



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0071108  
(43) 공개일자 2011년06월28일

(51) Int. Cl.

*A61K 31/4706* (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)

*A61K 31/52* (2006.01) *A61P 9/00* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7010318

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년10월06일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년05월04일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/059730

(87) 국제공개번호 WO 2010/042543

국제공개일자 2010년04월15일

(30) 우선권주장

61/102,974 2008년10월06일 미국(US)

(71) 출원인

이데라 파마슈티칼즈, 인코포레이티드

미국 매사추세츠 캠브리지 시드니 스트리트 167  
(우: 02139)

(72) 발명자

주, 후-강

미국, 메사추세츠 01730, 베드포드, 우드랜드 로  
드 16

칸디말라, 이캄바

미국, 메사추세츠 01772, 사우스보로, 캔들우드  
레인 6

아그라왈, 수디르

미국, 메사추세츠 01545, 슈루즈버리, 램프라이터  
드라이브 61

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 51 항

(54) 고콜레스테롤혈증 및 고지혈증 및 이에 관련된 질병의 예방 및 치료에서 틀-유사 수용체의 저해제의 용도

### (57) 요 약

본 발명은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia) 및/또는 고지혈증(hyperlipidemia) 및/또는 이와 관련된 질 병의 예방 또는 치료를 위한 하나 또는 그 이상의 지질 강하 조성물, 콜레스테롤 강하 조성물, 이뇨제, 비스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제, TLR 길항제, 웨პ티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 선택적으로 조합하는, TLR 저해제 또는 그것의 약학적으로 허용가능한 유도체의 용도를 제공한다.

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

콜레스테롤, 지질 및/또는 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein)의 농도가 높은 포유동물에서 TLR 신호 전달을 저해하는 단계를 포함하는, 콜레스테롤, 지질 및/또는 저밀도 지질단백질의 혈중 농도 강하 방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 하나 또는 그이상의 TLR 또는 TLR 신호전달에 관련된 단백질의 활성 저해제를 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

### 청구항 3

제 2항에 있어서, TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 4

제 2항에 있어서, 상기 TLR 신호전달에 관련된 단백질은 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B 및 NF- $\kappa$ B로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 5

제 2항에 있어서, 상기 저해제는 작은 분자(small molecule); 항체; 시클로헥센 유도체(cyclohexene derivative); 지질 유도체(lipid derivative); "CCT" 트리플렛(triplet) 및 "GGG" 트리플렛을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드; "GGG" 및/또는 "GGGG" 및/또는 "GC" 서열들을 포함하는 영역들을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드; 메틸화된 합성 올리고뉴클레오티드; 변형(modification)이 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 면역 촉진성 모티프에 인접하는 서열에 하나 또는 그 이상의 화학적 변형을 갖는, 합성된, 면역 저해성 올리고뉴클레오티드; 및 하나 또는 그이상 변형된 면역 촉진성 모티프들로 구성되는 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하고, 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 변형이 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하는 합성된 면역 저해성 올리고뉴클레오티드로 구성되는 군으로부터 선택되는 화합물인 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 작은 분자는 클로로퀸(chloroquine) 또는 히드록시클로로퀸(hydroxychloroquine)인 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 7

제 2항에 있어서, 상기 저해제는 하기의 구조를 갖는 TLR 길항제 화합물인 것을 특징으로 하는 방법



여기서:

CG는 올리고뉴클레오티드 모티프이고, C는 시토신(cytosine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고;

$N_1-N_3$  및  $N^1-N^3$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며;

$N_m$  및  $N^m$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고;

$N_1-N_3$  및/또는  $N^1-N^3$  및/또는 C 및/또는 G의 적어도 어느 하나가 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합으로 제공되며;

상기 올리고뉴클레오티드 모티프는 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하고;

그리고 m은 0으로부터 약 30까지의 정수이다.

## 청구항 8

제 2항에 있어서, 상기 제해제는 하나 또는 그 이상의 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하는 TLR 길항제 화합물이고, 여기서 CG는 변형된 면역 촉진성 모티프이며, C는 시토신, 또는 5-메틸-dC, 2'-0-치환된-C, 2'-0-메틸-C, 2'-0-메톡시에톡시(methoxyethoxy)-C, 2'-0-메톡시에틸(methoxyethyl)-5-메틸-C, 및 2'-0-메틸-5-메틸-C로부터 선택되는 피리미딘 뉴클레오티드 유도체이고, 그리고 G는 구아노신 또는 2'-0-치환된-G, 2'-0-메틸-G, 및 2'-0-메톡시에톡시(methoxyethoxy)-G로부터 선택된 퓨린 뉴클레오티드 유도체이며; 변형된 면역 촉진성 모티프의 적어도 어느 하나의 C 및/또는 G가 특이적 뉴클레오티드 유도체로 제공되고; 그리고 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 선택적으로 포함하며; 여기서 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 뉴클레오티드 유도체가 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 9

제 2항에 있어서, 상기 투여 경로는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 10

제 2항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웹티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 11

제 10항에 있어서, 상기 콜레스테롤 강하 조성물은 스타틴(statin)인 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 12

제 1항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 TLR 신호전달에 관련된 단백질의 발현 저해제를 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 13**

제 12항에 있어서, 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 14**

제 12항에 있어서, 상기 TLR 신호전달에 관련된 단백질은 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B 및 NF- $\kappa$ B로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 15**

제 12항에 있어서, 상기 투여 경로는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 16**

제 12항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 앤티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 17**

제 16항에 있어서, 상기 콜레스테롤 강하 조성물은 스타틴(statin)인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 18**

관상동맥 심장 질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 죽상동맥경화 뇌졸중(atherosclerosis stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 및 고혈압으로부터 선택되는 질병을 갖는 포유동물에서 TLR 신호전달을 저해하는 것을 포함하는, 상기 포유동물을 치료학적으로 치료하는 하는 방법.

**청구항 19**

제 18항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 TLR 신호전달에 관련된 단백질의 활성 저해제를 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 20**

제 19항에 있어서, 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 21**

제 19항에 있어서, 상기 TLR 신호전달에 관련된 단백질은 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B 및 NF- $\kappa$ B로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 22

제 19항에 있어서, 상기 저해제는 작은 분자(small molecule); 항체; 시클로헥센 유도체(cyclohexene derivative); 지질 유도체(lipid derivative); "CCT" 트리플렛(triplet) 및 "GGG" 트리플렛을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드; "GGG" 및/또는 "GGGG" 및/또는 "GC" 서열들을 포함하는 영역들을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드; 메틸화된 합성 올리고뉴클레오티드 또는 합성물; 변형(modification)이 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 면역 촉진성 모티프에 인접하는 서열에 하나 또는 그이상의 화학적 변형을 갖는, 면역 저해성 올리고뉴클레오티드; 및 하나 또는 그 이상 변형된 면역 촉진성 모티프들로 구성되는 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하고, 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 변형이 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하는 합성된 면역 저해성 올리고뉴클레오티드로 구성되는 군으로부터 선택되는 화합물인 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 23

제 22항에 있어서, 상기 작은 분자는 클로로퀸(chloroquine) 또는 히드록시클로로퀸(hydroxychloroquine)인 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 24

제 19항에 있어서, 상기 저해제는 하기의 구조를 갖는 TLR 길항제 화합물인 것을 특징으로 하는 방법



여기서:

CG는 올리고뉴클레오티드 모티프이고 C는 시토신(cytosine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고;

$\text{N}_1-\text{N}_3$  및  $\text{N}^1-\text{N}^3$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며;

$\text{N}_m$  및  $\text{N}^m$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고;

$\text{N}_1-\text{N}_3$  및/또는  $\text{N}^1-\text{N}^3$  및/또는 C 및/또는 G의 적어도 어느 하나가 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합으로 제공되며;

상기 올리고뉴클레오티드 모티프는 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하고;

그리고 m은 0으로부터 약 30까지의 정수이다.

### 청구항 25

제 19항에 있어서, 상기 제해제는 하나 또는 그 이상의 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하는 TLR 길항제 화합물이고, 여기서 CG는 변형된 면역 촉진성 모티프이며, C는 시토신, 또는 5-메틸-dC, 2'-0-치환된-C, 2'-0-메틸-C, 2'-0-메톡시에톡시(methoxyethoxy)-C, 2'-0-메톡시에틸(methoxyethyl)-5-메틸-C, 및 2'-0-메틸-5-메틸-C로부터 선택되는 피리미딘 뉴클레오티드 유도체이고, 그리고 G는 구아노신 또는 2'-0-치환된-G, 2'-0-메틸-G, 및 2'-0-메톡시에톡시(methoxyethoxy)-G로부터 선택된 퓨린 뉴클레오티드 유도체이며; 변형된 면역 촉진성 모티프

의 적어도 어느 하나의 C 및/또는 G가 특이적 뉴클레오티드 유도체로 제공되고; 그리고 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 선택적으로 포함하며; 여기서 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 뉴클레오티드 유도체가 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 26

제 19항에 있어서, 상기 투여 경로는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 27

제 19항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 앤티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웹티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 28

제 27항에 있어서, 상기 콜레스테롤 강하 조성물은 스타틴(statin)인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 29

제 18항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 TLR 신호전달에 관련된 단백질의 활성 저해제를 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

#### 청구항 30

제 29항에 있어서, 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 31

제 29항에 있어서, 상기 TLR 신호전달에 관련된 단백질은 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B 및 NF- $\kappa$ B로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 32

제 29항에 있어서, 상기 투여 경로는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 33

제 29항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물,

이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 앤티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 34

제 33항에 있어서, 상기 콜레스테롤 강하 조성물은 스타틴(statin)인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 35

관상동맥 심장 질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 즉상동맥경화 뇌졸중(atherosclerosis stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 및 고혈압으로부터 선택되는 질병인 것을 특징으로 하는 포유동물에서 TLR 신호전달을 저해하는 것을 포함하는, 상기 포유동물에서 질병을 예방하는 하는 방법.

#### 청구항 36

제 35항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 TLR 신호전달에 관련된 단백질의 활성 저해제를 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

#### 청구항 37

제 35항에 있어서, 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 38

제 36항에 있어서, 상기 TLR 신호전달에 관련된 단백질은 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B 및 NF- $\kappa$ B로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 39

제 36항에 있어서, 상기 저해제는 작은 분자(small molecule); 항체; 시클로헥센 유도체(cyclohexene derivative); 지질 유도체(lipid derivative); "CCT" 트리플렛(triplet) 및 "GGG" 트리플렛을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드; "GGG" 및/또는 "GGGG" 및/또는 "GC" 서열들을 포함하는 영역들을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드; 메틸화된 합성 올리고뉴클레오티드 또는 합성물; 변형(modification)이 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 면역 촉진성 모티프에 인접하는 서열에 하나 또는 그이상의 화학적 변형을 갖는, 면역 저해성 올리고뉴클레오티드; 및 하나 또는 그 이상 변형된 면역 촉진성 모티프들로 구성되는 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하고, 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 변형이 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하는 합성된 면역 저해성 올리고뉴클레오티드로 구성되는 군으로부터 선택되는 화합물인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 40

제 39항에 있어서, 상기 작은 분자는 클로로퀸(chloroquine) 또는 히드록시클로로퀸(hydroxychloroquine)인 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 41

제 36항에 있어서, 상기 저해제는 하기의 구조를 갖는 TLR 길항제 화합물인 것을 특징으로 하는 방법



여기서:

CG는 올리고뉴클레오티드 모티프이고 C는 시토신(cytosine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고;

$\text{N}_1-\text{N}_3$  및  $\text{N}^1-\text{N}^3$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며;

$\text{N}_m$  및  $\text{N}^m$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고;

$\text{N}_1-\text{N}_3$  및/또는  $\text{N}^1-\text{N}^3$  및/또는 C 및/또는 G의 적어도 어느 하나가 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합으로 제공되며;

상기 올리고뉴클레오티드 모티프는 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하고;

그리고  $m$ 은 0으로부터 약 30까지의 정수이다.

## 청구항 42

제 36항에 있어서, 상기 제해제는 하나 또는 그 이상의 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하는 TLR 길항제 화합물이고, 여기서 CG는 변형된 면역 촉진성 모티프이며, C는 시토신, 또는 5-메틸-dC, 2'-0-치환된-C, 2'-0-메틸-C, 2'-0-메톡시에톡시(methoxyethoxy)-C, 2'-0-메톡시에틸(methoxyethyl)-5-메틸-C, 및 2'-0-메틸-5-메틸-C로부터 선택되는 피리미딘 뉴클레오티드 유도체이고, 그리고 G는 구아노신 또는 2'-0-치환된-G, 2'-0-메틸-G, 및 2'-0-메톡시에톡시(methoxyethoxy)-G로부터 선택된 퓨린 뉴클레오티드 유도체이며; 변형된 면역 촉진성 모티프의 적어도 어느 하나의 C 및/또는 G가 특이적 뉴클레오티드 유도체로 제공되고; 그리고 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 선택적으로 포함하며; 여기서 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 뉴클레오티드 유도체가 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 43

제 36항에 있어서, 상기 투여 경로는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 44

제 36항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드 성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웹티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 45**

제 44항에 있어서, 상기 콜레스테롤 강하 조성물은 스타틴(statin)인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 46**

제 35항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 TLR 신호전달에 관련된 단백질의 발현 저해제를 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 47**

제 46항에 있어서, 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 48**

제 46항에 있어서, 상기 TLR 신호전달에 관련된 단백질은 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B 및 NF- $\kappa$ B로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 49**

제 46항에 있어서, 상기 투여 경로는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액의 형태인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 50**

제 46항에 있어서, 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 앤티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웹티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 51**

제 50항에 있어서, 상기 콜레스테롤 강하 조성물은 스타틴(statin)인 것을 특징으로 하는 방법.

**명세서****기술분야**

[0001] 본 출원은 2008년 10월 06일에 출원된, 미국 가특허 출원 번호 61/102,974로부터 우선권을 주장하며, 본 출원의 내용은 이의 전체로 참고문헌으로 본 명세서에 통합된다.

[0002]

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 질병 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위하여 톨-유사 수용체(Toll-Like Receptor) 신호전달 경로를

저해하는 화합물 및 약학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 또한 본 발명은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia) 및 고지혈증(hyperlipidemia) 및 이에 관련된 질병의 치료에 관련된다.

## 배경기술

### [0005] 관련 기술의 요약

[0006] 혈액에서 비용해성 때문에, 콜레스테롤 및 지질은 지질단백질(lipoprotein)의 형태로 순환기 계통에 이동된다. 지질단백질의 콜레스테롤 및 지질은 순환기 계통을 통해 조직에 축적될 수 있다. 순환기 계통에 고농도의 콜레스테롤(고콜레스테롤혈증; hypercholesterolemia) 및/또는 지질(고지혈증; hyperlipidemia)은 관상동맥 심장질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 축상동맥경화 뇌졸중(atherosclerosis stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 및 고혈압을 포함하나, 이에 한정되지는 않는, 많은 질병과 관련된 것으로 알려진 증상들이다. 혈액에서 저밀도 지질단백질 지질 및/또는 저밀도 지질단백질 콜레스테롤 농도를 낮추는 것이 콜레스테롤 및/또는 지질의 높은 혈중 농도와 관련된 질병들에 대해 보호하는데 이롭다는 것이 확립되어 있다. 혈중 저밀도 지질단백질 지질 및/또는 저밀도 지질단백질 콜레스테롤 농도와 비교하여 고밀도 지질단백질 지질 및/또는 고밀도 지질단백질 콜레스테롤 농도의 증가는 혈중 콜레스테롤 및/또는 지질의 고농도와 관련된 질병에 대해 보호하는데 이롭다는 것이 또한 확립되어 있다.

[0007] 톨-유사 수용체(Toll-like receptors; TLR)는 면역계의 많은 세포들에 존재하며, 선천성 면역 반응에 관련된 것으로 입증되었다(Hornung, V. et al. (2002) *J. Immunol.* 168:4531-4537). TLR은 포유동물들이 외래의 분자들을 인식하고 외래의 분자들에 대한 면역 반응을 개시하기 위한 중요한 수단이고 또한 선천성 및 적응성 면역 반응이 링크되는 수단을 제공한다(Akira, S. et al. (2001) *Nature Immunol.* 2:675-680; Medzhitov, R. (2001) *Nature Rev. Immunol.* 1:135-145). 포유동물에서, 이 패밀리는 TLR1 내지 TLR11으로 불리는 적어도 11 개의 단백질로 이루어지며, 이는 박테리아, 진균류, 기생충 및 바이러스로부터의 병원체 관련 분자 패턴(pathogen associated molecular patterns; PAMPs)을 인식하고 수많은 전사 인자들에 의해 매개되는 면역 반응을 유도하는 것으로 알려져 있다(Poltorak, A. et al. (1998) *Science* 282:2085-2088; Underhill, D.M., et al. (1999) *Nature* 401:811-815; Hayashi, F. et al. (2001) *Nature* 410:1099-1103; Zhang, D. et al. (2004) *Science* 303:1522-1526; Meier, A. et al. (2003) *Cell. Microbiol.* 5:561-570; Campos, M.A. et al. (2001) *J. Immunol.* 167: 416-423; Hoebe, K. et al. (2003) *Nature* 424: 743-748; Lund, J. (2003) *J. Exp. Med.* 198:513-520; Heil, F. et al. (2004) *Science* 303:1526-1529; Diebold, S.S., et al. (2004) *Science* 303:1529-1531; Hornung, V. et al. (2004) *J. Immunol.* 173:5935-5943). TLR은 포유동물이 외래의 분자들을 인식하고, 외래의 분자들에 대한 면역 반응을 개시하기 위한 중요한 수단으로 알려져 있고 또한 선천성 및 적응성 면역 반응을 연결하는 수단을 제공하는 것으로 인식된다(Akira, S. et al. (2001) *Nature Immunol.* 2:675-680; Medzhitov, R. (2001) *Nature Rev. Immunol.* 1:135-145).

