



등록특허 10-2182663



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년11월25일  
(11) 등록번호 10-2182663  
(24) 등록일자 2020년11월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07H 21/00* (2006.01) *C07D 265/30* (2006.01)  
*C07D 295/108* (2006.01) *C07F 9/60* (2006.01)  
*C07F 9/6558* (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
- (52) CPC특허분류  
*C07H 21/00* (2013.01)  
*C07D 265/30* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7008683(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2011년05월27일  
심사청구일자 2020년04월06일
- (85) 번역문제출일자 2020년03월25일
- (65) 공개번호 10-2020-0036041
- (43) 공개일자 2020년04월06일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7014303  
원출원일자(국제) 2011년05월27일  
심사청구일자 2019년06월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/038459
- (87) 국제공개번호 WO 2011/150408  
국제공개일자 2011년12월01일
- (30) 우선권주장  
61/349,783 2010년05월28일 미국(US)  
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌  
WO2008036127 A2

(73) 특허권자  
사렙타 쎄러퓨티스, 인코퍼레이티드  
미국, 매사추세츠 02142, 캠브리지, 스위트 7,  
215 퍼스트 스트리트

(72) 발명자  
한준, 군나르, 제이.  
미국, 워싱턴주 98011, 보겔, 8700 노스아스트 보  
셀 웨이  
루돌프, 알렉산더, 찰스  
미국, 워싱턴주 98065, 스노퀄미, 7801 멜로즈 레  
인 에스.이.  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인  
특허법인한얼

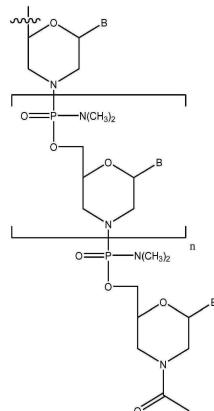
전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 정영훈

(54) 발명의 명칭 변형된 서브유니트간 결합 및/또는 말단 그룹을 갖는 올리고뉴클레오타이드 유사체

**(57) 요 약**

본 발명은 변형된 서브유니트간 결합 및/또는 변형된 3' 및/또는 5'-말단 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 유사체를 제공한다. 기술된 화합물은 단백질 발현의 억제 또는 이상 mRNA 스플리스 생성물의 보정이 유익한 치료학적 효과를 제공하는 질병의 치료에 유용하다.

**대 표 도**

(52) CPC특허분류

*C07D 295/108* (2013.01)  
*C07F 9/60* (2013.01)  
*C07F 9/65583* (2013.01)  
*C12N 15/1131* (2013.01)  
*C12N 2310/11* (2013.01)  
*C12N 2310/3233* (2013.01)  
*C12N 2310/3513* (2013.01)

(72) 발명자

**카이, 바오, 종**

미국, 오리건주 97330, 코발리스, 4736 엔.더블  
유.지니스 플레이스

**자오, 맹**

미국, 텍사스주 75019, 코펠, 433 워터뷰 드라이브

**웰러, 드와이트, 디.**

미국, 오리건주 97330, 코발리스, 3323 엔.더블유.  
엘름우드 드라이브

---

(30) 우선권주장

61/361,878 2010년07월06일 미국(US)  
61/386,428 2010년09월24일 미국(US)

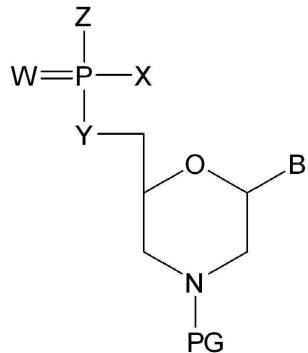
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(a) 고체상-지지된 하기 화학식 XXXI의 모르폴리노 서브유니트, 또는 그의 염, 입체이성체 또는 호변이성체의 고리 질소를 털보호하는 단계:

[화학식 XXXI]



여기에서

W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이고;

X는 각각의 경우에 독립적으로  $-NR^8R^9$  또는  $-OR^3$ 이고;

Y는 각각의 경우에 독립적으로 O 또는  $-NR^{10}$ 이고;

B는 염기-짝짓기 부분(base-pairing moiety)이고;

$R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이고;

$R^4$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸,  $-C(=NH)NH_2$ ,  $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$  또는  $-[C(O)CHR'NH]_mH$ 이고, 여기에서

Z는 카보닐 ( $C(=O)$ ) 또는 직접 결합이며,  $R'$ 은 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄 또는 그의 1- 또는 2-탄소 동족체이고, m은 1 내지 6이며;

$R^5$ 는 각각의 경우에 돋립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이고;

$R^7$ 은 각각의 경우에 돋립적으로 수소,  $C_1-C_6$  알킬 또는  $C_1-C_6$  알콕시알킬이고;

$R^8$ 은 각각의 경우에 돋립적으로 수소 또는  $C_2-C_{12}$  알킬이고;

$R^9$ 은 각각의 경우에 돋립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아르알킬 또는 아릴이고;

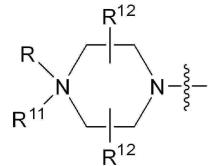
$R^{10}$ 은 각각의 경우에 돋립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이고;

L은 알킬, 알콕시 또는 알킬아미노 그룹, 또는 이들의 조합을 포함하는, 최대 18개 원자 길이인 임의의 링커이고;

여기에서  $R^8$  및  $R^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 혼테로사이클을 형성할 수 있거나, 또는  $R^8$ ,  $R^9$  또는  $R^3$ 은  $R^{10}$ 과 결합하여 5-7 원 혼테로사이클을 형성할 수 있으며,

여기에서 X가 4-페라지노인 경우에, X는 하기 화학식 III의 구조를 갖고,

[화학식 III]



여기에서

R<sup>11</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬카보닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴이고;

R은 각각의 경우에 독립적으로 전자쌍, 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이고;

R<sup>12</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, -NH<sub>2</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>R<sup>15</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬카보닐, 옥소, -CN, 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클, -SR<sup>13</sup> 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알콕시이며, 여기에서 R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 및 R<sup>15</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이고;

Z는 고체 지지체에 대한 결합이고;

PG는 C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬임;

(b) (a) 단계의 생성물을 Z가 할로인 화학식 XXXI의 모르폴리노 서브유니트와 반응시키는 단계;

(c) (a) 및 (b) 단계를 n-2회 반복하는 단계로서, n은 10 내지 40인 단계; 및

(d) (a), (b) 및 (c) 단계의 생성물을 고체상 지지체로부터 분리하는 단계를 포함하는, 올리고머의 제조방법.

## 청구항 2

제1항에 있어서, (b) 단계의 Z가 클로로인, 방법.

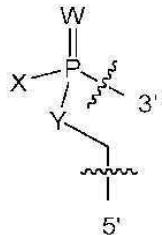
## 청구항 3

제1항에 있어서, PG가 트리틸 또는 메톡시 트리틸인, 방법.

## 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 올리고머는 하나의 모르풀리노 환 구조의 3'-말단을 인접한 모르풀리노 환 구조의 5'-말단에 결합시키는 서브유니트간 결합에 의해서 연결된 일련의 모르풀리노 환 구조를 포함하는 골격을 포함하는 올리고머이며, 여기에서 각각의 모르풀리노 환 구조는 올리고머가 표적 핵산에 서열-특이적 방식으로 결합할 수 있도록 염기-짝짓기 부분에 결합되고, 여기에서 서브유니트간 결합은 하기 화학식 I의 구조, 또는 그의 염, 입체이성체 또는 호변이성체를 갖는, 방법:

[화학식 I]



상기 식에서,

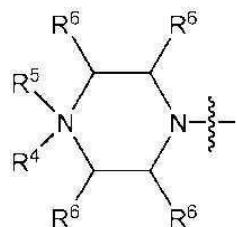
각각의 서브유니트간 결합 (I)은 독립적으로 결합 (A) 또는 (B)이며,

여기에서, 결합 (A)의 경우에는

W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 0이고,

X는 각각의 경우에 독립적으로  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NR^1R^2$ ,  $-OR^3$  또는 하기 화학식 II이며,

[화학식 II]



Y는 각각의 경우에 독립적으로 0 또는  $-NR^2$ 이고,

$R^1$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

$R^2$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이고,

$R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,

$R^4$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸,  $-C(=NH)NH_2$ ,  $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$  또는  $-[C(O)CHR'NH]_mH$ 이고, 여기에서

Z는 카보닐 ( $C(O)$ ) 또는 직접 결합이며,  $R'$ 는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄 또는 그의 1- 또는 2-탄소 동족체이고, m은 1 내지 6이며,

$R^5$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이고,

$R^6$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

$R^7$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_6$  알킬 또는  $C_1-C_6$  알콕시알킬이고,

L은 알킬, 알콕시 또는 알킬아미노 그룹, 또는 이들의 조합을 포함하는, 길이가 18 원자까지인 임의의 링커이며,

여기에서, 결합 (B)의 경우에는

W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 0이고,

X는 각각의 경우에 독립적으로  $-NR^8R^9$  또는  $-OR^3$ 이며,

Y는 각각의 경우에 독립적으로 0 또는  $-NR^{10}$ 이고,

$R^8$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_2-C_{12}$  알킬이며,

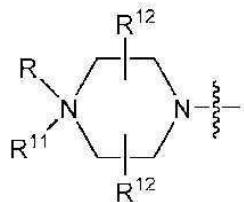
$R^9$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아르알킬 또는 아릴이고,

$R^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이며,

여기에서  $R^8$  및  $R^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있거나,  $R^8$ ,  $R^9$  또는  $R^3$

은 R<sup>10</sup>과 결합하여 5-7 원 헤테로사이클을 형성할 수 있으며, 여기에서 X가 4-페페라지닐인 경우에, X는 하기 화학식 III의 구조를 갖고,

[화학식 III]



R<sup>11</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬카보닐(여기에서 알킬은 아미디닐 또 는 구아니디닐로 치환되지 않음), 아릴, 헤테로아릴 또는 헤�테로사이클릴이며,

R은 각각의 경우에 독립적으로 전자쌍, 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이고,

R<sup>12</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, -NH<sub>2</sub>, -CONH<sub>2</sub>, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, -NR<sup>13</sup>R<sup>14</sup>R<sup>15</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬카보닐, 옥소, -CN, 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 테옥시콜레이트, 아릴, 헤�테로아릴, 헤�테로사이클, -SR<sup>13</sup> 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알콕시이며, 여기에서 R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 및 R<sup>15</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이고,

여기에서 서브유니트간 결합 중의 적어도 하나는 결합 (B)이며, 이때 i) R<sup>8</sup> 및 R<sup>9</sup>는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤�테로사이클을 형성하거나; ii) R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> 또는 R<sup>3</sup>은 R<sup>10</sup>과 결합하여 5-7 원 헤�테로사이클을 형성한다.

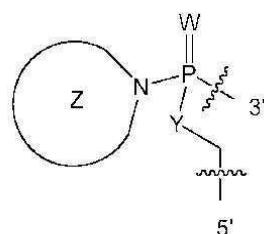
#### 청구항 5

제4항에 있어서, 서브유니트간 결합 중의 적어도 하나는 결합 (A)이며, X가 결합 (A)의 각각의 경우에 -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 인, 방법.

#### 청구항 6

제4항에 있어서, 적어도 하나의 결합 (B)가 하기 화학식 IV의 구조를 가지는 방법:

[화학식 IV]

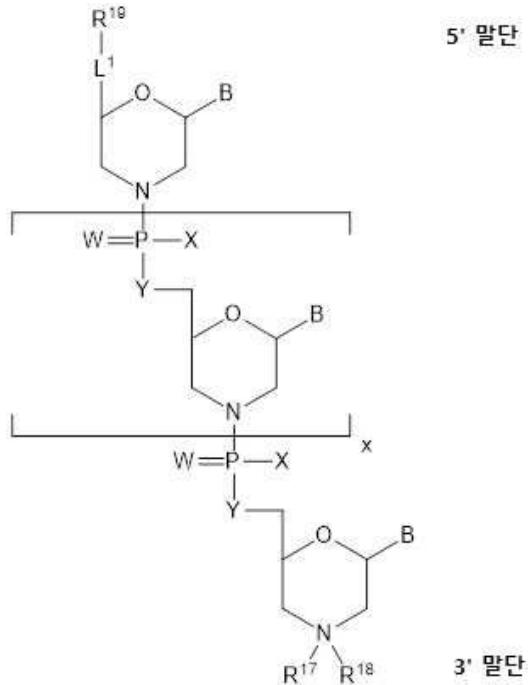


Z는 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤�테로사이클을 나타낸다.

#### 청구항 7

제4항에 있어서, 상기 울리고머가 하기 화학식 XVII의 구조 또는 그의 염, 입체이성체 또는 호변이성체를 갖는, 방법:

## [화학식 XVII]



상기 식에서,

$R^{17}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,

$R^{18}$  및  $R^{19}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소, 세포-침투성 펩타이드, 천연 또는 비-천연 아미노산,  $C_2-C_{30}$  알킬카보닐,  $-C(=O)OR^{21}$  또는  $R^{20}$ 이고,

$R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬,  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_7-C_{30}$  아르알킬,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐, 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이며,

$R^{21}$ 은 하나 또는 그 이상의 산소 또는 하이드록실 부분 또는 이들의 조합을 포함하는  $C_1-C_{30}$  알킬이고,

각각의  $R^{22}$ 는 독립적으로  $C_6-C_{12}$  아릴옥시이며,

B는 염기-짝짓기 부분이고,

L<sup>1</sup>은 알킬, 하이드록실, 알콕시, 알킬아미노, 아미드, 에스테르, 카보닐, 카바메이트, 포스포로디아미데이트, 포스포로아미데이트, 포스포로티오에이트, 및 포스포디에스테르로부터 선택된 결합을 포함하는, 길이가 18 원자까지인 임의의 링커이며,

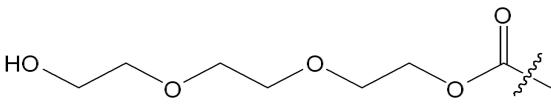
x는 0 또는 그 이상의 정수이고,

단,  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 이 둘 다 부재하지는 않는다.

## 청구항 8

제7항에 있어서,  $R^{18}$  또는  $R^{19}$  중의 적어도 하나는  $R^{20}$ 인, 방법.

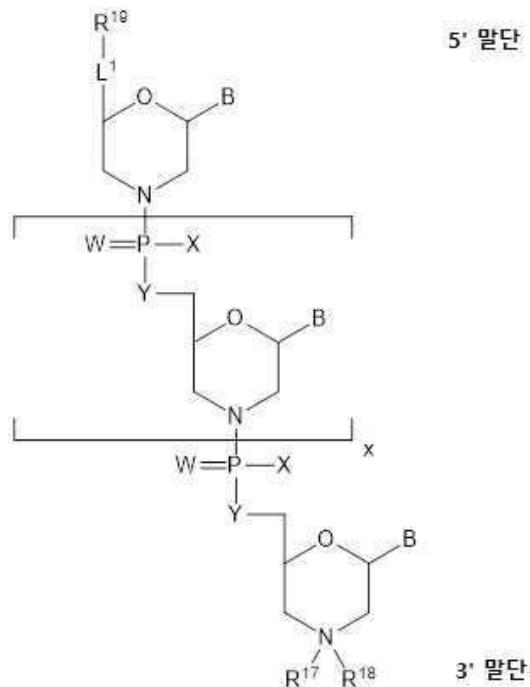
## 청구항 9

제7항에 있어서,  $R^{19}$ 는 피페리지닐 또는 인, 방법.

## 청구항 10

제1항에 있어서, 상기 올리고머는 타입 (A), (B), 또는 이들의 조합인 서브유니트간 결합에 의해 연결된 일련의 모르폴리노 환 구조를 포함하는 골격을 포함하는 올리고머이며, 여기에서 각각의 모르폴리노 환 구조는 올리고머 화합물이 표적 핵산에 서열-특이적 방식으로 결합할 수 있도록 염기-짝짓기 부분을 지지하며, 올리고머는 3' 말단 및 5' 말단을 포함하고, 하기 화학식 XVII의 구조, 또는 그의 염, 입체이성체 또는 호변이성체를 갖는, 방법:

[화학식 XVII]

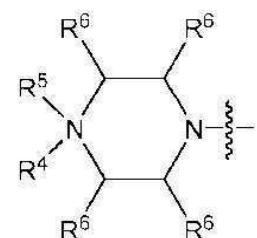


여기에서, 결합 (A)의 경우에는

$W$ 는 각각의 경우에 독립적으로  $S$  또는  $O$ 이고,

$X$ 는 각각의 경우에 독립적으로  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NR^1R^2$ ,  $-OR^3$  또는 하기 화학식 II이며,

[화학식 II]



$Y$ 는 각각의 경우에 독립적으로  $O$  또는  $-NR^2$ 이고,

$R^1$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

$R^2$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이고,

$R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,

$R^4$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸,  $-C(=NH)NH_2$ ,  $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$  또는  $-[C(O)CHR'NH]_mH$ 이고, 여기에서  $Z$ 는 카보닐( $C(0)$ ) 또는 직접 결합이며,  $R'$ 는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄 또는 그의 1- 또는 2-탄소 동족체이고,  $m$ 은 1 내지 6이며,

$R^5$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이고,

$R^6$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

$R^7$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_6$  알킬 또는  $C_1-C_6$  알콕시알킬이고,

$L$ 은 알킬, 알콕시 또는 알킬아미노 그룹, 또는 이들의 조합을 포함하는, 길이가 18 원자 이하인 임의의 링커이며;

여기에서, 결합(B)의 경우에는

$W$ 는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 0이고,

$X$ 는 각각의 경우에 독립적으로  $-NR^8R^9$  또는  $-OR^3$ 이며,

$Y$ 는 각각의 경우에 독립적으로 0 또는  $-NR^{10}$ 이고,

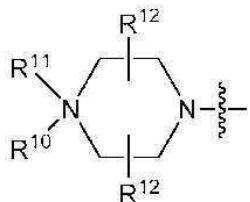
$R^8$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_2-C_{12}$  알킬이며,

$R^9$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아르알킬 또는 아릴이고,

$R^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이며,

여기에서  $R^8$  및  $R^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있거나,  $R^8$ ,  $R^9$  또는  $R^3$ 은  $R^{10}$ 과 결합하여 5-7 원 헤테로사이클을 형성할 수 있으며, 여기에서 X가 4-페라지닐인 경우에, X는 하기 화학식 III의 구조를 갖고,

[화학식 III]



$R^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $C_2-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴이며,

$R^{11}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 전자쌍, 수소 또는  $C_1-C_{12}$  알킬이고,

$R^{12}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $-NH_2$ ,  $-CONH_2$ ,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ ,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐,  $-CN$ , 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 구아니디닐, 구아

나디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클,  $-SR^{13}$  또는  $C_1-C_{12}$  알콕시이며, 여기에서  $R^{13}$ ,  $R^{14}$  및  $R^{15}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $C_1-C_{12}$  알킬이고,

$R^{17}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,

$R^{18}$  및  $R^{19}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소, 세포-침투성 웨타이드, 천연 또는 비-천연 아미노산,  $C_2-C_{30}$  알킬카보닐,  $-C(=O)OR^{21}$  또는  $R^{20}$ 이고,

$R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤�테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬,  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_7-C_{30}$  아르알킬,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이고,

$R^{21}$ 은 하나 또는 그 이상의 산소 또는 하이드록실 부분 또는 이들의 조합을 포함하는  $C_1-C_{30}$  알킬이고,

각각의  $R^{22}$ 는 독립적으로  $C_6-C_{12}$  아릴옥시이며,

B는 염기-짝짓기 부분이고,

L<sup>1</sup>은 알킬, 하이드록실, 알콕시, 알킬아미노, 아미드, 에스테르, 디설파이드, 카보닐, 카바메이트, 포스포로디아미네이트, 포스포로아미네이트, 포스포로티오에이트, 피페라진 및 포스포디에스테르로부터 선택된 결합을 포함하는, 길이가 18 원자 이하인 임의의 링커이며,

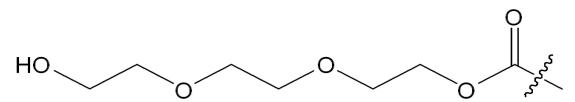
x는 0 또는 그 이상의 정수이고,

여기에서  $R^{18}$  또는  $R^{19}$  중의 적어도 하나는  $R^{20}$ 이며, 단  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 이 둘 다 부재하지는 않고,

$R^{18}$ 이  $R^{20}$ 이면,  $R^{18}$ 은 트리틸, 3-메톡시트리틸 또는 4-메톡시트리틸이 아니다.

### 청구항 11

제10항에 있어서,  $R^{19}$ 가 하기 구조를 갖는, 방법:



### 청구항 12

제10항에 있어서,  $R^{18}$ 은 세포-침투성 웨타이드이고,  $R^{19}$ 는  $R^{20}$ 인, 방법.

### 청구항 13

제10항에 있어서,  $R^{19}$ 는 세포-침투성 웨타이드이고,  $R^{18}$ 은  $R^{20}$ 인, 방법.

### 청구항 14

제10항에 있어서, 세포-침투성 웨타이드는 아르기닌-풍부 웨타이드인, 방법.

### 청구항 15

제10항에 있어서, 세포-침투성 웨타이드는 하기 X' 서브유니트, Y' 서브유니트, 및 Z' 서브유니트로부터 선택된 6 내지 16개의 서브유니트를 포함하는, 방법:

(a) 각각의 X' 서브유니트는 독립적으로 리신, 아르기닌 또는 아르기닌 유사체를 나타내며, 여기에서 상기 유사체는 화학식  $R^{33}N=C(NH_2)R^{34}$ 의 측쇄를 포함하는 양이온성  $\alpha$ -아미노산(여기에서  $R^{33}$ 은 H 또는 R이고;  $R^{34}$ 는  $R^{35}$ ,  $NH_2$ ,  $NHR$ , 또는  $NR^{34}$ 이며, 여기에서  $R^{35}$ 은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알케닐이고, 산소 또는 질소를 더 포함할 수 있으며;  $R^{33}$  및  $R^{34}$ 는 함께 환을 형성할 수 있고; 상기의 측쇄는  $R^{33}$  또는  $R^{34}$ 를 통해서 상기의 아미노산에 결합된다)이고;

(b) 각각의 Y' 서브유니트는 독립적으로 중성 아미노산 -C(O)-(CHR)<sub>n</sub>NH- (여기에서 n은 2 내지 7이고, 각각의 R은 독립적으로 H 또는 메틸이다)을 나타내며;

(c) 각각의 Z' 서브유니트는 독립적으로 중성 아르알킬 측쇄를 갖는  $\alpha$ -아미노산을 나타내고;

여기에서 상기 세포-침투성 웨타이드는 (X'Y'X')<sub>p</sub>, (X'Y')<sub>m</sub>, 및 (X'Z'Z')<sub>p</sub> (여기에서 p는 2 내지 5이고, m은 2 내지 8이다) 중의 하나로 표시되는 서열을 포함한다.

#### 청구항 16

제15항에 있어서, 각각의 X'의 경우에 측쇄는 구아니딜 (HN=C(NH<sub>2</sub>)NH-), 아미디닐 (HN=C(NH<sub>2</sub>)C-), 2-아미노디하이드로파리미딜, 2-아미노테트라하이드로파리미딜, 2-아미노파리디닐, 및 2-아미노파리미도닐로 구성된 그룹으로부터 선택되는, 방법.

#### 청구항 17

제15항에 있어서, 세포-침투성 웨타이드는 서열 (RY'R)<sub>4</sub> 및 (RRY')<sub>4</sub>로 표시되고, 여기에서 R은 아르기닌이고 Y'은 6-아미노헥사노산인, 방법.

#### 청구항 18

제15항에 있어서, 세포-침투성 웨타이드는 그 C-말단에서 하나 또는 두 개의 아미노산 링커를 통해 올리고머의 5' 말단에 연결되는, 방법.

#### 청구항 19

제15항에 있어서, 링커는 AhxB이고, 여기에서 Ahx는 6-아미노헥사노산 서브유니트이고, B는 13-알라닌 서브유니트인, 방법.

#### 청구항 20

제15항에 있어서, 각각의 X'의 경우에 측쇄는 구아니딜인, 방법.

#### 청구항 21

제15항에 있어서, Y' 서브유니트는 -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CHR-NH- (여기에서 n은 2 내지 7이고, R은 H이다)인, 방법.

#### 청구항 22

제15항에 있어서, Y' 서브유니트는 6-아미노헥사노산 서브유니트(Ahx)인, 방법.

#### 청구항 23

제15항에 있어서, Z' 서브유니트는 페닐알라닌인, 방법.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호-참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에서 미국 임시특허출원 제61/349,783호 (2010년 5월 28일 출원), 미국 임시

특허출원 제61/361,878호 (2010년 7월 6일 출원), 및 미국 임시특허출원 제61/386,428호 (2010년 9월 24일 출원)를 우선권으로 주장한다.

#### [0003] 서열 목록에 관한 설명

본 출원과 연관된 서열 목록은 서류 사본 대신에 텍스트 형식으로 제공되며, 이것은 본 명세서에 참고로 포함된다. 서열 목록을 함유하는 텍스트 파일의 명칭은 120178\_487PC\_SEQUENCE\_LISTING.txt이다. 텍스트 파일은 약 19 KB이며, 2011년 5월 27일에 만들어졌고, 전자문서로 제출된다.

#### [0005] 기술분야

본 발명은 일반적으로, 안티센스 화합물로 유용한 올리고뉴클레오타이드 화합물, 더욱 특히 변형된 서브유니트 간 (intersubunit) 결합 및/또는 말단 그룹을 포함하는 올리고머 화합물, 및 안티센스 분야에서의 이러한 올리고머 화합물의 용도에 관한 것이다.

### 배경기술

[0008] 안티센스 올리고머는 일반적으로 질병-유발 단백질의 DNA 또는 RNA에 결합하여 이러한 단백질의 생산을 방지하도록 디자인된다. 안티센스 치료제의 성공적인 완성을 위해서 필요한 조건에는 (a) 생체내 안정성, (b) 충분한 막 투과성 및 세포 흡수, 및 (c) 결합 친화성 및 서열 특이성의 우수한 평형이 포함된다. 천연 DNA의 포스포디 에스테르 결합이 뉴클레아제 분해에 대해 저항성인 다른 결합에 의해서 대체된 다수의 올리고뉴클레오타이드 유사체가 개발되었다 [참조: 예를 들어, Barawkar, D. A. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95(19):11047-52 (1998); Linkletter, B. A. et al., *Nucleic Acids Res.* 29(11):2370-6 (2001); Micklefield, J., *Curr. Med. Chem.*, 8(10):1157-79 (2001)]. 다른 다양한 골격 변형을 갖는 안티센스 올리고뉴클레오타이드도 또한 제조되었다 [Crooke, S. T., *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications*, New York, Marcel Dekker (2001); Micklefield, J., *Curr. Med. Chem.*, 8(10):1157-79 (2001); Crooke, S.T., *Antisense Drug Technology*, Boca Raton, CRC Press (2008)]. 또한, 올리고뉴클레오타이드는 세포 흡수를 증진시키기 위해서 펫타이드 컨주케이션에 의해서 변형되었다 [Moulton, H. M. et al., *Bioconjug. Chem.* 15(2):290-9 (2004); Nelson, M. H. et al., *Bioconjug. Chem.* 16(4):959-66 (2005); Moulton, H. M. et al., *Biochim Biophys Acta* (2010)].

[0009] 이러한 핵산 유사체의 안티센스 또는 항원 약물로서의 성능은 다양한 유사체의 특정한 특징에 의해서 방해를 받는다. 예를 들어, 포스포로티오에이트-결합된 유사체를 포함한, 음으로 하전된 결합을 갖는 유사체는 올리고머의 음전하와 DNA 또는 RNA 표적 사이의 상당한 정전기적 반발력으로 인한 문제가 있다. 포스포로티오에이트는 또한 단백질과 같은 다른 세포 성분에 대한 비-특이적 결합을 나타낸다. 이를 속성은 천연 RNA, 천연 DNA, 및 음으로 하전된 유사체로 이루어진 안티센스 올리고머의 치료학적 유효성을 제한한다 [Crooke, S. T., *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications*, New York, Marcel Dekker (2001); Crooke, S. T., *Antisense Drug Technology*, Boca Raton, CRC Press (2008)]. 비이온성 메틸포스포네이트-결합된 올리고뉴클레오타이드 유사체는 수동 확산 및/또는 유체상 세포내이입에 의해서 세포 내로 수송될 수 있지만, 이들의 사용은 입체이성체적 복잡성 (stereoisomeric complexity) 및 열등한 용해도에 의해서 방해를 받는다 [Crooke, S. T., *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications*, New York, Marcel Dekker (2001); Micklefield, J., *Curr. Med. Chem.*, 8(10):1157-79 (2001)].

[0010] 몇몇 그룹이 양으로 하전된 올리고뉴클레오타이드의 합성을 보고하였다 [Bailey, C. P. et al., *Nucleic Acids Res.* 26(21):4860-7 (1998); Micklefield, J., *Curr. Med. Chem.*, 8(10):1157-79 (2001); Egli, M. et al., *Biochemistry* 44(25):9045-57 (2005)]. 예를 들어, DNA 및 RNA 내의 포스페이트 결합을 바카랄성 구아니디노 그룹으로 대체시킴으로써 형성된 구아니디늄 결합된 뉴클레오사이드의 클래스 (DNG로 지정됨)가 보고되었다 [Dempcy, R. O. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 91(17):7864-8 (1994); Dempcy, R. O. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 93(9):4326-30 (1996); Barawkar, D. A. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95(19):11047-52 (1998); Linkletter, B. A. et al., *Nucleic Acids Res.* 29(11):2370-6 (2001)]. 양으로 하전된 메틸화 티오우레아 결합으로 결합된 올리고머가 또한 보고되었다 [Arya, D. P. et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. U.S.A.* 96(8): 4384-9 (1999)]. 이를 결합 중의 일부를 중성 우레아 결합으로 대체시키는 것은 이러한 양으로 하전된 올리고머가 비-서열-특이적 결합하는 경향을 감소시키는 것으로 보고되었다 [Linkletter, B. A. et al., *Bioorg. Med. Chem.* 8(8):1893-901 (2000)]. (1-페페라지노) 포스피닐리텐옥시 및 (1-(4-(ω-구아니디노-알카노일))-페페라지노) 포스피닐리텐옥시 결합을 함유하는 모르폴리노 올리고머는 이전에 기술되었다

[참조: 예를 들어, WO2008036127].

[0011] 상당한 진전이 이루어졌지만, 본 기술분야에서는 개선된 안티센스 또는 항원 성능을 갖는 올리고뉴클레오타이드 유사체에 대한 필요성이 여전히 남아있다. 이러한 개선된 안티센스 또는 항원 성능에는 다음이 포함된다: 서열 선택성을 손상시킴이 없이 DNA 및 RNA에 대한 더 강력한 친화성; 개선된 약력학 및 조직 분포; 개선된 세포 송달 및 신뢰할 수 있고 제어가능한 생체내 분포.

### 발명의 내용

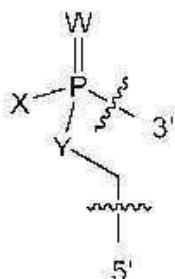
#### 해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 화합물은 이들 과제를 다루고 있으며, 본 기술분야에서 기존의 안티센스 분자에 대한 개선을 제공한다. 올리고뉴클레오타이드 유사체, 예를 들어, 모르폴리노 올리고뉴클레오타이드의 서브유니트간 결합의 변형 및/또는 5' 및/또는 3' 말단에 대한 말단 부분의 구조에 특성을 갖는 안티센스 올리고머를 제공한다. 예를 들어, 특정의 구체예에서 기술된 올리고머는 다른 올리고뉴클레오타이드 유사체에 비해서 증진된 세포 송달, 효력, 및/또는 조직 분포를 갖고/갖거나 표적 기관에 효과적으로 송달될 수 있다. 이를 탁월한 특성은 바람직한 치료학적 지수, 감소된 임상적 투약량, 및 더 낮은 상품 원가를 제공한다.

#### 과제의 해결 수단

[0015] 일 구체예에서, 본 발명은 하나의 모르풀리노 환 구조의 3'-말단을 인접한 모르풀리노 환 구조의 5'-말단에 결합시키는 서브유니트간 연결에 의해서 결합된 일련의 모르풀리노 환 구조를 포함하는 골격을 포함하는 올리고머를 제공하며, 여기에서 각각의 모르풀리노 환 구조는 올리고머가 표적 핵산에 서열-특이적 방식으로 결합할 수 있도록 염기-짝짓기 (base-pairing) 부분에 결합되고, 여기에서 서브유니트간 결합은 하기 화학식 I의 구조, 또는 그의 염 또는 이성체를 가지며, 각각의 서브유니트간 결합 I은 독립적으로 결합 (A) 또는 결합 (B)이다:

[0016] [화학식 I]



[0017]

[0018] 여기에서, 결합 (A)의 경우에

[0019]

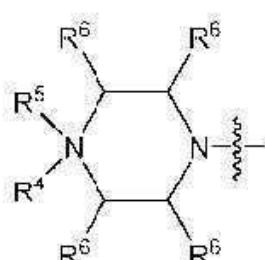
W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 0이고,

[0020]

X는 각각의 경우에 독립적으로  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NR^1R^2$ ,  $-OR^3$  또는 하기 화학식 II의 그룹이며,

[0021]

[화학식 II]



[0022]

[0023] Y는 각각의 경우에 독립적으로 0 또는  $-NR^2$ 이고,

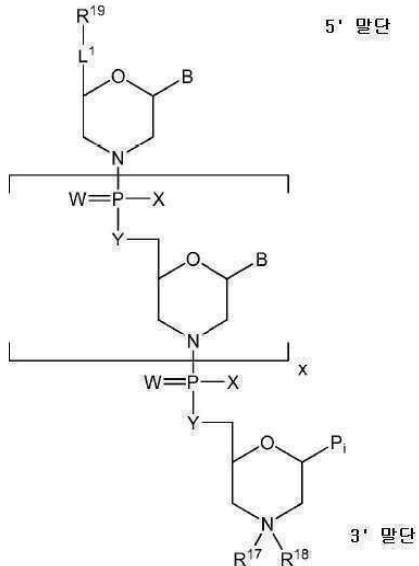
- [0024]  $R^1$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,
- [0025]  $R^2$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이고,
- [0026]  $R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,
- [0027]  $R^4$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸,  $-C(=NH)NH_2$ ,  $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$  또는  $-[C(O)CHR'NH]_mH$ 이고, 여기에서  $Z$ 는 카보닐 ( $C(0)$ ) 또는 직접 결합이며,  $R'$ 는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄 또는 그의 1- 또는 2-탄소 동족체이고,  $m$ 은 1 내지 6이며,
- [0028]  $R^5$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이고,
- [0029]  $R^6$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,
- [0030]  $R^7$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_6$  알킬 또는  $C_1-C_6$  알콕시알킬이고,
- [0031]  $L$ 은 알킬, 알콕시 또는 알킬아미노 그룹, 또는 이들의 조합을 포함한, 길이가 18 원자까지인 임의의 링카이며;
- [0032] 여기에서, 결합 (B)의 경우에
- [0033]  $W$ 는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이고,
- [0034] X는 각각의 경우에 독립적으로  $-NR^8R^9$  또는  $-OR^3$ 이며,
- [0035] Y는 각각의 경우에 독립적으로 O 또는  $-NR^{10}$ 이고,
- [0036]  $R^8$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_2-C_{12}$  알킬이며,
- [0037]  $R^9$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아르알킬 또는 아릴이고,
- [0038]  $R^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이며,
- [0039] 여기에서  $R^8$  및  $R^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있거나,  $R^8$ ,  $R^9$  또는  $R^3$ 은  $R^{10}$ 과 결합하여 5-7 원자 헤�테로사이클을 형성할 수 있으며, 여기에서 X가 4-페라지노인 경우에, X는 하기 화학식 III의 구조를 갖고,
- [0040] [화학식 III]
- 
- [0041]
- [0042]  $R^{11}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $C_2-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴이며,
- [0044] R은 각각의 경우에 독립적으로 전자쌍, 수소 또는  $C_1-C_{12}$  알킬이고,
- [0045]  $R^{12}$ 는 각각의 경우에 돋립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $-NH_2$ ,  $-CONH_2$ ,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ ,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐, 옥소,  $-CN$ , 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클,  $-SR^{13}$  또

는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알콕시이며, 여기에서 R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 및 R<sup>15</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이고,

[0046] 여기에서 서브유니트간 결합 중의 적어도 하나는 결합 (B)이다.

[0047] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 변형된 말단 그룹을 포함하는 올리고머를 제공하며, 예를 들어, 일 구체예에서 본 발명은 타입 (A), (B), 또는 이들의 조합인 서브유니트간 결합에 의해서 연결된 일련의 모르폴리노 환 구조를 포함하는 꿀격을 포함하는 올리고머를 제공하고, 여기에서 각각의 모르풀리노 환 구조는 올리고머 화합물이 표적 핵산에 서열-특이적 방식으로 결합할 수 있도록 염기-짝짓기 부분을 지지하며, 여기에서 올리고머는 3' 말단, 5' 말단을 포함하고, 하기 화학식 XVII의 구조, 또는 그의 염 또는 이성체를 갖는다:

[화학식 XVII]



[0049]

[0050] 여기에서, 결합 (A)의 경우에

[0051]

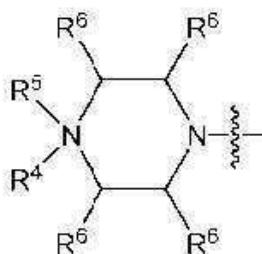
W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이고,

[0052]

X는 각각의 경우에 독립적으로 -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, -OR<sup>3</sup> 또는 하기 화학식 II의 그룹이며,

[0053]

[화학식 II]



[0054]

[0055] Y는 각각의 경우에 독립적으로 O 또는 -NR<sup>2</sup>이고,

[0056]

R<sup>1</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

[0057]

R<sup>2</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 -LNR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>R<sup>7</sup>이고,

[0058]

R<sup>3</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이며,

[0059]

R<sup>4</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸, -C(=NH)NH<sub>2</sub>, -Z-L-NHC(=NH)NH<sub>2</sub> 또는 -[C(O)CHR'NH]<sub>m</sub>H이고, 여기에서

Z는 카보닐 ( $\text{C}(=\text{O})$ ) 또는 직접 결합이며, R'는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄 또는 그의 1- 또는 2-탄소 동족체이고, m은 1 내지 6이며,

[0060]  $\text{R}^5$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이고,

[0061]  $\text{R}^6$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

[0062]  $\text{R}^7$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_6$  알킬 또는  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_6$  알콕시알킬이고,

[0063] L은 알킬, 알콕시 또는 알킬아미노 그룹, 또는 이들의 조합을 포함한, 길이가 18 원자까지인 임의의 링커이며;

[0064] 여기에서, 결합 (B)의 경우에

[0065] W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이고,

[0066] X는 각각의 경우에 독립적으로  $-\text{NR}^8\text{R}^9$  또는  $-\text{OR}^3$ 이며,

[0067] Y는 각각의 경우에 독립적으로 O 또는  $-\text{NR}^{10}$ 이고,

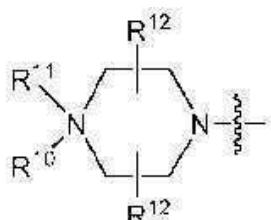
[0068]  $\text{R}^8$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $\text{C}_2\text{-}\text{C}_{12}$  알킬이며,

[0069]  $\text{R}^9$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  아르알킬 또는 아릴이고,

[0070]  $\text{R}^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬 또는  $-\text{LNR}^4\text{R}^5\text{R}^7$ 이며,

[0071] 여기에서  $\text{R}^8$  및  $\text{R}^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있거나,  $\text{R}^8$ ,  $\text{R}^9$  또는  $\text{R}^3$ 은  $\text{R}^{10}$ 과 결합하여 5-7 원자 헤테로사이클을 형성할 수 있으며, 여기에서 X가 4-피페라지노인 경우에, X는 하기 화학식 III의 구조를 갖고,

[0072] [화학식 III]



[0073]

[0074]  $\text{R}^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $\text{C}_2\text{-}\text{C}_{12}$  알킬,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  아미노알킬,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬카보닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴이며,

[0075]  $\text{R}^{11}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 전자쌍, 수소 또는  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬이고,

[0076]  $\text{R}^{12}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  아미노알킬,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{CONH}_2$ ,  $-\text{NR}^{13}\text{R}^{14}$ ,  $-\text{NR}^{13}\text{R}^{14}\text{R}^{15}$ ,  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬카보닐,  $-\text{CN}$ , 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤�테로아릴, 헤�테로사이클,  $-\text{SR}^{13}$  또는  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알콕시이며, 여기에서  $\text{R}^{13}$ ,  $\text{R}^{14}$  및  $\text{R}^{15}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_{12}$  알킬이고,

[0077]  $\text{R}^{17}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소 또는  $\text{C}_1\text{-}\text{C}_6$  알킬이며,

[0078]  $\text{R}^{18}$  및  $\text{R}^{19}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소, 세포-침투성 웹타이드, 천연 또는 비-천연 아미노산,

$C_2-C_{30}$  알킬카보닐,  $-C(=O)OR^{21}$  또는  $R^{20}$ 이고,

[0079]  $R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬,  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_7-C_{30}$  아르알킬,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐, 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이며,

[0080]  $R^{21}$ 은 하나 또는 그 이상의 산소 또는 하이드록실 부분 또는 이들의 조합을 포함하는  $C_1-C_{30}$  알킬이고,

[0081] 각각의  $R^{22}$ 은 독립적으로  $C_6-C_{12}$  아릴옥시이며,

[0082] B는 염기-짝짓기 부분이고,

[0083] L<sup>1</sup>은 알킬, 하이드록실, 알콕시, 알킬아미노, 아미드, 에스테르, 디설파이드, 카보닐, 카바메이트, 포스포로디아미데이트, 포스포로아미데이트, 포스포로티오에이트, 피페라진 및 포스포디에스테르로부터 선택된 결합을 포함하는, 길이가 18 원자까지인 임의의 링커이며,

[0084] x는 0 또는 그 이상의 정수이고,

[0085] 여기에서  $R^{18}$  또는  $R^{19}$  중의 적어도 하나는  $R^{20}$ 이며, 단  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 이 둘 다 부재하지는 않는다.

[0086] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 단백질을 코드화한 핵산을 본 발명의 올리고머에 노출시키는 것을 포함하여, 단백질의 생산을 억제하는 방법을 제공한다.

[0087] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 올리고머를 투여하는 것을 포함하여, 대상체에서 질병을 치료하는 방법에 관한 것이다. 상기 올리고머를 제조하는 방법 및 이들의 사용방법도 역시 제공된다.

[0088] 본 발명의 이들 및 그 밖의 다른 관점들은 이하의 상세한 설명을 참고로 하여 명백할 것이다. 이를 위해서, 본 명세서에는 특정의 배경 정보, 절차, 화합물 및/또는 조성물을 더 상세히 기술하고, 다양한 참고문헌이 제시되고, 이들 각각은 전체적으로 여기에서 참고로 포함된다.

### 발명의 효과

[0090] 본 발명에 따른 변형된 서브유니트간 결합 및/또는 변형된 3' 및/또는 5'-말단 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 유사체는 증진된 세포 송달, 효력, 및/또는 조직 분포를 갖고/갖거나 표적 기관에 효과적으로 송달될 수 있다. 이들 탁월한 특성은 바람직한 치료학적 지수, 감소된 임상적 투약량, 및 더 낮은 상품 원가를 제공한다.

### 도면의 간단한 설명

[0092] 도 1a는 포스포로디아미데이트 결합을 포함하는 예시적인 모르폴리노 올리고머 구조를 나타낸다.

도 1b는 도 1a에서와 같지만, 골격 결합이 하나의 피페라지노 포스포로디아미데이트 결합을 포함하는 모르풀리노 올리고머를 나타낸다.

도 1c는 아르기닌-풍부 웹타이드와 안티센스 올리고머의 컨주게이트를 나타낸다.

도 1d-g는 1d 내지 1g로 지정되는, 예시적인 모르풀리노 올리고뉴클레오타이드의 반복 서브유니트 분절을 나타낸다.

도 2는 모르풀리노-T 부분에 결합된 예시적인 서브유니트간 결합을 도시한다.

도 3은 고체-상 합성을 위한 링커의 제조를 나타내는 반응식이다.

도 4는 올리고머 합성을 위한 고체 지지체의 제조를 설명한다.

도 5는 대표적인 올리고머의 엑손 스키핑 (exon skipping) 활성을 나타낸다.

도 6은 mdx 마우스 모델에서의 엑손 스키핑을 나타내는 막대 그래프이다.

도 7a-7c는 유전자이식 eGFP 마우스를 예시적인 올리고머로 치료한 결과를 제공한다.

도 8은 예시적인 올리고머로 처리된 세포로부터의 바이러스성 M2 단백질 레벨의 감소를 나타낸다.

도 9는 예시적인 올리고머로 처리된 마우스에서의 항바이러스 활성 및 체중 감소를 나타낸다.

도 10은 예시적인 올리고머로 처리된 마우스의 체중 데이터를 제공한다.

도 11은 PMO 및 PMO<sup>+</sup> 올리고머와 비교하여 예시적인 올리고머로 처리된 마우스로부터의 다양한 조직에서의 eGFP 스플리스-보정 (splice-correction) 활성 데이터이다.

도 12는 PMO 및 PMO<sup>+</sup> 올리고머와 비교하여 예시적인 올리고머로 처리된 마우스로부터의 다양한 조직에서의 eGFP 스플리스-보정 활성 데이터의 서브세트이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0093]

상세한 설명

[0094]

I. 정의

[0095]

이하의 설명에서는, 다양한 구체예의 철저한 이해를 제공하기 위해서 특정한 구체적인 상세한 설명이 제시된다. 그러나, 본 기술분야에서 숙련된 전문가는 본 발명이 이들 상세한 설명이 없어도 실시될 수 있음을 이해할 것이다. 다른 경우에, 잘 알려진 구조는 구체예의 불필요하게 모호한 설명을 피하기 위해서 나타내지 않았거나 상세히 기술되지 않았다. 문맥이 다른 식으로 요구하지 않는 한, 명세서 및 그 후의 특허청구범위 전체에 걸쳐 단어 "포함한다 (comprise)" 및 그의 변형어, 예를 들어, "포함한다 (comprises)" 및 "포함하는 (comprising)"은 개방적이고 포괄적인 개념, 즉 "~를 포함하나, 이들로 제한되지 않는"으로 해석되어야 한다. 또한, 본 명세서에 제시된 표제들은 단지 편의를 위한 것이며, 청구된 발명의 범주 또는 의미를 설명하는 것은 아니다.

[0096]

본 명세서 전체적으로 "일 구체예" 또는 "구체예"에 대한 언급은 구체예와 관련하여 기술된 특별한 특징, 구조 또는 특성이 적어도 하나의 구체예에 포함되는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 문구 "일 구체예에서" 또는 "구체예에서"의 출현은 반드시 모두 동일한 구체예에 관련된 것은 아니다. 더구나, 특별한 특징, 구조 또는 특성은 하나 또는 그 이상의 구체예에서 어떤 적합한 방식으로나 조합될 수 있다. 또한, 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 사용된 것으로서, 단수 형태 "a", "an" 및 "the"는 내용이 명백하게 다른 식으로 지시하지 않는 한, 복수의 대상을 포함한다. 또한, 용어 "또는"은 내용이 명백하게 다른 식으로 지시하지 않는 한, 일반적으로 "및/또는"을 포함하는 개념으로 사용됨을 주목하여야 한다.

[0097]

본 발명에서 사용된 것으로서 이하의 용어들은 다른 식으로 나타내지 않는 한, 다음의 의미를 갖는다:

[0098]

"아미노"는 -NH<sub>2</sub> 래디칼을 나타낸다.

[0099]

"시아노" 또는 "니트릴"은 -CN 래디칼을 나타낸다.

[0100]

"하이드록시" 또는 "하이드록실"은 -OH 래디칼을 나타낸다.

[0101]

"이미노"는 =NH 치환체를 나타낸다.

[0102]

"구아니디닐"은 -NHC(=NH)NH<sub>2</sub> 치환체를 나타낸다.

[0103]

"아미디닐"은 -C(=NH)NH<sub>2</sub> 치환체를 나타낸다.

[0104]

"니트로"는 -NO<sub>2</sub> 래디칼을 나타낸다.

[0105]

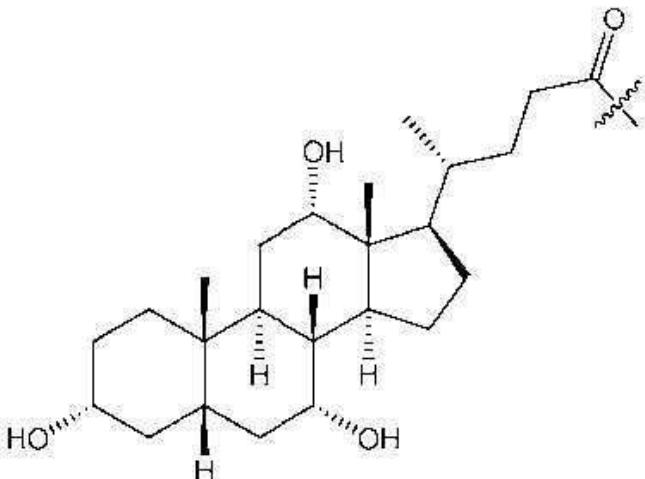
"옥소"는 =O 치환체를 나타낸다.

[0106]

"티옥소"는 =S 치환체를 나타낸다.

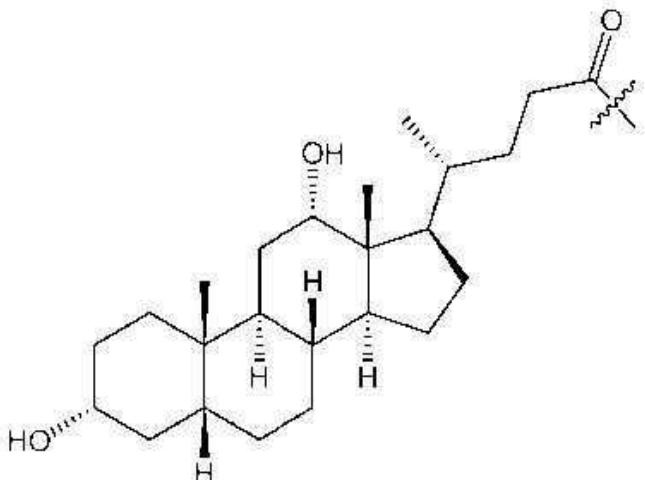
[0107]

"콜레이트"는 다음의 구조를 나타낸다:



[0108]

"페옥시콜레이트"는 다음의 구조를 나타낸다:



[0110]

"알킬"은 1 내지 30개의 탄소 원자를 갖고 포화 또는 불포화되며 (즉, 하나 또는 그 이상의 이중 및/또는 삼중 결합을 함유한다), 단일 결합에 의해서 분자의 나머지에 부착되는 직쇄 또는 측쇄 탄화수소 쇄 래디칼을 나타낸다. 1 내지 30인 탄소 원자의 어떤 수를 포함하는 알킬이 포함된다. 30 개까지의 탄소 원자를 포함하는 알킬은  $C_1-C_{30}$  알킬로 칭하며, 마찬가지로 예를 들어, 12 개까지의 탄소 원자를 포함하는 알킬은  $C_1-C_{12}$  알킬이다. 다른 수의 탄소 원자를 포함하는 알킬 (및 본 발명에서 정의된 다른 부분)은 유사하게 표현된다. 알킬 그룹은  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_1-C_{20}$  알킬,  $C_1-C_{15}$  알킬,  $C_1-C_{10}$  알킬,  $C_1-C_8$  알킬,  $C_1-C_6$  알킬,  $C_1-C_4$  알킬,  $C_1-C_3$  알킬,  $C_1-C_2$  알킬,  $C_2-C_8$  알킬,  $C_3-C_8$  알킬 및  $C_4-C_8$  알킬을 포함하나, 이들로 제한되지 않는다. 대표적인 알킬 그룹에는 메틸, 에틸,  $n$ -프로필, 1-메틸에틸 (이소-프로필),  $n$ -부틸,  $i$ -부틸,  $s$ -부틸,  $n$ -펜틸, 1,1-디메틸에틸 ( $t$ -부틸), 3-메틸 헥실, 2-메틸헥실, 에테닐, 프로프-1-에닐, 부트-1-에닐, 펜트-1-에닐, 펜타-1,4-디에닐, 에티닐, 프로피닐, 부트-2-이닐, 부트-3-이닐, 펜티닐, 헥시닐 등이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 구체적으로 다른 식으로 언급되지 않는 한, 알킬 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.

[0112]

"알킬렌" 또는 "알킬렌 쇄"는 래디칼 그룹에 분자의 나머지를 결합시키는 직쇄 또는 측쇄 2가 탄화수소 쇄를 나타낸다. 알킬렌은 포화되거나 불포화될 수 있다 (즉, 하나 또는 그 이상의 이중 및/또는 삼중 결합을 함유한다). 대표적인 알킬렌에는  $C_1-C_{12}$  알킬렌,  $C_1-C_8$  알킬렌,  $C_1-C_6$  알킬렌,  $C_1-C_4$  알킬렌,  $C_1-C_3$  알킬렌,  $C_1-C_2$  알킬렌,  $C_1$  알킬렌이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 대표적인 알킬렌 그룹에는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌,  $n$ -부틸렌, 에테닐렌, 프로페닐렌,  $n$ -부테닐렌, 프로피닐렌,  $n$ -부티닐렌 등이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 알킬렌 쇄는 단일 또는 이중 결합을 통해서 분자의 나머지에, 및 단일 또는 이중 결합을 통해서 래디

칼 그룹에 부착된다. 문자의 나머지 및 래디칼 그룹에 대한 알킬렌 쇄의 부착점은 쇄 내의 하나의 탄소 또는 어떤 2개의 탄소일 수 있다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬렌은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.

