



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0166554  
(43) 공개일자 2024년11월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 211/60 (2006.01) A61K 47/22 (2017.01)  
A61K 48/00 (2006.01) A61K 9/51 (2006.01)  
C07D 207/12 (2006.01) C07D 207/16 (2006.01)  
C07D 403/04 (2006.01) C07D 403/12 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07D 211/60 (2013.01)  
A61K 47/22 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7035573
- (22) 출원일자(국제) 2023년03월24일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년10월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2023/016300
- (87) 국제공개번호 WO 2023/183616  
국제공개일자 2023년09월28일
- (30) 우선권주장  
63/323,948 2022년03월25일 미국(US)

- (71) 출원인  
세일 바이오메디슨스, 인크.  
미국, 메사추세츠 02140, 캠프릿지, 스위트 601,  
퍼스트 스트리트 140
- (72) 발명자  
바르톨로치, 알레산드라  
미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20  
프라우드풋, 존  
미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인더웨이브

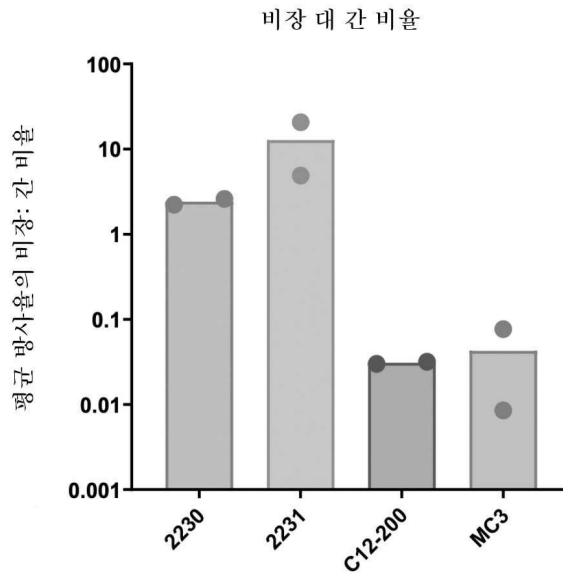
전체 청구항 수 : 총 55 항

(54) 발명의 명칭 신규한 이온화 가능 지질 및 지질 나노입자, 및 이를 사용하는 방법

(57) 요약

본 개시는 신규한 이온화 가능 지질 및 지질 조성물, 및 치료제의 전달에 사용될 수 있는 이러한 이온화 가능 지질을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 48/0033* (2013.01)

*A61K 9/5123* (2013.01)

*C07D 207/12* (2013.01)

*C07D 207/16* (2013.01)

*C07D 403/04* (2013.01)

*C07D 403/12* (2013.01)

(72) 발명자

**아디카리, 아리짓**

미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

**파텔, 시다스**

미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

**하우, 알레이나**

미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

**살레르노, 도미닉**

미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

**유니언, 제니퍼**

미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

**아디카리, 산딕**

미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

**에드만, 로만**

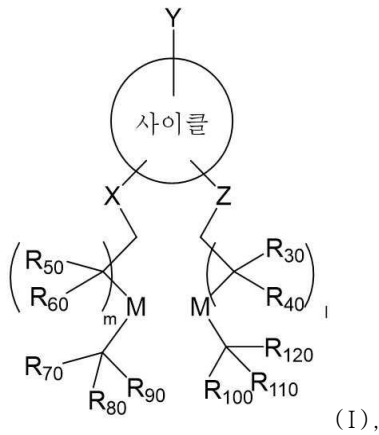
미국 02140 메사추세츠주 캠프릿지 스위트 300 아  
콘 파크 드라이브 20

명세서

청구범위

청구항 1

식 (I)의 화합물:



이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서,

식 중:



은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

Y는 알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는  $\begin{matrix} \text{---} \\ \text{---} \end{matrix} \text{---} \text{A} \text{---} \begin{matrix} \text{---} \\ \text{---} \end{matrix} \text{---} \text{W}$  이고;

A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-, 또는 2가 헤테로환이고;

X 및 Z 각각은 독립적으로 부재하거나, -O-, -CO-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

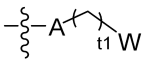
R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>70</sub>, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 치환된, C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐; 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

l 및 m 각각은 1 내지 10의 정수이고;

t1은 0 내지 10의 정수이고;

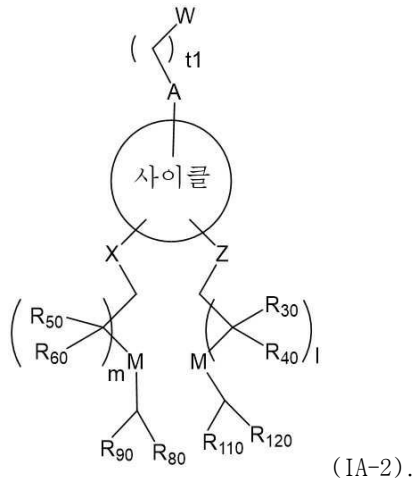
W는 하이드록실, 치환된 또는 치환되지 않은 하이드록시알킬, 치환된 또는 치환되지 않은 아미노, 치환된 또는 치환되지 않은 아미노카르보닐, 또는 치환된 또는 치환되지 않은 헤테로실릴 또는 헤테로아릴인, 화합물.

청구항 2

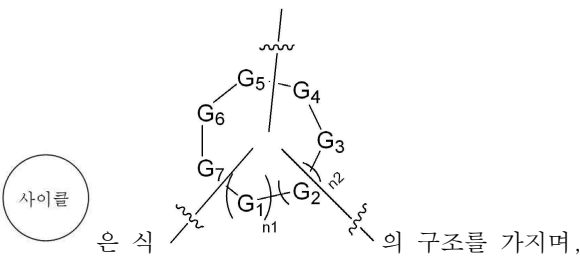
제1항에 있어서, Y는 하이드록실 또는  인, 화합물.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 다음의 구조를 갖는 화합물:



**청구항 4**

제1항 또는 제3항에 있어서,  은 식


식 중:

G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>, 및 G<sub>7</sub> 각각은 독립적으로 C(R')(R''), 0, 또는 N이되, 단 G<sub>1</sub> 내지 G<sub>7</sub> 중 2개 이하가 0 또는 N이고;


R' 및 R''는 각각 독립적으로 부재하거나, H, 알킬이거나, 2개의 이웃하는 G로부터의 2개의 R'은 함께 제2의 5 내지 7원 환형 또는 헤테로환형 고리를 형성하고;

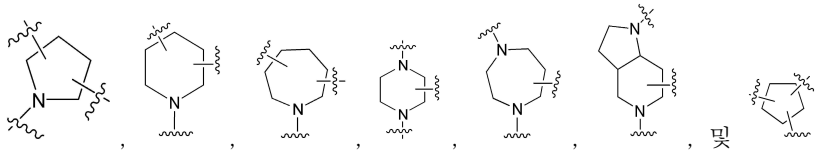
n<sub>1</sub> 및 n<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 0 또는 1인, 화합물.

**청구항 5**

제4항에 있어서,  은 피롤리딘, 피페리딘, 피페라진, 시클로헥산, 시클로펜탄, 테트라하이드로푸란, 테트라하이드로피란, 모르폴린, 및 디옥산으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물.

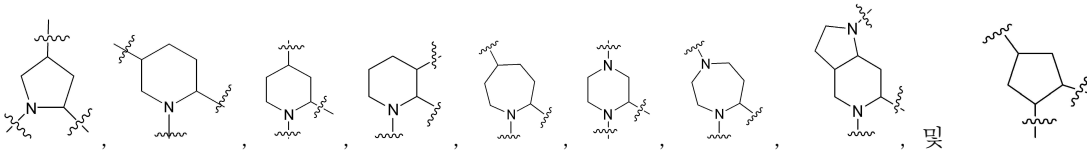
**청구항 6**

제4항에 있어서,  은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물:



**청구항 7**

제6항에 있어서, 사이클 은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 화합물:



**청구항 8**

제1항 또는 제3항에 있어서, X는 -O-, 또는 -C(O)-인, 화합물.

**청구항 9**

제1항 또는 제3항에 있어서, Z는 -O-, -C(O)O-, 또는 -OC(O)-인, 화합물.

**청구항 10**

제1항 또는 제3항에 있어서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬인, 화합물.

**청구항 11**

제10항에 있어서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H인, 화합물.



**청구항 12**

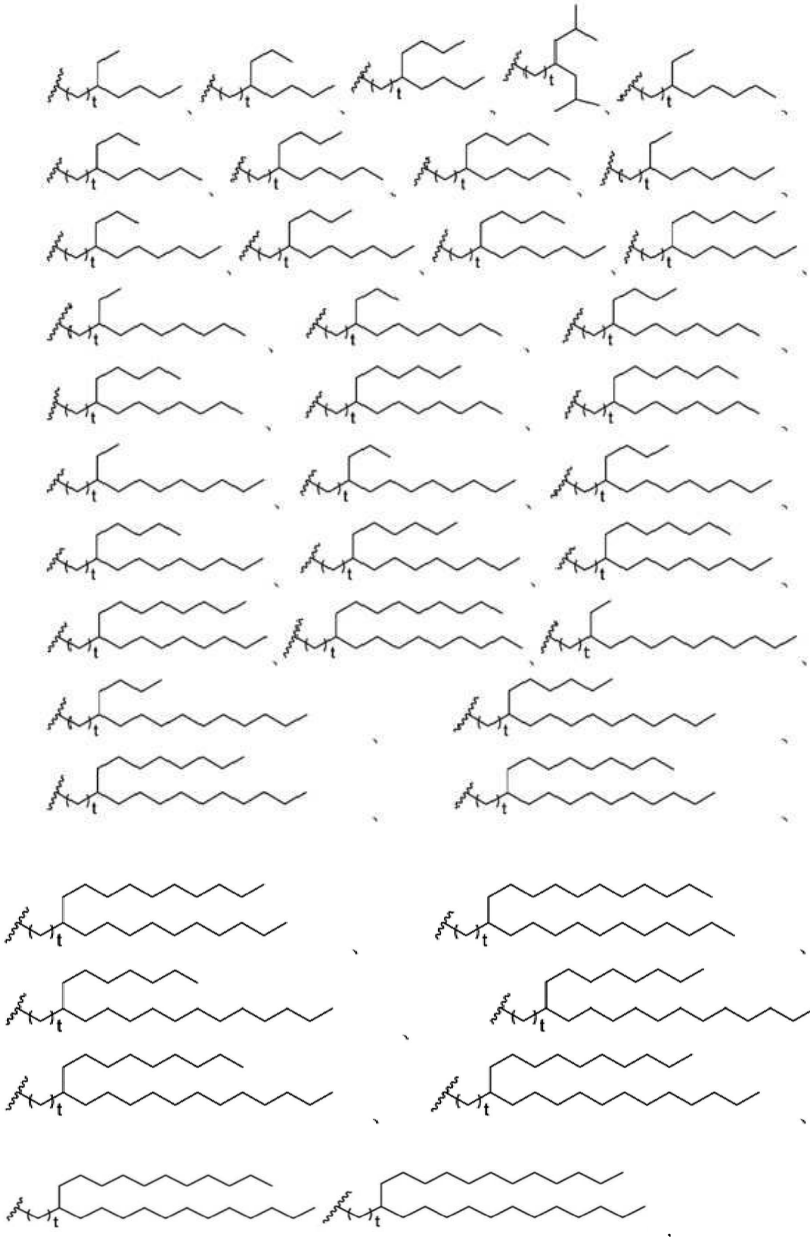
제1항 또는 제3항에 있어서,

R<sub>70</sub>은 H이고; R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이고;

R<sub>100</sub>은 H이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이되, 단 R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 중 적어도 하나는 H가 아니고, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 중 적어도 하나는 H가 아닌, 화합물.

청구항 13

제12항에 있어서,  또는  는 다음으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되고:



식 중 t는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5인, 화합물.

청구항 14

제1항 또는 제3항에 있어서, l은 3 내지 7의 정수인, 화합물.

청구항 15

제1항 또는 제3항에 있어서, m은 1 내지 5의 정수인, 화합물.

청구항 16

제1항 또는 제3항에 있어서, M은  $-OC(O)-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-N(R^7)C(O)-$ ,  $-C(O)N(R^7)-$ ,  $-C(O-R_{13})O-$ ,  $-C(O)O(CH_2)_f-$ ,

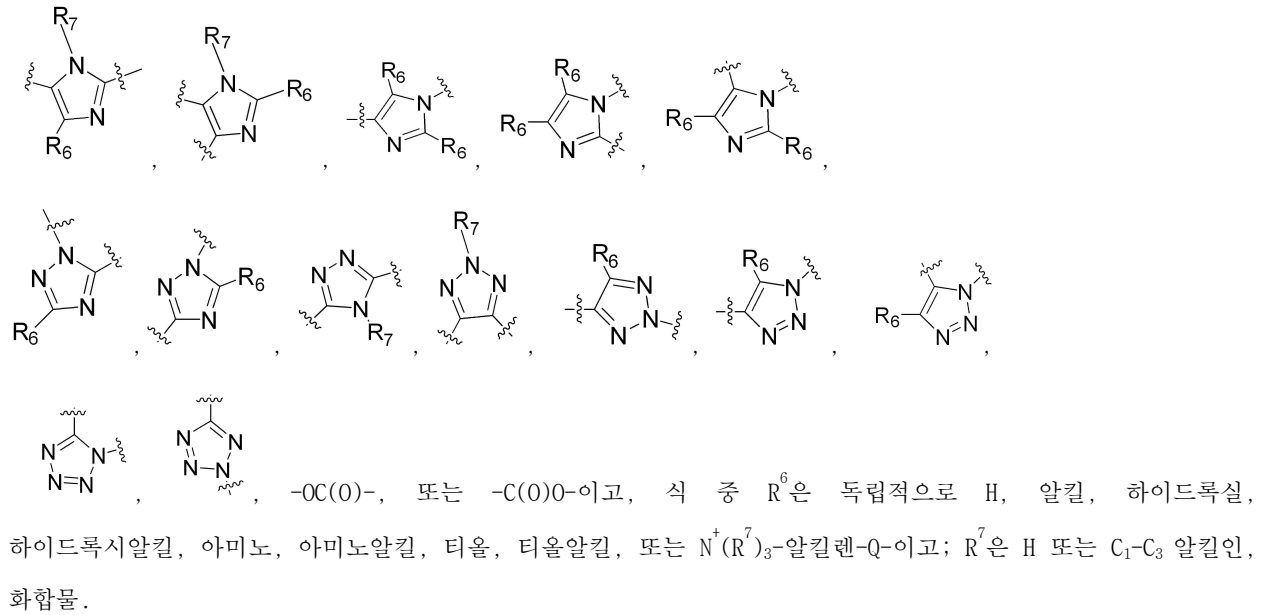
$-C(O)N(R^7)(CH_2)_r-$ , 또는  $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_r-$ 이고, 여기서 각각의  $R^7$ 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;  $R_{13}$ 은 분지형 또는 비분지형  $C_3-C_{10}$  알킬이고,  $r$ 은 1, 2, 3, 4, 또는 5인, 화합물.

**청구항 17**

제16항에 있어서, M은  $-OC(O)-$  또는  $-C(O)O-$ 인, 화합물.

**청구항 18**

제1항 또는 제3항에 있어서, A는 부재하거나,  $-O-$ ,  $-N(R^7)-$ ,  $-N(R^7)C(O)-$ ,

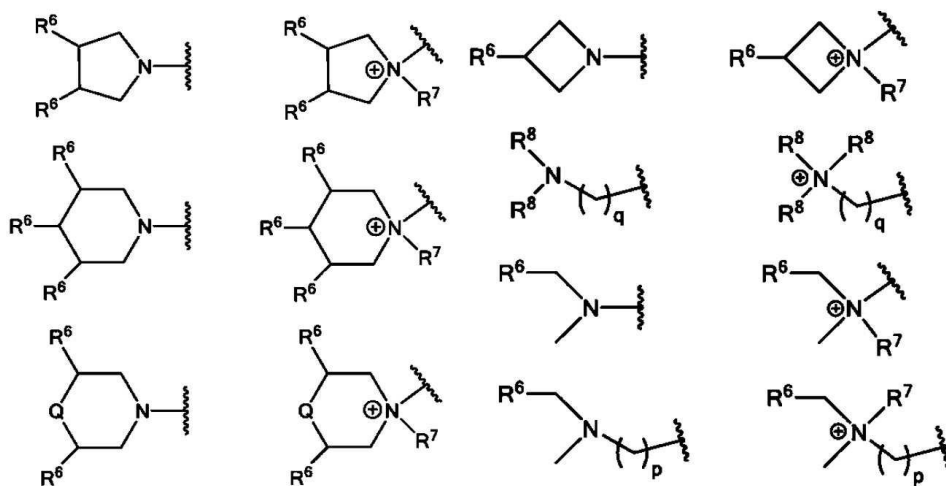


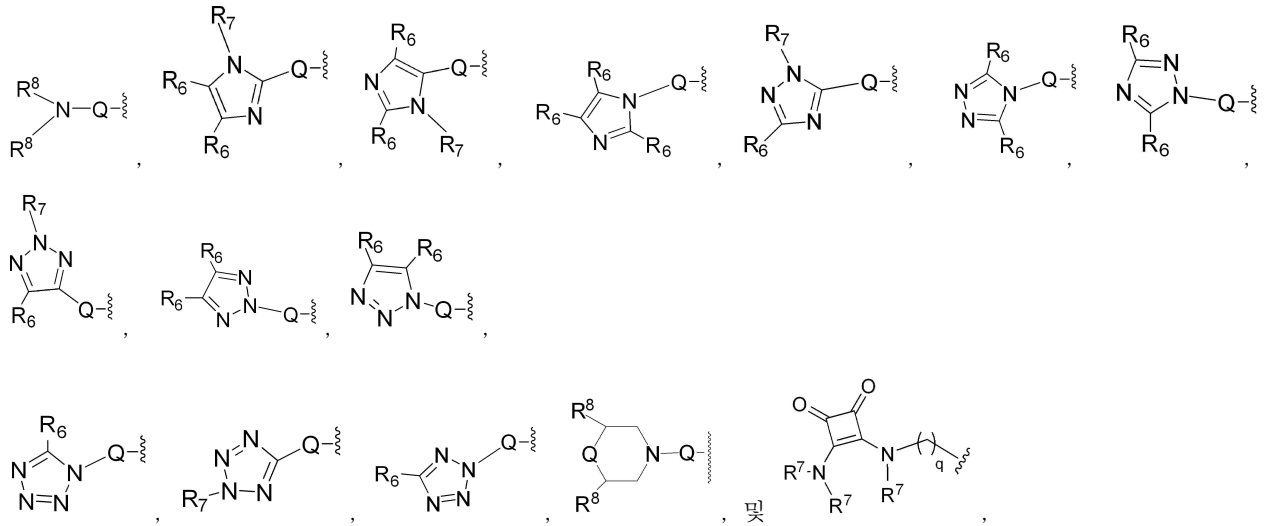
**청구항 19**

제1항 또는 제3항에 있어서, t1은 0, 1, 2, 3, 또는 4인, 화합물.

**청구항 20**

제1항 또는 제3항에 있어서, W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:





식 중:

각각의  $Q$ 는 독립적으로 부재하거나,  $-O-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-C(S)-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-C(R^7)_2-$ ,  $-C(O)N(R^7)-$ ,  $-C(S)N(R^7)-$ , 또는  $-N(R^7)-$ 이고;

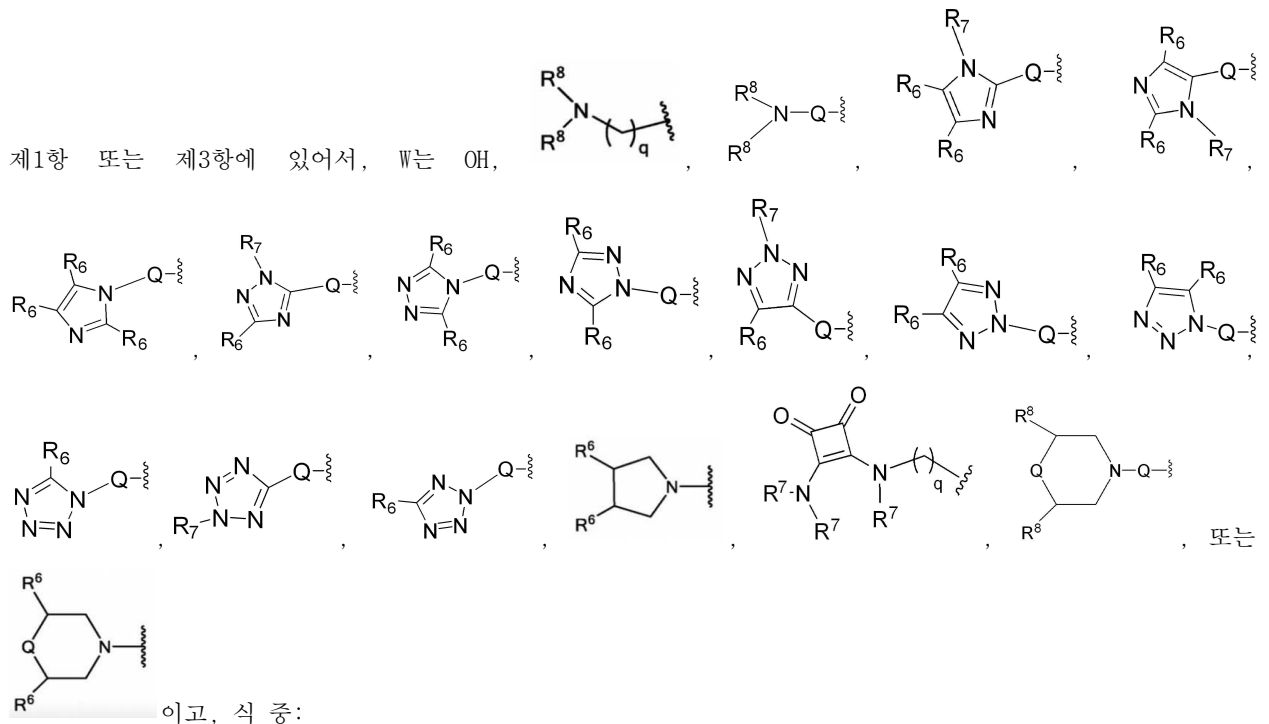
각각의  $R^6$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는  $N^+(R^7)_3$ -알킬렌- $Q$ -이고;

각각의  $R^8$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의  $R^8$ 이 질소 원자와 함께 고리를 형성할 수 있고;

각각의  $q$ 는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

각각의  $p$ 는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5인, 화합물.

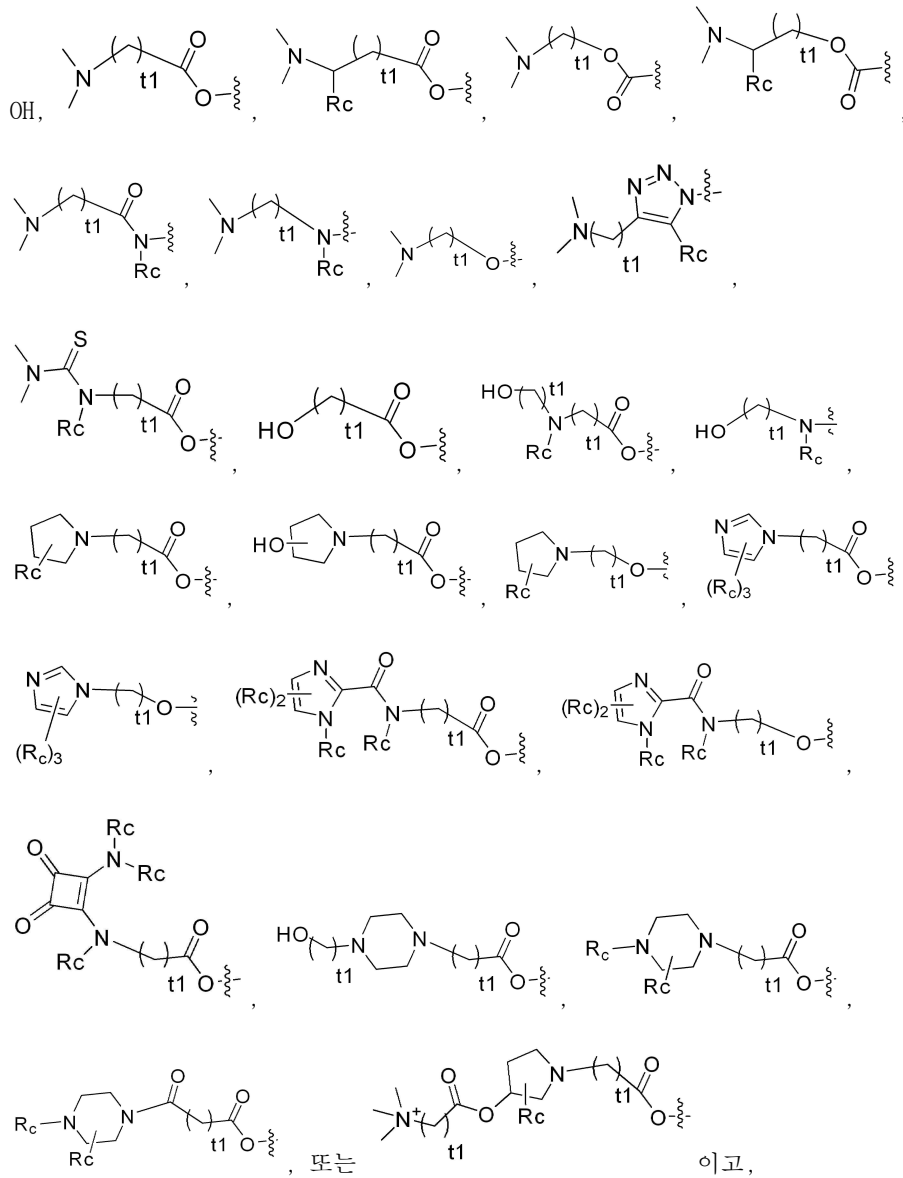
**청구항 21**







Y 또는  $\begin{matrix} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix} \text{---} \text{A} \text{---} \begin{matrix} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix} \text{W}$  은:



각각의  $R^c$ 는 독립적으로 H 또는  $C_1-C_3$  알킬이고;

각각의 t1은 독립적으로 1, 2, 3, 또는 4이고;

$R_{30}$ ,  $R_{40}$ ,  $R_{50}$ , 및  $R_{60}$  각각은 H 또는  $C_1-C_4$  분지형 또는 비분지형 알킬이고;

$R_{70}$ 은 H이고;  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로 H 또는  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이고;

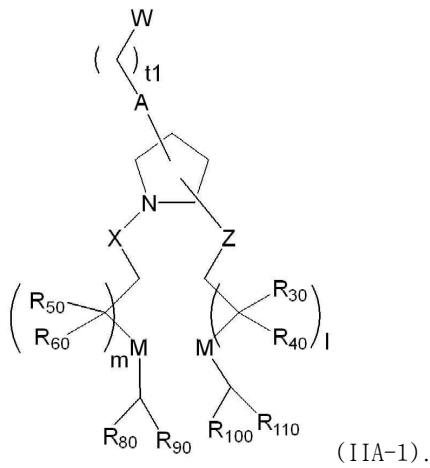
$R_{100}$ 은 H이고;  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로 H 또는  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이되, 단  $R_{80}$  및  $R_{90}$  중 적어도 하나는 H가 아니고,  $R_{110}$  및  $R_{120}$  중 적어도 하나는 H가 아니고;

l은 3 내지 7이고;

m은 1 내지 5인, 화합물.

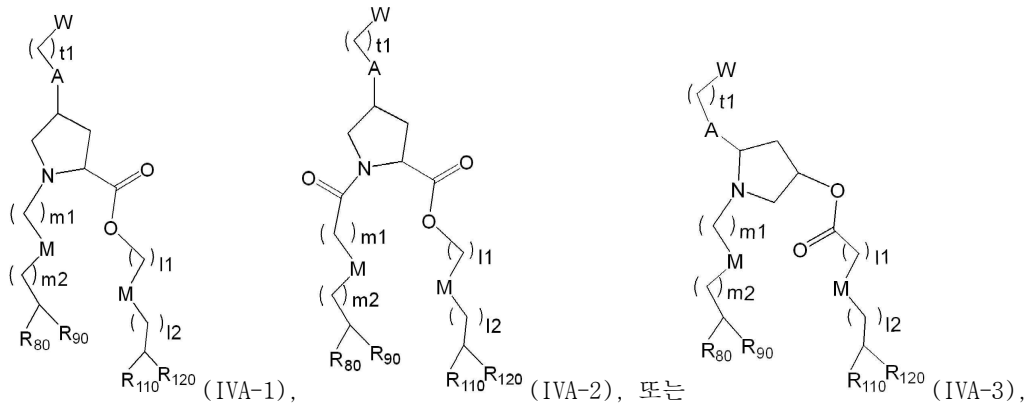
### 청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 다음의 식을 갖는 화합물:



**청구항 27**

제26항에 있어서, 다음의 식을 갖는 화합물로서:



식 중:

각각의 m1은 독립적으로 3 내지 6의 정수이고,

각각의 l1은 독립적으로 4 내지 8의 정수이고,

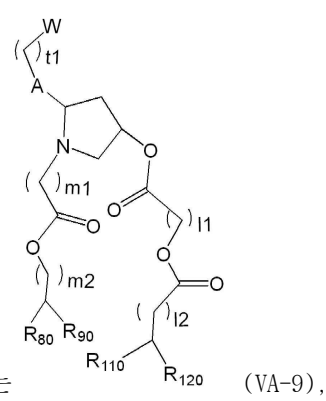
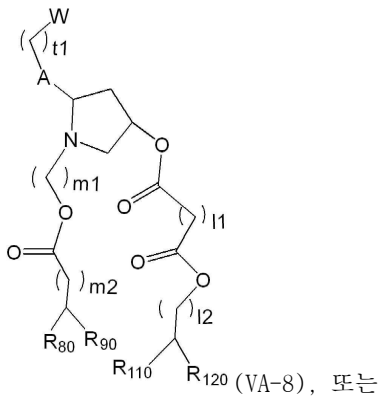
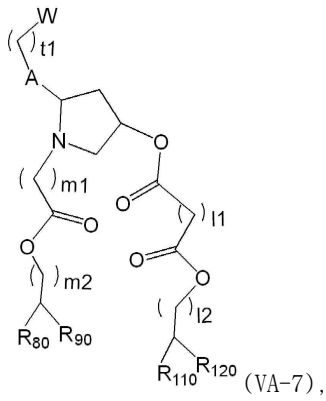
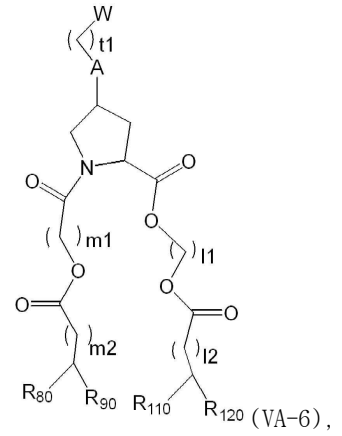
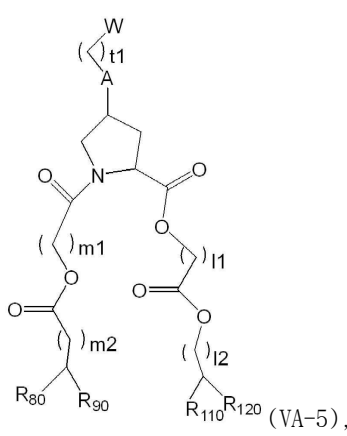
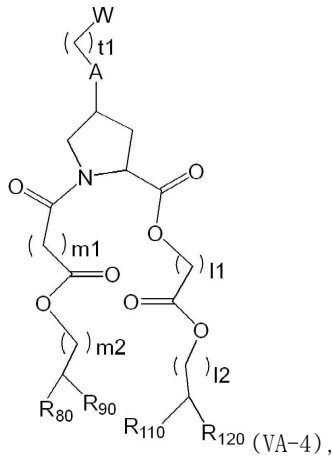
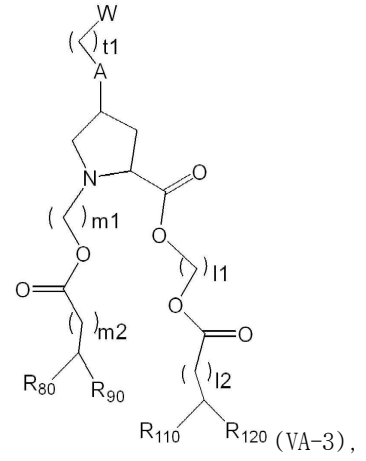
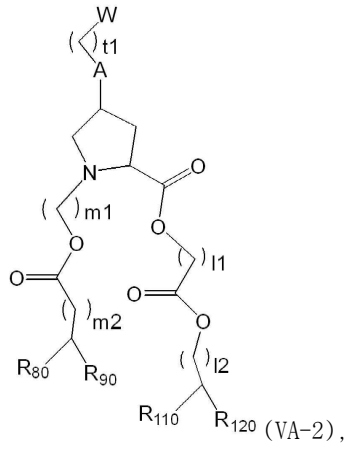
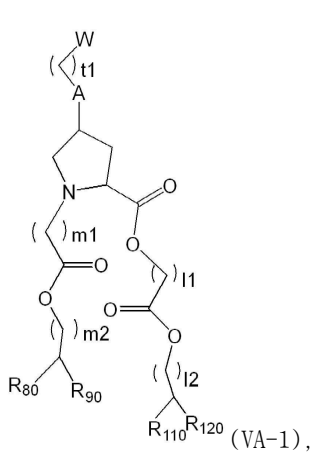
m2 및 l2는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이고,

R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이거나; R<sub>80</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이고, R<sub>90</sub>은 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub> 알킬이고;

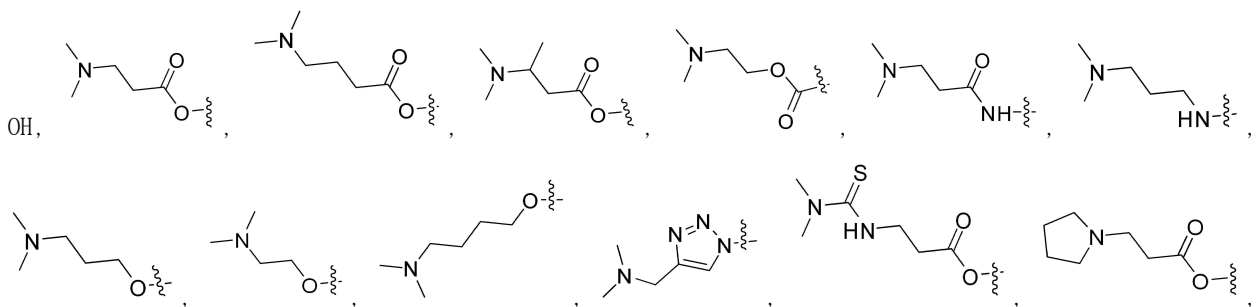
R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이거나; R<sub>110</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이고, R<sub>120</sub>은 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub> 알킬인, 화합물.

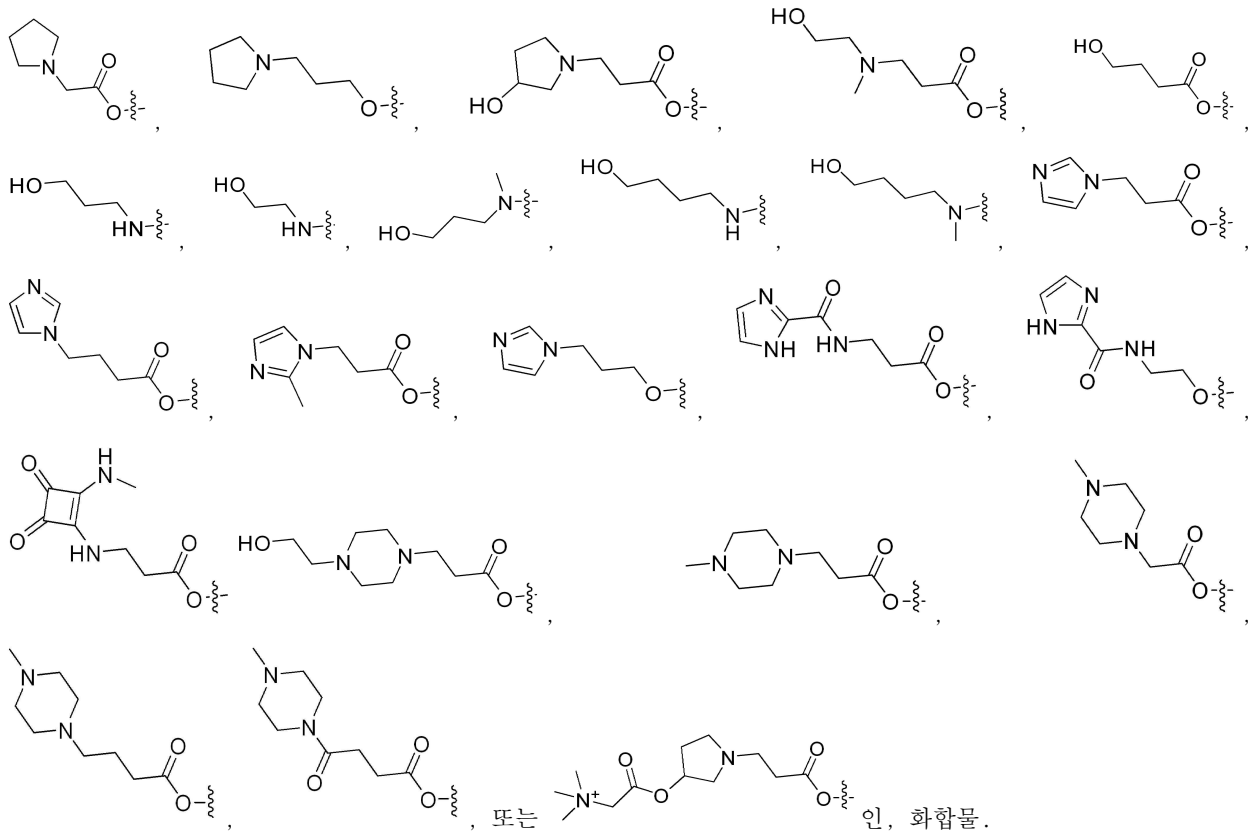
**청구항 28**

제27항에 있어서, 다음의 식을 갖는 화합물로서:



식 중,  $\begin{matrix} W \\ | \\ \text{---}A\text{---} \\ | \\ W \end{matrix}$  t1는:





**청구항 29**

제27항 또는 제28항에 있어서,

$R_{80}$ 은 H 또는 치환되지 않은  $C_1-C_2$  알킬이고,  $R_{90}$ 은 치환되지 않은  $C_6-C_{10}$  알킬이고;

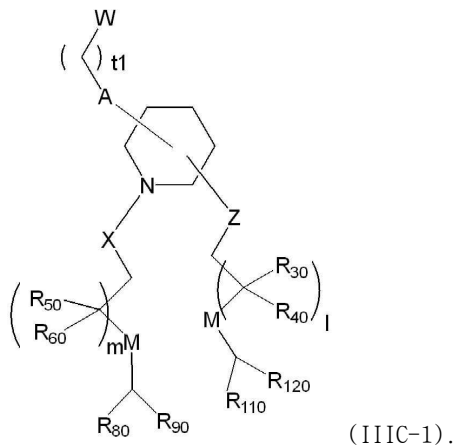
$R_{110}$  및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬인, 화합물.

**청구항 30**

제27항에 있어서,  $R_{80}$ ,  $R_{90}$ ,  $R_{110}$ , 및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬인, 화합물.

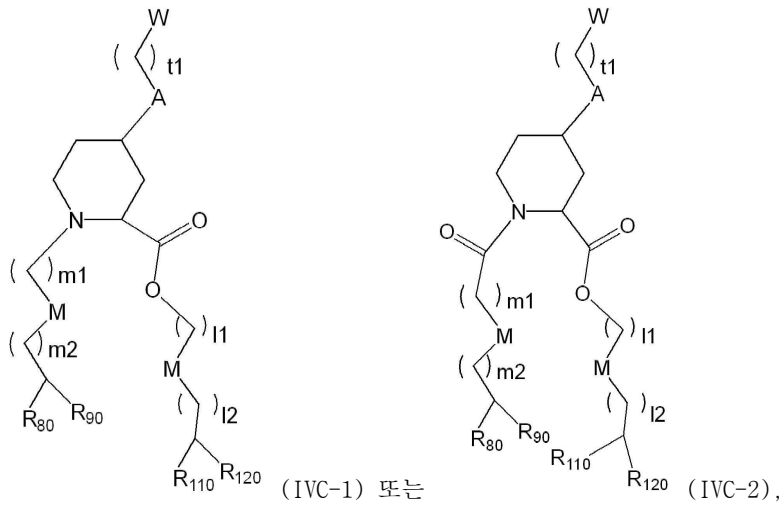
**청구항 31**

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 다음의 식을 갖는 화합물:



**청구항 32**

제31항에 있어서, 다음의 식을 갖는 화합물로서:



식 중:

각각의 m1은 독립적으로 3 내지 6의 정수이고,

각각의 l1은 독립적으로 4 내지 8의 정수이고,

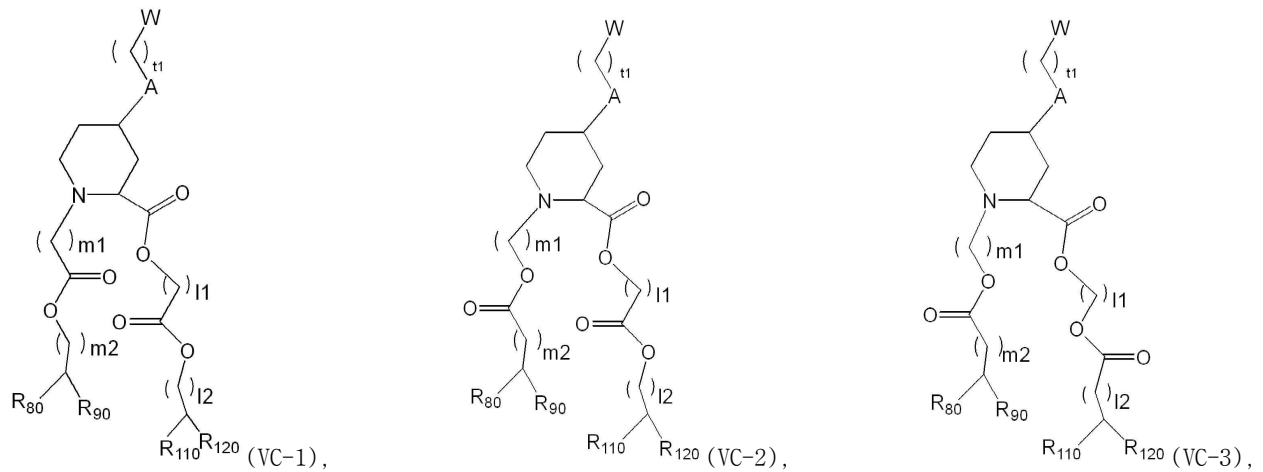
m2 및 l2는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이고,

R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이거나; R<sub>80</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이고, R<sub>90</sub>은 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub> 알킬이고;

R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이거나; R<sub>110</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이고, R<sub>120</sub>은 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub> 알킬인, 화합물.

### 청구항 33

제32항에 있어서, 다음의 식을 갖는 화합물로서:





$R_{80}$ 은 H 또는 치환되지 않은  $C_1-C_2$  알킬이고,  $R_{90}$ 은 치환되지 않은  $C_6-C_{10}$  알킬이고;

$R_{110}$  및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬인, 화합물.

**청구항 35**

제32항 또는 제33항에 있어서,  $R_{80}$ ,  $R_{90}$ ,  $R_{110}$ , 및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬인, 화합물.

**청구항 36**

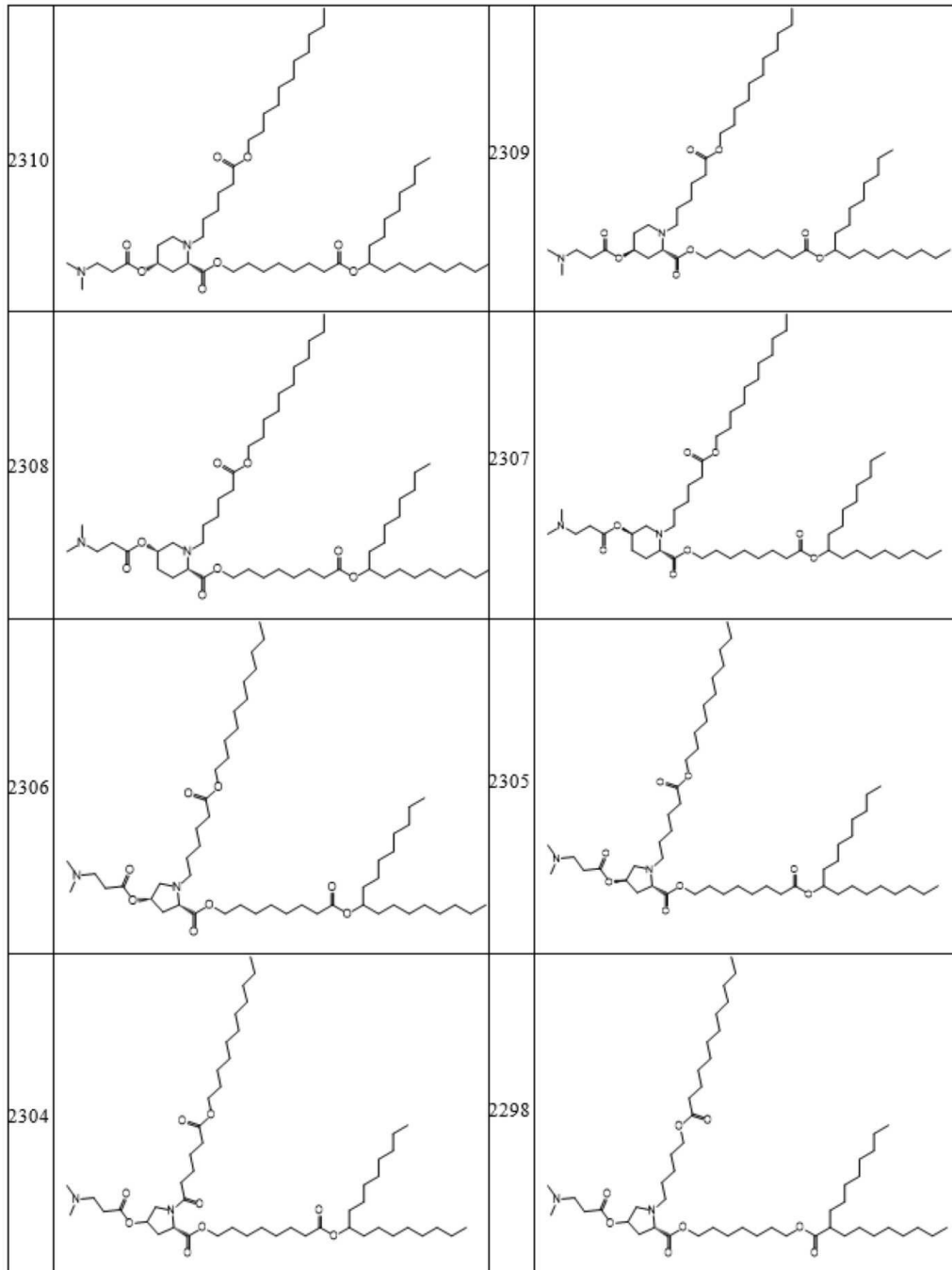
제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 4.5 내지 약 8.0인, 화합물.

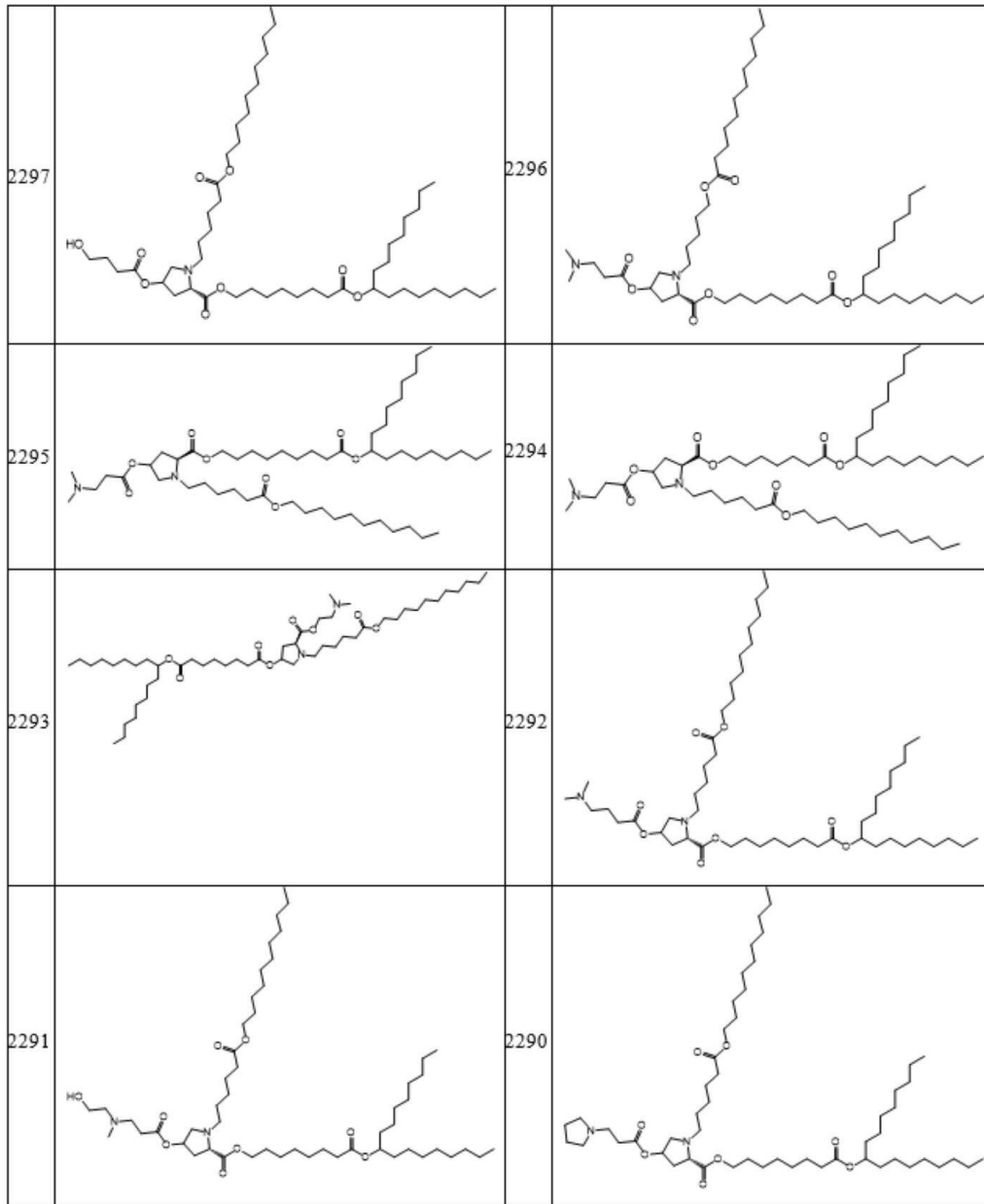
**청구항 37**

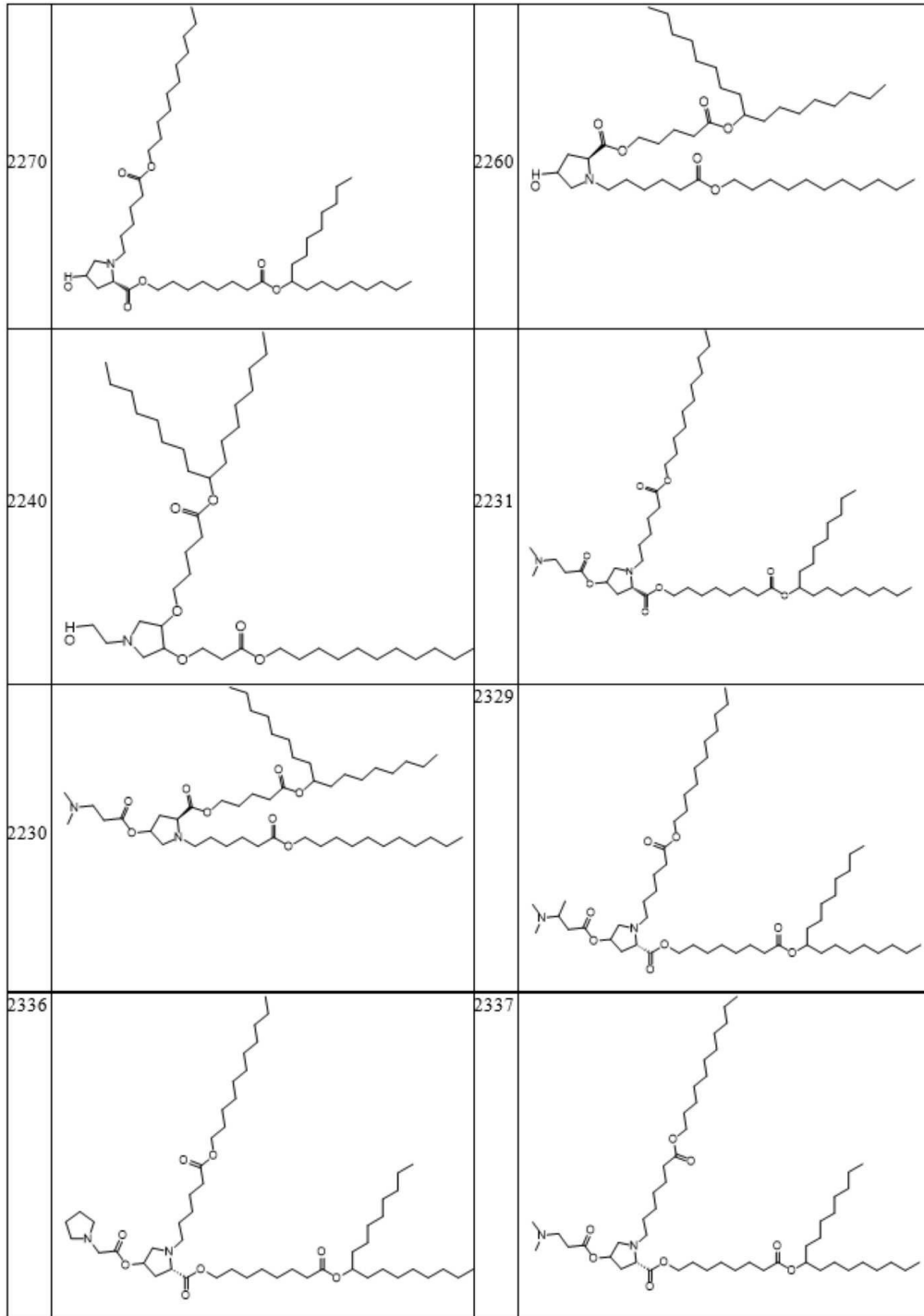
제36항에 있어서, 상기 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 4.6 내지 약 7.8인, 화합물.

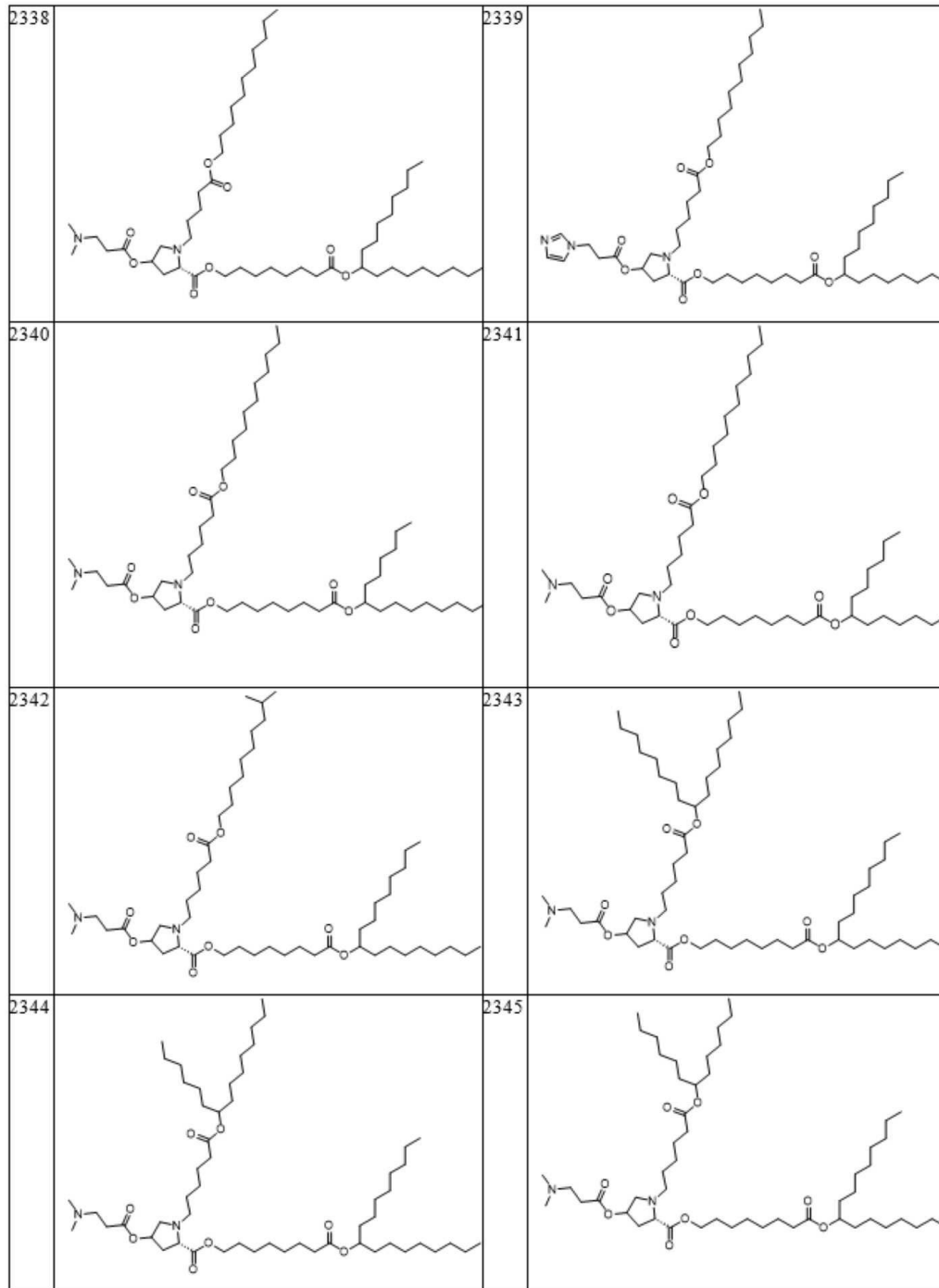
청구항 38

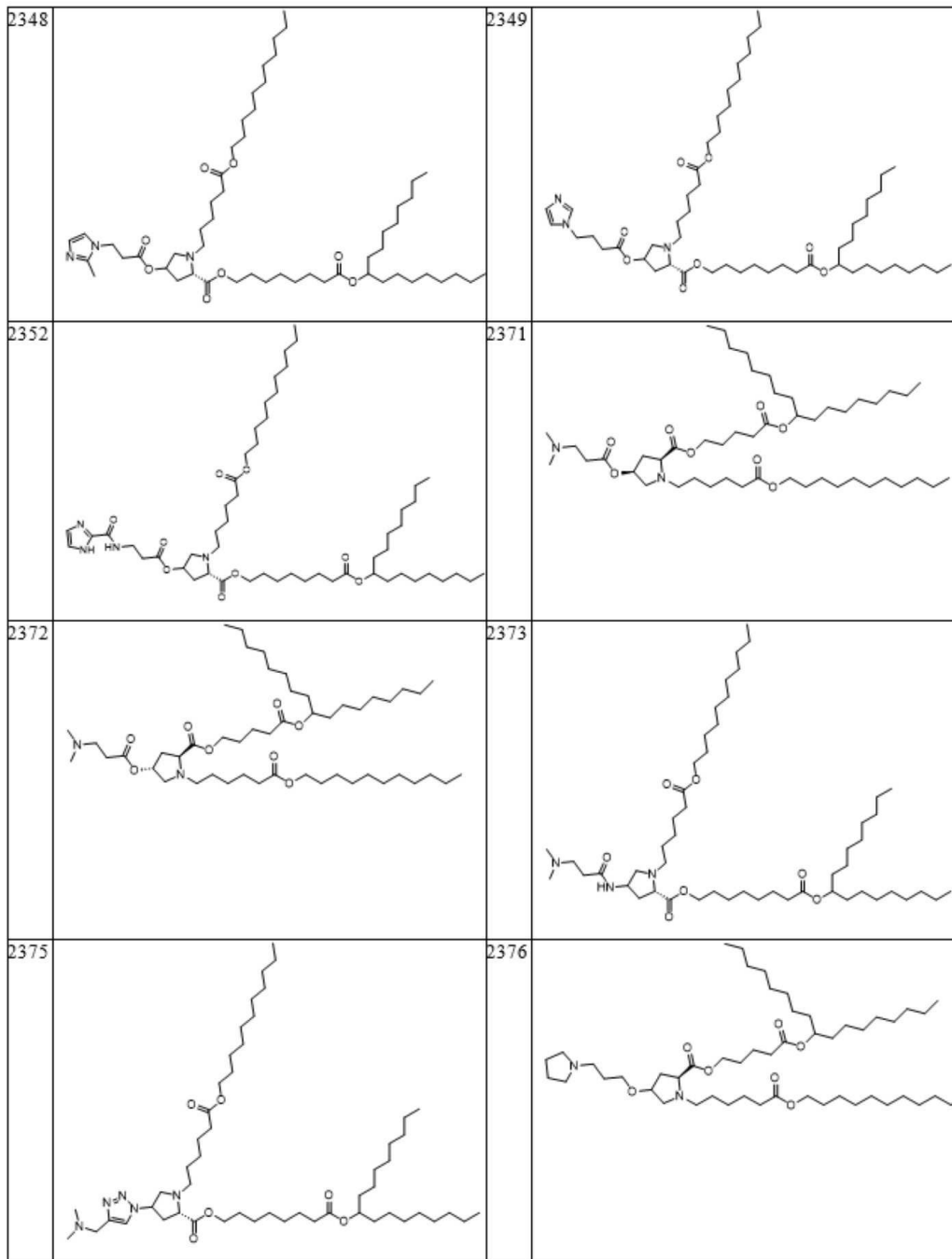
제1항 또는 제3항에 있어서, 다음 구조 중 하나를 갖는, 화합물:

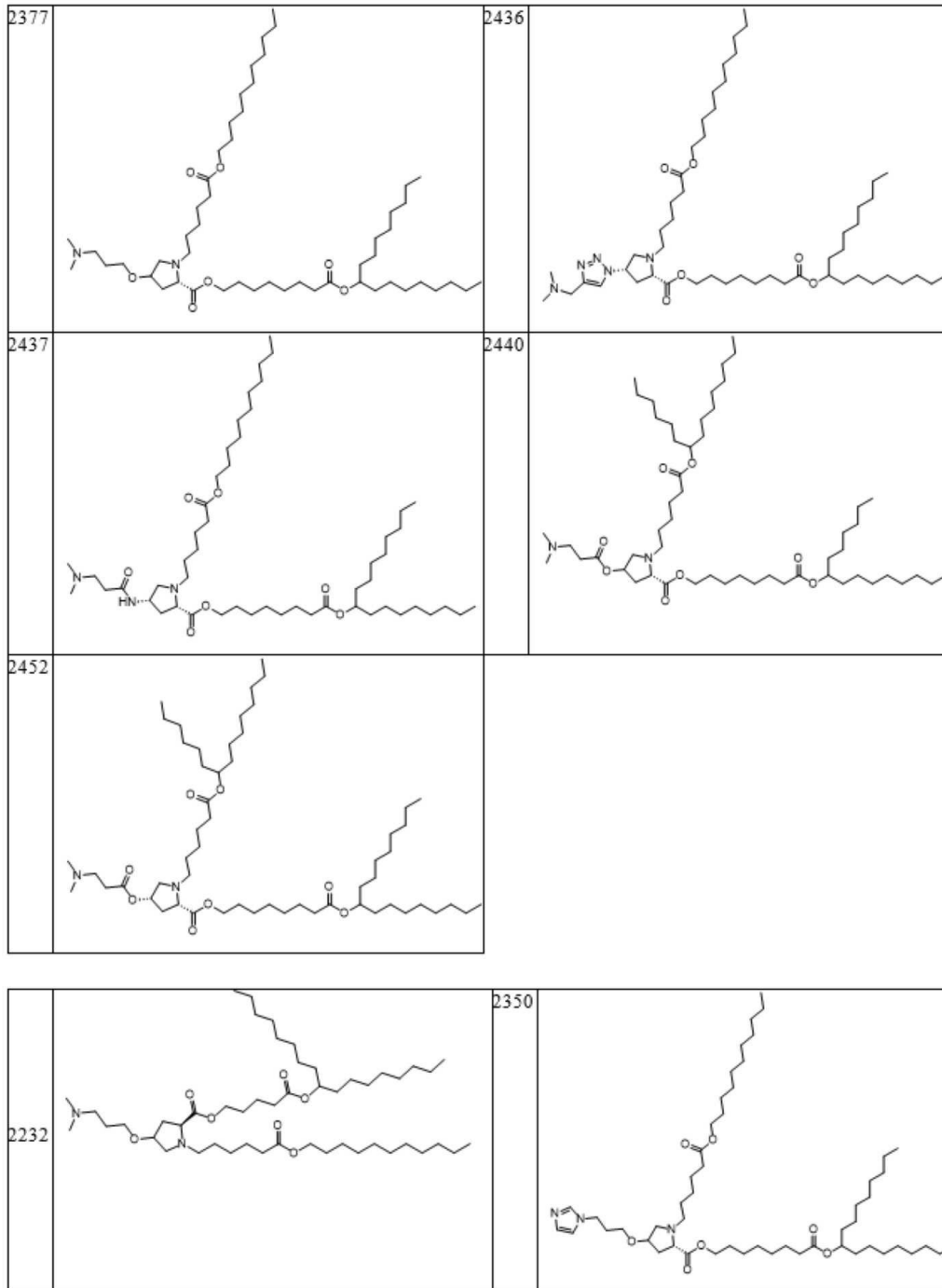


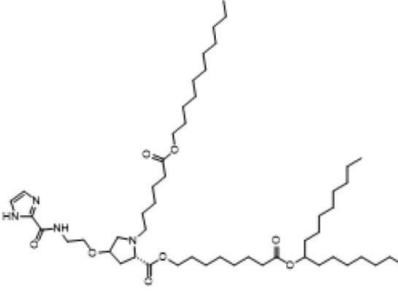
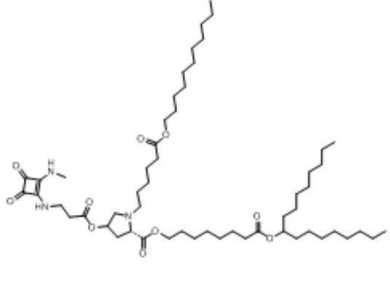
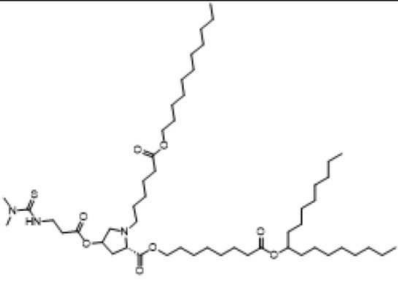
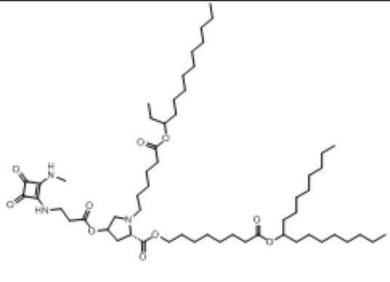
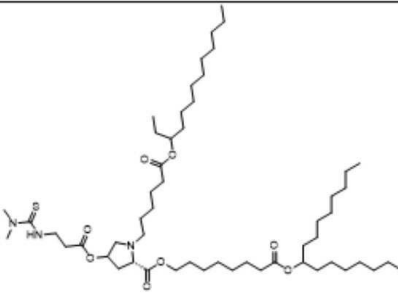
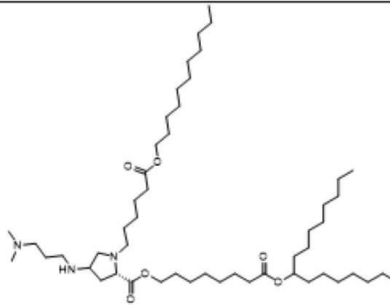
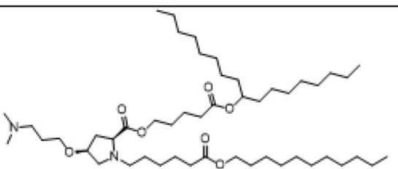
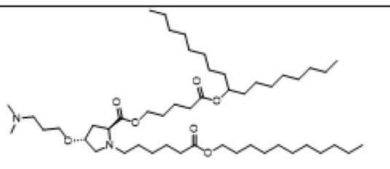
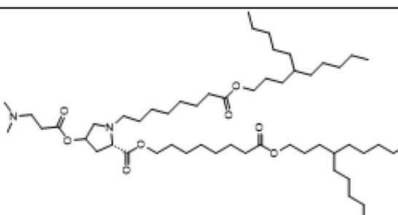
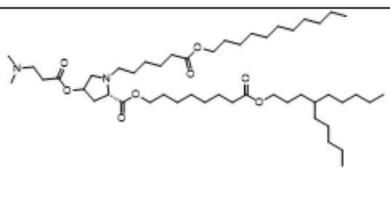


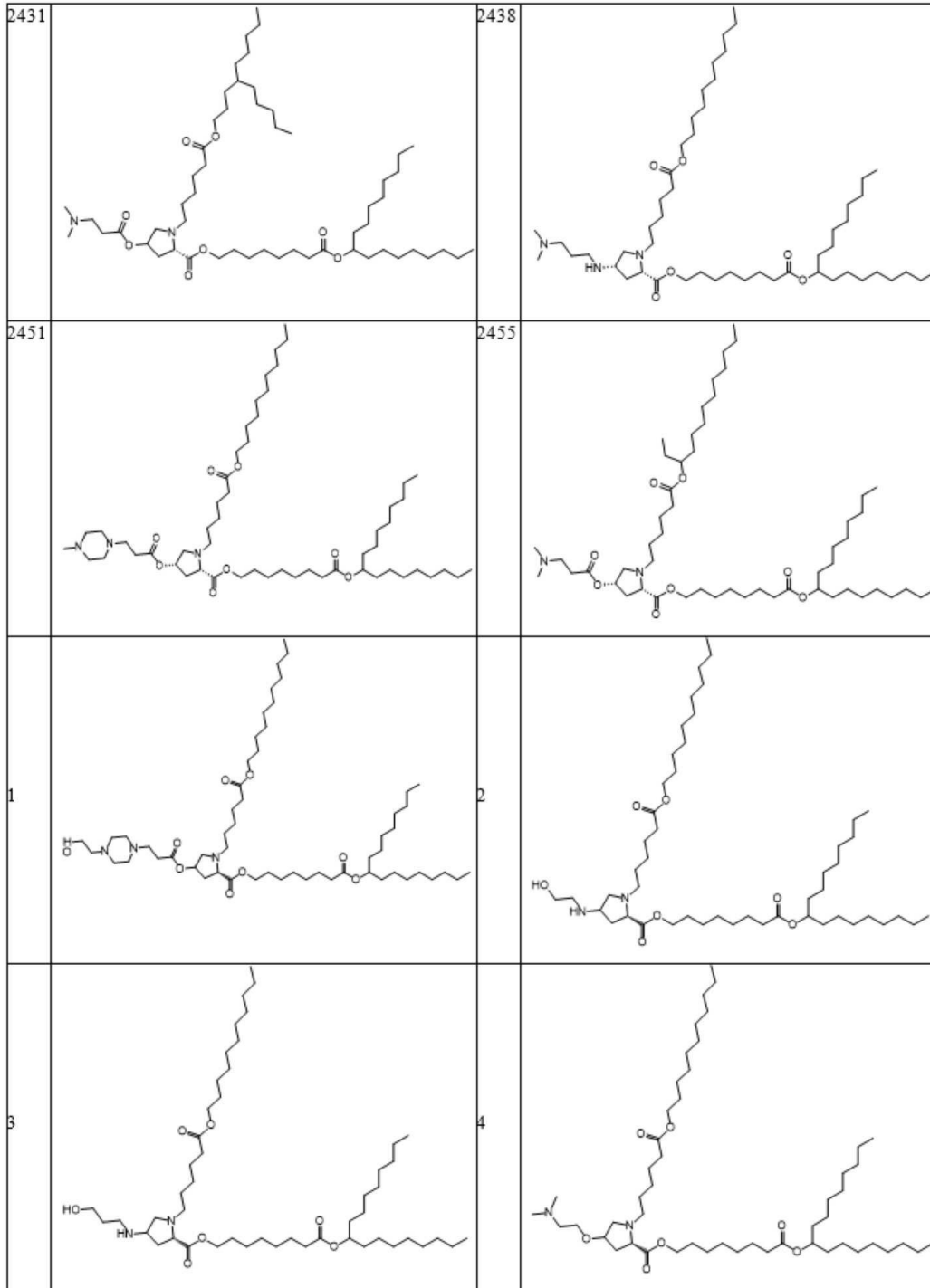


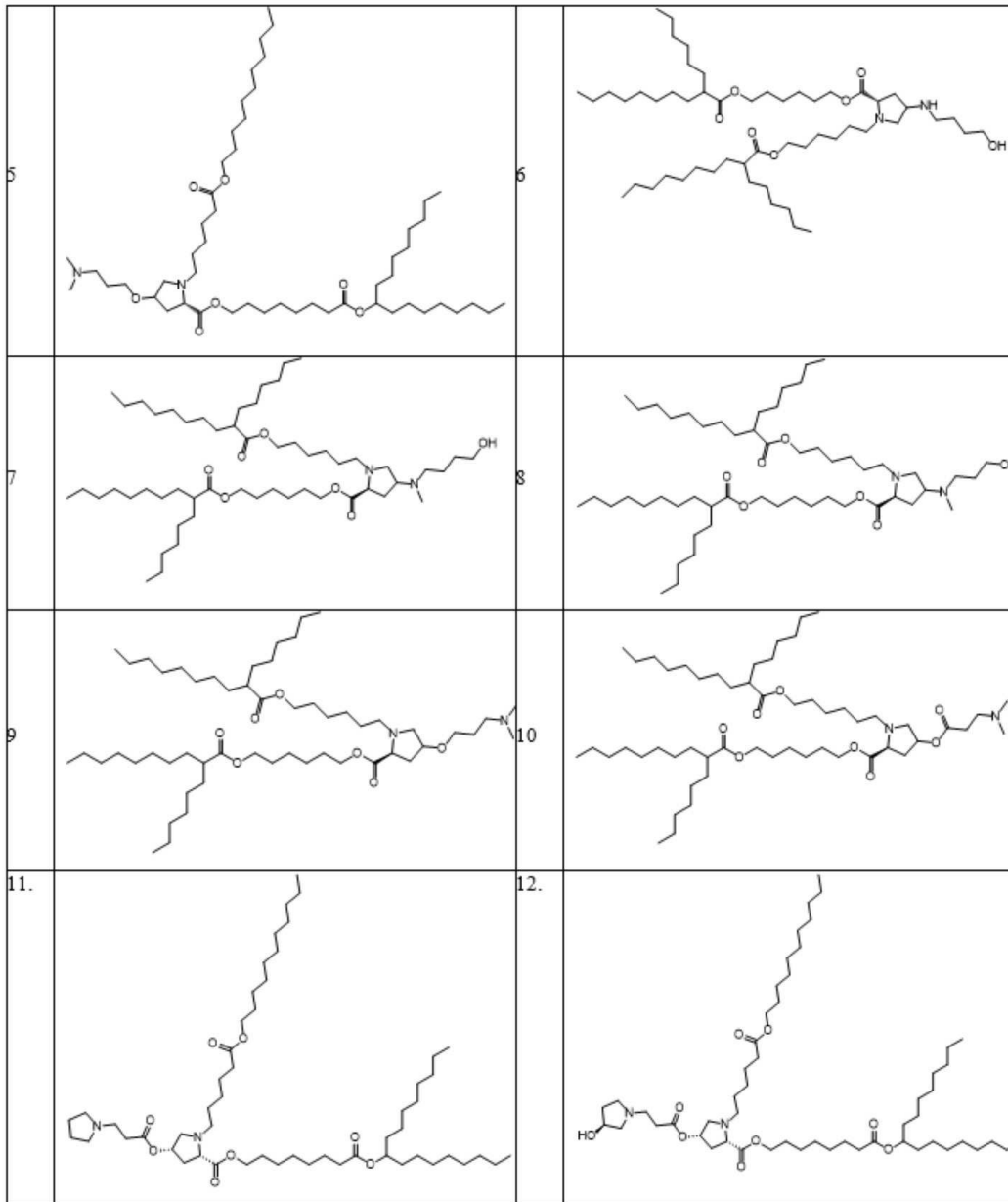


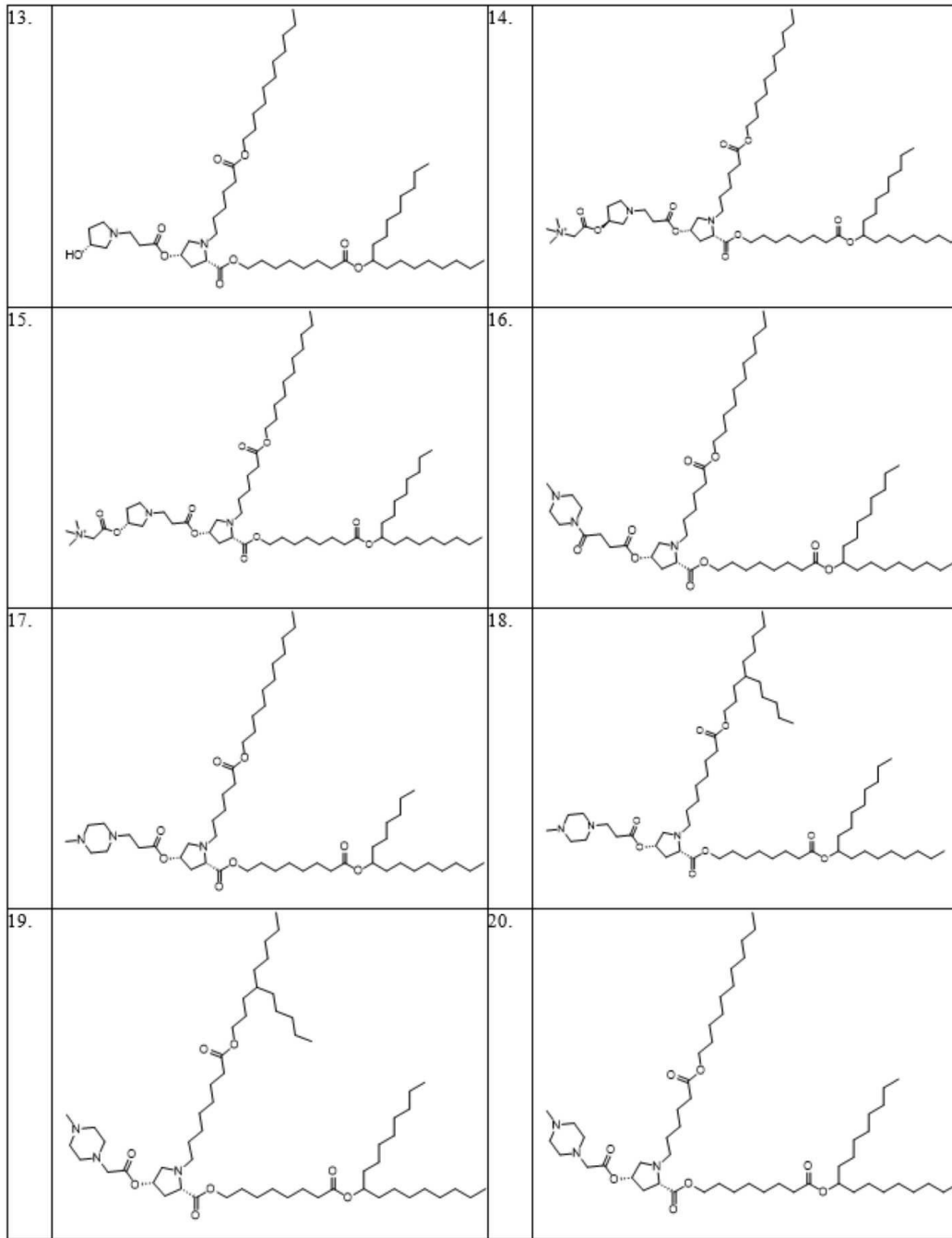


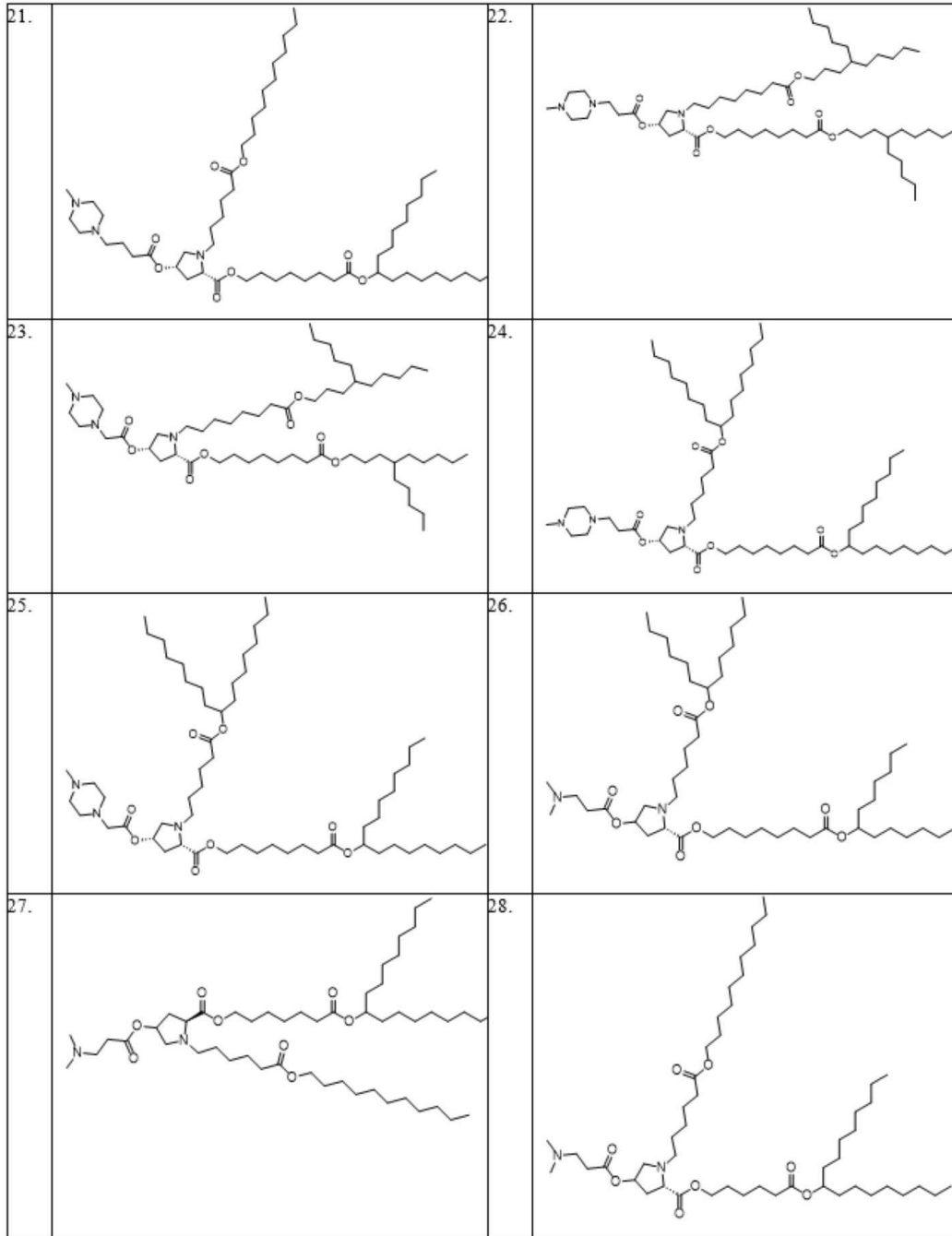


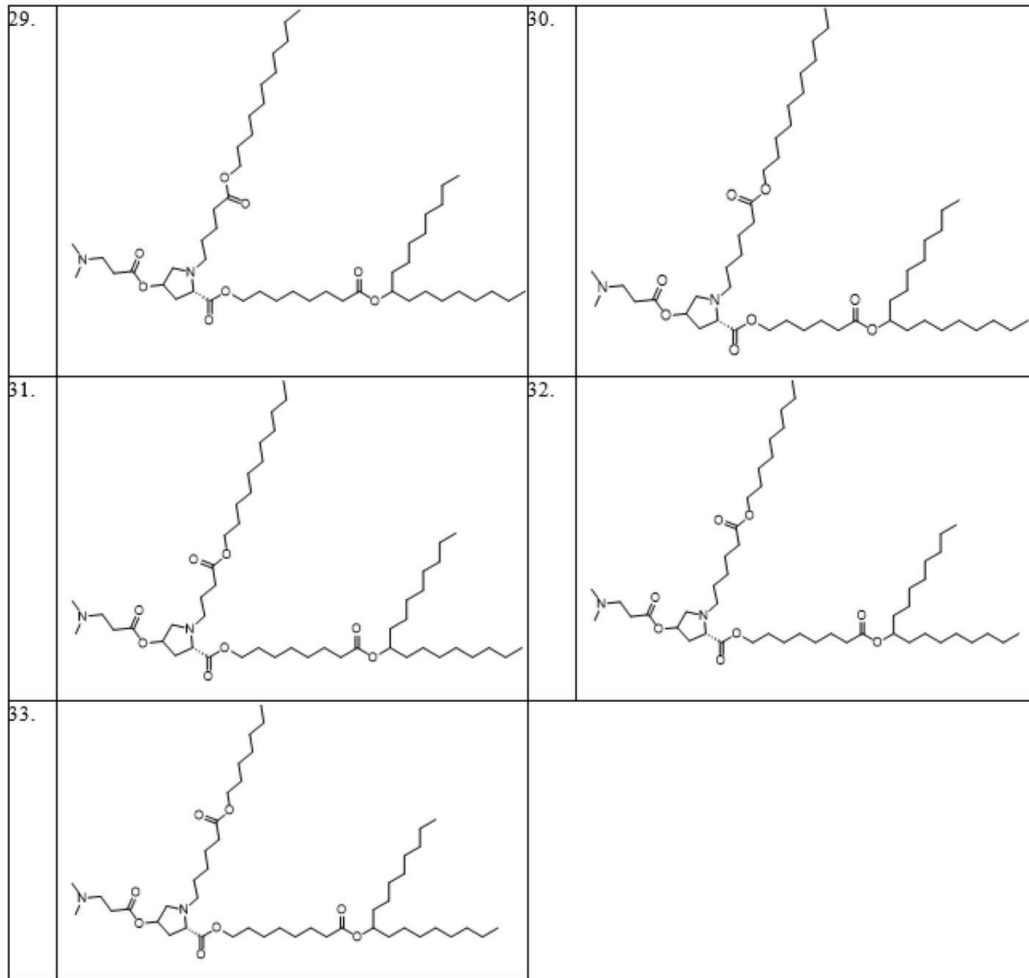
<p>2351</p> 	<p>2359</p> 
<p>2360</p> 	<p>2363</p> 
<p>2364</p> 	<p>2374</p> 
<p>2422</p> 	<p>2423</p> 
<p>2429</p> 	<p>2430</p> 











**청구항 39**

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 지질 조성물로서, 상기 지질 조성물은 LNP인, 지질 조성물.

**청구항 40**

제39항에 있어서, 제2 지질을 추가로 포함하는 지질 조성물.

**청구항 41**

제40항에 있어서, 상기 지질 조성물은 상기 화합물 및 상기 제2 지질의 약 1:1 비율을 포함하는, 지질 조성물.

**청구항 42**

제40항에 있어서, 상기 제2 지질은 양이온성, 음이온성, 이온화 가능, 또는 쌍성이온성 지질인, 지질 조성물.

**청구항 43**

제39항에 있어서, 스테롤 및 PEG 지질을 추가로 포함하는 지질 조성물.

**청구항 44**

제39항에 있어서, 스테롤, PEG 지질, 인지질, 및/또는 중성 지질을 추가로 포함하는 지질 조성물.

**청구항 45**

제39항 내지 제44항 중 어느 한 항의 지질 조성물, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 치료제를 추가로 포함하는 약학적 조성물.

**청구항 47**

제45항에 있어서, 상기 치료제는 핵산 분자인, 약학적 조성물.

**청구항 48**

제47항에 있어서, 상기 핵산 분자는 RNA 또는 DNA인, 약학적 조성물.

**청구항 49**

제48항에 있어서, 상기 핵산 분자는 RNA이고, 상기 RNA는 mRNA를 포함하는, 약학적 조성물.

**청구항 50**

제46항에 있어서, 상기 치료제는 단백질 또는 소분자 약물인, 약학적 조성물.

**청구항 51**

제45항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 백신인, 약학적 조성물.

**청구항 52**

대상체에게 치료제를 전달하는 방법으로서, 상기 방법은 제45항 내지 제51항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 53**

치료제를 이를 필요로 하는 대상체의 췌장, 비장 또는 폐에 전달하기 위한 방법으로서, 제45항 내지 제51항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 54**

제53항에 있어서, 상기 치료제의 50%, 30%, 또는 10% 미만이 간에 전달되는, 방법.

**청구항 55**

제53항에 있어서, 상기 치료제의 50%, 70%, 또는 90% 초과가 상기 대상체의 췌장, 비장, 및/또는 폐에 전달되는, 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2022년 3월 25일에 출원된 미국 가출원 제63/323,948호에 대한 우선권의 이익을 주장하며, 이는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

**배경 기술**

[0003] 이온화 가능 아민-함유 지질로부터 형성된 지질 나노입자("LNP")는 코딩 RNA(즉, 전령 RNA(mRNA), 가이드 RNA) 및 비코딩 RNA(즉, 안티센스, siRNA)와 같은 생물학적 활성제를 세포 내로 전달하기 위한 치료 물질(cargo) 비히클로서 기능할 수 있다. LNP는 세포막을 가로질러 올리고뉴클레오티드 제제를 용이하게 전달할 수 있고, 성분 및 조성물을 살아있는 세포 내로 도입하는 데 사용될 수 있다.

[0004] 세포에 전달하기 특히 어려운 생물학적 활성제는 단백질, 핵산-기반 약물, 및 이의 유도체, 특히 mRNA 또는 가

이드 RNA와 같은 비교적 큰 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 약물을 포함한다. CRISPR/Cas9 시스템 성분의 전달과 같이, 세포 내로 유망한 mRNA 요법 또는 편집 기술을 전달하기 위한 조성물이 특히 관심을 받게 되었다.

[0005] 최근 세계적인 유행병의 출현으로 전령 RNA 요법은 바이러스 감염성 질환 및 하나 이상의 단백질의 결핍과 연관된 것들을 포함하여 다양한 질환을 치료하기 위한 점점 더 중요한 옵션이 되어가고 있다. RNA 성분을 안정화시키고/시키거나 전달할 수 있는 조성물로서, 시험관 내 및 생체 내 전달에 유용한 특성을 갖는 조성물도 특히 관심을 받게 되었다.

[0006] 따라서, 당업계에는 치료제 전달을 위한 지질 나노입자 또는 다른 지질 전달 메커니즘을 개발할 신규한 지질 화합물에 대한 필요성이 계속 존재한다. 본 발명은 그 필요성에 대한 해답을 제시한다.

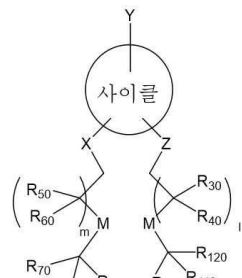
**발명의 내용**

[0007] 중성 지질, 콜레스테롤, 및 중합체 접합 지질과 같은 적어도 하나의 다른 지질 성분과 조합하여 지질 나노입자 조성물을 형성하는 데 사용될 수 있는 신규한 이온화 가능 지질이 본원에 개시된다. 지질 나노입자 조성물은 시험관 내 및/또는 생체 내에서 치료 핵산의 세포내 전달을 용이하게 하는 데 사용될 수 있다.

[0008] 지질 나노입자 조성물의 형성에 유용한 이온화 가능 아민-함유 지질이 본원에 개시된다. 이러한 LNP 조성물은 코딩 및 비코딩 RNA를 세포에 전달하는 것과 같이 핵산 치료 물질의 전달에 유리한 특성을 가질 수 있다. 또한, 개시된 지질 나노입자를 사용하여 감염성 엔티티 및/또는 단백질 부족에 의해 야기되는 것들과 같은 다양한 질환 또는 병태를 치료하기 위한 방법이 제공된다.

[0009] 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IIIC-1), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), (VC-1) 내지 (VC-6)을 포함하는 다양한 식의 이온화 가능 지질이 아래에 개시된다.

[0010] 본 발명의 일 양태는 식 (I)의 화합물:



[0011] (I), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체에 관한 것이며, 식 중:



[0012] 은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

[0013] Y는 알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 이고;

[0014] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-, 또는 2가 헤테로환이고;

[0015] X 및 Z 각각은 독립적으로 부재하거나, -O-, -CO-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0016] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0017] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

[0018] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>70</sub>, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐; 또는 시클

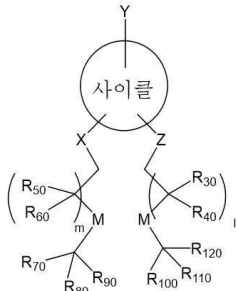
로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

[0019] l 및 m 각각은 1 내지 10의 정수이고;

[0020] t1은 0 내지 10의 정수이고;

[0021] W는 하이드록실, 치환된 또는 치환되지 않은 하이드록시알킬, 치환된 또는 치환되지 않은 아미노, 치환된 또는 치환되지 않은 아미노카르보닐, 또는 치환된 또는 치환되지 않은 헤테로실릴 또는 헤테로아릴이다.

[0022] 일부 구현예에서, 식 (I)의 이온화 가능 지질:



[0023] (I), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:



[0024] 은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

[0025] Y는 알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬,  $\text{-}\overset{\text{wavy}}{\text{A}}\text{-}\text{CH}_2\text{-}\text{CH}_2\text{-}\text{W}$ , 또는  $\text{-}\overset{\text{wavy}}{\text{A}}\text{-}\text{CH}_2\text{-}\text{CH}_2\text{-}\text{CH}_2\text{-}\text{W}$  이고;

[0026] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-, 또는 2가 헤테로환이고;

[0027] X 및 Z 각각은 독립적으로 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0028] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0029] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

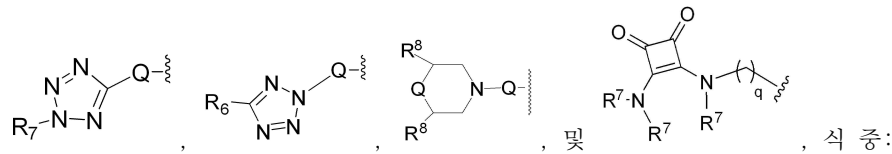
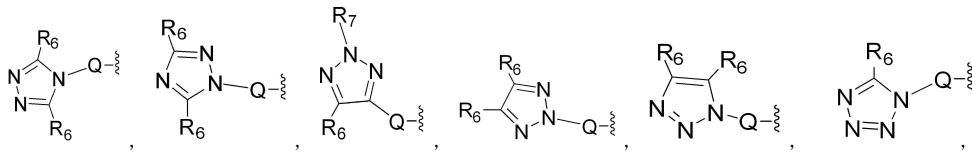
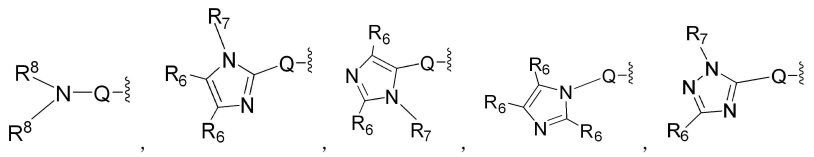
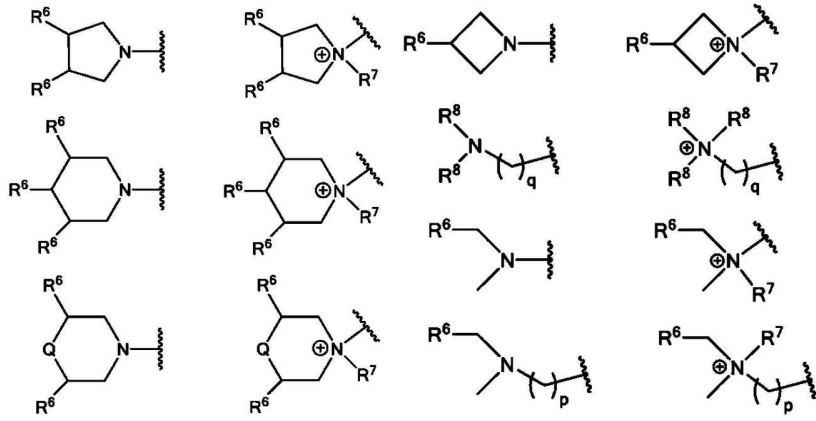
[0030] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>70</sub>, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐; 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

[0031] l 및 m 각각은 1 내지 10의 정수이고;

[0032] t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0033] t1은 0 내지 10의 정수이고;

[0034] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



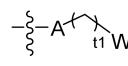
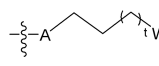
[0039] 각각의 Q는 독립적으로 부재하거나, -O-, -C(O)-, -C(S)-, -C(O)O-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -C(S)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -N(R<sup>7</sup>)이고;

[0040] R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고;

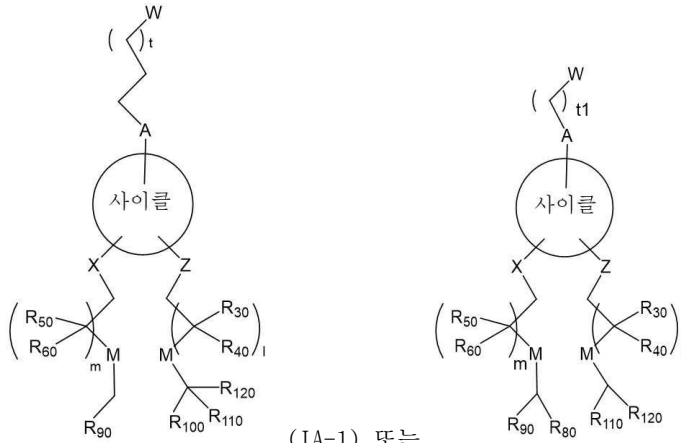
[0041] 각각의 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의 R<sup>8</sup>이 질소 원자와 함께 고리를 형성할 수 있고;

[0042] q는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0043] p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0044] 일부 구현예에서, Y는 하이드록실, , 또는 이다.

