

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0122774
(43) 공개일자 2024년08월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 207/08 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01) C07C 219/06 (2006.01)
C07C 229/16 (2006.01) C07C 237/12 (2006.01)
C07C 275/16 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 207/08 (2013.01)
A61K 48/0033 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7019980
- (22) 출원일자(국제) 2022년11월16일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년06월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/050111
- (87) 국제공개번호 WO 2023/091490
국제공개일자 2023년05월25일
- (30) 우선권주장
63/264,149 2021년11월16일 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

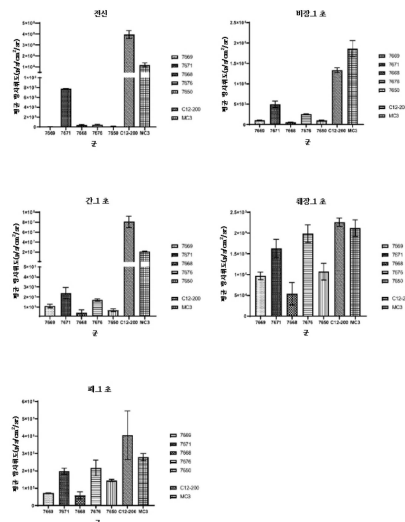
전체 청구항 수 : 총 43 항

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

(57) 요약

치료 물질의 전달에 사용될 수 있는 신규한 이온화 가능 지질 및 지질 나노입자가 개시된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 9/5123 (2013.01)

C07C 219/06 (2013.01)

C07C 229/16 (2013.01)

C07C 237/12 (2013.01)

C07C 275/16 (2013.01)

(72) 발명자

에드만, 로만

미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

파텔, 시다스

미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

하우, 알레이나

미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

살레르노, 도미닉

미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

아디카리, 산밋

미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

보고라드, 로만

미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

아디카리, 아리짓

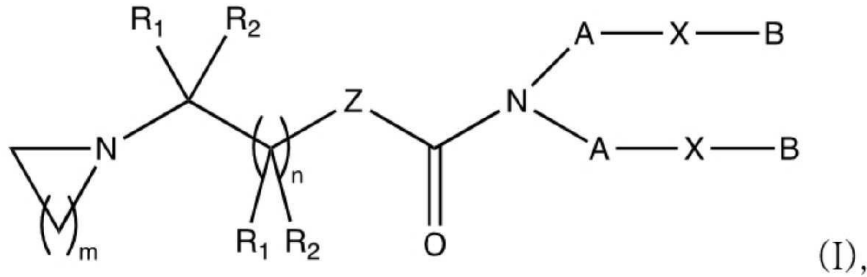
미국 02140 메사추세츠주 캄브릿지 스위트 300 아
콘 파크 드라이브 20

명세서

청구범위

청구항 1

식 (I)의 화합물:



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

식 중:

각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이거나, R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고; 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, C_1-C_3 알킬이거나, R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

Z 는 부재하거나, O, S, 또는 NR_{12} 이고, 식 중 R_{12} 는 H, C_1-C_7 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_7 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, Z 가 부재하지 않는 경우, 인접한 R_1 및 R_2 는 OH, $NR_{10}R_{11}$, 또는 SH일 수 없고;

각각의 A 는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

각각의 B 는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

각각의 X 는 독립적으로 생분해성 모이어티인, 화합물.

청구항 2

제1항에 있어서, X 는 $-OCO-$, $-COO-$, $-NHCO-$, $-CONH-$, $-C(O-R_{13})-O-$, $-COO(CH_2)_s-$, $-CONH(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R_{13} 은 C_3-C_{10} 알킬이고, s 는 1, 2, 3, 4, 또는 5인, 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, X 는 $-OCO-$ 또는 $-COO-$ 인, 화합물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, Z 는 부재하는, 화합물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, R_1 및 R_2 는 각각 H인, 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, B는 C_3-C_{20} 알킬인, 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, m은 1, 3, 또는 4인, 화합물.

청구항 8

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, n은 0, 1, 또는 2인, 화합물.

청구항 10

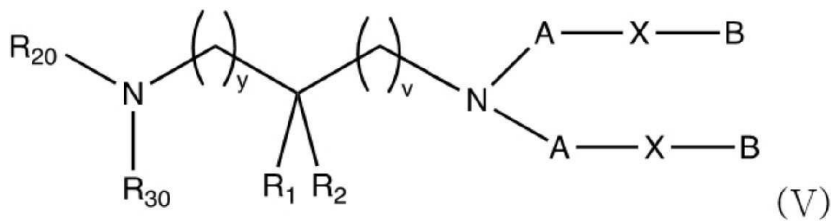
제1항 내지 제3항 및 제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 S인, 화합물.

청구항 11

제1항 내지 제3항 및 제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 NH인, 화합물.

청구항 12

식 (V)의 화합물:



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

식 중:

R_1 은 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고, R_2 는 OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고, 식 중 R_{10} 및 R_{11} 은 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬이거나, R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하거나,

R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

R_{20} 및 R_{30} 은 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_5 알킬이거나, R_{20} 및 R_{30} 은 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

v는 1, 2, 3, 또는 4이고;

y는 1, 2, 3, 또는 4이고;

각각의 A는 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

각각의 B는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

X는 생분해성 모이어티인, 화합물.

청구항 13

제12항에 있어서, X는 $-OCO-$, $-COO-$, $-NHCO-$, $-CONH-$, $-C(O-R_{13})-O-$, $-COO(CH_2)_s-$, $-CONH(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R_{13} 은 C_3-C_{10} 알킬이고, s는 1, 2, 3, 4, 또는 5인, 화합물.

청구항 14

제12항에 있어서, X는 $-OCO-$ 또는 $-COO-$ 인, 화합물.

청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 부재하는, 화합물.

청구항 16

제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, R_1 및 R_2 는 각각 OH인, 화합물.

청구항 17

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, B는 C_3-C_{20} 알킬인, 화합물.

청구항 18

제12항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, m은 1, 3, 또는 4인, 화합물.

청구항 19

제12항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, n은 0, 1, 또는 2인, 화합물.

청구항 20

제12항 내지 제14항 및 제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 S인, 화합물.

청구항 21

제12항 내지 제14항 및 제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 NH인, 화합물.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.1 내지 약 8.0인, 화합물.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.7 내지 약 6.4인, 화합물.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.8 내지 약 6.2인, 화합물.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.5 내지 약 6.0인, 화합물.

청구항 26

제25항에 있어서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 6.1 내지 약 6.3인, 화합물.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 화합물 및 지질 성분의 조합.

청구항 28

제27항에 있어서, 조합은 제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 화합물 및 지질 성분의 약 1:1 비율을 포함하는, 조합.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 조합은 LNP 조성물인, 조합.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 성분은 헬퍼 지질 및 PEG 지질을 포함하는, 조합.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 성분은 헬퍼 지질, PEG 지질, 및 중성 지질을 포함하는, 조합.

청구항 32

제27항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 동결보호제를 추가로 포함하는 조합.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 완충액을 추가로 포함하는 조합.

청구항 34

제27항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 핵산 성분을 추가로 포함하는 조합.

청구항 35

제34항에 있어서, 핵산 성분은 RNA 또는 DNA 성분인, 조합.

청구항 36

제27항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 약 3 내지 10의 N/P 비율을 갖는 조합.

청구항 37

제36항에 있어서, N/P 비율은 약 6 ± 1 인, 조합.

청구항 38

제37항에 있어서, N/P 비율은 약 6 ± 0.5 인, 조합.

청구항 39

제38항에 있어서, N/P 비율은 약 6인, 조합.

청구항 40

제27항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, RNA 성분을 포함하되, 상기 RNA 성분은 mRNA를 포함하는, 조합.

청구항 41

치료 물질을 이를 필요로 하는 대상체의 체장 또는 폐에 전달하는 방법으로서, 상기 방법은 식 (I)~(VII)의 화합물로부터 선택된 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 치료 물질의 50%, 30%, 또는 10% 미만이 대상체의 간 또는 전신에 전달되는, 방법.

청구항 43

제41항에 있어서, 치료 물질의 50%, 70%, 또는 90% 초과가 대상체의 체장 및/또는 폐에 전달되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 11월 16일에 출원된 미국 가출원 제63/264,149호에 대한 우선권의 이익을 주장하며, 동 문헌은 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 비히클로서 기능할 수 있다. LNP는 세포막을 가로질러 올리고뉴클레오타이드 제제의 전달을 용이하게 할 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 가이드 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 안정화 및/또는 전달할 수 있는 조성물로서, 시험관 내 및 생체 내 전달에 유용한 특성을 갖는 조성물도 특히 관심을 받게 되었다.

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

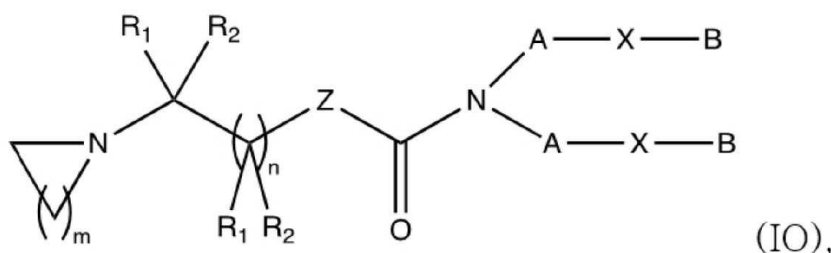
발명의 내용

[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 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 (IO)~(VIIIO) 및 식 (I)~(VIID)의 이온화 가능 지질이 아래에 개시된다.

[0010] 일부 구현예에서, 식 (IO)의 이온화 가능 지질:



[0011] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0012] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐,

OH, 할로젠, SH, 또는 $\text{NR}_{10}\text{R}_{11}$ 이거나,

[0013] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0014] 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, $\text{C}_1\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알킬, $\text{C}_2\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나, R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0015] m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0016] n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0017] Z 는 부재하거나, O, S, 또는 NR_{12} 이고, 식 중 R_{12} 는 H, $\text{C}_1\text{-C}_7$ 분지형 또는 비분지형 알킬, $\text{C}_2\text{-C}_7$ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, Z 가 부재하지 않는 경우, 인접한 R_1 및 R_2 는 OH, $\text{NR}_{10}\text{R}_{11}$, 또는 SH일 수 없고;

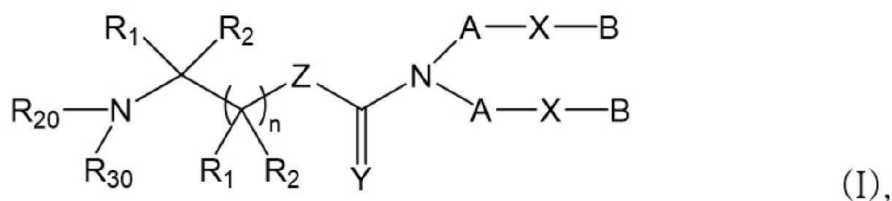
[0018] 각각의 A 는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, $\text{C}_1\text{-C}_{16}$ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 $\text{C}_2\text{-C}_{16}$ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0019] 각각의 B 는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, $\text{C}_1\text{-C}_{16}$ 분지형 또는 비분지형 알킬, $\text{C}_2\text{-C}_{16}$ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

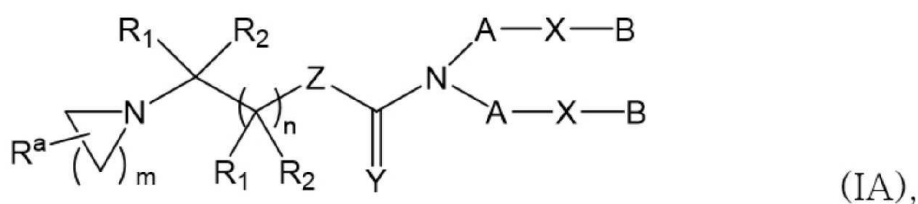
[0020] 각각의 X 는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0021] 일부 구현예에서, X 는 $-\text{OCO}-$, $-\text{COO}-$, $-\text{NHCO}-$, $-\text{CONH}-$, $-\text{C}(\text{O}-\text{R}_{13})-\text{O}-$, $-\text{COO}(\text{CH}_2)_s-$, $-\text{CONH}(\text{CH}_2)_s-$, $-\text{C}(\text{O}-\text{R}_{13})-\text{O}-(\text{CH}_2)_s-$ 로서, 식 중 R_{13} 은 $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ 알킬이고, s 는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, X 는 $-\text{OCO}-$ 또는 $-\text{COO}-$ 이다.

[0022] 일부 구현예에서 식 (I) 또는 식 (IA)의 이온화 가능 지질:



[0023]



[0024]

[0025] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0026] R_{20} 및 R_{30} 은 각각 독립적으로 H, $\text{C}_1\text{-C}_5$ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 $\text{C}_2\text{-C}_5$ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0027] 인접한 N 원자와 함께 R_{20} 및 R_{30} 은 R^a 로 임의 치환된 3원 내지 7원 환형 고리를 형성하고;

[0028] R^a 는 H, $\text{C}_1\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알킬, $\text{C}_2\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로젠, OH, 또는 SH이고;

[0029] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, $\text{C}_1\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알킬, $\text{C}_2\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $\text{NR}_{10}\text{R}_{11}$ 이거나, R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0030] 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, $\text{C}_1\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알킬, $\text{C}_2\text{-C}_3$ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0031] m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0032] n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0033] Y 는 0 또는 S이고;

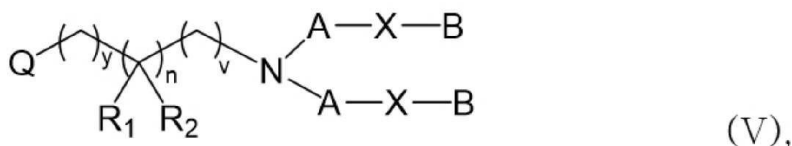
[0034] Z 는 부재하거나, O, S, 또는 $N(R_{12})(R_{12})$ 이고, 식 중 각각의 R_{12} 는 독립적으로 H, C_1-C_7 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_7 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, Z 가 부재하지 않는 경우, 인접한 R_1 및 R_2 는 OH, $NR_{10}R_{11}$, 또는 SH일 수 없고;

[0035] 각각의 A 는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

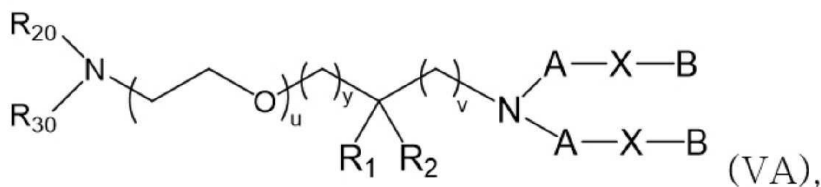
[0036] 각각의 B 는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0037] 각각의 X 는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

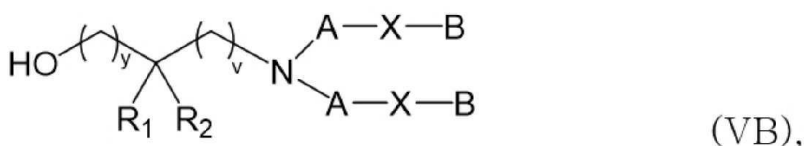
[0038] 일부 구현예에서, 다음 식의 이온화 가능 지질:



[0039]



[0040]



[0041]

[0042] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0043] R_1 은 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로겐, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고,

[0044] R_2 는 H, OH, 할로겐, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이거나,

[0045] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0046] R_{10} 및 R_{11} 은 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 알킬이거나, R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0047] Q 는 OH 또는 $-(OCH_2CH_2)_uNR_{20}R_{30}$ 이고,

[0048] R_{20} 및 R_{30} 은 각각 독립적으로 H, C_1-C_5 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_5 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0049] 인접한 N 원자와 함께 R_{20} 및 R_{30} 은 R^a 임의 치환된 3원 내지 7원 환형 고리를 형성하고;

- [0050] R^a 는 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로젠, OH, 또는 SH이고;
- [0051] u 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;
- [0052] v 는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;
- [0053] y 는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;
- [0054] 각각의 **A**는 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;
- [0055] 각각의 **B**는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;
- [0056] 각각의 **X**는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.
- [0057] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X 는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-C(O)N(R^7)-$, $-C(O-R_{13})O-$, $-C(O)O(CH_2)_s-$, $-OC(O)(CH_2)_s-$, $-C(O)N(R^7)(CH_2)_s-$, $-N(R^7)C(O)(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 각각의 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고, 각각의 R_{13} 은 독립적으로 C_3-C_{10} 알킬이고, 각각의 s 는 독립적으로 0 내지 16이다.
- [0058] 또한, 아래에 개시된 식의 이온화 가능 지질 화합물로부터 선택된 하나 이상의 화합물 및 치료제를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 개시된다. 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.
- [0059] 일부 구현예에서, 본 개시는 치료제를 이를 필요로 하는 환자에게 전달하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 아래에 개시된 식의 이온화 가능 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체, 및 치료제를 포함하는 지질 나노입자 조성물을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 아래에 개시된 식의 이온화 가능 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체, 및 치료제를 포함하는 지질 나노입자 조성물을 제조하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0060] 본 개시의 이들 및 다른 양태는 다음의 상세한 설명을 참조하여 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0061] **도 1**은 마우스의 상이한 신체 기관 및 영역에서의 다양한 화합물의 평균 방사휘도(p/s/cm²/sr)를 나타낸다.
- 도 2**는 다양한 지질에 대한, 다양한 화합물의 투여 후 마우스 간(1초 후), 비장(1초 및 1분 후)의 생물발광 이미지를 보여준다.
- 도 3**는 각각 지질 화합물 번호 7669(좌측) 및 지질 화합물 번호 7671(우측)의 투여 후 마우스에서의 생물발광 이미지를 보여준다.
- 도 4**는 각각 지질 화합물 번호 7668(좌측) 및 지질 화합물 번호 7676(우측)의 투여 후 마우스에서의 생물발광 이미지를 보여준다.
- 도 5**는 지질 화합물 번호 7650의 투여 후 마우스에서의 생물발광 이미지를 보여준다.
- 도 6**는 각각 지질 C12-200(좌측) 및 MC3(우측)의 투여 후 마우스에서의 생물발광 이미지를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0062] **정의**
- [0063] 본원에서 사용되는 바와 같이, 다음의 용어는 달리 명시되지 않는 한 이들에게 부여된 의미를 갖는다.
- [0064] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시가 속하는 기술분야의 당업자에

의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0065] 본 명세서 및 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 문맥이 명확하게 달리 언급하지 않는 한, 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 복수의 지시 대상을 포함한다.

[0066] 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.

[0067] 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.

[0068] 문구 "표적 유전자의 발현을 억제하는"은 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.

[0069] 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 올리고뉴클레오타이드와 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.

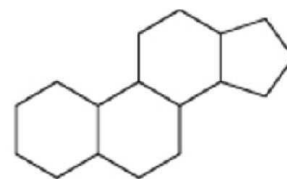
[0070] 본원에서 사용되는 용어 "핵산"은 단일-가닥 또는 이중-가닥 형태의 적어도 2개의 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드를 함유하는 중합체를 지칭하며, 중합체는 DNA, RNA, 및 이들의 혼성체를 포함한다. DNA는 안티센스 분자, 플라스미드 DNA, cDNA, PCR 산물, 또는 벡터의 형태일 수 있다. RNA는 소형 헤어핀 RNA(shRNA), 전령 RNA(mRNA), 안티센스 RNA, miRNA, micRNA, 다가 RNA, 다이스 기질 RNA, 또는 바이러스 RNA(vRNA), 및 이들의 조합의 형태일 수 있다. 핵산은 공지된 뉴클레오타이드 유사체 또는 변형된 핵본 잔기 또는 결합을 함유하는 핵산을 포함하며, 핵산은 합성, 자연 발생, 및 비-자연 발생이고, 기준 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 기준 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.

[0071] "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.

[0072] 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.

[0073] 본원에서 사용되는 바와 같이, "유전자 산물"은 RNA 전사체 또는 폴리펩티드와 같은 유전자의 산물을 지칭한다.

[0074] 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".



[0075] "스테로이드"는 다음의 탄소 골격을 포함하는 화합물이다: . 스테로이드의 비제한적인 예는 콜레스테롤이다.

[0076] 본원에서 사용되는 바와 같이, "이온화 가능 지질"은 하전될 수 있는 지질을 지칭한다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질은 하나 이상의 양전하 아민기를 포함한다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질은 pH에 따라 양전하 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 체내 분해성 비-이중층 구조(Hafez, I.M., 등의 문헌[Gene Ther 8: 1188~1196(2001)])를 형성하는 지질 나노입자의 능력에 영향을 미칠 수 있다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질은, 예를 들어 생리학적 pH(예를 들어, pH 약 7)에서 일반적으로 중성이지만, 산성 pH 또는 염기성 pH에서 순 전하(들)를 운반할 수 있는 것들을 포함한다. 일 구현예에서, 이온화 가능 지질은 일반적으로 pH 약 7에서 중성이지만, 염

기성 pH에서 순 전하(들)를 운반할 수 있는 것들을 포함한다. 일부 구현예에서, 이온화 가능 지질은 일반적으로 생리학적 pH(예를 들어, pH 약 7)에서 순 전하(들)를 운반하는 양이온성 지질 또는 음이온성 지질을 포함하지 않는다.

[0077] 용어 "N:P 비"는, 예를 들어, 지질 성분 및 핵산(예를 들어, RNA)을 포함하는 지질 나노입자 조성물에서, 핵산(예를 들어, RNA) 내의 인산염기에 대한 지질 내의 (생리학적 pH 범위 내에서) 이온화 가능한 질소 원자의 물비를 지칭한다.

[0078] 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.

[0079] 용어 "중성 지질"은 선택된 pH에서 전하가 없거나 중성 양성이온 형태로 존재하는 임의의 지질을 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 포스파티딜에탄올아민, 스펡고미엘린(SM), 세라마이드, 및 스테롤과 같은 스테로이드, 및 이들의 유도체. 중성 지질은 합성 또는 자연 유래일 수 있다.

[0080] 용어 "PEG 지질" 또는 "PEG화된 지질"은 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 성분을 포함하는 지질 접합체를 지칭한다.

[0081] 용어 "인지질"은 인산염 모이어티 및 불포화 지방산 사슬과 같은 하나 이상의 탄소 사슬을 포함하는 지질을 지칭한다. 인지질은 하나 이상의 다중(예를 들어, 이중 또는 삼중) 결합(예를 들어, 하나 이상의 불포화)을 포함할 수 있다. 특정 인지질은 막에 대한 용합을 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 용합은 지질 함유 조성물의 하나 이상의 요소가 막을 통과하여, 예를 들어, 하나 이상의 요소가 세포에 전달될 수 있게 한다.

[0082] 용어 "지질 나노입자"는 나노미터 단위(예를 들어, 1nm 내지 1,000nm)로 적어도 하나의 치수를 가지며, 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물을 포함하는 입자를 지칭한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체 이성질체를 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 조성물에 포함된다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체 이성질체, 및 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체 이성질체, 및 핵산을 포함한다. 이러한 지질 나노입자는 통상적으로 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 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.

[0083] 일부 구현예에서, 지질 나노입자의 평균 직경은 약 30nm 내지 약 150nm, 약 40nm 내지 약 150nm, 약 50nm 내지 약 150nm, 약 60nm 내지 약 130nm, 약 70nm 내지 약 110nm, 약 70nm 내지 약 100nm, 약 80nm 내지 약 100nm, 약 90nm 내지 약 100nm, 약 70 내지 약 90nm, 약 80nm 내지 약 90nm, 약 70nm 내지 약 80nm, 또는 약 30nm, 35nm, 40nm, 45nm, 50nm, 55nm, 60nm, 65nm, 70nm, 75nm, 80nm, 85nm, 90nm, 95nm, 100nm, 105nm, 110nm, 115nm, 120nm, 125nm, 130nm, 135nm, 140nm, 145nm, 또는 150nm이고, 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 있다: 예를 들어, 미국 특허 공개 제2004/0142025호, 제2007/0042031호, 및 PCT 공개 WO 제2013/016058호 및 WO 제2013/086373호, 제 8,569,256호, 제5,965,542호 및 미국 특허 공개 제2016/0199485호, 제2016/0009637호, 제2015/0273068호, 제 2015/0265708호, 제2015/0203446호, 제2015/0005363호, 제2014/0308304호, 제2014/0200257호, 제2013/086373호, 제2013/0338210호, 제2013/0323269호, 제2013/0245107호, 제2013/0195920호, 제2013/0123338

호, 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 제99/39741호, WO 제2017/117528호, WO 제2017/004143호, WO 제2017/075531호, WO 제2015/199952호, WO 제2014/008334호, WO 제2013/086373호, WO 제2013/086322호, WO 제2013/016058호, WO 제2013/086373호, WO 제2011/141705호, 및 WO 제2001/07548호로서, 동 문헌의 전체 개시는 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

- [0084] 용어 "다분산성 지수" 또는 "PDI"는 시스템, 예를 들어, 지질 나노입자 조성물의 입자 크기 분포의 균질성을 설명하는 비율을 지칭한다. 작은 값, 예를 들어, 0.3 미만은 좁은 입자 크기 분포를 나타낸다.
- [0085] 본원에서 사용되는 바와 같이, 지질에 의해 "캡슐화된"은 핵산(예를 들어, mRNA)과 같은 치료제가 지질 나노입자에 의해 완전히 또는 부분적으로 캡슐화되는 것을 지칭한다. 일부 구현예에서, 핵산(예를 들어, mRNA)과 같은 치료제는 지질 나노입자에 완전히 캡슐화된다.
- [0086] 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.
- [0087] 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 당업계에서 공지된 임의의 수단에 의해 이루어질 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자의 전신 전달은 정맥내 전달에 의한 것이다.
- [0088] 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. 국소 전달은 근육내, 피하, 또는 피내 주사와 같은 국소 적용 또는 국소 주사 기술을 포함할 수도 있다. 국소 전달은 전신 약리학적 효과를 배제하지 않는다.
- [0089] "알킬"은 탄소 및 수소 원자로만 이루어진 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭하며, 알킬은 포화 또는 불포화되고(즉, 하나 이상의 이중 결합(알케닐) 및/또는 삼중 결합(알키닐)을 함유함), 예를 들어, 1개 내지 24개의 탄소 원자(C_1-C_{24} 알킬), 4개 내지 20개의 탄소 원자(C_4-C_{20} 알킬), 6개 내지 16개의 탄소 원자(C_6-C_{16} 알킬), 6개 내지 9개의 탄소 원자(C_6-C_9 알킬), 1개 내지 15개의 탄소 원자(C_1-C_{15} 알킬), 1개 내지 12개의 탄소 원자(C_1-C_{12} 알킬), 1개 내지 8개의 탄소 원자(C_1-C_8 알킬), 또는 1개 내지 6개의 탄소 원자(C_1-C_6 알킬)를 갖고, 단일 결합에 의해 분자, 예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 1-메틸에틸(이소프로필), n-부틸, n-펜틸, 1,1-디메틸에틸(t-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실, 에테닐, prop-1-에닐, but-1-에닐, pent-1-에닐, penta-1,4-디에닐, 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐 등의 나머지에 부착된다. 본 명세서에서 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 알킬기는 임의 치환된다.
- [0090] "알킬렌" 또는 "알킬렌 사슬"은 탄소 및 수소로만 이루어진, 라디칼기에 분자의 나머지 부분을 연결하는 직쇄 또는 분지형 2가 탄화수소 사슬을 지칭하며, 알킬렌 또는 알킬렌 사슬은 포화 또는 불포화되고(즉, 하나 이상의 이중 결합(알케닐렌) 및/또는 삼중 결합(알키닐렌)을 함유함), 예를 들어, 1개 내지 24개의 탄소 원자(C_1-C_{24} 알킬렌), 1개 내지 15개의 탄소 원자(C_1-C_{15} 알킬렌), 1개 내지 12개의 탄소 원자(C_1-C_{12} 알킬렌), 1개 내지 8개의 탄소 원자(C_1-C_8 알킬렌), 1개 내지 6개의 탄소 원자(C_1-C_6 알킬렌), 2개 내지 4개의 탄소 원자(C_2-C_4 알킬렌), 1개 내지 2개의 탄소 원자(C_1-C_2 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.
- [0091] 본원에서 사용되는 용어 "치환된"은 적어도 하나의 수소 원자가 다음과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 비수소 원자에 대한 결합으로 치환된 전술한 기(예를 들어, 알킬, 알킬렌, 시클로알킬, 또는 시클로알킬렌) 중 어느

하나를 의미하며: F, Cl, Br, 또는 I와 같은 할로젠 원자; 옥소기(=O); 히드록실기(-OH); C₁-C₁₂ 알킬기; 시클로알킬기; -(C=O)OR; -O(C=O)R; -C(=O)R; -OR; -S(O)_xR; -S-SR; -C(=O)SR; -SC(=O)R; -NRR'; -R'C(=O)R; -C(=O)RR'; -RC(=O)R'R"; -OC(=O)RR'; -RC(=O)OR'; -R'S(O)_xR"; -R'S(O)_xR; 및 -S(O)_xRR'로서, 여기서 R, R', 및 R"은 각각의 경우에 독립적으로 H, C₁-C₁₅ 알킬 또는 시클로알킬이고, x는 0, 1, 또는 2이다. 일부 구현예에서, 치환기는 C₁-C₁₂ 알킬기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 시클로알킬기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 플루오로와 같은 할로겐이다. 일부 구현예에서, 치환기는 옥소기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 히드록실기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 알콕시기(-OR)이다. 일부 구현예에서, 치환기는 카르복실기이다. 일부 구현예에서, 치환기는 아민기(-NRR')이다.

[0092] "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 포함한다는 것을 의미한다. 예를 들어, "임의 치환된 알킬"은 알킬 라디칼이 치환될 수 있거나 치환되지 않을 수 있고, 설명이 치환된 알킬 라디칼 및 치환되지 않은 알킬 라디칼 둘 다를 포함한다는 것을 의미한다.

