



등록특허 10-2435599



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년08월29일

(11) 등록번호 10-2435599

(24) 등록일자 2022년08월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/24 (2006.01) A61K 47/68 (2017.01)

A61P 29/00 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)

C07J 71/00 (2006.01) C07K 16/18 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/241 (2013.01)

A61K 47/6803 (2017.08)

(21) 출원번호 10-2018-7037929

(22) 출원일자(국제) 2017년06월01일

심사청구일자 2020년05월29일

(85) 번역문제출일자 2018년12월27일

(65) 공개번호 10-2019-0014542

(43) 공개일자 2019년02월12일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/035518

(87) 국제공개번호 WO 2017/210471

국제공개일자 2017년12월07일

(30) 우선권주장

62/344,948 2016년06월02일 미국(US)

62/371,134 2016년08월04일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

W02015153401 A1

(73) 특허권자

에브비 인코포레이티드

미국 일리노이주 60064 놀스 시카고 놀스 워키건  
로드 1

(72) 발명자

맥퍼슨 마이클 제이.

미국 매사추세츠주 01431 애시비 필스버리 로드  
287

홉슨 애드리안 디.

미국 매사추세츠주 01545 슈루즈버리 훌먼 스트리  
트 25

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 글루코코르티코이드 수용체 작용제 및 이의 면역접합체

### (57) 요약

글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체, 글루코코르티코이드 수용체 작용제, 및 예컨대, 자가면역질환 또는 염증성 질환 치료를 위한, 이의 이용 방법이 본 설명에 제공된다.

(52) CPC특허분류

*A61K 47/6845* (2017.08)

*A61K 47/6849* (2017.08)

*A61K 47/6889* (2017.08)

*A61P 29/00* (2018.01)

*A61P 37/02* (2018.01)

*C07J 71/0031* (2013.01)

*C07K 16/18* (2013.01)

*C07K 2317/21* (2013.01)

*C07K 2317/24* (2013.01)

(72) 발명자

**헤이스 마틴 이.**

미국 매사추세츠주 01463 페퍼럴 셀레스티얼 웨이  
3

**마빈 크리스토퍼 씨.**

미국 일리노이주 60030 그레이스레이크 브랙스턴  
웨이 242

**슈미트 다이애나**

미국 일리노이주 60002 앤디오크 사우스 선셋 드라  
이브 40606

**웨겔 웬디**

미국 매사추세츠주 01506 브룩필드 라이스 코너 로  
드 7

**고에스 크리스티안**

미국 매사추세츠주 01566 스터브릿지 매셔포그 로  
드 112

**오 제이슨 지.**

미국 매사추세츠주 01606 우스터 스노우밸 레인 5  
헤르난데즈 주니어 앤센

미국 매사추세츠주 01507 찰턴 로리 레인 14

**랜돌프 존 티.**

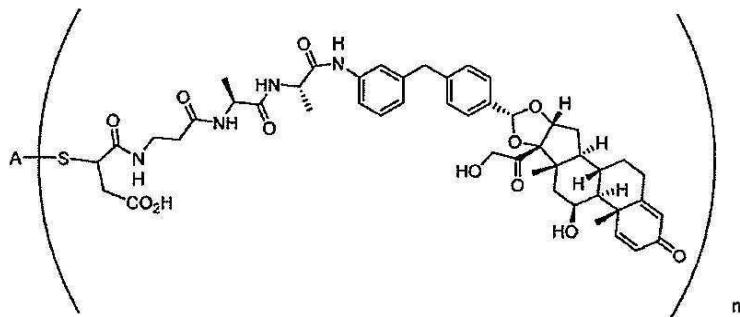
미국 일리노이주 60048 리버티빌 브로드웨이 애비  
뉴 304

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

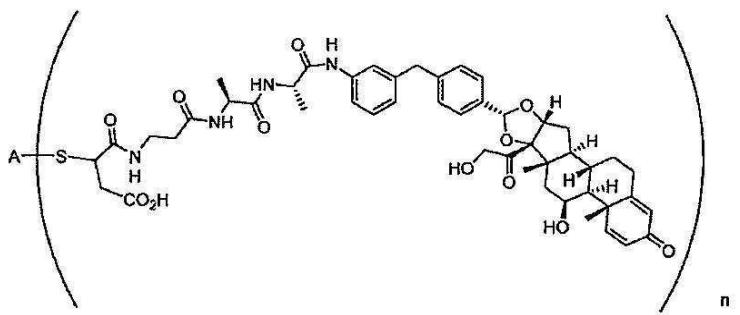
하기 화학식의 화합물:



상기 화학식에서, n은 4이고, A는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 IgG1 항체이다.

#### 청구항 2

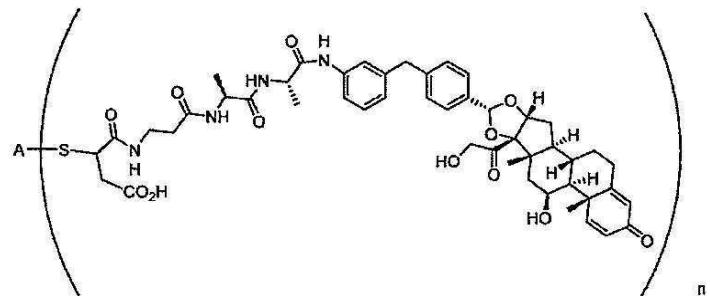
하기 화학식의 화합물:



상기 화학식에서, n은 2이고, A는 서열번호 66의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 IgG1 항체이다.

#### 청구항 3

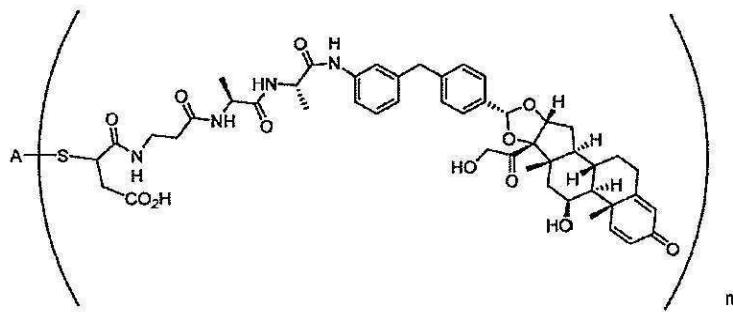
하기 화학식의 화합물:



상기 화학식에서, n은 4이고, A는 아달리무맙이다.

#### 청구항 4

하기 화학식의 화합물:



상기 화학식에서, n은 2이고, A는 아달리무맙이다.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

관련 출원

[0001] 본 출원은 2016년 6월 2일에 출원된 미국 가출원 제62/344,948호 및 2016년 8월 4일에 출원된 미국 가출원 제62/371,134호(이들 각각은 본 설명에 그 전체가 참조로 포함됨)에 대한 우선권을 주장한다.

기술분야

[0004] 본 발명의 분야는 일반적으로 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체, 이의 제조 방법 및 예컨대, 자가 면역질환 또는 염증성 질환 치료를 위한, 이용 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0005] 종양 괴사 인자 알파(Tumor Necrosis Factor alpha, TNFa)는 여러 인간 장애의 병리생리학에서 중심적인 역할을 하며, 종양 괴사 인자 알파 억제제(예컨대, 아달리무맙, 에타네르셉트 및 인플릭시맙)는 류마티스 관절염, 건선 및 염증성 장질환과 같은 자가면역 및 염증성 장애의 치료에서 치료적 유용성을 임상적으로 실증하였다. 임상에서의 성공에도 불구하고, 종양 괴사 인자 알파 억제성 생물제제는 환자에서 달성할 수 있는 최대 효능에서 여전히 제한적이어서, 더욱 강력하고 효과적인 치료제의 동정 및 개발이 필요하다. 또한, 종양 괴사 인자 알파 억제성 생물제제 치료를 받는 환자들은 이 치료제에 대한 면역원성 반응을 발달시킬 수 있어, 그 효과를 제한한다. 따라서, 더 낮은 면역원성 및 높은 효능을 나타내는 종양 괴사 인자 알파 치료법은 질병을 추가적으로 제어함에 있어 유용할 것이다.

[0006] 합성 글루코코르티코이드 수용체 작용제(예컨대, 텍사메타손, 프레드니솔론 및 부데소니드)는 염증성 장애의 치료에 사용되는 강력한 소분자 부류이지만, 질병의 만성 치료에서 이의 효용은 심각한 부작용으로 인해 제한된다. 합성 글루코코르티코이드의 원치 않는 독성을 피하면서 항염증 효능은 보유하고자 하는 몇 가지 접근

법이 설명된 바 있다(Rosen, J and Miner, JN *Endocrine Reviews* 26: 452~64 (2005)). 그러나 이들 방법론은 거의 성공하지 못했다. 자가면역 및 염증성 질환 치료제 분야에서는 항-TNF 항체와 비교하여 증진된 효능과 더 오래 지속되는 작용 기간을 나타내며 최소한의 원치 않는 효과를 나타내는 치료제 개발이 필요하다.

### 발명의 내용

[0007]

일 양태에서, 본 발명은 아래 화학식 I-a 및 I-b로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 전구약물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 아래 화학식 I-a 및 I-b로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체를 제공한다. 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 성인 크론병, 소아 크론병, 궤양성 대장염, 판 건선, 화농성 한선염, 포도막염, 베체트병, 척추 관절병증, 또는 건선과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는, 자가면역질환 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 류마티스 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 소아 특발성 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 건선성 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 강직성 척추염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 성인 크론병 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 소아 크론병 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 궤양성 대장염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 판 건선 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 화농성 한선염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 포도막염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 베체트병 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 척추관절병증 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체는 건선 치료에 유용하다.

[0008]

또 다른 양태에서, 본 발명은 아래 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"(이때, R<sup>7b</sup>는 수소임)로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 및 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 전구약물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 아래 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"(이때, R<sup>7b</sup>는 수소임)로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 제공한다. 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 성인 크론병, 소아 크론병, 궤양성 대장염, 판 건선, 화농성 한선염, 포도막염, 베체트병, 척추관절병증, 또는 건선과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는, 자가면역질환 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 류마티스 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 소아 특발성 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 소아 특발성 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 건선성 관절염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 강직성 척추염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b,

IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 성인 크론병 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 소아 크론병 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 궤양성 대장염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 판 건선 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 화농성 한선염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 포도막염 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 베체트병 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물은 척추관절병증 치료에 유용하다. 일 양태에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"를 갖는 화합물을 건선 치료에 유용하다.

[0009] 또 다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체 제조에 이용될 수 있는 합성 중간체로서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"로 표시되는 화합물을 제공한다.

[0010] 또 다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I-a 및 I-b로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체, 또는 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제, 및 부형제 및/또는 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0011] 또 다른 양태에서, 본 발명은 자가면역질환 치료용의 화학식 I-a 및 I-b로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체, 또는 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 제공한다.

[0012] 또 다른 양태에서, 본 발명은 자가면역질환 치료용 의약 제조를 위한, 화학식 I-a 및 I-b로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체, 또는 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 및 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 및 IX-b"로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제의 용도를 제공한다.

[0013] 또 다른 양태에서, 본 발명은 화학식 I-a 및 I-b로 표시되는 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체의 제조 방법을 제공한다.

### 도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 스테로이드를 함유하는 ADC 및 MIMAE(모노메틸 아우리스타틴 E)를 함유하는 ADC의 단백질 가수분해 안정성을 보여준다. (실시예 76 참조)

도 2는 마우스에서 스테로이드 ADC의 약물 링커 손실의 동역학을 보여준다. (실시예 77 참조)

도 3은 관절염의 마우스 모델에서 항-mTNFa 스테로이드 ADC의 단일 치료 용량 반응의 활성을 보여준다. (실시예 85 참조)

도 4는 관절염의 huTNFa Tg CAIA 마우스 모델에서 항-인간 TNFa 스테로이드의 활성을 보여준다. (실시예 87 참조)

도 5는 환원된 쇄간 이황화 결합의 수에 따라 0개의 SM-L-Q- 분자 부착 항체("E0" 피크), 2개의 SM-L-Q- 분자 부착 항체("E2" 피크), 4개의 SM-L-Q- 분자 부착 항체("E4" 피크), SM-L-Q- 모이어티 부착 항체("E6" 피크), 및 8개의 SM-L-Q- 분자 부착 항체("E8" 피크)를 함유하는 불균질 혼합물을 보여주는 HIC 크로마토그램이다. (SM은 글루코코르티코이드의 라디칼이고; L은 링커이며, Q는 헤테로2작용성 기 또는 헤테로3작용성 기이거나; Q는 부존재함.) (실시예 74 참조)

도 6은 글루코코르티코이드와 접합된 아달리무맙의 SEC 크로마토그램이다. (실시예 74 참조)

도 7은 글루코코르티코이드와 접합된 아달리무맙의 미가공 MS 데이터를 보여주는 선 그래프이다. (실시예 74 참조)

도 8은 글루코코르티코이드와 접합된 아달리무맙의 디콘볼루션된 MS 데이터를 보여주는 선 그래프이다. 검은색의 사각형과 원형은 각각 석신이미드가 가수분해된 ADC 및 석신이미드가 가수분해되지 않은 ADC를 나타낸다. 가수분해된 ADC 및 가수분해되지 않은 ADC의 상대적인 존재도는 가수분해 전환율을 결정하는 데 사용된다. (실시예 74 참조)

도 9는 항-TNF 스테로이드 ADC가 항-TNF 항체 및 스테로이드의 동시 조합보다, 또는 항-TNF 항체 단독보다 마우스의 귀 염증 감소에 있어서 유의미하게 더욱 효과적임을 보여준다. (실시예 84 참조)

도 10은 단일 용량의 항-TNF 스테로이드 ADC가 21일간 매일 스테로이드를 투약한 것만큼 발 부종 감소에 효과적임을 보여준다. (실시예 85 참조)

도 11은 스테로이드, 항-TNF 항체, 항-TNF ADC, 또는 이소형 ADC로 치료한 동물의 체중 변화를 보여준다. (실시예 85 참조)

도 12는 단일 용량의 항-TNF 스테로이드 ADC가 만성 발 부종을 감소시킬 수 있지만, 단일 용량의 항-TNF 항체는 최소한의 효과를 나타냈음을 보여준다. (실시예 88 참조)

도 13은 미세전산화 단층촬영( $\mu$ CT)으로 측정한 발목뼈 손실에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 효과를 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 삼각형)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 14는 염증에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 효과를 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 삼각형)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 15는 판누스 형성에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 삼각형)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 16은 골 침식에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 삼각형)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 17은 연골 손상에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 삼각형)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 18은 말초 혈액 중의 백혈구에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 다이아몬드)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 19는 말초 혈액 중의 호중구에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 다이아몬드)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 20은 말초 혈액 중의 림프구에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점(예컨대, 원형, 사각형, 또는 다이아몬드)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 21은 말초 혈액 중의 단핵구에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (각각의 데이터 점

(예컨대, 원형, 사각형, 또는 다이아몬드)은 각각의 동물을 나타낸다.) (실시예 88 참조)

도 22는 말초 혈액 중의 호산성구에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (실시예 88 참조)

도 23은 말초 혈액 중의 호염기구에 미치는 항-TNF 스테로이드 ADC 치료의 영향을 보여준다. (실시예 88 참조)

도 24는 마우스 콜라겐 유도성 관절염에서 항-TNF 스테로이드 ADC 및 항-CD163 스테로이드 ADC의 활성을 보여준다. (실시예 89 참조)

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 글루코코르티코이드 수용체 작용제 면역접합체, 글루코코르티코이드 수용체 작용제, 그리고 이의 제조 방법 및 이를 이용하는 방법이 본 설명에 제공된다.
- [0016] I. 정의
- [0017] 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위하여, 다수의 용어 및 어구가 아래에 정의된다.
- [0018] 용어 "항-TNF 알파 단백질"은 (i) TNF 알파에 결합할 수 있고, (ii) 세포 표면 TNF 수용체(p55 및/또는 p75)에 대한 가용성 TNF-알파의 결합을 억제 및/또는 보체의 존재 하에 시험관 내에서 세포를 발현하는 표면 TNF 알파 또는 TNF 알파 수용체를 용해시킬 수 있는 단백질을 지칭한다. 항-TNF 알파 단백질은 예를 들어, 항-TNF 항체 또는 이의 항원 결합 단편(예컨대, 아달리무맙 또는 인플릭시맙)뿐만 아니라 가용성 TNF 수용체(예컨대, 에타네르셉트)를 포함한다.
- [0019] 본 설명에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체" 및 "항체들"은 특정 분야에 특수한 용어로 본 설명에서 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 항원과 특이적으로 결합하는 항원 결합 자리가 있는 문자를 지칭한다.
- [0020] 용어 "항체"는 면역글로불린 분자의 가변 영역 내의 적어도 하나의 항원 인식 자리를 통해, 단백질, 폴리펩티드, 웨პ티드, 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 또는 전술한 것의 조합 같은 표적을 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 의미한다. 본 설명에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 온전한 다클론 항체, 온전한 단클론 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 항체를 포함하는 융합 단백질 및 항체들이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 임의의 기타 개질된 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 지칭되는 그의 중쇄 불변 도메인의 동일성을 기초로 하여, 임의의 다섯 가지 주요 클래스의 면역글로불린 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 또는 그것의 서브클래스(이소형)(예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)일 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린은 상이하고 잘 알려져 있는 서브유닛 구조 및 3차원 배치를 갖는다. 항체는 일반 항체(네이키드(naked))일 수 있거나 기타 문자, 예컨대 독소, 방사능 동위원소 등에 접합될 수 있다.
- [0021] 용어 "항체 단편"은 온전한 항체의 일부분을 지칭한다. "항원 결합 단편"은 항원에 결합하는, 온전한 항체의 일부분을 지칭한다. 항원 결합 단편은 온전한 항체의 항원성 결정 가변 영역을 함유할 수 있다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv 단편, 선형 항체 및 단쇄 항체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. "항원 결합 단편"은 이중특이적 또는 다중특이적 항원 결합 단편일 수 있다.
- [0022] "차단" 항체 또는 "길항체" 항체는 그것이 결합하는 항원, 예컨대 TNF-알파의 생물학적 활성을 억제하거나 감소시키는 항체이다. 일부 구현예에서, 차단 항체 또는 길항체 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 억제한다. 생물학적 활성은 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 심지어 100% 감소될 수 있다.
- [0023] 용어 "항-TNF-알파 항체" 또는 "TNF-알파에 결합하는 항체"는 TNF-알파와 충분한 친화도로 결합할 수 있어서 TNF-알파를 표적으로 하는 진단제 및/또는 치료제로서 유용한 항체를 지칭한다. 관련 없는, 비-TNF-알파 단백질에 대한 항 TNF-알파 항체의 결합 정도는, 예를 들면, 방사면역검정(RIA)에 의해 측정된 TNF-알파에 대한 항체 결합의 약 10% 미만일 수 있다. 일부 구현예에서, TNF-알파에 결합하는 항체는  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $\leq 100 \text{nM}$ ,  $\leq 10 \text{nM}$ ,  $\leq 1 \text{nM}$ , 또는  $\leq 0.1 \text{nM}$ 의 해리 상수(Kd)를 갖는다.
- [0024] "단클론" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 단일한 항원 결정기, 또는 에피토프의 고도의 특이적인 인지 및 결합에 관련된 동종의 항체 또는 항원 결합 단편 집단을 지칭한다. 이것은 상이한 항원 결정기에 대한 상이한 항체들을 전형적으로 포함하는 다클론 항체와 대조된다. 용어 "단클론" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 온전한 단클론 항체 및 전체 길이의 단클론 항체 둘 모두를 포함할 뿐만 아니라, 항체 단편(예컨대 Fab, Fab', F(ab')2, Fv), 단쇄(scFv) 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 자리를 포함하는 임의의 기타 변형된 면역글로불린 문자를 포함한다. 또한, "단클론" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은

하이브리도마, 파지 선택, 재조합 발현 및 유전자 이식 동물을 포함하나 이에 한정되지 않는 임의의 수의 방식으로 제조된 이러한 항체 및 이의 항원 결합 단편을 지칭한다.

[0025] 용어 "인간화된" 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 최소 비-인간(예를 들어, 젖과) 서열을 함유하는 특이적 면역글로불린 사슬, 키메라 면역글로불린, 또는 이의 단편인, 비-인간(예를 들어, 젖과) 항체 또는 항원-결합 단편의 형태를 지칭한다. 전형적으로, 인간화 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도, 및 능력을 갖는 비-인간 종(예를 들어, 마우스, 랙트, 토끼, 햄스터)의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 ("CDR 그래프트된") 인간 면역글로불린이다(Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., *Science* 239:1534-1536 (1988)). 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 원하는 특이성, 친화도, 및 능력을 갖는 비-인간 종으로부터의 항체 또는 단편 내의 상응하는 잔기로 대체된다. 인간화 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항체 또는 이의 항원 결합 단편 특이성, 친화도, 및/또는 능력을 개선하고 최적화하기 위해 Fv 프레임워크 영역 내 및/또는 대체된 비-인간 잔기 내의 부가적인 잔기의 치환에 의해 추가로 변형될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비 인간 면역글로불린에 상응하는 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역을 함유하는 적어도 하나의, 및 전형적으로 2개 또는 3개의 가변 도메인 중 실질적으로 전부를 포함할 것이나, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 공통 서열의 것이다. 인간화 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 또한 전형적으로 인간 면역글로불린의 것인, 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc)의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 인간화 항체를 생성하는데 사용되는 방법의 예는 미국 특히 5,225,539; Roguska et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, 91(3):969-973 (1994), 및 Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996)에 기술되어 있다. 일부 구현예에서, "인간화 항체"는 재표면화된 항체이다.

[0026] 항체의 "가변 영역"은 단독으로 또는 조합으로, 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 지칭한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 각각은 과가변 영역으로도 알려져 있는 3개의 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역(FR)으로 이루어진다. 각 쇄 중의 CDR은 FR에 의해 아주 인접하여 함께 유지되고, 다른 쇄로부터의 CDR과 함께, 항체의 항원 결합 자리의 형성에 기여한다. CDR을 결정하는 적어도 두 가지의 기술이 있다: (1) 교차종 서열 가변성에 기반한 접근법(즉, Kabat et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda Md.)); 및 (2) 항원-항체 복합체의 결정학 연구에 기반한 접근법(Al-lazikani et al (1997) *J. Molec. Biol.* 273:927-948)). 또한, 이들 두 가지 접근법의 조합이 종종 CDR을 결정하기 위해 당해 분야에서 사용된다.

[0027] 카밧(Kabat) 넘버링 시스템은 가변 도메인 중의 잔기(대략 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)를 지칭할 때 일반적으로 사용된다(예를 들어, Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). 명백하게 달리 지시되지 않는 한, 본 설명에서 사용되는 넘버링 시스템은 카밧 넘버링 시스템이다.

[0028] 카밧에서의 아미노산 위치 넘버링은 문헌[Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]에서 항체 모음의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 사용되는 넘버링 시스템을 지칭한다. 이 넘버링 시스템을 사용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축, 또는 그 안으로의 삽입에 상응하는 더 적은 수의 아미노산 또는 추가적인 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 다음에 단일 아미노산 삽입물(카밧에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 다음에 삽입된 잔기(예를 들어, 카밧에 따른 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 카밧 넘버링은 주어진 항체에 대해, 항체 서열의 상동성 영역에서 "표준적인" 카밧 넘버링된 서열과 정렬하여 결정할 수 있다. 대신, 초티아(Chothia)는 구조적인 루프의 위치를 지칭한다(Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). 카밧 넘버링 방식을 이용하여 넘버링할 때 초티아 CDR-H1 루프의 말단은 루프의 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 달라진다(이는 카밧 넘버링 체계가 H35A 및 H35B에 삽입을 배치하기 때문이다; 35A와 35B 둘 다 존재하지 않는 경우, 루프는 32에서 끝난다; 35A만 존재할 경우, 루프는 33에서 끝난다; 35A 및 35B 둘 다 존재할 경우, 루프는 34에서 끝난다). AbM 과가변 영역은 카밧 CDR과 초티아 구조적 루프 사이의 절충점을 제시하며, 옥스포드 몰레큘러(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다.

루프	카밧	AbM	초티아
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34 <u>(카밧 넘버링)</u>
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32 <u>(초티아 넘버링)</u>
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

[0029]

[0030]

특정 양태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR은 초티아 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있는데, 초티아 넘버링 양식은 면역글로불린 구조 루프의 위치를 지칭한다(예컨대, Chothia C & Lesk AM, (1987) J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B *et al.*, (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C *et al.*, (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A *et al.*, (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82; 및 미국 특허번호 7,709,226 참조). 전형적으로, 카밧 넘버링 방식을 이용할 때, 초티아 CDR-H1 루프는 중쇄 아미노산 26 내지 32, 33, 또는 34에 존재하고, 초티아 CDR-H2 루프는 중쇄 아미노산 52 내지 56에 존재하며, 초티아 CDR-H3 루프는 중쇄 아미노산 95 내지 102에 존재하는 한편, 초티아 CDR-L1 루프는 경쇄 아미노산 24 내지 34에 존재하고, 초티아 CDR-L2 루프는 경쇄 아미노산 50 내지 56에 존재하며, 초티아 CDR-L3 루프는 경쇄 아미노산 89 내지 97에 존재한다. 카밧 넘버링 방식을 이용하여 넘버링할 때 초티아 CDR-H1 루프의 말단은 루프의 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 달라진다(이는 카밧 넘버링 체계가 H35A 및 H35B에 삽입을 배치하기 때문이다; 35A와 35B 둘 다 존재하지 않는 경우, 루프는 32에서 끝난다; 35A만 존재할 경우, 루프는 33에서 끝난다; 35A 및 35B 둘 다 존재할 경우, 루프는 34에서 끝난다).

[0031]

특정 양태에서, 항체 또는 항원 결합 단편의 CDR은 문헌[Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136] 및 문헌[Lefranc M-P *et al.*, (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212]에 기술된 바와 같은 IMGT 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. IMGT 넘버링 체계에 따르면, VH-CDR1은 위치 26 내지 35에 있고, VH-CDR2는 위치 51 내지 57에 있으며, VH-CDR3은 93 내지 102에 있고, VL-CDR1은 위치 27 내지 32에 있으며, VL-CDR2는 위치 50 내지 52에 있고, VL-CDR3은 위치 89 내지 97에 있다.

[0032]

특정 양태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR은 문헌[MacCallum RM *et al.*, (1996) J Mol Biol 262: 732-745]에 따라 결정될 수 있다. 또한, 예컨대, 문헌[Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann and DÜbel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)] 참조.

[0033]

특정 양태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR은 AbM 넘버링 양식에 따라 결정될 수 있는데, AbM 넘버링 양식은 카밧 CDR과 초티아 구조 루프 사이의 절충점을 나타내는 AbM 과가변 영역을 지칭하고, 옥스포드 몰레큘러의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(Oxford Molecular Group, Inc.)에 의해 사용된다.

[0034]

용어 "인간" 항체는 인간에 의해 생산된 항체 또는 당해 분야에 공지된 임의의 기술을 이용하여 제조된 인간에 의해 생산된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 의미한다. 인간 항체의 이 정의는 온전한 또는 전체 길이의 항체, 이의 단편, 및/또는 예를 들어, 젖과의 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩ти드를 포함하는 항체와 같은 적어도 하나의 인간 중쇄 및/또는 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체를 포함한다.

[0035]

용어 "키메라" 항체는 면역글로불린 분자의 아미노산 서열이 둘 이상의 종으로부터 유래되는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 포유류(예를 들어, 마우스, 랙트, 토끼 등) 중 한 종으로부터 유래된 항체의 가변 영역에 상응하지만, 불변 영역은 또 다른 종(통상적으로 인간)으로부터 유래된 항체 중의 서열에 상동성이어서 그 종에서 면역 반응을 유발하는 것을 회피한다.

[0036]

용어 "에피토프" 또는 "항원 결정기"는 본 설명에서 상호 교환적으로 사용되며, 특정한 항체에 의해 인식되고

특이적으로 결합될 수 있는 항원의 그 부분을 지칭한다. 항원이 폴리펩티드인 경우, 에피토프는 인접 아미노산 및 단백질의 3차 접힘에 의해 병치된 비인접 아미노산 둘 모두로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 단백질 변성 시 통상적으로 보존되지만, 3차 접힘에 의해 형성된 에피토프는 단백질 변성 시 통상적으로 손실된다. 에피토프는, 독특한 공간 입체형태 내에 통상적으로 적어도 3개, 또한 더욱 일반적으로는 적어도 5개 또는 8개 내지 10개의 아미노산을 포함한다.

[0037] "결합 친화도"는 일반적으로 분자의 단일 결합 자리(예를 들면, 항체) 및 그의 결합 파트너(예를 들면, 항원) 사이의 비공유 상호 작용의 총 합의 강도를 지칭한다. 달리 지시되지 않는 한, 본 설명에서 사용되는 "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원(예를 들면, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호 작용을 반영하는 고유한 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그것의 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(Kd)로 표시할 수 있다. 친화도는 본 설명에 기술된 방법을 비롯한, 당해 분야에 공지된 일반적인 방법에 의해 측정할 수 있다. 낮은 친화도의 항체는 일반적으로 항원과 서서히 결합하고 쉽게 해리되는 경향이 있는 반면, 높은 친화도의 항체는 일반적으로 항원과 더 빠르게 결합하고 오랫동안 결합된 채로 유지되는 경향이 있다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당해 분야에 공지되어 있는데, 이 중 임의의 방법이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 구체적인 예시를 위한 구현예가 이하에 기술된다.

[0038] "또는 더 우수한"이 본 설명에서 결합 친화도를 지칭하기 위하여 사용될 때, 분자 및 그의 결합 파트너 사이의 더 강한 결합을 지칭한다. "또는 더 우수한"이 본 설명에서 사용될 때, 더 작은 수치의 Kd 값으로 표시되는 더 강한 결합을 지칭한다. 예를 들면, 항원에 대하여 "0.6 nM 또는 더 우수한" 친화도를 갖는 항체는, 항원에 대한 항체의 친화도가 < 0.6 nM, 즉 0.59 nM, 0.58 nM, 0.57 nM 등 또는 0.6 nM 미만인 임의의 값이다.

[0039] "특이적으로 결합한다"는 것은 일반적으로 항체가 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합한다는 것 및 이 결합이 항원 결합 도메인 및 에피토프 사이에서 어느 정도의 상보성을 수반한다는 것을 의미한다. 이 정의에 따르면, 항체는 그것이 무작위의 관련 없는 에피토프에 결합하기보다 항체의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 더욱 용이하게 결합할 때, 에피토프에 "특이적으로 결합한다"고 한다. 용어 "특이성"은 특정 항체가 특정 에피토프에 결합하는 상대적인 친화도를 정량화하기 위하여 본 설명에서 사용된다. 예를 들어, 항체 "A"는 항체 "B"보다 주어진 에피토프에 대해 더 높은 특이성을 가지고 있는 것으로 여겨질 수 있거나, 또는 항체 "A"는 관련 에피토프 "D"에 대한 것보다 에피토프 "C"에 대해 더 높은 특이성을 가지고 결합한다고 할 수 있다.

[0040] "우선적으로 결합한다"는 것은 항체가 관련된, 비슷한, 동종, 또는 유사 에피토프에 결합하는 것보다 더 쉽게 하나의 에피토프에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 따라서, 주어진 에피토프에 "우선적으로 결합하는" 항체는, 그러한 항체가 관련 에피토프와 교차-작용할 수 있더라도, 관련 에피토프보다 주어진 에피토프에 결합할 가능성이 더 높다.

[0041] 항체가 주어진 에피토프에 우선적으로 결합하거나 에피토프에 대한 기준 항체의 결합을 항체가 어느 정도 차단하는 정도까지 중복되는 에피토프에 우선적으로 결합할 경우, 주어진 에피토프에 대한 기준 항체의 결합을 항체가 "경쟁적으로 억제한다"고 한다. 경쟁적 억제는 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어, 경쟁 ELISA 분석법에 의해 결정될 수 있다. 항체는 주어진 에피토프에 대해 기준 항체의 결합을 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 또는 적어도 50% 경쟁적으로 억제한다고 할 수 있다.

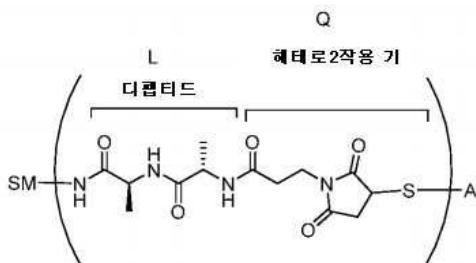
[0042] 본 설명에서 사용되는 어구 "실질적으로 유사한" 또는 "실질적으로 동일한"은 2개의 수치(일반적으로 하나는 본 발명의 항체와 관련된 수치이고 다른 하나는 기준/비교용 항체와 관련된 수치임) 사이의 충분히 높은 유사도를 의미하며, 따라서 당업자는 상기 값(예를 들면, Kd 값)으로 측정된 생물학적 특징의 맥락에서 두 값의 차이는 생물학적 및/또는 통계적 유의성이 거의 없거나 전혀 없다고 생각한다. 상기 두 값의 차이는 기준/비교용 항체에 대한 값의 함수로서 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 또는 약 10% 미만일 수 있다.

[0043] "단리된" 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물은 자연에서 발견되지 않는 형태의 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물이다. 단리된 폴리펩티드, 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포 또는 조성물은 그것들이 더 이상 자연에서 발견되는 형태가 아닌 정도까지 정제된 것들을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체, 폴리뉴클레오티드, 벡터, 세포, 또는 조성물은 실질적으로 순수하다.

[0044] 본 설명에서 사용된 바와 같이, "실질적으로 순수한"은 적어도 50% 순수한(즉, 오염물질이 없는), 적어도 90% 순수한, 적어도 95% 순수한, 적어도 98% 순수한, 또는 적어도 99% 순수한 물질을 지칭한다.

[0045] 본 설명에서 사용된 바와 같이, 용어 "면역접합체", "접합체", "항체-약물 접합체", 또는 "ADC"는 세포 결합체

(예컨대, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 단편)와 같은 단백질에 연결되고 일반식  $(SM-L-Q)_n-A$ 로 정의되는 화합물 또는 이의 유도체를 지칭하는데, 식에서 SM = 소분자 글루코코르티코이드 수용체 작용제, 예컨대, 글루코코르티코스테로이드로부터 유래된 라디칼, L = 헤테로2작용 기, 헤테로3작용 기, 또는 부존재, A = 단백질(예컨대, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-TNF 단백질, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 단편, 가용성 수용체, 또는 가용성 TNF 수용체), n = 1 내지 10이다. 면역접합체는 역순의 일반식  $A-(Q-L-SM)_n$ 으로도 정의될 수 있다. 예로서, 다음의 일반식은 디펩티드(Ala-Ala) 링커 및 석신이미드 티오에테르 기반의 헤테로2작용 기를 갖는 면역접합체를 보여준다:



[0046]

[0047] 본 발명에서, 용어 "링커"는 단백질, 예컨대, 항체, 항체 단편(예컨대, 항원 결합 단편) 또는 글루코코르티코스테로이드에 대한 기능적인 등가물을 연결할 수 있는 임의의 화학적 모이어티를 지칭한다. 링커는 절단에 취약할 수 있어("절단 가능한 링커"), 글루코코르티코스테로이드의 방출을 용이하게 한다. 예를 들어, 이러한 절단 가능한 링커는 글루코코르티코스테로이드 및/또는 항체가 활성인 채로 유지되는 조건에서 산 유도성 절단, 광 유도성 절단, 펩티다아제 유도성 절단, 에스테라제 유도성 절단 및 이황화 결합 절단에 취약할 수 있다. 그렇지 않으면, 링커는 절단에 실질적으로 저항적일 수 있다("절단 불가능한 링커").

[0048]

[0048] 본 발명에서는, 절단 불가능한 링커는 글루코코르티코스테로이드를 항체에 안정적이고 공유적인 방식으로 연결 할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이며, 절단 가능한 링커에 대해 위에서 열거된 카테고리에 속하지 않는다. 따라서, 절단 불가능한 링커는 산 유도성 절단, 광 유도성 절단, 펩티다아제 유도성 절단, 에스테라제 유도성 절단 및 이황화 결합 절단에 실질적으로 강하다. 나아가, '절단 불가능한'은 글루코코르티코이드 및/또는 항체가 그것의 활성을 상실하지 않는 조건에서, 산, 빛에 불안정한 절단제, 펩티다아제, 에스테라제, 또는 이황화 결합을 절단하는 화학적 또는 생리적 화합물에 의해 유도된 절단에 대해 저항하는 링커 내의 화학적 결합 또는 링커에 인접한 화학적 결합의 능력을 지칭한다.

[0049]

[0049] 일부 절단 가능한 링커는 펩티다아제에 의해 절단된다("펩티다아제 절단 가능 링커"). 특정 펩티다아제만이 세포 내부 또는 외부에서 용이하게 절단된다. 예컨대, 문헌[Trout et al., 79 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 626-629 (1982)] 및 문헌[Umemoto et al. 43 Int. J. Cancer, 677-684 (1989)] 참조. 나아가, 펩티다아제는  $\alpha$ -아미노산 단위 및 펩티드 결합으로 구성되는데, 펩티드 결합은 화학적으로 하나의 아미노산의 카르복시산염과 제2 아미노산의 아미노 기 사이의 아미드 결합이다. 카르복시산염과 리신의  $\alpha$ -아미노산 기 사이의 결합과 같은, 다른 아미드 결합은 펩티드 결합으로 판단되지 않고, 절단 불가능하다고 생각된다.

[0050]

[0050] 일부 링커는 에스테라제에 의해 절단된다("에스테라제 절단 가능 링커"). 특정 에스테르만이 세포 내부 또는 외부에 존재하는 에스테라제에 의해 절단될 수 있다. 에스테르는 카르복시산 및 알코올의 축합에 의해 형성된다. 단순 에스테르는 지방족 알코올과 같은 단순 알코올, 그리고 작은 고리형 및 작은 방향족 알코올로 생성된 에스테르이다.

[0051]

[0051] 일부 구현예에서, 절단 가능한 링커 구성요소는 1개 내지 10개의 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드를 포함할 수 있다. 이들 구현예에서, 이 펩티드는 프로테아제에 의한 링커의 절단을 허용하여, 리소좀 효소와 같은 세포 내 프로테아제에 노출 시, 글루코코르티코스테로이드의 방출을 용이하게 한다(Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784). 예시적인 펩티드는 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 및 펜타펩티드를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예시적인 디펩티드는 알라닌-알라닌(ala-ala), 발린-시트룰린(vc 또는 val-cit), 알라닌-페닐알라닌(af 또는 ala-phe); 페닐알라닌-리신(fk 또는 phe-lys); 페닐알라닌-호모리신(phe-homolys); 및 N-메틸-발린-시트룰린(Me-val-cit)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 예시적인 트리펩티드는 글리신-발린-시트룰린(gly-val-cit) 및 글리신-글리신-글리신(gly-gly-gly)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

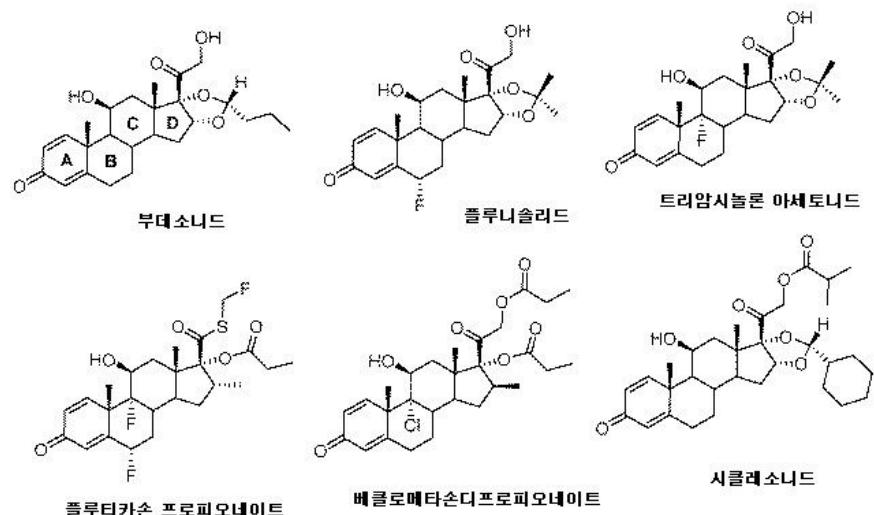
[0052]

[0052] 펩티드는 자연 발생적인 아미노산 잔기 및/또는 비자연 발생적인 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 용어 "자연 발생적인 아미노산"은 Ala, Asp, Cys, Glu, Phe, Gly, His, He, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gin, Arg, Ser,

Thr, Val, Trp 및 Tyr을 지칭한다. "비자연적 아미노산"(즉, 아미노산이 자연적으로 발생하지 않는다)은 비 제한적인 예로, 호모세린, 호모아르기닌, 시트룰린, 페닐글리신, 타우린, 요오드티로신, 셀레노-시스테인, 노르류신("Nle"), 노르발린("Nva"), 베타-알라닌, L- 또는 D-나프탈라닌, 오르니틴("Orn") 등을 포함한다. 펩티드는 특정 효소, 예를 들어, 종양 관련 프로테아제, 카텝신 B, C 및 D, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소적 절단을 위해 설계되고 최적화될 수 있다.

[0053] 아미노산은 또한, 자연 아미노산 및 비자연 아미노산의 D-형태를 포함한다. "D-"는 자연 발생적인 ("L-") 아미노산에서의 배치와는 반대되는, "D"(우선성) 배치를 갖는 아미노산을 가리킨다. 자연 아미노산 및 비자연 아미노산은 상업적으로 구입할 수 있거나(시그마 케미컬 주식회사(Sigma Chemical Co.), 어드밴스드 캠테크(Advanced Chemtech)) 당해 분야에 공지된 방법을 이용하여 합성될 수 있다.

[0054] 본 발명에서, 용어 "글루코코르티코스테로이드"는 글루코코르티코이드 수용체와 상호 작용하는 자연 발생적인 스테로이드 호르몬 또는 합성 스테로이드 호르몬을 지칭한다. 비 제한적 예시적 글루코코르티코스테로이드는 다음을 포함한다:



[0055]

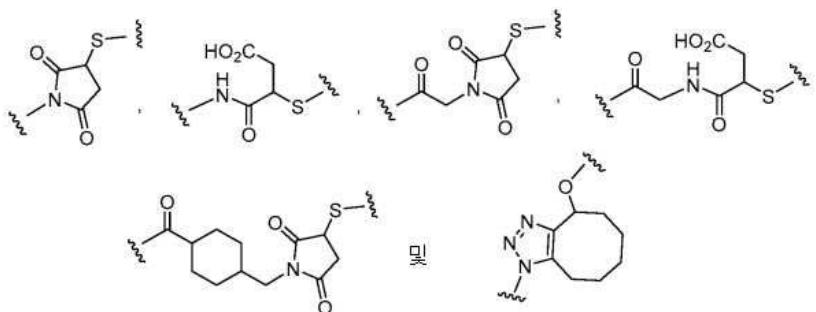
예로서, 스테로이드 골격의 A-고리, B-고리, C-고리 및 D-고리는 부데소니드로 표시되어 있다. 글루코코르티코스테로이드는 WO 2009/069032에 기술되어 있다.

[0056]

"글루코코르티코스테로이드의 라디칼"은 모(parent) 글루코코르티코스테로이드로부터의 1개 이상의 수소 원자 제거로부터 유래된다. 수소 원자(들)의 제거는 모 글루코코르티코스테로이드의 링커에 대한 부착을 용이하게 한다. 일 구현예에서, 수소 원자는 모 글루코코르티코스테로이드의 임의의 적합한 -NH<sub>2</sub> 기로부터 제거된다. 또 다른 구현예에서, 수소 원자는 모 글루코코르티코스테로이드의 임의의 적합한 -OH 기로부터 제거된다. 또 다른 구현예에서, 수소 원자는 모 글루코코르티코스테로이드의 임의의 적합한 -SH 기로부터 제거된다. 또 다른 구현예에서, 수소 원자는 모 글루코코르티코스테로이드의 임의의 적합한 -N(H)- 기로부터 제거된다. 또 다른 구현예에서, 수소 원자는 모 글루코코르티코스테로이드의 임의의 적합한 -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>- 또는 -CH=로부터 제거된다. 일 구현예에서, "글루코코르티코스테로이드의 라디칼"은 모 글루코코르티코스테로이드로부터 1개의 수소 원자의 제거로부터 유래된 1가 라디칼이다.

[0057]

본 발명에서, 용어 "헤테로2작용 기" 또는 용어 "헤테로3작용 기"는 링커와 단백질, 예컨대, 항체를 연결하는 화학적 모이어티를 지칭한다. 헤테로2작용 기와 헤�테로3작용 기는 화학적 모이어티의 어느 한 말단에 상이한 반응 기를 갖는 것을 특징으로 한다. 비 제한적 예시적 헤�테로2작용 기는

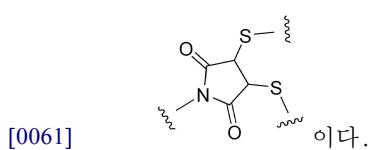


[0059]

를 포함한다.

[0060]

비 제한적 예시적 혜택로3작용 기능



[0061]

이다.

[0062]

용어 "약물 항체 비율" 또는 "DAR"은 A(즉, 단백질, 예컨대, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항-TNF 단백질, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 단편, 가용성 수용체, 또는 가용성 TNF 수용체)에 연결된 SM(즉, 소분자 글루코코르티코이드 수용체 작용제, 예컨대, 글루코코르티코스테로이드로부터 유래된 라디칼)의 수를 지칭한다. 따라서, 일반식  $(SM-L-Q)_n-A$ 를 갖는 면역접합체에서, DAR은 변수 "n"에 의해 정의된다.

[0063]

각각의 면역접합체를 나타내는 화학식  $(SM-L-Q)_n-A$ 를 갖는 화합물을 지칭할 때, DAR은 각각의 A에 연결된 SM의 수를 지칭한다(예컨대, n은 1 내지 10의 정수이다).

[0064]

복수의 면역접합체를 나타내는 화학식  $(SM-L-Q)_n-A$ 를 갖는 화합물을 지칭할 때, DAR은 A에 연결된 SM의 평균 개수를 지칭한다(예컨대, n은 1 내지 10의 정수 또는 분수이다). 따라서, 예로서, A당 3 SM의 제1 면역접합체 및 A당 4 SM의 제2 면역접합체를 포함하는 화학식  $(SM-L-Q)_n-A$ 를 갖는 화합물은 3.5의 DAR(즉, "n")을 가질 것이다.

[0065]

용어 "대상체"는 특정한 치료의 수용자가 되는, 인간, 비인간 영장류, 설치류 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는 임의의 동물(예를 들면, 포유동물)을 지칭한다. 전형적으로, 용어 "대상체"와 "환자"는 인간 대상체와 관련하여 본 설명에서 상호 교환적으로 사용된다.

[0066]

용어 "약학적 제형"은 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이게 하는 형태로 존재하고 제형이 투여되는 대상체에게 허용할 수 없을 정도로 독성을 나타내는 부가적인 구성성분을 함유하지 않는 제제를 지칭한다. 이 제형은 멸균될 수 있다.

[0067]

본 설명에 개시된 바와 같은 면역접합체 또는 글루코코르티코이드 수용체 작용제의 "유효량"은 구체적으로 언급된 목적을 수행하기에 충분한 양이다. "유효량"은 언급된 목적과 관련하여 결정될 수 있다.

[0068]

용어 "치료적 유효량"은 대상체 또는 포유동물에서 질병 또는 장애를 "치료"하는 데 효과적인 면역접합체 또는 글루코코르티코이드 수용체 작용제의 양을 지칭한다. "예방적 유효량"은 원하는 예방적 결과를 달성하는 데 효과적인 양을 지칭한다.

[0069]

"치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하다" 또는 "경감하는" 또는 "경감하다"와 같은 용어는 진단된 병리학적 상태 또는 장애의 증상을 치유, 둔화, 감소시키고/감소시키거나, 진행을 중단시키는 치료적 조치를 지칭한다. 따라서, 치료를 필요로 하는 이는 장애를 앓고 있다고 이미 진단되었거나 장애를 앓고 있다고 의심되는 이를 포함한다. 예방적 조치는 목표가 된 병리학적 상태 또는 장애를 예방하고/예방하거나 발달을 늦추는 조치를 지칭한다. 따라서, 예방적 조치를 필요로 하는 이는 장애를 갖기 쉬운 이 및 장애가 예방되어야 하는 이를 포함한다.

[0070]

본 설명에서 상호 교환적으로 사용되는 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 이러한 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변경된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 이의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 중합체 내로 포함될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 메틸화된 뉴클레오티드 및 이의 유사체와 같은, 변경된 뉴

클레오티드를 포함할 수 있다. 뉴클레오티드 구조에 대한 변경은, 존재할 경우, 중합체의 조립 전 또는 후에 주어질 수 있다. 뉴클레오티드의 서열은 비 뉴클레오티드 구성요소에 의해 중단될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 표지화 구성요소와의 접합에 의해서와 같이, 중합반응 후에 더 변경될 수 있다. 다른 유형의 변경은, 예를 들어 "캡(cap)", 하나 이상의 자연 발생적인 뉴클레오티드의 유사체로의 치환, 뉴클레오티드 간 변경, 예컨대 하전되지 않은 연결을 갖는 것(예를 들어 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 연결을 갖는 것(예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등), 웬던트 모이어티, 예를 들어 단백질(예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 웹티드, 폴리-L-리신 등)을 함유하는 것, 인터칼레이터(intercalator)(예를 들어, 아크리딘, 프소랄렌 등)가 있는 것, 퀼레이터(예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화성 금속 등)를 함유하는 것, 알킬레이터를 함유하는 것, 변경된 연결이 있는 것(예를 들어, 알파 아노머 핵산 등)뿐만 아니라, 변경되지 않은 형태의 폴리뉴클레오티드(들)을 포함한다. 또한, 당에 통상적으로 존재하는 임의의 하이드록실 기가 예를 들어, 포스포네이트 기, 포스페이트 기로 대체되거나, 표준적인 보호 기로 보호되거나, 추가적인 뉴클레오티드에 대한 추가적인 연결부가 제조되도록 활성화되거나, 또는 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 인산화되거나 또는 아민 또는, 1개 내지 20개 탄소 원자의 유기 캡핑 기 모이어티로 치환될 수 있다. 다른 하이드록실이 표준적인 보호 기로 유도체화될 수도 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한, 예를 들어 2'-메틸-, 2'-알릴-, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카르보시클릭 당 유사체, 알파-아노머 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노스, 자일로스 또는 럭소스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헵톨로스, 무고리 유사체 및 비염기성 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 메틸 리보시드를 비롯한, 당해 분야에 일반적으로 공지된, 유사한 형태의 리보스 또는 테옥시리보스 당을 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포디에스테르 연결부가 대안적인 연결 기로 대체될 수 있다. 이러한 대안적인 연결 기는, 포스페이트가 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("디티오에이트"), "(O)NR<sub>2</sub>("아미레이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH<sub>2</sub>("포름아세탈") (여기서, 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H이거나, 또는 에테르(-O-) 연결부를 선택적으로 함유하는 치환 또는 비치환된 알킬(1-20 C), 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아르알딜임)로 대체된 구현예를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 폴리뉴클레오티드 내의 모든 연결부가 동일할 필요는 없다. 전술한 설명은 RNA 및 DNA를 비롯한, 본 설명에서 언급되는 모든 폴리뉴클레오티드에 적용된다.

[0071]

용어 "벡터"는 숙주 세포에서 하나 이상의 관심있는 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달할 수 있고, 선택적으로는 발현할 수 있는 구성체를 의미한다. 벡터의 예로는 바이러스 벡터, 네이키드(naked) DNA 또는 RNA 발현 벡터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 벡터, 양이온성 축합제와 관련된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 리포좀에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 벡터, 및 생산자 세포와 같은 특정 진핵 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0072]

용어 "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은, 임의의 길이의 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하도록 본 설명에서 상호 교환가능하게 사용된다. 중합체는 선형 또는 가지형일 수 있고, 변경된 아미노산을 포함할 수 있으며, 비 아미노산에 의해 중단될 수 있다. 이 용어는 또한, 자연적으로 또는 개입(예를 들어, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세티화, 인산화, 또는 표지화 구성요소와의 접합과 같은 임의의 기타 조작 또는 변경)에 의해 변경된 아미노산 중합체를 포괄한다. 또한, 예를 들어, (예를 들어, 비자연적 아미노산 등을 포함하는) 아미노산의 하나 이상의 유사체를 함유하는 폴리펩티드뿐만 아니라, 당해 분야에 공지된 기타 변경도 이 정의에 포함된다. 본 발명의 폴리펩티드는 항체를 기반으로 하므로, 특정 구현예에서, 이 폴리펩티드는 단쇄 또는 회합된 채로서 발생할 수 있음이 이해된다.

[0073]

둘 이상의 핵산 또는 폴리펩티드의 맥락에서 용어 "동일한" 또는 퍼센트 "동일성"은 서열 동일성의 일부분으로서 임의의 보존적인 아미노산 치환을 고려하지 않고 비교 및 최대한의 상응성을 위해 (필요한 경우 캡을 도입하여) 정렬시킬 때, 동일하거나 소정의 백분율의 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 갖는 둘 이상의 서열 또는 하위 서열을 지칭한다. 퍼센트 동일성은 서열 비교 소프트웨어 또는 알고리즘을 이용하여 또는 육안 검사에 의해 측정될 수 있다. 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열의 정렬을 얻는 데 사용할 수 있는 다양한 알고리즘 및 소프트웨어가 당해 분야에 공지되어 있다. 서열 정렬 알고리즘의 한 가지 이러한 비제한적인 예는 문헌 [Karlin et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:5873-5877 (1993)]에서 변경되고 NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (Altschul et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:3389-3402 (1991))에 도입된 바와 같이, 문헌[Karlin et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:2264-2268 (1990)]에 기술된 알고리즘이다. 특정 구현예에서, 캡 블라스트(Gapped BLAST)가 문헌[Altschul et al., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402 (1997)]에 기술된 바와 같이 이용될 수 있다. BLAST-2, WU-BLAST-2(Altschul et al., *Methods in Enzymology*, 266:460-480 (1996)), ALIGN, ALIGN-2(제넨테크(Genentech), 미국 캘리포니아 주 사우스샌프란시스코 소재) 또는 Megalign(DNASTAR)이 서열 정렬에 사용될 수 있는 추가적인, 공개적으로 이용 가능한 소프트웨어 프로그램이다. 특정 구현예에서, 두 개의 뉴클레오티

드 서열 간의 퍼센트 동일성은 GCG 소프트웨어의 캡(GAP) 프로그램을 이용하여 (예컨대, NWGapDNA.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70, 또는 90의 캡 가중(gap weight)과 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 가중(length weight)을 이용하여) 결정된다. 특정한 대안적인 구현예에서, Needleman과 Wunsch의 알고리즘(*J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970))을 도입하는 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램은 (예컨대, Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 중 어느 하나와 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 캡 가중 및 1, 2, 3, 4, 5의 길이 가중을 이용하여) 두 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성을 결정하는 데 이용될 수 있다. 대안적으로, 특정 구현예에서, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열들 사이의 퍼센트 동일성은 Myers와 Miller의 알고리즘(*CABIOS*, 4:11-17 (1989))을 이용하여 결정된다. 예를 들어, ALIGN 프로그램(버전 2.0)을 이용하여, 그리고 PAM120을 잔기 표, 12의 캡 길이 패널티 및 4의 캡 패널티와 함께 이용하여 퍼센트 동일성을 결정할 수 있다. 특정 정렬 소프트웨어에 의한 최대 정렬을 위한 적절한 파라미터는 당업자에 의해 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 정렬 소프트웨어의 디폴트 파라미터가 이용된다. 특정 구현예에서, 제2 서열 아미노산에 대한 제1 아미노산 서열의 백분율 동일성 "X"는  $100 \times (Y/Z)$ 로서 계산되는데, 여기서 Y는 (육안 검사 또는 특정 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬된) 제1 및 제2 서열의 정렬에서 동일한 매치로 기록된 아미노산 잔기의 수이고, Z는 제2 서열의 잔기의 총 수이다. 제1 서열의 길이가 제2 서열보다 긴 경우, 제2 서열에 대한 제1 서열의 퍼센트 동일성은 제1 서열에 대한 제2 서열의 퍼센트 동일성보다 길 것이다.

[0074] 비제한적인 예로서, 임의의 특정 폴리뉴클레오티드가 기준 서열에 대해 일정한 백분율의 서열 동일성을 갖는지 (예컨대, 적어도 80% 동일, 적어도 85% 동일, 적어도 90% 동일한지, 그리고 일부 구현예에서, 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한지) 여부는 특정 구현예에서, 베스트핏(Bestfit) 프로그램(위스콘신 서열 분석 패키지(Wisconsin Sequence Analysis Package), 유닉스용 버전 8, 제네티스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group), 미국 WI 53711, 매디슨 주, 사이언스 드라이브 575, 대학교 연구 공원 소재)을 이용하여 결정될 수 있다. 베스트핏은 두 서열 사이의 최고 상동성 세그먼트를 찾기 위하여 Smith와 Waterman의 국소 상동성 알고리즘(*Advances in Applied Mathematics* 2: 482-489 (1981))을 이용한다. 본 발명에 따라 특정 서열이 기준 서열에 대해 예를 들어, 95% 동일한지를 결정하기 위하여 베스트핏 또는 임의의 기타 서열 정렬 프로그램을 이용할 때, 서열의 백분율이 기준 뉴클레오티드 서열의 전체 길이에 걸쳐 계산되고 기준 서열의 뉴클레오티드 총 수의 최대 5%까지의 상동성 캡이 허용되도록 파라미터가 설정된다.

[0075] 일부 구현예에서, 본 발명의 두 개의 핵산 또는 폴리뉴클레오티드는 실질적으로 동일하며, 이는 서열 비교 알고리즘을 이용하여 또는 육안 검사에 의해 측정되어, 비교 및 최대 상응성을 위해 정렬될 때, 두 개의 핵산 또는 폴리뉴클레오티드가 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 그리고 일부 구현예에서 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기 동일성을 가짐을 의미한다. 동일성은 길이가 적어도 약 10개, 약 20개, 약 40 내지 60개 잔기이거나 서열들 사이의 임의의 적분값인 서열들의 영역에 걸쳐 존재할 수 있고, 60 내지 80개 잔기보다 더 긴 영역, 예를 들어, 적어도 약 90 내지 100개 잔기의 영역에 걸칠 수 있고, 일부 구현예에서, 서열들은 예를 들어, 뉴클레오티드 서열의 암호화 영역과 같은, 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 실질적으로 동일하다.

[0076] "보존적 아미노산 치환"은 하나의 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 또 다른 아미노산 잔기로 교체되는 것이다. 염기성 측쇄(예컨대, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예컨대, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄(예컨대, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예컨대, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄(예컨대, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예컨대, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 포함하는, 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기들의 패밀리가 당해 분야에 정의되어 있다. 예를 들어, 티로신에 대한 페닐알라닌 치환이 보존적 치환이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 폴리펩ти드 및 항체의 서열의 보존적 치환은 이 아미노산 서열을 함유하는 항체의 항원(들), 예컨대, 항체가 결합하는 TNF-알파에 대한 결합을 방해하지 않는다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 보존적 치환의 확인 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다(예컨대, Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al., *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 및 Burks et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 412-417 (1997) 참조).

[0077] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "할로"는 -Cl, -F, -Br, 또는 -I를 지칭한다. 일부 구현예에서, 할로는 -Cl 또는 -F이다.

[0078] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "하이드록시"는 -OH를 지칭한다.

[0079] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "티올" 또는 용어 "설프하이드릴"은 -SH를

지칭한다.

[0080] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "알킬"은 1개 내지 12개 탄소 원자를 함유하는 비치환 직쇄 또는 측쇄 지방족 탄화수소, 즉, C<sub>1-12</sub> 알킬, 또는 지정된 탄소 원자의 수를 함유하는 비치환 직쇄 또는 측쇄 지방족 탄화수소, 예컨대, 메틸과 같은 C<sub>1</sub> 알킬, 에틸과 같은 C<sub>2</sub> 알킬, 프로필 또는 이소프로필과 같은 C<sub>3</sub> 알킬, 메틸, 에틸, 프로필, 또는 이소프로필과 같은 C<sub>1-3</sub> 알킬 등을 지칭한다. 일 구현예에서, 알킬은 C<sub>1-10</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 C<sub>1-4</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 직쇄 C<sub>1-10</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 측쇄 C<sub>3-10</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 직쇄 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 측쇄 C<sub>3-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 직쇄 C<sub>1-4</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 측쇄 C<sub>3-4</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알킬은 직쇄 또는 측쇄 C<sub>3-4</sub> 알킬이다. 비제한적 예시적 C<sub>1-10</sub> 알킬 기는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸, iso-부틸, 3-펜틸, 헥실, 햅틸, 옥틸, 노닐 및 데실을 포함한다. 비제한적 예시적 C<sub>1-4</sub> 알킬 기는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸 및 iso-부틸을 포함한다.

[0081] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 "선택적으로 치환된 알킬"은 니트로, 하이드록시, 시아노, 할로알콕시, 아릴옥시, 알킬티오, 살폰아미도, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 아릴설포닐, 카르복시, 카르복스아미도, 알콕시카르보닐, 티올, -N(H)C(=O)NH<sub>2</sub>, 및 -N(H)C(=NH)NH<sub>2</sub>, 선택적으로 치환된 아릴, 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 치환되지 않거나 치환된 알킬을 지칭한다. 일 구현예에서, 선택적으로 치환된 알킬은 2개의 치환체로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 알킬은 1개의 치환체로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 알킬은 치환되지 않는다. 비제한적 예시적 치환된 알킬 기는 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Ph, -CH<sub>2</sub>(4-OH)Ph, -CH<sub>2</sub>(이미다졸릴), -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COPh 및 -CH<sub>2</sub>OC(=O)CH<sub>3</sub>을 포함한다.

[0082] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "시클로알킬"은 3개 내지 12개 탄소 원자가 있는, 1개 내지 3개 고리를 함유하는, 치환되지 않은 포화 또는 부분적으로 불포화, 예컨대, 1개 또는 2개의 이중 결합을 함유하는, 고리형 지방족 탄화수소, 즉, C<sub>3-12</sub> 시클로알킬, 또는 지정된 탄소 수를 갖는, 치환되지 않은 포화 또는 부분적으로 불포화, 예컨대, 1개 또는 2개의 이중 결합을 함유하는, 고리형 지방족 탄화수소를 지칭한다. 일 구현예에서, 시클로알킬은 두 개의 고리가 있다. 또 다른 구현예에서, 시클로알킬은 한 개의 고리가 있다. 또 다른 구현예에서, 시클로알킬은 포화된다. 또 다른 구현예에서, 시클로알킬은 불포화된다. 또 다른 구현예에서, 시클로알킬은 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬이다. 또 다른 구현예에서, 시클로알킬은 C<sub>3-6</sub> 시클로알킬이다. 용어 "시클로알킬"은 고리 -CH<sub>2</sub>-가 -C(=O)-로 교체된 기를 포함하고자 한다. 비제한적 예시적 시클로알킬 기는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로옥틸, 노르보닐, 데칼린, 아다만틸, 시클로헥세닐, 시클로펜테닐 및 시클로펜타논을 포함한다.

[0083] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "선택적으로 치환된 시클로알킬"은 할로, 니트로, 시아노, 하이드록시, 알킬카르보닐옥시, 시클로알킬카르보닐옥시, 아미노, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 할로알콕시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티오, 카르복스아미도, 살폰아미도, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 아릴설포닐, 카르복시, 카르복시알킬, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로시클로, 알콕시알킬, (아미노)알킬, (카르복스아미도)알킬, (헤테로시클로)알킬 및 -OC(=O)-아미노로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 치환체로 치환되지 않거나 치환된 시클로알킬을 지칭한다. 용어 선택적으로 치환된 시클로알킬은 융합된 선택적으로 치환된 아릴, 예컨대, 폐닐, 또는 융합된 선택적으로 치환된 헤�테로아릴, 예컨대, 피리딜을 갖는 시클로알킬 기를 포함한다. 융합된 선택적으로 치환된 아릴 또는 융합된 선택적으로 치환된 헤�테로아릴 기를 갖는 선택적으로 치환된 시클로알킬은 시클로알킬 고리상의 임의의 이용 가능한 탄소 원자에 있는 분자의 나머지에 부착될 수 있다. 일 구현예에서, 선택적으로 치환된 시클로알킬은 2개의 치환체로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 시클로알킬은 1개의 치환체로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 시클로알킬은 치환되지 않는다.

[0084] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "아릴"은 6개 내지 14개 탄소 원자를 갖는

비치환 단일고리 또는 두고리 방향족 고리 시스템, 즉, C<sub>6-14</sub> 아릴을 지칭한다. 비제한적 예시적 아릴 기는 페닐 ("Ph"로 축약됨), 나프틸, 폐난트릴, 안트라실, 인데닐, 아줄레닐, 비페닐, 비페닐레닐 및 플루오레닐 기를 포함한다. 일 구현예에서, 아릴 기는 페닐 또는 나프틸이다.

[0085] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "선택적으로 치환된 아릴"은 할로, 니트로, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 선택적으로 치환된 알킬, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 할로알콕시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티오, 카르복스아미도, 셀폰아미도, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 할로알킬설포닐 시클로알킬설포닐, (시클로알킬)알킬설포닐, 아릴설포닐, 헤테로아릴설포닐, 헤테로시클로설포닐, 카르복시, 카르복시알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로시클로, 알콕시카르보닐, 알콕시알킬, (아미노)알킬, (카르복스아미도)알킬 및 (헤테로시클로)알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개 내지 5개 치환체로 치환되지 않거나 치환된 아릴을 지칭한다.

[0086] 일 구현예에서, 선택적으로 치환된 아릴은 선택적으로 치환된 페닐이다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 페닐은 4개의 치환체가 있다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 페닐은 3개의 치환체가 있다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 페닐은 2개의 치환체가 있다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 페닐은 1개의 치환체가 있다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 페닐은 치환되지 않는다. 비제한적 예시적 치환된 아릴 기는 2-메틸페닐, 2-메톡시페닐, 2-플루오로페닐, 2-클로로페닐, 2-브로모페닐, 3-메틸페닐, 3-메톡시페닐, 3-플루오로페닐, 3-클로로페닐, 4-메틸페닐, 4-메톡시페닐, 4-플루오로페닐, 4-클로로페닐, 2,6-디-플루오로페닐, 2,6-디-클로로페닐, 2-메틸, 3-메톡시페닐, 2-에틸, 3-메톡시페닐, 3,4-디-메톡시페닐, 3,5-디-플루오로페닐 3,5-디-메틸페닐, 3,5-디메톡시, 4-메틸페닐, 2-플루오로-3-클로로페닐, 3-클로로-4-플루오로페닐, 4-(파리딘-4-일설포닐)페닐을 포함한다. 용어 선택적으로 치환된 아릴은 융합된 선택적으로 치환된 시클로알킬 또는 융합된 선택적으로 치환된 헤테로시클로 기를 갖는 페닐 기를 포함한다. 융합된 선택적으로 치환된 시클로알킬 또는 융합된 선택적으로 치환된 헤테로시클로 기를 갖는 선택적으로 치환된 페닐은 페닐 고리 상의 임의의 이용 가능한 탄소 원자에 있는 분자의 나머지에 부착될 수 있다.

[0087] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "알케닐"은 1개, 2개 또는 3개의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 알킬을 지칭한다. 일 구현예에서, 알케닐은 1개의 탄소-탄소 이중 결합이 있다. 또 다른 구현예에서, 알케닐은 C<sub>2-6</sub> 알케닐이다. 또 다른 구현예에서, 알케닐은 C<sub>2-4</sub> 알케닐이다. 비제한적 예시적 알케닐 기는 에테닐, 프로페닐, 이소프로페닐, 부테닐, sec-부테닐, 펜테닐 및 헥세닐을 포함한다.

[0088] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "선택적으로 치환된 알케닐"은 할로, 니트로, 시아노, 하이드록시, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 할로알콕시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티오, 카르복스아미도, 셀폰아미도, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 카르복시, 카르복시알킬, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 헤테로아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로시클로로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환체로 치환되지 않거나 치환된 알케닐을 지칭한다.

[0089] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "알키닐"은 1개 내지 3개의 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하는 알킬을 지칭한다. 일 구현예에서, 알키닐은 1개의 탄소-탄소 삼중 결합이 있다. 또 다른 구현예에서, 알키닐은 C<sub>2-6</sub> 알키닐이다. 또 다른 구현예에서, 알키닐은 C<sub>2-4</sub> 알키닐이다. 비제한적 예시적 알키닐 기는 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 2-부티닐, 펜ти닐 및 헥시닐 기를 포함한다.

[0090] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "선택적으로 치환된 알키닐"은 할로, 니트로, 시아노, 하이드록시, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 할로알콕시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티오, 카르복스아미도, 셀폰아미도, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 카르복시, 카르복시알킬, 선택적으로 치환된 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴 및 헤테로시클로로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 또는 3개 치환기로 치환되지 않거나 치환된 알키닐을 지칭한다.

[0091] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "할로알킬"은 1개 이상의 불소, 염소, 브롬 및/또는 요오드 원자로 치환된 알킬을 지칭한다. 일 구현예에서, 알킬 기는 1개, 2개 또는 3개의 불소 및/또는 염소 원자로 치환된다. 또 다른 구현예에서, 할로알킬 기는 C<sub>1-4</sub> 할로알킬 기이다. 비제한적 예시적 할로알킬 기는 플루오로메틸, 2-플루오로에틸, 디플루오로메틸, 트리플루오로메틸, 펜타플루오로에틸, 1,1-디플루오로에

틸, 2,2-디플루오로에틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 3,3,3-트리플루오로프로필, 4,4,4-트리플루오로부틸 및 트리클로로메틸 기를 포함한다.

[0092] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "알콕시"는 말단 산소 원자에 부착된 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 또는 선택적으로 치환된 알키닐을 지칭한다. 일 구현예에서, 알콕시는 말단 산소 원자에 부착된 선택적으로 치환된 알킬이다. 일 구현예에서, 알콕시 기는 말단 산소 원자에 부착된 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 알콕시 기는 말단 산소 원자에 부착된 C<sub>1-4</sub> 알킬이다. 비제한적 예시적 알콕시 기는 메톡시, 에톡시 및 *tert*-부톡시를 포함한다.

[0093] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "알킬티오"는 말단 황 원자에 부착된 선택적으로 치환된 알킬을 지칭한다. 일 구현예에서, 알킬티오 기는 C<sub>1-4</sub> 알킬티오 기이다. 비제한적 예시적 알킬티오 기는 -SCH<sub>3</sub> 및 -SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>을 포함한다.

[0094] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "할로알콕시"는 말단 산소 원자에 부착된 할로알킬을 지칭한다. 비제한적 예시적 할로알콕시 기는 플루오로메톡시, 디플루오로메톡시, 트리플루오로메톡시 및 2,2,2-트리플루오로메톡시를 포함한다.

[0095] 본 발명에서, 용어 "헤테로아릴"은 5개 내지 14개 고리 원자를 갖는 치환되지 않은 단일고리 및 두고리 방향족 고리 시스템, 즉, 5원 내지 14원 헤테로아릴을 지칭하며, 이때, 하나의 고리 중 적어도 하나의 탄소 원자가 산소, 질소 및 황으로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자로 교체된다. 일 구현예에서, 헤테로아릴은 산소, 질소 및 황으로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 헤테로원자를 함유한다. 일 구현예에서, 헤테로아릴은 3개의 헤테로원자가 있다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 2개의 헤테로원자가 있다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 1개의 헤테로원자가 있다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 5원 내지 10원 헤테로아릴이다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 5원 또는 6원 헤테로아릴이다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 5개의 고리 원자, 예컨대, 티에닐, 4개의 탄소 원자 및 1개의 황 원자가 있는 5원 헤테로아릴이 있다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 6개의 고리 원자, 예컨대, 피리딜, 5개의 탄소 원자 및 1개의 질소 원자가 있는 6원 헤테로아릴이 있다. 비제한적 예시적 헤테로아릴 기는 티에닐, 벤조[b]티에닐, 나프토[2,3-b]티에닐, 티안트레닐, 푸릴, 벤조푸릴, 피라닐, 이소벤조푸라닐, 벤조옥사조닐, 크로메닐, 잔데닐, 2H-피롤릴, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 피리딜, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 이소인돌릴, 3H-인돌릴, 인돌릴, 인다졸릴, 퓨리닐, 이소퀴놀릴, 퀴놀릴, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 시놀리닐, 퀴나졸리닐, 프테리디닐, 4aH-카르바졸릴, 카르바졸릴, β-카르볼리닐, 폐난트리디닐, 아크리디닐, 피리미디닐, 폐난트롤리닐, 폐나지닐, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 폐노티아졸릴, 이속사졸릴, 푸라자닐 및 폐녹사지닐을 포함한다. 일 구현예에서, 헤테로아릴은 티에닐(예컨대, 티엔-2-일 및 티엔-3-일), 푸릴(예컨대, 2-푸릴 및 3-푸릴), 피롤릴(예컨대, 1H-피롤-2-일 및 1H-피롤-3-일), 이미다졸릴(예컨대, 2H-이미다졸-2-일 및 2H-이미다졸-4-일), 피라졸릴(예컨대, 1H-피라졸-3-일, 1H-피라졸-4-일 및 1H-피라졸-5-일), 피리딜(예컨대, 피리딘-2-일, 피리딘-3-일 및 피리딘-4-일), 피리미디닐(예컨대, 피리미딘-2-일, 피리미딘-4-일 및 피리미딘-5-일), 티아졸릴(예컨대, 티아졸-2-일, 티아졸-4-일 및 티아졸-5-일), 이소티아졸릴(예컨대, 이소티아졸-3-일, 이소티아졸-4-일 및 이소티아졸-5-일), 옥사졸릴(예컨대, 옥사졸-2-일, 옥사졸-4-일 및 옥사졸-5-일), 이속사졸릴(예컨대, 이속사졸-3-일, 이속사졸-4-일 및 이속사졸-5-일) 및 인다졸릴(예컨대, 1H-인다졸-3-일)로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또한, 용어 "헤테로아릴"은 가능한 N-산화물을 포함하고자 한다. 비제한적 예시적 N-산화물은 피리딜 N-산화물이다.

[0096] 일 구현예에서, 헤테로아릴은 5원 또는 6원 헤테로아릴이다. 일 구현예에서, 헤테로아릴은 5원 헤테로아릴이다. 즉, 헤테로아릴은 5개의 고리 원자를 갖는 단일고리 방향족 고리 시스템으로, 이때, 고리의 적어도 하나의 탄소 원자는 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자로 교체된다. 비제한적 예시적 5원 헤테로아릴 기는 티에닐, 푸릴, 피롤릴, 옥사졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴 및 이속사졸릴이다. 또 다른 구현예에서, 헤테로아릴은 6원 헤테로아릴이다. 예컨대, 헤테로아릴은 6개의 고리 원자를 갖는 단일고리 방향족 고리 시스템으로, 이때, 고리의 적어도 하나의 탄소 원자는 질소 원자로 교체된다. 비제한적 예시적 6원 헤테로아릴 기는 피리딜, 피라지닐, 피리미디닐 및 피리다지닐을 포함한다.

[0097] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "선택적으로 치환된 헤테로아릴"은 할로, 니트로, 시아노, 하이드록시, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 할로알콕시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티오, 카르복스아미도, 세론아미도, 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 할로알킬설포닐 시클로알킬설포닐, (시클로알킬)알킬설포닐, 아릴설포닐, 헤테로아릴설포닐, 카르

복시, 카르복시알킬, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로시클로, 알콕시알킬, (아미노)알킬, (카르복스아미도)알킬 및 (헤테로시클로)알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개 또는 4개의 치환체로 치환되지 않거나 치환된 헤�테로아릴을 지칭한다. 일 구현예에서, 선택적으로 치환된 헤�테로아릴은 1개의 치환체가 있다. 또 다른 구현예에서, 선택적으로 치환된 헤�테로아릴은 치환되지 않는다. 임의의 이용 가능한 탄소 또는 질소 원자가 치환될 수 있다. 용어 선택적으로 치환된 헤�테로아릴은 융합된 선택적으로 치환된 시클로알킬 또는 융합된 선택적으로 치환된 헤�테로시클로 기를 갖는 헤�테로아릴 기를 포함한다. 융합된 선택적으로 치환된 시클로알킬 또는 융합된 선택적으로 치환된 헤�테로시클로 기를 갖는 선택적으로 치환된 헤�테로아릴은 헤테로아릴 고리 상의 임의의 이용 가능한 탄소 원자에 있는 분자의 나머지에 부착될 수 있다.

[0098] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "헤테로시클로"는 치환되지 않은 포화 및 부분적으로 불포화, 예컨대, 1개 또는 2개의 이중 결합을 함유하는, 3개 내지 14개의 고리 구성원을 갖는 1개, 2개 또는 3개의 고리를 함유하는 고리 기, 즉, 3원 내지 14원 헤�테로시클로를 지칭하며, 이때, 하나의 고리의 적어도 하나의 탄소 원자는 헤테로원자로 교체된다. 각각의 헤�테로원자는 산소, 셀록사이드 및 셀폰을 포함하는 황, 및/또는 질소 원자로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는데, 질소 원자는 산화되거나 4급화(quaternize)될 수 있다. 용어 "헤테로시클로"는 고리  $-\text{CH}_2-$ 가  $-\text{C}(=\text{O})-$ 로 교체된 기, 예를 들어, 고리형 우레아로 기, 예컨대, 2-이미다졸리디논 및 고리형 아미드 기, 예컨대,  $\beta$ -락탐,  $\gamma$ -락탐,  $\delta$ -락탐,  $\varepsilon$ -락탐 및 피페라진-2-온을 포함한다. 또한, 용어 "헤테로시클로"는 융합된 선택적으로 치환된 아릴 기를 갖는 기, 예컨대, 인돌리닐 또는 크로만-4-일을 포함한다. 일 구현예에서, 헤�테로시클로 기는  $\text{C}_{4-6}$  헤�테로시클로, 즉, 1개의 고리 및 1개 또는 2개의 산소 및/또는 질소 원자를 함유하는 4원, 5원 또는 6원 고리 기이다. 일 구현예에서, 헤테로시클로 기는 1개의 고리 및 1개의 질소 원자를 함유하는  $\text{C}_{4-6}$  헤�테로시클로이다. 헤�테로시클로는 임의의 이용 가능한 탄소 또는 질소 원자를 통해 분자의 나머지에 선택적으로 연결될 수 있다. 비제한적 예시적 헤�테로시클로 기는 아제티디닐, 디옥사닐, 테트라하이드로피라닐, 2-옥소피롤리딘-3-일, 피페라진-2-온, 피페라진-2,6-디온, 2-이미다졸리디논, 피페리디닐, 모르폴리닐, 피페라지닐, 피롤리디닐 및 인돌리닐을 포함한다.

[0099] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "선택적으로 치환된 헤�테로시클로"는 할로, 니트로, 시아노, 하이드록시, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 할로알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 할로알콕시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 알킬티오, 카르복스아미도, 셀폰아미도, 알킬카르보닐, 시클로알킬카르보닐, 알콕시카르보닐,  $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})-$ , 아릴카르보닐, 알킬설포닐, 아릴설포닐, 카르복시, 카르복시알킬, 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤�테로시클로, 알콕시알킬, (아미노)알킬, (카르복스아미도)알킬 또는 (헤테로시클로)알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된 1개, 2개, 3개 또는 4개의 치환체로 치환되지 않거나 치환된 헤�테로시클로를 지칭한다. 치환은 임의의 이용 가능한 탄소 또는 질소 원자, 또는 둘 모두 상에서 일어날 수 있다.

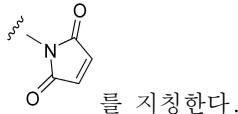
[0100] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "아미노"는 화학식  $-\text{NR}^{22a}\text{R}^{22b}$ 의 라디칼로서, 이때,  $\text{R}^{22a}$  및  $\text{R}^{22b}$ 는 각각 수소, 선택적으로 치환된 알킬 및 아르알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되거나,  $\text{R}^{22a}$  및  $\text{R}^{22b}$ 는 함께 취해져서 3원 내지 8원의 선택적으로 치환된 헤�테로시클로를 형성하는 것인, 화학식  $-\text{NR}^{22a}\text{R}^{22b}$ 의 라디칼을 지칭한다. 비제한적 예시적 아미노 기는  $-\text{NH}_2$  및  $-\text{N}(\text{H})(\text{CH}_3)$ 을 포함한다.

[0101] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "카르복스아미도"는 화학식  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{23a}\text{R}^{23b}$ 의 라디칼로서, 이때,  $\text{R}^{23a}$  및  $\text{R}^{23b}$ 는 각각 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 하이드록시알킬, 및 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 헤�테로시클로, 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로부터 독립적으로 선택되거나,  $\text{R}^{23a}$  및  $\text{R}^{23b}$ 는 그것들이 부착되는 질소와 함께 함께 취해져서 3원 내지 8원의 선택적으로 치환된 헤�테로시클로 기를 형성하는 것인, 화학식  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{23a}\text{R}^{23b}$ 의 라디칼을 지칭한다. 일 구현예에서,  $\text{R}^{23a}$  및  $\text{R}^{23b}$ 는 각각 독립적으로 수소 또는 선택적으로 치환된 알킬이다. 일 구현예에서,  $\text{R}^{23a}$  및  $\text{R}^{23b}$ 는 그것들이 부착되는 질소와 함께 취해져서 3원 내지 8원의 선택적으로 치환된 헤�테로시클로 기를 형성한다. 비제한적 예시적 카르복스아미도 기는  $-\text{CONH}_2$ ,  $-\text{CON}(\text{H})\text{CH}_3$  및  $-\text{CON}(\text{CH}_3)_2$ 를 포함한다.

[0102] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "알콕시카르보닐"은 알콕시로 치환된 카르보닐 기, 즉,  $-C(=O)-$ 를 지칭한다. 일부 구현예에서, 알콕시는  $C_{1-4}$  알콕시이다. 비제한적 예시적 알콕시카르보닐기는  $-C(=O)OMe$ ,  $-C(=O)OEt$  및  $-C(=O)OtBu$ 을 포함한다.

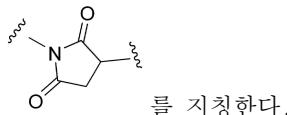
[0103] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "카르복시"는 화학식  $-CO_2H$ 의 라디칼을 지칭한다.

[0104] 본 발명에서, 그 자체로 사용되거나 또 다른 기의 일부분으로서 용어 "말레이이미드"는



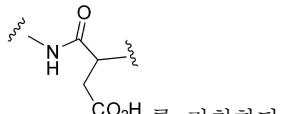
[0105] 를 지칭한다.

[0106] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "석신이미드"는



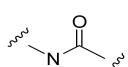
[0107] 를 지칭한다.

[0108] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "가수분해된 석신이미드"는



[0109] 를 지칭한다.

[0110] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "아미드"는 다음을 지칭한다:



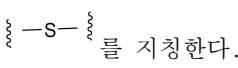
[0111] 를 지칭한다.

[0112] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "티오우레아"는



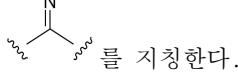
[0113] 를 지칭한다.

[0114] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "티오에테르"는



[0115] 를 지칭한다.

[0116] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "옥심"은



[0117] 를 지칭한다.

[0118] 본 발명에서, 절단 가능한 링커의 일부분으로서 사용되는 용어 "자기 희생 기(자기 희생 기)"는 두 개의 이격된 화학적 모이어티를 보통은 안정적인 세 부분으로 이루어진 분자로 공유결합시킬 수 있는 2작용 화학적 모이어티를 지칭하며, 효소적 절단에 의해 세 부분으로 이루어진 분자로부터 이격된 화학적 모이어티 중 하나를 방출할 수 있고; 효소적 절단 후, 분자의 나머지로부터 자발적으로 갈라져서 이격된 화학적 모이어티 중 나머지, 예컨대, 글루코코르티코스테로이드를 방출할 수 있다. 일부 구현예에서, 자기 희생 기는 p-아미노벤질 단위를 포함한다. 일부 이러한 구현예에서, p-아미노벤질 알코올은 아미드 결합을 통해 아미노산 단위에 부착되며, 카바메이트, 메틸카바메이트, 또는 또는 카보네이트가 벤질 알코올 및 약물 사이에 생성된다(Hamann et al. (2005) Expert Opin. Ther. Patents (2005) 15:1087-1103). 일부 구현예에서, 자기 희생 기는 p-아미노벤질옥시카르보닐(PAB)이다.

[0119] 본 발명에서, 용어 "보호 기" 또는 "PG"는 문자의 다른 작용 기 또는 부분 상에서 반응이 이루어지는 동안 아민 기능성을 차단, 즉, 보호하는 기를 지칭한다. 당업자는 아민 보호 기의 선택, 부착 및 절단에 친숙할 것이고,

여러 상이한 보호 기가 당해 분야에 공지되어 있으며, 하나의 보호 기 또는 또 다른 보호기의 적합성이 계획된 특정 합성 계획에 달려 있음을 인정할 것이다. 예컨대, Wuts, P. G. M.; Greene, T. W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th Ed., J. Wiley & Sons, NY, 2007과 같은, 이 주제에 대한 논문은 자문을 위해 이용 가능하다. 적합한 보호기는 카르보벤질옥시(Cbz), *tert*-부틸옥시카르보닐(BOC), 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐(FMOC) 및 벤질(Bn) 기를 포함한다. 일 구현예에서, 보호기는 BOC 기이다.

[0120] 본 설명에 개시된 화합물은 비대칭 중심을 함유하며, 따라서 거울상 이성질체, 부분입체이성질체 및 기타 입체 이성질체 형태를 생성한다. 본 발명은 모든 이러한 가능한 형태의 이용뿐만 아니라, 그것들의 라세미 형태와 분해된 형태 및 이의 혼합물의 이용을 포괄하고자 한다. 개별적인 거울상 이성질체는 본 발명과 관련하여 당해 분야에 공지된 방법에 따라 분리될 수 있다. 본 설명에 기술된 화합물이 올레핀 이중 결합 또는 기타 기하학적 비대칭 중심을 함유할 때, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 이 화합물은 E 및 Z 기하학적 이성질체 둘 모두를 포함함이 의도된다. 또한, 모든 호변이성질체도 본 발명에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

[0121] 본 발명은 본 설명에 개시된 화합물의 용매화물의 제조 및 이용을 포함한다. 용매화물은 전형적으로 화합물의 생리적 활성 또는 독성을 유의미하게 바꾸지 않으며, 따라서 약학적인 등가물로서 기능할 수 있다. 본 설명에 사용된 용어 "용매화물"은 본 발명의 화합물의 용매 분자와의 조합, 물리적 회합 및/또는 용해, 예컨대, 이용매화물, 단일용매화물, 또는 반용매화물이며, 여기서, 본 발명의 화합물에 대한 용매 분자의 비율은 각각 약 2:1, 약 1:1 또는 약 1:2이다. 물리적 회합은 수소 결합을 포함하여, 다양한 정도의 이온 결합 및 공유 결합을 수반한다. 일부 사례에서, 용매화물은 하나 이상의 용매 분자가 결정형 고체의 결정 격자 내로 혼입될 때와 같이 분리될 수 있다. 따라서, "용매화물"은 용액상 및 분리 가능한 용매화물 둘 모두를 포함한다. 본 설명에 개시된 화합물은 약학적으로 허용 가능한 용매, 예컨대, 물, 메탄올, 에탄올 등과 용매화된 형태로서 존재할 수 있고, 본 발명은 본 설명에 개시된 화합물의 용매화 형태와 용매화되지 않은 형태 둘 모두를 포함하는 것으로 의도된다. 용매화물의 한 종류는 수화물이다. "수화물"은 용매 분자가 물인 용매화물의 특정 하위군을 지칭한다. 용매화물은 전형적으로 약학적 등가물로서 기능할 수 있다. 용매화물의 제조는 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[M. Caira *et al.*, *J. Pharmaceut. Sci.*, 93(3):601-611 (2004)] 참조, 이 문헌은 에틸 아세테이트와 플루코나졸의 용매화물 및 물과 플루코나졸의 용매화물의 제조를 기술하고 있다. 용매화물, 반용매화물, 수화물 등의 비슷한 제조방법이 문헌[E.C. van Tonder *et al.*, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 5(1):Article 12 (2004)] 및 문헌[A.L. Bingham *et al.*, *Chem. Commun.* 603-604 (2001)]에 의해 설명된다. 전형적인, 비제한적, 용매화물의 제조 방법은 약 20°C 내지 약 25°C를 초과하는 온도에서 본 설명에 개시된 화합물을 원하는 용매(유기용매, 물, 또는 이의 화합물)에 용해시키는 단계, 그 다음으로 용액을 결정을 형성하기에 충분한 속도로 냉각시키는 단계 및 공지된 방법, 예컨대, 여과에 의해 결정을 분리하는 단계를 수반한다. 적외선 분광학과 같은 분석 기술이 용매화물의 결정 내 용매의 존재를 확인하는 데 이용될 수 있다.

[0122] 본 발명은 무독성의, 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는, 본 설명에 개시된 화합물의 염의 제조 및 이용을 포함한다. 약학적으로 허용 가능한 부가염의 예는 무기 및 유기 산 부가염 및 염기 부가염을 포함한다. 약학적으로 허용 가능한 염은 금속 염, 예컨대, 나트륨 염, 칼륨 염, 세슘 염 등; 알칼리 토금속, 예컨대, 칼슘 염, 마그네슘 염 등; 유기 아민 염, 예컨대, 트리에틸아민 염, 피리딘 염, 피콜린 염, 에탄올아민 염, 트리에탄올아민 염, 디시클로헥실아민 염, N,N'-디벤질에틸렌디아민 염 등; 무기 산 염, 예컨대, 염산염, 브롬화수소산염, 포스페이트, 설페이트 등; 유기 산 염, 예컨대, 시트르산염, 젖산염, 타르타르산염, 말레인산염, 푸마르산염, 만델산염, 아세테이트, 디클로로아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 옥살산염, 포름산염 등; 설포네이트, 예컨대, 메탄설포네이트, 벤젠설포네이트, p-톨루엔설포네이트 등; 및 아미노산 염, 예컨대, 알긴산염, 아스파르트산염, 글루탐산염 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0123] 산 부가염은 개시된 특정 화합물의 용액을 약학적으로 허용 가능한 무독성 산, 예컨대, 염산, 푸마르산, 말레산, 석신산, 아세트산, 시트르산, 타르타르산, 탄산, 인산, 옥살산, 디클로로아세트산 등의 용액과 혼합하여 형성될 수 있다. 염기 염은 본 발명의 화합물의 용액을 약학적으로 허용 가능한 무독성 염기, 예컨대, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화콜린, 탄산나트륨 등의 용액과 혼합하여 형성될 수 있다.

[0124] 본 발명 및 청구항에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태("a," "an" 및 "the")는 문맥이 명확히 달리 지시하지 않는 한, 복수 형태를 포함한다.

[0125] 구현예가 본 설명에서 문구 "포함하는"과 함께 기술되는 경우, "~으로 이루어지는" 및/또는 "필수적으로 ~으로 이루어지는"과 관련하여 기술된 유사한 구현예도 제공됨이 이해된다.

[0126] 본 설명에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용되는 바와 같이 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A"

및 "B" 모두를 포함하고자 한 것이다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용되는 바와 같이 용어 "및/또는"은 다음 구현예 각각을 포함하고자 한 것이다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

## [0127] II. 글루코코르티코이드 수용체 작용제에 대한 연결을 위한 단백질

본 발명은 단백질, 예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 가용성 수용체 단백질에 연결된 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 함유하는 작용제 면역접합체를 제공한다. 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간, 인간화, 키메라, 또는 뮤린(젖과, murine)이다. 일부 구현예에서, 단백질, 예컨대, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 가용성 수용체 단백질은 세포의 표면에서 표적에 결합하여 내재화될 수 있다.

또한, 본 발명은 항-TNF 알파 단백질에 연결된 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 함유하는 면역접합체를 제공한다. 특정 구현예에서, 항-TNF 알파 단백질은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 특정 구현예에서, 항-TNF 알파 단백질은 TNF 알파(예컨대, 가용성 TNF 알파 및/또는 막 결합 TNF 알파)에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 특정 구현예에서, 항-TNF 알파 단백질은 가용성 TNF 수용체 단백질, 예컨대, 중쇄 불변 도메인 또는 Fc와 같은 이의 단편에 융합된 가용성 TNF 수용체 단백질이다. 일부 구현예에서, 항-TNF 알파 단백질, 예컨대, 항-TNF 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체는 세포의 표면에서 TNF 알파에 결합하여 내재화될 수 있다. 예를 들어, 본 설명에 그 전체가 참조로서 포함되는 US 2014/0294813은 세포 표면 인간 TNF에 결합 시 세포 내재화를 나타내는 항-TNF 단백질을 개시하고 있다.

특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 및/또는 마우스 TNF-알파에 결합한다. TNF-알파에 결합하는 항체 및 항원 결합 단편은 당해 분야에 공지되어 있다.

[0131] 막 결합 인간 TNF 알파에 대한 전체 길이 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0132] MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSFLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAVRSSRTPSDKPVAVVVANPQAEGQLQWLNRANALLANGVELRDNQQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGQGCPSTHVLTHTISRIVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL (서열번호 1). 가용성 인간 TNF 알파는 서열번호 1의 아미노산 77~233을 함유한다. 막 결합 뮤린 TNF-알파에 대한 전체 길이 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0133] MSTESMIRDVELAEEALPKQMGGFQNSRRCLCLSLFSFLLVAGATTLFCLLNFGVIGPQRDEKFPNGLPLISSMAQTLRLSSSQNSDKPVAVVANHQVEEQLEWLSQRANALLANGMDLKDNQLVVPADGLYLVYSQVLFKGQGCPDYVLLTHTVSRAFAISYQEKVNLLSAVKSPCPKDTPEGAELKPWYEPIYLGGVFQLEKGDQLSAEVNLPKYLDFAESGQVYFGVIAL (서열번호 2). 가용성 뮤린 TNF 알파는 서열번호 2의 아미노산 80~235를 함유한다.

[0134] 일부 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 TNF-알파에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간, 인간화, 또는 키메라이다.

[0135] 일부 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뮤린 TNF-알파에 결합한다. 일부 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뮤린이다.

[0136] 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음 효과 중 하나 이상을 갖는다:  $1 \times 10^{-7}$  M 이하의 IC<sub>50</sub>으로 시험관 내 L929 분석법에서 인간 TNF-알파 세포독성을 중화한다; p55 및 p75 세포 표면 수용체와 TNF-알파의 상호 작용을 차단한다; 및/또는 보체의 존재 하에 시험관 내에서 표면 TNF 발현 세포를 용해시킨다.

[0137] 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 TNF-베타에 결합하지 않는다.

[0138] 항-TNF-알파 항체 및 이의 항원 결합 단편은 예를 들어, 아달리무맙, 인플럭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙을 포함한다. 추가적인 항-TNF-알파 항체 및 이의 항원 결합 단편은 예를 들어, 각각 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 WO 2013/087912, WO 2014/152247 및 WO 2015/073884에 제공된다.

[0139] 아달리무맙은 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 미국 특허번호 6,258,562에 기술되어 있다. 인플럭시맙은 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 미국 특허번호 5,656,272에 기술되어 있다. 세르톨리주맙은 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 WO 01/94585에서 논의된다. (MAK195로도 알려져 있는) 아펠리모맙은 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 문헌[Vincent, Int. J. Clin. Pract. 54: 190-193 (2000)]에서 논의된다. (ATN-103으로도 알려져 있는) 오조랄리주맙은 나노바디이다. 오조랄리주맙은 GlySer 링커에 의해 융합된 세 개의 중쇄가변 영역을 함유한다. 가변 영역 1과 3은 동일하고, 오조랄리주맙은 중쇄를 함유하지 않는다. 오조랄리주맙은

그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 WO 2012/131053에서 논의된다. (CEP-37247로도 알려져 있는) 플라콜루맙은 VL-pCH1-CH2-CH3 또는 [V-카파]2-Fc의 이량체로 이루어지는 도메인 항체이고, 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는 문헌[Gay *et al.*, *Mabs* 2: 625-638 (2010)]에서 논의된다. (CNTO 148으로도 알려져 있는) 골리무맙은 WO2013/087912에서 논의되며, 서열은 GenBank: DI496971.1 및 GenBank DI 496970.1에 제공되어 있으며, 이를 각각은 그 전체가 참조로서 본 설명에 포함된다.

[0140] 또한, 항-TNF-알파 항체 및 이의 항원 결합 단편은 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 TNF-알파에 대한 결합을 경쟁적으로 억제하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 또한, 항-TNF-알파 항체 및 이의 항원 결합 단편은 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙과 동일한 TNF-알파에 피토프에 결합하는 항체 및 항원 결합 단편을 포함한다.

[0141] 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 TNF-알파에 대한 아달리무맙의 결합을 경쟁적으로 억제한다. 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아달리무맙과 동일한 TNF-알파에 피토프에 결합한다. 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아달리무맙 또는 이의 항원 결합 단편이다. 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아달리무맙이다.

[0142] 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 서열, 예컨대, 상보성 결정 영역(CDR), 가변 무거운 도메인(VH) 및/또는 가변 가벼운 도메인(VL)을 포함한다. 예시적인 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 서열은 표 1 내지 6에 제공된다.

## 표 1

가변 중쇄 CDR 아미노산 서열:

항체	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
아달리무맙	DYAMH(서열 번호 3) 또는 GFTFDDYAMH(서열 번호 6)	AITWNSGHIDYADSVEG(서열 번호 4)	VSYLSTASS(서열 번호 5) VSYLSTASSLDY(서열 번호 94)
인플릭시맙	GFIFSNHWMMN(서열 번호 7)	EIRSKSINSATHYAESVKKG(서열 번호 8)	NYYGSTYDY(서열 번호 9)
세르톨리주맙	DYGMN(서열 번호 10) 또는 GYVFTDYGMN(서열 번호 13)	WINTYIGEPIYADSVKG(서열 번호 11)	GYRSYAMDY(서열 번호 12)
아펠리모맙	DYGVN(서열 번호 14)	MTWGDGSTDYDSTLKS(서열 번호 15)	EWHHGPVAY(서열 번호 16)
네렐리모맙	DYNVD(서열 번호 17)	NINPNNGGTIYNQKFKG(서열 번호 18)	SAFYNNYEYFDV(서열 번호 19)
오조랄리주맙	V1:DYWEMY(서열 번호 20) V2: SFGMS(서열 번호 23) V3: DYWMY(서열 번호 26)	V1: EINTNGLITKYPDSVKKG(서열 번호 21) V2: SISGSGSDTLYADSVKG(서열 번호 24) V3: EINTNGLITKYPDSVKKG(서열 번호 27)	V1: SPSGFNR(서열 번호 22) V2: GGSLSRSS(서열 번호 25) V3: SPSGFNR(서열 번호 28)
골리무맙	GFIFSSYAMH(서열 번호 29)	FMSYDGDSNKKYADSVKG(서열 번호 30)	DRGIAAGGNYYYYGMDV(서열 번호 31)
플라콜루맙	RASQAIDSYLH(서열 번호 88)	SASNLET(서열 번호 89)	QQVVWRPFT(서열 번호 90)

[0143]

## 표 2

가변 경쇄 CDR 아미노산 서열

항체	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
아달리무맙	RASQGIRNYLA (서열 번호 32)	AASTLQS (서열 번호 33)	QRYNRAPYT (서열 번호 34)
인플릭시맙	RASQFVGSSIH (서열 번호 35)	YASESMS (서열 번호 36)	QQSHSWPFT (서열 번호 37)
세르톨리주맙	KASQNVGTNVVA (서열 번호 38)	SASFLYS (서열 번호 39)	QQYNIYPLT (서열 번호 40)
아펠리모맙	KASQAVSSAVA (서열 번호 41)	WASTRHT (서열 번호 42)	QQHYSTPFT (서열 번호 43)
네렐리모맙	KSSQSLLYSNNQKNYLA (서열 번호 44)	WASTRES (서열 번호 45)	QQYYDYPWT (서열 번호 46)
오조랄리주맙	N/A	N/A	N/A
골리무맙	RASQSVSYSLA (서열 번호 47)	DASN RAT (서열 번호 48)	QQRSNWPPFT (서열 번호 49)

[0144]

## 표 3

가변 중쇄 아미노산 서열

항체	VH 아미노산 서열(서열 번호)
아달리무맙	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWQGQTLTVSS(서열 번호 50)
인플릭시맙	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWWMWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMQLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLVSS(서열 번호 91) EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWWMWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDDSKSAVYLQMNSLRTEDTGVYYCSRNYYGSTYDYWGQGTTLVSS(서열 번호 51)
세르톨리주맙	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWMGWINTYIGEPIYADSVKGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGTLTVSS(서열 번호 52)
아펠리모맙	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNNSQFLKNNSLQTDDTARYYCAREWHGPPVAYWGQGTLTVSS(서열 번호 53)
네렐리모맙	QVQLVQSGAEVVVKPGSSVKVSCKASGYTFTDYNDWVKQAPGQGLQWIGNINPNNGGTTIYNQFKKGKGLTVDKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCARSAFYNNYEYFDVWQGQTTVTVSS(서열 번호 54)
오조랄리주맙	V1: EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSYWMWVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTLTVSS(서열 번호 55) V2: EVQLVESGGGLVQPGNSRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWSSI SGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS(서열 번호 56) V3: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTLTVSS(서열 번호 57)
골리무맙	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGDSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWQGTTVTVSS(서열 번호 58)

[0145]

## 표 4

가변 경쇄 아미노산 서열

항체	VL 아미노산 서열(서열 번호)
아달리 무맙	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSQGTDFLTISLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKEIK (서열 번호 59)
인플럭시맙	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASEMSGIPSRFSGSQGTDFLTSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKEIK (서열 번호 60)
세르톨리 주맙	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCASQNVTNVAVYQQKPGKAPKALIYASAFLYSGVPYRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQGTKEIK (서열 번호 61)
아펠리 모맙	DIVMTQSHKFMSITVGDRVSITCKASQA VSSAVA WYQQKPGQSPKLLIYWA STRHTGVPDFRTGSGSVDFTLTIHNLQAEDLA LYCCQQHYSTPFTFGSGTKLEIK (서열 번호 62)
네렐리 모맙	DIMMTQSPSTLSASVGDRVITTCKSSQSLLYSNNQKNYLAWYQQKPGQAPKLISWASTRESGVPSRFIGSGSGTEFTLTISLQPDDVATYYCQQYYDYPWTFGQGTKEIK (서열 번호 92) DIMMTQSPSTLSASVGDRVITTCKSSQSLLYSNNQKNYLAWYQQKPGQAPKLISWASTRESGVPSRFIGSGSGTEFTLTISLQPDDVATYYCQQYYDYPWTFGQGTKEIK (서열 번호 63)
풀라콜루맙	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQAIIDSYLHWYQQKPGKAPKLLIYASASNEETGVPSRFSGSQGTDFLTISLQPEDFATYYCQQVWRPFTFGQGTKEIK (서열 번호 64)
골리 무맙	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVEIK (서열 번호 65)

[0146]

## 표 5

전체 길이 중쇄 아미노산 서열

항체	전체 길이 중쇄 아미노산 서열(서열 번호)
아달리무맙(D2E7)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVS AITWNSGHIDYADSEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKV SYLSTASSLDYWGGTTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLV KDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTPAVLQSSGLYSLSVVTPVSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호 66)
인플릭시맙	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSLSCAVASGFIFSNHWMMNWVRQSPEKGLEWVA EIRSKSINSATHYAESVKGRFTISRDKSLSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRN YYGSTDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDY FPEPVTVWNNSGALTSGVHTPAVLQSSGLYSLSVVTPVSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLM SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 67)
세르톨리주맙	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWM GWINTYIGEPIYADSVKGRFTSLSLTSKSTAYLQMNLSLRAEDTAVYYCARG YRSYAMDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKD YFPEPVTVWNNSGALTSGVHTPAVLQSSGLYSLSVVTPVSSSLGTQTYIC VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAA(서열 번호 68)
아펠리모맙	QVQLKESGPGLVAPSQSLISITCTVSGFSLTDYGVNWWVRQPPGKGLEWLGM WGDGSTDYDSTLKSRLSISKDNKSQIFLKNNSLQTDDTARYYCAREWHH GPVAYWGQGTLTVSAATTAPSVPLVPGCSDTGSSVTLGCLVKGYFPE PTVVKWNYGALSSGVRTVSSVLQSGFYSLSSLTVPSSTWPSQTVICNVAH PASKTELKRIEPRIPKPPSTPGSSCPGNilGGPSVIFPPKPKDALMISLTPKV TCVVVDVSEDDPDVHVWSWFVDNKEVHTAWTQPREAQYNSTFRVVSALPIQ HQDWMRGKEFKCKVNNKALPAPIERISKPKGRAQTPQVYTIPPPREQMSK KKVSLTCLVTNFFSEASIVEWERNGELEQDYNTPPLSDGTYFLYSKLT DTDSWLQGEIFTCSVVHEALHNHTQKSLSLSPGK(서열 번호 69)
오조랄리주맙	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIDYWMWVRQAPGKGLEWVS EINTNLITKYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCARSPS GFNRGQGTLTVTSSggggggggggEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSS FGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCTIGGLSRSSQGTIYTWSggggggggggEVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTFSIDYWMWVRQAPGKGLEWVSEINTNLITKYPD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTLTV SS(서열 번호 70)
플라콜루맙	VEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0147]

골리무맙	GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호 93) RVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK K(서열 번호 71)
------	---

[0148]

## 표 6

전체 길이 경쇄 아미노산 서열

항체	전체 길이 경쇄 아미노산 서열(서열 번호)
아달리 무맙 (D2E7)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN FNRGEC (서열 번호 73)
인플럭시 맙	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESMSGIPSFRSGSGSGTDFLTISNTVESEDIAVVYCCQSHSWPFTFGSGTNLEVK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECE (서열 번호 74)
세르톨리 주맙	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCASQNVGTNVAVYQQKPGKAPKALIYASFPLYSGVPYRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN FNRGEC (서열 번호 75)
아펠리 모맙	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWA STRHTGVPDFRTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDALYYCQQHYSTPTFGSGTK LEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAVSVCCFLNNFYPKDINVWKWIDGSERQ NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLSKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC (서열 번호 76)
플라콜루맙	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQAIIDSYLHWYQQKPGKAPKLLIYASAS NLETGVPSPRSFSGSGSGTDFLTISSLLPEDFATYYCQQVWRPFTFGQGTKV EIKR (서열 번호 77)
골리 무맙	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGPGTKV DIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN FNRGEC (서열 번호 78)

[0149]

[0150] 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편도 제공된다. 또한, 각각 서열번호 91과 60, 또는 54과 92에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 91과 60, 또는 54과 92에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 91과 60, 또는 54과 92에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 91과 60, 또는 54과 92에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 91과 60, 또는 54과 92에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다. 또한, 각각 서열번호 91과 60, 또는 54과 92에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하는, 항체 또는 항원 결합 단편이 제공된다.

[0151] 또한, 각각 서열번호 50과 59, 51과 60, 52와 61, 53과 62, 54와 63, 또는 58과 65에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 VH와 VL을 포함하고 각각 서열번호 3 또는 6, 4, 5, 및 32 내지 34; 7 내지 9 및 35 내지 37; 10 또는 13, 11, 12, 및 38 내지 40; 14 내지 16, 및 41 내지 43; 17 내지 19 및 44 내지 46; 또는 29 내지 31 및

특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3 내지 5 및 32 내지 34 또는 서열번호 6, 4, 5, 및 32 내지 34의 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 3, 4, 94 및 32 내지 34 또는 서열번호 6, 4, 94, 및 32 내지 34의 CDR을 포함한다. 특정 구현예에서, 항-TNF-알파 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 50의 VH 및/또는 서열번호 59의 VL을 포함한다.

한다. 특정 구현예에서, 항-TNF 알파 항체는 서열번호 66의 중쇄 및/또는 서열번호 75의 경쇄를 포함한다.

[0153] F 알파 항체는 서열번호 74의 중쇄 및/또는 서열번호 82의 경쇄를 포함한다.

[0154] 특정 양태에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하고 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 VL의 초티아 VL CDR을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다. 특정 양태에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하고 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 VH의 초티아 VH CDR을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다. 특정 양태에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하고 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 VL의 초티아 VL CDR을 포함하고, 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 VH의 초티아 VH CDR을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다. 특정 구현예에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 하나 이상의 CDR을 포함하는데, 이때, 초티아 및 카밧 CDR은 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 특정 구현예에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하며 카밧 CDR 및 초티아 CDR의 조합을 포함하는 항체 및 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다.

[0155] 특정 구현예에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하며, 예를 들어, 문헌[Lefranc M-P (1999)(위 참조)] 및 문헌 [Lefranc M-P et al., (1999)(위 참조)]에 기술된 바와 같이, IMGT 넘버링 체계에 의해 결정된, 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 CDR을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다.

[0156] 특정 구현예에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하며, 문헌[MacCallum RM et al.]의 방법으로 결정된, 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 CDR을 포함하는 항체가 본 설명에 제공된다.

[0157] 특정 구현예에서, TNF-알파에 특이적으로 결합하며, AbM 넘버링 체계에 의해 결정된 바와 같은, 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙, 또는 골리무맙의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다.

[0158] 특정 구현예에서, CD163에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본 설명에 제공된다.

[0159] 단클론 항체는 문헌[Kohler and Milstein (1975) Nature 256:495]에 기술된 것과 같은, 하이브리도마 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 방법을 이용하여, 마우스, 햄스터, 또는 기타 적절한 숙주 동물이 림프 구에 의한, 면역 항원에 특이적으로 결합할 항체 생산을 유도하도록 면역화된다. 림프구는 또한, 시험관 내에서 면역화될 수 있다. 면역화 후, 림프구는 단리되어, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜을 이용하는 적합한 골수종 세포주와 융합되어, 융합되지 않은 림프구 및 골수종 세포로부터 선별될 수 있는 하이브리도마 세포를 형성한다. 면역침강법, 면역블로팅, 또는 시험관 내 결합 분석법(예컨대, 방사면역분석법(RIA); 효소 결합 면역흡착분석법(ELISA))에 의해 결정된, 선택된 항원에 대해 특이적으로 유도된 단클론 항체를 생산하는 하이브리도마는 일반적인 방법(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986)을 이용하는 시험관 내 배양으로, 또는 생체 내에서 동물의 복수 종양으로서 증식될 수 있다. 그런 다음, 단클론 항체는 다클론 항체에 대해 기술된 바와 같이, 배양 배지 또는 복수로부터 정제될 수 있다.

[0160] 대안적으로, 단클론 항체는 미국 특허 4,816,567에 기술된 바와 같이 재조합 DNA 방법을 이용하여 제조될 수도 있다. 단클론 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드는 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자를 특이적으로 증폭시키는 올리고뉴클레오티드 프라이머를 이용하는 RT-PCR에 의해서와 같이, 성숙한 B 세포 또는 하이브리도마 세포로부터 단리되며, 그의 서열은 통상적인 절차를 이용하여 결정된다. 그런 다음, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드가 적합한 발현 벡터 내로 클로닝되고, 면역글로불린을 생산하지 않는 대장균 세포, 원숭이 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 골수종 세포와 같은 숙주 세포 내로 이 발현 벡터가 형질감염될 때, 숙주 세포에 의해 단클론 항체가 생성된다. 또한, 원하는 종의 재조합 단클론 항체 또는 이의 단편은 기술된 바와 같이 원하는 종의 CDR을 발현하는 파지 디스플레이 라이브러리로부터 단리될 수 있다 (McCafferty et al., 1990, Nature, 348:552-554; Clackson et al., 1991, Nature, 352:624-628; and Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581-597).

[0161] 단클론 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드(들)는 재조합 DNA 기술을 이용하는 다수의 상이한 방식에서 추가적으로 변형되어 대안적인 항체를 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 예를 들어, 마우스 단클론 항체의 경쇄 및

중쇄의 불변 도메인은 1) 예를 들어, 인간 항체의 이러한 영역 대신 치환되어 키메라 항체를 생성할 수 있거나, 2) 비-면역글로불린 폴리펩티드 대신 치환되어 융합 항체를 생성할 수 있다. 일부 구현예에서, 이 불변 영역은 절단되거나 제거되어 단클론 항체의 원하는 항체 단편을 생성한다. 가변 영역의 부위 특이적 돌연변이 유도 또는 고밀도 돌연변이 유도가 단클론 항체의 특이성, 친화도 등을 최적화하는 데 이용될 수 있다.

[0162] 일부 구현예에서, TNF-알파에 대한 단클론 항체는 인간화 항체이다. 특정 구현예에서, 이러한 항체는 치료적으로 사용되어 인간 대상체에 투여 시, 항원성 및 HAMA(인간 항-마우스 항체) 반응을 감소시킨다.

[0163] 비-인간 또는 인간 항체의 엔지니어링, 인간화 또는 재표면화 방법 또한, 사용될 수 있고, 당해 분야에 잘 알려져 있다. 인간화, 재표면화 또는 유사하게 조작된 항체는 비-인간, 예컨대, 마우스, 랙트, 토끼, 비-인간 영장류 또는 기타 포유동물과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는, 공급원으로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 이를 비-인간 아미노산 잔기는 전형적으로, 공지된 인간 서열의 "이입(import)" 가변, 불변 또는 기타 도메인으로부터 취한 "이입" 잔기라 종종 지칭되는 잔기로 교체된다.

[0164] 이러한 이입된 서열은 당해 분야에 공지된 바와 같이 면역원성을 감소시키거나, 결합, 친화성, 결합 속도, 해리 속도, 결합력, 특이성, 반감기 또는 임의의 기타 적합한 특성을 감소시키거나, 향상시키거나 변경하는 데 사용될 수 있다. 일반적으로, CDR 잔기는 TNF-알파 결합에 영향을 미치는 데에 직접적으로, 그리고 가장 실질적으로 관여한다. 따라서, 비-인간 또는 인간 CDR 서열의 일부 또는 전부는 유지되는 반면, 가변 및 불변 영역의 비-인간 서열은 인간 또는 기타 아미노산으로 교체될 수 있다.

[0165] 또한, 항체는 항원, 예컨대, TNF-알파에 대한 높은 친화도 및 기타 유리한 생물학적 성질을 보유하도록 선택적으로 인간화, 재표면화, 조작 또는 인간 항체 조작될 수 있다. 이 목표를 달성하기 위해, 인간화(또는 인간) 또는 조작된 항체 및 재표면화 항체는 모 서열, 조작된 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 이용하여 모 서열 및 다양한 개념적인 인간화 및 조작된 생성물을 분석하는 과정에 의해 선택적으로 제조될 수 있다. 3차원 면역글로불린 모델이 일반적으로 이용되며, 당업자에게 친숙하다. 선택된 후보 면역글로불린 서열의 가능한 3차원 입체 형상 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램을 이용할 수 있다. 이를 디스플레이의 검토에 의해, 후보 면역글로불린 서열의 기능에서의 잔기의 가능한 역할의 분석, 즉, 후보 면역글로불린의 항원, 예컨대, TNF-알파에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석이 가능해진다. 이러한 방식으로, 프레임워크(FR) 잔기가 원하는 항체 특성, 예컨대, 표적 항원(들)에 대한 증가된 친화도가 달성되도록 공통 서열 및 이입 서열들로부터 선택되어 조합될 수 있다.

[0166] 본 발명의 항체의 인간화, 재표면화 또는 조작은 임의의 공지된 방법, 예컨대, Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), 미국 특허번호 5,639,641, 5,723,323; 5,976,862; 5,824,514; 5,817,483; 5,814,476; 5,763,192; 5,723,323; 5,766,886; 5,714,352; 6,204,023; 6,180,370; 5,693,762; 5,530,101; 5,585,089; 5,225,539; 4,816,567; PCT/US98/16280; US96/18978; US91/09630; US91/05939; US94/01234; GB89/01334; GB91/01134; GB92/01755; WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; EP 229246; 7,557,189; 7,538,195; 및 7,342,110(이들 각각은 본 설명에 인용된 참고문헌을 포함하여, 전체가 본 설명에 참조로서 포함된다)을 이용하여 수행될 수 있다.

[0167] 특정 대안적인 구현예에서, 항체(예컨대, 항-TNF 알파 항체)는 인간 항체이다. 인간 항체는 당해 분야에 공지된 다양한 기술을 이용하여 직접적으로 제조될 수 있다. 시험관 내에서 면역화된 불멸화 인간 B 림프구 또는 표적 항원에 대해 유도된 항체를 생산하는 면역화된 개체로부터 단리된 불멸화 인간 B 림프구가 생성될 수 있다(예컨대, Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95; 및 미국 특허 5,750,373 참조). 또한, 인간 항체는 파지 라이브러리로부터 선택될 수 있는데, 여기서 그 파지 라이브러리는 예를 들어, Vaughan et al., 1996, Nat. Biotech., 14:309-314, Sheets et al., 1998, Proc. Nat'l. Acad. Sci., 95:6157-6162, Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381, and Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581에 기술된 바와 같이 인간 항체를 발현한다. 항체 파지 라이브러리의 생성 및 이용 기술은 또한, 미국 특허번호 5,969,108, 6,172,197, 5,885,793, 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915; 6,593,081; 6,300,064; 6,653,068; 6,706,484; 및 7,264,963; 그리고 문헌[Rothe et al., 2007, J. Mol. Bio., doi:10.1016/j.jmb.2007.12.018](이들 각각은 전체가 참조로서 본 설명에 포함된다)에 기술되어 있다. 친화도 성숙 전략 및 셔플링 전략(전체가 참조로서 포함된 문헌 [Marks et al., 1992, Bio/Technology 10:779-783])이 당해 분야에 공지되어 있으며, 고친화도 인간 항체를 생

성하는 데 이용될 수 있다.

[0168] 인간화 항체는 또한, 내인성 면역글로불린 생산 부재 하에서 면역조치 시 인간 항체의 전체 래퍼토리를 생산할 수 있는 인간 면역글로불린 좌를 함유하는 형질전환 마우스에서 제조될 수 있다. 이 접근법은 미국 특허 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016에 기술되어 있다.