[0045] 일부 구현예에서 식 (IA-1) 또는 식 (IA-2)의 이온화 가능 지질:



[0046] (IA-1) 또는 (IA-2), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는

전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며,

[0047] 식 중:

[0048] 은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

[0049] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, N(R<sup>7</sup>)C(O)NH-, -S-, -S-S-, 또는 2가 헤테로환이고;

[0050] X는 부재하거나, -O-, -C(O)-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0051] Z는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0052] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0053] 각각의 M는 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

[0054] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0055] R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

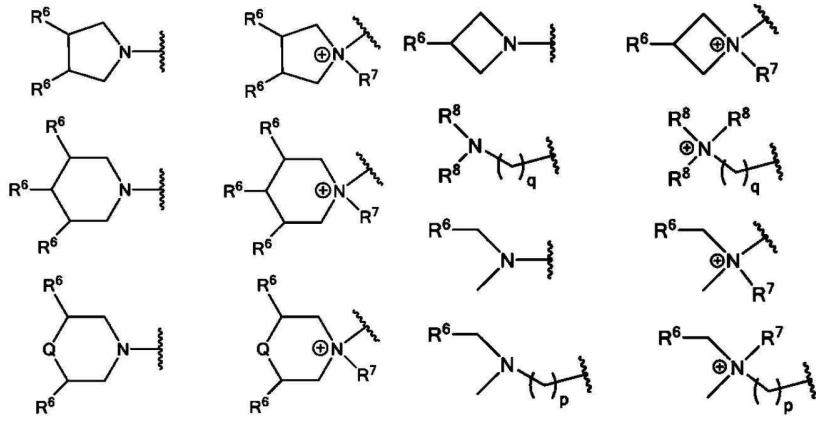
[0056] t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0057] t1은 0 내지 10의 정수이고;

[0058] l은 1 내지 10의 정수이고;

[0059] m은 1 내지 10의 정수이고;

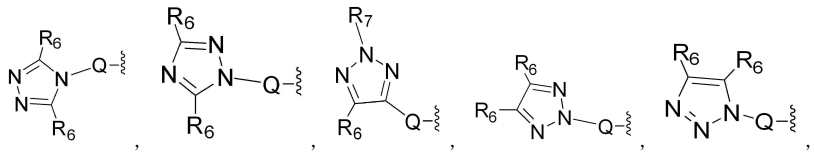
[0060] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



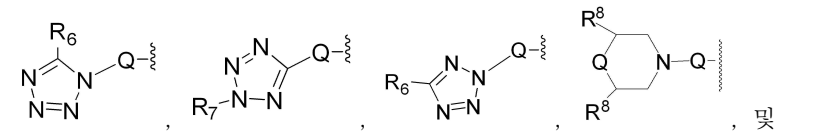
[0061]



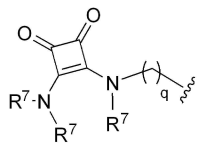
[0062]



[0063]



[0064]



[0065]

, 식 중:

[0066]

Q는 -O-, -C(O)-, -C(S)-, -C(O)O-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -C(S)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -N(R<sup>7</sup>)이고;

[0067]

각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고;

[0068]

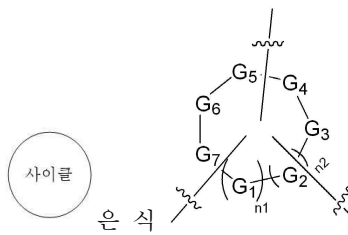
각각의 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의 R<sup>8</sup>이 질소 원자와 함께 고리를 형성할 수 있고;

[0069]

q는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0070]

p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.



[0071]

일부 구현예에서, 사이클 은 식  $\text{---}(\text{G}_1)_{n_1}\text{---}(\text{G}_2)_{n_2}\text{---}(\text{G}_3)_{n_3}\text{---}(\text{G}_4)_{n_4}\text{---}(\text{G}_5)_{n_5}\text{---}(\text{G}_6)_{n_6}\text{---}(\text{G}_7)_{n_7}\text{---}$  의 구조를 가지며, 식 중:


[0072]



G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, G<sub>6</sub>, 및 G<sub>7</sub> 각각은 독립적으로 C(R')(R''), O, 또는 N이되, 단, G<sub>1</sub> 내지 G<sub>7</sub> 중 2개 이하가 O


또는 N이고;


[0073] R' 및 R''는 각각 독립적으로 부재하거나, H, 알킬이거나, 2개의 이웃하는 G로부터의 2개의 R'은 함께 제2의 5 내지 7원 환형 또는 헤테로환 고리를 형성하고;

[0074]  $n_1$  및  $n_2$ 는 각각 독립적으로 0 또는 1이다.

[0075] 일부 구현예에서,  은 피롤리딘, 피페리딘, 피페라진, 시클로헥산, 시클로펜탄, 테트라하이드로푸란; 테트라하이드로피란; 모르폴린, 및 디옥산으로부터 선택된다.

[0076] 일부 구현예에서,  은 5 내지 7원 단환 고리이다. 일부 구현예에서,  은 5 내지 7원 단환, 시클

로알칸 고리이다. 일부 구현예에서,  은 5 내지 7원 단환, 헤테로환 고리이다.

[0077] 일부 구현예에서,  은 이환 또는 삼환 고리, 즉 융합 고리와 같은 2개 이상의 고리를 함유한다.

[0078] 일부 구현예에서, X는 부재하거나, -O-, 또는 -C(O)-이다.

[0079] 일부 구현예에서, Z는 -O-, -C(O)O-, 또는 -OC(O)-이다.

[0080] 일부 구현예에서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0081] 일부 구현예에서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H이다.

[0082] 일부 구현예에서, R<sub>70</sub> 및 R<sub>80</sub> 각각은 H이고; R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0083] 일부 구현예에서, R<sub>70</sub>은 H이고; R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0084] 일부 구현예에서, R<sub>100</sub>은 H이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0085] 일부 구현예에서, 1은 3 내지 10, 3 내지 7, 또는 4 내지 7이다. 일부 구현예에서, 1은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일부 구현예에서, 1은 4, 5, 6, 또는 7이다.

- [0086] 일부 구현예에서, m은 4 내지 10, 5 내지 8, 1 내지 7, 3 내지 7, 또는 1 내지 5이다. 일부 구현예에서, m은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일부 구현예에서, m은 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, m은 5, 6, 7, 또는 8이다.
- [0087] 일부 구현예에서, M은  $-OC(O)-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-N(R^7)C(O)-$ ,  $-C(O)N(R^7)-$ ,  $-C(O-R_{13})O-$ ,  $-C(O)O(CH_2)_r-$ ,  $-C(O)N(R^7)(CH_2)_r-$ , 또는  $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_r-$ 이고, 여기서 각각의  $R^7$ 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;  $R_{13}$ 은 분지형 또는 비분지형  $C_3-C_{10}$  알킬이고; r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.
- [0088] 본 발명의 또 다른 양태는 본원에 개시된 바와 같은 임의의 식, 예를 들어, 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), 식 (IIA-1), 식 (IIIA) 내지 (IIIE), 식 (IIIC-1), 식 (IVA-1) 내지 (IVA-3), 식 (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 식 (VC-1) 내지 (VC-6) 중 어느 하나의 지질 화합물을 포함하는 지질 조성물에 관한 것이며, 상기 지질 조성물은 지질 나노입자(LNP)이다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 제2 지질을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 상기 화합물과 제2 지질을 약 1:1 비율로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 지질은 양이온성, 음이온성, 이온화 가능, 또는 쌍성이온성 지질이다.
- [0089] 또한, 약학적으로 허용 가능한 부형제 및 본원에 기술된 지질 조성물을 포함하는 약학적 조성물이 본원에 개시되며, 이는 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IIIC-1), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 지질 화합물을 포함한다. 약학적 조성물은 치료제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 중성 지질, 하전된 지질, 스테로이드, 및 중합체 접합 지질로부터 선택된 하나 이상의 성분을 추가로 포함한다. 이러한 조성물은 치료제를 전달하기 위한 지질 나노입자의 형성에 유용할 수 있다.
- [0090] 본 개시의 또 다른 양태는 치료제를 이를 필요로 하는 대상체(예: 환자)에게 전달하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함하는 지질 나노입자 조성물을 포함하는 약학적 조성물, 및 치료제를 상기 대상체(예: 환자)에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함하는 지질 나노입자 조성물 및 치료제를 제조하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0091] 본 개시의 또 다른 양태는 대상체에게 치료제의 간외 전달(예를 들어, 췌장, 비장, 또는 폐로)을 제공하며, 상기 전달은, 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함하는 지질 나노입자 조성물을 포함하는 약학적 조성물, 및 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 1의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 5의 비장 대 간 비율을 갖는다.
- [0092] 본 개시의 이들 및 다른 양태는 다음의 상세한 설명을 참조하여 명백해질 것이다.

### 도면의 간단한 설명

- [0093] 도 1은 실시예 7에 기술된 바와 같이, 각각의 지질 나노입자 조성물에 대한 생체 내 생물발광 영상화에 의해 결정된 EPO 수준에 기초하여, 예시적인 지질 화합물(LNP 2230, LNP 2231)을 함유하는 다양한 예시적인 지질 나노입자 조성물을 C12-200 및 MC3을 함유하는 비교 지질 나노입자 조성물과 각각 비교했을 때, 평균 방사율( $p/s/cm^2/sr$ )의 비장:간 비율을 나타낸다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0094] 정의
- [0095] 본원에서 사용되는 바와 같이, 다음의 용어는 달리 명시되지 않는 한 이들에게 부여된 의미를 갖는다.

- [0096] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시가 속하는 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0097] 본 명세서 및 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 문맥상 명확하게 달리 언급되지 않는 한, 단수 형태("a", "an", 및 "the")는 복수의 지시 대상을 포함한다.
- [0098] 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위 전체에 걸쳐 "포함하다(comprise)"라는 단어 및 이의 변형된 표현(예컨대 "comprises" 및 "comprising")은 개방적이고 포용적인 의미, 즉 "포함하지만 이에 한정되지 않는"으로서 해석되어야 한다.
- [0099] 문구 "원하는 단백질의 발현을 유도하는"은 원하는 단백질의 발현을 증가시키는 핵산의 능력을 지칭한다. 단백질 발현의 정도를 조사하기 위해, 시험 샘플(예를 들어, 원하는 단백질을 발현하는 배양물 내의 세포 샘플), 또는 설치류(예를 들어, 마우스) 또는 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이) 모델과 같은 시험 포유동물(예를 들어, 인간 또는 동물과 같은 포유동물) 모델이 핵산(예를 들어, 본 개시의 지질과 조합된 핵산)과 접촉된다. 시험 샘플 또는 시험 동물에서의 원하는 단백질의 발현은 핵산과 접촉하지 않거나 투여되지 않은 대조군 샘플(예를 들어, 원하는 단백질을 발현하는 배양물 내의 세포 샘플), 또는 설치류(예를 들어, 마우스) 또는 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이) 모델과 같은 대조군 포유동물(예를 들어, 인간 또는 동물과 같은 포유동물) 모델에서의 원하는 단백질의 발현과 비교된다. 원하는 단백질이 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에 존재할 때, 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에서의 원하는 단백질의 발현에는 1.0의 값이 할당될 수 있다. 일부 구현예에서, 원하는 단백질 발현의 유도는 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에서의 원하는 단백질 발현 수준에 대한 시험 샘플 또는 시험 포유동물에서의 원하는 단백질 발현 비가 1 초과, 예를 들어, 약 1.1, 1.5, 2.0, 5.0, 또는 10.0일 때 달성된다. 원하는 단백질이 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에 존재하지 않을 때, 원하는 단백질 발현의 유도는 시험 샘플 또는 시험 포유동물에서 원하는 단백질의 임의의 측정 가능한 수준이 검출될 때 달성된다. 당업자는 샘플에서 단백질 발현의 수준을 결정하기 위한 적절한 검정, 예를 들어 도트 블롯, 노던 블롯, 현장혼성화, ELISA, 면역침강반응, 효소 기능, 및 표현형 검정, 또는 적절한 조건 하에서 형광 또는 발광을 생성할 수 있는 리포터 단백질에 기초한 검정을 이해할 것이다.
- [0100] "표적 유전자의 발현을 억제하는"이란 문구는 표적 유전자의 발현을 침묵화, 감소, 또는 억제하는 핵산의 능력을 지칭한다. 유전자 침묵의 정도를 조사하기 위해, 시험 샘플(예를 들어, 표적 유전자를 발현하는 배양물 내의 세포 샘플), 또는 설치류(예를 들어, 마우스) 또는 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이) 모델과 같은 시험 포유동물(예를 들어, 인간 또는 동물과 같은 포유동물) 모델이 표적 유전자의 발현을 침묵화, 감소, 또는 억제하는 핵산과 접촉된다. 시험 샘플 또는 시험 동물에서의 표적 유전자의 발현은 핵산과 접촉하지 않거나 투여되지 않은 대조군 샘플(예를 들어, 표적 유전자를 발현하는 배양물 내의 세포 샘플), 또는 설치류(예를 들어, 마우스) 또는 비인간 영장류(예를 들어, 원숭이) 모델과 같은 대조군 포유동물(예를 들어, 인간 또는 동물과 같은 포유동물) 모델에서의 표적 유전자의 발현과 비교된다. 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에서의 표적 유전자의 발현에는 100%의 값이 할당될 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 유전자 발현의 침묵화, 억제, 또는 감소는 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에서의 표적 유전자 발현의 수준 대비 시험 샘플 또는 시험 포유동물에서의 표적 유전자 발현의 수준이 약 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 또는 0%일 때 달성된다. 즉, 핵산은 핵산과 접촉하지 않거나 투여되지 않은 대조군 샘플 또는 대조군 포유동물에서의 표적 유전자 발현의 수준 대비 시험 샘플 또는 시험 포유동물에서의 표적 유전자의 발현을 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%만큼 침묵화, 감소, 또는 억제할 수 있다. 표적 유전자 발현의 수준을 결정하기 위한 적절한 검정은 당업자에게 공지된 기술, 예컨대 도트 블롯, 노던 블롯, 현장혼성화, ELISA, 면역침강반응, 효소 기능뿐만 아니라 당업자에게 공지된 표현형 검정을 사용하여 단백질 또는 mRNA 수준을 검사하는 것을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.
- [0101] 활성제 또는 치료 핵산과 같은 치료제의 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 원하는 효과, 예를 들어 핵산의 부재 시 검출된 정상 발현 수준과 비교하여 표적 서열 발현의 증가 또는 억제를 생성하기에 충분한 양이다. 핵산의 부재 시에 존재하지 않는 발현 산물의 경우, 임의의 측정 가능한 수준이 검출될 때 표적 서열의 발현 증가가 달성된다. 발현 산물이 핵산과 접촉하기 전에 일부 수준으로 존재하는 경우, mRNA와 같은 핵산으로 획득된 값의 배수 증가가 대조군 대비 약 1.05, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.75, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 75, 100, 250, 500, 750, 1000, 5000, 10000, 또는 그 이상일 때 발현 증가가 달성된다. 표적 유전자 또는 표적 서열의 발현 억제는 안티센스 올리고뉴클레오티드와 같은 핵산으로 획득된 값이 대조군 대비 약 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%),

5%), 또는 0%일 때 달성된다. 표적 유전자 또는 표적 서열의 발현을 측정하기 위한 적절한 검정은, 예를 들어, 당업자에게 공지된 기술, 예컨대 도트 블롯, 노던 블롯, 현장혼성화, ELISA, 면역침강반응, 효소 기능, 적절한 리포터 단백질의 형광 또는 발광뿐만 아니라 당업자에게 공지된 표현형 검정을 사용하여 단백질 또는 RNA 수준을 검사하는 것을 포함한다.

[0102] 본원에서 사용되는 용어 "핵산"은 단일-가닥 또는 이중-가닥 형태의 적어도 2개의 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드를 함유하는 중합체를 지칭하며, 중합체는 DNA, RNA, 및 이들의 혼성체를 포함한다. DNA는 안티센스 분자, 플라스미드 DNA, cDNA, PCR 산물, 또는 벡터의 형태일 수 있다. RNA는 소형 헤어핀 RNA(shRNA), 전령 RNA(mRNA), 안티센스 RNA, miRNA, micRNA, 다가 RNA, 다이스어(dicer) 기질 RNA, 또는 바이러스 RNA(vRNA), 및 이들의 조합의 형태일 수 있다. 핵산은 공지된 뉴클레오타이드 유사체 또는 변형된 백본 잔기 또는 결합을 함유하는 핵산을 포함하며, 핵산은 합성, 자연 발생, 및 비-자연 발생이고, 기존 핵산과 유사한 결합 특성을 갖는다. 이러한 유사체의 예는 포스포로티오에이트, 포스포라미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2'-O-메틸 리보뉴클레오타이드, 및 펩티드-핵산(PNA)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 상기 용어는 기존 핵산과 유사한 결합 특성을 갖는 천연 뉴클레오타이드의 공지된 유사체를 함유하는 핵산을 포함한다. 달리 명시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체 (예를 들어, 축퇴 코돈 치환), 대립유전자, 이중상동체, 단일 뉴클레오타이드 다형성, 및 상보적 서열뿐만 아니라 명시적으로 표시된 서열을 암시적으로 포함한다. 구체적으로, 축퇴 코돈 치환은 하나 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 세 번째 위치가 혼합 염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 달성될 수 있다(Batzer 등의 문헌[Nucleic Acid Res., 19:5081 (1991)]; Ohtsuka 등의 문헌[J. Biol. Chem., 260:2605-2608 (1985)]; Rossolini 등의 문헌[Mol. Cell. Probes, 8:91-98 (1994)]). "뉴클레오타이드"는 당 데옥시리보오스(DNA) 또는 리보오스(RNA), 염기, 및 인산염기를 함유한다. 뉴클레오타이드는 인산염기를 통해 함께 연결된다.


[0103] "염기"는 퓨린 및 피리미딘을 포함하며, 천연 화합물 아데닌, 티민, 구아닌, 시토신, 우라실, 이노신, 및 천연 유사체, 및 아민, 알코올, 티올, 카르복실레이트, 및 알킬할라이드와 같은, 하지만 이에 한정되지 않는 새로운 반응성 기를 배치하는 변형을 포함하지만 이에 한정되지 않는 퓨린 및 피리미딘의 합성 유도체를 추가로 포함한다.

[0104] 용어 "유전자"는 폴리펩티드 또는 전구체 폴리펩티드의 생산에 필요한 부분 길이 또는 전체 길이 코딩 서열을 포함하는 핵산(예를 들어, DNA 또는 RNA) 서열을 지칭한다.

[0105] 본원에서 사용되는 바와 같이, "유전자 산물"은 RNA 전사체 또는 폴리펩티드와 같은 유전자의 산물을 지칭한다.

[0106] 용어 "지질"은 지방산의 에스테르를 포함하지만 이에 한정되지 않는 유기 화합물의 기를 지칭하며, 일반적으로 물에 잘 용해되지 않지만 많은 유기 용매에 용해되는 것을 특징으로 한다. 이들은 일반적으로 적어도 세 가지 부류로 나누어진다: (1) 지방 및 오일뿐만 아니라 왁스를 포함하는 "단순 지질"; (2) 인지질 및 당지질을 포함하는 "화합물 지질"; 및 (3) 스테로이드와 같은 "유래 지질".



[0107] "스테로이드"는 다음의 탄소 골격을 포함하는 화합물이다:  . 스테로이드의 비제한적인 예는 콜레스테롤이다.

[0108] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "화합물"은 도시된 구조의 모든 이성질체 및 동위원소, 이의 모든 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물, 또는 수화물, 및 이의 모든 결정 형태(예: 결정 다형체), 결정 형태 혼합물, 또는 무수물 또는 수화물을 포함하도록 의도된다.

[0109] "동위원소"는 핵에서 상이한 수의 중성자에 기인한 동일한 원자 수이지만 상이한 질량 수를 갖는 원자를 지칭한다. 예를 들어, 수소의 동위원소는 삼중수소(3H) 및 중수소(2H)를 포함한다.

[0110] "이성질체". 본원에 기술된 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 모든 이성질체, 예컨대 기하학적 이성질체, 비대칭 탄소에 기초한 광학 이성질체, 입체 이성질체, 호변 이성질체 등을 포함할 수 있다. 예를 들어, 화합물은 하나 이상의 입체중심을 함유할 수 있고, 따라서 기하 이성질체(예를 들어, 기하학적 E/Z 이성질체를 유발하는 이중 결합), 거울상 이성질체, 부분 입체 이성질체(예를 들어, 거울상 이성질체(즉, (+) 또는 (-)) 또는 시스/트랜스 이성질체), 및 절대 입체화학의 관점에서, 당 아노머와 같은 (R)- 또는 (S)-, 또는 아미노산과 같은 (D)- 또는 (L)-로 정의될 수 있는 다른 입체 이성질체 구성을 생성할 수 있다. 본 개시는 이러한 모든 가

능한 이성질체뿐만 아니라 이들의 라세미 형태 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하도록 의도된다. 광학적으로 활성인 (+) 및 (-), (R)- 및 (S)-, 또는 (D)- 및 (L)- 이성질체는 키랄 신포논 또는 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 크로마토그래피 및 분획 결정화와 같은 종래의 기술을 사용하여 분해될 수 있다. 개별 거울상 이성질체의 제조/단리를 위한 종래의 기술은 적절한 광학적으로 순수한 전구체로부터의 키랄 합성 또는, 예를 들어, 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용하는 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분해를 포함한다. 화합물의 거울상 이성질체 및 입체 이성질체 혼합물 및 이들 이들의 성분인 거울상 이성질체 또는 입체 이성질체로 분해하는 수단은 잘 알려져 있다. 본원에 기술된 화합물이 올레핀 이중 결합 또는 다른 기하학적 비대칭 중심을 함유하는 경우, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 화합물은 E 및 Z 기하학적 이성질체 둘 다를 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, 모든 호변이성질체 형태도 포함하도록 의도된다.

[0111] 용어 "결정 다형체", "다형체" 또는 "결정 형태"는 화합물(또는 이의 염 또는 용매화물)이 상이한 결정 패킹 배열로 결정화될 수 있는 결정 구조를 의미하며, 이들 모두는 동일한 원소 조성을 갖는다. 상이한 결정 형태는 일반적으로 상이한 X-선 회절 패턴, 적외선 스펙트럼, 융점, 밀도 경도, 결정 형상, 광학 및 전기적 특성, 안정성 및 용해도를 갖는다. 재결정화 용매, 결정화 속도, 저장 온도, 및 다른 인자는 하나의 결정 형태가 지배적일 수 있게 한다. 화합물의 결정 다형체는 상이한 조건 하에서 결정화함으로써 제조될 수 있다. 본원에 개시된 화합물의 결정화는 용매화물을 생성할 수 있다.

[0112] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "용매화물"은 본 개시의 이온화 가능 지질의 하나 이상의 분자와 하나 이상의 용매 분자를 포함하는 응집체를 지칭한다. 용매는 물일 수 있으며, 이 경우 용매화물은 이수화물, 이수화물, 반수화물, 1.5수화물, 삼수화물, 사수화물 등을 포함하는 수화물일 수 있다. 대안적으로, 용매는 유기 용매일 수 있다.

[0113] 본원에서 사용되는 바와 같이, "이온화 가능 지질"은 하전될 수 있는 지질을 지칭한다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질은 하나 이상의 양으로 하전된 아민기를 포함한다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질은 pH에 따라 양으로 하전된 형태 또는 중성 형태로 존재할 수 있도록 이온화될 수 있다. 이온화 가능 지질의 이온화는 상이한 pH 조건 하에서 이온화 가능 지질을 포함하는 지질 나노입자의 표면 전하에 영향을 미친다. 지질 나노입자의 표면 전하는 궁극적으로, 지질 나노입자의 혈장 단백질 흡수, 혈액 제거, 및 조직 분포(Semple, S.C., 등의 문헌[Adv. Drug Deliv Rev 32:3-17(1998)])에 영향을 미칠 수 있을 뿐만 아니라 핵산의 세포내 전달에 영향을 미칠 수 있는 엔도솜 분해성 비-이중층 구조(Hafez, I.M., 등의 문헌[Gene Ther 8: 1188-1196 (2001)])를 형성하는 지질 나노입자의 능력에 영향을 미칠 수 있다.

[0114] 용어 "중합체 접합 지질"은 지질 부분 및 중합체 부분 둘 다를 포함하는 분자를 지칭한다. 중합체 접합 지질의 비제한적인 예는 PEG화된 지질이다. 용어 "PEG화된 지질"은 지질 부분 및 폴리에틸렌 글리콜 부분 둘 다를 포함하는 분자를 지칭한다. PEG화된 지질은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 1-(모노메톡시-폴리에틸렌글리콜)-2,3-디미리스토일글리세롤(PEG-DMG) 등을 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "PEG-지질" 및 "PEG화된 지질"은 상호 교환 가능하며 폴리에틸렌 글리콜 성분을 포함하는 지질을 지칭한다.

[0115] 용어 "중성 지질"은 선택된 pH에서 전하가 없거나 중성 쌍성이온성 형태로 존재하는 지질 중 어느 하나를 지칭한다. 생리학적 pH에서 이러한 지질은 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디팔미토일-5n-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DMPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC)과 같은 포스포티딜콜린, 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE)과 같은 포스포티딜에탄올아민, 스펙고미엘린(SM), 세라마이드, 및 스테롤과 이들의 유도체와 같은 스테로이드. 중성 지질은 합성 또는 자연 유래일 수 있다.

[0116] 본원에서 사용되는 바와 같이, "인지질"은 인산염 모이어티 및 불포화 지방산 사슬과 같은 하나 이상의 탄소 사슬을 포함하는 지질이다. 인지질은 하나 이상의 다중(예를 들어, 이중 또는 삼중) 결합(예를 들어, 하나 이상의 불포화)을 포함할 수 있다. 특정 인지질은 막에 대한 융합을 용이하게 할 수 있다. 예를 들어, 양이온성 인지질은 막(예를 들어, 세포 또는 세포내 막)의 하나 이상의 음으로 하전된 인지질과 상호작용할 수 있다. 막에 대한 인지질의 융합은 지질 함유 조성물의 하나 이상의 요소가 막을 통과하여, 예를 들어, 하나 이상의 요소가 세포에 전달될 수 있게 한다.

[0117] 본원에서 사용되는 용어 "리포솜"은 치료 물질을 함유할 수 있는 내부 수성 공간을 둘러싸는 외부 지질 층 막(예를 들어, 단일층 리포솜으로 알려진 단일 지질 이중층 또는 다중층 리포솜으로 알려진 다중 지질 이중층)을

포함하는 구성물을 지칭한다. 예를 들어, 그 전체가 참조로서 본원에 통합된, Cullis 등의 문헌[Biochim. Biophys Acta, 559: 399-420 (1987)]을 참조한다. 단일층 리포솜은 일반적으로 약 20 내지 약 400 나노미터 (nm), 약 50 내지 약 300 nm, 약 100 내지 약 200 nm, 또는 약 300 내지 약 400 nm 범위의 직경을 갖는다. 다중층 리포솜은 일반적으로 약 1 내지 약 10  $\mu\text{m}$  범위의 직경을 가지며, 수성상의 층과 교번하는 2 내지 수백 개의 동심 지질 이중층을 포함할 수 있다.

[0118] 용어 "지질 나노입자"는 나노미터 단위(예를 들어, 1 nm 내지 1,000 nm)로 적어도 하나의 치수를 가지며, 하나 이상의 식 (I)의 화합물을 포함하는 입자를 지칭한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 식 (I)의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함하는 지질 나노입자는 관심 표적 부위(예를 들어, 세포, 조직, 기관, 종양 등)에 핵산(예를 들어, mRNA)과 같은 치료제를 전달하는 데 사용될 수 있는 구성물에 포함된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 하나 이상의 식 (I)의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체, 및 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 하나 이상의 식 (I)의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체, 및 핵산, 및 중성 지질, 하전된 지질, 스테로이드, 및 중합체 접합 지질로부터 선택된 하나 이상의 다른 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 핵산과 같은 치료제는 지질 나노입자의 지질 부분 또는 지질 나노입자의 지질 부분 중 일부 또는 전부에 의해 둘러싸인 수성 공간에 캡슐화될 수 있어서, 효소 분해 또는 숙주 유기체 또는 세포의 메커니즘에 의해 유도된 다른 바람직하지 않은 효과, 예를 들어, 불리한 면역 반응으로부터 보호될 수 있다.

[0119] 일부 구현예에서, 지질 나노입자의 평균 직경은 약 30 nm 내지 약 150nm, 약 40 nm 내지 약 150 nm, 약 50 nm 내지 약 150 nm, 약 60 nm 내지 약 130 nm, 약 70 nm 내지 약 110 nm, 약 70 nm 내지 약 100 nm, 약 80 nm 내지 약 100 nm, 약 90 nm 내지 약 100 nm, 약 70 내지 약 90 nm, 약 80 nm 내지 약 90 nm, 약 70 nm 내지 약 80 nm, 또는 약 30 nm, 35 nm, 40 nm, 45 nm, 50 nm, 55 nm, 60 nm, 65 nm, 70 nm, 75 nm, 80 nm, 85 nm, 90 nm, 95 nm, 100 nm, 105 nm, 110 nm, 115 nm, 120 nm, 125 nm, 130 nm, 135 nm, 140 nm, 145 nm, 또는 150 nm이고, 지질 나노입자는 실질적으로 비독성이다. 일부 구현예에서, 핵산이 지질 나노입자에 존재할 때, 이들은 수용액에서 뉴클레아제에 의한 분해에 대해 내성을 갖는다. 핵산을 포함하는 지질 나노입자 및 이의 제조 방법은 다음에 개시되어 있고: 예를 들어, 미국 특허 공개 제2004/0142025호, 제2007/0042031호, 및 PCT 공개 WO 2013/016058 및 WO 2013/086373, 제8,569,256호, 제5,965,542호, 및 미국 특허 공개 제2016/0199485호, 제2016/0009637호, 제2015/0273068호, 제2015/0265708호, 제2015/0203446호, 제2015/0005363호, 제2014/0308304호, 제2014/0200257호, 제2013/086373호, 제2013/0338210호, 제2013/0323269호, 제2013/0245107호, 제2013/0195920호, 제2013/0123338호, 제2013/0022649호, 제2013/0017223호, 제2012/0295832호, 제2012/0183581호, 제2012/0172411호, 제2012/0027803호, 제2012/0058188호, 제2011/0311583호, 제2011/0311582호, 제2011/0262527호, 제2011/0216622호, 제2011/0117125호, 제2011/0091525호, 제2011/0076335호, 제2011/0060032호, 제2010/0130588호, 제2007/0042031호, 제2006/0240093호, 제2006/0083780호, 제2006/0008910호, 제2005/0175682호, 제2005/017054호, 제2005/0118253호, 제2005/0064595호, 제2004/0142025호, 제2007/0042031호, 제1999/009076호 및 PCT 공개 WO 99/39741, WO 2017/117528, WO 2017/004143, WO 2017/075531, WO 2015/199952, WO 2014/008334, WO 2013/086373, WO 2013/086322, WO 2013/016058, WO 2013/086373, WO 2011/141705, 및 WO 2001/07548, 동 문헌의 전체 개시는 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0120] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "크기"는 지질 나노입자 집단의 유체역학적 직경을 지칭한다. 지질 나노입자 형태의 크기의 측정에는 구성물의 크기 및 집단 분포(다분산 지수, PDI)를 나타내는 데 사용될 수 있다.

[0121] 본원에서 사용되는 바와 같이, "다분산 지수"는 중량-평균 몰 질량과 Mn 사이의 비율이며, 시스템의 입자 크기 분포의 균질성을 설명하는 수-평균 몰 질량이다. 작은 값, 예를 들어, 0.3 미만은 좁은 입자 크기 분포를 나타낸다.

[0122] 다분산 지수는 지질 조성물(예: 리포솜 또는 LNP)의 균질성, 예를 들어 리포솜 또는 LNP의 입자 크기 분포를 나타내는 데 사용될 수 있다. 다분산 지수가 작으면(예를 들어, 0.3 미만) 일반적으로 입자 크기 분포가 좁다는 것을 나타낸다. 지질 조성물은 약 0 내지 약 0.25, 예컨대 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.11, 0.12, 0.13, 0.14, 0.15, 0.16, 0.17, 0.18, 0.19, 0.20, 0.21, 0.22, 0.23, 0.24, 또는 0.25의 다분산 지수를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 조성물의 다분산 지수는 약 0.10 내지 약 0.20일 수 있다.

- [0123] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "겔보기 pKa"는 지질 나노제형(예: LNP)의 50%가 양성자화되는 pH를 지칭한다. 이는 지질 나노제형(예를 들어, LNP)이 양성자화되어 뉴클레오티드 전달에서 엔도솜 탈출 프로세스를 개시할 수 있는, pH 범위의 표시자로서 사용될 수 있다.
- [0124] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제타 전위"는, 예를 들어, 지질 나노제형(예: LNP 조성물)에서 지질의 전기 동역학적 전위를 지칭한다. 제타 전위는 LNP 조성물의 표면 전하를 설명할 수 있다. 제타 전위는 기관 트로피즘(tropism) 및 혈청 단백질과의 잠재적 상호작용을 예측하는 데 유용하다.
- [0125] 지질 조성물(예: 리포솜 또는 LNP)의 제타 전위는 조성물의 전기 동역학 전위를 나타내는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 제타 전위는 리포솜 또는 LNP의 표면 전하를 설명할 수 있다. 비교적 낮은 전하, 양전하 또는 음전하를 갖는 지질 조성물(예: 리포솜 또는 LNP)이 일반적으로 바람직하는데, 이는 보다 높은 전하를 갖는 종이 신체 내의 세포, 조직, 및 다른 요소와 바람직하지 않게 상호작용할 수 있기 때문이다. 일부 구현예에서, 리포솜 또는 LNP의 제타 전위는 약 -10 mV 내지 약 +20 mV, 약 -10 mV 내지 약 +15 mV, 약 -10 mV 내지 약 +10 mV, 약 -10 mV 내지 약 +5 mV, 약 -10 mV 내지 약 0 mV, 약 -10 mV 내지 약 -5 mV, 약 -5 mV 내지 약 +20 mV, 약 -5 mV 내지 약 +15 mV, 약 -5 mV 내지 약 +10 mV, 약 -5 mV 내지 약 +5 mV, 약 -5 mV 내지 약 0 mV, 약 0 mV 내지 약 +20 mV, 약 0 mV 내지 약 +15 mV, 약 0 mV 내지 약 +10 mV, 약 0 mV 내지 약 +5 mV, 약 +5 mV 내지 약 +20 mV, 약 +5 mV 내지 약 +15 mV, 또는 약 +5 mV 내지 약 +10 mV일 수 있다.
- [0126] 본원에서 사용되는 바와 같이, 지질에 의해 "캡슐화된"은 지질 나노입자에 의해 완전히 또는 부분적으로 캡슐화되는 핵산(예: mRNA)과 같은 치료제를 지칭한다. 일부 구현예에서, 핵산(예: mRNA)은 지질 나노입자 내에 완전히 캡슐화된다.
- [0127] 본원에서 사용되는 바와 같이, "캡슐화 효율" 또는 "포획 효율"은 제공된 치료제 및/또는 예방제의 초기 총량에 비해 지질 조성물(예: LNP 또는 리포솜)에 성공적으로 혼입되는(예: 캡슐화되거나 이와 달리 연관된) 캡슐화된 치료 물질(예: 치료제 및/또는 예방제)의 백분율을 지칭한다. 예를 들어, 초기에 제공된 총 100 mg의 치료제 및/또는 예방제 중 97 mg의 치료제 및/또는 예방제가 지질 조성물에 캡슐화되는 경우, 캡슐화 효율은 97%로 주어질 수 있다. 캡슐화 효율은 특정 제형 방법 및 제형 레시피를 사용하여 지질 조성물 내로 로딩하는 캡슐화된 치료 물질(예: 핵산 분자)의 효율을 나타내는 데 사용될 수 있다.
- [0128] 단백질 및/또는 핵산과 같은 치료 물질의 캡슐화 효율은, 제공된 초기 양에 비해, 제조 후 지질 조성물(예: 리포솜 또는 LNP)과 캡슐화되거나 달리 연관된 단백질 및/또는 핵산의 양을 기술한다. 캡슐화 효율은 바람직하게는 높다(예를 들어, 적어도 70%, 80%, 90%, 95%, 거의 100%). 캡슐화 효율은, 예를 들어, 리포솜 또는 LNP를 하나 이상의 유기 용매 또는 세제로 분해하기 전과 후에 리포솜 또는 LNP를 함유하는 용액 중 단백질 또는 핵산의 양을 비교함으로써 측정될 수 있다. 음이온 교환 수지는 용액 중 유리 단백질 또는 핵산(예: RNA)의 양을 측정하는 데 사용될 수 있다. 형광은 용액 중의 유리 단백질 및/또는 핵산(예: RNA)의 양을 측정하는 데 사용될 수 있다. 본원에 기술된 리포솜 또는 LNP의 경우, 단백질 및/또는 핵산의 캡슐화 효율은 적어도 50%, 예를 들어 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%일 수 있다. 일부 구현예에서, 캡슐화 효율은 적어도 80%일 수 있다. 일부 구현예에서, 캡슐화 효율은 적어도 90%일 수 있다. 일부 구현예에서, 캡슐화 효율은 적어도 95%일 수 있다.
- [0129] 핵산-지질 나노입자와 관련하여 "혈청-안정한"은 유리 DNA 또는 RNA를 유의하게 분해할 혈청 또는 뉴클레아제 검정에 노출된 후 핵산이 유의하게 분해되지 않음을 의미한다. 적절한 검정은, 예를 들어, 표준 혈청 검정, DNase 검정, 또는 RNase 검정을 포함한다.
- [0130] 일부 투여 기술은 소정의 제제의 전신 전달을 초래할 수 있지만 다른 제제에 대해서는 그렇지 않을 수 있다. "전신 전달"은 유용한 양, 예컨대 치료적 양의 제제가 신체의 대부분의 부위에 전달되는 것을 의미한다. 지질 나노입자의 전신 전달은, 예를 들어, 정맥내, 동맥내, 피하, 및 복강내 전달을 포함하는 당업계에 공지된 임의의 수단에 의해 이루어질 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자의 전신 전달은 정맥내 전달에 의한 것이다.
- [0131] 본원에서 사용되는 바와 같이, "국소 전달"은 유기체 내의 표적 부위에 직접적으로 제제를 전달하는 것을 지칭한다. 예를 들어, 제제는 중앙과 같은 질환 부위, 염증 부위와 같은 다른 표적 부위, 또는 간, 심장, 췌장, 신장 등과 같은 표적 기관에 직접 주사함으로써 국소적으로 전달될 수 있다. 또한 국소 전달은 국소 적용, 또는 근육내, 피하, 또는 피내 주사와 같은 국소 주사 기술을 포함할 수 있다. 국소 전달은 전신 약리학적 효과를 배제하지 않는다.
- [0132] 본원에서 사용되는 바와 같이, "투여 방법"은 전신 전달 및 국소 전달 둘 다를 포함할 수 있다. "전신 전달"은

유용한 양, 예컨대 치료적 양의 제제가 신체의 대부분의 부위에 전달되는 것을 의미한다. 리포솜 또는 LNP의 전신 전달은, 예를 들어, 정맥내, 동맥내, 근육내, 피내, 피하, 및 복강내 전달을 포함하는 당업계에 공지된 임의의 수단에 의해 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자의 전신 전달은 정맥내 전달에 의한 것이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "국소 전달"은 유기체 내의 표적 부위에 직접적으로 제제를 전달하는 것을 지칭한다. 예를 들어, 제제는 종양과 같은 질환 부위, 염증 부위와 같은 다른 표적 부위, 또는 간, 심장, 췌장, 신장 등과 같은 표적 기관에 직접 주사함으로써 국소적으로 전달될 수 있다. 또한 국소 전달은 국소 적용, 또는 근육내, 피하, 또는 피내 주사와 같은 국소 주사 기술을 포함할 수 있다. 국소 전달은 전신 약리학적 효과를 배제하지 않는다.

[0133] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리펩티드" 또는 "관심 폴리펩티드"는 일반적으로 자연적으로(예를 들어, 단리되거나 정제된) 또는 합성적으로 생산될 수 있는 펩티드 결합에 의해 결합된 아미노산 잔기의 중합체를 지칭한다.

[0134] "핵산"은 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열을 정의하기 위한 것이다. 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 비제한적인 예는 DNA, 플라스미드 DNA, 자가 증폭 RNA, mRNA, siRNA, 및 tRNA이다. 상기 용어는 또한 RNA/DNA 하이브리드를 포함한다. 뉴클레오티드는 통상적으로 포스포디에스테르 결합에 의해 핵산에 연결되지만, 용어 "핵산"은 또한 다른 유형의 결합 또는 골격(예를 들어, 무엇보다도, 포스포라미드, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 0-메틸포스포로아미데이트, 모르폴리노, 잠김 핵산(LNA), 글리세롤 핵산(GNA), 트레오스 핵산(TNA), 및 펩티드 핵산(PNA) 결합 또는 골격)을 갖는 핵산 유사체를 포함한다. 핵산은 단일 가닥, 이중 가닥일 수 있거나, 단일 가닥 서열 및 이중 가닥 서열 둘 모두의 일부분을 함유할 수 있다. 핵산은 데옥시리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드의 임의의 조합뿐만 아니라, 예를 들어 아데닌, 티민, 시토신, 구아닌, 우라실, 및 변형 또는 비-정규 염기(예를 들어, 하이포크산틴, 크산틴, 7-메틸구아닌, 5,6-디하이드로우라실, 5-메틸시토신, 및 5-하이드록시메틸시토신을 포함함)를 포함하는 염기의 임의의 조합을 함유할 수 있다.

[0135] 본원에서 사용되는 바와 같이, "RNA"는 자연적으로 또는 비-자연적으로 발생할 수 있는 리보핵산을 지칭한다. 예를 들어, RNA는 하나 이상의 핵염기, 뉴클레오시드, 뉴클레오티드, 또는 링커와 같은 변형된 및/또는 비-자연 발생 성분을 포함할 수 있다. RNA는 캡 구조, 사슬을 종결하는 뉴클레오시드, 줄기 루프, 폴리A 서열, 및/또는 폴리아데닐화 신호를 포함할 수 있다. RNA는 관심 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, RNA는 전령 RNA(mRNA)일 수 있다. 특정 폴리펩티드를 암호화하는 mRNA의 번역, 예를 들어 포유류 세포 내부의 mRNA의 생체 내 번역은 암호화된 폴리펩티드를 생산할 수 있다. RNA는 작은 간섭 RNA(siRNA), 비대칭 간섭 RNA(aiRNA), 마이크로RNA(miRNA), 다이버 기질 RNA(dsRNA), 작은 헤어핀 RNA(shRNA), mRNA, 및 이들의 혼합물로 이루어진 비제한적인 군으로부터 선택될 수 있다.

[0136] "알킬"은 탄소 및 수소 원자로만 이루어진 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭하며, 예를 들어, 1개 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub> 알킬), 4개 내지 20개의 탄소 원자(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub> 알킬), 6개 내지 16개의 탄소 원자(C<sub>6</sub>-C<sub>16</sub> 알킬), 6개 내지 9개의 탄소 원자(C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub> 알킬), 1개 내지 15개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 알킬), 1개 내지 12개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬), 1개 내지 8개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬), 또는 1개 내지 6개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬)를 갖고, 단일 결합에 의해, 예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 1-메틸에틸(이소프로필), n-부틸, n-펜틸, 1,1-디메틸에틸(t-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실, 에테닐, 프로프-1-에닐, 부트-1-에닐, 펜트-1-에닐, 펜타-1,4-디에닐, 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐 등의 분자의 나머지에 부착된다. 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬기는 임의 치환된다.


[0137] "알킬렌" 또는 "알킬렌 사슬"은 탄소 및 수소로만 이루어진, 라디칼기에 분자의 나머지 부분을 연결하는 직쇄 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬을 지칭하며, 예를 들어, 1개 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub> 알킬렌), 1개 내지 15개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 알킬렌), 1개 내지 12개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬렌), 1개 내지 8개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌), 1개 내지 6개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬렌), 2개 내지 4개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> 알킬렌), 1개 내지 2개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 알킬렌), 예를 들어, 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, n-부틸렌, 에테닐렌, 프로페닐렌, n-부테닐렌, 프로피닐렌, n-부티닐렌 등을 갖는다. 알킬렌 사슬은 단일 또는 이중 결합을 통해 분자의 나머지 부분에 부착되고, 단일 또는 이중 결합을 통해 라디칼기에 부착된다. 분자의 나머지 부분 및 라디칼기에 대한 알킬렌 사슬의 부착 지점은 사슬 내의 1개의 탄소 또는 임의의 2개의 탄소를 통해 이루어질 수 있다.

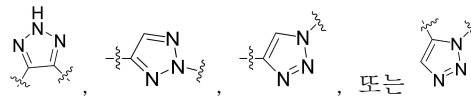
- [0138] 용어 "알케닐"은 하나 이상의 이중 결합을 갖는 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬을 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, "알케닐"은 일반적으로 C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알케닐(예를 들어, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> 알케닐, 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> 알케닐)을 지칭한다. 전형적인 알케닐의 예는 알릴, 프로페닐, 2-부테닐, 3-헥세닐, 및 3-옥테닐기를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0139] 용어 "알킬닐"은 2 내지 8개의 탄소 원자를 함유하고 하나 이상의 삼중 결합을 갖는 것을 특징으로 하는 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬을 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, "알킬닐"은 일반적으로 C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알킬닐(예를 들어, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알킬닐, C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> 알킬닐, 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> 알킬닐)을 지칭한다. 전형적인 알킬닐의 일부 예는 에틸닐, 2-프로피닐, 및 3-메틸부틸닐, 및 프로파르길이다. sp<sup>2</sup> 및 sp<sup>3</sup> 탄소는 임의로 각각 알케닐기 및 알킬닐기의 부착 지점으로서 작용할 수 있다.
- [0140] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "시클로알킬" 또는 "시클릴"은 3 내지 12개의 탄소, 예를 들어, 3 내지 8개의 탄소, 및 예를 들어, 3 내지 6개의 탄소를 갖는 포화되고 부분적으로 불포화되지만 방향족이 아닌 환형 탄화수소기를 포함하며, 여기서 시클로알킬기는 추가로 임의 치환될 수 있다. 시클로알킬기는, 제한 없이, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥세닐, 시클로헥실, 시클로헥세닐, 시클로헵틸, 및 시클로옥틸을 포함한다.
- [0141] 용어 "헤테로아릴" 또는 "헤테로아르-"는 방향족 5 내지 8원 단환, 8 내지 12원 이환, 또는 11 내지 14원 삼환 고리 시스템을 지칭하며, 단환인 경우 1 내지 3개의 헤테로원자, 이환인 경우 1 내지 6개의 헤테로원자, 또는 삼환인 경우 1 내지 9개의 헤테로원자를 갖고, 상기 헤테로원자는 O, N, 또는 S로부터 선택되고(예를 들어, 탄소 원자 및 단환인 경우 1 내지 3개의 헤테로원자, 이환인 경우 1 내지 6개의 헤테로원자, 또는 삼환인 경우 1 내지 9개의 헤테로원자 N, O, 또는 S), 여기서 각각의 고리의 0, 1, 2, 3, 또는 4개의 원자는 치환기로 치환될 수 있다. 또한, 상기 용어는, 라디칼 또는 부착 지점이 헤테로방향족 고리 상에 있는, 헤테로방향족 고리가 하나 이상의 아릴, 시클로알킬, 또는 헤테로시클릴 고리에 융합되는 기를 포함한다. 헤테로아릴기의 예는 피롤릴, 피리딜, 피리다지닐, 피라졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 푸라닐, 이미다졸릴, 벤즈이미다졸릴, 피리미디닐, 피라지닐, 인돌리지닐, 티오펜닐 또는 티에닐, 퀴놀리닐, 인돌릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 티아디아졸릴, 퓨리닐, 나프티리디닐, 프테리디닐, 이소인돌릴, 벤조티에닐, 벤조푸라닐, 디벤조푸라닐, 인다졸릴, 벤즈티아졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 신놀리닐, 프탈라지닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 4H-퀴놀리지닐, 카바졸릴, 아크리디닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 및 피리도[2,3-b]-1,4-옥사진-3(4H)-온 등을 포함한다.
- [0142] 용어 "헤테로시클릴"은 "헤테로환", "헤테로환형 라디칼", 또는 "헤테로환형 고리"는 5 내지 8원 단환, 8 내지 12원 이환, 또는 11 내지 14원 삼환 고리 시스템을 지칭하고, 단환인 경우 1 내지 3개의 헤테로원자, 이환인 경우 1 내지 6개의 헤테로원자, 또는 삼환인 경우 1 내지 9개의 헤테로원자를 갖고, 상기 헤테로원자는 O, N, 또는 S로부터 선택되고(예를 들어, 탄소 원자 및 단환인 경우 1 내지 3개의 헤테로원자, 이환인 경우 1 내지 6개의 헤테로원자, 또는 삼환인 경우 1 내지 9개의 헤테로원자 N, O, 또는 S), 여기서 각각의 고리의 0, 1, 2, 또는 3개의 원자는 치환기로 치환될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 이는 일반적으로 비방향족 또는 방향족 고리 둘 다를 포함할 수 있다(예를 들어, 일반적으로 헤테로아릴로 포괄됨). 상기 용어는 또한 헤테로환 고리가 하나 이상의 아릴, 시클로알킬, 또는 헤테로시클릴 고리에 융합되는 기를 포함한다. 헤테로환의 고리 원자와 관련하여 사용될 때, 용어 "질소"는 치환된 질소를 포함한다. 예로서, 산소, 황, 또는 질소로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 포화 또는 부분 불포화 고리에서, 질소는 (3,4-디하이드로-2H-피롤릴에서와 같이) N, (피롤리디닐에서와 같이) NH, 또는 (N-치환 피롤리디닐에서와 같이) +NR일 수 있다.
- [0143] 헤테로시클릴기의 예는 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피페라지닐, 피롤리디닐, 디옥사닐, 디옥솔라닐, 디아제피닐, 옥사제피닐, 티아제피닐, 모르폴리닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로티오펜닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피롤리닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 데카하이드로퀴놀리닐, 옥사졸리디닐, 퀴놀리디닐 등을 포함한다.
- [0144] 헤테로시클릴기의 예는 또한 그러한 전형적인 헤테로아릴기, 예컨대 피롤릴, 피리딜, 피리다지닐, 피라졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 푸라닐, 이미다졸릴, 벤즈이미다졸릴, 피리미디닐, 피라지닐, 인돌리지닐, 티오펜닐 또는 티에닐, 퀴놀리닐, 인돌릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 티아디아졸릴, 퓨리닐, 나프티리디닐, 프테리디닐, 이소인돌릴, 벤조티에닐, 벤조푸라닐, 디벤조푸라닐, 인다졸릴, 벤즈티아졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 신놀리닐, 프탈라지닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 4H-퀴놀리지닐, 카바졸릴,

아크리디닐, 페나지닐, 페노티아지닐, 페녹사지닐, 테트라하이드로퀴놀리닐, 테트라하이드로이소퀴놀리닐, 및 피리도[2,3-b]-1,4-옥사진-3(4H)-온 등을 포함한다.

[0145] 알킬, 알케닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 헤테로시클릴의 2가 라디칼은 알킬, 알케닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 및 헤테로시클릴 라디칼로부터 수소 원자를 각각 제거함으로써 (또는 알칸, 알켄, 아렌, 헤테로아렌, 시클로알칸, 또는 헤테로환으로부터 2개의 수소 원자를 각각 제거함으로써) 형성된다.

[0146] 예를 들어, 용어 "2가 헤테로환" 또는 "2가 헤테로실"은 헤테로환의 2가 형태, 즉 헤테로시클릴 라디칼로부터 수소 원자를 제거함으로써(또는 헤테로환으로부터 2개의 수소 원자를 제거함으로써) 형성되는 2가(bivalent 또는 divalent) 라디칼을 지칭한다. 예를 들어, 헤테로환의 2가 형태는 헤테로환 고리의 2개의 상이한 원자 각각

으로부터 수소 원자를 제거함으로써 형성된다. 예로서, 1,2,3, 트리아졸()의 2가 형태는 (탄소 원자 또는 질소 원자로부터) 트리아졸 고리의 2개의 상이한 원자 각각으로부터 수소 원자를 제거함으로써 형성되고,

의 구조를 가질 수 있다.

[0147] 용어 "알콕시"는 -O-알킬 라디칼을 지칭한다.

[0148] 용어 "아미노알킬"은 아미노로 치환된 알킬을 지칭한다. 용어 "알킬아미노"는 알킬로 치환된 아미노를 지칭한다.

[0149] 용어 "아미노카르보닐"은 -C(O)-아미노 라디칼을 지칭한다.

[0150] 본원에서 사용되는 용어 "치환된"은 상기 기(예를 들어, 알킬, 하이드록시알킬, 알킬렌, 시클로알킬, 시클로알킬렌, 아미노, 아미노카르보닐, 헤테로시클릴, 또는 헤테로아릴) 중 어느 하나를 의미하며, 여기서 하나 이상의 수소 원자는 비-수소 원자에 대한 결합에 의해 치환된다, 비-수소 원자는 예컨대, 이에 국한되지는 않지만: F, Cl, Br, 또는 I와 같은 할로젠 원자; 옥소기(=O); 하이드록실기(-OH); 알콕시, 알콕시알킬, 아랄콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>알킬기와 같은 알킬; 시클로알킬기; 알케닐, 알키닐, 아릴, 아랄킬 헤테로시클릴, 헤테로시클릴, 헤테로아릴, 티올, 알킬티오, 아릴티오, 알킬티오알킬, 아릴티오알킬, 알킬설포닐, 알킬설포닐알킬, 아릴설포닐알킬, 아릴옥시, 카르복시알킬, 알콕시카르보닐알킬, 아미노카르보닐알킬, 아실, 아미노카르보닐, 알킬아미노카르보닐, 아릴아미노카르보닐, 알콕시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 할로알킬, 아미노, 트리플루오로메틸, 시아노, 니트로, 알킬아미노, 아릴아미노, 알킬아미노알킬, 아릴아미노알킬, 아미노알킬아미노, 아랄콕시카르보닐, 설포닐, 알킬아미노락탐, 알킬아미노헤테로아릴, 알킬아미노헤테로시실, 및 아미노설포나미드를 포함한다. 또한, 예시적인 치환기는: -(C=O)OR; -O(C=O)R; -C(=O)R; -OR; -S(O)<sub>x</sub> R; -S-SR; -C(=O)SR; -SC(=O)R; -NRR'; -R<sup>1</sup>C(=O)R; -C(=O)RR; -RC(=O)R'R"; -OC(=O)RR; -RC(=O)OR'; -R<sup>1</sup>S(O)<sub>x</sub> R''R; -R<sup>1</sup>S(O)<sub>x</sub> R; 및 -S(O)<sub>x</sub> R R'을 포함하며, 여기서: R, R', 및 R''은 각각의 경우에, 임의 치환될 수 있는, 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>알킬 또는 시클로알킬, 헤테로시클릴, 또는 헤테로아릴이고, x는 0, 1, 또는 2이다. 일부 구현예에서, 치환기는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>알킬기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 시클로알킬기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 플루오로와 같은 할로기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 옥소기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 하이드록실기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 하이드록시알킬렌기(-R-OH)이다. 일부 구현예에서, 치환기는 알콕시기(-OR)이다. 일부 구현예에서, 치환기는 카르복실기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 아미노기(-NRR')이다. 적절한 치환기는 또한 포화 탄소 원자 상의 2가 치환기를 포함하며, 이는 =O, =S, =NNR<sup>\*</sup>2, =NNHC(O)R<sup>\*</sup>, =NNHC(O)OR<sup>\*</sup>, =NNHS(O)2R<sup>\*</sup>, =NR<sup>\*</sup>, =NOR<sup>\*</sup>, -O(C(R<sup>\*</sup>2))2-30-, 또는 -S(C(R<sup>\*</sup>2))2-3S-를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 여기서 R<sup>\*</sup>의 경우는 각각 독립적으로 수소, 치환된 또는 치환되지 않은 C1-6알킬, 또는 치환되지 않은 5 내지 6원 포화 또는 부분 불포화 고리, 또는 질소, 산소, 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 아릴 고리로부터 선택된다.

[0151] "할로" 또는 "할로젠"은 불소, 염소, 브롬, 또는 요오드의 임의의 라디칼을 지칭한다.

[0152] "임의(optional 또는 optionally)"(예를 들어, 임의 치환된)는 후속하여 설명된 상황 이벤트가 발생할 수 있거나 발생하지 않을 수 있고, 상기 설명은 상기 이벤트 또는 상황이 발생하는 경우 및 발생하지 않는 경우를 포함

한다는 것을 의미한다. 예를 들어, "임의 치환된 알킬"은 알킬 라디칼이 치환될 수 있거나 치환되지 않을 수 있고, 상기 설명은 치환된 알킬 라디칼 및 치환되지 않은 알킬 라디칼 둘 다를 포함한다는 것을 의미한다.

[0153] 본 개시는 또한 상이한 원자 질량 또는 질량 수를 갖는 원자에 의해 치환된 하나 이상의 원자를 가짐으로써 동위원소 표지된 것으로 본원에서 확인된 모든 식의 모든 약학적으로 허용 가능한 화합물을 포함하도록 의도된다. 개시된 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 염소, 및 요오드의 동위원소, 예컨대 각각  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{123}\text{I}$ , 및  $^{125}\text{I}$ 를 포함한다. 이들 동위원소 표지된 화합물은, 예를 들어, 작용 부위 또는 작용 방식을 특성화하거나 약리학적으로 중요한 작용 부위에 대한 결합 친화도를 특성화함으로써, 화합물의 효과를 결정하거나 측정하는 데 유용할 수 있다. 소정의 동위원소 표지된 (I), (IA), 또는 (IB) 구조의 화합물, 예를 들어, 방사성 동위원소를 포함하는 화합물은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 방사성 동위원소 삼중 수소, 즉  $^3\text{H}$ , 및 탄소-14, 즉  $^{14}\text{C}$ 는 이들의 혼입 용이성 및 즉시 검출 가능한 수단의 관점에서 이러한 목적에 유용할 수 있다.

[0154] 중수소, 즉  $^2\text{H}$ 와 같은 더 무거운 동위원소로 치환하는 것은 더 큰 대사 안정성, 예를 들어, 생체 내 반감기 증가 또는 투여량 요구 감소로 인한 소정의 치료적 이점을 제공할 수 있으므로, 일부 상황에서 유용할 수 있다.

[0155]  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$  및  $^{13}\text{N}$ 과 같은 양전자 방출 동위원소로 치환하는 것은 기질 수용체 점유도를 검사하기 위한 PET(Positron Emission Topography) 연구에 유용할 수 있다. 식 (I)의 동위원소 표지된 화합물은 일반적으로 당업자에게 공지된 종래의 기술에 의해 제조되거나, 이전에 사용된 비표지된 시약 대신에 적절한 동위원소 표지된 시약을 사용하여 후술하는 바와 같은 제조에 및 실시예에 기술된 것과 유사한 프로세스에 의해 제조될 수 있다.

[0156] 본 개시는 또한 개시된 화합물의 생체 내 대사 산물을 포함하도록 의도된다. 이러한 산물은 주로 효소 공정으로 인해, 예를 들어, 투여된 화합물의 산화, 환원, 가수분해, 아미드화, 에스테르화 등으로부터 발생할 수 있다. 따라서, 본 개시의 구현에는 본 개시의 이온화 가능 지질을 이의 대사 산물을 수득하기에 충분한 기간 동안 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 프로세스에 의해 생산된 화합물을 포함한다. 이러한 산물은 통상적으로 랫트, 마우스, 기니피그, 원숭이 또는 인간과 같은 동물에게 검출 가능한 투여량으로 본 개시의 방사성 표지된 화합물을 투여하고, 대사가 일어나기에 충분한 시간을 두고, 소변, 혈액 또는 다른 생물학적 샘플로부터 이의 전환 산물을 분리함으로써 식별된다.

[0157] "약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제"는 미국 식품의약국에 의해 인간 또는 가축에서 사용하기에 허용 가능한 것으로 승인된 임의의 보조제, 담체, 부형제, 활택제, 감미제, 희석제, 보존제, 염료/색소, 향미 증강제, 계면활성제, 습윤제, 분산제, 현탁제, 안정화제, 등장제, 용매, 또는 유화제를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0158] "약학적으로 허용 가능한 염"은 산 및 염기 부가염 둘 다를 포함한다.

[0159] "약학적으로 허용 가능한 산 부가염"은 유리 염기의 생물학적 효과 및 특성을 보유하는 염을 지칭하며, 이는 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않지 않으며, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등과 같지만 이에 한정되지 않는 무기산, 및 다음과 같지만 이에 한정되지 않는 유기산으로 형성된다: 아세트산, 2,2-디클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤젠술폰산, 벤조산, 4-아세트아미도벤조산, 장뇌산, 장뇌-10-술폰산, 카프릴산, 카프로산, 카프릴산, 탄산, 계피산, 구연산, 시클라민산, 도데실황산, 에탄-1,2-디술폰산, 에탄술폰산, 2-하이드록시에탄술폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 겐티신산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루쿠론산, 글루타민산, 글루타르산, 2-옥소-글루타르산, 글리세로인산, 글리콜산, 히푸르산, 이소부티르산, 젖산, 락토비온산, 라우르산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄술폰산, 뮤신산, 나프탈렌-1,5-디술폰산, 나프탈렌-2-술폰산, 1-하이드록시-2-나프토산, 니코틴산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 파모산, 프로피온산, 피로글루탐산, 피루브산, 살리실산, 4-아미노살리실산, 세바스산, 스테아르산, 숙신산, 타르타르산, 티오시안산, 툴루엔술폰산, 트리플루오로아세트산, 운데실렌산 등.

[0160] "약학적으로 허용 가능한 염기 부가염"은 유리 산의 생물학적 효과 및 특성을 보유하는 염을 지칭하며, 이는 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않지 않다. 이들 염은 무기 염기 또는 유기 염기를 유리 산에 첨가함으로써 제조된다. 무기 염기로부터 유래된 염은 나트륨, 칼륨, 리튬, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 아연, 구리, 망간, 알루미늄 염 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 무기 염의 비제한적인 예는 암모늄, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 및 마그네슘 염이다. 유기 염기로부터 유래된 염은 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 일차 아민, 이차

아민, 및 삼차 아민, 자연 발생 치환 아민을 포함하는 치환 아민, 환형 아민 및 암모니아, 이소프로필아민, 트리메틸아민, 디에틸아민, 트리에틸아민, 트리프로필아민, 디에탄올아민, 에탄올아민, 테아놀, 2-디메틸아미노에탄올, 2-디에틸아미노에탄올, 디시클로헥실아민, 라이신, 아르기닌, 히스티딘, 카페인, 프로카인, 하이드라바민, 콜린, 베타인, 베타타민, 벤자민, 에틸렌디아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 트리에탄올아민, 트로메타민, 푸린, 피페라진, 피페리딘, N-에틸피페리딘, 폴리아민 수지 등과 같은 염기성 이온 교환 수지의 염. 유기 염기의 비제한적인 예는 이소프로필아민, 디에틸아민, 에탄올아민, 트리메틸아민, 디시클로헥실아민, 콜린, 및 카페인이다.

[0161] 본원에 개시된 이온화 가능 지질(들)의 결정화는 용매화물을 생산할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "용매화물"은 본 개시의 이온화 가능 지질의 하나 이상의 분자와 하나 이상의 용매 분자를 포함하는 응집체를 지칭한다. 용매는 물일 수 있으며, 이 경우 용매화물은 수화물일 수 있다. 대안적으로, 용매는 유기 용매일 수 있다. 따라서, 본 개시의 화합물은 일수화물, 이수화물, 반수화물, 1.5수화물, 삼수화물, 사수화물 등을 포함하는 수화물로서, 뿐만 아니라 상응하는 용매화된 형태로서 존재할 수 있다. 본 개시의 화합물의 용매화물은 진정한 용매화물일 수 있는 반면, 다른 경우에, 본 개시의 화합물은 단지 외래성 물을 보유하거나 물과 일부 외래성 용매의 혼합물일 수 있다.

[0162] "약학적 조성물"은 본 개시의 이온화 가능 지질 및 포유동물, 예를 들어, 인간에게 생물학적 활성 화합물을 전달하기 위해 당업계에서 일반적으로 허용되는 매체를 포함할 수 있는 조성물을 지칭한다. 이러한 매체는 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함한다.

[0163] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 인간과 같은 포유동물에게 투여될 때, 인간과 같은 포유동물에서 치료를 달성하기에 충분한 본 개시의 이온화 가능 지질의 양을 지칭한다. "치료적 유효량"을 구성하는 본 개시의 지질 나노입자의 양은 화합물, 병태 및 이의 중증도, 투여 방식, 및 치료 대상 포유동물의 연령에 따라 달라질 것이지만, 그 자신의 지식 및 본 개시와 관련하여 당업자에 의해 일상적으로 결정될 수 있다.

[0164] 본원에서 사용되는 "치료"("treating" 또는 "treatment")는 관심 질환 또는 병태를 갖는 인간과 같은 포유동물에서 관심 질환 또는 병태를 치료하는 것을 포함하며, 치료는 다음을 포함한다:

[0165] (i) 특히, 이러한 포유동물이 병태에 취약하나 아직 이를 갖는 것으로 진단되지 않은 경우, 질환 또는 병태가 포유동물에서 발생하는 것을 예방함;

[0166] (ii) 질환 또는 병태를 억제, 즉 이의 발생을 억제함;

[0167] (iii) 질환 또는 병태를 완화, 즉 질환 또는 병태의 퇴행을 유발함; 또는

[0168] (iv) 질환 또는 병태로부터 기인하는 증상을 완화, 즉 기저 질환 또는 병태를 해결하지 않고 통증을 완화함. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "질환" 및 "병태"는 상호 교환적으로 사용될 수 있거나, 특정 병환 또는 병태가 알려진 병원체를 갖지 않을 수 있고(병인이 아직 해결되지 않았음을 의미함), 따라서 아직 질환으로서 인식되지 않고 단지 바람직하지 않은 병태 또는 증후군으로서 인식되고, 보다 특이적이거나 덜 특이적인 증상들의 집합이 임상적에 의해 식별되는 점에서 상이할 수 있다.

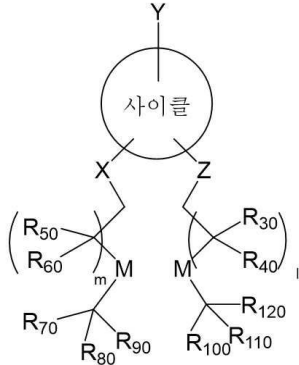
[0169] 본 개시의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 하나 이상의 입체 중심을 함유할 수 있으므로, 절대 입체화학의 관점에서 (R)- 또는 (S)-, 또는 아미노산에 대해서는 (D)- 또는 (L)-로서 정의될 수 있는 거울상 이성질체, 부분 입체이성질체, 및 다른 입체이성질체 형태를 생성할 수 있다. 본 개시는 이러한 모든 가능한 이성질체뿐만 아니라 이들의 라세미 형태 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하도록 의도된다. 광학적으로 활성인 (+) 및 (-), (R)- 및 (S)-, 또는 (D)- 및 (L)- 이성질체는 키랄 신포논 또는 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 크로마토그래피 및 분획 결정화와 같은 종래의 기술을 사용하여 분해될 수 있다. 개별 거울상 이성질체의 제조/단리를 위한 종래의 기술은 적절한 광학적으로 순수한 전구체로부터의 키랄 합성 또는, 예를 들어, 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용하는 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분해를 포함한다. 본원에 기술된 화합물이 올레핀 이중 결합 또는 다른 기하학적 비대칭 중심을 함유하는 경우, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 화합물은 E 및 Z 기하학적 이성질체 둘 다를 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, 모든 호변이성질체 형태도 포함되도록 의도된다.

[0170] "입체이성질체"는 동일한 결합에 의해 결합되지만 서로 다른 3차원 구조를 갖는, 상호 교환될 수 없는 동일한 원자로 이루어진 화합물을 지칭한다. 본 개시는 다양한 입체이성질체 및 이의 혼합물을 고려하며, 분자가 서로 겹쳐질 수 없는 거울상인 두 개의 입체이성질체를 지칭하는 "거울상 이성질체"를 포함한다.

[0171] 다음의 설명에서, 소정의 특정 세부 사항은 본 개시의 다양한 구현예의 완전한 이해를 제공하도록 제시된다. 그러나, 당업자는 본 개시가 이들 세부 사항 없이 실시될 수 있음을 이해할 것이다.

[0172] **이온화 가능 지질 화합물**

[0173] 본 발명의 일 양태는 식 (I)의 화합물:



[0174] (I), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체에 관한 것이며, 식 중:



[0175] 은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

[0176] Y는 알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬 또는  $\begin{matrix} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix} \text{---} \text{A} \text{---} \begin{matrix} \text{---} \\ | \\ \text{---} \end{matrix} \text{W}$  이고;

[0177] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-, 또는 2가 헤테로환이고;

[0178] X 및 Z의 각각은 독립적으로 부재하거나, -O-, -CO-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0179] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0180] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

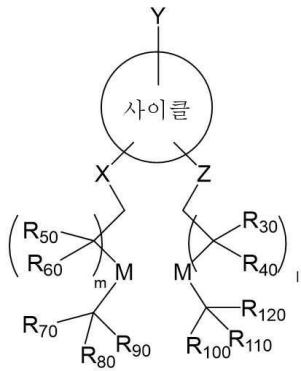
[0181] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>70</sub>, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환되는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐; 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

[0182] l 및 m 각각은 1 내지 10의 정수이고;

[0183] t1은 0 내지 10의 정수이고;

[0184] W는 하이드록실, 치환된 또는 치환되지 않은 하이드록시알킬, 치환된 또는 치환되지 않은 아미노, 치환된 또는 치환되지 않은 아미노카르보닐, 또는 치환된 또는 치환되지 않은 헤테로실릴 또는 헤테로아릴이다.

[0185] 일부 구현예에서, 식 (I)의 이온화 가능 지질:



[0186] (I), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0187] 은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

[0188] Y는 알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 이고,

[0189] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-이고;

[0190] X 및 Z의 각각은 독립적으로 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0191] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

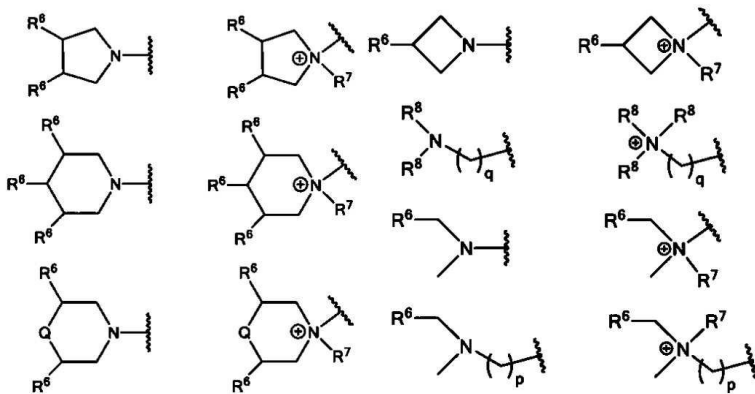
[0192] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

[0193] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>70</sub>, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐; 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

[0194] l 및 m 각각은 1 내지 10의 정수이고;

[0195] t는 0, 1, 2, 또는 3이고;

[0196] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



[0197] 식 중:

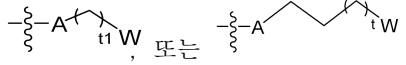

[0199] Q는 -O- 또는 -N(R<sup>7</sup>)-이고;

[0200]  $R^6$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이고;

[0201] 각각의  $R^8$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의  $R^8$ 은 고리를 형성할 수 있고;

[0202] q는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0203] p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

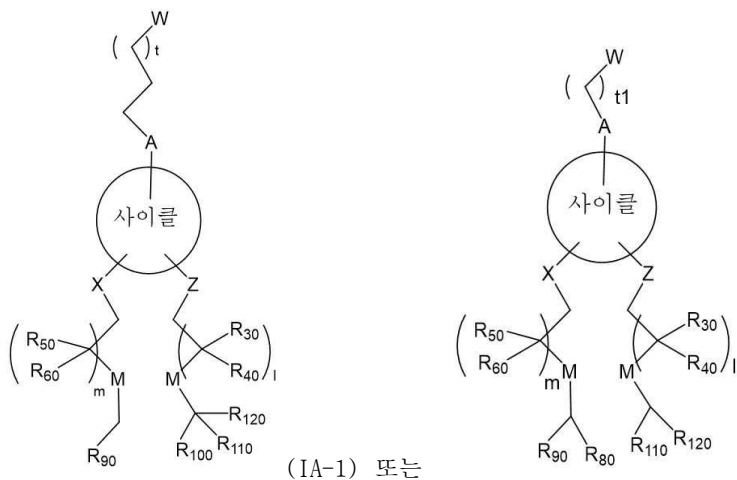
[0204] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, Y는 하이드록실,  , 또는  이다.

[0205] 일부 구현예에서,  $R_{70}$  및  $R_{80}$  각각은 H이고;  $R_{90}$ 은  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{90}$ 은  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서,  $R_{90}$ 은  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{90}$ 은  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0206] 일부 구현예에서,  $R_{70}$ 은 H이고;  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서,  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_8$  분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0207] 일부 구현예에서,  $R_{100}$ 은 H이고;  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서,  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{15}$  분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로  $C_1-C_8$  분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0208] 일부 구현예에서 식 (IA-1) 또는 식 (IA-2)의 이온화 가능 지질:



[0209] (IA-1) 또는 (IA-2), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:



[0210] 은 환형 또는 헤테로환형 모이어티이고;

[0211] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-, 또는 2가 헤테로환이고;

[0212] X는 부재하거나, -O-, -CO-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0213] Z는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0214] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0215] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

[0216] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H; 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0217] R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

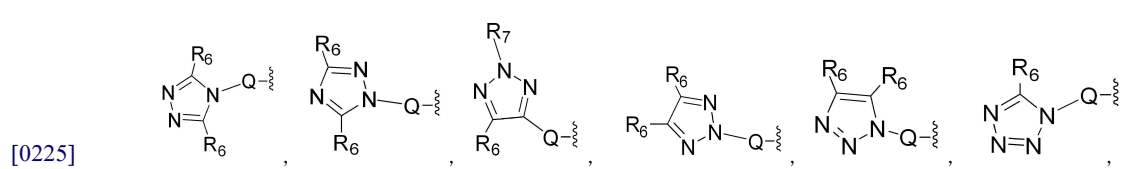
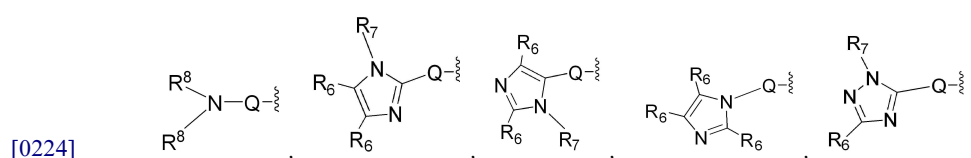
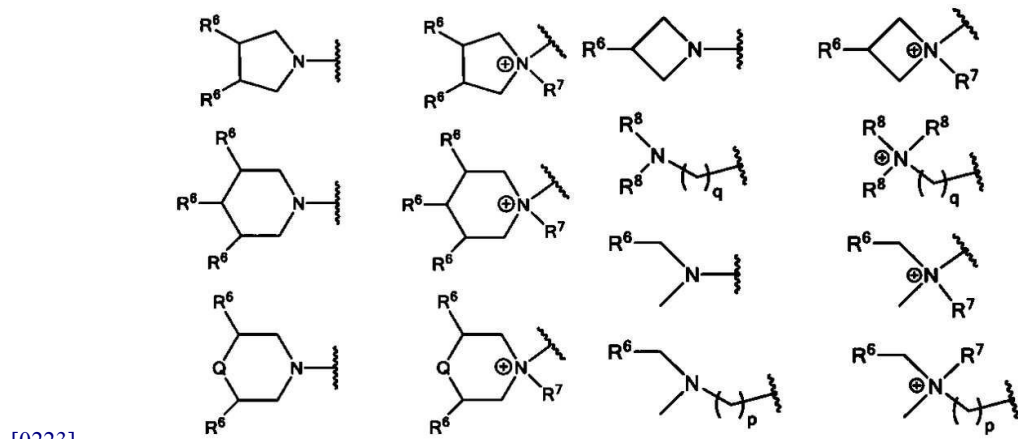
[0218] t는 0, 1, 2, 또는 3 이고;

[0219] t1은 0 내지 10의 정수이고;

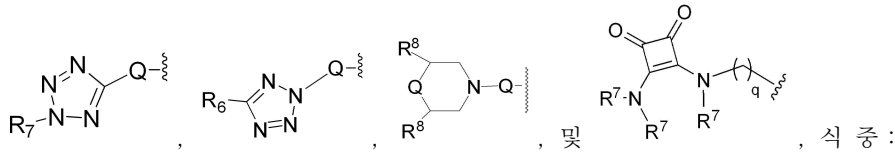
[0220] l은 1 내지 10의 정수이고;

[0221] m은 1 내지 10의 정수이고;

[0222] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



[0226]



[0227]

각각의 Q는 독립적으로 부재하거나, -O-, -C(O)-, -C(S)-, -C(O)O-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -C(S)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -N(R<sup>7</sup>)이고;

[0228]

각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고;

[0229]

각각의 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의 R<sup>8</sup>이 질소 원자와 함께 고리를 형성할 수 있고;

[0230]

각각의 q는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

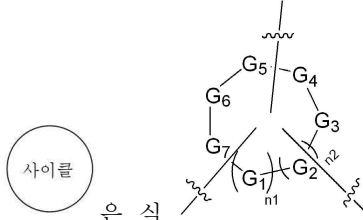
[0231]

각각의 p는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0232]

식 (I) 및 식 (IA-1) 및 식 (IA-2)의 다양한 변수에 관한 구현예가 아래에서 추가로 논의된다.

[0233]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서,  은 식

[0234]

G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>, G<sub>5</sub>, 및 G<sub>6</sub> 각각은 독립적으로 C(R')(R''), 0, 또는 N이되, 단, G<sub>1</sub> 내지 G<sub>6</sub> 중 2개 이하가 0 또는 N이고;


[0235]

R' 및 R''는 각각 독립적으로 부재하거나, H, 알킬이거나, 2개의 이웃하는 G로부터의 2개의 R'은 함께 제2의 5 내지 7원 환형 또는 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0236]



n<sub>1</sub> 및 n<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 0 또는 1이다.

[0237]


일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서,  은 피롤리딘, 피페리딘, 피페라진, 시클로헥산, 시클로펜탄, 테트라하이드로푸란, 테트라하이드로피란, 모르폴린, 및 디옥산으로부터 선택된다.

[0238]

본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서,  은 5원 내지 7원 단환 고리이다. 일부 구현예에

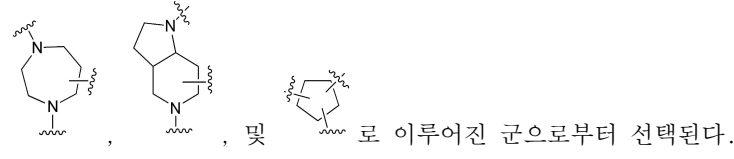
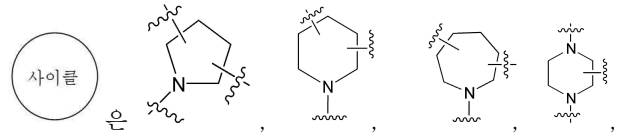
서,  은 5 내지 7원 단환, 시클로알칸 고리이다. 일부 구현예에서,  은 5 내지 7원, 단환, 헤테로환 고리이다.

[0239]

본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서,  은 이환 또는 삼환 고리이다, 즉 융합된 고리와 같은 2개 이상의 고리를 함유한다.

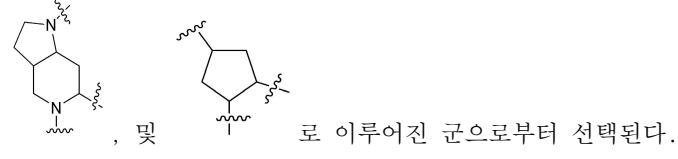
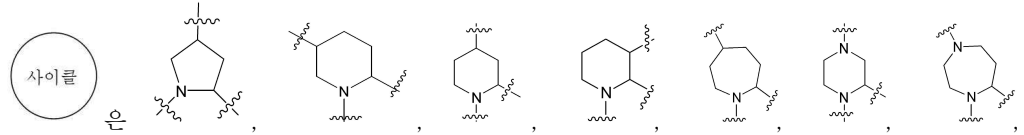
[0240]

본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서,



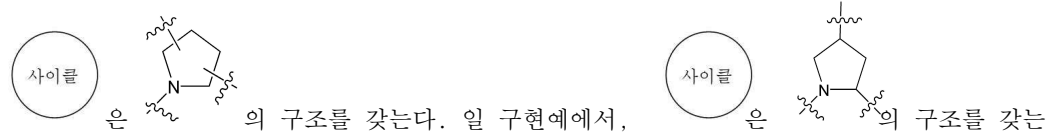
[0241]

일부 구현예에서,



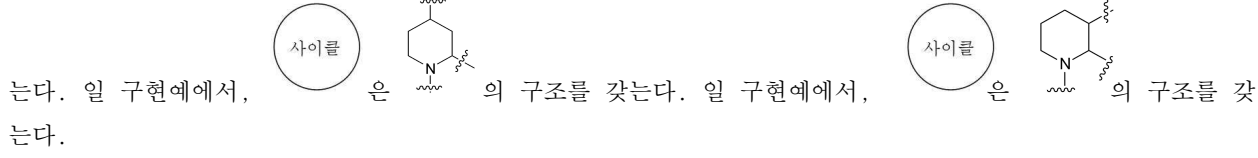
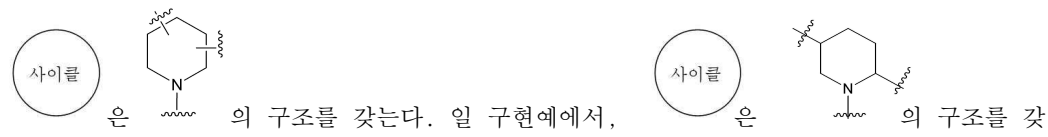
[0242]

일부 구현예에서,  
다.



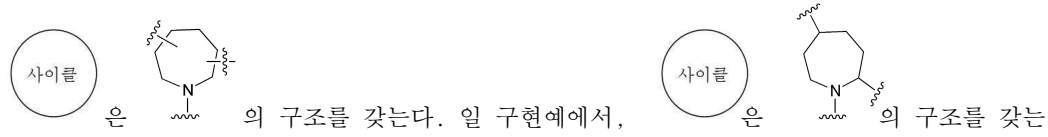
[0243]

일부 구현예에서,



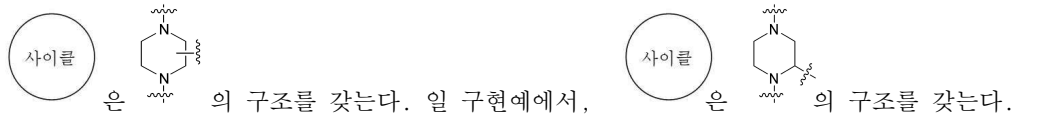
[0244]

일부 구현예에서,  
다.



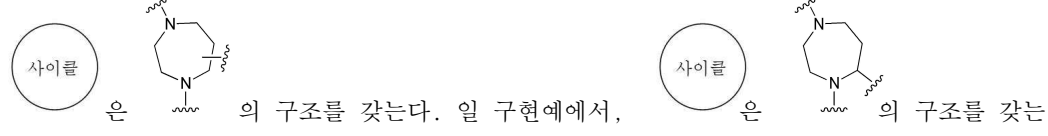
[0245]

일부 구현예에서,



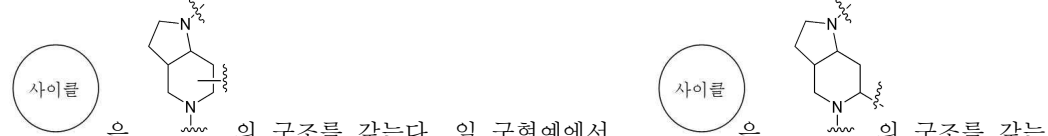
[0246]

일부 구현예에서,  
다.







[0247]

일부 구현예에서,

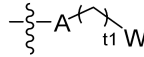
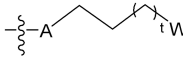


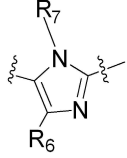
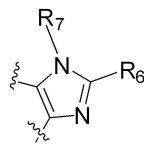
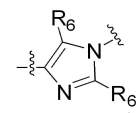
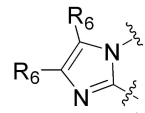
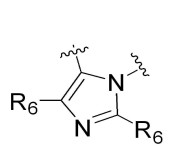
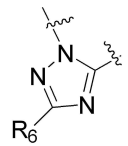
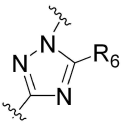
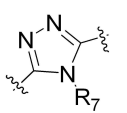
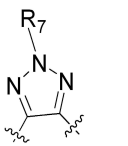
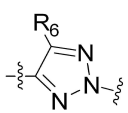
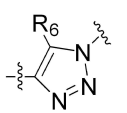
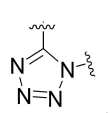
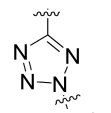
다.

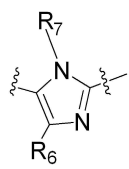
[0248]

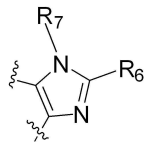
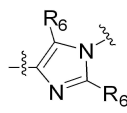
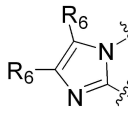
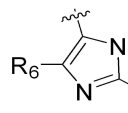
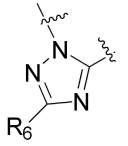
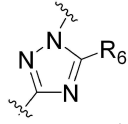
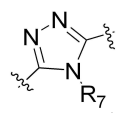
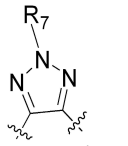
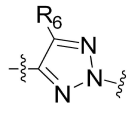
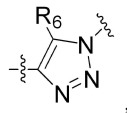
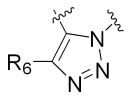
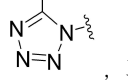
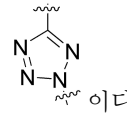
일부 구현예에서,  사이클 은  의 구조를 갖는다. 일 구현예에서,  사이클 은  의 구조를 갖는다.

[0249]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, Y,  , 또는  에 대해, A는

부재하거나,  $-O-$ ,  $-N(R^7)-$ ,  $N(R^7)C(O)-$ ,  ,  ,  ,  ,  
 ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  
 ,  ,  $-OC(O)-$ , 또는  $-C(O)O-$ 이고, 여기서  $R^6$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 티올알킬, 또는  $N^+(R^7)_3$ -알킬렌-Q-이고;  $R^7$ 은 H 또는  $C_1-C_3$  알킬이다. 일 구현예에서, A는 부재하다. 일 구현예에서 A는  $-O-$ 이다. 일 구현예에서, A는  $-N(R^7)-$ 이고, 여기서

$R^7$ 은 H 또는  $C_1-C_3$  알킬이다. 일 구현예에서, A는  $-OC(O)-$  또는  $-C(O)O-$ 이다. 일 구현예에서, A는  ,

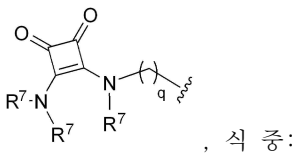
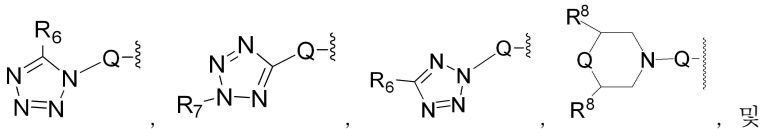
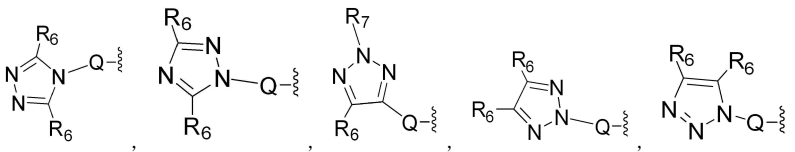
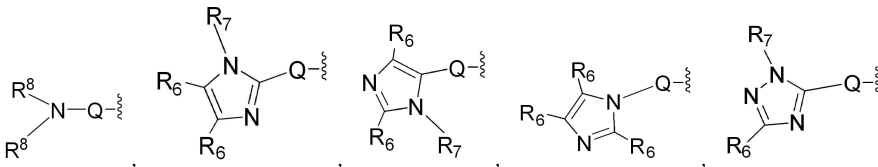
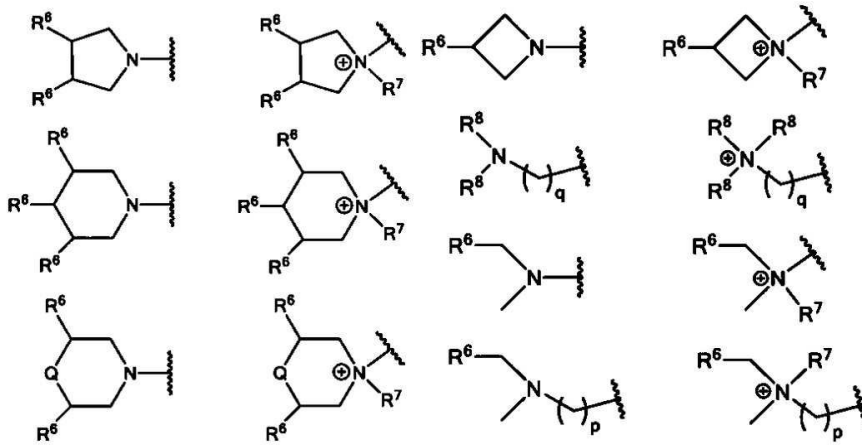
 ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  
 ,  ,  ,  , 또는  이다.

[0250]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, t1은 0, 1, 2, 3, 또는 4이고; t는 0, 1, 또는 2이다.

[0251]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



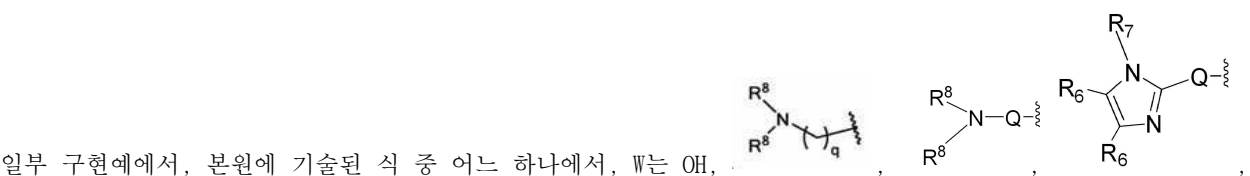
[0257] 각각의 Q는 독립적으로 부재하거나, -O-, -C(O)-, -C(S)-, -C(O)O-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -C(S)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -N(R<sup>7</sup>)-이고;

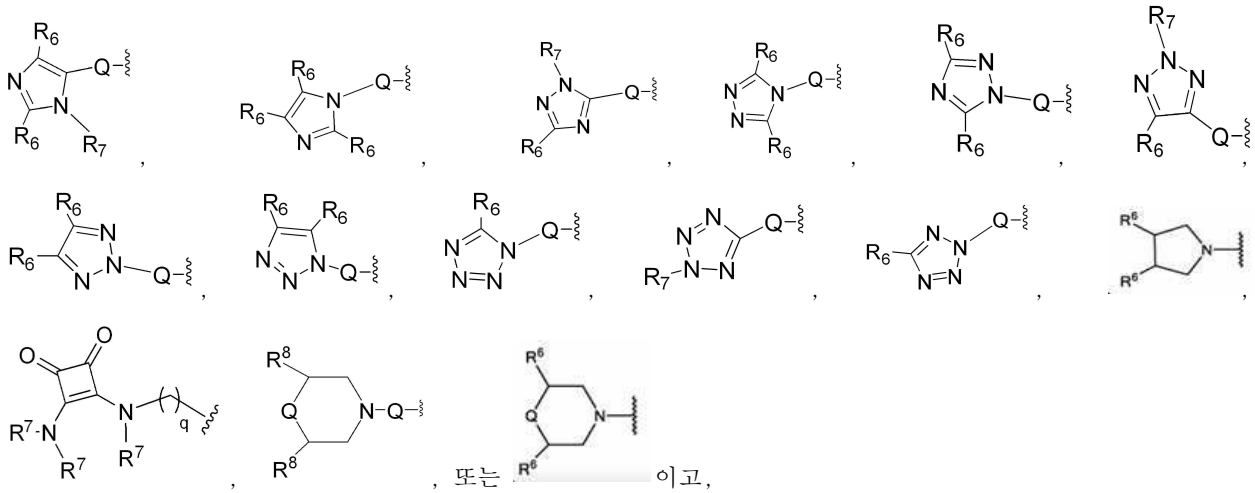
[0258] 각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고;

[0259] 각각의 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의 R<sup>8</sup>이 질소 원자와 함께 고리를 형성할 수 있고;

[0260] 각각의 q는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

[0261] 각각의 p는 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.





[0263] 식 중:

[0264] q는 0이고;

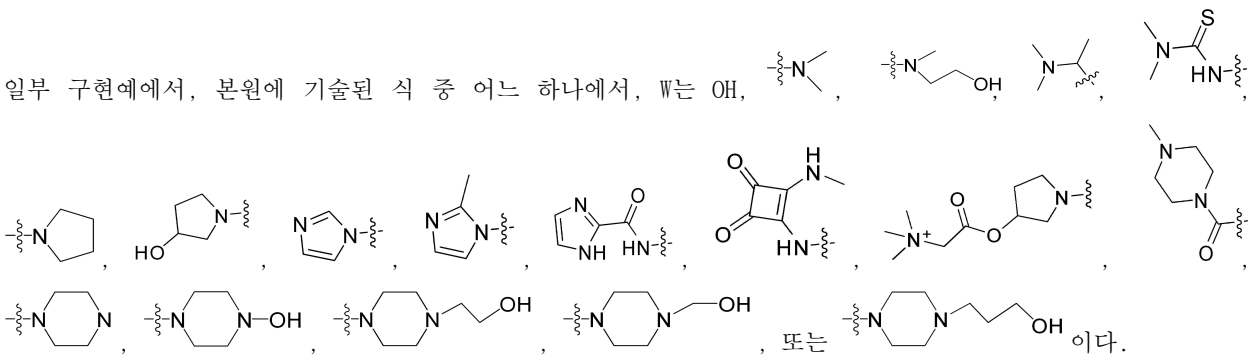
[0265] 각각의  $R^8$ 은 독립적으로 H,  $C_1-C_3$  알킬, 또는 하이드록시알킬이거나, 2개의  $R^8$ 이 질소 원자와 함께 하나 이상의 알킬기로 임의 치환된 5원 고리를 형성하고;

[0266] 각각의  $R^6$ 은 독립적으로 H, 하이드록실,  $C_1-C_3$  알킬, 또는  $-Q$ -알킬렌- $N^+(R^7)_3$ 이고;

[0267] 각각의 Q는 독립적으로 부재하거나,  $-O-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-N(R^7)-$ ,  $-C(R^7)_2-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-C(O)N(R^7)-$ , 또는  $-C(S)N(R^7)-$ 이고;

[0268] 각각의  $R^7$ 은 독립적으로 H,  $C_1-C_3$  알킬, 또는 하이드록시알킬이다.


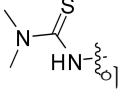
[0269] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, W는 OH,



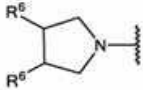

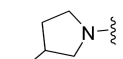
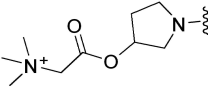
[0270] 일부 구현예에서, W는 OH이다.

[0271] 일부 구현예에서, W는 이며, 식 중 q는 0이고, 각각의  $R^8$ 은 독립적으로 H,  $C_1-C_3$  알킬, 또는 하이드록시알킬이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다.

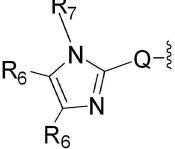
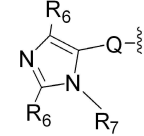
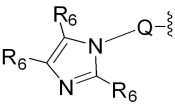


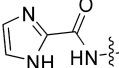
[0272] 일부 구현예에서, W는 이고, 식 중 각각의  $R^8$ 은 독립적으로 H,  $C_1-C_3$  알킬, 또는 하이드록시알킬이고, Q는  $-N(R^7)-$ ,  $-C(R^7)_2-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-C(O)N(R^7)-$ , 또는  $-C(S)N(R^7)-$ 이고; 각각의  $R^7$ 은 독립적

으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 또는 하이드록시알킬이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.

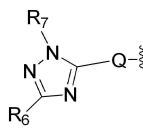
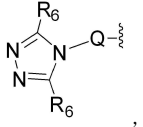
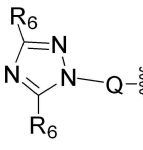
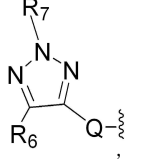
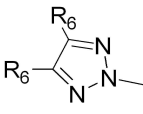
[0273]

일부 구현예에서, W는  이며, 식 중 각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 또는 -Q-알킬렌-N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.

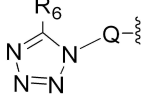
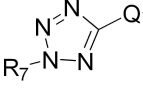
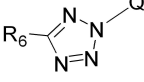
[0274]

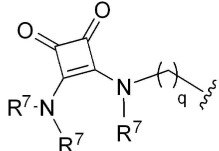
일부 구현예에서, W는  ,  , 또는  이고, 식 중 각각의 Q는 독립적으로 부재하거나, -N(R<sup>7</sup>)-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)O-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -C(S)N(R<sup>7</sup>)-이고; 각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고; 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 하이드록시, 또는 하이드록시알킬이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.

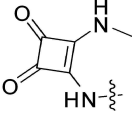
[0275]

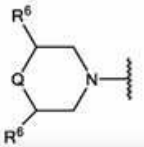
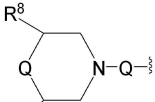
일부 구현예에서, W는  ,  ,  ,  , 또는  이고, 식 중 각각의 Q는 독립적으로 부재하거나, -N(R<sup>7</sup>)-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)O-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -C(S)N(R<sup>7</sup>)-이고; 각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고; 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 하이드록시, 또는 하이드록시알킬이다.

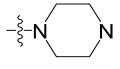
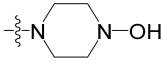
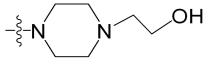
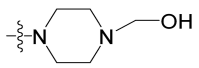
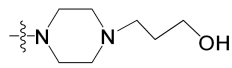
[0276]

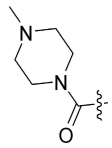
일부 구현예에서, W는  ,  , 또는  이고, 식 중 각각의 Q는 독립적으로 부재하거나, -N(R<sup>7</sup>)-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)O-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -C(S)N(R<sup>7</sup>)-이고; 각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록실, 하이드록시알킬, 알콕시, 아미노, 아미노알킬, 알킬아미노, 티올, 티올알킬, 또는 N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-알킬렌-Q-이고; 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 하이드록시, 또는 하이드록시알킬이다.


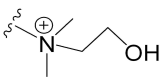
[0277] 일부 구현예에서, , 식 중 q는 0 또는 1이고, 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이다.

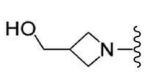
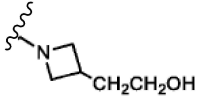
일 구현예에서 W는 이다.

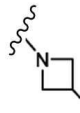
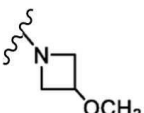
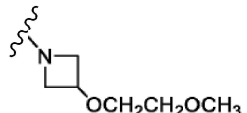
[0278] 일부 구현예에서, W는  또는 이고, 식 중 각각의 Q는 독립적으로 -N(R<sup>7</sup>)-, -C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-, -C(O)O-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -C(S)N(R<sup>7</sup>)-이고; 각각의 R<sup>6</sup>은 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이고, 각각의 Q는 독립적으로 -O-, -C(O)-, -N(R<sup>7</sup>)-이고, R<sup>7</sup>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬, 하이드록시, 또는 하이드록시알킬이다. 일 구현예에서, W

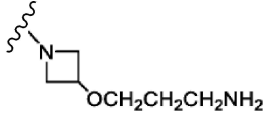
는 이다. 일 구현예에서, W는 이다. 일 구현예에서, W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는

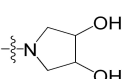
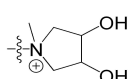
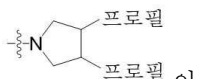
이다.

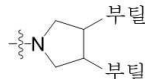
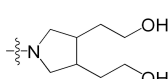
[0279] 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다.

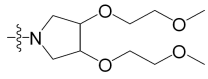
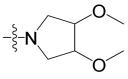
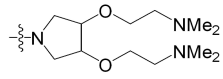
[0280] 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는

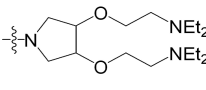
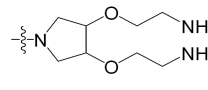
부틸이다. 일 구현예에서, W는 이다. 일 구현예에서, W는 이다. 일

구현예에서 W는 이다.