[0093] 본 개시는 또한 본원에 개시된 식 중 이온화 가능 지질 화합물의 모든 약학적으로 허용 가능한 화합물을 포함하는 것을 의미하며, 이는 상이한 원자 질량 또는 질량 수를 갖는 원자에 의해 치환된 하나 이상의 원자를 가짐으로써 동위원소 표지된다. 개시된 화합물에 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 불소, 염소, 및 요오드의 동위원소, 예컨대 ²H, ³H, ¹²C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁶N, ¹⁷O, ¹⁸O, ¹⁹O, ³¹P, ³²P, ³³P, ³⁵S, ³⁶S, ¹⁸F, ¹⁹F, ³⁵Cl, ³⁷Cl, 및 ¹²⁵I를 각각 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 지질 화합물, 예를 들어, 방사성 동위원소를 포함하는 화합물은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 방사성 동위원소 삼중 수소, 즉 ³H, 및 탄소-14, 즉 ¹⁴C는 이들의 혼입 용이성 및 즉시 검출 가능한 수단의 관점에서 이러한 목적에 유용할 수 있다.

[0094] 중수소, 즉 ²H와 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.

[0095] ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O, 및 ¹³N과 같은 양전자 방출 동위원소로 치환하는 것은 기질 수용체 점유도를 검사하기 위한 PET(Positron Emission Topography) 연구에 유용할 수 있다. 구조 (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 공정에 의해 제조될 수 있다.

[0096] 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 구현예는 본 개시의 이온화 가능 지질을 이의 대사 산물을 수득하기에 충분한 기간 동안 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는 공정에 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 기간 동안 허용하고, 소변, 혈액 또는 다른 생물학적 샘플로부터 이의 전환 산물을 분리함으로써 식별된다.

[0097] "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, 향미증강제, 계면활성제, 습윤제, 분산제, 현탁제, 안정화제, 등장제, 용매, 또는 유화제를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0098] "약학적으로 허용 가능한 염"은 산 및 염기 부가염 둘 다를 포함한다.

[0099] "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, 카프르산, 카프로산, 카프릴산, 탄산, 계피산, 구연산, 시클라민산, 도데실황산, 에탄-1,2-디술폰

산, 에탄술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 겐티신산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루쿠론산, 글루타민산, 글루타르산, 2-옥소-글루타르산, 글리세로인산, 글리콜산, 히푸르산, 이소부티르산, 젓산, 락토비온산, 라우르산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄술폰산, 뮤신산, 나프탈렌-1,5-디술폰산, 나프탈렌-2-술폰산, 1-히드록시-2-나프토산, 니코틴산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 파모산, 프로피온산, 피로글루탐산, 피루브산, 살리실산, 4-아미노살리실산, 세바스산, 스테아르산, 숙신산, 타르타르산, 티오시안산, 톨루엔술폰산, 트리플루오로아세트산, 운데실렌산 등.

[0100] "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, 히드라바민, 콜린, 베타인, 베네타민, 벤자틴, 에틸렌디아민, 글루코사민, 메틸글루카민, 테오브로민, 트리에탄올아민, 트로메타민, 퓨린, 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.

[0101] 본원에 개시된 이온화 가능 지질(들)의 결정화는 이온화 가능 지질(들)의 용매화물을 생산할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "용매화물"은 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물의 하나 이상의 분자를 포함하는 응집체를 지칭하며, 하나 이상의 용매 분자를 갖는다. 용매는 물일 수 있으며, 이 경우 용매화물은 수화물일 수 있다. 대안적으로, 용매는 유기 용매일 수 있다. 따라서, 본 개시의 지질 화합물은 일수화물, 이수화물, 반수화물, 세스퀴수화물, 삼수화물, 사수화물 등뿐만 아니라 상응하는 용매화된 형태를 포함하는 수화물로서 존재할 수 있다. 본 개시의 지질 화합물의 용매화물은 진정한 용매화물일 수 있는 반면, 다른 경우에, 본 개시의 지질 화합물은 단지 외래성 물을 보유하거나 물과 일부 외래성 용매의 혼합물일 수 있다.

[0102] "약학적 조성물"은 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물 및 포유동물, 예를 들어, 인간에게 생물학적 활성 화합물을 전달하기 위해 당업계에서 일반적으로 허용되는 배지를 포함할 수 있는 조성물을 지칭한다. 이러한 배지는 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함한다.

[0103] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 인간과 같은 포유동물에게 투여될 때, 인간과 같은 포유동물에서 치료를 달성하기에 충분한 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물의 양을 지칭한다. "치료적 유효량"을 구성하는 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물의 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.

[0104] 본원에서 사용되는 "치료하다" 또는 "치료"는 관심 질환 또는 병태를 갖는 인간과 같은 포유동물에서 관심 질환 또는 병태를 치료하는 것을 포함하며, 치료는 다음을 포함한다:

[0105] (i) 특히, 이러한 포유동물이 병태에 취약하나 아직 이를 갖는 것으로 진단되지 않은 경우, 질환 또는 병태가 포유동물에서 발생하는 것을 예방함;

[0106] (ii) 질환 또는 병태를 억제, 즉 이의 발생을 억제함;

[0107] (iii) 질환 또는 병태를 완화, 즉 질환 또는 병태의 퇴행을 유발함; 또는

[0108] (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 임상상에 의해 식별되는 점에서 상이할 수 있다.

[0109] 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 하나 이상의 입체 중심을 함유할 수 있으므로, 절대 입체화학의 관점에서 아미노산에 대해 (R)- 또는 (S)-, 또는 (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 포함하는 것을 의미한다. 광

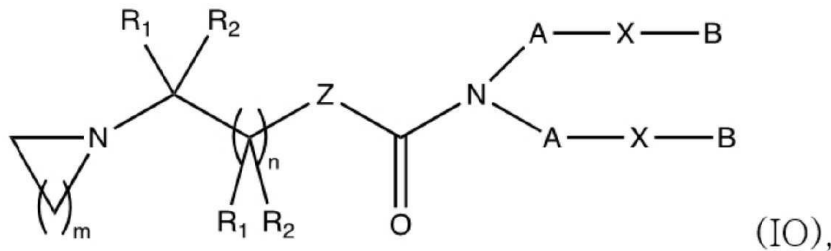
학적으로 활성인 (+) 및 (-), (R)- 및 (S)-, 또는 (D)- 및 (L)-이성질체는 키랄 신포논 또는 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 크로마토그래피 및 분획 결정화와 같은 종래의 기술을 사용하여 분해될 수 있다. 개별 거울상 이성질체의 제조/단리를 위한 종래의 기술은 적절한 광학적으로 순수한 전구체로부터의 키랄 합성 또는, 예를 들어, HPLC(chiral high pressure liquid chromatography, 키랄 고압 액체 크로마토그래피)를 사용하는 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분해를 포함한다. 본원에 기술된 이온화 가능 지질 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.

[0110] "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.

[0111] 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.

[0112] 이온화 가능 지질 화합물

[0113] 일부 구현예에서, 식 (IO)의 이온화 가능 지질:



[0114] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0115] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이거나,

[0116] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0117] 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0118] R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0119] m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0120] n은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0121] Z는 부재하거나, O, S, 또는 NR_{12} 이고, 식 중 R_{12} 는 H 또는 C_1 - C_7 분지형 또는 비분지형 알킬이고, 단, Z가 부재하지 않는 경우, 인접한 R_1 및 R_2 는 OH, $NR_{10}R_{11}$, 또는 SH일 수 없고;

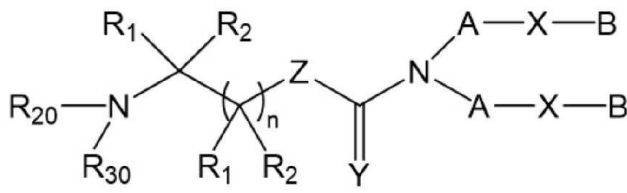
[0122] 각각의 A는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C_1 - C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_1 - C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0123] 각각의 B는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C_1 - C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2 - C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0124] 각각의 X는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0125] 일부 구현예에서, 식 (IO)에서, X는 $-OCO-$, $-COO-$, $-NHCO-$, $-CONH-$, $-C(O-R_{13})-O-$, $-COO(CH_2)_s-$, $-CONH(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 로서, 식 중 R_{13} 은 C_3 - C_{10} 알킬이고, s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, X는 $-OCO-$ 또는 $-COO-$ 이다.

[0126] 일부 구현예에서, 식 (I)의 이온화 가능 지질:



(I),

[0127] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0128] R_{20} 및 R_{30} 은 각각 독립적으로 H, C_1-C_5 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_5 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0129] 인접한 N 원자와 함께 R_{20} 및 R_{30} 은 R^a 로 임의 치환된 3원 내지 7원 환형 고리를 형성하고;

[0130] R^a 는 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로겐, OH, 또는 SH이고;

[0131] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로겐, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이거나,

[0132] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0133] 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0134] R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0135] n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0136] Y는 O 또는 S이고;

[0137] Z는 부재하거나, O, S, 또는 $N(R_{12})(R_{12})$ 이고, 식 중 각각의 R_{12} 는 독립적으로 H, C_1-C_7 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_7 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, Z가 부재하지 않는 경우, 인접한 R_1 및 R_2 는 OH, $NR_{10}R_{11}$, 또는 SH일 수 없고;

[0138] 각각의 A는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

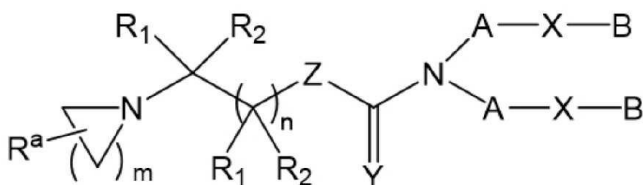
[0139] 각각의 B는 각각 독립적으로 C_1-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_{16} 분지형 또는 비분지형 알케닐이며, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나, OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환되고;

[0140] 각각의 X는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0141] 일부 구현예에서, R_{20} 및 R_{30} 은 각각 독립적으로 H 또는 C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0142] 일부 구현예에서, 인접한 N 원자와 함께 R_{20} 및 R_{30} 은 R^a 로 임의 치환된 3원 내지 7원 환형 고리를 형성한다. 일부 구현예에서, R^a 는 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 OH이다.

[0143] 일부 구현예에서, 식 (IA)의 이온화 가능 지질:

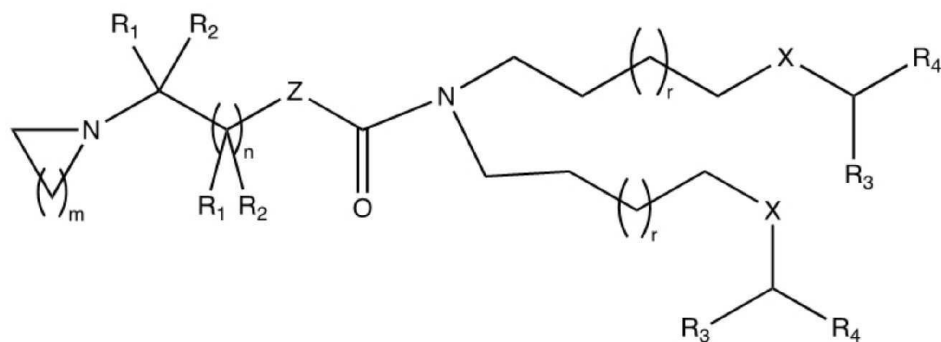


(IA),

[0144] 이의 약학적으로 허용 가

능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

- [0145] R^a 는 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로젠, OH, 또는 SH이고;
- [0146] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이거나,
- [0147] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;
- [0148] 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,
- [0149] R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;
- [0150] m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;
- [0151] n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;
- [0152] Y 는 O 또는 S이고;
- [0153] Z 는 부재하거나, O, S, 또는 $N(R_{12})(R_{12})$ 이고, 식 중 각각의 R_{12} 는 독립적으로 H, C₁-C₇ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₂-C₇ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, Z 가 부재하지 않는 경우, 인접한 R_1 및 R_2 는 OH, $NR_{10}R_{11}$, 또는 SH일 수 없고;
- [0154] 각각의 A 는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₂-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;
- [0155] 각각의 B 는 각각 독립적으로 C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₂-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이며, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나, OH, SH, 또는 할로젠으로 임의 치환되고;
- [0156] 각각의 X 는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.
- [0157] 일부 구현예에서, 식 (II0)의 이온화 가능 지질:



- [0158] (II0), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

- [0159] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고, 식 중 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나, R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하거나,
- [0160] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;
- [0161] m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;
- [0162] n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;
- [0163] 각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;
- [0164] 각각의 R_3 및 각각의 R_4 는 독립적으로 H, C₃-C₁₀ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₃-C₁₀ 분지형 또는 비분지형

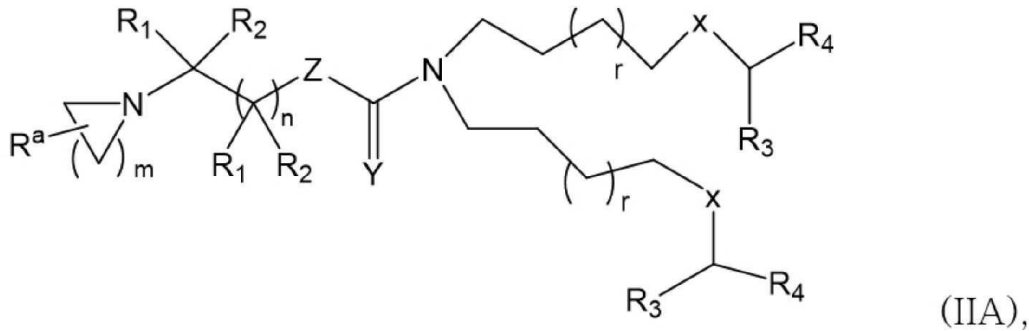
알케닐이고, 단, R_3 및 R_4 중 적어도 하나는 H가 아니고;

[0165] Z 는 부재하거나, O, S, 또는 NR_{12} 이고; 식 중 R_{12} 는 C_1 - C_7 알킬이고;

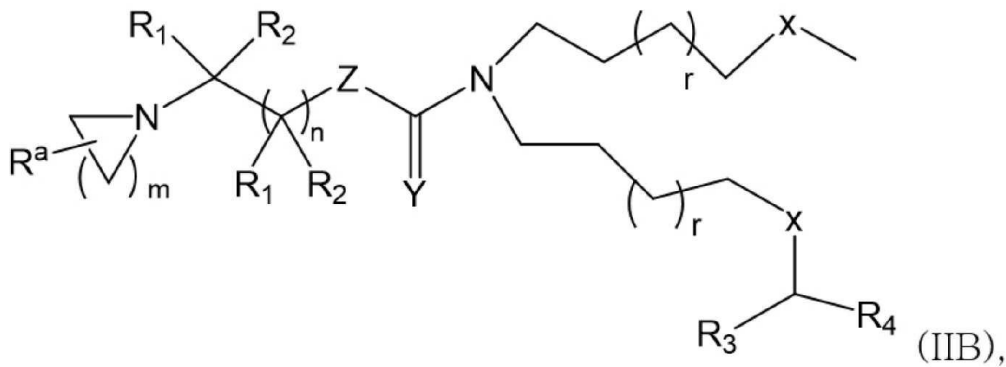
[0166] X 는 생분해성 모이어티이다.

[0167] 일부 구현예에서, 식 (II0)에서, X 는 $-OCO-$, $-COO-$, $-NHCO-$, $-CONH-$, $-C(O-R_{13})-O-$, $-COO(CH_2)_s-$, $-CONH(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 로서, 식 중 R_{13} 은 C_3 - C_{10} 알킬이고, s 는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다. 일부 구현예에서, X 는 $-OCO-$ 또는 $-COO-$ 이다.

[0168] 일부 구현예에서, 식 (IIA) 또는 식 (IIB)의 이온화 가능 지질:



[0169]



[0170]

[0171] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0172] R^a 는 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로젠, OH, 또는 SH이고;

[0173] 각각의 R_1 및 각각의 R_2 는 독립적으로 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고, 식 중 각각의 R_{10} 및 R_{11} 은 독립적으로 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나, R_{10} 및 R_{11} 은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하거나,

[0174] R_1 및 R_2 는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0175] m 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0176] n 은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0177] 각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

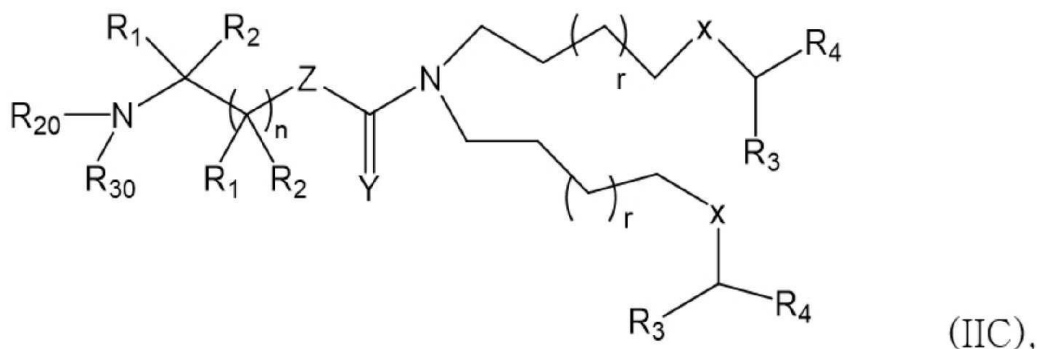
[0178] 각각의 R_3 및 각각의 R_4 는 독립적으로 H, C_3 - C_{10} 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_3 - C_{10} 분지형 또는 비분지형 알케닐(임의적으로, R_3 및 R_4 중 적어도 하나는 H가 아님)이고;

[0179] Y 는 O 또는 S이고;

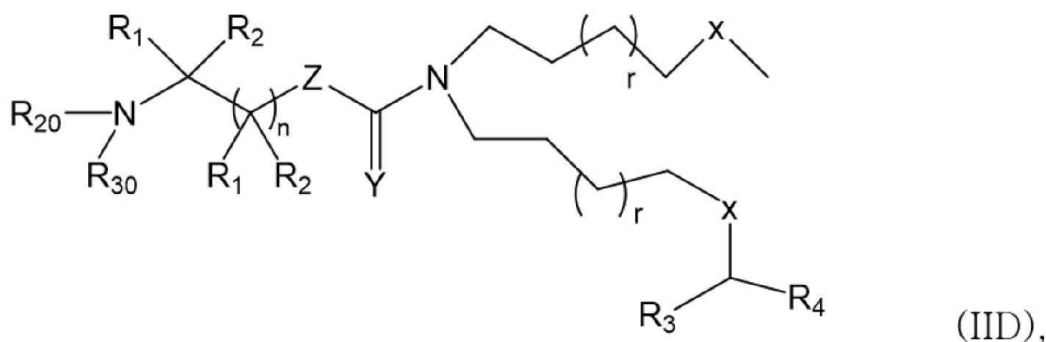
[0180] Z 는 부재하거나, O, S, 또는 $(NR_{12})(R_{12})$ 이고, 식 중 R_{12} 는 독립적으로 H 또는 C_1 - C_7 알킬이고;

[0181] 각각의 **X**는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0182] 일부 구현예에서, 식 (IIC) 또는 식 (IID)의 이온화 가능 지질:



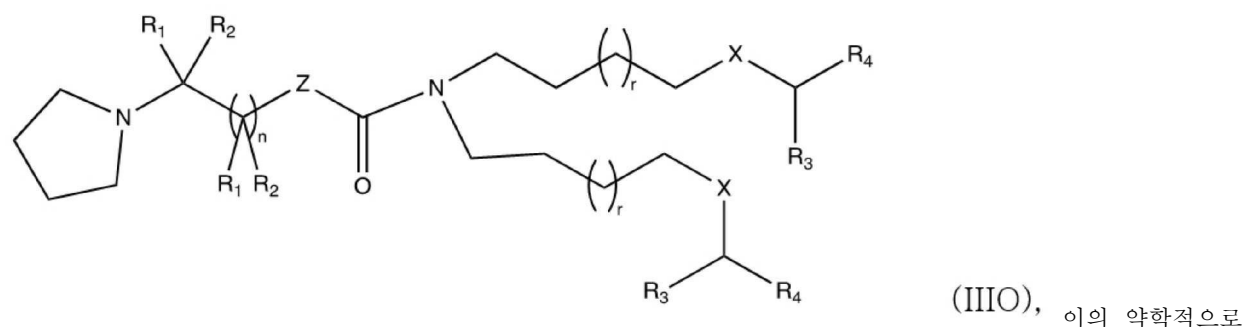
[0183]



[0184]

[0185] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시된다. **R**₂₀ 및 **R**₃₀은 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬이다. 이 식의 다른 변수의 정의는 식 (IIA)의 변수의 정의와 동일하다.

[0186] 일부 구현예에서, 식 (IIIO)의 이온화 가능 지질:



[0187]

이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0188] 각각의 **R**₁ 및 각각의 **R**₂는 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 **NR**₁₀**R**₁₁이고, 식 중 각각의 **R**₁₀ 및 **R**₁₁은 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나, **R**₁₀ 및 **R**₁₁은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하거나,

[0189] **R**₁ 및 **R**₂는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0190] **n**은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0191] 각각의 **r**은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

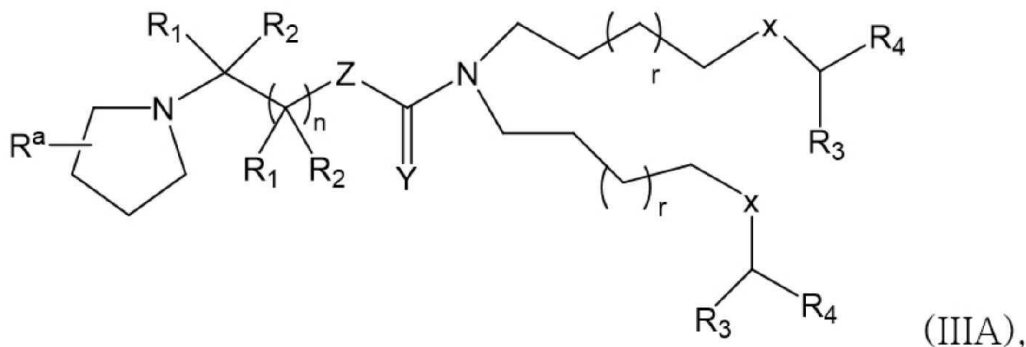
[0192] 각각의 **R**₃ 및 각각의 **R**₄는 독립적으로 H, C₃-C₁₀ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₃-C₁₀ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, **R**₃ 및 **R**₄ 중 적어도 하나는 H가 아니고;

[0193] Z는 부재하거나, O, S, 또는 NR₁₂이고; 식 중 R₁₂는 C₁-C₇ 알킬이고;

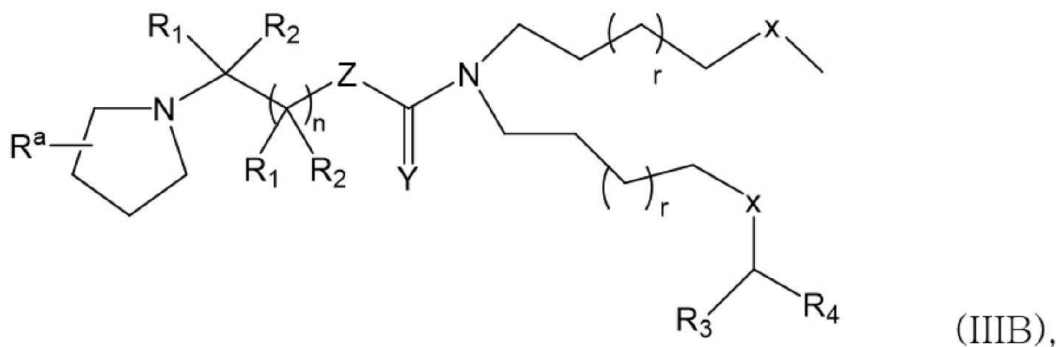
[0194] X는 생분해성 모이어티이다.

[0195] 일부 구현예에서, 식 (III)에서, X는 -OCO-, -COO-, -NHCO-, -CONH-, -C(O-R₁₃)-O-(아세탈), -COO(CH₂)_s-, -CONH(CH₂)_s-, -C(O-R₁₃)-O-(CH₂)_s-이고; 식 중 R₁₃은 C₃-C₁₀ 알킬이다.

[0196] 일부 구현예에서, 식 (IIIA) 또는 식 (IIIB)의 이온화 가능 지질:



[0197]



[0198]

[0199] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0200] R^a는 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로젠, OH, 또는 SH이고;

[0201] 각각의 R₁ 및 각각의 R₂는 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로젠, SH, 또는 NR₁₀R₁₁이고, 식 중 각각의 R₁₀ 및 R₁₁은 독립적으로 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나, R₁₀ 및 R₁₁은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하거나,

[0202] R₁ 및 R₂는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0203] n은 0, 1, 2, 3 또는 4이고;

[0204] 각각의 r은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0205] 각각의 R₃ 및 각각의 R₄는 독립적으로 H, C₃-C₁₀ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₃-C₁₀ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, R₃ 및 R₄ 중 적어도 하나는 H가 아니고;

[0206] Z는 부재하거나, O, S, 또는 N(R₁₂)(R₁₂)이고, 식 중 R₁₂는 독립적으로 H 또는 C₁-C₇ 알킬이고;

[0207] 각각의 X는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0208] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 -OC(O)-, -C(O)O-, -N(R⁷)C(O)-, -C(O)N(R⁷)-, -C(O-R₁₃)-O-, -C(O)O(CH₂)_s-, -OC(O)(CH₂)_s-, -C(O)N(R⁷)(CH₂)_s-, -N(R⁷)C(O)(CH₂)_s-, -C(O-R₁₃)-O-(CH₂)_s-이고, 식 중 각각의 R⁷은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고, 각각의 R₁₃은 독립적으로

C₃-C₁₀ 알킬이고, 각각의 s는 독립적으로 0 내지 16이다.

[0209] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)O(CH₂)_s-, 또는 -OC(O)(CH₂)_s-이다. 일부 구현예에서, s는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0210] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 -C(O)N(R⁷)-, -N(R⁷)C(O)-, -C(O)N(R⁷)(CH₂)_s-, 또는 -N(R⁷)C(O)(CH₂)_s-이고, 식 중 R⁷은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 또는 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, s는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0211] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 -C(O-R₁₃)-O-(아세탈) 또는 -C(O-R₁₃)-O-(CH₂)_s-이고, 식 중 R₁₃은 C₃-C₁₀ 알킬이다.

[0212] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 R^a는 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 OH이다.

[0213] 일부 구현예에서, R^a는 H, 메틸, 에틸, 프로필, 또는 OH이다.

[0214] 일 구현예에서, R^a는 H 또는 OH이다.

[0215] 일부 구현예에서, Z는 부재하거나, S, O, 또는 NH이다. 일 구현예에서, Z는 부재한다. 일 구현예에서 Z는 NH이다. 일 구현예에서, Z는 S이다. 일 구현예에서, Z는 O이다.

[0216] 일부 구현예에서, m은 1, 2, 3, 또는 4이다.

[0217] 일부 구현예에서, n은 0, 1, 또는 2이다.

[0218] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 r 변수는 동일하다.

[0219] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 r 변수는 상이하다.

[0220] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 X 변수는 동일하다.

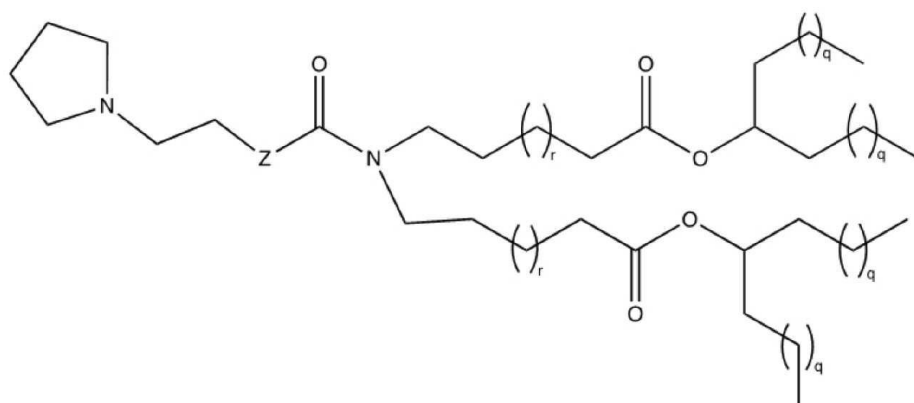
[0221] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 X 변수는 상이하다.

[0222] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R₃ 변수는 동일하다. 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R₄ 변수는 동일하다.

[0223] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R₃ 변수는 상이하다. 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R₄ 변수는 상이하다.

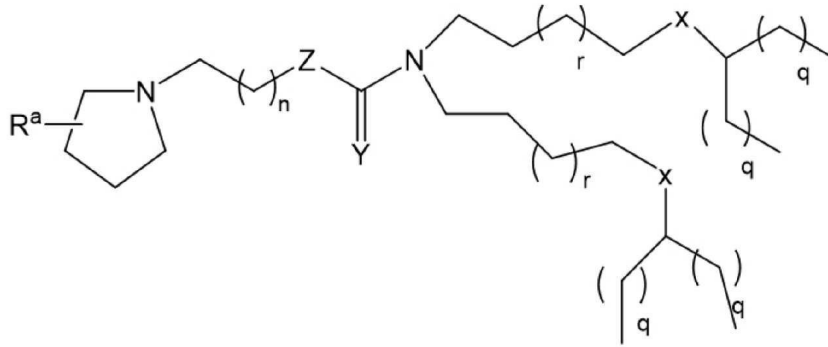
[0224] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 R₁ 및 R₂는 각각 H이다. 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 각각의 R₁은 H이고, R₂ 변수 중 하나는 OH이다.