[0008] 일부 TLR들은 세포 표면에 위치하여 세포외 병원체를 탐지하고 반응을 개시하고 다른 TLR들은 세포 내부에 위치하여 세포내 병원체를 탐지하고 반응을 개시한다. 표 1은 대표적인 TLR, 이의 공지된 촉진제(agonists) 및 TLR을 포함하는 것으로 알려진 세포 유형들을 나타낸다(Diebold, S.S. et al. (2004) *Science* 303:1529-1531; Liew, F. et al. (2005) *Nature* 5:446-458; Hemmi H et al. (2002) *Nat. Immunol.* 3:196-200; Jurk M et al. (2002) *Nat. Immunol.* 3:499; Lee J et al. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:6646-6651); (Alexopoulou, L. (2001) *Nature* 413:732-738).

표 1

TLR 분자	촉진제(Agonist)	수용체를 포함하는 세포 유형
세포 표면 TLR:		
TLR2	박테리아의 지질펩티드	단핵구/대식세포, 골수성 수지상 세포, 비만 세포

TLR4	그람 음성 박테리아	단핵구s/대식세포, 골수성 수지상 세포, 비만 세포, 장 표피
TLR5	운동성 박테리아	단핵구/대식세포, 수지상 세포, 장 표피
TLR6	그람 양성 박테리아	단핵구s/대식세포, 비만 세포, B 립프구
세포 내 TLR:		
TLR3	이중 가닥 RNA 바이러스	수지상 세포, B 립프구
TLR7	단일 가닥 RNA 바이러스; RNA-면역글로불린 복합체	단핵구/대식세포, 형질세포양 수지상 세포(Plasmacytoid dendritic cell), B 립프구
TLR8	단일 가닥 RNA 바이러스; RNA-면역글로불린 복합체	단핵구/대식세포, 수지상 세포, 비만 세포
TLR9	비메틸화된 "CpG" 모티프를 포함하는 DNA; DNA-면역글로불린 복합체	단핵구/대식세포, 형질세포양 수지상 세포, B 립프구

[0010] TLR의 선택적 위치화와 그로부터 생성된 신호전달은 면역 반응에서 그것의 역할에 대한 일부 이해를 제공한다. 면역반응은 그 반응에 관련된 세포들의 일부에 기초한 선천성 및 적응성 반응 모두에 관련된다. 예를 들어, 자연된-유형의 과민반응(delayed-type hypersensitivity) 및 세포독성 T 립프구(cytotoxic T lymphocytes; CTLs)의 활성화와 같은 기본적인 세포-매개 기능에 관련된 T 헬퍼(T helper; Th) 세포는 Th1 세포이다. 이러한 반응은 항원(예를 들어, 바이러스성 감염, 세포내 병원체, 및 암 세포)에 대한 생체의 선천성 반응이고, IFN-감마의 분비 및 CTL의 동시(concomitant) 활성화를 초래한다.

[0011] 염증 반응 조절에 대한 그것들이 관련된 결과로서, TLR의 활성화는 자가면역, 감염성 질병 및 염증을 포함하는, 많은 질병의 발병에 역할을 담당하는 것으로 보여진다(Papadimitraki et al. (2007) *J. Autoimmun.* 29: 310-318; Sun et al. (2007) *Inflamm. Allergy Drug Targets* 6:223-235; Diebold (2008) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60:813-823; Cook, D.N. et al. (2004) *Nature Immunol.* 5:975-979; Tse and Horner (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:53-62; Tobias & Curtiss (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:23-27; Ropert et al. (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:41-51; Lee et al. (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:3-9; Gao et al. (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:29-40; Vijay-Kumar et al. (2008) *Semin. Immunopathol.* 30:11-21). 염증에서 그것들의 기능의 결과로서, TLR 발현 및/또는 활성을 하향-조절하는 것이 질병 중재(disease intervention)에 유용한 수단을 제공할 수 있을 것으로 인식된다.

[0012] 지금까지, TLR 활성을 선택적으로 저해하는 것을 목표로 하는 연구 방법들은 작은 분자(예를 들어, 클로로퀸(chloroquine) 및 하이드로클로로퀸(hydroxychloroquine)) (예를 들어, WO 2005/007672 및 Krieg, A. M. (2002) *Annu. Rev. Immunol.* 20:709 참조), 항체 (예를 들어, Duffy, K. et al. (2007) *Cell Immunol.* 248:103-114 참조), 촉매성 RNAi 기술 (예를 들어, 작은 저해성 RNAs), 사이클로헥센(cyclohexene) 유도체 (I1 et al. (2006) *Mol. Pharmacol.* 69:1288-1295), 지질 유도체 (Akira et al. (2005) *Circulation* 114:270-274), 폴리-G 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 (Pawar et al. (2007) *J. Am. Soc. Nephrol.* 18:1721-1731) 및 메틸화 또는 변형된 올리고뉴클레오티드들로 경쟁적 저해(예를 들어, Barrat and Coffman (2008) *Immunol. Rev.* 223:271-283 참조)를 연구하였다. TLR 저해제들을 개시하는 이런 문헌들은 인용문헌으로 삽입되었다.

[0013] TLR-매개 염증성 반응을 저해하는 능력의 결과로서, TLR 길항제는 특정 질병의 치료 및/또는 예방에 대한 가능한 치료법으로 현재 연구되고 있다. 그러나 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도 및/또는 이와 관련된 질병을 조절하는 것에서 TLR의 기능이 이전에는 알려지지 않았다.

## 발명의 내용

### [0014] 본 발명의 간단한 요약

본 발명자들은 놀랍게도 TLR 신호전달 경로의 저해가 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮출 수 있고 및/또는 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에서 LDL-C에 대한 HDL-C의 비율을 증가시킬 수 있다는 것을 발견하였다.

이렇게, 첫번째 측면에서, 본 발명은 TLR 신호전달을 저해함으로써 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에서 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮추는 방법을 제공한다. 본 발명의 바람직한 실시예에서, TLR 신호전달은 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 골수성 분화 마커 88(myeloid differentiation marker 88; MyD88), IL-1R-관련 키나제(IL-1R-associated kinase; IRAK), 인터페론 조절 인자(interferon regulating factor; IRF), TNF-수용체-관련 인자(TNF-receptor-associated factor; TRAF), 형질전환 성장 인자 베타-활성화 키나제 1(transforming growth factor beta(TGfb)-activated kinase1), I<sub>K</sub>B 키나제, I<sub>K</sub>B, 및 NF-<sub>K</sub>B와 같은, TLR 신호전달 경로에 있는 하류 단백질의 발현 또는 활성을 저해함으로써 저해된다. 이렇게, 일부 실시예에서 TLR 신호전달의 저해는 증가된 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질을 갖는 포유동물에 TLR 길항제 화합물을 투여함으로써 달성된다. 이러한 TLR 길항제 화합물 또는 조성물의 일부는 예를 들어, 클로로퀸(chloroquine) 또는 하이드로클로로퀸(hydroxychloroquine)에 한정되지 않는 작은 분자들; 항체; 시클로헥센(cyclohexene) 유도체; 지질 유도체; "CCT" 트리플렛(triplet) 및 "GGG" 트리플렛의 두 트리플렛 서열들을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드로서, "CCT" 트리플렛은 근위(proximal)로 생각될 수 있고 "GGG" 트리플렛은 원위(distal)로 생각될 수 있으며; "GGG" 및/또는 "GGGG" 및/또는 "GC" 서열들을 포함하는 부위를 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드로서, 그런 서열들이 복수로 존재할 수 있고; 메틸화된 합성 올리고뉴클레오티드; 또는 합성, 면역 저해성 올리고뉴클레오티드로서, 면역 촉진성 모티프에 인접하는 서열에 및/또는 변형이 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 올리고뉴클레오티드 모티프에 하나 또는 그 이상의 화학적 변형들을 가질 수 있는 것이다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGFB, I<sub>K</sub>B kinase, I<sub>K</sub>B, 및 NF-<sub>K</sub>B와 같은, TLR 신호전달 경로의 하류 단백질의 발현을 안티센스 올리고뉴클레오티드, 디코이(decoy) RNA, 리보자임(ribozymes), 촉매성 RNAi 기술, siRNA 또는 miRNA와 같은 유전자 발현 블로킹 기술들을 사용하여 저해함으로써 저해된다.

일부 바람직한 실시예에서, 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에서 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮추는 방법은 포유동물에 5'-N<sub>m</sub>-N<sub>3</sub>N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>CGN<sup>1</sup><sup>2</sup>N<sup>3</sup>-N<sup>m</sup>-3' 구조를 갖는 TLR 길항제 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 CG는 올리고뉴클레오티드 모티프이고 C는 시토신(cytosine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체이며, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 또는 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체인 것을 특징으로 하고; N<sub>1</sub>-N<sub>3</sub> 및 N<sup>1</sup>-N<sup>3</sup> 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며; N<sub>m</sub> 및 N<sup>m</sup>, 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며; N<sub>1</sub>-N<sub>3</sub> 및/또는 N<sup>1</sup>-N<sup>3</sup> 및/또는 C 및/또는 G의 적어도 어느 하나가 뉴클레오티드 유도체로 제공되고 여기서 상기 올리고뉴클레오티드 모티프는 뉴클레오티드 유도체가 없는 경우 면역 촉진성일 것을 특징으로 하며; 그리고 m은 0으로부터 약 30까지의 정수인 것을 특징으로 한다.

또한 실시예에서, 본 발명은 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에 5'-N<sub>m</sub>-N<sub>3</sub>N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>CGN<sup>1</sup><sup>2</sup>N<sup>3</sup>-N<sup>m</sup>-3' 구조를 갖는 TLR 길항제 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮추는 방법을 제공하고, 여기서 CG는 올리고뉴클레오티드 모티프이고 C는 시토신(cytosine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체이며, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 또는 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체인 것을 특징으로 하고; N<sub>1</sub>-N<sub>3</sub> 및 N<sup>1</sup>-N<sup>3</sup>, 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체이며; N<sub>m</sub> 및 N<sup>m</sup>, 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며; N<sub>1</sub>-N<sub>3</sub> 및/또는 N<sup>1</sup>-N<sup>3</sup> 및/또는 C 및/또는 G의 적어도 어느 하나가 뉴클레오티드 유도체로 제공되고; 그리고 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 포함할 수 있는 화합물을 추가로 제공하고 여기서 상기 올리고뉴클레오티드 모티프는 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는

것을 특징으로 하며; 그리고 m은 0으로부터 약 30까지의 정수인 것을 특징으로 한다.

[0019] 또다른 실시예에서, 본 발명은 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에 하나 또는 그 이상의 TLR 길항제 화합물 또는 조성물을 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용가능한 담체의 투여를 통한 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮추는 방법을 제공한다.

[0020] 일부 바람직한 실시예에서, 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮추는 방법은 하나 또는 그 이상의 TLR 길항제 화합물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및 TLR9으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0021] 두번째 측면에서, 본 발명은 포유 동물에서 TLR 신호전달을 저해하는 단계를 포함하는 방법과 같이, 포유 동물에서 높은 혈중 지질 농도 및/또는 높은 혈중 콜레스테롤 농도와 관련된 질병을 치료학적으로 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 약학적으로 유효한 양으로 본 발명에 따른 하나 또는 그 이상의 TLR 길항제를 포유동물에 투여함으로써 저해된다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 약학적으로 유효한 양으로 하나 또는 그 이상의 TLR, 또는 TLR 신호전달 경로에 있는 다른 단백질의 발현을 저해함으로써 저해된다. 본 발명의 이러한 측면의 어떤 바람직한 실시예에서, 상기 질병은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia), 고지혈증(hyperlipidemia), 관상동맥 심장 질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 죽상동맥경화(atherosclerosis), 뇌졸중(stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 또는 고혈압이다.

[0022] 세번째 측면에서, 본 발명은 포유동물에서 TLR 신호전달을 저해하는 단계를 포함하는 방법과 같이, 포유동물에서 높은 혈중 지질 농도 및/또는 높은 혈중 콜레스테롤 농도와 관련된 질병을 예방하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 약학적으로 유효한 양으로 본 발명에 따른 하나 또는 그 이상의 TLR 길항제를 포유동물에 투여함으로써 저해된다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 약학적으로 유효한 양으로 하나 또는 그 이상의 TLR, 또는 TLR 신호전달 경로에 있는 다른 단백질의 발현을 저해함으로써 저해된다. 본 발명의 어떤 바람직한 실시예에서, 상기 질병은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia), 고지혈증(hyperlipidemia), 관상동맥 심장 질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 죽상동맥경화(atherosclerosis), 뇌졸중(stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 또는 고혈압이다.

[0023] 일부 실시예에서, 또한 본 발명에 따른 방법은 하나 또는 그 이상의 콜레스테롤 강하 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨პ티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 포함한다.

### 도면의 간단한 설명

[0024] 도 1a는 실시예 2에 따라 처리한 동물들에서 총 혈청 콜레스테롤을 나타낸다. 간단히 설명하면, 동물들은 웨스턴 식이(Western diet)를 시키고 12 주 동안 TLR 길항제 (5 mg/kg 또는 20 mg/kg), PBS 또는 리피토(Lipitor)® (20 mg/kg)을 투여하였다. 혈액 시료들을 12 주 연구 과정에 걸쳐 수집하고 총 혈청 콜레스테롤을 결정하는데 사용하였다. 이러한 데이터는 TLR 길항제의 투여가 생체내(*in vivo*) 투여에 따라 총 혈청 콜레스테롤의 상승을 저해할 수 있다는 것을 입증한다.

도 1b는 실시예 2에 따라 처리한 동물들에서, 시간을 초과하여 총 혈청 콜레스테롤의 백분율 변화를 나타낸다. 간단히 설명하면, 동물들은 웨스턴 식이를 시키고 12 주 동안 TLR 길항제 (5 mg/kg 또는 20 mg/kg), PBS 또는 리피토(Lipitor)® (20 mg/kg)을 투여하였다. 혈액 시료들을 12 주 연구 과정에 걸쳐 수집하고 총 혈청 콜레스테롤을 결정하는데 사용하였다. 이러한 데이터는 TLR 길항제가 생체내 투여에 따라 총 혈청 콜레스테롤의 상승을 저해할 수 있다는 것을 입증한다.

도 2a는 실시예 3에 따라 처리한 동물에서 총 혈청 콜레스테롤, 고밀도 지질단백질(high density lipoprotein; HDL), 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein; LDL), 중성지방(triglyceride; TG), 포도당, 및 LDL-콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율 (HDL-C/LDL-C)을 나타낸다. 간단히 설명하면, C57/BL/6 마우스들은 웨스턴 식이를 시키고 12 주 동안 TLR 길항제 (5 mg/kg 또는 20 mg/kg) 또는 PBS를 투여하였다. 혈액 시료들을 12 주 연구 과정에 걸쳐 수집하고 총 혈청 콜레스테롤, HDL, LDL, TG 및 포도당 농도를 결정하는데 사용하였다. 이러한 데이터는 TLR 길항제가 생체내 투여에 따라 총 혈청 콜레스테롤, LDL 및 TG의 상승을 저해할 수 있고 혈

당 농도를 유지하거나 낮출 수 있다는 것을 입증한다.

도 2b는 실시예 3에 따라 처리한 동물들에서 총 혈청 콜레스테롤, 고밀도 지질단백질(HDL), 저밀도 지질단백질(LDL), 중성지방(TG), 및 포도당의 백분율 변화를 나타낸다.

도 2c는 실시예 3에 따라 처리한 동물들에서 총 혈청 콜레스테롤, 고밀도 지질단백질(HDL), 저밀도 지질단백질(LDL), 중성지방(TG), 포도당 및 LDL-콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율 (HDL-C/LDL-C)을 나타낸다. 간단히 설명하면, ApoE-결핍 마우스들은 웨스턴 식이를 시키고 12 주 동안 TLR 길항제 (5 mg/kg 또는 20 mg/kg) 또는 PBS를 투여하였다. 혈액 시료들을 12 주 연구 과정에 걸쳐 수집하고 총 혈청 콜레스테롤, HDL, LDL, TG 및 포도당 농도를 결정하는데 사용하였다. 이러한 데이터는 TLR 길항제가 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia) 및/또는 고지혈증(hyperlipidemia)이 발전할 수 있는 소인이 있는 포유동물에 생체내 투여에 따라 총 혈청 콜레스테롤, LDL 및 TG의 상승을 저해할 수 있고 혈당 농도를 유지하거나 낮출 수 있다는 것을 입증한다.