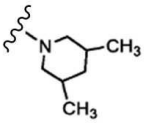
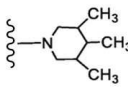
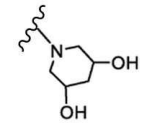
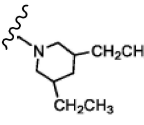
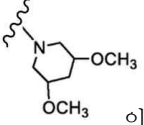
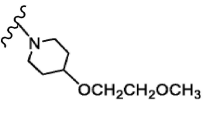
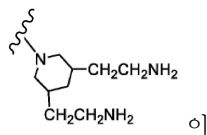
[0281] 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이

다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는

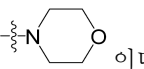
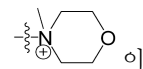
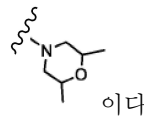
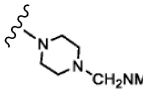
이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일 구현예에서 W는 이다. 일

구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.

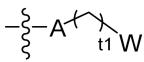
[0282]

일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.  
 이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.

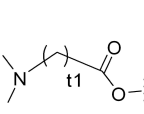
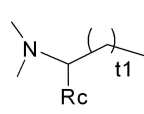
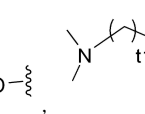
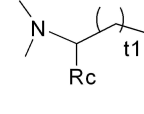
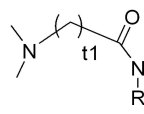
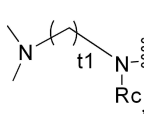
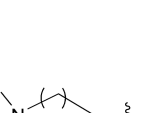
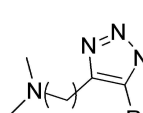
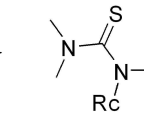
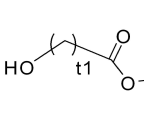
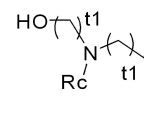
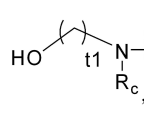
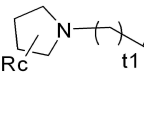
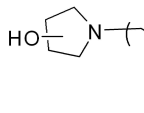
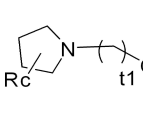
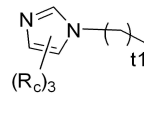
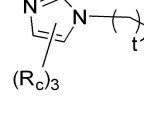
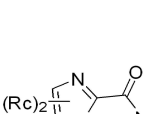
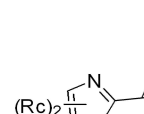
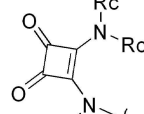
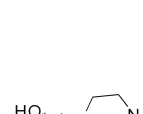
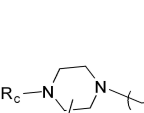
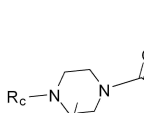
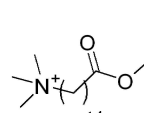
[0283]

일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다. 일 구현예에서 W는  이다.

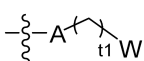
[0284]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, Y 또는  는:

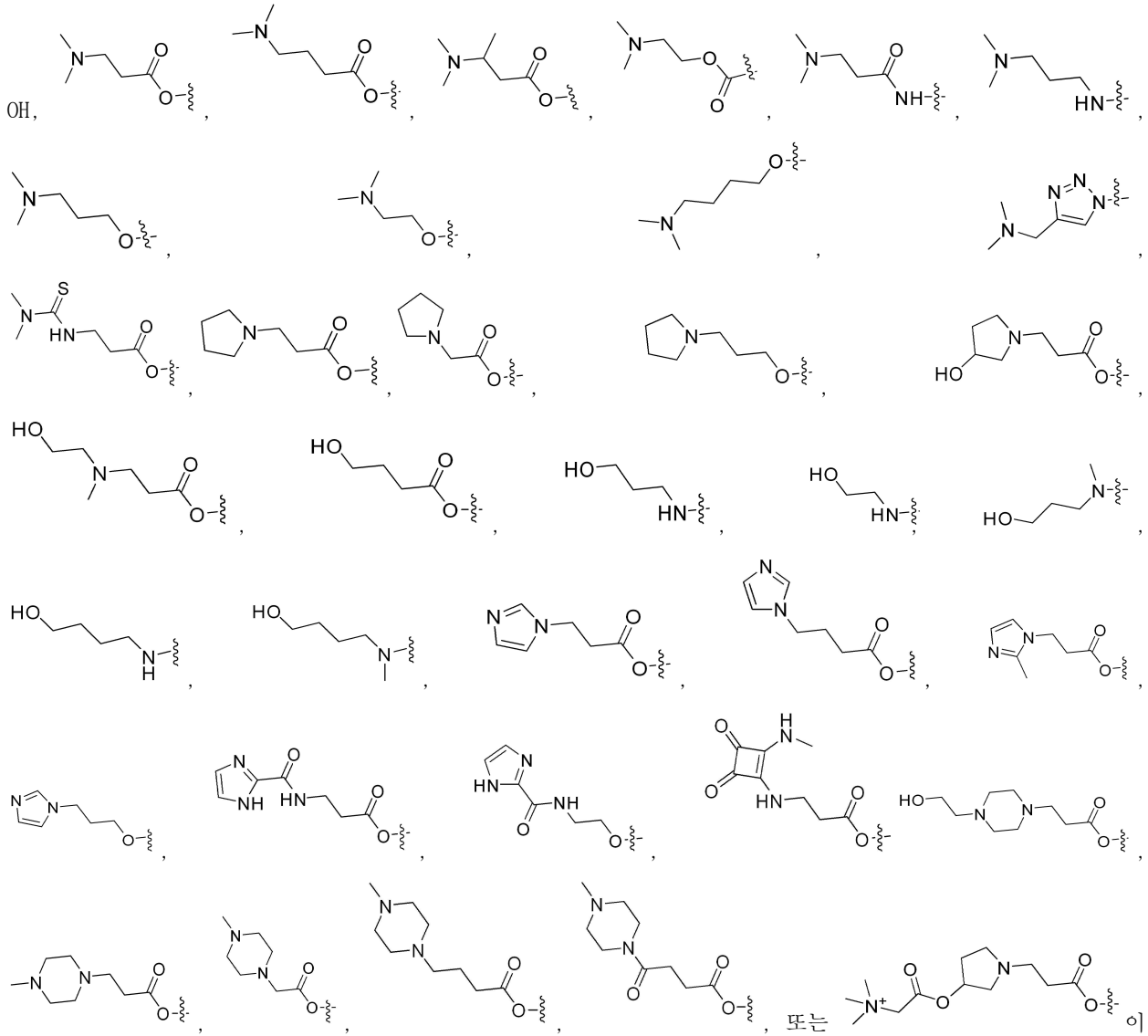
[0285]

OH, , , , , , ,  
, , , , , ,  
, , , , ,  
, , , ,  
, , 또는  이고, 식 중 각각의 R<sup>c</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬이고, 각각의 t1은 독립적으로 1, 2, 3, 또는 4이다.

[0286]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, Y 또는  는:

[0287]



다.

[0288]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, X는 부재하거나, -O-, 또는 -C(O)-이다.

[0289]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, Z는 -O-, -C(O)O-, 또는 -OC(O)-이다.

[0290]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0291]

일부 구현예에서, 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H이다.

[0292]

본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, R<sub>70</sub> 및 R<sub>80</sub> 각각은 H이고; R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0293]

본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, R<sub>70</sub>은 H이고; R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이되, 단 R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 중 적어도 하나는 H가 아니다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으



로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

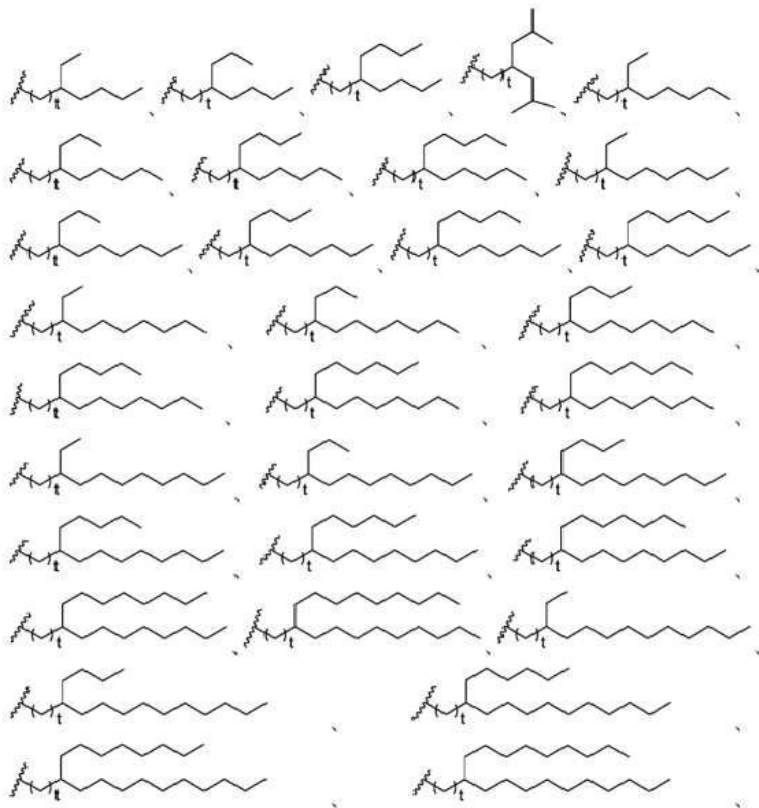
[0294] 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, R<sub>100</sub>은 H이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이되, 단 R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 중 적어도 하나는 H가 아니다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0295] 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, l은 3 내지 10, 3 내지 7, 또는 4 내지 7이다. 일부 구현예에서, l은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일부 구현예에서, l은 3, 4, 5, 6, 또는 7이다. 일부 구현예에서, l은 4, 5, 6, 또는 7이다.

[0296] 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, m은 4 내지 10, 5 내지 8, 1 내지 7, 3 내지 7, 또는 1 내지 5이다. 일부 구현예에서, m은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일부 구현예에서, m은 1, 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, m은 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, m은 5, 6, 7, 또는 8이다.

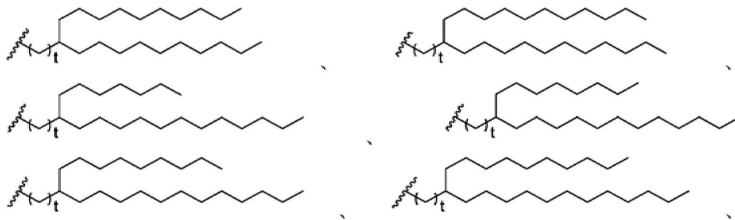
[0297] 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, R<sub>70</sub>은 H이다. 일부 구현예에서, R<sub>100</sub>은 H이다.

[0298] 본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서,  또는  다음으로부터 독립적으로 선택되고:

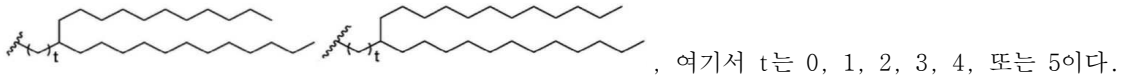


[0299]

[0300]



[0301]

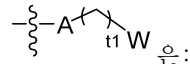


[0302]

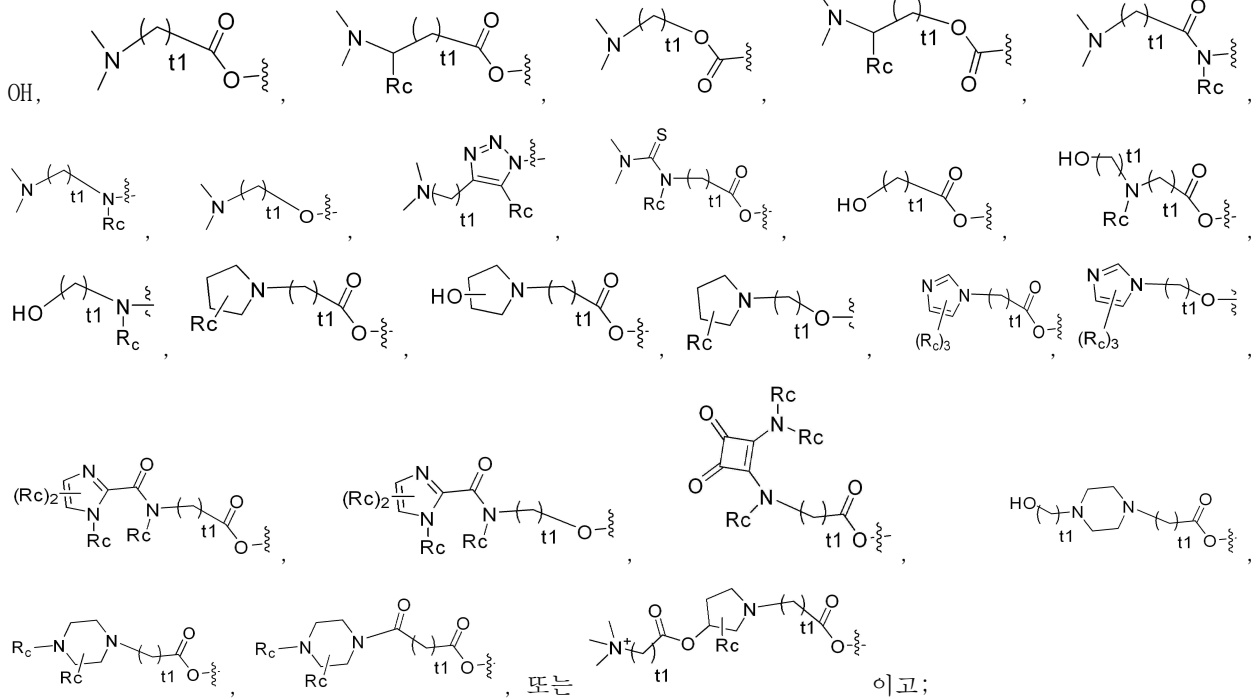
본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, M은  $-OC(O)-$ ,  $-C(O)O-$ ,  $-N(R^7)C(O)-$ ,  $-C(O)N(R^7)-$ ,  $-C(O-R_{13})O-$ ,  $-C(O)O(CH_2)_r-$ ,  $-C(O)N(R^7)(CH_2)_r-$ , 또는  $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_r-$ 이고, 여기서 각각의  $R^7$ 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;  $R_{13}$ 은 분지형 또는 비분지형  $C_3-C_{10}$  알킬이고, r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, M는  $-OC(O)-$  또는  $-C(O)O-$ 이다.

[0303]

본원에 기술된 식 중 어느 하나에서, 일부 구현예에서, X는 부재하거나,  $-O-$ , 또는  $-C(O)-$ 이고; Z는  $-O-$ ,  $-C(O)O-$ , 또는  $-OC(O)-$ 이고; M은  $-OC(O)-$  또는  $-C(O)O-$ 이고; Y 또는



[0304]

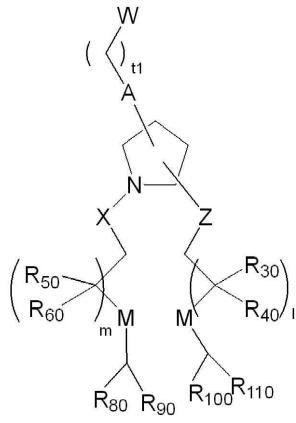


[0305]

각각의  $R^c$ 는 독립적으로 H 또는  $C_1-C_3$  알킬이고; 각각의 t1은 독립적으로 1, 2, 3, 또는 4이고;  $R_{30}$ ,  $R_{40}$ ,  $R_{50}$ , 및  $R_{60}$  각각은 H 또는  $C_1-C_4$  분지형 또는 비분지형 알킬이고;  $R_{70}$ 은 H이고;  $R_{80}$  및  $R_{90}$  각각은 독립적으로 H 또는  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이고;  $R_{100}$ 은 H이고;  $R_{110}$  및  $R_{120}$  각각은 독립적으로 H 또는  $C_1-C_{12}$  분지형 또는 비분지형 알킬이되, 단  $R_{80}$  및  $R_{90}$  중 적어도 하나는 H가 아니고,  $R_{110}$  및  $R_{120}$  중 적어도 하나는 H가 아니고; 1은 3 내지 7이고; m은 1 내지 5이다.

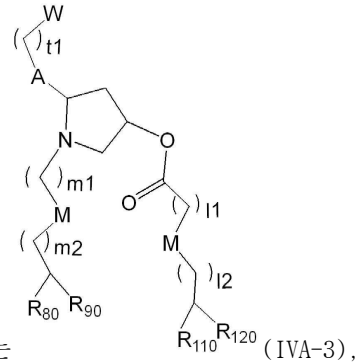
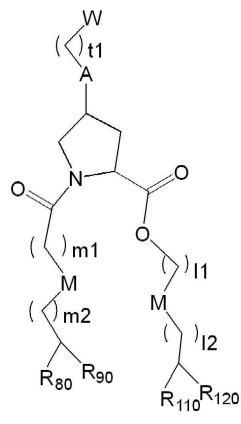
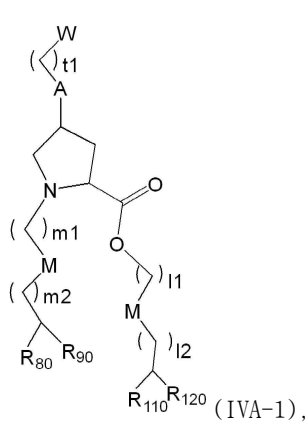
[0306]

일부 구현예에서, 본원에 개시된 것은 다음의 식을 갖는 지질 화합물을 포함한다:



[0307] (IIA-1). 이 식의 모든 변수는 상기 구현예에서 기술된 것과 같이 정의되고 예시되었다.

[0308] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 것은 다음의 식을 갖는 지질 화합물을 포함하고:



[0309] (IVA-1), (IVA-2), 또는 (IVA-3),

[0310] 식 중:

[0311] 각각의 m1은 독립적으로 3 내지 6의 정수이고,

[0312] 각각의 11은 독립적으로 4 내지 8의 정수이고,

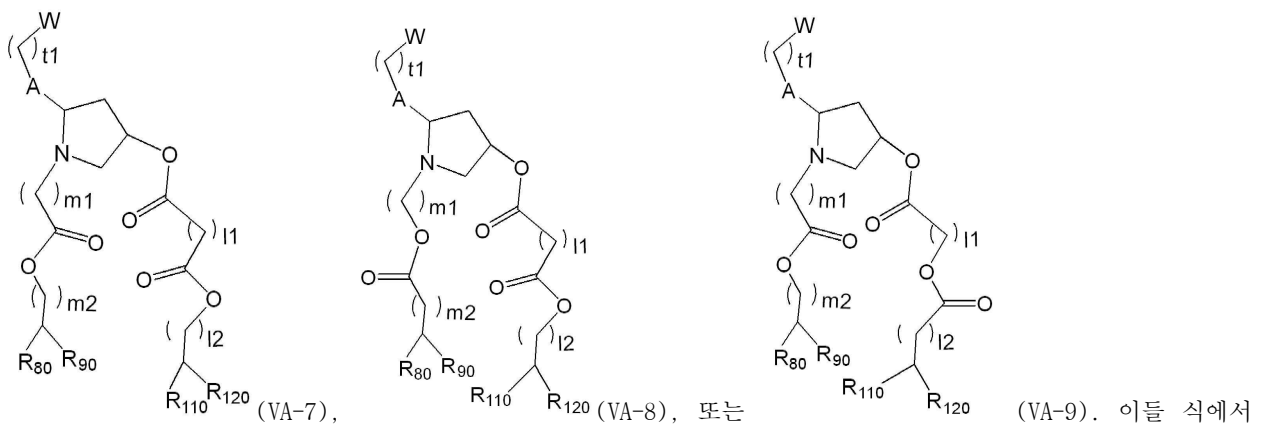
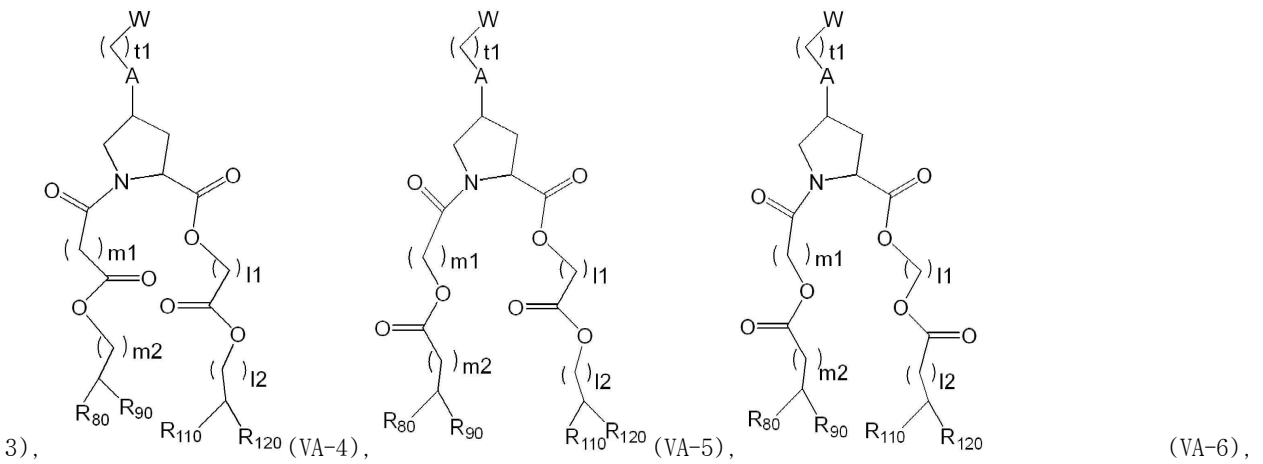
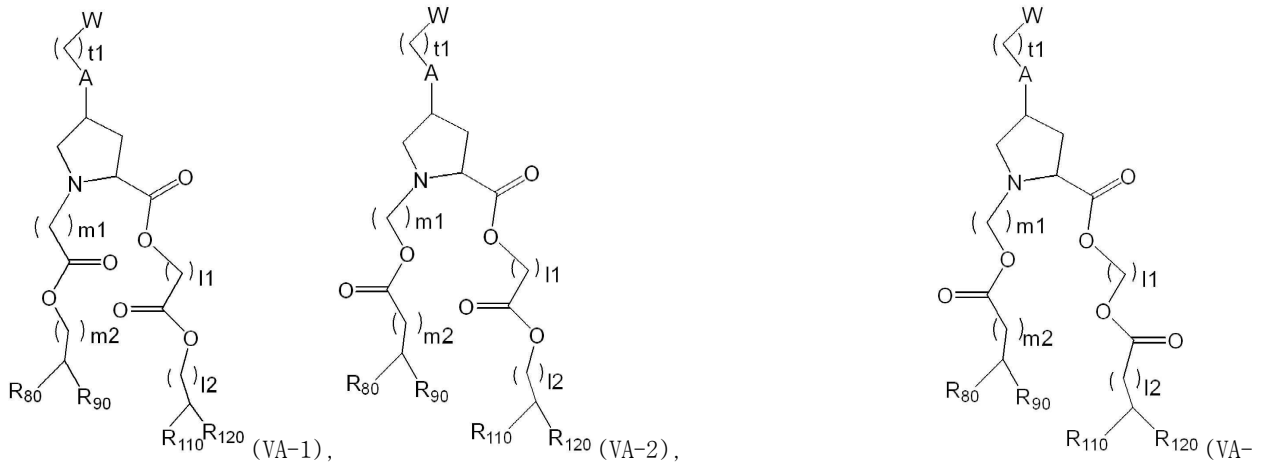
[0313] m2 및 12는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이고,

[0314] R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이거나; R<sub>80</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이고, R<sub>90</sub>은 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub> 알킬이고;

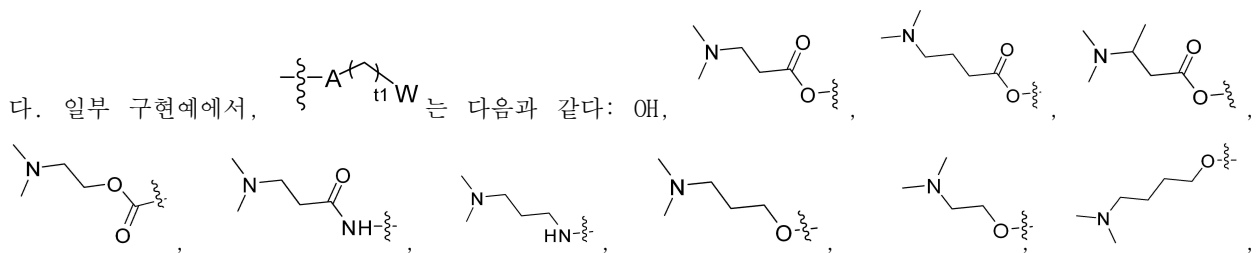
[0315] R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이거나; R<sub>110</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬이고, R<sub>120</sub>은 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub> 알킬이다. 이들 식에서 다른 모든 변수는 상기 구현예에서 기술된 것과 같이 정의되고 예시되었다.

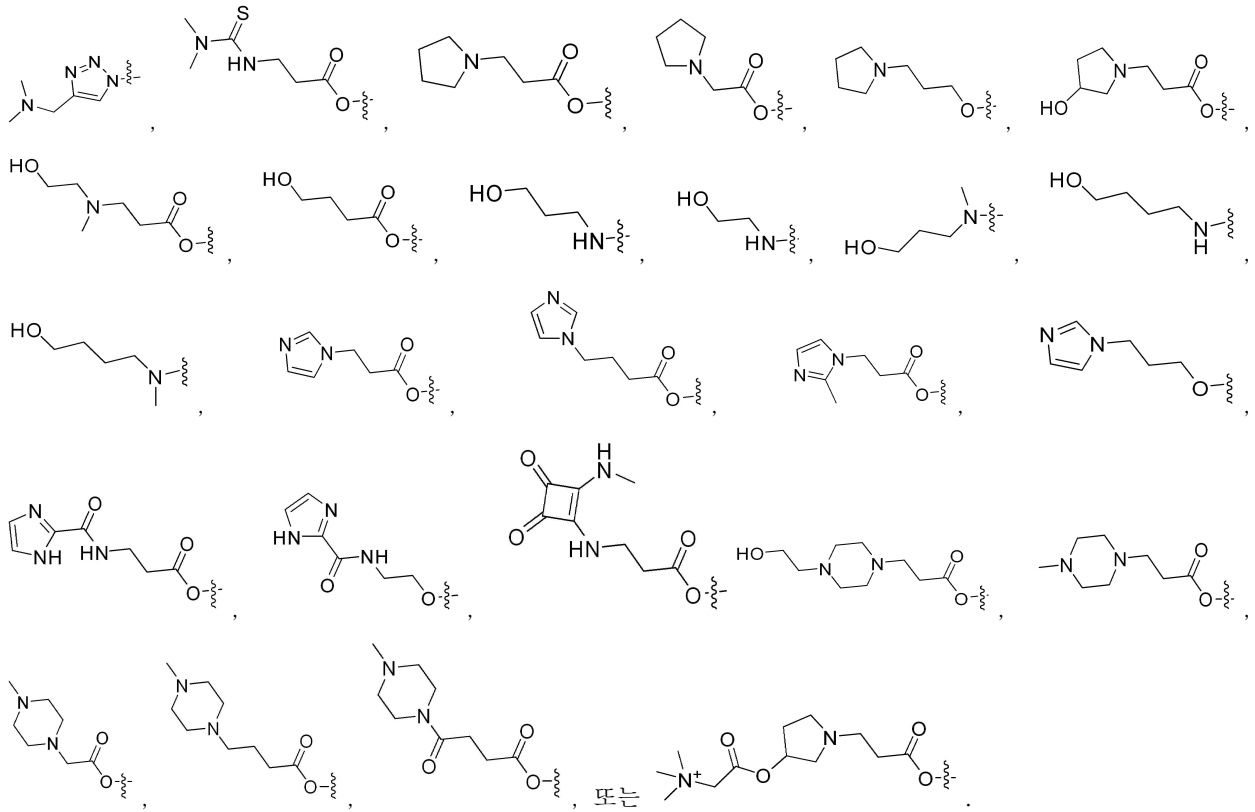
[0316] 일부 구현예에서, 이들 식에서, R<sub>80</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 알킬이고, R<sub>90</sub>은 치환되지 않은 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 알킬이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이다.

[0317] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 것은 다음의 식을 갖는 지질 화합물을 포함한다:

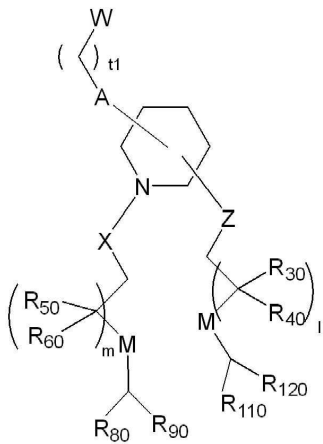


모든 변수는 상기 구현예에서 기술된 것과 같이 정의되고 예시되었다. 일부 구현예에서, 이들 식에서, R<sub>80</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 알킬이고, R<sub>90</sub>은 치환되지 않은 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 알킬이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬



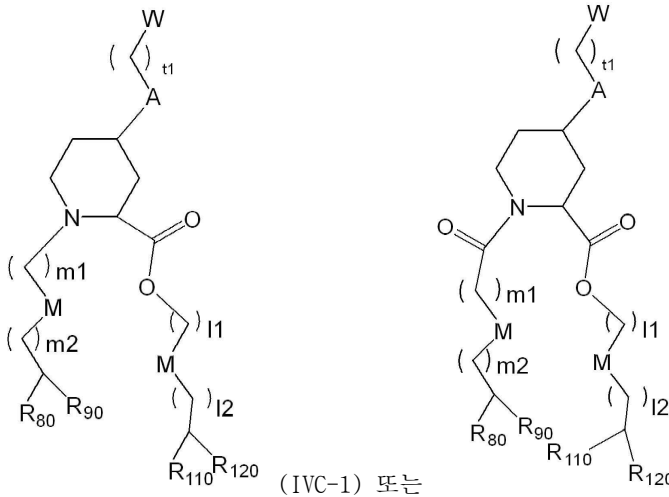


[0319] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 것은 다음의 식을 갖는 지질 화합물을 포함한다:



[0320] (IIC-1). 이 식의 모든 변수는 상기 구현예에서 기술된 것과 같이 정의되고 예시되었다.

[0321] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 것은 다음의 식을 갖는 지질 화합물을 포함하고:



[0322] (IVC-1) 또는 (IVC-2), 식 중:

[0323] 각각의  $m_1$ 은 독립적으로 3 내지 6의 정수이고,

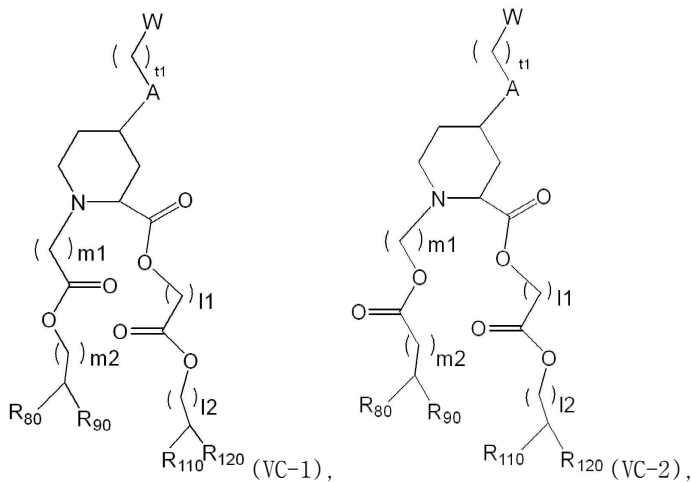
[0324] 각각의  $l_1$ 은 독립적으로 4 내지 8의 정수이고,

[0325]  $m_2$  및  $l_2$ 는 각각 독립적으로 0 내지 3의 정수이고,

[0326]  $R_{80}$  및  $R_{90}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬이거나;  $R_{80}$ 은 H 또는 치환되지 않은  $C_1-C_4$  알킬이고,  $R_{90}$ 은 치환되지 않은  $C_5-C_{11}$  알킬이고;

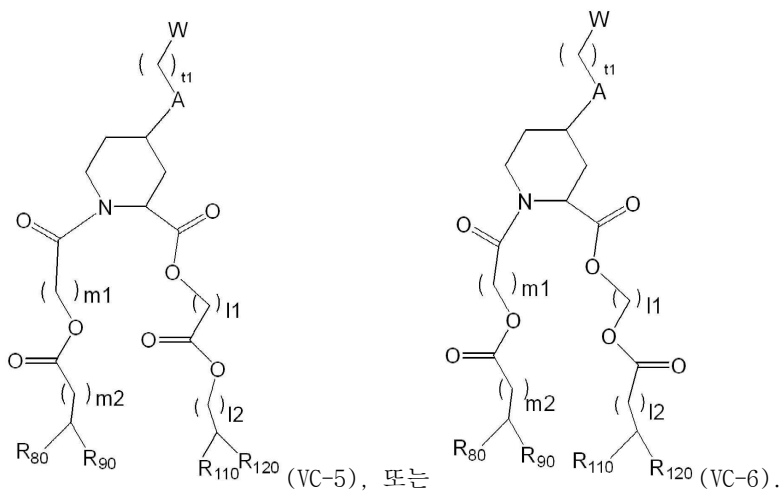
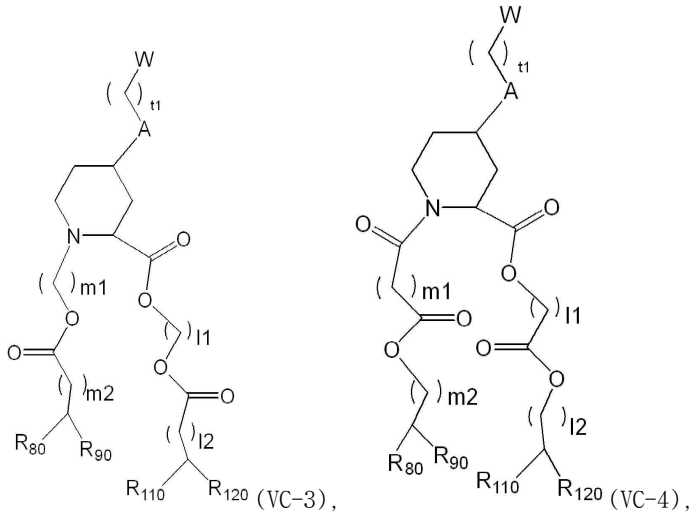
[0327]  $R_{110}$  및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬이거나;  $R_{110}$ 은 H 또는 치환되지 않은  $C_1-C_4$  알킬이고,  $R_{120}$ 은 치환되지 않은  $C_5-C_{11}$  알킬이다. 이들 식에서 다른 모든 변수는 상기 구현예에서 기술된 것과 같이 정의되고 예시되었다. 일부 구현예에서, 이들 식에서,  $R_{80}$ 은 H 또는 치환되지 않은  $C_1-C_2$  알킬이고,  $R_{90}$ 은 치환되지 않은  $C_6-C_{10}$  알킬이고;  $R_{110}$  및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬이다. 일부 구현예에서,  $R_{80}$ ,  $R_{90}$ ,  $R_{110}$ , 및  $R_{120}$ 은 각각 독립적으로 치환되지 않은  $C_5-C_8$  알킬이다.

[0328] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 것은 다음의 식을 갖는 지질 화합물을 포함한다:



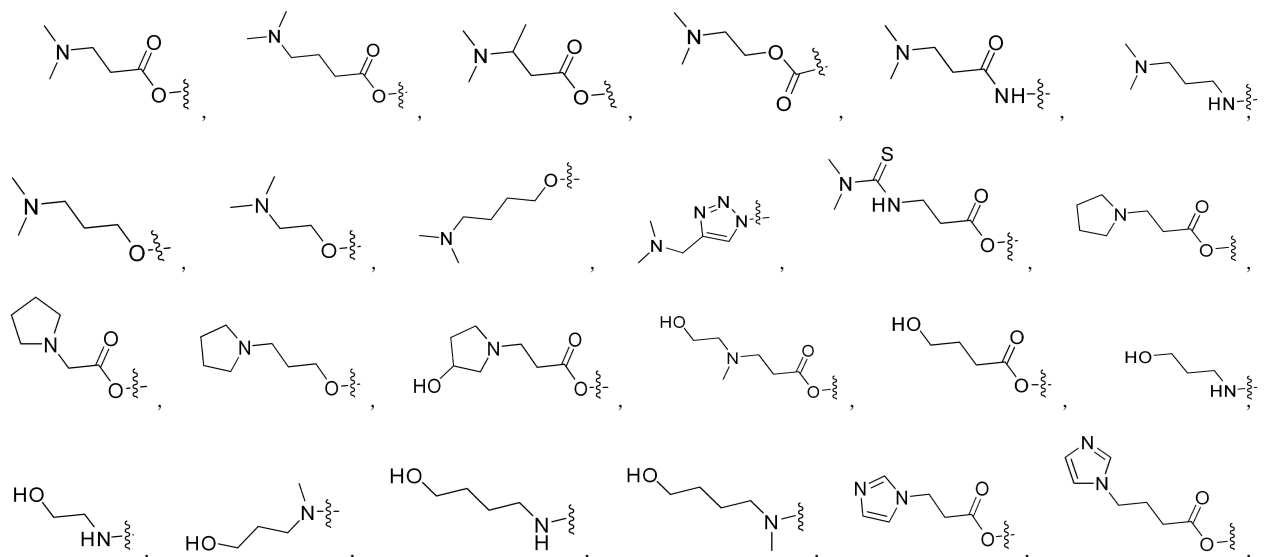
[0329] (VC-1),

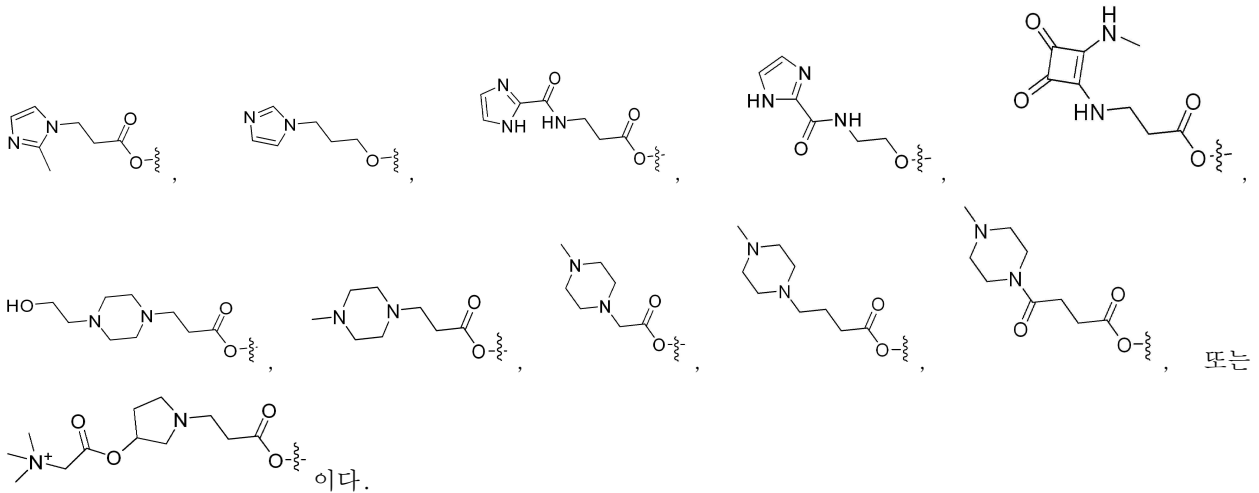
(VC-2),



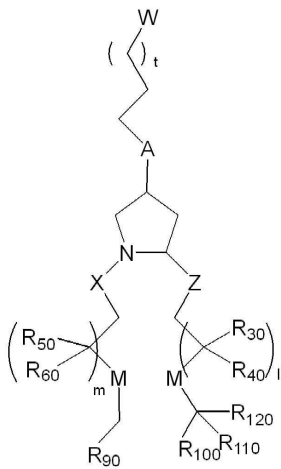
[0332] 이들 식에서 모든 변수는 상기 구현예에서 기술된 것과 같이 정의되고 예시되었다. 일부 구현예에서, 이들 식에서, R<sub>80</sub>은 H 또는 치환되지 않은 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 알킬이고, R<sub>90</sub>은 치환되지 않은 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> 알킬이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub>, R<sub>90</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub>은 각각 독립적으로 치환되지 않

은 C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub> 알킬이다. 일부 구현예에서,  $\text{---A---(CH}_2\text{)}_{t1}\text{W}$  은: OH,





[0334] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIA)의 이온화 가능 지질:



[0335] (IIA), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체에 관한 것이며, 식 중:

[0336] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NHC(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-이고;

[0337] X는 부재하거나, -O-, -CO-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NHC(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, 또는 -S-이고;

[0338] Z는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, 또는 -S-이고;

[0339] 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0340] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

[0341] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub>, 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

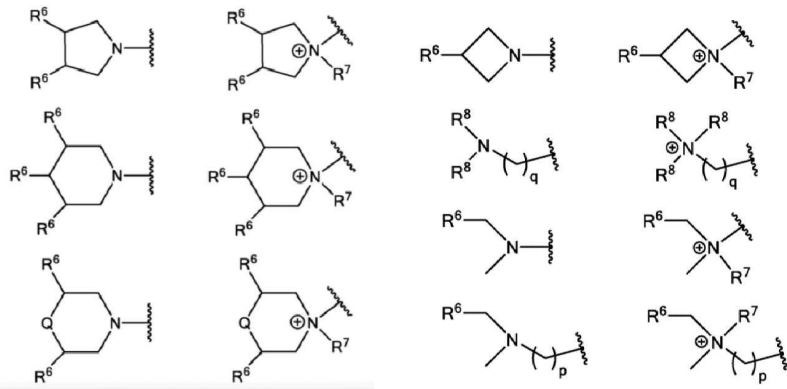
[0342] R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 또는 시클로알킬 또는 치환된 시클로알킬이고;

[0343] t는 0, 1, 2, 또는 3 이고;

[0344] l은 1 내지 10의 정수이고;

[0345] m은 1 내지 10의 정수이고;

[0346] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



[0347]

[0348] 식 중:

[0349] Q는 -O- 또는 -N(R<sup>7</sup>)이고;

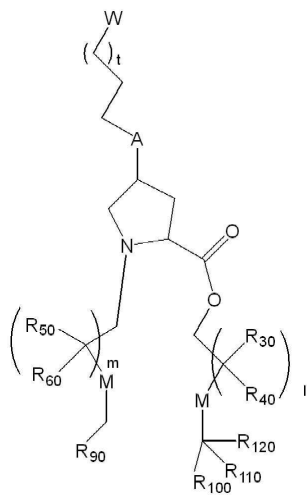
[0350] R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이고;

[0351] 각각의 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의 R<sup>8</sup>은 고리를 형성할 수 있고;

[0352] q는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

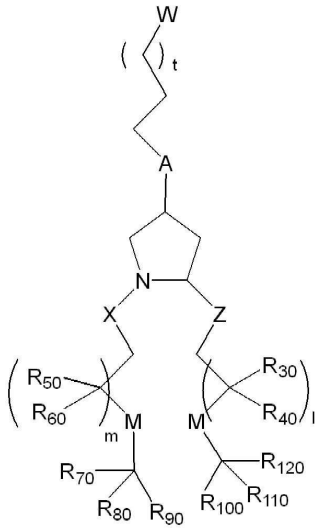
[0353] p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0354] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIIA)의 이온화 가능 지질:



[0355] (IIIA), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성 질체를 포함하며, (IIIA)에서의 변수의 정의는 (IIA)에서의 변수의 정의와 동일하다.

[0356] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIB)의 이온화 가능 지질:



[0357] (IIB), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성 질체에 관한 것이며, 식 중:

[0358] A는 부재하거나, -O-,  $-N(R^7)-$ , -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NHC(O)-,  $-C(O)N(R^7)-$ ,  $-N(R^7)C(O)N(R^7)-$ , -S-, -S-S-이고;

[0359] X는 부재하거나, -O-, -CO-,  $-N(R^7)-$ , -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NHC(O)-,  $-C(O)N(R^7)-$ , 또는 -S-이고;

[0360] Z는 부재하거나, -O-,  $-N(R^7)-$ , -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, 또는 -S-이고;

[0361] 각각의  $R^7$ 은 독립적으로 H,  $C_1-C_3$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_2-C_3$  분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

[0362] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

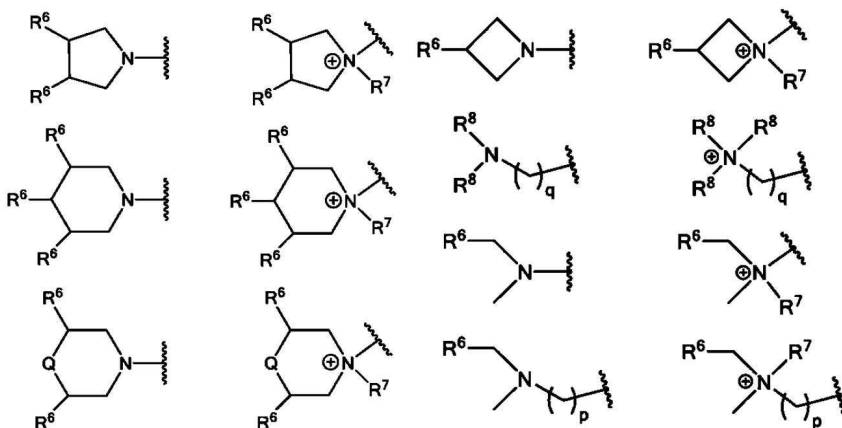
[0363]  $R_{30}$ ,  $R_{40}$ ,  $R_{50}$ ,  $R_{60}$ ,  $R_{70}$ ,  $R_{80}$ ,  $R_{90}$ ,  $R_{100}$ ,  $R_{110}$ , 및  $R_{120}$  각각은 독립적으로 H, 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된  $C_1-C_{16}$  분지형 또는 비분지형 알킬 또는  $C_1-C_{16}$  분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0364] t는 0, 1, 2, 또는 3 이고;

[0365] l은 1 내지 10의 정수이고;

[0366] m은 1 내지 10의 정수이고;

[0367] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



[0368]

[0369] 식 중:

[0370] Q는 -O- 또는 -N(R<sup>7</sup>)이고;

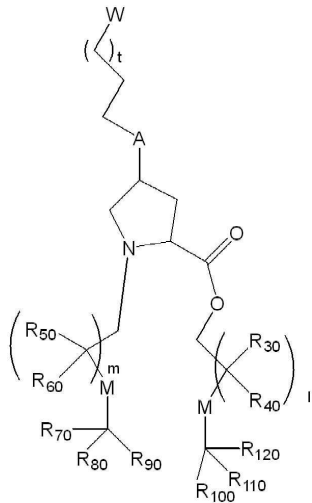
[0371] R<sup>6</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이고;

[0372] 각각의 R<sup>8</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의 R<sup>8</sup>은 고리를 형성할 수 있고;

[0373] q는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

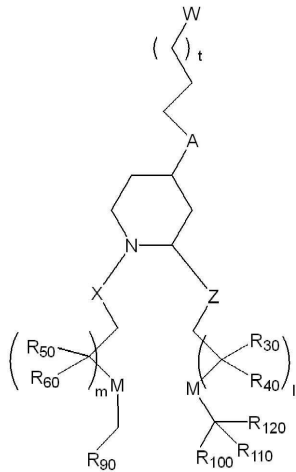
[0374] p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0375] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIIB)의 이온화 가능 지질:



[0376] (IIIB), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체에 관한 것이며, (IIIB)에서의 변수의 정의는 (IIB)에서의 변수의 정의와 동일하다.

[0377] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIC)의 이온화 가능 지질:



[0378] (IIC), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체에 관한 것이며, 식 중:

[0379] A는 부재하거나, -O-, -N(R<sup>7</sup>)-, -O-알킬렌-, -알킬렌-O-, -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R')-, N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -S-, -S-S-이고;

[0380] R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, R<sub>60</sub>, R<sub>100</sub>, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 H, 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0381] R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬 또는 치환된 시클로알

킬이고;

[0382] 각각의  $R^7$ 은 독립적으로 H,  $C_1-C_3$  분지형 또는 비분지형 알킬,  $C_2-C_3$  분지형 또는 비분지형 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고;

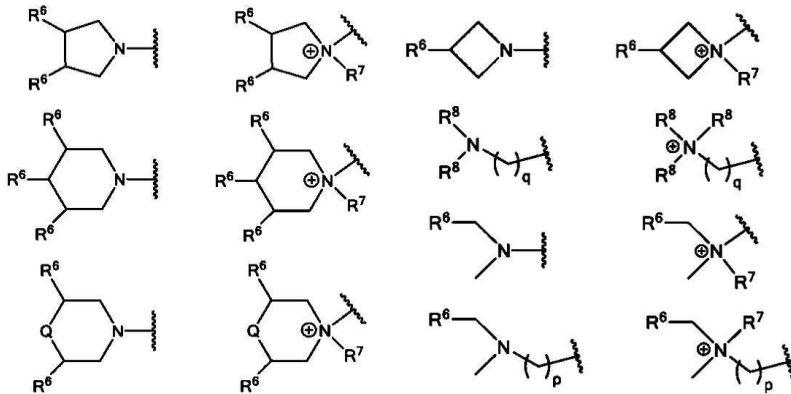
[0383] 각각의 M은 독립적으로 생분해성 모이어티이고;

[0384] t는 0, 1, 2, 또는 3 이고;

[0385] l은 1 내지 10의 정수이고;

[0386] m은 1 내지 10의 정수이고;

[0387] W는 하이드록실, 하이드록시알킬, 또는 다음의 모이어티 중 하나이며:



[0388]

[0389] 식 중:

[0390] Q는 -O- 또는  $-N(R^7)-$ 이고;

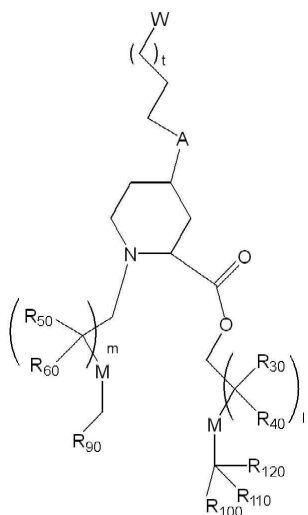
[0391]  $R^6$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이고;

[0392] 각각의  $R^8$ 은 독립적으로 H, 알킬, 하이드록시알킬, 아미노, 아미노알킬, 티올, 또는 티올알킬이거나, 2개의  $R^8$ 은 고리를 형성할 수 있고;

[0393] q는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이고;

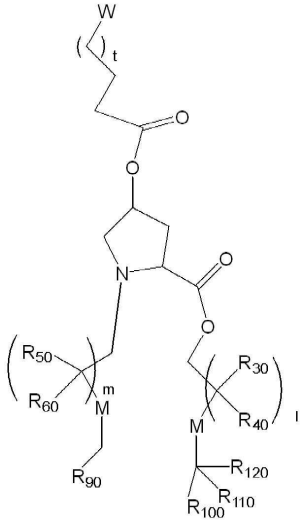
[0394] p는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0395] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIIC)의 이온화 가능 지질:



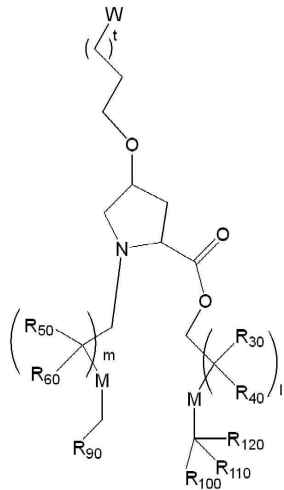
[0396] (IIIC), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체에 관한 것이며, (IIIA)에서의 변수의 정의는 (IIC)에서의 변수의 정의와 동일하다.

[0397] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIID)의 이온화 가능 지질:



[0398] (IIID), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성 질체에 관한 것이며, (IID)에서의 변수의 정의는 전술한 것과 동일하다.

[0399] 일부 구현예에서, 본 개시는 식 (IIIE)의 이온화 가능 지질:



[0400] (IIIE), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성 질체에 관한 것이며, (IID)에서의 변수의 정의는 전술한 것과 동일하다.

[0401] 식 (IIA), (IIB), (IIC), (IIIA), (IIIB), (IIIC), (IIID), 또는 (IIIE)의 다양한 변수에 관한 구현예가 이하에서 추가로 논의된다.

[0402] 일부 구현예에서, X는 부재하거나, -O-, 또는 -C(O)-이다. 일 구현예에서, X는 부재하다. 일 구현예에서, X는 -O-이다. 일 구현예에서, X는 -C(O)-이다.

[0403] 일부 구현예에서, Z는 -O-, -C(O)O-, 또는 -OC(O)-이다. 일 구현예에서, Z는 -O-이다. 일 구현예에서, Z는 -C(O)(O)- 또는 -OC(O)-이다.

[0404] 일부 구현예에서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0405] 일부 구현예에서, R<sub>30</sub>, R<sub>40</sub>, R<sub>50</sub>, 및 R<sub>60</sub> 각각은 H이다.

[0406] 일부 구현예에서, R<sub>70</sub> 및 R<sub>80</sub> 각각은 H이고; R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>90</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0407] 일부 구현예에서, R<sub>70</sub>은 H이고; R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이

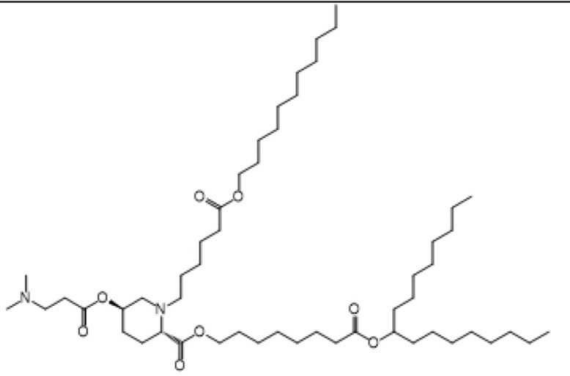
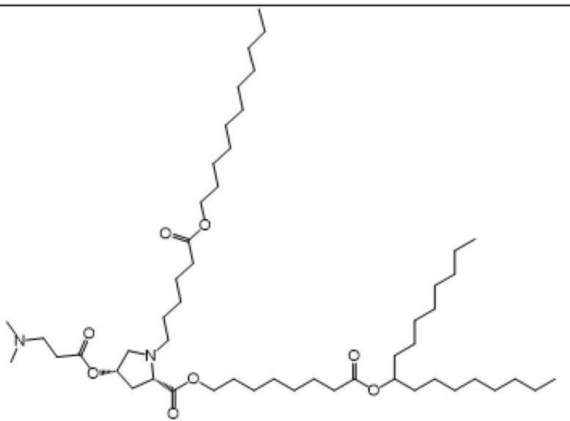
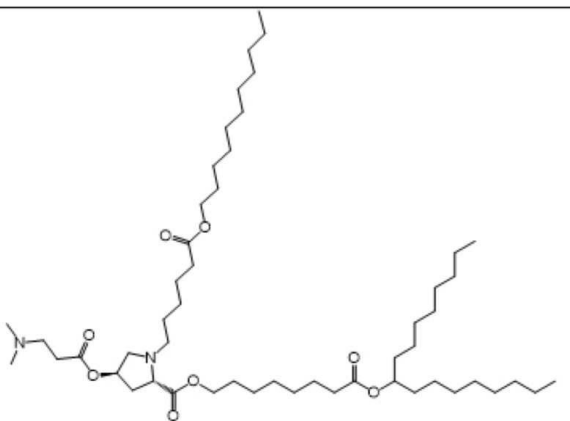
다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>80</sub> 및 R<sub>90</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

- [0408] 일부 구현예에서, R<sub>100</sub>은 H이고; R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알케닐이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 일부 구현예에서, R<sub>110</sub> 및 R<sub>120</sub> 각각은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 분지형 또는 비분지형 알킬이다.
- [0409] 일부 구현예에서, l은 3 내지 10, 3 내지 7, 또는 4 내지 7이다. 일부 구현예에서, l은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일부 구현예에서, l은 4, 5, 6, 또는 7이다.
- [0410] 일부 구현예에서, m은 4 내지 10, 5 내지 8, 1 내지 7, 3 내지 7, 또는 1 내지 5이다.
- [0411] 일부 구현예에서, m은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다. 일부 구현예에서, m은 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, m은 5, 6, 7, 또는 8이다.
- [0412] 일부 구현예에서, M은 -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R<sup>7</sup>)C(O)-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)-, -C(O-R<sub>13</sub>)-O-, -C(O)O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-, -C(O)N(R<sup>7</sup>)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-, 또는 -C(O-R<sub>13</sub>)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-이고, 여기서 각각의 R<sup>7</sup>은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고; R<sub>13</sub>은 분지형 또는 비분지형 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 알킬이고, r은 1, 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, M은 -OC(O)- 또는 -C(O)O-이다.
- [0413] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 4.5 내지 약 8.0, 예를 들어, 약 4.6 내지 약 7.8, 약 4.6 내지 약 7.3, 약 4.6 내지 약 6.8, 약 4.6 내지 약 6.2, 약 4.6 내지 약 6.0, 약 4.6 내지 약 5.9, 약 4.6 내지 약 5.8, 약 4.6 내지 약 5.6, 약 4.6 내지 5.5, 약 5.7 내지 약 6.5, 약 5.7 내지 약 6.4, 또는 약 5.8 내지 약 6.2이다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 4.6 내지 약 7.8이다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 4.6 내지 약 5.6이다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.5 내지 약 6.0이다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 6.1 내지 약 6.3이다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 4.7 내지 약 5.1이다.
- [0414] 본원에 개시된 이온화 가능 지질 화합물의 비제한적인 예가 아래 표 1에 제시되어 있다.
- [0415] [표 1]

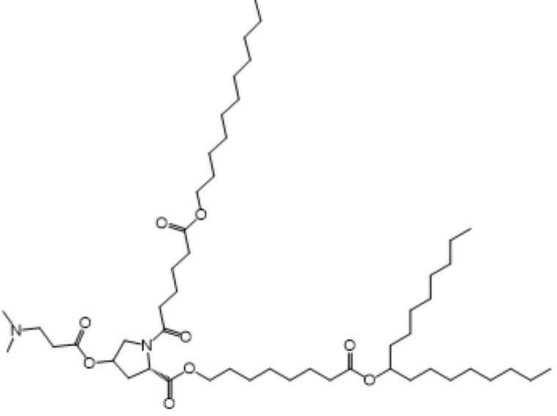
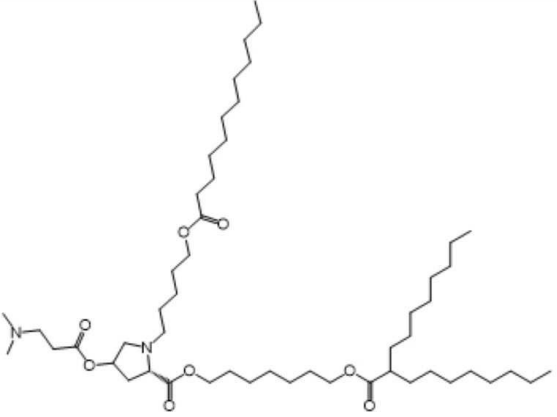
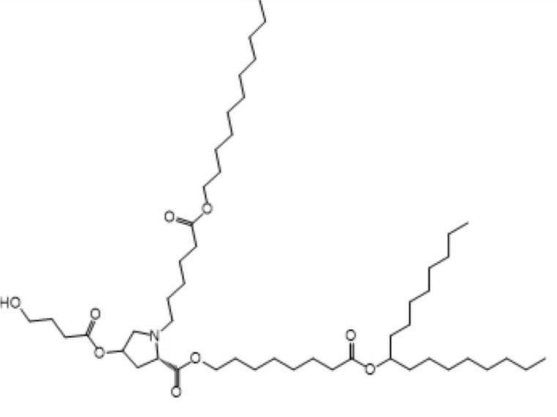
[0416] 예시적인 이온화 가능 지질 화합물.

화합물	구조	IUPAC 명칭
2310		헵타데칸-9-일 8-[(2S,4R)-4-[[3-(디메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실옥시)헥실]피페리딘-2-카르보닐옥시]옥타노에이트
2309		헵타데칸-9-일 8-[(2S,4S)-4-[[3-(디메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실옥시)헥실]피페리딘-2-카르보닐옥시]옥타노에이트
2308		헵타데칸-9-일 8-[(2S,5S)-5-[[3-(디메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실옥시)헥실]피페리딘-2-카르보닐옥시]옥타노에이트

[0417]

<p>2307</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S,5R)-5-[[3-(디메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실옥시)헥실]피페리딘-2-카르보닐옥시]옥타노에이트</p>
<p>2306</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S,4S)-4-[[3-(디메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실옥시)헥실]피롤리딘-2-카르보닐옥시]옥타노에이트</p>
<p>2305</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S,4R)-4-[[3-(디메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실옥시)헥실]피롤리딘-2-카르보닐옥시]옥타노에이트</p>

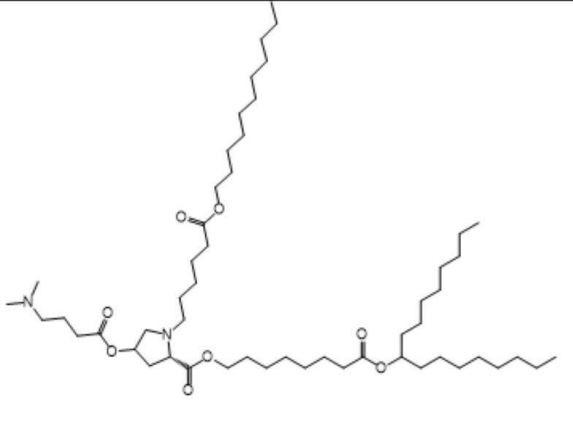
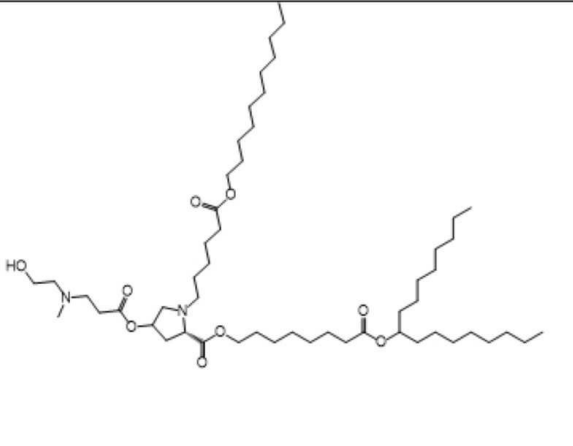
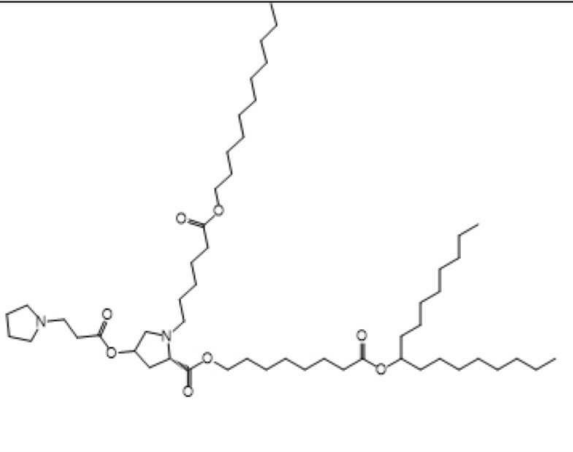
[0418]

<p>2304</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-4- [[3- (디메틸아미노)프로파노 일]옥시]-1-[6-옥소-6- (운데실옥시)헥사노일]피 롤리딘-2- 카보닐옥시]옥타노에이 트</p>
<p>2298</p>		<p>5-[(2S)-4-[[3- (디메틸아미노)프로파노 일]옥시]-2-[[7-(2- 옥틸 데카노일)옥시]헵틸 옥시]카르보닐]피롤리딘- 1-일]펜틸 도데카노에이트</p>
<p>2297</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-4- [[4- 하이 드록시부타노일]옥 시]-1-[6-옥소-6- (운데실옥시)헥실]피롤리 딘-2- 카보닐옥시]옥타노에이 트</p>

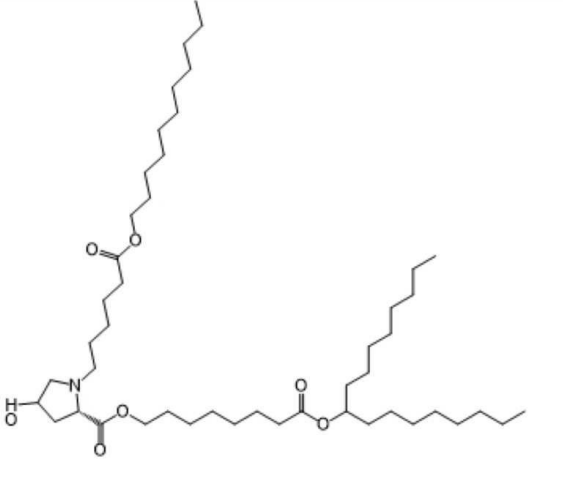
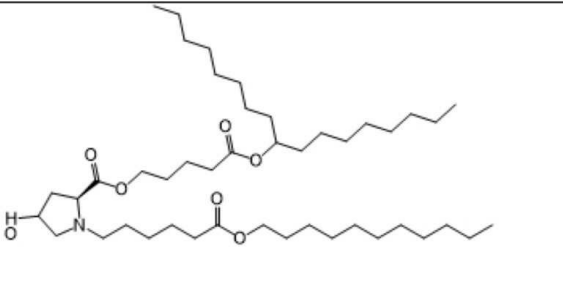
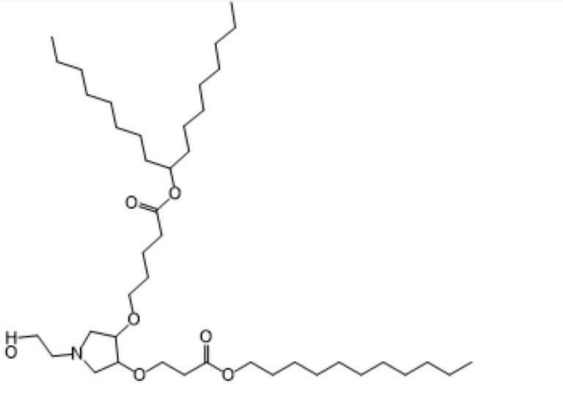
[0419]

<p>2296</p>		<p>5-[(2S)-4-[[3-(디 메틸아미노)프로파노일]옥시]-2-[[8-(헵타데칸-9-일 옥시)-6-옥소옥틸]옥시]카보닐]피롤리딘-1-일]헵틸 도데카노에이트</p>
<p>2295</p>		<p>헵타데칸-9-일 9-[(2S)-4-[[3-(디 메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실]피롤리딘-2-카르보닐 옥시]노나노에이트</p>
<p>2294</p>		<p>헵타데칸-9-일 7-[(2S)-4-[[3-(디 메틸아미노)프로파노일]옥시]-1-[6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실]피롤리딘-2-카르보닐 옥시]헵타노에이트</p>
<p>2293</p>		<p>(5S)-5-[[2-(디 메틸아미노)에톡시]카르보닐]-1-[6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실]피롤리딘-3-일 1-헵타데칸-9-일 옥탄디오에이트</p>

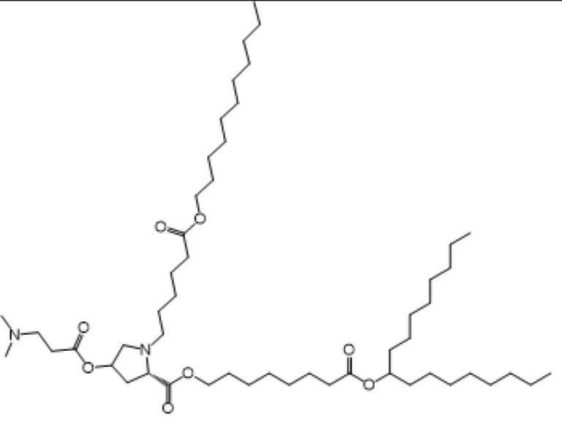
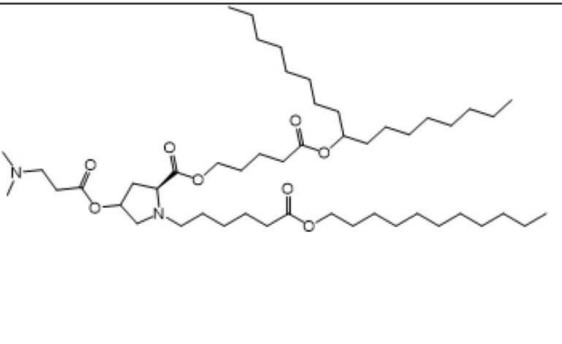
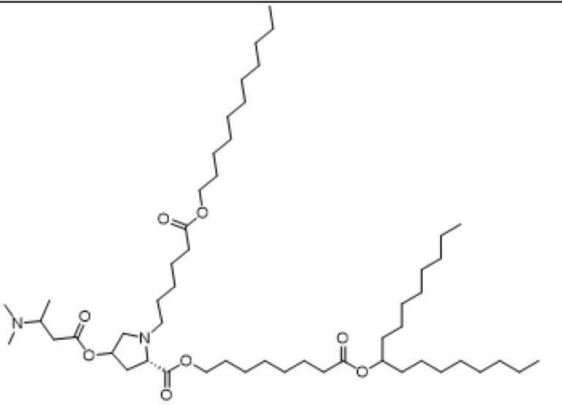
[0420]

<p>2292</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-4- [4- (디 메틸아미노)부타노일] 옥시]-1-[6-옥소-6- (운데실 옥시)헥실]피롤리 딘-2- 카보닐 옥시]옥타노에이 트</p>
<p>2291</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-4- ([3-[2- 하이 드록시에틸 (메틸)아 미 노]프로파노일]옥시)-1- [6-옥소-6- (운데실 옥시)헥실]피롤리 딘-2- 카르보닐 옥시]옥타노에 이트</p>
<p>2290</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-1-[6- 옥소-6- (운데실 옥시)헥실]4-[[3- (피롤리딘-1- 일)프로파노일]옥시]피롤 리 딴-2- 카르보닐 옥시]옥타노에 이트</p>

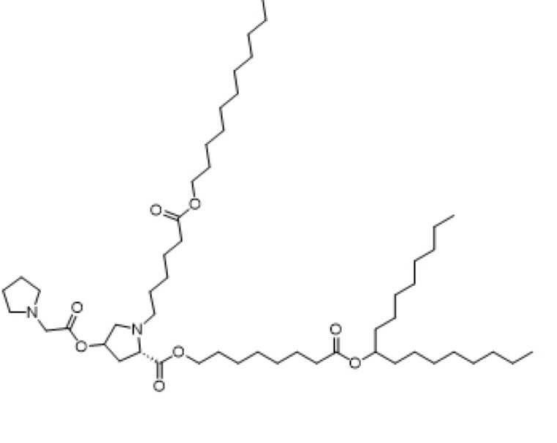
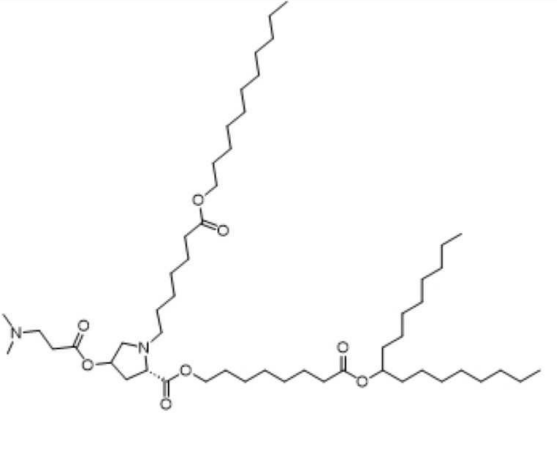
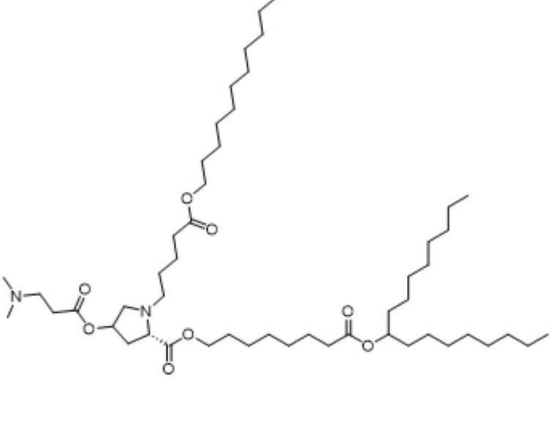
[0421]

<p>2270</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-4- 하이드록시-1-[6-옥소-6- (운데실옥시)헥실]피롤리 딘-2- 카르보닐옥시]옥타노에 이트</p>
<p>2260</p>		<p>운데실 6-[(2S)-2-((5- (헵타데칸-9-일 옥시)-5- 옥소헵틸]옥시)카르보닐)- 4-하이드록시피롤리딘- 1-일]헥사노에이트</p>
<p>2240</p>		<p>헵타데칸-9-일 5-[[1-(2- 하이드록시에틸)-4[3- 옥소-3- (운데실 옥시)프로폭시]피 롤리딘-3- 일]옥시]펜타노에이트</p>

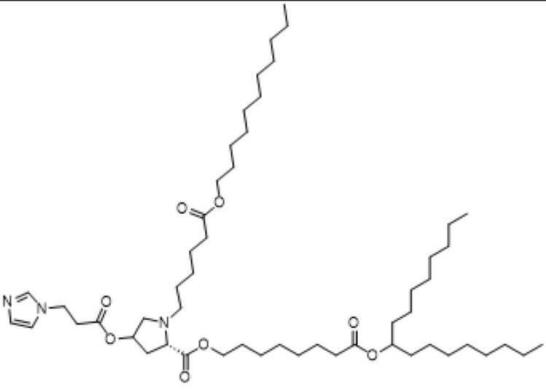
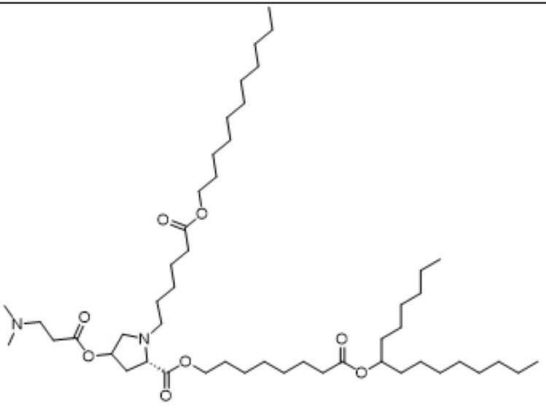
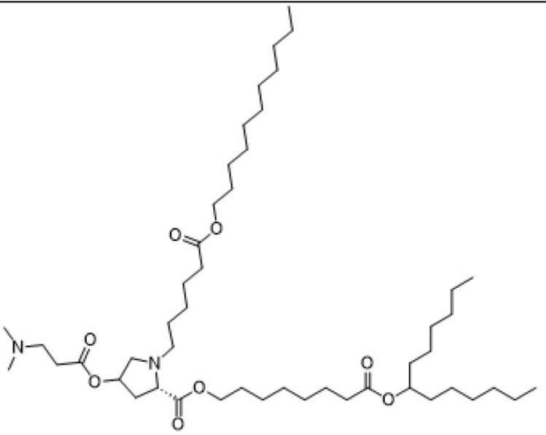
[0422]

<p>2231</p>		<p>헵타데칸-9-일 8-[(2S)-4- [[3-( (디 메틸아미노)프로파노 일]옥시)-1-[6-옥소-6- (운데실 옥시)헥실]피롤리 딘-2- 카보닐 옥시]옥타노에이 트</p>
<p>2230</p>		<p>운데실 6-[(2S)-4-[[3-( (디 메틸아미노)프로파노 일]옥시)-2-[[5-(헵타데칸- 9-일 옥시)-5- 옥소헵틸]옥시]카보닐]피 롤리 딴-1- 일]헥사노에이트</p>
<p>2329</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-[[3-( (디메틸아미노)부타노 일]옥시)-1-(6-옥소-6- (운데실 옥시)헥실]피롤 리 딴-2- 카르복실레이트</p>

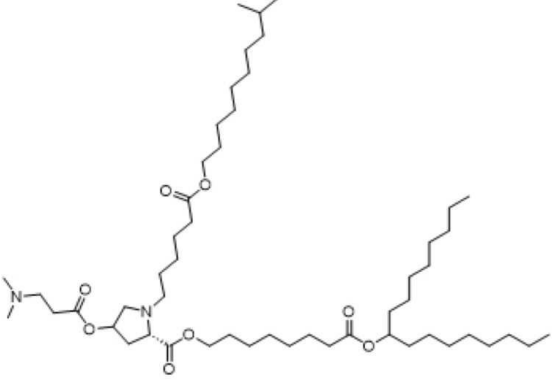
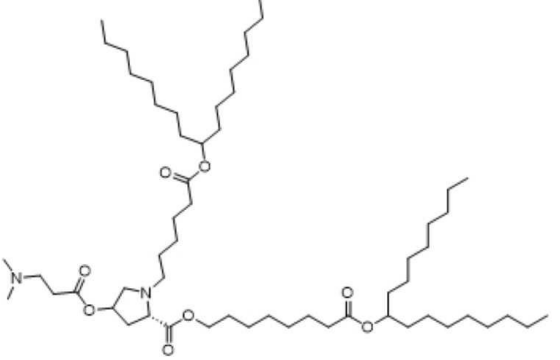
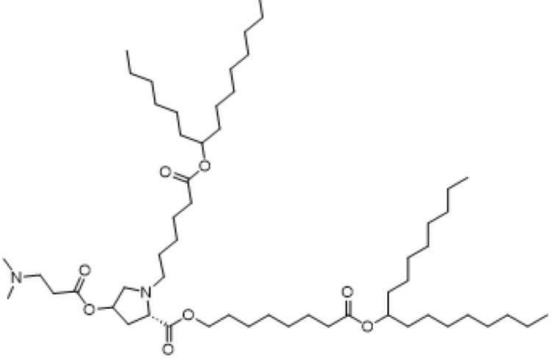
[0423]

<p>2336</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-1-(6- 옥소-6- (운데실옥시)헥실)4-(2- (피롤리딘-1- 일)아세톡시)피롤리딘- 2-카복실레이트</p>
<p>2337</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-(3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(7-옥소-7- (운데실옥시)헵틸)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2338</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-(3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(5-옥소-5- (운데실옥시)펜틸)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>

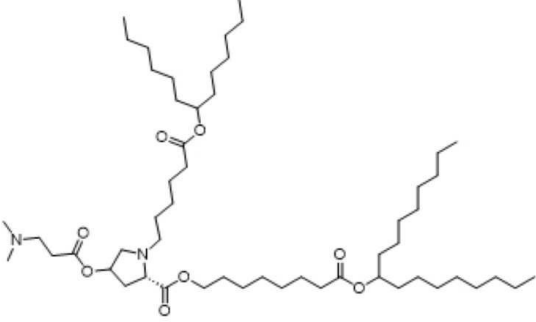
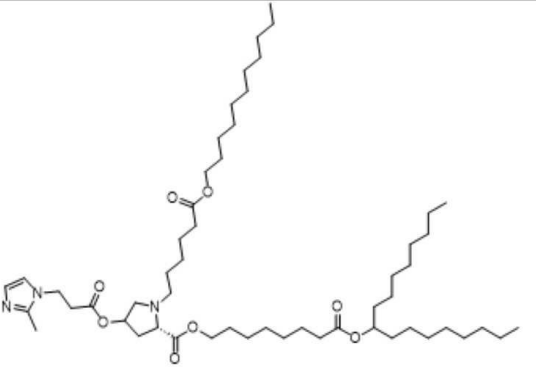
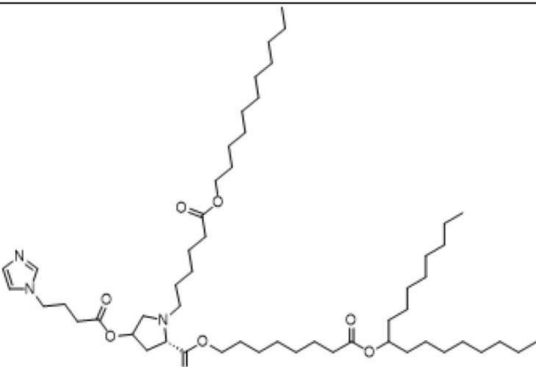
[0424]

<p>2339</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-((3- (1H-이미다졸-1- 일)프로파노일)옥시)-1- (6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2340</p>		<p>8-옥소-8-(펜타데칸-7- 일옥시)옥틸 (2S)-4-((3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2341</p>		<p>8-옥소-8-(트리데칸-7- 일옥시)옥틸 (2S)-4-((3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>

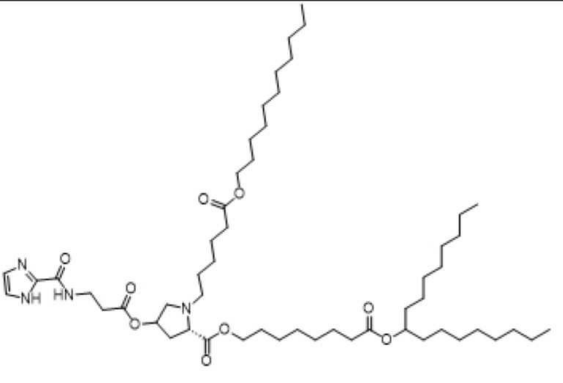
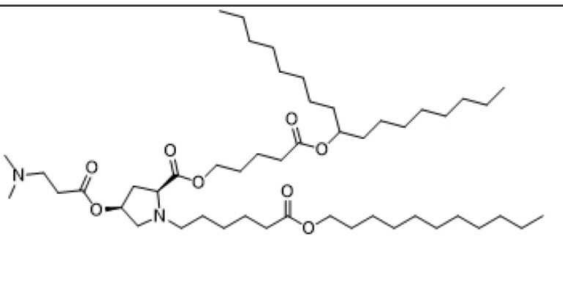
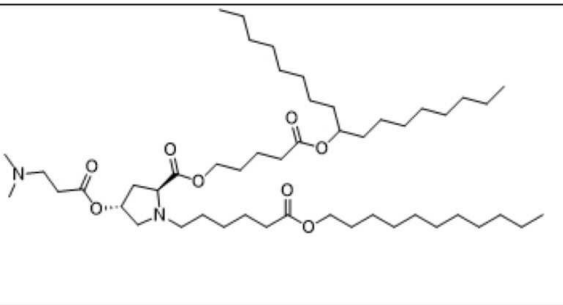
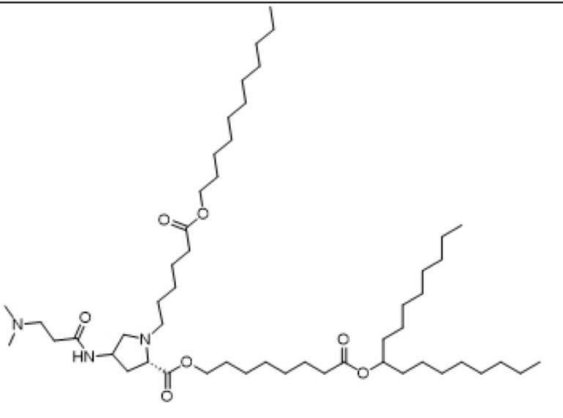
[0425]

<p>2342</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-((3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(6-(9- 메틸데실)옥시)-6- 옥소헥실)피롤리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2343</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-((3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(6- (헵타데칸-9-일옥시)-6- 옥소헥실)피롤리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2344</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)-4-((3- (디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(6-옥소-6- (펜타데칸-7- 일옥시)헥실)피롤리딘- 2-카르복실레이트</p>

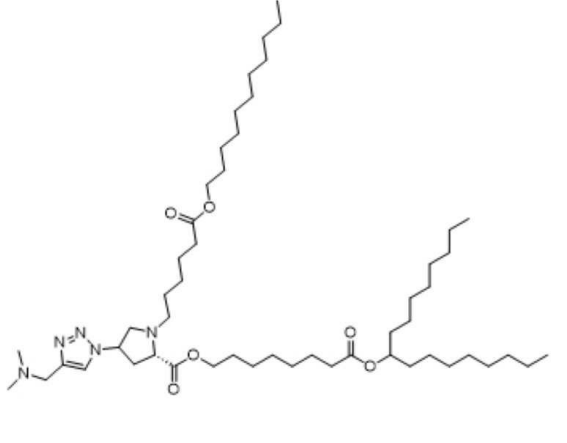
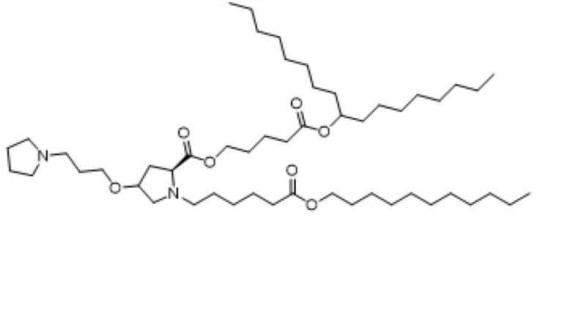
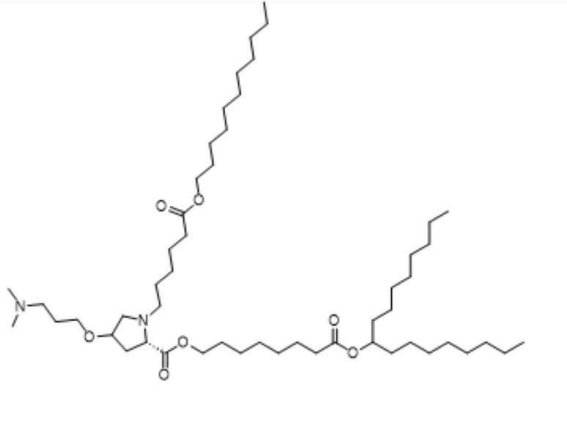
[0426]

<p>2345</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4((3-( 디메틸아미노)프로파 노일)옥시)-1-(6-옥소-6- (트리데칸-7- 일옥시)헥실)피롤리딘- 2-카르복실레이트</p>
<p>2348</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4((3-(2- 메틸-1H-이미다졸-1- 일)프로파노일)옥시)-1- (6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2349</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4((4- (1H-이미다졸-1- 일)부타노일)옥시)-1-(6- 옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>

[0427]

<p>2352</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4-(3- (1H-이미다졸-2- 카르복사미도)프로파 노일)옥시)-1-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2371</p>		<p>5-(헵타데칸-9-일옥시)- 5-옥소펜틸 (2S,4S)4- ((3-(디메틸아미노) 프로파노일)옥시)-1-(6- 옥소-6(운데실옥시) 헥실)피롤리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2372</p>		<p>5-(헵타데칸-9-일옥시)- 5-옥소펜틸 (2S,4R)4- ((3-(디메틸아미노) 프로파노일)옥시)-1-(6- 옥소-6(운데실옥시) 헥실)피롤리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2373</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4-(3- (디메틸아미노)프로판 아미도)-1-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤 리딘-2- 카르복실레이트</p>

[0428]

<p>2375</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4(4- (디메틸아미노)메틸)- 1H-1,2,3-트리아졸-1-일)- 1-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤- 리딘-2- 카르복실레이트</p>
<p>2376</p>		<p>5-(헵타데칸-9-일옥시)- 5-옥소펜틸 (2S)-1-(6- 옥소-6- (운데실옥시)헥실)4- (3-(피롤리딘-1- 일)프로폭시)피롤리딘- 2-카르복실레이트</p>
<p>2377</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)- 8-옥소옥틸 (2S)4(3- (디메틸아미노)프로폭- 시)-1-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)피롤- 리딘-2- 카르복실레이트</p>

[0429]

<p>2436</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-(4-((디메틸아미노)메틸)-1H-1,2,3-트리아졸-1-일)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2437</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-(3-(디메틸아미노)프로판아미도)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2440</p>		<p>8-옥소-8-(펜타데칸-7-일옥시)옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로판노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(펜타데칸-7-일옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2452</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((3-(디메틸아미노)프로판노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(펜타데칸-7-일옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

[0430]

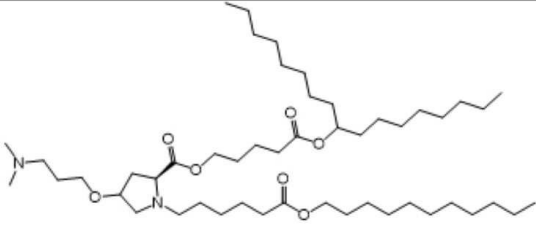
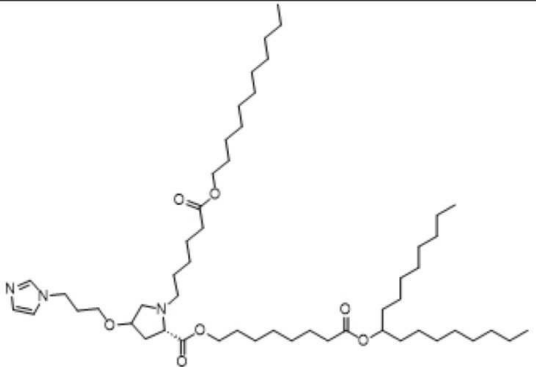
[0431]

[0432]

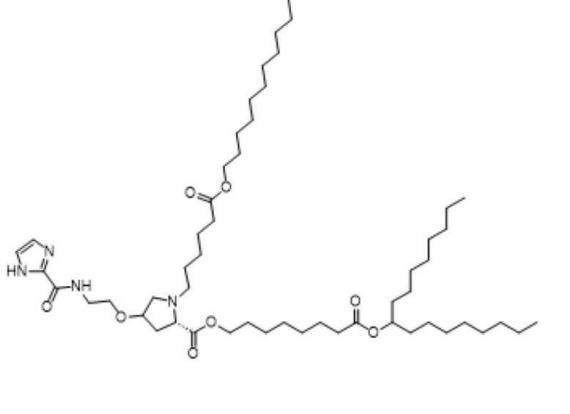
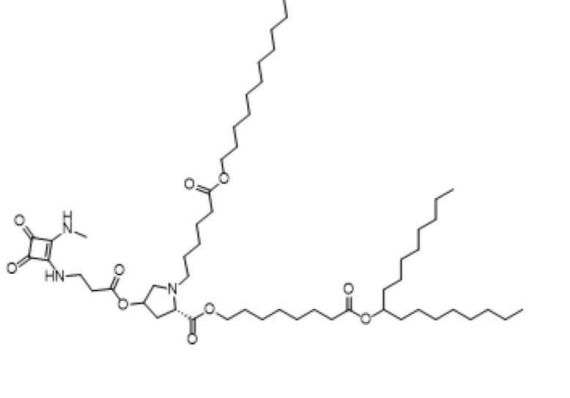
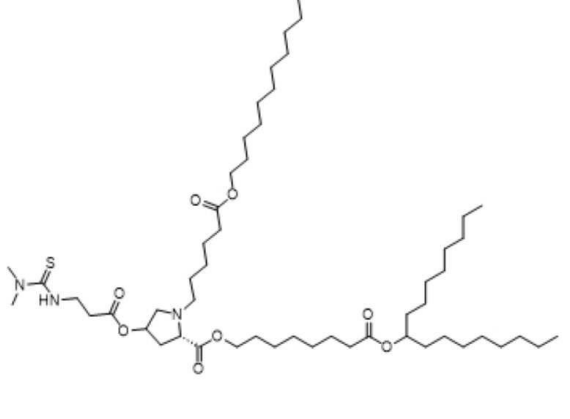
본원에 개시된 이온화 가능 지질 화합물의 추가적인 비제한적 예가 아래 표 2에 제시되어 있다.

[0433] [표 2]

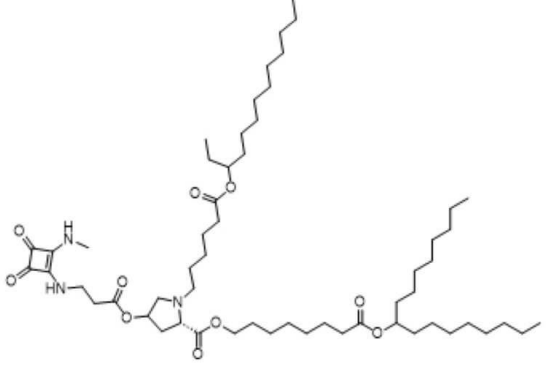
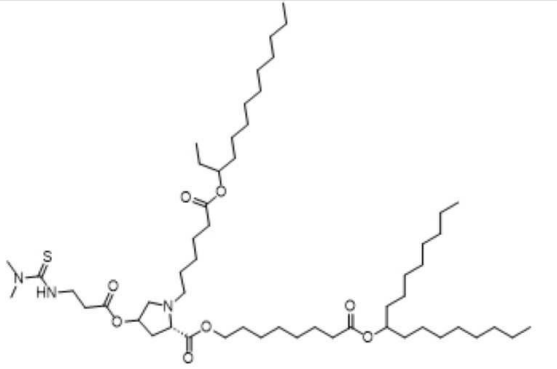
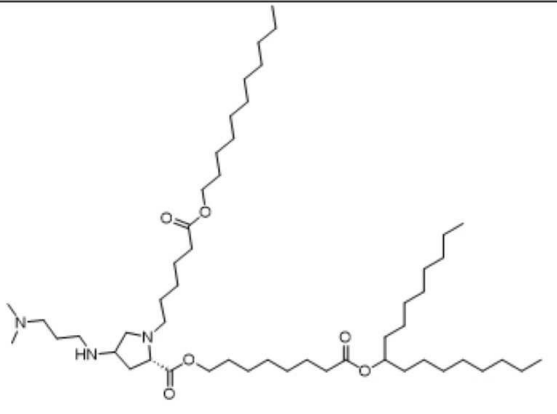
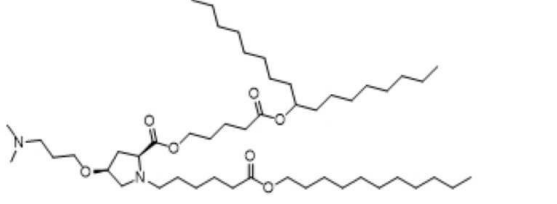
[0434] 예시적인 이온화 가능 지질 화합물.