[0225] 일부 구현예에서, 식 (IVO)의 이온화 가능 지질:

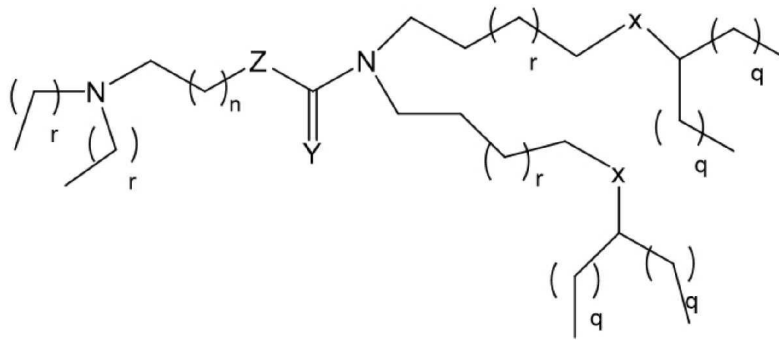


[0226] (IVO),

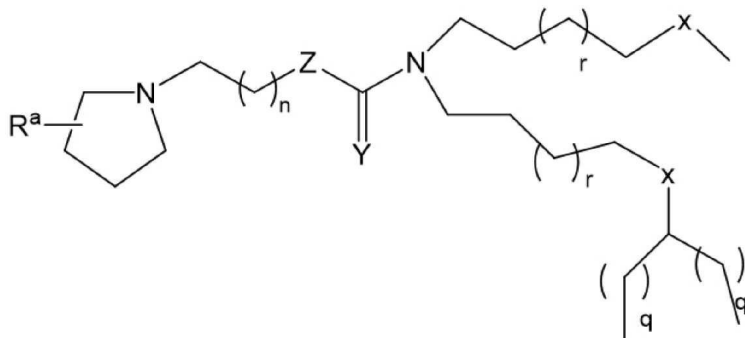
- [0227] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:
- [0228] 각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;
- [0229] 각각의 q 는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 or 8, 9, 또는 10이고;
- [0230] Z 는 부재하거나, 0, S, 또는 NR_{12} 이고, 식 중 R_{12} 는 H 또는 C_1 - C_7 분지형 또는 비분지형 알킬이다.
- [0231] 일부 구현예에서, 다음 식 중 하나의 이온화 가능 지질:



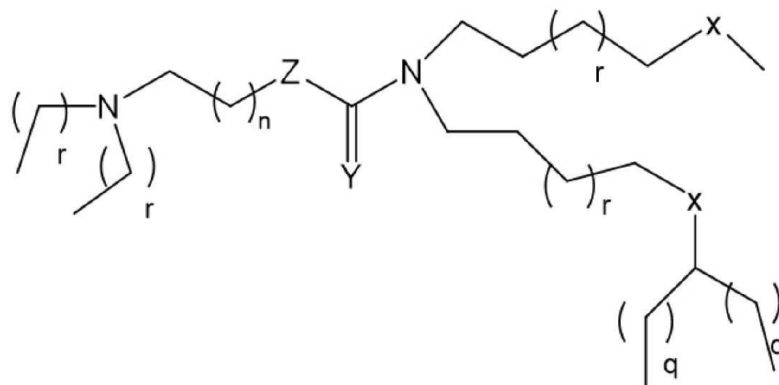
(IVA),



(IVB),



(IVC),



(IVD),

[0236] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며, 식 중:

[0237] R^a 는 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 OH이고;

[0238] 각각의 n 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0239] 각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

[0240] 각각의 q 는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;

[0241] X는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-C(O)N(R^7)-$, $-C(O-R_{13})O-$, $-C(O)O(CH_2)_s-$, $-OC(O)(CH_2)_s-$, $-C(O)N(R^7)(CH_2)_s-$, $-N(R^7)C(O)(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 각각의 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고, 각각의 R_{13} 은 독립적으로 C_3-C_{10} 알킬이고, 각각의 s 는 독립적으로 0 내지 16이고;

[0242] Z는 부재하거나, O, S, 또는 NR_{12} 이고, 식 중 R_{12} 는 H 또는 C_1-C_7 분지형 또는 비분지형 알킬이다.

[0243] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 R^a 는 H, 메틸, 에틸, 프로필, 또는 OH이다.

[0244] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 Z는 부재한다.

[0245] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 Z는 S이다.

[0246] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 Z는 O이다.

[0247] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 Z는 NH이다.

[0248] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r 은 2이다.

[0249] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r 은 3이다.

[0250] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r 은 4이다.

[0251] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 q 는 3이다.

[0252] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 q 는 4이다.

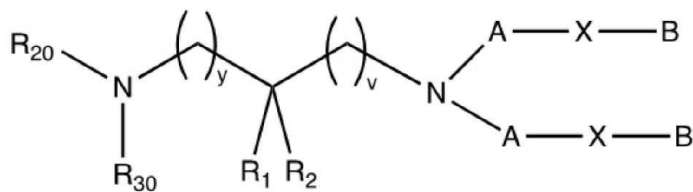
[0253] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 Z는 부재하고, r 은 4이고, q 는 4이다.

[0254] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)O(CH_2)_s-$, 또는 $-OC(O)(CH_2)_s-$ 이다. 일부 구현예에서, s 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0255] 일부 구현예에서, X는 $-C(O)N(R^7)-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-C(O)N(R^7)(CH_2)_s-$, 또는 $-N(R^7)C(O)(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 또는 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, s 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

[0256] 일부 구현예에서, X는 $-C(O-R_{13})O-(\text{아세탈})$ 또는 $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R_{13} 은 C_3-C_{10} 알킬이다.

[0257] 일부 구현예에서, 본 개시는 다음에 관한 것이다: 식 (VO)의 이온화 가능 지질:



[0258] (VO), 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서, 식 중:

[0259] R_1 은 H, C_1-C_3 알킬, OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고, R_2 는 OH, 할로젠, SH, 또는 $NR_{10}R_{11}$ 이고, 식 중 R_{10} 및 R_{11}

은 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₃ 알킬이거나, R₁₀ 및 R₁₁은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하거나,

[0260] R₁ 및 R₂는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0261] R₂₀ 및 R₃₀은 각각 독립적으로 H, C₁-C₅ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₁-C₅ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0262] R₂₀ 및 R₃₀은 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0263] v는 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0264] y는 1, 2, 3, 또는 4이고;

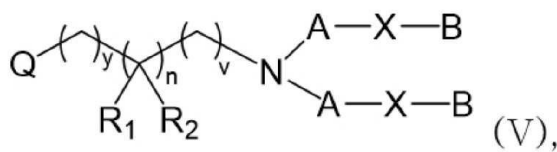
[0265] 각각의 A는 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0266] 각각의 B는 각각 독립적으로, 헤테로원자로 임의 치환되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0267] X는 생분해성 모이어티이다.

[0268] 일부 구현예에서, 식 (VO)에서 X는 -OCO-, -COO-, -NHCO-, -CONH-, -C(O-R₁₃)-O-, -COO(CH₂)_s-, -CONH(CH₂)_s-, -C(O-R₁₃)-O-(CH₂)_s-로서, 식 중 R₁₃은 C₃-C₁₀ 알킬이고, s는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0269] 일부 구현예에서, 식 (V)의 이온화 가능 지질:



[0270] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체가 개시되며,

[0271] 식 중:

[0272] R₁은 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로겐, SH, 또는 NR₁₀R₁₁이고,

[0273] R₂는 H, OH, 할로겐, SH, 또는 NR₁₀R₁₁이거나,

[0274] R₁ 및 R₂는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0275] R₁₀ 및 R₁₁은 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₃ 알킬이거나, R₁₀ 및 R₁₁은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0276] Q는 OH 또는 -(OCH₂CH₂)_uNR₂₀R₃₀이고,

[0277] R₂₀ 및 R₃₀은 각각 독립적으로 H, C₁-C₅ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₂-C₅ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0278] 인접한 N 원자와 함께 R₂₀ 및 R₃₀은 R^a로 임의 치환된 3원 내지 7원 환형 고리를 형성하고;

[0279] R^a는 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로겐, OH, 또는 SH이고;

[0280] u는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

[0281] v는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

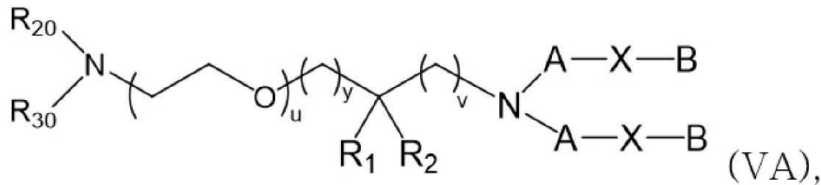
[0282] y는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0283] 각각의 **A**는 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

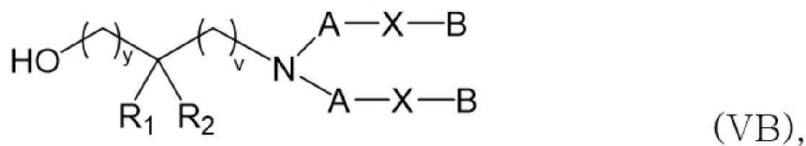
[0284] 각각의 **B**는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₂-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0285] 각각의 **X**는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0286] 일부 구현예에서, 본 개시는 다음에 관한 것이다: 다음 식 중 하나의 이온화 가능 지질:



[0287]



[0288]

[0289] 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서, 식 중:

[0290] **R**₁은 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, OH, 할로겐, SH, 또는 **NR**₁₀**R**₁₁이고,

[0291] **R**₂는 H, OH, 할로겐, SH, 또는 **NR**₁₀**R**₁₁이거나,

[0292] **R**₁ 및 **R**₂는 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

[0293] **R**₁₀ 및 **R**₁₁은 각각 독립적으로 H 또는 C₁-C₃ 알킬이거나, **R**₁₀ 및 **R**₁₁은 합쳐져 헤테로환형 고리를 형성하고;

[0294] **R**₂₀ 및 **R**₃₀은 각각 독립적으로 H, C₁-C₅ 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C₂-C₅ 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

[0295] 인접한 N 원자와 함께 **R**₂₀ 및 **R**₃₀은 **R**^a로 임의 치환된 3원 내지 7원 환형 고리를 형성하고;

[0296] **R**^a는 H, C₁-C₃ 분지형 또는 비분지형 알킬, C₂-C₃ 분지형 또는 비분지형 알케닐, 할로겐, OH, 또는 SH이고;

[0297] **u**는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이고;

[0298] **v**는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

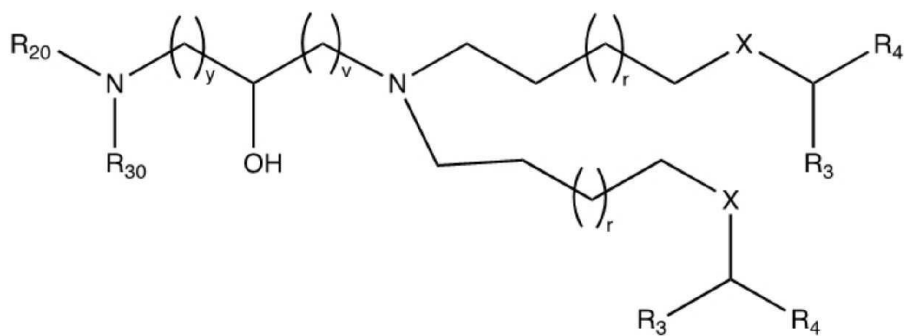
[0299] **y**는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

[0300] 각각의 **A**는 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0301] 각각의 **B**는 각각 독립적으로, 하나 이상의 헤테로원자로 임의 중단되거나 OH, SH, 또는 할로겐으로 임의 치환된, C₁-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 C₂-C₁₆ 분지형 또는 비분지형 알케닐이고;

[0302] 각각의 **X**는 독립적으로 생분해성 모이어티이다.

[0303] 일부 구현예에서, 본 개시는 다음에 관한 것이다: 식 (VIO)의 이온화 가능 지질:



(VIO),

이의 약학적으로

허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서, 식 중:

R_{20} 및 R_{30} 은 독립적으로 H, C_1-C_5 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_5 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

R_{20} 및 R_{30} 은 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

v 는 1, 2, 3, 또는 4이고;

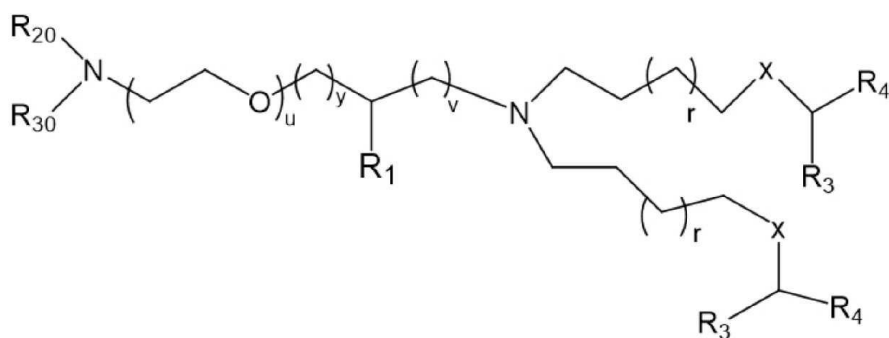
y 는 1, 2, 3, 또는 4이고;

각각의 R_3 및 각각의 R_4 는 독립적으로 H, C_1-C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, R_3 및 R_4 중 적어도 하나는 H가 아니고;

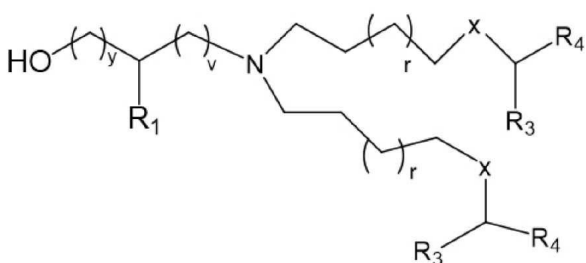
각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

X 는 $-OCO-$, $-COO-$, $-NHCO-$, $-CONH-$, $-C(O-R_{13})-O-$, $-COO(CH_2)_s-$, $-CONH(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 로서, 식 중 R_{13} 은 C_3-C_{10} 알킬이고, s 는 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

일부 구현예에서, 본 개시는 다음에 관한 것이다: 다음 식 중 하나의 이온화 가능 지질:



(VIA),



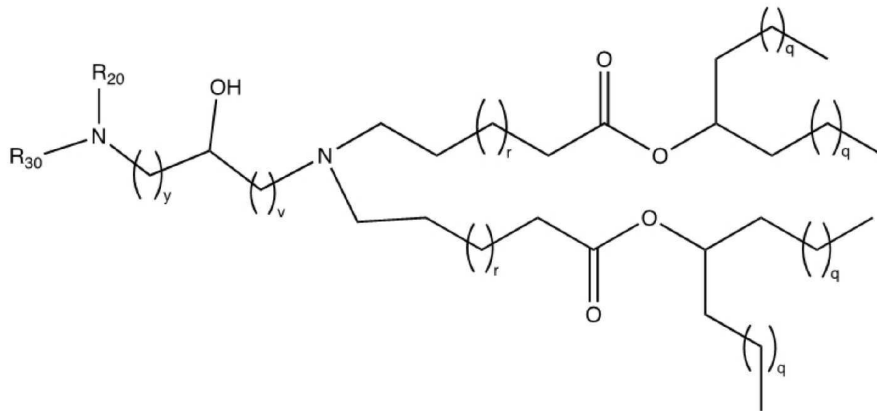
(VIB),

이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서, 식 중:

R_{20} 및 R_{30} 은 독립적으로 H, C_1-C_5 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_5 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

인접한 N 원자와 함께 R_{20} 및 R_{30} 은 3원 내지 7원 환형 고리를 형성하고;

- [0318] R_1 은 독립적으로 H 또는 OH이고;
- [0319] u 는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;
- [0320] v 는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;
- [0321] y 는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;
- [0322] 각각의 R_3 및 각각의 R_4 는 독립적으로 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2 - C_3 분지형 또는 비분지형 알케닐이고, 단, R_3 및 R_4 중 적어도 하나는 H가 아니고;
- [0323] 각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;
- [0324] X 는 $-OCO-$, $-COO-$, $-NR^7CO-$, $-CONR^7-$, $-C(O-R_{13})-O-$, $-COO(CH_2)_s-$, $-OCO(CH_2)_s-$, $-CONR^7(CH_2)_s-$, $-NR^7CO(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 로서, 식 중 각각의 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고, 각각의 R_{13} 은 독립적으로 C_3 - C_{10} 알킬이고, s 는 독립적으로 0 내지 16이다.
- [0325] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X 는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)O(CH_2)_s-$, 또는 $-OC(O)(CH_2)_s-$ 이다. 일부 구현예에서, s 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.
- [0326] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X 는 $-C(O)N(R^7)-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-C(O)N(R^7)(CH_2)_s-$, 또는 $-N(R^7)C(O)(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 또는 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, s 는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.
- [0327] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X 는 $-C(O-R_{13})-O-(\text{아세탈})$ 또는 $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R_{13} 은 C_3 - C_{10} 알킬이다.
- [0328] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 R^a 는 H, C_1 - C_3 분지형 또는 비분지형 알킬 또는 OH이다. 일부 구현예에서, R^a 는 H, 메틸, 에틸, 프로필, 또는 OH이다.
- [0329] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 r 변수는 동일하다.
- [0330] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 r 변수는 상이하다.
- [0331] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 X 변수는 동일하다.
- [0332] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 X 변수는 상이하다.
- [0333] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R_3 변수는 동일하다. 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R_4 변수는 동일하다.
- [0334] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R_3 변수는 상이하다. 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서, 동일한 식의 2개의 R_4 변수는 상이하다.
- [0335] 일부 구현예에서, 본 개시는 다음에 관한 것이다: 식 (VII0)의 이온화 가능 지질:



(VIIIO), 이의 약학적으로

허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서, 식 중:

R_{20} 및 R_{30} 은 독립적으로 H, C_1-C_5 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_5 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

R_{20} 및 R_{30} 은 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

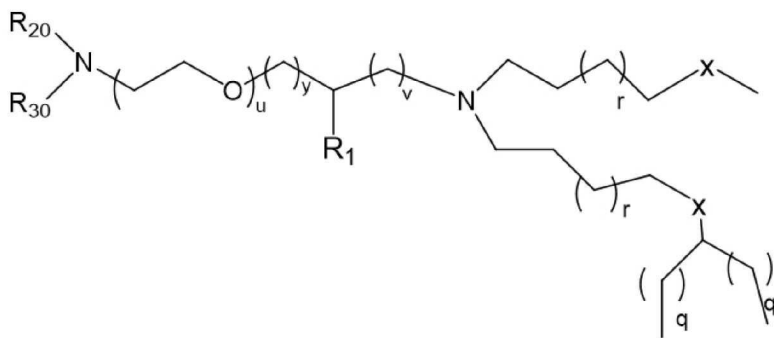
v 는 1, 2, 3, 또는 4이고;

y 는 1, 2, 3, 또는 4이고;

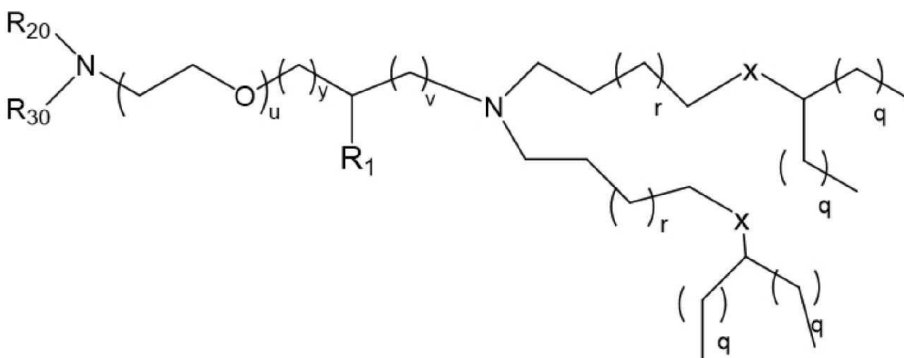
각각의 r 은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

각각의 q 는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

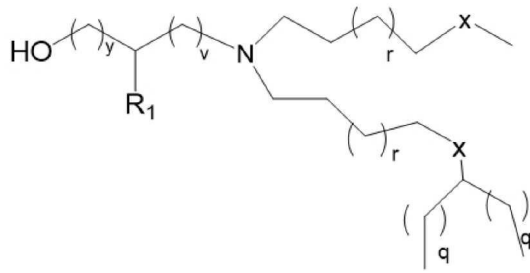
일부 구현예에서, 본 개시는 다음에 관한 것이다: 다음 식 중 하나의 이온화 가능 지질:



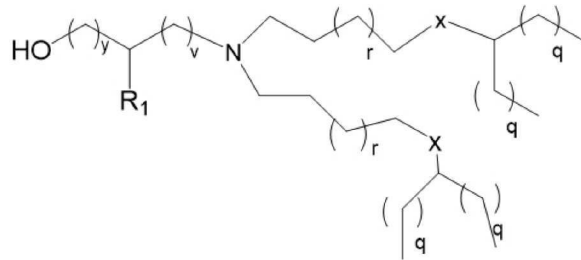
(VIIIA),



(VIIB),



(VIIC),



(VIID), 이의 약학적으로

허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로서, 식 중:

R_{20} 및 R_{30} 은 독립적으로 H, C_1-C_5 분지형 또는 비분지형 알킬, 또는 C_2-C_5 분지형 또는 비분지형 알케닐이거나,

R_{20} 및 R_{30} 은 합쳐져 환형 고리를 형성하고;

X는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-C(O)N(R^7)-$, $-C(O-R_{13})O-$, $-C(O)O(CH_2)_s-$, $-OC(O)(CH_2)_s-$, $-C(O)N(R^7)(CH_2)_s-$, $-N(R^7)C(O)(CH_2)_s-$, $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_s-$ 로서, 식 중 각각의 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 시클로알킬, 하이드록시알킬, 또는 아미노알킬이고, 각각의 R_{13} 은 독립적으로 C_3-C_{10} 알킬이고, 각각의 s는 독립적으로 0 내지 16이고;

u는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

v는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

y는 0, 1, 2, 3, 또는 4이고;

각각의 r은 독립적으로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8이고;

각각의 q는 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)O(CH_2)_s-$, 또는 $-OC(O)(CH_2)_s-$ 이다. 일부 구현예에서, s는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 $-C(O)N(R^7)-$, $-N(R^7)C(O)-$, $-C(O)N(R^7)(CH_2)_s-$, 또는 $-N(R^7)C(O)(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R^7 은 독립적으로 H, 알킬, 알케닐, 또는 시클로알킬이다. 일부 구현예에서, s는 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이다.

일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 X는 $-C(O-R_{13})O-$ (아세탈) 또는 $-C(O-R_{13})O-(CH_2)_s-$ 이고, 식 중 R_{13} 은 C_3-C_{10} 알킬이다.

일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r은 2이다.

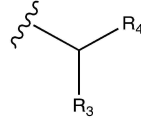
일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r은 3이다.

일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r은 4이다.

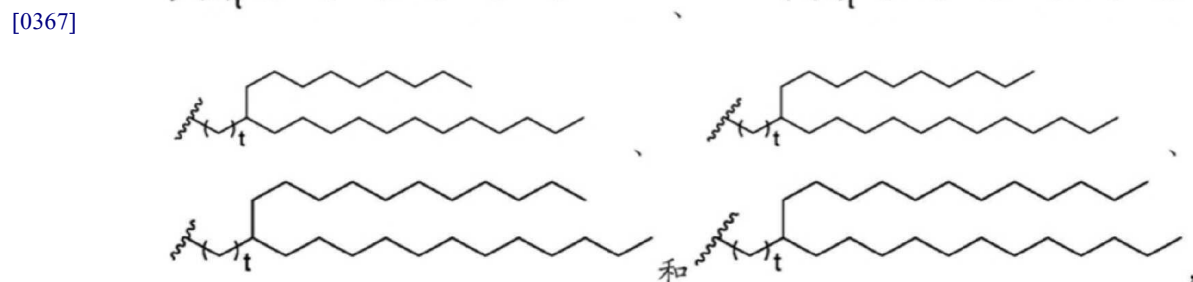
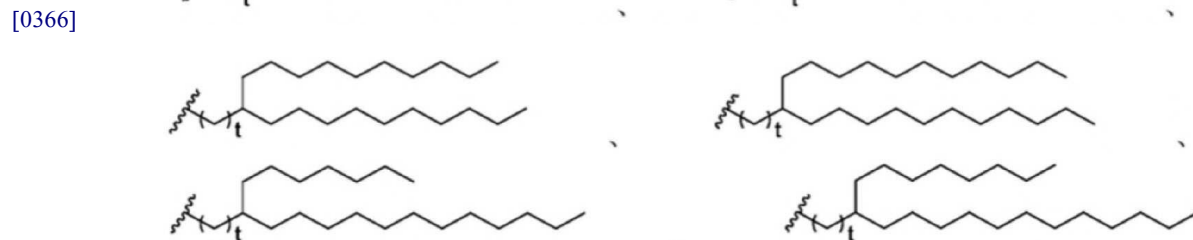
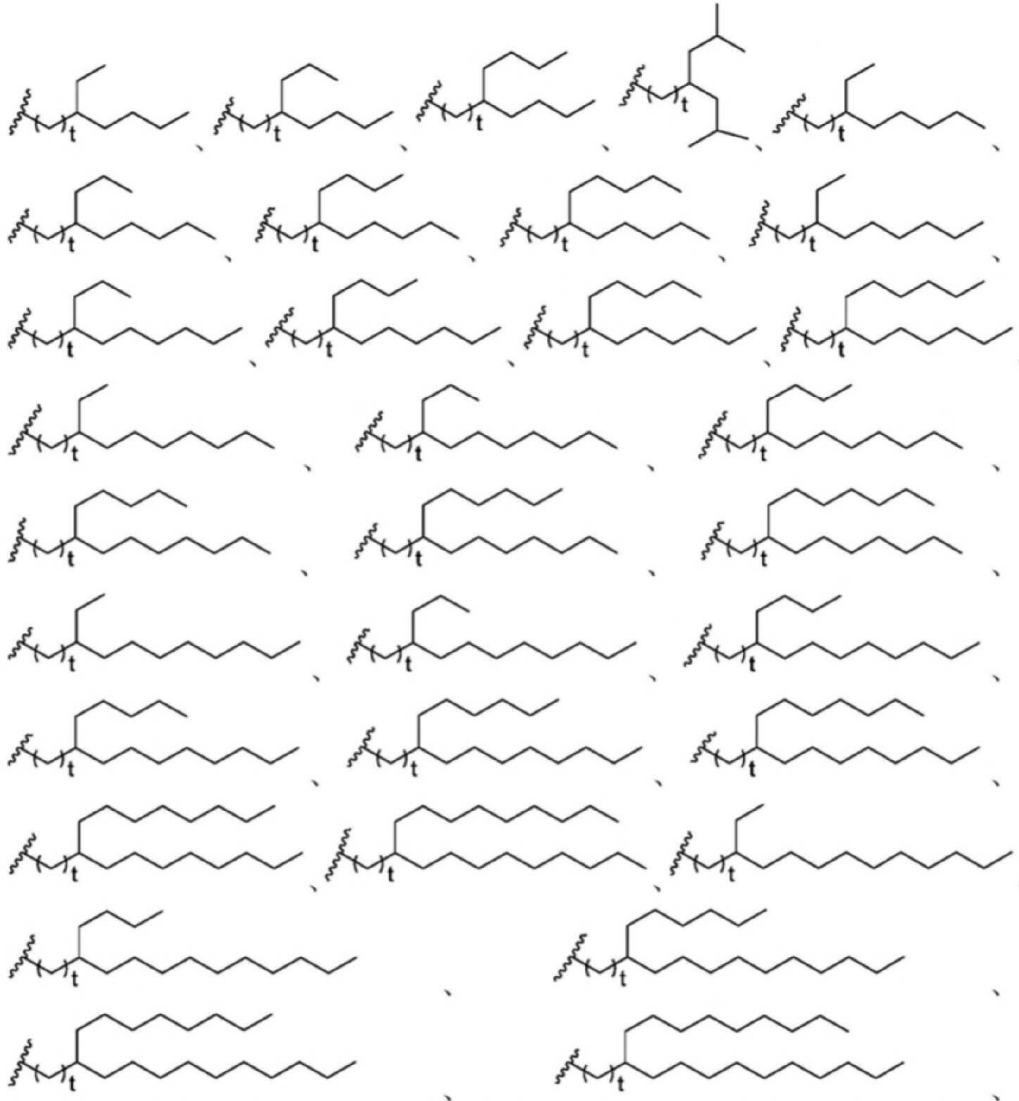
일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 q는 3이다.

[0363] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 q 는 4이다.

[0364] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 r 은 4이고, q 는 4이다.



[0365] 일부 구현예에서, 상기 식 각각에서 B 또는 는 다음으로부터 선택된다:



[0368]

[0369] 여기서 t는 0, 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

[0370] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 이온화 가능 지질 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.1 내지 약 8.0, 예를 들어 약 5.7 내지 약 6.5, 약 5.7 내지 약 6.4, 또는 약 5.8 내지 약 6.2이다. 일부 구현예에서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 5.5 내지 약 6.0이다. 일부 구현예에서, 화합물의 양성자화된 형태의 pKa는 약 6.1 내지 약 6.3이다.

