



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0095288
 (43) 공개일자 2011년08월24일

(51) Int. Cl.

A61K 31/665 (2006.01) A61K 31/66 (2006.01)
 C07F 9/44 (2006.01) A01N 57/26 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7012700

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년11월05일
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년06월02일

(86) 국제출원번호 PCT/IL2009/001049

(87) 국제공개번호 WO 2010/052718
 국제공개일자 2010년05월14일

(30) 우선권주장

61/193,220 2008년11월06일 미국(US)

(71) 출원인

바스클라 바이오제닉스 리미티드

이스라엘 60 376 오 예후다, 조나단 네타나휴 스트리트 6

(72) 발명자

코발레브스키-이샤이 에티

이스라엘 42255 네타나야, 소코로브 스트리트 68
 지니우크 지이브

이스라엘 76231 레호보트, 고로디스키 스트리트
 11/5

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

황의만

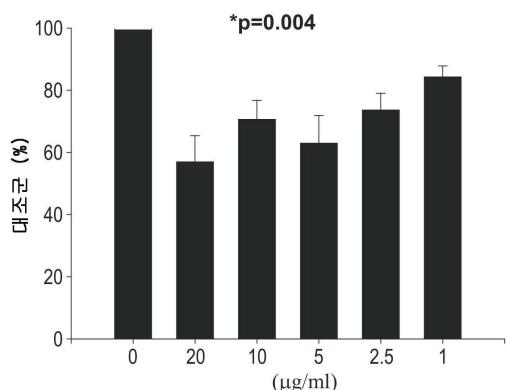
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 산화된 지질 화합물 및 이의 용도

(57) 요 약

본 발명은 신규의 산화된 지질, 이의 제조방법, 및 내인성 산화된 지질과 연관된 염증 및 관련 증상을 치료 또는 예방하기 위한 이의 용도를 제공한다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

할퍼린 기데온

이스라엘 90836 하르-아다르, 하토며 스트리트 6

멘델 이츠학

이스라엘 76349 레호보트, 지포라 토브 스트리트
5/8

페이지 에레즈

이스라엘 50295 헤메드, 피.오. 박스 170

야코브 니바

이스라엘 69705 텔-아비브, 하다르 요세프 스트리
트 22/15

브라이트바르트 예알

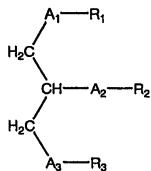
이스라엘 73127 하쉬모나임, 하이츠하르 스트리트
27

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염:

화학식 1



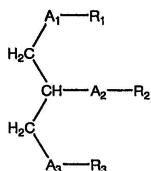
상기 식에서,

- (i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- (ii) R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄이고;
- (iii) R_2 는 (4-메틸카복시)뷰틸, (3-카복시)프로필, (6-카복시)헥산일, (2-카복시)에틸, 5,6-다이하이드록시헥산일, 5,5-다이에톡시펜틸 및 5,5-다이메톡시페닐로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- (iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 2

하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염:

화학식 1

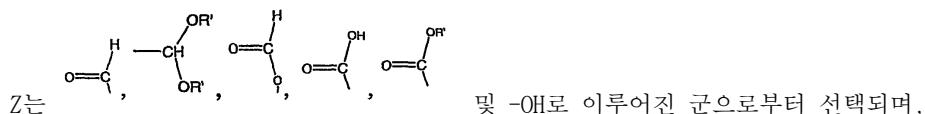


상기 식에서,

- (i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;
- (ii) R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄이고;
- (iii) R_2 는 $\begin{array}{c} Y \\ | \\ -X-C(Z)- \\ | \end{array}$ 이 되,

X는 C_{1-25} 쇄이고,

Y는 $\begin{array}{c} H \\ | \\ O=C \\ | \\ O \end{array}$, $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,



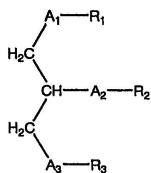
R'는 C₁₋₄ 알킬이고;

(iv) R₃은 H, 포스페이트, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산 및 포스포세린으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 3

하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염:

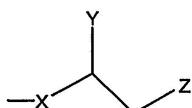
화학식 1



상기 식에서,

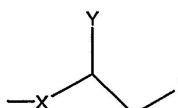
(i) A₁, A₂ 및 A₃은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

(ii) R₁은 도데실, 옥타데실, 옥틸, 에이코산일, 시스-9-헥사데센일, (2-옥틸)도데실 및 (15-카복시)펜타데실로 이루어진 군으로부터 선택되고;



(iii) R₂는 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및

로 이루어진 군으로부터 선택되며,



단, R₁이 다른 (15-카복시)펜타데실인 경우, R₂는 상기

이고,

X는 C₁₋₂₅ 쇄이고,

Y는 및 -OH, -H, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

Z는 및 -OH로 이루어진 군으로부터 선택되며,

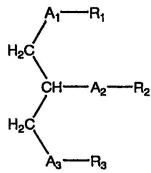
R'는 C₁₋₄ 알킬이고;

(iv) R₃은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 4

하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염:

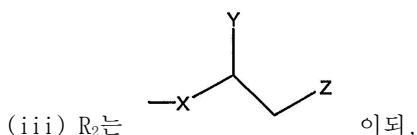
화학식 1



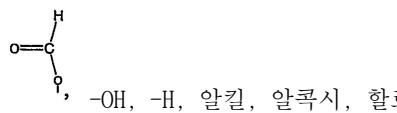
상기 식에서,

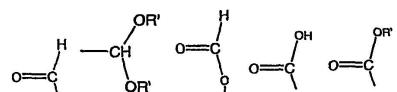
(i) A_1 은 S이고, A_2 및 A_3 은 각각 0° 이고;

(ii) R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄이고;



X는 C_{1-25} 쇄이고,

Y는 , $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

Z는  및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

(iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

청구항 5

하기 것들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물:

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트 (CI-201-PA);

1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민;

1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-208);

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-202);

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-206);

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린 (CI-205);

1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린 (CI-203);

1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-209);

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산 (CI-210);

1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-213);

1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-214);

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-215);

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-216);
 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-217);
 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (1-S-CI-201);
 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (1-S-CI-202);
 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린 (다이-OH);
 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린;
 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤;
 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린 (diEtAc);
 1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린 (diMeAc);
 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-207);
 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민;
 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-219);
 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-220);
 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (VB-221);
 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (VB-222); 및
 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포세린 (VB-223).

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,
 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위해 식별된 화합물.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,
 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 방법에 사용하기 위해 식별된 화합물.

청구항 8

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,
 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 사용하기 위해 식별된 화합물.

청구항 9

활성 성분, 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서,
 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내 또는 그 위에 활자로 식별된 약학 조성물.

청구항 11

청구항 9에 있어서,

인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내 또는 그 위에 활자로 식별된 약학 조성물.

청구항 12

청구항 9에 있어서,

인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내 또는 그 위에 활자로 식별된 약학 조성물.

청구항 13

치료 효과량의 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물을 이것이 필요한 대상에게 투여하고, 그로 인해 상기 대상에서 내인성 산화된 지질과 관련된 염증을 치료 또는 예방하는 단계를 포함하는, 내인성 산화된 지질과 관련된 염증을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 14

치료 효과량의 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 방법.

청구항 15

치료 효과량의 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물을 이것이 필요한 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하는 방법.

청구항 16

내인성 산화된 지질과 관련된 염증을 치료 또는 예방하기 위한 약제의 제조에 있어서, 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

청구항 17

대상에서 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키기 위한 약제의 제조에 있어서, 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

청구항 18

인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, 청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

청구항 19

염증이 특발성 염증성 질환 또는 장애, 만성 염증성 질환 또는 장애, 급성 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 또는 장애, 감염성 질환 또는 장애, 염증성 악성 질환 또는 장애, 염증성 이식-관련 질환 또는 장애, 염증성 퇴행성 질환 또는 장애, 과민증과 연관된 질환 또는 장애, 염증성 심혈관 질환 또는 장애, 염증성 뇌혈관 질환 또는 장애, 말초혈관 질환 또는 장애, 염증성 샘 질환 또는 장애, 염증성 위장관 질환 또는 장애, 염증성 피부 질환 또는 장애, 염증성 간 질환 또는 장애, 염증성 신경계 질환 또는 장애, 염증성 근골격 질환 또는 장애, 염증성 콩팥 질환 또는 장애, 염증성 생식계 질환 또는 장애, 염증성 전신계 질환 또는 장애, 염증성 결합조직 질환 또는 장애, 염증성 종양, 괴사, 염증성 삽입물-관련 질환 또는 장애, 염증성 노화 과정, 면역결핍 질환 또는 장애 및 염증성 폐 질환 또는 장애로 이루어진 군으로부터 선택된 질환 또는 장애와 연관되어 있는, 청구항 6의 화합물, 청구항 9의 조성물, 청구항 13의 방법 또는 청구항 16의 용도.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 그의 일부 실시양태에서 신규의 산화된 지질 및 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하기 위해 산화된 지질을 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 실시양태의 방법들은 염증과 연관된 질환 및 장애(예: 죽상경화증) 및 관련 질환, 자가면역 질환 또는 장애 및 증식성 질환 또는 장애의 치료 또는 예방에 이용될 수 있다.

배경기술

[0002] 산화된 인지질은 종래부터 의료 상태, 예컨대 심혈관 질환들, 뇌혈관 질환들 및 염증성 질환 및 장애의 치료에 유용한 것으로 기재되어 있다.

[0003] 본원의 양수인에 의한 국제 특허출원 PCT/IL2004/000453(공개 번호 WO 04/106486)은, 내인성 산화된 지질들과 관련된 염증의 예방 및 치료를 위한 산화된 지질들을 기재하고 있다. 이러한 화합물의 예는 CI-201(또한, 당해 분야에서 VB-201로서 지칭됨)로서 기재 및 알려져 있다.

[0004] 본원의 양수인에 의한 국제 특허출원 PCT/IL01/01080(공개 번호 WO 02/41827)은 죽상경화증 및 관련 질환들의 예방 및 치료를 위한 산화된 지질들을 기재하고 있다.

[0005] 본원의 양수인에 의한 국제 특허출원 PCT/IL05/000735(공개 번호 WO 06/006161)는, 칼럼 크로마토그래피를 사용하지 않고서 치료에 유용한 산화된 인지질의 산업적 제조에 적용 가능한 합성 경로들을 기재하고 있다. 추가의 배경기술로는 국제 특허출원 PCT/IL02/00005(공개 번호 WO 02/053092) 및 PCT/IL08/000013(공개 번호 WO 08/084472)이 포함되며, 이들 또한 본원의 양수인에 의한 것이다.

[0006] 앞서 인용된 문헌들 모두는 참조로 본원에 완전하게 설명되어 있는 것으로 인용하고 있다. 앞서 인용된 문헌들 모두는 에터화된 산화된 지질들을 기재하고 있으며, 이들은 알킬 쇠, 산화된 잔기에 의해 치환된 알킬 쇠 및 포스페이트-함유 기가 부착된 탄소 주쇄를 포함한다. 산화된 잔기에 의해 치환된 알킬 쇠는 바람직하게는 에터 결합을 통해 탄소 주쇄에 부착되는데(그러므로, 화합물들은 "에터화된 산화된 지질들"로서 지칭됨), 이러한 결합이 앞서 언급된 문헌들에 상세하게 기재되어 있는 원하는 약리학적 성질들을 화합물들에 부여하기 때문이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0007] (특허문헌 0001) 국제 특허출원 PCT/IL2004/000453(공개 번호 WO 04/106486)
- (특허문헌 0002) 국제 특허출원 PCT/IL01/01080(공개 번호 WO 02/41827)
- (특허문헌 0003) 국제 특허출원 PCT/IL05/000735(공개 번호 WO 06/006161)
- (특허문헌 0004) 국제 특허출원 PCT/IL02/00005(공개 번호 WO 02/053092)
- (특허문헌 0005) 국제 특허출원 PCT/IL08/000013(공개 번호 WO 08/084472)
- (특허문헌 0006) 미국 특허출원 11/650,973(공개 번호 2007-0112211)

비특허문헌

- [0008] (비특허문헌 0001) 신그(Singh) 등의 문헌 [Clinical Chemistry 51:12, 2252-2256(2005)]

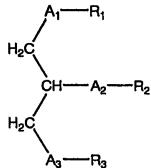
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 이하, 본원의 발명자들은 신규의 산화된 인지질을 디자인하고 성공적으로 제조하고 시험하였다.

[0010] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

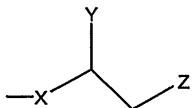
화학식 1



[0011]

[0012] 상기 식에서,

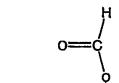
[0013] (i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 0 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;



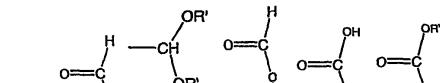
[0014] (ii) R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및

로 이루어진 군으로부터 선택되어,

[0015] X는 C_{1-25} 쇄이고,



[0016] Y는 $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,



[0017] Z는 $\begin{array}{c} H \\ | \\ O=C \\ | \\ OR' \end{array}$, 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

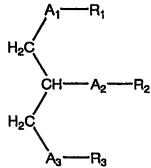
[0018] R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

[0019] (iii) R_2 는 (4-메틸카복시)뷰틸, (3-카복시)프로필, (6-카복시)헥산일, (2-카복시)에틸, 5,6-다이하이드록시헥산일, 5,5-다이에톡시펜틸 및 5,5-다이메톡시페닐로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0020] (iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0021] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

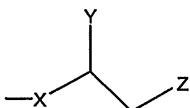
화학식 1



[0023]

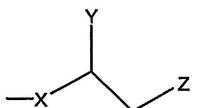
[0024] 상기 식에서,

[0025] (i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 0 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;



로 이루어진 군으로부터 독립적으로

- [0026] (ii) R_1 및 R_2 는 각각 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및 선택되어,



이고,

- [0028] X는 C_{1-25} 쇄이고,



- [0029] Y는 $-C(=O)OR'$, $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

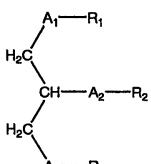
- [0030] Z는 $-C(=O)OR'$, $-CH(OH)OR'$, $-C(=O)OR'$, $-C(=O)OH$, $-C(=O)OR'$ 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

- [0031] R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

- [0032] (iii) R_3 은 H, 포스페이트, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산 및 포스포세린으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0033] 본 발명의 일부 실시양태의 한 형태에 따라, 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

- [0034] 화학식 1

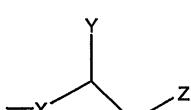


- [0035]

- [0036] 상기 식에서,

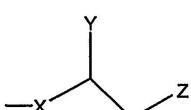
- [0037] (i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

- [0038] (ii) R_1 은 도테실, 옥타데실, 옥틸, 에이코산일, 시스-9-헥사데센일, (2-옥틸)도테실 및 (15-카복시)펜타데실로 이루어진 군으로부터 선택되고;



- [0039] (iii) R_2 는 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및

로 이루어진 군으로부터 선택되며,



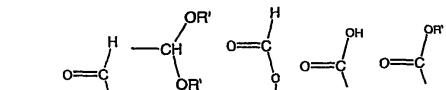
이고,

- [0040] 단, R_1 이 다른 (15-카복시)펜타데실인 경우, R_2 는

- [0041] X는 C_{1-25} 쇄이고,



[0042] Y는 $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,



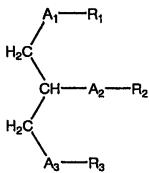
[0043] Z는 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0044] R'는 C_{1-4} 알킬이고;

[0045] (iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

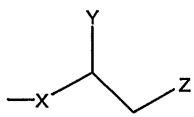
[0046] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 하기 화학식 1의 화합물 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

[0047] 화학식 1



[0048] 상기 식에서,

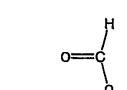
[0049] (i) A_1 은 S이고, A_2 및 A_3 은 각각 0이고;



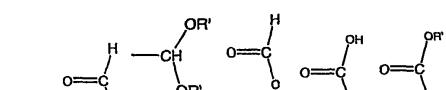
[0050] (ii) R_1 및 R_2 는 각각 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및 선택되어,

[0052] 단, R_1 과 R_2 중 하나 이상은 이고,

[0053] X는 C_{1-25} 쇄이고,



[0054] Y는 $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,



[0055] Z는 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0056] R'는 C_{1-4} 알킬이고;

[0057] (iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0058] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 하기 것들로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물이 제공된다:

- [0059] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트 (CI-201-PA);
- [0060] 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민;
- [0061] 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-208);
- [0062] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-202);
- [0063] 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-206);
- [0064] 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린 (CI-205);
- [0065] 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린 (CI-203);
- [0066] 1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-209);
- [0067] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산 (CI-210);
- [0068] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-213);
- [0069] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-214);
- [0070] 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-215);
- [0071] 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-216);
- [0072] 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-217);
- [0073] 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (1-S-CI-201);
- [0074] 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (1-S-CI-202);
- [0075] 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린 (다이-OH);
- [0076] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린;
- [0077] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤;
- [0078] 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린 (diEtAc);
- [0079] 1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린 (diMeAc);
- [0080] 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-207);
- [0081] 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민;
- [0082] 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (CI-219);
- [0083] 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (CI-220);
- [0084] 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 (VB-221);
- [0085] 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 (VB-222); 및
- [0086] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포세린 (VB-223).
- [0087] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 활성 성분, 본원의 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.
- [0088] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 치료 효과량의 본원 화합물을 이것이 필요한 대상에게 투여하고, 그로 인해 상기 대상에서 내인성 산화된 지질과 관련된 염증을 치료 또는 예방하는 단계를 포함하는, 내인성 산화된 지질과 관련된 염증을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다.
- [0089] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 효과량의 본원 화합물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상에서 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 방법이 제공된다.
- [0090] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 효과량의 본원 화합물을 이것이 필요한 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유

리한 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 제공된다.

- [0091] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 내인성 산화된 지질과 관련된 염증을 치료 또는 예방하기 위한 약제의 제조에 있어서 본원 화합물의 용도가 제공된다.
- [0092] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 대상에서 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키기 위한 약제의 제조에 있어서 본원 화합물의 용도가 제공된다.
- [0093] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 본원 화합물의 용도가 제공된다.
- [0094] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, R_1 은 탄소쇄 2 내지 28이다.
- [0095] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 본원 화합물은 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위해 식별된다.
- [0096] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 본원 화합물은 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 방법에 사용하기 위해 식별된다.
- [0097] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 본원 화합물은 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 사용하기 위해 식별된다.
- [0098] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 약학 조성물은 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는 방법에 사용하기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내에 또는 그 위에 활자로 식별된다.
- [0099] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 약학 조성물은 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내 또는 그 위에 활자로 식별된다.
- [0100] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 약학 조성물은 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내 또는 그 위에 활자로 식별된다.
- [0101] 본 발명의 일부 실시양태의 한 양태에 따라, 염증은 특발성 염증성 질환 또는 장애, 만성 염증성 질환 또는 장애, 급성 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 또는 장애, 감염성 질환 또는 장애, 염증성 악성 질환 또는 장애, 염증성 이식-관련 질환 또는 장애, 염증성 퇴행성 질환 또는 장애, 과민증과 연관된 질환 또는 장애, 염증성 심혈관 질환 또는 장애, 염증성 뇌혈관 질환 또는 장애, 말초혈관 질환 또는 장애, 염증성 샘 질환 또는 장애, 염증성 위장관 질환 또는 장애, 염증성 피부 질환 또는 장애, 염증성 간 질환 또는 장애, 염증성 신경계 질환 또는 장애, 염증성 근골격 질환 또는 장애, 염증성 콜팥 질환 또는 장애, 염증성 생식계 질환 또는 장애, 염증성 전신계 질환 또는 장애, 염증성 결합조직 질환 또는 장애, 염증성 종양, 괴사, 염증성 삽입물-관련 질환 또는 장애, 염증성 노화 과정, 면역결핍 질환 또는 장애 및 염증성 폐 질환 또는 장애로 이루어진 군으로부터 선택된 질환 또는 장애와 연관된다.
- [0102] 달리 정의되지 않는다면, 본원에 사용된 기술 및/또는 과학 용어는 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에게 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사 또는 동등한 방법 및 물질들이 발명의 실시양태들을 실시 또는 시험하는데 사용될 수 있을지라도, 예시적인 방법 및/또는 물질들이 이하 기재되어 있다. 충돌이 발생하는 경우, 정의를 비롯해 특히 명세서 부분은 조정될 것이다. 또한, 물질, 방법 및 예는 단지 예시적인 것이며 필연적으로 제한되고자 의도되지는 않는다.

과제의 해결 수단

발명의 특정 실시양태에 대한 설명

- [0103] 본 발명은 이의 일부 실시양태에서 내인성 산화된 지질들과 연관된 염증을 치료 또는 예방하기 위한 신규의 산화된 지질들 및 산화된 지질들을 사용하는 방법에 관한 것이다. 본원에 기재된 산화된 지질들은 염증-연관 질

환 및 장애, 예컨대 죽상경화증 및 관련 장애들, 자가면역 질환 또는 장애, 및 증식성 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다.

- [0105] 본 발명의 원리 및 작동은 도면 및 그의 설명을 참조하면 더욱 이해될 수 있다. 발명의 실시양태에서 적어도 하나를 상세하게 설명하기 전에, 발명은 하기 설명에 기재된 상세한 설명 또는 실시예에 의해 예시된 적용예에 국한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 발명은 다른 실시양태들일 수 있거나, 또는 다양한 방식으로 실시 또는 실행될 수 있다. 또한, 본원에 사용된 구문 및 용어가 설명을 목적으로 하는 것이며, 제한적으로 간주되어서는 안되는 것으로 이해되어야 한다.
- [0106] 실험적 및 임상적 증거에서는, 죽상경화증에서 과도한 염증성 반응의 병인학에서의 산화된 LDL(ox LDL) 및 LDL 구성성분들에 대한 원인 역할이 지적된다. 소판-관련 산화된 LDL에 대한 세포성 및 체액성 면역 반응성이 모두 입증되어 왔으며, 이는 죽종형성(atherogenesis)에서 중요한 항산화된 LDL 자가면역 구성성분을 암시한다. 따라서, LDL, 산화된 LDL 및 그의 구성성분들은 심장 질환, 뇌혈관 질환 및 말초혈관 질환의 예방 및 치료를 위한 다수의 요법의 표적이었다.
- [0107] 염증을 치료하는데 있어서 산화된 인지질의 역할은 예컨대 둘다가 본원에 전체가 참고로 인용되고 있는 본 발명의 양수인에 의한 국제특허출원 PCT/IL2004/000453(공개 번호 WO 04/106486) 및 미국특허출원 11/528,657(공개 번호 2007-0099868)에 개시되어 있다.
- [0108] CI-201(또한, 본원 및 당해 분야에서 VB-201로서 지칭됨)은 염증성 상태, 예컨대 죽상경화증의 치료를 위한 진보된 임상적 시도들에서 현재 주목받는 산화된 인지질이다.
- [0109] 염증, 및 산화된 지질들과 연관된 질환 및 장애의 치료를 개선시키려는 시도에서, 본 발명자들은 신규의 산화된 인지질 및 구조적으로 관련된 화합물들을 제조하였으며, 이들은 개선된 항염증 효과 및/또는 개선된 약리학적 성능을 나타내도록 디자인된다.
- [0110] 개선된 항염증 효과는 염증 과정들에 대한 공지된 시험관 내 및 생체 내 모델들에 의해 용이하게 결정될 수 있으며, 이후 본원에서 추가로 설명되는 바와 같이 치료할 질환에 대한 개선된 치료 효과에 의해 나타낼 수 있다. 개선된 약리학적 성능으로는 개선된 생체안정성, 생체이용성, 감소된 독성, 및 추가로 제조, 형성 및/또는 저장 시 개선된 안정성이 포함된다. 이들 특징은 또한 당해 분야의 숙련자에 의해 쉽게 인지되어 있는 실험들에 의해 결정되며, 이후 본원에서 추가로 설명되는 바와 같다.
- [0111] 본 발명을 실시하도록 조정하면서, 이후 실시예 섹션에서 입증되는 바와 같이, 본원에 기재된 신규의 디자인된 산화된 지질들이, 내인성 산화된 LDL에 대한 면역 및/또는 염증성 반응과 연관된 사이토카인 생성을 조정하며, 이로 인해 죽상경화증 및 류마티스성 관절염이 포함되지만 이에 국한되지 않는 염증성 질환들에서 염증성 반응을 감소시키는 능력을 나타내는 것이 사실상 확인되었다.
- [0112] 이후 실시예 섹션에서 추가로 입증되는 바와 같이, 본원에 기재된 신규의 디자인된 산화된 지질들이, CI-201과 유사하게 티로신 포스포릴화를 조정하며, 이로 인해 이들 신규의 디자인된 산화된 지질들이 앞서 제시된 생물학적 효과(예: 항염증성 효과)를 CI-201에 의해 나타낸다.
- [0113] 이후 실시예 섹션에서 추가로 입증되는 바와 같이, 본원에 기재된 화합물들은 최소의 독성을 나타내며, 상기 화합물들이 실질적으로 무독성인 생물학적 효과를 나타낸다. 도 1 및 2는 후-염증성 사이토카인 인터류킨-12 및 인터류킨-23의 p40 하위단위체의 생성에 대해 예시적 화합물 CI-202에 의한 억제를 제시한다. 도 3은 CI-202에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다. 도 4A 및 4B는 CI-202의 독성 프로파일을 나타낸다. 도 5는 CI-202가 마우스 자가면역 뇌척수염 모델(인간의 다발경화증 및 급성 파종 뇌척수염의 실험적 모델)에서 치료 효과적인 것으로 나타난다. 도 6은 CI-202가 마우스 관절염 모델에서 치료 효과적인 것으로 나타난다.
- [0114] 도 7은 후-염증성 사이토카인 인터류킨-12 및 인터류킨-23의 p40 하위단위체의 생성에 대해 예시적 화합물 CI-203에 의한 억제를 제시한다. 도 8은 CI-203에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다. 도 9A 및 9B는 CI-203의 독성 프로파일을 나타낸다.
- [0115] 도 10은 후-염증성 사이토카인 인터류킨-12 및 인터류킨-23의 p40 하위단위체의 생성에 대해 예시적 화합물 CI-209에 의한 억제를 제시한다. 도 11은 CI-209에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타낸다. 도 12A 및 12B는 CI-209의 독성 프로파일을 나타낸다.
- [0116] 도 13은 후-염증성 사이토카인 인터류킨-12 및 인터류킨-23의 p40 하위단위체의 생성에 대해 예시적 화합물 CI-

210에 의한 억제를 제시한다. 도 14는 CI-210에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타낸다. 도 15A 및 15B는 CI-210의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0117] 도 16은 후염증성 사이토카인 인터류킨-12 및 인터류킨-23의 p40 하위단위체의 생성에 대해 예시적 화합물 CI-216에 의한 억제를 제시한다. 도 18은 CI-216에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다.

[0118] 도 17은 CI-215에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타낸다.

[0119] 도 19는 예시적 화합물 CI-206에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타낸다. 도 21A 및 21B는 CI-206의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0120] 도 20은 예시적 화합물 CI-205에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다. 도 22A 및 22B는 CI-205의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0121] 도 23은 예시적 화합물 CI-208에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다. 도 24A 및 24B는 CI-208의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0122] 도 25A 및 25B, 및 26A 및 26B는 각각 예시적 화합물을 CI-213 및 CI-214의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0123] 도 27은 예시적 화합물 CI-217에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다.

[0124] 도 28은 예시적 화합물 CI-219에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다.

[0125] 도 29는 예시적 화합물 CI-220에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다.

[0126] 도 30A 및 30B는 예시적 화합물 CI-201-PA의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0127] 도 31은 예시적 화합물 1-S-CI-201에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다.

[0128] 도 32는 예시적 화합물 1-S-CI-202에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타내며, 이는 CI-201에 의해 나타낸 것과 유사하다.

[0129] 도 34는 예시적 화합물 다이-OH가 마우스 죽상경화증 모델에 대해 치료 효과적임을 나타낸다. 도 33A 및 33B는 다이-OH의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0130] 도 35는 예시적 화합물 diMeAc가 마우스 죽상경화증 모델에 대해 치료 효과적임을 나타낸다. 도 36A 및 36B는 diMeAc와 가장 관련되어 있는 화합물인 diEtAc의 독성 프로파일을 나타낸다.

[0131] 도 37 내지 39는 각각 예시적 화합물들 VB-223, VB-221 및 VB-222에 의한 티로신 포스포릴화 조정을 나타낸다.

[0132] 따라서, 본원에 기재된 예시적 화합물들은 시험관 내 시험들에 의해 생물학적으로 활성적인 것으로 나타나고, 일부 화합물들은 생체 내에서 치료 효과적인 것으로 확인되었다. 생체 내에서 아직 시험되지 않은 산화된 지질의 성능은, 본원에 전부가 참고로 인용되고 있는, 적합한 동물 모델, 예컨대 이후 본원의 실시예 섹션에서 기재되는 것들, 국제특허출원 PCT/IL2004/000453(공개 번호 WO 04/106486) 및 미국특허출원 11/528,657(공개 번호 2007-0099868)에서, 및 예컨대 신그(Singh) 등의 문헌 [Clinical Chemistry 51:12, 2252-2256(2005)]에 기재된 바와 같이 디자인된 모델에서 추가로 시험될 수 있다.

[0133] 본원에 기재된 산화된 지질들의 생체안정성은 대부분의 지질 내에 존재하는 에스터 결합 대신 에터 및/또는 철파이드 결합의 존재로 인해 개선된다. 생체안정성은 전형적으로 화합물의 치료 효과를 개선시킨다. 산화된 지질들의 생체안정성은 예컨대 ELISA 또는 흡수도 측정들을 사용하여 포스포리파제-C에 의해 효소적 분해를 검정함으로써 결정될 수 있다.

[0134] 따라서, 본원에 기재된 산화된 지질들은 유리하게도 개선된 치료 및/또는 약동학적 파라미터들에 견주어 내인성 산화된 지질들과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는데 개선된 효과를 나타내는 것으로 인식될 수 있다.

[0135] 그러므로, 본 발명의 실시양태의 양태에 따라, 본원에 기재된 바와 같은 신규의 산화된 지질들(예: 산화된 인지질)이 제공된다.

예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-S-포스페이트(또한, 본원에서 "CI-201-PA"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-208"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "CI-202"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "CI-206"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-205"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-203"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-209"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산(또한, 본원에서 "CI-210"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-213"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "CI-214"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-S-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-215"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "CI-216"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-217"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "1-S-CI-201"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "1-S-CI-202"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "다이-OH"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤이다.

(4-카복시)유틸-글리세롤이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "diEtAc"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "diMeAc"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-207"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "CI-219"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "CI-220"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(또한, 본원에서 "VB-221"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(또한, 본원에서 "VB-222"로서 지칭됨)이다. 예시적 실시양태에 따르면, 산화된 지질은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포세린(또한, 본원에서 "VB-223"로서 지칭됨)이다.

본원에서 사용된 바와 같이, 접두사 "1-S-"는, 글리세롤 주쇄의 1-위치(sn-1)에서의 산소 원자가 황 원자에 의해 교체되어서, 화합물이 글리세롤의 유도체 대신에 1-싸이오글리세롤의 유도체인 화합물을 지칭한다.

접두사 "CI-" 및 "VB-"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

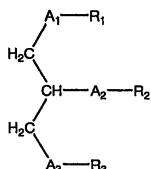
치환기에 따라, 본원에 기재된 화합물 각각 내의 일부 탄소 원자들은 키랄 또는 비키랄성일 수 있다. 따라서, 이전 본원에서 기재된 예시적 화합물들에서, 글리세롤 주쇄의 2-위치에서의 탄소 원자는 키랄성이다. 본원에 기재된 화합물들 내에 존재하는 임의의 키랄성 탄소 원자는 R-배치구조, S-배치구조 또는 라세미체로서 존재할 수 있다. 따라서, 본 발명의 실시양태들에서는 가능한 입체이성체, 광학 이성체 및 거울상이성체 모두를 비롯한 키랄성 및 라세미체 탄소 원자들의 임의의 조합을 포함한다.

이후 실시에 섹션에서 입증되는 바와 같이, 본 발명의 실시양태들의 화합물들은 출발 물질의 배치구조를 보존하면서 합성될 수 있다. 본 발명의 실시양태들의 화합물들은 산화된 기의 입체화학에 견주어 추가로 선택적으로 합성될 수 있다. 그러므로, 적절한 출발 물질들 및 적절한 합성 조건들을 선택함으로써, 생성된 화합물들의 광학적 순도(예컨대, 키랄성 및/또는 라세미체 탄소가 포함됨) 및 수득된 입체이성체가 결정될 수 있다. 라세미

체 혼합물들이 수득되는 경우, 광학 또는 입체 이성체들을 분리하는데 공지된 기술들이 사용될 수 있다. 이러한 기술들은 예컨대 문헌 ["Organic chemistry, fourth Edition by Paula Yurkanis Bruice, page 180-185 and page 214, Prentice Hall, Upper Sadde River, NJ 07458"]에 기재되어 있다.

- [0141] 상기 화합물들은 그의 특정한 신규의 구조적 요소들에 따라 특성화될 수 있다.
- [0142] 따라서, 상기 산화된 지질들 중 일부는 산화된 측쇄가 그의 2-위치에서 부착되는 글리세롤 주쇄를 포함하되, 상기 산화된 측쇄는 (4-메틸카복시)뷰틸, (3-카복시)프로필, (6-카복시)헥산일, (2-카복시)에틸, 5,6-다이하이드록시헥산일, 5,5-다이에톡시펜틸 및 5,5-다이메톡시페닐로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0143] 그러므로, 본 발명의 일부 실시양태에 따르면, 하기 화학식 1로 집합적으로 표시되는 화합물들 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

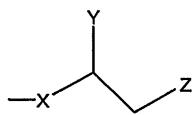
[0144] 화학식 1



[0145]

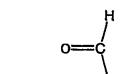
[0146] 상기 식에서,

- [0147] (i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

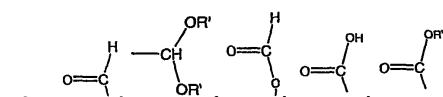


[0148] (ii) R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및

[0149] X는 C_{1-25} 쇄이고,



[0150] Y는 $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,



[0151] Z는 $\begin{array}{c} H \\ | \\ O=C \\ | \\ OR' \end{array}$, 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0152] R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

[0153] (iii) R_2 는 (4-메틸카복시)뷰틸, (3-카복시)프로필, (6-카복시)헥산일, (2-카복시)에틸, 5,6-다이하이드록시헥산일, 5,5-다이에톡시펜틸 및 5,5-다이메톡시페닐로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0154] (iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

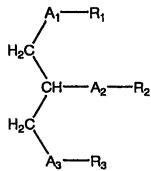
[0155] 일부 실시양태에 따르면, R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄이다.

[0156] 상기 본원에 기재된 산화된 지질들 중 일부는, 이들이 포스페이트, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민 N-글루타르산 및 포스포세린으로 이루어진 군으로부터 선택된 그의 3-위치에서의 포스포릴 잔기를 포함하는 것, 또는 3-위치에서 비-포스포릴화된 및 비-치환된 것(즉, 수소 원자가 3-위치에 존재함)을 특징으로 할 수 있다.

[0157] 그러므로, 본 발명의 일부 실시양태에 따르면, 하기 화학식 1로 집합적으로 표시되는 화합물들 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

[0158]

화학식 1



[0159]

상기 식에서,

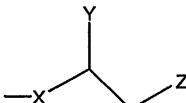
[0160]

(i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0161]

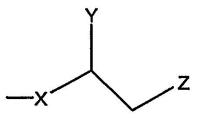
(ii) R_1 및 R_2 는 각각 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및

[0162]

단, R_1 과 R_2 중 하나 이상은

로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되되,

[0163]

단, R_1 과 R_2 중 하나 이상은

이고,

[0164]

X는 C_{1-25} 쇄이고,

[0165]

Y는 $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0166]

Z는 $-OR'$, $-CH(OH)OR'$, $-CH(OH)OR'$, $-CH(OH)OR'$, $-CH(OH)OR'$ 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

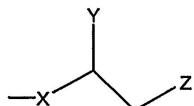
[0167]

 R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

[0168]

(iii) R_3 은 H, 포스페이트, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산 및 포스포세린으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0169]

일부 실시양태에 따르면, R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄이다. 이러한 실시양태에서, R_2 가

인 것으로 인식된다.

[0170]

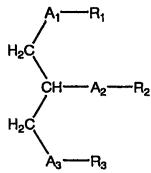
상기 본원에 기재된 산화된 지질들 중 일부는, 이들이 도데실, 옥타데실, 옥틸, 에이코산일, 시스-9-헥사데센일, (2-옥틸)도데실 및 (15- 카복시)펜타데실로 이루어진 군으로부터 선택된 그의 1-위치에서의 측쇄를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0171]

그러므로, 본 발명의 일부 실시양태에 따르면, 하기 화학식 1로 집합적으로 표시되는 화합물들 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

[0172]

화학식 1



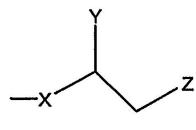
[0173]

상기 식에서,

[0175]

(i) A_1 , A_2 및 A_3 은 각각 O 및 S로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

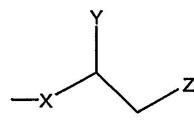
[0176]

(ii) R_1 은 도데실, 옥타데실, 옥틸, 에이코산일, 시스-9-헥사데센일, (2-옥틸)도데실 및 (15-카복시)펜타데실로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고;

[0177]

(iii) R_2 는 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및

로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되되,



[0178]

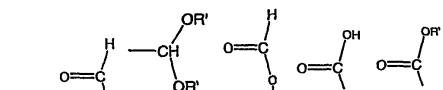
단, R_1 이 다른 (15-카복시)펜타데실인 경우, R_2 는

이고,

[0179]

X는 C_{1-25} 쇄이고,

[0180]

Y는 $-C(=O)OH$, $-OH$, $-H$, 알킬, 알콕시, 할로젠, 아세톡시 및 방향족 작용기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

[0181]

Z는 $-C(=O)OR'$, $-C(=O)OH$, $-C(=O)O$, $-C(=O)OR'$ 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

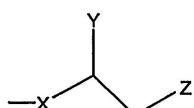
[0182]

 R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

[0183]

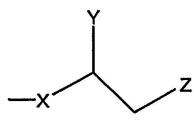
(iv) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0184]

본원에 기재된 (15-카복시)펜타데실 기는 X가 13-탄소 알킬 쇄이고 Y가 수소이고 Z가 $-C(=O)OH$ 인 본원에 기재된

잔기에 상응하는 것으로 인식된다.

[0185]

유사하게, (4-메틸카복시)뷰틸, (3-카복시)프로필, (6-카복시)헥산일, (2-카복시)에틸, 5,6-다이하이드록시헥산일, 5,5-다이에톡시펜틸 및 5,5-다이메톡시펜틸은, Z가 $-C(=O)OH((3-카복시)프로필, (6-카복시)헥산일 및 (2-카복시)에틸에 대한 것임)이거나, Z가 $-CH(OR')_2(5,5-다이에톡시펜틸 및 5,5-다이메톡시펜틸에 대한 것임)이거나$$ 나, 또는 Z가 $-OH(5,6-다이하이드록시헥산일에 대한 것임)$ 인

잔기에 상응한다.

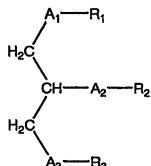
[0186]

상기 본원에 기재된 산화된 지질들 중 일부는 이들이 그의 1-위치에서의 황 원자 및 그의 2- 및 3-위치에서의

산소 원자를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0187] 그러므로, 본 발명의 일부 실시양태에 따르면, 하기 화학식 1로 집합적으로 표시되는 화합물들 또는 그의 약학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

[0188] 화학식 1

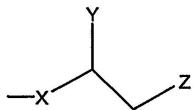


[0189]

[0190] 상기 식에서,

[0191] (i) A_1 은 S이고, A_2 및 A_3 은 각각 0이고;

[0192] (ii) R_1 및 R_2 는 각각 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄 및 선택되어,



로 이루어진 군으로부터 독립적으로

[0193] 단, R_1 과 R_2 중 하나 이상은

이고,

[0194] X는 C_{1-25} 쇄이고,

[0195] Y는

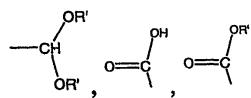
[0196] Z는

및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택되며,

[0197] R' 는 C_{1-4} 알킬이고;

[0198] (iii) R_3 은 H, 아실, 알킬, 포스페이트, 포스포콜린, 포스포에탄올아민, 포스포에탄올아민-N-글루타르산, 포스포세린 및 포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0199] 일부 실시양태에 따르면, R_1 은 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄이다.



[0200] 본 발명의 일부 실시양태에 따르면, 상기 본원에 기재된 변수 Z는 으로부터 선택된다.

[0201] 본 발명의 선택적 실시양태들에 따르면, 상기 본원에 기재된 변수 Y는 H 및 $-OH$ 로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, Y는 Z가 $-OH$ 및/또는 $-C(=O)H$ 인 경우 $-OH$ 이다. 일부 실시양태에서, Y는 Z가 $-C(=O)H$, $-CH(OR')_2$, $-C(=O)OH$ 및/또는 $-C(=O)OR'$ 인 경우 H이다.

[0202] 예시적 실시양태들에 따르면, R' 는 포화된 비-치환된 C_{1-4} 알킬이다. 선택적으로, R' 는 에틸 및 메틸로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0203] 선택적 실시양태들에 따르면, 본원에 기재된 탄소수 2 내지 28의 알킬 쇄는 달리 특별하게 지적되지 않는다면 포화된다. 선택적으로, 알킬 쇄는 달리 특별하게 지적되지 않는다면 비-치환된다.
- [0204] 선택적 실시양태들에 따르면, 본원에 기재된 변수 X는 달리 특별하게 지적되지 않는다면 탄소수 1 내지 25의 포화된 알킬 쇄이다. 선택적으로, 알킬 쇄는 달리 특별하게 지적되지 않는다면 비-치환된다.
- [0205] 본원 전반에서 사용된 바와 같이, 용어 '알킬'은 직쇄 기 및 분지쇄 기를 포함하는 포화된 지방족 탄화수소를 지칭한다. 바람직하게는, 알킬 기는 1 내지 20개의 탄소원자를 갖는다. 수치 범위, 예컨대 '1 내지 20개'가 본원에 기재되는 경우는 항상 그것은 기(이 경우, 알킬 기)가 1개의 탄소원자, 2개의 탄소원자, 3개의 탄소원자 등의 20개까지의 탄소원자를 포함한다는 것을 지칭한다. 더 바람직하게는, 알킬 기는 1 내지 10개의 탄소원자를 갖는 중간 크기의 알킬이다. 가장 바람직하게는, 달리 지적되지 않는 한, 알킬 기는 1 내지 4개의 탄소원자를 갖는 알킬이다. 알킬 기는 치환 또는 비-치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 예컨대 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로지환족, 할로, 하이드록시, 알콕시, 아릴옥시, 싸이오하이드록시, 싸이오알콕시, 싸이오아릴옥시, 사이아노, 나이트로, 아자이드, 살포일, 살핀일, 살포아미드, 포스포일, 포스핀일, 옥소, 카본일, 싸이오카본일, 유레아, 싸이오유레아, 0-카밤일, N-카밤일, 0-싸이오카밤일, N-싸이오카밤일, C-아미도, N-아미도, C-카복시, 0-카복시 및 아미노일 수 있다(이들 용어는 본원에서 정의됨). 일부 실시양태에서, 알킬은 비-치환된다.
- [0206] '사이클로알킬' 기는, 고리의 하나 이상이 완전 공액결합된 π -전자 시스템을 갖지 않는, 전부 탄소로 구성되는 (all-carbon) 모노사이클릭 또는 융합된-고리 고리(즉, 인접 탄소원자쌍을 공유하는 고리) 기를 나타낸다. 사이클로알킬 기의 비제한적인 예에는 사이클로프로페인, 사이클로뷰테인, 사이클로펜테인, 사이클로펜텐, 사이클로헥세인, 사이클로헥사디엔, 사이클로헵테인, 사이클로헵타트리엔 및 아다만테인이 있다. 사이클로알킬 기는 치환 또는 비-치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 예컨대 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로지환족, 할로, 하이드록시, 알콕시, 아릴옥시, 싸이오하이드록시, 싸이오알콕시, 싸이오아릴옥시, 사이아노, 나이트로, 아자이드, 살포일, 살핀일, 살포아미드, 포스포일, 포스핀일, 옥소, 카본일, 싸이오카본일, 유레아, 싸이오유레아, 0-카밤일, N-카밤일, 0-싸이오카밤일, N-싸이오카밤일, C-아미도, N-아미도, C-카복시, 0-카복시 및 아미노일 수 있다(이들 용어는 본원에서 정의됨).
- [0207] 본원에서 "방향족 작용기"로서도 지칭되는 '아릴' 기는, 완전 공액결합된 π -전자 시스템을 갖는, 전부 탄소로 구성되는 모노사이클릭 또는 융합된-고리 폴리사이클릭(즉, 인접 탄소원자쌍을 공유하는 고리) 기를 나타낸다. 아릴 기의 비제한적인 예에는 페닐, 나프탈레닐 및 안트라세닐이 있다. 아릴 기는 치환 또는 비-치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 예컨대 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로지환족, 할로, 하이드록시, 알콕시, 아릴옥시, 싸이오하이드록시, 싸이오알콕시, 싸이오아릴옥시, 사이아노, 나이트로, 아자이드, 살포일, 살핀일, 살포아미드, 포스포일, 포스핀일, 옥소, 카본일, 싸이오카본일, 유레아, 싸이오유레아, 0-카밤일, N-카밤일, 0-싸이오카밤일, N-싸이오카밤일, C-아미도, N-아미도, C-카복시, 0-카복시 및 아미노일 수 있다(이들 용어는 본원에서 정의됨).
- [0208] 용어 '헤테로아릴' 기는, 고리에 하나 이상의 원자, 예컨대 질소, 산소 및 황을 가지며 또한 완전 공액결합된 π -전자 시스템을 갖는 모노사이클릭 또는 융합된 고리(즉, 인접 탄소원자쌍을 공유하는 고리) 기를 나타낸다. 헤테로아릴 기의 비제한적인 예에는 피롤, 퓨레인, 싸이오펜, 이미다졸, 옥사졸, 싸이아졸, 피라졸, 피리딘, 피리미딘, 퀴놀린, 아이소퀴놀린 및 푸린이 포함된다. 헤테로아릴 기는 치환 또는 비-치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 예컨대 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로지환족, 할로, 하이드록시, 알콕시, 아릴옥시, 싸이오하이드록시, 싸이오알콕시, 싸이오아릴옥시, 사이아노, 나이트로, 아자이드, 살포일, 살핀일, 살포아미드, 포스포일, 포스핀일, 옥소, 카본일, 싸이오카본일, 유레아, 싸이오유레아, 0-카밤일, N-카밤일, 0-싸이오카밤일, N-싸이오카밤일, C-아미도, N-아미도, C-카복시, 0-카복시 및 아미노일 수 있다(이들 용어는 본원에서 정의됨).
- [0209] '헤테로지환족' 기는 예컨대 질소, 산소 및 황 등의 하나 이상의 원자를 고리에 갖는 모노사이클릭 또는 융합된 고리 기를 지칭한다. 고리는 또한 하나 이상의 이중결합을 가질 수 있다. 그러나, 고리는 완전 공액결합된 π -전자 시스템을 갖지 않는다. 헤테로지환족 기는 치환 또는 비-치환될 수 있다. 치환되는 경우, 치환기는 예컨대 단일쌍 전자, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로지환족, 할로, 하이드록시, 알콕시, 아릴옥시, 싸이오하이드록시, 싸이오알콕시, 싸이오아릴옥시, 사이아노, 나이트로, 아자이드, 살포일, 살핀일, 살포아미드, 포스포일, 포스핀일, 옥소, 카본일, 싸이오카본일, 유레아, 싸이오유레아, 0-카밤일, N-카밤일, 0-싸이오카밤일, N-싸이오카밤일, C-아미도, N-아미도, C-카복시, 0-카복시 및 아미노일 수 있다(이들 용어는 본원에서 정의됨).