<p><b>2232</b></p>		<p>운데실 6-[(2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]-2-([5-(헵타데칸-9-일옥시)-5-옥소헨틸]옥시)카르보닐]피롤리딘-1-일]헥사노에이트</p>
<p><b>2350</b></p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-[3-(1H-이미다졸-1-일)프로폭시]-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

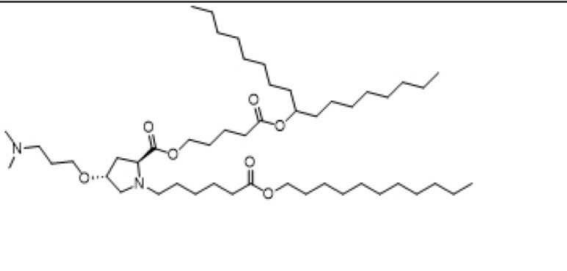
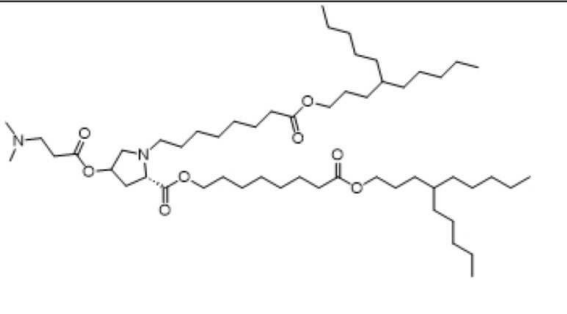
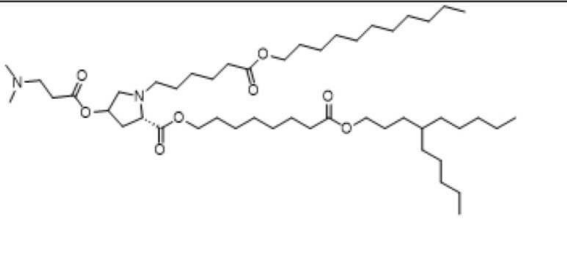
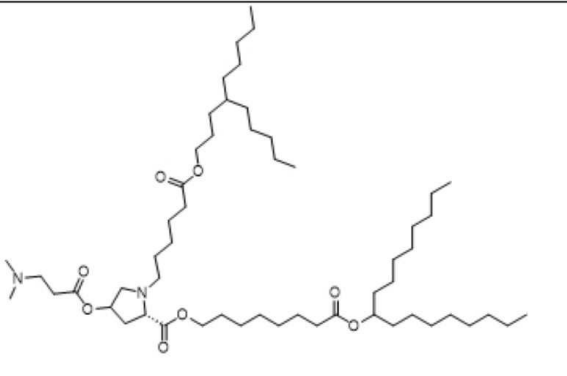
[0435]

<p>2351</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-(2-(1H-이미다졸-2-카르복사미도)에톡시)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2359</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(2-(메틸아미노)-3,4-디옥소시클로부트-1-엔-1-일)아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2360</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(3,3-디메틸티오우레이도)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

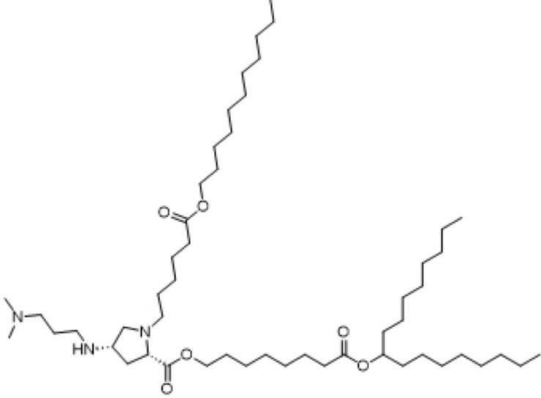
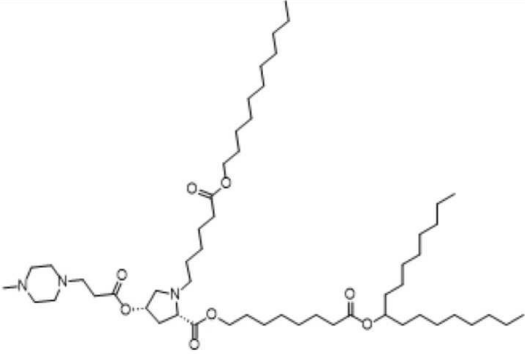
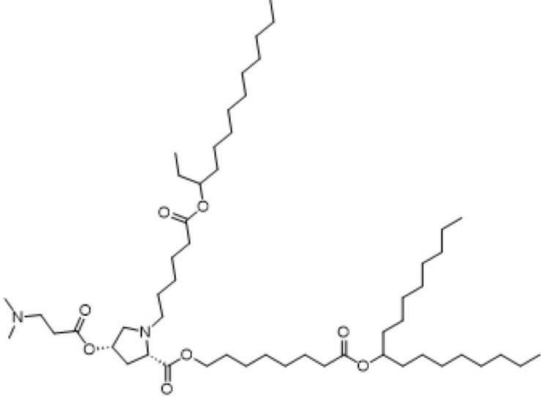
[0436]

<p>2363</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-((2-(메틸아미노)-3,4-디옥소시클로부트-1-엔-1-일)아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(트리데칸-3-일옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2364</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(3,3-디메틸티오우레이도)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(트리데칸-3-일옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2374</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로필)아미노)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2422</p>		<p>5-(헵타데칸-9-일옥시)-5-옥소펜틸 (2S,4S)-4-(3-(디메틸아미노)프로폭시)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

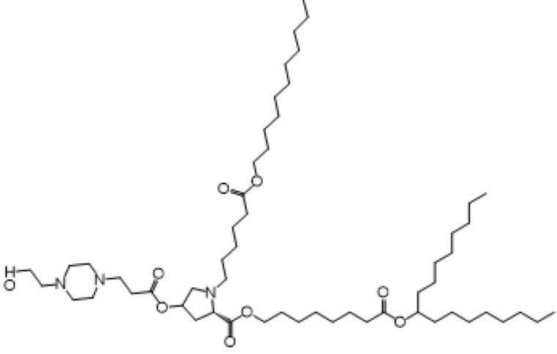
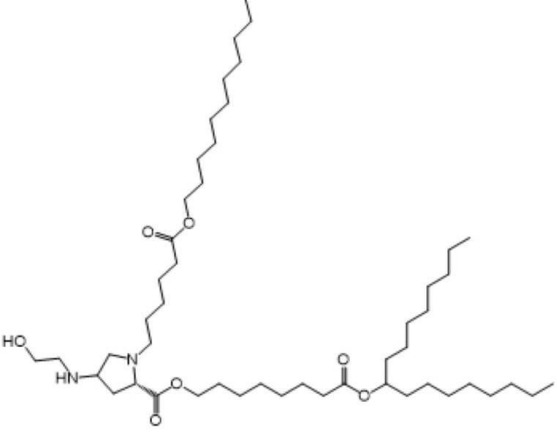
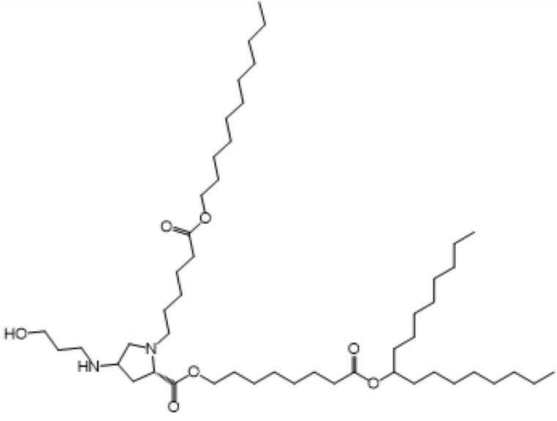
[0437]

<p>2423</p>		<p>5-(헵타데칸-9-일 옥시)-5-옥소펜틸 (2S,4R)-4-(3-(디메틸아미노)프로폭시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2429</p>		<p>8-옥소-8-(4-펜틸 노닐)옥시)옥틸 (2S)-4-(3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(8-옥소-8-(4-펜틸 노닐)옥시)옥틸)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2430</p>		<p>8-옥소-8-(4-펜틸 노닐)옥시)옥틸 (2S)-4-(3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>2431</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-(3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(4-펜틸 노닐)옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>

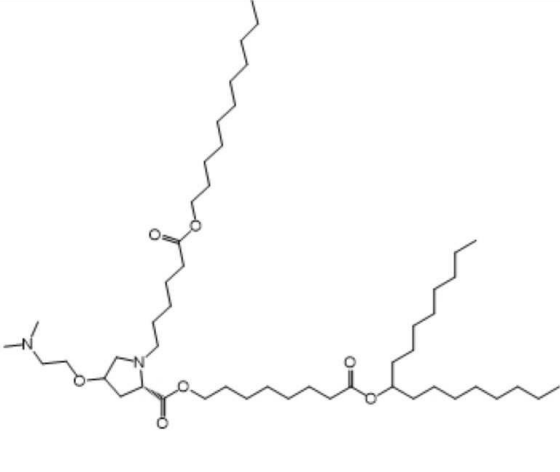
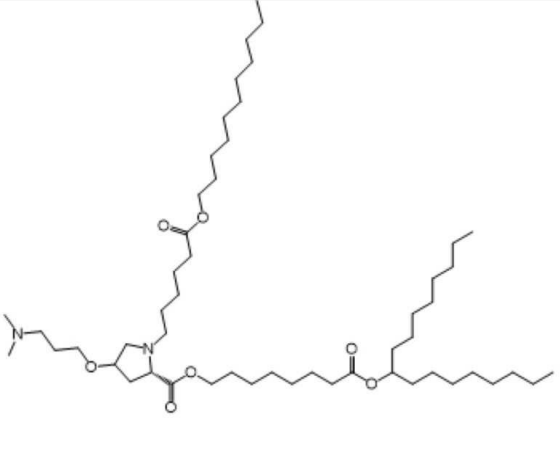
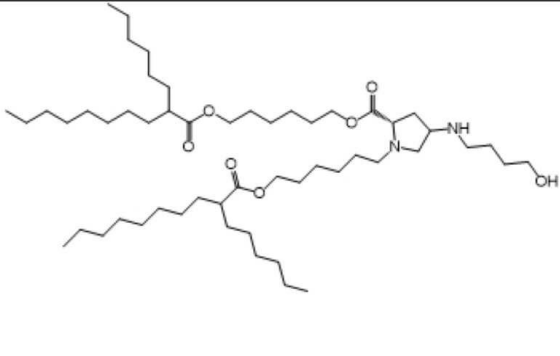
[0438]

<p>2438</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((3-(디메틸아미노)프로필)아미노)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2451</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2455</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(트리데칸-3-일 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

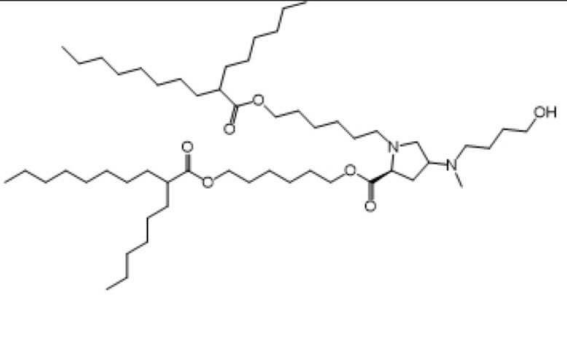
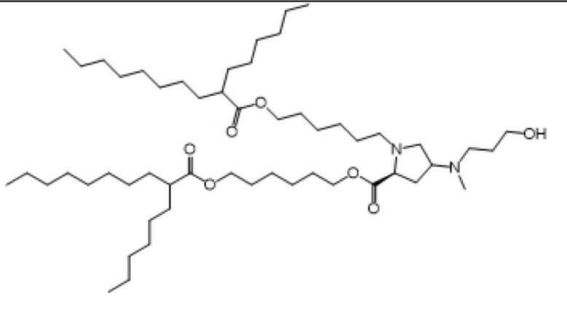
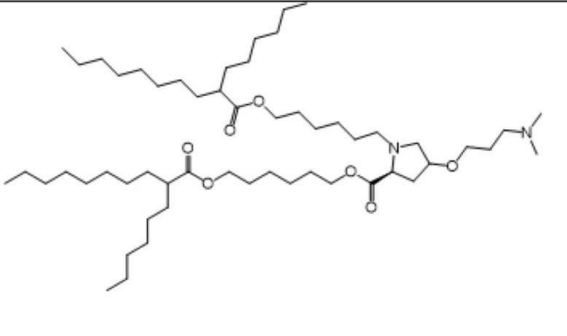
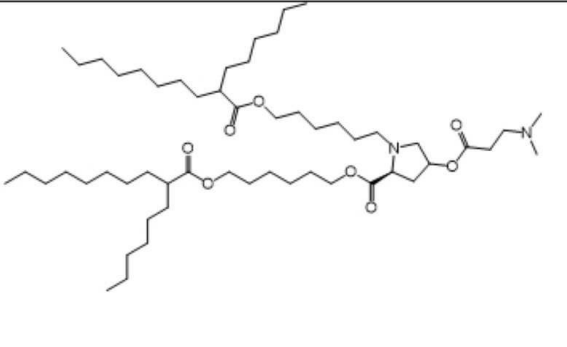
[0439]

<p>1</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(4-(2-하이드록시에틸)피페라진-1-일)프로파노일) 옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>2</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((2-하이드록시에틸)아미노)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>3</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-하이드록시프로필)아미노)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>

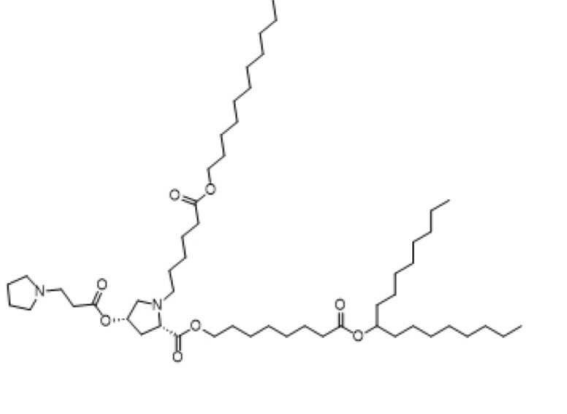
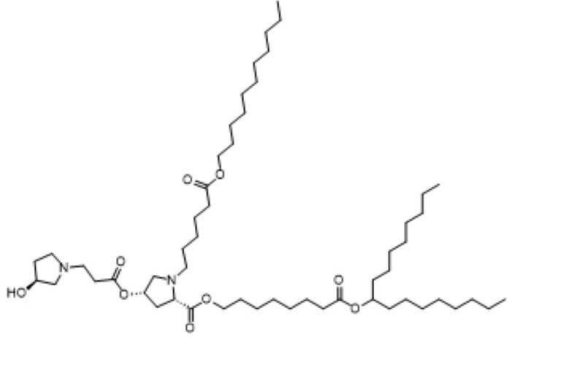
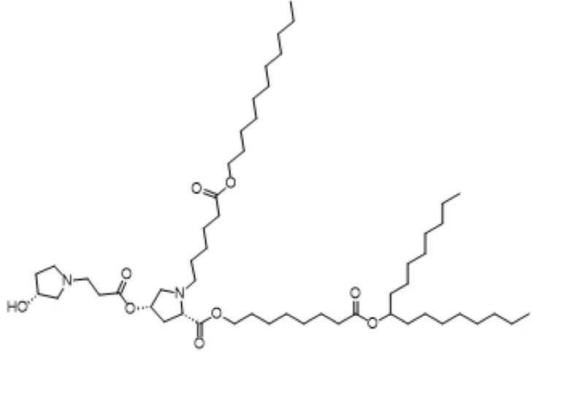
[0440]

<p>4</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-(2-(디메틸아미노)에톡시)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>5</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-(3-(디메틸아미노)프로폭시)-1-(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>6</p>		<p>6-((2-헥실데카노일)옥시)헥실 (2S)-1-(6-((2-헥실데카노일)옥시)헥실)-4-((4-하이드록시부틸)아미노)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

[0441]

7		<p>6-(2-헥실데카노일) 옥시)헥실 (2S)-1-(6-(2-헥실데카노일)옥시)헥실)-4-(4-하이드록시부틸)(메틸)아미노)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
8		<p>6-(2-헥실데카노일) 옥시)헥실 (2S)-1-(6-(2-헥실데카노일)옥시)헥실)-4-(3-하이드록시프로필)(메틸)아미노)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
9		<p>6-(2-헥실데카노일) 옥시)헥실 (2S)-4-(3-(디메틸아미노)프로폭시)-1-(6-(2-헥실데카노일)옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
10		<p>6-(2-헥실데카노일) 옥시)헥실 (2S)-4-(3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-(2-헥실데카노일)옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>

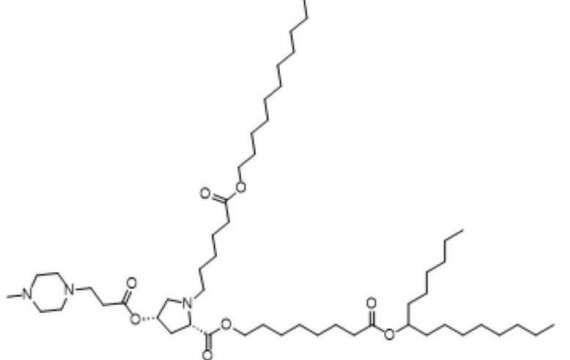
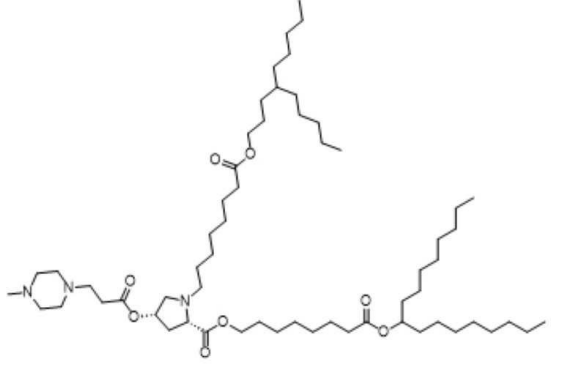
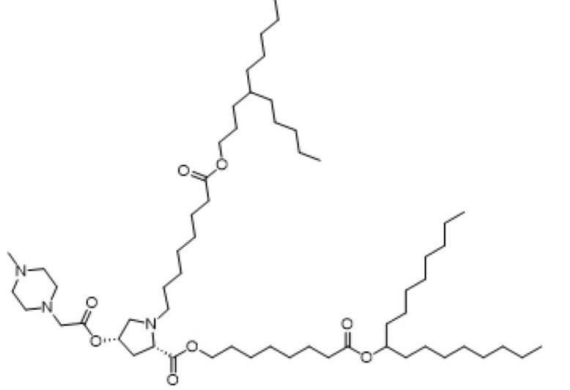
[0442]

<p>11</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)-4-((3-(피롤리딘-1-일)프로파노일)옥시)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>12.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((S)-3-하이드록시 피롤리딘-1-일)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>13.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((R)-3-하이드록시 피롤리딘-1-일)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

[0443]

<p>14.</p>		<p>2-(((S)-1-(3-(((3S,5S)-5-(((8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸)옥시)카르보닐)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-3-일)옥시)-3-옥소프로필)피롤리딘-3-일)옥시)-N,N,N-트리메틸-2-옥소에탄-1-아미늄</p>
<p>15.</p>		<p>2-(((R)-1-(3-(((3S,5S)-5-(((8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸)옥시)카르보닐)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-3-일)옥시)-3-옥소프로필)피롤리딘-3-일)옥시)-N,N,N-트리메틸-2-옥소에탄-1-아미늄</p>
<p>16.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((4-(4-메틸피페라진-1-일)-4-옥소부타노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>

[0444]

<p>17.</p>		<p>8-옥소-8-(헵타데칸-7-일 옥시)옥틸 (2S,4S)-4-((3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>18.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일)옥시)-1-(8-옥소-8-(4-펜틸 노닐)옥시)옥틸)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>19.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)아세톡시)-1-(8-옥소-8-(4-펜틸 노닐)옥시)옥틸)피롤리딘-2-카복실레이트</p>

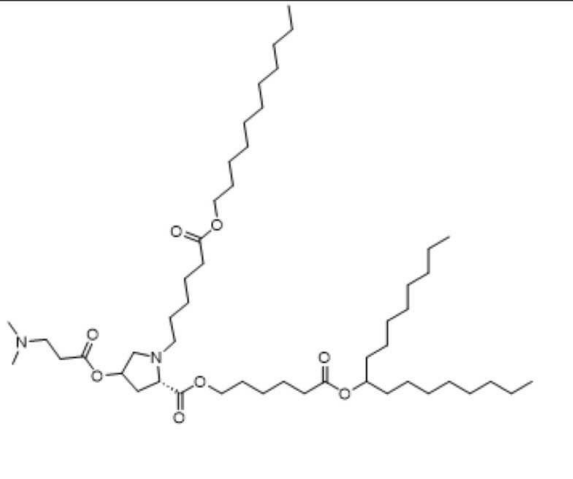
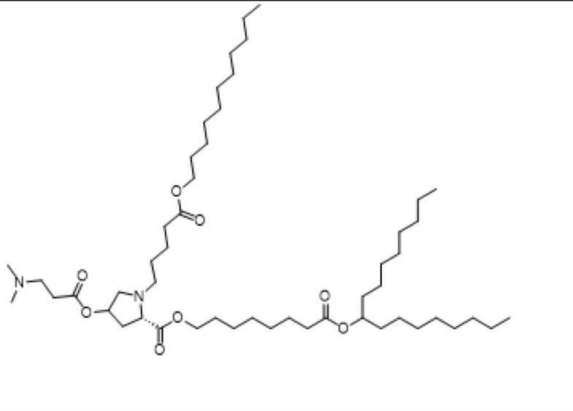
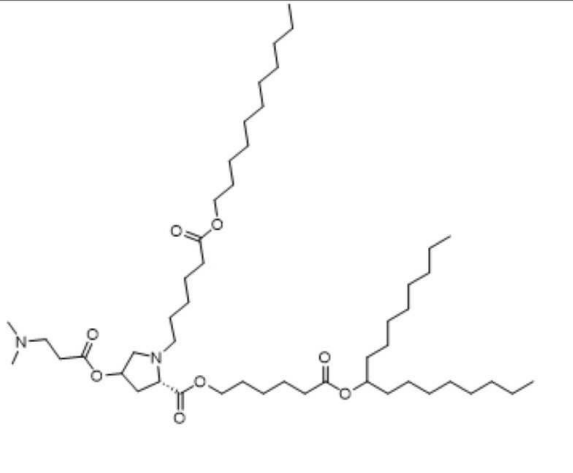
[0445]

<p>20.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)아세톡시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>21.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-4-((4-(4-메틸피페라진-1-일)부타노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>22.</p>		<p>8-옥소-8-((4-펜틸 노닐)옥시)옥틸 (2S,4S)-4-((3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일)옥시)-1-(8-옥소-8-((4-펜틸 노닐)옥시)옥틸)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>23.</p>		<p>8-옥소-8-((4-펜틸 노닐)옥시)옥틸 (2S,4S)-4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)아세톡시)-1-(8-옥소-8-((4-펜틸 노닐)옥시)옥틸)피롤리딘-2-카복실레이트</p>

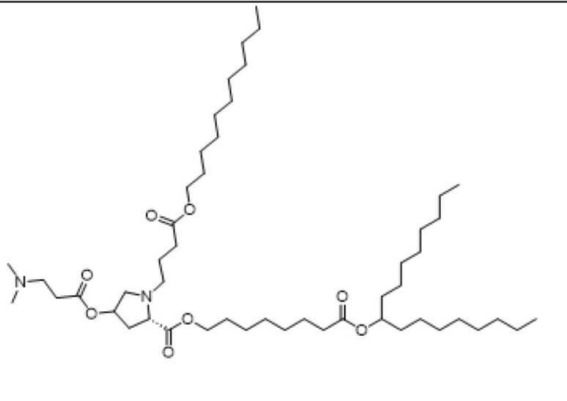
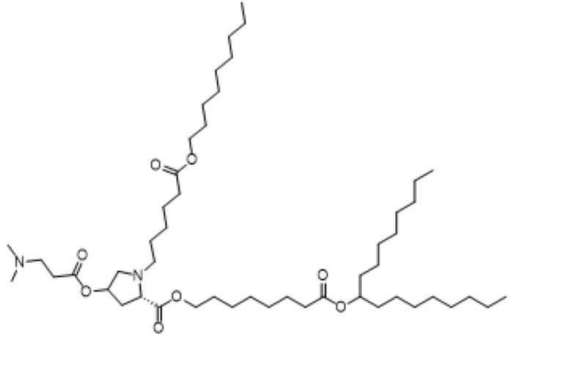
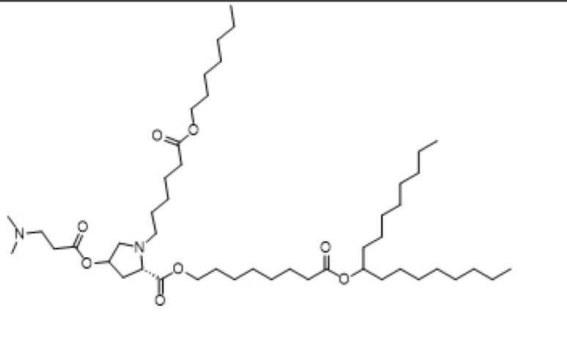
[0446]

<p>24.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-1-(6-(헵타데칸-9-일 옥시)-6-옥소헥실)4-((3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일)옥시)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>25.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S,4S)-1-(6-(헵타데칸-9-일 옥시)-6-옥소헥실)4-(2-(4-메틸피페라진-1-일)아세톡시)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>26.</p>		<p>8-옥소-8-(트리데칸-7-일 옥시)옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(트리데칸-7-일 옥시)헥실)피롤리딘-2-카복실레이트</p>
<p>27.</p>		<p>7-(헵타데칸-9-일 옥시)-7-옥소헵틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

[0447]

<p>28.</p>		<p>6-(헵타데칸-9-일 옥시)-6-옥소헥실 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>29.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(5-옥소-5-(운데실 옥시)펜틸)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>30.</p>		<p>6-(헵타데칸-9-일 옥시)-6-옥소헥실 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-옥소-6-(운데실 옥시)헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

[0448]

<p>31.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(4-옥소-4-(운데실 옥시)부틸)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>32.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-(노닐 옥시)-6-옥소헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>
<p>33.</p>		<p>8-(헵타데칸-9-일 옥시)-8-옥소옥틸 (2S)-4-((3-(디메틸아미노)프로파노일)옥시)-1-(6-(헵틸 옥시)-6-옥소헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트</p>

[0449]

[0450] **지질 조성물**

[0451] 본원에 개시된 이온화 가능 지질은 지질 조성물을 형성하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 신규한 이온화 가능 지질 화합물에 관한 본 발명의 전술한 양태에서 본원에 기술된 것과 같은 지질 화합물을 포함하는 지질 조성물에 관한 것이다.

[0452] 지질 화합물과 관련된 상기 양태에서 논의된 모든 설명 및 모든 구현에는 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IIIC-1), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)에 의해 포괄된 화합물을 포함하여, 지질 조성물과 관련된 본 발명의 이들 양태에 모두 적용 가능하다.

[0453] 본원에 기술된 바와 같이, 지질 조성물에 사용될 적절한 지질 화합물은 전술한 화합물의 모든 이성질체 및 동위 원소뿐만 아니라, 이의 모든 약학적으로 허용 가능한 염, 용매화물 또는 수화물, 및 모든 결정 형태, 결정 형태 혼합물, 및 무수물 또는 수화물을 포함한다.

[0454] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 본원에 기술된 하나 이상의 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 리포솜 또는 지질 나노입자(LNP)이다. 일 구현예에서, 지질 조성물은 LNP이다.

[0455] 본원에 기술된 하나 이상의 화합물 이외에, 지질 조성물은 제2 지질을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시는 (i) 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE),

(IIIC-1), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체, 및 (ii) 제2 지질을 포함하는 지질 조성물에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나 이상의 지질 화합물의 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%를 포함한다.

[0456] 일부 구현예에서, 제2 지질은 양이온성, 비-양이온성(예: 중성, 음이온성, 또는 쌍성이온성)이거나, 또는 이온화 가능하다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 약 1:1 비율의 지질 화합물 및 제2 지질(예: 헬퍼 지질)을 포함한다.

[0457] 일부 구현예에서, 제2 지질은 양이온성 지질, 음이온성 지질, 또 다른 이온화 가능 지질, 또는 쌍성이온성 지질이다.

[0458] 일부 구현예에서, 본 개시는 (i) 본원에 기술된 바와 같은 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물 및 (ii) 하나 이상의 지질 성분을 포함하는 지질 나노입자 조성물에 관한 것이다.

[0459] 일부 구현예에서, 지질 조성물 중의 하나 이상의 지질 성분은 하나 이상의 헬퍼 지질 및 하나 이상의 PEG 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 성분(들)은 하나 이상의 헬퍼 지질, 하나 이상의 PEG 지질, 및 하나 이상의 중성 지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 스테롤 및 PEG 지질을 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 스테롤, PEG화 지질, 인지질, 및/또는 중성 지질을 추가로 포함할 수 있다.

[0460] 일부 구현예에서, 하나 이상의 자연 발생 및/또는 합성 지질 화합물이 지질 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 지질 조성물은 음으로 하전된 지질, 양으로 하전된 지질, 또는 이들의 조합을 함유할 수 있다.

[0461] 비이온화 가능 지질 성분

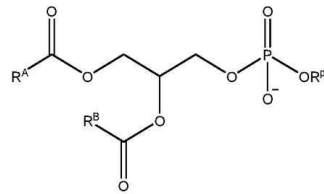
[0462] 하전된 지질 및 중성 지질

[0463] 적절한 음으로 하전된(음이온성) 지질의 예는 디미리스토일-, 디팔미토일-, 및 디스테아로일-포스파티딜글리세롤; 디미리스토일-, 디팔미토일-, 및 디팔미토일-포스파티드산; 디미리스토일-, 디팔미토일-, 및 디팔미토일-포스파티딜에탄올아민; 및 이들의 불포화 디아실 및 혼합 아실 사슬 대응 물질 및 카디올리핀을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0464] 양으로 하전된(양이온성) 지질의 예는 N,N'-디메틸-N,N'-디옥타실 암모늄 브로마이드(DDAB) 및 염화물(DDAC), N-(1-(2,3-디올레일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 염화물(DOTMA), 3β-[N-(N',N'-디메틸아미노에틸)카르바모일] 콜레스테롤(DC-콜), 1,2-다이올레오일옥시-3-[트리메틸암모니오]-프로판(DOTAP), 1,2-디옥타데실옥시-3-[트리메틸암모니오]-프로판(DSTAP), 및 1,2-디올레오일옥시프로필-3-디메틸-하이드록시 에틸 암모늄 염화물(DORI), 및 그 전체가 참조로서 본원에 통합된, 예를 들어, Martin 등의 문헌[Current Pharmaceutical Design, pages 1-394]에 기술된 양이온성 지질을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0465] 추가적인 예시적인 양이온성 지질은 N,N-디올레일-N,N-디메틸암모늄 염화물(DODAC), N,N-디스테아릴-N,N-디메틸 암모늄 브로마이드(DDAB), N-(1-(2,3-다이올레오일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 염화물(DOTAP), N-(1-(2,3-디올레일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 염화물(DOTMA), N,N-디메틸-2,3-디올레일옥시)프로필아민(DODMA), 1,2-디올레오일-3-디메틸암모늄-프로판(DODAP), 1,2-디올레일카르바미-3-디메틸암모늄-프로판(DODCAP), 1,2-딜리네오일-3-디메틸암모늄-프로판(DLINDAP), 3-디메틸아미노-2-(콜레스트-5-엔-3-베타-옥시부탄-4-옥시)-1-(시스,시스-9,12-옥타데카디에녹시)프로판(CLinDMA), 2-[5'(콜레스트-5-엔-3-베타-옥시)-3'옥사펜톡시)-3-디메틸-1-(시스,시스-9',12'옥타데카디에녹시)프로판(CpLin DMA), N,N-디메틸-3,4-디올레일옥시벤질아민(DMOBA), 및/또는 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 중성 지질은 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), 달걀 포스파티딜콜린(EPC), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 및/또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0466] 일부 구현예에서, 지질 성분은 하나 이상의 중성 지질을 포함한다. 중성 지질은 하나 이상의 (다중)불포화 지질과 같은 하나 이상의 인지질일 수 있다. 인지질은 하나 이상의 지질 이중층으로 조립될 수 있다. 일반적으로, 인지질은 인지질 모이어티 및 하나 이상의 지방산 모이어티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 인지질은 다음 식에



따른 지질일 수 있다. , 식 중  $R^P$ 는 인지질 모이어터를 나타내고,  $R^A$  및  $R^B$ 는 동일하거나 상이할 수 있는 불포화가 있거나 없는 지방산 모이어터를 나타낸다. 인지질 모이어터는 포스파티딜 콜린, 포스파티딜 에탄올아민, 포스파티딜 글리세롤, 포스파티딜 세린, 포스파티드산, 2-리소포스파티딜 콜린, 또는 스펅고미엘린일 수 있다. 지방산 모이어터는 라우르산, 미리스트산, 미리스트올레산, 팔미트산, 팔미톨레산, 스테아르산, 올레산, 리놀레산, 알파-리놀레산, 에루크산, 피탄산, 아라키드산, 아라키돈산, 에이코사펜타엔산, 베헨산, 도코사펜타엔산, 또는 도코사헥사엔산일 수 있다. 분지화, 산화, 고리화, 및 알킨을 포함하는 변형 및 치환을 갖는 천연 종을 포함하는 비천연 종도 고려된다. 예를 들어, 인지질은 하나 이상의 알킨(예를 들어, 하나 이상의 이중 결합이 삼중 결합으로 치환되는 알케닐기)으로 관능화되거나 이와 가교 결합될 수 있다. 적절한 반응 조건 하에서, 알킨기는 아지드에 노출 시 구리 촉매 고리 첨가 반응(copper-catalyzed cycloaddition)을 겪을 수 있다. 이러한 반응은 지질 나노입자의 지질 이중층을 관능화하여 막 투과 또는 세포 인식을 용이하게 하거나, 지질 나노입자를 표적화 모이어터 또는 이미징 모이어터(예를 들어, 염료)와 같은 유용한 성분에 접합시키는 데 유용할 수 있다.

[0467] 일부 구현예에서, 중성 지질은 다음과 같은 인지질일 수 있다: 디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE), 1,2-디리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-포스포콜린(DMPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디운데카노일-sn-글리세로-포스포콜린(DUPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC), 1,2-디-0-옥타데세닐-sn-글리세로-3-포스포콜린(18:0 디에터 PC), 1-올레오일-2-콜레스테릴헤미숙시노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(OChemPC), 1-헥사데실-sn-글리세로-3-포스포콜린(C16 Lyso PC), 1,2-디리놀레노일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디아라키도노일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디도코사헥사에노일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디피타노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(ME 16.0 PE), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디리놀레노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디아라키도노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디도코사헥사에노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포-rac-(1-글리세롤) 나트륨염(DOPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 팔미토일올레오일포스파티딜에탄올아민(POPE), 디스테아로일-포스파티딜-에탄올아민(DSPE), 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민(DPPE), 디미리스토일포스포에탄올아민(DMPE), 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민(SOPE), 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜콜린(SOPC), 스펅고미엘린, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티드산, 팔미토일올레오일 포스파티딜콜린, 리소포스파티딜콜린, 리소포스파티딜에탄올아민(LPE), 또는 이들의 혼합물.

[0468] 중성 지질의 추가적인 비제한적인 예는 또한 다음과 같은 인지질을 포함한다: 레시틴, 포스파티딜에탄올아민, 리소레시틴, 리소포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 스펅고미엘린, 달걀 스펅고미엘린(ESM), 세팔린, 카디오리핀, 포스파티드산, 세레브로사이드, 디세틸포스페이트, 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 디올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 팔미토일올레오일-포스파티딜콜린(POPC), 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민(POPE), 팔미토일올레오일-포스파티딜글리세롤(POP), 디올레오일포스파티딜에탄올아민 4-(N-말레이미도메틸)-시클로헥산-1-카르복실레이트(DOPE-mal), 디팔미토일-포스파티딜에탄올아민(DPPE), 디미리스토일-포스파티딜에탄올아민(DMPE), 디스테아로일-포스파티딜에탄올아민(DSPE), 모노메틸-포스파티딜에탄올아민, 디메틸-포스파티딜에탄올아민, 디엘라이도일-포스파티딜에탄올아민(DEPE), 스테아로일올레오일-포스파티딜에탄올아민(SOPE), 리소포스파티딜콜린, 디리놀레오일포스파티딜콜린, 및 이들의 혼합물. 또한 다른 디아실포스파티딜콜린 및 디아실포스파티딜에탄올아민 인지질이 사용될 수 있다. 이들 지질 중의 아실기는  $C_{10}$ - $C_{24}$  탄소 사슬을 갖는 지방산, 예를 들어, 라우로일, 미리스토일, 팔미토일, 스테아로일, 또는 올레오일로부터 유래된 아실기일 수 있다.

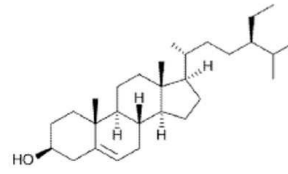
[0469] 스테로이드 및 기타 비이온화 가능 지질 성분

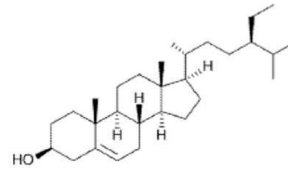
[0470] 일부 구현예에서, 지질 조성물 내의 지질 성분은 하나 이상의 스테로이드 또는 이의 유사체를 포함한다.

[0471] 일부 구현예에서, 지질 조성물 내의 지질 성분은 스테롤, 예컨대 콜레스테롤, 시스테롤, 및 이의 유도체를 포함한다. 콜레스테롤 유도체의 비제한적인 예는 5 $\alpha$ -콜레스타놀, 5 $\alpha$ -코프로스타놀, 콜레스테릴-(2'-하이드록시)-에틸 에테르, 콜레스테릴-(4'-하이드록시)-부틸 에테르, 및 6-케토콜레스타놀과 같은 극성 유사체; 5 $\alpha$ -콜레스탄, 콜레스테논, 5 $\alpha$ -콜레스타논, 5 $\alpha$ -콜레스타논, 및 콜레스테릴 데카노에이트와 같은 비극성 유사체; 및 이들의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 콜레스테롤 유도체는 콜레스테릴-(4'-하이드록시)-부틸 에테르와 같은 극성 유사체이다.

[0472] 일부 구현예에서, 비이온화 가능 지질 성분은 하나 이상의 인지질과 콜레스테롤 또는 이의 유도체의 혼합물을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 지질 조성물에 존재하는 비이온화 가능 지질 성분은 하나 이상의 인지질, 예를 들어, 콜레스테롤-무함유 지질 입자 제형을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 지질 조성물에 존재하는 비이온화 가능 지질 성분은 콜레스테롤 또는 이의 유도체, 예를 들어, 인지질-무함유 지질 입자 제형을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0473] 일부 구현예에서, 지질 조성물(예: LNP 조성물) 내의 지질 성분은 피토스테롤 또는 피토스테롤과 콜레스테롤의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 b-시토스테롤, 스티그마스테롤, b-시토스타놀, 캄페스테롤, 브라시카스테롤, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 b-시토스테롤, b-시토스타놀, 캄페스테롤, 브라시카스테롤, 화합물 S-140, 화합물 S-151, 화합물 S-156, 화합물 S-157, 화합물 S-159, 화합물 S-160, 화합물 S-164, 화합물 S-165, 화합물 S-170, 화합물 S-173, 화합물 S-175, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 화합물 S-140, 화합물 S-151, 화합물 S-156, 화합물 S-157, 화합물 S-159, 화합물 S-160, 화합물 S-164, 화합물 S-165, 화합물 S-170, 화합물 S-173, 화합물 S-175, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 화합물 S-141, 화합물 S-140, 화합물 S-143, 및 화합물 S-148의 조합이다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 시토스테롤 또는 이의 염 또는 에스테르를 포함한다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 스티그마스테롤 또는 이의 염 또는 에스테르를 포함한다.



[0474] 일부 구현예에서, 피토스테롤은 베타-시토스테롤, , 이의 염, 또는 이의 에스테르이다.

[0475] 일부 구현예에서, 지질 조성물(예: LNP 조성물)은 피토스테롤, 또는 이의 염 또는 에스테르, 및 콜레스테롤 또는 이의 염을 포함한다.

[0476] 일부 구현예에서, 지질 조성물을 위한 표적 전달 세포는 본원에 기술된 세포(예를 들어, 간 세포 또는 비장 세포)이고, 피토스테롤 또는 이의 염 또는 에스테르는 b-시토스테롤, b-시토스타놀, 캄페스테롤, 및 브라시카스테롤, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 b-시토스테롤이다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 b-시토스타놀이다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 캄페스테롤이다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 브라시카스테롤이다.

[0477] 일부 구현예에서, 지질 조성물을 위한 표적 전달 세포는 본원에 기술된 세포(예를 들어, 간 세포 또는 비장 세포)이고, 피토스테롤 또는 이의 염 또는 에스테르는 b-시토스테롤 및 스티그마스테롤, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 b-시토스테롤이다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 스티그마스테롤이다.

[0478] 비이온화 가능 지질 성분의 다른 예는 예를 들어 다음과 같은 비-인 함유 지질을 포함한다: 스테아릴아민, 도데실아민, 헥사데실아민, 아세틸 팔미테이트, 글리세롤 리시놀레이트, 헥사데실 스테아레이트, 이소프로필 미리스테이트, 양쪽성 아크릴 중합체, 트리에탄올아민-라우릴 황산염, 알킬-아릴 황산염 폴리에틸옥시화 지방산 아마이드, 디옥타데실디메틸 암모늄 브로마이드, 세라마이드, 및 스펅고미엘린.

[0479] 일부 구현예에서, 비이온화 가능 지질 성분은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 10 몰% 내지 60 몰%, 20 몰% 내지 55 몰%, 20 몰% 내지 45 몰%, 20 몰% 내지 40 몰%, 25 몰% 내지 50 몰%, 25 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 50 몰%, 30 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 40 몰%, 35 몰% 내지 45 몰%, 37 몰% 내지 42 몰%, 또는 35 몰%, 36 몰%, 37 몰%, 38 몰%, 39 몰%, 40 몰%, 41 몰%, 42 몰%, 43 몰%, 44 몰%, 또는 45 몰%(또는 이의 임의의 분

획 또는 그 안의 범위)로 존재한다.

- [0480] 지질 조성물이 인지질과 콜레스테롤 또는 콜레스테롤 유도체의 혼합물을 함유하는 구현예에서, 혼합물은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 최대 40 몰%, 45 몰%, 50 몰%, 55 몰%, 또는 60 몰%까지 존재할 수 있다.
- [0481] 일부 구현예에서, 혼합물 중 인지질 성분은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 2 몰% 내지 20 몰%, 2 몰% 내지 15 몰%, 2 몰% 내지 12 몰%, 4 몰% 내지 15 몰%, 또는 4 몰% 내지 10 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합물 중 인지질 성분은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 5 몰% 내지 10 몰%, 5 몰% 내지 9 몰%, 5 몰% 내지 8 몰%, 6 몰% 내지 9 몰%, 6 몰% 내지 8 몰%, 또는 5 몰%, 6 몰%, 7 몰%, 8 몰%, 9 몰%, 또는 10 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재할 수 있다.
- [0482] 일부 구현예에서, 혼합물 중 스테롤 성분(예: 콜레스테롤 성분)은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 25 몰% 내지 45 몰%, 25 몰% 내지 40 몰%, 30 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 40 몰%, 27 몰% 내지 37 몰%, 25 몰% 내지 30 몰%, 또는 35 몰% 내지 40 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 혼합물 중 콜레스테롤 성분은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 25 몰% 내지 35 몰%, 27 몰% 내지 35 몰%, 29 몰% 내지 35 몰%, 30 몰% 내지 35 몰%, 30 몰% 내지 34 몰%, 31 몰% 내지 33 몰%, 또는 30 몰%, 31 몰%, 32 몰%, 33 몰%, 34 몰%, 또는 35 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재할 수 있다.
- [0483] 지질 조성물이 인지질을 포함하지 않는 구현예에서, 콜레스테롤 또는 이의 유도체는 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 최대 25 몰%, 30 몰%, 35 몰%, 40 몰%, 45 몰%, 50 몰%, 55 몰%, 또는 60 몰%까지 존재할 수 있다.
- [0484] 일부 구현예에서, 인지질-무함유 지질 입자 제형 중 스테롤 성분(예: 콜레스테롤 또는 이의 유도체)은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 25 몰% 내지 45 몰%, 25 몰% 내지 40 몰%, 30 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 40 몰%, 31 몰% 내지 39 몰%, 32 몰% 내지 38 몰%, 33 몰% 내지 37 몰%, 35 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 35 몰%, 35 몰% 내지 40 몰%, 또는 30 몰%, 31 몰%, 32 몰%, 33 몰%, 34 몰%, 35 몰%, 36 몰%, 37 몰%, 38 몰%, 39 몰%, 또는 40 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재할 수 있다.
- [0485] 일부 구현예에서, 비이온화 가능 지질 성분은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 5 몰% 내지 90 몰%, 10 몰% 내지 85 몰%, 20 몰% 내지 80 몰%, 10 몰%(예를 들어, 인지질 단독), 또는 60 몰%(예를 들어, 인지질 및 콜레스테롤 또는 이의 유도체)(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재할 수 있다.
- [0486] 지질 조성물에 존재하는 비이온화 가능 지질의 백분율은 목표량이며, 입자 내에 존재하는 비이온화 가능 지질의 실제 양은, 예를 들어, ±5 몰%만큼 달라질 수 있다.
- [0487] 지질 접합체
- [0488] 본원에 기술된 지질 조성물은 하나 이상의 지질 접합체를 추가로 포함할 수 있다. 접합된 지질은 입자의 응집을 방지할 수 있다. 접합된 지질의 비제한적인 예는 PEG-지질 접합체, 양이온성 중합체-지질 접합체, 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0489] 일부 구현예에서, 지질 접합체는 PEG-지질 또는 PEG-변형 지질(대안적으로 PEG화 지질로서 지칭됨)이다. PEG 지질은 폴리에틸렌 글리콜로 변형된 지질이다. PEG-지질의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 디알킬옥시프로필에 결합된 PEG(PEG-DAA), 디아실글리세롤에 결합된 PEG(PEG-DAG), PEG-변형 디알킬아민, PEG-변형 디아실글리세롤(PEG-DEG), 포스파티딜에탄올아민과 같은 인지질에 결합된 PEG(PEG-PE), PEG-변형 포스파티드산, 세라마이드에 접합된 PEG(PEG-CER), 콜레스테롤 또는 이의 유도체에 접합된 PEG, 및 이들의 혼합물.
- [0490] 예를 들어, PEG 지질은 PEG-c-DOMG, PEG-DMG, PEG-DLPE, PEG-DMPE, PEG-DPPC, 또는 PEG-DSPE 지질일 수 있다.
- [0491] 일부 구현예에서, PEG-지질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: PEG-변형 포스파티딜에탄올아민, PEG-변형 포스파티드산, PEG-변형 세라마이드, PEG-변형 디알킬아민, PEG-변형 디아실글리세롤, 및 PEG-변형 디알킬글리세롤.
- [0492] 일부 구현예에서, PEG-지질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤 메톡시폴리에틸렌 글리콜(PEG-DMG), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-[아미노(폴리에틸렌 글리콜)](PEG-DSPE), PEG-디스테릴글리세롤(PEG-DSG), PEG-디팔메토레일, PEG-디올레일, PEG-디스테아릴, PEG-디아실글리카미드(PEG-DAG), PEG-디팔미토일 포스파티딜에탄올아민(PEG-DPPE), 또는 PEG-1,2-디미리스틸옥슬프로필(dimyristyloxylpropyl)-3-아민(PEG-c-DMA).
- [0493] PEG는 2개의 말단 하이드록실기를 갖는 에틸렌 PEG 반복 단위의 선형 수용성 중합체이다. PEG는 분자량에 의해

분류되며; 다음을 포함한다: 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜(MePEG-OH), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-숙신산염(MePEG-S), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-숙신이미딜 숙신산염(MePEG-S-NHS), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-아민(MePEG-NH<sub>2</sub>), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-트레실레이트(MePEG-TRES), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-이미다졸릴-카르보닐(MePEG-IM), 및 말단 메톡시기 대신에 말단 하이드록실기를 함유하는 이러한 화합물(예를 들어, HO-PEG-S, HO-PEG-S-NHS, HO-PEG-NH<sub>2</sub>).

[0494] 본원에 기술된 PEG-지질 접합체의 PEG 모이어티는 550 달톤 내지 10,000 달톤 범위의 평균 분자량을 포함할 수 있다. 소정의 경우에, PEG 모이어티의 평균 분자량은 750 달톤 내지 5,000 달톤(예를 들어, 1,000 달톤 내지 5,000 달톤, 1,500 달톤 내지 3,000 달톤, 750 달톤 내지 3,000 달톤, 750 달톤 내지 2,000 달톤)이다. 일부 구현예에서, PEG 모이어티의 평균 분자량은 2,000 달톤 또는 750 달톤이다.

[0495] 소정의 경우에, PEG는 알킬, 알콕시, 아실, 또는 아릴기로 임의 치환될 수 있다. PEG는 지질에 직접 접합될 수 있거나, 링커 모이어티를 통해 지질에 연결될 수 있다. PEG를 지질에 결합시키기에 적합한 임의의 링커 모이어티, 예를 들어, 에스테르를 무함유 링커 모이어티 및 에스테르 함유 링커 모이어티가 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 링커 모이어티는 에스테르 무함유 링커 모이어티이다. 적절한 에스테르 무함유 링커 모이어티는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 아미도(-C(O)NH-), 아미노(-NR-), 카르보닐(-C(O)-), 카바메이트(-NHC(O)O-), 요소(-NHC(O)NH-), 이황화물(-S-S-), 에테르(-O-), 숙시닐(-(O)CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-), 숙신아미달(-NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)NH-), 에테르, 이황화물, 및 이의 조합(예컨대, 카바메이트 링커 모이어티 및 아미도 링커 모이어티 둘 다를 함유하는 링커). 일부 구현예에서, 카바메이트 링커는 PEG를 지질에 결합시키는 데 사용된다.

[0496] 일부 구현예에서, 에스테르 함유 링커 모이어티는 PEG를 지질에 결합시키는 데 사용된다. 적절한 에스테르 함유 링커 모이어티는, 예를 들어, 탄산염(-OC(O)O-), 숙시노일, 인산염 에스테르(-O-(O)POH-O-), 설포네이트 에스테르, 및 이들의 조합을 포함한다.

[0497] 다양한 사슬 길이 및 포화도의 다양한 아실 사슬기를 갖는 포스파티딜에탄올아민을 PEG에 접합하여 지질 접합체를 형성할 수 있다. 이러한 포스파티딜에탄올아민은 상업적으로 이용 가능하거나, 당업자에게 공지된 종래의 기술을 사용하여 단리하거나 합성할 수 있다.

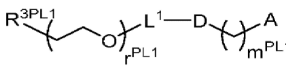
[0498] 일부 구현예에서, 포스파티딜에탄올아민은 C10 내지 C20 범위의 탄소 사슬 길이를 갖는 포화 또는 불포화 지방산을 함유한다. 모노- 또는 디-불포화 지방산 및 포화 및 불포화 지방산의 혼합물을 갖는 포스파티딜에탄올아민이 사용될 수도 있다. 적절한 포스파티딜에탄올아민은 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 디미리스토일-포스파티딜에탄올아민(DMPE), 디팔미토일-포스파티딜에탄올아민(DPPE), 디올레오일-포스파티딜에탄올아민(DOPE), 및 디스테아로일-포스파티딜에탄올아민(DSPE).

[0499] 용어 "디아실글리세롤" 또는 "DAG"는 2개의 지방 아실 사슬인 R1 및 R2를 갖는 화합물을 포함하며, 지방 아실 사슬 둘 모두는 독립적으로 에스테르 결합에 의해 글리세롤의 제1 위치 및 제2 위치에 결합된 2개 내지 30개의 탄소를 갖는다. 아실기는 포화되거나 다양한 정도로 불포화될 수 있다. 적절한 아실기는 라우로일(C12), 미리스토일(CM), 팔미토일(C16), 스테아로일(C18), 및 이코소일(C20)을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, R1 및 R2는 동일하며, 즉, R1 및 R2는 모두 미리스토일(즉, 디미리스토일)이고, R1 및 R2는 모두 스테아로일(즉, 디스테아로일)이다.

[0500] 용어 "디아킬옥시 프로필" 또는 "DAA"는 2개의 알킬 사슬인 R 및 R'를 갖는 화합물을 포함하며, 알킬 사슬 둘 모두는 독립적으로 2개 내지 30개의 탄소를 갖는다. 알킬기는 포화되거나 다양한 정도로 불포화될 수 있다.

[0501] 일부 구현예에서, PEG-DAA 접합체는 PEG-디테실옥시프로필(C10) 접합체, PEG-디라우릴옥시프로필(C12) 접합체, PEG-디미리스틸옥시프로필(C14) 접합체, PEG-디팔미틸옥시 프로필(C16) 접합체, 또는 PEG-디스테아릴옥시 프로필(C18) 접합체이다. 일부 구현예에서, PEG의 평균 분자량은 750 또는 2,000 달톤이다. 일부 구현예에서, PEG의 말단 하이드록실기는 메틸기로 치환된다.

[0502] 전술한 것에 더하여, PEG 대신에 다른 친수성 중합체가 사용될 수 있다. PEG 대신에 사용될 수 있는 적절한 중합체의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 폴리비닐피롤리돈, 폴리메틸옥사졸린, 폴리에틸옥사졸린, 폴리하이드록시프로필 메타크릴아미드, 폴리메타크릴아미드 및 폴리디메틸아크릴아미드, 폴리락트산, 폴리 글리콜산, 및 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 하이드록시 에틸셀룰로오스와 같은 유도체화된 셀룰로오스.

[0503] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 의 화합물, 또는 이의 염이며, 식 중:

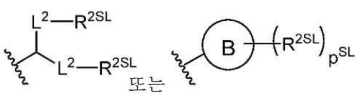
[0504] R<sup>3PL1</sup>은 -OR<sup>OPL1</sup>이고;

[0505] R<sup>OPL1</sup>은 수소, 임의 치환된 알킬, 또는 산소 보호기이고;

[0506] r<sup>PL1</sup>은 1 내지 100 사이의 정수이고;

[0507] L<sup>1</sup>은 임의 치환된 C<sub>1-10</sub> 알킬렌이며, 여기서 임의 치환된 C<sub>1-10</sub> 알킬렌의 적어도 하나의 메틸렌은 임의 치환된 카르보시클릴렌, 임의 치환된 헤테로시클릴렌, 임의 치환된 아릴렌, 임의 치환된 헤테로아릴렌, O, N(R<sup>NPL1</sup>), S, C(O), C(O)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(O), -C(O)O, OC(O), OC(O)O, OC(O)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(O)O, 또는 NR<sup>NPL1</sup>C(O)N(R<sup>NPL1</sup>)로 독립적으로 대체되고;

[0508] D는 클릭 화학에 의해 수득된 모이어티 또는 생리학적 조건 하에서 절단 가능한 모이어티이고; m<sup>PL1</sup>은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

[0509] A는 다음 식: 이고;

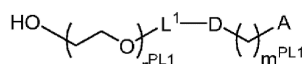
[0510] L<sup>2</sup>의 각각의 경우는 독립적으로 결합 또는 임의 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬렌이고, 여기서 임의 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬렌의 하나의 메틸렌 단위는 O, N(R<sup>NPL1</sup>), S, C(O), C(O)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(O), C(O)O, OC(O), OC(O)O, -OC(O)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(O)O, 또는 NR<sup>NPL1</sup>C(O)N(R<sup>NPL1</sup>)로 임의 대체되고;

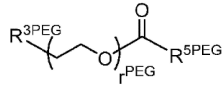
[0511] R<sup>2SL</sup>의 각각의 경우는 독립적으로 임의 치환된 C<sub>1-30</sub> 알킬, 임의 치환된 C<sub>1-30</sub> 알케닐, 또는 임의 치환된 C<sub>1-30</sub> 알킬렌이고; 임의로 여기서 R<sup>2SL</sup>의 하나 이상의 메틸렌 단위는 다음으로 독립적으로 대체되고: 임의 치환된 카르보시클릴렌, 임의 치환된 헤테로시클릴렌, 임의 치환된 아릴렌, 임의 치환된 헤테로아릴렌, N(R<sup>NPL1</sup>), O, S, C(O), C(O)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(O), -NR<sup>NPL1</sup>C(O)N(R<sup>NPL1</sup>), C(O)O, OC(O), OC(O)O, OC(O)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(O)O, C(O)S, -SC(O), C(=NR<sup>NPL1</sup>), C(=NR<sup>NPL1</sup>)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(=NR<sup>NPL1</sup>), -NR<sup>NPL1</sup>C(=NR<sup>NPL1</sup>)N(R<sup>NPL1</sup>), C(S), C(S)N(R<sup>NPL1</sup>), NR<sup>NPL1</sup>C(S), NR<sup>NPL1</sup>C(S)N(R<sup>NPL1</sup>), S(O), OS(O), S(O)O, OS(O)O, OS(O)<sub>2</sub>, S(O)<sub>2</sub>O, OS(O)<sub>2</sub>O, N(R<sup>NPL1</sup>)S(O), S(O)N(R<sup>NPL1</sup>), -N(R<sup>NPL1</sup>)S(O)N(R<sup>NPL1</sup>), OS(O)N(R<sup>NPL1</sup>), N(R<sup>NPL1</sup>)S(O)O, S(O)<sub>2</sub>, N(R<sup>NPL1</sup>)S(O)<sub>2</sub>, -S(O)<sub>2</sub>N(R<sup>NPL1</sup>), N(R<sup>NPL1</sup>)S(O)<sub>2</sub>N(R<sup>NPL1</sup>), OS(O)<sub>2</sub>N(R<sup>NPL1</sup>), 또는 N(R<sup>NPL1</sup>)S(O)<sub>2</sub>O;

[0512] R<sup>NPL1</sup>의 각각의 경우는 독립적으로 수소, 임의 치환된 알킬, 또는 질소 보호기이고;

[0513] 고리 B는 임의 치환된 카르보시클릴, 임의 치환된 헤테로시클릴, 임의 치환된 아릴, 또는 임의 치환된 헤테로아릴이고;

[0514] p<sup>SL</sup>은 1 또는 2이다.

[0515] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 의 화합물 또는 이의 염이며, 식 중 r<sup>PL1</sup>, L<sup>1</sup>, D, m<sup>PL1</sup>, 및 A는 상기 정의된 것과 같다.



[0516] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식  $\text{R}^{3\text{PEG}}\text{-(CH}_2\text{)}_r\text{PEG-O-CO-R}^{5\text{PEG}}$  의 화합물 또는 이의 염 또는 이성질체이며, 식 중:

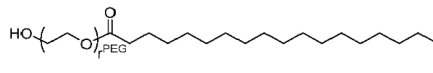
[0517]  $\text{R}^{3\text{PEG}}$ 는  $-\text{OR}^0$ 이고;

[0518]  $\text{R}^0$ 는 수소,  $\text{C}_{1-6}$ 알킬, 또는 산소 보호기이고;

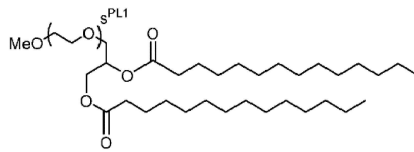
[0519]  $r^{\text{PEG}}$ 는 1 내지 100 사이의 정수(예를 들어, 40 내지 50 사이, 예를 들어, 45)이고;

[0520]  $\text{R}^{5\text{PEG}}$ 는  $\text{C}_{10-40}$  알킬(예를 들어,  $\text{C}_{17}$  알킬),  $\text{C}_{10-40}$  알케닐, 또는  $\text{C}_{10-40}$  알키닐이고; 임의로  $\text{R}^{5\text{PEG}}$ 의 하나 이상의 메틸렌기는 다음의 기로 독립적으로 대체되고:  $\text{C}_{3-10}$  카르보시클릴렌, 4 내지 10원 헤테로시클릴렌,  $\text{C}_{6-10}$  아릴렌, 4 내지 10원 헤테로아릴렌,  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{OC}(\text{O})-$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$ ,  $-\text{SC}(\text{O})-$ ,  $-\text{C}(\text{=NR}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{C}(\text{=NR}^{\text{NPEG}})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{=NR}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{=NR}^{\text{NPEG}})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{C}(\text{S})-$ ,  $-\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{S})-$ ,  $-\text{NR}^{\text{NPEG}}\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{OS}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{OS}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{OS}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{O}-$ ,  $-\text{OS}(\text{O})_2\text{O}-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})-$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{OS}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})\text{O}-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ ,  $-\text{OS}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})-$ , 또는  $-\text{N}(\text{R}^{\text{NPEG}})\text{S}(\text{O})_2\text{O}-$ ;

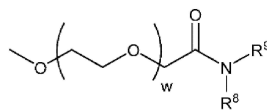
[0521]  $\text{R}^{\text{NPEG}}$ 의 각각의 경우는 독립적으로 수소,  $\text{C}_{1-6}$  알킬, 또는 질소 보호기이다.



[0522] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식  $\text{HO-(CH}_2\text{)}_r\text{PEG-O-CO-}$ 의 화합물이며, 식 중  $r^{\text{PEG}}$ 는 1 내지 100 사이의 정수(예를 들어, 40 내지 50 사이, 예를 들어, 45)이다.



[0523] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식  $\text{MeO-(CH}_2\text{)}_s\text{PL1-O-CO-}$ 의 화합물 또는 이의 염 또는 이성질체이며, 식 중  $s^{\text{PL1}}$ 은 1 내지 100 사이의 정수(예를 들어, 40 내지 50 사이, 예를 들어, 45)이다.



[0524] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식  $\text{MeO-(CH}_2\text{)}_w\text{O-CO-N}(\text{R}^8)(\text{R}^9)$ , 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 호변이성질체, 또는 입체이성질체를 가지며, 식 중:

[0525]  $\text{R}^8$  및  $\text{R}^9$ 는 각각 독립적으로 10개 내지 30개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지형 포화 또는 불포화 알킬 사슬로서, 여기서 알킬 사슬은 하나 이상의 에스테르 결합에 의해 임의 중단되고(예를 들어,  $\text{R}^8$  및  $\text{R}^9$ 는 각각 독립적으로 12개 내지 16개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 포화 알킬 사슬임);

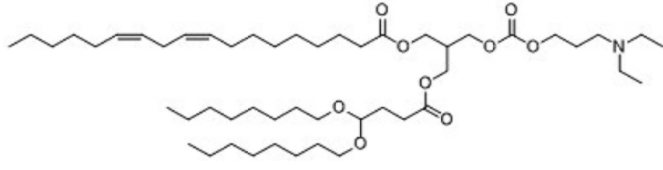
[0526]  $w$ 는 30 내지 60 범위의 평균 값을 갖는다(예를 들어, 평균  $w$ 는 약 49임).

[0527] 일부 구현예에서, 지질 조성물에 전술한 PEG-지질 중 어느 하나를 포함시키면 지질 조성물의 약동학 및/또는 생체분포를 개선할 수 있다. 예를 들어, 지질 조성물에 전술한 PEG-지질 중 어느 하나를 포함시키면 가속화된 혈액 제거(ABC, accelerated blood clearance) 효과를 감소시킬 수 있다.

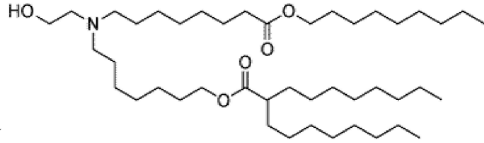
[0528] 기타 이온화 가능 지질

[0529] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 본원에 기술된 이온화 가능 지질과 상이한 하나 이상의 추가 이온화 가능 지질

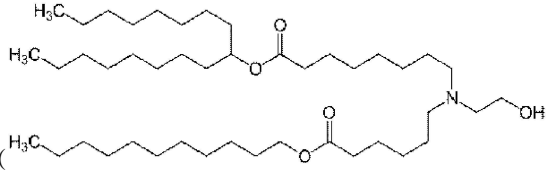
을 포함할 수 있다. 예시적인 이온화 가능 지질은 다음을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다:



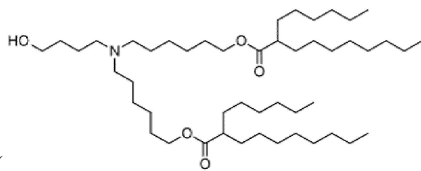
[0530] LP01( ),



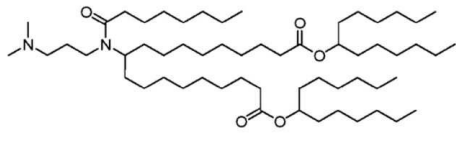
[0531] SM-86( ),



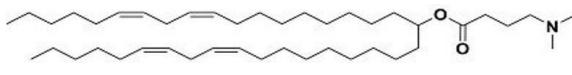
[0532] SM-102( ),



[0533] ALC-0315( ),



[0534] 지질 10( ),



[0535] MC3( ), 아큐타스 지질 9, 및 아큐타스 지질 10 (그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO 2017/004143A1 참조).

[0536] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 헵타데칸-9-일 8-((2-하이드록시에틸)(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에이트(SM-102)이고; 예를 들어, 미국 특허 제9,867,888호(그 전체는 참조로서 본원에 통합됨)의 실시예 1에 기술된 바와 같다.

[0537] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 (9Z,12Z)-3-((4,4-비스(옥틸옥시)부타노일)옥시)-2-(((3-(디에틸아미노)프로폭시)카르보닐)옥시)메틸)프로필 옥타데카-9,12-디엔오에이트(LP01)이고, 예를 들어 WO 2015/095340 (그 전체가 참조로서 본원에 통합됨)의 실시예 13에서 합성된 바와 같다.

[0538] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 디((Z)-논-2-엔-1-일) 9-((4-디메틸아미노)부타노일)옥시)헵타데칸 디오에이트(L319)이고, 예를 들어, US 제2012/0027803호(그 전체가 참조로서 본원에 통합됨)의 실시예 7, 8, 또는 9에서 합성된 바와 같다.

[0539] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 1,1'-((2-(4-(2-((2-비스(2-하이드록시도데실)아미노)에틸)(2-하이드록시도데실)아미노)에틸)피페라진-1-일)에틸)아자네티딜)비스(도데칸-2-올)(C12-200)이고, 예를 들어 WO 2010/053572(그 전체가 참조로서 본원에 통합됨)의 실시예 14 및 16에서 합성된 바와 같다.

[0540] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 이미다졸 콜레스테롤 에스테르(ICE) 지질(3S, 10R, 13R, 17R)-10, 13-디메틸-17-((R)-6-메틸헵탄-2-일)-2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-테트라데칸하이드로-1H-시클로펜타[a]페난트렌-3-일 3-(1H-이미다졸-4-일)프로파노에이트, 예를 들어, WO 2020/106946(그 전체가 참조로서 본원에 통합됨)로부터의 구조 (I)이다.

[0541] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 MC3(6Z,9Z,28Z,3 1Z)-헵타트리아콘타-6,9,28,3 1-테트라엔-19-일-4-(디메틸아미노) 부타노에이트(DLin-MC3-DMA 또는 MC3)이며, 예를 들어 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO

2019/051289A9의 실시예 9에 기술된 바와 같다.

[0542] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은, 예를 들어 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO 2019/051289A9의 실시예 10에 기술된 것과 같은 지질 ATX-002이다.

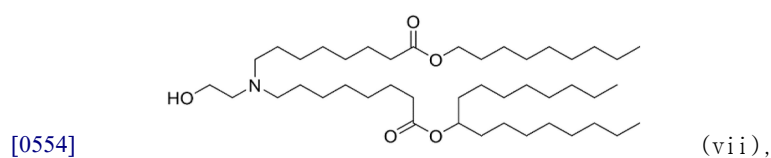
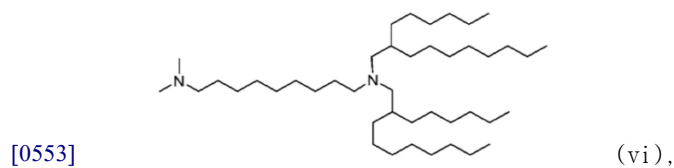
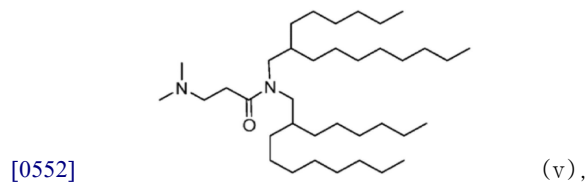
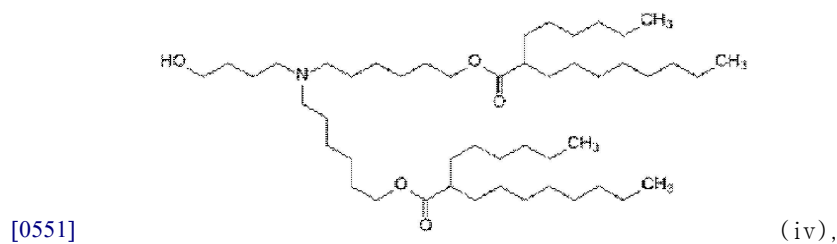
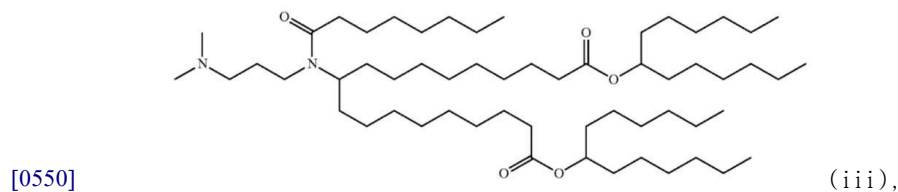
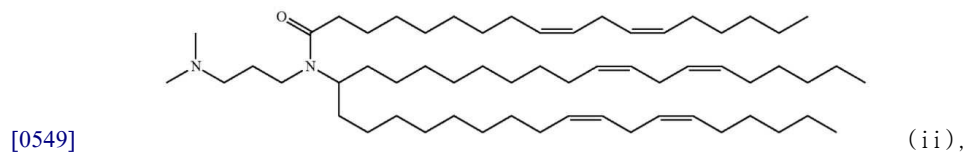
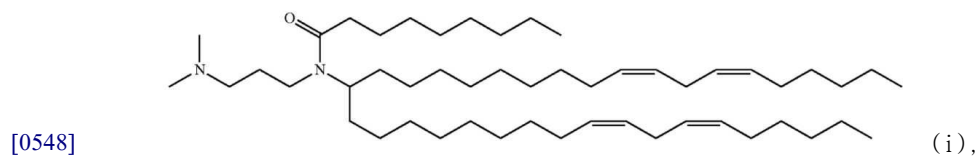
[0543] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 (13Z,16Z)-A,A-디메틸-3-노닐도코사-13, 16-디엔-1-아민(화합물 32)이고, 예를 들어 WO 2019/051289A9(그 전체는 참조로서 본원에 통합됨)의 실시예 11에 기술된 바와 같다.

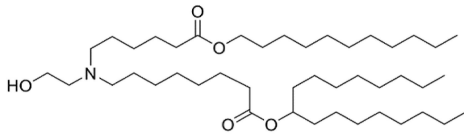
[0544] 일 구현예에서, 추가의 이온화 가능 지질은 화합물 6 또는 화합물 22이며, 예를 들어 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO 2019/051289A9의 실시예 12에 기술된 바와 같다.

[0545] 지질 조성물에 유용한 추가의 이온화 가능 지질의 예는 참조로서 본원에 통합된 WO 2019/051289의 표 1에 열거된 것들을 포함한다.

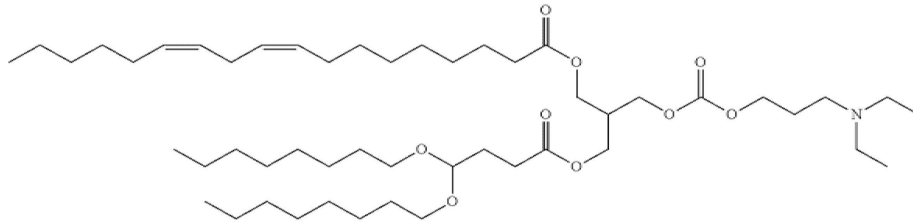
[0546] 추가 지질 성분

[0547] 지질 조성물을 형성하기 위해 (예를 들어, 본원에 기술된 이온화 가능 지질 화합물 및 다른 지질 성분과 조합하여) 사용될 수 있는 추가 지질 화합물의 일부 비제한적인 예는 다음을 포함한다:





(viii), 또는



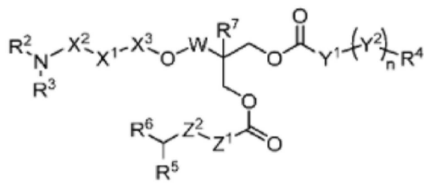
(ix).

[0555]

[0556]

[0557] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 식 (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi), (vii), (viii), 또는 (ix)의 지질을 추가로 포함한다.

[0558] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 다음의 구조를 갖는 화합물을 추가로 포함하며:



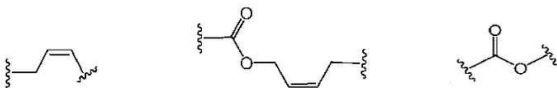
(x), 식 중:

[0559]  $X^1$ 은 O,  $NR^1$ , 또는 직접 결합이고,  $X^2$ 는  $C_{2-5}$  알킬렌이고,  $X^3$ 은  $C(=O)$  또는 직접 결합이고;

[0560]  $R^1$ 은 H 또는 Me이고,  $R^3$ 은  $C_{1-3}$  알킬이고,  $R^2$ 는  $C_{1-3}$  알킬이거나  $R^2$ 는 이들이 부착되는 질소 원자 및  $X^2$ 의 1 내지 3 개의 탄소 원자와 함께 취해져 4원, 5원, 또는 6원 고리를 형성하거나;

[0561]  $X^1$ 은  $NR^1$ 이고,  $R^1$  및  $R^2$ 는 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 5원 또는 6원 고리를 형성하거나,  $R^2$ 는  $R^3$  및 이들이 부착되는 질소 원자와 함께 취해져 5원, 6원 또는 7원 고리를 형성하고;

[0562]  $Y^1$ 은  $C_{2-12}$  알킬렌이고,  $Y^2$ 는 다음으로부터 선택되고:

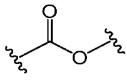


(어느 배향이든), (어느 배향이든), (어느 배향이든),

[0563]

[0564] n은 0 내지 3이고;

[0565]  $R^4$ 는  $C_{1-15}$  알킬이고;

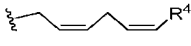
[0566]  $Z^1$ 은  $C_{1-6}$  알킬렌 또는 직접 결합이고,  $Z^2$  is  (어느 배향이든) 또는 부재하되, 단  $Z^1$ 이 직접 결합인 경우,  $Z^2$ 는 부재하고;

[0567]  $R^5$ 는  $C_{5-9}$  알킬 또는  $C_{6-10}$  알콕시이고,  $R^6$ 은  $C_{5-9}$  알킬 또는  $C_{6-10}$  알콕시이고;

[0568] W는 메틸렌 또는 직접 결합이고;

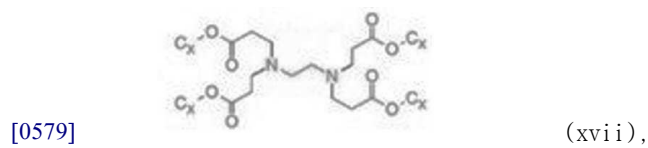
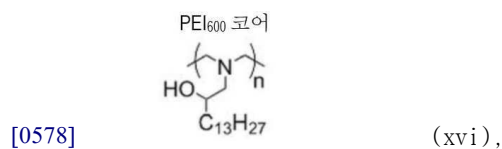
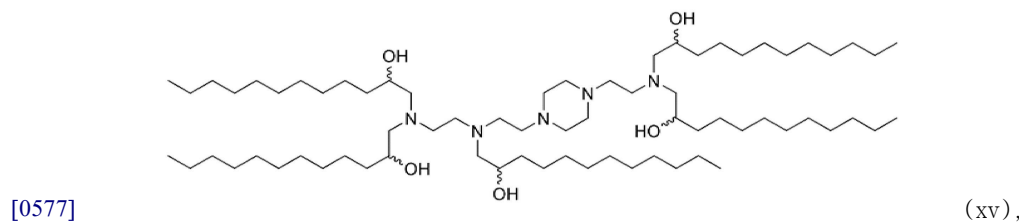
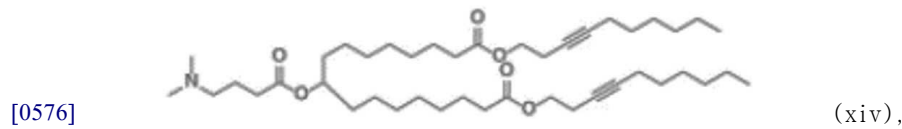
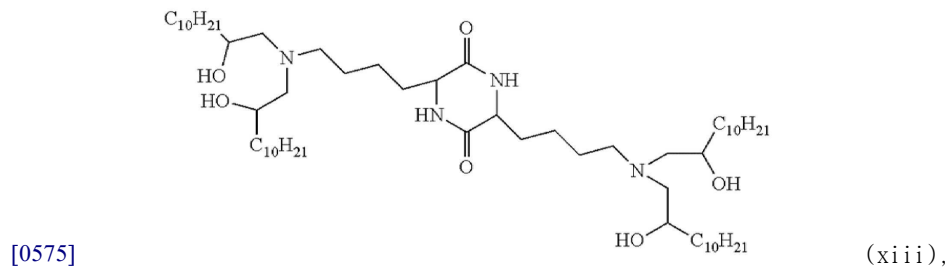
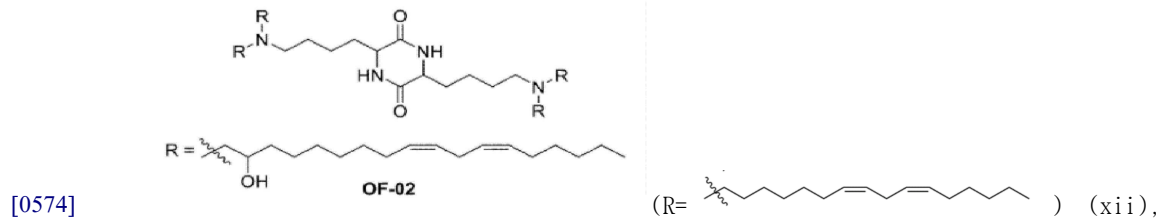
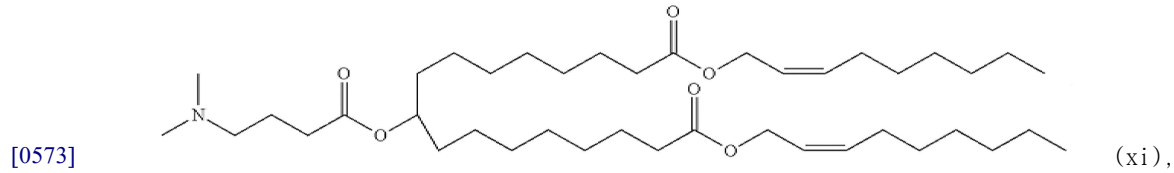
[0569]  $R^7$ 은 H 또는 Me, 또는 이의 염이고;

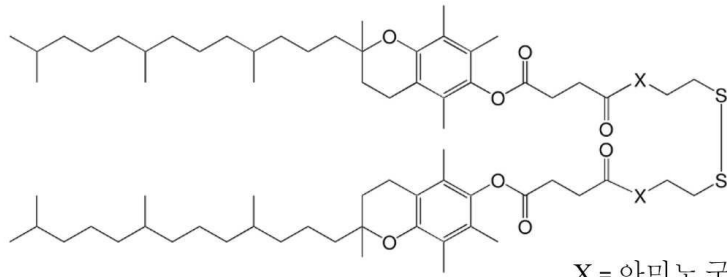
[0570] 단,  $R^3$  및  $R^2$ 가  $C_2$  알킬이고,  $X^1$ 이 O이고,  $X^2$ 가 선형  $C_3$  알킬렌이고,  $X^3$ 이  $C(=O)$ 이고,  $Y^1$ 이 선형  $C_5$  알킬렌이고,

(Y<sup>2</sup>)<sub>n</sub>-R<sup>4</sup>가  이고, R<sup>4</sup>가 선형 C<sub>5</sub> 알킬이고, Z<sup>1</sup>이 C<sub>2</sub> 알킬렌이고, Z<sup>2</sup>가 부재하고, W가 메틸렌이고, R<sup>7</sup>이 H인 경우, R<sup>5</sup> 및 R<sup>6</sup>은 C<sub>2</sub> 알콕시가 아니다.

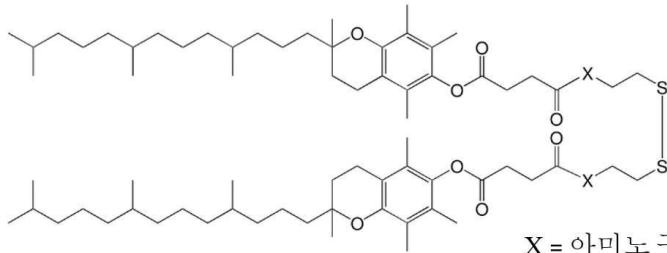
[0571] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나 이상의 식 (x)의 화합물을 추가로 포함한다.

[0572] 지질 조성물에 추가로 포함될 수 있는 지질 화합물의 추가적인 비제한적인 예는 (예를 들어, 본원에 기술된 지질 화합물 및 다른 지질 성분과 조합하여) 다음을 추가로 포함한다:

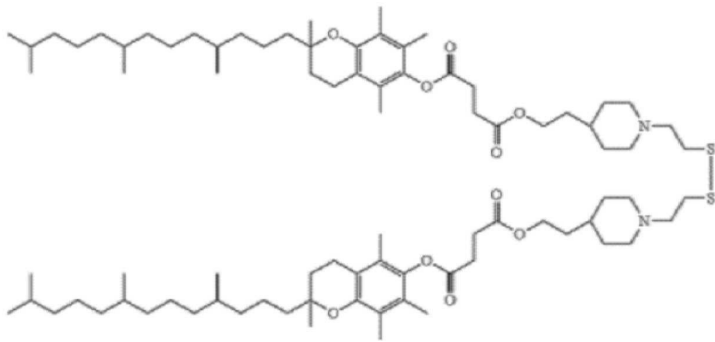




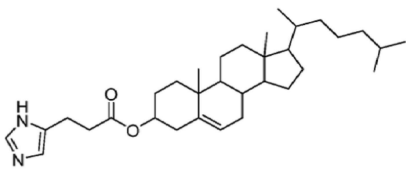
[0580] X = 아미노 구조 (xviii),



[0581] X = 아미노 구조 (X = ) (xviii)(a),



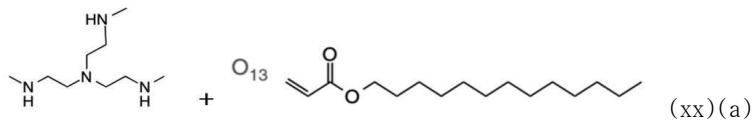
[0582] (xviii)(b),



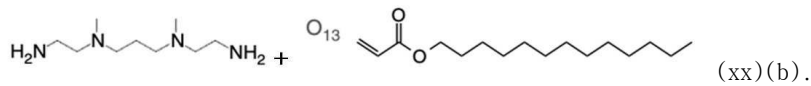
[0583] (xix).

[0584] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 식 (xi), (xii), (xiii), (xiv), (xv), (xvi), (xvii), (xviii)(예: (xviii)a, (xviii)b), 또는 (xix)의 하나 이상의 화합물을 추가로 포함한다.

[0585] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 다음 반응 중 하나에 의해 형성된 지질을 추가로 포함한다:

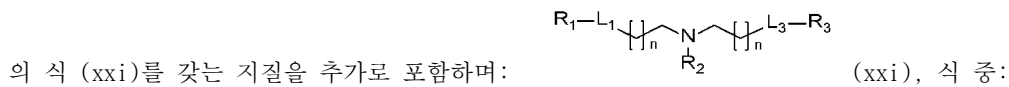


[0586] (xx)(a)



[0587] (xx)(b).

[0588] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 (예를 들어, 본원에 기술된 지질 화합물 및 다른 지질 성분과 조합하여) 다음



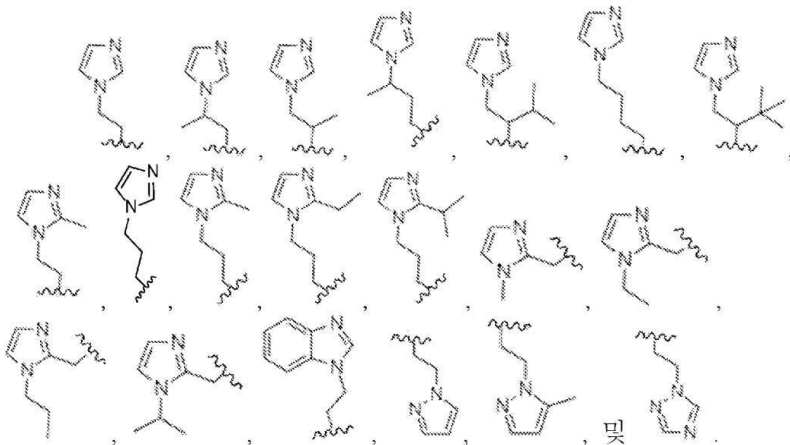
의 식 (xxi)를 갖는 지질을 추가로 포함하며:

[0589] 각각의 n은 독립적으로 2 내지 15의 정수이고;

[0590] L<sub>1</sub> 및 L<sub>3</sub>은 각각 독립적으로 -OC(O)-\* 또는 -C(O)O-\*이고, 여기서 "\*"는 R<sub>1</sub> 또는 R<sub>3</sub>에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0591] R<sub>1</sub> 및 R<sub>3</sub>은 각각 독립적으로 선형 또는 분지형 C<sub>9</sub> 내지 C<sub>20</sub> 알킬 또는 C<sub>9</sub> 내지 C<sub>20</sub> 알케닐이고, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환기에 의해 임의 치환되고: 옥소, 할로, 하이드록시, 시아노, 알킬, 알케닐, 알데하이드, 헤테로시클릴알킬, 하이드록시알킬, 디하이드록시알킬, 하이드록시알킬아미노알킬, 아미노알킬, 알킬아미노알킬, 디알킬아미노알킬, (헤테로시클릴)(알킬)아미노알킬, 헤테로시클릴, 헤테로아릴, 알킬헤테로아릴, 알킬닐, 알콕시, 아미노, 디알킬아미노, 아미노알킬카르보닐아미노, 아미노카르보닐알킬아미노, (아미노카르보닐알킬)(알킬)아미노, 알케닐카르보닐아미노, 하이드록시카르보닐, 알킬옥시카르보닐, 아미노카르보닐, 아미노알킬아미노카르보닐, 알킬아미노알킬아미노카르보닐, 디알킬아미노알킬아미노카르보닐, 헤테로시클릴알킬아미노카르보닐, (알킬아미노알킬)(알킬)아미노카르보닐, 알킬아미노알킬카르보닐, 디알킬아미노알킬카르보닐, 헤테로시클릴카르보닐, 알케닐카르보닐, 알킬닐카르보닐, 알킬설폭시드, 알킬설폭시드알킬, 알킬 설포닐, 및 알킬 설포알킬;

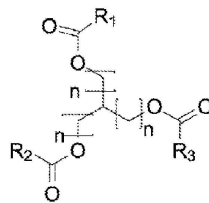
[0592] R<sub>2</sub>는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



[0593]

[0594] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 식 (xxi)의 하나 이상의 화합물을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 식 (xxi)의 화합물은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO 2021/113777에 의해 기술된 화합물(예를 들어, WO 2021/113777의 표 1의 지질과 같은 식 (1)의 지질)을 포함한다.

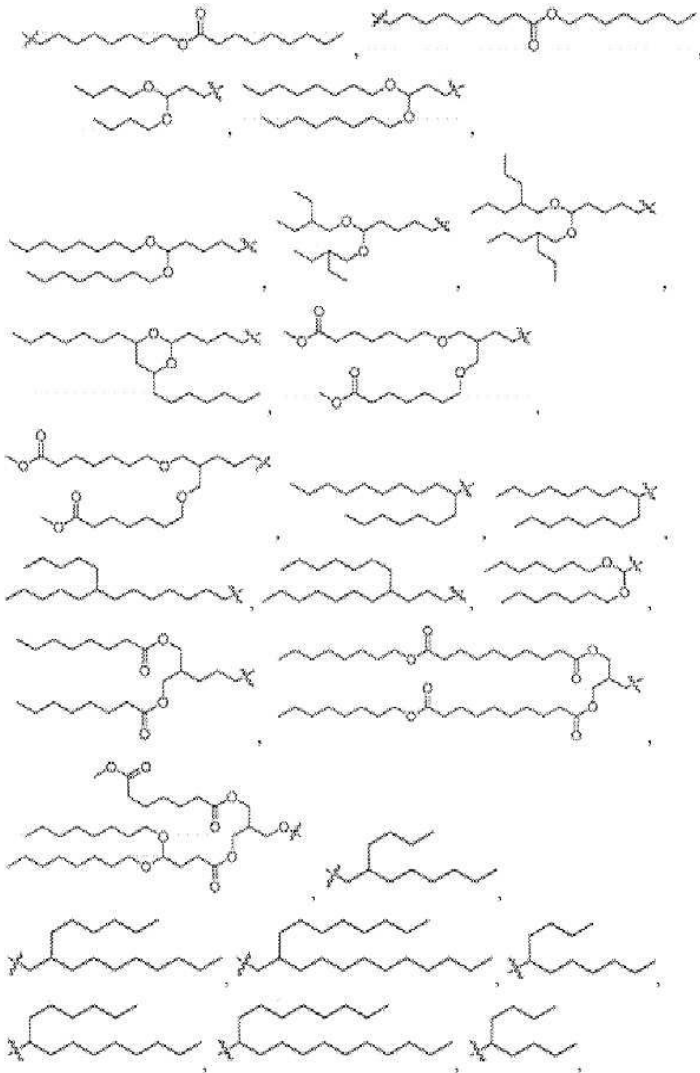
[0595] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 (예를 들어, 본원에 기술된 지질 화합물 및 다른 지질 성분과 조합하여) 다음



의 식 (xxii)를 갖는 지질을 추가로 포함하며: (xxii), 식 중:

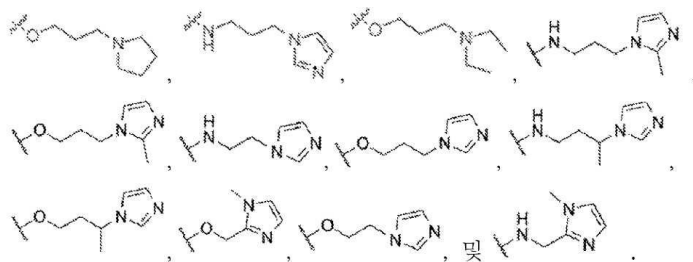
[0596] 각각의 n은 독립적으로 1 내지 15의 정수이고;

[0597] R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 다음으로 이루어진 군으로부터 각각 독립적으로 선택된다고:



[0598]

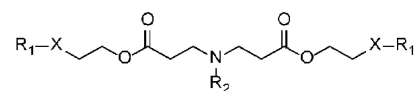
[0599] R<sub>3</sub>는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



[0600]

[0601] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 식 (xxii)의 하나 이상의 화합물을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 식 (xxii)의 화합물은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO 2021/113777에 의해 기술된 화합물(예를 들어, WO 2021/113777의 표 2의 지질과 같은 식 (2)의 지질)을 포함한다.

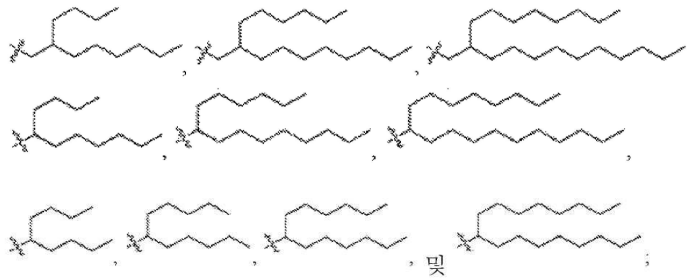
[0602] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 (예를 들어, 본원에 기술된 지질 화합물 및 다른 지질 성분과 조합하여) 다음



의 식 (xxiii)을 갖는 지질을 추가로 포함한다: , 식 중:

[0603] X는 -O-, -S-, 또는 -OC(O)-\*로부터 선택되며, 여기서 \*는 R<sub>1</sub>에 대한 부착 지점을 나타내고;

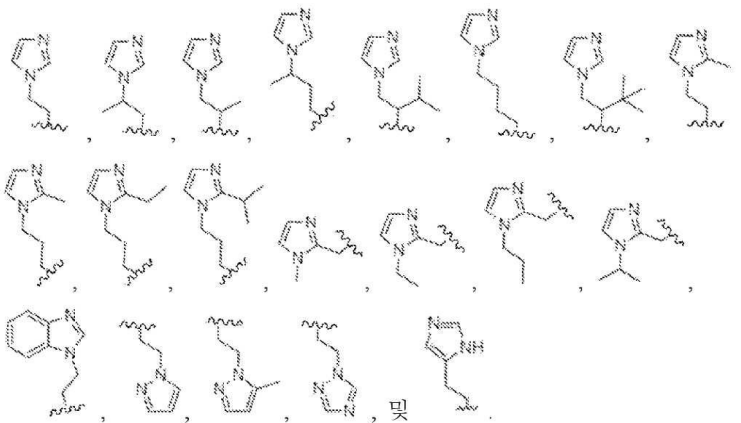
[0604] R<sub>1</sub>은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되고:



[0605]

[0606]

[0607] R<sub>2</sub>는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다:



[0608]

[0609] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 식 (xxiii)의 하나 이상의 화합물을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 식 (xxiii)의 화합물은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 WO 2021/113777에 의해 기술된 화합물(예를 들어, WO 2021/113777의 표 3의 지질과 같은 식 (3)의 지질)을 포함한다.

[0610] 지질 조성물에 사용될 수 있는 추가 지질의 예는 제한 없이, 다음 식 중 하나 이상을 포함하며: US 2016/0311759의 X; US 20150376115 또는 US 2016/0376224의 I; US 2016/0151284의 I, II, 또는 III; US 2017/0210967의 I, IA, II, 또는 IIA; US 2015/0140070의 I-c; US 2013/0178541의 A; US 2013/0303587 또는 US 2013/0123338의 I; US 2015/0141678의 I; US 2015/0239926의 II, III, IV, 또는 V; US 2017/0119904의 I; WO 2017/117528의 I 또는 II; US 2012/0149894의 A; US 2015/0057373의 A; WO 2013/116126의 A; US 2013/0090372의 A; US 2013/0274523의 A; US 2013/0274504의 A; US 2013/0053572의 A; WO 2013/016058의 A; WO 2012/162210의 A; US 2008/042973의 I; US 2012/01287670의 I, II, III, 또는 IV; US 2014/0200257의 I 또는 II; US 2015/0203446의 I, II, 또는 III; US 2015/0005363의 I 또는 III; US 2014/0308304의 I, IA, IB, IC, ID, II, IIA, IIB, IIC, IID, 또는 III-XXIV; US 2013/0338210의 ; WO 2009/132131의 I, II, III, 또는 IV; US 2012/01011478의 A; US 2012/0027796의 I 또는 XXXV; US 2012/0058144의 XIV 또는 XVII; US 2013/0323269의 ; US 2011/0117125의 I; US 2011/0256175의 I, II, 또는 III; US 2012/0202871의 I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII; US 2011/0076335의 I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, X, XII, XIII, XIV, XV, 또는 XVI; US 2006/008378의 I 또는 II; US 2013/0123338의 I; US 2015/0064242의 I 또는 X-A-Y-Z; US 2013/0022649의 XVI, XVII, 또는 XVIII; US 2013/0116307의 I, II, 또는 III; US 2013/0116307의 I, II, 또는 III; US 2010/0062967의 I 또는 II; US 2013/0189351의 I-X; US 2014/0039032의 I; US 2018/0028664의 V; US 2016/0317458의 I; US 2013/0195920의 I; US 10,221,127의 5, 6, 또는 10; WO 2018/081480의 III-3; WO 2020/081938의 I-5 또는 I-8; US 9,867,888의 18 또는 25; US 2019/0136231의 A; WO 2020/219876의 II; US 2012/0027803의 1; US 2019/0240349의 OF-02; US 10,086,013의 23; Miao 등(2020)의 cKK-E12/A6; WO 2010/053572의 C12-200; Dahlman 등(2017)의 7C1; Whitehead 등의 304-013 또는 503-013; US 9,708,628의 TS-P4C2; WO 2020/106946의 I; WO 2020/106946의 I; WO 2021/113777의 (1), (2), (3), 또는 (4); 및 WO 2021/113777의 표 1 내지 표 16 중 어느 하나, 이들 모두는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0611] 일부 구현예에서, 지질 접합체(예를 들어, PEG-지질)은 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 0.1 몰% 내지 2 몰%, 0.5 몰% 내지 2 몰%, 1 몰% 내지 2 몰%, 0.6 몰% 내지 1.9 몰%, 0.7 몰% 내지 1.8 몰%, 0.8 몰% 내지 1.7 몰%,

0.9 몰% 내지 1.6 몰%, 0.9 몰% 내지 1.8 몰%, 1 몰% 내지 1.8 몰%, 1 몰% 내지 1.7 몰%, 1.2 몰% 내지 1.8 몰%, 1.2 몰% 내지 1.7 몰%, 1.3 몰% 내지 1.6 몰%, 또는 1.4 몰% 내지 1.5 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재한다. 일부 구현예에서, 지질 접합체(예를 들어, PEG-지질)는 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 0 몰% 내지 20 몰%, 0.5 몰% 내지 20 몰%, 2 몰% 내지 20 몰%, 1.5 몰% 내지 18 몰%, 2 몰% 내지 15 몰%, 4 몰% 내지 15 몰%, 2 몰% 내지 12 몰%, 5 몰% 내지 12 몰%, 또는 2 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재한다.

[0612] 일부 구현예에서, 지질 접합체(예를 들어, PEG-지질)는 지질 조성물에 존재하는 총 지질의 4 몰% 내지 10 몰%, 5 몰% 내지 10 몰%, 5 몰% 내지 9 몰%, 5 몰% 내지 8 몰%, 6 몰% 내지 9 몰%, 6 몰% 내지 8 몰%, 또는 5 몰%, 6 몰%, 7 몰%, 8 몰%, 9 몰%, 또는 10 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재한다.

[0613] 본 개시의 지질 조성물에 존재하는 지질 접합체(예를 들어, PEG-지질)의 백분율은 목표량이며, 조성물에 존재하는 지질 접합체의 실제 양은, 예를 들어, ±2 몰%만큼 달라질 수 있다. 당업자는 지질 접합체의 농도가 사용된 지질 접합체 및 지질 입자가 융합생성 되는 속도에 따라 달라질 수 있음을 이해할 것이다.

[0614] 조성물 및 지질 접합체의 농도를 제어함으로써, 지질 접합체가 지질 조성물로부터 교환되는 속도 및 궁극적으로 지질 조성물이 융합생성 되는 속도를 제어할 수 있다. 또한, 예를 들어, pH, 온도, 또는 이온 강도를 포함하는 다른 변수는 지질 조성물이 융합생성 되는 속도를 변화시키고/시키거나 제어하는 데 사용될 수 있다. 지질 조성물이 융합생성 되는 속도를 제어하는 데 사용될 수 있는 다른 방법은 본 개시를 읽을 때 당업자에게 명백해질 것이다. 또한, 조성물 및 지질 접합체의 농도를 조절함으로써, 지질 입자 크기를 제어할 수 있다.

[0615] 일부 구현예에서, 이온화 가능 화합물을 포함하는 지질 조성물은 30 내지 70%의 이온화 가능 지질 화합물, 0 내지 60%의 콜레스테롤, 0 내지 30%의 인지질, 및 1 내지 10%의 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 30 내지 40%의 이온화 가능 지질 화합물, 40 내지 50%의 콜레스테롤, 및 10 내지 20%의 PEG를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 50 내지 75%의 이온화 가능 지질 화합물, 20 내지 40%의 콜레스테롤, 및 5 내지 10%의 인지질, 및 1 내지 10%의 PEG를 포함한다. 지질 조성물은 60 내지 70%의 이온화 가능 지질 화합물, 25 내지 35%의 콜레스테롤, 및 5 내지 10%의 PEG-지질을 함유할 수 있다.

[0616] 일부 구현예에서, 지질 조성물의 지질 성분은 약 30 mol% 내지 약 60 mol%(예를 들어, 약 35 내지 55 mol%, 또는 약 40 내지 50 mol%)의 분원에 기술된 이온화 가능 지질 화합물, 약 0 mol% 내지 약 30 mol%(예를 들어, 5 내지 25 mol%, 또는 10 내지 20 mol%)의 인지질, 약 15 mol% 내지 약 50 mol%(예를 들어, 18.5 내지 48.5 mol%, 또는 30 내지 40 mol%)의 스테롤, 및 약 0 mol% 내지 약 10 mol%(예를 들어, 1 내지 5 mol%, 또는 1.5 내지 2.5 mol%)의 PEG화 지질을 포함하되, 단, 지질 성분의 총 mol%는 100%를 초과하지 않는다.

[0617] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 최대 90%의 이온화 가능 지질 화합물 및 2 내지 15%의 헬퍼 지질을 함유할 수 있다.

[0618] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 예를 들어, 8 내지 30%의 이온화 가능 지질 화합물, 5 내지 30%의 헬퍼 지질, 및 0 내지 20%의 콜레스테롤을 함유하는 지질 입자 조성물일 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 4 내지 25%의 이온화 가능 지질, 4 내지 25%의 헬퍼 지질, 2 내지 25%의 콜레스테롤, 10 내지 35%의 콜레스테롤-PEG, 및 5%의 콜레스테롤-아민을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 2 내지 30%의 이온화 가능 지질, 2 내지 30%의 헬퍼 지질, 1 내지 15%의 콜레스테롤, 2 내지 35%의 콜레스테롤-PEG, 및 1 내지 20%의 콜레스테롤-아민을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 최대 90%의 이온화 가능 지질 및 2 내지 10%의 헬퍼 지질을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 100%의 이온화 가능 지질을 함유한다.

[0619] LNP 조성물을 위한 다른 성분

[0620] 지질 나노입자 조성물은 전술한 것 이외에 하나 이상의 성분을 포함할 수 있다. 예를 들어, LNP 조성물은 비타민(예를 들어, 비타민 A 또는 비타민 E) 또는 스테롤과 같은 하나 이상의 소형 소수성 분자를 포함할 수 있다.

[0621] 지질 나노입자 조성물은 또한 하나 이상의 투과성 증강제 분자, 탄수화물, 중합체, 표면 변경제, 또는 다른 성분을 포함할 수 있다.

[0622] 적합한 탄수화물은 단순 당(예를 들어, 글루코스) 및 다당류(예를 들어, 글리코젠 및 이의 유도체 및 유사체)를 포함할 수 있다.

[0623] 중합체는 나노입자 조성물을 캡슐화하거나 이를 부분적으로 캡슐화하는 데 사용될 수 있다. 중합체는 생분해성

이고/이거나 생체적합성일 수 있다. 적합한 중합체는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 폴리아민, 폴리에테르, 폴리아미드, 폴리에스테르, 폴리카바메이트, 폴리우레아, 폴리카보네이트, 폴리스티렌, 폴리이미드, 폴리설폰, 폴리우레탄, 폴리아세틸렌, 폴리에틸렌, 폴리에틸렌이민, 폴리이소시아네이트, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리아크릴로니트릴, 및 폴리아릴레이트. 예를 들어, 중합체는 다음을 포함할 수 있다: 폴리(카프로락톤)(PCL), 에틸렌 비닐 아세테이트 중합체(EVA), 폴리(락트산)(PLA), 폴리(L-락트산)(PLLA), 폴리(글리콜산)(PGA), 폴리(락트산-co-글리콜산)(PLGA), 폴리(L-락트산-co-글리콜산)(PLLGA), 폴리(D,L-락타이드)(PDLA), 폴리(L-락타이드)(PLLA), 폴리(D,L-락타이드-co-카프로락톤), 폴리(D,L-락타이드-co-카프로락톤-co-글리콜리드), 폴리(D,L-락타이드-co-PEO-co-D,L-락타이드), 폴리(D,L-락타이드-co-PP0-co-D,L-락타이드), 폴리알킬 시아노아크릴레이트, 폴리우레탄, 폴리-L-라이신(PLL), 하이드록시프로필 메타크릴레이트(HPMA), 폴리에틸렌글리콜, 폴리-L-글루탐산, 폴리(하이드록시산), 폴리무수물, 폴리오르토에스테르, 폴리(에스테르 아미드), 폴리아미드, 폴리(에스테르 에테르), 폴리카보네이트, 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌과 같은 폴리알킬렌, 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)과 같은 폴리알킬렌 글리콜, 폴리알킬렌 옥사이드(PEO), 폴리(에틸렌 테레프탈레이트)와 같은 폴리알킬렌 테레프탈레이트, 폴리비닐 알코올(PVA), 폴리비닐 에테르, 폴리(비닐 아세테이트)와 같은 폴리비닐 에스테르, 폴리(염화비닐)(PVC)과 같은 폴리비닐 할라이드, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 폴리실록산, 폴리스티렌(PS), 폴리우레탄, 유도체화된 셀룰로오스, 예컨대 알킬 셀룰로오스, 하이드록시알킬 셀룰로오스, 셀룰로오스 에테르, 셀룰로오스 에스테르, 니트로 셀룰로오스, 하이드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 아크릴산의 중합체, 예컨대 폴리(메틸(메트)아크릴레이트)(PMMA), 폴리(에틸(메트)아크릴레이트), 폴리(부틸(메트)아크릴레이트), 폴리(이소부틸(메트)아크릴레이트), 폴리(헥실(메트)아크릴레이트), 폴리(이소데실(메트)아크릴레이트), 폴리(라우릴(메트)아크릴레이트), 폴리(페닐(메트)아크릴레이트), 폴리(메틸 아크릴레이트), 폴리(이소프로필 아크릴레이트), 폴리(이소부틸 아크릴레이트), 폴리(옥타데실 아크릴레이트) 및 공중합체 및 이의 혼합물, 폴리디옥사논 및 이의 공중합체, 폴리하이드록시알카노에이트, 폴리프로필렌 푸마르산염, 폴리옥시메틸렌, 폴록사머, 폴리옥사민, 폴리(오르토)에스테르, 폴리(부티르산), 폴리(발레르산), 폴리(락타이드-co-카프로락톤), 트리메틸렌 카보네이트, 폴리(N-아크릴로일모르폴린)(PACM), 폴리(2-메틸-2-옥사졸린)(PMOX), 폴리(2-에틸-2-옥사졸린)(PEOZ), 및 폴리글리세롤.