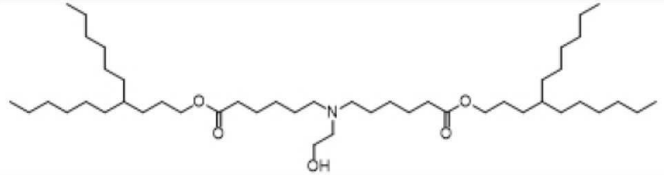
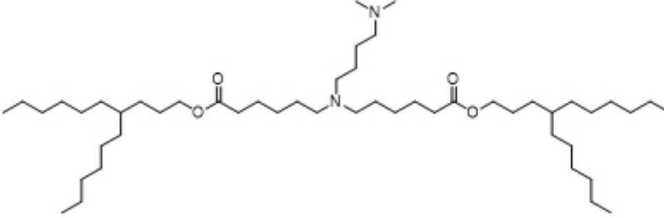
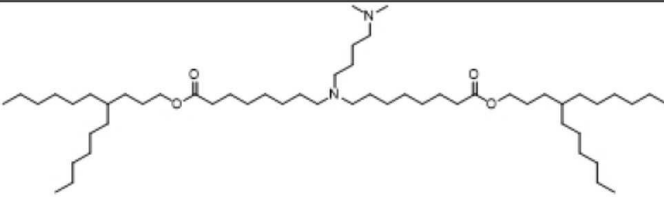
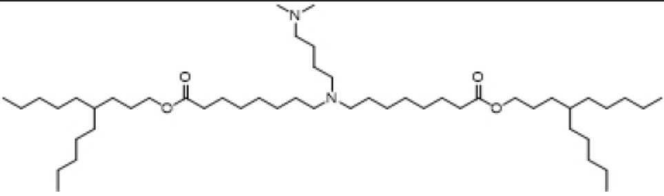
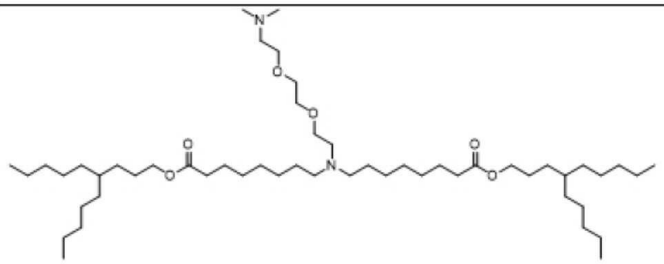
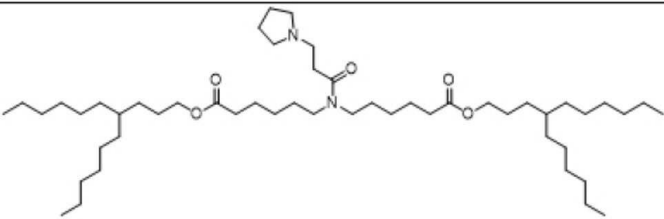
[0371] 본원에 개시된 이온화 가능 지질 화합물의 비제한적인 예가 아래에 제시되어 있다.

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
7677 (2140)		비스(4- 헥실데실) 6,6'- ((4- (디메틸아미노)- 3- 하이드록시부틸) 아자네디일)디헥 사노에이트
7676 (2139)		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((4- (디메틸아미노)- 3- 하이드록시부틸) 아자네디일)디옥 타노에이트

[0372]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
7675 (2138)		비스(4-펜틸노닐) 8,8'-((4-(디메틸아미노)-3-하이드록시부틸)아자네디일)디옥타노에이트
7671 (2142)		비스(4-헥실데실) 8,8'-((3-(피롤리딘-1-일)프로파노일)아자네디일)디옥타노에이트
7670 (2146)		4-헥실데실 11-(6-((4-헥실데실)옥시)-6-옥소헥실)-2-메틸-5,8-디옥사-2,11-디아자헵타데칸-17-오에이트
7669 (2145)		4-헥실데실 11-(8-((4-헥실데실)옥시)-8-옥소옥틸)-2-메틸-5,8-디옥사-2,11-디아자노나데칸-19-오에이트
7668 (2133)		비스(4-헥실데실) 8,8'-((4-(디메틸아미노)부타노일)아자네디일)디옥타노에이트

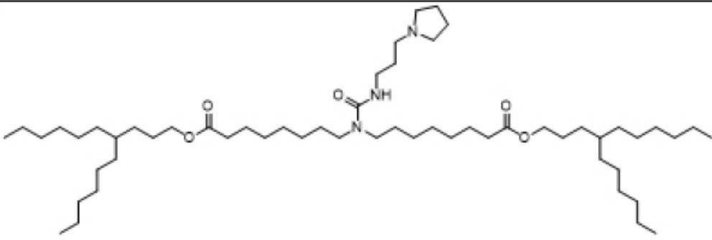
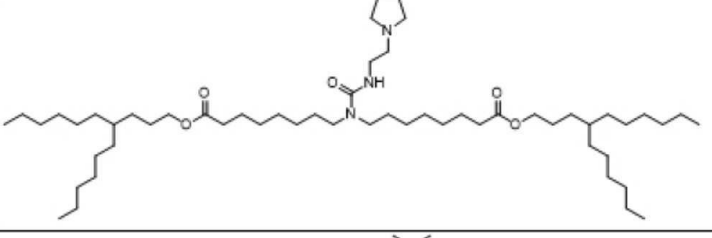
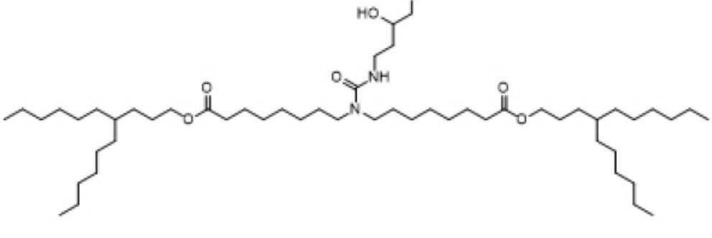
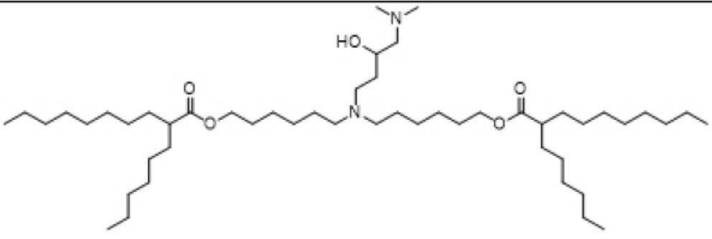
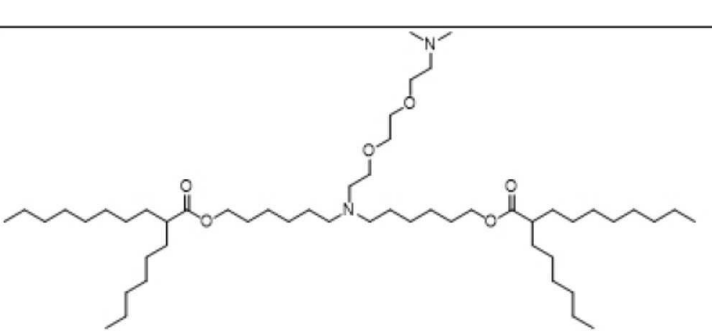
[0373]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
7667 (2137)		비스(4- 헥실데실) 6,6'- ((2- 하이드록시에틸) 아자네디일)디헥 사노에이트
7651 (2131)		비스(4- 헥실데실) 6,6'- ((4- (디메틸아미노)부 틸)아자네디일)디 헥사노에이트
7650 (2130)		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((4- (디메틸아미노)부 틸)아자네디일)디 옥타노에이트
7649 (2129)		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((4- (디메틸아미노)부 틸)아자네디일)디 옥타노에이트
7633 (2144)		4-펜틸노닐 2- 메틸-11-(8- 옥소-8-((4- 펜틸노닐)옥시)옥 틸)-5,8-디옥사- 2,11- 디아자노 나데칸- 19-오에이트
7632 (2143)		비스(4- 헥실데실) 6,6'- ((3-(피롤리딘- 1- 일)프로파노일)아 자네디일)디헥사 노에이트

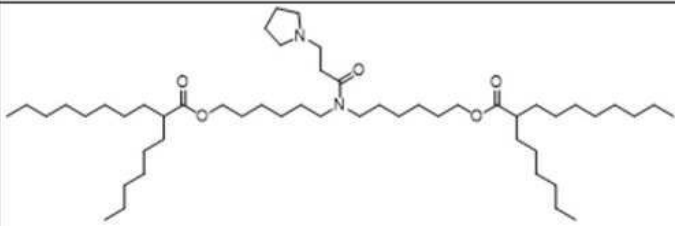
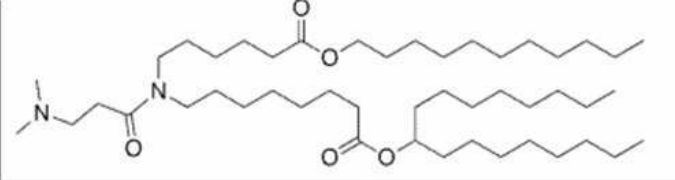
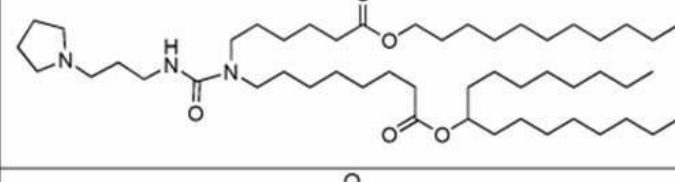
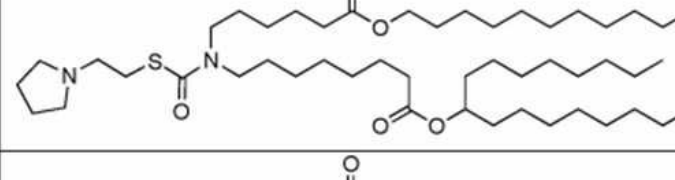
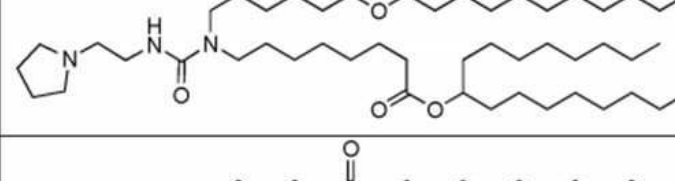
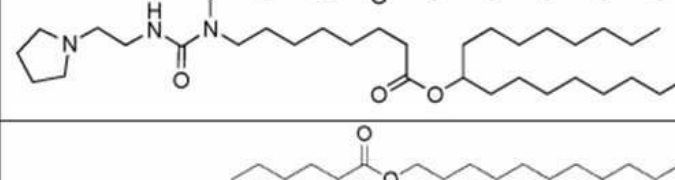
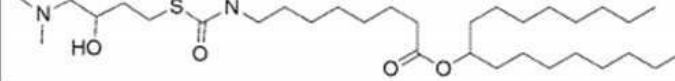
[0374]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
7631 (2134)		비스(4- 헥실데실) 6,6'- ((4- (디메틸아미노)부 타노일)아자네디 일)디헥사노에이 트
7608 (2135)		비스(4- 펜틸노닐) 8,8'- ((2- 하이드록시에틸) 아자네디일)디옥 타노에이트
7607 (2136)		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((2- 하이드록시에틸) 아자네디일)디옥 타노에이트
7596 (2141)		비스(4- 펜틸노닐) 8,8'- ((3-(피롤리딘- 1- 일)프로파노일)아 자네디일)디옥타 노에이트
7593 (2132)		비스(4- 펜틸노닐) 8,8'- ((4- (디메틸아미노)부 타노일)아자네디 일)디옥타노에이 트
2229		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((3- (디메틸아미노)프 로파노일)아자네 디일)디옥타노에 이트

[0375]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
2228		비스(4- 헥실데실) 8,8'- (((3-(피롤리딘- 1- 일)프로필)카바모 일)아자네디일)디 옥타노에이트
2227		비스(4- 헥실데실) 8,8'- (((2-(피롤리딘- 1- 일)에틸)카바모 일)아자네디일)디옥 타노에이트
2226		비스(4- 헥실데실) 8,8'- (((4- (디메틸아미노)- 3- 하이드록시부틸) 카바모일)아자네 디일)디옥타노에 이트
2225		((4- (디메틸아미노)- 3- 하이드록시부틸) 아자네디일)비스(헥산-6,1- 디일)비스(2- 헥실데카노에이 트)
2216		11-(6-((2- 헥실데카노일)옥 시)헥실)-2- 메틸-5,8- 디옥사-2,11- 디아자헵타데칸- 17-일 2- 헥실데카노에이 트

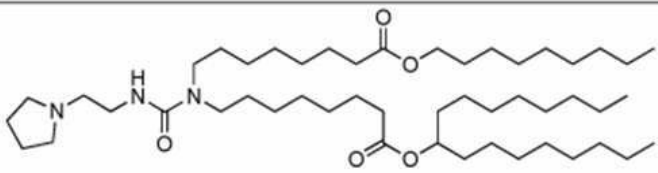
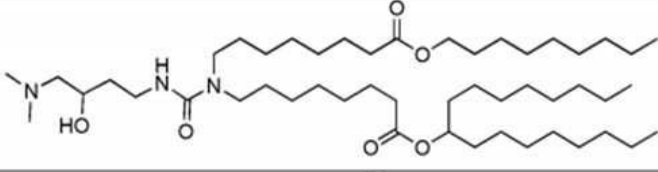
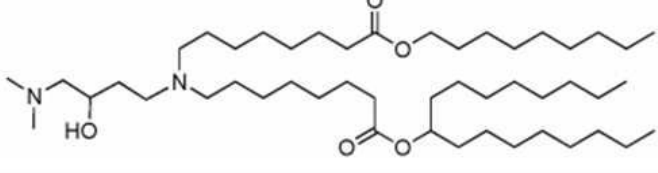
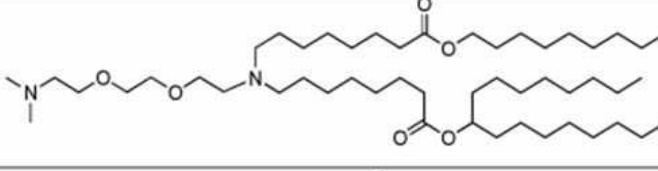
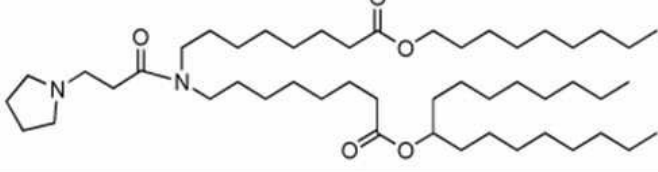
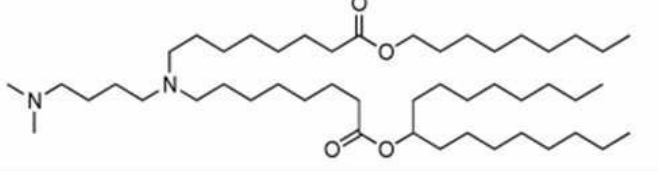
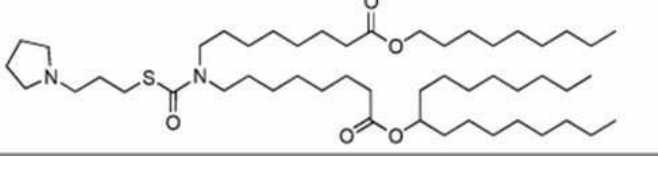
[0376]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
2215		((3-(피롤리딘-1-일)프로파노일)아자네디일)비스(헥산-6,1-다일)비스(2-헥실데카노에이트)
		
		
		
		
		
		

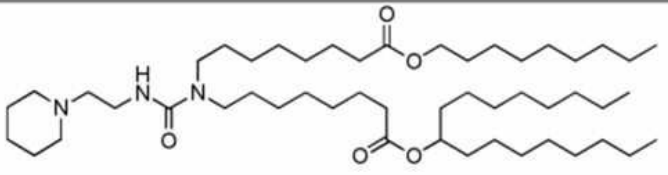
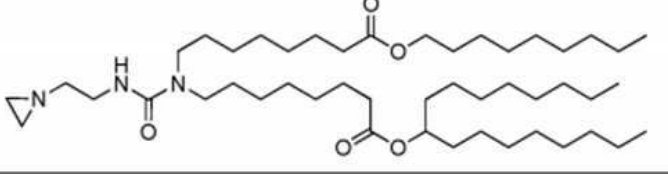
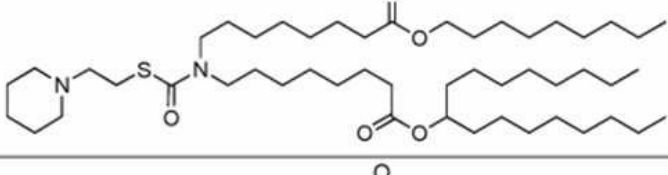
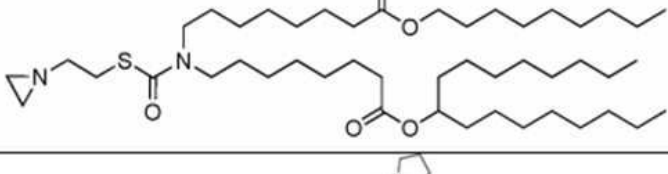
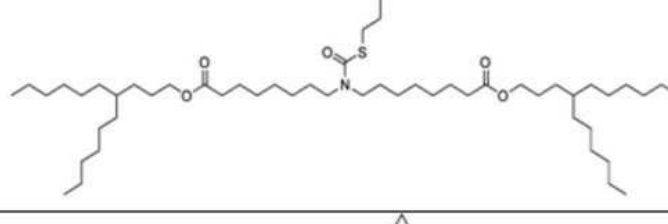
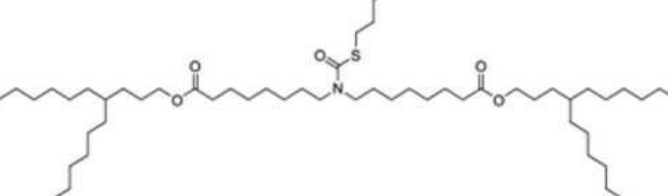
[0377]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭

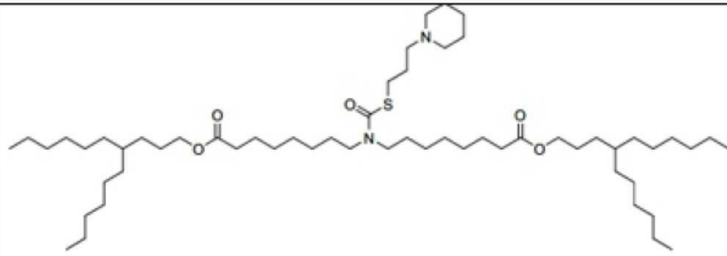
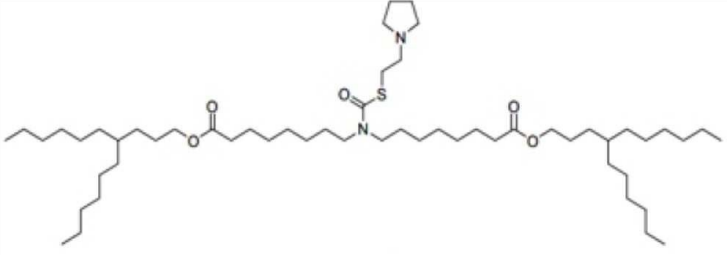
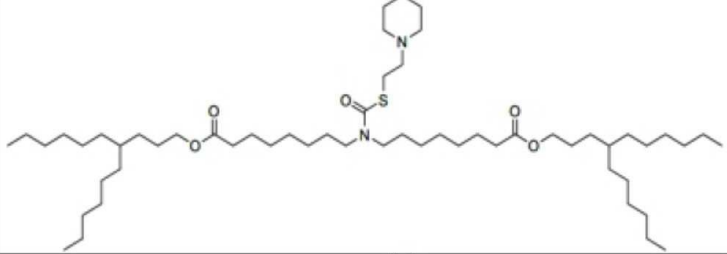
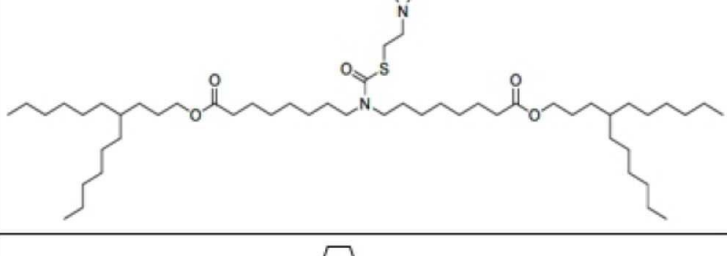
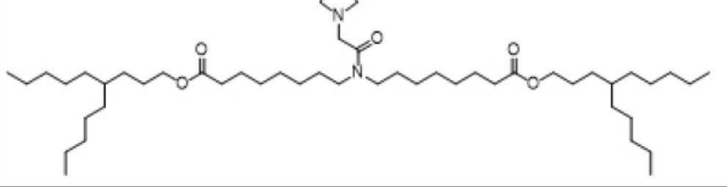
[0378]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		
		
		
		
		
		
		

[0379]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		
		
		
		
		
		

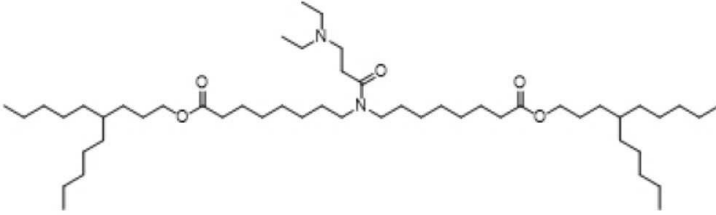
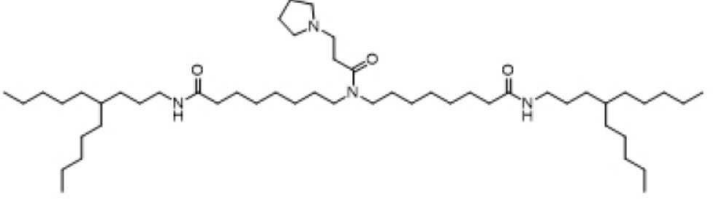
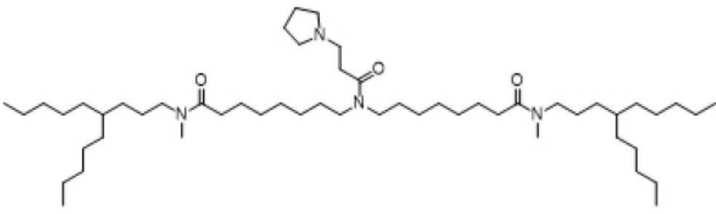
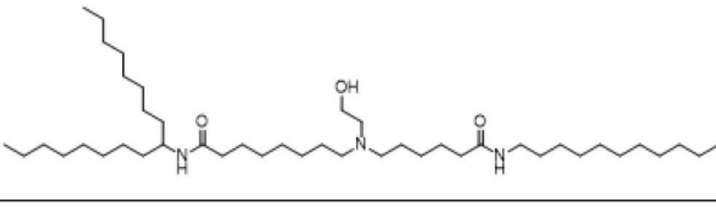
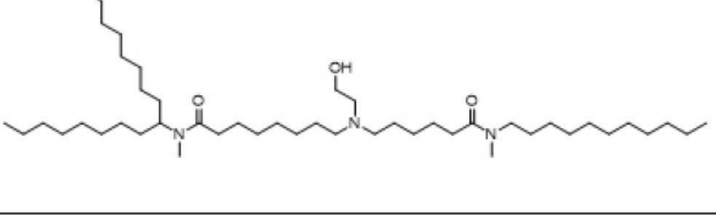
[0380]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		
		
		
		
2233		비스(4- 펜틸노닐) 8,8'- ((2-(피롤리딘- 1- 일)아세틸)아자네 디일)디옥타노에 이트

[0381]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
2234		비스(4-펜틸노닐) 8,8'-((4-(피롤리딘-1-일)부타노일)아자네디일)디옥타노에이트
2235		비스(4-펜틸노닐) 8,8'-((3-(3-하이드록시피롤리딘-1-일)프로파노일)아자네디일)디옥타노에이트
2236		비스(4-펜틸노닐) 8,8'-((3-(피롤리딘-1-일)프로판티오일)아자네디일)디옥타노에이트
2237		((3-(피롤리딘-1-일)프로파노일)아자네디일)비스(헵탄-7,1-디일)비스(5-펜틸데카노에이트)
2238		((3-(피롤리딘-1-일)프로파노일)아자네디일)비스(옥탄-8,1-디일)비스(4-펜틸노나노에이트)

[0382]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
2239		비스(4-펜틸노닐) 8,8'-((3-(디에틸아미노)프로파노일)아자네디일)디옥타노에이트
2241		8-(N-(8-옥소-8-((4-펜틸노닐)아미노)옥틸)-3-(피롤리딘-1-일)프로판아미도)-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드
2242		N-메틸-8-(N-(8-(메틸(4-펜틸노닐)아미노)-8-옥소옥틸)-3-(피롤리딘-1-일)프로판아미도)-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드
2244		N-(헵타데칸-9-일)-8-((2-하이드록시에틸)(6-옥소-6-(운데실아미노)헥실)아미노)옥탄아미드
2245		N-(헵타데칸-9-일)-8-((2-하이드록시에틸)(6-(메틸(운데실)아미노)-6-옥소헥실)아미노)-N-메틸옥탄아미드

[0383]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
2249		헵타데칸-9-일 8-((1- 하이드록시프로 판-2-일)(6- 옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
2250		헵타데칸-9-일 8-((1- 하이드록시-2- 메틸프로판-2- 일)(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
2276		헵타데칸-9-일 8-((2- 아미노에틸)(6- 옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
2277		헵타데칸-9-일 8-((2- 아미노에틸)(8- (노닐옥시)-8- 옥소옥틸)아미노) 옥타노에이트
2300		헵타데칸-9-일 8-((3- 아미노프로필)(6 -옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
2301		7-((2- 아미노에틸)(8- (헵타데칸-9- 일옥시)-8- 옥소옥틸)아미노) 헵틸 데카노에이트

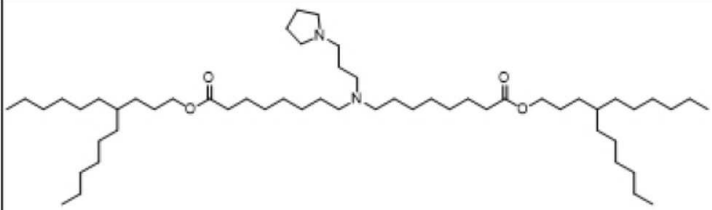
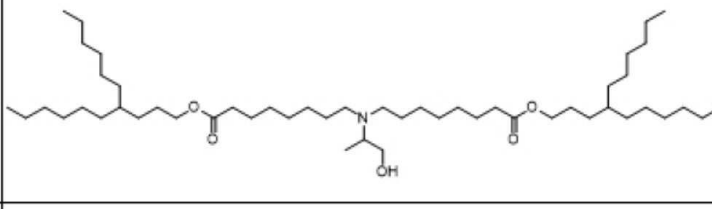
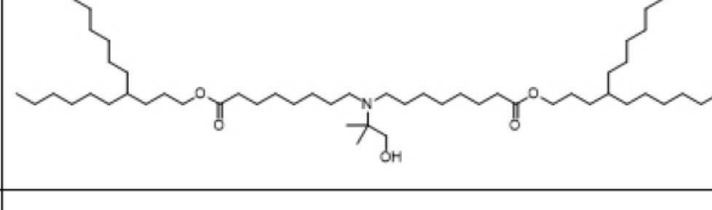
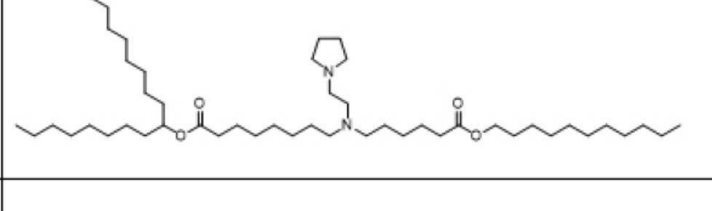
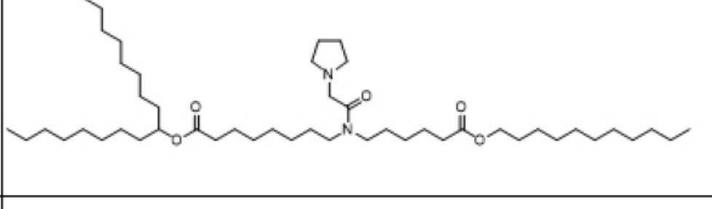
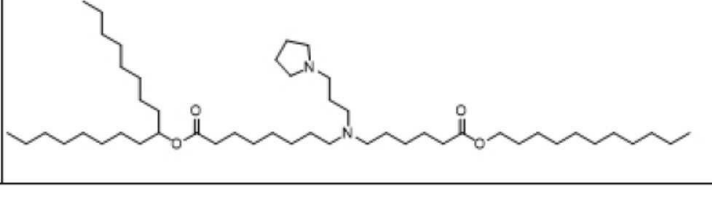
[0384]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
2312		((2-아미노에틸)아자네디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)
2313		헵타데칸-9-일 8-((2-아미노에틸)(8-((2-메틸노닐)옥시)-8-옥소옥틸)아미노)옥타노에이트
2314		5-((2-아미노에틸)(7-((2-옥틸데카노일)옥시)헵틸)아미노)펜틸도데카노에이트
		((3-(피롤리딘-1-일)프로필)아자네디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)
		비스(4-펜틸노닐) 8,8'-((2-(피롤리딘-1-일)에틸)아자네디일)다옥타노에이트
		((2-(피롤리딘-1-일)아세틸)아자네디일)비스(헥산-6,1-디일)비스(2-헥실데카노에이트)

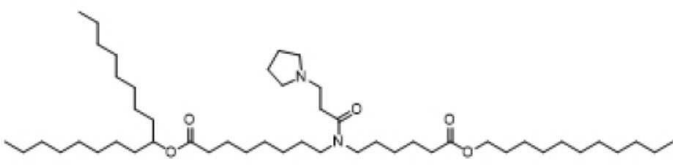
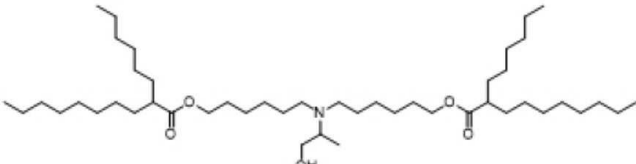
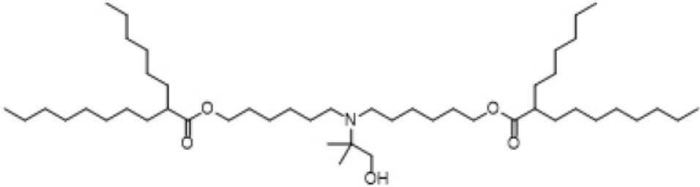
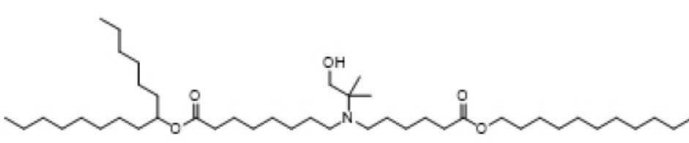
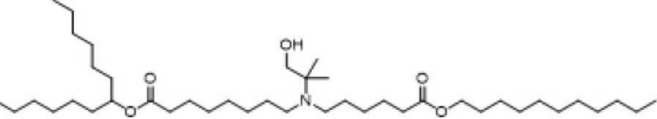
[0385]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		헵타데칸-9-일 8-((1- 하이드록시-2- 메틸프로판-2- 일)(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
		비스(4- 펜틸노닐) 8,8'- ((1- 하이드록시프로 판-2- 일)아자네디일)디 옥타노에이트
		비스(4- 펜틸노닐) 8,8'- ((1-하이드록시- 2-메틸프로판- 2- 일)아자네디일)디 옥타노에이트
		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((2-(피롤리딘- 1- 일)아세틸)아자네 디일)디옥타노에 이트
		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((3-(피롤리딘- 1- 일)프로파노일)아 자네디일)디옥타 노에이트
		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((2-(피롤리딘- 1- 일)에틸)아자네디 일)디옥타노에이 트