원에서 정의됨). 대표적인 예로는 피페리딘, 피페라진, 테트라하이드로퓨란, 테트라하이드로피레인, 모폴린 등이 있다.

- [0210] '하이드록시' 기는 -OH 기를 나타낸다.
- [0211] '아자이드' 기는 -N=N 기를 나타낸다.
- [0212] '알콕시' 기는 본원에 정의되는 바와 같이 -O-알킬 기 및 -O-사이클로알킬 기 둘다를 나타낸다.
- [0213] '아릴옥시' 기는 본원에 정의되는 바와 같이 -O-아릴 기 및 -O-헵테로아릴 기 둘다를 나타낸다.
- [0214] '싸이오하이드록시' 기는 -SH 기를 나타낸다.
- [0215] '싸이오알콕시' 기는 본원에 정의되는 바와 같이 -S-알킬 기 및 -S-사이클로알킬 기 둘 다를 나타낸다.
- [0216] '싸이오아릴옥시' 기는 본원에 정의되는 바와 같이 -S-아릴 기 및 -S-헵테로아릴 기 둘다를 나타낸다.
- [0217] '카본일' 또는 '아실' 기는, 본원에 정의되는 바와 같이, -C(=O)-R 기(여기서, R은 수소, 알킬, 알켄일, 사이클로알킬, 아릴, (고리 탄소를 통해 결합된) 헵테로아릴, 또는 (고리 탄소를 통해 결합된) 헵테로지환족임)를 나타낸다.
- [0218] '알데하이드' 기는 R이 수소인 카본일 기를 나타낸다.
- [0219] '싸이오카본일' 기는 -C(=S)-R 기(여기서, R은 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0220] 'C-카복시' 기는 -C(=O)-O-R 기(여기서, R은 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0221] 'O-카복시' 기는 RC(=O)-O- 기(여기서, R은 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0222] '아세톡시' 기는 CH₃C(=O)-O-를 나타낸다.
- [0223] '옥소' 기는 =O 기를 나타낸다.
- [0224] '카복실산' 기는 R이 수소인 C-카복실 기를 나타낸다.
- [0225] "할로" 또는 "할로젠" 기는 플루오린, 염소, 브롬 또는 아이오딘을 나타낸다.
- [0226] '설펀일' 기는 -S(=O)-R 기(여기서, R은 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0227] '설휠일' 기는 -S(=O)₂-R 기(여기서, R은 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0228] '설휠아미드' 기는 -S(=O)₂-NR₂ 기 또는 RS(=O)₂-NR 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0229] 'O-카밤일' 기는 -OC(=O)-NR₂ 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0230] 'N-카밤일' 기는 ROC(=O)-NR- 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0231] 'O-싸이오카밤일' 기는 -OC(=S)-NR₂ 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0232] 'N-싸이오카밤일' 기는 ROC(=S)NR- 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0233] '아미노' 기는 -NR₂ 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0234] 'C-아미도' 기는 -C(=O)-NR₂ 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0235] 'N-아미도' 기는 RC(=O)-NR- 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0236] '유레아' 기는 -NRC(=O)-NR₂ 기(여기서, R은 각각 본원에 정의되는 바와 같음)를 나타낸다.
- [0237] '나이트로' 기는 -NO₂ 기를 나타낸다.
- [0238] '사이아노' 기는 -C≡N 기를 나타낸다.
- [0239] 용어 '포스톤일' 또는 '포스포네이트'는 -P(=O)(OR)₂- 기를 나타내되, R은 앞서 본원에 정의된 바와 같다.

- [0240] 용어 '포스핀일'은 $-PR_2$ 기(여기서, R은 각각 앞서 본원에 정의된 바와 같다)를 나타낸다.
- [0241] 용어 '싸이오유레아'는 $-NR-C(=S)-NR-$ 기(여기서, R은 각각 앞서 본원에 정의된 바와 같다)를 나타낸다.
- [0242] 본 발명은 앞서 본원에서 기재된 화합물의 임의의 약학적으로 허용가능한 염, 전구약물, 수화물 및 용매화물을 추가로 포함한다.
- [0243] 용어 '전구약물'은 생체 내에서 활성 화합물(활성 모 약물(parent drug))로 변환되는 약제를 나타낸다. 전구약물은 전형적으로는 모 약물의 투여를 촉진시키는데 유용하다. 이들은 예컨대 경구 투여에 의해 생체이용이 가능할 수 있으나, 모 약물은 그렇지 않다. 전구약물은 또한 약학 조성물에 있어서 모 약물과 비교할 경우 개선된 용해성을 가질 수 있다. 전구약물은 또한 활성 화합물의 지속 방출을 생체 내에서 달성하는데 사용된다. 전구약물의 비제한적인 일례는, 하나 이상의 카복실산 잔기를 갖는 본원에서 기재된 바와 같은 화합물이며, 이는 에스터('전구약물')로서 투여된다. 이러한 전구약물은 생체 내에서 가수분해되며, 이에 의해 자유 화합물(모 약물)을 제공한다. 선택된 에스터는 전구약물의 용해 특성 및 가수분해율 모두에 영향을 미칠 수 있다.
- [0244] 문구 '약학적으로 허용가능한 염'은 모 화합물(parent compound)의 하전된 종류 및 그의 대이온(counter ion)을 나타내며, 이는 모 화합물의 용해 특성을 변화시키고/거나, 모 화합물에 의한 생명체에 대한 임의의 유의적 자극을 감소시키는 한편, 투여된 화합물의 생물학적인 활성 및 성질을 무효화하지 않기 위해 전형적으로 사용된다. 약학적으로 허용가능한 염의 비제한적인 일례는 카복실레이트 음이온 및 양이온, 예컨대 비제한적으로 암모늄, 소듐 및 포타슘 등이 있다.
- [0245] 용어 '용매화물'은, 용질(본 발명의 화합물) 및 용매에 의해 형성되며 이에 의해 용매가 용질의 생물학적 활성을 방해하지 않는, 다양한 화학적 양론(예컨대 2, 3, 4, 5, 6 등의 화학적 양론)의 복합체를 나타낸다. 적합한 용매에는 예컨대 에탄올 및 아세트산 등이 포함된다.
- [0246] 용어 '수화물'은, 앞서 본원에 정의되는 바와 같이 용매가 물인 용매화물을 나타낸다.
- [0247] 이후 본원에서 상세하게 기재되는 바와 같이, 본 발명의 새롭게 설계된 화합물은 매우 유익한 면역조절 활성을 발휘하며 따라서 다양한 치료적 적용에서 이용할 수 있다. 이를 화합물을 치료적 용도로 이용하는 것은 그 자체를 투여하는 것, 또는 본 발명의 화합물이 적합한 담체 또는 부형제와 혼합되는 약학 조성물의 일부로서 투여하는 것이 수반된다.
- [0248] 따라서, 본 발명의 다른 양태에 따르면, 활성 성분으로서 본원에 기재된 임의의 화합물, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학 조성물이 제공된다.
- [0249] 본원에 사용되는 바와 같이, '약학 조성물'은 본원에 기재되는 하나 이상의 활성 성분과 생리학적으로 적합한 담체 및 부형제의 다른 화학 성분의 조제물을 지칭한다. 약학 조성물의 목적은 생명체에 대한 화합물의 투여를 촉진시키는 것이다.
- [0250] 본원에서, 용어 '활성 성분'은 생물학적 효과를 나타내는 앞서 본원에서 기재된 화합물(산화된 지질)을 나타낸다.
- [0251] 이후 본원에서, 상호 교환적으로 사용하는 것이 가능한 문구 '생리학적으로 허용가능한 담체' 및 문구 '약학적으로 허용가능한 담체'는 생명체에 대한 유의적 자극을 유발하지 않고, 투여된 화합물의 생물학적인 활성 및 성질을 무효화하지 않는 담체 또는 희석제를 나타낸다. 애주번트(adjuvant)는 이를 문구에 포함된다.
- [0252] 본원에서, 용어 '부형제'는 활성 성분의 투여를 더 촉진시키기 위하여 약학 조성물에 첨가되는 불활성 물질을 나타낸다. 부형제의 비제한적인 예에는 탄산 칼슘, 인산 칼슘, 다양한 당 및 다양한 유형의 전분, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물유 및 폴리에틸렌 글리콜이 포함된다.
- [0253] 약물의 배합 및 투여에 관한 다양한 기술은 문헌 ['Remington's Pharmaceutical Sciences' Mack Publishing Co., Easton, PA, 최신판](이는 참고로 본원에 인용됨)에서 발견할 수 있다.
- [0254] 적합한 투여 경로에는 예컨대 경구, 직장, 경점막, 특히, 경비강, 장 또는 비경구 전달(근육내, 피하 및 수내, 및 수강내 주사, 직접적인 심실내, 정맥내, 복강내, 비강내 또는 안내 주사를 포함한다)이 포함될 수 있다.
- [0255] 다르게는, 약학 조성물은 예컨대 약학 조성물을 환자의 조직 구역 내에 직접 주사하는 것에 의해 전신계 방식보다 국소 방식으로 투여할 수 있다.
- [0256] 본 발명의 선택적 실시양태에서, 약학 조성물은 점막 투여를 통해 면역 반응 및/또는 염증성 반응을 조절하기

위하여 설계된다.

- [0257] 본 발명의 다른 선택적 실시양태에서, 약학 조성물은 경구 투여를 통해 면역 반응 및/또는 염증성 반응을 조절하기 위하여 설계된다.
- [0258] 선택적으로, 본 발명의 실시양태들의 약학 조성물은 이후 본원에서 상세하게 기재되는 바와 같이 비강 또는 복장내 투여를 위해 설계된다.
- [0259] 본 발명의 실시양태들의 약학 조성물은 당해 분야에서 잘 알려져 있는 과정, 예컨대 종래의 혼합, 용해, 과립화(granulating), 당의정 제조, 연화(levigating), 유화, 캡슐화, 포집화(entraping) 또는 동결건조 과정에 의해 제조할 수 있다.
- [0260] 따라서, 본 발명에 따라 사용되는 약학 조성물은, 약학적으로 사용될 수 있는 조제물로의 활성 성분의 가공을 용이하게 하는, 부형제 및 애주번트를 포함하는 하나 이상의 생리학적으로 허용가능한 담체를 사용하여, 통상의 방식으로 배합할 수 있다. 적정한 배합은 선택된 투여 경로에 따라 달라진다.
- [0261] 주사의 경우, 약학 조성물의 활성 성분은 수용액, 바람직하게는 생리학적 혼화성 완충액, 예컨대 행크스 용액(Hank's solution), 링거 용액 또는 생리학적 염 완충액에서 배합할 수 있다. 경점막 투여의 경우, 침투 대상의 장벽(barrier)에 대해 적절한 침투제(penetrant)가 배합에서 사용된다. 이러한 침투제는 이 분야에서는 일반적으로 알려져 있다.
- [0262] 경구 투여의 경우, 약학 조성물은 당해 분야에 잘 알려져 있는 약학적으로 허용가능한 담체와 활성 화합물을 조합시키는 것에 의해 용이하게 배합할 수 있다. 이러한 담체에 의해, 약학 조성물은 환자에 의한 경구 섭취를 위해 정제, 환제, 당의정, 캡슐, 액체, 젤, 시럽, 슬리리, 혼탁물 등으로서 배합될 수 있다. 경구 사용되는 약리학적 조제물은, 고체의 부형제를 사용하는데, 선택적으로는 얻어진 혼합물을 경우에 따라 분쇄하고, 원하는 경우 적합한 애주번트를 첨가한 후에 과립들의 혼합물을 가공하여 정제 또는 당의정 코어를 수득함으로써 제조할 수 있다. 적합한 부형제는 구체적으로는 락토스, 수크로스, 만니톨 또는 소르비톨을 포함하는 당 등의 충전제; 셀룰로스 조제물, 예컨대 옥수수 전분, 소맥 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라칸트 고무(gum tragacanth), 메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로스, 소듐 카복시메틸셀룰로스; 및/또는 폴리바이닐피롤리돈(PVP) 등의 생리학적으로 허용가능한 중합체이다. 원하는 경우에는 가교된 폴리바이닐 피롤리돈, 한천, 또는 알gin산 또는 그의 염, 예컨대 소듐 알기네이트와 같은 붕괴제(disintegrating agent)를 첨가할 수 있다.
- [0263] 당의정 코어에는 적합한 코팅이 부가된다. 이 목적을 위해, 고농도의 당 용액을 사용할 수 있고, 이 경우 당 용액은 경우에 따라 아라비아 고무, 활석, 폴리바이닐 피롤리돈, 카보콜 젤, 폴리에틸렌 글리콜, 이산화 티탄, 라카(lacquer) 용액 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 함유할 수 있다. 염료 또는 안료는 활성 화합물의 투약량을 식별하기 위하여 또는 활성 화합물의 투약량의 다양한 조합을 특정화하기 위하여 정제 또는 당의정 코팅에 첨가될 수 있다.
- [0264] 경구에 사용될 수 있는 약학 조성물에는 젤라틴으로 제조된 푸시-핏(push-fit) 캡슐, 및 젤라틴 및 가소화제(예: 글리세롤 또는 소르비톨)으로 제조된 연질의 밀봉된 캡슐이 포함된다. 푸시-핏 캡슐은 충전제(예: 락토스), 결합제(예: 전분), 활제(예: 활석 또는 마그네슘 스테아레이트) 및 선택적으로 안정화제와 혼합한 형태로 활성 성분들을 함유할 수 있다. 연질 캡슐에서는 활성 성분을 적합한 액체(예: 지방유, 액체 파라핀 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜)에 용해 또는 혼탁될 수 있다. 또, 안정화제를 첨가할 수 있다. 경구 투여되는 배합물은 전부, 선택된 투여 경로에 적합한 투약 형태이어야 한다.
- [0265] 구내 투여의 경우, 조성물은 통상의 방식으로 배합된 정제 또는 로젠지(lozenge)의 형태를 취할 수 있다.
- [0266] 코 흡입에 의한 투여의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 활성 성분은 적합한 분사제, 예컨대 다이클로로다이플루오로메테인, 트라이클로로다이플루오로메테인, 다이클로로테트라플루오로메테인 또는 이산화 탄소의 사용에 의해 가압된 팩 또는 네뷸라이저(nebulizer)로부터의 에어로졸 스프레이 제시물의 형태로 편리하게 전달된다. 가압된 에어로졸의 경우, 투약 단위는 계량된 양을 전달하기 위한 밸브를 제공함으로써 결정할 수 있다. 디스펜서에서 사용되는 예컨대 젤라틴제의 캡슐 및 카트리지를 본 발명의 화합물과 적합한 분말 베이스(powder base), 예컨대 락토스 또는 전분의 분말 혼합물을 함유하여 배합할 수 있다.
- [0267] 본원에 기재되는 약학 조성물은 예컨대 볼루스(bolus) 주사 또는 연속 주입에 의한 비경구 투여를 위해 배합할 수 있다. 주사용 배합물은 단위 투약 형태, 예컨대 앰플 또는 다회용량 용기로 선택적으로는 첨가된 보존제와 함께 제공될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중의 혼탁물 또는 용액 또는 애밀젼일 수 있고,

배합제, 예컨대 혼탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다.

[0268] 비경구 투여되는 약학 조성물에는 수용성 형태의 활성 조제물의 수용액이 포함된다. 또한, 활성 성분의 혼탁물을 적절한 유계 또는 수계 주사 혼탁물로서 조제할 수 있다. 적합한 친유성 용매 또는 비히클에는 지방유(참기름 등), 또는 합성 지방산 에스터, 예컨대 에틸 올레이트, 트라이글리세라이드 또는 리포좀이 포함된다. 수성 주사 혼탁물은 혼탁물의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대 소듐 카복시메틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 텍스트란 등을 함유할 수 있다. 선택적으로, 혼탁물은 또한 고농도의 용액의 조제를 위하여 활성 성분의 용해성을 증가시키는 적합한 안정화제 또는 약제를 함유할 수 있다.

[0269] 다르게는, 활성 성분은 구성을 위해 사용 전에 적합한 비히클(예컨대, 멸균된 파이로젠이 없는(pyrogen-free) 수계 용액)과의 분말 형태로 존재할 수 있다.

[0270] 본 발명의 실시양태들의 약학 조성물은 또한 예컨대 통상의 좌약 베이스, 예컨대 카카오 버터 또는 다른 글리세라이드를 사용하여, 좌약 또는 정류 관장제(retention enema)와 같은 직장용 조성물 내에서 배합할 수 있다.

[0271] 본 발명의 실시양태들과 관련하여 사용되는 적합한 약학 조성물에는 의도된 목적을 달성하는데 효과적인 양으로 활성 성분이 함유되는 조성물이 포함된다. 보다 상세하게는, 치료 효과량은 장애(예컨대, 죽상경화증)의 증상을 예방, 완화 또는 개선하는데 효과적인, 또는 처치된 대상의 생존을 연장시키는데 효과적인 활성 성분의 양을 의미한다.

[0272] 치료 효과량을 결정하는 것은 당해 분야의 숙련자의 능력 내에 속하는 것으로, 특히 본원에 제공되는 상세한 개시내용을 고려하면 속하는 것이다.

[0273] 본 발명의 방법에 있어서 사용되는 임의의 조제물에 관하여 치료 효과량 또는 투약량은 초기에 시험관 내 및 세포 배양 검정으로부터 예측할 수 있다. 예컨대 투약량은 목적하는 농도 또는 역가(titer)를 달성하기 위하여 동물 모델에서 배합할 수 있다. 이러한 정보는 인간에게 유용한 투약량을 더욱 정확하게 결정하는데 사용할 수 있다.

[0274] 본원에 기재되는 활성 성분의 독성 및 치료 효능은 시험관 내, 세포 배양 또는 실험 동물에서 표준 약학적 절차들에 의해 (예컨대, 이후 본원의 실시예 섹션에서 예시된 바와 같이) 결정할 수 있다. 이를 시험관 내 및 세포 배양 검정으로부터 얻어진 데이터는 인간에게 사용하기 위한 투약량 범위로 배합하는데 사용할 수 있다. 투약량은 이용되는 투약 형태 및 이용되는 투여 경로에 의존하여 변화할 수 있다. 정확한 배합, 투여 경로 및 투약량은 환자의 상태를 고려하여 개별적 의사에 의해 선택될 수 있다(예컨대, 핑글(Fingl) 등의 문헌 [1975, 'The Pharmacological Basis of Therapeutics', Ch. 1 p.1] 참조).

[0275] 투약량 및 투약 간격은 혈관형성을 유도 또는 억제하기 위하여 충분한 활성 성분의 혈장 수준 또는 뇌내 수준 (최소 유효농도(minimal effective concentration), MEC)을 초래하도록 개별적으로 조절할 수 있다. MEC는 각각의 조제물에 대하여 상이하지만, 시험관 내 데이터로부터 예측할 수 있다. MEC를 달성하기 위하여 필요한 투약량은 개별 특성 및 투여 경로에 의존한다. 다양한 검출 실험을 혈장 농도를 측정하기 위하여 사용할 수 있다.

[0276] 처치되는 상태의 중증도 및 반응성에 의존하여, 투약은 단회 투여 또는 다수회의 투여로 할 수 있고, 이 경우, 처치 기간은 수일로부터 수주까지, 또는 치료가 달성될 때까지, 또는 질환 상태의 경감이 달성될 때까지 지속된다.

[0277] 투여되는 조성물의 양은 물론 처치된 대상, 고통의 중증도, 투여 방식, 처방 의사의 판단 등에 의존할 것이다.

[0278] 본 발명의 실시양태들의 조성물은, 원하는 경우에는 활성 성분을 함유하는 하나 이상의 단위 투약 형태를 함유할 수 있는, FDA 승인 키트 등의 팩 또는 디스펜서 장치에서 제공할 수 있다. 팩은 예컨대 금속 호일 또는 플라스틱 호일을 포함할 수 있고, 예를 들면 블리스터 팩(blister pack) 등이다. 팩 또는 디스펜서 장치에는 투여에 관한 설명서가 수반될 수 있다. 팩 또는 디스펜서는 또 의약품의 제조 또는 사용 또는 판매를 규제하는 정부당국에 의해 정해진 형식으로 용기에 관련되는 통지에 의해 규정될 수 있다. 이 경우, 이러한 통지는 조성물의 형태 또는 인간 또는 동물에의 투여에 대한 당국의 승인을 반영한다. 이러한 통지는 예를 들면 처방 약물 또는 승인된 제품 첨부 문서에 관한 미국 식품의약품국에 의해 승인된 라벨일 수 있다. 적합한 약학적 담체에 배합된 본 발명의 조제물을 포함하는 조성물도 앞서 본원에 상세하게 기재된 바와 같이 지시된 상태의 처치를 위해 조제되고, 적절한 용기에 도입되고, 표시될 수 있다.

[0279] 따라서, 본 발명의 선택적 실시양태에 있어서, 약학 조성물은 내인성 산화된 지질과 연관된 염증의 치료 또는

예방에서의 사용을 위해, 포장 물질 내에 포장되고, 포장 물질 내 또는 위에 활자로 식별된다. 이러한 염증과 연관된 질환 및 장애의 대표적인 예의 목록이 이후 본원에 제공된다.

- [0280] 다르게는 또는 추가로, 약학 조성물은 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키기 위해, 및/또는 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하기 위해, 포장 물질 내에 포장되고 상기 포장 물질 내 또는 위에 활자로 식별된다.
- [0281] 이후 본원에서 상세히 기재되는 바와 같이, 본 발명의 약학 조성물은 본원에 기재된 염증의 치료 또는 예방에 있어서 유용한 어떤 추가의 화합물을 포함할 수 있다.
- [0282] 이후 본원의 실시예 섹션에서 상세히 기재되는 바와 같이, 본 발명의 실시양태의 새롭게 설계된 화합물의 대표적인 예는 면역 반응 및 염증과 연관된 사이토카인의 수준을 조절하는데 효과적임이 발견되었다. 이를 결과는 이를 화합물이 내인성 산화된 지질과 연관된 면역 반응 및 염증을 억제하는데 효과적임을 나타낸다.
- [0283] 따라서, 본 발명의 다른 실시양태에 따르면, 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 본 발명의 이 관점에 의한 방법은 치료 효과량의 하나 이상의 산화된 지질을 이를 필요로 하는 대상에게 투여함으로써 실행된다.
- [0284] 본원에 사용되는 바와 같이, 문구 '내인성 산화된 지질'은 염증 및 다른 세포-매개 또는 체액-매개 과정의 결과로서 생체 내에 존재 또는 형성되는 하나 이상의 산화된 지질을 나타낸다.
- [0285] 용어 '방법'은 소정의 과정을 달성하기 위한 방식, 수단, 기술 및 절차를 나타내며, 비제한적으로 화학, 약리학, 생물학, 생화학 및 의학 분야의 실시자에게 알려져 있거나, 또는 공지된 방식, 수단, 기술 및 절차로부터 화학, 약리학, 생물학, 생화학 및 의학 분야의 실시자에 의해 용이하게 개발되는 방식, 수단, 기술 및 절차들을 지칭한다.
- [0286] 본원에 사용되는 바와 같이, 문구 '치료 또는 예방하는'에는 질환의 진행을 예방, 실질적으로 저해, 자연 또는 역전시키는 것, 또는 질환의 임상적 증상을 실질적으로 완화하는 것, 또는 질환의 임상적 증상의 출현을 실질적으로 방지하는 것이 포함된다.
- [0287] 이러한 처치를 위해 적합한 대상의 예는 이후 본원에서 기재되는 바와 같이, 염증과 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있는 대상을 포함한다. 본 발명의 실시양태에 의한 적합한 개별 대상으로는 포유동물, 예컨대 개, 고양이, 양, 돼지, 말 및 소 등이 포함된다. 선택적으로는, 본 발명의 실시양태에 의한 개별 대상은 인간이다.
- [0288] 본원에 사용되는 바와 같이, 문구 '내인성 산화된 지질과 연관된 염증'은 하나 이상의 산화된 지질(예컨대, 산화된 LDL, 산화된 막지질 등)의 생체 내 형성 또는 존재과 연관된 염증을 나타낸다.
- [0289] 염증은 상해에 대한 신체의 보호 반응이다. 몇몇 사이토카인은 염증 반응을 매개하는 것에 있어서 중요한 역할을 담당하며, 이들 중에는 인터류킨 12 및 23(IL-12 및 IL-23)이 있다. 과도한 염증은 유해한 경우가 많고, 무수한 질환 및 장애를 수반하거나, 또는 발생시킨다. 앞서 본원에 상세하게 설명된 바와 같이, 과도한 염증성 반응은 전형적으로는 산화된 지질의 에피토프(epitope)과 연관된다.
- [0290] 그러므로, 본 발명의 선택적 실시양태에 따르면, 대상에서 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 방법이 제공된다.
- [0291] 본 발명의 추가의 선택적 실시양태에 따르면, 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0292] 상기 방법들은 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 산화된 지질을 치료 효과량으로 이것이 필요한 대상에게 투여하는 것에 의해 실시된다.
- [0293] 본 발명의 실시양태의 다른 양태에 따르면, 약제의 제조에 있어서, 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 산화된 지질의 용도가 제공된다. 약제를 위한 선택적 배합물들은 본원에 기재되어 있다.
- [0294] 일부 실시양태에서, 약제는 본원에서 추가로 상세하게 기재되는 바와 같이 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방하기 위한 것이다.
- [0295] 일부 실시양태에서, 약제는 대상에서 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키기 위한 것이다.

- [0296] 일부 실시양태에서, 약제는 인터류킨-12 및 인터류킨-23으로 이루어진 군으로부터 선택된 사이토카인의 수준을 감소시키는 것이 유리한 질환 또는 장애를 치료하기 위한 것이다.
- [0297] 본원에 기재된 산화된 지질의 항염증 효과는, 내인성 산화된 LDL 또는 임의의 다른 내인성 산화된 지질이 관계 되는 염증-연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 것에 이용할 수 있다. 이러한 질환 및 장애에는 예컨대 플레이크 형성과 연관된 질환 또는 장애(이들에는 죽상경화증, 죽상경화성 심장혈관 질환, 뇌혈관 질환, 말초혈관 질환, 협착, 재협착 및 스탠트내 협착(in-stent-stenosis)이 포함되지만, 이들에 국한되지 않음), 및 자가면역 질환 또는 장애, 신경변성 질환 또는 장애, 증식성 질환 또는 장애, 및 노화 과정이 포함된다.
- [0298] 따라서, 염증, 나아가 내인성 산화된 지질과 연관되는 염증과 연관된 질환 또는 장애, 그러므로 본 발명의 방법에 의해 치료가능한 질환 또는 장애의 대표적인 예는, 특발성 염증성 질환 또는 장애, 만성 염증성 질환 또는 장애, 급성 염증성 질환 또는 장애, 자가면역 질환 또는 장애, 감염성 질환 또는 장애, 염증성 악성 질환 또는 장애, 염증성 이식-관련 질환 또는 장애, 염증성 변성 질환 또는 장애, 과민성과 연관된 질환 또는 장애, 염증성 심장혈관 질환 또는 장애, 염증성 뇌혈관 질환 또는 장애, 말초혈관 질환 또는 장애, 염증성 선 질환 또는 장애, 염증성 위장관 질환 또는 장애, 염증성 피부 질환 또는 장애, 염증성 간 질환 또는 장애, 염증성 신경학적 질환 또는 장애, 염증성 근골격 질환 또는 장애, 염증성 콩팥 질환 또는 막 장애, 염증성 생식계 질환 또는 장애, 염증성 전신계 질환 또는 장애, 염증성 결합조직 질환 또는 장애, 염증성 종양, 괴사, 염증성 이식-관련 질환 또는 장애, 염증성 노화 과정, 면역결핍 질환 또는 장애, 증식성 질환 및 장애, 및 염증성 폐 질환 또는 장애 등의 다양한 질환 및 장애를 포함하며, 이들은 이후 본원에서 상세하게 설명된다.
- [0299] 과민증의 비제한적인 예에는 I형 과민증, II형 과민증, III형 과민증, IV형 과민증, 즉시 과민증, 항체 매개 과민증, 면역복합체 매개 과민증, T 임파구 매개 과민증, 지연형 과민증, 헬퍼(helper) T 임파구 매개 과민증, 세포독성 T 임파구 매개 과민증, TH1 임파구 매개 과민증 및 TH2 임파구 매개 과민증이 포함된다.
- [0300] 염증성 심장혈관 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 폐색성 질환 또는 장애, 죽상경화증, 심장판막 질환, 협착, 재협착, 스탠트내 협착, 심근경색, 관상동맥 질환, 급성 관상동맥 증후군, 울혈성심부전, 협심증, 심근성허혈, 혈전증, 베게너 육아종증(Wegener's granulomatosis), 다카야스동맥염(Takayasu's arteritis), 가와사키증후군(Kawasaki syndrome), 항인자 VII 자가면역 질환 또는 장애, 괴사성 소혈관맥관염, 미시적 다발성혈관염, 처그-스트라우스 증후군(Churg and Strauss syndrome), 파우시-면역 소상 괴사성 사구체신염(pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis), 반월체형성성 사구체신염, 항인지질 증후군, 항체 유도 심부전, 혈소판 감소성 자반병, 자가면역 용혈성 빈혈, 심장자가면역성, 샤가스(Chagas) 질환 또는 장애, 및 안티-헬퍼 T 임파구 자가면역성이 포함된다.
- [0301] 협착은 맥관구조의 폐색성 질환이며, 통상적으로는 죽상경화증 플레이크 및 향상된 혈소판 활성에 의해 발생되고, 대부분은 관상동맥계 맥관구조에 중대한 영향을 미친다.
- [0302] 재협착은 협착성 맥관구조에서의 폐색의 경감 후에 흔히 발생하는 진행성 재폐색이다. 맥관구조의 개방성이 스탠트의 기계적인 지지가 요구되는 경우, 스탠트내 재협착이 생성되어서 처치된 혈관을 재폐색시킬 수 있다.
- [0303] 뇌혈관 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 뇌출증, 뇌혈관의 염증, 뇌출혈 및 추골 동맥 부전이 포함된다.
- [0304] 말초혈관 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 괴저, 당뇨병성 혈관 장애, 혀혈성 장 질환, 혈전증, 당뇨병성 망막증 및 당뇨병성 신증이 포함된다.
- [0305] 자가면역 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 면역 반응, 예컨대 자가항원 등에 대한 세포매개면역성 또는 자가항체 등에 의해 발생되는 질환의 전부가 포함된다. 대표적인 예에는 만성적인 만성 류마티스 관절염, 연소기류마티스 관절염, 전신계 홍반성 낭창, 강피증, 혼합성 결합조직 질환, 결정성 다발동맥염, 다발성 근염/피부근염, 쇼그伦 증후군(Sjogren's syndrome), 베체트병(Bechet's disease), 다발성 경화증, 자가면역성 당뇨병, 하시모토병(Hashimoto's disease), 건선, 원발성 점액수종, 악성 빈혈, 중증 근무력증, 만성 활동형 간염, 자가면역성 용혈성 빈혈, 특발성 혈소판 감소성 자반병, 포도염, 맥관염 및 헤파린 유도 혈소판감소가 포함된다.
- [0306] 염증성 선 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 췌장 질환 또는 장애, I형 당뇨병, 갑상선 질환 또는 장애, 그레이브스병(Graves' disease), 갑상선염, 자발성 자가면역 갑상선염, 하시모토 갑상선염(Hashimoto's thyroiditis), 특발성 점액수종, 난소 자가면역성, 자가면역성 항정자 불임증, 자가면역성 전립선염 및 I형 자가면역 다선성 증후군이 포함된다.
- [0307] 염증성 위장관 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 대장염, 회장염, 크론병(Crohn's disease), 만성 염증성 장

질환, 염증성 장 증후군, 만성 염증성 장 질환, 복강 질환, 궤양성 대장염, 궤양, 피부 궤양, 육창, 위 궤양, 소화성 궤양, 구내 궤양, 비인두 궤양, 식도 궤양, 십이지장 궤양 및 위장관 궤양이 포함된다.

[0308] 염증성 피부 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 여드름, 자가면역성 물집 피부 질환, 보통천포창, 물집 유사 천포창, 접촉성 피부염 및 약물 발진이 포함된다.

[0309] 염증성 간 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 자가면역성 간염, 간경변 및 담즙성 간경변이 포함된다.

[0310] 염증성 신경학적 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 다발성 경화증, 알츠하이머병, 파킨슨병, 중증 근무력증, 운동 신경장애, 길랭-바레 증후군(Guillain-Barre syndrome), 자가면역성 신경장애, 램버트-에튼 근무력증 증후군(Lambert-Eaton myasthenic syndrome), 종양수반성 신경학적 질환 또는 장애, 종양수반성 소뇌 위축, 비종양 수반성 강직 증후군(non-paraneoplastic stiff man syndrome), 진행성 소뇌 위축, 라스무센 뇌염(Rasmussen's encephalitis), 근위축성 측색 경화증, 시덴합 무도병(Sydenham chorea), 질 드 라 투렛 증후군(Gilles de la Tourette syndrome), 자가면역성 다내분비선증, 면역이상 신경장애, 후천적 신경근간장증, 다발성 관절구축증, 헌팅تون병(Huntington's disease), AIDS-관련 치매, 근위축성 측색경화증(amyotrophic lateral sclerosis, AML), 다발 경화증, 발작, 염증성 망막 질환 또는 장애, 염증성 안 질환 또는 장애, 안신경염, 해면상 뇌증, 편두통, 두통, 균발성 두통 및 강직 증후군(stiff-man syndrome)이 포함된다.

[0311] 염증성 결합 조직 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 자가면역성 근염, 원발성 쇼그렌 증후군, 평활근의 자가면역 질환 또는 장애, 근염, 건염, 인대 염증, 연골염, 관절 염증, 활막 염증, 수근관 증후군, 관절염, 류마티스 관절염, 골관절염, 강직성 척추염, 골격성 염증, 자가면역성 귀 질환 또는 장애, 및 내귀의 자가면역 질환 또는 장애가 포함된다.

[0312] 염증성 콩팥 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 자가면역성 간질성 콩팥염 및/또는 콩팥암이 포함된다.

[0313] 염증성 생식계 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 반복성 유산, 난소낭, 또는 월경-관련 질환 또는 장애가 포함된다.

[0314] 염증성 전신계 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 전신계 홍반성 낭창, 전신계 경화증, 패혈성 쇼크, 독성 쇼크 증후군 및 악액질이 포함된다.

[0315] 감염성 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 만성 감염성 질환 또는 장애, 아급성 감염성 질환 또는 장애, 급성 감염성 질환 또는 장애, 바이러스성 질환 또는 장애, 세균성 질환 또는 장애, 원생동물성 질환 또는 장애, 기생충 질환 또는 장애, 진균성 질환 또는 장애, 마이코플라즈마성(mycoplasma) 질환 또는 장애, 괴저, 패혈증, 프리온성(prion) 질환 또는 장애, 인플루엔자, 결핵, 말라리아, 후천성 면역결핍 증후군, 및 중증의 급성 호흡 증후군이 포함된다.

[0316] 염증성 이식-관련 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 이식편 거부반응, 만성 이식편 거부반응, 아급성 이식편 거부반응, 급성 이식편 거부반응, 초급성 이식편 거부반응, 및 이식편 대 숙주의 질환 또는 장애가 포함된다. 삽입물의 예로서는 보철 삽입물, 유방 삽입물, 실리콘 삽입물, 치과 삽입물, 음경 삽입물, 심장 삽입물, 인공 관절, 골절 회복 장치, 골치환 삽입물, 약물 전달 삽입물, 카테터, 페이스 메이커, 인공 심장, 인공 심장 판막, 약물 방출 삽입물, 전극 및 호흡 튜브가 포함된다.

[0317] 염증성 종양의 비제한적인 예에는 악성 종양, 양성 종양, 고형 종양, 전이성 종양 및 비고형 종양(non-solid tumor)이 포함된다.

[0318] 염증성 호흡계 질환 또는 장애의 비제한적인 예에는 천식, 알러지성 천식, 폐기종, 만성 폐색성 폐 질환 또는 장애, 유육종증 및 기관지염이 포함된다.

[0319] 증식성 질환 또는 장애의 일례는 암이다.

[0320] 다양한 질환 및 증후군, 예컨대 노화의 산화적 스트레스(온노라토(Onorato JM) 등의 문헌 [Annal N Y Acad Sci, 1998 Nov 20, 854:277-90]), 만성 류마티스 관절염(RA)(파이멜라(Paimela L.) 등의 문헌 [Ann Rheum Dis, 1996 Aug;55(8):558-9]), 소아 류마티스성 관절염(사볼라이넨(Savolainen A) 등의 문헌 [1995, 24(4):209-11]), 염증성 장 질환(IBD)(사와이(Sawai T) 등의 문헌 [Pediatr Surg Int, 2001 May;17(4):269-74]) 및 콩팥암(노구치(Noguchi S) 등의 문헌 [Biochem Biophys Res Commun, 1992 Jan 31;182(2):544-50])의 치료 또는 예방에서의 인지질 및 인지질 대사산물의 관련성이 보고되어 있으며, 따라서 이들은 이들 질환 또는 장애의 치료 또는 예방에서의 산화된 인지질의 산화된 지질 동종체의 유익한 사용을 추가로 지지하고 있다.

- [0321] 본 발명의 실시양태들의 방법에 의하면, 산화된 지질은 다양한 경로, 예컨대 경구, 직장, 경점막, 특히 경비강, 장 또는 비경구 전달, 예컨대 근육내, 피하 및 수내 주사, 및 수강내, 직접적 심실내, 정맥내, 복강내, 비강내 또는 안내 경로에 의해 대상에 투여될 수 있다. 그러나, 본원을 통해 상세하게 기재되고 하기 실시예 색션에 추가로 설명되는 바와 같이, 바람직한 투여 경로에는 경구, 점막, 비강, 피내(피하) 및 복강내 경로가 포함된다.
- [0322] 그러므로, 하나의 실시양태에서, 본원에 기재된 0.1 내지 100 mg/kg의 산화된 지질이, 장기간 요법 또는 대체 요법에서 매주 1 내지 3회로 적합한 담체(예컨대, PBS 또는 글리세롤, 이에 국한되지 않음)로 복강내 투여된다.
- [0323] 다른 실시양태에 있어서, 본원에 기재된 0.1 내지 100 mg/kg의 산화된 지질이, 장기간 요법 또는 대체 요법에서 매주 1 내지 3회로 적합한 담체(예컨대, PBS 또는 글리세롤, 이에 국한되지 않음)로 비강 투여된다.
- [0324] 또다른 실시양태에 있어서, 본원에 기재된 0.1 내지 100 mg/kg의 산화된 지질이, 장기간 요법 또는 대체 요법에서 매주 1 내지 3회로 적합한 담체(예컨대, PBS 또는 글리세롤, 이에 국한되지 않음)로 피하 투여된다.
- [0325] 또다른 실시양태에 있어서, 본원에 기재된 0.1 내지 100 mg/kg의 산화된 지질이, 장기간 요법 또는 대체 요법에서 매주 1 내지 3회로 적합한 담체(예컨대, PBS 또는 글리세롤, 이에 국한되지 않음)로 경구 투여된다.
- [0326] 본원에 기재된 약학 조성물 및 방법은, 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방할 수 있는 하나 이상의 추가의 화합물의 투여를 추가로 수반할 수 있다.
- [0327] 따라서, 본 발명의 실시양태들에 따른 방법들은, 산화된 지질의 투여 전에, 산화된 지질의 투여와 동시에 또는 산화된 지질의 투여 후에, 하나 이상의 이러한 추가 화합물을 치료 효과량으로 동시에 투여하는 것을 수반할 수 있는 한편, 본 발명에 의한 약학 조성물은 본원에 기재된 바와 같은 화합물과 더불어 이러한 추가 화합물을 포함할 수 있다.
- [0328] 앞서 본원에 기재된 내인성 산화된 지질과 연관된 염증을 치료 또는 예방할 수 있으며 따라서 본 발명의 이 실시양태과 관련하여 사용가능한 추가 화합물들의 대표적인 예에는, HMGCoA 리덕타제 억제제(스타틴), 점막 애주번트, 코르티코스테로이드, 스테로이드계 항염증성 약물, 비스테로이드계 항염증성 약물, 진통제, 성장 인자, 독소, 콜레스테릴 에스터 수송 단백질(CETP) 억제제, 페옥시좀, 증식성 활성화 수용체(PPAR) 작용제, 즉상경화증 방지약, 항증식성 약제, 에제티미드(ezetimide), 니코틴산, 스쿠알렌 억제제, ApoE 밀라노(Milano), HSP, 베타-2-당단백질-I, 및 이의 임의의 유도체 및 유사체가 포함된다.
- [0329] HMGCoA 리덕타제 억제제(스타틴)은, 콜레스테롤의 생산속도를 조절하는 효소를 저해함으로써 및 혈액 중에 존재하는 LDL-콜레스테롤의 간에 의한 청소(clearance)를 증대시킴으로써 LDL-콜레스테롤 수준을 효과적으로 저하시키는 널리 알려져 있는 약물이다. 일반적으로 처방된 스타틴의 비제한적인 예에는 아토르바스타틴(Atorvastatin), 플루바스타틴(Fluvastatin), 로바스타틴(Lovastatin), 프라바스타틴(Pravastatin) 및 심바스타틴(Simvastatin)이 포함된다.
- [0330] 에제티미베(ezetimibe)는 트라이글리세라이드 또는 지용성 바이타민의 흡수에 영향을 미치지 않고, 장관상피의 쇄자연(brush border)에 있어서의 식이성 콜레스테롤 및 담즙성 콜레스테롤 흡수를 강력하고 선택적으로 저해하는 새로운 클래스의 콜레스테롤 흡수 억제제의 최초의 것이다. 따라서, 에제티미베는 간으로의 전체적인 콜레스테롤 전달을 저하시키고, LDL 수용체의 증가된 발현을 이차적으로 유도하며, 그 결과 혈장으로부터의 LDL-C의 제거를 증가시킨다.
- [0331] 페옥시좀은 거의 모든 진핵생물 세포에 존재하는 단일막 소기관(organelle)이다. 페옥시좀의 가장 중요한 대사 과정들 중 하나는 장쇄 지방산 및 초장쇄 지방산의 베타-산화이다. 페옥시좀은 담즙산 합성, 콜레스테롤 합성, 플라스말로겐(plasmalogen) 합성, 아미노산 대사 및 퓨린 대사에도 또한 관여한다.
- [0332] 니코틴산은 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 트라이글리세라이드의 수준을 저하시키며 이와 동시에 HDL-콜레스테롤 수준을 상승시키는 공지된 약제이다. 3가지 유형의 니코틴산계 약물이 존재한다: 즉시 방출, 서방성 및 장기간에 걸친 방출. 니코틴산 또는 나이아신, 수용성 바이타민 B는 바이타민 요구량을 크게 상회하는 투약량으로 제공되는 경우 모든 리포단백질을 개선한다.
- [0333] 스쿠알렌(베타-카로틴과 구조적으로 유사한 아이소프레노이드 화합물)은 콜레스테롤의 합성에서의 중간 대사산물이다. 인간에 있어서, 식이성 스쿠알렌의 약 60 퍼센트가 흡수된다. 스쿠알렌은 일반적으로 초저밀도 리포단백질과 결합하여 혈청 중에서 수송되고, 인간 조직에서 널리 분포하는데, 스쿠알렌이 피부 표면 지질의 주요 성분들 중 하나인 피부에서 최대 농도로 분포한다. 스쿠알렌 억제제(예컨대, 모노옥시제나아제 및 신타아제)는

콜레스테롤 생합성 억제제로서 역할을 한다.