[0169] 특정 구현예에서 예를 들어, 종양 침투를 증가시키기 위한, 항체 단편이 제공된다. 항체 단편 생성을 위한 다양한 기법이 공지되어 있다. 전통적으로, 이를 단편은 온전한 항체의 단백질 용해성 분해를 통해 유래된다(예를 들어, Morimoto et al., 1993, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117; Brennan et al., 1985, Science, 229:81). 특정 구현예에서, 항체 단편은 재조합적으로 생산된다. Fab, Fv 및 scFv 항체 단편은 모두 대장균 또는 기타 숙주 세포에서 발현될 수 있고, 대장균 또는 기타 숙주 세포로부터 분비될 수 있으므로, 다양한 이를 단편의 생성을 가능하게 한다. 이러한 항체 단편은 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수도 있다. 이러한 항체 단편은 미국 특허번호 5,641,870에 기술된 바와 같이 선형 항체일 수도 있다. 항체 단편의 기타 제조 기법은 당업자에게 자명할 것이다.

[0170] 본 발명의 목적을 위해, 개질된 항체는 항원(예컨대, TNF 알파)과 항체의 결합을 위해 제공되는 임의의 유형의 가변 영역을 포함할 수 있음이 인정되어야 한다. 이 점에 있어서, 이 가변 영역은 체액 반응을 시작하고 원하는 종양 관련 항원에 대해 면역글로불린을 생성하도록 유도될 수 있는 임의의 유형의 포유동물을 포함하거나 이러한 포유동물로부터 유래될 수 있다. 따라서, 개질된 항체의 이러한 가변 영역은 예를 들어, 인간, 뮤린, 비-인간 영장류(예컨대, 시노몰구스 원숭이, 마카크 등) 또는 이리 기원의 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 개질된 면역글로불린의 가변 영역과 불변 영역 둘 모두는 인간이다. 다른 구현예에서, (보통 비-인간 공급원으로부터 유래된) 적합한 항체의 가변 영역은 조작되거나 특이적으로 맞추어져 결합 특성을 개선하거나 분자의 면역원성을 감소시킬 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명에 유용한 가변 영역은 인간화되거나 그렇지 않으면 이입된 아미노산 서열의 포함을 통해 변경될 수 있다.

[0171] 특정 구현예에서, 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 도메인들은 하나 이상의 CDR의 적어도 부분적인 교체 및, 필요할 경우, 부분적인 프레임워크 영역 교체 및 서열 바꿈에 의해 변경된다. CDR은 프레임워크 영역이 유래되는 항체와 동일한 부류의 항체 또는 심지어 이러한 항체의 하위 부류로부터 유래될 수 있지만, 이러한 CDR은 상이한 부류의 항체로부터, 그리고 특정 구현예에서는 상이한 종의 항체로부터 유래될 것임이 예상된다. 모든 CDR을 공여자 가변 영역으로부터의 완전 CDR로 교체하여 하나의 가변 도메인의 항원 결합 능력을 또 다른 가변 도메인으로 옮기는 것은 필수적이지 않을 수 있다. 오히려, 항원 결합 자리의 활성을 유지하는 데 필요한 이를 잔기를 옮기는 것만 필수적일 수 있다. 미국 특허번호 5,585,089, 5,693,761 및 5,693,762에 기재된 설명을 고려하면, 통상적인 실험을 수행하여 또는 시행착오 시험에 의해 면역원성이 감소된 기능성 항체를 수득하는 것은 당업자의 능력 범위 내에 충분히 해당할 것이다.

[0172] 항-TNF 알파 단백질은 가용성 TNF 수용체 단백질을 포함한다. 항-TNF 알파 단백질은 가용성 p75 TNF 수용체일 수 있다. 항-TNF 알파 단백질은 가용성 p55 TNF 수용체일 수 있다.

[0173] 가용성 TNF 수용체는 TNF 알파 및 TNF 베타 둘 모두에 결합할 수 있다. 가용성 TNF 수용체는 TNF 알파에 결합할 수 있으나, TNF 베타에는 결합할 수 없다.

[0174] 가용성 TNF 수용체는 세포 표면 TNF 수용체에 대한 TNF 알파(및 선택적으로 TNF 베타)의 결합을 억제할 수 있다.

[0175] 가용성 TNF 수용체는 에타네르셉트일 수 있다.

[0176] 항-TNF 알파 단백질, 예컨대, 가용성 TNF 수용체는 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 Fc 영역 또는 이의 단편에 융합될 수 있다. 중쇄 불변 도메인 단편 또는 Fc 단편은 Fc 수용체에 결합할 수 있는 불변 도메인 또는 Fc의 일부분일 수 있다. 중쇄 불변 도메인 단편 또는 Fc 단편은 보체의 존재 하에 시험관 내에서 세포 용해를 유도할 수 있는 불변 도메인 또는 Fc의 일부분일 수 있다. 중쇄 불변 도메인 단편 또는 Fc 단편은 ADCC를 유도할 수 있는 불변 도메인 또는 Fc의 일부분일 수 있다.

[0177] 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 Fc 영역 또는 이의 단편은 인간 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 인간 Fc 영역 또는 이의 단편일 수 있다. 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 Fc 영역 또는 이의 단편은 IgG1 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 IgG1 Fc 영역 또는 이의 단편일 수 있다. 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 Fc 영역 또는 이의 단편은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편 또는 인간 IgG1 Fc 영역

또는 이의 단편일 수 있다.

[0178]

당업자는 본 발명의 항체 및 이의 항원 결합 단편 및 본 발명의 항-TNF 단백질이, 천연의 또는 변경되지 않은 불변 영역을 포함하는 대략 동일한 면역원성의 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질과 비교할 때, 감소된 혈청 반감기와 같은 원하는 생화학적 특성을 제공하도록 변경된 도메인을 포함한 불변 영역 도메인 중 하나 이상을 포함하는, 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)을 포함한다는 점을 인식할 것이다. 일부 구현예에서, 이러한 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)은 인간 불변 영역을 포함할 것이다. 본 발명과 양립할 수 있는 불변 영역에 대한 개질은 하나 이상의 도메인에서의 하나 이상의 아미노산의 부가, 결실 또는 치환을 포함한다. 즉, 본 설명에 개시된 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)은 3종의 중쇄 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3) 중 1종 이상 및/또는 경쇄 불변 도메인(CL)에 대한 변경 또는 개질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 도메인이 부분적으로 또는 전체적으로 결실된 개질된 불변 영역이 고려된다. 일부 구현예에서, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)은 전체 CH2 도메인이 제거된 도메인 결실 구축물 또는 변이체( $\Delta$ CH2 구축물)를 포함할 것이다. 일부 구현예에서, 생략된 불변 영역 도메인은 이 부재하는 불변 영역에 의해 전형적으로 제공되는 문자 가요성의 일부를 제공하는 짧은 아미노산 스페이서(예를 들어, 10개의 잔기)에 의해 대체될 것이다.

[0179]

특정 구현예에서, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)은 각각의 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)의 힌지 영역에 직접적으로 CH3 도메인을 융합하도록 조작될 수 있음을 주의한다. 다른 구축물에서, 힌지 영역 및 개질된 CH2 및/또는 CH3 도메인 사이에 웹티드 스페이서를 제공하는 것은 바람직할 수 있다. 예를 들어, CH2 도메인이 결실되고, 나머지 (개질되거나 개질되지 않은) CH3 도메인이 5 내지 20개의 아미노산 스페이서를 이용하여 힌지 영역에 연결된, 적합한 구축물이 발현될 수 있다. 이러한 스페이서가 부가되어, 예를 들어, 불변 도메인의 조절 요소를 자유롭고 접근 가능하게 유지하거나, 또는 힌지 영역을 가요적이게 유지하도록 할 수 있다. 그러나 아미노산 스페이서는 일부 경우에 면역원성인 것으로 판명되어, 이 구축물에 대해 원치 않는 면역 반응을 유발할 수 있음을 주의해야 한다. 따라서, 특정 구현예에서, 이 구축물에 부가되는 임의의 스페이서는 상대적으로 비 면역원성이거나, 또는 심지어 완전히 생략되어, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)의 원하는 생화학적 품질을 유지할 것이다.

[0180]

본 발명의 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)은 소수의 또는 심지어 단일 아미노산의 부분적인 결실 또는 치환에 의해 제공될 수 있음이 인정될 것이다. 예를 들어, CH2 도메인의 선택된 영역에서의 단일 아미노산의 돌연변이는 실질적으로 Fc 결합을 감소시켜 종양 편재화를 증가시키기에 충분할 수 있다. 마찬가지로, 조절되는 이펙터 기능(예컨대, 보체 C1Q 결합)을 제어하는 하나 이상의 불변 영역 도메인의 그 부분을 단순히 결실시키는 것이 바람직할 수 있다. 불변 영역의 이러한 부분적인 결실은 대상 불변 영역 도메인과 관련된 기타 바람직한 기능을 온전하게 둔 채, 이러한 항체의 선택된 특징(혈청 반감기)을 개선할 수 있다. 나아가, 위에서 시사한 바와 같이, 개시된 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)의 불변 영역은 그에 따른 구축물의 프로파일을 증진시키는 하나 이상의 아미노산의 돌연변이 또는 치환을 통해 개질될 수 있다. 이러한 점에서, 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)의 입체배치 및 면역원성 프로파일을 실질적으로 유지하면서, 보존된 결합 자리에 의해 제공되는 활성(예를 들어, Fc 결합)을 방해하는 것이 가능할 수 있다. 특정 구현예는 이펙터 기능의 감소 또는 증가와 같은 바람직한 특성을 증진시키거나 더 많은 글루코코르티코이드 수용체 작용제 부착을 제공하기 위하여 이러한 불변 영역에 하나 이상의 아미노산의 부가를 포함할 수 있다. 이러한 구현예에서, 선택된 불변 영역 도메인으로부터 유래된 특정 서열을 삽입 또는 복제하는 것이 바람직할 수 있다.

[0181]

본 발명의 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)은 면역원성을 감소시키도록, 즉, 항-약물 면역 반응(ADA)을 감소시키도록 개질될 수 있음이 인정될 것이다. 그렇게 하는 방법은 예를 들어, 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함되는, WO 2015/073884에 개시되어 있다.

[0182]

본 발명은 본 설명에 기재된 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)에 대해 실질적으로 상동인 변이체 및 균등물을 추가적으로 포함한다. 이들은, 예를 들어, 보존적 치환 돌연변이, 즉, 비슷한 아미노산에 의한 하나 이상의 아미노산의 치환을 함유할 수 있다. 예를 들어, 보존적 치환은 예를 들어, 하나의 산성 아미노산을 또 다른 산성 아미노산으로, 하나의 염기성 아미노산을 또 다른 염기성 아미노산으로, 또는 하나의 중성 아미노산을 또 다른 중성 아미노산으로 치환하는 것과 같이, 아미노산을 동일한 일반 부류 내에서의 또 다른 아미노산으로 치환하는 것을 지칭한다. 보존적 아미노산 치환으로 의도하는 바는 당해 분야에 잘 알려져 있다.

[0183]

본 발명의 폴리펩티드는 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질의 재조합 폴리펩티드, 천연 폴리펩티드, 또는 합성 폴리펩티드일 수 있다. 본 발명의 일부 아미노산 서열은 단백질의 구조 또는 기능의 상당한 영향 없이 달라질 수 있다는 점은 당해 분야에서 인정될 것이다. 따라서, 본 발명은 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질의 실질적인 활성을 보여주거나 이의 영역들을 포함하는 폴리펩티드의 변형을 추가적으로 포함한다. 이러한 돌연변이체는 결실, 삽입, 역전, 반복 및 유형 치환을 포함한다.

[0184]

이러한 폴리펩티드 및 유사체는 정상적으로는 이러한 단백질의 일부분이 아닌 부가적인 화학적 모이어티를 함유하도록 추가적으로 개질될 수 있다. 그러한 유도체화된 모이어티는 단백질의 용해도, 생물학적 반감기 또는 흡수를 개선할 수 있다. 이러한 모이어티는 또한, 단백질의 임의의 바람직한 부작용을 감소시키거나 제거할 수 있다. 그러한 모이어티에 대한 개요는 문헌[REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 20th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000)]에서 찾아볼 수 있다.

[0185]

본 설명에 기술된 이러한 단리된 펩티드는 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 생산될 수 있다. 이러한 방법은 직접적인 단백질 합성 방법에서부터, 단리된 폴리펩티드 서열을 암호화하는 DNA 서열을 구축하고 적합한 형질전환 숙주에서 그러한 서열을 발현시키는 방법에까지 이른다. 일부 구현예에서, DNA 서열은 관심있는 야생형의 단백질을 암호화하는 DNA 서열을 분리하거나 합성함으로써 재조합 기술을 이용하여 구축된다. 선택적으로, 이러한 서열은 부위 특이적 돌연변이 유도에 의해 돌연변이화되어 이의 기능적 유사체를 제공할 수 있다. 예컨대, Zoeller et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 81:5662-5066 (1984) 미국 특허번호 4,588,585 참조.

[0186]

일부 구현예에서 관심있는 폴리펩티드를 암호화하는 DNA 서열은 올리고뉴클레오티드 합성기를 이용하는 화학적 합성에 의해 구축된다. 이러한 올리고뉴클레오티드는 원하는 폴리펩티드의 아미노산 서열 및, 관심있는 재조합 폴리펩티드가 생산될 숙주 세포에서 선호되는 그러한 서열들을 선택하는 것을 기반으로 하여 설계될 수 있다. 표준적인 방법이 단리된 관심 폴리펩티드를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드 서열을 합성하는 데 적용될 수 있다. 예를 들어, 완전한 아미노산 서열이 역번역된 유전자를 구축하는 데 이용될 수 있다. 나아가, 특정 단리된 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 DNA 올리고머가 합성될 수 있다. 예를 들어, 원하는 폴리펩티드의 부분을 암호화하는 몇몇 작은 올리고뉴클레오티드가 합성된 다음, 연결될 수 있다. 개별적인 올리고뉴클레오티드는 전형적으로 상보성 어셈블리를 위한 5' 또는 3' 오버행을 함유한다.

[0187]

(합성, 부위 특이적 돌연변이 유도 또는 다른 방법에 의해) 일단 조립되면, 관심있는 특정 단리된 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열은 발현 벡터 내로 삽입되고, 원하는 숙주에서 단백질의 발현에 적절한 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결될 것이다. 적절한 어셈블리는 뉴클레오티드 염기서열 결정, 제한효소 맵핑 및 적합한 숙주에서 생물학적으로 활성이 있는 폴리펩티드의 발현에 의해 확인될 수 있다. 당해 분야에서 잘 알려져 있는 바와 같이, 숙주에서 형질감염된 유전자의 높은 발현 수준을 획득하기 위해, 유전자는 선택된 발현 숙주에서 기능적인 전사 및 번역 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결되어야 한다.

[0188]

특정 구현예에서, 재조합 발현 벡터는 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)을 암호화하는 DNA를 증폭시키고 발현시키는 데 이용된다. 재조합 발현 벡터는 포유류, 미생물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래된 적합한 전사 또는 번역 조절 요소에 작동 가능하게 연결된, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)의 폴리펩티드 사슬을 암호화하는 합성 또는 cDNA 유래 DNA 단편을 갖는 복제 가능한 DNA 구축물이다. 전사 단위는 일반적으로 (1) 유전자 발현에서 조절하는 역할을 맡는 유전적 요소 또는 요소들, 예를 들면, 전사 프로모터 또는 인핸서, (2) mRNA로 전사되고 단백질로 번역되는 구조적 또는 암호화 서열 및 (3) 적절한 전사 및 번역 개시 및 종결 서열,의 어셈블리를 포함한다. 이러한 조절 요소는 전사를 제어하는 오퍼레이터 서열을 포함할 수 있다. 통상적으로 복제 기점이 부여한, 숙주에서 복제하는 능력 및 형질전환체의 인식을 용이하게 하는 선별 유전자가 부가적으로 포함될 수 있다. DNA 영역은

그것들이 서로에 대해 기능적으로 관련이 있을 때 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 신호 펩티드(분비성 리더)에 대한 DNA가, 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전구체로서 발현될 경우, 신호 펩티드(분비성 리더)에 대한 DNA는 이러한 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동 가능하게 연결되거나; 프로모터가 서열의 전사를 제어할 경우, 이러한 프로모터는 이러한 코딩 서열에 작동 가능하게 연결되거나; 리보솜 결합 자리가 번역을 허용하도록 배치될 경우, 리보솜 결합 자리는 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된다. 효모 발현 시스템으로 의도된 구조적 요소는 숙주 세포에 의한 번역된 단백질의 세포 외 분비를 가능하게 하는 리더 서열을 포함한다. 대안적으로, 재조합 단백질이 리더 또는 운반 서열 없이 발현될 경우, 그것은 N 말단 메티오닌 잔기를 포함할 수 있다. 이 잔기는 선택적으로, 최종 생성물을 제공하기 위해, 발현된 재조합 단백질로부터 나중에 절단될 수 있다.

[0189] 발현 제어 서열과 발현 벡터의 선택은 숙주의 선택에 의존할 것이다. 매우 다양한 발현 숙주/벡터 조합이 이용될 수 있다. 진핵 숙주에 유용한 발현 벡터는 예를 들어, SV40, 소 유두종 바이러스, 아데노바이러스 및 시토메갈로바이러스로부터의 발현 제어 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 세균 숙주에 유용한 발현 벡터는 pCR 1, pBR322, pMB9 및 이들의 유도체를 비롯한 공지된 세균 플라스미드, 예를 들면, 대장균으로부터의 플라스미드, 더욱 넓은 숙주 범위 플라스미드, 예를 들면, M13과 실모양 단일 가닥 DNA 파지를 포함한다.

[0190] 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)의 발현에 적합한 숙주 세포는 적절한 프로모터의 제어 하의 원핵생물, 효모, 곤충 또는 고등 진핵 세포를 포함한다. 원핵생물은 그람 음성 또는 그람 양성 생물체, 예를 들어 대장균 또는 바실루스를 포함한다. 고등 진핵 세포는 포유류 기원의 확립 세포주를 포함한다. 무세포 번역 시스템 또한, 이용될 수 있었다. 세균, 균류, 효모 및 포유류 세포 숙주에서의 이용을 위한 적절한 클로닝과 발현 벡터는 Pouwels 등 (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., 1985)이 기술하고 있으며, 이의 관련된 개시 내용은 본 설명에 참조로 포함된다. 항체 생산을 비롯한, 단백질 생산 방법에 관한 추가적인 정보는 예컨대, 미국 특허 공개번호 2008/0187954, 미국 특허번호 6,413,746과 6,660,501, 그리고 국제 특허 공개번호 WO 04009823에서 찾아볼 수 있고, 이를 각각은 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함된다.

[0191] 다양한 포유류 또는 곤충 세포 배양 시스템 또한, 재조합 단백질을 발현시키기 위해 유리하게 이용된다. 포유류 세포에서 재조합 단백질의 발현이 수행될 수 있는데, 그 이유는 이런 단백질이 일반적으로 정확하게 접히고, 적절하게 개질되고, 그리고 완전하게 기능적이기 때문이다. 적합한 포유류 숙주 세포주의 예는 HEK-293 및 HEK-293T, Gluzman(Cell 23:175, 1981)이 기술한 원숭이 신장 세포의 COS-7 라인, 그리고 예를 들어, L 세포, C127, 3T3, 중국 햄스터 난소(CHO), HeLa와 BHK 세포주를 비롯한 기타 세포주를 포함한다. 포유류 발현 벡터는 전사되지 않은 요소, 예를 들면, 복제 기점, 발현되는 유전자에 연결된 적합한 프로모터와 인핸서, 그리고 기타 5' 또는 3' 측면의 전사되지 않은 서열, 그리고 5' 또는 3' 번역되지 않은 서열, 예를 들면, 필요한 리보솜 결합 자리, 폴리아데닐화 자리, 스플라이스 공여자와 수용자 자리, 그리고 전사 종결 서열을 포함할 수 있다. 곤충 세포에서 이종 단백질 생산을 위한 배콜로바이러스 시스템은 문헌[Luckow and Summers, Bio/Technology 6:47 (1988)]에 의해 검토되었다.

[0192] 형질전환된 숙주에 의해 생산된 단백질은 임의의 적절한 방법에 따라 정제될 수 있다. 이러한 표준적인 방법은 크로마토그래피(예컨대, 이온 교환, 친화성 및 크기별 분류 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차별적 용해도, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 기타 표준적인 기술을 포함한다. 친화성 태그, 예를 들면, 핵사히스티딘, 말토오스 결합 도메인, 인플루엔자 피막 서열 및 글루타티온-S-전달효소가 단백질에 부착되어, 적절한 친화성 컬럼 통과에 의해 용이하게 정제될 수 있게 한다. 단리된 단백질은 또한, 단백질 가수분해, 핵 자기 공명 및 x-선 결정학과 같은 기술을 이용하여 물리적으로 특성이 분석될 수 있다.

[0193] 예를 들어, 재조합 단백질을 배양 배지 내로 분비하는 시스템으로부터 상층액은 먼저, 상업적으로 이용 가능한 단백질 농축 필터, 예를 들면, 앤미콘(Amicon) 또는 밀리포어 펠리콘(Millipore Pellicon) 한외여과 단위를 이용하여 농축될 수 있다. 농축 단계 이후에, 농축물이 적합한 정제 매트릭스에 적용될 수 있다. 대안적으로, 음이온 교환 수지, 예를 들면, 펜던트 디에틸아미노에틸(DEAE) 기를 갖는 매트릭스 또는 기질이 이용될 수 있다. 매트릭스는 아크릴아미드, 아가로스, 엑스트란, 셀룰로스 또는 단백질 정제에 통상적으로 이용되는 기타 유형일 수 있다. 대안적으로, 양이온 교환 단계가 이용될 수 있다. 적합한 양이온 교환체는 설포프로필 또는 카르복시 메틸 기를 포함하는 다양한 불용성 매트릭스를 포함한다. 최종적으로, 소수성 RP-HPLC 매체, 예를 들면, 펜던트 메틸 또는 기타 지방족 기를 갖는 실리카 겔을 이용한 하나 이상의 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC) 단계가 항-TNF 단백질(예컨대, 전체 길이 항체, 항체의 항원 결합 단편, 또는 가용성 TNF 수용체 단백질)을 추가적으로 정제하는 데 이용될 수 있다. 다양한 조합의, 전술한 정제 단계의 일부 또는 전부가 균질한 재조합 단

백질을 제공하는 데에도 이용될 수 있다.

[0194] 세균 배양에서 생산된 재조합 단백질은 예로서, 세포 펠렛으로부터 초기 추출, 그 이후에 하나 또는 이상의 농축, 염석, 수성 이온 교환 또는 크기 배제 크로마토그래피 단계에 의해 단리될 수 있다. 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)가 최종 정제 단계를 위해 이용될 수 있다. 재조합 단백질의 발현에 이용되는 미생물 세포는 동결-해동 사이클링, 초음파 처리, 기계적 파괴, 또는 세포 용해제 이용을 비롯한 임의의 편리한 방법으로 파괴될 수 있다.

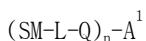
[0195] 항체, 이의 항원 결합 단편 및 항-TNF 알파 단백질을 정제하기 위한, 당해 분야에서 공지된 방법은 예로서, 미국 특허 공개번호 2008/0312425, 2008/0177048, 그리고 2009/0187005에서 기술된 것들도 포함하며, 이들 각각은 그 전체가 본 설명에 참조로서 포함된다.

### III. 글루코코르티코이드 수용체를 함유하는 면역접합체

[0197] 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 함유하는 면역접합체는 본 설명에 제공된다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 면역접합체는 Fc 감마 수용체에 결합한다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 면역접합체는 GRE 막관통 TNF-알파 리포터 분석법(본 설명에서 사용되는 "GRE 막관통 TNF-알파 리포터 분석법"은 아래 실시예 79에서 사용되는 분석법을 지칭한다)에서 활성이 있다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 면역접합체는 L929 분석법(본 설명에서 사용되는 "L929 분석법"은 아래 실시예 82에서 사용되는 분석법을 지칭한다)에서 활성이 있다. 일부 구현예에서, 본 설명에 제공된 면역접합체는 면역접합체 내의 단백질(예컨대, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 가용성 수용체) 단독과 비교하여 감소된 면역원성(감소된 항-약물 면역 반응(ADA))을 보여준다.

[0198] 일 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다:

[화학식 I-a]



[0201] 화학식에서,

[0202]  $A^1$ 은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질이고;

[0203] L은 링커이며;

[0204] Q는 헤테로2작용 기 또는 헤�테로3작용 기; 또는

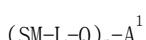
[0205] Q는 부존재하고;

[0206] n은 1 내지 10이고;

[0207] SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이다.

[0208] 일 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다:

[화학식 I-a]



[0211] 화학식에서,

[0212]  $A^1$ 은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 항체, an 항-TNF 알파 단클론 항체, 또는 아달리무맙이고;

[0213] L은 링커이며;

[0214] Q는 헤�테로2작용 기 또는 헤�테로3작용 기; 또는

[0215] Q는 부존재하고;

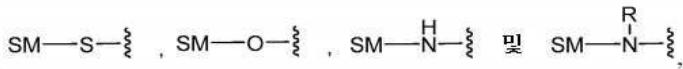
[0216] n은 1 내지 10이고;

[0217] SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이다.

[0218] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되며,

SM은 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이다.

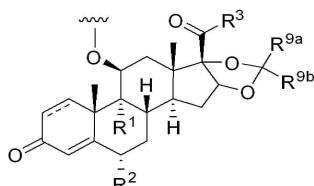
[0219] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되며, SM은 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며:



[0220] [0221] 이때, 황, 산소 또는 질소 원자는 글루코코르티코스테로이드의 C- 또는 D-고리에 직접적으로 또는 간접적으로 부착되고, R은 C<sub>1-4</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, 황, 산소 또는 질소 원자는 글루코코르티코스테로이드의 D-고리에 직접적으로 또는 간접적으로 부착된다.

[0222] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되며, SM은 화학식 II-a를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며:

[0223] [화학식 II-a]



[0224] [0225] 화학식 II-a에서,

[0226] R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0227] R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0228] R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -OH(또는 하이드록시), -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SCH<sub>2</sub>CN,

[0229]

선택되고;

[0230] R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0231] R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

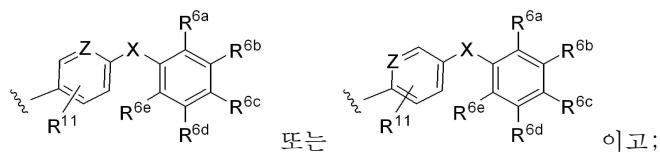
[0232] R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0233] R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 독립적으로 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 선택되고;

[0234] R<sup>9a</sup>는 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0235] R<sup>9b</sup>는 수소 및 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0236] R<sup>9a</sup>는



또는 Ⓡ고;

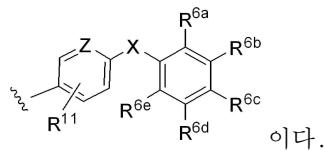
[0238]  $R^{9b}$ 는 수소 또는 메틸이고;[0239] X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$  및  $-C\equiv$   
C-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0240] X는 부존재하고;

[0241] t는 1 또는 2이고;

[0242] Z는  $=CH-$ ,  $=C(OH)-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;[0243] 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;[0244]  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;[0245]  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;[0246]  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;[0247]  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$  및  $R^{6e}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;[0248]  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;[0249]  $R^{11}$ 은 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

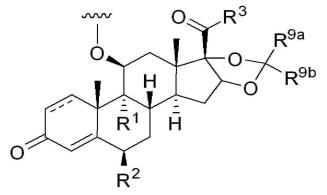
[0250] ---는 단일 또는 이중 결합을 나타낸다.

[0251] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고,  $R^{9a}$ 는

이다.

[0253] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a'를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고

[화학식 II-a']

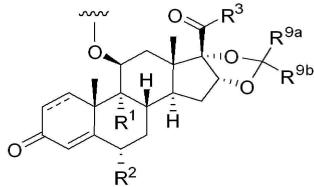


,

[0256] 화학식 II-a'에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^{9a}$ ,  $R^{9b}$  및 ---는 화학식 II-a와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0257] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-b를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고

[0258] [화학식 II-b]

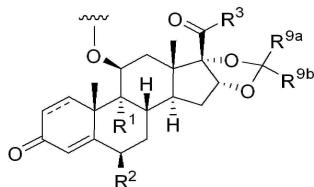


[0259]

[0260] 화학식 II-b에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup> 및 ---는 화학식 II-a와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0261] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-b'를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고

[0262] [화학식 II-b']

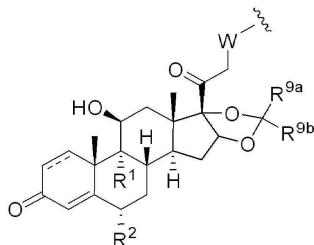


[0263]

[0264] 화학식 II-b'에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup> 및 ---는 화학식 II-a와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0265] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-c를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0266] [화학식 II-c]



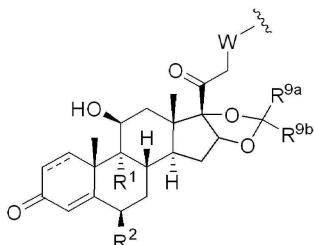
[0267]

[0268] 화학식 II-c에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup> 및 ---는 화학식 II-a와 관련하여 정의된 바와 같고;

[0269] W는 -O- 및 -S-로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, W는 -O-이다. 또 다른 구현예에서, W는 -S-이다.

[0270] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-c'를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0271] [화학식 II-c']

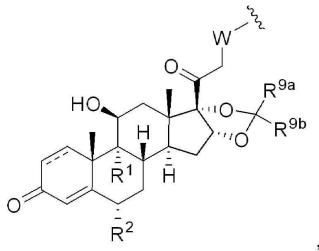


[0272]

[0273] 화학식 II-c'에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, W 및  $\equiv$ 는 화학식 II-c와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0274] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-d를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0275] [화학식 II-d]

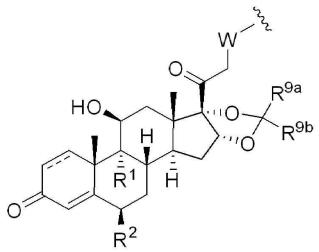


[0276] ,

[0277] 화학식 II-d에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, W 및  $\equiv$ 는 화학식 II-c와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0278] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-d'를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0279] [화학식 II-d']

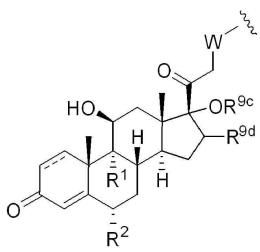


[0280] ,

[0281] 화학식 II-d'에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>9a</sup>, R<sup>9b</sup>, W 및  $\equiv$ 는 화학식 II-c와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0282] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-e를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0283] [화학식 II-e]



[0284] ,

[0285] 화학식 II-e에서,

[0286] R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, W 및  $\equiv$ 는 화학식 II-c와 관련하여 정의된 바와 같고;

[0287] R<sup>9c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬 및 -C(=O)R<sup>9e</sup>로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

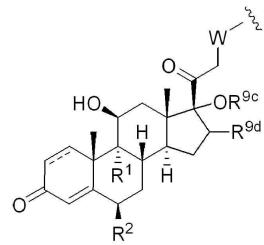
[0288] R<sup>9d</sup>는 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0289] R<sup>9e</sup>는 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로부터 선택된다.

[0290] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-e'를 갖는 글루

코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0291] [화학식 II-e']

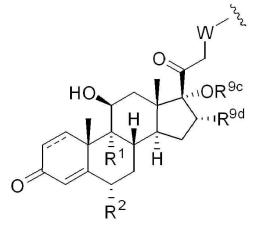


[0292] ,

[0293] 화학식 II-e'에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $W$ ,  $R^{9c}$ ,  $R^{9d}$  및  $\cdots$ 는 화학식 II-e와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0294] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-f를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0295] [화학식 II-f]



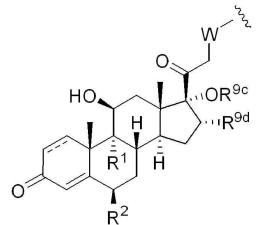
[0296] ,

[0297] 화학식 II-f에서,

[0298]  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^{9c}$ ,  $R^{9d}$ ,  $W$  및  $\cdots$ 는 화학식 II-e와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0299] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-f'를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0300] [화학식 II-f']



[0301] ,

[0302] 화학식 II-f'에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^{9c}$ ,  $R^{9d}$ ,  $W$  및  $\cdots$ 는 화학식 II-e와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0303] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-b를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데

[0304] [화학식 I-b]

[0305]  $(SM-L-Q)_n-A^2$

[0306] 화학식 I-b에서,

[0307]  $A^2$ 는 단백질이고;

[0308] L은 링커이며;

[0309] Q는 혜테로2작용 기 또는 혜테로3작용 기; 또는

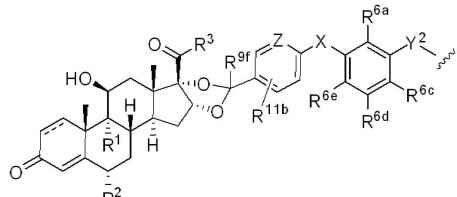
[0310] Q는 부존재하고;

[0311] n은 1 내지 10이고;

[0312] SM은 다음 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고:

[0313] (1) 화학식 II-1:

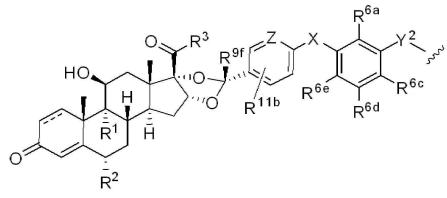
[0314] [화학식 II-1]



[0315];

[0316] (2) 화학식 II-m:

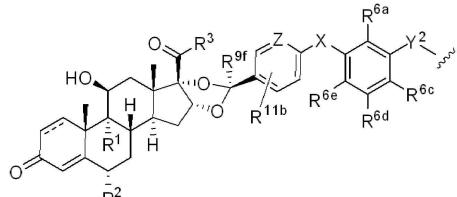
[0317] [화학식 II-m]



[0318];

[0319] (3) 화학식 II-n:

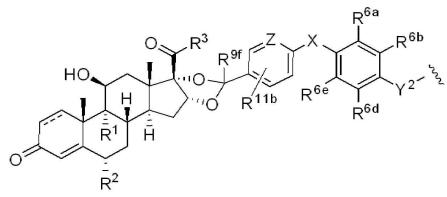
[0320] [화학식 II-n]



[0321];

[0322] (4) 화학식 II-o:

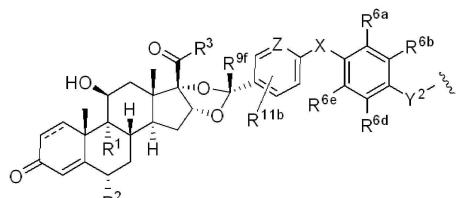
[0323] [화학식 II-o]



[0324];

[0325] (5) 화학식 II-p:

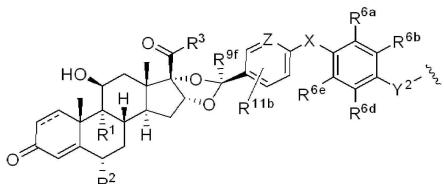
[0326] [화학식 II-p]



[0327]; 또는

[0328] (6) 화학식 II-q:

[0329] [화학식 II-q]



[0330]

,

[0331]

화학식에서,

[0332]

 $R^1$ 은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

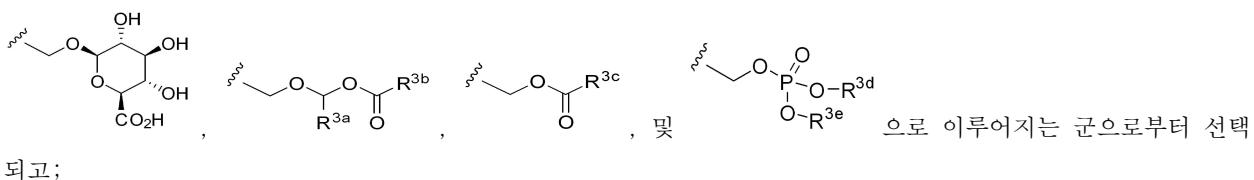
[0333]

 $R^2$ 는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0334]

 $R^3$ 은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2SH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$ ,  $-SCH_2CF_3$ ,  $-OH$ ,  $-OCH_2CN$ ,  $-OCH_2Cl$ ,  $-OCH_2F$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OCH_2CH_3$ ,  $-SCH_2CN$ ,

[0335]



되고;

[0336]

 $R^{3a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0337]

 $R^{3b}$ 는  $C_{1-4}$  알킬 및  $C_{1-4}$  알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0338]

 $R^{3c}$ 는 수소,  $C_{1-4}$  알킬,  $-CH_2OH$  및  $C_{1-4}$  알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0339]

 $R^{3d}$  및  $R^{3e}$ 는 독립적으로 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로부터 선택되고;

[0340]

 $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$  및  $R^{6e}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0341]

X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ (E 및 Z 이성질체 둘 모두를 포함) 및  $-C\equiv C-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; (이 때, X가  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$  또는  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ 일 때,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$  또는  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ 의 혜테로원자는 6원 고리에 부착될 수 있다, 즉,  $-CH_2S-$ 는  $-SCH_2-$ 와 같고,  $-CH_2O-$ 는  $-OCH_2-$ 와 같으며,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ 는  $-C(R^{8a})(R^{8b})N(H)-$ 와 같다); 또는

[0342]

X는 부존재, 즉, X는 화학 결합을 나타내고;

[0343]

 $Y^2$ 는  $-O-$ ,  $-S-$  및  $-N(R^{7a})-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0344]

 $Y^2$ 는 부존재, 즉,  $Y^2$ 는 화학 결합을 나타내고;

[0345]

t는 1 또는 2이고;

[0346]

Z는  $=CR^{11a}-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0347]

각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;

[0348]

 $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;

[0349]  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0350]  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0351]  $R^{7a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0352]  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0353]  $R^{9f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0354]  $R^{11a}$  및  $R^{11b}$ 는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0355] ---는 단일 또는 이중 결합을 나타낸다.

[0356] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-b를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데

[화학식 I-b]

[0358]  $(SM-L-Q)_n-A^2$

[0359] 화학식 I-b에서,

[0360]  $A^2$ 는 단백질이고;

[0361] L은 링커이며;

[0362] Q는 헤테로2작용 기 또는 헤�테로3작용 기; 또는

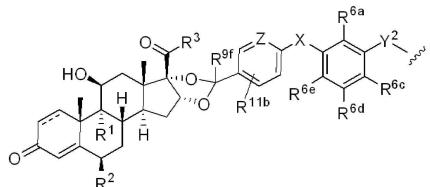
[0363] Q는 부존재하고;

[0364] n은 1 내지 10이고;

[0365] SM은 다음 중 임의의 하나를 갖는 1가 라디칼이고:

[0366] (1) 화학식 II-1':

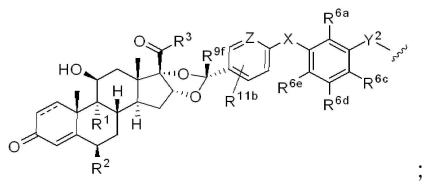
[0367] [화학식 II-1']



[0368];

[0369] (2) 화학식 II-m':

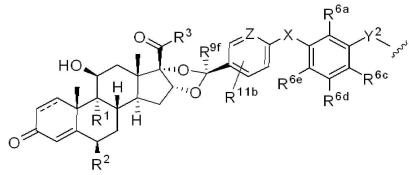
[0370] [화학식 II-m']



[0371];

[0372] (3) 화학식 II-n':

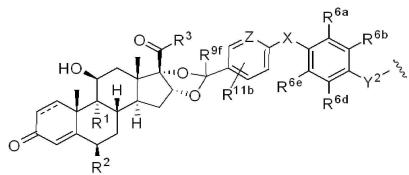
[0373] [화학식 II-n']



[0374] ;

[0375] (4) 화학식 II-o':

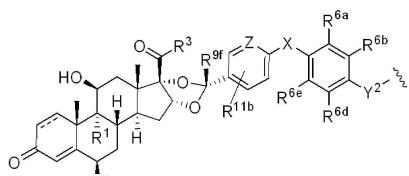
[화학식 II-o']



[0377] ;

[0378] (5) 화학식 II-p':

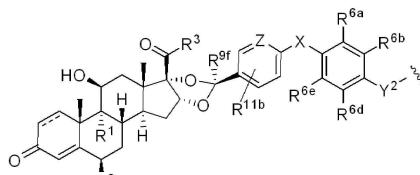
[화학식 II-p']



[0380] ; 또는

[0381] (6) 화학식 II-q':

[화학식 II-q']



[0383] ,

[0384] 화학식에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, ---, R<sup>6a</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>6e</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup>, Y<sup>2</sup>, X 및 Z는 화학식 II-1과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0385] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-b를 갖는 화합물이 본 설명에 개시되는데

[화학식 I-b]

[0387] (SM-L-Q)<sub>n</sub>-A<sup>2</sup>,

[0388] 화학식 I-b에서,

[0389] A<sup>2</sup>는 단백질이고;

[0390] L은 링커이며;

[0391] Q는 혼테로2작용 기 또는 혼테로3작용 기; 또는

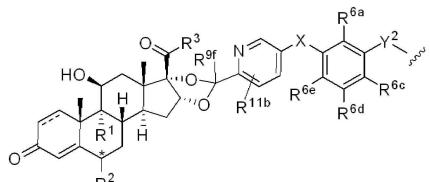
[0392] Q는 부존재하고;

[0393] n은 1 내지 10이고;

[0394] SM은 다음 중 임의의 하나를 갖는 1가 라디칼이고:

[0395] (1) 화학식 II-1":

[0396] [화학식 II-1"]

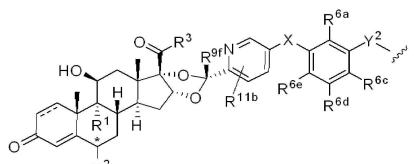


[0397]

;

[0398] (2) 화학식 II-m":

[0399] [화학식 II-m"]

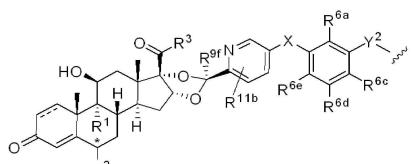


[0400]

;

[0401] (3) 화학식 II-n":

[0402] [화학식 II-n"]

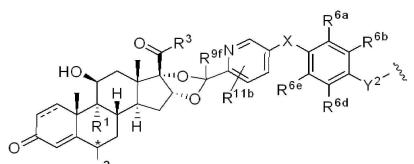


[0403]

;

[0404] (4) 화학식 II-o":

[0405] [화학식 II-o"]

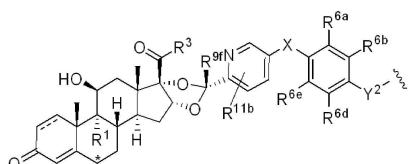


[0406]

;

[0407] (5) 화학식 II-p":

[0408] [화학식 II-p"]

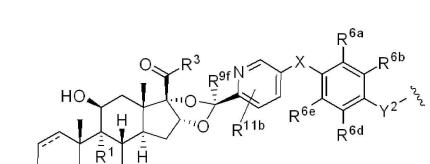


[0409]

; 또는

[0410] (6) 화학식 II-q":

[0411] [화학식 II-q"]



[0412]

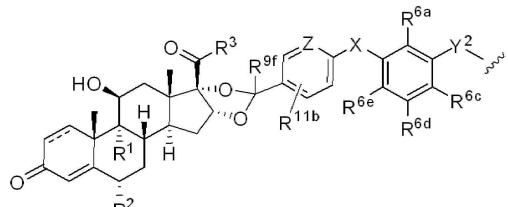
,

[0413] 화학식에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6a</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>6e</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup>, Y<sup>2</sup> 및 X는 화학식 II-1과 관련하여 정의된 바와 같고,

"\*"로 표시된 탄소 원자는 R<sup>2</sup>가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0414] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-1을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0415] [화학식 II-1]



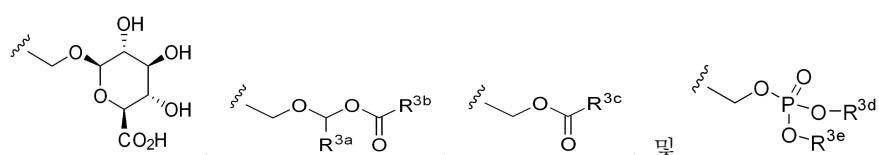
[0416],

[0417] 화학식 II-1에서,

[0418] R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0419] R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0420] R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -OH, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SCH<sub>2</sub>CN,



[0421] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0423] R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0424] R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0425] R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0426] R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 독립적으로 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 선택되고;

[0427] X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -NR<sup>5</sup>-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>O-, -N(H)C(R<sup>8a</sup>)(R<sup>8b</sup>)-, -CR<sup>4c</sup>=CR<sup>4d</sup>- 및 -C≡C-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0428] X는 부존재하고;

[0429] t는 1 또는 2이고;

[0430] Z는 =CR<sup>11a</sup>- 및 =N-으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0431] 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;

[0432] R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;

[0433] R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0434]  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0435]  $R^{6a}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$  및  $R^{6e}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0436]  $Y^2$ 는  $-O-$ ,  $-S-$  및  $-N(R^{7a})$ -으로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0437]  $Y^2$ 는 부존재하고;

[0438]  $R^{7a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0439]  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

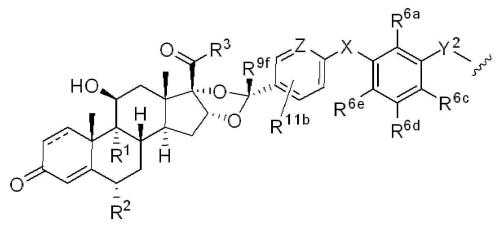
[0440]  $R^{9f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0441]  $R^{11a}$  및  $R^{11b}$ 는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0442]  $==$ 는 단일 또는 이중 결합을 나타낸다.

[0443] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-m을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[화학식 II-m]

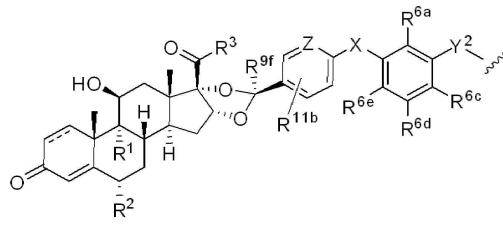


[0445]

[0446] 화학식 II-m에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $==$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{6e}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y^2$ ,  $X$  및  $Z$ 는 화학식 II-1과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0447] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-n을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[화학식 II-n]

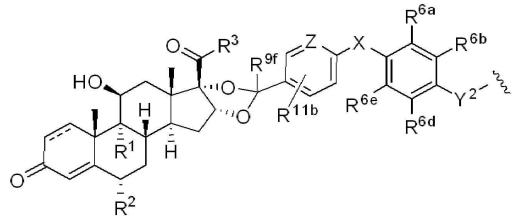


[0449]

[0450] 화학식 II-n에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $==$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{6e}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y^2$ ,  $X$  및  $Z$ 는 화학식 II-1과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0451] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-o를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[화학식 II-o]



[0453]

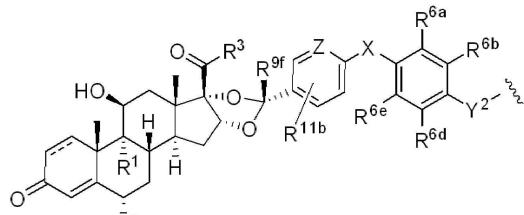
[0454] 화학식 II-**o**에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{6e}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y^2$ ,  $X$  및  $Z$ 는 화학식 II-1과 관련하여 정의된 바와 같고;  $R^{6b}$ 는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0455]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-**a** 또는 I-**b**를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-**p**를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0456]

[화학식 II-**p**]



[0457]

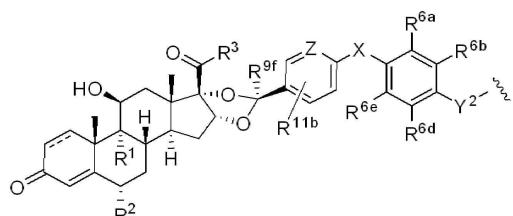
[0458] 화학식 II-**p**에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{6e}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y^2$ ,  $X$  및  $Z$ 는 화학식 II-**o**와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0459]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-**a** 또는 I-**b**를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-**q**를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며

[0460]

[화학식 II-**q**]



[0461]

[0462] 화학식 II-**q**에서,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{6e}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y^2$ ,  $X$  및  $Z$ 는 화학식 II-**o**와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0463]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-**a** 또는 I-**b**를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-**a**, II-**b**, II-**c**, II-**d**, II-**e**, II-**f**, II-**l**, II-**m**, II-**n**, II-**o**, II-**p**, 또는 II-**q** 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-**a'**, II-**b'**, II-**c'**, II-**d'**, II-**e'**, II-**f'**, II-**l'**, II-**m'**, II-**n'**, II-**o'**, II-**p'**, II-**q'**, II-**l"**, II-**m"**, II-**n"**, II-**o"**, II-**p"**, 또는 II-**q"** 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코이드스테로이드의 1가 라디칼이며,  $\equiv$ 는 이중 결합을 나타낸다.

[0464]

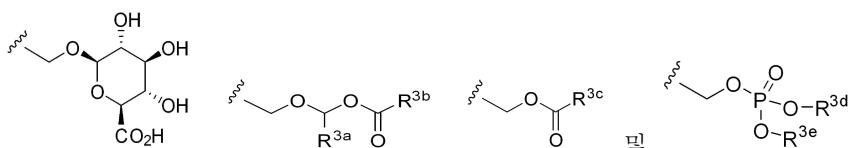
또 다른 구현예에서, 화학식 I-**a** 또는 I-**b**를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-**a**, II-**b**, II-**c**, II-**d**, II-**e**, II-**f**, II-**l**, II-**m**, II-**n**, II-**o**, II-**p**, 또는 II-**q** 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-**a'**, II-**b'**, II-**c'**, II-**d'**, II-**e'**, II-**f'**, II-**l'**, II-**m'**, II-**n'**, II-**o'**, II-**p'**, II-**q'**, II-**l"**, II-**m"**, II-**n"**, II-**o"**, II-**p"**, 또는 II-**q"** 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코이드스테로이드의 1가 라디칼이며,  $R^1$ 은 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0465] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코이드스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>2</sup>는 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0466] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F 및 -OH로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0467] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며,

[0468] R<sup>3</sup>은



[0469] [0469] 및 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0470] R<sup>3a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0471] R<sup>3b</sup>는 메틸, 에틸, 이소프로필, 이소부틸, 메톡시, 에톡시, 이소프로포시 및 이소부톡시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0472] R<sup>3c</sup>는 수소, 메틸, 에틸, -CH<sub>2</sub>OH, 메톡시, 에톡시 및 이소프로포시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0473] R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소, 메틸 및 에틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0474] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>5</sup> 및 R<sup>8a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0475] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Z는 =CH-이다.

[0476] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Z는 =N-이다.

[0477] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에

개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>6a</sup>, R<sup>6d</sup> 및 R<sup>6e</sup>는 수소이다.

[0478] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Y<sup>2</sup>는 -N(R<sup>7a</sup>)-이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7a</sup>는 수소이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7a</sup>는 메틸이다.

[0479] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며,

[0480] X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>S- 및 -N(H)CH(R<sup>8a</sup>)-로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0481] t는 1이고;

[0482] R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;

[0483] R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 시클로알킬을 형성하고;

[0484] R<sup>8a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, X는 -CH<sub>2</sub>-이다. 또 다른 구현예에서, X는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된다:



[0485]

[0486] 또 다른 구현예에서, X는 -O-이다. 또 다른 구현예에서, X는 -S-이다. 또 다른 구현예에서, X는 -CH<sub>2</sub>S-이다. 또 다른 구현예에서, X는 -N(H)CH<sub>2</sub>-이다. 또 다른 구현예에서, X는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된다:



[0487]

[0488] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-1, II-m, 또는 II-n 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-1', II-m', II-n', II-1'', II-m'', 또는 II-n'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>6c</sup>는 수소, -Cl, -OMe(또는 -OCH<sub>3</sub>) 및 -OH로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0489] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-o', II-p', II-q', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>6b</sup>는 수소, -Cl, -OMe(또는 -OCH<sub>3</sub>) 및 -OH로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0490] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에

개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>9f</sup>는 수소이다.

[0491] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>9f</sup>는 메틸이다.

[0492] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>11a</sup>는 수소 및 -OH로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

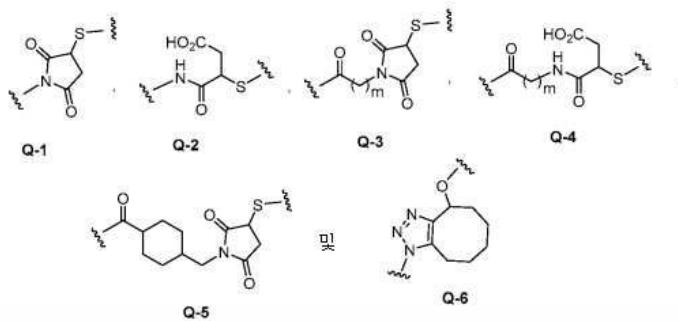
[0493] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, R<sup>11b</sup>는 수소이다.

[0494] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, L은 절단 가능한 링커인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, 절단 가능한 링커는 석신아미드, 아미드, 티오우레아, 티오에테르, 옥심, 또는 자기 희생 기, 또는 이의 조합을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 절단 가능한 링커는 웨პ티드를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 절단 가능한 링커는 트리웨პ티드를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 절단 가능한 링커는 디웨პ티드를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 절단 가능한 링커는 인산염 에스테르를 포함한다. 또 다른 구현예에서, 절단 가능한 링커는 피로인산염 디에스테르를 포함한다.

[0495] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Q는 부존재하는 화합물이 본 설명에 개시된다.

[0496] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Q는 헤테로2작용 기인 화합물이 본 설명에 개시된다.

[0497] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Q는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 헤테로2작용 기이고:



[0498]

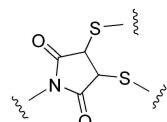
[0499] 이때,  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, Q는 Q-1, Q-2, Q-3 및 Q-4로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서, Q는 Q-3 및 Q-4로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서,  $m$ 은 2이다.

[0500]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Q는 해테로3작용 기인 화합물이 본 설명에 개시된다.

[0501]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, Q는



[0502]

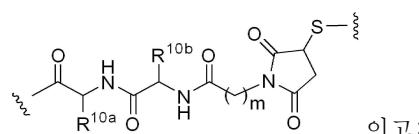
인 해테로3작용 기인 화합물이 본 설명에 개시된다.

[0503]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[0504]

[화학식 LQ-1]



[0505]

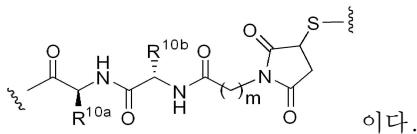
$m$ 은 2 또는 3이고;

[0506]

$R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 수소 및 선택적으로 치환된  $C_{1-6}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서,  $m$ 은 2이다. 또 다른 구현예에서,  $m$ 은 1이다. 또 다른 구현예에서, -L-Q-는

[0508]

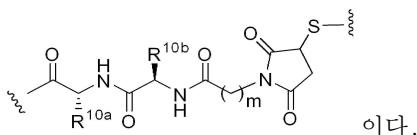
[화학식 LQ-2]



이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

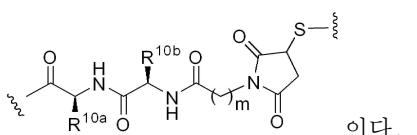
[화학식 LQ-3]



이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

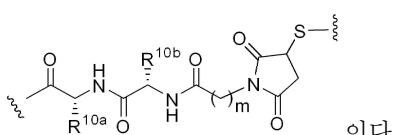
[화학식 LQ-4]



이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

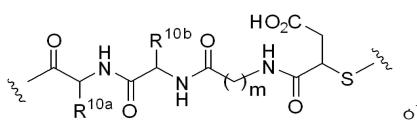
[화학식 LQ-5]



이다.

[0519] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[화학식 LQ-6]

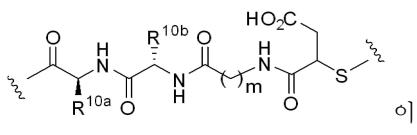


이고;

m은 2 또는 3이고;

[0523] R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, m은 2이다. 또 다른 구현예에서, -L-Q-는

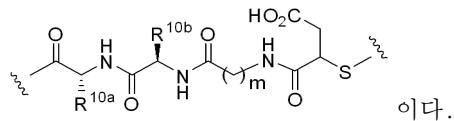
[화학식 LQ-7]



이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

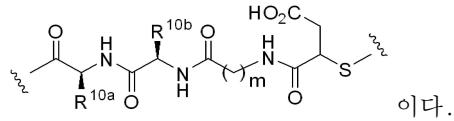
[화학식 LQ-8]



[0528] 이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

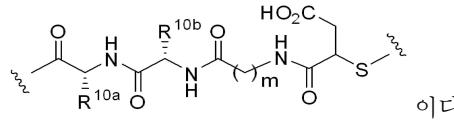
[화학식 LQ-9]



[0531] 이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

[화학식 LQ-10]

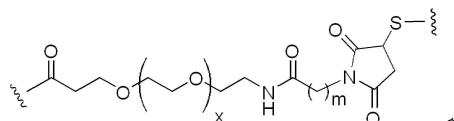


[0534] 이다.

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, L은 절단 불가능한 링커인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, 링커는 1개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 포함한다.

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[화학식 LQ-11]



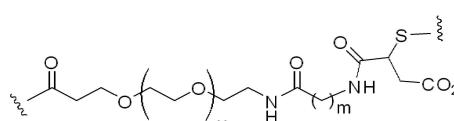
[0538] 이고;

m은 2 또는 3이고;

x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, m은 2이다.

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[화학식 LQ-12]



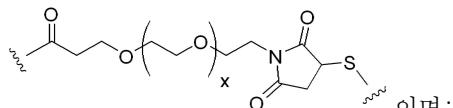
[0543] 이고;

m은 2 또는 3이고;

[0545] x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, m은 2이다.

[0546] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[화학식 LQ-13]

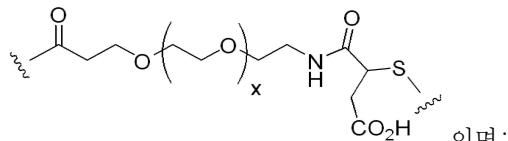


[0548] 이며;

[0549] x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인 화합물이 본 설명에 개시된다.

[0550] 제1항 내지 제47항 중 어느 한 항의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로서, -L-Q-는

[화학식 LQ-29]

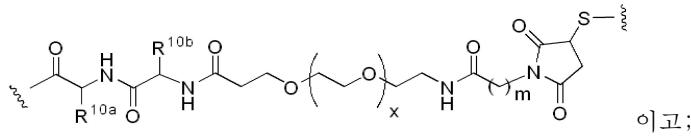


[0552] 이며;

[0553] x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인 화합물.

[0554] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[화학식 LQ-14]

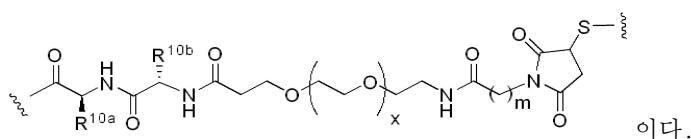


[0556] 이고;

[0557] m은 1 또는 2이고;

[0558] x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, -L-Q-는

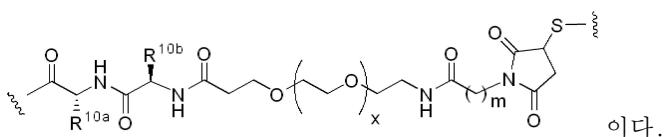
[화학식 LQ-15]



[0560] 이다.

[0561] 또 다른 구현예에서, -L-Q-는

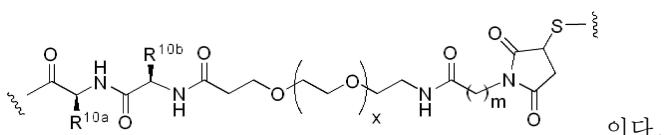
[화학식 LQ-16]



이다.

[0564] 또 다른 구현예에서, -L-Q-는

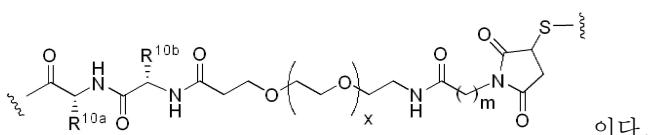
[화학식 LQ-17]



이다.

[0567] 또 다른 구현예에서, -L-Q-는

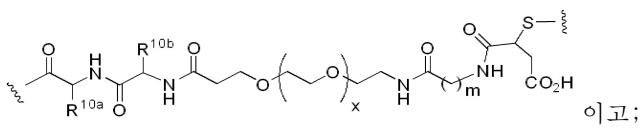
[화학식 LQ-18]



이다.

[0570] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[화학식 LQ-19]



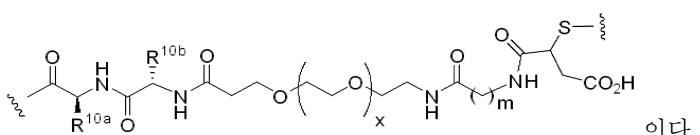
이고;

m은 1 또는 2이고;

[0574] x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물이 본 설명에 개시된다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

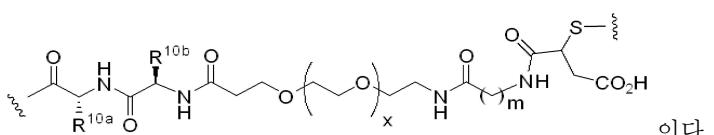
[화학식 LQ-20]



이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

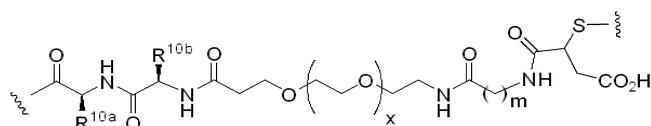
[화학식 LQ-21]



이다.

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

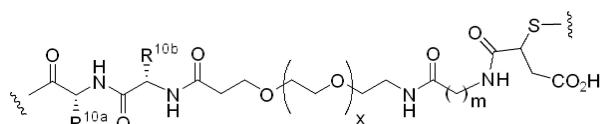
[화학식 LQ-22]



이다.

또 다른 구현 예에서,  $-L-0-$ 는

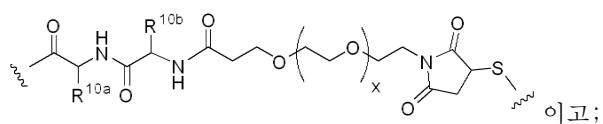
[화학식 LQ-23]



이다.

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -I-O-는

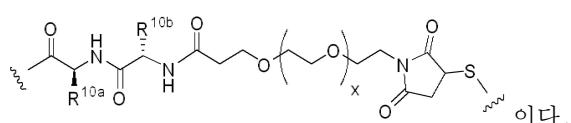
[ 화학식 LQ-24 ]



$x$ 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고;  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 수소 및 선택적으로 치환된  $C_{1-6}$  알킬로 이루어지는 코으로부터 돌립적으로 선택되는 것인 화합물이 본 설명에 개시된다.

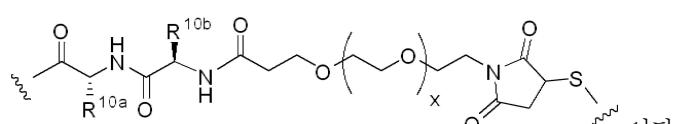
또 다른 구현 예에서  $-[-0-]$  는

[ 화학식 I.Q-25 ]



또 다른 구현 예에서,  $-l, -o-$  는

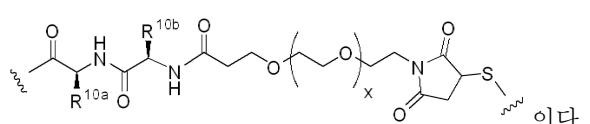
[화학식 LQ-26]



~이다.

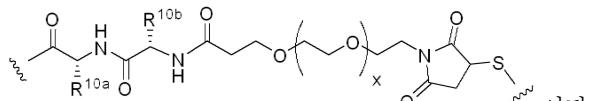
또 다른 구현 예에서  $-1 -0-$ 는

[ 화학식 ] 10-27]



또 다른 구현 예에서  $\neg I$ -0-는

[ 화학식 ] 0-28]



[0602]

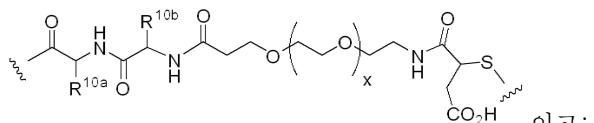
이다.

[0603]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는

[0604]

[화학식 LQ-30]



[0605]

이고;

[0606]

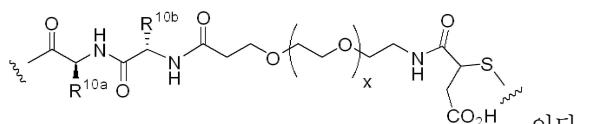
x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인 화합물이 본 설명에 개시된다.

[0607]

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

[0608]

[화학식 LQ-31]



[0609]

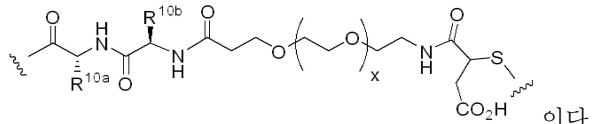
이다.

[0610]

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

[0611]

[화학식 LQ-32]



[0612]

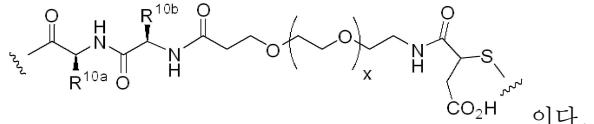
이다.

[0613]

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

[0614]

[화학식 LQ-33]



[0615]

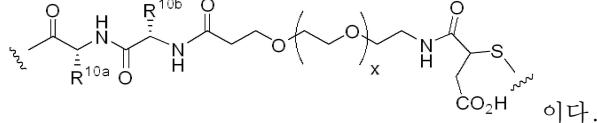
이다.

[0616]

또 다른 구현예에서, -L-Q-는

[0617]

[화학식 LQ-34]



[0618]

이다.

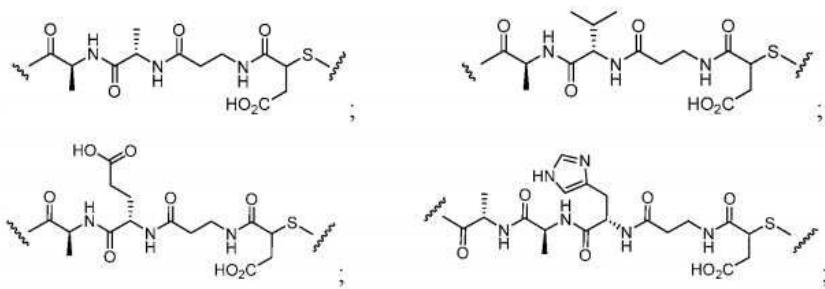
[0619]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, -L-Q-는 표 I의 화학 구조 중 임의의 하나인 화합물이 본 설명에 개

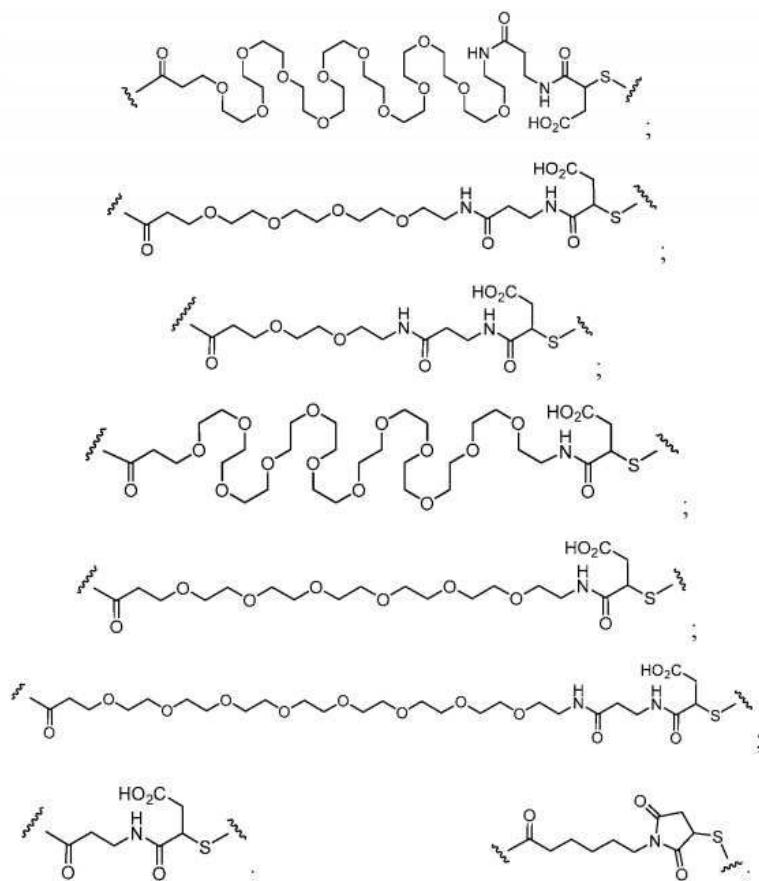
시된다:

[0620]

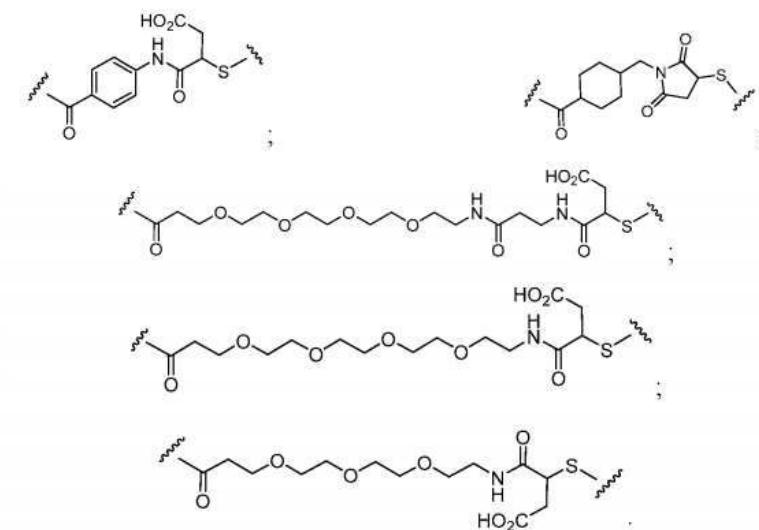
[표 I]



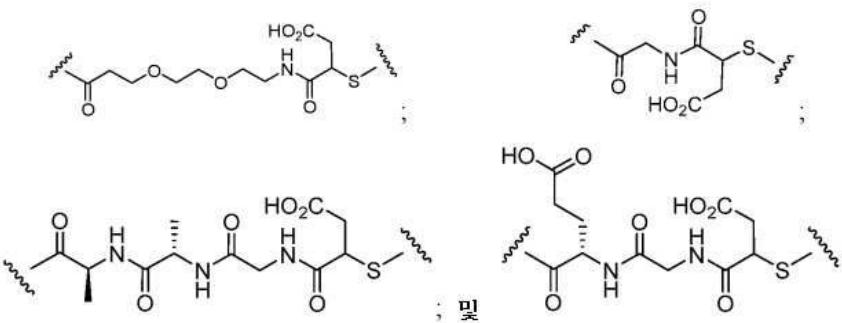
[0621]



[0622]



[0623]



[0624]

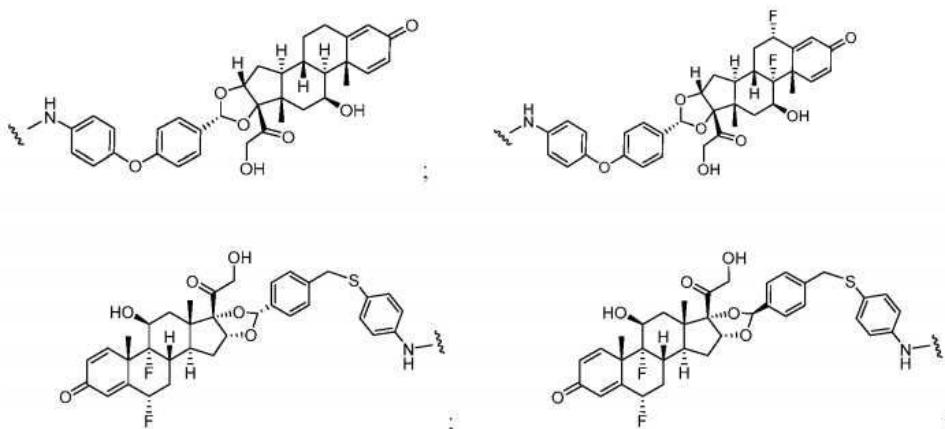
또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이며, n은 2 내지 8인 화합물이 본 설명에 개시된다. 또 다른 구현예에서, n은 1 내지 5이다. 또 다른 구현예에서, n은 2 내지 5이다. 또 다른 구현예에서, n은 1이다. 또 다른 구현예에서, n은 2이다. 또 다른 구현예에서 n은 3이다. 또 다른 구현예에서, n은 4이다. 또 다른 구현예에서, n은 5이다. 또 다른 구현예에서, n은 6이다. 또 다른 구현예에서, n은 7이다. 또 다른 구현예에서, n은 8이다.

[0625]

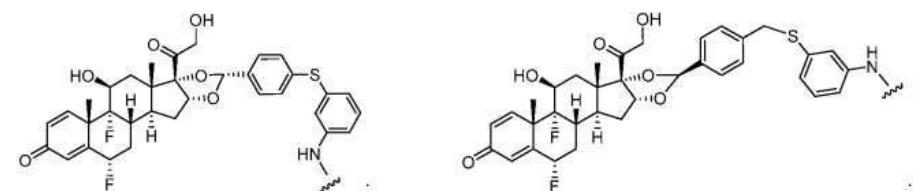
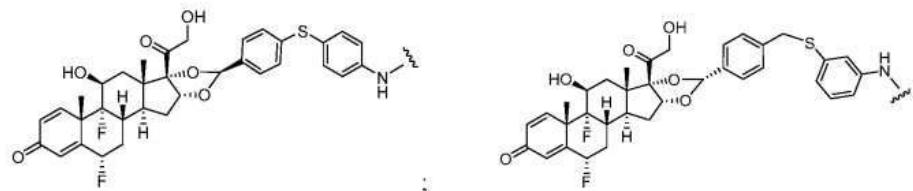
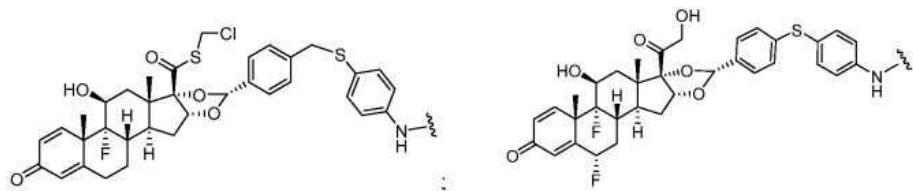
또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, SM은 표 II의 화학 구조 중 임의의 하나인 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이다.

[0627]

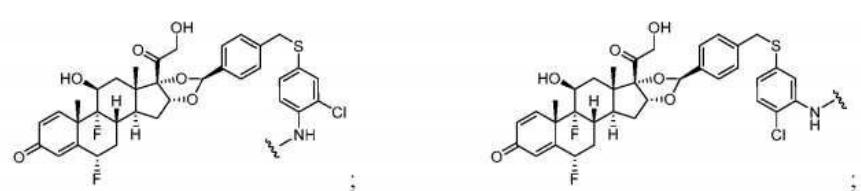
[표 II]



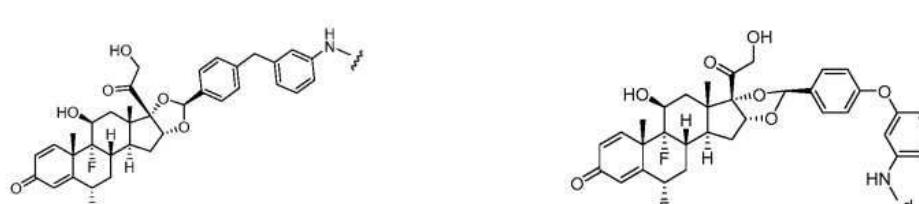
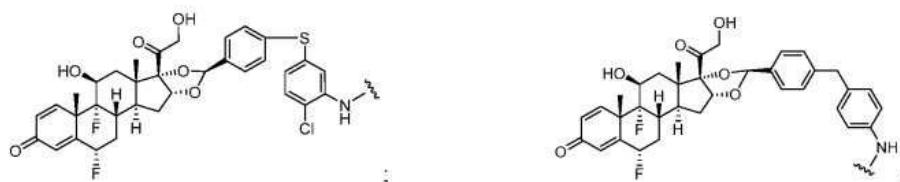
[0628]



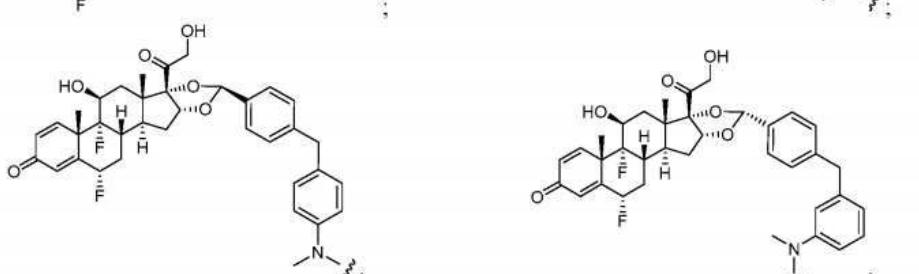
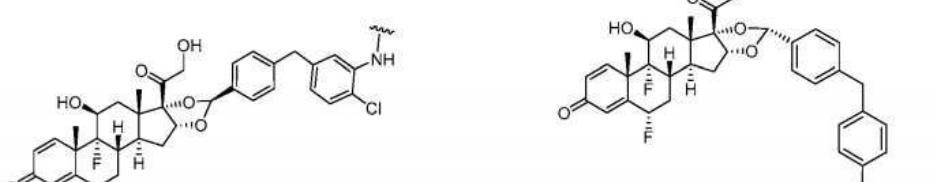
[0629]



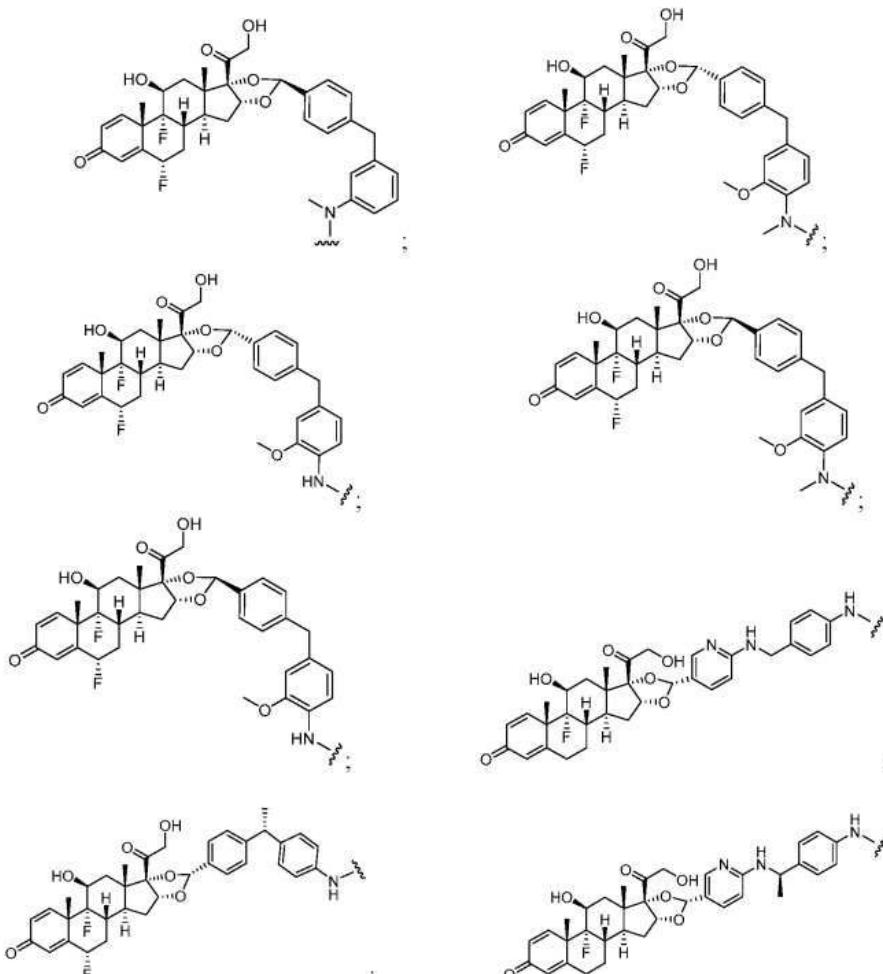
[0630]



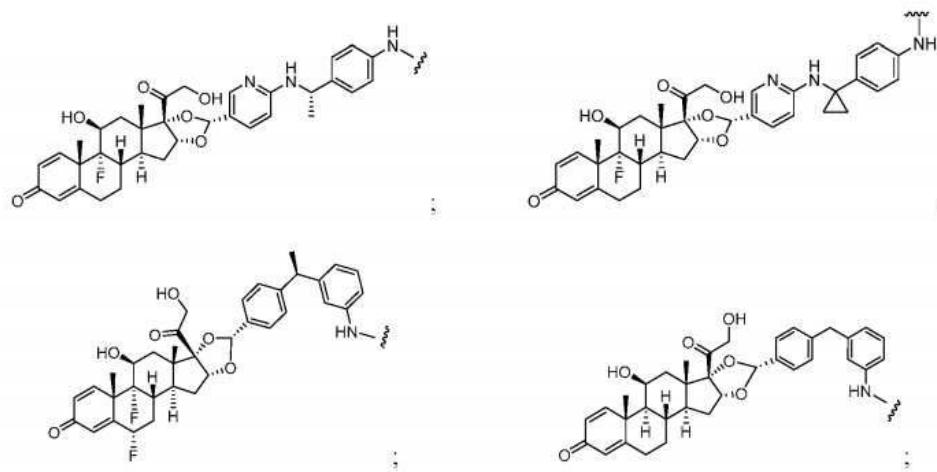
[0631]



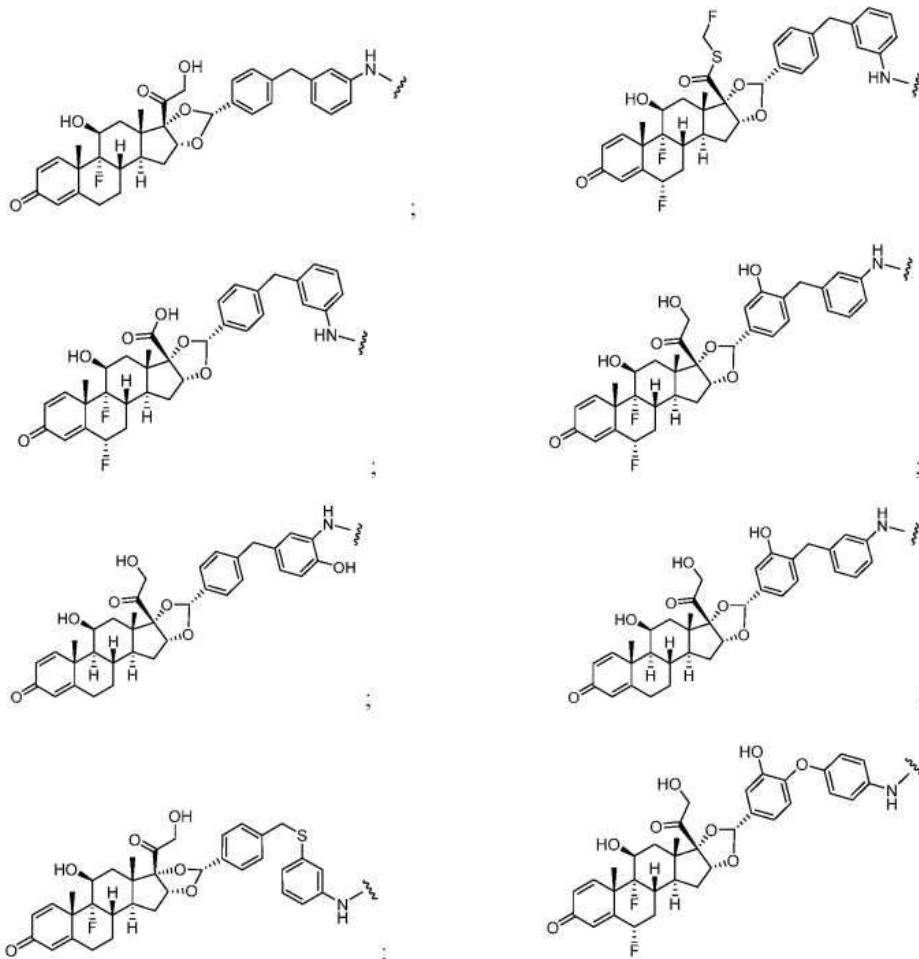
[0632]



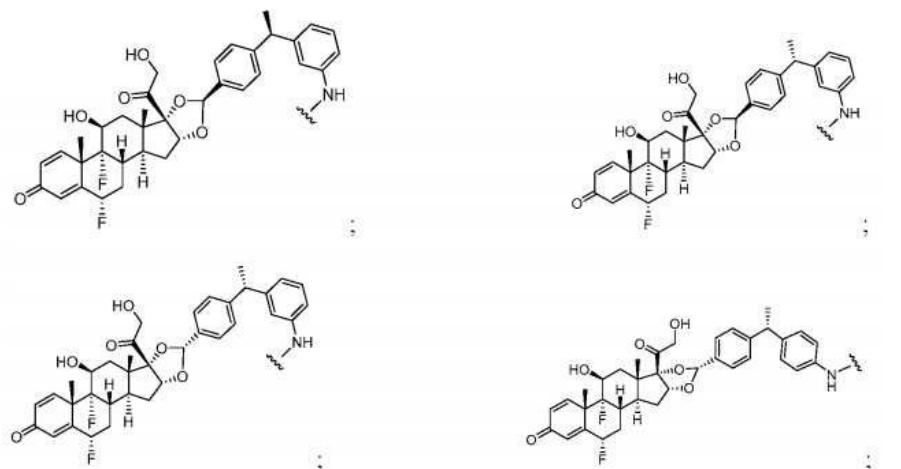
[0633]



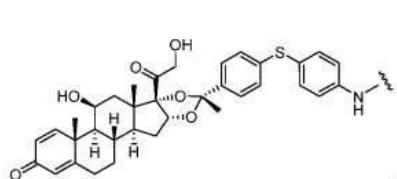
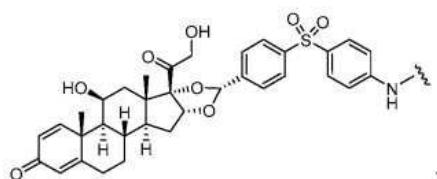
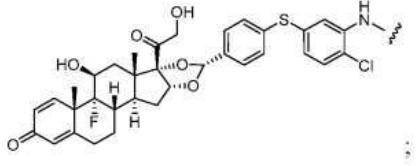
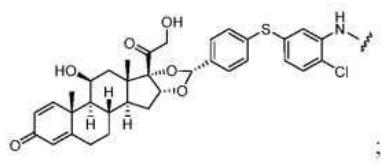
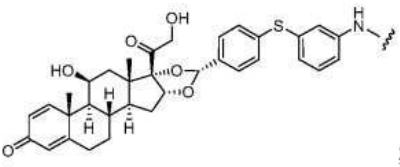
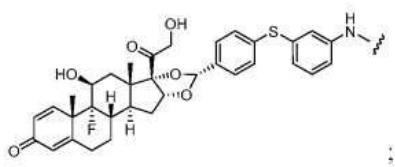
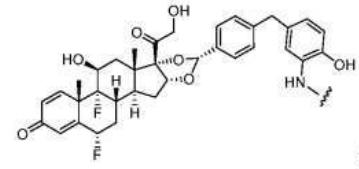
[0634]



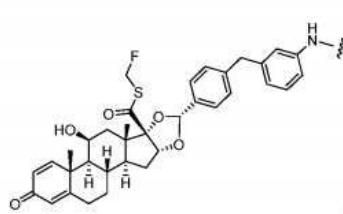
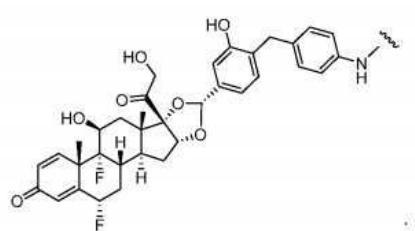
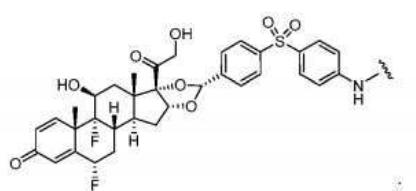
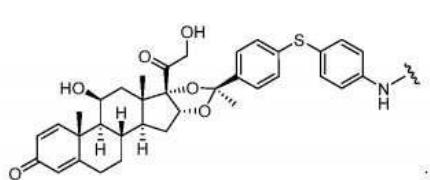
[0635]



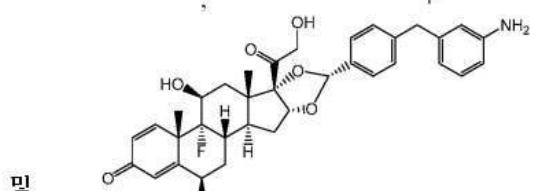
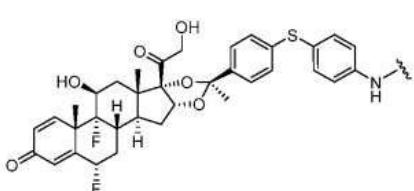
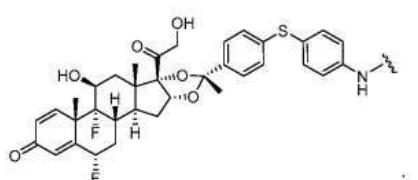
[0636]



[0637]



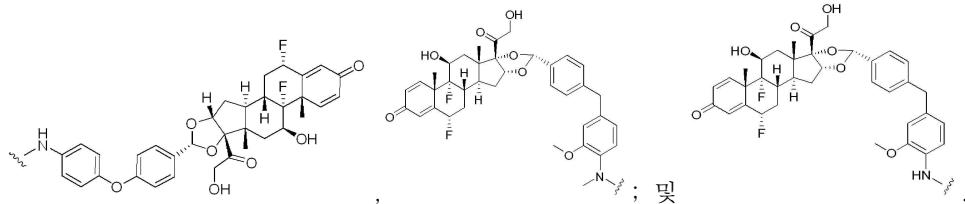
[0638]



[0639]

[0640]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a 또는 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되며, SM은 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이다:



[0641]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 항체 또는 이의 항원 결합 단편이거나 A<sup>2</sup>가 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.

[0643]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 인간 종양 폐사 인자(TNF) 알파 및/또는 뮤린 TNF 알파에 결합하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 인간 TNF 알파 및/또는 뮤린 TNF 알파에 결합하는 단백질이다.

[0644]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 가용성 종양 폐사 인자(TNF) 알파에 결합하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 가용성 TNF 알파에 결합하는 단백질이다.

[0645]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 막 결합 종양 폐사 인자(TNF) 알파에 결합하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 막 결합 TNF 알파에 결합하는 단백질이다.

[0646]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 항-인간 종양 괴사 인자(TNF) 항체를 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 항-TNF 항체를 포함하는 단백질이다.

[0647]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 항-종양 괴사 인자(TNF) 수용체 항체를 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 항-TNF 수용체 항체를 포함하는 단백질이다.

[0648]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 항-종양 괴사 인자(TNF) 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 항-TNF 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 단백질이다.

[0649]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 항-종양 괴사 인자(TNF) 수용체 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 항-TNF 수용체 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 항-TNF 알파 단백질이다.

[0650]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의

하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, 항원 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, 단쇄 Fv 또는 scFv, 이황화 결합된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgG $\Delta$ CH2, 미니바디, F(ab')3, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일 도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb2, (scFv)2, 또는 scFv-Fc로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0651] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뮤린, 키메라, 인간화 또는 인간 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.

[0652] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 가용성 종양 괴사 인자(TNF) 수용체를 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 가용성 TNF 수용체를 포함하는 단백질이다. 또 다른 구현예에서, 가용성 TNF 수용체는 가용성 p75 TNF 수용체이다.

[0653] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편은 (a) IgA 불변 도메인; (b) IgD 불변 도메인; (c) IgE 불변 도메인; (d) IgG1 불변 도메인; (e) IgG2 불변 도메인; (f) IgG3 불변 도메인; (g) IgG4 불변 도메인; 및 (h) IgM 불변 도메인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 불변 도메인을 포함하거나 이의 단편이다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 불변 도메인은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 중쇄 불변 도메인은 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함한다.

[0654] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-1'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편은 (a) Ig 카파 불변 도메인 및 (b) Ig 람다 불변 도메인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 불변 도메인을 포함하거나 이의 단편이다.

[0655]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체의 TNF-알파에 대한 결합을 경쟁적으로 억제하거나 A<sup>2</sup>가 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체의 TNF-알파에 대한 결합을 경쟁적으로 억제한다.

[0656]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체와 동일한 TNF-알파 에피토프에 결합하거나, A<sup>2</sup>가 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체와 동일한 TNF-알파 에피토프에 결합한다.

[0657]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, 항-TNF 알파 단백질은 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0658]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 각각 서열번호 3 또는 6, 서열번호 4 및 서열번호 5의 가변 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열 및 각각 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 34의 가변 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하거나, A<sup>2</sup>가 각각 서열번호 3 또는 6, 서열번호 4 및 서열번호 5의 가변 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열 및 각각 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 34의 가변 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함한다.

[0659]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-

q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 서열번호 50의 가변 중쇄 서열 및 서열번호 59의 가변 경쇄 서열을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 서열번호 50의 가변 중쇄 서열 및 서열번호 59의 가변 경쇄 서열을 포함한다.

[0660] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>은 TNF 베타에 결합하지 않거나 A<sup>2</sup>는 TNF 베타에 결합하지 않는다.

[0661] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>은 TNF 베타에 결합하거나 A<sup>2</sup>가 TNF 베타에 결합한다.

[0662] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이  $1\times 10^{-7}$  M 이하의 IC50으로 시험관 내 L929 분석법에서 인간 TNF-알파 세포독성을 중화하거나 A<sup>2</sup>가  $1\times 10^{-7}$  M 이하의 IC50으로 시험관 내 L929 분석법에서 인간 TNF-알파 세포독성을 중화한다.

[0663] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-1, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-1', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l", II-m", II-n", II-o", II-p", 또는 II-q" 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 p55 및 p75 세포 표면 수용체와 TNF-알파의 상호 작용을 차단하거나 A<sup>2</sup>가 p55 및 p75 세포 표면 수용체와 TNF-알파의 상호

작용을 차단한다.

[0664] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, A<sup>1</sup>이 보체의 존재 하에 시험관 내에서 표면 TNF 발현 세포를 용해시키거나 A<sup>2</sup>가 보체의 존재 하에 시험관 내에서 표면 TNF 발현 세포를 용해시킨다.

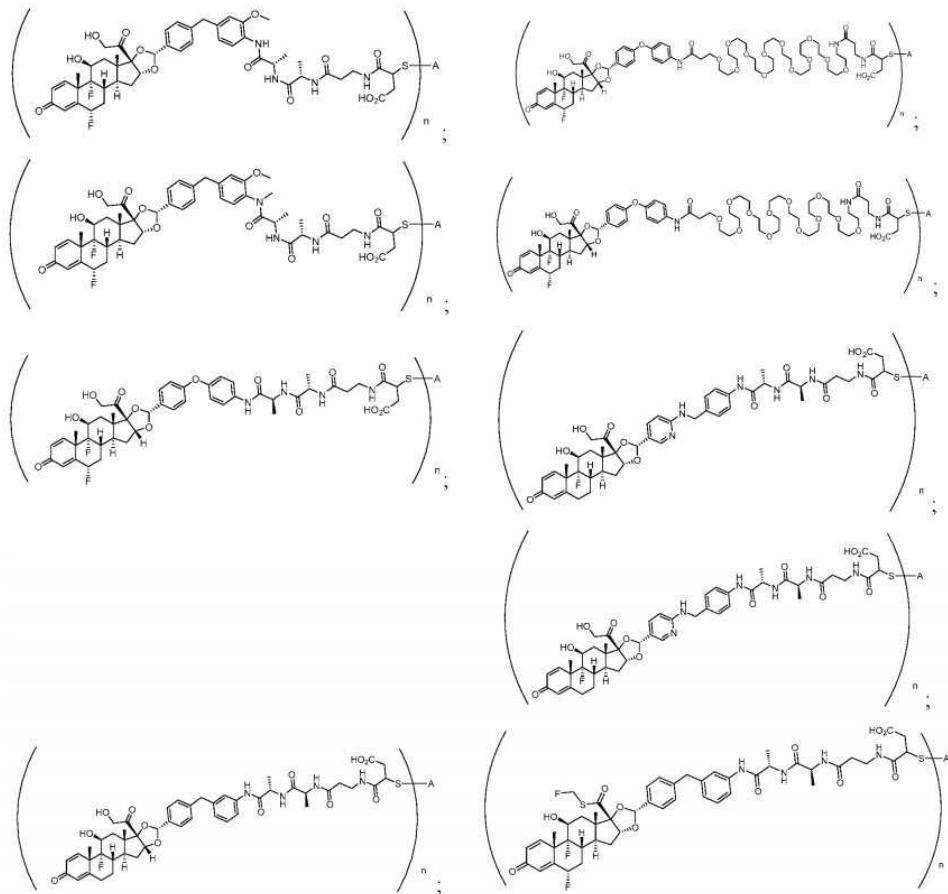
[0665] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, 가용성 p75 TNF 수용체는 에타네르셉트이다.

[0666] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-a를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 예컨대, 화학식 I-b를 갖는 화합물로서, SM은 화학식 II-l, II-m, II-n, II-o, II-p, 또는 II-q 중 임의의 하나, 또는 화학식 II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'', 또는 II-q'' 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인 화합물이 본 설명에 개시되는데, 이때, 항체는 아달리무맙이다.

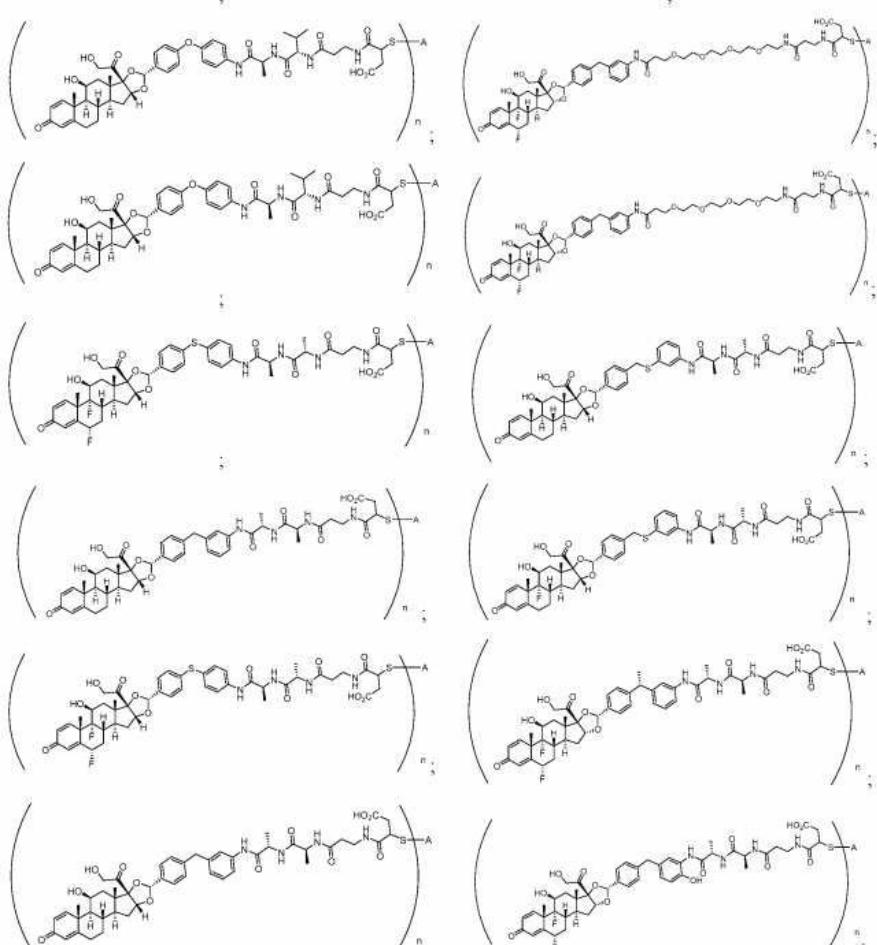
[0667] 또 다른 구현예에서, 표 III의 화학 구조 중 임의의 하나인, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데:

[0668]

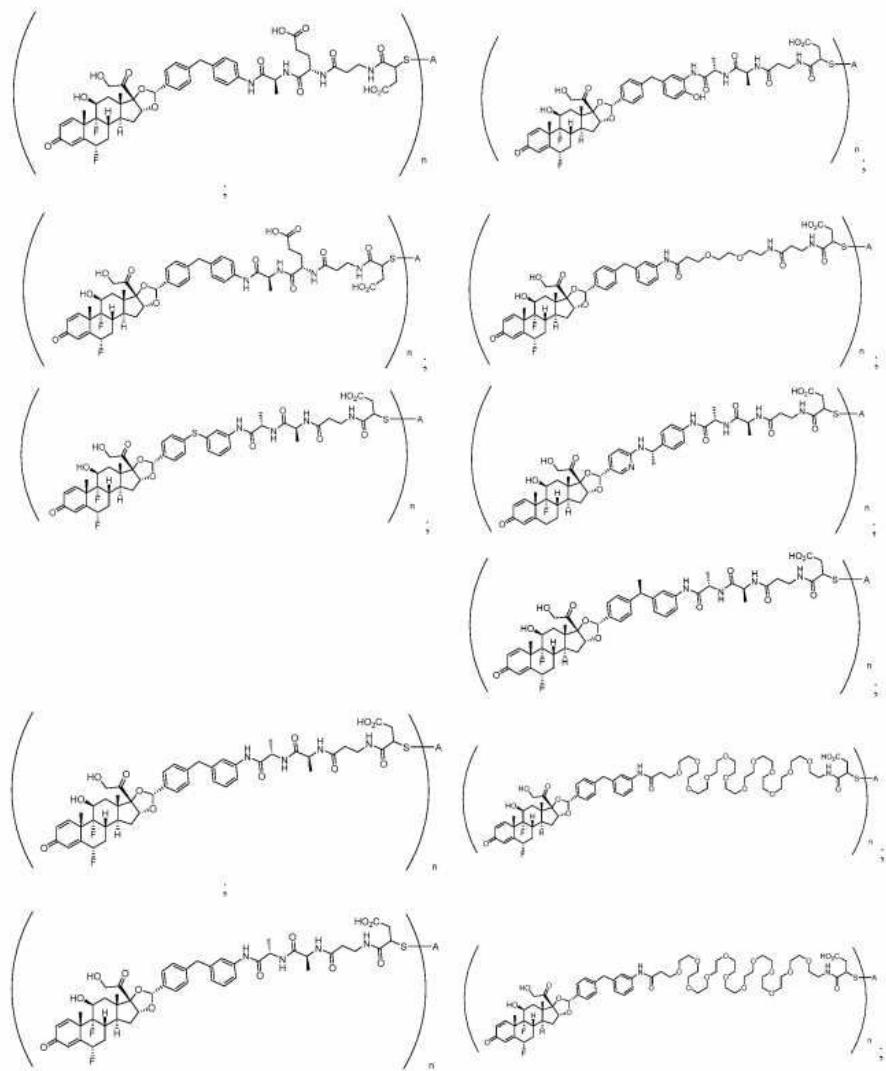
[표 III]



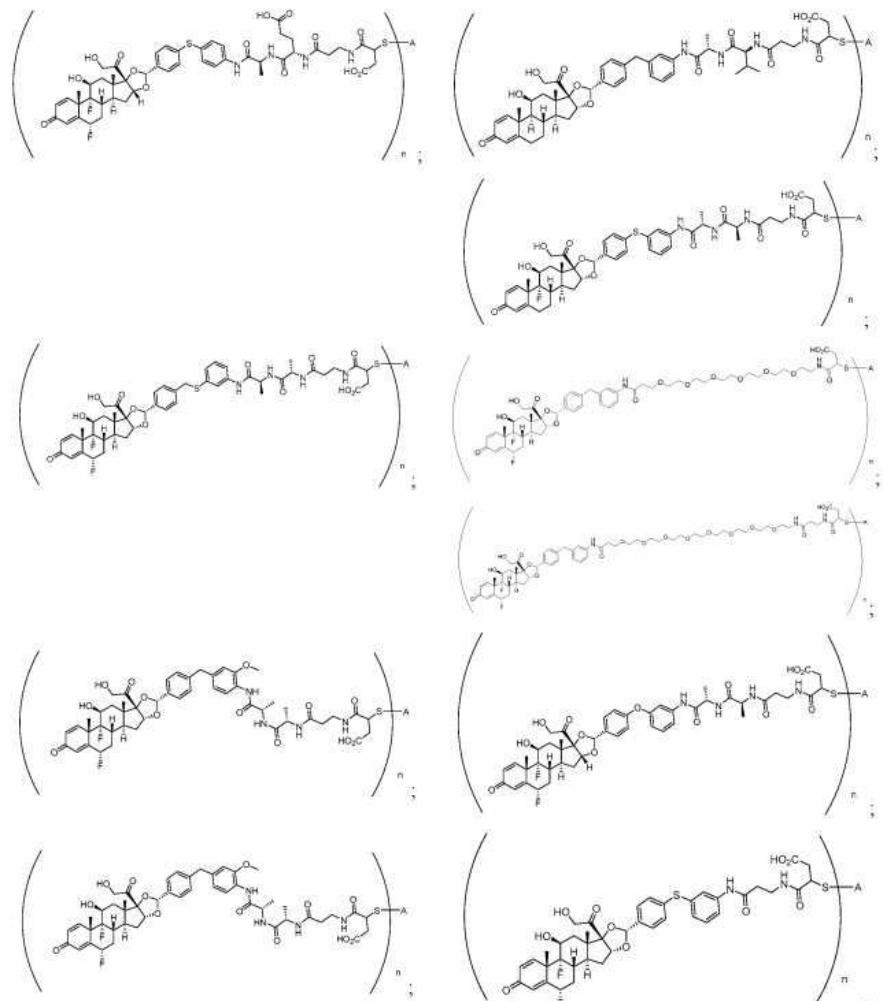
[0669]



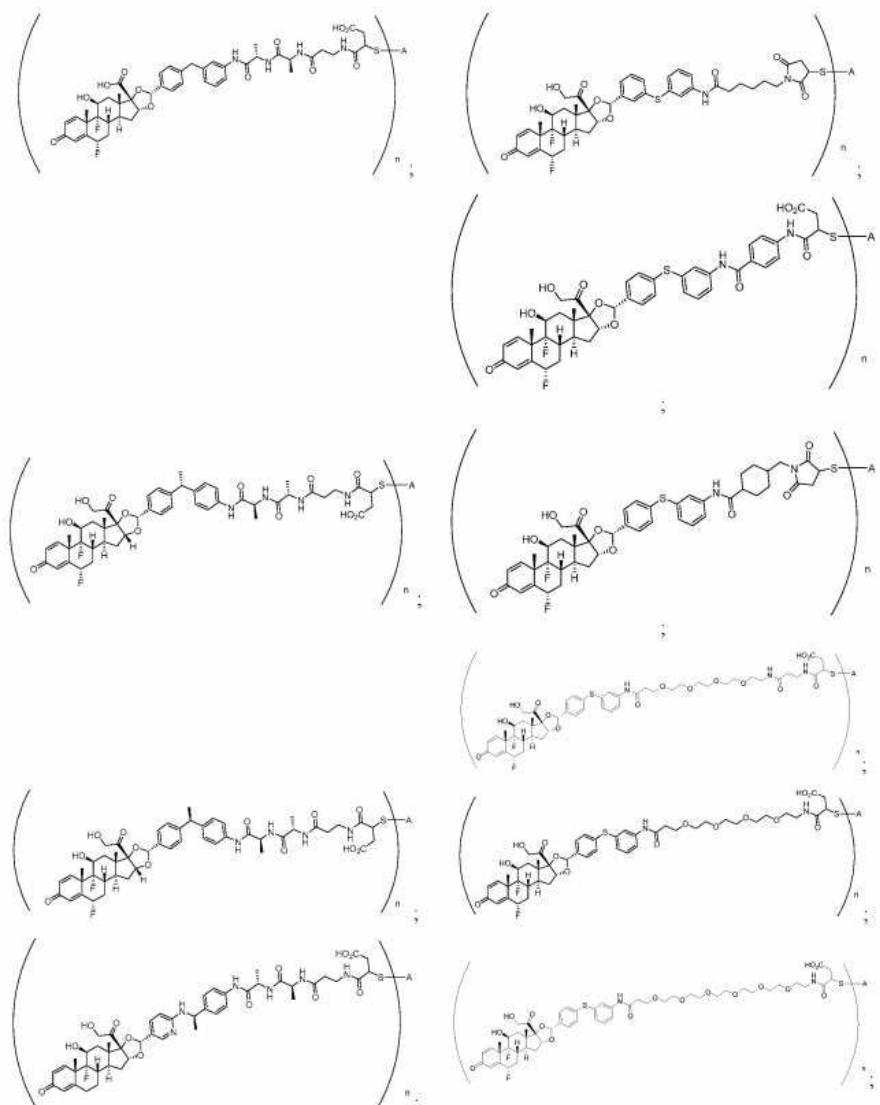
[0670]



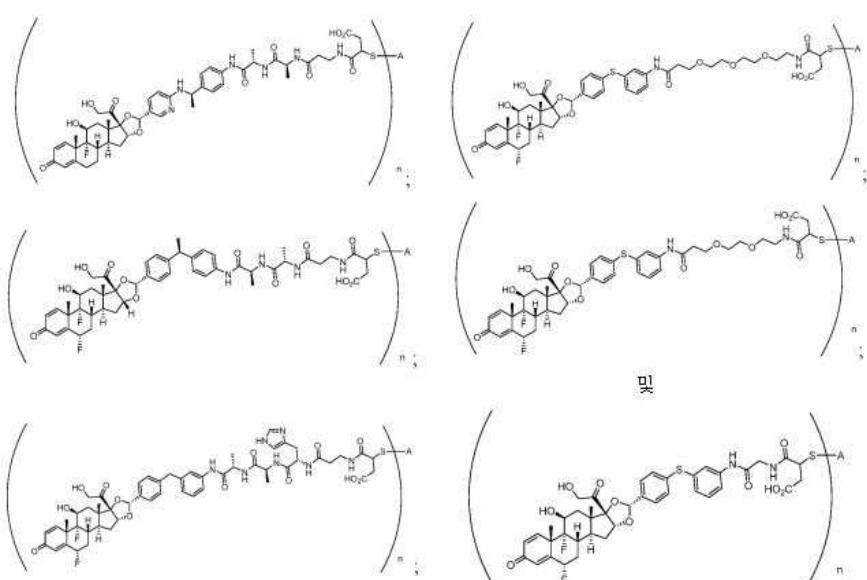
[0671]



[0672]



[0673]



[0674]

[0675] 이때,  $n$ 은 1 내지 5이고,  $A$ 는  $A^1$  또는  $A^2$ 이다. 또 다른 구현예에서,  $A$ 는 아달리무맙이다.

