, 시롤리무스, 타크롤리무스, 에나너셉트, 프레드니손, 아자티오프린, 메토트렉세이트, 시클로포스파미드, 프레드니손, 아미노카프로산, 클로로퀸, 히드록시클로로퀸, 히드로코르티손, 텍사메타손, 클로람부실, DHEA, 다나졸, 브로모크립틴, 멜록시캄 또는 인플릭시마브가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0200] 감염성 질환의 치료

[0201] 푸코스 유사체는 감염성 질환을 생성시키는 세포 증식의 사멸 또는 억제 증가를 초래하는 면역 반응을 강화하는 데에, 또는 감염성 질환을 치료하는 데에 유용하다. 따라서, 푸코스 유사체는 동물에서의 감염성 질환의 치료를 위한 다양한 환경에서 사용될 수 있다.

[0202] 일 실시양태에서, 푸코스 유사체는 특정 감염성 질환을 생성시키는 세포의 증식을 사멸 또는 억제하거나, 또는 그의 사멸 또는 억제를 증가시키는 결과를 초래하는 면역 반응을 강화한다.

[0203] 푸코스 유사체를 사용하여 치료될 수 있는 감염성 질환의 구체적인 유형에는 하기가 포함되나, 이에 제한되는

것은 아니다: (1) 박테리아성 질환: 디프테리아, 백일해, 잠재성 세균혈증, 요로 감염, 위창자염, 연조직염, 후두개염, 기관염, 아테노이드 비대증, 인두후 농양, 농가진, 농창, 폐렴, 심장내막염, 폐혈성 관절염, 폐렴구균증, 복막염, 세균혈증성 수막염, 급성 화농성 수막염, 요도염, 자궁경부염, 직장염, 인두염, 자궁관염, 부고환염, 임질, 매독, 리스테리아증, 탄저병, 노카르디아증, 살모넬라, 장티푸스, 이질, 결막염, 균염, 브루셀라증, 야토병, 콜레라, 림프절 페스트, 강축, 괴사성 창자염, 악티노미세스증 혼합 혐기성 감염, 매독, 재귀열, 랩토스피라증, 라임병, 서교열, 결핵, 림프절염, 나병, 클라미디아, 클라미디아성 폐렴, 트라코마, 전신성 봉입체결막염; (2) 진균성 질환: 히스토플라스마증, 콕시디오이데스 진균증, 분아균증, 스포로트릭스증, 크립토코쿠스증, 전신성 칸디다증, 아스페르길루스증, 털곰팡이증, 진균증, 색소진균증, (3) 리케차 질환: 티푸스, 록키산홍반열, 에를리히증, 동방 진드기-매개 리케차증, 리케차폭스, Q 열, 및 바르토넬라증; (4) 기생충 질환: 말라리아, 바베스열원충증, 아프리카 수면병, 샤가스병, 리슈만편모충증, 덤-덤 열, 톡소포자충증, 수막뇌염, 각막염, 엔트아메바증, 편모충증, 와포자충증, 이소스포자충증, 원포자충증, 미포자충증, 회충증, 편충 감염, 구충 감염, 요충 감염, 유충 안구 이행증, 선모충증, 기니충병, 림프사상충증, 로아증, 회선사상충증, 개 심장사상충 감염, 주혈흡충증, 물놀이 가려움증, 동양 폐흡충증, 동양 간흡충증, 간질증, 비대흡충증, 간흡충증, 촌충 감염, 포충병, 폐포 포충병; (5) 바이러스 질환: 홍역, 아급성 경화 범뇌염, 감기, 볼거리, 풍진, 장미진, 제5병, 수두, 호흡기 세포융합 바이러스 감염, 크루프, 세기관지염, 감염성 단핵구증, 회색질척수염, 포진성구협염, 손발입병, 보르홀름병, 생식기 헤르페스, 생식기 사마귀, 무균 수막염, 심근염, 심장막염, 위창자염, 후천성 면역결핍 증후군 (AIDS), 레예 증후군, 가와사키 증후군, 인플루엔자, 기관지염, 바이러스성 "보행성" 폐렴, 급성 열성 호흡기 질환, 급성 인두결막염, 유행성 각결막염, 단순 헤르페스 바이러스 1 (HSV-1), 단순 헤르페스 바이러스 2 (HSV-2), 대상포진, 거대세포 봉입체병, 광견병, 진행성 다초점 백색질뇌증, 쿠루병, 치명적 가족성 불면증, 크로이츠펠트-야콥병, 게르스트만-슈투로이슬러-샤잉커병, 열대성 강직 하반신불완전마비, 서부 말 뇌염, 캘리포니아 뇌염, 세인트루이스 뇌염, 황열, 땀기 림프구성 맥락수막염, 라사열, 출혈열, 한타바이러스, 폐 증후군, 마르부르크 바이러스 감염, 에볼라 바이러스 감염 및 천연두.

[0204] *감염성 질환의 다중-약물 요법*

[0205] 본 발명은 또한 푸코스 유사체, 및 임의로 항-감염성 질환 작용제인 치료제를 감염성 질환의 치료를 필요로 하는 동물 (예컨대 포유동물)에게 투여하는 것을 포함하는, 감염성 질환의 치료 방법을 제공한다. 일 실시양태에서, 항-감염성 질환 작용제는 하기이나, 이에 제한되는 것은 아니다: (1) 항박테리아제: β -락탐 항생제: 페니실린 G, 페니실린 V, 클록사실린, 디클록사실린, 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 암피실린, 아목시실린, 바캄피실린, 아즐로실린, 카르베니실린, 메즐로실린, 피페라실린, 티카르실린; 아미노글리코시드: 아미카신, 젠타미신, 카나마이신, 네오마이신, 네틸미신, 스트렙토마이신, 토브라마이신; 마크롤리드: 아지트로마이신, 클라리트로마이신, 에리트로마이신, 린코마이신, 클린다마이신; 테트라시클린: 데메클로시클린, 독시시클린, 미노시클린, 옥시테트라시클린, 테트라시클린; 퀴놀론: 시녹사신, 날리딕스산, 플루오로퀴놀론: 시프로플록사신, 에녹사신, 그레파플록사신, 레보플록사신, 로메플록사신, 노르플록사신, 오픈플록사신, 스파르플록사신, 트로바플록사신; 폴리펩티드: 바시트라신, 콜리스틴, 폴리믹신 B; 술폰아미드: 술폰아미드, 술폰아미드, 술폰아미드, 술폰아미드, 술폰아미드, 술폰아미드; 기타 항박테리아제: 트리메토프림, 술폰아미드, 클로람페니콜, 반코마이신, 메트로니다졸, 퀴누프리스틴, 달포프리스틴, 리팜핀, 스펙티노마이신, 니트로푸란토인; 항바이러스제: 일반적인 항바이러스제: 이독수라딘, 비다라빈, 트리플루리딘, 아시클로비르, 팜시시클로비르, 펜시시클로비르, 발라시클로비르, 간시시클로비르, 포스카르네트, 리바비린, 아만타딘, 리만타딘, 시도포비르; 안티센스 올리고뉴클레오타이드; 이뮤노글로불린; 인터페론; HIV 감염용 약물: 지도부딘, 디다노신, 잘시타빈, 스타부딘, 라미부딘, 네비라핀, 텔라비르딘, 사퀴나비르, 리토나비르, 인디나비르 및 넬피나비르.

[0206] *기타 치료제*

[0207] 본 발명의 방법은 추가로 푸코스 유사체, 및 치료제 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 용매화물의 투여를 포함할 수 있다. 푸코스 유사체와 치료제는 부가적으로, 또는 더욱 바람직하게는 상승작용성으로 작용할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 푸코스 유사체를 포함하는 조성물은 동일 조성물의 일부일 수 있거나, 또는 푸코스 유사체를 포함하는 것과 다른 조성물 중에 존재할 수 있는 1종 이상 치료제(들)의 투여와 공동으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 푸코스 유사체는 치료제(들)의 투여 전 또는 후에 투여된다.

[0208] 암, 자가면역 질환 또는 감염성 질환의 치료를 위한 본 발명의 방법에서, 치료제는 항구토제일 수도 있다. 적합한 항구토제에는 메토클로프로미드, 돔페리돈, 프로클로르페라진, 프로메타진, 클로르프로마진, 트리메토크사이드, 온단세트론, 그라니세트론, 히드록시진, 아세틸티신 모노에탄올아민, 알리자프리트, 아자세트론, 벤즈퀴나미드, 비에타나우틴, 브로모프리트, 부클리진, 클레보프리트, 시클리진, 디멘히드리네이트, 디페니돌, 도라세

트론, 메클리진, 메탈라탈, 메토피마진, 나빌론, 옥시켄딜, 피파마진, 스코폴라민, 술피리드, 테트라히드로칸나비놀, 티에틸페라진, 티오프로페라진 및 트로피세트론이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0209] 또 다른 실시양태에서, 치료제는 조혈 콜로니 자극 인자(hematopoietic colony stimulating factor)일 수 있다. 적합한 조혈 콜로니 자극 인자에는 필그라스티모, 사르그라마스티모, 몰그라마스티모 및 에리트로포이에틴 알파가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0210] 또 다른 실시양태에서는, 치료제가 오피오이드 또는 비-오피오이드 진통제일 수 있다. 적합한 오피오이드 진통제에는 모르핀, 히로인, 히드로모르폰, 히드로코돈, 옥시모르폰, 옥시코돈, 메토폰, 아포모르핀, 노르모르핀, 에토르핀, 부프레노르핀, 메페리딘, 로페르미드, 아닐레리딘, 에토헤타진, 피미니딘, 베타프로딘, 디페녹실레이트, 펜타닐, 수펜타닐, 알펜타닐, 레미펜타닐, 레보르파놀, 텍스트로메토르판, 페나조신, 펜타조신, 시클라조신, 메타돈, 이소메타돈 및 프로폭시펜이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 적합한 비-오피오이드 진통제에는 아스피린, 셀레콕시브, 로페콕시브, 디클로피낙, 디플루시날, 에토돌락, 페노프로펜, 플루르비프로펜, 이부프로펜, 케토프로펜, 인도메타신, 케톨락, 메클로페나메이트, 메페남산, 나부메톤, 나프록센, 피록시캄 및 술린닥이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0211] 하기의 실시예에서 본 발명을 추가적으로 기술하는 바, 그것으로 본 발명의 영역을 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0212] [실시예]

[0213] 실시예 1: 비-푸코실화 항체의 생체내 생성

[0214] 방법:

[0215] 본 연구 개시 30-60일 전에, 키홀 림펫 헤모시아닌(Keyhole Limpet Hemocyanin) (KLH)을 사용하여 암컷 BALB/c 마우스를 면역화하였다. 1차 연구로써, 마우스에 150 mg/kg의 알키닐 푸코스 (SGD-1887), 알키닐 푸코스 피아세테이트 (SGD-1890), 2-플루오로푸코스 (SGD-2083), 또는 2-플루오로푸코스 트리아세테이트 (SGD-2084)를 7일 동안 ip로 매일 투여하거나, 또는 처리하지 않았다. 2일차에, 마우스를 역시 KLH로 추가접종하였다. 최종 ip 투여 다음날, 최종적으로 마우스를 출혈시켜 혈청을 수득하였다. 2차 연구로써, 마우스의 음용수에 100 mM의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 제공하거나, 미처리수를 7일 동안 제공하고, KLH로 추가접종한 후, 최종 출혈전까지 추가 7일 동안 100 mM 2-플루오로푸코스 함유 음용수 또는 미처리수 제공을 계속하였다. 다음에, 혈청을 수득하였다. 어떤 연구에서도 마우스는 사망하지 않았다. 양 연구에서, 혈청을 시중의 항-KLH 친화성 컬럼으로 통과시킴으로써, KLH-특이적 폴리클로날 항체를 수득하였다. 항-KLH 친화성 컬럼으로부터 유출되는 흐름을 시중의 단백질 A 컬럼으로 통과시킴으로써, 나머지 항체를 수득하였다.