- [0113] "알콕시"는 화학식  $-OR_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_a$ 는 정의된 바와 같은 알킬 래디칼이다. 본 명세서에서 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 알콕시 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0114] "알콕시알킬"은 화학식  $-R_bOR_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_a$ 는 정의된 바와 같은 알킬 래디칼이고,  $R_b$ 는 정의된 바와 같은 알킬렌 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 알콕시알킬 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0115] "알킬카보닐"은 화학식  $-C(=O)R_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_a$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬카보닐 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0116] "알킬옥시카보닐"은 화학식  $-C(=O)OR_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_a$ 는 정의된 바와 같은 알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬옥시카보닐 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0117] "알킬아미노"는 화학식  $-NHR_a$  또는  $-NR_aR_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서 각각의  $R_a$ 는 독립적으로 상기 정의된 바와 같은 알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 알킬아미노 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0118] "아미딜"은 화학식  $-N(H)C(=O)R_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_a$ 는 본 발명에서 정의된 바와 같은 알킬 또는 아릴 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아미딜 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0119] "아미디닐알킬"은 화학식  $-R_b-C(=NH)NH_2$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아미디닐알킬 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0120] "아미디닐알킬카보닐"은 화학식  $-C(=O)R_b-C(=NH)NH_2$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아미디닐알킬카보닐 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.
- [0121] "아미노알킬"은 화학식  $-R_b-NR_aR_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 래디칼이며, 각각의  $R_a$ 는 독립적으로 수소 또는 알킬 래디칼이다.
- [0122] "티오알킬"은 화학식  $-SR_a$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_a$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 티오알킬 그룹은 임의로 치환될 수 있다.
- [0123] "아릴"은 수소, 6 내지 30개의 탄소 원자 및 적어도 하나의 방향족 환을 포함하는 탄화수소 환 시스템으로부터 유도된 래디칼을 나타낸다. 아릴 래디칼은 융합되거나 가교된 환 시스템을 포함할 수 있는 모노사이클릭, 비사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있다. 아릴 래디칼에는 아세안트릴렌, 아세나프틸렌, 아세페난트릴렌, 안트라센, 아줄렌, 벤젠, 트리센, 플루오란텐, 플루오렌, *as*-인다센, *s*-인다센, 인단, 인덴, 나프탈렌, 페닐렌, 페난트렌, 플레이아덴, 피렌, 및 트리페닐렌의 탄화수소 환 시스템으로부터 유도된 아릴 래디칼이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 용어 "아릴" 또는 접두어 "아르-" (예를 들어, "아르알킬"에서와 같음)는 임의로 치환된 아릴 래디칼을 포함하는 것을 의미한다.
- [0124] "아르알킬"은 화학식  $-R_b-R_c$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 쇄이고,  $R_c$ 는 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 아릴 래디칼, 예를 들어, 벤질, 디페닐메틸, 트리틸 등이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아르알킬 그룹은 임의로 치환될 수 있다.
- [0125] "아릴카보닐"은 화학식  $-C(=O)R_c$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_c$ 는 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상

의 아릴 래디칼, 예를 들어, 페닐이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아릴카보닐 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0126] "아릴옥시카보닐"은 화학식  $-C(=O)OR_c$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_c$ 는 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 아릴 래디칼, 예를 들어, 페닐이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아릴옥시카보닐 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0127] "아르알킬카보닐"은 화학식  $-C(=O)R_b-R_c$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 쇄이며,  $R_c$ 는 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 아릴 래디칼, 예를 들어, 페닐이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아르알킬카보닐 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0128] "아르알킬옥시카보닐"은 화학식  $-C(=O)OR_b-R_c$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 쇄이며,  $R_c$ 는 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 아릴 래디칼, 예를 들어, 페닐이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아르알킬옥시카보닐 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0129] "아릴옥시"는 화학식  $-OR_c$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_c$ 는 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 아릴 래디칼, 예를 들어, 페닐이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 아릴옥시 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0130] "사이클로알킬"은 융합되거나 가교된 환 시스템을 포함할 수 있고, 포화 또는 불포화되며, 단일 결합에 의해서 분자의 나머지에 부착된 안정한 비-방향족 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 카보사이클릭 환을 나타낸다. 대표적인 사이클로알킬에는 3 내지 15개의 탄소 원자, 및 3 내지 8개의 탄소 원자를 갖는 사이클로알킬이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 모노사이클릭 사이클로알킬 래디칼에는 예를 들어, 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸 및 사이클로옥틸이 포함된다. 폴리사이클릭 래디칼에는 예를 들어, 아다만틸, 노르보르닐, 페칼리닐, 및 7,7-디메틸-비사이클로[2.2.1]헵타닐이 포함된다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 사이클로알킬 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0131] "사이클로알킬알킬"은 화학식  $-R_bR_d$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 쇄이고,  $R_d$ 는 상기 정의된 바와 같은 사이클로알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 사이클로알킬알킬 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0132] "사이클로알킬카보닐"은 화학식  $-C(=O)R_d$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_d$ 는 상기 정의된 바와 같은 사이클로알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 사이클로알킬카보닐 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0133] "사이클로알킬옥시카보닐"은 화학식  $-C(=O)OR_d$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_d$ 는 상기 정의된 바와 같은 사이클로알킬 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 사이클로알킬옥시카보닐 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0134] "융합된"은 기존의 환 구조에 융합된, 본 명세서에 기술된 모든 환 구조를 나타낸다. 융합된 환이 헤테로사이클릴 환 또는 헤테로아릴 환인 경우에, 융합된 헤�테로사이클릴 환 또는 융합된 헤�테로아릴 환의 일부분이 되는 기존의 환 구조 상의 어떤 탄소 원자라도 질소 원자로 대체될 수 있다.

[0135] "구아니디닐알킬"은 화학식  $-R_b-NHC(=NH)NH_2$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 구아니디닐알킬 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.

[0136] "구아니디닐알킬카보닐"은 화학식  $-C(=O)R_b-NHC(=NH)NH_2$ 의 래디칼을 나타내며, 여기에서  $R_b$ 는 상기 정의된 바와 같은 알킬렌 래디칼이다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 구아니디닐알킬카보닐 그룹은 이하에 기술된 바와 같이 임의로 치환될 수 있다.

[0137] "할로" 또는 "할로겐"은 브로모, 클로로, 플루오로 또는 요오도를 나타낸다.

[0138] "할로알킬"은 상기 정의된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 할로 래디칼에 의해서 치환된 상기 정의된 바와 같은 알킬 래디칼, 예를 들어, 트리플루오로메틸, 디플루오로메틸, 플루오로메틸, 트리클로로메틸, 2,2,2-트리플루오

로에틸, 1,2-디플루오로에틸, 3-브로모-2-플루오로프로필, 1,2-디브로모에틸 등을 나타낸다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 할로알킬 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0139] "페할로" 또는 "페플루오로"는 각각의 수소 원자가 각각 할로 원자 또는 불소 원자에 의해서 대체된 부분을 나타낸다.

[0140] "헤테로사이클릴", "헤테로사이클" 또는 "헤테로사이클릭 환"은 2 내지 23개의 탄소 원자, 및 질소, 산소, 인 및 황으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1 내지 8개의 헤테로 원자를 포함하는 3- 내지 24-원 비-방향족 환 래디칼을 나타낸다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로사이클릴 래디칼은 융합되거나 가교된 환 시스템을 포함할 수 있는 모노사이클릭, 비사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있으며; 헤테로사이클릴 래디칼 내의 질소, 탄소 또는 황 원자는 임의로 산화될 수 있고; 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있으며; 헤테로사이클릴 래디칼은 부분적으로 또는 완전히 포화될 수 있다. 이러한 헤테로사이클릴 래디칼의 예로는 디옥솔라닐, 티에닐[1,3]디티아닐, 데카하이드로이소퀴놀릴, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 이속사졸리디닐, 모르폴리닐, 옥타하이드로인돌릴, 옥타하이드로이소인돌릴, 2-옥소피페라지닐, 2-옥소피페리디닐, 2-옥소피롤리디닐, 옥사졸리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 4-피페리도닐, 피롤리디닐, 피라졸리디닐, 퀴누클리디닐, 티아졸리디닐, 테트라하이드로푸필, 트리티아닐, 테트라하이드로파라닐, 티오모르폴리닐, 티아모르폴리닐, 1-옥소-티오모르폴리닐, 1,1-디옥소-티오모르폴리닐, 12-크라운-4, 15-크라운-5, 18-크라운-6, 21-크라운-7, 아자-18-크라운-6, 디아자-18-크라운-6, 아자-21-크라운-7, 및 디아자-21-크라운-7이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로사이클릴 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0141] "헤테로아릴"은 수소 원자, 1 내지 13개의 탄소 원자, 질소, 산소, 인 및 황으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1 내지 6개의 헤테로 원자, 및 적어도 하나의 방향족 환을 포함하는 5- 내지 14-원 환 시스템 래디칼을 나타낸다. 본 발명의 목적에 따라, 헤테로아릴 래디칼은 융합되거나 가교된 환 시스템을 포함할 수 있는 모노사이클릭, 비사이클릭, 트리사이클릭 또는 테트라사이클릭 환 시스템일 수 있으며; 헤테로아릴 래디칼 내의 질소, 탄소 또는 황 원자는 임의로 산화될 수 있고; 질소 원자는 임의로 4급화될 수 있다. 예로는 아제피닐, 아크리디닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조티아졸릴, 벤즈인돌릴, 벤조디옥솔릴, 벤조푸라닐, 벤조옥사졸릴, 벤조티아졸릴, 벤조티아디아졸릴, 벤조[b][1,4]디옥세피닐, 1,4-벤조디옥사닐, 벤조나프토푸라닐, 벤조옥사졸릴, 벤조디옥솔릴, 벤조디옥시닐, 벤조피라닐, 벤조피라노닐, 벤조푸라닐, 벤조푸라노닐, 벤조티에닐 (벤조티오페닐), 벤조트리아졸릴, 벤조[4,6]이미다조[1,2-a]피리디닐, 카바졸릴, 신놀리닐, 디벤조티오페닐, 푸라닐, 푸라노닐, 이소티아졸릴, 이미다졸릴, 인다졸릴, 인돌릴, 인다졸릴, 이소인돌릴, 인돌리닐, 이소인돌리닐, 이소퀴놀릴, 인돌리지닐, 이속사졸릴, 나프티리디닐, 옥사디아졸릴, 2-옥소아제피닐, 옥사졸릴, 옥시라닐, 1-옥시도피리디닐, 1-옥시도피리미디닐, 1-옥시도피라지닐, 1-옥시도피리다지닐, 1-페닐-1H-피롤릴, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 프탈라지닐, 프테리디닐, 푸리닐, 피롤릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 퀴놀리닐, 퀴누클리디닐, 이소퀴놀리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 티아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 트리아지닐 및 티오페닐 (즉, 티에닐)이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 다른 식으로 구체적으로 언급되지 않는 한, 헤테로아릴 그룹은 임의로 치환될 수 있다.

[0142] 상기의 그룹들은 모두 치환되거나 비치환될 수 있다. 본 발명에서 사용된 것으로서 용어 "치환된"은 상기의 그룹들 (즉, 알킬, 알킬렌, 알콕시, 알콕시알킬, 알킬카보닐, 알킬옥시카보닐, 알킬아미노, 아미딜, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 아미노알킬, 아릴, 아르알킬, 아릴카보닐, 아릴옥시카보닐, 아르알킬카보닐, 아르알킬옥시카보닐, 아릴옥시, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 사이클로알킬카보닐, 사이클로알킬알킬카보닐, 사이클로알킬옥시카보닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 할로알킬, 헤테로사이클릴 및/또는 헤테로아릴) 중의 어떤 것이라도 더 작용화될 수 있음을 의미하며, 여기에서 적어도 하나의 수소 원자는 비-수소 원자 치환체에 대한 결합에 의해서 대체된다. 본 명세서에 구체적으로 언급되지 않는 한, 치환된 그룹은 다음의 그룹들로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 치환체를 포함할 수 있다: 옥소, -CO<sub>2</sub>H, -CONH<sub>2</sub>, 니트릴, 니트로, 하이드록실, 티오옥시, 알킬, 알킬렌, 알콕시, 알콕시알킬, 알킬카보닐, 알킬옥시카보닐, 아릴, 아르알킬, 아릴카보닐, 아릴옥시카보닐, 아르알킬카보닐, 아르알킬옥시카보닐, 아릴옥시, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 사이클로알킬카보닐, 사이클로알킬알킬카보닐, 사이클로알킬옥시카보닐, 헤테로사이클릴, 헤테로아릴, 디알킬아민, 아릴아민, 알킬아릴아민, 디아릴아민, N-옥사이드, 이미드, 및 엔아민; 트리알킬실릴 그룹, 디알킬아릴실릴 그룹, 알킬디아릴실릴 그룹, 트리아릴실릴 그룹, 퍼플루오로알킬 또는 퍼플루오로알콕시, 예를 들어, 트리플루오로메틸 또는 트리플루오로메톡시와 같은 그룹 내의 실리콘 원자. "치환된"은 또한, 하나

또는 그 이상의 수소 원자가 옥소, 카보닐, 카복실, 및 에스테르 그룹 내의 산소, 및 이민, 옥심, 하이드라존 및 니트릴과 같은 그룹 내의 질소에 대한 고차 (higher-order) 결합 (예를 들어, 이중- 또는 삼중-결합)에 의해서 대체된 상기의 그룹 중의 어떤 것을 의미한다. 예를 들어, "치환된"은 하나 또는 그 이상의 수소 원자가  $-NR_gC(=O)NR_gR_h$ ,  $-NR_gC(=O)OR_h$ ,  $-NR_gSO_2R_h$ ,  $-OC(=O)NR_gR_h$ ,  $-OR_g$ ,  $-SR_g$ ,  $-SOR_g$ ,  $-SO_2R_g$ ,  $-OSO_2R_g$ ,  $=NSO_2R_g$ , 및  $-SO_2NR_gR_h$ 로 대체된 상기 그룹들 중의 어떤 것을 포함한다. "치환된"은 또한 하나 또는 그 이상의 수소 원자가  $-C(=O)R_g$ ,  $-C(=O)OR_g$ ,  $-CH_2SO_2R_g$ ,  $-CH_2SO_2NR_gR_h$ ,  $-SH$ ,  $-SR_g$  또는  $-SSR_g$ 로 대체된 상기 그룹들 중의 어떤 것을 포함한다. 전술한 것들에서,  $R_g$  및  $R_h$ 는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소, 알킬, 알콕시, 알킬아미노, 티오알킬, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 사이클로알킬알킬, 할로알킬, 헤테로사이클릴,  $N$ -헤테로사이클릴, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로아릴,  $N$ -헤테로아릴 및/또는 헤테로아릴알킬이다. 또한, 전술한 치환체 각각은 또한, 상기 치환체들 중의 하나 또는 그 이상에 의해서 임의로 치환될 수 있다. 더구나, 상기한 그룹들 중의 어떤 것은 하나 또는 그 이상의 내부 산소 또는 황 원자를 포함하도록 치환될 수 있다. 예를 들어, 알킬 그룹은 하나 또는 그 이상의 내부 산소 원자에 의해서 치환되어 에테르 또는 폴리에테르 그룹을 형성할 수 있다. 마찬가지로, 알킬 그룹은 하나 또는 그 이상의 내부 황 원자에 의해서 치환되어 티오에테르, 디설파이드 등을 형성할 수 있다. 아미딜 부분은 2 개까지의 할로 원자에 의해서 치환될 수 있는 반면에 상기의 다른 그룹들은 하나 또는 그 이상의 할로 원자에 의해서 치환될 수 있다. 알킬 그룹은 예외로 하고, 모든 다른 그룹들은 또한 아미노 또는 모노알킬아미노에 의해서 치환될 수도 있다. 알킬 및 알킬카보닐 그룹은 예외로 하고, 모든 다른 그룹들은 또한 구아니디닐 또는 아미디닐에 의해서 치환될 수도 있다. 상기한 그룹들 중의 어떤 것에 대한 임의의 치환체는 또한 아릴포스포릴, 예를 들어,  $-R_aP(Ar)_3$ 을 포함하며, 여기에서  $R_a$ 는 알킬렌이고,  $Ar$ 은 아릴 부분, 예를 들어, 페닐이다.

[0143] 용어 "안티센스 올리고머" 또는 "안티센스 화합물"은 상호교환적으로 사용되며, 각각 리보즈 또는 다른 펜토즈 당 또는 모르폴리노 그룹으로 구성된 골격 서브유니트 상에 보유된 염기를 갖는 서브유니트의 서열을 나타내며, 여기에서 골격 그룹은 화합물 내의 염기가 왓슨-크릭 (Watson-Crick) 염기 짹짓기에 의해서 핵산 (전형적으로 RNA) 내의 표적 서열에 하이브리드화하여 표적 서열 내에 핵산:올리고머 헤테로듀플렉스를 형성하도록 하는 서브유니트간 결합에 의해서 결합된다. 올리고머는 표적 서열에 대한 정확한 서열 상보성을 가질 수 있다. 이러한 안티센스 올리고머는 표적 서열을 함유하는 mRNA의 해독을 차단하거나 억제하도록 디자인되며, 이것이 하이브리드화하는 서열로 유도된다고 말할 수 있다.

[0144] "모르폴리노 올리고머" 또는 "PMO"는 전형적인 폴리뉴클레오타이드에 대해 수소 결합할 수 있는 염기를 지지하는 골격을 갖는 폴리머 분자를 나타내며, 여기에서 폴리머는 펜토즈 당 골격 부분, 더욱 특히 뉴클레오타이드 및 뉴클레오사이드를 대표하는 포스포디에스테르 결합에 의해서 결합된 리보즈 골격을 결여하며, 대신에 환 질소를 통한 커플링에 의해 환 질소를 함유한다. 예시적인 "모르폴리노" 올리고머는 하나의 서브유니트의 모르풀리노 질소를 인접한 서브유니트의 5' 엑소사이클릭 탄소에 결합시키는 (티오)포스포로아미데이트 또는 (티오)포스포로디아미데이트 결합에 의해서 함께 결합된 모르풀리노 서브유니트를 포함하며, 여기에서 각각의 서브유니트는 염기-특이적 수소 결합에 의해서 폴리뉴클레오타이드 내의 염기에 결합하는데 효과적인 푸린 또는 피리미딘 염기-짜짓기 부분을 포함한다. 모르풀리노 올리고머 (안티센스 올리고머를 포함)는 예를 들어, 미국 특허 제5,698,685; 5,217,866; 5,142,047; 5,034,506; 5,166,315; 5,185,444; 5,521,063; 5,506,337호, 및 계류 중인 미국 특허출원 제12/271,036; 12/271,040호; 및 PCT 공개 제WO/2009/064471호 (이들은 모두 온전히 본 발명에 참고로 포함된다)에 상세히 기술되어 있다. 대표적인 PMOs에는 서브유니트간 결합이 결합 (A1)인 PMOs가 포함된다.

[0145] "PMO+"는 이전에 기술된 [참조: 예를 들어, 온전히 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제WO/2008/036127호] 어떤 수의 (1-피페라지노)포스피닐리덴옥시, (1-(4-( $\omega$ -구아니디노-알카노일))-피페라지노)포스피닐리덴옥시 결합 (A2 및 A3)이라도 포함하는 포스포로디아미데이트 모르풀리노 올리고머를 나타낸다.

[0146] "PMO-X"는 적어도 하나의 (B) 결합 또는 기술된 말단 변형 중의 적어도 하나를 포함하는 본 발명에 기술된 포스포로디아미데이트 모르풀리노 올리고머를 나타낸다.

[0147] "포스포로아미데이트" 그룹은 3개의 부착된 산소 원자 및 한개의 부착된 질소 원자를 갖는 인을 포함하는 반면에, "포스포로디아미데이트" 그룹 (참조: 예를 들어, 도 1d-E)은 2개의 부착된 산소 원자 및 2개의 부착된 질소 원자를 갖는 인을 포함한다. 본 발명 및 공동-계류 중인 미국 특허출원 제61/349,783 및 11/801,885호에 기술된 올리고머의 비하전되거나 변형된 서브유니트간 결합에서, 하나의 질소는 항상 골격 쇄에 펜던트 (pendant)된

다. 포스포로디아미데이트 결합 내의 제2 질소는 전형적으로 모르폴리노 환 구조 내의 환 질소이다.

[0148] "티오프스포로아미데이트" 또는 "티오프스포로디아미데이트" 결합은 각각, 하나의 산소 원자, 전형적으로는 콜격에 웬던트된 산소가 황으로 대체된 포스포로아미데이트 또는 포스포로디아미데이트 결합이다.

[0149] "서브유니트간 결합"은 2개의 모르풀리노 서브유니트를 연결하는 결합, 예를 들어, 화학식 I의 구조를 나타낸다.

[0150] 본 발명에서 사용된 것으로서 "하전된", "비하전된", "양이온성" 및 "음이온성"은 거의 중성인 pH, 예를 들어, 약 6 내지 8에서 화학적 부분의 우세한 상태를 나타낸다. 예를 들어,, 이 용어는 생리적 pH, 즉 약 7.4에서 화학적 부분의 우세한 상태를 나타낼 수 있다.

[0151] "저급 알킬"은 메틸, 에틸, n-부틸, i-부틸, t-부틸, 이소아밀, n-펜틸, 및 이소펜틸로 예시되는 바와 같은 1 내지 6개의 탄소 원자의 알킬 래디칼을 나타낸다. 특정의 구체예에서, "저급 알킬" 그룹은 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는다. 다른 구체예에서, "저급 알킬" 그룹은 1 내지 2개의 탄소 원자를 가지며, 즉 메틸 또는 에틸이다. 유사하게, "저급 알케닐"은 알릴 및 부테닐로 예시되는 바와 같은 2 내지 6개, 바람직하게는 3 또는 4개의 탄소 원자의 알케닐 래디칼을 나타낸다.

[0152] "비-간섭성" 치환체는 본 발명에 기술된 바와 같은 안티센스 올리고머가 그의 목적하는 표적에 결합하는 능력에 나쁜 영향을 미치지 않는 것이다. 이러한 치환체에는 메틸, 에틸, 메톡시, 에톡시 또는 플루오로와 같은 소형 및/또는 비교적 비-극성인 그룹이 포함된다.

[0153] 올리고머가 37°C 이상, 45°C 이상, 바람직하게는 적어도 50°C, 전형적으로는 60°C-80°C 또는 그 이상의 T<sub>m</sub>으로 생리학적 조건 하에서 표적에 하이브리드화한다면, 올리고뉴클레오타이드 또는 안티센스 올리고머는 표적 폴리뉴클레오타이드에 "특이적으로 하이브리드화"한다. 올리고머의 "T<sub>m</sub>"은 50%가 상보적 폴리뉴클레오타이드에 하이브리드화하는 온도이다. T<sub>m</sub>은 예를 들어, 문헌 [Miyada et al., *Methods Enzymol.* 154:94-107 (1987)]에 기술된 바와 같이 생리식염수 중에서 표준 조건 하에 결정된다. 이러한 하이브리드화는 표적 서열에 대한 안티센스 올리고머의 "근사" 또는 "실질적인" 상보성뿐만 아니라 정확한 상보성으로 일어날 수 있다.

[0154] 폴리뉴클레오타이드는, 하이브리드화가 2개의 단일-스트랜드 폴리뉴클레오타이드 사이에서 역평행 배열로 나타나는 경우에, 서로에 대해 "상보적"인 것으로 기술된다. 상보성 (하나의 폴리뉴클레오타이드가 또 다른 것과 상보성인 정도)은 일반적으로 인정되는 염기-짝짓기 규칙에 따라, 서로 수소 결합을 형성하는 것으로 예상되는 반대 스트랜드 내의 염기의 비율로 정량화할 수 있다.

[0155] 그의 서열이 제1 서열인 폴리뉴클레오타이드가 생리학적 조건 하에서 제2 폴리뉴클레오타이드 서열에 특이적으로 결합하거나, 그와 특이적으로 하이브리드화한다면, 제1 서열은 제2 서열에 관해서 "안티센스 서열"이다.

[0156] 용어 "표적화 서열"은 RNA 계놈 내의 표적 서열에 대해서 상보성 (또한, 실질적으로 상보성인 것을 의미)인 올리고뉴클레오타이드 유사체 내의 서열이다. 유사체 화합물의 전체 서열 또는 단지 일부분이 표적 서열에 대해서 상보성일 수 있다. 예를 들어, 20 염기를 갖는 유사체에서는 단지 12-14 개만이 표적화 서열일 수 있다. 전형적으로, 표적화 서열은 유사체 내의 인접 서열로 형성되지만, 대신으로, 예를 들어, 유사체의 반대 말단으로부터 함께 배치되는 경우에는, 표적 서열에 걸쳐있는 서열을 구성하는 비-인접 서열들로 형성될 수 있다.

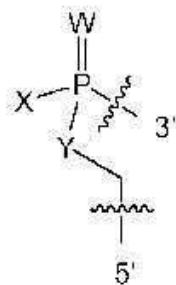
[0157] 표적 및 표적화 서열은 하이브리드화가 역평행 배열로 일어나는 경우에 서로에 대해서 "상보적"인 것으로 기술된다. 표적화 서열은 표적 서열에 대해서 "근사" 또는 "실질적인" 상보성을 가질 수 있으며, 여전히 본 발명에 기술된 방법의 목적에 따라 작용할 수 있고, 즉 여전히 "상보성"일 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 기술된 방법에서 사용된 올리고뉴클레오타이드 유사체는 10개의 뉴클레오타이드 중에서 표적 서열과 최대 1개의 미스매치 (mismatch), 바람직하게는 20 개 중에서 최대 1개의 미스매치를 갖는다. 대신으로, 사용된 안티센스 올리고머는 본 발명에서 지정된 바와 같은 예시적인 표적화 서열과 적어도 90% 서열 상동성, 바람직하게는 적어도 95% 서열 상동성을 갖는다. RNA 표적에 대한 상보적 결합을 목적으로, 및 이하에 거론된 바와 같이, 구아닌 염기는 시토신 또는 우라실 RNA 염기에 대해서 상보적일 수 있다.

[0158] "헤테로듀플렉스 (heteroduplex)"는 올리고뉴클레오타이드 유사체와 표적 RNA의 상보적 부분 사이의 듀플렉스를 나타낸다. "뉴클레아제-저항성 헤테로듀플렉스"는, 헤테로듀플렉스가 이중-스트랜드 RNA/RNA 또는 RNA/DNA 커ም플렉스를 절단할 수 있는 RNase H와 같은 세포내 및 세포외 뉴클레아제에 의한 생체내 분해에 대해서 실질적으로 저항성이 되도록, 안티센스 올리고머의 상보적 표적에 대한 안티센스 올리고머의 결합에 의해서 형성된 헤테로듀플렉스를 나타낸다.

- [0159] 약제가 세포막을 가로지르는 수동 확산이 아닌 기전에 의해서 세포 내로 들어갈 수 있는 경우에, 약제는 "포유동물 세포에 의해서 능동적으로 흡수된다". 약제는 예를 들어, ATP-의존성 수송 기전과 같은 것에 의한 포유동물 세포막을 가로지르는 약제의 수송을 말하는 "능동 수송 (active transport)"에 의해서, 또는 결합된 단백질의 막을 가로지르는 통과를 촉진시키는 수송 단백질에 대한 약제의 결합을 필요로 하는 수송 기전에 의한 세포막을 가로지르는 안티센스 약제의 수송을 말하는 "촉진 수송 (facilitated transport)"에 의해서 수송될 수 있다.
- [0160] 용어 "발현을 변조시키는" 및/또는 "안티센스 활성"은 RNA의 발현 또는 해독을 저해함으로써 소정의 단백질의 발현을 증진시키거나, 더욱 전형적으로는 감소시키는 안티센스 올리고머의 능력을 나타낸다. 감소된 단백질 발현의 경우에, 안티센스 올리고머는 소정의 유전자의 발현을 직접적으로 차단할 수 있거나, 그 유전자로부터 전사된 RNA의 가속화된 붕괴에 기여할 수 있다. 본 발명에 기술된 바와 같은 모르폴리노 올리고머는 전자 (입체적 차단)의 기전을 통해서 작용하는 것으로 믿어진다. 다른 부분이 모르풀리노 올리고머를 사용하여 성공적으로 표적화되었지만, 입체적 차단성 올리고머에 대한 바람직한 안티센스 표적은 ATG 출발 코돈 부분, 스플리스 부위, 스플리스 부위에 매우 인접한 부분, 및 mRNA의 5'-비해독 부분을 포함한다.
- [0161] "아미노산 서브유니트"는 바람직하게는  $\alpha$ -아미노산 잔기 (-CO-CHR-NH-)이며; 이것은 또한  $\beta$ - 또는 그 밖의 다른 아미노산 잔기 (예를 들어, -CO-CH<sub>2</sub>CHR-NH-)일 수 있고, 여기에서 R은 아미노산 측쇄이다.
- [0162] 용어 "천연적으로 존재하는 아미노산"은 자연에서 발견되는 단백질에 존재하는 아미노산을 나타낸다. 용어 "비-천연 아미노산"은 자연에서 발견되는 단백질에 존재하지 않는 아미노산을 나타내며; 예로는 베타-알라닌 ( $\beta$ -Ala) 및 6-아미노헥사노산 (Ahx)이 포함된다.
- [0163] "유효량" 또는 "치료학적 유효량"은 전형적으로 선택된 표적 핵산 서열의 해독을 억제함으로써 바람직한 효과를 제공하는데 효과적인 것으로서, 단일 용량으로, 또는 일련의 용량의 일부로서 포유동물 대상체에게 투여되는 안티센스 올리고머의 양을 나타낸다.
- [0164] 개체 (예를 들어, 인간과 같은 포유동물) 또는 세포의 "치료"는 개체 또는 세포의 자연적 과정을 변화시키고자 하는 시도로 사용된 개입의 모든 타입이다. 치료에는 약제학적 조성물의 투여가 포함되지만 이것으로 제한되지 않으며, 예방적으로, 또는 병리학적 현상의 개시 또는 병인적 성분과의 접촉에 이어서 수행될 수 있다.
- [0165] II. 안티센스 올리고머
- [0166] A. 변형된 서브유니트간 결합을 갖는 올리고머
- [0167] 상기 언급한 바와 같이, 본 발명의 일 구체예는 신규한 서브유니트간 결합을 포함하는 올리고머에 관한 것이다. 일부 구체예에서, 올리고머는 상응하는 비변형된 올리고머보다 DNA 및 RNA에 대해서 더 큰 친화성을 가지며, 다른 서브유니트간 결합을 갖는 올리고머에 비해 개선된 세포 송달, 효력 및/또는 조직 분포 특성을 나타낸다. 일 구체예에서, 올리고머는 적어도 하나의 상기 정의된 바와 같은 타입 (B)의 서브유니트간 결합을 포함한다. 올리고머는 또한, 하나 또는 그 이상의 상기 정의된 바와 같은 타입 (A)의 서브유니트간 결합을 포함할 수도 있다. 다양한 결합 타입 및 올리고머의 구조적 특색 및 특성을 이하의 설명에서 더 상세하게 기술된다.
- [0168] 1. 결합 (A)
- [0169] 본 출원인은 안티센스 활성, 생체분포 및/또는 그 밖의 다른 바람직한 특성의 증진이 다양한 서브유니트간 결합을 갖는 올리고머를 제조함으로써 최적화될 수 있음을 발견하였다. 예를 들어, 올리고머는 임의로 하나 또는 그 이상의 타입 (A)의 서브유니트 결합을 포함할 수 있으며, 특정의 구체예에서 올리고머는 적어도 하나의 타입 (A)의 결합을 포함한다. 일부의 다른 구체예에서, 타입 (A)의 각각의 결합을 동일한 구조를 갖는다. 타입 (A)의 결합은 이에 대해서 온전히 참고로 포함된 공동-소유된 미국 특허 제7,943,762호에 기술된 결합을 포함할 수 있다. 결합 (A)는 하기 화학식 I의 구조, 또는 그의 염 또는 이성체를 가지며, 여기에서 3' 및 5'는 각각 모르풀리노 환 (즉, 이하에 설명된 구조 (i))의 3' 및 5' 말단에 대한 부착점을 나타낸다:

[0170]

[화학식 I]



[0171]

[0172]

여기에서,

[0173]

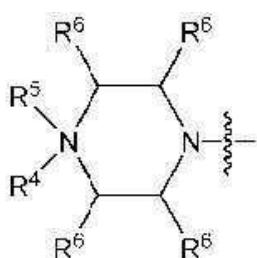
W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이고,

[0174]

X는 각각의 경우에 독립적으로  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NR^1R^2$ ,  $-OR^3$  또는 하기 화학식 II의 그룹이며,

[0175]

[화학식 II]



[0176]

[0177]

Y는 각각의 경우에 독립적으로 O 또는  $-NR^2$ 이고,

[0178]

 $R^1$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

[0179]

 $R^2$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이고,

[0180]

 $R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,

[0181]

 $R^4$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸,  $-C(=NH)NH_2$ ,  $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$  또는  $-[C(=O)CHR'NH]_mH$ 이고, 여기에서 Z는  $-C(=O)-$  또는 직접 결합이며,  $R'$ 는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄 또는 그의 1- 또는 2-탄소 동족체이고, m은 1 내지 6이며,

[0182]

 $R^5$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이고,

[0183]

 $R^6$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이며,

[0184]

 $R^7$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_6$  알킬 또는  $C_1-C_6$  알콕시알킬이고,

[0185]

L은 알킬, 알콕시 또는 알킬아미노 그룹, 또는 이들의 조합을 포함한, 길이가 18 원자까지인 임의의 링커이다.

[0186]

일부의 예에서, 올리고머는 적어도 하나의 타입 (A)의 결합을 포함한다. 일부의 다른 구체예에서, 올리고머는 적어도 2개의 연속적인 타입 (A)의 결합을 포함한다. 추가의 구체예에서, 올리고머 내의 결합의 적어도 5%는 타입 (A)이며; 예를 들어, 일부 구체예에서, 결합의 5%-95%, 10% 내지 90%, 10% 내지 50%, 또는 10% 내지 35%는 결합 타입 (A)일 수 있다. 일부의 특정한 구체예에서, 적어도 하나의 타입 (A) 결합은  $-N(CH_3)_2$ 이다. 다른 구체예에서, 타입 (A)의 각각의 결합은  $-N(CH_3)_2$ 이다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 타입 (A) 결합은 피페라진-1-일, 예를 들어, 비치환된 피페라진-1-일 (예를 들어, A2 또는 A3)이다. 다른 구체예에서, 타입 (A)의 각

각의 결합은 피페라진-1-일, 예를 들어, 비치환된 피페라진-1-일이다.

[0187] 일부 구체예에서, W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이며, 특정의 구체예에서 W는 O이다.

[0188] 일부 구체예에서, X는 각각의 경우에 독립적으로  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NR^1R^2$ ,  $-OR^3$ 이다. 일부 구체예에서, X는  $-N(CH_3)_2O$ 다. 다른 관점에서, X는  $-NR^1R^2$ 이고, 다른 예로서 X는  $-OR^3$ 이다.

[0189] 일부 구체예에서, R<sup>1</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이다. 일부 구체예에서, R<sup>1</sup>은 수소이다. 다른 구체예에서, X는 메틸이다.

[0190] 일부 구체예에서, R<sup>2</sup>는 각각의 경우에 수소이다. 다른 구체예에서, R<sup>2</sup>는 각각의 경우에  $-LNR^4R^5R^7$ 이다. 일부 구체예에서, R<sup>3</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>3</sup>은 메틸이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>3</sup>은 에틸이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>3</sup>은 n-프로필 또는 이소프로필이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>3</sup>은 C<sub>4</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>3</sup>은 C<sub>5</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>3</sup>은 C<sub>6</sub> 알킬이다.

[0191] 특정의 구체예에서, R<sup>4</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 수소이다. 다른 구체예에서, R<sup>4</sup>는 메틸이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>4</sup>는  $-C(=NH)NH_2$ 이며, 다른 구체예에서 R<sup>4</sup>는  $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$ 이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>4</sup>는  $-[C(=O)CHR'NH]H$ 이다. Z는 일 구체예에서  $-C(=O)-$ 이며, Z는 또 다른 구체예에서 직접 결합이다. R'는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄이다. 일부 구체예에서, R'는 천연적으로 존재하는 아미노산의 측쇄의 1- 또는 2-탄소 동족체이다.

[0192] m은 1 내지 6의 정수이다. m은 1일 수 있다. m은 2일 수 있다. m은 3일 수 있다. m은 4일 수 있다. m은 5일 수 있다. m은 6일 수 있다.

[0193] 일부 구체예에서, R<sup>5</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 수소, 메틸 또는 전자쌍이다. 일부 구체예에서, R<sup>5</sup>는 수소이다. 다른 구체예에서, R<sup>5</sup>는 메틸이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>5</sup>는 전자쌍이다.

[0194] 일부 구체예에서, R<sup>6</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는 메틸이다. 일부 구체예에서, R<sup>6</sup>은 수소이다. 다른 구체예에서, R<sup>6</sup>은 메틸이다.

[0195] 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>7</sup>은 수소이다. 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>7</sup>은 메틸이다. 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 에틸이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 n-프로필 또는 이소프로필이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>4</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>5</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>6</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>2</sub> 알콕시알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>3</sub> 알콕시알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>4</sub> 알콕시알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>5</sub> 알콕시알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>7</sup>은 C<sub>6</sub> 알콕시알킬이다.

[0196] 상기 언급한 바와 같이 링커 그룹 L은, L 내의 말단 원자 (예를 들어, 카보닐 또는 질소에 인접한 것)가 탄소원자라는 단서 하에서, 그의 골격 내에 알킬 (예를 들어,  $-CH_2-CH_2-$ ), 알콕시 (예를 들어,  $-C-O-C-$ ), 및 알킬아미노 (예를 들어,  $-CH_2-NH-$ )로부터 선택된 결합을 함유한다. 비록 분지된 결합 (예를 들어,  $-CH_2-CH(CH_3)-$ )이 가능하지만, 링커는 일반적으로 분지되지 않는다. 일 구체예에서, 링커는 단화수소 링커이다. 이러한 링커는 구조  $(CH_2)_n-$ 을 가질 수 있으며, 여기에서 n은 1-12, 바람직하게는 2-8, 더욱 바람직하게는 2-6이다.

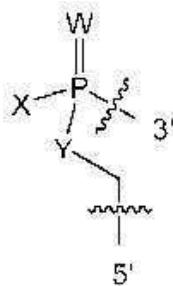
[0197] 어떤 수의 결합 타입 (A)라도 갖는 올리고머가 제공된다. 일부 구체예에서, 올리고머는 타입 (A)의 결합을 함유하지 않는다. 특정의 구체예에서는, 결합의 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 또는 90%가 결합 (A)이다.

선택된 구체예에서, 결합의 10 내지 80, 20 내지 80, 20 내지 60, 20 내지 50, 20 내지 40, 또는 20 내지 35%는 결합 (A)이다.

[0198] 2. 결합 (B)

일부 구체예에서, 올리고머는 적어도 하나의 타입 (B)의 결합을 포함한다. 예를 들어, 올리고머는 1, 2, 3, 4, 5, 6 개 또는 그 이상의 타입 (B)의 결합을 포함할 수 있다. 타입 (B) 결합은 인접할 수 있거나, 올리고머 전체에 걸쳐서 산재될 수 있다. 결합 타입 (B)는 하기 화학식 I의 구조, 또는 그의 염 또는 이성체를 갖는다:

[화학식 I]



[0201]

여기에서,

[0202]

W는 각각의 경우에 독립적으로 S 또는 O이고,

[0203]

X는 각각의 경우에 독립적으로  $-NR^8R^9$  또는  $-OR^3$ 이며,

[0204]

Y는 각각의 경우에 독립적으로 O 또는  $-NR^{10}$ 이고,

[0205]

$R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이며,

[0206]

$R^8$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_2-C_{12}$  알킬이고,

[0207]

$R^9$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아르알킬 또는 아릴이며,

[0208]

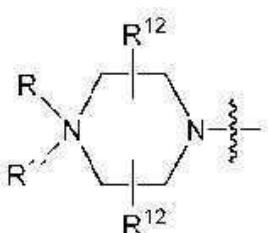
$R^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이고,

[0209]

여기에서  $R^8$  및  $R^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 헤테로사이클을 형성할 수 있거나,  $R^8$ ,  $R^9$  또는  $R^3$ 은  $R^{10}$ 과 결합하여 5-7 원자 헤테로사이클을 형성할 수 있으며, 여기에서 X가 4-페라지노인 경우에, X는 하기 화학식 III의 구조를 갖고,

[0210]

[화학식 III]



[0211]

여기에서  $R^{11}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $C_2-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤�테로사이클릴이며,

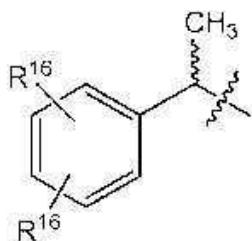
[0212]

R은 각각의 경우에 독립적으로 전자쌍, 수소 또는  $C_1-C_{12}$  알킬이고,

- [0215]  $R^{12}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $-NH_2$ ,  $-CONH_2$ ,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ ,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐, 옥소,  $-CN$ , 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤테로아릴, 헤�테로사이클,  $-SR^{13}$  또는  $C_1-C_{12}$  알콕시이며, 여기에서  $R^{13}$ ,  $R^{14}$  및  $R^{15}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $C_1-C_{12}$  알킬이다.
- [0216] 일부의 예에서, 올리고머는 하나의 타입 (B)의 결합을 포함한다. 일부의 다른 구체예에서, 올리고머는 2개의 타입 (B)의 결합을 포함한다. 일부의 다른 구체예에서, 올리고머는 3개의 타입 (B)의 결합을 포함한다. 일부의 다른 구체예에서, 올리고머는 4개의 타입 (B)의 결합을 포함한다. 또한 다른 구체예에서, 타입 (B)의 결합은 연속적이다 (즉, 타입 (B) 결합은 서로에 대해 인접한다). 추가의 구체예에서, 올리고머 내의 결합의 적어도 5%는 타입 (B)이며; 예를 들어, 일부 구체예에서 결합의 5%-95%, 10% 내지 90%, 10% 내지 50%, 또는 10% 내지 35%는 결합 타입 (B)일 수 있다.
- [0217] 다른 구체예에서,  $R^3$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^3$ 은 메틸일 수 있다. 일부 구체예에서,  $R^3$ 은 에틸일 수 있다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^3$ 은 n-프로필 또는 이소프로필일 수 있다. 또한 다른 구체예에서,  $R^3$ 은  $C_4$  알킬일 수 있다. 일부 구체예에서,  $R^3$ 은  $C_5$  알킬일 수 있다. 일부 구체예에서,  $R^3$ 은  $C_6$  알킬일 수 있다.
- [0218] 일부 구체예에서,  $R^8$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소 또는  $C_2-C_{12}$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^8$ 은 수소이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^8$ 은 에틸이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^8$ 은 n-프로필 또는 이소프로필이다. 일부 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_4$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_5$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_6$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_7$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_8$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_9$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_{10}$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_{11}$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_{12}$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^8$ 은  $C_2-C_{12}$  알킬이며,  $C_2-C_{12}$  알킬은 하나 또는 그 이상의 이중 결합 (예를 들어, 알켄), 삼중 결합 (예를 들어, 알킨) 또는 둘 다를 포함한다. 일부 구체예에서,  $R^8$ 은 비치환된  $C_2-C_{12}$  알킬이다.
- [0219] 일부 구체예에서,  $R^9$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아르알킬 또는 아릴이다. 일부 구체예에서,  $R^9$ 은 수소이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_1-C_{12}$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^9$ 은 메틸이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^9$ 은 에틸이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^9$ 은 n-프로필 또는 이소프로필이다. 일부 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_4$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_5$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_6$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_7$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_8$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_9$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_{10}$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_{11}$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_{12}$  알킬이다.
- [0220] 일부의 다른 구체예에서,  $R^9$ 은  $C_1-C_{12}$  아르알킬이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^9$ 은 벤질이며, 이 벤질은 폐닐 환 또는 벤질성 탄소 상에서 임의로 치환될 수 있다. 이와 관련하여 치환체에는 알킬 및 알콕시 그룹, 예를 들어, 메틸 또는 메톡시가 포함된다. 일부 구체예에서, 벤질 그룹은 벤질성 탄소에서 메틸에 의해서 치환된다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^9$ 은 하기 화학식 XIV의 구조를 갖는다:

[0221]

[화학식 XIV]

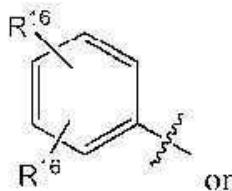


[0222]

[0223] 다른 구체예에서,  $R^9$ 는 아릴이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^9$ 는 페닐이며, 이 페닐은 임의로 치환될 수 있다. 이와 관련하여 치환체에는 알킬 및 알콕시 그룹, 예를 들어, 메틸 또는 메톡시가 포함된다. 다른 구체예에서,  $R^9$ 는 페닐이며, 이 페닐은 크라운 에테르 부분, 예를 들어, 12-18 원 크라운 에테르를 포함한다. 일부 구체예에서, 크라운 에테르는 18 원이며, 추가의 페닐 부분을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^9$ 는 하기 화학식 XV 또는 XVI의 구조 중의 하나를 갖는다:

[0224]

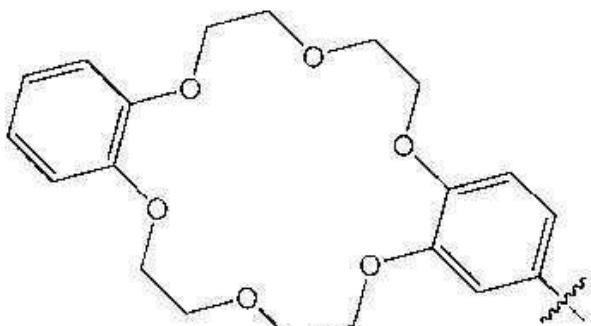
[화학식 XV]



[0225]

[0226]

[화학식 XVI]



[0227]

[0228] 일부 구체예에서,  $R^{10}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬 또는  $-LNR^4R^5R^7$ 이며, 여기에서  $R^4$ ,  $R^5$  및  $R^7$ 은 결합 (A)에 관해서 상기 정의된 바와 같다. 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은 수소이다. 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_1-C_{12}$  알킬이며, 다른 구체예에서  $R^{10}$ 은  $-LNR^4R^5R^7$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{10}$ 은 메틸이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은 에틸이다. 일부 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_3$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_4$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_5$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_6$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_7$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_8$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_9$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_{10}$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_{11}$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^{10}$ 은  $C_{12}$  알킬이다.

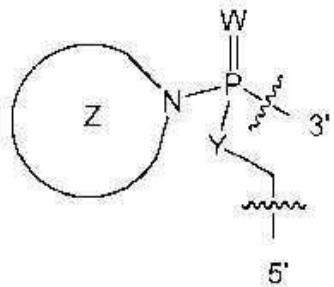
[0229]

일부 구체예에서,  $R^8$  및  $R^9$ 는 결합하여 5-18 원 모노 또는 비사이클릭 혼테로사이클을 형성한다. 일부 구체예에서, 상기 혼테로사이클은 5 또는 6 원 모노사이클릭 혼테로사이클이다. 예를 들어, 일부 구체예에서 결합 (B)

는 하기 화학식 IV의 구조를 갖는다:

[0230]

[화학식 IV]



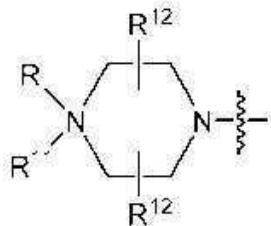
[0231]

[0232]

다른 구체예에서, 헤테로사이클은 비사이클릭, 예를 들어, 12-원 비사이클릭 헤테로사이클이다. 헤테로사이클은 피페라지닐일 수 있다. 헤테로사이클은 모르폴리노일 수 있다. 헤테로사이클은 피페리디닐일 수 있다. 헤테로사이클은 데카하이드로이소퀴놀린일 수 있다. 대표적인 헤테로사이클은 다음을 포함한다:

[0233]

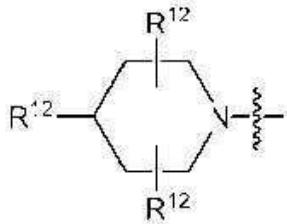
[화학식 III]



[0234]

[0235]

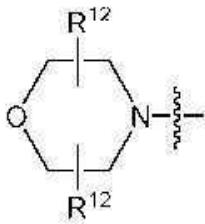
[화학식 V ]



[0236]

[0237]

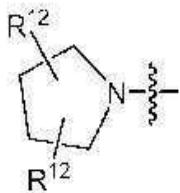
[화학식 VI]



[0238]

[0239]

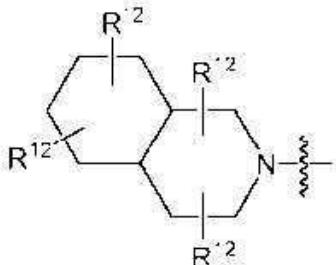
[화학식VII]



[0240]

[0241]

[화학식VIII]



[0242]

[0243]

일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬, 아릴, 헤테로아릴 또는 헤테로사이클릴이다.

[0244]

일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 에틸이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>3</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 이소프로필이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>4</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>5</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>6</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>7</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>8</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>9</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>10</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>11</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>12</sub> 알킬이다.

[0245]

다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 아미노알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 메틸아미노이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 에틸아미노이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>3</sub> 아미노알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>4</sub> 아미노알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>5</sub> 아미노알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>6</sub> 아미노알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>7</sub> 아미노알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>8</sub> 아미노알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>9</sub> 아미노알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>10</sub> 아미노알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>11</sub> 아미노알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>12</sub> 아미노알킬이다.

[0246]

다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>1</sub> 알킬카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>2</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>3</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>4</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>5</sub> 알킬카보닐이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>6</sub> 알킬카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>7</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>8</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>9</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>10</sub> 알킬카보닐이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>11</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>11</sup>은 C<sub>12</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>11</sup>은

$-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 이며, 여기에서  $n$ 은 1 내지 6이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $n$ 은 1이다. 다른 구체예에서,  $n$ 은 2이다. 또한 다른 구체예에서,  $n$ 은 3이다. 일부의 다른 구체예에서,  $n$ 은 4이다. 또한 다른 구체예에서,  $n$ 은 5이다. 다른 구체예에서,  $n$ 은 6이다.

[0247] 다른 구체예에서,  $R^{11}$ 은 아릴이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^{11}$ 은 페닐이다. 일부 구체예에서, 상기 페닐은 예를 들어, 니트로 그룹에 의해서 치환된다.

[0248] 다른 구체예에서,  $R^{11}$ 은 헤테로아릴이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^{11}$ 은 피리디닐이다. 다른 구체예에서,  $R^{11}$ 은 피리미디닐이다.

[0249] 다른 구체예에서,  $R^{11}$ 은 헤테로사이클릴이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^{11}$ 은 피페리디닐, 예를 들어, 피페리딘-4-일이다.

[0250] 일부 구체예에서,  $R^{11}$ 은 에틸, 이소프로필, 피페리디닐, 피리미디닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 또는  $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 이며, 여기에서  $n$ 은 1 내지 6이다.

[0251] 일부 구체예에서,  $R$ 은 전자쌍이다. 다른 구체예에서,  $R$ 은 수소이며, 다른 구체예에서  $R$ 은  $C_1-C_{12}$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R$ 은 메틸이다. 일부 구체예에서,  $R$ 은 에틸이다. 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_3$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R$ 은 이소프로필이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_4$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_5$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R$ 은  $C_6$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_7$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_8$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_9$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R$ 은  $C_{10}$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R$ 은  $C_{11}$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R$ 은  $C_{12}$  알킬이다.

[0252] 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $-NH_2$ ,  $-CONH_2$ ,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ , 옥소,  $-CN$ , 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤�테로아릴, 헤�테로사이클,  $-SR^{13}$  또는  $C_1-C_{12}$  알콕시이며, 여기에서  $R^{13}$ ,  $R^{14}$  및  $R^{15}$ 는 각각의 경우에 독립적으로  $C_1-C_{12}$  알킬이다.

[0253] 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 수소이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $C_1-C_{12}$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $C_1-C_{12}$  아미노알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $-NH_2$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $-CONH_2$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $-NR^{13}R^{14}$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 옥소이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $-CN$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 트리플루오로메틸이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아미딜이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아미디닐이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아미디닐알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아미디닐알킬카보닐이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 구아니디닐, 예를 들어, 모노 메틸구아니디닐 또는 디메틸구아니디닐이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 구아니디닐알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아미디닐알킬카보닐이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 콜레이트이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 데옥시콜레이트이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아릴이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 헤�테로아릴이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 헤�테로사이클이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $-SR^{13}$ 이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $C_1-C_{12}$  알콕시이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 디메틸아미노이다.