[0676]

또 다른 구현예에서, 표 IV의 화학 구조 중 임의의 하나인, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는 데:

[0677]

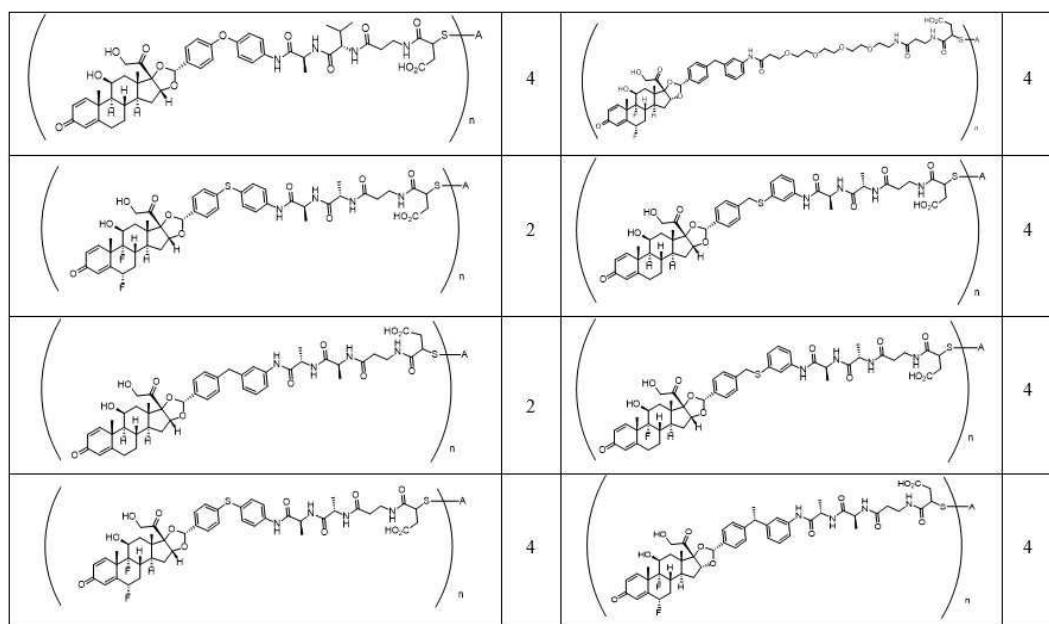
[豆 IV]

구조	n	구조	n
	4.5		2
	4.4		4
	2		2

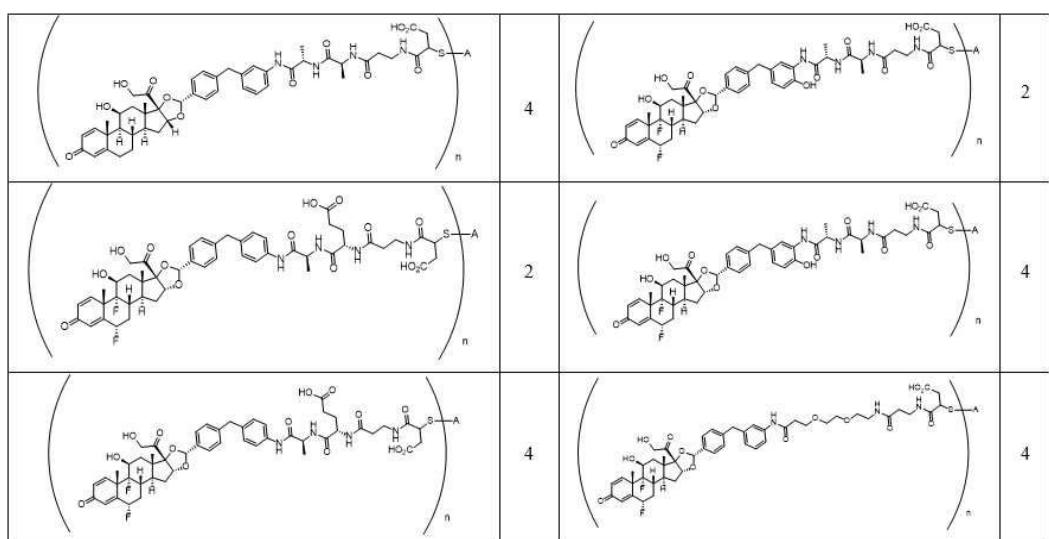
[0678]

	4		4
	2		4
	4		1.3
	2		2

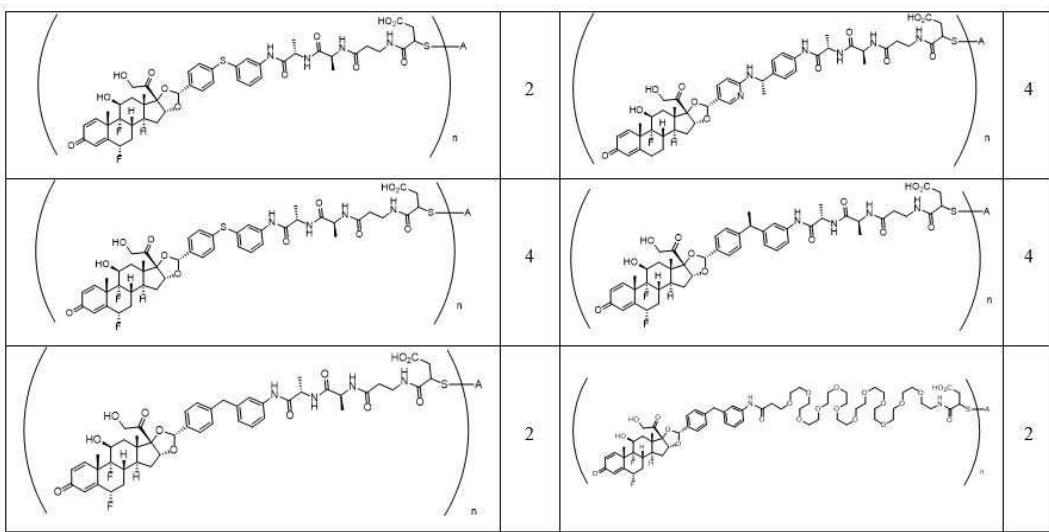
[0679]



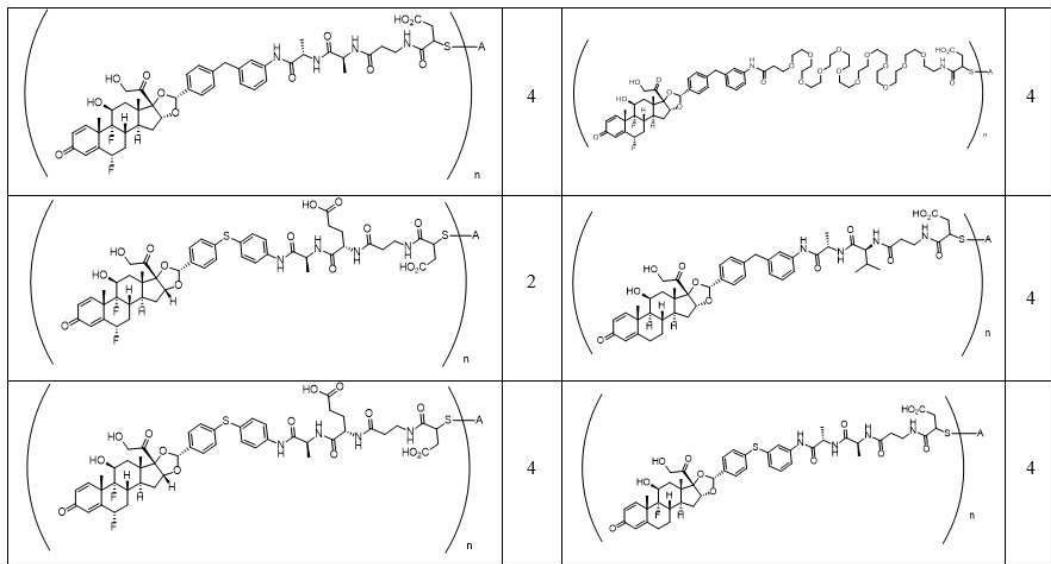
[0680]



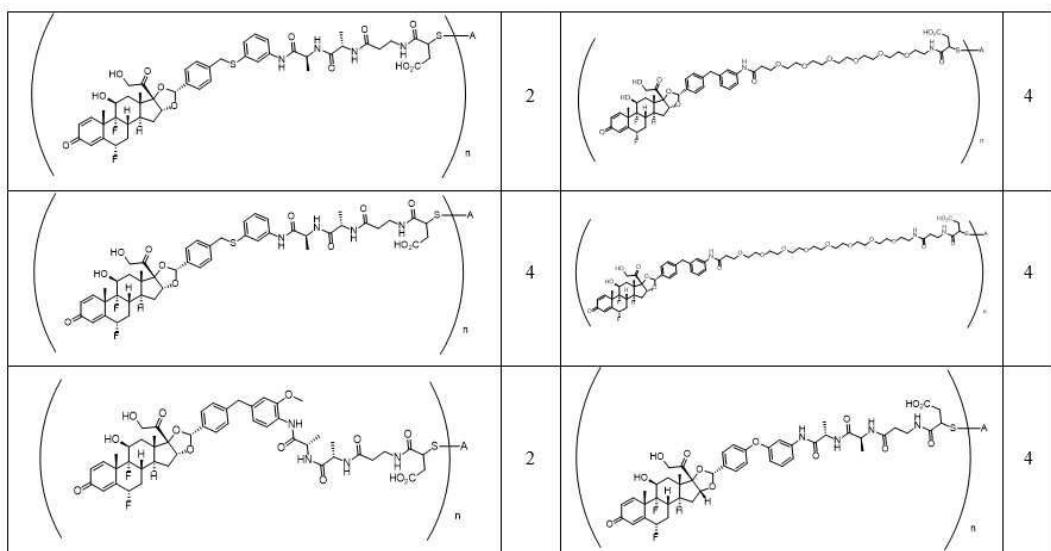
[0681]



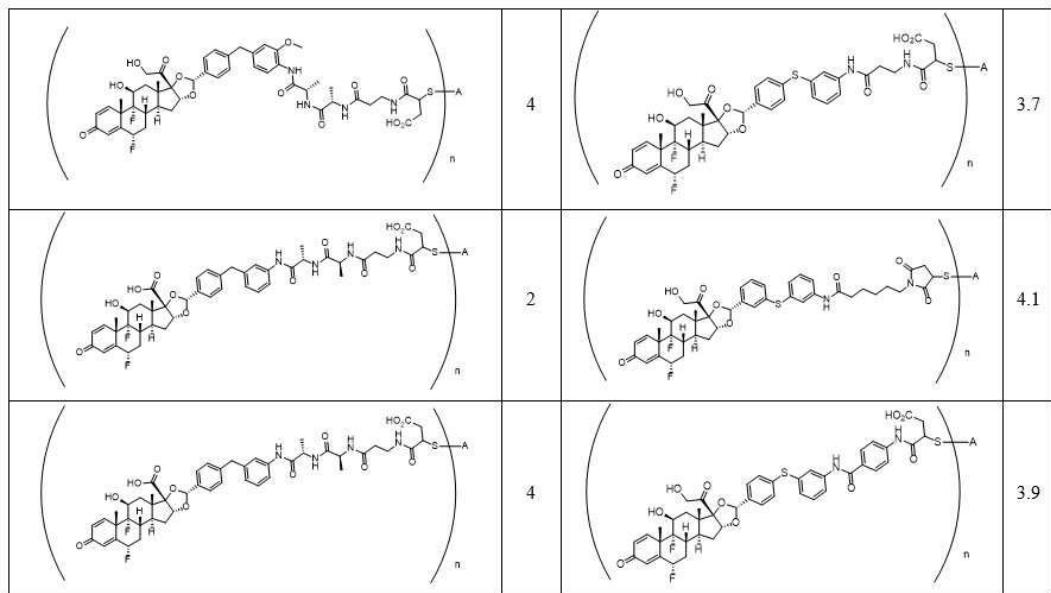
[0682]



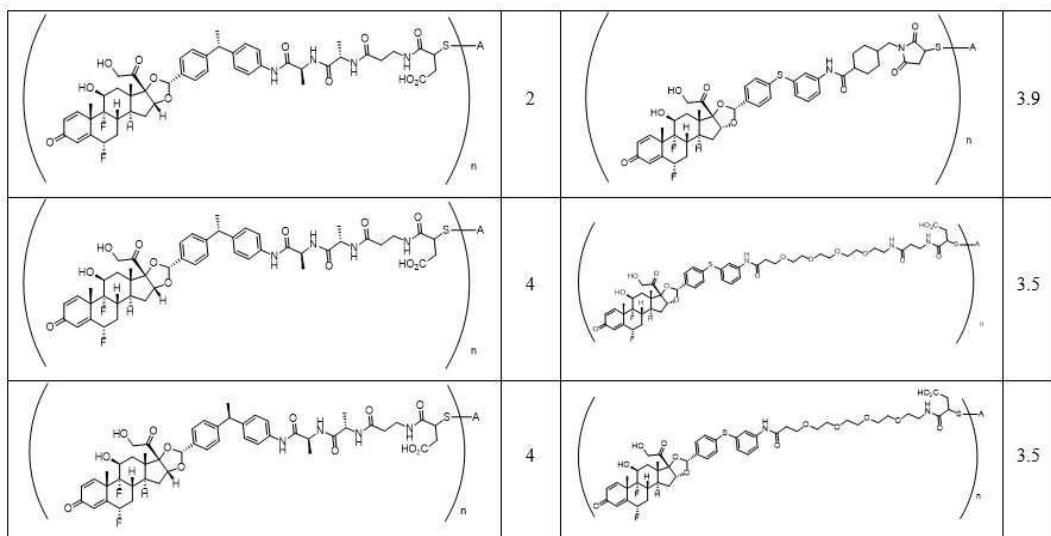
[0683]



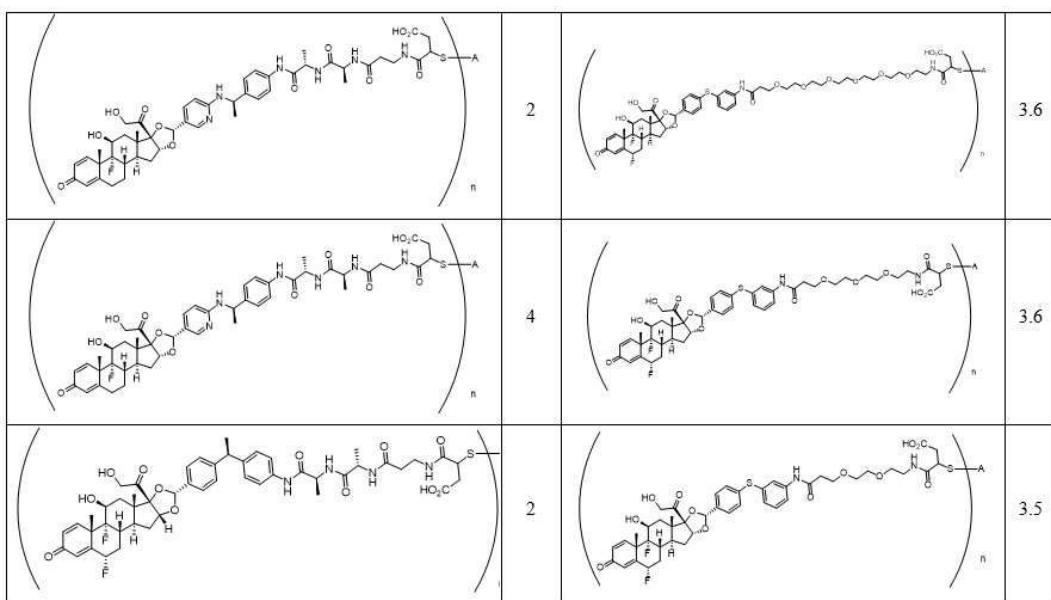
[0684]



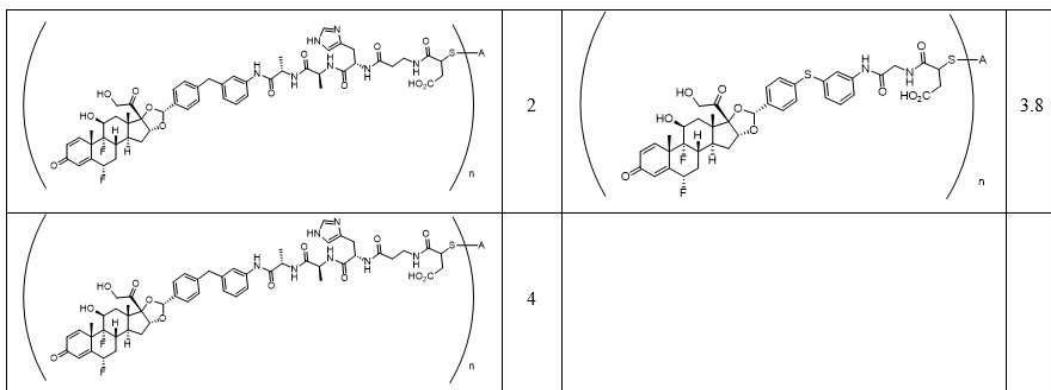
[0685]



[0686]



[0687]



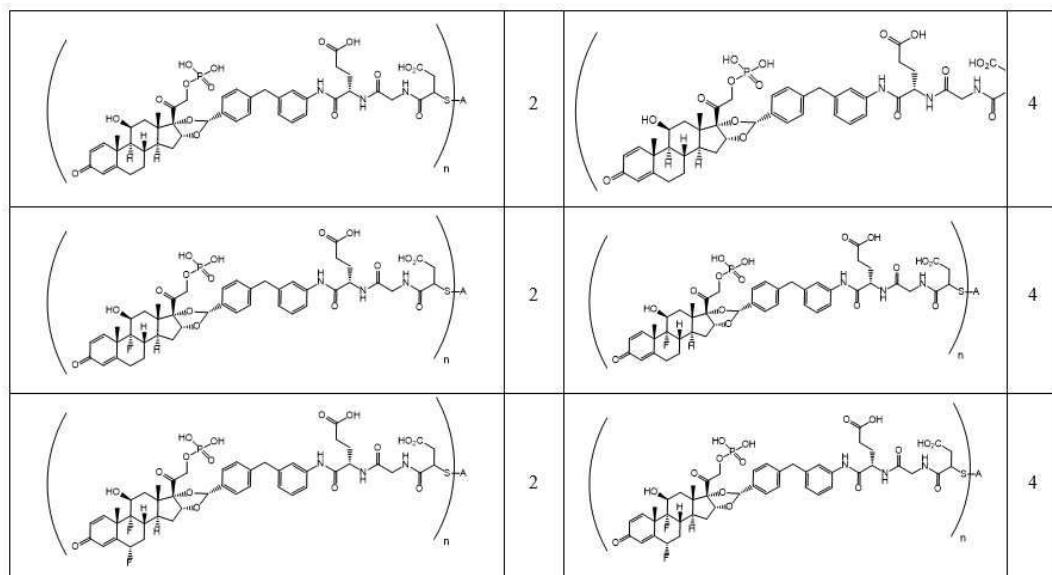
[0688]

[0689] 이때, A는  $A^1$  또는  $A^2$ 이다. 또 다른 구현예에서, A는 아달리무맙이다.

[0690] 또 다른 구현예에서, 표 IV-A의 화학 구조 중 임의의 하나인, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는 데:

[0691]

[표 IV-A]

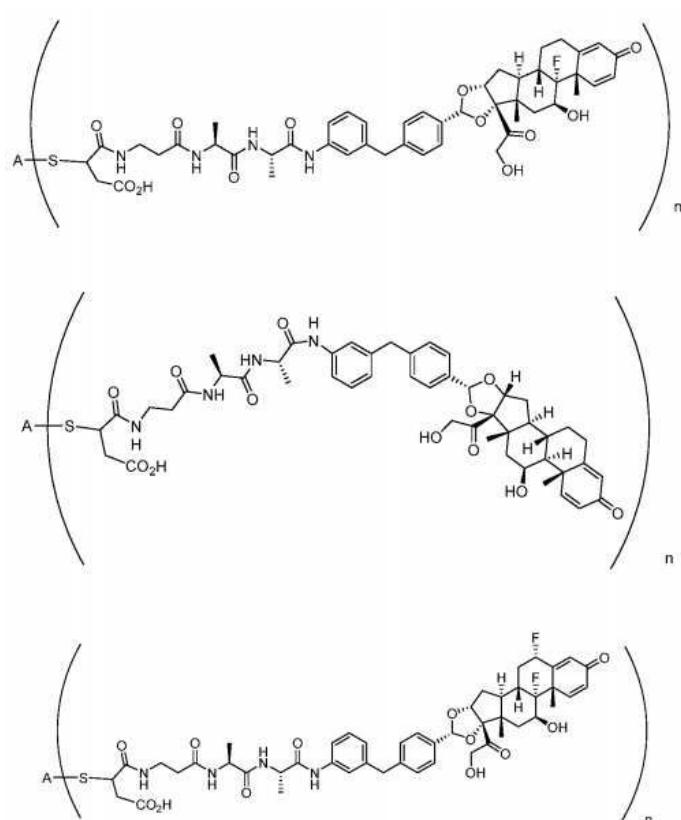


[0692]

[0693] 이때, A는  $A^1$  또는  $A^2$ 이다. 또 다른 구현예에서, A는 아달리무맙이다.

[0694] 또 다른 구현예에서, 표 V의 화학 구조 중 임의의 하나인, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데:

[0695]

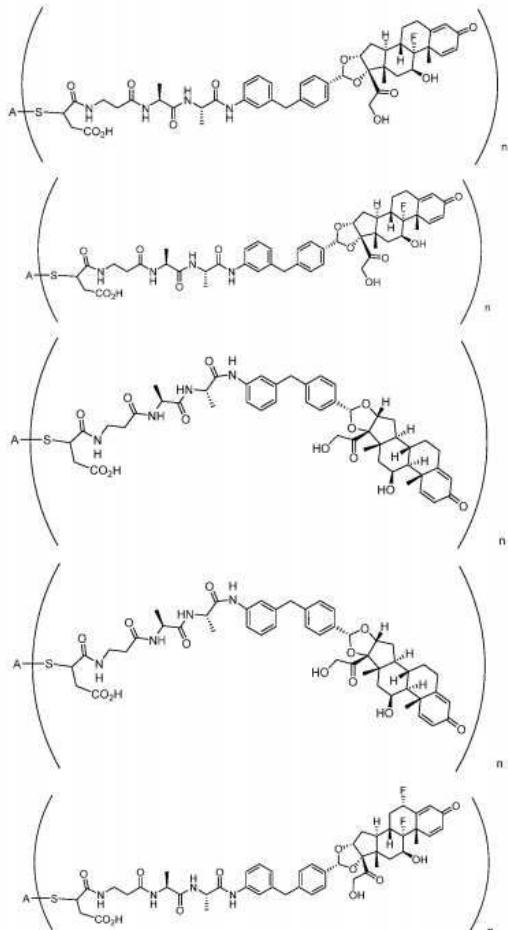


[0696]

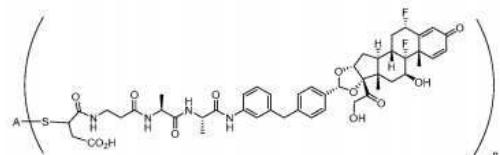
[0697] 이때, n은 1 내지 5이고, A는  $A^1$  또는  $A^2$ 이다. 또 다른 구현예에서, A는 아달리무맙이다.

[0698] 또 다른 구현예에서, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 화학식 I-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 화학식 I-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시

되는데:



[0699]



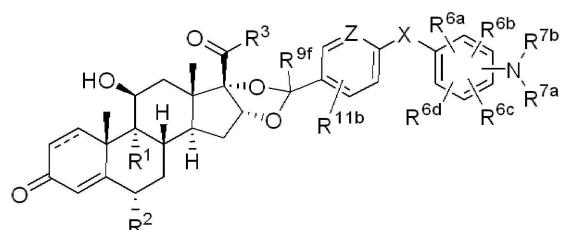
[0700]

[0701] 이때, n은 2 내지 4이고, A는  $A^1$  또는  $A^2$ 이다. 또 다른 구현예에서, A는 아달리무맙이다. 또 다른 구현예에서, n은 2 또는 4이다. 또 다른 구현예에서, n은 2이다. 또 다른 구현예에서, n은 4이다.

#### IV. 글루코코르티코이드 수용체 작용제

[0703] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII을 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다:

[0704] [화학식 VII]



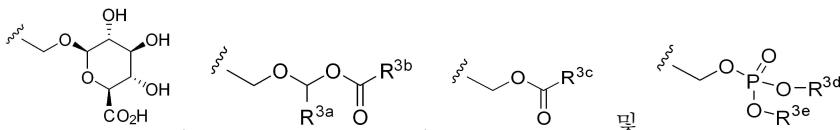
[0705]

[0706] 화학식 VII에서,

[0707]  $R^1$ 은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0708]  $R^2$ 는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0709]  $R^3$ 은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2SH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$ ,  $-SCH_2CF_3$ ,  $-CH_2OS(=O)_2OH$ ,  $-OH$ ,  $-OCH_2CN$ ,  $-OCH_2Cl$ ,  $-OCH_2F$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OCH_2CH_3$ ,  $-SCH_2CN$ ,



[0710] 및  $R^3e$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0711]  $R^{3a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0712]  $R^{3b}$ 는  $C_{1-4}$  알킬 및  $C_{1-4}$  알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0713]  $R^{3c}$ 는 수소,  $C_{1-4}$  알킬,  $-CH_2OH$ ,  $C_{1-4}$  알콕시,  $-CH_2(아미노)$  및  $-CH_2CH_2C(=O)OR^{3f}$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0714]  $R^{3d}$  및  $R^{3e}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0715]  $R^{3f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0716] X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-(E$  및  $Z$  이성질체 둘 모두 포함),  $-C\equiv C-$ ,  $-N(R^5)C(=O)-$  및  $-OC(=O)-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; (이때, X가  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-N(R^5)C(=O)-$ , 또는  $-OC(=O)-$ 일 때,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-N(R^5)C(=O)-$ , 또는  $-OC(=O)-$ 의 혼테로원자는 6원 고리 중 어느 하나에 부착될 수 있다, 즉,  $-CH_2S-$ 는  $-SCH_2-$ 와 같고,  $-CH_2O-$ 는  $-OCH_2-$ 와 같고,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ 는  $-C(R^{8a})(R^{8b})N(H)-$ 와 같고,  $-N(R^5)C(=O)-$ 는  $-C(=O)N(R^5)C(=O)-$ 와 같고,  $-OC(=O)-$ 는  $-C(=O)O-$ 와 같다); 또는

[0717] X는 부존재, 즉, X는 화학 결합을 나타내고;

[0718] t는 1 또는 2이고;

[0719] Z는  $=CR^{11a}-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0720] 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;

[0721]  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;

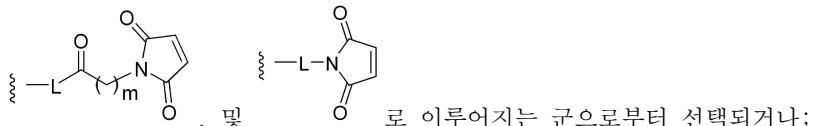
[0722]  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0723]  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0724]  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$  및  $R^{6d}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬, 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

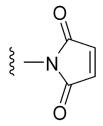
[0725]  $R^{7a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0726]  $R^{7b}$ 는 수소,  $-L-H$ ,  $-L-PG$ ,



로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0728]  $R^{7a}$  및  $R^{7b}$ 는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 다음을 형성하거나



[0730]  $R^{7a}$  및  $R^{7b}$ 는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 니트로( $-NO_2$ ) 기를 형성하고;

[0731]  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고;

[0732] L은 링커이며;

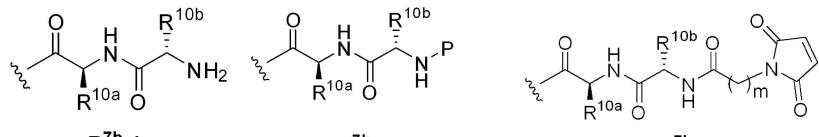
[0733] PG는 보호기, 예컨대, Boc, Fmoc 등이고;

[0734]  $R^{9f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0735]  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0736]  $R^{11a}$  및  $R^{11b}$ 는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0737]  $=$ 은 단일 또는 이중 결합을 나타낸다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는 수소이다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는



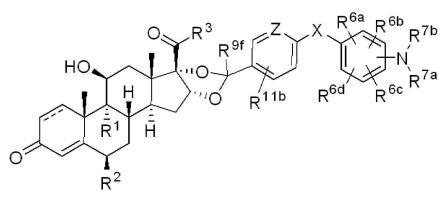
[0739] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0740]  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

[0741]  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 각각 수소 및 선택적으로 치환된  $C_{1-6}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0742] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII'을 갖는 화합물:

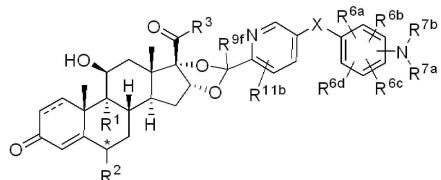
[화학식 VII']



[0745] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $=$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0746] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII"을 갖는 화합물:

[화학식 VII"]



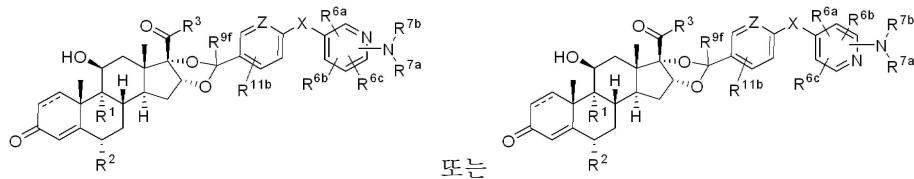
[0748]

[0749] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, ==, R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>7a</sup>, R<sup>7b</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup> 및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R<sup>2</sup>가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-o]성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0750] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII-A 또는 화학식 VII-B를 갖는 화합물:

[0751]

[화학식 VII-A] [화학식 VII-B]



[0752]

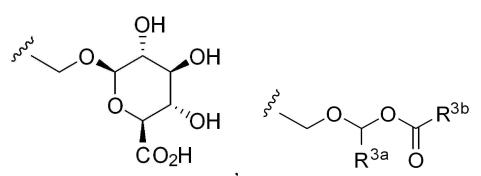
또는

[0753] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,

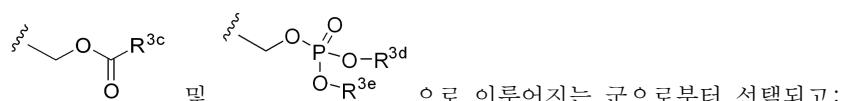
[0754] R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0755] R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0756] R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OS(=O)<sub>2</sub>OH,



[0757] 하이드록시, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SCH<sub>2</sub>CN,



및

으로

이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0758] R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0759] R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0760] R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1-4</sub> 알콕시, -CH<sub>2</sub>(아미노) 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)OR<sup>3f</sup>로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0761] R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0762] R<sup>3f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-، -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -NR<sup>5</sup>-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>O-, -N(H)C(R<sup>8a</sup>)(R<sup>8b</sup>)-, -CR<sup>4c</sup>=CR<sup>4d</sup>-, -C≡C-, -N(R<sup>5</sup>)C(=O)- 및 -OC(=O)-으로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

[0763] X는 부존재하고;

[0764] t는 1 또는 2이고;

[0765] Z는 =CR<sup>11a</sup>- 및 =N-으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0766] 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;

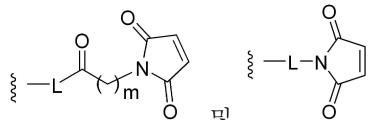
[0767] R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;

[0768] R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0769] R<sup>5</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

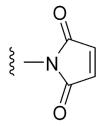
[0770] R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup> 및 R<sup>6c</sup>는 각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0771] R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;



[0772] R<sup>7b</sup>는 수소, -L-H, -L-PG, 및

[0773] R<sup>7a</sup> 및 R<sup>7b</sup>는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 다음을 형성하거나



[0774];

[0775] R<sup>7a</sup> 및 R<sup>7b</sup>는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 니트로(-NO<sub>2</sub>) 기를 형성하고;

[0776] m은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고;

[0777] L은 링커이며;

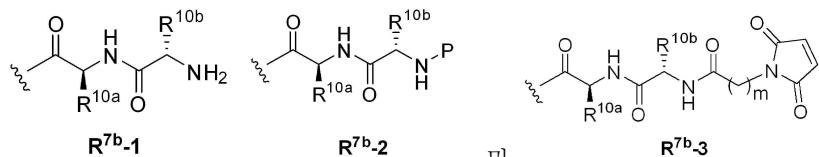
[0778] PG는 보호기이고;

[0779] R<sup>9f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0780] R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0781] R<sup>11a</sup> 및 R<sup>11b</sup>는 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0782] ---는 단일 또는 이중 결합을 나타낸다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는 수소이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는



[0783] R<sup>7b-1</sup>, R<sup>7b-2</sup>, 및 R<sup>7b-3</sup>

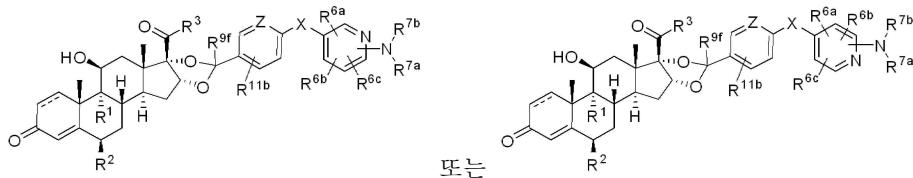
[0784] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0785] m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

[0786]  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 각각 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0787] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII-A' 또는 화학식 VII-B'를 갖는 화합물:

[화학식 VII-A'] [화학식 VII-B']



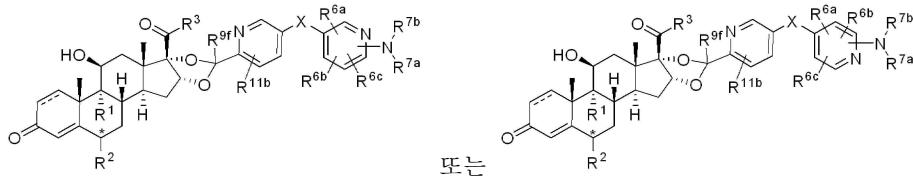
[0789] 또는

,

[0790] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII-A와 관련하여 정의된 바와 같다.

[0791] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII-A'' 또는 화학식 VII-B''를 갖는 화합물:

[화학식 VII-A''] [화학식 VII-B'']



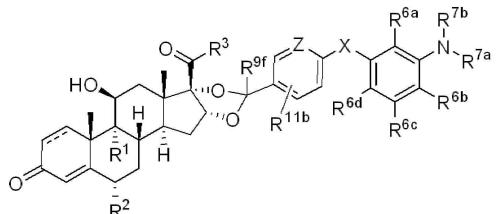
[0793] 또는

,

[0794] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$  및 X는 화학식 VII-A와 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는  $R^2$ 가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0795] 또 다른 구현예에서, 화학식 VIII을 갖는 화합물:

[화학식 VIII]



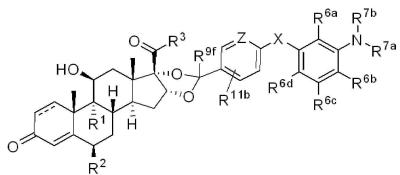
,

[0797]

[0798] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0799] 또 다른 구현예에서, 화학식 VIII'를 갖는 화합물:

[화학식 VIII']



,

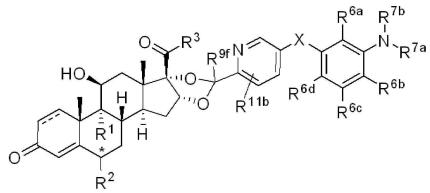
[0801]

[0802] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,

$R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0803] 또 다른 구현예에서, 화학식 VIII"를 갖는 화합물:

[화학식 VIII"]



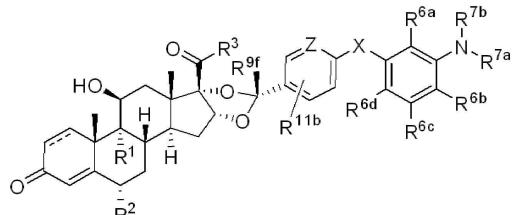
[0805]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $---$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$  및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는  $R^2$ 가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0807]

또 다른 구현예에서, 화학식 VIII-a를 갖는 화합물:

[화학식 VIII-a]



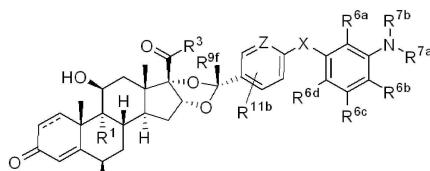
[0809]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $---$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0811]

또 다른 구현예에서, 화학식 VIII-a'를 갖는 화합물:

[화학식 VIII-a']



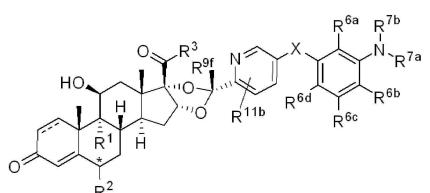
[0813]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $---$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0815]

또 다른 구현예에서, 화학식 VIII-a"를 갖는 화합물:

[화학식 VIII-a"]



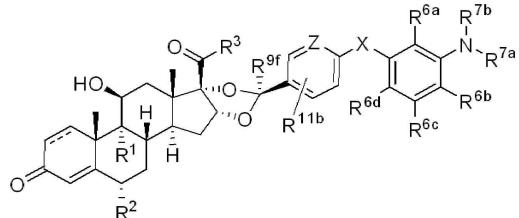
[0817]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $---$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,

$R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$  및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는  $R^2$ 가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0819] 또 다른 구현예에서, 화학식 VIII-b를 갖는 화합물:

[화학식 VIII-b]

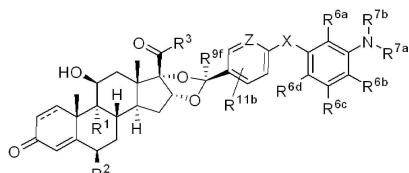


[0821] ,

[0822] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0823] 또 다른 구현예에서, 화학식 VIII-b'를 갖는 화합물:

[화학식 VIII-b']

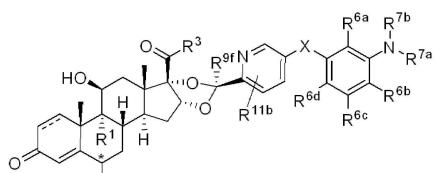


[0825] ,

[0826] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0827] 또 다른 구현예에서, 화학식 VIII-b"를 갖는 화합물:

[화학식 VIII-b"]

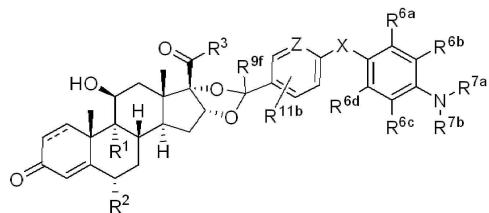


[0829] ,

[0830] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$  및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는  $R^2$ 가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0831] 또 다른 구현예에서, 화학식 IX를 갖는 화합물:

[화학식 IX]



[0833]

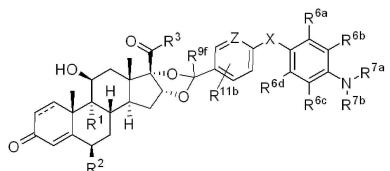
[0834] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, ==, R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>7a</sup>, R<sup>7b</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup>, X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0835]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX'를 갖는 화합물:

[0836]

[화학식 IX']



[0837]

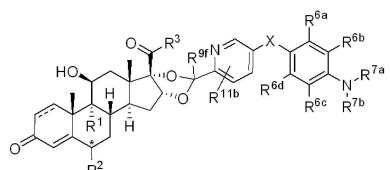
[0838] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, ==, R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>7a</sup>, R<sup>7b</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup>, X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0839]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX''를 갖는 화합물:

[0840]

[화학식 IX'']



[0841]

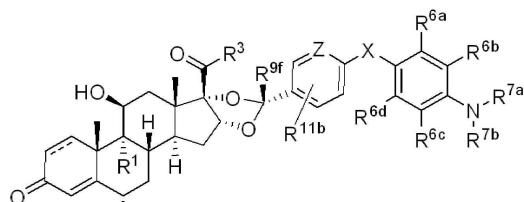
[0842] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, ==, R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>7a</sup>, R<sup>7b</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup> 및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R<sup>2</sup>가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-o-성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0843]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX-a를 갖는 화합물:

[0844]

[화학식 IX-a]



[0845]

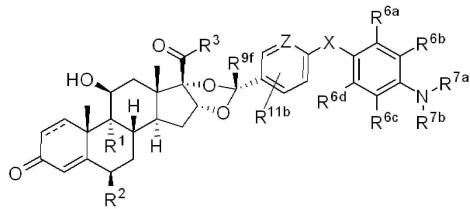
[0846] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, ==, R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup>, R<sup>7a</sup>, R<sup>7b</sup>, R<sup>9f</sup>, R<sup>11b</sup>, X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0847]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX-a'를 갖는 화합물:

[0848]

[화학식 IX-a']



[0849]

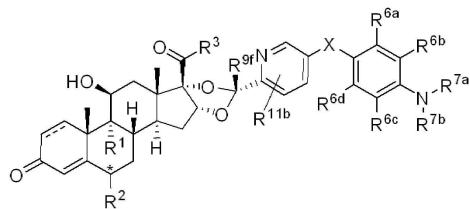
[0850] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0851]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX-a"를 갖는 화합물:

[0852]

[화학식 IX-a"]



[0853]

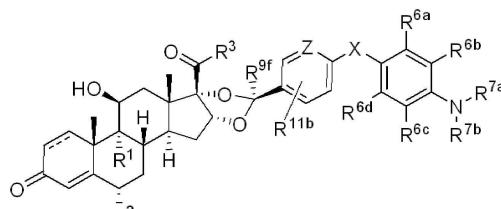
[0854] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$  및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는  $R^2$ 가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0855]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX-b를 갖는 화합물:

[0856]

[화학식 IX-b]



[0857]

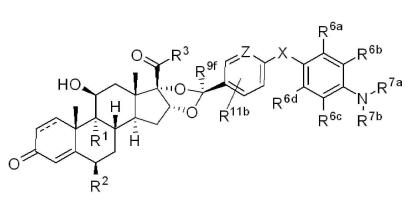
[0858] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0859]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX-b'를 갖는 '화합물':

[0860]

[화학식 IX-b']



[0861]

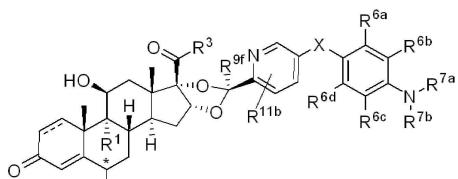
[0862] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $\equiv$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$ , X 및 Z는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같다.

[0863]

또 다른 구현예에서, 화학식 IX-b"를 갖는 '화합물':

[0864]

[화학식 IX-b"]



[0865]

,

[0866]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $==$ ,  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$ ,  $R^{7a}$ ,  $R^{7b}$ ,  $R^{9f}$ ,  $R^{11b}$  및 X는 화학식 VII과 관련하여 정의된 바와 같고, "\*"로 표시된 탄소 원자는  $R^2$ 가 할로 또는 하이드록실인 경우 R-이성질체 또는 S-이성질체 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 R-이성질체이다. 또 다른 구현예에서, "\*"로 표시된 탄소 원자는 S-이성질체이다.

[0867]

또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $==$ 는 단일 또는 이중 결합을 나타낸다. 또 다른 구현예에서,  $==$ 는 이중 결합을 나타낸다.

[0868]

또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^1$ 은 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0869]

또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^2$ 는 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0870]

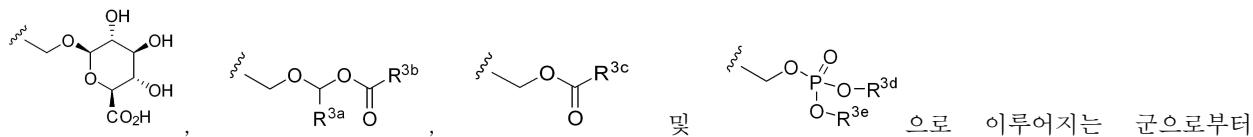
또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^3$ 은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$  및  $-OH$ 로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0871]

또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,

[0872]

$R^3$ 은



[0873]

선택되고;

[0874]

$R^{3a}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0875]

$R^{3b}$ 는 메틸, 에틸, 이소프로필, 이소부틸, 메톡시, 에톡시, 이소프로포시 및 이소부톡시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0876]  $R^{3c}$ 는 수소, 메틸, 에틸,  $-CH_2OH$ , 메톡시, 에톡시 및 이소프로포시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0877]  $R^{3d}$  및  $R^{3e}$ 는 수소, 메틸 및 에틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0878] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^5$  및  $R^{8a}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0879] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', 또는 IX-b' 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, Z는  $=CH-$ 이다.

[0880] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b' 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, Z는  $=N-$ 이다.

[0881] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^{7a}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7a}$ 는 수소이다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7a}$ 는 메틸이다.

[0882] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,

[0883] X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-CH_2S-$  및  $-N(H)CH(R^{8a})-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0884] t는 1이고;

[0885]  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;

[0886]  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 시클로알킬을 형성한다. 또 다른 구현예에서, X는  $-CH_2-$ 이다. 또 다른 구현예에서, X는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된다:



[0887]

[0888] 또 다른 구현예에서, X는  $-O-$ 이다. 또 다른 구현예에서, X는  $-S-$ 이다. 또 다른 구현예에서, X는  $-CH_2S-$ 이다. 또 다른 구현예에서, X는  $-N(H)CH_2-$ 이다. 또 다른 구현예에서, X는 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된다:



[0889]

[0890] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^{11b}$ 는 수소이다.

[0891] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나

또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>7b</sup>는 수소이다.

[0892] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>7a</sup> 및 R<sup>7b</sup>는 수소이다.

[0893] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>6b</sup>는 수소, -Cl, -OMe(또는 -OCH<sub>3</sub>) 및 -OH로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0894] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>9f</sup>는 수소이다.

[0895] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>9f</sup>는 메틸이다.

[0896] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>11a</sup>는 수소 및 -OH로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0897] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>11b</sup>는 수소이다.

[0898] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-1이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-4</sub> 알킬이다.

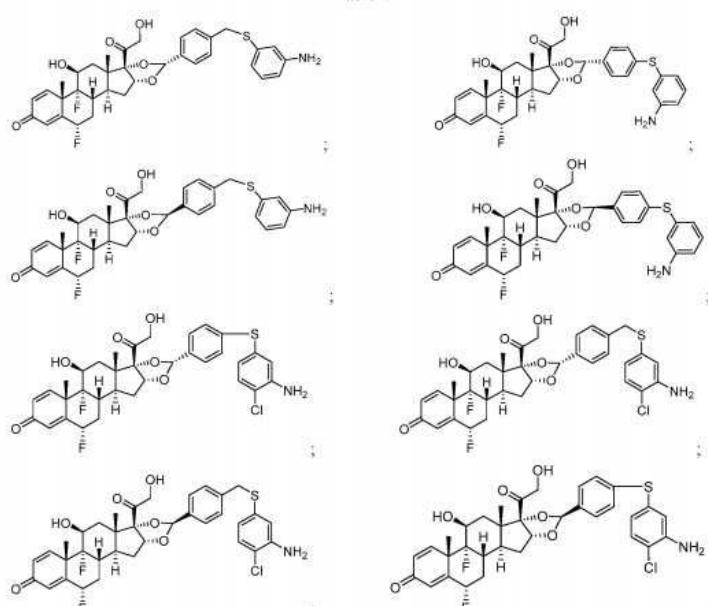
[0899] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-2이고, PG는 BOC이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-4</sub> 알킬이다.

[0900] 또 다른 구현예에서, 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용

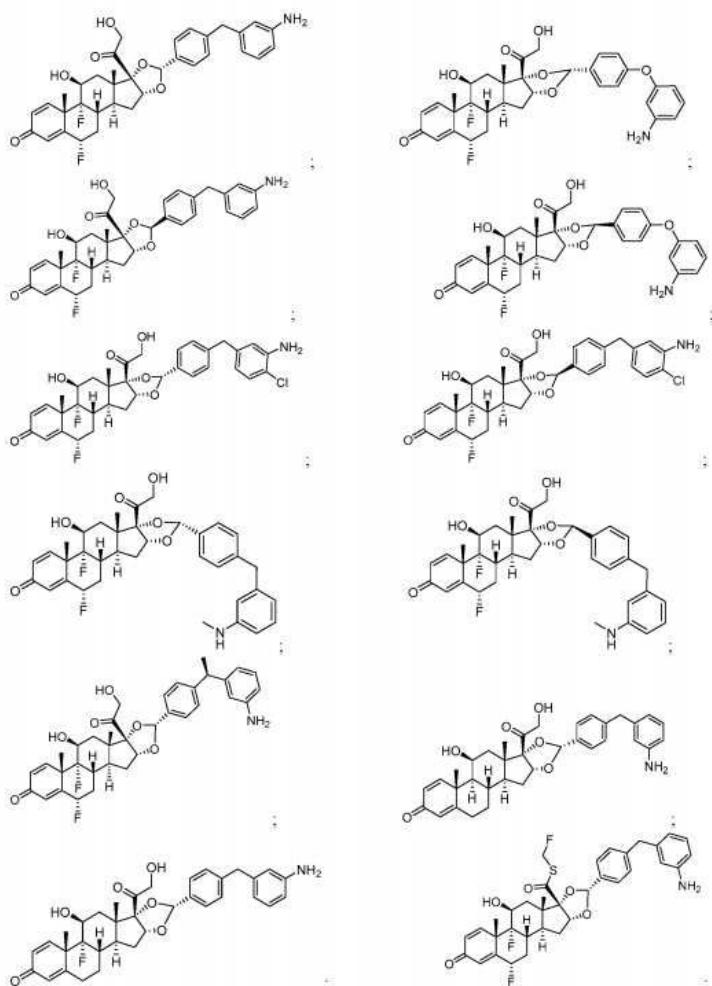
가능한 염이 본 설명에 개시되는데, 이때,  $R^{7b}$ 는  $R^{7b-3}$ 이다. 또 다른 구현예에서,  $m$ 은 2 또는 3이고,  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 각각 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬이다. 또 다른 구현예에서,  $m$ 은 2이다. 또 다른 구현예에서,  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-4</sub> 알킬이다.

[0901] 또 다른 구현예에서, 표 VI의 화합물 중 임의의 하나인, 화학식 VIII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다.

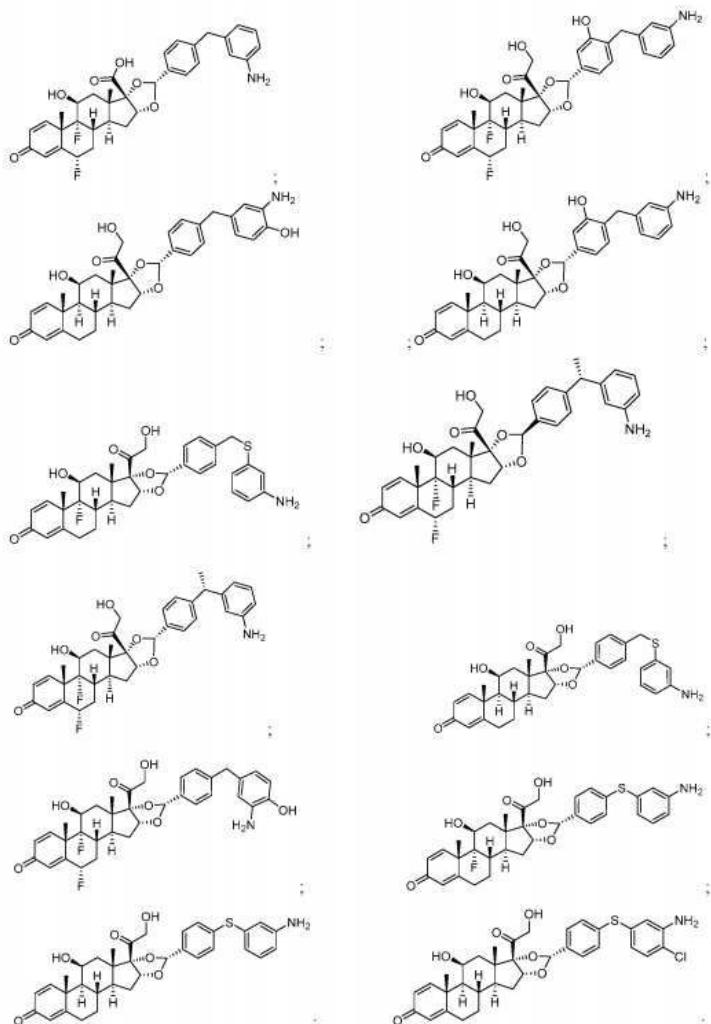
[0902] [표 VI]



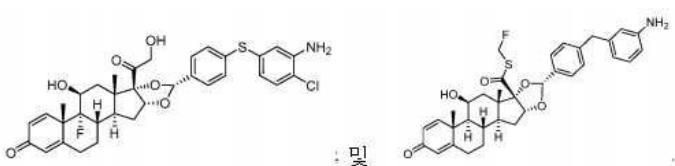
[0903]



[0904]



[0905]



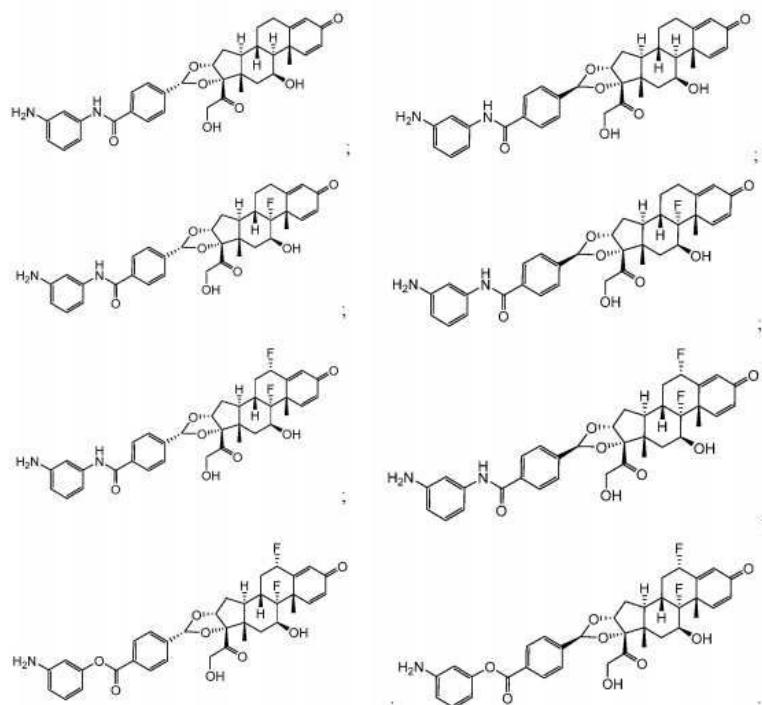
[0906]

[0907]

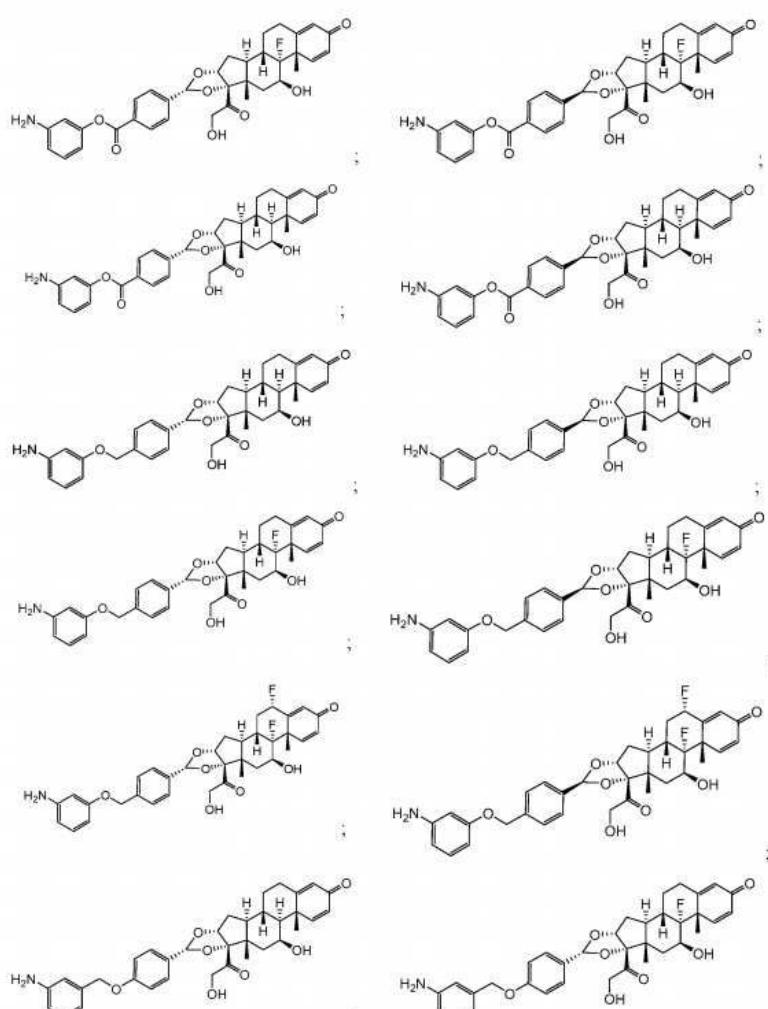
또 다른 구현예에서, 표 VI-A의 화합물 중 임의의 하나인, 화학식 VIII을 갖는 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다.

[0908]

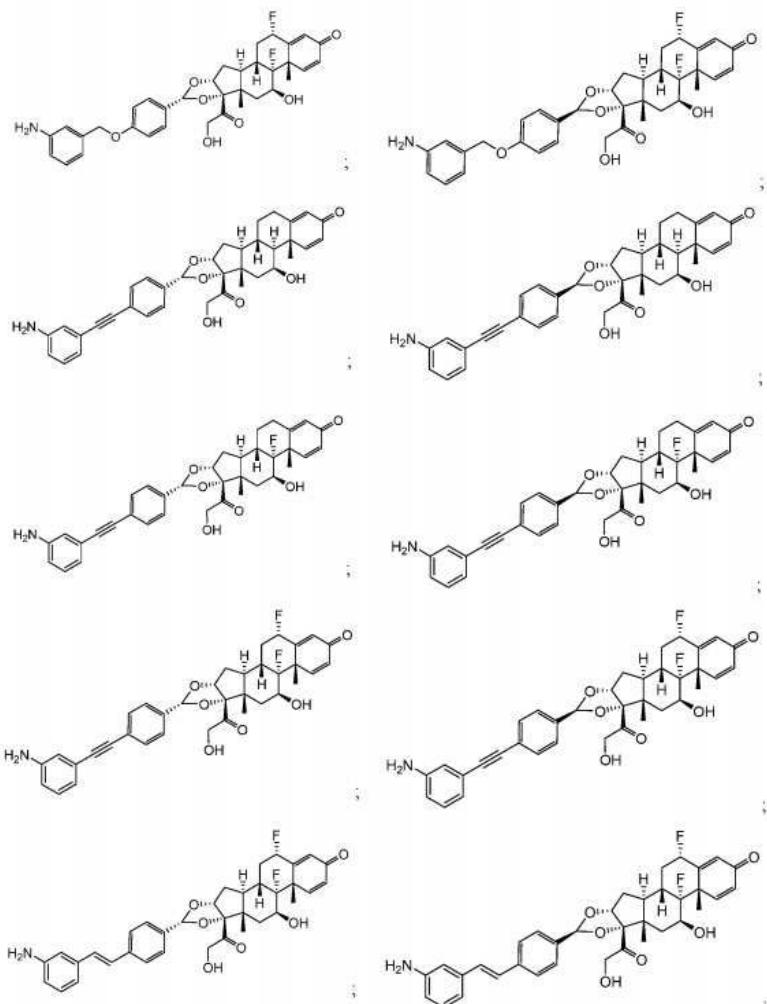
[표 VI-A]



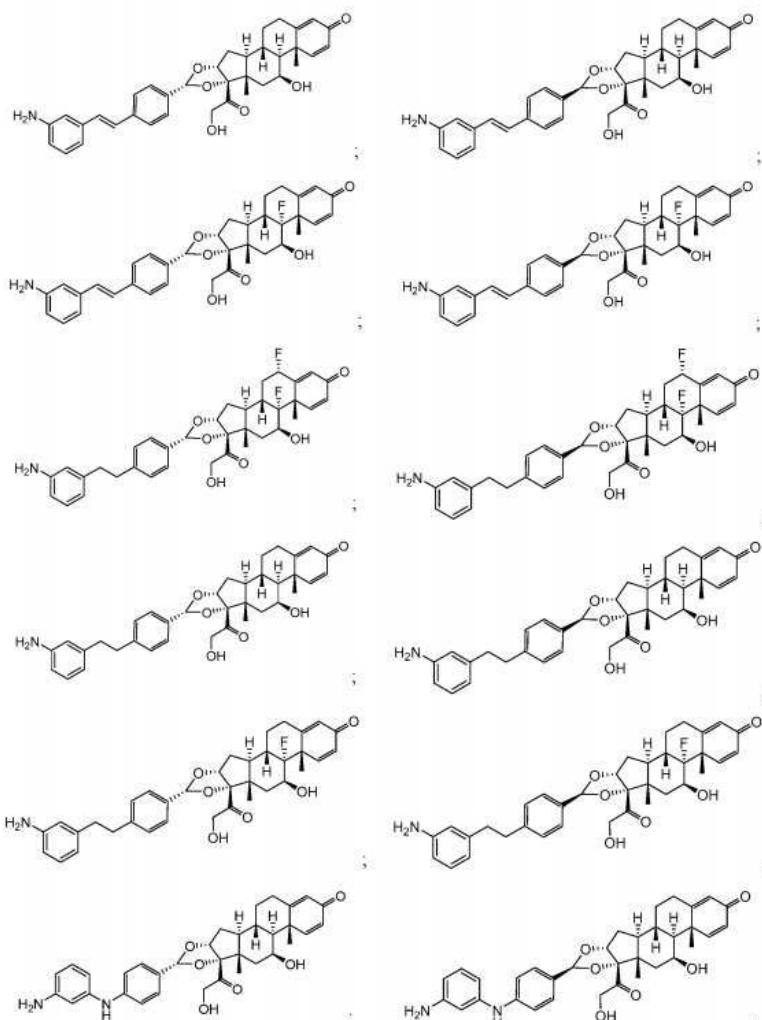
[0909]



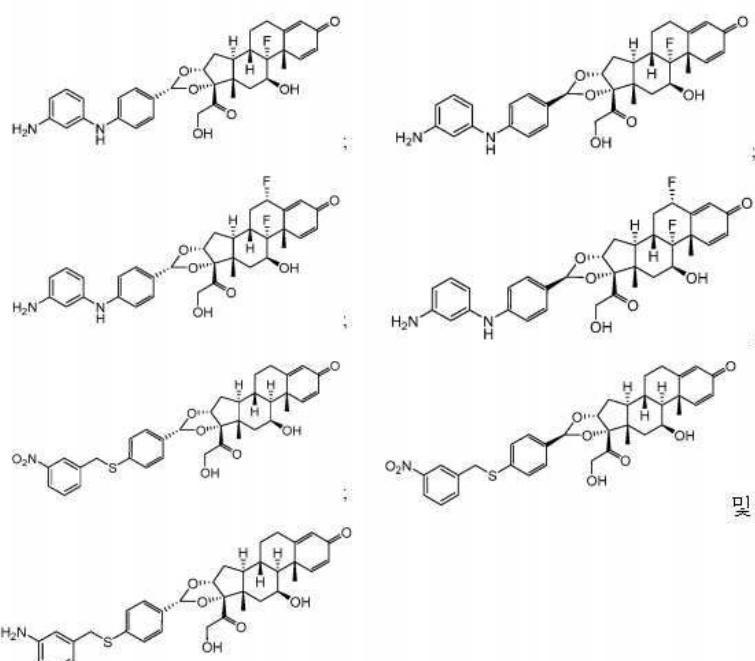
[0910]



[0911]



[0912]

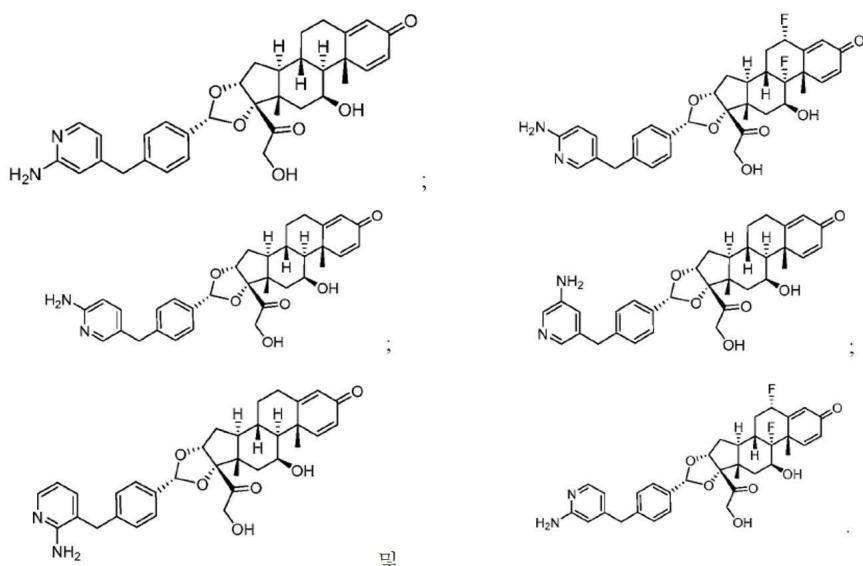


[0913]

또 다른 구현예에서, 표 VI-B의 화합물 중 임의의 하나인, 화학식 VII-A 또는 화학식 VII-B를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다.

[0915]

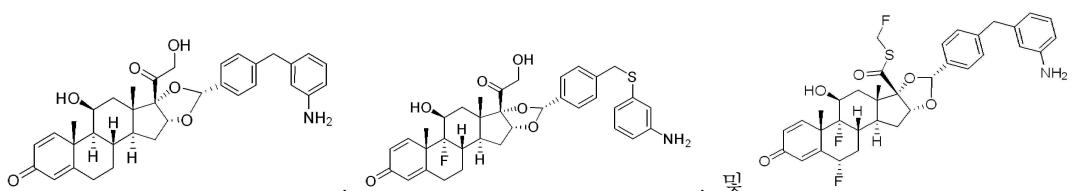
[표 VI-B]



[0916]

[0917]

또 다른 구현예에서, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된, 화학식 VIII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다:



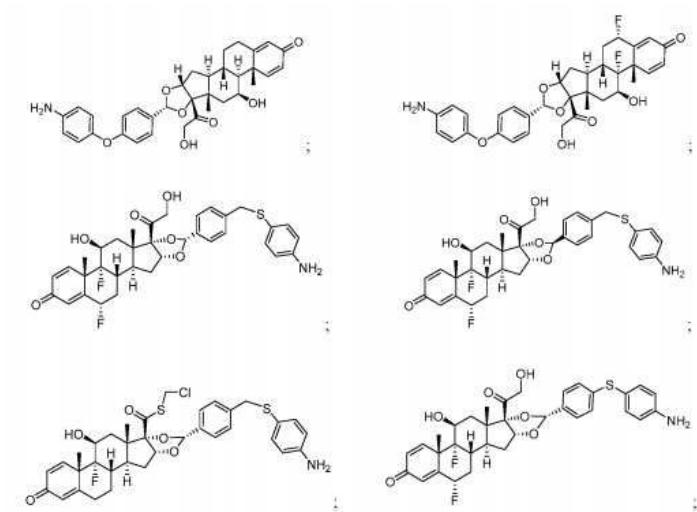
[0918]

[0919]

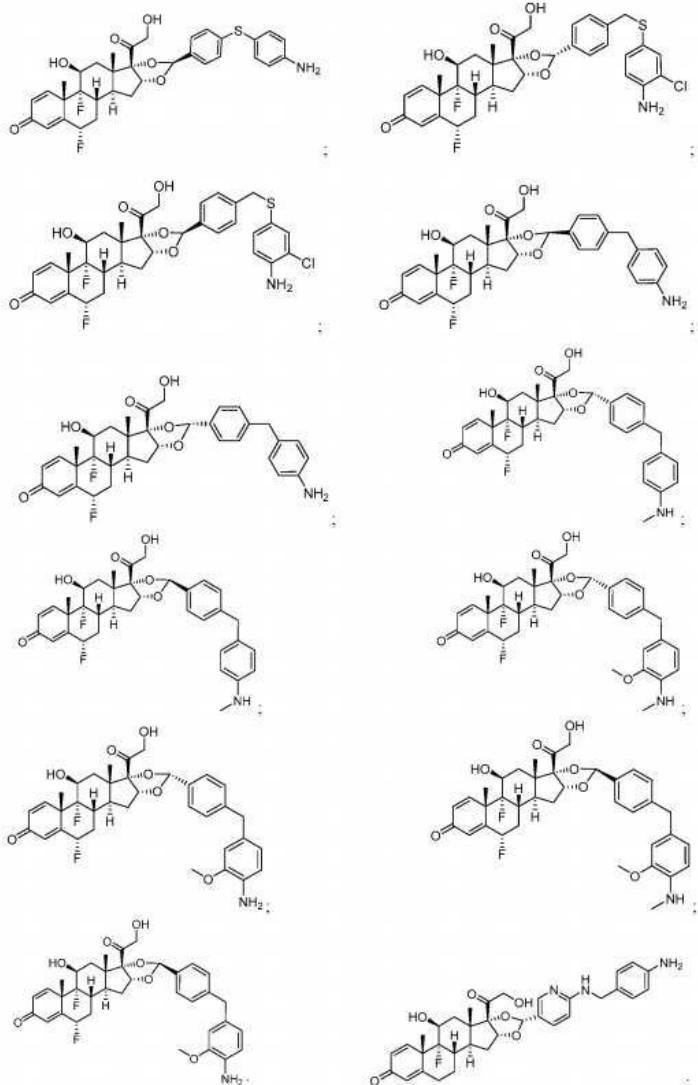
또 다른 구현예에서, 표 VII의 화합물 중 임의의 하나인, 화학식 IX를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다.

[0920]

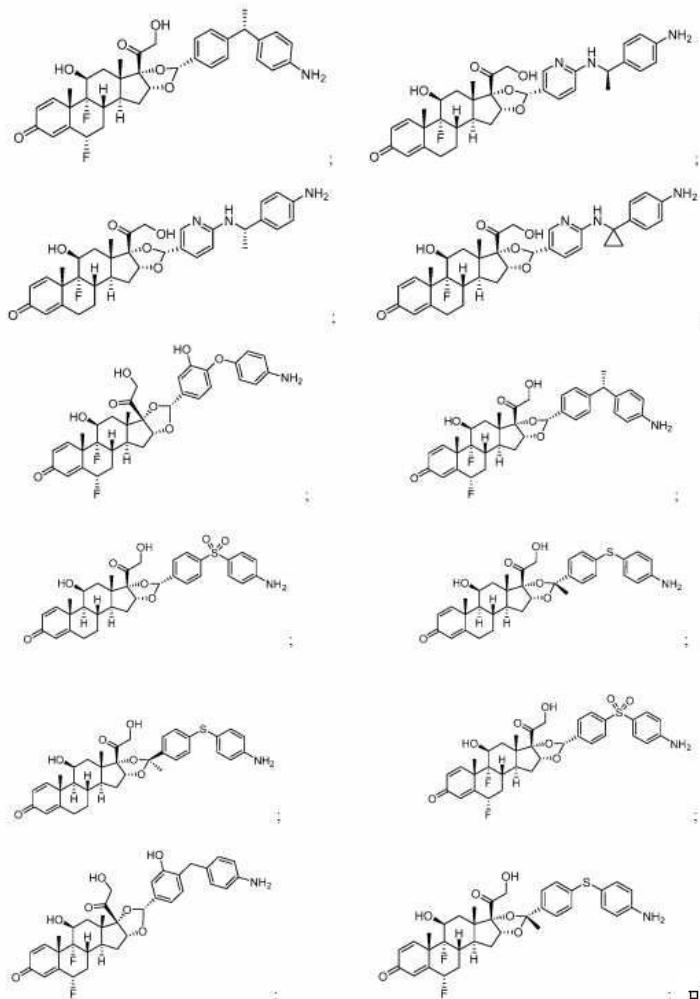
[표 VII]



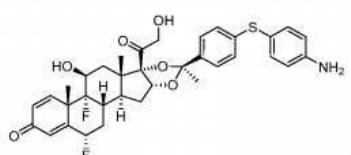
[0921]



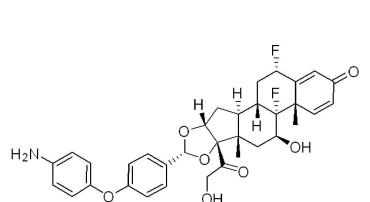
[0922]



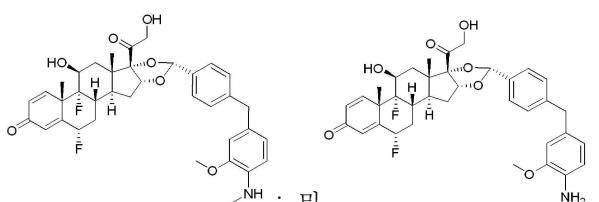
[0923]



[0924]



[0925] 또 다른 구현예에서, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된, 화학식 IX-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 본 설명에 개시된다:



[0926]

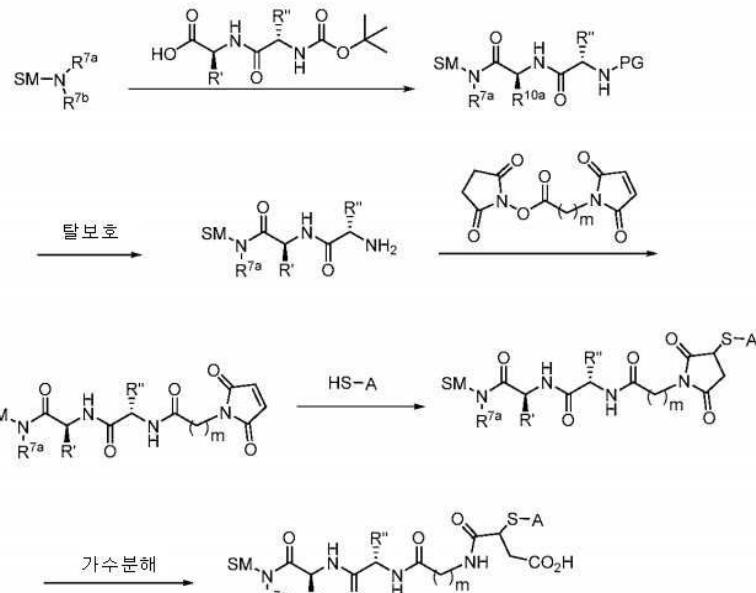


[0927] V. 면역접합체 및 합성 중간물질의 제조 방법

[0928] 본 발명의 면역접합체의 일반적인 합성은 일반 경로 1에 기술된다.

[0929]

일반 경로 1



[0930]

[0931]

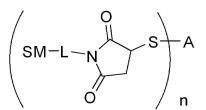
일반 경로 1에서,  $\text{SM}-\text{N}(\text{R}^{7a})(\text{R}^{7b})$ 는  $-\text{NH}(\text{R}^{7a})$  가(이)때,  $\text{R}^{7a}$ 는 수소 또는  $\text{C}_{1-4}$  알킬임)를 갖는 글루코코르티코스테로이드 또는 화학식 VII, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물 또는 표 9의 화합물이고; HS-A는 제한된 수의 환원된 사슬간 이황화 결합을 갖는 항체 또는 항원 결합 단편이고,  $\text{R}'$  및  $\text{R}''$ 은 독립적으로 자연 발생적인 아미노산에서 발견되는 임의의 결사슬, 예컨대, 메틸, 이소프로필, 및/또는 비자연 아미노산에서 발견되는 임의의 결사슬, 예컨대,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{H})\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 이고,  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고, PG는 보호기, 예컨대, BOC이다. 설명의 목적을 위해, 일반 경로 1은 하나의 세프하이드릴만을 항체 또는 항원 결합 단편에서 접합에 이용할 수 있는 것으로 보여준다.

[0932]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-c를 갖는 화합물:

[0933]

[화학식 I-c]



[0934]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법이 본 설명에 개시되는데, 이때,

[0935]

$\text{A}$ 는  $\text{A}^1$  또는  $\text{A}^2$ 이고;

[0936]

$\text{A}^1$ 은 항-종양 피사 인자(TNF) 알파 단백질이고;

[0937]

$\text{A}^2$ 는 단백질이고;

[0938]

$\text{L}$ 은 링커이며;

[0939]

$n$ 은 1 내지 10이고;

[0940]

$\text{SM}$ 은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼, 예컨대, 화학식 II-a-q 중 임의의 하나를 갖는 화합물이고;

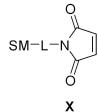
[0941]

방법은

[0942]

a) 화학식 X를 갖는 화합물을

[0944] [화학식 X]



[0945]

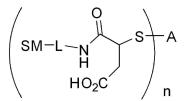
항-종양 폐사 인자(TNF) 알파 단백질 또는 단백질과 접합시키는 단계; 및

[0947]

b) 화학식 I-c를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 단리하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현 예에서, 이러한 방법은 화학식 I-c를 갖는 화합물을 가수분해하여 화학식 I-d를 갖는 화합물을 제공하는 단계를 더 포함한다:

[0948]

[화학식 I-d]

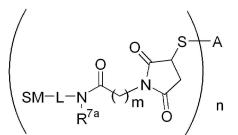


[0949]

또 다른 구현 예에서, 화학식 I-e를 갖는 화합물:

[0951]

[화학식 I-e]



[0952]

또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법이 본 설명에 개시되는데, 이때,

[0954]

A는 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>이고;

[0955]

A<sup>1</sup>은 항-종양 폐사 인자(TNF) 알파 단백질이고;

[0956]

A<sup>2</sup>는 단백질이고;

[0957]

L은 링커이며;

[0958]

R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[0959]

n은 1 내지 10이고;

[0960]

m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;

[0961]

SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼, 예컨대, 화학식 II-a-e 또는 1-q중 임의의 하나를 갖는 화합물이고;

[0962]

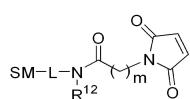
방법은

[0963]

a) 화학식 XI을 갖는 화합물을

[0964]

[화학식 XI]



[0965]

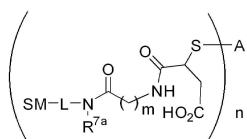
항-종양 폐사 인자(TNF) 알파 단백질 또는 단백질과 접합시키는 단계; 및

[0967]

b) 화학식 I-e를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 단리하는 단계를 포함한다. 또 다른 구현 예에서, 이러한 방법은 화학식 I-e를 갖는 화합물을 가수분해하여 화학식 I-f를 갖는 화합물을 제공하는 단계를 더 포함한다:

[0968]

[화학식 I-f]

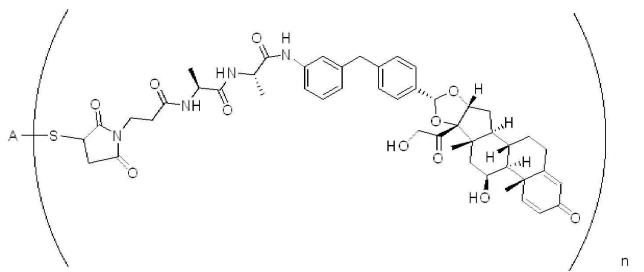


[0969]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-G를 갖는 화합물의 제조 방법이 본 설명에 개시되는데

[0971]

[화학식 I-G]



[0972]

화학식 I-G에서,

[0974]

A는 아달리무맙이고;

[0975]

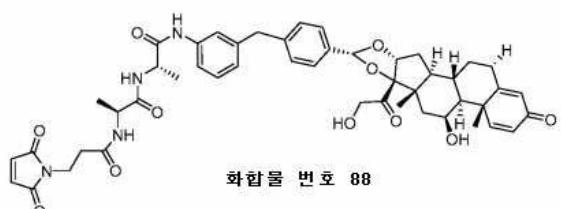
n은 1 내지 10이고,

[0976]

방법은

[0977]

a) 화합물 번호 88을



[0978]

부분적으로 환원된 아달리무맙과 접합시키는 단계; 및

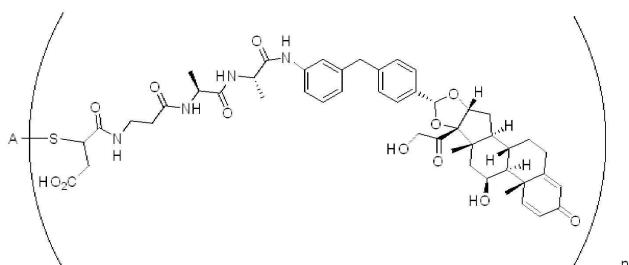
b) 화학식 I-G를 갖는 화합물을, 예컨대, 크로마토그래피에 의해, 단리하는 단계를 포함한다.

[0981]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-H를 갖는 화합물의 제조 방법이 본 설명에 개시되는데,

[0982]

[화학식 I-H]



[0983]

화학식 I-H에서,

[0985]

A는 아달리무맙이고;

[0986]

n은 1 내지 10이고,

[0987]

방법은 화학식 I-G를 갖는 화합물을 가수분해하여 화학식 I-H를 제공하는 단계를 포함한다.

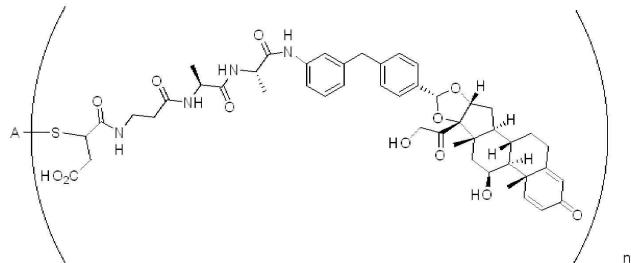
[0988]

또 다른 구현예에서, 화학식 I-G 또는 화학식 I-H를 갖는 화합물의 제조 방법이 본 설명에 개시되는데, 이때, n

은 1 내지 7이다. 또 다른 구현예에서, n은 1 내지 5이다. 또 다른 구현예에서, n은 2 내지 4이다. 또 다른 구현예에서, n은 1이다. 또 다른 구현예에서, n은 1.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 2이다. 또 다른 구현예에서, n은 2.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 3이다. 또 다른 구현예에서, n은 3.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 4이다. 또 다른 구현예에서, n은 4.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 5이다.

[0989] 또 다른 구현예에서, 화학식 I-H를 갖는 화합물이 본 설명에 제공되는데

[화학식 I-H]



[0991]

화학식 I-H에서,

[0993] A는 아달리무맙이고;

[0994] n은 1 내지 10이다.

또 다른 구현예에서, 화학식 I-H를 갖는 화합물이 본 설명에 제공되는데, 이때, n은 1 내지 7이다. 또 다른 구현예에서, n은 1 내지 5이다. 또 다른 구현예에서, n은 2-4. 또 다른 구현예에서, n은 1이다. 또 다른 구현예에서, n은 1.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 2이다. 또 다른 구현예에서, n은 2.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 3이다. 또 다른 구현예에서, n은 3.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 4이다. 또 다른 구현예에서, n은 4.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 5이다. 또 다른 구현예에서, n은 5.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 6이다. 또 다른 구현예에서, n은 6.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 7이다. 또 다른 구현예에서, n은 7.5이다. 또 다른 구현예에서, n은 8이다.

[0996] 본 발명에 따르면, 글루코코르티코이드 수용체 작용제는 임의의 방법을 통해, 그리고 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질이 항원(예컨대, TNF 알파)과 결합하는 것을 방해하지 않고, 글루코코르티코이드 수용체 작용제의 활성을 방해하지 않는 임의의 위치에서, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질에 연결될 수 있다. 이러한 연결을 달성하기 위한 방법은 예를 들어, Panowski *et al.*, *mAbs* 6: 34-45 (2014), Jain *et al.*, *Pharm. Res.* 32: 3526-3540 (2015), Mack *et al.*, *Seminars in Oncology* 41: 637-652 (2014), 미국 공개 출원번호 2008/0305044 및 미국 공개 출원번호 2011/0097322에 논의된 바 있으며, 이를 각각은 그 전체가 본 설명에 참조로 포함된다.

[0997] 글루코코르티코이드 수용체 작용제는 자연적인 아미노산, 예컨대, 친핵성 기를 갖는 결사슬이 있는 아미노산을 통해, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질에 연결될 수 있다.

[0998] 예를 들어, 이러한 글루코코르티코이드 수용체 작용제는 리신 잔기에 연결될 수 있다. 리신을 통한 접합 방법은 공지되어 있다. 이러한 방법은 제1 화학 반응에서 링커가 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질에 부착된 다음, 제2 화학 반응에서 링커가 글루코코르티코이드 수용체 작용제와 반응하는 2단계의 절차를 포함한다. 또 다른 방법에서, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질에 연결된 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 함유하는 접합체를 형성하기 위하여 사전에 형성된 링커-글루코코르티코이드 수용체 작용제와의 1단계 반응.

[0999] 또한, 글루코코르티코이드 수용체 작용제는 시스테인 잔기에 연결될 수 있다. 시스테인을 통한 접합 방법은 공지되어 있다. IgG1 항체는 네 개의 사슬간 이황화 결합을 함유하며, 이들 결합의 환원이 접합에 이용 가능한 살프하이드릴을 생성한 후에 시스테인을 통한 접합이 일어날 수 있다.

[1000] 글루코코르티코이드 수용체 작용제는 위치 특이적 접합을 통해 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질에 연결될 수 있다.

[1001] 위치 특이적 접합의 한 방법은 시스테인 기반의 위치 특이적 접합이다. 이 방법의 한 예는 Junutula *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 26: 925-935 (2008)이 보고한 바 있다; 또한, Junutula *et al.*, *J. Immunol. Methods* 332:

41-52 (2008) 참조. 이들 각각은 그 전체가 참조로서 본 설명에 포함된다. 이 방법을 이용하여, 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질이 반응성 티올기를 제공하는 추가적인 시스테인으로 공학적으로 조작되어 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 접합시킬 수 있다. 이들 간행물은 항원 결합을 방해하지 않는 반응성 시스테인의 선택과 관련한 지침도 제공한다.

[1002] 또 다른 위치 특이적 접합 방법은 셀레노시스테인을 이용한다. 셀레노시스테인은 시스테인과 비슷하나, 시스테인의 황 원자 위치에 더욱 반응성이 큰 셀레늄 원자를 함유한다. 셀레노시스테인이 선택적으로 활성화되는 조건이 이용될 수 있다. 전체가 본 설명에 참조로 포함되는 문헌[Hofer et al., *Biochemistry* 48: 12047-12057 (2009)]은 이 기술을 예시한 바 있다.

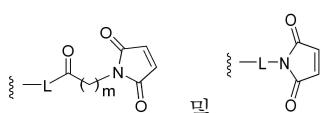
[1003] 또 다른 위치 특이적 접합 방법은 비자연적인 아미노산, 예컨대, 아세틸페닐알라닌(pAcPhe) 또는 파라-아지도페닐알라닌(pAF)을 이용한다. 각각 그 전체가 본 설명에 참조로 포함되는 문헌[Wang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100: 56-61 (2003), Axup et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109:16101-16106 (2012), 및 Kern et al., *JACS* 138: 1430-1445 (2016)]은 이 기술을 예시하였다.

[1004] 또 다른 위치 특이적 접합 방법은 효소에 의한 접근법, 예컨대, 글리코트랜스페라제 또는 트랜스글루타미나제를 이용한다. 돌연변이체 글리코트랜스페라제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 항-TNF 알파 단백질 상의 글리코실화 위치에 화학적으로 활성이 있는 당 모이어티를 부착하는 데 사용될 수 있다. 인간 IgG 항체는 Fc 단편의 잔기 Asn-297에 N-글리코실화 위치를 함유한다. 이 잔기에 부착된 글리칸은 탈갈락토실화될 수 있어, 돌연변이체 글리코트랜스페라제가 그곳으로 전달할 수 있다. 전체가 본 설명에 참조로 포함되는 문헌[Boeggeman et al., *Bioconjug. Chem.* 20: 1228-1236 (2009)]은 이 기술을 예시한 바 있다. 트랜스글루타미나제, 예컨대, 스트렙토베르티실리움 모바란세(*Streptoverticillium mobaranse*)의 트랜스글루타미나제는 항-TNF 알파 단백질 내로 공학적으로 조작될 수 있는 글루타민 태그, 예컨대, LLQG를 인식한다. 전체가 본 설명에 참조로 포함되는 문헌[Jeger et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 49: 9995-9997 (2010)]은 이 기술을 예시한 바 있다.

[1005] 발현된 단백질 라이게이션을 통한 C 말단 부착 또한, 이용될 수 있다. 예를 들어, 인테인 매개 C 말단 티오에스테르 형성이 N 말단 시스테인 웨티드를 함유하는 항-TNF 알파 단백질과의 화학선택적 라이게이션에 이용될 수 있다. 전체가 본 설명에 참조로 포함되는 문헌[Chiang et al., *J. Am. Chem. Soc.* 136: 3370-3373 (2014)]가 이 기술을 예시한 바 있다.

[1006] 또한, 면역접합체 제조에 유용한 합성 중간물질, 예컨대, 화학식 X 및 XI을 갖는 화합물이 본 설명에 제공된다.

[1007] 일 구현예에서, 본 설명에 개시된 합성 중간물질은 화학식 VII, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b 중 임의의 하나 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", VIII-b", IX", IX-a", 또는 IX-b" 중 임의의 하나를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로, 이때, R<sup>7b</sup>는 -L-H, -L-PG,

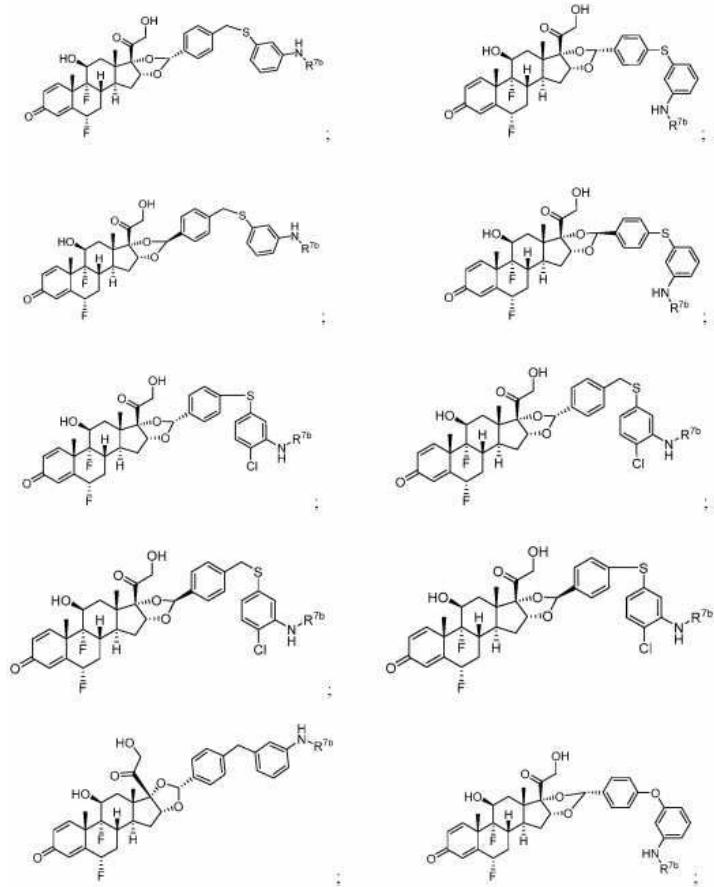


[1008] 및 으로 구성되는 군으로부터 선택된다.

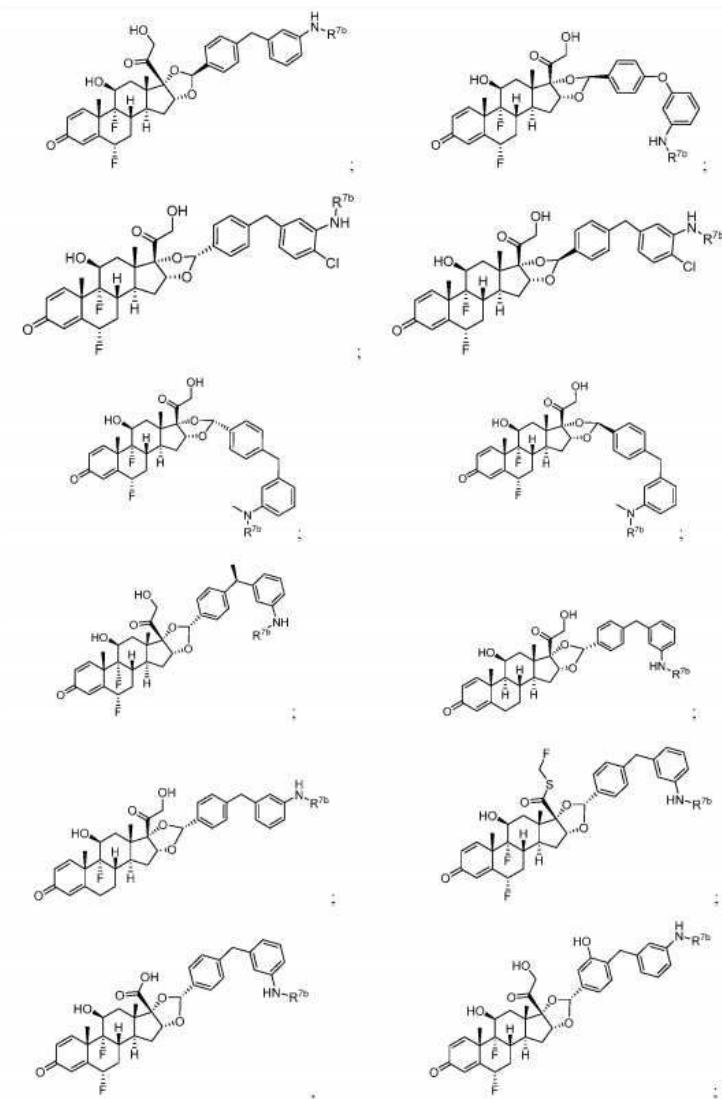
[1009] 또 다른 구현예에서, 본 설명에 개시된 합성 중간물질은 화학식 VIII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로, 이는 표 VIII의 화합물 중 임의의 하나 이상이며,

[1010]

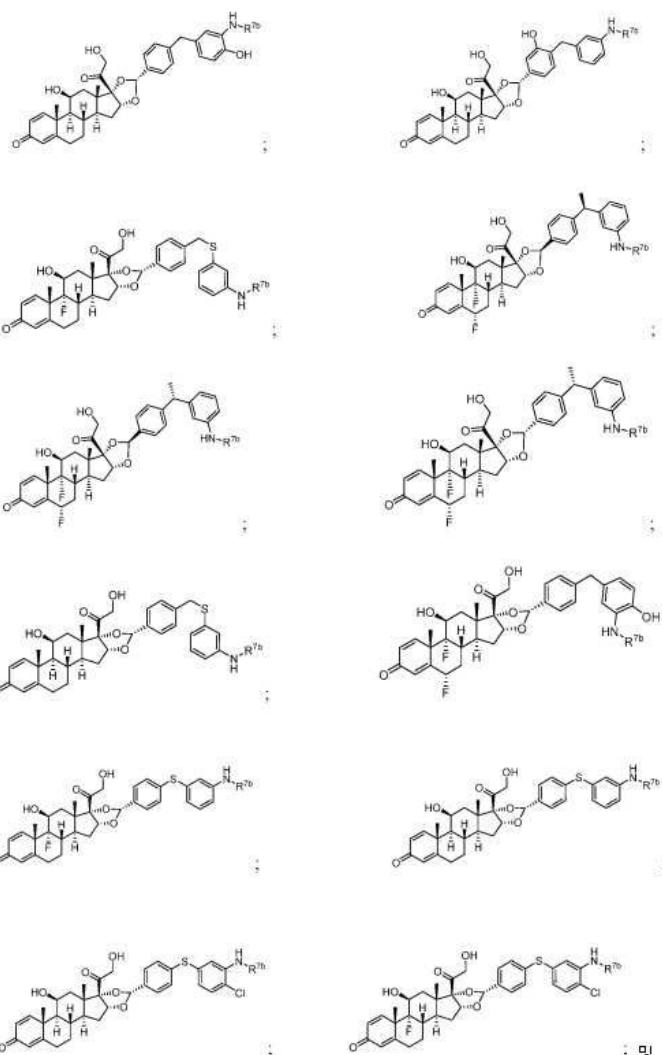
[표 VIII]



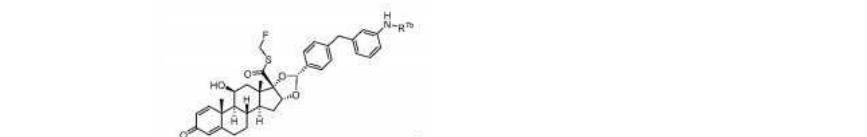
[1011]



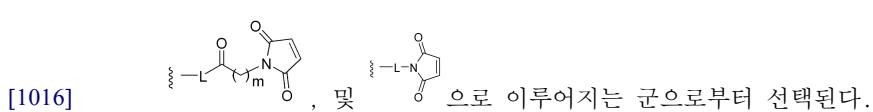
[1012]



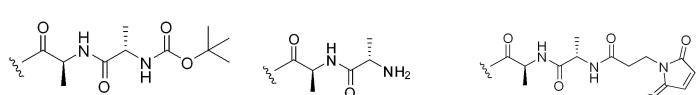
[1013]



[1014]

이 때,  $R^{7b}$ 는  $-L-H$ ,  $-L-PG$ ,

[1017]

또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는

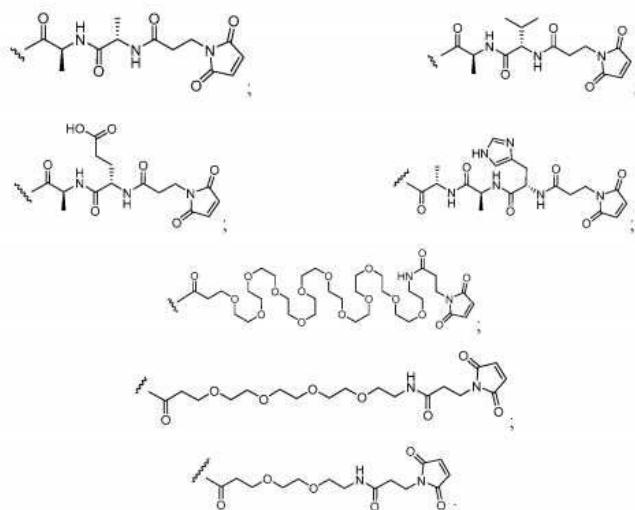
으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[1019]

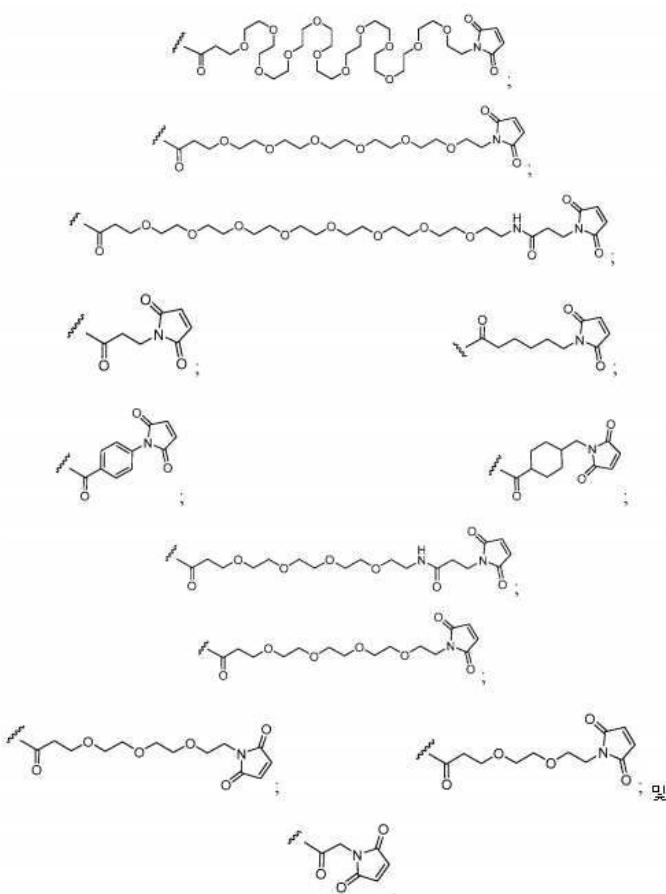
또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는  $R^{7b}-4$ 이다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는  $R^{7b}-5$ 이다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는  $R^{7b}-6$ 이다. 또 다른 구현예에서,  $R^{7b}$ 는 표 IX의 구조 중 임의의 하나이다.

[1020]

[표 IX]



[1021]



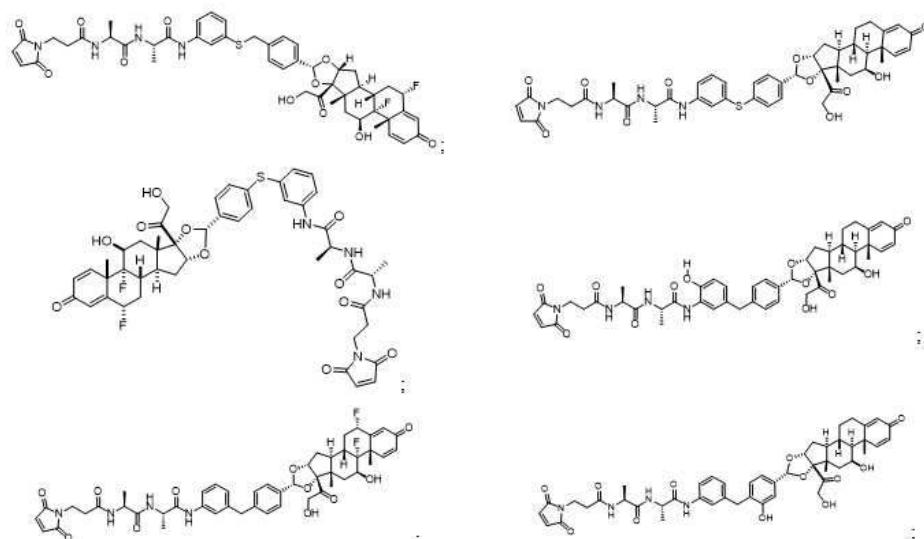
[1022]

[1023]

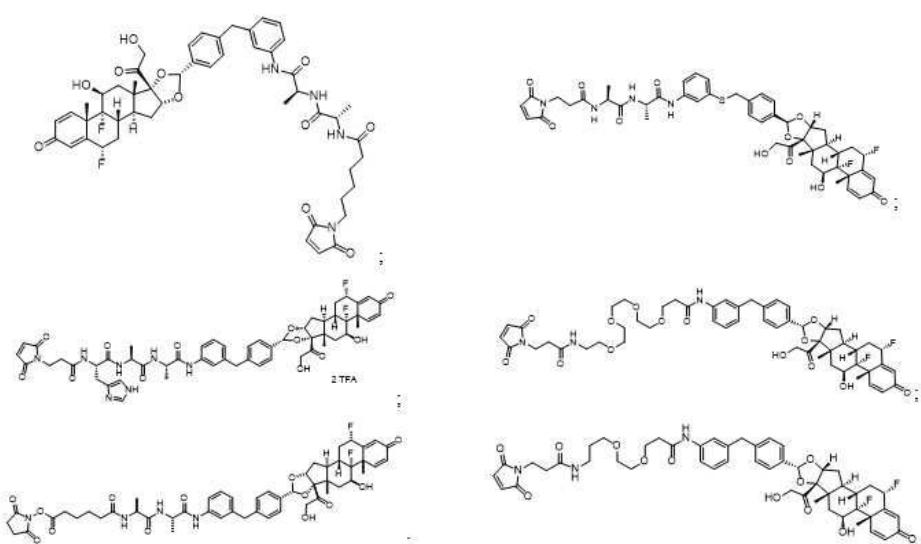
또 다른 구현예에서, 본 설명에 개시된 합성 중간물질은 화학식 VII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로, 이는 표 X의 화합물 중 임의의 하나이다.

[1024]

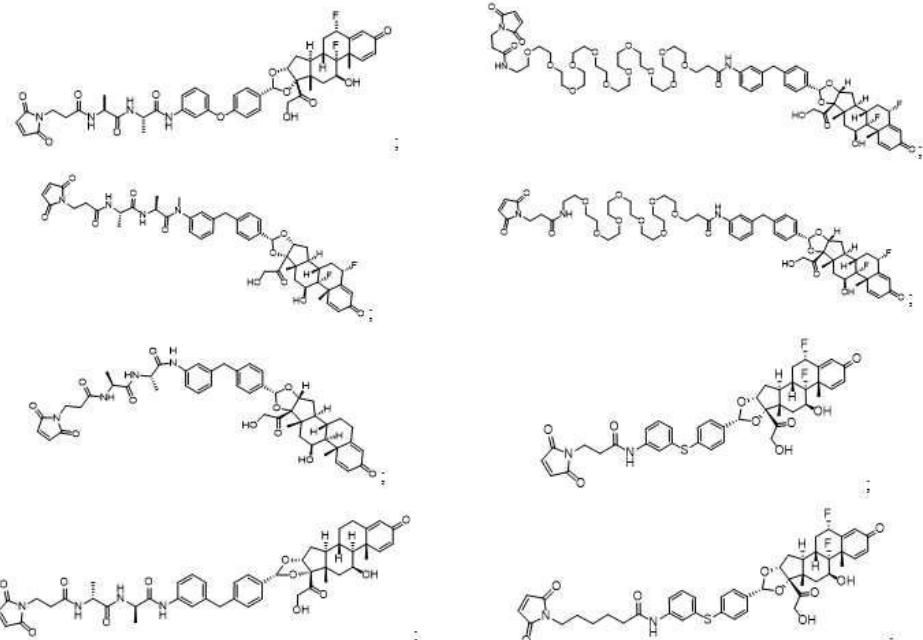
[표 X]



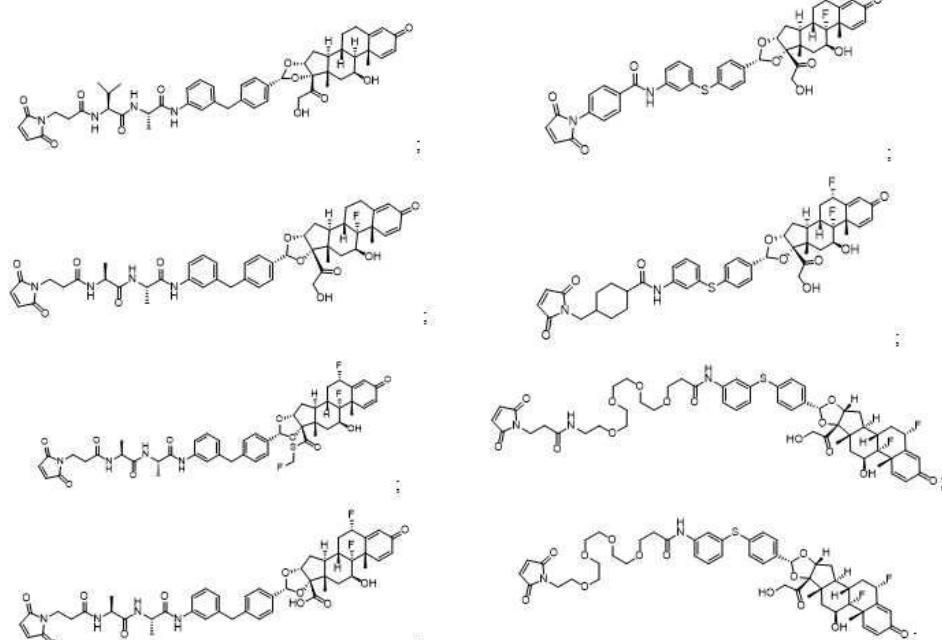
[1025]



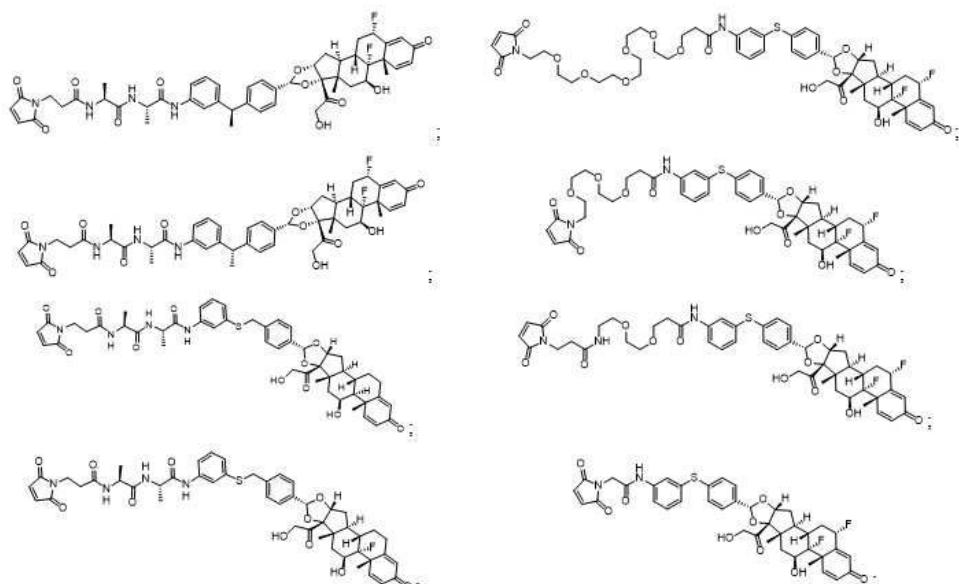
[1026]



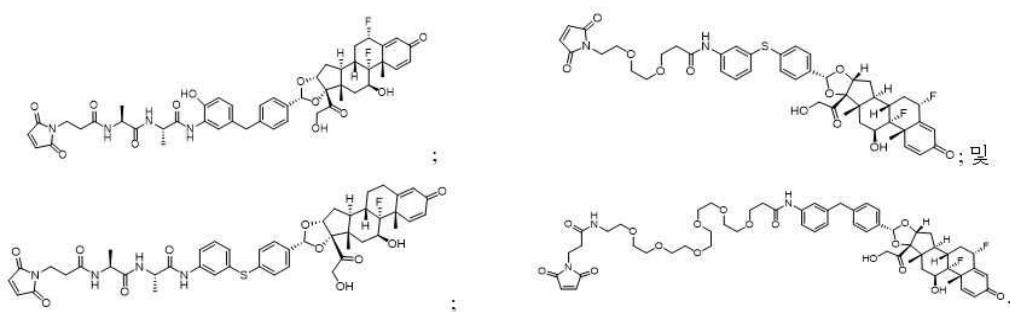
[1027]



[1028]



[1029]



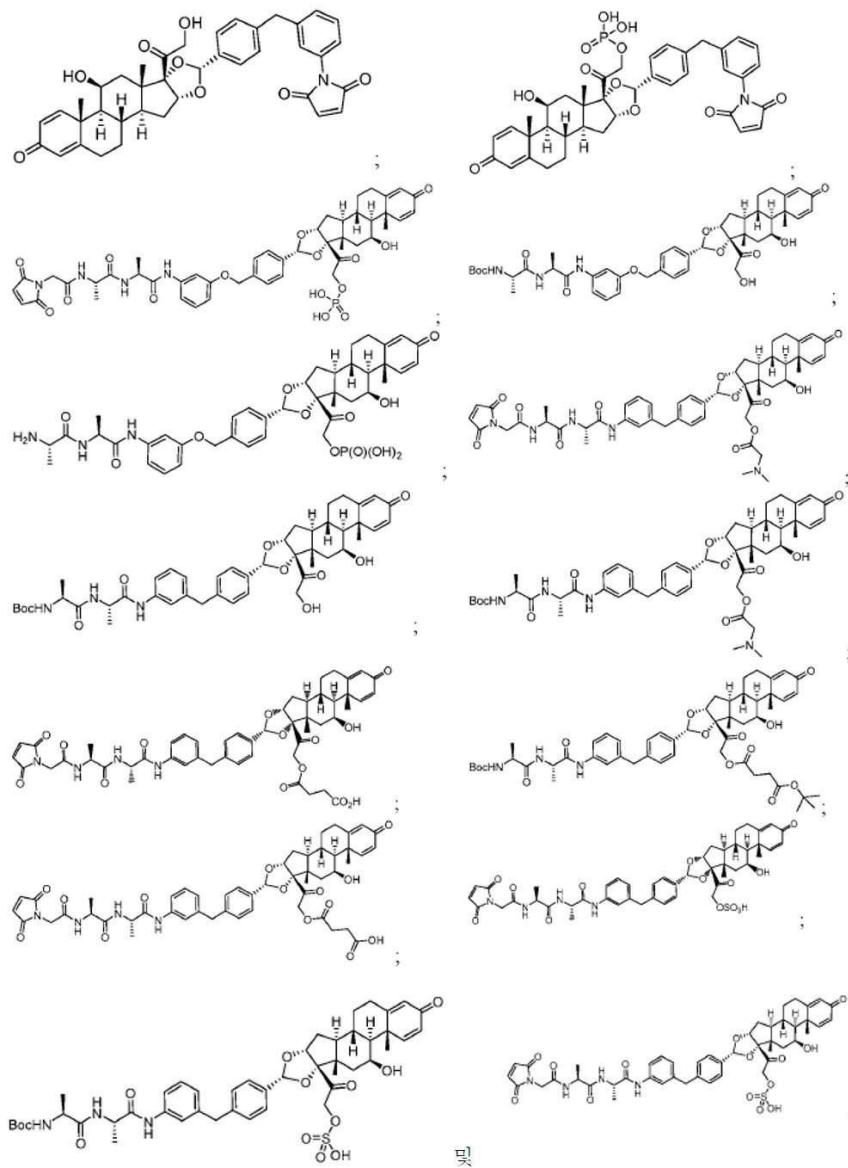
[1030]

[1031]

또 다른 구현예에서, 본 설명에 개시된 합성 중간물질은 화학식 VIII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로, 이는 표 X-A의 화합물 중 임의의 하나이다.

[1032]

[표 X-A]



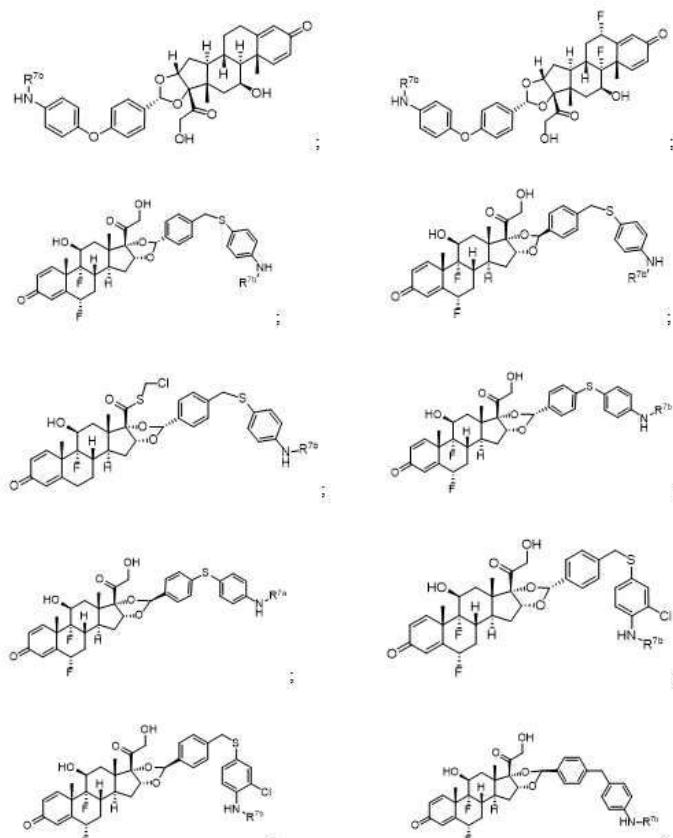
[1033]

[1034]

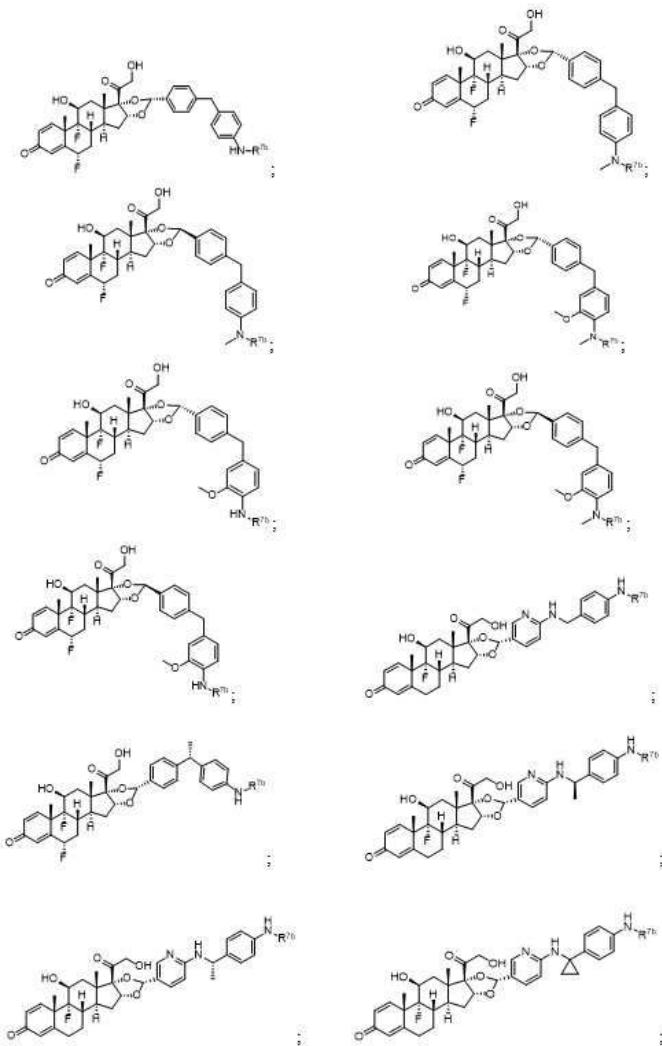
또 다른 구현예에서, 본 설명에 개시된 합성 중간물질은 화학식 IX를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로, 이는 표 XI의 화학 구조 중 임의의 하나이다.

[1035]

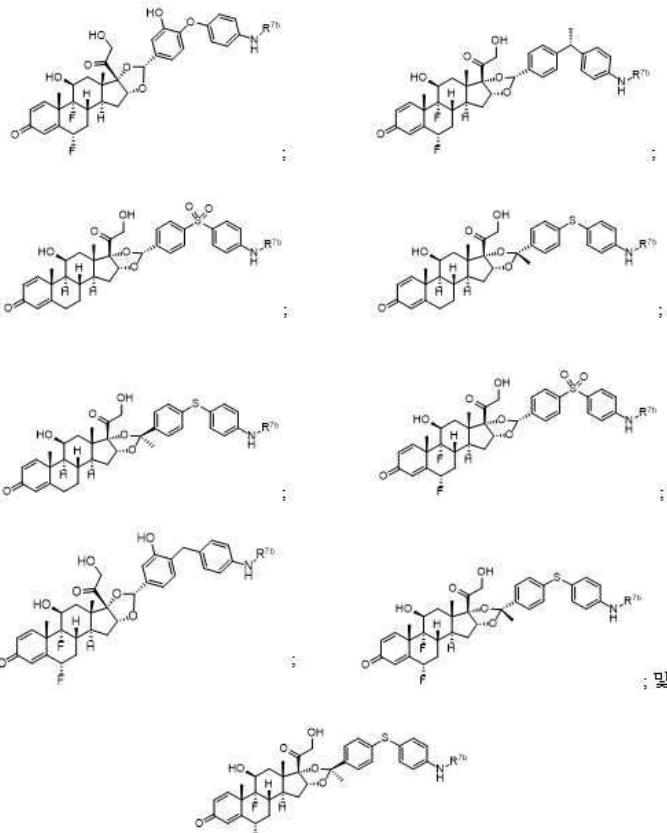
[표 XI]



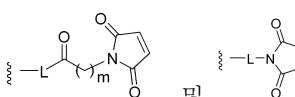
[1036]



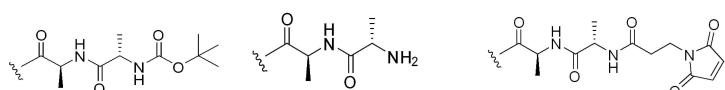
[1037]



[1038]

o 때, R<sup>7b</sup>는 -L-H, -L-PG,

[1040]

또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는

[1042]

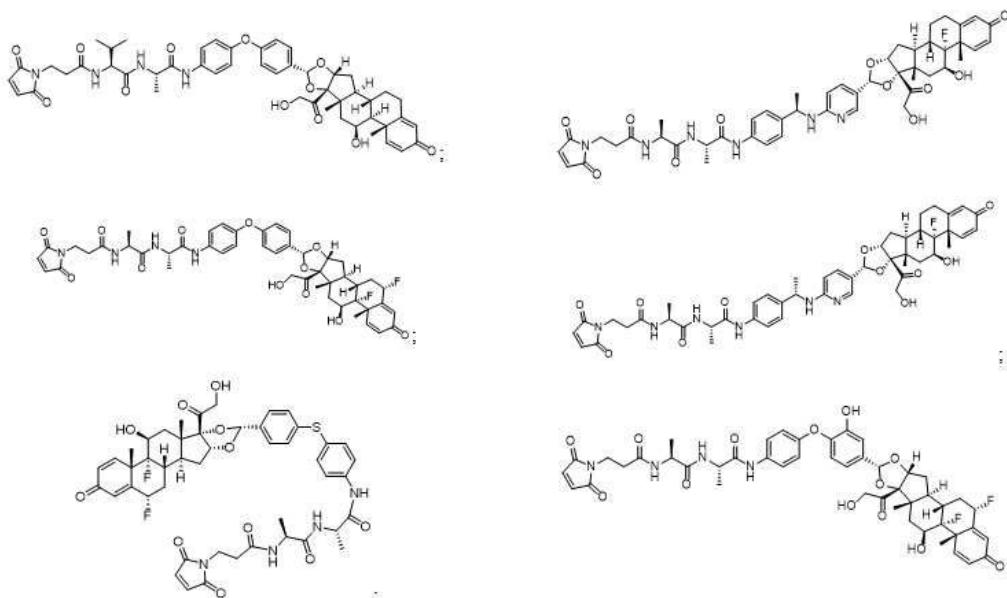
또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b-4</sup>이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b-5</sup>이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b-6</sup>이다. 또 다른 구현예에서, R<sup>7b</sup>는 표 IX의 화학 구조 중 임의의 하나이다.

[1044]

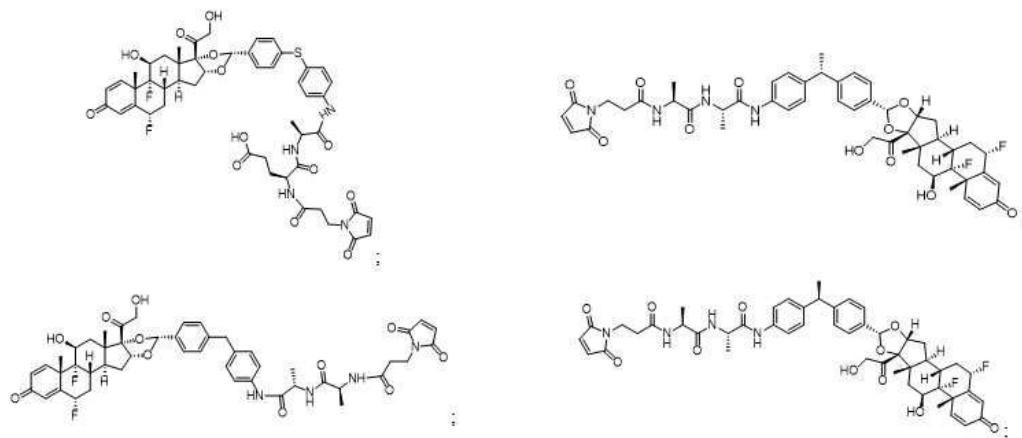
또 다른 구현예에서, 본 설명에 개시된 합성 중간물질은 화학식 IX를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염으로, 이는 표 XII의 화합물 중 임의의 하나이다.