- [0334] 증식성 활성화 수용체(PPAR) 작용제(예: 피브레이트)는, 지질 및 클루코오스의 대사에서 중요한 역할을 담당하며 비만-관련 대사성 질환, 예컨대 고지혈증, 인슐린 내성 및 관상동맥 질환에 관계하는 핵 수용체 상과(superfamily)의 지방산-활성화된 멤버이다. 피브레이트는 상승된 혈장 트라이글리세라이드 및 혈장 콜레스테롤을 저하시키는데 일반적으로 효과적이며, PPAR 작용제로서 작용한다. 피브레이트의 가장 현저한 효과는 혈장 트라이글리세라이드-풍부 리포단백질(TRL)에서의 저하를 포함한다. LDL 콜레스테롤(LDL-C)의 수준은 일반적으로 기준 혈장중 농도의 증가와 함께 개체에서 저하되며, HDL 콜레스테롤(HDL-C) 수준은 통상적으로 기준 혈장중 농도가 저하되는 경우 증가한다. 일반적으로 처방된 피브레이트의 비제한적인 예에는 베자피브레이트(bezafibrate), 젬피브로질(gemfibrozil) 및 페노피브레이트(fenofibrate)가 포함된다.
- [0335] 콜레스테릴 에스터 수송 단백질(CETP) 억제제는 대식세포 및 동맥벽 내에서 콜레스테릴 에스터의 축적을 저하시키며 따라서 포말세포의 형성을 저하시킴으로써, 또 콜레스테롤 흡수에 영향을 미침으로써 죽상경화증 발생에 있어서 큰 역할을 담당한다. 가장 유망한 현재 알려져 있는 CETP 억제제는 아비시미베(avasimibe)이다.
- [0336] ApoA-I 밀라노는 전형적으로 인지질과의 재조합 복합체(ETC-216)로서 사용되고, 관상동맥 죽상경화증의 유의적 퇴행을 발생시킨다.
- [0337] 점막 애주번트의 동시 투여는 점막 표면을 통과하는 감염성 인자의 침입을 방지하는데 크게 유리한 것으로 밝혀졌다. 점막 면역 반응의 유도의 초기 단계에서, 경구 또는 비강 투여된 항원의 취입(uptake)이 특이한 세트의 항원 샘플링 세포(유도 부위의 여포 결합 상피(FAE)에 존재하는 M 세포)를 통해 달성된다. 취입이 성공한 후, 항원은 그의 하측 수상 세포(dendritic cells; DC)에 의해 즉각 프로세싱 및 제시된다.
- [0338] 비스테로이드계 항염증성 약물의 비제한적인 예로는 옥시캄, 예컨대 피록시캄, 아이속시캄, 테녹시캄, 수독시캄 및 CP-14,304; 살리실레이트, 예컨대 아스파린, 다이살시드, 베노릴레이트, 트라일리세이트, 사파프린, 솔프린, 다이플루니살 및 웬도살; 아세트산 유도체, 예컨대 디아클로페낙, 웬클로페낙, 인도메타신, 슬린닥, 톨메틴, 아이속세파크, 퓨로페낙, 티오피낙, 지도메타신, 아세마타신, 웬티아작, 조메티락, 클린다낙, 옥세피탁, 펠비낙 및 케토롤락; 페나메이트, 예컨대 메페남산, 메클로페남산, 플루페남산, 니플룸산 및 톨페남산; 프로피온산 유도체, 예컨대 이부프로펜, 나프록센, 베녹사프로펜, 플루르비프로펜, 케토프로펜, 페노프로펜, 웬부펜, 인도프로펜, 피르프로펜, 카르프로펜, 옥사프로진, 프라노프로펜, 미로프로펜, 티옥사프로펜, 수프로펜, 알미노프로펜 및 티아프로펜산; 피라졸, 예컨대 페닐부타존, 옥시펜부타존, 페프라존, 아자프로파존 및 트라이메타존이 포함된다.
- [0339] 스테로이드계 항염증성 약물의 비제한적인 예로는 코르티코스테로이드, 예컨대 하이드로코르티손, 하이드록실트리암시놀론, 알파-메틸덱사메타손, 덱사메타손-포스페이트, 베클로메타손 디아프로피오네이트, 클로베타솔 발레레이트, 데소나이드, 테스옥시메타손, 데스옥시코르티코스테론 아세테이트, 덱사메타손, 디아클로리손, 디아플로라손 디아아세테이트, 디아플루코르톨론 발레레이트, 플루아드레놀론, 플루클로롤론 아세토나이드, 플루드로코르티손, 플루메타손 피발레이트, 플루오시놀론 아세토나이드, 플루오시노나이드, 플루코르틴 뷔틸에스터, 플루오코르톨론, 플루프레드니텐(플루프레드닐리텐) 아세테이트, 플루란드레놀론, 할시노나이드, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 뷔티레이트, 메틸프레드니솔론, 트리암시놀론 아세토나이드, 코르티손, 코르토독손, 플루세토나이드, 플루드로코르티손, 디아플루오로손 디아아세테이트, 플루아드레놀론, 플루드로코르티손, 디아플루로손 디아아세테이트, 플루르아드레놀론 아세토나이드, 메드리손, 암시나펜, 암시나파이드, 베타메타손 및 그의 에스터의 잔부(balance), 클로로프레드니손, 클로르프레드니손 아세테이트, 클로크르텔론, 클레시놀론, 디아클로리손, 디아플루루프레드네이트, 플루클로로나이드, 플루니솔라이드, 플루오로메탈론, 플루페롤론, 플루프레드니솔론, 하이드로코르티손 발레레이트, 하이드로코르티손 사이클로펜틸프로피오네이트, 하이드로코르타메이트, 메프레드니손, 파라메타손, 프레드니솔론, 프레드니손, 베클로메타손 디아프로피오네이트, 트리암시놀론 및 이들의 혼합물이 포함되지만 이에 국한되지 않는다.
- [0340] 진통제(통증 완화제)의 비제한적인 예로는 아스파린 및 다른 살리실산계(예컨대, 콜린 또는 마그네슘 살리실레이트), 이부프로펜, 케토프로펜, 나프록센 소듐 및 아세트아미노펜이 포함된다.
- [0341] 성장 인자에는, 접착 분자 생산을 조절하고, 세포 증식을 변화시키고, 혈관형성을 증가시키고, 콜라겐 합성을 향상시키고, 뼈 대사를 조절하고, 소정의 영역 내로의 세포의 이동을 변화시키는 것을 포함하는 수많은 기능을 갖는 호르몬이 있다. 성장 인자의 비제한적인 예에는 인슐린-유사 성장 인자-1(IGF-1), 형질전환 성장 인자-베타(TGF-베타) 및 뼈 형성 단백질(BMP) 등이 포함된다.

- [0342] 독소의 비제한적인 예에는, 아주번트로서도 또한 역할하는 콜레라 독소가 포함된다.
- [0343] 항증식성 약제의 비제한적인 예에는 알킬화제, 예컨대 질소 머스타드(nitrogen mustard), 에틸렌이민 및 메틸멜라민, 알킬 살포네이트, 나이트로소유레아(nitrosourea) 및 트리아젠; 대사길항제, 예컨대 엡산 유사체, 피리미딘 유사체 및 퓨린 유사체; 천연 산물, 예컨대 빈카 알칼로이드(vinca alkaloid), 에피포도필로톡신(epipodophyllotoxin), 항생물질, 효소, 탁산(taxane) 및 생물학적 반응 개질제; 여러가지 약제, 예컨대 백금 배위 치료제, 안트라센디온, 안트라사이클린, 치환된 유레아, 메틸 하이드라진 유도체, 또는 부신피질 억제제; 또는 호르몬 또는 길항제, 예컨대 부신피질 스테로이드, 프로게스틴(progestin), 에스트로겐, 향에스트로겐, 안드로겐, 향안드로겐 또는 성선자극호르몬-방출 호르몬 유사체가 포함된다. 화학요법제의 구체적인 예에는 예컨대 질소 머스타드, 에피포도필로톡신, 항생물질, 백금 배위 치료제, 블레오마이신(bleomycin), 독소루비신, 파클리탁셀, 에토포시드, 4-OH 사이클로포스파미드 및 시스백금이 포함된다.
- [0344] HSP 패밀리는 고도로 보존된 구조를 가지고 이들의 분자량에 의해 식별되는 약 25개의 단백질로 구성된다. 거의 모든 인간은 미생물의 열-쇼크 단백질 60(HSP60)에 대한 세포성 및 체액성 면역 반응을 갖는다. 큰 항원 상동성 정도가 미생물(세균 및 기생충) HSP60과 인간 HSP60의 사이에 존재하므로 미생물에 대한 면역성의 '대가(cost)'는 스트레스를 받은 동맥의 내피 세포에 의해 발현되는 인간 HSP60과의 교차반응 위험이 존재한다. 변화된 자가 HSP60에 대한 진정한 자가면역성은 이 과정을 또한 개시시키는 것이다(워크(Wick) 등의 문헌 [자가면역 질환으로서의 죽상경화증; 최신정보(Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update), TRENDS in Immunology, 2001;22(12):665-669]). HSP는 몇몇의 실험적인 자가면역 질환(관절염, I형 당뇨병)에 있어서 표적 자가항원으로서 관계한다. 안티-HSP65 항체 및 안티-HSP60 항체는 인간에서의 죽상 병소와 입증적으로 관련된다. 토끼 및 마우스에서 실시된 연구에서는, 재조합 단백질을 이용한 면역화, 또는, 결핵균(Mycobacterium tuberculosis)의 HSP65-풍부 조제물을 이용한 면역화에 의한 HSP65-유도의 면역 반응이 생성되는 것에 의해, 죽상경화증 발생이 증가하는 것을 보여준다. 가능한 항원성의 후보물로서 HSP65을 지향하며 점막 '내성화(tolerization)'의 유도에 의한 비반응성의 상태를 발생시키는 자가면역 과정이 이를 반응을 차단하기 위하여 이용되고 있으므로, 본 발명자들의 그룹은 초기 죽상경화증이 BSA 또는 PBS-공급된 마우스와 비교하는 경우 HSP65-공급된 마우스에서 약해진 것을 보고하였다(하라츠(Harats) 등의 문헌 [열쇼크 단백질 65에 의한 경구 관용성은 결핵균 유도의 죽상경화증 병소 및 고지방식 유래의 죽상경화증 병소를 약화시킨다(Oral tolerance with heat shock protein 65 attenuates mycobacterium tuberculosis induced and high fat diet driven atherosclerosis lesions), J Am Coll Cardiol, 2002, 40:1333-1338]). 이는 HSP를 이용한 비장 백신접종에 의해 죽상경화증과 연관된 염증 과정이 저하하는 것을 입증한 매론(Maron) 등의 문헌 [열쇼크 단백질-65의 점막 투여는 저밀도 리포단백질 수용체 결손 마우스의 대동맥궁에 있어서의 죽상경화증 및 염증을 저하시킨다(Mucosal administration of heat shock protein-65 decreases atherosclerosis and inflammation in aortic arch of low density lipoprotein receptor-deficient mice), Circulation, 2002, 106:1708-1715]에 의해 더욱 지지되었다.
- [0345] 베타-2-당단백질 I(베타-2GPI)는 전혈전성의 항인지질 항체에 대한 표적으로서 역할을 하는 것으로 보여지는 인지질 결합 단백질이다. 최근, 면역 매개 반응을 유인하고, 마우스의 죽상경화증을 증강시키는 것으로 밝혀졌다. 베타-2GPI에 대한 베타-항체는 단핵구 및 내피 세포를 활성화하는 능력을 가지며, 죽상경화증-경향성 마우스의 촉진된 죽상경화증에서 베타-2GPI에 대한 면역 반응을 유도할 수 있다. 베타-2GPI 반응성 림프절 및 비장 세포를 LDL-수용체 결손 마우스에 이식하는 경우, 이들은 지방 선조(fatty streak) 형성을 촉진시키며, 이는 베타-2GPI 특이적 임파구에 대한 직접적인 전죽상경화증-발생적 역할을 입증하는 것이다. 항원을 사전에 경구 투여에 의해 공급함으로써 베타-2GPI에 대한 면역학적 내성을 유도하게 되면, 죽상경화성 병소의 정도에 있어서의 현저한 감소가 초래되었다. 따라서, 베타-2GPI는 죽상경화성 플라크에서의 후보 작용인자이며, 플레이크 진행의 면역조절인자로서 이용할 수 있다. 베타-2GPI를 경구로 공급하면, 인간 단백질에 대항하여 면역화된 마우스에서 베타-2GPI에 대한 림프절 세포 반응성이 저해되었다. IL-4 및 IL-10의 생산은, 각각의 단백질을 이용하여 항원자극함에 따라, 베타-2GPI에 대항하여 면역화된 베타-2GPI-내성 마우스의 림프절 세포에서 업레귤레이션되었다(upregulate). 따라서, 베타-2GPI의 경구 투여는 마우스에 있어서의 죽상경화증 발생을 억제하는 효과적인 수단이다(조지(George) 등의 문헌 [베타-2-당단백질 I를 이용한 경구 관용성에 의한 LDL수용체 결손 마우스에 있어서의 초기 죽상경화증의 억제(Suppression of early atherosclerosis in LDL-receptor deficient mice by oral tolerance with beta2-glycoprotein I), Cardiovasc Res, 2004, 62(3):603-9]).
- [0346] 본원에 기재된 산화된 지질은 화학 분야에 공지되어 있는 임의의 적합한 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들면, 본원에 기재된 인지질은 국제 특허출원 PCT/IL05/00735(공개 번호 WO 06/006161) 또는 미국 특허출원

11/650,973(공개 번호 2007-0112211)에 기재된 절차들에 따라 제조될 수 있다.

[0347] 더욱 명료해지도록 별도의 실시양태들로 기재되어 있는 본 발명의 특징들은 또한 단일 실시양태와 조합되어 제공될 수 있다. 반대로, 더욱 간단해지도록 단일 실시양태로 기재되어 있는 본 발명의 다양한 특징들은 또한 별도로 또는 임의의 적합한 하위 조합으로 제공되거나, 또는 발명의 임의의 다른 기재된 실시양태들로 적합하게 제공될 수 있다. 다양한 실시양태들로 기재된 특징들은 실시양태가 그의 요소들 없이 무효인 경우가 아니라면 실시양태들의 본질적 특징들로 간주되지 않는다.

[0348] 앞서 본원에 기재되고 하기 특허청구범위에 청구된 본 발명의 다양한 실시양태 및 관점은 하기 실시예에서 실험에 의해 지지되고 있다.

도면의 간단한 설명

[0349] 본원에서는 첨부된 도면을 단지 예로서 참조하여 발명의 일부 실시양태를 기재하고 있다. 이하, 특별히 도면을 상세하게 참조하여, 제시된 특이사항은 발명의 실시양태에 대해 예시적으로 그리고 예시적인 논의를 목적으로 강조되고 있다. 이와 관련하여, 도면과 더불어 취한 설명들은 당해 분야의 숙련자에게 발명의 실시양태가 실시될 수 있는 방법에 대해 분명해질 것이다.

도면에서, 도 1은 여러 투약량의 CI-202로 처리된 세포에서의 IL12/23 p40 생성을 나타내는 그래프이며(각각의 막대 그래프는 3개의 샘플을 나타냄); 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 비교하여 각 투약량에 대해 $P < 0.004$ 이고;

도 2는, 처리 2, 3 및 4시간 후, CI-201, CI-202 및 포스파티딜 콜린(phosphat idyl choline; PC)으로 처리된 세포에서의 IL12/23 p40 mRNA 발현을 나타내는 그래프이고;

도 3은 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (18.5 또는 37 μM) CI-202, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) CI-201, 포스파티딜 콜린(PC) 및 PBS/1% 에탄올(sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅(Western blot)의 사진이며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 제시되고;

도 4A 및 4B는 각각 다양한 투약량의 CI-202의 독성을 시험하는 개별적 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 5는 PBS 또는 4 mg/kg CI-202로 처리된 마우스에서의 MOG-유도된 실험적 자가면역 뇌척수염의 전개를 나타내는 그래프이고;

도 6은 CI-202(CI-201의 에탄올아민 동종체)로 처리된 마우스에서 및 대조 마우스에서의 콜라겐-유도된 관절염의 전개를 나타내는 그래프이고;

도 7은, CI-203(각 막대 그래프는 6개의 샘플들을 나타냄)으로 처리된 세포에서의 IL12/23 p40 생성, 및 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 비교한 P 값을 나타내는 그래프이고;

도 8는, 1 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.6 또는 33 μM)의 (R)-CI-203(R-CI-203), 및 라세미체 CI-203(rac-CI-203), 1 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.7 또는 34 μM)의 (R)-CI-201(R-CI-201) 및 (S)-CI-201(S-CI-201), 및 1 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.3 또는 26 μM)의 포스파티딜 콜린(Ph.Ch.)으로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며; ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 제시되고;

도 9A 및 9B는 각각 다양한 투약량의 CI-203의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과들을 나타내는 그래프이고;

도 10은, 다양한 투약량의 CI-209(각각의 막대 그래프는 5개의 샘플을 나타냄)로 처리된 세포에서의 IL12/23 p40 생성, 및 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 비교한 P 값($P < 0.008$ 은 10 및 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 투약량에 대한 것이고 $P < 0.016$ 은 1, 2.5 및 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 투약량에 대한 것임)을 나타내는 그래프이고;

도 11은 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (38 μM) CI-209, CI-201 또는 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 12A 및 12B는 각각 다양한 투약량의 CI-209의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 13은, 다양한 투약량의 CI-210(각각의 막대 그래프는 4개의 샘플을 나타냄)으로 처리된 세포에서의 IL12/23 p40 생성, 및 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 비교한 P 값($P < 0.029$ 는 10 및 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 투약량에 대한 것이고 $P < 0.057$ 은 2.5 및 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 투약량에 대한 것임)을 나타내는 그래프이고;

도 14는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (31 μM) CI-210, CI-201 또는 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 15A 및 15B는 각각 다양한 투약량의 CI-210의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 16은, 다양한 투약량의 CI-216(각각의 막대 그래프는 4개의 샘플을 나타냄)으로 처리된 세포에서의 IL12/23 p40 생성, 및 대조군(0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 비교한 P 값을 나타내는 그래프이고;

도 17은 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) CI-215, 또는 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 18은 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (15 또는 30 μM) CI-216, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) CI-201, 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 19는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (38 μM)의 CI-206 또는 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 20은 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (35 μM)의 CI-205, CI-201 또는 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 21A 및 21B는 각각 다양한 투약량의 CI-206의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 22A 및 22B는 각각 다양한 투약량의 CI-205의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 23은 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (34 μM)의 CI-208, CI-201 또는 포스파티딜 콜린(PC)으로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며; α -튜불린(α -Tub)은 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 24A 및 24B는 각각 다양한 투약량의 CI-208의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 25A 및 25B는 각각 다양한 투약량의 CI-213의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 26A 및 26B는 각각 다양한 투약량의 CI-214의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 27은 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (18 또는 36 μM) CI-217, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) CI-201, 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 28은 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (31 μM) CI-219 및 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (34 μM) CI-201 또는 포스파티딜 콜린(PC), 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 29는 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (34 μM) CI-220 및 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (34 μM) CI-201 또는 포스파티딜 콜린(PC), 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 30A 및 30B는 각각 다양한 투약량의 CI-201-PA의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고;

도 31은 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) 1-S-CI-201(CI-S-201), 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) CI-201, 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 32는 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (18 또는 36 μM) 1-S-CI-202(CI-S-202), 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (18.5 또는 37 μM) CI-202, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (17 또는 34 μM) CI-201, 포스파티딜 콜린(PC) 또는 PBS/1% 에탄올(sol)로 처리된 샘플에서의 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고;

도 33A 및 33B는 각각 다양한 투약량의 다이-OH의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고; 도 34는 다이-OH로 처리된 마우스에서 및 대조 마우스에서의 죽상경화 병터의 면적을 나타내는 그래프이고; 도 35는 diMeAc로 처리된 마우스에서 및 대조 마우스에서의 죽상경화 병터의 면적을 나타내는 그래프이고; 도 36A 및 36B는 각각 다양한 투약량의 diEtAc의 독성을 시험하는 개별 실험의 결과를 나타내는 그래프이고; 도 37은 1, 5, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.7, 8.3, 16.7 또는 33.3 μM) VB-223 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고; 도 38은 1, 5, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.6, 8, 16 또는 32 μM) VB-221 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타내고; 도 39는 1, 5, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.7, 8.4, 16.8 또는 33.6 μM) VB-222 또는 PBS/1% 에탄올(Sol)로 처리된 샘플에서 포스포티로신(p-티로신)을 나타내는 웨스턴 블로팅의 사진을 나타내며, ERK1/2는 단백질 적재를 위한 대조군으로서 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0350]

실시예

[0351]

이후, 상기 설명들과 함께, 발명의 일부 실시양태를 비제한적으로 예시하는 하기 실시예들을 참고한다.

[0352]

물질 및 방법

[0353]

물질:

[0354]

아세트산(빙초산)을 바이오-랩(Bio-Lab)으로부터 입수하고; 결정 바이올렛(crystal violet)을 시그마(Sigma)로부터 입수하고; 다이싸이오틴레이톨(dithiothreitol, DTT)을 바이오-랩으로부터 입수하고; (열적 비활성화된) 소 태아 혈청을 바이올로지컬 인더스트리즈(Biological Industries)(이스라엘)로부터 입수하고; 메탄올(무수)을 바이오-랩으로부터 입수하고; MOG 웨브타이드 35-55를 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터 입수하고; 마우스 GM-CSF(과립구-대식세포 집락자극인자; granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)를 웨프로텍(Peprotech)(이스라엘)으로부터 입수하고; 폐니실린/스트렙토마이신 용액을 바이올로지컬 인더스트리즈(이스라엘)으로부터 입수하고; 적혈구 세포 용해 완충액을 바이올로지컬 인더스트리즈(이스라엘)으로부터 입수하고; L-글루타민을 갖는 RPMI-1640 배지를 바이올로지컬 인더스트리즈(이스라엘)으로부터 입수하였다.

[0355]

코스타(COSTAR)(등록상표) 스테릴(Sterile) 24-웰 조직 배양을 코닝(Corning)으로부터 입수하였다.

[0356]

칼슘 또는 마그네슘이 없는 둘베코(Dulbecco)의 포스페이트 완충된 염수 10x 농축물(바이올로지컬 인더스트리즈, 이스라엘)을 이중증류된 물로 희석시킴으로써 포스페이트 완충된 염수(PBS)를 제조하였다.

[0357]

세포를 5% CO_2 의 분위기 하에서 37°C에서 항온처리하였다.

[0358]

테칸 선라이즈(Tecan SUNRISE) 플레이트 판독기 및 마젤란 버전(Magellan Version) 6.3 데이터 회수 소프트웨어를 사용하여 분광분석을 측정하였다. 테칸 스펙트라플루오르 595 nm 대역-통과 필터(Tecan SpectraFluor 595 nm band-pass filter)를 사용하여 595 nm에서 흡수도를 결정하였다.

[0359]

시험관 내 연구를 위해, 시험된 화합물을 에탄올 중에 용해시켜서 100 mg/ml 의 농도까지 만든 후, PBS 중에 희석시켜서 1 mg/ml 의 농도까지 만들었다.

[0360]

티로신 포스포릴화 검정:

[0361]

마우스의 대식세포 또는 골수-유도 세포(BMDC) 중의 티로신 포스포릴화를 검정하였다.

[0362]

싸이오글리콜레이트(thioglycollate) 자극 후, 생후 7 내지 8주 C57BL/6 암컷 마우스의 복막으로부터 마우스 일차 대식세포를 단리시켰다. 밤새도록 RPMI-1640 배지에서 0.5% 소 태아 혈청(FBS)으로 세포를 미리 스타빙시켰다(pre-starve). 차가운 RPMI-1640을 사용하여 암컷 SJL 마우스의 대퇴골 및 정강뼈로부터 골수를 플러싱함으로써(flush) 마우스 일차 골수-유도된 세포를 단리시켰다. 세포 혼탁액을 제조하고, 적혈구 용해 완충액을 사용하여 적혈구를 제거하고, 포스페이트 완충된 염수(PBS) 및 0.5% 소 혈청 알부민(BSA)이 마우스 B220 및 CD90

마이크로비이드(microbead)(밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotech))와 함께 함유된 완충액에서 15분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 세포를 세척하고, 동일한 완충액 중에서 재현탁시키고, LD 또는 LS 칼럼(밀테니 바이오텍)을 통해 미디-마크스(Midi-Macs) 분리 유닛 위에서 B 및 T 세포를 고갈시켰다. 고갈된 골수 세포를 계수하고, 세척하고, L-글루타민, β -мер캅토에탄올, 10% 소 태반 혈청, 항생제(페니실린/스트렙토마이신) 및 2 ng/ml의 마우스 과립구-대식세포 집락자극인자(GM-CSF)를 갖는 RPMI-1640 배지에서 ml당 10^6 세포의 농도로 씨딩하였다. 배지를 격일로 교체하였다. 배양한지 5 내지 6일자에, 세포를 수거하고, 계수하고, 24시간 동안 배지에서 씨딩한 (10^6 세포/ml) 후, 밤새도록 RPMI-1640 배지에서 0.5% 소 태아 혈청(FBS)으로 스타빙시켰다.

[0363] 그 다음, 10분 동안 1% 에탄올을 갖는 포스페이트 완충된 염수(PBS) 중에서 1, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 시험 화합물로 대식세포 또는 BMDC를 처리하였다. 네거티브 대조군으로서, 1 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 포스파티딜콜린 또는 용매(1% 에탄올을 갖는 PBS)로 처리하였다. 포지티브 대조군으로서, 1, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 CI-201(1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린)으로 처리하였다.

[0364] 그 다음, 단핵성 안티-포스티로신 항체를 사용하는 웨스턴 블로팅(Western blot)에 의해 포스포릴화된 티로신을 갖는 단백질을 관찰하였다. 단백질 적재에 대한 대조군으로서 ERK1/2 또는 α -튜불린에 대한 웨스턴 블로팅을 실시하였다.

시험관 내 독성 검정:

[0366] 싸이오글리콜레이트-유발된 마우스 복강 대식세포를 세척하고, 계수하고, RPMI-1640, L-글루타민, 10% FBS 및 항생제(페니실린/스트렙토마이신)가 함유된 배지에서 삼중 웰로 씨딩하였다(24-웰 플레이트 내에 웰당 2×10^5 내지 3×10^5 세포). 24시간의 회복 기간 후, 시험된 화합물(또는 대조군)을 2, 10, 20, 50, 100 또는 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 투약량으로 세포 배지에 첨가하였으며, 이는 용매를 부피를 보충함으로서 모든 치료에서 부가된 부피를 동일하게 유지시킨다.

[0367] 화합물의 첨가 후, 24시간 더 항온처리하였으며, 이어서 세포를 세척하고, 10% 메탄올/10% 아세트산의 용액으로 고정하고, 결정 바이올렛으로 염색하였다(20% 에탄올 중 0.4%). 세포의 개수를 595 nm에서 광학 밀도를 결정함으로써 측정하였다. 비히클로 항온처리된 세포(1% 에탄올을 갖는 PBS)를 대조군으로서 사용하였으며, 여기서 치료된 샘플에서의 세포 개수를 정규화시켰다.

[0368] 데이터는 평균 ± 표준편차로서 제시한다. 스튜던트티테스트(student's t test)를 사용하여 비히클로 치료된 세포에 대한 통계학적 유의성을 계산하였으며, 0.05 미만의 p 값은 통계학적으로 유의적인 것으로 간주된다.

시험관 내 IL12/23p40 생성 검정:

[0370] 앞서 본원에서 티로신 포스포릴화 검정에 대하여 기재된 바와 같이, 암컷 C57BL 마우스의 대퇴골 및 정강뼈로부터 골수-유도된 세포(BMDC)를 입수하고, 배양하고, 배양한지 5 내지 6일자에 10^6 세포/ml의 농도에서 씨딩하였다.

[0371] 그 다음, 시험된 화합물을 1시간 동안 1, 2.5, 5, 10 또는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 세포에 첨가하였다. 세포를 24시간 동안 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 웹티도글리칸(PGN)과 함께 항온처리함으로써 IL12/23p40 생성을 위해 활성화시켰다. 상청액으로부터의 사이토카인 생성을 ELISA에 의해 측정하였다. 시험된 화합물 없이 활성화된 세포를 대조군으로서 사용하였다.

시험관 내 IL12/23p40 mRNA 발현 검정:

[0373] 앞서 본원에서 기재된 바와 같이, 골수-유도된 세포를 제조하였다. 배양한지 5 내지 6일자에, CD11c+ 가지세포에 대해, MS 또는 LS 칼럼(밀테니 바이오텍) 위에서 마우스 CD11c 마이크로비이드로 세포 배양이 풍부해졌다(> 90%). CD11c+ 가지세포를 1, 2 및 3시간 동안 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 웹티도글리칸 단독으로 또는 활성화 1시간 전에 첨가된 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 시험 화합물의 존재 하에서 자극하였다. 알렌이지 미니(RNeasy mini) 키트(퀴아겐(Qiagen), 캘리포니아주 발렌시아 소재)를 사용하여 RNA를 세포로부터 추출하였다. cDNA 제조를 위해, 1 μg 의 RNA를 70°C에서 10분 동안 올리고(Oligo) dT와 조합하였다(제 1 스트랜드 완충액). 다이싸이오프리레이탈 및 dNTP 및 수퍼스 크립트 리버스 트랜스크립타제(super-script reverse transcriptase) (SS-II) (인비트로겐(Invitrogen), 캘리포니아주 칼스바드 소재)를 42°C에서 50분 동안 첨가하고, 70°C에서 15분 더 항온처리함으로써 반응을 마무리하였다. 라이트사이클러 태크만 마스터(LightCycler Taqman master) (로슈 다이아그노스틱스(Roche

Diagnostics), 독일 만하임 소재)를 사용하여 모든 실시간 PCR 반응을 실시하고, 라이트사이클러 기계(로슈)에서 진행시켰다. IL12/23 p40 및 GAPDH 검정(어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems), 각 검정 #Mm01288992_m1 및 Mm99999915_g1)을 위해, 프라이머를 갖는 기성 세트의 프로브를 사용하였으며, 후자는 RNA 준위를 정규화하는 기능을 한다. 20 µg/ml CI-201 및 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine)(PC)을 각각 포지티브 및 네거티브 대조군으로서 사용하였다.

[0374] 생체 내 말이집 올리고덴드로사이트 글리코단백질(*myelin oligodendrocyte glycoprotein*)(MOG)-유인된 실험적 자가면역 뇌척수염(*experimental autoimmune encephalomyelitis*)(EAE) 검정:

[0375] 지정된 양의 시험된 화합물을 면역화 전 시작 5일 동안 연속적으로 최종 부피 200 µl로 C57BL/6 마우스에 경구 투여하였다.

[0376] EAE 유인을 위해, 1.5 mg/ml MOG 웨პ타이드 35-55(MEVGVYRSPFSRVVHLYRNGK) 및 2.5 mg/ml CFA(완전한 프룬트 애주번트(complete Freund's adjuvant))가 함유된 에멀션을 마우스에 피하 투여하여 면역화시키며, 100 µl 에멀션은 각각의 플랭크 내에 주입한다. 백일해(Pertussis) 독소(500 µl PBS 중 500 ng)를 면역화 즉시 및 48시간 후 복강 내 투여하였다.

[0377] EAE의 개시를 평균 임상 등급에 의해 평가하였다.

[0378] 생체 내 콜라겐-유인된 관절염(*collagen-induced arthritis*)(CIA) 검정:

[0379] 꼬리의 베이스 내에 완전한 프룬트 애주번트(0일) 및 플랭크 내의 부스터 셧(booster shot)(21일)이 함유된 콜라겐 주입에 의해 관절염을 유인하도록 DBA/1 수컷 마우스를 면역화시켰다. 마우스에 대하여 36일까지 관절염 전개를 진행시켰다. 시험된 화합물 및 대조 물질의 영양보충에 의한 투여를 22일에 시작하고, 일일 기준으로 실시하였다(매주 6회).

[0380] 관절염의 개시를 관절염 임상 등급에 의해 평가하였다.

[0381] 생체 내 죽상경화증 병터 검정:

[0382] 0.2 ml의 PBS 또는 지정된 양의 시험된 화합물과 함께 PBS를 5회 치료 동안 격일로 매일 1회 생후 12 내지 16주 LDL-RD 수컷 마우스에 경구 투여하였다. 5주 동안 웨스턴 다이어트(western diet)로 마우스를 시험감염시킨(challenge) 후, 희생시켰다.

[0383] 다르게는, 0.2 ml의 PBS 또는 지정된 양의 시험된 화합물과 함께 PBS를 5회 치료 동안 격일로 매일 1회 생후 14 내지 16주 ApoE KO 마우스에 경구 투여하였으며, 8주 말엽에 희생시켰다.

[0384] 종래 기재된 바와 같이(Paigen) 등의 문헌 [마우스에서의 죽상경화증 병터의 정량적 평가(Quantitative assessment of atherosclerotic lesions in mice). Atherosclerosis 1987; 68:231-240]) 그의 약간 변형된 형태로, 대동맥굴(aortic sinus) 내의 병터 크기를 계산함으로써 죽상경화증 병터를 평가하였다. 요약하면, 동물의 심장 및 대동맥을 제거하고, 주변 지방을 조심스럽게 세정하였다. 대동맥굴 전반(400 µm)에 걸쳐 3 내지 8 개의 오일 레드 O-염색된(Oil red O-stained) 일련의 색션들(10 µm 두께)로부터 대동맥굴 병터를 결정하였다. 컴퓨터 분석 방법(이미지 프로 플러스 소프트웨어(Image Pro Plus software)[버전 4.5.1.29], 메디칼 사이버네틱스 코포레이션(Medical Cybernetics Corporation))을 사용하여 병터 면적을 계산하였다.

[0385] 실시예 1

[0386] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-202) 및 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민

[0387] (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되, (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민을 합성하였다.

[0388] (S)-1-헥사데실-글리세롤의 합성 11 g의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 20 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 27.96 g의 헥사데실 브로마이드를 150 ml의 톤휴엔 중에 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 40 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을

실온까지 냉각시키고, 100 ml의 물을 첨가하고, 반응 혼합물을 75 ml의 다이클로로메테인으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 50 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 200 ml의 90:10:5(부피/부피) 메탄올:물:농축 염산 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 2시간 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 100 ml의 물을 첨가하였다. 생성물을 100 ml의 다이클로로메테인으로 3회 추출하고, 연속적으로 100 ml의 물, 100 ml의 포화된 수용액으로 및 다시 100 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용매를 감압 하에서 제거하고, 생성물을 헥세인(200 ml)으로부터 결정화하여서 21.69 g의 순수한 (S)-1-헥사데실-글리세롤을 수득하였으며, 이를 이를 감압 하에서 건조기 내에서 건조시켰다. 수율은 82 %이었다.

[0389] **(R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤의 합성** 20 g의 (S)-1-헥사데실-글리세롤 및 21.29 g의 트라이페닐클로로메테인을 369 ml의 건조한 테트라하이드로퓨란(THF) 및 93 ml의 건조한 아세토나이트릴 중에 용해시켰다. 17.75 ml의 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음(100 g) 위에 놓고, 분리 깔대기에 전달하고, 메틸 t-부틸 에터로 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 200 ml의 물, 200 ml의 희석된(1.5 %) 황산(2회), 200 ml의 물, 200 ml의 포화된 수성 중탄산 나트륨 및 다시 200 ml의 물로 세척하였다. 유기 상을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 36.86 g의 조생성물을 잔류물로서 수득하였다. 이 잔류물을 고온의 헥세인(200 ml) 중에 용해시키고, 생성된 용액을 4 °C에서 밤새도록 냉각시켰다. 침전된 생성물을 여과하고, 30.71 g의 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤을 수득하였다.

[0390] **(R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤의 합성** 19.94 g의 1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤, 6.98 g의 6-브로모-1-헥센 및 15 g의 분말화된 수산화 칼륨을 350 ml의 헥세인 중에 교반하고, 8시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 분리 깔대기에 전달하고, 200 ml의 물로 2회 세척한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 150 ml의 헥세인 중에 용해시키고, 다시 200 ml의 물로 2회 세척하였다. 유기 용액을 4 °C에서 밤새도록 유지시켰으며, 그 동안 부산물의 침전이 발생하였다. 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 19.86 g의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 수득하였다. 수율은 86.6 %이었다.

[0391] **(S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성** 150.16 g(702 mmol) 소듐 퍼아이오데이트를 온도계 및 적하 깔대기가 구비된 3목 환저 플라스크에서 500 ml의 물 중에 혼탁시켰다. 7.21 g(85.8 mmol) 중탄산 나트륨 및 2.47 g(15.6 mmol) 과망간 칼륨을 첨가하고, 혼탁액을 40 °C의 온도까지 가열하였다. 50 g(78 mmol) (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 500 ml의 t-부탄올 중에 용해시키고, 이 용액을 소듐 퍼아이오데이트와 과망간 칼륨의 혼합물에 1시간 동안 첨가하였다. (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 소듐 퍼아이오데이트 및 과망간 칼륨에 첨가한 후, 반응 혼합물을 40 °C의 온도로 3시간 동안 가열하였다. 1.5 시간 후, 추가의 0.62 g(3.9 mmol) 과망간 칼륨을 첨가하여서 반응 혼합물의 분홍색을 유지시켰다. 3시간 말엽에서, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 분리 깔대기에 이송하고, 200 ml의 헥세인으로 추출하였다. 유기 상을 100 ml의 물 중의 15 g Na₂S₂O₅의 용액으로 세척하였다. 희석 염산(13 ml의 물 중의 0.65 ml의 농축 HC1)을 유기 상에 첨가하고, 200 ml의 용매를 감압 하에서 증류시켰다. 잔류하는 맑은 용액을 80 °C의 온도까지 6시간 동안 가열하고, 추가 부피의 250 ml의 용매를 증류 제거하였다. 잔류물을 100 ml의 물 및 10 ml의 30 % NaOH 용액으로 처리하였으며, pH 12가 되었다. 침전된 트라이페닐메탄을 여거하고, 10 ml의 물로 4회 세척하였다. 여액을 50 ml의 헥세인과 50 ml의 에틸 아세테이트의 혼합물로 추출하여서 잔류하는 트라이페닐메탄을 및 다른 불순물들을 제거하였다. 수성 상에서, 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 소듐 염을 8.45 ml(101.4 mmol) 농축된 염산으로 양성자화시켰다(protonate). 생성된 자유 카복실산을 100 ml의 헥세인으로 추출하였다. 중발 건조시키고, 100 ml의 헥세인으로 동시에 중발시켜서 27.00 g의 조질의 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 수득하였다. 조생성물을 7 ml의 아세톤과 68 ml의 헥세인의 혼합물 중에 용해시키고 0 °C까지 냉각시킴으로써 결정화시켰다. 침전물을 여과하고, 7 ml의 차가운 헥세인으로 2회 세척하고, 건조시켰다. 20.90 g의 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 회색 고체로서 수득하였다. 수율은 64.3 %이었다.

[0392] **(S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성** 15.0 g(36.0 mmol)의 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 100 ml의 메탄올 중에 용해시키고, 3 ml의 농축 염산을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 트라이에틸아민을 반응 혼합물의 pH가 7에 도달할 때까지 첨가하였다. 용액을 분리 깔대기에 이송하고, 200 ml의 헥세인으로 2회 추출하였다. 유기 상을 물로 세척하였다. 중발 건조시키고, 100 ml의 헥세인으로 동시에 중발시켜서 14.92 g의 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 수득하였다. 수율은 96.2 %이었다.

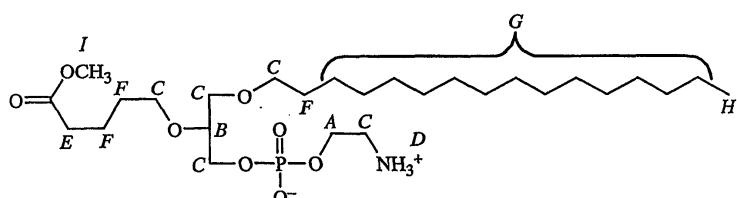
[0393] **(R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성** 2.88 g의 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤 및 3 ml의 트라이에틸아민을 30 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 15분에 걸쳐 20 ml의 테트라하이드록산 중의 2 ml의 POCl_3 의 얼음-냉각된 용액에 교반하면서 적가하였다. 10분 더 냉각시키면서 실온에서 45분 더 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 얼음-냉각된시키고, 50 ml의 THF 중의 1.21 ml의 에탄올아민과 5.6 ml의 트라이에틸아민의 용액을 20분에 걸쳐 적가하였다. 10분 동안 냉각시키면서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 24 ml의 아세트산 및 10 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 50 ml의 클로로포름으로 3회 추출하고, 유기 상을 50 ml의 물로 2회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 4.0 g의 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 황색 왁스로서 수득하였다.

[0394] **1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:**

[0395] 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 샘플을 중수소화된 클로로포름(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[0396] 결과에서는 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0397] 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같았다.



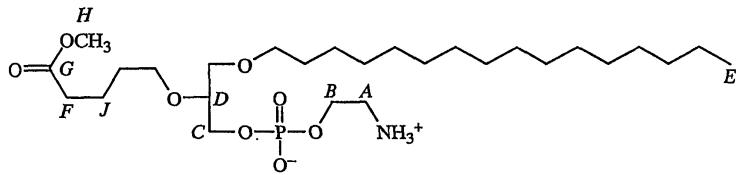
[0398]

[0399] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.28 ppm)

표 1

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
6.905	3 H, br, s	D
4.200	2 H, br, s	A
3.594	3H, s	I
3.336 – 3.562	10 H, m, 5 x CH ₂	C
3.291 – 3.313	1 H, m	B
2.250 – 2.299	2 H, t, J = 7.35 Hz	E
1.454 – 1.620	6 H, m, 3 x CH ₂	F
1.185	26 H, m, 13 x CH ₂	G
0.807	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.75 Hz	H

[0401] 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0402]

[0403] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.0 ppm)**표 2**

[0404]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
174.08	G
79.00	D
72.01	
70.38	
70.13	
66.25-66.34	C
62.34-62.43	B
51.61	H
40.42-40.51	A
33.87	F
32.05	
29.81	
29.65	
29.47	
26.20	
22.77	
21.74	J
20.74	
14.00	E

[0405]

1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0406]

1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($\text{C}_{27}\text{H}_{56}\text{NO}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 553.7092이었다.

[0407]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 554$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}+\text{H}]^+$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 화학 구조와 일치한다.

[0408]

(R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-202)의 합성 3.5 g의 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 8:2(v/v) 메탄올:10 % 수산화 나트륨 용액의 100 mL의 혼합물 중에 용해시켰다. 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트 및 품산을 첨가함으로써 반응물의 pH를 4까지 조정하였다. 물(100 mL) 및 클로로폼(100 mL)을 첨가하였다. 추출한 후, 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 3.0 g의 조질의 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 수득하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해(120 g) 정제하였다. 생성물을 클로로폼:메탄올 및 물의 혼합물로 60:35:5 부피 비율에서 용출시켰다. 목적하는 생성물이 함유된 분획들을로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 잔류물 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.11 g의 순수한 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 왁스로서 수득하였다. 왁스를 감압 하에서 포스포러스 웬톡사이드 상에서 건조시켰다.

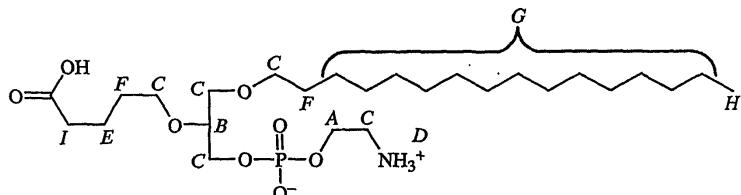
[0409]

CI-202의 NMR 특성화:

[0410] CI-202의 샘플을 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[0411] 결과에서는 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-202)의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0412] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같았다.



[0413]

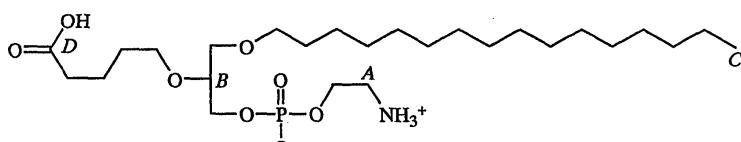
[0414] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.26 ppm)

표 3

[0415]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
8.140	3 H, br, s	D
4.144	2 H, br, s	A
3.838-4.037	2H, m	C
3.612-3.697	2H, m	C
3.385-3.530	6 H, m, 3 x CH ₂	C
3.256	1 H, br, s	B
2.302-2.348	2H, t, CH ₂ , J = 6.9Hz	I
1.672-1.710	2 H, m	E
1.518 - 1.606	4 H, m, 2 x CH ₂	F
1.254	26 H, m, 13 x CH ₂	G
0.879	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.75 Hz	H

[0416] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0417]

[0418] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.004 ppm)

표 4

[0419]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.16	D
77.868	B
71.776	
70.218	
69.814	
66.161	
62.205	
40.533	A
33.818	
31.916	
29.714	
29.664	
29.549	
29.359	
29.156	
26.080	
22.679	
21.732	
14.109	C

[0420]

CI-202의 질량 분광분석 특성화:

[0421]

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{26}H_{54}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 539.36이었다.

[0422]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI⁻-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 538$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 [$M-H^-$]. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-202)의 화학 구조와 일치한다.

[0423]

시험관 내 IL12/23 p40 생성:

[0424]

IL12/23 p40의 시험관 내 생성에 대한 CI-202의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0425]

도 1에 제시된 바와 같이, CI-202는 골수-유래된 세포들에 의해 투약량-의존적인 방식으로 IL12/23 p40의 생성을 억제하였다.

[0426]

IL12/23p40 mRNA 발현:

[0427]

시험관 내 IL12/23 p40 mRNA 발현에 대한 CI-202의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0428]

도 2에 제시된 바와 같이, CI-202는 시험 전반의 기간 동안(CI-202의 투여 후 2 내지 4시간) IL12/23 p40 mRNA 발현을 억제하고, CI-202에 의한 억제는 CI-201에 의한 억제에 필적하였다.

[0429]

티로신 포스포릴화:

[0430]

시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-202의 효과를 일차 대식세포들에서 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0431]

도 3에 제시된 바와 같이, 10 $\mu g/ml$ (18.5 μM) CI-202로 처리하면 티로신 포스포릴화의 유도를 초래한 반면, 20 $\mu g/ml$ (37 μM) CI-202에 노출하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한다. 이를 변화는 10 $\mu g/ml$ (17 μM) 및 20 $\mu g/ml$ (34 μM)의 포지티브 대조군 CI-201에 의해 각각 유도된 효과와 매우 유사하였다.

[0432]

CI-202의 독성:

[0433]

CI-202의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

- [0434] 도 4A 및 4B에 제시된 바와 같이, CI-202의 유의적 독성은 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 초과의 투약량에서만 검출되었으며, CI-202의 LD₅₀는 50 내지 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.
- [0435] **말이집 올리고덴드로사이트 글리코단백질(MOG)-유인된 실험적 자가면역 뇌척수염(EAE)의 발생:**
- [0436] 마우스에서 생체 내 말이집 올리고덴드로사이트 글리코단백질(MOG)-유인된 실험적 자가면역 뇌척수염(EAE)의 발생에 대한 CI-202의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.
- [0437] 도 5에 제시된 바와 같이, 4 mg/kg의 CI-202의 투여는 질환 개시를 지연시키고, EAE의 임상 증상을 감소시켰다.
- [0438] **콜라겐-유인된 관절염(CIA)의 발생:**
- [0439] 마우스에서 생체 내 콜라겐-유인된 관절염의 발생에 대한 CI-202의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.
- [0440] 도 6에 제시된 바와 같이, 0.4 mg/kg의 CI-202의 투여는 연구 전반에 걸쳐 관절염 중증도를 유의적으로 감소시켰다. 피크 관절염 임상 등급을 대조군 마우스에 비해 42%까지 감소시켰다.
- [0441] **실시예 2**
- [0442] **1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린(CI-203)**
- [0443] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.
- [0444] **(R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤의 합성:** 실시예 1에서 기재된 바와 같되 우선 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 사용하여 (S)-1-헥사데실-글리세롤을 제조함으로써 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤을 제조하였다.
- [0445] **(R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-3-트리틸-글리세롤의 합성:** 5 g의 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤 및 2 ml의 에틸 7-브로모-헵타노에이트를 70 ml의 벤젠 중에 용해시켰다. 23 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 교반하고, 14시간 동안 공비 증류에 의해 반응 중에 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 70 ml의 물로 3회 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 수득된 잔류물을 25 ml의 고온 헥세인 중에 용해시키고, 용액을 4 °C까지 밤새도록 냉각시켰다. 침전된 부산물을 여과하고, 용매 감압 하에서 제거하여서 5 g (R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-3-트리틸-글리세롤을 백색 고체로서 수득하였다.
- [0446] **(S)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-글리세롤의 합성:** 5 g의 (R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-3-트리틸-글리세롤을 90 ml의 에탄올 중에 용해시켰다. 20 ml의 농축 염산을 서서히 첨가하고, 혼합물을 교반하고, 4시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음 위에 붓고, 100 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기 상을 100 ml의 물, 100 ml의 포화 소듐 바이카보네이트 용액, 다시 100 ml의 물로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시켰다. 황산 나트륨의 여과 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 고온 n-헥세인 중에 용해시킨 후, 혼합물을 4 °C에서 밤새도록 유지시켰다. 침전물을 여과한 후, 용매를 감압 하에서 제거하여서 3.1 g의 황색 오일을 수득하였다. 잔류물을 실리카 젤 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 (140 g) 정제하였다. 생성물을 300 ml의 CHCl₃:에틸 아세테이트(6:4 v/v)로 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.34 g의 무색 오일을 수득하였다. 감압 하에서 포스포리스 펜톡사이드 상에서 건조시켜서 (S)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-글리세롤을 무색 고체로서 수득하였다.
- [0447] **(R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 1.34 g의 (S)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-글리세롤 및 1.2 ml의 트라이에틸아민을 15 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 15분 동안 10 ml의 THF 중의 0.8 ml의 POCl₃의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 용액을 10분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 얼음 내에서 냉각시키고, 25 ml의 THF 중의 0.52 ml의 에탄올아민 및 2.4 ml의 트라이에틸아민의 용액을 15분에 걸쳐 적가하였다. 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시키면서 10분 동안 계속적으로 교반한 후, 밤새도록 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 24 ml의 아세트산과 10 ml의 물의 혼합물 중에 용해시킨 후, 70 °C까지 1시간 동

안 가열하였다. 그 다음, 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하고, 50 ml의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.87 g의 (R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 황색 오일로서 수득하였다.