[0254] 다른 구체예에서,  $R^{12}$ 는 메틸이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{12}$ 는 에틸이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $C_3$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는 이소프로필이다. 일부 구체예에서,  $R^{12}$ 는  $C_4$  알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^{12}$

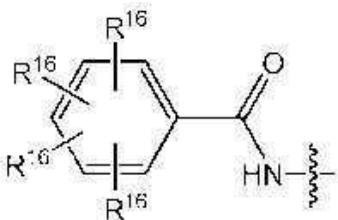
는 C<sub>5</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>6</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>7</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>8</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>9</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>10</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>11</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>12</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, 상기 알킬 부분은 하나 또는 그 이상의 산소 원자에 의해서 치환되어 에테르 부분, 예를 들어, 메톡시메틸 부분을 형성한다.

[0255] 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 메틸아미노이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 에틸아미노이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>3</sub> 아미노알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>4</sub> 아미노알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>5</sub> 아미노알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>6</sub> 아미노알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>7</sub> 아미노알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>8</sub> 아미노알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>9</sub> 아미노알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>10</sub> 아미노알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>11</sub> 아미노알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>12</sub> 아미노알킬이다. 일부 구체예에서, 아미노알킬은 디메틸아미노 알킬이다.

[0256] 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 아세틸이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>2</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>3</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>4</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>5</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>6</sub> 알킬카보닐이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>7</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>8</sub> 알킬카보닐이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>9</sub> 알킬카보닐이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>10</sub> 알킬카보닐이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>11</sub> 알킬카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>12</sub> 알킬카보닐이다. 상기의 알킬카보닐은 카복시 부분에 의해서 치환되며, 예를 들어, 알킬카보닐은 석신산 부분 (즉, 3-카복시알킬카보닐)을 형성하도록 치환된다. 다른 구체예에서, 상기의 알킬카보닐은 말단 -SH 그룹에 의해서 치환된다.

[0257] 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 아미딜이다. 일부 구체예에서, 상기의 아미딜은 예를 들어, -SH, 카바메이트, 또는 이들의 조합에 의해서 더 치환된 알킬 부분을 포함한다. 다른 구체예에서, 상기의 아미딜은 아릴 부분, 예를 들어, 폐닐에 의해서 치환된다. 특정의 구체예에서, R<sup>12</sup>는 하기 화학식 IX의 구조를 가질 수 있다:

[0258] [화학식 IX]



[0259]

[0260] 여기에서 R<sup>16</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알콕시, -CN, 아릴 또는 헤테로아릴이다.

[0261] 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 메톡시이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 에톡시이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>3</sub> 알콕시이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>4</sub> 알콕시이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>5</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>6</sub> 알콕시이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>7</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>8</sub> 알콕시이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>9</sub> 알콕시이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>10</sub> 알콕시이다. 일부 구체예에서, R<sup>12</sup>

는 C<sub>11</sub> 알콕시이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 C<sub>12</sub> 알콕시이다.

[0262] 특정의 구체예에서, R<sup>12</sup>는 피롤리디닐, 예를 들어, 피롤리딘-1-일이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 피페리디닐, 예를 들어, 피페리딘-1-일 또는 피페리딘-4-일이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 모르폴리노, 예를 들어, 모르폴린-4-일이다. 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 폐닐이며, 또한 추가의 구체예에서 상기의 폐닐은 예를 들어, 니트로 그룹에 의해서 치환된다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>12</sup>는 피리미디닐, 예를 들어, 피리미딘-2-일이다.

[0263] 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 및 R<sup>15</sup>는 각각의 경우에 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 메틸이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 에틸이다. 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>3</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 이소프로필이다. 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>4</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>5</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>6</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>7</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>8</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>9</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>10</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>11</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>13</sup>, R<sup>14</sup> 또는 R<sup>15</sup>는 C<sub>12</sub> 알킬이다.

[0264] 상기 언급한 바와 같이, 일부 구체예에서 R<sup>12</sup>는 아릴 부분으로 치환된 아미딜이다. 이와 관련하여, R<sup>16</sup>은 각각의 경우에 동일하거나 상이할 수 있다. 이를 구체예의 특정한 것에서, R<sup>16</sup>은 수소이다. 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 -CN이다. 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 헤테로아릴, 예를 들어, 테트라졸릴이다. 특정의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 메톡시이다. 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 아릴이며, 상기 아릴은 임의로 치환된다. 이와 관련하여 임의의 치환체에는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알콕시, 예를 들어, 메톡시; 트리플루오로메톡시; 할로, 예를 들어, 클로로; 및 트리플루오로메틸이 포함된다.

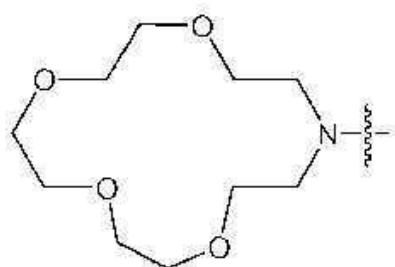
[0265] 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 메틸이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 에틸이다. 일부 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>3</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 이소프로필이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>4</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>5</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>6</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>7</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>8</sub> 알킬이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>9</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>10</sub> 알킬이다. 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>11</sub> 알킬이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>12</sub> 알킬이다.

[0266] 일부 구체예에서, R<sup>16</sup>은 메톡시이다. 일부 구체예에서, R<sup>16</sup>은 에톡시이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>3</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>4</sub> 알콕시이다. 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>5</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>6</sub> 알콕시이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>7</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>8</sub> 알콕시이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>9</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>10</sub> 알콕시이다. 일부 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>11</sub> 알콕시이다. 일부의 다른 구체예에서, R<sup>16</sup>은 C<sub>12</sub> 알콕시이다.

[0267] 일부의 다른 구체예에서, R<sup>8</sup> 및 R<sup>9</sup>는 결합하여 12-18 원 크라운 에테르를 형성한다. 예를 들어, 일부 구체예에서 크라운 에테르는 18 원이며, 다른 구체예에서 크라운 에테르는 15 원이다. 특정의 구체예에서, R<sup>8</sup> 및 R<sup>9</sup>는 결합하여 하기 화학식 X 또는 XI의 구조 중의 하나를 갖는 헤테로사이클을 형성한다:

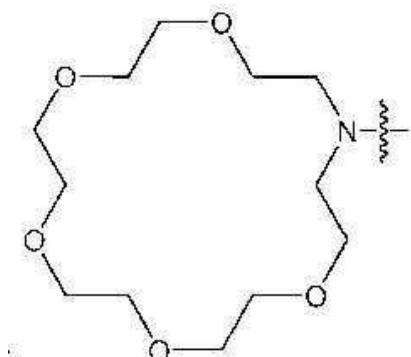
[0268]

[화학식 X]



[0269]

[화학식 XI]

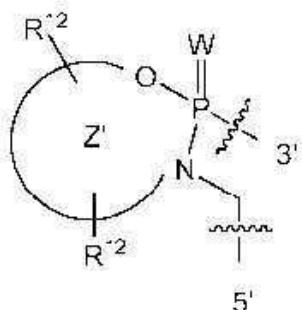


[0270]

[0272] 일부 구체예에서,  $R^8$ ,  $R^9$  또는  $R^3$ 은  $R^{10}$ 과 결합하여 5-7 원자 헤테로사이클을 형성한다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^3$ 은  $R^{10}$ 과 결합하여 5-7 원자 헤테로사이클을 형성한다. 일부 구체예에서, 상기의 헤테로사이클릴은 5-원이다. 다른 구체예에서, 상기의 헤테로사이클은 6-원이다. 다른 구체예에서, 상기의 헤테로사이클릴은 7-원이다. 일부 구체예에서, 상기의 헤테로사이클은 하기 화학식 XII의 구조로 표시된다:

[0273]

[화학식 XII]



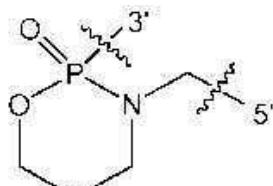
[0274]

[0275]

여기에서  $Z$ 는 5-7 원자 헤테로사이클을 나타낸다. 화학식 XI의 구조의 특정의 구체예에서,  $R^{12}$ 는 각각의 경우에 수소이다. 예를 들어, 결합 (B)는 하기 화학식 (B1), (B2) 또는 (B3)의 구조 중의 하나를 가질 수 있다:

[0276]

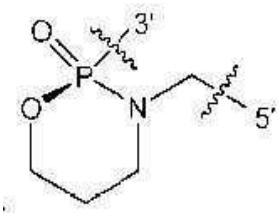
[화학식 B1]



[0277]

[0278]

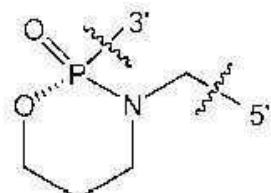
[화학식 B2]



[0279]

[0280]

[화학식 B3]



[0281]

[0282]

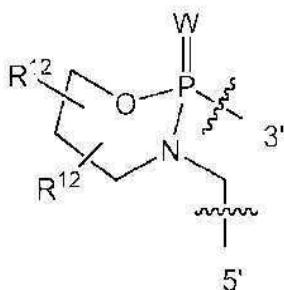
특정한 다른 구체예에서,  $R^{12}$ 는 아릴포스포릴 부분, 예를 들어, 트리페닐 포스포릴 부분에 의해서 더 치환된  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐 또는 아미딜이다. 이 구조를 갖는 결합의 예로는 B56 및 B55가 포함된다.

[0283]

특정의 구체예에서, 결합 (B)는 하기 화학식 XIII의 구조를 가질 수 있다:

[0284]

[화학식 XIII]



[0285]

상기 식에서,

[0286]

$W$ 는 S 또는 O이고,

[0287]

$R^{12}$ 는 각각의 경우에 독립적으로 수소,  $C_1-C_{12}$  알킬,  $C_1-C_{12}$  아미노알킬,  $-NH_2$ ,  $-CONH_2$ ,  $-NR^{13}R^{14}$ ,  $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ ,  $C_1-C_{12}$  알킬카보닐, 옥소,  $-CN$ , 트리플루오로메틸, 아미딜, 아미디닐, 아미디닐알킬, 아미디닐알킬카보닐, 구아니디닐, 구아니디닐알킬, 구아니디닐알킬카보닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 아릴, 헤테로아릴, 헤�테로사이클,  $-SR^{13}$  또는  $C_1-C_{12}$  알콕시이며, 여기에서  $R^{13}$ ,  $R^{14}$  및  $R^{15}$ 은 각각의 경우에 독립적으로  $C_1-C_{12}$  알킬이다.

[0288]

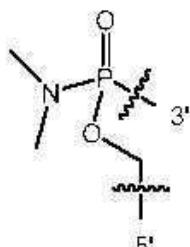
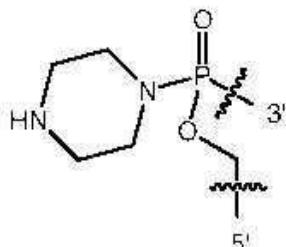
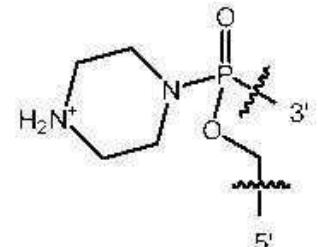
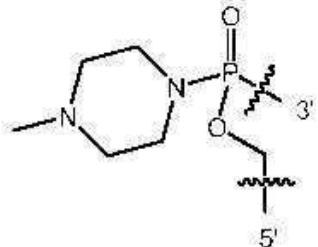
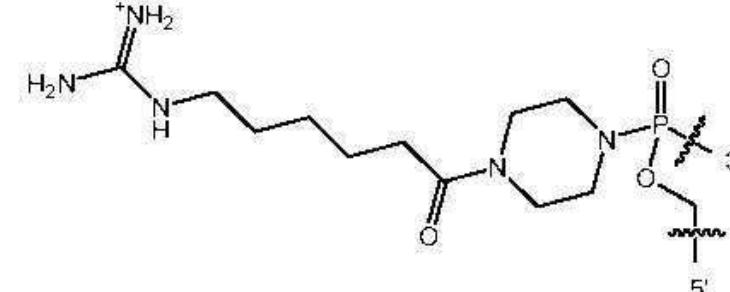
특정의 구체예에서, 결합 (B)는 구조 A1-A5 중의 어느 하나를 갖지 않는다. 표 1은 타입 (A) 및 (B)의 대표적인 결합을 나타낸다.

[0289]

[표 1]

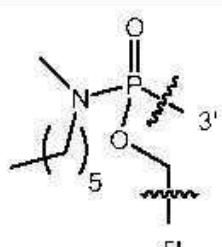
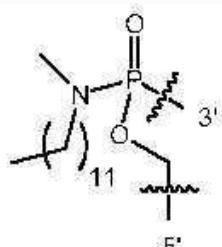
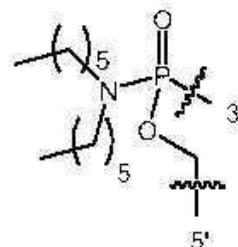
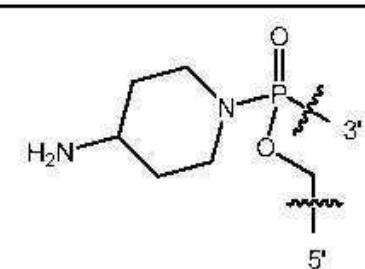
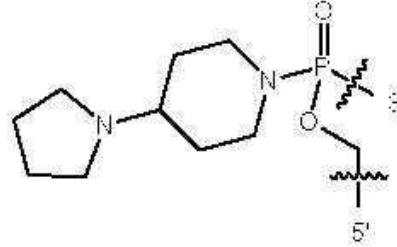
[0291]

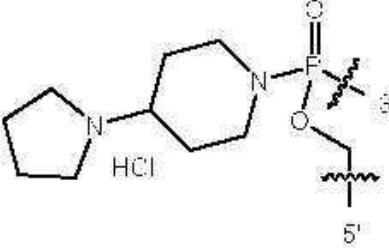
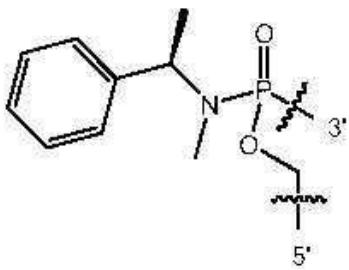
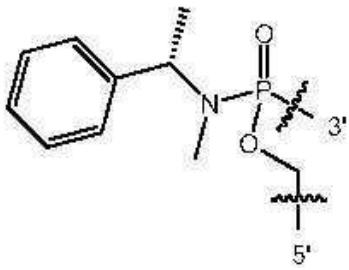
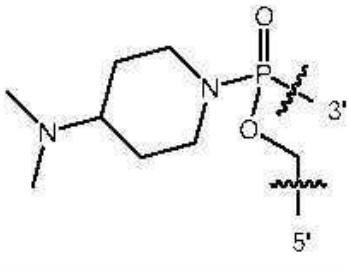
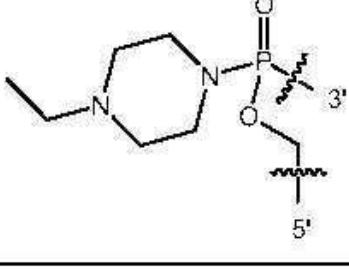
대표적인 서브유니트간 결합

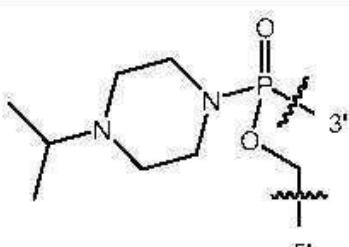
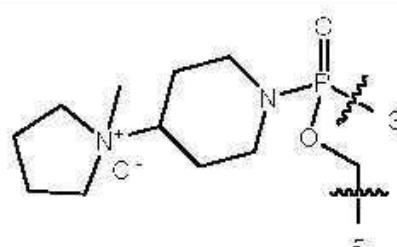
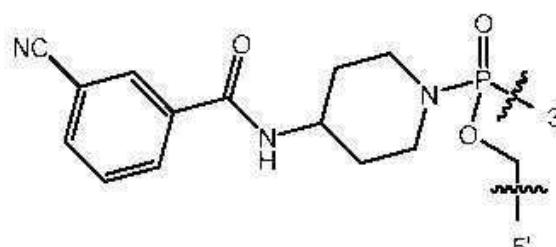
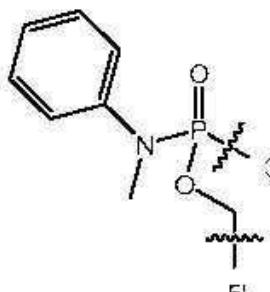
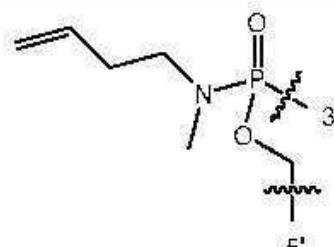
No.	명칭	구조
A1	PMO	
A2	PMO <sup>+</sup> (비양자화된 형태가 도시됨)	
A3	PMO <sup>+</sup> (+)	
A4	PMO <sup>mep<sup>+</sup></sup> (m <sup>+</sup> )	
A5	PMO <sup>GUX</sup>	

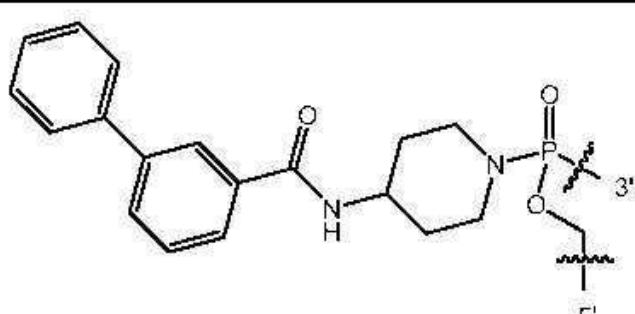
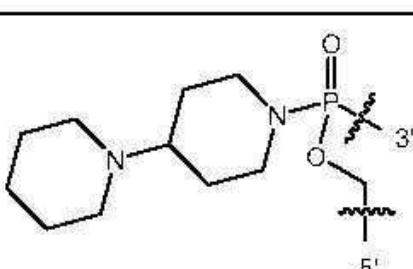
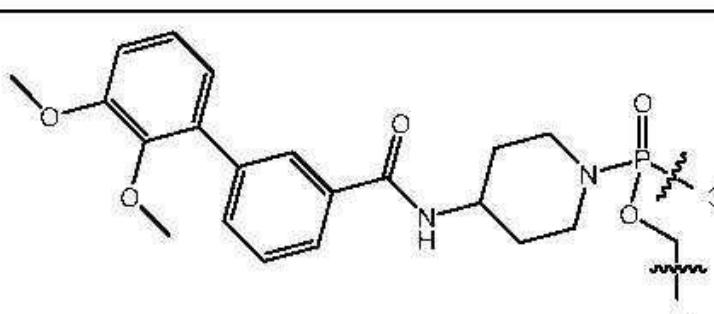
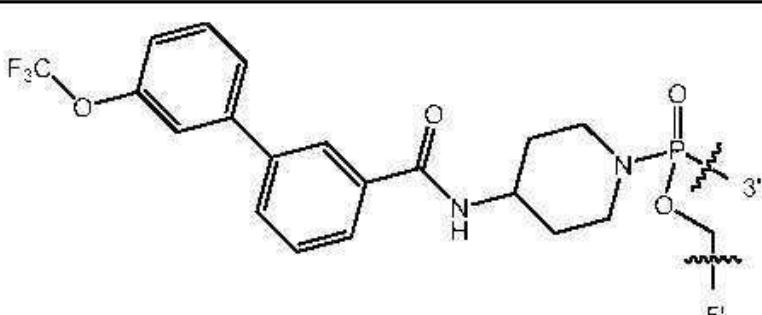
[0292]

No.	명칭	구조
B1	PMO <sup>cP</sup>	
B2	PMO <sup>cPs</sup>	
B3	PMO <sup>cPz</sup>	
B4	PMO <sup>S22</sup>	
B5	PMO <sup>morpholino</sup> (m)	
B6	PMO <sup>tn</sup> (t)	

No.	명칭	구조
B7	PMO <sup>hex</sup> (h)	
B8	PMO <sup>dodec</sup>	
B9	PMO <sup>dihex</sup>	
B10	PMO <sup>PIP</sup> (a)	
B11	PMO <sup>PYR</sup> (p)	

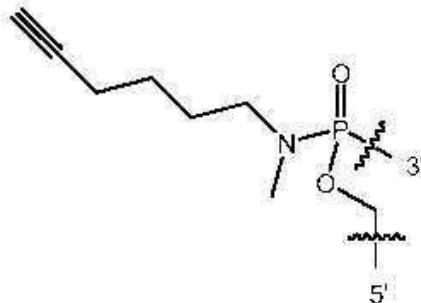
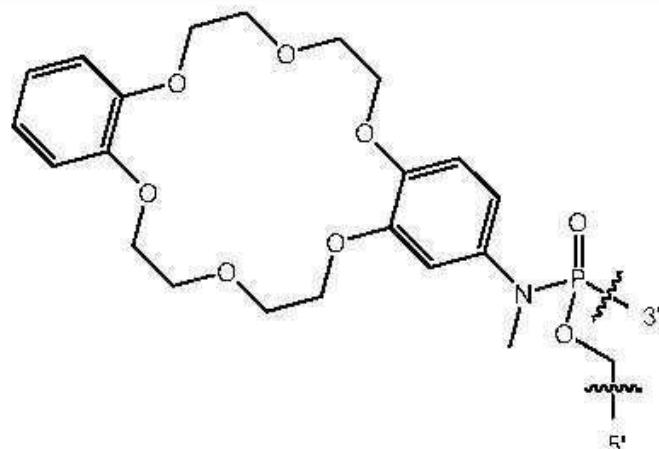
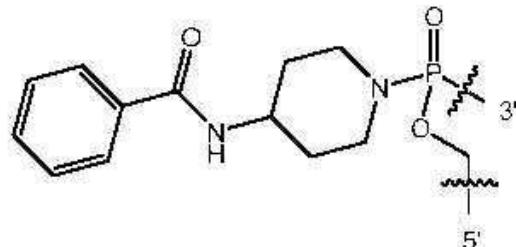
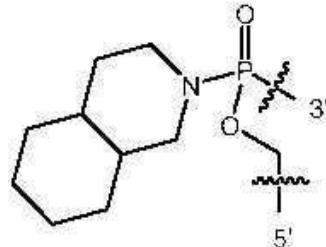
No.	명칭	구조
B12	PMO <sup>pyr</sup> (HCl 염)	
B13	PMO <sup>iba</sup>	
B14	PMO <sup>scz</sup>	
B15	PMO <sup>dimehydipn</sup>	
B16	PMO <sup>etpp</sup>	

No.	명칭	구조
B17	PMO <sup>iPrpip</sup>	
B18	PMO <sup>pyQMe</sup>	
B19	PMO <sup>c2</sup>	
B20	PMO <sup>m8</sup>	
B21	PMO <sup>b4</sup>	

No.	명칭	구조
B22	PMO <sup>b1</sup>	
B23	PMO <sup>pip</sup>	
B24	PMO <sup>odmuc</sup>	
B25	PMO <sup>et2</sup>	

[0297]

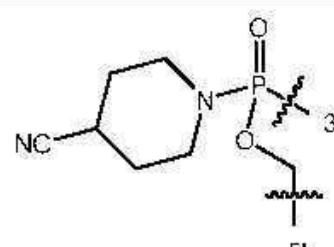
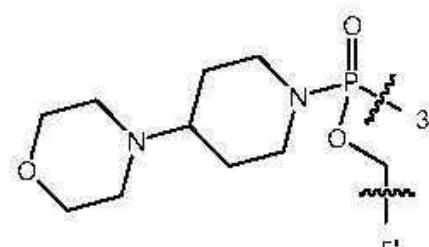
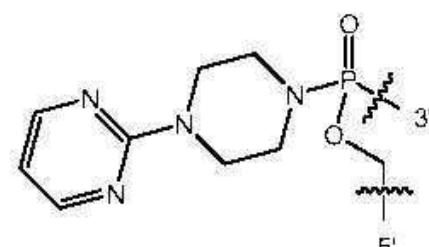
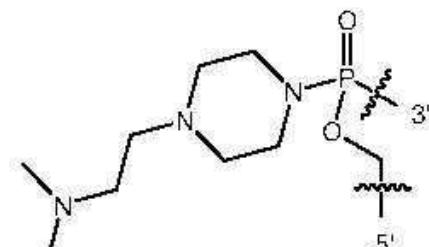
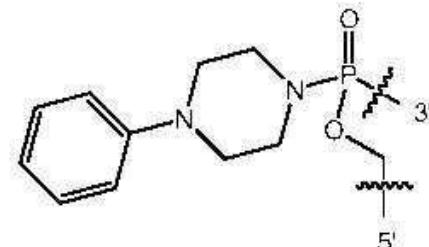
No.	명칭	구조
B26	PMO <sup>cflb</sup>	
B27	PMO <sup>ptfb</sup>	
B28	PMO <sup>dcz</sup>	
B29	PMO <sup>dmc</sup>	

No.	명칭	구조
B30	PMO <sup>hy</sup>	
B31	PMO <sup>6ce</sup>	
B32	PMO <sup>b</sup>	
B33	PMO <sup>a</sup>	

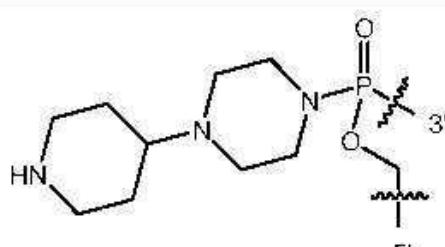
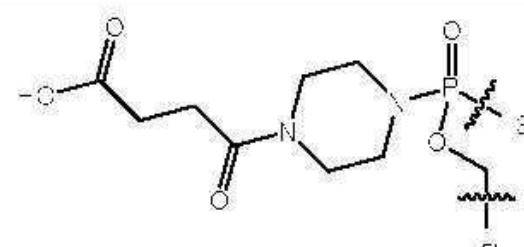
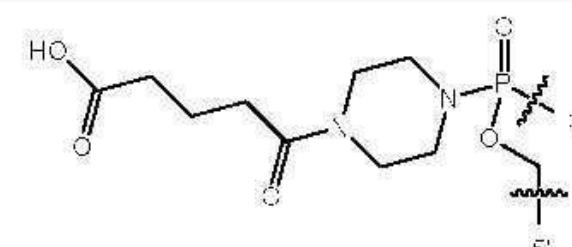
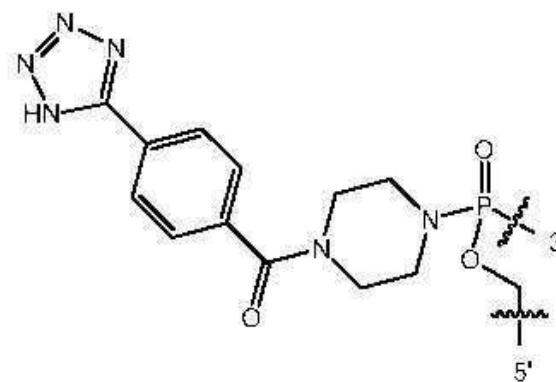
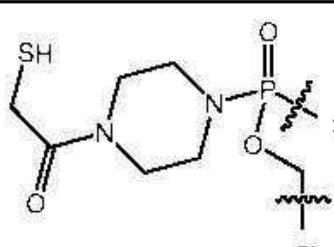
[0299]

No.	명칭	구조
B34	PMO <sup>app</sup>	
B35	PMO <sup>o</sup>	
B36	PMO <sup>4e</sup>	
B37	PMO <sup>5ce</sup>	
B38	PMO <sup>f3p</sup>	

[0300]

No.	명칭	구조
B39	PMO <sup>cyp</sup>	
B40	PMO <sup>map</sup>	
B41	PMO <sup>pp</sup>	
B42	PMO <sup>cme pip</sup>	
B43	PMO <sup>NPPip</sup>	

[0301]

No.	명칭	구조
B44	PMO <sup>bipip</sup>	
B45	PMO <sup>81c</sup>	
46	PMO <sup>glutamic</sup>	
B47	PMO <sup>tez</sup>	
B48	PMO <sup>thio</sup> (SH)	

No.	명칭	구조
B49	PMO <sup>pmo</sup>	
B50	PMO <sup>pmor</sup>	
B51	PMO <sup>pmg</sup>	
B52	PMO <sup>ca</sup>	
B53	PMO <sup>dca</sup>	

No.	명칭	구조
B54	PMO <sup>guan</sup> (g)	
B55	PMO <sup>+phos</sup>	
B56	PMO <sup>apnphos</sup>	

[0304]

[0305] 이하의 서열 및 설명에서는, 결합에 대한 상기의 명칭이 종종 사용된다. 예를 들어, PMO<sup>apn</sup> 결합을 포함하는 염기는 <sup>apn</sup>B로 예시되며, 여기에서 B는 염기이다. 다른 결합은 마찬가지로 지정된다. 또한, 약칭된 명칭이 사용될 수 있으며, 예를 들어, 상기 괄호 안의 약칭된 명칭이 사용될 수 있다 (예를 들어, <sup>a</sup>B는 <sup>apn</sup>B로 칭한다). 그밖의 다른 쉽게 식별할 수 있는 약어가 사용될 수도 있다.

[0306]

#### B. 변형된 말단 그룹을 갖는 올리고머

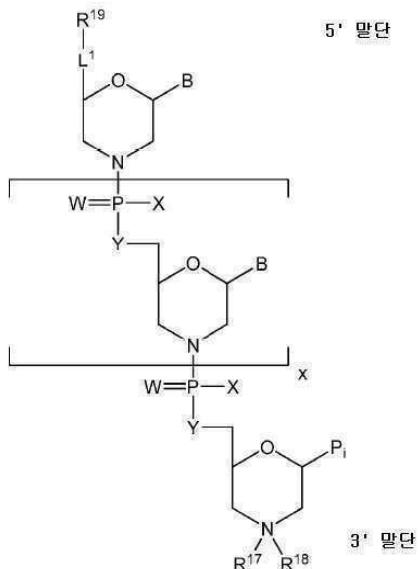
[0307]

상기 언급한 바와 같이, 본 발명은 또한 변형된 말단 그룹을 포함하는 올리고머를 제공한다. 본 출원인은 다양한 화학적 부분에 의한 올리고머의 3' 및/또는 5' 말단의 변형이 올리고머에 유익한 치료학적 특성 (예를 들어, 증진된 세포 송달, 효력 및/또는 조직 분포 등)을 제공한다는 것을 발견하였다. 다양한 구체예에서, 변형된 말단 그룹은 소수성 부분을 포함하는 한편, 다른 구체예에서 변형된 말단 그룹은 친수성 부분을 포함한다. 변형된 말단 그룹은 상술한 결합이 있거나 없이 존재할 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서 올리고머는 하나 또는 그 이상의 변형된 말단 그룹 및 타입 (A)의 결합, 예를 들어, X가 -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>인 결합을 포함한다. 다른 구체예에서, 올리고머는 하나 또는 그 이상의 변형된 말단 그룹 및 타입 (B)의 결합, 예를 들어, X가 4-아미노피페리딘-1-일 (즉, APN)인 결합을 포함한다. 또한 다른 구체예에서, 올리고머는 하나 또는 그 이상의 변형된 말단 그룹 및 결합 (A) 및 (B)의 혼합물을 포함한다. 예를 들어, 올리고머는 하나 또는 그 이상의 변형된 말단 그룹

(예를 들어, 트리틸 또는 트리페닐 아세틸) 및 X가  $-N(CH_3)_2$ 인 결합 및 X가 4-아미노피페리딘-1-일인 결합을 포함할 수 있다. 변형된 말단 그룹 및 변형된 결합의 그 밖의 다른 조합도 올리고머에 유리한 치료학적 특성을 제공한다.

[0308] 일 구체예에서, 말단 변형을 포함하는 올리고머는 하기 화학식 XVII의 구조 또는 그의 염 또는 이성체를 갖는다:

[0309] [화학식 XVII]



[0310]

[0311] 여기에서,

[0312]

X, W 및 Y는 결합 (A) 및 (B) 중의 어떤 것에 대해서 상기 정의한 바와 같으며;

[0313]

$R^{17}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이고;

[0314]

$R^{18}$  및  $R^{19}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 부재하거나, 수소, 세포-침투성 펩타이드, 천연 또는 비-천연 아미노산,  $C_2-C_{30}$  알킬카보닐,  $-C(=O)OR^{21}$  또는  $R^{20}$ 이며;

[0315]

$R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬;  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_7-C_{30}$  아르알킬,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐, 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이고;

[0316]

B는 염기-짝짓기 부분이며;

[0317]

$L^1$ 은 알킬, 하이드록실, 알콕시, 알킬아미노, 아미드, 에스테르, 디설파이드, 카보닐, 카바메이트, 포스포로디아미데이트, 포스포로아미데이트, 포스포로티오에이트, 피페라진 및 포스포디에스테르로부터 선택된 결합을 포함하는 길이가 18 원자까지인 임의의 링커이고;

[0318]

x는 0 또는 그 이상의 정수이며;

[0319]

여기에서  $R^{18}$  또는  $R^{19}$  중의 적어도 하나는  $R^{20}$ 이고;

[0320]

여기에서  $R^{18}$  또는  $R^{19}$  중의 적어도 하나는  $R^{20}$ 이고, 단  $R^{17}$  및  $R^{18}$ 은 둘 다 부재하지는 않는다.

[0321]

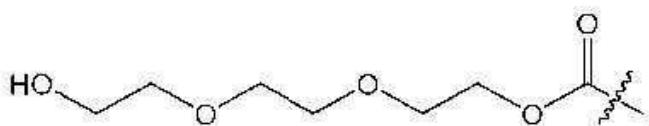
변형된 말단 그룹을 갖는 올리고머는 어떤 수의 결합 (A) 및 (B)의 결합이라도 포함할 수 있다. 예를 들어, 올

리고머는 단지 결합 타입 (A) 만을 포함할 수 있다. 예를 들어, 각각의 결합에서 X는  $-N(CH_3)_2$ 일 수 있다. 대신으로, 올리고머는 단지 결합 (B) 만을 포함할 수 있다. 특정의 구체예에서, 올리고머는 결합 (A) 및 (B)의 혼합물, 예를 들어, 1 내지 4개의 타입 (B)의 결합 및 나머지로 타입 (A)의 결합을 포함한다. 이와 관련하여 결합에는 타입 (B)인 경우에 X가 아미노피페리디닐이고, 타입 (A)인 경우에는 디메틸아미노인 결합이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다.

[0322] 일부 구체예에서,  $R^{17}$ 은 부재한다. 일부 구체예에서,  $R^{17}$ 은 수소이다. 일부 구체예에서,  $R^{17}$ 은  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{17}$ 은 메틸이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{17}$ 은 에틸이다. 일부 구체예에서,  $R^{17}$ 은  $C_3$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^{17}$ 은 이소프로필이다. 다른 구체예에서,  $R^{17}$ 은  $C_4$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{17}$ 은  $C_5$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^{17}$ 은  $C_6$  알킬이다.

[0323] 다른 구체예에서,  $R^{18}$ 은 부재한다. 일부 구체예에서,  $R^{18}$ 은 수소이다. 일부 구체예에서,  $R^{18}$ 은 이하에 더 상세히 기술된 바와 같은 세포-침투성 웹타이드이다. 일부 구체예에서,  $R^{18}$ 은 천연 또는 비-천연 아미노산, 예를 들어, 트리메틸글리신이다. 일부 구체예에서,  $R^{18}$ 은  $R^{20}$ 이다.

[0324] 다른 구체예에서,  $R^{19}$ 은 부재한다. 일부 구체예에서,  $R^{19}$ 은 수소이다. 일부 구체예에서,  $R^{19}$ 은 이하에 더 상세히 기술되는 바와 같은 세포-침투성 웹타이드이다. 일부 구체예에서,  $R^{19}$ 은 천연 또는 비-천연 아미노산, 예를 들어, 트리메틸글리신이다. 일부 구체예에서,  $R^{19}$ 은  $-C(=O)OR^{17}$ 이며, 예를 들어,  $R^{19}$ 는 하기 화학식의 구조를 가질 수 있다:



[0325] 다른 구체예에서,  $R^{18}$  또는  $R^{19}$ 는  $C_2-C_{30}$  알킬카보닐, 예를 들어,  $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ 이며, 여기에서 n은 1 내지 6, 예를 들어, 2이다. 다른 예에서,  $R^{18}$  또는  $R^{19}$ 는 아세틸이다.

[0327] 일부 구체예에서,  $R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬;  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_7-C_{30}$  아르알킬,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_6-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐,  $-C(=O)OR^{21}$ , 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이며, 여기에서  $R^{21}$ 은 하나 또는 그 이상의 산소 또는 하이드록실 부분 또는 이들의 조합을 포함하는  $C_1-C_{30}$  알킬이고, 각각의  $R^{22}$ 는  $C_6-C_{12}$  아릴옥시이다.

[0328] 특정한 다른 구체예에서,  $R^{19}$ 는  $-C(=O)OR^{21}$ 이고,  $R^{18}$ 은 수소, 구아니디닐, 헤�테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬;  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐, 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이며, 여기에서 각각의  $R^{22}$ 는  $C_6-C_{12}$  아릴옥시이다.

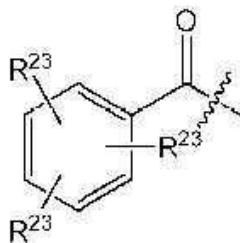
[0329] 다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤�테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬;  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보

닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐, 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이다. 한편 다른 예에서  $R^{20}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 구아니디닐, 헤테로사이클릴,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬;  $C_6-C_{30}$  아릴,  $C_7-C_{30}$  아르알킬,  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬알킬카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬카보닐,  $C_2-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_3-C_8$  사이클로알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아릴옥시카보닐,  $C_8-C_{30}$  아르알킬옥시카보닐, 또는  $-P(=O)(R^{22})_2$ 이다.

[0330] 일부 구체예에서,  $R^{20}$ 은 구아니디닐, 예를 들어, 모노 메틸구아아니디닐 또는 디메틸구아아니디닐이다. 다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은 헤테로사이클릴이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^{20}$ 은 피페리딘-4-일이다. 일부 구체예에서, 피페리딘-4-일은 트리틸 또는 Boc 그룹에 의해서 치환된다. 다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은  $C_3-C_8$  사이클로알킬이다. 다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은  $C_6-C_{30}$  아릴이다.

[0331] 일부 구체예에서,  $R^{20}$ 은  $C_7-C_{30}$  아릴카보닐이다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $R^{20}$ 은 하기 화학식 XVIII의 구조를 갖는다:

[화학식 XVIII]

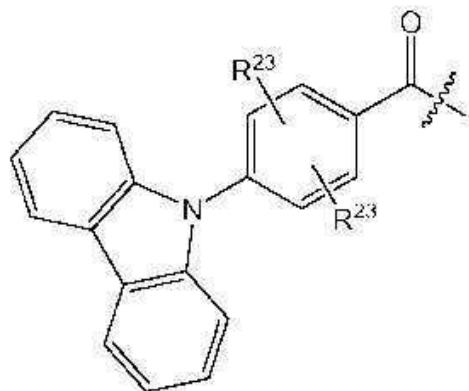


[0333]

[0334] 여기에서  $R^{23}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소, 할로,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_1-C_{30}$  알콕시,  $C_1-C_{30}$  알킬옥시카보닐,  $C_7-C_{30}$  아르알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 또는 헤테로사이클알킬이며, 여기에서 하나의  $R^{23}$ 은 또 다른  $R^{23}$ 과 결합하여 헤테로사이클릴 환을 형성할 수 있다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의  $R^{23}$ 은 수소이며, 예를 들어, 일부 구체예에서 각각의  $R^{23}$ 은 수소이다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의  $R^{23}$ 은  $C_1-C_{30}$  알콕시이고, 예를 들어, 일부 구체예에서 각각의  $R^{23}$ 은 메톡시이다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의  $R^{23}$ 은 헤테로아릴이며, 예를 들어, 일부 구체예에서 적어도 하나의  $R^{23}$ 은 하기 화학식 XVIIIa 또는 XVIIIb의 구조 중의 하나를 갖는다:

[0335]

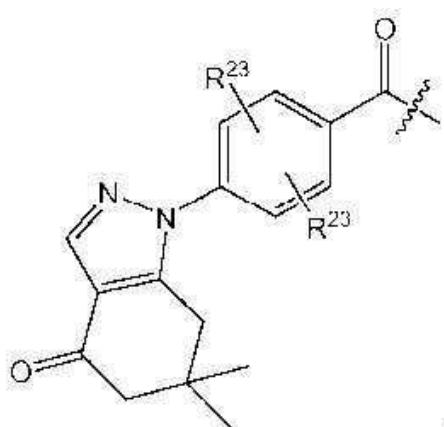
[화학식 XVIIIa]



[0336]

[0337]

[화학식 XVIIIb]



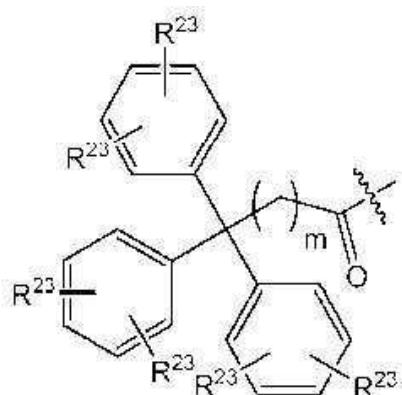
[0338]

[0339] 또한 다른 구체예에서, 하나의 R<sup>23</sup>은 또 다른 R<sup>23</sup>과 결합하여 헤테로사이클릴 환을 형성한다. 예를 들어, 일 구체예에서 R<sup>20</sup>은 5-카복시플루오레세인이다.

[0340] 또 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬카보닐이다. 예를 들어, 다양한 구체예에서 R<sup>20</sup>은 하기 화학식 XIX, XX 또는 XXI의 구조 중의 하나를 갖는다:

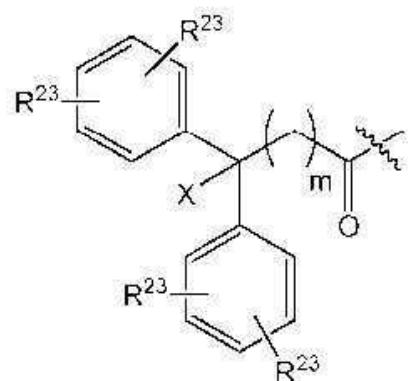
[0341]

[화학식 XIX]



[0342]

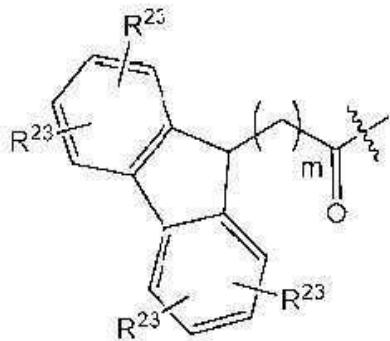
[0343] [화학식 XX]



[0344]

[0345]

[화학식 XXI]



[0346]

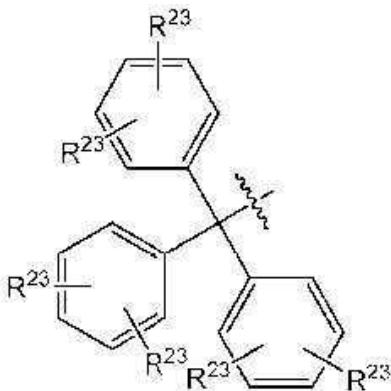
[0347] 여기에서, R<sup>23</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬옥시카보닐, C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 또는 헤테로사이클알킬이며, 여기에서 하나의 R<sup>23</sup>은 또 다른 R<sup>23</sup>과 결합하여 헤테로사이클릴 환을 형성할 수 있고, X는 -OH 또는 할로이며, m은 0 내지 6의 정수이다. 일부 구체예에서, m은 0이다. 다른 구체예에서, m은 1인 반면에 다른 구체예에서, m은 2이다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 R<sup>23</sup>은 수소이며, 예를 들어, 일부 구체예에서 각각의 R<sup>23</sup>은 수소이다. 일부 구체예에서, X는 수소이다. 다른 구체예에서, X는 -OH이다. 다른 구체예에서, X는 Cl이다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 R<sup>23</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알콕시, 예를 들어, 메톡시이다.

[0348]

또한 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬, 예를 들어, 트리틸이다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 메톡시 트리틸이다. 일부 구체예에서, R<sup>20</sup>은 하기 화학식 XXII의 구조를 갖는다:

[0349]

[화학식 XXII]



[0350]

[0351]

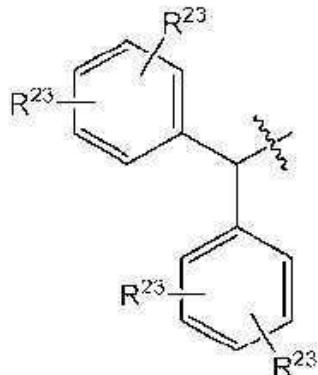
여기에서 R<sup>23</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬옥시카보닐, C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴 또는 헤테로사이클알킬이며, 여기에서 하나의 R<sup>23</sup>은 또 다른 R<sup>23</sup>과 결합하여 헤테로사이클릴 환을 형성할 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서 각각의 R<sup>23</sup>은 수소이다. 다른 구체예에서, 적어도 하나의 R<sup>23</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알콕시, 예를 들어, 메톡시이다.

[0352]

또한 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬이고, R<sup>20</sup>은 하기 화학식 XXIII의 구조를 갖는다:

[0353]

[화학식 XXIII]



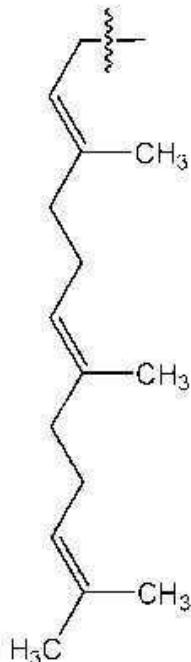
[0354]

[0355] 일부 구체예에서, 적어도 하나의 R<sup>23</sup>은 할로, 예를 들어, 클로로이다. 일부의 다른 구체예에서, 하나의 R<sup>23</sup>은 파라 위치에서 클로로이다.

[0356] 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬이다. 예를 들어, 일부 구체예에서 R<sup>20</sup>은 C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub> 알킬이며, 임의로 하나 또는 그 이상의 이중 결합을 포함한다. 예를 들어, 일부 구체예에서 R<sup>20</sup>은 삼중 결합, 예를 들어, 말단 삼중 결합을 포함하는 C<sub>4-10</sub> 알킬이다. 일부 구체예에서, R<sup>20</sup>은 헥신-6-일이다. 일부 구체예에서, R<sup>20</sup>은 하기 화학식 XXIV, XXV, XXVI 또는 XXVII의 구조 중의 하나를 갖는다:

[0357]

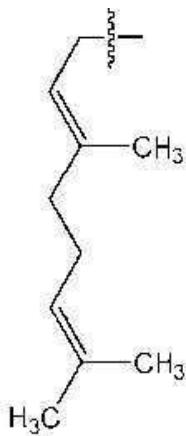
[화학식 XXIV]



[0358]

[0359]

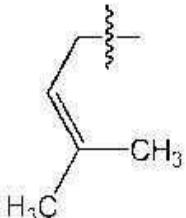
[화학식 XXV]



[0360]

[0361]

[화학식 XXVI]



[0362]

[0363]

[화학식 XXVII]



[0364]

[0365]

또한 다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐, 예를 들어,  $C_3-C_{10}$  알킬카보닐이다. 일부 구체예에서,  $R^{20}$ 은  $-C(=O)(\text{CH}_2)_p\text{SH}$  또는  $-C(=O)(\text{CH}_2)_p\text{SSHet}$ 이며, 여기에서  $p$ 는 1 내지 6의 정수이고, Het는 헤테로아릴이다. 예를 들어,  $p$ 는 1일 수 있거나,  $p$ 는 2일 수 있다. 다른 예에서, Het는 피리디닐, 예를 들어, 피리딘-2-일이다. 다른 구체예에서,  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐은 추가의 올리고머에 의해서 치환되며, 예를 들어, 일부 구체예에서 상기 올리고머는 상기 올리고머를 또 다른 올리고머의 3 위치에 결합시키는 3 위치에서  $C_3-C_{30}$  알킬 카보닐을 포함한다. 이러한 말단 변형은 본 발명의 범주 내에 포함된다.

[0366]

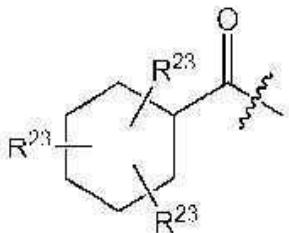
다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은 아릴포스포릴 부분, 예를 들어, 트리페닐 포스포릴에 의해서 더 치환된  $C_3-C_{30}$  알킬 카보닐이다. 이러한  $R^{20}$  그룹의 예로는 표 2에서의 구조 33이 포함된다.

[0367]

다른 예로서,  $R^{20}$ 은  $C_3-C_8$  사이클로알킬카보닐, 예를 들어,  $C_5-C_7$  알킬카보닐이다. 이들 구체예에서,  $R^{20}$ 은 하기 화학식 XXVIII의 구조를 갖는다:

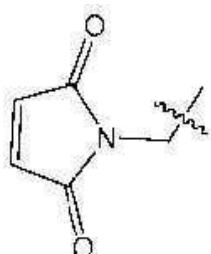
[0368]

[화학식 XXVIII]



[0369]

[0370] 여기에서 R<sup>23</sup>은 각각의 경우에 독립적으로 수소, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>30</sub> 알킬옥시카보닐, C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤�테로사이클릴 또는 헤�테로사이클알킬이며, 여기에서 하나의 R<sup>23</sup>은 또 다른 R<sup>23</sup>에 결합하여 헤�테로사이클릴 환을 형성할 수 있다. 일부 구체예에서, R<sup>23</sup>은 헤�테로사이클릴알킬이며, 예를 들어, 일부 구체예에서 R<sup>23</sup>은 하기 화학식의 구조를 갖는다:

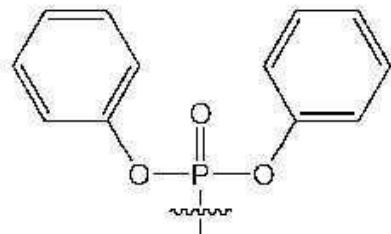


[0371]

[0372] 일부의 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬알킬카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>2</sub>-C<sub>30</sub> 알킬옥시카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬옥시카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> 아릴옥시카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> 아르알킬옥시카보닐이다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 -P(=O)(R<sup>22</sup>)<sub>2</sub>이며, 여기에서 각각의 R<sup>22</sup>은 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> 아릴옥시이고, 예를 들어, 일부 구체예에서 R<sup>20</sup>은 하기 화학식 C24의 구조를 갖는다:

[0373]

[화학식 C24]



[0374]

[0375] 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 하나 또는 그 이상의 할로 원자를 포함한다. 예를 들어, 일부 구체예에서 R<sup>20</sup>은 상기 R<sup>20</sup> 부분 중의 어떤 것의 퍼플루오로 유사체를 포함한다. 다른 구체예에서, R<sup>20</sup>은 p-트리플루오로메틸페닐, 트리플루오로메틸트리틸, 퍼플루오로펜틸 또는 펜타플루오로페닐이다.

[0376]

일부 구체예에서, 3' 말단은 변형을 포함하며, 다른 구체예에서는 5' 말단이 변형을 포함한다. 다른 구체예에서는, 3' 및 5' 말단 둘 다가 변형을 포함한다. 따라서, 일부 구체예에서 R<sup>18</sup>은 부재하며, R<sup>19</sup>은 R<sup>20</sup>이다. 다른 구체예에서, R<sup>19</sup>은 부재하며, R<sup>18</sup>은 R<sup>20</sup>이다. 또한 다른 구체예에서, R<sup>18</sup> 및 R<sup>19</sup>은 각각 R<sup>20</sup>이다.

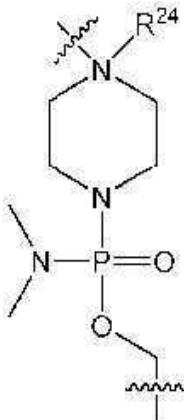
[0377]

일부 구체예에서, 올리고머는 3' 또는 5' 변형 이외에도 세포-침투성 웹타이드를 포함한다. 따라서, 일부 구체

예에서  $R^{19}$ 는 세포-침투성 웨타이드이고,  $R^{18}$ 은  $R^{20}$ 이다. 다른 구체예에서,  $R^{18}$ 은 세포-침투성 웨타이드이고,  $R^{19}$ 는  $R^{20}$ 이다. 전술한 것의 추가의 구체예에서, 세포-침투성 웨타이드는 아르기닌-풍부 웨타이드이다.

[0378] 일부 구체예에서, 5' 말단 그룹 (즉,  $R^{19}$ )을 올리고머에 결합시키는 링커  $L^1$ 은 존재하거나 부재할 수 있다. 상기 링커는 링커가 5' 말단 그룹을 올리고머에 결합시키는 그의 능력을 보유하고, 링커가 서열 특이적 방식으로 표적 서열에 결합하는 올리고머의 능력을 저해하지 않는 한, 어떤 수의 작용 그룹 및 어떤 길이라도 포함한다. 일부 구체예에서,  $L$ 은 포스포로디아미데이트 및 피페라진 결합을 포함한다. 예를 들어, 일부 구체예에서  $L$ 은 하기 화학식 XXIX의 구조를 갖는다:

[0379] [화학식 XXIX]

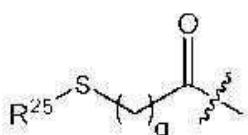


[0380]

[0381] 여기에서  $R^{24}$ 는 부재하거나, 수소 또는  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{24}$ 는 부재한다. 일부 구체예에서,  $R^{24}$ 는 수소이다. 일부 구체예에서,  $R^{24}$ 는  $C_1-C_6$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{24}$ 는 메틸이다. 다른 구체예에서,  $R^{24}$ 는 에틸이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{24}$ 는  $C_3$  알킬이다. 일부의 다른 구체예에서,  $R^{24}$ 는 이소프로필이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{24}$ 는  $C_4$  알킬이다. 일부 구체예에서,  $R^{24}$ 는  $C_5$  알킬이다. 또한 다른 구체예에서,  $R^{24}$ 는  $C_6$  알킬이다.