도 2d는 실시예 3에 따라 처리한 동물들에서 총 혈청 콜레스테롤, 고밀도 지질단백질(HDL), 저밀도 지질단백질(LDL), 중성지방(TG), 및 포도당의 백분율 변화를 나타낸다.

도 3a는 실시예 3에 따라 처리한 동물들에서 총 체중을 나타낸다. 간단히 설명하면, C57/BL/6 마우스들은 웨스턴 식이를 시키고 12 주 동안 TLR 길항제 (5 mg/kg 또는 20 mg/kg) 또는 PBS를 투여하였다. 12 주의 연구 과정 동안 체중을 측정하였다. 이러한 데이터는 TLR 길항제가 고지방 식이를 한 포유동물에 생체내 투여에 따라 총 체중의 상승을 저해할 수 있다는 것을 입증한다.

도 3b는 실시예 3에 따라 처리한 동물들에서 총 체중을 나타낸다. 간단히 설명하면, ApoE-결핍 마우스들은 웨스턴 식이를 시키고 12 주 동안 TLR 길항제 (5 mg/kg 또는 20 mg/kg) 또는 PBS를 투여하였다. 12 주의 연구 과정 동안 체중을 측정하였다. 이러한 데이터는 TLR 길항제가 고지방 식이를 하여 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia) 및/또는 고지질단백혈증(hyperlipoproteinemia)이 발전할 수 있는 소인이 있는 포유동물에 생체내 투여에 따라 총 체중의 상승을 저해할 수 있다는 것을 입증한다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### 바람직한 실시예의 상세한 설명

[0025] 본 발명은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia) 및/또는 고지혈증(hyperlipidemia) 및/또는 이와 관련된 질병들을 저해 및/또는 억제하기 위한 TLR 길항제의 치료학적 용도에 관한 것이다. 본 발명자들은 놀랍게도 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에서 TLR 신호전달 경로의 저해가 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮출 수 있다는 것을 발견하였다.

[0027] 이렇게, 첫번째 측면에서, 본 발명은 TLR 신호전달을 저해함으로써 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에서 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 낮추는 방법을 제공한다. 일부 바람직한 실시예에서, TLR 신호전달은 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B, 및 NF- $\kappa$ B와 같은, TLR 신호전달 경로에서 하류(downstream) 단백질의 발현 또는 활성을 저해함으로써 저해된다. 이렇게, 일부 실시예에서 TLR 신호전달의 저해는 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에 TLR 길항제 화합물을 투여함으로써 달성된다. 이러한 TLR 길항제 화합물 또는 조성물의 일부는 예를 들어, 클로로퀸(chloroquine) 또는 하이드로클로로퀸(hydroxychloroquine)에 한정되지 않는, 엔도솜(endosomes)의 성숙(maturation)을 하향-조절하는 작은 분자들; 항체; 시클로헥센(cyclohexene) 유도체; 지질 유도체; "CCT" 트리플렛(triplet) 및 "GGG" 트리플렛의 두 트리플렛 서열들을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드로서, "CCT" 트리플렛은 근위(proximal)로 생각될 수 있고 "GGG" 트리플렛은 원위(distal)로 생각될 수 있으며; "GGG" 및/또는 "GGGG" 및/또는 "GC" 서열들을 포함하는 부위를 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드로서, 그런 서열들이 복수로 존재할 수 있고; 메틸화된 합성 올리고뉴클레오티드; 또는 합성, 면역 저해성 올리고뉴클레오티드로서, 면역 촉진성 모티프에 인접하는 서열에 및/또는 변형이 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 올리고뉴클레오티드 모티프에 하나 또는 그 이상의 화학적 변형들을 가질 수 있는 것이다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 하나 또는 그 이상의 TLR 또는 MyD88, IRAK, IRF, TRAF, TGF $\beta$ , I $\kappa$ B kinase, I $\kappa$ B, 및 NF- $\kappa$ B와 같은, TLR 신호전달 경로의 하류 단백질의 발현을 안티센스 올리고뉴클레오티드, 디코이(decoy) RNA, 리보자임(ribozymes), 촉매성 RNAi 기술, siRNA 또는 miRNA와 같은 유전자 발현 블로킹 기술들을 사용하여 저해함으로써 저해된다. TLR 활성 또는 발현이 저해되는 일부 실시예에서, 상기 TLR은 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8 및/또는 TLR9로부터 선택

된다.

[0028] 또한, 본 발명은 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 혈중 지질 농도를 강하 활성을 갖는 TLR 길항제 화합물 및 이러한 화합물을 만들고 사용하는 방법을 제공한다.

[0029] 또한, 본 발명에 따른 TLR 신호전달의 저해는 질병을 예방 및/또는 치료하기 위한 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 앤티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들과 조합에 유용하다.

[0030] 혈중 콜레스테롤 및/또는 지질 농도의 증가를 예방 및/또는 높은 혈중 콜레스테롤 농도 및/또는 높은 혈중 지질 농도의 치료가 필요한 희망자는 예를 들어, 심혈관 질병(cardiovascular event)을 갖는 위험이 있는 개체들을 포함한다.

[0031] 용어 "올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)"는 일반적으로 연결된 뉴클레오티드 단위체를 다수 포함하는 폴리뉴클레오사이드를 의미한다. 이러한 올리고뉴클레오티드는 게놈 또는 cDNA를 포함하는, 기존 핵산 공급원으로부터 수득될 수 있으나, 합성 방법으로 생성되는 것이 바람직하다. 예시적인 실시예에서 각각의 뉴클레오사이드 단위체는 변형된 뉴클레오사이드 염기 및/또는 변형된 당 단위체에 한정되지 않으나 포함하는, 야생형 올리고뉴클레오티드와 비교하여 다양한 화학적 변형 및 치환들을 포함할 수 있다. 화학적 변형의 예는 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, Uhlmann E et al. (1990) *Chem. Rev.* 90:543; "Protocols for Oligonucleotides and Analogs" *Synthesis and Properties & Synthesis and Analytical Techniques*, S. Agrawal, ed., Humana Press, Totowa, USA 1993; Hunziker, J. et al. (1995) *Mod. Syn. Methods* 7:331-417; and Crooke, S. et al. (1996) *Ann. Rev. Pharm. Tox.* 36:107-129에 기술되어 있다. 뉴클레오사이드 잔기들은 수많은 공지된 뉴클레오사이드간 결합 중 임의의 결합에 의해 상호간에 결합될 수 있다. 그러한 뉴클레오사이드간 결합은, 포스포디에스테르(phosphodiester), 포스포로티오에이트(phosphorothioate), 포스포로디티오에이트(phosphorodithioate), 알킬포스포네이트(alkylphosphonate), 알킬포스포노티오에이트(alkylphosphonothioate), 포스포트리에스테르(phosphotriester), 포스포라미데이트(phosphoramidate), 실록산(siloxane), 카보네이트(carbonate), 카르보알콕시(carboalkoxy), 아세트아미데이트(acetamidate), 카바메이트(carbamate), 모르폴리노(morpholin), 보라노(borano), 티오에테르(thioether), 다리결합된 포스포라미데이트(bridged phosphoramidate), 다리결합된 메틸렌 포스포네이트(bridged methylene phosphonate), 다리결합된 포스포로티오에이트(bridged phosphorothioate), 및 설플 뉴클레오사이드간 결합(sulfone internucleoside linkages)을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 또한 용어 "올리고뉴클레오티드"는 하나 또는 그 이상의 입체특이적 뉴클레오사이드간 결합(stereospecific internucleoside linkage) (예를 들면, (*R*<sub>p</sub>)- 또는 (*S*<sub>p</sub>)-포스포로티오에이트(phosphorothioate), 알킬포스포네이트(alkylphosphonate), 또는 포스포트리에스테르(phosphotriester) 결합)을 갖는 폴리뉴클레오사이드를 포함한다. 여기서 사용되는 용어 "올리고뉴클레오티드" 및 "디뉴클레오티드(dinucleotide)"는 결합이 인산 기(phosphate group)를 포함하든 또는 그렇지 않든 간에, 각각, 임의의 그러한 뉴클레오사이드 간 결합을 갖는, 폴리뉴클레오사이드 및 디뉴클레오사이드를 포함하는 것으로 명백하게 의도된다. 일부 바람직한 실시예에서, 이들 뉴클레오사이드간 결합은 포스포디에스테르(phosphodiester), 포스포로티오에이트(phosphodiester), 또는 포스포로디티오에이트(phosphorodithioate) 결합, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0032] 용어 "2'-치환된"은 일반적으로 뉴클레오사이드 또는 오탄당 부분의 2'번 위치에서 히드록시 기(hydroxyl group)가 치환되어 2'- 치환된 또는 2'-0-치환된 뉴클레오사이드를 생성하는 것을 포함한다. 일부 실시예에서, 이러한 치환은 1-6 포화 또는 불포화 탄소 원자를 포함하는 저급 히드로카르빌 기(lower hydrocarbyl group), 할로겐 원자 또는 6-10 탄소 원자를 가지는 아릴 기(aryl group)를 사용하여 이루어지고, 여기서 이러한 히드로카르빌, 또는 아릴 기는 치환되지 않거나 또는 예를 들어, 할로(halo), 히드록시(hydroxy), 트리플루오로메틸(trifluoromethyl), 시아노(cyano), 니트로(nitro), 아실(acyl), 아실옥시(acyloxy), 알콕시(carboxyl), 카르복실(carboxyl), 카르보알콕시(carboalkoxy), 또는 아미노(amino) 기로 치환에 한정되지 않고 치환될 수 있다. 2'-0-치환된 뉴클레오사이드의 예는, 2'-아미노(amino), 2'-플루오로(fluoro), 2'-알릴(allyl), 2'-0-알킬(allyl) 및 2'-프로파르길(propargyl) 리보뉴클레오사이드 또는 아라비노사이드(arabinosides), 2'-0-메틸리보뉴클레오사이드(methylribonucleosides) 또는 2'-0-메틸아라비노사이드(methylarabinosides) 및 2'-0-메톡시에톡시리보뉴클레오사이드(methoxyethoxyribonucleosides) 또는 2'-0-메톡시에틸아라비노사이드(methoxyethoxyarabinosides)에 한정되지 않고, 이것들을 포함한다.

- [0033] 용어 "3'"은, 방향성으로 사용된 경우, 일반적으로 동일 폴리뉴클레오티드 또는 오리고뉴클레오티드의 영역 또는 위치로부터 동일한 폴리뉴클레오티드 또는 오리고뉴클레오티드 3' (하류; downstream)에 존재하는 또 다른 영역 또는 위치를 말한다.
- [0034] 용어 "5'"은, 방향성으로 사용된 경우, 일반적으로 동일 폴리뉴클레오티드 또는 오리고뉴클레오티드의 영역 또는 위치로부터 동일한 폴리뉴클레오티드 또는 오리고뉴클레오티드 5' (상류; upstream)에 존재하는 또 다른 영역 또는 위치를 말한다.
- [0035] 용어 "약"은 일반적으로 정확한 수가 결정적이지 않다는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명에 따른 오리고뉴클레오티드에서 뉴클레오시드 잔기의 수는 결정적이지 않고, 하나 또는 둘의 더 적은 뉴클레오시드 잔기를 갖거나, 또는 하나에서 몇개의 추가적인 뉴클레오시드 잔기들을 갖는 오리고뉴클레오티드들은 상기 기술된 각 실시예의 균등률로서 여겨진다.
- [0036] 용어 "촉진제(agonist)"는 일반적으로 수용체에 결합하여 반응을 유도할 수 있는 물질을 말한다. 이러한 반응은 수용체에 의해 매개되는 활성의 증가일 수 있다. 촉진제는 리간드와 같이 자연적으로 발생하는 물질의 작용을 종종 모방한다.
- [0037] 용어 "길항제(antagonist)"는 일반적으로 수용체에 결합할 수 있지만, 결합에 따른 생물학적 반응을 만들지 못하는 물질을 말한다. 길항제는 촉진제에 의해 매개되는 반응을 막거나, 저해하거나 또는 감쇄시킬 수 있고 수용체에 결합하는 촉진제와 경쟁할 수 있다. 이러한 길항제의 활성은 가역적이거나 또는 비가역적일 수 있다.
- [0038] 용어 "안티센스 오리고뉴클레오티드"는 일반적으로 선택된 핵산 서열에 상보적인 DNA 또는 RNA 또는 그것의 조합으로 된 가닥들을 말한다. 이러한 핵산 서열은 메신저 RNA(messenger RNA; mRNA)의 형태로 존재할 수 있다. 동물 또는 세포로 도입될 때, 안티센스 오리고뉴클레오티드는 상보적인 서열에 결합하여 상보적인 서열인 RNA의 번역 감소를 일으킬 수 있다. 결합이 일어난다면, 이 핵산 복합체는 내재적 효소에 의해 분해될 수 있다. 안티센스 오리고뉴클레오티드는 전형적인 안티센스 오리고뉴클레오티드, 짧은 간섭 RNA(short interfering RNA; siRNA), 마이크로 RNA(micro RNA; miRNA) 및 리보자임을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명에 따른 유용할 수 있는 안티센스 오리고뉴클레오티드들은 Kandimalla *et al.* (미국 특허 출원 번호 12/510,469; 12/534,462; 12/534,476; 12/534,911; 및 12/537,354; 및 미국 가특허 출원 번호 61/111,143; 61/111,148; 및 61/111,160)에 기재된 것들을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0039] 용어 "저분자(small molecule)"은 일반적으로 중합체(polymer)는 아니지만 생물학적으로 활성이 있는 작은 유기화합물을 말한다. 저분자들은 자연상에 존재하거나 또는 인위적으로 만들어질 수 있다. 일반적으로, 저분자들은 단백질 또는 오리뉴클레오티드들을 포함하지 않는다. 저분자들은 예를 들어, 클로로퀸(chloroquine) 및 히드록시클로로퀸(hydroxychloroquine)과 같은 엔도솜(endosome)의 성숙을 하향-조절(down-regulate)하는 화합물을 포함할 수 있다.
- [0040] 용어 "생리학적으로 허용되는"은 일반적으로 TLR 길항제 화합물의 유성성을 간접하지 않고 세포, 세포 배양물, 조직 또는 생물과 같은 생물학적 시스템과 양립하는 물질을 말한다. 바람직하게는, 상기 생물학적 시스템은 포유동물과 같은, 살아있는 생물이다.
- [0041] 용어 "약학적으로 허용가능한"은 일반적으로 과도한 독성이 없이 인간 및 동물에 사용하기에 적절한 조성물을 말한다.
- [0042] 용어 "담체"는 일반적으로 부형제, 희석제, 충전제, 염, 완충제, 안정화제, 가용화제, 오일, 지질, 소포(vesicle)를 포함하는 지질, 미소구체, 리포솜의 캡슐화물, 또는 약학적 제형에 사용되는 당해 기술분야에 잘 알려져 있는 다른 물질을 포함한다. 담체, 부형제, 또는 희석제의 특성이 특정 적용에 대한 투여 경로에 의존 할 것이 이해될 것이다. 이들 물질을 포함하는 약학적으로 허용가능한 제형의 제법은 예를 들어, 레밍턴의 약학적 과학(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, ed., A. Gennaro, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990)에 기재되어 있다.
- [0043] 용어 "공동-투여(co-administration)"는 일반적으로 면역 반응을 조절하기 위해 충분히 근접한 시간에 적어도 2개의 다른 물질들을 투여하는 것을 말한다. 공동-투여는 수일까지의 일시적 간격을 둔 것뿐만 아니라, 단일 용량 또는 개별 용량으로, 임의의 순서로 적어도 2개의 다른 물질의 동시 투여를 말한다.
- [0044] 용어 "유효량", "약학적으로 유효한 양" 또는 "치료학적으로 유효한 양"은 일반적으로 유익한 결과와 같이, 원하는 생물학적 효과에 영향을 미치기에 충분한 양을 말한다. 따라서, "유효량" 또는 "치료학적으로 유효한

양"은 투여되는 상황에 의존할 것이다. 공동-투여된 항원에 대한 면역 반응을 조절하는 조성물을 투여하는 경우에는 TLR 길항체 화합물 및 항원의 유효량은 항원 단독으로 투여될 때 얻어지는 면역 반응과 비교하여 원하는 조절을 달성하기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 또는 그 이상의 투여로 투여될 수 있다.