[0386]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((3-(피롤리딘- 1- 일)프로필)아자네 디일)디옥타노에 이트
		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((1- 하이드록시프로 판-2- 일)아자네디일)디 옥타노에이트
		비스(4- 헥실데실) 8,8'- ((1-하이드록시- 2-메틸프로판- 2- 일)아자네디일)디 옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-((6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)2-(피롤리딘- 1- 일)에틸)아미노) 옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-(N-(6-옥소- 6- (운데실옥시)헥실)2-(피롤리딘- 1- 일)아세트아미도) 옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-((6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)3-(피롤리딘- 1- 일)프로필)아미노)옥타노에이트

[0387]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		헵타데칸-9-일 8-(N-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)-3-(피롤리딘- 1- 일)프로판아미도) 옥타노에이트
		((1- 하이드록시프로 판-2- 일)아자네디일)비 스(헥산-6,1- 디일)비스(2- 헥실데카노에이 트)
		((1-하이드록시- 2-메틸프로판- 2- 일)아자네디일)비 스(헥산-6,1- 디일)비스(2- 헥실데카노에이 트)
		펜타데칸-7-일 8-((1- 하이드록시-2- 메틸프로판-2- 일)(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
		트리데칸-7-일 8-((1- 하이드록시-2- 메틸프로판-2- 일)(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트

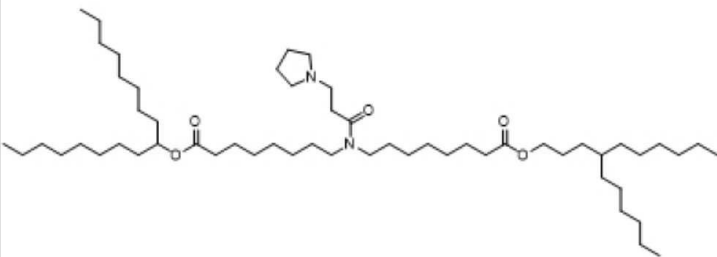
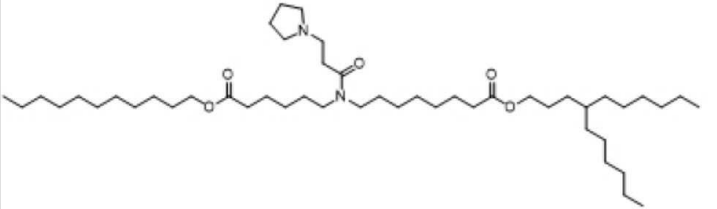
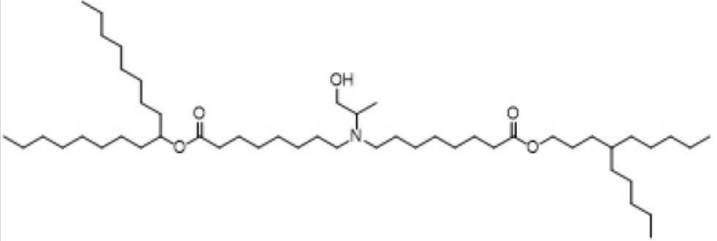
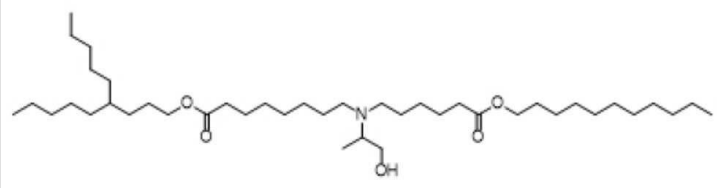
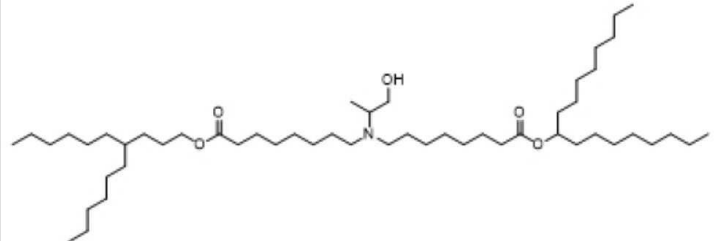
[0388]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		헵타데칸-9-일 8-((1- 하이드록시-2- 메틸프로판-2- 일)(8-옥소-8- ((4- 펜틸노닐)옥시)옥 틸)아미노)옥타노 에이트
		4-펜틸노닐 8- ((1-하이드록시- 2-메틸프로판- 2-일)(6-옥소- 6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
		헵타데칸-9-일 8-((8-((4- 헥실데실)옥시)- 8-옥소옥틸)(1- 하이드록시-2- 메틸프로판-2- 일)아미노)옥타노 에이트
		4-헥실데실 8- ((1-하이드록시- 2-메틸프로판- 2-일)(6-옥소- 6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
		헵타데칸-9-일 8-((8-옥소-8- ((4- 펜틸노닐)옥시)옥 틸)(3- (피롤리딘-1- 일)프로필)아미노)옥타노에이트

[0389]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		4-펜틸노닐 8- ((6-옥소-6- (운데실옥시)핵실)3-(피롤리딘- 1- 일)프로필)아미노)옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-((8-((4- 핵실데실)옥시)- 8-옥소옥틸)(3- (피롤리딘-1- 일)프로필)아미노)옥타노에이트
		4-핵실데실 8- ((6-옥소-6- (운데실옥시)핵실)3-(피롤리딘- 1- 일)프로필)아미노)옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-(N-(8-옥소- 8-((4- 펜틸노닐)옥시)옥 틸)-3- (피롤리딘-1- 일)프로판아미도) 옥타노에이트
		4-펜틸노닐 8- (N-(6-옥소-6- (운데실옥시)핵실)3-(피롤리딘- 1- 일)프로판아미도) 옥타노에이트

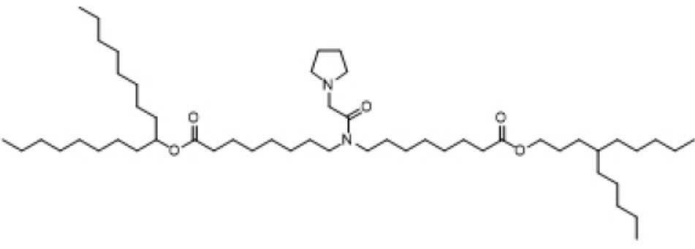
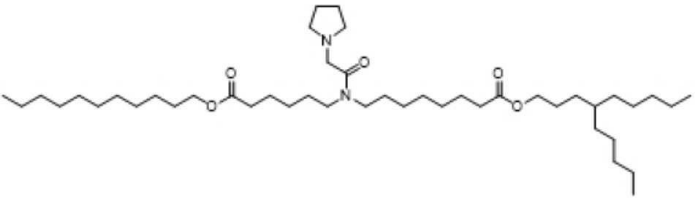
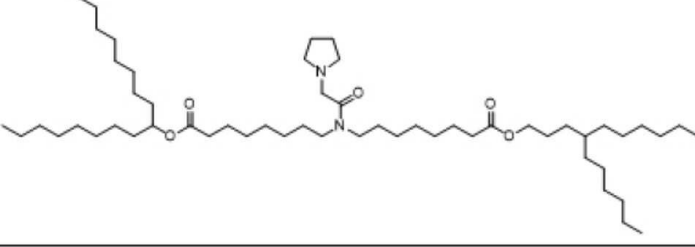
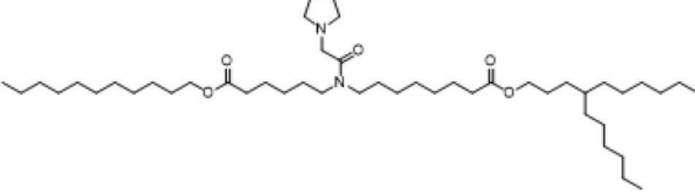
[0390]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		헵타데칸-9-일 8-(N-(8-((4- 헥실데실)옥시)- 8-옥소옥틸)-3- (피롤리딘-1- 일)프로판아미도) 옥타노에이트
		4-헥실데실 8- (N-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)-3-(피롤리딘- 1- 일)프로판아미도) 옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-((1- 하이드록시프로 판-2-일)(8- 옥소-8-((4- 펜틸노닐)옥시)옥 틸)아미노)옥타노 에이트
		4-펜틸노닐 8- (1- 하이드록시프로 판-2-일)(6- 옥소-6- (운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에 이트
		헵타데칸-9-일 8-((8-((4- 헥실데실)옥시)- 8-옥소옥틸)(1- 하이드록시프로 판-2- 일)아미노)옥타노 에이트

[0391]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		4-헥실데실 8-((1-하이드록시프로판-2-일)(6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)아미노)옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-((8-옥소-8-((4-펜틸노닐)옥시)옥틸)(2-(피롤리딘-1-일)에틸)아미노)옥타노에이트
		4-펜틸노닐 8-((6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)(2-(피롤리딘-1-일)에틸)아미노)옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-((8-((4-헥실데실)옥시)-8-옥소옥틸)(2-(피롤리딘-1-일)에틸)아미노)옥타노에이트
		4-헥실데실 8-((6-옥소-6-(운데실옥시)헥실)(2-(피롤리딘-1-일)에틸)아미노)옥타노에이트

[0392]

지질 번호	구조	IUPAC 명칭
		헵타데칸-9-일 8-(N-(8-옥소- 8-((4- 펜틸노닐)옥시)옥 틸)-2- (피롤리딘-1- 일)아세트아미도) 옥타노에이트
		4-펜틸노닐 8- (N-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)-2-(피롤리딘- 1- 일)아세트아미도) 옥타노에이트
		헵타데칸-9-일 8-(N-(8-((4- 헥실데실)옥시)- 8-옥소옥틸)-2- (피롤리딘-1- 일)아세트아미도) 옥타노에이트
		4-헥실데실 8- (N-(6-옥소-6- (운데실옥시)헥실)-2-(피롤리딘- 1- 일)아세트아미도) 옥타노에이트

[0393]

[0394]

지질 나노입자 조성물

[0395]

본원에 개시된 이온화 가능 지질은 지질 나노입자 조성물을 형성하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 치료제를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물 중의 지질 나노입자는 하나 이상의 치료제를 캡슐화하거나 이와 연관된다.

[0396]

일부 구현예에서, LNP 조성물의 N/P 비율은 약 3 내지 약 10이며, 예를 들어, N/P 비율은 약 6 ± 1 이거나, N/P 비율은 약 6 ± 0.5 이다. 일부 구현예에서, N/P 비율은 약 6이다.

[0397]

일부 구현예에서, 본 개시는 (i) 식 (I)~(VII)의 이온화 가능 지질, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 선택된 하나 이상의 화합물 및 (ii) 지질 성분을 포함하는 조합에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 조합은 (i)의 하나 이상의 화합물을 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 또는 95%를 포함한다. 일부 구현예에서, 조합은 (i)의 화합물과 지질 성분 (ii)을 약 1:1 비율로 포함한다. 일부 구현예에서, 조합은 지질 나노입자(LNP) 조성물이다.

[0398]

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.

[0399]

일부 구현예에서, LNP 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.

[0400]

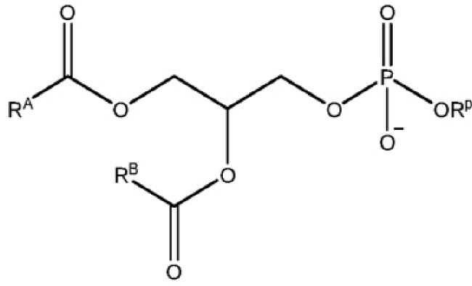
비이온화 가능 지질 성분

[0401]

중성 지질

[0402]

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 식:



에 따른 지질일 수 있고, 식 중 R^P 는 인지질 모이어티를 나타내고, R^A 및 R^B 는 동일하거나 상이할 수 있는 불포화가 있거나 없는 지방산 모이어티를 나타낸다. 인지질 모이어티는 포스파티딜 콜린, 포스파티딜 에탄올아민, 포스파티딜 글리세롤, 포스파티딜 세린, 포스파티드산, 2-리소포스파티딜 콜린, 또는 스핑고미엘린일 수 있다. 지방산 모이어티는 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 모이어티 또는 이미징 모이어티(예를 들어, 염료)와 같은 유용한 성분에 접합시키는 데 유용할 수 있다.

[0403]

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-3-포스포콜린(DMPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디운데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DUPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POPC), 1,2-디-O-옥타데세닐-sn-글리세로-3-포스포콜린(18:0 디에테르 PC), 1-올레오일-2-콜레스테릴헤미숙시노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(OChemPC), 1-헥사데실-sn-글리세로-3-포스포콜린(C16 Lyso PC), 1,2-디리놀레오일-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-디리놀레오일-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), 스핑고미엘린, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티드산, 팔미토일올레오일 포스파티딜콜린, 리소포스파티딜콜린, 리소포스파티딜에탄올아민(LPE), 또는 이들의 혼합물.

[0404]

비이온화 가능 지질의 추가적인 비제한적인 예는 또한 다음과 같은 인지질을 포함한다: 레시틴, 포스파티딜에탄올아민, 리소레시틴, 리소포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 스핑고미엘린, 달걀 스핑고미엘린(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, 디리놀레오일포스파티딜콜

린, 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.

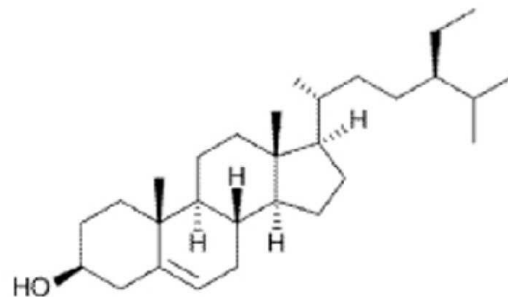
[0405] 스테로이드 및 기타 비이온화 가능 지질 성분

[0406] 일부 구현예에서, 지질 성분은 하나 이상의 스테로이드 또는 이의 유사체를 포함한다.

[0407] 일부 구현예에서, 지질 성분은 스테롤, 예컨대 콜레스테롤, 시스테롤, 및 이의 유도체를 포함한다. 콜레스테롤 유도체의 비제한적인 예는 5 α -콜레스타놀, 5 α -코프로스타놀, 콜레스테릴-(2'-하이드록시)-에틸 에테르, 콜레스테릴-(4'-하이드록시)-부틸 에테르, 및 6-케토콜레스타놀과 같은 극성 유사체; 5 α -콜레스탄, 콜레스테논, 5 α -콜레스타논, 5 α -콜레스타논, 및 콜레스테릴 데카노에이트와 같은 비극성 유사체; 및 이들의 혼합물을 포함한다. 일부 구현예에서, 콜레스테롤 유도체는 콜레스테릴-(4'-하이드록시)-부틸 에테르와 같은 극성 유사체이다.

[0408] 일부 구현예에서, 비이온화 가능 지질 성분은 하나 이상의 인지질과 콜레스테롤 또는 이의 유도체의 혼합물을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 존재하는 비이온화 가능 지질 성분은 하나 이상의 인지질, 예를 들어, 콜레스테롤-무함유 지질 입자 제형을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 구현예에서, 존재하는 비이온화 가능 지질 성분은 콜레스테롤 또는 이의 유도체, 예를 들어, 인지질-무함유 지질 입자 제형을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0409] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 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.



다. 일부 구현예에서, 피토스테롤은 베타-시토스테롤, , 이의 염, 또는 이의 에스테르이다.

[0410] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 피토스테롤 또는 이의 염 또는 에스테르, 및 콜레스테롤 또는 이의 염을 포함한다.

[0411] 일부 구현예에서, 표적 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.

[0412] 일부 구현예에서, 표적 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.

[0413] 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 미리스

테이트, 양쪽성 아크릴 중합체, 트리에탄올아민-라우릴 황산염, 알킬-아릴 황산염 폴리에틸옥시화 지방산 아미드, 디옥타데실디메틸 암모늄 브로마이드, 세라마이드, 및 스펅고미엘린.

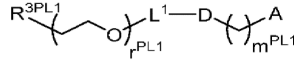
- [0414] 일부 구현예에서, 비이온화 가능 지질 성분은 지질 나노입자 조성물에 존재하는 총 지질의 10 몰% 내지 60 몰%, 20 몰% 내지 55 몰%, 20 몰% 내지 45 몰%, 20 몰% 내지 40 몰%, 25 몰% 내지 50 몰%, 25 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 50 몰%, 30 몰% 내지 45 몰%, 30 몰% 내지 40 몰%, 35 몰% 내지 45 몰%, 37 몰% 내지 42 몰%, 또는 35 몰%, 36 몰%, 37 몰%, 38 몰%, 39 몰%, 40 몰%, 41 몰%, 42 몰%, 43 몰%, 44 몰%, 또는 45 몰%(또는 이의 임의의 분획 또는 그 안의 범위)로 존재한다.
- [0415] 지질 나노입자 조성물이 인지질과 콜레스테롤 또는 콜레스테롤 유도체의 혼합물을 함유하는 구현예에서, 혼합물은 지질 나노입자 조성물에 존재하는 총 지질의 최대 40 몰%, 45 몰%, 50 몰%, 55 몰%, 또는 60 몰%까지 존재할 수 있다.
- [0416] 일부 구현예에서, 혼합물 중 인지질 성분은 지질 나노입자 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 나노입자 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.
- [0417] 일부 구현예에서, 혼합물 중 콜레스테롤 성분은 지질 나노입자 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 나노입자 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.
- [0418] 지질 나노입자 조성물이 인지질을 포함하지 않는 구현예에서, 콜레스테롤 또는 이의 유도체는 지질 나노입자 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.
- [0419] 일부 구현예에서, 인지질-무함유 지질 입자 제형 중 콜레스테롤 또는 이의 유도체는 지질 나노입자 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.
- [0420] 일부 구현예에서, 비이온화 가능 지질 성분은 지질 나노입자 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.
- [0421] 지질 나노입자 조성물에 존재하는 비이온화 가능 지질의 백분율은 목표량이며, 존재하는 비이온화 가능 지질의 실제 양은, 예를 들어, ± 5 몰%만큼 달라질 수 있다.
- [0422] 지질 접합체
- [0423] 본원에 기술된 지질 나노입자 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.
- [0424] 일부 구현예에서, 지질 접합체는 PEG-지질 또는 PEG-변형 지질(대안적으로 PEG화된 지질로서 지칭됨)이다. PEG 지질은 폴리에틸렌 글리콜로 변형된 지질이다. PEG-지질의 예는 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 디알킬옥시프로필에 결합된 PEG(PEG-DAA), 디알킬글리세롤에 결합된 PEG(PEG-DAG), PEG-변형 디알킬아민, PEG-변형 디알킬글리세롤(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. 예를 들어, PEG 지질은 PEG-c-DOMG, PEG-DMG, PEG-DLPE, PEG-DMPE, PEG-DPPC, 또는 PEG-DSPE 지질일 수 있다.
- [0425] 일부 구현예에서, PEG-지질은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된다: PEG-변형 포스파티딜에탄올아민, PEG-변

형 포스파티드산, PEG-변형 세라마이드, PEG-변형 디알킬아민, PEG-변형 디아실글리세롤, 및 PEG-변형 디알킬글리세롤.

- [0426] 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-디미리스틸옥시프로필(dimyristyloxylpropyl)-3-아민(PEG-c-DMA).
- [0427] PEG는 2개의 말단 히드록실기를 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-NH₂), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-트레실레이트(MePEG-TRES), 모노메톡시폴리 에틸렌 글리콜-이미다졸릴-카르보닐(MePEG-IM), 및 말단 메톡시기 대신에 말단 히드록실기를 함유하는 이러한 화합물(예를 들어, HO-PEG-S, HO-PEG-S-NHS, HO-PEG-NH₂).
- [0428] 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.
- [0429] 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)CCH₂CH₂C(O)-), 숙신아미딜(-NHC(O)CH₂CH₂C(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.
- [0430] 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.
- [0431] 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 분리하거나 합성할 수 있다.
- [0432] 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).
- [0433] 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.
- [0434] 용어 "디아실옥시 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.
- [0435] 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 프로

필(C18) 접합체이다. 일부 구현예에서, PEG의 평균 분자량은 750 또는 2,000 달톤이다. 일부 구현예에서, PEG의 말단 히드록실기는 메틸기로 치환된다.

[0436] 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.



[0437] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 의 화합물 또는 이의 염으로서, 식 중:

[0438] R^{3PL1} 은 $-OR^{OPL1}$ 이고;

[0439] R^{OPL1} 은 수소, 임의 치환된 알킬, 또는 산소 보호기이고;

[0440] r^{PL1} 은 1 내지 100 사이의 정수이고;

[0441] L^1 은 임의 치환된 C_{1-10} 알킬렌으로서, 여기서 임의 치환된 C_{1-10} 알킬렌의 적어도 하나의 메틸렌은 임의 치환된 카르보시클릴렌, 임의 치환된 헤테로시클릴렌, 임의 치환된 아릴렌, 임의 치환된 헤테로아릴렌, O, $N(R^{NPL1})$, S, $C(O)$, $C(O)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(O)$, $-C(O)O$, $OC(O)$, $OC(O)O$, $OC(O)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(O)O$, 또는 $NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})$ 으로 독립적으로 치환되고;

[0442] D는 클릭 화학에 의해 수득된 모이어티 또는 생리학적 조건 하에서 절단 가능한 모이어티이고; m^{PL1} 은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10이고;



[0443] A는 다음 식: 이고;

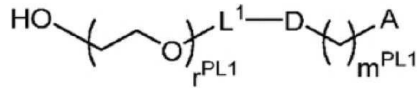
[0444] L^2 의 각각의 경우는 독립적으로 결합 또는 임의 치환된 C_{1-6} 알킬렌이고, 여기서 임의 치환된 C_{1-6} 알킬렌의 하나의 메틸렌 단위는 O, $N(R^{NPL1})$, S, $C(O)$, $C(O)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(O)$, $C(O)O$, $OC(O)$, $OC(O)O$, $-OC(O)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(O)O$, 또는 $NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})$ 로 임의 치환되고;

[0445] R^{2SL} 의 각각의 경우는 독립적으로 임의 치환된 C_{1-30} 알킬, 임의 치환된 C_{1-30} 알케닐, 또는 임의 치환된 C_{1-30} 알키닐 이고; 임의적으로 여기서 R^{2SL} 의 하나 이상의 메틸렌 단위는 임의 치환된 카르보시클릴렌, 임의 치환된 헤테로시클릴렌, 임의 치환된 아릴렌, 임의 치환된 헤테로아릴렌, $N(R^{NPL1})$, O, S, $C(O)$, $C(O)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(O)$, $-NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})$, $C(O)O$, $OC(O)$, $OC(O)O$, $OC(O)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(O)O$, $C(O)S$, $-SC(O)$, $C(=NR^{NPL1})$, $C(=NR^{NPL1})N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(=NR^{NPL1})$, $-NR^{NPL1}C(=NR^{NPL1})N(R^{NPL1})$, $C(S)$, $C(S)N(R^{NPL1})$, $NR^{NPL1}C(S)$, $NR^{NPL1}C(S)N(R^{NPL1})$, $S(O)$, $OS(O)$, $S(O)O$, $OS(O)O$, $OS(O)_2$, $S(O)_2O$, $OS(O)_2O$, $N(R^{NPL1})S(O)$, $S(O)N(R^{NPL1})$, $-N(R^{NPL1})S(O)N(R^{NPL1})$, $OS(O)N(R^{NPL1})$, $N(R^{NPL1})S(O)O$, $S(O)_2$, $N(R^{NPL1})S(O)_2$, $-S(O)_2N(R^{NPL1})$, $N(R^{NPL1})S(O)_2N(R^{NPL1})$, $OS(O)_2N(R^{NPL1})$, 또는 $N(R^{NPL1})S(O)_2O$ 로 독립적으로 치환되고;

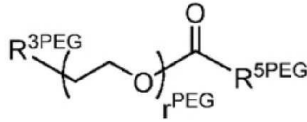
[0446] R^{NPL1} 의 각각의 경우는 독립적으로 수소, 임의 치환된 알킬, 또는 질소 보호기이고;

[0447] 고리 B는 임의 치환된 카르보시클릴, 임의 치환된 헤테로시클릴, 임의 치환된 아릴, 또는 임의 치환된 헤테로아릴이고;

[0448] p^{SL} 은 1 또는 2이다.



[0449] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 r^{PL1} , L^1 , D , m^{PL1} , 및 A 는 상기 정의된 것과 같다. 의 화합물 또는 이의 염으로서, 식 중



[0450] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 중: 의 화합물 또는 이의 염 또는 이성질체로서, 식

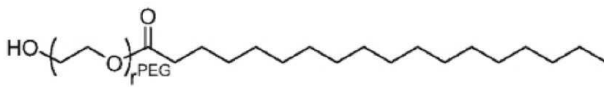
[0451] R^{3PEG} 는 $-OR^0$ 이고;

[0452] R^0 는 수소, C_{1-6} 알킬, 또는 산소 보호기이고;

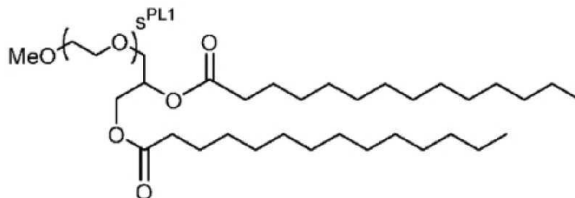
[0453] r^{PEG} 는 1 내지 100 사이의 정수(예를 들어, 40 내지 50 사이, 예를 들어, 45)이고;

[0454] R^{5PEG} 는 C_{10-40} 알킬(예를 들어, C_{17} 알킬), C_{10-40} 알케닐, 또는 C_{10-40} 알키닐이고; 임의적으로 R^{5PEG} 의 하나 이상의 메틸렌기는 C_{3-10} 카르보시클릴렌, 4원 내지 10원 헤테로시클릴렌, C_{6-10} 아릴렌, 4원 내지 10원 헤테로아릴렌, $-N(R^{NPEG})-$, $-O-$, $-S-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R^{NPEG})-$, $-NR^{NPEG}C(O)-$, $-NR^{NPEG}C(O)N(R^{NPEG})-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-OC(O)O-$, $-OC(O)N(R^{NPEG})-$, $-NR^{NPEG}C(O)O-$, $-C(O)S-$, $-SC(O)-$, $-C(=NR^{NPEG})-$, $-C(=NR^{NPEG})N(R^{NPEG})-$, $-NR^{NPEG}C(=NR^{NPEG})-$, $-NR^{NPEG}C(=NR^{NPEG})N(R^{NPEG})-$, $-C(S)-$, $-C(S)N(R^{NPEG})-$, $-NR^{NPEG}C(S)-$, $-NR^{NPEG}C(S)N(R^{NPEG})-$, $-S(O)-$, $-OS(O)-$, $-S(O)O-$, $-OS(O)O-$, $-OS(O)_2-$, $-S(O)_2O-$, $-OS(O)_2O-$, $-N(R^{NPEG})S(O)-$, $-S(O)N(R^{NPEG})-$, $-N(R^{NPEG})S(O)N(R^{NPEG})-$, $-OS(O)N(R^{NPEG})-$, $-N(R^{NPEG})S(O)O-$, $-S(O)_2-$, $-N(R^{NPEG})S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R^{NPEG})-$, $-N(R^{NPEG})S(O)_2N(R^{NPEG})-$, $-OS(O)_2N(R^{NPEG})-$, 또는 $-N(R^{NPEG})S(O)_2O-$ 로 독립적으로 치환되고;

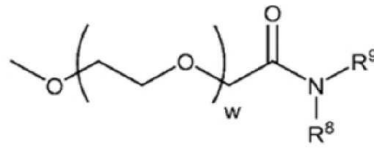
[0455] R^{NPEG} 의 각각의 경우는 독립적으로 수소, C_{1-6} 알킬, 또는 질소 보호기이다.