[0448] **(R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** 1.87 g의 (R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 50 ml의 아이소프로판올과 18 ml의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시켰다. 10 ml의 물 중의 2.17 g 탄산 칼륨의 용액을 5분에 걸쳐 적가하면서, 반응을 35 내지 40 °C의 온도에서 유지시켰다. 10 ml의 아이소프로판올 중의 1.52 ml의 다이메틸설페이트를 40 °C의 온도에서 10분에 걸쳐 적가하였다. 반응을 40 °C의 온도에서 90분 동안 유지시킨 후, 물을 첨가하고, 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 2회 추출하였다. 유기 상을 50 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.8 g의 (R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 약스로서 수득하였다.

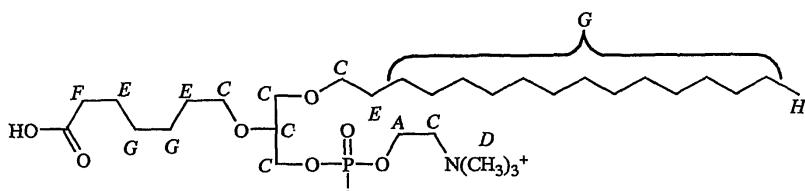
[0449] **(R)-1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-203)의 합성:** 1.8 g의 (R)-1-헥사데실-2-(6-에틸카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 50 ml의 메탄올 중에 용해시켰다. 10 % 수산화 나트륨의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가함으로써 반응물의 pH를 4 내지 5의 범위로 조정하였다. 70 ml의 물 및 70 ml의 클로로폼을 첨가하였다. 수성 및 유기 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.29 g의 백색 약스를 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(62 g). 생성물을 CHCl₃:메탄올:H₂O로 60:35:5 부피 비율에서 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거한 후, 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.0 g의 (R)-1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 백색 약스로서 수득하였다.

1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0450] 샘플을 중수소화된 클로로폼(CDCl₃) 중에 용해시켰다. ¹H NMR 및 ¹³C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0451] 결과에서는 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0452] 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ¹H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



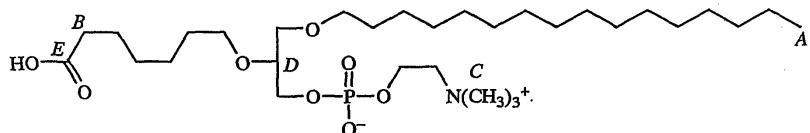
[0453]

[0454] ¹H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl₃) = 7.260 ppm)

표 5

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.279	2H, br., s	A
3.375-3.539	11 H, m, 5 x CH ₂ + CH	C
3.242	9H, s, 3 x CH ₃	D
2.302	2 H, t, CH ₂ , J = 6.15Hz	F
1.543-1556	6H, m	E
1.256-1374	30 H, m, 15 x CH ₂	G
0.879	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.75 Hz	H

[0457] 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0458]

[0459] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.002 ppm)

표 6

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.60	E
78.166	D
71.749	
70.368	
70.116	
65.972	
59.777	
54.390	C
34.120	B
31.925	
29.732	
29.597	
29.526	
29.368	
28.412	
26.109	
25.373	
24.665	
22.685	
14.111	A

[0461] 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0462] 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린($\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{NO}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 609.82이었다.

[0463] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 609$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 [$\text{M}-\text{H}^-$]. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(6-카복시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0464] 시험관 내 IL12/23 p40 생성:

[0465] IL12/23 p40의 시험관 내 생성에 대한 CI-203의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0466] 도 7에 제시된 바와 같이, CI-203은 골수-유래된 세포들에 의해 투약량-의존적인 방식으로 IL12/23 p40의 생성을 억제하였다.

[0467] 티로신 포스포릴화:

[0468] 골수-유래된 세포에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-203의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다. CI-203의 R 거울상이성체 및 라세미체 CI-203을 시험하였다. CI-201의 R 거울상이성체 및 S 거울상이성체를 대조군으로서 사용하였다.

- [0469] 도 8에 제시된 바와 같이, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (33 μM)의 (R)-CI-203과 라세미체 CI-203으로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한 반면, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (1.7 μM) CI-203는 뚜렷한 효과를 갖지 않았다. (R)-CI-203 및 라세미체 CI-203의 효과는 CI-201의 R 및 S 거울상이성체 둘 다에 의해 유도된 효과와 유사하였다.
- [0470] **CI-203의 독성:**
- [0471] CI-203의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.
- [0472] 도 9A 및 9B에 제시된 바와 같이, CI-203의 유의적 독성은 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 투약량에서만 관찰되었으며, CI-203의 LD₅₀은 50 내지 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이다.
- [0473] **실시예 3**
- [0474] **1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-209)**
- [0475] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.
- [0476] **(S)-1-도데실-글리세롤의 합성:** 11 g의 (R)-(-)-2,2-다이옥솔레인-4-메탄올, 20.6 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 24.08 g의 도데실 브로마이드를 300 mL의 벤젠 중에서 교반하고, 14시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 150 mL의 물을 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 150 mL의 메틸 t-뷰틸 에터(MTBE)로 3회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 100 mL의 물로 세척한 후, 용매를 감압 하에서 제거하고, 29.71 g의 밝은 갈색 오일을 수득하였다. 이 잔류물을 100 mL의 메탄올 중에 용해시켰다. 6 mL의 농축 염산을 첨가하고, 생성된 용액을 환류시켜서 맑은 용액을 수득하였으며, 이어서 실온까지 냉각시키고, 100 mL의 물을 첨가하였다. 생성물을 150 mL의 클로로폼으로 추출하고, 연속적으로 150 mL의 물, 150 mL의 중탄산 나트륨의 포화된 수용액, 다시 150 mL의 물로 세척하였다. 용매를 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 제거하고, 23.77 g의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 200 mL의 헥세인으로부터 4 °C에서 재결정화시켜서 19.83 g의 순수한 (S)-1-도데실-글리세롤을 백색 결정으로서 수득하였다.
- [0477] **(R)-1-도데실-3-트리틸-글리세롤의 합성:** 19.83 g의 (S)-1-도데실-글리세롤 및 21.0 g의 트라이페닐클로로메테인을 250 mL의 건조한 테트라하이드로퓨란(THF)과 60 mL의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물에 첨가하였다. 22 mL의 건조한 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 질소 하에서 환류시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 5 mL의 트라이에틸아민 및 10 g의 열음을 첨가하였다. 혼합물을 분리 깔대기에 전달하고, 100 mL의 MTBE로 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 150 mL의 물, 150 mL의 희석된(1.5 %) H₂SO₄, 150 mL의 물, 150 mL의 농축 수성 중탄산 나트륨, 다시 150 mL의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물, 40.63 g의 갈색 오일을 200 mL의 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 2일 동안 -20 °C까지 냉각시켰다. 혼합물을 -10 °C의 온도에서 원심분리시키고, 모액을 따라 버렸다. 고체를 실온에서 용융시키고, 실리카 겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(195 g). 18.57 g의 순수한 (R)-1-도데실-3-트리틸-글리세롤을 클로로폼과 헥세인의 혼합물 이어서 9:1(v/v) 클로로폼:에틸 아세테이트의 혼합물에 의해 용출시켰다. 수율은 48.5 %이었다.
- [0478] **(S)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-글리세롤의 합성:** 18.57 g의 (R)-1-도데실-3-트리틸-글리세롤, 4 mL의 6-브로모-1-헥센 및 22.57 g의 분말화된 수산화 칼륨을 100 mL의 벤젠 중에서 교반하고, 9시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 mL의 물 첨가하고, 용액을 분리 깔대기에 전달하였다. 용액을 50 mL의 다이에틸 에터로 4회 추출하고, 합쳐진 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 19.31 g의 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 100 mL의 메탄올 중에 용해시킨 후, 6mL의 농축된 HC1(37 %)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 4시간 동안 환류시키고, 실온까지 냉각시키고, 이 온도에서 96시간에 걸쳐 교반하였다. 반응 혼합물을 용매 감압 하에서 제거함으로써 약 50 mL까지 농축시키고, 50 mL의 물을 첨가하였다. 용액을 분리 깔대기에 전달하고, 100 mL의 MTBE로 2회 추출하였다. 그 다음, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(18.85 g)을 헥세인 중에 용해시키고, 수득된 용액을 열음조 내에서 30분 동안 냉각시켰다. 침전물을 여거하고, 냉각된 헥세인으로 세척하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(15.23 g)을 다시 고온 헥세인 중에 용해시키고, 4 °C까지 밤새도록 냉각시켰다. 여액으로부터 용매를 여과 및

제거한 후, 여액을 실리카겔상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(77.34 g). 클로로폼과 에틸아세테이트의 1:1(v/v) 혼합물, 이어서 순수한 클로로폼 및 그 다음 3% 아세톤과 함께 클로로폼으로 용출시켰다. 10.03 g의 순수한 (S)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-글리세롤을 수득하였다. 수율은 78.1%이었다.

[0479] (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성: 5.75 g의 (S)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤(이를 P_2O_5 상의 건조체 내에서 건조시킴) 및 3.11 ml의 트라이에틸아민을 50 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 30분 동안 20 ml의 THF 중의 1.7 ml의 $POCl_3$ 의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 30분 더 냉각시키면서 이어서 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시킨 후, 30 ml의 THF 중의 1.3 ml의 에탄올아민과 3.3 ml의 트라이에틸아민의 용액을 15분에 걸쳐 적가하였다. 30분 동안 얼음조 내에서 그리고 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 36 ml의 아세트산과 15 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하고, 실온까지 냉각시켰다. 용액을 클로로폼:메탄올의 50 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 2회 추출하고, 희석 소듐바이카보네이트 용액으로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 8.54 g의 조생성물을 수득하였다. 이 조생성물을 실리카겔상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(55 g). 4.99 g의 순수한 (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 클로로폼 이어서 클로로폼과 2.5% 내지 40% 메탄올의 혼합물로 용출시켰다. 수율은 63.85%이었다.

[0480] (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 4.99 g의 (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 35 ml의 메탄올과 100 ml의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시켰다. 20 ml의 물 중의 10 g 탄산칼륨의 용액을 첨가하였다. 그 다음, 2.5 ml의 다이메틸설페이트를 1시간 동안 적가하고, 반응물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 박막 크로마토그래피에 의해 측정된 바와 같이, 반응 혼합물 중에 여전히 일부 출발 물질이 존재하였다. 1 ml의 다이메틸설페이트를 더 첨가하고, 반응 혼합물을 40 °C까지 5시간 동안 가열하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 물을 첨가하고, 이어서 혼합물을 클로로폼:메탄올의 100 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 3회 추출하였다. 유기상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 5.8 g의 조질의 (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다.

[0481] (R)-1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-209)의 합성: 2.76 g의 중탄산나트륨을 100 ml의 물 중의 5.18 g (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 용액에 첨가하였다. 그 다음, 100 ml의 물 중의 20.4 g 소듐페아이오네이트의 용액을 첨가하였다. 82 ml의 물 중의 270 mg 과망간칼륨의 용액을 적하 깔대기내에 위치시키고, 반응 혼합물의 분홍색을 유지하는데 필요에 따라 적가하였다. 총 58 ml의 페망가네이트 용액을 반응 도중 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 20 g의 소듐다이하이드로젠포스페이트 이어서 3 ml의 80% 인산을 첨가함으로써 반응물의 pH를 대략 4까지 조정하였다. 반응 혼합물을 클로로폼:메탄올의 50 ml의 2:1 혼합물로 3회 추출하고, 유기상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 물로 세척하였다. 유기용액을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 4.89 g의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카겔상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(58.2 g). 1.81 g의 순수한 (R)-1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 클로로폼 이어서 클로로폼과 10% 내지 60% 메탄올의 혼합물로 용출시켰다. 수율은 33.76%이었다.

[0482] CI-209의 합성에 대한 추가 합성 경로는 다음과 같다:

[0483] (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-3-아세틸-글리세롤의 합성: (R)-1-도데실-3-트리틸-글리세롤(67 g)(앞서 본원에서 기재된 바와 같이 제조됨), 6-브로모-1-헥센(26.14 g) 및 분말화된 KOH(35 g)를 벤젠(200 ml) 중에 교반하고, 9시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 100 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물(150 ml)을 첨가하였다. 용액을 분리 깔대기에 전달하고, 다이에틸에터로 추출하였다(3x 150 ml). 합쳐진 유기상을 물로 세척하고(3x 150 ml), 이어서 용매 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(78 g)을 아세트산(200 ml) 중에 용해시키고, 용액을 얼음조 내에서 냉각시켰다. 이 냉각된 용액에, 40 ml의 아세트산 무수물(40 ml)과 1 ml의 70% 과염소산의 혼합물을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 허용한 후, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 물을 첨가한 후, 다이에틸에터(400 ml) 및 물(400 ml)을 첨가하였다. 유기상을 분리시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 고온 헥세인 중에 용해시키고, 용액을 밤새도록 4 °C의 온도에서 저장하였다. 침전된 부산물들 여거하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하여서 55 g의 유성 갈색 생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카겔칼럼상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(350 g). 순수한 (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-3-아세틸-글리세롤을 1:1(v/v) 클로로폼:헥세인의 혼합물(1500 ml) 이어서 클로로폼(1500 ml)으로 용출시켰다. 생성물이 함유된 분획물들로부터 용매를 제거하여서

52 g의 생성물을 수득하였다.

[0484] **(S)-1-도데실-2-(4-카복시)부틸-글리세롤의 합성:** 소듐 퍼아이오데이트(150 g), 과망간 칼륨(2.5 g) 및 소듐 하이드로젠 카보네이트(10 g)를 물(500 ml) 중에서 혼탁시켰다. t-부탄올(500 ml) 중의 (R)-1-도데실-2-(5'-헥센일)-3-아세틸-글리세롤(52 g)의 용액을 1시간에 걸쳐 수성 혼탁액에 첨가한 후, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 혼합물을 셀라이트(Celite) 패드를 통해 여과하였으며, 이를 t-부탄올로 추가로 세척하였다. 용액을 헥세인으로 추출하였다(3x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 수성 소듐 바이설파이트(100 ml)의 물 중 15 g) 이어서 물(100 ml)로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 농축시키고, 100 ml의 물 및 10ml의 30 % NaOH로 처리하여서 pH 12에 도달하였다. 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 혼합물을 헥세인:MTBE(200ml)의 8:2(v/v) 혼합물로 추출하여서 잔류 불순물들을 제거하였다. 기본 수용액을 HCl(6 ml)로 pH 1까지 산성화시킨 후, 헥세인:에틸 아세테이트의 7:3(v/v) 혼합물로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(30 g의 황색 오일)을 실리카 겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(500 g). 순수한 (S)-1-도데실-2-(4-카복시)부틸-글리세롤을 클로로폼:헥세인의 1:1(v/v) 혼합물(1000 ml) 이어서 클로로폼(1000 ml) 그리고 그 다음 클로로폼:에틸 아세테이트의 혼합물(9:1 내지 1:1, v/v)로 용출시켰다. 생성물이 함유된 분획물로부터 용매를 제거하여서 13.4 g의 생성물을 수득하였다.

[0485] **(S)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세롤의 합성:** (S)-1-도데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세롤(13.38 g)을 100 ml의 메탄올 중에 용해시키고, 2 ml의 농축 염산을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 물(50 ml)을 첨가하고, 용액을 분리 깔대기에 이송하고, 클로로폼으로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 물(100 ml), 농축된 중탄산 나트륨(100 ml) 다시 물(100 ml)로 세척하였다. 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매 감압 하에서 증발시켜서 13.9 g의 조생성물을 잔류물로서 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(200 g). 순수한 (S)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-글리세롤을 클로로폼 이어서 클로로폼:에틸 아세테이트의 혼합물(9:1 내지 7:3, v/v)로 용출시켰다. 생성물이 함유된 분획물로부터 용매를 제거하여 10.7 g의 순수한 생성물을 수득하였다.

[0486] **(R)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** 10.7 g의 (S)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세롤(벤젠을 사용한 공비 증류에 의해 건조시킴) 및 5.2 ml의 건조한 트라이에틸아민을 THF(50 ml) 중에 용해시켰다. 이 용액을 90분 동안 50 ml의 THF 중의 POCl₃(3.2 ml)의 얼음-냉각된 용액에 교반하면서 적가하였다. 15분 더 냉각시키면서 이어서 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시킨 후, 50 ml의 THF 중의 에탄올아민(22 ml)과 트라이에틸아민(7.2 ml)의 용액을 60분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 30분 동안 얼음조 내에서 그리고 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(14 g의 황색 오일)을 아세트산(120 ml)과 물(50 ml)의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하고, 실온까지 냉각시켰다. 용액을 클로로폼:메탄올의 2:1(v/v) 혼합물로 추출하고(3 x 100 ml), 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고(2 x 100 ml), 용매를 감압 하에서 제거하고, 15 g의 (R)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 주황색 오일로서 수득하였다. (R)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(14 g)을 아이소프로판올(100 ml)과 다이클로로메테인(55 ml)의 혼합물 중에 용해시켰다. 물(100 ml) 중의 탄산 칼륨(22 g)의 용액을 적가하면서, 반응 혼합물을 35 내지 40 °C에서 유지시켰다. 아이소프로판올(50 ml) 중의 다이메틸설페이트(14 ml)의 용액을 40 °C에서 적가하였다. 혼합물을 40 °C에서 2시간 동안 교반하고, 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 물(80 ml)을 첨가하고, 혼합물을 클로로폼으로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고(100 ml), 용매를 감압 하에서 제거하고, 조질의 (R)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(14.6 g)을 주황색 왁스로서 수득하였다.

[0487] **(R)-1-도데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-209)의 합성:** (R)-1-도데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(14.6 g)을 8:2(v/v) 메탄올:10 % NaOH 용액(100 ml) 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트 및 폼산을 첨가함으로써 반응물의 pH를 5까지 조정하였다. 물(150 ml), 클로로폼(150 ml) 및 메탄올(50 ml)을 첨가하였다. 수성 및 유기 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 15 g을 왁스로서 수득하였다. 왁스를 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(224 g). 생성물을 클로로폼(600 ml) 이어서 클로로폼:메탄올의 8:2(v/v) 혼합물(600 ml) 그리고 그 다음 클로로폼:메탄올:H₂O의 혼합물(60:35:5, v/v)로 용출시켰다.

목적 생성물이 함유된 분획물로부터 용매를 감압 하에서 제거한 후, 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 10.5 g의 (R)-1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 백색 액스로서 수득하였다.

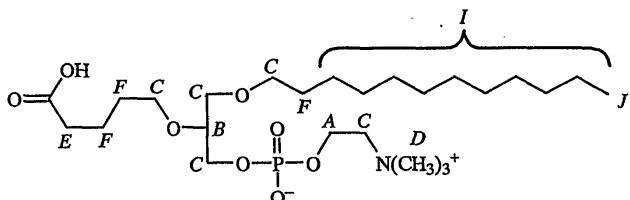
[0488] 1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0489] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0490] 결과에서는 1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0491] 1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

^1H NMR



[0492]

[0493] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.282 ppm)

표 7

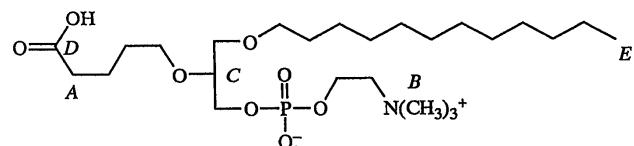
[0494]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.264	2 H, br, s	A
3.775	1 H, m	B
3.381 -3.671	10 H, m, 5 x CH_2	C
3.251	9 H, s, 3 x CH_3	D
2.261	2 H, t,	E
1.535 -1.582	6 H, m 3 x CH_2	F
1.258	18 H, m, 9 x CH_2	I
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.6$ Hz	J

[0495]

1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:

^{13}C NMR



[0496]

[0497] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 78.020 ppm)

표 8

[0498]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
178.51	D
78.446	C
72.200	
70.535 -70.642	
66.805 -66.812	
65.997 -66.070	
59.515 -59.580	
54.419	B
35.578	A
32.310	
30.015	
29.892	
29.730	
26.449	
23.037	
22.685	
14.224	E

[0499]

1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0500]

1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{25}H_{52}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 525.3431이었다.

[0501]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 524$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M-H]^-$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0502]

시험관 내 IL12/23 p40 생성:

[0503]

IL12/23 p40의 시험관 내 생성에 대한 CI-209의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0504]

도 10에 제시된 바와 같이, CI-209는 골수-유래된 세포들에 의해 투약량-의존적인 방식으로 IL12/23 p40의 생성을 억제하였다.

[0505]

티로신 포스포릴화:

[0506]

일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-209의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0507]

도 11에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ 의 CI-209로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 증가를 유도하는 반면, 20 $\mu g/ml$ 의 CI-201로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래하였다.

[0508]

CI-209의 독성:

[0509]

CI-209의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0510]

도 9A 및 9B에 제시된 바와 같이, 실시한 2가지 실험에서, CI-209의 독성은 시험된 투약량 중 어느 것에서도 관찰되지 않았다. 따라서, CI-209의 LD_{50} 은 150 $\mu g/ml$ (286 μM) 초과이었다.

[0511]

실시예 4

[0512]

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산(CI-210)

[0513]

앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 출발물질로서 사용하여 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민을 출발물

질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산을 합성하였다.

[0514] (R)- 및 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성은 앞서 본원에서 실시예 1에서 기재된다.

[0515] 1.85 g(3.33 mmol)의 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 175 ml의 다이클로로메테인 중에 용해시키고, 1.39 ml의 트라이에틸아민을 첨가하였다. 이 용액을 15분 동안 175 ml의 다이클로로메테인 중의 0.42 g 글루타르산 무수물의 용액에 적가하였다. 첨가를 완료한 후, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 100ml 물 중의 20 g 소듐 하이드로젠 포스페이트의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 20분 동안 격렬하게 교반하였다. 반응 혼합물을 분리 칼대기에 전달하고, 상들을 분리시키고, 수성 상을 100 ml의 클로로폼으로 2회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 1.16 g의 조생성물을 수득하였으며, 이를 실리카겔 상에서 정제하였다(60 g). 생성물을 칼럼으로부터 200 ml의 클로로폼 이어서 클로로폼:메탄올 9:1, 8:2 및 7:3(v/v)의 비율들에서의 혼합물로, 이어서 200 ml의 클로로폼:메탄올(1:1 부피 비율)로 용출시켰다. 생성물이 함유된 분획물로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 131.4 mg의 순수한 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산(CI-210)을 회백색 왁스로서 수득하였다.

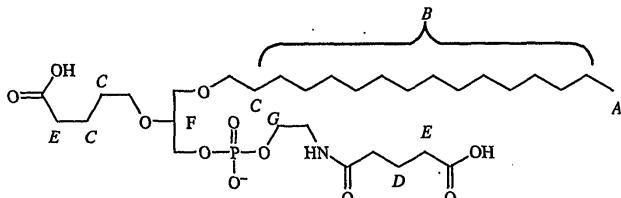
1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산의 NMR 특성화:

[0517] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0518] 결과에서는 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0519] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

^1H NMR



[0520]

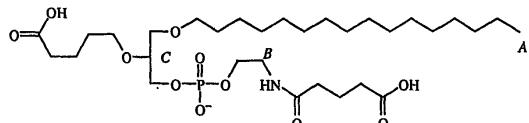
[0521] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.28 ppm)

표 9

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
3.945	2 H, br, s	G
3.896	1 H, br, s	F
3.585 -3.608	4 H, m, 2 x CH_2	
3.385 -3.431	4 H, m, 2 x CH_2	
3.058 -3.130	2 H, m, CH_2	
2.332	4 H, m, 2 x CH_2	E
1.933	2 H, m, CH_2	D
1.533 -1.673	6 H, m, 3 x CH_2	C

1.255	26 H, m, 13 x CH ₂	B
0.879	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.45 Hz	A

[0523] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산의 구조에 따라 관찰된 ¹³C 피크의 지적 사항은 다음과 같다:

¹³C NMR

[0524]

[0525] ¹³C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl₃) = 77.062 ppm)

표 10

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.78	
177.37	
174.31	
78.656	C
71.836	
70.343	
69.841	
65.463 -65.790	
64.541 -64.861	
45.732	B
35.075	
33.872	
33.213	
31.951	
30.938	
29.748	
29.698	
29.572	
29.391	
29.084	
26.142	
22.710	
21.566	
20.985	
14.128	A

[0527] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산의 질량 분광분석 특성화:

[0528] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산(C₃₁H₅₉NO₁₁P)에 관한 측정된 질량은 652.7746이었다.

[0529] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, m/z = 652의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다[M-H]⁻. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-글루타르산(Cl-210)의 화학 구조와 일치한다.

[0530] 시험관 내 IL12/23 p40 생성:

[0531] IL12/23 p40의 시험관 내 생성에 대한 Cl-210의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이

측정하였다.

[0532] 도 13에 제시된 바와 같이, CI-210은 콜수-유래된 세포들에 의해 투약량-의존적인 방식으로 IL12/23 p40의 생성을 억제하였다.

티로신 포스포릴화:

[0534] 일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-210의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0535] 도 14에 제시된 바와 같이, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 CI-210으로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 증가를 유도하는 반면, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 CI-201로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한다.

CI-210의 독성:

[0537] CI-210의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0538] 도 15A 및 15B에 제시된 바와 같이, CI-210의 유의적 독성은 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (156.6 μM) 또는 그 이상의 투약량에서 관찰되었으며, CI-210의 LD₅₀은 대략 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (235 μM)이었다.

실시예 5

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-216) 및 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-215)

[0541] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (R)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[0542] **(S)-1-옥타데실-글리세롤의 합성:** 20 mL의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 27 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 59 g의 1-브로모옥타데케인을 250 mL의 벤젠 중에서 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 200 mL까지 감소시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 이 온도에서 밤새도록 교반하였다. 200 mL의 물을 첨가하고, 반응 혼합물을 200 mL의 다이에틸 에터로 2회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 200 mL의 물로 세척한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 90:10:5(v/v) 메탄올:물:농축 염산의 100 mL의 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 1시간 동안 환류시켰으며, 이어서 실온까지 냉각시키고, 200 mL의 물을 첨가하였다. 생성물을 200 mL의 클로로폼으로 2회 추출하고, 연속적으로 200 mL의 물, 탄산 나트륨의 200 mL의 포화된 수용액, 다시 200 mL의 물로 세척하였다. 그 다음, 용매를 감압 하에서 제거하고, 조생성물을 500 mL의 헥세인으로부터 결정화시켜서 39.5 g의 순수한 (S)-1-옥타데실-글리세롤을 수득하였으며, 이를 감압 하에서 포스포러서 옥사이드로 건조제 내에서 건조시켰다.

[0543] **(R)-1-옥타데실-3-트리틸-글리세롤의 합성:** 39 g(113 mmol)의 (S)-1-옥타데실-글리세롤 및 40 g(137 mmol)의 트라이페닐클로로메테인을 500 mL의 건조한 THF와 130 mL의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물에 첨가하였다. 32 mL의 건조한 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음(1 kg) 위에 붓고, 분리 깔대기에 전달하고, 200 mL의 다이에틸 에터로 2회 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 200 mL의 물, 100 mL의 회석된(1.5 %)(2회) H₂SO₄, 200 mL의 물, 200 mL의 농축 수성 중탄산 나트륨, 다시 200 mL의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물, 갈색 오일을 250 mL의 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, -20 °C까지 밤새도록 냉각시켰다. 혼합물을 -10 °C의 온도에서 원심분리시킨 후(3500RPM), 모액을 따라 버렸다. 잔류하는 고체를 헥세인 중에 용해시키고, 밤새도록 냉동시켰다(5 ± 3 °C). 침전물을 여과시켜서 50 g의 순수한 (R)-1-옥타데실-3-트리틸-글리세롤을 수득하였다.

[0544] **(R)-1-옥타데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤의 합성:** 50 g(89.2 mmol)의 (R)-1-옥타데실-3-트리틸-글리세롤 및 18 g(102 mmol)의 5-헥센일-1-메테인 셀포네이트를 150 mL의 벤젠 중에 용해시켰다. 20 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 반응 중에 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 50 mL까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 200 mL

의 물을 첨가하였다. 혼합물을 200 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 200 ml의 물로 3회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 50 g의 (R)-1-옥타데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 주황색 오일로서 수득하였다.

[0545] (S)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 합성: 145 g의 NaIO₄를 500 ml의 물 중에 용해시켰다. 이 용액에, 14 g의 K₂CO₃ 및 2.4 g의 KMnO₄를 첨가하고, 혼탁액을 40 °C의 온도까지 가열하였다. 500 ml의 t-뷰탄을 중의 50 g의 (R)-1-옥타데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤의 용액을 1.5시간 동안 적가하고, 혼합물을 4시간 더 가열하였다. 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라 추가량의 KMnO₄ 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 밤새도록 이 온도에서 교반하였다. 소듐 바이설파이트를 분홍색 이어서 갈색이 사라지고 반응 혼합물이 황색으로 변할 때까지 적가하였다. 이 용액을 30분 동안 실온에서 교반한 후, 100 ml의 10 % 황산을 적가하고, 용액을 분리 깔대기에 전달하고, 200 ml의 헥세인으로 3회 추출하였다. 유기 상을 100 ml의 물 중의 15 g의 Na₂S₂O₅의 용액으로 이어서 200 ml의 물로 세척하였다. 유기 상을 약 500 ml의 용매를 감압 하에서 제거함으로써 농축시켰다. 잔류하는 용액에, 15 ml의 물 및 1.5 ml의 농축 염산을 첨가하고, 수득된 혼합물을 6시간 동안 환류시킨 후, 실온까지 냉각시키고, 다시 용매를 감압 하에서 제거함으로써 농축시켰다. 100 ml의 물 및 10 ml의 30 % NaOH 용액을 첨가함으로써 잔류물의 pH를 12까지 조정하였다. 침전물을 여거하고, 10 ml의 물로 4회 세척하였다. 여액을 헥세인:에틸 아세테이트의 100 ml의 1:1(v/v) 혼합물로 추출하였다. 8 ml의 농축 염산을 첨가함으로써 수성 상을 pH 1까지 산성화시킨 후, 100 ml의 헥세인으로 추출하였다. 무수 NaSO₄ 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 밤새도록 1:9(v/v) 아세톤:헥세인 혼합물로부터 5 ± 3 °C에서 조생성물을 재결정화시켜서 19 g의 순수한 (S)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 회백색 고체로서 수득하였다.

[0546] (S)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤의 합성: 17 g의 (S)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 100 ml의 메탄을 중에 용해시켰다. 2 ml의 농축 HCl(37 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 100 ml의 물을 수득된 잔류물에 첨가하였다. 혼합물을 70 ml의 클로로포름으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 70 ml의 물, 중탄산 나트륨의 70 ml의 농축된 용액, 다시 70 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 증발시켜서 14 g의 (S)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤을 백색 액스로서 수득하였다.

[0547] (R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성: 7 g의 (S)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤(벤젠을 사용하는 공비 중류에 의해 건조시킴) 및 7 ml의 트라이에틸아민을 60 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 30분 동안 40 ml의 THF 중의 4.3 ml의 POCl₃의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 15분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시킨 후, 60 ml의 THF 중의 3 ml의 에탄올아민과 13 ml의 트라이에틸아민의 용액을 30분에 걸쳐 적가하였다. 얼음조 내에서 15분 동안, 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 72 ml의 아세트산과 30 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C의 온도까지 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 80 ml의 클로로포름으로 3회 추출하고, 100 ml의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 10 g의 (R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 황색 오일로서 수득하였다.

[0548] (R)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-216)의 합성: 3 g의 (R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 메탄올:수성 10 % 수산화 나트륨의 100 ml의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 그 다음, 폼산을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 4까지 조정하였다. 그 다음, 100 ml의 물 및 100 ml의 클로로포름을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로포름 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(3 g)을 실리카 젤상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(55 g). 클로로포름과 헥세인의 혼합물, 이어서 클로로포름과 메탄올의 혼합물, 및 최종적으로 클로로포름, 메탄올 및 물의 혼합물을 사용하여서, 760 mg의 (R)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 칼럼으로부터 용출시켰다.

[0549] 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:

[0550] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로포름(CDCl₃) 중에 용해시켰다. ¹H NMR 및 ¹³C

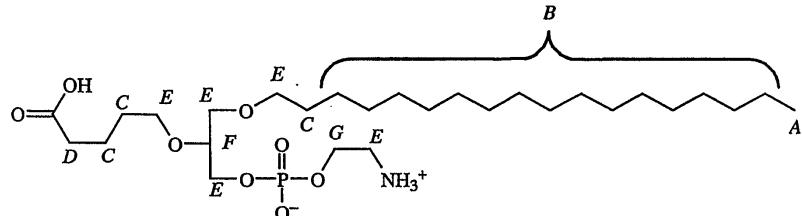
NMR 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다.

[0551]

결과에서는 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0552]

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

 $^1\text{H NMR}$ 

[0553]

[0554]

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.341 ppm)

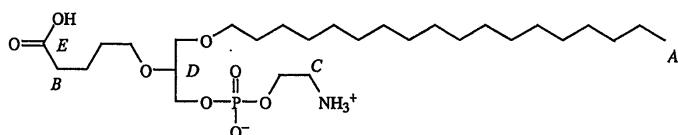
표 11

[0555]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.113	2 H, br s	G
3.858	1 H, m	F
3.670	2 H, m, CH_2	E
3.614	2 H, m, CH_2	E
3.562	2 H, m, CH_2	E
3.480	2 H, t, $J = 5.7 \text{ Hz}$, CH_2	E
3.422	2 H, m, CH_2	E
2.334	2 H, t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, CH_2	D
1.692	2 H, tt, $J = 7.2 \text{ Hz}$, CH_2	C
1.604	2 H, tt, $J = 6.6 \text{ Hz}$, CH_2	C
1.545	2 H, tt, $J = 6.6 \text{ Hz}$, CH_2	C
1.259-1.312	30 H, m, 15 x CH_2	B
0.881	3 H, t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, CH_3	A

[0556]

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:

 $^{13}\text{C NMR}$ 

[0557]

[0558]

$^{13}\text{C NMR}$ (600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.281 ppm)

표 12

[0559]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.251	E
78.072	D
71.962	
70.306	
70.005	
66.007	
61.995	
40.537	C
34.061	B
32.030	
29.815	
29.764	
29.727	
29.645	
29.459	
29.314	
26.178	
22.778	
21.877	
14.140	A

[0560]

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0561]

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{28}H_{58}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 567이었다.

[0562]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 566$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M-H]^-$. 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+MS)에서는 $m/z = 590$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-216)의 화학 구조와 일치한다.

[0563]

(R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 6 g의 (R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 50 ml의 아이소프로판올과 18 ml의 다이클로로메테인의 혼합물을 중에 용해시키고, 혼합물을 35 내지 40 °C의 온도까지 가능하다면 가열하였다. 10 ml의 물 중의 7.5 g 탄산 칼륨의 용액을 적가하면서, 온도는 35 내지 40 °C에서 유지시켰다. 그 다음, 10 ml의 아이소프로판올 중의 5 ml의 다이메틸설레이트의 용액을 40 °C의 온도에서 적가하였다. 반응을 40 °C에서 2시간 동안 이어서 실온에서 밤새도록 유지시켰다. 100 ml의 물을 첨가하고, 이어서 혼합물을 100 ml의 다이클로로메테인으로 3회 추출하였다. 유기 상을 100 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 6 g의 (R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 황색 오일로서 수득하였다.

[0564]

(R)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-215)의 합성: 6 g의 (R)-1-옥타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 8:2(v/v) 메탄올:수성 10 % 수산화 나트륨의 100 ml의 혼합물 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 그 다음, 품산을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 4까지 조정하였다. 그 다음, 100 ml의 물 및 100 ml의 클로로폼을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(5.3 g)을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(112 g). 클로로폼과 헥세인의 혼합물, 이어서 클로로폼의 메탄올의 혼합물, 및 최종적으로 클로로폼, 메탄올 및 물의 혼합물을 사용하여 생성물을 용출시켰다. 생성물이 함유된 분획물로부터 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.8 g의 (R)-1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-215)을 백색 액스로서 수득하였다.

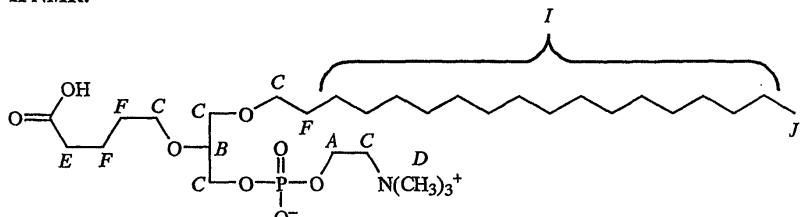
[0565] 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0566] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다.

[0567] 결과에서는 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0568] 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

^1H NMR:



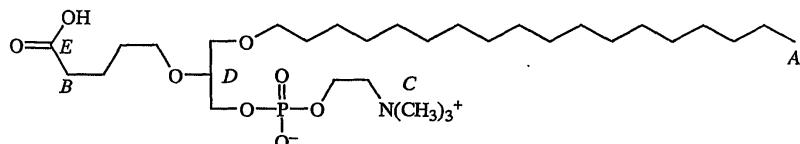
[0569]

[0570] ^1H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.343 ppm)

표 13

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.267	2 H, br, s	A
3.775	1 H, m	B
3.657	2 H, m, CH_2	C
3.623	2 H, m, CH_2	C
3.505 -3.562	4 H, m, CH_2	C
3.413	2 H, m, CH_2	C
3.227	9 H, s, 3 x CH_3	D
2.358	2 H, dt, $J_1 = 7.2$ Hz, $J_2 = 3$ Hz	E
1.699	2 H, tt CH_2	F
1.602	2 H, tt CH_2	F
1.542	2 H, tt CH_2	F
1.259 -1.312	30 H, m, 15 x CH_2	I
0.881	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 7.2$ Hz	J

[0572] 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0573]

[0574] ^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.285 ppm)

표 14

[0575]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.580	E
78.216	D
71.936	
70.477	
69.961	
66.613	
65.926	
59.155	
54.424	C
34.117	B
32.026	
29.802	
29.767	
29.750	
29.717	
29.625	
29.452	
29.346	
26.164	
22.774	
22.073	
14.133	A

[0576]

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0577]

1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{31}H_{64}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 609이었다.

[0578]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 610$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M+H]^+$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-옥타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-215)의 화학 구조와 일치한다.

[0579]

시험관 내 IL12/23 p40 생성:

[0580]

IL12/23 p40의 시험관 내 생성에 대한 CI-216의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0581]

도 16에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ 의 CI-216은 골수-유래된 세포들에 의해 IL12/23 p40의 생성을 억제하였다.

[0582]

티로신 포스포릴화:

[0583]

일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-215 및 CI-216의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0584]

도 17에 제시된 바와 같이, 10 $\mu g/ml$ (17 μM)의 CI-215로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 증가를 초래하는 반면, 20 $\mu g/ml$ (34 μM)의 CI-215로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래하였다.

[0585]

유사하게, 도 18에 제시된 바와 같이, 10 $\mu g/ml$ (15 μM)의 CI-216으로 처리하면 티로신 포스포릴화의 유도를 초래하는 반면, 20 $\mu g/ml$ (30 μM) CI-216에 노출시키면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래하였다. 이를 변화는 10 $\mu g/ml$ (17 μM) 및 20 $\mu g/ml$ (34 μM)의 포지티브 대조군 CI-201에 의해 각각 유도된 효과와 매우 유사하였다.

[0586]

실시예 6

[0587]

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-206) 및 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린(CI-205)

- [0588] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (R)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하여 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (S)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.
- [0589] **(R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤의 합성** 실시예 1에 기재된 바와 같되 우선 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 사용하여 (S)-1-헥사데실-글리세롤을 제조함으로써 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤을 제조하였다.
- [0590] **(R)-1-헥사데실-2-(4'-펜텐일)-3-트리틸-글리세롤의 합성** 7.35 g의 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤 및 1.87 ml의 5-브로모-1-펜텐을 150 ml의 벤젠 중에 용해시켰다. 3 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 교반하고, 10시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 벤젠을 거의 건조해질 때까지 증류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 다이에틸 에터를 첨가하고, 혼합물을 물로 세척하고(3 x 50 ml), 황산 나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(7.8 g)을 20 ml의 헥세인 중에 용해시키고, 4 °C까지 밤새도록 냉각시켰다. 침전된 부산물을 여거하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 7.75 g의 생성물을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0591] **(R)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-3-트리틸-글리세롤의 합성** 7.75 g의 (R)-1-헥사데실-2-(4'-펜텐일)-3-트리틸-글리세롤을 280 ml의 t-뷰탄을 중에 용해시켰다. 90 ml의 물 중의 3.2 g 탄산 칼륨의 용액을 첨가하였다. 그 다음, 250 ml의 물 중의 34 g 소듐 퍼아이오데이트의 50 ml의 용액 및 10 ml의 물 중의 470 mg 과망간 칼륨의 2 ml의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 교반하고, 잔류하는 부분의 퍼아이오데이트 용액을 10분에 걸쳐 첨가하였다. 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라 추가량의 퍼망가네이트 용액을 첨가하였다. 혼합물을 40 °C 까지 4.5시간 동안 가온시키고, 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 소듐 바이설파이트를 적가하였으며, 혼합물의 색이 갈색으로 변한 후, 고체가 사라지고, 색이 황색으로 변하였다. 그 다음, 혼합물을 30분 동안 교반하고, 25 ml의 10 % 황산 용액을 적가하였다. 용액을 다이에틸 에터로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 50 ml의 물, 소듐 바이설파이트의 20 ml의 용액(2회)(20 ml의 물 중의 5 g 소듐 바이설파이트로부터 제조됨) 및 50 ml의 물(2회)로 세척한 후, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 증발시켜서 11 g의 생성물을 황색 액으로서 수득하였다.
- [0592] **(S)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세롤의 합성** 11 g의 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-3-트리틸-글리세롤을 100 ml의 폼산 중에 용해시키고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 그 다음, 폼산을 감압 하에서 제거하였다. 톨루엔:헥세인의 100 ml의 1:1 용액을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 용액을 메탄올:NaOH의 10 % 수용액의 100 ml의 8:2(v/v) 혼합물로 2회 추출하였다. pH 4 내지 5가 될 때까지, 기본 용액을 소듐 다이하이드로젠 포스페이트로 산성화시켰다. 100 ml의 다이에틸 에터 및 100 ml의 물을 첨가하고, 상들을 분리시키고, 수성 상을 100 ml의 다이에틸 에터로 2회 세척하였다. 그 다음, 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물 및 100 ml의 염수로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 8 g의 생성물을 수득하였다. 생성물을 아세톤:헥세인의 1:9 혼합물로부터 결정화시켜서 2.4 g의 (S)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세롤을 수득하였다.
- [0593] **(S)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-글리세롤의 합성** 2.4 g의 (S)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세롤을 50 ml의 메탄올 중에 용해시켰다. 1 ml의 농축 HCl을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반한 후, 4 °C에서 밤새도록 유지시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 50 ml의 물을 첨가하고, 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 50 ml의 물, 50 ml의 농축 중탄산 나트륨, 다시 50 ml의 물로 세척하였다. 혼합물을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.9 g의 생성물을 수득하였으며, 이를 감압 하에서 포스포러스 펜톡사이드와 함께 건조시켰다.
- [0594] **(R)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성** 2.9 g의 (S)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-글리세롤 및 3 ml의 트라이에틸아민을 30 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 15분 동안 20 ml의 THF 중의 2 ml의 POCl₃의 열음-냉각된 용액에 적가하였다. 10분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 50 ml의 THF 중의 1.3 ml의 에탄올아민과 6 ml의 트라이에틸아민의 용액을 15분에 걸쳐 열음-냉각된 반응 혼합물에 적가하였다. 10분 동안 0 °C에서 이어서 밤새도록 실온에서 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 24 ml의 아세트산과 10 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하

고, 50 ml의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 3.8 g의 (R)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 갈색 오일로서 수득하였다.

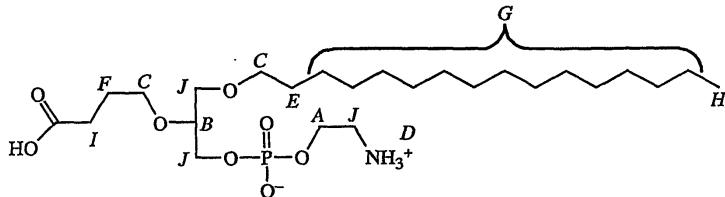
[0595] **(R)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-206)의 합성** 0.8 g (R)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 20 ml의 8:2(v/v) 메탄올:10 % 수산화 나트륨 수용액 중에 용해시켰다. 10 % 수산화 나트륨 용액을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 4 내지 5까지 조정하였다. 50 ml의 물 및 50 ml의 클로로포름을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로포름 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 684 mg의 조생성물을 잔류물로서 수득하였다. 이 잔류물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(30 g). 생성물을 클로로포름:메탄올:물의 혼합물로 60:35:5 부피 비율에서 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 클로로포름 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 314 mg의 (R)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 백색 왁스로서 수득하였으며, 이를 감압 하에서 포스포리스 웬톡사이드와 함께 건조시켰다.

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:

[0597] 샘플을 중수소화된 클로로포름(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0598] 결과에서는 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-206)의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0599] CI-206의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0600]

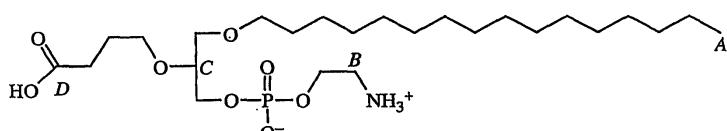
^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.338 ppm)

표 15

[0602]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.137	2H, br, s	A
3.828-3.900	1H, m	B
3.620-3.726	6H, m	J
3.371-3.489	4 H, m, 2 x CH ₂	C
2.302-2.518	2H, m	I
1.838-1.895	2 H, m	F
1.525-1.574	2H, m	E
1.258	26 H, m, 13 x CH ₂	G
0.881	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.75 Hz	H

[0603] CI-206의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0604]

[0605] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.256 ppm)

표 16

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.760	D
77.850~77.951	C
71.938	
70.268	
69.376	
66.045	
62.068	
40.408	B
35.035	
32.017	
30.886	
29.803	
29.698	
29.631	
29.456	
26.150	
25.231	
22.774	
22.149	
14.160	A

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0608] 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민($\text{C}_{25}\text{H}_{52}\text{NO}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 525.6560이었다.

[0609] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 524$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 [$\text{M}-\text{H}^-$]. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-206)의 화학 구조와 일치한다.