- [0045] 용어 "~와 조합하여(in combination with)"는 일반적으로 TLR 길항체 화합물 및 TLR 길항체 화합물의 면역 조절 효과를 약화시키지 않는 질병 또는 장애를 치료하는 데 유용한 제제를 투여하는, 환자의 질병 또는 장애를 치료하는 과정을 의미한다. 또한 이러한 조합 치료는 TLR 길항체 화합물 및/또는 독립하여 제제의 1회 투여 이상을 포함할 수 있다. TLR 길항체 화합물 및/또는 제제의 투여는 동일 경로 또는 상이한 경로로 수행될 수 있다.
- [0046] 용어 "개체(individual)" 또는 "환자" 또는 "피험자(subject)" 또는 "포유동물"은 인간을 포함한다. 포유동물은 일반적으로 인간, 비인간 영장류, 래트, 마우스, 고양이, 개, 말, 소, 족소, 돼지, 양 및 래빗을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.
- [0047] 용어 "뉴클레오시드(nucleoside)"는 일반적으로 당, 대개 리보스(ribose) 또는 디옥시리보스(deoxyribose), 및 퓨린(purine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 염기로 구성된 화합물을 말한다.
- [0048] 용어 "뉴클레오티드(nucleotide)"는 일반적으로 당에 결합된 인산기를 포함하는 뉴클레오시드를 말한다
- [0049] 본 발명에서 사용된, 용어 "피리미딘 뉴클레오시드(pyrimidine nucleoside)"는 뉴클레오시드의 염기 성분이 피리미딘 염기(예를 들어, 시토신(cytosine; C) 또는 티민(thymine; T) 또는 우라실(uracil; U))인 것을 특징으로 하는 뉴클레오시드를 말한다.
- [0050] 용어 "유사체(analog)" 또는 "유도체(derivative)"는 일반적으로 변형된 염기 및/또는 당을 갖는 어떤 퓨린 및/또는 피리미딘 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드를 말하는 것으로 교환하여 사용될 수 있다. 변형된 염기는 구아닌, 시토신, 아데닌, 티민 또는 우라실이 아닌 염기이다. 변형된 당은 올리고뉴클레오티드의 뼈대(backbone)에 사용될 수 있는 리보스 또는 2' 디옥시리보스가 아닌 어떤 당이다.
- [0051] 용어 "저해하는" 또는 "억제하는"은 반응의 감소 또는 그렇지 않았다면 일반적으로 반응을 끌어내거나 및/또는 촉진으로부터 발생할 수 있었던, 반응의 질적 차이를 말한다.
- [0052] 용어 "비-뉴클레오티드 링커"는 일반적으로 인산-포함 결합을 통한 것 이외에 올리고뉴클레오티드를 결합하거나 결합될 수 있는 어떤 결합 또는 부분을 말한다. 바람직하게는 이러한 링커는 약 2 Å 내지 약 200 Å 길이이다.
- [0053] 용어 "뉴클레오티드 결합"은 일반적으로 인산-포함하는 결합을 통하여 두 뉴클레오시드의 3' 및 5' 헤드록실 기를 직접 연결하는 직접 3'-5' 결합을 말한다.
- [0054] 용어 "올리고뉴클레오티드 모티프"는 디뉴클레오티드(dinucleotide)를 포함하는, 올리고뉴클레오티드 서열을 의미한다. "하나 또는 그 이상의 변형[또는 특이적으로 나열된 변형들]"이 없는 경우, 면역 촉진성일 수 있는 올리고뉴클레오티드 모티프"는 모체 올리고뉴클레오티드는 면역 촉진성지만, 유도체 올리고뉴클레오티드에서는 아닌 올리고뉴클레오티드 모티프를 말하고, 여기서 유도체 올리고뉴클레오티드는 모체 올리고뉴클레오티드의 하나 또는 그 이상의 변형으로 모체 올리고뉴클레오티드로부터 유래된 것을 특징으로 하는 것이다.
- [0055] 용어 CpG, C<sup>\*</sup>pG, C<sup>\*</sup>pG<sup>\*</sup> 및 CpG<sup>\*</sup>는 면역 촉진성인 올리고뉴클레오티드 모티프를 말하고 시토신 또는 시토신 유사체 또는 구아닌 또는 구아닌 유사체를 포함한다.
- [0056] 용어 "고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)"은 일반적으로 혈액에 콜레스테롤이 높은 수준으로 존재하는 것을 말한다. 고콜레스테롤혈증은 다른 질병들에 이차적일 수 있고 심혈관계 질병, 죽상동맥경화(atherosclerosis) 및 체장염을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 많은 다른 질병들에 기여할 수 있다. 증가된 혈액 콜레스테롤은 혈류에 있는 콜레스테롤 및 지질(예를 들어 중성지방)을 수송하는 입자들인, 지질단백질의 수준을 증가시키는 원인이 될 수 있다. 지질단백질은, 예를 들면, 고밀도 지질단백질(HDL), 저밀도 지질단백질(LDL) 및 초저밀도 지질단백질(very low density lipoproteinL; VLDL)을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0057] 용어 "고지혈증(hyperlipidemia)"은 일반적으로 혈액의 중성지방(triglyceride; TG), 지질 또는 지질단백질의 증가 또는 비정상적 수준의 존재를 말한다. 중성지방, 지질 및 지질단백질의 증가 또는 비정상적 수준은 일반적인 집단에 보편적이다. 심혈관계 질환 및 다른 질병들에서 지질 및 콜레스테롤의 영향으로 기인한 환자들에서 중성지방, 지질 및 지질단백질을 정상화시키기 위해 상당한 노력이 있다.

- [0058] 용어 "스타틴(statin)"은 일반적으로 심혈관계 질병이 있거나 발전할 위험이 있는 사람에서 콜레스테롤 수준을 낮추는데 사용되는 의약의 종류를 말한다. 이런 화합물들은 콜레스테롤 생합성 경로에서 속도-제한 효소(rate-limiting enzyme)인, 효소 HMG-CoA 환원효소(HMG-CoA reductase)를 저해하여 콜레스테롤을 낮춘다. 많은 스타틴들이 당업계에 잘 알려져 있고 아토르바스타틴(atorvastatin), 세리바스타틴(cerivastatin) (리바스타틴(rivastatin)), 플루바스타틴(fluvastatin), 로바스타틴(lovastatin), 메바스타틴(mevastatin), 피타바스타틴(pitavastatin), 프라바스타틴(pravastatin), 로수바스타틴(rosuvastatin), 및 심바스타틴(simvastatin)을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0059] 용어 "치료(treatment)"는 일반적으로 증상의 완화, 또는 질병 진행을 지연 또는 개선을 포함할 수 있는, 이를거나 바라는 결과를 얻기 위해 의도된 접근법(approach)을 의미한다. 이와 같이, "치료"는 일시적인 치료 및 임시적인(즉, 영구적이 아닌) 이로운 결과를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, 콜레스테롤 수준은 본 발명에 따른 치료를 하는 동안은 감소할 수 있지만 치료가 중단되면 결국 증가할 수 있다.
- [0060] 일부 바람직한 실시예에서, 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드 모티프 및 적어도 하나의 변형, 여기서 올리고뉴클레오티드 모티프는 올리고뉴클레오티드 모티프의 활성을 억제하는 하나 또는 그 이상의 변형이 없는 경우 면역 촉진성인 것을 특징으로 하고(예를 들어, 비메틸화된 CpG), 화합물이 4 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드를 포함할 수 있고 바람직하게는 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 변형들은 올리고뉴클레오티드 5' 말단에, 올리고뉴클레오티드 모티프에 인접한 서열에, 및/또는 올리고뉴클레오티드 모티프 내에 존재할 수 있다. 이러한 변형들은 TLR-조절된 면역 촉진을 억제하는 TLR 길항제 화합물이 되는 결과가 된다. 이러한 변형들은 올리고뉴클레오티드 모티프에 인접하는 뉴클레오티드/ 뉴클레오시드의 염기, 당 잔기 및/또는 인산 뼈대 또는 올리고뉴클레오티드 모티프 내에 존재할 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 변형은 2-치환이다.
- [0061] 일부 실시예에서, 상기 변형은 2' 알킬화(alkylation) 또는 알콕실화(alkoxylation)인 경우 상기 변형은 올리고뉴클레오티드 모티프의 5'에 인접하지 않으며; 상기 변형이 비하전된 뉴클레오시드간 연결인 경우 상기 변형은 올리고뉴클레오티드 모티프의 5'에 인접하지 않으며; 그리고 상기 변형이 3' 알킬화 또는 알콕실화인 경우 상기 변형은 올리고뉴클레오티드 모티프의 5' 또는 3'에 인접하지 않는다.
- [0062] 본 발명의 다른 실시예에서, 상기 TLR 길항제 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오티드이다.
- [0063] 일부 바람직한 실시예에서, 올리고뉴클레오티드-기초 TLR 길항제의 일반적인 구조는 이에 한정되지 않지만,  $5'-N_m-N_3N_2N_1CGN^1N^2N^3-N^m-3'$ 로 표현될 수 있고 여기서 CG는 면역 촉진성 모티프이고 C는 시토신(cytosine) 또는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체이며, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 또는 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체인 것을 특징으로 하고;  $N_1-N_3$  및/또는  $N^1-N^3$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체이며;  $N_m$  및  $N^m$ , 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 링커이고; 적어도 하나의  $N_1-N_3$  및/또는  $N^1-N^3$  및/또는 C 및/또는 G이 뉴클레오티드 유도체로 제공되고; 그리고 추가로 화합물이 4개 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드를 포함할 수 있고 바람직하게는 3개 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 포함할 수 있다고 제공될 수 있으며, 여기서 상기 CG의 면역 촉진성 활성을 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 링커에 의하여 억제되는 것을 특징으로 하고; 그리고 여기서 m은 0으로부터 약 30까지의 정수인 것을 특징으로 한다. 이러한 올리고뉴클레오티드-기초 TLR 길항제는 미국 출원 번호 11/549,048 (미국 특허 출원 공개 번호 2009/0060898)에 개시되고, 그 내용은 본 발명에 전체로서 인용으로 첨부되었다(본 출원과 미국 출원번호 11/549,048 간의 어떤 불일치들이 존재하는 정도로, 이러한 불일치들은 본 출원에 부합되게 해결될 수 있다).
- [0064] 추가적인 바람직한 실시예에서, 상기 올리고뉴클레오티드-기초 TLR 길항제는 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함할 수 있고 이에 한정되지 않으나 구조  $5'-N_m-N_3N_2N_1CGN^1N^2N^3-N^m-3'$ 로 표현될 수 있고, 여기서 CG는 변형된 면역 촉진성 모티프이고 C는 시토신 또는 5-메틸-dC, 2'-0-치환된-C, 2'-0-메틸-C, 2'-0-메톡시에틸-C, 2'-0-메톡시에틸-5-메틸-C, 및 2'-0-메틸-5-메틸-C로부터 선택되는 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오티드 유도체이고, 그리고 G는 구아노신(guanosine) 또는 2'-0-치환된-G, 2'-0-메틸-G, 및 2'-0-메톡시에틸-G로부터 선택되는 퓨린(purine) 뉴클레오티드 유도체인 것을 특징으로 하고;  $N_1-N_3$  및  $N^1-N^3$ , 각각의 경우에서, 독립적으

로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이며; N<sub>m</sub> 및 N<sup>m</sup>, 각각의 경우에서, 독립적으로 뉴클레오티드, 뉴클레오티드 유도체 또는 비-뉴클레오티드 결합이고; 변형된 면역 촉진성 모티프의 적어도 하나의 C 및/또는 G가 상기 특정된 뉴클레오티드 유도체라는 것이 제공되고; 그리고 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 선택적으로 포함하며; 여기서 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 뉴클레오티드 유도체가 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 것을 특징으로 하고; 그리고 여기서 m은 0으로부터 약 30까지의 정수인 것을 특징으로 한다. 이러한 올리고뉴클레오티드-기초 TLR 길항제는 미국 출원 번호 61/182,928에 개시되고, 그 내용은 본 발명에 전체로서 인용으로 첨부되었다(본 출원과 미국 출원번호 61/182,928 간의 어떤 불일치들이 존재하는 정도로, 이러한 불일치들은 본 출원에 부합되게 해결될 수 있다).

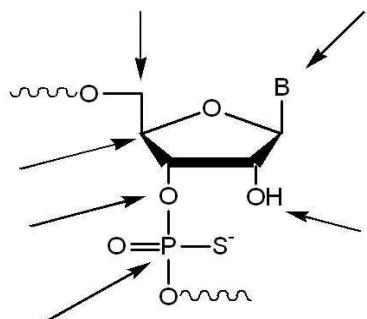
[0065]

본 발명의 이러한 측면의 추가적인 실시예에서, 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하는 상기 올리고뉴클레오티드-기초 TLR 길항제는 하나 또는 그 이상의 변형된 면역 촉진성 모티프를 포함하고, 여기서 CG는 변형된 면역 촉진성 모티프이고 C는 시토신, 또는 5-메틸-dC, 2'-0-치환된-C, 2'-0-메틸-C, 2'-0-메톡시에톡시-C, 2'-0-메톡시에틸-5-메틸-C, 및 2'-0-메틸-5-메틸-C로부터 선택되는 피리미딘 뉴클레오티드 유도체이며, 그리고 G는 구아노신 또는 2'-0-치환된-G, 2'-0-메틸-G, 및 2'-0-메톡시에톡시-G로부터 선택되는 퓨린 뉴클레오티드 유도체인 것을 특징으로 하고; 변형된 면역 촉진성 모티프의 적어도 하나의 C 및/또는 G가 상기 특정된 뉴클레오티드 유도체라는 것이 제공되고; 그리고 3 이하의 연속적인 구아노신 뉴클레오티드들을 선택적으로 포함하며; 여기서 상기 변형된 면역 촉진성 모티프는 뉴클레오티드 유도체가 없는 경우 면역 촉진성일 수 있는 것을 특징으로 한다.

[0066]

본 발명의 특정 실시예에서, 상기 TLR 길항제 화합물은 비-뉴클레오티드 링커 또는 뉴클레오티드 결합을 통해 5'-, 3'- 또는 2'-말단에서 뉴클레오티드 결합, 또는 비-뉴클레오티드 링커에 의하여 또는 기능적으로 된 당에 의하여 또는 기능적으로 된 핵염기에 의하여 공유적으로 결합된 적어도 두 올리고뉴클레오티드들을 포함할 수 있다. 이러한 TLR 길항제 화합물들은 선형이거나 분지된 것일 수 있다. 한정되지 않은 예로서, 상기 링커는 3'-히드록실에 부착될 수 있다. 이러한 실시예에서, 상기 링커는 작용기를 포함하고 이것은 예를 들어, 인산이 에스테르(phosphodiester), 포스포로티오에이트(phosphorothioate), 포스포로디티오에이트(phosphorodithioate), 메틸포스포네이트(methylphosphonate)와 같은 인산-기초 결합의 수단으로, 또는 비-인산-기초 결합에 의하여 3'-히드록실에 결합된다. 상기 뉴클레오티드의 가능한 결합 위치는 하기의 화학식 I에 표시되었고, 여기서 B는 이종고리의(heterocyclic) 염기를 나타내고 여기서 P에 가리키는 화살표는 인산에의 어떤 부착을 나타낸다.

### 화학식 1



[0067]

일부 실시예에서, 비-뉴클레오티드 링커는 폴리펩티드, 항체, 지질, 항원, 알레르겐, 및 올리고사카라이드를 포함하거나 이에 한정되지 않는 저분자 링커, 거대분자(macromolecule) 또는 생분자(biomolecule)이다. 일부 다른 실시예에서, 비-뉴클레오티드 링커는 저분자 링커이다. 본 발명의 목적을 위해, 저분자 링커는 1,000 Da 미만의 분자량을 갖는 유기 부분이다. 일부 실시예에서, 저분자는 750 Da 미만의 분자량을 가진다.

[0069]

일부 실시예에서, 상기 저분자는 지방족 또는 방향족 탄화수소이며, 이중 하나는 선택적으로, 올리고리보뉴클레오티드를 연결하거나 여기에 부착된 선형 사슬, 히드록시, 아미노, 티올, 티오에테르, 에테르, 아미드, 티오아미드, 에스테르, 우레아 또는 티오우레아를 포함하거나 이에 한정되지 않는 하나 또는 그 이상의 작용기를 포함할 수 있다. 상기 저분자 링커는 고리(cyclic) 또는 고리가 아닐 수 있다. 저분자 링커의 예로는 아미노산, 탄수

화물, 시클로덱스트린(cyclodextrins), 아다만탄(adamantane), 콜레스테롤, 헵텐(haptens) 및 항생제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 그러나, 비-뉴클레오티드 링커를 설명하기 위한 목적으로, 용어 "저분자 링커(small molecule linker)"는 뉴클레오시드를 포함하는 것으로 의도되지 않는다.

[0070]

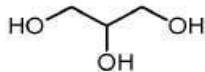
일부 실시예에서, 비-뉴클레오티드 링커는 알킬 링커 또는 아미노 링커이다. 알킬 링커는 분지형 또는 비분지형, 고리(cyclic) 또는 비고리(acyclic), 치환된 또는 비치환된, 포화된 또는 불포화된, 키랄(chiral), 아키랄(achiral) 또는 라세미체 혼합물일 수 있다. 상기 알킬 링커는 약 2 내지 약 18개 탄소 원자를 가질 수 있다. 일부 실시예에서 이러한 알킬 링커는 약 3 내지 약 9개 탄소 원자를 갖는다. 일부 알킬 링커는 히드록시, 아미노, 티올, 티오에테르, 에테르, 아미드, 티오아미드, 에스테르, 우레아 및 티오에테르를 포함하나 이에 한정되지 않는 하나 또는 그 이상의 작용기를 포함한다. 이러한 알킬 링커는 1,2 프로판디올(propanediol), 1,2,3 프로판트리올(propanetriol), 1,3 프로판디올(propanediol), 트리에틸렌 글리콜 헥사에틸렌 글리콜(triethylene glycol hexaethylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜링커 (예를 들어,  $[-O-CH_2-CH_2-]^n$  ( $n = 1-9$ )), 메틸 링커, 에틸 링커, 프로필 링커, 부틸 링커 또는 헥실 링커를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, 이러한 알킬 링커는 펩티드 또는 아미노산을 포함할 수 있다.