[0624] 적합한 표면 변경체는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 음이온성 단백질(예를 들어, 소 혈청 알부민), 계면활성제(예를 들어, 디메틸디옥타데실-브롬화암모늄과 같은 양이온성 계면활성제), 당 또는 당 유도체(예를 들어, 시클로덱스트린), 핵산, 중합체(예를 들어, 헤파린, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴록사머), 점액 용해제(예를 들어, 아세틸시스테인, 쑥, 브로멜라인, 파파인, 클레로덴드럼(clerodendrum), 브롬핵신, 카보시스테인, 에프라지논, 메스나, 암브록솔, 소브레롤, 도미오돌, 레토스테인, 스텝로닌, 티오프로닌, 젤술린, 티모신 β4, 도나제알파, 넬테택신, 및 에르도스테인), 및 DNase(예를 들어, rhDNase). 표면 변경체는 지질 나노입자 내에 및/또는 지질 나노입자의 표면 상에 (예를 들어, 코팅, 흡착, 공유 결합, 또는 다른 공정에 의해) 배치될 수 있다.

[0625] 지질 나노입자 조성물은 또한 하나 이상의 관능화된 지질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 지질은 적절한 반응 조건 하에서 아지드에 노출될 때 고리 첨가 반응을 겪을 수 있는 알킨기로 관능화될 수 있다. 특히, 지질 이중층은 이러한 방식으로, 막 투과, 세포 인식, 또는 영상화를 용이하게 하는 데 유용한 하나 이상의 작용기로 관능화될 수 있다. 지질 나노입자의 표면은 또한 하나 이상의 유용한 항체와 접합될 수 있다. 표적화된 세포 전달, 영상화, 및 막 투과에 유용한 작용기 및 접합체는 당업계에 잘 알려져 있다.

[0626] 지질 나노입자 조성물은 약학적 조성물에 유용한 임의의 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제 또는 다음과 같은, 하지만 이에 한정되지 않는 부속 성분을 포함할 수 있다: 하나 이상의 용매, 분산 매질, 희석제, 분산 보조제, 현탁 보조제, 과립화 보조제, 붕해제, 충전제, 활택제, 액체 비히클, 결합제, 표면 활성제, 등장제, 증점제 또는 유화제, 완충액, 윤활제, 오일, 보존제, 및 다른 종류. 또한 왁스, 버터, 착색제, 코팅제, 향미제, 및 향료와 같은 부형제가 포함될 수 있다.

[0627] 적합한 희석제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 탄산칼슘, 탄산나트륨, 인산칼슘, 인산이칼슘, 황산칼슘, 인산수소칼슘, 인산나트륨 락토오스, 수크로오스, 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 카올린, 만니톨, 소르비톨, 이노시톨, 염화나트륨, 건조 전분, 옥수수 전분, 분말 당, 및/또는 이들의 조합. 과립화제 및 분산제는 다음으로 이루어진 비제한적인 목록으로부터 선택될 수 있다: 감자 전분, 옥수수 전분, 타피오카 전분, 전분 글리콜산나트륨, 점토, 알긴산, 구아 검, 시트러스 펄프, 한천, 벤토나이트, 셀룰로오스 및 목재 산물, 천연 스폰지, 양이온-교환 수지, 탄산칼슘, 실리카이트, 탄산나트륨, 가교 결합된 폴리(비닐-피롤리돈)(크로스포비돈), 나트륨 카르복시메틸 전분(나트륨 전분 글리콜레이트), 카르복시메틸 셀룰로오스, 가교 결합된 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨(크로스카멜로스), 메틸셀룰로오스, 미리 젤라틴화된 전분(전분 1500), 미정질 전분, 수불용성

전분, 칼슘 카르복시메틸 셀룰로오스, 마그네슘 알루미늄 실리케이트(VEEGUM®), 라우릴 황산 나트륨, 4차 암모늄 화합물, 및/또는 이들의 조합.

[0628] 적합한 표면 활성제 및/또는 유화제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 천연 유화제(예를 들어, 아카시아, 한천, 알긴산, 알긴산나트륨, 트라가칸스, 연골, 콜레스테롤, 잔탄, 펙틴, 젤라틴, 달걀 노른자, 카세인, 양모지방, 콜레스테롤, 왁스, 및 레시틴), 콜로이드 점토(예를 들어, 벤토나이트 [알루미늄 실리케이트] 및 VEEGUM® [마그네슘 알루미늄 실리케이트]), 장쇄 아미노산 유도체, 고분자량 알코올(예를 들어, 스테아릴 알코올, 세틸 알코올, 올레일 알코올, 트리아세틴 모노스테아레이트, 에틸렌 글리콜 디스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 및 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리비닐 알코올), 카보머(예를 들어, 카르복시 폴리메틸렌, 폴리아크릴산, 아크릴산 폴리머, 및 카르복시비닐 중합체), 카라기난, 셀룰로오스 유도체(예를 들어, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨, 분말 셀룰로오스, 하이드록시메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스), 소르비탄 지방산 에스테르(예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트 [TWEEN®20], 폴리옥시에틸렌 소르비탄 [TWEEN® 60], 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트 [TWEEN®80], 소르비탄 모노팔미테이트 [SPAN®40], 소르비탄 모노스테아레이트 [SPAN®60], 소르비탄 삼스테아레이트 [SPAN®65], 글리세릴 모노올레이트, 소르비탄 모노올레이트 [SPAN®80]), 폴리옥시에틸렌 에스테르(예를 들어, 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트 [MYRJ® 45], 폴리옥시에틸렌 경화 피마자유, 폴리옥시실화 피마자유, 폴리옥시메틸렌 스테아레이트, 및 SOLUTOL®), 수크로오스 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 지방산 에스테르(예를 들어, CREMOPHOR®), 폴리옥시에틸렌 에테르(예를 들어, 폴리옥시에틸렌 라우릴 에테르 [BRIJ® 30]), 폴리(비닐-피롤리돈), 디에틸렌 글리콜 모노라우레이트, 트리에탄올아민올리에이트, 올레에이트 나트륨, 올레산 칼륨, 올레산 에틸, 올레산, 에틸 라우레이트, 나트륨 라우릴 설페이트, PLURONIC®F 68, POLOXAMER® 188, 세트리모늄브로마이드, 세틸피리디늄클로라이드, 염화벤잘코늄, 도큐세이트나트륨, 및/또는 이들의 조합.

[0629] 적합한 결합제는 다음일 수 있다: 전분(예를 들어, 옥수수 전분 및 전분 페이스트); 젤라틴; 당류(예를 들어, 수크로오스, 포도당, 텍스트로오스, 텍스트린, 당밀, 락토오스, 락티톨, 만니톨); 천연 및 합성 검(예를 들어, 아카시아, 알긴산 나트륨, 아이리쉬 모스 추출물, 판와르 검, 가티 검, 이사폴 껍질의 점액, 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 하이드록시에틸셀룰로오스, 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트, 폴리(비닐-피롤리돈), 마그네슘 알루미늄 실리케이트(VEEGUM®), 및 낙엽 아라보갈락탄); 알긴산염; 폴리에틸렌 옥사이드; 폴리에틸렌 글리콜; 무기 칼슘 염; 규산; 폴리메타크릴레이트; 왁스; 물; 알코올; 및 이들의 조합, 또는 임의의 다른 적합한 결합제.

[0630] 적합한 보존제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 항산화제, 킬레이트제, 항균 보존제, 항진균 보존제, 알코올 보존제, 산성 보존제, 및/또는 다른 보존제. 항산화제의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 알파 토크페롤, 아스코르브산, 아코르빌 팔미테이트, 부틸화 하이드록시아니솔, 부틸화 하이드록시톨루엔, 모노티오글리세롤, 메타중아황산칼륨, 프로피온산, 프로필 갈레이트, 아스코르브산나트륨, 중아황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 및/또는 아황산나트륨. 킬레이트제의 예는 다음을 포함한다: 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 구연산 일수화물, 에데트산이나트륨, 에데트산이칼륨, 에데트산, 푸마르산, 말산, 인산, 에데트산나트륨, 타르타르산, 및/또는 에데트산삼나트륨. 항균 보존제의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 염화벤잘코늄, 염화벤제토늄, 벤질 알코올, 브로노폴, 세트리미드, 염화세틸피리디늄, 클로르헥시딘, 클로로부탄올, 클로로크레졸, 클로록시레놀, 크레졸, 에틸 알코올, 글리세린, 헥세티딘, 이미두레아, 페놀, 페녹시에탄올, 페닐에틸 알코올, 페닐수은 질산염, 프로필렌 글리콜, 및/또는 티메로살. 항진균 보존제의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 부틸 파라벤, 메틸 파라벤, 에틸 파라벤, 프로필 파라벤, 벤조산, 하이드록시벤조산, 벤조산칼륨, 소르브산칼륨, 벤조산나트륨, 프로피오네이트나트륨, 및/또는 소르브산. 알코올 보존제의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 벤질 알코올, 페놀, 페놀 화합물, 비스페놀, 클로로부탄올, 하이드록시벤조에이트, 및/또는 페닐에틸 알코올. 산성 보존제의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E, 베타-카로틴, 구연산, 아세트산, 디하이드로아스코르브산, 아스코르브산, 소르브산, 및/또는 피트산. 기타 보존제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 토크페롤, 토크페롤 아세테이트, 데테록심 메실레이트, 세트리미드, 부틸화 하이드록시아니솔(BHA), 부틸화 하이드록시톨루엔(BHT), 에틸렌디아민, 라우릴 황산 나트륨(SLS), 라우릴 에테르 황산 나트륨(SLES), 중아황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 황산칼륨, 메타중아황산칼륨, GLYDANT PLUS®, PHENONIP®, 메틸파라벤, GERMALL® 115, GERMABEN® II, 네올론™, KATHON™, 및/또는 EUXYL®.

[0631] 적합한 윤활제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 스테아린산마그네슘, 스테아린산칼슘, 스테아린산,

실리카, 탈크, 맥아, 글리세릴 베헤네이트, 수소화 식물성 오일, 폴리에틸렌 글리콜, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 류신, 라우릴 황산마그네슘, 라우릴 황산나트륨, 및 이들의 조합.

[0632] 적합한 오일은 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 아몬드, 살구씨, 아보카도, 바바수, 베르가못, 블랙 커런트 씨앗, 보리지, 케이드, 카모마일, 카놀라, 캐러웨이, 카르나우바, 피마자, 계피, 코코아 버터, 코코넛, 대구 간, 커피, 옥수수, 목화씨, 예뮬, 유칼립투스, 달맞이꽃, 생선, 아마씨, 게라니올, 조롱박, 포도씨, 헤이즐넛, 우슬초, 이소프로필 미리스테이트, 호호바, 쿠쿠이넛, 라반딘, 라벤더, 레몬, 메이창(litsea cubeba), 마카다미아넛, 아욱, 망고씨앗, 메도우폼 씨앗, 민크, 옥두구, 올리브, 오렌지, 오렌지 러피, 종려나무, 종려나무 알맹이, 복숭아 알맹이, 땅콩, 양귀비씨앗, 호박씨앗, 유채, 쌀겨, 로즈마리, 홍화, 샌달우드, 사스퀴나(sasquana), 세이보리(savoury), 산자나무, 참깨, 시어버터, 실리콘, 대두, 해바라기, 티트리, 영경귀, 츠바키, 베티버, 호두, 및 밀 배아 오일뿐만 아니라, 부틸 스테아레이트, 카프릴산 트리글리세리드, 카프릭 트리글리세리드, 사이클로메티콘, 디에틸세바케이트, 디메티콘 360, 시메티콘, 이소프로필 미리스테이트, 미네랄 오일, 옥틸도데카놀, 올레일 알코올, 실리콘 오일, 및/또는 이의 조합.

[0633] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나 이상의 동결보호제를 추가로 포함한다. 적합한 동결보호제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 폴리올(예를 들어, 프로필렌 글리콜과 같은 디올 또는 트리올(즉, 1,2-프로판디올), 1,3-프로판디올, 글리세롤, (+/-)-2-메틸-2,4-펜탄디올, 1,6-헥산디올, 1,2-부탄디올, 2,3-부탄디올, 에틸렌 글리콜, 또는 디에틸렌 글리콜), 비제제 설포베타인(예를 들어, NDSB-201(3-(1-피리디노)-1-프로판술포산염), 삼투물질(예를 들어, L-프롤린 또는 트리메틸아민 N-옥사이드 이수화물), 중합체(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 200(PEG 200), PEG 400, PEG 600, PEG 1000, PEG<sub>2k</sub>-DMG, PEG 3350, PEG 4000, PEG 8000, PEG 10000, PEG 20000, 폴리에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르 550(mPEG 550), mPEG 600, mPEG 2000, mPEG 3350, mPEG 4000, mPEG 5000, 폴리비닐피롤리돈(예를 들어, 폴리비닐피롤리돈 K 15), 펜타에리트리톨 프로폭시레이트, 또는 폴리 프로필렌 글리콜 P 400), 유기 용매(예를 들어, 디메틸설포사이드(DMSO) 또는 에탄올), 당류(예를 들어, D-(+)-수크로오스, D-소르비톨, 트레할로스, D-(+)-말토스일수화물, 메조-에리스리톨, 자일리톨, 미오이노시톨, D-(+)-라피노스 이수화물, D-(+)-트레할로스 이수화물, 또는 D-(+)-포도당 일수화물), 또는 염(예를 들어, 아세트산리튬, 염화리튬, 포름산리튬, 질산리튬, 황산리튬, 아세트산마그네슘, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 포름산나트륨, 말로네이트나트륨, 질산나트륨, 황산나트륨, 또는 이의 임의의 수화물), 또는 이의 임의의 조합.

[0634] 일부 구현예에서, 동결보호제는 수크로오스를 포함한다. 일부 구현예에서, 동결보호제 및/또는 부형제는 수크로오스이다. 일부 구현예에서, 동결보호제는 아세트산나트륨을 포함한다. 일부 구현예에서, 동결보호제 및/또는 부형제는 아세트산나트륨이다. 일부 구현예에서, 동결보호제는 수크로오스 및 아세트산나트륨을 포함한다.

[0635] 일부 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 완충액을 추가로 포함한다. 적합한 완충제는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 구연산염 완충액, 아세테이트 완충액, 인산염 완충액, 염화암모늄, 탄산칼슘, 염화칼슘, 구연산 칼슘, 칼슘 글루비오네이트, 칼슘 글루셉테이트, 글루콘산칼슘, d-글루콘산, 칼슘 글리세로포스페이트, 젯산 칼슘, 칼슘 락토비오네이트, 프로판산, 칼슘 레볼리네이트, 펜탄산, 이염기성 인산칼슘, 인산, 삼염기성 인산칼슘, 수산화칼슘 인산염, 아세트산칼륨, 염화칼륨, 글루콘산칼륨, 칼륨 혼합물, 이염기성 인산칼륨, 일염기성 인산칼륨, 인산칼륨 혼합물, 아세트산나트륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 구연산나트륨, 젯산 나트륨, 이염기성 인산나트륨, 일염기성 인산나트륨, 인산나트륨 혼합물, 트로메타민, 아미노-설포네이트 완충액(예를 들어, HEPES), 수산화마그네슘, 수산화알루미늄, 알긴산, 발열원이 없는 물, 등장성 식염수, 링거 용액, 에틸 알코올, 및/또는 이의 조합.

[0636] 일부 구현예에서, 완충액은 아세테이트 완충액, 구연산염 완충액, 인산염 완충액, 트리스 완충액, 또는 이들의 조합이다.

[0637] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나 이상의 핵산, 이온화 가능 지질, 양친매성 물질, 인지질, 콜레스테롤, 및/또는 PEG-결합 콜레스테롤을 추가로 포함한다.

[0638] **약학적 조성물**

[0639] 본 개시의 또 다른 양태는 또한 본원에 기술된 바와 같은 지질 조성물을 포함하는 약학적 조성물을 제공하며, 이는 본원에 기술된 이온화 가능 지질 화합물(예를 들어, 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IIIC-1), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 구조를 갖는 화합물)로부터 선택된 하나 이상의 지질 화합물 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 약학적 조성물은 치료제를 추가로 포함할 수 있다.

- [0640] 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IIIC-1), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)에 의해 다뤄진 화합물을 포함하여 지질 화합물의 양태와 관련하여 전술한 모든 설명 및 전술한 모든 양태에서 논의된 모든 구현예, 및 예시적인 변수 및 화합물은 약학적 조성물과 관련하여 본 발명의 이들 양태에 모두 적용 가능하다.
- [0641] 다양한 다른 지질 성분을 포함하여, 지질 화합물의 양태와 관련하여 전술한 모든 설명 및 전술한 모든 양태에서 논의된 모든 구현예는 약학적 조성물에 관한 본 발명의 이들 양태에 적용 가능하다.
- [0642] 치료제를 함유하는 지질 조성물에서, 치료 물질(예를 들어, 핵산과 같은 캡슐화된 치료제)에 대한 총 지질 성분의 비율은 원하는 대로 변경될 수 있다. 예를 들어, 치료 물질(질량 또는 중량)에 대한 총 지질 성분의 비율은 약 10:1 내지 약 30:1일 수 있다. 일부 구현예에서, 총 지질 성분 대 치료 물질 비율(질량/질량 비율; w/w 비율)은 약 1:1 내지 약 25:1, 약 10:1 내지 약 14:1, 약 3:1 내지 약 15:1, 약 4:1 내지 약 10:1, 약 5:1 내지 약 9:1, 또는 약 6:1 내지 약 9:1의 범위일 수 있다. 총 지질 성분 및 치료 물질의 양은 원하는 N/P 비율, 예를 들어 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 또는 그 이상의 N/P 비율을 제공하도록 조정될 수 있다. 일반적으로, 지질 조성물의 전체 지질 함량은 약 5 mg/ml 내지 약 30 mg/mL의 범위일 수 있다.
- [0643] 치료제
- [0644] 핵산 분자
- [0645] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나 이상의 핵산 분자를 추가로 포함한다. 핵산 분자는 플라스미드, 면역자극 올리고뉴클레오티드, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 안타고미르, 앵타머, 데옥시리보자임(DNAzyme), 및 리보자임일 수 있다.
- [0646] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나 이상의 RNA 및/또는 DNA를 추가로 포함한다.
- [0647] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 DNA이다. 일부 구현예에서, DNA는 선형 DNA, 원형 DNA, 단일 가닥 DNA, 또는 이중 가닥 DNA이다.
- [0648] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 RNA이다. 일부 구현예에서, RNA는 mRNA, miRNA, siRNA, RNA 앵타머, 선형 RNA, 원형 RNA, 단일 가닥 RNA, 이중 가닥 RNA, tRNA, 마이크로RNA(miRNA) 또는 miRNA 전구체, 다이스 기질의 작은 간섭 RNA(dsiRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 비대칭 간섭 RNA(aiRNA), 가이드 RNA(gRNA), lncRNA, ncRNA, sncRNA, rRNA, snRNA, piRNA, snoRNA, snRNA, scaRNA, exRNA, scaRNA, Y RNA, 또는 hnRNA이다. 일부 구현예에서, RNA는 mRNA이다. 일 구현예에서, mRNA는 변형된 mRNA이다.
- [0649] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 효소 핵산 분자이다. 용어 "효소 핵산 분자"는 특정 유전자 표적에 대한 기질 결합 영역에서 상보성을 가지며, 표적 RNA를 특이적으로 절단하는 데 활성인 효소 활성을 갖는 핵산 분자를 지칭한다. 즉, 효소 핵산 분자는 분자간적으로 RNA를 절단하여 표적 RNA 분자를 불활성화시킬 수 있다. 용어 효소 핵산은 리보자임, 촉매 RNA, 효소 RNA, 촉매 DNA, 앵타자임 또는 앵타머-결합 리보자임, 조절 가능한 리보자임, 촉매 올리고뉴클레오티드, 뉴클레오자임, DNA자임, RNA 효소, 엔도리보뉴클레아제, 엔도뉴클레아제, 미니자임, 리드자임, 올리고자임 또는 DNA 효소와 같은 문구와 상호 교환적으로 사용된다. 이들 용어 모두는 효소 활성을 갖는 핵산 분자를 기술한다.
- [0650] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 안티센스 핵산이다. 용어 "안티센스 핵산"은 비효소적 핵산 분자를 지칭하는데, 이는 RNA-RNA 또는 RNA-DNA 또는 RNA-PNA(단백질 핵산) 상호작용의 수단에 의해 표적 RNA에 결합하고 표적 RNA의 활성을 변경한다.
- [0651] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 2-5A 안티센스 키메라일 수 있다. 용어 "2-5A 안티센스 키메라"는 5'-인산화된 2'-5'-결합된 아데닐레이트 잔기를 함유하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 지칭한다.
- [0652] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 트리플렉스 형성 올리고뉴클레오티드일 수 있다. 용어 "트리플렉스 형성 올리고뉴클레오티드"는 서열-특이적 방식으로 이중-가닥 DNA에 결합하여 삼중-가닥 나선을 형성할 수 있는 올리고뉴클레오티드를 지칭한다.
- [0653] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 유인(decoy) RNA일 수 있다. 용어 "유인 RNA"는 소정의 리간드에 우선적으로 결합하도록 설계된 RNA 분자 또는 앵타머를 지칭한다. 이러한 결합은 표적 분자의 억제 또는 활성화를 초래할 수 있다.

- [0654] 일부 구현예에서, 핵산 분자(예를 들어, RNA 또는 DNA)는 DNA에 대한 프로모터에 작동 가능하게 연결된 치료 펩티드 또는 폴리펩티드를 암호화한다. 치료 펩티드 또는 폴리펩티드는, 예를 들어, 전사 인자; 염색질 리모델링 인자; 항원; 호르몬; 효소(예컨대 뉴클레아제, 예를 들어, 엔도뉴클레아제, 예를 들어, CRISPR 시스템의 뉴클레아제 요소, 예를 들어, Cas9, dCas9, aCas9-니카제, Cpf/Cas12a); 크리스프-결합 효소, 예를 들어, 염기 편집기 또는 프라임 편집기; 이동성 유전 요소 단백질(예를 들어, 트랜스포자아제, 레트로트랜스포자아제, 재조합효소, 통합효소); 유전자 작성자; 중합효소; 메틸라아제; 탈메틸효소; 아세틸화효소; 탈아세틸화효소; 키나아제; 포스파타아제; 리가아제; 디유비퀴티나아제; 통합효소; 재조합효소; 토포이소머라아제; 자이라아제; 헬리카아제; 리소좀산 가수분해효소); 항체; 수용체 리간드; 수용체; 응고 인자; 막 단백질; 미토콘드리아 단백질; 핵 단백질; 항체 또는 센티린, 다핀, 또는 아드넥틴과 같은 다른 단백질 스캐폴드 결합체일 수 있다.
- [0655] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 gRNA 핵산을 포함하는 RNA이다. 일부 구현예에서, gRNA 핵산은 gRNA이다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 클래스 2 Cas 뉴클레아제 mRNA 및 gRNA를 포함하는 RNA이다. 일부 구현예에서, gRNA 핵산은 이중 가이드 RNA(dgRNA)이거나 이를 암호화한다. 일부 구현예에서, gRNA 핵산은 단일 가이드 RNA(sgRNA)이거나 이를 암호화한다. 일부 구현예에서, gRNA는 변형된 gRNA이다. 일부 구현예에서, 변형된 gRNA는 5' 말단에서 처음 5개의 뉴클레오티드 중 하나 이상에서의 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 gRNA는 3' 말단에서 마지막 5개의 뉴클레오티드 중 하나 이상에서의 변형을 포함한다.
- [0656] 일부 구현예에서, 핵산 분자는 mRNA를 포함하는 RNA이다. 일부 구현예에서, RNA 성분은 RNA 가이드된 DNA 결합체, 예를 들어 Cas 뉴클레아제 mRNA(예컨대 클래스 2 Cas 뉴클레아제 mRNA) 또는 Cas9 뉴클레아제 mRNA를 포함한다.
- [0657] 본원에 기술된 모든 핵산 분자는 화학적으로 변형될 수 있다. 핵산 분자에 대한 다양한 변형 전략은 당업자에게 잘 알려져 있다. 일부 구현예에서, 핵산 분자는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 변형을 포함한다: 슈도우리딘, 5-브로모우라실, 5-메틸시토신, 펩티드 핵산, 크세노 핵산, 모르폴리노, 잠금 핵산, 글리콜 핵산, 트레오제 핵산, 디데옥시뉴클레오티드, 코디세핀, 7-테아자-GTP, 형광단(예를 들어, 당에 연결된 로다민 또는 플루오레세인), 티올 함유 뉴클레오티드, 비오틴 결합 뉴클레오티드, 형광 염기 유사체, CpG 섬, 메틸-7-구아노신, 메틸화 뉴클레오티드, 이노신, 티오우리딘, 슈도우리딘, 디하이드로우리딘, 쿠오신, 와이오신. 일부 구현예에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 잠금 핵산 올리고뉴클레오티드(LNA)일 수 있다. 용어 "잠금 핵산(LNA)"은 하나 이상의 뉴클레오티드 빌딩 블록을 함유하는 올리고뉴클레오티드를 지칭하며, 이 내에서 여분의 메틸렌 브릿지가 C3' 엔도(베타-D-LNA) 또는 C2' 엔도(알파-L-LNA) 형태 중 어느 하나에 리보스 모이어티를 고정한다(Grunweller A, Hartmann R K의 문헌[BioDrugs, 21(4): 235-243 (2007)] 참조).
- [0658] 일부 구현예에서, 조성물은 하나 이상의 주형(template) 핵산을 추가로 포함한다.
- [0659] 핵산 분자(중양 억제 유전자, 안티센스 올리고뉴클레오티드, siRNA, miRNA, 또는 shRNA를 포함함)의 추가 예시는 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 미국 특허 출원 공개 제2007/0065499호 및 미국 특허 제7,780,882호에서 찾을 수 있다.
- [0660] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 동일하거나 상이한 유형일 수 있는 복수의 핵산 분자를 포함할 수 있다.
- [0661] 본 개시의 구현예와 함께 사용하기 위한 핵산은 임의의 이용 가능한 기술에 따라 제조될 수 있다. mRNA의 경우, 제조의 일차 방법론은 현재로서 긴 서열 특이적 mRNA를 생산하는 가장 효율적인 방법을 대표하는 효소 합성(시험관 내 전사로도 지칭됨)이지만 이에 한정되지 않는다. 시험관 내 전사는 관심 유전자를 암호화하는 하류 서열에 연결된 상류 박테리오파지 프로모터 서열(예를 들어, T7, T3, 및 SP6 콜리파지로부터의 서열을 포함하지만 이에 한정되지 않음)으로 이루어진 조작된 DNA 주형으로부터 RNA 분자를 주형-유도 합성하는 프로세스를 기술한다. 주형 DNA는 플라스미드 DNA 및 중합효소 연쇄반응 증폭을 포함하지만 이에 한정되지 않는 당업계에 잘 알려진 적절한 기술을 사용하여 다수의 공급원으로부터 시험관 내 전사를 위해 제조될 수 있다(문헌 [Linpinsel, J.L 및 Conn, G.L.의 "General protocols for preparation of plasmid DNA template" 및 Bowman, J.C., Azizi, B., Lenz, T.K., Ray, P., 및 Williams, L.D.의 "RNA in vitro transcription and RNA purification by denaturing PAGE" in Recombinant and in vitro RNA syntheses Methods v. 941 Conn G.L. (ed), New York, N.Y. Humana Press, 2012] 참조).
- [0662] RNA의 전사는 생성된 mRNA 전사물의 잠재적 분해를 최소화하면서 중합효소 활성을 지원하는 조건 하에서, 상응하는 RNA 중합효소 및 아데노신, 구아노신, 우리딘, 및 시티딘 리보뉴클레오티드 삼인산염(rNTP)의 존재 하에 선형화된 DNA 주형을 사용하여 시험관 내에서 발생한다. 시험관 내 전사는 RiboMax Large Scale RNA

Production System(Promega), MegaScript Transcription 키트(Life Technologies)를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트뿐만 아니라 RNA 중합효소 및 rNTP를 포함하는 상업적으로 이용 가능한 시약을 사용하여 수행될 수 있다. mRNA의 시험관 내 전사를 위한 방법론은 당업계에 잘 알려져 있다(예를 들어, Losick, R의 문헌(1972)[In vitro transcription, Ann Rev Biochem v.41 409-46]; Kamakaka, R. T. 및 Kraus, W. L의 문헌(2001)[In Vitro Transcription. Current Protocols in Cell Biology. 2: 11.6: 11.6.1-11.6.17]; Beckert, B. 및 Masquida, B의 문헌(2010)[Synthesis of RNA by In Vitro Transcription in RNA in Methods in Molecular Biology v. 703 (Neilson, H. Ed), New York, N.Y. Humana Press, 2010]; Brunelle, J.L. 및 Green, R의 문헌(2013)[Chapter Five - In vitro transcription from plasmid or PCR-amplified DNA, Methods in Enzymology v. 530, 101-114]을 참조하며; 동 문헌의 전체는 본원에 참조로서 통합됨).

[0663] 원하는 시험관 내 전사된 mRNA는 전사의 바람직하지 않은 성분 또는 관련 반응(혼입되지 않은 rNTP, 단백질 효소, 염, 짧은 RNA 올리고 등을 포함함)으로부터 정제될 수 있다. mRNA 전사물을 단리하기 위한 기술은 당업계에 잘 알려져 있다. 잘 알려진 절차는, 비제한적인 예로서, 1가 양이온 또는 염화리튬의 존재 하에 알코올(에탄올, 이소프로판올) 중 어느 하나를 이용한 페놀/클로로포름 추출 또는 침전을 포함한다.

[0664] 사용될 수 있는 추가적인 정제 절차의 비제한적인 예는 크기 배제 크로마토그래피(Lukavsky, P.J. 및 Puglisi, J.D의 문헌(2004)[Large-scale preparation and purification of polyacrylamide-free RNA oligonucleotides, RNA v.10, 889-893]), 실리카 기반 친화도 크로마토그래피 및 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(Bowman, J.C., Azizi, B., Lenz, T.K., Ray, P., 및 Williams, L.D의 문헌[in RNA in vitro transcription and RNA purification by denaturing PAGE in Recombinant and in vitro RNA syntheses Methods v. 941 Conn G.L. (ed), New York, N.Y. Humana Press, 2012])을 포함한다. 정제는 SV Total Isolation System(Promega) 및 In Vitro Transcription Cleanup and Concentration Kit(Norgen Biotek)를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트를 사용하여 수행될 수 있다.

[0665] 또한, 역전사는 다량의 mRNA를 수득할 수 있지만, 산물은 전장 mRNA 제제로부터 제거될 필요가 있을 수 있는 바람직하지 않은 중합효소 활성과 연관된 다수의 비정상적인 RNA 불순물을 함유할 수 있다. 여기에는 전사 개시 중단으로 생기는 짧은 RNA뿐만 아니라, RNA-의존성 RNA 중합효소 활성에 의해 생성된 이중-가닥 RNA(dsRNA), RNA 주형으로부터의 RNA 프라이밍된 전사, 및 자가-상보적 3' 연장이 포함된다. dsRNA 구조를 갖는 이들 오염물은 특정 핵산 구조를 인식하여 강력한 면역 반응을 유도하는 기능을 하는 진핵 세포 내 다양한 선천적 면역 센서와의 상호작용을 통해 바람직하지 않은 면역자극 활성을 초래할 수 있음이 입증되었다. 이는 궁극적으로 선천적인 세포 면역 반응 동안 단백질 합성이 감소되기 때문에 mRNA 번역을 극적으로 감소시킬 수 있다. 따라서 이들 dsRNA 오염물을 제거하기 위한 추가 기술이 개발되어 당업계에 공지되어 있으며, 이는 크기조절 가능한 HPLC 정제를 포함하지만 이에 한정되지 않는다(예를 들어, Kariko, K., Muramatsu, H., Ludwig, J. 및 Weissman, D의 문헌(2011)[Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA, Nucl Acid Res, v. 39 e142]; Weissman, D., Pardi, N., Muramatsu, H., 및 Kariko, K의 문헌[HPLC Purification of in vitro transcribed long RNA in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation in Methods in Molecular Biology v.969 (Rabinovich, P.H. Ed), 2013] 참조). HPLC로 정제된 mRNA는 특히 일차 세포 및 생체 내에서 훨씬 더 큰 수준으로 번역되는 것으로 보고되었다.

[0666] 상당히 다양한 변형이 당업계에 기술되어 있으며, 이는 시험관 내에서 전사된 mRNA의 특이적 특성을 변경시키는데 사용되며, 이의 유용성을 개선시킬 수 있다. 이들은 mRNA의 5' 및 3' 말단에 대한 변형을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 내인성 진핵 mRNA는 통상적으로 성숙한 분자의 5'-단부에 mRNA 캡 결합 단백질(CBP)의 결합을 매개하는 데 중요한 역할을 수행하는 캡 구조를 함유하며, 이는 궁극적으로 세포에서 mRNA 안정성 및 mRNA 번역의 효율을 향상시키는 역할을 한다. 따라서, 가장 높은 수준의 단백질 발현은 캡핑된 mRNA 전사물로 달성된다. 5'-캡은 5'-최상위 뉴클레오타이드와 구아닌 뉴클레오타이드 사이에 5'-5'-삼인산염 결합을 함유한다. 접합된 구아닌 뉴클레오타이드는 N7 위치에서 메틸화된다. 추가 변형은 2'-하이드록실기 상에서 5' 방향 가장 끝에 있는 뉴클레오타이드 및 끝에서 두 번째에 있는 뉴클레오타이드의 메틸화를 포함한다.

[0667] 다수의 구분되는 캡 구조가 시험관 내 전사된 합성 mRNA의 5'-캡을 생성하는 데 사용될 수 있다. 합성 mRNA의 5'-캡핑은 화학적 캡 유사체와 공동 전사적으로 수행될 수 있다(즉, 시험관 내 전사 동안 캡핑함). 예를 들어, 항-역방향 캡 유사체(ARC A) 캡은 5'-5'-삼인산염 구아닌-구아닌 결합을 함유하며, 여기서 하나의 구아닌은 N7 메틸기뿐만 아니라 3'-0-메틸기를 함유한다. 그러나, 전사물의 최대 20%가 이러한 공동 전사 프로세스 동안 캡핑되지 않은 상태로 유지되고 합성 캡 유사체는 인증된 세포 mRNA의 5'-캡 구조와 동일하지 않아 잠재적으로 변

역성 및 세포 안정성을 감소시킨다. 대안적으로, 합성 mRNA 분자는 전사 후 효소적으로 캡핑될 수도 있다. 이들은, 캡 결합 단백질의 결합을 향상시키고, 반감기를 증가시키고, 5' 엔도뉴클레아제에 대한 감수성을 감소시키고/시키거나 5' 탈캡핑화를 감소시킨 내인성 5'-캡을 구조적 또는 기능적으로 더욱 가깝게 모방하는, 보다 입증된 5'-캡 구조를 생성할 수 있다. 다수의 합성 5'-캡 유사체가 개발되고 당업계에 공지되어, mRNA 안정성 및 번역성을 향상시키고 있다(예를 들어, Grudzien-Nogalska, E., Kowalska, J., Su, W., Kuhn, A.N., Slepnev, S.V., Darynkiewicz, E., Sahin, U., Jemielity, J., 및 Rhoads, R.E의 문헌[Synthetic mRNAs with superior translation and stability properties in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation in Methods in Molecular Biology v.969 (Rabinovich, P.H. Ed), 2013] 참조).

[0668] 3'-말단에서, 아데닌 뉴클레오티드의 장쇄(폴리-A 꼬리)는 일반적으로 RNA 처리 동안 mRNA 분자에 첨가된다. 전사 직후 전사물의 3' 단부는 절단되어, 3' 하이드록실을 유리시키고, 여기에 폴리아데닐화라는 프로세스에서 폴리-A 중합효소가 아데닌 뉴클레오티드의 사슬을 RNA에 첨가한다. 폴리-A 꼬리는 mRNA의 번역 효율 및 안정성 둘 다를 향상시키는 것으로 광범위하게 나타났다(Bernstein, P. 및 Ross, J.의 문헌(1989)[Poly (A), poly (A) binding protein and the regulation of mRNA stability, Trends Bio Sci v. 14 373-377]; Guhaniyogi, J. 및 Brewer, G.의 문헌(2001)[Regulation of mRNA stability in mammalian cells, Gene, v. 265, 11-23]; Dreyfus, M. 및 Regnier, P.의 문헌(2002)[The poly (A) tail of mRNAs: Bodyguard in eukaryotes, scavenger in bacteria, Cell, v. 111, 611-613] 참조).

[0669] 시험관 내에서 전사된 mRNA의 폴리(A) 꼬리화는 DNA 주형 내로의 폴리(T) 관의 클로닝을 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 접근법을 사용하여 달성되거나 또는 폴리(A) 중합효소를 사용하여 전사 후 첨가에 의해 달성될 수 있다. 첫 번째 경우는 폴리(T) 관의 크기에 따라 정의된 길이의 폴리(A) 꼬리를 갖는 mRNA의 시험관 내 전사를 허용하지만, 주형의 추가 조작용 필요로 한다. 후자의 경우는 RNA의 3' 말단 상에 아데닌 잔기의 혼입을 촉매하는 폴리(A) 중합효소를 사용하여 시험관 내 전사된 mRNA에 폴리(A) 꼬리를 효소적으로 첨가하는 것을 포함하며, 이는 DNA 주형의 추가 조작용 필요로 하지 않지만, 이종 길이의 폴리(A) 꼬리를 갖는 mRNA를 초래한다. 5'-캡핑 및 3'-폴리(A) 꼬리화는 폴리(A) Polymerase Tailing 키트(EpiCenter), mMMESSAGE mMACHINE T7 Ultra 키트 및 Poly (A) Tailing 키트(Life Technologies)를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트뿐만 아니라 상업적으로 이용 가능한 시약, 다양한 ARCA 캡, 폴리(A) 중합효소 등을 사용하여 수행될 수 있다.

[0670] 5' 캡 및 3' 폴리 아데닐화에 더하여, 시험관 내 전사물의 다른 변형은 번역 효율 및 안정성과 관련된 이점을 제공하는 것으로 보고되었다. 병원성 DNA 및 RNA가 진핵생물 내의 다양한 센서에 의해 인식되어 강력한 선천적 면역 반응을 촉발할 수 있다는 것이 당업계에 잘 알려져 있다. 천연 공급원으로부터의 대부분의 핵산이 변형된 뉴클레오시드를 함유하기 때문에 병원성 DNA 및 RNA와 자가 DNA 및 RNA를 구별하는 능력이 적어도 부분적으로 구조 및 뉴클레오시드 변형에 기초하는 것으로 나타났다. 대조적으로, 시험관 내에서 합성된 RNA는 이러한 변형이 결여되어 면역자극을 유발하며, 이는 궁극적으로 전술한 바와 같이 효과적인 mRNA 번역을 억제할 수 있다. 시험관 내 전사된 mRNA 내로 변형된 뉴클레오시드를 도입하는 것은 RNA 센서의 인식 및 활성화를 방지하는 데 사용될 수 있으며, 따라서 이러한 바람직하지 않은 면역자극 활성을 완화하고 번역 능력을 향상시킬 수 있다(예를 들어, Kariko, K. 및 Weissman, D.의 문헌(2007)[Naturally occurring nucleoside modifications suppress the immunostimulatory activity of RNA: implication for therapeutic RNA development, Curr Opin Drug Discov Devel, v.10 523-532]; Pardi, N., Muramatsu, H., Weissman, D., Kariko, K.의 문헌[In vitro transcription of long RNA containing modified nucleosides in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation in Methods in Molecular Biology v.969 (Rabinovich, P.H. Ed), 2013]; Kariko, K., Muramatsu, H., Welsh, F.A., Ludwig, J., Kato, H., Akira, S., Weissman, D.의 문헌(2008)[Incorporation of Pseudouridine Into mRNA Yields Superior Nonimmunogenic Vector With Increased Translational Capacity and Biological Stability, Mol Ther v.16, 1833-1840] 참조). 변형된 RNA의 합성에 사용되는 변형된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 당업계에 공지된 일반적인 방법 및 절차를 사용하여 제조 및 모니터링되고, 사용될 수 있다. 단독으로 또는 다른 변형된 뉴클레오시드와 조합하여 어느 정도까지 시험관 내 전사된 mRNA에 혼입될 수 있는 매우 다양한 뉴클레오시드 변형이 이용 가능하다(예를 들어, US 2012/0251618 참조). 뉴클레오시드-변형 mRNA의 시험관 내 합성은 면역 센서를 활성화하는 능력을 감소시키고 이에 동반되어 번역 용량을 강화하는 것으로 보고되었다.

[0671] 변형되어 번역성 및 안정성 측면에서 이점을 제공할 수 있는 mRNA의 다른 성분에는 5' 및 3' 미번역 영역(UTR)이 있다. UTR(바람직한 5' 및 3' UTR은 세포 또는 바이러스 RNA로부터 수득될 수 있음)의 최적화는 시험관 내

전사된 mRNA의 mRNA 안정성 및 번역 효율을 둘 다 또는 독립적으로 증가시키는 것으로 나타났다(예를 들어, Pardi, N., Muramatsu, H., Weissman, D., Kariko, K.의 문헌[In vitro transcription of long RNA containing modified nucleosides in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation in Methods in Molecular Biology v.969 (Rabinovich, P.H. Ed), 2013] 참조).

[0672] mRNA 이외에, 다른 핵산 페이로드(payload)가 본 개시에 사용될 수 있다. 올리고뉴클레오티드의 경우, 제조 방법은 더 긴 전구체의 화학적 합성 및 효소적, 화학적 절단, 전술한 바와 같은 시험관 내 전사 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. DNA 및 RNA 뉴클레오티드를 합성하는 방법은 당업계에서 널리 사용되며 당업계에 잘 알려져 있다(예를 들어, Gait, M. J.(ed.)의 문헌[Oligonucleotide synthesis: a practical approach, Oxford [Oxfordshire], Washington, D.C.: IRL Press, 1984]; 및 Herdewijn, P.(ed.)의 문헌[Oligonucleotide synthesis: methods and applications, Methods in Molecular Biology, v. 288 (Clifton, N.J.) Totowa, N.J.:Humana Press, 2005]을 참조하며; 동 문헌은 모두 본원에 참조로서 통합됨).

[0673] 플라스미드 DNA의 경우, 본 개시의 구현예와 함께 사용하기 위한 제조는 일반적으로 관심 플라스미드를 함유하는 박테리아의 액체 배양물에서의 시험관 내 플라스미드 DNA의 증식 및 단리를 이용하지만 이에 한정되지 않는다. 특정 항생제(페니실린, 카나마이신 등)에 대한 내성을 암호화하는 관심 플라스미드 내의 유전자의 존재는 관심 플라스미드를 함유하는 박테리아가 항생제-함유 배양물에서 선택적으로 성장할 수 있게 한다. 플라스미드 DNA를 단리하는 방법은 당업계에서 널리 사용되며 당업계에 잘 알려져 있다(예를 들어, Heilig, J., Elbing, K. L. 및 Brent, R.의 문헌(2001)[Large-Scale Preparation of Plasmid DNA, Current Protocols in Molecular Biology, 41:11: 1.7: 1.7.1-1.7.16]; Rozkov, A., Larsson, B., Gillstrom, S., Bjornestedt, R. 및 Schmidt, S. R.의 문헌(2008)[Large-scale production of endotoxin-free plasmids for transient expression in mammalian cell culture, Biotechnol. Bioeng., 99: 557-566]; 및 US 6,197,553 B1 참조). 플라스미드 단리는 Plasmid Plus(Qiagen), GenJET 플라스미드 MaxiPrep(Thermo) 및 Pure Yield MaxiPrep(Promega) 키트를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트뿐만 아니라 상업적으로 이용 가능한 시약을 사용하여 수행될 수 있다.

[0674] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 mRNA에 의해 암호화된 단백질의 발현에 유용하다. 일부 구현예에서, mRNA에 의해 암호화된 단백질의 발현 방법이 본원에 제공된다.

[0675] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 약 1:1 내지 약 30:1, 예를 들어, 약 3:1 내지 약 20:1, 약 3:1 내지 약 15:1, 약 3:1 내지 약 10:1, 또는 약 3:1 내지 약 6:1의 N/P 비율을 갖는다. 예를 들어, 핵산 분자-캡슐화된 지질 조성물의 N/P 비율은  $6 \pm 1$ 일 수 있거나, 핵산 분자-캡슐화된 지질 조성물의 N/P 비율은  $6 \pm 0.5$ 일 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산 분자-캡슐화된 지질 조성물의 N/P 비율은 약 3:1 내지 약 15:1의 범위이다. 일부 구현예에서, 핵산 분자-캡슐화된 지질 조성물의 N/P 비율은 약 6이다. N:P 비율은 지질 조성물 또는 지질 나노제형에 존재하는 아민(예를 들어, 이온화 가능 지질 내의 아민) 대 핵산 분자에 존재하는 인산염의 몰비를 지칭한다. 이는 효율적인 포장 및 효능의 인자이다.

[0676] 기타 치료제

[0677] 치료제는 지질 조성물에 캡슐화된 펩티드 또는 단백질, 소분자 약물일 수 있다. 약학적 조성물은 핵산 분자, 펩티드 또는 단백질, 및 소분자 약물로부터의 2 이상의 상이한 치료제를 함유할 수 있다.

[0678] 일부 구현예에서, 단백질은 펩티드 또는 폴리펩티드, 예를 들어, 전사 인자; 염색질 리모델링 인자; 항원; 호르몬; 효소(예컨대 뉴클레아제, 예를 들어, 엔도뉴클레아제, 예를 들어, CRISPR 시스템의 뉴클레아제 요소, 예를 들어, Cas9, dCas9, aCas9-니카제, Cpf/Cas12a); 크리스프-결합 효소, 예를 들어, 기본 편집자 또는 프라임 편집자; 이동성 유전 요소 단백질(예를 들어, 트랜스포자아제, 레트로트랜스포자아제, 재조합효소, 통합효소); 유전자 작성자; 중합효소; 메틸화효소; 탈메틸화효소; 아세틸화효소; 탈아세틸화효소; 키나아제; 포스파타아제; 리가아제; 디유비퀴티나아제; 통합효소; 재조합효소; 토포이소머라아제; 자이라아제; 헬리카아제; 리소솜산 가수분해효소); 항체; 수용체 리간드; 수용체; 응고 인자; 막 단백질; 미토콘드리아 단백질; 핵 단백질; 항체 또는 센티린, 다핀, 또는 아드벡틴과 같은 다른 단백질 스캐폴드 결합제일 수 있다.

[0679] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 동일하거나 상이한 유형일 수 있는 복수의 단백질 분자를 포함할 수 있다.

[0680] 일부 구현예에서, 치료제는 소분자 약물, 예를 들어, 적절한 규제 당국에 의해 인간에게 사용하도록 승인된 소분자 약물이다.

- [0681] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 동일하거나 상이한 유형일 수 있는 복수의 소분자 약물을 포함할 수 있다.
- [0682] 일부 구현예에서, 치료제는 백신이다. 일부 구현예에서, 백신은 RNA 백신, 예컨대 RNA 압 백신 또는 감염성 질환에 대한 RNA 백신(예를 들어, 인플루엔자 바이러스 백신 또는 코로나 바이러스 백신(예를 들어, COVID-19 백신))이다.
- [0683] 기타 성분
- [0684] 약학적 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 함유할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 부형제는 투여 방식 및 경로에 기초하여 선택된다. 약학적 제형에 사용하기에 적합한 약학적 담체 또는 부형제는, 그 전체가 참조로서 본원에 통합된, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Ed., Gennaro, Ed., Lippencott Williams & Wilkins (2005)]; [Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6<sup>th</sup> Edition, Rowe 등, Eds., Pharmaceutical Press (2009)]; 및 [USP/NF (United States Pharmacopeia and the National Formulary)]에 기술되어 있다.
- [0685] 일부 구현예에서, 약학적으로 허용 가능한 부형제는 향산화제, 결합제, 유착 방지제, 완충액, 착색제, 희석제(예를 들어, 고형 또는 액체), 붕해제(예를 들어, 코팅이 붕해됨), 분산제, 염료, 충전제, 유화제, 향미제, 윤활제, pH 조정제, 안료, 보존제, 안정화제, 가용화제, 용매, 현탁제, 감미제, 또는 습윤제, 또는 이들의 조합 중 하나 이상을 포함한다.
- [0686] 적절한 부형제의 예는 제한 없이 다음을 포함한다: 아카시아, 알긴산염, 인산칼슘, 탄산칼슘, 규산칼슘, 카르보폴 겔, 카르복시메틸 셀룰로오스, 카르나우바 왁스, 셀룰로오스, 크로스포비돈, 텍스트로오스, 디아세틸화 모노글리세라이드, 에틸셀룰로오스, 젤라틴, 글리세릴 모노스테아레이트 40-50, 아카시아 검, 아라비아 검, 하이드록시에틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸 셀룰로오스, 하이프로멜로오스 프탈레이트, 하이프로멜로오스, 락토오스, 레시틴, 스테아린산마그네슘, 카올린, 메타크릴산 공중합체 유형 C, 만니톨, 메틸 셀룰로오스, 메틸하이드록시벤조에이트, 미세결정질 셀룰로오스, 포비돈, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리소르베이트 80, 폴리비닐피롤리돈, 프로필하이드록시벤조에이트, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스 수산화나트륨, 스테아릴 푸마르산 나트륨, 전분 글리콜산나트륨, 전분, 소르비탄 모노올레이트 소르비톨, 소르브산, 수크로오스, 탈크, 트라카간스, 탈크, 트리에틸 시트레이트, 이산화티탄, 황색 산화철, 탈크, 오일 매질(예를 들어, 땅콩 오일, 액체 파라핀, 광유, 올리브 오일, 알몬드 오일, 글리세린, 프로필렌 글리콜), 또는 물.
- [0687] 부형제가 희석제로서 작용할 때, 이는 활성 성분에 대한 비히클, 담체, 또는 매개체로서 작용하는 고형, 반고형, 또는 액체 물질(예를 들어, 생리 식염수)일 수 있다. 당업계에서 공지된 바와 같이, 희석제의 유형은 의도된 투여 경로에 따라 달라질 수 있다.
- [0688] 약학적 조성물은 동결건조된 제형 또는 수용액 형태의 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정화제를 포함할 수 있다. 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정화제는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 다음을 포함할 수 있다: 인산염, 구연산염, 및 다른 유기산 같은 완충액; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 향산화제; 보존제(예컨대 옥타데실디메틸벤질 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 염화벤잘코늄, 염화벤제토늄; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저 분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신과 같은 아미노산; 단당류, 이당류, 및 포도당, 만노오스, 또는 텍스트란을 포함하는 다른 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이트제; 수크로오스, 만니톨, 트레할로스, 또는 소르비톨과 같은 당류; 나트륨과 같은 염-형성 대응 이온; 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 TWEEN<sup>TM</sup>, PLURONICS<sup>TM</sup>, 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)과 같은 비이온성 계면활성제.
- [0689] 약학적 조성물에 적합한 담체 또는 부형제는 또한 LNP 또는 리포솜을 흡수하는 개인의 신체 능력을 향상시키는 물질을 포함할 수 있다. 적절한 담체 및/또는 부형제는 또한 편리하고 정확한 투여량을 허용하기 위해 LNP 또는 리포솜으로 제형을 벌크업하는 데 사용될 수 있는 임의의 물질을 포함한다. 또한, LNP 또는 리포솜의 취급을 돕기 위해 제조 프로세스에 담체 및/또는 부형제가 사용될 수 있다. 투여 경로 및 약물의 형태에 따라, 상이한 담체 및/또는 부형제가 사용될 수 있다.
- [0690] 담체 및/또는 부형제는 비히클 및/또는 희석제를 포함할 수도 있다. "비히클"은 일반적으로 용매 또는 담체로서 작용하는 다양한 매체 중 어느 하나를 나타내고; "희석제"는 조성물의 활성 성분을 희석하도록 발행되는 희석하

는 제제를 나타내며; 적절한 희석제는 약물의 점도를 감소시킬 수 있는 임의의 물질을 포함한다. 담체 및/또는 부형제의 유형 및 양은 약학적 형태의 기능으로 선택되고; 적합한 약학적 형태는 용액, 주입액, 현탁액과 같은 액체 시스템; 콜로이드, 겔, 페이스트, 또는 크림과 같은 반고형 시스템; 분말, 과립, 정제, 캡슐, 펠릿, 미세 과립, 미니정제, 마이크로캡슐, 마이크로펠릿, 좌제와 같은 고형 시스템 등이다.

[0691] 상기 시스템 각각은 당업계에 잘 알려진 기술을 사용하여 정상, 지연, 또는 가속 방출에 적합하게 제형화될 수 있다.

[0692] 제형, 투여량, 및 투여 경로

[0693] 본원에 기술된 약학적 조성물은 표준 기술뿐만 아니라 본원에 기술된 기술에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 약학적 조성물은 종래의 방식으로, 예를 들어 종래의 혼합, 용해, 과립화, 드래지 제조, 승화, 유화, 캡슐화, 포획, 또는 동결건조 프로세스에 의해 제조될 수 있다. 제형을 제조하기 위한 당업계에 잘 알려진 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>st</sup> Ed., Gennaro, Ed., Lippencott Williams & Wilkins (2005)] 및 문헌[Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick 및 J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York]을 참조한다.

[0694] 치료제는 지질 조성물에 캡슐화될 수 있는데, 예를 들어, 치료제는 지질 층/막 내의 LNP의 내부 공간에 완전히 또는 부분적으로 위치하거나, 지질 층/막의 외부 표면과 연관될 수 있다. 치료제를 LNP에 혼입시키는 하나의 목적은 치료제의 신속한 배설을 유발하는 치료제 및/또는 시스템 또는 수용체를 분해하는 효소 또는 화학물질 또는 병태를 함유할 수 있는 환경으로부터 치료제를 보호하는 것이다. 또한, 치료제를 LNP에 혼입시키는 것은 치료제의 흡수를 촉진할 수 있고, 따라서 치료 효과를 강화시킬 수 있다.

[0695] 일부 구현예에서, 약학적 조성물에서, 지질 성분 대 치료제 비율(질량/질량 비율; w/w 비율)은 약 1:1 내지 약 25:1, 10:1 내지 약 14:1, 약 3:1 내지 약 15:1, 약 4:1 내지 약 10:1, 약 5:1 내지 약 9:1, 또는 약 6:1 내지 약 9:1의 범위일 수 있다.

[0696] 지질 조성물 또는 약학적 조성물은 지질 조성물 또는 약학적 조성물의 중량을 기준으로 약 5 내지 약 95 중량%의 치료제를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 조성물 또는 약학적 조성물은 LNP 또는 약학적 조성물의 중량을 기준으로 약 5 중량%, 약 10 중량%, 약 20 중량%, 약 30 중량%, 약 40 중량%, 약 50 중량%, 약 60 중량%, 약 70 중량%, 약 80 중량%, 약 90 중량%, 또는 약 95 중량%의 치료제를 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물 또는 약학적 조성물은 지질 조성물 또는 약학적 조성물의 중량을 기준으로 약 5 내지 95%, 약 5 내지 90%, 약 5 내지 80%, 약 5 내지 70%, 약 5 내지 60%, 약 5 내지 50%, 약 5 내지 40%, 약 5 내지 30%, 약 5 내지 20%, 약 5 내지 10%, 약 10 내지 95%, 약 10 내지 90%, 약 10 내지 80%, 약 10 내지 70%, 약 10 내지 60%, 약 10 내지 50%, 약 10 내지 40%, 약 10 내지 30%, 약 10 내지 20%, 약 20 내지 95%, 약 20 내지 90%, 약 20 내지 80%, 약 20 내지 70%, 약 20 내지 60%, 약 20 내지 50%, 약 20 내지 40%, 약 20 내지 30%, 약 30 내지 95%, 약 30 내지 90%, 약 30 내지 80%, 약 30 내지 70%, 약 30 내지 60%, 약 30 내지 50%, 약 30 내지 40%, 약 40 내지 95%, 약 40 내지 90%, 약 40 내지 80%, 약 40 내지 70%, 약 40 내지 60%, 약 40 내지 50%, 약 50 내지 95%, 약 50 내지 90%, 약 50 내지 80%, 약 50 내지 70%, 약 50 내지 60%, 약 60 내지 95%, 약 60 내지 90%, 약 60 내지 80%, 약 60 내지 70%, 약 70 내지 95%, 약 70 내지 90%, 약 70 내지 80%, 약 80 내지 95%, 약 80 내지 90%, 또는 약 90 내지 95%의 양으로 치료제를 함유한다.

[0697] 지질 조성물 또는 약학적 조성물은 지질 조성물 또는 약학적 조성물의 중량을 기준으로, 약 5 내지 약 95 중량%의 양으로 총 지질을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 조성물 또는 약학적 조성물은 지질 조성물 또는 약학적 조성물의 중량을 기준으로 약 5 내지 95%, 약 5 내지 90%, 약 5 내지 80%, 약 5 내지 70%, 약 5 내지 60%, 약 5 내지 50%, 약 5 내지 40%, 약 5 내지 30%, 약 5 내지 20%, 약 5 내지 10%, 약 10 내지 95%, 약 10 내지 90%, 약 10 내지 80%, 약 10 내지 70%, 약 10 내지 60%, 약 10 내지 50%, 약 10 내지 40%, 약 10 내지 30%, 약 10 내지 20%, 약 20 내지 95%, 약 20 내지 90%, 약 20 내지 80%, 약 20 내지 70%, 약 20 내지 60%, 약 20 내지 50%, 약 20 내지 40%, 약 20 내지 30%, 약 30 내지 95%, 약 30 내지 90%, 약 30 내지 80%, 약 30 내지 70%, 약 30 내지 60%, 약 30 내지 50%, 약 30 내지 40%, 약 40 내지 95%, 약 40 내지 90%, 약 40 내지 80%, 약 40 내지 70%, 약 40 내지 60%, 약 40 내지 50%, 약 50 내지 95%, 약 50 내지 90%, 약 50 내지 80%, 약 50 내지 70%, 약 50 내지 60%, 약 60 내지 95%, 약 60 내지 90%, 약 60 내지 80%, 약 60 내지 70%, 약 70 내지 95%, 약 70 내지 90%, 약 70 내지 80%, 약 80 내지 95%, 약 80 내지 90%, 또는 약 90 내지 95%의 양으로 총 지질을 함유한다.

- [0698] 본 개시의 지질 조성물 또는 약학적 조성물은, 예를 들어, 정맥내, 비경구, 복강내, 근육내, 소관내 (intracanalicular), 또는 국소 경로를 통한 전신 전달 효과를 위해 다양한 경로에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, siRNA는 세포 내적으로, 예를 들어, 폐 또는 간과 같은 표적 조직의 세포 내로 또는 염증 조직 내로 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시는 생체 내에서 siRNA를 전달하기 위한 방법을 제공한다. 핵산-지질 조성물은 대상체에게 정맥내, 피하, 또는 복강내 투여될 수 있다.
- [0699] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "비경구"는 장내 투여 이외의 투여 경로를 지칭한다. 비경구 투여의 예는 제한 없이 다음을 포함한다: 협측, 표피, 경막외, 양막외, 동맥내, 관절내, 심장내, 해면내, 뇌내, 뇌실내, 피내, 병변내, 근육내, 안구내, 골내 주입, 복강내, 폐내, 경막내, 자궁내, 질내, 정맥내, 방광내, 유리체내, 비강, 혈관주위, 피하, 설하, 경피, 국소, 경상피, 또는 경점막. 비경구 투여는 선택된 기간에 걸쳐 연속 주입에 의한 것일 수 있다.
- [0700] 본 개시의 조성물 및 방법은 경구, 직장, 질, 비강내, 폐내, 또는 경피, 또는 피부 전달을 포함하는 다양한 점막 투여 모드에 의해 또는 눈, 귀, 피부, 또는 다른 점막 표면에 대한 국소 전달에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 본 발명의 일부 양태에서, 점막 조직층은 상피 세포층을 포함한다. 상피 세포는 폐, 기관, 기관지, 폐포, 비강, 구강, 표피, 또는 위장관일 수 있다. 본 개시의 조성물은 기계적 분무 장치와 같은 종래의 액추에이터뿐만 아니라 가압, 전기 활성화, 또는 다른 유형의 액추에이터를 사용하여 투여될 수 있다.
- [0701] 본 개시의 조성물은 비강 또는 폐 분무로서 수용액으로 투여될 수 있고, 당업자에게 공지된 다양한 방법에 의해 분무 형태로 분배될 수 있다. 본 개시의 조성물의 폐 전달은, 예를 들어, 에어로졸화, 원자화, 또는 분무화될 수 있는 점적, 입자, 또는 분무 형태로 조성물을 투여함으로써 달성된다. 조성물, 분무, 또는 에어로졸의 입자는 액체이거나 고형일 수 있다. 비강 분무로서 액체를 분배하기 위한 시스템의 비제한적인 예는 미국 특허 제 4,511,069호에 기술되어 있다. 이러한 제형은 본 개시에 따른 조성물을 물에 용해시켜 수용액을 제조하고, 상기 용액을 멸균함으로써 편리하게 제조될 수 있다. 제형은 다회 투여 용기, 예를 들어, 미국 특허 제4,511,069호에 기술된 밀봉 분배 시스템으로 제시될 수 있다. 다른 적합한 비강 분무 전달 시스템은 문헌[TRANSDERMAL SYSTEMIC MEDICATION, Y. W. Chien ed., Elsevier Publishers, New York, 1985]; 및 미국 특허 제4,778,810호에 기술되어 있다. 추가 에어로졸 전달 형태는, 예를 들어, 약학적 용매, 예를 들어, 물, 에탄올, 또는 이의 혼합물에 용해되거나 현탁된 생물학적 활성제를 전달하는 압축 에어제트 분무기, 초음파 분무기, 및 압전 분무기를 포함할 수 있다.
- [0702] 본 발명의 비강 및 폐 분무 용액은 통상적으로 약물 또는 전달될 약물을 포함하고, 이는 임의적으로 비이온성 계면활성제(예를 들어, 폴리소르베이트-80)와 같은 표면 활성제 및 하나 이상의 완충액과 함께 제형화된다. 본 개시의 일부 구현예에서, 비강 분무 용액은 추진제를 추가로 포함한다. 비강 분무 용액의 pH는 pH 6.8 내지 7.2 일 수 있다. 사용된 약학적 용매는 또한 pH 4 내지 6의 약산성 수성 완충액일 수 있다. 보존제, 계면활성제, 분산제, 또는 가스를 포함하는 다른 성분이 화학적 안정성을 향상시키거나 유지하기 위해 첨가될 수 있다.
- [0703] 일부 구현예에서, 본 개시는 본 개시의 조성물을 함유하는 용액 및 폐, 점막, 또는 비강내 분무 또는 에어로졸 용 액추에이터를 포함하는 약학적 산물이다.
- [0704] 본 개시의 조성물의 투여 형태는 액체, 액적, 또는 유화액 형태, 또는 에어로졸 형태일 수 있다.
- [0705] 본 개시의 조성물의 투여 형태는 고형일 수 있으며, 이는 투여 전 액체로 재구성될 수 있다. 고형은 분말로서 투여될 수 있다. 고형은 캡슐, 정제, 또는 겔 형태일 수 있다.
- [0706] 본 개시 내에서 폐 전달을 위한 조성물을 제조하기 위해, 생물학적 활성제는 다양한 약학적으로 허용 가능한 첨가제뿐만 아니라 활성제(들)의 분산을 위한 염기 또는 담체와 조합될 수 있다.
- [0707] 첨가제의 예는 pH 조절제, 예컨대 아르기닌, 수산화나트륨, 글리신, 염산, 구연산, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 다른 첨가제는 국소 마취제(예를 들어, 벤질 알코올), 이소화제(예를 들어, 염화나트륨, 만니톨, 소르비톨), 흡착 억제제(예를 들어, Tween 80), 용해도 증강제(예를 들어, 시클로덱스트린 및 이의 유도체), 안정화제(예를 들어, 혈청 알부민), 및 환원제(예를 들어, 글루타티온)를 포함한다. 점막 전달용 조성물이 액체인 경우, 조성물의 등장성은 0.9%(w/v) 생리 식염수 용액의 등장성을 1로 기준 삼아 측정했을 때, 통상적으로 투여 부위의 점막에서 실질적인 비가역적 조직 손상이 유도되지 않는 값으로 조정된다. 일반적으로, 용액의 등장성은 1/3 내지 3, 보다 통상적으로는 1/2 내지 2, 가장 흔히는 3/4 내지 1.7의 값으로 조정된다.
- [0708] 생물학적 활성제는 염기 또는 비히클에 분산될 수 있으며, 이는 활성제 및 임의의 원하는 첨가제를 분산시키는

능력을 갖는 친수성 화합물을 포함할 수 있다. 염기는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는 광범위한 적합한 담체로부터 선택될 수 있다: 폴리카르복실산 또는 이의 염, 카르복실산 무수물(예를 들어, 말레산 무수물)과 다른 단량체(예를 들어, 메틸(메타)아크릴레이트, 아크릴산 등)의 공중합체, 친수성 비닐 중합체, 예컨대 폴리비닐 아세테이트, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스 유도체, 예컨대 하이드록시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필셀룰로오스 등, 및 천연 중합체, 예컨대 키토산, 콜라겐, 알긴산 나트륨, 젤라틴, 히알루론산, 및 이의 비독성 금속염. 종종 생분해성 중합체는 염기 또는 담체, 예를 들어, 폴리락트산, 폴리(락트산-글리콜산) 공중합체, 폴리하이드록시부티르산, 폴리(하이드록시부티르산-글리콜산) 공중합체, 및 이의 혼합물로서 선택된다. 대안적으로 또는 추가적으로, 폴리글리세린 지방산 에스테르, 수크로오스 지방산 에스테르 등과 같은 합성 지방산 에스테르가 담체로서 사용될 수 있다. 친수성 중합체 및 다른 담체는 단독으로 사용되거나 조합하여 사용될 수 있고, 향상된 구조적 무결성이 부분 결정화, 이온 결합, 가교 결합 등에 의해 담체에 부여될 수 있다. 담체는 비강 점막에 직접 적용하기 위해 유체 또는 점성 용액, 겔, 페이스트, 분말, 미소구체, 및 막을 포함하는 다양한 형태로 제공될 수 있다. 이러한 맥락에서 선택된 담체의 사용은 생물학적 활성제의 흡수를 촉진시킬 수 있다.

[0709] 점막, 비강, 또는 폐 전달용 조성물은 염기 또는 부형제로서 친수성 저 분자량 화합물을 함유할 수 있다. 이러한 친수성 저 분자량 화합물은 생리학적 활성 펩티드 또는 단백질과 같은 수용성 활성제가 활성제가 흡수되는 체표면으로 염기를 통해 확산될 수 있는 통로 매질을 제공할 수 있다. 친수성 저 분자량 화합물은 점막 또는 투여 분위기로부터 수분을 임의적으로 흡수할 수 있고, 수용성 활성 펩티드를 용해시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 친수성 저 분자량 화합물의 분자량은 10,000 이하, 예컨대 3,000 이하이다. 친수성 저 분자량 화합물의 예는 폴리올 화합물, 예컨대 수크로오스, 만니톨, 락토오스, L-아라비노오스, D-에리트로오스, D-리보오스, D-자일로오스, D-만노오스, D-갈락토오스, 락툴로오스, 셀로비오스, 젠티비오스, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜, 및 이들의 혼합물을 포함하는 올리고당류, 이당류, 및 단당류를 포함한다. 친수성 저 분자량 화합물의 추가 예는 N-메틸피롤리딘, 알코올(예를 들어, 올리고비닐 알코올, 에탄올, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 등), 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0710] 본 개시의 조성물은 대안적으로 생리학적 조건에 근접하는 데 필요한 약학적으로 허용 가능한 담체 물질로서, 예컨대 pH 조절제 및 완충제, 등장성 조절제, 및 습윤제, 예를 들어, 아세트산나트륨, 젯산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트, 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 고흡 조성물의 경우, 예를 들어, 약학적 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 스테아린산 마그네슘, 사카린 나트륨, 활석, 셀룰로오스, 글루코오스, 수크로오스, 탄산 마그네슘 등을 포함하는 종래의 비독성 약학적으로 허용 가능한 담체가 사용될 수 있다.

[0711] 본 개시의 소정의 구현예에서, 생물학적 활성제는 시간 방출 제형으로, 예를 들어, 서방형 중합체를 포함하는 조성물로 투여될 수 있다. 활성제는 급속 방출로부터 보호할 담체, 예를 들어, 중합체, 마이크로캡슐화된 전달 시스템, 또는 생접착성 겔과 같은 제어 방출 비히클로 제조될 수 있다. 본 개시의 다양한 조성물에서, 활성제의 장기간 전달은 흡수를 지연시키는 조성물 제제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테레이트 하이드록겔 및 젤라틴을 포함함으로써 이루어질 수 있다.

[0712] 일부 구현예에서, 지질 조성물, 약학적 조성물, 또는 투여 단위는 약 0.01 내지 약 1000 mg의 본원에 기술된 하나 이상의 지질 화합물을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물, 약학적 조성물, 또는 투여 단위는 약 0.01, 약 0.1, 약 0.5, 약 1, 약 5, 약 10, 약 25, 약 50, 약 75, 약 100, 약 125, 약 150, 약 175, 약 200, 약 225, 약 250, 약 275, 약 300, 약 350, 약 400, 약 450, 약 500, 약 550, 약 600, 약 650, 약 700, 약 750, 약 800, 약 850, 약 900, 약 950, 또는 약 1000 mg의 본원에 기술된 하나 이상의 지질 화합물을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물, 약학적 조성물, 또는 투여 단위는 약 0.01 내지 약 750 mg, 약 0.01 내지 약 500 mg, 약 0.01 내지 약 250 mg, 약 0.01 내지 약 100 mg, 약 0.01 내지 약 50 mg, 약 0.01 내지 약 25 mg, 약 0.01 내지 약 10 mg, 약 0.01 내지 약 5 mg, 약 0.01 내지 약 0.1 mg, 약 0.1 내지 약 1000 mg, 약 0.1 내지 약 750 mg, 약 0.1 내지 약 500 mg, 약 0.1 내지 약 250 mg, 약 0.1 내지 약 100 mg, 약 0.1 내지 약 50 mg, 약 0.1 내지 약 25, 약 0.1 내지 약 10 mg, 약 0.1 내지 약 5 mg, 약 0.1 내지 약 1 mg, 약 1 내지 약 1000 mg, 약 1 내지 약 750 mg, 약 1 내지 약 500 mg, 약 1 내지 약 250 mg, 약 1 내지 약 100 mg, 약 1 내지 약 50 mg, 약 1 내지 약 25 mg, 약 1 내지 약 10 mg, 약 1 내지 약 5 mg, 약 5 내지 약 1000 mg, 약 5 내지 약 750 mg, 약 5 내지 약 500 mg, 약 5 내지 약 250 mg, 약 5 내지 약 100 mg, 약 5 내지 약 50 mg, 약 5 내지 약 25 mg, 약 5 내지 약 10 mg, 약 10 내지 약 1000 mg, 약 10 내지 약 750 mg, 약 10 내지 약 500, 약 10 내지 약 250 mg, 약 10 내지 약 100 mg, 약 10 내지 약 50 mg, 약 10 내지 약 25 mg, 약 25 내지 약 1000 mg, 약 25 내지 약 750

mg, 약 25 내지 약 500 mg, 약 25 내지 약 250 mg, 약 25 내지 약 100 mg, 약 25 내지 약 50 mg, 약 50 내지 약 1000, mg 약 50 내지 약 750 mg, 약 50 내지 약 500 mg, 약 50 내지 약 250 mg, 약 50 내지 약 100 mg, 약 100 내지 약 1000 mg, 약 100 내지 약 750 mg, 약 100 내지 약 500 mg, 약 100 내지 약 250 mg, 약 250 내지 약 1000 mg, 약 250 내지 약 750 mg, 약 250 내지 약 500 mg, 약 500 내지 약 1000 mg, 약 500 내지 약 750 mg, 또는 약 750 내지 약 1000 mg의 본원에 기술된 하나 이상의 지질 화합물을 함유한다.

[0713] **지질 조성물을 사용하는 방법**

[0714] 본 개시의 또 다른 양태는 치료제를 필요로 하는 대상체(예: 환자)에게 이를 전달하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 대상체(예: 환자)에게 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 약학적 조성물은 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함하는 지질 나노입자 조성물, 및 치료제를 포함한다.

[0715] 본 개시의 또 다른 양태는 치료제를 필요로 하는 대상체의 간 이외의 적어도 하나의 기관(예를 들어, 췌장, 한 쪽 또는 양쪽 폐, 또는 비장)에 치료제를 간외 전달하고, 대상체의 간과 같은 신체의 다른 곳에서는 최소량으로 전달되는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 상기 대상체에게 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함하는 지질 나노입자 조성물, 및 치료제를 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 치료제를 필요로 하는 대상체의 췌장 및/또는 한쪽 또는 양쪽 폐에 치료제를 전달하고, 대상체의 간과 같은 신체의 다른 곳에서는 최소량으로 전달한다.

[0716] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제의 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% 또는 1% 미만은 대상체의 간에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제의 6%, 7%, 8%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 또는 20% 미만은 대상체의 간에 전달된다.

[0717] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 췌장, 비장, 및/또는 한쪽 또는 양쪽 폐에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 췌장에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 폐에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 비장에 전달된다.

[0718] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 또는 150의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 1의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료 물질은 적어도 5의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 10의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 25의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 70의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 100의 비장 대 간 비율을 갖는다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료제는 적어도 110의 비장 대 간 비율을 갖는다.

[0719] 본원에서 사용되는 바와 같이, 대상체에게 투여되고 대상체 내 위치에 전달되는 총 치료제의 백분율 양은 단백질 발현 수준 또는 mRNA 녹다운 수준에 의해 측정된다.

[0720] 일부 구현예에서, 전술한 치료제를 전달하는 방법은 치료제를 포함하는 지질 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물 중의 지질 나노입자는 식 (I), (IA-1), (IA-2), (IIA) 내지 (IIC), (IIA-1), (IIIA) 내지 (IIIE), (IVA-1) 내지 (IVA-3), (IVC-1) 내지 (IVC-2), 및 (VC-1) 내지 (VC-6)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중

어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (I), (IA-1), 또는 (IA-2)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (IIA) 내지 (IIC)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (IIA-1)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (IIIA) 내지 (IIIE)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (IVA-1) 내지 (IVA-3)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (IVC-1) 내지 (IVC-3)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 식 (VC-1) 내지 (VC-6)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다.

[0721] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 지질 조성물은 핵산과 같은 캡슐화되거나 연관된(예를 들어, 복합체화된) 치료제를 시험관 내 및/또는 생체 내에서 세포에 전달하는 것을 포함하는 다양한 목적을 위해 사용될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하거나 예방하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 지질 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 적합한 치료제를 캡슐화하거나 이와 연관되며, 여기서 지질 조성물은 본원에 기술된 하나 이상의 신규한 이온화 가능 지질, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체를 포함한다.

[0722] 일부 구현예에서, 본 개시의 지질 화합물은 치료제를 전달하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 치료제는 다음을 포함하는 하나 이상의 핵산으로부터 선택된다: 예를 들어, mRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 플라스미드 DNA, 마이크로RNA(miRNA), miRNA 억제제(안타고미르/안티미르), 전령-RNA-간섭 상보성 RNA(micRNA), DNA, 다가 RNA, 다이스 기질 RNA, 상보성 DNA(cdDNA) 등. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 신규한 이온화 가능 지질을 포함하는 지질 조성물과 세포를 접촉시킴으로써 시험관 내 및/또는 생체 내에서 원하는 단백질의 발현을 유도하는 방법이 본원에 개시되고, 여기서 지질 나노입자는 원하는 단백질을 생산하도록 발현되는 핵산(예를 들어, 원하는 단백질을 암호화하는 전령 RNA 또는 플라스미드) 또는 mRNA의 발현을 종료시키는 프로세스를 억제하도록 발현되는 핵산(예를 들어, miRNA 억제제)을 캡슐화하거나 이와 연관된다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 신규한 이온화 가능 지질을 포함하는 지질 조성물과 세포를 접촉시킴으로써 시험관 내 및/또는 생체 내에서 표적 유전자 및 단백질의 발현을 감소시키는 방법이 본원에 개시되며, 여기서 지질 나노입자는 표적 유전자 발현을 감소시키는 핵산(예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 작은 간섭 RNA(siRNA))을 캡슐화하거나 이와 연관된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 핵산(예를 들어, mRNA 및 플라스미드 DNA)을 공동으로 전달하기 위한 방법이 본원에 개시되며, 이는 예컨대 별개로 또는 조합하여 상이한 핵산(예를 들어, 적합한 유전자 변형 효소를 암호화하는 mRNA 및 숙주 게놈에 혼입하기 위한 DNA 분절(들))의 공동 국소화를 필요로 하는 효과를 제공하는 데 유용할 수 있다.

[0723] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 하나의 특이적 miRNA 또는 하나의 표적 mRNA 또는 여러 mRNA를 조절하는 miRNA 군을 표적화하는 miRNA 억제제를 전달함으로써 내인성 단백질 발현을 상향 조절하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 내인성 단백질 발현을 상향 조절하는 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은 하나 이상의 mRNA를 조절하는 하나 이상의 miRNA를 표적화하는 miRNA 억제제를 전달하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 조성물은 표적 유전자의 단백질 수준 및/또는 mRNA 수준을 하향 조절(예를 들어, 침묵화)하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 표적 유전자의 단백질 및/또는 mRNA 수준을 하향 조절(예를 들어, 침묵화)하기 위한 방법이 본원에 제공된다.

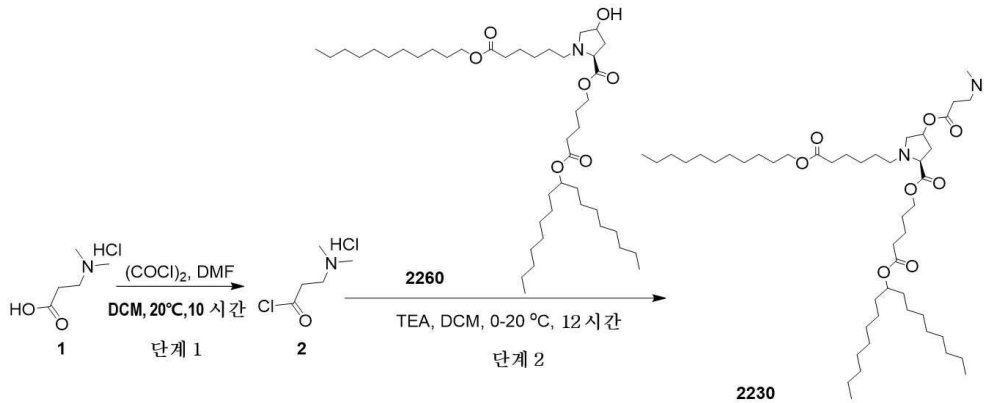
[0724] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 이식 유전자의 발현을 위해 mRNA 및 플라스미드를 전달하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 이식 유전자의 발현을 위해 mRNA 및 플라스미드를 전달하기 위한 방법이 본원에 제공된다.

[0725] 일부 구현예에서, 지질 조성물은 단백질 발현으로부터 기인하는 약리학적 효과, 예를 들어, 적합한 적혈구형성 인자 mRNA의 전달을 통한 적혈구의 생산 증가 또는 적합한 항원 또는 항체를 암호화하는 mRNA의 전달을 통한 감염에 대한 보호를 유도하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 단백질 발현으로부터 기인하는 약리학적 효과, 예를 들어, 적합한 적혈구형성인자 mRNA의 전달을 통한 적혈구의 생산 증가 또는 적합한 항원 또는 항체를 암호화하

는 mRNA의 전달을 통한 감염에 대한 보호를 유도하는 방법이 본원에 제공된다.

- [0726] 본 개시의 이온화 가능 지질, 이를 포함하는 지질 조성물의 비제한적인 예시적인 구현에 및 제제(예를 들어, 핵산과 같은 치료제)를 전달하고/하거나 유전자 및/또는 단백질 발현을 조절하기 위한 이들의 용도가 이하에서 더욱 상세히 기술된다.
- [0727] 일부 구현예에서, 본 개시는 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 LNP 조성물과 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 DNA를 절단하는 단계를 포함한다.
- [0728] 일부 구현예에서, 본 개시는 DNA를 절단하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 LNP 조성물과 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0729] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 DNA를 절단하는 임의의 방법에 관한 것으로서, 절단 단계는 단일-가닥 DNA 닉(nick)을 도입하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 DNA를 절단하는 임의의 방법에 관한 것으로서, 절단 단계는 이중-가닥 DNA 절단(break)을 도입하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 DNA를 절단하는 임의의 방법에 관한 것으로서, LNP 조성물은 클래스 2 Cas mRNA 및 가이드 RNA 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 DNA를 절단하는 임의의 방법에 관한 것으로서, 적어도 하나의 주형 핵산을 세포 내에 도입하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 DNA를 절단하는 임의의 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 주형 핵산을 포함하는 LNP 조성물과 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0730] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 LNP 조성물을 동물, 예를 들어, 인간에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 LNP 조성물을 진핵 세포와 같은 세포에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0731] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 mRNA, gRNA, gRNA 핵산, 및 주형 핵산 중 하나 이상을 포함하는 제1 LNP 조성물 및 제2 LNP 조성물로 제형화된 mRNA를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 제1 및 제2 LNP 조성물은 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 제1 및 제2 LNP 조성물은 순차적으로 투여된다.
- [0732] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 단일 LNP 조성물로 제형화된 mRNA 및 가이드 RNA 핵산을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 유전자 편집은 유전자 녹아웃을 초래한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 유전자 편집은 유전자 교정을 초래한다.
- [0733] 일부 구현예에서, 본 개시는 간접 RNA를 포유류 대상체의 폐에 생체 내 전달하는 방법에 관한 것이다.
- [0734] 일부 구현예에서, 본 개시는 포유류 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 이들 방법은 본 개시의 지질 조성물의 치료적 유효량을 지질 조성물에 의해 저하, 감소, 하향 조절, 또는 침묵화될 수 있는 유전자의 발현 또는 과발현과 연관된 질환 또는 장애를 갖는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0735] **실시예**
- [0736] 다음의 실시예는 단지 예시적인 목적을 위한 것이며, 어떠한 방식으로든 본 발명의 범주를 제한하려는 것이 아니다.

[0737] 실시예 1. 화합물 2230의 합성



[0738]

[0739] 단계 1:

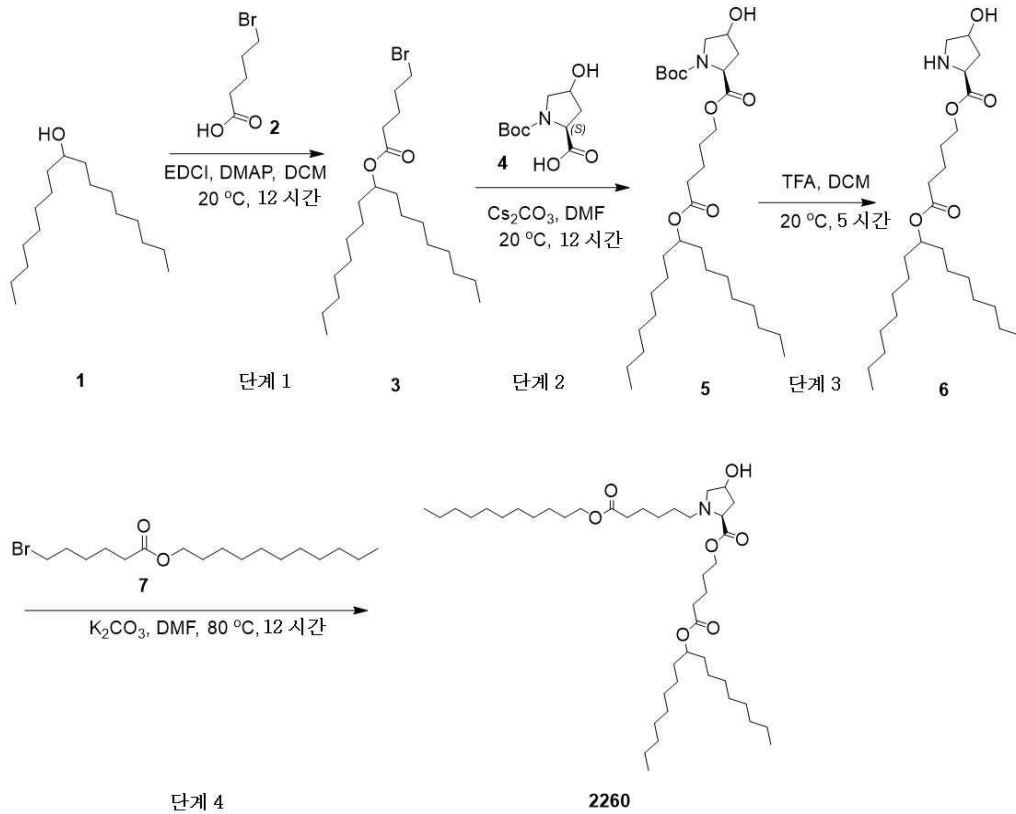
[0740] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(0.2g, 1.30 mmol, 1 당량, HCl) 및 옥살릴 이염화물(826.30 mg, 6.51 mmol, 569.86  $\mu$ L, 5 당량)의 용액에 2 방울의 DMF(9.52 mg, 130.20  $\mu$ mol, 10.02  $\mu$ L, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징하고, N<sub>2</sub> 분위기 하에 20°C에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(0.2 g, 미정제, HCl)을 황색 오일로서 수득하였다.

[0741] 단계 2:

[0742] DCM(3 mL) 중 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(100.00 mg, 135.48  $\mu$ mol, 1 당량), 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(93.24 mg, 541.91  $\mu$ mol, 4 당량, HCl)의 용액에 TEA(123.38 mg, 1.22 mmol, 169.71  $\mu$ L, 9 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 1/0/0.1 내지 3/1/0.1) 및 분취 HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 그런 다음, 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/ NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 1/0/0.1 내지 5/1/0.1)로 정제하여 2230, [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(17 mg, 20.30  $\mu$ mol, 14.99% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0743] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.21-5.27 (m, 1H), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.14-4.16 (m, 2H), 4.06 (t, J=6.4 Hz, 2H), 3.44-3.55 (m, 1H), 3.10-3.26 (m, 1H), 2.45-2.73 (m, 7H), 2.32-2.33 (m, 10H), 2.16-2.28 (m, 1H), 2.05-2.06 (m, 1H), 1.60-1.65 (m, 6H), 1.51-1.52 (m, 6H), 1.27-1.31 (m, 46H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H).  
LCMS: (1/2M+H<sup>+</sup>): 419.2 @ 2.971분.

[0744] 실시예 2. 화합물 2260의 합성



[0745]

단계 1:

[0746]

단계 1:

[0747]

DCM(70 mL) 중 헵타데칸-9-올(10 g, 38.99 mmol, 1 당량), 5-브로모펜탄산(7.06g, 38.99 mmol, 1 당량), DMAP(952.72 mg, 7.80 mmol, 0.2 당량), 및 EDCI(7.47 0g, 38.99 mmol, 1 당량)의 용액을 20°C에서 12시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 200 mL로 희석하고 물 600 mL(200 mLx3)와 염수 400 mL(200 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 10/1)로 정제하여 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(25 g, 59.60 mmol, 76.42% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0748]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.91 (m, 1H), 3.42 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.34 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.90-1.93 (m, 2H), 1.79-1.81 (m, 2H), 1.52-1.57 (m, 4H), 1.27-1.51 (m, 24H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[0749]

단계 2:

[0750]

DMF(60 mL) 중 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(2.30 g, 9.93 mmol, 1 당량), 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(5 g, 11.92 mmol, 1.2 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(7.12 g, 21.85 mmol, 2.2 당량)의 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 10 mL의 H<sub>2</sub>O를 첨가하여 쿨링시켰다. 혼합물을 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하고, 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[5-(1-옥틸노닐옥시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4.5 g, 3.95 mmol, 39.75% 수율, 50% 순도)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0751]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.17-4.39 (m, 4H), 3.50-3.69 (m, 2H), 2.33-2.34 (m, 2H), 1.61-1.72 (m, 4H), 1.42-1.52 (m, 14H), 1.25-1.30 (m, 25H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[0752]

단계 3:

[0753]

DCM(50 mL) 중 01-tert-부틸 02-[5-(1-옥틸노닐옥시)-5-옥소-펜틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트

트(4.00 g, 7.02 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(23.10 g, 202.60 mmol, 15.00 mL, 28.86 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고, EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1 내지 에틸 아세테이트/MeOH = 3/1)로 정제하여 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(2.5 g, 4.52 mmol, 64.45% 수율, 85% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

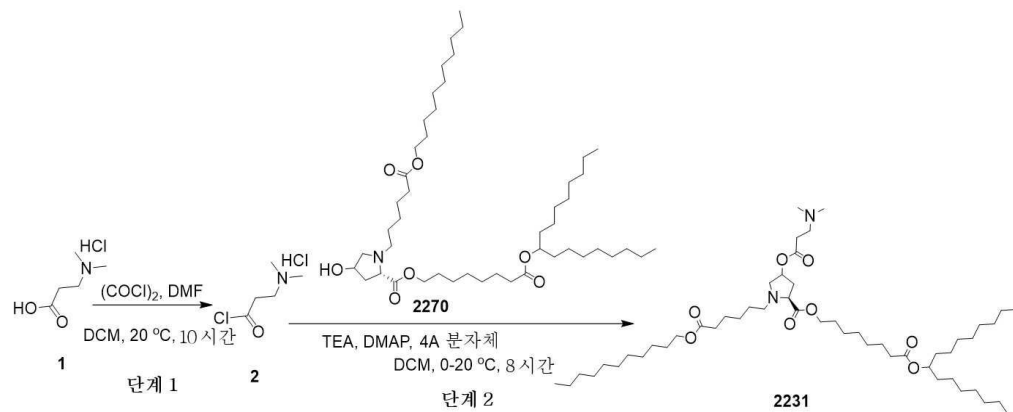
[0754] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.37-4.45 (m, 1H), 4.15-4.25 (m, 2H), 3.82-4.14 (m, 1H), 2.97-3.15 (m, 2H), 2.33-2.35 (m, 2H), 1.69-1.70 (m, 4H), 1.50-1.52 (m, 4H), 1.26-1.32 (m, 26H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[0755] 단계 4:

[0756] DMF(10 mL) 중 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(500.00 mg, 1.06 mmol, 1 당량), 운데실 6-브로모헥사노에이트(446.26 mg, 1.28 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(441.37 mg, 3.19 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 10/1/1 내지 1/1/0.5)로 정제하여 **2260**, [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데코кси-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.6 g, 715.32 μmol, 67.20% 수율, 88% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0757] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.91 (m, 1H), 4.28-4.49 (m, 1H), 4.13-4.16 (m, 2H), 4.06 (t, J=6.4 Hz, 2H), 3.07-3.54 (m, 2H), 2.48-2.65 (m, 3H), 2.28-2.34 (m, 4H), 1.95-2.23 (m, 2H), 1.60-1.64 (m, 6H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.27-1.35 (m, 44H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H), (M+H<sup>+</sup>): 738.3. LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 738.3 @ 2.843분.

[0758] 실시예 3. 화합물 2231의 합성



[0759]

[0760] 단계 1:

[0761] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(0.2 g, 1.30 mmol, 1 당량, HCl) 및 옥살릴 이염화물(826.30 mg, 6.51 mmol, 569.86 μL, 5 당량)의 용액에 2방울의 DMF(9.52 mg, 130.20 μmol, 10.02 μL, 0.1 당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에 20℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판산 이염화물(0.2 g, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다.

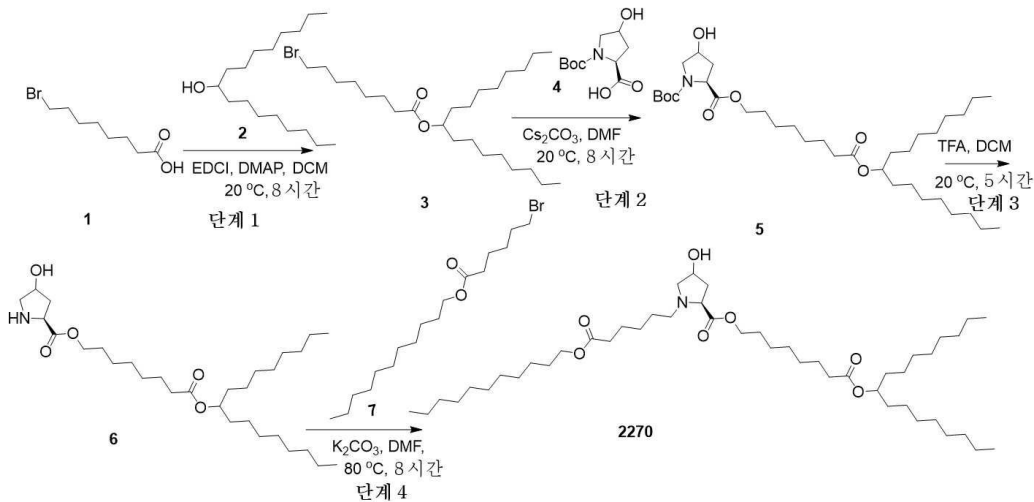
[0762] 단계 2:

[0763] DCM(15 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데코кси-헥실) 피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 256.34 μmol, 1 당량), DMAP(6.26 mg, 51.27 μmol, 0.2 당량), TEA(207.51 mg, 2.05

mmol, 285.44  $\mu$ L, 8 당량), 및 4A 분자체(100 mg)의 현탁액에 DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(220.52 mg, 1.28 mmol, 5 당량, HCl)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 1/0/0.1 내지 3/1/0.1) 및 분취 HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 55% 내지 85%, 10분)로 정제하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 1/0/0.1 내지 5/1/0.1)로 정제하여 **2231**, [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(40 mg, 45.49  $\mu$ mol, 13.33% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0764] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.21-5.27 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.04-4.13 (m, 4H), 3.08-3.54 (m, 2H), 2.32-2.65 (m, 7H), 2.29-2.31 (m, 10H), 2.27-2.28 (m, 2H), 1.63-1.65 (m, 8H), 1.60-1.62 (m, 6H), 1.27-1.52 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (1/2M+H<sup>+</sup>): 879.6 @ 2.155분.

[0765] 실시예 4. 화합물 2270의 합성



[0766] 단계 1:

[0768] DCM(1000 mL) 중 8-브로모옥타노산(10 g, 44.82 mmol, 1 당량)의 혼합물을 DMAP(1.10 g, 8.96 mmol, 0.2 당량), 헵타데칸-9-올(11.50 g, 44.82 mmol, 1 당량), 및 EDCI(8.59 g, 44.82 mmol, 1 당량)에 첨가하고, 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응물을 EtOAc 200 mL로 희석하고, 물 600 mL(200 mLx3)와 염수 400 mL(200 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여  $\mu$ 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(25 g, 59.60 mmol, 76.42% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0769] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.89 (m, 1H), 3.41 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.29 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.80-1.90 (m, 2H), 1.60-1.63 (m, 2H), 1.44-1.51 (m, 4H), 1.34-1.35 (m, 2H), 1.27-1.33 (m, 28H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[0770] 단계 2:

[0771] DMF(60 mL) 중 (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(3.34 g, 14.44 mmol, 1 당량), 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(8 g, 17.33 mmol, 1.2 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10.35 g, 31.78 mmol, 2.2 당량)의

혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 10 mL를 첨가하여 퀀칭시켰다. 혼합물을 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하고, 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1)로 정제하여 화합물 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(6 g, 9.81 mmol, 67.89% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0772] **단계 3:**

[0773] DCM(50 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(5.5 g, 8.99 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(23.10 g, 202.59 mmol, 15 mL, 22.54 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고, EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1 내지 에틸 아세테이트/MeOH = 3/1)로 정제하여 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸](2S)-4-하이드록시 피롤리딘-2-카르복실레이트(2.5 g, 4.52 mmol, 64.45% 수율, 85% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0774] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.45-4.47 (m, 1H), 4.02-4.18 (m, 3H), 2.99-3.19 (m, 2H), 2.29-2.31 (m, 4H), 2.07-2.27 (m, 1H), 2.05-2.06 (m, 1H), 1.61-1.66 (m, 4H), 1.50-1.52 (m, 4H), 1.26-1.35 (m, 30H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

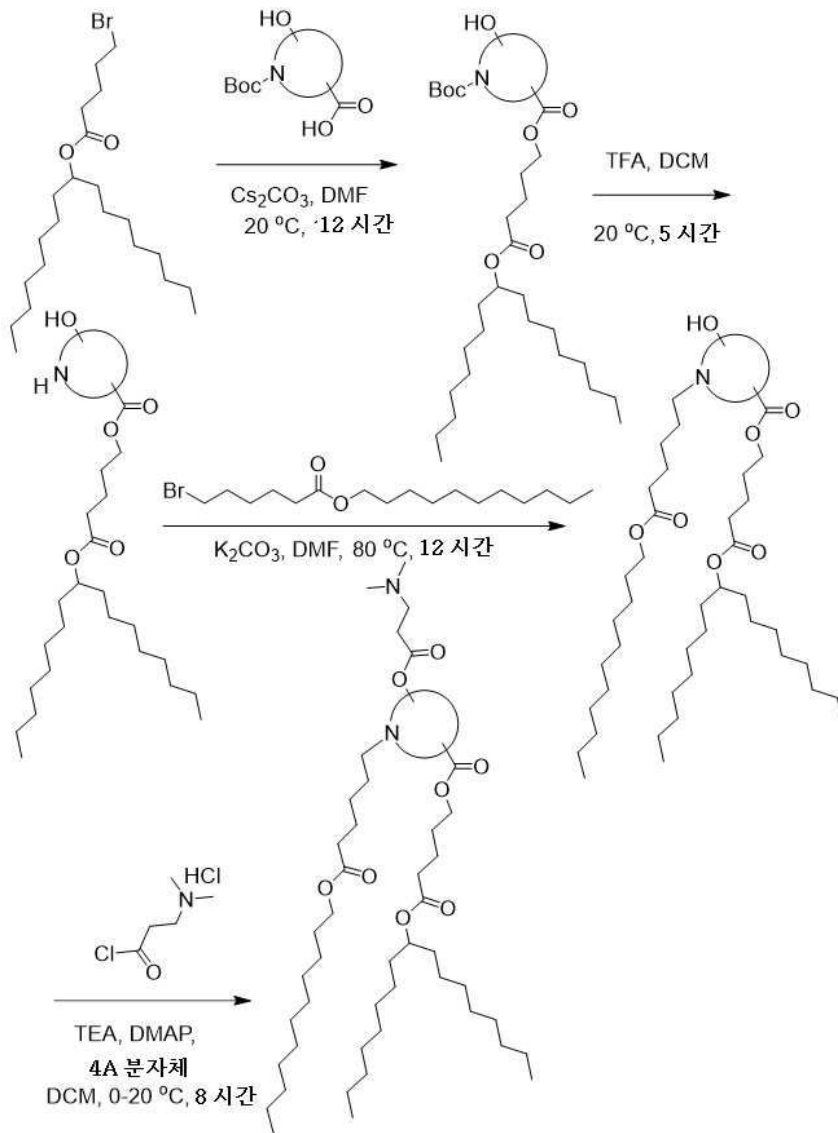
[0775] **단계 4:**

[0776] DMF(20 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 3.91 mmol, 1 당량), 운데실 6-브로모헥사노에이트(1.64 g, 4.69 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.62 g, 11.72 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O= 10/1/1 내지 1/1/0.5)로 정제하여 **2270** [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데코시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(3 g, 3.85 mmol, 98.39% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0777] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.49-4.52 (m, 1H), 4.04-4.39 (m, 5H), 3.05-3.66 (m, 2H), 2.48-2.69 (m, 2H), 1.94-2.32 (m, 6H), 1.60-1.66 (m, 8H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.27-1.34 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 780.5 @ 2.889분.