[0382] 또한 다른 구체예에서,  $R^{20}$ 은  $C_3-C_{30}$  알킬카보닐이며,  $R^{20}$ 은 하기 화학식 XXX의 구조를 갖는다:

[0383] [화학식 XXX]



[0384]

[0385] 여기에서  $R^{25}$ 는 수소 또는  $-SR^{26}$ 이며, 여기에서  $R^{26}$ 은 수소,  $C_1-C_{30}$  알킬, 헤테로사이클릴, 아릴 또는 헤테로아릴이고,  $q$ 는 0 내지 6의 정수이다.

[0386] 상기한 것 중의 어떤 것의 추가의 구체예에서,  $R^{23}$ 은 각각의 경우에 독립적으로 수소, 할로,  $C_1-C_{30}$  알킬,  $C_1-C_{30}$  알콕시, 아릴, 헤�테로아릴, 헤�테로사이클릴 또는 헤�테로사이클알킬이다.

[0387] 일부의 다른 구체예에서는, 단지 올리고머의 3' 말단만이 상기에 나타낸 그룹 중의 하나에 컨주게이트된다. 일부의 다른 구체예에서는, 단지 올리고머의 5' 말단만이 상기한 그룹 중의 하나에 컨주게이트된다. 다른 구체예에서는, 3' 및 5' 말단 둘 다가 상기한 그룹 중의 하나를 포함한다. 말단 그룹은 상기한 그룹 중의 어느 하나 또는 표 2에 예시된 특정한 그룹 중의 어느 하나로부터 선택될 수 있다.

[0388]

[표 2]

[0389]

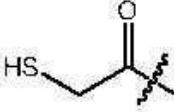
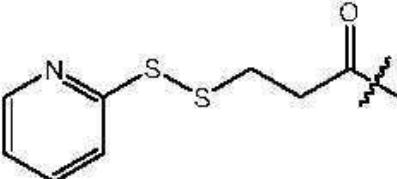
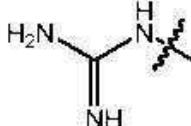
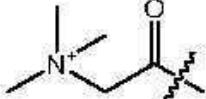
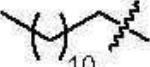
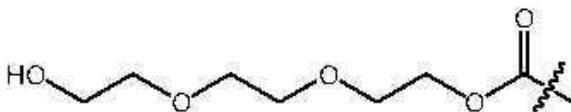
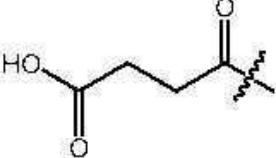
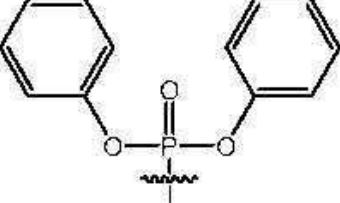
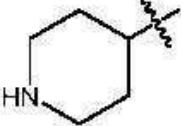
대표적인 말단 그룹

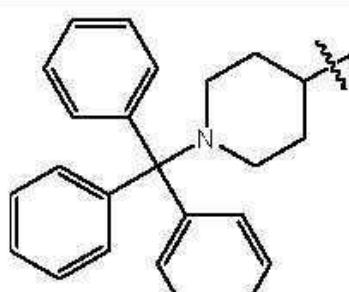
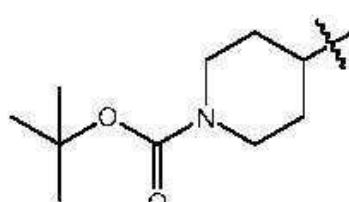
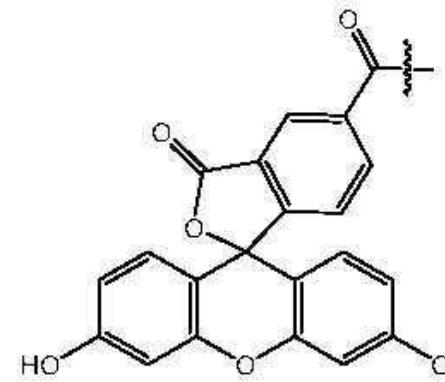
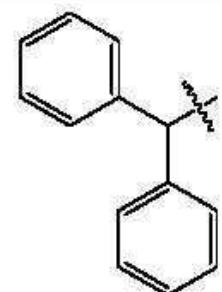
No.	명칭	구조
C1	트리메톡시벤조일	
C2	9-플루오렌-카복실	
C3	4-카바졸릴벤조일	
C4	4-인다졸릴론벤조일	
C5	파르네실	

[0390]

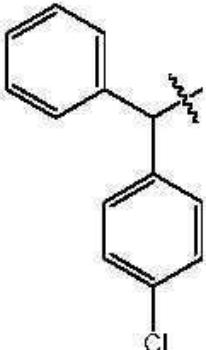
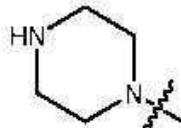
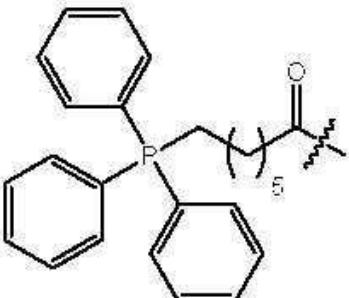
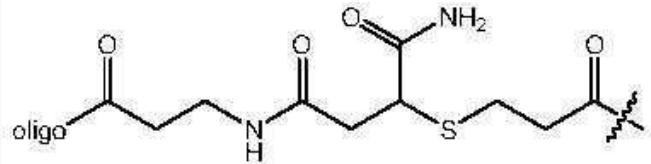
No.	명칭	구조
C6	게라닐	
C7	프레닐	
C8	디페닐아세틸	
C9	클로로디페닐아세틸	
C10	하이드록시디페닐아세틸	
C11	트리페닐프로피오닐	

No.	명칭	구조
C12	트리페닐프로필	
C13	트리페닐아세틸	
C14	트리틸 (Tr)	
C15	메톡시트리틸 (MeOTr)	
C16	메틸석신이미딜-사이클로헥소일	

No.	명칭	구조
C17	티오아세틸	
C18	COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SSPy	
C19	구아니디닐	
C20	트리메틸글리신	
C21	라우로일	
C22	트리에틸렌글리콜로일 (EG3)	
C23	헥시닉아세틸	
C24	디페닐포스포릴	
C25	피페리딘-4-일	

No.	명칭	구조
C26	트리틸피페리딘-4-일	
C27	Boc-피페리딘-4-일	
C28	헥신-6-일	
C29	5-카복시플루오레세인	
C30	벤즈히드릴	

[0394]

No.	명칭	구조
C31	p-클로로벤즈하드릴	
C32	피페라지닐 (pip)	
C33	트리페닐포스	
C34	다이머화됨	 Oligo = 추가의 올리고머

[0395]

## 1. 웨타이드 수송체 (transporters)

[0396]

일부 구체예에서, 대상 올리고머는 올리고머의 세포 내로의 수송을 증진시키는데 효과적인 웨타이드 수송체 부분, 예를 들어, 세포-침투성 웨타이드 수송 부분에 컨주게이트된다. 예를 들어, 일부 구체예에서 상기 웨타이드 부분은 아르기닌-풍부 웨타이드이다. 추가의 구체예에서, 수송 부분은 예를 들어, 도 1c에서 나타낸 바와 같이 올리고머의 5' 또는 3' 말단에 부착된다. 이러한 웨타이드가 양 말단에 컨주게이트되면, 반대 말단은 본 발명에 기술된 바와 같이 변화된 세포 결합 활성에 대한 추가의 컨주게이션에 이용될 수 있다.

[0398]

전술한 것의 일부 구체예에서, 웨타이드 수송 부분은 X' 서브유니트, Y' 서브유니트, 및 Z' 서브유니트로부터 선택된 6 내지 16개의 서브유니트를 포함하며, 여기에서

[0399]

(a) 각각의 X' 서브유니트는 독립적으로 리신, 아르기닌 또는 아르기닌 유사체를 나타내며, 여기에서 상기의 유사체는 화학식  $R^{33}N=C(NH_2)R^{34}$ 의 측쇄 (여기에서  $R^{33}$ 은 H 또는 R이고; R<sup>34</sup>는 R<sup>35</sup>, NH<sub>2</sub>, NHR, 또는 NR<sup>34</sup>이며, 여기에서 R<sup>35</sup>은 저급 알킬 또는 저급 알케닐이고, 산소 또는 질소를 더 포함할 수 있으며; R<sup>33</sup> 및 R<sup>34</sup>는 함께 환을 형성 할 수 있고; 상기의 측쇄는 R<sup>33</sup> 또는 R<sup>34</sup>를 통해서 상기의 아미노산에 결합된다)를 포함하는 양이온성  $\alpha$ -아미노산이고;

- [0400] (b) 각각의 Y' 서브유니트는 독립적으로 중성 아미노산  $-C(O)-(CHR)_n-NH-$  (여기에서 n은 2 내지 7이고, 각각의 R은 독립적으로 H 또는 메틸이다)을 나타내며;
- [0401] (c) 각각의 Z' 서브유니트는 독립적으로 중성 아르알킬 측쇄를 갖는  $\alpha$ -아미노산을 나타내고;
- [0402] 여기에서 상기의 펩타이드는  $(X'Y'X')_p$ ,  $(X'Y')_m$ , 및  $(X'Z'Z')_p$  (여기에서 p는 2 내지 5이고, m은 2 내지 8이다)중의 하나로 표시되는 서열을 포함한다.
- [0403] 선택된 구체예에서, 각각의 X'의 경우에 측쇄 부분은 아미노산 서브유니트 아르기닌 (Arg)에서와 같이 구아니딜이다. 추가의 구체예에서, 각각의 Y'는  $-CO-(CH_2)_n-CHR-NH-$ 이며, 여기에서 n은 2 내지 7이고, R은 H이다. 예를 들어, n이 5이고, R이 H인 경우에, Y'는 본 명세서에서 Ahx로 약칭되는 6-아미노헥사노산 서브유니트이고; n이 2이고, R이 H인 경우에 Y'는  $\beta$ -알라닌 서브유니트이다.
- [0404] 특정의 구체예에서, 이러한 타입의 펩타이드는 단일 Y' 서브유니트와 교대하는 아르기닌 다이머를 포함하는 것을 포함하며, 여기에서 Y'는 Ahx이다. 예로는 화학식  $(RY'R)_p$  또는 화학식  $(RRY')_p$ 를 갖는 펩타이드가 포함되며, 여기에서 Y'는 Ahx이다. 일 구체예에서, Y'는 6-아미노헥사노산 서브유니트이며, R은 아르기닌이고, p는 4이다.
- [0405] 추가의 구체예에서, 각각의 Z'는 페닐알라닌이고, m은 3 또는 4이다.
- [0406] 일부 구체예에서, 컨주케이트된 펩타이드는 링커 Ahx-B를 통해서 올리고머의 말단에 결합되며, 여기에서 Ahx는 6-아미노헥사노산 서브유니트이고, B는  $\beta$ -알라닌 서브유니트이다.
- [0407] 선택된 구체예에서, 각각의 X'의 경우에 측쇄 부분은 독립적으로 구아니딜 ( $HN=C(NH_2)NH-$ ), 아미디닐 ( $HN=C(NH_2)C-$ ), 2-아미노디하이드로파리미딜, 2-아미노테트라하이드로파리미딜, 2-아미노파리디닐, 및 2-아미노파리미도닐로 구성된 그룹으로부터 선택되며, 이것은 바람직하게는 구아니딜 및 아미디닐로부터 선택된다. 일 구체예에서, 측쇄 부분은 아미노산 서브유니트 아르기닌 (Arg)에서와 같이 구아니딜이다.
- [0408] 일부 구체예에서, Y' 서브유니트는 X' 서브유니트 사이에 개입하지 않은 것으로 연속적이거나, X' 서브유니트 사이에 단독으로 산재된다. 그러나, 일부 구체예에서 결합 서브유니트는 Y' 서브유니트 사이에 있을 수 있다. 일 구체예에서, Y' 서브유니트는 펩타이드 수송체의 말단에 있으며; 다른 구체예에서, 이들은 X' 서브유니트의 측면에 있다. 추가의 구체예에서, 각각의 Y'는  $-CO-(CH_2)_n-CHR-NH-$ 이고, 여기에서 n은 2 내지 7이며, R은 H이다. 예를 들어, n이 5이고, R이 H인 경우에, Y'는 본 명세서에서 Ahx로 약칭되는 6-아미노헥사노산 서브유니트이다. 이 그룹의 선택된 구체예에서, 각각의 X'는 아르기닌 서브유니트에서와 같은 구아니딜 측쇄 부분을 포함한다. 이 타입의 예시적인 펩타이드에는 단일 Y' 서브유니트와 교대하는 아르기닌 다이머를 포함하는 것이 포함되며, 여기에서 Y'는 바람직하게는 Ahx이다. 예로는 화학식  $(RY'R)_4$  또는 화학식  $(RRY')_4$ 의 펩타이드가 포함되며, 여기에서 Y'는 바람직하게는 Ahx이다. 일부 구체예에서, 핵산 유사체는 예를 들어, 도 1c에서 나타낸 바와 같이, 바람직하게는 C-말단에서 말단 Y' 서브유니트에 결합된다. 다른 구체예에서, 링커는 구조 AhxB (여기에서, Ahx는 6-아미노헥사노산 서브유니트이고, B는  $\beta$ -알라닌 서브유니트이다)의 링커이다.
- [0409] 상술한 바와 같은 펩타이드 수송 부분은 부착된 수송 부분이 부재하는 올리고머의 흡수에 비해서, 및 소수성 서브유니트 Y'가 결여된 부착된 수송 부분에 의한 흡수에 비해서 부착된 올리고머의 세포내 도입을 크게 증진시키는 것으로 나타났다. 이러한 증진된 흡수는 소수성 서브유니트 Y'가 결여된 부착된 수송 부분에 의한 약제의 흡수에 비해서 화합물의 포유동물 세포 내로의 흡수의 적어도 2-배 증가, 또는 다른 구체예에서는 4-배 증가에 의해서 입증될 수 있다. 일부 구체예에서, 흡수는 비컨주케이트된 화합물에 비해서 적어도 20 배 또는 적어도 40 배 증진된다.
- [0410] 펩타이드 수송 부분의 추가의 이점은 안티센스 올리고머와 그의 표적 핵산 서열 사이의 듀플렉스를 안전화시키는 것으로 예상되는 그의 능력이다. 이론적으로 구속되는 것을 원하지는 않지만, 듀플렉스를 안정화시키는 이 능력은 양으로 하전된 수송 부분과 음으로 하전된 핵산 사이의 정전기적 상호작용으로부터 기인할 수 있다. 일부 구체예에서, 하전된 서브유니트의 수가 너무 큰 것은 서열 특이성의 감소를 초래할 수 있기 때문에, 수송체 내의 하전된 서브유니트의 수는 상기 언급한 바와 같이 14 미만, 또는 다른 구체예에서는 8 내지 11이다.
- [0411] 링커 (B 또는 AhxB)를 포함하는 예시적인 아르기닌-풍부 세포-침투성 펩타이드 수송체는 이하의 표 3에 제시된다:

[0412]

[표 3]

[0413]

아르기닌-풍부 세포-침투성 펩타이드 수송체

명칭 (지정)	서열	SEQ ID NO.*
rTAT	RRRQRRKKR	56
Tat	RKKRRQRRR	57
R <sub>9</sub> F <sub>1</sub>	RRRRRRRRRFF	58
R <sub>5</sub> F <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	RRRRRFFRRRR	59
R <sub>4</sub>	RRRR	60
R <sub>5</sub>	RRRRR	61
R <sub>6</sub>	RRRRRR	62
R <sub>7</sub>	RRRRRRR	63
R <sub>8</sub>	RRRRRRRR	64
R <sub>9</sub>	RRRRRRRRR	65
(RAhxR) <sub>4</sub> ; (P007)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	66
(RAhxR) <sub>5</sub> ; (CP04057)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	67
(RAhxRRBR) <sub>1</sub> ; (CP06062)	RAhxRRBRRRAhxRRBR	68
(RAR) <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	RARRARRARRARFFC	69
(RGR) <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	RGRRGRRGRRGRFFC	70

\*SEQ ID NOs로 지정된 서열들은 결합 부분 (예를 들어, C, G, Ahx, B, AhxB

(여기에서 Ahx 및 B는 각각 6-아미노헥사노산 및 베타-알라닌을 나타낸다)을 포함하지 않는다.

[0414]

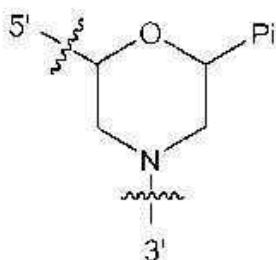
[0415] C. 올리고머의 특성

[0416]

상기 언급한 바와 같이, 본 발명은 올리고머에 바람직한 특성 (예를 들어, 증가된 안티센스 활성)을 부여하는 다양한 변형을 포함하는 올리고머에 관한 것이다. 특정의 구조예에서, 상기 올리고머는 하나의 모르폴리노 환 구조의 3'-말단을 인접한 모르풀리노 환 구조의 5'-말단에 결합시키는 서브유니트간 결합에 의해서 결합된 일련의 모르풀리노 환 구조를 포함하는 골격을 포함하며, 여기에서 각각의 모르풀리노 환 구조는 올리고머가 서열-특이적 방식으로 표적 핵산에 결합할 수 있도록 염기-짝짓기 부분에 결합된다. 상기의 모르풀리노 환 구조는 하기 화학식 (i)의 구조를 가질 수 있다:

[0417]

[화학식 i]



[0418]

여기에서 B는 각각의 경우에 독립적으로 염기-짝짓기 부분이다.

[0419]

각각의 모르풀리노 환 구조는 염기 짝짓기 부분 (Pi)를 지지하여 전형적으로 세포, 또는 치료할 대상체 내의 선택된 안티센스 표적에 하이브리드화하도록 디자인된 염기 짝짓기 부분의 서열을 형성한다. 염기 짝짓기 부분은 천연 DNA 또는 RNA에서 발견되는 푸린 또는 피리미딘 (A, G, C, T, 또는 U), 또는 유사체, 예를 들어, 하이포크산틴 (뉴클레오사이드 이노신의 염기 성분) 또는 5-메틸 시토신일 수 있다. 올리고머에 개선된 결합 친화성을 부여하는 유사체 염기가 이용될 수도 있다. 이와 관련하여 예시적인 유사체에는 C5-프로피닐-변형된 피리미딘, 9-(아미노에톡시)페녹사진 (G-클램프 (clamp)) 등이 포함된다.

- [0421] 상기 언급한 바와 같이, 올리고머는 본 발명의 관점에 따라서 하나 또는 그 이상의 (B) 결합, 예를 들어, 매 2-5개의 비하전된 결합 당 약 1 개까지, 전형적으로는 매 10개의 비하전된 결합 당 3-5 개를 포함하도록 변형될 수 있다. 특정의 구체예는 또한, 하나 또는 그 이상의 타입 (B)의 결합을 포함한다. 안티센스 활성에 있어서의 최적의 개선은 골격 결합의 대략 절반까지가 타입 (B)인 경우에 나타난다. 최대는 아니지만 일부의 증진은 전형적으로 소수의, 예를 들어, 10-20%의 (B) 결합에 의해서 나타난다.
- [0422] 일 구체예에서, 결합 타입 (A) 및 (B)는 골격을 따라서 산재된다. 일부 구체예에서, 올리고머는 그의 전체 길이를 따라서 (A) 및 (B) 결합의 엄격하게 교대하는 패턴을 갖지 않는다. 올리고머는 임의로, 상술한 바와 같은 5' 및/또는 3' 변형을 포함할 수 있다.
- [0423] 또한, (A) 결합의 블럭 및 (B) 결합의 블럭을 갖는 올리고머가 고려되며; 예를 들어, (A) 결합의 중앙 블럭은 (B) 결합의 블럭의 측면에 있을 수 있거나, 그 반대로 될 수 있다. 일 구체예에서, 올리고머는 대략 동등한-길이 5', 3; 및 중앙 부분을 가지며, 중앙 부분 내의 (B) 또는 (A) 결합의 백분율은 약 50% 이상, 또는 약 70% 이상이다. 안티센스 분야에서 사용하기 위한 올리고머는 일반적으로 길이가 약 10 내지 약 40 서브유니트, 더욱 바람직하게는 약 15 내지 25 서브유니트의 범위이다. 예를 들어, 안티센스 올리고머에 유용한 길이인 19-20 서브유니트를 갖는 본 발명의 올리고머는 이상적으로 2 내지 7개, 예를 들어, 4 내지 6개, 또는 3 내지 5개의 (B) 결합, 및 나머지로 (A) 결합을 가질 수 있다. 14-15개의 서브유니트를 갖는 올리고머는 이상적으로 2 내지 5개, 예를 들어, 3 또는 4개의 (B) 결합, 및 나머지로 (A) 결합을 가질 수 있다.
- [0424] 모르폴리노 서브유니트는 또한, 이하에 더 기술되는 바와 같이 비-인-기본 서브유니트 결합에 의해서 결합될 수 있으며, 여기에서 적어도 하나의 결합은 결합 (B)이다.
- [0425] 비변형된 상태에서 비하전되지만, 또한 펜던트 아민 치환체를 보유할 수 있는 그 밖의 다른 올리고뉴클레오타이드 유사체 결합이 또한 사용될 수도 있다. 예를 들어, 모르폴리노 환상의 5' 질소 원자가 설파미드 결합 (또는 우레아 결합, 여기에서 인은 각각 탄소 또는 황에 의해서 대체된다)에서 이용될 수 있다.
- [0426] 안티센스 분야의 일부 구체예에서, 올리고머는 핵산 표적 서열에 대해서 100% 상보적일 수 있거나, 올리고머와 핵산 표적 서열 사이에서 형성된 혜테로듀플렉스가 세포성 뉴클레아제, 및 생체내에서 일어날 수 있는 분해의 다른 모드의 작용을 견디도록 충분히 안정한 한, 이것은 예를 들어, 면이체를 수용하도록 미스매치를 포함할 수 있다. 미스매치가 존재하는 경우에, 미스매치는 하이브리드 듀플렉스의 중앙에서보다는 말단 부분 쪽으로 더 불안정하게 된다. 허용된 미스매치의 수는 듀플렉스 안정성의 잘 이해된 원리에 따라서 올리고머의 길이, 듀플렉스 내의 G:C 염기쌍의 백분율, 및 듀플렉스 내의 미스매치(들)의 위치에 따라 좌우될 것이다. 비록 이러한 안티센스 올리고머가 핵산 표적에 대해서 100% 상보적인 것이 필요하지 않지만, 이것은 핵산 표적의 생물학적 활성, 예를 들어, 코드화된 단백질(들)의 발현이 변조되도록 표적 서열에 안정적이고 특이적으로 결합하는데 효과적이다.
- [0427] 올리고머와 표적 서열 사이에서 형성된 듀플렉스의 안정성은 결합  $T_m$  및 세포성 효소 분해에 대한 듀플렉스의 민감성에 대한 함수이다. 상보성-서열 RNA에 관한 안티센스 화합물의  $T_m$ 은 문헌 [Hames et al., Nucleic Acid Hybridization, IRL Press, 1985, pp.107-108]에 기술된 것과 같은 통상적인 방법에 의해서, 또는 문헌 [Miyada C. G. and Wallace R. B., 1987, Oligonucleotide hybridization techniques, Methods Enzymol. Vol. 154 pp. 94-107]에 기술된 바와 같이 측정될 수 있다.
- [0428] 일부 구체예에서, 각각의 안티센스 올리고머는 상보성-서열 RNA에 관하여 체온보다 크거나, 다른 구체예에서는 50°C 이상인 결합  $T_m$ 을 갖는다. 다른 구체예에서,  $T_m$ 은 60-80°C 또는 그 이상의 범위이다. 잘 알려진 원리에 따라서, 상보성-기본 RNA 하이브리드에 관하여 올리고머 화합물의  $T_m$ 은 듀플렉스 내의 C:G 짹지은 염기의 비율이 증가함에 의해서, 및/또는 혜테로듀플렉스의 길이 (염기쌍)가 증가함에 의해서 증가할 수 있다. 동시에, 세포성 흡수를 최적화시키고자 하는 목적에 따라 올리고머의 크기를 제한하는 것이 유리할 수 있다. 이러한 이유로, 20 염기 또는 그 미만의 길이에서 높은  $T_m$  (50°C 또는 그 이상)을 나타내는 화합물이 일반적으로, 높은  $T_m$  값의 경우에 20 염기 이상을 필요로 하는 것보다 바람직하다. 일부의 적용을 위해서는, 더 긴 올리고머, 예를 들어, 20 염기보다 긴 올리고머가 특정의 이점을 가질 수 있다. 예를 들어, 특정의 구체예에서는 더 긴 올리고머가 엑손 스키핑 또는 스플리스 변조에 사용하기 위한 특별한 유용성을 가질 수 있다.
- [0429] 표적화 서열 염기는 정상 DNA 염기 또는 그의 유사체, 예를 들어, 표적-서열 RNA 염기에 대해 왓슨-크릭 염기 짹짓기할 수 있는 우라실 및 이노신일 수 있다.

- [0430] 올리고머는 또한, 표적 뉴클레오타이드가 우라실 잔기인 경우에 아데닌 대신에 구아닌 염기를 포함할 수도 있다. 이것은, 표적 서열이 다양한 바이러스 종에 걸쳐서 달라지고, 소정의 어떤 뉴클레오타이드 잔기에서의 변이가 시토신 또는 우라실인 경우에 유용하다. 가변성의 위치에서 표적화 올리고머 내의 구아닌을 이용함으로써, 우라실과 염기쌍을 이루는 구아닌의 잘 알려진 능력 (C/U:G 염기 짹짓기라 칭함)을 이용할 수 있다. 이들 위치에 구아닌을 혼입시킴으로써, 단일 올리고머는 더 넓은 범위의 RNA 표적 가변성을 효과적으로 표적으로 할 수 있다.
- [0431] 화합물 (예를 들어, 올리고머, 서브유니트간 결합, 말단 그룹)은 다양한 이성체 형태, 예를 들어, 구조 이성체 (예를 들어, 호변이성체)로 존재할 수 있다. 입체이성체와 관련하여, 화합물은 키랄 중심을 가질 수 있으며, 라세메이트, 에난티오머적으로 풍부한 혼합물, 개별적인 에난티오머, 부분입체이성체의 혼합물 또는 개별적인 부분입체이성체로 나타날 수 있다. 이들의 혼합물을 포함한 이러한 모든 이성체 형태는 본 발명 내에 포함된다. 화합물은 또한, 회전장애이성체 (atropisomers)를 제공할 수 있는 축 키랄성 (axial chirality)을 가질 수도 있다. 더구나, 화합물의 결정성 형태 중의 일부는 다형체로 존재할 수 있으며, 이것은 본 발명에 포함된다. 또한, 화합물 중의 일부는 또한 물 또는 그 밖의 다른 유기용매와의 용매화물을 형성할 수도 있다. 이러한 용매화물은 마찬가지로 본 발명의 범주 내에 포함된다.
- [0432] 본 발명에 기술된 올리고머는 단백질의 생산 또는 바이러스의 복제를 억제하는 방법에서 사용될 수 있다. 따라서, 일 구체예에서는 이러한 단백질을 코드화한 핵산을 본 발명에 기술된 올리고머에 노출시킨다. 전술한 것의 추가의 구체예에서, 안티센스 올리고머는 본 발명에 기술된 바와 같은 5' 또는 3' 변형된 말단 그룹 또는 이들의 조합을 포함하며, 염기 짹짓기 부분 B는 단백질의 생산을 억제하는데 효과적인 위치에서 핵산의 일부분에 하이브리드화하는데 효과적인 서열을 형성한다. 일 구체예에서, 상기의 위치는 이하에 기술된 바와 같은 mRNA의 ATG 출발 코돈, 전-mRNA의 스플리스 부위, 또는 바이러스 표적 서열이다.
- [0433] 일 구체예에서, 올리고머는 표적 서열에 대한 결합에 관하여 약 50°C 이상의  $T_m$ 을 가지며, 이것은 포유동물 세포 또는 박테리아 세포에 의해서 흡수된다. 또 다른 구체예에서, 올리고머는 이러한 흡수를 촉진시키도록 본 발명에 기술된 바와 같이 수송 부위, 예를 들어, 아르기닌-풍부 웨타이드에 컨주케이트될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명에 기술된 말단 변형은 포유동물 및/또는 박테리아 세포에 의한 흡수를 촉진시키기 위한 수송 부위로서 작용할 수 있다.
- [0434] 모르폴리노 올리고머의 제조 및 특성은 이하에, 및 각각 이에 의해서 온전히 참고로 포함되는 미국 특허 제 5,185,444호 및 WO/2009/064471에 더 상세히 기술된다.
- [0435] D. 올리고머의 제제 및 투여
- [0436] 본 발명은 또한 기술된 올리고머의 제제 및 송달을 제공한다. 따라서, 일 구체예에서 본 발명은 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머 및 약제학적으로 허용되는 비히클을 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0437] 표적 핵산에 대한 안티센스 올리고머의 효과적인 송달은 치료의 중요한 관점이다. 안티센스 올리고머 송달의 경로에는 경구 및 비경구 경로를 포함한 다양한 전신적 경로, 예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내 및 근육내뿐만 아니라 흡입, 경피 및 국소적 송달이 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 적절한 경로는 치료되는 대상체의 조건에 적절한 것으로서, 본 기술분야에서 숙련된 전문가에 의해서 결정될 수 있다. 예를 들어, 피부의 바이러스 감염의 치료시에 안티센스 올리고머의 송달을 위한 적절한 경로는 국소 송달인 한편, 바이러스성 호흡기 감염의 치료를 위한 안티센스 올리고머의 송달은 흡입에 의한 것이다. 올리고머는 또한, 바이러스 감염의 부위에, 또는 혈류에 직접 송달될 수도 있다.
- [0438] 안티센스 올리고머는 생리학적으로 및/또는 약제학적으로 허용되는 어떤 편리한 비히클로나 투여될 수 있다. 이러한 조성물은 본 기술분야에서 통상적으로 숙련된 전문가에 의해서 사용되는 다양한 표준 약제학적으로 허용되는 담체 중의 어떤 것이라도 포함할 수 있다. 예로는 식염수, 포스페이트 완충 식염수 (PBS), 물, 수성 에탄올, 오일/물 에멀션 또는 트리글리세라이드 에멀션과 같은 에멀션, 정제 및 캡슐제가 포함되나, 이들로 제한되지 않는다. 적합한 생리학적으로 허용되는 담체의 선택은 선택된 투여의 모드에 따라 달라질 것이다.
- [0439] 본 발명의 화합물 (예를 들어, 올리고머)은 일반적으로 유리산 또는 유리 염기로 이용될 수 있다. 대신으로, 본 발명의 화합물은 산 또는 염기 부가염의 형태로 사용될 수 있다. 본 발명의 유리 아미노 화합물의 산부가염은 본 기술분야에서 잘 알려진 방법에 의해서 제조될 수 있으며, 유기 및 무기산으로부터 형성될 수 있다. 적합한 유기산에는 말레산, 푸마르산, 벤조산, 아스코르브산, 석신산, 메탄설폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 옥살산, 프로페온산, 타르타르산, 살리실산, 시트르산, 글루콘산, 락트산, 만델산, 신남산, 아스파르트산,

스테아르산, 팔미트산, 글리콜산, 글루탐산, 및 벤젠설폰산이 포함된다. 적합한 무기산에는 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 및 질산이 포함된다. 염기 부가염에는 카복실레이트 음이온에 의해서 형성된 염이 포함되며, 알칼리 및 알칼리 토금속 (예를 들어, 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 바륨 및 칼슘)뿐만 아니라 암모늄 이온 및 그의 치환된 유도체 (예를 들어, 디벤질암모늄, 벤질암모늄, 2-하이드록시에틸암모늄 등)로부터 선택된 것과 같은 유기 및 무기 양이온에 의해서 형성된 염이 포함된다. 따라서, 용어 화학식 I의 구조의 "약제학적으로 허용되는 염"은 모든 허용되는 염 형태를 포함하는 것으로 의도된다.

[0440] 또한, 프로드럭이 역시 본 발명의 관계 내에 포함된다. 프로드럭은 이러한 프로드럭이 환자에게 투여될 때, 생체내에서 화학식 I의 구조의 화합물을 방출하는 모든 공유적으로 결합된 단체이다. 프로드럭은 일반적으로, 변형이 일상적인 조작에 의해서, 또는 생체내에서 분해되어 모화합물을 제공하도록 하는 방식으로 작용 그룹을 변형시킴으로써 제조된다. 프로드럭에는 예를 들어, 하이드록시, 아민 또는 설프히드릴 그룹이, 환자에게 투여하였을 때에 분해되어 하이드록시, 아민 또는 설프히드릴 그룹을 형성시키는 어떤 그룹에 결합된 본 발명의 화합물이 포함된다. 따라서, 프로드럭의 대표적인 예에는 화학식 I의 알콜 및 아민 작용 그룹의 아세테이트, 포르메이트 및 벤조에이트 유도체가 포함된다 (단, 이들로 제한되지 않는다). 또한, 카복실산 (-COOH)의 경우에는 메틸 에스테르, 에틸 에스테르 등과 같은 에스테르가 사용될 수 있다.

[0441] 일부의 경우에는, 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 세포 내로의 흡수를 촉진시키기 위해서 리포좀이 사용될 수 있다 [참조: 예를 들어, Williams, S. A., Leukemia 10(12):1980-1989, 1996; Lappalainen et al., Antiviral Res. 23:119, 1994; Uhlmann et al., antisense oligonucleotides: a new therapeutic principle, Chemical Reviews, Volume 90, No. 4, pages 544-584, 1990; Gregoriadis, G., Chapter 14, Liposomes, Drug Carriers in Biology and Medicine, pp. 287-341, Academic Press, 1979]. 하이드로겔이 또한 예를 들어, WO 93/01286에 기술된 바와 같이, 안티센스 올리고머 투여를 위한 비히클로 사용될 수도 있다. 대안적으로, 올리고뉴클레오타이드는 미립구 또는 미립자로 투여될 수 있다 [참조: 예를 들어, Wu, G. Y. and Wu, C. H., J. Biol. Chem. 262:4429-4432, 1987]. 대신으로, 안티센스 올리고머와 캠플렉스화된 가스-충진된 마이크로버블 (microbubbles)의 사용은 미국 특허 제6,245,747호에 기술된 바와 같이 표적 조직에 대한 송달을 증진시킬 수 있다. 지속 방출 조성물이 또한 사용될 수도 있다. 이들에는 필름 또는 마이크로캡슐과 같은 성형된 제품의 형태의 반투과성 폴리머 매트릭스가 포함될 수 있다.

[0442] 일 구체예에서, 안티센스 억제는 바이러스로 감염된 세포를 특정의 바이러스의 복제를 억제하는데 효과적인 안티센스 약제와 접촉시킴으로써 바이러스에 의한 숙주 동물의 감염을 치료하는데 효과적이다. 안티센스 약제는 적합한 약제학적 단체 중에서 소정의 바이러스로 감염된 포유동물 대상체, 예를 들어, 인간 또는 가축에게 투여된다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 숙주 내에서 RNA 바이러스의 성장을 억제하는 것으로 생각된다. RNA 바이러스는 숙주의 정상적인 성장 또는 발육에 유해한 영향이 거의 또는 전혀 없이 수가 감소되거나 제거될 수 있다.

[0443] 방법의 한 관점에서, 대상체는 인간 대상체, 예를 들어, 국재화되거나 전신적인 바이러스 감염을 갖는 것으로 진단된 환자이다. 환자의 상태는 또한, 예를 들어, (1) 면역손상되거나; (2) 화상 피해자이거나; (3) 유치 도뇨관 (indwelling catheter)을 갖거나; (4) 막 수술을 하려고 하거나 최근에 수술을 받은 환자의 경우에 본 발명의 안티센스 올리고머의 예방적 투여를 지시할 수 있다. 한가지 바람직한 구체예에서, 올리고머는 포스포로디아미데이트 모르폴리노 올리고머이고, 약제학적으로 허용되는 단체 내에 함유되며, 경구로 송달된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 올리고머는 포스포로디아미데이트 모르풀리노 올리고머이며, 약제학적으로 허용되는 단체 내에 함유되고, 정맥내 (i.v.)로 송달된다.

[0444] 방법의 또 다른 적용에서, 대상체는 가축, 예를 들어, 닭, 칠면조, 돼지, 소 또는 염소 등이며, 치료는 예방적 또는 치료학적이다. 본 발명은 또한, 상술한 타입의 항바이러스 안티센스 화합물의 치료학적 양 이하의 양이 보충된 사료 곡물 (food grain)을 함유하는 가축 및 가금 사료 조성물을 포함한다. 또한, 치료학적 양 이하의 양의 항바이러스제가 보충된 사료 곡물을 가축 및 가금에게 급식하는 방법에 있어서는, 사료 곡물을 치료학적 양 이하의 양의 상술한 바와 같은 항바이러스 올리고뉴클레오타이드 조성물로 보충하는 개선이 생각된다.

[0445] 일 구체예에서, 안티센스 화합물은 적어도 200-400 nM 안티센스 올리고머의 피크 혈중 농도를 제공하는데 효과적인 양 및 방식으로 투여된다. 전형적으로, 하나 또는 그 이상의 용량의 안티센스 올리고머는 약 1 내지 2주 일의 기간 동안, 일반적으로 규칙적인 간격으로 투여된다. 경구 투여에 바람직한 용량은 70 kg당 약 1-1000 mg의 올리고머이다. 일부의 경우에는, 1000 mg 올리고머/환자 이상의 용량이 필요할 수도 있다. 정맥내(i.v.) 투여를 위해서 바람직한 용량은 70 kg당 약 0.5 mg 내지 1000 mg의 올리고머이다. 안티센스 올리고머는 단기간

동안 규칙적인 간격으로, 예를 들어, 2 주일 또는 그 미만 동안 매일 투여된다. 그러나, 일부의 경우에 올리고머는 더 장기간에 걸쳐서 간헐적으로 투여된다. 투여에 이어서 또는 그와 동시에 항생제 또는 다른 치료학적 치료제의 투여가 이루어질 수 있다. 치료 레지멘 (regimen)은 치료하는 대상체의 면역학적 시험, 그 밖의 다른 생화학적 시험 및 생리학적 검사의 결과를 기초로 하여 지시된 바와 같이 조정될 수 있다 (용량, 빈도, 경로 등).

[0446] 본 발명의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 사용한 효과적인 생체내 치료 레지멘은 투여의 지속기간, 용량, 빈도 및 경로뿐만 아니라 치료받는 대상체의 상태 (즉, 예방적 투여 대 국제화되거나 전신적인 감염에 대한 반응으로서의 투여)에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 이러한 생체내 치료법은 종종, 최적의 치료학적 결과를 달성하기 위하여 치료하는 바이러스 감염의 특별한 타입에 적절한 시험에 의한 모니터링, 및 용량 또는 치료 레지멘의 상응하는 조정을 필요로 할 수 있다. 치료는 예를 들어, 전혈구 계산 (complete blood count; CBC), 혼란 검출방법, 면역진단 시험, 바이러스 배양, 또는 헤테로듀플렉스의 검출과 같은 질병 및/또는 감염의 일반적인 징후에 의해서 모니터링될 수 있다.

[0447] 하나 또는 그 이상의 타입의 RNA 바이러스의 성장을 억제 또는 제거하는데 있어서의 생체내 투여된 본 발명의 항바이러스 안티센스 올리고머의 효능은 안티센스 올리고머의 투여 전, 투여 중 및 투여 후에 대상체로부터 채취한 생물학적 샘플 (조직, 혈액, 소변 등)로부터 결정될 수 있다. 이러한 샘플의 시험에는 (1) 본 기술분야에서 숙련된 전문가에게 공지된 절차, 예를 들어, 전기영동 겔 이동성 시험을 사용하는, 표적 및 비-표적 서열과의 헤테로듀플렉스 형성의 존재 또는 부재의 모니터링; (2) ELISA 또는 웨스턴 븍팅 (Western blotting)과 같은 표준 기술에 의해서 측정되는 것으로서, 바이러스 단백질 생산량의 모니터링; 또는 (3) 예를 들어, 스피어만-카버 (Spearman-Karber)의 방법에 의한 바이러스 역가에 대한 영향의 측정이 포함된다 [참조: 예를 들어, Pari, G. S. et al., Antimicrob. Agents and Chemotherapy 39(5):1157-1161, 1995; Anderson, K. P. et al., Antimicrob. Agents and Chemotherapy 40(9):2004-2011, 1996; Cottral, G. E. (ed) in: Manual of Standard Methods for Veterinary Microbiology, pp. 60-93, 1978].

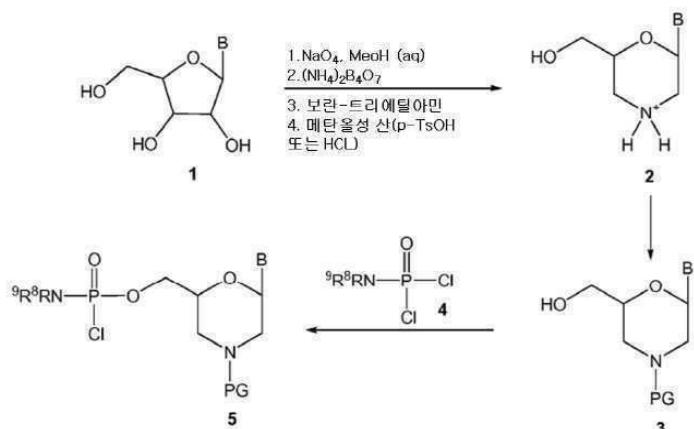
[0448] 일부 구체예에서, 올리고머는 포유동물 세포에 의해서 능동적으로 흡수된다. 추가의 구체예에서, 올리고머는 이러한 흡수를 촉진시키기 위해서 본 발명에 기술된 바와 같이 수송 부분 (예를 들어, 수송 웨브타이드)에 커주게 이트될 수 있다.

#### E. 올리고머의 제조

[0450] 모르폴리노 서브유니트, 변형된 서브유니트간 결합 및 이들을 포함하는 올리고머는 실시예, 및 이에 의해서 온전히 참고로 포함된 미국 특허 제5,185,444 및 7,943,762호에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 모르풀리노 서브유니트는 하기의 일반적인 반응식 1에 따라 제조될 수 있다.

[반응식 1]

[0452] 모르풀리노 서브유니트의 제조



[0453]

[0454] 반응식 1 (여기에서 B는 염기 짹짓기 부분을 나타내고, PG는 보호 그룹을 나타낸다)을 참고로 하여, 모르풀리노 서브유니트는 나타낸 바와 같이 상응하는 리비뉴클레오사이드 (1)로부터 제조될 수 있다. 모르풀리노 서브유니트 (2)는 적합한 보호 그룹 전구체, 예를 들어, 트리틸 클로라이드와의 반응에 의해서 임의로 보호될 수 있다. 3' 보호 그룹은 일반적으로, 이하에 더 상세히 기술된 바와 같이 고체상 올리고머 합성 중에 제거된다. 염기

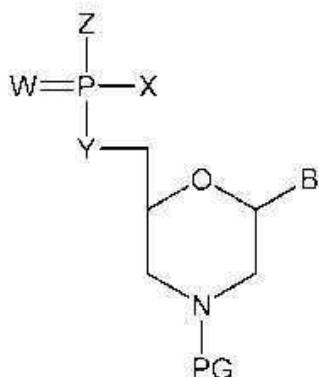
짝짓기 부분은 고체상 올리고머 합성을 위해서 적합하게 보호될 수 있다. 적합한 보호 그룹에는 아데닌 및 시토신을 위한 벤조일, 구아닌을 위한 페닐아세틸, 및 하이포크산틴 (I)을 위한 피발로일옥시메틸이 포함된다. 피발로일옥시메틸 그룹은 하이포크산틴 헤토로사이클릭 염기의 N1 위치상에 도입될 수 있다. 비록 비보호된 하이포크산틴 서브유니트가 사용될 수 있지만, 활성화 반응에서의 수율은 염기가 보호된 경우에 훨씬 탁월하다. 그 밖의 다른 적합한 보호 그룹에는 이에 의해서 온전히 참고로 포함된 공동-계류 중인 미국 출원 제12/271,040호에 기술된 것이 포함된다.

[0455] 구조 3과 활성화된 인 화합물 4의 반응은 바람직한 결합 부분 (5)을 갖는 모르폴리노 서브유니트를 제공한다. 구조 4의 화합물은 본 기술분야에서 숙련된 전문가에게 공지된 다수의 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 이러한 화합물은 상용하는 아민과 옥시염화인의 반응에 의해서 제조될 수 있다. 이와 관련하여, 아민 출발물질은 본 기술분야에서 공지된 다수의 방법, 예를 들어, 실시예 및 미국 특허 제7,943,762호에 기술된 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 상기의 반응식은 타입 (B)의 결합 (예를 들어, X는  $\text{NR}^{8,9}\text{R}^9$ 이다)의 제조를 도시하고 있지만, 타입 (A)의 결합 (예를 들어, X는 디메틸아민이다)도 유사한 방식으로 제조될 수 있다.

[0456] 구조 5의 화합물은 서브유니트간 결합을 포함하는 올리고머의 제조를 위한 고체상 자동화 올리고머 합성에 사용될 수 있다. 이러한 방법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있다. 간략하면, 구조 5의 화합물을 고체 지지체에 대한 링커를 함유하도록 5' 말단에서 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 화합물 5를  $\text{L}^1$  및/또는  $\text{R}^{19}$ 를 포함하는 링커에 의해서 고체 지지체에 결합시킬 수 있다. 예시적인 방법은 도 3 및 4에 설명된다. 이 방식에서, 올리고는 올리고머 합성이 완료되고, 올리고머를 고체 지지체로부터 분해시킨 후에, 5' 말단 변형을 포함할 수 있다. 일단 지지되면, 5의 보호 그룹 (예를 들어, 트리틸)을 제거하고, 유리 아민을 구조 5의 제2 화합물의 활성화된 인 부분과 반응시킨다. 이 순서를 바람직한 길이의 올리고가 수득될 때까지 반복한다. 5' 말단에서의 보호 그룹은 제거될 수 있거나, 5'-변형이 바람직한 경우에는 남겨둘 수 있다. 올리고는 다수의 방법을 사용하거나, 예를 들어, 염기로 처리하여 고체 지지체에 대한 결합을 분해시킴으로써 고체 지지체로부터 분리될 수 있다.

[0457] 일 구체예에서, 본 발명은 올리고머의 제조를 위한 모르풀리노 서브유니트뿐만 아니라 관련된 방법을 제공한다. 모르풀리노 서브유니트는 하기 화학식 XXXI의 구조를 갖는다:

[화학식 XXXI]



[0459] [0460] 여기에서 W, X 및 Y는 상기의 결합 (B)에 대해서 정의한 바와 같으며, B는 염기 짹짓기 부분이고, Z는 고체 지지체에 대한 결합 또는 적합한 이탈 그룹이며, PG는 보호 그룹, 예를 들어,  $\text{C}_7\text{--C}_{30}$  아르알킬이다. 일부 구체예에서, PG는 트리틸, 예를 들어, 메톡시트리틸이다. 다른 구체예에서, 고체 지지체에 대한 결합은 상기 정의된 바와 같이  $\text{L}^2$  및/또는  $\text{R}^{19}$ 를 포함한다.  $\text{L}^2$ 는 알킬, 하이드록실, 알콕시, 알킬아미노, 아미드, 에스테르, 디설파이드, 카보닐, 카바메이트, 포스포로디아미네이트, 포스포로아미네이트, 포스포로티오에이트, 피페라진 및 포스포디에스테르로부터 선택된 결합을 포함하는 임의의 링커이다.  $\text{L}^2$ 의 길이는 특별하게 제한되지 않는다. 일부 구체예에서,  $\text{L}^2$ 는 길이가 60 원자 미만, 길이가 50 원자 미만, 또는 길이가 40 원자 미만이다. 일부의 다른 구체예에서, Z는 할로, 예를 들어, 클로로이다.

[0461] 또한, 또 다른 구체예에서, 본 발명은 기술된 올리고머 중의 어떤 것을 제조하는 방법을 제공한다. 이 방법은 올리고머의 제조를 위해서 화학식 XXXI의 구조의 화합물의 사용을 포함한다.

[0462] 변형된 모르폴리노 서브유니트 및 모르폴리노 올리고머의 제조는 실시예에 더 상세하게 기술된다. 어떤 수의 변형된 결합이라도 함유하는 모르폴리노 올리고머는 본 발명에 기술된 방법, 본 기술분야에서 공지되고/되거나 본 발명에서의 참고문헌에 기술된 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 또한, 실시예에는 이전에 기술된 바와 같이 제조된 PMO+ 모르폴리노 올리고머 [참조: 예를 들어, PCT 공개 WO2008036127]의 포괄적 변형이 기술된다.

#### F. 올리고머의 안티센스 활성

[0464] 본 발명은 또한, 단백질을 코드화한 핵산을 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머에 노출시키는 것을 포함하여, 단백질의 생산을 억제하는 방법을 제공한다. 따라서, 일 구체예에서는 이러한 단백질을 코드화한 핵산을 본 발명에 기술된 바와 같이 적어도 하나의 타입 (B)의 결합, 또는 다른 구체예에서는 10% 내지 50%의 이러한 변형된 결합을 포함하는 안티센스 올리고머에 노출시키며, 여기에서 염기 짹짓기 부분 Pi는 단백질의 생산을 억제하는데 효과적인 위치에서 핵산의 일부분에 하이브리드화하는데 효과적인 서열을 형성한다. 올리고머는 예를 들어, 이하에 기술된 바와 같이 mRNA의 ATG 출발 코돈 부분, 전-mRNA의 스플리스 부위, 또는 바이러스 표적 서열을 표적으로 할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 이러한 단백질을 코드화한 핵산을 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup> 부분)을 포함하는 안티센스 올리고머에 노출시키는 것을 포함한다.

[0465] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머를 적어도 하나의 변형된 말단 그룹, 적어도 하나의 타입 (B)의 서브유니트간 결합, 또는 이들의 조합을 함유하도록 변형시키는 것을 포함하여, 염기-짜짓기 부분을 지지하는 서브유니트간 결합에 의해서 결합된 모르폴리노 서브유니트의 서열을 갖는 올리고머의 안티센스 활성을 증진시키는 방법을 제공한다.

#### 일부 구체예에서, 안티센스 활성의 증진은

[0467] (i) 안티센스 올리고머의 그의 표적 서열에 대한 결합이 코드화된 단백질에 대해 해독 출발 코돈을 차단하는데 효과적인 경우에는, 상응하는 비변형된 올리고머에 의해서 제공되는 것에 비해서 코드화된 단백질의 발현의 감소, 또는

[0468] (ii) 안티센스 올리고머의 그의 표적 서열에 대한 결합이, 정확하게 스플리스된 경우에 상기 단백질을 코드화하는 전-mRNA 내의 이상 스플리스 부위를 차단하는데 효과적인 경우에는, 상응하는 비변형된 올리고머에 의해서 제공되는 것에 비해서 코드화된 단백질의 발현의 증가에 의해서 입증될 수 있다. 이들 효과를 측정하는데 적합한 시험은 이하에 더 기술된다. 일 구체예에서, 변형은 무-세포 해독 시험, 세포 배양에서의 스플리스 보정 (splice correction) 해독 시험, 또는 본 발명에 기술된 바와 같은 기능 동물 모델 시스템의 스플리스 보정 획득 (gain)에서 이 활성을 제공한다. 일 구체예에서, 활성은 적어도 2, 적어도 5 또는 적어도 10의 인수만큼 증진된다.

[0469] 이하에는 항바이러스 분야, 신경근육 질환, 박테리아 감염, 염증 및 다낭성 신장 질환의 치료를 포함한 본 발명의 올리고머의 다양한 예시적 적용이 기술된다. 이 설명은 본 발명을 어떤 식으로든 제한하는 것을 의미하지 않으며, 본 발명에 기술된 변형된 말단 그룹 서브유니트간 결합을 포함하는 올리고머를 사용하여 처리될 수 있는 인간 및 동물 질병의 범위를 예시하기 위해서 제공된다.