[0610] (*R*)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성 2.8 g의 (*R*)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 50 mL의 아이소프로판올과 18 mL의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시켰다. 10 mL의 물 중의 3.7 g 탄산 칼륨의 용액을 적가하면서, 반응 혼합물을 35 내지 40 °C의 온도에서 유지시켰다. 10 mL의 아이소프로판올 중의 2.52 mL의 다이메틸설레이트의 용액을 40 °C에서 5분 동안 적가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 40 °C에서 90분 동안 유지시키고, 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 물을 첨가하고, 혼합물을 50 mL의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 50 mL의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 3 g의 (*R*)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포콜린을 갈색 오일로서 수득하였다.

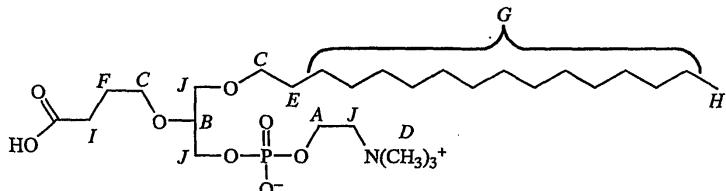
[0611] (*R*)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-205)의 합성 3 g의 (*R*)-1-헥사데실-2-(3-메틸카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포콜린을 메탄올:10 % 수산화 나트륨 수용액의 50 mL의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가함으로써 반응물의 pH를 4 내지 5까지 조정하였다. 50 mL의 물 및 50 mL의 클로로폼을 첨가하고, 수득된 용액을 분리 깔대기에 전달하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.3 g의 조생성물을 잔류물로서 수득하였다. 이 잔류물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(110 g). 생성물을 클로로폼:메탄올:물로 60:35:5 부피 비율에서 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거한 후, 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 677 mg의 (*R*)-1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-205)을 백색 약스로서 수득하였으며, 이를 감압 하에서 포스포러스 펜톡사이드와 함께 건조시켰다.

[0612] 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0613] 샘플을 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0614] 결과에서는 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0615] 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



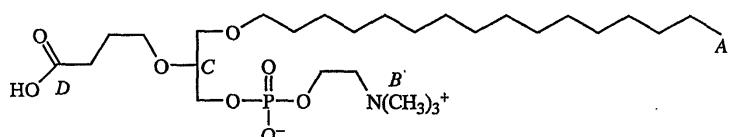
[0616]

[0617] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.338 ppm)

표 17

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.272	2H, br, s	A
3.940-3.995	1H, m	B
3.583 -3.728	6H, m	J
3.377-3.482	4 H, m, 2 x CH_2	C
3.241	9H, s, 3 x CH_3	D
2.304-2.510	2H, m	I
1.801-1.904	2 H, m	F
1.517-1.560	2H, m	E
1.256	26 H, m, 13 x CH_2	G
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75 \text{ Hz}$	H

[0619] 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0620]

[0621] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.231 ppm)

표 18

[0622]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.790	D
78.082-78.186	C
71.888	
70.389	
69.298	
66.494	
65.922	
59.115-59.178	
54.327	B
31.992	
31.280	
29.772	
29.732	
29.673	
29.598	
29.431	
26.115	
25.462	
22.753	
14.148	A

[0623]

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0624]

1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{28}H_{58}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 567.7358이었다.

[0625]

전기분무 이온화 질량 분광분석을 사용하여 제시된 질량 스펙트럼(ESI-MS)에서는 $m/z = 566$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 [$M-H^-$]. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(3-카복시)프로필-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0626]

티로신 포스포릴화:

[0627]

일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-205 및 CI-206의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0628]

도 19에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ CI-206으로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한다.

[0629]

유사하게, 도 20에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ 의 포지티브 대조군, CI-201로 처리했던 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ 의 CI-205로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한다.

[0630]

CI-205 및 CI-206의 독성:

[0631]

CI-205 및 CI-206의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0632]

도 21A 및 21B에 제시된 바와 같이, CI-206의 유의적 독성을 50 $\mu g/ml$ 또는 그 이상의 투약량에서 검출하였으며, CI-206의 LD₅₀은 50 내지 100 $\mu g/ml$ 이었다.

[0633]

도 22A 및 22B에 제시된 바와 같이, CI-205의 유의적 독성을 2가지 실험에서 100 $\mu g/ml$ 의 투약량 및 단지 하나의 실험에서 20 내지 50 $\mu g/ml$ 의 투약량으로 검출하였으며, CI-205의 LD₅₀은 50 내지 100 $\mu g/ml$ 이었다.

[0634]

실시예 7

[0635]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-207) 및 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민

[0636]

앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린 및 (R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포

에탄올아민을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하여 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 및 (S)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민을 합성하였다.

[0637] (S)-1-옥틸-글리세롤의 합성: 21 ml의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 29 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 32 ml의 1-브로모옥테인을 150 ml의 벤젠 중에서 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 100ml까지 감소시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 200 ml의 물을 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 150 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물로 세척한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 메탄올:물:농축 염산의 100 ml의 90:10:5(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 2시간 동안 환류시켰으며, 이어서 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 물을 첨가하였다. 생성물을 150 ml의 클로로폼으로 3회 추출하고, 연속적으로 150 ml의 물, 중탄산 나트륨의 150 ml의 포화된 수용액, 다시 100 ml의 물로 세척하였다. 용매를 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 제거하고, 34 g의 (S)-1-옥틸-글리세롤을 수득하였다.

(R)-1-옥틸-3-트리틸-글리세롤의 합성: 34 g의 (S)-1-옥틸-글리세롤 및 61 g의 트라이페닐클로로메테인을 500 ml의 건조한 THF와 130 ml의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물에 첨가하였다. 46 ml의 건조한 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음(1 kg) 위에 부었다. 혼합물을 분리 칼대기에 전달하고, 200 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 150 ml의 물, 100 ml의 희석된(1.5 %) H_2SO_4 (2회), 200 ml의 물, 200 ml의 농축 수성 중탄산 나트륨, 다시 200 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물, 80 g의 갈색 오일을 500 ml의 고온 헥세인 중에 용해시키고, 4 °C의 온도에서 밤새도록 유지시켰다. 침전물을 여과하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 실리카 젤상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 생성된 순수한 (R)-1-옥틸-3-트리틸-글리세롤을 클로로폼과 10 % 헥세인의 혼합물, 클로로폼과 5 % 헥세인의 혼합물, 이어서 클로로폼과 에틸 아세테이트(5 % 및 10 %)의 혼합물에 의해 용출시켰다. 수율은 73 %이었다.

(R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-3-트리틸글리세롤의 합성: 18.7 g의 (R)-1-옥틸-3-트리틸-글리세롤, 5.5 g의 6-브로모-1-헥센 및 22 g의 분말화된 수산화 칼륨을 100 ml의 벤젠 중에서 교반하고, 9시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 30 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 물을 첨가하였다. 수득된 혼합물을 분리 칼대기에 전달하고, 다이에틸 에터로 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 200 ml의 물로 2회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 20.2 g의 (R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-3-트리틸글리세롤을 수득하였다.

(S)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤의 합성: 20.2 g의 (R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-3-트리틸글리세롤 100 ml의 메탄올 중에 용해시키고, 10 ml의 농축 염산(32 %)을 첨가하고, 수득된 반응 혼합물을 4시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 100 ml의 물을 첨가하고, 용액을 100 ml의 다이에틸 에터로 2회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물, 100 ml의 포화된 소듐 바이카보네이트 수용액, 다시 100 ml의 물로 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(20.1 g)을 250 ml의 헥세인 중에 용해시키고, 수득된 용액을 4 °C의 온도에서 96시간 동안 저장하였으며, 이로 인해 대부분의 트라이페닐 카빈올이 침전되었다. 여액으로부터 용매를 여과 및 제거한 후, 잔류하는 생성물(12 g)을 실리카 젤상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(91.4 g). 순수한 (S)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤(5.7 g)을 클로로폼 이어서 클로로폼과 5 % 아세톤으로 용출시켰다. 수율은 52 %이었다.

(R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성: 4.9 g의 (S)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤(이를 P_2O_5 상의 건조제 내에서 건조시킴) 및 2.65 ml의 트라이에틸아민을 40 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 30분 동안 20 ml의 THF 중의 1.4 ml의 POCl_3 의 얼음-냉각된 용액에 교반하면서 적가하였다. 30분 더 냉각시키면서 및 45분 동안 그리고 추가로 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시킨 후, 30 ml의 THF 중의 1.1 ml의 에탄올아민과 2.8 ml의 트라이에틸아민의 용액을 15분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 35분 동안 얼음조 내에서 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 고체를 15 ml의 THF로 2회 세척하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(5.6 g)을 36 ml의 아세트산과 15 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C의 온도까지 1시간 동안 가열하였다. 실온까지 냉각시킨 후, 용액을 분리 칼대기에 전달하고, 클로로폼:메탄올의 2:1(v/v) 혼합물로 2

회 추출하고, 희석 소듐 바이카보네이트 용액으로 세척한 후, 용매를 감압 하에서 제거하고, 4.6 g의 조질의 (R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 수득하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(59 g). 2.6 g의 순수한 생성물을 클로로폼 이어서 클로로폼과 10 % 내지 40 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다. 수율은 75.9 %이었다.

[0642] **(R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** 2.1 g의 (R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 100 ml의 에탄올과 6 g의 탄산 칼륨의 용액 중에 용해시켰다. 8 ml의 다이메틸설페이트를 첨가하고, 반응 혼합물을 40 °C의 온도까지 6시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 물을 첨가하였다. 그 다음, 혼합물을 100 ml의 클로로폼으로 2회 추출하였다. 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(59 g). 2.0 g의 순수한 (R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 클로로폼 이어서 클로로폼과 20 % 내지 60 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다. 수율은 86.4 %이었다.

[0643] **(R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-207)의 합성:** 17 ml의 물 중의 172 mg의 중탄산 나트륨의 용액을 28 ml의 물 중의 700 mg의 (R)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 용액에 첨가하였다. 그 다음, 28 ml의 물 중의 3.0 g의 소듐 퍼아이오데이트의 용액을 첨가하였다. 12 ml의 물 중의 40 mg의 과망간 칼륨의 용액을 적하 깔대기 내에 위치시키고, 반응 혼합물의 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라 반응 혼합물에 적가하였다. 퍼망가네이트 용액의 대략 1/2을 반응 도중 첨가하였다. 실온에서 3시간 동안 교반한 후, 6 g의 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가하고, 반응 혼합물을 클로로폼:메탄올의 50 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 360 mg의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다 (12.23 g). 119 mg의 순수한 (R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 클로로폼 이어서 클로로폼과 10 % 내지 60 % 메탄올로 용출시켰다.

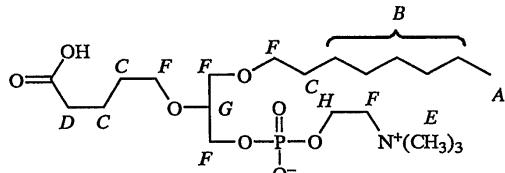
[0644] 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 제조된 (S)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 사용하는 다른 합성을 다음과 같이 실시하였다:

[0645] **(S)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 77 g의 NaIO₄를 300 ml의 물 중에 용해시켰다. 이 용액에, 9 g의 NaHCO₃ 및 1.26 g의 KMnO₄를 첨가하고, 혼탁액을 40 °C까지 가열하였다. 300 ml의 t-뷰tan을 중의 21 g의 (S)-1-옥틸-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤의 용액을 반응 혼합물에 1시간 동안 적가하고, 혼합물을 3시간 더 가열하였다. 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라 추가량의 KMnO₄ 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온 까지 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과하고, 세라이트를 t-뷰tan으로 세척하였다. 100 ml의 10 % 황산 용액을 적가하고, 용액을 분리 깔대기에 전달하고, 200 ml의 헥세인으로 3회 추출하였다. 유기 상을 100ml 물 중의 20 g의 Na₂S₂O₅의 용액 이어서 200 ml의 물로 세척하였다. 부피가 약 150 ml까지 감소될 때까지, 용매를 감압 하에서 제거함으로써 유기 상을 농축시켰다. 15 ml의 물 및 2 ml의 농축 HCl을 잔류하는 용액에 첨가하고, 수득된 혼합물을 6시간 동안 환류시킨 후, 실온까지 냉각시키고, 다시 용매를 감압 하에서 제거함으로써 농축시켰다. 100 ml의 물 및 10 ml의 30 % NaOH 용액을 첨가함으로써 잔류물의 pH를 12까지 조정하였다. 침전물을 여거하고, 20 ml의 물로 4회 세척하였다. 여액을 헥세인:에틸 아세테이트의 100 ml의 1:1(v/v) 혼합물로 추출하였다. 10 ml의 농축 HCl을 첨가함으로써 수성 상을 pH 1까지 산성화시키고, 100 ml의 헥세인으로 3회 추출하였다. 무수 NaSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 감압 하에서 제거하여서 7.4 g의 조생성물을 황색 오일로서 수득하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(100 g). 4.8 g의 순수한 (S)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 클로로폼 이어서 클로로폼과 5 % 내지 50 % 에틸 아세테이트로 용출시켰다. 수율은 39.7 %이었다.

[0646] **(S)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 1.14 g의 (S)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 20 ml의 다이클로로메테인 중에 용해시켰다. 748 mg의 다이페닐다이아조메테인(문헌 [J. Organic Chem. (1959) 24:560-561]에 기재된 바와 같이 제조됨)을 첨가하고, 암적색 반응 혼합물을 용액이 무색으로 변환될 때까지 실온에서 약 3시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(1.9 g)을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(43 g). 1.08 g의 순수한 (S)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 클로로폼 이어서 클로로폼과 5 % 내지 20 % 에틸 아세테이트로 용출시켰다. 수율은 61.4 %이었다.

- [0647] **(R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 1 g의 (S)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세롤(벤젠을 사용하는 공비 중류에 의해 건조시킴) 및 0.885 mL의 트라이에틸아민을 30 mL의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 15분 동안 20 mL의 THF 중의 0.235 mL의 POCl_3 의 얼음-냉각된 용액에 교반하면서 적가하였다. 15분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시킨 후, 50 mL의 THF 중의 0.154 mL의 에탄올아민과 0.885 mL의 트라이에틸아민의 용액을 15분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 15분 동안 얼음조 내에서 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 24 mL의 아세트산과 10 mL의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 80 mL의 클로로폼으로 3회 추출하고, 50 mL의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.12 g의 (R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0648] **(R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** 1.12 g의 (R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 65 mL의 메탄올과 18 mL의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시키고, 혼합물을 35 내지 40 °C의 온도까지 가열하였다. 10 mL의 물 중의 1.3 g 탄산 칼륨의 용액을 적가하면서, 반응 혼합물을 35 내지 40 °C의 온도에서 유지시켰다. 그 다음, 10 mL의 메탄올 중의 7.2 mL의 다이메틸설페이트의 용액을 40 °C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 40 °C의 온도에서 2시간 동안 이어서 실온에서 밤새도록 유지시켰다. 50 mL의 물을 첨가한 후, 혼합물을 50 mL의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 50 mL의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 1 g의 (R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 황색 오일로서 수득하였다.
- [0649] **(R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-207)의 합성:** 기체 HCl을 90분 동안 40 mL의 클로로폼 중의 1 g의 (R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 얼음-냉각된 용액을 통해 발포시켰다. 생성된 용액을 얼음조 내에서 2시간 더 교반하였다. 그 다음, 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 6까지 조정하였다. 50 mL의 물을 첨가하고, 혼합물을 60 mL의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 60 mL의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 0.370 g의 (R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다. 수율은 50.2 %이었다.
- [0650] **(R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 기체 HCl을 40 mL의 클로로폼 중의 5 g (R)-1-옥틸-2-(4-벤즈하이드릴카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(앞서 본원에서 기재된 바와 같이 제조됨)의 얼음-냉각된 용액을 통해 90분 동안 발포시켰다. HCl의 첨가를 완료한 후, 반응 혼합물을 얼음-냉각된 조 내에서 2시간 더 교반하였다. 다이소듐 하이드로젠 포스페이트의 수용액을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 6까지 조정하였다. 혼합물을 클로로폼으로 추출하고(3 x 50 mL), 합쳐진 유기 상을 물로 세척하였다(100 mL). 용매를 감압 하에서 제거하고, 3.5 g의 갈색 오일을 수득하였다. 이 오일을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(68.5 g). 생성물을 클로로폼 이어서 클로로폼:메탄올의 8:2(v/v) 혼합물, 이어서 클로로폼:메탄올:H₂O의 700:26:45(v/v) 혼합물에 의해 용출시켰다. 목적 생성물이 함유된 분획물로부터 용매를 감압 하에서 제거한 후, 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 150 mg의 (R)-1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 황색 약스로서 수득하였다.
- [0651] **1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-207)의 NMR 특성화:**
- [0652] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.
- [0653] 결과에서는 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0654] 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

 $^1\text{H NMR}$ 

[0655]

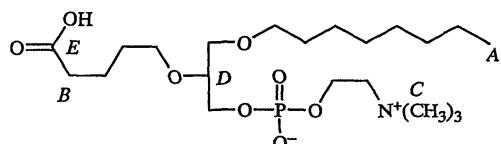
[0656] $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.33 ppm)

표 19

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.268	2 H, br s	H
3.942 -3.969	1H, m	G
3.394 -3.673	10 H, m, 5 x CH_2	F
3.234	9 H, s, 3 x CH_3	E
2.307	2 H, t, $J = 7.2$ Hz	D
1.518 -1.652	6 H, m, 3 x CH_2	C
1.270	10 H, m, 5 x CH_2	B
0.879	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75$ Hz	A

[0658] $^{13}\text{C NMR}$

[0659] 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0660]

[0661] $^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 76.99 ppm)

표 20

[0662]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.530	E
77.895	D
71.646	
69.964	
69.762	
65.207	
65.642	
59.013	
54.080	C
34.629	B
31.664	
29.404	
29.273	
29.179	
29.101	
25.856	
22.482	
22.009	
13.890	A

[0663]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0664]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{21}H_{44}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 469이었다.

[0665]

전기분무 이온화 질량 분광분석을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼(ESI-MS)에서는 $m/z = 468$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 [$M-H^-$]. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0666]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:

[0667]

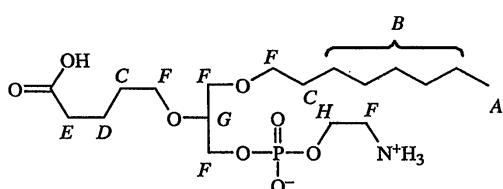
샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼($CDCl_3$) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[0668]

결과에서는 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0669]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

 1H NMR

[0670]

[0671]

1H NMR(300 MHz, 참고 용매($CDCl_3$) = 7.361 ppm)

표 21

[0672]

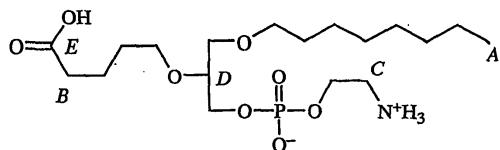
δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.136	2 H, br s	H
3.883 -3.901	1H, m	G
3.420- -3.766	10 H, m, 5 x CH ₂	F
2.344	2 H, t, J = 7.2 Hz	E
1.673-1.719	2H, m, CH ₂	D
1.588-1.632	2H, m, CH ₂	C
1.527 -1.561	2H, m, CH ₂	C
1.272-1.290	10 H, m, 5 x CH ₂	B
0.882	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.9 Hz	A

[0673]

¹³C NMR

[0674]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ¹³C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0675]

[0676]

¹³C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl₃) = 79.344 ppm)

표 22

[0677]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
178.820	E
77.895	D
79.996	
73.980	
72.367	
72.066	
68.205	
64.103	
42.529	C
35.874	B
33.953	
32.948	
31.699	
31.557	
31.471	
31.383	
31.327	
28.162	
27.320	
24.785	
23.819	
23.691	
16.123	A

[0678]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0679]

1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{18}H_{38}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 427이었다.

[0680]

전기분무 이온화 질량 분광분석을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼(ESI-MS)에서는 $m/z = 426$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M-H]^-$. 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 428$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, $m/z = 450$ 의 이온을 제시하였으며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$. 따라서, MS 스펙트럼은 1-옥틸-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 화학 구조와 일치한다.

[0681]

실시예 8**1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-208)**

[0683]

앞서 본원에서 기재된 바와 같이 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤로부터 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤로부터 동일한 절차들을 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[0684]

(S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤 및 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤의 합성을 실시예 1에 기재되어 있다.

[0685]

(R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-208)의 합성: 500 ml의 THF 중의 8.60 g(19.97 mmol)(S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤(실시예 1에서 기재된 바와 같이 제조됨)과 2.63 g(26 mmol) 트라이에틸아민의 용액을 25분에 걸쳐 100 ml의 THF 중의 3.90 g(26 mmol) $POCl_3$ 의 열음-냉각된 용액에 적가하였다. 10분 더 열음조 내에서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 500 ml의 THF 중의 1.6 ml의 에탄올아민과 6.4 ml의 트라이에틸아민의 용액을 격렬하게 교반하면서 열음-냉각된 반응 혼합물에 적가하였다. 10분 더 열음조 내에서 계속해서 밤새도록 실온에서 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 24 ml의 아세트산과 100 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 250 ml의 다이클로로메테인으로 2회 추출

하였다. 그 다음, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 500 ml의 아이소프로판올과 180 ml의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시켰다. 100 ml의 물 중의 50 g의 탄산 칼륨을 첨가하여서 11 초과의 pH를 수득하였다. 45분 동안 100ml 아이소프로판올 중의 11.15 g 메틸토실레이트를 적가하는 동안, 용액을 35 내지 40 °C의 온도에서 유지시켰다. 추가로 90분 후, 혼합물을 염산으로 산성화시켰다. 100 ml의 물 및 550 ml의 다이클로로메테인을 첨가하고, 상들을 분리시켰다. 유기 상을 100 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 조생성물을 실리카 겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 11.0 g(18.46 mmol)의 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 클로로폼 이어서 클로로폼, 메탄올 및 물의 혼합물에 의해 용출시켰다. 수율은 92.45 %이었다.

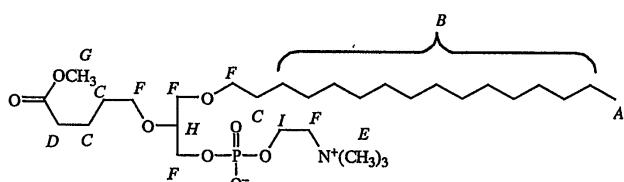
[0686] **1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-208)의 NMR 특성화:**

[0687] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[0688] 결과에서는 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0689] 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

^1H NMR



[0690]

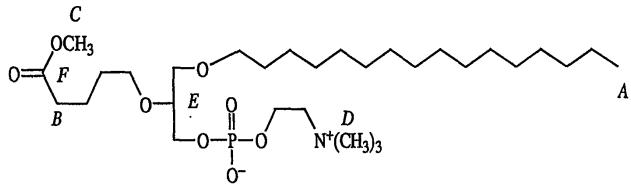
[0691] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.27 ppm)

표 23

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.303	2 H, br s	I
3.821 -3.840	1H, m	H
3.648	3H, s, 1 x CH_3	G
3.383 -3.606	10 H, m, 5 x CH_2	F
3.340	9 H, s, 3 x CH_3	E
2.334	2 H, t, J = 7.5 Hz	D
1.530 -1.657	6 H, m, 3 x CH_2	C
1.253	26 H, m, 13 x CH_2	B
0.879	3 H, t, 1 x CH_3 , J = 6.3 Hz	A

^{13}C NMR

[0694] 1-헥사데실(exadecyl)-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0695]

[0696] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.03 ppm)

표 24

[0697]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
174.23	F
77.97	E
71.74	
70.65	
69.84	
66.16	
65.40	
59.44	
54.35	D
51.51	C
33.66	B
31.93	
29.74	
29.62	
29.47	
29.38	
26.14	
22.70	
21.68	
14.13	A

[0698]

1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-208)의 질량 분광분석 특성화:

[0699]

1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_3\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 595.79이었다.

[0700]

고속 원자 충격(Fast Atom Bombardment)(FAB+)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 596.324$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}+\text{H}]^+$. MS 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0701]

티로신 포스포릴화:

[0702]

일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-208의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0703]

도 23에 제시된 바와 같이, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ CI-208 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래하며, 이는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 CI-201 대조군으로 처리함으로써 초래된 감소보다 강하다.

[0704]

CI-208의 독성:

[0705]

CI-208의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0706]

도 24A 및 24B에 제시된 바와 같이, CI-208의 독성을 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 그 이상의 투약량에서 검출하였으며, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 투약량에서의 독성은 2가지 실험 중 단지 하나에서만 검출된다. CI-208의 LD_{50} 은 50 내지 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 것으로 나타났다.

[0707] 실시예 9

[0708] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-213) 및 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-214)

[0709] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(+)-3-벤질옥시-1,2-프로페인디올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린 및 (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-(-)-3-벤질옥시-1,2-프로페인디올 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 및 (S)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[0710] **1-트리틸-3-벤질-sn-글리세롤의 합성** 5 g(27.44 mmol)의 (R)-(+)-3-벤질옥시-1,2-프로페인디올 및 10 g(35.87 mmol)의 트라이페닐클로로메테인을 100 mL의 건조한 THF 및 25 mL의 건조한 아세토나이트릴에 첨가하였다. 8 mL의 건조한 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음 위에 붓고(100 g), 분리 깔대기에 전달하고, 100 mL의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기상을 연속적으로 100 mL의 물, 100 mL의 희석된(1.5 %) 황산(2회), 100 mL의 물, 100 mL의 농축 소듐 바이카보네이트 용액, 다시 100 mL의 물로 세척하였다. 유기상을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 11 g의 1-트리틸-3-벤질-sn-글리세롤을 황색 오일로서 수득하였다. 수율은 94 %이었다.

[0711] **1-트리틸-2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤의 합성:** 11 g의 1-트리틸-3-벤질-sn-글리세롤 및 5.7 g의 5-헥센일-1-메테인 설포네이트를 110 mL의 벤젠 중에 용해시켰다. 6 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 교반하고, 12시간 동안 공비 증류에 의해 반응 중에 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 mL의 물로 3회 세척하였다. 유기상을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물을 150 mL의 고온 헥세인 중에 용해시키고, 냉각시키고, 4 °C에서 밤새도록 유지시켰으며, 그 동안 부산물의 침전이 발생하였다. 여액으로부터 용매를 감압 하에서 여과 및 제거하여서 13 g의 1-트리틸-2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤을 갈색 오일로서 수득하였다.

[0712] **2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤의 합성:** 13 g의 1-트리틸-2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤을 100 mL의 메탄올 중에 용해시켰다. 4 mL의 농축 염산(37 %)을 첨가하고, 용액을 4시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음 위에 붓고(100 g), 분리 깔대기에 전달하고, extracted thrice with 100 mL의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기상을 연속적으로 100 mL의 물, 100 mL의 포화된 소듐 바이카보네이트 용액, 다시 100 mL의 물로 세척하였다. 유기상을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 14.5 g의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(150 g). 3.17 g의 2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤을 다이클로로메테인 이어서 다이클로로메테인과 에틸 아세테이트의 혼합물에 의해 용출시켰다. 수율은 46.8 %이었다.

[0713] **1-(15'-카복시)펜타데실-2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤의 합성** 3 g의 2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤을 100 mL의 벤젠 중에 용해시켰다. 3 g의 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 공비 증류에 의해 2시간 동안 건조시켰다. 이 혼합물에, 100 mL의 벤젠 중의 5.35 g t-뷰틸-16-브로모헥사데카노에이트의 용액을 3시간 동안 적가하였다. 첨가를 완료한 후, 혼합물을 12시간 더 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 20 mL까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 mL의 물 및 100 mL의 t-뷰탄올을 첨가하였다. 농축된 HCl을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 1까지 조정하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 100 mL의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기상을 pH가 중성일 때까지 100 mL의 물로 세척하였다. 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 6 g의 갈색 오일을 수득하였다. 이 오일을 헥세인:에틸 아세테이트의 1:1(v/v) 혼합물 중에 용해시켰다. 용액을 메탄올:수성 10 % NaOH의 100 mL의 8:2(v/v) 혼합물로 2회 추출하였다. NaH_2PO_4 를 첨가함으로써 기본 용액을 pH 4 내지 5까지 산성화시켰다. 100 mL의 다이에틸 에터 및 100 mL의 물을 첨가한 후, 상들을 분리시켰다. 수성상을 100 mL의 다이에틸 에터로 2회 추출하고, 유기상과 조합시켰다. 유기상을 100 mL의 물 및 100 mL의 염수로 세척하였다. 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매 감압 하에서 제거하여서 5.3 g의 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤을 황색 오일로서 수득하였다. 수율은 90 %이었다.

[0714] **1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-3-벤질-sn-글리세롤의 합성** 5.3 g의 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(5'-헥센일)-3-벤질-sn-글리세롤을 130 mL의 t-뷰탄올 중에 용해시키고, 40 mL의 물 중의 1.2 g 중탄산 나트륨

의 용액을 첨가하였다. 그 다음, 1 ml의 물 중의 54 mg의 KMnO₄를 첨가하였다. 20 g의 NaIO₄를 115 ml의 물 중에 용해시킨 후, 이 용액을 반응 혼합물에 10분 동안 첨가하였다. 반응의 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라, 4 ml의 물 중의 216 mg KMnO₄의 추가량의 용액을 첨가하였다. 실온에서 6시간 동안 연속적으로 교반한 후, 반응 혼합물을 4 °C에서 밤새도록 유지시켰다. 반응 혼합물이 밝은 황색으로 변할 때까지, 소듐 바이설파이트를 첨가하였다. 혼합물을 30분 동안 교반하고, 25 ml의 10 % 황산 용액을 적가하고, 혼합물을 100 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 연속적으로 100 ml의 물, 100 ml의 물 중의 25 g 소듐 바이설파이트가 함유된 100 ml의 용액(2회), 및 100 ml의 물(2회)로 세척하였다. 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매 감압 하에서 제거하여서 5.3 g의 조질의 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-3-벤질-sn-글리세롤을 황색 왁스로서 수득하였다.

[0715] (S)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성 5.0 g의 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-3-벤질-sn-글리세롤을 50 ml의 메탄올 중에 용해시키고, 10 ml의 85 % 품산을 첨가하였다. 5 g의 팔라듐 블랙(palladium black)을 첨가하고, 반응 혼합물 60 °C까지 질소 하에서 24시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과시켰다. 셀라이트를 메탄올 이어서 물로 세척하였다. 세척 용액을 여액과 조합시키고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(5 g)을 10 ml의 10 % 수산화 나트륨 수용액과 40 ml의 메탄올의 혼합물 중에 용해시키고, 수득된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 헥세인:톨루엔의 50 ml의 1:1(v/v) 혼합물로 세척하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 5까지 조정한 후, 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 50 ml의 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 조생성 물(4 g)을 9:1(v/v) 헥세인:아세톤 혼합물로부터 재결정화시켜서 3 g의 (S)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 무색 고체로서 수득하였다. 수율은 72 %이었다.

[0716] (S)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성 3 g의 (S)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 50 ml의 메탄올 중에 용해시켰다. 1 ml의 농축 염산(37 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 반응 혼합물을 약 10 ml까지 감압 하에서 농축시키고, 50 ml의 물을 첨가한 후, 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 연속적으로 50 ml의 물, 50 ml의 농축 소듐 바이카보네이트 용액, 및 50 ml의 물로 세척하였다. 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 3 g의 (S)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 황색 오일로서 수득하였다.

[0717] (R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성 2.8 g의 (S)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤 및 2.5 ml의 건조한 트라이에틸아민을 30 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 20분에 걸쳐 교반하면서 20 ml의 THF 중의 1.65 ml의 POCl₃의 열음-냉각된 용액에 적가하였다. 10분 더 열음조 내에서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 50 ml의 THF 중의 1.1 ml의 에탄올아민과 5 ml의 트라이에틸아민의 용액을 60분에 걸쳐 열음-냉각된 반응 혼합물에 교반하면서 적가하였다. 10분 더 열음조 내에서 및 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 24 ml의 아세트산과 100 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하고, 유기 상을 50 ml의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 4 g의 조질의 (R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 갈색 오일로서 수득하였다.

[0718] (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-214)의 합성 1.5 g의 (R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 메탄올:10 % 수산화 나트륨 수용액의 50 ml의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 수득된 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트 및 품산을 첨가함으로써 반응물의 pH를 4까지 조정하였다. 100 ml의 물 및 100 ml의 클로로폼을 첨가하였다. 추출한 후, 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 500 mg의 조질의 (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-포스포에탄올아민을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(15 g). 100 ml의 클로로폼, 이어서 100 ml의 클로로폼:메탄올 혼합물(9:1 및 8:2 부피 비율), 및 그 다음 200 ml의 클로로폼:메탄올:물 혼합물(70:26:4, 및 60:35:5

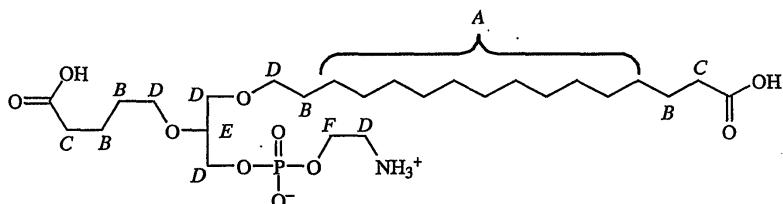
부피 비율)로 용출시켰다. 목적 생성물이 함유된 분획물로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압에 의해 제거하여서 88 mg의 순수한 (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-214)을 황색 액스로서 수득하였다.

[0719] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:

[0720] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0721] 결과에서는 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

¹H NMR



[0722]

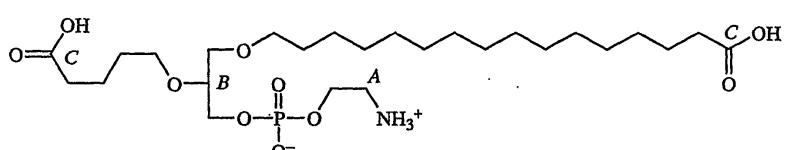
[0723] ¹H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.44 ppm)

표 25

[0724]	δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.37	2 H, br, s	F	
3.93 -3.98	1 H, m	E	
3.42 -3.85	10 H, m, 5 x CH ₂	D	
2.27 -2.36	4 H, m, 2 x CH ₂	C	
1.54 - 1.70	8 H, m, 4 x CH ₂	B	
1.27	22 H, m, 11 x CH ₂	A	

¹³C NMR

[0726] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ¹³C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0727]

[0728] ¹³C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.614 ppm)

표 26

[0729]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.250	C
177.125	C
78.174	B
72.097	
70.388	
70.199	
65.850	
61.841	
40.788	A
34.424	
34.228	
29.851	
29.698	
29.527	
29.392	
26.289	
25.198	
21.945	

[0730]

1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0731]

1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{26}H_{52}NO_{10}P$)에 관한 측정된 질량은 569.6655이었다.

[0732]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 568$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0733]

또한, $m/z = 570$ 의 분자 양이온이 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ES+-MS)에 의해 관찰되었으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M+H]^+$.

[0734]

따라서, MS 스펙트럼은 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 화학 구조와 일치한다.

[0735]

(R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성 1.2 g의 (R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 60 mL의 메탄올과 20 mL의 다이클로로메테인의 혼합물을 중에 용해시켰다. 10 mL의 물 중의 2 g 탄산 칼륨의 용액을 첨가하고, 용액을 가열하고, 35 내지 40 °C의 온도에서 유지시켰다. 10mL 메탄올 중의 1.25 mL의 다이메틸설페이트의 용액을 적가하였다. 첨가를 완료한 후, 반응 혼합물을 40 °C에서 90분 더 교반한 후, 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 100 mL의 물을 첨가하고, 100 mL의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 100 mL의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 900 mg의 (R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 갈색 오일로서 수득하였다.

[0736]

(R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-213)의 합성 1.88 g의 (R)-1-(15'-메틸카복시)펜타데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 메탄올:10 % 수산화 나트륨 수용액의 50 mL의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 수득된 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 소듐 하이드로젠 포스페이트 및 품산을 첨가함으로써 반응물의 pH를 4까지 조정하였다. 100 mL의 물 및 100 mL의 클로로폼을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 860 mg의 조질의 (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-포스포콜린을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(20 g). 100 mL의 클로로폼, 이어서 100 mL의 클로로폼:메탄올 혼합물(9:1 및 8:2 부피 비율), 및 그 다음 200 mL의 클로로폼:메탄올:물 혼합물(70:26:4, 및 60:35:5 부피 비율)로 용출시켰다. 목적 생성물이 함유된 분획물로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수

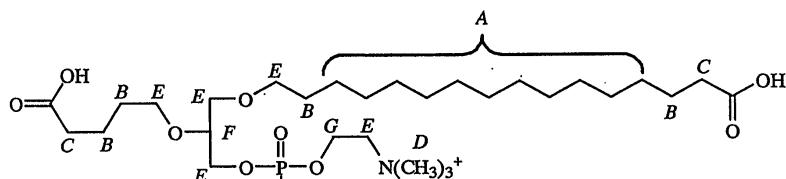
Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하여서 105 mg의 순수한 (R)-1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-213)을 황색 왁스로서 수득하였다.

[0737] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0738] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0739] 결과에서는 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

^1H NMR



[0740]

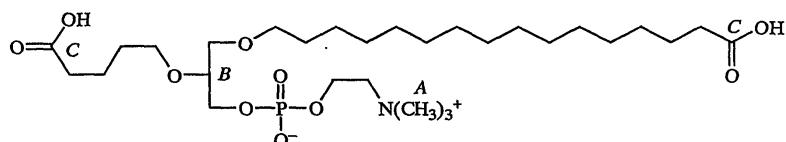
[0741] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.38 ppm)

표 27

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.27	2 H, br, s	G
3.94 – 4.00	1 H, m	F
3.36 – 3.89	10 H, m, 5 x CH_2	E
3.23	9 H, s, 3 x CH_3	D
2.26 – 2.37	4 H, m, 2 x CH_2	C
1.52 – 1.72	8 H, m, 4 x CH_2	B
1.26	22 H, m, 11 x CH_2	A

[0743] ^{13}C NMR

[0744] 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0745]

[0746] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.35 ppm)

표 28

[0747]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.90	C
176.72	C
78.21	B
71.92	
70.37	
70.01	
66.58	
65.87	
59.14	
54.34	A
34.31	
34.07	
29.66	
29.56	
29.52	
29.36	
29.24	
26.12	
25.06	
21.98	

[0748]

1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0749]

1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{29}H_{58}NO_{10}P$)에 관한 측정된 질량은 611.7453 \circ 였다.

[0750]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 610$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0751]

또한, 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ES+-MI)에서는 $m/z = 612$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, 이는 $m/z = 634$ 의 분자 양이온이 수반되며, 이는 양이온화된 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[0752]

따라서, MS 스펙트럼은 1-(15'-카복시)펜타데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0753]

CI-213 및 CI-214의 독성:

[0754]

CI-213 및 CI-214의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0755]

도 25A 및 25B에 제시된 바와 같이, CI-213에서는 시험된 투약량의 범위 내에서 유의적 독성이 분명하게 나타내지 않았다(즉, 150 $\mu g/ml$, 245.2 μM 이하). 세포 수에서의 통계학적인 유의적 감소는 100 $\mu g/ml$ (163.5 μM)의 투약량에서 단지 하나의 실험에서만 검출되었다.

[0756]

유사하게, 도 26A 및 26B에 제시된 바와 같이, CI-214에서는 시험된 투약량의 범위 내에서 유의적 독성이 분명하게 나타내지 않았다(즉, 150 $\mu g/ml$, 263.3 μM 이하). 세포 수에서의 통계학적인 유의적 감소는 100 $\mu g/ml$ (175.5 μM)의 투약량에서 단지 하나의 실험에서만 검출되었다.

[0757]

이들 결과에서는 CI-213 및 CI-214의 LD_{50} 는 둘다 150 $\mu g/ml$ 보다 높은 것으로 나타난다.

[0758]

실시예 10

[0759]

1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-217)

[0760]

앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여

(R)-1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하여 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[0761]

(S)-1-헥사데실-sn-글리세롤의 합성: 40 g의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 80 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 100 g의 헥사데실 브로마이드를 350 ml의 벤젠 중에서 교반하고, 7시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 50 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 300 ml의 얼음-냉각된 물을 첨가하고, 혼합물을 150 ml의 다이클로로메테인으로 4회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 메탄올:물:농축 염산의 500 ml의 90:10:5(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 2시간 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 200 ml의 물을 첨가하였다. 생성물을 200 ml의 클로로폼으로 3회 추출하고, 연속적으로 200 ml의 물, 200 ml의 포화된 탄산 나트륨 수용액, 다시 200 ml의 물로 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 생성물을 450 ml의 석유 에터로부터 4 °C에서 결정화시켜서 69.93 g의 순수한 (S)-1-헥사데실-sn-글리세롤을 수득하였다. 수율은 73 %이었다.

[0762]

1-헥사데실-3-트리틸-글리세롤의 합성: 18.47 g의 (S)-1-헥사데실-sn-글리세롤 및 19 g의 트라이페닐클로로메테인을 250 ml의 건조한 THF와 58 ml의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물을 중에 용해시켰다. 17 ml의 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음 및 트라이에틸아민(5 ml) 위에 붓고(20 g), 분리 칼대기에 전달하고, 다이에틸 에터로 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 200 ml의 물, 200 ml의 희석된(1.5 %) 황산(2회), 200 ml의 물, 200 ml의 포화된 수성 중탄산 나트륨, 다시 200 ml의 물로 세척하였다. 유기 상을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 41.79 g의 조생성물을 잔류물로서 수득하였다. 이 잔류물을 300 ml의 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, -20 °C에서 밤새도록 냉각시켰다. 혼합물을 -10 °C에서 원심분리시키고(3,500 rpm), 모액을 따라 버렸다. 수득된 고체를 용융시키고, 헥세인 중에 용해시키고, 밤새도록 냉동시켰다(5 ± 3 °C). 침전물을 여과하여서 18.97 g의 순수한 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤을 회백색 고체로서 수득하였다.

[0763]

3-헥센일-1-메테인 설포네이트의 합성: 100 ml의 건조한 다이클로로메테인 중의 20 ml의 시스-3-헥센-1-올과 40 ml의 건조한 트라이에틸아민의 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시켰다. 50 ml의 다이클로로메테인 중의 20 ml의 메테인설폰일 클로라이드의 용액을 75분에 걸쳐 적가한 후, 혼합물을 4 °C에서 2시간 동안 유지시켰다. 얼음(50 g)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반한 후, 100 ml의 클로로폼으로 2회 추출하였다. 유기 상을 50 ml의 물, 50 ml의 10 % 수성 황산, 50 ml의 물, 50 ml의 10 % 수성 중탄산 나트륨, 이어서 50 ml의 물(2회)로 세척하였다. 용매를 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(34.90 g)을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(85.37 g). 클로로폼과 헥세인의 1:1(v/v) 혼합물로 용출시킴으로써 18.83 g의 3-헥센일-1-메테인 설포네이트를 수득하였다.

[0764]

(S)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-글리세롤의 합성 10.60 g의 (R)-1-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤을 50 ml의 벤젠과 50 ml의 석유 에터의 혼합물 중에 용해시켰다. 16.65 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 질소 하에서 가열 환류시켰다. 10시간 넘게 공비 증류에 의해 반응 중에 형성된 물을 제거하면서, 50 ml의 벤젠 및 200 ml의 석유 에터 중의 10 ml의 3-헥센일-1-메테인 설포네이트의 용액을 환류성 반응 혼합물에 적가하였다. 첨가의 완료 후, 계속적으로 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 200 ml의 물을 첨가하였다. 혼합물을 200 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 200 ml의 물로 3회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 11.88 g의 조질의 (R)-1-헥사데실-2-(3-헥센일)-3-트리틸-sn-글리세롤을 수득하였다. 1-헥사데실-2-(3-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 100 ml의 메탄을 중에 용해시키고, 4 ml의 농축 HCl을 첨가하고, 생성된 용액을 4시간 동안 환류시켰다. 100 ml의 물을 첨가하고, 혼합물을 100 ml의 다이에틸 에터로 4회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 헥세인 중에 용해시키고, 4 °C에서 밤새도록 저장하였다. 침전물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 10.08 g의 조생성물을 수득하였다. 이 생성물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(95.91 g). 3.71 g의 생성물, (S)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세롤을, 헥세인과 클로로폼의 1:1(v/v) 혼합물, 이어서 클로로폼 및 그 다음 클로로폼과 2 % 아세톤으로 용출시켰다.

[0765]

(R)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성: 2.08 g의 (S)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세롤(이를 P₂O₅ 상의 건조제 내에서 건조시켰다) 및 1.2 ml의 트라이에틸아민을 60 ml의 THF 중에

용해시켰다. 이 용액을 55분 동안 교반하면서 40 ml의 THF 중의 0.84 ml의 POCl_3 과 0.7 ml의 트라이에틸아민의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 10분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시킨 후, 15 ml의 THF 중의 0.55 ml의 에탄올아민과 2.0 ml의 트라이에틸아민의 용액을 25분에 걸쳐 적가하였다. 30분 동안 얼음조 내에서 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 0.18 nl 에탄올아민을 더 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 48 ml의 아세트산과 20 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 77 °C까지 1시간 동안 가열하고, 실온까지 냉각시켰다. 용액을 클로로폼:메탄올의 100 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 3회 추출하고, 희석 소듐 바이카보네이트 용액 및 100 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 2.57 g의 (R)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 수득하였다.

[0766]

(R)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 6.8 g의 탄산 칼륨을 100 ml의 메탄올 및 100 ml의 다이클로로메테인 중의 2.54 g의 (R)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 용액에 첨가하였다. 그 다음, 3 ml의 다이메틸설페이트를 적가하고, 반응 혼합물을 실온에서 7시간 동안 교반하였다. 1 ml의 다이메틸설페이트를 더 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 26.4 g의 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 반응 혼합물에 첨가하고, 이어서 100 ml의 물을 첨가한 다음, 혼합물을 클로로폼:메탄올의 100 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 3.44 g의 조질의 (R)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다.

[0767]

(R)-1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-217)의 합성: 200 ml의 물 중의 3.4 g (R)-1-헥사데실-2-(3'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 용액을 35 °C까지 가열하고, 4.33 g의 중탄산 나트륨을 첨가하였다. 그 다음, 90 ml의 물 중의 13.5 g 소듐 퍼아이오데이트의 용액을 적하 깔대기 내에 위치시키고, 적가하였다. 10 ml의 물 중의 180 mg 과망간 칼륨의 용액을 제 2 적하 깔대기 내에 위치시키고, 반응 혼합물의 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라 적가하였다. 총 약 4 ml의 퍼망가네이트 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 5시간 동안 35 내지 40 °C 이어서 실온에서 밤새도록 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트 이어서 인산(80 %)을 첨가함으로써 반응물의 pH를 대략 3까지 조정하였다. 반응 혼합물을 100 ml의 클로로폼으로 3회 추출하고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 50 ml의 소듐 바이설파이트 용액 이어서 50 ml의 물로 2회 세척하였다. 유기 용액을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 2.78 g의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(30.89 g). 1.98 g의 순수한 (R)-1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 핵세인과 20 % 내지 50 % 클로로폼의 혼합물, 이어서 클로로폼, 그 다음 클로로폼과 10 % 내지 80 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다.