[0071]

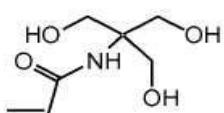
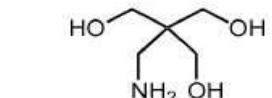
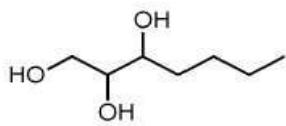
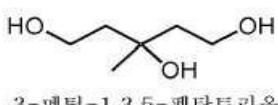
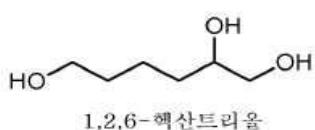
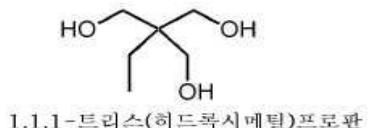
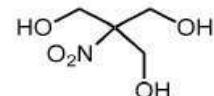
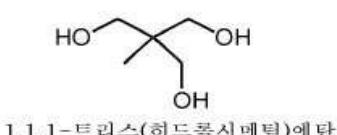
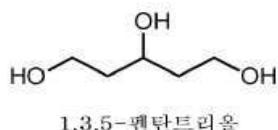
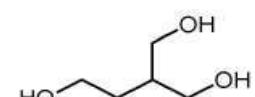
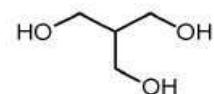
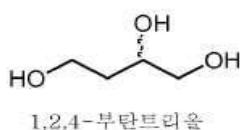
일부 실시예에서, 상기 비-뉴클레오티드 링커는 표 2에 기재된 것들을 포함할 수 있으나 이에 한정되지 않고, 여기서 상기 올리고뉴클레오티드-기초 TLR 길항제는 비-뉴클레오티드 링커에 존재하는 히드록실 기를 통해 연결된다.

## 【표 2】

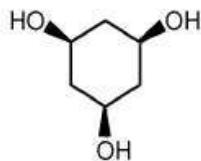
대표적인 비-뉴클레오티드 렁커



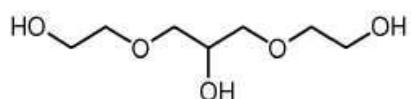
글리세롤 (1,2,3-프로판트리올)



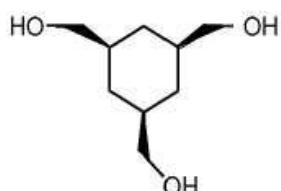
【표 2】 계속



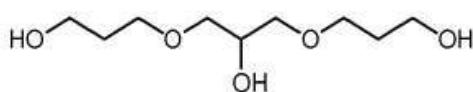
시스-1,3,5-시클로헥산트리올



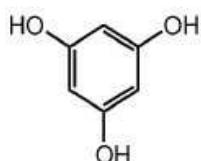
1,3-디(하드록시에톡시)-2-하드록실-프로판



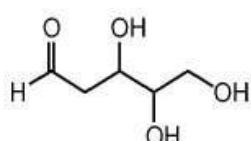
시스-1,3,5-트리(하드록시메틸)시클로헥산



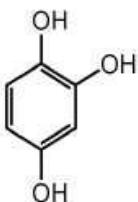
1,3-디(하드록시프로포кси)-2-하드록실-프로판



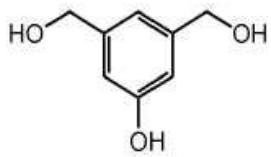
1,3,5-트리하드록실-벤젠



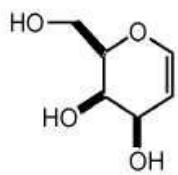
2-데옥시-D-리보오스



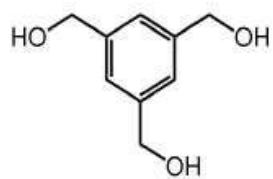
1,2,4-트리하드록실-벤젠



3,5-디(하드록시메틸)페놀



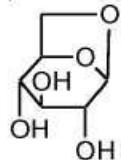
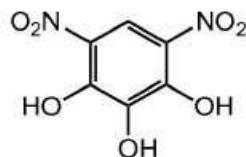
D-갈락토알



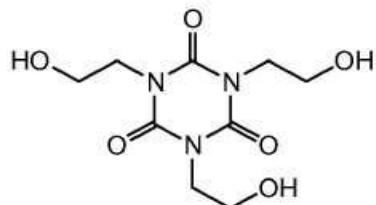
1,3,5-트리(하드록시메틸)벤젠

[0073]

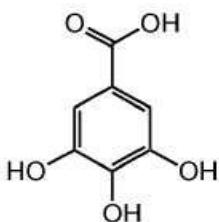
【표 2】 계속

1,6-안하드로- $\beta$ -D-글루코스

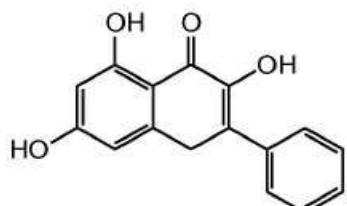
4,6-니트로피로갈을



1,3,5-트리스(2-히드록시에틸)-시아누르산



갈릭산



3,5,7-트리히드록시플라본

[0074]

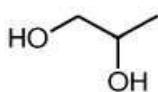
【표 2】 계속



에틸렌 글리콜



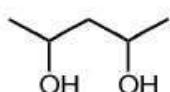
1,3-프로판디올



1,2-프로판디올



1,5-펜탄디올



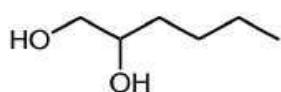
2,4-펜탄디올



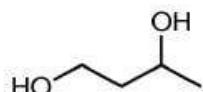
1,6-헥산디올



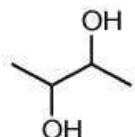
1,4-부탄디올



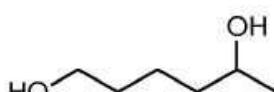
1,2-헥산디올



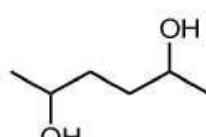
1,3-부탄디올



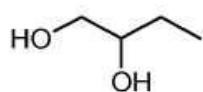
2,3-부탄디올



1,5-헥산디올

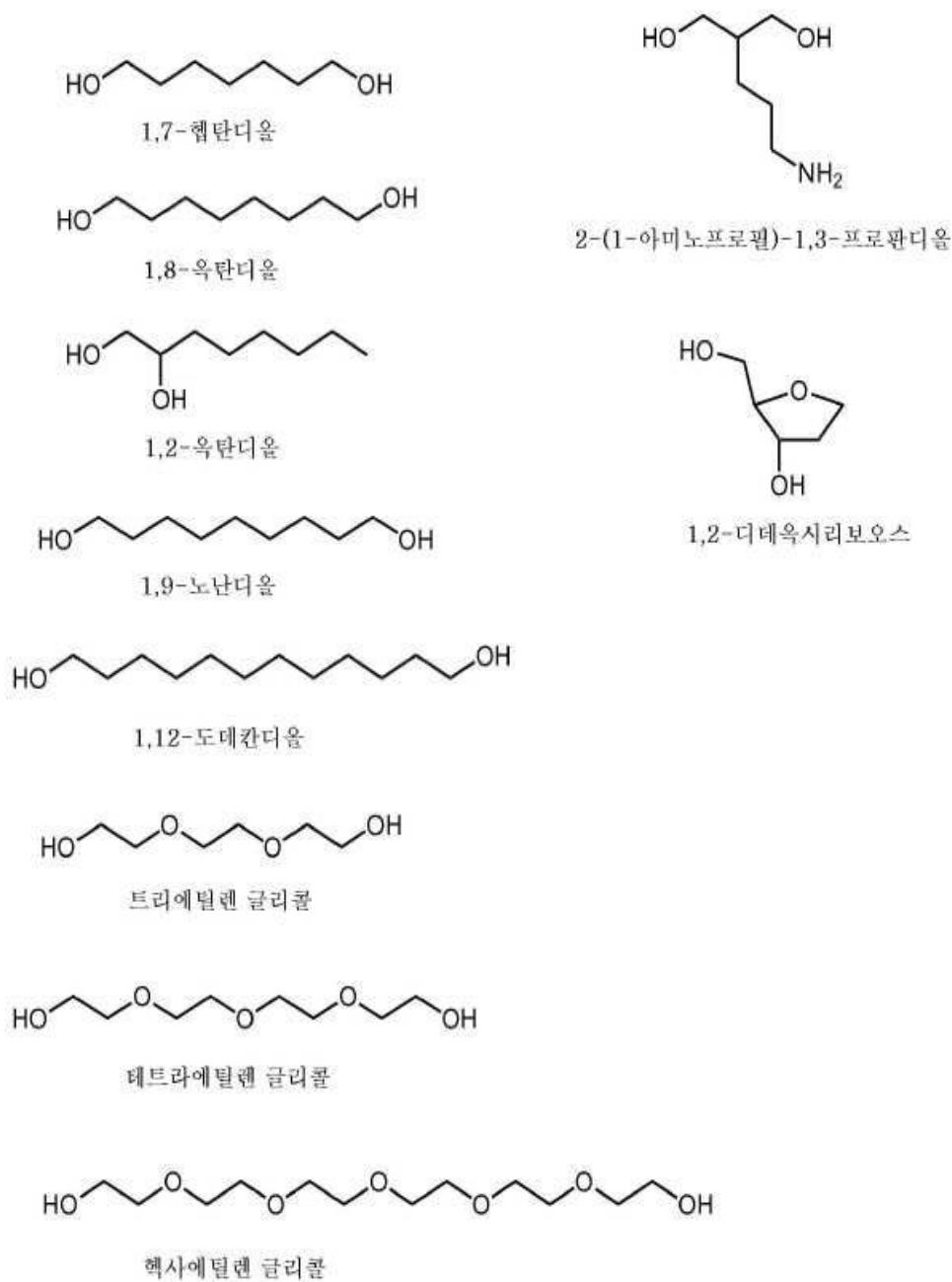


2,5-헥산디올



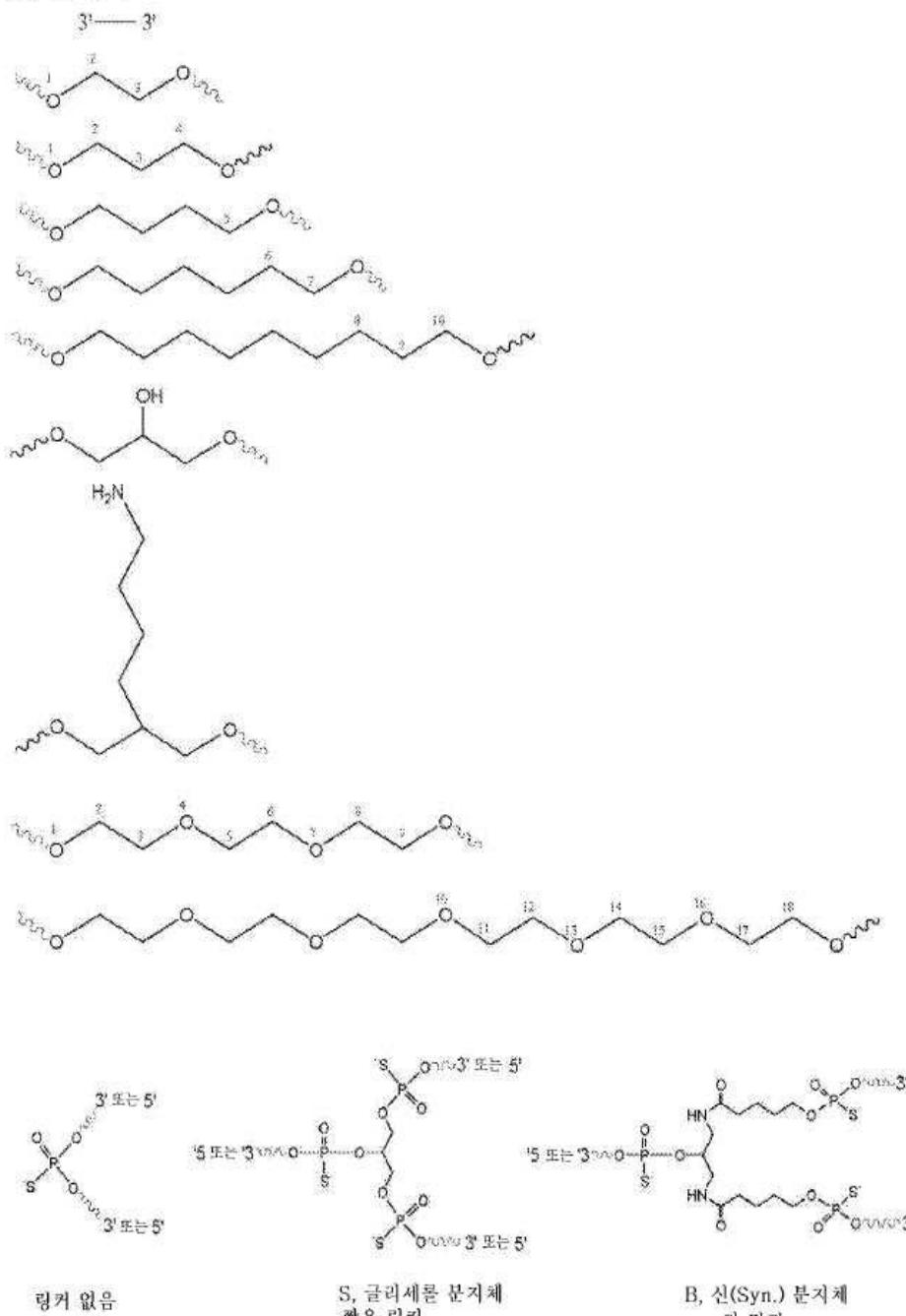
1,4-부탄디올

【표 2】 계속



[0076]

【표 2】 계속



[0077]

일부 실시예에서, 저분자 링커는 글리세롤 또는 화학식  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_o-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 의 글리세롤 상동체(homolog)이고, 여기서  $o$  및/또는  $p$ 는 독립적으로 1 내지 약 6, 1 내지 약 4, 또는 1 내지 약 3의 정수이다. 일부 다른 실시예에서, 저분자 링커는 1,3-디아미노-2-히드록시프로판의 유도체이다. 일부 이러한 유도체는 화학식  $\text{HO}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{NHC}(\text{O})-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 를 가지고, 여기서  $m$ 은 0 내지 약 10, 0 내지 약 6, 2 내지 약 6, 또는 2 내지 약 4의 정수이다.

[0079]

본 발명에 따른 일부 비-뉴클레오티드 링커는 2 초과의 올리고뉴클레오티드의 부착을 허용한다. 예를 들어, 저분자 링커 글리세롤은 올리고뉴클레오티드가 공유적으로 부착될 수 있는 3개의 히드록실 기를 갖는다. 따라서, 본 발명에 따른 일부 TLR 길항체는 뉴클레오티드 또는 비-뉴클레오티드 링커에 연결된 2 또는 그 이상의 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 이러한 TLR 길항체는 "분지된" 것으로 기재된다.

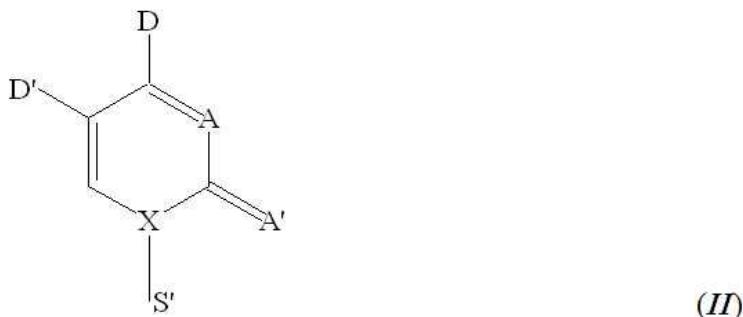
[0080]

TLR 길항체 화합물은 정전기 상호작용, 소수성 상호작용,  $\pi$ -스테킹 상호작용, 수소 결합 및 이의 조합과 같은, 비-공유적으로 연결된 적어도 2개의 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 비-공유적 연결의 비제한적

예는 왓슨-크릭 염기 쌍, 후그스텐 (Hoogsteen) 염기 쌍 및 염기 스태킹을 포함한다.