#### G. 무-세포 시험에서의 시험관내 활성

[0471] PMO<sup>apn</sup> (b10) 및 PMO<sup>suc</sup> (b45)와 같은 부분적으로 변형된 결합을 갖는 올리고머는 시험관내 및 생체내에서의 증진된 안티센스 활성에 의해서 입증되는 것으로서, 상응하는 중성 화합물보다 DNA 및 RNA에 대한 더 큰 친화성을 갖는다. 본 발명의 올리고머는 다양한 상이한 표적에 대해서 유도되는 경우에, 완전히 비변형된 올리고머와 비교하여 탁월한 안티센스 활성을 제공하는 것으로 나타났다. 실험의 첫 번째 시리즈에서는, MDX 마우스 디스트로핀 유전자의 엑손 23을 표적으로 하는 비변형, 변형 및 펩타이드-컨주게이트된 PPMO를 재료 및 방법 및 실시예 27에 기술된 바와 같이 제조하였다. 서열은 실시예 27에서와 같이 나타내며, 여기에서 각각의 위치에서 이전에 기술된 (1-페페라지노) 포스피닐리멘옥시 결합 (도 1b에 나타낸 바와 같음)은 SEQ ID NOS: 2-5의 경우에 "+"로 표시되거나; 4-아미노페페리디닐 결합 (structure (b10); 도 2)은 SEQ ID NO: 5에 대해서 "<sup>a</sup>"로 표시되거나; 4-석신아미도페페라지닐 결합 (도 (b45); 도 2)은 "<sup>s</sup>"로 표시된다. 실시예 27에 기술된 바와 같이, 본 발명의 예시적인 결합을 함유하는 PMO 올리고머 (예를 들어, PMO<sup>apn</sup>)는 이전에 기술된 PMO+ 화합물에 비해서 더 활성적이었다.

[0472] 1. ssRNA 바이러스의 스템-루프 (stem-loop) 이차 구조를 표적화

[0473] 예시적인 안티센스 항바이러스 화합물의 한가지 클래스는 12-40 서브유니트의 서열, 및 표적화된 바이러스의 포지티브-센스 (positive-sense) RNA 스트랜드의 5'-말단 40 염기 내의 스템-루프 이차 구조와 연관된 부분에 대해서 상보적인 표적화 서열을 갖는, 본 발명에 기술된 바와 같은 모르폴리노 올리고머, 예를 들어, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하는 올리고머이다 [참조: 예를 들어, PCT 공개 제WO/2006/033933호 또는 미국 출원공개 제20060269911 및 20050096291호; 이들은 본 발명에 참고로 포함된다].

[0474] 상기 방법은 우선, 바이러스 표적 서열로서 그의 서열이 내부 스템-루프 이차 구조를 형성할 수 있는 감염성 바이러스의 포지티브 스트랜드의 5'-말단 40 염기 내의 부분을 확인하는 것을 포함한다. 그 후에는, 단계적인 고체상 합성에 의해서 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하며, 다른 구체예에서는 20% 내지 50%의 이러한 변형된 결합을 함유하며, 내부 듀플렉스 구조를 형성할 수 있는 바이러스-게놈 부분에 대해서 상보적인 적어도 12 서브유니트의 표적화 서열을 갖는 올리고머를 제작하며, 여기에서 상기의 올리고머는 바이러스 표적 서열과 함께 바이러스의 포지티브 센스 스트랜드와 올리고뉴클레오타이드 화합물로 구성되며, 적어도 45°C의 해리의 T<sub>m</sub> 및 이러한 스템-루프 구조의 붕괴를 특징으로 하는 헤테로듀플렉스 구조를 형성할 수 있다.

[0475] 표적 서열은 입력 RNA 서열의 최소 자유 에너지 상태에 대한 탐색을 기초로 하여 이차 구조 예측을 수행할 수 있는 컴퓨터 프로그램에 의해서 5'-말단 서열, 예를 들어, 5'-말단 40 염기를 분석함으로써 확인된다.

[0476] 관련된 관점에서, 올리고머는 포유동물 숙주 세포 내에서, 단일-스트랜드 포지티브-센스 게놈을 갖고, 플라비비리다에 (Flaviviridae), 피코르노비리다에 (Picornoviridae), 칼리시비리다에 (Caliciviridae), 토가비리다에 (Togaviridae), 아르테리비리다에 (Arteriviridae), 코로나비리다에 (Coronaviridae), 아스트로비리다에 (Astroviridae) 또는 헤페비리다에 (Hepeviridae) 과 중의 하나로부터 선택되는 감염성 RNA 바이러스의 복제를 억제하는 방법에서 사용될 수 있다. 상기 방법은 감염된 숙주 세포에, 내부 스템-루프 이차 구조를 형성할 수 있는 포지티브-스트랜드 바이러스 게놈의 5'-말단 40 염기 내의 부분에 대해서 상보적인 적어도 12 서브유니트의 표적화 서열을 갖는 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머의 바이러스-억제량을 투여하는 것을 포함한다. 화합물은 숙주 세포에 투여하는 경우에, (i) 바이러스의 포지티브 센스 스트랜드 및 올리고뉴클레오타이드 화합물로 구성되며, (ii) 적어도 45°C의 해리의 T<sub>m</sub> 및 이러한 스템-루프 이차 구조의 붕괴를 특징으로 하는 헤테로듀플렉스 구조를 형성하는데 효과적이다. 화합물은 바이러스로 감염되거나, 바이러스에 의한 감염의 위협이 있는 포유동물 대상체에게 투여될 수 있다.

[0477] 뎅기열 (dengue) 및 일본 뇌염 바이러스의 말단 스템 루프 구조를 표적으로 하는 예시적인 표적화 서열은 이하에 각각 SEQ ID NOs: 1 및 2로 열거된다.

[0478] ssRNA 바이러스의 말단 스템 루프 구조를 표적으로 하는 추가의 예시적인 표적화 서열은 또한, 본 발명에 참고로 포함된 미국 출원 제11/801,885호 및 PCT 공개 WO/2008/036127에서 찾을 수 있다.

[0479] 2. ssRNA 바이러스의 제1 개방 판독 프레임을 표적화

[0480] 예시적인 안티센스 항바이러스 화합물의 두 번째 클래스는 12 kb 미만의 단일-스트랜드 포지티브 센스 게놈, 및 다중 작용성 단백질을 함유하는 다단백질 (polyprotein)을 코드화한 제1 개방 판독 프레임 (open reading frame)을 갖는 피코르나바이러스, 칼리시바이러스, 토가바이러스, 코로나바이러스 및 플라비바이러스 과의 바이러스의 성장을 억제하는데 사용하기 위한 것이다. 특별한 구체예에서, 상기 바이러스는 코로나바이러스 과로부터의 RNA 바이러스, 또는 플라비바이러스 과로부터의 웨스트 나일 (West Nile), 황열 (Yellow Fever) 또는 뎅기열 바이러스이다. 억제성 화합물은 바이러스 게놈의 제1 개방 판독 프레임의 AUG 출발 부위에 걸쳐있는 바이러스 표적 서열에 대해서 실질적으로 상보적인 표적화 염기 서열을 갖는, 본 발명에 기술된 안티센스 올리고머, 예를 들어, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하는 올리고머를 포함한다. 상기 방법의 일 구체예에서, 올리고머는 바이러스로 감염된 포유동물 대상체에게 투여된다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제WO/2005/007805호 및 미국 출원공개 제2003224353호].

[0481] 바람직한 표적 서열은 바이러스 게놈의 제1 개방 판독 프레임 (ORF1)의 AUG 출발 부위에 걸쳐있는 부분이다. 제1 ORF는 일반적으로 폴리머라제, 헬리카제 및 프로테아제와 같은 비-구조적 단백질을 함유하는 다단백질을 코

드화한다. "AUG 출발 부위에 걸쳐있는"은 표적 서열이 AUG 출발 부위의 한쪽에서 적어도 3개의 염기 및 다른 쪽에서 적어도 2개의 염기 (총 적어도 8개의 염기)를 포함하는 것을 의미한다. 바람직하게는, 이것은 출발 부위의 각각의 측면에서 적어도 4개의 염기 (총 적어도 11 염기)를 포함한다.

[0482] 더욱 일반적으로, 바람직한 표적 부위는 다양한 바이러스 분리체들 사이에서 보존된 표적을 포함한다. 그 밖의 다른 바람직한 부위에는 IRES (내부 리보솜 진입 부위), 전사활성화 (transactivation) 단백질 결합 부위, 및 복제의 개시 부위가 포함된다. 다수의 풍부한 유전자를 제공할 수 있는 복잡하고 큰 바이러스 게놈은 바이러스 진입 및 바이러스 존재에 대한 숙주 반응에 대해 코드화한 숙주 세포성 유전자를 표적으로 함으로써 효율적으로 표적화될 수 있다.

[0483] 다양한 바이러스-게놈 서열은 NCBI Genbank 데이터베이스와 같은 잘 알려진 공급원으로부터 이용할 수 있다. ORF1의 AUG 출발 부위는 또한 유전자 데이터베이스 또는 근거가 되는 참고문헌에서 확인될 수 있거나, 이것은 예상되는 ORF1 출발 부위의 부분에서 AUG 코돈에 대한 서열을 스캐닝함으로써 발견될 수 있다.

[0484] 4개의 바이러스 과의 각각의 일반적인 게놈 조작화는 이하에 제시되며, 각각의 과에서 선택된 구성원 (속, 종 또는 스트레인)에 대해서 수득된 예시적인 표적 서열이 이어진다.

### 3. 인플루엔자 바이러스를 표적화

[0486] 예시적인 안티센스 항바이러스 화합물의 세 번째 클래스는 오르토믹소비리다에 (Orthomyxoviridae) 과의 바이러스의 성장의 억제 및 바이러스 감염의 치료에 사용된다. 일 구체예에서는, 숙주 세포를 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머, 예를 들어, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하거나, 다른 구체예에서는 20% 내지 50%의 이러한 변형된 결합을 포함하며, 1) 네거티브 센스 바이러스 RNA 분절의 5' 또는 3' 말단 25 염기; 2) 포지티브 센스 cRNA의 5' 또는 3' 말단의 말단 25 염기; 3) 인플루엔자 바이러스 mRNAs의 AUG 출발 코돈을 둘러싸는 45 염기; 및 4) 대체 스플리싱에 적용되는 인플루엔자 mRNAs의 스플리스 공여체 또는 수용체 부위를 둘러싸는 50 염기로부터 선택된 표적 부분에 대해 하이브리드화하는데 효과적인 염기 서열을 포함하는 올리고머와 접촉시킨다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제WO/2006/047683호; 미국 출원공개 제20070004661호; 및 PCT 출원 제2010/056613호 및 미국 출원 제12/945,081호].

[0487] 본 발명을 지지하며, 본 발명의 변형된 결합을 갖는 PMO를 사용하여 인플루엔자 A 바이러스 (H1N1 스트레인 PR8)의 M1/M2 분절을 표적화하도록 디자인된 실험을 SEQ ID NO:3을 기초로 하며, 이하의 표 4에 열거되고, 실시 예 29에 기술된 올리고머를 사용하여 수행하였다.

[표 4]

[0489]

변형된 서브유니트간 결합 또는 말단 그룹을 포함하는 인플루엔자 표적화 서열

<b>NG-10-0038</b>	PMOhex	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0039</b>	PMOhex	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA *TC <sup>*</sup> TT
<b>NG-10-0096</b>	PMOapn	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0097</b>	PMOapn	CGG *T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA *TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0099</b>	PMOpqr	CGG *T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA *TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0107</b>	PMOthiol	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0108</b>	PMOsucc	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0111</b>	PMOguan	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0141</b>	PMOpqr	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0142</b>	PMOpqr	CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA *TC <sup>*</sup> T TT
<b>NG-10-0158</b>	PMOglutaric	CGG T <sup>*1*</sup> TA GAA GAC * <sup>1*</sup> TCA TC <sup>*1*</sup> T TT
<b>NG-10-0159</b>	PMOcyclo-glut	CGG T <sup>*21*</sup> TA GAA GAC * <sup>21*</sup> TCA TC <sup>*21*</sup> T TT
<b>NG-10-0160</b>	PMOcholic acid	CGG T <sup>*1*</sup> TA GAA GAC * <sup>1*</sup> TCA TC <sup>*1*</sup> T TT
<b>NG-10-0161</b>	PMOdeoxyCA	CGG T <sup>*2*</sup> TA GAA GAC * <sup>2*</sup> TCA TC <sup>*2*</sup> T TT
<b>NG-10-0180</b>	PMOapn	---T CGA CA <sup>*</sup> T CGG T <sup>*</sup> TA GAA GAC *TCA T
<b>NG-10-</b>	<b>PMOm</b>	<b>CGG T<sup>*</sup>TA GAA GAC *TCA TC<sup>*</sup>T TT</b>

[0490]

0174		
NG-10-0222	PMO MeT	CGG T**TA GAA GAC +TCA TC- <u>T</u> TT
NG-10-0223	PMO FarnT	CGG T***TA GAA GAC +TCA TC- <u>T</u> TT
NG-10-0538	PMOapn-trityl	CGG T*TA GAA GAC *TCA TC*T <u>TT</u>
NG-10-0539	PMOapn-trityl	CGG T*TA GAA GAC *TCA TC*T <u>TT</u>
NG-10-0015	PMO	CGG TTA GAA GAC TCA TCT <u>TT</u>
NG-11-0170	PMOplus	CGG +TTA GAA GAC +TCA TC- <u>T</u> TT
NG-11-0145	PMOplus-benzhydryl	CGG T+TA GAA GAC +TCA TC- <u>T</u> TT**
NG-11-0148	PMOisopropylPip	CGG TiprppiPTA GAA GAC iprppiPTCA T <u>Op</u> prppiPT TT
NG-11-0173	PMOpqr	CGG pTTA GAA GAC pTCA TC <u>p</u> TT
NG-11-0291	Trimethyl Gly	CGG T*+TA GAA GAC *+TCA <u>TC*</u> +T TT

\*3'-벤즈히드릴; \*+ 결합은 PMOplus 결합에서 트리메틸 글리신 아실화된다;

PMOM은 3-질소 위치 상에 메틸 그룹을 갖는 T 염기를 나타낸다.

[0491]

화합물은 포유동물에서 인플루엔자 바이러스 감염의 치료에 특히 유용하다. 올리고머는 인플루엔자 바이러스에 감염되었거나, 인플루엔자 바이러스에 의한 감염의 위험이 있는 포유동물 대상체에게 투여될 수 있다.

[0493]

#### 4. 피코르나비리다에 과의 바이러스를 표적화

[0494]

예시적인 안티센스 항바이러스 화합물의 네 번째 클래스는 피코르나비리다에 (Picornaviridae) 과의 바이러스의 성장을 억제하고, 바이러스 감염을 치료하는데 사용된다. 화합물은 포유동물에게서 엔테로바이러스 (Enterovirus) 및/또는 리노바이러스 (Rhinovirus) 감염의 치료에 특히 유용하다. 이 구체예에서, 안티센스 항바이러스 화합물은 모르폴리노 올리고머, 예를 들어, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하며, 바이러스 5' 비해독 부분의 2개의 32 보존된 뉴클레오타이드 부분 중의 하나 내의 바이러스 RNA 서열과 연관된 부분에 대해서 상보적인 표적화 서열을 갖는 적어도 12 서브유니트를 포함하는 12-40 서브유니트의 서열을 갖는 모르풀리노 올리고머를 포함한다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제WO/2007/030576 및 WO/2007/030691호 또는 공동 계류 중이며 공동-소유된 미국 출원 제11/518,058 및 11/517,757호]. 예시적인 표적화 서열은 이하에 SEQ NO: 6으로 열거된다.

[0495]

#### 5. 플라비바이러스 과의 바이러스를 표적화

[0496]

예시적인 안티센스 항바이러스 화합물의 다섯 번째 클래스는 동물 세포에서 플라비바이러스 (flavivirus)의 복제를 억제하는데 사용된다. 이 클래스의 예시적인 안티센스 올리고머는 어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하며, 길이가 8-40 뉴클레오타이드 염기 사이이고, 포지티브 스트랜드 플라비바이러스 RNA의 5'-폐환 서열 (5'-CS) 또는 3'-CS 서열의 적어도 일부분을 포함하는 바이러스의 포지티브 스트랜드 RNA 게놈의 부분에 대해서 상보적인 적어도 8 염기의 서열을 갖는 모르풀리노 올리고머이다. 매우 바람직한 표적은 3'-CS이고, 맹기열 바이러스에 대한 예시적인 표적화

서열은 이하에 SEQ ID NO: 7로 열거된다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제 WO/2005/030800호 또는 공동 계류중이고 공동-소유된 미국 출원 제10/913,996호].

[0497] 6. 니도바이러스 (Nidovirus) 과의 바이러스를 표적화

[0498] 예시적인 안티센스 항바이러스 화합물의 여섯 번째 클래스는 바이러스-감염된 동물 세포에서 니도바이러스의 복제를 억제하는데 사용된다. 이 클래스의 예시적인 안티센스 올리고머는 본 발명에 기술된 바와 같이 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하며, 8 내지 25 뉴클레오파이드 염기를 함유하는 모르풀리노 올리고미이며, 포지티브-스트랜드 바이러스 계놈의 5' 리더 (leader) 부분과 네거티브-스트랜드 3' 서브계놈 부분에서 전사조절서열들 (TRS) 사이의 염기 짹짓기를 봉괴시킬 수 있는 서열을 갖는다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제 WO/2005/065268호 또는 미국 출원공개 제20070037763호].

[0499] 7. 필로바이러스 (Filovirus)를 표적화

[0500] 또 다른 구체예에서, 본 발명에 기술된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 올리고머는 세포를 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머, 예를 들어, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하거나, 다른 구체예에서는 20% 내지 50%의 이러한 변형된 결합을 포함하며, 이하에 더 기술하는 바와 같이 포지티브-스트랜드 mRNA의 AUG 출발-부위 부분 내의 적어도 12개의 인접한 염기로 구성된 표적 서열에 대해서 상보적인 표적화 염기 서열을 갖는 올리고머와 접촉시킴으로써 숙주 세포 내에서 에볼라 (Ebola) 바이러스 또는 마버그 (Marburg) 바이러스의 복제를 억제하는 방법에서 사용될 수 있다.

[0501] 필로바이러스 바이러스 계놈은 비분절화되고, 안티센스 배향인 단일-스트랜드 RNA의 약 19,000 염기이다. 이 계놈은 vRNA에 대해서 상보적인 모노시스트론성 (monocistronic) mRNAs로부터 7개의 단백질을 코드화한다.

[0502] 표적 서열은 선택된 에볼라 바이러스 단백질의 AUG 출발 코돈 또는 마이너스-스트랜드 바이러스 RNA의 3' 말단 30 염기에 걸쳐 있거나, 그의 바로 하류 (25 염기 이내) 또는 상류 (100 염기 이내)에 있는 포지티브-스트랜드 (센스) RNA 서열이다. 바람직한 단백질 표적은 바이러스 폴리머라제 서브유니트 VP35 및 VP24이지만, L, 핵단백질 NP 및 VP30도 또한 고려된다. 이를 중에서 초기 단백질이 바람직하며, 예를 들어, VP35가 후에 발현된 L 폴리머라제보다 바람직하다.

[0503] 또 다른 구체예에서, 본 발명에 기술된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 올리고머는 세포를 적어도 하나의 변형된 서브유니트간 결합, 또는 다른 구체예에서는 20% 내지 50%의 이러한 변형된 결합을 포함하며, 필로바이러스 mRNA 서열의 포지티브-스트랜드 mRNA의 AUG 출발-부위 부분 내의 적어도 12개의 인접한 염기로 구성된 표적 서열에 대해서 상보적인 표적화 염기 서열을 갖는 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머와 접촉시킴으로써 숙주 세포 내에서 에볼라 바이러스 또는 마버그 바이러스의 복제를 억제하는 방법에서 사용될 수 있다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제WO/2006/050414호 또는 미국 특허 제7,524,829 및 7,507,196호, 및 연속출원인 미국 출원 제12/402,455; 12/402,461; 12/402,464; 및 12/853,180호].

[0504] 8. 아레나바이러스 (Arenavirus)의 표적화

[0505] 또 다른 구체예에서, 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머는 아레나비리다에 (Arenaviridae) 과 내의 종에 의한 포유동물 세포에서의 바이러스 감염을 억제하는 방법에서 사용될 수 있다. 한가지 관점에서, 올리고머는 바이러스에 의해서 감염된 포유동물 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제WO/2007/103529호 또는 미국 특허 제7,582,615호].

[0506] 표 5는 구식 (Old World) 또는 신식 (New World) 아레나바이러스 분류에 의해서 조직화된 본 발명의 올리고머에 의해서 표적화된 표적 바이러스의 예시적 리스트이다.

[0507] [표 5]

[0508]

표적화된 아레나바이러스

과	속	바이러스
아레나비리다에 (Arenaviridae)	아레나바이러스 <i>Arenavirus</i>	구식 아레나바이러스
		라사 바이러스 (Lassa virus) (LASV)
		림프구성 맥락수막염 바이러스 (Lymphocytic choriomeningitis virus) (LCMV)
		모페이아 바이러스 (Mopeia virus) (MOPV)
		신식 아레나바이러스
		구아나리토 바이러스 (Guanarito virus) (GTOV)
		쥬닌 바이러스 (Junin virus) (JUNV)
		마쿠포 바이러스 (Machupo virus) (MACV)
		피치나이드 바이러스 (Pichinide) virus (PICV)
		피리탈 바이러스 (Pirital virus) (PIRV)
		사비아 바이러스 (Sabiá virus) (SABV)
		타카리브 바이러스 (Tacaribe virus) (TCRV)
		화이트워터 아로요 바이러스 (Whitewater Arroyo virus) (WWAV)

[0509]

[0510]

아레나바이러스의 계놈은 S (소형) 및 L (대형)로 지정된 2개의 단일-스트랜드 RNA 분절로 구성된다. 비리온에서, S- 대 L-분절 RNAs의 몰비는 대략 2:1이다. 완전한 S-분절 RNA 서열은 몇 가지 아레나바이러스에 대해서 결정되었으며, 3,366 내지 3,535 뉴클레오타이드의 범위이다. 완전한 L-분절 RNA 서열도 또한 몇 가지 아레나바이러스에 대해서 결정되었으며, 7,102 내지 7,279 뉴클레오타이드의 범위이다. S 및 L RNA 분절의 3' 말단 서열은 마지막 19개의 뉴클레오타이드 중의 17 개에서 동일하다. 이를 말단 서열은 모든 공지된 아레나바이러스들 사이에서 보존된다. 각각의 계놈 RNA의 도입부에서 5'-말단 19 또는 20 뉴클레오타이드는 각각의 상응하는 3' 말단과 불완전하게 상보적이다. 이러한 상보성으로 인하여, 3' 및 5' 말단은 염기-짝짓기하며, 팬핸들 (panhandle) 구조를 형성하는 것으로 생각된다.

[0511]

항계놈성 (antigenomic) 바이러스-상보적 RNA (vcRNA) 스트랜드를 형성시키는 감염성 비리온 또는 바이러스 RNA (vRNA)의 복제는 감염된 세포 내에서 일어난다. vRNA 및 vcRNA는 둘 다 상보적 mRNAs를 코드화하며; 따라서, 아레나바이러스는 네거티브- 또는 포지티브-센스 RNA 바이러스보다는 앰비센스 (ambisense) RNA 바이러스로 분류된다. 바이러스 유전자의 앰비센스 배향은 L- 및 S-분절 둘 다에서 나타난다. NP 및 폴리미라제 유전자는 각각 S 및 L vRNA 분절의 3' 말단에 존재하며, 통상적인 네거티브 센스로 코드화된다 (즉, 이들은 vRNA 또는 계놈-상보적 mRNAs의 전사를 통해서 발현된다). 각각 S 및 L vRNA 분절의 5' 말단에 위치하는 유전자 GPC 및 Z는 mRNA 센스로 코드화되지만, 이들이 계놈 vRNAs로부터 직접 해독된다는 증거는 없다. 이를 유전자는 대신, 복제 중간체로서 작용하는 계놈 vRNAs의 전체-길이 상보적 카피인 항계놈 (즉, vcRNA)으로부터 계놈-센스 mRNAs의 전사를 통해서 발현된다.

[0512]

바이러스의 아레나바이러스 과에 대한 예시적인 표적화 서열은 이하에서 SEQ ID NO: 8로 열거된다.

[0513]

9. 호흡기 합포체 바이러스 (Respiratory Syncytial Virus)의 표적화

[0514]

호흡기 합포체 바이러스 (RSV)는 소아에게서 가장 중요한 단일의 호흡기 병원체이다. 기관지염 및 폐렴과 같은 RSV-야기된 하부 호흡기 상태는 종종 1 세 미만의 소아에게서 입원을 필요로 한다. 심폐 질환이 있는 소아 및 조산아는 특히 이러한 감염으로 인한 심각한 장애를 겪을 경향이 있다. RSV 감염은 또한 노년의 고-위험 성인에게서 중요한 질병이며, 노인에게서 바이러스성 폐렴의 두 번째로 가장 통상적으로 확인되는 원인이다 [Falsey, Hennessey et al. 2005]. 세계보건기구 (World Health Organization)는 RSV가 세계적으로 매년 6400 만의 임상적 감염 및 16만의 사망에 책임이 있는 것으로 추정한다. RSV 감염의 예방을 위해서 현재 이용할 수 있는 백신은 없다. 비록 RSV 생물학, 전염병학, 병태생리학 및 숙주-면역-반응에 대한 우리의 이해에 있어서의 다수의 주된 진전이 지난 수십 년에 걸쳐 일어났지만, RSV 감염이 있는 유아 및 소아의 최적 관리에 관해서는

상당한 논란이 계속되고 있다. 리바비린 (Ribavirin)이 RSV 감염을 치료하기 위한 유일하게 승인된 항바이러스 약물이지만, 그의 사용은 고-위험 또는 중증 질환 상태인 유아로 제한된다. 리바비린의 유용성은 그의 비용, 가변적 효능, 및 저항성 바이러스를 생성시키는 경향에 의해서 제한되었다 [Marquardt 1995; Prince 2001]. 추가의 효과적인 항-RSV 약제에 대한 현재의 필요성은 잘 인식되고 있다.

[0515]

펩타이드 컨주케이트된 PMO (PPMO)가 조직 배양, 및 생체내 동물 모델 시스템 둘 다에서 RSV를 억제하는데 효과적일 수 있다는 것은 알려져 있다 [Lai, Stein et al. 2008]. RSV L mRNA의 5'-말단 부분 및 해독 출발-부위 부분을 포함하는 서열을 표적으로 하도록 디자인된 2개의 안티센스 PPMOs를 2개의 인간 기도 세포주의 배양물에서의 항-RSV 활성을 대해서 시험하였다. 이들 중의 하나인 RSV-AUG-2 (SEQ ID NO 10)는 바이러스 역가를  $>2.0 \log_{10}$ 만큼 감소시켰다. RSV 접종 전에 RSV-AUG-2 PPMO에 의한 BALB/c 마우스의 비내 (i.n.) 처리는 감염 후 (p.i.) 5일에 폐 조직 내에서 바이러스 역가에 있어서의  $1.2 \log_{10}$ 의 감소를 제공하였으며, 감염 후 7일에 폐 염증을 약화시켰다. 이들 데이터는 RSV-AUG-2가 잠재적인 치료학적 적용을 위한 후보로서 더 연구할 만한 강력한 항-RSV 활성을 제공하였음을 나타내었다 [Lai, Stein et al. 2008]. 상술한 바와 같은 RSV-AUG-2 PPMO에 의한 성공에도 불구하고, 독성 문제 및 제품 고려의 비용에 기인하여 안티센스 항-RSV 치료제에 펩타이드 컨주케이션을 혼입시키는 것을 피하는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명의 또 다른 구체예에서는 본 발명에 기술된 바와 같은 하나 또는 그 이상의 올리고머가, 세포를 본 발명에 기술된 바와 같은 올리고머, 예를 들어, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 그의 조합, 또는 다른 구체예에서는 10% 내지 50%의 이러한 변형된 결합을 포함하며, 이하에 더 기술하는 바와 같이 RSV로부터의 mRNA의 AUG 출발-부위 부분 내의 적어도 12개의 인접한 염기로 구성된 표적 서열에 대해서 상보적인 표적화 염기 서열을 갖는 올리고머와 접촉시킴으로써 숙주 세포 내에서 RSV의 복제를 억제하는 방법에서 사용될 수 있다.

[0516]

RSV의 L 유전자는 바이러스 RNA 의존적 RNA 폴리머라제 콤플렉스의 중요한 성분에 대해서 코드화한다. RSV-AUG-2 PPMO의 형태로 RSV L 유전자 mRNA의 AUG 해독 출발-부위 코돈에 걸쳐 있는 서열에 대해서 디자인된 안티센스 PPMO는 L mRNA의 5' 말단에 존재하는 '유전자-출발' 서열 (GS)로부터 코드화 서열 내로의 13 염기까지의 서열에 대해서 상보적이다. 따라서, 바람직한 L 유전자 표적화 서열은 이하의 표 6에서 SEQ ID NO: 9로 나타낸 바와 같이 L 유전자 mRNA의 5' 말단으로부터 3' 방향으로 40 염기 또는 L 유전자 코드화 서열 내로 22 염기까지 연장되는 어떤 12개의 인접한 염기에 대해서 상보적이다. 예시적인 RSV L 유전자 표적화 서열은 이하의 표 6에서 SEQ ID NOs: 10-14로 열거된다. 본 명세서에 기술된 발명의 어떤 서브유니트간 변형이라도 개선된 치료학적 활성을 위한 증가된 안티센스 활성, 개선된 세포내 송달 및/또는 조직 특이성을 제공하기 위해서 올리고머 내에 혼입시킬 수 있다. 본 발명의 서브유니트간 결합을 함유하는 예시적인 올리고머는 이하의 표 6에 열거된다.

[0517]

[표 6]

[0518]

RSV 표적 및 표적화 서열

명칭	서열 (5'에서 3'로)	SEQ ID NO
L 표적	GGGACAAAATGGATCCCATTATTAATGGAAATTCTGCTAA	9
RSV-AUG-2	TAATGGGATCCATTGTCCC	10
RSV-AUG3	AATAATGGGATCCATTGTCCC	11
RSV-AUG4	CATTAATAATGGGATCCATTGTCCC	12
RSV-AUG5	GAATTCCATTAATAATGGGATCCATTGT	13
RSV-AUG6	CAGAATTCCATTAATAATGGGATCCATT	14
RSV-AUG3apn <sup>a</sup>	AATAA <sup>TTT</sup> GGGA <sup>TTC</sup> TCCA <sup>TTT</sup> TTG <sup>TTT</sup> TCCC	11
RSV-AUG3guan	AATAA <sup>TTT</sup> GGGA <sup>TTC</sup> TCCA <sup>TTT</sup> TTG <sup>TTT</sup> TCCC	11

[0519]

10. 신경근육 질환

[0520]

또 다른 구체예에서, 치료학적 올리고머는 포유동물 대상체에서 신경근육 질환과 연관된 질병을 치료하는데 사용하기 위해서 제공된다. 근육 조직 내로의 수송을 증진시키는 것으로 나타난 예시적인 서브유니트간 올리고머 변형에는 구조 b6, b10, b51 및 b54의 서브유니트간 결합을 갖는 것이 포함된다. 이러한 결합을 M23D 안티센스 올리고머 (SEQ ID NO: 16) 내로 흔입시킨 안티센스 올리고머는 실시예에 기술된 바와 같이 듀센형 근이영양증 (Duchene Muscular Dystrophy; DMD)에 대한 MDX 마우스 모델에서의 활성에 대해 시험하였다. 일부 구체예에서 사용된 결합을 흔입시킨 예시적인 올리고머는 이하의 표 7에 열거하였다. 일부 구체예에서, 치료학적 화합물을 다음으로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다:

[0521]

(a) 이전에 기술된 바와 같이, 근육 소모성 상태를 치료하기 위한 것으로서 SEQ ID NO: 18로 확인된 인간 마이오스타틴 mRNA의 표적 부분 내의 적어도 12개의 인접한 염기에 대해서 상보적인 염기 서열을 갖는, 인간 마이오스타틴에 대해서 표적화된 안티센스 올리고머 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 미국 특허출원 제 12/493,140호; 및 PCT 공개 제W02006/086667호]. 예시적인 쥐 표적화 서열은 SEQ ID NOs: 19-20으로 열거된다.

[0522]

(b) 이전에 기술된 바와 같이, DMD를 치료하기 위한 것으로서 디스트로핀 단백질의 부분적 활성을 회복시키기 위한 SEQ ID NOs: 22 내지 35로부터 선택된 서열을 갖는 PMO와 같은, DMO 단백질 (디스트로핀) 내에서 엑손 스키핑을 생성시킬 수 있는 안티센스 올리고머 [참조: 예를 들어, 모두 본 발명에 참고로 포함된 PCT 공개 제 WO/2010/048586 및 WO/2006/000057호 또는 미국 특허공개 제US09/061960호].

[0523]

몇 가지 다른 신경근육 질환은 본 발명의 변형된 결합 및 말단 그룹을 사용하여 치료될 수 있다. 척수 근육위축증 (SMA) 및 근긴장성 이영양증 (DM)을 치료하기 위한 예시적인 화합물은 이하에 거론된다.

[0524]

SMA는 척수에서 알파-운동 뉴론의 만성 상실에 의해서 야기된 상염색체 열성 질환이며, 소아 및 성인 둘 다에 침범할 수 있다. 생존 운동 뉴론 (SMN)의 감소된 발현이 질병에 대한 책임이 있다 [Hua, Sahashi et al. 2010]. SMA를 야기하는 돌연변이는 SMN1 유전자에 위치하지만, 유사 유전자 SMN2는 엑손 7을 결여하는 대체 스플리스 형태 (엘타7 SMN2)로부터 발현되는 경우에 SMN1의 상실에 대해 보상함으로써 생존도를 허용할 수 있다. 인트론 6, 엑손 7 및 인트론 7에 대해서 표적화된 안티센스 화합물은 모두 다양한 정도로 엑손 7 봉입을 유도하는 것으로 나타났다. 인트론 7에 대해서 표적화된 안티센스 화합물이 바람직하다 [참조: 예를 들어, PCT 공개 WO/2010/148249, WO/2010/120820, WO/2007/002390, 및 미국 특허 제7838657호]. SMN2 전-mRNA를 표적으로 하며, 개선된 엑손 7 봉입을 유도하는 예시적인 안티센스 서열은 이하에 SEQ ID NOs: 36-38로 열거된다. 본 발명에 기술된 변형된 결합 및 말단 그룹을 사용한 이를 올리고머 서열의 선택된 변형은 본 기술분야에서 공지된 것

에 비해서 개선된 특성을 가질 것으로 생각된다. 더구나, SMN2 유전자의 인트론 7에 대해서 표적화되고, 본 발명의 특색을 혼입시킨 어떤 올리고머라도 엑손 7 봉입을 유도하고, SMA 환자에게 치료학적 효과를 제공하는 잠재력을 갖는 것으로 생각된다. 근긴장성 이영양증 타입 1 (DM1) 및 타입 2 (DM2)는 신경근육 변성을 초래하는 독성 RNA의 발현에 의해서 야기된 우성적으로 유전된 장애이다. DM1 및 DM2는 각각 전사물 근긴장성 이영양증 단백질 키나제 (transcript dystrophy myotonica protein kinase) (DMPK) 및 아연 핑거 단백질 9 (zinc finger protein 9) (ZNF9)의 3'-UTR 및 인트론 1 부분 내의 긴 폴리CUG 및 폴리CCUG 반복체 (repeats)와 연관된다 [참조: 예를 들어, WO2008/036406]. 정상적인 개체는 무려 30 개나 되는 CTG 반복체를 갖는 반면에, DM1 환자는 50 개 내지 수천 개 범위의 큰 수의 반복체를 갖는다. 질병의 중증도 및 발병 연령은 반복체의 수와 상관관계가 있다. 성인기 발병이 있는 환자는 더 약한 증상을 나타내며, 100 개 미만의 반복체를 갖고, 청년기 발병 DM1 환자는 무려 500개의 반복체를 가지며, 선천적인 경우는 통상적으로 대략 1000개의 CTG 반복체를 갖는다. CUG 반복체를 함유하는 확대된 전사물은 이차 구조를 형성하며, 핵 병소 (nuclear foci)의 형태로 핵 내에 축적되고, RNA-결합 단백질 (RNA-BP)을 격리시킨다. 머슬블라인드-양 (muscleblind-like) (MBNL) 단백질 및 CUG-결합 단백질 (CUGBP)을 포함한 몇개의 RNA-BP는 질병에 연루되었다. MBNL 단백질은 광수용체 및 근육 분화에 필요한 드로소필라 머슬블라인드 (*Drosophila muscleblind*; Mb1) 단백질에 대해서 상동성이다. MBNL 및 CUGBP는 심장 트로포닌 T (cTNT), 인슐린 수용체 (IR) 및 근육-특이적 클로라이드 채널 (ClC-1)과 같은 DM1에 존재하는 전사물의 길항적 스플리싱 조절자로서 확인되었다.

[0526]

DMPK 유전자의 확대된 반복체에 대해서 표적화된 안티센스 올리고뉴클레오티드가 RNA-BP 격리를 대체할 수 있고, DM1의 동물 모델에서 근긴장 증상을 반전시킬 수 있다는 것은 본 기술분야에서 알려져 있다 [WO2008/036406]. 본 발명의 특색을 혼입시킨 올리고머는 DM1 및 DM2 환자에 대한 개선된 활성 및 치료학적 잠재력을 제공할 것으로 생각된다. 상술한 폴리CUG 및 폴리CCUG 반복체에 대해서 표적화된 예시적인 서열은 이하에 SEQ ID NOs: 39-55로 열거되며, 또한 온전히 본 발명에 포함된 미국 출원 제13/101,942호에 더 기술되어 있다.

[0527]

신경근육 장애를 치료하기 위한 본 발명의 추가의 구체예가 예상되며, 그 밖의 다른 DNA 반복체 불안정성 유전적 장애를 치료하도록 디자인된 올리고머를 포함한다. 이들 질환에는 WO2008/018795에 기술된 바와 같은 헌팅تون병 (Huntington's disease), 척수-소뇌 운동실조증, X-결합된 척수 연수성 근위축증 및 척수소뇌성 운동실조증 타입 10 (SCA10)이 포함된다.

[0528]

MDM에 대한 쥐 모델인 MDX 마우스를 사용하여 본 발명을 뒷받침하며 수행된 실험은 실시예 27에 기술된다.

[0529]

[표 7]

[0530]

변형된 서브유니트간 결합 및/또는 3' 및/또는 5' 말단 그룹을 혼입시킨 M23D 서열 (SEQ ID NO:15)

NG	PMO-X 변형	5'	서열	3'
NG-10-0383	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리페닐아세틸
NG-10-0325	트리페닐포스	OH	GGC CAA ACC FCG GCF TAC CFG AAA T	트리페닐포스
NG-10-0272	PMO-파르네실	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	파르네실
NG-10-	PMO	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리틸

[0531]

<u>NG</u>	<u>PMO-X 변형</u>	<u>5'</u>	<u>서열</u>	<u>3'</u>
0102				
NG- 10- 0330	트리메톡시벤조일	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리메톡시벤조일
NG- 10- 0056	PMOplus 5'-pol	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	H
NG- 07- 0064	PMO-3'-트리틸	H- Pip	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리틸
NG- 10- 0382	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리페닐프로피오닐
NG- 10- 0278	PMOpqr	EG3	GGC CAA ACC pTCG GC <sub>p</sub> T pTAC CpTG AAA pT	H
NG- 10- 0210	PMOapn	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	H
NG- 10- 0098	PMOpqr	EG3	GGC CAA ACC *TCG GC*T TAC C*TG AAA *T	H
NG- 10- 0070	PMOapn	EG3	GGC CAA ACC *TCG GC*T TAC C*T G AAA *T	H
NG- 10- 0095	PMOapn	EG3	GGC CAA ACC *TCG GC*T *TAC C*T G AAA *T	H
NG- 10- 0317	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	파르네실

<u>NG</u>	<u>PMO-X 변형</u>	<u>5'</u>	<u>서열</u>	<u>3'</u>
NG- 10- 0477	PMO triMe Gly	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CGC AAA T	트리메틸 글리신
NG- 10- 0133	PMOapn	OH	GGC CAA *ACC *TCG GCT *TAC C'TG AAA *T	H
NG- 10- 0387	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	2-OH, 디페닐아세틸
NG- 10- 0104	PMOguan	EG3	GGC CAA ACC *TCG GCT TAC C'T G AAA T	Δ!
NG- 10- 0420	PMOpplus 메틸	EG3	GGC CAA ACC *TCG GCT TAC C'TG AAA *T	트리틸
NG- 10- 0065	PMOtri	EG3	GGC CAA ACC *TCG GCT TAC C'T G AAA T	H
NG- 10- 0607	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	9-플루오린-카복신
NG- 10- 0060	PMOrp	EG3	GGC CAA ACC *TCG GCT TAC C'T G AAA T	H
NG- 10- 0162	PMO-COCH <sub>2</sub> SH	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	COCH <sub>2</sub> SH
NG- 10- 0328	디페닐아세틸	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	디페니아세틸
NG- 10-	PMOapnPMOtri	OH	GGC CAA *ACC *TCG GCT *TAC C'TG AAA *T	H

<u>NG</u>	<u>PMO-X 변형</u>	<u>5'</u>	<u>서열</u>	<u>3'</u>
0134				
NG- 10- 0386	PMO	DPA	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	5'-디페닐아세틸, 3'- 트리틸
NG- 07- 0064	PMO-3'-트리틸	H- Pip	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리틸
NG- 10- 0059	PMOcp	EG3	GGC CAA ACC *TCG GC*T *TAC C*T G AAA *T	H
NG- 10- 0135	PMOTri	OH	GGC CAA ACC 'TCG GC*T 'TAC C'TG AAA 'T	H
NG- 10- 0168	PMOapn PMOcys	OH	GGC CAA ACC *TCG GC*T *TAC C*TG AAA **T	H
NG- 10- 0113	PMOapnPMOTri	OH	GGC CAA ACC *TCG GC*T *TAC C*TG AAA *T	H
NG- 10- 0385	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	디페닐포스포틸
NG- 10- 0279	PMO	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	게라닐
NG- 10- 0055	PMOplus <i>disp</i>	EG3	GGC C'AA 'ACC 'TCG GC*T TAC C'TG AAA T	H
NG- 10- 0105	PMOsucc	EG3	GGC CAA ACC *TCG GC*T TAC C*T G AAA T	Δ'
NG-	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC *TCG GC*T TAC C*T G AAA T	H

<u>NG</u>	<u>PMO-X 변형</u>	<u>5'</u>	<u>서열</u>	<u>3'</u>
10-0805			TAC C <sup>PYRONE</sup> TG AAA T <sup>PYRONE</sup> T	
NG-10-0811	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GC <sup>PYRONE</sup> T TAC C <sup>PYRONE</sup> TG AAA T <sup>PYRONE</sup> T	H
NG-10-0057	PMOplus 3'-pol	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC C'TG AAA T	H
NG-10-0625	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	5- 카복시플루오레세인
NG-10-0804	다이머	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	다이머화됨
NG-10-0066	PMOTri	EG3	GGC CAA ACC TCG GC'T TAC C'T G AAA T	H
NG-10-0280	PMO 디설파이드	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SSPy
NG-10-0212	PMOapn	EG3	GGC CaAaA aACC aTCG GCaT aTaAC CaTG aAaAaA aT	H
NG-10-0156	3'-MeO 트리틸	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	MeO-Tr
NG-10-0062	PMOhex	EG3	GGC CAA ACC TCG GC'T TAC C'T G AAA T	H
NG-11-0043	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	구아니디닐

<u>NG</u>	<u>PMO-X 변형</u>	<u>5'</u>	<u>서열</u>	<u>3'</u>
<b>NG-10-0206</b>	PMOplus	EG3	GGC C+A+A +ACC +TCG GC+T +T+AC C+TG +A+A+A +T	H
<b>NG-10-0383</b>	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	트리페닐아세틸
<b>NG-10-0325</b>	트리페닐포스	OH	GGC CAA ACC FCG GCF TAC CFG AAA T	트리페닐포스
<b>NG-10-0272</b>	PMO-파르네실	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	파르네실

\*다이머화됨은 올리고머가 2 개의 모노머의 3' 말단을 결합시키는 결합에 의해서 다이머화된 것을 나타낸다. 예를 들어, 결합은  $-COCH_2CH_2-S-CH(\text{CONH}_2)CH_2-CO-NHCH_2CH_2CO-$  또는 어떤 다른 적합한 결합일 수 있다.

[0536]

#### 11. 항박테리아 적용

[0538]

본 발명은 또 다른 구체예에서, 포유동물 숙주에서 박테리아 감염을 치료하는데 사용하기 위한 항박테리아 앤티센스 올리고머를 포함한다. 일부 구체예에서, 올리고머는 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하며, 10-20 개 사이의 염기, 및 아실 담체 단백질 (acpP), 기라제 A 서브유니트 (gyrA), ftsZ, 리보솜 단백질 S10 (rpsJ), leuD, mgtC, pirG, pcaA, 및 cma1 유전자에 대한 감염성 박테리아의 mRNA의 표적 부분에 대해서 상보적인 적어도 10개의 인접한 염기의 표적화 서열을 가지며, 여기에서 표적 부분은 박테리아 mRNA의 해독 출발 코돈, 또는 해독 출발 코돈의 상류 (즉, 5') 또는 하류 (즉, 3') 방향으로 20 염기 이내의 서열을 함유하고, 여기에서 올리고머는 mRNA에 결합하여 헤테로듀플렉스를 형성함으로써 박테리아의 복제를 억제한다.

[0539]

또한 올리고머의 컨주케이트가 포함되며, 여기에서 올리고머에 컨주케이트된 것은 웨타이드의 카복실 말단에서 올리고뉴클레오타이드에 커플링되고, 바람직하게는 웨타이드 서열 (RXX)<sub>n</sub>- 또는 (RXR)<sub>n</sub> (여기에서, X는 알라닌, β-알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 세린, 글리신, 트레오닌, 페닐알라닌, 트립토판, 및 6-아미노헥사노산으로 구성된 그룹으로부터 선택된 비하전된 아미노산이고, n은 2 내지 4이다)로 표시되는 아르기닌-풍부 담체 단백질이다. 예시적인 구체예에서, 담체 웨타이드는 서열 (RFF)<sub>n</sub>, (RFF)<sub>n</sub>R, 또는 (RXR)<sub>n</sub>을 가지며, 여기에서 n은 2 내지 4이다. 담체 웨타이드는 그의 C-말단에서 링커 AhxβA1a (여기에서, Ahx는 6-아미노헥사노산이고, βA1a는 β-알라닌이다)와 같은 1- 또는 2-아미노산 링커를 통해서 올리고머의 한쪽 말단, 예를 들어, 3' 또는 5' 말단에 결합될 수 있다. 담체 웨타이드는 올리고뉴클레오타이드의 3' 또는 5'-말단에 컨주케이트되는 경우에, 8-시간의 기간에 걸친 시험관내 박테리아 성장의 억제에 대해서 측정된 것으로서 적어도 10, 바람직하게는 10<sup>2</sup> 또는 10<sup>3</sup>의 인수만큼 올리고뉴클레오타이드의 항-박테리아 활성을 증진시키는 능력을 갖는다. 바람직한 구체예에서, 담체 웨타이드는 서열 (RAhxR)<sub>n</sub>-을 가지며, 여기에서 n은 4이다.

[0540]

#### 12. 핵 호르몬 수용체를 변조시킬

[0541] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 주로 핵 호르몬 수용체에 대해 코드화한 전-mRNA의 스플리싱을 조절하거나 변화시킴으로써, 핵 호르몬 수용체 슈퍼페밀리 (NHRSF)로부터 핵 호르몬 수용체 (NHR)의 발현을 변조시키는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 특별한 NHRs의 예로는 글루코코르티코이드 수용체 (GR), 프로게스테론 수용체 (PR) 및 안드로겐 수용체 (AR)가 포함된다. 특정의 구체예에서, 본 발명에 기술된 안티센스 올리고뉴클레오타이드 및 약제는 리간드-독립적이거나 그 밖의 다른 선택된 형태의 수용체의 증가된 발현, 및 그들의 불활성 형태의 감소된 발현을 초래한다.

[0542] 본 발명의 구체예는 올리고머 및 올리고뉴클레오타이드 유사체, 예를 들어, 본 발명에 기술된 다른 NHR-영역 중에서 NHRSF 전-mRNA의 "리간드-결합 엑손" 및/또는 인접한 인트론을 포함한 NHR의 선택된 엑손 또는 인트론 서열에 대해서 상보적인, 적어도 하나의 타입 (B)의 결합 및/또는 적어도 하나의 말단 변형 (예를 들어, 적어도 하나의 R<sup>20</sup>) 또는 이들의 조합을 포함하는 올리고머가 포함된다. 용어 "리간드-결합 엑손"은 야생형 mRNA에 존재하지만, 일차 전사물 ("전-mRNA")로부터는 제거되어 mRNA의 리간드-독립적 형태를 만드는 엑손(들)을 나타낸다. 특정의 구체예에서, 상보성은 스플리스 부위에 걸쳐있는 전-mRNA의 서열 내의 서열에 근거할 수 있으며, 엑손-인트론 결합부에 걸쳐있는 서열에 근거한 상보성을 포함하나, 이것으로 제한되지 않는다. 다른 구체예에서, 상보성은 단독으로 인트론의 서열에 근거할 수 있다. 다른 구체예에서, 상보성은 단독으로 엑손의 서열에 근거할 수 있다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 미국 출원 제13/046,356호].

[0543] NHR 변조물질은 그의 발현이 NHRs에 의해서 자극되거나 억제된 유전자의 발현 생성물과 연관된 질환을 포함한 NHR-연관된 질환을 치료하는데 유용할 수 있다. 예를 들어, AP-1 및/또는 NF-κB를 억제하는 NHRs의 변조물질은 본 발명에 기술되고 본 기술분야에서 공지된 다른 것들 중에서 특히 골관절염, 류마티스성 관절염, 다발성 경화증, 천식, 염증성 장질환, 이식 거부반응, 및 이식편 대 숙주 질환과 같은 염증성 및 면역 질환 및 장애의 치료에 유용할 수 있다. 전사활성화에 길항하는 화합물은 다른 것들 중에서도 특히 당뇨병, 골다공증 및 녹내장과 같은 글루코코르티코이드의 증가된 레벨과 연관된 대사성 질환을 치료하는데 유용할 수 있다. 또한, 전사활성화를 작동시키는 화합물은 애디슨병 (Addison's disease) 등과 같은 글루코코르티코이드 결핍과 연관된 대사성 질환을 치료하는데 유용할 수 있다.

[0544] 본 발명의 구체예는 세포를 하나의 서브유니트의 모르폴리노 질소를 인접한 서브유니트의 5' 엑소사이클릭 탄소에 결합시키는 인-함유 서브유니트간 결합에 의해서 결합된 모르폴리노 서브유니트로 구성된 안티센스 올리고머 (여기에서, 올리고뉴클레오타이드는 10-40 개 사이의 염기, 및 NHR의 전-mRNA 전사물인 표적 서열에 대해서 상보적인 적어도 10개의 인접한 염기의 표적화 서열을 함유한다)와 접촉시킴으로써 NHR의 활성 또는 발현을 변조시키는 것을 포함하여, 세포에서 핵 NHR 활성 또는 발현을 변조시키는 방법을 포함한다. 특정의 구체예에서, 올리고머는 전-mRNA 전사물의 스플리싱을 변화시키며, NHR의 변이체의 발현을 증가시킨다. 일부 구체예에서, 올리고머는 전-mRNA 전사물의 하나 또는 그 이상의 엑손의 완전하거나 부분적인 엑손-스키핑을 유도한다. 특정의 구체예에서, 상기의 하나 또는 그 이상의 엑손은 NHR의 리간드-결합 영역의 적어도 일부분을 코드화하고, 상기의 변이체는 NHR의 리간드 독립적 형태이다. 특정의 구체예에서, 상기의 하나 또는 그 이상의 엑손은 NHR의 전사활성화 영역의 적어도 일부분을 코드화하고, 상기의 변이체는 감소된 전사 활성화 활성을 갖는다. 특정의 구체예에서, 상기의 하나 또는 그 이상의 엑손은 NHR의 DNA-결합 영역의 적어도 일부분을 코드화한다. 특정의 구체예에서, 상기의 하나 또는 그 이상의 엑손은 NHR의 N-말단 활성화 영역의 적어도 일부분을 코드화한다. 특정의 구체예에서, 상기의 하나 또는 그 이상의 엑손은 NHR의 카복시-말단 영역의 적어도 일부분을 코드화한다. 특정한 구체예에서, 상기 변이체는 NF-KB, AP-1, 또는 둘 다에 결합하며, 그들의 전염증성 표적 유전자 중의 하나 또는 그 이상의 전사를 감소시킨다.

[0545] 특정의 구체예에서, 올리고머는 NHR의 전사활성화 전사 활성을 작동시킨다. 다른 구체예에서, 올리고머는 NHR의 전사활성화 전사 활성에 길항한다. 특정의 구체예에서, 올리고머는 NHR의 전사억제 (transrepression) 활성을 작동시킨다. 다른 구체예에서, 올리고머는 NHR의 전사억제 활성에 길항한다. 특정한 구체예에서, 올리고머는 NHR의 전사활성화 전사 활성에 길항하고, NHR의 전사억제 활성을 작동시킨다 [참조: 예를 들어, 본 발명에 참고로 포함된 미국 출원 제61/313,652호].

#### 0547] 실시예

[0548] 다른 식으로 나타내지 않는 한, 모든 화학물질은 Sigma-Aldrich-Fluka로부터 입수하였다. 벤조일 아데노신, 벤조일 시티딘, 및 폐닐아세틸 구아노신은 Carbosynth Limited, UK로부터 입수하였다.