[0768]

1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

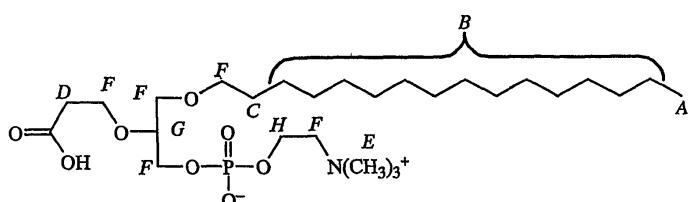
[0769]

샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다.

[0770]

결과에서는 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

¹H NMR

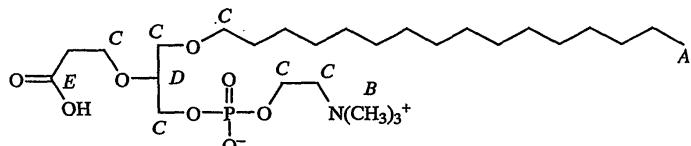


[0771]

¹H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.27 ppm)

표 29

[0773]	δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.052	2 H, br, s	H	
3.72	1 H, m	G	
3.66	2 H, m, CH ₂	F	
3.469	2 H, m, CH ₂	F	
3.400	2 H, m, CH ₂	F	
3.299	2 H, m, CH ₂	F	
3.227	2 H, m, CH ₂	F	
3.012	9 H, s, 3 x CH ₃	E	
2.351	2 H, m, CH ₂	D	
1.347	2 H, m, CH ₂	C	
1.059	26 H, m, 13 x CH ₂	B	
0.675	3 H, t, J = 7.2 Hz, CH ₃	A	

[0774] ^{13}C NMR[0775] 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:

[0776]

[0777] ^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.817 ppm)

표 30

[0778]	δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
173.126	E	
78.990	D	
72.220	C	
70.695	C	
66.932	C	
66.584	C	
66.271	C	
59.509	C	
54.487	B	
35.945		
35.651		
32.291		
30.040		
29.880		
29.707		
26.432		
23.013		
14.211	A	

[0779] **1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:**

[0780] 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{27}H_{56}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 554이었다.

[0781] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 553$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0782] 또한, 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)에 의해 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 555$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, 이는 $m/z = 577$ 의 분자 이온이 수반되며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[0783] 따라서, MS 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(2-카복시)에틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0784] **티로신 포스포릴화:**

[0785] 일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-217의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0786] 도 27에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ (36 μM) CI-217로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한 반면, 10 $\mu g/ml$ (18 μM) CI-217로 처리하면 효과가 거의 없다. 이를 결과는 20 $\mu g/ml$ (34 μM) 및 10 $\mu g/ml$ (17 μM)의 포지티브 대조군 CI-201로 각각 처리된 결과와 매우 유사하였다.

[0787] **실시예 11**

1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(CI-219) 및 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-220)

[0789] 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린 및 (R1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하여 (S)-(+)2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린 및 (S)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민을 합성하였다.

(S)-1-에이코산일-sn-글리세롤의 합성: 8.6 ml(76.08 mmol)의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 15 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 27.5 g(76.08 mmol)의 1-브로모에이코세인을 150 ml의 벤젠 중에서 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 70 ml까지 감소시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 150 ml의 물을 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 150 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물로 세척하고, 용매를 이어서 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 105 ml의 90:10:5(v/v) 메탄올:물:농축 염산 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 용액이 맑아질 때까지 환류시켰다. 그 다음, 용액을 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 물을 첨가하였다. 생성물을 150 ml의 클로로폼으로 추출하고, 연속적으로 150 ml의 물, 탄산 나트륨의 150 ml의 포화된 수용액, 다시 150 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용매를 감압 하에서 제거하고, 생성물을 200 ml의 헥세인으로부터 결정화시키고, 21.0 g의 순수한 1-에이코산일-sn-글리세롤을 수득하였으며, 이를 감압 하에서 건조제 내에서 포스포리스 옥사이드와 함께 건조시켰다. 수율은 81.5 %이었다.

(R)-1-에이코산일-3-트리틸-sn-글리세롤의 합성: 20 g의 1-에이코산일-sn-글리세롤 및 18 g의 트라이페닐클로로메테인을 400 ml의 건조한 테트라하이드로퓨란(THF)과 100 ml의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물에 첨가하였다. 15 ml의 건조한 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 열음 위에 끊고(500 g), 분리 깔대기에 전달하고, 200 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 150 ml의 물, 150 ml의 희석된(1.5 %) H_2SO_4 (2회), 150 ml의 물, 150 ml의 농축 수성 중탄산 나트륨, 다시 150 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물, 갈색 오일을 300 ml의 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, -20 °C에서 밤새도록 냉각시켰다. 혼합물을 -10 °C에서 원심분리시키고(3,500 rpm), 모액을 따라 버렸다. 수득된 고체를 헥세인 중에 용해시키고, 밤새도록 냉각시켰다(5 ± 3 °C). 침전물을 여과하여서 26.0 g의 순수한

(R)-1-에이코산일-3-트리틸-sn-글리세롤을 회백색 고체로서 수득하였다. 수율은 79 %이었다.

[0792] **(R)-1-에이코산일-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-sn-글리세롤의 합성:** 26 g의 (R)-1-에이코산일-3-트리틸-sn-글리세롤 및 10 g의 5-헥센일-1-메테인 설포네이트를 150 ml의 벤젠 중에 용해시켰다. 12 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 반응 중에 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 75 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 200 ml의 물을 첨가하였다. 혼합물을 150 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하고, 합쳐진 유기 상을 150 ml의 물로 3회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물, 28 g의 갈색 오일을 실리카 겔 칼럼 상에서 정제하였다(200 g). 28 g의 생성물을 클로로폼으로 용출시켜서 밝은 황색 오일로서 수득하였다. 수율은 87.5 %이었다.

[0793] **(S)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 70 g의 NaIO₄를 250 ml의 물 중에 용해시켰다. 이 용액에, 6 g의 NaHCO₃ 및 1.2 g의 KMnO₄를 첨가하고, 혼탁액을 40 °C까지 가열하였다. 250 ml의 t-뷰탄을 중의 25 g (R)-1-에이코산일-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-sn-글리세롤의 용액을 90분 동안 적가하고, 혼합물을 6시간 더 가열하였다. 분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라, 추가량의 KMnO₄ 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 셀라이트를 통해 여과하고, 이어서 셀라이트를 50 ml의 t-뷰탄으로 세척하였다. 100 ml의 10 % 황산 용액을 적가하고, 용액을 분리 깔대기에 이송하고, 200 ml의 헥세인으로 3회 추출하였다. 유기 상을 100ml 물 중의 20 g Na₂S₂O₅의 용액, 이어서 100 ml의 물로 세척하였다. 약 400 ml의 용매를 감압 하에서 제거함으로써 유기 상을 농축시켰다. 잔류하는 용액에, 15 ml의 물 및 2 ml의 농축 HCl을 첨가하고, 수득된 혼합물을 6시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 다시 용매를 감압 하에서 제거함으로써 농축시켰다. 100 ml의 물 및 10 ml의 30 % NaOH 용액을 첨가함으로써 잔류물의 pH를 12까지 조정하였다. 침전물을 여과하고, 20 ml의 물로 4회 세척하였다. 여액을 헥세인:에틸 아세테이트의 100 ml의 1:1(v/v) 혼합물로 추출하였다. 10 ml의 농축 HCl을 첨가함으로써 수성 상을 pH 1까지 산성화시킨 후, 100 ml의 헥세인으로 3회 추출하였다. 무수 NaSO₄ 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 이어서 밤새도록 조생성물을 1:9(v/v) 아세톤:헥세인 혼합물로부터 5 ± 3 °C에서 재결정화시켜서, 9.0 g의 순수한 (S)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 수득하였다. 수율은 53.1 %이었다.

[0794] **(S)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 8.9 g의 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 50 ml의 메탄을 중에 용해시켰다. 1 ml의 농축 HCl(32 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 50 ml의 물을 수득된 잔류물에 첨가하였다. 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 50 ml의 물, 50 ml의 포화된 소듐 바이카보네이트 용액, 다시 50 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 증발시켜서, 8.9 g의 (S)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 백색 왁스로서 수득하였다.

[0795] **(R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 8.9 g의 1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤(벤젠을 사용하는 공비 증류에 의해 건조됨) 및 8 ml의 트라이에틸아민을 70 ml의 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 교반하면서 30분 동안 40 ml의 THF 중의 5.36 ml의 POCl₃의 열음-냉각된 용액에 적가하였다. 30분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 열음조 내에서 냉각시킨 후, 50 ml의 THF 중의 3.5 ml의 에탄올아민과 16 ml의 트라이에틸아민의 용액을 30분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 30분 동안 열음조 내에서, 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(14 g의 황색 오일)을 72 ml의 아세트산과 30 ml의 물의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 수득된 혼합물을 150 ml의 클로로폼으로 3회 추출하고, 150 ml의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 13 g의 (R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 황색 오일로서 수득하였다.

[0796] **(R)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-220)의 합성:** 4 g의 (R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 메탄올:수성 10 % 수산화 나트륨의 100 ml의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 그 다음, 폼산을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 4까지 조정하였다. 그 다음, 150 ml의 물 및 150 ml의 클로로폼을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(70 g). 클로로폼과 헥세인의 혼합물, 이어서 클로로폼과 메탄올의 혼합물, 및 최종적으로 클로로폼, 메탄올 및 물의 혼합물을 사용하여서 칼럼으로부터 835 mg의 (R)-1-에이코산

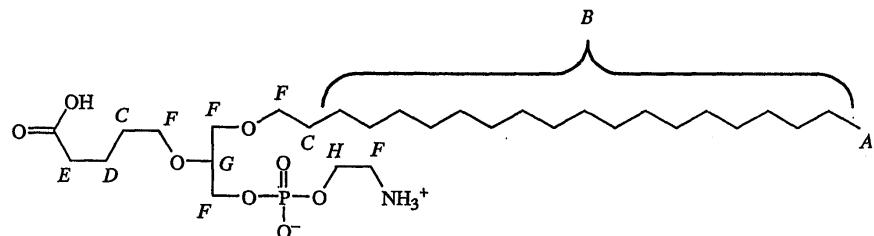
일-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(CI-220)을 용출시켰다. 수율은 21 %이었다.

[0797] 1-에이코산일-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:

샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

결과에서는 1-에이코산일-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

1-에이코산일-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



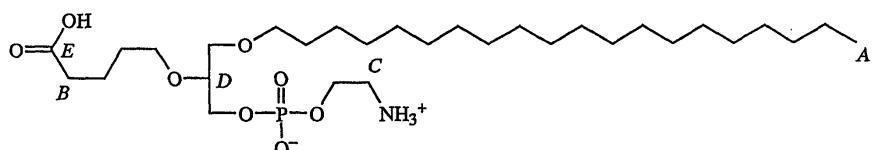
[0801]

^1H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.357 ppm)

표 31

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.107	2 H, br, s	H
3.858 - 3.876	1 H, m	G
3.398 - 3.745	10 H, m, 5 x CH_2	F
2.346	2 H, t, $J = 7.2$ Hz	E
1.666 - 1.737	2 H, m	D
1.599 - 1.631	2 H, m	C
1.535 - 1.569	2 H, m	C
1.260	34 H, m, 17 x CH_2	B
0.882	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.9$ Hz	A

1-에이코산일-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0805]

^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.318 ppm)

표 32

[0807]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.352	E
78.023 – 78.075	D
71.977	
70.293	
70.019	
65.968	
61.913	
40.525	C
34.108	B
32.045	
29.825	
29.778	
29.730	
29.659	
29.476	
29.320	
26.186	
22.794	
21.884	
14.154	A

[0808]

1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[0809]

1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{30}H_{62}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 595.42이었다.

[0810]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 594$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0811]

포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 596$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, 이는 $m/z = 618$ 의 분자 이온이 수반되며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[0812]

따라서, MS 스펙트럼은 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 화학 구조와 일치한다.

[0813]

(R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 9 g의 (R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 40 mL의 아이소프로판올과 18 mL의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시키고, 혼합물을 35 내지 40 °C까지 가열하였다. 20 mL의 물 중의 10.3 g 탄산 칼륨의 용액을 적가하면서, 반응 혼합물을 35 내지 40 °C에서 유지시켰다. 그 다음, 10 mL의 아이소프로판올(10mL) 중의 7.2 mL의 다이메틸설페이트의 용액을 40 °C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 40 °C에서 2시간 동안 이어서 실온에서 밤새도록 유지시켰다. 150 mL의 물을 첨가하고, 혼합물을 150 mL의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 150 mL의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 8 g의 (R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 약스로서 수득하였다.

[0814]

(R)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(CI-219)의 합성: 8 g의 (R)-1-에이코산일-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 메탄올:수성 10 % 수산화 나트륨의 100 mL의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 그 다음, 소듐 다이하이드로젠포스페이트 이어서 폼산을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략적으로 조정하였다. 그 다음, 100 mL의 물 및 150 mL의 클로로폼을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과한 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(7.5 g)을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(150 g). 클로로폼, 이어서 클로로폼과 메탄올의 혼합물, 및 최종적으로 클로로폼, 메탄올 및 물의 혼합물을 사용하여서 생성물을 용출시켰다. 생성물이 함유된 분획물로부터 용매를 감압 하에서 제거하여서 4 g의 (R)-1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글

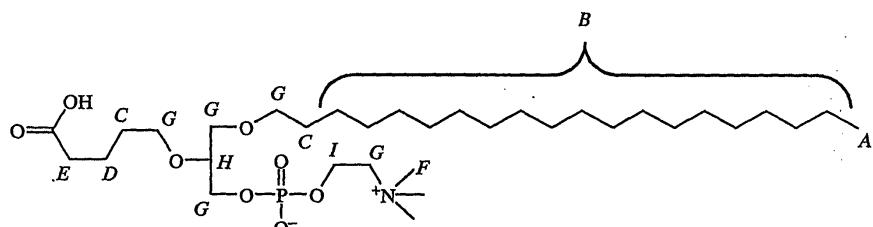
리세로-3-포스포콜린을 백색 고체로서 수득하였다. 수율은 51.1 %이었다.

[0815] **1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:**

[0816] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[0817] 결과에서는 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0818] 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



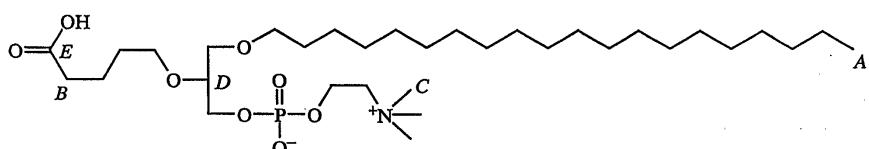
[0819]

[0820] ^1H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.246 ppm)

표 33

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.264	2 H, br, s	I
3.834 - 3.872	1 H, m	H
3.404 - 3.679	10 H, m, 5 x CH_2	G
3.224	9 H, s, 3 x CH_3	F
2.188	2 H, dt, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 7.2$ Hz	E
1.503 - 1.561	2 H, m	D
1.431 - 1.465	2 H, m	C
1.359 - 1.394	2 H, m	C
1.095 - 1.136	34 H, m, 17 x CH_2	B
0.716	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 7.2$ Hz	A

[0822] 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0823]

[0824] ^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.386 ppm)

표 34

[0825]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.589	E
78.209 - 78.263	D
71.974	
70.467	
70.034	
66.615	
65.856 - 65.892	
59.151 - 59.183	
54.382	C
34.053	B
32.062	
29.835	
29.787	
29.736	
29.662	
29.490	
29.387	
26.190	
22.810	
22.023	
14.156	A

[0826]

1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0827]

1-에이코세인-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{33}H_{68}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 637.47이었다.

[0828]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 637$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0829]

또한, 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 638$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, 이는 $m/z = 660$ 의 분자 이온이 수반되며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[0830]

따라서, MS 스펙트럼은 1-에이코산일-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0831]

티로신 포스포릴화:

[0832]

일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 CI-219 및 CI-220의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0833]

도 28에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ CI-219로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한 반면, 10 $\mu g/ml$ CI-219로 처리하면 효과가 거의 없었다. 20 $\mu g/ml$ CI-219의 효과는 20 $\mu g/ml$ CI-201의 것과 유사하였다.

[0834]

유사하게, 도 29에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ CI-220으로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한 반면, 10 $\mu g/ml$ CI-220으로 처리하면 효과가 거의 없었다. 20 $\mu g/ml$ CI-220의 효과는 20 $\mu g/ml$ CI-201의 것과 유사하였다.

[0835]

실시예 12[0836] **1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트(CI-201-PA)**

[0837]

앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤로부터 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스페이트를 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸 카복시)뷰틸-글리세롤로부터 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트를 합성하였다.

[0838] (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤 및 (R)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤의 합성은 실시예 1에서 기재되어 있다.

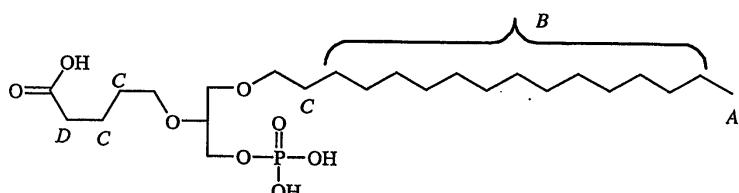
[0839] **(R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스페이트의 합성:** THF(15 ml) 중의 (S)-1-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤(1.44 g)(실시예 1에서 기재된 절차들에 따라 제조됨)과 트라이에틸아민(1.5 ml)의 용액을 20분에 걸쳐 교반하면서 THF(15 ml) 중의 POCl₃(1 ml)의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 30분 더 냉각시키면서 및 실온에서 1시간 더 계속적으로 교반하였다. 용매를 감압 하에서 증발시켰다. 수득된 잔류물을 포화된 중탄산 나트륨(100 ml)의 얼음-냉각된 용액 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 45분 동안 얼음조 내에서 교반하였다. HCl(32 %)을 첨가함으로써 용액의 pH를 4 내지 5의 범위까지 조정하였다. 혼합물을 클로로폼으로 추출하고(3 x 50 ml), 유기 상을 물로 세척하고(50 ml), 용매를 감압 하에서 제거하였다. 혼합물을 클로로폼 중에 용해시키고, 실리카 겔 상에서 정제하였다(30 g). 클로로폼, 이어서 클로로폼과 10 % 내지 50 % 메탄올의 혼합물을 사용하여서, 470 mg의 순수한 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트를 용출시켰다.

[0840] **1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트(CI-201-PA)의 NMR 특성화:**

[0841] 샘플을 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, ¹H NMR 및 ¹³C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0842] 결과에서는 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0843] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트의 구조에 따라 관찰된 ¹H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0844]

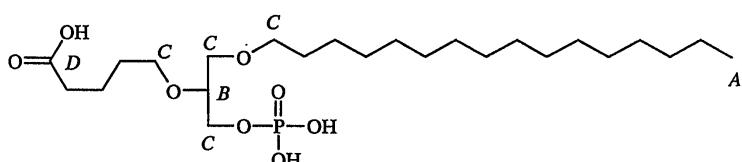
[0845] ¹H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.29 ppm)

표 35

[0846]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
3.900	2 H, m	
3.658 – 3.680	3 H, m, CH_2 및 CH	
3.413	4 H, m, 2 x CH_2	
2.336	2 H, m	D
1.539 – 1.609	6 H, m, 3 x CH_2	C
1.255	26 H, m, 13 x CH_2	B
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75$ Hz	A

[0847] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트의 구조에 따라 관찰된 ¹³C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0848]

[0849] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.113 ppm)

표 36

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
178.54	D
78.057	B
71.791	C
70.624	C
69.837	C
65.271	C
33.931	
33.766	
31.970	
30.952	
29.775	
29.649	
29.413	
29.048	
26.156	
22.729	
21.571	
14.138	A

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트의 질량 분광분석 특성화:

[0852] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트($\text{C}_{24}\text{H}_{49}\text{O}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 496.3165이었다.

[0853] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 495$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 이온에 해당된다 $[\text{M}-\text{H}]^-$. 따라서, MS 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스페이트(CI-201-PA)의 화학 구조와 일치한다.

CI-201-PA의 독성:

[0855] CI-201-PA의 독성을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0856] 도 30A 및 30B에 제시된 바와 같이, CI-201-PA에 대한 독성은 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 그 이상의 투약량에서 검출하였으며, LD_{50} 은 대략 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서, 독성은 2가지 실험 중 단지 하나에서만 검출된다.

실시예 13

1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201) 및 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(1-S-CI-202)

[0859] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올 p-톨루엔설포네이트를 출발 물질로서 사용하여 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린 및 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올 p-톨루엔설포네이트를 출발 물질로서 사용하여 3-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-1-포스포콜린 및 3-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤-1-포스포에탄올아민을 합성하였다.

[0860] 1-S-헥사데실-sn-글리세롤의 합성: 48 ml의 1-헥사데칸에티올을 150 ml의 벤젠 중에서 교반하고, 공비 증류에 의해 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 125 ml까지 감소시켰다. 에탄올 중의 58 ml의 소듐 에틸레이트 용액을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 질소 하에서 교반하였다. 100 ml의 건조한 벤젠 중의 30 g의 (R)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올 p-톨루엔설포네이트를 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 반응 혼합물을 열음 위에 봇고, 150 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기 상을 150 ml의 물로 2회 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 100 ml의 9:1:0.5(v/v) 메탄올:물:농축 HCl 혼

합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 2시간 동안 환류시킨 후, 실온까지 냉각시켰다. 반응 혼합물을 얼음 위에 붓고, 200 ml의 클로로폼으로 3회 추출한 후, 200 ml의 물, 200 ml의 포화된 탄산 나트륨 용액, 다시 200 ml의 물로 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 70 g의 주황색 고체를 수득하였다. 잔류물을 400 ml의 헥세인으로부터 2회 재결정화시켜서 30 g 1-S-헥사데실-sn-글리세롤(30 g)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0861] **1-S-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤의 합성:** 28 g의 1-S-헥사데실-글리세롤 및 31 g 클로로트라이페닐메테인을 370 ml의 건조한 THF와 100 ml의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물을 중에 위치시켰다. 25 ml의 건조한 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음(1 kg) 위에 붓고, 분리 깔대기에 전달하고, 200 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 유기 상을 200 ml의 물, 200 ml의 희석 황산(1.5 %)(2회), 200 ml의 물, 200 ml의 농축 소듐 바이카보네이트 용액, 및 200 ml의 물로 세척하였다. 그 다음, 용액을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 60 g의 갈색 오일을 수득하였다. 이 오일을 150 ml의 에틸 아세테이트 중에 용해시키고, 수득된 용액을 -20 °C에서 밤새도록 유지시켰다. 그 다음, 혼합물을 원심분리시키고(-10 °C), 모 용액을 따라 버렸다. 수득된 고체를 헥세인으로부터 4 °C에서 재결정화시켰다. 여과한 후, 36 g의 1-S-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤을 백색 고체로서 수득하였다.

[0862] **1-S-헥사데실-2-(4-t-뷰틸-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 10 g의 1-S-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤을 150 ml의 벤젠과 50 ml의 석유 에터의 혼합물을 중에 용해시킨 후, 20.48 g의 분말화된 KOH를 첨가하였다. 반응 혼합물을 교반하고, 환류시켰다. 약 10시간에 걸쳐 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서, 200 ml의 석유 에터 중의 10 ml의 t-뷰틸 발레레이트의 용액을 환류성 용액에 적가하였다. 첨가의 완료 후, 반응 혼합물을 1시간 더 환류시켜서 용매의 부피를 감소시켰다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 100 ml의 얼음-냉각된 물과 20 ml의 품산의 혼합물을 첨가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 100 ml의 클로로폼으로 2회 추출하고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 15.65 g의 밝은 갈색 오일을 수득하였다. 수득된 오일을 160 ml의 메틸 t-뷰틸 에터(MTBE)와 20 ml의 메탄올의 혼합물을 중에 용해시켰다. 3 ml의 농축 HCl을 첨가하고, 생성된 용액을 4시간 동안 환류시킨 후, 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 반응 혼합물을 탄산 나트륨의 100 ml의 포화된 수용액으로 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매 감압 하에서 제거하여서 14.10 g의 밝은 갈색 오일을 수득하였다. 오일을 실리카겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(91 g). 헥세인, 이어서 헥세인과 클로로폼의 혼합물, 그 다음에 클로로폼과 아세톤의 혼합물을 사용하여서, 생성물을 칼럼으로부터 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 6.84 g의 1-S-헥사데실-2-(4-t-뷰틸-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 수득하였다.

[0863] **1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 6.84 g의 1-S-헥사데실-2-(4-t-뷰틸-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 80 ml의 에탄올 중에 용해시켰다. 5 ml의 물 중의 3.7 g KOH의 용액을 첨가하고, 혼합물을 교반하고, 6시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 실온까지 냉각시킨 후, 16 ml의 물 및 100 ml의 8:2(v/v) 헥세인:에틸 아세테이트 혼합물을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 50 ml의 물 및 5 ml의 품산을 유기 상에 첨가하였다. 클로로폼으로 추출하고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 3.89 g의 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 밝은 갈색 오일로서 수득하였다.

[0864] **1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성:** 3.89 g의 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 100 ml의 메탄올 중에 용해시키고, 1 ml의 농축 염산을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하고, 100 ml의 클로로폼으로 2회 추출하였다. 유기 상을 50 ml의 물로 2회 세척하고, 황산 나트륨 상에서 건조시킨 후, 용매를 감압 하에서 제거하여서 3.75 g의 잔류물을 수득하였다. 이 잔류물을 실리카겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(49 g). 클로로폼, 이어서 클로로폼과 아세톤의 혼합물을 사용하여서 생성물을 칼럼으로부터 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.94 g의 순수한 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 수득하였다.

[0865] **1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 2.83 g의 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세롤 및 1.7 ml의 트라이에틸아민을 20 ml의 벤젠과 120 ml의 THF의 혼합물을 중에 용해시켰다. 이 용액을 60분 동안 교반하면서 20 ml의 THF 중의 1.14 ml의 POCl₃과 0.98 ml의 트라이에틸아민의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 10분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 50 ml의 THF 중의 1.02 ml의 에탄올아민과 2.8 ml의 트라이에틸아민의 용액을 40분에 걸쳐 얼음-냉각된 반응 혼합물에 적가하였다. 10분 동안 0 °C에서, 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(4.23 g)을 48 ml의 아세트산과 20 ml의 물의 혼합물

중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 그 다음, 용액을 50 ml의 2:1(v/v) 클로로폼:메탄올 혼합물로 3회 추출하고, 유기 용매를 감압 하에서 제거하여서 4.05 g의 조질의 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 수득하였다.

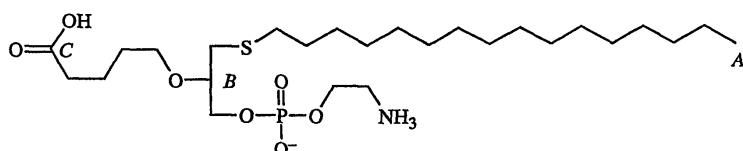
[0866] **1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 0.97 g의 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 50 ml의 메탄올 중에 용해시켰다. 7 ml의 10 % 수산화 나트륨 용액을 첨가하고, 수득된 용액을 실온에서 8시간 동안 교반하였다. 2 ml의 품산을 첨가한 후, 혼합물을 50 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 용매를 감압 하에서 제거하여서 0.70 g의 왁스성 잔류물을 수득하였다. 이 잔류물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(32 g). 클로로폼, 이어서 클로로폼과 메탄올의 혼합물을 사용하여서 생성물을 칼럼으로부터 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 0.625 g의 순수한 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(1-S-CI-202)을 수득하였다.

[0867] **1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(1-S-CI-202)의 NMR 특성화:**

[0868] 샘플들을 ^{13}C NMR 분광법에 의해 측정하였다.

[0869] 결과에서는 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(1-S-CI-202)의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0870] 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(1-S-CI-202)의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0871]

[0872] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.724 ppm)

표 37

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
179.382	C
78.616	B
69.824	
66.630	
62.304	
53.954	
40.447	
35.308	
33.130	
32.680	
32.072	
29.877	
29.514	
29.165	
22.824	
22.277	
14.179	A

[0874] **1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)의 질량 분광분석 특성화:**

[0875] 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{NO}_7\text{PS}$)에 관한 측정된 질량은 555.75이었다.

[0876] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 554$ 의 분자 이온을 제시

하였으며, 이는 탈양성자화된 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0877] 포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 556$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, $m/z = 578$ 의 이온을 제시하였으며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[0878] 따라서, MS 스펙트럼은 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(1-S-CI-202)의 화학 구조와 일치한다.

[0879] **1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** 3.48 g의 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 35 mL의 메탄올과 100 mL의 다이클로로메테인의 혼합물 중에 용해시켰다. 20 mL의 물 중의 10 g 탄산 칼륨의 용액을 첨가하였다. 그 다음, 3.5 mL의 다이메틸설페이트를 첨가하고, 반응물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 1 mL의 품산을 첨가함으로써 반응물의 pH를 4까지 조정하였다. 혼합물을 75 mL의 2:1(v/v) 클로로폼:메탄올 혼합물로 3회 추출하고, 이어서 용매를 제거하여서 3.72 g의 조절의 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다.

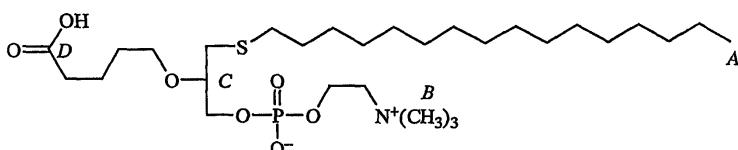
(R)-1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 3.72 g의 1-S-헥사데실-2-(4-메틸카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 100 mL의 메탄올 중에 용해시켰다. 10 mL의 10 % 수산화 나트륨 용액을 첨가하고, 수득된 용액을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 1.2 mL의 품산을 첨가하고, 혼합물을 100 mL의 2:1(v/v) 클로로폼:메탄올 혼합물로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.92 g의 잔류물을 수득하였다. 2.46 g의 이 잔류물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(54 g). 클로로폼과 헥세인의 혼합물, 이어서 클로로폼, 그 다음에 클로로폼과 메탄올의 혼합물을 사용하여서, 생성물을 칼럼으로부터 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.21 g의 순수한 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)을 수득하였다.

1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)의 NMR 특성화:

[0882] 샘플들을 ^{13}C NMR 분광법에 의해 측정하였다.

[0883] 결과에서는 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0884] 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)부틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0885]

[0886] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 75.948 ppm)

표 38

[0887]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
175.904	D
76.958	C
68.150	
64.677–64.749	
57.613–57.676	
52.612	B
52.185	
33.133	
31.379	
31.076	
30.314	
28.096	
27.745	
27.345	
21.069	
20.499	
12.427	A

[0888]

1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)의 질량 분광분석 특성화:

[0889]

1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($C_{29}H_{60}NO_7PS$)에 관한 측정된 질량은 597이었다.

[0890]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 596$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 이온에 해당된다 $[M-H]^-$.

[0891]

포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 598$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, $m/z = 620$ 의 이온을 제시하였으며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[0892]

따라서, MS 스펙트럼은 1-S-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(1-S-CI-201)의 화학 구조와 일치한다.

[0893]

티로신 포스포릴화:

[0894]

일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 1-S-CI-201 및 1-S-CI-202의 효과를 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0895]

도 31에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ (34 μM) 1-S-CI-201로 처리하면 20 $\mu g/ml$ (34 μM) 포지티브 대조군(CI-201)에서와 같이 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래하였다. 그러나, 10 $\mu g/ml$ (17 μM) 1-S-CI-201로 처리하면 효과가 거의 없는 반면, 10 $\mu g/ml$ (34 μM) CI-201은 포스포티로신 수준에서의 증가를 초래하였다.

[0896]

도 32에 제시된 바와 같이, 20 $\mu g/ml$ (36 μM) 1-S-CI-202로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 감소를 초래한 반면, 10 $\mu g/ml$ (18 μM) 1-S-CI-202로 처리하면 포스포티로신 수준에서의 증가를 초래하였다. 이를 결과는 10 $\mu g/ml$ 및 20 $\mu g/ml$ 의 CI-201 및 CI-202에 대해 각각 수득된 결과와 매우 유사하다.

[0897]

실시예 14

[0898]

1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린(다이-OH)

[0899]

앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-(+)–2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[0900]

1-헥사데실-sn-글리세롤의 합성: 19.4 g의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 49 g의 분말화된

KOH 및 4.8 g의 헥사데실 브로마이드를 500 ml의 툴루엔(500ml) 중에서 교반하고, 6시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 100 ml까지 감소시키고, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시켰다. 냉각된 반응 혼합물을 500 ml의 다이클로로메테인 중에 용해시키고, 200 ml의 물로 2회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 메탄올:물:농축 H₂SO₄의 500 ml의 90:10:5(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 30분 동안 환류시키고, 500 ml의 다이클로로메테인으로 추출하였다. 추출물을 중화될 때까지 100 ml의 물, 100 ml의 수성 5 % 탄산 나트륨, 다시 100 ml의 물로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 조생성물을 헥세인으로부터 4 °C에서 재결정화시켜서 35.3 g의 순수한 1-헥사데실-sn-글리세롤을 수득하였다. 수율은 76 %이었다.

[0901] **1-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤의 합성:** 470 ml의 건조한 테트라하이드로퓨란과 120 ml의 건조한 아세토나이트릴의 혼합물 중의 35.3 g의 1-헥사데실-sn-글리세롤, 37.3 g의 트라이페닐클로로메테인 및 22.44 g의 건조한 트라이에틸아민의 용액을 질소 분위기 하에서 15시간 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후 반응 혼합물을 여과하였다. 여액을 열음 위에 붓고(500 g), 이어서 200 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 계속적으로 500 ml의 물, 500 ml의 0.15 N HCl, 500 ml의 포화된 수성 NaHCO₃, 다시 물로 세척하였다. 추출물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 황색 잔류물을 500 ml의 따듯한 헥세인 중에 용해시키고, 수득된 맑은 용액을 밤새도록 냉각시켰다(5 ± 3 °C). 이 시간 동안, 침전이 발생하였다. 침전물을 여과한 후, 여액으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 58.3 g의 1-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤을 수득하였다. 수율은 95 %이었다.

[0902] **(S)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤의 합성:** 36.3 g의 1-헥사데실-3-트리틸-sn-글리세롤 및 11.5 g의 5-헥센일-메테인설포네이트(건조한 피리딘 중의 5-헥센-1-올 및 메테인설폰일 클로라이드로부터 제조됨)를 500 ml의 툴루엔 중에 용해시켰다. 20 g의 분말화된 KOH를 첨가하고, 반응 혼합물을 교반하고, 8시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 100 ml까지 감소시키고, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시켰다. 냉각된 반응 혼합물을 500 ml의 다이클로로메테인 중에 용해시키고, 200 ml의 물로 2회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 생성된 1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸글리세롤을 메탄올:물:농축된(32 %) HCl의 500 ml의 90:10:5(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 수득된 용액을 3시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 500 ml의 물을 첨가한 후, 혼합물을 250 ml의 다이클로로메테인으로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물로 2회 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 250 ml의 헥세인 중에 용해시키고, 수득된 용액을 -20 °C에서 48시간 동안 저장하였으며, 이로 인해 대부분의 트라이페닐 카빈올이 침전되었다. 여과하고 여액으로부터 용매를 제거한 후, 잔류하는 생성물을 실리카겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 11.65 g의 순수한 (S)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤을 1:1(v/v) 클로로폼:석유 에터로 용출시켰다. 수율은 45 %이었다.

[0903] **(R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민의 합성:** 11.65 g의 1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤 및 3.23 g의 트라이에틸아민을 650 ml의 건조한 THF 중에 용해시켰다. 이 용액을 교반하면서 130 ml의 THF 중의 5.34 g 포스포러스 옥시클로라이드의 열음-냉각된 용액에 적가하였다. 반응에서의 온도가 15 °C를 초과하지 않도록 첨가하였다. 10분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 열음조 내에서 냉각시키고, THF 중의 2.10 ml의 에탄올아민과 9.73 ml의 트라이에틸아민의 용액을 30분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 20분 동안 열음조 내에서 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물(15.93 g)을 240 ml의 아세트산과 100 ml의 물의 혼합물 중에 용해시켰다. 생성된 용액을 70 °C에서 1시간 동안 가열하고, 실온까지 냉각시키고, 클로로폼:메탄올의 250 ml의 a 2:1(v/v) 혼합물로 2회 추출하였다. 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 12.50 g의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 수득하였다.

[0904] **(R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-3-포스포에탄올아민을 650 ml의 아이소프로판을 및 220 ml의 다이클로로메테인 중에 용해시켰다. 130 ml의 물 중의 66.5 g K₂CO₃의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물 40 °C까지 가열하였다. 130 ml의 아이소프로판을 중의 13.3 ml의 다이메틸설레이트의 용액을 반응에서의 온도가 35 내지 40 °C를 초과하지 않도록(45분에 걸쳐) 적가하였다. 첨가의 완료 후, 40 °C에서 90분 동안 계속적으로 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 클로로폼:메탄올의 500 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 3회 추출하고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 12.50 g의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다.

[0905] **(R)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시-헥실)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성:** 8.57 g의 (R)-1-헥사데실-2-

(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 80 ml의 흰산 중에 용해시켰다. 18.7 ml의 30 % 과산화 수소를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 250 ml의 물을 첨가하고, 용액을 분리 깔대기에 전달하고, 클로로폼:메탄올의 100 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 5회 추출하였다. 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 수득된 잔류물을 150 ml의 메탄올 중에 용해시켰다. 55 ml의 수성 수산화 나트륨(10 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 150 ml의 물 중의 농축된 HCl(32 %)의 3 ml의 차가운 혼합물을 첨가하고, 수득된 용액을 분리 깔대기에 전달하고, 생성물을 클로로폼:메탄올의 100 ml의 2:1(v/v) 혼합물로 5회 추출하였다. 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 수득된 조생성물을 실리카겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 4.5 g의 순수한 (R)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시-헥실)-sn-글리세로-3-포스포콜린(다이-OH)을 클로로폼과 4- % 내지 60 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다. 수율은 50 %이었다.

[0906]

1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시-헥실)-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0907]

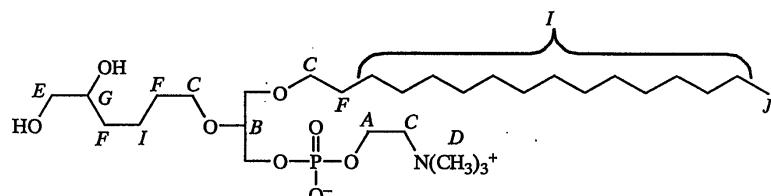
샘플을 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0908]

결과에서는 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0909]

1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0910]

^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.299 ppm)

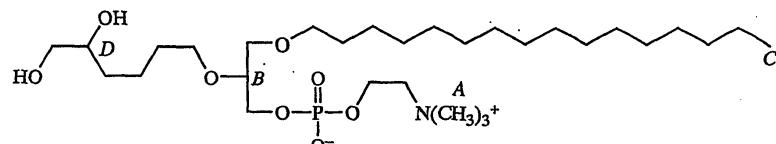
표 39

[0912]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.300	2 H, br, s	A
3.930	2 H, m	E
3.880 - 3.898	1H, m	B
3.653 - 3.784	2 H, m	G
3.477 - 3.566	10 H, m, 5 x CH_2	C
3.320	9 H, s, 3 x CH_3	D
1.506-1.532	6H, m 3 x CH_2	F
1.246	28 H, m, 14 x CH_2	I
0.872	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75$ Hz	J

[0913]

1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0914]

[0915] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.700 ppm)

표 40

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
78.691	B
72.734	
72.443	D
70.993	
70.661	
67.645	
66.843	
66.690	
60.067	
55.007	A
33.669	
33.512	
32.612	
30.586	
30.411	
30.258	
30.051	
26.779	
23.373	
23.176	
14.800	C

[0917] 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0918] 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린($\text{C}_{30}\text{H}_{64}\text{NO}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 597.4370 \circ 였다.

[0919] 고속 원자 충격(FAB+)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 598.400$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}+\text{H}]^+$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시)헥산일-글리세로-3-포스포콜린(다이-OH)의 화학 구조와 일치한다.

[0920] 다이-OH의 독성:

[0921] 다이-OH의 독성을 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[0922] 도 33A 및 33B에 제시된 바와 같이, 다이-OH의 독성을 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 그 이상의 투약량에서 검출하였으며, 다이-OH의 LD_{50} 은 20 내지 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이다.

[0923] 죽상경화 병터 검정:

[0924] 죽상경화 병터에 대한 다이-OH의 생체 내 효능을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 LDL-RD 수컷 마우스에서 시험하였다. 60 mg/kg의 투약량과 동일한 마우스당 1 mg의 투약량으로 다이-OH를 투여하였다.

[0925] 도 34에 제시된 바와 같이, 다이-OH의 1 mg/마우스는 대조군(PBS)과 비교할 때 죽상경화 병터 면적이 25 %까지 감소하였다.

[0926] 이를 결과에서는 다이-OH가 죽상경화증에 대항하여 효과적인 것으로 나타난다.

[0927] 실시예 15

[0928] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린

[0929] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여

(R)-1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하되 (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[0930] 1-(시스-9-헥사데센일)-sn-글리세롤의 합성: 5.32 g의 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올, 12.26 g의 분말화된 수산화 칼륨 및 10 g의 시스-9-헥사데센일-메테인설포네이트를 250 ml의 벤젠 중에서 교반하고, 10.5시간 동안 공비 중류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 50 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 50 ml의 물을 첨가하고, 혼합물을 100 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 100 ml의 물로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(12.01 g)을 메탄올:물:농축 염산의 200 ml의 90:10:3(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 실온에서 밤새도록 교반한 후, 1시간 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 100 ml의 물을 첨가하였다. 생성물을 75 ml의 다이에틸 에터로 3회 추출하고, 연속적으로 100 ml의 물, 중탄산 나트륨의 100 ml의 포화된 수용액, 다시 100 ml의 물로 세척하였다. Na₂SO₄ 위에서 건조시킨 후, 용매를 감압 하에서 제거하고, 9.104 g의 조질의 1-(시스-9-헥사데센일)-sn-글리세롤을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(30 g). 9.07 g의 순수한 1-(시스-9-헥사데센일)-글리세롤을 클로로폼 이어서 클로로폼과 5 % 메탄올의 혼합물에 의해 용출시켰다. 수율은 91.8 %이었다.

(S)-1-(시스-9-헥사데센일)-3-트리틸-sn-글리세롤의 합성: 9.07 g의 1-(시스-9-헥사데센일)-글리세롤을 건조한 THF(160 ml)와 건조한 아세토나이트릴(40 ml)의 혼합물 중에 용해시켰다. 10.52 g 트라이페닐클로로메테인 및 10 ml의 트라이에틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 15시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음 위에 붓고(100 g), 분리 깔대기에 전달하고, 100 ml의 클로로폼으로 3회 추출하였다. 유기 상을 연속적으로 100 ml의 물, 100 ml의 희석된(1.0 %) 황산, 100 ml의 물, 100 ml의 포화된 수성 중탄산 나트륨, 다시 100 ml의 물로 세척하였다. 유기 상을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 고온 헥세인(100 ml) 중에 용해시키고, 생성된 용액을 4 °C에서 36시간 동안 냉각시켰다. 침전된 부산물들을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 14.57 g의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(200 g). 9.81 g의 순수한 1-(시스-9-헥사데센일)-3-트리틸-sn-글리세롤을 클로로폼으로 용출시켰다. 수율은 61.1 %이었다.

(S)-1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-t-뷰틸-카복시)뷰틸-sn-글리세롤의 합성: 8.83 g의 1-(시스-9-헥사데센일)-3-트리틸-sn-글리세롤을 벤젠(170 ml)과 석유 에터(100 ml)의 혼합물 중에 용해시켰다. 분말화된 KOH(23.1 g)를 첨가하고, 반응 혼합물을 가열시키고, 온화하게 환류시켰다. 석유 에터(420 ml) 중의 t-뷰틸-발레레이트(20 ml)의 용액을 25시간에 걸쳐 공비 중류에 의해 형성된 물을 제거하면서 적가하였다. 실온까지 냉각시킨 후, 품산(10 ml)을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 6까지 조정하였다. 혼합물을 다이에틸 에터(3 x 100 ml)로 추출하고, 유기 상을 물(100 ml)로 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 17.72 g의 오일 생성물을 수득하였다. 이 잔류물을 메탄올(50 ml) 중에 용해시키고, 4 ml의 농축 HCl(32 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 5.5시간 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 50 ml의 물을 첨가하고, 혼합물을 다이에틸 에터(3 x 50 ml)로 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 물(50 ml)로 세척하고, 용매 감압 하에서 제거하고, 14.26 g의 조생성물을 수득하였다. 2.93 g의 순수한 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-t-뷰틸-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(110 g). 생성물을 클로로폼:헥세인의 혼합물(1:1 부피 비율), 이어서 클로로폼과 3 % 이하의 에틸 아세테이트의 혼합물로 용출시켰다. 목적 생성물이 함유된 분획물로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수율은 39.2 %이었다.

(R)-1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 1.59 g의 (S)-1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-t-뷰틸-카복시)뷰틸-sn-글리세롤(벤젠을 사용하는 공비 중류에 의해 건조됨) 및 0.7 ml의 트라이에틸아민을 THF(45 ml) 중에 용해시켰다. 이 용액을 18분 동안 교반하면서 THF(20 ml) 중의 POCl₃(0.5 ml)과 트라이에틸아민(0.05 ml)의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 10분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 얼음조 내에서 냉각시키고, THF(54 ml) 중의 에탄올아민(0.38 ml)과 트라이에틸아민(3.25 ml)의 용액을 65분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 냉각시키는 10분 동안 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, THF로 세척하고(2 x 10 ml), 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(2.1 g)을 아세트산(48 ml)과 물(20 ml)의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 다이에틸 에터로 추출하고(2x50 ml), 물로 세척하고(2x50 ml), 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.15 g의 조생성물을 밝은 갈색 오일로서 수득하였다. 이 오일을 메탄올(35 ml)과 다이클로로메테인(100 ml)의 혼합물 중에 용해시켰다. 물(20 ml) 중의 탄산 칼륨(10 g)의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 10분 동안

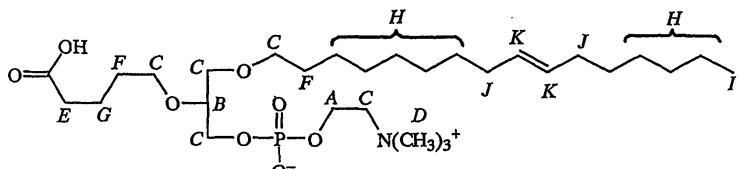
교반하였다. 다이메틸설페이트(2.5 ml)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 1 ml의 다이메틸설페이트를 더 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반하였다. 혼합물을 클로로폼으로 추출하고(3 x 50 ml), 합쳐진 유기 상으로부터 용매를 감압 하에서 제거하여서 2.48 g의 약스 생성물을 수득하였다. 이 잔류물을 메탄올(100 ml) 중에 용해시키고, 물(6 ml) 중의 수산화 리튬(0.19 g)의 용액($\text{pH} \approx 11$)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 품산을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 4 내지 5까지 조정한 후, 혼합물을 클로로폼으로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상으로부터 용매를 감압 하에서 제거하였다. 박막 크로마토그래피에 의한 분석에서는 약 60 % 변환이 제시되었다. 수득된 잔류물을 에탄올(100 ml) 중에 용해시키고, 물(5 ml) 중의 수산화 리튬(0.2 g)의 용액($\text{pH} \approx 11$)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 품산(0.22 ml)을 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 4 내지 5까지 조정한 후, 혼합물을 2:1(v/v) 클로로폼:메탄올로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 2.18 g의 조생성물을 수득하였다. 1.14 g의 순수한 (R)-1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 클로로폼 이어서 클로로폼과 10 % 내지 80 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다.