[0778] **실시예 5. 예시적인 이온화 가능 지질 화합물의 합성을 위한 일반 반응 방식**

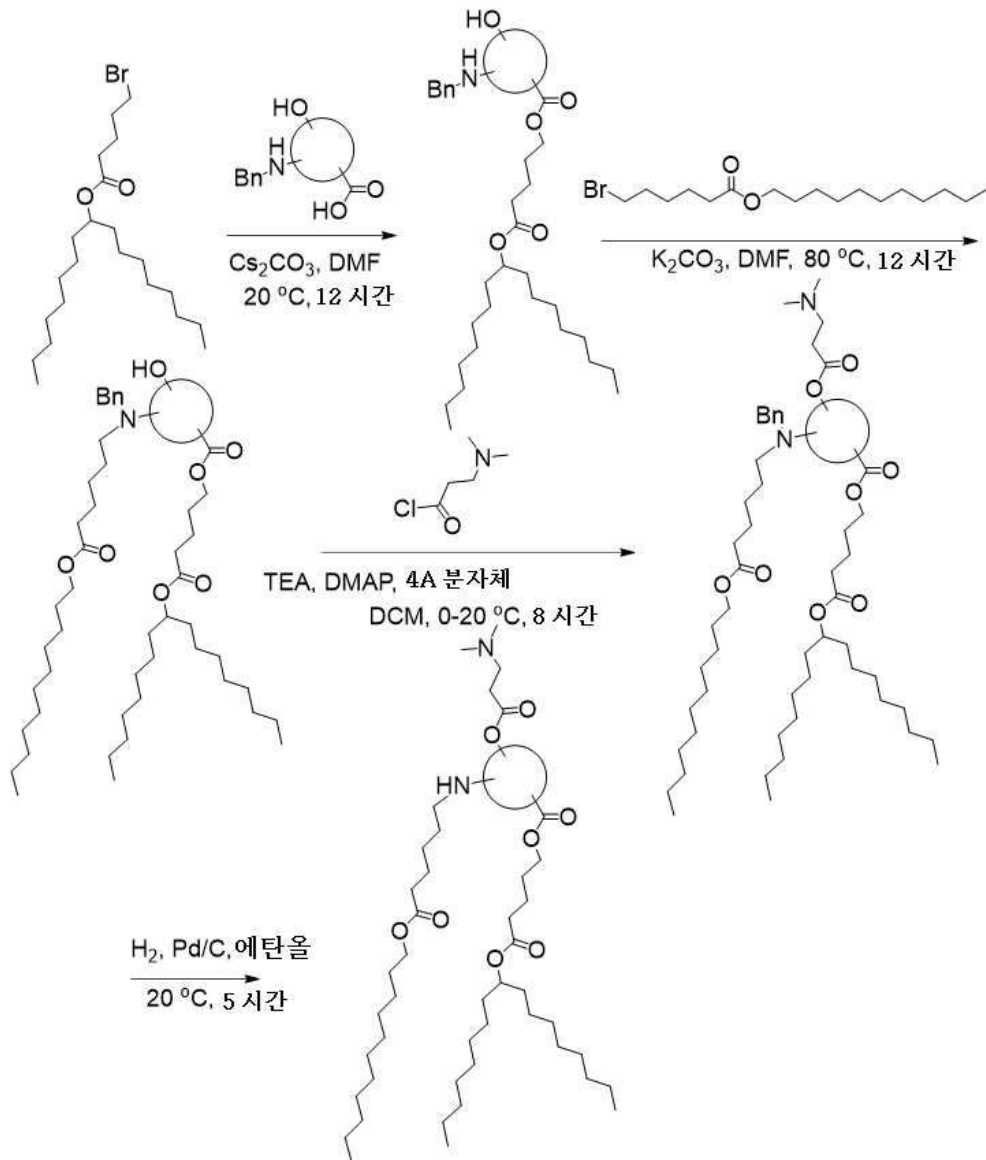
[0779] 헤테로환형 코어 구조(예: N-함유 코어)를 함유하는 예시적인 이온화 가능 지질 화합물의 합성을 위한 일반 반응 방식은 방식 1에 나타나 있다.



[0780]

[0781] 방식 1

[0782] 시클로알킬 코어 구조를 함유하는 예시적인 이온화 가능 지질 화합물의 합성을 위한 일반 반응 방식은 방식 2에 나타나 있다.

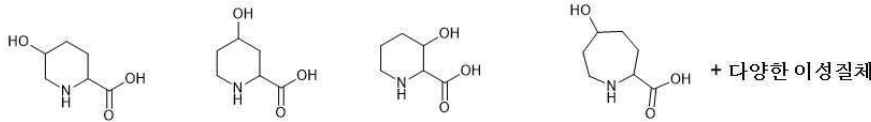


[0783]

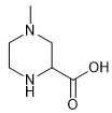
[0784] 방식 2

[0785] 방식 1 또는 2에서, 예시적인 이온화 가능 지질 화합물을 제조하기 위한 대안적인 출발 헤테로환형 또는 시클로알킬 코어 구조에 대한 비제한적인 예가 방식 3에 나타나 있다.

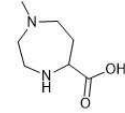
헤테로환형 코어용 예시적인 출발 화합물



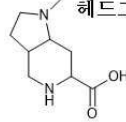
알킬 또는 아마이드 연결에 의한  
헤드그룹 또는 꼬리



알킬 또는 아마이드 연결에 의한  
헤드그룹 또는 꼬리

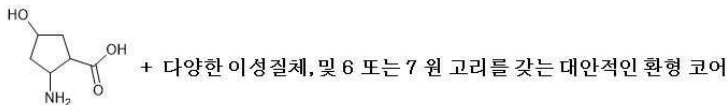


알킬 또는 아마이드 연결에 의한  
헤드그룹 또는 꼬리



+ 다양한 이성질체, 및 5,5 또는 5,6 원 고리를  
갖는 대안적인 이환 코어

시클로알킬 코어용 예시적인 출발 화합물



[0786]

[0787]

[0788]

[0789]

[0790]

방식 3

실시예 6. 치료 물질을 갖거나 갖지 않는 지질 나노입자 조성물의 제조

**예시적인 지질 나노입자 조성물.**

예시적인 지질 나노입자 조성물을 제조하여 이온화 가능 지질:구조적 지질:스테롤:PEG-지질을 각각 50:10:38.5:1.5의 몰비로 생성하였다. 예를 들어, 본 실시예에서 예시적인 지질 나노입자 조성물은 아래 차트에 나타나 있다. 각각의 예시적인 지질 나노입자 조성물에 사용된 예시적인 이온화 가능 지질은 화합물 2230, 2231, 2260, 및 2270(LNP 2230, LNP 2231, LNP 2260, LNP 2270)이었다.

지질	몰비
예시적인 이온화 가능 지질	50
DSPC	10
콜레스테롤	38.5
DMPE-PEG2k	1.5

[0791]

[0792]

[0793]

[0794]

이들 조성물을 제조하기 위해, 상기 차트에 따른 지질을 에탄올에 용해시키고, 상기 몰비로 혼합하고, 에탄올(유기상)에 희석하여 5.5 mM의 총 지질 농도를 획득하였다.

**비교 지질 나노입자 조성물.**

대조군으로서 C12-200(LNP C12-200)을 함유하는 지질 나노입자 조성물을 제조하여 C12-200:DOPE:콜레스테롤(14:0): DMPE-PEG2k)를 각각 35:16:46.5:2.5의 몰비로 생성하였다. C12-200은 상업적으로 이용 가능한 이온화 가능 지질이었고, 화학명은 1,1'-((2-(4-(2-((2-(비스(2-하이드록시도데실)아미노)에틸)(2-하이드록시도데실)아미노)에틸)피페라진-1-일)에틸)아자네디일)비스(도데칸-2-올)이다. 지질을 에탄올에 용해시켰다. 이들 지질을 상기 표시한 몰비로 혼합하고, 에탄올(유기상)에 희석하여 5.5 mM의 총 지질 농도를 획득한다.

[0795]

대조군으로서 MC3(LNP MC3)을 함유하는 또 다른 지질 나노입자 조성물을 제조하여 MC3:DSPC:콜레스테롤: 14:0 DMPE-PEG2k를 각각 50:38.5:10:1.5의 몰비로 생성하였다. MC3은 (6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아코트-6,9,28,31-테트라엔-19-일 4-(디메틸아미노)부타노에이트의 화학명을 갖는 상업적으로 이용 가능한 이온화 가능 지질이었다. 지질을 에탄올에 용해시킨다. 지질을 에탄올에 용해시켰다. 이들 지질을 상기 표시한 몰비로 혼합하고, 에탄올(유기상)에 희석하여 5.5 mM의 총 지질 농도를 획득한다.

[0796]

**mRNA를 캡슐화하는 지질 나노입자 조성물.**

[0797]

mRNA 용액(수상, fluc:EPO mRNA)을 RNase-무함유 물 및 100 mM 구연산염 완충액(pH는 3)으로 제조하여 최종적

으로 50 mM 농도의 구연산염 완충액 및 0.167 mg/mL 농도의 mRNA(1:1 Fluc:EPO)를 수득하였다. 제형을 mRNA에 대한 이온화 가능 지질 비율로 유지시켰으며, LNP C12-200 대조군의 경우 이온화 가능 지질 질소:mRNA 인산염 (N:P) 비율이 15:1 이었고, 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2230, LNP 2231, LNP 2260, LNP 2270) 및 LNP MC3 대조군의 경우 이온화 가능 지질 질소:mRNA 인산염(N:P) 비율이 6:1 이었다.

[0798] 각각의 LNP 조성물의 경우, 지질 혼합물과 mRNA 용액을 각각 1:3의 부피비로 NanoAssemblr Ignite(Precision Nanosystems) 상에서 9 mL/분의 총 유속으로 혼합하였다. 그런 다음, 생성된 조성물을 Slide-A-Lyzer G2 투석 카세트(10k MWCO) 내로 로딩하고, 2시간 동안 실온에서 부드럽게 교반하면서 샘플 부피의 200배의 1xPBS로 투석하였다. PBS를 새로 갈고, 조성물을 4°C에서 적어도 14시간 동안 부드럽게 교반하면서 추가로 투석하였다. 그런 다음, 투석된 조성물을 수집하고 Amicon Ultra 원심분리 필터(100k MWCO)를 사용하여 2000xg에서 원심분리하여 농축시켰다. 농축된 입자를 Zetasizer Ultra(Malvern Panalytical)를 사용하여 크기, 다분산성, 및 입자 농도에 대해 특성 분석하고, Quant-iT RiboGreen RNA 검정 키트(ThermoFisher Scientific)를 사용하여 mRNA 캡슐화 효율에 대해 특성 분석하였다.

[0799] pKa 측정을 위해 그 전체가 참조로서 본원에 통합된, Sabnis 등의 문헌[Molecular Therapy, 26(6):1509-19]에 기술된 바에 따라 TNS 검정을 수행하였다. 간략하게, 1M 수산화나트륨 및 1M 염산을 사용하여 3.0 내지 12.0 범위의 고유의 pH 값을 갖는 20개의 완충액(증류수 중 10 mM 인산나트륨, 10 mM 붕산나트륨, 10 mM 구연산나트륨, 및 150 mM 염화나트륨)을 제조하였다. 96-웰 흑색 플레이트에서 3.25 µL의 LNP 조성물(PBS 중 0.04 mg/mL의 mRNA)을 2 µL의 TNS 시약(DMSO 중 0.3 mM) 및 (전술한) 각각의 pH 값에 대해 90 µL의 완충액과 함께 인큐베이션하였다. 각각의 pH 조건을 삼중 웰에서 수행하였다. TNS 형광은 321/445 nm의 여기/방출 파장에서 Biotek Cytation Plate 판독기를 사용하여 측정되었다. 그런 다음, 형광 값을 도표화하고 4-과라미터 시그모이드 곡선(sigmoid curve)을 사용하여 피팅하였다. 피팅으로부터 반치 최대(half-maximal) 형광을 산출하는 pH 값을 계산하고 겐보기 LNP pKa 값으로서 보고하였다.

[0800] 각각의 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2230, LNP 2231, LNP 2260, LNP 2270)에 대한 입자 특성 분석 데이터를 아래 표에 나타내었다.

LNP	크기(nm)	PDI	포획 효율 (%)	pKa
2230	87.57	0.10	92.4	4.84
2260	62.62	0.14	90	4.72
2270	68.41	0.02	88.7	4.85
2231	91.57	0.05	93.9	5.03

[0801]

**실시예 7. 생체 내 생물발광 영상화**

[0802]

[0803] mRNA(EPO)를 캡슐화하는 실시예 6에 따라 제조된 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2230, LNP 2231, LNP 2260, LNP 2270) 및 비교 지질 나노입자 조성물(LNP C12-200 및 LNP MC3)을 본 실시예에서 사용하였다.

[0804]

생물발광 스크리닝.

[0805]

8주령 내지 9주령 암컷 Balb/c 마우스를 생물발광 기반 이온화 가능 지질 스크리닝 활동에 사용하였다. 마우스를 Jackson Laboratories(JAX Stock: 000651)로부터 수득하여 조작 전 일주일 동안 적응시켰다. 동물을 구속 챔버에 도입하기 전에 몇 분 동안 가열 램프 아래에 두었다. 꼬리를 알코올 패드(Fisher Scientific)로 닦고, 전술한 각각의 LNP 조성물에 대해, 10 µg의 총 mRNA(5 µg Fluc + 5 µg EPO)를 함유하는 100 µL의 지질 나노입자 조성물을 29G 인슐린 주사기(Covidien)를 사용하여 정맥내 주사하였다. 투여 후 4 내지 6시간차에, 동물에게 200 µL의 15 mg/mL D-Luciferin(GoldBio)을 주사하고, IVIS Lumina LT 이미저(PerkinElmer) 내부의 세트 노즈 콘(set nose cone)에 넣었다. 영상화를 위해 LivingImage 소프트웨어를 사용하였다. 자동 노출로 전신 생물발광을 포착한 후, 동물을 IVIS에서 꺼내어 안락사를 위해 CO<sub>2</sub> 챔버에 넣었다. 각 동물을 등을 대고 놓힌 후 심장 천자를 수행하였고, 25G 인슐린 주사기(BD)를 사용하여 채혈을 수행하였다. 모든 혈액 샘플을 수집한 후, 후속 EPO 정량화를 위해 탁상 원심분리기를 사용하여 튜브를 2000G에서 10분 동안 회전시키고, 혈장을 개별 Eppendorf 튜브(Fisher Scientific)에 분취하고 -80°C에서 보관하였다. EPO MSD 키트(Meso Scale Diagnostic s)를 사용하여 혈장 내 EPO 수준을 결정하였다.

- [0806] hEPO MSD 측정.
- [0807] hEPO 수준을 측정하는 데 사용된 시약은 다음을 포함하였다:
- [0808] · MSD 세척 완충액 (#R61AA-1)
- [0809] · MSD EPO 키트(#K151VXK-2)
- [0810] ○ MSD GOLD 96 Small Spot Streptavidin 플레이트
- [0811] ○ 희석제 100
- [0812] ○ 희석제 3
- [0813] ○ 희석제 43
- [0814] ○ 캘리브레이터(Calibrator) 9
- [0815] ○ 포획 Ab
- [0816] ○ 검출 Ab
- [0817] ○ MSD GOLD Read Buffer B
- [0818] 일반 절차. 플레이트를 코팅하였다. 200  $\mu$ L의 비오티닐화된 포획 항체를 3.3 mL의 희석제 100에 첨가하고, 와류에 의해 혼합하였다. 25  $\mu$ L의 상기 용액을 제공된 MSD GOLD Small Spot Streptavidin 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 접착 플레이트 밀봉재(seal)로 밀봉하고, 실온에서 1시간 동안 또는 2 내지 8°C에서 밤새 진탕하면서 인큐베이션하였다. 플레이트를 적어도 150  $\mu$ L/웰의 1X MSD 세척 완충액으로 3회 세척하였다.
- [0819] 캘리브레이터 표준의 제조. 캘리브레이터 바이알(들)을 실온에 두었다. 250  $\mu$ L의 희석제 43을 유리 바이알에 첨가하여 캘리브레이터의 각 바이알을 재구성하여, 캘리브레이터의 5배 농축 스톱을 생성하였다. 재구성된 캘리브레이터를 적어도 3회 뒤집고, 실온에서 15 내지 30분 동안 평형화시킨 다음, 잠시 와류시켰다. 50  $\mu$ L의 재구성된 캘리브레이터를 200  $\mu$ L의 희석제 43에 첨가하고 와류시켜 캘리브레이터 표준 1을 제조하였다. 75  $\mu$ L의 캘리브레이터 표준 1을 225  $\mu$ L의 희석제 43에 첨가하고 와류시켜 캘리브레이터 표준 2를 제조하였다. 4배 연속 희석물을 5회 추가로 반복하여 총 7개의 캘리브레이터 표준을 생성하였다. 각 연속 희석물 간에 와류시켜 혼합한다. 희석제 43을 캘리브레이터 표준 8(제로 캘리브레이터)로서 사용하였다.
- [0820] 샘플 및 캘리브레이터 첨가. 25  $\mu$ L의 희석제 43을 각 웰에 첨가하였다. 25  $\mu$ L의 제조된 캘리브레이터 표준 또는 샘플을 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 접착 플레이트 밀봉재로 밀봉하고, 실온에서 1시간 동안 진탕하면서 인큐베이션하였다.
- [0821] 검출 항체 용액의 제조 및 첨가. 검출 항체 용액을 100x 스톱 용액으로서 제공하였다. 작업 용액은 1x였다. 공급된 100x 검출 항체의 60  $\mu$ L를 5940  $\mu$ L의 희석제 3에 첨가하였다. 플레이트를 적어도 150  $\mu$ L/웰의 1x MSD 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 위에서 제조한 50  $\mu$ L의 검출 항체 용액을 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 접착 플레이트 밀봉재로 밀봉하고, 실온에서 1시간 동안 진탕하면서 인큐베이션하였다.
- [0822] 샘플 판독. 플레이트를 적어도 150  $\mu$ L/웰의 1x MSD 세척 완충액으로 3회 세척하였다. 150  $\mu$ L의 MSD GOLD Read Buffer B를 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 MSD 기기에서 분석하여 EPO 수준을 판독하였다.
- [0823] 각각의 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2230, LNP 2231, LNP 2260, LNP 2270)에 대한 생체 내 생물발광 영상화에 의해 결정된 평균 방사율 수준은 아래 표에 나타나 있다.

LNP	생물발광			hEPO
	간	비장	폐	
2230	6.62E+05	1.61E+06	1.02E+04	1.22E+05
2260	6.13E+03	9.73E+03	1.17E+03	2.16E+02
2270	3.02E+03	6.45E+03	1.13E+03	9.09E+01
2231	4.22E+05	3.77E+06	1.83E+04	4.70E+04

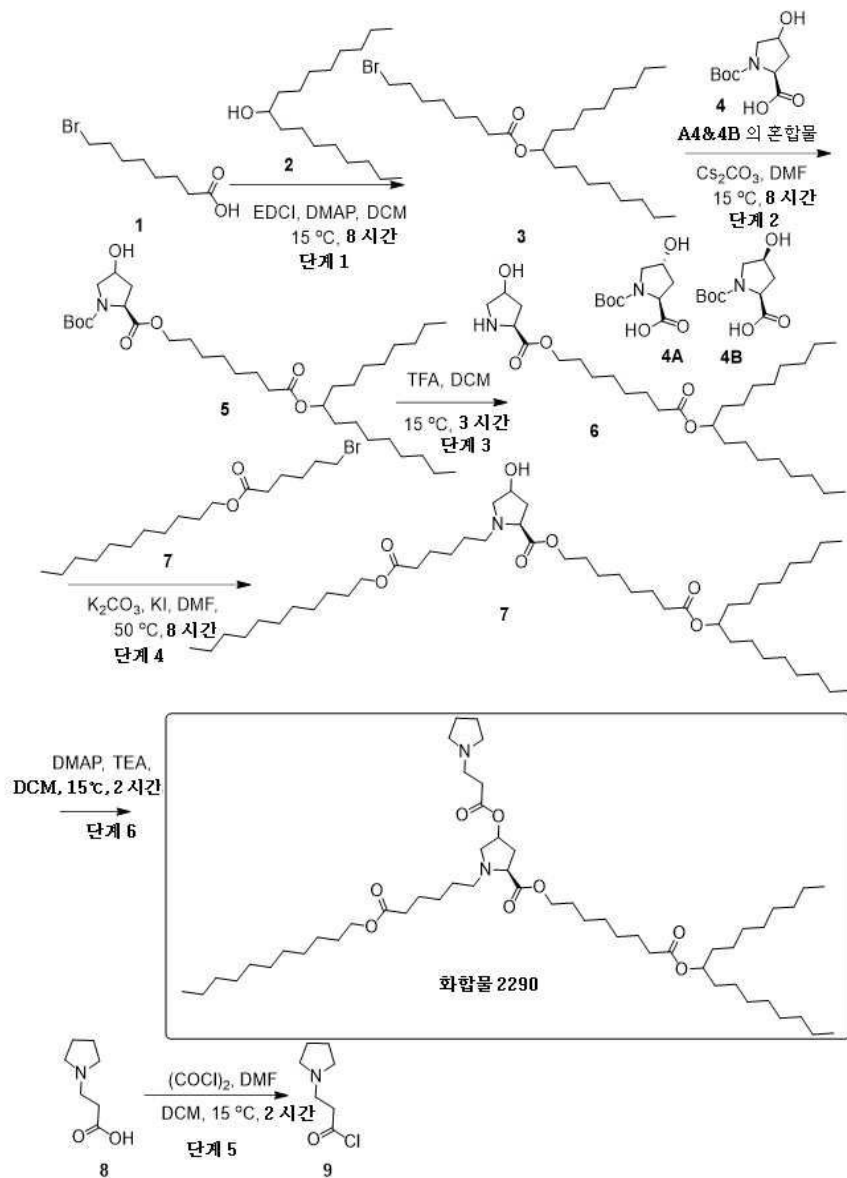
[0824]

[0825] 비교 지질 나노입자 조성물(LNP C12-200, LNP MC3)과 비교했을 때, 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2230, LNP 2231)에 대한 평균 방사율의 비장:간 비율을 결정하였고, 그 결과를 도 1에 나타냈다. 도면에 도시된 바와 같이, 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2230, LNP 2231)은 비장 대 간 비율에서 비교 지질 나노입자 조성물(LNP C12-200, LNP MC3)보다 상당히 높은 비율을 나타냈으며(>> 1 대 << 0.1), 이는 비교 지질 나노입자 조성물에서는 주로 간에 의한 표준 전달이 나타나는 데 비해, 예시적인 지질 나노입자 조성물에서는 간 전달에 더하여 비장 전달이 놀랍게도 높게 나타난다는 것을 뜻한다.

[0826] 따라서, 본원에 기술된 신규한 이온화 가능 지질을 적용하는 지질 나노입자는 간 외부에서의 치료 물질의 선택적 전달을 보여주었으며, 간에서의 지질 수준이 더 낮기 때문에, 간 독성이 더 낮을 것으로 예상된다.

[0827] 실시예 8: 예시적인 이온화 가능 지질 화합물의 합성.

[0828] 8.1. 화합물 2290의 합성



[0829]

[0830] 단계 1:

[0831] DCM(100 mL) 중 8-브로모옥탄산(4.35 g, 19.50 mmol, 1 당량) 및 헵타데칸-9-올(5g, 19.50 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(4.48 g, 23.39 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(1.19 g, 9.75 mmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15 °C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 200 mL H<sub>2</sub>O를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 400 mL(200 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아

세테이트 = 1/0 내지 20/1)로 정제하여 노닐 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(35 g, 75.83 mmol, 97.24% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0832]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.90 (m, 1H), 3.41 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H), 2.29 (t,  $J=7.6$  Hz, 2 H), 1.82-1.88 (m, 2H), 1.62-1.65 (m, 2H), 1.42-1.52 (m, 6H), 1.25-1.36 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=7.2$  Hz, 6H).

[0833] 단계 2:

[0834] DMF(10 mL) 중 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(1 g, 2.17 mmol, 1.2 당량), (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(417.51 mg, 1.81 mmol, 1 당량),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.29 g, 3.97 mmol, 2.2 당량)의 혼합물을 탈기하고  $\text{N}_2$ 로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서 15°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  50 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL(50 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 3/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4.55 g, 7.44 mmol, 82.37% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0835]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.18-4.52 (m, 3H), 4.06-4.10 (m, 1H), 3.42-3.72 (m, 2H), 2.21-2.39 (m, 3H), 2.07-2.11 (m, 1H), 1.25-1.67 (m, 48H), 0.88 (t,  $J=6.8$  Hz, 6H).

[0836] 단계 3:

[0837] DCM(30 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4.5 g, 7.35 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(23.10 g, 202.59 mmol, 15 mL, 27.55 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{NaHCO}_3$  60 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL(50 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(3.76 g, 7.35 mmol, 100.00% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0838] 단계 4:

[0839] DMF(40 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 3.91 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-브로모헥사노에이트(1.64 g, 4.69 mmol, 1.2 당량)의 용액에  $\text{K}_2\text{CO}_3$ (1.62 g, 11.72 mmol, 3 당량) 및 KI(324.37 mg, 1.95 mmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  50mL를 첨가하여 퀴칭하고 EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL(50 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 1/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.6 g, 2.05 mmol, 52.48% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0840]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.86-4.90 (m, 1H), 4.24-4.53 (m, 1H), 4.04-4.15 (m, 4H), 2.99-3.69 (m, 2H), 1.84-2.84 (m, 8 H), 1.59-1.68 (m, 8H), 1.45-1.54 (m, 6H), 1.15-1.44 (m, 50H), 0.89 (t,  $J=7.8$  Hz, 9H).  
LCMS:( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 780.4 @ 13.579분.

[0841] 단계 5:

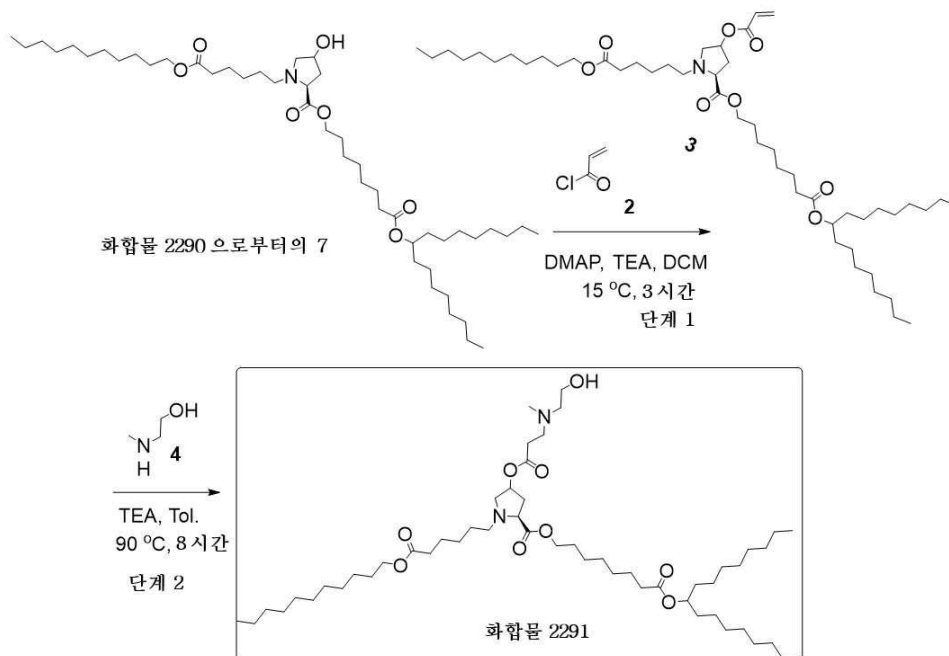
[0842] DCM(5 mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(100 mg, 698.41  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (443.23 mg, 3.49 mmol, 305.68  $\mu\text{L}$ , 5 당량) 및 DMF(5.10 mg, 69.84  $\mu\text{mol}$ , 5.37  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(138 mg, 696.65  $\mu\text{mol}$ , 99.75% 수율, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0843] 단계 6:

[0844] DCM(3 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 256.34  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), TEA(77.82 mg, 769.03  $\mu\text{mol}$ , 107.04  $\mu\text{L}$ , 3 당량), 및 DMAP(15.66 mg, 128.17  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량)의 현탁액에 DCM(1 mL) 중 [3-피롤리딘-1-일프로파노일 염화물(126.95 mg, 640.85  $\mu\text{mol}$ , 2.5 당량, HCl)을 15°C에서 적가하였다. 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서 15°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 포화  $\text{NaHCO}_3$  10 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-TLC( $\text{SiO}_2$ , EtOAc:MeOH = 10:1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)-4-(3-피롤리딘-1-일프로파노일옥시)피롤리딘-2-카복실레이트(100 mg, 108.24  $\mu\text{mol}$ , 49.00% 수율, 98% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0845]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.19-5.31 (m, 1H), 4.84-4.89 (m, 1H), 4.04-4.15 (m, 4H), 3.43-3.55 (m, 1H), 3.09-3.26 (m, 1H), 2.49-2.81 (m, 10H), 2.24-2.36 (m, 5H), 1.95-2.22 (m, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.59-1.68 (m, 8H), 1.44-1.54 (m, 6H), 1.12-1.42 (m, 50H), 0.85-0.93 (m, 9H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 905.4 @ 1.950/2.035분.

[0846] 8.2. 화합물 2291의 합성



[0847]

[0848] 단계 1:

[0849] DCM(9 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 1.28 mmol, 1 당량), TEA(648.47 mg, 6.41 mmol, 891.99  $\mu\text{L}$ , 5 당량) 및 DMAP(78.29 mg, 640.85  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량)의 현탁액에 DCM(3 mL) 중 프로프-2-에노일 염화물(464.02 mg, 5.13 mmol, 418.04  $\mu\text{L}$ , 4 당량)의 용액을 적가하였다. 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서 15°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  10 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 8/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)-4-프로프-2-에노일옥시-피롤리딘-2-카르복실레이트(300 mg, 359.60  $\mu\text{mol}$ , 28.06% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

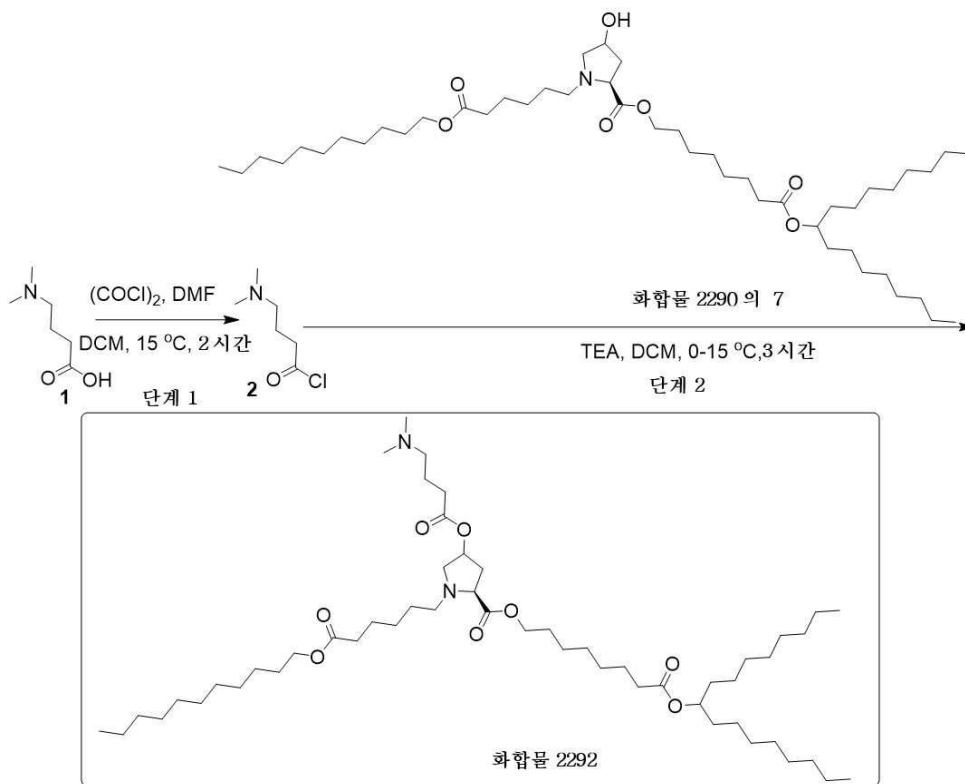
[0850] 단계 2:

[0851] 톨루엔(3 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)-4-프로프-2-에노일옥시-피

롤리딘-2-카르복실레이트(300 mg, 359.60  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), 2-(메틸아미노)에탄올(27.01 mg, 359.60  $\mu\text{mol}$ , 28.89  $\mu\text{L}$ , 1 당량)의 혼합물을 탈기하고  $\text{N}_2$ 로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서 90°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액을 포화  $\text{NaHCO}_3$ 으로 pH는 약 7로 조정하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-[2-하이드록시에틸(메틸)아미노]프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(30 mg, 32.59  $\mu\text{mol}$ , 9.06% 수율, 98.8% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0852]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.15-5.31 (m, 1H), 4.81-4.93 (m, 1H), 4.01-4.18 (m, 4H), 3.39-3.72 (m, 3H), 3.04-3.31 (m, 1H), 1.97-2.88 (m, 18H), 1.59-1.66 (m, 8H), 1.47-1.55 (m, 6H), 1.23-1.38 (m, 48H), 0.84-0.95 (m, 9H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 909.7 @ 9.772분.

[0853] 8.3. 화합물 2292의 합성



[0854]  
[0855] 단계 1:

[0856] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(100 mg, 651.01  $\mu\text{mol}$ , 1 당량, HCl)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (354.59 mg, 2.79 mmol, 244.55  $\mu\text{L}$ , 4 당량) 및 DMF(5.10 mg, 69.84  $\mu\text{mol}$ , 5.37  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(112 mg, 650.96  $\mu\text{mol}$ , 99.99% 수율, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

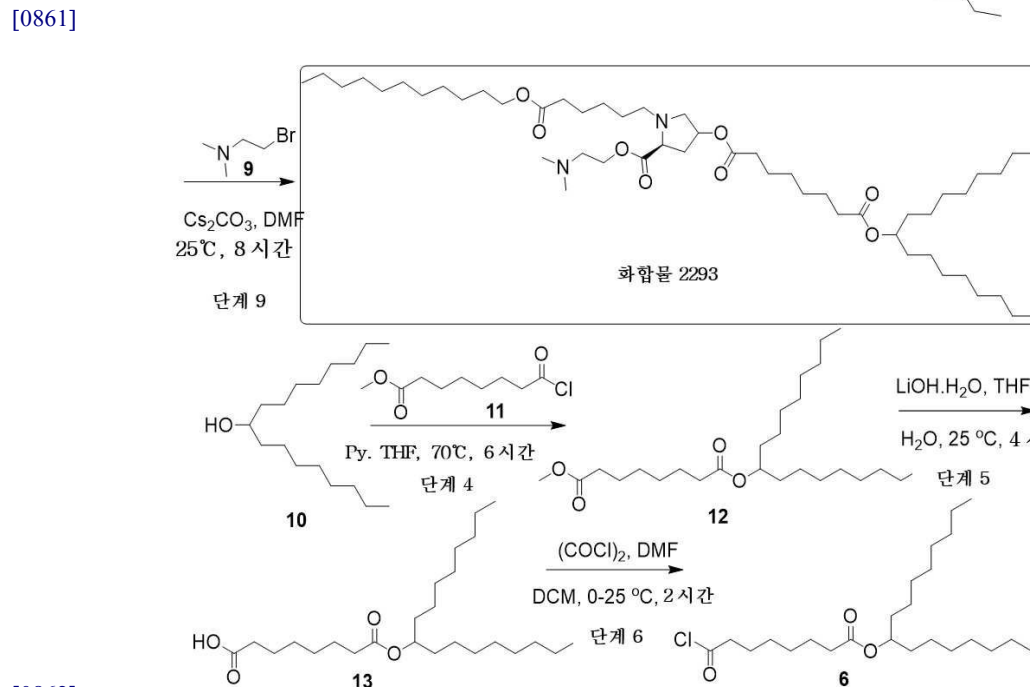
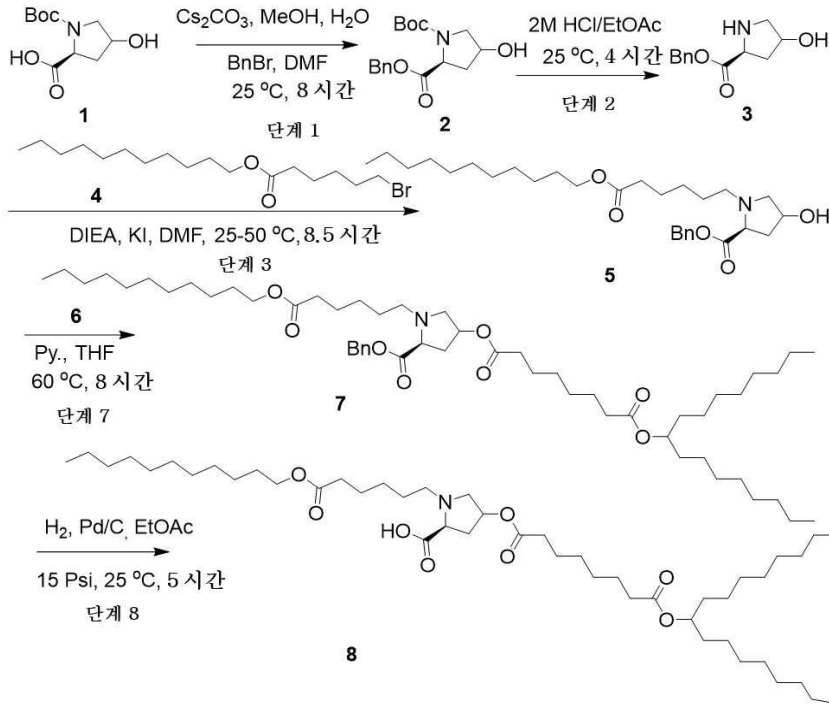
[0857] 단계 2:

[0858] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 256.34  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)의 용액에 TEA(129.69 mg, 1.28 mmol, 178.40  $\mu\text{L}$ , 5 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(112 mg, 650.96  $\mu\text{mol}$ , 2.54 당량, HCl)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{NaHCO}_3$  10 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-TLC( $\text{SiO}_2$ , EtOAc:MeOH = 10:1)로 정제하여 [8-(1-옥틸

노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-[4-(디메틸아미노)부타노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(33 mg, 36.42  $\mu$ mol, 14.7% 수율, 98.6% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0859]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.11-5.34 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.03-4.14 (m, 4H), 3.43-3.54 (m, 1H), 3.09-3.25 (m, 1H), 2.03-2.77 (m, 19H), 1.77-1.82 (m, 2H), 1.60-1.65 (m, 8H), 1.49-1.52 (m, 6H), 1.27-1.34 (m, 48H), 0.87-0.90 (m, 9H). **LCMS**: (M/2+1): 893.4 @ 10.022분.

[0860] 8.4. 화합물 2293의 합성



[0862]  
[0863] 단계 1:

[0864] MeOH(50 mL) 및 H<sub>2</sub>O(20 mL) 중 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(10 g, 43.24 mmol, 1 당량)의 용액을 탄산 디세슘(8.45 g, 25.95 mmol, 0.6 당량)으로 pH는 7.0으로 조정하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 DMF(100 mL)에서 용해하고, 그런 다음 BnBr(7.40 g, 43.24

mmol, 5.14 mL, 1 당량)을 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 50 mL로 희석하고 EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 8/1 내지 2/1)로 정제하여 02-벤질 01-터트-부틸 (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(13 g, 40.45 mmol, 93.54% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0865] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.31-7.40 (m, 5H), 4.99-5.16 (m, 3H), 4.23-4.29 (m, 2H), 3.35-3.55 (m, 1H), 3.10-3.30 (m, 1H), 2.10-2.40 (m, 1H), 1.80-1.90 (m, 1H), 1.20-1.40 (m, 9H).

[0866] 단계 2:

[0867] EtOAc(80 mL) 중 02-벤질 01-터트-부틸 (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(13 g, 40.45 mmol, 1 당량)의 용액에 HCl/EtOAc(4 M, 80 mL, 7.91 당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 잔류물을 수집하고 감압 하에 농축시켜 벤질 (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(9 g, 34.92 mmol, 86.33% 수율, HCl)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0868] 단계 3:

[0869] DMF(70 mL) 중 벤질 (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 3.88 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DIEA(1.00 g, 7.76 mmol, 1.35 mL, 2 당량)를 25℃에서 첨가하고, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 0.5시간 동안 교반하였다. 혼합물에 운데실 6-브로모헥사노에이트(1.36 g, 3.88 mmol, 1 당량) 및 KI(128.83 mg, 776.06 μmol, 0.2 당량)를 첨가하고, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 50 mL로 희석하고 EtOAc 300 mL(150 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 200 mL(100 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 5/1)로 정제하여 벤질 (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(2.8 g, 5.72 mmol, 49.12% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0870] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.25-7.55 (m, 5H), 5.14-5.25 (m, 2H), 4.25-4.48 (m, 1H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.15-3.65 (m, 2H), 2.55-2.75 (m, 1H), 2.40-2.55 (m, 1H), 2.30-2.40 (m, 1H), 2.20-2.30 (m, 2H), 2.05-2.15 (m, 1H), 1.90-2.00 (m, 1H), 1.55-1.75 (m, 4H), 1.40-1.50 (m, 2H), 1.20-1.35 (m, 18H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 3H).

[0871] 단계 4:

[0872] THF(20 mL) 중 메틸 8-클로로-8-옥소-옥타노에이트(3.22 g, 15.60 mmol, 2.21 mL, 1 당량), 헵타데칸-9-올(4 g, 15.60 mmol, 1 당량), 및 피리딘(1.23 g, 15.60 mmol, 1.26 mL, 1 당량)의 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 70℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 20/1)로 정제하여 01-메틸 08-(1-옥틸노닐) 옥탄디오에이트(3.6 g, 8.44 mmol, 54.10% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

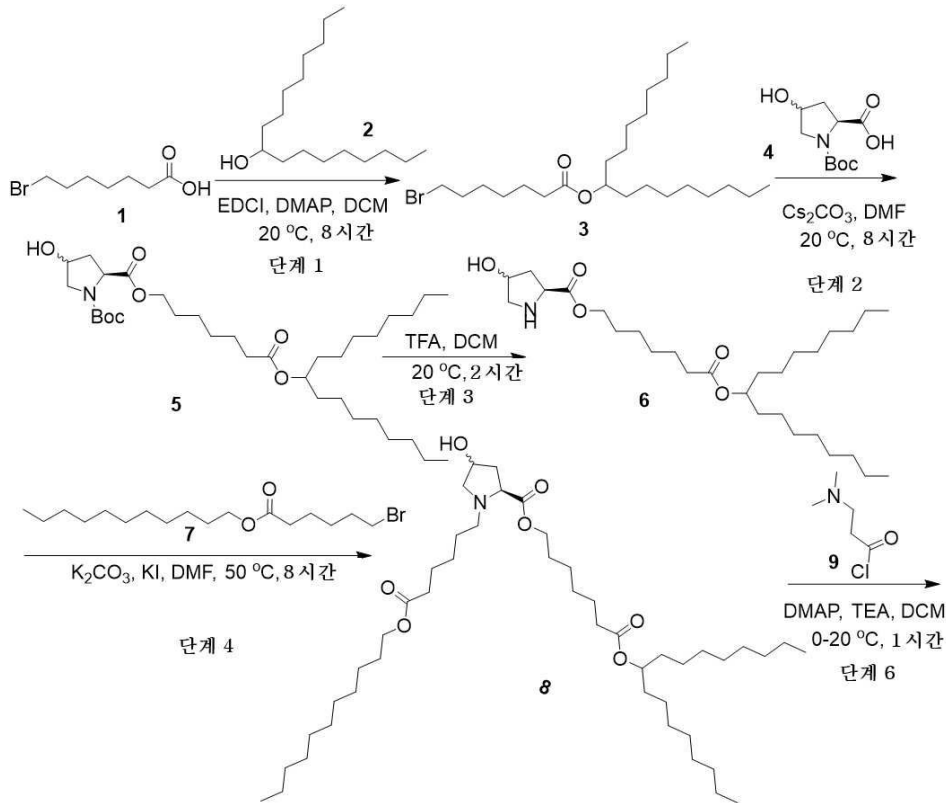
[0873] 단계 5:

[0874] THF(15 mL) 중 01-메틸 08-(1-옥틸노닐) 옥탄디오에이트(3.6 g, 8.44 mmol, 1 당량)의 용액에 H<sub>2</sub>O(1 mL) 중 LiOH.H<sub>2</sub>O(424.88 mg, 10.12 mmol, 1.2 당량)를 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 500 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(30 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1)로 정제하여 8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥탄산(2.1 g, 5.09 mmol, 60.32% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

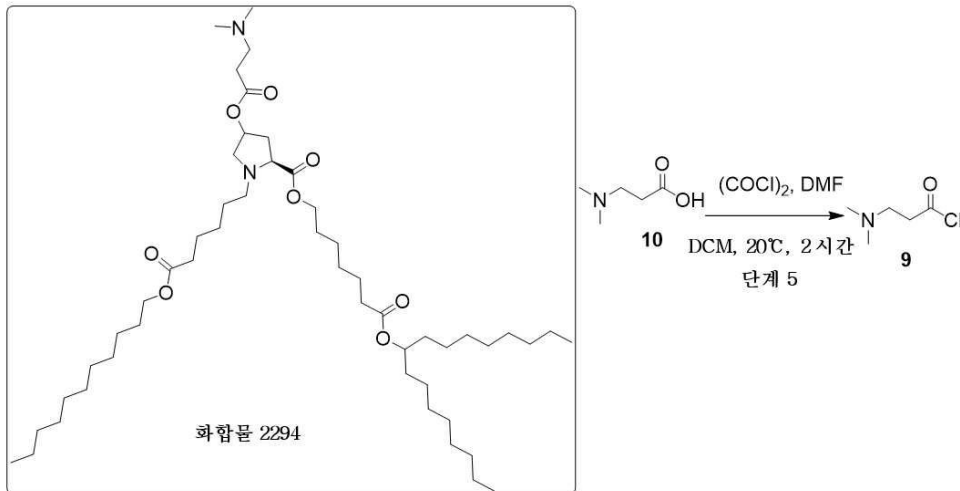
[0875] 단계 6:

- [0876] DCM(25 mL) 중 8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥탄산(2.1 g, 5.09 mmol, 1 당량)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(3.23 g, 25.45 mmol, 2.23 mL, 5 당량) 및 DMF(37.20 mg, 508.91 μmol, 39.15 μL, 0.1 당량)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 메틸 1-옥틸노닐 8-클로로-8-옥소-옥타노에이트(2.3 g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하고, 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.
- [0877] **단계 7:**
- [0878] THF(15 mL) 중 벤질 (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.4 g, 816.85 μmol, 1 당량), 1-옥틸노닐 8-클로로-8-옥소-옥타노에이트(704.27 mg, 1.63 mmol, 2 당량), 및 피리딘(64.61 mg, 816.85 μmol, 65.93 μL, 1 당량)의 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 60℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 10 mL H<sub>2</sub>O로 희석한 다음, EtOAc 60 mL(30 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 01-[(5S)-5-벤질옥시카르보닐-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-3-일] 08-(1-옥틸노닐) 옥탄디오에이트(330 mg, 373.17 μmol, 45.68% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0879] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.31-7.39 (m, 5H), 5.14-5.25 (m, 3H), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.06 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.10-3.55 (m, 2H), 2.20-2.75 (m, 11H), 2.05-2.20 (m, 1H), 1.58-1.75 (m, 6H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.35 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H).
- [0880] **단계 8:**
- [0881] EtOAc(400 mL) 중 Pd/C(500 mg, 10% 순도)의 용액에 01-[(5S)-5-벤질옥시카르보닐-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-3-일] 08-(1-옥틸노닐) 옥탄디오에이트(500 mg, 565.41 μmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>(15 Psi) 하에서 25℃에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 (2S)-4-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥탄오일]옥시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복시산(350 mg, 미정제)을 무색 오일로서 수득하였다.
- [0882] **단계 9:**
- [0883] DMF(5 mL) 중 (2S)-4-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥타노일]옥시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실산(200 mg, 251.83 μmol, 1 당량) 및 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(164.10 mg, 503.66 μmol, 2 당량)의 용액에 2-브로모-N,N-디메틸-에탄아민(45.94 mg, 302.19 μmol, 1.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(10 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1) 및 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 에틸 아세테이트:MeOH = 1:0, 1% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 01-[(5S)-5-[2-(디메틸아미노)에톡시카르보닐]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-3-일] 08-(1-옥틸노닐) 옥탄디오에이트(125 mg, 143.01 μmol, 56.79% 수율, 99% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0884] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.14-5.25 (m, 1H), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.23-4.28 (m, 2H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.10-3.60 (m, 2H), 2.25-2.80 (m, 18H), 2.00-2.10 (m, 1H), 1.58-1.65 (m, 8H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.35 (m, 46H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 865.7 @ 10.196/10.709분.

[0885] 8.5. 화합물 2294의 합성



[0886]



[0887]

[0888] 단계 1:

[0889] DCM(100 mL) 중 헵타데칸-9-올(10 g, 38.99 mmol, 1 당량) 및 7-브로모헵산(8.82 g, 42.17 mmol, 1.08 당량)의 용액에 DMAP(2.38 g, 19.50 mmol, 0.5 당량) 및 EDCI(8.97 g, 46.79 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(50 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(50 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 1-옥타노일 7-브로모헵타노에이트(12 g, 26.81 mmol, 68.77% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0890] 단계 2:

[0891] DMF(50 mL) 중 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(950 mg, 4.11 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 7-브로모헵타노에이트(2.02 g, 4.52 mmol, 1.1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.94 g, 9.04 mmol, 2.2

당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(50 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[7-(1-옥틸노녹시-7-옥소-헵틸) (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카복실레이트 (1.5 g, 2.51 mmol, 61.07% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0892] **단계 3:**

[0893] DCM(30 mL) 및 TFA(6.93 g, 60.78 mmol, 4.50 mL, 25.36 당량) 중 01-터트-부틸 02-[9-(1-옥틸노녹시-9-옥소-노닐) (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카복실레이트(1.5 g, 2.40 mmol, 1 당량)의 용액을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 EtOAc(20 mL)로 용해시키고, 유기층을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(50 mLx4), 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카복실레이트(1 g, 1.90 mmol, 79.36% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0894] **단계 4:**

[0895] DMF(20 mL) 중 [7-(1-옥틸노녹시)-7-옥소-헵틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카복실레이트(0.5 g, 1.00 mmol, 1 당량), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(416.49 mg, 3.01 mmol, 3 당량), 및 KI(83.38 mg, 502.26 μmol, 0.5 당량)의 용액에 운데실 6-브로모헥사노에이트(386.02 mg, 1.10 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고, EtOAc(20 mLx3)로 추출하고, 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하고, 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 55% 내지 85%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. pH는 약 7이 될 때까지 포화 NaHCO<sub>3</sub>을 용액을 첨가하고, EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [7-(1-옥틸노녹시)-7-옥소-헵틸](2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카복실레이트(1 g, 1.31 mmol, 64.96% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0896] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.91 (m, 1H), 4.25-4.55 (m, 1H), 4.04-4.20 (m, 4H), 3.05-3.75 (m, 2H), 1.91-2.85 (m, 9H), 1.60-1.70 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 46H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H).  
LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 766.4 @ 13.405분.

[0897] **단계 5:**

[0898] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(300 mg, 1.95 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(991.60 mg, 7.81 mmol, 683.86 μL, 4 당량) 및 DMF(14.27 mg, 195.30 μmol, 15.03 μL, 0.1 당량)를 첨가하고, 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(336 mg, 1.95 mmol, 99.99% 수율, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하였다.

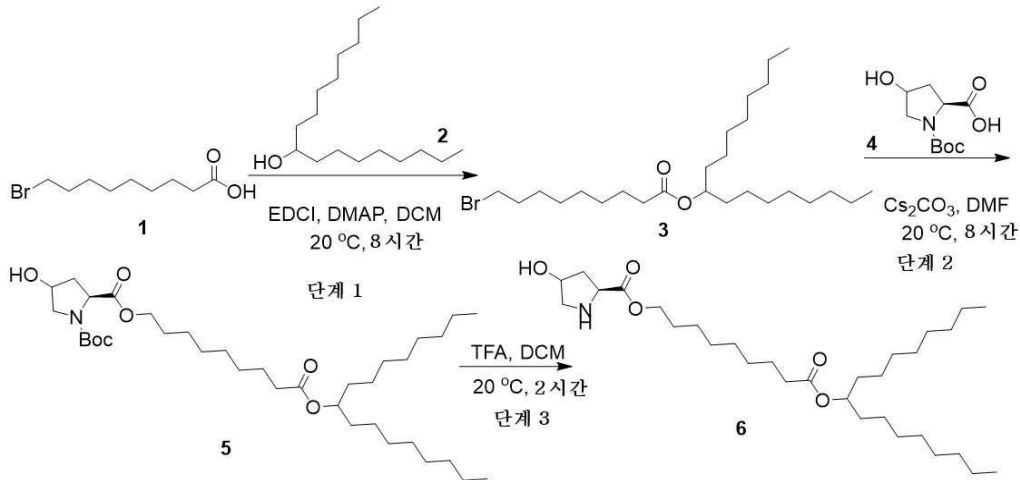
[0899] **단계 6:**

[0900] DCM(10 mL) 중 [7-(1-옥틸노녹시)-7-옥소-헵틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카복실레이트(200 mg, 261.03 μmol, 1 당량), DMAP(15.95 mg, 130.52 μmol, 0.5 당량), 및 TEA(132.07 mg, 1.31 mmol, 181.66 μL, 5 당량)의 용액에 3-(디메틸아미노) 프로판노일 염화물(112.00 mg, 650.96 μmol, 2.49 당량, HCl)을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 0℃에서 첨가한 다음, 혼합물을 20℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하고 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. pH는 약 7이 될 때까지 포화 NaHCO<sub>3</sub>을 용액을 첨가하고, EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [7-(1-옥틸노녹시)-7-옥소-헵틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-

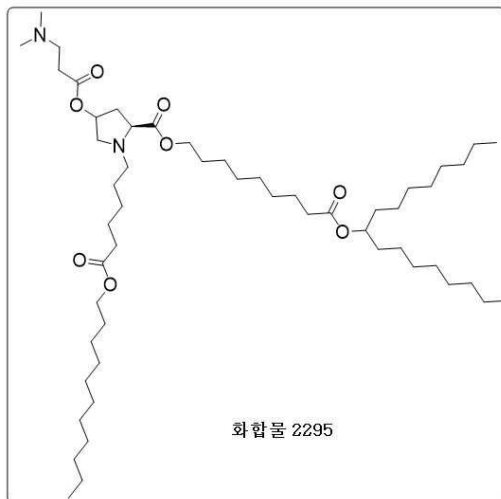
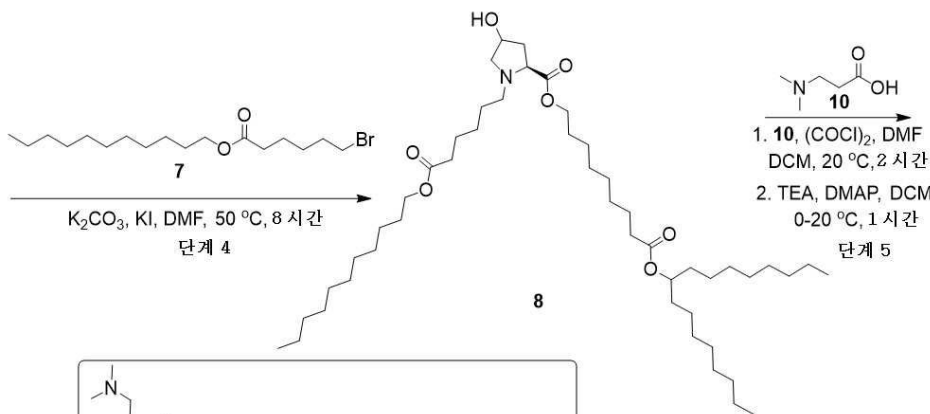
1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(70 mg, 80.90  $\mu\text{mol}$ , 30.99% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0901]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.20-5.28 (m, 1H), 4.83-4.90 (m, 1H), 4.03-4.15 (m, 4H), 3.43-3.55 (m, 1H), 3.09-3.27 (m, 1H), 2.00-2.80 (m, 17H), 1.55-1.70 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.86-0.90 (m, 9H). **LCMS:** ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 865.4 @ 9.871/9.920분.

[0902] 8.6. 화합물 2295의 합성



[0903]



[0904]

[0905] 단계 1:

[0906] DCM(100 mL) 중 헵타데칸-9-올(10 g, 38.99 mmol, 1 당량) 및 9-브로모노난산(10 g, 42.17 mmol, 1.08 당량)의 용액에 DMAP(2.38 g, 19.50 mmol, 0.5 당량) 및 EDCI(8.97 g, 46.79 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20 °C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (200 mL)에 첨가하고 EtOAc(100 mLx3)로 추출하였다. 유기층을

염수(100 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 1-옥틸노닐 9-브로모노나노에이트(15 g, 31.54 mmol, 80.89% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0907] **단계 2:**

[0908] DMF(100 mL) 중 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(5 g, 21.62 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 9-브로모노나노에이트(12.34 g, 25.95 mmol, 1.2 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(15.50 g, 47.57 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(100 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(100 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10 g, 15.98 mmol, 73.89% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0909] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.05-4.55 (m, 4H), 3.40-3.80 (m, 2H), 2.25-2.40 (m, 3H), 2.05-2.15 (m, 1H), 1.60-1.75 (m, 4H), 1.40-1.60 (m, 14H), 1.20-1.35 (m, 32H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[0910] **단계 3:**

[0911] DCM(60 mL) 및 TFA(57.75 g, 506.48 mmol, 37.50 mL, 31.70 당량) 중 01-tert-부틸 02-[9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10 g, 15.98 mmol, 1 당량)의 용액을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 EtOAc(100 mL)로 용해시키고, 포화 NaHCO<sub>3</sub>(200 mLx2) 및 염수(200 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(7 g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0912] **단계 4:**

[0913] DMF(100 mL) 중 [9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 3.80 mmol, 1 당량), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.58 g, 11.41 mmol, 3 당량), 및 KI(315.71 mg, 1.90 mmol, 0.5 당량)의 용액에 운데실 6-브로모헥사노에이트(1.59 g, 4.56 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하고, 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 55% 내지 80%, 10분)로 정제하여 [9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 2.52 mmol, 66.20% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0914] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.20-4.55 (m, 1H), 4.00-4.15 (m, 4H), 3.05-3.60 (m, 2H), 1.90-2.80 (m, 9H), 1.55-1.75 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 9H).

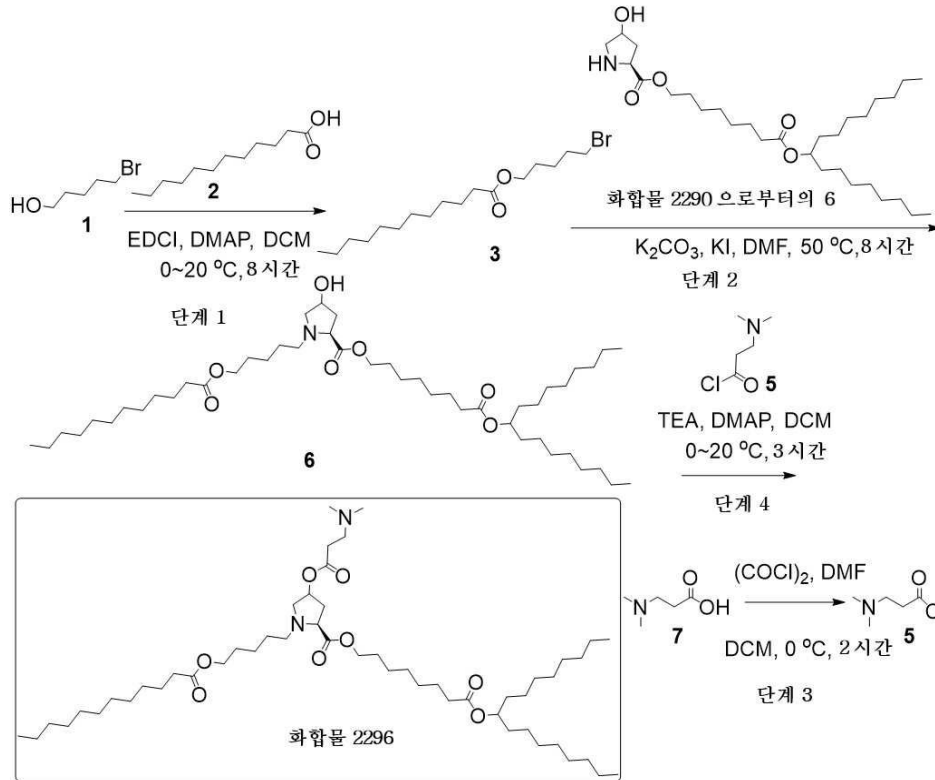
[0915] **단계 5:**

[0916] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(100 mg, 651.01 μmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(330.53 mg, 2.60 mmol, 227.95 μL, 4 당량) 및 DMF(4.76 mg, 65.10 μmol, 5.01 μL, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판오일 염화물(112 mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다. 그런 다음, 3-(디메틸아미노)프로판오일 염화물(112 mg, 650.96 μmol, 2.59 당량, HCl)을 DCM(5 mL) 중 [9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 251.81 μmol, 1 당량), DMAP(15.38 mg, 125.91 μmol, 0.5 당량), 및 TEA(127.41 mg, 1.26 mmol, 175.25 μL, 5 당량)의 용액에 N<sub>2</sub> 분위기가 하에서 0℃에서 첨가한 다음, 혼합물을 20℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬

럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하고, 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 에틸 아세테이트/MeOH = 5:1, 3% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가됨)로 추가로 정제하여 [9-(1-옥틸노녹시)-9-옥소-노닐] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(100 mg, 108.58 μmol, 43.12% 수율, 97% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0917] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.29 (m, 1H), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.03-4.18 (m, 4H), 3.44-3.55 (m, 1H), 3.09-3.26 (m, 1H), 2.05-2.80 (m, 19H), 1.60-1.65 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.18-1.40 (m, 50H), 0.86-0.91 (m, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 893.5 @ 10.397/10.417분.

[0918] 8.7. 화합물 2296의 합성



[0919]

[0920] 단계 1:

[0921] DCM(100 mL) 중 5-브로모펜탄-1-올(10 g, 59.86 mmol, 1 당량) 및 도데칸산(12.59 g, 62.86 mmol, 1.05 당량)의 용액에 EDCI(22.95 g, 119.73 mmol, 2 당량) 및 DMAP(3.66 g, 29.93 mmol, 0.5 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 200 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 300 mL(100 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 5/1)로 정제하여 5-브로모펜틸-도데카노에이트(15 g, 42.94 mmol, 71.72% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0922] 단계 2:

[0923] DMF(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(800 mg, 1.56 mmol, 1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(648.13 mg, 4.69 mmol, 3 당량) 및 KI(129.75 mg, 781.59 μmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 그런 다음, 5-브로모펜틸 도데카노에이트(600.70 mg, 1.72 mmol, 1.1 당량)를 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 60 mL(20 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석

유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-1-(5-도데카노일 옥시펜틸)-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(820 mg, 1.05 mmol, 67.23% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0924] **단계 3:**

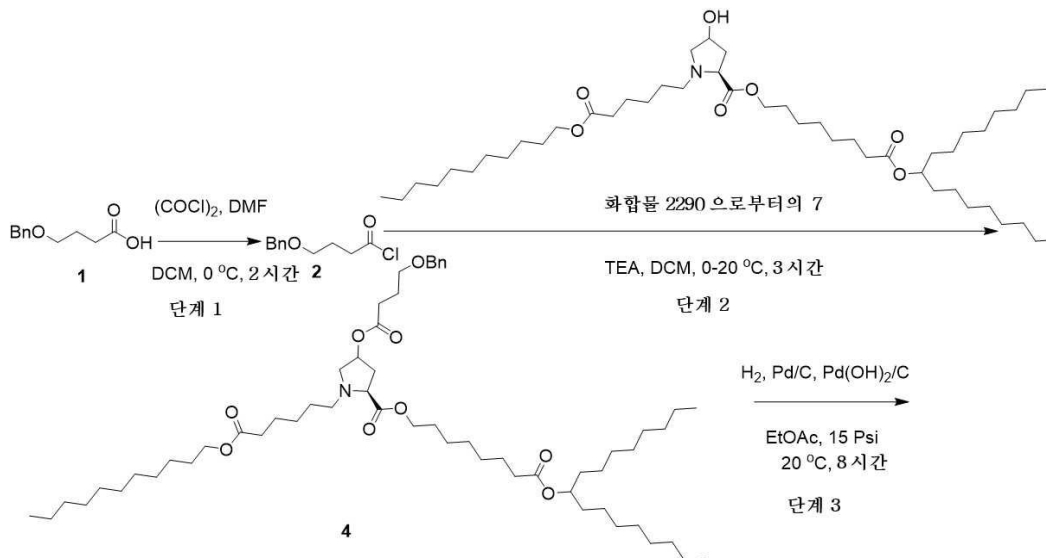
[0925] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(400 mg, 2.60 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(9.52 mg, 130.20  $\mu$ mol, 10.02  $\mu$ L, 0.05 당량) 및 (COCl)<sub>2</sub>(396.63 mg, 3.12 mmol, 273.54  $\mu$ L, 1.2 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(450 mg, 미정제, HCl)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0926] **단계 4:**

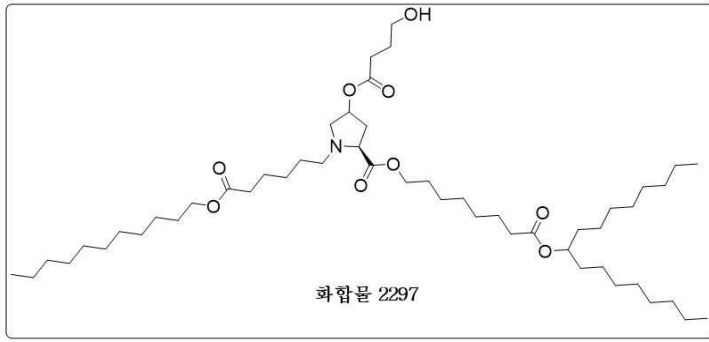
[0927] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(5-도데카노일옥시펜틸)-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(400 mg, 512.68  $\mu$ mol, 1 당량)의 용액에 TEA(518.78 mg, 5.13 mmol, 713.59  $\mu$ L, 10 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(352.83 mg, 2.05 mmol, 4 당량, HCl)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 10 mL H<sub>2</sub>O를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액을 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(5-도데카노일옥시펜틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(108 mg, 51.58  $\mu$ mol, 10.06% 수율, 42% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0928] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.21-5.28 (m, 1H), 4.84-4.88 (m, 1H), 4.10-4.13 (m, 2H), 4.06 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.12-3.55 (m, 2H), 1.97-2.35 (m, 7H), 2.40-2.57 (m, 12H), 1.60-1.65 (m, 6H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.26-1.38 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 879.4 @ 10.062분.

[0929] **8.8. 화합물 2297의 합성**



[0930]



[0931]

[0932]

**단계 1:**

[0933]

DCM(20 mL) 중 4-벤질옥시부탄산(2 g, 10.30 mmol, 1.82 mL, 1 당량)의 용액에 DMF(15.05 mg, 205.95 μmol, 15.85 μL, 0.02 당량) 및 (COCl)<sub>2</sub>(1.57 g, 12.36 mmol, 1.08 mL, 1.2 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-벤질옥시부타노일 염화물(2.2 g, 미정 제)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0934]

**단계 2:**

[0935]

DCM(20 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.5 g, 1.92 mmol, 1 당량)의 용액에 TEA(1.95 g, 19.23 mmol, 2.68 mL, 10 당량) 및 4-벤질옥시부타노일 염화물(2.04 g, 9.61 mmol, 5 당량)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 60 mL(20 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 1/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-(4-벤질옥시부타노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.3 g, 1.36 mmol, 70.70% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0936]

**단계 3:**

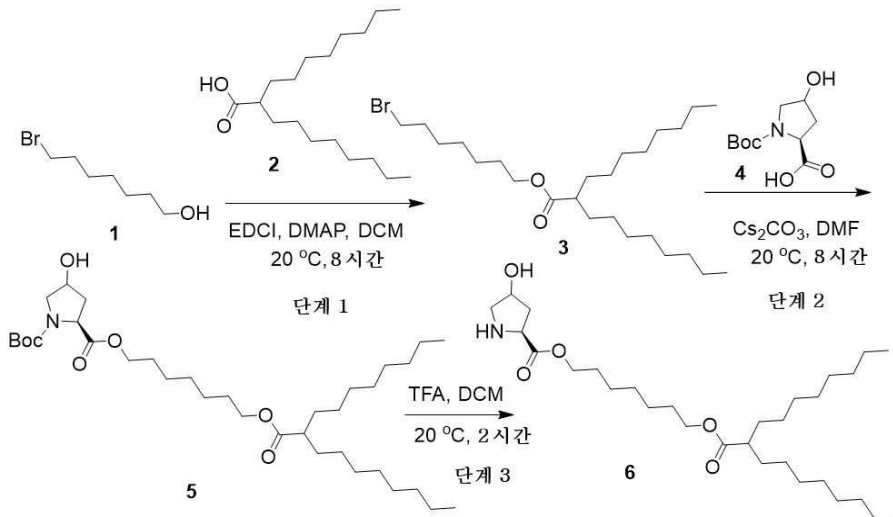
[0937]

EtOAc(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-(4-벤질옥시부타노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(600 mg, 627.34 μmol, 1 당량)의 용액에 Pd/C(0.3 g, 10% 순도) 및 Pd(OH)<sub>2</sub>/C(0.3 g, 427.25 μmol, 20% 순도, 6.81e-1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub> 분위기(15 psi) 하에서 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B: 50% 내지 80%, 10분)로 정제하였다. 그런 다음, 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-(4-하이드록시부타노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(191 mg, 220.48 μmol, 35.15% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

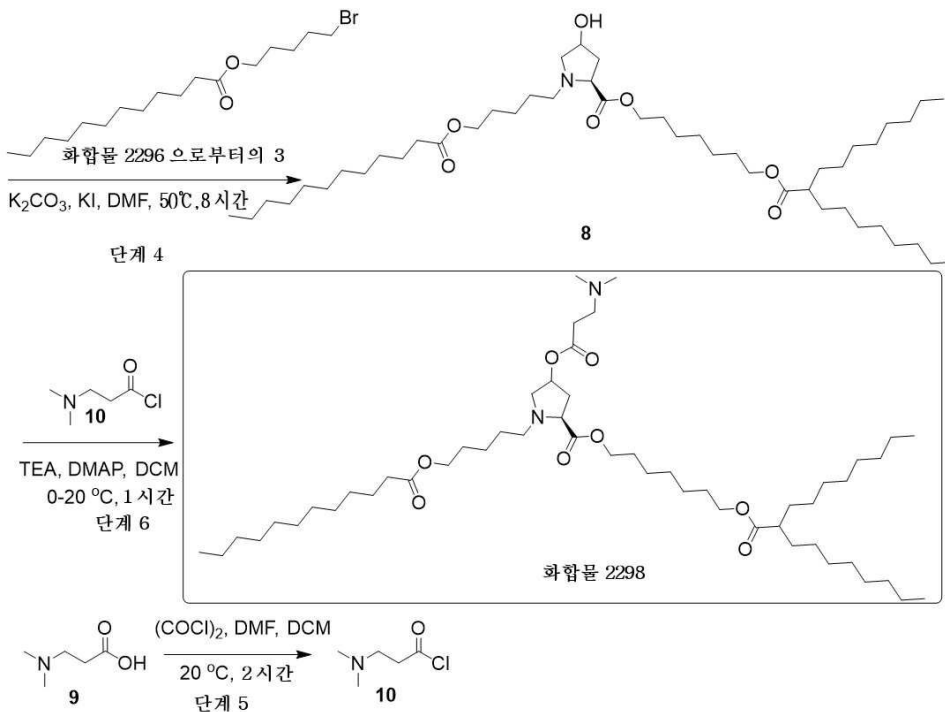
[0938]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.15-5.28 (m, 1H), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.03-4.12 (m, 4H), 3.27-3.73 (m, 4H), 2.26-2.72 (m, 11H), 1.86-1.91 (m, 2H), 1.60-1.70 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.26-1.34 (m, 48H), 0.89 (t, J=5.2 Hz, 9H). (M+H<sup>+</sup>): 866.8. LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 866.8 @ 13.884분.

[0939] 8.9. 화합물 2298의 합성



[0940]



[0941]

[0942] 단계 1:

[0943] DCM(100 mL) 중 7-브로모헵탄-1-올(3.60 g, 18.46 mmol, 1.05 당량) 및 2-옥틸데칸산(5 g, 17.58 mmol, 1 당량)의 용액에 DMAP(1.07g, 8.78 mmol, 0.5 당량) 및 EDCI(4.04 g, 21.10 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(200 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 화합물 7-브로모헵틸 2-옥틸데카노에이트(7 g, 15.17 mmol, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0944] 단계 2:

[0945] DMF(100 mL) 중 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(3 g, 12.96 mmol, 1 당량) 및 7-브로모헵틸 2-옥틸데카노에이트(6.99 g, 15.18 mmol, 1.17 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(9.30 g, 28.53 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축

시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카복실레이트(5 g, 8.17 mmol, 62.99% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0946] **단계 3:**

[0947] DCM(30 mL) 및 TFA(23.10 g, 101.30 mmol, 15.02 mL, 24.79 당량) 중 01-터트-부틸 02-[7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카복실레이트(5 g, 8.18 mmol, 1 당량)의 용액을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였고, 잔류물을 EtOAc(20 mL)로 용해시켰다. 유기층을 포화  $\text{NaHCO}_3$ (50 mLx4) 및 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸(2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카복실레이트(4 g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0948] **단계 4:**

[0949] DMF(20 mL) 중 7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸 (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카복실레이트(2 g, 3.91 mmol, 1 당량),  $\text{K}_2\text{CO}_3$ (1.62 g, 11.72 mmol, 3 당량) 및 KI(324.36 mg, 1.95 mmol, 0.5 당량)의 용액에 5-브로모펜틸 도데카노에이트(1.50 g, 4.30 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하고 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 50% 내지 80%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액의 pH는 약 7이 될 때까지 용액에 포화  $\text{NaHCO}_3$ 를 첨가하고, EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸 (2S)-1-(5-도데카노일옥시펜틸)-4-하이드록시-피롤리딘-2-카복실레이트(2 g, 2.56 mmol, 65.59% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0950]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.25-4.55 (m, 1H), 3.95-4.25 (m, 6H), 3.05-3.75 (m, 2H), 1.80-2.85 (m, 8H), 1.60-1.70 (m, 8H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.23-1.40 (m, 48H), 0.89 (t,  $J=6.4$  Hz, 9H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 780.4 @ 13.242&13.267분.

[0951] **단계 5:**

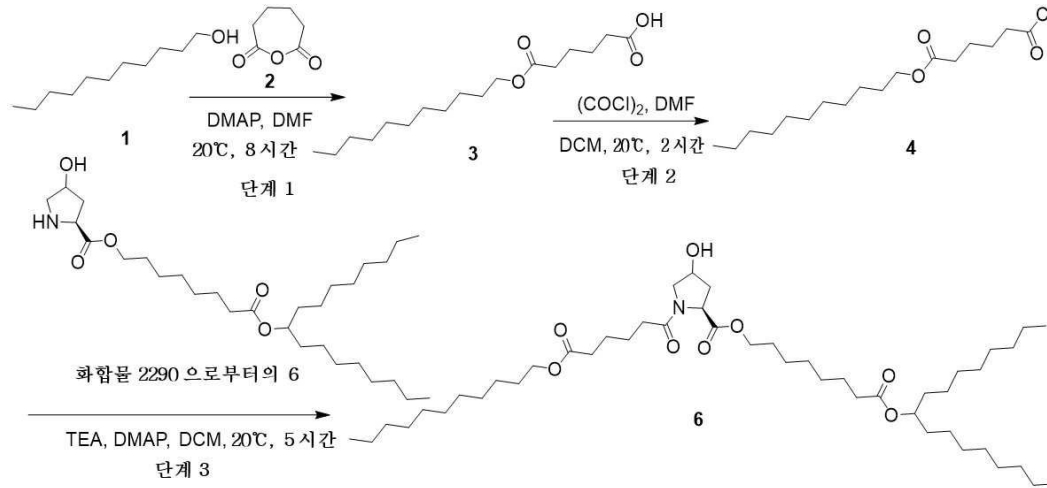
[0952] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(300 mg, 1.95 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (991.60 mg, 7.81 mmol, 683.86  $\mu\text{L}$ , 4 당량) 및 DMF(14.27 mg, 195.30  $\mu\text{mol}$ , 15.03  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(336 mg, 1.95 mmol, 99.99% 수율, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0953] **단계 6:**

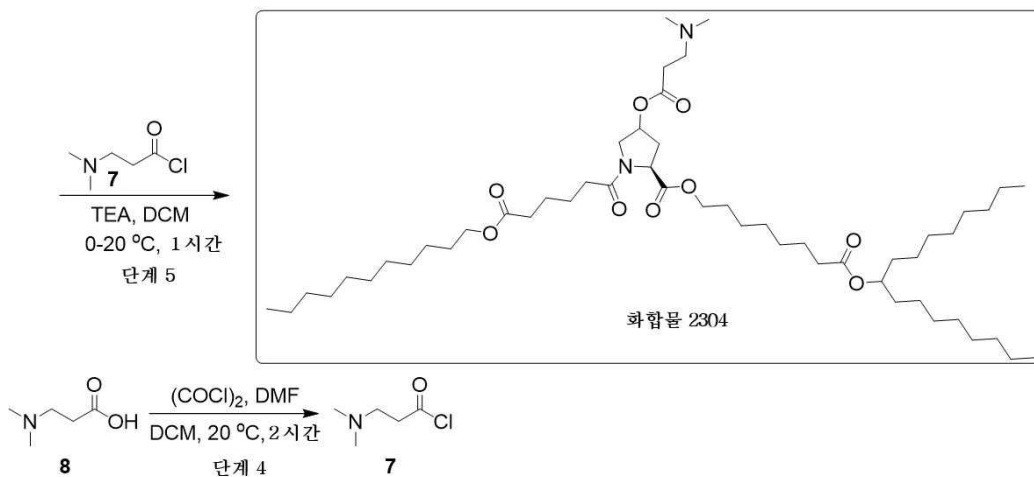
[0954] DCM(10 mL) 중 7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸 (2S)-1-(5-도데카노일옥시펜틸)-4-하이드록시-피롤리딘-2-카복실레이트(350 mg, 448.60  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), DMAP(27.40 mg, 224.30  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량) 및 TEA(226.97 mg, 2.24 mmol, 312.20  $\mu\text{L}$ , 5 당량)의 용액에 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(294.00 mg, 1.71 mmol, 3.81 당량, HCl)를  $\text{N}_2$  하에서 0°C에서 첨가한 다음, 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하고 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 50% 내지 80%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액의 pH는 약 7이 될 때까지 포화  $\text{NaHCO}_3$ 를 첨가하고, EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 7-(2-옥틸데카노일옥시)헵틸 (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-(5-도데카노일옥시펜틸)피롤리딘-2-카복실레이트(132 mg, 148.61  $\mu\text{mol}$ , 45.40% 수율, 99% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0955]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.20-5.30 (m, 1H), 4.03-4.17 (m, 6H), 3.25-3.55 (m, 1H), 3.09-3.30 (m, 1H), 2.00-2.80 (m, 18H), 1.57-1.70 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.15-1.40 (m, 48H), 0.89 (t,  $J=6.8$  Hz, 9H).  
 LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 879.7 @ 9.868분.

[0956] 8.10. 화합물 2304의 합성



[0957]



[0958]

[0959] 단계 1:

[0960] DMF(10 mL) 중 운데칸-1-올(5 g, 29.02 mmol, 1 당량) 및 DMAP(3.55 g, 29.02 mmol, 1 당량)의 용액에 옥세판-2,7-디온(4.46 g, 34.82 mmol, 1.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 6-옥소-6-운데콕시-헥사노산(4 g, 13.31 mmol, 45.88% 수율)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0961]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.07 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H), 2.33-2.41 (m, 4H), 1.60-1.71 (m, 6H), 1.19 - 1.41 (m, 17H), 0.89 (m,  $J=7.2$  Hz, 3H).

[0962] 단계 2:

[0963] DCM(10 mL) 중 6-옥소-6-운데콕시-헥사노산(2 g, 6.66 mmol, 1 당량)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (2.53 g, 19.97 mmol, 1.75 mL, 3 당량) 및 DMF(4.87 mg, 66.57  $\mu\text{mol}$ , 5.12  $\mu\text{L}$ , 0.01 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 운데실 6-클로로-6-옥소-헥사노에이트(2.12 g, 미정제)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0964] **단계 3:**

[0965] DCM(5 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(3 g, 5.86 mmol, 1 당량), TEA(1.78 g, 17.59 mmol, 2.45 mL, 3 당량) 및 DMAP(71.61 mg, 586.20  $\mu$ mol, 0.1 당량)의 용액에 운데실 6-클로로-6-옥소-헥사노에이트(1.91 g, 5.99 mmol, 1.02 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥사노일)피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 2.52 mmol, 42.96% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0966] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.80-4.90 (m, 1H), 4.40-4.65 (m, 2H), 4.05-4.25 (m, 4H), 3.49-3.88 (m, 2H), 2.20- 2.40 (m, 8H), 1.60-1.75 (m, 10H), 1.40-1.53 (m, 4H), 1.23-1.38 (m, 46H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[0967] **단계 4:**

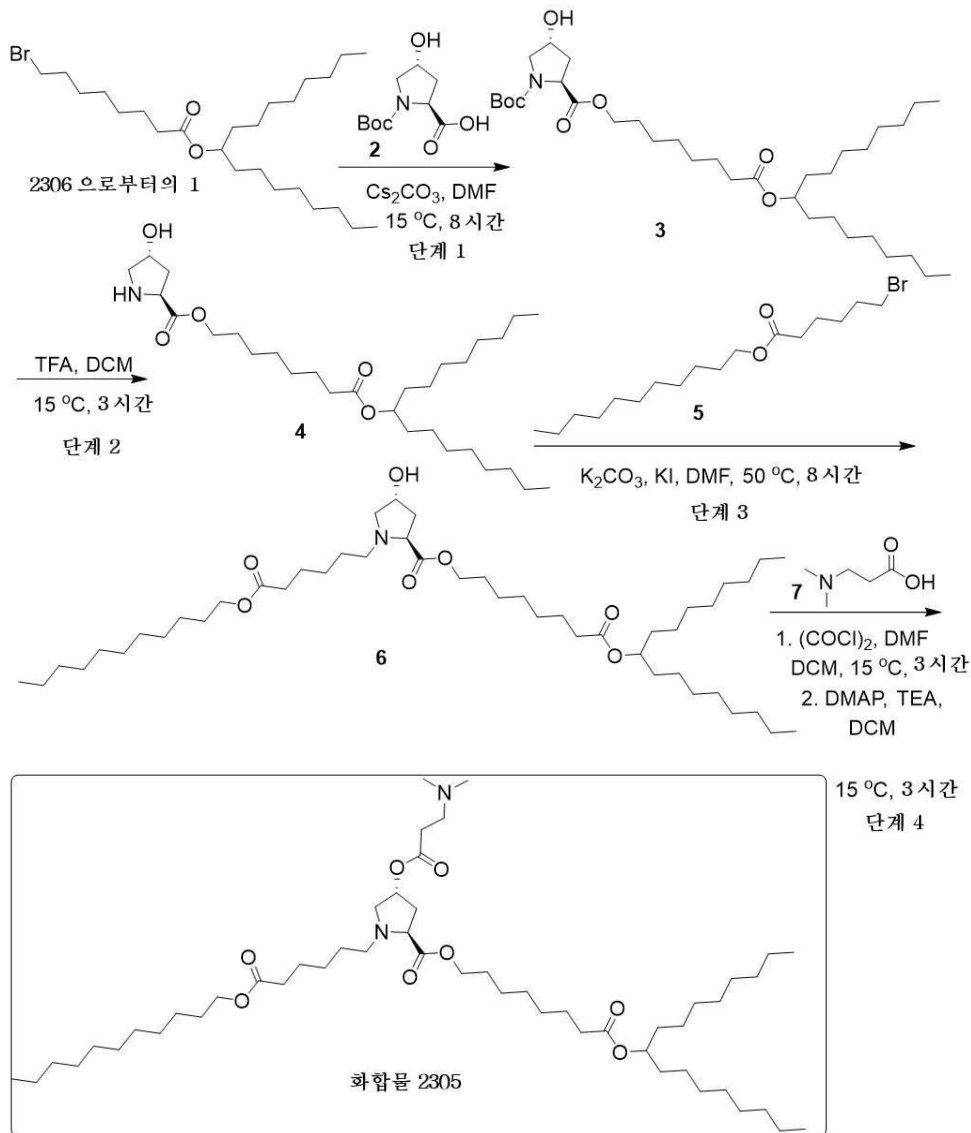
[0968] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(400 mg, 2.60 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(1.32 g, 10.42 mmol, 911.81  $\mu$ L, 4 당량) 및 DMF(19.03 mg, 260.40  $\mu$ mol, 20.03  $\mu$ L, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(448 mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0969] **단계 5:**

[0970] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥사노일)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 629.57  $\mu$ mol, 1 당량), TEA(318.53 mg, 3.15 mmol, 438.14  $\mu$ L, 5 당량) 및 DMAP(38.46 mg, 314.79  $\mu$ mol, 0.5 당량)의 용액에 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(433.28 mg, 2.52 mmol, 4 당량, HCl)을 N<sub>2</sub> 하에서 0°C에서 첨가한 다음, 혼합물을 20°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하였다. 생성물을 석유 에테르(2 mL)로 용해시키고, ACN(2 mLx2)으로 세척하였다. 석유 에테르 상을 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥사노일)피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 223.88  $\mu$ mol, 35.56% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0971] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.33-5.37 (m, 1H), 4.80-4.90 (m, 1H), 4.40-4.75 (m, 1H), 4.11-4.15 (m, 2H), 4.00-4.10 (m, 2 H), 3.85-3.88 (m, 1H), 3.61-3.70 (m, 1H), 2.52-2.65 (m, 2H), 2.40-2.50 (m, 3H), 2.15-2.38 (m, 13H), 1.66-1.70 (m, 8H), 1.45-1.53 (m, 6H), 1.23-1.38 (m, 46H), 0.86-0.91 (m, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 893.7 @ 13.385/13.687분.

[0972] 8.11. 화합물 2305의 합성



[0973]

[0974]

[0975]

[0976]

단계 1:

DMF(30 mL) 중 (2S,4R)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(835.02 mg, 3.61 mmol, 1 당량), 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(2 g, 4.33 mmol, 1.2 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.59 g, 7.94 mmol, 2.2 당량)의 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 15°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 200 mL(100 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 3/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(11 g, 17.71 mmol, 98.08% 수율, 98.5% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0977]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.36-4.51 (m, 2H), 3.64-3.68 (m, 1H), 3.42-3.56 (m, 1H), 2.06-2.33 (m, 4H), 1.60-1.64 (m, 5H), 1.20-1.55 (m, 45H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[0978]

단계 2:

[0979]

DCM(60 mL) 중 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(8 g, 13.07 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(46.20 g, 405.19 mmol, 30 mL, 30.99 당량)를 첨가하였다. 혼

합물을 15℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 NaHCO<sub>3</sub> 50 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 100 mL 염수(50 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(5 g, 9.77 mmol, 74.73% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0980] 단계 3:

[0981] DMF(15 mL) 중 운데실 6-브로모헥사노에이트(819.14 mg, 2.34 mmol, 1.2 당량) 및 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 1.95 mmol, 1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(810.18 mg, 5.86 mmol, 3 당량) 및 KI(162.18 mg, 976.99 μmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H<sub>2</sub>O 50 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL(50 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 8/1)로 정제하고 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 50% 내지 80%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(50 mLx2)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(3.6 g, 4.60 mmol, 78.52% 수율, 99.76% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

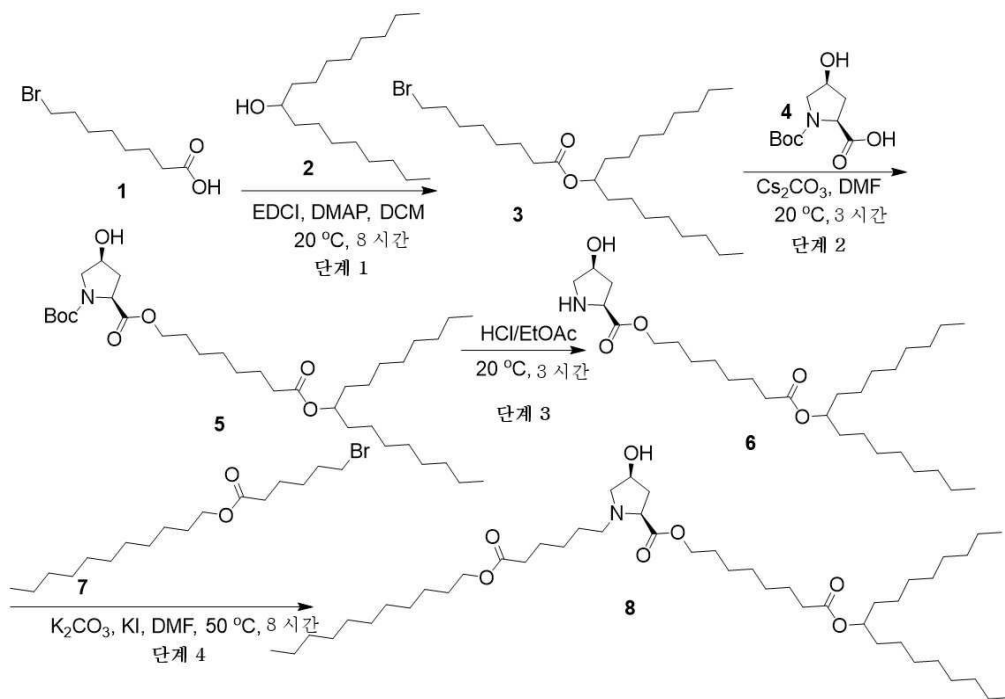
[0982] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.51 (brs, 1H), 4.04-4.15 (m, 4H), 3.47-3.49 (m, 2H), 2.57-2.78 (m, 2H), 2.26-2.32 (m, 6H), 1.50-1.66 (m, 17H), 1.26-1.35 (m, 47H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[0983] 단계 4:

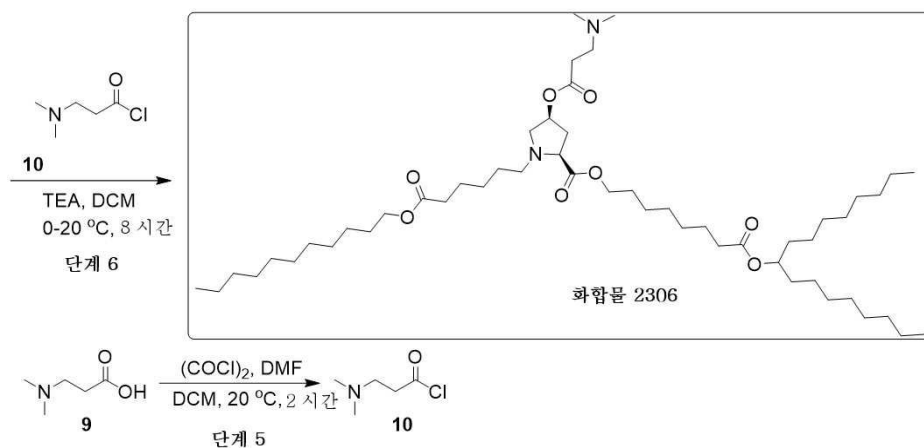
[0984] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(300 mg, 1.95 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(743.67 mg, 5.86 mmol, 512.88 μL, 3 당량) 및 DMF(14.28 mg, 195.30 μmol, 15.03 μL, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(336 mg, 1.95 mmol, 99.99% 수율, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다. 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(330.78 mg, 1.92 mmol, 3 당량, HCl)를 DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 640.85 μmol, 1 당량), TEA(324.24 mg, 3.20 mmol, 445.99 μL, 5 당량), 및 DMAP(39.15 mg, 320.43 μmol, 0.5 당량)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 15℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 10 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 3/1)로 정제하고, 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(50 mLx2)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(79 mg, 89.39 μmol, 13.95% 수율, 99.5% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0985] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.24-5.29 (m, 1H), 4.84-4.88 (m, 1H), 4.04-4.13 (m, 4H), 3.44-3.54 (m, 2H), 2.26-3.03 (m, 16H), 2.08-2.22 (m, 1H), 1.60-1.65 (m, 10H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.26-1.37 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 879.8 @ 10.515분.

[0986] 8.12. 화합물 2306의 합성



[0987]



[0988]

[0989] 단계 1:

[0990] DCM(100 mL) 중 헵타데칸-9-올(5 g, 19.50 mmol, 1 당량) 및 8-브로모옥탄산(4.57 g, 20.47 mmol, 1.05 당량)의 용액에 DMAP(1.19 g, 9.75 mmol, 0.5 당량) 및 EDCI(4.48 g, 23.39 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(100 mL)에 첨가하고 EtOAc(100 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(100 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(30 g, 65.00 mmol, 83.35% 수율, - 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0991] 단계 2:

[0992] DMF(100 mL) 중 (2S,4S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(4.55 g, 19.70 mmol, 1 당량), 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(10 g, 21.67 mmol, 1.1 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(14.12 g, 43.33 mmol, 2.2 당량)의 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 퀀칭하였다. 혼합물을 EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하고, 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록

시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10 g, 16.34 mmol, 82.97% 수율, 100% 순도)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0993]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.15-4.37 (m, 4H), 3.54-3.70 (m, 2H), 2.28-2.32 (m, 3H), 2.05-2.07 (m, 1H), 1.62-1.67 (m, 4H), 1.43-1.56 (m, 11H), 1.26-1.35 (m, 32H), 0.88 (t,  $J=6.4$  Hz, 6H).

[0994] **단계 3:**

[0995] EtOAc(50 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.27 mmol, 1 당량)의 용액에 HCl/EtOAc(4 M, 6.21 mL, 7.60 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20 °C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포화  $\text{NaHCO}_3$ 으로 pH는 7로 조정하고, EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 4/1 내지 에틸 아세테이트/ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  = 30/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(6 g, 11.72 mmol, 71.74% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0996] **단계 4:**

[0997] DMF(20 mL) 중 운데실 6-브로모헥사노에이트(409.57 mg, 1.17 mmol, 1.2 당량) 및 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(0.5 g, 976.99  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)의 용액에  $\text{K}_2\text{CO}_3$ (405.09 mg, 2.93 mmol, 3 당량) 및 KI(81.09 mg, 488.50  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  50 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL(50 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하였다. 그런 다음, 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 50% 내지 80%, 10분)로 정제하였다. 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$  500 mL에 첨가하고 EtOAc(100 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(50 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(600 mg, 769.03  $\mu\text{mol}$ , 78.71% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0998]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.77-4.80 (m, 1H), 4.18 (brs, 1H), 4.05 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H), 3.98 (t,  $J=6.4$  Hz, 2H), 2.98-3.16 (m, 2H), 2.49-2.60 (m, 2H), 2.40-2.42 (m, 1H), 2.13-2.23 (m, 5H), 1.81-1.85 (m, 1H), 1.53-1.57 (m, 8H), 1.38-1.43 (m, 6H), 1.18-1.26 (m, 48H), 0.80 (t,  $J=6.0$  Hz, 9H).

[0999] **단계 5:**

[1000] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(500 mg, 3.26 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (1.24 g, 9.77 mmol, 854.80  $\mu\text{L}$ , 3 당량) 및 DMF(23.79 mg, 325.51  $\mu\text{mol}$ , 25.04  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(560 mg, 3.25 mmol, 99.99% 수율, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

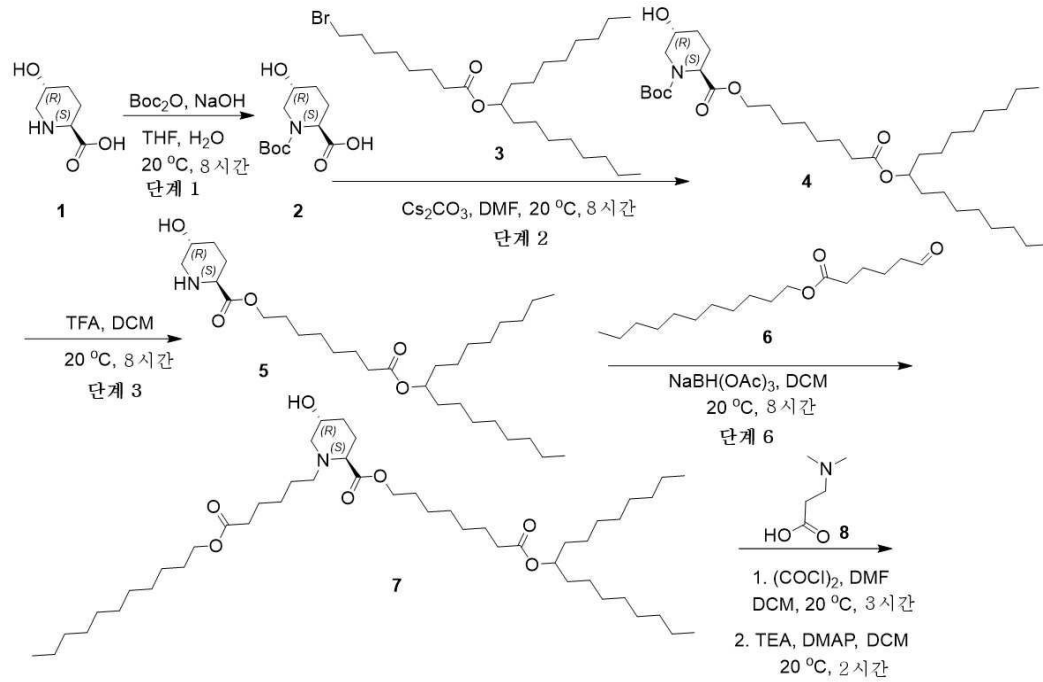
[1001] **단계 6:**

[1002] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(352.83 mg, 2.05 mmol, 4 당량, HCl)의 용액에 TEA(259.39 mg, 2.56 mmol, 356.79  $\mu\text{L}$ , 5 당량) 및 DMAP(31.32 mg, 256.34  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량) 및 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(400.00 mg, 512.68  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  30 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 40 mL(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 0/1)로 정제하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분) 및 분취-TLC( $\text{SiO}_2$ , EtOAc: MeOH = 3:1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(20.7 mg, 23.54  $\mu\text{mol}$ , 60.88%

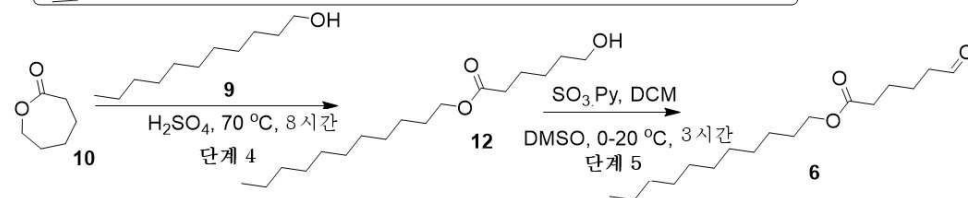
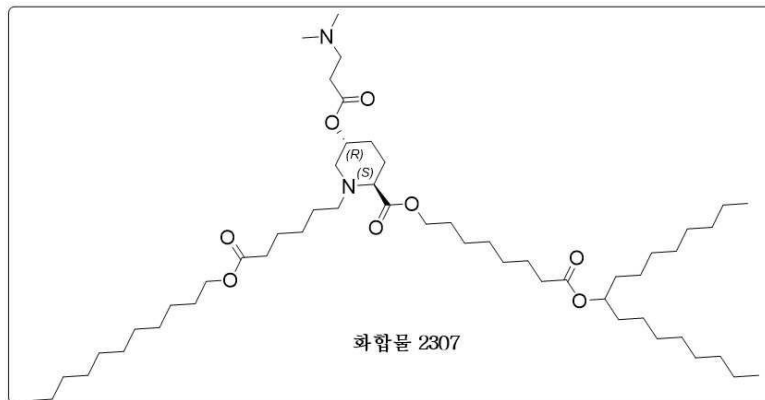
수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1003]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.11-5.15 (m, 1H), 4.77-4.80 (m, 1H), 3.96-4.06 (m, 4H), 3.01-3.18 (m, 2H), 2.49-2.67 (m, 6H), 2.19-2.22 (m, 10H), 1.96-1.98 (m, 1H), 1.52-1.77 (m, 10H), 1.42-1.44 (m, 6H), 1.18-1.26 (m, 48H), 0.80 (t,  $J=6.4$  Hz, 9H). **LCMS**: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 879.8 @ 8.994분.