- [0081] 특정 실시예에서, 본 발명에 따른 조성물 및 방법에 사용된 면역 조절 올리고뉴클레오티드에서 피리미딘 뉴클레오시드는 하기 구조 (*II*)를 가진다:

### 화학식 2



[0082]

여기서:

D는 수소 결합 공여체이고;

D'는 수소, 수소 결합 공여체, 수소 결합 수용체, 친수성 기, 소수성 기, 전자 끄는 기(electron withdrawing group) 및 전자 주는 기(electron donating group)로 구성된 군으로부터 선택되며;

A는 수소 결합 수용체 또는 친수성 기이고;

A'는 수소 결합 수용체, 친수성 기, 소수성 기, 전자 끄는 기 및 전자 주는 기로 구성된 군으로부터 선택되며;

X는 탄소 또는 질소이고;

S'는 오탄당 또는 육탄당 당 고리, 또는 당 유사체이다.

특정 실시예에서, 당 고리는 인산 부분, 변형된 인산 부분, 또는 피리미딘 뉴클레오시드를 또 다른 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드 유사체에 연결하기에 적합한 다른 링커 부분으로 유도체화된다.

[0089]

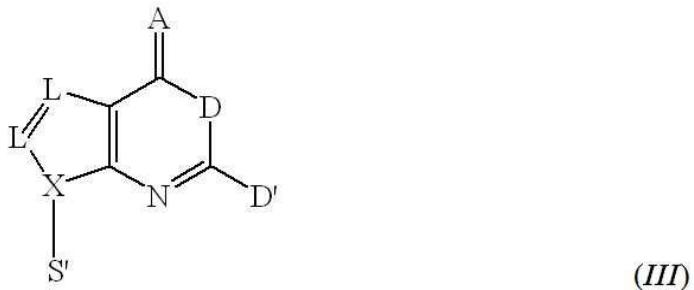
일부 실시예에서 수소 결합 공여체는 -NH-, -NH<sub>2</sub>, -SH 및 -OH를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 바람직한 수소 결합 수용체는 C=O, C=S, 및 방향족 이종고리의 고리 질소 원자 예를 들어, 시토신의 N3를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0092]

일부 실시예에서, (*II*)는 피리미딘 뉴클레오시드 유도체이다. 피리미딘 뉴클레오시드 유도체의 예로는 5-히드록시시토신, 5-히드록시메틸시토신, N4-알킬시토신, 또는 N4-에틸시토신, araC, 5-OH-dC, N3-Me-dC, 및 4-티오우라실을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 또한 화학적 변형된 유도체는 티민 또는 우라실 유사체를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, (*II*)에서 당 부분 S'는 당 유도체이다. 적합한 당 유도체는 트레할로스 또는 트레할로스 유도체, 육탄당 또는 육탄당 유도체, 아라비노스 또는 아라비노스 유도체를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0093]

일부 실시예에서, 본 발명에 따른 조성물 및 방법에 사용된 TLR 길항제에서의 퓨린 뉴클레오시드는 하기 구조 (*III*)를 갖는다:



[0094]

여기서:

[0095]

D는 수소 결합 공여체이고;

[0096]

D'는 수소, 수소 결합 공여체, 및 친수성 기로 구성된 군으로부터 선택되며;

[0097]

A는 수소 결합 수용체 또는 친수성 기이고;

[0098]

X는 탄소 또는 질소이며;

[0099]

각각의 L은 독립적으로 C, O, N 및 S로 구성된 군으로부터 선택되고; 및

[0100]

S'는 오탄당 또는 육탄당 당 고리, 또는 당 유사체이다.

[0101]

특정 실시예에서, 상기 당 고리는 인산 부분, 변형된 인산 부분, 또는 피리미딘 뉴클레오시드를 또 다른 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드 유사체에 연결하기에 적합한 다른 링커 부분으로 유도체화된다.

[0102]

특정 실시예에서, 수소 결합 공여체는 -NH-, -NH<sub>2</sub>, -SH 및 -OH를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 특정 실시예에서, 수소 결합 수용체는 C=O, C=S, -NO<sub>2</sub> 및 방향족 이종고리의 고리 질소 원자 예를 들어, 구아닌의 N1을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0103]

일부 실시예에서, (III)은 퓨린 뉴클레오시드 유도체이다. 퓨린 뉴클레오시드 유도체의 예로는 7-데아자-G, 7-데아자-dG, 아라-G, 6-티오-G, 이노신, 이소-G, 록소리빈(loxoribine), TOG(7-티오-8-옥소)-G, 8-브로모-G, 8-히드록시-G, 5-아미노포르마이신 B, 옥소포르마이신, 7-메틸-G, 9-p-클로로페닐-8-아자-G, 9-페닐-G, 9-헥실-구아닌, 7-데아자-9-벤질-G, 6-클로로-7-데아자구아닌, 6-메톡시-7-데아자구아닌, 8-아자-7-데아자-G(PPG), 2-(디메틸아미노)구아노신, 7-메틸-6-티오구아노신, 8-벤질옥시구아노신, 9-데아자구아노신, 1-(B-D-리보푸라노실)-2-옥소-7-데아자-8-메틸-퓨린, 1-(2'-데옥시-β-D-리보푸라노실)-2-옥소-7-데아자-8-메틸-퓨린과 같은 구아닌 유사체를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 또한 화학적으로 변형된 유도체는 9-벤질-8-히드록시-2-(2-메톡시에톡시)아데닌, 2-아미노-N2-O-, 메틸아데노신, 8-아자-7-데아자-A, 7-데아자-A, 비다라빈(Vidarabine), 2-아미노아데노신, N1-메틸아데노신, 8-아자아데노신, 5-요오도투베리시딘(Iodotubercidin), 및 N1-Me-dG과 같은 아데닌 유사체를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일부 실시예에서, (III)에서 당 부분 S'는 화학식 II에서 정의된 바와 같은 당 유도체이다.

[0104]

본 발명의 특정 실시예에서, TLR 길항제는 적어도 하나의 B-L-데옥시 뉴클레오시드 또는 3'-데옥시 뉴클레오시드를 포함하는 핵산 서열을 포함한다.

[0105]

본 발명의 특정 실시예에서, TLR 길항제는 CpG, C<sup>\*</sup>pG, C<sup>\*</sup>pG<sup>\*</sup> 및 CpG<sup>\*</sup>로부터 선택된 적어도 하나의 디뉴클레오티드를 포함하는 핵산 서열을 포함하고, 여기서 C는 시토신 또는 2'-데옥시시티딘이며, G는 구아노신 또는 2'-데옥시구아노신이고, C<sup>\*</sup>는 2'-데옥시티미딘, 1-(2'-데옥시-β-D-리보푸라노실)-2-옥소-7-데아자-8-메틸-퓨린, 2'-디데옥시-5- 할로시토신, 2'-디데옥시-5-니트로시토신, 아라비노시티딘, 2'-데옥시-2'-치환된 아라비노시티딘, 2'-0-치환된 아라비노시티딘, 2'-데옥시-5-히드록시시티딘, 2'-데옥시-N4-알킬-시티딘,

2'-데옥시-4-티오우리딘, 또는 기타 피리미딘 뉴클레오시드 유사체이며, G<sup>\*</sup>는 2'-데옥시-7-데아자구아노신, 2'-데옥시-6-티오구아노신, 아라비노구아노신, 2'-데옥시-2'-치환된-아라비노구아노신, 2'-0-치환된-아라비노구아노신, 2'-데옥시이노신, 또는 기타 퓨린 뉴클레오시드 유사체이고, p는 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트 및 포스포로디티오에이트로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오시드간 연결이며, 여기서 적어도 하나의 디뉴클레오티드의 활성은 인접 서열에 의해 조절된다.

[0107]

본 발명에 유용한 이러한 일반적 구조 내에서 선택된 TLR 길항체의 서열은 표 3에 기재된 것을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

## 표 3

[0108]

서열 번호	서열
5	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
7	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
17	5'-CTATCTGACG <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
37	5'-CTATCTGACG <sub>4</sub> TTCTCTGT-3'
39	5'-CTATCTGAC <sub>4</sub> GTTCTCTGT-3'
41	5'-CTATCTGAC <sub>5</sub> GTTCTCTGT-3'
43	5'-CTATCTGAC <sub>6</sub> GTTCTCTGT-3'
45	5'-CTATCTGAC <sub>5</sub> TTCTCTGT-3'
47	5'-CTATCTGAC <sub>7</sub> GTTCTCTGT-3'
64	5'-CTATCTAACGTTCTCTGT-3'
67	5'-CTATCTAACG <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
29 & 22	5'-CTATCTGA <sub>m</sub> CGTTCTCTGT-3'
9	5'-CTATCTGUCGTTCTCTGT-3'
10	5'-CTATCTGUCGTTCTCTGT-3'
19	5'-CTATCTGUC <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
38	5'-CTATCTGUC <sub>4</sub> TTCTCTGT-3'
40	5'-CTATCTGUC <sub>4</sub> GTTCTCTGT-3'
42	5'-CTATCTGUC <sub>5</sub> GTTCTCTGT-3'
44	5'-CTATCTGUC <sub>6</sub> GTTCTCTGT-3'
46	5'-CTATCTGUC <sub>5</sub> TTCTCTGT-3'
48	5'-CTATCTGUC <sub>7</sub> GTTCTCTGT-3'
66	5'-CTATCTAUCGTTCTCTGT-3'
69	5'-CTATCTAUCG <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
65	5'-CTATCTAGCGTTCTCTGT-3'
68	5'-CTATCTAGCG <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
23	5'-CTATCTGmACGTTCTCTGT-3'
24	5'-CTATCTGmAmCGTTCTCTGT-3'
25	5'-CTATCTGAC <sub>2</sub> GTTCTCTGT-3'
27	5'-CTATCTGTC <sub>2</sub> GTTCTCTGT-3'
33	5'-CTATCTGAC <sub>3</sub> GTTCTCTGT-3'
35	5'-CTATCTGTC <sub>3</sub> GTTCTCTGT-3'
26	5'-CTATCTGACG <sub>2</sub> TTCTCTGT-3'
28	5'-CTATCTGTCG <sub>2</sub> TTCTCTGT-3'
34	5'-CTATCTGACG <sub>3</sub> TTCTCTGT-3'
36	5'-CTATCTGTCG <sub>3</sub> TTCTCTGT-3'
3'-21-X <sub>2</sub> -21-3'	3'-TCTGCAGTCT-X <sub>2</sub> -TCTGACGTTCT-3'
52	5'-CCTACTAGCGTX <sub>1</sub> CTCATC-3'
53	5'-CCTACTAGCGX <sub>1</sub> TCTCATC-3'
54	5'-CCTACTAG <sub>3</sub> CGTTCTCATC-3'
55	5'-TCCATGA <sub>1</sub> CGTTCTGATGC-3'
56	5'-CTATCTGAC <sub>2</sub> G <sub>2</sub> TTCTCTGT-3'
57	5'-C <sub>2</sub> T <sub>2</sub> A <sub>2</sub> T <sub>2</sub> C <sub>2</sub> T <sub>2</sub> G <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>2</sub> G <sub>2</sub> T <sub>2</sub> C <sub>2</sub> T <sub>2</sub> C <sub>2</sub> T <sub>2</sub> G <sub>2</sub> T <sub>2</sub> -3'
29	5'-CTATCTGAX <sub>1</sub> GTTCTCTGT-3'

30	5'-CTATCTGACX <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
31	5'-CTATCTGTX <sub>1</sub> GTTCCTCTGT-3'
32	5'-CTATCTGTCX <sub>1</sub> TTCTCTGT-3'
61	5'-CTATCTAGCGTX <sub>1</sub> CTCTGT-3'
62	5'-CTATCTAGCGX <sub>1</sub> TCTCTGT-3'
63	5'-CTATCTAGCGX <sub>1</sub> X <sub>1</sub> CTCTGT-3'
58	5'-CTATCTGACGX <sub>3</sub> CTCTGT-3'
59	5'-CTATCTGACGX <sub>3</sub> TCTCTGT-3'
60	5'-CTATCTGACGX <sub>3</sub> X <sub>3</sub> CTCTGT-3'
70	5'-CTATCTAGCGTX <sub>3</sub> CTCTGT-3'
71	5'-CTATCTAGCGX <sub>3</sub> TCTCTGT-3'
72	5'-CTATCTAGCGX <sub>3</sub> X <sub>3</sub> CTCTGT-3'
74	5'-CTATCTGACGTTCTCTGT-3'
76	5'-CCTACTAG <sub>6</sub> CGTTCTCATC-3'
77	5'-TCCATGACGU <sub>1</sub> TCCTGATGC-3'
78	5'-CTATCTGX <sub>2</sub> CGTTCTCTGT-3'
79	5'-CTATCTX <sub>2</sub> ACGTTCTCTGT-3'
80	5'-CTATCTU <sub>2</sub> ACGTTCTCTGT-3'
81	5'-CTATCTGU <sub>2</sub> CGTTCTCTGT-3'
82	5'-CTATCTGACGX <sub>2</sub> CTCTGT-3'
83	5'-CTATCTGACGX <sub>2</sub> CTCTGT-3'
84	5'-CTATCTGX <sub>3</sub> CGTTCTCTGT-3'
85	5'-CTATCTX <sub>3</sub> ACGTTCTCTGT-3'
86	(5'-TCT <u>GACGTT</u> ) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
87	(5'-TCT <u>GACG</u> <sub>1</sub> TTCT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
88	(5'-TCT <u>GACG</u> <sub>4</sub> TTCT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
89	(5'-TCT <u>CTGACGTT</u> ) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
90-X <sub>3</sub> -8	5'-TCT <u>GACG</u> <sub>1</sub> TTCT-X <sub>3</sub> -TGACCGGTCA-3'
93	(5'-TCT <u>GUCGTT</u> ) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
94	(5'-TCT <u>GUCG</u> <sub>1</sub> TTCT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
95	(5'-TCT <u>GACG</u> <sub>4</sub> TTCT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
96	(5'-TCT <u>GACG</u> <sub>1</sub> TT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
97-X <sub>3</sub> -11	5'-TCT <u>GACG</u> <sub>1</sub> TTCT-X <sub>3</sub> -TCAACCACACA-3'
98	5'-CTATCTGACG <sub>1</sub> TTCT <u>CUGU</u> -3'
99	5'-CTATCT <u>GUCG</u> <sub>1</sub> TTCT <u>CUGU</u> -3'
100	(5'- <u>UGUCG</u> <sub>1</sub> TTCT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
101	(5'- <u>UGACG</u> <sub>1</sub> TTCT) <sub>2</sub> X <sub>2</sub>
102	5'-CTATCTGAC <sup>1</sup> GTTCCTCTGT-3'
103	5'-CTATCTGAC <sup>2</sup> GTTCCTCTGT-3'
104	5'-CTATCTGAC <sup>3</sup> GTTCCTCTGT-3'
105	5'-CTATCTGAC <sup>2</sup> G <sup>1</sup> TTCTCTGT-3'

[0109]

밑줄친 G, A 또는 U = 2'-OMe; 밑줄친 T = 3'-OMe; A<sub>1</sub> = 3'-OMe; G<sub>1</sub> = 7-데오자-dG; m = P-Me; A<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>, 및 G<sub>2</sub> = B-L-데옥시 뉴클레오시드; X<sub>1</sub> = 아베이직 (abasic); X<sub>2</sub> = 글리세롤 링커, X<sub>3</sub> = C3-링커; C<sub>3</sub> 및 G<sub>3</sub> = 3'-데옥시-뉴클레오시드; G<sub>4</sub> = araG; C<sub>4</sub> = araC; C<sub>5</sub> = 5-OH-dC; C<sub>6</sub> = 1-(2'-데옥시-β-D-리보푸라노실)-2-옥소-7-데아

자-8-메틸-퓨린; G<sub>5</sub> = N1-Me-dG; C<sub>7</sub> = N3-Me-dC; U<sub>1</sub> = 3'-OMe; U<sub>2</sub>=dU; C<sup>1</sup> = 2'-O-메틸-C; C<sup>2</sup> = 5-메틸-dC; C<sup>3</sup> = 2'-O-메틸-5-메틸-C; G<sup>1</sup> = 2'-O-메틸-G

[0110] 일부 실시예에서, 상기 TLR 길항제 각각은 약 6 내지 약 35개 뉴클레오시드 잔기, 바람직하게는 약 9 내지 약 30개의 뉴클레오시드 잔기, 더욱 바람직하게는 약 11 내지 약 23개의 뉴클레오시드 잔기를 갖는다. 일부 실시예에서, 상기 TLR 길항제는 약 6 내지 약 18개의 뉴클레오시드 잔기를 갖는다.

[0111] 두번째 측면에서, 본 발명은 본 발명의 첫번째 측면에서 설명된 것처럼, 포유동물에서 TLR 신호전달을 저해하는 단계를 포함하는 방법과 같이, 포유동물에서 높은 혈중 지질 농도 및/또는 높은 혈중 콜레스테롤 농도와 관련된 질병을 약학적으로 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 약학적으로 유효한 양으로 본 발명에 따른 하나 또는 그 이상의 TLR 길항제 화합물을 포유동물에 투여함으로써 저해된다. 일부 실시예에서 TLR 신호전달은 하나 또는 그 이상의 TLR, 또는 TLR 신호전달 경로에 있는 또 다른 단백질의 발현을 저해함으로써 저해된다. 본 발명의 이 측면의 특정 바람직한 실시예에서, 상기 질병은 상기 질병은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia), 고지혈증(hyperlipidemia), 관상동맥 심장 질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 죽상동맥경화(atherosclerosis), 뇌졸중(stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 또는 고혈압이다.