[0216] 점 블롯(dot blot): 미처리 및 처리 동물로부터의 각각 0.5 μ g의 항체는 물론, 코어 푸코실화의 양이 알려져 있는 (0 내지 100% 푸코스) 항체 cAC10의 표준을 니트로셀룰로스 막 상에서 블롯팅하였다. 단백질 수준은 펀소우(Ponceau) 염색에 의해 가시화하였다. 비오틴화 아스페르길루스 오리자에 L-푸코스-특이적 렉틴 (AOL) (푸코실화된 항체에 결합됨)을 사용하여 블롯을 표지하고, 스트렙타비딘 HRP 및 ECL로 발색시켰다. 알파 이노테크(Alpha Innotech) 카메라를 사용하여 겔 적재 (가시적) 및 푸코스 신호 (생물발광)를 측정하고, 기기 소프트웨어를 사용하여 정량하였다.

[0217] 기체 크로마토그래피 (GC): 물에 대하여 투석시킨 미처리 및 처리 동물로부터의 각각 40 μ g의 항체를 메탄올성 HCl 중에서의 메탄분해(methanolysis)에 적용하였다. 0 내지 100% 푸코스를 가지는 항체 cAC10의 대조 샘플을 마찬가지로 처리하였다. 생성되는 메틸글리코시드를 상업적으로 입수가 가능한 카테일인 트리-실(Tri-Sil)을 사용한 모노사카라이드 알콜의 트리메틸실릴화에 의해 유도체화하였다. 휴렛 팩커드 기체 크로마토그래프에서, 생성되는 트리메틸실릴 메틸글리코시드를 애질런트(Agilent) J&W DB-1 컬럼 상에서 온도 구배를 사용하여 화염 이온화 검출로 조사하였다. Ab 샘플과 병행 유도체화된 당 표준에 대한 체류 시간 비교에 의해 관련 피크들을 식별하였다. GC 소프트웨어를 사용하여 피크들을 적분하였다. 항체의 푸코실화 상태를 측정하는 데에는 푸코스/만노스 피크 면적비를 사용하였다.

[0218] 결과:

[0219] 연구 1: 도 1은 KLH에 결합되지 않았으나 단백질 A 컬럼에서 회수된 항체로부터의 점 블롯 (좌측)을 나타낸다. 결과는 cAC10 표준 (하부 점 블롯, 좌측 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 미처리 대조군 (하부 점 블롯, 좌측으로부터 두 번째 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 및 알키닐 푸코스

(SGD-1887; 하부 점 블롯, 중앙 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 알키닐 푸코스 퍼아세테이트 (SGD-1890; 하부 점 블롯, 우측으로부터 두 번째 파선 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼), 및 2-플루오로푸코스 (SGD-2083; 하부 점 블롯, 좌측 직사각형 및 상부 점 블롯의 상응하는 컬럼)에 대하여 나타내었다. 적재 수준에 대하여 표준화함으로써, %푸코실화를 또한 우측의 그래프에 나타내었다. 평균하면, 항체의 푸코실화 수준은 미처리 대조군에 비해 약 3분의 1 감소되었다.

[0220] 도 2는 항-KLH 항체 (패널 A 및 B) 및 처리된 군에서 분리된 나머지 혈청 IgG 분자 (패널 C 및 D) 양자의 푸코실화 수준을 나타낸다. 푸코실화 수준은 cAC10 항체 표준을 기준으로 한 %푸코실화 (패널 A 및 C), 및 미처리 대조군에 대한 평균 값의 백분율로서의 처리된 군에 대한 평균 값 (패널 B 및 D) 양자로 나타내었다. 평균하면, 항-KLH 항체의 푸코실화 수준은 3종의 푸코스 유사체를 사용한 처리에 의해 약 2분의 1 감소되었다. 나머지 수집 항체들 역시 약 4분의 1의 코어 푸코실화 감소를 나타내었다. 본 연구에서, 전체 항체 수준 (KLH-특이적 및 비-특이적)은 KLH에의 노출 후 마우스에서 증가하였다. 결과적으로, 대부분의 항체는 처리 기간 동안 새롭게 합성되었다. 이러한 관찰은 푸코스 유사체의 투여 후 새롭게 생성되는 항체가 감소된 코어 푸코실화를 나타낼 수 있다는 것을 표시한다.

[0221] 연구 2: 본 연구에서는, 푸코스 유사체의 경구 투여의 효과를 조사하였다. 도 3은 푸코스 유사체 경구 투여에 의한 마우스 처리의 결과를 나타낸다. 조사된 항체 푸코실화 수준은 KLH에 결합되지 않았으나 단백질 A 컬럼에서 회수된 항체의 것이었다. 결과는 cAC10 표준 (상부 및 하부 점 블롯, 좌측 직사각형), 미처리 대조군 (상부 및 하부 점 블롯, 좌측으로부터 두 번째 (상부) 및 우측 직사각형), 및 2-플루오로푸코스 (상부 및 하부 점 블롯, 좌측으로부터 두 번째 (하부) 및 우측으로부터 두 번째 직사각형 (상부 및 하부))에 대하여 나타내었다. 적재 수준에 대하여 표준화함으로써, %푸코실화를 또한 우측의 그래프에 나타내었다. 처리된 동물로부터의 항체의 코어 푸코실화 수준은 거의 제거되었으며: 평균하면, 푸코실화 수준은 처리된 동물에서 7%, 미처리 동물에서 81%이었다. 이러한 관찰은 푸코스 유사체의 경구 투여가 항체 푸코실화 수준을 감소시키는 효과적인 수단이라는 것을 표시한다.

[0222] **실시예 2: 시험관내 세포 배양물에서의 푸코스 유사체의 활성**

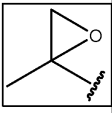
[0223] 일반적으로 공개된 US 특허 출원 2009-0317869에 기술되어 있는 바와 같이, 푸코스 유사체를 50 μ M 및 1 mM의 농도에서 항체 코어 푸코실화에 대한 그의 효과에 대하여 평가하였다. 간단하게 말하자면, 프로토콜은 하기와 같다: 6 웰 조직 배양 플레이트에서 100 RPM으로 진탕하면서, 인간화된 IgG1 항-CD70 모노클로날 항체인 h1F6 (국제 특허 공개 WO 06/113909 참조)를 생성시키는 CHO DG44 세포주를 37°C, 5% CO₂에서 2 mL의 CHO 배양 배지 중 mL 당 7.5×10^5 개 세포로 배양하였다. 인슐린 유사 성장 인자 (IGF), 페니실린, 스트렙토마이신 및 1 mM 또는 50 μ M 중 어느 하나의 푸코스 유사체를 배지에 보충하였다. 접종 5일 후에, 배양물을 13000 RPM으로 5분 동안 원심분리함으로써 세포를 펠릿화한 다음; 상청액으로부터 항체를 정제하였다.

[0224] 항체 정제는 1× 포스페이트 완충 염수 (PBS), pH 7.4를 사용하여 사전-평형화된 단백질 A 수지에 조건화된 배지를 적용함으로써 수행하였다. 20배 수지 상 부피의 1× PBS를 사용하여 수지를 세척한 후, 5배 수지 상 부피의 이뮤노퓨어(Immunopure) IgG 용리 완충제 (피어스 바이오테크놀로지(Pierce Biotechnology) 사, 일리노이 록포드 소재)를 사용하여 항체를 용리시켰다. 10% 부피의 1 M 트리스 pH 8.0을 첨가하여 용리된 분획을 중화하였다. 결과를 하기 표에 나타내었다.

[0225] <표 1>

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹ R ⁴	50 μM에서의 억제	1 mM에서의 억제
알키닐 푸코스 (5-에티닐아라비노스)	-C≡CH	-OH	>80%	ND
알키닐 푸코스 피아세테이트 알키닐 푸코스 테트라아세테이트 (5-에티닐아라비노스 테트라아세테이트)	-C≡CH	-OAc	>80%	>80%
5-프로피닐 푸코스 테트라아세테이트 (5-프로피닐아라비노스 테트라아세테이트)	-C≡CCH ₃	-OAc	50%	>80%
프로파르길 푸코스 테트라아세테이트 ((3S,4R,5R,6S)-6-(프로프-2-이닐)- 테트라히드로-2H-피란-2,3,4,5- 테트라일 테트라아세테이트)	-CH ₂ C≡CH	-OAc	~10%	~10-20%
피아세틸 갈락토스 (갈락토스 펜타아세테이트)	-OAc	-OAc	~0%	~0%

[0226]