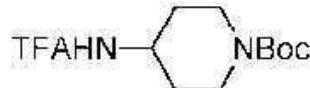
[0549] PMO, PMO+, PPMO 및 본 발명에 기술된 바와 같은 추가의 결합 변형을 함유하는 PMO의 합성은 본 기술분야에서

공지되고, 계류 중인 미국 출원 제12/271,036 및 12/271,040호 및 PCT 공개 제WO/2009/064471호 (이들은 이에 의해서 온전히 참고로 포함된다)에 기술된 방법을 사용하여 수행되었다.

[0550] 3' 트리틸 변형을 갖는 PMO는 본질적으로, 탈트리틸화 단계를 누락시킨 것을 제외하고는 PCT 공개 제WO/2009/064471호에 기술된 바와 같이 합성한다.

#### 실시예 1

[0552] *tert*-부틸 4-(2,2,2-트리플루오르아세트아미도)피페리딘-1-카복실레이트

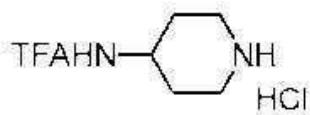


[0553]

[0554] DCM (250 mL) 중의 *tert*-부틸 4-아미노피페리딘-1-카복실레이트 (48.7 g, 0.243 mol) 및 DIPEA (130 mL, 0.749 mol)의 혼탁액에 교반하면서 에틸 트리플루오로아세테이트 (35.6 mL, 0.300 mol)를 적가하였다. 30 분 후에, 용액을 시트르산 용액 (200 mL × 3, 10% w/v *aq*) 및 중탄산나트륨 용액 (200 mL × 3, *conc aq*)으로 세척하고, 건조시키고 ( $MgSO_4$ ), 실리카 (24 g)를 통해서 여과하였다. 실리카를 DCM으로 세척하고, 용출액을 합하여 부분적으로 농축시키고 (100 mL), 다음 단계에서 직접 사용하였다.  $C_{12}H_{19}F_3N_2O_3$ 에 대한 APCI/MS 계산치 296.1, 실측치  $m/z = 294.9$  ( $M-1$ ).

#### 실시예 2

[0556] 2,2,2-트리플루오로-N-(피페리딘-4-일)아세트아미드 하이드로클로라이드

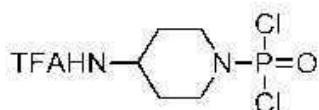


[0557]

[0558] 실시예 1의 표제 화합물의 교반된 DCM 용액 (100 mL)에 1,4-디옥산 (4 M) 중의 염화수소의 용액 (250 mL, 1.0 mol)을 적가하였다. 교반을 6 시간 동안 계속한 다음에, 혼탁액을 여과하고, 고체를 디에틸 에테르 (500 mL)로 세척하여 백색 고체로서 표제 화합물 (54.2 g, 96% 수율)을 수득하였다.  $C_7H_{11}F_3N_2O$ 에 대한 APCI/MS 계산치 196.1, 실측치  $m/z = 196.9$  ( $M+1$ ).

#### 실시예 3

[0560] (4-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)피페리딘-1-일)포스포닉 디클로라이드



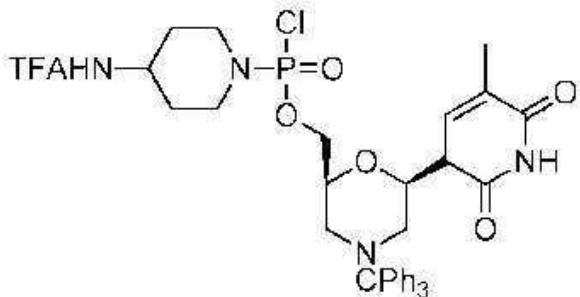
[0561]

[0562] DCM (250 mL) 중의 실시예 2의 표제 화합물 (54.2 g, 0.233 mol)의 냉각된 (얼음/물욕) 혼탁액에 옥시염화인 (23.9 mL, 0.256 mol) 및 DIPEA (121.7 mL, 0.699 mol)를 적가하고, 교반하였다. 15 분 후에, 욕을 치우고, 교반을 계속하면서 혼합물을 주위 온도로 가온하였다. 1 시간 후에, 혼합물을 부분적으로 농축시키고 (100 mL), 혼탁액을 여과하고, 고체를 디에틸 에테르로 세척하여 백색 고체로서 표제 화합물 (43.8 g, 60% 수율)을 수득하였다. 용출액을 부분적으로 농축시키고 (100 mL), 생성된 혼탁액을 여과하고, 고체를 디에틸 에테르로 세척하여 추가의 표제 화합물 (6.5 g, 9% 수율)을 수득하였다. 1-(4-니트로페닐)피페라진 유도체  $C_{17}H_{22}ClF_3N_5O_4P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 483.1, 실측치  $m/z = 482.1$  ( $M-1$ ).

#### 실시예 4

[0564] ((2S,6S)-6-((R)-5-메틸-2,6-디옥소-1,2,3,6-테트라하이드로피리딘-3-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 (4-

## (2,2,2-트리플루오로아세트아미도)피페리딘-1-일)포스포노클로리데이트



[0565]

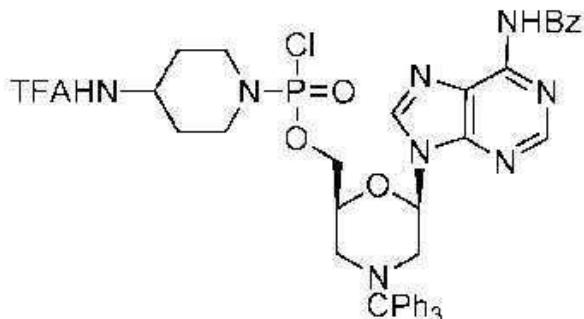
DCM (100 mL) 중의 실시예 3의 표제 화합물 (29.2 g, 93.3 mmol)의 교반된 냉각 (얼음/물욕) 용액에 Mo(Tr)T# (22.6 g, 46.7 mmol), 2,6-루티딘 (21.7 mL, 187 mmol), 및 4-(디메틸아미노)피리딘 (1.14 g, 9.33 mmol)의 DCM 용액 (100 mL)을 10 분에 걸쳐서 적가하였다. 옥을 주위 온도로 가온하였다. 15 시간 후에, 용액을 시트르산 용액 (200 mL×3, 10% w/v aq)으로 세척하고, 건조시키고 (MgSO<sub>4</sub>), 농축시키고, 조 오일을 직접 칼럼 상에 부하시켰다. 크로마토그래피 [SiO<sub>2</sub> 칼럼 (120 g), 헥산/EtOAc 용출제 (구배 1:1 내지 0:1), 3 회 반복] 분획을 농축시켜 백색 고체로서 표제 화합물 (27.2 g, 77% 수율)을 수득하였다. 1-(4-니트로페닐)피페라진 유도체 C<sub>46</sub>H<sub>50</sub>F<sub>3</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P에 대한 ESI/MS 계산치 930.3, 실측치 m/z = 929.5 (M-1).

[0567]

## 실시예 5

[0568]

((2S,6R)-6-(6-벤즈아미도-9H-푸린-9-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 (4-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)피페리딘-1-일)포스포노클로리데이트



[0569]

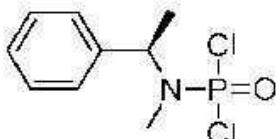
표제 화합물은 실시예 4에 기술된 것과 유사한 방식으로 합성하여 백색 고체로서 표제 화합물 (15.4 g, 66% 수율)을 수득하였다. 1-(4-니트로페닐)피페라진 유도체 C<sub>53</sub>H<sub>53</sub>F<sub>3</sub>N<sub>11</sub>O<sub>7</sub>P에 대한 ESI/MS 계산치 1043.4, 실측치 m/z = 1042.5 (M-1).

[0571]

## 실시예 6

[0572]

(R)-메틸(1-페닐에틸)포스포르아미딕 디클로라이드



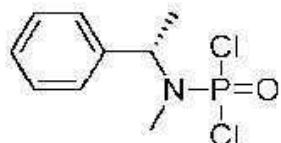
[0573]

DCM (100 mL) 중의 옥시염화인 (2.83 mL, 30.3 mmol)의 냉각 (얼음/물욕) 용액에 2,6-루티딘 (7.06 mL, 60.6 mmol) 및 (R)-(+)-N,a-디메틸벤질아민 (3.73 g, 27.6 mmol)의 DCM 용액을 교반하면서 순차적으로 적가하였다. 5 분 후에, 옥을 치우고, 반응 혼합물을 주위 온도로 가온하였다. 1 시간 후에, 반응 용액을 시트르산 용액 (50 mL×3, 10% w/v aq)으로 세척하고, 건조시키고 (MgSO<sub>4</sub>), SiO<sub>2</sub>를 통해서 여과하고, 농축시켜 백색 포ーム으로

서 표제 화합물 (3.80 g)을 제공하였다. 1-(4-나트로페닐)피페라진 유도체  $C_{19}H_{25}N_4O_4P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 404.2, 실측치  $m/z = 403.1$  ( $M-1$ ).

## [0575] 실시예 7

## [0576] (S)-메틸(1-페닐에틸)포스포르아미드 디클로라이드

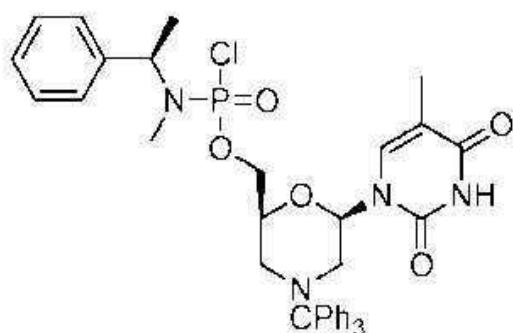


## [0577]

표제 화합물은 실시예 6에 기술된 것과 유사한 방식으로 합성하여 백색 포ーム으로서 표제 화합물 (3.95 g)을 수득하였다. 1-(4-나트로페닐)피페라진 유도체  $C_{19}H_{25}N_4O_4P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 404.2, 실측치  $m/z = 403.1$  ( $M-1$ ).

## [0579] 실시예 8

## [0580] ((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로파리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 메틸((R)-1-페닐에틸)포스포르아미도클로리데이트

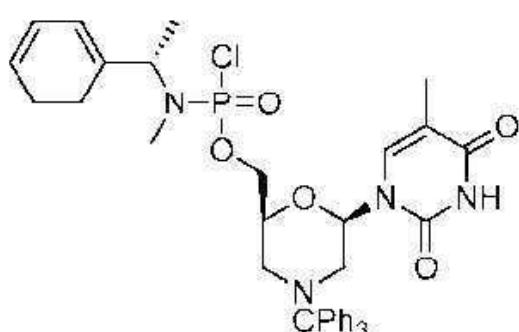


## [0581]

표제 화합물은 실시예 4에 기술된 것과 유사한 방식으로 합성하여 백색 고체로서 표제 클로로포스포르아미데이트 (4.46 g, 28% 수율)를 수득하였다.  $C_{38}H_40ClN_4O_5P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 698.2, 실측치  $m/z = 697.3$  ( $M-1$ ).

## [0583] 실시예 9

## [0584] ((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로파리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 메틸((S)-1-페닐에틸)포스포르아미도클로리데이트



## [0585]

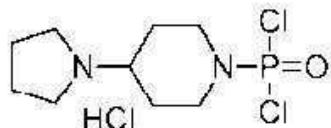
표제 화합물은 실시예 4에 기술된 것과 유사한 방식으로 합성하여 백색 고체로서 표제 클로로포스포르아미데이트 (4.65 g, 23% 수율)를 수득하였다.  $C_{38}H_40ClN_4O_5P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 698.2, 실측치  $m/z = 697.3$  ( $M-1$ ).

[0587]

실시예 10

[0588]

(4-(피롤리딘-1-일)피페리딘-1-일)포스포닉 디클로라이드 하이드로클로라이드



[0589]

[0590]

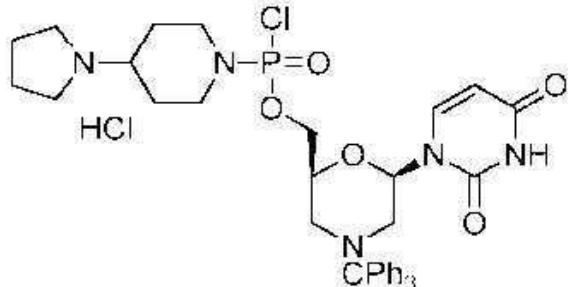
DCM (30 mL) 중의 옥시염화인 (5.70 mL, 55.6 mmol)의 냉각 (얼음/물욕) 용액에 2,6-루티딘 (19.4 mL, 167 mmol) 및 4-(1-피롤리디닐)-피페리딘 (8.58 g, 55.6 mmol)의 DCM 용액 (30 mL)을 첨가하고, 1 시간 동안 교반하였다. 혼탁액을 여과하고, 고체를 과량의 디에틸 에테르로 세척하여 백색 고체로서 표제 피롤리딘 (17.7 g, 91% 수율)을 수득하였다. 1-(4-나트로페닐)피페라진 유도체  $C_{19}H_{30}N_5O_4P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 423.2, 실측치  $m/z = 422.2$  ( $M-1$ ).

[0591]

실시예 11

[0592]

((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로파리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 (4-(피롤리딘-1-일)피페리딘-1-일)포스포노클로리테이트 하이드로클로라이드



[0593]

[0594]

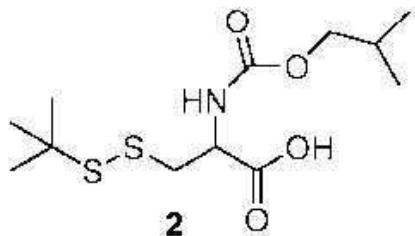
DCM (100 mL) 중의 디클로로포스포로아미데이트 8 (17.7 g, 50.6 mmol)의 교반된 냉각 (얼음/물욕) 용액에 Mo(Tr)T# (24.5 g, 50.6 mmol), 2,6-루티딘 (17.7 mL, 152 mmol), 및 1-메틸이미다졸 (0.401 mL, 5.06 mmol)의 DCM 용액 (100 mL)을 10 분에 걸쳐서 적가하였다. 혼탁액을 교반함에 따라서 옥은 주위 온도로 가온되도록 하였다. 6 시간 후에, 혼탁액을 디에틸 에테르 (1 L) 상에 붓고, 15 분 동안 교반하고, 여과하고, 고체를 추가의 에테르로 세척하여 백색 고체 (45.4 g)를 수득하였다. 조생성물을 크로마토그래피 [ $\text{SiO}_2$  칼럼 (120 그램), DCM/MeOH 용출제 (구배 1:0 내지 6:4)]에 의해서 정제하고, 분획들을 합하여 디에틸 에테르 (2.5 L) 상에 붓고, 15 분 동안 교반하고, 여과하고, 생성된 고체를 추가의 에테르로 세척하여 백색 고체로서 표제 화합물 (23.1 g, 60% 수율)을 수득하였다. 1-(4-나트로페닐)피페라진 유도체  $C_{48}H_{57}N_8O_7P$ 에 대한 ESI/MS 계산치 888.4, 실측치  $m/z = 887.6$  ( $M-1$ ).

[0595]

실시예 12

[0596]

3-(tert-부틸디설파닐)-2-(이소부톡시카보닐아미노)프로파노산



[0597]

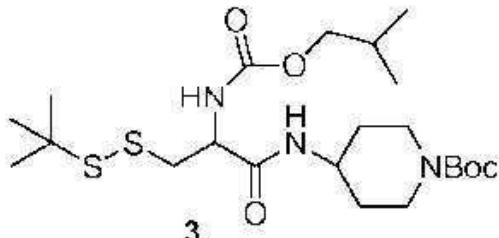
[0598]

$\text{CH}_3\text{CN}$  (40 mL) 중의 S-*tert*-부틸머캅토-L-시스테인 (10 g, 47.8 mmol)에  $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL) 중의  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (16.5 g, 119.5 mmol)를 첨가하였다. 15 분 동안 교반한 후에, 이소-부틸 클로로포르메이트 (9.4 mL, 72 mmol)를 서서히

주입하였다. 반응은 3 시간 동안 진행하도록 하였다. 백색 고체를 셀라이트 (Celite)를 통해서 여과하고; 여액을 농축시켜  $\text{CH}_3\text{CN}$ 을 제거하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (200 mL)에 용해시키고, 1 N HCl (40 mL  $\times$  3), 염수 (40 mL  $\times$  1)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시켰다. 크로마토그래피 (5% MeOH/DCM)한 후에 목적하는 생성물 (2)를 수득하였다.

## [0599] 실시예 13

## [0600] tert-부틸 4-(3-(tert-부틸디설파닐)-2-(이소부톡시카보닐아미노)프로판아미노)피페리딘-1-카복실레이트



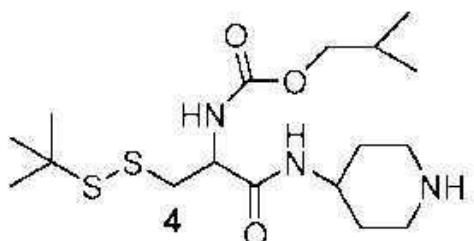
[0601]

DCM (50 mL) 중의 산 (실시예 12로부터의 화합물 2, 6.98 g, 22.6 mmol)에 HATU (8.58 g, 22.6 mmol)를 첨가하였다. 30 분 후에, 후니그 (Hunig) 염기 (4.71 mL, 27.1 mmol) 및 1-Boc-4-아미노 피페리딘 (5.43 g, 27.1 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 반응액은 RT에서 추가로 3 시간 동안 계속 교반하였다. DMF를 고진공에서 제거하고, 조잔류물을 EtAc (300 mL)에 용해시키고,  $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL  $\times$  3)로 세척하였다. ISCO 정제 (5% MeOH/DCM) 후에 최종 생성물 (3)을 수득하였다.

[0603]

## 실시예 14

## [0604] 이소부틸 3-(tert-부틸디설파닐)-1-옥소-1-(피페리딘-4-일아미노)프로판-2-일카바메이트



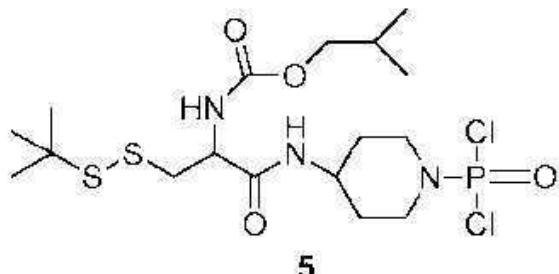
[0605]

실시예 12에서 제조된 화합물 3 (7.085 g, 18.12 mmol)에 30 mL의 4 M HCl/디옥산을 첨가하였다. 반응은 RT에서 2 시간 후에 완료되었다. HCl 염 (4)은 더 정제하지 않고 다음 단계를 위해서 사용되었다.

[0607]

## 실시예 15

## [0608] 이소부틸 3-(tert-부틸디설파닐)-1-(1-(디클로로포스포릴)피페리딘-4-일아미노)-1-옥소프로판-2-일카바메이트



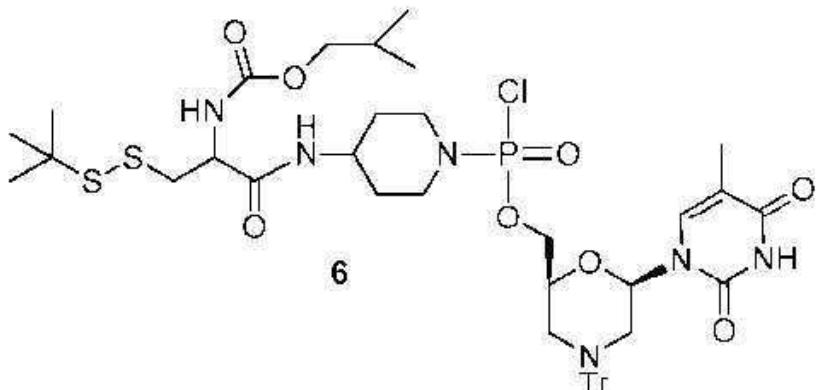
[0609]

-78°C에서 DCM (200 mL) 중의 실시예 15에서 제조된 화합물 4 (7.746 g, 18.12 mmol)에 Ar 하에서  $\text{POCl}_3$  (1.69 mL, 18.12 mmol)를 서서히 주입하고, 이어서  $\text{Et}_3\text{N}$  (7.58 mL, 54.36 mmol)을 첨가하였다. 반응액은 RT에서 5 시간 동안 교반하고, 농축시켜 과량의 염기 및 용매를 제거하였다. ISCO 정제 (50% EtAc/헥산) 후에 생성물 (5)

를 백색 고체로서 수득하였다.

[0611] 실시예 16

이소부틸 3-(tert-부틸디설파닐)-1-(1-(클로로(((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로페리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메톡시)포스포릴)피페리딘-4-일아미노)-1-옥소프로판-2-일카바메이트

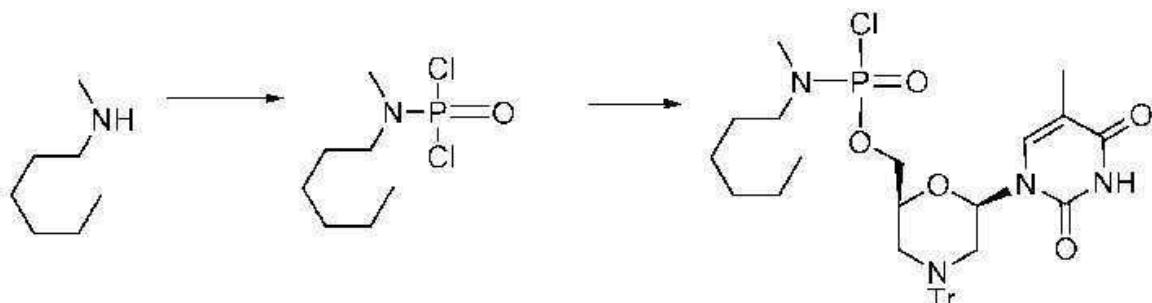


[0613]

[0614] 0°C에서 DCM (100 mL) 중의 1-((2R,6S)-6-(하이드록시메틸)-4-트리틸모르폴린-2-일)-5-메틸페리미딘-2,4(1H,3H)-디온 (moT(Tr)) (5.576 g, 10.98 mmol)에 루티딘 (1.92 mL, 16.47 mmol) 및 DMAP (669 mg, 5.5 mmol)를 첨가하고, 이어서 4 (6.13 g, 12.08 mmol)를 첨가하였다. 반응액을 RT에서 18 시간 동안 교반 하여 두었다. ISCO 정제 (50% EtAc/헥산) 후에 목적하는 생성물 (6)을 수득하였다.

[0615] 실시예 17

[0616] ((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로페리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 헥실(메틸)포스포르아미도클로리데이트



[0617]

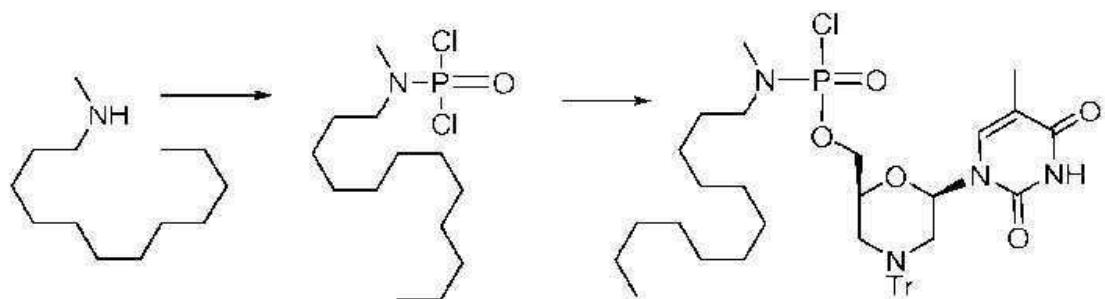
[0618] N-하이드록실메틸아민 (4.85 mL, 32 mmol)의 DCM (80 mL) 용액을 N<sub>2</sub> 하에서 -78°C로 냉각시켰다. DCM (100 mL) 중의 포스포릴 클로라이드 (2.98 mL, 32 mmol)의 용액에 이어서 DCM (100 mL) 중의 Et<sub>3</sub>N (4.46 mL, 32 mmol)의 용액을 서서히 첨가하였다. 교반을 계속하면서 반응액을 밤새 RT로 가온하였다. ISCO 정제 (20% EtAc/헥산) 후에 목적하는 생성물 (2)을 수득하였다.

[0619]

0°C에서 DCM (100 mL) 중의 moT(Tr) (5.10 g, 10.54 mmol)에 루티딘 (3.68 mL, 31.6 mmol) 및 DMAP (642 mg, 5.27 mmol)를 첨가하고, 이어서 1 (4.89 g, 21.08 mmol)을 첨가하였다. 반응액을 RT에서 18 시간 동안 교반 하여 두었다. ISCO 정제 (50% EtOAc/헥산) 후에 목적하는 생성물 (2)를 수득하였다.

[0620] 실시예 18

[0621] ((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로페리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 도데실(메틸)포스포르아미도클로리데이트



[0622]

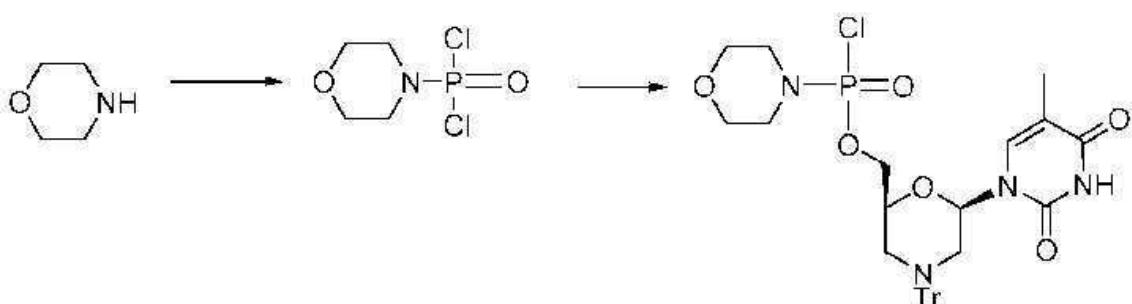
표제 화합물은 실시예 6 및 8에 기술된 일반적 절차에 따라 제조하였다.

[0624]

실시예 19

[0625]

((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로파리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 모르폴리노포스포노클로리데이트



[0626]

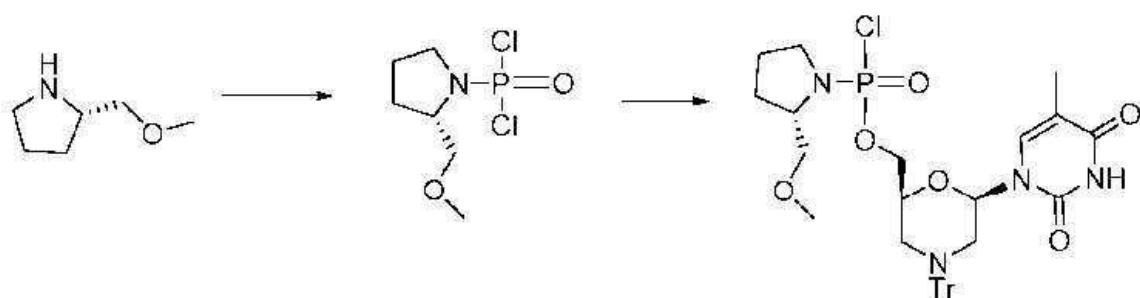
표제 화합물은 실시예 6 및 8에 기술된 일반적 절차에 따라 제조하였다.

[0628]

실시예 20

[0629]

((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로파리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 (S)-2-(메톡시메틸)피롤리딘-1-일포스포노클로리데이트



[0630]

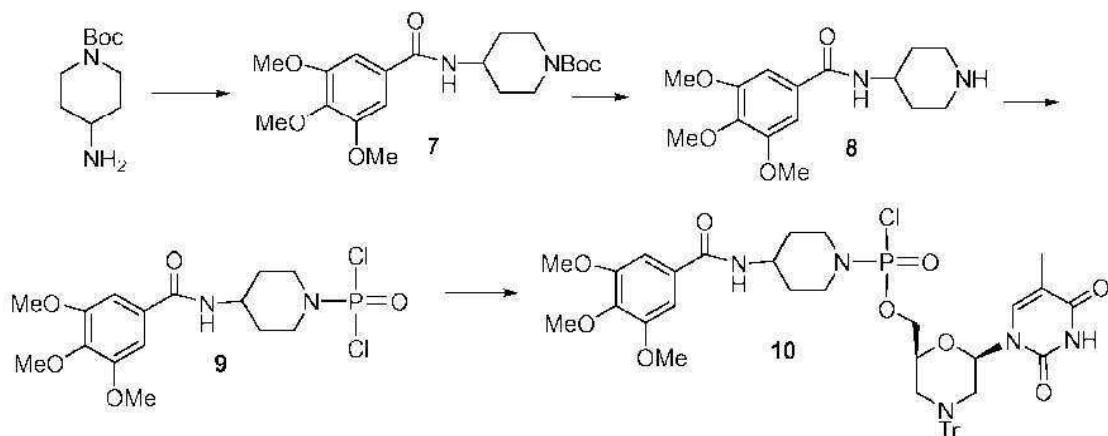
표제 화합물은 실시예 6 및 8에 기술된 일반적 절차에 따라 제조하였다.

[0632]

실시예 21

[0633]

((2S,6R)-6-(5-메틸-2,4-디옥소-3,4-디하이드로파리미딘-1(2H)-일)-4-트리틸모르폴린-2-일)메틸 4-(3,4,5-트리메톡시벤즈아미도)피페리딘-1-일포스포노클로리데이트



[0634]

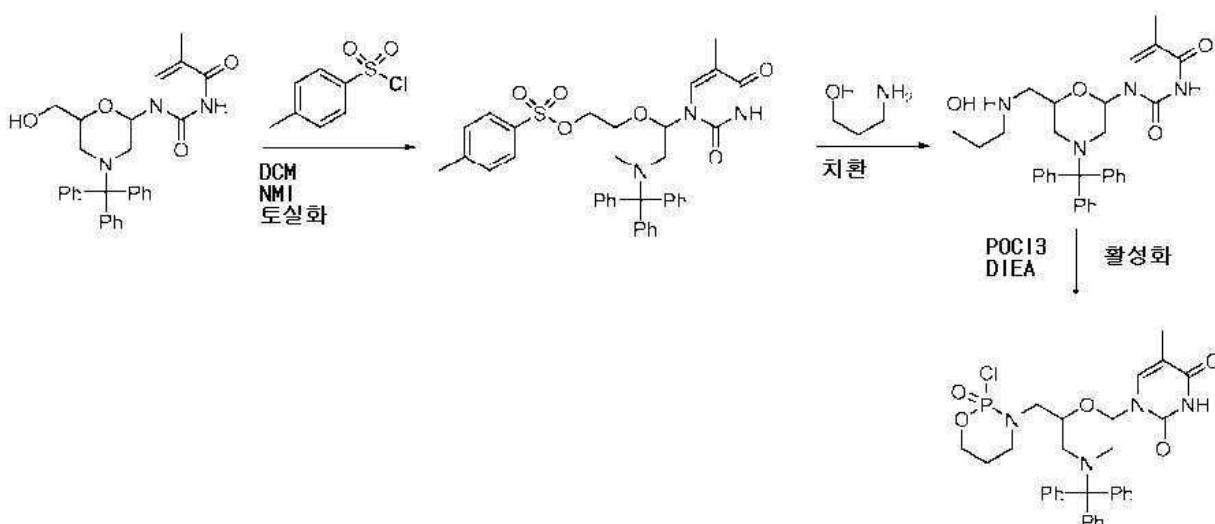
[0635] DCM (20 mL) 중의 1-Boc-4-페페리딘 (1 g, 5 mmol)에 후니그 염기 (1.74 mL, 10 mmol)를 첨가하고, 이어서 3,4,5-트리메톡시벤조일 클로라이드 (1.38 g, 6 mmol)를 첨가하였다. 반응을 RT에서 3 시간 동안 수행하고, 농축시켜 용매 및 과량의 염기를 제거하였다. 잔류물을 EtAc (100 mL)에 용해시키고, 0.05 N HCl ( $3 \times 15$  mL), 포화 NaHCO<sub>3</sub> ( $2 \times 15$  mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시켰다. ISCO 정제 (5% MeOH/DCM) 후에 생성물 (1)을 수득하였다.

[0636] 7에 15 mL의 4 N HCl/디옥산을 첨가하고, 4 시간 후에 반응을 종결시켰다. 8은 백색 고체로서 수득되었다.

[0637] 8 (1.23 g, 4.18 mmol)의 DCM (20 mL) 용액을 N<sub>2</sub> 하에서 -78°C로 냉각시켰다. DCM (2 mL) 중의 포스포릴 클로라이드 (0.39 mL, 4.18 mmol)의 용액에 이어서 DCM (2 mL) 중의 Et<sub>3</sub>N (0.583 mL, 4.18 mmol)의 용액을 서서히 첨가하였다. 교반을 계속하면서 반응액을 밤새 RT로 가온하였다. ISCO 정제 (50% EtAc/헥산) 후에 목적하는 생성물 (9)을 수득하였다.

[0638] 0°C에서 DCM (20 mL) 중의 moT(Tr) (1.933 g, 4.0 mmol)에 루티딘 (0.93 mL, 8 mmol) 및 DMAP (49 mg, 0.4 mmol)를 첨가하고, 이어서 9 (1.647 g, 4 mmol)를 첨가하였다. 반응액을 RT에서 18 시간 동안 교반 하에 두었다. ISCO 정제 (50% EtAc/헥산) 후에 목적하는 생성물 (10)을 수득하였다.

[0639] 실시예 22

[0640] 사이클로포스포르아미드 함유 서브유니트 (<sup>32</sup>T)의 합성

[0641]

[0642] moT 서브유니트 (25 g)를 DCM (175 mL)에 혼탁시키고, NMI (N-메틸이미다졸, 5.94 g, 1.4 eq.)를 첨가하여 맑은 용액을 수득하였다. 토실 클로라이드를 반응 혼합물에 첨가하고, 반응 진행을 완료될 때까지 (약 2 시간) TLC에 의해서 모니터링하였다. 수성 후처리는 0.5 M 시트르산 완충액 (pH=5)에 이어서 염수로 세척함으로써 수행되었다. 유기층을 분리하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시켰다. 용매를 회전증발기로 제거하여 조생성물을

수득하고, 이것은 더 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0643]

상기에서 제조된 mOT 토실레이트를 프로판올아민 (1 g/10 mL)과 혼합시켰다. 그 후, 반응 혼합물을 45°C의 오븐 내에 밤새 배치하고, 이어서 DCM (10 mL)으로 회석하였다. 수성 후처리는 0.5 M 시트르산 완충액 (pH=5)에 이어서 염수로 세척함으로써 수행되었다. 유기층을 분리하여 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시켰다. 용매를 회전증발기에 의해서 제거하여 조생성물을 수득하였다. 조생성물은 NMR 및 HPLC에 의해서 분석되었으며, 더 정제하지 않고 다음 단계를 위해서 준비된 것으로 결정되었다.

[0644]

조생성물을 DCM (2.5 mL DCM/g, 1 eq.)에 용해시키고, DIEA (3 eq.)와 혼합시켰다. 이 용액을 드라이아이스-아세톤으로 냉각시키고, POCl<sub>3</sub>를 적가하였다 (1.5 eq.). 생성된 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 수성 후처리는 0.5 M 시트르산 완충액 (pH=5)에 이어서 염수로 세척함으로써 수행되었다. 유기층을 분리하여 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시켰다. 용매를 회전증발기에 의해 제거하여 황색을 띤 고체로서 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카겔 크로마토그래피 (조생성물/실리카=1 대 5 비, 구배 DCM 내지 50% EA/DCM)에 의해서 정제하고, TLC 분석에 따라 분획을 모았다. 용매를 제거하여 부분입체이성체의 혼합물로서 목적하는 생성물을 수득하였다. 정제된 생성물은 HPLC (NPP 퀸치) 및 NMR (H-1 및 P-31)에 의해서 분석하였다.

[0645]

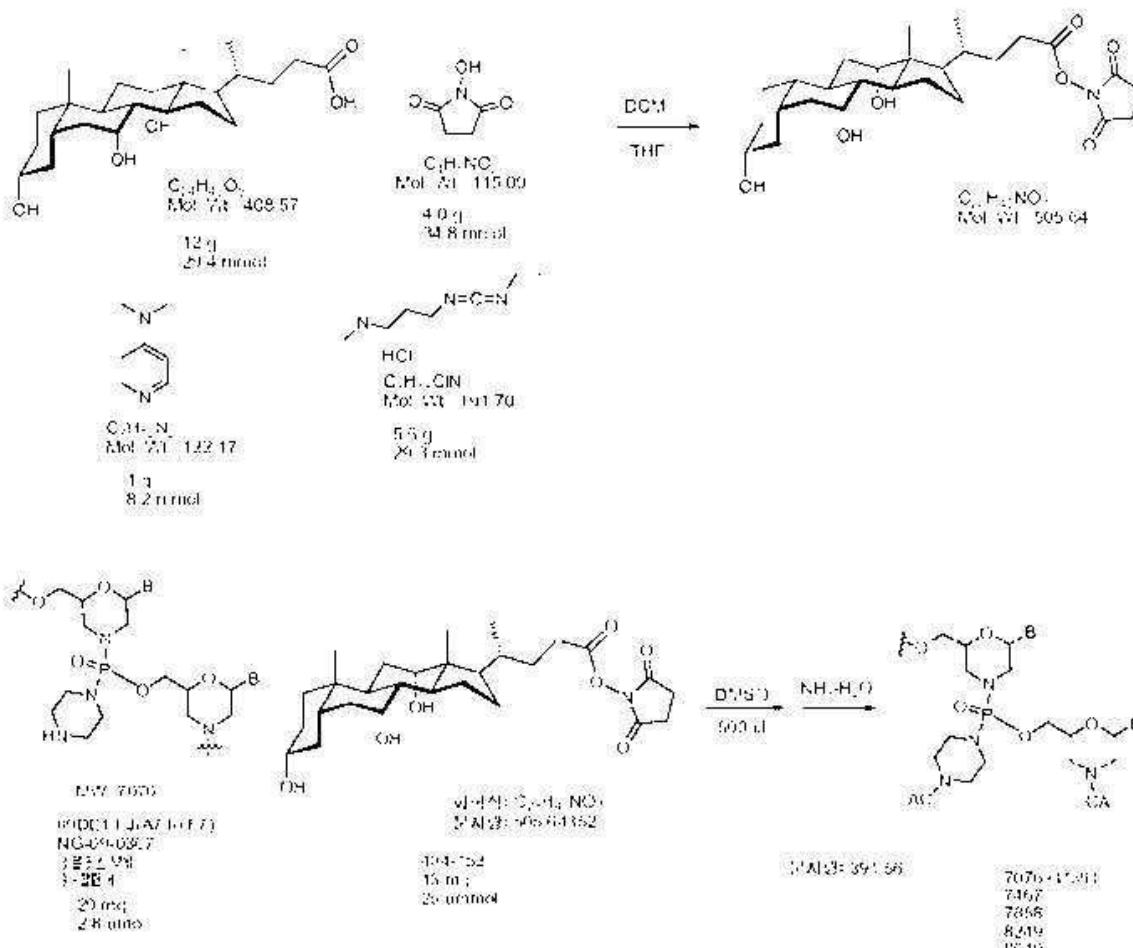
부분입체이성체 혼합물은 다음의 절차에 따라 분리시켰다. 혼합물 (2.6 g)을 DCM에 용해시켰다. 이 샘플을 RediSepRf 칼럼 (Teledyne Isco에 의해서 제조된 80 g 순상 (normal phase)) 상에 부하시키고, 10% EA/DCM 내지 50% EA/DCM로 20 분에 걸쳐서 용출시켰다. 분획들을 수집하여 TLC에 의해서 분석하였다. TLC 분석에 따라 분획들을 수집하고, 용매를 실온에서 회전증발기에 의해서 제거하였다. 모아진 분획들의 부분입체이성체 비는 P-31 NMR 및 NPP-TFA 분석에 의해서 결정되었다. 필요하다면, 상기의 절차를 부분입체이성체 비가 97%에 도달할 때까지 반복하였다.

[0646]

### 실시예 23

[0647]

### PM0plus의 포괄적 콜린산 변형

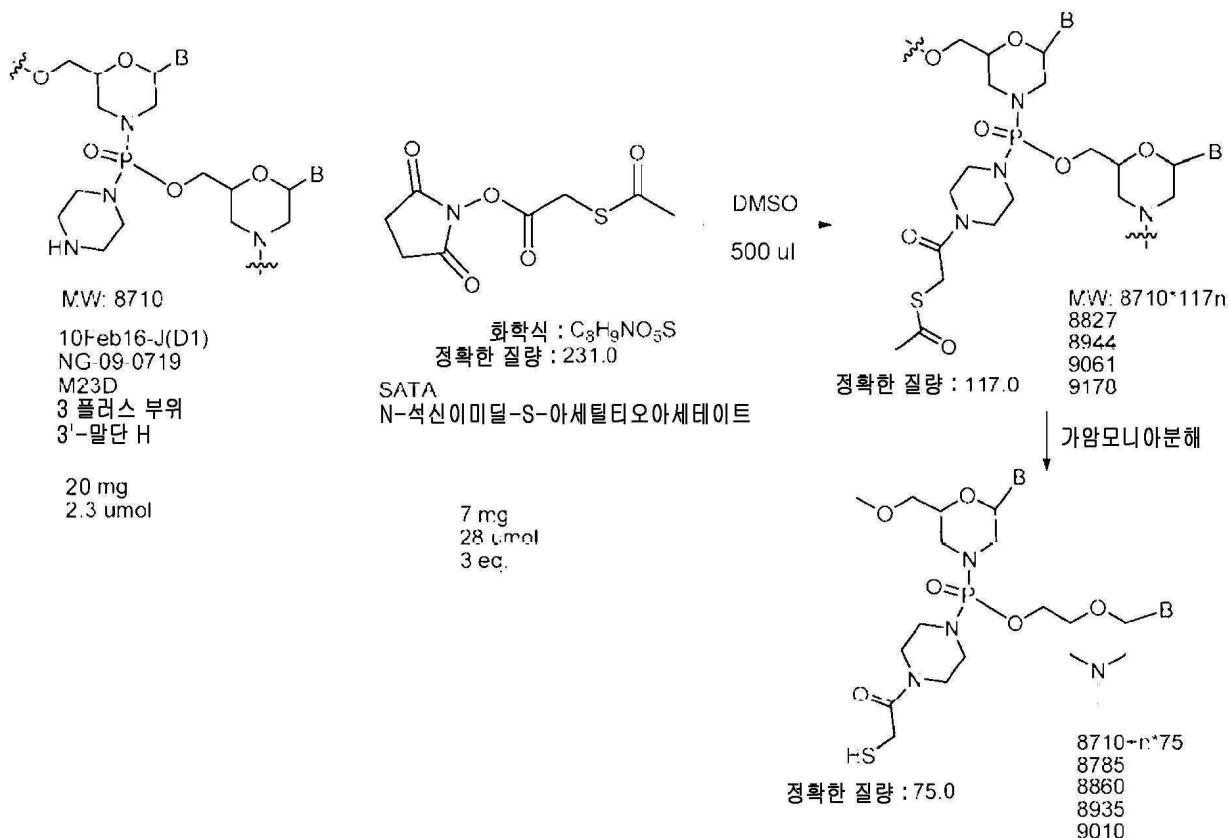


[0648]

- [0649] 석신이미드 활성화된 콜린산 유도체는 다음의 절차에 따라 제조하였다. 콜린산 (12 g, 29.4 mmol), N-하이드록시석신이미드 (4.0 g, 34.8 mmol), EDCI (5.6 g, 29.3 mmol), 및 DMAP (1 g, 8.2 mmol)를 둥근 바닥 플라스크에 충전하였다. DCM (400 mL) 및 THF (40 mL)를 첨가하여 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 그 후, 물 (400 mL)을 반응 혼합물에 첨가하고, 유기층을 분리시켜 물 ( $2 \times 400$  mL)로 세척하고, 이어서 포화  $\text{NaHCO}_3$  (300 mL) 및 염수 (300 mL)로 세척하였다. 그 후, 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시켰다. 용매를 회전 증발기에 의해 제거하여 백색 고체를 수득하였다. 조생성물을 클로로포름 (100 mL)에 용해시키고, 햅탄 (1000 mL) 내로 침전시켰다. 고체를 여과에 의해 수집하고, HPLC 및 NMR에 의해서 분석하고, 더 정제함이 없이 사용하였다.
- [0650] 적절한 양의 PMOplus (20 mg, 2.8  $\mu\text{mol}$ )를 바이알 (4 mL) 내로 평량하여 넣고, DMSO (500  $\mu\text{l}$ )에 용해시켰다. 활성화된 콜레이트 에스테르 (13 mg, 25  $\mu\text{mol}$ )를 변형 부위당 2 당량의 활성 에스테르의 비에 따라 반응 혼합물에 첨가하고, 이어서 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 진행은 MALDI 및 HPLC (C-18 또는 SAX)에 의해서 결정하였다.
- [0651] 반응이 완료 (출발 PMOplus의 소실에 의해서 결정됨)된 후에, 반응이 완료되자마자 1 mL의 진한 암모니아를 반응 혼합물에 첨가하였다. 그 후, 반응 바이알을 밤새 (18 시간) 오븐 (45°C) 내에 배치하고, 이어서 실온으로 냉각시키고, 물 중의 1% 암모니아 (10 mL)로 희석하였다. 이 샘플을 SPE 칼럼 (2 cm) 상에 부하시키고, 바이알을 1% 암모니아 용액 ( $2 \times 2$  mL)으로 세정하였다. SPE 칼럼을 물 중의 1% 암모니아 ( $3 \times 6$  mL)로 세척하고, 생성물을 물 중의 1% 암모니아 중의 45% 아세토니트릴 (6 mL)로 용출시켰다. 올리고머를 함유하는 분획들은 UV 광학밀도 측정에 의해서 확인하였다. 생성물을 동결건조에 의해서 분리시켰다. 순도 및 동등성 (identity)은 MALDI 및 HPLC (C-18 및/또는 SAX)에 의해서 결정되었다.
- [0652] 이와 동일한 절차는 테옥시콜린산 활성화 및  $\text{PMO}^+$ 에 대한 컨주케이션에 적용할 수 있다.
- [0653] 실시예 24
- [0654] PMOplus의 포괄적 구아니디닐화
- [0655] 적절한 양의 PMOplus (25 mg, 2.8  $\mu\text{mol}$ )을 바이알 (6 mL) 내로 평량하여 넣었다. 1H-피라졸-1-카복스아미드 클로라이드 (15 mg, 102  $\mu\text{mol}$ ) 및 탄산칼륨 (20 mg, 0.15 mmol)을 바이알에 첨가하였다. 물 (500  $\mu\text{l}$ )을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 (약 18 시간) 교반하였다. 반응 완료는 MALDI에 의해서 결정하였다.
- [0656] 완료되면, 반응액을 물 중의 1% 암모니아 (10 mL)로 희석하고, SPE 칼럼 (2 cm) 상에 부하시켰다. 바이알을 1% 암모니아 용액 ( $2 \times 2$  mL)으로 세정하고, SPE 칼럼을 물 중의 1% 암모니아 ( $3 \times 6$  mL)로 세척하였다. 생성물을 물 중의 1% 암모니아 중의 45% 아세토니트릴 (6 mL)로 용출시켰다. 올리고머를 함유하는 분획들은 UV 광학밀도 측정에 의해서 확인되었다. 생성물은 동결건조에 의해서 분리시켰다. 순도 및 동등성은 MALDI 및 HPLC (C-18 및/또는 SAX)에 의해서 결정되었다.
- [0657] 실시예 25

[0658]

## PMOplus (M23D)의 포괄적 티오아세틸 변형



[0659]

[0660]

적절한 양의 PMOplus (20 mg, 2.3 μmol)를 바이알 (4 ml) 내에 평량하여 넣고, DMSO (500 μl)에 용해시켰다. N-硒신이미딜-S-아세틸티오아세테이트 (SATA) (7 mg, 28 μmol)를 반응 혼합물에 첨가하고, 이것을 실온에서 밤새 교반하도록 하였다. 반응 진행은 MALDI 및 HPLC에 의해서 모니터링하였다.

[0661]

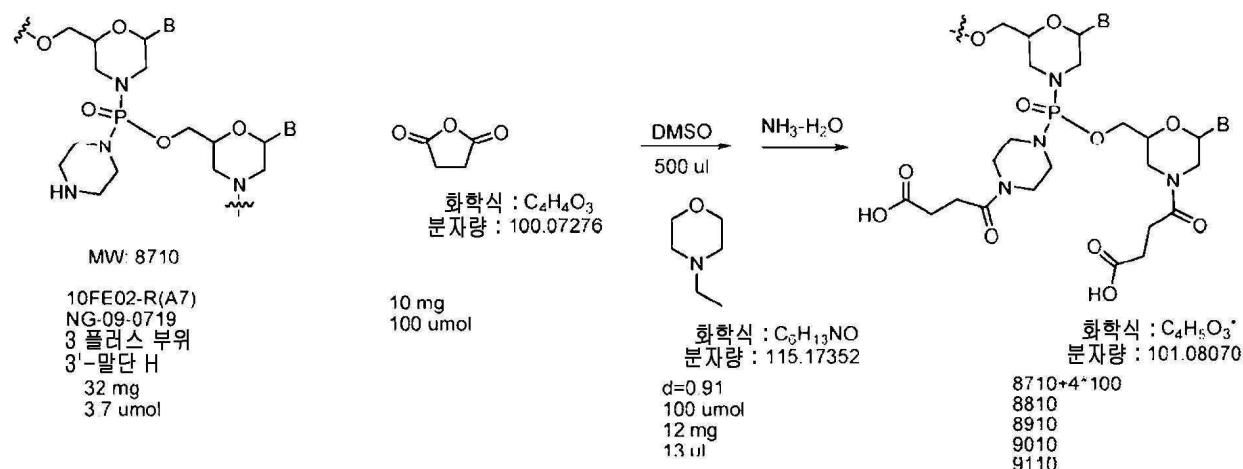
완료되면, 물 중의 1% 암모니아를 반응 혼합물에 첨가하고, 이것을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 이 용액을 SPE 칼럼 (2 cm) 상에 부하시켰다. 바이알을 1% 암모니아 용액 (2×2 ml)으로 세정하고, SPE 칼럼을 물 중의 1% 암모니아 (3×6 ml)로 세척하였다. 생성물을 물 중의 1% 암모니아 중의 45% 아세토니트릴 (6 ml)로 용출시켰다. 올리고머를 함유하는 분획들은 UV 광학밀도 측정에 의해서 확인되었다. 생성물은 동결건조에 의해서 분리시켰다. 순도 및 동등성은 MALDI 및 HPLC (C-18 및/또는 SAX)에 의해서 결정되었다.

[0662]

## 실시예 26

[0663]

## PMOplus의 포괄적 석신산 변형



[0664]

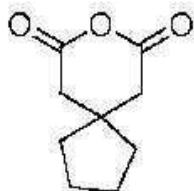
[0665]

적절한 양의 PMOplus (32 mg, 3.7 μmol)를 바이알 (4 ml) 내에 평량하여 넣고, DMSO (500 μl)에 용해시켰다.

N-에틸 모르폴리노 (12 mg, 100  $\mu\text{mol}$ ) 및 석신산 무수물 (10 mg, 100  $\mu\text{mol}$ )을 반응 혼합물에 첨가하고, 이것을 실온에서 냉온 교반하도록 하였다. 반응 진행은 MALDI 및 HPLC에 의해서 모니터링하였다.

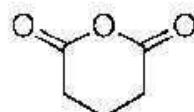
[0666] 완료되면, 물 중의 1% 암모니아를 반응 혼합물에 첨가하고, 이것을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 이 용액을 SPE 칼럼 (2 cm) 상에 부하시켰다. 바이알을 1% 암모니아 용액 ( $2\times2 \text{ mL}$ )으로 세정하고, SPE 칼럼을 물 중의 1% 암모니아 ( $3\times6 \text{ mL}$ )로 세척하였다. 생성물을 물 중의 1% 암모니아 중의 45% 아세토니트릴 ( $6 \text{ mL}$ )로 용출시켰다. 올리고머를 함유하는 분획들은 UV 광학밀도 측정에 의해서 확인되었다. 생성물은 동결건조에 의해서 분리시켰다. 순도 및 동등성은 MALDI 및 HPLC (C-18 및/또는 SAX)에 의해서 결정되었다.

[0667] 상기의 절차는 PMOplus의 글루타르산 (글루타르산 무수물) 및 테트라메틸렌글루타르산 (테트라메틸렌글루타르산 무수물) 변형에 마찬가지로 적용할 수 있다.