[1045]

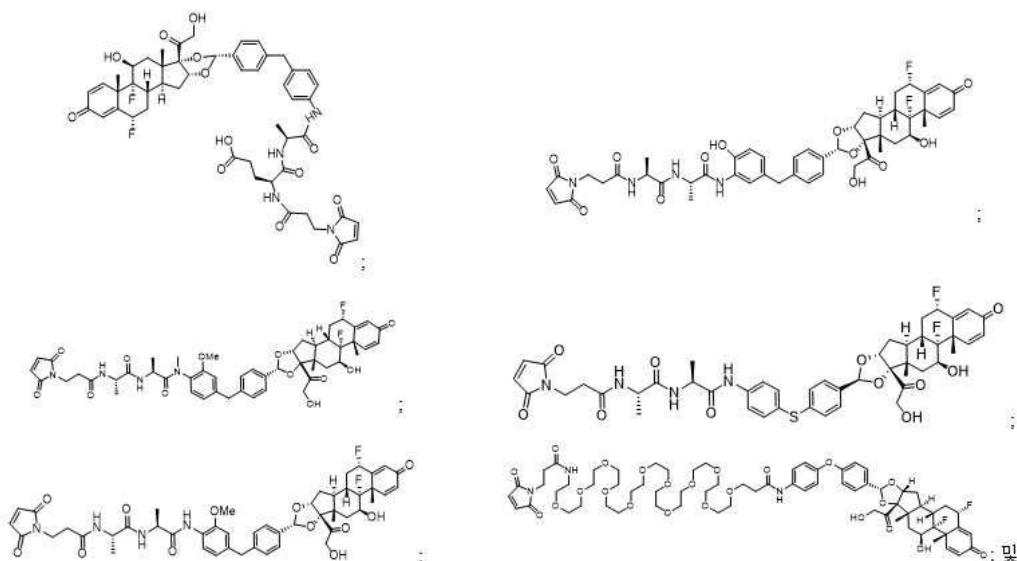
[표 XII]



[1046]



[1047]



[1048]



[1049]

## VII. 이용 방법 및 약학적 조성물

[1050] 시험관 내 또는 생체 내에서 이용될 수 있는, 화학식 I-a 및 I-b를 갖는 접합체, 및 화학식 VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a, 또는 IX-b, 또는 화학식 VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII", VII-A", VII-B", VIII", VIII-a", IX", IX-a", 또는 IX-b"(이때, R<sup>7b</sup>는 수소임) 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코이드 수용체 작용제가 본 설명에 제공된다. 따라서, 생리학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제에서 원하는 정도의 순도를 갖는 본 설명에 기술된 접합체 또는 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 포함하는 조성물, 예컨대, 특정 생체 내 용도를 위한 약학적 조성물 또한, 본 설명에 제공된다(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 투여량 및 농도에서 수용자에 무독성이다.

[1051] 생체 내 투여에 이용되는 조성물(예컨대, 약학적 조성물)은 멸균성일 수 있다. 이는 예컨대, 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다. 생체 내 투여에 이용되는 조성물(예컨대, 약학적 조성물)은 보존제를 포함할 수 있다.

[1052] 본 설명에 제공된 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 포함하는 약학적 조성물은 예를 들어, 코 스프레이, 흡입 에어로졸(예컨대, 구강 흡입용), 또는 캡슐제, 정제, 또는 환제(예컨대, 경구 투여용)로 제형화될 수 있다.

[1053] 본 설명에 제공된 글루코코르티코이드 수용체 작용제(예컨대, 항-TNF ADC)는 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수가 약 1 내지 약 10인 화합물이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 2 내지 약 6이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3 내지 약 4이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.1이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.2이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.3이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.4이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.5이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.6이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.7이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.8이다. 일부 구현예에서, 조성물의 항체당 글루코코르티코이드의 평균 개수(DAR)는 약 3.9이다.

[1054] 글루코코르티코이드 수용체 작용제 및 본 설명에 기술된 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 포함하는 약학적 조성물은 사이토카인 방출 억제(시험관 내 또는 생체 내) 및/또는 자가면역 또는 염증성 질환의 치료에 유용할 수 있다. 글루코코르티코이드 수용체 작용제 및 본 설명에 기술된 글루코코르티코이드 수용체 작용제를 포함하는 약학적 조성물은 천식(예컨대, 기관지 천식), 크론병(예컨대, 회장 및/또는 상행 결장 관련 경도 내지 중등도 활동성 크론병 및/또는 회장 및/또는 상행 결장 관련 경도 내지 중등도 크론병의 임상적 관해의 최대 3개월 까지의 유지), 궤양성 대장염(예컨대, 활동성의, 경도 내지 중등도 궤양성 대장염 환자에서 관해 유도를 위한), 알레르기 비염(예컨대, 계절성 알레르기 비염 및/또는 통년성 알레르기 비염과 관련된 코 증상)의 치료에 유용할 수 있다.

[1055] 인간 환자에 대한 투여를 위해, 본 설명에 제공된 글루코코르티코이드 수용체 작용제의 총 1일 용량은 전형적으로 투여 방식에 따라 0.001 mg 내지 5000 mg의 범위, 또는 0.01 mg 내지 1000 mg의 범위이다. 예를 들어, 경구 투여 또는 정맥 내, 근육 내, 관절 내, 또는 관절 주위 투여는 0.01 mg 내지 1000 mg, 또는 0.1 mg 내지 100 mg의 총 1일 용량을 필요로 할 수 있다. 총 1일 용량은 단일 용량 또는 분할된 용량으로 투여될 수 있다.

[1056] 본 설명에 제공된 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 예를 들어, 정맥 내 투여 또는 주입을 위해, 제형화될 수 있다.

[1057] 본 설명에 기술된 접합체 및 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 증가된 TNF-알파(예컨대, 윤활액 내 증가된

TNF-알파)를 특징으로 하는 질병 또는 장애의 치료 및/또는 자가면역 또는 염증성 질환의 치료를 위해, 표면 TNF-알파를 발현하는 세포를 (시험관 내 또는 생체 내에서) 용해시키는 데 유용할 수 있다.

[1059] 본 설명에 기술된 글루코코르티코이드 수용체 작용제 또는 접합체를 포함하는 약학적 조성물은 류마티스 관절염 (RA), 소아 특발성 관절염(JA), 건선성 관절염(PsA), 척추관절병증, 예컨대, 강직성 척추염(AS) 또는 축성 척추관절병증(axSpA), 성인 크론병(CD), 소아 크론병, 궤양성 대장염(UC), 관 건선(Ps), 화농성 한선염(HS), 포도막염, 베체트병, 또는 판을 포함한 건선의 치료에 이용된다.

[1060] 인간 환자에 대한 투여를 위해, 본 설명에 제공된 접합체의 총 1일 용량은 전형적으로 체중 kg당 0.01 μg 내지 100 mg의 범위이고, 매일, 매주, 매월, 또는 매년 1회 이상 제공될 수 있다.

[1061] 본 발명은 또한, 특정 구현예로서 구현예 1 내지 209를 제공한다. 이러한 구현예에 나타내지 않은, 이들 특정 구현예에 언급된 화학식 및 표는 위의 설명에 기재되어 있다.

[1062] 구현예 1. 화학식 I-a를 갖는 화합물:

[화학식 I-a]

[1064]  $(SM-L-Q)_n-A^1$

[1065] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로, 이때,

[1066]  $A^1$ 은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질이고; L은 링커이며; Q는 헤테로2작용 기 또는 헤테로3작용 기이거나; Q는 부존재하고; n은 1 내지 10이고; SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1067] 구현예 2. 구현예 1에 있어서, SM은 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1068] 구현예 3. 구현예 2에 있어서, SM은 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고:



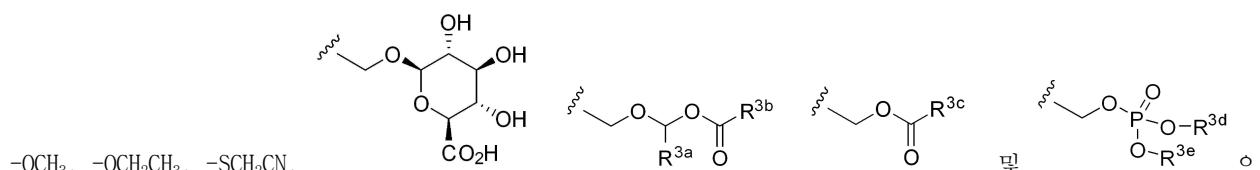
[1069]

[1070] 이때, 황, 산소 또는 질소 원자는 글루코코르티코스테로이드의 C- 또는 D-고리에 직접적으로 또는 간접적으로 부착되고, R은 C<sub>1-4</sub> 알킬인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1071] 구현예 4. 구현예 3에 있어서, 황, 산소 또는 질소 원자는 글루코코르티코스테로이드의 D-고리에 직접적으로 또는 간접적으로 부착되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1072] 구현예 5. 구현예 2 또는 구현예 3에 있어서, SM은 화학식 II-a를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고,

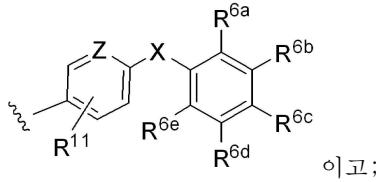
[1073] R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, 하이드록시, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F,



로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1074] R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[1075]  $R^{9a}$ 는 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{9b}$ 는 수소 및 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;  $R^{9a}$ 는



[1076]

이고;

[1077]  $R^{9b}$ 는 수소 또는 메틸이고;

[1078] X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$  및  $-C\equiv C-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; t는 1 또는 2이고;

[1079]

Z는  $=CH-$ ,  $=C(OH)-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$  및  $R^{6e}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{11}$ 은 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1080]

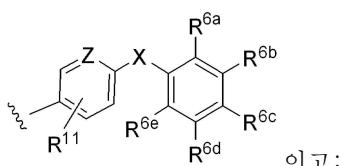
구현예 6. 구현예 5에 있어서, SM은 화학식 II-b를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1081]

구현예 7. 구현예 2 내지 4 중 어느 하나에 있어서, SM은 화학식 II-c를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고,  $R^1$ 은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1082]

$R^2$ 는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{9a}$ 는 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{9b}$ 는 수소 및 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;  $R^{9a}$ 는



[1083]

이고;

[1084]  $R^{9b}$ 는 수소이고;

[1085]

W는  $-O-$  및  $-S-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$  및  $-C\equiv C-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는  $=CH-$ ,  $=C(OH)-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$  및  $R^{6e}$ 는

각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>11</sup>은 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; ===는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1086] 구현예 8. 구현예 7에 있어서, SM은 화학식 II-d를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1087] 구현예 9. 구현예 2 내지 4 중 어느 하나에 있어서, SM은 화학식 II-e를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고, R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>9c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬 및 -C(=O)R<sup>9e</sup>로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>9d</sup>는 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤테로아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>9e</sup>는 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 시클로알킬, 선택적으로 치환된 아릴 및 선택적으로 치환된 헤�테로아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고; W는 -O- 및 -S-로 이루어지는 군으로부터 선택되고; ===는 단일 또는 이중 결합을 나타낸다.

[1088] 구현예 10. 구현예 9에 있어서, SM은 화학식 II-f를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1089] 구현예 11. 구현예 7 내지 10 중 어느 하나에 있어서, W는 -S-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1090] 구현예 12. 구현예 7 내지 10 중 어느 하나에 있어서, W는 -O-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

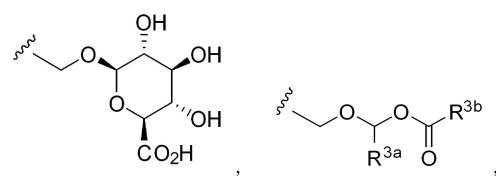
[1091] 구현예 13. 화학식 I-b를 갖는 화합물:

[화학식 I-b]

[1093] (SM-L-Q)<sub>n</sub>-A<sup>2</sup>,

[1094] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로, 이때, A<sup>2</sup>는 단백질이고; L은 링커이며; Q는 헤테로2작용 기 또는 헤테로3작용 기이거나; Q는 부존재하고; n은 1 내지 10이고; SM은 다음 중 임의의 하나를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고: 화학식 II-1, 화학식 II-m, 화학식 II-n, 화학식 II-o, 화학식 II-p 또는 화학식 II-q이고, 이때, R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, 하이드록

시, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SCH<sub>2</sub>CN,

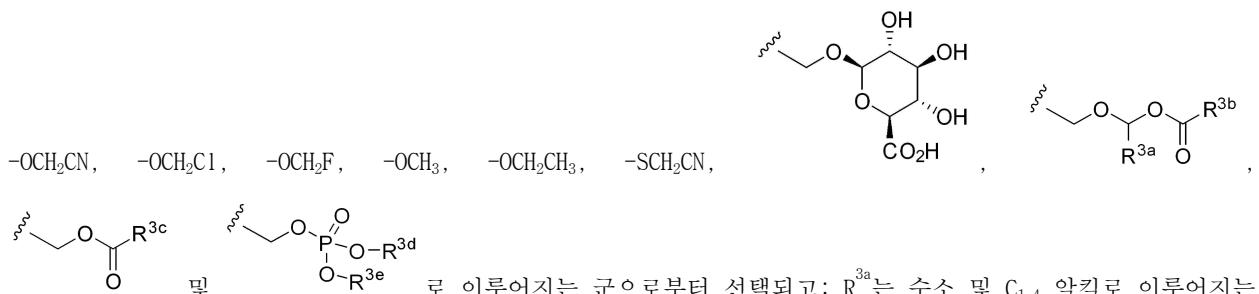


$\text{R}^{3c}$  및  $\text{R}^{3d}$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $\text{R}^{3a}$ 는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $\text{R}^{3b}$ 는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $\text{R}^{3c}$ 는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $\text{R}^{3d}$  및  $\text{R}^{3e}$ 는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 독립적으로 선택되고;  $\text{R}^{6a}$ ,  $\text{R}^{6b}$ ,  $\text{R}^{6c}$ ,  $\text{R}^{6d}$  및  $\text{R}^{6e}$ 는 각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노,

알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$  및  $-C\equiv C-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; Y<sup>2</sup>는  $-O-$ ,  $-S-$  및  $-N(R^{7a})-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; Y<sup>2</sup>는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는  $=CR^{11a}-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고; R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>5</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>9f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>11a</sup> 및 R<sup>11b</sup>는 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1095]

구현예 14. 구현예 2 내지 4 또는 13 중 어느 하나에 있어서, SM은 화학식 II-1을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고, R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2SH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$ ,  $-SCH_2CF_3$ , 하이드록시,



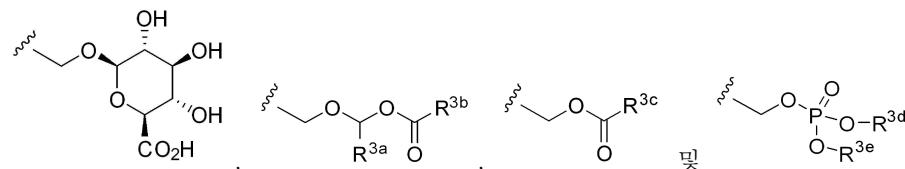
$R^{3c}$  및  $R^{3d}$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬,  $-CH_2OH$  및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 독립적으로 선택되고; X는  $-(CR^{4a}R^{4b})^t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$  및  $-C\equiv C-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는  $=CR^{11a}-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고; R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>5</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>6a</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup> 및 R<sup>6e</sup>는 각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; Y<sup>2</sup>는  $-O-$ ,  $-S-$  및  $-N(R^{7a})-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; Y<sup>2</sup>는 부존재하고; R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>9f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>11a</sup> 및 R<sup>11b</sup>는 수소, 할로, C<sup>1-4</sup> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1096] 구현예 15. 구현예 14에 있어서, SM은 화학식 II-m을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1097] 구현예 16. 구현예 14에 있어서, SM은 화학식 II-n을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1098] 구현예 17. 구현예 2 내지 4 또는 13 중 어느 하나에 있어서, SM은 화학식 II-o를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼이고, R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, 하이드록시, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>O-C(=O)R<sup>3c</sup> 및 -OCH<sub>2</sub>OP(=O)(OR<sup>3d</sup>)<sub>2</sub>로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 독립적으로 선택되고; X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -NR<sup>5</sup>-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>O-, -N(H)C(R<sup>8a</sup>)(R<sup>8b</sup>)-, -CR<sup>4c</sup>=CR<sup>4d</sup>- 및 -C≡C-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는 =CR<sup>11a</sup>- 및 =N-으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고; R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>5</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6d</sup> 및 R<sup>6e</sup>는 각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; Y<sup>2</sup>는 -O-, -S- 및 -N(R<sup>7a</sup>)-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; Y<sup>2</sup>는 부존재하고; R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>9f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>11a</sup> 및 R<sup>11b</sup>는 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1099] 구현예 18. 구현예 17에 있어서, SM은 화학식 II-p를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1100] 구현예 19. 구현예 17에 있어서, SM은 화학식 II-q를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1101] 구현예 20. 구현예 5 내지 19 중 어느 하나에 있어서, ---는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1102] 구현예 21. 구현예 5 내지 20 중 어느 하나에 있어서, R<sup>1</sup>은 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1103] 구현예 22. 구현예 5 내지 21 중 어느 하나에 있어서, R<sup>2</sup>는 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되

는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1104] 구현예 23. 구현예 5, 6, 또는 13 내지 22 중 어느 하나에 있어서, R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1105] 구현예 24. 구현예 5, 6, 또는 13 내지 22 중 어느 하나에 있어서, R<sup>3</sup>은



[1106] 및

[1107] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1108] R<sup>3a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3b</sup>는 메틸, 에틸, 이소프로필, 이소부틸, 메톡시, 에톡시, 이소프로포록시 및 이소부톡시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3c</sup>는 수소, 메틸, 에틸, -CH<sub>2</sub>OH, 메톡시, 에톡시 및 이소프로포록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소, 메틸 및 에틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1109] 구현예 25. 구현예 5 내지 8 또는 11 내지 24 중 어느 하나에 있어서, R<sup>5</sup> 및 R<sup>8a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1110] 구현예 26. 구현예 5 내지 8, 11 내지 25 중 어느 하나에 있어서, Z는 =CH-인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1111] 구현예 27. 구현예 5 내지 8 또는 11 내지 25 중 어느 하나에 있어서, Z는 =N-인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1112] 구현예 28. 구현예 5 내지 8 또는 11 내지 27 중 어느 하나에 있어서, R<sup>6a</sup>, R<sup>6d</sup> 및 R<sup>6e</sup>는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1113] 구현예 29. 구현예 13 내지 28 중 어느 하나에 있어서, Y<sup>2</sup>는 -N(R<sup>7a</sup>)<sub>2</sub>-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1114] 구현예 30. 구현예 29에 있어서, R<sup>7a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1115] 구현예 31. 구현예 30에 있어서, R<sup>7a</sup>는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1116] 구현예 32. 구현예 30에 있어서, R<sup>7a</sup>는 메틸인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1117] 구현예 33. 구현예 5 내지 8 또는 13 내지 32 중 어느 하나에 있어서, X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>S-, 및 -N(H)CH(R<sup>8a</sup>)-로 이루어지는 군으로부터 선택되고; t는 1이고; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 시클로알킬을 형성하고; R<sup>8a</sup>는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1118] 구현예 34. 구현예 33에 있어서, X는 -CH<sub>2</sub>-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1119] 구현예 35. 구현예 33에 있어서, X는



[1120] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1121] 구현예 36. 구현예 33에 있어서, X는 -O-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1122] 구현예 37. 구현예 33에 있어서, X는 -S-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1123] 구현예 38. 구현예 33에 있어서, X는 -CH<sub>2</sub>S-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1124] 구현예 39. 구현예 33에 있어서, X는 -N(H)CH<sub>2</sub>-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1125] 구현예 40. 구현예 33에 있어서, X는



[1126]

으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1128] 구현예 41. 구현예 13 내지 16 또는 20 내지 40 중 어느 하나에 있어서, R<sup>6c</sup>는 수소, -Cl, -OCH<sub>3</sub> 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1129] 구현예 42. 구현예 13 또는 17 내지 40 중 어느 하나에 있어서, R<sup>6b</sup>는 수소, -Cl, -OCH<sub>3</sub> 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1130] 구현예 43. 구현예 13 내지 42 중 어느 하나에 있어서, R<sup>9f</sup>는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1131] 구현예 44. 구현예 13 내지 42 중 어느 하나에 있어서, R<sup>9f</sup>는 메틸인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1132] 구현예 45. 구현예 13 내지 44 중 어느 하나에 있어서, R<sup>11a</sup>는 수소 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1133] 구현예 46. 구현예 13 내지 44 중 어느 하나에 있어서, R<sup>11b</sup>는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1134] 구현예 47. 구현예 1 내지 46 중 어느 하나에 있어서, L은 절단 가능한 링커인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1135] 구현예 48. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 절단 가능한 링커는 석신이미드, 아미드, 티오우레아, 티오에테르, 옥심, 또는 자기 희생 기, 또는 이의 조합을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1136] 구현예 49. 구현예 1 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 절단 가능한 링커는 웨პ티드를 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1137] 구현예 50. 구현예 49에 있어서, 절단 가능한 링커는 트리웨პ티드를 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1138] 구현예 51. 구현예 49에 있어서, 절단 가능한 링커는 디웨პ티드를 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1139] 구현예 52. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 절단 가능한 링커는 인산염 에스테르를 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

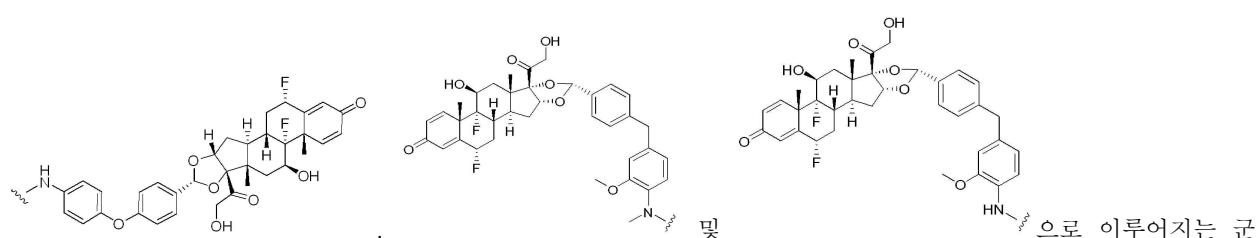
- [1140] 구현예 53. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 절단 가능한 링커는 피로인산염 디에스테르를 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1141] 구현예 54. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, Q는 부존재하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1142] 구현예 55. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, Q는 Q-1, Q-2, Q-3, Q-4, Q-5 및 Q-6으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 해테로2작용 기이고, m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1143] 구현예 56. 구현예 1 내지 53 중 어느 하나에 있어서, Q는 Q-7인 해테로2작용 기인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1144] 구현예 57. 구현예 55에 있어서, Q는 Q-1, Q-2, Q-3 및 Q-4로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1145] 구현예 58. 구현예 57에 있어서, Q는 Q-3 및 Q-4로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1146] 구현예 59. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-1이고; m은 1 또는 2이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1147] 구현예 60. 구현예 59에 있어서, -L-Q-는 LQ-2인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1148] 구현예 61. 구현예 59에 있어서, -L-Q-는 LQ-3인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1149] 구현예 62. 구현예 59에 있어서, -L-Q-는 LQ-4인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1150] 구현예 63. 구현예 59에 있어서, -L-Q-는 LQ-5인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1151] 구현예 64. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-6이고; m은 1 또는 2이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1152] 구현예 65. 구현예 64에 있어서, -L-Q-는 LQ-7인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1153] 구현예 66. 구현예 64에 있어서, -L-Q-는 LQ-8인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1154] 구현예 67. 구현예 64에 있어서, -L-Q-는 LQ-9인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1155] 구현예 68. 구현예 64에 있어서, -L-Q-는 LQ-10인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1156] 구현예 69. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, L은 절단 불가능한 링커인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1157] 구현예 70. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 절단 가능한 링커는 하나 이상의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1158] 구현예 71. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-11이고; m은 1 또는 2이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1159] 구현예 72. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-12이고; m은 1 또는 2이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1160] 구현예 73. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-14이고; m은 1 또는 2이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이

루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1161] 구현예 74. 구현예 73에 있어서, -L-Q-는 LQ-15인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1162] 구현예 75. 구현예 73에 있어서, -L-Q-는 LQ-16인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1163] 구현예 76. 구현예 73에 있어서, -L-Q-는 LQ-17인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1164] 구현예 77. 구현예 73에 있어서, -L-Q-는 LQ-18인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1165] 구현예 78. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-19이고; m은 1 또는 2이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1166] 구현예 79. 구현예 78에 있어서, -L-Q-는 LQ-20인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1167] 구현예 80. 구현예 78에 있어서, -L-Q-는 LQ-21인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1168] 구현예 81. 구현예 78에 있어서, -L-Q-는 LQ-22인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1169] 구현예 82. 구현예 78에 있어서, -L-Q-는 LQ-23인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1170] 구현예 83. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-13이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1171] 구현예 84. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-29이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1172] 구현예 85. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-24이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1173] 구현예 86. 구현예 85에 있어서, -L-Q-는 LQ-25인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1174] 구현예 86A. 구현예 85에 있어서, -L-Q-는 LQ-26인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1175] 구현예 87. 구현예 85에 있어서, -L-Q-는 LQ-27인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1176] 구현예 88. 구현예 85에 있어서, -L-Q-는 LQ-28인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1177] 구현예 89. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-30이고; x는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1178] 구현예 90. 구현예 89에 있어서, -L-Q-는 LQ-31인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1179] 구현예 91. 구현예 89에 있어서, -L-Q-는 LQ-32인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는

용매화물.

- [1180] 구현예 92. 구현예 89에 있어서, -L-Q-는 LQ-33인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1181] 구현예 93. 구현예 89에 있어서, -L-Q-는 LQ-34인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1182] 구현예 94. 구현예 55, 59 내지 68, 또는 71 내지 82 중 어느 하나에 있어서, m은 2인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1183] 구현예 95. 구현예 1 내지 47 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 표 I의 화학 구조 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1184] 구현예 96. 구현예 1 내지 95 중 어느 하나에 있어서, n은 2 내지 8인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1185] 구현예 97. 구현예 96에 있어서, n는 2 내지 5인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1186] 구현예 98. 구현예 1 내지 95 중 어느 하나에 있어서, n은 2인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1187] 구현예 99. 구현예 1 내지 95 중 어느 하나에 있어서, n은 4인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1188] 구현예 100. 구현예 1 또는 47 내지 99 중 어느 하나에 있어서, SM은 표 II의 화학 구조 중 임의의 하나인 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1189] 구현예 101. 구현예 100에 있어서, SM은



으로부터 선택된 글루코코르티코이드의 1가 라디칼인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1191] 구현예 102. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 항체 또는 이의 항원 결합 단편이거나 A<sup>2</sup>가 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1192] 구현예 103. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 인간 종양 괴사 인자(TNF) 알파 및/또는 뮤린 TNF 알파에 결합하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 인간 TNF 알파 및/또는 뮤린 TNF 알파에 결합하는 단백질인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1193] 구현예 104. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 가용성 종양 괴사 인자(TNF) 알파에 결합하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 가용성 TNF 알파에 결합하는 단백질인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1194] 구현예 105. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 막 결합 종양 괴사 인자(TNF) 알파에 결합하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 막 결합 TNF 알파에 결합하는 단백질인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1195] 구현예 106. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 항-종양 괴사 인자(TNF) 항체를 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 항-TNF 항체를 포함하는 단백질인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는

용매화물.

[1196] 구현예 107. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 항-종양 폐사 인자(TNF) 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 항-TNF 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 단백질인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1197] 구현예 108. 구현예 102 내지 105 또는 107 중 어느 하나에 있어서, 항원 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')2, 단쇄 Fv 또는 scFv, 이황화 결합된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgGΔCH2, 미니바디, F(ab')3, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일 도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb2, (scFv)2, 또는 scFv-Fc로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1198] 구현예 109. 구현예 1 내지 108 중 어느 하나에 있어서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 뮤린, 키메라, 인간화 또는 인간 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1199] 구현예 110. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 가용성 종양 폐사 인자(TNF) 수용체를 포함하는 항-TNF 알파 단백질이거나 A<sup>2</sup>가 가용성 TNF 수용체를 포함하는 단백질인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1200] 구현예 111. 구현예 110에 있어서, 가용성 TNF 수용체는 가용성 p75 TNF 수용체인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1201] 구현예 112. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1202] 구현예 113. 구현예 112에 있어서, 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편은 (a) IgA 불변 도메인; (b) IgD 불변 도메인; (c) IgE 불변 도메인; (d) IgG1 불변 도메인; (e) IgG2 불변 도메인; (f) IgG3 불변 도메인; (g) IgG4 불변 도메인; 및 (h) IgM 불변 도메인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 불변 도메인을 포함하거나 이의 단편인 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1203] 구현예 114. 구현예 113에 있어서, 중쇄 불변 도메인은 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1204] 구현예 115. 구현예 114에 있어서, 중쇄 불변 도메인은 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1205] 구현예 116. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1206] 구현예 117. 구현예 116에 있어서, 경쇄 불변 도메인 또는 이의 단편은 (a) Ig 카파 불변 도메인 및 (b) Ig 람다 불변 도메인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 불변 도메인을 포함하거나 이의 단편인 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1207] 구현예 118. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 TNF-알파에 대한 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하거나 A<sup>2</sup>가 TNF-알파에 대한 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체의 결합을 경쟁적으로 억제하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1208] 구현예 119. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체와 동일한 TNF-알파 에피토프에 결합하거나 A<sup>2</sup>가 아달리무맙, 인플릭시맙, 세르톨리주맙 폐골 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 항체와 동일한 TNF-알파 에피토프에 결합하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1209] 구현예 120. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, 항-TNF 알파 단백질 또는 단백질은 아달리무맙, 인플릭

시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1210] 구현예 121. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 각각 서열번호 3 또는 6, 서열번호 4 및 서열번호 5의 가변 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열 및 각각 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 34의 가변 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 각각 서열번호 3 또는 6, 서열번호 4 및 서열번호 5의 가변 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열 및 각각 서열번호 32, 서열번호 33 및 서열번호 34의 가변 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1211] 구현예 122. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 서열번호 50의 가변 중쇄 서열 및 서열번호 59의 가변 경쇄 서열을 포함하거나 A<sup>2</sup>가 서열번호 50의 가변 중쇄 서열 및 서열번호 59의 가변 경쇄 서열을 포함하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1212] 구현예 123. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 TNF 베타에 결합하지 않거나 A<sup>2</sup>가 TNF 베타에 결합하지 않는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1213] 구현예 124. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 TNF 베타에 결합하거나 A<sup>2</sup>가 TNF 베타에 결합하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1214] 구현예 125. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 1X10<sup>-7</sup> M 이하의 IC50으로 표준적인 시험관 내 L929 분석법에서 인간 TNF-알파 세포독성을 중화하거나 A<sup>2</sup>가 1X10<sup>-7</sup> M 이하의 IC50으로 표준적인 시험관 내 L929 분석법에서 인간 TNF-알파 세포독성을 중화하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1215] 구현예 126. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 p55 및 p75 세포 표면 수용체와 TNF-알파의 상호 작용을 차단하거나 A<sup>2</sup>가 p55 및 p75 세포 표면 수용체와 TNF-알파의 상호 작용을 차단하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1216] 구현예 127. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 보체의 존재 하에 시험관 내에서 표면 TNF 발현 세포를 용해시키거나 A<sup>2</sup>가 보체의 존재 하에 시험관 내에서 표면 TNF 발현 세포를 용해시키는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1217] 구현예 128. 구현예 111에 있어서, 가용성 p75 TNF 수용체는 에타네르셉트인 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1218] 구현예 129. 구현예 102에 있어서, 항체는 아달리무맙인 것인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1219] 구현예 130. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 Fc 감마 수용체에 결합하거나 A<sup>2</sup>가 Fc 감마 수용체에 결합하는 것인, 화합물.
- [1220] 구현예 131. 구현예 1 내지 101 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>이 GRE 막판통 TNF-알파 리포터 분석법 및/또는 L929 분석법에서 활성이 있거나 A<sup>2</sup>가 GRE 막판통 TNF-알파 리포터 분석법 및/또는 L929 분석법에서 활성이 있는 것인, 화합물.
- [1221] 구현예 132. 구현예 1 또는 102 내지 131 중 어느 하나에 있어서, 표 III의 화학 구조 중 임의의 하나인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로서, n은 1 내지 5이고, A는 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1222] 구현예 133. 구현예 132에 있어서, 표 IV의 화학 구조 중 임의의 하나인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로서, A는 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1223] 구현예 134. 구현예 1 또는 102 내지 131에 있어서, 표 V의 화학 구조 중 임의의 하나인 화합물, 또는 이의 약

학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로서, n은 1 내지 5이고, A는 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1224] 구현예 135. 구현예 134에 있어서, n는 2 내지 4인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1225] 구현예 136. 구현예 1 내지 135 중 어느 하나의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.

[1226] 구현예 137. 복수의, 구현예 1 내지 135 중 어느 하나의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 포함하는 약학적 조성물로서, 약학적 조성물에서 화합물은 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>당 평균 1 내지 10의 SM-L-Q을 갖거나, 즉, n이 1 내지 10이거나, A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>당 평균 2 내지 6의 SM-L-Q, A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>당 평균 3 내지 4 SM-L-Q, A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>당 평균 약 2의 SM-L-Q, A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>당 평균 약 3의 SM-L-Q, 또는 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>당 평균 약 4의 SM-L-Q를 갖는 것인, 약학적 조성물.

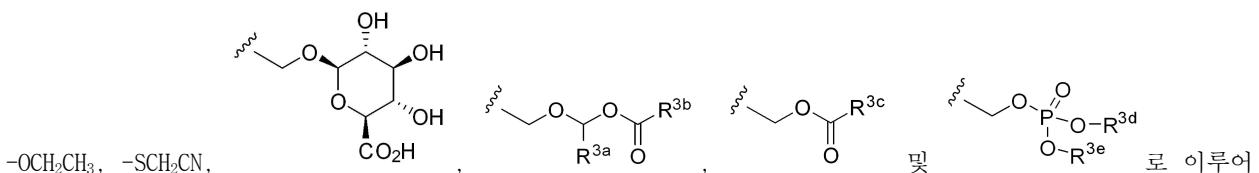
[1227] 구현예 138. 표면 TNF-알파를 발현하는 세포를 구현예 1 내지 135 중 어느 하나의 화합물 또는 구현예 136 또는 137의 약학적 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 표면 TNF-알파를 발현하는 세포를 용해시키는 방법.

[1228] 구현예 139. 자가면역 질환 치료를 필요로 하는 환자에 구현예 1 내지 135 중 어느 하나의 화합물 또는 구현예 136 또는 137의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 환자의 자가면역 질환 치료 방법.

[1229] 구현예 140. 구현예 139에 있어서, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 성인 크론병, 소아 크론병, 궤양성 대장염, 관 건선, 화농성 한선염, 포도막염, 베체트병, 척추 관절병증, 또는 건선인, 방법.

[1230] 구현예 141. 윤활액 중 증가된 TNF-알파를 특징으로 하는 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 환자에 구현예 1 내지 135 중 어느 하나의 화합물 또는 구현예 136 또는 137의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 환자의 윤활액 중 증가된 TNF-알파를 특징으로 하는 질환 또는 장애 치료 방법.

[1231] 구현예 142. 화학식 VII의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로, 이때, R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, 하이드록시, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>,



지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 독립적으로 선택되고; X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -NR<sup>5</sup>-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>O-, -N(H)C(R<sup>8a</sup>)(R<sup>8b</sup>)-, -CR<sup>4c</sup>=CR<sup>4d</sup>- 및 -C≡C-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는 =CR<sup>11a</sup>- 및 =N-으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고; R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>5</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>6a</sup>, R<sup>6b</sup>, R<sup>6c</sup> 및 R<sup>6d</sup>는 각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, v 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>7b</sup>는 수소, -L-H,

, 및 
 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고; L은 링커이고; PG는 보호기이고;  $R^{9f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{11a}$  및  $R^{11b}$ 는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1232] 구현예 143. 구현예 142에 있어서,  $R^{7b}$ 는  $R^{7b}-1$ ,  $R^{7b}-2$  및  $R^{7b}-3$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $m$ 은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$  각각은 수소 및 선택적으로 치환된  $C_{1-6}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1233] 구현예 144. 구현예 142 또는 구현예 143에 있어서, 화학식 VIII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1234] 구현예 145. 구현예 144에 있어서, 화학식 VIII-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1235] 구현예 146. 구현예 144에 있어서, 화학식 VIII-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1236] 구현예 147. 구현예 142 또는 구현예 143에 있어서, 화학식 IX를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1237] 구현예 148. 구현예 147에 있어서, 화학식 IX-a를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1238] 구현예 149. 구현예 147에 있어서, 화학식 IX-b를 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1239] 구현예 150. 구현예 142 내지 149 중 어느 하나에 있어서, ---는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1240] 구현예 151. 구현예 142 내지 150 중 어느 하나에 있어서,  $R^1$ 은 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1241] 구현예 152. 구현예 142 내지 151 중 어느 하나에 있어서,  $R^2$ 는 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1242] 구현예 153. 구현예 142 내지 152 중 어느 하나에 있어서,  $R^3$ 은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$  및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1243] 구현예 154. 구현예 142 내지 152 중 어느 하나에 있어서,  $R^3$ 은
- , 및 
 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;
- [1244]  $R^{3a}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3b}$ 는 메틸, 에틸, 이소프로필, 이소부틸, 메톡시, 에톡

시, 이소프로록시 및 이소부톡시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3c}$ 는 수소, 메틸, 에틸,  $-CH_2OH$ , 메톡시, 에톡시 및 이소프로록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3d}$  및  $R^{3e}$ 는 수소, 메틸 및 에틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1246] 구현예 155. 구현예 142 내지 154 중 어느 하나에 있어서,  $R^5$  및  $R^{8a}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1247] 구현예 156. 구현예 142 내지 155 중 어느 하나에 있어서, Z는 =CH-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1248] 구현예 157. 구현예 142 내지 155 중 어느 하나에 있어서, Z는 =N-인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1249] 구현예 158. 구현예 142 내지 155 중 어느 하나에 있어서,  $R^{7a}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1250] 구현예 159. 구현예 158에 있어서,  $R^{7a}$ 는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1251] 구현예 160. 구현예 158에 있어서,  $R^{7a}$ 는 메틸인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1252] 구현예 161. 구현예 142 내지 160 중 어느 하나에 있어서,

[1253] X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-CH_2S-$ , 및  $-N(H)CH(R^{8a})-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; t는 1이고;  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및 메틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 시클로알킬을 형성하는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1254] 구현예 162. 구현예 161에 있어서, X는  $-CH_2-$ 인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1255] 구현예 163. 구현예 161에 있어서, X는



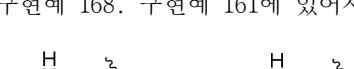
[1256] 구현예 164. 구현예 161에 있어서, X는  $-O-$ 인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1257] 구현예 165. 구현예 161에 있어서, X는  $-S-$ 인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1258] 구현예 166. 구현예 161에 있어서, X는  $-CH_2S-$ 인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1259] 구현예 167. 구현예 161에 있어서, X는  $-N(H)CH_2-$ 인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1260] 구현예 168. 구현예 161에 있어서, X는



[1261] 구현예 169. 구현예 142 내지 168 중 어느 하나에 있어서,  $R^{11b}$ 는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1262] 구현예 170. 구현예 142 내지 169 중 어느 하나에 있어서,  $R^{7b}$ 는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

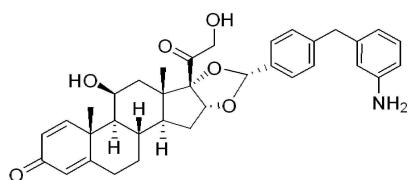
- [1265] 구현예 171. 구현예 142 내지 170 중 어느 하나에 있어서, R<sup>6b</sup>는 수소, -Cl, -OCH<sub>3</sub> 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1266] 구현예 172. 구현예 142 내지 171 중 어느 하나에 있어서, R<sup>9f</sup>는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1267] 구현예 173. 구현예 142 내지 171 중 어느 하나에 있어서, R<sup>9f</sup>는 메틸인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1268] 구현예 174. 구현예 142 내지 173 중 어느 하나에 있어서, R<sup>11a</sup>는 수소 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1269] 구현예 175. 구현예 142 내지 174 중 어느 하나에 있어서, R<sup>11b</sup>는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1270] 구현예 176. 구현예 143 내지 175 중 어느 하나에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-1인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1271] 구현예 177. 구현예 176에 있어서, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1272] 구현예 178. 구현예 143 내지 175 중 어느 하나에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-2이고 PG는 BOC인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1273] 구현예 179. 구현예 178에 있어서, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 독립적으로, 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1274] 구현예 180. 구현예 143 내지 175 중 어느 하나에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-3인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1275] 구현예 181. 구현예 180에 있어서, m은 1 또는 2이고, R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 각각 선택적으로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1276] 구현예 182. 구현예 142에 있어서, 표 VI의 화합물 중 어느 하나 이상인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1277] 구현예 183. 구현예 182에 있어서,
- 
- [1278] 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1279] 구현예 184. 구현예 142에 있어서, 표 VIII의 화학 구조 중 임의의 하나 이상으로, 이때, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-4, R<sup>7b</sup>-5 및 R<sup>7b</sup>-6으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1280] 구현예 185. 구현예 184에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-4인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1281] 구현예 186. 구현예 184에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-5인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1282] 구현예 187. 구현예 184에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-6인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

- [1283] 구현예 188. 구현예 142에 있어서, 표 VIII의 화학 구조 중 임의의 하나 이상으로, 이때,
- [1284] R<sup>7b</sup>는 표 IX의 화학 구조 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1285] 구현예 189. 구현예 142에 있어서, 표 X의 화합물 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1286] 구현예 190. 구현예 142에 있어서, 표 VII의 화합물 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1287] 구현예 191. 구현예 190에 있어서,
- [1288]
- [1289]로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1290] 구현예 192. 구현예 142에 있어서, 표 XI의 화합물 중 임의의 하나로, 이때,
- [1291] R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-4, R<sup>7b</sup>-5 및 R<sup>7b</sup>-6으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1292] 구현예 193. 구현예 192에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-4인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1293] 구현예 194. 구현예 192에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-5인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1294] 구현예 195. 구현예 192에 있어서, R<sup>7b</sup>는 R<sup>7b</sup>-6인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1295] 구현예 196. 구현예 142에 있어서, 표 XI의 화학 구조 중 임의의 하나로, 이때,
- [1296] R<sup>7b</sup>는 표 IX의 구조 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1297] 구현예 197. 구현예 142에 있어서, 표 XII의 화합물 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1298] 구현예 198. 구현예 142 내지 197 중 어느 하나에 있어서 R<sup>7b</sup>가 수소인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물.
- [1299] 구현예 199. 자가면역 또는 염증성 질환 치료를 필요로 하는 환자의 자가면역 또는 염증성 질환 치료 방법으로, 상기 환자에 구현예 142 내지 197 중 어느 하나에 있어서, R<sup>7b</sup>가 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물, 또는 구현예 198의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [1300] 구현예 200. 구현예 199에 있어서, 상기 자가면역질환은 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 성인 크론병, 소아 크론병, 궤양성 대장염, 판 건선, 또는 화농성 한선염인, 방법.
- [1301] 구현예 201. 화학식 I-c를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 제조 방법으로, 이때, A1은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질이고; L은 링커이며; n은 1 내지 10이고; SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고, 이 방법은 a) 화학식 X를 갖는 화합물을 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질과 접합시키는 단계; 및 b) 화학식 I-c를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 단리하는 단계를 포함하는 것인, 방법.
- [1302] 구현예 202. 구현예 201에 있어서, 화학식 Ic를 갖는 화합물을 가수분해하여 화학식 I-d를 갖는 화합물을 제공하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[1303] 구현예 203. 화학식 I-e를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물의 제조 방법으로, 이때, A<sup>1</sup>은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질이고; L은 링커이며; R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; n은 1 내지 10이고; m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고; SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고, 이 방법은 a) 화학식 XI을 갖는 화합물을 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질과 접합시키는 단계; 및 b) 화학식 I-e를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 단리하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

[1304] 구현예 204. 구현예 203에 있어서, 화학식 I-e를 갖는 화합물을 가수분해하여 화학식 I-f를 갖는 화합물을 제공하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[1305] 구현예 205. 구현예 182에 있어서,

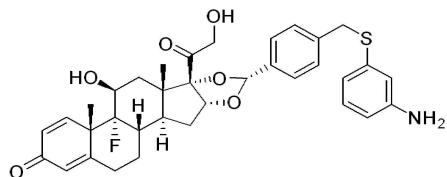


[1306]

인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1308]

구현예 206. 구현예 182에 있어서,

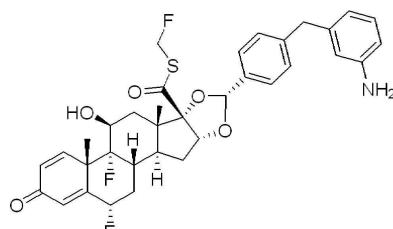


[1309]

인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1311]

구현예 207. 구현예 182에 있어서,

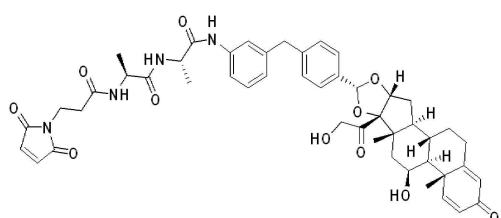


[1312]

인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1314]

구현예 208. 구현예 189에 있어서, 인 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.



[1315]

구현예 209. 구현예 132에 있어서, 표 IV의 화학 구조 중 임의의 하나인 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로서, A는 A<sup>1</sup> 또는 A<sup>2</sup>인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1317]

본 발명은 또한 특정 구현예로서 구현예 I 내지 XXXII를 제공한다. 구현예 I 내지 XXXII에 나타내지 않은, 이들 특정 구현예에 언급된 화학식 및 표는 위의 설명에 기재되어 있다.

[1318]

구현예 I. 화학식 I-a를 갖는 화합물:

[1319] [화학식 I-a]

[1320]  $(SM-L-Q)_n-A^1$ 

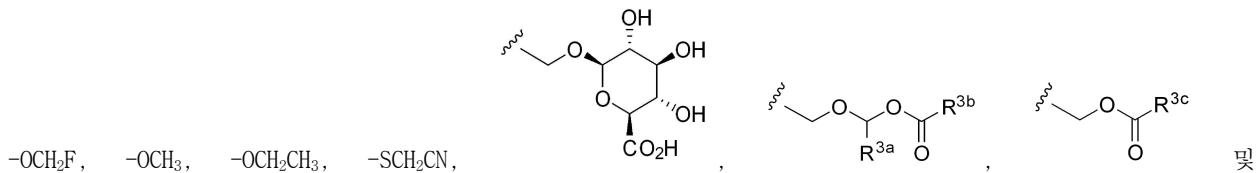
[1321] (화학식 I-a에서,  $A^1$ 은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질이고; L은 링커이며; Q는 헤테로2작용 기 또는 헤테로3작용 기이거나; Q는 부존재하고; n은 1 내지 10이고; SM은 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼임).

[1322] 구현예 II. 화학식 I-b를 갖는 화합물:

[1323] [화학식 I-b]

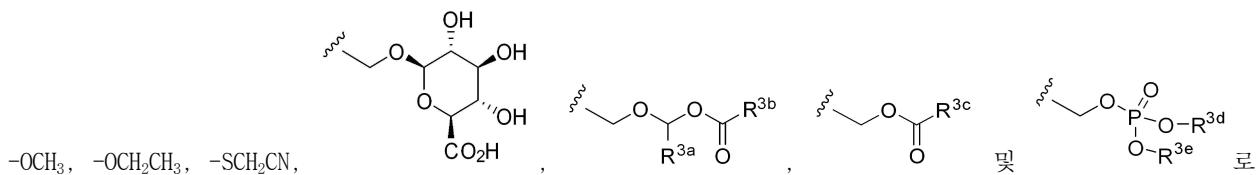
[1324]  $(SM-L-Q)_n-A^2$ 

[1325] (화학식 I-b에서,  $A^2$ 는 단백질이고; L은 링커이며; Q는 헤테로2작용 기이거나 헤테로3작용 기이거나; Q는 부존재하고; n은 1 내지 10이고; SM은 화학식 II-m 또는 화학식 II-p를 갖는 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고;  $R^1$ 은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^2$ 는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^3$ 은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2SH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$ ,  $-SCH_2CF_3$ , 하이드록시,  $-OCH_2CN$ ,  $-OCH_2Cl$ ,



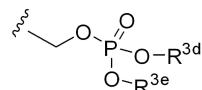
$\begin{array}{c} \text{---} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{array}$   $\text{O} \text{---} \text{P}(\text{---R}^{3d})\text{---O} \text{---} \text{R}^{3e}$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3b}$ 는  $C_{1-4}$  알킬 및  $C_{1-4}$  알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3c}$ 는 수소,  $C_{1-4}$  알킬,  $-CH_2OH$  및  $C_{1-4}$  알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3d}$  및  $R^{3e}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$ ,  $R^{6d}$  및  $R^{6e}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; X는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$  및  $-C\equiv C-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; Y<sup>2</sup>는  $-O-$ ,  $-S-$  및  $-N(R^{7a})-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; Y<sup>2</sup>는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는  $=CR^{11a}-$  및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>5</sup>는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>7a</sup>는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>9f</sup>는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>11a</sup> 및 R<sup>11b</sup>는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타냄).

[1326] 구현예 III. 구현예 I 또는 II에 있어서, SM은 화학식 II-m을 갖는 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고; R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2SH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$ ,  $-SCH_2CF_3$ , 하이드록시,  $-OCH_2CN$ ,  $-OCH_2Cl$ ,  $-OCH_2F$ ,



이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>6a</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup> 및 R<sup>6e</sup>는 각각 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>-, -0-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -NR<sup>5</sup>-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>O-, -N(H)C(R<sup>8a</sup>)(R<sup>8b</sup>)-, -CR<sup>4c</sup>=CR<sup>4d</sup>- 및 -C≡C-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; X는 부존재하고; Y<sup>2</sup>는 -0-, -S- 및 -N(R<sup>7a</sup>)-로 이루어지는 군으로부터 선택되거나; Y<sup>2</sup>는 부존재하고; t는 1 또는 2이고; Z는 =CH-이고; 각각의 R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나; R<sup>4a</sup> 및 R<sup>4b</sup>는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고; R<sup>4c</sup> 및 R<sup>4d</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>5</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>7a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>9f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>11b</sup>는 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물.

[1327] 구현예 IV. 구현예 II 또는 III에 있어서, ---는 이중 결합을 나타내고; R<sup>1</sup>은 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>2</sup>는 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F 및

 [1328] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소, 메틸 및 에틸로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>6a</sup>, R<sup>6c</sup>, R<sup>6d</sup> 및 R<sup>6e</sup>는 수소이고; X는 -CH<sub>2</sub>- , -0-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>- , -CH<sub>2</sub>S- 및 -N(H)CH<sub>2</sub>-로 이루어지는 군으로부터 선택되고; Y<sup>2</sup>는 -N(H)-이고; Z는 =CH-이고; R<sup>9f</sup>는 수소이고; R<sup>11b</sup>는 수소인, 화합물.

[1329] 구현예 V. 구현예 I 내지 IV 중 어느 하나에 있어서, L은 디펩티드를 포함하는 링커인, 화합물.

[1330] 구현예 VI. 구현예 I 내지 V 중 어느 하나에 있어서, Q는 Q-3 및 Q-4로 이루어지는 군으로부터 선택되는 혼테로 2작용 기이고, m은 1, 2, 3, 또는 4인, 화합물.

[1331] 구현예 VII. 구현예 I 내지 VII 중 어느 하나에 있어서, -L-Q-는 LQ-7이고; m은 2 또는 3이고; R<sup>10a</sup> 및 R<sup>10b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물.

[1332] 구현예 VIII. 구현예 I 내지 VII 중 어느 하나에 있어서, n은 2 내지 5인, 화합물.

[1333] 구현예 IX. 구현예 I 또는 II에 있어서, SM은 표 II의 화합물 중 임의의 하나인 글루코코르티코스테로이드의 1가 라디칼인, 화합물.

[1334] 구현예 X. 구현예 I 또는 III 내지 IX 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>은 (i) 인간 TNF 알파에 결합하는 항체 또는

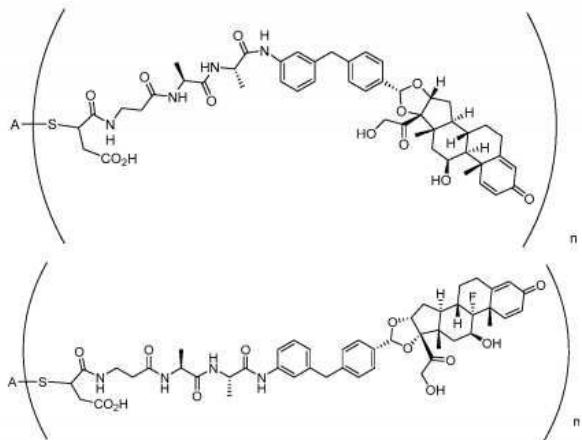
이의 항원 결합 단편 또는 (ii) 가용성 TNF 수용체인, 화합물.

[1335] 구현예 XI. 구현예 I 또는 III 내지 X 중 어느 하나에 있어서, A<sup>1</sup>은 아달리무맙, 인플럭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물.

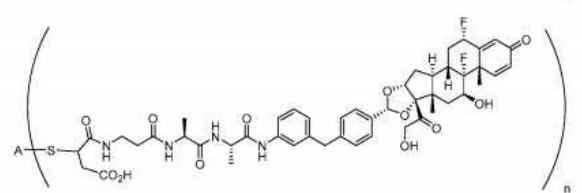
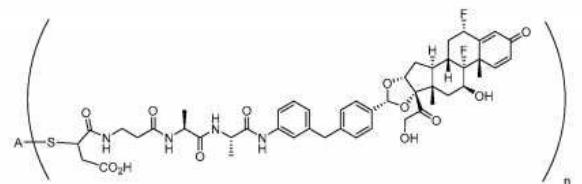
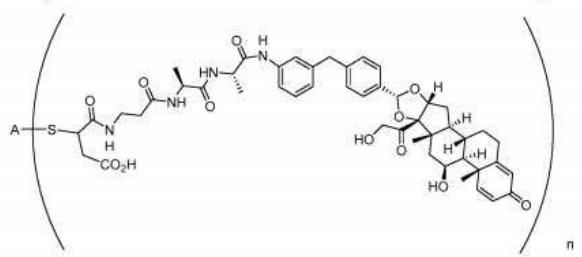
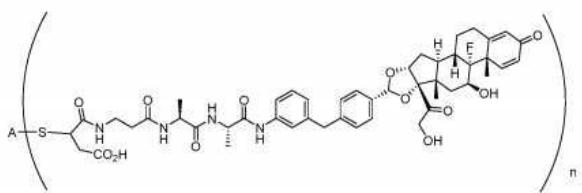
[1336] 구현예 XII. 구현예 I에 있어서, 표 III의 화합물 중 임의의 하나 이상으로, 이때, n은 1 내지 5이고; A는 A<sup>1</sup>이고; A<sup>1</sup>은 아달리무맙, 인플럭시맙, 세르톨리주맙 폐골, 아펠리모맙, 네렐리모맙, 오조랄리주맙, 플라콜루맙 및 골리무맙으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물.

[1337] 구현예 XIII. 구현예 II에 있어서, 표 III의 화합물 중 임의의 하나 이상으로, 이때, n은 1 내지 5이고; A는 A<sup>2</sup>이고; A<sup>2</sup>는 항체, 이의 항원 결합 단편, 또는 가용성 수용체 단백질로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물.

[1338] 구현예 XIV. 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 화합물로서:



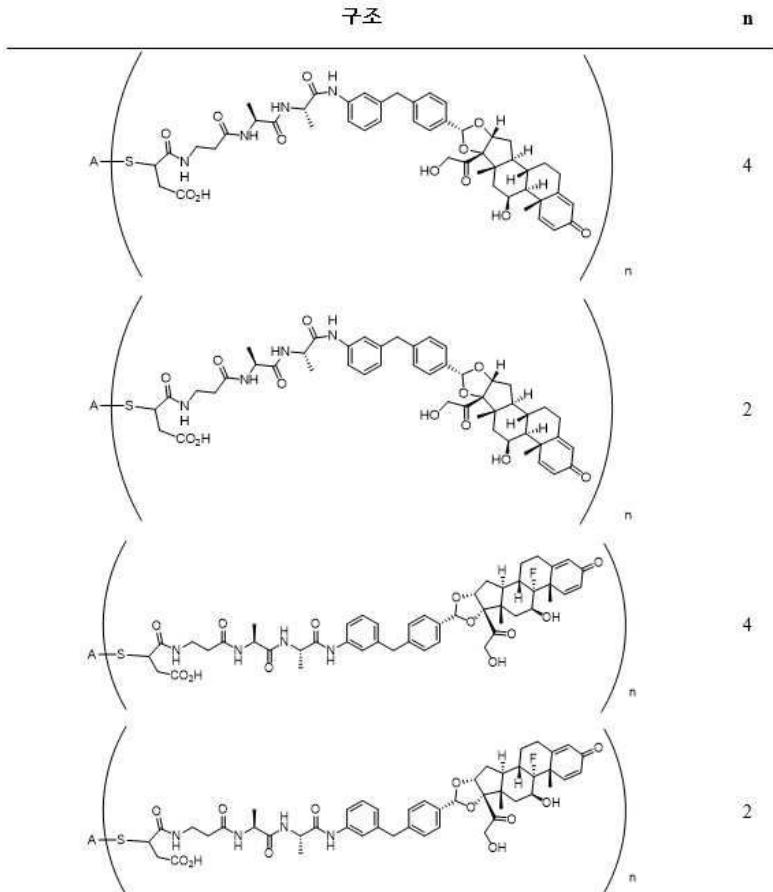
[1339]



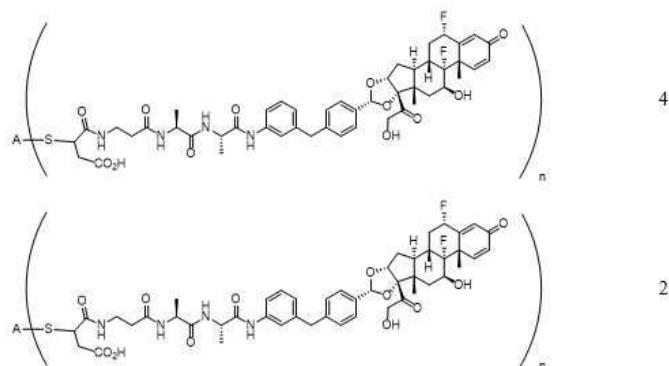
[1340]

[1341] 이때, n은 1 내지 5이고 A는 각각 서열번호 66 및 서열번호 73의 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 항체인, 화합물.

[1342] 구현예 XV. 구현예 XIV에 있어서, 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 화합물:



[1343]

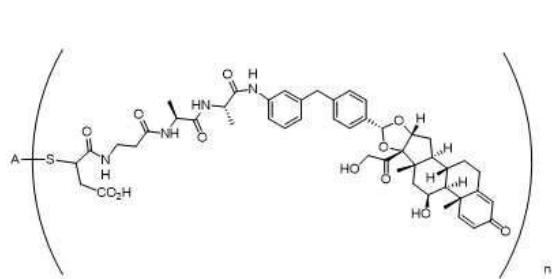


[1344]

[1345] 구현예 XVI. 구현예 XIV에 있어서, 다음의 화합물

구조

n



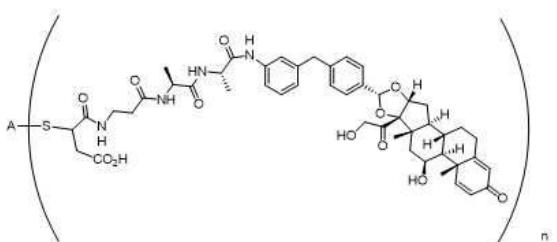
4

[1346]

[1347] 구현예 XVII. 구현예 XIV에 있어서, 다음의 화합물

구조

n



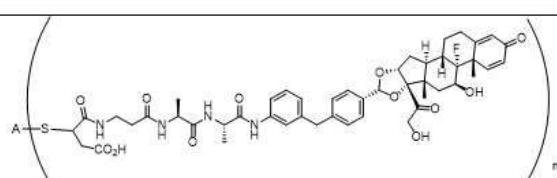
2

[1348]

[1349] 구현예 XVIII. 구현예 XIV에 있어서, 다음의 화합물

구조

n



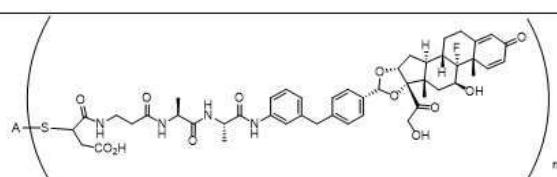
4

[1350]

[1351] 구현예 XIX. 구현예 XIV에 있어서, 다음의 화합물

구조

n



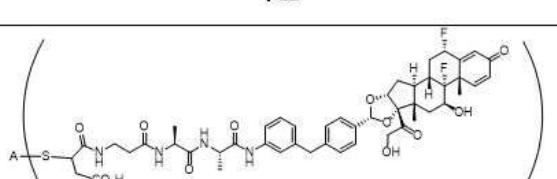
2

[1352]

[1353] 구현예 XX. 구현예 XIV에 있어서, 다음의 화합물

구조

n

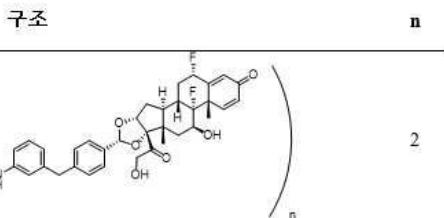


4

[1354]

[1355]

구현예 XXI.      구현예 XIV에 있어서, 다음의 화합물

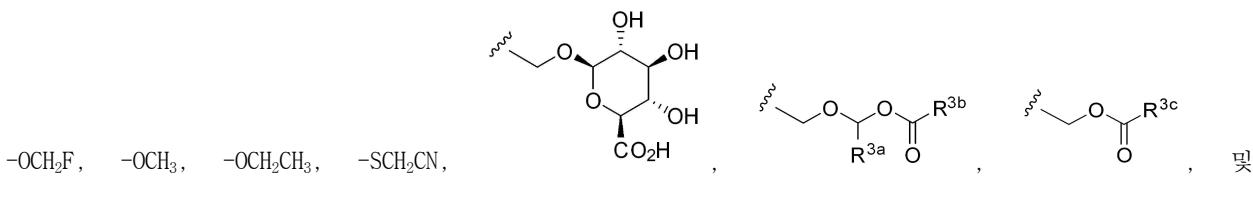


[1356]

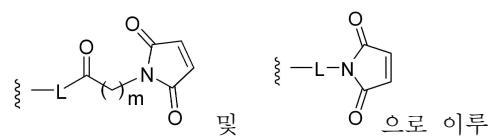
[1357] 구현예 XXII. 구현예 I 내지 XXI 중 임의의 하나의 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 단체를 포함하는 약학적 조성물.

[1358] 구현예 XXIII. 자가면역 질환 치료를 필요로 하는 환자의 자가면역 질환 치료 방법으로, 상기 환자에 구현예 I 내지 XXI 중 임의의 하나의 화합물 또는 구현예 XXII의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 선택적으로 이때 상기 자가면역 질환은 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 성인 크론병, 소아 크론병, 궤양성 대장염, 판 건선, 화농성 한선염, 포도막염, 베체트병, 척추관절병증 또는 건선이, 방법.

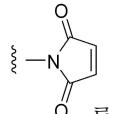
[1359] 구현예 XXIV. 화학식 VII을 갖는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로서, 이때,  $R^1$ 은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^2$ 는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^3$ 은  $-CH_2OH$ ,  $-CH_2SH$ ,  $-CH_2Cl$ ,  $-SCH_2Cl$ ,  $-SCH_2F$ ,  $-SCH_2CF_3$ ,  $-CH_2OS(=O)_2OH$ , 하이드록시,  $-OCH_2CN$ ,  $-OCH_2Cl$ ,



으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3b}$ 는  $C_{1-4}$  알킬 및  $C_{1-4}$  알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3c}$ 는 수소,  $C_{1-4}$  알킬,  $-CH_2OH$ ,  $C_{1-4}$  알콕시,  $-CH_2(아미노)$  및  $-CH_2CH_2C(=O)OR^{3f}$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{3d}$  및  $R^{3e}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{3f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $X$ 는  $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(=O)-$ ,  $-S(=O)_2-$ ,  $-NR^5-$ ,  $-CH_2S-$ ,  $-CH_2O-$ ,  $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$ ,  $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ ,  $-C\equiv C-$ ,  $-N(R^5)C(=O)-$  및  $-OC(=O)-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;  $X$ 는 부존재하고;  $t$ 는 1 또는 2이고;  $Z$ 는  $=CR^{11a}-$  및  $=N-$ 로 이루어지는 군으로부터 선택되고; 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3원 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$ ,  $R^{6c}$  및  $R^{6d}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬, 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;  $R^{7a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$



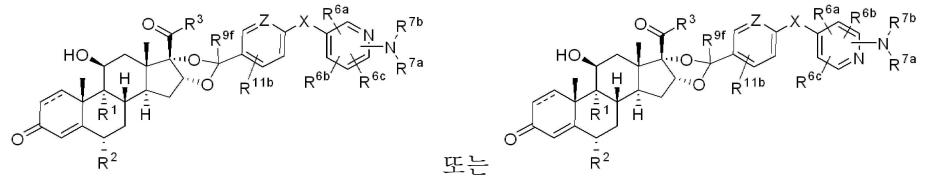
알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>7b</sup>는 수소, -L-H, -L-PG, 및 O<sup>2</sup> 으로 이루-



어지는 군으로부터 선택되거나; R<sup>7a</sup> 및 R<sup>7b</sup>는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 형성하거나; R<sup>7a</sup> 및 R<sup>7b</sup>는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 니트로(-NO<sub>2</sub>) 기를 형성하고; m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고; L은 링커이고; PG는 보호기이고; R<sup>9f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; R<sup>8a</sup> 및 R<sup>8b</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; R<sup>11a</sup> 및 R<sup>11b</sup>는 수소, 할로, C<sub>1-4</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고; ---는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1360] 구현예 XXV. 화학식 VII-A 또는 화학식 VII-B를 갖는 화합물:

[화학식 VII-A] [화학식 VII-B]



[1362]

[1363] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로, 이때,

[1364]

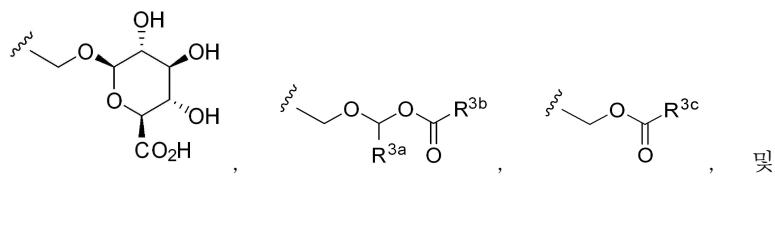
R<sup>1</sup>은 수소 및 할로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1365]

R<sup>2</sup>는 수소, 할로 및 하이드록시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1366]

R<sup>3</sup>은 -CH<sub>2</sub>OH, -CH<sub>2</sub>SH, -CH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>Cl, -SCH<sub>2</sub>F, -SCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OS(=O)<sub>2</sub>OH, 하이드록시, -OCH<sub>2</sub>CN, -OCH<sub>2</sub>Cl, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -SCH<sub>2</sub>CN,



$\text{O}=\text{P}(\text{O}-\text{R}^{3d})-\text{O}-\text{R}^{3e}$  으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1367]

R<sup>3a</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1368]

R<sup>3b</sup>는 C<sub>1-4</sub> 알킬 및 C<sub>1-4</sub> 알콕시로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

[1369]

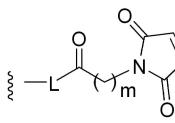
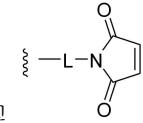
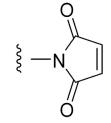
R<sup>3c</sup>는 수소, C<sub>1-4</sub> 알킬, -CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1-4</sub> 알콕시, -CH<sub>2</sub>(아미노) 및 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)OR<sup>3f</sup>로 이루어지는 군으로부터 선택되고;

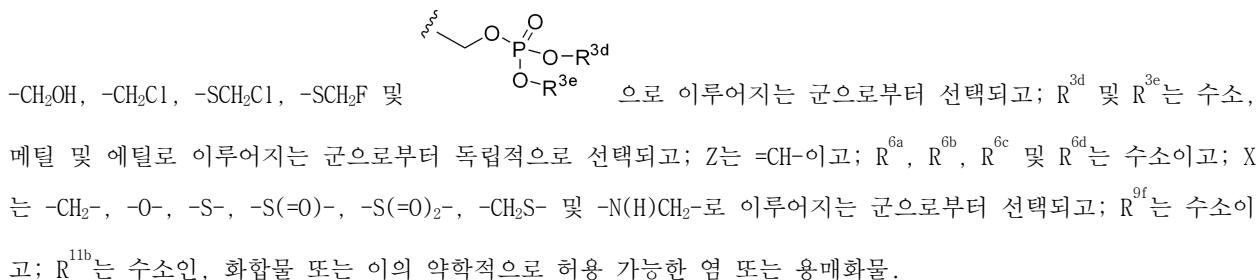
[1370]

R<sup>3d</sup> 및 R<sup>3e</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[1371]

R<sup>3f</sup>는 수소 및 C<sub>1-4</sub> 알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; X는 -(CR<sup>4a</sup>R<sup>4b</sup>)<sub>t</sub>- , -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>- , -NR<sup>5</sup>- , -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>O-, -N(H)C(R<sup>8a</sup>)(R<sup>8b</sup>)-, -CR<sup>4c</sup>=CR<sup>4d</sup>- , -C≡C-, -N(R<sup>5</sup>)C(=O)- 및 -OC(=O)-으로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;

- [1372] X는 부존재하고;
- [1373] t는 1 또는 2이고;
- [1374] Z는  $=CR^{11a}$ - 및  $=N-$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고;
- [1375] 각각의  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되거나;
- [1376]  $R^{4a}$  및  $R^{4b}$ 는 그것들이 부착되는 탄소 원자와 함께 취해져 3 내지 6원 시클로알킬을 형성하고;
- [1377]  $R^{4c}$  및  $R^{4d}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- [1378]  $R^5$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;
- [1379]  $R^{6a}$ ,  $R^{6b}$  및  $R^{6c}$ 는 각각 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬, 할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- [1380]  $R^{7a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;
- [1381]  $R^{7b}$ 는 수소,  $-L-H$ ,  $-L-PG$ ,  및 로 이루어지는 군으로부터 선택되거나;
- [1382]  $R^{7a}$  및  $R^{7b}$ 는 그것들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 다음을 형성하고
- [1383] ;
- [1384] m은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고;
- [1385] L은 링커이며;
- [1386] PG는 보호기이고;
- [1387]  $R^{9f}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고;
- [1388]  $R^{8a}$  및  $R^{8b}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- [1389]  $R^{11a}$  및  $R^{11b}$ 는 수소, 할로,  $C_{1-4}$  알킬,  $C_{1-4}$  할로알킬, 시아노, 하이드록시, 티올, 아미노, 알킬티오 및 알콕시로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- [1390] ==는 단일 또는 이중 결합을 나타내는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1391] 구현예 XXVI. 구현예 XXIV 또는 XXV에 있어서,  $R^{7b}$ 는  $R^{7b}-1$ ,  $R^{7b}-2$  및  $R^{7b}-3$ 으로 이루어지는 군으로부터 선택되고; m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고;  $R^{10a}$  및  $R^{10b}$ 는 각각 수소 및 선택적으로 치환된  $C_{1-6}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 독립적으로 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1392] 구현예 XXVII. 구현예 XXIV 또는 XXVI에 있어서, 화학식 VIII-a를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.
- [1393] 구현예 XXVIII. 구현예 XXIV 내지 XXVII 중 어느 하나에 있어서, ==는 이중 결합을 나타내고;  $R^1$ 은 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^2$ 는 수소 및 플루오로로 이루어지는 군으로부터 선택되고;  $R^3$ 은



[1394] 구현예 XXIX. 구현예 XXIV 내지 XXVIII 중 어느 하나에 있어서,  $\text{R}^{7b}$ 는 수소인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1395] 구현예 XXX. 구현예 XXIV 내지 XXVIII 중 어느 하나에 있어서,  $\text{R}^{7b}$ 는  $\text{R}^{7b}$ -1인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

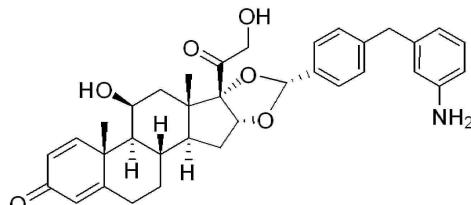
[1396] 구현예 XXXI. 구현예 XXIV 내지 XXVIII 중 어느 하나에 있어서,  $\text{R}^{7b}$ 는  $\text{R}^{7b}$ -2이고 PG는 BOC인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1397] 구현예 XXXII. 구현예 XXIV 내지 XXVIII 중 어느 하나에 있어서,  $\text{R}^{7b}$ 는  $\text{R}^{7b}$ -3인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1398] 구현예 XXXIII. 구현예 XXIX에 있어서, 표 VI의 화합물 중 어느 하나 이상인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1399] 구현예 XXXIV. 구현예 XXIX에 있어서, 표 VII의 화합물 중 임의의 하나인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1400] 구현예 XXXV. 구현예 XXXIII에 있어서,



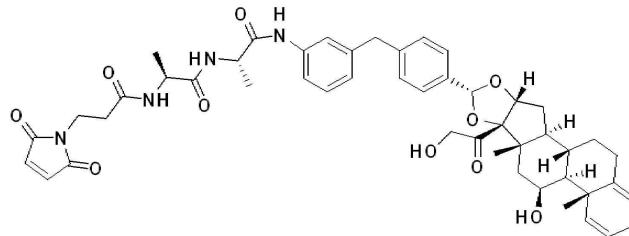
[1401]

[1402] 인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1403] 구현예 XXXVI. 구현예 XXIV에 있어서, 표 VIII의 화합물 중 어느 하나 이상으로,  $\text{R}^{7b}$ 는  $\text{R}^{7b}$ -4,  $\text{R}^{7b}$ -5 및  $\text{R}^{7b}$ -6으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1404] 구현예 XXXVII. 구현예 XXIV에 있어서, 표 X의 화합물 중 어느 하나 이상인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1405] 구현예 XXXVIII. 구현예 XXXVII에 있어서,



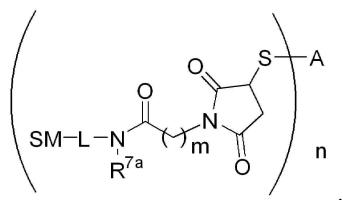
[1406]

인, 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물.

[1407]

구현예 XXXIX. 화학식 I-e를 갖는 화합물:

[1408] [화학식 I-e]



[1409]

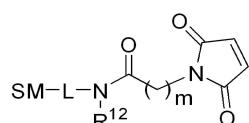
[1410] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물로의 제조 방법으로, 이때, A는  $A^1$  또는  $A^2$ 이고;  $A^1$ 은 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질이고;  $A^2$ 는 단백질이고; L은 링커이며;  $R^{7a}$ 는 수소 및  $C_{1-4}$  알킬로 이루어지는 군으로부터 선택되고; n은 1 내지 10이고; m은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6이고; SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고,

[1411]

방법은

[1412] a) 화학식 XI을 갖는 화합물을

[1413] [화학식 XI]



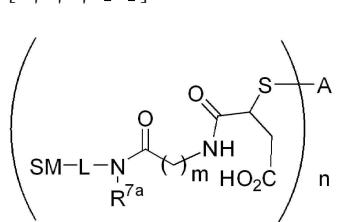
[1414]

[1415] 항-종양 괴사 인자(TNF) 알파 단백질 또는 단백질과 접합시키는 단계; 및

[1416] b) 화학식 I-e를 갖는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 단리하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

[1417] 구현예 XL. 구현예 XXXIV에 있어서, 화학식 I-e를 갖는 화합물을 가수분해하여 화학식 I-f를 갖는 화합물:

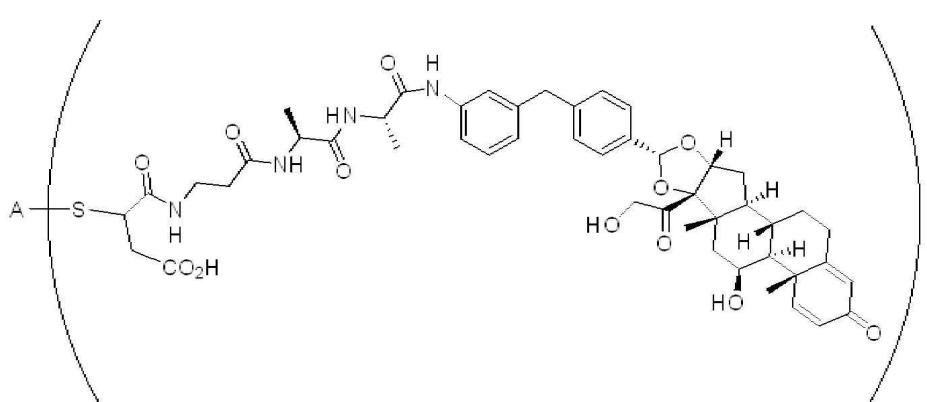
[1418] [화학식 I-f]



[1419]

[1420] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공하는 단계를 더 포함하는, 방법.

[1421] 구현예 XLI. 다음의 화합물로서,



4

[1422]

[1423] A는 아달리무맙인, 화합물.

[1424] 구현예 XLII. 구현예 XLI의 화합물을 포함하는 조성물.

[1425] 본 발명의 구현예는 본 발명의 특정 항체 및 본 발명의 항체를 이용하는 방법에 대한 상세한 설명을 기술하는 다음의 비제한적인 실시예를 참조하여 추가적으로 정의될 수 있다. 재료 및 방법 둘 모두에 대한 많은 변경이 본 발명의 범위로부터 벗어나지 않고 실행될 수 있음은 당업자에게 명백할 것이다.

[1426] 실시예

[1427] 본 설명에 기술된 실시예 및 구현예는 오로지 설명을 위한 것이며, 이의 견지에서 다양한 변경 또는 변화가 당업자에게 제안될 것이고, 본 발명의 정신 및 범위 내에 포함된다는 점이 이해된다.

[1428] 화합물 합성 및 특성화를 위한 분석 방법

[1429] 분석 데이터는 아래의 절차 내에, 일반적인 절차의 예시에, 또는 실시예의 표에 포함되어 있다. 달리 언급되지 않는 한, 모든  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$  NMR 데이터는 Varian Mercury Plus 400 MHz 또는 Bruker AVIII 300 MHz 기기 상에서 수집되었으며; 화학적 이동은 백만분율(ppm; parts per million)로 인용된다. HPLC 분석 데이터는 실험 내에서 상술되거나 표 7에 제공된 방법을 이용하여 LC/MS 및 HPLC 조건의 표가 참조된다.

## 표 7

LC/MS 및 GC/MS 방법 목록

방법	조건
<b>a</b>	구배는 3.4 분 내에 10%B로, 0.45 분 동안 100%B 유지, 0.01 분 내에 100%로, 그런 다음, 0.65 분 동안 10%B 유지였다(0.8 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.0375% 트리플루오로아세트산이었고, 이동상 B는 MeCN 중 0.018% TFA 이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.0 x 50 mm 페노메넥스(phomenex) Luna-C18 컬럼(5 $\mu\text{m}$ 입자)였다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광 산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양 전기분무 이온화(MS)이다.
<b>b</b>	구배는 3.4 분에 1%B로, 0.45 분 dp 90에서 100%B, 0.01 분에 100%로, 그런 다음, 0.65 분 동안 1%B 유지였다(0.8 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.0375% CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H 였고, 이동상 B는 CH <sub>3</sub> CN 중 0.018% CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H 였다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.0 x 50 mm 페노메넥스(phomenex) Luna-C18 컬럼(5 $\mu\text{m}$ 입자)였다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광 산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양 전기분무 이온화(MS)이다.
<b>c</b>	구배는 3.4 분 내에 10%B로, 0.45 분 동안 100%B 유지, 0.01 분 내에 100%로, 그런 다음, 0.65 분 동안 10%B 유지였다(0.8 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.0375% CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H 였고, 이동상 B는 CH <sub>3</sub> CN 중 0.018% CF <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H 였다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 2.0 x 50 mm 페노메넥스(phomenex) Luna-C18 컬럼(5 $\mu\text{m}$ 입자)였다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광 산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양 전기분무 이온화(MS)이다.
<b>d</b>	구배는 0.2 분 동안 5%B, 1.7 분 이내에 95%B 까지, 그런 다음, 1.3 분 동안 95%B 유지, 0.01 분 이내에 다시 5%B 까지였다(2.3 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.01% TFA 였고, 이동상 B는 HPLC 등급 MeCN 중 0.01% TFA 였다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 XBridge C18 컬럼(4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu\text{m}$ 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광 산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양/음 전기분무 이온화이다.
<b>e</b>	구배는 1.5 분 이내에 5%B에서 95%B 까지, 그런 다음 1.5 분 동안 95%B 유지, 0.01 분 이내에 다시 5%B 까지였다(2.3 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 10 mM NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 였고, 이동상 B는 HPLC 등급 MeCN 이었다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 XBridge C18 컬럼(4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu\text{m}$ 입자)이었다.

[1430]

	입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광 산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양/음 전기분무 이온화이다.
f	이동상: A: 물(0.01% TFA); B: MeCN(0.01% TFA). 구배: 1.2 분 이내에 5% B에서 95% B로 증가시킴, 1.3 분 동안 95% B, 0.01 분 이내에 다시 5% B 까지, 유속 2.0 mL/분. 컬럼: SunFire C18 (4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu$ m). 컬럼 온도: 50°C 검출: UV(214, 254 nm) 및 MS(ESI, Pos 모드, 110 내지 1000 amu)
g	구배는 0.1 분 동안 5% B, 1.0 분 이내에 95% B 까지, 그런 다음, 0.9 분 동안 95% B 유지, 0.01 분 이내에 다시 5% B 까지였다(3.0 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.05% TFA 였고, 이동상 B는 HPLC 등급 MeCN 중 0.05% TFA 였다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 Zorbax SB-C18 Rapid Resolution HT 컬럼(4.6 x 30 mm, 1.8 $\mu$ m 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광 산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양/음 전기분무 이온화이다.
h	이동상: A: 물(0.1% TFA); B: MeCN(0.1% TFA). 구배: 1.3 분 이내에 5% B에서 95% B로 증가시킴, 1.5 분 동안 95% B, 0.01 분 이내에 다시 5% B 까지, 유속 2 mL/분. 컬럼: Sunfire C18 (4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu$ m). 컬럼 온도: 50°C
i	이동상: A: 물(0.01% TFA); B: MeCN(0.01% TFA). 구배: 0.2 분 동안 5% B, 1.5 분 이내에 95% BR 까지 증가시킴, 1.5 분 동안 95% B, 0.01 분 이내에 다시 5% B 까지, 유속 2 mL/분. 컬럼: Sunfire (50 x 4.6 mm, 3.5 $\mu$ m). 컬럼 온도: 50°C
j	이동상: A: 물(0.05% TFA); B: MeCN(0.05% TFA). 구배: 1.3 분 내에 5%에서 100% B 까지 증가시킴, 유속 2 mL/분. 컬럼: SunFire C18 (4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu$ m). 검출: UV(214, 254 nm) 및 MS(ESI, Pos 모드, 110 내지 1000 amu). 컬럼 온도: 50°C
k	이동상: A: 물(10 mM NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> ); B: MeCN. 구배: 1.5 분 내에 5%에서 95% B 까지 증가시킴, 유속 1.8 mL/분. 컬럼: XBridge C18 (4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu$ m). 컬럼 온도: 50°C
l	이동상: A: 물(10 mM NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> ); B: MeCN. 구배: 1.5 분 내에 10%에서 95% B 까지 증가시킴, 유속 1.8 mL/분. 컬럼: Xbridge C18(2)(4.6 x 50 mm, 3.5 $\mu$ m). 컬럼 온도: 50°C 검출: UV(214, 254 nm) 및 MS(ESI, Pos 모드, 103 내지 800 amu)
m	이동상: A: 물(0.01%TFA) B: MeCN(0.01% TFA). 1.2 분 이내에 5% B에서 95% B 까지 증가시킴, 1.3 분 동안 95% B, 0.01 분 이내에 다시 5% B 까지. 유속: 2.0 mL/분. 컬럼: SunFire C18, 4.6*50mm, 3.5pm. 컬럼 온도: 50°C. 검출: UV(214, 4 nm) 및 MS(ESI, Pos 모드, 110 내지 1000 amu).

n	구배는 3.4 분 내에 10에서 100% B로, 0.45 분 동안 100% B 유지, 0.01 분 내에 100에서 10% B로, 그런 다음, 0.65 분 동안 10% B 유지였다(0.8 mL/분 유속). 이동상 A는 물 중 0.0375% TFA 였다. 이동상 B는 CH <sub>3</sub> CN 중 0.018% TFA 였다. 크로마토그래피에 사용된 컬럼은 페노메넥스(Phenomenex) Luna-C18 컬럼(2.0 x 50 mm, 5 μm 입자)이었다. 검출 방법은 다이오드 어레이(DAD) 및 증발성 광산란(ELSD) 검출뿐만 아니라, 양 전기분무 이온화(MS)이다.
o	5~100% MeCN(A) 및 물 중 10 mM 아세트산 암모늄(B)의 구배가 1.5 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 0.05 분 5% A, 0.05 내지 1.2 분 5에서 100% A, 1.2 내지 1.4 분 100% A, 1.4 내지 1.5 분 100에서 5% A, 0.25 분 포스트런(post-run) 지연).
q	2 개가 결합된 C8 5 μm 100Å Waters Sunfire 컬럼(각각 30 mm x 75 mm). MeCN(A) 및 물 중 10 mM 아세트산 암모늄(B)의 구배가 50 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 0.5 분 5% A, 0.5 내지 8.5 분 선형 구배 X에서 Y% A 까지, 8.7 내지 10.7 분 100% A, 10.7 내지 11 분 선형 구배 100에서 05% A). 선형 구배는 화합물의 합성 절차에서 언급된다.
r	5~100% MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 1.5 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 0.05 분 5% A, 0.05 내지 1.2 분 5에서 100% A, 1.2 내지 1.4 분 100% A, 1.4 내지 1.5 분 100에서 5% A, 0.25 분 포스트런(post-run) 지연).
s	분석 UPLC-MS 가 Waters SQD 질량 분광분석기 및, MassLynx 4.1 및 Openlynx 4.1 소프트웨어를 실행하는 Acuity UPLC 시스템 상에서 수행되었다. SQD 질량 분광분석기는 양 APCI 이온화 조건 하에서 작동되었다. 사용된 컬럼은 55°C 의 온도에서 Waters BEH C8, 1.7 μm(2.1 mm x 30 mm)이었다. 10 내지 100% 아세토니트릴(A) 및 물 중 10 mM 아세트산 암모늄(B)의 구배가 1.0 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 0.1 분 10% A, 0.1 내지 1.1 분 10에서 100% A, 1.1 내지 1.3 분 100% A, 1.3 내지 1.4 분 100에서 10% A).

[1432]

[1433]

다음의 실시예에서 사용된 약어는 다음과 같다:

APCI	대기압 화학 이온화	HIC	소수성 상호 작용 크로마토그래피
Bn	벤질	HPLC	고성능 액체 크로마토그래피
BOC	<i>tert</i> -부틸옥시카르보닐	IBX	2-요오드옥시벤조산
BSA	소 헬철 알부민	MeCN	아세토나트릴
Cbz	카르보벤질옥시	MeOH	메탄올
CuCN	시안화구리	MgSO <sub>4</sub>	황산마그네슘
D <sub>2</sub> O	중수소 물	Min	분(minute)
DAD	다이오드 어레이	MP-NaCNBH <sub>3</sub>	고체 지지체 상의 소듐시아노보로하이드라이드(sodium cyanoborohydride)
DCM	디클로로메탄	MTBE	디메틸 메틸 <i>tert</i> -부틸 에테르
DIAD	다이소프로필 아조디카르복실레이트	NaCN	시안화나트륨
DIPEA	N,N-디이소프로필에틸아민	NaHCO <sub>3</sub>	탄산수소나트륨
DMA	디메틸아세트아미드	NaHSO <sub>3</sub>	황산수소나트륨
DMF	디메틸 포름아미드	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	황산나트륨
DMSO	디메틸 캠폰사이드	NMR	핵 자기 공명
EIC	추출 이온 크로마토그램	Pd <sub>2</sub> dba <sub>3</sub>	트리스(디 벤질리 덴아세톤)디팔라듐(0)
ELSD	증발성 광 산란 검출기	PBST	트윈(Tween) 20 함유 인산염 완충 시약수
Eq	당량	PE	석유 에테르
Et <sub>2</sub> O	디에틸 에테르	PPh <sub>3</sub>	트리페닐 포스핀
EtOAc	에틸 아세테이트		
FMOC	9-플루오레닐메틸옥시카르보닐	RP	역상
H	시간	R <sub>c</sub>	머무름 시간
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	황산	TBAF	불화 테트라부틸암모늄
HATU	1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1H-1,2,3-트리아졸로[4,5-b]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이트	TBS-Cl	<i>tert</i> -부틸클로로디메틸실란
HCl	염산	TFA	트리플루오로아세트산
HEPES	4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설휘산	TLC	박층 크로마토그래피

[1434]

[1435]

**실시예 1:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-아미노페녹시)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인테노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1436]

**단계 1:** *tert*-부틸 (4-(4-포르밀페녹시)페닐)카바메이트의 합성



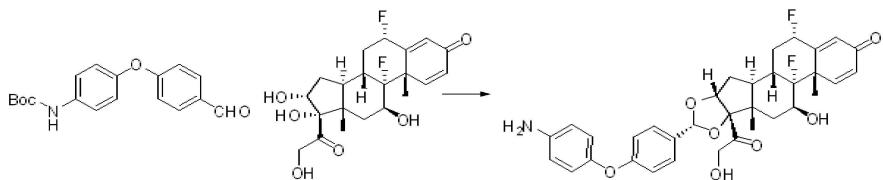
[1437]

**1438]** N,N-디메틸포름아미드(100 mL) 중 *tert*-부틸 (4-하이드록시페닐)카바메이트(10 g, 47.8 mmol) 및 4-플루오로벤즈알데히드(11.86 g, 96 mmol)의 용액에 탄산칼륨(39.6 g, 287 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 90°C에서 5시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 하나 더 설치하였다. 두 개의 반응 혼합물을 모두 합하고, DCM(300 mL)으로 희석한 다음, 물(3 X 100 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수(100 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(PE: EtOAc = 30:1에서 5:1까지 용출)로 정제하여 목표 화합물(20 g, 63.8 mmol, 66.7% 수율)을 황색 고체로 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9.91 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 7.90 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.54 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.11 - 7.02 (m, 4H), 1.48 (s, 9H).

[1439]

**단계 2:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-아미노페녹시)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토

## [2',1':4,5]인테노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1440]

[1441] MeCN(100 mL) 중 (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(4.5 g, 10.91 mmol) 및 황산마그네슘(6.57 g, 54.6 mmol)의 혼탁액을 1시간 동안 20°C에서 교반하도록 하였다. MeCN(100 mL) 중 tert-부틸 (4-(4-포르밀페녹시)페닐)카바메이트(3.42 g, 10.91 mmol)의 용액을 1회 분량으로 첨가하였다. 얼음 욕조를 이용하여 25°C의 내부 온도를 유지하면서 주사기를 통해 트리플루오로메탄설�onium산(4.84 mL, 54.6 mmol)을 점진 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치하였다. 네 개의 반응 혼합물을 모두 합하여 여과하고, 여액을 감압 하에 농축하여 잔류물을 제공하였고, 이를 분취 HPLC로 정제하여 목표 화합물(7.5 g, 12.34 mmol, 28.8% 수율)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 a, 표 7)  $R_t = 2.21$ 분; MS  $m/z = 608.3 (M+H)^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.36 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 7.27 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 6.85 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 6.75 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 6.58 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 6.29 (dd,  $J=1.3, 10.1$  Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.76 – 5.65 (m, 1H), 5.62 – 5.57 (m, 1H), 5.54 (d,  $J=3.1$  Hz, 1H), 5.44 (s, 1H), 5.12 (t,  $J=5.8$  Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.94 (d,  $J=4.9$  Hz, 1H), 4.53 (dd,  $J=6.4, 19.4$  Hz, 1H), 4.26 – 4.14 (m, 2H), 2.72 – 2.58 (m, 1H), 2.34 – 2.17 (m, 2H), 2.04 (d,  $J=13.7$  Hz, 1H), 1.77 – 1.62 (m, 3H), 1.49 (s, 3H), 0.86 (s, 3H). 분취 HPLC 방법: 기기: Gilson 281 반분취 HPLC 시스템, 이동상: A: CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/H<sub>2</sub>O = 0.075% v/v; B: CH<sub>3</sub>OH; 컬럼: 페노메넥스(Phenomenex) Luna C18 250\*50 mm\*10 μm; 유속: 80 mL/분; 모니터 파장: 220 & 254 nm.

시간	0.0	20.0	20.1	20.2	30.2	30.3	31.5
B%	28	58	58	100	100	28	28

[1442]

[1443] 실시예 2: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인테노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1444]

단계 1: 4-(브로모메틸)벤즈알데히드의 합성

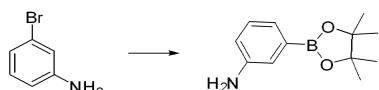


[1445]

[1446] 디이소부틸알루미늄 수소화물(153 mL, 153 mmol, 툴루엔 중 1 M)을 툴루엔 중 4-(브로모메틸)벤조니트릴(20 g, 102 mmol)의 0°C 용액(1시간에 걸쳐 400 mL)에 점진 첨가하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 두 개 더 설치하였다. 3개의 반응 혼합물 모두를 합하였다. 혼합물을 용액에 10% 수성 HCl(1.5 L)을 첨가하였다. 혼합물을 DCM(3 X 500 mL)으로 추출하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 10/1로 용출)로 정제하여 목표 화합물(50 g, 수율 82%)을 백색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d) δ 10.02 (s, 1H), 7.91 – 7.82 (m, 2H), 7.56 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 4.55 – 4.45 (m, 2H).

[1447]

단계 2: 3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)아닐린의 합성



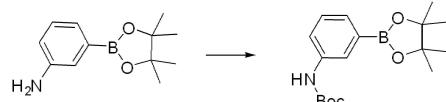
[1448]

[1449] 1,4-디옥산(480 mL) 중 3-브로모아닐린(40 g, 233 mmol)의 용액에 4,4,4',4',5,5,5',5'-옥타메틸-2,2'-비(1,3,2-디옥사보로란)(94 g, 372 mmol), 아세트산 칼륨(45.6 g, 465 mmol), 2-디시클로헥실포스파노-2',4',6'-트리-i-프로필-1,1'-비페닐(엑스포스)(8.07 g, 13.95 mmol), 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0)(8.52 g,

9.30 mmol)을 첨가하였다. 그런 다음, 혼합물을 질소 하에 4시간 동안 80°C에서 가열하였다. 위에 기술된 바와 같이 또 다른 바이알을 더 설치하였다. 두 개의 반응 혼합물을 합하고, 농축하고, 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 10/1로 용출)로 정제하여 목표 화합물(60 g, 수율 55.4%)을 담황색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.23 – 7.13 (m, 3H), 6.80 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 3.82 – 3.38 (m, 2H), 1.34 (s, 12H).

[1450]

**단계 3:** tert-부틸 (3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)페닐) 카바메이트의 합성

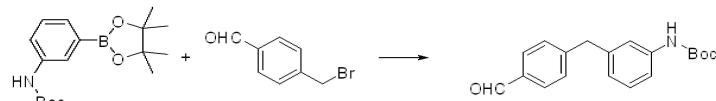


[1451]

3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)아닐린(30 g, 137 mmol) 및 디-tert-부틸 디카보네이트(38.9 g, 178 mmol)를 24시간 동안 100°C에서 툴루엔(600 mL) 중에서 혼합하였다. 위에 기술된 바와 같이 또 다른 바이알을 더 설치하였다. 두 개의 반응 혼합물을 합하였다. 갈색 혼합물을 중발시키고, EtOAc(1.5 L)에 용해시키고, 0.1 N HCl(3 X 2 L) 및 염수(3 L)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조하고, 감압 하에 농축하여 표제 화합물(50 g, 수율 57%)을 적색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  7.63 (br. s., 2H), 7.48 (d,  $J=7.1$  Hz, 1H), 7.37 – 7.28 (m, 1H), 1.52 (s, 9H), 1.34 (s, 12H).

[1452]

**단계 4:** tert-부틸 (3-(4-포르밀벤질)페닐)카바메이트의 합성

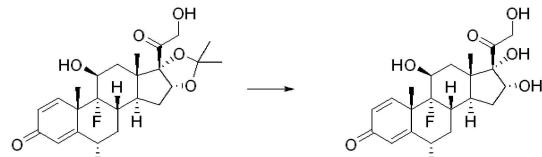


[1453]

테트라하이드로퓨란(400 mL) 중 4-(브로모메틸)벤즈알데히드(24.94 g, 125 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센디클로로 팔라듐(II) DCM 복합체(13.75 g, 18.80 mmol), tert-부틸 (3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)페닐)카바메이트(20 g, 62.7 mmol) 및 탄산칼륨(43.3 g, 313 mmol)의 혼합물을 12시간 동안 80°C까지 가열하였다. 위에 기술된 바와 같이 또 다른 바이알을 더 설치하였다. 두 개의 반응 혼합물을 합하였다. 반응 혼합물을 물(500 mL)로 희석하였다. 수성 층을 EtOAc(3 x 500 mL)로 추출하였다. 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 10/1로 용출)로 정제하여 표제 화합물(15 g, 수율 38.4%)을 백색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, 클로로포름-d)  $\delta$  9.95 (s, 1H), 7.78 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.33 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.27 – 7.13 (m, 3H), 6.82 (d,  $J=7.1$  Hz, 1H), 6.47 (br. s., 1H), 4.00 (s, 2H), 1.48 (s, 9H).

[1454]

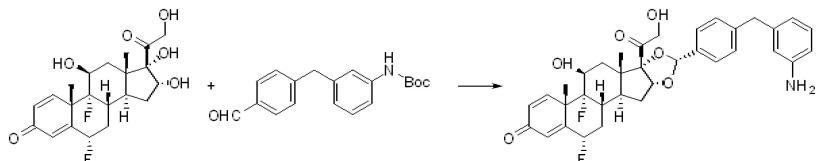
**단계 5:** (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트レン-3-온의 합성



[1455]

(2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a,10,10-테트라메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온(20 g, 44.2 mmol)을 40% 수성  $\text{HBF}_4$ (440 mL)에 혼탁시키고, 혼합물을 25°C에서 48시간 동안 교반하였다. 반응이 완료된 후, 2 L의  $\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하고, 여과에 의해 고체를 수집하여 백색 고체를 수득하였다. 이 고체를  $\text{H}_2\text{O}$ (1 L) 및 다음으로 MeOH(200 mL)로 세척하여 표제 화합물(11 g, 수율 60.3%)을 백색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.25 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 6.28 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 5.73 – 5.50 (m, 1H), 5.39 (br. s., 1H), 4.85 – 4.60 (m, 2H), 4.50 (d,  $J=19.4$  Hz, 1H), 4.20 – 4.04 (m, 2H), 2.46 – 2.06 (m, 6H), 1.87 – 1.75 (m, 1H), 1.56 – 1.30 (m, 6H), 0.83 (s, 3H).

[1459] 단계 6: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1460]

[1461] MeCN(100 mL) 중 (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(4.4 g, 10.67 mmol) 및 황산마그네슘(6.42 g, 53.3 mmol)의 혼탁액을 1시간 동안 20°C에서 교반하도록 하였다. MeCN(100 mL) 중 *tert*-부틸 (3-(4-포르밀벤질)페닐)카바메이트(3.65 g, 11.74 mmol)의 용액을 1회 분량으로 첨가하였다. 얼음 욕조를 이용하여 내부 온도를 25°C 미만으로 유지하면서 트리플루오로메탄설�onium산(9.01 mL, 53.3 mmol)을 점진 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치하였다. 4개의 반응 혼합물 모두를 합하였다. 혼합물 용액을 농축하고, 잔류물을 분취 HPLC로 정제하여 표제 화합물(4.5 g, 수율 14.2%)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 b, 표 7)  $R_t = 2.65$  분; MS  $m/z = 606.2$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.44 - 7.17 (m, 5H), 6.89 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 6.44 - 6.25 (m, 4H), 6.13 (br. s., 1H), 5.79 - 5.52 (m, 2H), 5.44 (s, 1H), 5.17 - 4.89 (m, 3H), 4.51 (d,  $J=19.4$  Hz, 1H), 4.25 - 4.05 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.17 (br. s., 1H), 2.75 - 2.55 (m, 1H), 2.36 - 1.97 (m, 3H), 1.76 - 1.64 (m, 3H), 1.59 - 1.39 (m, 4H), 0.94 - 0.78 (m, 3H). 분취 HPLC 방법: 기기: Gilson 281 반분취 HPLC 시스템; 이동상: A: 포름산/H<sub>2</sub>O=0.01% v/v; B: CH<sub>3</sub>CN; 컬럼: Luna C18 150\*25 5 미크론; 유속: 25 mL/분; 모니터 파장: 220 및 254 nm.

시간	0.0	10.5	10.6	10.7	13.7	13.8	15.0
B%	15	35	35	100	100	10	10

[1462]

[1463] 실시예 2A: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온(화합물 번호 41)의 합성

[1464]

단계 1: 4-(브로모메틸)벤즈알데히드의 합성

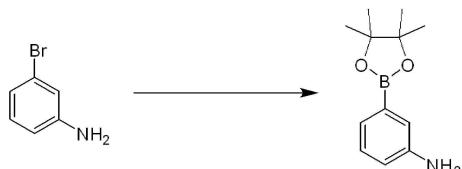


[1465]

[1466] 툴루엔(1 L) 중 4-(브로모메틸)벤조니트릴(50 g, 255 mmol)의 용액에 디이소부틸알루미늄 수소화물(383 mL, 383 mmol, 툴루엔 중 1 M)을 0°C에서 점진 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 2개 더 설치하였다. 3개의 반응 혼합물 모두를 합하였다. 10% 수성 HCl(1.5 L)을 첨가한 다음, DCM(3 X 1.5 L)으로 추출하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1로 용출)로 정제하여 표제 화합물(120 g, 82%)을 백색 고체로 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.01 (s, 1H), 7.86 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.55 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 4.51 (s, 2H).

[1467]

단계 2: 3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)아닐린의 합성



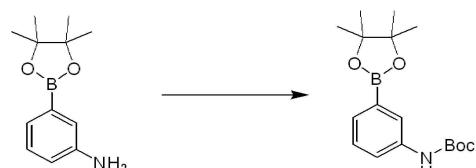
[1468]

[1469] 1,4-디옥산(960 mL) 중 3-브로모아닐린(80 g, 465 mmol)의 용액에 4,4,4',4',5,5,5',5'-옥타메틸-2,2'-비

(1,3,2-디옥사보로란)(177 g, 698 mmol), 아세트산 칼륨(91 g, 930 mmol), 2-디시클로헥실포스피노-2',4',6'-트리-i-프로필-1,1'-비페닐(13.45 g, 23.25 mmol) 및 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0)(17.03 g, 18.60 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 질소 하에 4시간 동안 80°C에서 가열하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 두 개 더 설치하였다. 세 개의 반응 혼합물을 합하고, 농축하고, 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1로 용출)로 정제하여 표제 화합물(150 g, 수율 46.6%)을 담황색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.23 – 7.13 (m, 3H), 6.80 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 3.82 – 3.38 (m, 2H), 1.34 (s, 12H).

[1470]

**단계 3:** tert-부틸 (3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)페닐)카바메이트의 합성

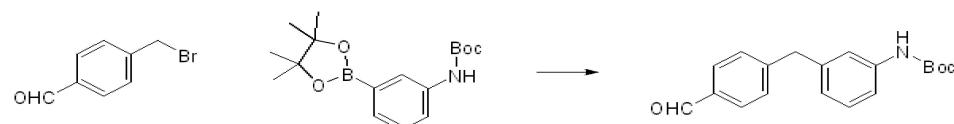


[1471]

3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)아닐린(50 g, 228 mmol) 및 디-tert-부틸 디카보네이트(64.8 g, 297 mmol)를 툴루엔(500 mL) 중에서 혼합하고, 혼합물을 24시간 동안 100°C에서 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 두 개 더 설치하였다. 3개의 반응 혼합물을 합하였다. 갈색 혼합물을 농축하고, 잔류물을 PE로 세척하여 표제 화합물(120 g, 49.5%)을 백색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.62 (s, 2H), 7.48 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 7.35 – 7.29 (m, 1H), 6.46 (br. s., 1H), 1.52 (s, 9H), 1.34 (s, 12H).

[1472]

**단계 4:** tert-부틸 (3-(4-포르밀벤질)페닐)카바메이트의 합성

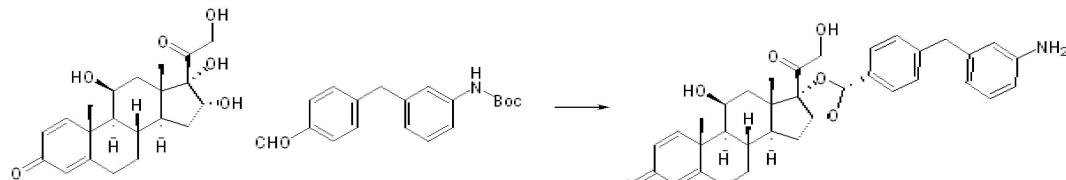


[1473]

THF(600 mL) 중 4-(브로모메틸)벤즈알데히드(29.9 g, 150 mmol), 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센디클로로팔라듐(II)(20.63 g, 28.2 mmol), tert-부틸 (3-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)페닐)카바메이트(30 g, 94 mmol) 및 탄산칼륨(64.9 g, 470 mmol)의 혼합물을 12시간 동안 80°C까지 가열하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치하였다. 4개의 반응 혼합물 모두를 합하였다. 반응 혼합물을 물(1 L)로 회석하였다. 수성 층을  $\text{EtOAc}$ (3 X 800 mL)로 추출하였다. 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피( $\text{PE/EtOAc} = 10/1$ 로 용출)로 정제하여 표제 화합물(35.5 g, 27.3%)을 백색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.97 (s, 1H), 7.80 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.26 (s, 2H), 7.24 – 7.13 (m, 2H), 6.84 (d,  $J=7.1$  Hz, 1H), 6.43 (br. s., 1H), 4.02 (s, 2H), 1.50 (s, 9H).

[1474]

**단계 5:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인테노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1475]

얼음 욕조를 이용하여 내부 온도를 25°C 미만으로 유지하면서,  $\text{MeCN}$ (50 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(6 g, 15.94 mmol) 및 tert-부틸 (3-(4-포르밀벤질)페닐)카바메이트(4.96 g, 15.94 mmol)의 용액에 과염소산(4.79 mL, 80 mmol)을 점진 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치

[1476]

[1477]

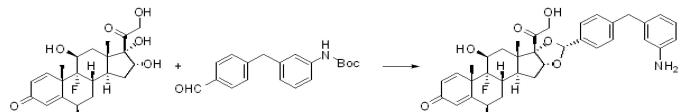
[1478]

하였다. 4개의 반응 혼합물을 모두를 합하였다. 반응 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$  수용액(500 mL)으로 훈치하고, 디클로로메탄(3 X 800 mL)으로 추출하였다. 유기상을 농축하고, 잔류물을 분취 HPLC로 정제하여 표제 화합물(10 g, 27.0%)을 황색 고체로 수득하였다.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.36 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 7.20 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 6.89 (t,  $J=7.9$  Hz, 1H), 6.39 - 6.28 (m, 3H), 6.16 (dd,  $J=1.5$ , 9.9 Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 5.39 (s, 1H), 5.08 (t,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.98 - 4.87 (m, 3H), 4.78 (d,  $J=3.1$  Hz, 1H), 4.49 (dd,  $J=6.2$ , 19.4 Hz, 1H), 4.29 (br. s., 1H), 4.17 (dd,  $J=5.5$ , 19.6 Hz, 1H), 3.74 (s, 2H), 2.61 - 2.53 (m, 1H), 2.36 - 2.26 (m, 1H), 2.11 (d,  $J=11.0$  Hz, 1H), 2.07 (s, 1H), 2.02 (d,  $J=12.8$  Hz, 1H), 1.83 - 1.54 (m, 5H), 1.39 (s, 3H), 1.16 - 0.96 (m, 2H), 0.85 (s, 3H). LCMS:  $t_{\text{R}} = 2.365$ 분, 98% 순도,  $m/z = 570.2$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> LC/MS(표 7, 방법 a)

[1479] 분취 HPLC 방법: 기기: Gilson 281 반분취 HPLC 시스템, 이동상: A:  $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}=0.075\%$  v/v; B:  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 컬럼: 폐노메넥스(Phenomenex) Luna(2) C18 250\*50 10  $\mu$ , 유속: 80 mL/분, 모니터 파장: 220&254 nm, 시간 B%, 0.0 28, 20.0 45, 20.1 45, 20.2 100, 30.2 100, 0.3 28, 31.5 28.

[1480] 실시예 2B:

[1481] (2R, 6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-6b-플루오로-2,7-디하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4(2H)-온의 합성



[1482]

[1483] 트리플루오로메탄 설폰산(1.34 mL, 15.11 mmol)을 MeCN(15.1 mL) 중 (6R, 8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17S)-9-플루오로-6, 11, 16, 17-tetra하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10, 13-디메틸-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(1.55g, 3.78 mmol), tert-부틸(3-(4-포르밀벤질)페닐)카바메이트(실시예 2, 단계 4로부터)(1.176 g, 3.78 mmol) 및  $\text{MgSO}_4$ (2.273 g, 18.89 mmol)의 -10°C 혼탁액에 점적 첨가하였다. 20분 후, 반응을  $\text{NaHCO}_3$ (15 mL)의 포화 수용액에 이어, 물(60 mL) 및 EtOAc(100mL)를 첨가하여 훈치하였다. 유기층을 물(60 mL), 염수(60 mL)로 순차적으로 세척하고, 건조시키고 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 용매를 감압 하에 제거하였다. 40 내지 100% EtOAc/헵坦의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 표제 화합물을 90% 순도의 거품(880 mg, 1.458 mmol, 39% 수율)으로 제공하였다. 생성물을 Waters XBridge<sup>TM</sup> RP18 5 미크론 컬럼(30 x 100 mm) 상에서 역상 HPLC에 의해 추가로 정제할 수 있다. MeCN(A) 및 물 중 0.1 mM  $\text{NH}_4\text{CO}_3$ (B)의 구배가 40 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 5% A, 5.0 내지 19.0분 선형 구배 15 내지 55% A). LC-MS(방법 r, 표 7)  $t_{\text{R}} = 0.72$  분,  $m/z = 604.3$  [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.37 - 7.31 (m, 2H), 7.28 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.24 - 7.19 (m, 2H), 6.93 - 6.85 (m, 1H), 6.36 (d,  $J = 2.1$  Hz, 2H), 6.35 (p,  $J = 1.1$  Hz, 1H), 6.23 (dd,  $J = 10.1$ , 1.9 Hz, 1H), 6.10 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.10 (s, 1H), 4.96 - 4.91 (m, 3H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.28 - 4.16 (m, 2H), 3.74 (s, 2H), 2.76 - 2.60 (m, 1H), 2.20 (td,  $J = 12.5$ , 6.3 Hz, 1H), 2.08 (s, 2H), 1.86 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H), 1.75 - 1.58 (m, 7H), 0.89 (s, 3H).

[1484]

실시예 3: (6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)티오)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-1, 2, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-4H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4-온의 합성

[1485] 단계 1: tert-부틸(3-메르캅토페닐)카바메이트의 합성



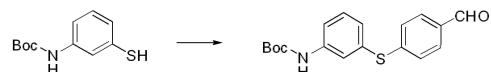
[1486]

[1487] 과염소산 아연(0.422 g, 1.598 mmol) 및 3-아미노벤젠티올(10 g, 80 mmol)의 혼합물에 디-tert-부틸 디카보네

이트(22.66 g, 104 mmol)를 점적 첨가하였다. 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치하였다. 4개의 반응 혼합물을 합하였다. 혼합물을 EtOAc(200 mL) 중에 용해시키고, 물(500 mL)로 세척하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 5/1로 용출)로 정제하여 목표 화합물(50 g, 수율 69.4%)을 백색 고체로 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.45 (br. s., 1H), 7.16 – 7.09 (m, 1H), 7.06 – 7.01 (m, 1H), 6.92 (d, J=7.4 Hz, 1H), 6.55 (br. s., 1H), 3.46 (s, 1H), 1.52 (s, 9H).

[1488]

**단계 2:** *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페닐)티오)페닐)카바메이트의 합성

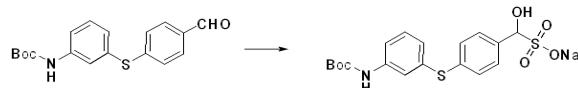


[1489]

DMF(300 mL) 중 *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페닐)티오)페닐)카바메이트(10 g, 44.4 mmol)의 용액에 트리페닐포스핀(11.64 g, 44.4 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필프로판-2-아민(11.47 g, 89 mmol)을 25°C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 N<sub>2</sub> 하에 30분 동안 25°C에서 교반하였다. 혼합물에 100°C에서 4-플루오로벤즈알데히드(8.26 g, 66.6 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 12시간 동안 100°C에서 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 네 개 더 설치하였다. 5개의 반응 혼합물을 합하였다. 혼합물을 물(2 L)로 희석하고, EtOAc(3 x 1 L)로 추출하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 잔류물을 실리카겔 상의 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc = 10/1로 용출)로 정제하여 목표 화합물(55 g, 수율 75%)을 황색 오일로 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.90 (s, 1H), 7.71 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.48 – 7.41 (m, 1H), 7.33 (t, J=7.9 Hz, 1H), 7.25 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.17 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.72 (br. s., 1H), 1.50 (s, 9H). 45 (br. s., 1H), 7.16 – 7.09 (m, 1H), 7.06 – 7.01 (m, 1H), 6.92 (d, J=7.4 Hz, 1H), 6.55 (br. s., 1H), 3.46 (s, 1H), 1.52 (s, 9H).

[1490]

**단계 3:** (4-((3-((tert-부톡시카르보닐)아미노)페닐)티오)페닐) (하이드록시)메탄설�onium 나트륨의 합성

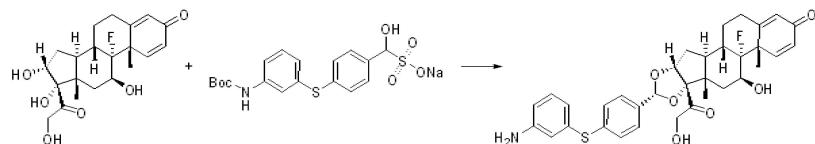


[1491]

CH<sub>3</sub>CN(30 mL) 중 알데히드(15 g, 45.5 mmol)의 용액에 물(90 mL) 중 메타중아황산 나트륨(11.25 g, 59.2 mmol)의 용액을 25°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 48시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 또 다른 바이알을 더 설치하였다. 두 개의 반응 혼합물을 합하였다. 용액을 여과하고, 고체를 물(150 mL), CH<sub>3</sub>CN(150 mL)로 세척하고, 감압 하에 건조하여 목표 화합물(32 g, 수율 81%)을 백색 고체로서 수득하였다. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d6) δ 9.45 (br. s., 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.47 – 7.35 (m, 3H), 7.33 – 7.17 (m, 3H), 6.85 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.97 (d, J=4.9 Hz, 1H), 4.98 (d, J=4.9 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H).

[1492]

**단계 4:** (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)티오)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1493]

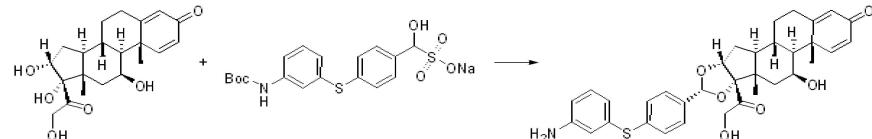
얼음 욕조를 이용하여 내부 온도를 25°C 미만으로 유지하면서, THF(50 mL) 중 (8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-9-플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(6 g, 15.21 mmol) 및 (4-((3-((tert-부톡시카르보닐)아미노)페닐)티오)페닐) (하이드록시)메탄설�onium 나트륨(4.74 g, 15.21 mmol)의 용액에 과염소산(4.58 mL, 76 mmol)을 점적 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치하였다. 4개의 반응 혼합물 모두를 합하였다. 반응 혼합물을 포화

$\text{NaHCO}_3$  수용액(500 mL)으로 훈치하고, DCM(3 X 800 mL)으로 추출하였다. 유기 상을 농축하고, 잔류물을 분취 HPLC로 정제하여 목표 화합물(9.5 g, 25.8%)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 b, 표 7)  $R_t = 2.68$ 분,  $m/z = 588.1 (\text{M}+\text{H})^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.37 – 7.26 (m, 3H), 7.21 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 6.89 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 6.43 – 6.30 (m, 3H), 6.23 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.09 (t,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.93 (br. s., 3H), 4.50 (dd,  $J=6.2, 19.4$  Hz, 1H), 4.28 – 4.09 (m, 2H), 3.74 (s, 2H), 2.73 – 2.54 (m, 2H), 2.35 (d,  $J=13.2$  Hz, 1H), 2.25 – 2.12 (m, 1H), 2.05 (d,  $J=15.0$  Hz, 1H), 1.92 – 1.77 (m, 1H), 1.74 – 1.58 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.45 – 1.30 (m, 1H), 0.87 (s, 3H). 분취 HPLC 방법: 기기: Gilson 281 반분취 HPLC 시스템; 이동상: A:  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{H}_2\text{O}=0.075\% \text{ v/v}$ ; B:  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; 컬럼: 폐노메넥스(Phenomenex) Luna C18 250 \* 50 mm\*10 미크론; 유속: 80 mL/분; 모니터 파장: 220 및 254 nm.