[0112] 세번째 측면에서, 본 발명은 본 발명의 첫번째 측면에서 설명된 것처럼 포유동물에서 TLR 신호전달을 저해하는 단계를 포함하는 방법과 같이, 혈중 콜레스테롤 및/또는 혈중 지질이 높은 포유동물에서 높은 혈중 지질 농도 및/또는 높은 혈중 콜레스테롤 농도와 관련된 질병을 예방하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, TLR 신호전달은 약학적으로 유효한 양으로 본 발명에 따른 하나 또는 그 이상의 TLR 길항제 화합물을 포유동물에 투여함으로써 저해된다. 일부 실시예에서 TLR 신호전달은 하나 또는 그 이상의 TLR, 또는 TLR 신호전달 경로에 있는 또 다른 단백질의 발현을 저해함으로써 저해된다. 특정 바람직한 실시예에서, 상기 질병은 상기 질병은 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia), 고지혈증(hyperlipidemia), 관상동맥 심장 질환(coronary heart disease), 동맥경화증(arteriosclerosis), 죽상동맥경화(atherosclerosis), 뇌졸중(stroke), 말초혈관질환(peripheral vascular disease), 당뇨 또는 고혈압이다.

[0113] 일부 실시예에서, 본 발명에 따른 방법은 하나 또는 그 이상의 콜레스테롤 강하 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드 성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포유동물에 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0114] 본 발명에 따른 방법에서, TLR 길항제의 투여는 비경구, 점막 전달, 경구, 설하, 경피, 외용(topical), 흡입, 비강내, 에어로졸, 안구내, 기도내, 직장내, 질내, 유전자 총, 피부 패치 또는 점안액 또는 구강세척액 형태를 포함하나 이에 한정되지 않고, 임의의 적절한 경로로 수행될 수 있다. TLR 길항제 화합물의 치료용 조성물의 투여는 질병 증상 또는 대리 마커들을 감소시키는데 효과적인 용량 및 기간 동안 공지된 과정들을 이용하여 수행될 수 있다. 전신 투여되는 경우, 상기 치료용 조성물은 약 0.0001 마이크로몰 내지 약 10 마이크로몰의 TLR 길항제 화합물의 혈중 수준을 달성하기에 충분한 용량으로 투여되는 것이 바람직하다. 국소 투여에 있어서, 이보다 훨씬 더 적은 농도가 효과적일 수 있으며, 그리고 더 높은 농도에도 내성이 있을 수 있다. 일부 바람직한 실시예에서, TLR 길항제 화합물의 총 용량은 일일당 환자 체중 kg당 약 0.001 mg 내지 약 200 mg의 범위이다. 단일 치료 요법으로서 개체에 TLR 길항제의 하나 또는 그 이상의 치료학적 유효한 양을 동시, 또는 순차적으로 투여되는 것이 바람직할 수 있다.

[0115] 상기 TLR 길항제 화합물은 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드 성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포함하나 이에 한정되지 않는 다른 화합물과 조합하여 투여되거나 사용될 수 있다.

[0116] 본 발명에 따른 방법은 인간 및/또는 동물 질병의 예방학적 또는 치료학적 처치에 유용하다. 예를 들어, 상기 방법은 성인, 소아 및 가축 적용에 유용할 수 있다.

[0117] 본 발명에 따른 어떤 방법에서, 상기 TLR 길항제 화합물은 TLR 길항제 화합물의 길항제 활성을 약화시키지 않는

질병 또는 상태를 치료하는데 유용한 어떤 다른 제제와 조합하여 투여될 수 있다. 본 발명에 따른 어떤 방법에서, 상기 질병 또는 상태를 치료하는데 유용한 제제는 하나 또는 그 이상의 지질 강하 화합물 또는 조성물, 콜레스테롤 강하 화합물 또는 조성물, 이뇨제, 비-스테로이드성 항-염증 화합물(non-steroidal anti-inflammatory compounds; NSAIDs), 스타틴(statins), 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, TLR 촉진제(agonists), TLR 길항제(antagonists), 웨티드, 단백질 또는 유전자 요법 벡터 또는 그것의 조합들을 포함하나 이에 한정되지 않고, 이것은 TLR 길항제에 대한 반응의 특이성 또는 규모를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 고지혈증 및/또는 고콜레스테롤혈증의 치료에서, TLR 길항제 화합물은 스타틴, 표적 치료 제제 및/또는 모노클로날 항체를 포함하나 이에 한정되지 않는, 하나 또는 그 이상의 지질 및/또는 콜레스테롤 강하 화합물과 조합하여 투여될 수 있다는 것이 고려된다.

[0118] 하기 실시예들은 본 발명의 특정 예시적인 실시예를 추가로 도시하기 위한 의도이고 본 발명의 범위를 한정하려는 의도가 아니다. 예를 들어, 대표적인 TLR 길항제는 하기의 실시예에 기재되지만, 본 발명의 길항제가 적용될 수 있는 TLR의 범위를 제한하지 않는다.

[0119] 본 발명에 인용된 특허 및 문헌들은 본 분야의 일반적인 지식을 기재하고 전체로 인용으로 삽입되어 있다. 기재된 인용문헌과 본 명세서의 암시 간의 어떤 상충은 후자의 호의로 해소될 수 있을 것이다.

## 실 시 예 1

[0120] 면역 조절 부분들을 포함하는 올리고뉴클레오티드의 합성.

[0121] 모든 합성 올리고뉴클레오티드는 표준 과정에 따라 합성하였다(예를 들어, 미국 특허 공고 번호 2004/0097719 참조).

[0122] 올리고뉴클레오티드를 표준 선형 합성 또는 평행 합성 과정에 따라(예를 들어, U.S. 특허 공고 번호 2004/0097719의 도 5 및 6 참조), 자동화된 DNA 합성기 (Expedite 8909; PerSeptive Biosystems, Framingham, Mass.)를 사용하여 1  $\mu$ M 스케일로 합성하였다.

[0123] 데옥시리보뉴클레오시드 포스포르아미디트(Deoxyribonucleoside phosphoramidites)는 알드리치-시그마 (Aldrich-Sigma, St Louis, Mo)로부터 구입하였다. 1',2'-디데옥시리보스 포스포르아미디트(1',2'-dideoxyribose phosphoramidite), 프로필-1-포스포르아미디트(propyl-1-phosphoramidite), 2-데옥시우리딘 포스포르아미디트(2-deoxyuridine phosphoramidite), 1,3-비스-[5-(4,4'-디메톡시트리틸)펜틸아미딜]-2-프로판올 포스포르아미디트(1,3-bis-[5-(4,4'-dimethoxytrityl)pentylamidyl]-2-propanol phosphoramidite) 및 메틸 포스폰아미디트(methyl phosphonamidite)는 글렌 리서치(Glen Research, Sterling, Va.)로부터 구입하였다.  $\beta$ -L-2'-데옥시리보뉴클레오시드 포스포르아미디트( $\beta$ -L-2'-deoxyribonucleoside phosphoramidite), 알파-2'-데옥시리보뉴클레오시드 포스포르아미디트(alpha-2-deoxyribonucleoside phosphoramidite), 모노-DMT-글리세롤 포스포르아미디트(mono-DMT-glycerol phosphoramidite) 및 디-DMT-글리세롤 포스포아미디트(di-DMT-glycerol phosphoramidite)는 캠진스(ChemGenes, Willmington, Mass.)로부터 구입하였다. (4-아미노부틸)-1,3-프로판디올 포스포아미디트((4-Aminobutyl)-1,3-propanediol phosphoramidite)는 클로텍(Clontech, Palo Alto, Calif.)로부터 구입하였다. 아라비노시티딘 포스포르아미디트(Arabinocytidine phosphoramidite), 아라비노구아노신(arabinoguanosine), 아라비노티미딘(arabinothymidine) 및 아라비노우리딘(arabinouridine)은 리라이어블 파마슈티칼(Reliable Pharmaceutical, St. Louis, Mo.)로부터 구입하였다. 아라비노구아노신 포스포아미디트(Arabinoguanosine phosphoramidite), 아라비노티미딘 포스포아미디트(arabinothymidine phosphoramidite) 및 아라비노우리딘 포스포아미디트(arabinouridine phosphoramidite)는 이데라 파마슈티칼(Idera Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, Mass.)에서 합성하였다(Noronha *et al.* (2000) *Biochem.*, 39:7050-7062).

[0124] 모든 뉴클레오시드 포스포아미디트는  $^{31}$ P 및  $^1$ H NMR 스펙트럼으로 측정되었다. 변형된 뉴클레오시드를 일반 결합 사이클을 사용하여 특정 위치에 혼입하였다. 합성 후, 올리고뉴클레오티드은 농축된 수산화 암모늄 (ammonium hydroxide)을 사용하여 탈보호(deprotect)시키고 역상 HPLC로 정제한 후, 투석하였다. 나트륨 염의 형태로 정제된 올리고뉴클레오티드들은 사용하기 전에 동결건조시켰다. 순도는 CGE 및 MALDI-TOF MS로 테스트하였다.

## 실시예 2

### TLR 길항제의 생체 내(*in vivo*) 콜레스테롤 및 지질 강하 활성

[0125] 5 주령의 암컷 C57BL/6 마우스를 잭슨 실험실(The Jackson Laboratory)로부터 입수하였다. 모든 동물 실험은 이데라 파마슈티칼(Idera Pharmaceuticals) ICAUC 승인된 동물 프로토콜의 가이드라인에 따라 수행하였다. 마우스에게 60 % 라드(Research Diets, New Brunswick, NJ)로 구성된 웨스턴 식이(Western diet)를 먹였다. TLR 길항제를 주 6에 시작해서 주 10까지 5 주 동안 1 주당 2 회 피하(s.c) 5 및 20 mg/kg의 용량으로, 마우스에 투여하였다. 리피토(Lipitor®)

)는 5 주 동안 1 주당 5 회 위장내(i.g) 20 mg/kg의 용량으로 마우스에 투여하였다. 대조군의 마우스는 PBS로 주사하였다. 각 군은 5 마리의 마우스이다. 연구 과정 중 및 실험이 종료된 12주에 채혈하였다. 혈청 콜레스테롤의 수준은 바이오어세이 시스템(oAssay System)의 "EnzyChrom™ 콜레스테롤 분석 키트"로 각 시료를 결정하였다.

## 실시예 3

### TLR 길항제의 생체 내(*in vivo*) 콜레스테롤, 지질단백질, 지질 및 포도당 강하 활성

[0127] 5 주령의 암컷 C57BL/6 마우스 또는 ApoE-결합 마우스를 잭슨 실험실(The Jackson Laboratory)로부터 입수하였다. 모든 동물 실험은 이데라 파마슈티칼(Idera Pharmaceuticals) ICAUC 승인된 동물 프로토콜의 가이드라인에 따라 수행하였다. 마우스에게 60 % 라드(Research Diets, New Brunswick, NJ)로 구성된 웨스턴 식이(Western diet)를 먹였다. 길항제를 주 6에 시작해서 주 10까지 5 주 동안 1 주당 2 회 피하(s.c) 15 mg/kg의 용량으로, 마우스에 투여하였다. 대조군의 마우스는 PBS로 주사하였다. 각 군은 15 마리의 마우스이다. 실험이 종료된 12주까지 매주 마우스를 밤새 굶긴 후에 채혈하고 콜레스테롤, HDL, LDL, ALT, AST, 중성지방(triglyceride) 및 포도당의 혈청 수준을 퀘스트 실험실(Quest Laboratories)에서 결정하였다.

## 실시예 4

### TLR 길항제의 생체 내(*in vivo*) 체중 감소 활성

[0129] 5 주령의 암컷 C57BL/6 마우스 또는 ApoE-결합 마우스를 잭슨 실험실(The Jackson Laboratory)로부터 입수하였다. 모든 동물 실험은 이데라 파마슈티칼(Idera Pharmaceuticals) ICAUC 승인된 동물 프로토콜의 가이드라인에 따라 수행하였다. 마우스에게 60 % 라드(Research Diets, New Brunswick, NJ)로 구성된 웨스턴 식이(Western diet)를 먹였다. 길항제를 주 6에 시작해서 주 10까지 5 주 동안 1 주당 2 회 피하(s.c) 15 mg/kg의 용량으로, 마우스에 투여하였다. 대조군의 마우스는 PBS로 주사하였다. 각 군은 15 마리의 마우스이다. 체중을 측정하였다.

도면

도면 1a

주	PBS	TLR 20 mg/kg		TLR 20 mg/kg	TLR 20 mg/kg
		5 mg/kg	20 mg/kg		
6	145 ± 6	135 ± 16	155 ± 1	140 ± 6	
8	185 ± 2	167 ± 1	132 ± 7	164 ± 1	
10	197 ± 8	177 ± 5	145 ± 3	182 ± 5	
12	234 ± 11	179 ± 7	162 ± 8	189 ± 23	

## 6 주간의 % 변화

도면1b

주 기 일	PBS	TLR 215tM		EFL 215tR
		5 mg/kg	20 mg/kg	
8	28	24	-15	17
10	36	31	-7	30
12	61	32	5	35

## 도면2a

C57BL/6 ICR 윌슨 혈청 분석

Week	Chol, mg/dl		HDL, mg/dl		LDL, mg/dl		TG, mg/dl		Glucose, mg/dl		HDL-C/LDL-C	
	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta
6	81	82	59	57	5	3	86	108	149	159	11.8	19
7	114	104	86	77	7	13	105	72	184	163	12.3	5.9
8	91	75	77	55	5	6	42	72	128	62	15.4	9.2
9	84	84	70	72	6	-	40	49	70	47	11.7	-
10	122	62	96	41	15	14	55	37	119	117	6.4	2.9
11	95	62	85	47	-	7	55	41	53	85	-	6.7
12	101	60	91	46	-	6	64	40	48	86	-	7.7

## 57BL/6雌우 혈청: % 변호

도면2b

Week	Chol, mg/dl		HDL, mg/dl		LDL, mg/dl		TG, mg/dl		Glucose, mg/dl	
	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta
7	40.7	26.8	45.7	35.1	40	333.3	22.1	-33.3	23.5	2.5
8	12.3	-8.5	30.5	-3.5	0	100	-45.3	-33.3	14.1	-61
9	3.7	2.4	18.6	26.3	20	-100	-53.5	-54.6	-53	-70.4
10	50.6	-24.4	62.7	-28.1	200	366.7	-36.1	-65.7	-20.1	-26.4
11	17.3	-24.4	44.1	-17.5	-100	133.3	-36.1	-62	-64.4	-46.5
12	24.7	-26.8	54.2	-19.3	-100	100	-25.6	-63	-67.8	-45.9

## 도면2c

ApoE-결핍 마우스 혈청 분석

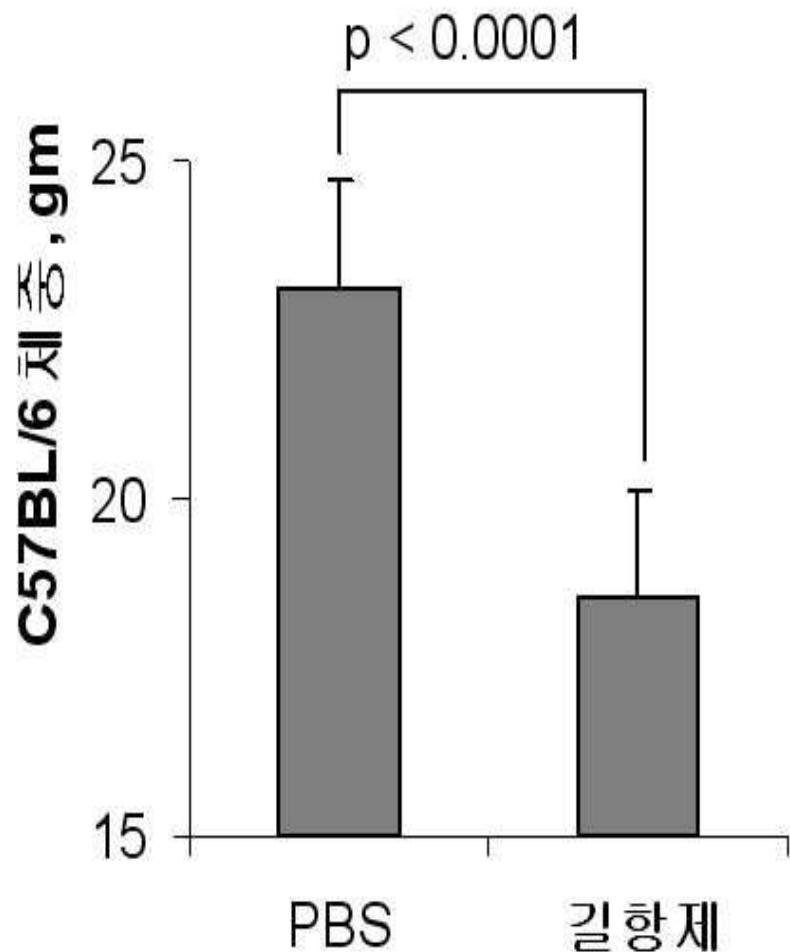
Week	Chol, mg/dl		HDL, mg/dl		LDL, mg/dl		TG, mg/dl		Glucose, mg/dl		HDL-C/LDL-C	
	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta
6	458	461	102	105	335	335	103	103	178	174	0.3	0.3
7	1161	951	357	318	782	609	110	119	179	153	0.45	0.52
8	1068	963	360	321	694	630	68	62	49	59	0.52	0.51
9	1008	948	315	312	683	626	50	50	54	86	0.46	0.5
10	1026	590	369	207	646	380	54	48	134	88	0.57	0.54
11	990	585	318	225	650	352	108	41	159	89	0.49	0.64
12	1596	624	396	225	1170	391	151	41	160	71	0.34	0.56