[0668]

[0669] 테트라메틸렌글루타르산 무수물



[0670]

[0671] 글루타르산 무수물

[0672] 실시예 27

[0673] 본 발명의 예시적인 PMO 올리고머에 의한 MDX 마우스의 처리

[0674] MDX 마우스는 디스트로핀 유전자의 엑손 23에 돌연변이를 함유하는 듀센형 근이영양증 (DMD)에 대한 허용되고, 잘 특정화된 동물 모델이다. M23D 안티센스 서열 (SEQ ID NO: 15)은 엑손 23 스키핑 및 기능적 디스트로핀 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다. MDX 마우스에게 M23D PMO+ 올리고머 (NG-09-0711, NG-10-0055, NG-10-0056), 또는 4-아미노페페리디닐 결합 (상술하고 도 2에 나타낸 PMO<sup>apn</sup> 결합을 함유하는 NG-10-0070) 및 4-석신아미도페페리지닐 결합 (상술하고 도 2에 나타낸 PMO<sup>suc</sup> 결합을 함유하는 NG-10-0105) 2개의 PMO 화합물을 꼬리 정맥 주사에 의해서 1 회 ( $50 \text{ mg/kg}$ ) 투여하였다. 펩타이드-컨주케이트된 PMO (PPMO)가 실험에서 양성 대조군으로 사용되었다 (AVI-5225; SEQ ID NO: 16). 시험한 모든 올리고머는 동일한 안티센스 서열을 갖지만, 결합 또는 펩타이드의 태입에 의해서 변화된다 (AVI-5225의 경우에, 표 8 참조). 주사-후 1 주일에 MDX 마우스를 희생시키고, 다양한 근육 조직으로부터 RNA를 추출하였다. 종말점 (end-point) PCR을 사용하여 엑손 23을 함유하는 디스트로핀 mRNA 및 안티센스-유도된 엑손 스키핑에 기인하여 엑손 23을 결여하는 mRNA의 상대적 존재도를 결정하였다. 엑손 23 스키핑의 퍼센트는 생체내 안티센스 활성의 척도이다. 도 5는 처리-후 1 주일에 사두근으로부터의 결과를 나타낸다. 4개의 양이온성 4-아미노페페리디닐 결합을 함유하는 NG-10-0070은 PMO+ 화합물 (NG-10-0055, -0056 및 -0057) 중의 어떤 것과 비교하여 활성에 있어서 2-배 증가를 나타낸다. 4개의 양이온성 4-석신아미도페페리지닐 결합을 함유하는 NG-10-0105 화합물은 PMO+ 올리고머와 비교하여 동등하게 활성이 있었다. 예상한 바와 같이, AVI-5225 PPMO (펩타이드 컨주케이트됨) 화합물이 세포 침투성 송달 펩타이드로 인하여 가장 효과적이었다. 비히클 및 WT C57 (야생형 마우스) 처리는 음성 대조군이었으며, 엑손 23 스키핑된 디스트로핀 mRNA를 발현하지 않았다.

[0675]

[표 8]

[0676] 실시예 27의 서열

명칭	서열 (5'에서 3'로)	SEQ ID NO
M23D	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	15
NG-39-0711	GGC CAA ACC +TCG GC+T TAC C+TG AAA +T	N/A
NG-10-0055	GGC C <sup>+</sup> AA +ACC +TCG GC <sup>+</sup> T TAC C <sup>+</sup> TG AAA T	N/A
NG-10-0056	GGC C <sup>+</sup> A <sup>+</sup> A +ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	N/A
NG-10-0057	GGC CAA ACC TCG GCT TAC C <sup>+</sup> TG +A <sup>+</sup> A <sup>+</sup> A T	N/A
NG-10-0070	GGC CAA ACC <sup>APN</sup> TCG <sup>APN</sup> GC <sup>APN</sup> T TAC C <sup>APN</sup> TG <sup>APN</sup> AAA <sup>APN</sup> T	N/A
NG-10-0105	GGC CAA ACC <sup>DNA</sup> TCG <sup>DNA</sup> GC <sup>DNA</sup> T TAC C <sup>DNA</sup> TG <sup>DNA</sup> AAA T	N/A
AVI-5225	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT- RAhxRRBRAhxRRBRAhxR	16

[0677]

[0678] 본 발명을 뒷받침하는 추가의 실험은 M23D PMO 내의 더 넓은 범위의 변형된 서브유니트간 결합을 사용하여 수행되었으며, 상술한 바와 같이 MDX 마우스 모델에서 사용되었다. 결합을 갖는 올리고머의 서브세트는 상기 표 7에 열거된다. 도 6은 이 확대된 스크린으로부터의 결과를 나타내며, 최고 활성을 갖는 M23D 올리고머는 각각 결합 b10, b54, b10 및 b10을 포함하는 NG-10-0070, NG-10-0104, NG-10-0095 및 NG-10-0133임을 나타낸다 (도 6에서, x 축 상의 라벨은 화합물 ID#의 마지막 3 자리에 해당한다). MDX 마우스에게 50 mg/kg 용량을 정맥내로 단일 주사하였다. 도 6에 나타낸 그 밖의 다른 활성 화합물들은 말단 변형을 포함하는 M23D PMO이며, 상기 표 6에 기술된다. 모든 화합물들은 어떤 서브유니트간 또는 말단 변형도 없는 PMO와 비교하였다 (SEQ ID NO: 15).

[0679]

본 발명을 뒷받침하는 추가의 실험은 서브유니트간 및 말단 결합을 갖는 화합물의 더 더욱 큰 확장을 사용하였다. 서브유니트간 결합 변형은 상기 표 9에 나타낸다. 이를 화합물을 사용한 결과는 이하의 표 9에 나타낸다. 결과는 표의 상부에 가장 활성인 화합물을 나타내어 정렬하였다.

[0680]

[표 9]

[0681]

본 발명의 PMO-X 화합물로 처리된 MDX 마우스로부터의 사두근 및 횡경막 조직에서 엑손 23 스키핑

NG #	PMO-X 변형	용량	엑손 스킵 %	
		mg/kg	Quads	Diaph
<b>NG-10-0383</b>	PMO	30	61	20
<b>NG-10-0325</b>	트리페닐포스	30	54	46
<b>NG-10-0272</b>	PMO-파르네실	30	48	14
<b>NG-10-0102</b>	PMO	30	44	23
<b>NG-10-0330</b>	트리메톡시벤조일	30	40	7
<b>NG-10-0056</b>	PMOplus 5'-pot	23	40	13
<b>NG-07-0064</b>	PMO-3'-트리틸	30	37	24
<b>NG-10-0382</b>	PMO	30	36	18
<b>NG-10-0278</b>	PMOpyr	26	35	29
<b>NG-10-0210</b>	PMOapn	31	34	19
<b>NG-10-0098</b>	PMOpyr	30	31	19
<b>NG-10-0070</b>	PMOapn	30	30	10
<b>NG-10-0095</b>	PMOapn	30	30	11

[0682]

NG-10-0317	PMO	30	30	17
NG-10-0477	PMO triMe Gly	30	28	32
NG-10-0133	PMOapn	30	28	17
NG-10-0387	PMO	30	28	25
NG-10-0104	PMOguan	30	27	14
NG-10-0420	PMOplus 메틸	29	27	25
NG-10-0065	PMOtri	30	26	2
NG-10-0607	PMO-X	30	25	19
NG-10-0060	PMOcp	30	25	6
NG-10-0162	PMO-COCH <sub>2</sub> SH	30	25	8
NG-10-0328	디페닐아세틸	30	25	20
NG-10-0134	PMOapnPMOtri	30	23	2
NG-10-0386	PMO	30	22	11
NG-07-0064	PMO-3'-트리틸	30	22	23
NG-10-0059	PMOcp	30	22	9
NG-10-0135	PMOtri	30	21	19
NG-10-0168	PMOapn PMOcys	30	21	6
NG-10-0113	PMOapnPMOtri	30	20	20
NG-10-0385	PMO	30	20	32
NG-10-0279	PMO	30	19	22
NG-10-0055	PMOplus disp	30	17	11
NG-10-0105	PMOsucc	30	16	4
NG-10-0805	PMO-X	30	16	21
NG-10-0811	PMO-X	32	16	6
NG-10-0057	PMOplus 3'-pol	30	15	16
NG-10-0625	PMO-X	28	15	11
NG-10-0804	Dimer	35	15	11
NG-10-0066	PMOtri	30	12	1

<b>NG-10-0280</b>	PMO 디설파이드	30	12	<b>14</b>
<b>NG-10-0212</b>	PMOapn	20	11	<b>15</b>
<b>NG-10-0156</b>	3'-MeO 트리틸	30	10	22
<b>NG-10-0062</b>	PMOhex	30	9	<b>10</b>
<b>NG-11-0043</b>	PMO-X	30	9	<b>16</b>
<b>NG-10-0206</b>	PMOplus	31	8	<b>10</b>

[0684]

## 실시예 28

## 본 발명의 예시적인 PMO 올리고머에 의한 유전자이식 eGFP 마우스의 처리

본 발명을 뒷받침하는 실험은 생체내 안티센스 활성에 대한 eGFP-기본 시험을 사용하였으며, 본 발명의 변형된 서브유니트간 결합을 포함하는 올리고머를 평가하기 위해서 사용하였다. eGFP-654 이식유전자가 몸 전체에 걸쳐서 균일하게 발현된 유전자이식 eGFP 마우스 모델이 기술되었다 [Sazani, Gemignani et al. 2002]. 이 모델은 활성에 대한 스플리싱 시험을 사용하며, 여기에서 본 발명의 변형된 올리고머는 이상 스플리싱을 차단하고, 변형 증진된 녹색 형광 단백질 (eGFP) 전-mRNA의 정확한 스플리싱을 회복시킨다. 이 접근방법에서, 각각의 올리고머의 안티센스 활성은 eGFP 리포터 (reporter)의 상향-조절에 정비례한다. 결과적으로, 동일한 올리고머의 기능적 효과는 거의 모든 조직에서 모니터링할 수 있다. 이것은 그의 발현이 단지 특정한 조직으로 제한되거나 특정한 조직 내에서만 표현형적으로 적절한 유전자에 대해서 표적화된 올리고머와는 대조적이다. eGFP-654 마우스에서, 전-mRNA는 비록 골수, 피부 및 뇌에서는 비록 더 소량으로 발견되었지만, 모든 조직에서 쉽게 검출할 수 있었다. 해독된 eGFP의 레벨은 올리고머의 효력 및 작용 부위에서의 그들의 농도에 비례한다. 다양한 조직으로부터 분리된 총 RNA의 RT-PCR은 조사한 모든 조직에서 eGFP-654 전사물의 발현을 나타내었다.

[0688]

5 내지 150 mg/kg 범위의 화합물로 처리된 eGFP-654 마우스 (n=6)로부터의 조직을 투약-후 8일에 수집하고, -80 °C에서 동결시켰다. 조직은 GE 타이푼 트리오 (Typhoon Trio) 상에서 영상화하기 직전에 해동시키고, PBS로 미스팅 (mist)하고, 스캐너의 유리 플래튼 (platen) 상에 직접 배열시켰다. eGFP 형광을 수집하기 위한 50 마크론 스캔은 488 nm 여기 레이저 및 플래튼 표면에서 초점면 (focal plane)을 갖는 520 nm BP 40 방출 필터를 사용하여 수행되었다. 조직 스캔은 이미지퀀트 (ImageQuant)를 사용하여 분석하여 각 조직을 가로지르는 평균 형광을 결정하였다. 비히를만으로 처리된 3-5 마우스로부터의 조직 형광을 평균하여 각 조직 타입에 대한 고유 배경 형광 측정치를 수득하였다. 화합물-처리된 마우스로부터의 상응하는 조직의 배수-형광값은 비히를 조직 형광의 분율로서 계산되었다. 도 7b-C는 각각 결합 b54 및 b11을 함유하는 본 발명의 예시적인 서브유니트간 결합을 함유하는 2개의 PMO인 NG-10-0110 및 NG-10-0323-의 eGFP-654 마우스 모델에서의 조직 특이적 활성을 나타낸다. 시험한 모든 올리고머는 eGFP654 서열 (SEQ ID NO: 17)로부터 유도된다. 비교를 위해서, 동일한 서열을 갖지만 어떤 서브유니트간 변형도 결여하는 PMO를 사용한 결과는 도 7a에 나타낸다. NG-10-0110 (SEQ ID NO: 17)은 사두근에서 높은 활성 및 간에서는 열등한 활성을 갖는 반면에 (도 7b), NG-10-0323은 개선된 간 활성 및 근육 송달을 갖는다 (도 7c).

[0689]

본 발명을 뒷받침하는 추가의 실시예는 본 발명의 결합 및 말단 그룹을 사용하여 변형된 eGFP (SEQ ID NO: 17) 올리고머를 사용한 실험을 포함하였다. 도 11 및 12에 나타낸 바와 같이, PMO 및 PMOplus 올리고머와 비교하여 몇개의 변형된 올리고머는 상술한 바와 같이 처리된 마우스로부터의 다양한 조직에서 개선된 eGFP 스플리스-보정 활성을 나타내었다.

[0690]

본 실시예에 기술된 화합물의 특정한 PMO-X 변형은 이하의 표 10에 나타낸다.

[표 10]

[0692]

결합 타입을 나타내는 실시예 28에서 사용된 서열

NG-10-0110	GC <sup>Guan</sup> T A <sup>Guan</sup> T ACC T <sup>Guan</sup> TA ACC CAG
NG-10-0323	GC <sup>Pyr</sup> T AT <sup>Pyr</sup> T ACC T <sup>Pyr</sup> TA ACC CAG
PMOplus; NG-10-0301	GC-T AT+T ACC -T-TA ACC CAG
NG-10-0248	GCaT AaTaT ACC aTaTA ACC CAG
NG-10-0600 *	GCaT ATaT ACC TaTA ACC CAG
NG-10-0602 **	GCpT ATpt ACC TpTA ACC CAG
NG-10-0389	GCX ATX ACC TXA ACC CAG
NG-10-0247	GCpT ApTpT ACC TpTA ACC CAG
NG-10-0299	GCaT ATaT ACC TaTA ACC CAG
NG-10-0355 ***	GCaT ATaT ACC TaTA ACC CAG

\* NG-10-0299로부터의 트리메틸 글리신 아실화된 생성물; \*\* NG-10-

0323으로부터의 4급 아민에 대해서 메틸화된 pT=PMOpqr; X=PMOpn; \*\*\* 3-

트리틸

[0693]

실시예 29

[0694]

본 발명의 예시적인 PMO 올리고머에 의한 인플루엔자 A 바이러스 감염 세포의 처리

[0695]

다양한 변형된 서브유니트 결합을 함유하는 일련의 PMO를 제조하고, 배양물에서 인플루엔자 A 바이러스-감염됨 세포를 치료하기 위해서 사용하였다. PMO, 및 본 발명의 변형된 서브유니트간 결합을 함유하는 PMO는 모두 AUG 출발 코돈에서 바이러스 M1/M2 분절을 표적화하도록 디자인되었으며, 2개의 염기 서열 (SEQ ID NOs: 3 및 4) 중의 하나를 갖는다. 본 발명의 변형된 서브유니트간 결합을 갖는 PMO는 표 4에 열거되며, 이하의 서열 목록 표에서 NG 수 지정에 의해서 확인되었다. M1/M2 분절 내의 다수의 부위의 안티센스 표적화에 의한 인플루엔자 A 바이러스 복제의 억제는 온전히 본 발명에 참고로 포함된, 공동-소유되고 공동-계류 중인 미국 출원 제 12/945,081호에 기술되었다. 공동 M1/M2 AUG 출발 부위를 표적화함으로써 해독을 억제하는 이외에도 스플리스 공여체 및 스플리스 수용체 부위도 또한 본 발명의 화합물을 사용하여 표적화될 수 있다.

[0696]

폐포성 쥐 대식세포 세포주 (ATCC; AMJ2-C11)를 0.1 MOI에서 H1N1 (균주 PR8)로 감염시키고, 감염-후 1 시간에 PMO를 첨가하였다. 세포를 35°C에서 밤새 배양하였다. 그 후, 바이러스 상등액을 취하여 VNAR 프로테아제와 함께 배양하여 바이러스 RNA를 방출시켰다. HA RNA는 정량적 실시간 PCR (qRT-PCR)에 의해서 정량화하였다. 세포를 세척하고, 고정시키고, 투과화하였다. 그 후, M1 및 M2 단백질을 모노클로날 항체로 37°C에서 30 분 동안 프로브화하였다. 세포를 세척하고, 알렉사 (Alexa) 646과 컨주게이트된 항-마우스 IgG를 실온에서 15 분 동안 첨가하였다. 그 후, M1 및 M2는 유동 세포분석에 의해서 시험하였다. M1 및 M2 단백질 레벨을 결정하기 위해서, M1 또는 M2 양성 세포의 퍼센트를 M1 또는 M2의 평균 형광 강도와 곱하였다. 그 후, 각각의 샘플을 비처리 대조군으로 나누어서 비처리 스크램블 (scramble) 대조군과 비교한 M1 또는 M2의 퍼센트를 생성시켰다.

[0697]

도 8은 본 발명의 다양한 화합물로 처리된 세포로부터의 바이러스성 M2 단백질 레벨의 감소를 나타낸다. 상기에 기술된 유동 세포분석 방법을 사용하여 60 마이크로몰에서 처리한 후의 상대적 M2 단백질 발현을 결정하였다. 올리고머는 M2 단백질의 생산을 다양한 정도로 억제하였으며, 결합 b1을 함유하는 NG-10-180 (SEQ ID NO: 3)이 가장 활성이 있었다. 어떤 서브유니트 변형도 없는 PMO를 사용한 결과는 비교를 위해서 NG-10-0015 (SEQ ID NO:3)로 도 8에 나타낸다.

[0698]

실시예 30

[0699]

본 발명의 예시적 PMO 올리고머에 의한 생체내에서의 인플루엔자 A 바이러스 감염 마우스의 치료

[0700]

본 발명을 뒷받침하는 추가의 실험은 인플루엔자 A의 PR8 균주에 의해서 감염된 Balb/c 마우스를 사용하여 수행되었다. 마우스는 본 발명의 PMO-X 화합물로 4 시간 전에 처리한 후에 비내 접종을 통해서 3.5 TCID<sub>50</sub>으로 감염시켰다. 일부의 실험에서는 추가 용량의 PMO-X를 감염-후 96 시간에 투여하였다. 모든 용량은 50 마이크로리터의 PBS 중의 100 마이크로그램의 시험 화합물로 구성되었으며, 비내 흡입에 의해서 투여되었다. 동물의 체중을 매일 모니터링하였으며, 항바이러스 약물 활성에 대한 임상적 종말점으로 사용하였다. 감염-후 7일째에 동

물을 희생시키고, 실시예 29에 상술된 qRT-PCR 방법을 사용한 바이러스 부하 (viral load) 결정을 위해서 폐를 수거하였다.

[0702] TCID<sub>50</sub> 결정은 폐 균질액의 하프-로그 계열 희석액 (half-log serial dilutions)을 사용하여 이루어졌으며, AMJ-C12 대식세포 세포 상에 플레이팅하였다. 35°C에서 24 시간 후에, 배지를 바꾸고, 35°C에서 추가로 72 시간 동안 배양하였다. PBS 중의 0.5% 닭 RBC의 용액 50 μl를 첨가하고, 4°C에서 1 시간 동안 배양하였다. 혈구 응집반응 패턴을 관찰하고, TCID<sub>50</sub>은 리드와 무엔치 방법 (Reed and Muench method)을 사용하여 계산하였다. 그 후, TCID<sub>50</sub> 값은 투입 조직 중량에 대해서 표준화되었다.

[0703] 도 9에 나타낸 바와 같이, PMO-X 화합물은 H1N1 감염 후에, PMOplus 화합물에 비해서 증가된 항바이러스 활성 및 감소된 체중 손실을 나타내었다. Balb/c 마우스 (n = 4)를 H1N1로 감염시켰으며, 감염시키기 4 시간 전에 PMO의 단일 100 마이크로그램 용량을 제공하였다. 마우스는 매일 체중을 재고, 체중 손실 퍼센트는 감염-전 체중으로부터 결정하였다. 폐는 감염-후 7일에 수거하고, TCID<sub>50</sub>에 대해서 바이러스 부하에 대해 시험하였다. 결과는 변형이 없는 PMO에 비해서 항바이러스 활성의 증가 배수로 표시된다. 이 실험은 비-변형된 PMO (NG-10-0015; SEQ ID NO: 3)에 비해서 2개의 PMO-X 화합물 (NG-10-0097 및 NG-11-0173; SEQ ID NO: 3)의 약 50-배 증가된 항바이러스 활성 및 PMOplus 화합물 (NG-11-0170; SEQ ID NO: 3)에 비해서 약 10-배 더 큰 활성을 나타낸다.

[0704] 도 10은 항바이러스 활성의 임상적 척도로서 체중을 사용하는, 도 9에 기술된 것과 유사한 실험을 나타낸다. PMOplus 화합물 (NG-11-0170)에 비해서, 석시노일 (NG-10-0108), 이소프로필 피페라진 (NG-11-0148) 및 피롤리돈 (NG-11-0173) 결합을 함유하는 화합물 및 3' 말단 벤즈히드릴 그룹에 대해서 변형된 PMOplus 화합물 (NG-11-0145)를 포함한 몇개의 PMO-X 화합물은 탁월한 결과를 나타내었다.

## 실시예 31

### 변형된 말단 그룹을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 유사체의 제조

[0707] DMSO (300 μl) 중의 유리 3'-말단을 함유하는 25-mer PMO (27.7 mg, 3.226 μmol)의 용액에 파르네실 브로마이드 (1.75 μl, 6.452 μmol) 및 디이소프로필에틸아민 (2.24 μl, 12.9 μmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5 시간 동안 교반하였다. 조 반응 혼합물을 10 ml의 1% 수성 NH<sub>4</sub>OH로 희석한 다음에, 2 ml 앰버크롬 (Amberchrome) CG300M 칼럼 상에 부하시켰다. 그 후, 칼럼을 3 칼럼 용적의 물로 세정하고, 생성물을 6 ml의 1:1 아세토니트릴 및 물 (v/v)로 용출시켰다. 그 후, 용액을 동결건조시켜 백색 고체로서 표제 화합물을 수득하였다.

## 실시예 32

### 모르폴리노 올리고머의 제조

[0710] 트리틸 피페라진 폐닐 카바메이트 35의 제조 (참조: 도 3): 디클로로메탄 (6 ml/g 11) 중의 화합물 11의 혼탁액에 물 (4 ml/g 탄산칼륨) 중의 탄산칼륨 (3.2 eq)의 용액을 첨가하였다. 이 2상 혼합물을 디클로로메탄 (2 g/g 폐닐 클로로포르메이트) 중의 폐닐 클로로포르메이트 (1.03 eq)의 용액을 서서히 첨가하였다. 반응 혼합물을 20°C로 가온하였다. 반응이 완료되면 (1-2 시간), 층을 분리시켰다. 유기층을 물로 세척하고, 무수 탄산칼륨 상에서 건조시켰다. 생성물 35를 아세토니트릴로부터 재결정화하여 분리시켰다. 수율= 80%.

[0711] 카바메이트 알콜 36의 제조: 나이트륨 하이드라이드 (1.2 eq)를 1-메틸-2-피롤리디논 (32 ml/g 수소화 나이트륨)에 혼탁시켰다. 이 혼탁액에 트리에틸렌 글리콜 (10.0 eq) 및 화합물 35 (1.0 eq)를 첨가하였다. 생성된 슬러리를 95°C로 가열하였다. 반응이 완료되면 (1-2 시간), 반응 혼합물을 20°C로 냉각시켰다. 이 혼합물에 30% 디클로로메탄/메틸 tert-부틸 에테르 (v:v) 및 물을 첨가하였다. 생성물-함유 유기층을 수성 NaOH, 수성 석신산, 및 포화 수성 염화나트륨으로 연속해서 세척하였다. 생성물 36은 디클로로메탄/메틸 tert-부틸 에테르/헵탄으로부터 결정화하여 분리시켰다. 수율= 90%.

[0712] 테일산 (Tail acid) 37의 제조: 테트라하이드로푸란 (7 ml/g 36) 중의 화합물 36의 용액에 석신산 무수물 (2.0 eq) 및 DMAP (0.5 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C로 가열하였다. 반응이 완료되면 (5 시간), 혼합물을 20°C로 냉각시키고, 수성 NaHCO<sub>3</sub>에 의해 pH 8.5로 조정하였다. 메틸 tert-부틸 에테르를 첨가하고, 생성물을 수성 층 내로 추출하였다. 디클로로메탄을 첨가하고, 혼합물을 수성 시트르산에 대해서 pH 3으로 조정하였다. 생성물-함유 유기층을 pH=3 시트레이트 완충액 및 포화 수성 염화나트륨의 혼합물로 세척하였다. 37의 이 디클로로

메탄 용액은 분리하지 않고 화합물 38의 제조에 사용하였다.

[0713] 38의 제조: 화합물 37의 용액에 N-하이드록시-5-노르보르넨-2,3-디카복실산 이미드 (HONB) (1.02 eq), 4-디메틸아미노페리딘 (DMAP) (0.34 eq), 및 그 다음으로 1-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드 (EDC) (1.1 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 55°C로 가열하였다. 반응이 완료되면 (4-5 시간), 혼합물을 20°C로 냉각시키고, 1:1 0.2 M 시트르산/염수 및 염수로 연속해서 세척하였다. 디클로로메탄 용액을 아세톤으로, 및 그 다음에는 N,N-디메틸포름아미드로 용매 교환하고, 생성물을 아세톤/N,N-디메틸포름아미드로부터 포화수성 염화나트륨 내로 침전시킴으로써 분리시켰다. 조생성물을 물 중에 수회 쟈슬러리화하여 잔류하는 N,N-디메틸포름아미드 및 염을 제거하였다. 수율= 화합물 36으로부터 70%의 38. 디설파이드 앵커 (anchor)-수지 상에 활성화된 "테일 (Tail)"의 도입은 고체상 합성 중에 서브유니트를 혼입시키기 위해서 사용된 절차에 의해 NMP 중에서 수행되었다.

[0714] 모르폴리노 올리고머의 합성을 위한 고체 지지체의 제조: 이 절차는 거친 다공성 (40-60  $\mu\text{m}$ ) 유리 프릿 (frit), 오버헤드 교반기, 및 3-웨이 텤플론 스톱코크 (3-way Teflon stopcock)가 있는 실란화되고 자켓화된 (jacketed) 웨타이드 용기 (ChemGlass, NJ, USA에 의해서 주문 제작됨) 내에서 수행하여 프릿을 통해서  $\text{N}_2$ 가 거품을 일으키도록 하거나, 진공 추출하도록 하였다. 온도 조절은 순환 수욕 (circulating water bath)에 의해 반응 용기 내에서 달성되었다.

[0715] 이하의 절차에서 수지 처리/세척 단계는 2개의 기본적 작업인 수지 유동화 및 용매/용액 추출로 구성된다. 수지 유동화를 위해서, 스톱코크를  $\text{N}_2$ 가 프릿을 통해서 흐르도록 하는 위치로 하고, 명시된 수지 처리/세척액을 반응기에 첨가하고, 수지를 투과하여 완전히 습윤시키도록 하였다. 그 후, 혼합을 시작하고, 수지 슬러리를 명시된 시간 동안 혼합시켰다. 용매/용액 추출을 위해서, 혼합 및  $\text{N}_2$  유동을 중지시키고, 진공 펌프를 시작한 다음에, 스톱코크는 수지 처리/세척액을 배출시켜 버리도록 하는 위치로 하였다. 모든 수지 처리/세척액 용적은 다른 식으로 명시되지 않는 한, 수지의 g당 15 mL였다.

[0716] 실란화되고 자켓화된 웨타이드 용기 내의 아미노메틸폴리스티렌 수지 (100-200 메쉬; ~1.0 mmol/g  $\text{N}_2$  치환; 75 g, 1 eq, Polymer Labs, UK, part #1464-X799)에 1-메틸-2-피롤리디논 (NMP; 20 mL/g 수지)을 첨가하고, 1-2 시간 동안 혼합시키면서 수지가 팽윤하도록 하였다. 팽윤 용매를 배출시킨 후에, 수지를 디클로로메탄 ( $2 \times 1-2$  분), 25% 이소프로판올/디클로로메탄 중의 5% 디이소프로필에틸아민 ( $2 \times 3-4$  분), 및 디클로로메탄 ( $2 \times 1-2$  분)으로 세척하였다. 마지막 세척액을 배출시킨 후에, 수지를 1-메틸-2-피롤리디논 (0.17 M; 15 mL/g 수지, ~2.5 eq) 중의 디설파이드 앵커 34의 용액으로 유동화시키고, 수지/시약 혼합물을 45°C에서 60 시간 동안 가열하였다. 반응이 완료되면, 가열을 중단하고, 앵커 용액을 배출시키고, 수지를 1-메틸-2-피롤리디논 ( $4 \times 3-4$  분) 및 디클로로메탄 ( $6 \times 1-2$  분)으로 세척하였다. 수지를 디클로로메탄 (16 mL/g;  $2 \times 5-6$  분) 중의 10% (v/v) 디에틸 디카보네이트의 용액으로 처리한 다음에, 디클로로메탄 ( $6 \times 1-2$  분)으로 세척하였다. 수지 39 (참조: 도 4)를  $\text{N}_2$  스트림 하에서 1-3 시간 동안 건조시킨 다음에, 진공 하에서 항량 ( $\pm 2\%$ )까지 건조시켰다. 수율: 원래 수지 중량의 110-150%.

[0717] 아미노메틸폴리스티렌-디설파이드 수지의 부하량의 결정: 수지의 부하량 (잠재적으로 이용 가능한 반응성 부위의 수)은 수지의 그램당 트리페닐메틸 (트리틸) 그룹의 수에 대한 분광학적 시험에 의해서 결정된다.

[0718] 건조된 수지의 기지 중량 ( $25 \pm 3$  mg)을 실란화된 25 mL 용량 플라스크에 옮기고, 디클로로메탄 중의 ~5 mL의 2% (v/v) 트리플루오로아세트산을 첨가하였다. 내용물을 온화한 소용돌이에 의해서 혼합시킨 다음에, 30 분 동안 정치시켰다. 용적을 디클로로메탄 중의 추가의 2% (v/v) 트리플루오로아세트산에 의해서 25 mL로 조정하고, 내용물을 철저히 혼합시켰다. 양성 변위 피펫 (positive displacement pipette)을 사용하여, 분취량의 트리틸-함유 용액 ( $500 \mu\text{l}$ )을 10 mL 용량 플라스크에 옮기고, 용적을 메탄설폰산으로 10 mL로 조정하였다.

[0719] 최종 용액 내의 트리틸 양이온 함량은 431.7 nm에서의 UV 흡광도에 의해서 측정하고, 수지 부하량은 적절한 용적, 희석도, 흡광계수 ( $\epsilon$ :  $41 \mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) 및 수지 중량을 사용하여 수지의 그램당 트리틸 그룹 ( $\mu\text{mol/g}$ )으로 계산하였다. 시험은 삼중으로 수행하여 평균 부하량을 계산한다.

[0720] 이 실시예에서 수지 부하 절차는 약  $500 \mu\text{mol/g}$ 의 부하량을 갖는 수지를 제공할 것이다. 디설파이드 앵커 혼입 단계가 실온에서 24 시간 동안 수행되면,  $300-400 \mu\text{mol/g}$ 의 부하량이 수득되었다.

[0721] 테일 (Tail) 부하: 아미노메틸폴리스티렌-디설파이드 수지의 제조의 경우와 동일한 기구 (setup) 및 용적을 사용하여, 테일을 분자 내로 도입시킬 수 있다. 커플링 단계를 위해서, 4-에틸모르폴린 (NEM, 0.4 M)을 함유하는

NMP 중의 38 (0.2 M)의 용액이 디설파이드 앵커 용액 대신에 사용되었다. 45°C에서 2 시간 후에, 수지 39를 25% 이소프로판올/디클로로메탄 중의 5% 디이소프로필에틸아민으로 2회, 및 DCM으로 1 회 세척하였다. 수지에 벤조산 무수물 (0.4 M) 및 NEM (0.4 M)의 용액을 첨가하였다. 25 분 후에, 반응기 재킷을 실온으로 냉각시키고, 수지를 25% 이소프로판올/디클로로메탄 중의 5% 디이소프로필에틸아민으로 2회, 및 DCM으로 8 회 세척하였다. 수지 40을 여과하고, 고진공 하에서 건조시켰다. 수지 40에 대한 부하량은 테일 부하에서 사용된 원래의 아미노메틸폴리스티렌-디설파이드 수지 39의 부하량인 것으로 정의된다.

[0722] 고체상 합성: 모르폴리노 올리고머는 길슨 (Gilson) AMS-422 자동화 웹타이드 합성기 상의 2 mL 길슨 폴리프로필렌 반응 칼럼 (Part # 3980270) 내에서 제조하였다. 칼럼이 합성기 상에 있기 때문에 물의 유동을 위한 채널을 갖는 알루미늄 블럭을 칼럼 주위에 배치하였다. AMS-422는 시약/세척 용액을 교대로 첨가하고, 명시된 시간 동안 유지시키고, 진공을 사용하여 칼럼을 배출시킬 것이다.

[0723] 길이에서 약 25 서브유니트까지의 범위인 올리고머의 경우에는, 수지의 g당 거의 500 μmol의 부하량을 갖는 아미노메틸폴리스티렌-디설파이드 수지가 바람직하다. 더 큰 올리고머의 경우에는, 수지의 g당 300-400 μmol의 부하량을 갖는 아미노메틸폴리스티렌-디설파이드 수지가 바람직하다. 5'-테일이 있는 분자를 원하는 경우에는, 테일이 부하된 수지가 동일한 부하 지침에 따라 선택된다.

[0724] 다음의 시약 용액이 제조되었다:

[0725] 탈트리틸화 용액: 4:1 디클로로메탄/아세토니트릴 중의 10% 시아노아세트산 (w/v); 중화용액: 3:1 디클로로메탄 /이소프로판올 중의 5% 디이소프로필에틸아민; 커플링 용액: 1,3-디메틸이미다졸리디논 중의 0.18 M (또는 20 서브유니트보다 크게 성장한 올리고머의 경우에는 0.24 M)의 원하는 염기 및 결합 타입의 활성화된 모르풀리노 서브유니트 및 0.4 M N-에틸모르폴린. 디클로로메탄 (DCM)이 상이한 시약 용액 세척액을 분리시키는 전이 세척액 (transitional wash)으로 사용되었다.

[0726] 42°C로 설정된 블럭이 있는 합성기 상에서, 30 mg의 아미노메틸폴리스티렌-디설파이드 수지 (또는 테일 수지)를 함유하는 각각의 칼럼에 2 mL의 1-메틸-2-피롤리디논을 첨가하고, 실온에서 30 분 동안 교반하였다. 2 mL의 디클로로메탄으로 2 회 세척한 후에, 다음의 합성 사이클을 사용하였다:

[0727] 단계      용적      송달      유지시간

[0728] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0729] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0730] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0731] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0732] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0733] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0734] 탈트리틸화      1.5 mL      매니폴드      15 초

[0735] DCM      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0736] 중화      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0737] 중화      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0738] 중화      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0739] 중화      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0740] 중화      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0741] 중화      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0742] DCM      1.5 mL      매니폴드      30 초

[0743] 커플링      350 μL-500 μL      시린지      40 분

[0744] DCM      1.5 mL      매니폴드      30 초

- [0745] 중화 1.5 mL 매니폴드 30 초
- [0746] 중화 1.5 mL 매니폴드 30 초
- [0747] DCM 1.5 mL 매니폴드 30 초
- [0748] DCM 1.5 mL 매니폴드 30 초
- [0749] DCM 1.5 mL 매니폴드 30 초
- [0750] 개별적인 올리고머의 서열은 각각의 칼럼이 적절한 순서로 적절한 커플링 용액 (A,C,G,T,I)을 수용하도록 합성기에 프로그래밍하였다. 칼럼 내의 올리고머가 그의 최종 서브유니트의 혼입을 완료하면, 칼럼을 블럭으로부터 꺼내고, 최종 사이클은 0.89 M 4-에틸모르폴린을 함유하는 4-메톡시트리페닐메틸 클로라이드 (DMI 중 0.32 M)로 이루어진 커플링 용액을 사용하여 수작업으로 수행하였다.
- [0751] 수지로부터의 분해 및 염기 및 골격 보호그룹의 제거: 메톡시트리틸화 후에, 수지를 2 mL의 1-메틸-2-피롤리디논으로 8 회 세척하였다. 1-메틸-2-피롤리디논 중의 0.1 M 1,4-디티오타이톨 (DTT) 및 0.73 M 트리에틸아민으로 구성된 1 mL의 분해 용액을 첨가하고, 칼럼의 마개를 하고, 실온에서 30 분 동안 정치시켰다. 그 시간 후에, 용액을 12 mL 위톤 (Wheaton) 바이알 내로 흘려 보낸다. 크게 수축된 수지를 300 μL의 분해 용액으로 2 회 세척하였다. 용액에 4.0 mL의 진한 수성 암모니아 (-20°C에서 저장됨)를 첨가하고, 바이알을 단단하게 마대를 하고 (테플론 라이닝된 스크류 캡으로), 혼합물을 소용돌이시켜 용액을 혼합시켰다. 바이알을 45°C 오븐 내에 16-24 시간 동안 배치하여 염기 및 골격 보호그룹의 분해를 일으켰다.
- [0752] 초기 올리고머 분리: 바이알에 넣은 가암모니아분해 용액을 오븐으로부터 꺼내어 실온으로 냉각시켰다. 용액을 20 mL의 0.28% 수성 암모니아로 희석하고, 마크로프렙 (Macroprep) HQ 수지 (BioRad)를 함유하는 2.5×10 cm 칼럼을 통해서 통과시켰다. 염 구배 (A: 0.28% 암모니아와 함께 B: 0.28% 암모니아 중의 1 M 염화나트륨; 60 분 이내에 0-100% B)를 사용하여 메톡시트리틸 함유 피크를 용출시켰다. 분획들을 합하여 모으고, 원하는 생성물에 따라 더 처리하였다.
- [0753] 모르폴리노 올리고머의 탈메톡시트리틸화: 마크로프렙 (Macroprep) 정제로부터 모은 분획들을 1 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>로 처리하여 pH를 2.5로 저하시켰다. 초기 혼합 후에, 샘플을 실온에서 4 분 동안 두고, 이 시간에 이들을 2.8% 암모니아/물에 의해서 pH 10-11로 중화시켰다. 생성물을 고체상 추출 (solid phase extraction; SPE)에 의해서 정제하였다.
- [0754] 앰버크롬 (Amberchrome) CG-300M (Rohm and Haas; Philadelphia, PA) (3 mL)을 20 mL 프럿 칼럼 (BioRad Econo-Pac Chromatography Columns (732-1011)) 내에 충진시키고, 수지를 3 mL의 다음 용액으로 세정하였다: 0.28% NH<sub>4</sub>OH/80% 아세토니트릴; 0.5 M NaOH/20% 에탄올; 물; 50 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/80% 아세토니트릴; 물; 0.5 M NaOH/20% 에탄올; 물; 0.28% NH<sub>4</sub>OH.
- [0755] 탈메톡시트리틸화로부터의 용액을 칼럼 상에 부하시키고, 수지를 3-6 mL의 0.28% 수성 암모니아로 3 회 세정하였다. 위톤 바이알 (12 mL)을 칼럼 하에 배치하고, 생성물을 0.28% 수성 암모니아 중의 45% 아세토니트릴 2 mL로 2 회 세척함으로써 용출시켰다. 용액을 드라이아이스 내에서 동결시키고, 바이알을 동결건조기 내에 배치하여 솜털상 (fluffy) 백색 분말을 생산하였다. 샘플을 물에 용해시키고, 시린지를 사용하여 0.22 미크론 필터 (Pall Life Sciences, Acrodisc 25 mm 시린지 필터, 0.2 미크론 HT Tuffrym 막을 가짐)를 통해서 여과하고, 광학 밀도 (OD)를 UV 분광광도계 상에서 측정하여 존재하는 올리고머의 OD 유니트를 측정할 뿐만 아니라 분석을 위한 샘플을 분배시켰다. 그 후, 용액을 동결건조를 위해서 다시 위톤 바이알 내에 배치하였다.
- [0756] 모르풀리노 올리고머의 분석: MALDI-TOF 질량분석법을 사용하여 정제시의 분획들의 조성을 결정할 뿐만 아니라 올리고머의 동일성 (분자량)에 대한 증거를 제공하였다. 샘플은 매트릭스로서 3,5-디메톡시-4-하이드록시신남산 (신나핀산), 3,4,5-트리하이드록시아세토페논 (THAP) 또는 알파-시아노-4-하이드록시신남산 (HCCA)의 용액으로 희석시킨 후에 주행시켰다.
- [0757] 양이온 교환 (SCX) HPLC는 25 mM pH=5 나트륨 아세테이트 25% 아세토니트릴 (완충액 A) 및 25 mM pH=5 나트륨 아세테이트 25% 아세토니트릴 1.5 M 염화칼륨 (완충액 B) (15 분 이내에 구배 10-100% B), 또는 pH=3.5에서 25 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 25% 아세토니트릴 (완충액 A) 및 pH=3.5에서 25 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 25% 아세토니트릴과 1.5 M 염화칼륨 (완충액 B) (15 분 이내에 구배 0-35% B in 15 min)를 사용하는 디오넥스 프로팩 (Dionex ProPac) SCX-10, 4×250 mm 칼럼 (Dionex Corporation; Sunnyvale, CA)을 사용하여 수행하였다. 전자의 시스템은 부착된 웹타이드를

갖지 않는 양으로 하전된 올리고머에 대해서 사용되었으며, 그 반면에 후자는 웹타이드 컨주제이트에 대해서 사용되었다.

[0758] 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 모르폴리노 올리고머의 정제: 샘플을 20 mM 나트륨 아세테이트, pH=4.5 (완충액 A)에 용해시키고, 소스 (Source) 30 양이온 교환 수지 (GE Healthcare)의 칼럼에 적용하고 20 mM 나트륨 아세테이트 및 40% 아세토나트릴 중의 0.5 M 염화나트륨, pH=4.5 (완충액 B)의 구배로 용출시켰다. 생성물을 함유하는 모든 분획들을 진한 수성 암모니아로 중화시키고, 앤버크롬 (Amberchrome) SPE 칼럼에 적용하였다. 생성물을 상기한 바와 같이 용출시키고, 동결시키고, 동결건조시켰다.

[0759] [표 11]

[0760]

서열 목록

명칭	서열 (5'에서 3'로)	SEQ ID NO
명기	CGGTCACACGTAGACTAACAACT	1
JEV	GAAGTTCACACAGATAAACTTCT	2
M/M2AUG.20.23	CGGGTAGAAGACTCATCITTT	3
M/M2AUG.25.26	TTTCGACATCGGTTAGAAGACTCAT	4
NP-AUG	GAGACGCCATGATGTGGATGTC	5
피코르나바이러스	GAAACACGGACACCCAAAGTAGT	6
뎅기 3'-CS	TCCCAGCGTCAATATGCTGT	7
아레나바이러스	GCCTAGGATCCACGGTGC	8
RSV-L 표적	GGGACAAAATGGATCCCATTATTAATGGAAATTCTGCTAA	9
RSV-AUG-1	TAATGGGATCCATTTCGTCCC	10
RSV-AUG3	AATAATGGGATCCATTTGTCCC	11
RSV-AUG4	CATTAATAATGGGATCCATTGGTCCC	12
RSV-AUG5	GAATTCCATTAAATAATGGGATCCATTG	13
RSV-AUG6	CAGAAATTCCATTAAATAATGGGATCCATT	14
M3D	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	15
AVI-5025	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT-RAh×RRBRRAh×RRBRAhxB	16/79
eGFP654	GCTATTACCTAACCCAG	17
humMSTN 표적	GAAAAAAAGATTATATTGATTTAAAATCATGCAAAAC TGCAACTCTGTGTT	18
m: MSTM25-104	CATACATTGCAAGTTTGCATCAT	19
m: MSTM25-183	TCATTTTAAAAATCAGCACAATCTT	20
m: MSTM25-194	CAGTTTTGCATCATTAAATC	21
엑손 24-A	GATCTGTCAAATCGCCTGCAGGTA	22
엑손 24-B	AAACTGTTCAAGCTCTGTTAGCCAC	23
엑손 24-C	TTGTGTCTTCTGAGAAACTGTTCA	24
엑손 25-A	CTGACAAACAGTTGCCGCTGCCAA	25
엑손 25-B	CCAATGCCATCCTGGAGTTCTGTAA	26
엑손 25-C	CATTCAATGTTCTGACAACAGTTGCCGCT	27
엑손 50-A	CTTACAGGCTCCAATAGTGGTCAGT	28
엑손 50-B	CCACTCAGAGCTCAGATCTCTAACTTCC	29
엑손 50-C	GGGATCCAGTATACTTACAGGCTCC	30
엑손 51-A	ACATCAAAGGAAGATGGCATTCTAGTTGG	31
엑손 51-B	CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTCTAG	32
엑손 51-C	GAGCAGGTACCTCCAACATCAAGGAA	33

[0761]

엑손 53-A	CTGAAGGTGTTCTTGTACTTCATCC	34
엑손 53-B	TGTTCTTGTACTTCATCCACTGATTCTGA	35
SMN2-A	CTTTCATATAATGCTGGCAG	36
SMN2-B	CATAATGCTGGCAG	37
SMN2-C	GCTGGCAG	38
CAG 9mer	CAG CAG CAG	39
CAG 12mer	CAG CAG CAG CAG	40
CAG 15mer	CAG CAG CAG CAG CAG	41
CAG 18mer	CAG CAG CAG CAG CAG CAG	42
AGC 9mer	AGC AGC AGC	43
AGC 12mer	AGC AGC AGC AGC	44
AGC 15mer	AGC AGC AGC AGC AGC	45
AGC 18mer	AGC AGC AGC AGC AGC AGC	46
GCA 9mer	GCA GCA GCA	47
GCA 12mer	GCA GCA GCA GCA	48
GCA 15mer	GCA GCA GCA GCA GCA	49
GCA 18mer	GCA GCA GCA GCA GCA GCA	50
AGC 25mer	AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC A	51
CAG 25mer	CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG C	52
CAGG 9mer	CAG GCA GGC	53
CAGG 12mer	CAG GCA GGC AGG	54
CAGG 24mer	CAG GCA GGC AGG CAG GCA GGC AGG	55

### 아르기닌-풍부 세포 침투성 펩타이드

rTAT	RRRQRRKKR	56
Tat	RKKRRQRRR	57
R <sub>9</sub> F <sub>1</sub>	RRRRRRRRRFF	58
R <sub>5</sub> F <sub>2</sub> R <sub>4</sub>	RRRRRFRRRR	59
R <sub>4</sub>	RRRR	60
R <sub>5</sub>	RRRRR	61
R <sub>6</sub>	RRRRRR	62
R <sub>7</sub>	RRRRRRR	63
R <sub>8</sub>	RRRRRRRR	64
R <sub>9</sub>	RRRRRRRRR	65
(RAhxR) <sub>4</sub> ; (P007)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	66
(RAhxR) <sub>5</sub> ; (CP04057)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	67

(RAhxRRBR) <sub>n</sub> , (CP06062)	RAhxRRBRRAhxRRBR	63
(RAR) <sub>n</sub> F <sub>2</sub>	RARRARRARRARFFC	69
(RGR) <sub>n</sub> F <sub>2</sub>	RGRRGRRGRRGRFFC	72

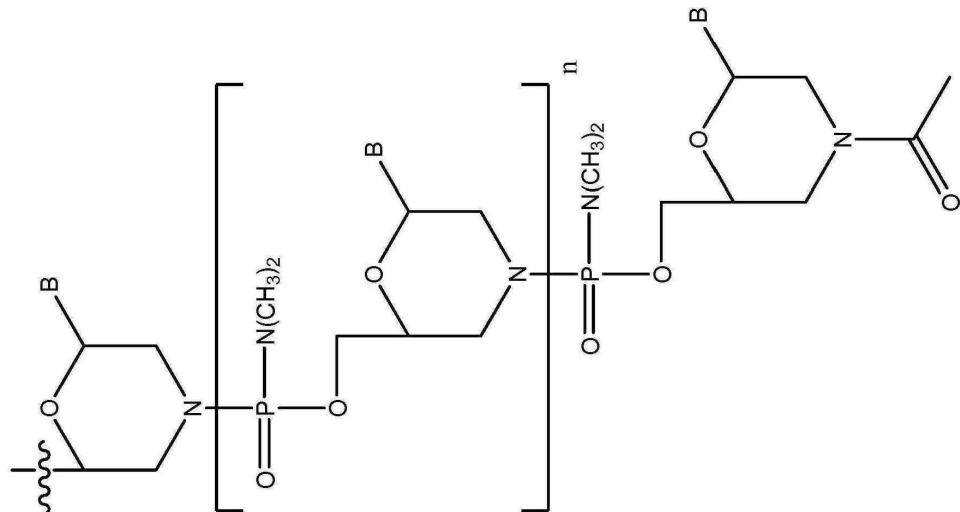
[0763]

[0764]

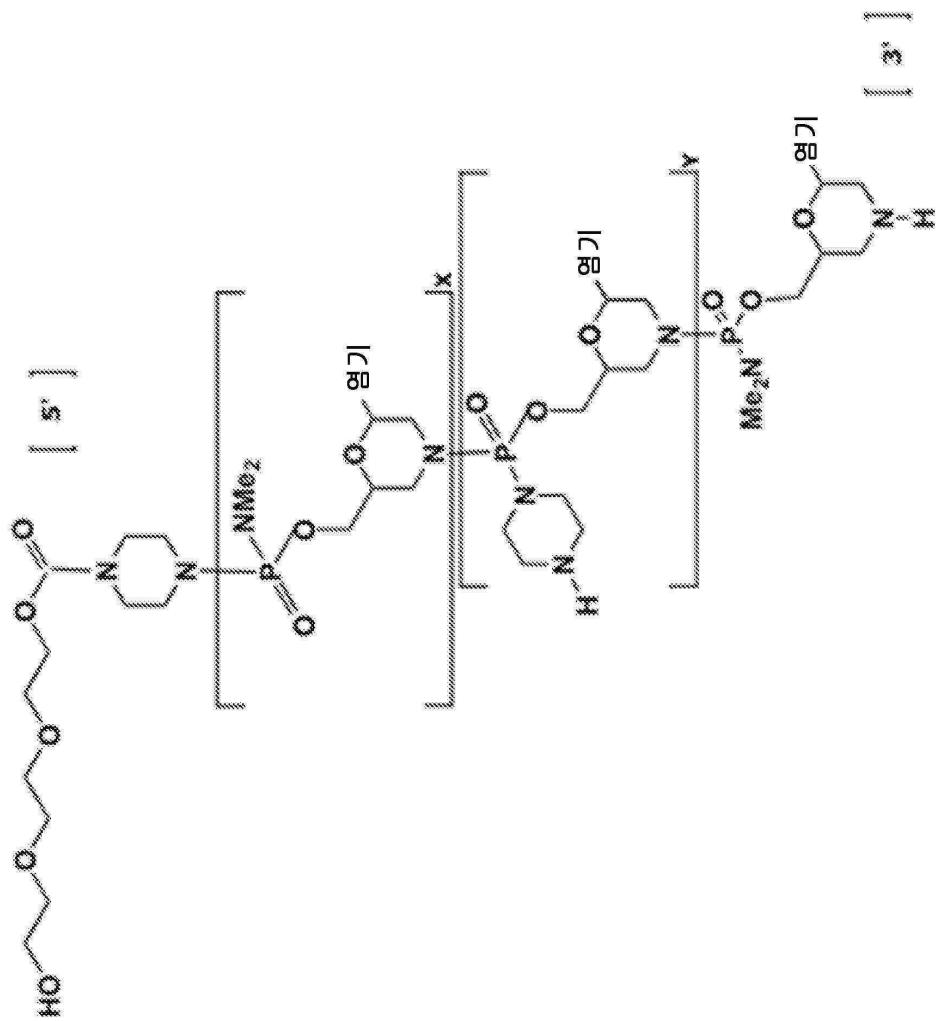
상술한 다양한 구체예를 조합하여 추가의 구체예를 제공할 수 있다. 본 명세서에 언급되고/되거나 출원 데이터 시트에 열거된 미국 특허, 미국 특허출원 공개, 미국 특허출원, 외국 특허, 외국 특허출원 및 비-특허 문헌들은 모두 온전히 본 발명에 참고로 포함된다. 구체예의 관점은 필요에 따라, 다양한 특허, 출원 및 공개의 개념을 사용하여 또한 추가의 구체예를 제공하도록 변형될 수 있다. 이를 및 그 밖의 다른 변화가 상기의 상세한 설명에 비추어서 구체예에 대해 이루어질 수 있다. 일반적으로, 이하의 특허청구범위에서 사용된 용어들은 특허청 구범위를 명세서 및 특허청구범위에 기술된 특정한 구체예로 제한하는 것으로 이해되지는 않아야 하지만, 이러한 특허청구범위가 대상으로 하는 등가물의 전체 범위와 함께 모든 가능한 구체예를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 특허청구범위는 기술된 것으로 제한되지 않는다.