[0934] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[0935] 샘플들을 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0936] 결과에서는 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0937] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



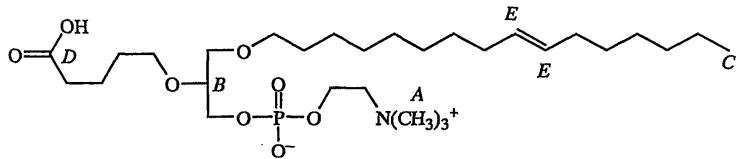
[0938]

[0939] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.26 ppm)

표 41

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
5.340	2 H 바이닐(vinyl), dt, $J_1 = 3.9\text{Hz}$, $J_2 = 1.5\text{ Hz}$	K
3.896	2 H, m	A
3.690	1H, m	B
3.400 - 3.626	10 H, m, 5 x CH_2	C
3.307	9 H, s, 3 x CH_3	D
2.335	2 H, t = 6.9 Hz	E
1.983 - 2.023	4 H, allyl	J
1.6576 - 1.721	2 H, m	G
1.526 - 1.622	4 H, m, 2 x CH_2	F
1.288	18 H, m, 9 x CH_2	H
0.884	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 7.2\text{ Hz}$	I

[0941] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0942]

[0943] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.257 ppm)

표 42

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
178.41	D
130.02	E
129.87	E
77.876	B
71.868	
70.200	
69.940	
65.439	
65.368	
52.725	A
33.896	
31.854	
29.838	
29.799	
29.669	
29.609	
29.568	
29.361	
29.146	
29.049	
27.273	
26.139	
22.724	
21.514	
14.137	C

[0945] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 질량 분광분석 특성화:

[0946] 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린($\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{NO}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 579.3900이었다.

[0947] 고속 원자 충격(FAB+)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 580.3995$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}+\text{H}]^+$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-(시스-9-헥사데센일)-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0948] 실시예 16

[0949] (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤

[0950] 실시예 1에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세롤을 합성하였다. (S)-(+)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하는 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 합성도 또한 실시예 1에 기재되어

있다.

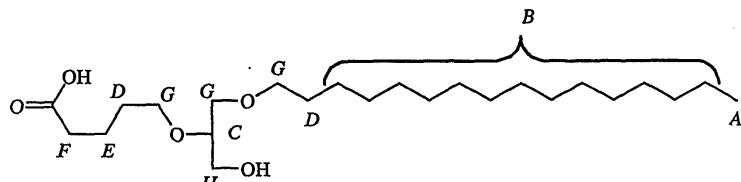
[0951] *(S)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 NMR 특성화:*

[0952] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[0953] 결과에서는 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0954] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:

^1H NMR



[0955]

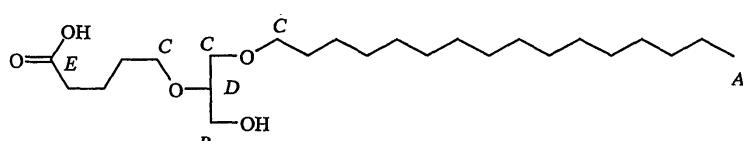
[0956] ^1H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.26 ppm)

표 43

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
3.721	1 H, m	C
3.655	2 H, m	H
3.480 - 3.573	4 H, m, 2 x CH ₂	G
3.431	2 H, m	G
2.403	2 H, t, J = 7.2 Hz	F
1.750	2 H, tt, CH ₂	E
1.653	2 H, tt, CH ₂	D
1.555	2 H, tt, CH ₂	D
1.254	26 H, m, 13 x CH ₂	B
0.880	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 7.2 Hz	A

^{13}C NMR

[0959] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0960]

[0961] ^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.014 ppm)

표 44

[0962]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.95	E
78.495	D
71.914	
70.921	
69.685	C
63.068	B
33.302	
31.937	
29.708	
29.682	
29.633	
29.609	
29.473	
29.372	
29.242	
26.099	
22.701	
21.609	
14.127	A

[0963] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 질량 분광분석 특성화:

[0964] 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤($C_{24}H_{48}O_5$)에 관한 측정된 질량은 416.635이었다.[0965] 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 417.0$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[M+H]^+$. 따라서, MS 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤의 화학 구조와 일치한다.

[0966] 실시예 17

[0967] 1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(diMeAc) 및 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(diEtAc)

[0968] (R)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린 및 (R)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 (R)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시헥산일)-sn-글리세로-3-포스포콜린으로부터 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 제조하였다. 동일한 절차들을 사용하여, (S)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린 및 (S)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린을 (S)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시헥산일)-글리세로-3-포스포콜린으로부터 제조하였다.

[0969] (R)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시헥산일)-sn-글리세로-3-포스포콜린 및 (S)-1-헥사데실-2-(5,6-다이하이드록시헥산일)-글리세로-3-포스포콜린의 합성은 실시예 14에 기재되어 있다.

[0970] (R)-1-헥사데실-2-(5'-옥소-펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린의 합성: 2 g의 소듐 퍼아이오데이트를 물(200 ml) 중의 (R)-1-헥사데실-2-(5',6'-다이하이드록시헥산일)-sn-글리세로-3-포스포콜린(2 g)의 얼음-냉각된 용액에 첨가하고, 반응 혼합물 30분 동안 냉각시키면서 및 실온에서 밤새도록 교반하였다. 반응 혼합물을 분리 깔대기에 전달하고, 클로로폼:메탄올의 2:1(v/v) 혼합물로 추출하고(3x100 ml), 합쳐진 유기 상으로부터 용매를 감압 하여 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하여 제거하였다. 수득된 조생성물을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(21 g). 1.2 g의 순수한 (R)-1-헥사데실-2-(5'-옥소-펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 클로로폼 이어서 클로로폼과 40 % 내지 60 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다. 수율은 63 %이었다.

[0971] (R)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린(diEtAc)의 합성: 반응을 질소 하에서 실시하였다. (R)-1-헥사데실-2-(5'-옥소-펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린(50 mg, 0.088 mmol)을 에탄올(10 ml)

중에 용해시켰다. 트라이에틸 오쏘-폼에이트(0.053 ml, 0.0476 g, 0.32mmol) 및 3방울의 농축된 황산(95 내지 97 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메테인(75 ml)의 도움으로 분리 깔대기에 전달하였다. 용액을 계속적으로 물(75 ml), 2.5 % 소듐 바이카보네이트 수용액(75 ml), 및 물(75 ml)로 세척하고, 무수 황산 나트륨 상에서 건조시켰다. 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 50 mg의 (R)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다. 수율은 88.4 % 이었다.

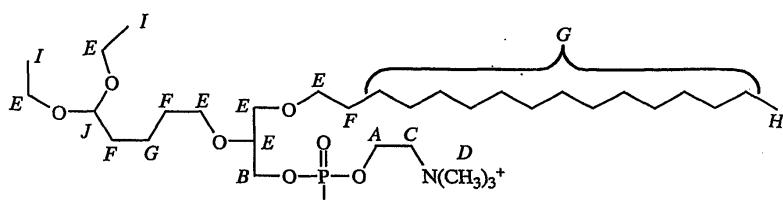
[0972] **(R)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린(diMeAc)의 합성:** 반응을 질소 하에서 실시하였다. (R)-1-헥사데실-2-(5'-옥소-펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린(55 mg, 0.097 mmol)을 메탄올(10 ml) 중에 용해시켰다. 트라이에틸 오쏘-폼에이트(0.043 ml, 0.0414 g, 0.39 mmol) 및 3방울의 농축된 황산(95-97 %)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 다이클로로메테인(75 ml)을 첨가하고, 반응 혼합물을 분리 깔대기에 전달하였다. 용액을 계속적으로 물(75 ml), 2.5 % 소듐 바이카보네이트 수용액(75 ml) 다시 물(75 ml)로 세척하였다. 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 36.8 mg의 (R)-1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-sn-글리세로-3-포스포콜린을 수득하였다. 수율은 62 %이었다.

1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(DiEtAc)의 NMR 특성화:

[0974] 샘플을 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0975] 결과에서는 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0976] 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



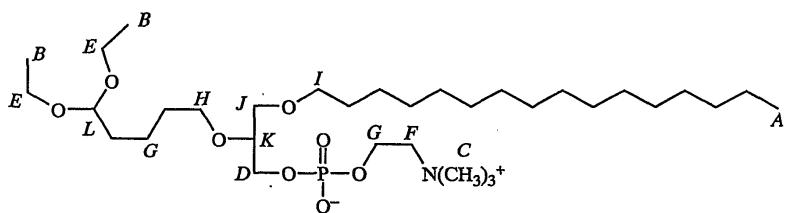
[0977]

[0978] ^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.270 ppm)

표 45

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.459	1 H, t, J = 5.6 Hz	J
4.309	2H, br, s	A
3.859	2H, t, J = 5.4 Hz	C
3.808	2H, br, s	B
3.430-3.679	11H, m, 5 x CH ₂ + CH	E
3.388	9H, s, 3 x CH ₃	D
1.509-1.587	6H, m	F
1.256	28H, 14 x CH ₂	G
1.195	6H, t, 2 x CH ₃ , J = 7.05 Hz	I
0.881	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.6 Hz	H

[0980] 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0981]

[0982] ^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.0046 ppm)

표 46

[0983]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
102.980	L
78.2741	K
71.7498	J
71.0295	I
70.2381	H
65.5827	G
64.9656	F
61.0510	E
59.1392	D
54.6214	C
33.5956	
31.9161	
30.0866	
29.8112	
29.7010	
29.3441	
26.1672	
22.6671	
21.3484	
15.3929	B
14.0619	A

[0984]

1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(DiEtAc)의 질량 분광분석 특성화:

[0985]

1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린($\text{C}_{33}\text{H}_{70}\text{NO}_8\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 639.88이었다.

[0986]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는, $m/z = 640$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 이는 $m/z = 662$ 의 이온이 수반되며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당되고 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 594$ 의 이온을 제시하였으며, 이는 탈-에톡실화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}-\text{OEt}]^+$. 따라서, 질량 분광분석 스펙트럼은 1-헥사데실-2-(5',5'-다이에톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[0987]

1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(DiMeAc)의 NMR 특성화:

[0988]

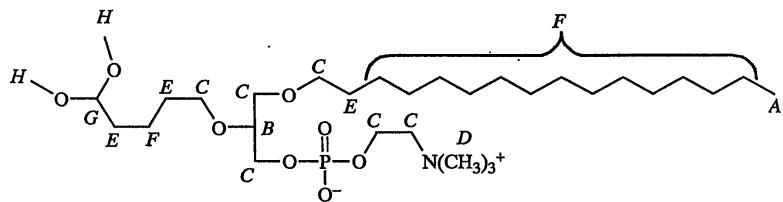
샘플을 중수소화된 클로로포름(CDCl_3) 중에 용해시켰다. ^1H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼을 300 MHz에서 측정하였다.

[0989]

결과에서는 1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린(DiMeAc)의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[0990]

1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0991]

^1H NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.28 ppm)

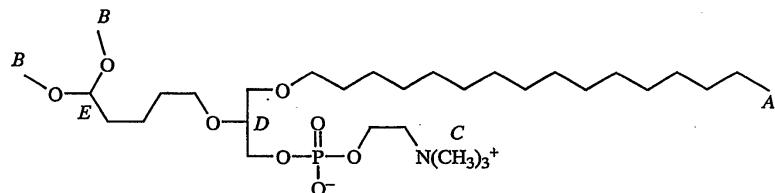
표 47

[0993]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.337	1H, t, $J = 5.7$ Hz	G
3.855	2H, br, s	A
3.834 – 3.855	4H, m, 2 x CH_2	C
3.703	1H, m	B
3.529 – 3.591	4H, m	C
3.430-3.464	2H, m, CH_2	C
3.388	9H, s, 3 x CH_3	D
3.302	6H, s, 2 x CH_3	H
1.506-1.605	6H, m	E
1.256	28H, 14 x CH_2	F
0.880	3H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.9$ Hz	A

[0994]

1-헥사데실-2-(5',5'-다이메톡시펜틸)-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[0995]

^{13}C NMR(300 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.000 ppm)

표 48

[0997]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
104.50	E
78.133	D
71.686	
70.845	
70.121	
66.330	
64.974	
59.187	
54.411	C
52.721	B
52.692	B
32.324	
31.884	
29.963	
29.756	
29.554	
29.320	
26.112	
25.348	
22.646	
21.165	
14.071	A

[0998]

죽상경화 병터 검정:

[0999]

죽상경화 병터에 대한 diMeAc의 생체 내 효능을 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 ApoE KO 마우스에서 시험하였다. 40 mg/kg의 투약량과 동일한 마우스당 1 mg의 투약량으로 diMeAc를 투여하였다.

[1000]

도 35에 제시된 바와 같이, diMeAc의 1 mg/마우스는 대조군(PBS)과 비교할 때 죽상경화 병터 면적이 23 %까지 감소하였다.

[1001]

이들 결과에서는 diMeAc가 죽상경화증에 대항하여 효과적인 것으로 나타난다.

[1002]

diEtAc의 독성:

[1003]

diEtAc의 독성을 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 평가하였다.

[1004]

도 36A 및 36B에 제시된 바와 같이, diEtAc는 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 그 이상의 투약량에서 독성을 나타냈으며, diEtAc의 LD₅₀은 20 내지 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이다. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서, 2개의 실험들 중 하나에서만 독성이 관찰되었다.

[1005]

실시예 18

[1006]

1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰릴-글리세로-3-포스포세린(VB-223)

[1007]

(R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰릴-글리세로-3-포스포세린을 (S)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤로부터 앞서 본원에서 기재된 바와 같이 제조하였다. 동일한 절차들을 사용하여, (S)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-글리세로-3-포스포세린을 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-글리세롤로부터 제조하였다.

[1008]

(S)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세롤 및 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-글리세롤의 합성은 실시예 14에 기재되어 있다.

[1009]

(R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스페이트의 합성: 1.0 g의 (S)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-글리세롤(벤젠을 사용하는 공비 증류에 의해 건조됨) 및 건조한 피리딘(1 ml)을 THF(60 ml) 중에 용해시켰다. 이 용액을 교반하면서 THF(12 ml) 중의 POC₁₃(0.3 ml)의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 3시간 더 냉각시키면서 계속적으로 교반하였다. 냉각된 반응 혼합물에, 물(24 ml) 중의 중탄산 나트륨(2.44 g)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 얼음조 내에서 30분 더 교반하였다. 10 % 염산을 서서히 첨가함으로써 반응 혼합물의 pH를 대략 1까지

조정하였다. 다이에틸 에터로 추출하고(3 x 150ml), 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고(2 x 150 ml), 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하여서 1.43 g의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스페이트를 수득하였다.

[1010] **(R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포-N-Boc-L-세린-벤즈하이드릴 에스터의 합성:** 1.30 g의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스페이트 및 0.95 g의 N-Boc-세린-벤즈하이드릴 에스터(P_2O_5 와 함께 건조제 내에서 건조시킴)를 피리딘(30 ml) 중에 용해시켰다. 2,4,6-트라이아이소프로필 벤젠 살론일 클로라이드(2.99 g)를 첨가하고, 반응 혼합물을 질소 하에서 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 물(50 ml)을 첨가하고, 혼합물을 분리 칼대기에 전달하였다. 헥세인:에틸 아세테이트의 8:2(v/v) 혼합물로 추출하고(3 x 50 ml), 합쳐진 유기 상을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 헥세인:에틸 아세테이트의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고(50 ml), 냉각된 회색 아세트산으로 세척하였다(5%). 그 다음, 용매를 감압 하에서 제거하고, 1.33 g의 조질의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포-N-Boc-L-세린-벤즈하이드릴 에스터를 수득하였다.

[1011] **(R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포-N-Boc-L-세린-벤즈하이드릴 에스터의 합성:** 소듐 퍼아이오데이트(3.0 g), 과망간 칼륨(0.05 g), 탄산 나트륨(0.15 g) 및 탄산 칼륨(0.03 g)을 물(100 ml) 중에 용해시켰다. 이 용액에, t-뷰탄올(100 ml) 중의 (R)-1-헥사데실-2-(5'-헥센일)-sn-글리세로-3-포스포-N-Boc-L-세린-벤즈하이드릴 에스터(0.90 g)의 용액을 실온에서 30분에 걸쳐 적가하였다. 첨가를 완료한 후, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 추가량의 과망간 칼륨(0.02 g)을 첨가하고, 반응 혼합물을 90분 동안 교반하였다. 물(100 ml) 중의 소듐 다이하이드로젠포스페이트(10 g)의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 클로로폼으로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 염수(100 ml)로 세척하고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 1.02 g의 조질의 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포-N-Boc-L-세린-벤즈하이드릴 에스터를 수득하였다.

[1012] **(R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포-L-세린(VB-223)의 합성:** 1.02 g의 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포-N-Boc-L-세린-벤즈하이드릴 에스터를 다이클로로메테인(100 ml) 중에 용해시켰다. 용액을 열음조 내에서 냉각시키고, HCl 기체로 30분 동안 포화시켰다. 반응 혼합물을 1시간 더 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 소듐 다이하이드로젠포스페이트의 수용액을 첨가함으로써 중화시키고, 이어서 클로로폼:메탄올의 2:1(v/v) 혼합물로 추출하였다(3 x 100 ml). 유기 상을 무수 Na_2SO_4 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 조생성물(0.72 g)을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(12.60 g). 0.60 g의 순수한 (R)-1-헥사데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포-L-세린을 헥세인:클로로폼의 1:1(v/v) 혼합물, 이어서 클로로폼, 이어서 클로로폼과 10 % 메탄올의 혼합물로 용출시켰다.

티로신 포스포릴화:

[1014] 일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 VB-223의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 석션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[1015] 도 37에 제시된 바와 같이, 5, 10 및 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (8.3, 16.7 및 33.3 μM) VB-223, 및 아마도 또한 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1.7 μM) VB-223로 처리하면, 티로신 포스포릴화의 유도가 초래되었다.

실시예 18

1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린(VB-221) 및 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민(VB-222)

[1018] 앞서 본원에서 기재된 바와 같되 (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다. 동일한 절차들을 사용하여 (S)-(+)2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올을 출발 물질로서 사용하여 (S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 (S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린을 합성하였다.

[1019] **메테인살론산 2-옥틸-도데실 에스터:** 2-옥틸-1-도데칸올(20 ml, 56.14 mmol) 및 무수 트라이에틸아민(16 ml, 112.28 mmol)을 건조한 다이클로로메테인(60 ml) 중에 용해시켰다. 용액을 0 °C까지 냉각시키고, 건조한 다이클로로메테인(40 ml) 중의 메테인살론일 클로라이드(5.2 ml, 67.36 mmol)를 적가하였다. 첨가의 완료 후, 혼합

물을 0 °C에서 3시간 동안 교반하고, 이어서 밤새도록 냉각시켰다(2 내지 8 °C). 반응 혼합물을 얼음(500 g) 위에 붓고, 실온까지 가온시키고, 에터로 추출하였다(3 x 150 ml). 유기 상을 연속적으로 물(150 ml), 2 % H₂SO₄(150 ml), 물(150 ml), 포화된 중탄산 나트륨(150 ml), 다시 물(150 ml)로 세척하였다. 유기 상을 무수 Na₂SO₄ 위에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 22.8 g의 메테인설폰산 2-옥틸-도데실 에스터를 황색 오일로서 수득하였다.

[1020] **1-(2-옥틸)도데실-글리세롤:** (R)-(-)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔레인-4-메탄올(8.3 ml, 66.59 mmol), 분말화된 수산화 칼륨(12 g) 및 메테인설폰산-2-옥틸-도데실 에스터(22.77 g, 60.50 mmol)를 벤젠(250 ml) 중에서 교반하고, 5시간 동안 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 150 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 200 ml의 물을 첨가하고, 혼합물을 다이에틸 에터(3 x 200 ml)로 추출하였다. 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고(200 ml), 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 메탄올:물:농축 염산의 105 ml의 90:10:5(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 생성된 용액을 30분 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 물(100 ml)을 첨가하였다. 생성물을 클로로포름으로 추출하고(3 x 100 ml), 연속적으로 물(100 ml), 탄산 나트륨의 포화된 수용액(100 ml), 다시 물(100 ml)로 세척하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 조생성물을 실리카 젤 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(400 g). 17 g의 순수한 1-(2-옥틸)도데실-글리세롤을 클로로포름 이어서 클로로포름과 10 % 내지 30 % 에틸 아세테이트의 혼합물에 의해 무색 오일로서 용출시켰다. 수율은 75.5 %이었다.

[1021] **(S)-1-(2-옥틸)도데실-3-트리틸-글리세롤:** 17 g의 1-(2-옥틸)도데실-글리세롤(벤젠을 사용하는 공비 증류에 의해 건조됨)을 건조한 THF(400 ml)와 건조한 아세토나이트릴(160 ml)의 혼합물 중에 용해시켰다. 트라이페닐클로로메테인(15.8 g) 및 건조한 트라이에틸아민(14 ml)을 첨가하고, 반응 혼합물을 17시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 얼음(1 kg) 위에 붓고, 분리 칼대기에 전달하고, 다이에틸 에터로 추출하였다(3 x 200 ml). 합쳐진 유기 상을 연속적으로 물(200 ml), 희석된(1.5 %) 황산(2 x 100 ml), 물(200 ml), 농축된 수성 중탄산 나트륨(200 ml), 다시 물(200 ml)로 세척하였다. 유기 상을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 수득된 조생성물을 실리카 젤 칼럼 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(350 g). 26 g의 순수한 (S)-1-(2-옥틸)도데실-3-트리틸-글리세롤을 헥세인 이어서 헥세인과 클로로포름(50 내지 100 %)의 혼합물에 의해 황색 오일로서 용출시켰다. 수율은 92.7 %이었다.

[1022] **1-(2-옥틸)도데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤:** 1-(2-옥틸)도데실-3-트리틸-글리세롤(26 g, 42.28 mmol) 및 5-헥센일-1-메테인 설포네이트(9.4 g, 50.73 mmol)를 벤젠(150 ml) 중에 용해시켰다. 분말화된 KOH(17 g)를 첨가하고, 반응 혼합물 공비 증류에 의해 형성된 물을 제거하면서 5.5시간 동안 가열 환류시켰다. 용매의 부피를 점진적으로 약 50 ml까지 감소시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시킨 후 200 ml의 물을 첨가하고, 혼합물을 다이에틸 에터로 추출하였다(3 x 100 ml). 합쳐진 유기 상을 염수로 세척하고(3 x 100 ml), 용매를 감압 하에서 제거하고, 22.8 g의 조생성물을 수득하였다. 조생성물을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정제함으로써 21 g의 순수한 1-(2-옥틸)도데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤을 수득하였다. 생성물을 클로로포름으로 황색 오일로서 용출시켰다. 수율은 71.2 %이었다.

[1023] **(S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤:** 소듐 퍼아이오네이트(58 g), 과망간 칼륨(960 mg) 및 탄산 칼륨(7 g)을 물(250 ml) 중에 혼탁시켰다. t-뷰탄올(250 ml) 중의 1-(2-옥틸)도데실-2-(5'-헥센일)-3-트리틸-글리세롤(21 g)의 용액을 2.5시간 동안 적가하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 밤새도록 교반하였다(분홍색을 유지하는데 필요한 요구에 따라 퍼망가네이트 용액을 첨가함). 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하였으며, 이를 t-뷰탄올로 추가로 세척하였다. 10 ml의 희석 황산(10 %)을 적가한 후, 수득된 용액을 헥세인으로 추출하였다(3 x 200 ml). 합쳐진 유기 상을 물(100 ml) 중의 소듐 바이설파이트(20 g)의 용액 이어서 물(200 ml)로 2회 세척하였다. 용매를 감압 하에서 150 ml의 부피까지 농축시켰다. 20 ml의 물 및 5 ml의 농축 HCl을 첨가하고, 수득된 혼합물을 6시간 동안 환류시켰다. 실온까지 냉각시킨 후, 용매를 감압 하에서 농축시키고, 수득된 잔류물을 30 % 수산화 나트륨(10 ml)과 물(100 ml)의 혼합물로 처리하였으며, 반응 혼합물의 pH는 12에 도달하였다. 침전된 트라이페닐 메탄올을 여과하고, 물로 세척하였다(4 x 10 ml). 여액을 1:1(v/v) 혼합물 헥세인:에틸 아세테이트(100 ml)로 추출하였다. 기본 용액을 농축된 HCl(10 ml)로 pH 1까지 산성화시키고, 헥세인(100 ml)으로 추출하였다. 유기 용액을 무수 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 8.5 g의 (S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤을 황색 오일로서 수득하였다. 수율은 60 %이었다.

[1024] **(S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4'-카복시메틸)뷰틸-글리세롤:** (S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세롤(8.39 g)을 메탄올(100 ml) 중에 용해시켰다. 2 ml의 농축 HCl(32 %)을 첨가하고, 용액을 실온에서 밤새도록

교반하였다. 물(100 ml)을 첨가하고, 혼합물을 클로로폼으로 추출하였다($3 \times 100 \text{ ml}$). 합쳐진 유기 상을 연속적으로 물(100 ml), 농축된 소듐 바이카보네이트 용액(100 ml), 및 물(100 ml)로 세척하고, 이어서 무수 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에서 제거하여서 8.48 g의 (S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-글리세롤을 황색 오일로서 수득하였다. 수율은 98 %이었다.

[1025] **(R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민:** (S)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4'-카복시메틸)뷰틸-글리세롤(8.48 g) 및 트라이에틸아민(7.3 ml)을 건조한 THF(50 ml) 중에 용해시켰다. 이 용액을 60분 동안 교반하면서 THF(50 ml) 중의 POCl_3 (4.85 ml)의 얼음-냉각된 용액에 적가하였다. 15분 더 냉각시키면서 및 45분 더 실온에서 계속적으로 교반하였다. 이 반응 혼합물을 얼음 내에서 냉각시키고, 건조한 THF(50 ml) 중의 에탄올아민(3.2 ml)과 트라이에틸아민(15 ml)의 용액을 60분에 걸쳐 교반하면서 적가하였다. 10분 동안 얼음 내에서 이어서 실온에서 밤새도록 계속적으로 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 아세트산(24 ml)과 물(10 ml)의 혼합물 중에 용해시키고, 70 °C까지 1시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 클로로폼으로 추출하였다($3 \times 80 \text{ ml}$). 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고($2 \times 50 \text{ ml}$), 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(11 g)을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(220 g). 4.25 g의 순수한 (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 클로로폼 이어서 클로로폼과 5 % 내지 20 % 메탄올의 혼합물 및 최종적으로 70:26:4 클로로폼:메탄올:물 혼합물로 용출시켰다. 수율은 40 %이었다.

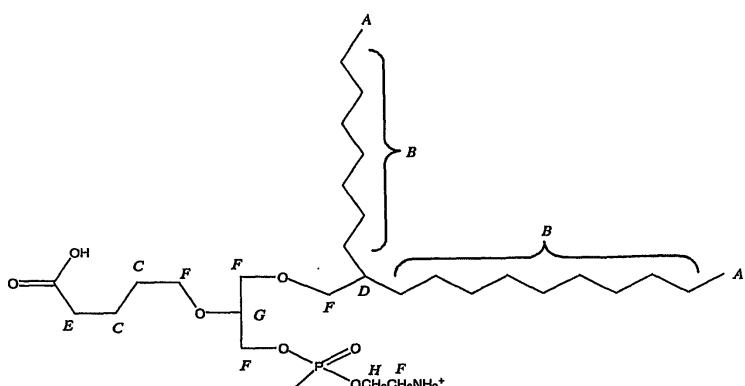
[1026] **(R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(VB-222):** (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(1.2 g)을 메탄올:10 % 수산화 나트륨 용액의 100 ml의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠 포스페이트를 첨가함으로써 반응물의 pH를 5까지 조정하였다. 물(100 ml) 및 클로로폼(100 ml)을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 유기 상으로부터의 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 조생성물(1.2 g)을 실리카 겔 상의 크로마토그래피에 의해 정제하였다(23 g). 생성물을 8:2(v/v) 클로로폼:메탄올의 혼합물 이어서 클로로폼:메탄올:물의 혼합물로 70:26:4, 이어서 60:35:5 부피 비율에서 용출시켰다. 목적 생성물이 함유된 분획물로부터의 용매를 감압 하에서 제거하고, 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압에 의해 제거하고, 500 mg의 순수한 (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민을 왁스로서 수득하였다. 수율은 42.65 %이었다.

1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 NMR 특성화:

[1028] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로폼(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[1029] 결과에서는 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[1030] 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



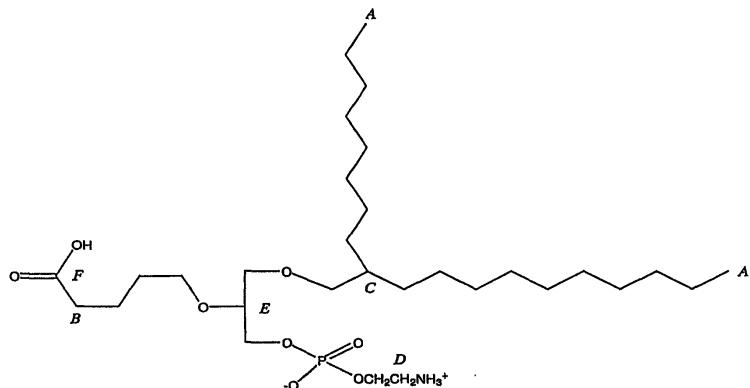
[1031]

[1032] ^1H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.313 ppm)

표 49

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.117	2 H, br, s	H
3.835 – 3.844	1 H, m	G
3.394 – 3.718	10 H, m, 5 x CH_2	F
2.329	2 H, m	E
1.680 – 1.700	1 H, m	D
1.595 – 1.606	2 H, m	C
1.533	2 H, m	C
1.261 – 1.300	32 H, m, 16 x CH_2	B
0.882	6 H, t, 2 x CH_3 , $J = 6.9$ Hz	A

[1034] 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[1035] ^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.189 ppm)

표 50

[1037]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
177.505	F
78.1013 -78.152	E
75.103	
71.013	
70.085	
66.144	
61.989	
40.344	D
38.229	C
33.945	B
31.999	
31.350	
31.305	
31.227	
30.191	
29.792	
29.743	
29.439	
29.291	
26.883	
22.751	
21.792	
21.661	
14.138	A

[1038]

1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 질량 분광분석 특성화:

[1039]

1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민($C_{30}H_{62}NO_8P$)에 관한 측정된 질량은 595.42이었다.

[1040]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 실시된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 596$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[M+H]^+$, 이는 $m/z = 618$ 의 분자 이온이 수반되며, 이는 양이온화된 이온에 해당된다 $[M+Na]^+$.

[1041]

따라서, MS 스펙트럼은 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포에탄올아민의 화학 구조와 일치한다.

[1042]

(R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린: (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(2.62 g)을 아이소프로판올(18 mL)과 다이클로로메테인(40 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다. 물(10 mL) 중의 탄산 칼륨(3 g)의 용액을 적가하면서, 반응 혼합물을 35 내지 40 °C의 온도에서 유지시켰다. 아이소프로판올(10 mL) 중의 다이메틸설페이트(2.1 mL)의 용액을 40 °C에서 적가하였다. 반응 혼합물을 40 °C에서 2시간 동안 유지시킨 후, 실온까지 냉각시키고, 실온에서 밤새도록 교반하였다. 물(100 mL)을 첨가하고, 혼합물을 클로로폼으로 추출하였다(3 x 100 mL). 합쳐진 유기 상을 물로 세척하고(100 mL) 및 용매를 감압 하에서 제거하고, 2.78 g의 (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 백색 왁스로서 수득하였다.

[1043]

(R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(VB-221): (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-메틸카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린(2.78 g)을 메탄올과 10 % 수산화 나트륨 수용액의 100 mL의 8:2(v/v) 혼합물 중에 용해시키고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 소듐 다이하이드로젠포스페이트를 첨가함으로써 반응물의 pH를 5까지 조정하였다. 물(100 mL) 및 클로로폼(100 mL)을 첨가하였다. 상들을 분리시키고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 수득된 잔류물을 클로로폼 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 잔류물(2.7 g)을 실리카 젤 상의 크로마토그래피에 의해 정

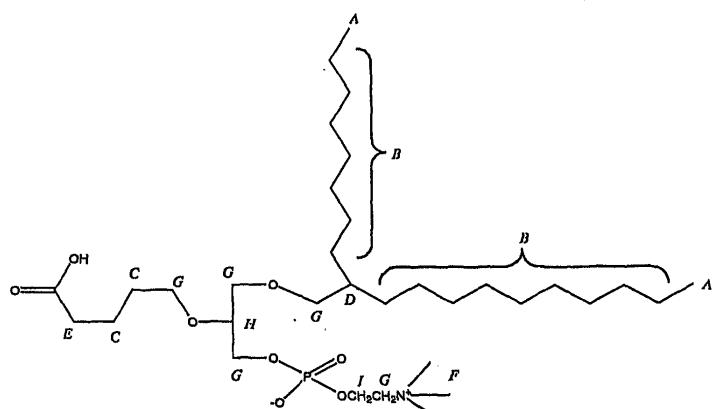
제하였다(50 g). 비극성 불순물을 8:2(v/v) 클로로포름:메탄올로 용출시켰다. 그 다음, 생성물을 클로로포름:메탄올:물의 혼합물로 70:26:4, 이어서 60:35:5의 부피 비율에서 용출시켰다. 용매를 감압 하에서 제거한 후, 수득된 잔류물을 클로로포름 중에 용해시키고, 황산 나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 제거하고, 800 mg의 순수한 (R)-1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린을 백색 액으로서 수득하였다. 수율은 29.4 %이었다.

[1044] 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 NMR 특성화:

[1045] 샘플을 몇몇 소적의 중수소화된 메탄올(CD_3OD)과 함께 중수소화된 클로로포름(CDCl_3) 중에 용해시켰다. 그 다음, 스펙트럼을 600 MHz에서 측정하였다. 샘플들을 ^1H 및 ^{13}C NMR 분광법 둘다에 의해 측정하였다.

[1046] 결과에서는 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 구조 요소들에 관한 예측된 신호들을 제시하였으며 따라서 구조를 완전히 지지하는 것이었다.

[1047] 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^1H 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[1048]

[1049] ^1H NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 7.352 ppm)

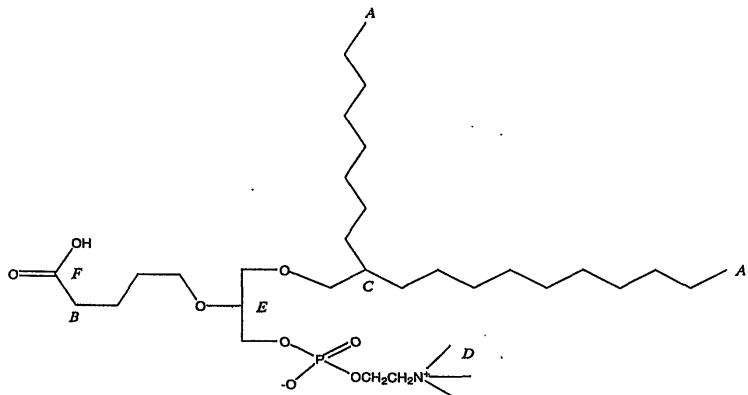
표 51

[1050]

δ [ppm]	설명	지적사항 (상기 화학식 참고)
4.259	2 H, br, s	I
3.983 – 3.983	1 H, m	H
3.607 – 3.833	6 H, m, 3 x CH_2	G
3.432 – 3.493	2H, m	G
3.304 – 3.320	2H, m	G
3.281	9 H, s, 3 x CH_3	F
2.350	2 H, m	E
1.875	1H, m	D
1.710	2 H, m	C
1.602	2 H, m	C
1.262 – 1.313	32 H, m, 16 x CH_2	B
0.883	6 H, t, 2 x CH_3 , $J = 6.9 \text{ Hz}$	A

[1051]

1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린의 구조에 따라 관찰된 ^{13}C 피크의 지적사항은 다음과 같다:



[1052]

[1053]

 ^{13}C NMR(600 MHz, 참고 용매(CDCl_3) = 77.308 ppm)

표 52

[1054]

δ [ppm]	지적사항(상기 화학식 참고)
176.700	F
78.289 – 78.344	E
75.122	
71.137	
70.087	
66.662	
66.011 – 66.046	
59.052 – 59.086	
54.420	D
38.274	C
34.150	B
32.032	
31.397	
31.356	
30.216	
29.809	
29.766	
29.466	
29.370	
26.930	
22.782	
22.102	
14.142	A

[1055]

질량 분광분석 특성화:

[1056]

1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-sn-글리세로-3-포스포콜린($\text{C}_{33}\text{H}_{68}\text{NO}_3\text{P}$)에 관한 측정된 질량은 637.87이었다.

[1057]

전기분무 이온화 질량 분광분석(ES-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 636$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 탈양성자화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

[1058]

포지티브 전기분무 이온화 질량 분광분석(ESI+-MS)을 사용하여 수득된 질량 스펙트럼에서는 $m/z = 638$ 의 분자 이온을 제시하였으며, 이는 양성자화된 분자 이온에 해당되고 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 이는 $m/z = 660$ 의 이온이 수반되며, 이는 양이온화된 분자 이온에 해당된다 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

[1059]

따라서, MS 스펙트럼은 1-(2-옥틸)도데실-2-(4-카복시)뷰틸-글리세로-3-포스포콜린의 화학 구조와 일치한다.

[1060] 티로신 포스포릴화:

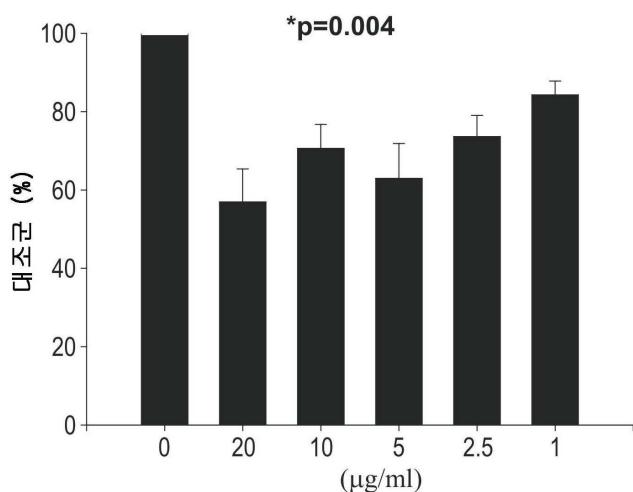
[1061] 일차 대식세포들에서 시험관 내 티로신 포스포릴화에 대한 VB-221 및 VB-222의 효과를 앞서 본원에서 물질 및 방법 섹션에서 기재된 바와 같이 측정하였다.

[1062] 도 38에 제시된 바와 같이, 5, 10 및 20 $\mu\text{g/ml}$ (8, 16 및 32 μM) VB-221로 처리하면 티로신 포스포릴화의 유도가 초래되었다.

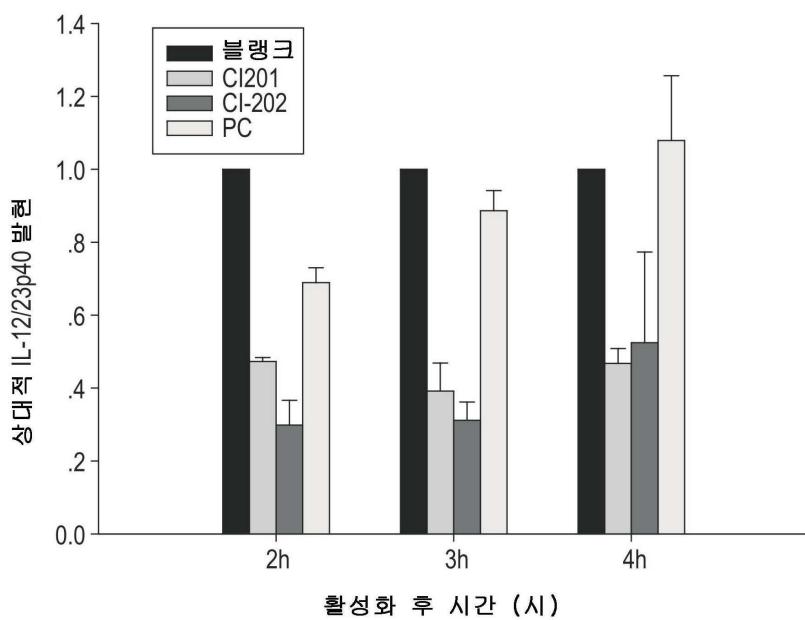
[1063] 유사하게, 도 39에 제시된 바와 같이, 10 및 20 $\mu\text{g/ml}$ (16.8 및 33.6 μM) VB-222로 처리하면 티로신 포스포릴화의 유도가 초래되었다.