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹ R ⁴	50 μM에서의 억제	1 mM에서의 억제
5-비닐 푸코스 테트라아세테이트 (5-에틸레닐아라비노스 테트라아세테이트)	-CHCH ₂	-OAc	~0%	~4%
6-시아노 푸코스 테트라아세테이트 (6-시아노푸코스 테트라아세테이트)	-CH ₂ CN	-OAc	30%	>80%
5-시아노 푸코스 테트라아세테이트 (피라노스 형태) (5-시아노아라비노피라노스 테트라아세테이트)	-CN	-OAc	20%	ND
5-시아노 푸코스 테트라아세테이트 (푸라노스 형태) (5-시아노아라비노푸라노스 테트라아세테이트)	-CN	-OAc	5-10%	ND
5-메틸에스테르 푸코스 테트라아세테이트 (5-카르복시메틸 아라비노스 테트라아세테이트)	-C(O)OCH ₃	-OAc	30%	>80%
5-(CH(OAc)CH ₃) 피아세틸 푸코스 (6-메틸갈락토스 펜타아세테이트)	- CH(OAc)CH ₃	-OAc	~0%	40%
5-메틸옥시란-아라비노스 테트라아세테이트 ((3S,4R,5S,6R)-6-((S)-2- 메틸옥시란-2-일)-테트라히드로- 2H-피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트)		-OAc	~0%	~35-40%
6-아이오도-푸코스 테트라아세테이트 (6-아이오도푸코스 테트라아세테이트)	-CH ₂ I	-OAc	3%	30%
6-클로로-푸코스 테트라아세테이트 (6-클로로푸코스 테트라아세테이트)	-CH ₂ Cl	-OAc	20%	20-30%
6-브로모-푸코스 테트라아세테이트 (6-브로모푸코스 테트라아세테이트)	-CH ₂ Br	-OAc	50%	80%
알키닐 푸코스 테트라프로파노네이트 (5-에티닐아라비노스 테트라프로프로파노네이트)	-C≡CH	- OC(O)CH ₂ - CH ₃	>80%	>80%
알키닐 푸코스 테트라-n- 헥사노에이트 (5-에티닐아라비노스 테트라헥사노에이트)	-C≡CH	- OC(O)(CH ₂) ₄ -CH ₃	>80%	>80%

[0227]

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹ R ⁴	50 μM에서의 억제	1 mM에서의 억제
알키닐 푸코스 테트라키스(트리메틸아세테이트) (5-에티닐아라비노스 테트라(트리메틸아세테이트))	-C≡CH	- OC(O)C(C H ₃) ₃	20%	60%
알키닐 푸코스 테트라키스(트리메틸아세테이트) (5-에티닐아라비노스 테트라(트리메틸아세테이트))	-C≡CH	- OC(O)C(C H ₃) ₃	5%	10%
알키닐 푸코스 1,2,3- (트리메틸아세테이트) (5-에티닐아라비노스 1,2,3- (트리메틸아세테이트))	-C≡CH	- OC(O)C(C H ₃) ₃ 및 - OH	~0%	ND
알키닐 푸코스 디(트리메틸아세테이트) (5-에티닐아라비노스 1,3- (트리메틸아세테이트))	-C≡CH	- OC(O)C(C H ₃) ₃ 및 - OH	>80%	ND
알키닐 푸코스 페니코티네이트	-C≡CH	-C(O)-3- 페리딜	>80%	>80%
알키닐 푸코스 피소니코티네이트	-C≡CH	-C(O)-4- 페리딜	>80%	>80%
알키닐 푸코스 퍼-PEG 에스테르	-C≡CH	-C(O)-(CH ₂ CH ₂ O) ₂ - OCH ₃	>80%	>80%
1-메틸-2,3,4-트리아세틸 알키닐 푸코스	-C≡CH	R ¹ = OCH ₃ R ² , R ³ , R ⁴ = OAc	68%	>80%
알키닐 푸코스 피소부타노에이트	-C≡CH	- OC(O)CH(CH ₃) ₂	>80%	>80%

"ND"는 푸코스 유사체 존재하에서의 저조한 항체 생성 또는 세포 성장의 억제로 인하여
검출되지 않았음을 의미함.

[0228]

[0229] <표 2>

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹	R ² /R ^{2a}	R ³ /R ^{3a}	50 μM 에서의 억제	1 mM에서의 억제
2-데옥시-2-플루오로푸코스 디아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OH	-F / -H	-OAc/ -H	> 80%	> 80%
2-데옥시-2-클로로푸코스 트리아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-Cl / -H	-OAc / -H	17%	> 80%
알렌 (R ⁴ = OAc)	-CH=C=CH 2	-OAc	-OAc / -H	-OAc / -H	23%	34%
2-데옥시-2-플루오로푸코스 (R ⁴ = OH)	-CH ₃	-OH	-F / -H	-OH / -H	> 80%	> 80%
2-데옥시-2-플루오로푸코스 퍼아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-F / -H	-OAc/ -H	> 80%	> 80%
1,2-디플루오로-1,2- 디데옥시 푸코스 퍼아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-F	-F / -H	-OAc/ -H	> 80%	> 80%
6,6-디플루오로푸코스 테트라아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CHF ₂	-OAc	-OAc / -H	-OAc / -H	> 80%	> 80%
2-데옥시-2,2- 디플루오로푸코피라노스 트리아세테이트 (알파) (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-F / -F	-OAc/ -H	0	64%
2-데옥시-2,2- 디플루오로푸코피라노스 트리아세테이트 (베타) (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-F / -F	-OAc/ -H	0	75%

[0230]

6-메틸-테트라히드로-2H- 피란-2,4,5-트리일 트리아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CH ₃	-OAc	-H / -H	-OAc/ -H	0	36%
5-벤질옥시 푸코스 퍼아세테이트 (R ⁴ = OAc)	-CH ₂ OCH ₂ P h	-OAc	-OAc / -H	-OAc / -H	0	75%




"ND"는 푸코스 유사체 존재하에서의 저조한 항체 생성 또는 세포 성장의 억제로 인하여
검출되지 않은 것임.

[0231]



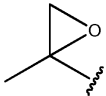
[0232]

소정의 다른 푸코스 유사체들을 항체 내로 도입되는 그의 능력에 대하여 시험하였다. 이들 푸코스 유사체들은
상기한 바와 같은 방법론을 사용하여 50 μM 및 1 mM의 농도에서 시험하였다. 결과를 하기 표에 나타내었다.

[0233] <표 3>

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹ -R ⁴	%도입
프로파르길 푸코스 또는 (3S,4R,5R)-6-(프로프-2- 이닐)테트라히드로-2H-피란- 2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트		-OAc	80% (1 mM)
5-(Z)-프로페닐 푸코스 퍼아세테이트		-OAc	~ 30%
이소프로페닐 퍼아세틸 푸코스 또는 (3S,4R,5R,6S)-6-(프로프-1-엔-2- 일)-테트라히드로-2H-피란- 2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트		-OAc	> 80% (1 mM 및 50 uM)
5-에틸 푸코스 또는 (3S,4R,5S,6S)-6-에틸- 테트라히드로-2H-피란-2,3,4,5- 테트라올	-CH ₂ CH ₃	-OH	> 80% (1 mM 및 50 uM)

[0234]

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹ -R ⁴	%도입
5-에틸 푸코스 퍼아세테이트 또는 (3S,4R,5S,6S)-6-에틸- 테트라히드로-2H-피란-2,3,4,5- 테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ CH ₃	-OAc	> 90% (1 mM 및 50 uM)
5-시클로프로필 푸코스 또는 (3S,4R,5S,6S)-6- 시클로프로필테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라올		-OH	~ 80%
5-시클로프로필 푸코스 퍼아세테이트 또는 (3S,4R,5R,6S)-6- 시클로프로필테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트		-OAc	~ 80%
5-프로필옥시아라비노스 테트라아세테이트 또는 (3S,4R,5S,6R)-6-((S)-2- 메틸옥시란-2-일)테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트		-OAc	~ 60%
플루오로메틸렌 푸코스 또는 (3S,4R,5S)-6- (플루오로메틸)테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ F	-OAc	> 90% (1 mM 및 50 μM)
5-클로로메틸렌 퍼아세틸 푸코스 또는 (3S,4R,5S)-6- (클로로메틸)테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ Cl	-OAc	~ 80%

[0235]

명칭 (화학명)	R ⁵	R ¹ R ⁴	%도입
5-브로모메틸렌 피아세틸 푸코스 또는 (3S,4R,5S)-6-((브로모메틸)테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ Br	-OAc	~ 50% (50 uM; 1 mM에서는 20%)
5-아이오도메틸렌-피아세틸 푸코스 또는 (3S,4R,5S)-6-((아이오도메틸)테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ I	-OAc	~ 30%
아지도 피아세틸 푸코스 또는 (3S,4R,5R)-6-((아지도메틸)테트라히드로-2H- 피란-2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ N ₃	-OAc	60%
5-(2-아지도에틸) 아라비노스 테트라아세테이트 또는 (3S,4R,5R,6S)-6-(2- 아지도에틸)테트라히드로-2H-피란- 2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	-CH ₂ CH ₂ N ₃	-OAc	20%
	-CH=C=CH ₂	-OAc	~ 30%
이소프로필 피아세틸 푸코스 또는 (3S,4R,5R,6S)-6- 이소프로필테트라히드로-2H-피란- 2,3,4,5-테트라일 테트라아세테이트	이소프로필	-OAc	검출되지 않음

[0236]

[0237]

이러한 검정은 포유동물에서의 코어 항체 푸코실화의 억제에 대하여 후보 화합물들을 확인해 주었다.

[0238]

실시예 3: 경구 투여 후 생체 내에서의 비-푸코실화 항체의 생성

[0239]

본 연구에서는, 푸코스 유사체인 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)의 경구 투여의 효과를 추가적으로 조사하였다. 암컷 BALB/c 마우스의 음용수 중에 14일 동안 1, 10 및 100 mM의 2-플루오로푸코스를 제공하였다. 타이터맥스 클래식(TiterMAX Classic)을 사용하여 마우스를 면역화하고, 추가 7일 동안 그의 음용수 중에 1, 10 및 100 mM의 2-플루오로푸코스를 제공하였다. 다음에, 마우스를 최종적으로 출혈시키고, 혈청을 수득하였다. 단백질 A 컬럼 상으로 혈청을 통과시킴으로써, 내인성 항체를 정제하였다.

[0240]

수집된 항체를 하기와 같이 점 블롯에 의해 푸코실화 수준에 대하여 평가하였다. 미처리 및 처리 동물 (각각 0.5 μg)은 물론, 0 내지 100% 푸코스 (연구 1만)를 가지는 cAC10의 표준으로부터의 항체들을 니트로셀룰로스 막 상으로 블롯팅하였다. 단백질 수준은 편소우 S를 사용하여 가시화하였다. 비오틴닐화 AOL 렉틴을 사용하여 블롯을 탐침하고, 스트렙타비딘 HRP 및 ECL로 발색시켰다 (상기한 바와 같음). 알파 이노테크 카메라를 사용하여 겔 적재 (가시적) 및 푸코스 신호 (생물발광)를 측정하고, 기기 소프트웨어를 사용하여 정량하였다.