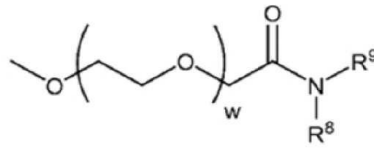


[0456] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 r^{PEG} 는 1 내지 100 사이의 정수(예를 들어, 40 내지 50 사이, 예를 들어, 45)이다. 의 화합물로서, 식 중



[0457] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 또는 이성질체로서, 식 중 s^{PL1} 은 1 내지 100 사이의 정수(예를 들어, 40 내지 50 사이, 예를 들어, 45)이다. 의 화합물 또는 이의 염



- [0458] 일부 구현예에서, PEG-지질은 식 , 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 호 변이성질체 또는 입체이성질체를 가지며, 식 중:
- [0459] R^8 및 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 임의의 중단되고(예를 들어, R^8 및 R^9 는 각각 독립적으로 12개 내지 16개의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 포화 알킬 사슬임);
- [0460] w 는 30 내지 60 범위의 평균 값을 갖는다(예를 들어, 평균 w 는 약 49임).
- [0461] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물에 전술한 PEG-지질 중 어느 하나를 포함시키면 LNP 조성물의 약동학 및/또는 생체분포를 개선할 수 있다. 예를 들어, 지질 나노입자 조성물에 전술한 PEG-지질 중 어느 하나를 포함시키면 ABC(accelerated blood clearance, 가속화된 혈액 제거) 효과를 감소시킬 수 있다.
- [0462] 일부 구현예에서, 지질 접합체(예를 들어, PEG-지질)은 지질 나노입자 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 나노입자 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.
- [0463] 일부 구현예에서, 지질 접합체(예를 들어, PEG-지질)는 지질 나노입자 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.
- [0464] 지질 나노입자 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.
- [0465] 조성물 및 지질 접합체의 농도를 제어함으로써, 지질 접합체가 지질 나노입자로부터 교환되는 속도 및 궁극적으로 지질 나노입자가 융합생성 되는 속도를 제어할 수 있다. 또한, 예를 들어, pH, 온도, 또는 이온 강도를 포함하는 다른 변수는 지질 나노입자가 융합생성 되는 속도를 변화시키고/시키거나 제어하는 데 사용될 수 있다. 지질 나노입자가 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 나노입자 크기를 제어할 수 있다.
- [0466] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 30~70%의 이온화 가능 지질 화합물, 0~60%의 콜레스테롤, 0~30%의 인지질, 및 1~10%의 폴리에틸렌 글리콜(PEG)-지질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, LNP 조성물은 30~40%의 이온화 가능 지질 화합물, 40~50%의 콜레스테롤, 및 10~20%의 PEG-지질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, LNP 조성물은 50~75%의 이온화 가능 지질 화합물, 20~40%의 콜레스테롤, 5~10%의 인지질, 및 1~10%의 PEG-지질을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, LNP 조성물은 60~70%의 이온화 가능 지질 화합물, 25~35%의 콜레스테롤, 및 5~10%의 PEG-지질을 함유할 수 있다.
- [0467] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 최대 90%의 이온화 가능 지질 화합물 및 2~15%의 헬퍼 지질을 함유할 수 있다.
- [0468] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 8~30%의 이온화 가능 지질 화합물, 5~30%의 헬퍼 지질, 및 0~20%의 콜레스테롤을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 4~25%의 이온화 가능 지질 화합물, 4~25%의 헬퍼 지질, 2~25%의 콜레스테롤, 10~35%의 콜레스테롤-PEG, 및 5%의 콜레스테롤-아민을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 2~30%의 이온화 가능 지질 화합물, 2~30%의 헬퍼 지질, 1~15%의 콜레스테롤, 2~35%의 콜레스테롤-PEG, 및 1~20%의 콜레스테롤-아민을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 최대 90%의 이온화 가능 지질 화합물 및 2~10%의 헬퍼 지질을 함유한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 100%의 이온화 가능 지질 화합물을 함유한다.

- [0469] LNP 조성물의 다른 성분
- [0470] 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.
- [0471] 지질 나노입자 조성물은 또한 하나 이상의 투과성 증강제 분자, 탄수화물, 중합체, 표면 변경제, 또는 다른 성분을 포함할 수 있다.
- [0472] 적합한 탄수화물은 단순 당(예를 들어, 글루코스) 및 다당류(예를 들어, 글리코겐 및 이의 유도체 및 유사체)를 포함할 수 있다.
- [0473] 중합체는 나노입자 조성물을 캡슐화하거나 이를 부분적으로 캡슐화하는 데 사용될 수 있다. 중합체는 생분해성이고/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-1락타이드-co-PEO-co-D,L-락타이드), 폴리(D,L-락타이드-co-PPO-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.
- [0474] 적합한 표면 변경제는 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, 씩, 브로멜라인, 파파인, 텐드럼(clerodendrum), 브롬핵신, 카보시스테인, 에프라지논, 메스나, 암브록솔, 소브레롤, 도미오돌, 레토스테인, 스텝로닌, 티오프로닌, 젤솔린, 티모신 β 4, 도나제 알파, 벨테넥신, 및 에르도스테인), 및 DNase(예를 들어, rhDNase). 표면 변경제는 지질 나노입자 내에 및/또는 지질 나노입자의 표면 상에(예를 들어, 코팅, 흡착, 공유 결합, 또는 다른 공정에 의해) 배치될 수 있다.
- [0475] 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.
- [0476] 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, 봉쇄제, 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.

[0477] 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, 실리케이트, 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.

[0478] 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 모노올리에이트 [TWEEN®80], 소르비탄 모노팔미테이트 [SPAN®40], 소르비탄 모노스테아레이트 [SPAN®60], 소르비탄 삼스테아레이트 [SPAN®65], 글리세릴 모노올레레이트, 소르비탄 모노올레레이트 [SPAN®80]), 폴리옥시에틸렌 에스테르(예를 들어, 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트 [MYRJ® 45], 폴리옥시에틸렌 경화 피마자유, 폴리에톡실화 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, 올레레이트 나트륨, 올레산 칼륨, 올레산 에틸, 올레산, 에틸 라우레이트, 나트륨 라우릴 설페이트, PLURONIC®F 68, POLOXAMER® 188, 세트리모늄브로마이드, 세틸피리디늄클로라이드, 염화벤잘코늄, 도큐세이트나트륨, 및/또는 이들의 조합.

[0479] 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, 하이드록시메틸셀룰로오스, 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.

[0480] 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

다음은 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, 테테록심 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, 네올론제, KATHON™, 및/또는 EUXYL®.

[0481] 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.

[0482] 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, 예뮈, 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, 사스夸나(sasquana), 세이보리(savoury), 산자나무, 참깨, 시어버터, 실리콘, 대두, 해바라기, 티트리, 엉겅퀴, 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.

[0483] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 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), 비세제 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_{2k}-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 폴리프로필렌 글리콜 P 400), 유기 용매(예를 들어, 디메틸설폭사이드(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.

[0484] 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.

[0485] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 완충액을 추가로 포함한다. 적합한 완충액은 다음을 포함하지만 이에 한정되지 않는다: 구연산염 완충액, 아세테이트 완충액, 인산염 완충액, 염화암모늄, 탄산칼슘, 염화칼슘, 구연산 칼슘, 칼슘 글루비오네이트, 칼슘 글루세이트, 글루콘산칼슘, d-글루콘산, 칼슘 글리세로포스페이트, 젖산칼슘, 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, 젖산 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.

[0486] 일부 구현예에서, 완충액은 아세테이트 완충제, 구연산염 완충액, 인산염 완충액, 트리스 완충액, 또는 이들의 조합이다.

- [0487] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 핵산, 이온화 가능 지질, 양친매성 물질, 인지질, 콜레스테롤, 및/또는 PEG-결합 콜레스테롤을 추가로 포함한다.
- [0488] 치료제
- [0489] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 치료제 및/또는 예방제(예를 들어, 핵산 성분)를 추가로 포함한다.
- [0490] 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제는 백신, 면역 반응을 유도하는 화합물(예를 들어, 단백질 또는 폴리펩티드 또는 펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 핵산 분자), 및/또는 또 다른 치료제 및/또는 예방제이다. 백신은 감염성 질환과 관련된 하나 이상의 병태에 대해 면역을 제공할 수 있고 감염성 질환 유래 항원 및/또는 에피토프를 암호화하는 mRNA를 포함할 수 있는 화합물 및 제제를 포함한다. 백신은 또한 암세포에 대한 면역 반응을 유도하고 종양 세포 유래 항원, 에피토프, 및/또는 네오에피토프를 암호화하는 mRNA를 포함할 수 있는 화합물 및 제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 반응을 유도할 수 있는 백신 및/또는 화합물은 본 개시의 조성물을 통해 근육내 투여된다.
- [0491] 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제는 단백질, 예를 들어, 자연 발생하는 관심 단백질을 보강하거나 치환하는 데 필요한 단백질이다. 이러한 단백질 또는 폴리펩티드는 자연적으로 발생할 수 있거나, 예를 들어, 반감기를 증가시키는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 변형될 수 있다. 예시적인 단백질은 세포내 단백질, 막관통 단백질, 또는 분비된 단백질, 펩티드, 또는 폴리펩티드이다.
- [0492] 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제는 하나 이상의 RNA 및/또는 DNA 성분을 포함한다. 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제는 하나 이상의 DNA 성분을 포함한다. 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제는 하나 이상의 RNA 성분을 포함한다.
- [0493] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA 성분은 mRNA로부터 선택된다. 일부 구현예에서, mRNA는 변형된 mRNA이다.
- [0494] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA 성분은 gRNA 핵산을 포함한다. 일부 구현예에서, gRNA 핵산은 gRNA이다.
- [0495] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA 성분은 클래스 2 Cas 뉴클레아제 mRNA 및 gRNA를 포함한다. 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 이상에서 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 gRNA는 3' 말단에서 마지막 5개의 뉴클레오티드 중 하나 이상에서 변형을 포함한다.
- [0496] 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA 성분은 mRNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 RNA 성분은 RNA 가이드된 DNA 결합제, 예를 들어 Cas 뉴클레아제 mRNA(예컨대 클래스 2 Cas 뉴클레아제 mRNA) 또는 Cas9 뉴클레아제 mRNA를 포함한다.
- [0497] 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제는 하나 이상의 주형 핵산을 포함한다.
- [0498] 일부 구현예에서, 치료제는 다음을 포함하는 하나 이상의 핵산으로부터 선택된다: 예를 들어, mRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 플라스미드 DNA, 마이크로RNA(miRNA), miRNA 억제제(antagomir/antimir), 전령-RNA-간섭 상보성 RNA(micRNA), DNA, 다가 RNA, 다이스 기질 RNA, 상보성 DNA(cdDNA) 등.
- [0499] 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)이나 이에 한정되지 않는다. 시험관 내 전사는 관심 유전자를 암호화하는 하류 서열에 연결된 상류 박테리오파지 프로모터 서열(예를 들어, T7, T3 및 SP6 폴리파지로부터의 것을 포함하지만 이에 한정되지 않음)로 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 전사로 제조될 수 있다(문헌참조: Linpinsel, J.L and Conn, G.L., General protocols for preparation of plasmid DNA template and Bowman, J.C., Azizi, B., Lenz, T.K., Ray, P., and Williams, L.D. 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, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).
- [0500] RNA의 전사는 생성된 mRNA 전사물의 잠재적 분해를 최소화하면서 중합효소 활성을 지원하는 조건 하에서, 상응

하는 RNA 중합효소 및 아데노신, 구아노신, 우리딘 및 시티딘 리보뉴클레오타이드 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 키트를 사용할 뿐만 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).

[0501] 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 전사물의 단리를 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.

[0502] 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, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨], 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], 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨)을 포함한다. 정제는 SV 총 단리 시스템(Promega) 및 시험관 내 전사 세팅 및 농축 키트(Norgen Biotek)를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트를 사용하여 수행될 수 있다.

[0503] 또한, 역전사는 다량의 mRNA를 수득할 수 있지만, 산물은 전장 mRNA 제제로부터 제거될 필요가 있을 수 있는 바람직하지 않은 중합효소 활성화와 연관된 다수의 비정상적인 RNA 불순물을 함유할 수 있다. 여기에는 불완전 전사에 기인하는 짧은 RNA 뿐만 아니라, RNA-의존성 RNA 중합효소 활성화에 의해 생성된 이중-가닥 RNA(dsRNA), RNA 주형으로 인한 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]을 참조하며, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨). HPLC 정제된 mRNA는 특히 일차 세포 및 생체 내에서 훨씬 더 큰 수준으로 번역되는 것으로 보고되었다.

[0504] 시험관 내에서 전사된 mRNA의 특이적 특성을 변경시키는 데 사용되며, 이의 유용성을 개선시킬 수 있는 상당히 다양한 변형이 당업계에 기술되어 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'-히드록실기 상에서 5' 방향 가장 끝에 있는 뉴클레오타이드 및 끝에서 두 번째에 있는 뉴클레오타이드의 메틸화를 포함한다.

[0505] 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'-O-메틸기를 함유한다. 그러나, 전사물의 최대 20%가 이러한 공동 전사 공정 동안 캡핑되지 않은 상태로 유지되고 합성 캡 유사체는 인증된 세포 mRNA의 5'-캡 구조와 동일하지 않아 잠재적으로 번역성 및 세포 안정성을 감소시킨다. 대안적으로, 합성 mRNA 분자는 전사 후 효소적으로 캡핑될 수도 있다. 이들은 구조적 또는 기능적으로 캡 결합 단백질의 결합을 향상시키고, 반감기를 증가시키고, 5' 엔도뉴클레아제에 대한 감수성을 감소시키고/시킴거나 5' 탈캡핑화를 감소시킨 내인성 5'-캡을 더욱 가깝게 모방하는, 보다 인증된 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., Slepencov, 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]을 참조하며, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0506] 3'-말단에서, 아데닌 뉴클레오티드의 장쇄(폴리-A 꼬리)는 일반적으로 RNA 처리 동안 mRNA 분자에 첨가된다. 전사 직후 전사물의 3' 단부를 절단하여, 폴리아데닐화라 불리는 공정에서 폴리-A 중합효소가 RNA에 아데닌 뉴클레오티드의 사슬을 첨가하는 3' 히드록실을 유도시킨다. 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]을 참조하며, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).

[0507] 시험관 내에서 전사된 mRNA의 폴리(A) 꼬리화는 DNA 주형 내로의 폴리(T) 관의 클로닝을 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 접근법을 사용하여 달성되거나, 폴리(A) 중합효소를 사용한 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 조작을 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 조작을 필요로 하지 않지만, 이중 길이의 폴리(A) 꼬리를 갖는 mRNA를 생성한다. 5'-캡핑 및 3'-폴리(A) 꼬리화는 폴리(A) 중합효소 꼬리화 키트(EpiCenter), mMMESSAGE mMACHINE T7 울트라 키트 및 폴리(A) 꼬리화 키트(Life Technologies)를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트를 사용할 뿐만 아니라 상업적으로 이용 가능한 시약, 다양한 ARCA 캡, 폴리(A) 중합효소 등을 사용하여 수행될 수 있다.

[0508] 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 뉴클레오타이드를 함유하기 때문에 병원성 DNA 및 RNA와 자가 DNA 및 RNA를 구별하는 능력이 적어도 부분적으로 구조 및 뉴클레오타이드 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 뉴클레오타이드를 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]). 변형된 RNA의 합성에 사용되는 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 일반적인 방법 및 절차를 사용하여 제조 및 모니터링되고, 사용될 수 있다. 단독으로 또는 다른 변형된 뉴클레오타이드와 조합하여 어느 정도까지 시험관 내 전사된 mRNA에 혼입될 수 있는 매우 다양한 뉴클레오타이드 변형이 이용 가능하다(예를 들어, US 제2012/0251618호 참조하며, 동 문헌은 그 전체

가 참조로서 본원에 통합됨). 뉴클레오타이드-변형 mRNA의 시험관 내 합성은 동시에 향상된 번역 능력과 함께 번역 센서를 활성화하는 능력이 감소된 것으로 보고되었다.

- [0509] 번역성 및 안정성 측면에서 이점을 제공하도록 변형될 수 있는 mRNA의 다른 성분은 5' 및 3' 미번역 영역(UTR)을 포함한다. UTR(바람직한 5' 및 3' UTR은 세포 또는 바이러스 RNA로부터 수득될 수 있음)의 최적화는 둘 다 또는 독립적으로 시험관 내에서 전사된 mRNA의 mRNA 안정성 및 번역 효율을 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]을 참조하며, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨).
- [0510] mRNA 이외에, 다른 핵산 페이로드가 본 개시에 사용될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드의 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 뉴클레오타이드를 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 둘 다 본원에 참조로서 통합됨).
- [0511] 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 제6,197,553호 B1을 참조하며, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨). 플라스미드 단리는 플라스미드 플러스(Qiagen), GenJET 플라스미드 MaxiPrep(Thermo) 및 순수 수율 MaxiPrep(Promega) 키트를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 상업적으로 이용 가능한 키트를 사용할 뿐만 아니라 상업적으로 이용 가능한 시약을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0512] 지질 나노입자 조성물 중의 치료제 및/또는 예방제의 양은 LNP 조성물의 크기, 조성물, 원하는 표적 및/또는 적용, 또는 다른 특성뿐만 아니라 치료제 및/또는 예방제의 특성에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, LNP 조성물에 유용한 RNA의 양은 RNA의 크기, 서열, 및 다른 특성에 따라 달라질 수 있다. LNP 조성물 중의 치료제 및/또는 예방제 및 다른 요소(예를 들어, 지질)의 상대적인 양도 달라질 수 있다. 일부 구현예에서, LNP 조성물 중 지질 성분 대 치료제 및/또는 예방제의 wt/wt 비율은 약 5:1 내지 약 60:1, 예컨대 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, 12:1, 13:1, 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 18:1, 19:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1, 및 60:1일 수 있다. 예를 들어, 지질 성분 대 치료제 및/또는 예방제의 wt/wt 비율은 약 10:1 내지 약 40:1일 수 있다. 소정의 구현예에서, wt/wt 비율은 약 20: 1이다.
- [0513] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 RNA를 포함하고, 하나 이상의 RNA, 지질, 및 이의 양은 특정 N:P 비를 제공하도록 선택될 수 있다. LNP 조성물의 N:P 비는 RNA 중 인산염기의 수에 대한 하나 이상의 지질 중 질소 원자의 몰비를 지칭한다. 일반적으로, 더 낮은 N:P 비가 바람직하다. 하나 이상의 RNA, 지질, 및 이의 양은 약 2:1 내지 약 30:1, 예컨대 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 12:1, 14:1, 16:1, 18:1, 20:1, 22:1, 24:1, 26:1, 28:1, 또는 30:1의 N:P 비를 제공하도록 선택될 수 있다. 소정의 구현예에서, N:P 비는 약 2:1 내지 약 8:1일 수 있다. 다른 구현예에서, N:P 비는 약 5:1 내지 약 8:1이다. 예를 들어, N:P 비는 약 5.0:1, 약 5.5:1, 약 5.67:1, 약 6.0:1, 약 6.5:1, 또는 약 7.0:1일 수 있다. 예를 들어, N:P 비는 약 5.67:1일 수 있다.
- [0514] 지질 나노입자 조성물의 생산
- [0515] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 먼저 본원에 기술된 이온화 가능 지질 화합물을 헬퍼 지질 및/또는 다른 지질 성분(예를 들어, 인지질(예를 들어, DOPE 또는 DSPC), PEG 지질(예를 들어, PEG-DMG로도 알려진 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤 메톡시폴리에틸렌 글리콜), 완충액 중의 구조적 지질(예를 들어, 콜레스테롤)과 조합

한 다음, 예를 들어, 나노침강을 통해 지질 나노입자를 형성함으로써 제조될 수 있다.

- [0516] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은, 예를 들어, 본원에 그 전체가 참조로서 통합된 WO 제2020/160397호에 기술된 방법에 따라 제조될 수 있다.
- [0517] 나노입자 조성물의 특성 분석
- [0518] 지질 나노입자 조성물의 특성은 이의 성분에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 구조적 지질로서 콜레스테롤을 포함하는 지질 나노입자는 상이한 구조적 지질을 포함하는 지질 나노입자와 상이한 특성을 가질 수 있다. 유사하게, 지질 나노입자의 특성은 그 성분의 절대적 또는 상대적 양에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 인지질의 더 높은 몰분율을 포함하는 지질 나노입자는 인지질의 더 낮은 몰분율을 포함하는 지질 나노입자와 상이한 특성을 가질 수 있다. 특성은 또한 나노입자 조성물의 제조 방법 및 제조 조건에 따라 달라질 수 있다.
- [0519] 지질 나노입자는 다양한 방법에 의해 특징 분석될 수 있다. 예를 들어, 현미경(예를 들어, 투과 전자 현미경 또는 스캐닝 전자 현미경)을 사용하여 나노입자 조성물의 형태 및 크기 분포를 조사할 수 있다. 동적 광 산란 또는 전위차분석법(예를 들어, 전위차 적정법)을 사용하여 제타 전위를 측정할 수 있다. 동적 광 산란은 입자 크기를 결정하는 데 사용될 수도 있다. 또한, Zetasizer Nano ZS(예를 들어, Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK)와 같은 기기를 사용하여 입자 크기, 다분산 지수, 및 제타 전위와 같은 나노입자 조성물의 다수의 특성을 측정할 수 있다.
- [0520] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물의 입자 크기, 다분산 지수(PDI), 및 제타 전위는 제타 전위 분석기에 의해 결정될 수 있다. 예시적인 제타 전위 분석기는 Zetasizer Nano ZS(예를 들어, Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK)이다. 지질 나노입자 조성물은 이러한 결정을 위한 완충액, 예를 들어, 입자 크기를 결정하기 위한 1XPBS 및 제타 전위를 결정하기 위한 15mM PBS에 분산될 수 있다.
- [0521] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물(예를 들어, 빈 LNP 또는 치료제가 로딩된 LNP)의 평균 직경은 동적 광 산란(DLS)에 의해 측정 시 10초 nm 내지 100초 nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 40nm 내지 약 150nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 40nm, 45nm, 50nm, 55nm, 60nm, 65nm, 70nm, 75nm, 80nm, 85nm, 90nm, 95nm, 100nm, 105nm, 110nm, 115nm, 120nm, 125nm, 130nm, 135nm, 140nm, 145nm, 또는 150nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 50nm 내지 약 100nm, 약 50nm 내지 약 90nm, 약 50nm 내지 약 80nm, 약 50nm 내지 약 70nm, 약 50nm 내지 약 60nm, 약 60nm 내지 약 100nm, 약 60nm 내지 약 90nm, 약 60nm 내지 약 80nm, 약 60nm 내지 약 70nm, 약 70nm 내지 약 150nm, 약 70nm 내지 약 130nm, 약 70nm 내지 약 100nm, 약 70nm 내지 약 90nm, 약 70nm 내지 약 80nm, 약 80nm 내지 약 150nm, 약 80nm 내지 약 130nm, 약 80nm 내지 약 100nm, 약 80nm 내지 약 90nm, 약 90nm 내지 약 150nm, 약 90nm 내지 약 130nm, 또는 약 90nm 내지 약 100nm이다. 소정의 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 70nm 내지 약 130nm 또는 약 70nm 내지 약 100nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 80nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 100nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 110nm이다. 일부 구현예에서, LNP 조성물의 평균 직경은 약 120nm이다.
- [0522] 일부 구현예에서, 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물과 함께 제형화된 복수의 지질 나노입자(예를 들어, 빈 LNP 또는 치료제가 로딩된 LNP)의 다분산 지수("PDI")는 0.3 미만이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물과 함께 제형화된 복수의 지질 나노입자의 PDI는 약 0 내지 약 0.25이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물과 함께 제형화된 복수의 지질 나노입자의 PDI는 약 0.10 내지 약 0.20이다.
- [0523] 지질 나노입자의 표면 소수성은 GPL(Generalized Polarization by Laurdan)에 의해 측정될 수 있다. 이 방법에서, 형광 아미노나프탈렌 케톤 지질인 Laurdan을 나노입자 표면 내로 후삽입하고 Laurdan의 형광 스펙트럼을 수집하여 정규화된 일반화 편광(N-GP)을 결정한다. 일부 구현예에서, 이는 약 0.5 내지 약 1.5의 N-GP로서 표현된 표면 소수성을 갖는다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물과 함께 제형화된 지질 나노입자의 N-GP로서 표현된 표면 소수성은 약 0.5, 약 0.6, 약 0.7, 약 0.8, 약 0.9, 약 1.0, 약 1.1, 약 1.2, 약 1.3, 약 1.4, 또는 약 1.5이다. 일부 구현예에서, 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물과 함께 제형화된 지질 나노입자의 N-GP로서 표현된 표면 소수성은 약 1.0 또는 약 1.1이다.
- [0524] 지질 나노입자의 제타 전위는 조성물의 전기 동역학 전위를 나타내는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 제타 전위는 지질 나노입자 조성물의 표면 전하를 설명할 수 있다. 비교적 낮은 전하, 양전하 또는 음전하를 갖는 지질 나노입자가 일반적으로 바람직한데, 이는 보다 높은 전하의 종이 신체 내의 세포, 조직, 및 다른 요소와 바람직하지 않게 상호작용할 수 있기 때문이다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자의 제타 전위는 약 -10mV 내지 약

+20mV, 약 -10mV 내지 약 +15mV, 약 -10mV 내지 약 +10mV, 약 -10mV 내지 약 +5mV, 약 -10mV 내지 약 0mV, 약 -10mV 내지 약 -5mV, 약 -5mV 내지 약 +20mV, 약 -5mV 내지 약 +15mV, 약 -5mV 내지 약 +10mV, 약 -5mV 내지 약 +5mV, 약 -5mV 내지 약 0mV, 약 0mV 내지 약 +20mV, 약 0mV 내지 약 +15mV, 약 0mV 내지 약 +10mV, 약 0mV 내지 약 +5mV, 약 +5mV 내지 약 +20mV, 약 +5mV 내지 약 +15mV, 또는 약 +5mV 내지 약 +10mV일 수 있다.

[0525] 지질 나노입자 조성물 중의 치료제 및/또는 예방제(예를 들어, RNA)의 농도는 자외선-가시광선 분광법에 의해 결정될 수 있다. 지질 나노입자 조성물은 이러한 결정을 위해 완충액 및 용매에 분산될 수 있는데, 예를 들어, 1XPBS 중 100 μ L의 희석된 제형이 메탄올과 클로로포름의 4:1(v/v) 혼합물의 900 μ L에 첨가될 수 있다. 혼합 후, 용액의 흡광 스펙트럼은, 예를 들어, DU 800 분광 광도계(예를 들어, Beckman Coulter, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA) 상에서 230nm 내지 330nm로 기록될 수 있다. 나노입자 조성물 중의 치료제 및/또는 예방제의 농도는 조성물에 사용된 치료제 및/또는 예방제의 소광 계수 및, 예를 들어, 260nm의 파장에서의 흡광도와, 예를 들어, 330nm의 파장에서의 기준값 사이의 차이에 기초하여 계산될 수 있다.

[0526] 지질 나노입자 조성물 중의 치료제 및/또는 예방제의 캡슐화 효율은 제공된 초기 양에 비해 제조 후에 지질 나노입자와 캡슐화되거나 이와 달리 연관된 치료제 및/또는 예방제의 양을 기술한다. 캡슐화 효율은 높은 것이 바람직하다(예를 들어, 100%에 가까움). 캡슐화 효율은, 예를 들어, 로딩된 LNP를 하나 이상의 유기 용매 또는 세제와 분해하기 전후에 로딩된 LNP를 함유하는 용액 중 치료제 및/또는 예방제의 양을 비교함으로써 측정될 수 있다. 형광은 용액 중의 유리 치료제 및/또는 예방제(예를 들어, RNA)의 양을 측정하는 데 사용될 수 있다.

[0527] 예를 들어, 캡슐화 효율은 당업자에게 공지된 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 일 구현예에서, QUANT-IT[®] RIBOGREEN[®] RNA 검정(예를 들어, Invitrogen Corporation Carlsbad, CA)이 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 샘플은 TE 완충액(10mM 트리스-HCl, 1mM EDTA, pH 7.5) 중 대략 5 μ g/mL의 농도로 희석될 수 있다. 50 μ L의 희석된 샘플이 폴리스티렌 96 웰 플레이트로 옮겨질 수 있고, 50 μ L의 TE 완충액 또는 50 μ L의 2% Triton X-100 용액이 웰에 첨가될 수 있다. 플레이트는 37°C의 온도에서 15분 동안 인큐베이션될 수 있다. RIBOGREEN[®] 시약은 TE 완충액에서 1:100으로 희석될 수 있고, 100 μ L의 해당 용액이 각각의 웰에 첨가될 수 있다. 형광 강도는, 예를 들어, 약 480nm의 여기 파장 및, 예를 들어, 약 520nm의 방출 파장에서 형광 플레이트 판독기(예를 들어, Wallac Victor 1420 Multilabel Counter; Perkin Elmer, Waltham, MA)를 사용하여 측정될 수 있다. 바탕시료(reagent blank)의 형광 값은 각각의 샘플의 형광 값으로부터 차감될 수 있고, 유리 RNA의 백분율은(Triton X-100을 첨가하지 않은) 온전한 샘플의 형광 강도를(Triton X-100을 첨가함으로써) 파괴된 샘플의 형광 값으로 나눔으로써 결정될 수 있다.

[0528] 일부 구현예에서, 본 개시의 이온화 가능 지질 화합물과 함께 제형화된 로딩된 LNP의 경우, 치료제 및/또는 예방제의 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%이다. 일부 구현예에서, 캡슐화 효율은 적어도 80%이다. 일부 구현예에서, 캡슐화 효율은 적어도 90%이다. 일부 구현예에서, 치료제 및/또는 예방제의 캡슐화 효율은 80% 내지 100%이다.

[0529] 추가의 예시적인 LNP 제형

[0530] 지질 나노입자는 지질 성분 및 치료제 및/또는 예방제와 같은 하나 이상의 추가 성분을 포함할 수 있다. 지질 나노입자 조성물은 하나 이상의 특정 적용 또는 표적을 위해 설계될 수 있다. 지질 나노입자의 요소는 특정 적용 또는 표적에 기초하여, 및/또는 하나 이상의 요소의 효능, 독성, 비용, 사용 용이성, 가용성, 또는 다른 특징에 기초하여 선택될 수 있다. 유사하게, 지질 나노입자 조성물의 특정 제형은, 예를 들어, 특정 요소 조합의 효능 및 독성에 따라 특정 적용 또는 표적을 위해 선택될 수 있다.

[0531] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물의 지질 성분은 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 인지질(예를 들어, DOPE 또는 DSPC와 같은 불포화 지질), PEG-지질, 및 구조적 지질을 포함한다.

[0532] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물의 지질 성분은 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 인지질, PEG-지질, 및 구조적 지질을 포함한다.

[0533] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 인지질, 구조적 지질, PEG-지질, 및 하나 이상의 치료제 및/또는 예방제를 포함한다.

[0534] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 40% 내지 약 60%의 양으로 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물을 포함한다.