시간	0.0	20.0	20.1	20.2	30.2	30.3	31.5
B%	10	42	42	100	100	10	10

[1497]

[1498] **실시예 4:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)티오)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



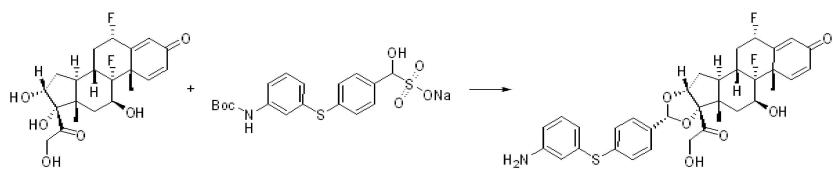
[1499]

[1500] 열음 욕조를 이용하여 내부 온도를  $25^\circ\text{C}$  미만으로 유지하면서,  $\text{MeCN}(50 \text{ mL})$  중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(6 g, 15.94 mmol) 및 (4-((3-((tert-부톡시카르보닐)아미노)페닐)티오)페닐)(하이드록시)메탄설폰산 나트륨(4.96 g, 15.94 mmol)의 용액에 과염소산(4.79 mL, 80 mmol)을 점진 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을  $20^\circ\text{C}$ 에서 2시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 세 개 더 설치하였다. 4개의 반응 혼합물을 모두를 합하였다. 반응 혼합물을 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$ (500 mL)으로 훈치하고, DCM(3 X 800 mL)으로 추출하였다. 유기 상을 농축하고, 잔류물을 분취 HPLC로 정제하여 목표 화합물(10 g, 27.0%)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 b, 표 7)  $R_t = 2.36$  분,  $m/z = 570.2 (\text{M}+\text{H})^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.36 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J=10.1$  Hz, 1H), 7.20 (d,  $J=7.9$  Hz, 2H), 6.89 (t,  $J=7.9$  Hz, 1H), 6.39 – 6.28 (m, 3H), 6.16 (dd,  $J=1.5, 9.9$  Hz, 1H), 5.93 (s, 1H), 5.39 (s, 1H), 5.08 (t,  $J=5.7$  Hz, 1H), 4.98 – 4.87 (m, 3H), 4.78 (d,  $J=3.1$  Hz, 1H), 4.49 (dd,  $J=6.2, 19.4$  Hz, 1H), 4.29 (br. s., 1H), 4.17 (dd,  $J=5.5, 19.6$  Hz, 1H), 3.74 (s, 2H), 2.61 – 2.53 (m, 1H), 2.36 – 2.26 (m, 1H), 2.11 (d,  $J=11.0$  Hz, 1H), 2.07 (s, 1H), 2.02 (d,  $J=12.8$  Hz, 1H), 1.83 – 1.54 (m, 5H), 1.39 (s, 3H), 1.16 – 0.96 (m, 2H), 0.85 (s, 3H). 분취 HPLC 방법: 기기: Gilson 281 반분취 HPLC 시스템; 이동상: A:  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{H}_2\text{O}=0.075\% \text{ v/v}$ ; B:  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; 컬럼: 폐노메넥스(Phenomenex) Luna C18 250 \* 50 mm \* 10 미크론; 유속: 80 mL/분; 모니터 파장: 220 및 254 nm.

시간	0.0	20.0	20.1	20.2	30.2	30.3	31.5
B%	28	45	45	100	100	28	28

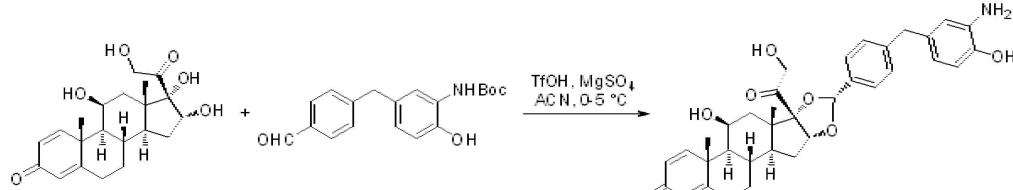
[1501]

[1502] **실시예 5:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐) 티오)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1504]  $\text{CH}_3\text{CN}$ (200 mL) 중 스테로이드(10 g, 24.25 mmol)의 용액에 25°C에서 황산마그네슘(10.21 g, 85 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 4시간 동안 교반하였다. 그런 다음, 위의 용액에 (4-((3-((tert-부톡시카르보닐)아미노)페닐)티오)페닐)(하이드록시)메탄설휤산 나트륨(10.51 g, 24.25 mmol) 및 트리플루오로메탄설휤산(20.48 mL, 121 mmol)을 0°C에서 첨가하였다. 그에 따른 혼합물을 1시간 동안 25°C에서 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 두 개 더 설치하였다. 3개의 반응 혼합물을 합하였다. 혼합물을 1 N NaOH(300 mL)로 희석하고, EtOAc(3 x 600 mL)로 추출하였다. 유기층을 감압 하에 농축하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 EtOAc(60 mL)에 용해시키고, 2-부타논(180 mL)을 첨가하였다. 30분 동안 교반 후, 여과에 의해 고체를 수집하고, 분취 HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(8.4 g, 수율 17.52%)을 황색 고체로서 수득하였다. LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t = 2.66$ 분; MS  $m/z = 624.1$  ( $M+H^+$ );  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.39 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.25 (d,  $J=8.4$  Hz, 3H), 7.03 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.53 (t,  $J=8.2$  Hz, 2H), 6.29 (dd,  $J=1.5, 9.9$  Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.76 – 5.49 (m, 2H), 5.46 (s, 1H), 4.96 (d,  $J=4.9$  Hz, 1H), 4.52 (d,  $J=19.4$  Hz, 1H), 4.21 (d,  $J=19.4$  Hz, 2H), 2.74 – 2.53 (m, 2H), 2.34 – 2.13 (m, 2H), 2.09 – 1.96 (m, 1H), 1.79 – 1.62 (m, 3H), 1.57 – 1.43 (m, 4H), 0.86 (s, 3H). 분취 HPLC 방법: 기기: Shimadzu LC-8A 분취 HPLC; 컬럼: 페노메넥스 (Phenomenex) Luna C18 250 \* 50 mm \* 10 미크론; 이동상: A –  $\text{H}_2\text{O}(0.09\% \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H})$  및 B –  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; 구배: 20분 내에 B 22%에서 52%까지; 유속: 80 mL/분; 파장: 220 & 254 nm.

[1505] 실시예 6: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노-4-하이드록시벤질)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

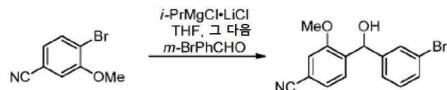


[1507] MeCN(1.8 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(0.164 g, 0.437 mmol), *tert*-부틸 (2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)-5-(4-포르밀벤질)페닐)카바메이트(0.193 g, 0.437 mmol) 및  $\text{MgSO}_4$ (0.189 g, 1.572 mmol)의 0°C 슬러리에 트리플산(triflic acid, 0.2 mL, 2.183 mmol)을 점적 첨가하였다. 40분 후, 반응물을 EtOAc(15 mL)로 희석한 다음,  $\text{NaHCO}_3$ 의 포화 수용액(10 mL x 2) 및 염수의 포화 수용액(5 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 유기 상을 건조하고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 용매를 감압 하에서 제거하였다. 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 12 g)에 의한 정제는 표제 화합물(163 mg, 0.278 mmol, 64% 수율)을 말랑말랑한 고체로 제공하였다. 이 물질의 일부(약 48.9 mg)를 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 X 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 추가로 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 70% A, 2분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 미색의 고체(11.9 mg)를 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.75$  분,  $m/z = 586.26$  [ $M+H^+$ ].  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  10.27 (s, 1H), 9.04 (s, 2H), 7.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.18 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 6.94 (dd,  $J = 8.1, 2.1$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 6.82 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 6.17 – 6.07 (m, 1H), 5.90 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.89 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.46 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.26 (q,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 4.14 (d,  $J = 19.5$  Hz, 1H), 3.80 (s, 2H), 2.58 – 2.46 (m, 1H), 2.36 – 1.92 (m, 3H), 1.76 – 1.56 (m, 4H), 1.36 (s, 3H), 1.10 – 0.90 (m, 2H), 0.83

(s, 3H).

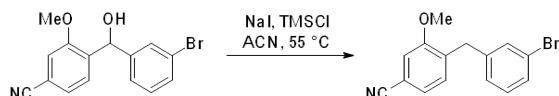
[1508] **실시예 7:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)-3-하이드록시페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

[1509] 단계 1: 4-((3-브로모페닐)(하이드록시)메틸)-3-메톡시벤조니트릴의 합성



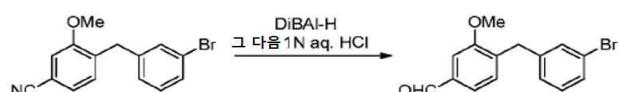
[1510] [1511] 염화 이소프로필마그네슘 염화리튬 복합체(THF 중 1.3 M, 8.34 mL, 10.85 mmol)를 THF(21 mL) 중 4-브로모-3-메톡시벤조니트릴(2 g, 9.43 mmol)의 0 내지 5°C 용액에 점적 첨가하였다. 반응물을 5시간 동안 교반하였고, 여기에, THF(10.5 mL) 중 3-브로모벤즈알데히드(1.979 g, 10.38 mmol)의 용액을 <10°C의 온도를 유지하면서 점적 첨가하였다. 반응물이 밤새 서서히 가온되도록 하였다. 반응을 NH<sub>4</sub>Cl(25 mL)의 포화 수용액으로 끁치하고, MTBE(50 mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기물을 염수(20 mL)로 세척하고, 건조하고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 10% MTBE/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(80 g 실리카)에 의한 정제는 표제 화합물(1.77 g, 5.56 mmol, 59% 수율)을 베이지 시럽/오일로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.86분; MS (ESI-) m/z = 315.7 [M-H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-d6) δ 7.67 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.47 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.43 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.40 – 7.36 (m, 1H), 7.28 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.10 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 5.94 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H).

[1512] 단계 2: 4-(3-브로모벤질)-3-메톡시벤조니트릴의 합성



[1513] [1514] 클로로트리메틸실란(3.63 g, 33.4 mmol)을 MeCN(18.5 mL) 중 요오드화나트륨(5.00 g, 33.4 mmol)의 실온 용액에 첨가하자, 백색 고체의 즉각적인 침전이 발생하였다. 그런 다음, MeCN(18.5 mL) 중 4-((3-브로모페닐)(하이드록시)메틸)-3-메톡시벤조니트릴(1.77 g, 5.56 mmol)의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 60분 동안 55°C까지 가열하였다. 실온까지 냉각시킨 후, 반응물을 MTBE(50 mL) 및 물(50 mL) 사이로 분배하였다. 층을 분리한 후, 수상을 MTBE(50 mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기물을 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>의 1 M 수용액(50 mL X 2)에 이어 염수의 포화 수용액(30 mL)으로 순차적으로 세척하고, 건조하고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에 제거하였다. 5 내지 40% MTBE/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 80 g)에 의한 정제는 표제 화합물(1.58 g, 5.23 mmol, 94% 수율)을 미색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 1.02분; MS m/z = 관찰되지 않음. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-d6) δ 7.42 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.39 – 7.30 (m, 4H), 7.22 (td, J = 7.6, 0.6 Hz, 1H), 7.18 (dt, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.82 (s, 3H).

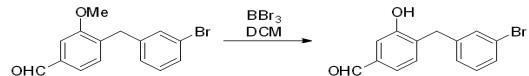
[1515] 단계 3: 4-(3-브로모벤질)-3-메톡시벤즈알데히드의 합성



[1516] [1517] 디이소부틸알루미늄 수소화물(4.9 mL, 헥산 중 1.0 M 용액, 4.9 mmol)을 <6°C의 온도를 유지하면서 톨루엔(16 mL) 중 4-(3-브로모벤질)-3-메톡시벤조니트릴(0.99 g, 3.28 mmol)의 0°C 용액에 5분에 걸쳐 점적 첨가하였다. 10분 후, 0°C에서 1 N의 HCl 수용액(100 mL)을 조심스럽게 첨가하여 반응을 끁치하였다. 그런 다음, DCM(50 mL X 4)으로 추출하고, 염수의 포화 수용액(30 mL)으로 세척하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 40% MTBE/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 표제 화합물(780 mg, 2.56 mmol, 78% 수율)을 무색의 오일로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.95 분, MS (DCI+) m/z = 303.9, 305.9 (M<sup>+</sup>). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.93 (s, 1H), 7.47 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.42

- 7.33 (m, 3H), 7.25 - 7.17 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.85 (s, 3H).

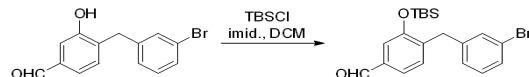
[1518] 단계 4: 4-(3-브로모벤질)-3-하이드록시벤즈알데히드의 합성



[1519]

[1520] 삼브롬화붕소(염화 메틸렌 중 1.0 M, 6.4 mL, 6.4 mmol)를 DCM(7.8 mL) 중 4-(3-브로모벤질)-3-메톡시벤즈알데히드(0.78 g, 2.56 mmol)의 0 내지 3°C 용액에 점진 첨가하였다. 반응물을 30분 동안 0°C에서 교반한 다음, 실온에서 90분 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 그에 따른 검은색 오일을 MeOH(20 mL) 및 물(15 mL)로 처리하였고, 이는 이종 혼합물을 제공하였다. 균질한 용액이 얻어질 때까지(약 10 mL) MeCN을 첨가하였고, 이 용액을 밤새 교반하였다. 휘발성 용매를 감압 하에 제거하고, 그에 따른 수성 혼탁액을 DCM(25 mL X 3)으로 추출하였다. 합한 유기물을 염수(20 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 10 내지 50% MTBE/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 4-(3-브로모벤질)-3-하이드록시벤즈알데히드(660 mg, 2.267 mmol, 89% 수율)를 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t$  = 0.85분; MS (DCI+) m/z = 307.98, 309.97 [M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.07 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 7.39 (q, J = 1.3 Hz, 1H), 7.33 (ddt, J = 6.5, 4.4, 2.0 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 0.9 Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.25 - 7.15 (m, 2H), 3.92 (s, 2H).

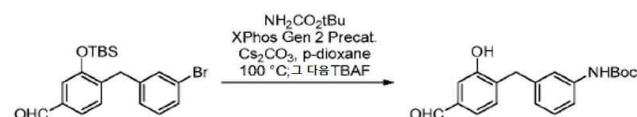
[1521] 단계 5: 4-(3-브로모벤질)-3-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)벤즈알데히드의 합성



[1522]

[1523] 이미다졸(0.231 g, 3.40 mmol) 및 tert-부틸디메틸클로로실란(0.410 g, 2.72 mmol)을 DCM(7.6 mL) 중 4-(3-브로모벤질)-3-하이드록시벤즈알데히드(0.660 g, 2.267 mmol)의 실온 혼탁액에 첨가하였고, 이를 3시간 동안 교반하였다. MeOH(0.5 mL)을 첨가하고, 교반을 10분 동안 계속하였고, 반응물을 DCM(100 mL)으로 희석하고, 물(25 mL), 1 N HCl 수용액(25 mL) 및 염수의 포화 수용액(20 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 유기 상을 건조하고 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 용매를 감압 하에서 제거하여 시럽을 수득하였다. 0 내지 10% MTBE/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 목표 화합물(820 mg, 2.023 mmol, 89% 수율)을 무색의 오일로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t$  = 1.18 분, MS (DCI+) m/z = 422.07, 424.09 [M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.94 (s, 1H), 7.50 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 7.42 - 7.36 (m, 2H), 7.36 - 7.32 (m, 2H), 7.25 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.17 (ddd, J = 7.7, 1.7, 1.0 Hz, 1H), 4.01 (s, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.26 (s, 6H).

[1524] 단계 6: tert-부틸 (3-(4-포르밀-2-하이드록시벤질)페닐)카바메이트의 합성

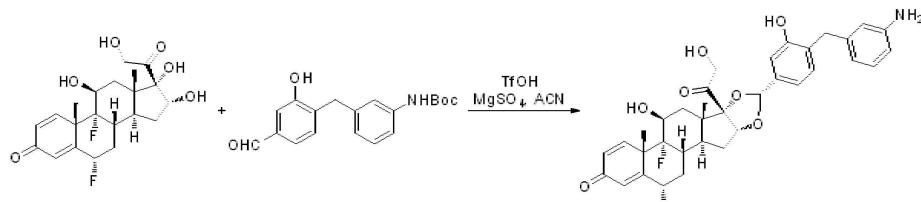


[1525]

[1526] 질소를 p-디옥산(16 mL) 중 4-(3-브로모벤질)-3-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)벤즈알데히드(0.820 g, 2.023 mmol), tert-부틸 카바메이트(0.3027 g, 2.58 mmol),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.006 g, 3.09 mmol)의 혼합물 사이로 30분 동안 주입하였다. 2세대 엑스포스 전촉매(0.0937 g, 0.119 mmol)를 첨가하고, 5분 동안 주입을 계속하였고, 반응물을 4시간 동안 100°C까지 가열하였다. 반응을 실온까지 냉각시키고, 1 N HCl의 수용액(25 mL)으로 처리하고, MTBE(25 mL x 3)로 추출하였다. 합한 유기물을 염수(30 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 THF(16 mL, 0.125 M)에 재용해시키고, 45분 동안 TBAF/SiO<sub>2</sub>(1.0 내지 1.5 mmol/g, 4.1338 g, 4.13 내지 6.2 mmol)로 처리하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 75% MTBE/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 tert-부틸 (3-(4-포르밀-2-하이드록시벤질)페닐)카바메이트(380 mg, 1.161 mmol, 57% 수율)를 제공하였고, 이는 점착성 거품으로 분리되었다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t$  = 0.85분; MS (DCI+) m/z = 345.0 [M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ 10.04 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.34 - 7.28 (m, 2H), 7.27 - 7.20 (m, 2H), 7.14 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.82

(dt,  $J = 7.7, 1.2$  Hz, 1H), 3.89 (s, 2H), 1.45 (s, 9H).

[1527] 단계 7: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)-3-하이드록시페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

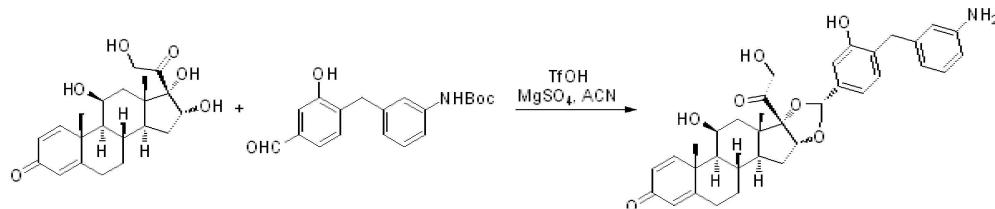


[1528]

<5°C의 반응 온도를 유지하면서, MeCN(1.5 mL) 중 (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(0.056 g, 0.136 mmol), tert-부틸(3-(4-포르밀-2-하이드록시벤질)페닐)카바메이트(0.049 g, 0.150 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub> (0.049 g, 0.408 mmol)의 0°C 슬러리에 트리플산(0.060 mL, 0.680 mmol)을 점적 첨가하였다. 30분 후, 반응 혼합물을 EtOAc(15 mL)로 희석하고, NaHCO<sub>3</sub>의 포화 수용액(5 mL X 2). 그리고 염수의 포화 수용액(3 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 유기 상을 건조하고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에서 제거하였다. 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 X 30 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의한 정제. MeCN(A) 및 물 중 0.1% 포름산(B)의 구배가 60 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 80% A, 5분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그런 다음, 동결건조시켜 표제 화합물을 무정형 고체(6.7 mg)로 수득하였다. LCMS (방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.70분; MS m/z = 622.39 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-d6) δ 9.51 (s, 1H), 7.25 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.89 - 6.81 (m, 2H), 6.75 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.37 - 6.24 (m, 4H), 6.11 (s, 1H), 5.63 (ddd,  $J = 49.2, 11.2, 6.4$  Hz, 1H), 5.50 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.07 (s, 1H), 4.91 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 4.85 (s, 2H), 4.47 (d,  $J = 19.3$  Hz, 1H), 4.21 4.14 (m, 2H), 3.70 - 3.60 (m, 2H), 2.69 - 2.50 (m, 1H), 2.26 (s, 1H), 2.31 - 2.16 (m, 1H), 2.07 - 1.94 (m, 1H), 1.68 (q,  $J = 10.2, 8.9$  Hz, 2H), 1.64 1.50 (m, 1H), 1.48 (s, 3H), 0.84 (s, 3H).

[1530]

실시예 8: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)-3-하이드록시페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성



[1531]

<5°C의 반응 온도를 유지하면서, MeCN(3.0 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(0.296 g, 0.786 mmol), tert-부틸(3-(4-포르밀-2-하이드록시벤질)페닐)카바메이트(0.251 g, 0.767 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub>(0.332 g, 2.76 mmol)의 0°C 슬러리에 트리플산(0.35 mL, 3.83 mmol)을 점적 첨가하였다. 40분 후, 반응물을 EtOAc(15 mL)로 희석하고, NaHCO<sub>3</sub>의 포화 수용액(10 mL X 2). 그리고 염수의 포화 수용액(5 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 12 g)에 의한 정제는 표제 화합물(238.4 mg, 0.407 mmol, 53% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. 이 물질의 일부(약 79.1 mg)를 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 X 30 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 추가로 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 60 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 60% A, 2분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 표제

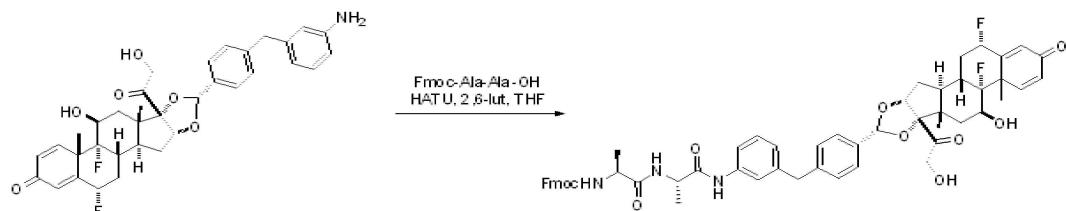
화합물을 미색의 고체(43.4 mg)로 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.73$ 분; MS  $m/z = 586.2 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (501 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  9.61 (s, 1H), 7.30 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.27 – 7.20 (m, 1H), 7.04 (dd,  $J = 7.7$ , 2.9 Hz, 2H), 6.95 – 6.91 (m, 2H), 6.90 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 6.79 (dd,  $J = 7.7$ , 1.6 Hz, 1H), 6.15 (dd,  $J = 10.1$ , 1.9 Hz, 1H), 5.92 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 5.29 (s, 1H), 4.88 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 4.79 (s, 1H), 4.45 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.28 (q,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 4.15 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 3.82 (s, 2H), 2.59 – 2.49 (m, 1H), 2.30 (dt,  $J = 13.0$ , 3.8 Hz, 1H), 2.16 – 2.05 (m, 1H), 2.07 – 1.98 (m, 1H), 1.75 (d,  $J = 3.0$  Hz, 2H), 1.73 – 1.54 (m, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.05 (qd,  $J = 12.9$ , 4.8 Hz, 1H), 0.97 (dd,  $J = 11.2$ , 3.6 Hz, 1H), 0.84 (s, 3H).

[1533]

**실시예 9:** (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)프로판아미도)프로판아미도)프로판아미드의 합성

[1534]

**단계 1:** (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)프로판아미도)프로판아미도)프로판아미드의 합성

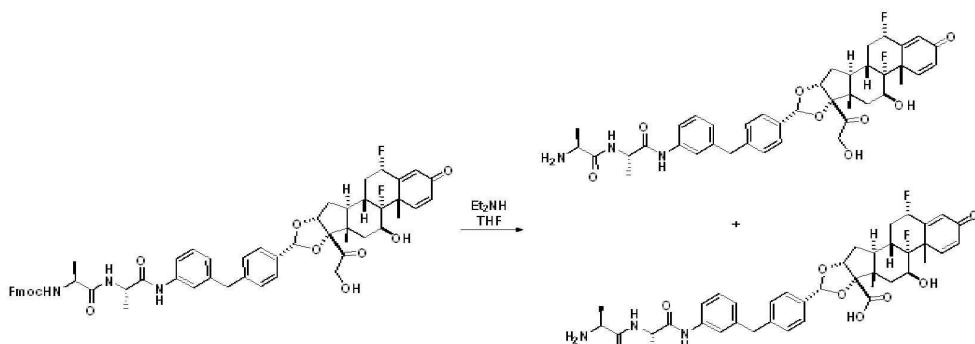


[1535]

HATU(1.3 g, 3.41 mmol) 및 2,6-루티딘(0.4 mL, 3.43 mmol)을 THF(11.5 mL) 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(1.0327 g, 1.705 mmol) 및 (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)프로판아미도)프로판아미도(0.782 g, 2.046 mmol)의 실온 혼탁액에 첨가하였다. 실온에서 3시간 후, 반응물을 EtOAc(16 mL)로 희석한 다음, 1N HCl 수용액(4 mL x 3) 및 염수의 포화 수용액(4 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 75 내지 100% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 표제 화합물(0.926 g, 0.955 mmol, 56% 수율)을 제공하였다. LC-MS(방법 r, 표 7)  $R_t = 1.01$  분,  $m/z = 970.18 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  9.85 (d,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 8.08 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.89 (dd,  $J = 7.5$ , 1.0 Hz, 2H), 7.76 – 7.69 (m, 2H), 7.55 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.49 – 7.16 (m, 13H), 6.94 – 6.88 (m, 1H), 6.30 (ddd,  $J = 10.1$ , 3.7, 1.9 Hz, 1H), 6.14 (dt,  $J = 2.6$ , 1.2 Hz, 1H), 5.74 – 5.55 (m, 1H), 5.53 (dt,  $J = 5.0$ , 2.5 Hz, 1H), 5.12 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 4.95 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 4.52 (dd,  $J = 19.4$ , 6.2 Hz, 1H), 4.38 (p,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 4.32 – 4.16 (m, 5H), 4.09 (p,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 3.88 (d,  $J = 10.9$  Hz, 2H), 2.65 – 2.60 (m, 1H), 2.33 – 2.20 (m, 1H), 2.05 (d,  $J = 13.5$  Hz, 1H), 1.77 – 1.63 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.28 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.23 (d,  $J = 7.1$  Hz, 4H), 0.88 (d,  $J = 12.6$  Hz, 3H).

[1537]

**단계 2:** (S)-2-아미노-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드의 합성

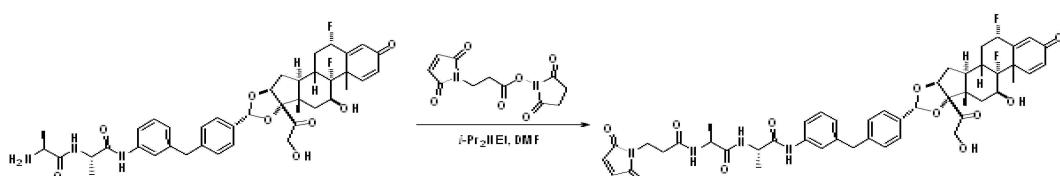


[1538]

[1539] 디에틸아민(0.5 mL, 4.79 mmol)을 THF(6.0 mL) 중 (9H-플루오렌-9-일)메틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(1.18 g, 1.216 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 2시간 후, MTBE(10 mL)를 첨가하자, 황색 고체의 즉각적인 침전이 일어났다. 이 슬러리를 90분 동안 교반하고, 여과하고, MTBE(5 mL x 3)로 세척하여 황색 고체(802.7 mg)를 제공하였다. 이 물질을 페노메네스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 추가로 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% 포름산(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20.0분 선형 구배 15 내지 75% A, 2분 유지, 22.0 내지 22.5분 선형 구배 75 내지 95%, 4분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 건조한 다음, 50°C의 진공 오븐에서 밤새 건조하였다. LC-MS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.76$ 분,  $m/z = 748.5 [M+H^+]$ .  $^1\text{H}$  NMR은 표제 화합물이 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-아미노프로판아미도)프로판아미도)벤질)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-카르복시산과의 대략 1:1 혼합물을 나타낸다. (총 0.170 g, 0.115 mol 및 각 화합물의 10% 수율).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.00 (d,  $J = 3.3$  Hz, 2H), 8.42 (d,  $J = 34.2$  Hz, 2H), 8.30 (s, 1H), 7.48 - 7.37 (m, 3H), 7.38 - 7.29 (m, 5H), 7.31 - 7.15 (m, 8H), 6.92 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 6.28 (ddd,  $J = 10.3$ , 6.6, 1.9 Hz, 3H), 6.12 (d,  $J = 3.7$  Hz, 3H), 5.77 - 5.53 (m, 3H), 5.45 (d,  $J = 7.7$  Hz, 3H), 5.04 - 4.99 (m, 1H), 4.94 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 4.50 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.40 (s, 3H), 4.23 - 4.12 (m, 2H), 3.54 (dq,  $J = 17.6$ , 6.9 Hz, 1H), 2.71 - 2.56 (m, 1H), 2.30 - 2.15 (m, 1H), 2.03 (d,  $J = 14.2$  Hz, 2H), 1.94 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 1.84 (d,  $J = 14.1$  Hz, 1H), 1.76 - 1.59 (m, 7H), 1.49 (d,  $J = 2.6$  Hz, 8H), 1.39 - 1.10 (m, 13H), 1.00 (s, 4H), 0.86 (s, 3H).

[1540]

**단계 3:** (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)프로판아미드)프로판아미드의 합성



[1541]

[1542] 디이소프로필에틸아민(0.1 mL, 0.573 mmol)을 DMF(2.5 mL) 중 (S)-2-아미노-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드(0.170 g, 0.227 mmol) 및 N-석신이미딜 3-말레이이미도프로파이드(0.0691 g, 0.260 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 30 분 후, 물 중 7% TFA 용액(1.2 mL)의 점적 첨가에 의해 반응 혼합물의 pH를 4 내지 5로 조정하였다. 미정제 혼합물을 페노메네스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지

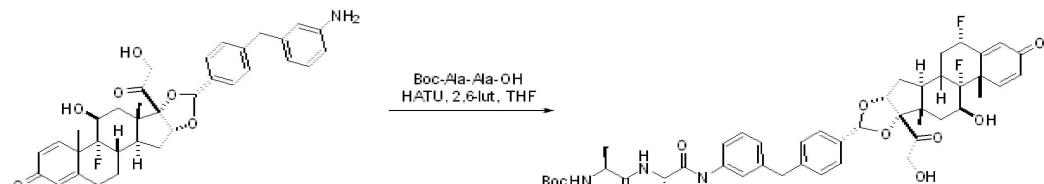
85% A, 2분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 백색 고체(85.2 mg, 0.0473 mmol, 21% 수율)를 수득하였다. LC-MS(방법 R, 표 7)  $R_t = 0.82$  분,  $m/z = 899.92$  [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR 데이터는 표제 화합물 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-1,2,4,6a,6b,7,8,8a,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-8bH-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-카르복시산의 1:1 혼합물과 일치하였다(표제 화합물의 대안적인 제조를 위해서는 실시예 10 참조, 이는 이 혼합물을 방지한다). . MS 분석은 이 물질이  $m/z = 899.1$  [M+H<sup>+</sup>] 및  $m/z = 885.0$  [M+H<sup>+</sup>]의 두 화합물임을 확인시켜 준다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.71 (s, 2H), 8.16 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 8.03 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.49 – 7.29 (m, 9H), 7.30 – 7.13 (m, 9H), 6.96 (s, 3H), 6.92 – 6.85 (m, 2H), 6.27 (dt, *J* = 10.1, 1.9 Hz, 2H), 6.11 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 5.74 – 5.53 (m, 2H), 5.46 (d, *J* = 23.9 Hz, 4H), 4.93 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.32 (p, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.27 – 4.13 (m, 3H), 4.17 (s, 3H), 3.59 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H), 2.69 – 2.53 (m, 2H), 2.38 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H), 2.28 (s, 3H), 2.22 (s, 1H), 2.08 – 1.98 (m, 1H), 1.98 – 1.90 (m, 1H), 1.83 – 1.68 (m, 2H), 1.69 (s, 2H), 1.66 (s, 2H), 1.48 (d, *J* = 3.7 Hz, 8H), 1.25 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H), 1.15 (d, *J* = 7.1 Hz, 6H), 0.99 (s, 3H), 0.84 (s, 3H).

[1543]

**실시예 10:** (S)-*N*-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)프로판아미드의 합성

[1544]

**단계 1:** *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)프로판아미드)의 합성

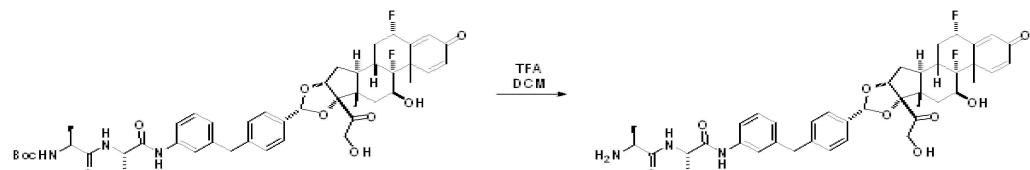


[1545]

HATU(610 mg, 1.605 mmol) 및 2,6-루티딘(0.3 mL, 2.58 mmol)을 THF(11.5 mL) 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(648.1 mg, 1.070 mmol) 및 (S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)프로판아미도)프로판산(334 mg, 1.284 mmol)의 실온 혼합물에 첨가하였다. 9시간 후, 반응물을 EtOAc(16 mL)로 희석한 다음, 1N HCl 수용액(4 mL x 3)에 이어, 염수의 포화 수용액(4 mL)으로 세척하였다. 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 표제 화합물을 황색 거품(773.7 mg, 0.912 mmol, 85% 수율)으로 제공하였다. LC-MS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.92$  분,  $m/z = 848.53$  [M+H<sup>+</sup>].

[1547]

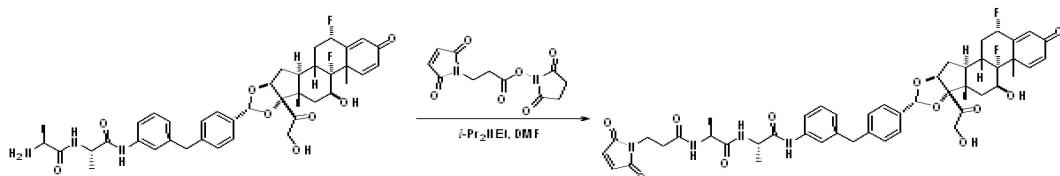
**단계 2:** (S)-2-아미노-*N*-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드의 합성



[1548]

[1549] TFA(1.97 mL, 25.6 mmol)을 DCM(6.0 mL) 중 *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(0.7683 g, 0.906 mmol)의 실온 용액에 점적 첨가하였다. 50분 후, 용매를 감압 하에 제거하여 갈색 시럽을 제공하였다. 잔류물을 1:1 DMSO:MeOH(12 mL)에 용해시키고, 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 75% A, 2분 유지, 22.0 내지 22.5분 선형 구배 75 내지 95% A, 4분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축 건조하고, 잔류물을 50°C의 진공 오븐에서 밤새 건조시켜 표제 화합물을 제공하였다(230 mg, 0.308 mmol, 34% 수율). LC-MS(방법 r, 표 7) 주요 아세탈 이성질체  $R_t = 0.73$  분,  $m/z = 748.78 [M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.01 (s, 1H), 8.62 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 8.04 (d,  $J = 5.4$  Hz, 3H), 7.46 – 7.31 (m, 4H), 7.31 – 7.13 (m, 4H), 6.91 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.27 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.76 – 5.47 (m, 2H), 5.43 (s, 1H), 4.93 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 4.49 (d,  $J = 19.5$  Hz, 1H), 4.42 (q,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.23 – 4.13 (m, 2H), 2.72 – 2.54 (m, 1H), 2.33 – 2.16 (m, 2H), 2.02 (dt,  $J = 13.6, 3.6$  Hz, 1H), 1.69 (h,  $J = 5.9, 5.1$  Hz, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.33 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.30 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 0.85 (s, 3H).

[1550] 단계 3: (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-2-((S)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)프로판아미드의 합성



[1551]

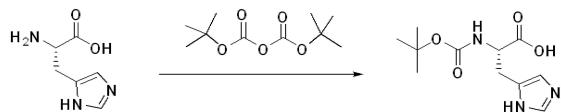
[1552] 디이소프로필에틸아민(0.1 mL, 0.573 mmol)을 DMF(2.8 mL) 중 (S)-2-아미노-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드(0.220 g, 0.294 mmol) 및 N-석신이미딜 3-말레이이미드프로파이네이트(0.086 g, 0.324 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 30 분 후, 물 중 7% TFA 용액 (1.0 mL)의 점적 첨가에 의해 반응 혼합물의 pH를 4 내지 5로 조정하였다. 미정제 혼합물을 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 85% A, 2분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 백색 고체(175.2 mg, 0.195 mmol, 66% 수율)를 수득하였다. LC-MS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.82$  분,  $m/z = 899.87 [M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.70 (s, 1H), 8.14 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 8.01 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.47 – 7.35 (m, 2H), 7.32 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.26 – 7.10 (m, 4H), 6.95 (s, 1H), 6.87 (dt,  $J = 7.6, 1.3$  Hz, 1H), 6.26 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.09 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 5.72 – 5.51 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.41 (s, 1H), 4.91 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 4.47 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.30 (p,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.25 – 4.11 (m, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.57 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.71 – 2.48 (m, 1H), 2.36 (dd,  $J = 8.0, 6.7$  Hz, 2H), 2.23 (ddt,  $J = 25.1, 12.2, 6.6$  Hz, 2H), 2.01 (dt,  $J = 13.7, 3.7$  Hz, 1H), 1.75 – 1.57 (m, 3H), 1.48 (p,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.24 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.13 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 0.83 (s, 3H).

[1553] 실시예 11: (S)-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인페노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3-(1H-օ)미다졸-4-일)프로

## 판아미드의 합성

[1554]

단계 1: (S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-(1H-이미다졸-5-일)프로판산, 2 염산의 합성

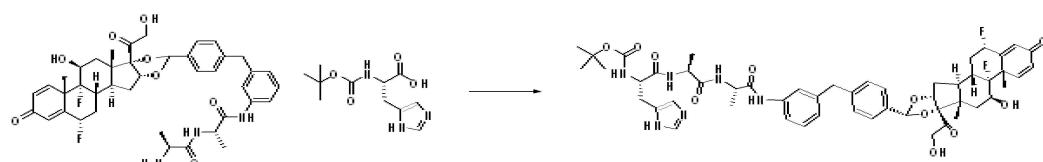


[1555]

0°C에서 물(40 mL) 및 1,4-디옥산(10 mL) 중 (S)-2-아미노-3-(1H-이미다졸-5-일)프로판산(1.55 g, 9.99 mmol)의 용액에 NaOH(10 mL, 19.98 mmol) 및 무수 BOC(2.319 mL, 9.99 mmol)를 첨가하였다. 그에 따른 혼합물을 23°C에서 4시간 동안 교반하였다. 그런 다음, 혼합물을 HCl 용액으로 pH 5까지 산성화하고, EtOAc(3 X 30 mL)로 세척하였다. 그 후, 무기층을 동결 건조시켜 (NaCl을 포함하는) 표제 화합물(4.449 g, 9.90 mmol, 99% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 1.22$  분, m/z 256.2 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

[1557]

단계 2: tert-부틸 (((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S, 8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-(1H-이미다졸-5-일)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트의 합성

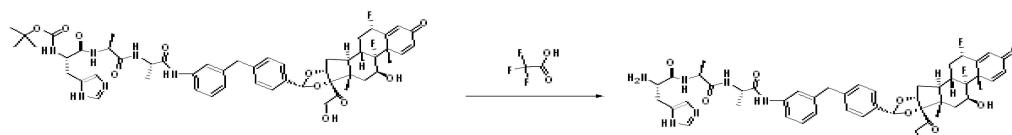


[1558]

0°C에서 THF(20 mL) 중 (S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-(1H-이미다졸-5-일)프로판산, 2염산(170 mg, 0.197 mmol), (S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3-(1H-이미다졸-5-일)프로판산, 2 염산(443 mg, 0.986 mmol)의 용액에 DIPEA(0.345 mL, 1.973 mmol) 및 HATU(90 mg, 0.237 mmol), DMAP(31.3 mg, 0.256 mmol)을 첨가하고, 그에 따른 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반하고, 16시간 동안 점차 25°C까지 가온하였다. 그 후, 혼합물을 농축하여 잔류물을 제공하고, 잔류물을 실리카겔에 의해 DCM/MeOH(10:1)로 정제하여 표제 화합물(194 mg, 0.138 mmol, 69.9% 수율)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 1.72$  분, m/z 985.3 ( $M+1$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR: (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 0.82-0.89 (m, 10H), 1.12-1.18 (m, 9H), 1.23 (s, 9H), 1.68-1.71 (m, 2H), 2.20-2.33 (m, 2H), 3.86-3.88 (m, 2H), 4.18-4.29 (m, 4H), 4.36-4.39 (m, 1H), 4.49-4.54 (m, 1H), 4.94 (d,  $J= 4.4$  Hz, 1H), 5.13 (bs, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.57-5.74 (m, 2H), 6.12 (s, 1H), 6.29 (d,  $J= 10.0$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J= 8.0$  Hz, 1H), 7.01 (d,  $J= 8.0$  Hz, 1H), 7.10-7.25 (m, 4H), 7.29-7.37 (m, 3H), 7.44-7.49 (m, 2H), 8.06 (d,  $J= 6.0$  Hz, 1H).

[1560]

단계 3: (S)-2-아미노-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S, 8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-(1H-이미다졸-5-일)프로판아미드, 3트리플루오로아세트산의 합성



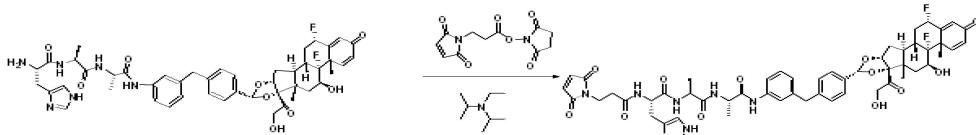
[1561]

DCM(3 mL) 중 tert-부틸 (((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S, 8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(120 mg, 0.122 mmol)의 용액에 TFA(0.6 mL, 7.79 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 그 후, 혼합물을 DCM으로 희석하고, 약 25°C에서 진공에서 농축하여 표제 화합물(149 mg, 0.103 mmol, 84.90% 수율)을 황색 고체로서 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 1.64$  분, m/z 885.3

$(M+1)^+$ .

[1563]

**단계 4:** (S)-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3-(1H-이미다졸-4-일)프로판아미드의 합성



[1564]

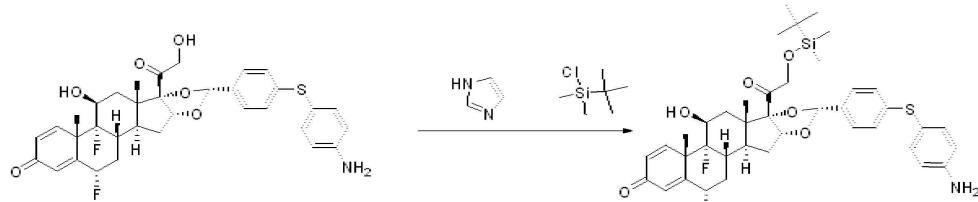
DIPEA(0.106 mL, 0.607 mmol)를 0°C에서 DMF(2 mL) 중 (S)-2-아미노-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)-3-(1H-이미다졸-5-일)프로판아미드, 3트리플루오로아세트산(149 mg, 0.121 mmol) 및 2,5-디옥소페롤리딘-1-일 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로파노에이트(48.5 mg, 0.182 mmol)의 용액에 첨가한 다음, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 분취 HPLC(이동상:A = 물 중 0.05%TFA, B = MeCN; 유속: 2 mL/분)로 정제하여 표제 화합물(11.4 mg, 9.02 mmol, 7.43% 수율)을 백색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 m, 표 7) RT= 1.62 분,  $m/z$  1058.3 ( $M+Na$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR: (400 MHz, DMSO-d) δ ppm: 0.86 (s, 3H), 1.24-1.29 (m, 9H), 1.46-1.54 (m, 3H), 1.68-1.76 (m, 2H), 1.98-2.06 (m, 2H), 2.20-2.33 (m, 2H), 2.40-2.44 (m, 2H), 2.60-2.68 (m, 1H), 2.88-2.94 (m, 1H), 3.00-3.05 (m, 1H), 3.57 (t,  $J$ = 7.4 Hz, 2H), 3.89 (s, 2H), 4.18-4.39 (m, 4H), 4.49-4.60 (m, 2H), 4.95 (d,  $J$ = 4.8 Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.54-5.74 (m, 2H), 6.13 (s, 1H), 6.30 (d,  $J$ = 10.4 Hz, 1H), 6.92 (d,  $J$ = 7.6 Hz, 1H), 7.00 (s, 2H), 7.20-7.28 (m, 4H), 7.35-7.46 (m, 5H), 8.16 (d,  $J$ = 6.4 Hz, 1H), 8.23 (d,  $J$ = 7.2 Hz, 1H), 8.31 (d,  $J$ = 8.4 Hz, 1H), 8.96 (s, 1H), 9.89 (s, 1H).

[1566]

**실시예 12:** (S)-5-(((S)-1-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-4-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜탄산(화합물 번호 81)의 합성

[1567]

**단계 1:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-8b-(2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성



[1568]

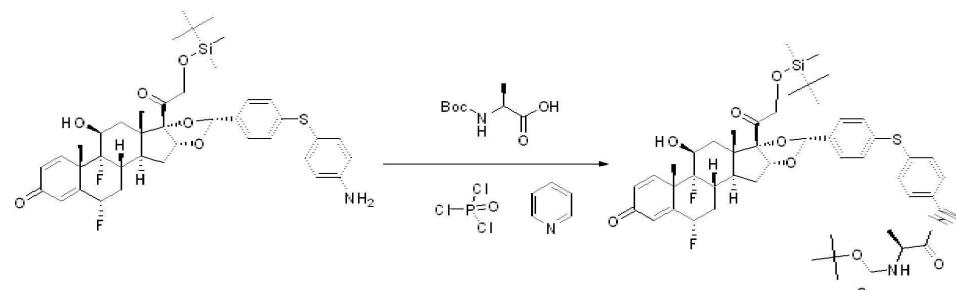
DCM 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(62.4 mg, 0.1 mmol) 및 이미다졸(34.0 mg, 0.500 mmol)의 교반 용액에 0°C에서 TBS-Cl(45.2 mg, 0.300 mmol)을 첨가하였다. 동일한 온도에서 30분 동안 교반을 계속한 후, 혼합물을 실온까지 가온되도록 하고, 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc(10 mL)로 희석하고, 물(2x10 mL) 및 염수(1x10 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 컬럼(EA:PE=

1:10	내지	1:1)으로	정제하여	생성물
(2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-8b-(2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-				

6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(50 mg, 0.068 mmol, 67.8% 수율)을 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 2.144$  분,  $m/z 738$  ( $M+H$ ).

[1570]

**단계 2:** *tert*-부틸 ((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트의 합성



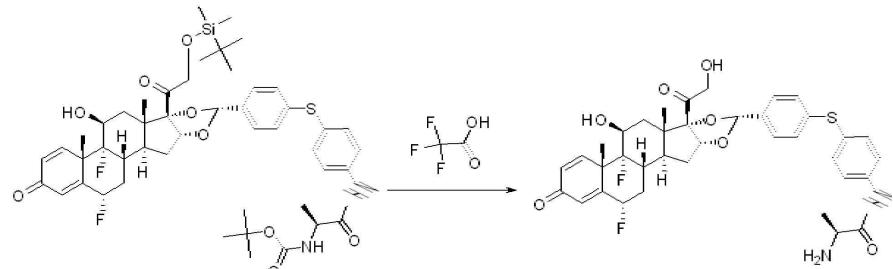
[1571]

[1572]

DCM(3 mL) 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-8b-(2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(0.148 g, 0.2 mmol) 및 (S)-2-((*tert*-부톡시카르보닐) 아미노)프로판산(0.076 g, 0.400 mmol)의 교반 용액에 피리дин(0.162 mL, 2.000 mmol)에 이어,  $\text{POCl}_3$ (0.075 mL, 0.800 mmol)을 점적 첨가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 1시간 동안 교반한 다음, 진공에서 농축하고, 잔류물을 컬럼(EA:PE=1:10 내지 9:1)으로 정제하여 *tert*-부틸 ((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(0.073 g, 0.080 mmol, 40% 수율)를 반고체로서 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 2.156$  분,  $m/z 909$  ( $M+H$ ).

[1573]

**단계 3:** (S)-2-아미노-N-(4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)프로판아미드의 합성



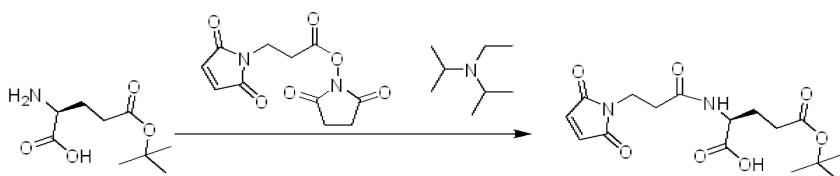
[1574]

[1575]

염화메틸렌(1 mL) 중 *tert*-부틸 ((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(0.091 g, 0.1 mmol)의 교반 용액에 TFA(1 mL, 12.98 mmol)를 첨가하고, 이 용액을 주위 온도에서 2시간 동안 교반한 다음, 진공에서 농축하여 생성물 (S)-2-아미노-N-(4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)프로판아미드(7.21 g, 10.38 mmol, 80% 수율)를 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 1.653$  분,  $m/z 695$  ( $M+H$ ).

[1576]

**단계 4:** (S)-5-(*tert*-부톡시)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜탄산의 합성



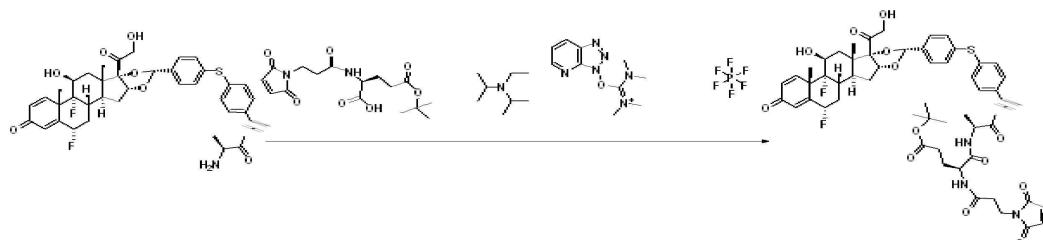
[1577]

[1578]

디메틸 포름아미드(2 mL) 중 (S)-2-아미노-5-(tert-부톡시)-5-옥소펜탄산(406 mg, 2 mmol) 및 2,5-디옥소파롤리딘-1-일 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로파노에이트(532 mg, 2.000 mmol)의 교반 용액에 DIPEA(0.524 mL, 3.00 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 2시간 동안 교반을 계속한 후, 반응 혼합물을 EtOAc(10 mL)로 희석하고, 물(2 X 10 mL) 및 염수(1x10 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하고, 잔류물을 컬럼(MeOH/DCM=0:10 내지 1:10)으로 정제하여 표제 화합물(209 mg, 0.590 mmol, 29.5% 수율)을 황색 오일로서 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7) R<sub>t</sub> = 1.490 분, m/z 377 (M+Na).

[1579]

**단계 5:** (S)-tert-부틸 5-(((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS, 8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-4-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜타노에이트의 합성



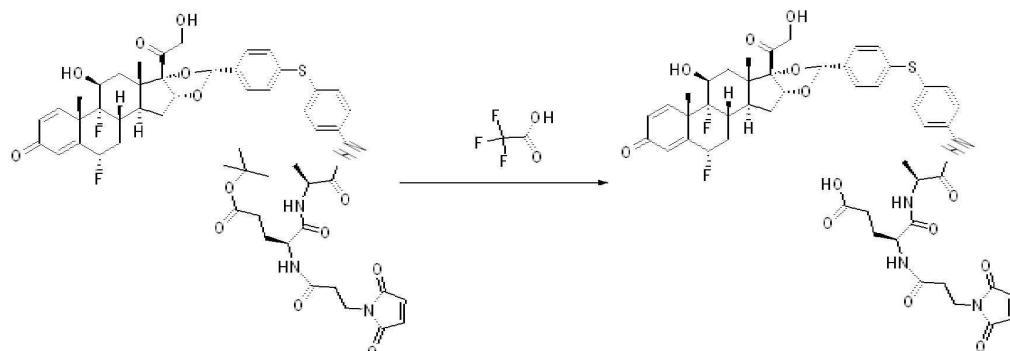
[1580]

[1581]

디메틸 포름아미드(2 mL) 중 (S)-2-아미노-N-(4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b, 11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐) 티오)페닐)프로판아미드(40 mg, 0.058 mmol), (S)-5-(tert-부톡시)-2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜탄산(30.6 mg, 0.086 mmol), HATU(32.8 mg, 0.086 mmol) 및 DIPEA(0.030 mL, 0.173 mmol)의 용액을 실온에서 밤새 교반하고, EtOAc(10 mL)로 희석하고, 물(2 X 10 mL) 및 염수(1x10 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 여과하고, 감압 하에 증발시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM=0:10; 1:10)로 정제하여 표제 화합물(30 mg, 0.029 mmol, 50.5% 수율)을 수득하였다. LCMS(방법 m, 표 7) R<sub>t</sub> = 2.051 분, m/z 1031 (M+H).

[1582]

**단계 6:** (S)-5-(((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-4-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜탄산의 합성



[1583]

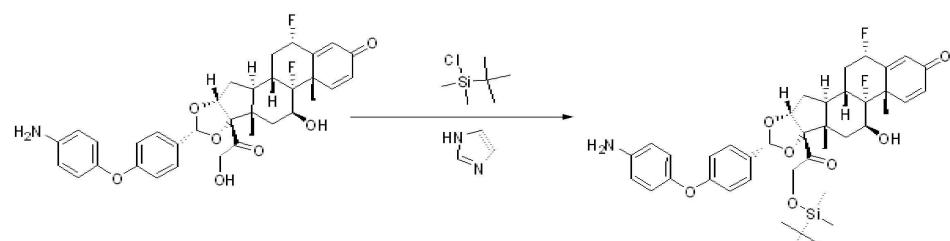
[1584]

DCM(0.5 mL) 중 (S)-tert-부틸 5-(((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R, 11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-

일)아미노)-4-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-5-옥소펜타노에이트(10.31 mg, 0.01 mmol)의 교반 용액에 TFA(0.5 mL, 6.49 mmol)를 첨가하였다. 2시간 동안 교반을 계속한 후, 반응 혼합물을 진공에서 농축하여 표제 화합물(6.83 mg, 7.00  $\mu$ mol, 70% 수율)을 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t$  = 1.875 분, m/z 975 ( $M+H$ ).

[1585] **실시예 13:** N-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페녹시)페닐)-1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도데카옥사노나트리아콘탄-39-아미드의 합성

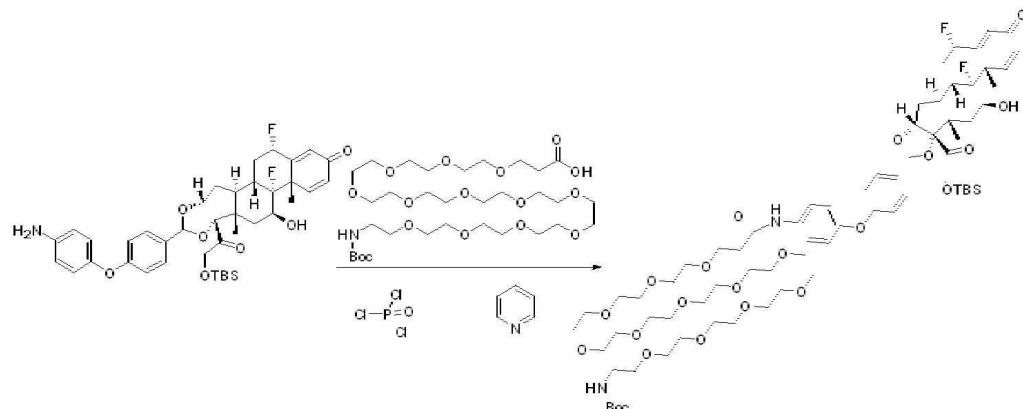
[1586] **단계 1:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-아미노페녹시)페닐)-8b-(2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성



[1587]

[1588]  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (10 mL) 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-아미노페녹시)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3] 디옥솔-4(2H)-온(290 mg, 0.477 mmol) 및 이마다졸(162 mg, 2.386 mmol)의 교반 용액에 0°C에서 TBS-Cl(216 mg, 1.432 mmol)을 첨가하였다. 동일한 온도에서 30분 동안 교반을 계속한 후, 혼합물을 실온까지 가온되도록 하고, 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc(10 mL)로 희석하고, 물(2x10 mL) 및 염수(1x10 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 컬럼 (EA:PE = 1:10 내지 9:1)으로 정제하여 표제 화합물(300 mg, 0.416 mmol, 87% 수율)을 수득하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t$  = 1.812 분, m/z 722 ( $M+H$ ).

[1589] **단계 2:** *tert*-부틸 (39-((4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페녹시)페닐)아미노)-39-옥소-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도데카옥사노나트리아콘틸)카바메이트의 합성

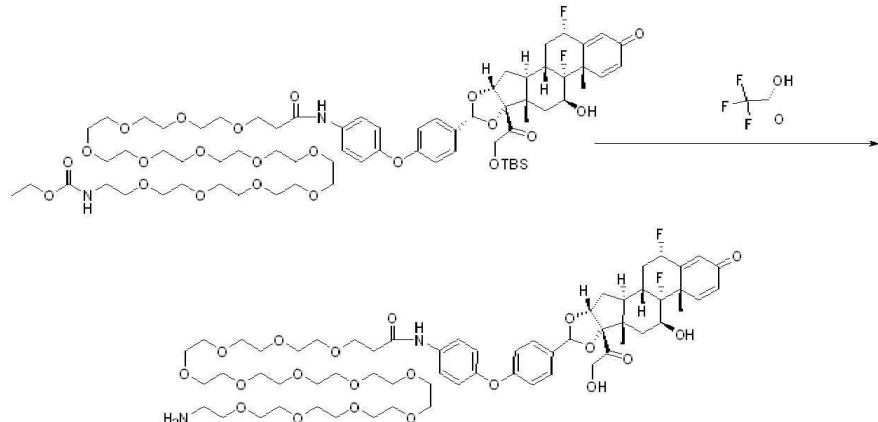


[1590]

[1591]  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3 mL) 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-아미노페녹시)페닐)-8b-(2-((tert-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5] 인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(144 mg, 0.2 mmol) 및 2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41-트리데카옥사-5-아자테트라테트라콘탄-44-산(144 mg, 0.200 mmol)의 교반 용액에 피리딘(0.162 mL, 2.000 mmol)에 이어,  $\text{POCl}_3$ (0.037 mL, 0.400 mmol)을 점진 첨가하였다. 반응 혼합

물을 주위 온도에서 1시간 동안 교반한 다음, 진공에서 농축하고, 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(MeOD:DCM=0:10 내지 1:10)로 정제하여 표제 화합물(120 mg, 0.084 mmol, 42.2% 수율)을 반고체로 수득하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 2.065$  분,  $m/z$  1422 ( $M+H-100$ ).

[1592] 단계 3: 1-아미노-N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페녹시)페닐)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도데카옥사노나트리아콘탄-39-아미드의 합성

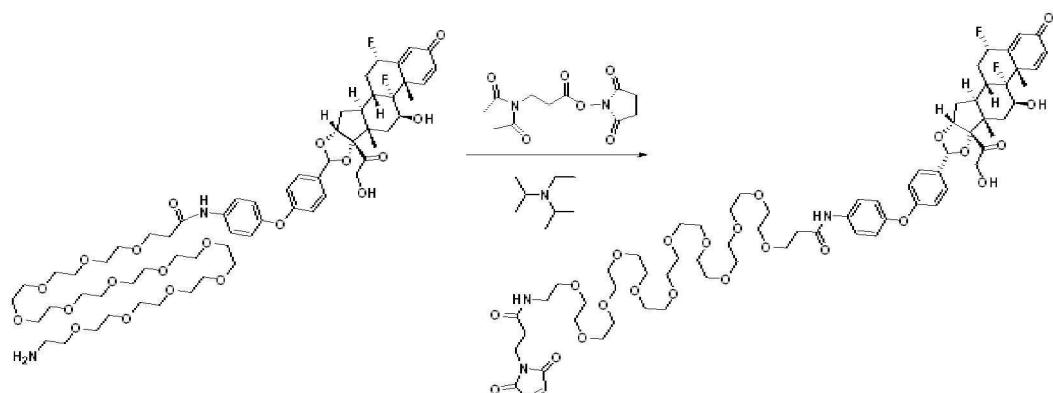


[1593]

[1594] 염화메틸렌(0.5 mL) 중 *tert*-부틸 ((39-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((*tert*-부틸디메틸실릴)옥시)아세틸)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페녹시)페닐)아미노)-39-옥소-3,6,9,12,15,18,21,24, 27,30,33,36-도데카옥사노나트리아콘틸)카바메이트(190 mg, 0.134 mmol)의 교반 용액에 TFA(0.1 mL, 1.298 mmol)를 첨가하고, 용액을 주위 온도에서 2시간 동안 교반한 다음, 진공에서 농축하여 표제 화합물(100 mg, 0.083 mmol, 62.0% 수율)을 제공하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 1.521$  분,  $m/z$  1208 ( $M+H$ ).

[1595]

단계 4: N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페녹시)페닐)-1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도데카옥사노나트리아콘탄-39-아미드의 합성



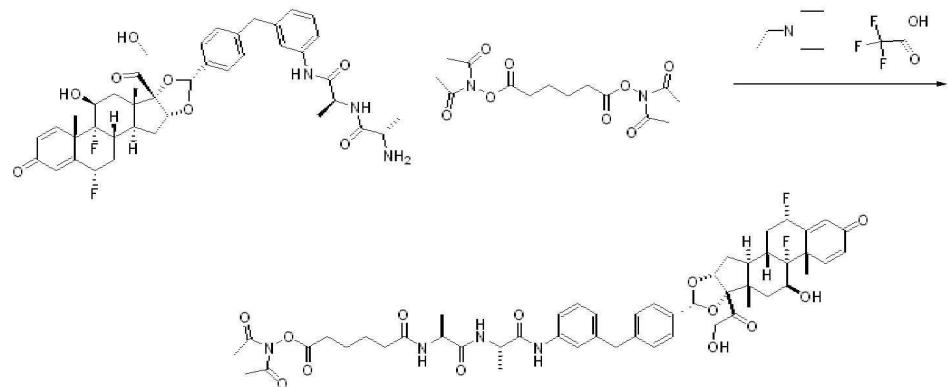
[1596]

[1597] DIPEA(6.99  $\mu$ L, 0.040 mmol)를 N,N-디메틸포름아미드(1 mL) 중 1-아미노-N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페녹시)페닐)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도데카옥사노나트리아콘탄-39-아미드(0.024 g, 0.02 mmol) 및 2,5-디옥소페롤리딘-1-일 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로파노에이트(7.99 mg, 0.030 mmol)의 용액에 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc(10 mL)로 희석하고, 물(2x10 mL), 염수(1x10 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 잔

류물을 컬럼 크로마토그래피(MeOH/DCM=0:100 내지 10:100)로 정제하여 표제 화합물(0.011 g, 8.20  $\mu\text{mol}$ , 41% 수율)을 수득하였다. LCMS(방법 m, 표 7)  $R_t = 1.679$  분,  $m/z = 1359$  ( $M+\text{H}^+$ ).

[1598]

**실시예 14:** 2,5-디옥소파롤리딘-1-일  
 $6-(((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-6-옥소헥사노에이트(화합물 번호 78)의 합성$



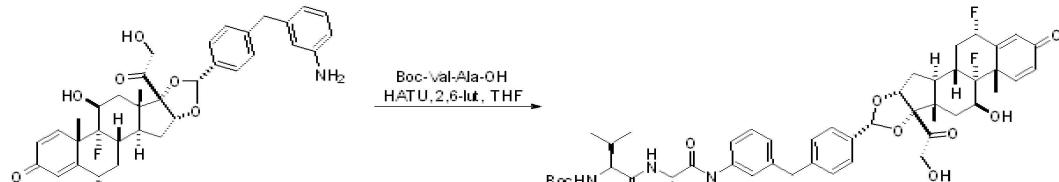
[1599]

[1600]

DMSO(1 mL) 중 (S)-2-아미노-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드(0.060 g, 0.080 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민(0.14 mL, 0.802 mmol)의 용액을 DMSO(3.5 mL) 중 비스(2,5-디옥소파롤리딘-1-일) 아디핀산염(0.273 g, 0.802 mmol)의 실온 용액에 점적 첨가하였다. 60분 후, 물 중 7 wt% TFA 용액 첨가에 의해 반응을 훈치하여 반응 혼합물이 pH 4 내지 5가 되게 하였다. 미정제 반응 혼합물을 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 5 미크론 컬럼(250 x 21 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% 포름산(B)의 구배가 30 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 1.0분 15% A, 1.0 내지 11분 선형 구배 15 내지 80% A, 1분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 표제 화합물을 백색 고체(21.2 mg, 0.022 mmol, 27% 수율)로서 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.80$  분,  $m/z = 1005.1$  [ $M+\text{MeOH}+\text{H}^+$ ].  $^1\text{H}$  NMR (DMSO)  $\delta$  0.84 (s, 3H), 1.17 (d,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H), 1.25 (d,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H), 1.48 (s, 4H), 1.57 (q,  $J = 6.2\text{Hz}$ , 4H), 1.68 (dq,  $J = 13.7, 6.3\text{Hz}$ , 3H), 1.99-2.06 (m, 1H), 2.09-2.18 (m, 2H), 2.18-2.36 (m, 2H), 2.55-2.72 (m, 3H), 2.78 (s, 4H), 3.87 (s, 2H), 4.14-4.22 (m, 2H), 4.26 (p,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 1H), 4.33 (p,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 1H), 4.49 (d,  $J = 19.4\text{Hz}$ , 1H), 4.93 (d,  $J = 5.1\text{Hz}$ , 1H), 5.43 (s, 1H), 5.49 (d,  $J = 5.4\text{Hz}$ , 1H), 5.54-5.75 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd,  $J = 10.2, 2.0\text{Hz}$ , 1H), 6.89 (d,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.17 (t,  $J = 7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.23 (t,  $J = 9.7\text{Hz}$ , 3H), 7.34 (d,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 2H), 7.39 (s, 1H), 7.44 (d,  $J = 8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.99 (d,  $J = 7.2\text{Hz}$ , 1H), 8.02 (d,  $J = 7.3\text{Hz}$ , 1H), 9.77 (s, 1H); MS (ESI-)  $m/z = 971$ .

[1601]

**실시예 15:** *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-3-메틸-1-옥소부탄-2-일)카바메이트의 합성



[1602]

[1603]

HATU(106 mg, 0.280 mmol) 및 2,6-루티딘(0.1 mL, 0.859 mmol)을 THF(1.25 mL) 중 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-

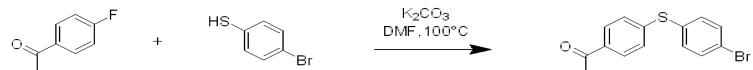
(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데 노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(113 mg, 0.187 mmol) 및 (*tert*-부톡시카르보닐)-L-발릴-L-알라닌(53.8 mg, 0.187 mmol)의 실온 혼탁액에 첨가하였다. 8시간 후, 반응물을 EtOAc(16 mL)로 희석한 다음, 1 M HCl 수용액(4 mL x 3), NaHCO<sub>3</sub>의 포화 수용액(4 mL), 그리고 염수의 포화 수용액(4 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 감압 하에 용매를 제거하고, 생성물을 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(12 g 실리카)에 의해 정제하여 표제 화합물(148.6 mg, 0.170 mmol, 91% 수율)을 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.94 분, m/z = 875.9 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.85 (s, 1H), 7.99 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.43 (dd, J = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.36 – 7.31 (m, 3H), 7.27 – 7.15 (m, 5H), 6.89 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.27 (dd, J = 10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.73 – 5.52 (m, 1H), 5.50 (dd, J = 4.5, 1.7 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.07 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.93 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.49 (dd, J = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.37 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 4.25 – 4.12 (m, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.80 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 2.73 – 2.53 (m, 1H), 2.23 (ddd, J = 18.7, 11.9, 6.0 Hz, 2H), 2.08 – 1.99 (m, 1H), 1.93 (q, J = 7.0 Hz, 1H), 1.77 – 1.59 (m, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.35 (s, 9H), 1.25 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 0.89 – 0.74 (m, 9H).

[1604]

**실시예 16:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a,10-트리메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온 및 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a,10-트리메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

[1605]

**단계 1:** 1-(4-((4-브로모페닐)티오)페닐)에타논의 합성

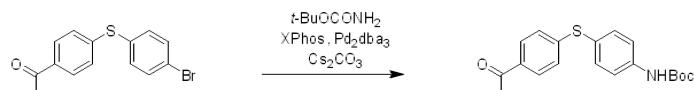


[1606]

1-(4-플루오로페닐)에타논(2.19 mL, 18.04 mmol)을 DMF(45 mL) 중 4-브로모벤젠티올(3.1 g, 16.40 mmol) 및 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.72 g, 19.67 mmol)의 교반 용액에 첨가하고, 반응물을 20분 동안 100°C까지 가열하였다. 반응물을 주위 온도까지 냉각시키고, 물(50 mL)로 희석하고, EtOAc(3 X 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 건조하고(MgSO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 60% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 120 g)에 의한 정제는 표제 화합물(3.24 g, 10.55 mmol, 64% 수율)을 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.95분; m/z = 307.0 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.87 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 2.50 (s, 3H).

[1608]

**단계 2:** *tert*-부틸 (4-((4-아세틸페닐)티오)페닐)카바메이트의 합성

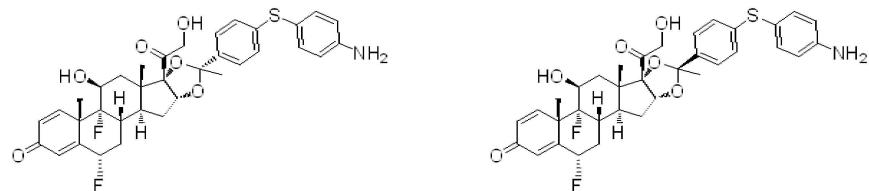


[1609]

질소를 1,4-디옥산 중 1-(4-((4-브로모페닐)티오)페닐)에타논(3.24 g, 10.55 mmol), *tert*-부틸 카바메이트(1.483 g, 12.66 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.15 g, 15.82 mmol) 및 디시클로헥실(2',4',6'-트리이소프로필-[1,1'-비페닐]-2-일)포스핀(0.503 g, 1.055 mmol)의 혼합물 사이로 30분 동안 주입하였다. 플라스크를 비우고, 다시 N<sub>2</sub>로 채웠다(3X). Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub>(0.290 g, 0.316 mmol)을 첨가하고, 반응물을 비우고, 다시 N<sub>2</sub>로 채웠다(3X). 반응 혼합물을 18시간 동안 100°C까지 가열하였다. 반응물을 주위 온도까지 냉각시키고, 물(75 mL)로 처리한 다음, EtOAc(3 X 50 mL)로 추출하고, 건조하고(MgSO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 60% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 120 g)에 의한 정제는 표제 화합물(2.0 g, 5.82 mmol, 55% 수율)을 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.96분; m/z = 344.0 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.62 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.43 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.47 (s, 9H).

[1611]

**단계 3:** (2*S*,6*aS*,6*bR*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*R*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6*b*-디플루오로-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2*H*)-온 및 (2*S*,6*aS*,6*bR*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*S*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6*b*-디플루오로-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2*H*)-온의 합성

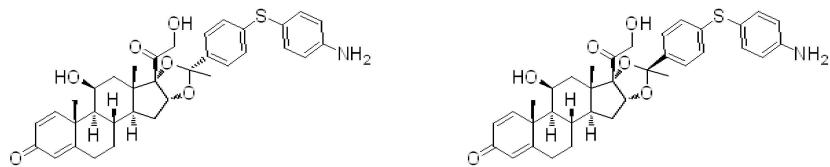


[1612]

MeCN(4.0 mL) 중 (6*S*,8*S*,9*R*,10*S*,11*S*,13*S*,14*S*,16*R*,17*S*)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-데카하이드로-3*H*-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(0.400 g, 0.970 mmol), *tert*-부틸 (4-((4-아세틸페닐)티오)페닐)카바메이트(0.366 g, 1.067 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub>(0.350 g, 2.91 mmol)의 0°C 슬러리에 트리플산(0.431 mL, 4.85 mmol)을 점적 첨가하였다. 30분 후, 반응물을 EtOAc(25 mL)로 희석하고, NaHCO<sub>3</sub>의 포화 수용액(20 mL 2) 및 염수의 포화 수용액(25 mL)으로 순차적으로 세척하고, 건조한 다음(MgSO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에 제거하여 황색 거품을 수득하였다. 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 생성물을 케탈 이성질체의 혼합물(460 mg, 0.721 mmol, 74% 수율)로 제공하였다. 이 물질의 일부를 폐노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 X 50 mm) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 18분 선형 구배 15 내지 75% A, 5분 유지). 합한 분획을 농축하여 휘발성 용매를 감압 하에 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결 건조하여 케탈 이성질체를 황색 고체로서 제공하였다. 소수 케탈 이성질체: (2*S*,6*aS*,6*bR*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*R*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6*b*-디플루오로-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2*H*)-온. 황색 분말(10.0 mg). LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.80분; m/z = 638.2 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.33 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.23 (dd, J = 10.1, 1.5 Hz, 1H), 7.19 - 7.12 (m, 2H), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.76 - 6.63 (m, 2H), 6.29 (dd, J = 10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 5.66 - 5.45 (m, 2H), 5.14 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.65 (d, J = 19.3 Hz, 1H), 4.22 - 4.07 (m, 2H), 2.48 - 2.35 (m, 1H), 2.14 - 2.04 (m, 1H), 2.02 - 1.91 (m, 1H), 1.77 - 1.64 (m, 2H), 1.63 - 1.56 (m, 1H), 1.50 (dd, J = 13.2, 6.3 Hz, 1H), 1.44 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.14 - 0.98 (m, 1H), 0.80 (s, 3H). 주요 케탈 이성질체: (2*S*,6*aS*,6*bR*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*S*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-2,6*b*-디플루오로-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2*H*)-온. 황색 분말(18.1 mg). LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.85분; m/z = 638.2 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.28 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 8.4, 7.2 Hz, 4H), 6.95 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.73 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.31 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.75 - 5.57 (m, 1H), 5.53 (s, 1H), 5.00 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.06 - 3.80 (m, 4H), 2.72 - 2.55 (m, 1H), 2.39 - 2.27 (m, 1H), 2.17 - 2.02 (m, 2H), 1.79 - 1.56 (m, 3H), 1.50 (d, J = 12.4 Hz, 6H), 0.73 (s, 3H).

[1614]

**실시예 17:** (6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*R*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2*H*)-온 및 (6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*S*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2*H*)-온의 합성



[1615]

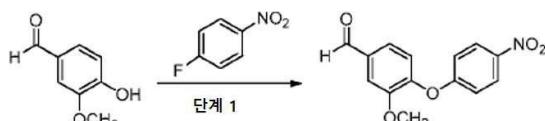
MeCN(2.0 mL) 중 (8*S*,9*S*,10*R*,11*S*,13*S*,14*S*,16*R*,17*S*)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-데카하이드로-3*H*-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(0.200 g, 0.531 mmol), *tert*-부틸 (4-((4-아세틸페닐)티오)페닐)카바메이트(0.201 g, 0.584 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub>(0.192 g, 1.59 mmol)의 0°C 슬러리에 트리플산(0.24 mL, 2.66 mmol)을 점적 첨가하였다. 30분 후, 반응물을 EtOAc(15 mL)로 희석하고, NaHCO<sub>3</sub>의 포화 수용액(10 mL), 다음으로 염수의 포화 수용액(10 mL)으로 순차적으로 세척하고, 건조하고(MgSO<sub>4</sub>), 용매를 감압 하에 제거하여 황색 거품을 수득하였다. 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 24 g)에 의한 정제는 생성물을 케탈 이성질체의 혼합물(198 mg, 0.329 mmol, 62% 수율)로 제공하였다. 이 물질의 일부를 폐노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 X 50 mm) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0 분 15% A, 5.0 내지 18분 선형 구배 15 내지 75% A, 5분 유지). 합한 분획을 농축하여 휘발성 용매를 감압 하에 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결 건조하여 두 케탈 이성질체를 백색 고체로서 제공하였다. 주요 케탈 이성질체: (6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*S*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온. 백색 분말(14.6 mg). LCMS(방법 r; 표 7) R<sub>t</sub> = 0.83분; m/z = 602.1 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-*d*6) δ 7.30 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 7.22 – 7.12 (m, 4H), 6.91 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.68 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.16 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.91 (s, 1H), 4.93 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.74 (brs, 2H), 4.30 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 4.02 – 3.79 (m, 4H), 2.53 (dt, J = 14.7, 7.6 Hz, 1H), 2.30 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 2.16 – 1.95 (m, 2H), 1.85 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 1.78 – 1.67 (m, 2H), 1.55 (td, J = 15.2, 13.3, 7.7 Hz, 2H), 1.50 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.13 – 0.97 (m, 2H), 0.70 (s, 3H). 소수 케탈 이성질체: (6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*R*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-((4-아미노페닐)티오)페닐)-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*,10-트리메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온. 백색 분말(12.0 mg). LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.80분; m/z = 602.1 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-*d*6) δ 7.32 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.25 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.66 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.13 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.09 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.71 (brs, 1H), 4.62 (d, J = 19.3 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 4.11 (d, J = 19.2 Hz, 2H), 2.47 – 2.37 (m, 1H), 2.25 – 2.07 (m, 1H), 1.94 (qd, J = 11.3, 3.8 Hz, 1H), 1.87 – 1.75 (m, 1H), 1.70 (s, 2H), 1.59 – 1.44 (m, 2H), 1.32 (d, J = 5.1 Hz, 6H), 1.18 – 1.03 (m, 1H), 0.78 (s, 3H), 0.61 (dd, J = 11.2, 3.5 Hz, 1H), 0.50 (qd, J = 12.9, 4.8 Hz, 1H).

[1617]

**실시예 18:** 2*S*,6*aS*,6*bR*,7*S*,8*aS*,8*bS*,10*R*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-10-(4-(4-아미노페녹시)-3-하이드록시페닐)-2,6*b*-디플루오로-7-하이드록시-8*b*-(2-하이드록시아세틸)-6*a*,8*a*-디메틸-6*a*,6*b*,7,8,8*a*,8*b*,11*a*,12,12*a*,12*b*-데카하이드로-1*H*-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

[1618]

**단계 1:** 3-메톡시-4-(4-나트로페녹시)벤즈알데히드의 합성

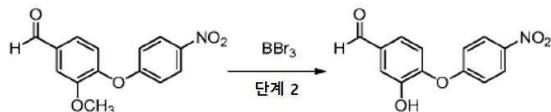


[1619]

바닐린(2.5 g, 16.43 mmol), 4-플루오로니트로벤젠(2.61 mL, 24.65 mmol) 및 탄산칼륨(4.54 g, 32.9 mmol)을 DMF(15 mL)에 용해시키고, 80°C에서 밤새 교반하였다. 냉각 후, 혼합물을 물로 처리하고, EtOAc로 추출하였다(x2). 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 건조하고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 농축하였다. 헵탄 중 0 내지 40% EtOAc 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 120 g)에 의한 정제는 표제 화합물을 누르스름한 고체(3.37 g, 75%)로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.88분; m/z 관찰되지 않음. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 10.00 (s, 1H),

8.26 – 8.17 (m, 2H), 7.72 – 7.60 (m, 2H), 7.42 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.12 – 7.03 (m, 2H), 3.82 (s, 3H).

[1621] 단계 2: 3-하이드록시-4-(4-나트로페녹시)벤즈알데히드의 합성



[1622]

[1623] 트리브로모보란(110 mL, 110 mmol)을 DCM(100 mL) 중 3-메톡시-4-(4-나트로페녹시)벤즈알데히드(6.02 g, 22.03 mmol)의  $-78^\circ\text{C}$  용액에 첨가하였다. 반응물을 1시간 동안  $-78^\circ\text{C}$ 에서 교반한 다음,  $0^\circ\text{C}$ 에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 얼음과 혼합하고, DCM으로 추출하였다. 합한 유기층을 물 및 염수로 세척하고, 건조하고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 농축하였다. 헵탄 중 0 내지 30%  $\text{EtOAc}$  구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 120 g)에 의한 정제는 표제 화합물을 보라색 오일(5.55 g, 97% 수율)로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.80$ 분; m/z 관찰되지 않음.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.24 (s, 1H), 8.22 – 8.14 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.30 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.15 – 7.07 (m, 2H), 7.02 – 6.96 (m, 2H).

[1624] 단계 3: 4-(4-아미노페녹시)-3-하이드록시벤즈알데히드의 합성

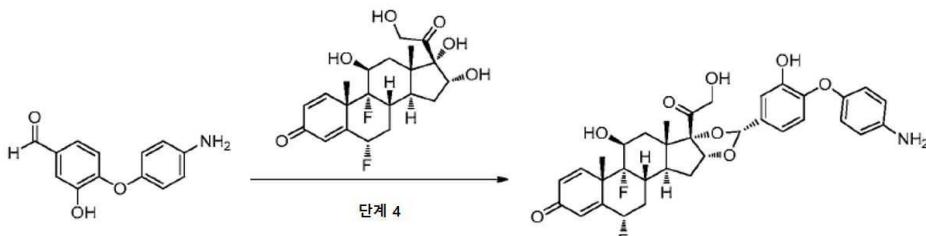


[1625]

[1626] 염화제1주석(18.29 g, 96 mmol)을 에탄올(60 mL) 중 첨가된 3-하이드록시-4-(4-나트로페녹시)벤즈알데히드(5.0 g, 19.29 mmol), 염화제1주석(18.29 g, 96 mmol)의 용액에 첨가하고, 이를 2시간 동안  $80^\circ\text{C}$ 까지 가열하였다. 혼합물을 냉각시키고, 조심스럽게 얼음, 그리고 포화 중탄산나트륨 수용액과 혼합하고,  $\text{EtOAc}$ 로 여러 차례 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 건조하고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 셀라이트(Celite<sup>®</sup>) 사이로 여과하고, 여액을 농축하여 표제 화합물을 황색 고체(1.18 g, 27% 수율)로 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.48$ 분; m/z = 관찰되지 않음.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.90 – 9.87 (m, 1H), 10.90 – 9.26 (m, 2H), 8.66 – 8.56 (m, 1H), 7.66 – 7.61 (m, 1H), 7.50 – 7.46 (m, 1H), 7.46 – 7.38 (m, 2H), 7.38 – 7.29 (m, 4H), 7.16 – 6.99 (m, 6H); MS(ESI-) m/z = 227.9 ( $M-\text{H}$ ).

[1627]

단계 4: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-아미노페녹시)-3-하이드록시페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성



[1628]

[1629] 과염소산(2.64 mL, 24.25 mmol)을 THF(70 mL) 중 4-(4-아미노페녹시)-3-하이드록시벤즈알데히드(0.611 g, 2.67 mmol) 및 (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트レン-3-온(1 g, 2.425 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 16시간 후, 반응물을 물로 처리하고,  $\text{EtOAc}$ 로 2회 추출하였다. 합한 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액, 포화 티오황산나트륨 수용액, 다음으로 포화 염수 수용액으로 세척하고, 건조하고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 용매를 감압 하에 제거하였다. 물질을 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 5 미크론 컬럼(250 x 21 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 30 mL/분의 유속으로 이용되었다(0.0 내지 1.0분 15% A, 1.0 내지 10분 선형 구배 65% A까지, 1분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 회발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 표제 생성물을 황색 고체(338.9 mg, 23% 수율)로서 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.72$ 분; MS (ESI+) 624.2 ( $M+\text{H}$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,

DMSO-*d*6)  $\delta$  9.88 (s, 2H), 7.28 (dd, 1H), 7.27 – 7.22 (m, 2H), 7.07 (d, 1H), 7.00 (d, 1H), 6.96 – 6.88 (m, 3H), 6.30 (dd, 1H), 6.18 – 6.08 (m, 1H), 5.78 – 5.67 (m, 1H), 5.65 – 5.52 (m, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.00 – 4.95 (m, 1H), 4.53 (d, 1H), 4.27 – 4.18 (m, 2H), 2.79 – 2.57 (m, 1H), 2.36 – 2.28 (m, 1H), 2.24 (td, 1H), 2.13 – 2.01 (m, 1H), 1.80 – 1.66 (m, 3H), 1.65 – 1.52 (m, 1H), 1.51 (s, 3H), 0.88 (s, 3H).

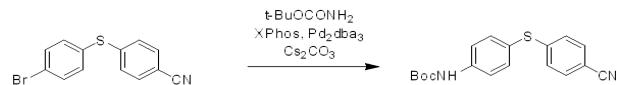
[1630] **실시예 19:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)설포닐)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

[1631] 단계 1: 4-((4-브로모페닐)티오)벤조니트릴의 합성



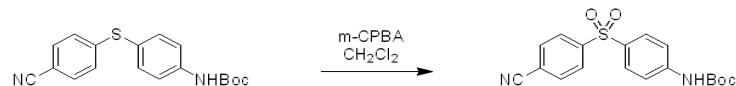
[1632] [1633] 탄산칼륨(4.39 g, 31.7 mmol)을 DMF(50 mL) 중 4-브로모벤젠티올(5.0 g, 26.4 mmol) 및 4-플루오로벤조니트릴(3.20 g, 26.4 mmol)의 용액에 첨가하고, 이를 3시간 동안 120°C까지 가열하였다. 반응물을 0°C까지 냉각시키고, 물을 첨가하고(100 mL), 혼합물을 EtOAc로 추출하였다(3 X 50 mL). 합한 유기물을 건조하고 ( $MgSO_4$ ), 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 60% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(80 g 실리카)에 의한 정제는 표제 화합물(6.82 g, 23.5 mmol, 89% 수율)을 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.95$ 분;  $m/z = 291.2 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  7.72 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.65 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.43 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.26 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H).

[1634] 단계 2: *tert*-부틸 (4-((4-시아노페닐)티오)페닐)카바메이트의 합성



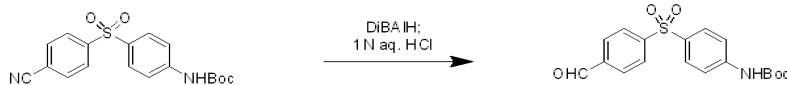
[1635] [1636] 질소를 1,4-디옥산(207 mL) 중 4-((4-브로모페닐)티오)벤조니트릴(6.0 g, 20.68 mmol), *tert*-부틸 카바메이트(2.91 g, 24.81 mmol), 디이소프로필(2',4',5'-트리이소프로필-[1,1'-비페닐]-2-일)포스핀(0.820 g, 2.068 mmol) 및  $Cs_2CO_3$  (10.11 g, 31.0 mmol)의 혼합물 사이로 30분 동안 주입하였다. 플라스크를 비우고, 다시  $N_2$ 로 채웠다(3X).  $Pd_2dba_3$ (0.568 g, 0.620 mmol)을 첨가하고, 반응물을 비우고, 다시  $N_2$ 로 채웠다(3X). 반응 혼합물을 28시간 동안 100°C까지 가열하였다. 반응물을 실온까지 냉각시키고, 그것을 물(200 mL)로 처리하고, EtOAc(3 X 75 mL)로 추출하고, 건조하고( $MgSO_4$ ), 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 30% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 120 g)에 의한 정제는 표제 화합물(3.20 g, 9.80 mmol, 47% 수율)을 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 1.0$ 분;  $m/z = 344.1 [M+NH_4^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.67 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.61 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.47 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 1.49 (s, 9H).

[1637] 단계 3: *tert*-부틸 (4-((4-시아노페닐)설포닐)페닐)카바메이트의 합성



[1638] [1639] 3-클로로페르옥시벤조산(639 mg, 3.71 mmol)을  $CH_2Cl_2$ (15 mL) 중 *tert*-부틸 (4-((4-시아노페닐)티오)페닐)카바메이트(480 mg, 1.471 mmol)의 실온 용액에 일정 분량씩 첨가하였다. 30분 후, 반응물을 물(20 mL)과 EtOAc(10 mL) 사이로 분배하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 EtOAc(2 X 25 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 염수의 포화 수용액(50 mL)으로 세척하고,  $MgSO_4$  상에서 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 60% EtOAc/헵탄의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 표제 화합물(372 mg, 1.04 mmol, 71% 수율)을 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.86$ 분;  $m/z = 376.0 [M+NH_4^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.92 (s, 1H), 8.06 (s, 4H), 7.87 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 7.66 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 1.45 (s, 9H).

[1640]

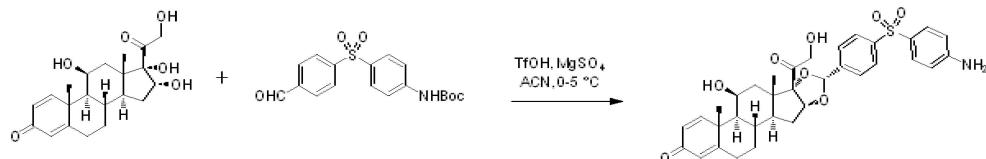
단계 4: *tert*-부틸 (4-((4-포르밀페닐)설포닐)페닐)카바메이트의 합성

[1641]

[1642] 디이소부틸알루미늄 수소화물(6.53 mL, 1.0 M in 툴루엔, 6.53 mmol)을 THF(20 mL) 중 *tert*-부틸 (4-((4-시아노페닐)설포닐)페닐)카바메이트(0.780 g, 2.176 mmol)의 0°C 용액에 5분에 걸쳐 점적 첨가하였다. 30분 후, 디이소부틸알루미늄 수소화물(툴루엔 중 1.0 M)(2.176 mL, 2.176 mmol)을 첨가하고, 반응물을 1시간 더 0°C에서 교반하였다. 1 N HCl 수용액(120 mL)을 서서히 첨가하여 반응을 0°C에서 펜치하고, 수성 상을 EtOAc로 추출하였다(2 X 75 mL). 합한 유기물을 염수의 포화 수용액(50 mL)으로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 10% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 80 g)에 의한 정제는 표제 화합물(0.275 g, 0.761 mmol, 35% 수율)을 황색 오일로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.83분; m/z = 359.9 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.04 (s, 1H), 9.89 (s, 1H), 8.18 – 7.97 (m, 4H), 7.85 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.64 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 1.43 (s, 9H).

[1643]

단계 5: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-아미노페닐)설포닐)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성



[1644]

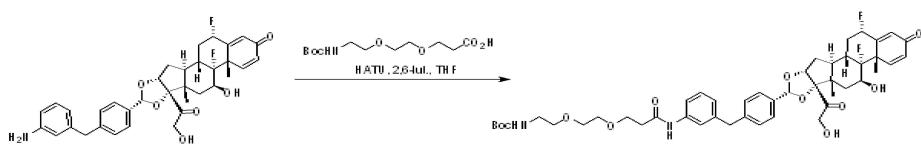
[1645] MeCN(1.0 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(0.100 g, 0.266 mmol), *tert*-부틸 (4-((4-포르밀페닐)설포닐)페닐)카바메이트(0.106 g, 0.292 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub>(0.096 g, 0.797 mmol)의 0°C 슬러리에 트리플산(0.12 mL, 1,328 mmol)을 점적 첨가하였다. 30분 후, 반응물을 EtOAc(15 mL)로 희석한 다음, NaHCO<sub>3</sub>의 포화 수용액(10 mL)에 이어, 염수의 포화 수용액(10 mL)으로 세척하고, 건조하였다(MgSO<sub>4</sub>). 감압 하에서의 용매의 제거는 담황색 거품을 제공하였고, 이것을 0 내지 10% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 24 g)로 정제하여 무색의 유리를 제공하였다. 아세탈 이성질체를 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 30 mm) 상에서 분류 역상 HPLC로 분리하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 60 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 3.0분 15% A, 3.0 내지 18분 선형 구배 15 내지 80% A, 5분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결 건조하여 표제 화합물을 백색 고체(8.0 mg, 18% 수율)로서 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.76분; MS m/z = 620.0 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.81 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.56 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.12 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.91 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.48 (d, J = 19.4 Hz, 1H), 4.24 (s, 1H), 4.13 (d, J = 19.5 Hz, 1H), 2.51 (s, 2H), 2.32 – 2.22 (m, 1H), 2.13 – 2.01 (m, 1H), 2.02 – 1.88 (m, 1H), 1.78 – 1.56 (m, 5H), 1.35 (s, 3H), 1.11 – 0.96 (m, 2H), 0.82 (s, 3H).

[1646]

실시예 20: N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-3-(2-(2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)에톡시)에톡시)프로판아미드

[1647]

단계 1: *tert*-부틸 (2-(2-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-3-옥소프로포시)에톡시)에틸)카바메이트의 합성

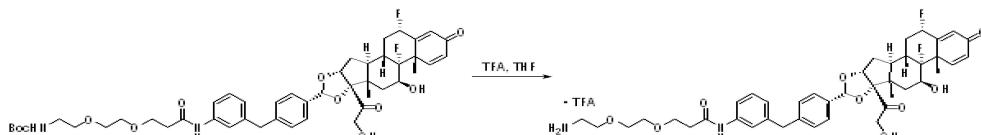


[1648]

[1649] HATU(0.125 g, 0.328 mmol)를 THF(2.0 mL) 중 2,2-디메틸-4-옥소-3,8,11-트리옥사-5-아자테트라데칸-14-산(0.100 g, 0.361 mmol), (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(0.199 g, 0.328 mmol) 및 2,6-디메틸파리딘(0.12 mL, 0.983 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 24시간 후, 용매를 감압 하에 제거하고, 반응 혼합물을 0 내지 10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 24 g)에 의해 정제하여 표제 화합물을 담황색 거품(226 mg, 0.261 mmol, 80% 수율)으로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.91 분, m/z = 865.5 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0.86 (s, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.50 (s, 4H), 1.71 (ddt, *J* = 17.9, 13.3, 5.8 Hz, 3H), 1.94 – 2.14 (m, 2H), 2.18 – 2.39 (m, 1H), 2.55 – 2.74 (m, 1H), 3.03 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.48 (hept, *J* = 3.1, 2.7 Hz, 4H), 3.66 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.88 (s, 2H), 4.13 – 4.26 (m, 2H), 4.51 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 4.94 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.52 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, 1H), 5.65 (dddd, *J* = 48.5, 11.4, 6.7, 2.0 Hz, 1H), 6.13 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.73 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 6.80 – 6.97 (m, 1H), 7.18 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.25 (td, *J* = 9.1, 8.2, 1.6 Hz, 3H), 7.32 – 7.39 (m, 3H), 7.45 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.11 – 8.85 (m, 1H), 9.83 (s, 1H).

[1650]

**단계 2:** 3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)프로판아미드

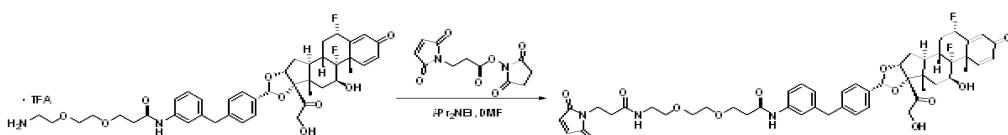


[1651]

[1652] TFA(1.0 mL, 12.98 mmol)를 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3.0 mL) 중 tert-부틸 (2-(2-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)아미노)-3-옥소프로포시)에톡시)에틸)카바메이트(226 mg, 0.261 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 45분 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 미정제 생성물을 100% 수율을 가정하여 추가적인 정제 없이 다음 단계로 가져갔다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.80 분, m/z = 765.4 [M+H]<sup>+</sup>.

[1653]

**단계 3:** N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-3-(2-(2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)에톡시)에톡시)프로판아미드의 합성



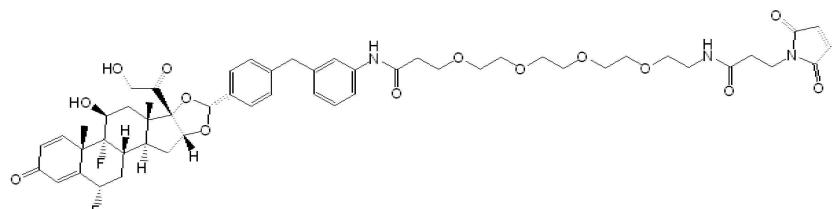
[1654]

[1655] N,N-디이소프로필에틸아민(0.155 mL, 0.88 mmol)을 DMF(2.0 mL) 중 3-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)프로판아미드(0.226 g, 0.295 mmol) 및 2,5-디옥소페놀리딘-1-일 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로파노에이트(0.087 g, 0.325 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 45분 후, 미정제 반응 혼합물을 폐노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해

정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% 포름산(B)의 구배가 80 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 18% A, 5.0 내지 25.0분 선형 구배 15 내지 80% A, 5분 유지). 합한 분획을 감압 하에 농축하여 휘발성 용매를 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결건조시켜 표제 화합물을 백색 고체(48 mg, 0.052 mmol, 18% 수율)로서 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.84$  분,  $m/z = 916.4 [M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  0.84 (s, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.59 – 1.76 (m, 3H), 2.03 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H), 2.17 – 2.38 (m, 4H), 2.54 – 2.72 (m, 1H), 3.11 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.31 – 3.35 (m, 4H), 3.42 – 3.51 (m, 4H), 3.57 (dd,  $J = 7.8, 6.8$  Hz, 2H), 3.64 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 4.10 – 4.25 (m, 2H), 4.49 (dd,  $J = 19.5, 6.0$  Hz, 1H), 4.93 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 5.07 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.51 (s, 1H), 5.53 – 5.74 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.88 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.16 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.20 – 7.28 (m, 3H), 7.30 – 7.39 (m, 3H), 7.38 – 7.48 (m, 1H), 7.96 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 9.81 (s, 1H).

[1656]

**실시예 21:** N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-아미드

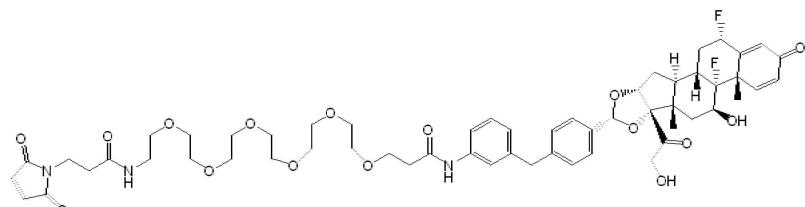


[1657]

**실시예 20과 동일한 절차에 의해 제조하였다.** 백색 고체(17 mg, 0.017 mmol, 9% 수율). LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.82$  분,  $m/z = 1026 [M+\text{Na}^+]$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  0.85 (s, 3H), 1.22 (s, 8H), 1.49 (s, 3H), 1.61 – 1.77 (m, 2H), 2.03 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H), 2.12 – 2.40 (m, 3H), 2.55 – 2.66 (m, 1H), 3.12 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.33 (s, 1H), 3.41 – 3.51 (m, 11H), 3.58 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.65 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 4.18 (d,  $J = 14.1$  Hz, 2H), 4.42 – 4.61 (m, 1H), 4.93 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.44 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.6-5.7 (m, 1H), 6.28 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.88 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.98 (s, 2H), 7.17 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.24 (t,  $J = 9.8$  Hz, 3H), 7.32 – 7.38 (m, 3H), 7.43 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 9.81 (s, 1H).

[1659]

**실시예 22:** N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헵타코산-21-아미드

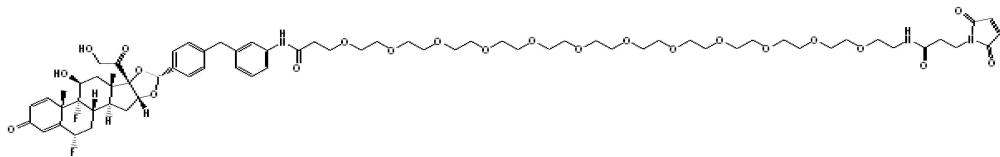


[1660]

**실시예 20과 동일한 절차에 의해 제조하였다.** 백색 고체(23.2 mg, 0.021 mmol, 22% 수율). LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.83$  분,  $m/z = 1092.3 [M+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  0.84 (s, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.58 – 1.76 (m, 3H), 2.02 (dt,  $J = 14.0, 3.6$  Hz, 1H), 2.17 – 2.37 (m, 4H), 2.62 (dtd,  $J = 24.1, 11.9, 4.4$  Hz, 1H), 3.12 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.40 – 3.52 (m, 23H), 3.57 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.64 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 4.10 – 4.25 (m, 2H), 4.49 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.92 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H), 5.08 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.49 – 5.73 (m, 2H), 6.11 (s, 1H), 6.27 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 6.87 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.16 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.23 (dd,  $J = 13.9, 9.0$  Hz, 3H), 7.30 – 7.38 (m, 3H), 7.43 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.98 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 9.81 (s, 1H).

[1662]

**실시예 23:** N-(3-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도테카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)-1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미드)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-도테카옥사노나트리아콘탄-39-아미드

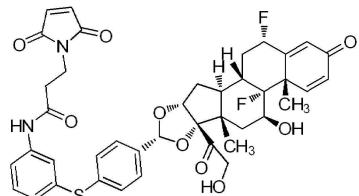


[1663]

**실시예 20과 동일한 절차에 의해 제조하였다.** 무색의 유리(20 mg, 0.015 mmol, 18% 수율)로서 분리되었다.  
LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.85$  분,  $m/z = 1356.4 [M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.84 (s, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.67 (d,  $J = 14.3$  Hz, 3H), 2.03 (d,  $J = 14.0$  Hz, 1H), 2.30 (q,  $J = 9.8$ , 8.5 Hz, 4H), 2.65 (s, 1H), 3.13 (q,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.34 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.39 - 3.54 (m, 46H), 3.57 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.64 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 4.18 (d,  $J = 14.6$  Hz, 2H), 4.49 (d,  $J = 19.2$  Hz, 1H), 4.93 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.62 (d,  $J = 41.1$  Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.20 - 6.36 (m, 1H), 6.87 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.98 (s, 2H), 7.16 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.23 (t,  $J = 9.0$  Hz, 3H), 7.34 (d,  $J = 8.4$  Hz, 3H), 7.43 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 9.80 (s, 1H).

[1665]

**실시예 24:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도테카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)-3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미드

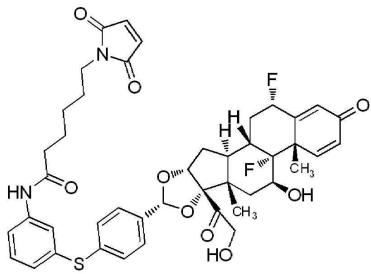


[1666]

4 mL 바이알에 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판(43.5 mg, 0.26 mmol)에 이어, DMA(1.0 mL)에 용해시킨 HATU(148 mg, 0.39 mmol), 다음으로 순수 N,N-디이소프로필에틸아민(67 uL, 0.39 mmol)을 첨가하였다. 그런 다음, DMA(0.5 mL)에 용해시킨 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)티오)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도테카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(80.83 mg, 0.13 mmol)(80.83 mg, 0.13 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 진탕하였다. 반응물을 LC/MS로 확인하고, 역상 HPLC(방법 q, 선형 구배 45 내지 75%)로 정제하여 표제 화합물을 제공하였다.  
LCMS(방법 s, 표 7)  $R_t = 0.78$ 분; MS  $m/z = 775.3 [M+H]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ /D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C)  $\delta$  7.61 - 7.57 (m, 1H), 7.49 - 7.44 (m, 1H), 7.43 - 7.37 (m, 2H), 7.34 - 7.22 (m, 4H), 7.06 - 7.02 (m, 1H), 6.92 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.2$ , 1.9 Hz, 1H), 6.14 - 6.09 (m, 1H), 5.72 - 5.52 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.98 - 4.93 (m, 1H), 4.52 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.26 - 4.14 (m, 2H), 3.73 - 3.71 (m, 2H), 3.69 - 3.65 (m, 2H), 2.73 - 2.55 (m, 1H), 2.35 - 2.26 (m, 1H), 2.25 - 2.12 (m, 1H), 2.03 - 1.95 (m, 1H), 1.79 - 1.62 (m, 3H), 1.55 - 1.39 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1668]

**실시예 25:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도테카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)-3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)헥산아미드

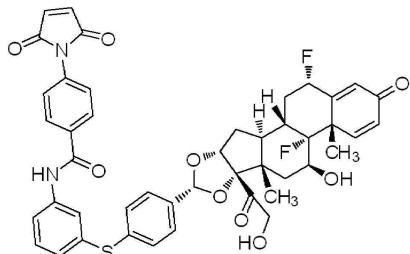


[1669]

[1670] 6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)헥산산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 s, 선형 구배 50 내지 80%). LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t = 0.82$ 분; MS  $m/z = 817.3$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.68 – 7.65 (m, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 2H), 7.33 – 7.24 (m, 4H), 7.04 – 7.01 (m, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 6.14 – 6.10 (m, 1H), 5.72 – 5.53 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.96 – 4.92 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.24 – 4.15 (m, 2H), 3.38 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.70 – 2.54 (m, 1H), 2.35 – 2.11 (m, 5H), 2.03 – 1.96 (m, 1H), 1.76 – 1.61 (m, 3H), 1.59 – 1.41 (m, 8H), 1.24 – 1.13 (m, 2H), 0.85 (s, 3H).

[1671]

**실시예 26:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-4-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)벤즈아미드

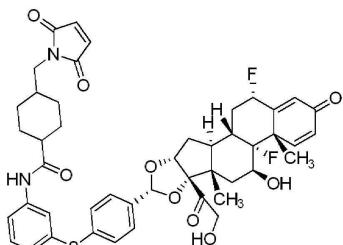


[1672]

[1673] 4-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)벤조산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 s, 선형 구배 50 내지 80%). LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t = 0.83$ 분; MS  $m/z = 823.2$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 8.02 – 7.97 (m, 2H), 7.88 – 7.85 (m, 1H), 7.77 – 7.73 (m, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 2H), 7.44 – 7.36 (m, 3H), 7.35 – 7.30 (m, 2H), 7.29 – 7.23 (m, 1H), 7.15 (s, 2H), 7.14 – 7.10 (m, 1H), 6.29 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.15 – 6.09 (m, 1H), 5.71 – 5.54 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.97 – 4.94 (m, 1H), 4.52 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.24 – 4.14 (m, 2H), 2.70 – 2.57 (m, 1H), 2.37 – 2.27 (m, 1H), 2.24 – 2.12 (m, 1H), 2.03 – 1.97 (m, 1H), 1.75 – 1.64 (m, 3H), 1.54 – 1.42 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1674]

**실시예 27:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)메틸)시클로헥산카르복사미드



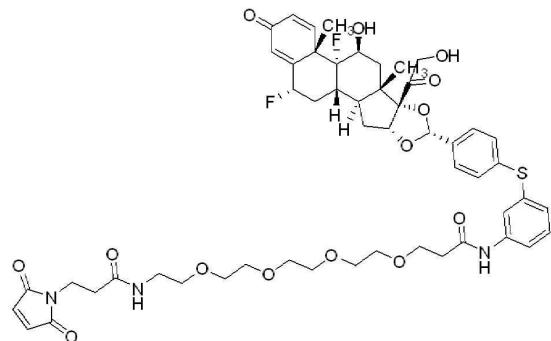
[1675]

[1676] 4-((2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)메틸)시클로헥산-1-카르복시산으로부터 실시예 24에 기술된 바와

같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 q, 선형 구배 50 내지 80%). LCMS(방법 s, 표 7)  $R_t = 0.85$ 분; MS  $m/z = 843.3$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.68 (t,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.42 – 7.37 (m, 2H), 7.35 – 7.22 (m, 4H), 7.04 – 7.01 (m, 1H), 6.95 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.1$ , 1.9 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.71 – 5.53 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.99 – 4.93 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.25 – 4.15 (m, 2H), 3.26 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.73 – 2.58 (m, 1H), 2.35 – 2.14 (m, 3H), 2.03 – 1.96 (m, 1H), 1.83 – 1.62 (m, 7H), 1.59 – 1.40 (m, 5H), 1.37 – 1.24 (m, 2H), 0.98 – 0.87 (m, 2H), 0.85 (s, 3H).

[1677]

**실시예 28:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-1-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-아미드

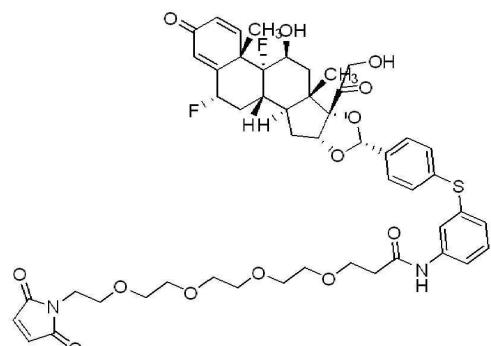


[1678]

1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)-3-옥소-7,10,13,16-테트라옥사-4-아자노나데칸-19-산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 s, 선형 구배 45 내지 75%). LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t = 0.76$ 분; MS  $m/z = 1022.4$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.70 – 7.66 (m, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 1H), 7.43 – 7.37 (m, 2H), 7.34 – 7.23 (m, 4H), 7.06 – 7.01 (m, 1H), 6.92 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.2$ , 1.9 Hz, 1H), 6.14 – 6.11 (m, 1H), 5.72 – 5.53 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.00 – 4.92 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.26 – 4.15 (m, 2H), 3.66 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.59 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 3.51 – 3.40 (m, 1H), 3.33 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.12 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 2.70 – 2.58 (m, 1H), 2.51 – 2.47 (m, 3H), 2.36 – 2.25 (m, 3H), 2.24 – 2.13 (m, 1H), 2.04 – 1.97 (m, 1H), 1.75 – 1.65 (m, 3H), 1.56 – 1.42 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1680]

**실시예 29:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-아미드



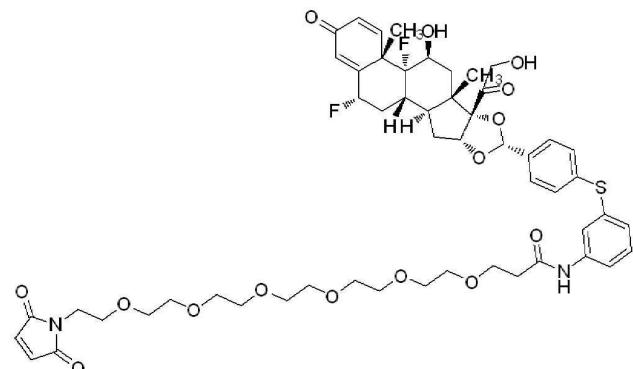
[1681]

1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)-3,6,9,12-테트라옥사펜타데칸-15-산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 s, 선형 구배 45 내지 75%). LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t =$

0.80분; MS  $m/z = 951.3$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.69 – 7.66 (m, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.42 – 7.37 (m, 2H), 7.35 – 7.24 (m, 4H), 7.06 – 7.01 (m, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.17 – 6.10 (m, 1H), 5.71 – 5.55 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.98 – 4.93 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.24 – 4.16 (m, 2H), 3.66 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.56 – 3.51 (m, 2H), 3.50 – 3.36 (m, 14H), 2.71 – 2.60 (m, 1H), 2.51 – 2.48 (m, 2H), 2.33 – 2.27 (m, 1H), 2.18 (q,  $J = 10.5$  Hz, 1H), 2.03 – 1.94 (m, 1H), 1.74 – 1.66 (m, 3H), 1.56 – 1.44 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1683]

**실시예 30:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-아미드

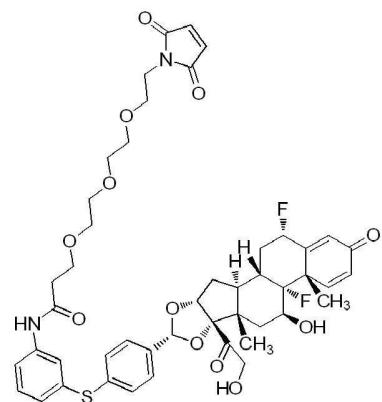


[1684]

1-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)-3,6,9,12,15,18-헥사옥사헤니코산-21-산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 q, 선형 구배 10 내지 100%). LCMS(방법 s, 표 7)  $R_t = 0.80$ 분; MS  $m/z$ 는 이온화하지 않았음;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, 온도 = 27°C) δ 7.69 – 7.66 (m, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 1H), 7.44 – 7.37 (m, 2H), 7.34 – 7.24 (m, 4H), 7.06 – 7.01 (m, 1H), 6.94 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.69 – 5.55 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.97 – 4.93 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.23 – 4.16 (m, 2H), 3.66 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.56 – 3.38 (m, 22H), 2.70 – 2.63 (m, 1H), 2.54 – 2.53 (m, 2H), 2.51 – 2.48 (m, 2H), 2.33 – 2.26 (m, 1H), 2.18 (q,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 2.03 – 1.97 (m, 1H), 1.73 – 1.65 (m, 3H), 1.55 – 1.44 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1686]

**실시예 31:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-3-(2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)에톡시)에톡시)프로판아미드



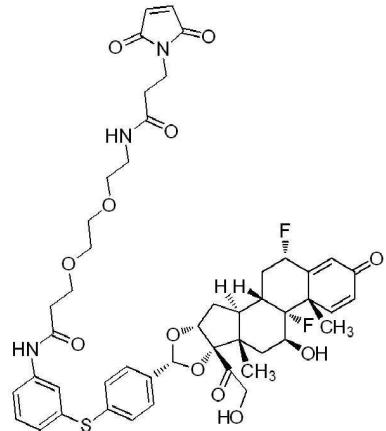
[1687]

3-(2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)에톡시)에톡시)프로판으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 q, 선형 구배 45 내지 75%). LCMS(방법 s, 표 7)  $R_t = 0.80$ 분; MS  $m/z = 908.1$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.69 – 7.66 (m, 1H),

7.54 – 7.51 (m, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 2H), 7.34 – 7.24 (m, 4H), 7.06 – 7.02 (m, 1H), 6.93 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.68 – 5.55 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.98 – 4.94 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.24 – 4.16 (m, 2H), 3.64 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 3.55 – 3.50 (m, 2H), 3.47 – 3.37 (m, 9H), 2.69 – 2.66 (m, 1H), 2.54 – 2.53 (m, 1H), 2.50 – 2.47 (m, 2H), 2.32 – 2.25 (m, 1H), 2.21 – 2.14 (m, 1H), 2.03 – 1.97 (m, 1H), 1.74 – 1.65 (m, 3H), 1.54 – 1.43 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1689]

**실시예 32:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-3-(2-(2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)에톡시)에톡시)프로판아미드

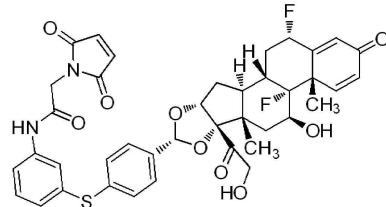


[1690]

3-(2-(2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)프로판아미도)에톡시)에톡시)프로판산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 q, 선형 구배 45 내지 75%). LCMS(방법 s, 표 7)  $R_t = 0.76$ 분; MS  $m/z = 934.4$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.69 – 7.66 (m, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 2H), 7.34 – 7.23 (m, 4H), 7.05 – 7.01 (m, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.29 (dd,  $J = 10.2, 1.9$  Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.68 – 5.56 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.97 – 4.93 (m, 1H), 4.51 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.24 – 4.15 (m, 2H), 3.66 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.58 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 3.51 – 3.43 (m, 4H), 3.33 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 3.10 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 2.63–2.58(m, 1H), 2.55 – 2.53 (m, 1H), 2.50 – 2.49 (m, 2H), 2.32 – 2.27 (m, 2H), 2.18 (q,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 2.03 – 1.97 (m, 1H), 1.73 – 1.63 (m, 3H), 1.54 – 1.42 (m, 4H), 0.85 (s, 3H).

[1692]

**실시예 33:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미드

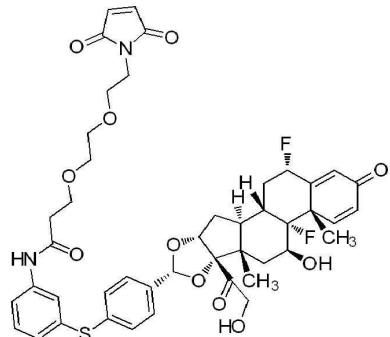


[1693]

2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트산으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 s, 선형 구배 45 내지 75%). LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t = 0.95$ 분; MS  $m/z = 761.7$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.65 – 7.61 (m, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 1H), 7.44 – 7.39 (m, 2H), 7.36 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.33 – 7.25 (m, 3H), 7.11 – 7.08 (m, 1H), 7.07 (s, 2H), 6.32 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 6.15 (s, 1H), 5.72 – 5.55 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.00 – 4.92 (m, 1H), 4.53 (d,  $J = 19.5$  Hz, 1H), 4.30 – 4.17 (m, 4H), 2.72 – 2.61 (m, 1H), 2.38 – 2.28 (m, 1H), 2.19 (q,  $J = 10.3$  Hz, 1H), 2.05 – 1.98 (m, 1H), 1.78 – 1.64 (m, 3H), 1.60 – 1.42 (m, 4H), 0.87 (s, 3H).