[0241]

결과:

[0242]

3개 농도의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)에 걸쳐 항체의 푸코실화 수준의 용량-의존성 감소가 존재하였다. 도 4를 참조하면, 항체 푸코실화 수준은 미처리 대조군 및 1 mM 2-플루오로푸코스 군 (좌측 및 중앙 패널, 상부 2 개의 식사각형)에서 가장 높았다. 중간 농도의 2-플루오로푸코스로부터의 항체는 거의 100 mM 2-플루오로푸코스의 높은 농도만큼 푸코스를 고갈시켰다. 이러한 결과는 마우스에 대한 2-플루오로푸코스의 투여가 코어 항체 푸코실화를 억제할 수 있다는 것을 확인해 주었다.

[0243]

실시예 4: 인간 세포에 대한 푸코스 유사체의 영향

- [0244] 인간 골수종 세포에 의해 생성되는 IgG 항체의 푸코실화는 물론, 인간 암 세포주의 표면 단백질의 푸코실화를 억제하는 상이한 푸코스 유사체들의 능력을 조사하였다. 1차 연구에서는, 인간 다발성 골수종 세포주인 세포주 LP-1에 의해 생성되는 IgG의 푸코실화를 억제하는 푸코스 유사체의 능력을 조사하였다. 미처리 LP-1 세포에 의해 생성되며 그의 배양 배지에서 발견되는 항체는 항-인간 IgG 검출을 사용한 웨스턴 블롯 (데이터 미제시)에 의해 IgG 유형의 것인 것으로 확인되었다. 이는 T-75 배양 플라스크 (250,000개 세포/mL)에서, IgG-고갈 조직 배양 배지 (10% IgG-고갈 열 불활성화 FBS를 포함하는 90% RPMI) 중에서 5% CO₂의 가습 분위기하에 37°C에서 5일 동안 20 mL의 LP-1 세포를 성장시키는 것에 의해 수행되었다. 세포의 수거는 원심분리 (200×g, 4°C, 5분)에 의하였으며, 배양 배지를 수집하였다. 배지를 0.22 µm 필터를 통하여 여과한 다음, IgG를 포획하기 위하여 밤새 회전시키면서 4°C로, PBS 중 50% 마브셀렉트(MabSelect)TM 단백질 A 수지 슬러리 1 mL와 함께 인큐베이션하였다. 수지 슬러리를 침강시킴으로써, 대부분의 배지를 제거하였다. 수지 슬러리를 ~0.5 mL의 배지와 함께 2개의 셀룰로스 아세테이트 필터 회전 컵으로 이동시키고, 5000×g로 1분 동안 원심분리하였다. 다음에, 수지 상을 0.5 mL PBS로 3회 세척하였다. 700 µL의 피어스 IgG 용리 완충제 (용리 후 pH를 조정하기 위하여, 52 µL의 9 M 트리스 완충제, pH 9.5가 포함됨)를 사용하여 IgG를 용리하였다. 생성되는 용리물을 10,000 MW 컷오프 원심분리 농축기로 이동시키고, 대략 20 µL로 샘플을 농축하였다. 1 µL의 농축된 샘플을 분리용 SDS 폴리아크릴아미드 겔에 적재한 후, 이어서 니트로셀룰로스 막에 블롯팅하였다. 총 단백질을 위한 블롯의 염색은 편소우 S를 사용하였으며, 이소형의 확인은 항-인간 IgG 항체를 사용하였다. 총 단백질 염색은 IgG 중쇄 및 경쇄의 분자량과 일치하는 밴드를 나타내었으며, 항-인간 IgG 염색은 예상대로 중쇄의 분자량과 일치하는 단백질 밴드와의 반응을 나타내었다.
- [0245] 항체 푸코실화는 항체의 α-1,6-결합 푸코스에 특이적으로 결합되는 비오틴-표지 아스페르길루스 오리자에 L-푸코스-특이적 렉틴 (AOL)을 사용하여 측정될 수도 있다. 이와 같은 푸코스 검출 방법은 역시 SDS-PAGE에 의해 분리된 블롯팅된 단백질, 또는 분리 없이 니트로셀룰로스에 적용된 단백질 모두에 가용하다. 스트렙타비딘-HRP 결합 및 ECL 검출과 함께 AOL-비오틴 접합체를 사용하여 생성되는 형광 신호는 알파 이노테크 플루어켄(Alpha Innotech FlourChem)[®] Q 시스템을 사용하여 정량될 수 있다. LP-1 배양물로부터 분리된 IgG는 예상대로 중쇄의 MW에 상응하는 밴드에서 AOL-의존성 신호를 나타내었다 (데이터 미제시). 유사체 2-플루오로푸코스 (SGD-2083) 및 2-플루오로푸코스 피아세테이트 (SGD-2084)는 항체의 푸코실화를 나타내지 않았으나, 알키닐 푸코스 피아세테이트 (SGD-1890)는 나타내었다.
- [0246] 상이한 푸코스 유사체들의 활성을 추가적으로 평가하기 위하여, 48종의 상이한 푸코스 유사체들 및 다른 4종의 글리코실화 억제제들을 LP-1-생성 IgG의 푸코실화에 영향을 주는 그들의 능력에 대하여 시험하였다. LP-1 세포 (250,000개 세포/mL, 6-웰 플레이트에 화합물 당 3 mL)를, IgG-고갈 조직 배양 배지 (10% IgG-고갈 열 불활성화 FBS를 포함하는 90% RPMI) 중에서 5% CO₂의 가습 분위기하에 37°C에서 5일 동안, 100 µM의 각 푸코스 유사체와 함께 인큐베이션하였다. 상기한 바와 같이, 샘플 당 0.5 mL의 마브셀렉트TM 단백질 A 수지 슬러리 및 하나의 회전 컵만을 사용하여 400 µL의 IgG 용리 완충제에서 25 µL의 9 M 트리스 완충제, pH 9로 용리시킴으로써, IgG를 분리하였다. 용리물을 샘플 당 10-20 µL로 농축하고, 각 농축 용리물 중 2 µL를 니트로셀룰로스 막 상으로 도팅(dotted)한 후, 편소우 S로 염색함으로써, AOL 염색을 위한 샘플 적재량을 추정 및 조정하였다. 각 샘플에서의 이와 같은 총 단백질의 추정을 바탕으로, 대략 0.5 µg의 각 샘플을 막 상에 도팅한 후, 공기-건조하고, 편소우 S로 염색하였다. 알파 이노테크 플루어켄[®] Q 시스템을 사용하여, 이와 같이 염색된 막의 영상을 촬영하였다. 다음에, 트리스 완충 염수 (TBS) 중 5% 소 혈청 알부민 (BSA)을 사용하여 1시간 동안 막을 차단하고, TBST (트리톤을 포함하는 TBS)로 3회 세척한 다음, 5 µg/mL의 비오틴닐화-AOL과 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. TBST를 사용하여 다시 3회 막을 세척한 후, 이어서 30분 동안 스트렙타비딘-HRP 인큐베이션을 수행하고, 최종적으로 TBST로 3회 세척하였다. 화학발광 시약 (ECL)을 사용하여 생물발광 신호를 현색시킨 후, 알파 이노테크 플루어켄[®] Q 시스템 및 알파뷰(Alphaview)[®] 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 결과를 하기의 표에 나타내었다. 일부 유사체의 경우에는, 표에 나타난 바와 같이 다수의 샘플들을 분석하였다.

[0247] <표 4>

분자명	SGD 번호	대조 푸코실화 IgG 값의 %
알키닐 푸코스	1887	3
알키닐 푸코스 피아세테이트	1890	0; 0.08; 2
5-비닐 푸코스 테트라아세테이트	1922	2
5-시아노메틸렌 푸코스 테트라아세테이트	1924	96
L-갈락토노-1,4-락톤	1931	81
메틸 α-L-푸코피라노시드	1932	87
5-프로피닐 푸코스 테트라아세테이트	1937	315
5-(Z)-프로페닐 푸코스 피아세테이트	1944	72
6-프로파르길아미노 푸코스	1950	40
5-메틸 에스테르 푸코스 테트라아세테이트	1959	94
카스타노스퍼민	1960	300
5-메틸케토 푸코스 테트라아세테이트	1964	5
6-브로모 푸코스 테트라아세테이트	1969	1
5-이소프로필 푸코스 테트라아세테이트	1977	79
키푸넨신	1978	0.44; 2

[0248]

분자명	SGD 번호	대조 푸코실화 IgG 값의 %
프로파르길 푸코스 테트라아세테이트	1987	38
6-플루오로 푸코스 테트라아세테이트	1988	15
5-에틸 푸코스 테트라아세테이트	1989	11
5-카르복시아미도 푸코스 테트라아세테이트	1995	79
6-알킨-6-아세톡시 푸코스 테트라아세테이트	2004	29
알키닐 푸코스 테트라프로피오네이트	2010	1.5
알키닐 푸코스 테트라헥사노에이트	2012	67
5-에폭시 푸코스 테트라아세테이트	2020	5
6-티오 갈락토스 펜타아세테이트	2025	44
1-메틸 푸코스 트리아세테이트	2039	1
알키닐 푸코스 테트라이소부타노에이트	2043	34
6-포르밀 푸코스 테트라아세테이트	2045	70
6'6-디플루오로 푸코스 테트라아세테이트	2046	2
알키닐 푸코스 테트라니코티네이트	2047	50
벤질옥시 푸코스 테트라아세테이트	2048	114
알키닐 푸코스 테트라 PEG 에스테르	2057	64
알키닐 푸코스 테트라이소니코티네이트	2058	34
1-메틸 알키닐 푸코스 트리아세테이트	2059	89
6-카르복시메틸 에스테르 푸코스 테트라아세테이트	2061	71
6-케토-6-에틸 푸코스 테트라아세테이트	2067	3
5-(2-시아노에틸)아라비노스 테트라아세테이트	2070	51
D-갈락토스 펜타아세테이트	2074	118
1,2-디테옥시-1,2-테렉트로 푸코스 디아세테이트	2080	159
1-테옥시 푸코스 트리아세테이트	2081	70
1,2-디플루오로 푸코스 디아세테이트	2082	87
2-플루오로-2-테옥시 푸코스	2083	66
2-플루오로-2-테옥시 푸코스 테트라아세테이트	2084	52
6-알렌 푸코스 테트라아세테이트	2097	45
2-플로로-2-테옥시 푸코스 테트라아세테이트	2099	146
2-테옥시 푸코스 트리아세테이트	2108	104
3-티오 푸코스 테트라아세테이트	2112	64
6-테옥시-L-탈로스	2113	93
4-테옥시 푸코스 트리아세테이트	2134	49

[0249]

[0250]

이와 같은 기술에 의해 증쇄에서의 푸코스 신호의 변화가 검출될 수 있다는 것을 보여주기 위한 전체 SDS-PAGE/웨스턴 블롯 분석을 위하여, 3종의 푸코스 유사체를 선택하였다. 선택된 3종의 유사체는 50 μM의 농도로 사용되었다. 본 분석에서는 2-플루오로푸코스 (SGD-2083), 2-플루오로푸코스 피아세테이트 (SGD-2084), 및 알키닐 푸코스 피아세테이트 (SGD-1890)의 활성을 미처리 세포로부터의 항체와 비교하였다. 알키닐 푸코스 피아세테이트

트의 사용은 비오틴화 AOL에 대한 반응성을 나타내지 않는 IgG를 생성시킴으로써, AOL 신호의 변화가 이와 같은 방법에 의해 검출될 수 있음을 확인해준 반면, 2-플루오로푸코스 (SGD-2083) 및 2-플루오로푸코스 피아세테이트 (SGD-2084)는 AOL 신호에 분명한 변화를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 표 4에서의 이들 화합물에 대한 결과와 대체로 일치한다.