도면

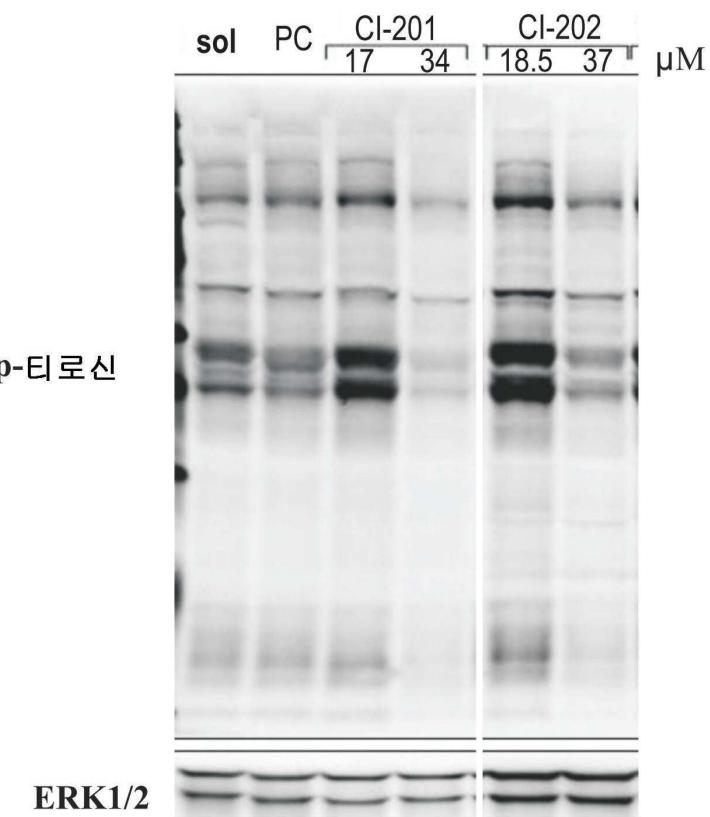
도면1



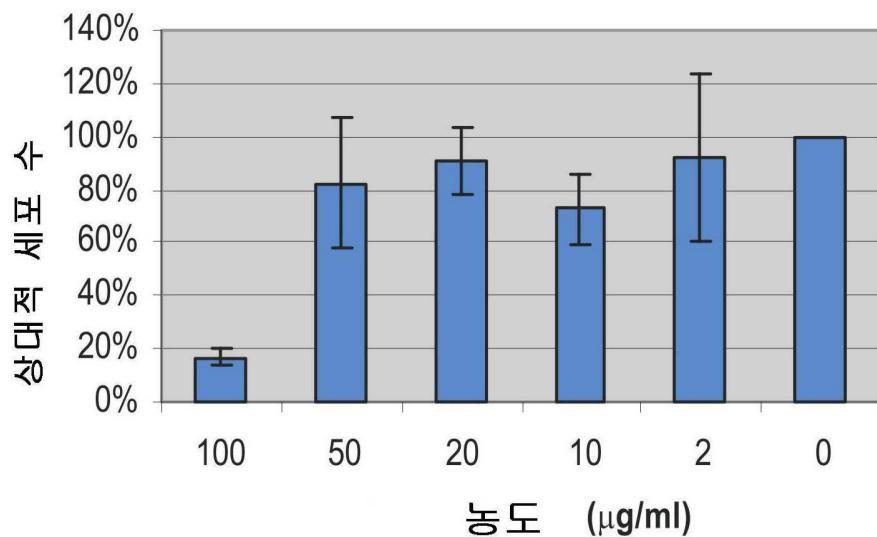
도면2



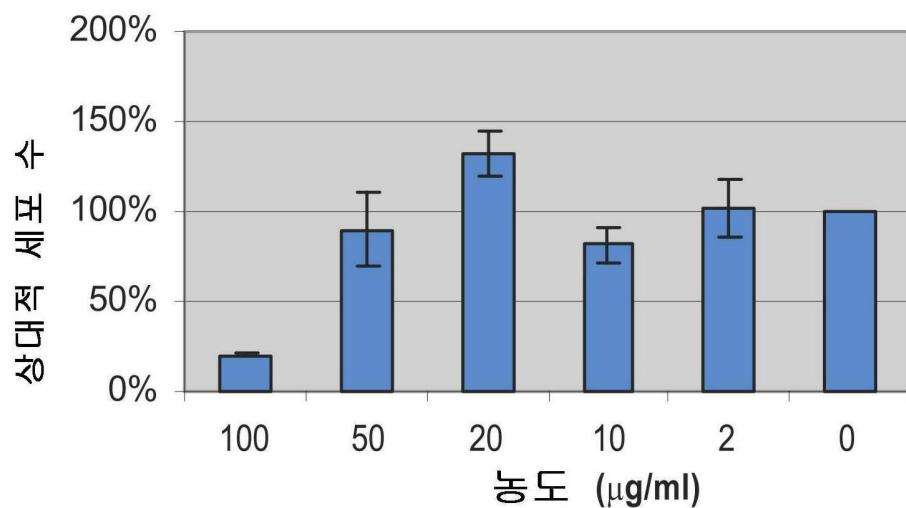
도면3



도면4

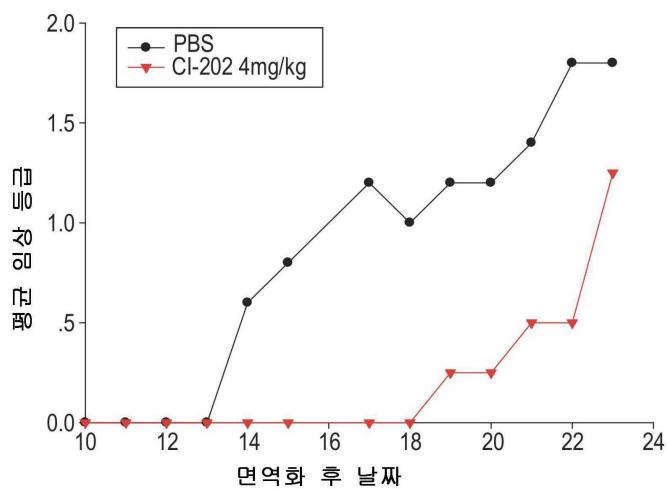


A

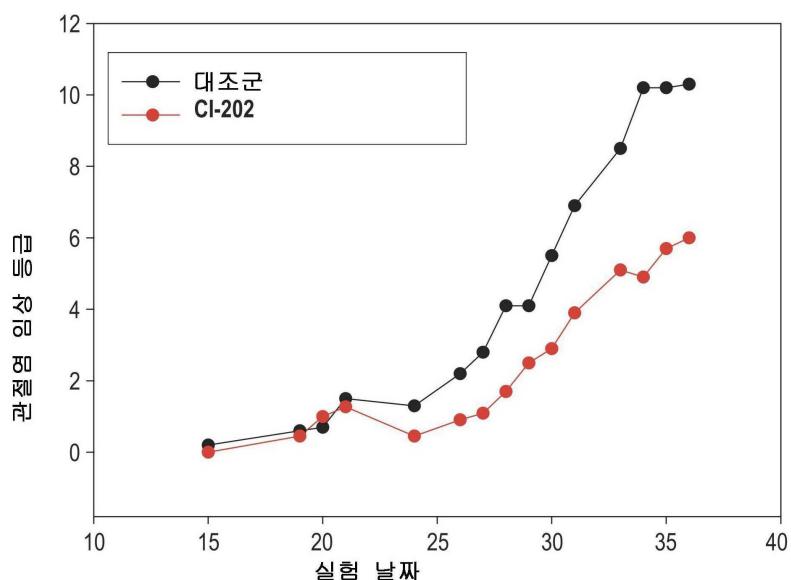


B

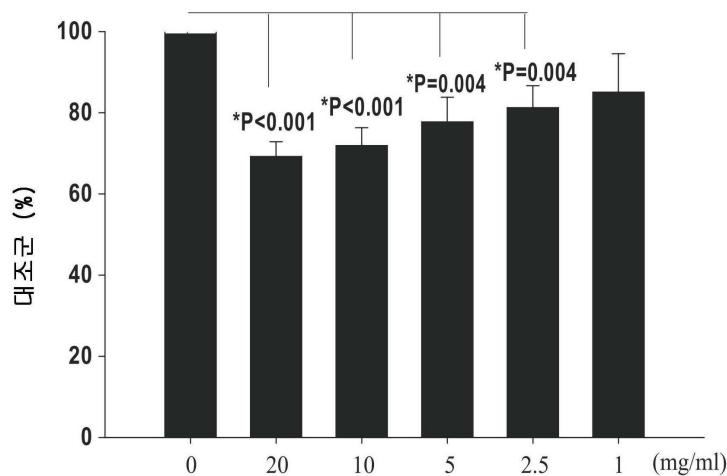
도면5



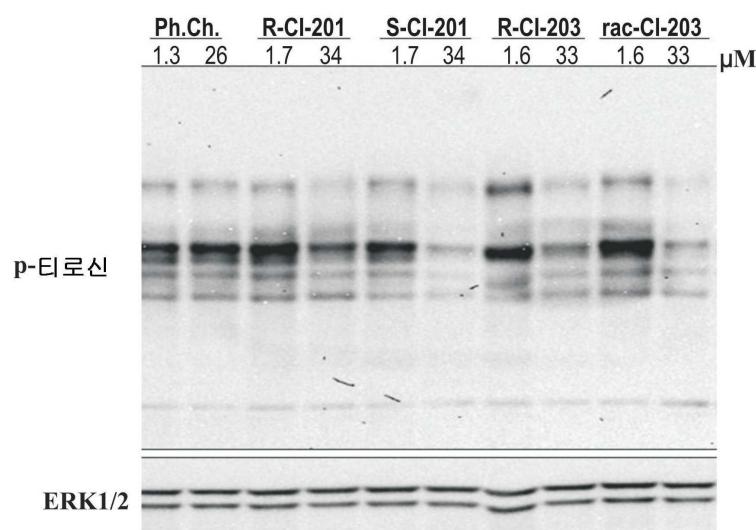
도면6



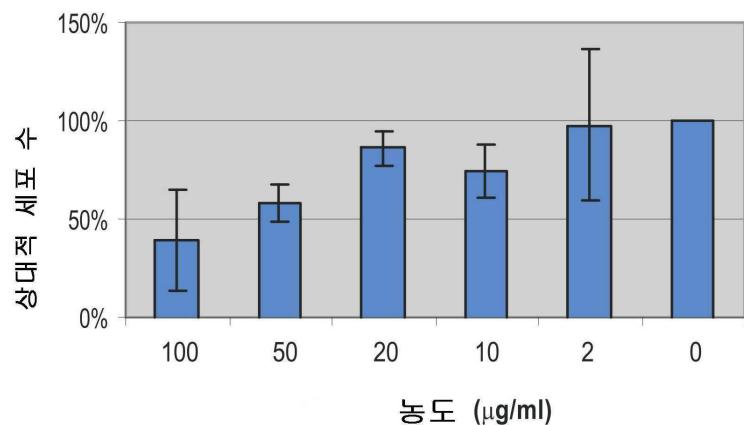
도면7



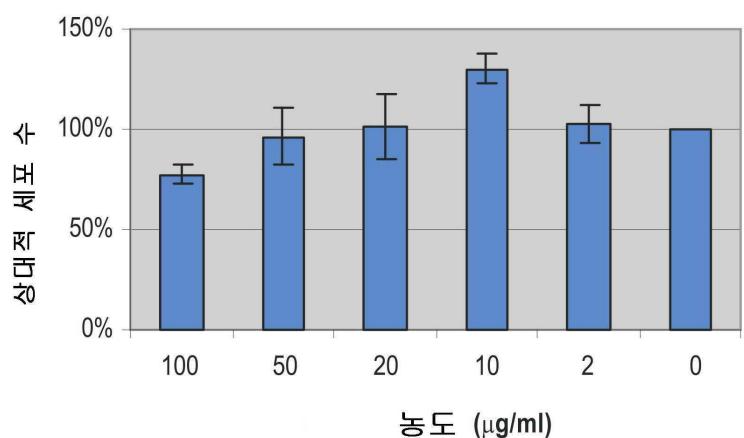
도면8



도면9

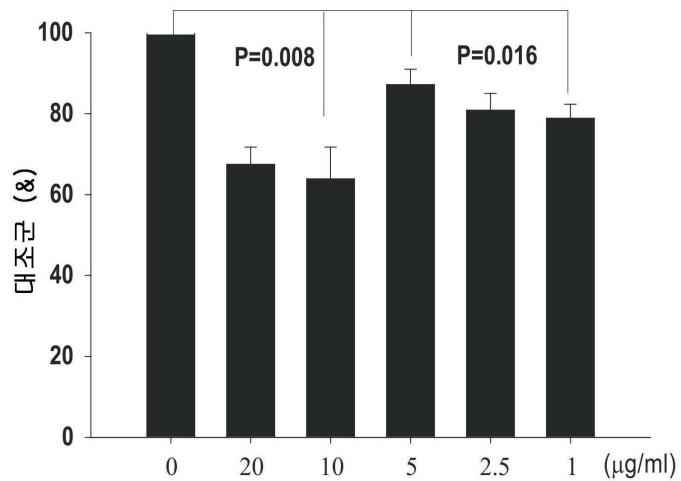


A



B

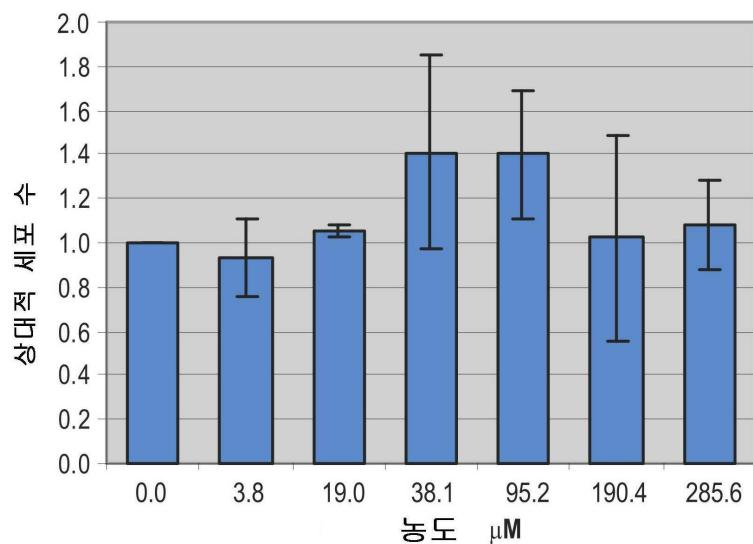
도면10



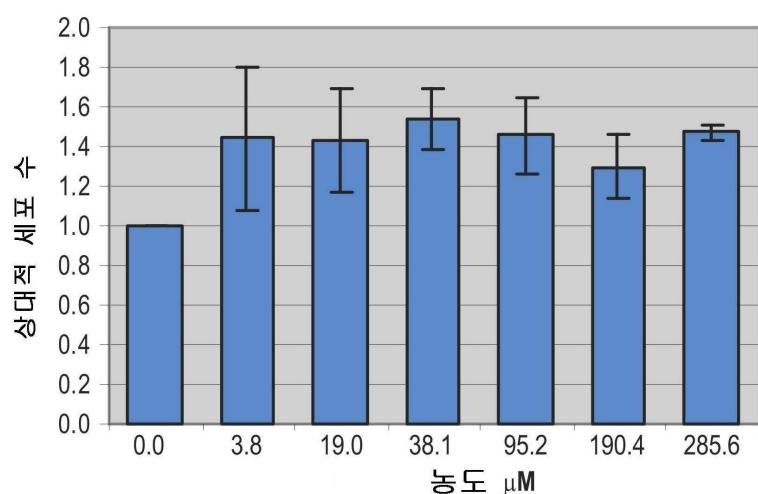
도면11



도면12

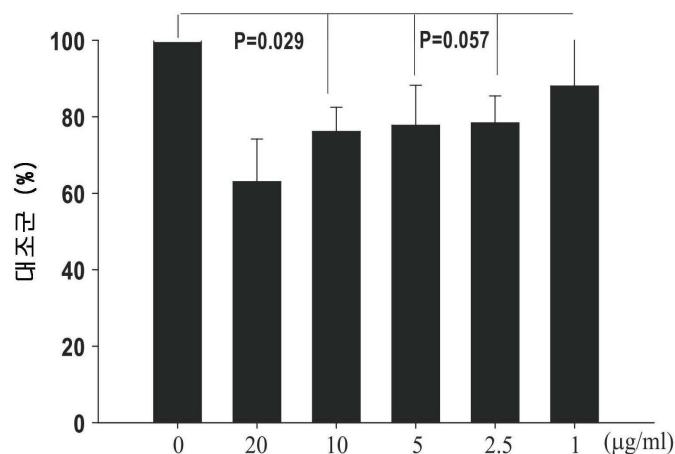


A



B

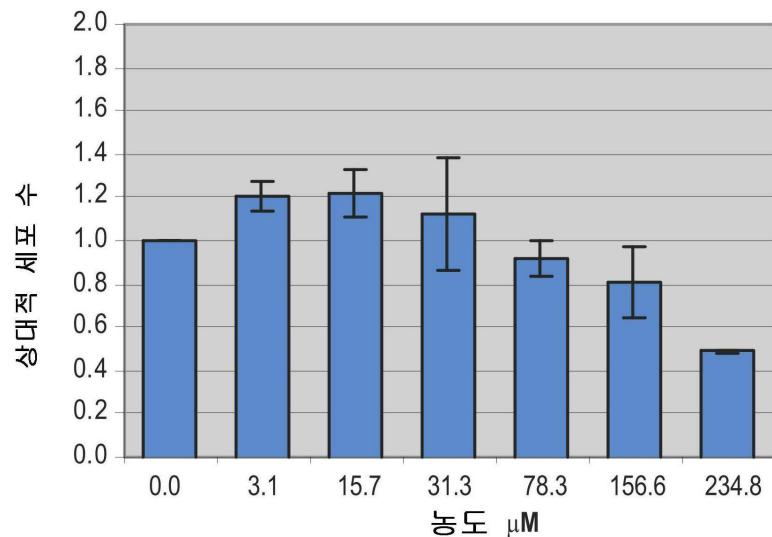
도면13



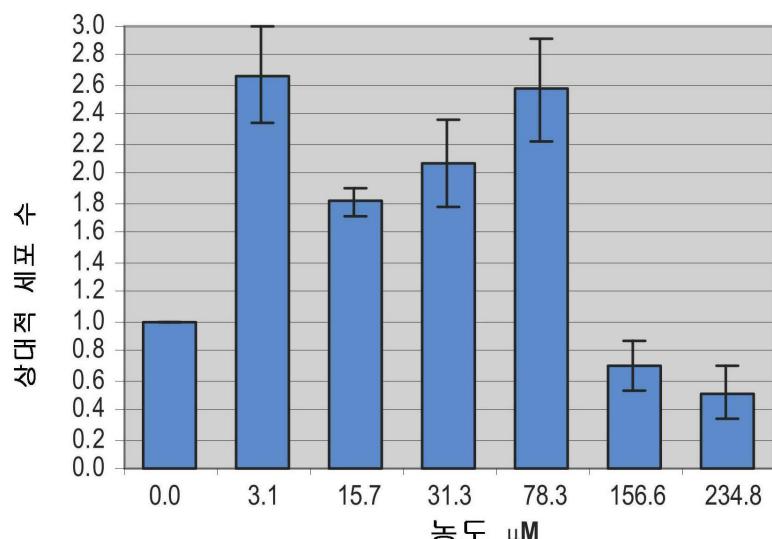
도면14



도면15

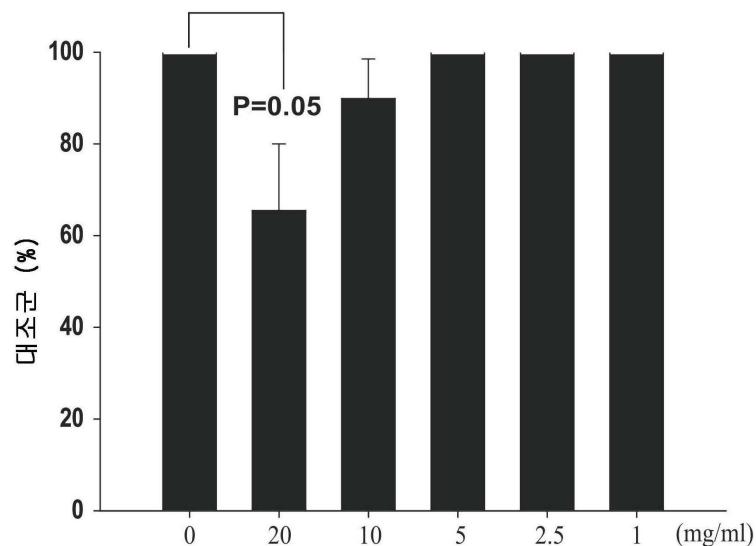


A

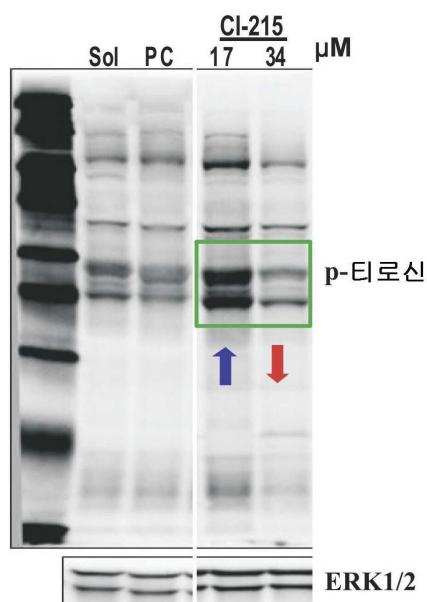


B

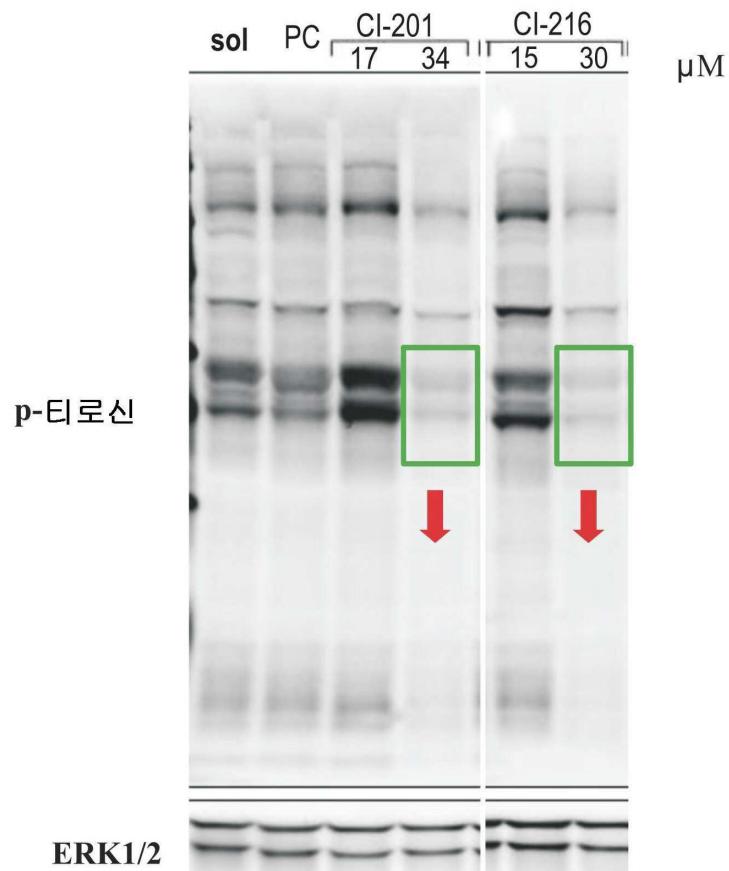
도면16



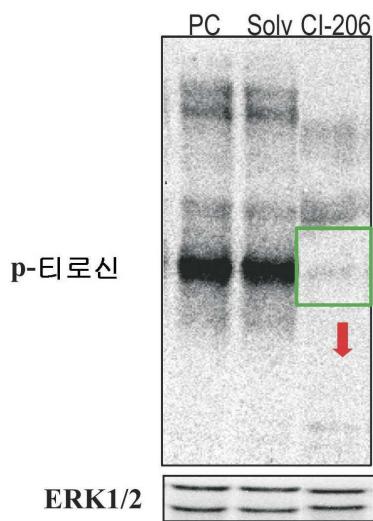
도면17



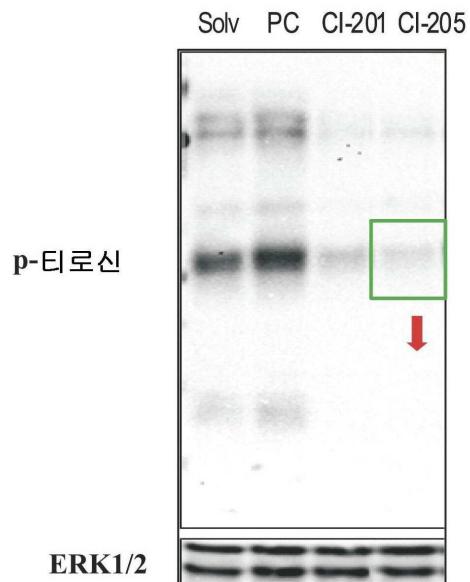
도면18



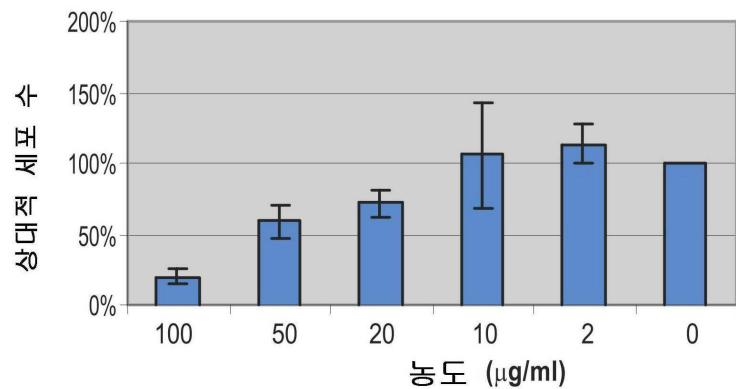
도면19



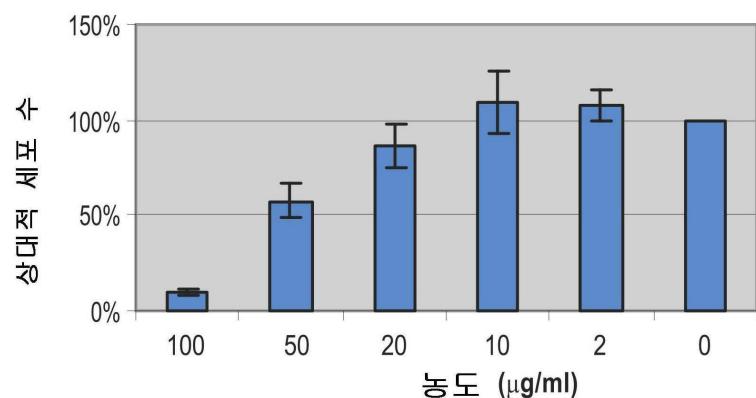
도면20



도면21

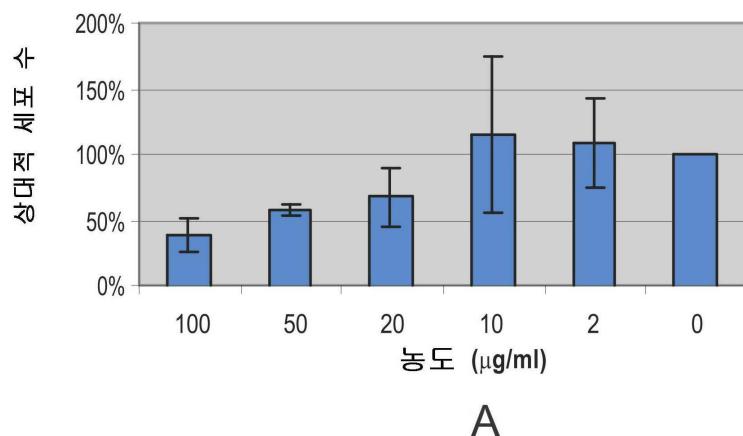


A

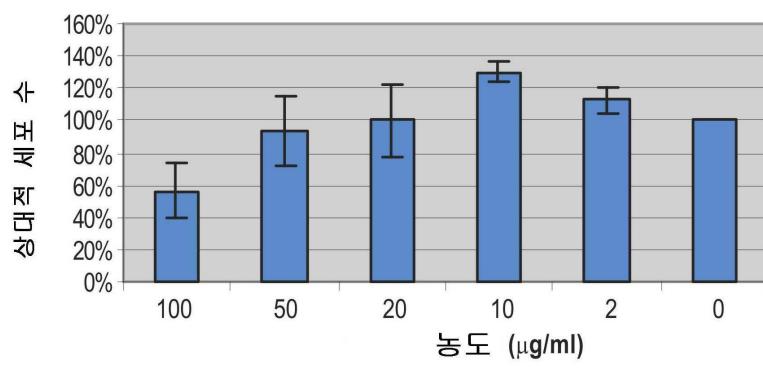


B

도면22

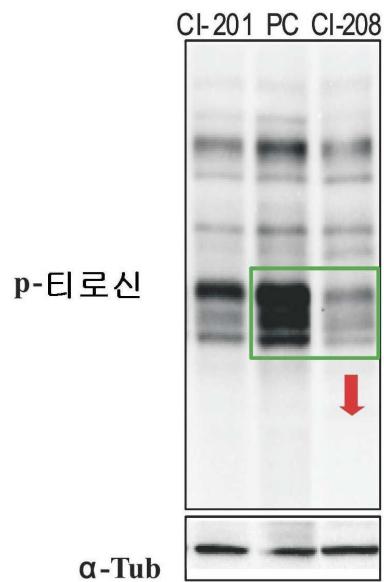


A

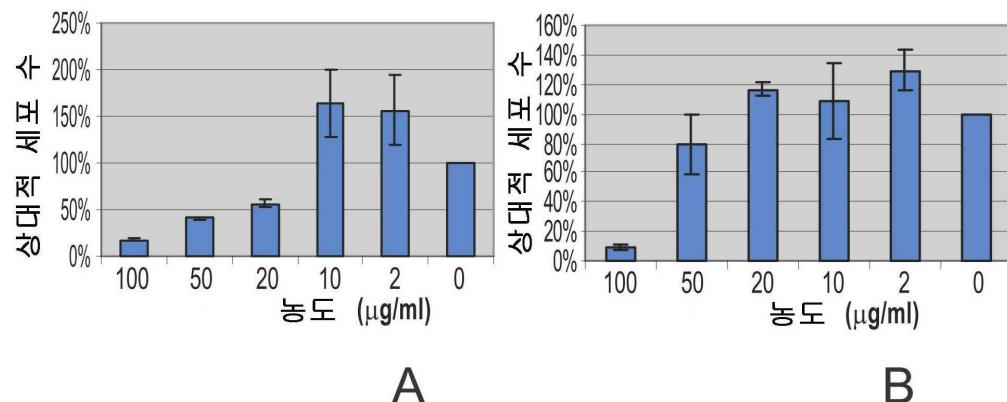


B

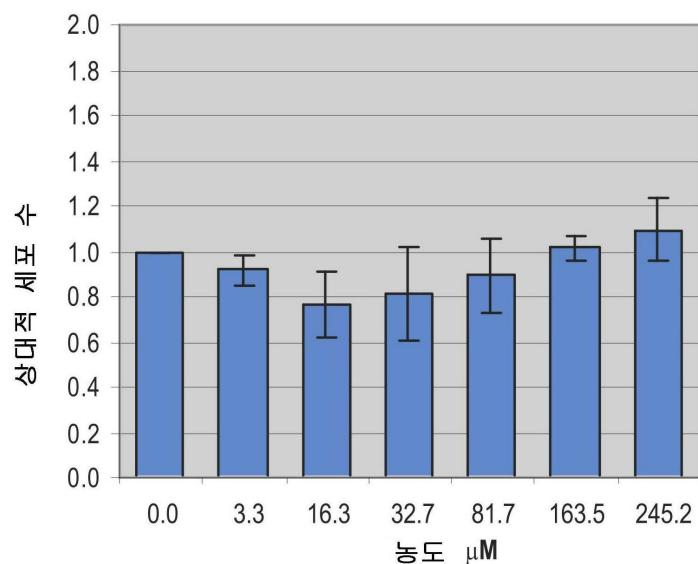
도면23



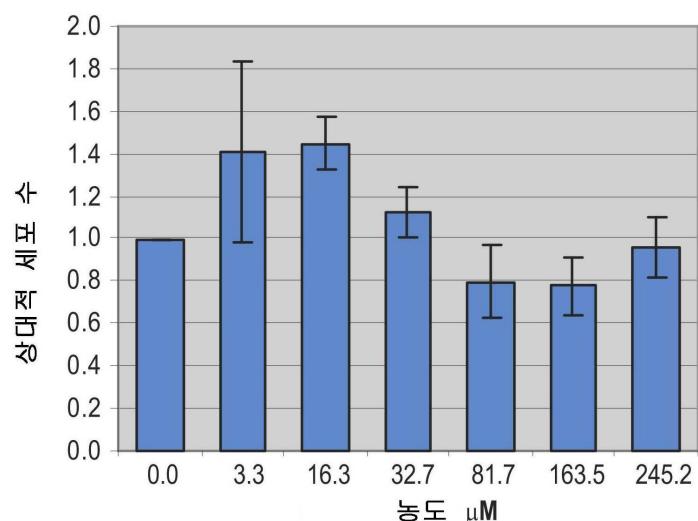
도면24



도면25

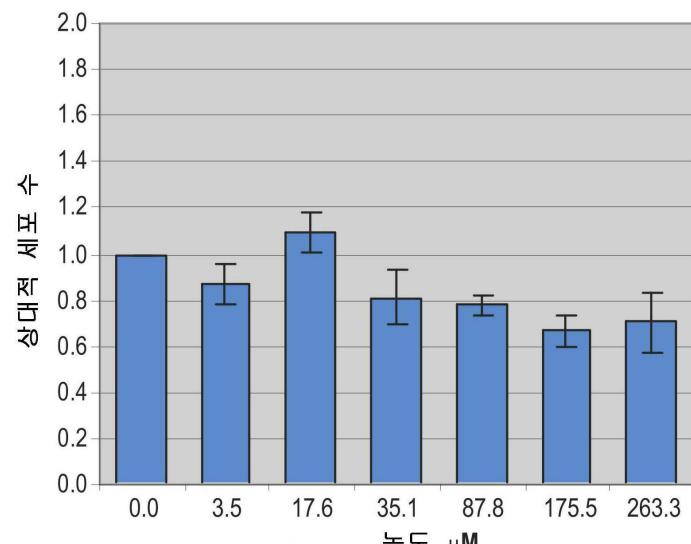


A

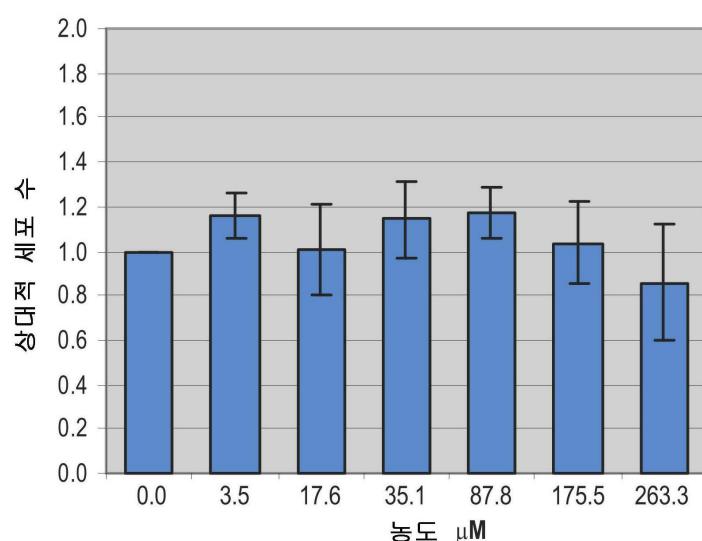


B

도면26

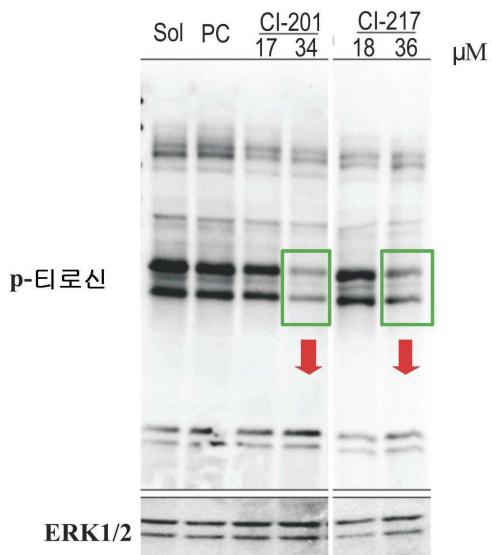


A

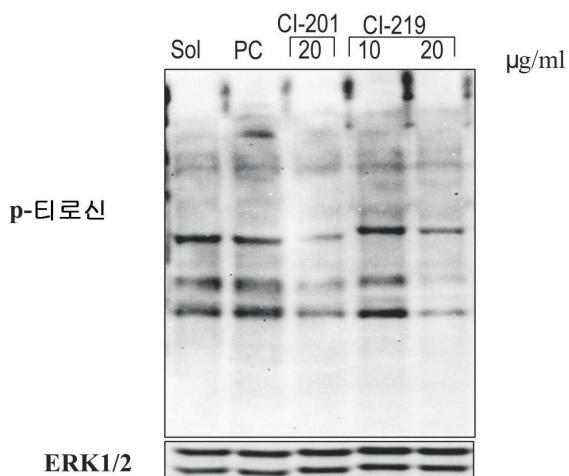


B

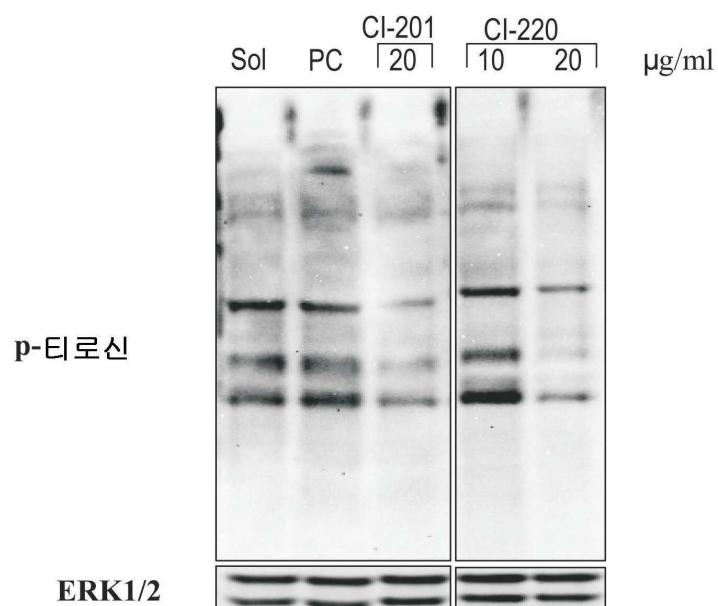
도면27



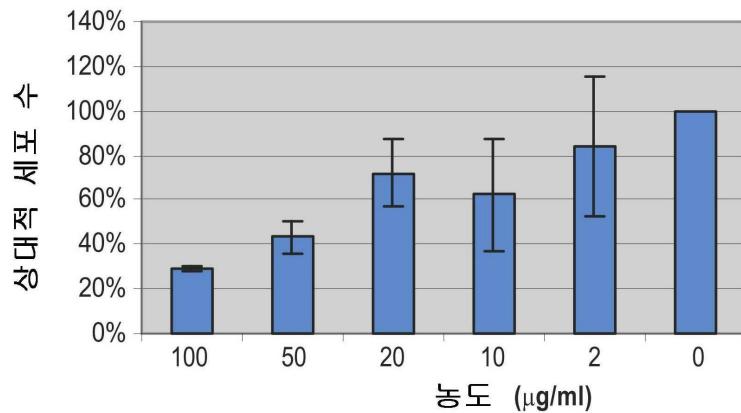
도면28



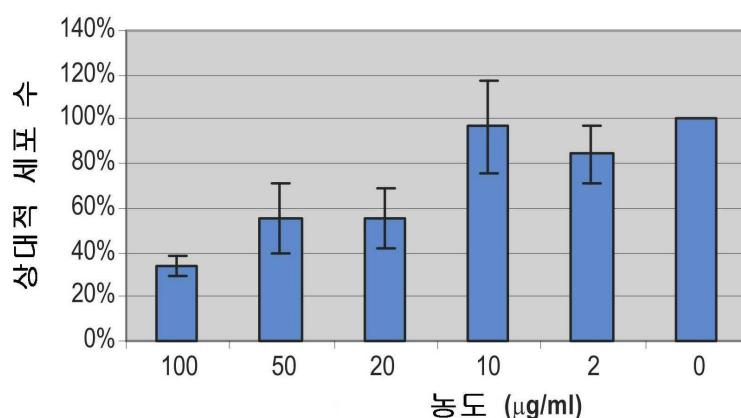
도면29



도면30

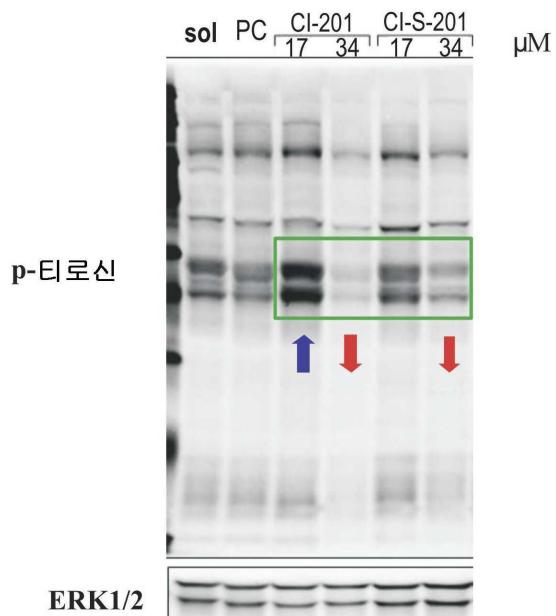


A

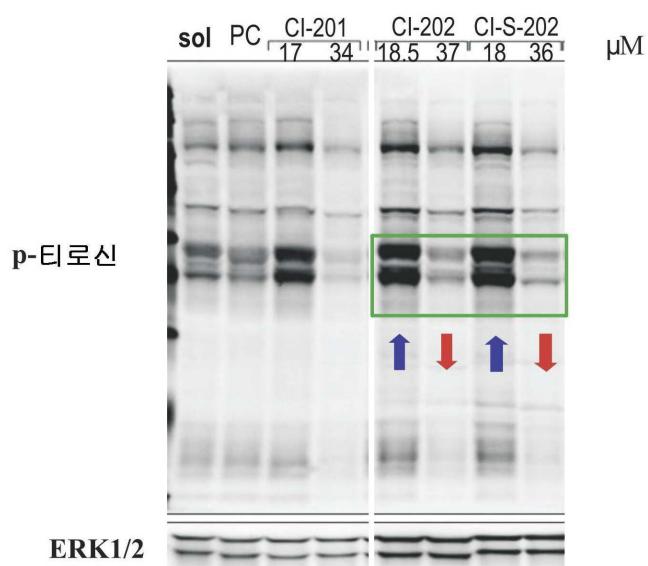


B

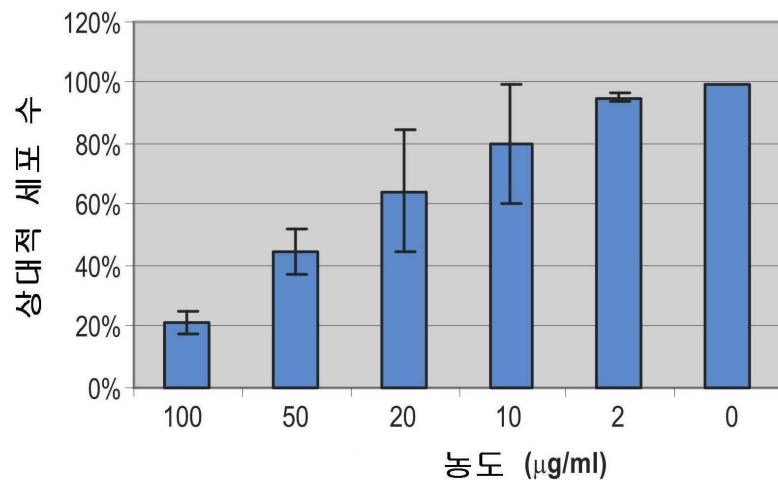
도면31



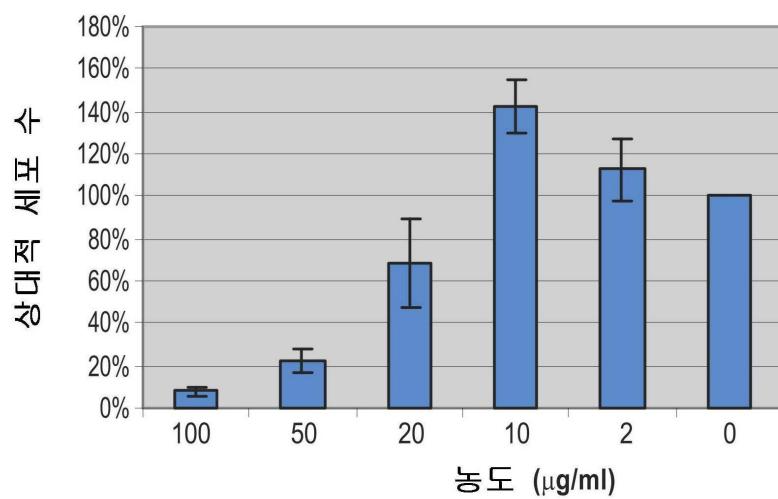
도면32



도면33

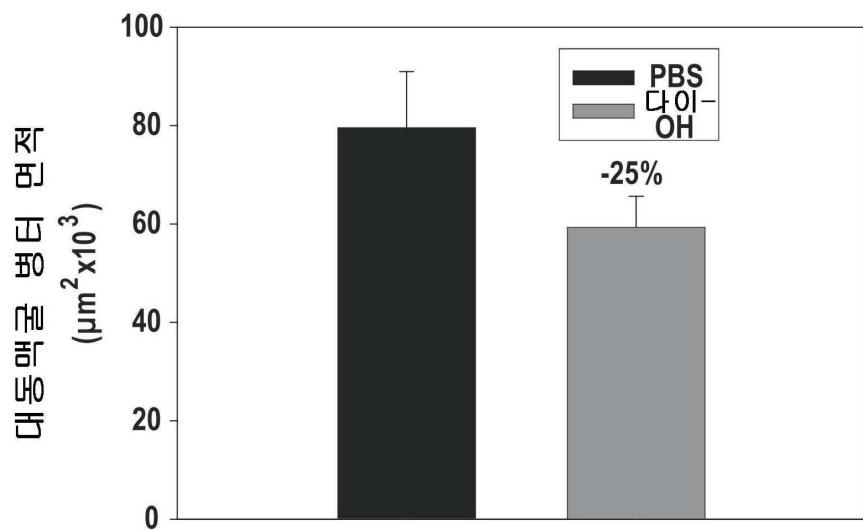


A

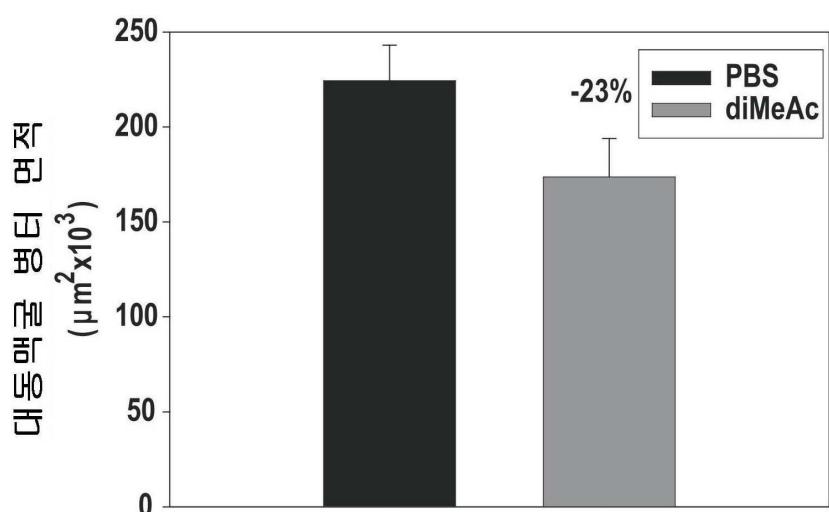


B

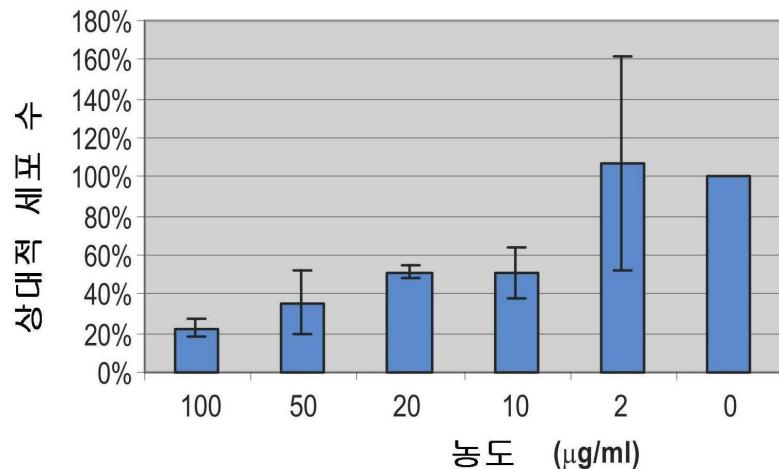
도면34



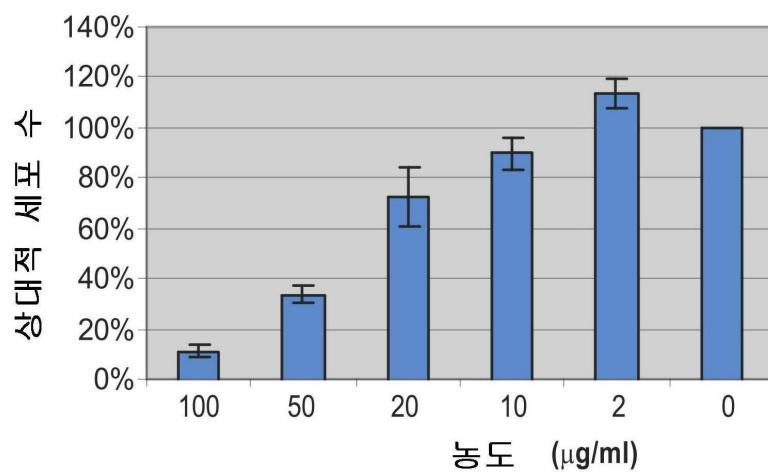
도면35



도면36

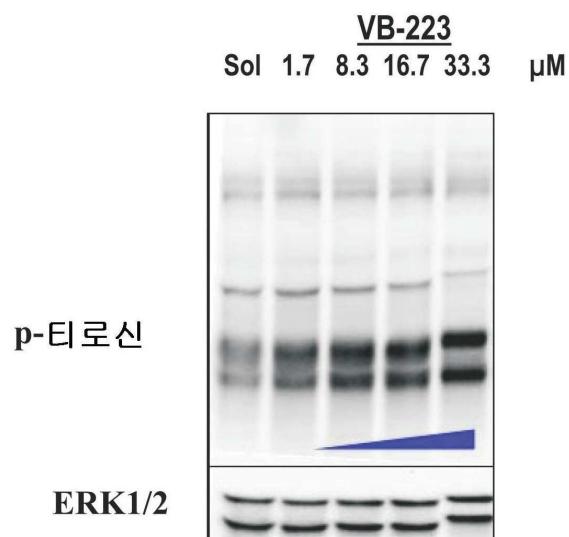


A

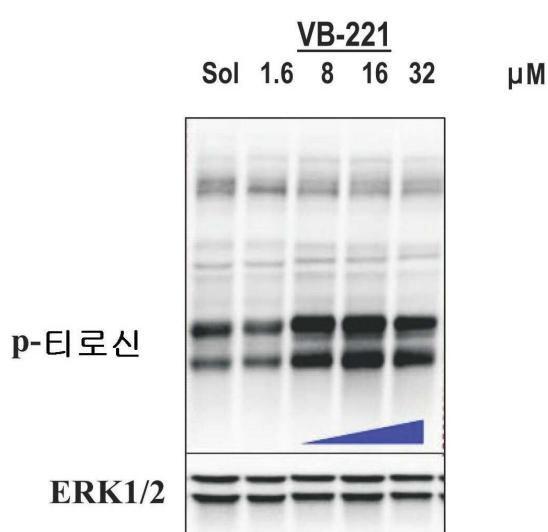


B

도면37



도면38



도면39