[1695]

**실시예 34:** N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)페닐)티오)페닐)-3-(2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판아미드



[1696]

[1697]

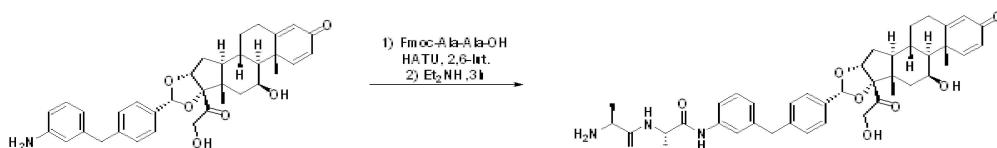
3-(2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)에톡시)프로판으로부터 실시예 24에 기술된 바와 같이 제조하였다. 역상 HPLC로 정제하였다(방법 q, 선형 구배 40 내지 75%). LCMS(방법 c, 표 7)  $R_t = 0.95$ 분; MS  $m/z = 863.9$  ( $M+H$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6/D<sub>2</sub>O, Temp = 27°C) δ 7.71 – 7.66 (m, 1H), 7.55 – 7.51 (m, 1H), 7.44 – 7.38 (m, 2H), 7.36 – 7.25 (m, 4H), 7.08 – 7.03 (m, 1H), 6.91 (s, 2H), 6.31 (dd, *J* = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.72 – 5.55 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 4.98 – 4.94 (m, 1H), 4.53 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 4.27 – 4.14 (m, 2H), 3.63 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.53 – 3.43 (m, 8H), 2.72 – 2.61 (m, 1H), 2.48 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.35 – 2.24 (m, 1H), 2.20 (q, *J* = 10.4 Hz, 1H), 2.05 – 1.96 (m, 1H), 1.76 – 1.65 (m, 3H), 1.57 – 1.41 (m, 4H), 0.87 (s, 3H).

[1698]

**실시예 34A:** 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드의 합성

[1699]

**단계 1:** (S)-2-아미노-N-((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드의 합성



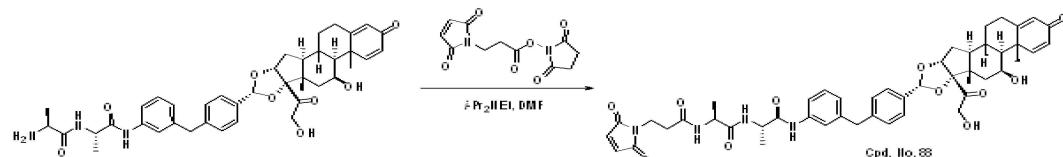
[1700]

[1701]

HATU(601 mg, 1.580 mmol) 및 2,6-루티딘(0.37 mL, 3.16 mmol)을 DCM(6 mL) 및 DMF(12 mL) 중 (S)-2-((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)페닐)아미노)프로판아미드)프로판산(765 mg, 2.00 mmol), (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(600 mg, 1.053 mmol)의 0°C 용액에 첨가하였다. 30분 후, 혼합물을 실온까지 가온하고, 밤새 교반하였다. 디에틸아민(2.18 mL, 21.06 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하고, 3시간 동안 실온에서 교반을 계속하였고, 휘발성 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 1:1 DMSO:MeOH(12 mL)에 용해시키고, 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 85% A, 5분 유지). 협한 생성물 분획을 동결 건조하여 표제 화합물을 미색 고체로 제공하였다(447 mg, 0.628 mmol, 60% 수율). LC-MS(방법 r, 표 7)  $R_t = 0.78$  분,  $m/z = 711.9$  [ $M+H$ ]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.03 (s, 1H), 8.63 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H), 7.44 – 7.38 (m, 2H), 7.38 – 7.34 (m, 2H), 7.29 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.23 – 7.16 (m, 3H), 6.90 (dt, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.14 (dd, *J* = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.90 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 4.90 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.52 – 4.37 (m, 2H), 4.27 (q, *J*

= 3.3 Hz, 1H), 4.16 (d,  $J$  = 19.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 2.58 – 2.49 (m, 1H), 2.28 (ddd,  $J$  = 13.4, 4.5, 2.1 Hz, 1H), 2.09 (dt,  $J$  = 17.0, 10.6, 5.0 Hz, 1H), 2.00 (dd,  $J$  = 12.2, 5.7 Hz, 1H), 1.78 – 1.54 (m, 5H), 1.37 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.30 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 1.01 (ddd,  $J$  = 22.1, 11.9, 4.2 Hz, 2H), 0.84 (s, 3H).

[1702] 단계 2: 3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-파롤-1-일)-N-((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드의 합성

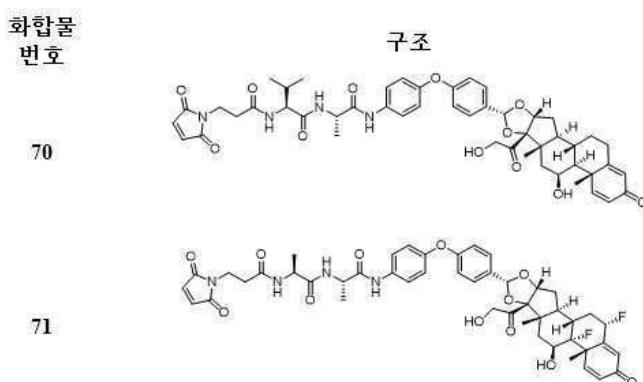


[1703]

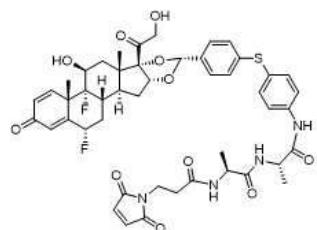
[1704] *N,N*-디이소프로필에틸아민(0.33 mL, 1.875 mmol)을 DMF(12 mL) 중 *N*-석신이미딜 3-말레이이미도프로파이트(250 mg, 0.938 mmol) 및 (S)-2-아미노-*N*-(S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)프로판아미드(445 mg, 0.625 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 실온에서 30분 후, 휘발성 용매를 감압 하에 제거하였다. 잔류물을 1:1 DMSO:MeOH(12 mL)로 희석하고, 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 25% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 25 내지 90% A, 5분 유지). 합한 생성물 분획을 동결 건조하여 표제 화합물을 미색 고체로 제공하였다(295.1 mg, 0.342 mmol, 55% 수율). LC-MS(방법 r, 표 7) Rt = 0.85 분, m/z = 863.4 [M+H]. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.71 (s, 1H), 8.17 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 1H), 8.03 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 7.43 (dd,  $J$  = 7.8, 1.1 Hz, 2H), 7.38 – 7.32 (m, 2H), 7.29 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 7.22 – 7.15 (m, 3H), 6.96 (s, 2H), 6.88 (dt,  $J$  = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 6.13 (dd,  $J$  = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.90 (t,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.90 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 1H), 4.48 (d,  $J$  = 19.4 Hz, 1H), 4.32 (p,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 4.27 (q,  $J$  = 3.3 Hz, 1H), 4.21 (p,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 4.16 (d,  $J$  = 19.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.59 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 2.57 – 2.49 (m, 1H), 2.38 (dd,  $J$  = 8.0, 6.6 Hz, 2H), 2.32 – 2.24 (m, 1H), 2.15 – 2.04 (m, 1H), 2.04 – 1.95 (m, 1H), 1.80 – 1.54 (m, 5H), 1.37 (s, 3H), 1.26 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 1.15 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 1.02 (ddd,  $J$  = 21.2, 12.1, 4.2 Hz, 2H), 0.84 (s, 3H).

### 실시예 35:

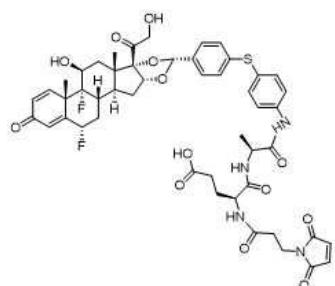
[1706] 다음 화합물을 위에 기술된 방법을 이용하여 제조하였다.



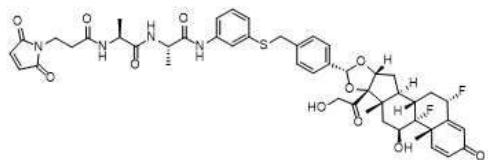
72



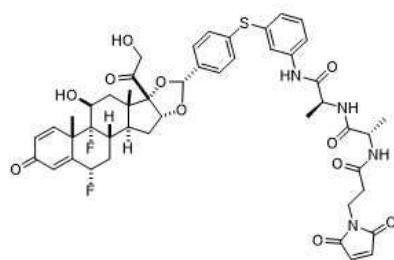
72



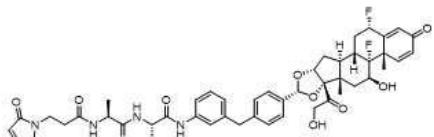
73



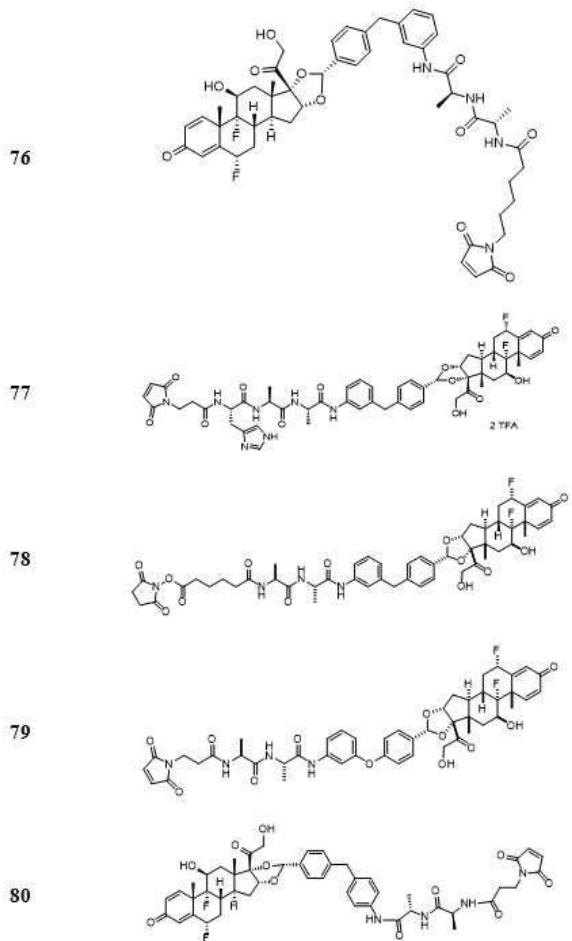
74



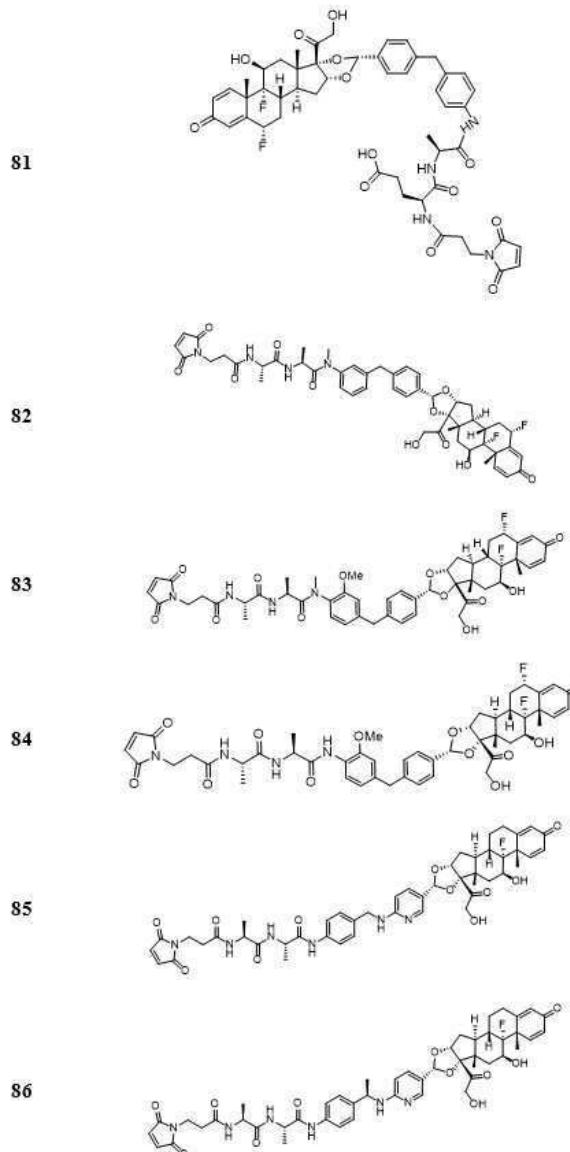
75

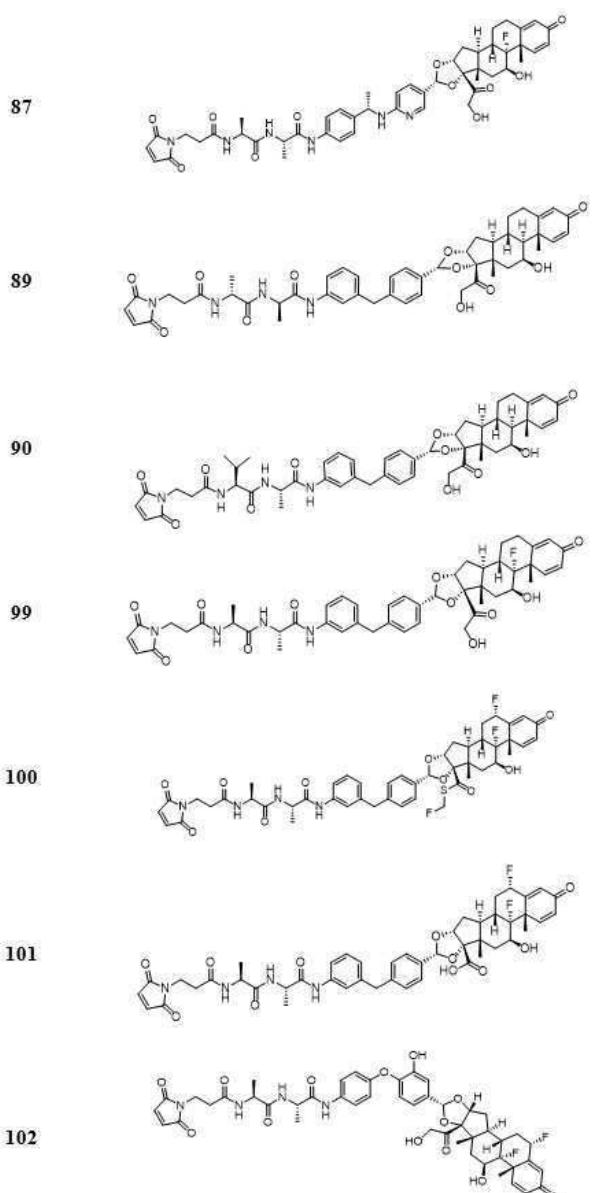


[1708]

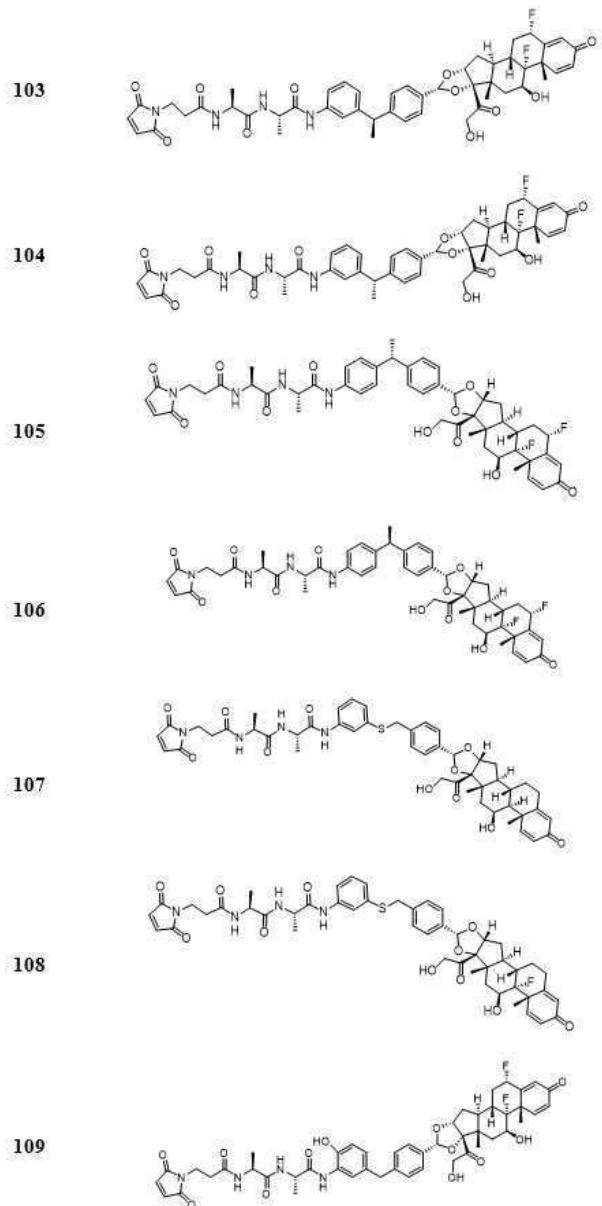


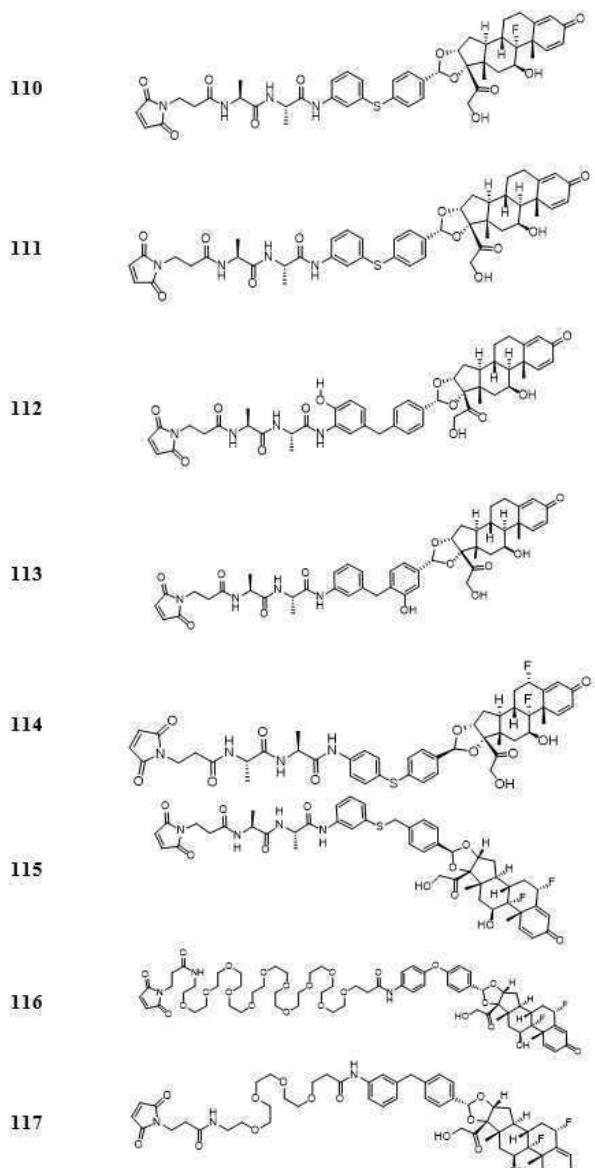
[1709]



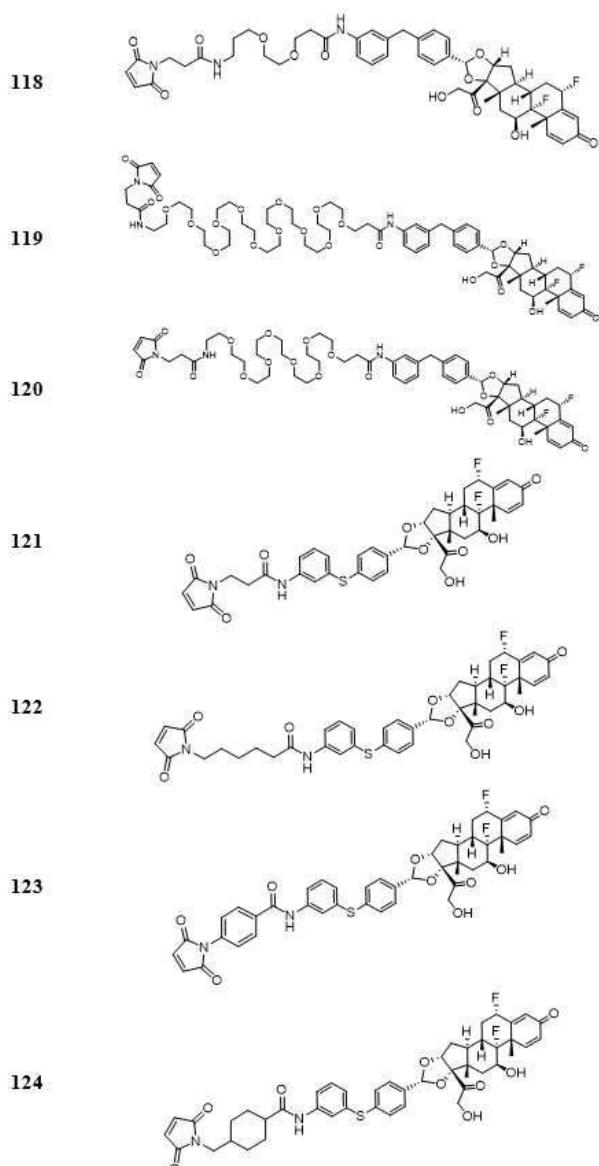


[1711]

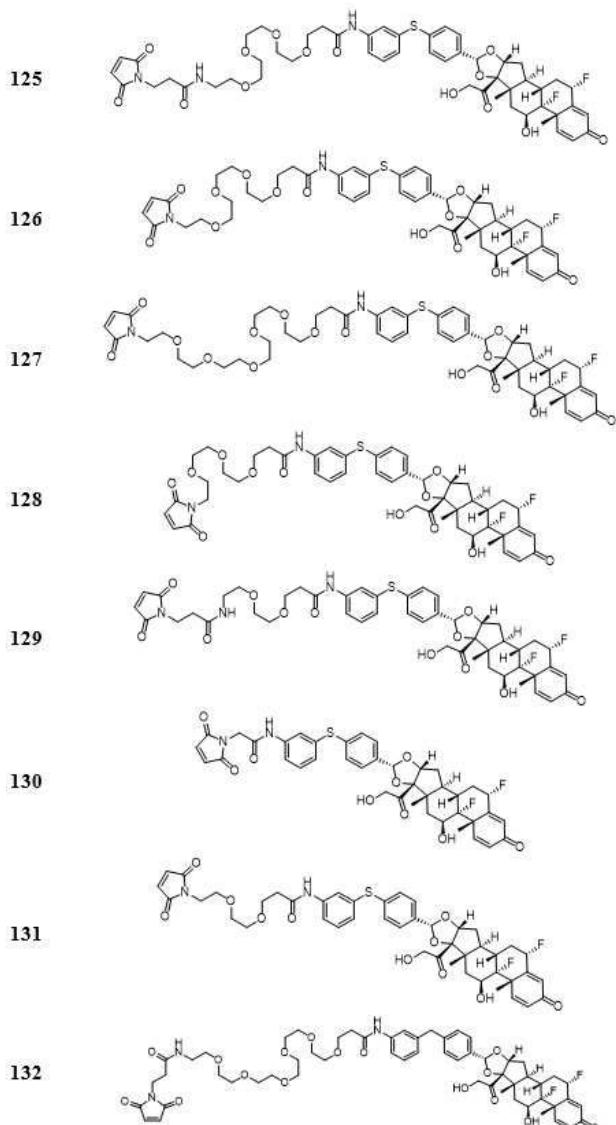




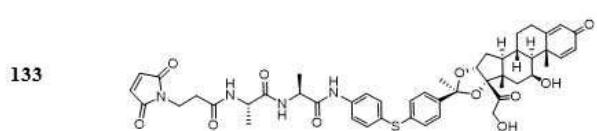
[1712]



[1713]



[1714]



[1715]

화합 물 번호	LC-MS 데이터	<sup>1</sup> H NMR 데이터
70	방법 a LC-MS, 표 7 $R_t = 1.28$ 분; $m/z = 894.0$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.79-0.87 (m, 10H), 0.95-1.13 (m, 1H), 1.29 (d, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.57-1.76 (m, 2H), 1.76 (s, 2H), 1.90-2.01 (m, 2H), 2.05 (s, 2H), 2.28 (s, 2H), 2.43 (dd, <i>J</i> = 14.4, 7.0Hz, 2H), 3.58 (p, <i>J</i> = 6.8Hz, 2H), 4.11 (dd, <i>J</i> = 8.4, 6.7Hz, 1H), 4.16 (d, <i>J</i> = 19.4Hz, 1H), 4.28 (s, 1H), 4.36 (q, <i>J</i> = 6.7Hz, 1H), 4.49 (d, <i>J</i> = 19.4Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.90 (d, <i>J</i> = 5.1Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 6.14 (dd, <i>J</i> = 10.1, 1.9Hz, 1H), 6.89-7.02 (m, 6H), 7.29 (d, <i>J</i> = 10.1Hz, 1H), 7.42 (d, <i>J</i> = 8.7Hz, 2H), 7.56-7.63 (m, 2H), 7.98 (d, <i>J</i> = 8.4Hz, 1H), 8.13 (d, <i>J</i> = 6.9Hz, 1H), 9.86 (s, 1H)
71	방법 r, 표 7 $R_t = 0.79$ 분; $m/z = 900.91$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.85 (s, 3H), 1.16 (d, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H), 1.29 (d, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.53 (d, <i>J</i> = 12.6Hz, 1H), 1.60-1.77 (m, 3H), 1.98-2.09 (m, 1H), 2.24 (dd, <i>J</i> = 21.2, 8.6Hz, 2H), 2.39 (dd, <i>J</i> = 8.0, 6.5Hz, 2H), 2.53-2.72 (m, 1H), 3.59 (dd, <i>J</i> = 8.1, 6.5Hz, 2H), 4.13-4.27 (m, 2H), 4.34 (p, <i>J</i> = 7.1Hz, 1H), 4.51 (dd, <i>J</i> = 19.5, 6.4Hz, 1H), 4.93 (d, <i>J</i> = 5.0Hz, 1H), 5.07 (t, <i>J</i> = 6.0Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.50 (dd, <i>J</i> = 4.5, 1.7Hz, 1H), 5.53-5.75 (m, 1H), 6.07-6.12 (m, 1H), 6.27 (dd, <i>J</i> = 10.2, 1.9Hz, 1H), 6.92-7.00 (m, 6H), 7.24 (dd, <i>J</i> = 10.2, 1.4Hz, 1H), 7.36-7.43 (m, 2H), 7.58-7.66 (m, 2H), 8.08 (d, <i>J</i> = 7.3Hz, 1H), 8.18 (d, <i>J</i> = 7.0Hz, 1H), 9.83 (s, 1H)
72	방법 m LC-MS, 표 7 $R_t = 1.71$ 분; $m/z = 917$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) $\delta$ : 1.00 (s, 3H), 1.37 (dd, <i>J</i> = 12.2, 7.1Hz, 3H), 1.48 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.59 (s, 4H), 1.69 (dd, <i>J</i> = 27.0, 13.1 Hz, 2H), 1.79 (dd, <i>J</i> = 13.7, 5.8 Hz, 2H), 2.26 (d, <i>J</i> = 13.6 Hz, 1H), 2.38 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 3H), 2.56 (td, <i>J</i> = 12.5, 11.2, 6.8 Hz, 3H), 2.60 - 2.81 (m, 1H), 3.80 (dt, <i>J</i> = 12.7, 6.8 Hz, 2H), 4.24 (dd, <i>J</i> = 11.9, 7.0 Hz, 1H), 4.32 (s, 2H), 4.43 - 4.51 (m, 1H), 4.64 (d, <i>J</i> = 19.4 Hz, 1H), 5.07 (d, <i>J</i> = 4.6 Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.57 (d, <i>J</i> = 42.9 Hz, 1H), 6.27 - 6.38 (m, 3H), 6.73 (d, <i>J</i> = 3.0 Hz, 2H), 7.16 - 7.25 (m, 2H), 7.36 (dt, <i>J</i> = 16.7, 8.0 Hz, 6H), 7.70 (dd, <i>J</i> = 22.7, 8.4 Hz, 2H)
72	방법 m LC-MS, 표 7 $R_t = 1.88$ 분; $m/z = 975$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (MeOH- <i>d</i> <sub>4</sub> ) $\delta$ : 1.00 (s, 3H), 1.49 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.60 - 1.89 (m, 3H), 2.04 (d, <i>J</i> = 52.2 Hz, 1H), 2.27 (d, <i>J</i> = 13.5 Hz, 1H), 2.31 - 2.52 (m, 4H), 2.58 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H), 3.81 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H), 4.34 (d, <i>J</i> = 19.7 Hz, 3H), 4.42 - 4.53 (m, 1H), 4.64 (d, <i>J</i> = 19.4 Hz, 1H), 5.07 (d, <i>J</i> = 4.6 Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.58 (d, <i>J</i> = 40.9 Hz, 1H), 6.25 - 6.47 (m, 2H), 6.76 (s, 2H), 7.20 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 2H), 7.28 - 7.44 (m, 5H), 7.67 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 2H)

73	방법 a LC-MS, 표 7 R <sub>t</sub> = 2.08 분; m/z = 931.30 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.16 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.27 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.59 – 1.77 (m, 3H), 1.96 – 2.08 (m, 1H), 2.13 – 2.33 (m, 2H), 2.39 (dd, J= 7.9, 6.7 Hz, 2H), 2.52 (s, 1H), 2.53 – 2.72 (m, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.08 – 4.26 (m, 5H), 4.32 (p, J= 7.0 Hz, 1H), 4.50 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.93 (d, J= 5.0 Hz, 1H), 5.44 (s, 1H), 5.45 – 5.51 (m, 1H), 5.63 (dt, J= 48.4, 9.3 Hz, 1H), 6.11 (d, J= 2.1 Hz, 1H), 6.28 (dd, J= 10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.93 – 7.02 (m, 3H), 7.19 (t, J= 8.0 Hz, 1H), 7.24 (dd, J= 10.1, 1.4 Hz, 1H), 7.30 – 7.44 (m, 5H), 7.65 (t, J= 1.9 Hz, 1H), 8.05 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.16 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.77 (s, 1H)
74	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.82 분; m/z = 918.60 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.2 Hz, 4H), 1.48 (s, 4H), 1.59 – 1.79 (m, 3H), 1.94 – 2.10 (m, 1H), 2.10 – 2.31 (m, 2H), 2.37 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 2.51 – 2.77 (m, 1H), 3.58 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.10 – 4.25 (m, 3H), 4.31 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.51 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.94 (d, J= 5.0 Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.62 (dt, J= 48.6, 9.4 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 6.27 (dd, J= 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.96 (s, 2H), 7.02 (dd, J= 7.3, 1.7 Hz, 1H), 7.20 – 7.34 (m, 4H), 7.40 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 7.58 (dd, J= 7.9, 2.1 Hz, 1H), 7.69 (d, J= 2.1 Hz, 1H), 8.07 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.16 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.89 (s, 1H)
75	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.82 분; m/z = 899.87 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.83 (s, 3H), 1.13 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.24 (d, J= 7.2 Hz, 3H), 1.46 (s, 4H), 1.57 – 1.77 (m, 3H), 2.01 (dt, J= 13.9, 3.7 Hz, 1H), 2.13 – 2.32 (m, 2H), 2.36 (dd, J= 8.0, 6.7 Hz, 2H), 2.51 – 2.73 (m, 1H), 3.56 (d, J= 7.3 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 4.10 – 4.25 (m, 3H), 4.30 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.47 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.91 (d, J= 4.9 Hz, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.51 – 5.71 (m, 1H), 6.09 (d, J= 2.0 Hz, 1H), 6.26 (dd, J= 10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.87 (dt, J= 7.6, 1.3 Hz, 1H), 6.95 (s, 2H), 7.16 (t, J= 7.8 Hz, 1H), 7.18 – 7.27 (m, 3H), 7.32 (d, J= 8.1 Hz, 2H), 7.39 (d, J= 1.9 Hz, 1H), 7.43 (dd, J= 8.5, 1.9 Hz, 1H), 8.01 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.14 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.70 (s, 1H)
76	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 1.00 분; m/z = 관찰되지 않음	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.88 (d, J= 7.4 Hz, 3H), 1.19 (dt, J= 33.9, 7.1 Hz, 11H), 1.35 – 1.63 (m, 10H), 1.61 – 1.85 (m, 2H), 2.06 (q, J= 7.4 Hz, 3H), 2.16 – 2.35 (m, 1H), 2.38 (t, J= 7.3 Hz, 1H), 3.87 (d, J= 8.1 Hz, 2H), 4.10 – 4.42 (m, 3H), 4.67 – 5.15 (m, 2H), 5.51 – 5.73 (m, 3H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd, J= 10.1, 2.1 Hz, 1H), 6.89 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 6.92 – 7.02 (m, 3H), 7.13 – 7.29 (m, 5H), 7.30 – 7.41 (m, 2H), 7.42 – 7.57 (m, 1H), 7.88 – 8.34 (m, 2H), 9.74 (s, 1H)
77	방법 m, 표 7 R <sub>t</sub> = 1.62 분; m/z = 1058.3 [M+Na <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.86 (s, 3H), 1.26 (dd, J= 15.9, 6.5 Hz, 9H), 1.50 (s, 4H), 1.70 (t, J= 8.4 Hz, 3H), 1.90 – 2.10 (m, 2H), 2.14 – 2.35 (m, 1H), 2.35 – 2.45 (m, 1H), 2.54 – 2.77 (m, 1H), 2.96 (ddd, J= 47.6, 15.3, 6.6 Hz, 2H), 3.57 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 3.89 (s, 2H), 4.20 (d, J= 19.0 Hz, 1H), 4.32 (dt, J= 27.9, 7.0 Hz, 2H), 4.45 – 4.64 (m, 2H), 4.94 (d, J= 4.7 Hz, 1H), 5.07 (d, J= 39.6 Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.49 – 5.79 (m, 2H), 6.12 (s, 1H), 6.29 (dd, J= 10.2, 1.8 Hz, 1H), 6.92 (d, J= 7.6 Hz, 1H), 6.99 (s, 2H), 7.20 (t, J= 7.9 Hz, 1H), 7.25 (t, J= 8.6 Hz, 3H), 7.33 – 7.42 (m, 4H), 7.45 (d, J= 8.1 Hz, 1H), 8.31 (d, J= 8.0 Hz, 1H), 8.95 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 14.10 (s, 2H)

78	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.80 분; m/z = 1005.1 [M+MeOH+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.17 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.25 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.57 (q, J= 6.2 Hz, 4H), 1.68 (dq, J= 13.7, 6.3, 5.6 Hz, 3H), 1.99 – 2.06 (m, 1H), 2.09 – 2.18 (m, 2H), 2.18 – 2.36 (m, 2H), 2.55 – 2.72 (m, 3H), 2.78 (s, 4H), 3.87 (s, 2H), 4.14 – 4.22 (m, 2H), 4.26 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.33 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.49 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.93 (d, J= 5.1 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.49 (d, J= 5.4 Hz, 1H), 5.54 – 5.75 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd, J= 10.2, 2.0 Hz, 1H), 6.89 (d, J= 7.6 Hz, 1H), 7.17 (t, J= 7.9 Hz, 1H), 7.23 (t, J= 9.7 Hz, 3H), 7.34 (d, J= 7.8 Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.44 (d, J= 8.1 Hz, 1H), 7.99 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.02 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 9.77 (s, 1H)
79	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.80 분; m/z = 901.81 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.85 (s, 3H), 1.14 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.61 – 1.80 (m, 3H), 2.04 (d, J= 13.1 Hz, 1H), 2.25 (ddd, J= 18.6, 14.9, 8.4 Hz, 2H), 2.37 (dd, J= 8.0, 6.5 Hz, 2H), 2.53 – 2.74 (m, 1H), 3.57 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.09 – 4.24 (m, 2H), 4.30 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.52 (dd, J= 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.94 (d, J= 5.0 Hz, 1H), 5.08 (t, J= 5.9 Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.48 – 5.53 (m, 1H), 5.63 (dt, J= 48.9, 9.1 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 6.27 (dd, J= 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.69 (ddd, J= 7.9, 2.6, 1.1 Hz, 1H), 6.96 (s, 2H), 6.98 – 7.06 (m, 2H), 7.22 – 7.32 (m, 2H), 7.32 – 7.40 (m, 2H), 7.39 – 7.51 (m, 2H), 8.06 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.15 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.87 (s, 1H)
80	방법 m, 표 7 R <sub>t</sub> = 1.64 분; m/z = 899 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (MeOH-d <sub>4</sub> ) δ: 1.00 (s, 3H), 1.36 (dd, J= 11.5, 7.1 Hz, 4H), 1.46 (t, J= 6.9 Hz, 3H), 1.53 – 1.76 (m, 5H), 1.75 – 1.89 (m, 2H), 2.28 (d, J= 13.8 Hz, 1H), 2.33 – 2.48 (m, 1H), 2.48 – 2.62 (m, 2H), 2.61 – 2.84 (m, 1H), 3.72 – 3.88 (m, 2H), 3.95 (s, 2H), 4.18 – 4.40 (m, 3H), 4.46 (q, J= 6.9 Hz, 1H), 4.65 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 5.07 (d, J= 4.6 Hz, 1H), 5.43 – 5.69 (m, 2H), 6.30 – 6.39 (m, 2H), 6.69 (s, 2H), 7.14 (dd, J= 8.2, 5.6 Hz, 2H), 7.23 (dd, J= 7.9, 3.4 Hz, 3H), 7.34 (d, J= 10.1 Hz, 1H), 7.38 (d, J= 7.8 Hz, 2H), 7.51 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.55 (d, J= 8.2 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H)
81	방법 m, 표 7 R <sub>t</sub> = 1.526 분; m/z = 957 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (MeOH-d <sub>4</sub> ) δ: 0.88 (s, 3H), 1.21 (d, J= 11.6 Hz, 3H), 1.35 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.57 (dd, J= 25.8, 13.5 Hz, 2H), 1.68 (dd, J= 13.4, 5.5 Hz, 2H), 1.83 (dd, J= 14.4, 7.5 Hz, 1H), 1.88 – 2.05 (m, 1H), 2.12 – 2.21 (m, 1H), 2.30 (q, J= 12.7, 10.3 Hz, 3H), 2.44 (t, J= 6.7 Hz, 2H), 2.49 – 2.73 (m, 1H), 3.68 (t, J= 6.7 Hz, 2H), 3.82 (s, 2H), 4.11 – 4.28 (m, 3H), 4.34 (q, J= 7.1 Hz, 1H), 4.53 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.95 (d, J= 4.6 Hz, 1H), 5.30 – 5.59 (m, 2H), 6.23 (dd, J= 13.2, 3.0 Hz, 2H), 6.60 (s, 2H), 7.02 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.10 (d, J= 7.9 Hz, 2H), 7.24 (dd, J= 15.1, 8.9 Hz, 3H), 7.37 (d, J= 8.2 Hz, 2H)
82	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.77 분; 913.27 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 0.96 (s, 2H), 1.01 – 1.19 (m, 4H), 1.19 – 1.35 (m, 2H), 1.48 (s, 3H), 1.67 (d, J= 14.3 Hz, 2H), 2.03 (d, J= 19.7 Hz, 1H), 2.13 – 2.42 (m, 5H), 2.64 (d, J= 8.4 Hz, 2H), 3.08 (s, 3H), 3.38 – 3.61 (m, 1H), 3.93 (s, 2H), 4.17 (d, J= 18.9 Hz, 3H), 4.49 (d, J= 19.3 Hz, 1H), 4.92 (d, J= 4.8 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.53 – 5.77 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd, J= 10.2, 1.8 Hz, 1H), 6.96 (d, J= 6.1 Hz, 1H), 7.10 – 7.41 (m, 8H), 7.83 – 8.20 (m, 1H)

83	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.88 분; m/z = 943.52 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 0.93 (dd, J=23.5, 6.9 Hz, 3H), 1.04 – 1.16 (m, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.60 – 1.76 (m, 3H), 2.03 (d, J=20.7 Hz, 1H), 2.17 – 2.26 (m, 1H), 2.24 – 2.40 (m, 2H), 2.55 – 2.72 (m, 2H), 2.96 (d, J=13.0 Hz, 3H), 3.55 (t, J=7.3 Hz, 1H), 3.72 (d, J=57.6 Hz, 3H), 3.93 (d, J=4.7 Hz, 2H), 4.10 – 4.28 (m, 4H), 4.49 (d, J=19.5 Hz, 1H), 4.93 (d, J=5.0 Hz, 1H), 5.44 (d, J=2.9 Hz, 1H), 5.50 (d, J=4.2 Hz, 1H), 5.63 (dt, J=48.7, 9.8 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd, J=10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.82 (t, J=7.1 Hz, 1H), 6.93 – 7.00 (m, 1H), 7.02 – 7.07 (m, 1H), 7.19 (d, J=7.9 Hz, 1H), 7.24 (d, J=10.0 Hz, 1H), 7.29 – 7.41 (m, 4H), 7.93 (d, J=7.1 Hz, 1H)
84	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.82 분; m/z = 929.45 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.83 (s, 3H), 1.17 (d, J=7.1 Hz, 3H), 1.25 (d, J=7.1 Hz, 3H), 1.46 (s, 4H), 1.58 – 1.77 (m, 3H), 2.01 (dt, J=13.8, 4.1 Hz, 1H), 2.23 (td, J=25.2, 12.3, 10.9, 5.8 Hz, 2H), 2.31 – 2.40 (m, 2H), 2.49 – 2.73 (m, 1H), 3.56 (t, J=7.3 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.84 (s, 2H), 4.11 – 4.20 (m, 2H), 4.27 (p, J=7.1 Hz, 1H), 4.39 (p, J=7.2 Hz, 1H), 4.47 (d, J=19.4 Hz, 1H), 4.91 (d, J=4.8 Hz, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.42 – 5.50 (m, 1H), 5.50 – 5.78 (m, 1H), 6.09 (s, 1H), 6.26 (dd, J=10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.70 (dd, J=8.3, 1.8 Hz, 1H), 6.89 (d, J=1.8 Hz, 1H), 6.95 (s, 2H), 7.23 (d, J=8.5 Hz, 3H), 7.31 (d, J=7.9 Hz, 2H), 7.87 (d, J=8.2 Hz, 1H), 8.14 (d, J=7.5 Hz, 1H), 8.23 (d, J=7.2 Hz, 1H), 8.81 (s, 1H)
85	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.73 분; m/z = 897.3 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.16 (d, J=7.1 Hz, 3H), 1.27 (d, J=7.1 Hz, 3H), 1.39 (qd, J=13.1, 5.2 Hz, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.55 – 1.72 (m, 3H), 1.78 – 1.90 (m, 1H), 2.03 (d, J=25.4 Hz, 1H), 2.13 (td, J=12.2, 6.8 Hz, 1H), 2.29 – 2.41 (m, 3H), 2.48 (p, J=1.9 Hz, 1H), 2.58 – 2.69 (m, 1H), 3.59 (t, J=7.3 Hz, 2H), 4.09 – 4.26 (m, 3H), 4.29 – 4.44 (m, 3H), 4.47 (d, J=19.4 Hz, 1H), 4.82 – 4.91 (m, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.41 (s, 1H), 6.02 (d, J=1.7 Hz, 1H), 6.22 (dd, J=10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.47 (d, J=8.7 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.18 – 7.21 (m, 2H), 7.23 (t, J=6.2 Hz, 1H), 7.27 (d, J=10.1 Hz, 1H), 7.33 (dd, J=8.7, 2.3 Hz, 1H), 7.44 – 7.57 (m, 2H), 7.95 (d, J=2.3 Hz, 1H), 8.04 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.10 – 8.23 (m, 2H), 9.73 (s, 1H)
86	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.73 분; m/z = 911.46 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.83 (s, 3H), 1.15 (d, J=7.2 Hz, 3H), 1.26 (d, J=7.1 Hz, 3H), 1.36 (d, J=6.7 Hz, 4H), 1.48 (s, 3H), 1.63 (t, J=11.1 Hz, 3H), 1.74 – 1.90 (m, 1H), 1.93 – 2.19 (m, 2H), 2.26 – 2.41 (m, 3H), 2.48 (p, J=1.8 Hz, 1H), 2.58 – 2.70 (m, 1H), 3.59 (t, J=7.3 Hz, 2H), 4.09 – 4.27 (m, 3H), 4.33 (p, J=7.2 Hz, 1H), 4.46 (d, J=19.4 Hz, 1H), 4.85 (d, J=4.1 Hz, 1H), 4.93 (t, J=6.9 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.40 (dd, J=4.5, 1.7 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 6.21 (dd, J=10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.26 (t, J=9.3 Hz, 3H), 7.32 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.48 (d, J=8.3 Hz, 2H), 7.90 (d, J=2.2 Hz, 1H), 8.03 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.16 (d, J=7.0 Hz, 1H), 9.71 (s, 1H)

87	방법 r, 표 7 R <sub>f</sub> = 0.72 분; m/z = 911.64 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.83 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.27 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.35 (d, J= 6.8 Hz, 4H), 1.48 (s, 3H), 1.55 – 1.70 (m, 3H), 1.77 – 1.88 (m, 1H), 1.99 (d, J= 13.5 Hz, 1H), 2.12 (td, J= 12.3, 6.6 Hz, 1H), 2.28 – 2.40 (m, 3H), 2.48 (p, J= 1.8 Hz, 1H), 2.56 – 2.69 (m, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.06 – 4.28 (m, 3H), 4.33 (p, J= 7.2 Hz, 1H), 4.45 (dd, J= 19.4, 6.4 Hz, 1H), 4.85 (d, J= 4.9 Hz, 1H), 4.93 (t, J= 7.2 Hz, 1H), 5.03 (t, J= 6.0 Hz, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.40 (dd, J= 4.4, 1.9 Hz, 1H), 6.02 (d, J= 2.1 Hz, 1H), 6.22 (dd, J= 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.43 (d, J= 8.6 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.16 (d, J= 7.8 Hz, 1H), 7.20 – 7.33 (m, 4H), 7.44 – 7.49 (m, 2H), 7.90 (d, J= 2.3 Hz, 1H), 8.03 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.17 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 9.71 (s, 1H)
88	방법 r, 표 7 R <sub>f</sub> = 0.87 분; m/z = 863.32 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.02 (ddd, J= 21.3, 12.1, 4.2 Hz, 2H), 1.15 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.53 – 1.81 (m, 4H), 2.00 (dd, J= 12.2, 5.5 Hz, 1H), 2.04 – 2.15 (m, 1H), 2.23 – 2.33 (m, 1H), 2.38 (dd, J= 8.0, 6.6 Hz, 2H), 2.51 (d, J= 18.2 Hz, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 4.16 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.21 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.27 (q, J= 3.3 Hz, 1H), 4.32 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.48 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.90 (d, J= 5.4 Hz, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.90 (t, J= 1.6 Hz, 1H), 6.13 (dd, J= 10.1, 1.8 Hz, 1H), 6.88 (dt, J= 7.9, 1.3 Hz, 1H), 6.96 (s, 2H), 7.14 – 7.22 (m, 3H), 7.29 (d, J= 10.1 Hz, 1H), 7.33 – 7.38 (m, 2H), 7.43 (dd, J= 7.8, 1.1 Hz, 2H), 8.03 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.17 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.71 (s, 1H)
89	방법 m, 표 7 R <sub>f</sub> = 1.99 분; m/z = 863 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (MeOH-d <sub>4</sub> ) δ: 1.01 (d, J= 8.5 Hz, 3H), 1.10 – 1.30 (m, 2H), 1.34 (dd, J= 10.5, 7.1 Hz, 3H), 1.45 (dd, J= 7.2, 3.6 Hz, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.80 (t, J= 13.0 Hz, 1H), 1.90 (p, J= 8.3, 7.3 Hz, 1H), 2.04 (d, J= 12.4 Hz, 1H), 2.12 – 2.32 (m, 2H), 2.42 (d, J= 11.2 Hz, 1H), 2.46 – 2.58 (m, 2H), 2.60 – 2.78 (m, 1H), 3.68 – 3.84 (m, 2H), 3.96 (d, J= 6.0 Hz, 2H), 4.12 (d, J= 19.3 Hz, 1H), 4.16 – 4.27 (m, 1H), 4.27 – 4.38 (m, 1H), 4.43 (d, J= 6.2 Hz, 2H), 5.40 (d, J= 6.3 Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 6.12 (d, J= 4.4 Hz, 1H), 6.28 (dd, J= 9.9, 1.8 Hz, 1H), 6.75 (d, J= 3.3 Hz, 2H), 6.96 (d, J= 7.7 Hz, 1H), 7.15 – 7.30 (m, 5H), 7.43 (d, J= 18.7 Hz, 3H), 7.56 (d, J= 8.2 Hz, 3H)
90	방법 r, 표 7 R <sub>f</sub> = 0.91 분; m/z = 891.36 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.79 (d, J= 6.8 Hz, 3H), 0.82 (d, J= 6.8 Hz, 3H), 0.84 (s, 2H), 0.95 – 1.12 (m, 2H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.38 (d, J= 4.7 Hz, 3H), 1.54 – 1.77 (m, 4H), 1.91 (h, J= 6.8 Hz, 1H), 1.96 – 2.05 (m, 1H), 2.04 – 2.17 (m, 1H), 2.23 – 2.34 (m, 1H), 2.37 – 2.47 (m, 2H), 2.49 – 2.58 (m, 1H), 3.51 – 3.67 (m, 2H), 3.87 (s, 2H), 4.11 (s, 1H), 4.16 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.27 (q, J= 3.4 Hz, 1H), 4.32 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.48 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.90 (d, J= 5.3 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.90 (d, J= 1.6 Hz, 1H), 6.13 (dt, J= 10.1, 1.8 Hz, 1H), 6.88 (dt, J= 7.7, 1.3 Hz, 1H), 6.96 (s, 2H), 7.18 (dd, J= 16.7, 8.1 Hz, 3H), 7.29 (d, J= 10.1 Hz, 1H), 7.32 – 7.40 (m, 3H), 7.43 (ddd, J= 8.1, 2.2, 1.0 Hz, 1H), 7.99 (d, J= 8.4 Hz, 1H), 8.10 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.74 (s, 1H)

99	방법 r, 표 7  R <sub>t</sub> = 0.85 분; m/z = 881.46 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.83 (s, 3H), 1.13 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.24 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.35 (qd, J= 13.3, 12.8, 5.1 Hz, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.63 (q, J= 9.7, 8.5 Hz, 3H), 1.73 – 1.88 (m, 1H), 2.01 (dt, J= 13.7, 3.5 Hz, 1H), 2.14 (td, J= 11.8, 7.2 Hz, 1H), 2.26 – 2.40 (m, 3H), 2.48 – 2.69 (m, 2H), 3.57 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 4.17 (ddd, J= 17.5, 11.7, 6.2 Hz, 3H), 4.30 (p, J= 7.2 Hz, 1H), 4.47 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.83 – 4.95 (m, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.99 (d, J= 1.6 Hz, 1H), 6.20 (dd, J= 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.87 (d, J= 7.5 Hz, 1H), 6.95 (s, 2H), 7.16 (t, J= 7.9 Hz, 1H), 7.20 (d, J= 8.1 Hz, 2H), 7.25 (d, J= 10.1 Hz, 1H), 7.31 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.38 (d, J= 1.9 Hz, 1H), 7.43 (dd, J= 8.0, 2.0 Hz, 1H), 8.01 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.14 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 9.70 (s, 1H)
100	방법 r, 표 7  R <sub>t</sub> = 0.87 분; m/z = 933.0 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.93 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.2 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 4H), 1.73 (dd, J= 25.4, 11.3 Hz, 3H), 2.00 (d, J= 14.1 Hz, 1H), 2.12 – 2.26 (m, 1H), 2.27 (s, 1H), 2.37 (q, J= 8.3, 7.8 Hz, 2H), 2.65 (d, J= 33.3 Hz, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 3.88 (s, 2H), 4.14 – 4.27 (m, 2H), 4.32 (t, J= 7.2 Hz, 1H), 4.92 (d, J= 3.5 Hz, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.55 (s, 1H), 5.54 – 5.72 (m, 1H), 5.79 – 6.04 (m, 2H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (dd, J= 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.90 (d, J= 7.7 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.18 (t, J= 7.8 Hz, 1H), 7.24 (t, J= 9.5 Hz, 3H), 7.34 (d, J= 7.8 Hz, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.46 (d, J= 8.2 Hz, 1H), 8.03 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.16 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 9.72 (s, 1H)
101	방법 r, 표 7  R <sub>t</sub> = 0.84 분; m/z = 885.41 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.99 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.25 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.49 (s, 4H), 1.60 – 1.75 (m, 2H), 1.79 (d, J= 14.0 Hz, 1H), 1.94 (dt, J= 14.4, 3.5 Hz, 1H), 2.20 (q, J= 10.4 Hz, 1H), 2.24 – 2.33 (m, 1H), 2.38 (dd, J= 8.0, 6.5 Hz, 2H), 2.62 (tdt, J= 30.0, 12.0, 11.5, 4.1 Hz, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 4.16 (d, J= 9.1 Hz, 1H), 4.21 (p, J= 7.2 Hz, 1H), 4.32 (p, J= 7.2 Hz, 1H), 5.00 (t, J= 2.9 Hz, 1H), 5.40 – 5.47 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.54 – 5.72 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.27 (dd, J= 10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.89 (d, J= 7.6 Hz, 1H), 6.96 (s, 2H), 7.17 (t, J= 7.9 Hz, 1H), 7.21 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.24 (dd, J= 10.3, 1.5 Hz, 1H), 7.32 (d, J= 7.9 Hz, 2H), 7.39 (t, J= 1.9 Hz, 1H), 7.46 (dd, J= 8.1, 2.1 Hz, 1H), 8.04 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.16 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 9.73 (s, 1H)
102	방법 r, 표 7  R <sub>t</sub> = 0.77 분; m/z = 917.22 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.85 (s, 3H), 1.16 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.28 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.56 (p, J= 12.4, 12.0 Hz, 1H), 1.62 – 1.76 (m, 3H), 1.98 – 2.10 (m, 1H), 2.22 (td, J= 12.3, 6.6 Hz, 1H), 2.24 – 2.33 (m, 1H), 2.38 (td, J= 7.0, 1.0 Hz, 2H), 2.54 – 2.72 (m, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.15 – 4.25 (m, 3H), 4.33 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.50 (d, J= 19.4 Hz, 1H), 4.93 (d, J= 5.0 Hz, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.55 – 5.73 (m, 1H), 6.11 (q, J= 1.5 Hz, 1H), 6.27 (dd, J= 10.2, 1.9 Hz, 1H), 6.78 – 6.83 (m, 2H), 6.84 (d, J= 1.8 Hz, 2H), 6.97 (s, 2H), 7.01 (d, J= 1.6 Hz, 1H), 7.25 (dd, J= 10.1, 1.5 Hz, 1H), 7.45 – 7.61 (m, 2H), 8.04 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.17 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.73 (s, 1H)

103	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.84 분; m/z = 935.4 [M+Na <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.3 Hz, 3H), 1.25 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.51 (d, J= 7.3 Hz, 4H), 1.67 (d, J= 14.2 Hz, 2H), 2.02 (d, J= 13.7 Hz, 1H), 2.13 – 2.34 (m, 2H), 2.38 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 2.65 (s, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.08 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 4.12 – 4.24 (m, 2H), 4.32 (t, J= 7.2 Hz, 1H), 4.48 (dd, J= 19.6, 6.3 Hz, 1H), 4.92 (d, J= 4.8 Hz, 1H), 5.07 (t, J= 5.8 Hz, 1H), 5.72 – 5.54 (m, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (d, J= 9.9 Hz, 1H), 6.88 – 6.95 (m, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.17 (t, J= 7.9 Hz, 1H), 7.25 (d, J= 8.1 Hz, 3H), 7.33 (d, J= 7.9 Hz, 2H), 7.45 (d, J= 12.0 Hz, 2H), 8.03 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.16 (d, J= 6.9 Hz, 1H), 9.71 (s, 1H)
104	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.84 분; m/z = 935.4 [M+Na <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.85 (s, 3H), 1.16 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.49 (s, 3H), 1.52 (d, J= 7.3 Hz, 3H), 1.69 (t, J= 12.7 Hz, 3H), 2.04 (d, J= 13.9 Hz, 1H), 2.18 – 2.33 (m, 2H), 2.33 – 2.42 (m, 2H), 2.56 – 2.74 (m, 1H), 3.60 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.09 (q, J= 7.2 Hz, 1H), 4.20 (tq, J= 13.0, 6.3, 5.6 Hz, 3H), 4.32 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.49 (dd, J= 19.5, 6.3 Hz, 1H), 4.93 (d, J= 5.1 Hz, 1H), 5.08 (t, J= 6.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.51 (d, J= 4.2 Hz, 1H), 5.64 (dt, J= 48.9, 8.9 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.29 (dd, J= 10.0, 1.9 Hz, 1H), 6.93 (d, J= 7.6 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.18 (t, J= 7.9 Hz, 1H), 7.23 – 7.29 (m, 3H), 7.34 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.44 (d, J= 2.1 Hz, 1H), 7.44 – 7.49 (m, 1H), 8.03 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.17 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 9.72 (s, 1H)
105	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.80 분; m/z = 913.75 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.2 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.44 – 1.58 (m, 7H), 1.67 (d, J= 13.8 Hz, 2H), 2.03 (d, J= 14.0 Hz, 1H), 2.18 – 2.34 (m, 2H), 2.38 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 2.50 – 2.72 (m, 1H), 3.58 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.07 (p, J= 7.3 Hz, 1H), 4.11 – 4.26 (m, 2H), 4.33 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 4.48 (d, J= 19.3 Hz, 1H), 4.92 (d, J= 4.8 Hz, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.45 – 5.53 (m, 1H), 5.62 (dd, J= 48.5, 9.8 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.28 (d, J= 10.0 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.11 – 7.20 (m, 2H), 7.20 – 7.29 (m, 3H), 7.32 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.47 (d, J= 8.3 Hz, 2H), 8.03 (d, J= 7.2 Hz, 1H), 8.16 (d, J= 7.0 Hz, 1H), 9.71 (s, 1H)
106	방법 r, 표 7 R <sub>t</sub> = 0.84 분; m/z = 913.46 [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.84 (s, 3H), 1.15 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.26 (d, J= 7.1 Hz, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.48 – 1.54 (m, 4H), 1.60 – 1.75 (m, 2H), 2.03 (dt, J= 13.8, 3.6 Hz, 1H), 2.08 – 2.18 (m, 1H), 2.18 – 2.25 (m, 1H), 2.25 – 2.32 (m, 1H), 2.38 (dd, J= 8.1, 6.4 Hz, 2H), 2.54 – 2.72 (m, 1H), 3.59 (t, J= 7.3 Hz, 2H), 4.06 (dq, J= 14.9, 7.0 Hz, 1H), 4.11 – 4.28 (m, 3H), 4.33 (p, J= 7.1 Hz, 1H), 4.48 (d, J= 19.6 Hz, 1H), 4.92 (d, J= 5.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.45 – 5.54 (m, 1H), 5.54 – 5.73 (m, 1H), 6.12 (d, J= 2.2 Hz, 1H), 6.26 – 6.33 (m, 1H), 6.97 (d, J= 1.3 Hz, 2H), 7.10 – 7.18 (m, 3H), 7.20 – 7.28 (m, 3H), 7.29 – 7.36 (m, 2H), 7.47 (dd, J= 8.6, 4.4 Hz, 2H), 8.04 (d, J= 7.3 Hz, 1H), 8.17 (d, J= 7.1 Hz, 1H), 9.71 (d, J= 2.9 Hz, 1H)

107	방법 r, 표 7  $R_f = 0.88$ 분; $m/z = 895.30$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.84 (s, 3H), 0.94 – 1.11 (m, 2H), 1.16 (d, $J$ = 7.1 Hz, 3H), 1.27 (d, $J$ = 7.1 Hz, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.51 – 1.82 (m, 5H), 1.94 – 2.03 (m, 1H), 2.08 (d, $J$ = 19.3 Hz, 1H), 2.30 (t, $J$ = 8.2 Hz, 1H), 2.38 (t, $J$ = 7.3 Hz, 2H), 2.48 – 2.59 (m, 1H), 3.60 (t, $J$ = 7.3 Hz, 2H), 4.11 – 4.25 (m, 4H), 4.27 (d, $J$ = 3.6 Hz, 1H), 4.32 (p, $J$ = 7.2 Hz, 1H), 4.48 (d, $J$ = 19.5 Hz, 1H), 4.90 (d, $J$ = 5.0 Hz, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.91 (d, $J$ = 1.6 Hz, 1H), 6.14 (dd, $J$ = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 6.94 – 7.01 (m, 1H), 7.19 (t, $J$ = 8.0 Hz, 1H), 7.25 – 7.37 (m, 2H), 7.37 (s, 4H), 7.66 (t, $J$ = 1.9 Hz, 1H), 8.10 (d, $J$ = 7.2 Hz, 1H), 8.20 (d, $J$ = 6.9 Hz, 1H), 9.80 (s, 1H)
108	방법 r, 표 7  $R_f = 0.83$ 분; $m/z = 913.0$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.85 (s, 3H), 1.16 (d, $J$ = 7.1 Hz, 3H), 1.27 (d, $J$ = 7.1 Hz, 3H), 1.37 (qd, $J$ = 12.8, 5.2 Hz, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.57 – 1.71 (m, 3H), 1.83 (dt, $J$ = 11.7, 5.4 Hz, 1H), 2.03 (dt, $J$ = 13.8, 3.6 Hz, 1H), 2.14 (td, $J$ = 12.1, 6.8 Hz, 1H), 2.30 – 2.36 (m, 1H), 2.38 (t, $J$ = 7.3 Hz, 2H), 2.42 – 2.57 (m, 1H), 2.63 (td, $J$ = 13.3, 5.8 Hz, 1H), 3.59 (t, $J$ = 7.3 Hz, 2H), 4.13 – 4.26 (m, 5H), 4.32 (p, $J$ = 7.2 Hz, 1H), 4.49 (d, $J$ = 19.4 Hz, 1H), 4.91 (d, $J$ = 4.7 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 6.02 (s, 1H), 6.21 (dd, $J$ = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.98 (dd, $J$ = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 7.19 (t, $J$ = 8.0 Hz, 1H), 7.27 (d, $J$ = 10.2 Hz, 1H), 7.29 – 7.44 (m, 5H), 7.61 – 7.70 (m, 1H), 8.07 (d, $J$ = 7.2 Hz, 1H), 8.18 (d, $J$ = 7.0 Hz, 1H), 9.79 (s, 1H)
109	방법 r, 표 7  $R_f = 0.80$ 분; $m/z = 915.54$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.85 (s, 3H), 1.19 (d, $J$ = 7.1 Hz, 3H), 1.28 (d, $J$ = 7.1 Hz, 3H), 1.49 (s, 4H), 1.61 – 1.78 (m, 3H), 2.04 (d, $J$ = 13.7 Hz, 1H), 2.22 (dd, $J$ = 12.3, 6.3 Hz, 1H), 2.26 – 2.32 (m, 1H), 2.37 (td, $J$ = 7.0, 2.0 Hz, 2H), 2.55 – 2.73 (m, 1H), 3.58 (t, $J$ = 7.3 Hz, 2H), 3.78 (s, 2H), 4.18 (d, $J$ = 19.4 Hz, 1H), 4.29 (p, $J$ = 7.1 Hz, 1H), 4.39 (p, $J$ = 7.1 Hz, 1H), 4.50 (d, $J$ = 19.4 Hz, 1H), 4.93 (d, $J$ = 5.2 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.51 (dd, $J$ = 4.5, 1.7 Hz, 1H), 5.54 – 5.75 (m, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.29 (dd, $J$ = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.72 – 6.78 (m, 2H), 6.98 (s, 2H), 7.19 (d, $J$ = 7.9 Hz, 2H), 7.25 (dd, $J$ = 10.1, 1.5 Hz, 1H), 7.29 – 7.37 (m, 2H), 7.76 (d, $J$ = 1.8 Hz, 1H), 8.18 (d, $J$ = 7.5 Hz, 1H), 8.30 (d, $J$ = 7.1 Hz, 1H), 8.92 (s, 1H), 9.72 (s, 1H)
110	방법 r, 표 7  $R_f = 0.84$ 분; $m/z = 899.0$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.83 (s, 3H), 1.13 (d, $J$ = 7.2 Hz, 3H), 1.25 (d, $J$ = 7.2 Hz, 3H), 1.36 (qd, $J$ = 12.7, 5.4 Hz, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.55 – 1.72 (m, 3H), 1.75 – 1.87 (m, 1H), 1.93 – 2.05 (m, 1H), 2.05 – 2.18 (m, 1H), 2.25 – 2.40 (m, 3H), 2.47 (p, $J$ = 1.9 Hz, 1H), 2.53 – 2.69 (m, 1H), 3.56 (t, $J$ = 7.3 Hz, 2H), 4.09 – 4.23 (m, 3H), 4.29 (p, $J$ = 7.1 Hz, 1H), 4.49 (d, $J$ = 19.5 Hz, 1H), 4.87 – 4.95 (m, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.99 (d, $J$ = 1.7 Hz, 1H), 6.19 (dd, $J$ = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.95 (s, 2H), 7.00 (dt, $J$ = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.21 – 7.33 (m, 4H), 7.33 – 7.41 (m, 2H), 7.56 (ddd, $J$ = 8.2, 2.1, 1.0 Hz, 1H), 7.67 (t, $J$ = 2.0 Hz, 1H), 8.05 (d, $J$ = 7.1 Hz, 1H), 8.14 (d, $J$ = 7.0 Hz, 1H), 9.87 (s, 1H)

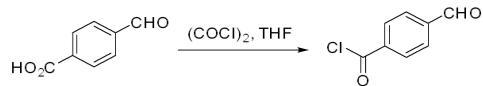
[1723]

111	방법 r, 표 7  $R_t = 0.86$ 분; $m/z = 881.38$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.84 (s, 3H), 1.04 (ddd, <i>J</i> =14.7, 11.7, 4.1 Hz, 2H), 1.14 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 3H), 1.26 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.54 – 1.85 (m, 4H), 1.93 – 2.03 (m, 1H), 2.09 (d, <i>J</i> =11.6 Hz, 1H), 2.23 – 2.33 (m, 1H), 2.36 (q, <i>J</i> =6.4, 5.5 Hz, 2H), 2.50 (d, <i>J</i> =9.7 Hz, 1H), 3.57 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 4.12 – 4.24 (m, 2H), 4.24 – 4.34 (m, 2H), 4.48 (d, <i>J</i> =19.5 Hz, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.90 (d, <i>J</i> =5.1 Hz, 1H), 5.39 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 6.14 (dd, <i>J</i> =10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.03 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 7.22 – 7.35 (m, 4H), 7.42 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 2H), 7.57 (dd, <i>J</i> =8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.71 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1H), 8.09 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 1H), 8.17 (d, <i>J</i> =6.9 Hz, 1H), 9.89 (s, 1H)
112	방법 r, 표 7  $R_t = 0.85$ 분; $m/z = 879.30$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.84 (s, 3H), 1.02 (ddd, <i>J</i> =21.5, 11.7, 4.1 Hz, 2H), 1.18 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 3H), 1.27 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.54 – 1.81 (m, 5H), 1.95 – 2.03 (m, 1H), 2.09 (dd, <i>J</i> =11.1, 4.0 Hz, 1H), 2.29 (d, <i>J</i> =12.8 Hz, 1H), 2.36 (td, <i>J</i> =7.1, 2.0 Hz, 2H), 2.49 – 2.59 (m, 1H), 3.57 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 3.77 (s, 2H), 4.15 (d, <i>J</i> =19.4 Hz, 1H), 4.23 – 4.34 (m, 2H), 4.38 (p, <i>J</i> =7.1 Hz, 1H), 4.47 (d, <i>J</i> =19.5 Hz, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.89 (d, <i>J</i> =5.3 Hz, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.90 (t, <i>J</i> =1.6 Hz, 1H), 6.13 (dd, <i>J</i> =10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.73 (d, <i>J</i> =1.8 Hz, 2H), 6.97 (s, 2H), 7.17 (d, 2H), 7.28 (d, <i>J</i> =10.1 Hz, 1H), 7.31 – 7.36 (m, 2H), 7.76 (d, <i>J</i> =1.5 Hz, 1H), 8.17 (d, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H), 8.29 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 1H), 8.90 (s, 1H), 9.72 (s, 1H)
113	방법 r, 표 7  $R_t = 0.80$ 분; $m/z = 880.26$ [M+H <sup>+</sup> ]	<sup>1</sup> H NMR (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) $\delta$ : 0.84 (s, 3H), 1.04 (ddd, <i>J</i> =34.7, 11.8, 4.1 Hz, 2H), 1.14 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 3H), 1.25 (d, <i>J</i> =7.1 Hz, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.54 – 1.81 (m, 4H), 1.95 – 2.04 (m, 1H), 2.10 (tt, <i>J</i> =10.9, 5.9 Hz, 1H), 2.25 – 2.33 (m, 1H), 2.37 (dd, <i>J</i> =8.0, 6.5 Hz, 2H), 2.49 – 2.59 (m, 1H), 3.58 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 3.78 (s, 2H), 4.15 (d, <i>J</i> =19.4 Hz, 1H), 4.21 (p, <i>J</i> =7.1 Hz, 1H), 4.25 – 4.36 (m, 2H), 4.45 (d, <i>J</i> =19.4 Hz, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.87 (d, <i>J</i> =5.3 Hz, 1H), 5.27 (s, 1H), 5.92 (t, <i>J</i> =1.6 Hz, 1H), 6.14 (dd, <i>J</i> =10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.77 (dd, <i>J</i> =7.7, 1.6 Hz, 1H), 6.84 – 6.91 (m, 2H), 6.97 (s, 2H), 6.99 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H), 7.11 – 7.17 (m, 1H), 7.30 (d, <i>J</i> =10.1 Hz, 1H), 7.39 – 7.45 (m, 2H), 8.03 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 1H), 8.16 (d, <i>J</i> =7.2 Hz, 1H), 9.55 (s, 1H), 9.72 (s, 1H)

[1724]

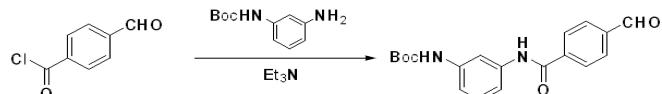
드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-4-옥소-2, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-10-일)벤즈아미드의 합성

[1726] 단계 1: 4-포르밀벤조일 클로라이드의 합성



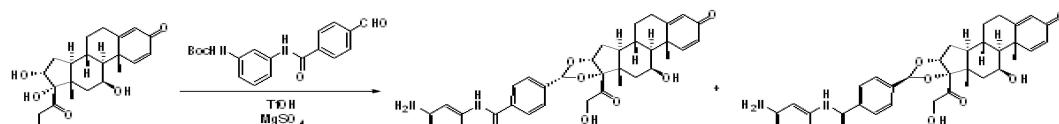
[1727] [1728] 옥살릴 클로라이드(17.51 mL, 200 mmol)를 THF(100 mL) 중 4-포르밀벤조산(15.01 g, 100 mmol)의 0°C 용액에 점적 첨가하고, 이어서 *N,N*-디메틸포름아미드(0.387 mL, 5.00 mmol)를 점적 첨가하였다. 혼합물을 실온까지 가온되도록 한 다음, 2시간 더 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축하여 4-포르밀벤조일 클로라이드(16.86 g, 100 mmol, 100% 수율)를 제공하였다. 이를 추가적인 정제 없이 사용하였다.

[1729] 단계 2: *tert*-부틸 (3-(4-포르밀벤즈아미도)페닐)카바메이트의 합성



[1730] [1731] 트리에틸아민(63.4 mL, 455 mmol)을 THF(100 mL) 중 4-포르밀벤조일 클로라이드(16.86 g, 100 mmol)의 0°C 용액에 점적 첨가하고, 이어서 *tert*-부틸 (3-아미노페닐)카바메이트(18.93 g, 91 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 혼합물을  $EtOAc$ (200 mL)로 희석하고, 물(2 x 100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척하고,  $Na_2SO_4$  상에서 건조하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 20 mL의  $EtOAc/PE$ (1:1)로 트리튜레이션(trituration)하고, 그에 따른 침전물을 수집하여 *tert*-부틸 (3-(4-포르밀벤즈아미도)페닐)카바메이트(27.8 g, 82 mmol, 90% 수율)를 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 e 표 7)  $R_t=2.00$ 분; MS m/z = 285 [ $M-t-Bu$ ].

[1732] 단계 3: *N*-(3-아미노페닐)-4-((6aR, 6bS, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-4-옥소-2, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-10-일)벤즈아미드의 합성



[1733] [1734] MeCN(250 mL) 중 (8S, 9S, 10R, 11S, 13S, 14S, 16R, 17S)-11, 16, 17-트리하이드록시-17- (2-하이드록시아세틸)-10, 13-디메틸-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-도데카하이드로-3H- 시클로펜타[a]페난트렌-3-온(9.42 g, 25.02 mmol), 실시예 2, 단계 5와 비슷한 방식으로 제조된 *tert*-부틸 (3-(4-포르밀벤즈아미도)페닐) 카바메이트(8.515 g, 25.02 mmol) 및  $MgSO_4$ (12.04 g, 100 mmol)의 교반 용액에 트리플루오로메탄설휤산(11.11 mL, 125 mmol)을 0°C에서 점적 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 0°C에서 교반한 다음, 실온까지 가온하고, 16시간 더 교반하였다. 혼합물을 여과하고, THF로 세척하고, 여액을 진공에서 농축하였다. 잔류물을 THF(100 mL)에 용해시킨 다음, 1 M NaOH 수용액으로 pH=8까지 중화하였다. 혼합물을  $EtOAc$ (200 mL)로 추출하고, 물(2 x 100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척하고,  $Na_2SO_4$  상에서 건조하고, 진공에서 농축하였다. 5% MeOH/DCM으로 용출시키는 크로마토그래피(실리카)에 의한 정제는 미정제 생성물을 제공하였고, 이를 Sunfire C18 10 미크론(250 x 19 mm 컬럼) 상의 역상 HPLC에 의해 추가로 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.05% TFA(B)의 구배가 30 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 10.0분 선형 구배 22 내지 32%, 5분 유지). 합한 분획을 냉동 및 동결 건조시켜 *N*-(3-아미노페닐)-4-((6aR, 6bS, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-4-옥소-2, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-10-일)벤즈아미드(1.972 g, 3.29 mmol, 13% 수율)를 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.37$ 분; MS m/z = 599 [ $M+H^+$ ].  $^1H$  NMR (400 MHz, 메탄올- $d_4$ ) 8.01 – 7.92 (m, 3H), 7.64 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.55 – 7.40 (m, 3H), 7.05 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.27 (dd,  $J$  = 10.2, 1.8 Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.13 (d,  $J$  = 4.1 Hz, 1H), 4.68 (d,  $J$  = 19.4 Hz, 1H), 4.45 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 1H), 4.37 (d,  $J$  = 19.4 Hz, 1H), 2.68 (dt,  $J$  = 14.5, 7.0 Hz, 1H), 2.41

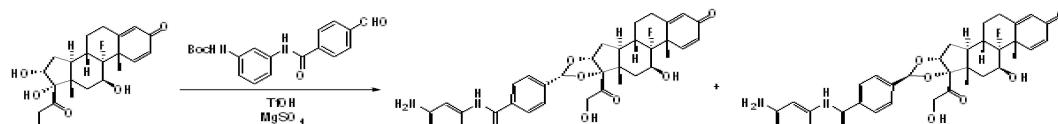
(dd,  $J = 13.7, 10.2$  Hz, 1H), 2.29 (d,  $J = 10.5$  Hz, 1H), 2.18 (d,  $J = 12.8$  Hz, 1H), 1.99 (dd,  $J = 13.8, 3.5$  Hz, 1H), 1.94 – 1.80 (m, 2H), 1.82 – 1.69 (m, 2H), 1.52 (s, 3H), 1.14 (m,  $J = 16.8, 8.0$  Hz, 2H), 1.02 (s, 3H).

[1735]

소수 아세탈 이성질체: 황색 고체로서  $N$ -(3-아미노페닐)-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드(112 mg, 0.176 mmol, 0.9% 수율). LCMS(방법 e, 표 7)  $R_t=1.53$ 분; MS  $m/z = 599$  [ $M+H^+$ ].  $^1$ H NMR (400 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  7.90 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.48 (dd,  $J = 8.1, 3.5$  Hz, 3H), 7.15 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 7.09 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 6.59 – 6.51 (m, 1H), 6.28 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 6.25 (s, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.51 – 5.37 (m, 1H), 4.45 (s, 1H), 4.30 (d,  $J = 19.2$  Hz, 1H), 4.14 (d,  $J = 19.2$  Hz, 1H), 2.70 (t,  $J = 13.6$  Hz, 1H), 2.43 (d,  $J = 13.3$  Hz, 1H), 2.22 (dd,  $J = 23.3, 12.5$  Hz, 2H), 2.07 (d,  $J = 13.5$  Hz, 1H), 1.93 (q,  $J = 5.1, 3.5$  Hz, 2H), 1.80 (d,  $J = 14.0$  Hz, 2H), 1.53 (d,  $J = 1.7$  Hz, 3H), 1.21 (dd,  $J = 41.7, 12.1$  Hz, 2H), 1.03 (s, 3H).

[1736]

실시예 37:  $N$ -(3-아미노페닐)-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드의 합성



[1737]

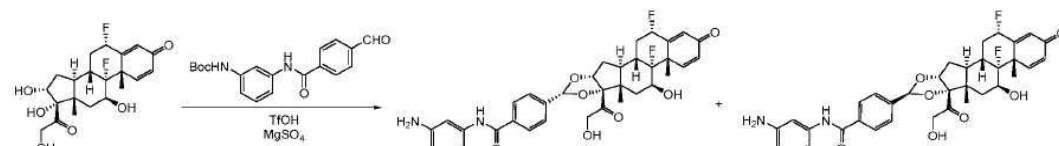
위의 실시예 36과 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체:  $N$ -(3-아미노페닐)-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.35$ 분; MS  $m/z = 617$  [ $M+H^+$ ].  $^1$ H NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.29 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 8.00 – 7.93 (m, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.59 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.43 (s, OH), 7.38 (s, 1H), 7.29 (dd,  $J = 10.0, 5.3$  Hz, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.24 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 6.05 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.03 – 4.96 (m, 1H), 4.58 (d,  $J = 19.5$  Hz, 1H), 4.23 (d,  $J = 19.6$  Hz, 1H), 2.73 – 2.52 (m, 1H), 2.40 – 2.32 (m, 1H), 2.25 – 2.12 (m, 1H), 2.11 – 2.02 (m, 1H), 1.92 – 1.84 (m, 1H), 1.76 – 1.67 (m, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.40 (tt,  $J = 14.3, 7.1$  Hz, 1H), 0.90 (s, 3H).

[1739]

소수 아세탈 이성질체:  $N$ -(3-아미노페닐)-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드. LCMS(방법 B, 표 7)  $R_t=1.45$ 분; MS  $m/z = 617$  [ $M+H^+$ ].  $^1$ H NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 8.06 (s, 1H), 7.95 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.54–7.41 (m, 5H), 7.09 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 6.34 (d,  $J = 10$  Hz, 1H), 6.28 (s, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.49 (d,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 4.34–4.13 (m, 3H), 2.79–2.24 (m, 5H), 1.74–1.63 (m, 2H), 1.60 (s, 3H), 1.04 (s, 3H).

[1740]

실시예 38:  $N$ -(3-아미노페닐)-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드의 합성



[1741]

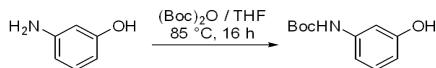
위의 실시예 36과 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체:  $N$ -(3-아미노페닐)-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-

6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.376$  분, MS  $m/z = 635 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  7.96 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.88 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.64 (dd,  $J = 8.3, 1.5$  Hz, 2H), 7.48 – 7.42 (m, 1H), 7.39 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.34 (d,  $J = 10.0$  Hz, 1H), 6.98 (dt,  $J = 7.7, 1.6$  Hz, 1H), 6.41 – 6.26 (m, 2H), 5.71 – 5.45 (m, 2H), 5.14 (d,  $J = 4.1$  Hz, 1H), 4.69 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.44 – 4.28 (m, 2H), 2.73 (dt,  $J = 25.9, 12.1$  Hz, 1H), 2.41 (td,  $J = 11.7, 6.9$  Hz, 2H), 2.29 (dt,  $J = 14.0, 3.6$  Hz, 1H), 1.91 – 1.67 (m, 4H), 1.60 (s, 4H), 1.02 (s, 3H).

[1743] 소수 아세탈 이성질체: *N*-(3-아미노페닐)-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤즈아미드. LCMS(방법 e, 표 7)  $R_t=1.506$  분, MS  $m/z = 635 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, MeOH- $d_4$ )  $\delta$  7.90 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.49 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J = 10.0$  Hz, 1H), 7.16 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 7.09 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 6.65 – 6.48 (m, 1H), 6.41 – 6.27 (m, 3H), 5.76 – 5.39 (m, 2H), 4.42 – 4.22 (m, 2H), 4.15 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 2.66 (dd,  $J = 27.8, 13.4$  Hz, 1H), 2.47 – 2.24 (m, 3H), 2.08 – 1.85 (m, 2H), 1.75 (t,  $J = 14.9$  Hz, 2H), 1.61 (s, 3H), 1.03 (s, 3H).

[1744] 실시예 39: 3-아미노페닐 4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤조에이트의 합성

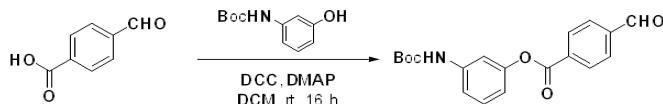
[1745] 단계 1: *tert*-부틸 (3-하이드록시페닐)카바메이트의 합성



[1746]

[1747] THF(450 mL) 중 3-아미노페놀(10 g, 92 mmol)의 용액에 무수 Boc(23.40 mL, 101 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 85°C에서 16시간 동안 가열하고, LCMS로 모니터링하였다. 그 후, 혼합물을 농축하여 잔류물을 수득하였고, 이를 EtOAc(150 mL)에 용해시키고, 물(100 mL), 포화 NaHCO<sub>3</sub>(100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 진공에서 농축하였다. 이 미정제 물질을 PE(50 mL x 2)로 세척하여 표제 화합물(16.5 g, 76 mmol, 82% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 g, 표 7)  $R_t=1.66$  분, MS  $m/z = 232.1 [M+Na^+]$ .

[1748] 단계 2: 3-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)페닐 4-포르밀벤조에이트의 합성

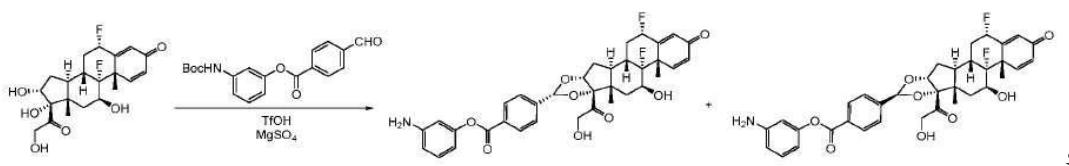


[1749]

[1750] 0°C에서 DCM(60 mL) 중 *tert*-부틸 (3-하이드록시페닐)카바메이트(5 g, 23.90 mmol)의 용액에 4-포르밀벤조산(3.59 g, 23.90 mmol), *N,N'*-디시클로헥실카르보디이미드(7.40 g, 35.8 mmol) 및 4-디메틸아미노페리딘(0.584 g, 4.78 mmol)을 첨가하였다. 그에 따른 혼합물을 아르곤 분위기 하에 10분 동안 그 온도에서 교반하였다. 그런 다음, 혼합물을 실온까지 가온하고, 교반을 16시간 동안 계속하였다. 혼합물을 얼음 옥조에서 냉각시켰다. 부생성물인 *N,N'*-디시클로헥실우레아를 침전물로서 여과하여 제거하고, 투명한 여액을 진공 하에서 농축하였다. 이 미정제 물질을 DCM/EtOAc(100% 내지 30:1)로 용출시키는 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(7.0 g, 18.54 mmol, 78% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=2.17$  분, MS  $m/z = 364.0 [M+Na^+]$ .

[1751]

단계 3: 3-아미노페닐 4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤조에이트



[1752]

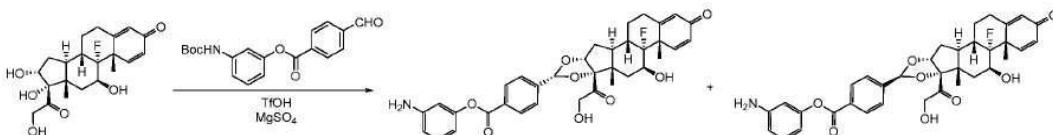
질소 하 0°C에서 무수 MeCN(40 mL) 및 THF(40 mL) 중 (6S, 8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17S)-6, 9-디플루오로-11, 16, 17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10, 13-디메틸-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(단계 5, 실시예 2)(7.248 g, 17.58 mmol) 및 3-((tert-부톡시카르보닐)아미노)페닐 4-포르밀벤조에이트(6 g, 17.58 mmol)의 교반 용액에 트리플루오로메탄설휠산(7.8 mL, 87.9 mmol)을 점적 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 다음, 얼음물(30 mL)에 따라 붂고, EtOAc로 추출하였다(2 x 45 mL). 합한 유기층을 냉각된 물(2 x 30 mL), 염수(30 mL), 포화 NaHCO<sub>3</sub>(30 mL) 및 추가의 물(30 mL)로 세척하고, 진공에서 농축하여 황색 고체를 수득하였다. 이 미정제 물질을 DCM/MMeOH(100% 내지 40:1)로 용출시키는 실리카겔 크로마토그래피(200 내지 300 메쉬)로 정제한 다음, 분류 HPLC로 추가적으로 정제하여 표제 화합물(주요 아세틸 이성질체)(2.166 g, 3.32 mmol, 19% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub>=1.54분; MS m/z = 636.3 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.13 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.27 (dd, J = 10.1, 1.4 Hz, 1H), 7.06 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.48 (dd, J = 8.3, 2.1 Hz, 1H), 6.40 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 7.8, 2.2 Hz, 1H), 6.30 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.82 – 5.47 (m, 3H), 5.31 (s, 2H), 5.15 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 5.03 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.60 (dd, J = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.33 – 4.12 (m, 2H), 2.66 (ddd, J = 26.2, 13.7, 9.3 Hz, 1H), 2.31 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 2.21 (td, J = 12.4, 6.3 Hz, 1H), 2.12 – 1.98 (m, 1H), 1.84 – 1.64 (m, 3H), 1.50 (s, 4H), 0.89 (s, 3H).

[1753]

소수 아세틸 이성질체인 3-아미노페닐 4-((2S, 6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10S, 11aR, 12aS, 12bS)-2, 6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-4-옥소-2, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5] 인데노 [1, 2-d][1, 3]디옥솔-10-일)벤조에이트 또한, 백색 고체로서 분리되었다(1.073 g, 1.676 mmol, 10% 수율). LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub>=1.58분; MS m/z = 636.3 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.13 – 8.06 (m, 2H), 7.51 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.28 (dd, J = 10.1, 1.4 Hz, 1H), 7.06 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.52 – 6.44 (m, 1H), 6.43 – 6.28 (m, 4H), 6.14 (s, 1H), 5.80 – 5.48 (m, 2H), 5.39 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.31 (s, 2H), 5.04 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 4.26 – 4.15 (m, 2H), 4.05 (dd, J = 19.2, 5.9 Hz, 1H), 2.67 – 2.51 (m, 1H), 2.29 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 2.27 – 2.14 (m, 1H), 2.11 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 1.96 – 1.59 (m, 4H), 1.51 (s, 3H), 0.90 (s, 3H).

[1754]

실시예 40: 3-아미노페닐 4-((6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-4-옥소-2, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-10-일)벤조에이트의 합성

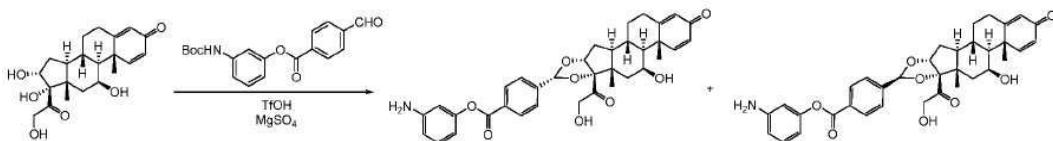


[1755]

위의 실시예 39와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세틸 이성질체: 3-아미노페닐 4-((6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-4-옥소-2, 4, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-10-일)벤조에이트. LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub>=1.54분; MS m/z = 618.3 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>) δ 8.19 (dd, J = 7.8, 1.9 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.97 – 6.84 (m, 3H), 6.32 (dd, J = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.13 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.69 (d, J = 19.4 Hz, 1H), 4.43 – 4.30 (m, 2H), 2.76 (td, J = 13.6, 5.8 Hz, 1H), 2.70 – 2.54 (m, 1H), 2.43 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 2.31 (ddd, J = 14.9, 11.6, 4.5 Hz, 2H), 2.01 – 1.92 (m, 1H), 1.89 – 1.69 (m, 3H), 1.62 (s, 4H), 1.03 (s, 3H).

[1757] 소수 아세탈 이성질체: 3-아미노페닐 4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤조에이트. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$ =1.58분; MS m/z = 618.2 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  8.10 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.52 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.16 (dd, *J* = 9.8, 6.0 Hz, 1H), 6.64 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.61 – 6.51 (m, 2H), 6.31 – 6.19 (m, 2H), 6.05 (s, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.38 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.19 (d, *J* = 18.7 Hz, 2H), 4.04 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 2.66 (td, *J* = 13.9, 6.3 Hz, 1H), 2.48 – 2.33 (m, 1H), 2.17 – 2.05 (m, 2H), 1.87 (dt, *J* = 13.8, 7.0 Hz, 2H), 1.84 – 1.69 (m, 2H), 1.51 (s, 4H), 0.90 (s, 3H).

[1758] 실시예 41: 3-아미노페닐 4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤조에이트의 합성



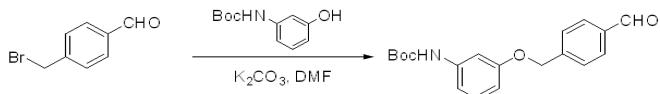
[1759]

[1760] 위의 실시예 39와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: 3-아미노페닐 4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤조에이트. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$ =1.86분; MS m/z = 599.8 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.14 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 7.14 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.63 (dd, *J* = 8.1, 2.2 Hz, 1H), 6.54 (q, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.48 (dd, *J* = 8.1, 2.2 Hz, 1H), 6.24 (dd, *J* = 10.0, 2.0 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.13 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.69 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 4.43 (q, *J* = 3.3 Hz, 1H), 4.37 (d, *J* = 19.4 Hz, 1H), 2.66 (td, *J* = 13.4, 5.3 Hz, 1H), 2.38 (dd, *J* = 13.7, 4.1 Hz, 1H), 2.32 – 2.19 (m, 1H), 2.14 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 2.06 – 1.93 (m, 1H), 1.94 – 1.85 (m, 1H), 1.89 – 1.68 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.22 – 1.01 (m, 2H), 1.02 (s, 3H).

[1761] 소수 아세탈 이성질체: 3-아미노페닐 4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤조에이트. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$ =1.89분; MS m/z = 599.8 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.22 – 8.11 (m, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.49 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 7.14 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.63 (dd, *J* = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 6.55 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.53 – 6.45 (m, 1H), 6.33 – 6.24 (m, 2H), 6.05 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 5.46 (t, *J* = 3.8 Hz, 1H), 4.46 (q, *J* = 3.3 Hz, 1H), 4.30 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 4.15 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 2.70 (td, *J* = 13.5, 5.4 Hz, 1H), 2.48 – 2.38 (m, 1H), 2.23 (ddd, *J* = 24.3, 12.6, 6.6 Hz, 2H), 2.12 – 2.03 (m, 1H), 2.02 – 1.89 (m, 2H), 1.89 – 1.77 (m, 2H), 1.53 (s, 3H), 1.26 (tt, *J* = 12.4, 6.3 Hz, 1H), 1.17 (dd, *J* = 11.1, 3.6 Hz, 1H), 1.03 (s, 3H).

[1762] 실시예 42: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페놀시)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1763] 단계 1: *tert*-부틸 (3-((4-포르밀 벤질)옥시)페닐)카바메이트의 합성



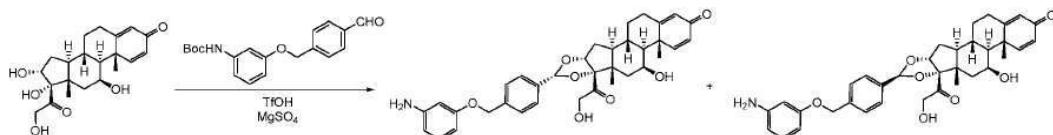
[1764]

[1765] K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(47.8 g, 346 mmol) 및 *tert*-부틸 (3-하이드록시페닐)카바메이트(36.2 g, 173 mmol)를 순차적으로 디메틸 포름아미드 (200 mL) 중 4-(브로모메틸)벤즈알테히드(34.4 g, 173 mmol)의 용액에 첨가하였다. 그런 다음, 황색 혼탁액을 오일 옥조에서 2시간 동안 80°C에서 가열하였다. 반응물을 물(200 mL)로 퀘치하고, EtOAc로 추출하

였다( $2 \times 200$  mL). 합한 유기 층을 염수(100 mL)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, 감압 하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 크로마토그래피(실리카겔; 석유 에테르에서 80:20 PE/EtOAc까지; 구배 용리)로 정제하여 *tert*-부틸 (3-((4-포르밀벤질)옥시)페닐)카바메이트(47.27 g, 144 mmol, 83% 수율)를 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 h 표 7)  $R_t=1.92$ 분; MS  $m/z = 272$  [ $\text{M}+\text{t-BuH}^+$ ].

[1766]

단계 2: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1767]

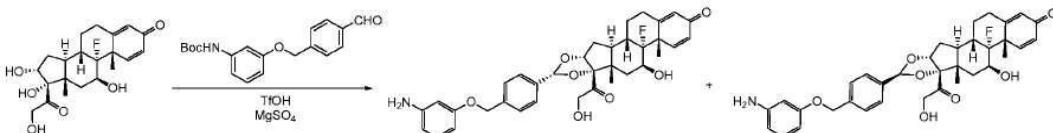
트리플루오로메탄설휤산(17.76 mL, 200 mmol)을 MeCN(400 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(15.06 g, 40 mmol) 및 *tert*-부틸 (3-((4-포르밀벤질)옥시)페닐) 카바메이트(13.75 g, 42.0 mmol) 및  $\text{MgSO}_4$ (19.26 g, 160 mmol)의 교반된 0°C 혼탁액에 점적 첨가하였다. 그런 다음, 반응 혼합물을 20°C까지 가온하고, 2시간 더 교반하였다. 혼합물을 여과하고, THF로 세척하고, 여액을 진공에서 농축하였다. 잔류물을 THF(100 mL)에 용해시키고, 1 M 수성 NaOH로 pH 8까지 중화시키고, EtOAc(200 mL)로 희석하고, 물( $2 \times 200$  mL) 및 염수(200 mL)로 세척하고, 건조하고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 진공에서 농축하였다. 잔류물을 플래시 컬럼(MeOH:DCM=1:20)으로 정제하였다. 그에 따른 물질을 Sunfire C18 10 미크론(250 x 19 mm 컬럼) 상에서 분취 HPLC에 의해 추가적으로 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.05% TFA(B)의 구배가 30 mL/분(0 내지 10.0분 선형 구배 22 내지 32% A, 5분 유지)의 유속으로 이용되어, 표제 화합물(7.338 g, 12.15 mmol, 30% 수율)을 황색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 i, 표 7)  $R_t=1.47$ 분; MS  $m/z = 586$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ].  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>)  $\delta$  7.502–7.446 (m, 5H), 7.389–7.349 (m, 1H), 7.009, 6.988 (dd,  $J_1 = 2$  Hz,  $J_2 = 8.4$  Hz, 1H), 6.890–6.859 (m, 2H), 6.275, 6.250 (dd,  $J_1 = 1.2$  Hz,  $J_2 = 8.8$  Hz, 1H), 6.027 (s, 1H), 5.501 (s, 1H), 5.147 (s, 2H), 5.107, 5.078 (dd,  $J_1 = 6.8$  Hz,  $J_2 = 11.6$  Hz, 1H), 4.672 (d,  $J = 19.6$  Hz, 1H), 4.436 (s, 1H), 4.370 (d,  $J = 19.2$  Hz, 1H), 2.706–2.671 (m, 1H), 2.652–2.265 (m, 3H), 2.002–1.700 (m, 5H), 1.512 (s, 3H), 1.151–1.112 (m, 1H), 1.054–1.009 (m, 4H).

[1769]

소수 아세탈 이성질체: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온, the 소수 아세탈 이성질체가 또한, 황색 고체로서 분리되었다(354 mg, 0.604 mmol, 2% 수율). LCMS(방법 i, 표 7)  $R_t=1.51$ 분; MS  $m/z = 586$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ].  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.416 (d,  $J = 8$  Hz, 2H), 7.332–7.276 (m, 3H), 6.879 (t,  $J = 8$  Hz, 1H), 6.185–6.115 (m, 5H), 5.948 (s, 1H), 5.319 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 5.041–5.014 (m, 3H), 4.980 (s, 2H), 4.791 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 4.302–4.239 (m, 2H), 4.056, 4.008 (dd,  $J_1 = 6$  Hz,  $J_2 = 19.6$  Hz, 1H), 2.552–2.540 (m, 1H), 2.337–2.304 (m, 1H), 2.075–2.005 (m, 2H), 1.884–1.736 (m, 5H), 1.395 (s, 3H), 1.219–1.045 (m, 2H), 0.892 (s, 3H).

[1770]

실시예 43: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



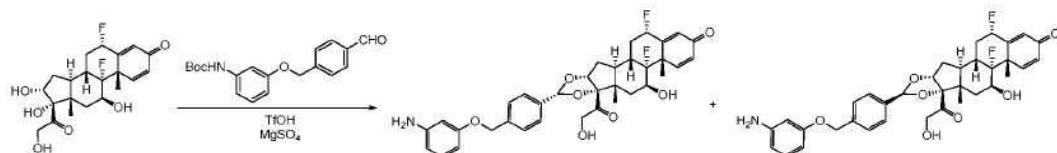
[1771]

위의 실시예 42와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,

5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 i, 표 7)  $R_t=1.74$ 분; MS  $m/z = 604 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.48 - 7.49 (m, 4H), 7.44 - 7.33 (m, 2H), 7.02 (dd,  $J = 8.3, 1.9$  Hz, 1H), 6.96 - 6.84 (m, 2H), 6.32 (dd,  $J = 10.1, 1.8$  Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.16 (s, 2H), 5.08 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 4.65 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.46 - 4.27 (m, 2H), 2.84 - 2.50 (m, 2H), 2.45 - 2.27 (m, 3H), 2.01 - 1.90 (m, 1H), 1.80 - 1.70 (m, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.55 (dd,  $J = 12.8, 4.8$  Hz, 1H), 1.02 (s, 3H).

[1773] 소수 아세탈 이성질체: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 i, 표 7)  $R_t=1.77$ 분; MS  $m/z = 604 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.42 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.36 - 7.25 (m, 3H), 7.01 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 6.43 - 6.30 (m, 3H), 6.24 (dd,  $J = 10.1, 1.5$  Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.35 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.31 - 4.14 (m, 2H), 4.04 (d,  $J = 19.2$  Hz, 1H), 2.72 - 2.58 (m, 1H), 2.18 - 1.98 (m, 2H), 1.85 (d,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 1.77 - 1.63 (m, 2H), 1.58 - 1.40 (m, 4H), 0.90 (s, 3H).

[1774] 실시예 44: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



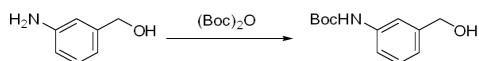
[1775]

[1776] 위의 실시예 42와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.45$ 분; MS  $m/z = 622 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.44 (s, 4H), 7.27 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 6.87 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.30 (dd,  $J = 10.1, 1.5$  Hz, 1H), 6.24 - 6.04 (m, 4H), 5.81 - 5.39 (m, 3H), 5.13 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 5.09 - 4.91 (m, 5H), 4.55 (dd,  $J = 19.5, 6.4$  Hz, 1H), 4.32 - 4.09 (m, 2H), 3.60 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 2.81 - 2.55 (m, 1H), 2.40 - 2.14 (m, 2H), 2.06 (d,  $J = 13.6$  Hz, 1H), 1.85 - 1.63 (m, 6H), 1.58 - 1.43 (m, 4H), 0.88 (s, 3H).

[1777] 소수 아세탈 이성질체: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페녹시)메틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.49$ 분; MS  $m/z = 622 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.41 (d,  $J = 8.1$  Hz, 3H), 7.35 - 7.20 (m, 3H), 6.88 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.31 (dd,  $J = 10.1, 1.6$  Hz, 1H), 6.16 (dd,  $J = 13.9, 5.0$  Hz, 6H), 5.77 - 5.45 (m, 2H), 5.36 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.35 - 4.13 (m, 2H), 4.05 (dd,  $J = 18.9, 4.9$  Hz, 1H), 2.70 - 2.53 (m, 1H), 2.29 (s, 1H), 2.24 - 2.13 (m, 1H), 2.12 - 2.04 (m, 1H), 1.96 - 1.81 (m, 1H), 1.81 - 1.63 (m, 3H), 1.50 (s, 4H), 0.89 (s, 3H).

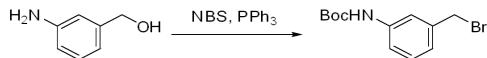
[1778] 실시예 45: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)옥시)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1779] 단계 1: *tert*-부틸 (3-(하이드록시메틸)페닐)카바메이트의 합성



[1780]

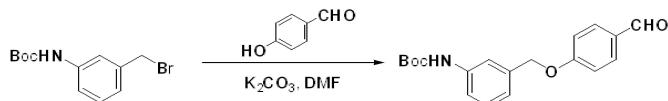
[1781] THF(80 mL) 중 (3-아미노페닐)메탄올(88.5 g, 719 mmol)의 용액에 디-*tert*-부틸 디카보네이트(184 mL, 790 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 밤새 교반하였다. 그런 다음, 혼합물을 농축 건조하고, 잔류물을 (EtOAc/헥산=1:9, v/v로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(161.1 g, 722 mmol, 100% 수율)을 백색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 j, 표 7)  $R_t$ =1.77분; MS m/z = 246 [M+Na<sup>+</sup>]. 단계 2: *tert*-부틸 (3-(브로모메틸)페닐)카바메이트의 합성



[1782]

[1783] -20°C에서 THF(50 mL) 중 *tert*-부틸 (3-(하이드록시메틸)페닐)카바메이트(120 g, 484 mmol)의 용액에 트리페닐 포스핀(254 g, 967 mmol)에 이어, N-브로모모석신이미드(103 g, 580 mmol)를 첨가하였다. 3시간 동안 교반 후, 용매를 진공에서 제거하고, 잔류물을 (헥산:EtOAc = 100:1로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(125 g, 437 mmol, 90% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. LCMS(방법 j, 표 7)  $R_t$ =2.10분; MS m/z = 230, 232 [M-t-BuH<sup>+</sup>].

[1784] 단계 3: *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페녹시)메틸)페닐)카바메이트의 합성

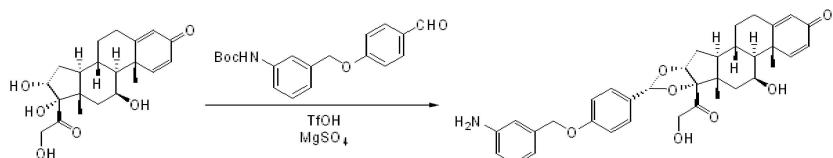


[1785]

[1786] 디메틸 포름아미드(300 mL) 중 4-하이드록시벤즈알데히드(25.6 g, 210 mmol) 및 탄산칼륨(29.0 g, 210 mmol)의 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 그런 다음, *tert*-부틸 (3-(브로모메틸)페닐)카바메이트(60 g, 210 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60°C까지 가열하고, 이 온도에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 물 50 mL에 따라 붂고, EtOAc로 추출하였다(3 x 50 mL). 합한 유기층을 물(1x100 mL) 및 염수(1x100 mL)로 세척하고, 진공에서 농축하였다. 이 미정제 물질을 (디클로로메탄/메탄올 = 500:1로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(72 g, 209 mmol, 100% 수율)을 백색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 j, 표 7)  $R_t$ =2.08분; MS m/z = 272 [M-t-BuH<sup>+</sup>].

[1787]

단계 4: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)옥시)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

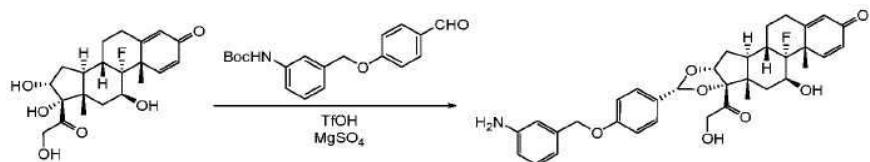


[1788]

[1789] 트리플루오로메탄설�onium(12.38 mL, 139 mmol)을 0°C에서 MeCN(150 mL) 중 황산마그네슘(13.43 g, 112 mmol), *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페녹시)메틸)페닐)카바메이트(10.96 g, 33.5 mmol) 및 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11, 16, 17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10, 13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(10.5 g, 27.9 mmol)의 혼합물에 점진 첨가하였다. 혼합물을 실온까지 가온하고, 이 온도에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 500 mL의 포화 중탄산나트륨 용액에 따라 붂고, EtOAc(250 mL)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mL)와 물(200 mL)로 세척하고, 진공에서 농축하였다. 이 미정제 물질을 (DCM-MeOH = 50:1, v/v으로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하고, 그에 따른 생성물을 분취 HPLC로 더 정제하여 표제 화합물(6.04 g, 10.31 mmol, 37% 수율)을 백색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 k, 표 7)  $R_t$ =1.91분; MS m/z = 586 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.35 (dd, *J* = 19.6, 9.4 Hz, 3H), 7.09 – 6.89 (m, 3H), 6.61 – 6.33 (m, 3H), 6.18 (dd, *J* = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.16 – 5.01 (m, 3H), 5.02 – 4.85 (m, 3H), 4.80 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 19.5, 6.3 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.18 (dd, *J* = 19.4, 5.5 Hz, 1H), 2.33 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 2.17 – 1.98 (m, 2H), 1.90 – 1.53 (m, 5H), 1.40 (s, 3H), 1.13 – 0.96 (m,

2H), 0.87 (s, 3H).

[1790] **실시예 46:** (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)옥시)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

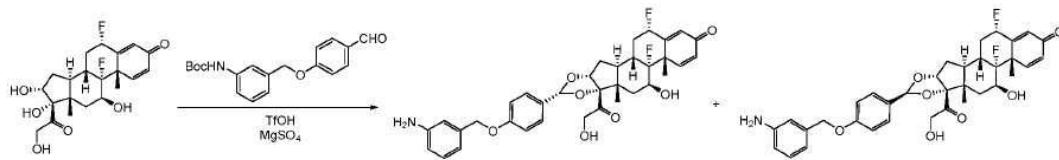


[1791]

[1792] 위의 실시예 45와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. LCMS(방법 k, 표 7)  $R_t=1.89$ 분; MS  $m/z = 604 [M+H]^+$ .

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.32 (dd,  $J = 17.3, 9.4$  Hz, 3H), 7.10 – 6.94 (m, 3H), 6.65 – 6.35 (m, 3H), 6.25 (dd,  $J = 10.1, 1.7$  Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.58 – 5.32 (m, 2H), 5.22 – 5.03 (m, 3H), 5.01 – 4.86 (m, 3H), 4.52 (dd,  $J = 19.5, 6.4$  Hz, 1H), 4.20 (dd,  $J = 19.4, 5.5$  Hz, 2H), 2.78 – 2.56 (m, 1H), 2.44 – 2.31 (m, 1H), 2.19 (td,  $J = 12.0, 6.8$  Hz, 1H), 2.06 (d,  $J = 13.7$  Hz, 1H), 1.95 – 1.81 (m, 1H), 1.68 (dd,  $J = 15.4, 9.7$  Hz, 3H), 1.57 – 1.30 (m, 4H), 0.88 (s, 3H).

[1793] **실시예 47:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)옥시)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1794]

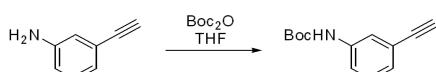
[1795] 위의 실시예 45와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. LCMS(방법 C, 표 7)  $R_t=1.45$ 분; MS  $m/z = 622 [M+H]^+$ .

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.57 – 7.29 (m, 6H), 7.24 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 6.45 – 6.23 (m, 2H), 5.69 – 5.49 (m, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.16 (s, 2H), 5.06 (d,  $J = 3.7$  Hz, 1H), 4.64 (d,  $J = 19.5$  Hz, 1H), 4.43 – 4.15 (m, 2H), 2.89 – 2.56 (m, 1H), 2.52 – 2.32 (m, 2H), 2.28 (d,  $J = 13.8$  Hz, 1H), 1.87 – 1.62 (m, 4H), 1.60 (s, 3H), 1.00 (s, 3H).

[1796] 소수 아세틸 이성질체: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)옥시)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 C, 표 7)  $R_t=1.48$ 분; MS  $m/z = 622 [M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.41 – 7.13 (m, 3H), 7.08 – 6.90 (m, 3H), 6.61 (s, 1H), 6.52 (dd,  $J = 17.3, 7.5$  Hz, 2H), 6.31 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 6.11 (d,  $J = 18.4$  Hz, 2H), 5.79 – 5.56 (m, 1H), 5.53 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 5.34 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 5.18 – 5.00 (m, 3H), 4.93 (s, 2H), 4.28 (dd,  $J = 19.1, 6.2$  Hz, 1H), 4.19 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 4.05 (dd,  $J = 19.1, 5.9$  Hz, 1H), 3.60 (t,  $J = 6.2$  Hz, 3H), 2.72 – 2.51 (m, 1H), 2.29 (s, 1H), 2.22 – 2.11 (m, 1H), 2.06 (d,  $J = 13.4$  Hz, 1H), 1.93 – 1.80 (m, 1H), 1.80 – 1.60 (m, 6H), 1.50 (s, 3H), 1.36 (s, 1H), 0.89 (s, 3H).

[1797] **실시예 48:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

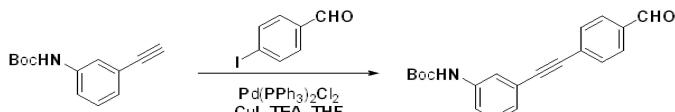
[1798] 단계 1: *tert*-부틸 (3-에티닐페닐)카바메이트의 합성



[1799]

[1800] 디-*tert*-부틸 디카보네이트(123 mL, 531 mmol)를 THF(300 mL) 내 3-에티닐아닐린(56.6 g, 483 mmol)의 교반 용액에 첨가하였다. 혼합물을 밤새 가열 환류시켰다. 그런 다음, 혼합물을 주위 온도까지 냉각시키고, 에틸 아세테이트(500 mL)에 흡수시키고, 1N 수성 HCl(200 mL), 포화 수성 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(200 mL) 및 염수(200 mL)로 순차적으로 세척하였다. 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 진공에서 농축하고, (15% EtOAc/PE로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 *tert*-부틸 (3-에티닐페닐)카바메이트(94 g, 435 mmol, 90% 수율)를 제공하였다. LCMS(방법 f, 표 7) R<sub>t</sub>=1.80분; MS m/z = 162 [M-t-Bu+H<sup>+</sup>].

[1801] 단계 2: *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페닐)에티닐)페닐)카바메이트의 합성

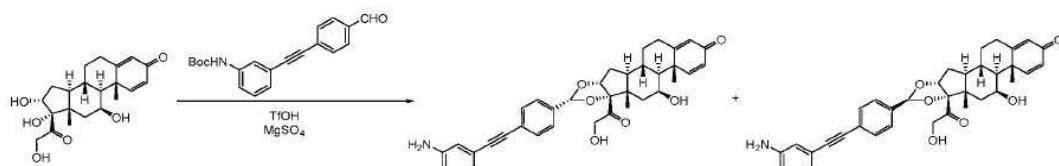


[1802]

[1803] 500 mL의 등근 바닥 플라스크에 4-요오드벤즈알데히드(30.2 g, 130 mmol), 염화 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II)(4.56 g, 6.50 mmol), 요오드화 구리(I)(2.476 g, 13.00 mmol) 및 트리페닐포스핀(3.41 g, 13.00 mmol)을 THF(200 mL) 및 트리에틸아민(181 mL, 1300 mmol)에 용해시킨 다음, *tert*-부틸 (3-에티닐페닐)카바메이트(28.2 g, 130 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 16시간 동안 질소 분위기 하에 75°C에서 교반하였다. 반응 종료 후, 휘발성 용매를 완전히 제거하였다. 이 미정제 물질을 (PE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>=1:3로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페닐)에티닐)페닐)카바메이트(35.5 g, 111 mmol, 85% 수율)를 미색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 f, 표 7) R<sub>t</sub>=2.08분; MS m/z = 322 [M+H<sup>+</sup>].

[1804]

단계 3: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1805]

[1806] 트리플루오로메탄설�onium(4.44 mL, 50.0 mmol)을 MeCN(100 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11, 16, 17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10, 13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(3.76 g, 10.00 mmol), *tert*-부틸 (3-((4-포르밀페닐)에티닐)페닐) 카바메이트(3.21 g, 10 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub>(4.81 g, 40.0 mmol)의 0°C 혼탁액에 점적 첨가하였다. 혼합물을 2시간 동안 더 교반하였다. 혼합물을 여과하고, THF로 세척하였다. 여액을 진공에서 농축하였다. 잔류물을 THF(50 mL)에 용해시킨다. 1 M 수성 NaOH 수용액으로 pH = 8까지 중화시키고, EtOAc(200 mL)로 추출하고, 물(2 x 100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척하고, 건조하고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 진공에서 농축하였다. 잔류물을 (MeOH:DCM=1:40로 용출시킨) 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 미정제 생성물 2.5 g을 제공하였고, 이를 분취 HPLC로 더 정제하여 표제 화합물(1.449 g, 2.500 mmol, 25% 수율)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 1, 표 7) R<sub>t</sub>=1.86분; MS m/z = 580 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.65 – 7.41 (m, 4H), 7.32 (d, J = 9.9 Hz, 2H), 7.05 (dd, J = 9.8, 5.7 Hz, 1H), 6.85 – 6.49 (m, 4H), 6.29 – 6.05 (m, 1H), 6.01 – 5.83 (m, 1H), 5.63 – 5.40 (m, 1H), 5.26 (s, 2H), 5.12 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 4.82 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 4.63 – 4.41 (m, 1H), 4.37 – 4.08 (m, 2H), 2.40 – 1.91 (m, 5H), 1.87 – 1.52 (m, 6H), 1.40 (s, 4H), 1.14 – 0.95 (m, 2H), 0.88 (s, 3H).

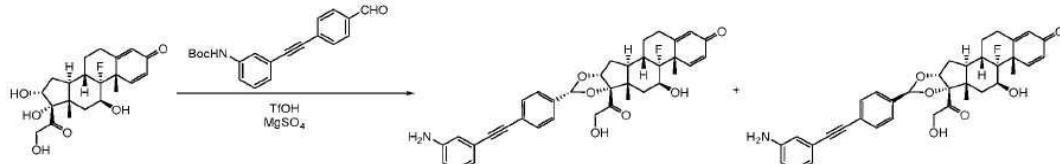
[1807]

소수 아세탈 이성질체인 (6aR, 6bS, 7S, 8aS, 8bS, 10S, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-1H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4(2H)-온 또한, 황색 고체로서 분리되었다(85 mg, 0.147 mmol, 1.5% 수율). LCMS(방법 i, 표 7) R<sub>t</sub>=1.93 분; MS m/z = 580

$[M+H^+]$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.51 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.42 – 7.21 (m, 3H), 7.05 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.83 – 6.45 (m, 3H), 6.29 – 6.07 (m, 2H), 5.95 (s, 1H), 5.47 – 5.14 (m, 3H), 4.82 (s, 1H), 4.38 – 4.14 (m, 2H), 4.03 (d,  $J = 19.3$  Hz, 1H), 2.33 (d,  $J = 10.3$  Hz, 2H), 2.15 – 1.96 (m, 1H), 1.93 – 1.68 (m, 5H), 1.40 (s, 3H), 1.33 – 0.97 (m, 3H), 0.89 (s, 3H).

[1808]

**실시예 49:** (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1809]

[1810]

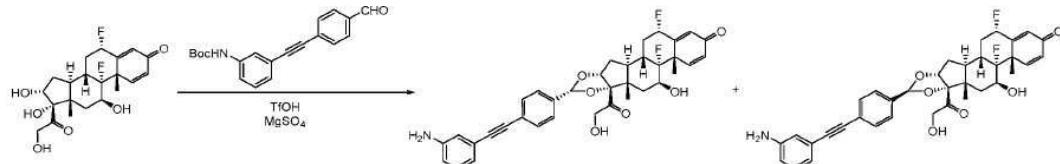
위의 실시예 48와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.57$  분; MS m/z = 598  $[M+H^+]$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.55 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.46 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.30 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.05 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.66 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.24 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.51 (d,  $J = 15.2$  Hz, 2H), 5.26 (s, 2H), 4.97 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 4.55 (d,  $J = 19.5$  Hz, 1H), 4.22 (d,  $J = 19.5$  Hz, 2H), 2.74 – 2.56 (m, 1H), 2.36 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H), 2.24 – 2.10 (m, 1H), 2.06 (d,  $J = 14.5$  Hz, 1H), 1.92 – 1.78 (m, 1H), 1.78 – 1.58 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.45 – 1.31 (m, 1H), 0.88 (s, 3H).