[0251] 표 4에 목록화되어 있는 푸코스 유사체 중 많은 것들이 인간 골수종 세포에 의해 생성되는 항체의 푸코실화를 감소시키는 것으로 나타났다. 화합물들의 점 블롯은, 억제 표시로서의 AOL 신호의 감소를 사용할 때, 그들 중 10종이 인간 세포에서의 IgG 푸코실화의 잠재적으로 강한 억제제임을 나타내었다. 이들 푸코스 유사체는 알킬 푸코스 피아세테이트 (SGD-1890), 알킬 푸코스 테트라프로피오네이트 (SGD-2010), 1-메틸 푸코스 트리아세테이트 (SGD-2039), 5-에틸 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-1989), 6-플루오로 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-1988), 6-브로모 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-1969), 6'-디플루오로 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-2046), 6-케토-6-에틸 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-2067), 5-에폭시 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-2020), 및 5-메틸 케토 푸코스 테트라아세테이트 (SGD-1964)이다.

[0252] AOL 점 블롯의 결과를 추가적으로 한정하기 위하여, 하기의 푸코스 유사체들 (점 블롯 AOL 신호의 중간 내지 강한 감소를 나타낸 것들)을 사용하여 처리된 세포에 의해 생성되는 IgG 샘플들을 분리하고, PLRP-MS를 환원시키는 것에 의해 조사함으로써, 중쇄의 MW를 사용하여 푸코실화 상태를 입증하였다: 알킬 푸코스 피아세테이트; 5-비닐푸코스 테트라아세테이트; 5-메틸케토푸코스 테트라아세테이트; 6-브로모푸코스 테트라아세테이트; 6-플루오로푸코스 테트라아세테이트; 5-에틸푸코스 테트라아세테이트; 5-에폭시푸코스 테트라아세테이트; 6'-디플루오로푸코스 테트라아세테이트; 6-케토-6-에틸 푸코스 테트라아세테이트; 및 2-플루오로푸코스 피아세테이트.

[0253] LP-1 세포 (250,000개 세포/mL)의 40 mL 샘플을 상기한 바와 같이 100 μ M의 푸코스 유사체로 5일 동안 처리하고, 기술된 바와 같이 단백질 A 수지를 사용하여 IgG를 정제하였다. 1.4 AU/(mg/mL)의 흡광 계수를 가정한 UV 분광법에 의해 산출을 추정하였다. 10종의 화합물 중 7종이 분석을 수행하기에 충분한 IgG를 산출하였다 (아마도 세포에 대한 유사체의 독성으로 인하여, <10 μ g의 IgG를 산출한 SGD-2067, SGD-1964, 및 SGD-2020 사용). 나머지 IgG들은 10 mM의 DTT를 사용하여 37°C에서 15분 동안 환원시키고, PLRP상에서 분리한 후, 이어서 QTOF 질량 분광측정기를 사용하여 MS 분석하였다. 생성되는 중쇄 피크를 조사하고, 미처리 세포에 의해 생성되는 IgG와 비교하였다.

[0254] 질량 분광측정법 결과를 표 5 (하기)에 나타내었다. 질량 분광측정법 신호는 중쇄 - 푸코스에 대비한 중쇄의 피크 높이와 중쇄 - 푸코스 + 푸코스 유사체의 질량 (항체 탄수화물 내로의 유사체의 도입이 존재하는 경우에 발생하게 됨)을 비교함으로써 평가하였다. 시험된 10종의 화합물 중 4종이 항체 상의 1,6-푸코실화에 대한 부분적 또는 완전 억제제이었다. 알킬 푸코스 피아세테이트 (SGD-1890)가 완전 억제를 제공한 반면, 2-플루오로푸코스 피아세테이트 (SGD-2084)는 70% 억제로서 다음으로 우수하였으며, 이어서 6'-디플루오로푸코스 테트라아세테이트 (SGD-2046) 및 6-브로모푸코스 테트라아세테이트 (SGD-1969)가 ~33 및 20% 억제로, 탄수화물 내로의 유사체의 도입과 혼성되었다.

[0255] <표 5>

LP-1-생성 IgG에 대한 PLRP-MS 대 점 블롯의 결과

SGD 번호	PLRP/MS (억제 또는 도입)	점 블롯 결과 (대조군에 대한 %푸코스 신호)
미처리	대조군	100
SGD-1890	완전 억제제	~1
SGD-1922	완전 도입체	2
SGD-1964	측정되지 않음	5
SGD-1969	부분적 도입체 및 20% 푸코스 억제제	1
SGD-1988	완전 도입체	15
SGD-1989	완전히 도입됨	11
SGD-2020	측정되지 않음	5
SGD-2046	부분적 도입체 및 33% 푸코스 억제제	2
SGD-2067	측정되지 않음	3
SGD-2084	70% 억제제	52

[0256]

[0257]

실시예 5: 단백질 푸코실화에 대한 푸코스 유사체의 효과

[0258]

5종의 상이한 인간-유래 암 세포주들 (Caki-1, PC-3, 라모스(Ramos), LS174t, 및 HL60cy)의 인큐베이션에 의해, 인간 암 세포에 대하여 4종의 부분적 내지 완전 억제제인 알킬 푸코스 퍼아세테이트 (SGD-1890), 2-플루오로푸코스 퍼아세테이트 (SGD-2084), 6'6-디플루오로푸코스 테트라아세테이트 (SGD-2046), 및 6-브로모푸코스 테트라아세테이트 (SGD-1969)의 단백질 세포 표면 푸코실화에 대한 효과를 시험하였다. 새로운 억제제를 포함하는 배양 배지를 규칙적으로 교체해주면서, 표준 배양 조건하에서 대략 1-2주 동안 100 μ M의 각 억제제를 사용하였다. 인큐베이션 기간 후, 4종의 상이한 검출 시약인 비오틴화-렌즈 클리마리스 아글루티닌-A (LCA), 항-루이스^x 항체 (항-SSEA1), 항-루이스^y 항체 (cBR96), 및 재조합 인간 P-셀렉틴/CD62P/Fc 융합 단백질을 사용한 FACS에 의해 세포를 분석하였다. 절차는 FACS 완충제 (PBS + 10% 소 혈청 알부민 + 0.02% 나트륨 아지드)를 사용하여 세포를 3회 세척하는 것, 이어서 4°C에서 1시간 동안의 1차 검출 시약을 사용한 인큐베이션, 이어서 FACS 완충제를 사용한 3회의 세척, 다음에 4°C에서 1시간 동안의 2차 검출 시약을 사용한 인큐베이션을 포함하였다. 세포를 최종적으로 FACS 완충제로 3회 세척한 후, FACS 완충제에 현탁하고, BD FACScan 기기를 사용하여 조사하였다. LCA 시약은 α -결합된 만노스 잔기를 함유하는 서열을 인식하는데, 그의 친화도는 코어 올리고사카라이드의 N-아세틸키토비오스 부분에 결합된 α -결합 푸코스 잔기에 의해 현저하게 향상된다. P-셀렉틴 융합 단백질은 그의 상호작용이 P-셀렉틴 리간드에 존재하는 시알릴 루이스^x 에피토프와 관련되는 세포 표면에 존재하는 P-셀렉틴 리간드를 검출한다.

[0259]

조사된 모든 세포주들은 α -결합된 만노스 잔기를 함유하는 서열을 인식하며 그의 친화도가 코어 올리고사카라이드의 N-아세틸키토비오스 부분에 결합된 α -결합 푸코스 잔기에 의해 현저하게 향상되는 LCA 시약에 의한 염색을 나타내었다. 이와 같은 당 에피토프의 LCA 검출은 모든 억제제 (100 μ M)를 사용한 세포의 처리시 감소되었다. 이는 조사된 6종의 푸코스 유사체를 사용한 처리에 의해 세포 표면에서의 전체적인 푸코스의 존재가 영향을 받는다는 것을 암시한다.

[0260]

도 7은 이러한 연구의 결과를 나타낸다. 루이스^x의 경우, 조사된 세포주들 중 미처리 LS1745t 및 HL60cy만이 세포 표면에서 상당량의 루이스^x가 검출되었다 (항-SSEAI 염색) (도 7a). 이와 같은 구조의 항-SSEAI 검출은 모든 푸코스 유사체 (100 μ M)를 사용한 세포의 처리시 상당히 감소되었다.

[0261]

루이스^y의 경우, 조사된 세포주들 중 미처리 LS1745t 및 HL60cy만이 세포 표면에서 상당량의 루이스^y가 검출되었다 (cBR96 염색) (도 7b). 이와 같은 구조의 cBR96 검출은 모든 푸코스 유사체 (100 μ M)를 사용한 세포의 처리시 상당히 감소되었다.

[0262]

P-셀렉틴의 경우, 조사된 세포주들 중 미처리 HL60cy만이 세포 표면에서 상당량의 P-셀렉틴 리간드가 검출되었다. 이와 같은 리간드의 검출은 알킬 푸코스 퍼아세테이트 (SGD-1890)를 제외한 모든 푸코스 유사체 (100 μ

M)를 사용한 세포의 처리에 의해 어느 정도 감소되었다 (도 7c). 미처리 라모스 세포는 P-셀렉틴 리간드를 거의 나타내지 않았으나; 푸코스 유사체를 사용한 처리시 이와 같은 리간드에 대한 신호가 증가하였다. 이는 일반적이지 않은 것으로서, 2-플루오로푸코스 (SGD-2083) 또는 알킬닐 푸코스 (SGD-1887)을 사용한 해당 세포의 이전의 처리에서는 관찰되지 않았었다.