[1004] 8.13. 화합물 2307의 합성



[1005]



[1006]

[1007] 단계 1:

[1008] THF(25 mL) 중 (2S,5R)-5-하이드록시피페리딘-2-카르복실산(0.5 g, 2.75 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 수성 NaOH(3.30 g, 8.26 mmol, 10% 순도, 3 당량) 및  $\text{Boc}_2\text{O}$ (721.01 mg, 3.30 mmol, 758.96  $\mu\text{L}$ , 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 (2S,5R)-1-터트-부톡시카르보닐-5-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(500 mg, 미정제)을 무색 오일로서 수득하였다.

- [1009] **단계 2:**
- [1010] DMF(10 mL) 중 (2S,5R)-1-터트-부톡시카르보닐-5-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(500 mg, 2.04 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(1.13 g, 2.45 mmol, 1.2 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.46 g, 4.48 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5R)-5-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(500 mg, 798.83 μmol, 39.19% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1011] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.75-4.93 (m, 2H), 3.95-4.05 (m, 2H), 3.09-3.24 (m, 2H), 2.28 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.95-2.25 (m, 2H), 1.75-1.85 (m, 1H), 1.60-1.73 (m, 5 H), 1.43-1.56 (m, 13H), 1.20-1.40 (m, 30H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).
- [1012] **단계 3:**
- [1013] DCM(10 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5R)-5-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(500 mg, 798.83 μmol, 1 당량)의 용액에 TFA(7.68 g, 67.31 mmol, 5 mL, 84.26 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 EtOAc(20 mL)로 용해시키고, 유기층을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mLx3) 및 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5R)-5-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(350 mg, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1014] **단계 4:**
- [1015] 운데칸-1-올(6.04 g, 35.04 mmol, 2 당량), 옥세판-2-온(2 g, 17.52 mmol, 1 당량) 및 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(171.85 mg, 1.75 mmol, 93.40 μL, 0.1 당량)의 용액을 70℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 화합물 운데실 6-하이드록시헥사노에이트(2.6 g, 9.08 mmol, 51.80% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1016] **단계 5:**
- [1017] DCM(100 mL) 중 운데실 6-하이드록시헥사노에이트(2.5 g, 8.73 mmol, 1 당량) 및 TEA(8.83 g, 87.28 mmol, 12.15 mL, 10 당량)의 용액에 DMSO(25 mL) 중 SO<sub>3</sub>.Py(7.64 g, 48.00 mmol, 5.5 당량)의 용액을 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0.1 M HCl 100 mL로 희석하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 그런 다음, 합쳐진 유기층을 염수(30 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 운데실 6-옥소헥사노에이트(3.2 g, 11.25 mmol, 64.45% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1018] **단계 6:**
- [1019] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5R)-5-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(350 mg, 665.65 μmol, 1 당량) 및 운데실 6-옥소헥사노에이트(227.20 mg, 798.78 μmol, 1.2 당량)의 용액에 NaBH(OAc)<sub>3</sub>(423.24 mg, 2.00 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,5R)-5-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(380 mg, 478.45 μmol, 71.88% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1020] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.04-4.12 (m, 4H), 3.86 (s, 1H), 3.21-3.25 (m, 2H), 2.55-

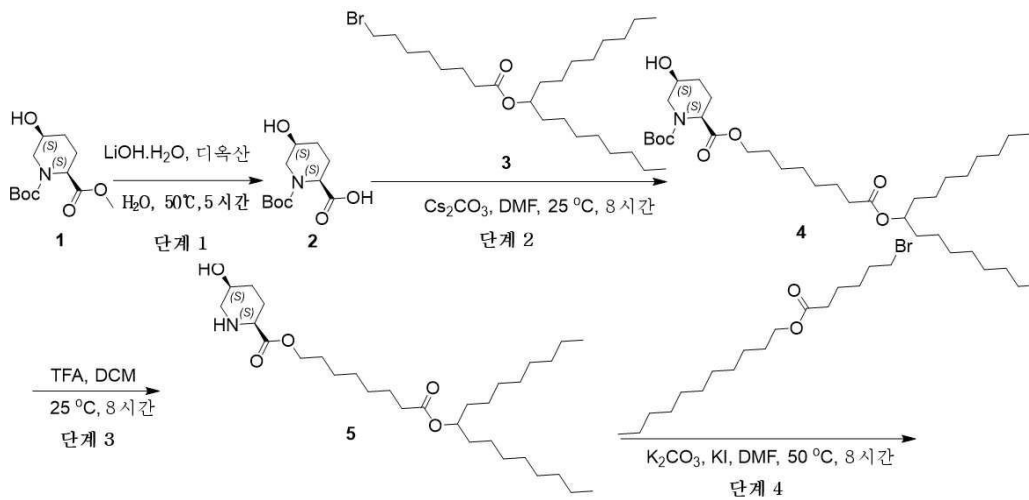
2.65 (m, 1H), 2.40-2.50 (m, 1H), 2.20-2.40 (m, 6H), 1.95-2.10 (m, 1H), 1.70-1.85 (m, 2H), 1.55-1.70 (m, 8H), 1.43-1.56 (m, 7H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[1021] 단계 7:

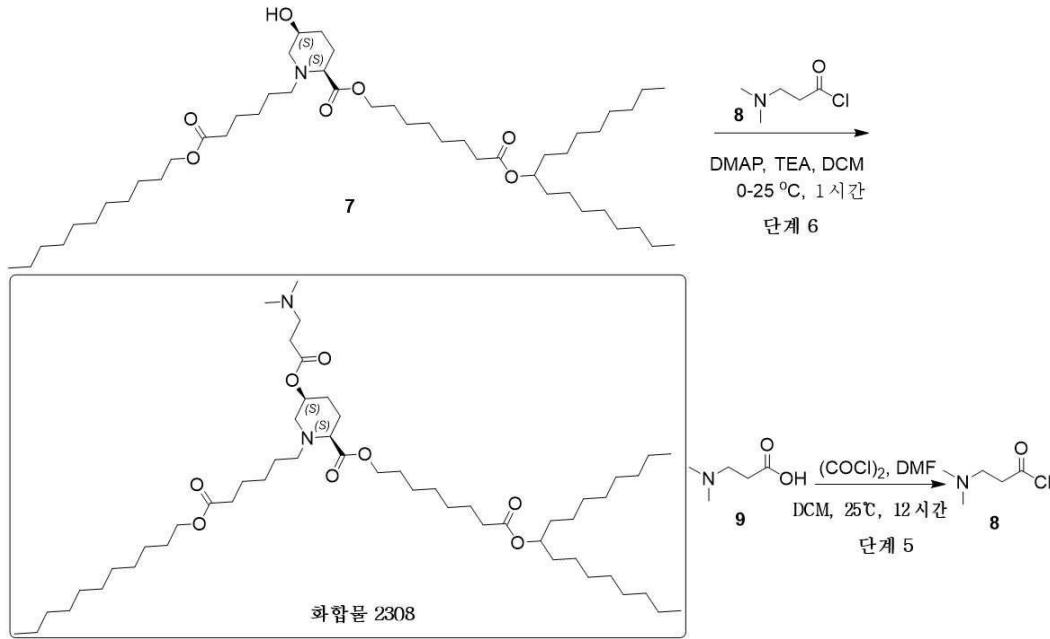
[1022] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(300 mg, 1.95 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(991.60 mg, 7.81 mmol, 683.86  $\mu$ L, 4 당량) 및 DMF(14.27 mg, 195.30  $\mu$ mol, 15.03  $\mu$ L, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20  $^{\circ}$ C에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(1.68 g, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다. 미정제 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(329.27 mg, 1.91 mmol, 4 당량, HCl)을 DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5R)-5-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(380 mg, 478.45  $\mu$ mol, 1 당량), TEA(290.48 mg, 2.87 mmol, 399.56  $\mu$ L, 6 당량) 및 DMAP(11.69 mg, 95.69  $\mu$ mol, 0.2 당량)의 용액에 첨가하고, 20 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)에 첨가하고 DCM(20 mLx2)으로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 0/1, 5% NH<sub>3</sub>·THF 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,5R)-5-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(55 mg, 60.33  $\mu$ mol, 12.61% 수율, 98% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1023] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.96 (m, 2H), 4.03-4.13 (m, 4H), 3.13-3.24 (m, 2H), 2.46-2.64 (m, 5H), 2.24-2.37 (m, 12H), 1.90-2.10 (m, 2H), 1.70-1.80 (m, 1H), 1.55-1.70 (m, 9H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.86-0.90 (m, 9H). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 893.8 @ 10.829분.

[1024] 8.14. 화합물 2308의 합성



[1025]



[1026]

[1027]

[1028]

**단계 1:**

디옥산(9 mL) 및 H<sub>2</sub>O(3 mL) 중 01-tert-부틸 02-메틸 (2S,5S)-5-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(500 mg, 1.93 mmol, 1 당량)의 용액에 LiOH·H<sub>2</sub>O(242.75 mg, 5.78 mmol, 3 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1 N HCl로 pH는 5로 조정한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 (2S,5S)-1-tert-부톡시카르보닐-5-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(400 mg, 미정제)을 백색 고형분으로서 수득하였다. 미정제 생성물을 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1029]

**단계 2:**

[1030]

DMF(5 mL) 중 (2S,5S)-1-tert-부톡시카르보닐-5-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(400 mg, 1.63 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(828.00 mg, 1.79 mmol, 1.1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(797.04 mg, 2.45 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸](2S,5S)-5-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(500 mg, 798.83 μmol, 48.98% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1031]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.65-4.90 (m, 2H), 4.10-4.20 (m, 3H), 3.64 (brs, 1H), 2.60-2.85 (m, 1H), 2.28 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.90-2.05 (m, 1H), 1.70-1.85 (m, 2H), 1.58-1.65 (m, 4H), 1.40-1.55 (m, 13H), 1.20-1.40 (m, 32H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1032]

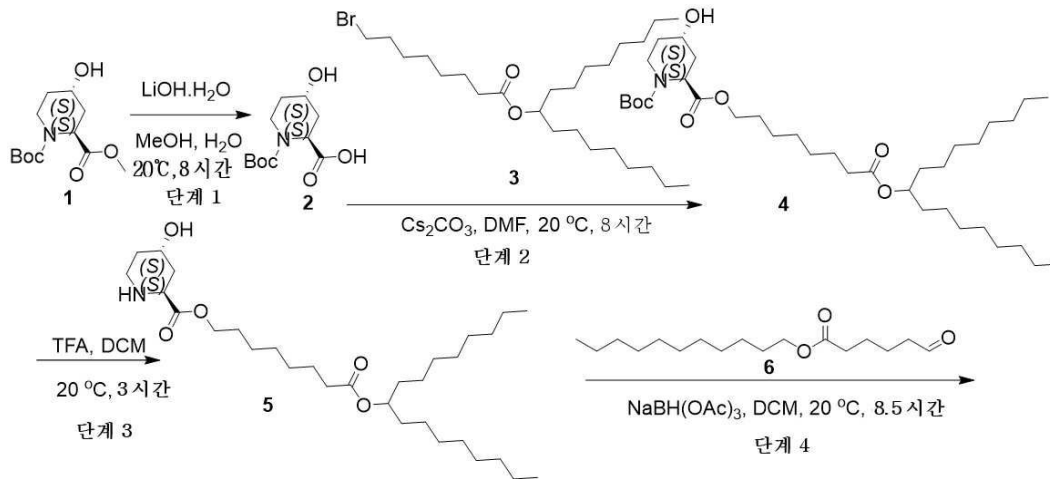
**단계 3:**

[1033]

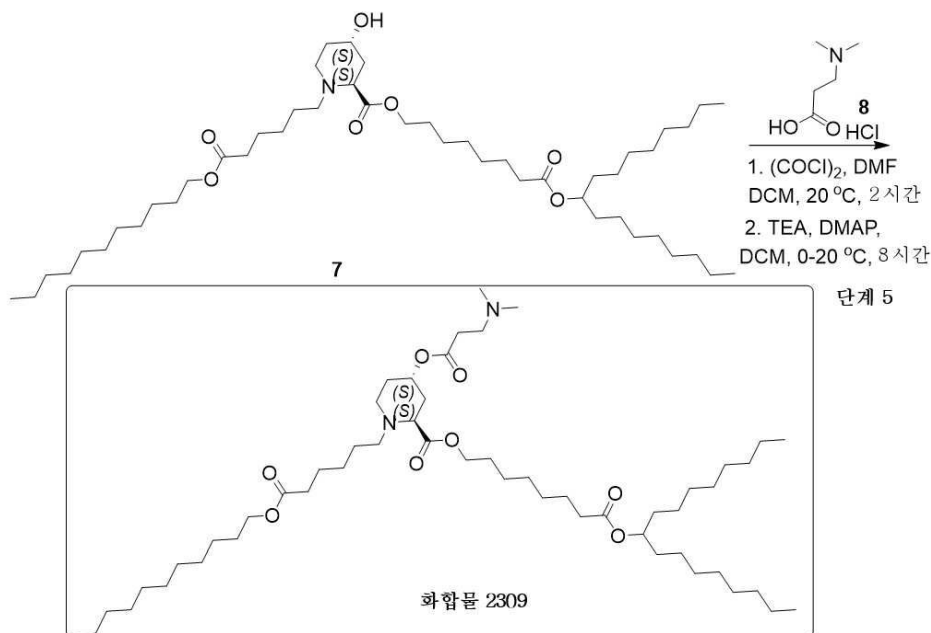
DCM(4 mL) 중 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸](2S,5S)-5-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(500 mg, 798.83 μmol, 1 당량)의 용액에 TFA(3.08 g, 27.01 mmol, 2 mL, 33.81 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸] (2S,5S)-5-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(400 mg, 760.74 μmol, 95.23% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

- [1034] **단계 4:**
- [1035] DMF(20 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5S)-5-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(350 mg, 665.65  $\mu\text{mol}$ , 1 당량),  $\text{K}_2\text{CO}_3$ (276.00 mg, 2.00 mmol, 3 당량) 및 KI(22.10 mg, 133.13  $\mu\text{mol}$ , 0.2 당량)의 용액에 운데실 6-브로모헥사노에이트(395.32 mg, 1.13 mmol, 1.7 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (20 mL)에 첨가하고, EtOAc(20 mLx3)로 추출하고, 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,5S)-5-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(480 mg, 604.36  $\mu\text{mol}$ , 90.79% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.
- [1036]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.80-4.90 (m, 1H), 4.04-4.15 (m, 4H), 3.75-3.88 (m, 1H), 2.90-3.15 (m, 2H), 2.20-2.60 (m, 8H), 1.95-2.05 (m, 1H), 1.60-1.75 (m, 11H), 1.45-1.53 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.86-0.91 (m, 9H).
- [1037] **단계 5:**
- [1038] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(170mg, 1.11 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (561.90 mg, 4.43 mmol, 387.52  $\mu\text{L}$ , 4 당량) 및 DMF(8.09mg, 110.67  $\mu\text{mol}$ , 8.51  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(380 mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.
- [1039] **단계 6:**
- [1040] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5S)-5-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 251.81  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), DMAP(15.38 mg, 125.91  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량) 및 TEA(127.41 mg, 1.26 mmol, 175.25  $\mu\text{L}$ , 5 당량)의 용액에 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(173.30 mg, 1.01 mmol, 4 당량, HCl)를  $\text{N}_2$  하에서 0°C에서 첨가한 다음, 혼합물을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하고, 분취-TLC( $\text{SiO}_2$ , 에틸 아세테이트/MeOH = 0:1, 3%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  첨가)로 추가로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,5S)-5-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(158 mg, 175.09  $\mu\text{mol}$ , 34.77% 수율, 99% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1041]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.83-4.89 (m, 2H), 4.00-4.12 (m, 4H), 3.55 (t,  $J=4.4$  Hz, 1H), 2.93-2.98 (m, 1H), 2.45-2.80 (m, 7H), 2.20- 2.35 (m, 10H), 1.95-2.10 (m, 1H), 1.75-1.90 (m, 2H), 1.60-1.65 (m, 7H), 1.40-1.55 (m, 8H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.86-0.91 (m, 9H). **LCMS** ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 893.7.

[1042] 8.15. 화합물 2309의 합성



[1043]



[1044]

[1045] 단계 1:

[1046]

MeOH(12 mL) 및 H<sub>2</sub>O(6 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S,4S)-4-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 7.71 mmol, 1 당량)의 용액에 LiOH.H<sub>2</sub>O(647.34 mg, 15.43 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1 N HCl로 pH는 3으로 조정하고, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 40 mL(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 (2S,4S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(1.8 g, 7.34 mmol, 95.15% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1047]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.98-6.80 (m, 1H), 4.88-5.05 (m, 1H), 4.01-4.10 (m, 1H), 3.72-3.77 (m, 1H), 2.97-3.09 (m, 1H), 2.35-2.60 (m, 1H), 1.90-2.00 (m, 1H), 1.60-1.75 (m, 1H), 1.47 (s, 9H).

[1048]

단계 2:

[1049]

DMF(30 mL) 중 (2S,4S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(1.8 g, 7.34 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(4.06 g, 8.81 mmol, 1.2 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.26 g, 16.15 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 30mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 60 mL(30 mLx2)로 세

척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.20 mmol, 43.54% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1050] 단계 3:

[1051] DCM(12 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.20 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(6 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시키고, 그런 다음, 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 0.5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(1.4 g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1052] 단계 4:

[1053] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(1 g, 1.90 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-옥소헥사노에이트(649.14 mg, 2.28 mmol, 1.2 당량)의 용액에. 혼합물을 20℃에서 30분 동안 교반하였다. 그런 다음, NaBH(OAc)<sub>3</sub>(1.21 g, 5.71 mmol, 3 당량)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 50/1 내지 1/1, 0.5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(1.3 g, 1.64 mmol, 86.06% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

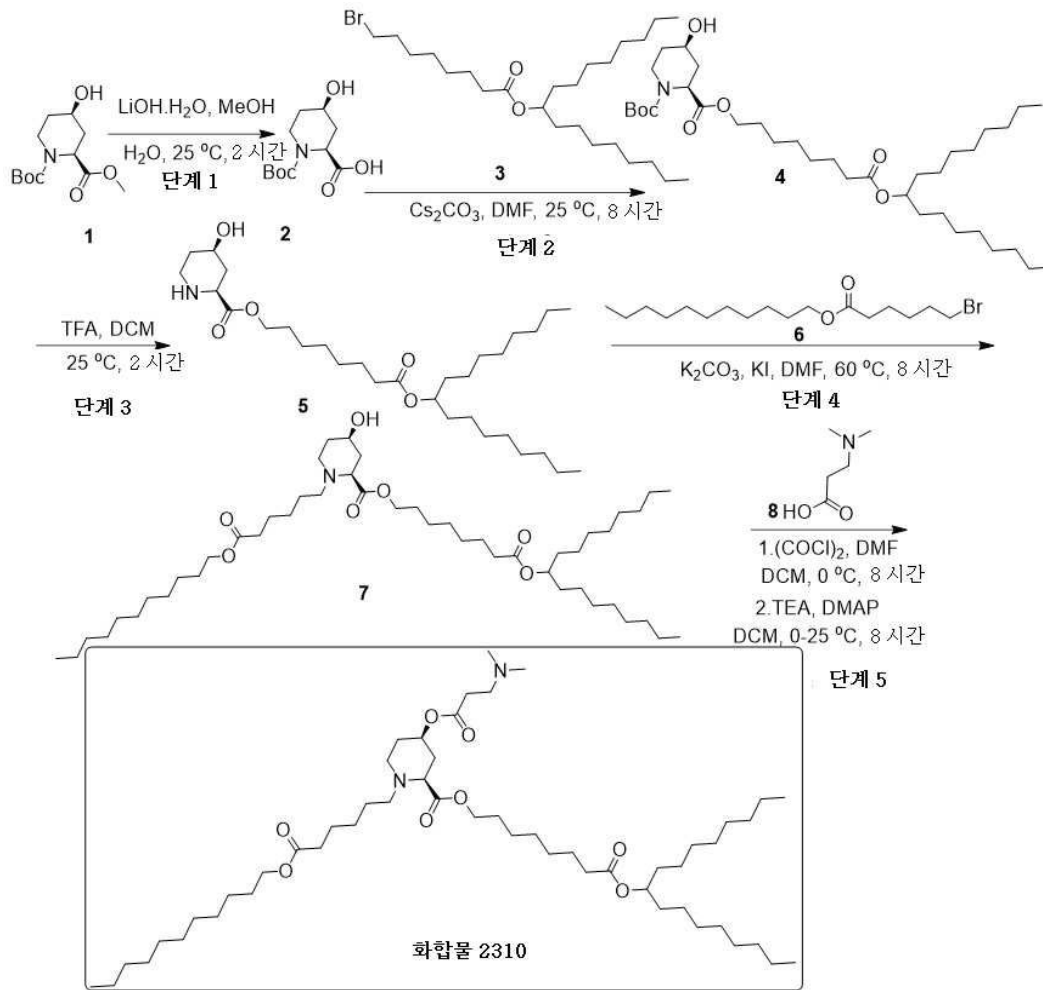
[1054] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.03-4.11(m, 5H), 3.51 (t, J=4.8 Hz, 1H), 2.92-2.98 (m, 1H), 2.53-2.62 (m, 2H), 2.38-2.45 (m, 1H), 2.26-2.31 (m, 4H), 2.05-2.07 (m, 1H), 1.89-1.94 (m, 1H), 1.74-1.82 (m, 1H), 1.58-1.65 (m, 9H), 1.46-1.55 (m, 6H), 1.26-1.35 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[1055] 단계 5:

[1056] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(0.7 g, 4.56 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(16.65 mg, 227.85 μmol, 17.53 μL, 0.05 당량) 및 (COCl)<sub>2</sub>(694.10 mg, 5.47 mmol, 478.69 μL, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(780 mg, 미정제, HCl)를 미정제 생성물로서 수득하였다. 미정제 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(758.19 mg, 4.41 mmol, 5 당량, HCl)를 DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(700 mg, 881.35 μmol, 1 당량), TEA(891.83 mg, 8.81 mmol, 1.23 mL, 10 당량), 및 DMAP(53.84 mg, 440.68 μmol, 0.5 당량)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 10 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1, 0.5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(175 mg, 186.09 μmol, 21.11% 수율, 96% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1057] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.02-5.06 (m, 1H), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.05-4.13 (m, 4H), 3.36-3.39 (m, 1H), 2.94-2.99 (m, 1H), 2.23-2.63 (m, 17H), 1.89-2.03 (m, 3H), 1.60-1.65 (m, 9H), 1.49-1.53 (m, 6H), 1.26-1.33 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 893.8 @ 9.863분

[1058] 8.16. 화합물 2310의 합성



[1059]

[1060] 단계 1:

[1061]

MeOH(12 mL) 및 H<sub>2</sub>O(6 mL) 01-tert-부틸 02-메틸 (2S,4R)-4-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 7.71 mmol, 1 당량)의 용액에 LiOH.H<sub>2</sub>O(647.34 mg, 15.43 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 그런 다음, 용액을 1 N HCl로 pH는 3으로 조정하고, EtOAc 45 mL(15 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 (2S,4R)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(1.6 g, 6.52 mmol, 84.58% 수율)을 무색 오일로서 수득하고, 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1062]

단계 2:

[1063]

DMF(15 mL) (2S,4R)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피페리딘-2-카르복실산(1.6 g, 6.52 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(3.61 g, 7.83 mmol, 1.2 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(4.68 g, 14.35 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.20 mmol, 49.02% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1064]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.64-4.89 (m, 1H), 4.11-4.20 (m, 3H), 3.70-3.92 (m, 1H), 3.27-3.42 (m, 1H), 2.41-2.44 (m, 1H), 2.27-2.29 (m, 2H), 1.87-1.93 (m, 1H), 1.58-1.64 (m, 8H), 1.45-1.51 (m, 14H), 1.26-

1.34 (m, 30H), 0.88 (t, J=6.8H, 6H).

[1065]

**단계 3:**

[1066]

DCM(14 mL) 중 O1-tert-부틸 O2-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시피페리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.20 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(7 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정한 다음, EtOAc 90 mL(30 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 3% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(1.5 g, 2.85 mmol, 89.29% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1067]

**단계 4:**

[1068]

DMF(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시피페리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 950.93 μmol, 1 당량)의 용액에 운데실 6-브로모헥사노에이트(996.61 mg, 2.85 mmol, 3 당량), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(394.27 mg, 2.85 mmol, 3 당량) 및 KI(157.86 mg, 950.93 μmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 60 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실) 피페리딘-2-카르복실레이트(550 mg, 692.49 μmol, 72.82% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1069]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.82-4.88 (m, 1H), 4.02-4.14 (m, 2H), 3.72-3.74 (m, 1H), 3.07-3.72 (m, 2H), 2.48-2.55 (m, 1H), 2.26-2.30 (m, 8H), 1.89-1.92 (m, 1H), 1.73-1.78 (m, 2H), 1.57-1.63 (m, 8H), 1.49-1.52 (m, 6H), 1.24-1.33(m, 50H), 0.87 (t, J=6.4Hz, 9H).

[1070]

**단계 5:**

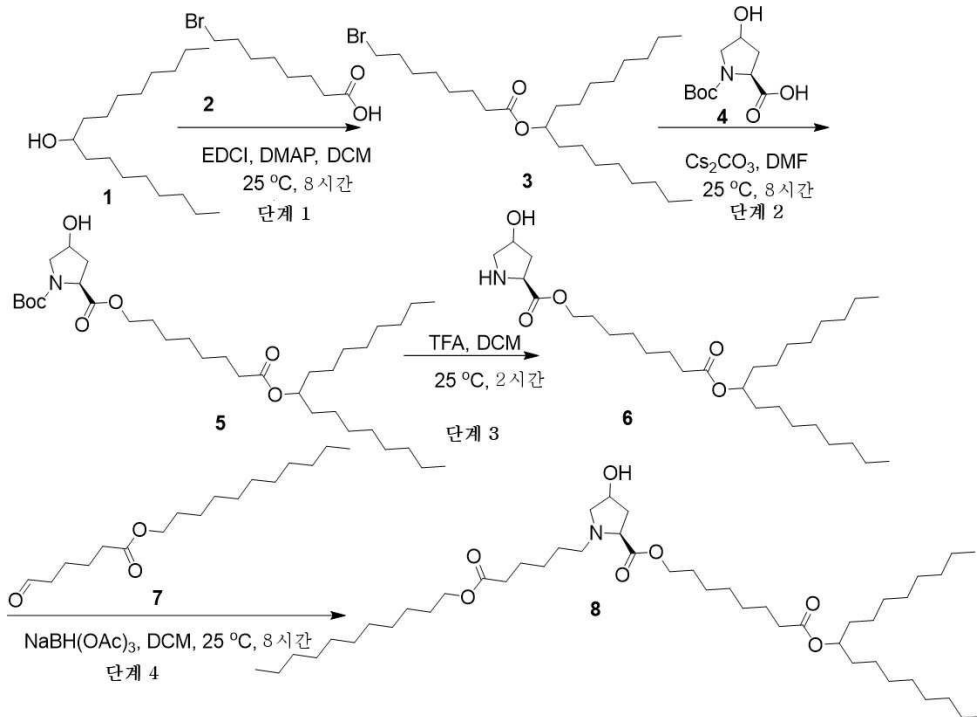
[1071]

DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(440 mg, 2.86 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(10.47 mg, 143.22 μmol, 11.02 μL, 0.05 당량) 및 옥살릴 이염화물(436.29 mg, 3.44 mmol, 300.89 μL, 1.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(492 mg, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다. 미정제 오일 잔류물을 DCM(5 mL)으로 용해시킨 다음, 0℃에서 DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 629.54 μmol, 1 당량), TEA(637.02 mg, 6.30 mmol, 876.23 μL, 10 당량) 및 DMAP(38.45 mg, 314.77 μmol, 0.5 당량)의 용액에 첨가하였다. 합한 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 10 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc 15 mL(5 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 p-HPLC(컬럼: Xselect CSH C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [H<sub>2</sub>O(0.04%HCl)-THF:ACN=1:3]; 구배:10.0분에 걸쳐 30% 내지 70% B)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피페리딘-2-카르복실레이트(29 mg, 32.46 μmol, 36.25% 수율, HCl 염)를 황색 오일로서 수득하였다.

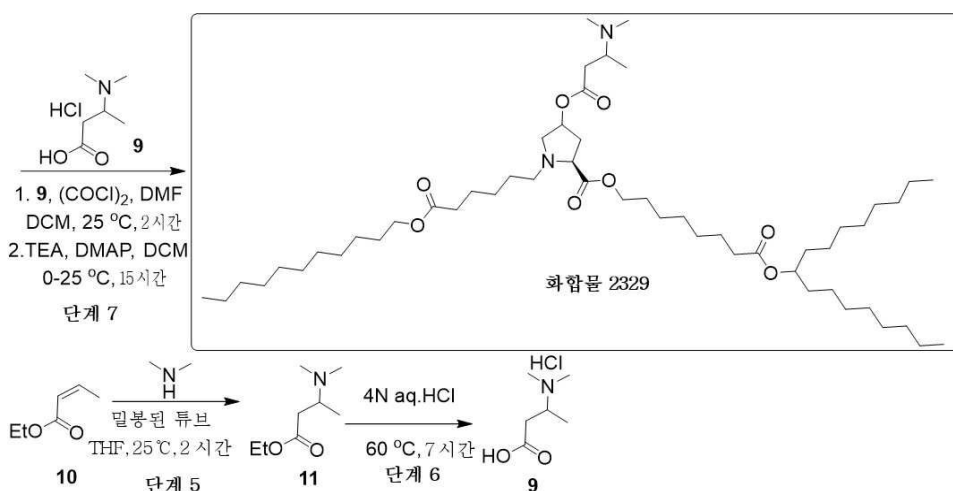
[1072]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 12.86-13.00 (m, 2H), 5.16 (brs, 1H), 4.82-4.85 (m, 1H), 3.85-4.20 (m, 6H), 3.30 (brs, 4H), 2.71-3.12 (m, 10H), 2.50-2.54 (m, 1H), 2.26-2.32 (m, 4H), 2.13 (brs, 1H), 1.96 (brs, 1H), 1.2 (brs, 1H), 1.63-1.82(m, 8H), 1.49-1.50 (m, 4H), 1.25-1.50 (m, 49H), 0.87 (t, J=6.4H, 9H). LCMS (CAD): (M+H<sup>+</sup>): 893.3 @ 9.371분.

[1073] 8.17. 화합물 2329의 합성



[1074]



[1075]

[1076] 단계 1:

[1077] DCM(500 mL) 중 8-브로모옥탄산(5 g, 22.41 mmol, 1.2 당량)의 용액에 EDCI(5.37 g, 28.01 mmol, 1.5 당량) 및 DMAP(456.31 mg, 3.74 mmol, 0.2 당량), 헵타데칸-9-올(4.79 g, 18.68 mmol, 1 당량)을 25°C에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고, N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 H<sub>2</sub>O 500 mL로 희석한 다음, EtOAc 800 mL(400 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 500 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 노닐 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(24 g, 52.00 mmol, 92.81% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1078] 단계 2:

[1079] DMF(30 mL) 중 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(2.5 g, 10.81 mmol, 1 당량) 및 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(7.75 g, 23.78 mmol, 2.2 당량)의 용액에 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(5.99 g, 12.97 mmol, 1.2

당량)를 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 100 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 그런 다음, 합쳐진 유기층을 90 mL 염수(30 mLx3)로 세척하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 0/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10.78 g, 17.62 mmol, 81.48% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1080] **단계 3:**

[1081] DCM(12 mL) 중 TFA(465.86 mg, 4.09 mmol, 303.49 μL, 1 당량)의 용액을 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2.5 g, 4.09 mmol, 1 당량)에 첨가하고, N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 그런 다음, 잔류물을 EtOAc(30 mL)로 용해하고, 유기층을 포화 NaHCO<sub>3</sub> 60 mL(20 mLx3) 및 염수 60 mL(20 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/0 내지 1/0, 3% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(3.14 g, 6.14 mmol, 75.09% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1082] **단계 4:**

[1083] DCM(30 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(3.1 g, 6.06 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-옥소헥사노에이트(2.07 g, 7.27 mmol, 1.2 당량)의 용액을 25℃에서 30분 동안 교반한 다음, NaBH(OAc)<sub>3</sub>(3.85 g, 18.17 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 7.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 50 mL로 희석하고 DCM 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 90 mL(30 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1:1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데코시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(2.86 g, 3.67 mmol, 60.52% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1084] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.25-4.55 (m, 1H), 4.01-4.20 (m, 5H), 3.40-3.60 (m, 1H), 3.06-3.32 (m, 1H), 2.40-2.71 (m, 3H), 2.15-2.40 (m, 5H), 1.90-2.05 (m, 1H), 1.55-1.80 (m, 11H), 1.15-1.40 (m, 51H), 0.89 (t, J = 6.8 Hz, 9H).

[1085] **단계 5:**

[1086] N-메틸메탄아민(2 M, 20 mL, 4.57 당량, THF) 중 에틸 (Z)-부트-2-엔오에이트(1 g, 8.76 mmol, 1 당량)의 용액을 100 mL의 밀봉된 튜브에서 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여 에틸 3-(디메틸아미노)부타노에이트(0.64 g, 4.02 mmol, 45.88% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1087] **단계 6:**

[1088] 에틸 3-(디메틸아미노)부타노에이트(0.32 g, 2.01 mmol, 1 당량)를 수성 HCl(4 M, 20.98 mL, 41.76 당량)에 용해시키고, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 60℃에서 7시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 20 mL 물로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출한 다음, 수성상을 동결 건조시켜 3-(디메틸아미노)부탄산(0.231 g, 1.76 mmol, 87.63% 수율, HCl)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

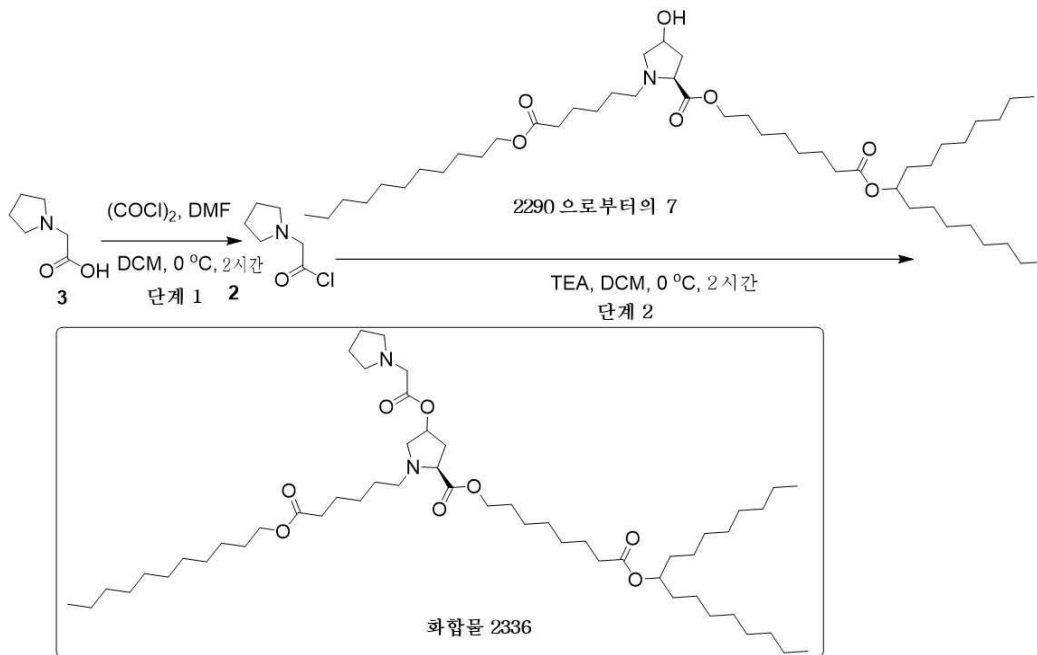
[1089] **단계 7:**

[1090] DCM(20 mL) 중 3-(디메틸아미노)부탄산(0.231 g, 1.76 mmol, 231.00 μL, 1 당량)의 혼합물에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 (COCl)<sub>2</sub>(1.12 g, 8.81 mmol, 770.77 μL, 5 당량) 및 DMF(6.44 mg, 88.05 μmol, 6.77 μL, 0.05 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에 25℃에서 2시간 동안 교반하였다.

반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)부타노일 염화물(0.24 g, 1.60 mmol, 91.09% 수율)을 황색 오일로서 수득하였다. DCM(25 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.25 g, 320.43  $\mu$ mol, 1 당량), TEA(226.97 mg, 2.24 mmol, 312.20  $\mu$ L, 7 당량), 및 DMAP(19.57 mg, 160.21  $\mu$ mol, 0.5 당량)의 용액에 DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)부타노일 염화물(239.71 mg, 1.60 mmol, 5 당량)의 용액을 0°C에서 적가하였다. 혼합물을 25°C에서 15시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$  30 mL에 첨가하고 DCM 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수(50 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/0, 3%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 및 분취-HPLC(컬럼: Xselect CSH C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [ $\text{H}_2\text{O}$ (0.04% $\text{HCl}$ )- $\text{ACN}$ : $\text{THF}$ =1:1]; 구배:8.0분에 걸쳐 40% 내지 80% B)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)부타노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(47 mg, 51.30  $\mu$ mol, 47.70% 수율,  $\text{HCl}$ )를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1091]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 11.43-13.32 (m, 2H), 5.23-5.55 (m, 1H), 4.80-4.95 (m, 1H), 4.40-4.70 (m, 1H), 3.90-4.40 (m, 6H), 3.50-3.90 (m, 2H), 2.60-3.40 (m, 10H), 2.50-2.60 (m, 1H), 2.20-2.40 (m, 4H), 1.60-2.02 (m, 9H), 1.20-1.50 (m, 56H), 0.87 (t,  $J=6.8$  Hz, 9H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 893.7 @ 11.259분.

[1092] 8.18. 화합물 2336의 합성



[1093]

[1094] 단계 1:

[1095] DCM(10 mL) 중 2-피롤리딘-1-일아세트산(500 mg, 3.87 mmol, 1 당량)의 용액에 DMF(28.30 mg, 387.13  $\mu$ mol, 29.79  $\mu$ L, 0.1 당량) 및  $(\text{COCl})_2$ (589.64 mg, 4.65 mmol, 406.65  $\mu$ L, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 2-피롤리딘-1-일아세틸 염화물(570 mg, 미정제)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

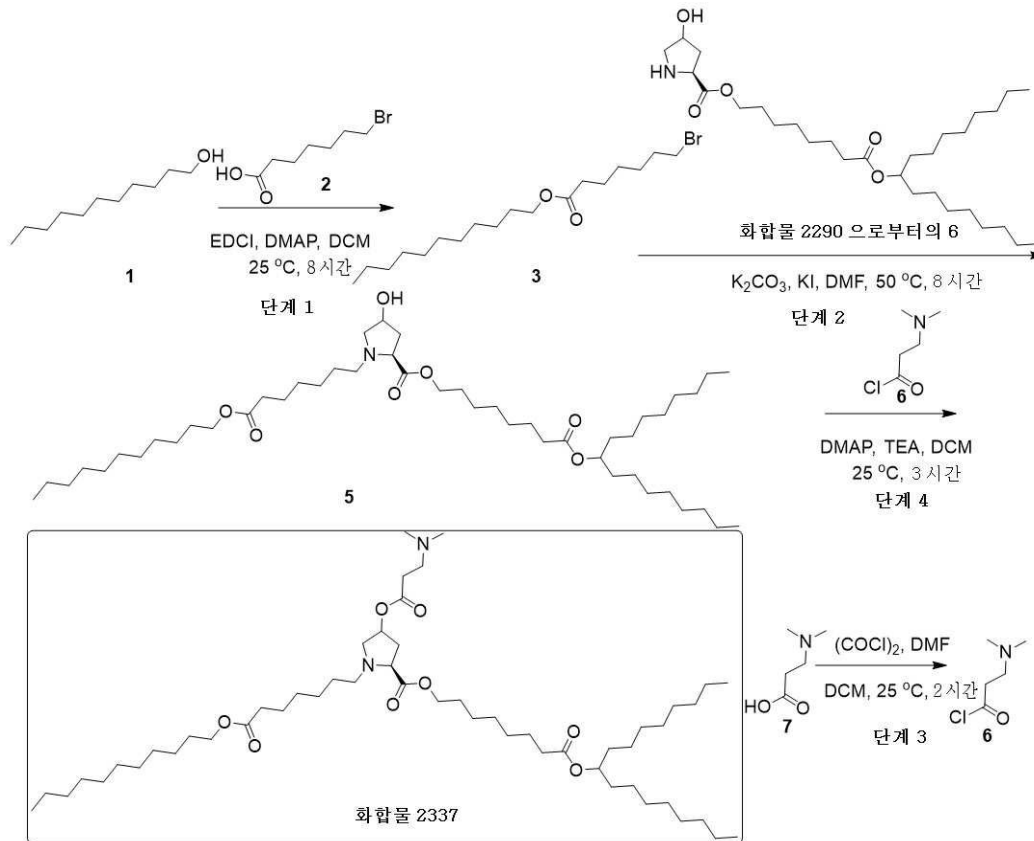
[1096] 단계 2:

[1097] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(600 mg, 769.03  $\mu$ mol, 1 당량)의 용액에 TEA(778.17 mg, 7.69 mmol, 1.07 mL, 10 당량) 및 2-피롤리딘-1-일아세틸 염화물(567.55 mg, 3.85 mmol, 5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [ $\text{H}_2\text{O}$ (0.04% $\text{HCl}$ )- $\text{ACN}$ ]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하였다. 그런 다음, 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$ 으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 30 mL 염수(10

mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)-4-(2-피롤리딘-1-일아세틸)옥시-피롤리딘-2-카르복실레이트(127 mg, 142.48 μmol, 18.53% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1098] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.22-5.29 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.04-4.14 (m, 4H), 3.12-3.55 (m, 4H), 2.13-2.70 (m, 13H), 1.83 (d, J=3.6 Hz, 4H), 1.61-1.65 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.26-1.34 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 9H). (M+H<sup>+</sup>): 891.7. LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 891.7 @ 10.183&10.335분.

[1099] 8.19. 화합물 2337의 합성



[1100]

[1101] 단계 1:

[1102] DCM(100 mL) 중 운데칸-1-올(5 g, 29.02 mmol, 1 당량) 및 7-브로모헵탄산(6.07 g, 29.02 mmol, 1 당량)의 용액에 DMAP(1.77 g, 14.51 mmol, 0.5 당량) 및 EDCI(6.68 g, 34.82 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25 °C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(200 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 운데실 7-브로모헵타노에이트(7 g, 19.26 mmol, 66.39% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1103] 단계 2:

[1104] DMF(15 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(0.5 g, 976.99 μmol, 1 당량) 및 운데실 7-브로모헵타노에이트(426.01 mg, 1.17 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(405.09 mg, 2.93 mmol, 3 당량) 및 KI(81.09 mg, 488.50 μmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(7-옥소-7-운데콕시-헵틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(700

mg, 881.35  $\mu\text{mol}$ , 45.11% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1105]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.82-4.92 (m, 1H), 4.03-4.16 (m, 6H), 2.22-2.37 (m, 6H), 1.58-1.67 (m, 12H), 1.47-1.53 (m, 4H), 1.24-1.37 (m, 52H), 0.85-0.92 (m, 9H).

[1106] **단계 3:**

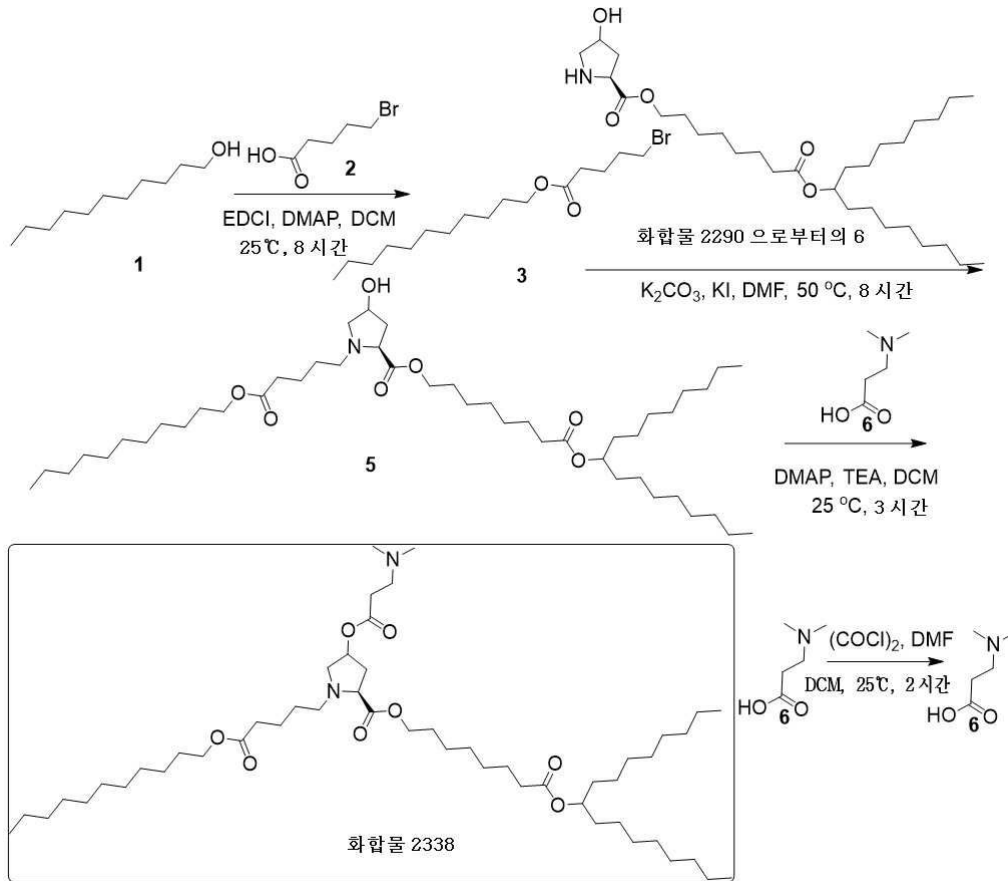
[1107] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(200 mg, 1.71 mmol, 1 당량)의 용액에  $(\text{COCl})_2$ (1.08 g, 8.54 mmol, 747.26  $\mu\text{L}$ , 5 당량) 및 DMF(12.48 mg, 170.73  $\mu\text{mol}$ , 13.14  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(293.7 mg, 1.71 mmol, 99.99% 수율, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하였다.

[1108] **단계 4:**

[1109] DCM(3 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(7-옥소-7-운데록시-헵틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(400 mg, 503.63  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), TEA(254.81 mg, 2.52 mmol, 350.50  $\mu\text{L}$ , 5 당량), 및 DMAP(30.76 mg, 251.81  $\mu\text{mol}$ , 0.5 당량)의 현탁액에 DCM(1 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(259.95 mg, 1.51 mmol, 3 당량, HCl)을 25°C에서 적가하였다. 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 수성  $\text{NaHCO}_3$  10 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu\text{m}$ ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 40% 내지 70%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액이 pH는 약 7이 될 때까지 포화  $\text{NaHCO}_3$ 을 용액에 첨가한 다음, EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(7-옥소-7-운데록시-헵틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(60 mg, 156.71  $\mu\text{mol}$ , 13.34% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1110]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.17-5.32 (m, 1H), 4.80-4.93 (m, 1H), 4.02-4.17 (m, 4H), 3.06-3.58 (m, 2H), 1.91-2.85 (m, 19H), 1.60 (s, 8H), 1.48-1.54 (m, 6H), 1.24-1.36 (m, 50H), 0.85-0.91 (m, 9H). **LCMS:** ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 893.7 @ 10.113/10.172분.

[1111] 8.20. 화합물 2338의 합성



[1112]

[1113] 단계 1:

[1114] DCM(100 mL) 중 운데칸-1-올(5 g, 29.02 mmol, 1 당량) 및 5-브로모펜탄산(5.25 g, 29.02 mmol, 1 당량)의 용액에 DMAP (1.77 g, 14.51 mmol, 0.5 당량) 및 EDCI(6.68 g, 34.82 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(100 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(100 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 5-브로모펜타노에이트(7 g, 20.88 mmol, 71.94% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1115]

[1116] 단계 2:

[1116] DMF(15 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(0.5 g, 976.99 μmol, 1 당량) 및 운데실 5-브로모펜타노에이트(393.12 mg, 1.17 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(405.09 mg, 2.93 mmol, 3 당량) 및 KI(81.09 mg, 488.50 μmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 20 mL H<sub>2</sub>O를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 40 mL(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 0/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시-1-(5-옥소-5-운데콕시-펜틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(700 mg, 913.62 μmol, 46.76% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1117]

[1118] 단계 3:

[1118] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(200 mg, 1.71 mmol, 1 당량)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(1.08 g, 8.54 mmol, 747.26 μL, 5 당량) 및 DMF(12.48 mg, 170.73 μmol, 13.14 μL, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(293.7 mg, 1.71

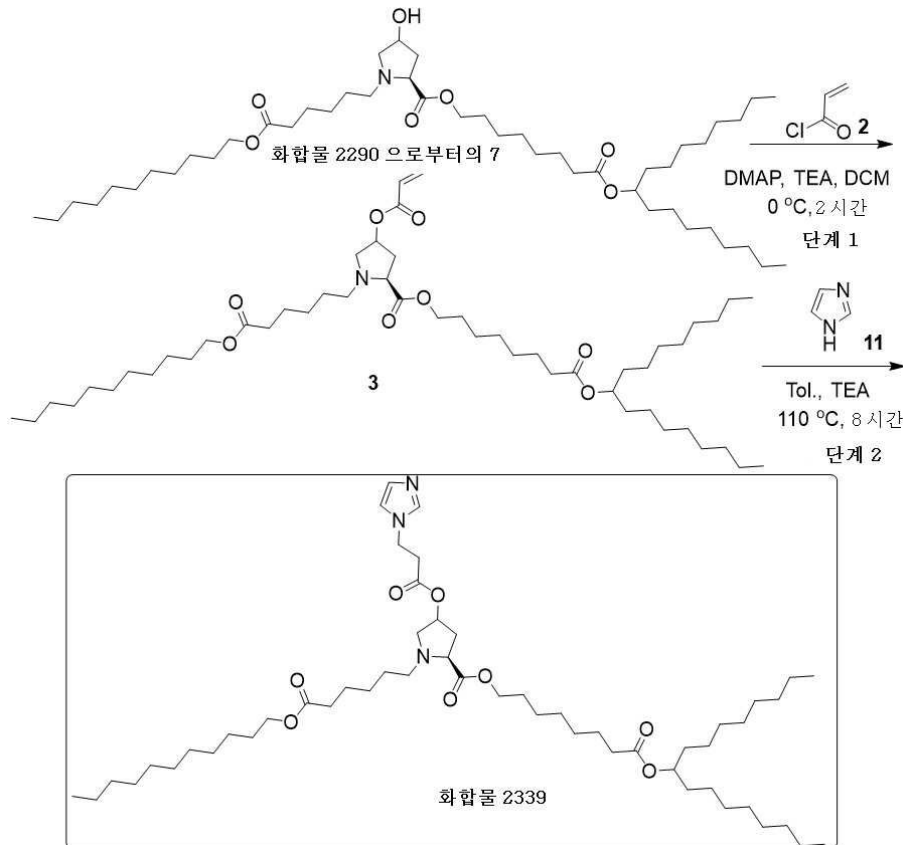
mmol, 99.99% 수율, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하였다.

[1119] **단계 4:**

[1120] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(269.47 mg, 1.57 mmol, 3 당량, HCl), TEA(264.14 mg, 2.61 mmol, 363.33  $\mu$ L, 5 당량), 및 DMAP(31.89 mg, 261.03  $\mu$ mol, 0.5 당량)의 현탁액에 DCM(3 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시-1-(5-옥소-5-운데록시-펜틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(400 mg, 522.07  $\mu$ mol, 1 당량)를 25°C에서 적가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 25°C에서 수성 NaHCO<sub>3</sub> 10 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 20 mL 염수(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 $\mu$ m; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 40% 내지 70%, 10분)로 정제하여 용액을 수득하였다. 용액을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(100 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-(5-옥소-5-운데록시-펜틸)피롤리딘-2-카르복실레이트(110 mg, 161.79  $\mu$ mol, 24.35% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1121] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.14-5.32 (m, 1H), 4.81-4.95 (m, 1H), 3.99-4.19 (m, 4H), 3.06-3.60 (m, 2H), 2.41-2.83 (m, 7H), 1.99-2.35 (m, 12H), 1.59-1.67 (m, 8H), 1.47-1.56 (m, 6H), 1.23-1.37 (m, 46H), 0.82-0.94 (m, 9H). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 865.6 @ 11.572분.

[1122] **8.21. 화합물 2339의 합성**



[1123] **단계 1:**

[1125] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 1.28 mmol, 1 당량), TEA(648.47 mg, 6.41 mmol, 891.99  $\mu$ L, 5 당량), 및 DMAP(78.29 mg, 640.85  $\mu$ mol, 0.5 당량)의 용액에 프로프-2-에노일 염화물(464.02 mg, 5.13 mmol, 418.04  $\mu$ L, 4 당량)을 0°C에서 적가한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시

켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)-4-프로프-2-엔오일옥시-피롤리딘-2-카르복실레이트(0.45 g, 539.40 μmol, 42.08% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

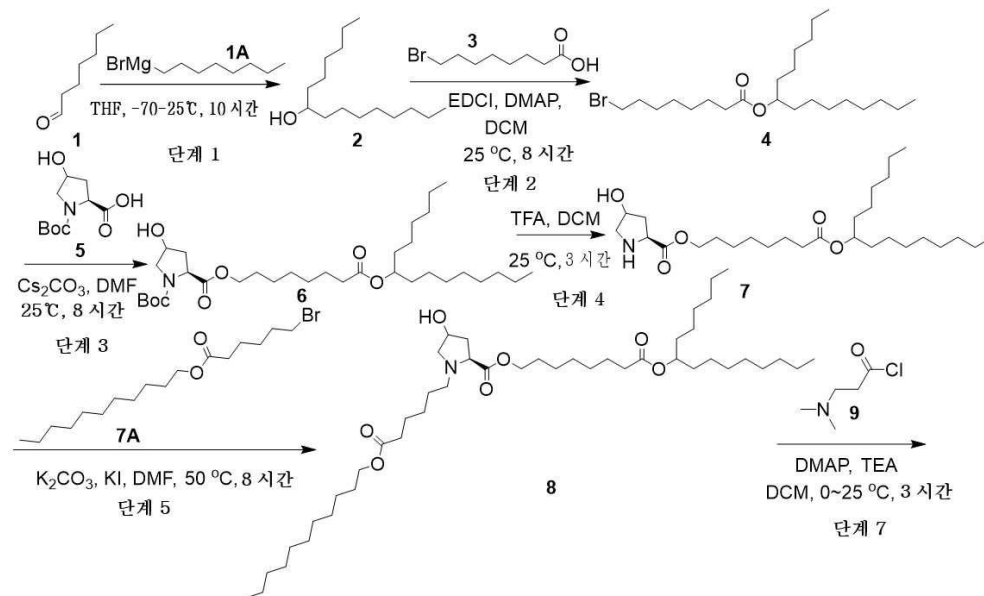
[1126] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 6.42 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 6.08-6.18 (m, 1H), 5.58 (t, J=10.0 Hz, 1H), 5.21-5.48 (m, 1H), 4.86-4.88 (m, 1H), 4.04-4.15 (m, 5H), 3.15-3.75 (m, 2H), 2.03-2.89 (m, 9H), 1.50-1.66 (m, 17H), 1.27-1.30 (m, 44H), 0.87 (t, J=5.6 Hz, 9H).

[1127] 단계 2:

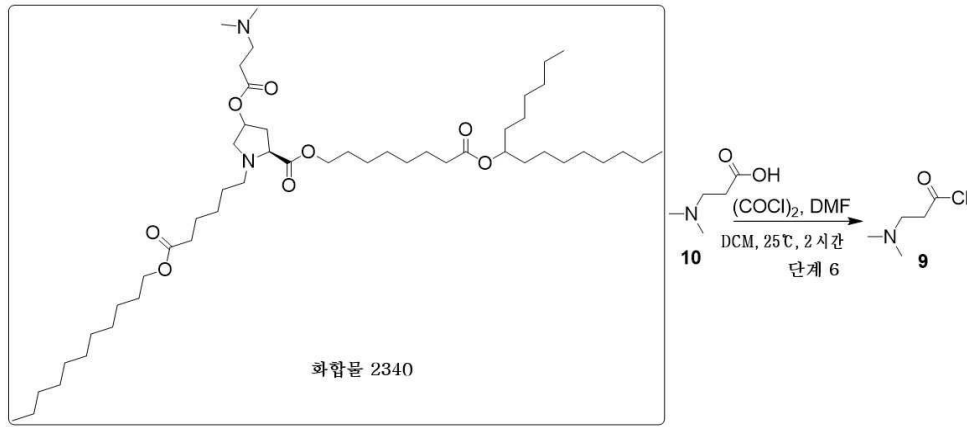
[1128] Tol.(5 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)-4-프로프-2-엔오일옥시-피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 239.73 μmol, 1 당량), 이미다졸(48.96 mg, 719.20 μmol, 3 당량), TEA(24.26 mg, 239.73 μmol, 33.37 μL, 1 당량)의 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 110℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0:1, 0.3% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O) 및 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 포화 NaHCO<sub>3</sub> 30 mL로 세척하고 EtOAc 60 mL(30 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 20 mL 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-(3-이미다졸-1-일프로파노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(45 mg, 49.87 μmol, 37.50% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1129] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.62 (d, J = 27.2 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.96 (d, J = 27.2 Hz, 1H), 5.19-5.27 (m, 1H), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.28 (t, J=6.8 Hz, 2H), 4.04-4.12 (m, 4H), 3.44-3.48 (m, 1H), 3.01-3.33 (m, 1H), 2.77-2.80 (m, 2H), 2.48-2.71 (m, 3H), 2.28-2.31 (m, 5H), 2.01-2.21 (m, 1H), 1.50-1.62 (m, 14H), 1.27-1.45 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 902.6 @ 11.521분.

[1130] 8.22. 화합물 2340의 합성



[1131]



[1132]

[1133]

**단계 1:**

[1134]

THF(200 mL) 중 헵타날(20 g, 175.15 mmol, 24.45 mL, 1 당량)의 용액에 브로모(옥틸)마그네슘(2 M, 96.33 mL, 1.1 당량)을  $-70^\circ\text{C}$ 에서 첨가하였다. 혼합물을  $25^\circ\text{C}$ 에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물(5 배치를 합함)을  $0^\circ\text{C}$ 에서 포화  $\text{NH}_4\text{Cl}$  300mL를 첨가하여 쿨링한 다음,  $\text{H}_2\text{O}$  2000 mL로 희석하고 EtOAc(500 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 NaCl 500 mL로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 50/1)로 정제하여 펜타데칸-7-올(20 g, 87.56 mmol, 25.00% 수율)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1135]

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 3.49-3.56 (m, 1H), 1.15-1.36 (m, 24H), 0.79-0.82 (m, 6H).

[1136]

**단계 2:**

[1137]

DCM(50 mL) 중 펜타데칸-7-올(5 g, 21.89 mmol, 1 당량) 및 8-브로모옥탄산(4.88 g, 21.89 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(5.04 g, 26.27 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(1.34 g, 10.95 mmol, 0.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을  $25^\circ\text{C}$ 에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 50 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0)로 정제하여 1-헥실노닐 8-브로모옥타노에이트(6.5 g, 14.99 mmol, 68.50% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1138]

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.91 (m, 1H), 3.41 (t,  $J=6.8$  Hz, 2H), 2.29 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 1.82-1.89 (m, 2H), 1.59-1.67 (m, 2H), 1.40-1.52 (m, 6H), 1.26-1.36 (m, 24H), 0.88 (t,  $J=6.4$  Hz, 6H).

[1139]

**단계 3:**

[1140]

DMF(30 mL) 중 1-헥실노닐 8-브로모옥타노에이트(3 g, 6.92 mmol, 1.2당량)의 용액에  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (4.13 g, 12.69 mmol, 2.2 당량) 및 (2S)-1-tert-부틸-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(1.33 g, 5.77 mmol, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을  $25^\circ\text{C}$ 에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 50 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 3/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2.7 g, 4.62 mmol, 80.19% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1141]

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.28-4.52 (m, 2H), 4.11-4.25 (m, 3H), 3.46-3.69 (m, 2H), 2.29-2.40 (m, 3H), 2.06-2.11 (m, 2H), 1.26-1.53 (m, 41 H), 0.89 (t,  $J=6.4$  Hz, 6H).

[1142]

**단계 4:**

[1143]

DCM(14 mL) 중 01-tert-부틸 02-[8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.43 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(10.78 g, 94.54 mmol, 7 mL, 27.60 당량)를 첨가하였다. 혼합물을

25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 용매를 제거하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 20 mL(10 mLx 2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1.5 g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1144] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.91 (m, 1H), 4.41-4.49 (m, 1H), 4.12-4.20 (m, 3H), 3.07-3.21 (m, 2H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 3H), 2.06-2.11 (m, 2H), 1.62-1.67 (m, 4H), 1.51-1.53 (m, 4H), 1.27-1.36 (m, 26H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 6 H)

[1145] 단계 5:

[1146] DMF(30 mL) 중 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1.5 g, 3.10 mmol, 1당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.29 g, 9.30 mmol, 3 당량) 및 KI(257.38 mg, 1.55 mmol, 0.5 당량), 및 운데실 6-브로모헥사노에이트(1.19 g, 3.41 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 50 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(15 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실) 피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 2.66 mmol, 85.75% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1147] 단계 6:

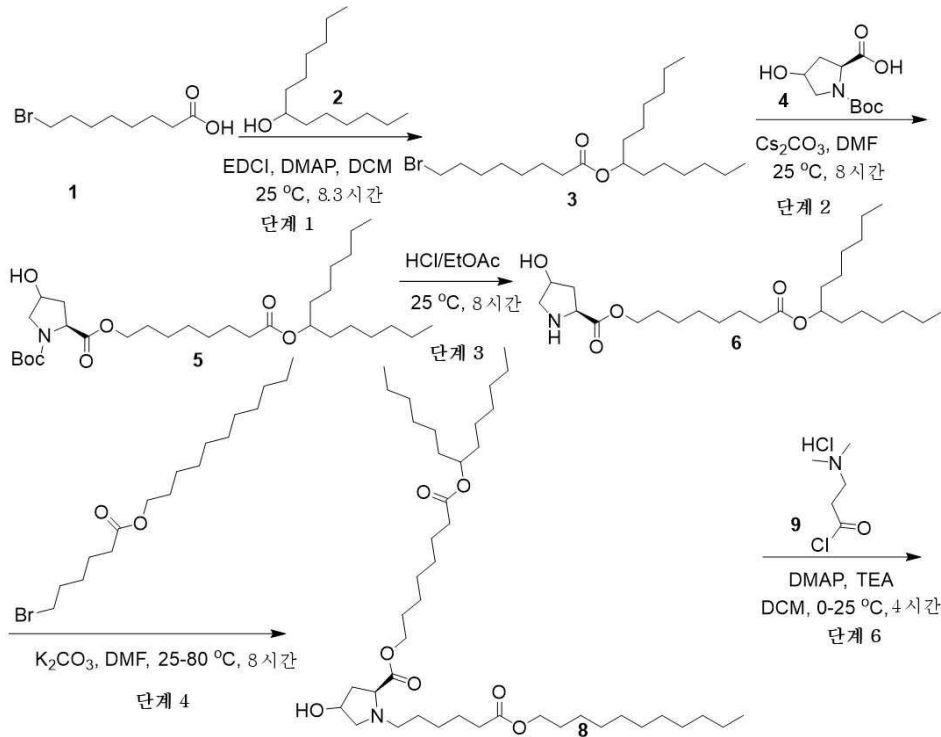
[1148] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(500 mg, 3.26 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(23.79 mg, 325.51 μmol, 25.04 μL, 0.1 당량) 및 (COCl)<sub>2</sub>(495.78 mg, 3.91 mmol, 341.92 μL, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노) 프로파노일 염화물(560 mg, 미정제, HCl)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1149] 단계 7:

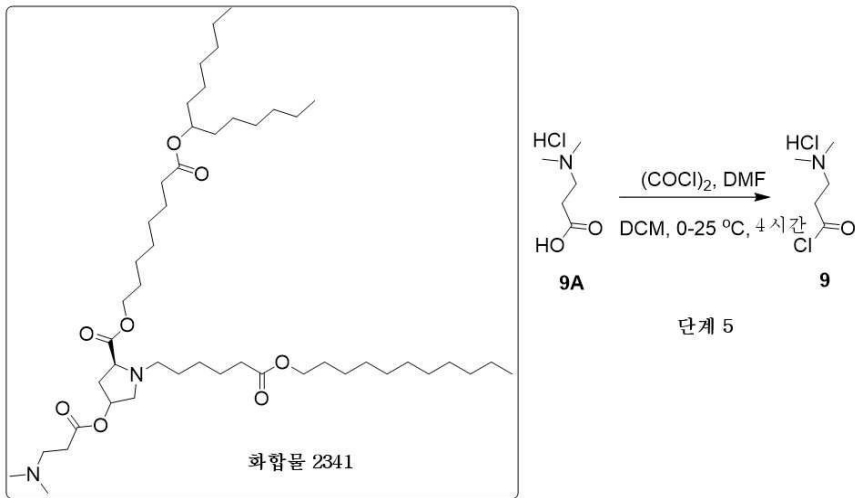
[1150] DCM(10 mL) 중 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 664.76 μmol, 1 당량)의 용액에 DMAP(16.24 mg, 132.95 μmol, 0.2 당량) 및 TEA(672.66 mg, 6.65 mmol, 925.25 μL, 10 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(554.71 mg, 3.22 mmol, 4.85 당량, HCl)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 40 mL로 희석하고 EtOAc 45 mL(15 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 30 mL 염수(15 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1 내지 1/1)로 정제하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 40% 내지 70%, 10분)로 정제하였다. 그런 다음, 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 45 mL(15 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켜 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노) 프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(380 mg, 446.38 μmol, 67.15% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1151] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.18-5.28 (m, 1H), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.03-4.14 (m, 4H), 3.09-3.54 (m, 2H), 2.47-2.62 (m, 7H), 2.00-2.31 (m, 12H), 1.61-1.63 (m, 8H), 1.49-1.51 (m, 6H), 1.26-1.33 (m, 44H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 851.8 @ 10.805분.

[1152] 8.23. 화합물 2341의 합성



[1153]



[1154]

[1155] 단계 1:

[1156]

DCM(200 mL) 중 8-브로모옥탄산(9.47 g, 42.42 mmol, 1.7 당량)의 용액에 EDCI(8.13 g, 42.42 mmol, 1.7 당량) 및 DMAP(3.35 g, 27.45 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에 25 °C에서 0.3시간 동안 교반하였다. 혼합물에 트리데칸-7-올(5 g, 24.96 mmol, 1 당량)을 첨가한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25 °C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 200 mL H<sub>2</sub>O로 희석하고, EtOAc 900 mL(300 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 200 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 1-헥실헵틸 8-브로모옥타노에이트(7.78 g, 19.18 mmol, 76.85% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1157]

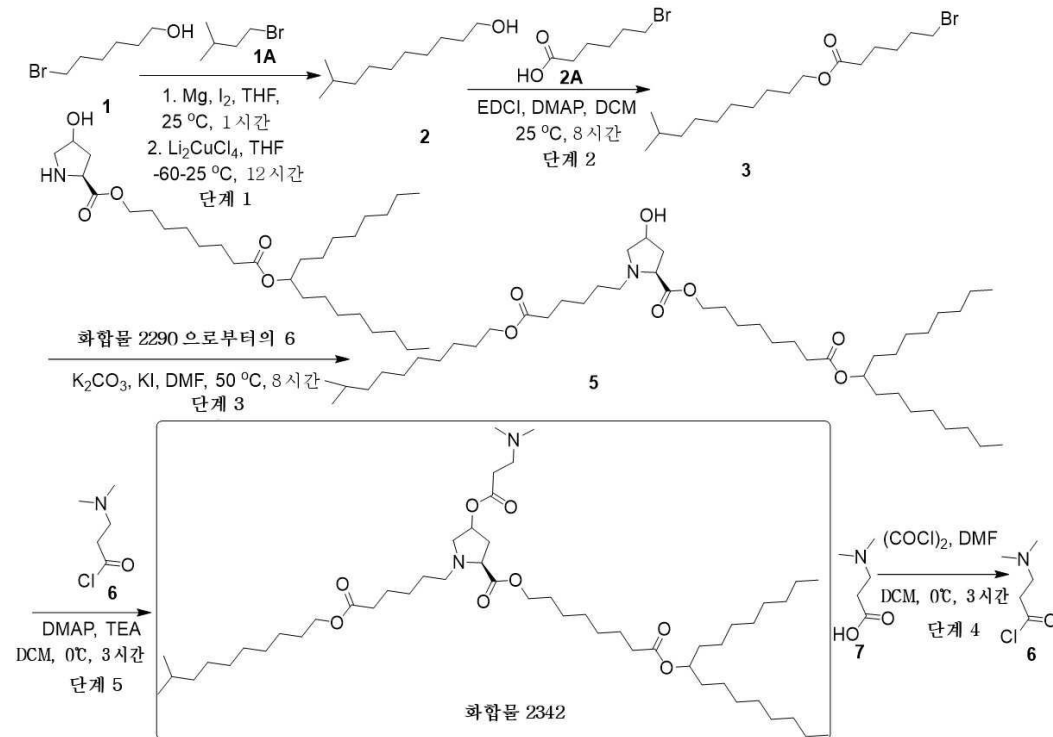
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 3.41 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.29 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.84-1.90 (m, 2H), 1.59-1.67 (m, 2H), 1.40-1.57 (m, 8H), 1.25-1.38 (m, 18H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

- [1158] **단계 2:**
- [1159] DMF(200 mL) 중 1-헥실헵틸 8-브로모옥타노에이트(7.28 g, 17.95 mmol, 1.2 당량) 및 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(3.46 g, 14.95 mmol, 1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10.72 g, 32.90 mmol, 2.2 당량)을 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 100 mL로 희석하고 EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 300 mL(300 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(6.31 g, 11.36 mmol, 75.97% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1160] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) , 4.85-4.88 (m, 1H), 4.05-4.35 (m, 2H), 4.35-4.55 (m, 2H), 3.38-3.75 (m, 2H), 2.20-2.44 (m, 3H), 2.25-2.17 (m, 1H), 1.59-1.67 (m, 4H), 1.40-1.55 (m, 13H), 1.20-1.38 (m, 22H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).
- [1161] **단계 3:**
- [1162] EtOAc(31.5 mL) 중 01-tert-부틸 02-[8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(5.7 g, 10.26 mmol, 1 당량)의 용액에 HCl/EtOAc(4 M, 31.5 mL, 12.29 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>(60 mL)으로 pH는 7.0으로 조정하고 EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(4.39 g, 9.63 mmol, 93.94% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1163] **단계 4:**
- [1164] DMF(100 mL) 중 [8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(4.36 g, 9.56 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-브로모헥사노에이트(4.00 g, 11.48 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.97 g, 28.72 mmol, 3 당량)을 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 H<sub>2</sub>O 150 mL로 희석한 다음, EtOAc 400 mL(100 mLx4)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 300 mL(150 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 8/1 내지 1/1, 5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 [8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(4.21 g, 5.81 mmol, 60.77% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1165] **단계 5:**
- [1166] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(600 mg, 3.91 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 옥살릴 이염화물(2.48 g, 19.53 mmol, 1.71 mL, 5 당량) 및 DMF(19.00 mg, 259.94 μmol, 0.02 mL, 6.65e-2 당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 25℃로 가온하고 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(700 mg, 미정제, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.
- [1167] **단계 6:**
- [1168] DCM(10 mL) 중 [8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 690.51 μmol, 1 당량) 및 DMAP(8.44 mg, 69.05 μmol, 0.1 당량), TEA(698.72 mg, 6.91 mmol, 961.10 μL, 10 당량)의 용액에 DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(594.02 mg, 3.45 mmol, 5 당량, HCl)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 40 mL를 첨가하여 퀀칭하고, EtOAc 400 mL(200 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 100 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물

을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 40% 내지 70%, 10분) 및 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트= 1:10, 2% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 [8-(1-헥실헵톡시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(76 mg, 92.43 μmol, 100% 순도, 24.18% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1169] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.27 (m, 1H), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.03-4.12 (m, 4H), 3.05-3.57 (m, 2H), 1.98-2.62 (m, 19H), 1.62-1.64 (m, 8H), 1.45-1.52 (m, 6H), 1.22-1.41 (m, 40H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H).  
LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 823.6 @ 8.281분.

[1170] 8.24. 화합물 2342의 합성



[1171]

[1172] 단계 1:

[1173] THF(400 mL) 중 Mg(3.84 g, 158.00 mmol, 1.19 당량)의 용액에 I<sub>2</sub>(168.04 mg, 662.06 μmol, 133.36 μL, 0.005 당량), 및 1-브로모-3-메틸-부탄(20 g, 132.42 mmol, 16.66 mL, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 THF(50 mL) 중 6-브로모헥산-1-올(5 g, 27.60 mmol, 1.45 mL, 1 당량)의 용액에 첨가한 다음, -60°C에서 디리튬 테트라클로로코퍼(II)(0.1 M, 13.8 mL, 0.05 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 150 mL(50 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 50/1 내지 3/1)로 정제하여 9-메틸데칸-1-올(4 g, 23.21 mmol, 84.07% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1174] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 3.64 (t, J=6.8 Hz, 2H), 1.53-1.57 (m, 3H), 1.14-1.34 (m, 12H), 0.86 (d, J=6.8 Hz, 6H).

[1175] 단계 2:

[1176] DCM(30 mL) 중 9-메틸데칸-1-올(4 g, 23.21 mmol, 1 당량) 및 6-브로모헥사노산(4.53 g, 23.21 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(5.34 g, 27.86 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(1.42 g, 11.61 mmol, 0.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 150

mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 150 mL(50 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 50/1)로 정제하여 9-메틸데실 6-브로모헥사노에이트(4.5 g, 12.88 mmol, 55.49% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1177] **단계 3:**

[1178] DMF(20 mL) 중 9-메틸데실 6-브로모헥사노에이트(1.50 g, 4.30 mmol, 1.1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.62 g, 11.72 mmol, 3 당량), KI(324.37 mg, 1.95 mmol, 0.5 당량), 및 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 3.91 mmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 50 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 90 mL(30 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 90 mL(30 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 0.1% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-[6-(9-메틸데록시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 2.56 mmol, 65.59% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1179] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86 (t, J=6.4 Hz, 1H), 4.17-4.40 (m, 1H), 4.03-4.09 (m, 4H), 3.23-3.65 (m, 3H), 2.31-3.21 (m, 3H), 2.27-2.98 (m, 4H), 1.27-1.70 (m, 60H), 1.24-1.59 (m, 3H), 0.85-0.87 (m, 12H).

[1180] **단계 4:**

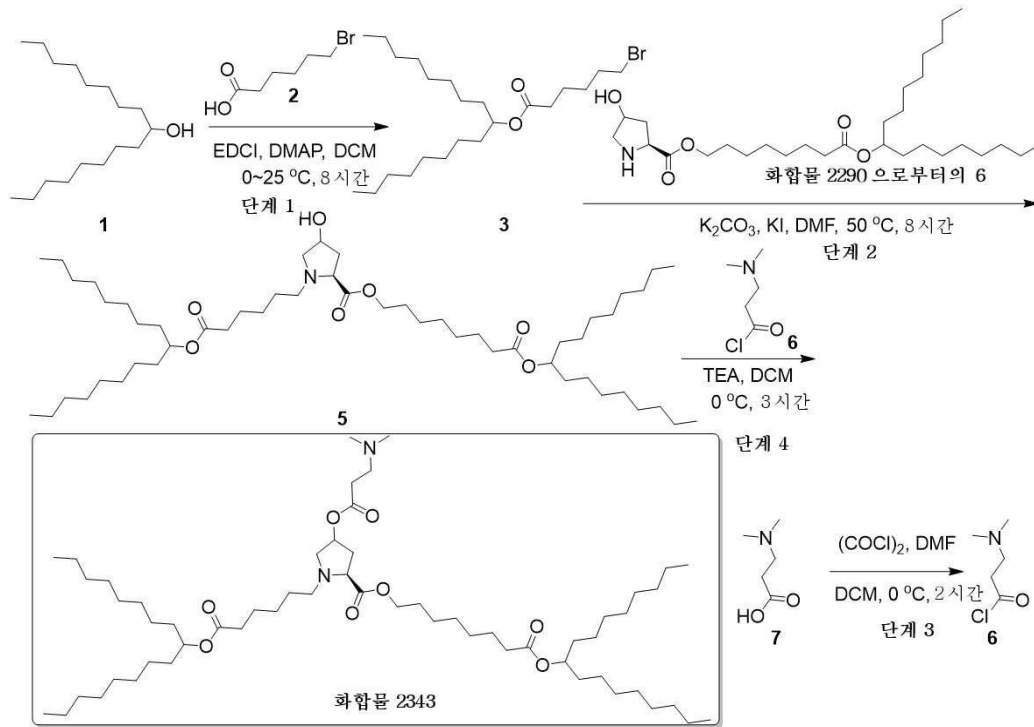
[1181] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(700 mg, 4.56 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(33.31 mg, 455.71 μmol, 35.06 μL, 0.1 당량) 및 (COCl)<sub>2</sub>(694.10 mg, 5.47 mmol, 478.69 μL, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(780 mg, 미정제, HCl)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1182] **단계 5:**

[1183] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-[6-(9-메틸데록시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(700 mg, 897.20 μmol, 1 당량)의 용액에 TEA(907.86 mg, 8.97 mmol, 1.25 mL, 10 당량), DMAP(21.92 mg, 179.44 μmol, 0.2 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(771.82 mg, 4.49 mmol, 5 당량, HCl)을 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1, 0.1% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-[6-(9-메틸데록시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 568.61 μmol, 63.38% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1184] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.27(m, 1H), 4.86 (t, J=6.0 Hz, 1H), 4.03-4.13 (m, 4H), 3.08-3.53 (m, 2H), 2.49-2.79 (m, 7H), 2.24-2.31 (m, 11H), 2.03-2.17 (m, 1H), 1.59-1.64 (m, 8H), 1.48-1.53 (m, 7H), 1.26-1.34 (m, 42H), 1.14-1.16 (m, 2H), 0.85-0.89 (m, 12H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 879.7@ 10.027&10.102분.

[1185] 8.25. 화합물 2343의 합성



[1186]

[1187] 단계 1:

[1188] DCM(100 mL) 중 헵타데칸-9-올(5 g, 19.50 mmol, 1 당량) 및 6-브로모헥사노산(3.80 g, 19.50 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(4.48 g, 23.39 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(1.19 g, 9.75 mmol, 0.5 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 300 mL(100 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 20/1)로 정제하여 1-옥틸노닐 6-브로모헥사노에이트(5.8 g, 13.38 mmol, 68.63% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1189] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.89 (m, 1H), 3.41 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.31 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.85-1.92 (m, 2H), 1.62-1.68 (m, 2H), 1.48-1.52 (m, 6H), 1.24-1.30 (m, 24H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[1190] 단계 2:

[1191] DMF(20 mL) 중 1-옥틸노닐 6-브로모헥사노에이트(1.86 g, 4.30 mmol, 1.1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.62 g, 11.72 mmol, 3 당량), KI(324.37 mg, 1.95 mmol, 0.5 당량), 및 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시 피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 3.91 mmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 30 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 60 mL(20 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 0.1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-[6-(1-옥틸노녹시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(1.8 g, 2.08 mmol, 53.29% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1192] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.87 (t, J=6.0 Hz, 2H), 4.28-4.49 (m, 1H), 4.10-4.13 (m, 2H), 3.63-3.66 (m, 1H), 3.06-3.26 (m, 1H), 2.50-2.63 (m, 2H), 2.28 (t, J=7.2 Hz, 4H), 1.62-1.64 (m, 8H), 1.50-1.51 (m, 8H), 1.26-1.34 (m, 56H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1193] 단계 3:

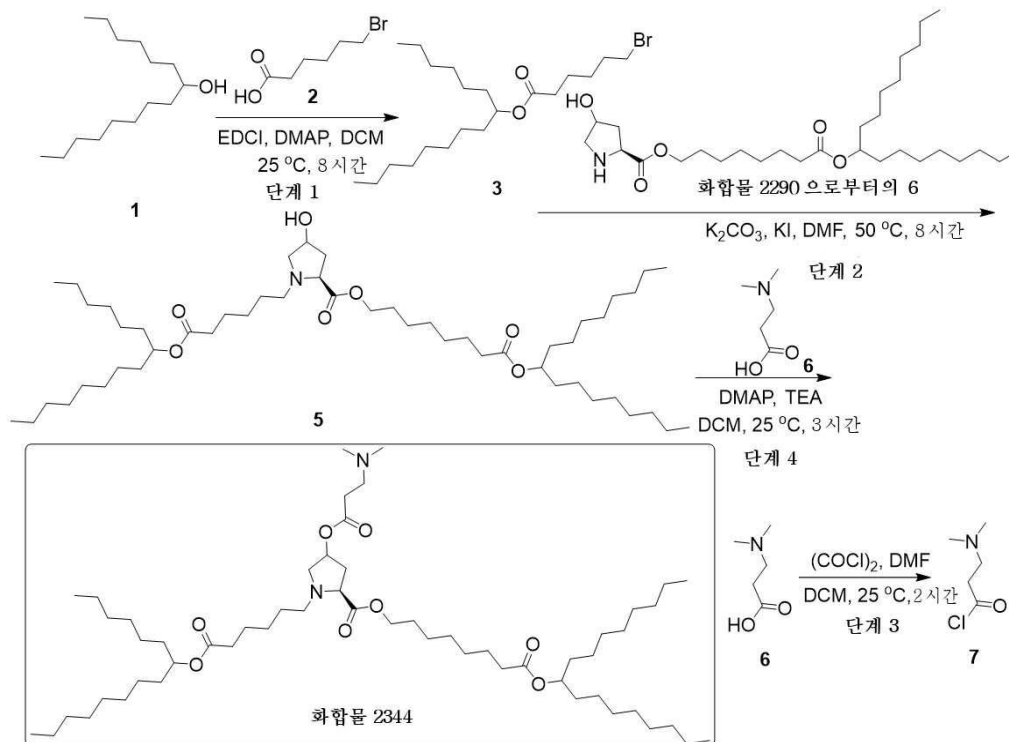
[1194] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(500 mg, 3.26 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(237.92 mg, 3.26 mmol, 250.45  $\mu$ L, 1 당량) 및  $(\text{COCl})_2$ (495.78 mg, 3.91 mmol, 341.92  $\mu$ L, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(560 mg, 미정제, HCl)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1195] **단계 4:**

[1196] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-[6-(1-옥틸노녹시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 578.46  $\mu$ mol, 1 당량)의 용액에 TEA(585.34 mg, 5.78 mmol, 805.14  $\mu$ L, 10 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(497.63 mg, 2.89 mmol, 5 당량, HCl)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  10 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수(10 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하였다. 그런 다음, 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$ 으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 45 mL(15 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-[6-(1-옥틸노녹시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(70 mg, 72.65  $\mu$ mol, 12.56% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1197]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.20-5.26 (m, 1H), 4.84-4.88 (m, 2H), 4.09-4.14 (m, 2H), 3.11-3.52 (m, 2H), 2.49-2.63 (m, 7H), 2.28-2.30 (m, 10H), 2.25-2.26 (m, 2H), 1.63-1.65 (m, 10H), 1.51-1.61 (m, 4H), 1.26-1.34 (m, 58H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 12H). **LCMS:** ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 963.8@ 13.048&13.134분.

[1198] **8.26. 화합물 2344의 합성**



[1199]

[1200] **단계 1:**

[1201] DCM(100 mL) 중 펜타데칸-7-올(2.5 g, 10.95 mmol, 1 당량) 및 6-브로모헥사노산(2.13 g, 10.95 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(2.52 g, 13.13 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(668.57 mg, 5.47 mmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  100 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 150 mL(50 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고,

여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 1-헥실노닐 6-브로모헥사노에이트(5 g, 12.33 mmol, 56.34% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1202] 단계 2:

[1203] DMF(50 mL) 중 1-헥실노닐 6-브로모헥사노에이트(950.69 mg, 2.34 mmol, 1.2 당량) 및 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 1.95 mmol, 1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(810.18 mg, 5.86 mmol, 3 당량) 및 KI(162.18 mg, 976.99 μmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H<sub>2</sub>O 50 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수(50 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 8/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(1.2 g, 1.43 mmol, 36.72% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1204] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.80-4.94 (m, 2H), 4.09-4.15 (m, 2H), 2.99-3.99 (m, 4H), 2.44-2.60 (m, 2H), 2.28 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.61-1.70 (m, 8H), 1.49-1.52 (m, 6H), 1.16-1.38 (m, 56H), 0.88 (t, J=7.2 Hz, 12H).

[1205] 단계 3:

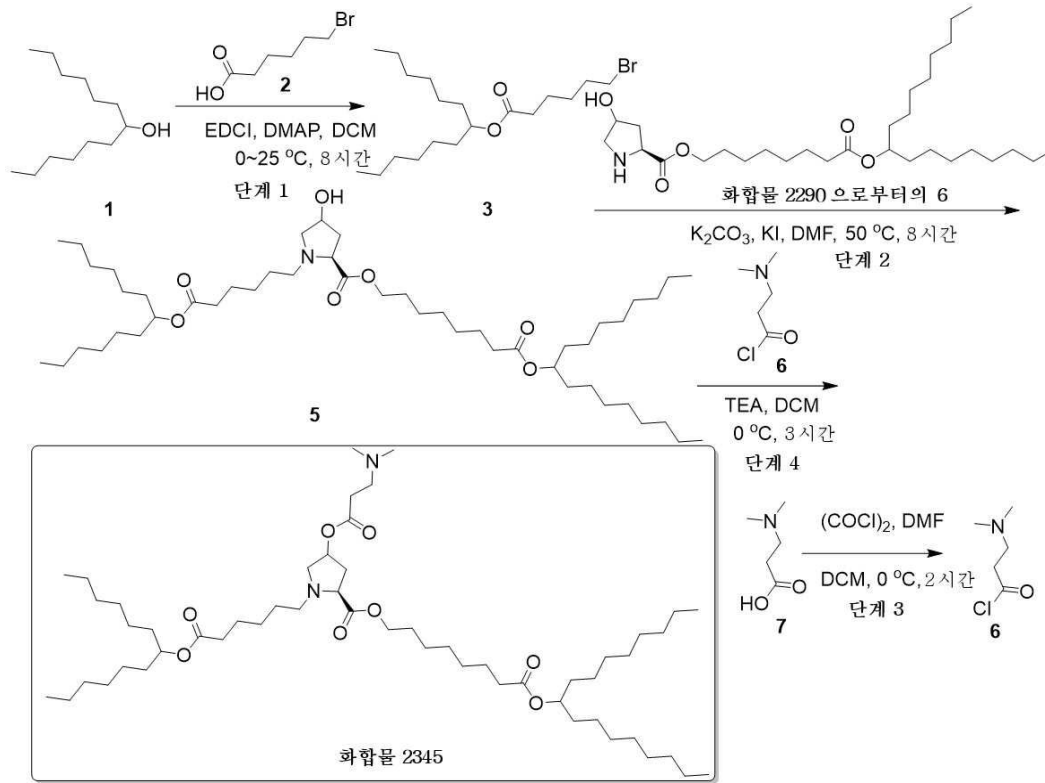
[1206] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(300 mg, 1.95 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(1.24 g, 9.77 mmol, 854.82 μL, 5 당량) 및 DMF(14.27 mg, 195.30 μmol, 15.03 μL, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(336 mg, 1.95 mmol, 99.99% 수율, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하였다.

[1207] 단계 4:

[1208] DCM(5 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 597.86 μmol, 1 당량), DMAP(36.52 mg, 298.93 μmol, 0.5 당량), 및 TEA(302.49 mg, 2.99 mmol, 416.08 μL, 5 당량)의 현탁액에 DCM(3 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(308.59 mg, 1.79 mmol, 3 당량, HCl)을 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 25℃에서 수성 NaHCO<sub>3</sub> 10 mL를 첨가하여 퀴칭한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하고, 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45% 내지 75%, 10분)로 정제하였다. 그런 다음, 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 45 mL(15 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(220 mg, 231.65 μmol, 47.11% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1209] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.30 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 2H), 4.09-4.15 (m, 2H), 3.43-3.55 (m, 1H), 3.08-3.26 (m, 1H), 2.20-2.80 (m, 18H), 1.98-2.20 (m, 1H), 1.60-1.70 (m, 6H), 1.45-1.55 (m, 10H), 1.20-1.38 (m, 52H), 0.88 (t, J=7.2 Hz, 12H). LCMS: (M/2+H<sup>+</sup>): 935.7 @ 11.390/11.490분.

[1210] 8.27. 화합물 2345의 합성



[1211]

[1212] 단계 1:

[1213]

DCM(100 mL) 중 트리데칸-7-올(5.14 g, 25.63 mmol, 1 당량) 및 6-브로모헥사노산(5 g, 25.63 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(5.90 g, 30.76 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(1.57 g, 12.82 mmol, 0.5 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 300mL(100 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 20/1)로 정제하여 1-헥실헵틸 6-브로모헥사노에이트(8 g, 21.20 mmol, 82.69% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1214]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.90 (m, 1H), 3.41 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.31 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.88-1.92 (m, 2H), 1.62-1.70 (m, 2H), 1.48-1.52 (m, 6H), 1.24-1.30 (m, 16H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[1215]

단계 2:

[1216]

DMF(20 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 3.91 mmol, 1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.62 g, 11.72 mmol, 3 당량), KI(324.37 mg, 1.95 mmol, 0.5 당량), 및 1-헥실헵틸 6-브로모헥사노에이트(1.62 g, 4.30 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 50 mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 90 mL(30 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 90 mL(30 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1, 0.1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-[6-(1-헥실헵톡시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(1.7 g, 2.10 mmol, 53.82% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1217]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86 (t, J=6.0 Hz, 2H), 4.25-4.48 (m, 1H), 4.10-4.13 (m, 2H), 3.05-3.65 (m, 3H), 2.49-2.63 (m, 7H), 1.50-1.64 (m, 18H), 1.26-1.34 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 12H).

[1218]

단계 3:

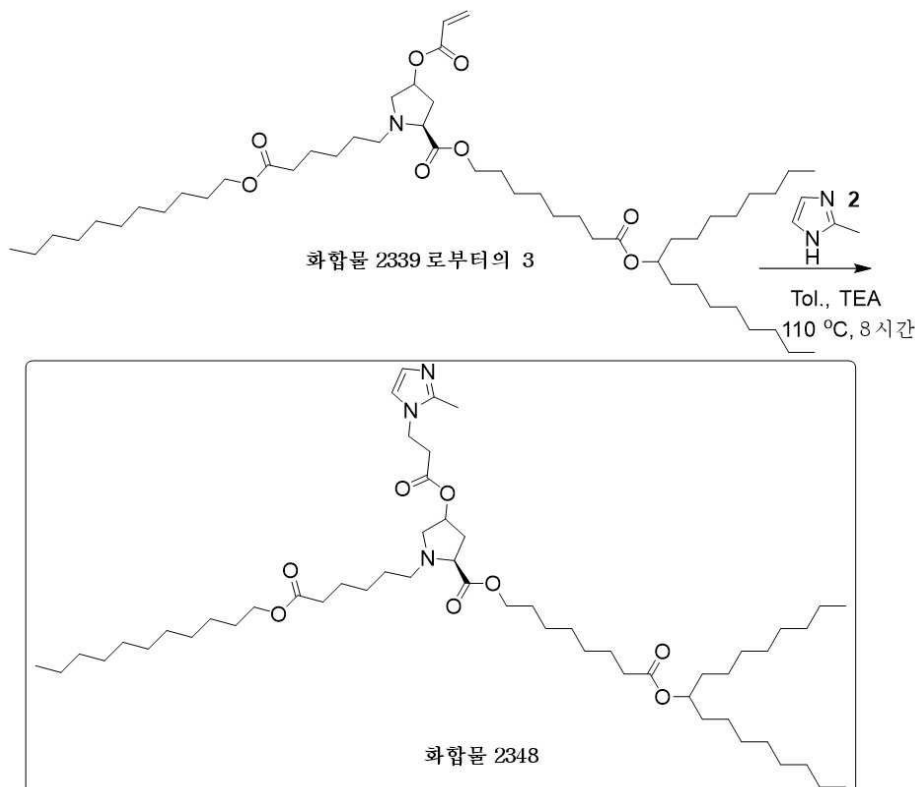
[1219] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(500 mg, 3.26 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(23.79 mg, 325.51  $\mu$ mol, 25.04  $\mu$ L, 0.1 당량) 및  $(\text{COCl})_2$ (495.78 mg, 3.91 mmol, 341.92  $\mu$ L, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(560 mg, 미정제, HCl)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1220] 단계 4:

[1221] DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-[6-(1-헥실헵톡시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 618.61  $\mu$ mol, 1 당량)의 용액에 TEA(625.97 mg, 6.19 mmol, 861.03  $\mu$ L, 10 당량), 및 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(532.17 mg, 3.09 mmol, 5 당량, HCl)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서  $\text{H}_2\text{O}$  10 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 x 30 mm x 5  $\mu$ m; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 40% 내지 70%, 10분)로 정제하였다. 그런 다음, 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$ 으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-[6-(1-헥실헵톡시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(48 mg, 52.90  $\mu$ mol, 8.55% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1222]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.19-5.21 (m, 1H), 4.86 (t, J=6.0 Hz, 2H), 4.07-4.14 (m, 2H), 3.11-3.45 (m, 2H), 2.48-2.64 (m, 7H), 1.86-2.30 (m, 12H), 1.63 (s, 5H), 1.50 (d, J=5.2 Hz, 10H), 1.26-1.34 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 12H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 907.7@ 11.723&11.808분.

[1223] 8.28. 화합물 2348의 합성

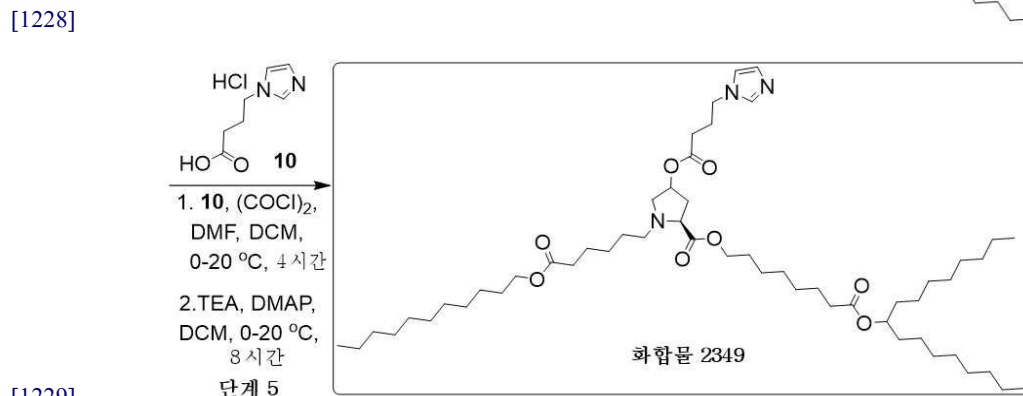
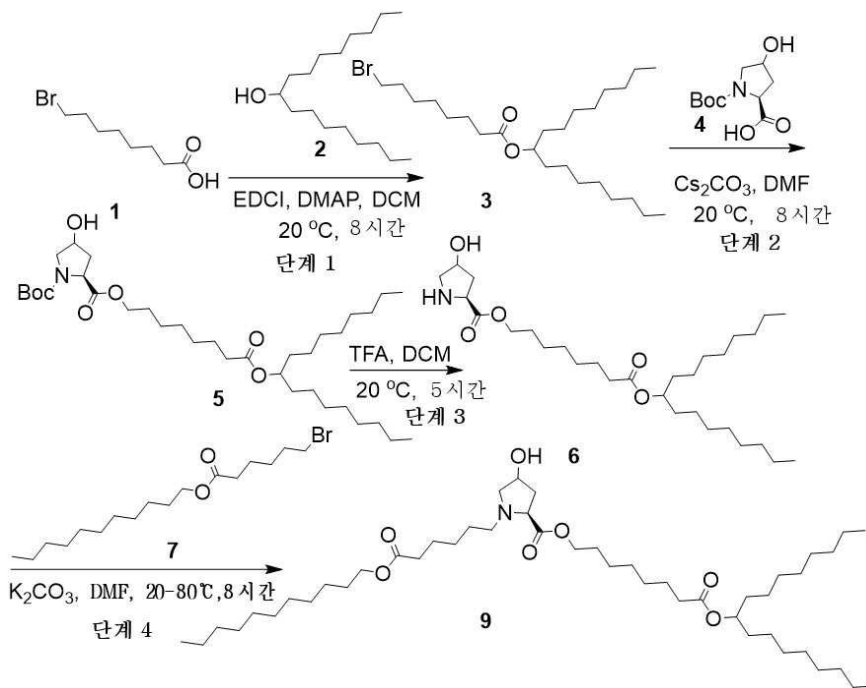


[1224] 톨루엔(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)-4-프로프-2-에노일옥시-피롤리딘-2-카르복실레이트(200 mg, 239.73  $\mu$ mol, 1 당량), 2-메틸-1H-이미다졸(59.05 mg, 719.20  $\mu$ mol, 3 당량), 및 TEA(24.26 mg, 239.73  $\mu$ mol, 33.37  $\mu$ L, 1 당량)의 혼합물을 탈기하고  $\text{N}_2$ 로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서 110°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$  20 ml로 희석하고 EtOAc 100 mL(50

mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 20 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 1/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O), 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 =3/1 내지 0/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O), 및 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1:8, 1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(2-메틸이미다졸-1-일)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실) 피롤리딘-2-카르복실레이트(89 mg, 97.12 μmol, 40.51% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1226] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 6.85-6.92 (m, 2H), 5.25-5.27 (m, 1H), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.03-4.16 (m, 6H), 3.05-3.50 (m, 2H), 2.38-2.60 (m, 8H), 2.25-2.35 (m, 5H), 1.97-2.10 (m, 1H), 1.59-1.64 (m, 8H), 1.42-1.50 (m, 6H), 1.21-1.35 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+<sup>+</sup>): 916.6 @ 9.723분.