[1811]

소수 아세탈 이성질체: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.61$  분; MS m/z = 598  $[M+H^+]$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.51 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.39 – 7.22 (m, 3H), 7.05 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.67 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 6.24 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 6.18 (s, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.35 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.19 (d,  $J = 18.9$  Hz, 2H), 4.04 (d,  $J = 19.1$  Hz, 1H), 2.75 – 2.55 (m, 1H), 2.37 (d,  $J = 10.2$  Hz, 1H), 2.09 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.84 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 1.78 – 1.62 (m, 2H), 1.50 (s, 4H), 0.89 (s, 3H).

[1812]

**실시예 50:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1813]

[1814]

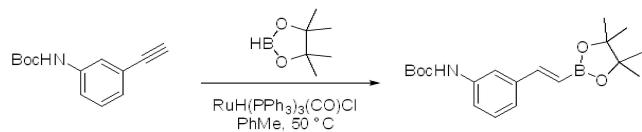
위의 실시예 48와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.57$  분; MS m/z = 616  $[M+H^+]$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.55 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.47 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.27 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.05 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.66 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 6.30 (dd,

$J = 10.1, 1.4 \text{ Hz}, 1\text{H}$ , 6.13 (s, 1H), 5.80 – 5.58 (m, 1H), 5.55 (d,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ , 2H), 5.26 (s, 2H), 5.14 (t,  $J = 5.9 \text{ Hz}$ , 1H), 4.99 (d,  $J = 5.1 \text{ Hz}$ , 1H), 4.56 (dd,  $J = 19.5, 6.4 \text{ Hz}$ , 1H), 4.23 (dd,  $J = 19.5, 5.4 \text{ Hz}$ , 2H), 2.79 – 2.56 (m, 1H), 2.31 (s, 1H), 2.26 – 2.14 (m, 1H), 2.12 – 1.99 (m, 1H), 1.83 – 1.62 (m, 3H), 1.61 – 1.40 (m, 4H), 0.88 (s, 3H).

[1815] 소수 아세탈 이성질체: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)에티닐)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 f, 표 7)  $R_t=1.61$ 분; MS m/z = 616 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.52 (d,  $J = 8.3 \text{ Hz}$ , 2H), 7.33 (d,  $J = 8.2 \text{ Hz}$ , 2H), 7.28 (d,  $J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H), 7.05 (t,  $J = 7.8 \text{ Hz}$ , 1H), 6.73 (s, 1H), 6.68 (d,  $J = 7.5 \text{ Hz}$ , 1H), 6.61 (d,  $J = 8.1 \text{ Hz}$ , 1H), 6.32 (dd,  $J = 10.1, 1.7 \text{ Hz}$ , 1H), 6.21 (s, 1H), 6.15 (s, 1H), 5.78 – 5.58 (m, 1H), 5.55 (d,  $J = 2.7 \text{ Hz}$ , 1H), 5.36 (t,  $J = 7.9 \text{ Hz}$ , 1H), 5.27 (s, 2H), 5.08 (t,  $J = 5.8 \text{ Hz}$ , 1H), 4.33 – 4.12 (m, 2H), 4.06 (dd,  $J = 19.1, 5.0 \text{ Hz}$ , 1H), 2.72 – 2.53 (m, 1H), 2.29 (s, 1H), 2.23 – 2.02 (m, 2H), 1.92 – 1.82 (m, 1H), 1.82 – 1.61 (m, 3H), 1.51 (s, 4H), 0.90 (s, 3H).

[1816] 실시예 51: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

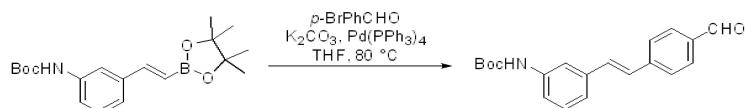
[1817] 단계 1: *tert*-부틸 (E)-(3-(2-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)비닐)카바메이트의 합성



[1818]

4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란(16.70 mL, 115 mmol) 및 카르보닐클로로하이드라이도트리스(트리페닐포스핀)루테늄(II)(2.63 g, 2.76 mmol)을 투루엔(150 mL) 중 *tert*-부틸 (3-에티닐페닐)카바메이트(10 g, 46.0 mmol)의 질소 퍼지 용액에 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 16시간 동안 가열하고, 이를 감압 하에 농축하였다. PE/EtOAc(100% 내지 10:1)로 용출시키는 크로마토그래피(실리카)에 의한 정제는 표제 화합물(13.25 g, 36.8 mmol, 80% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 d 표 7)  $R_t=2.19$ 분; MS m/z = 290.1 [M-*t*Bu]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.33 (s, 12H), 1.54 (s, 9H), 6.17 (d,  $J= 18.4 \text{ Hz}$ , 1H), 6.49 (bs, 1H), 7.18 (d,  $J= 7.6 \text{ Hz}$ , 1H), 7.26–7.29 (m, 1H), 7.35–7.40 (m, 2H), 7.47 (s, 1H).

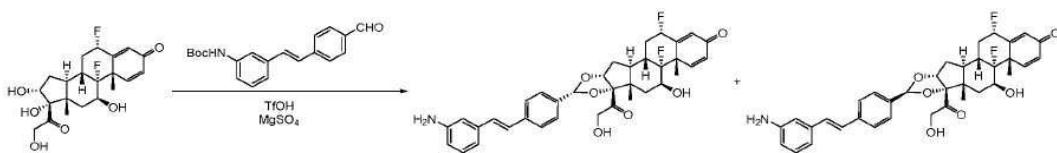
[1820] 단계 2: *tert*-부틸 (E)-(3-(4-포르밀스티릴)페닐)카바메이트의 합성



[1821]

N<sub>2</sub> 하의 20°C에서 THF(85 mL) 중 *tert*-부틸 (E)-(3-(2-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)비닐)카바메이트(6 g, 17.38 mmol) 및 4-브로모벤즈알데히드(3.38 g, 18.25 mmol)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(4.80 g, 34.8 mmol) 및 Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>(1.607 g, 1.390 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 32시간 동안 교반하였다. 혼합물을 농축하여 잔류물을 제공하였고, 이를 EtOAc(50 mL)로 용해시키고 여과하였다. 여액을 농축하였다. 잔류물을 PE/EtOAc(10:1 내지 6:1)로 용해시키는 실리카겔 걸림 크로마토그래피로 정제하여 생성물을 제공하였고, 이를 PE(10 mL)로 더 세척하여 표제 화합물(3.43 g, 10.49 mmol, 60% 수율)을 녹색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=2.08$ 분; MS m/z = 324.1 [M+H]<sup>+</sup>.

[1823] 단계 3: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1824]

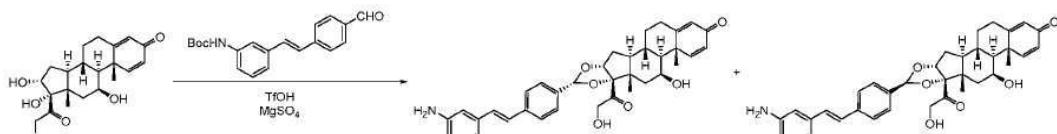
[1825] 트리플루오로메탄설�onium(5.38 mL, 60.6 mmol)을 질소 하에 무수 MeCN(30 mL) 및 THF(30 mL) 중 (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(실시예 2, 단계 5)(5.0 g, 12.12 mmol) 및 (E)-*tert*-부틸 (3-(4-포르밀스티릴)페닐)카바메이트(4.612 g, 12.12 mmol)의 0°C 교반 혼탁액에 점적 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 다음, 얼음물(30 mL)에 따라 붓고, EtOAc로 추출하였다(2 x 50 mL). 합한 유기층을 냉각된 물(30 mL), 염수(30 mL), 포화 NaHCO<sub>3</sub>(30 mL) 및 다시 물(30 mL)로 세척하고, 진공에서 농축하여 황색 고체를 수득하였다. 이 미정제 물질을 DCM/MeOH(100% 내지 40:1)로 용출시키는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(200 내지 300 메쉬)로 정제한 다음, 분취 HPLC로 더 정제하여 표제 화합물(1.45 g, 2.328 mmol, 19% 수율)을 제공하였다. LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub>=1.47분; MS m/z = 618.3 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.61 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.43 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 15.5, 7.6 Hz, 2H), 6.75 (dd, J = 8.0, 4.7 Hz, 2H), 6.50 (dd, J = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 6.31 (dd, J = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 6.15 (s, 1H), 5.79 – 5.46 (m, 3H), 5.13 (dd, J = 14.7, 8.7 Hz, 3H), 4.97 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.55 (dd, J = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.23 (dd, J = 19.4, 5.5 Hz, 2H), 2.73 – 2.56 (m, 1H), 2.40 – 2.21 (m, 2H), 2.15 – 2.02 (m, 1H), 1.82 – 1.64 (m, 3H), 1.61 – 1.44 (m, 4H), 0.88 (s, 3H).

[1826]

[1826] 소수 아세탈 이성질체인 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온(0.30 g, 0.456 mmol, 4% 수율) 또한, 백색 고체로서 분리되었다. LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub> = 1.51분; MS m/z = 618.3 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 7.9 Hz, 3H), 7.18 – 6.97 (m, 3H), 6.75 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 6.50 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.31 (dd, J = 10.2, 1.6 Hz, 1H), 6.15 (d, J = 10.3 Hz, 2H), 5.78 – 5.67 (m, 1H), 5.63 – 5.49 (m, 2H), 5.37 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.07 (dd, J = 12.0, 5.8 Hz, 3H), 4.33 – 4.15 (m, 2H), 4.06 (dd, J = 19.2, 5.7 Hz, 1H), 2.69 – 2.54 (m, 1H), 2.36 – 2.08 (m, 3H), 1.94 – 1.60 (m, 4H), 1.50 (s, 3H), 0.90 (s, 3H).

[1827]

[1827] 실시예 52: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1828]

[1829] 위의 실시예 51와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub>=1.48분; MS m/z = 582.3 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0.88 (s, 3H), 1.00–1.09 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.63–1.79 (m, 5H), 2.04–2.15 (m, 2H), 2.32–2.34 (m, 1H), 2.55–2.60 (m, 1H), 4.20 (dd, J= 20.2 Hz, 5.0 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.54 (dd, J= 19.2 Hz, 6.0 Hz, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.94–4.95 (m, 1H), 5.10–5.14 (m, 3H), 5.46 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 6.18 (d, J= 10.0 Hz, 1H), 6.50 (d, J= 7.6 Hz, 1H), 6.73–6.76 (m, 2H), 7.00–7.14 (m, 3H), 7.32 (d, J= 10.0 Hz, 1H), 7.45 (d, J= 8.4 Hz, 2H), 7.59 (d, J= 8.0 Hz, 2H).

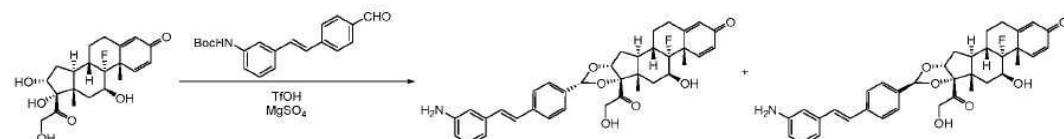
[1830]

소수 아세탈 이성질체 : (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-

7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=1.52$ 분; MS  $m/z = 582.3 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.89 (s, 3H), 1.05-1.31 (m, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.74-1.89 (m, 5H), 2.05-2.07 (m, 2H), 2.31-2.34 (m, 1H), 2.54-2.59 (m, 1H), 4.00-4.06 (m, 1H), 4.23-4.31 (m, 2H), 4.80 (s, 1H), 5.05-5.09 (m, 3H), 5.31-5.32 (m, 1H), 5.95 (s, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.18 (d,  $J=9.6$  Hz, 1H), 6.49-6.50 (m, 1H), 6.74-6.76 (m, 2H), 7.00-7.14 (m, 3H), 7.26 (d,  $J=7.6$  Hz, 2H), 7.32 (d,  $J=10.0$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J=7.6$  Hz, 2H).

[1831]

**실시예 53:** (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1832]

[1833]

위의 실시예 51와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=1.45$ 분; MS  $m/z = 600.3 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.61 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.42 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.30 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J = 16.4$  Hz, 1H), 7.03 (dd,  $J = 15.6, 7.6$  Hz, 2H), 6.79 - 6.70 (m, 2H), 6.50 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.25 (dd,  $J = 10.1, 1.4$  Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.54 - 5.43 (m, 2H), 5.13 (t,  $J = 6.0$  Hz, 3H), 4.95 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H), 4.55 (dd,  $J = 19.5, 6.4$  Hz, 1H), 4.22 (dd,  $J = 19.3, 5.4$  Hz, 2H), 2.62 (m, 2H), 2.42 - 2.02 (m, 3H), 1.92 - 1.80 (m, 1H), 1.77 - 1.61 (m, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.47 - 1.32 (m, 1H), 0.89 (s, 3H).

[1834]

소수 아세탈 이성질체: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-아미노스티릴)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온.

[1835]

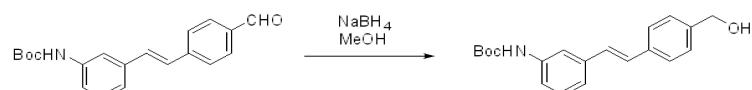
LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=1.48$ 분; MS  $m/z = 600.3 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.57 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.28 (dd,  $J = 12.2, 9.3$  Hz, 3H), 7.18 - 6.97 (m, 3H), 6.75 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 6.50 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.25 (dd,  $J = 10.1, 1.2$  Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.46 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 5.35 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 5.06 (dd,  $J = 14.0, 7.9$  Hz, 3H), 4.24 (dd,  $J = 19.3, 6.3$  Hz, 2H), 4.05 (dd,  $J = 19.1, 5.8$  Hz, 1H), 2.73 - 2.58 (m, 1H), 2.47 - 2.30 (m, 2H), 2.09 (d,  $J = 10.1$  Hz, 2H), 1.85 (d,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 1.78 - 1.65 (m, 2H), 1.50 (s, 4H), 0.90 (s, 3H).

[1836]

**실시예 54:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노페네틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1837]

**단계 1:** *tert*-부틸 (E)-(3-(4-(하이드록시메틸)스티릴)페닐)카바메이트의 합성



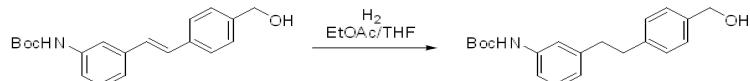
[1838]

NaBH4(0.936 g, 24.74 mmol)를 MeOH(60 mL) 및 THF(60 mL) 중 (E)-*tert*-부틸 (3-(4-포르밀스티릴)페닐)카바메이트(단계 2, 실시예 51)(4.0 g, 12.37 mmol)의 0°C 용액에 첨가하고, 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 수성 NH4Cl(20 mL)로 훈치하고, 농축하여 잔류물을 수득하였고, 이를 EtOAc(100 mL) 및 물(100 mL) 사

이에 분배하였다. 유기층을 감압 하에서 농축하고, DCM/EtOAc(10:1 내지 5:1)로 용출시키는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(3.23 g, 7.08 mmol, 57% 수율)을 담적색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t = 1.98$ 분; MS  $m/z = 348.1 [M+Na^+]$ .

[1840]

**단계 2:** *tert*-부틸 (3-(4-(하이드록시메틸)페네틸)페닐)카바메이트의 합성



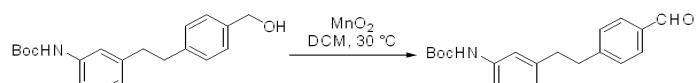
[1841]

[1842]

EtOAc(50 mL) 및 THF(50 mL) 중 Pd/C(0.657 g, 0.618 mmol) 및 (*E*)-*tert*-부틸 (3-(4-(하이드록시메틸)스티릴)페닐)카바메이트(순수) 7(3.35 g, 10.29 mmol)의 혼탁액을 수소 풍선으로 처리하고, 0°C에서 1.5시간 동안 교반하고, LCMS로 모니터링하였다. 혼합물을 여과하였다. 추가적인 Pd/C (0.657 g, 0.618 mmol)를 여액에 첨가하였다. 혼합물을 수소 분위기 하에 1시간 더 교반하였고, LCMS로 모니터링하였다. 혼합물을 여과하고, EtOAc(15 mL)로 세척하였다. 여액을 농축하여 잔류물을 제공하고, 이를 PE/EtOAc(10:1 내지 2:1)로 용출시키는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(1.2 g, 3.49 mmol, 34% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=2.0$ 분; MS  $m/z = 350.0 [M+Na^+]$ .

[1843]

**단계 3:** *tert*-부틸 (3-(4-포르밀페네틸)페닐)카바메이트의 합성



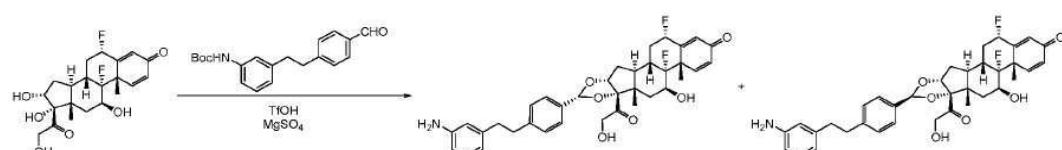
[1844]

[1845]

DCM(40 mL) 중  $MnO_2$ (9.24 g, 106 mmol) 및 *tert*-부틸 (3-(4-(하이드록시메틸)페네틸)페닐)카바메이트(2.9 g, 8.86 mmol)의 혼탁액을 질소 풍선으로 처리하고, 30°C에서 2시간 동안 교반하였고, LCMS로 모니터링하였다. 위의 혼합물에 추가적인  $MnO_2$ (0.8 g, 9.2 mmol)를 첨가하고, 1시간 더 30°C에서 교반하였다. 혼합물을 여과하고, DCM(20 mL)으로 세척하였다. 여액을 농축하여 표제 화합물(2.9 g, 8.58 mmol, 97% 수율)을 황색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=2.14$ 분; MS  $m/z = 226.0 [M-Boc]^+$ .  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H), 7.71 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.25 (s, 2H), 7.19 - 6.97 (m, 3H), 6.73 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 2.98 - 2.87 (m, 2H), 2.86 - 2.78 (m, 2H), 1.44 (s, 9H).

[1846]

**단계 4:** (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노페네틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1847]

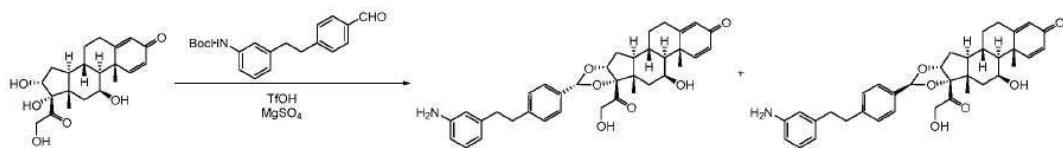
[1848]

트리플루오로메탄설�onium(5.61 mL, 64.2 mmol)을 \_\_\_ 하에 무수 MeCN(30 mL) 및 THF(30 mL) 중의 *tert*-부틸 (3-(4-포르밀페네틸)페닐)카바메이트(4.18 g, 12.85 mmol) 및 (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-디플루오로-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트レン-3-온(5.3 g, 12.85 mmol)의 교반된 0°C 혼탁액에 점적 첨가하였다. 그에 따른 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 다음, 염음물(20 mL)에 따라 끓고, EtOAc로 추출하였다(2 x 25 mL). 합한 유기층을 냉각된 물(20 mL), 염수(10 mL), 포화 수성  $NaHCO_3$ (20 mL) 및 물(20 mL)로 세척하고, 진공에서 농축하여 황색 고체를 수득하였다. 이 미정제 물질을 디클로로메탄/메탄올(100% 내지 40:1)로 용출시키는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(200 내지 300 메쉬)로 정제하여 생성물을 수득하였고, 이를 분취 HPLC로 더 정제하여 표제 화합물(2.21 g, 3.57 mmol, 28% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t=1.75$ 분; MS  $m/z = 619.8 [M+H]^+$ .  $^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  7.34 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.27 (t,  $J = 8.0$  Hz, 3H), 6.89 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.36 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 6.31 (dd,  $J = 10.2, 1.8$  Hz, 1H), 6.14 (s,

1H), 5.75 – 5.56 (m, 1H), 5.54 (d,  $J$  = 2.9 Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.12 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 4.95 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.53 (dd,  $J$  = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.21 (dd,  $J$  = 19.4, 5.6 Hz, 2H), 2.83–2.79 (m, 2H), 2.73 – 2.57 (m, 3H), 2.275–2.25 (m, 2H), 2.08–2.04 (m, 1H), 1.79 – 1.62 (m, 3H), 1.67–1.50 (m, 4H), 0.87 (s, 3H).

[1849] 소수 아세탈 이성질체인 ( $2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS$ )-10-(4-(3-아미노페네틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온(0.45 g, 0.667 mmol, 5% 수율) 또한, 백색 고체로서 분리되었다. LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$ =1.79분; MS m/z = 619.8 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.33–7.17 (m, 5H), 6.89 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 6.46 – 6.27 (m, 4H), 6.12 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 5.75 – 5.55 (m, 1H), 5.53 (s, 1H), 5.34 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 5.06 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.31 – 4.15 (m, 2H), 4.05 (dd,  $J$  = 19.2, 5.6 Hz, 1H), 2.83–2.79 (m, 2H), 2.72 – 2.54 (m, 3H), 2.29 (s, 1H), 2.21–2.13 (m, 1H), 2.09–2.05 (m, 1H), 1.93 – 1.81 (m, 1H), 1.79 – 1.60 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 0.88 (s, 3H).

[1850] 실시예 55: ( $6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS$ )-10-(4-(3-아미노페네틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1851]

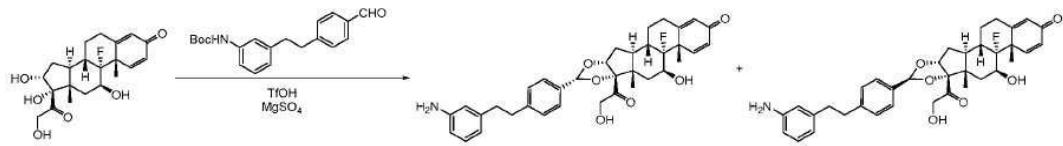
[1852] 위의 실시예 54와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$ =1.74 분; MS m/z = 583.8 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.34 (dd,  $J$  = 16.7, 9.1 Hz, 3H), 7.24 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 6.89 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.36 (dd,  $J$  = 7.7, 1.6 Hz, 2H), 6.17 (dd,  $J$  = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.11 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 4.93 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 3H), 4.81 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H), 4.52 (dd,  $J$  = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.30 (s, 1H), 4.19 (dd,  $J$  = 19.5, 5.6 Hz, 1H), 2.87 – 2.77 (m, 2H), 2.73 – 2.64 (m, 2H), 2.62 – 2.52 (m, 1H), 2.32 (d,  $J$  = 11.0 Hz, 1H), 2.18 – 1.98 (m, 2H), 1.83 – 1.58 (m, 5H), 1.40 (s, 3H), 1.24 – 0.97 (m, 2H), 0.87 (s, 3H).

[1853]

소수 아세탈 이성질체, ( $6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS$ )-10-(4-(3-아미노페네틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온: LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$  = 1.77분; MS m/z = 583.9 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.32 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 7.19 (q,  $J$  = 8.2 Hz, 4H), 6.89 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 6.44 – 6.29 (m, 3H), 6.17 (dd,  $J$  = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.29 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 5.03 (t,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.78 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 1H), 4.34 – 4.19 (m, 2H), 4.02 (dd,  $J$  = 19.2, 5.9 Hz, 1H), 2.81 (dd,  $J$  = 9.5, 6.1 Hz, 2H), 2.68 (dd,  $J$  = 9.6, 6.0 Hz, 2H), 2.61 – 2.52 (m, 1H), 2.32 (d,  $J$  = 10.4 Hz, 1H), 2.03 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 1.91 – 1.67 (m, 5H), 1.39 (s, 3H), 1.27 – 1.01 (m, 2H), 0.89 (s, 3H).

[1854]

실시예 56: ( $6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS$ )-10-(4-(3-아미노페네틸)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1855]

[1856] 위의 실시예 54와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: LCMS(방법 d, 표 7)  $R_t$ =1.74 분;

MS m/z = 601.9 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.32 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.26 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 6.89 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.36 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 6.24 (dd, J = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.45 (s, 2H), 5.10 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.97 – 4.85 (m, 3H), 4.52 (dd, J = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.20 (dd, J = 19.2, 5.6 Hz, 2H), 2.85 – 2.76 (m, 2H), 2.72 – 2.54 (m, 3H), 2.36 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 2.20–2.18 (m, 1H), 2.04 (s, 1H), 1.91 – 1.80 (m, 1H), 1.73 – 1.61 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.40–1.38 (m, 1H), 0.87 (s, 3H).

[1857] 소수 아세틸 이성질체, (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노페닐)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온: LCMS(방법 d, 표 7) R<sub>t</sub>=1.77분; MS m/z = 601.9 [M+H<sup>+</sup>].

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.35 – 7.13 (m, 5H), 6.89 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 6.36 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.24 (dd, J = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 6.06 (d, J = 13.8 Hz, 2H), 5.44 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 5.33 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.04 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.91 (s, 2H), 4.27–4.21 (m, 2H), 4.04 (dd, J = 19.2, 5.9 Hz, 1H), 2.85 – 2.76 (m, 2H), 2.70–2.66 (m, 3H), 2.37–2.35 (m, 2H), 2.07–2.06 (m, 2H), 1.84 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 1.71 (t, J = 10.3 Hz, 2H), 1.50 (s, 4H), 0.90 (s, 3H).

[1858] 실시예 57: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1859] 단계 1: tert-부틸 (3-((4-포르밀페닐)아미노)페닐)카바메이트의 합성

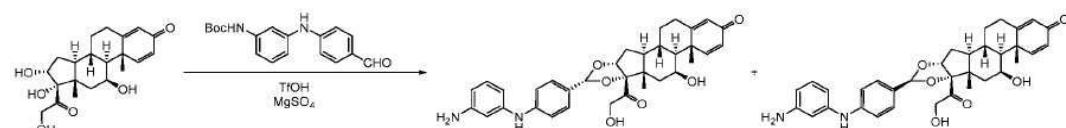


[1860]

tert-부틸 (3-아미노페닐)카바메이트(31.2 g, 150 mmol), 4-브로모벤즈알데히드(33.3 g, 180 mmol), Pd(OAc)<sub>2</sub>(1.684 g, 7.50 mmol), BINAP((RS)2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-비나프틸)(9.34 g, 15.00 mmol), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(98 g, 300 mmol)의 혼합물을 16시간 동안 질소 하에 톨루엔(300 mL) 중에서 환류시켰다. 실온까지 냉각한 후, 혼합물을 물과 EtOAc 사이에 분배하였다. 유기층을 농축하고, PE:EtOAc (5:1)로 용출시키는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(32.8 g, 105 mmol, 70% 수율)을 황색 오일로서 제공하였다. LCMS(방법 j, 표 7) R<sub>t</sub>=1.94분; MS m/z = 313 [M+H<sup>+</sup>].

[1862]

단계 2: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



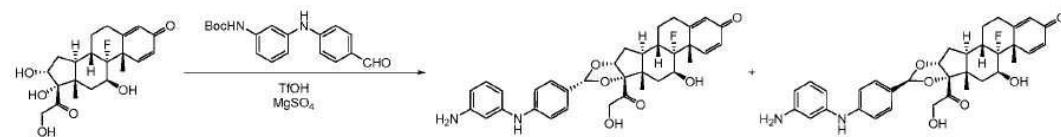
[1863]

트리플루오로메탄설�onium(14.21 mL, 160 mmol)을 THF(50.00 mL) 및 MeCN(50 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(12.05 g, 32.0 mmol) 및 tert-부틸 (3-((4-포르밀페닐)아미노)페닐)카바메이트(10 g, 32.0 mmol)의 0°C 혼탁액에 점적 첨가하였다. 반응 혼합물을 동일한 온도에서 2시간 더 교반하였다. 혼합물을 EtOAc(200 mL)로 희석하고, 물(100 mL), 포화 NaHCO<sub>3</sub> 용액(1x 100 mL) 및 염수(1x100 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 진공에서 농축하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(MeOH:DCM=1:40)로 정제하고, 그에 따른 물질을 분취 HPLC로 더 정제하여 표제 화합물(1.729 g, 3.03 mmol, 10% 수율)을 백색 고체로 수득하였다. LCMS(방법 k, 표 7) R<sub>t</sub>=1.50분; MS m/z = 571 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.01 (s, 1H), 7.33 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.00 (d, J = 8.5

Hz, 2H), 6.87 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.10 (s, 1H), 5.02 – 4.87 (m, 3H), 4.80 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 1H), 4.51 (d,  $J$  = 16.4 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.20 (d,  $J$  = 17.8 Hz, 1H), 2.62 – 2.52 (m, 1H), 2.32 (d,  $J$  = 11.0 Hz, 1H), 2.20 – 1.98 (m, 2H), 1.86 – 1.69 (m, 4H), 1.69 – 1.55 (m, 1H), 1.41 (s, 3H), 1.18 – 0.97 (m, 2H), 0.87 (s, 3H).

[1865] 소수 아세탈 이성질체, 백색 고체로서 (6aR, 6bS, 7S, 8aS, 8bS, 10S, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-1, 2, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-4H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4-온(78 mg, 0.137 mmol, 0.4% 수율). LCMS(방법 k, 표 7)  $R_t$ =1.53 분; MS m/z = 571[M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.00 (s, 1H), 7.32 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 7.07 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 6.96 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 6.87 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.24 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.17 (d,  $J$  = 10.0 Hz, 1H), 6.10 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.27 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 1H), 5.02 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.78 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 1H), 4.30 (s, 2H), 4.03 (dd,  $J$  = 19.1, 5.8 Hz, 1H), 2.65 – 2.52 (m, 1H), 2.32 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 2.14 – 1.95 (m, 2H), 1.89 – 1.63 (m, 5H), 1.39 (s, 3H), 1.28 – 1.11 (m, 1H), 1.05 (d,  $J$  = 10.7 Hz, 1H), 0.89 (s, 3H).

[1866] 실시예 58: (6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-1, 2, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-4H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4-온의 합성

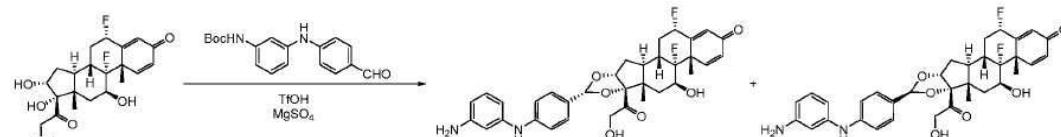


[1867]

[1868] 위의 실시예 57와 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: LCMS(방법 k, 표 7)  $R_t$ =1.49 분; MS m/z = 589 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.02 (s, 1H), 7.30 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 7.23 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 6.99 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 6.87 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.31 – 6.16 (m, 2H), 6.10 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.45 (d,  $J$  = 2.6 Hz, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.11 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.91 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 4.51 (dd,  $J$  = 19.5, 6.3 Hz, 1H), 4.20 (dd,  $J$  = 19.2, 5.5 Hz, 2H), 2.74 – 2.58 (m, 1H), 2.36 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 1H), 2.27 – 2.13 (m, 1H), 2.06 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 2H), 1.93 – 1.78 (m, 1H), 1.78 – 1.57 (m, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.42 (dd,  $J$  = 12.4, 4.5 Hz, 1H), 0.87 (s, 3H).

[1869] 소수 아세탈 이성질체, (6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10S, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-6b-플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-1, 2, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-4H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4-온: LCMS(방법 k, 표 7)  $R_t$ =1.50 분; MS m/z = 589 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.01 (s, 1H), 7.29 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H), 7.08 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 6.97 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 6.87 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.24 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.10 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 6.02 (d,  $J$  = 18.4 Hz, 2H), 5.44 (s, 1H), 5.30 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H), 4.97 (s, 3H), 4.30 (d,  $J$  = 19.1 Hz, 1H), 4.19 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 4.05 (d,  $J$  = 19.1 Hz, 1H), 2.78 – 2.56 (m, 1H), 2.36 (d,  $J$  = 13.3 Hz, 1H), 2.06 (d,  $J$  = 10.7 Hz, 2H), 1.83 (dd,  $J$  = 16.3, 10.0 Hz, 2H), 1.76 – 1.61 (m, 2H), 1.50 (s, 4H), 0.89 (s, 3H).

[1870] 실시예 59: (2S, 6aS, 6bR, 7S, 8aS, 8bS, 10R, 11aR, 12aS, 12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-2, 6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a, 8a-디메틸-1, 2, 6a, 6b, 7, 8, 8a, 8b, 11a, 12, 12a, 12b-도데카하이드로-4H-나프토[2', 1':4, 5]인데노[1, 2-d][1, 3]디옥솔-4-온의 합성



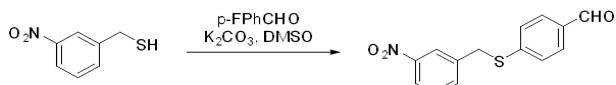
[1871]

[1872] 위의 실시예 57과 동일한 절차를 이용하여 합성하였다. 주요 아세탈 이성질체: LCMS(방법 1, 표 7)  $R_t=1.62$  분; MS m/z = 607 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.02 (s, 1H), 7.25 (dd,  $J$  = 18.2, 9.4 Hz, 3H), 6.99 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.87 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.36 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 6.30 (dd,  $J$  = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 6.25 – 6.19 (m, 1H), 6.14 (s, 1H), 6.09 (dd,  $J$  = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 5.77 – 5.55 (m, 1H), 5.53 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.11 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.92 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 4.51 (dd,  $J$  = 19.5, 6.4 Hz, 1H), 4.21 (dd,  $J$  = 19.3, 5.6 Hz, 2H), 2.76 – 2.53 (m, 1H), 2.28 (dd,  $J$  = 12.6, 5.9 Hz, 2H), 2.06 (d,  $J$  = 12.0 Hz, 3H), 1.70 (dt,  $J$  = 20.2, 6.0 Hz, 3H), 1.60 – 1.40 (m, 4H), 0.86 (s, 3H).

[1873] 소수 아세탈 이성질체, (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노페닐)아미노)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온: LCMS(방법 1, 표 7)  $R_t=1.65$  분; MS m/z = 607 [M+H<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  8.01 (s, 1H), 7.27 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 1H), 7.09 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 6.97 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 6.88 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 6.41 – 6.19 (m, 3H), 6.20 – 6.07 (m, 2H), 6.03 (s, 1H), 5.65 (d,  $J$  = 46.4 Hz, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.32 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.32 (dd,  $J$  = 19.1, 5.3 Hz, 1H), 4.19 (s, 1H), 4.06 (dd,  $J$  = 18.7, 4.8 Hz, 1H), 2.59 (d,  $J$  = 13.8 Hz, 1H), 2.29 (s, 1H), 2.17 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 2.07 (s, 1H), 1.87 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 1.69 (dd,  $J$  = 23.7, 12.4 Hz, 3H), 1.50 (s, 4H), 0.89 (s, 3H).

[1874] 실시예 60: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)티오)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

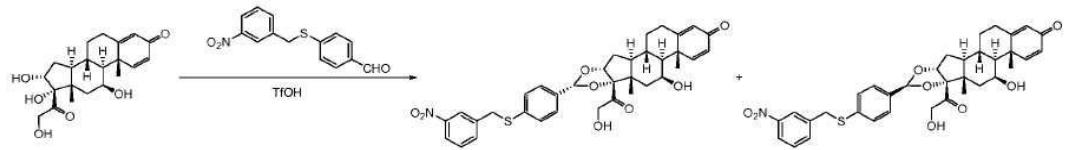
[1875] 단계 1: 4-((3-니트로벤질)티오)벤즈알데히드의 합성



[1876]

[1877] 건조 디메틸 셀록사이드(220 mL) 중 (3-니트로페닐)메탄티올(35 g, 282 mmol) 및 4-플루오로벤즈알데히드(52.5 g, 310 mmol)의 용액에 탄산칼륨(78 g, 564 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 100°C까지 4시간 동안 가열하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 하나 더 설치하였다. 두 개의 반응물을 합하고, 물(2 L)로 희석한 다음, EtOAc(3 × 600 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 농축하여 잔류물을 제공하고, 이를 (PE/EtOAc = 20/1에서 5/1까지로 용출시킨) 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물(62 g, 80% 수율)을 갈색 고체로 제공하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  4.54 (s, 2 H) 7.51 (d,  $J$ =8.33 Hz, 2 H) 7.59 (s, 1 H) 7.77 (d,  $J$ =8.33 Hz, 2 H) 7.87 (d,  $J$ =7.89 Hz, 1 H) 8.05 – 8.10 (m, 1 H) 8.30 (s, 1 H) 9.87 (s, 1 H).

[1878] 단계 2: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-10-(4-((3-니트로벤질)티오)페닐)-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온



의 합성

[1879] 트리플루오로메탄설폰산(21.23 mL, 239 mmol)을 MeCN(500 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(9 g, 23.91 mmol) 및 4-((3-니트로벤질)티오)벤즈알데히드(7.19 g, 26.3 mmol)의 0°C 용액에 점적 첨가하였다. 반응물을 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. 위에 기술된 바와 같이 바이알을 두 개 더 설치하였다. 세 개의 반응물 모두를 합하여 물(2 L)에 따라 부었다. 그에 따른 혼합물을 EtOAc(3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 농축하여 잔류물을 제공하고, 이를 분취 HPLC로 정제하여 표제 화합물(5.57 g, 16% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 n 표 7):  $R_t=3.20$

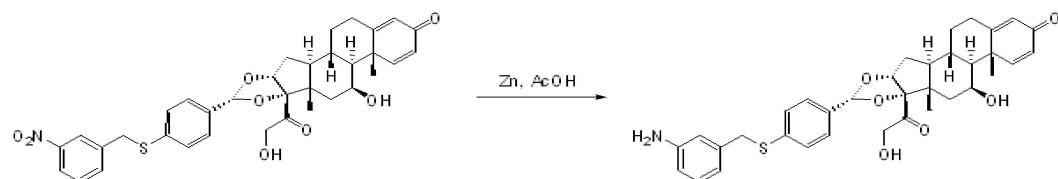
분;  $m/z = 632.0 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.84 (s, 3 H) 0.93 – 1.08 (m, 2 H) 1.37 (s, 3 H) 1.52 – 1.76 (m, 5 H) 1.94 – 2.15 (m, 2 H) 2.29 (br d,  $J=11.91$  Hz, 1 H) 2.50 – 2.58 (m, 1 H) 4.15 (dd,  $J=19.40$ , 5.51 Hz, 1 H) 4.27 (br d,  $J=2.87$  Hz, 1 H) 4.39 (s, 2 H) 4.48 (dd,  $J=19.40$ , 6.39 Hz, 1 H) 4.77 (d,  $J=3.09$  Hz, 1 H) 4.89 (d,  $J=4.63$  Hz, 1 H) 5.07 (t,  $J=5.95$  Hz, 1 H) 5.38 (s, 1 H) 5.91 (s, 1 H) 6.15 (dd,  $J=10.14$ , 1.76 Hz, 1 H) 7.25 – 7.38 (m, 5 H) 7.55 (t,  $J=7.94$  Hz, 1 H) 7.79 (d,  $J=7.72$  Hz, 1 H) 8.04 (dd,  $J=8.16$ , 1.54 Hz, 1 H) 8.19 (d,  $J=1.76$  Hz, 1 H)

[1880]

소수 아세탈 이성질체인 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-10-(4-((3-나트로벤질)티오)페닐)-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온(0.34 g, 1% 수율) 또한, 백색 고체로 수득되었다. LCMS(방법 n, 표 7):  $R_t=3.28$ 분; MS  $m/z = 631.8 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.86 (s, 3 H) 0.98 – 1.05 (m, 1 H) 1.10 – 1.21 (m, 1 H) 1.37 (s, 3 H) 1.66 – 1.88 (m, 5 H) 1.94 – 2.08 (m, 2 H) 2.29 (br dd,  $J=13.23$ , 2.87 Hz, 1 H) 2.50 – 2.56 (m, 1 H) 3.99 (dd,  $J=19.18$ , 5.95 Hz, 1 H) 4.20 (dd,  $J=19.07$ , 6.28 Hz, 1 H) 4.27 (br s, 1 H) 4.39 (s, 2 H) 4.77 (d,  $J=3.09$  Hz, 1 H) 4.99 (s, 1 H) 5.26 (d,  $J=6.84$  Hz, 1 H) 5.92 (s, 1 H) 6.04 (s, 1 H) 6.15 (dd,  $J=10.03$ , 1.87 Hz, 1 H) 7.16 (d,  $J=8.38$  Hz, 2 H) 7.26 – 7.34 (m, 3 H) 7.55 (t,  $J=7.94$  Hz, 1 H) 7.75 (d,  $J=7.72$  Hz, 1 H) 8.05 (dd,  $J=8.16$ , 1.54 Hz, 1 H) 8.21 (t,  $J=1.76$  Hz, 1 H).

[1881]

**단계 3:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-아미노벤질)티오)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1882]

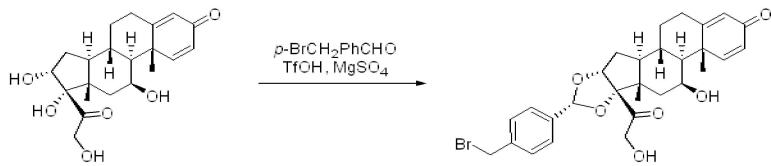
EtOAc(2 mL) 중 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-10-(4-((3-나트로벤질)티오)페닐)-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온(138 mg, 0.22 mmol), 아연(214 mg, 3.28 mmol), 및 아세트산(0.4 mL, 6.99 mmol)의 혼합물을 2시간 동안 40°C에서 교반하였다. LCMS는 원하는 아닐린 생성물로의 부분적인 전환을 보여주었다. 아연(71 mg, 1.09 mmol)을 더 첨가하고, 2시간 더 40°C에서 교반하였다. 용액을 실온까지 냉각시키고, 포화 수성  $\text{NaHCO}_3$  및 EtOAc(3x) 사이에서 분배하였다. 합한 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조하고, DCM 중 0 내지 5% MeOH로 용출시키는 크로마토그래피(실리카겔)로 정제하여 표제 화합물(64 mg, 0.106 mmol, 49% 수율)을 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t=0.77$ 분; MS  $m/z = 601.9 [M+H^+]$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.35 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.32 – 7.24 (m, 3H), 6.89 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.56 (q,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 6.47 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 6.40 (ddd,  $J = 7.6$ , 2.6, 1.4 Hz, 1H), 6.15 (dd,  $J = 10.1$ , 1.8 Hz, 1H), 5.95 – 5.89 (m, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.03 (d,  $J = 14.0$  Hz, 3H), 4.90 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 4.77 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H), 4.54 – 4.44 (m, 1H), 4.28 (s, 1H), 4.16 (d,  $J = 20.6$  Hz, 1H), 4.06 (d,  $J = 2.3$  Hz, 2H), 2.59 – 2.50 (m, 1H), 2.30 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 2.14 – 2.03 (m, 1H), 1.97 (s, 2H), 1.88 – 1.67 (m, 4H), 1.63 (td,  $J = 11.9$ , 10.4, 5.1 Hz, 1H), 1.37 (d,  $J = 1.9$  Hz, 3H), 1.10 – 0.92 (m, 2H), 0.84 (s, 3H).

[1884]

**실시예 61:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((2-아미노페리딘-4-일)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성

[1885]

**단계 1:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(브로모메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온의 합성

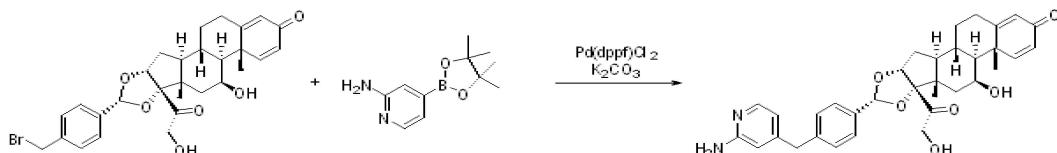


[1886]

[1887] 4-(브로모메틸)벤즈알데하이드(0.539 g, 2.71 mmol)를 MeCN(18 mL) 중 (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-트리하이드록시-17-(2-하이드록시아세틸)-10,13-디메틸-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-도데카하이드로-3H-시클로펜타[a]페난트렌-3-온(1.0738 g, 2.85 mmol), 4-(브로모메틸)벤즈알데하이드(0.539 g, 2.71 mmol) 및 MgSO<sub>4</sub>(1.33 g, 11.05 mmol)의 0°C 혼탁액에 첨가하였다. 트리플루오로메탄솔폰산(2.0 g, 13.5 mmol)을 점적 첨가하여, 온도를 7°C 미만으로 유지하였다. 반응물을 4분 동안 교반하고, 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)를 첨가하여 훈치하고, EtOAc(60 mL)로 추출하였다. 합한 유기물을 염수(10 mL)로 세척하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 5% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 표제 화합물(1.59 g, 2.85 mmol, 100% 수율)을 미색 거품(아세탈 부분입체이성질체의 9:1 혼합물)으로 제공하였다. 주요 아세탈 이성질체에 대한 특성이 제공된다: LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 1.04분; MS m/z = 559.2 [M+H]<sup>+</sup>. 1H NMR (501 MHz, DMSO-d6) δ 7.44 (s, 4H), 7.30 (dd, J = 10.1, 2.2 Hz, 1H), 6.15 (ddd, J = 10.1, 4.8, 1.9 Hz, 1H), 5.91 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.07 (s, 1H), 4.93 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.77 (dd, J = 3.6, 0.9 Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 4.51 (dd, J = 19.4, 4.1 Hz, 1H), 4.31 4.26 (m, 1H), 4.17 (d, J = 19.5 Hz, 1H), 2.58 2.49 (m, 1H), 2.30 (dd, J = 12.9, 4.7 Hz, 1H), 2.16 2.05 (m, 1H), 1.99 (d, J = 23.9 Hz, 1H), 1.89 1.71 (m, 2H), 1.75 1.65 (m, 1H), 1.67 1.57 (m, 1H), 1.38 (s, 3H), 1.11 0.91 (m, 2H), 0.85 (s, 3H).

[1888]

**단계 2:** (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((2-아미노페리딘-4-일)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온의 합성



[1889]

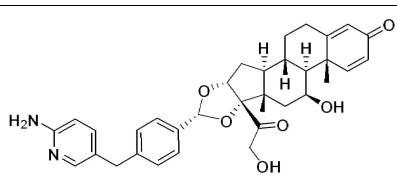
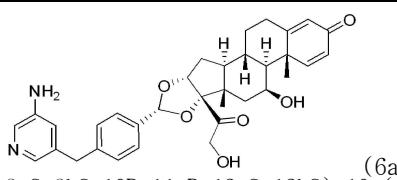
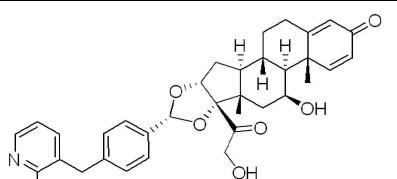
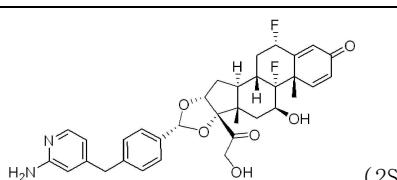
[1890] 20 mL 바이알을 탈기된 디옥산(2.0 mL)/물(0.200 mL) 용액 중 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(브로모메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(0.100 g, 0.179 mmol), 4-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보로란-2-일)페리딘-2-아민(0.039 g, 0.179 mmol), 및 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.099 g, 0.718 mmol)으로 채웠다. 혼탁액을 비우고, 건조 N<sub>2</sub>(3X)로 다시 채웠다. Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>(0.012 g, 0.016 mmol)을 첨가하고, 바이알을 다시 한번 비우고 건조 N<sub>2</sub>로 다시 채웠다. 반응 혼합물을 90°C까지 가열하였다. 1.5시간 후, 출발 물질을 소비하였다. 반응물을 실온까지 냉각되도록 하였고, EtOAc(20 mL)로 희석하고, 물(25 mL)에 이어 염수(25 mL)로 세척하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 10% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 40 g)에 의한 정제는 밝은 갈색의 고체를 제공하였다. 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 X 50 mm) 상의 역상 분취 HPLC에 의한 추가적인 정제. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 80 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20분 선형 구배 15 내지 85% A, 20 내지 25분 유지). 합한 분획을 냉동하고 동결 건조시켜 표제 화합물(27 mg, 0.047 mmol, 26% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub> = 0.90분; MS m/z = 571.3 [M+H]<sup>+</sup>. 1H NMR (501 MHz, DMSO-d6) δ 7.93 (s, 2H), 7.82 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.39 - 7.22 (m, 3H), 6.73 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.24 - 6.09 (m, 1H), 5.93 (s, 1H), 5.44 (s, 1H), 4.94 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.50 (d, J = 19.4 Hz, 1H), 4.30 (s, 1H), 4.19 (d, J = 19.4 Hz, 1H), 3.99 (s, 2H), 2.61 - 2.51 (m, 1H), 2.35 - 2.27 (m, 1H), 2.19 - 2.08 (m, 1H), 2.08 - 1.99 (m, 1H), 1.82 - 1.59 (m, 5H), 1.40 (s, 3H), 1.02 (ddd, J = 27.9, 11.7, 3.2 Hz, 2H), 0.87 (s, 3H).

[1891]

실시예 61(위)과 동일한 절차를 이용하여 다음 실시예를 합성하였다.

표 8

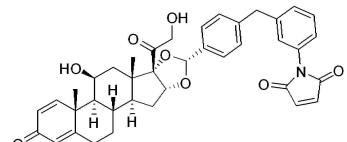
[1892]

실시예	구조 및 명칭	LCMS 및 $^1\text{H}$ NMR
62	 <p>(6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-((4-((6-아미노페리딘-3-일)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온</p>	<p>LCMS(방법 r, 표 7) <math>R_t = 0.87</math>분; MS m/z = 571.4 [M+H].</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (500 MHz, DMSO-d6) <math>\delta</math> 7.84 (d, <math>J = 2.1</math> Hz, 2H), 7.75 (dd, <math>J = 9.1, 2.1</math> Hz, 1H), 7.44 - 7.37 (m, 2H), 7.31 (d, <math>J = 10.1</math> Hz, 1H), 7.26 (d, <math>J = 8.2</math> Hz, 2H), 6.90 (d, <math>J = 9.0</math> Hz, 1H), 6.17 (dd, <math>J = 10.1, 1.9</math> Hz, 1H), 5.93 (t, <math>J = 1.6</math> Hz, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.10 (s, 1H), 4.92 (d, <math>J = 4.9</math> Hz, 1H), 4.80 (d, <math>J = 3.4</math> Hz, 1H), 4.50 (d, <math>J = 19.4</math> Hz, 1H), 4.29 (s, 1H), 4.17 (d, <math>J = 19.5</math> Hz, 1H), 3.84 (s, 2H), 2.61 - 2.52 (m, 2H), 2.31 (d, <math>J = 12.3</math> Hz, 1H), 2.13 (d, <math>J = 10.9</math> Hz, 1H), 2.08 - 1.98 (m, 1H), 1.81 - 1.58 (m, 5H), 1.40 (s, 3H), 1.00 (ddd, <math>J = 32.4, 11.7, 4.1</math> Hz, 2H), 0.86 (s, 3H).</p>
63	 <p>(6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-((4-((5-아미노페리딘-3-일)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온</p>	<p>LCMS(방법 r, 표 7) <math>R_t = 0.87</math>분; MS m/z = 571.4 [M+H].</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (400 MHz, DMSO-d6) <math>\delta</math> 7.88 (s, 1H), 7.81 (d, <math>J = 2.2</math> Hz, 1H), 7.36 (d, <math>J = 8.1</math> Hz, 2H), 7.32 - 7.18 (m, 3H), 6.10 (dd, <math>J = 10.1, 1.8</math> Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.86 (d, <math>J = 4.8</math> Hz, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.43 (d, <math>J = 19.5</math> Hz, 1H), 4.23 (s, 1H), 4.11 (d, <math>J = 19.4</math> Hz, 1H), 3.93 (s, 2H), 2.54 - 2.45 (m, 1H), 2.31 - 2.17 (m, 1H), 2.14 - 1.90 (m, 2H), 1.76 - 1.50 (m, 5H), 1.33 (s, 3H), 1.05 - 0.85 (m, 2H), 0.80 (s, 3H)</p>
64	 <p>(6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-((4-((2-아미노페리딘-3-일)메틸)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온</p>	<p>LCMS(방법 r, 표 7) <math>R_t = 0.86</math>분; MS m/z = 571.3 [M+H].</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (501 MHz, DMSO-d6) <math>\delta</math> 7.89 (s, 2H), 7.82 (d, <math>J = 6.2</math> Hz, 1H), 7.58 (d, <math>J = 6.1</math> Hz, 1H), 7.36 (d, <math>J = 8.1</math> Hz, 2H), 7.23 (dd, <math>J = 20.2, 9.1</math> Hz, 3H), 6.85 - 6.71 (m, 1H), 6.10 (d, <math>J = 11.9</math> Hz, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 4.87 (d, <math>J = 5.0</math> Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 4.44 (d, <math>J = 19.4</math> Hz, 1H), 4.23 (s, 1H), 4.12 (d, <math>J = 19.4</math> Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 2.55 - 2.45 (m, 1H), 2.24 (d, <math>J = 11.0</math> Hz, 1H), 2.05 (d, <math>J = 22.0</math> Hz, 1H), 2.01 - 1.91 (m, 1H), 1.77 - 1.49 (m, 5H), 1.33 (s, 3H), 1.04 - 0.87 (m, 2H), 0.80 (s, 3H).</p>
65	 <p>(2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-((4-((2-아미노페리딘-4-일)메틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온</p>	<p>LCMS(방법 r, 표 7) <math>R_t = 0.85</math>분; MS m/z = 607.4 [M+H].</p> <p><math>^1\text{H}</math> NMR (500 MHz, DMSO-d6) <math>\delta</math> 7.80 (d, <math>J = 6.5</math> Hz, 1H), 7.59 (s, 2H), 7.41 (d, <math>J = 8.2</math> Hz, 2H), 7.31 (d, <math>J = 7.9</math> Hz, 2H), 7.27 (d, <math>J = 10.8</math> Hz, 1H), 6.69 (d, <math>J = 6.8</math> Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.30 (dd, <math>J = 10.2, 1.9</math> Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.55 (d, <math>J = 5.8</math> Hz, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 4.96 (d, <math>J = 4.5</math> Hz, 1H), 4.26 - 4.13 (m, 2H), 3.95 (s, 2H), 2.62 - 2.53 (m, 1H), 2.35 - 2.28 (m, 1H), 2.28 - 2.18 (m, 1H), 2.09 - 1.99 (m, 1H), 1.77 - 1.66 (m, 3H), 1.50 (s, 4H), 0.87 (s, 3H).</p>

66	<p>(2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((6-아미노페리딘-3-일)메틸)페닐)-2,6b-디플루오로-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-4H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4-온</p>	<p>LCMS(방법 r, 표 7) <math>R_t=0.85</math>분; MS m/z = 607.4 [M+H].</p> <p><sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.76 (s, 1H), 7.65 (d, <math>J = 9.5</math> Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.31 (d, <math>J = 8.2</math> Hz, 2H), 7.25 – 7.15 (m, 3H), 6.79 (d, <math>J = 9.2</math> Hz, 1H), 6.23 (d, <math>J = 10.2</math> Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.69 – 5.49 (m, 1H), 5.46 (d, <math>J = 4.0</math> Hz, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.88 (d, <math>J = 4.2</math> Hz, 1H), 4.44 (d, <math>J = 19.4</math> Hz, 1H), 4.21 – 4.05 (m, 2H), 3.76 (s, 2H), 2.67 – 2.51 (m, 1H), 2.32 – 2.09 (m, 2H), 1.96 (d, <math>J = 13.1</math> Hz, 1H), 1.71 – 1.57 (m, 3H), 1.50 – 1.35 (m, 4H), 0.80 (s, 3H).</p>
----	---	--

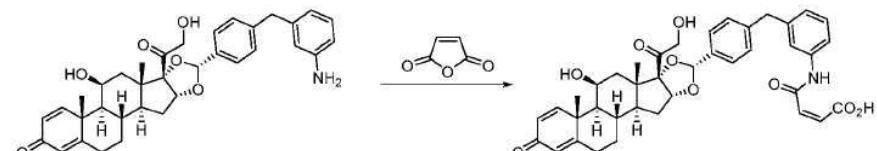
## [1893] 실시예 67:

[1894] 1-(3-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1H-페롤-2,5-디온의 합성



[1895]

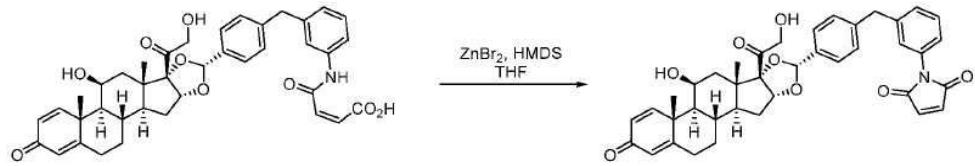
[1896] 단계 1: (Z)-4-((3-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-4-옥소부트-2-엔산의 합성



[1897]

[1898] 무수 말레산(46.5 mg, 0.474 mmol)을 THF(3.0 mL) 중 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-아미노벤질)페닐)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-4(2H)-온(239 mg, 0.420 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 75분 후, 용매를 감압 하에 제거하여 표제 화합물을 미색 거품으로 제공하였다. 이를 추가적인 정제 없이 다음 단계에 사용하였다(100% 수율이 추정되었다). LCMS(방법 o, 표 7)  $R_t=0.86$ 분; MS m/z = 668.5 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 12.99 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 7.45 7.38 (m, 2H), 7.38 7.31 (m, 2H), 7.27 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.24 7.15 (m, 3H), 6.92 (dt,  $J = 7.8, 1.3$  Hz, 1H), 6.38 (d,  $J = 12.1$  Hz, 1H), 6.25 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 6.12 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 5.89 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.88 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 4.73 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 4.46 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 4.26 (p,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 4.14 (d,  $J = 19.4$  Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 2.52 (dd,  $J = 13.6, 5.3$  Hz, 1H), 2.32 2.23 (m, 1H), 2.07 (tt,  $J = 10.8, 6.2$  Hz, 1H), 2.02 1.94 (m, 1H), 1.84 1.51 (m, 5H), 1.36 (s, 3H), 1.09 0.93 (m, 2H), 0.82 (s, 3H).

[1899] 단계 2: 1-(3-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1H-페롤-2,5-디온의 합성



**[1901]** 비스(트리메틸실릴)아민(HMDS)(63.4  $\mu$ L, 0.306 mmol)을 테트라하이드로퓨란(2.0 mL) 내 브롬화아연(75.0 mg, 0.333 mmol) 및 (*Z*)-4-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)아미노)-4-옥소부트-2-엔산(171 mg, 0.256 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 2.5시간 동안 50°C까지 가열하였다. LCMS는 불완전한 전환을 나타냈으며, 따라서 비스(트리메틸실릴)아민(HMDS) 분액(63.4  $\mu$ L, 0.306 mmol)을 더 첨가하였다. 50°C에서 추가적인 90분 후, 반응이 완료되었다. 혼합물을 실온까지 냉각하고, EtOAc(20 mL)로 희석하고, 1 N 수성 HCl(2 x 10 mL), 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>(10 mL), 염수(10 mL)로 순차적으로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 0 내지 10% MeOH/DCM의 구배로 용출시키는 크로마토그래피(실리카, 12 g)에 의한 정제는 표제 화합물(82.6 mg, 0.127 mmol, 50% 수율)을 미색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t$ =1.02분; MS m/z = 650.5 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.27 (dt, *J* = 7.8, 3.7 Hz, 3H), 7.19 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.17 7.06 (m, 4H), 7.06 7.01 (m, 3H), 6.04 (dd, *J* = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.81 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.29 (s, 1H), 4.95 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.80 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.38 (dd, *J* = 19.4, 6.4 Hz, 1H), 4.18 (t, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.06 (dd, *J* = 19.5, 5.7 Hz, 1H), 3.86 (s, 2H), 2.45 (dd, *J* = 13.5, 5.4 Hz, 1H), 2.30 2.11 (m, 1H), 2.11 1.81 (m, 1H), 1.76 1.44 (m, 4H), 1.28 (s, 3H), 1.02 0.83 (m, 2H), 0.75 (s, 3H).

**[1902]** **실시예 68:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 디하이드로겐 포스페이트의 합성

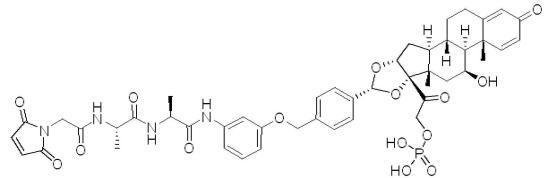


[1903]

**[1904]** 염화 디포스포릴(158 mg, 0.609 mmol)을 테트라하이드로퓨란(0.5 mL) 중 1-(3-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1H-페롤-2,5-디온(82 mg, 0.126 mmol)의 -51°C의 용액에 점적 첨가하였다. 반응물을 1시간에 걸쳐 -10°C까지 서서히 가온한 다음, -5°C에서 물로 펜치하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액으로 처리하여 pH 8의 용액을 제공하였다. EtOAc(5 mL) 처리는 우유 같은 애벌전을 제공하였다. 1 N 수성 HCl 첨가에 의한 pH 1까지의 조정은 애벌전을 개선하였다. EtOAc(4 x 5 mL)로 추출한 다음, 합한 유기물을 염수(5 mL)로 세척하고, 건조하고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 감압 하에 용매를 제거하였다. 생성물을 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm) 상의 역상 분취 HPLC에 의해 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 90 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 5.0분 15% A, 5.0 내지 20.0분 선형 구배 15 내지 95% A). 합한 분획을 냉동하고 동결 건조 시켜 표제 화합물(3.6 mg, 4.93 mmol, 4% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t$ =0.95분; MS m/z = 730.5 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (501 MHz, DMSO-d6)  $\delta$  7.38 (dt, *J* = 7.8, 3.7 Hz, 3H), 7.31 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.29 7.26 (m, 2H), 7.25 7.22 (m, 1H), 7.19 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.17 7.12 (m, 3H), 6.16 (dd, *J* = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.93 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 5.48 (s, 1H), 4.96 4.86 (m, 2H), 4.84 (s, 1H), 4.56 (dd, *J* = 18.1, 8.1 Hz, 1H), 4.30 (q, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.97 (s, 2H), 2.59 2.52 (m, 1H), 2.31 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.17 2.07 (m, 1H), 2.05 1.98 (m, 1H), 1.85 1.56 (m, 5H), 1.39 (s, 3H), 1.03 (ddd, *J* = 18.5, 11.8, 4.1 Hz, 2H), 0.88 (s, 3H).

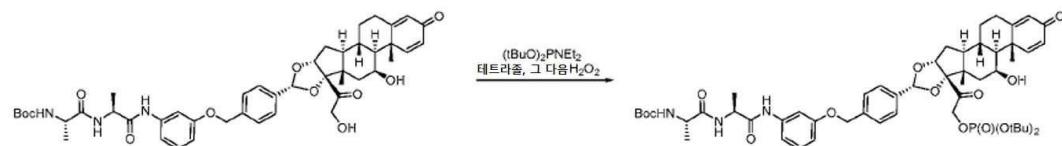
[1905]

**실시예 69:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 디하이드로겐 포스페이트의 합성



[1906]

**단계 1:** *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-((4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((C)-*tert*-부톡시포스포릴)옥시)아세틸)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)옥시)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트의 합성

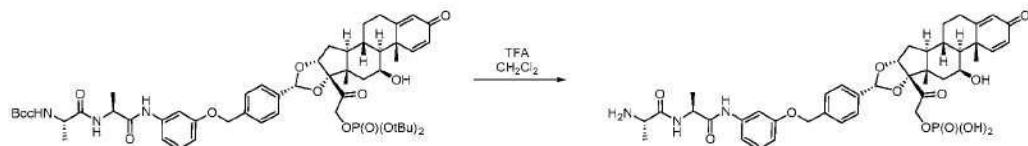


[1908]

*di-tert*-부틸 *N,N*-디에틸포스포아미다이트(0.226 mL, 0.811 mmol)를 디메틸 아세트아미드(2 mL) 중 *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-((4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)옥시)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(463mg, 0.559 mmol) 및 1H-테트라졸(MeCN 중 0.45 M, 4.97 mL, 2.237 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 4.5시간 후, 추가적인 *di-tert*-부틸 *N,N*-디에틸포스포아미다이트(0.2 mL)를 채우고, 빔새 교반을 계속하였다. 반응물을 0°C 까지 냉각하고, 물 중 30% 과산화수소 용액(0.17 mL, 1.67 mmol)을 점진 첨가하였다. 인산염으로의 산화는 1.5 이내에 완료되었다. 반응물을 0°C 까지 냉각하고, 반응물을 1 M Na2S2O3 수용액(8 mL)을 첨가하여 펜치하였다. 혼합물을 EtOAc(2 x 30 mL)로 추출하고, 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na2SO4 상에서 건조하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 용리약으로 100% EtOAc를 이용하는 크로마토그래피(실리카)에 의한 정제는 표제 화합물(366mg, 0.359 mmol, 64% 수율)을 백색 고체로 제공하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub>=1.08분; MS m/z = 1020.5 [M+H]<sup>+</sup>.

[1910]

**단계 2:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-아미노프로판아미도)프로판아미도)페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 디하이드로겐 포스페이트의 합성



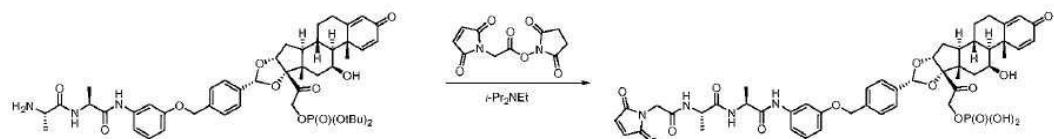
[1911]

TFA(0.95 mL)를 DCM(2 mL) 중 *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-((4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((C)-*tert*-부톡시포스포릴)옥시)아세틸)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)옥시)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(364 mg, 0.357 mmol)의 실온 용액에 첨가하였다. 반응을 2시간 이내에 완료하고, 용매를 감압 하에 제거하였다. 표제 화합물을 거품 같은 담황색 고체로 수득하였고, 이를 추가적인 정제 없이 사용하였다. LCMS(방법 r, 표 7) 주요 아세탈 이성질체: R<sub>t</sub>=0.77분; MS m/z = 808.3 [M+H]<sup>+</sup>, 소수 아세탈 이성질체: R<sub>t</sub>=0.79분; MS m/z = 808.3 [M+H]<sup>+</sup>.

[1913]

**단계 3:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 디하이드로겐 포스페이트의 합성

로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 디하이드로겐 포스페이트의 합성

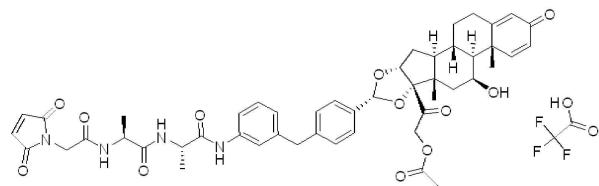


[1914]

N,N-디이소프로필에틸아민(0.37 mL, 2.12 mmol) 및 말레이이미도아세트산 N-하이드록시석신이미드 에스테르(89 mg, 0.353 mmol)를 디메틸 포름아미드(1.5 mL) 중 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-아미노프로판아미도)프로판아미도)페녹시)메틸)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 디하이드로겐 포스페이트(285mg, 0.353 mmol)의 실온 용액에 순차적으로 첨가하였고, 이를 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 DMSO로 회석하고, 페노메넥스(Phenomenex) C18(2) 10 미크론 컬럼(250 x 50 mm) 상의 분취 역상 HPLC로 정제하였다. MeCN(A) 및 물 중 0.1% TFA(B)의 구배가 30 mL/분의 유속으로 이용되었다(0 내지 3.0분 15% A, 3.0 내지 19.0분 선형 구배 15 내지 60% A, 그런 다음 19.0 내지 23.0분 85% A까지 선형 구배). 험한 분획을 농축하여 회발성 용매를 감압 하에 제거하고, 그에 따른 용액을 냉동 및 동결 건조하여 표제 화합물(93 mg, 0.098 mmol, 28% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. 주요 아세탈 이성질체: LCMS(방법 r, 표 7)  $\text{R}_t=0.83$ 분; MS  $m/z = 945.4$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ].  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.78 (s, 1H), 8.39 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 8.13 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.49 - 7.37 (m, 4H), 7.33 (t,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 7.28 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.14 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.10 - 7.05 (m, 1H), 7.03 (s, 2H), 6.64 (dd,  $J = 8.0, 2.4$  Hz, 1H), 6.13 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 5.89 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.04 (s, 2H), 4.96 - 4.85 (m, 2H), 4.81 (s, 1H), 4.55 (dd,  $J = 18.1, 8.2$  Hz, 1H), 4.38 - 4.21 (m, 3H), 4.13 - 3.98 (m, 2H), 2.53 (dd,  $J = 13.2, 5.2$  Hz, 1H), 2.28 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H), 2.09 (d,  $J = 11.2$  Hz, 1H), 2.08 - 1.95 (m, 1H), 1.70 (dd,  $J = 29.9, 25.9, 14.4, 6.4$  Hz, 5H), 1.36 (s, 3H), 1.26 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.18 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.02 (ddd,  $J = 14.7, 11.6, 4.0$  Hz, 2H), 0.86 (s, 3H).

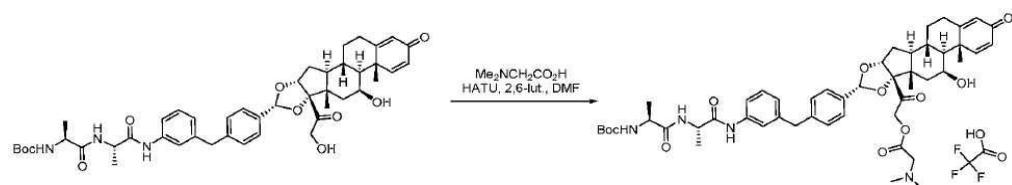
[1916]

**실시예 70:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 2-(디메틸아미노)아세테이트 2,2,2-트리플루오로아세테이트의 합성



[1917]

**단계 1:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 2-(디메틸아미노)아세테이트 2,2,2-트리플루오로아세테이트의 합성

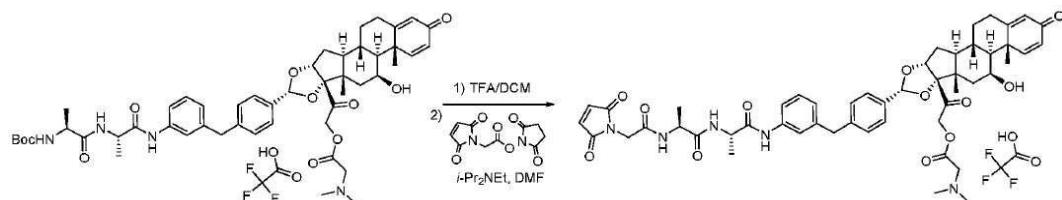


[1919]

무수  $N,N$ -디메틸포름아미드(2.0 mL) 중  $tert$ -부틸 ((2S)-1-(((2S)-1-((3-(4-((6aR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-

일)벤질)페닐)아미노)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(실시예 10, 단계 1에서와 동일한 방식으로 제조됨)(78 mg, 0.096 mmol), 2-(디메틸아미노)아세트산(10.9 mg, 0.106 mmol) 및 2,6-디메틸파리딘(0.022 mL, 0.192 mmol)의 용액에 HATU(43.8 mg, 0.115 mmol)를 첨가하고, 그에 따른 용액을 실온에서 45분 동안 교반하였다. 미정제 생성물을 0.1 M 수성 TFA 중 5 내지 95% MeCN의 용매 구배로 용리시키는 C18 HPLC로 정제하였다. 순수한 생성물을 함유하는 분획을 동결 건조에 의해 농축하여 표제 화합물(82 mg, 89% 수율)을 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t=0.80$ 분; MS  $m/z = 898.2 [M+H]^+$ .

[1921] 단계 2: 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 2-(디메틸아미노)아세테이트 2,2,2-트리플루오로아세테이트의 합성



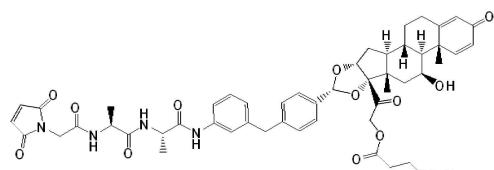
[1922]

[1923] DCM(4 mL) 및 TFA(1 mL) 중 2-((6aR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 2-(디메틸아미노)아세테이트(82 mg, 0.074 mmol)의 용액을 실온에서 20분 동안 교반한 다음, 진공에서 농축하였다. 무수  $N,N$ -디메틸포름아미드(1 mL) 중 이 화합물의 용액에 Hunig 염기(0.20 mL, 1.15 mmol) 및 2,5-디옥소페리딘-1-일 2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세테이트(27.8 mg, 0.11 mmol)를 첨가하였다. 그에 따른 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하고, TFA(0.106 mL, 1.376 mmol)를 첨가하였다. 미정제 생성물을 0.1 M 수성 TFA 중 5 내지 95% MeCN의 용매 구배로 용리시키는 C18 HPLC로 정제하였다. 순수한 생성물을 함유하는 분획을 동결 건조에 의해 농축하여 표제 화합물을 무색의 고체(46 mg, 0.0439 mmol, 59% 수율)로서 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7) 주요 아세탈 이성질체  $R_t=0.82$ 분, MS  $m/z = 934 [M+H]^+$ ; 소수 아세탈 이성질체

$R_t=0.81$ 분, MS  $m/z = 934 [M+H]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (501 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.12 (s, 2H), 9.75 (s, 1H), 8.40 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.11 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.45 - 7.42 (m, 1H), 7.38 (dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 7.22 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.17 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.89 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.50 (s, 1H), 6.15 (dd,  $J = 10.1, 1.9$  Hz, 1H), 5.93 - 5.90 (m, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.30 (d,  $J = 17.7$  Hz, 1H), 5.00 (d,  $J = 17.7$  Hz, 1H), 4.86 (t,  $J = 5.0$  Hz, 2H), 4.36 - 4.25 (m, 4H), 4.12 - 4.02 (m, 2H), 3.87 (s, 1H), 2.82 (s, 3H), 2.56 - 2.51 (m, 1H), 2.50 (s, OH), 2.50 (d,  $J = 1.8$  Hz, OH), 2.33 - 2.26 (m, 2H), 2.15 - 2.06 (m, 2H), 2.04 - 1.97 (m, 2H), 1.84 - 1.80 (m, 1H), 1.77 - 1.60 (m, 4H), 1.37 (s, 3H), 1.26 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.19 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.10 - 0.98 (m, 3H), 0.89 (s, 3H).

[1924] 실시예 71:

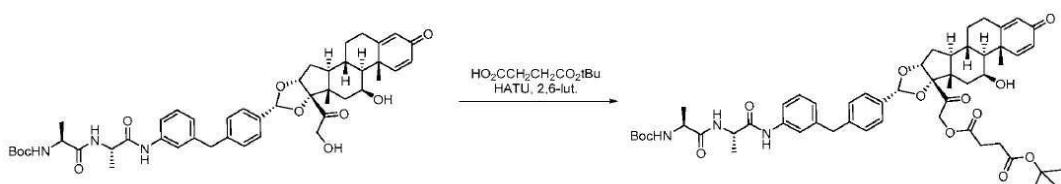
[1925] 4-(2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에톡시)-4-옥소부탄산의 합성



[1926]

[1927] 단계 1: 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-

2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 *tert*-부틸 석시네이트의 합성

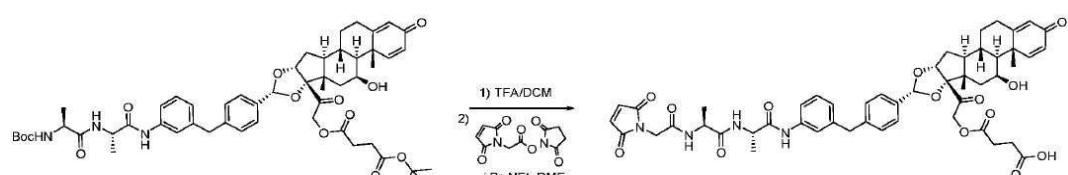


[1928]

[1929] 2-(디메틸아미노)아세트산 대신 4-(*tert*-부톡시)-4-옥소부탄산으로 치환하여 실시예 70에 대해 기술된 방법을 이용하여 표제 화합물을 제조하였다. LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub>=1.03분; MS m/z = 968 [M+H]<sup>+</sup>.

[1930]

**단계 2:** 4-(2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에톡시)-4-옥소부탄산의 합성

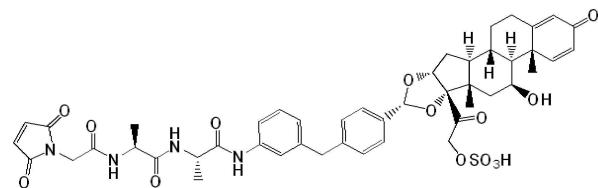


[1931]

[1932] 표제 화합물을 실시예 69의 단계 2에 기술된 방법을 이용하여 제조하였다. 그것을 무색의 고체로 분리하였다(49 mg, 43%). LCMS(방법 r, 표 7) R<sub>t</sub>=0.88분; MS m/z = 948.9 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.23 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 8.37 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.42 - 7.33 (m, 3H), 7.31 - 7.25 (m, 1H), 7.17 (dd, J = 20.7, 7.9 Hz, 3H), 6.90 - 6.84 (m, 1H), 6.15 - 6.09 (m, 1H), 5.90 - 5.87 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.07 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 4.86 - 4.79 (m, 2H), 4.37 - 4.23 (m, 3H), 4.12 - 3.98 (m, 2H), 3.85 (s, 2H), 2.65 - 2.58 (m, 2H), 2.52 - 2.47 (m, 2H), 2.32 - 2.24 (m, 2H), 2.09 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 2.02 - 1.94 (m, 2H), 1.85 - 1.56 (m, 6H), 1.36 (s, 3H), 1.24 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 1.17 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 1.10 - 0.95 (m, 3H), 0.85 (s, 3H).

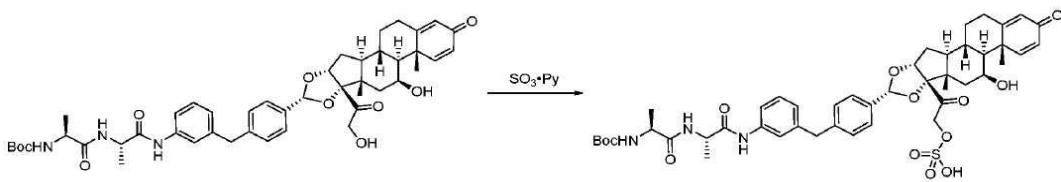
[1933] 실시예 72:

[1934] 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 하이드로겐 설페이트의 합성



[1935]

[1936] **단계 1:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 하이드로겐 설페이트의 합성

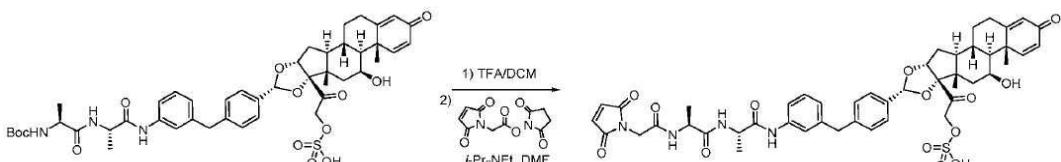


[1937]

[1938] MeCN(2 mL) 중 실시예 10, 단계 1과 비슷한 방식으로 제조된 *tert*-부틸 ((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-하이드록시-8b-(2-하이드록시아세틸)-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-10-일)벤질)페닐)-1-옥소프로판-2-일)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트(53 mg, 0.065 mmol)의 용액에 피리딘 황 삼산화물 복합체(42 mg, 0.26 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 미정제 생성물을 0.1 M 수성 TFA 중 5 내지 95% MeCN의 용매 구배로 용리시키는 C18 HPLC로 정제하였다. 순수한 생성물을 함유하는 분획을 동결 건조에 의해 농축하여 표제 화합물을 수득하였다. LCMS(방법 r, 표 7)  $R_t$ =0.83분; MS m/z = 892.0 [M+H]<sup>+</sup>.

[1939]

**단계 2:** 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-페롤-1-일)아세트아미도)프로판아미도)프로판아미도)벤질)페닐)-7-하이드록시-6a,8a-디메틸-4-옥소-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-도데카하이드로-1H-나프토[2',1':4,5]인데노[1,2-d][1,3]디옥솔-8b-일)-2-옥소에틸 하이드로겐 설페이트의 합성



[1940]

[1941] 표제 화합물을 실시예 69의 단계 2에 기술된 방법을 이용하여 제조하였다. 그것을 무색의 고체로 분리하였다(27 mg, 28% 수율). LCMS 방법 r, 표 7)  $R_t$ =0.77분; MS m/z = 928.9 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.75 (s, 1H), 8.37 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.40 – 7.32 (m, 2H), 7.33 – 7.29 (m, 1H), 7.27 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.23 – 7.12 (m, 3H), 7.04 (s, 1H), 6.93 – 6.83 (m, 2H), 6.12 (dd, *J* = 10.1, 1.9 Hz, 1H), 5.91 – 5.86 (m, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.87 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.74 (d, *J* = 18.3 Hz, 1H), 4.45 (d, *J* = 18.3 Hz, 1H), 4.36 – 4.24 (m, 3H), 4.11 – 3.99 (m, 2H), 3.86 (s, 2H), 2.58 – 2.48 (m, 1H), 2.32 – 2.22 (m, 1H), 2.08 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 1.98 (s, 1H), 1.77 (s, 2H), 1.75 – 1.56 (m, 4H), 1.36 (s, 3H), 1.24 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.17 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.10 – 0.95 (m, 2H), 0.83 (s, 3H).

[1942]

실시예 73: 접합 프로토콜

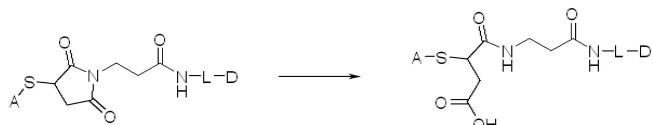
[1943]

일반적인 시스테인 접합 프로토콜

[1944]

원하는 항체의 대략 10 mg/mL 용액을 PBS 완충액, pH 7.4에 제조하고, 10 mM TCEP 용액을 PBS에 제조하였다 (Pierce Bond-Breaker, cat. 77720). 그런 다음, 10 mM TCEP를 대략 2몰 당량을 첨가하고, 잠시 혼합하고, 37 °C에서 60분 동안 인큐베이션 하여 항체(항-hTNF hIgG1(D2E7) 또는 항-mTNF mIgG2a(8C11; McRae BL et al. *J Crohns Colitis* 10 (1): 69-76 (2016))를 부분적으로 활성화시켰다. 그런 다음, DMSO를 부분 활성화된 항체에 충분한 양으로 첨가하여 15% 총 DMSO가 되도록 하였다. 그런 다음, 접합을 위해, 8몰 당량의 10 mM D-L-말레이미드 용액(이때, SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고, L은 링커임)을 첨가하고, 실온에서 30분 동안 인큐베이션 하였다. 그런 다음, PBS 완충액, pH 7.4으로 사전에 평형화한 NAP-5 탈염 컬럼(GE Healthcare, cat. 17-0853-02)을 이용하여 과량의 콤보 및 DMSO를 제거하였다. 그런 다음, 탈염 샘플을 크기 배제 크로마토그래피 (SEC), 소수성 상호 작용 크로마토그래피(HIC) 및 활성 질량 분광분석법으로 분석하였다.

[1945] 티오석신이미드 가수분해



[1946]

[1947] ADC를 상승된 pH에서 인큐베이션 함으로써 본 발명의 ADC의 티오석신이미드 고리의 가수분해를 달성하였다. 간략하게는, 0.7 M 아르기닌, pH 9.0 용액을 제조하고, PBS 완충액 중 각각의 ADC에 첨가하여 총 아르기닌 농도를 50 mM(pH 약 8.9)이 되게 하였다. 그런 다음, 이 물질을 25°C에서 인큐베이션 하였다. 그런 다음, 석신이미드 고리의 가수분해를 환원 질량 분광분석법으로 확인하였고, 그 후, 12.5 mM 총 아세트산(pH 약 7.1)까지 0.1 M 아세트산 용액을 첨가하여 가수분해를 멘치하였다.

[1948] 일반적인 리신 접합 프로토콜

[1949] 원하는 항체의 대략 10 mg/mL 용액을 처음에는 PBS 완충액, pH 7.4에 제조하였다. 그런 다음, 8몰 당량의 D-L-N-하이드록시석신이미드(이때, SM은 글루코코르티코스테로이드의 라디칼이고, L은 링커임)를 항체에 첨가하고, 15% DMSO의 존재 하에 23°C에서 최대 24시간까지 인큐베이션 하였다. 그런 다음, 접합된 샘플을 탈염하여 PBS 완충액, pH 7.4으로 평형화한 NAP-5 탈염 컬럼(GE Healthcare, cat. 17-0853-02)을 이용하여 과잉의 콤보 및 DMSO를 제거하였다. 그런 다음, 탈염 샘플을 크기 배제 크로마토그래피(SEC), 소수성 상호 작용 크로마토그래피(HIC) 및 환원 질량 분광분석법으로 분석하였다.

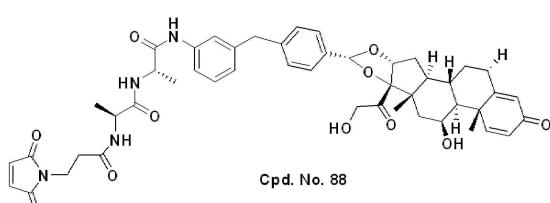
[1950] ADC 분석 절차

[1951] 소수성 상호 작용 크로마토그래피. 소수성 상호 작용 크로마토그래피(HIC)에 의해 ADC를 프로파일링하여 접합도를 결정하고 대략적인 약물 대 항체 약물 비율(drug to antibody drug ratio, DAR)을 계산하였다. 간략히 설명하면, 100 µg의 ADC를 4.6 X 35 mm 부틸-NPR 컬럼(Tosoh Bioscience, cat. 14947)을 갖춘 얼티밋(Ultimate) 3000 듀얼 LC 시스템(Thermo Scientific) 상에 로딩하였다. ADC를 100% 완충액 A로 평형화한 컬럼 상에 로딩하고, 0.8 mL/분으로 12분에 걸쳐 100% 완충액 A로부터 100% 완충액 B까지의 선형 구배를 이용하여 용리시켰다. 이때, 완충액 A는 25 mM 인산염 나트륨, 1.5 M 황산 암모늄, pH 7.25 이고, 완충액 B는 25 mM 인산염 나트륨, 20% 이소프로판올, pH 7.25이다. DAR은 상응하는 약물 부하(drug load)를 곱한 각 피크의 퍼센트 면적의 총 합을 구하고, 평가된 합을 100으로 나누어 결정하였다.

[1952] 크기 배제 크로마토그래피. 7.8 X 300 mm TSK-gel 3000SW<sub>XL</sub> 컬럼(Tosoh Bioscience, cat. 08541)을 갖춘 얼티밋 3000 듀얼 LC 시스템(Thermo Scientific)을 이용하여 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 ADC의 크기 분포를 프로파일링하였다. 각 ADC 20 µg을 컬럼에 로딩하고, 100 mM 황산나트륨, 1 mL/분, 100 mM 인산나트륨, pH 6.8, 0.8 mL/분의 등용매 구배를 이용하여 17분에 걸쳐 용리시켰다.

[1953] 실시예 74: ADC 제공을 위한 글루코코르티코스테로이드와 접합된 아달리무맙의 제조

[1954] 평균 DAR 3.5를 갖는 아달리무맙 MP-ala-ala 스테로이드 ADC를 2단계의 화학 공정으로 제조하였다: 아달리무맙의 이황화 환원 및 뒤이은 말레이이미도프로필 알라닌-알라닌 스테로이드 화합물 번호 88로의 알킬화(접합).



[1955]

[1956] 첫 번째 단계에서, 아달리무맙의 제한된 수의 쇄간 이황화 결합이 트리스(2-카르복시에틸) 포스핀("TCEP")( $\geq$  1.8당량)으로 환원된다. 그런 다음, 부분적으로 환원된 아달리무맙이 DMSO 중 화합물 번호 88( $\geq$  5당량)에 접합된다.

[1957]

그에 따른 ADC 제제의 크로마토그래피 분해능을 보여주는 도 5를 참조하면, ADC는 환원된 쇄간 이황화 결합의 수에 따라 0개의 약물 링커 분자가 부착된 항체("E0" 피크), 두 개의 약물 링커 분자가 부착된 항체("E2" 피크), 네 개의 약물 링커 분자가 부착된 항체("E4" 피크), 여섯 개의 약물 링커 분자가 부착된 항체("E6" 피크)

및 여덟 개의 약물 링커 분자가 부착된 항체("E8" 피크)를 함유하는 불균질 혼합물이다. 균질 E2 및 E4 피크를 크로마토그래피로 분리하고 단리하는 방법은 문헌[Hamblett *et al.*, *Clin Cancer Res* 2004;10:7063-7070]에 기재되어 있다. 도 5에 사용된 HIC 조건은 다음과 같았다:

[1958] 컬럼은 TOSOH Tskgel 부틸-NPR, 4.6 mm x 3.5 cm, 2.5 μ였고, 컬럼 온도는 30°C였다. 파장은 280 nm였고, 실행 시간은 22분이었으며, 주입 부피는 40 μL였고, 유속은 0.5 mL/분이었다. 이동상 A: 25mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.0 and 1.5M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 이동상 B: 25mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.0/IPA =75/25. 구배 프로파일:

시간(분)	이동상 A	이동상 B
0	90	10
2	85	15
18	5	95
18.1	90	10
22	90	10

[1959]

[1960] 균질 E2 및 E4 피크를 크로마토그래피로 분리하고 단리하는 방법은 문헌[Hamblett *et al.*, *Clin Cancer Res* 2004;10:7063-7070]에 기재되어 있다. 간략히 말하자면, 가수분해 및 pH <7.4로의 조정 후, 광범위한 분포의 혼합물을 3 M 황산암모늄/50 mM 인산염 완충액으로 처리하여 황산암모늄의 전체 용액 농도를 대략 0.8 M이 되도록 하였다. 사전 충전된 소수성 상호 작용 크로마토그래피(HIC) 컬럼(수지 부틸 세파로스 HP)을 0.5 N NaOH 용액(4 CV)으로 살균하고, 주입용수(WFI, 0.5 CV)로 헹구고, 0.8 M 황산암모늄/25 mM 인산염 완충액(4 CV)으로 평형화하여 준비하였다. 광범위한 분포/황산암모늄 완충 용액을 HIC 컬럼에 로딩하고(대략적인 로딩, 수지 mL당 30 mg 단백질), 0.8 M 황산암모늄/25 mM 인산염 완충액(2.5 CV)으로 세척하였다. 생성물의 용리는 다음과 같았다: 0.72 M 황산암모늄/25 mM 인산염 완충액(3 CV), 접합되지 않은 mAb; 0.56 M 황산암모늄/25 mM 인산염 완충액(4.5 CV), DAR2 ADC; 0.32 M 황산암모늄/25 mM 인산염 완충액(6.5 CV), DAR4 ADC. 그런 다음, DAR 2 및 DAR4 생성물 분획을 한외여과(Millipore Ultracel, 30 kD 컷오프) 및 WFI(8 CV)로의 정용여과를 통해 대략 30 mg/mL 까지 따로따로 농축하였다.

[1961]

아르기닌 완충액을 이용하여 생성물 용액의 pH를 ≥ 9까지 조정함으로써, 정제된 E4 접합체의 석신이미드를 가수분해하여 안정화된 부착을 제공하였다. 용액을 ≥ 2일 동안 주위 온도에서 유지시켰고, 이 기간에 LC-MS 분석으로 가수분해가 >90% 완료되었음을 확인하였다. LC-MS 크로마토그램 일부는 도 6 참조. 도 6에 사용된 SEC 조건은 다음과 같았다:

[1962]

컬럼은 TOSOH TSK-gel G3000SW<sub>XL</sub>, 5 μ, 250Å, 7.8 x 300 mm이었고, 컬럼은 주위 온도, 파장 214 nm, 실행 시간 55분, 주입 부피 10 μL, 유속 0.25 mL/분, 오토샘플러 온도는 4°C였다. 이동상: 100 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> & 100mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 6.8 / IPA = 90/10.

[1963]

MP-ala-ala-스테로이드 화합물 번호 88과 접합된 아달리무맙의 미가공 MS 데이터(도 7) 및 디콘볼루션된 MS 데이터(도 8). 검은색의 사각형과 원형은 각각 석신이미드가 가수분해된 ADC 및 석신이미드가 가수분해되지 않은 ADC를 나타낸다. 가수분해된 ADC 및 가수분해되지 않은 ADC의 상대적인 존재도는 가수분해 전환율을 결정하는 데 사용된다.

[1964]

가수분해

[1965]

접합 후 석신이미드 고리의 가수분해를 pH 8.0, pH 8.5 및 pH 9.0의 봉산염 완충액 및 pH 8.0 및 pH 9.0의 아르기닌 완충액으로 수행하여 고리 가수분해의 비율을 연구하였다. 결과를 아래 표 9에 나타내었다.

표 9

## 석신이미드 고리 가수분해

화합물 번호	1 일 후 가수분해/% (pH)					2 일 후 가수분해/% (pH)					3 일 후 가수분해/% (pH)				
	봉산염 (8.0)	봉산염 (8.5)	봉산염 (9.0)	Arg. (8.0)	Arg. (9.0)	봉산염 (8.0)	봉산염 (8.5)	봉산염 (9.0)	Arg. (8.0)	Arg. (9.0)	봉산염 (8.0)	봉산염 (8.5)	봉산염 (9.0)	Arg. (8.0)	Arg. (9.0)
121	28	37.6	49.7	24.5	63.4	42.6	55.9	71.8	33.8	84.4	56	72.1	85.4	46.5	100
122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	38.2	49.8	64.5	29.8	75.7	56.4	71.5	88.6	42.2	100	73.6	86.2	100	58	100
126	30.5	37.7	50.3	23.5	59.3	44.5	57.1	72.2	33.4	82.4	58.7	74.9	90.3	45.8	100
127	32.2	40.8	53.9	24.6	63	46.4	60.1	75.1	33.7	84.7	61.2	77	90.3	48.5	100
128	28.6	35.6	48.4	20.7	56.9	40.8	53.6	69.9	30.1	82.5	54.9	71.5	88.9	42.6	100
129	39.1	49.6	65.7	30	76.6	57.5	71.9	88.4	42.1	100	73.9	100	100	58.7	100
130	84.3	100	100	74.4	100	100	100	100	94.2	100	100	100	100	100	100
131	28.6	35.2	49.5	23.9	55.4	40.9	51.4	67.7	29.8	79.2	53.4	68.1	85.6	41.7	100

[1966]

실시예 75: 소분자 스테로이드의 시험관 내 활성

[1968]

## 글루코코르티코이드 수용체 결합 분석법

[1969]

제조업체의 프로토콜에 따라 폴라스크린(Polarscreen™) 글루코코르티코이드 수용체 분석 키트 Red(ThermoFisher A 15898)를 이용하여 글루코코르티코이드 수용체(GR) 결합에 대해 소분자를 시험하였다. 간략히 설명하자면, 화합물을 DMSO에 단계적으로 희석한 다음, 1:10 희석으로 분석 키트 완충액으로 끓겼다. 화합물을 분석 키트 완충액에 1:5로 더 희석하고, 10  $\mu$ l를 384 웰 낮은 부피의 검은 벽으로 된 플레이트(Corning 4514)로 끓겼다. 5  $\mu$ l의 4X Fluormone GS Red 모액 및 5  $\mu$ l의 4x GR 전체 길이 모액을 시험 화합물을 함유하는 각 웰에 첨가하였고, 플레이트를 4시간 동안 실온에서 빛이 차단된 채로 인큐베이션 하였다. EnVision Multilabel Plate Reader(PerkinElmer # 2104-0010)를 이용하여 형광 편광(mP)을 측정하고, 네 개의 파라미터 곡선 맞춤을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50 값을 생성하였다. 결과를 아래 표 10에 나타내었다.

[1970]

## 미네랄코르티코이드 수용체 세포 분석법

[1971]

제조업체의 프로토콜에 따라 PathHunter® NHRPRO CHO-K1 MR 세포주(DiscoveRx cat# 93-0451C2)를 이용하여 미네랄코르티코이드 수용체(MR) 작용제 활성에 대해 소분자를 시험하였다. 간략히 설명하자면, 배양 배지 중 20,000개 세포/웰을 37°C에서 밤새 96 하프-웰 플레이트(Costar cat# 3885)에 도말하였다. 배지를 제거하고, 분석 배지에 단계적으로 희석된 소분자로 교체하였다(30  $\mu$ l; 0.3% DMSO 최종). 플레이트를 37°C에서 밤새 인큐ベ이션 하였다. 배지를 제거하고, 검출 시약(DiscoveRx cat# 93-0001; 12  $\mu$ l/웰)으로 교체하고, 실온(RT)에서 60분 동안 인큐베이션 하였다. EnVision Multilabel Plate Reader(PerkinElmer # 2104-0010)를 이용하여 발광을 측정하고, 네 개의 파라미터 곡선 맞춤을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50 값을 생성하였다. 결과를 아래 표 10에 나타내었다.

[1972]

## 프로게스테론 수용체 결합 분석법

[1973]

플루오레세인 표지된 공활성체 웹티드를 Fluormone AL-Red(Thermofisher cat# PV4294)로 교체하여 분석 신호를 개선한, LanthaScreen® TR-FRET 프로게스테론 수용체 공활성체 분석법(Thermofisher cat# A15903)의 변형을 이용하여 프로게스테론 수용체(PR) 결합에 대해 소분자를 시험하였다. 간략히 설명하자면, 화합물을 DMSO에 단계적으로 희석한 다음, 1:10 희석으로 분석 완충액(Thermofisher cat# PV4301 + 5mM DTT)으로 끓겼다. 10  $\mu$ l의 화합물을 2회 반복하여(in duplicate) 96 하프-에어리어 블랙 웰 플레이트(Corning cat#3694)로 끓겼다. 5  $\mu$ l의 PR-LBD 단백질(분석 완충액 중 4 nM 스톡; Thermofisher cat# P2899)을 각 웰에 첨가하였다. 또한, 분석 완충액 중 Fluormone AL-Red(12 nM) 및 태르븀 표지된 항-GST 단클론 항체(mAb)(20 nM; Thermofisher cat#PV3550)의 제조 혼합물 5  $\mu$ l도 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 실온(RT)에서 2시간 동안 인큐베이션한 다음, EnVision Multilabel Plate Reader(PerkinElmer # 2104-0010)를 이용하여 TR-FRET 방출 비율을

측정하였다. 네 개의 파라미터 곡선 맞춤을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50 값을 생성하였다. 결과를 아래 표 10에 나타내었다.

#### [1974] 안드로겐 수용체 결합 분석법

플루오레세인이 표지된 공활성체 웨티드를 Fluormone AL-Red(Thermofisher cat# PV4294)로 교체하여 분석 신호를 개선한, LanthaScreen® TR-FRET 안드로겐 수용체 공활성체 분석법(Thermofisher cat# A15878)의 변형을 이용하여 안드로겐 수용체(AR) 결합에 대해 소분자를 시험하였다. 간략히 설명하자면, 화합물을 DMSO에 단계적으로 희석한 다음, 1:10 희석으로 분석 완충액(Thermofisher cat# PV4295 + 5mM DTT)으로 옮겼다. 10 μl의 화합물을 2회 반복하여(in duplicate) 96 하프-에어리어 블랙 웰 플레이트(Corning cat#3694)로 옮겼다. 5 μl의 AR-LBD 단백질(분석 완충액 중 5 nM 스톡; Thermofisher cat# 3009)을 각 웰에 첨가하였다. 또한, 분석 완충액 중 Fluormone AL-Red(20 nM) 및 테르븀 표지된 항-GST 단클론 항체(mAb)(30 nM; Thermofisher cat#PV3550)의 제조 스톡 5 μl도 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 실온(RT)에서 6시간 동안 인큐베이션한 다음, EnVision Multilabel Plate Reader(PerkinElmer # 2104-0010)를 이용하여 TR-FRET 방출 비율을 측정하였다. 네 개의 파라미터 곡선 맞춤을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50 값을 생성하였다. 결과를 아래 표 10에 나타내었다.

#### [1976] GRE 리포터 분석법

실시예 78에 기술된 K562 모(parental) GRE(pGL4.36[luc2P/MMTV/Hygro]) 세포를 96웰 조직 배양 처리된 흰색 플레이트(Costar: 3917)에 분석 배지(RPMI, 1% CSFBS, 1% L-글루타민, 1% 피루브산 Na 및 1% MEAA) 50 μL 중 웰당 50,000개 세포로 도말하였다. 소분자 GR 작용제 화합물을 100 μM의 개시 농도에서 단계별 희석하고, 100% DMSO에 4배 단계별 희석하였다. 2 μl의 희석된 화합물을 2차 희석 플레이트 내의 248 μl 분석 배지로 옮겨 (1:125 희석), 소분자 화합물을 분석 배지에 더 희석하였다. 그런 다음, 세포를 266.7 nM(1:3)의 최종 개시 농도에 대해 1:125 희석된 GR 작용제 화합물 25 μL 또는 배지를 단독으로 처리하여 37°, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 인큐베이션 하였다. 24시간 인큐베이션 후, 세포를 75 μL의 듀얼-글로 루시페라제 분석 시스템(Promega-E2920)으로 10분 동안 처리하고, TopCount 또는 MicroBeta2(PerkinElmer)를 이용하여 발광을 분석하였다.

#### [1978] 에스트로겐 수용체 결합 분석법

플루오레세인이 표지된 공활성체 웨티드를 Fluormone ES2 Green(Thermofisher cat# PV6045)로 교체하여 분석 신호를 개선한, LanthaScreen® TR-FRET 에스트로겐 수용체 알파 공활성체 분석법(Thermofisher cat# A15885)의 변형을 이용하여 에스트로겐 수용체(AR) 알파 결합에 대해 소분자를 시험하였다. 간략히 설명하자면, 화합물을 DMSO에 단계적으로 희석한 다음, 1:10 희석으로 분석 완충액(Thermofisher cat# PV4295 + 5mM DTT)으로 옮겼다. 10 μl의 화합물을 2회 반복하여(in duplicate) 96 하프-에어리어 블랙 웰 플레이트(Corning cat#3694)로 옮겼다. 5 μl의 ER-LBD 단백질(분석 완충액 중 5 nM 스톱; Thermofisher cat# 4542)을 각 웰에 첨가하였다. 또한, 분석 완충액 중 Fluormone ES2 Green(12 nM) 및 테르븀 표지된 항-GST 단클론 항체(mAb)(8 nM; Thermofisher cat#PV3550)의 제조 스톱 5 μl도 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 실온(RT)에서 4시간 동안 인큐베이션한 다음, EnVision Multilabel Plate Reader(PerkinElmer # 2104-0010)를 이용하여 TR-FRET 방출 비율을 측정하였다. 네 개의 파라미터 곡선 맞춤을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50 값을 생성하였다. 결과를 아래 표 10에 나타내었다.

## 표 10

시험관 내 활성

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
2 (TFA)		0.0066	NT	NT	NT	NT	NT
3		0.0036	0.0002	0.0846	0.0026	30++	>30
4 (TFA)		0.0095	0.0003	0.836 0.957	0.0198	>30	3.99
5		0.0120	0.0184	NT	NT	NT	NT
6 (TFA)		0.0641	0.0396	NT	NT	NT	NT

[1980]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
7		0.0155	0.0005	0.515 0.300	0.0157	>30	>30
8		0.0201	0.0151	NT	NT	NT	NT
9		0.0094	0.0001	2.61	0.0116	30++	>30
10		0.0156	0.0001	0.305	0.0105	5.13	>30
11		0.0139	0.0185	NT	NT	NT	NT

[1981]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
12		0.0247	0.0161	NT	NT	NT	NT
13		0.0157	0.0009	>30	0.0154	>30	>30
14		0.0255	0.0001	0.119	0.0222	2.71	>30
15		0.0149	0.0006	0.141	0.0165	3.77	>30

[1982]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
16		0.0537	0.0188	NT	NT	NT	NT
17		0.0278	0.0656	NT	NT	NT	NT
18		0.0437	0.0299	NT	NT	NT	NT
19 (TFA)		0.0101	0.0152	NT	NT	NT	NT

[1983]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
20		0.0194	0.0002	0.521	0.0186	0.814	>30
20 (TFA)		0.0086	0.0003	1.64 1.64	0.0171	30++	>30
21		0.0094	0.0002	0.149 4.42	0.0073	>30	>30
22		0.0283	0.0075	NT	NT	NT	NT

[1984]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
22 (TFA)		0.0082	0.0233	NT	NT	NT	NT
23		0.0108	0.0051	NT	NT	NT	NT
24 (TFA)		0.0138	0.0023	1.06	0.0089	30++	>30
25		0.0216	0.0002	3.09	0.0133	30++	>30

[1985]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
26		0.0256	0.0167	NT	NT	NT	NT
27		0.0102	NV-	NT	NT	NT	NT
28		0.0146	0.0419	NT	NT	NT	NT
29		0.0132	0.0011	NT	NT	NT	NT

[1986]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
30		0.0177	0.0078	NT	NT	NT	NT
31		0.0107	0.0003	NT	NT	NT	NT
32		0.0074	0.0001	3.56	0.013	30++	>30

[1987]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
33		0.0169	0.0306	NT	NT	NT	NT
34		0.0122	0.0034	NT	NT	NT	NT
35		0.0034	0.0214	NT	NT	NT	NT
35 (TFA)		0.0067	0.0178	0.407 0.407+	0.256	30++	>30

[1988]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
36 (TFA)		0.0034	0.0002	0.129 >30	0.052	>30	>30
37		0.0131	0.1320	2.12 5.05	1.09	>30	>30
38		0.0128	0.266++	0.876 1.47	1.19	>30	9.28
39		0.0156	0.0322	0.422	0.137	30++	>30

[1989]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
40		0.0111	0.0007	>30 >30	0.106	>30	>30
41		0.0028	0.0014	30++	0.076	30++	>30
42		0.0124	0.0004	10.1	0.0873	9.75	>30
45 (TFA)		0.0661	0.0013	30++ >10	0.08	6.48	>14.42

[1990]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
46 (TFA)		0.0267	0.0541	30++	2.13	30++	>30
47		0.0065	0.0042	3.86	0.171	>30	NT
48		0.0118	0.0871	>30	0.108	>30	NT
49		0.0056	0.0183	>30	2.7	>30	NT

[1991]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
50		0.0080	0.0009	10.1 0.751	0.0345	30++	>30
51 (TFA)		0.0042	0.0006	4.98	0.0136	30++	>30
52		NT	NT	NT	NT	NT	NT
53		0.0065	0.0009	NT	NT	NT	NT

[1992]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
54		0.0095	0.0003	0.269 6.23	0.0527	>30	>30
55 (TFA)		0.0114	0.0004	10.5 >30	0.0933	>30	>30
57		0.0063	0.0015	10.1	0.0914	30++	>30
58		0.0078	0.0013	0.830	0.0341	5.98	NT

[1993]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
59		0.0127	0.0004	0.179	0.0134	>30	NT
60		0.0121	0.0017	>30	0.0699	>30	NT
61		0.0302	0.0191	>30	0.839	>30	NT
62		0.0210	0.0030	0.475	0.0248	>30	NT
63		0.0038	0.0067	>30	0.447	>30	NT

[1994]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
64		0.0116	0.0214	30++	0.121	>30	NT
65		NT	NT	NT	NT	NT	NT
66		NT	NT	NT	NT	NT	NT
67		0.00749	0.00313	30++	0.181	30++	NT

[1995]

화합물 번호	화학 구조	GR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	GRE 리포터 EC <sub>50</sub> (μM)	MR(작용 제) EC <sub>50</sub> (μM)	PR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	ER 결합 IC <sub>50</sub> (μM)	AR 결합 IC <sub>50</sub> (μM)
68		NT	NT	NT	NT	NT	NT
69		0.012	0.00244	30++	0.0096	30++	NT
70		0.0198	0.00932	NT	NT	NT	NT

++은 보고된 데이터가 다수의 데이터 점의 평균이며 보고된 데이터가 보고된 데이터 "초과"로 판독될 수 있음을 나타낸다.

NT는 테스트되지 않았음을 나타낸다.

[1996] 실시예 76: 항-TNF-알파 면역접합체의 안정성

[1997] 매트릭스 안정성

[1998] 생리적 조건 하에서 소분자 페이로드(payload) 조기 방출에 대한 민감도에 대해 항-TNF  $\alpha$  스테로이드 ADC를 시험하였다. 이들 실험에서, ADC를 혈장(인간, 원숭이, 마우스, 또는 랫트) 또는 완충액에 2회 반복하여(in duplicate) 희석하고, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 6일 동안 인큐베이션 하였다. 각 샘플을 시간 0분 및 6일의 기간에 걸친 다양한 시점에서 훈치하였다. 그런 다음, LC/MS/MS를 이용하여 샘플을 분석하고, 상응하는 소분자에 대한 표준 곡선과 비교하였다. 시간 경과에 따른 소분자 페이로드의 % 최대 방출을 계산하였다. 결과를 아래 표 11에 요약하였다.

### 표 11

항-TNF  $\alpha$  스테로이드 ADC의 안정성

화합물 번호	매트릭스 안정성(% 최대 SM 방출)			
	PBS 완충액	인간 혈장	시노몰구스 원숭이 혈장	마우스 혈장
136	0.00864	8.34E-04	0.0165	0.0327
137	0	0	0	0
138	0.00954	0.00471	0.00444	0.0215
139	0	0	0	0
142	0.00306	0	0.00766	0.0564
144	0	0	0	0
145	0.00451	0	0	0
146	0.031	0.016	0.0306	0.0744
147	0	0	0	0.00565
148	4.51E-04	0.0032	0.0188	0.0162
149	0	0	0	0.00648
150	0.00809	0	0.0153	0.074
152	0.00513	0	5.42E-04	0.0392
153	0	4.01E-04	0	0.132
154	0.00E+00	0	0	0
155	0	0	0	0
156	0	0	0	0.152
157	0.0134	0.00559	0	0.026

[2000]

[2001] 이를 결과는 항-TNF  $\alpha$  스테로이드 ADC가 완충액 및 여러 종의 혈장에서 안정적이며, 최소한의 소분자 방출이 관찰됨을 보여준다.

[2002] 단백질 가수분해 안정성

[2003] 단백질 분해효소 처리를 통한 페이로드 방출에 대한 스테로이드 ADC의 민감성을 뮤린 CD-19 항체에 접합된 vcmcmMAE 약물 링커를 이용하여 생성된 ADC와 비교하였다. ADC(평균 DAR 4)를 카텝신 B 또는 프로테이나제 K와 인큐베이션 하고, 다양한 시점(0, 1, 4, 7 및 24시간)에서 LC-MS에 의해 페이로드 방출을 분석하였다.

[2004] 결과를 도 1에 나타내었고, 이는 스테로이드 ADC가 ADC로부터 페이로드의 외인성 카텝신 매개성 방출에 대해 저항성을 나타냄을 보여준다. 이는 공지된 페이로드 링커 (mcvcMMAE) ADC와는 대조적인데, 여기서 MMAE는 카텝신 처리 시 상당한 양으로 방출된다. 이 데이터는 스테로이드 ADC가 공지된 ADC보다 순환되고 있는 카텝신 활성으로부터 발생하는 조기 페이로드 방출에 대해 훨씬 덜 민감함을 나타낸다. 실제로, 스테로이드 방출은 광범위한 절단 특이성을 나타내는 세린 단백질 분해효소인 프로테이나제 K의 경우에서만 관찰된다. 이는 스테로이드 ADC의 항체 부분이 스테로이드 링커 절단 전에 상당히 이화될 필요가 있으며, 페이로드 방출은 ADC의 항체 스캐폴드의 소화가 일어날 수 있는 환경, 예컨대, 리소좀에 제한될 수 있음을 나타낸다.

[2005] 카텝신 B 소화

[2006] 카텝신 B(Sigma)의 0.2mg/mL 모액을 완충액(25mM 트리스, 50mM NaCl 및 5% 글리세롤)에 제조하였다. 카텝신 B의 10  $\mu$ g/mL의 작업 용액을 생성하기 위해, 0.2 mg/mL 카텝신 B 스톡 5  $\mu$ l를 95  $\mu$ l의 활성화 완충액(50mM 아세트산나트륨 pH5, 1mM EDTA 및 5mM DTT)과 혼합하고, 15분 동안 37°C에서 인큐베이션 하였다. ADC 소화를 위해, 20  $\mu$ l의 100 ug/mL ADC 및 20  $\mu$ l의 카텝신 B 작업 용액을 160  $\mu$ l 희석 완충액(50mM 아세트산나트륨, 1mM EDTA)과 혼합하였다. 진탕하며 샘플을 37°C에서 인큐베이션 하고, 0, 1, 4, 7, 및 24시간 후 40  $\mu$ l 분액을 제거하였다. 각 분액에 160  $\mu$ l의 퀸치 용액(0.1% 포름산; 1:1 MeOH:MeCN; 100 nM 카르부타미드)을 첨가하고, 앞서 기술된 바와 같이 LC-MS/MS로 방출된 소분자를 검출하였다.

[2007] 프로테이나제 K 소화

[2008] 탈이온화된(DI) 물에 프로테이나제 K(Sigma)의 5 mg/mL 스톡을 제조하였다. 50  $\mu$ L의 5 mg/mL 프로테이나제 K를 950  $\mu$ l 희석 완충액(1x HBSS 및 1mM EDTA)과 혼합하여 프로테이나제 K의 0.25 mg/mL 작업 용액을 제조하였다. ADC 소화를 위해, 20  $\mu$ L의 100 ug/mL ADC 및 40  $\mu$ l의 프로테이나제 K 작업 용액을 140  $\mu$ l 희석 완충액과 혼합하였다. 진탕하며 샘플을 37°C에서 인큐베이션 하고, 0, 1, 4, 7, 및 24시간 후 40  $\mu$ L 분액을 제거하였다. 각 분액에 160  $\mu$ l의 퀸치 용액(0.1% 포름산; 1:1 MeOH:MeCN; 100 nM 카르부타미드)을 첨가하고, 앞서 기술된 바와 같이 LC-MS/MS로 방출된 소분자를 검출하였다.

[2009] 실시예 77: 항-TNF-알파 면역접합체의 생체 내 안정성

[2010] 약물 링커 손실에 대한 스테로이드 ADC의 민감도를 마우스에서 평가하였다. MP-Ala-Ala-스테로이드를 인간 IgG1 mAb(평균 DAR 4)에 접합시키고, pH 9에서 인큐베이션하여 티오석신이미드 고리의 고리 열림 가수분해를 촉진하였다. 중화 후, 스테로이드 ADC를 마우스에 주사하고, 약물 링커 손실의 동역학을 LC-MS로 7일에 걸쳐 모니터링 하였다.

[2011] 이들 실험에서, 인산염 완충 식염수에 제형화한 ADC를 5 mg/kg으로 15마리의 수컷 DBA/1 마우스에 정맥 내로 투여하였다. 세 마리의 마우스를 투여 후 1 hr, 24 hr, 72 hr, 168 hr 및 240 hr에 희생시켰다. EDTA 전혈을 수집하고, 혈청을 질량 분광분석법으로 생체 내 DAR 분석을 위해 준비하였다.

[2012] 혈청 샘플 사전 희석

[2013] 총 항체 리간드 결합 분석법으로 측정한 ADC의 총 항체 농도를 기반으로 하여 말 혈청(Life technologies, 16050-122)에 혈청 샘플을 희석하였다. 희석은 결합 용량의 마그네틱 비즈 상한에 적합한 10 내지 30  $\mu$ g/mL 범위로의 최종 농도 추정을 기준으로 하였다.

[2014] 면역친화도 친화도 정제

[2015] 단백질 로바인드튜브(protein LoBind tube)(Eppendorf North America)에 있어서, 각각의 미리 희석된 ADC 혈청 샘플 100  $\mu$ L에 말 혈청을 첨가하여 총 부피가 450  $\mu$ L가 되도록 하였고, 이어서 4  $\mu$ g의 비오틴-항-인간 Fc 항체(2 mg/mL 용액의 비오틴-항-인간 2  $\mu$ L)를 첨가하였다. 샘플을 진탕기(orbital shaker)에서 900 rpm으로 진탕하여 실온에서 2시간 동안 인큐베이션 하였다. 각 혈청 샘플을 위하여, 스트렙타비딘이 코팅된 마그네틱 비즈(Pierce, Cat# 88817) 50  $\mu$ L 슬러리를 로바인드튜브 내의 PBS 완충액 중 0.1% 트윈(Tween)(PBST)으로 평형화하였다. 마그네틱 랙 위에 로바인드튜브를 놓아 로바인드튜브 쪽으로 마그네틱 비즈를 끌어당긴 후, 피펫으로 트윈 20 함유 인산염 완충 식염수(PBST) 완충액을 제거하였다. 항-인간 포획 시약과의 2시간 인큐베이션 후 혈청 샘플을 평형화한 마그네틱 비즈를 함유하는 로바인드튜브로 옮기고, 진탕기에서 900 rpm으로 1시간 동안 실온에서 인큐베이션 하였다. 마그네틱 비즈 인큐베이션 후 혈청을 제거하고, 마그네틱 비즈를 500  $\mu$ L PBST(3회) 및 MilliQ 물 중 5% MeOH 500  $\mu$ L(3회)로 철저히 세척하였다. 마그네틱 비즈를 50% MeOH/MilliQ 물 중 0.5% 포름산 100  $\mu$ L와 15분 동안 인큐베이션 하여 마그네틱 비즈 결합 ADC를 방출시켰다.