[0263] 상기 결과는 이들 푸코스 유사체를 사용한 처리가 일반적으로 세포 표면 상의 푸코스의 존재, 또한 구체적으로는 세포 표면에서의 루이스 X 및 루이스 Y 수식 및 P-셀렉틴 리간드 상에 존재하는 시알릴 루이스 X의 푸코실화에 영향을 줄 수 있다는 것을 암시한다.

[0264] 실시예 6: 2-플루오로푸코스 경구 투여 후의 백혈구증가증 및 감소된 E-셀렉틴 결합

[0265] 마우스에서 백혈구증가증 및 E-셀렉틴 결합에 대한 푸코스 유사체의 효과를 조사하였다. 암컷 Balb/c 마우스의 음용수 중에 경구용 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 제공하거나, 미처리로 유지하였다. 투여 전에 마우스를 출혈시킨 다음, 3주 동안 매주 순환 세포 수 및 E-셀렉틴에 결합되는 그의 능력을 평가하였다. 일 연구에서는, 2-플루오로푸코스를 1 mM, 10 mM 또는 100 mM로 음용수 중에 배합하였다 (군 당 n=3). 14일차에, 타이터맥스 (TiterMAX)® 클래식(Classic) 아주반트 (시그마(Sigma) 사)를 사용하여 마우스를 처리함으로써 B 세포에 의한 항원 비-특이적 폴리클로날 항체 생성을 자극하고, 21일차까지 2-플루오로푸코스-함유수를 유지하였다. 2차 연구에서는, 어떠한 다른 처리도 없이, 음용수 중에 10 mM 및 100 mM로 배합된 경구용 2-플루오로푸코스를 3주 동안 마우스에 제공하였다 (n=6). 21일차에, 혈액 이외에도, 3마리 동물 각각으로부터의 림프절 (겨드랑이, 상완, 천서혜(superficial inguinal), 및 장간막)의 풀(pool)을 평가하였다. 림프절을 단일 세포 현탁액으로 균질화하고, 사멸 세포 배제를 위해 트리판 블루를 사용하는 혈구계수기에서의 계수에 의해 총 세포수를 측정하였다. 총 백혈구 수/ μ L혈액을 측정하기 위해서는, 적혈구 (RBC)를 배제하는 데에 터크 용액 (3% 아세트산 중 0.01% 젤티안 바이올렛)을 사용하는 혈구계수기에서 개별 동물로부터의 혈액의 샘플을 계수하였다. 유동 세포 측정 분석을 위하여, 삼투 용해에 의해 나머지 혈액으로부터 RBC를 제거하였다. 항-Gr-1-FITC 항체 (BD 바이오사이언시즈(BD Biosciences) 사)를 사용하여 세포를 인큐베이션함으로써, 호중구, 및 제조함 E-셀렉틴-인간 Fc 융합 단백질 (R&D 시스템즈(R&D Systems) 사)을 확인하였다. 세포를 세척한 다음, PE-표지된 염소 항-인간 IgG-Fc 2차 항체 (잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch) 사)와 함께 인큐베이션함으로써 결합된 E-셀렉틴을 검출하였다. 팩스칼리버(FACSCalibur) 유동 세포측정기에서 샘플을 수집하고, 셀레스트(CellQuest) 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. Gr-1+ 세포의 백분율을 측정하고, 혈구계수기 계수로부터의 총 백혈구 수를 사용하여 호중구의 절대 수를 계산하였다. 또한, 유동 샘플을 Gr-1+ 세포에 대하여 개폐함으로써(gated), 히스토그램 분석에 의해 호중구에의 E-셀렉틴 결합을 평가하였다. 히스토그램로부터 E-셀렉틴 형광 신호의 기하 평균을 측정하였다.

[0266] 결과

[0267] 도 5A 및 5B의 결과는 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)의 경구 투여가 용량-의존 방식으로 순환 백혈구 및 호중구의 증가를 초래하였음을 나타낸다. 1 mM로 제공된 2-플루오로푸코스는 매우 적은 효과를 나타낸 반면, 10 mM 및 100 mM 2-플루오로푸코스의 증가된 용량에서는 효과의 증가가 관찰되었다. 도 5A 및 5B에 나타난 데이터는 1차 연구 14일차로부터의 것이다. 제1 연구의 7 및 21일차는 물론, 2차 연구의 7, 14, 및 21일차에서도 (데이터 미제시) 유사한 결과가 수득되었다. 2차 연구에서는 21일차에 림프절도 평가하였는데, 도 5C는 2-플루오로푸코스의 경구 투여가 림프절에서의 세포성(cellularity)의 현저한 감소를 초래하였음을 나타낸다. 효과는 10 mM에서 비해 100 mM에서 더 중하였다.

[0268] 2-플루오로푸코스의 경구 투여는 또한 호중구에 대한 E-셀렉틴 결합의 감소를 초래하였다 (도 6). 푸코스 유사체의 효과는 또한 용량-의존성이어서, 1 mM은 거의 효과가 없었으며, 10 mM 및 100 mM은 점점 더 큰 효과를 보였다 (도 5B 및 5C).

[0269] 순환 백혈구 및 호중구에서의 관찰된 증가 (백혈구증가증)는 호중구에 의한 E-셀렉틴 결합의 억제와 부합하였다. E-셀렉틴은 말초 및 림프절로의 백혈구의 혈관외유출을 매개하므로, E-셀렉틴 결합의 억제 (푸코실화 억제에 의한 것) 역시 혈관외유출을 감소시키고 혈액에서의 백혈구의 축적을 초래하게 된다. 이러한 결과는 단백질 푸코실화, 특히 E-셀렉틴 푸코실화를 억제하는 푸코스 유사체가 자가면역을 억제하는 작용을 할 수 있음을 암시한다.

[0270] 실시예 7: 푸코스 유사체의 투여에 의한 중앙 성장 억제

[0271] 연구 1

[0272] 시험관 내에서, 인간 유래 세포주들을 푸코스 유사체 2-플루오로푸코스에 대한 그의 감수성에 대하여 평가하였다. 세포주는 하기였다: LS174T 결장 선암종, PC-3 결장 선암종, HL-60 급성 골수성 백혈병, 라모스 버킷 림프종, 및 Caki-1 신세포 암종. 세포주들을 성장 배지 중 100 μ M의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083), 성장 배지 중 100 μ M의 알키닐 푸코스 (SGD-1887), 또는 대조 성장 배지 (푸코스 유사체 없음)의 존재하에 2주 동안 배양하였다. 성장 배지는 10% FBS를 포함하는 MEM 이글 (LS174T), 10% FBS를 포함하는 50:50 F12 및 RPMI (PC-3), 10% FBS를 포함하는 RPMI (HL-60), 10% FBS를 포함하는 IMDM (라모스), 및 10% FBS를 포함하는 맥코이(McCoy) (PC-3)이었다. 루이스Y를 검출하기 위한 항체 cBR96, 루이스X를 검출하기 위한 항체 SSEA-1, P-셀렉틴을 검출하기 위한 P-셀렉틴 리간드, 및 일반적인 푸코실화 수준을 검출하기 위한 AOL 렉틴을 사용하여, FACS에 의한 세포 표면 푸코실화에 대해 세포를 평가하였다.

[0273] **결과:**

[0274] FACS 평가의 결과는 상이한 세포주들에서의 다양한 푸코실화 세포 표면 단백질 수준을 나타내었다 (데이터 미제시). 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)가 대체적으로 알키닐 푸코스 (SGD-1887)보다 더 우수한 단백질 푸코실화의 억제제이었다.

[0275] **연구 2**

[0276] 이들 푸코스 유사체들의 활성을 추가적으로 평가하기 위하여, 푸코스 유사체 존재하에서의 배양에 의해 예비-처리된 적이 있는 종양 세포를 사용하거나, 또는 미처리 종양 세포를 사용하여 생체 내에서 추가 연구를 수행하였다. 하기와 같이 군 당 10마리의 마우스에 종양 세포를 이식하였다. LS174T, PC-3, 및 Caki-1 세포주의 경우, 암컷 누드 마우스에 피하로, 25% 마트리젤(Matrigel) 중 5×10^5 개 세포를 이식하였다. HL-60 및 라모스 세포주의 경우, 암컷 SCID 마우스에 피하로, 5×10^6 개 세포를 이식하였다. 미처리 종양 세포가 이식된 마우스의 경우, 일반적인 음용수를 마우스에 제공하였다. 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)로 예비-처리된 종양 세포가 이식된 마우스의 경우, 20 mM의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)이 보충된 음용수를 마우스에 제공하였다. 알키닐 푸코스 (SGD-1887)로 예비-처리된 종양 세포가 이식된 마우스의 경우, 일반적인 음용수를 마우스에 제공하였다. 알키닐 푸코스를 함유하는 물은 마우스가 음용하지 않았다.

[0277] 2-플루오로푸코스-함유 음용수를 투여받는 3주 후, Caki-1 종양을 가지는 마우스를 제외하고는, 마우스를 일반적인 음용수로 복귀시켰다. 전자의 마우스는 1주 동안 일반적인 음용수로 복귀하였다. 일반적인 물을 투여받는 1주 후, 마우스를 20 mM 2-플루오로푸코스가 보충된 음용수를 투여받거나, 또는 일반적인 음용수를 투여받는 각각 5마리의 2개 군으로 무작위화하였다. 종양이 약 1000 mm^3 에 달하였을 때, 마우스를 희생시켰다.

[0278] 도 8a-e를 참조하면, 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)으로 처리된 LS174T, PC-3 및 Caki-1 세포의 경우, 생체내 종양 성장 억제가 관찰되었다. HL-60 및 라모스 세포의 경우에는, 종양 성장의 변화가 관찰되지 않았다. Caki-1의 경우, 첫 번째 처리 기간 동안에는 종양 성장 억제가 관찰되지 않았으나, 마우스를 2-플루오로푸코스 처리로 복귀시킨 후에는 종양 성장 억제가 관찰되었다. 다른 세포주들의 경우에는, 종양 크기가 약 150 mm^3 에 도달하였을 때에 종양 성장 억제가 개시되는 것으로 나타났다. 더 느리게 성장하는 Caki-1 종양은 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 사용한 2차 처리 기간까지 상기 시점에 도달하지 못하였다. 이러한 결과는 푸코스 유사체를 사용한 처리가 종양 성장을 억제할 수 있음을 표시한다.

[0279] **연구 3**

[0280] 3차 연구에서는, 푸코스 유사체를 사용한 사전 처리 없이 종양 세포를 이식하였다. 암컷 누드 마우스에, LS174T 결장 선암종 세포 (25% 마트리젤 중 5×10^5 개 세포)를 피하로 이식하였다. 이식 7일 전부터 이식 21일 후까지, 마우스의 음용수 중으로 50 mM의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 공급하거나, 또는 일반적인 음용수를 공급하였다.