## 도면

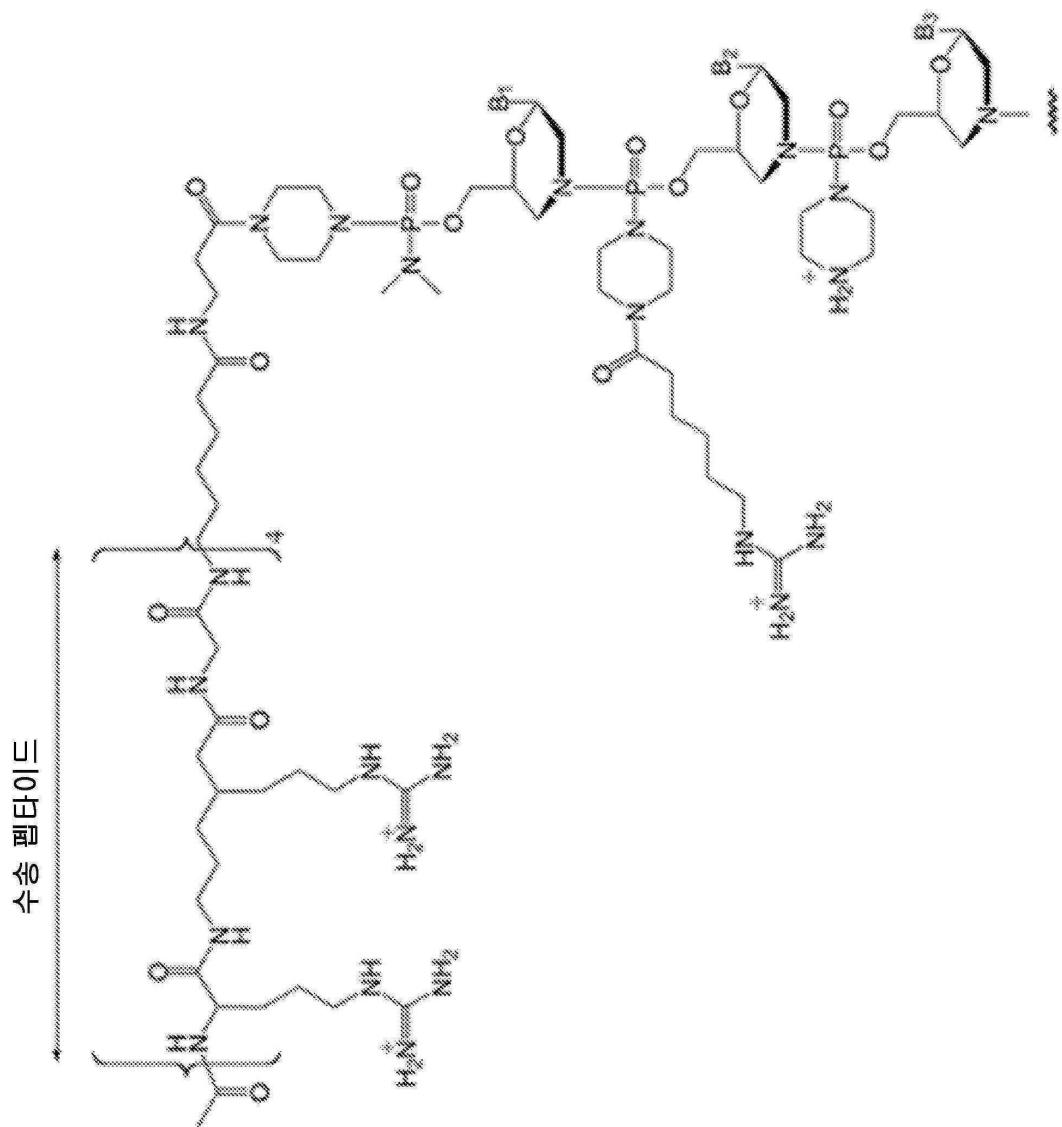
### 도면 1a



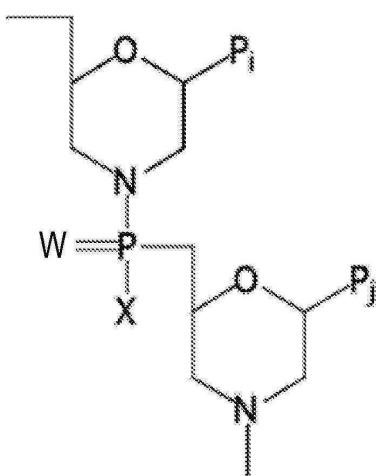
도면 1b



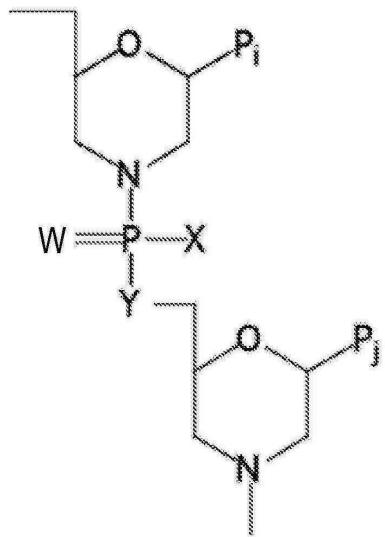
도면 1c



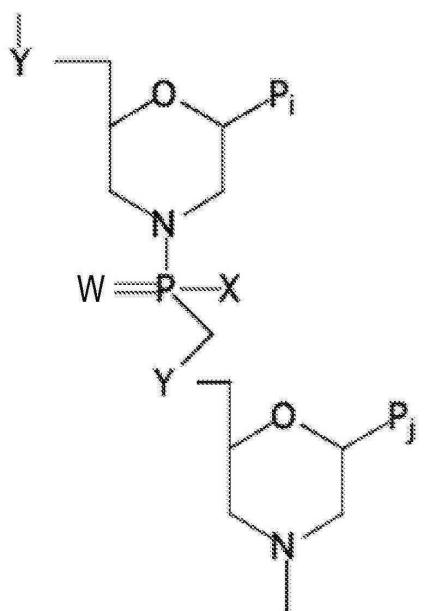
도면 1d



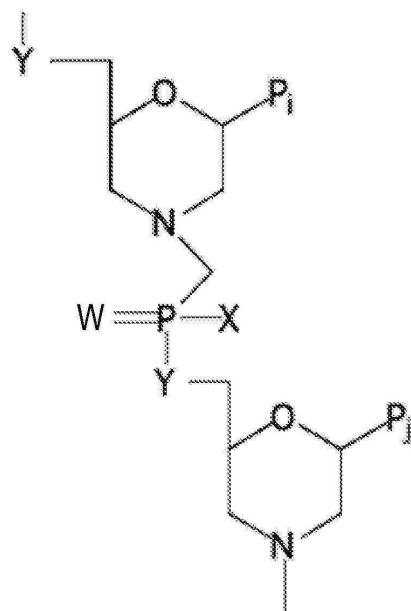
도면 1e



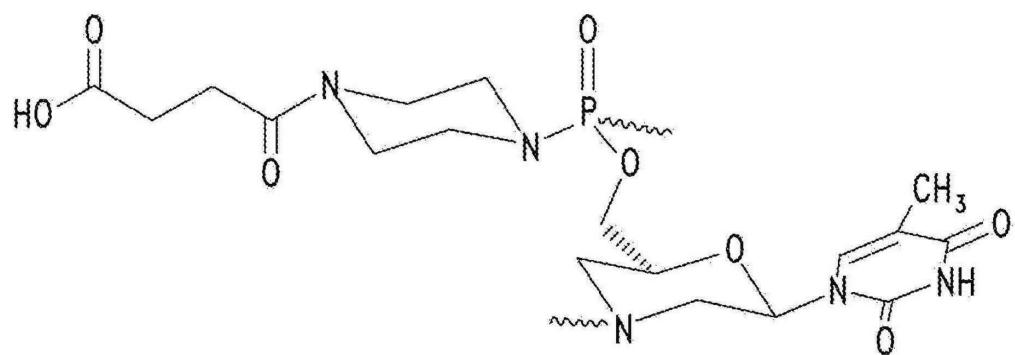
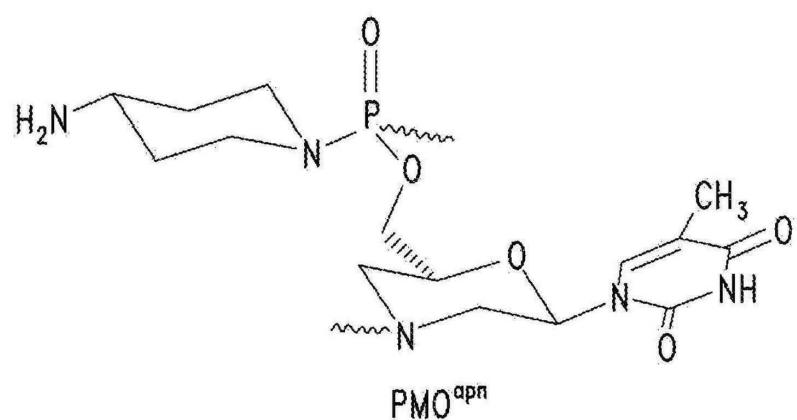
도면 1f



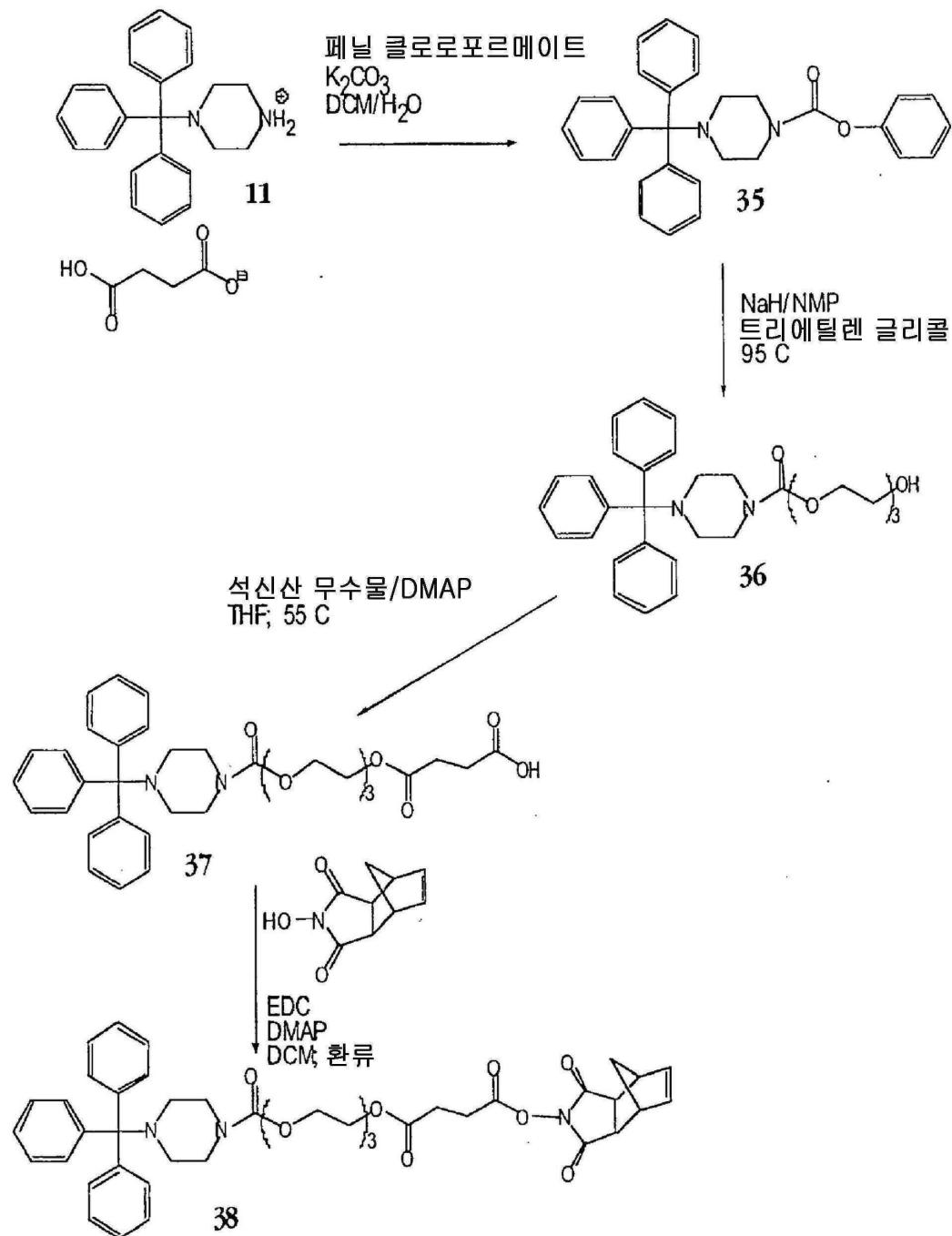
도면 1g



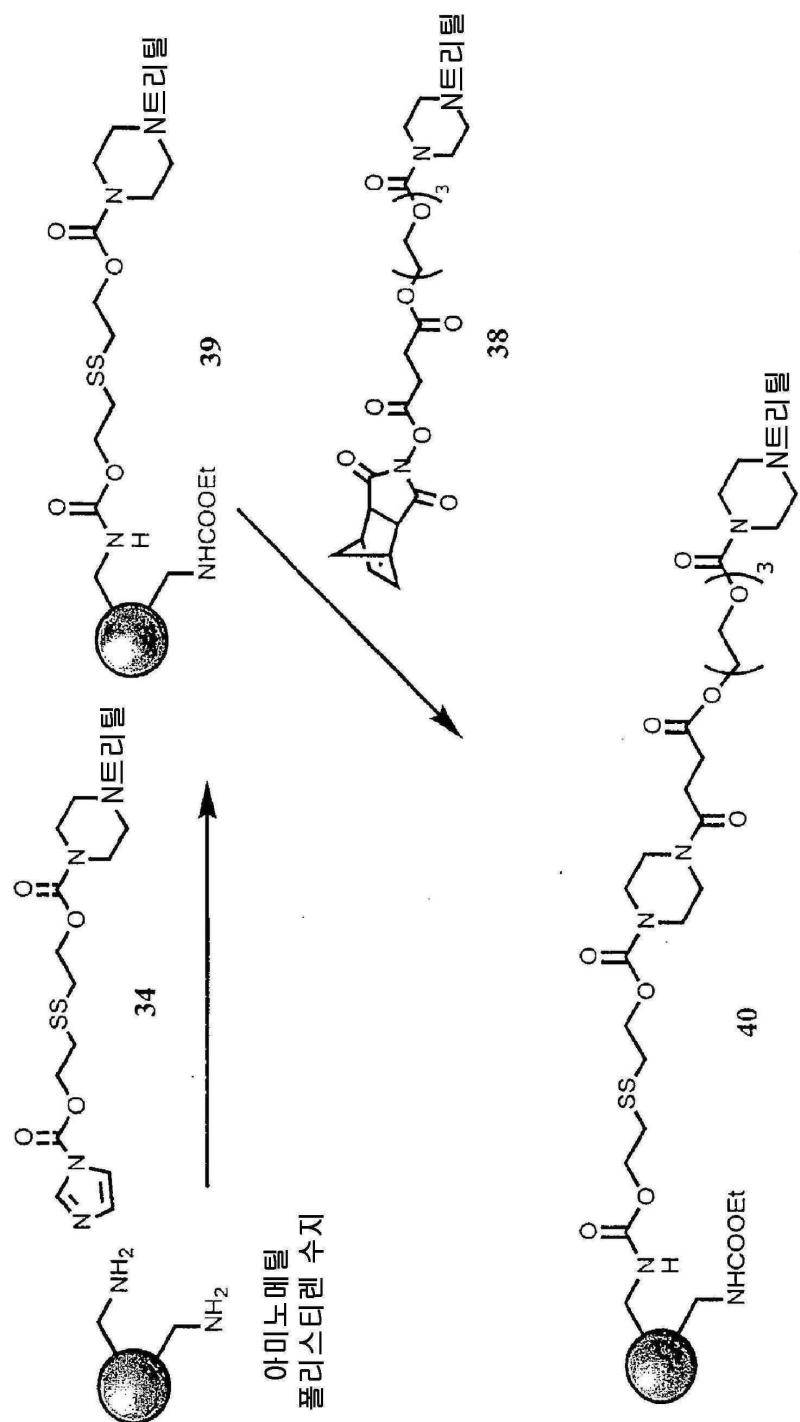
도면 2

 $\text{PMO}^{\text{suc}}$

## 도면3

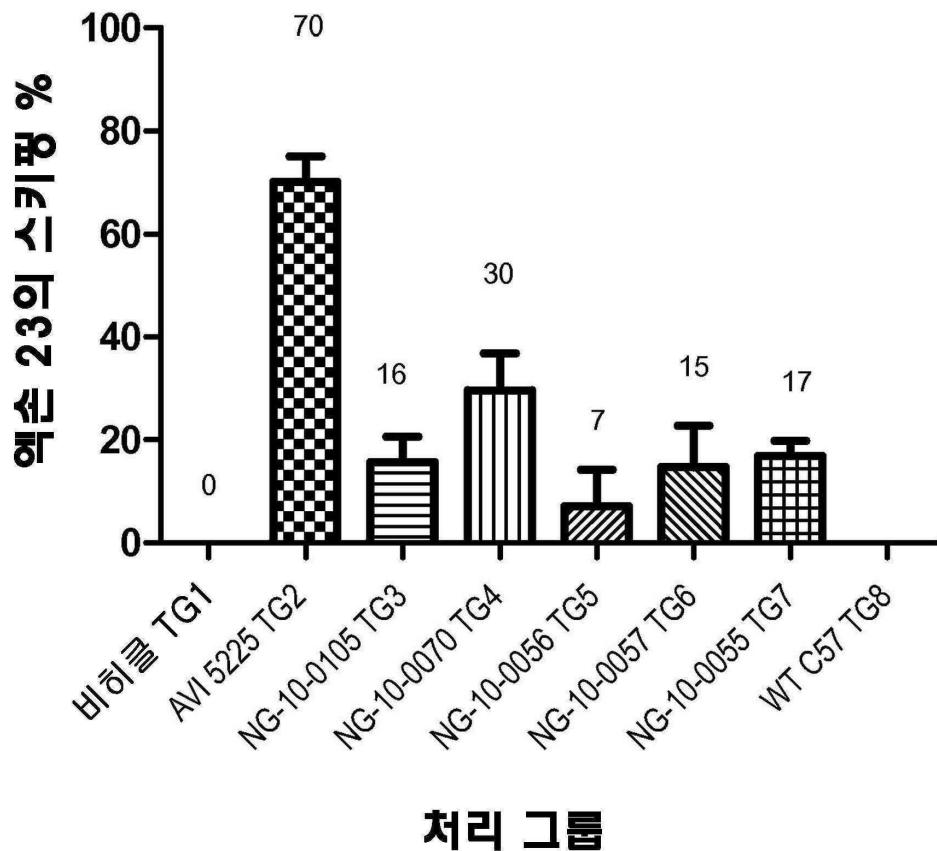


## 도면4

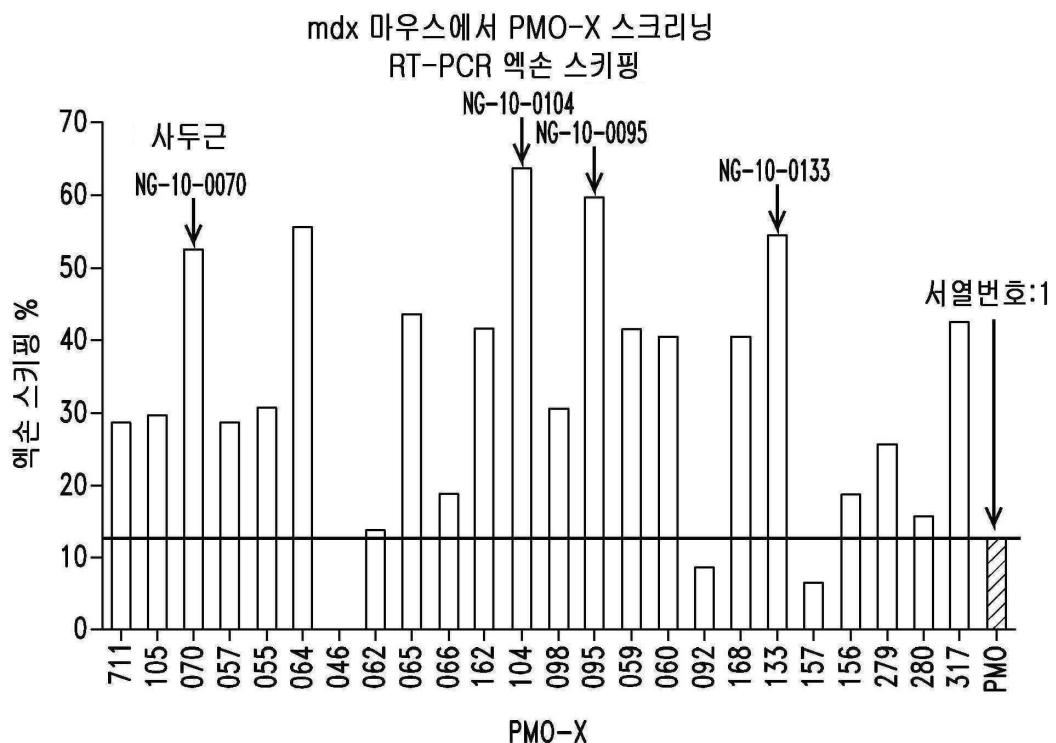


도면5

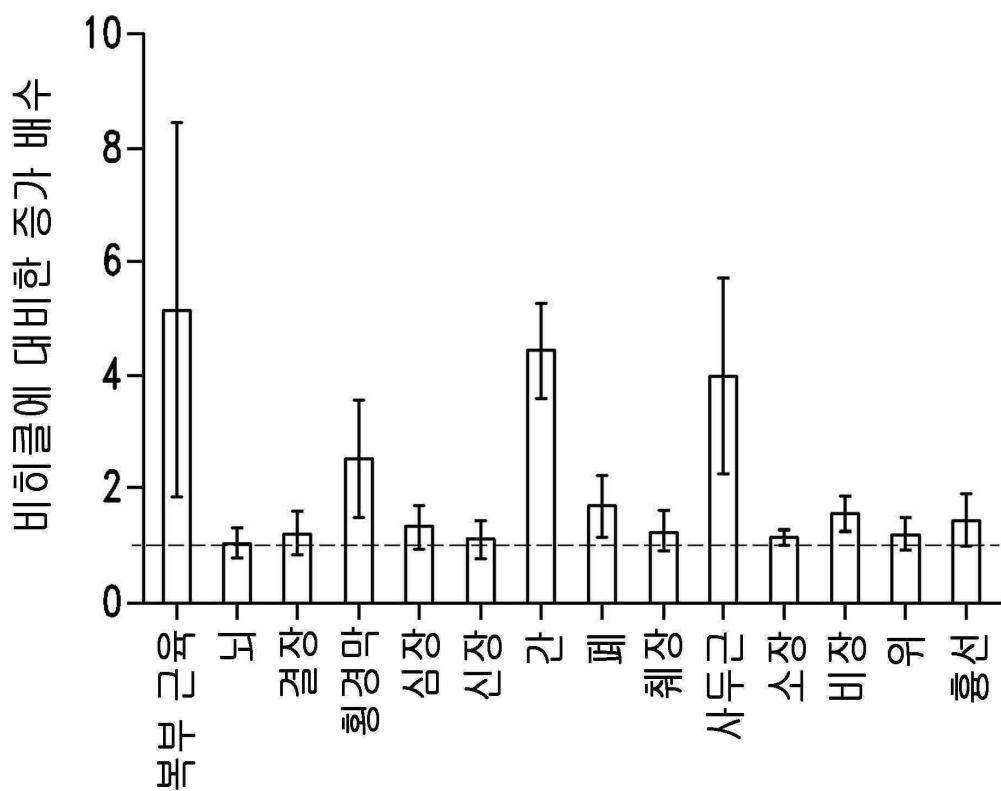
## 스키핑된 엑손 23 mdx DR10-03 QC-L % (숫자들은 평균값을 나타냄)



## 도면6

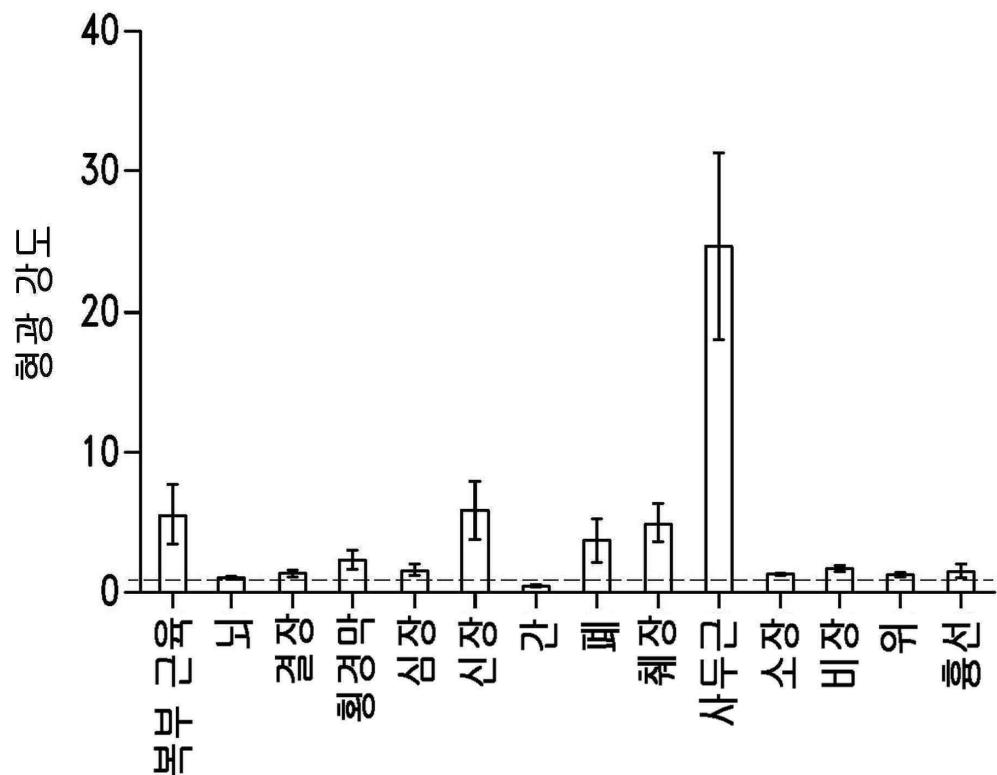


## 도면7a



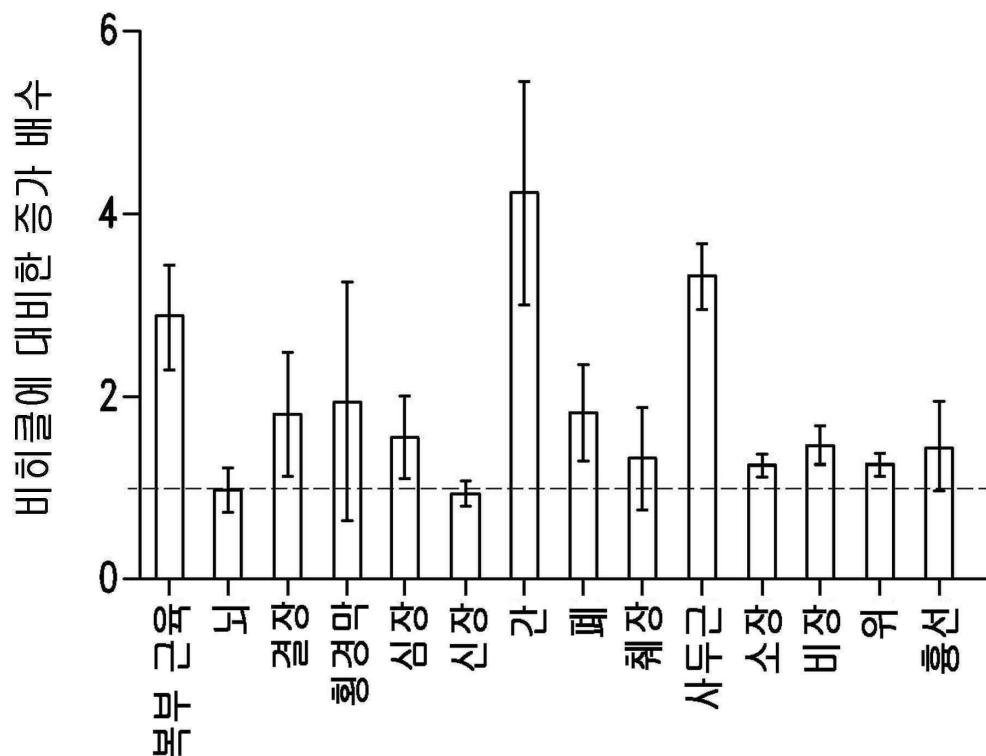
0-1-0-815에 의한 처리

도면7b



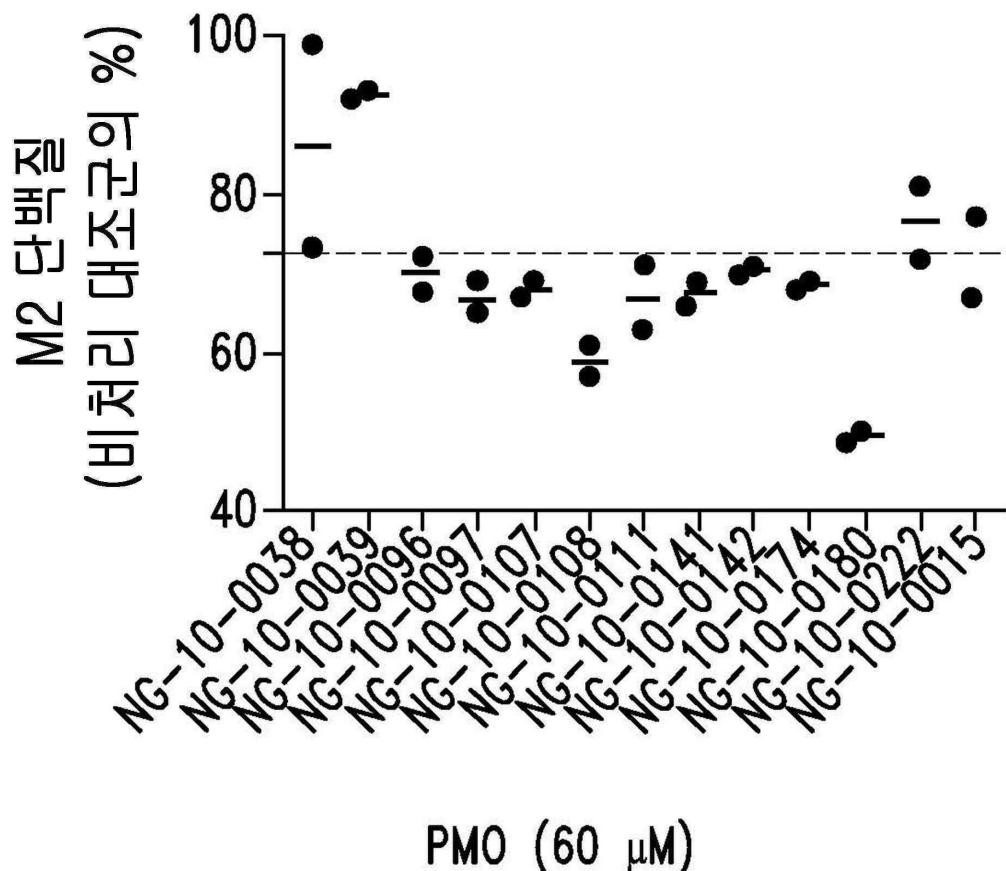
NG-10-0110에 의한 처리

도면 7c

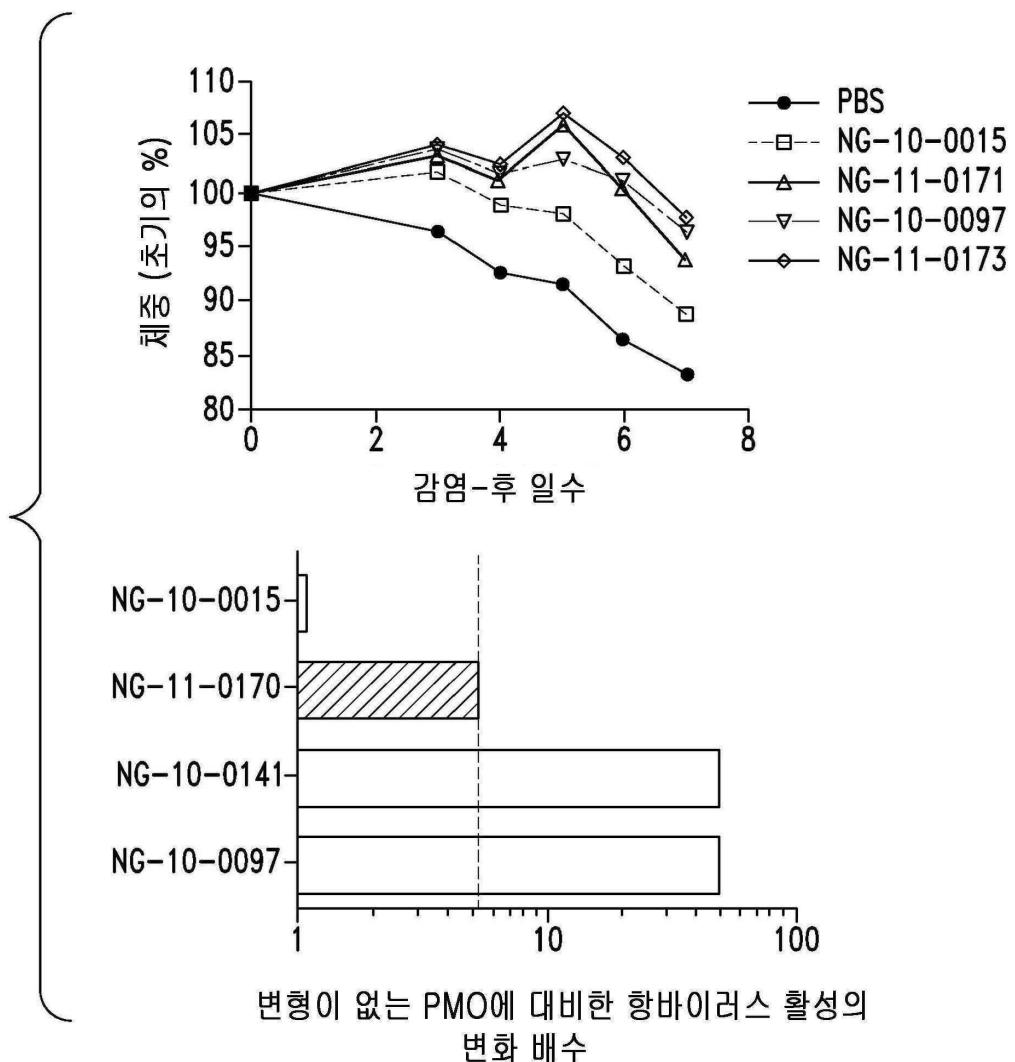


NG-10-0323에 의한 처리

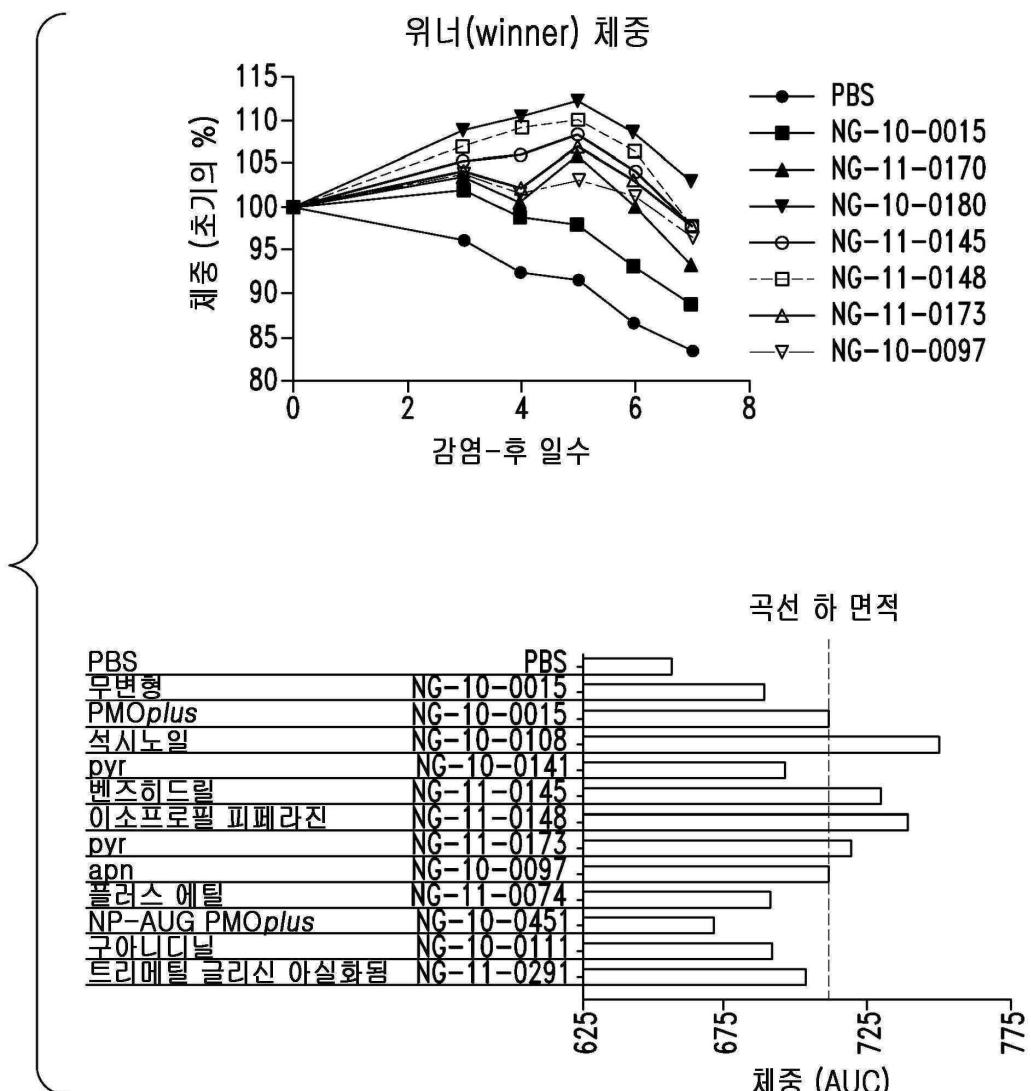
도면8



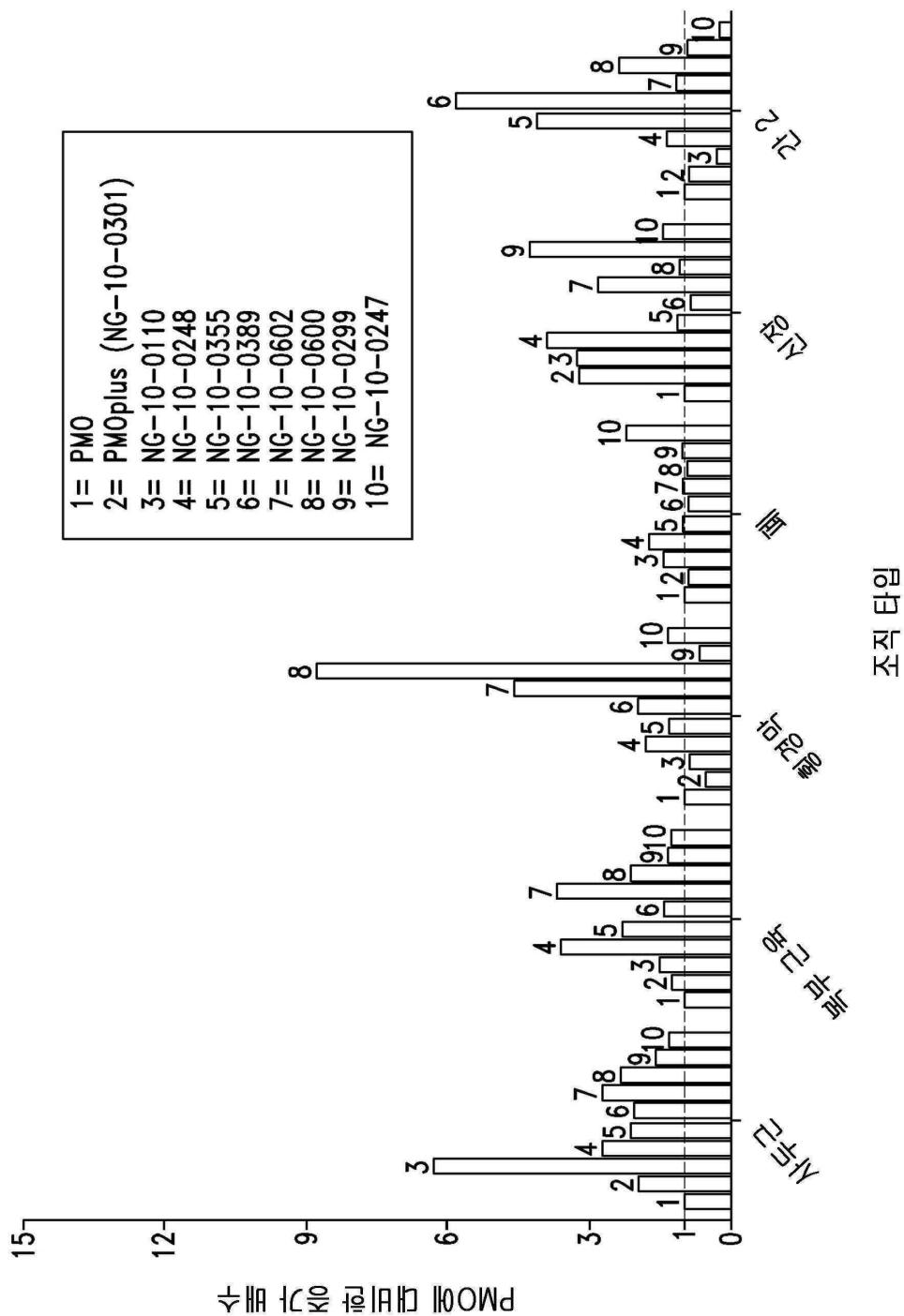
도면9



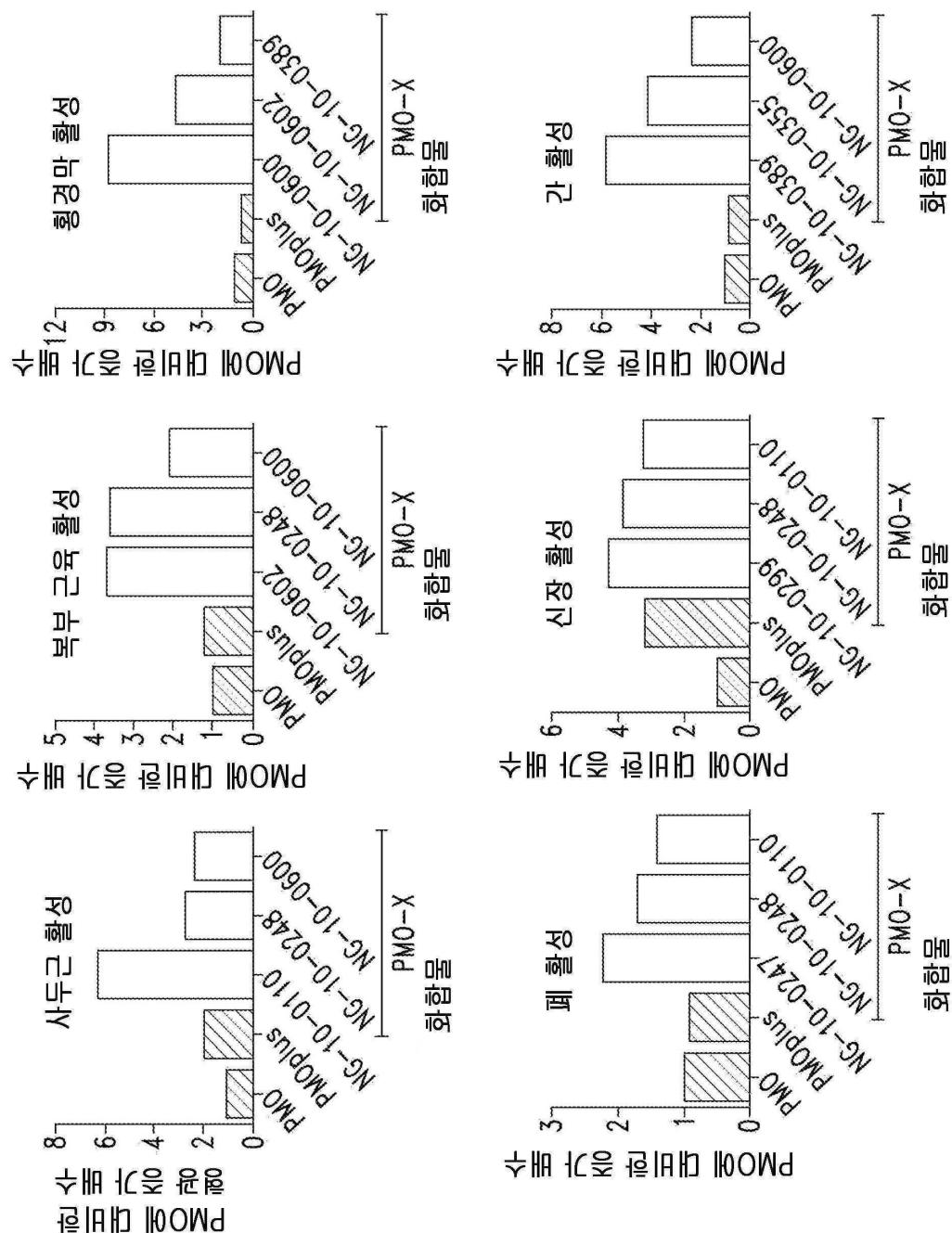
## 도면10



도면11



도면 12



서열목록

- <110> SAREPTA THERAPEUTICS, INC.  
<120> OLIGONUCLEOTIDE ANALOGUES HAVING MODIFIED INTERSUBUNIT LINKAGES  
AND/OR TERMINAL GROUPS  
<130> IPA121048-US-D1D1D1  
<150> US 61/349,783  
<151> 2010-05-28  
<150> US 61/361,878

<151> 2010-07-06  
 <150> US 61/386,428  
 <151> 2010-09-24  
 <160> 88  
 <170> Kopatent In 2.0  
 <210> 1  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antisense oligomer  
 <400> 1  
 cggtccacgt agactaacaa ct 22  
  
 <210> 2  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antisense oligomer  
 <400> 2  
 gaagttcaca cagataaact tct 23  
 <210> 3  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antisense oligomer  
 <400> 3  
 cggttagaag actcatctt 20  
 <210> 4  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Antisense oligomer

&lt;400&gt; 4

tttcgacatc ggttagaaga ctcat

25

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 5

gagacgccat gatgtggatg tc

22

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 6

gaaacacgga cacccaaagt agt

23

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 7

tcccagcgta aatatgctgt tt

22

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 8

gccttaggatc cacggtgcbc	20
<210> 9	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 9	
gggacaaaat ggatccatt attaatggaa attctgctaa	40
<210> 10	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 10	
taatggatc cattttgtcc c	21
<210> 11	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 11	
aataatggga tccattttgt ccc	23
<210> 12	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 12	
cattaataat gggatccatt ttgtccc	27
<210> 13	

<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 13	
gaatttccat taataatggg atccatttg	30
<210> 14	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 14	
cagaatttcc attaataatg ggatccatt	29
<210> 15	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 15	
ggccaaacct cggcttacct gaaat	25
<210> 16	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 16	
ggccaaacct cggcttacct gaaat	25
<210> 17	
<211> 18	

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Antisense oligomer  
 <400> 17

gctattacct taacccag 18

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 52

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Antisense oligomer  
 <400> 18

aaaaaaagat tatattgatt ttaaatcat gcaaaaactg caactctgtg tt 52

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 25

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Antisense oligomer  
 <400> 19

catacatttgc cagttttgc atcat 25

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 26

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Antisense oligomer  
 <400> 20

tcattttaa aaatcagcac aatctt 26

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 26

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 21

cagttttgc atcatttta aaaatc

26

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 25

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 22

gatctgtcaa atcgccgtca ggtaa

25

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 25

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 23

aaactgttca gcttctgtta gccac

25

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 25

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 24

tttgtcttt ctgagaaaact gttca

25

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 25

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

<400> 25	
ctgacaacag tttgccgctg cccaa	25
<210> 26	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 26	
ccaatgccat cctggagttc ctgtaa	26
<210> 27	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 27	
cattcaatgt tctgacaaca gtttgcgcgt	30
<210> 28	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 28	
cttacaggct ccaatagtgg tcagt	25
<210> 29	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 29	

ccactcagag ctcagatctt ctaacttcc	29
<210> 30	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 30	
gggatccagt atacttacag gctcc	25
<210> 31	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 31	
acatcaagga agatggcatt tctagttgg	30
<210> 32	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 32	
ctccaacatc aaggaagatg gcatttctag	30
<210> 33	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 33	
gaggcaggtag ctccaacatc aaggaa	26
<210> 34	

<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 34	
ctgaagggt tcttgactt catcc	25
<210> 35	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 35	
tgttcttgta ctcatccca ctgattctga	30
<210> 36	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 36	
ctttcataat gctggcag	18
<210> 37	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 37	
cataatgctg gcag	14
<210> 38	
<211> 8	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antisense oligomer

<400> 38

gctggcag

8

<210> 39

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antisense oligomer

<400> 39

cagcagcag

9

<210> 40

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antisense oligomer

<400> 40

cagcagcagc ag

12

<210> 41

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antisense oligomer

<400> 41

cagcagcagc agcag

15

<210> 42

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 42

cagcagcagc agcagcag

18

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 43

agcagcagc

9

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 44

agcagcagca gc

12

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 45

agcagcagca gcagc

15

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 46

gcagcagca gcagcagc

18

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 47

gcagcagca

9

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 48

gcagcagcag ca

12

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 49

gcagcagcag cagca

15

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Antisense oligomer

&lt;400&gt; 50

gcagcagcag cagcagca	18
<210> 51	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 51	
agcagcagca gcagcagcag cagca	25
<210> 52	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 52	
cagcagcagc agcagcagca gcagc	25
<210> 53	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 53	
caggcaggc	9
<210> 54	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Antisense oligomer	
<400> 54	
caggcaggca gg	12
<210> 55	

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Antisense oligomer

<400> 55

caggcaggca ggcaggcagg cagg

24

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 56

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg

1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 57

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 58

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Phe Phe

1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 59

Arg Arg Arg Arg Arg Phe Phe Arg Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 60

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 60

Arg Arg Arg Arg

1

<210> 61

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400

> 61

Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 62

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 62

Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 63

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 64

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 65

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 66

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Cell penetrating peptide

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; 2, 5, 8, 11

&lt;223&gt; Acp

&lt;400&gt; 66

Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg

1

5

10

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Cell penetrating peptide

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; 2, 5, 8, 11, 14

&lt;223&gt; Acp

&lt;400&gt; 67

Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg

1

5

10

15

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Cell penetrating peptide

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; 2, 8

&lt;223&gt; Acp

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

<222> 5, 11

<223> bAla

<400> 68

Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg

1 5 10

<210> 69

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 69

Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg Phe Phe Cys

1 5 10 15

<210> 70

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 70

Arg Gly Arg Arg Gly Arg Arg Gly Arg Arg Phe Phe Cys

1 5 10 15

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 71

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Cys

1 5 10

<210> 72

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Cell penetrating peptide

&lt;400&gt; 72

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Phe Phe Cys

1 5 10

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Cell penetrating peptide

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; 3, 6, 9, 12

&lt;223&gt; Acp

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; 13

&lt;223&gt; bAla

&lt;400&gt; 73

Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Xaa

1 5 10

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Cell penetrating peptide

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; MOD\_RES

&lt;222&gt; 2, 5, 8, 11, 13

<223> Acp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 14

<223> bAla

<400> 74

Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Xaa Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 75

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 1, 4, 7, 10, 13

<223> Acp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 14

<223> bAla

<400> 75

Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Xaa

1	5	10
---	---	----

<210

> 76

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 2, 4, 6, 8, 10, 12

<223> Acp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 13

<223> bAla

<400> 76

Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Arg Xaa Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14

<223> Acp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 15

<223> bAla

<400> 77

Arg Xaa Xaa

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 2, 5, 8, 11, 14, 16

<223> Acp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 17

<223> bAla

<400> 78

Arg Xaa Arg Xaa

1	5	10	15
---	---	----	----

Xaa

<210> 79

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 2, 8, 13

<223> Acp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> 5, 11, 14

<223> bAla

<400> 79

Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Arg Xaa Arg Xaa Xaa

1	5	10	
---	---	----	--

<210> 80

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

Cell penetrating peptide

<400> 80

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly

1 5

<210> 81

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 81

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly

1 5

<210> 82

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 82

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly

1 5

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 83

Arg Arg Arg Arg Arg Gly Arg Arg Arg Gly

1 5 10

<210> 84

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 84

Arg Arg Arg Arg Arg Phe Phe Arg Arg Arg Gly

1	5	10
---	---	----

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 85

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly

1	5	10
---	---	----

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<400> 86

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly

1	5	10
---	---	----

<210> 87

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 8

<223> Xaa = Ala, beta-alanine, Val, Leu, Ile, Ser, Gly,

Thr, Phe, Trp, and 6-aminohexanoic acid

<400> 87

Arg Xaa Arg Arg Gly Gly Arg Xaa Arg Arg Gly Gly

1                5                10

<210> 88

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Cell penetrating peptide

<220>

<221> VARIANT

<222> 2, 6, 8, 12

<223> Xaa = Ala, beta-alanine, Val, Leu, Ile, Ser, Gly,

Thr, Phe, Trp, and 6-aminohexanoic acid

<400> 88

Arg Xaa Arg Arg Arg Xaa Arg Xaa Arg Arg Xaa Gly

1                5                10