[2016] 정제된 ADC의 환원

[2017] 10  $\mu$ L 환원 시약(2 M pH 7.5 트리스 완충액 중 10mM EDTA를 함유하는, Thermo Scientific으로부터 구입한 분말로부터 새롭게 제조한 10mM TCEP)을 100  $\mu$ L의 샘플에 첨가하여 방출된 ADC를 환원시키고, 37°C에서 30분 동안 인큐베이션 하였다.

[2018] LC/MS 분석

[2019] 온도 조절된(5°C) CTC 오토샘플러를 통해 환원된 샘플(10  $\mu$ L)을 LC/MS 시스템의 Agilent 6550 QT에

주입하였다. Waters C-4, 3.5  $\mu\text{m}$ , 300 Å, 2.1 x 50 mm i.d. HPLC 컬럼에서 샘플 용리를 달성하였다. 이동상은 A: 물 중 0.1% 포름산, B: MeCN 중 0.1% 포름산이고, 유속은 0.45 mL/분이었고, 컬럼 구획은 40°C로 유지되었다.

[2020]

HPLC 구배는 다음과 같았다:

시간(분)	%A	%B
0	95	5
0.6	95	5
1.1	10	90
2.2	10	90
2.4	95	5
3.5	95	5

[2021]

[2022]

환원된 ADC의 고분해능 MS 분석은 양이온 모드로 작동되는 Dual Agilent Jet Stream 전기분무 이온화(ESI) 소스가 장착된 Agilent 6550 4중 비행시간(Agilent Technology, 미국 캘리포니아 주 샌타클라라 소재)에서 수행되었다. 질량 분석기는 최대 3,200 m/z의 MS 범위를 나타내는 확장된 동적 범위(2G Hz) 모드로 작동시켰다. 1차 ESI 소스를 LC/MS 분석에 사용하고, 2차 ESI 프로브를 922.009798 m/z에서 교정 용액 주입에 사용하여 실시간 MS 보정을 수행하였다. 질량 분석기는 매일 보정되었다. 이론적인 질량에 대한 분석물의 전형적인 질량 오차는 매일의 작업에서  $\pm 5 \text{ ppm}$  미만이었다. MS 데이터는 MassHunter Qual Browser Build 5.0을 이용하여 처리하였다.

[2023]

MS 스펙트럼 디콘볼루션

[2024]

MassHunter Bioconfirm 소프트웨어 패키지의 최대 엔트로피 방법을 이용하여 다중 하전된 이온 질량 스펙트럼을 디콘볼루션하여 중성 분자량 스펙트럼을 얻었다. 디콘볼루션된 피크의 강도를 DAR 계산에 이용하였다.

[2025]

디콘볼루션된 MS 스펙트럼으로부터 DAR 값 계산

[2026]

다음 식을 기반으로 한 디콘볼루션된 MS 피크 강도를 이용하여 DAR 값을 계산하였다:

[2027]

경쇄(LC)로부터의 DAR 값:  $\text{LC DAR} = (2 \times \text{LC}^\wedge \text{의 피크 강도}) / ((\text{LC의 피크 강도} + \text{LC}^\wedge \text{의 피크 강도}))$

[2028]

LC 및  $\text{LC}^\wedge$ 은 각각 0개 및 1개의 약물 링커를 갖는 경쇄이다.

[2029]

중쇄(HC)로부터의 DAR 값:

[2030]

$\text{HC DAR} = 2x(\text{HC}^\wedge \text{의 피크 강도} + 2 \times \text{HC}^{\wedge\wedge} \text{의 피크 강도} + 3 \times \text{HC}^{\wedge\wedge\wedge} \text{의 피크 강도}) / (\text{HC의 피크 강도} + \text{HC}^\wedge \text{의 피크 강도} + \text{HC}^{\wedge\wedge} \text{의 피크 강도} + \text{HC}^{\wedge\wedge\wedge} \text{의 피크 강도})$

[2031]

HC,  $\text{HC}^\wedge$ ,  $\text{HC}^{\wedge\wedge}$  및  $\text{HC}^{\wedge\wedge\wedge}$ 은 각각 0개, 1개, 2개 및 3개의 약물 링커를 갖는 중쇄이다.

[2032]

총 DAR = LC DAR + HC DAR

[2033]

결과

[2034]

결과를 도 2에 나타내었다. 이 실시예는 약물 링커의 최소한의 순설이 7일에 걸쳐 스테로이드 ADC로부터 관찰된다는 점을 보여준다.

[2035]

실시예 78: 인간 및 마우스 막관통 TNF-알파 GRE 리포터 세포주의 생성

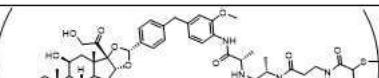
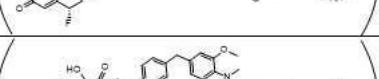
[2036]

모 세포주를 생성하기 위해, K562 세포를 2 mL의 완전 성장 배지(RPMI, 10% FBS, 1% L-글루타민, 1% 피루브산 Na 및 1% MEM NEAA)를 함유하는 6웰 접시(Costar: 3516)에 웰당 500,000개 세포로 37°, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 씨딩하였다. 다음날, 1.5  $\mu\text{g}$ 의 pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro](Promega: E316), 1.5 ug pGL4.75[hRLuc/CMV](Promega: E639A) 및 3  $\mu\text{l}$ 의 PLUS 시약(Invitrogen: 10964-021)을 244  $\mu\text{L}$  Opti-MEM(Gibco: 31985-070)에 희석하고, 15분 동안 실온에서 인큐베이션 하였다. pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro] 백터는 글루코코르티코이드 수용체 및 안드로겐 수용체와 같은 몇몇 핵 수용체의 활성화에 반응하여 루시페라제 리포터 유전자 *luc2P*의 전사를 유도하는 MMTV LTR(뮤린 유선 종양 바이러스 긴 말단 반복서열)을 함유한다. pGL4.75[hRLuc/CMV] 백터는 루시페라제 리포터 유전자인 *hRLuc*(레닐라 레니포르미스(*Renilla reniformis*))를 암호화하며 높은 발현 및 감소된 변이 전사를 위해 설계되었다.

- [2037] 인큐베이션 후, 희석된 DNA 용액을 1:1 리포펙타민(Lipofectamine) LTX 용액(Invitrogen : 94756)(13.2  $\mu$ l + 256.8  $\mu$ l Opti-MEM)과 미리 인큐베이션 하고, 실온에서 25분 동안 인큐베이션 하여 DNA-리포펙타민 LTX 복합체를 형성하였다. 인큐베이션 후, 500  $\mu$ l의 DNA-리포펙타민 복합체를 세포를 함유하는 웰에 직접 첨가하였다. K562 세포를 37°, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 형질 감염시켰다. 인큐베이션 후, 세포를 3 mL의 PBS로 세척하고 125  $\mu$ g/mL의 하이그로마이신 B(Invitrogen: 10687-010)를 함유하는 완전 성장 배지로 2주 동안 선택하였다. "K562 pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]\_pGL4.75[hRLuc/CMV]" 세포가 생산되었다.
- [2038] 뮤린 막관통 TNF-알파 GRE 리포터 세포주를 생성하기 위해, 모 세포인 K562 pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]\_pGL4.75[hRLuc/CMV]를 2 mL의 완전 성장 배지(RPMI, 10% FBS, 1% L-글루타민, 1% 피루브산 Na 및 1% MEM NEAA)를 함유하는 6웰 접시(Costar: 3516)에 웰당 500,000개 세포로 37°, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 씨딩하였다. 다음날, 태그가 붙지 않은 마우스 TNF를 암호화하는 mFL-TNF $\alpha$  DNA(Origene: MC208048) 3  $\mu$ g 및 3  $\mu$ l의 PLUS 시약(Invitrogen: 10964-021)을 244  $\mu$ L Opti-MEM(Gibco: 31985-070)에 희석하고, 15분 동안 실온에서 인큐베이션 하였다. 인큐베이션 후, 희석된 DNA 용액을 1:1 리포펙타민 LTX 용액(Invitrogen : 94756)(13.2  $\mu$ L + 256.8  $\mu$ L Opti-MEM)과 미리 인큐베이션 하고, 실온에서 25분 동안 인큐베이션 하여 DNA-리포펙타민 LTX 복합체를 형성하였다. 인큐베이션 후, 500  $\mu$ l의 DNA-리포펙타민 복합체를 세포를 함유하는 웰에 직접 첨가하였다. K562 pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]\_pGL4.75[hRLuc/CMV] 모 세포를 37°, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 형질 감염시켰다. 인큐베이션 후, 세포를 3 mL의 PBS로 세척하고 125  $\mu$ g/mL의 하이그로마이신 B(Invitrogen: 10687-010) 및 250  $\mu$ g/mL G418(Gibco: 10131-027)을 함유하는 완전 성장 배지로 2주 동안 선택하였다. "K562 마우스 FL-TNF $\alpha$  GRE(pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro])" 세포가 생산되었다.
- [2039] 인간 막관통 TNF-알파 GRE 리포터 세포주를 생성하기 위하여, 모 세포인 K562 pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]\_pGL4.75[hRLuc/CMV]를 플라스미드 hTNF 엘타 1-12 C-Myc pcDNA3.1(-) 플라스미드 구축물로 형질 감염시켰다. 이 플라스미드는 tace 저항성 막관통 TNF(즉, 아미노산 77 내지 88이 결여된 서열번호 1)를 암호화하는 pcDNA 3.1(Thermofisher cat# V79020)이다.(tace 저항성 막관통 TNF를 논의하는 문헌 [Perez C et al. Cell 63 (2): 251-8 (1990)] 참조.) 그런 다음, 이를 세포주를 이후의 실시예에 기술된 TNF-알파 리포터 분석법에 사용하였다.
- [2040] **실시예 79: GRE 막관통 TNF-알파 리포터 분석법에서 항-TNF-알파 면역접합체의 활성**
- [2041] K562 모 GRE(pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]) 세포 및 K562 mFL-TNF $\alpha$  또는 hTNF 엘타 1-12 GRE(pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]) 세포를 96웰 조직 배양 처리된 흰색 플레이트(Costar: 3917)에 분석 배지(RPMI, 1% CSFBS, 1% L-글루타민, 1% 피루브산 Na 및 1% MEAA) 50  $\mu$ L 중 웰당 50,000개 세포로 도말하였다. 세포를 분석 배지 중 3x 단계 희석된 뮤린 또는 인간 항-TNF $\alpha$  항체 약물 접합체 25  $\mu$ L, 스테로이드 화합물, 또는 배지 단독으로 처리하고, 37°, 5% CO<sub>2</sub>에서 48시간 동안 인큐베이션 하였다. 48시간 인큐베이션 후, 세포를 75  $\mu$ L의 듀얼-글로 루시페라제 분석 시스템(Promega-E2920)으로 10분 동안 처리하고, TopCount(PerkinElmer)를 이용하여 발광을 분석하였다. 네 개의 파라미터 곡선 맞춤을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50 값을 생성하였다. 최대 활성화로 간주된 100 nM 텍사메타손에 대해 % 최대 활성화를 정규화하였다. 뮤린 TNF-알파 세포주를 이용한 결과를 아래 표 12에 나타내었고, 인간 TNF-알파 세포주를 이용한 결과를 아래 표 13에 나타내었다. 아래 표 12에서, A는 8C11을 지칭한다. 아래 표 13에서, A는 아달리무맙을 지칭한다(서열 번호 66 및 73). 퍼센트(%) 단량체는 앞서 기술된 바와 같이 SEC로 결정하였다(ADC 분석 절차 참조).

丑 12

마우스 막관통 TNFa GRE 리포터 분석법에서 항-뮤린 TNFa 항체 약물 결합체의 시험관내 활성(A는 항-뮤린 TNFa 항체 8C11을 지침함)

화합물 번호	구조	n	% 단량체	mTNFa GRE EC50(ug/mL)	mTNFa GRE(% 최대)	K562 GRE EC50(u g/mL)	K562 GRE(% 최대)
134		4.5	91.4	0.00519	118	1.61	74
135		4.4	95.4	1.27	106	36.3	68
136		2	99.9	0.0108	95	9.3	46

[2042]

137		4	99.9	0.0105	114	5.27	93
138		2	98.02	0.0297	108	28.7	53
139		4	96.6	0.0239	92	15.2	61
140		2	98.8	0.179	112	50	23
141		4	98	0.144	96	>50	43

[2043]

142		2	99.1	0.0515	96	>50	57
143		2	97.7	0.0795	82	>50	24
144		4	94.25	0.0406	116	14.7	74
145		4	98	0.0393	95	24.7	36

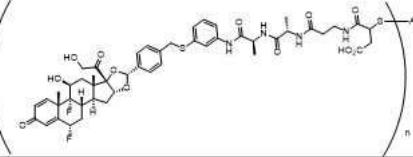
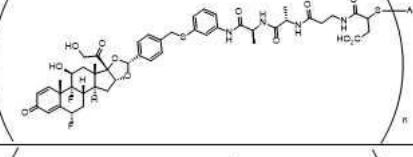
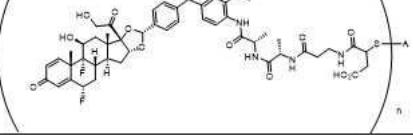
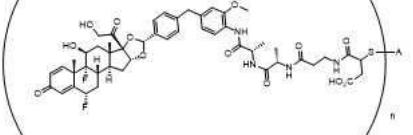
[2044]

146		2	98.5	0.0399	118	27.5	73
147		4	97.6	0.0259	113	7.89	80
148		2	97.8	0.0384	120	23.6	77
149		4	91.8	0.0314	113	10.7	78

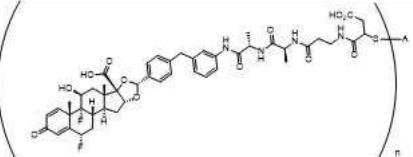
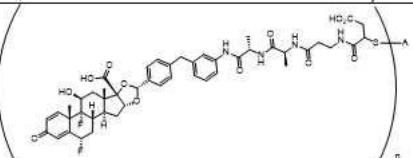
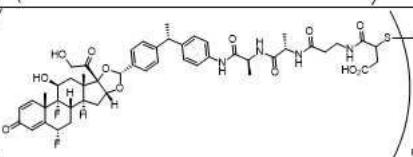
[2045]

150		2	98	0.02092	102	10.99	84
151		4	90.1	0.0098	104	2.85	87
152		2	98.3	0.0247	96	3.44	70
153		4	93.8	0.0185	75	2.77	94

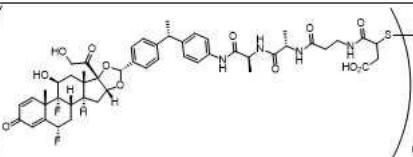
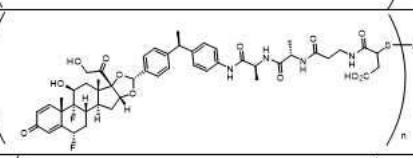
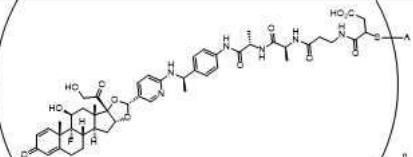
[2046]

154		2	96.6	2.00E-04	104	12.1	91
155		4	96	0.0171	94	2.8	79
156		2	98.2	0.039	107	15.8	73
157		4	92.5	0.0198	115	3.63	83

[2047]

158		2	99.4	>50	0.05	>50	0.2
159		4	98.4	>50	0.075	>50	0.7
160		2	98.2	0.0242	91	>50	63

[2048]

161		4	95.8	0.0203	94	16.9	77
162		4	95	0.0072	119	12.4	88
163		2	97.7	>50	6	>50	0.4

[2049]

164		4	97.8	>50	24	>50	0.8
165		2	96.3	0.0179	93.6	>50	94
166		2	98	0.0136	107	14.6	75
167		4	94.4	0.0108	97	11.4	73

[2050]

168		2	97.9	0.146	81	50	71
169		4	92.25	0.0551	117	18.4	88
170		2	99.5	0.463	18.4	>50	0.5
171		4	97.6	0.276	35	>50	5

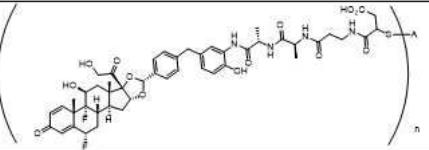
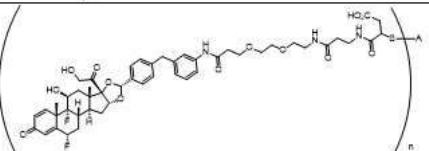
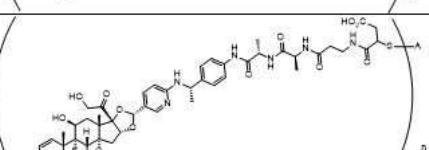
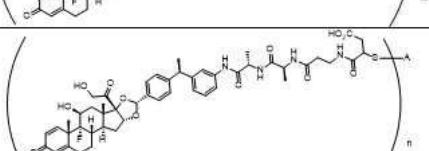
[2051]

172		4	94.6	0.0319	89	2.9	64
173		1.3	98	0.0959	78	>50	35
174		2	98	0.0607	143	4.23	14
175		4	93.4	0.0464	92	>50	55

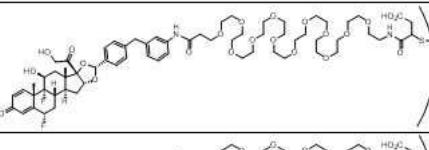
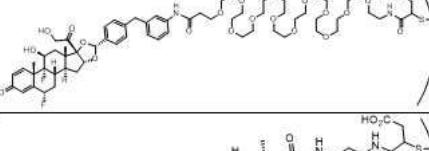
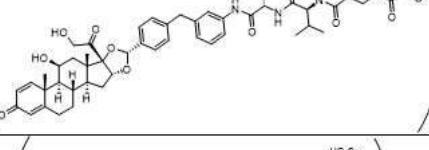
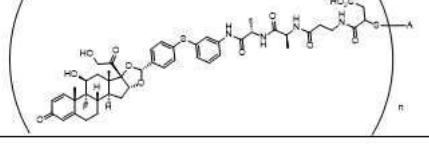
[2052]

176		4	97.4	0.0262	113	41.4	60
177		4	95.6	0.00998	105	7.94	66
178		4	88.3	8.00E-04	93	3.88	48
179		2	97.7	0.0249	89	11.7	84

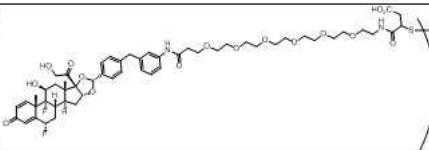
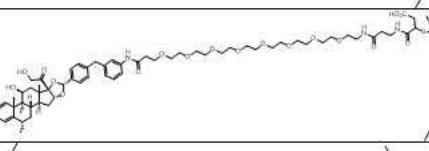
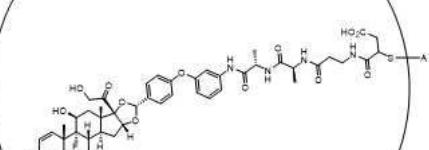
[2053]

180		4	96.8	0.0118	84	2.75	78
181		4	95.3	0.0593	83.8	50	35
182		4	97.6	>50	8	>50	4
183		4	94.7	0.0144	87	12	49

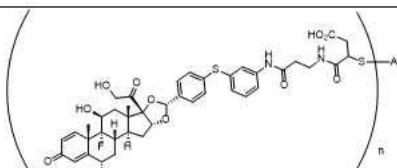
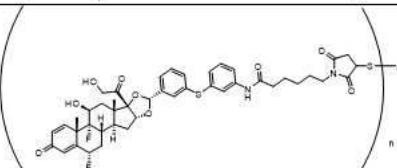
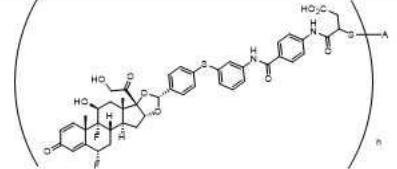
[2054]

184		2	98.9	0.0525	75	46.7	36
185		4	96.6	0.0294	64	5.02	76
186		4	97.5	0.0479	143	>50	31
187		4	91.8	0.0185	103	>50	73

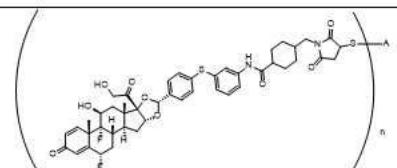
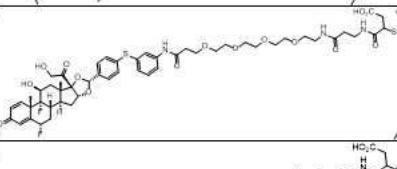
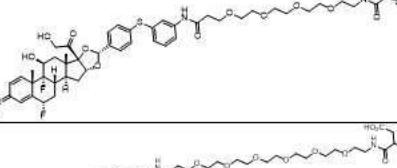
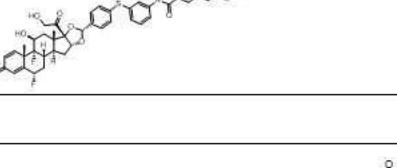
[2055]

188		4	94	0.0107	126	>50	43
189		4	99.9	0.0215	149	>50	59
190		4	99.9	0.0112	109	>50	90

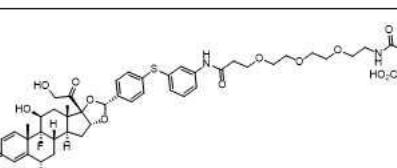
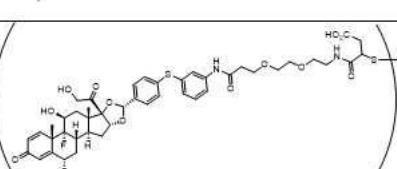
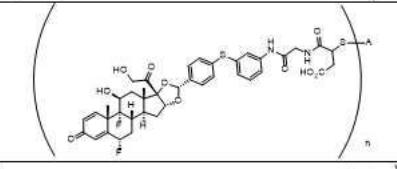
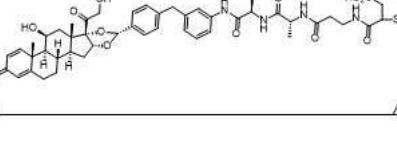
[2056]

191		3.7	88.6	0.0692	122	14.4	90
192		4.1	74.4	0.0225	98	1.23	99
193		3.9	68	0.149	124	6.4	104

[2057]

194		3.9	67.7	0.0517	95.3	5.01	85
195		3.5	92.2	0.123	156	23.6	75
196		3.5	92.9	0.0331	96	24.2	63
197		3.6	94.1	0.0626	143	39.3	60

[2058]

198		3.6	93	0.0614	96	12.7	91
199		3.5	93	0.0654	93	23.3	73
200		3.8	90.1	0.0114	114	4.76	92
207		4.					

[2059]

208		4	99.3	0.0154	123	50.0	98.7
209		3.84	99.5	0.16	116	50.0	70.0
210		4	100	0.154	129	50.0	61.7
211		4	99.4	0.0341	130	18.7	91.7
212		3.99	99.2	0.00633	101	1.9	348

[2060]

213		4.08	99.2	0.0267	140	27.6	146
214		3.8	99.2	0.362	248	50.0	97.1
215		3.8	99.3	0.0166	126	1.93	103
216		3.74	99.4	0.351	108	50.0	27.9
217		3.7	98.8	0.0147	101	18.3	97.2
218		3.7	98.9	0.023	96.0	22.9	102

[2061]

219		4.03	99.1	0.0371	140	50.0	91.2
220		1.7	99.5	0.00329	97.7	9.96	112
221		3.6	99	0.011	131	4.28	112
222		3.8	99	0.114	102	43.4	86.6

[2062]

## 표 13

인간 막관통 TNF<sub>a</sub> GRE 리포터 분석법에서 항-인간 TNF<sub>a</sub> 항체 약물 접합체의 시험관내 활성(A는 항-인간 TNF<sub>a</sub> 항체 아달리무맙(서열번호 66 및 73)을 지칭함)

화합물 번호	구조	n	% 단량체	hTNF <sub>a</sub> GRE EC <sub>50</sub> (ug/mL)	hTNF <sub>a</sub> GRE(% 최대)	K562 GRE EC <sub>50</sub> (ug/mL)	K562 GRE(% 최대)
201		4	97.6	0.0179	100	43	66
202		2	99.1	0.0318	121	>50	51
203		4	98.2	0.0482	118	>50	35

[2063]

204		2	99.4	0.0767	103	>50	21
205		4	96.9	0.0035	97	17.5	103
206		2	99.4	0.0082	101	>50	97

[2064]

실시예 80: GRE 막관통 TNF-알파 리포터 분석법에서 다양한 항-인간 TNF-알파 면역접합체의 활성

항-인간 TNF 알파 면역접합체의 제조

[2067]

실시예 36의 일반적인 시스테인 접합 프로토콜 하에 강조된 조건을 이용하여 모든 단백질을 화합물 번호 99에 접합시켰다. 아래 표 14에 나타난 경우, 접합을 가능하게 하는 항-TNF 서열 내로 시스테인 부가(밀줄 표시)가 조작되었다.

## 표 14

면역접합체에 사용된 항-인간 TNF 알파 항체의 아미노산 서열

항체	서열(서열번호)
인플릭시맙 HC	서열번호 67
인플릭시맙 LC	서열번호 74
골리무맙 HC	서열번호 72
골리무맙 LC	서열번호 78

에타네르셉트	LPAQVAFTPYAPEPGSTCLRREYYDQTAQMCCSKCSPGQHAKVFCTKTSDETCDSCESTDYQLWNWVPECLSCGSRCSSDQ VETQACTREQNRICTRCPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFVARPGTETSDVVKPCAPGTFSNTSSTDICRPHQICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPGAVHLPQPVSTRSQHTQPTPEPSTAPSFLPMGPSPPAEGSTGDEPKSCDKTHC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTVCVVVDVSCHEDPEVKFNWYVDPGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPVPLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG (서열번호 79)
ABT-122 HC	EVQLVESGGGLVQPGRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWQGTLTVTSSGGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKPGSSVKVSKASGGSGFGGYGIGWVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTIADESTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYTHDFDSWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSVVTVTPSSLGQTQYICNVNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDPGEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVPLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPKG (서열번호 80)
ABT-122 LC	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFQGQTKVEIKRGSGGGSGEIVLTQSPDFQSVPKEKVTITCRASQDIGOSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEADAGTYYCHQTDSPYTFGPGTKVDIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQEVTEQDSKDTSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 81)
세르톨리주맙 폐골 HC	서열번호 68
세르톨리주맙 폐골 LC	서열번호 75
세르톨리주맙 HC	EVQLVESGGGLVQPGGLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKLEWMGWINTYIPEIYADSVKGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGTLTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSVVTVPSQLGQTQYICNVNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCAHHHHHH (서열번호 82)
세르톨리주맙 LC	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCKASQNVGTNAWYQQKPGKAPKALIYSASFLYSGVYPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFQGQTKVEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQEVTEQDSKDTSTLSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 83)
아달리무맙 Fab HC	EVQLVESGGGLVQPGRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWQGTLTVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLSVVTVPSQLGQTQYICNVNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCAHHHHHH (서열번호 84)
아달리무맙 Fab LC	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFQGQTKVEIKRTVAAPSVIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQEVTEQDSKDTSTLSLSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호 85)
아피바디 <sup>1</sup>	GVDNKFNKENIAAMTEITRLPNLNPYQRAAFIWSLSDDPQSANSLLAEAKKLNDQAQPKC (서열번호 86)
오조랄리주맙 나노바디	EVQLVESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFSYDWMWVVRQAPGKLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTIVTSSGGGGSGGGSEVQLVQPGNSRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKLEWVSSI SGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTIVTSSGGGGSGGGSEVQLVQPGNSRLSCAASGFTFSYDWMWVVRQAPGKLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTIVTSSGSEQKLISEEDLCHHHHHHH (서열번호 87)

[2069] <sup>1</sup> Kronqvist J et al. Protein Engineering, Design & Selection 21 (4):247-255 (2008)

[2070] GRE 리포터 분석법에서 항-인간 TNF 알파 면역접합체의 활성

[2071] 실시예 29에 기술된 바와 같은 조건 하에서 K562 모(parental) GRE(pGL4.36[1uc2P/MMTV/hydgro]) 및 K562 hTNF 멜타 1-12 GRE(pGL4.36[1uc2P/MMTV/hydgro]) 세포주에서의 활성에 대해 항-인간 TNF 알파 면역접합체(항-인간 TNF 알파 ADC, 또는 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC로도 지칭됨)를 시험하였다. 표 15에 나타난 결과는 시험한 모든 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC가 모세포주에 대한 그것의 활성으로부터 해리된, 강력한 항원 의존성 활성을 보여줌을 나타낸다.

## 표 15

인간 막관통 TNFa GRE 리포터 분석법에서 항-인간 TNF 알파 ADC의 시험관 내 활성(ADC 농도는 MW 및 DAR에 대해 정규화시켰음)

화합물 번호	A <sup>1</sup>	서열번호	n	% 단량체	hTNFa GRE EC50 (nM)	hTNFa GRE(% 최대)	K562 GRE EC50 (nM)	K562 GRE (% 최대)
					(nM)	(% 최대)	(nM)	(% 최대)
233	인플릭시맙	67/74	3.3	99.99	1.3	122	374	55.3
234	골리무맙	72/78	4.9	99	3.3	144	1633	67.5
235	에타네르셉트	79	2.3	87.6	0.6	105.5	164	104
236	ABT-122	80/81	4.1	99.98	1.02	116.9	608	61.3
237	세르톨리주맙 페골	68/75	2	95.9	0.44	97	1111	39
238	세르톨리주맙	82/83	1	ND	0.4	95	266	60
239	아달리무맙 Fab	84/85	1	ND	1	118	190	137
240	아피바디	86	1	100	9.1	98	26	84
241	오조랄리주맙(나노바디)	87	1	98	0.5	131	875	99

[2072]

[2073] 인간 TNF 알파에 대한 항-인간 TNF 알파 면역접합체의 결합

[2074] (아피바디 및 오조랄리주맙 ADC를 제외한 모든 ADC에 사용된) 항-인간 Fc/ 항-인간 F(ab')<sub>2</sub> 포획 또는 (오조랄리주맙 ADC에만 사용된) 직접적인 NHS/EDC 매개성 아민 커플링 접근법 중 어느 하나를 이용하여 25°C에서 비아코어(Biacore) T200 기기(GE Healthcare)로 이루어진 표면 플라즈몬 공명 기반 측정으로 재조합 가용성 TNF α 삼량체에 대한 항-h TNF 알파 스테로이드 ADC의 결합 동역학을 결정하였다. 대략 10000 RU의 염소 항-인간 IgG Fc 다클론 항체(Thermo Fisher Scientific Inc., cat. No. 31125) 염소 항-인간 F(ab')<sub>2</sub> 다클론 항체(Jackson Immunoresearch Laboratories, Inc. cat. No. 109-006-006)를 10 mM 아세트산 나이트륨(pH 4.5) 중에 5 μg/mL까지 희석하고, 제조업체의 설명서 및 절차에 따라 표준 아민 커플링 키트를 이용하여 CM5 바이오 센서 전체에 고정시켰다. 바이오센서 표면의 반응하지 않은 모이어티는 1M 에탄올아민으로 차단하였다. 직접적인 아민 커플링 접근법을 위해서는, 대략 750 RU의 오조랄리주맙 스테로이드 접합체를 직접 CM5 칩에 고정시켰다. 칩 제조 및 결합 동역학 측정은 분석 완충액 HBS-EP+(10 mM Hepes, pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 트윈(Tween) 20) 중에서 이루어졌다. 포획 포맷의 결합 동역학 측정을 위하여, 각각의 분석 사이클은 다음 단계들로 구성되었다: 1) 0.5 μg/mL의 농도 및 5 μL/분의 유속에서 30초 동안 시험 표면에서의 시험 ADC의 포획; 2) 50 μL/분으로 300초 동안 기준 및 시험 표면 위로의 분석물 주입(인간 TNF α 또는 완충액 단독), 그 후, 50 μL/분으로 600초 동안 해리를 모니터링하였다; 3) 기준 및 시험 표면 위로 10 mM 글리신-HCl, pH 1.5 또는 100 mM HCl(직접적으로 커플링된 ADC를 위해) 주입에 의한 포획 표면의 재생. 직접적인 아민 커플링 포맷에서 결합 동역학 측정을 위해서는, 단계 2)와 단계 3)만을 수행하였다. 분석하는 동안, 모든 측정은 블랭크 표면 단독에 대해서 (즉, 포획된 시험 항체 또는 고정된 나노바디 없이) 참조되었고, 완충액 단독 주입을 이중 참조에 사용하였다. TNF α 주입은 각각 2배 희석 계열로 50 nM 내지 0.39 nM의 농도 범위였다. 비아코어(Biacore) T200 평가 소프트웨어를 사용하여 데이터를 처리하고 1:1 결합 모델에 대해 전반적으로 적합화하여 결합 동역학 속도 상수인  $k_a(M^{-1}s^{-1})$  및  $k_d(s^{-1})$ , 그리고 평형 해리 상수  $K_D(M)$ 을 결정하였다. 2개의 독립적인 실험을 수행하였다. 표 16의 보고된 값은 이들 실험의 평균이다.

## 표 16

인간 TNF 알파에 대한 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC의 결합 친화도(ND = 미결정)

화합물 번호	항-TNF ADC	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)
233	인플릭시맙	9.90E+05	3.10E-04	3.10E-10
234	골리무맙	9.70E+05	2.40E-04	2.50E-10
235	에타네르셉트	6.30E+06	9.80E-05	1.60E-11
236	ABT-122	4.00E+05	6.90E-05	1.80E-10
237	세르톨리주맙 페골	2.30E+06	1.70E-04	7.30E-11
238	세르톨리주맙	2.70E+06	1.60E-04	6.00E-11
239	아달리무맙 Fab	1.50E+06	1.80E-04	1.30E-10
240	아피바디	ND	ND	ND
241	오조랄리주맙(나노바디)	1.30E+06	7.00E-05	5.20E-11

[2075]

[2076] **실시예 81:** 지질다당류(lipopolysaccharide) 자극 인간 PBMC 사이토카인 방출 분석법에서 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC의 활성

[2077]

1차 인간 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)를 Biological Specialty Corporation(cat# 214-00-10)으로부터 구입하고, 50 mL PBS에 세척하고, 5% DMSO를 함유하는 FBS에 재현탁시키고, 분주하고, 사용할 때까지 액체 질소에 냉동보존하였다. PBMC를 해동시키고, 2% FBS 및 1% 페니실린-스트렙토마이신이 첨가된 RPMI에 재현탁시키고, 세포 분석 플레이트(Costar #3799)에 도말하였다. 37°C 및 5% CO<sub>2</sub>에서 4시간 동안 다양한 농도의 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC와 세포를 인큐베이션 하였다. 그런 다음, 세포를 밤새 100 ng/ml LPS로 자극시켰다. 다음날, 플레이트를 1000 rpm에서 5분 동안 회전시키고, 100 μL의 상층 배지를 또 다른 96-웰 플레이트에 바로 옮겨 IL-6(MSD, #K151AKB) 및 IL-1 베타(MSD, #K151AGB) 농도를 분석하였다. 비선형 회귀를 이용하여 용량 반응 데이터를 S자형 곡선에 적합화하고, GraphPad 5.0(GraphPad Software, Inc.)의 도움으로 IC50 값을 계산하였다. 표 17에 나타난 결과는 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC가 활성화된 1차 면역 세포로부터 전염증성 사이토카인 IL-6 및 IL-1베타의 방출을 억제하는 데 강력한 활성을 가짐을 보여준다.

## 표 17

LPS 자극 인간 PBMC 사이토카인 방출 분석법에서 항-인간 TNF 알파 ADC의 시험관 내 활성(n=2)

화합물 번호	사이토카인 방출 IC50(ng/ml)	
	IL-6	IL-1 베타
203	14.3 ± 3.5	3.6 ± 1.2
201	86.8 ± 69.6	25.5 ± 21.3
205	42.4 ± 27.9	22 ± 18

[2078]

[2079] **실시예 82:** L929 세포에서 TNFa 유도성 세포독성 분석에서 항-TNF-알파 면역접합체의 활성

[2080]

L929는 악티노마이신 D 전처리에 의해 감작되는 뮤린 이수체 섬유육종 세포주이다. TNFa 처리는 세포자멸사 및 이후의 세포 사망을 개시한다. 대수기의 L929 세포를 트립신 0.05%를 이용하여 수화하고, D-PBS로 2회 세척하고, CEDEX로 계수하였다. 세포를 4 μg/mL 악티노마이신 D를 함유하는 분석 배지에 1E6 세포/mL로 재현탁시키고, 50 μL를 모든 웰에 첨가하였다. 항-뮤린 TNF 알파 스테로이드 ADC(화합물 71에 접합된 항-뮤린 TNF 알파 8C11; 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC라고도 지칭됨) 및 항-뮤린 TNF mAb(8C11)을 분석 배지에 4x 농도까지 희

석하고, 단계적인 1:3 희석을 수행하였다. 마우스 TNF α를 600 pg/mL의 4x 농도까지 희석하였다. 항-mTNF 스테로이드 ADC 및 항-mTNF mAb(125 μL)를 mTNF α(125 μL)에 1:2 희석 계획으로 첨가하고, 부드럽게 진탕하면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션 하도록 하였다. 항체/mTNF α(또는 ADC/mTNF α) 혼합물을 3반복하여(in triplicate) 50 μL/웰로 웰에 첨가하였다. 플레이트를 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 20시간 동안 인큐베이션 하였다. 생존 능력을 정량화하기 위하여, 10 μL의 WST-1 시약(Roche cat# 11644807001)을 웰에 첨가하였다. 플레이트를 3.5 시간 동안 분석 조건 하에 인큐베이션 하고, 500 xg에서 원심분리하고, 75 μL 상층액을 ELISA 플레이트(Costar cat#3369)로 옮겼다. Spectromax 190 ELISA 플레이트 판독기를 이용하여 OD 420 내지 600 nm에서 플레이트를 판독하였다. 데이터를 분석하고, GraphPad Prism 5에서 S자형 용량 반응(가변 기울기) 맞춤을 이용하여 IC<sub>50</sub> 값을 계산하였다.

[2081] 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC는 접합되지 않은 항-mTNF 알파 mAb(IC<sub>50</sub> 1.5 nM)와 비슷한 중화 효능(IC<sub>50</sub> 1.9 nM)을 가졌다.

[2082] 위에 기술된 조건 하에서 중화 활성에 대해 항-인간 TNF 알파 면역접합체를 시험하였다. 결과를 표 18에 나타내었으며, 이는 시험한 항-인간 TNF 알파 면역접합체가 인간 TNF 알파의 강력한 중화를 보여준다는 점을 나타낸다.

### 표 18

L929 세포에서 인간 TNF 알파 유도성 세포독성에 대한 항-hTNF 알파 스테로이드 ADC의 중화 효능(ND = 미결정)

화합물	항-TNF	서열 번호	ADC DAR	% 단량체	IC <sub>50</sub> (nM)
233	인플럭시맙	67/74	3.3	99.99	ND
234	골리무맙	72/78	4.9	99	0.050
235	에타네르셉트	79	2.3	87.6	0.002
236	ABT-122	80/81	4.1	99.98	0.074
237	세르톨리주맙 페꼴	68/75	2	95.9	0.046
238	세르톨리주맙	82/83	1	ND	0.085
239	아달리무맙 Fab	84/85	1	ND	0.6
240	아피바디	86	1	100	ND
241	오조랄리주맙 (나노바디)	87	1	98	0.018

[2083]

실시예 83: 마우스 Fc감마 수용체에 대한 항-mTNF-알파 스테로이드 ADC의 결합

[2084] SPR(surface plasmon resonance) 기반 비아코어(Biacore) T200 기기(GE Healthcare)를 이용하여 재조합 마우스 FcgR에 대한 항-mTNF-알파 스테로이드 ADC(화합물 71에 접합시킨 항-mTNF 8C11) 및 항-mTNF-알파 mAb의 결합을 평가하였다(모두 R&D Systems). FcgR을 CM5 S형 비아코어 칩의 흐름 셀 2, 3 및/또는 4의 표면에 직접 고정시켜 약 1000 내지 2000 RU(공명 단위)의 밀도를 달성하였다. 각각의 비아코어 칩의 흐름 셀 1의 블랭크 수정 표면을 기준 표면으로 사용하였다. 각각의 실험은 결합 단계와 해리 단계로 이루어졌다. 결합 단계는 50 uL/분의 유속 및 FcgRIIB 및 FcgRIII의 경우, 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 및 0 nM의 농도, 그리고 수용체 I 및 IV의 경우, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 및 0 nM의 농도에서 모든 흐름 셀에 걸쳐 적정 모 mAb 및 ADC로 이루어졌다. 해리 단계는 50 uL/분의 유속의 유동 완충액(running buffer)(HBS-EP+, pH 7.4, GE Healthcare)의 연속적인 흐름으로 이루어졌다. 결합 단계 및 해리 단계를 각각 5분(수용체 I 및 IV) 또는 1분

(수용체 II 및 III) 동안 모니터링하였다. 각각의 결합 사이클 이후에 100  $\mu$ l/분의 유속의 100 mM HCl의 5초 펄스로 침 표면을 재생시켰다. 비아코어 평가 소프트웨어를 이용하여 미가공 데이터를 1:1(FcgRI 및 IV) 또는 정상 상태(수용체 IIB 및 III) 결합 모델에 적합화하였다. 결과를 표 19에 나타내었다.  $k_a$ 는 결합 속도 상수 (1/Ms)이고,  $k_d$ 는 해리 속도 상수(1/s)이고,  $K_D$ 는 평형 해리 상수(M)이다.

### 표 19

마우스 Fc 감마 수용체에 대한 항-TNF-알파 면역결합체의 결합 친화도

	muFcgRI			muFcgRIIb	muFcgRIII	muFcgRIV		
	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$K_D$ (M)	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)
항-mTNF mAb	7.4E+05	1.6E-02	2.1E-08	3.7E-06	3.1E-06	1.2E+05	5.3E-03	4.6E-08
항-mTNF ADC	3.2E+05	8.7E-03	2.8E-08	5.9E-06	3.3E-06	8.4E+04	4.6E-03	5.5E-08

[2086]

[2087] 실시예 84: 접촉 과민증 모델에서 항 mTNF-알파 스테로이드 ADC의 활성

[2088] 급성 접촉 과민증 모델인, 감작제(플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC)) 적용을 통한 (T 세포 유도) 지연형 과민증(delayed-type hypersensitivity, DTH) 반응을 이용한 급성 피부 염증 유도에서 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC를 평가하였다. 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 효능을 귀 부종을 감소시키는 능력으로 측정하였다. 시상 하부-뇌하수체-부신(HPA) 축 및 글 교체 각각에 대한 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 처리의 추정되는 영향을 평가하기 위하여 스테로이드 바이오마커인 코르티코스테론 및 프로콜라겐 1형 N 말단 프로펩티드(P1NP)를 관찰값으로 포함시켰다.

[2089] 귀 부종

[2090] 0일차에 마우스를 전신 마취 하에 두고 복부를 면도하였다. 마이크로피펫터를 사용하여 복부에 FITC 용액(1:1 아세톤:DBP 중 1.5% 용액) 400 $\mu$ L을 경피 적용하여 마우스를 감작시켰다. 6일 후, FITC를 귀에 접종하기 1시간 전에 마우스에 비히를 또는 치료제를 투여하였다. 귀 접종을 위해, 마우스를 전신 마취 하에 두고, 20  $\mu$ l FITC 를 오른쪽 귀에 접종하였다. 접종 24 시간 후, 마우스를 전신 마취 하에 두고, 귀 두께를 캘리퍼로 측정한다. 접종한 귀와 접종하지 않은 귀의 차이를 계산하였다. 귀 접종 72시간 후, 마우스에 1mpk IP로 ACTH를 주사하고, ACTH 후 30분에 말단에서 채혈하였다. 혈장을 수집하고 P1NP, 코르티코스테론, 유리 스테로이드 및 큰 분자 수준을 분석한다.

[2091] 방출된 유리 스테로이드 및 내인성 코르티코스테론의 정량화

[2092] 8개의 상이한 농도 수준에서 0.03 nM 내지 0.1  $\mu$ M의 최종 농도의 스테로이드의 검량 곡선을 마우스 혈장에서 준비하였다. 0.3 nM 내지 1  $\mu$ M 최종 코르티코스테론 농도 범위의 코르티코스테론 검량 곡선을 PBS 완충액 중 70 mg/mL 소 혈청 일부분 용액에서 준비하였다. 0.1% 포름산을 함유하는 160  $\mu$ L MeCN의 용액을 40  $\mu$ L 연구 혈장 샘플 또는 검량 표준물질에 첨가하였다. 상층액을 증류수로 회석하고, 30  $\mu$ L 최종 샘플 용액을 LC/MS 분석을 위해 주입하였다.

[2093] 양의 방식으로 작동하는 전기분무 이온화 소스와 결부된 Shimadzu AC20 HPLC 시스템에 연결된 AB Sciex 5500 3 단 4중 극자형 질량 분광분석기에서 방출된 유리 스테로이드 및 코르티코스테론의 정량화를 수행하였다. Waters XBridge BEH C18, 2.1x30mm, 3.5  $\mu$ m 컬럼을 크로마토그래피 분리에 사용하였다. 이동상 A는 Milli Q HPLC 물 중 0.1% 포름산이었고, 이동상 B는 MeCN 중 0.1% 포름산이었다. 2% 이동상 B로부터 98% 이동상 B까지의 선형 구배를 0.6분부터 1.2분까지 적용하였다. 총 실행 시간은 0.8 mL/분의 유속으로 2.6분이었다. 질량 분광분석기를 700°C의 소스 온도에서 양의 MRM 모드로 작동시켰다.

[2094] 혈장 P1NP의 정량화

[2095] 혈장 P1NP의 정량화를 단백질 트립신 소화를 기반으로 한 LC/MS 플랫폼에서 수행하였다. 혈장 샘플을 부분적으

로 침전시키고 MeCN/0.1M 중탄산암모늄/DTT 혼합물을 첨가하여 완전히 환원시켰다. 상층액을 수집하고, 요오드 아세트산을 첨가하여 알킬화하였다. 알킬화된 단백질을 트립신으로 소화하고, 그에 따른 트립신 분해 펩티드를 LC/MS로 분석하였다. 말 혈청(비간접 대용 매트릭스)에 섞은 합성 트립신 분해 펩티드를 이용하여 검량 곡선을 생성하였다. 안정적인 동위원소 표지된 측면 펩티드(트립신 분해 펩티드의 양 말단 상의 3 내지 6개 아미노산 연장부)를 MeCN/DTT 단백질 침전 혼합물에 첨가된 내부 표준물질로 사용하여 소화 효율 및 LC/MS 주입 둘 모두를 정규화하였다.

[2096] Columnex Chromentax BB-C18, 2.1x150mm, 5 μm 컬럼을 크로마토그래피 분리에 사용하였다. 이동상 A는 Milli Q HPLC 를 중 0.1% 포름산이었고 이동상 B는 MeCN 중 0.1% 포름산이었다. 이동상 B 2%에서 이동상 B 65%까지의 선형 구배가 0.6분부터 3분까지 적용되었다. 총 실행 시간은 0.45 mL/분의 유속으로 8분이었다. AB Sciex 4000Qtrap 질량 분광분석기를 700°C의 소스 온도에서 양의 MRM 모드로 이용하여 P1NP 펩티드를 정량화하였다.

[2097] 혈장 중 총 ADC의 정량화

[2098] Mesoscale Discovery(MSD) 플랫폼을 이용한 리간드 결합 분석법에 의해 총 항체(ADC 및 백본 mAb)의 농도를 측정하였다. 비오된 표지된 마우스 TNF를 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC를 위한 포획 시약으로 이용하였고, Sulfo-TAG 접합된 염소 항-마우스 검출 항체를 검출에 이용하였다. 매칭 매트릭스에서 ADC 분자의 단계적인 회색에 의해 검량 곡선을 생성하였고, QC 샘플을 이용하여 분석을 정성화하였다.

[2099] 결과

[2100] 결과를 아래 표 20에 나타내었다:

**표 20**

귀 부종에 대한 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 활성 및 엔zyme의 CHS 모델에서의 스테로이드 바이오마커 비교

ADC	귀 부종 (10mpk에 서의% 억제)	SEM	P1NP (10mpk에 서의% 억제)	SEM	코르티코스테론(10mpk 에 서의% 억제)	SEM
화합물 번호 151	87.8	3.5	32.3	3.9	71.5	5.6
화합물 번호 145	87.8	3.4	19.2	6.3	15.1	9.9
화합물 번호 169	90.2	2.2	38.3	2.8	60.1	4.7
화합물 번호 167	86.1	2.4	26.1	6.9	48.3	5.1
화합물 번호 162	76.3	2.7	25.9	6.5	50.4	5.5
화합물 번호 161	64.4	4.6	1.4	7.2	37.1	4.1
화합물 번호 172	79.8	3.9	14.6	4.9	6.3	6.8
화합물 번호 176	81.4	3.9	20.0	7.9	15.0	9.4
화합물 번호 177	94.3	1.2	27.0	6.0	17.1	9.0
화합물 번호 180	80.8	2.1	45.7	6.0	39.9	3.8
화합물 번호 149	92.4	2.3	52.8	2.8	74.4	3.7
화합물 번호 175	66.5	4.7	12.1	4.5	49.3	3.5
화합물 번호 207	87.3	3.6	44.0	5.4	54.6	5.2
화합물 번호 178	94.4	1.8	58.0	2.4	73.8	4.7
화합물 번호 181	78.8	4.6	-13.2	7.2	29.4	8.0
화합물 번호 182	60.1	5.6	-15.1	11.5	3.4	4.8
화합물 번호 185	85.0	4.0	51.6	7.0	43.9	9.6
화합물 번호 186	70.5	3.9	1.5	9.4	19.1	3.9

[2101]

[2102] 이를 결과는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC가 코르티코스테론 및 P1NP에 대한 원치 않는 영향을 회피하면서 소분자 스테로이드 처리와 동등한, 효과적인 반응을 얻을 수 있음을 보여준다.

[2103]

추가적인 접촉 과민증(CHS) 연구를 수행하여 항-TNF mAb에 대한 스테로이드 페이로드의 접합이 증진된 효능에 필요한지 여부를 다루었다. 비히클, 항-mTNF 알파 mAb(10mpk), 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(10mpk)(화합물 번호 139) 또는, ADC 화학량론에 맞추기 위한 동등한 양의 소분자 스테로이드와 공동 투여된 (단일 i.p. 주사로

동시에 전달된) 항-mTNF 알파 mAb의 혼합물 중 어느 하나를 위에 기술된 프로토콜에 따라 1회 마우스에 i.p. 투여하였다. 4의 DAR을 갖는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 10mpk 용량의 경우, 이것은 소분자 스테로이드(화합물 번호 42) 4  $\mu$ g으로 계산되었다. 도 9에 나타낸 결과는 항-mTNF 알파 mAb 및 소분자 스테로이드의 조합 또는 항-mTNF 알파 mAb 단독과 비교할 때 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 처리가 귀 염증을 감소시키는 데 상당히 증가된 효능을 나타냄을 보여준다.

[2104] **실시예 85:** 콜라겐 유도 관절염에서 항-mTNF-알파 스테로이드 ADC의 활성

[2105] 질병에 영향을 미치는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(화합물 번호 137)의 능력을 관절염의 콜라겐 유도 관절염 (CIA) 모델에서 평가하였다.

[2106] 이들 실험에서, 수컷 DBA/1J 마우스를 Jackson Labs(미국 메인 주 바하버 소재)로부터 입수하였다. 6 내지 12주령의 마우스를 이용하였다. 모든 동물은 12시간 명/암 주기 하에서 일정한 온도 및 습도로 유지시켰고, 설치류 먹이(Lab Diet 5010 PharmaServ, 미국 매사추세츠 주 프레이밍햄 소재) 및 물을 자유롭게 급이하였다. AbbVie는 AAALAC(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, 국제실험동물관리평가인증협회) 인증을 받았으며, 모든 절차는 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인을 받았고, 담당 수의사가 모니터링하였다. 체중과 상태를 모니터링하고, >20% 체중 감소를 나타낼 경우, 동물을 안락사시켰다.

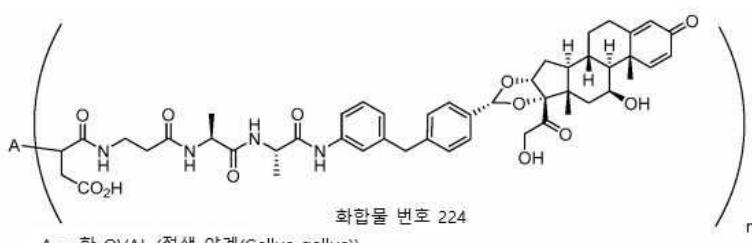
[2107] 수컷 DBA/J 마우스를 0.1 N 아세트산에 용해시킨 II형 소 콜라겐(MD Biosciences) 100  $\mu$ g과 열 불활성화 마이코박테리움 튜버클로시스(Mycobacterium tuberculosis) H37Ra(Complete Freund's Adjuvant, Difco, Laurence, KS)를 함유하는 애멸균 100  $\mu$ L로 꼬리 기저부에서 피내(i.d.) 면역화하였다. 콜라겐 면역화 21일 후, PBS 내 자이모산(Zymosan) A(Sigma, 미국 미주리 주 세인트루이스 소재) 1 mg으로 마우스에 IP 추가 접종하였다. 추가 접종 후, 관절염에 대해 주당 3 내지 5회 마우스를 모니터링하였다. Dyer 스프링 캘리퍼(Dyer 310-115)를 이용하여 발 부종에 대해 뒷발을 평가하였다.

[2108] 질병의 최초 임상 징후로 24일과 28일 사이에 마우스를 등록하였고, 동등한 관절염 중증도를 갖는 군으로 마우스를 분배하였다. 조기의 치료적 처치는 등록시에 시작되었다.

[2109] 동물에게 0.5% HPMC/0.02% 트윈80 비히클[v /] 중 스테로이드(화합물 번호 3)(10mpk)를 경구로(p.o.) 1회 투여하거나, 0.9% 식염수 중 항-mTNF 알파 mAb(10mpk)(8C11) 또는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(10mpk)(화합물 번호 137)를 복강 내(i.p.) 1회 투여하였다. 투여 후 24시간 및 72시간에 꼬리 절개(tail nick)에 의해 항체 노출을 위한 혈액을 수집하였다. 발은 조직 병리학의 종료 시점에서 수집하였다. 혈액은 완전한 혈구 계수(Sysmex XT-2000iV)를 위해 심장 천자에 의해 종료 시점에서 수집하였다. 통계적 유의성은 ANOVA에 의해 결정하였다.

[2110] 결과를 도 3에 나타내었고, 단일 용량의 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC는 항-mTNF 알파 mAb 또는 소분자 스테로이드 단독과 비교하여 약 6주 동안 발 부종의 경감을 통해 연장된 작용기간을 나타낼 수 있음을 보여준다.

[2111] 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 TNF 표적화 기능성을 다루기 위해 설계된 별도의 연구에서, 동물에게 항-mTNF 알파 mAb(10mpk) 또는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(10mpk)(화합물 번호 145)를 i.p.로, 또는 마우스에서 발현되지 않는 항원인 달걀 단백질 오브알부민을 인식하는 이소형 스테로이드 ADC(10mpk)(화합물 번호 224)를 i.p.로 1회 투여하였다.



[2112]

[2113] 두 ADC는 모두 동등한 약물 부하를 가졌다. 소분자 스테로이드(3mpk)를 매일(q.d) 1회 경구 투여하였다. 결과를 도 10에 나타내었는데, 단일 용량의 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC는 21일의 기간에 걸쳐 매일 투여된 소분자 스테로이드와 동등한 효능을 가짐을 보여준다. 단일 용량의 표적화되지 않은 이소형 스테로이드 ADC는 동일한 시간 프레임에 걸쳐 항-mTNF mAb 단독과 비슷한, 부분적인 효능만을 가졌다. 백분율은 비히클과 비교한 % 억제를 나타낸다. 이 연구 과정 전체에 걸친 동물의 체중 평가(도 11)는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 군을 제외한 모

든 처리군에서 체중이 감소되었음을 보여주었다. 대조적으로, 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 처리 마우스는 21일의 연구 중에 정상적인 체중 증가를 나타냈다.

[2114] **실시예 86:** 콜라겐 유도 관절염에서 다양한 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 활성

[2115] 상이한 스테로이드 페이로드 또는 약물:항체 비율(DAR)을 나타내는 몇몇 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC를 마우스 관절염 모델에서의 효능에 대해 시험하였다. 실시예 85에서 개략적으로 서술된 절차에 따라 연구를 수행하였다. 결과를 아래 표 21에 나타내었다.

## 표 21

관절염 모델에서 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 효능

화합물 번호	DAR(n)	비히클(AUC <sub>0-21d</sub> )에 대한 발부종의 (10mpk에서의) % 역제	SEM
136	2	75	3.7
137	4	91	6.5
139	4	93	2.9
143	2	96	3.3
145	4	95	4
151	4	101	2.5
172	4	74	9.3
176	4	85	8.3
177	4	99	4.2

[2116]

[2117] **실시예 87:** 콜라겐 항체 유도 관절염의 인간 TNF 형질전환 Tg1278TNF 넉아웃 마우스 모델에서 항-hTNF-알파 면역접합체의 활성

[2118] 항-인간 TNF 알파 ADC의 효능을 관절염의 인간 TNFa 형질전환 마우스 모델에서 평가하였다.

[2119] 이전에 기술된 바와 같이(Moore A et al. *J Transl Med* 12 (1): 285 (2014)) 인간 TNF 형질전환 Tg1278TNF 넉아웃 마우스를 이용하여 콜라겐 항체 유도 관절염(CAIA) 모델(Moore, AR *J Transl Med* 12:285 (2014))을 수행하였다. 0일차에 콜라겐 II형의 상이한 에피토프를 표적으로 하는 단클론 항체의 칙테일(Arthritomab™) 8 mg을 마우스에 복강 내(i.p.) 투여하였다. 3일차에, 마우스에 질병 병리학을 부양시키기 위해 10 µg LPS를 i.p.로 주입하였다. 연구 3일부터 시작하여 14일까지 동물의 관절염 점수를 매일 평가하였다. 군당 8마리의 수컷 마우스를 이용하였고, 시험 품목 또는 PBS 비히클을 2주 동안 1주일에 2회 i.p.로 투여하였다.

[2120] 결과를 도 4에 나타내었는데, 항-인간 TNF 알파 ADC가 항-인간 TNF 알파 mAb(아달리무맙)와 비교하여 질병 점수를 상당히 감소시킬 수 있음을 보여준다.

[2121] **실시예 88:** 피크 염증에 대한 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 활성

[2122] 피크 염증을 나타내는 동물에 대한 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 효능을 확립하기 위하여 마우스 CIA 실험을 수행하였다. 늦은 치료 투여를 위해, 마우스를 질병의 최초 임상 징후로 연구에 등록하였고, 등록 6일 후에 투여되었다. 동물군을 질병 7일에 희생시켜, 다른 모든 군에 투여된 시점에서 미세전산화 단층촬영(µCT) 및 조직학 분석에 의한 관절염 변화에 대한 기준선을 제공하였다. 모든 동물에 6일차에 1회, 비히클(0.9% 식염수), 항-mTNF 알파 mAb(10mpk)(8C11) 또는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(10mpk)(화합물 번호 145) 중 어느 하나를 투여하였고, 21일차에 희생시켰다. 관절염 뒷발을 수집하고, µCT 분석을 수행하였다. 그런 다음, 동일한 발을 조직학적 평가에 사용하였다. 실험 종료 시, 전혈을 심장 천자에 의해 수집하여 전체 혈구 수(complete blood count, CBC)를 평가하였다.

[2123] 미세전산화 단층촬영(µCT)

[2124] 뒷발을 경골/비골에서 온전하게 제거하고, 10% 포르말린에 고정시켰다. 등방성 복셀과 300 밀리 초의 통합 시간

을 사용하여 고해상도 설정(2048x2048 픽셀 재구성으로 1000개 프로젝션/180°)에서 145  $\mu$ A에서 55 kVp의  $\mu$  CT(Scanco Medical AG, Micro-CT40)로 발을 스캔하였다. 정강목말 접합부로부터 관심 있는 영역 주위로, 그리고 100개의 슬라이스(1.8 mm)를 위해 발목까지 확장되는 원통형 윤곽을 손으로 그렸다. 상한 임계값이 1000이고 하한 임계값이 320인, 0.8 시그마 가우스를 사용하는 Scanco 소프트웨어로 평가를 수행하였다.

#### [2125] 조직학적 평가

처리된 마우스의 뒷발을 10% 중성 완충 포르말린에 침지 고정시키고, 칼라이트(Calrite) 용액에서 48시간 동안 부분적으로 석회질을 제거하여 족근의 옆 가장자리 및 내측 가장자리의 트리밍을 가능하게 하였다. 그런 다음, 발을 약 48시간 동안 다시 칼라이트에 넣어 석회질 제거를 마쳤다. 샘플을 통상적으로 처리하고, 시상면의 파라핀에 포매시키고, 5미크론으로 절단하고, 헤마톡실린 및 에오신으로 염색하였다. 염증/판누스 형성, 호중구 침윤, 뼈 침식 및 연골 손상의 존재에 대해 0 내지 4 스케일을 사용하여 현미경으로 슬라이드를 평가하였다: 0 = 없음, 1 = 경미, 2 = 중간, 3 = 현저, 4 = 심각.

[2127] 도 12에 나타난 결과는 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 단일 용량이 확립된 질병을 역전시킬 수 있고 발 부종을 기준선에 가깝게 감소시킬 수 있음을 보여준다. 대조적으로, 항-mTNF 알파 mAb의 단일 용량은 염증에 최소한의 영향을 미쳤다.

[2128]  $\mu$ CT로 측정한 발목뼈 손실에 대한 치료 효과를 도 13에 나타내었다. 이 결과는 염증 피크에 투여된 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 단일 용량이 항-mTNF 알파 mAb 단독에 비해 질병 매개 관절 뼈 침식을 유의미하게 억제할 수 있음을 보여준다.

[2129] 치료된 CIA 마우스 관절의 조직학적 평가 결과를 도 14 내지 17에 나타내었다. 그것들은 피크 질병에 투여된 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC의 단일 용량이 연령을 매치시킨 비히를 대조군과 비교하여 21일까지 염증, 판누스 형성, 뼈 침식 및 연골 손상에서 유의미한 감소를 가져오며( $p<0.001$ ), 질병의 수준은 기준선의 대조군(비히를 d6)에서 관찰된 수준과 동등하였음을 보여준다. 평가한 여섯 개의 발 중 두 개에서, 6일 기준선(치료 전)의 마우스 및 21일의 비히를 처리된 마우스에서의 100% 발병률과 비교하여, 21일의 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 처리된 동물의 족근/지절골에서는 어떠한 질병도 검출할 수 없었다.

[2130] 대조적으로, 피크 질병에서 단일 용량의 항-mTNF 알파 mAb는, d21의 연령을 매치시킨 비히를 대조군과 비교하여, 염증, 뼈 침식, 판누스 형성, 또는 연골 파괴를 억제하지 않았다. 질병의 수준은 기준선 대조군보다 더욱 심각하였으며, 개선된 염증에 대한 가벼운 경향이 관찰되었다.

[2131] 전혈을 분석하여 치료에 의한 말초 혈액 세포 서브세트의 변화를 평가하였다. 도 18 내지 23에 나타난 결과는 질병에 걸린 동물에서 관찰된 일부 말초 혈액 세포 집단의 증가가 단일 용량의 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC로 해결될 수 있음을 보여준다. 전체 백혈구, 호중구 및 단핵구의 통계적으로 유의미한 감소가 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC 처리에서 관찰되었다.

#### [2132] 실시예 89: 항-mTNF-알파 스테로이드 ADC 및 항-CD163 ADC의 비교

[2133] 염증성 질환의 치료에서 항-TNF 면역접합체의 증진된 치료적 효능을 증명하기 위하여, 그것의 활성을 항-염증 기능성을 목표로 했던 문헌(Graversen NJH 등에 의한 PCT 국제 출원 WO2011039510A2; Graversen JH et al., Mol. Ther. 20 (8): 1550-8 (2012))에 기술된 글루코코르티코이드 면역접합체 접근법인 혈모글로빈 스캐빈저 수용체 CD163을 표적으로 하는 ADC와 비교하였다.

#### [2134] 마우스 CD163 GRE 리포트 세포주의 생성

[2135] 실시예 78에 기술된 바와 비슷하게, 그러나 K562 세포 대신 CHO-K1 세포로 모 세포주를 생성하였다. 그런 다음, 그에 따른 모 세포주 CHO pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro]\_PGL4.75[hRLuc/CMV]를 실시예 78에 기술된 조건 하에서 마우스 CD163을 암호화하는 플라스미드(Origene cat.no. MR216798)로 형질감염시켰다. 그에 따른 세포주 CHO mCD163 GRE(pGL4.36[Luc2P/MMTV/Hygro])를 이용하여 항-mTNF-알파 및 항-마우스 CD163 면역접합체(항-mCD163 면역접합체 또는 항-mCD163 스테로이드 ADC라고도 지칭됨) 둘 다의 시험관 내 활성을 시험하였다.

#### [2136] 항-마우스 CD163 면역접합체의 제조

[2137] 키메라 랫트 항-마우스 CD163 mIgG2a/k 항체를 기술된 바와 같이 클론 3E10B10에 대한 VH 및 VL 서열로부터 생성하였다(PCT 국제 출원 WO 2011/039510A2으로부터 서열번호 87/88). 실시예 36의 일반적인 시스테인 접합 프로토콜 하에 강조된 조건을 이용하여 이 항체를 화합물 번호 99에 접합시켜 약물:항체 비율(DAR) 4를 제공하였다.

[2138]

마우스 CD163 GRE 리포터 분석법에서 항-마우스 CD163 면역접합체의 활성

[2139]

항-마우스 CD163 면역접합체를 실시예 79에 기술된 조건 하에서 CHO mCD163 GRE (pGL4.36[luc2P/MMTV/Hygro]) 세포주에 대한 활성에 대해 시험하였다. 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(화합물 번호 145)를 음성 대조군으로 포함시켰다. 표 22의 결과는 항-마우스 CD163 면역접합체(화합물 번호 223)가 마우스 CD163 GRE 세포주에 대해 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC로부터 해리된 항원 의존성 활성을 보여줌을 증명한다.



A = 항-CD163

표 22

화합물 번호	DAR	% 단량체	mCD163 GRE EC50(ug/ml)	mCD163 GRE(% 최대)	CHO GRE EC50(ug/ml)	CHO GRE(% 최대)
<b>223</b>	4	93	0.2	92	>50	55
<b>145</b>	4	97	>20	70	>50	39

[2141]

마우스 콜라겐 유도 관절염에서 항-마우스 CD163 면역접합체의 활성

[2142]

RA의 콜라겐 유도 관절염(CIA) 모델에서 항-mouse CD163 스테로이드 면역접합체의 발 부종에 영향을 미칠 수 있는 능력을 평가하였다. 항-mCD163 스테로이드 ADC와 동일한 약물-링커 및 DAR을 갖는 대조군 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC(화합물 139) 또한, 동일한 연구에서 평가하였고, 두 ADC에 대한 모 mAb 또한, 처리군으로서 포함시켰다. 실시예 85에서 개략적으로 서술된 절차에 따라 실험을 수행하였다. 결과를 도 24에 나타내었는데, 항-mCD163 스테로이드 ADC는 초기에 단일 용량 처리 후 처음 며칠간 발 부종을 감소시키지만, 이 효과는 일시적임을 보여준다. 비교해보면, 단일 용량의 항-mTNF 알파 스테로이드 ADC는 연구 기간 전체에 걸쳐 염증을 완전히 억제하기에 충분하다.

[2143]

'발명의 내용' 및 '요약' 섹션이 아니라, '상세한 설명' 섹션이 청구범위를 해석하는 데 사용된다고 이해되어야 한다. '발명의 내용' 및 '요약' 섹션은 발명자(들)에 의해 고려되는 바와 같이 본 발명의 하나 이상의, 그러나 전부는 아닌, 예시적인 구현예를 기재한 것이며, 따라서, 본 발명 및 첨부된 청구범위를 어떠한 방식으로든 제한하려는 것이 아니다.

[2144]

본 발명은 특정 기능 및 이의 관계의 구현을 설명하는 기능적인 빌딩 블록의 도움으로 위에서 설명되었다. 이들 기능적 빌딩 블록의 경계는 설명의 편의를 위해 본 설명에서 임의로 정의되었다. 특정 기능과 이의 관계가 적절하게 수행되는 한, 대안적인 경계가 정의될 수 있다.

[2145]

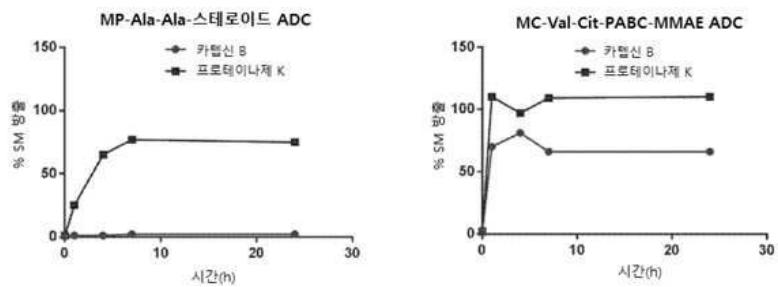
특정 구현예에 대한 전술한 설명은, 다른 사람들이 당해 분야의 기술 내의 지식을 적용함으로써 과도한 실험없이, 본 발명의 일반적인 개념으로부터 벗어나지 않고, 그러한 특정 구현예에 대한 다양한 적용을 용이하게 수정 및/또는 조정할 수 있도록, 본 발명의 일반적인 특성을 완전히 드러낼 것이다. 따라서, 그러한 조정 및 수정은 본 설명에 제시된 교시 및 지침에 기초하여, 개시된 구현예의 등가물의 의미 및 범위 내에 있게 된다. 본 설명의 어구 또는 용어는 본 명세서의 어구 또는 용어가 교시 및 지침에 비추어 당업자에 의해 해석될 수 있도록 설명의 목적을 위한 것이며 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다.

[2146]

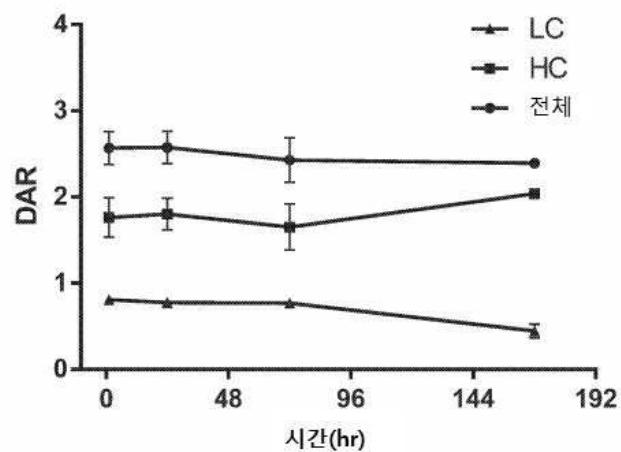
본 발명의 폭 및 범위는 위에 기술된 예시적인 구현예 중 어느 것에 의해서도 제한되어서는 안되며, 오로지 다음의 청구범위 및 그 균등물에 따라 정의되어야 한다.

## 도면

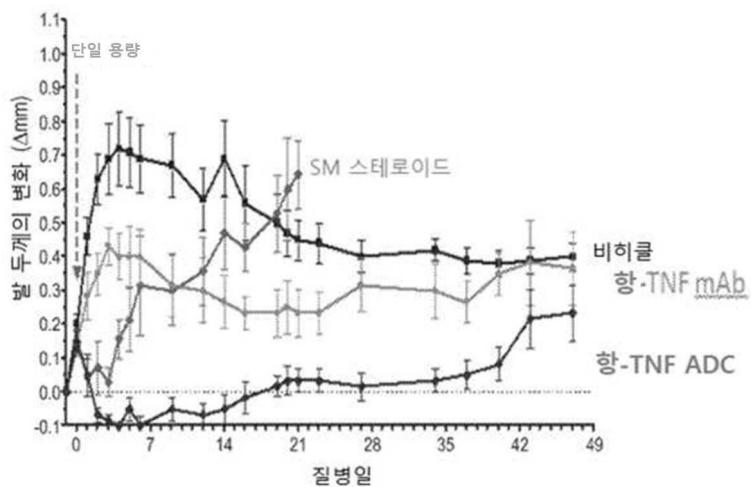
### 도면1



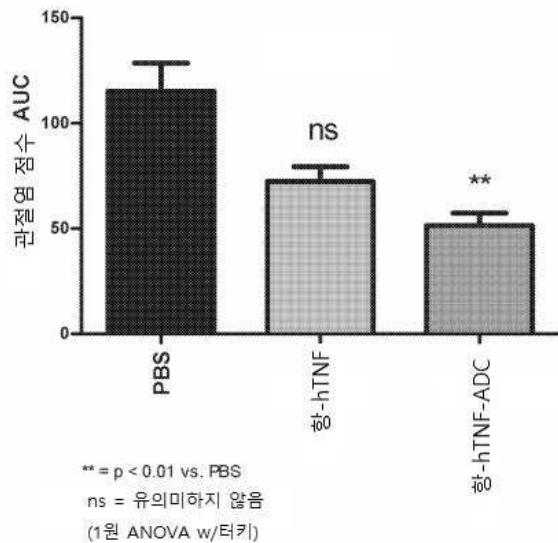
### 도면2



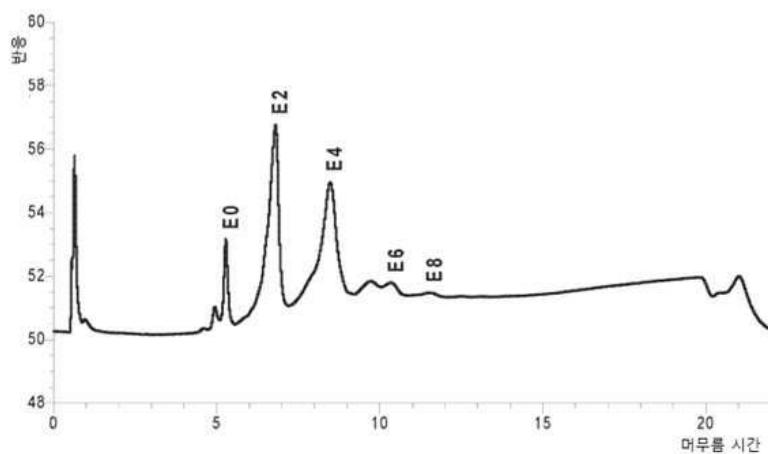
### 도면3



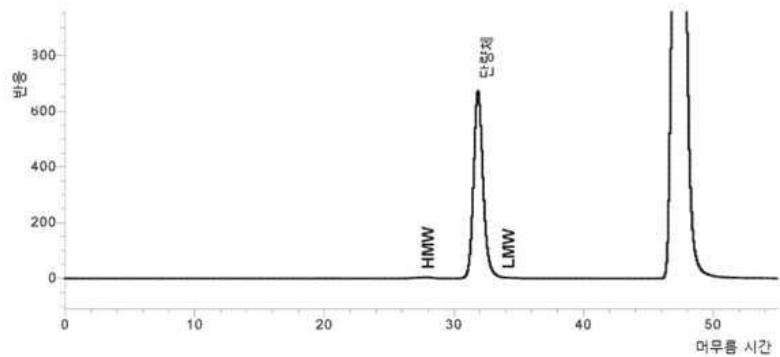
## 도면4



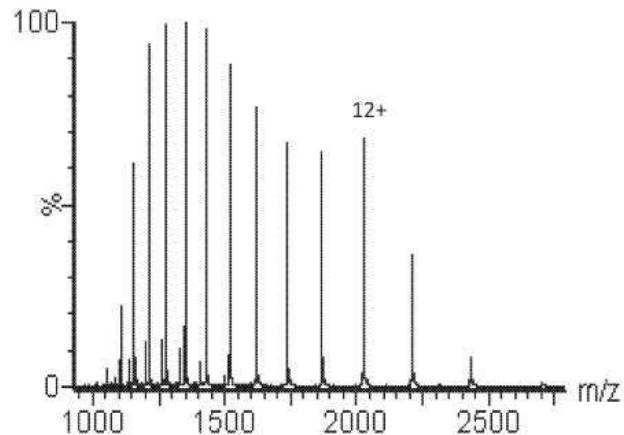
## 도면5



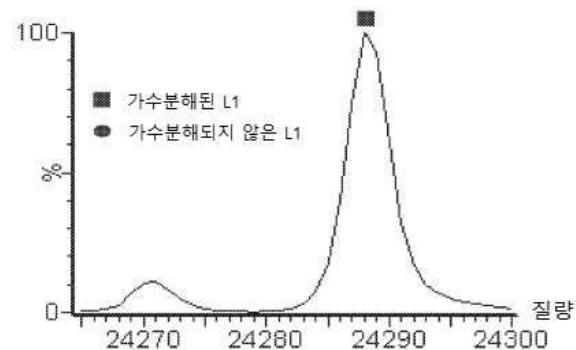
## 도면6



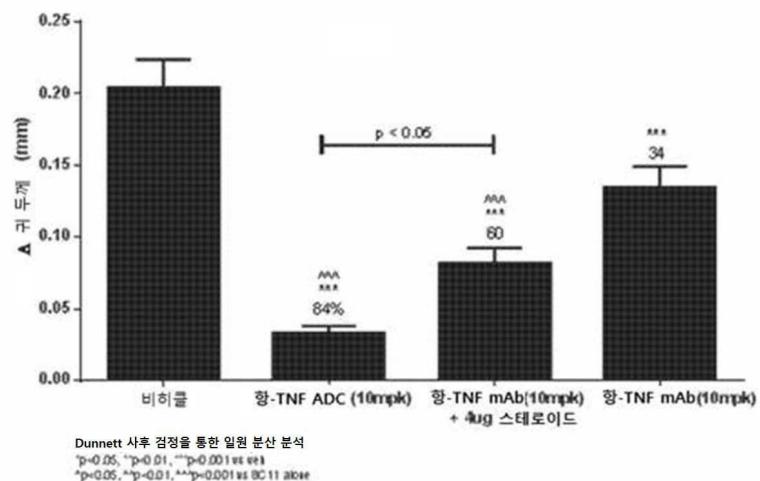
도면7



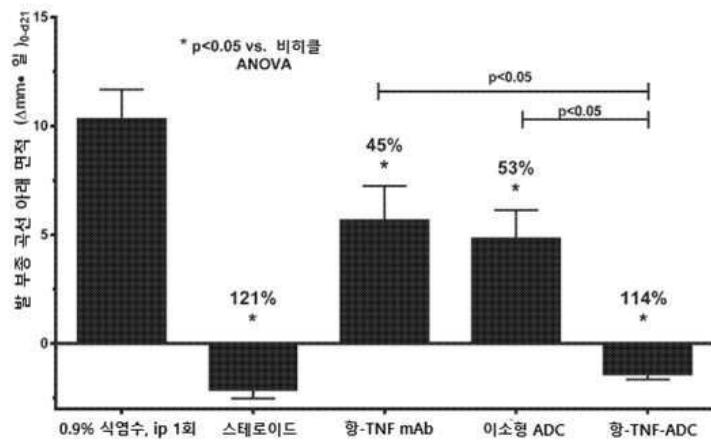
도면8



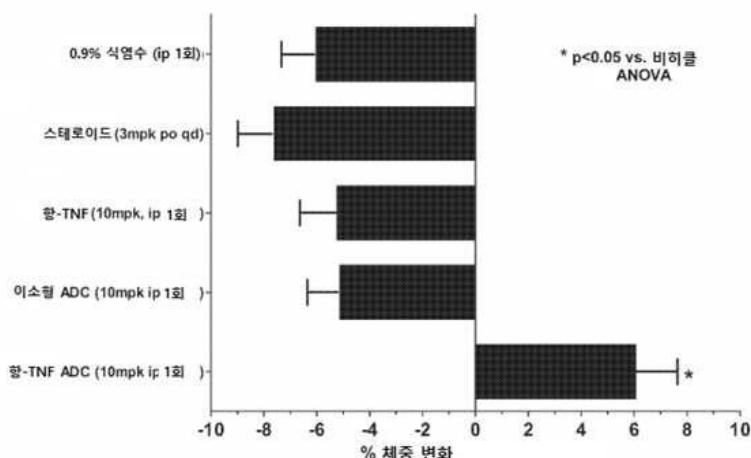
도면9



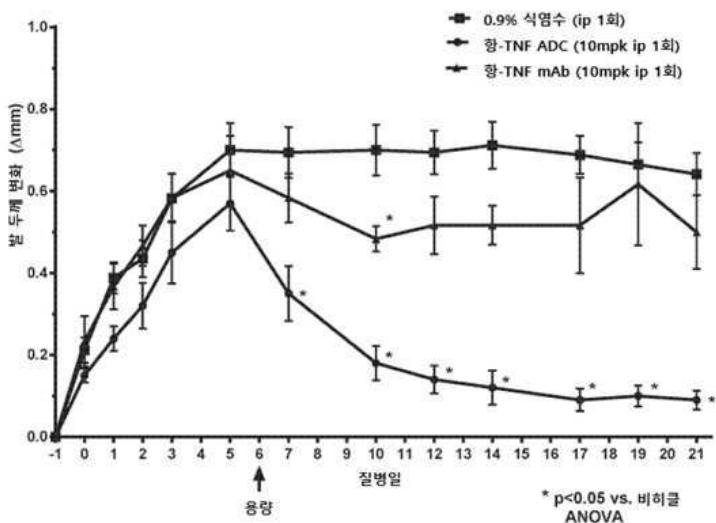
## 도면10



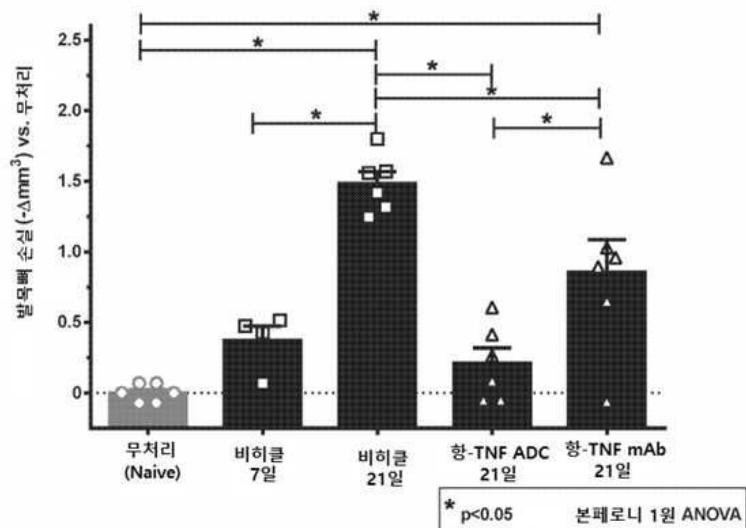
## 도면11



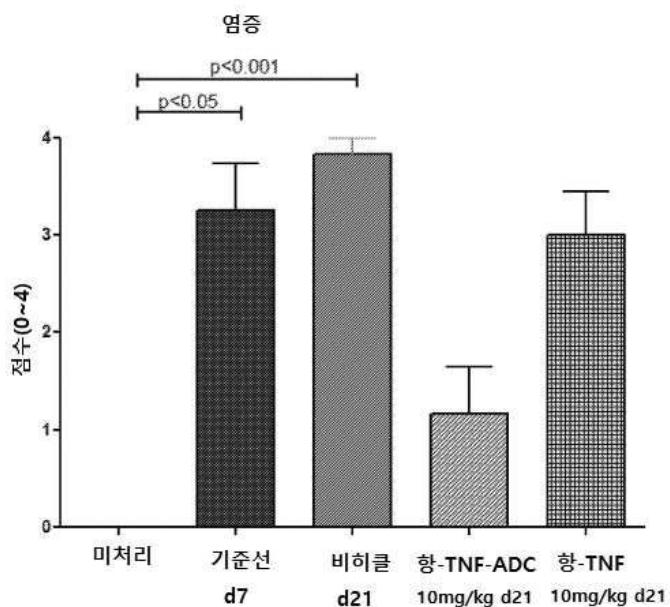
## 도면12



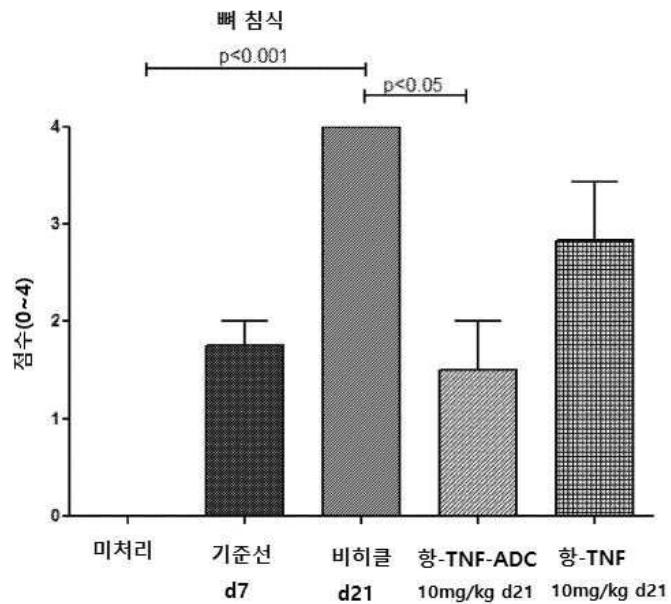
도면13



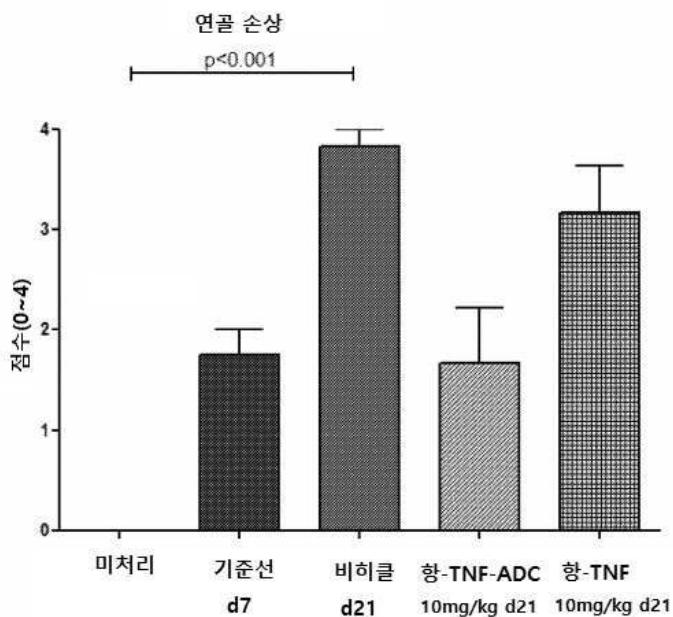
도면14



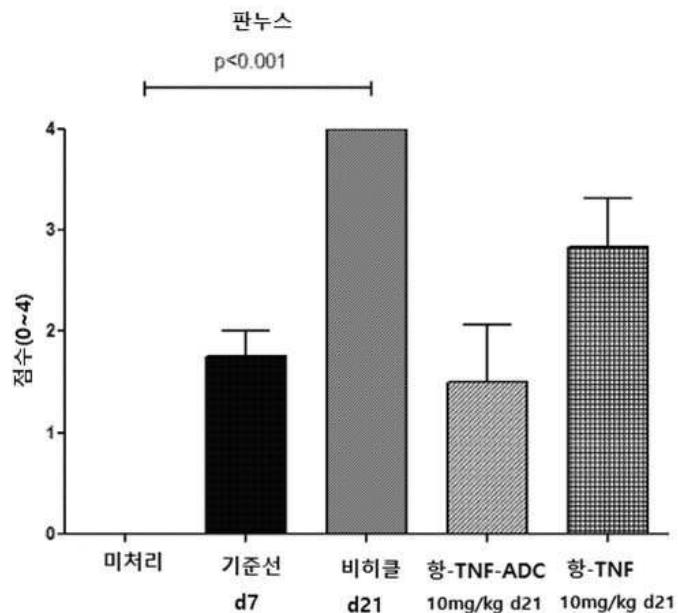
도면15



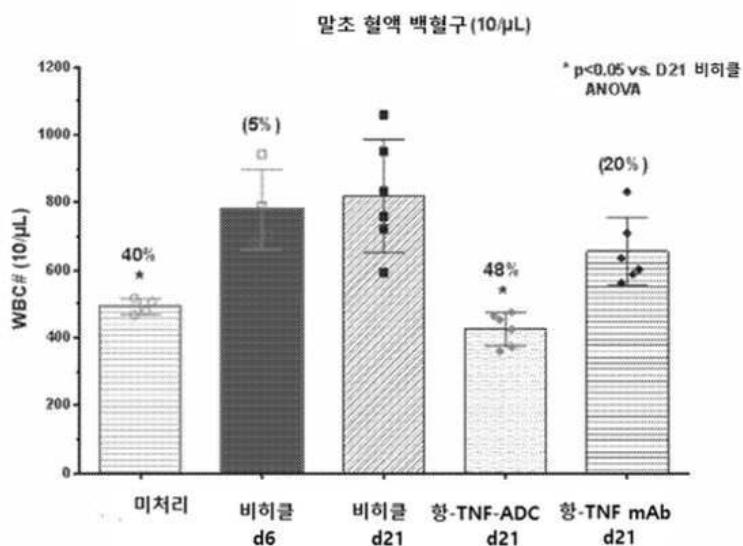
도면16



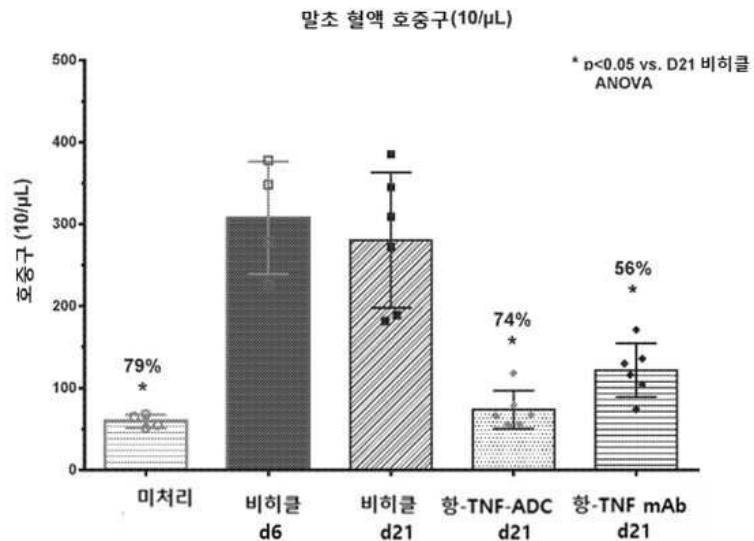
도면17



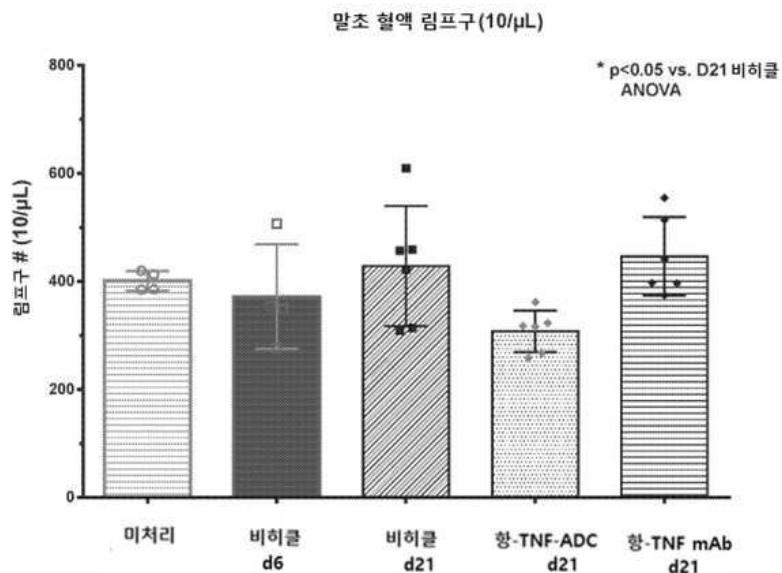
도면18



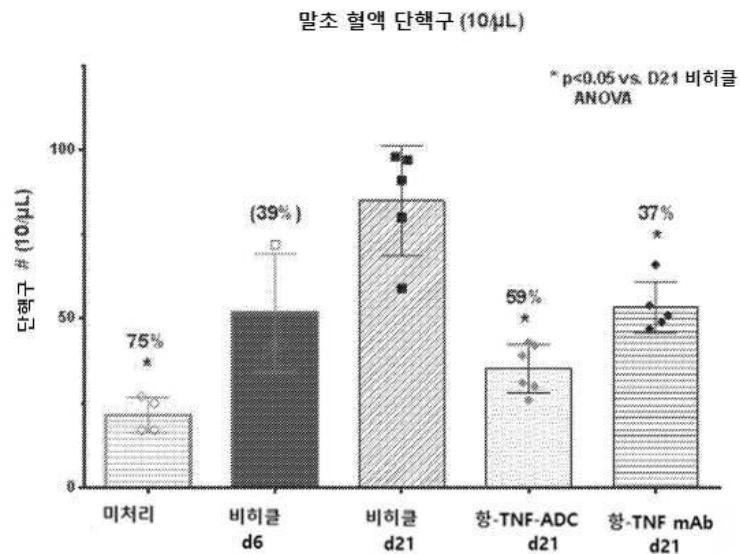
## 도면19



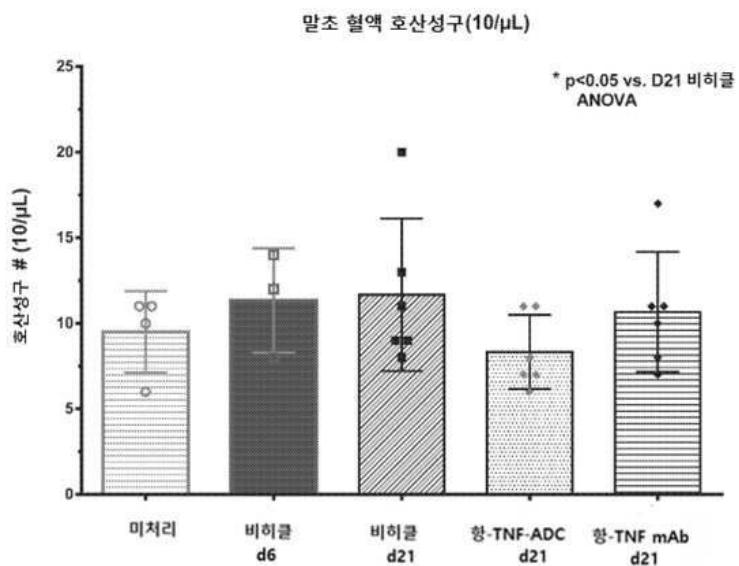
## 도면20



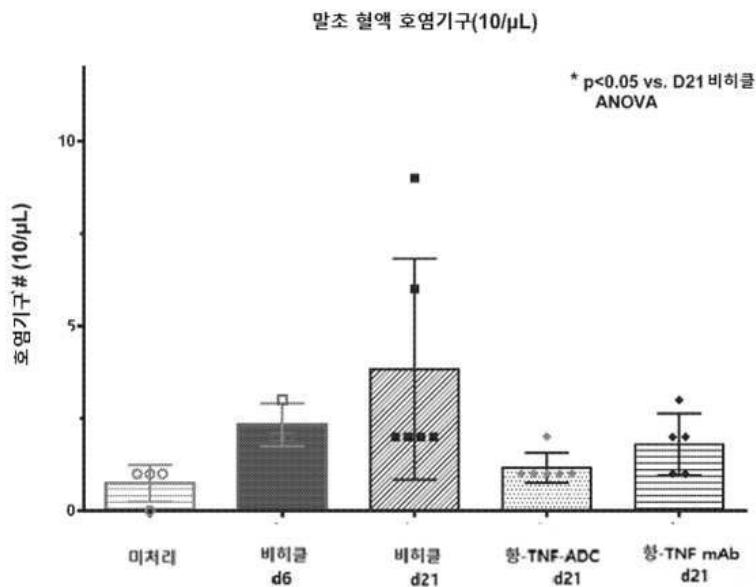
## 도면21



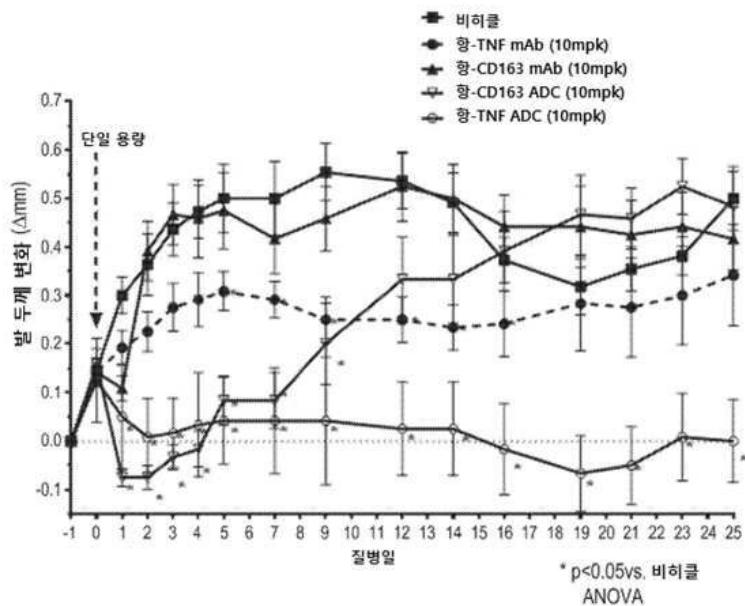
## 도면22



## 도면23



## 도면24



## 서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; ABBVIE INC.

&lt;120&gt; GLUCOCORTICOID RECEPTOR AGONIST AND IMMUNOCONJUGATES THEREOF

&lt;130&gt; 3685.0100002/EKS/CLD/MIG

&lt;150&gt; US 62/344,948

&lt;151&gt; 2016-06-02

&lt;150&gt; US 62/371,134

&lt;151&gt; 2016-08-04

&lt;160&gt; 94

&lt;170&gt; KoPatent In 3.0

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 233

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; homo sapiens

&lt;400&gt; 1

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser

65 70 75 80

Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val Ala Asn Pro

85 90 95

Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu

100 105 110

Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser

115 120 125

Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly

130 135 140

Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala

145 150 155 160

Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro

165 170 175

Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu

180 185 190

Pro Ile Tyr Leu Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu

195 200 205

Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly

210 215 220

Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

225 230

<210> 2

<211> 235

<212> PRT

<213> murine

<400> 2

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Gln Lys Met Gly Gly Phe Gln Asn Ser Arg Arg Cys Leu Cys

20 25 30

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Leu Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe

35 40 45

Cys Leu Leu Asn Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Asp Glu Lys Phe

50 55 60

Pro Asn Gly Leu Pro Leu Ile Ser Ser Met Ala Gln Thr Leu Thr Leu

65 70 75 80

Arg Ser Ser Ser Gln Asn Ser Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val

85 90 95

Ala Asn His Gln Val Glu Glu Gln Leu Glu Trp Leu Ser Gln Arg Ala

100 105 110

Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Met Asp Leu Lys Asp Asn Gln Leu Val

115 120 125

Val Pro Ala Asp Gly Leu Tyr Leu Val Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys

130 135 140

Gly Gln Gly Cys Pro Asp Tyr Val Leu Leu Thr His Thr Val Ser Arg

145                    150                    155                    160

Phe Ala Ile Ser Tyr Gln Glu Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Val Lys

165                    170                    175

Ser Pro Cys Pro Lys Asp Thr Pro Glu Gly Ala Glu Leu Lys Pro Trp

180                    185                    190

Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp

195                    200                    205

Gln Leu Ser Ala Glu Val Asn Leu Pro Lys Tyr Leu Asp Phe Ala Glu

210                    215                    220

Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Val Ile Ala Leu

225                    230                    235

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> adalimumab VH-CDR1

<400> 3

Asp Tyr Ala Met His

1                    5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> adalimumab VH-CDR2

<400> 4

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; adalimumab VH-CDR3

&lt;400&gt; 5

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser

1 5

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; adalimumab VH-CDR1

&lt;400&gt; 6

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His

1 5 10

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; infliximab VH-CDR1

&lt;400&gt; 7

Gly Phe Ile Phe Ser Asn His Trp Met Asn

1 5 10

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 19

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; infliximab VH-CDR2

&lt;400&gt; 8

Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

<213> artificial sequence

<220><223> infliximab VH-CDR3

<400> 9

Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr

1 5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VH-CDR1

<400> 10

Asp Tyr Gly Met Asn

1 5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VH-CDR2

<400> 11

Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VH-CDR3

<400> 12

Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

&lt;213&gt;

artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; certolizumab VH-CDR1

&lt;400&gt; 13

Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr Gly Met Asn

1 5 10

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; afelimomab VH-CDR1

&lt;400&gt; 14

Asp Tyr Gly Val Asn

1 5

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; afelimomab VH-CDR2

&lt;400&gt; 15

Met Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asp Ser Thr Leu Lys Ser

1 5 10 15

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; afelimomab VH-CDR3

&lt;400&gt; 16

Glu Trp His His Gly Pro Val Ala Tyr

1 5

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

<220><223> nerelimomab VH-CDR1

<400> 17

Asp Tyr Asn Val Asp

1 5

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> nerelimomab VH-CDR2

<400> 18

Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 19

<211> 12

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> nerelimomab VH-CDR3

<400> 19

Ser Ala Phe Tyr Asn Asn Tyr Glu Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR1

<400> 20

Asp Tyr Trp Met Tyr

1 5

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR2

<400> 21

Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys

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

Gly

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR3

<400> 22

Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg

1	5		
---	---	--	--

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR1

<400> 23

Ser Phe Gly Met Ser

1	5		
---	---	--	--

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR2

<400> 24

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys

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

Gly

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR3

<400> 25

Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser

1 5

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223>

> ozoralizumab VH-CDR1

<400> 26

Asp Tyr Trp Met Tyr

1 5

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR2

<400> 27

Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH-CDR3

<400> 28

Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg

1 5

<210> 29

<211> 10

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab VH-CDR1

<400> 29

Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Ala Met His

1 5 10

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab VH-CDR2

<400> 30

Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab VH-CDR3

<400> 31

Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> adalimumab VL-CDR1

<400> 32

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> adalimumab VL-CDR2

<400> 33

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> adalimumab VL-CDR3

<400> 34

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> infliximab VL-CDR1

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> infliximab VL-CDR2

<400> 36

Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> infliximab VL-CDR3

<400> 37

Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VL-CDR1

<400> 38

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VL-CDR2

<400> 39

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 40

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VL-CDR3

<400> 40

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> afelimomab VL-CDR1

<400> 41

Lys Ala Ser Gln Ala Val Ser Ser Ala Val Ala

1 5 10

<210> 42

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> afelimomab VL-CDR2

<400> 42

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> afelimomab VL-CDR3

<400> 43

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> nerelimomab VL-CDR1

<400> 44

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> nerelimomab VL-CDR2

<400> 45

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> nerelimomab VL-CDR3

<400> 46

Gln Gln Tyr Tyr Asp Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223>

> golimumab VL-CDR1

<400> 47

Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab VL-CDR2

<400> 48

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; golimumab VL-CDR3

&lt;400&gt; 49

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Phe Thr

1 5 10

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; adalimumab VH

&lt;400&gt; 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; infliximab VH

&lt;400&gt; 51

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala

65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser

115

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; certolizumab VH

&lt;400&gt; 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60													
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Lys	Ser	Thr	Ala	Tyr
65			70			75			80						
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85			90			95						
Ala	Arg	Gly	Tyr	Arg	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
			100			105			110						
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
			115												

<210> 53

<211> 117

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> afelimomab VH

<400> 53

Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	Gln
1			5			10			15						
Ser	Leu	Ser	Ile	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Asp	Tyr
			20			25			30						
Gly	Val	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Leu
			35			40			45						
Gly	Met	Ile	Trp	Gly	Asp	Gly	Ser	Thr	Asp	Tyr	Asp	Ser	Thr	Leu	Lys

50	55	60													
Ser	Arg	Leu	Ser	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Ile	Phe	Leu
65			70			75			80						
Lys	Asn	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Cys	Ala
			85			90			95						
Arg	Glu	Trp	His	His	Gly	Pro	Val	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100			105			110						
Val	Thr	Val	Ser	Ala											
			115												

&lt;210&gt;

&gt; 54

&lt;211&gt; 121

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; nerelimomab VH

&lt;400&gt; 54

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Asn Val Asp Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Gly Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Ala Phe Tyr Asn Asn Tyr Glu Tyr Phe Asp Val Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 115

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; ozoralizumab VH V1

&lt;400&gt; 55

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser  
 115  
<210> 56  
<211> 115

<212> PRT  
<213> artificial sequence  
<220><223> ozoralizumab VH V2  
<400> 56  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 57

<211> 115

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab VH V3

<400> 57

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20	25	30
----	----	----

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
----	----	----

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val

50	55	60
----	----	----

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100	105	110
-----	-----	-----

Val Ser Ser

115

<210> 58

<211> 126

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab VH

<400> 58

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 59

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> adalimumab VL

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 60

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> infliximab VL

<400> 60

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser

20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Thr Val Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys

100 105

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> certolizumab VL

<400> 61

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> afelimumab VL

<400> 62

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Val Ser Ser Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Val Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile His Asn Leu Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 63

<211> 114

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; nerelimomab VL

&lt;400&gt; 63

Asp Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Asp Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; placulumab VL

&lt;400&gt; 64

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asp Ser Tyr

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Leu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Val Trp Arg Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 65

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab VL

<400> 65

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 66

<211> 451

<212> PRT

<213> artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Adalimumab (D2E7) Full-Length Heavy Chain

&lt;400&gt; 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225	230	235	240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			
245	250	255	
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His			
260	265	270	
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val			
275	280	285	
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr			
290	295	300	
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly			
305	310	315	320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
325	330	335	
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
340	345	350	
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			
355	360	365	
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
370	375	380	
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
385	390	395	400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
405	410	415	
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
420	425	430	
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
435	440	445	
Pro Gly Lys			
450			
<210> 67			
<211> 450			
<212> PRT			

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; infliximab Full-Length Heavy Chain

&lt;400&gt; 67

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala

65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Thr Asp Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly  
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile  
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu  
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg  
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys  
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu  
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr  
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu  
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
435 440 445

Gly Lys

450

<210> 68

<211> 229

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; certolizumab Full-Length Heavy Chain

&lt;400&gt; 68

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210	215	220	
His Thr Cys Ala Ala			
225			
<210> 69			
<211> 447			
<212> PRT			
<213> artificial sequence			
<220><223> afelimumab Full-Length Heavy Chain			
<400> 69			
Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln			
1	5	10	15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr			
20	25	30	
Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu			
35	40	45	
Gly Met Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asp Ser Thr Leu Lys			
50	55	60	
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Ile Phe Leu			
65	70	75	80
Lys Asn Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala			
85	90	95	
Arg Glu Trp His His Gly Pro Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
100	105	110	
Val Thr Val Ser Ala Ala Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu			
115	120	125	
Val Pro Gly Cys Ser Asp Thr Ser Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys			
130	135	140	
Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Lys Trp Asn Tyr			
145	150	155	160
Gly Ala Leu Ser Ser Gly Val Arg Thr Val Ser Ser Val Leu Gln Ser			
165	170	175	
Gly Phe Tyr Ser Leu Ser Ser Leu Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp			

180	185	190
Pro Ser Gln Thr Val Ile Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr		
195	200	205
Glu Leu Ile Lys Arg Ile Glu Pro Arg Ile Pro Lys Pro Ser Thr Pro		
210	215	220
Pro Gly Ser Ser Cys Pro Pro Gly Asn Ile Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ala Leu Met Ile Ser Leu Thr		
245	250	255
Pro Lys Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp		
260	265	270
Val His Val Ser Trp Phe Val Asp Asn Lys Glu Val His Thr Ala Trp		
275	280	285
Thr Gln Pro Arg Glu Ala Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser		
290	295	300
Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Arg Gly Lys Glu Phe Lys		
305	310	315
Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Pro Lys Gly Arg Ala Gln Thr Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro		
340	345	350
Pro Pro Arg Glu Gln Met Ser Lys Lys Val Ser Leu Thr Cys Leu		
355	360	365
Val Thr Asn Phe Phe Ser Glu Ala Ile Ser Val Glu Trp Glu Arg Asn		
370	375	380
Gly Glu Leu Glu Gln Asp Tyr Lys Asn Thr Pro Pro Ile Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Thr Asp Ser		
405	410	415
Trp Leu Gln Gly Glu Ile Phe Thr Cys Ser Val Val His Glu Ala Leu		
420	425	430

His Asn His His Thr Gln Lys Asn Leu Ser Arg Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 70

<211> 363

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> ozoralizumab Full-Length Heavy Chain

<400

> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu

130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp

145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser

165 170 175

Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe

180	185	190
Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn		
195	200	205
Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly		
210	215	220
Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly		
225	230	235
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly		
245	250	255
Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala		
260	265	270
Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala		
275	280	285
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu		
290	295	300
Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg		
305	310	315
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro		
325	330	335
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn		
340	345	350
Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
355	360	
<210> 71		
<211> 234		
<212> PRT		
<213> artificial sequence		
<220><223> placulumab Full-Length Heavy Chain		
<400> 71		
Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 20 25 30  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 35 40 45  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 50 55 60  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 85 90 95  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 100 105 110  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 115 120 125  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 130 135 140  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 165 170 175  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 180 185 190  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 195 200 205  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 210 215 220  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230  
 <210> 72  
 <211> 456  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; golimumab Full-Length Heavy Chain

&lt;400&gt; 72

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr

130 135 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile

195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val

210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

225	230	235	240
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro			
245	250	255	
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val			
260	265	270	
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val			
275	280	285	
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln			
290	295	300	
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln			
305	310	315	320
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala			
325	330	335	
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro			
340	345	350	
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr			
355	360	365	
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser			
370	375	380	
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr			
385	390	395	400
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr			
405	410	415	
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe			
420	425	430	
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys			
435	440	445	
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
450	455		
<210> 73			
<211> 214			
<212> PRT			

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; Adalimumab (D2E7) Full-Length Light Chain

&lt;400&gt; 73

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; infliximab Full-Length Light Chain

&lt;400&gt; 74

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser

20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Thr Val Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195

200

205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; certolizumab Full-Length Light Chain

&lt;400&gt; 75

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
                         180                        185                        190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
                         195                        200                        205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
                         210  
 <210> 76  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> artificial sequence  
 <220><223> afelimomab Full-Length Light Chain  
 <400> 76

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly  
  1                      5                            10                        15  
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Val Ser Ser Ala  
                         20                        25                            30  
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
                         35                        40                        45  
 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
                         50                        55                            60

Ser Gly Ser Val Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile His Asn Leu Gln Ala  
  65                      70                            75                        80  
 Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe  
                         85                            90                            95  
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala  
                         100                        105                            110  
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly  
                         115                            120                            125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile  
                         130                        135                            140  
 Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu  
                         145                        150                            155                        160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr

180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 77

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> placulumab Full-Length Light Chain

<400> 77

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asp Ser Tyr

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Leu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Val Trp Arg Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 78

<211> 215

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> golimumab Full-Length Light Chain

<400> 78

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr

20	25	30
----	----	----

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35	40	45
----	----	----

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro

85	90	95
----	----	----

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala

100	105	110
-----	-----	-----

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130	135	140
-----	-----	-----

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165	170	175
-----	-----	-----

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180	185	190
-----	-----	-----

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195	200	205
-----	-----	-----

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210	215
-----	-----

<210> 79

<211> 467

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; etanercept

&lt;400&gt; 79

Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser

1 5 10 15

Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys

20 25 30

Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr

35 40 45

Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu

50 55 60

Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser

65 70 75 80

Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys

85 90 95

Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys

100 105 110

Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala

115 120 125

Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro

130 135 140

Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His

145 150 155 160

Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala

165 170 175

Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val

180 185 190

His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr

195 200 205

Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly

210	215	220
Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp Glu Pro Lys Ser Cys		
225	230	235
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
245	250	255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
260	265	270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
275	280	285
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
290	295	300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
305	310	315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
325	330	335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
340	345	350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
355	360	365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
385	390	395
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
405	410	415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
420	425	430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
435	440	445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
450	455	460

Pro Gly Lys

465

<210> 80

<211> 587

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ABT-122 Heavy Chain

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20	25	30
----	----	----

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
----	----	----

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60
----	----	----

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85	90	95
----	----	----

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly

100	105	110
-----	-----	-----

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ser Phe

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gly Gly Tyr Gly Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

165	170	175
-----	-----	-----

Glu Trp Met Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Gly Phe Ala Asp Tyr Ala

180	185	190
-----	-----	-----

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Thr  
 195 200 205  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val  
 210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Asn Glu Phe Trp Asn Gly Tyr Tyr Ser  
 225 230 235 240  
 Thr His Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser  
 245 250 255  
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser  
 260 265 270  
 Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
 275 280 285

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 290 295 300  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
 305 310 315 320  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln  
 325 330 335  
 Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
 340 345 350

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro  
 355 360 365  
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
 370 375 380  
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
 385 390 395 400  
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn  
 405 410 415

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
 420 425 430  
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

435                    440                    445

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

450                    455                    460

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

465                    470                    475                    480

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

485                    490                    495

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

500                    505                    510

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gln Pro Glu

515                    520                    525

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

530                    535                    540

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

545                    550                    555                    560

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

565                    570                    575

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gly Lys

580                    585

<210> 81

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ABT-122 Light Chain

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr

20                    25                    30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35                    40                    45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr		
85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Gly Gly Ser Gly		
100	105	110
Gly Gly Gly Ser Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln		
115	120	125
Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln		
130	135	140
Asp Ile Gly Ser Glu Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Pro		
145	150	155
Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser His Ser Thr Ser Gly Val Pro		
165	170	175
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile		
180	185	190
Asn Gly Leu Glu Ala Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys His Gln Thr		
195	200	205
Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys		
210	215	220
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
225	230	235
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
245	250	255
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
260	265	270
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
275	280	285
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
290	295	300

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 305 310 315 320  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 325 330

<210> 82  
 <211> 235  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Certolizumab Heavy Chain

<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 115 120 125  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165	170	175
-----	-----	-----

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180	185	190
-----	-----	-----

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195	200	205
-----	-----	-----

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210	215	220
-----	-----	-----

His Thr Cys Ala Ala His His His His His

225	230	235
-----	-----	-----

<210> 83

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Certolizumab Light Chain

<400> 83

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20	25	30
----	----	----

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile

35	40	45
----	----	----

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly

50	55	60
----	----	----

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100	105	110
-----	-----	-----

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140  
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190  
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205  
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210  
 <210> 84  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Adalimumab Fab Heavy Chain  
 <400> 84  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala His His His His His

225 230 235

<210> 85

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Adalimumab Fab Light Chain

<400> 85

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100	105	110
-----	-----	-----

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115	120	125
-----	-----	-----

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130	135	140
-----	-----	-----

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165	170	175
-----	-----	-----

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180	185	190
-----	-----	-----

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195	200	205
-----	-----	-----

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210
-----

<210> 86

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Affibody

<400> 86

Gly Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Asn Ile Ala Ala Met Thr Glu

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

Ile Thr Arg Leu Pro Asn Leu Asn Pro Tyr Gln Arg Ala Ala Phe Ile

20	25	30
----	----	----

Trp Ser Leu Ser Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu

35	40	45
----	----	----

Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Cys

50 55 60

<210> 87

<211> 382

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ozoralizumab Nanobody

<400> 87

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu

115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu

130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp

145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser

165 170 175

Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe

180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn  
 195 200 205

Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly  
 210 215 220

Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly  
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly  
 245 250 255

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala  
 260 265 270

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala  
 275 280 285

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu  
 290 295 300

Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg  
 305 310 315 320

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro  
 325 330 335

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn  
 340 345 350

Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Glu Gln Lys  
 355 360 365

Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Cys His His His His His  
 370 375 380

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> placulumab VH-CDR1

<400> 88

Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asp Ser Tyr Leu His

1 5 10

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; placulumab VH-CDR2

&lt;400&gt; 89

Ser Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; placulumab VH-CDR3

&lt;400&gt; 90

Gln Gln Val Val Trp Arg Pro Phe Thr

1 5

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 120

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;&lt;223&gt; infliximab VH

&lt;400&gt; 91

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His

20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala

65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Thr Asp Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr

85	90	95
----	----	----

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln

100	105	110
-----	-----	-----

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115	120	
-----	-----	--

<210> 92

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> nerelimomab VL

<400> 92

Asp Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20	25	30
----	----	----

Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35	40	45
----	----	----

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50	55	60
----	----	----

Pro Ser Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr

65	70	75	80
----	----	----	----

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

85	90	95
----	----	----

Tyr Tyr Asp Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100	105	110
-----	-----	-----

Lys

<210> 93

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> placulumab Full-Length Heavy Chain

&lt;400&gt; 93

Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10 15  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 20 25 30

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 35 40 45

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 50 55 60

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 65 70 75 80

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 85 90 95

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 100 105 110

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 115 120 125

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 130 135 140

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 145 150 155 160

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 165 170 175

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 195 200 205

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 210 215 220

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230

<210> 94

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> adalimumab VH-CDR3

<400> 94

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1

5

10