[0281] **결과**

[0282] 도 8f를 참조하면, 음용수 중에 50 mM의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 제공받은 마우스는 일반적인 음용수를 공급받은 마우스에서의 734 mm^3 에 비해 110 mm^3 의 평균 종양 크기를 달성함으로써, 종양 성장의 실질적인 억제를 나타내었다. 종합적으로, 이러한 결과는 푸코스 유사체의 투여가 종양 성장을 억제할 수 있음을 암시한다.

[0283] **실시예 8: 종양 백신 모델**

[0284] -21일차 및 -7일차에, 1백만개의 A20 림프종 세포 (조사에 의해 사멸된 것)의 피하 이식에 의해 암컷 Balb/c 마우스를 면역화하였다. 또 다른 마우스 군에는 어떠한 면역화도 제공하지 않았다. 0일차에, 1.5백만 개 또는 5백만개의 생 A20 세포를 모든 마우스에 iv로 접종하였다. -14일차로부터 +21일차까지에, 마우스의 음용수 중에 50 mM의 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 제공하거나, 또는 일반적인 음용수를 제공하였다. 8개 처리 군은 하기와 같았다:

- [0285] 1. 면역화 없음, 1.5백만개의 생 A20 세포, 일반적인 음용수
- [0286] 2. 면역화 없음, 5백만개의 생 A20 세포, 일반적인 음용수
- [0287] 3. 면역화 없음, 1.5백만개의 생 A20 세포, 음용수 중에 50 mM의 SGD-2083
- [0288] 4. 면역화 없음, 5백만개의 생 A20 세포, 음용수 중에 50 mM의 SGD-2083
- [0289] 5. 면역화, 1.5백만개의 생 A20 세포, 일반적인 음용수
- [0290] 6. 면역화, 5백만개의 생 A20 세포, 일반적인 음용수
- [0291] 7. 면역화, 1.5백만개의 생 A20 세포, 음용수 중에 50 mM의 SGD-2083
- [0292] 8. 면역화, 5백만개의 생 A20 세포, 음용수 중에 50 mM의 SGD-2083

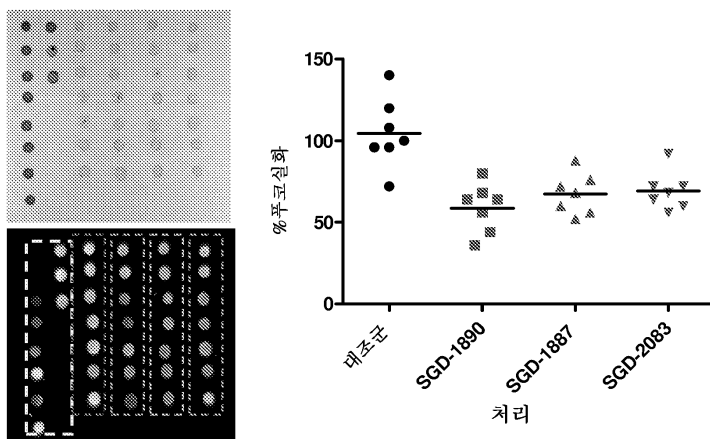
[0293] **결과**

[0294] 도 9A를 참조하면, 연구 설계를 나타내었다. 도 9B를 참조하면, 어떠한 면역화도 받지 않은 마우스는 22-35일 차부터 생 A20의 챌린지에 사멸하였다. 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 투여받은 마우스는 일반적인 음용수를 투여받은 것들에 비해 수일 더 오래 생존하였다. 5백만개의 사멸 A20 세포로 면역화되고 일반적인 음용수를 투여받은 2마리의 마우스는 생 A20의 챌린지에 사멸하였다. 면역화 및 해당 음용수 중 2-플루오로푸코스 (SGD-2083)를 투여받은 모든 마우스는 데이터 수집시에 여전히 살아있었다.

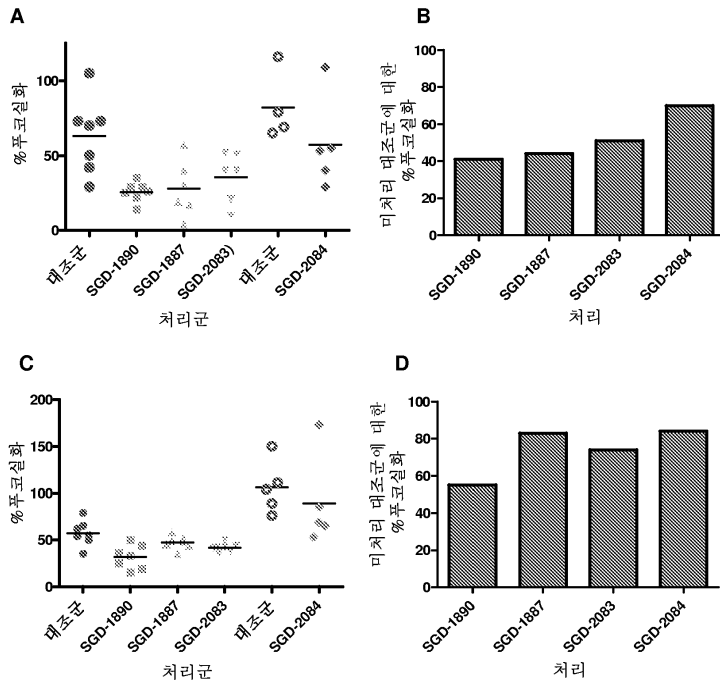
[0295] 본 발명이 본원에서 기술된 구체적인 실시양태에 의해 영역이 제한되는 것은 아니다. 당업자라면, 전기한 상세한 설명 및 첨부 도면으로부터 본원에 기술되어 있는 것들 이외의 본 발명의 다양한 변형들이 떠오르게 될 것이다. 그와 같은 변형들은 첨부된 청구범위의 영역에 속하는 것으로 하고자 한다. 문맥상 다른 것이 분명하지 않은 한, 본 발명의 모든 단계, 요소, 실시양태, 특징 또는 측면은 임의의 다른 것과의 조합으로써 사용될 수 있다. 본 출원에서 언급되는 모든 특허 출원, 및 과학 문헌, 승인 번호 등은 모든 목적에 있어서 개별적으로 그렇게 명시된 것처럼 동일한 정도까지 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