[1227] 8.29. 화합물 2349의 합성



[1229] 단계 1:

[1231] DCM(50 mL) 중 8-브로모옥탄산(5 g, 22.41 mmol, 1.2 당량)의 용액에 EDCI(5.37 g, 28.01 mmol, 1.5 당량), DMAP(456.31 mg, 3.74 mmol, 0.2 당량), 및 헵타데칸-9-올(4.79 g, 18.68 mmol, 1 당량)을 20°C에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고, N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 H<sub>2</sub>O 500 mL로 희석하고 EtOAc 800 mL(400 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 500 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정

제하여 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(24 g, 52.00 mmol, 92.81% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1232] 단계 2:

[1233] DMF(70 mL) 중 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(5 g, 10.83 mmol, 1.2 당량) 및 (2S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(2.09 g, 9.03 mmol, 1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(6.47 g, 19.86 mmol, 2.2 당량)을 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 H<sub>2</sub>O 50 mL로 희석한 다음, EtOAc 200 mL(100 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 300 mL(150 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 8/1 내지 3/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(27 g, 44.13 mmol, 97.76% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1234] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.11-4.55 (m, 4H), 3.35-3.75 (m, 2H), 2.05-2.35 (m, 4H), 1.55-1.63 (m, 10H), 1.26-1.50 (m, 37H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1235] 단계 3:

[1236] DCM(60 mL) 중 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10 g, 16.34 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(46.05 g, 403.87 mmol, 30 mL, 24.71 당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7.0으로 조정하고 EtOAc 100 mL(25 mLx4)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(7.14 g, 13.95 mmol, 85.37% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1237] 단계 4:

[1238] DMF(100 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(7.14 g, 13.95 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-브로모헥사노에이트(5.85 g, 16.74 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.78 g, 41.85 mmol, 3 당량)을 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 300 mL로 희석하고 EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 150 mL(50 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(9.6 g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1239] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.76-4.82 (m, 1H), 4.22-4.52 (m, 1H), 4.10-4.20 (m, 2H), 4.07 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.40-3.68 (m, 1H), 3.02-3.24 (m, 1H), 2.45-2.78 (m, 3H), 2.25-2.33 (m, 4H), 1.86-2.17 (m, 2H), 1.51-1.56 (m, 8H), 1.42-1.44 (m, 6H), 1.19-1.38 (m, 48H), 0.80 (t, J=6.4 Hz, 9H).

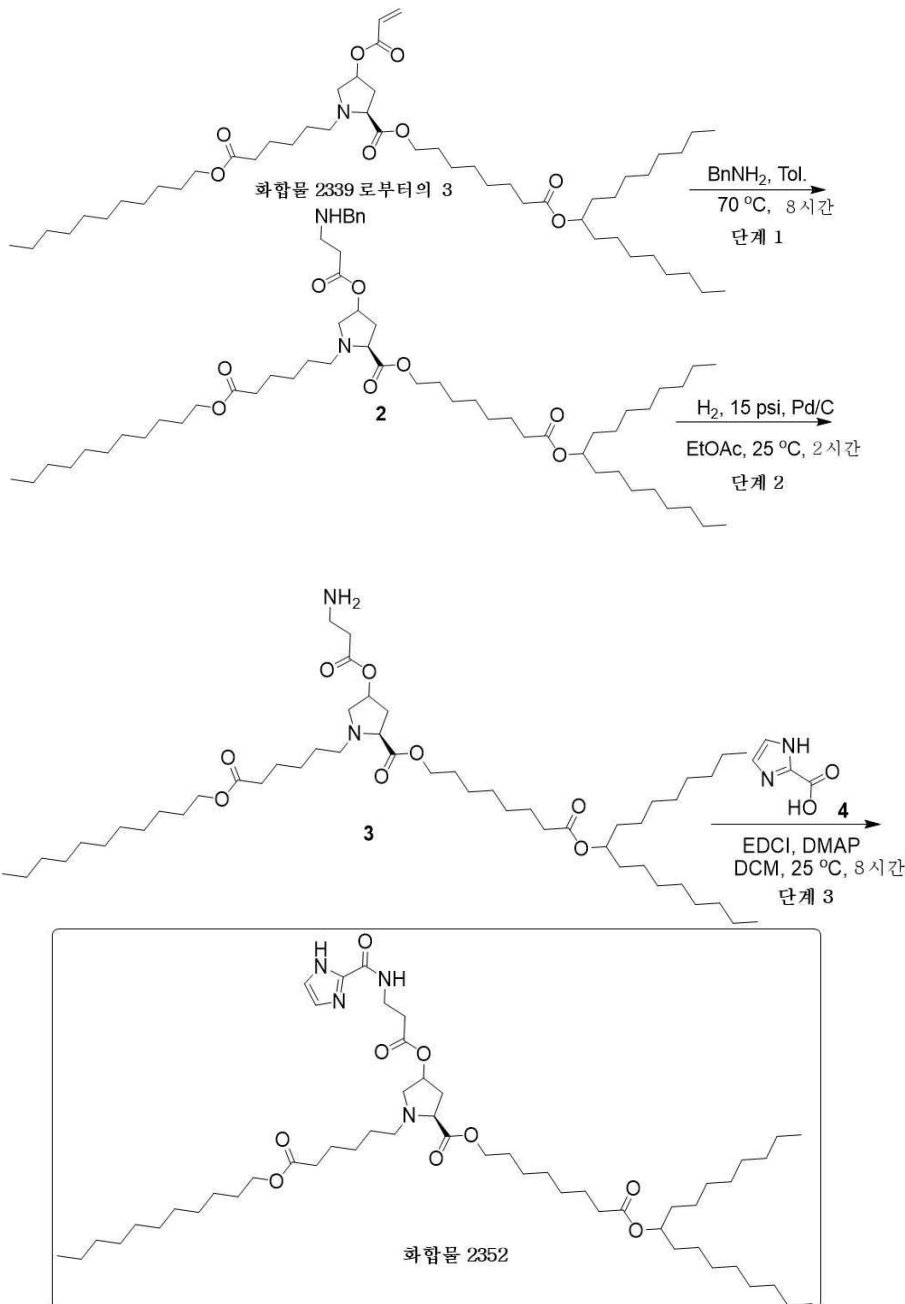
[1240] 단계 5:

[1241] DCM(10 mL) 중 4-이미다졸-1-일부탄산(0.35 g, 2.27 mmol, 1 당량)의 용액에 옥살릴 이염화물(1.44 g, 11.35 mmol, 993.65 μL, 5 당량) 및 DMF(19.00 mg, 259.94 μmol, 0.02 mL, 1.14e-1 당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에 20℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-이미다졸-1-일부타노일 염화물(0.5g, 미정제, HCl)를 무색 오일로서 수득하였다. 미정제 오일 잔류물을 DCM(10 mL)으로 용해시킨 다음, DCM(3 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.312 g, 399.89 μmol, 1 당량), TEA(404.65 mg, 4.00 mmol, 556.60 μL, 10 당량), 및 DMAP(9.77 mg, 79.98 μmol, 0.2 당량)의 용액에 0℃에서 첨가하였다. 그런 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub> 20 mL로 희석하고, EtOAc 100 mL(25 mLx4)로 추출하였다.

합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트= 8/1 내지 0/1, 5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 헥산(8 mL) 및 염수(8 mL)로 추출하였다. 헥산 층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-(4-이미다졸-1-일부타노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.121 g, 132.04 μmol, 34.57% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1242] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.49-7.50 (m, 1H), 7.07-7.08 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.25-5.27 (m, 1H), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.03-4.13 (m, 6H), 3.24-3.52 (m, 2H), 2.28-2.59 (m, 10H), 1.98-2.10 (m, 3H), 1.60-1.66 (m, 8H), 1.40-1.50 (m, 6H), 1.26-1.34 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+<sup>+</sup>): 916.8 @ 9.878분.

[1243] 8.30. 화합물 2352의 합성



[1245]

[1246] 단계 1:

[1247] Tol. (10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)-4-프로프-2-엔오일옥시-피롤리딘-2-카르복실레이트(0.4 g, 479.47 μmol, 1 당량)의 혼합물에 페닐메탄아민(513.76 mg, 4.79 mmol,

522.65  $\mu\text{L}$ , 10 당량)에 첨가한 다음, 탈기하고  $\text{N}_2$ 로 3회 퍼징하였다. 혼합물을  $\text{N}_2$  분위기 하에서  $70^\circ\text{C}$ 에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$  20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 5/1, 3%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(벤질아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.3 g, 315.48  $\mu\text{mol}$ , 65.80% 수율, 99% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1248] **단계 2:**

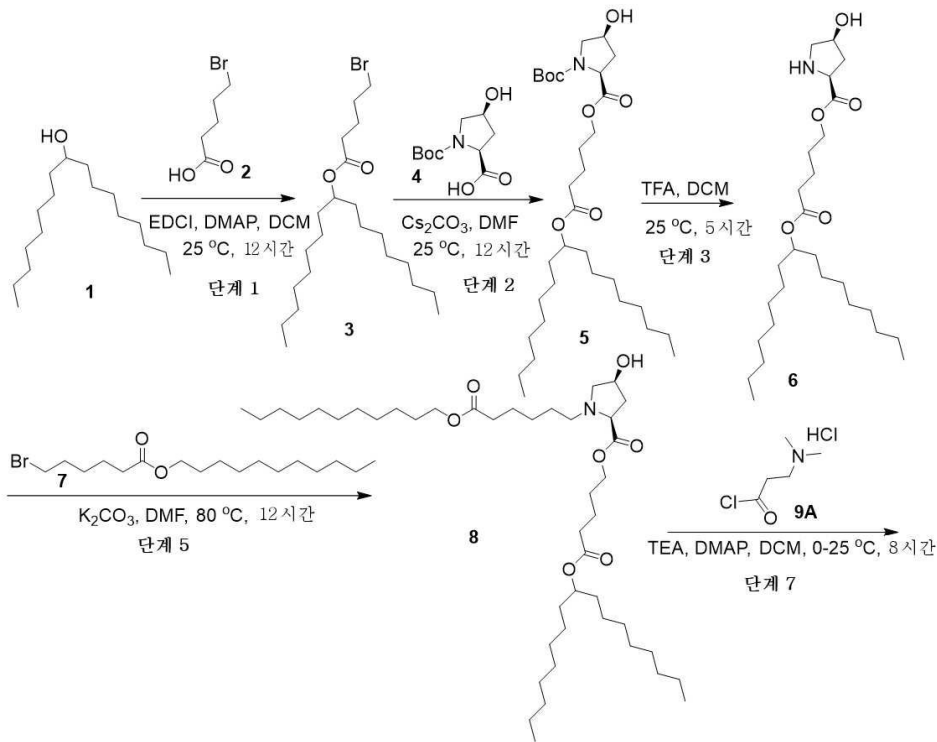
[1249] EtOAc(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(벤질아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.3 g, 318.67  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)의 용액을  $\text{N}_2$  하 EtOAc(10 mL) 중 Pd/C(0.3 g, 10% 순도, 1 당량)의 용액에 첨가하였다. 현탁액을 진공하에서 탈기하고  $\text{H}_2$ 로 여러 번 퍼징하였다. 혼합물을  $\text{H}_2$ (15 psi) 하에  $25^\circ\text{C}$ 에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에 제거하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-(3-아미노프로파노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.2 g, 230.24  $\mu\text{mol}$ , 72.25% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1250] **단계 3**

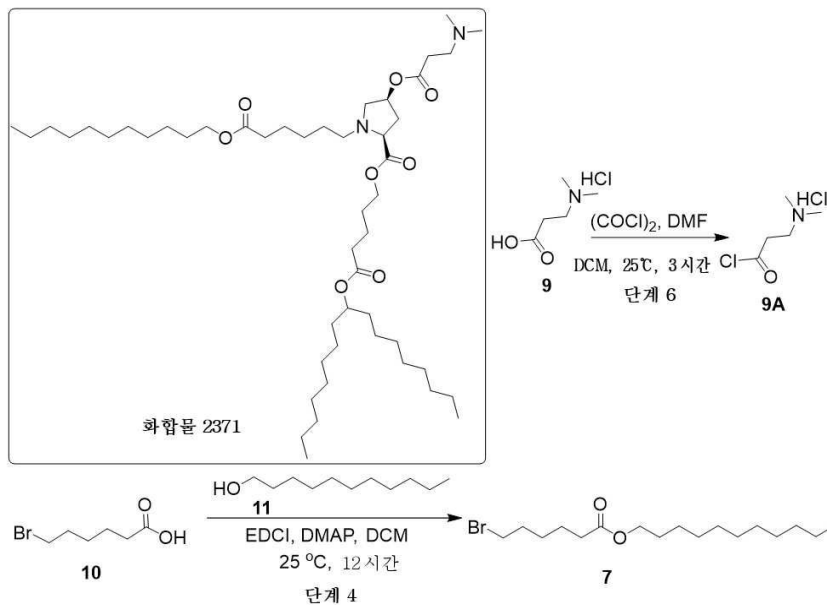
[1251] DCM(5 mL) 중 1H-이미다졸-2-카르복실산(19.75 mg, 176.20  $\mu\text{mol}$ , 1.5 당량), EDCI(45.04 mg, 234.94  $\mu\text{mol}$ , 2 당량), DMAP(14.35 mg, 117.47  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)의 용액에 DCM(1 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-(3-아미노프로파노일옥시)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실) 피롤리딘-2-카르복실레이트(0.1 g, 117.47  $\mu\text{mol}$ , 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을  $25^\circ\text{C}$ 에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$  20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 1/1, 3%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 및 분취-TLC( $\text{SiO}_2$ , PE: EtOAc = 1:1, 1%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(1H-이미다졸-2-카르보닐아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.021 g, 26.45  $\mu\text{mol}$ , 22.51% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1252]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.67 (brs, 1H), 7.15 (s, 2H), 5.21-5.39 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.04-4.12 (m, 4H), 3.70-3.75 (m, 2H), 3.13-3.69 (m, 2H), 2.20-2.66 (m, 11H), 1.61-1.65 (m, 6H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.26-1.34 (m, 50H), 0.88 (t,  $J=6.8$  Hz, 9H). **LCMS:** ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 945.7 @ 12.369분.

[1253] 8.31. 화합물 2371의 합성



[1254]



[1255]

[1256] 단계 1:

[1257]

DCM(70 mL) 중 헵타데칸-9-올(10 g, 38.99 mmol, 1 당량), 5-브로모펜타노산(7.06 g, 38.99 mmol, 1 당량), DMAP(952.72 mg, 7.80 mmol, 0.2 당량), EDCI(7.47 g, 38.99 mmol, 1 당량)의 용액을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 200 mL로 희석하고, 물 600 mL(200 mLx3) 및 염수 400 mL(200 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 10/1)로 정제하여 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(25 g, 59.60 mmol, 76.42% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1258]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.91 (m, 1H), 3.42 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.34 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.90-1.93 (m, 2H), 1.79-1.81 (m, 2H), 1.52-1.57 (m, 4H), 1.27-1.51 (m, 24H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 6H).

- [1259] **단계 2:**
- [1260] DMF(20 mL) 중 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(2 g, 4.77 mmol, 1 당량), (2S,4S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(1.32 g, 5.72 mmol, 1.2 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.42 g, 10.49 mmol, 2.2 당량)의 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 용매를 EtOAc 120 mL로 희석하고, 물 150 mL(50 mLx3) 및 염수 200 mL(100 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 8/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[5-(1-옥틸노닐)-5-옥소-펜틸](2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(1.5 g, 2.58 mmol, 54.08% 수율, 98% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1261] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.81-4.93 (m, 1H), 4.08-4.41 (m, 4H), 3.45-3.68 (m, 2H), 2.11-2.33 (m, 4H), 1.68-1.74 (m, 4H), 1.33-1.51 (m, 13H), 1.25-1.31 (m, 24H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H)
- [1262] **단계 3:**
- [1263] DCM(20 mL) 중 01-터트-부틸 02-[5-(1-옥틸노닐)-5-옥소-펜틸](2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(1.50 g, 2.63 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(5.00 g, 43.85 mmol, 3.25 mL, 16.66 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 5시간 동안 교반하였다. 미정제 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고 EtOAc 180 mL(60 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 [5-(1-옥틸노닐)-5-옥소-펜틸] (2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 2.04 mmol, 77.64% 수율, 96% 순도)를 정제 없이 황색 오일로서 수득하였다.
- [1264] **단계 4:**
- [1265] DCM(1 mL) 중 6-브로모헥사노산(22.64 g, 116.07 mmol, 1 당량)의 혼합물에 DMAP(2.84 g, 23.21 mmol, 0.2 당량), 운데칸-1-올(20 g, 116.07 mmol, 1 당량), EDCI(22.25 g, 116.07 mmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 200 mL로 희석하고 EtOAc 600 mL(200 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 40/1)로 정제하여 운데실 6-브로모헥사노에이트(36g, 103.05 mmol, 88.78% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1266] **단계 5:**
- [1267] DMF(10 mL) 중 [5-(1-옥틸노닐)-5-옥소-펜틸] (2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1.00 g, 2.13 mmol, 1 당량), 운데실 6-브로모헥사노에이트(892.52 mg, 2.55 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(882.74 mg, 6.39 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 120mL로 희석하고, 물 360 mL(120 mLx3)와 염수 240 mL(120 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 [5-(1-옥틸노닐)-5-옥소-펜틸](2S,4S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.5 g, 663.84 μmol, 31.18% 수율, 98% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1268] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.88 (m, 1H), 4.23-4.35 (m, 1H), 4.09-4.21 (m, 2H), 4.06 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.21-3.33 (m, 2H), 3.05-3.15 (m, 1H), 2.44-2.75 (m, 3H), 2.25-2.43 (m, 5H), 1.83-2.01 (m, 1H), 1.58-1.63 (m, 6H), 1.42-1.55 (m, 6H), 1.06-1.41 (m, 44H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 9H).
- [1269] **단계 6:**
- [1270] DCM(10 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(0.3 g, 1.95 mmol, 1 당량, HCl), 옥살릴 이염화물(1.24 g, 9.77 mmol, 854.82 μL, 5 당량), 4A 분자체(0.5 g)의 용액에 2방울의 DMF(14.27 mg, 195.30 μmol, 15.03 μL, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징하고, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 3시간 동안 교반하였다.

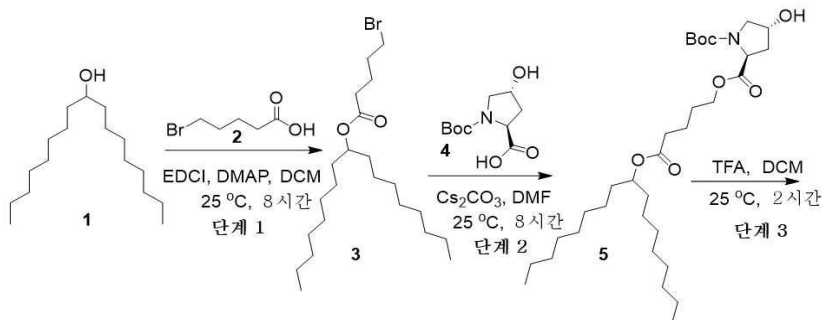
반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(0.3 g, 1.74 mmol, 89.28% 수율, HCl)를 정제 없이 황색 고형분으로서 수득하였다.

[1271] 단계 7:

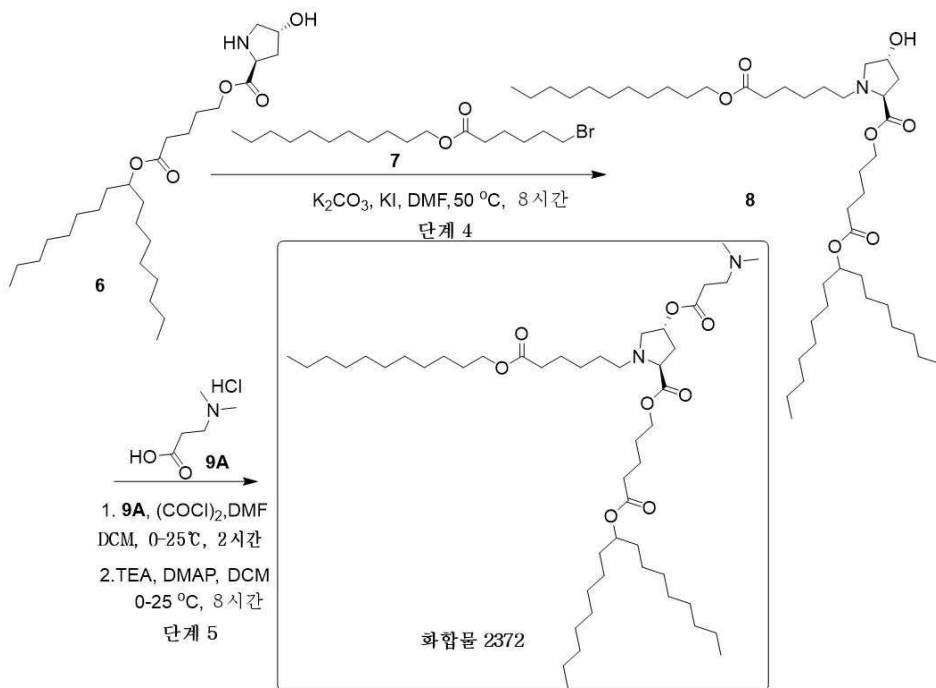
[1272] DCM(3 mL) 중 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4S)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.3 g, 406.43  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), TEA(370.14 mg, 3.66 mmol, 509.13  $\mu\text{L}$ , 9 당량), DMAP(4.97 mg, 40.64  $\mu\text{mol}$ , 0.1 당량)의 용액에 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(279.71 mg, 1.63 mmol, 4 당량, HCl)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 60 mL로 희석하고, 물 180 mL(60 mLx3)와 염수 60 mL(30 mLx2)로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 3/1, 3%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )로 정제하여 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.025 g, 29.86  $\mu\text{mol}$ , 33.33% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1273]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.13-5.39 (m, 1H), 4.81-4.92 (m, 1H), 4.13-4.23 (m, 2H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.21-3.32 (m, 1H), 3.04-3.18 (m, 1H), 2.52-2.84 (m, 7H), 2.25-2.37 (m, 10H), 1.98-2.12 (m, 1H), 1.58-1.63 (m, 5H), 1.45-1.51 (m, 6H), 1.16-1.43 (m, 46H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 837.6 @ 9.196분.

[1274] 8.32. 화합물 2372의 합성



[1275]



[1276]

[1277] 단계 1:

[1278] DCM(600 mL) 중 5-브로모펜타노산(39.03 g, 215.62 mmol, 1.58 당량)의 용액에 EDCI(39.24 g, 204.71 mmol, 1.5 당량) 및 DMAP(5.00 g, 40.94 mmol, 0.3 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 0.5시간 동안 교반하고, 헵타데칸-9-올(35 g, 136.47 mmol, 1 당량)을 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징하고, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 7.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, H<sub>2</sub>O 400 mL로 희석하고, EtOAc 1500 mL(300 mLx5)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 400 mL로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(50 g, 119.20 mmol, 87.34% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1279] **단계 2:**

[1280] DMF(100 mL) 중 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(10.88 g, 25.95 mmol, 1.2 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(15.50 g, 47.57 mmol, 2.2 당량), 및 (2S,4R)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(5.00 g, 21.62 mmol, 1 당량)의 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)로 희석하고 EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mL)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(9.8 g, 17.20 mmol, 79.54% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1281] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.37-4.51 (m, 2H), 4.15-4.30 (m, 2H), 3.46-3.70 (m, 2H), 2.20-2.35 (m, 3H), 2.05-2.15 (m, 1H), 1.62-1.67 (m, 4H), 1.55-1.60 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.25-1.32 (m, 24H), 0.89 (t, J=7.2Hz, 6H).

[1282] **단계 3:**

[1283] TFA(30.80 g, 270.12 mmol, 20.00 mL, 15.71 당량) 및 DCM(40 mL) 중 01-tert-부틸 02-[5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(9.80 g, 17.20 mmol, 1 당량)의 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 미정제 생성물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 그런 다음, 잔류물을 EtOAc(50 mL)로 용해시키고, 유기층을 90 mL 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>(30 mLx3) 및 염수 300 mL(100 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸](2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(6.8 g, 14.48 mmol, 84.18% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1284] **단계 4:**

[1285] [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4R)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(6.8 g, 14.48 mmol, 1 당량)를 DMF(100 mL)에 용해시키고, KI(1.20 g, 7.24 mmol, 0.5 당량) 및 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(6.00 g, 43.43 mmol, 3 당량)을 혼합물에 첨가하고, 운데실 6-브로모헥사노에이트(5.56 g, 15.93 mmol, 1.1 당량)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 200 mL로 희석하고 EtOAc 270 mL(90 mLx3)로 추출하였다. 그런 다음, 합쳐진 유기층을 염수 90 mL(30 mLx3)로 세척하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 화합물 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4R)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1 g, 1.35 mmol, 9.36% 수율, -순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

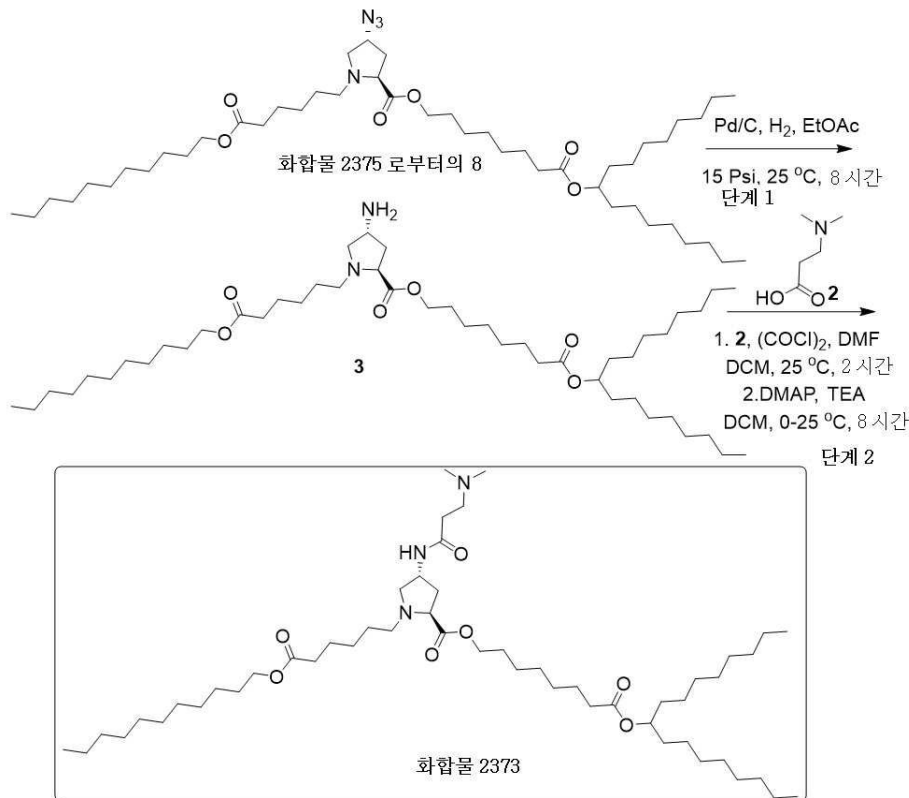
[1286] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 4.49-4.51 (m, 1H), 4.01-4.25 (m, 4H), 3.34-3.83 (m, 2H), 2.51-2.83 (m, 2H), 2.29-2.34 (m, 5H), 1.71-1.83(m, 16H), 1.15-1.32 (m, 42H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[1287] **단계 5:**

[1288] DCM(100 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(550 mg, 3.58 mmol, 1 당량, HCl)의 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 0°C에서 (COCl)<sub>2</sub>(2.27 g, 17.90 mmol, 1.57 mL, 5 당량) 및 DMF(13.09 mg, 179.03 μmol, 13.77 μL, 0.05 당량)를 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(583 mg, 3.39 mmol, 94.64% 수율, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다. 미정제 오일 잔류물을 DCM(10 mL)에 용해시킨 다음, 혼합물을 0°C에서 DCM(10 mL) 중 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S,4R)-4-하이드록시-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실) 피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 677.39 μmol, 1 당량), TEA(479.81 mg, 4.74 mmol, 659.99 μL, 7 당량), 및 DMAP(41.38 mg, 338.69 μmol, 0.5 당량)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 미정제 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 퀀칭하고 DCM 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 화합물 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸](2S,4R)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(98 mg, 117.05 μmol, 17.28% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1289] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.26-5.28 (m, 1H), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.04-4.14 (m, 4H), 3.44-3.55 (m, 2H), 2.12-2.90 (m, 17H), 1.70-1.80 (m, 4H), 1.60-1.66 (m, 4H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.15-1.40 (m, 44H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+H)<sup>+</sup>: 837.6 @ 9.227분.

[1290] 8.33. 화합물 2373의 합성



[1291]

[1292] 단계 1:

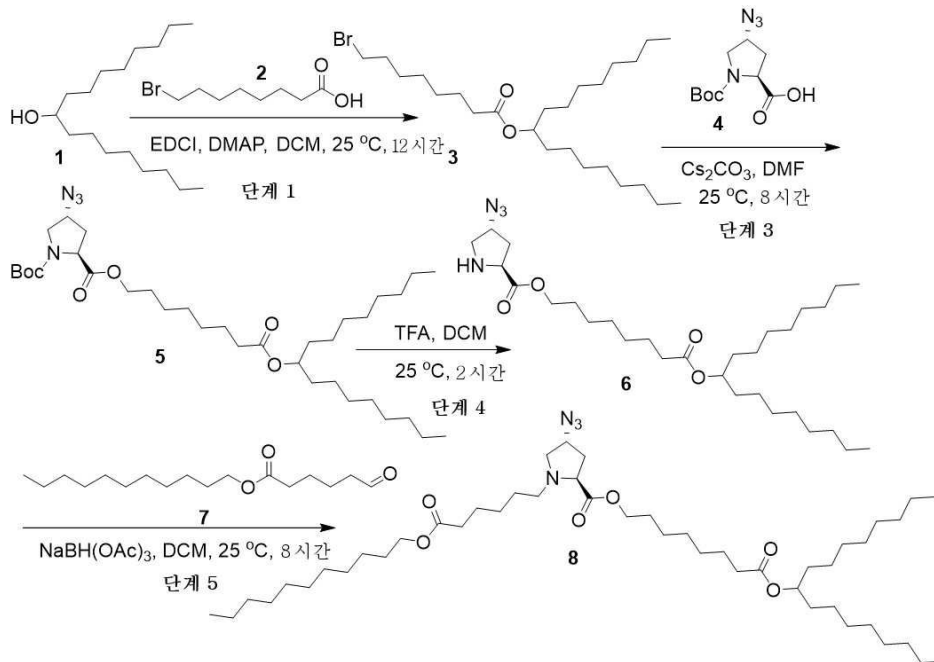
[1293] EtOAc(20 mL) 중 Pd/C(0.5 g, 2.36 mmol, 10% 순도, 1 당량)의 용액에 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-아지도-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.9 g, 2.36 mmol, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>(15 Psi) 하에서 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-아미노-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.7 g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1294] 단계 2:

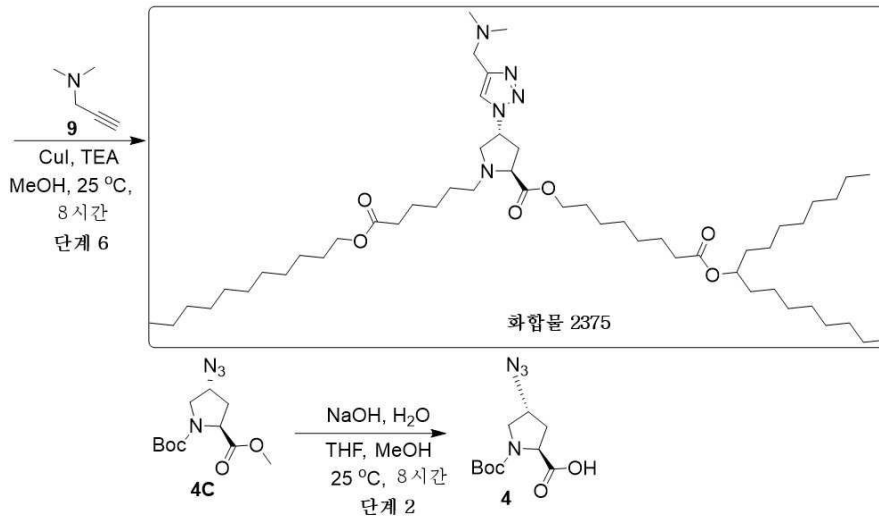
[1295] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(430 mg, 2.80 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(1.42 g, 11.20 mmol, 980.20  $\mu$ L, 4 당량) 및 DMF(20.46 mg, 279.94  $\mu$ mol, 21.54  $\mu$ L, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(2.4 g, 미정 제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다. DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-아미노-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 641.66  $\mu$ mol, 1 당량) 및 TEA(324.65 mg, 3.21 mmol, 446.56  $\mu$ L, 5 당량)의 용액에 DMAP(39.20 mg, 320.83  $\mu$ mol, 0.5 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(473.08 mg, 2.75 mmol, 4.29 당량, HCl)을 N<sub>2</sub> 하에서 0°C에서 첨가한 다음, 혼합물을 25°C에서 8 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수 (10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1) 및 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 에틸 아세테이트/MeOH = 5:1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일 아미노]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(20 mg, 54.65  $\mu$ mol, 8.52% 수율, 97.5 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1296] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 8.32-8.41 (m, 1H), 4.80-4.90 (m, 1H), 4.46-4.50 (m, 1H), 4.03-4.15 (m, 4H), 3.38-3.47 (m, 2H), 2.55-2.75 (m, 3H), 2.25-2.45 (m, 15H), 1.91-1.95 (m, 1H), 1.59-1.68 (m, 8H), 1.45-1.56 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 878.8 @ 10.175분.

[1297] 8.34. 화합물 2375의 합성



[1298]



[1299]

[1300] 단계 1:

[1301] DCM(300 mL) 중 8-브로모옥탄산(36.00 g, 161.36 mmol, 2.25 당량), EDCI(27.50 g, 143.43 mmol, 2 당량), DMAP(3.50 g, 28.69 mmol, 0.4 당량)의 혼합물에 헵타데칸-9-올(18.39 g, 71.71 mmol, 1 당량)을 첨가하고, 탈기하고, N<sub>2</sub>로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 200 mL로 희석하고 EtOAc 200 mL(100 mLx2)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 20/1)로 정제하여 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(32.4 g, 70.20 mmol, 97.88% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1302] 단계 2:

[1303] THF(20 mL) 및 MeOH(10 mL) 중 01-tert-부틸 02-메틸 (2S,4R)-4-아지도피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 7.40 mmol, 1 당량)의 용액에 H<sub>2</sub>O(7.39 g, 410.48 mmol, 7.39 mL, 55.47 당량) 중 NaOH(1.78 g, 44.40 mmol, 6 당량)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1N HCl로 pH는 3으로 조정하고 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 (2S,4R)-4-아지도-1-tert-부톡시카르보닐-피롤리딘-2-카르복실산(1.9 g, 미정제)을 무색 오일로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1304] 단계 3:

[1305] DMF(100 mL) 중 (2S,4R)-4-아지도-1-tert-부톡시카르보닐-피롤리딘-2-카르복실산(1.9 g, 7.41 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(4.11 g, 8.90 mmol, 1.2 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.31 g, 16.31 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(200 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-아지도피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4 g, 6.28 mmol, 84.71% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1306] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.30-4.40 (m, 1H), 4.05-4.25 (m, 3H), 3.45-3.75 (m, 2H), 2.10-2.45 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 4H), 1.57 (s, 3H), 1.40-1.55 (m, 13H), 1.20-1.40 (m, 30H), 0.88 (t, J=6.0 Hz, 6H).

[1307] 단계 4:

[1308] DCM(10 mL) 중 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-아지도피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.14 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(30.80 g, 270.12 mmol, 20.00 mL, 86.02 당량)를 첨가하였다. 혼합

물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(100 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(50 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-아지도피롤리딘-2-카르복실레이트(1.7 g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1309] **단계 5:**

[1310] DCM(20 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-아지도피롤리딘-2-카르복실레이트(1.7 g, 3.17 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-옥소헥사노에이트(1.08 g, 3.80 mmol, 1.2 당량)의 용액에 NaBH(OAc)<sub>3</sub>(2.01 g, 9.50 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-아지도-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(2 g, 2.48 mmol, 78.43% 수율, - 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

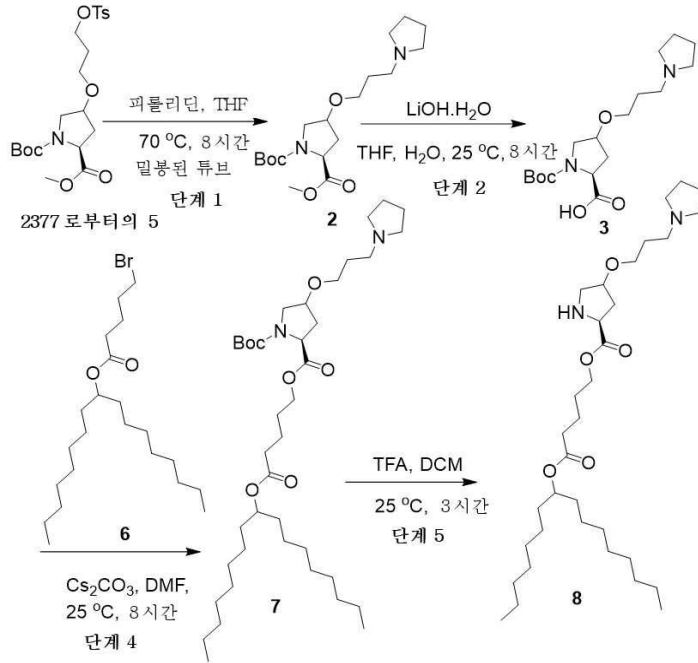
[1311] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.05-4.25 (m, 5H), 3.45-3.48 (m, 2H), 2.40-2.75 (m, 3H), 2.15-2.40 (m, 6H), 1.45-1.75 (m, 16H), 1.20-1.40 (m, 49H), 0.88 (t, J=6.0 Hz, 9H).

[1312] **단계 6:**

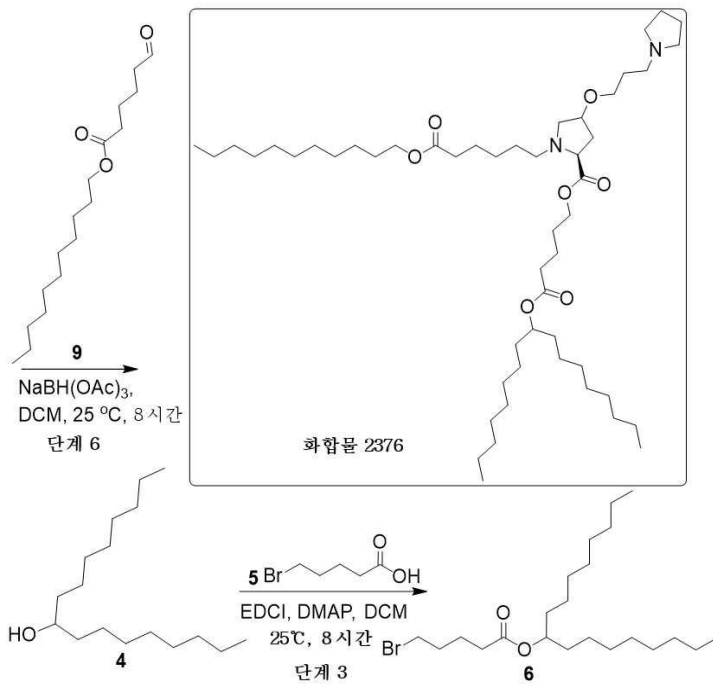
[1313] MeOH(5 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4R)-4-아지도-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(150 mg, 186.28 μmol, 1 당량), CuI(3.55 mg, 18.63 μmol, 0.1 당량), 및 TEA(1.88 mg, 18.63 μmol, 2.59 μL, 0.1 당량)의 용액에 N,N-디메틸프로프-2-인-1-아민(18.58 mg, 223.54 μmol, 23.70 μL, 1.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 에틸 아세테이트/MeOH = 10/1, 3% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하고 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4R)-4-[4-[(디메틸아미노)메틸]트리아졸-1-일]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(120 mg, 168.85 μmol, 90.64% 수율, 99% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1314] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.62 (s, 1H), 5.26-5.32 (m, 1H), 4.80-4.90 (m, 1H), 4.03-4.15 (m, 4H), 3.70-3.74 (m, 1H), 3.56-3.62 (m, 3H), 2.90-3.00 (m, 1H), 2.45-2.80 (m, 4H), 2.25-2.65 (m, 10H), 1.59-1.68 (m, 8H), 1.47-1.56 (m, 6H), 1.26-1.40 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 888.4 @ 13.974분.

[1315] 8.35. 화합물 2376의 합성



[1316]



[1317]

[1318] 단계 1:

[1319] THF(60 mL) 중 01-tert-부틸 02-메틸 (2S)-4-[3-(p-톨릴설포닐옥시)프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(6 g, 13.11 mmol, 1 당량)의 용액에 피롤리딘(932.65 mg, 13.11 mmol, 1.09 mL, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 밀봉된 튜브 내에서 70°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 쿼칭한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 0.5% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여01-tert-부틸 02-메틸 (2S)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2.1 g, 5.89 mmol, 44.93% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1320]

단계 2:

[1321] THF(10 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2.1 g, 5.89 mmol, 1 당량)의 용액에 LiOH.H<sub>2</sub>O(494.44 mg, 11.78 mmol, 2 당량) 및 H<sub>2</sub>O(10 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 20 ml로 희석하고 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 수성층을 감압 하에 농축시켜 (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-2-카르복시산(2 g, 미정제, Li<sup>+</sup> 염)을 황색 오일로서 수득하였다.

[1322] **단계 3:**

[1323] DCM(100 mL) 중 헵타데칸-9-올(5 g, 19.50 mmol, 1 당량)의 용액에 EDCI(5.61 g, 29.24 mmol, 1.5 당량), DMAP(714.53 mg, 5.85 mmol, 0.3 당량), 및 5-브로모펜타노산(5.58 g, 30.80 mmol, 1.58 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 100 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(12 g, 28.61 mmol, 73.37% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1324] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 3.42 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.33 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.77-1.93 (m, 4H), 1.51-1.56 (m, 4H), 1.25-1.45 (m, 24H), 0.88 (t, J=5.6 Hz, 6H)

[1325] **단계 4:**

[1326] DMF(20 mL) 중 (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-2-카르복실산(2 g, 5.84 mmol, 1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(4.19 g, 12.85 mmol, 2.2 당량) 및 1-옥틸노닐 5-브로모펜타노에이트(2.94 g, 7.01 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 20mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트=1/0 내지 0/1, 0.5% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(1.8 g, 2.64 mmol, 45.26% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1327] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.05-4.33 (m, 4H), 3.43-3.67 (m, 3H), 2.32-2.61 (m, 8H), 1.99-2.18 (m, 1H), 1.60-1.80 (m, 14H), 1.42-1.51 (m, 13H), 1.26-1.41 (m, 25H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[1328] **단계 5:**

[1329] DCM(16 mL) 중 01-터트-부틸 02-[5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(1.8 g, 2.64 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(8 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 90 mL(30 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/1)로 정제하여 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸](2S)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.5 g, 2.58 mmol, 97.70% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1330] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 3.90-4.17 (m, 4H), 3.75-3.80 (m, 1H), 3.42-3.43 (m, 2H), 3.05-3.22 (m, 7H), 2.85-2.86 (m, 1H), 2.18-2.33 (m, 6H), 1.99-2.07 (m, 8H), 1.50-1.52 (m, 4H), 1.26-1.31 (m, 25H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 6H).

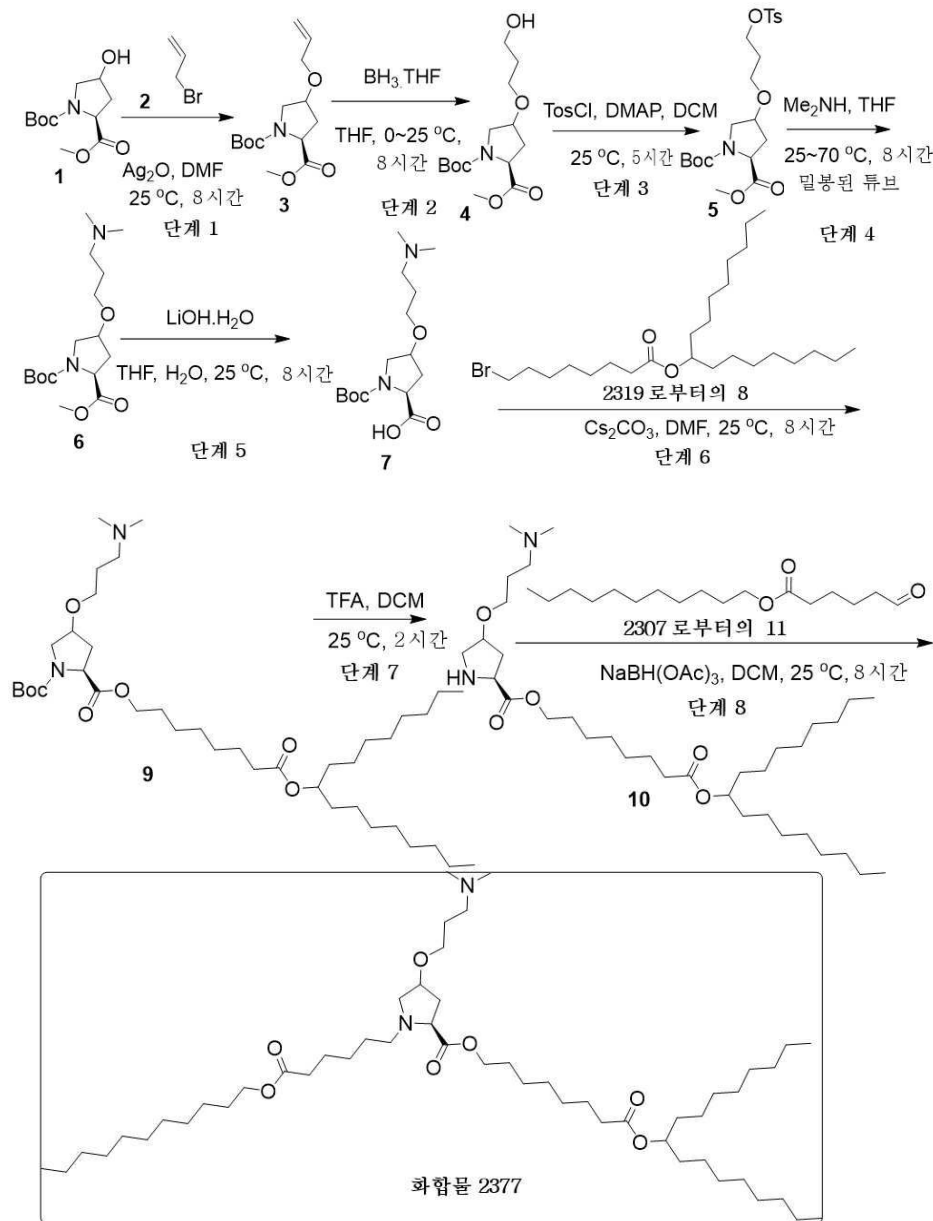
[1331] **단계 6:**

[1332] DCM(5 mL) 중 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)피롤리딘-2-카르복실레이트 (500 mg, 860.76 μmol, 1 당량)의 용액에 운데실 6-옥소헥사노에이트(293.80 mg, 1.03 mmol, 1.2 당량) 및

NaBH(OAc)<sub>3</sub>(547.29 mg, 2.58 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 20 mL를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-TLC(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1, 0.5%NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [5-(1-옥틸노녹시)-5-옥소-펜틸] (2S)-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)-4-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)-2-카르복실레이트(200 mg, 235.48 μmol, 27.36% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1333] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 3.99-4.14 (m, 5H), 3.42 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.08-3.23 (m, 2H), 2.27-2.54 (m, 15H), 1.98-2.01 (m, 1H), 1.70-1.81 (m, 5H), 1.65-1.69 (m, 4H), 1.61-1.63 (m, 4H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.26-1.34 (m, 41H), 0.88 (t, J=6.4Hz, 9H). LCMS (CAD): (M+H)<sup>+</sup>: 847.2 @ 8.653분.

[1334] 8.36. 화합물 2377의 합성



[1336]

[1337] 단계 1:

[1338] DMF(100 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10 g, 40.77 mmol, 1 당량)의 용액에 Ag<sub>2</sub>O(14.17 g, 61.16 mmol, 1.5 당량), 3-브로모프로프-1-엔(8.88 g, 73.39 mmol, 1.8 당량)을

암소에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-알릴옥시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(6 g, 21.03 mmol, 51.58% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1339] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.78-5.99 (m, 1H), 5.12-5.30 (m, 2H), 4.38-4.49 (m, 1H), 4.03-4.20 (m, 1H), 3.87-4.02 (m, 2H), 3.68-3.78 (m, 3H), 3.43-3.67 (m, 2H), 2.01-2.44 (m, 2H), 1.40-1.51 (m, 9H).

[1340] 단계 2:

[1341] THF(300 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-알릴옥시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(10 g, 35.05 mmol, 1 당량)의 용액에 BH<sub>3</sub>.THF(1 M, 12.62 mL, 0.36 당량)의 용액을 N<sub>2</sub> 분위기에서 0℃에서 첨가하였다. 반응 액체를 25℃로 가온시키고 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃로 냉각시킨 다음, 수성 포화 NH<sub>4</sub>Cl(100 mL)을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반한 다음, EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-(3-하이드록시프로폭시)피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(12 g, 39.56 mmol, 28.22% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1342] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.28-4.53 (m, 1H), 3.33-4.09 (m, 10H), 2.15-2.40 (m, 2H), 1.73-1.84 (m, 2H), 1.39-1.51 (m, 9H).

[1343] 단계 3:

[1344] DCM(50 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-(3-하이드록시프로폭시)피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(12 g, 39.56 mmol, 1 당량)의 용액에 DMAP(9.67 g, 79.12 mmol, 2 당량) 및 TosCl(11.31 g, 59.34 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 5시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 200 mL로 희석하고, 물 600 mL(200 mLx3) 및 염수 400 mL(200 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1 내지 0/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-[3-(p-톨릴설포닐옥시) 프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(7.2 g, 15.74 mmol, 39.78% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1345] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.65-7.78 (m, 2H), 7.24-7.35 (m, 2H), 3.76-4.39 (m, 4H), 3.58-3.70 (m, 3H), 3.24-3.54 (m, 4H), 2.33-2.45 (s, 3H), 2.03-2.26 (m, 2H), 1.87-1.98 (m, 1H), 1.69-1.83 (m, 2H), 1.37-1.45 (m, 9H).

[1346] 단계 4:

[1347] THF(30 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-[3-(p-톨릴설포닐옥시)프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4 g, 8.74 mmol, 1 당량)의 용액에 N-메틸메탄아민(2 M, 26.67 mL, 6.10 당량, THF)을 25℃에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 70℃에서 8시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 60 mL로 희석하고, 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub> 180 mL(60 mLx3) 및 포화 염수 120 mL(60 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)로 정제하여 화합물 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 6.05 mmol, 69.24% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1348] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.25-4.46 (m, 1H), 3.92-4.13 (m, 1H), 3.68-3.79 (m, 3H), 3.25-3.65 (m, 4H), 2.18-2.35 (m, 9H), 1.98-2.12 (m, 1H), 1.58-1.83 (m, 2H), 1.49-1.51 (m, 9H).

[1349] 단계 5:

[1350] THF(5 mL) 중 01-터트-부틸 02-메틸 (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g,

6.05 mmol, 1 당량)의 용액에 H<sub>2</sub>O(5 mL) 중 LiOH·H<sub>2</sub>O(289.91 mg, 12.11 mmol, 2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 미정제 생성물을 물(20 mL)로 희석하고, 수성상을 동결 건조시켜 (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-2-카르복실산(1.5 g, 4.74 mmol, 78.32% 수율, Li<sup>+</sup> 염)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1351] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 3.88-4.85 (m, 2H), 3.20-3.65 (m, 4H), 2.25-2.52 (m, 10H), 1.65-1.87 (m, 2H), 1.36-1.55 (m, 9H).

[1352] 단계 6:

[1353] DMF(5 mL) 중 (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-2-카르복시산(0.85 g, 2.69 mmol, 1 당량), 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(1.49 g, 3.22 mmol, 1.2 당량), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.93 g, 5.91 mmol, 2.2 당량)의 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 25℃에서 8시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 20 mL로 희석하고, 물 60 mL(20 mLx3) 및 염수 40 mL(20 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 10/1/0 내지 1/1/0.1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(0.8 g, 1.15 mmol, 42.72% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1354] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.81-4.93 (m, 1H), 3.93-4.44 (m, 4H), 3.46-3.73 (m, 4H), 2.20-2.41 (m, 11H), 1.98-2.12 (m, 1H), 1.58-1.79 (m, 7H), 1.39-1.53 (m, 13H), 1.24-1.35 (m, 29H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1355] 단계 7:

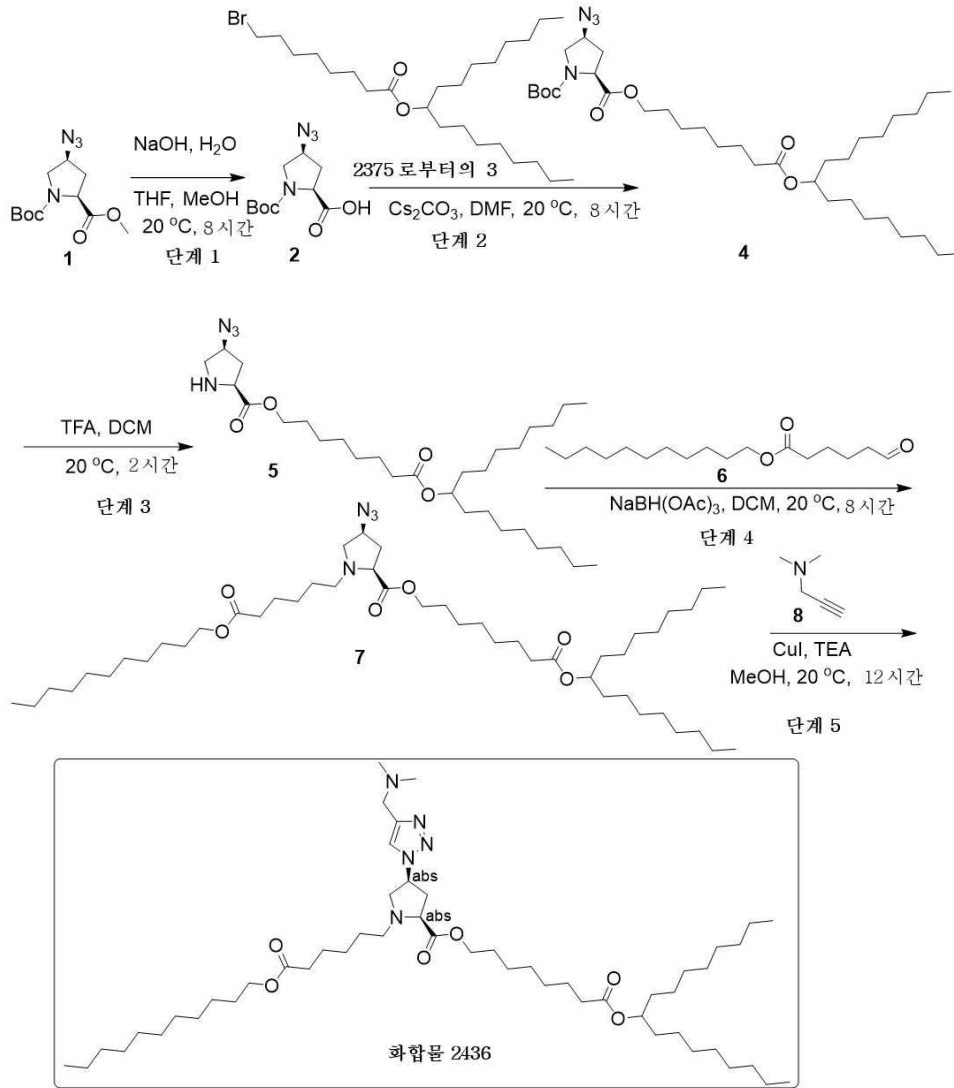
[1356] DCM(5 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노) 프로폭시]피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(800.00 mg, 1.15 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(23.03 g, 201.93 mmol, 15 mL, 175.94 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고, 60 mL EtOAc(20 mLx3)로 추출하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-2-카르복실레이트(0.75 g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1357] 단계 8:

[1358] DCM(2 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]피롤리딘-2-카르복실레이트(0.2 g, 335.05 μmol, 1 당량), 운데실 6-옥소헥사노에이트(142.95 mg, 502.58 μmol, 1.5 당량)의 용액을 25℃에서 0.5시간 동안 교반한 다음, NaBH(OAc)<sub>3</sub>(213.03 mg, 1.01 mmol, 3 당량)을 25℃에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 7.5시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 60mL로 희석하고, 물 180 mL(60mLx3) 및 염수 120 mL(60 mLx2)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O = 10/1/1 내지 1/1/0.5)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로폭시]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(0.12 g, 137.15 μmol, 40.93% 수율, 98.9% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1359] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.80-4.95 (m, 1H), 3.92-4.16 (m, 5H), 3.05-3.49 (m, 4H), 2.60-2.78 (m, 1H), 2.24-2.45 (m, 14H), 2.06-2.14 (m, 1H), 1.92-2.03 (m, 1H), 1.73-1.78 (m, 2H), 1.58-1.64 (m, 6H), 1.42-1.51 (m, 6H), 1.11-1.41 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 865.8 @ 10.120분.

[1360] 8.37. 화합물 2436의 합성



[1361]

[1362]

[1363] 단계 1:

[1364]

THF(20 mL) 및 MeOH(10 mL) 중 01-tert-부틸 02-메틸 (2S,4S)-4-아지도피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2.00 g, 7.40 mmol, 1 당량)의 용액에 H<sub>2</sub>O(7.39 g, 410.48 mmol, 7.39 mL, 55.47 당량) 중 NaOH(1.78 g, 44.40 mmol, 6 당량)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1N HCl로 pH는 3으로 조정하고 EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 포화 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 (2S,4S)-4-아지도-1-tert-부톡시카르보닐-피롤리딘-2-카르복실산(1.9 g, 미정제)을 무색 오일로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1365]

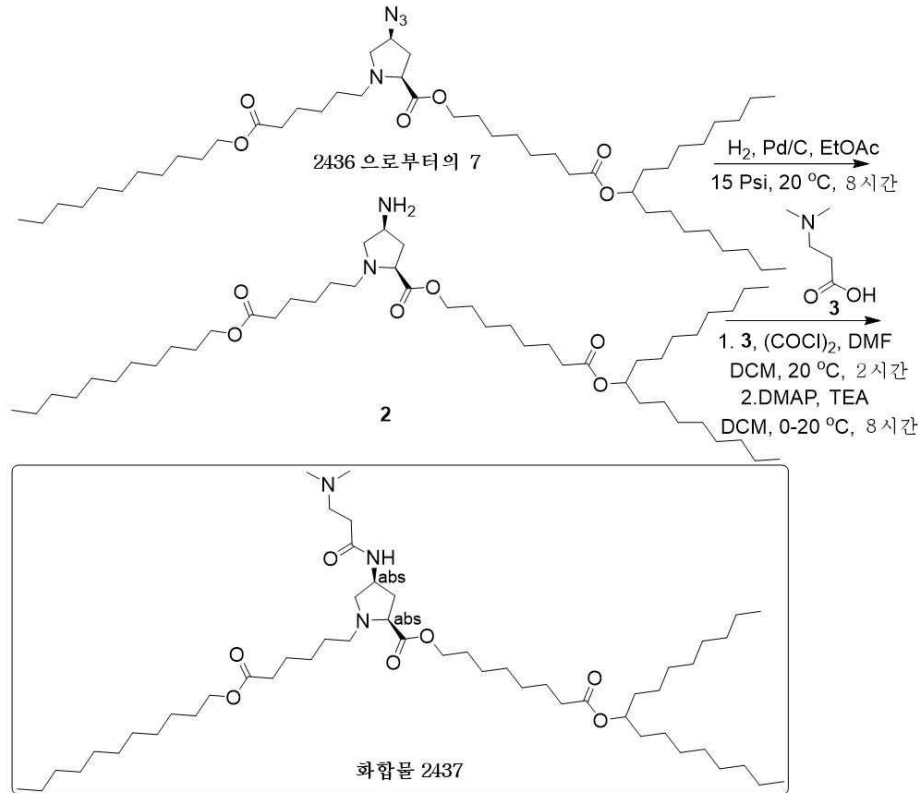
단계 2:

[1366]

DMF(100 mL) 중 (2S,4S)-4-아지도-1-tert-부톡시카르보닐-피롤리딘-2-카르복실산(1.9 g, 7.41 mmol, 1 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(4.11 g, 8.90 mmol, 1.2 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.31 g, 16.31 mmol, 2.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O(200 mL)에 첨가하고 EtOAc(200 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(200 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-아지도피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4 g, 6.28 mmol, 84.71% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

- [1367]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.89 (m, 1H), 4.30-4.49 (m, 1H), 4.05-4.30 (m, 3H), 3.65-3.85 (m, 1H), 3.40-3.60 (m, 1H), 2.35-2.60 (m, 1H), 2.30 (t,  $J=7.6$  Hz, 2H), 2.10-2.20 (m, 1H), 1.60-1.75 (m, 4H), 1.50-1.60 (m, 4H), 1.47-1.51 (m, 9H), 1.15-1.37 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=6.4$  Hz, 6H).
- [1368] **단계 3:**
- [1369] DCM(20 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-아지도피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(2 g, 3.14 mmol, 1 당량)의 용액에 TFA(15.35 g, 134.63 mmol, 10 mL, 42.87 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화  $\text{NaHCO}_3$ (100 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-아지도피롤리딘-2-카르복실레이트(1.2 g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1370] **단계 4:**
- [1371] DCM(20 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-아지도피롤리딘-2-카르복실레이트(1.2 g, 2.24 mmol, 1 당량) 및 운데실 6-옥소헥사노에이트(763.03 mg, 2.68 mmol, 1.2 당량)의 용액에  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (1.42 g, 6.71 mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-아지도-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(1.5 g, 1.86 mmol, 83.33% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1372] **단계 5:**
- [1373] MeOH(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-아지도-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 620.95  $\mu\text{mol}$ , 1 당량), CuI(11.83 mg, 62.09  $\mu\text{mol}$ , 0.1 당량), 및 TEA(6.28 mg, 62.09  $\mu\text{mol}$ , 8.64  $\mu\text{L}$ , 0.1 당량)의 용액에 N,N-디메틸프로프-2-인-1-아민(61.94 mg, 745.14  $\mu\text{mol}$ , 79.01  $\mu\text{L}$ , 1.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을  $\text{H}_2\text{O}$ (20 mL)에 첨가하고 EtOAc(20 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20 mLx2)로 세척하고,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피( $\text{SiO}_2$ , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 5%  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-[4-[(디메틸아미노)메틸]트리아졸-1-일]-1-(6-옥소-6-운데콕시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(150 mg, 168.85  $\mu\text{mol}$ , 27.19% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1374]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 8.12 (s, 1H), 5.30-5.35 (m, 1H), 4.83-4.90 (m, 1H), 4.03-4.20 (m, 4H), 3.61 (s, 2H), 3.23-3.36 (m, 2H), 2.75-2.95 (m, 3H), 2.35-2.45 (m, 1H), 2.25-2.35 (m, 10H), 2.10-2.20 (m, 1H), 1.58-1.64 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.86-0.91 (m, 9H). LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 888.7 @ 10.067분.

[1375] 8.38. 화합물 2437의 합성



[1376]

[1377] 단계 1:

[1378]

EtOAc(20 mL) 중 Pd/C(660.81 mg, 620.95 μmol, 10% 순도, 1 당량)의 용액에 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-아지도-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 620.95 μmol, 1 당량), Pd/C(660.81 mg, 620.95 μmol, 10% 순도, 1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 H<sub>2</sub>(15 Psi) 하에 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-아미노-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(350 mg, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1379]

단계 2:

[1380]

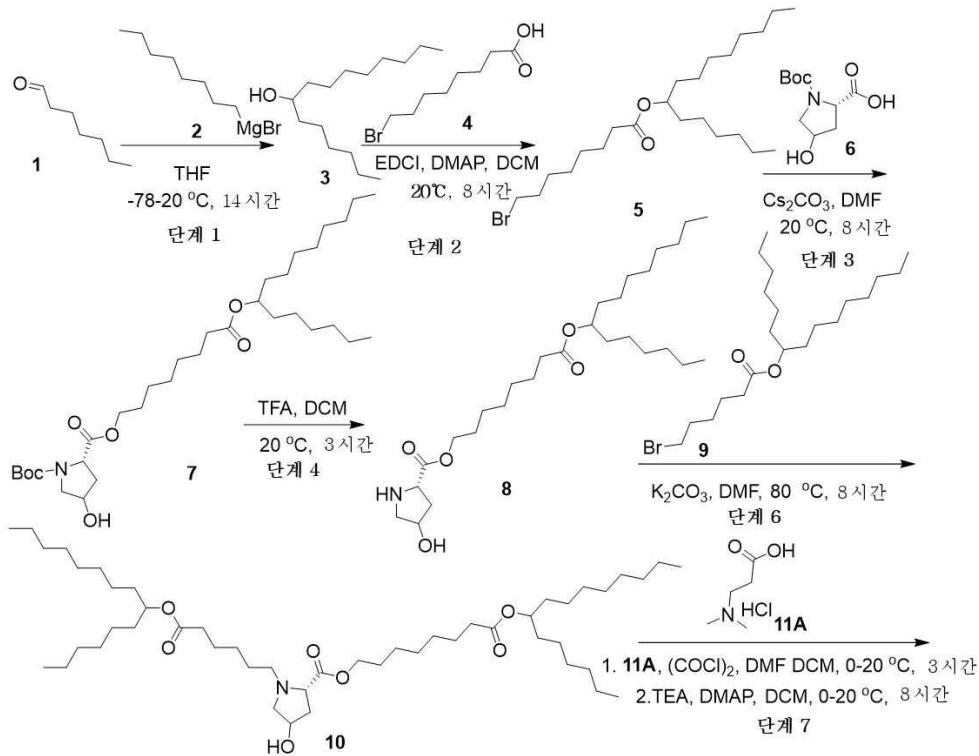
DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(300 mg, 1.95 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 (COCl)<sub>2</sub>(991.60 mg, 7.81 mmol, 683.86 μL, 4 당량) 및 DMF(14.27 mg, 195.30 μmol, 15.03 μL, 0.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(1.6 g, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다. DCM(10 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-아미노-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카르복실레이트(350 mg, 449.16 μmol, 1 당량) 및 TEA(227.26 mg, 2.25 mmol, 312.59 μL, 5 당량)의 용액에 DMAP(27.44 mg, 224.58 μmol, 0.5 당량) 및 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(331.15 mg, 1.92 mmol, 4.29 당량, HCl)을 N<sub>2</sub> 하에서 0°C에서 첨가한 다음, 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 포화 NaHCO<sub>3</sub>(20 mL)에 첨가하고 EtOAc(10 mLx3)로 추출하였다. 유기층을 염수(10 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 5% NH<sub>3</sub>.THF 첨가) 및 분취-HPLC(컬럼: Xselect CSH C18 100 x 30 mm x 5 μm; 이동상: [H<sub>2</sub>O(0.04%HCl)-THF:ACN=1:3]; 구배:10.0분에 걸쳐 30% 내지 70% B)로 정제하였다. 용액을 동결건조에 의해 농축시켜 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-[3-(디메틸아미노) 프로판노일아미노]-1-(6-옥소-6-운데록시-헥실)피롤리딘-2-카복실레이트(150 mg, 227.70 μmol, 50.69% 수율, 96% 순도, HCl 염)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1381]

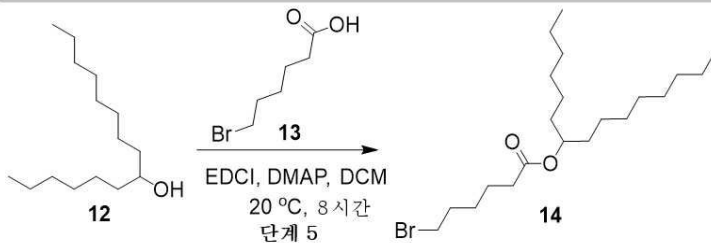
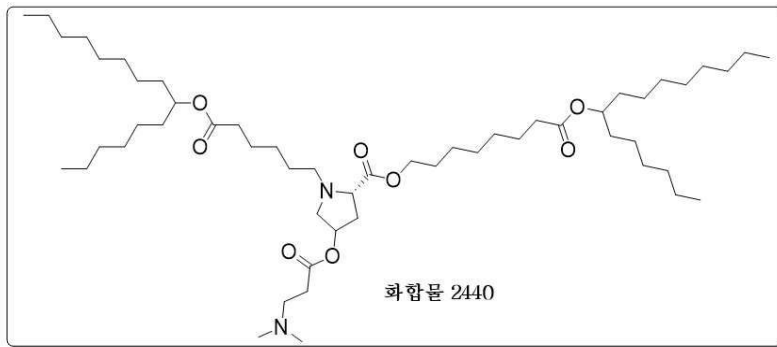
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 11.26-11.52 (m, 2H), 9.67 (s, 1H), 4.83-4.90 (m, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.29-4.40 (m, 2H), 4.16 (s, 1H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.35-3.55 (m, 4H), 3.23 (s, 1H), 2.97-

3.05 (m, 1H), 2.86-2.95 (m, 6H), 2.75-2.85 (m, 1H), 2.65-2.75 (m, 1H), 2.25-2.35 (m, 4H), 1.90 (s, 1H), 1.58-1.72 (m, 8H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.38 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). **LCMS:** (M+H)<sup>+</sup>: 878.8 @ 10.390분.

[1382] 8.39. 화합물 2440의 합성



[1383]



[1384]

[1385]

단계 1:

[1386]

THF(200 mL) 중 헵타날(10 g, 87.58 mmol, 12.22 mL, 1 당량)의 용액에 브로모(옥틸)마그네슘(2 M, 48.17 mL, 1.1 당량)을 -78 °C에서 첨가하였다. 그런 다음, 혼합물을 -78 °C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 20 °C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1500 mL 포화 NH<sub>4</sub>Cl을 첨가하여 희석한 다음, PE 1500 mL(500 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0)로 정제하여 화합물 펜타데칸-7-올(80

g, 350.24 mmol, 39.99% 수율)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1387]

**단계 2:**

[1388]

DCM(50 mL) 중 펜타데칸-7-올(5 g, 21.89 mmol, 1 당량) 및 8-브로모옥탄산(5.13 g, 22.98 mmol, 1.05 당량)의 용액에 EDCI(5.04 g, 26.27 mmol, 1.2 당량) 및 DMAP(1.34 g, 10.95 mmol, 0.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물 100 mL로 희석하고 EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 30 mL(10 mLx3)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0)로 정제하여 1-헥실노닐 8-브로모옥타노에이트(7.5 g, 17.30 mmol, 79.03% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1389]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.91 (m, 1H), 3.41 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.29 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.80-1.95 (m, 2H), 1.62-1.67 (m, 2H), 1.45-1.55 (m, 4H), 1.35-1.39 (m, 2H), 1.27-1.31 (m, 24H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 6H).

[1390]

**단계 3:**

[1391]

DMF(100 mL) 중 1-헥실노닐 8-브로모옥타노에이트(7.5 g, 17.30 mmol, 1.2 당량) 및 (2S)-1-터트-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(3.33 g, 14.42 mmol, 1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10.33 g, 31.72 mmol, 2.2 당량)을 순차적으로 첨가하였다. 그런 다음, 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 150 mL로 희석하고 EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 염수 140 mL(70 mLx2)로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 01-터트-부틸 02-[8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(6 g, 10.28 mmol, 71.28% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1392]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 2H), 4.10-4.37 (m, 4H), 3.30-3.68 (m, 2H), 2.26-2.30 (m, 3H), 2.05-2.08 (m, 1H), 1.61-1.67 (m, 2H), 1.42-1.50 (m, 13H), 1.25-1.35 (m, 28H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1393]

**단계 4:**

[1394]

DCM(27 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(3.5 g, 5.99 mmol, 1당량)의 용액에 TFA(13.82 g, 121.16 mmol, 9 mL, 20.21 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 7로 조정하고, EtOAc 150mL(50 mLx3)로 추출하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 2/1)로 정제하여 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1.3 g, 2.69 mmol, 43.33% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1395]

**단계 5:**

[1396]

DCM(50 mL) 중 6-브로모헥사노산(4.27 g, 21.89 mmol, 1 당량)의 혼합물에 EDCI(4.20 g, 21.89 mmol, 1 당량), 펜타데칸-7-올(5 g, 21.89 mmol, 1 당량), DMAP(534.86 mg, 4.38 mmol, 0.2 당량)를 20℃에서 첨가하고, 탈기하고, N<sub>2</sub>로 3회 퍼징하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 100 mL로 희석하고 EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 40/1)로 정제하여 1-헥실노닐 6-브로모헥사노에이트(8 g, 19.73 mmol, 90.14% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1397]

**단계 6:**

[1398]

DMF(20 mL) 중 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(1.3 g, 2.69 mmol, 1 당량), 1-헥실노닐 6-브로모헥사노에이트(1.31 g, 3.22 mmol, 1.2 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.11 g, 8.06

mmol, 3 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 50 ml H<sub>2</sub>O로 희석하고 EtOAc 120 mL(40 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸](2S)-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(0.4 g, 494.89 μmol, 18.41% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

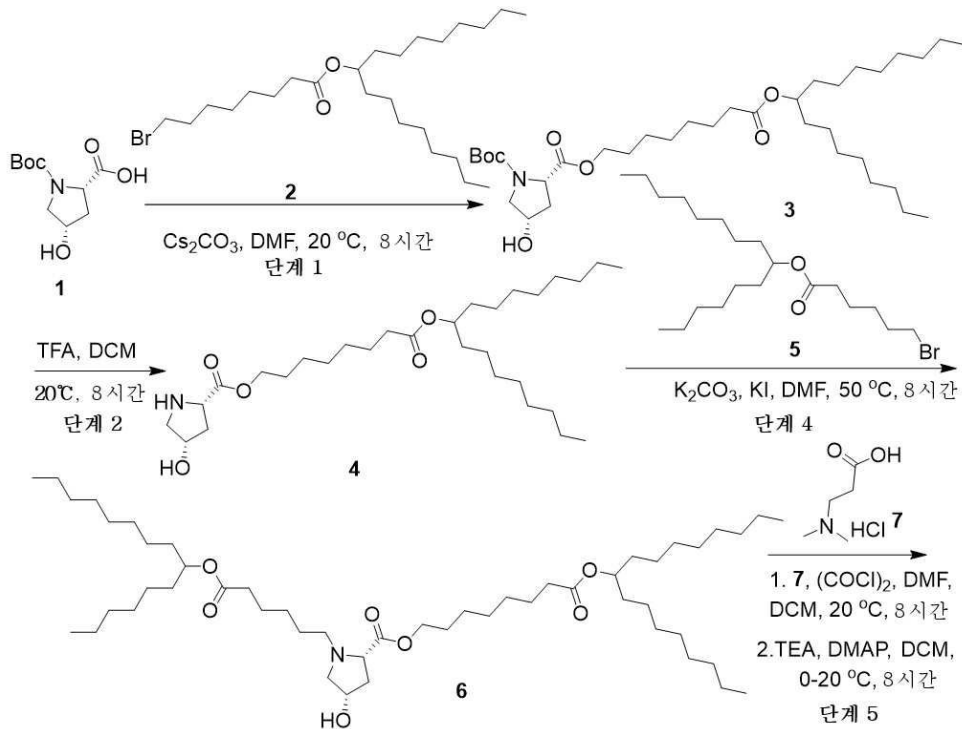
[1399] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.90 (m, 2H), 4.26-4.28 (m, 1H), 4.13 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.05-3.26 (m, 3H), 2.27-2.64 (m, 8H), 1.83-1.92 (m, 1H), 1.61-1.67 (m, 8H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.27-1.45 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1400] 단계 7:

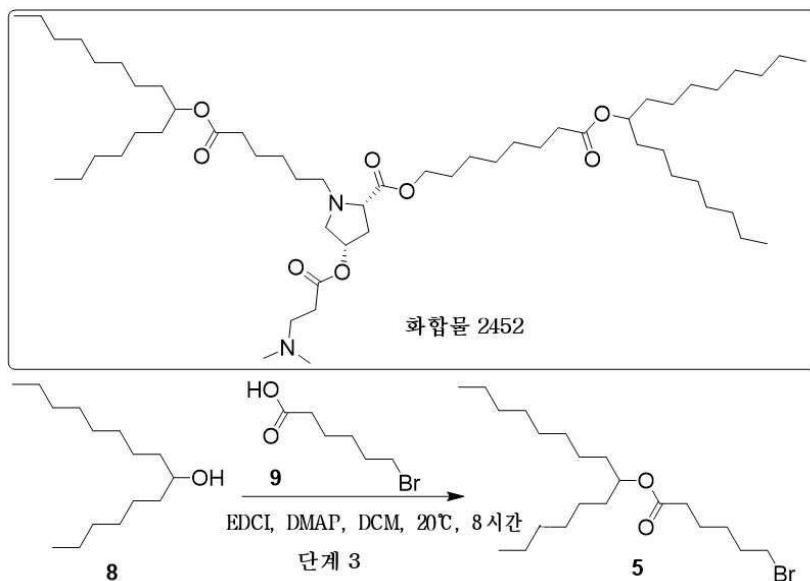
[1401] DMF(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(0.6 g, 3.91 mmol, 1 당량, HCl)의 혼합물에 (COCl)<sub>2</sub>(2.48 g, 19.53 mmol, 1.71 mL, 5 당량), DMF(28.55 mg, 390.61 μmol, 30.05 μL, 0.1 당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 20°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(0.6 g, 미정제, HCl)을 백색 고형분으로서 수득하였다. DCM(10 mL) 중 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(0.4 g, 494.89 μmol, 1 당량), TEA(250.39 mg, 2.47 mmol, 344.41 μL, 5 당량), DMAP(12.09 mg, 98.98 μmol, 0.2 당량)의 용액에 3-(디메틸아미노)프로판노일 염화물(425.73 mg, 2.47 mmol, 5 당량, HCl)을 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H<sub>2</sub>O 20 mL로 희석하고 EtOAc 60 mL(20 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0), 분취-HPLC(컬럼: Waters Xbridge BEH C18 100 x 30 mm x 10 μm; 이동상: [H<sub>2</sub>O(0.04%HCl)-THF:ACN = 1:3]; 구배:10.0분에 걸쳐 35% 내지 70% B), 및 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Gemini-NX 80 x 40 mm x 3 μm; 이동상: [H<sub>2</sub>O(0.04%HCl)-THF:ACN=1:3]; 구배:10.0분에 걸쳐 45% 내지 90% B)로 정제하여 [8-(1-헥실노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S)-4-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카복실레이트(108 mg, 112.31 μmol, 38.15% 수율, HCl)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1402] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 11.53-13.46 (m, 2H), 5.37-5.42 (m, 1H), 4.83-4.87 (m, 2H), 4.16-4.51 (m, 4H), 2.31-3.58 (m, 15H), 2.29 (t, J=7.2 Hz, 4H), 1.61-1.87 (m, 14H), 1.26-1.36 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 907.7 @ 10.114분.

[1403] 8.40. 화합물 2452의 합성



[1404]



[1405]

[1406] 단계 1:

[1407] DMF(30 mL) 중 (2S,4S)-1-tert-부톡시카르보닐-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실산(2.2 g, 9.51 mmol, 1 당량)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(4.65 g, 14.27 mmol, 1.5 당량) 및 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(5.27 g, 11.42 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 H<sub>2</sub>O 200 mL 를 첨가하여 킨칭한 다음, EtOAc 300 mL(100 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1)로 정제하여 01-tert-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시 피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(20 g, 32.69 mmol, 85.87% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1408] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.89 (m, 1H), 4.14-4.36 (m, 4H), 3.53-3.68 (m, 2H), 2.28-2.35 (m, 3H), 2.06-2.10 (m, 1H), 1.51-1.66 (m, 4H), 1.46-1.49 (m, 14H), 1.25-1.34 (m, 32H), 0.88 (t, J=6.4H, 6H).

- [1409] **단계 2:**
- [1410] DCM(30 mL) 중 01-터트-부틸 02-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-1,2-디카르복실레이트(4 g, 6.54 mmol, 1당량)의 용액에 TFA(15 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시킨 다음, 포화 NaHCO<sub>3</sub>으로 pH는 8로 조정하고, EtOAc 200 mL(40 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(16 g, 31.26 mmol, 95.64% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1411] **단계 3:**
- [1412] DCM(50 mL) 중 6-브로모헥사노산(6.75 g, 34.59 mmol, 1.58 당량)의 용액에 EDCI(6.29 g, 32.84 mmol, 1.5 당량), DMAP(802.28 mg, 6.57 mmol, 0.3 당량), 및 펜타데칸-7-올(5 g, 21.89 mmol, 1 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 50 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 90 mL(30 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 1-헥실노닐 6-브로모헥사노에이트(8.88 g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1413] **단계 4:**
- [1414] DMF(90 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-하이드록시피롤리딘-2-카르복실레이트(3.6 g, 7.03 mmol, 1 당량)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.92 g, 21.10 mmol, 3 당량) 및 KI(1.17 g, 7.03 mmol, 1 당량) 및 1-헥실노닐 6-브로모헥사노에이트(8.56 g, 21.10 mmol, 3 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 50 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 150 mL(50 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 50/1 내지 0/1)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸] (2S,4S)-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(3 g, 3.57 mmol, 50.77% 수율, 99.5% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1415] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.83-4.89 (m, 2H), 4.11-4.26 (m, 3H), 3.05-3.67 (m, 3H), 2.60-2.63 (m, 3H), 2.26-2.30 (m, 5H), 1.90-1.93 (m, 1H), 1.61-1.66 (m, 6H), 1.50-1.51 (m, 9H), 1.26-1.35(m, 52H), 0.88 (t, J=6.4H, 12H).
- [1416] **단계 5:**
- [1417] DCM(5 mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(480 mg, 3.12 mmol, 1 당량, HCl)의 용액에 DMF(11.42 mg, 156.24 μmol, 12.02 μL, 0.05 당량) 및 옥살릴 이염화물(475.95 mg, 3.75 mmol, 328.24 μL, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(537.6 mg, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다. 미정제 오일 잔류물을 DCM(10 mL)으로 용해시킨 다음, DCM(5 mL) 중 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]-4-하이드록시-피롤리딘-2-카르복실레이트(500 mg, 597.86 μmol, 1 당량), TEA(604.97 mg, 5.98 mmol, 832.15 μL, 10 당량), 및 DMAP(36.52 mg, 298.93 μmol, 0.5 당량)의 용액에 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H<sub>2</sub>O 10 mL를 첨가하여 쿨링한 다음, EtOAc 30 mL(10 mLx3)로 추출하였다. 합쳐진 유기층을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/1, 0.1% NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O 첨가)로 정제하여 [8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸](2S,4S)-4-[3-(디메틸아미노)프로파노일옥시]-1-[6-(1-헥실노녹시)-6-옥소-헥실]피롤리딘-2-카르복실레이트(280 mg, 299.32 μmol, 50.07% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1418] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), 12.36-13.34 (m, 2H), 5.36 (brs, 1H), 4.82-4.89 (m, 2H), 4.29-4.45 (m, 4H), 2.83-3.56 (m, 16H), 2.29 (t, J=7.6Hz, 4H), 1.61-1.72 (m, 6H), 1.50 (brs, 8H), 1.26-1.36 (m, 54H), 0.88 (t, J=6.8H, 12H).

[1419] 실시예 9. 지질 나노입자 조성물의 제조

[1420] 예시적인 지질 나노입자 조성물.

[1421] 예시적인 지질 나노입자 조성물을 제조하여 아래 차트에 나타난 몰비로 이온화 가능 지질:구조적 지질:스테롤:PEG-지질을 생성하였다.

[1422] 각각의 지질 나노입자 조성물의 지질 성분의 몰비가 아래에 요약되어 있다.

이온화 가능 지질 번호	mRNA	몰비			
		이온화 가능 성분	구조적 DSPC	식물 콜레스테롤	DMPE-PEG2k
2230	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2231	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2260	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2270	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2290	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2291	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2293	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2298	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2306	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2307	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2308	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2309	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2310	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2336	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2337	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2338	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2339	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2340	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2341	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2342	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2343	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2344	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2345	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2348	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2349	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2352	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2371	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2372	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2373	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2375	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2376	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2377	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2436	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2452	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5

[1423] 예시적인 지질 나노입자 조성물을 제조하기 위해, 상기 차트에 따른 지질 성분을 에탄올에 용해시키고, 상기 표시된 몰비로 혼합하고, 에탄올(유기상)에 희석하여 5.5mM의 총 지질 농도를 획득하였다.

[1425] mRNA를 캡슐화하는 지질 나노입자 조성물.

[1426] 각각의 LNP 조성물에 대한 상기 차트에 따른 mRNA 용액(수상, fluc:EPO mRNA)을 RNase-무함유 물 및 100 mM 구연산염 완충액(pH는 3)으로 제조하여 50 mM 구연산염 완충액 및 0.167 mg/mL mRNA 농도(1:1 Fluc:EPO)의 최종 농도를 획득하였다. 제형을 6:1의 이온화 가능 지질 질소:mRNA 인산염(N:P) 비로 이온화 가능 지질 대 mRNA를

유지시켰다.

- [1427] 각각의 LNP 조성물의 경우, 지질 혼합물 및 mRNA 용액을 9 mL/분의 총 유속으로 NanoAssemblr Ignite(Precision Nanosystems) 상에서 각각 1:3 부피비로 혼합하였다. 그런 다음, 생성된 조성물을 Slide-A-Lyzer G2 투석 카세트(10k MWCO) 내로 로딩하고, 2시간 동안 실온에서 부드럽게 교반하면서 1xPBS의 샘플 부피의 200배로 투석하였다. PBS를 새로 갈고, 조성물을 4°C에서 적어도 14시간 동안 부드럽게 교반하면서 추가로 투석하였다. 그런 다음, 투석된 조성물을 수집하고 Amicon Ultra 원심분리 필터(100k MWCO)를 사용하여 2000xg에서 원심분리하여 농축시켰다. 농축된 입자를 Zetasizer Ultra(Malvern Panalytical)를 사용하여 크기, 다분산성, 및 입자 농도에 대해 특성 분석하고, Quant-iT RiboGreen RNA 검정 키트(ThermoFisher Scientific)를 사용하여 mRNA 캡슐화 효율에 대해 특성 분석하였다.
- [1428] pKa 측정을 위해, 그 전체가 참조로서 본원에 통합된 Sabnis 등의 문헌[*Molecular Therapy*, 26(6):1509-19]에 기술된 바에 따라 TNS 검정을 수행하였다. 간략하게, 1 M 수산화나트륨 및 1 M 염산을 사용하여 3.0 내지 12.0 범위의 고유 pH 값의 20개의 완충액(증류수 중 10 mM 인산나트륨, 10 mM 붕산나트륨, 10 mM 구연산나트륨, 및 150 mM 염화나트륨)을 제조하였다. (진술한) 각각의 pH 값에 대해 96-웰 흑색 플레이트에 3.25  $\mu$ L의 LNP 조성물(PBS 중 0.04 mg/mL mRNA)을 2  $\mu$ L의 TNS 시약(DMSO 중 0.3 mM) 및 90  $\mu$ L의 완충액과 함께 인큐베이션하였다. 각각의 pH 조건을 삼중 웰에서 수행하였다. TNS 형광은 321/445 nm의 여기/방출 파장에서 Biotek Cytation Plate 판독기를 사용하여 측정되었다. 그런 다음, 형광 값을 도표화하고 4-파라미터 시그모이드 곡선을 사용하여 피팅하였다. 피팅으로부터 반치 최대 형광을 산출하는 pH 값을 계산하고 겉보기 LNP pKa 값으로서 보고하였다.
- [1429] 제조한 것에 기반한 동일한 이온화 가능 지질 번호로 표지된 각각의 예시적인 지질 나노입자 조성물에 대한 입자 특성 분석 데이터는 아래 표에 나타나 있다.

LNP 번호	mRNA	크기(nm)	PDI	EE(%)	pKa(TNS)
2230	FLUC/EPO 1:1	87.6	0.10	92.4	4.84
2231	FLUC/EPO 1:1	91.6	0.05	93.9	5.03
2260	FLUC/EPO 1:1	62.6	0.14	90	4.72
2270	FLUC/EPO 1:1	68.4	0.02	88.7	4.85
2290	FLUC/EPO 1:1	117.5	0.06	94.6	5.76
2291	FLUC/EPO 1:1	93.2	0.10	95	4.65
2293	FLUC/EPO 1:1	92.3	0.05	86.5	6.02
2298	FLUC/EPO 1:1	120.7	0.09	90	5.14
2306	FLUC/EPO 1:1	124.5	0.08	94.8	5.20
2307	FLUC/EPO 1:1	173.0	0.09	95.9	
2308	FLUC/EPO 1:1	98.3	0.06	96.5	5.70
2309	FLUC/EPO 1:1	128.1	0.10	96.7	
2310	FLUC/EPO 1:1	138.5	0.13	96.1	
2336	FLUC/EPO 1:1	92.1	0.05	93.4	5.67
2337	FLUC/EPO 1:1	123.8	0.06	90.1	5.78
2338	FLUC/EPO 1:1	120.8	0.10	89.3	5.91
2339	FLUC/EPO 1:1	79.2	0.07	95.8	4.68
2340	FLUC/EPO 1:1	123.2	0.09	89.3	5.93
2341	FLUC/EPO 1:1	104.2	0.10	89.1	5.58
2342	FLUC/EPO 1:1	113.4	0.05	89	5.81
2343	FLUC/EPO 1:1	90.8	0.07	93.5	4.93
2344	FLUC/EPO 1:1	88.1	0.03	91.5	5.54
2345	FLUC/EPO 1:1	91.8	0.03	90.1	
2348	FLUC/EPO 1:1	105.4	0.08	93.6	5.59
2349	FLUC/EPO 1:1	90.4	0.13	96.8	
2352	FLUC/EPO 1:1	151.7	0.32	32.8	
2371	FLUC/EPO 1:1	107.0	0.05	94.7	6.17
2372	FLUC/EPO 1:1	95.8	0.06	95.6	5.98
2373	FLUC/EPO 1:1	84.8	0.34	97.9	7.28
2375	FLUC/EPO 1:1	127.6	0.12	96.7	6.77
2376	FLUC/EPO 1:1	104.1	0.04	97.4	7.66
2377	FLUC/EPO 1:1	101.2	0.33	96.5	7.78
2436	FLUC/EPO 1:1	134.0	0.15	93.4	6.60
2452	FLUC/EPO 1:1	109.2	0.11	95.2	5.91

[1430]

[1431] 실시예 10. 생체 내 생물발광 영상화

[1432] 실시예 9에 따라 제조되고, 상기 실시예 9에 나타난 표에 따라 mRNA를 캡슐화하는 예시적인 지질 나노입자 조성물을 본 실시예에 사용하였다.

[1433] 생물발광 스크리닝.

[1434] 8주령 내지 9주령 암컷 Balb/c 마우스를 생물발광 기반 이온화 가능 지질 스크리닝 활동에 사용하였다. 마우스를 Jackson Laboratories(JAX Stock: 000651)로부터 획득하여 조작 전 일주일 동안 적응시켰다. 동물을 구속 챔버에 도입하기 전에 몇 분 동안 가열 램프 아래에 두었다. 꼬리를 알코올 패드(Fisher Scientific)로 닦고, 전술한 각각의 LNP 조성물에 대해, 10 µg의 총 mRNA(5µg Fluc + 5µg EPO)를 함유한 전술한 100 µL의 지질 나노입자 조성물을 29G 인슐린 주사기(Covidien)를 사용하여 정맥내 주사하였다. 투여 후 4 내지 6시간차에, 동물에게 200 µL의 15 mg/mL D-루시페린(GoldBio)을 주사하고, IVIS Lumina LT 이미저(PerkinElmer) 내부의 세트 노즈 콘에 넣었다. 영상화를 위해 LivingImage 소프트웨어를 사용하였다. 자동 노출 시 전신 생물발광을 포

착한 후, 동물을 IVIS에서 꺼내어 안락사를 위해 CO<sub>2</sub> 챔버에 넣었다. 각 동물을 등을 대고 눕힌 후 심장 천자를 수행하였고, 25G 인슐린 주사기(BD)를 사용하여 채혈을 수행하였다. 모든 혈액 샘플을 수집한 후, 탁상 원심분리기를 사용하여 튜브를 2000G에서 10분 동안 회전시키고, 혈장을 개별 Eppendorf 튜브(Fisher Scientific)에 분취하고 후속 EPO 정량화를 위해 -80℃에서 보관하였다. EPO MSD 키트(Meso Scale Diagnostics)를 사용하여 혈장 내 EPO 수준을 결정하였다. hEPO MSD 측정 프로토콜은 실시예 7의 섹션 hEPO MSD 측정에 기술된 것과 동일하였다.

[1435] 생체 내 생물발광 영상화에 의해 결정된 각각의 지질 나노입자 조성물에 대한 평균 방사율 수준이 아래 표에 나타나 있다.

LNP 번호	mRNA 투여량	생물발광(IV)					
		전신	간	비장	폐	hEPO	비장:간 비율
2230	5µg FLUC + 5µg EPO	4.8E+06	6.6E+05	1.6E+06	1.0E+04	1.2E+05	2.409
2231	5µg FLUC + 5µg EPO	2.4E+06	4.2E+05	3.8E+06	1.8E+04	4.7E+04	12.767
2260	5µg FLUC + 5µg EPO	4.2E+04	6.1E+03	9.7E+03	1.2E+03	2.2E+02	2.501
2270	5µg FLUC + 5µg EPO	1.4E+04	3.0E+03	6.4E+03	1.1E+03	9.1E+01	2.260
2290	5µg FLUC + 5µg EPO	1.5E+07	1.8E+06	4.9E+06	2.8E+04	1.5E+05	2.707
2291	5µg FLUC + 5µg EPO	1.0E+05	1.2E+04	3.2E+05	1.7E+03	1.6E+03	27.074
2293	5µg FLUC + 5µg EPO	1.9E+04	4.0E+03	2.9E+05	3.3E+03	5.8E+02	72.893
2298	5µg FLUC + 5µg EPO	2.4E+07	3.0E+06	8.6E+06	3.1E+04	1.4E+05	3.448
2306	5µg FLUC + 5µg EPO	2.5E+07	2.6E+06	6.4E+06	2.5E+04	2.2E+05	3.685
2307	5µg FLUC + 5µg EPO	7.7E+04	1.1E+04	7.5E+04	1.8E+03	4.9E+03	6.690
2308	5µg FLUC + 5µg EPO	8.5E+05	6.6E+04	7.8E+06	1.2E+04	1.1E+04	112.706
2309	5µg FLUC + 5µg EPO	7.4E+06	8.8E+05	5.1E+06	4.4E+04	8.1E+04	5.742
2310	5µg FLUC + 5µg EPO	1.3E+07	8.9E+05	4.8E+06	1.1E+05	1.09E+05	5.580
2336	5µg FLUC + 5µg EPO	1.1E+05	2.1E+04	9.6E+04	1.4E+03	1.2E+03	5.843
2337	5µg FLUC + 5µg EPO	5.8E+06	1.6E+06	8.4E+06	1.5E+05	1.3E+05	5.281
2338	5µg FLUC + 5µg EPO	7.8E+06	8.4E+05	3.5E+06	1.3E+04	1.7E+05	4.171

[1436]

2339	5µg FLUC + 5µg EPO	2.2E+04	4.0E+03	3.1E+05	7.8E+03	7.6E+03	79.023
2340	5µg FLUC + 5µg EPO	3.2E+07	3.6E+06	7.5E+06	4.9E+04	3.1E+05	1.993
2341	5µg FLUC + 5µg EPO	1.3E+07	2.2E+06	1.2E+06	8.9E+03	2.7E+05	0.559
2342	5µg FLUC + 5µg EPO	1.2E+07	2.3E+06	6.9E+06	4.1E+04	8.9E+04	3.514
2343	5µg FLUC + 5µg EPO	5.0E+07	8.4E+06	9.4E+05	7.0E+03	7.5E+05	0.113
2344	5µg FLUC + 5µg EPO	2.0E+08	3.7E+07	4.2E+06	3.3E+04	1.4E+06	0.123
2345	5µg FLUC + 5µg EPO	8.4E+07	1.7E+07	4.2E+06	7.1E+03	5.3E+06	0.239
2348	5µg FLUC + 5µg EPO	2.5E+05	3.8E+04	4.6E+05	4.4E+03	7.3E+03	12.192
2349	5µg FLUC + 5µg EPO	5.3E+04	8.0E+03	2.6E+04	7.8E+02	3.8E+02	4.520
2352	5µg FLUC + 5µg EPO	2.2E+04	4.1E+03	2.3E+03	7.8E+02	4.1E+02	0.599
2371	5µg FLUC + 5µg EPO	1.6E+07	3.2E+06	5.3E+06	1.9E+04	2.5E+05	1.647
2372	5µg FLUC + 5µg EPO	5.9E+04	1.4E+04	6.2E+04	2.5E+02	4.3E+04	4.623
2373	5µg FLUC + 5µg EPO	7.9E+03	1.2E+03	7.2E+03	1.1E+03	1.9E+03	6.493
2375	5µg FLUC + 5µg EPO	1.2E+04	1.7E+03	2.1E+04	1.1E+03	1.2E+02	12.568
2376	5µg FLUC + 5µg EPO	3.0E+03	4.6E+02	5.8E+04	1.4E+03	6.9E+02	112.877
2377	5µg FLUC + 5µg EPO	2.3E+04	2.7E+03	2.6E+05	3.9E+03	3.1E+02	109.114
2436	5µg FLUC + 5µg EPO	7.14E+05	1.05E+05	6.25E+05	2.62E+03	1.3E+04	5.93
2452	5µg FLUC + 5µg EPO	1.62E+06	1.59E+05	2.59E+05	2.61E+03	1.73E+05	1.855

[1437]

[1438]

알 수 있는 바와 같이, 신규한 이온화 가능 지질 화합물을 함유하는 지질 나노입자 조성물은 간 외부에서의 치료 물질의 선택적 전달을 나타내며, 간에서의 지질 수준이 더 낮기 때문에, 간 독성이 더 낮을 것으로 예상된다.

[1439]

특히, 모든 예시적인 지질 나노입자 조성물에 대해 비장:간 평균 방사율 비율을 결정하였다. 실시예 7에서 논의된 바와 같이, 비교 지질 나노입자 조성물(LNP C12-200, LNP MC3)은 매우 낮은 비장 대 간 비율(<< 0.1)을 갖는 반면, 모든 예시적인 지질 나노입자 조성물은 비교 지질 나노입자 조성물(LNP C12-200, LNP MC3)의 비장 대 간 비율보다 상당히 높은 비장 대 간 비율을 나타냈으며, 값은 > 0.1이었다. 가장 예시적인 지질 나노입자 조성물(5 제외)은 > 1의 비장 대 간 비율을 나타냈다. 몇몇 예시적인 지질 나노입자 조성물(LNP 2231, LNP 2291, LNP 2293, LNP 2308, LNP 2339, LNP 2348, LNP 2375, LNP 2376, 및 LNP 2377)은 > 10의 비장 대 간 비율을 나타냈다. 이러한 결과는 비교 지질 나노입자 조성물에서 나타나는 주로 표준적인 간에 의한 전달 대신에, 예시적인 지질 나노입자 조성물에서는 간 전달에 더하여 비장 전달이 높게 나타난다는 것을 의미한다.

[1440]

본 개시가 일부 구현예와 관련하여 설명되었으며 많은 세부 사항이 예시의 목적으로 제시되었지만, 본 개시는 추가 구현예를 포함하며, 본원에 기술된 세부 사항 중 일부는 본 개시를 벗어나지 않으면서 상당히 변경될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 본 개시는 이러한 추가 구현예, 변형, 및 등가물을 포함한다. 특히, 본 개시

는 다양한 예시적인 구성 요소 및 실시예의 특징, 용어, 또는 요소의 임의의 조합을 포함한다.

도면

도면1