도면2d

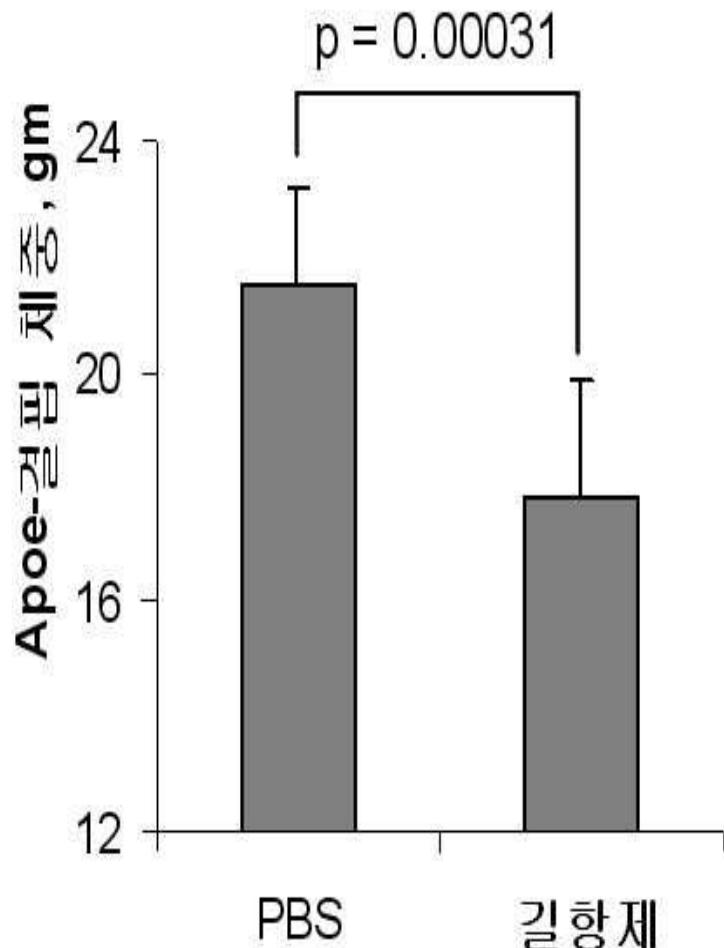
ApoE-결핍 마우스: % 변화

Week	Chol, mg/dl		HDL, mg/dl		LDL, mg/dl		TG, mg/dl		Glucose, mg/dl	
	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta	PBS	Anta
7	153.5	106.3	250	202.9	133.4	81.8	6.8	15.5	0.6	-12.1
8	133.2	108.9	252.9	205.7	107.1	88.1	-34	-39.8	-72.5	-66.1
9	120.1	105.6	208.8	197.4	103.9	86.9	-51.5	-51.5	-69.7	-50.6
10	124	28	261.8	97.1	92.8	13.4	-47.6	-53.4	-24.7	-49.4
11	116.2	26.9	211.8	114.3	94	5.1	4.9	-60.2	-10.7	-48.9
12	248.5	35.4	288.2	114.3	249.3	16.7	46.6	-60.2	-10.1	-59.2

도면3a



## 도면3b



## 서 열 목 록

- <110> IDERA PHARMACEUTICALS, INC.
- <120> USE OF INHIBITORS OF TOLL-LIKE RECEPTORS IN THE PREVENTION
- <130> 11fpi-03-06
- <150> US 61/102974
- <151> 2008-10-06
- <150> PCT/US 2009/059730
- <151> 2009-10-06
- <160> 101
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1
- <211> 18
- <212> DNA
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Synthetic oligonucleotide

<400>	1	
ctatctgacg ttctctgt		18
<210>	2	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	2	
ctatctgtcg ttctctgt		18
<210>	3	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)	
<223>	7-deaza-G	
<400>	3	
tctgacnttc t		11
<210>	4	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	4	
ctatctcacc ttctctgt		18
<210>	5	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	

<223> 2'-OMe  
<400> 5  
ctatctgacg ttctctgt 18  
<210> 6  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base  
<222> (11)..(12)  
<223> 2'-OMe  
<400> 6  
ctatctgacg uuucttgt 18  
<210> 7  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (8)  
<223> 2'-OMe  
<400> 7  
ctatctgacg ttctctgt 18  
<210> 8  
<211> 10  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223>  
> Synthetic oligonucleotide  
<400> 8  
tgaccggta 10  
<210> 9  
<211> 18  
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (8)

<223> 2'-OMe

<400> 9

ctatctgucg ttctctgt

18

<210> 10

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220>

><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<400> 10

ctatctgucg ttctctgt

18

<210> 11

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 11

tcaaccacac a

11

<210> 12

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 12

tcctggcgaaat

15

<210> 13

<211> 3

<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	13	
nnn		3
<210>	14	
<211>	3	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	14	
nnn		3
<210>	15	
<211>	3	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	15	
nnn		3
<210>	16	
<211>	3	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	16	
nnn		3
<210>	17	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>	2'-OMe	

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> 7-deaza-dG

<400> 17

ctatctgacn ttctctgt

18

<210> 18

<211> 3

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 18

nnn

3

<210> 19

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> 7-deaza-dG

<400> 19

ctatctgucn ttctctgt

18

<210> 20

<211> 3

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 20

nnn

3

<210> 21

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 21

tctgacgttc t

11

<210> 22

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 22

cgttctctgt

10

<210> 23

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 23

acgttctctg t

11

<210> 24

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 24

cgttctctgt

10

<210> 25

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<400> 25

ctatctgang ttctctgt 18

<210> 26

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> B-L-deoxy nucleoside-G

<400> 26

ctatctgacn ttctctgt 18

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<400> 27

ctatctgtng ttctctgt 18

<210> 28

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> B-L-deoxy nucleoside-G

<400> 28

ctatctgtcn ttctctgt	18
<210> 29	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 29	
ctatctga	8
<210> 30	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 30	
ctatctgac	9
<210> 31	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 31	
ctatctgt	8
<210> 32	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<400> 32	
ctatctgtc	9
<210>	
> 33	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(9)	
<223>	3'-deoxy-nucleoside-C	
<400>	33	
ctatctgang ttctctgt		18
<210>	34	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(10)	
<223>	3'-deoxy-nucleoside-G	
<400>	34	
ctatctgacn ttctctgt		18
<210>	35	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(9)	
<223>	3'-deoxy-nucleoside-C	
<400>	35	
ctatctgtng ttctctgt		18
<210>	36	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(10)	
<223>	3'-deoxy-nucleoside-G	

&lt;400&gt; 36

ctatctgtcn ttctctgt

18

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (7)..(8)

&lt;223&gt; 2'-OMe

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (10)

&lt;223&gt; araG

&lt;400&gt; 37

ctatctgacn ttctctgt

18

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (7)..(8)

&lt;223&gt; 2'-OMe

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (10)

&lt;223&gt; araG

&lt;400&gt; 38

ctatctgucn ttctctgt

18

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> araC

<400> 39

ctatctgang ttctctgt

18

<210> 40

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> araC

<400> 40

ctatctgung ttctctgt

18

<210> 41

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> 5-OH-dC

<400> 41

ctatctgang ttctctgt	18
<210> 42	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<220><221> modified_base	
<222> (7)..(8)	
<223> 2'-OMe	
<220><221> modified_base	
<222> (9)	
<223> 5-OH-dC	
<400> 42	
ctatctgung ttctctgt	18
<210> 43	
<211> 18	
<212> DNA	
<213>	
> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<220><221> modified_base	
<222> (7)..(8)	
<223> 2'-OMe	
<220><221> modified_base	
<222> (9)	
<223> 1-(2'-deoxy-beta-D-ribofuranosyl)-2-oxo-7-deaza-8-methyl-purine-C	
<400> 43	
ctatctgang ttctctgt	18
<210> 44	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<220><221> modified_base	

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> 1-(2'-deoxy-beta-D-ribofuranosyl)-2-oxo-7-deaza-8-methyl-purine-C

<400> 44

ctatctgung ttctctgt 18

<210> 45

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> N1-Me-dG

<400> 45

ctatctgacn ttctctgt 18

<210> 46

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> N1-Me-dG

<400> 46

ctatctgucn ttctctgt 18

<210>	47	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>		
>	2'-OMe	
<220><221>	modified_base	
<222>	(9)	
<223>	N3-Me-dC	
<400>	47	
ctatctgang ttctctgt		18
<210>	48	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>	2'-OMe	
<220><221>	modified_base	
<222>	(9)	
<223>	N3-Me-dC	
<400>	48	
ctatctgung ttctctgt		18
<210>	49	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(12)	

<223>	2'-OMe	
<400>	49	
ctatctagcg ttctctgt		18
<210>	50	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(11)	
<223>	2'-OMe	
<400>	50	
ctatctagcg ttctctgt		18
<210>	51	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(11)..(12)	
<223>	2'-OMe	
<400>	51	
ctatctagcg ttctctgt		18
<210>	52	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	52	
cctactagcg t		11
<210>	53	
<211>	10	
<212>	DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 53

cctactagcg 10

<210> 54

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (8)

<223> 3'-deoxy-nucleoside-G

<400> 54

cctactancg ttctcatc 18

<210> 55

<211> 19

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)

<223> 3'-OMe-A

<400> 55

tccatgnct tcctgatgc 19

<210> 56

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> B-L-deoxy-nucleoside-C

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> B-L-deoxy nucleoside-G

<400> 56

ctatctgann ttctctgt	18
---------------------	----

<210> 57

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (1)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<220><221> modified\_base

<222> (2)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220><221> modified\_base

<222> (3)

<223> B-L-deoxy nucleoside-A

<220><221> modified\_base

<222> (4)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220>

><221> modified\_base

<222> (5)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<220><221> modified\_base

<222> (6)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220><221> modified\_base

<222> (7)

<223> B-L-deoxy nucleoside-G

<220><221> modified\_base

<222> (8)

<223> B-L-deoxy nucleoside-A

<220><221> modified\_base

<222> (9)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> B-L-deoxy nucleoside-G

<220><221> modified\_base

<222> (11)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220><221> modified\_base

<222> (12)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220><221> modified\_base

<222> (13)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<220><221> modified\_base

<222> (14)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220><221> modified\_base

<222> (15)

<223> B-L-deoxy nucleoside-C

<220><221> modified\_base

<222> (16)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<220><221> modified\_base

<222> (17)

<223> B-L-deoxy nucleoside-G

<220><221> modified\_base

<222> (18)

<223> B-L-deoxy nucleoside-T

<400> 57

nnnnnnnnnn nnnnnnnn

18

<210> 58

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 58

ctatctgacg t

11

<210> 59

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 59

ctatctgacg

10

<210> 60

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 60

ctatctgacg

10

<210> 61

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 61

ctatctagcg t

11

<210> 62

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 62

ctatctagcg

10

<210>	63	
<211>	10	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	63	
ctatctagcg		10
<210>	64	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>	2'-OMe	
<400>	64	
ctatctaacg ttctctgt		18
<210>	65	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>	2'-OMe	
<400>	65	
ctatctagcg ttctctgt		18
<210>	66	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	

<223>	2'-OMe	
<400>	66	
ctatctaucg ttctctgt		18
<210>	67	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>	2'-OMe	
<220><221>	modified_base	
<222>	(10)	
<223>	7-deaza-dG	
<400>	67	
ctatctaacn ttctctgt		18
<210>	68	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)..(8)	
<223>		
>	2'-OMe	
<220><221>	modified_base	
<222>	(10)	
<223>	7-deaza-dG	
<400>	68	
ctatctagcn ttctctgt		18
<210>	69	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> 7-deaza-dG

<400> 69

ctatctaunc ttctctgt

18

<210> 70

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 70

ctatctagcg t

11

<210> 71

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 71

ctatctagcg

10

<210> 72

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 72

ctatctagcg

10

<210> 73

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 73

tcctggaggg gaagt

15

<210> 74

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)

<223> 2'-OMe

<400> 74

ctatctgacg ttctctgt

18

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> 7-deaza-dG

<220><221> modified\_base

<222> (11)..(12)

<223> 2'-OMe

<400> 75

ctatctgacn uuuctctgt

18

<210> 76

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (8)

&lt;223&gt;

3'-OMe-G

&lt;400&gt; 76

cctactancg ttctcatc

18

&lt;210&gt; 77

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (10)

&lt;223&gt; 3'-OMe-U

&lt;400&gt; 77

tccatgacgn tcctgatgc

19

&lt;210&gt; 78

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;400&gt; 78

cgttctctgt

10

&lt;210&gt; 79

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;400&gt; 79

acgttctctg t

11

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

<222>	(7)	
<223>	dU	
<400>	80	
ctatctnacg ttctctgt		18
<210>	81	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(8)	
<223>	dU	
<400>	81	
ctatctgnacg ttctctgt		18
<210>	82	
<211>	10	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	82	
ctatctgacg		10
<210>	83	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	83	
ctatctgacg t		11
<210>	84	
<211>	10	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	

<400>	84	
cgttctctgt		10
<210>	85	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<400>	85	
acgttctctg t		11
<210>	86	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(4)..(5)	
<223>	2'-OMe	
<400>	86	
tctgacgttc t		11
<210>	87	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	modified_base	
<222>	(4)..(5)	
<223>	2'-OMe	
<220><221>	modified_base	
<222>	(7)	
<223>	7-deaza-dG	
<400>	87	
tctgacnttc t		11
<210>	88	

<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (4)..(5)  
<223> 2'-OMe  
<220><221> modified\_base  
<222> (7)  
<223> araG  
<400> 88  
tctgacnttc t 11  
<210> 89  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223>  
> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (6)..(7)  
<223> 2'-OMe  
<400> 89  
tctctgacgt t 11  
<210> 90  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (4)..(5)  
<223> 2'-OMe  
<220><221> modified\_base  
<222> (7)  
<223> 7-deaza-dG  
<400> 90

tctgacnttc t

11

<210> 91  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (11)..(12)  
<223> 2'-OMe  
<400> 91

ctatctgtcg uuctctgt 18  
<210> 92  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (10)  
<223> 7-deaza-dG  
<220><221> modified\_base  
<222> (11)..(12)

<223> 2'-OMe  
<400> 92

ctatctgtcn uuctctgt 18  
<210> 93  
<211> 11  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (4)..(5)  
<223> 2'-OMe  
<400> 93

tctgucgttc t	11
<210> 94	
<211> 11	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<220><221>	
> modified_base	
<222> (4)..(5)	
<223> 2'-OMe	
<220><221> modified_base	
<222> (7)	
<223> 7-deaza-dG	
<400> 94	
 tctguCNTTC t	 11
<210> 95	
<211> 11	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<220><221> modified_base	
<222> (4)..(5)	
<223> 2'-OMe	
<220><221> modified_base	
<222> (7)	
<223> araG	
<400> 95	
 tctgacnttc t	 11
<210> 96	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic oligonucleotide	
<220><221> modified_base	

<222> (4)..(5)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (7)

<223> 7-deaza-dG

<400> 96

tctgacntt

9

<210> 97

<211> 11

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (4)..(5)

<223>

> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (7)

<223> 7-deaza-dG

<400> 97

tctgacnttc t

11

<210> 98

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<220><221> modified\_base

<222> (7)..(8)

<223> 2'-OMe

<220><221> modified\_base

<222> (10)

<223> 7-deaza-dG

<220><221> modified\_base

<222> (15)..(18)

<223> 2'-OMe

&lt;400&gt; 98

ctatctgacn ttctcugu

18

&lt;210&gt; 99

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (7)..(8)

&lt;223&gt; 2'-OMe

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (10)

&lt;223&gt; 7-deaza-dG

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (15)..(18)

&lt;223&gt; 2'-OMe

&lt;400&gt; 99

ctatctgucn ttctcugu

18

&lt;210&gt; 100

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Synthetic oligonucleotide

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (1)..(3)

&lt;223&gt; 2'-OMe

&lt;220&gt;&lt;221&gt; modified\_base

&lt;222&gt; (5)

&lt;223&gt; 7-deaza-dG

&lt;400&gt; 100

ugucnttct

9

&lt;210&gt; 101

&lt;211&gt; 9

<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic oligonucleotide  
<220><221> modified\_base  
<222> (1)..(3)  
<223> 2'-OMe  
<220><221> modified\_base  
<222> (5)  
<223> 7-deaza-dG  
<400> 101

ugacnttct

9