도면

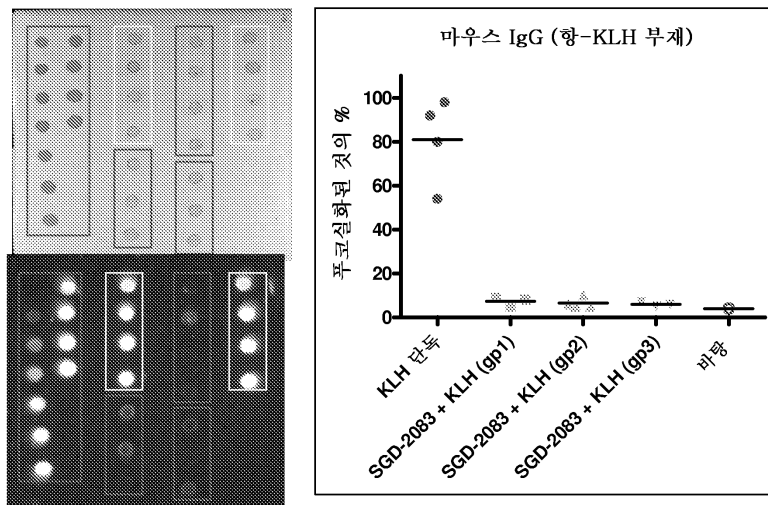
도면1



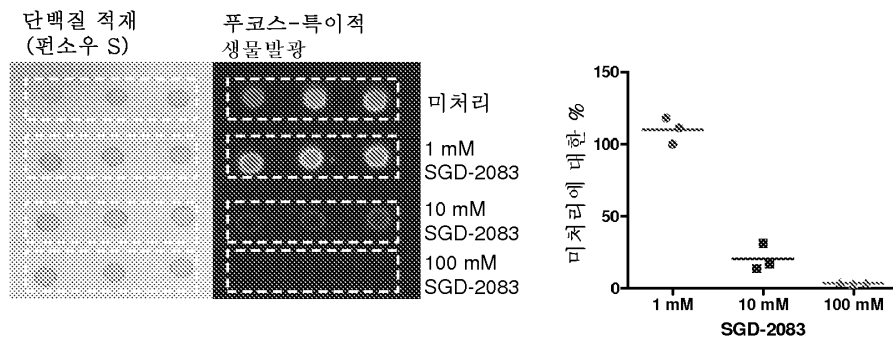
도면2



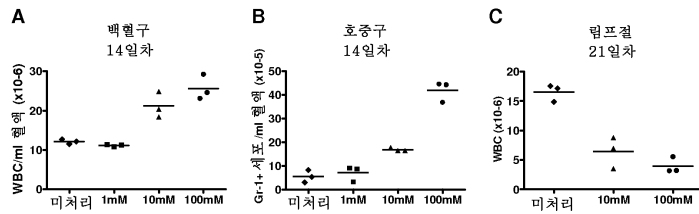
도면3



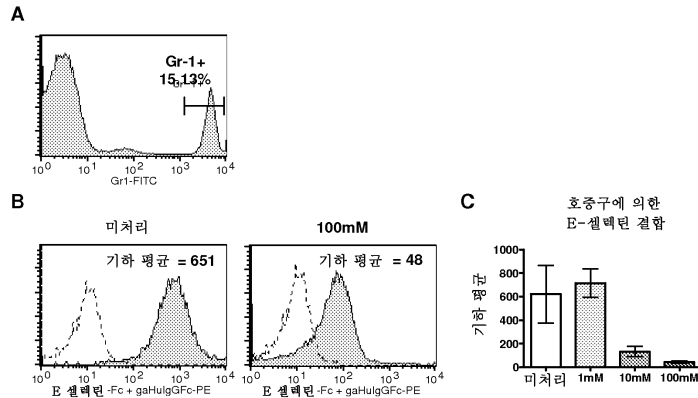
도면4



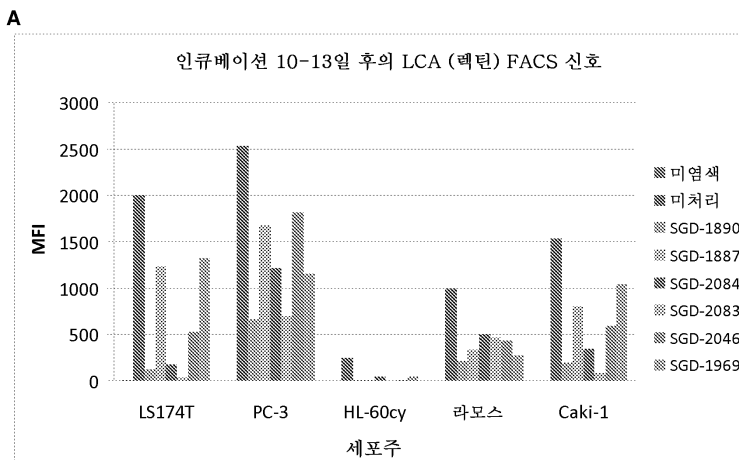
도면5



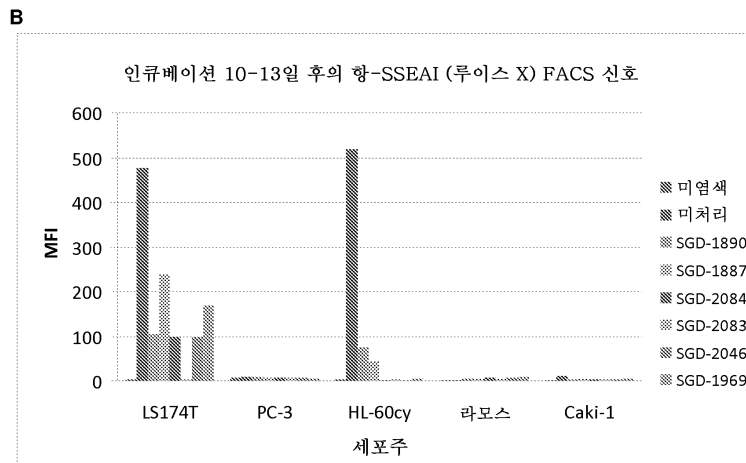
도면6



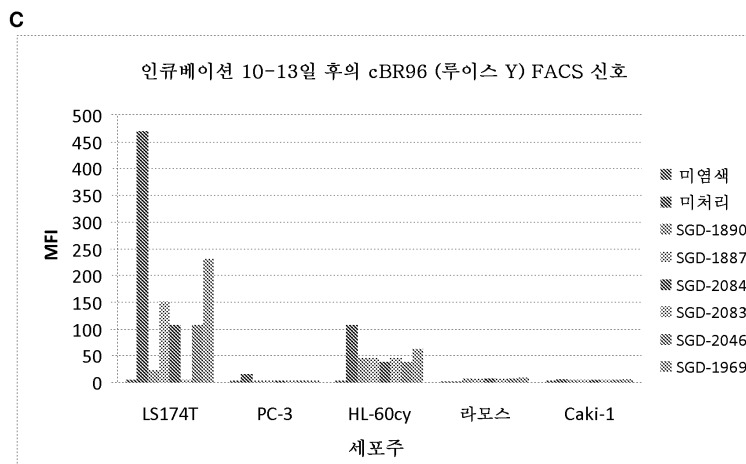
도면7a



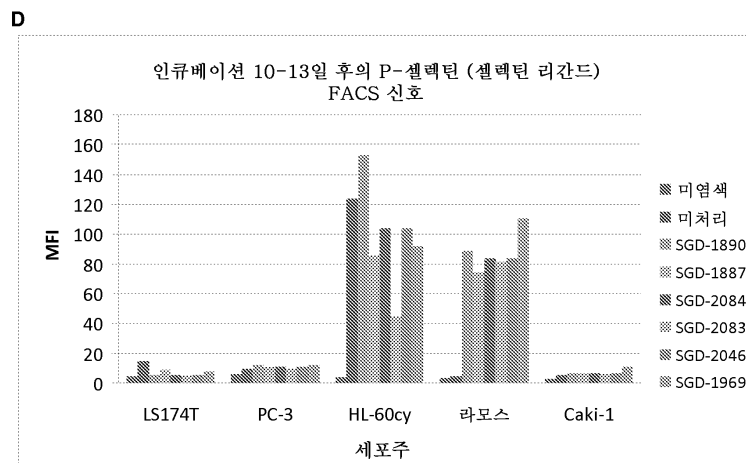
도면7b



도면7c



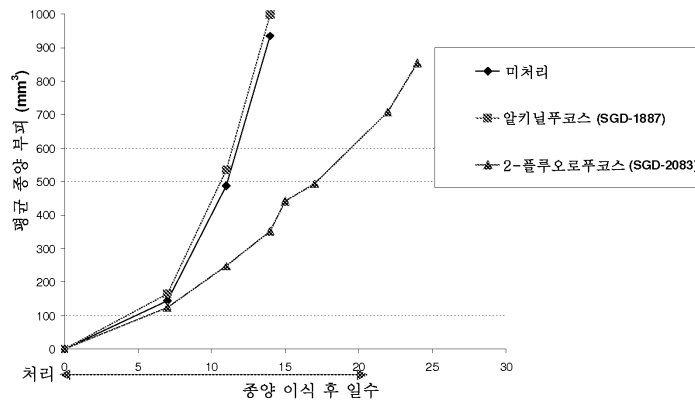
도면7d



도면8a

A

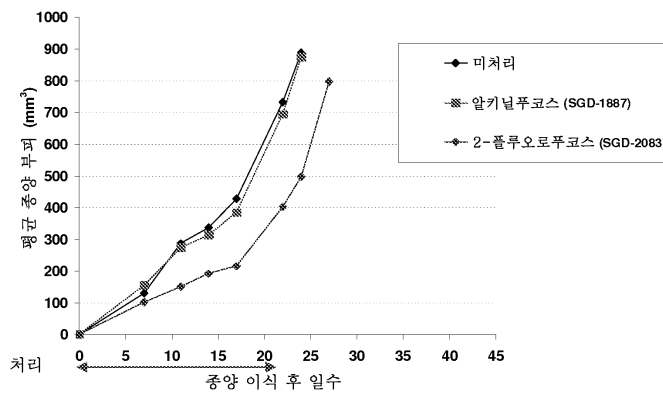
LS174t 세포 (결장 선암종)의 이종이식 시술 및 증가



도면8b

B

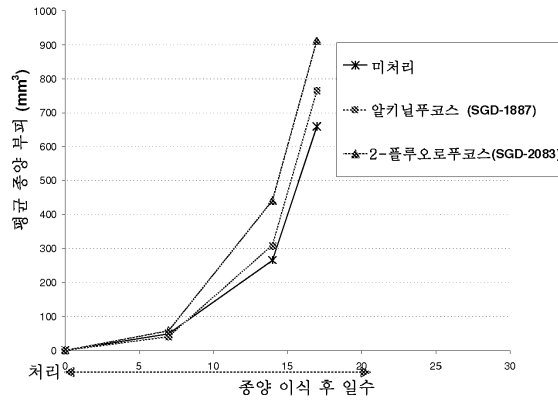
PC3-dsmz 세포 (전립선 선암종)의 이종이식 시술 및 증가



도면8c

C

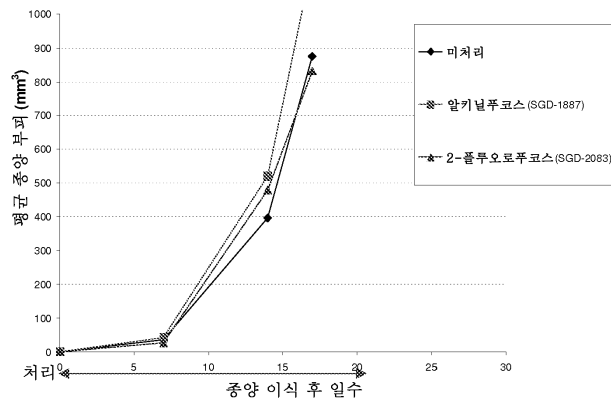
HL60 세포 (AML)의 이종이식 시술 및 증가



도면8d

D

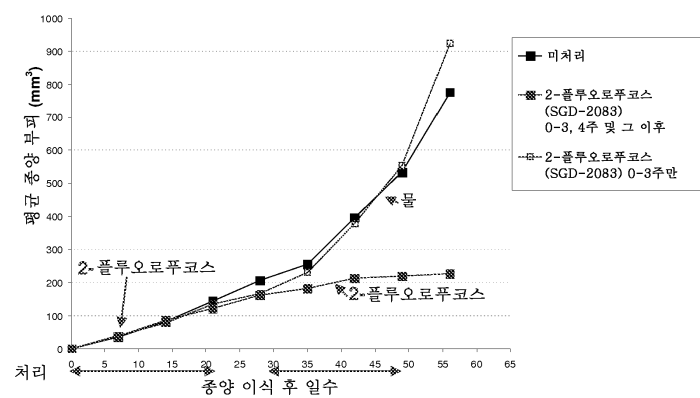
라모스 세포 (머캣 림프종)의 이종이식 시술 및 증가



도면8e

E

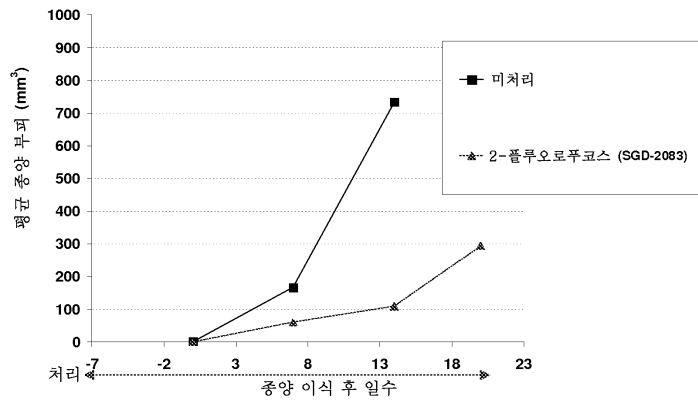
Caki 1 세포 (신세포 암종)의 이종이식 시술 및 증가



도면8f

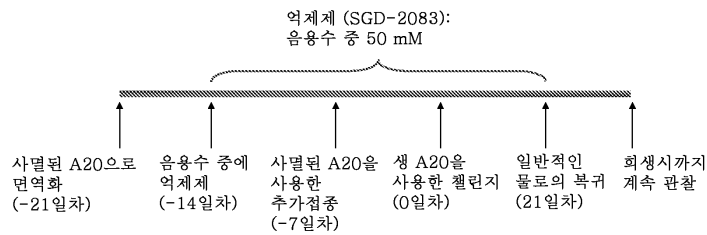
F

LS174t 세포 (결장 선암종)의 이중이식 시술 및 증가



도면9

A



B