- [0535] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 0% 내지 약 20%의 양으로 인지질을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 0% 내지 약 20%의 양으로 DSPC를 포함한다.
- [0536] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 30% 내지 약 50%의 양으로 구조적 지질을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 30% 내지 약 50%의 양으로 콜레스테롤을 포함한다.
- [0537] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 0% 내지 약 5%의 양으로 PEG-지질을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 0% 내지 약 5%의 양으로 PEG-1 또는 PEG_{2k}-DMG를 포함한다.
- [0538] 일부 구현예에서, 나노입자 조성물의 지질 성분은 약 30 몰% 내지 약 60 몰%의 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 약 0 몰% 내지 약 30 몰%의 인지질, 약 18.5 몰% 내지 약 48.5 몰%의 구조적 지질, 및 약 0 몰% 내지 약 10 몰%의 PEG-지질을 포함하되, 총 몰%는 100%를 초과하지 않는다. 일부 구현예에서, 나노입자 조성물의 지질 성분은 약 35 몰% 내지 약 55 몰%의 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 약 5 몰% 내지 약 25 몰%의 인지질, 약 30 몰% 내지 약 40 몰%의 구조적 지질, 및 약 0 몰% 내지 약 10 몰%의 PEG-지질을 포함한다. 일 구현예에서, 지질 성분은 약 50 몰%의 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 약 10 몰%의 인지질, 약 38.5 몰%의 구조적 지질, 및 약 1.5 몰%의 PEG-지질을 포함한다. 일 구현예에서, 지질 성분은 약 40 몰%의 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 약 20 몰%의 인지질, 약 38.5 몰%의 구조적 지질, 및 약 1.5 몰%의 PEG-지질을 포함한다. 일부 구현예에서, 인지질은 DOPE 또는 DSPC일 수 있다. 일부 구현예에서, PEG-지질은 PEG-1 또는 PEG_{2k}-DMG일 수 있고/있거나, 구조적 지질은 콜레스테롤일 수 있다.
- [0539] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 40 몰% 내지 약 60 몰%의 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 약 0 몰% 내지 약 20 몰%의 인지질, 약 30 몰% 내지 약 50 몰%의 구조적 지질, 및 약 0 몰% 내지 약 5 몰%의 PEG-지질을 포함한다. 일부 구현예에서, LNP 조성물은 약 40 몰% 내지 약 60 몰%의 본원에 기술된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물, 약 0 몰% 내지 약 20 몰%의 DSPC, 약 30 몰% 내지 약 50 몰%의 콜레스테롤, 및 약 0 몰% 내지 약 5 몰%의 PEG-1 또는 PEG_{2k}-DMG를 포함한다.
- [0540] 지질 나노입자는 하나 이상의 특정 적용 또는 표적을 위해 설계될 수 있다. 예를 들어, 나노입자 조성물은 포유동물의 신체 내 특정 세포, 조직, 기관, 또는 이의 시스템 또는 군에 RNA와 같은 치료제 및/또는 예방제를 전달하도록 설계될 수 있다. 지질 나노입자의 생리화학적 특성은 특정 신체 표적에 대한 선택도를 증가시키기 위해 변경될 수 있다. 예를 들어, 입자 크기는 상이한 기관의 천공 크기에 기초하여 조정될 수 있다. LNP 조성물에 포함된 치료제 및/또는 예방제는 원하는 전달 표적 또는 표적들에 기초하여 선택될 수도 있다. 예를 들어, 치료제 및/또는 예방제는 특정 적응증, 병태, 질환, 또는 장애에 대해 선택되고/되거나, 특정 세포, 조직, 기관, 또는 이의 시스템 또는 군에의 전달(예를 들어, 국소화된 또는 특이적 전달)을 위해 선택될 수 있다. 소정의 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 세포 내에서 번역될 수 있는 관심 폴리펩티드를 암호화하여 관심 폴리펩티드를 생산하는 mRNA를 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 특정 기관에 특이적으로 전달되도록 설계될 수 있다. 일부 구현예에서, 조성물은 포유류 간에 특이적으로 전달되도록 설계될 수 있다.
- [0541] 생체 내 제형 연구
- [0542] 지질 나노입자 조성물이 표적화된 세포에 치료제 및/또는 예방제를 전달한 효과를 모니터링하기 위해, 특정 치료제 및/또는 예방제(예를 들어, mRNA와 같은 변형된 또는 자연 발생 RNA)를 포함하는 상이한 나노입자 조성물이 제조되어 동물 개체군에 투여될 수 있다. 동물(예를 들어, 마우스, 랫트, 또는 비인간 영장류)은 본원에 기술된 LNP 조성물 및 단백질, 예를 들어, 인간 에리스로포이에틴(hEPO) 또는 루시페라아제를 발현하는 mRNA를 포함하는 단일 투여량을 정맥내, 근육내, 동맥내, 또는 종양내 투여받을 수 있다. PBS를 포함하는 대조군 조성물이 사용될 수도 있다.
- [0543] LNP 조성물을 동물에게 투여 시, 투여량 전달 프로파일, 투여량 반응, 및 특정 제형 및 이의 투여량의 독성은 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA), 생물발광 영상화, 또는 다른 방법에 의해 측정될 수 있다. mRNA를 포함하는 LNP 조성물의 경우, 단백질 발현의 시간 경과도 평가될 수 있다. 평가를 위해 동물로부터 수집된 샘플은 혈액, 혈청, 및 조직(예를 들어, 근육내 주사 부위로부터의 근육 조직 및 내부 조직)을 포함할 수 있고; 샘플 수집은 동물의 희생을 포함할 수 있다.
- [0544] 일부 구현예에서, hEPO 농도는 인간 적혈구단백질 카트리지를 사용하는 효소-결합 렉틴 검정(ELLA) 단순 플렉스 검정(ProteinSimple)을 사용하여 결정될 수 있다. 이 검정의 표준은 2. IRP WHO 제조에 따라 보정될 수 있다.
- [0545] mRNA를 포함하는 LNP 조성물은 치료제 및/또는 예방제를 전달하기 위한 다양한 제형의 효능 및 유용성을 평가하

는 데 유용하다. mRNA를 포함하는 조성물을 투여함으로써 유도된 더 높은 수준의 단백질 발현은 더 높은 mRNA 번역 및/또는 나노입자 조성물 mRNA 전달 효율을 나타낼 것이다. 비-RNA 성분이 번역 기계 자체에 영향을 미치는 것으로 여겨지지 않기 때문에, 더 높은 수준의 단백질 발현은 다른 나노입자 조성물 또는 주어진 나노입자 조성물이 부재하는 것에 비해 주어진 나노입자 조성물에 의한 치료제 및/또는 예방제의 전달 효율이 더 높다는 것을 나타낼 가능성이 있다.

- [0546] 일부 구현예에서, 생체 내 발현 검정은 본 개시의 이온화 가능 지질의 발현 효능을 평가하는 데 사용될 수 있다.
- [0547] 일부 구현예에서, 단백질 발현(예를 들어, hEPO)은 로딩된 LNP 조성물을 투여한 후 마우스에서 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 혈청 중 hEPO의 농도는 투여 후(예를 들어, 주사 후 약 6시간 후)에 시험될 수 있다.
- [0548] 일부 구현예에서, LNP 조성물은 마우스(예를 들어, CD-1 마우스)에게 정맥내 투여될 수 있다.
- [0549] 일부 구현예에서, 투여 후(예를 들어, 투여 후 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간, 또는 48시간) 대상체의 기관 또는 조직에서의 지질의 잔류 수준이 측정될 수 있다. 일부 구현예에서, 간에서의 본 개시의 지질의 잔류 수준이 측정될 수 있다.
- [0550] 일부 구현예에서, 시험관 내 발현 검정은 지질 및 LNP 조성물을 평가하는 데 사용될 수 있다.
- [0551] 일부 구현예에서, 세포(예를 들어, HeLa)를 이미징 플레이트(예를 들어, 폴리-D-라이신 코팅)에 도말하고, 혈청(예를 들어, 인간 혈청, 마우스 혈청, 시노물구스 원숭이 혈청, 또는 소 태아 혈청)에서 배양할 수 있다.
- [0552] 일부 구현예에서, 형광 단백질(예를 들어, 녹색 형광 단백질(GFP)) 및 형광 지질(예를 들어, 로다민-DOPE)을 발현하는 mRNA를 포함하는 LNP 조성물이 플레이트에 첨가될 수 있고, 플레이트는 흡수 및 발현을 위해 영상화될 수 있다. 일부 구현예에서, 발현은(예를 들어, GFP로부터) 형광을 측정함으로써 평가될 수 있다. 일부 구현예에서, 흡수(측적)는 형광 지질(예를 들어, 로다민-DOPE)로부터의 형광 신호를 측정함으로써 평가될 수 있다.
- [0553] **LNP 조성물을 사용하는 방법**
- [0554] 일부 구현예에서, 치료제(즉, 치료 물질)를 이를 필요로 하는 대상체의 체장, 한쪽 또는 양쪽 폐, 및 비장으로부터 선택된 적어도 하나의 기관에 전달하는 방법이 본원에 제공되며, 상기 방법은 대상체의 간과 같은 신체의 다른 곳에 전달되는 최소량으로 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물(예를 들어, 화학식 (I)~(VII)의 화합물)을 포함하는 지질 나노입자 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0555] 일부 구현예에서, 방법은 치료제(즉, 치료 물질)를 이를 필요로 하는 대상체의 체장 및/또는 한쪽 또는 양쪽 폐에 대상체의 간과 같은 신체의 다른 곳에 전달되는 최소량으로 전달한다.
- [0556] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료 물질의 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% 또는 1% 미만은 대상체의 간에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료 물질의 6%, 7%, 8%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 또는 20% 미만은 대상체의 간에 전달된다.
- [0557] 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료 물질의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 체장 및/또는 한쪽 또는 양쪽 폐에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료 물질의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 체장에 전달된다. 일부 구현예에서, 대상체에게 투여되는 총 치료 물질의 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 또는 10% 초과가 대상체의 폐에 전달된다.
- [0558] 본원에서 사용되는 바와 같이, 대상체에게 투여되고 대상체 내 위치에 전달되는 총 치료 물질의 백분율 양은 단백질 발현 수준 또는 mRNA 녹다운 수준에 의해 측정된다.
- [0559] 일부 구현예에서, 전술한 치료 물질을 전달하는 방법은 본원에 개시된 하나 이상의 이온화 가능 지질 화합물을 포함하는 지질 나노입자 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하며, 상기 지질 나노입자 조성물은 치료 물질을 캡슐화한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물 중의 지질 나노입자는 식 (IO)~(VIIIO) 및 식 (I)~(VIID)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 (IO), 식 (I), 또는 식 (IA)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 (IIIO), 식 (IIA), 식 (IIB),

식 (IIC), 또는 식 (IID)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 (IIIO), 식 (IIIA), 또는 식 (IIIB)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 (IVO), 식 (IVA), 식 (IVB), 식 (IVC), 또는 식 (IVD)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 (VO), 식 (V), 식 (VA), 또는 식 (VB)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 (VIO), 식 (VIA), 또는 식 (VIB)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 (VIIO) 또는 식 (VIIA)~(VIID)의 이온화 가능 지질로부터 선택된 하나 이상의 화합물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체로부터 형성된다.

[0560] 본 개시의 이온화 가능 지질, 이를 포함하는 지질 나노입자 및 조성물의 비제한적인 예시적인 구현예 및 제제 (예를 들어, 핵산과 같은 치료제)를 전달하고/하거나 유전자 및/또는 단백질 발현을 조절하기 위한 이들의 용도 가 이하에서 더욱 상세히 기술된다.

[0561] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 이온화 가능 지질 및 지질 나노입자 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 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 이를 치료 또는 예방하는 방법이 제공되며, 상기 방법은 본원에 기술된 지질 나노입자 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 적합한 치료제를 캡슐화하거나 이와 연관되며, 여기서 지질 나노입자는 본원에 기술된 신규한 이온화 가능 지질, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및/또는 전술한 것 중 어느 하나의 입체이성질체 중 하나 이상을 포함한다.

[0562] 일부 구현예에서, 본 개시의 지질 나노입자는 치료 물질을 전달하는 데 유용하다.

[0563] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 신규한 이온화 가능 지질을 포함하는 지질 나노입자 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)를 캡슐화하거나 이와 연관된다.

[0564] 일부 구현예에서, 본원에 기술된 하나 이상의 신규한 이온화 가능 지질을 포함하는 지질 나노입자와 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 올리고뉴클레오타이드 또는 작은 간섭 RNA(siRNA))을 캡슐화하거나 이와 연관된다.

[0565] 일부 구현예에서, 하나 이상의 핵산(예를 들어, mRNA 및 플라스미드 DNA)의 공동 전달 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.

[0566] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 mRNA에 의해 암호화된 단백질의 발현에 유용하다. 일부 구현예에서, mRNA에 의해 암호화된 단백질의 발현 방법이 본원에 제공된다.

[0567] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 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.

[0568] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 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)하는 방법이 본원에 제공된다.

[0569] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 이식유전자의 발현을 위해 mRNA 및 플라스미드를 전달하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 이식유전자의 발현을 위해 mRNA 및 플라스미드를 전달하는 방법이 본원에 제공된다.

- [0570] 일부 구현예에서, 지질 나노입자 조성물은 단백질 발현으로부터 기인하는 약리학적 효과, 예를 들어, 적합한 에리스로포이에틴 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 에리스로포이에틴 mRNA의 전달을 통한 적혈구의 생산 증가 또는 적합한 항원 또는 항체를 암호화하는 mRNA의 전달을 통한 감염에 대한 보호를 유도하는 방법이 본원에 제공된다.
- [0571] 일부 구현예에서, 본 개시는 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 LNP와 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 DNA를 절단하는 단계를 포함한다.
- [0572] 일부 구현예에서, 본 개시는 DNA를 절단하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 LNP 조성물과 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0573] 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.
- [0574] 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 진행 세포와 같은 세포에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0575] 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.
- [0576] 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.
- [0577] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 여기서 유전자 편집은 유전자 녹아웃을 초래한다.
- [0578] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 기술된 임의의 유전자 편집 방법에 관한 것으로서, 여기서 유전자 편집은 유전자 교정을 초래한다.
- [0579] 일부 구현예에서, 본 개시는 간접 RNA를 포유류 대상체의 폐에 생체 내 전달하는 방법에 관한 것이다.
- [0580] 일부 구현예에서, 본 개시는 포유류 대상체에서 질환 또는 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 이들 방법은 본 개시의 조성물의 치료적 유효량을 상기 조성물에 의해 저하, 감소, 하향 조절, 또는 침묵화될 수 있는 유전자의 발현 또는 과발현과 연관된 질환 또는 장애를 갖는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0581] 본 개시의 조성물은, 예를 들어, 정맥내, 비경구, 복강내, 또는 국소 경로를 통한 전신 전달을 달성하기 위해 다양한 경로에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, siRNA는, 예를 들어, 폐 또는 간과 같은 표적 조직의 세포 또는 염증 조직에 세포 내에서 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시는 생체 내에서 siRNA를 전달하는 방법을 제공한다. 핵산-지질 조성물은 대상체에게 정맥내, 피하, 또는 복강내 투여될 수 있다.
- [0582] 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 액추에이터뿐

만 아니라 가압, 전기 활성화, 또는 다른 유형의 액추에이터를 사용하여 투여될 수 있다.

- [0583] 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 고체 형태일 수 있다. 비강 분무로서 액체를 분배하기 위한 시스템의 비제한적인 예는 미국 특허 제4,511,069호에 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.
- [0584] 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.
- [0585] 일부 구현예에서, 본 개시는 본 개시의 조성물을 함유하는 용액 및 폐, 점막, 또는 비강내 분무 또는 에어로졸용 액추에이터를 포함하는 약학적 산물이다.
- [0586] 본 개시의 조성물의 투여 형태는 액체, 액적 또는 유화액 형태, 또는 에어로졸 형태일 수 있다.
- [0587] 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.
- [0588] 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.
- [0589] 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 기준으로 측정 시, 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.
- [0590] 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, 폴리가리세린 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.
- [0591] 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.

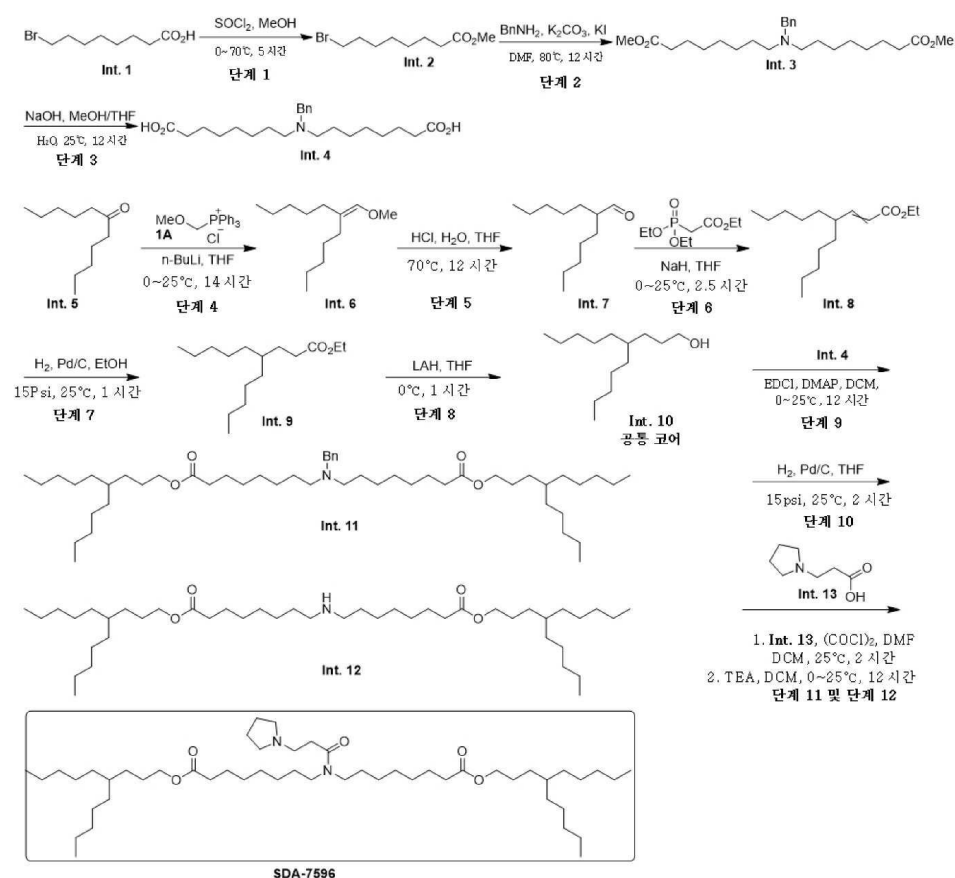
[0592] 본 개시의 조성물은 대안적으로 생리학적 조건에 근접하는 데 필요한 약학적으로 허용 가능한 담체 물질로서, 예컨대 pH 조절제 및 완충제, 등장성 조절제, 및 습윤제, 예를 들어, 아세트산나트륨, 젖산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트, 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 고형 조성물의 경우, 예를 들어, 약학적 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 스테아린산 마그네슘, 사카린 나트륨, 활석, 셀룰로오스, 글루코오스, 수크로오스, 탄산 마그네슘 등을 포함하는 종래의 비독성 약학적으로 허용 가능한 담체가 사용될 수 있다.

[0593] 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 생점착성 겔과 같은 제어 방출 비히클로 제조될 수 있다. 본 개시의 다양한 조성물에서, 활성제의 연장된 전달은 흡수를 지연시키는 조성물 제제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테레이트 하이드로겔 및 젤라틴을 포함함으로써 이루어질 수 있다.

[0594] 실시예:

[0595] 실시예 1: 다양한 이온화 가능 지질의 합성

[0596] 7596의 합성



[0597]

[0598] 단계 1:

[0599] MeOH(50mL) 중 8-브로모옥탄산(5.0g, 22.41mmol, 1당량)의 용액에 SOCl_2 (5.33g, 44.82mmol, 3.25mL, 2당량)를

0℃에서 적가한 다음, 혼합물을 70℃에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 메틸 8-브로모 옥타노에이트(4.5g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0600] **단계 2:**

[0601] DMF(10mL) 중 BnNH_2 (0.78g, 7.28mmol, 793.49 μL , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (5.03g, 36.40mmol, 5당량), KI(3.02g, 18.20mmol, 2.5당량) 및 DMF(4mL) 중 메틸 8-브로모옥타노에이트(3.5g, 14.76mmol, 2.03당량)의 용액을 첨가한 다음, 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O 에 붓고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 메틸 8-[벤질-(8-메톡시-8-옥소-옥틸)아미노]-옥타노에이트(2.6g, 6.20mmol, 85% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0602] **단계 3:**

[0603] THF(3mL) 및 MeOH(10mL) 중 메틸 8-[벤질-(8-메톡시-8-옥소-옥틸)아미노]-옥타노에이트(2.6g, 6.20mmol, 1당량)의 용액에 H_2O (5mL) 중 NaOH(845.87mg, 21.15mmol, 3.41당량)의 용액을 첨가한 다음, 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 H_2O 에 첨가하고 EtOAc로 추출하였다. 수성상을 1N HCl를 사용하여 pH 6~7로 조정한 다음 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 8-[벤질(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(2.0g, 5.11mmol, 82% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0604] **단계 4:**

[0605] THF(360mL) 중 메톡시메틸(트리페닐)포스포늄 염화물(24.16g, 70.47mmol, 3당량)의 용액에 n-BuLi(2.5M, 26.31mL, 2.8당량)를 0℃에서 적가하고, 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. THF(120mL) 중 운데칸-6-온(4.0g, 23.49mmol, 1당량)의 용액을 0℃에서 혼합물에 첨가한 다음, 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H_2O 에 붓고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 6-(메톡시메틸렌)운데칸(18.0g, 90.75mmol, 77% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0606] **단계 5:**

[0607] THF(72mL) 및 HCl(3M, 18.00mL, 5.95e-1당량) 수용액 중 6-(메톡시메틸렌)운데칸(18.0g, 90.75mmol, 1당량)의 용액을 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H_2O 에 붓고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 2-헵틸헵타날(15.0g, 81.38mmol, 90% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0608] **단계 6:**

[0609] THF(280mL) 중 NaH(3.95g, 98.74mmol, 7.05mL, 60% 순도, 1.3당량)의 용액에 에틸 2-디에톡시포스포릴아세테이트(22.14g, 98.74mmol, 19.59mL, 1.3당량)를 0℃에서 적가하고, 혼합물을 25℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. THF(70mL) 중 2-헵틸헵타날(14.0g, 75.96mmol, 1당량)의 용액을 0℃에서 혼합물에 첨가한 다음, 혼합물을 25℃로 가온시키고 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H_2O 에 붓고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 에틸 4-헵틸논-2-에노에이트(16.0g, 62.89mmol, 83% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

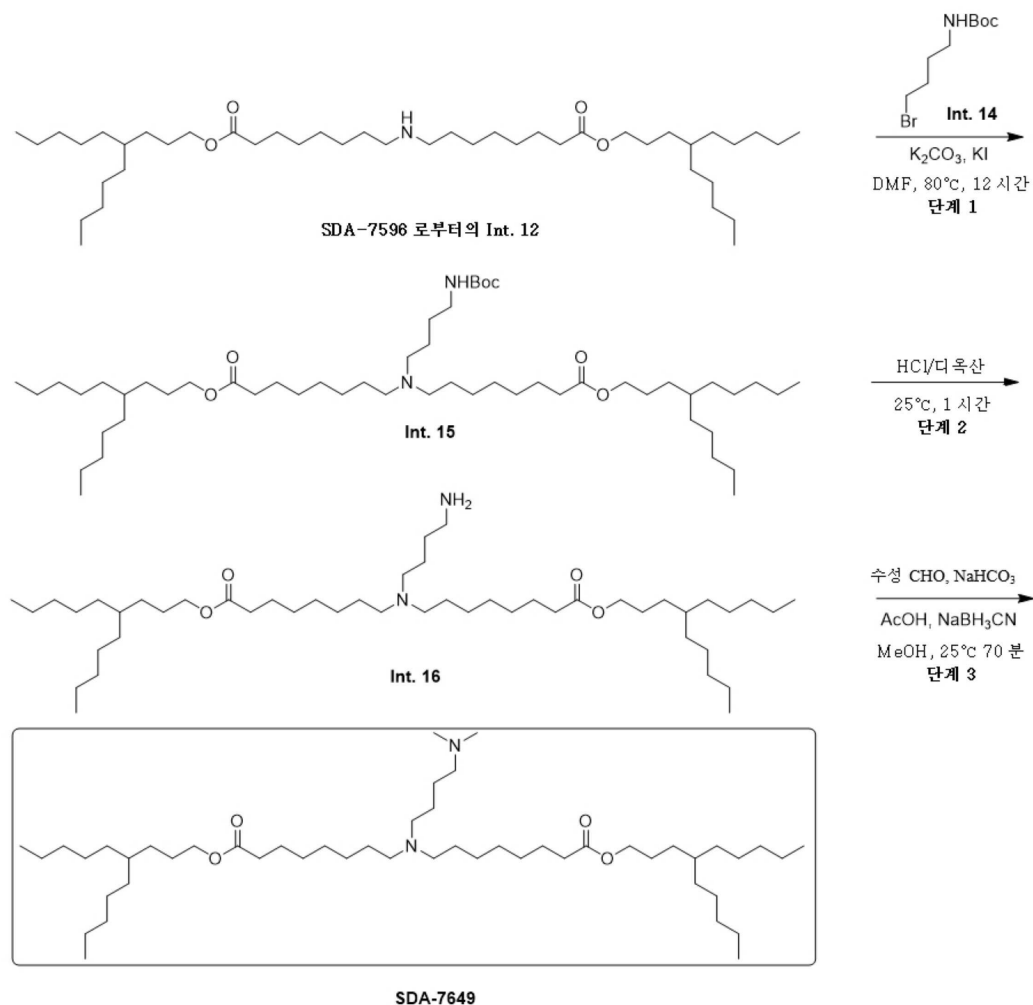
[0610] **단계 7:**

[0611] EtOH(100mL) 중 Pd/C(2.5g, 10% 순도) 및 에틸 4-헵틸논-2-에노에이트(5.0g, 19.65mmol, 1당량)의 용액을 H_2 (15Psi) 하에 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 에틸 4-헵틸노나노에이트(15.0g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0612] **단계 8:**

- [0613] THF(50mL) 중 LAH(1.48g, 39.00mmol, 7.05mL, 2당량)의 용액에 THF(10mL) 중 에틸 4-펜틸노나노에이트(5.0g, 19.50mmol, 1당량)의 용액을 0℃에서 첨가하고 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H₂O에 붓고, 혼합물을 여과하고, 여액을 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노난-1-올(10.0g, 46.64mmol, 80% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.
- [0614] **단계 9:**
- [0615] DCM(10mL) 중 4-펜틸노난-1-올(1.15g, 5.36mmol, 2.1당량) 및 8-[벤질(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(1.0g, 2.55mmol, 1당량)의 용액에 DMAP(156.01mg, 1.28mmol, 0.5당량) 및 EDCI(1.47g, 7.66mmol, 3당량)를 0℃에서 첨가한 다음, 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H₂O에 첨가하고 DCM으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[벤질-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(1.5g, 1.91mmol, 75% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0616] **단계 10:**
- [0617] THF(20mL) 중 Pd/C(200mg, 637.52 μmol, 10% 순도, 1당량) 및 4-펜틸노닐 8-[벤질-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(500mg, 637.52 μmol, 1당량)의 용액을 H₂(15Psi) 하에 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(900mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0618] **단계 11:**
- [0619] DCM(5mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(100mg, 698.41 μmol, 1당량)의 용액에 (COCl)₂(443.24mg, 3.49mmol, 305.69 μL, 5당량) 및 DMF(5.10mg, 69.84 μmol, 5.37 μL, 0.1당량)를 첨가하고, 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(112mg, 미정제)를 황색 고형분으로서 수득하였다. 미정제물을 직접 사용하였다.
- [0620] **단계 12:**
- [0621] DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 144.06 μmol, 1당량)의 용액에 TEA(43.73mg, 432.18 μmol, 60.15 μL, 3당량) 및 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(114.15mg, 576.24 μmol, 4당량, HCl)을 0℃에서 첨가하고, 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]옥타노에이트(87mg, 101.94 μmol, 71% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0622] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.03-4.07 (m, 4H), 3.15-3.40 (m, 4H), 2.85 (brs, 2H), 2.59 (brs, 6H), 2.27-2.33 (m, 4H), 1.82(s, 4H), 1.48-1.62(m, 12 H), 1.24-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)
- [0623] [M+H]⁺: 819.6

[0624] 7649의 합성



[0625]

[0626] 단계 1:

[0627] DMF(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 216.09 μ mol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(149.33mg, 1.08mmol, 40.10 μ L, 5당량) 및 KI(71.74mg, 432.18 μ mol, 2당량)를 첨가한 다음, DMF(2mL) 중 tert-부틸 N-(4-브로모부틸)카바메이트(217.94mg, 864.35 μ mol, 177.19 μ L, 4당량)의 용액을 혼합물에 첨가하고, 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(120mg, 138.66 μ mol, 64% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0628] 단계 2:

[0629] HCl/디옥산(4M, 6.00mL, 173.08당량) 중 4-펜틸노닐 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(120mg, 138.66 μ mol, 1당량)의 용액을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[4-아미노부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(110mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0630] 단계 3:

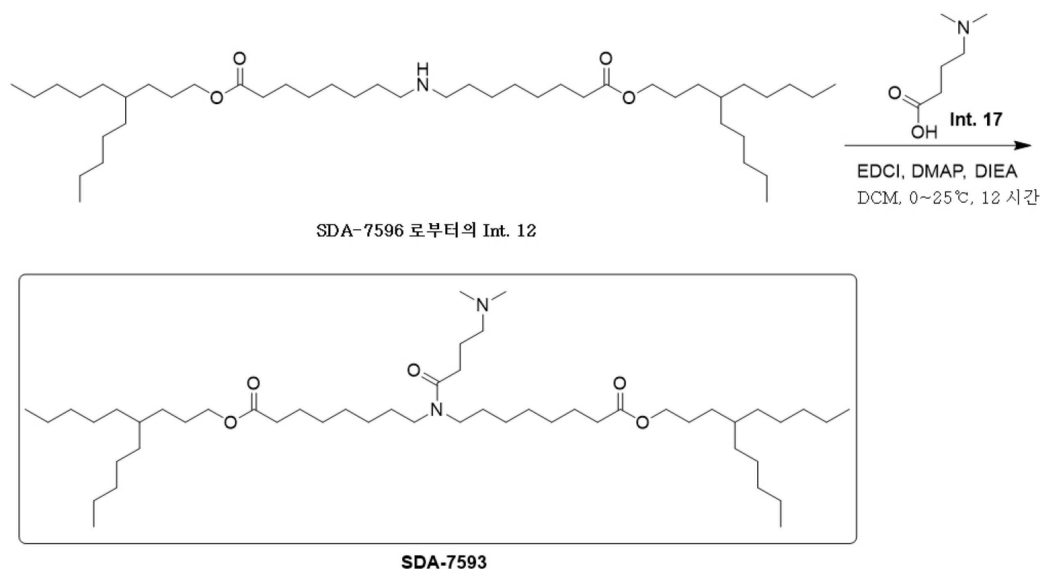
[0631] MeOH(10mL) 중 4-펜틸노닐 8-[4-아미노부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(110mg, 137.20 μ mol, 1당량, HCl) 및 포름알데히드(1.30g, 15.97mmol, 1.19mL, 37% 순도, 116.42당량)의 용액에 NaHCO₃(34.58mg, 411.60 μ mol, 16.01 μ L, 3당량)를 첨가하고, 25°C에서 10분 동안 교반한 다음, AcOH(247.17mg, 4.12mmol, 235.40 μ L, 30당량) 및 NaBH₃CN(25.87mg, 411.60 μ mol, 3당량)을 혼합물에 첨가하고 25°C에서 1시간

동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO_3 으로 켄칭하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[4-(디메틸아미노)부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(87mg, 109.66 μmol , 80% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0632] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.58-2.62 (m, 6H), 2.38 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.28-2.31 (m, 10H), 1.56-1.63 (m, 16H), 1.24-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H)

[0633] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 793.6

[0634] 7593의 합성



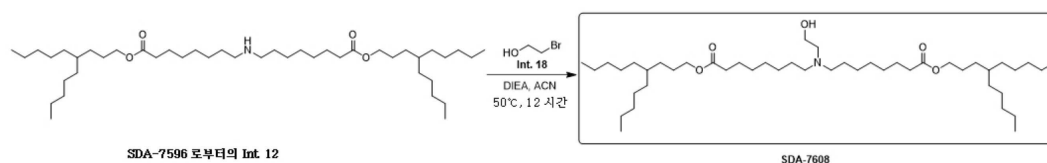
[0635]

[0636] DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(160mg, 230.49 μmol , 1당량) 및 4-(디메틸아미노)부탄산(60.47mg, 360.72 μmol , 1.56당량, HCl)의 용액에 DMAP(28.16mg, 230.49 μmol , 1당량), DIEA(59.58mg, 460.99 μmol , 80.30uL, 2당량) 및 EDCI(132.56mg, 691.48 μmol , 3당량)를 0°C에서 첨가하고 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC로 정제하고, 포화 NaHCO_3 으로 탈염하고, EtOAc로 추출하고, 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[4-(디메틸아미노)부타노일-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(21mg, 26.01 μmol , 11% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0637] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.27 (t, J=8.0 Hz, 2H), 3.20 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.26-2.37 (m, 14H), 1.81-1.87 (m, 2H), 1.57-1.67 (m, 8H), 1.48-1.53 (m, 4H), 1.24-1.31(m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0638] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 807.6

[0639] 7608의 합성



[0640]

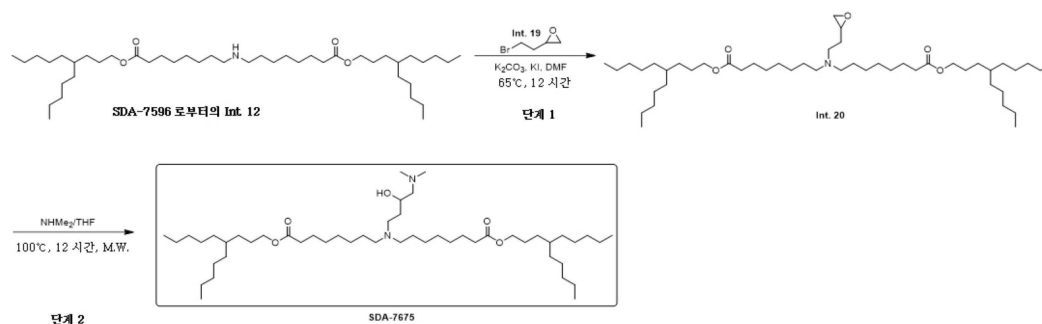
[0641] ACN(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(250mg, 360.15 μmol , 1당량)의 용액에 DIEA(93.09mg, 720.29 μmol , 125.46uL, 2당량) 및 2-브로모에탄올(90.01mg, 720.29 μmol , 51.14 μL , 2당량)을 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 에 붓고 EtOAc로 추출하였

다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC로 정제하였다. 화합물을 NaHCO_3 포화 용액으로 탈염시키고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[2-하이드록시에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(40mg, $54.18 \mu\text{mol}$, 15% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0642] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, $J=6.8$ Hz 4H), 3.55 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J=5.2$ Hz, 2H), 2.46 (t, $J=7.2$ Hz, 4H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 1.57-1.64 (m, 9H), 1.40-1.50 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H)

[0643] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 738.7

[0644] 7675의 합성



[0645]

[0646] 단계 1:

[0647] DMF(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(500mg, $720.29 \mu\text{mol}$, 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (497.76mg, 3.60mmol , $40.10 \mu\text{L}$, 5당량), KI(239.14mg, 1.44mmol , 2당량) 및 2-(2-브로모에틸)옥시란(435.06mg, 2.88mmol , $58.49 \mu\text{L}$, 4당량)을 첨가하였다. 혼합물을 65°C 에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O 에 붓고, EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[2-(옥시란-2-일)에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(400mg, $523.39 \mu\text{mol}$, 73% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

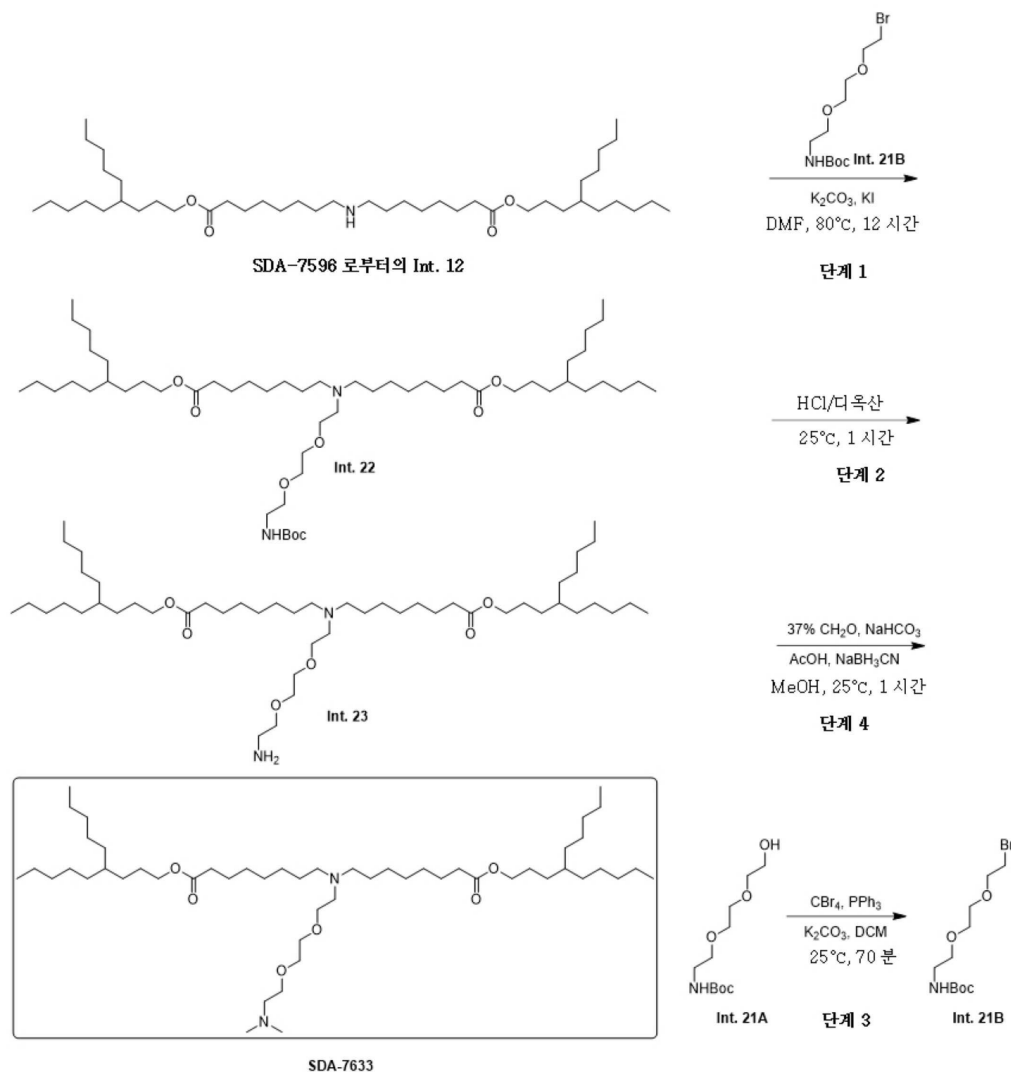
[0648] 단계 2:

[0649] THF 중 Me_2NH (2M, 20.00mL) 중 4-펜틸노닐 8-[2-(옥시란-2-일)에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(200mg, $261.69 \mu\text{mol}$, 1당량)의 용액을 마이크로파 하에 100°C 에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 분취-HPLC로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(52mg, $64.25 \mu\text{mol}$, 26% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0650] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.06 (t, $J=6.8$ Hz 4H), 3.82-3.88 (m, 1H), 2.50-2.75(m, 4H), 2.20-2.45 (m, 14H), 1.55-1.68 (m, 10H), 1.43-1.52 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H)

[0651] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 809.6

[0652] 7633의 합성



[0653]

[0654] 단계 1:

[0655] DMF(10mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 432.18 μ mol, 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (298.65mg, 2.16mmol, 40.10 μ L, 5당량), KI(143.48mg, 864.35 μ mol, 2당량) 및 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(674.63mg, 2.16mmol, 5당량)를 첨가하고, 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 물(10 mL)로 켄칭하고 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(350mg, 378.19 μ mol, 88% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0656]

[0657] 단계 2: HCl/디옥산(4M, 6.00mL, 74.04당량) 중 4-펜틸노닐 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 324.17 μ mol, 1당량)의 용액을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸]-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0658]

[0659] 단계 3: DCM(20mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(2.0g, 8.02mmol, 1당량)의 용액에 CBr₄(3.46g, 10.43mmol, 1.3당량) 및 K_2CO_3 (1.44g, 10.43mmol, 1.3당량)을 첨가한 다음, DCM(40mL) 중

PPh_3 (3.37g, 12.84mmol, 1.6당량)의 용액을 첨가하고, 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(1.2g, 3.84mmol, 48% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

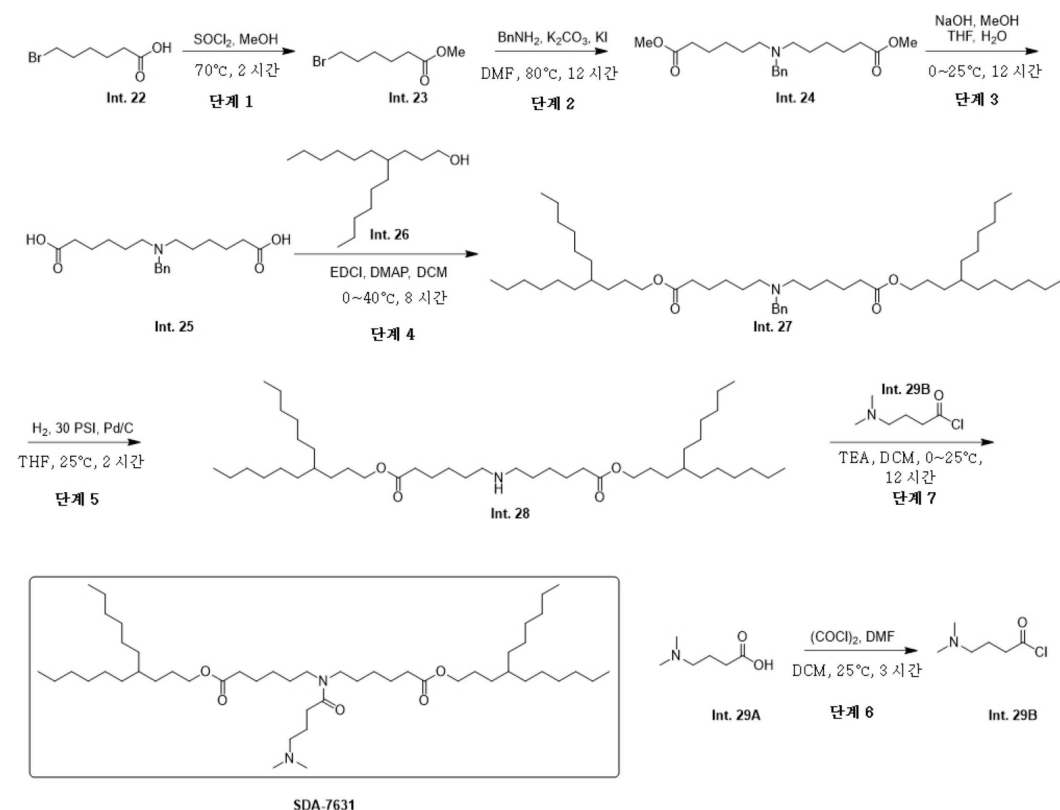
[0660] 단계 4:

MeOH(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 348.11 μmol , 1당량, HCl) 및 포름알데히드(2.81g, 34.62mmol, 2.58mL, 37% 순도, 99.44당량)의 용액에 NaHCO_3 (87.73mg, 1.04mmol, 40.62 μL , 3당량)을 첨가한 다음, 25℃에서 10분 동안 교반하고, AcOH(627.14mg, 10.44mmol, 597.28 μL , 30당량) 및 NaBH_3CN (65.63mg, 1.04mmol, 3당량)을 혼합물에 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO_3 으로 켄칭하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(104mg, 121.87 μmol , 35% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.50-3.61 (m, 8H), 2.67 (t, J=3.2 Hz, 2H), 2.53 (t, J=5.6 Hz, 2H), 2.44-2.48 (m, 4H), 2.27-2.32 (m, 10H), 1.55-1.64 (m, 8H), 1.40-1.47 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

$[\text{M}+\text{H}]^+$: 853.6

[0664] 7631의 합성



[0666] 단계 1:

MeOH(200mL) 중 6-브로모헥사논산(10.0g, 51.27mmol, 1당량)의 용액에 SOCl_2 (12.20g, 102.54mmol, 7.44mL, 2당량)를 첨가하였다. 혼합물을 70℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고, 석유 에테르로 세척하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 EtOAc 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 메틸 6-브로모헥사노에이트(10.0g, 47.83mmol, 93% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0668] 단계 2:

[0669] DMF(50mL) 중 BnNH_2 (1.28g, 11.96mmol, 1.30mL, 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (8.26g, 59.79mmol, 5당량) 및 KI(4.96g, 29.89mmol, 2.5당량)를 첨가한 다음, DMF(20mL) 중 메틸 6-브로모헥사노에이트(5g, 23.91mmol, 2당량)의 용액을 혼합물에 첨가하고 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 EtOAc 200mL로 희석하고 물과 염수로 세척하였다. 합한 유기층을 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 메틸 6-[벤질-(6-메톡시-6-옥소-헥실)아미노]헥사노에이트(8.5g, 23.38mmol, 98% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0670] 단계 3:

[0671] MeOH(20mL) 중 메틸 6-[벤질-(6-메톡시-6-옥소-헥실)아미노]헥사노에이트(5.0g, 13.76mmol, 1당량)의 용액에 THF(6mL)를 H_2O (10mL) 중 NaOH(1.88g, 46.91mmol, 3.41당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 수성상을 1M HCl 수용액으로 pH 7로 조정 한 후 동결 건조시켰다. 미정제 생성물을 EtOH로 25℃에서 2시간 동안 분쇄한 다음, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 6-[벤질-(5-카르복시헥틸)아미노]헥사논산(4.5g, 13.42mmol, 98% 수율)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0672] 단계 4:

[0673] DCM(10mL) 중 6-[벤질-(5-카르복시헥틸)아미노]헥사논산(1.0g, 2.98mmol, 1당량)의 혼합물을 DMAP(182.10mg, 1.49mmol, 0.5당량), 4-헥실테칸-1-올(1.48g, 6.11mmol, 2.05당량), EDCI(1.71g, 8.94mmol, 3당량)를 0℃에서 첨가하고, 탈기하고, N_2 로 퍼징하였다. 혼합물을 N_2 분위기 하에 40℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실테실 6-[벤질-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.96g, 1.22mmol, 41% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0674] 단계 5:

[0675] THF(50mL) 중 4-헥실테실 6-[벤질-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(960mg, 1.22mmol, 1당량) 및 Pd/C(0.6g, 1.22mmol, 10% 순도, 1.00당량)의 용액을 H_2 (30psi) 하에 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에 제거하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실테실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(650mg, 936.38 μmol , 77% 수율)를 갈색 오일로서 수득하였다.

[0676] 단계 6:

[0677] DCM(5mL) 중 4-(디메틸아미노)부탄산염산염(0.4g, 2.39mmol, 1당량) 및 옥살릴 이염화물(1.77g, 13.97mmol, 1.22mL, 5당량)의 용액에 2방울의 DMF(20.42mg, 279.36 μmol , 21.49 μL , 0.1당량)를 첨가하고, N_2 분위기 하에 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(0.4g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

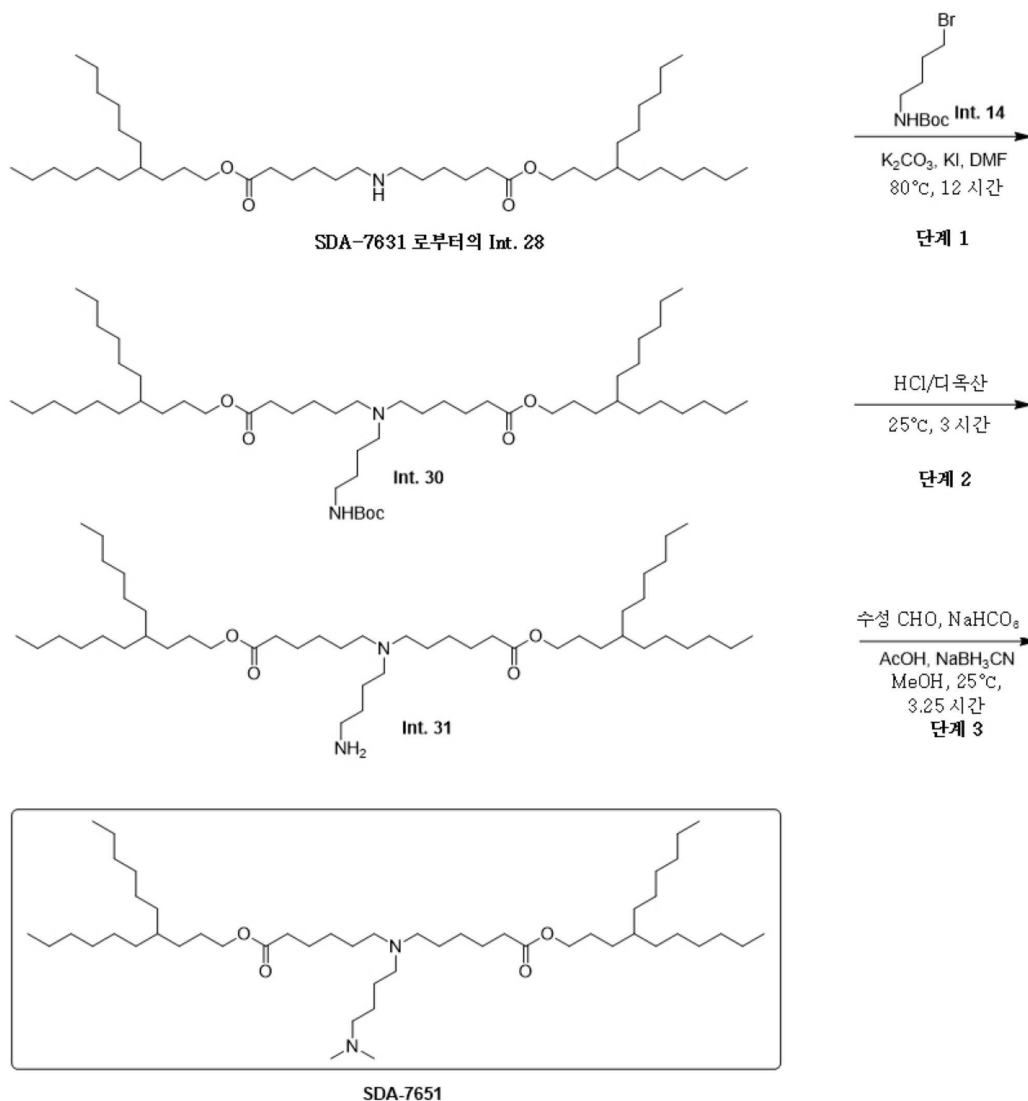
[0678] 단계 7:

[0679] DCM(3mL) 중 4-헥실테실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.4g, 576.23 μmol , 1당량), 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(344.86mg, 2.30mmol, 4당량)의 용액에 TEA(174.93mg, 1.73mmol, 240.61 μL , 3당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실테실 6-[4-(디메틸아미노)부타노일-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(174mg, 215.53 μmol , 37% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0680] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.01-4.07 (m, 4H), 3.20-3.31 (m, 4H), 2.28-2.35 (m, 8H), 2.24 (s, 6H), 1.80-1.84 (m, 2H), 1.57-1.70 (m, 12H), 1.24-1.34 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0681] $[M+H]^+$: 807.6

[0682] 7651의 합성



[0683]

[0684] 단계 1:

[0685] DMF(3mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.3g, 432.18 μ mol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(298.65mg, 2.16mmol, 5당량) 및 KI(143.48mg, 864.35 μ mol, 2당량), tert-부틸 N-(4-브로모부틸)카바메이트(435.89mg, 1.73mmol, 354.38 μ L, 4당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 6-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.25g, 288.88 μ mol, 67% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0686] 단계 2:

[0687] HCl/디옥산(4M, 4.00mL, 69.23당량) 중 4-헥실데실 6-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.2g, 231.11 μ mol, 1당량)의 용액을 N₂ 분위기 하에 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-헥실데실 6-[4-아미노부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.1g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0688] 단계 3:

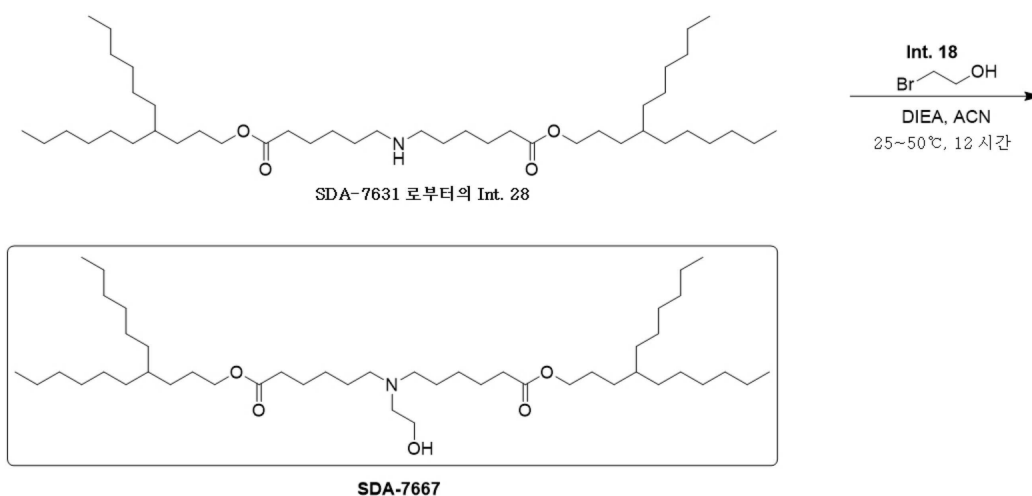
[0689] MeOH(2mL) 중 4-헥실데실 6-[4-아미노부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.1g, 130.67

μmol , 1당량), 포름알데히드(1.09g, 36.30mmol, 1.00mL, 277.81당량)의 용액에 NaHCO_3 (32.93mg, 392.01 μmol , 15.25uL, 3당량)을 25℃에서 첨가하고, 25℃에서 15분 동안 교반한 다음, AcOH(235.41mg, 3.92mmol, 224.20uL, 30당량) 및 NaBH_3CN (24.63mg, 392.01 μmol , 3당량)을 혼합물에 25℃에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 6-[4-(디메틸아미노)부틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(38mg, 47.90 μmol , 37% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0690] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.35-2.49 (m, 6H), 2.28-2.32 (m, 6H), 2.23 (s, 6H), 1.55-1.65(m, 8H), 1.43-1.45 (m, 8H), 1.24-1.30 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0691] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 793.6

[0692] 7667의 합성



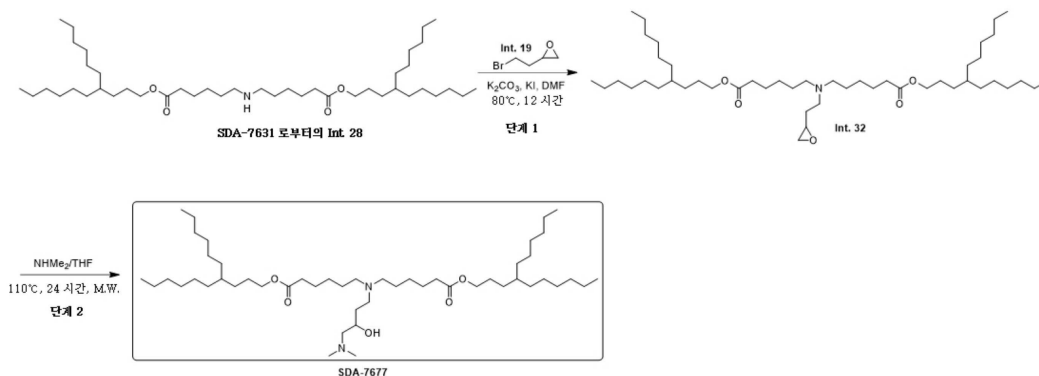
[0693]

[0694] ACN(3mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.2g, 288.12 μmol , 1당량)의 용액에 DIEA(74.47mg, 576.23 μmol , 100.37 μL , 2당량), 2-브로모에탄올(72.01mg, 576.23 μmol , 40.91 μL , 2당량)을 25℃에서 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 화합물 4-헥실데실6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]-(2-하이드록시에틸)아미노]헥사노에이트(28mg, 37.93 μmol , 13% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0695] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz 4H), 3.54 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.59 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.47 (t, J=7.6 Hz, 4H), 2.3 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.66-1.70 (m, 4H), 1.55-1.57 (m, 4H), 1.43-1.49 (m, 4H), 1.24-1.33 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0696] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 738.5

[0697] 7677의 합성



[0698]

[0699] 단계 1:

[0700] DMF(10mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(1g, 1.44mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(995.52mg, 7.20mmol, 5당량) 및 KI(478.27mg, 2.88mmol, 2당량), 2-(2-브로모에틸)옥시란(870.12mg, 5.76mmol, 354.38 μ L, 4당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. TLC는 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트가 완전히 소모되고 하나의 새로운 스팟이 형성되었음을 나타낸다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥사노에이트(0.5g, 654.23 μ mol, 45% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

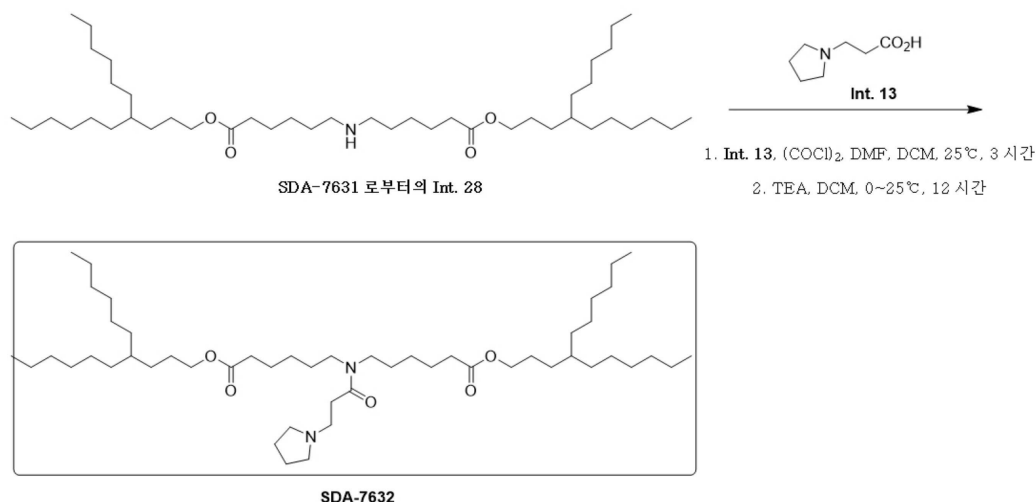
[0701] 단계 2:

[0702] Me₂NH(1M, 261.69 μ L, 1당량) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥사노에이트(0.2g, 261.69 μ mol, 1당량)의 혼합물을 마이크로 튜브에 넣었다. 밀봉된 튜브를 마이크로파 하에 110°C에서 24시간 동안 가열하였다. TLC는 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥사노에이트가 남아 있으며 새로운 스팟이 형성되었음을 나타낸다. 합한 유기상을 EtOAc로 희석하고, 물과 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(42mg, 51.89 μ mol, 20% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0703] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05 (t, J=6.8 Hz 4H), 3.65-3.88 (m, 1H), 2.25-2.61 (m, 18H), 1.52-1.70 (m, 10H), 1.42-1.50 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0704] [M+H]⁺: 809.6

[0705] 7632의 합성



[0706]

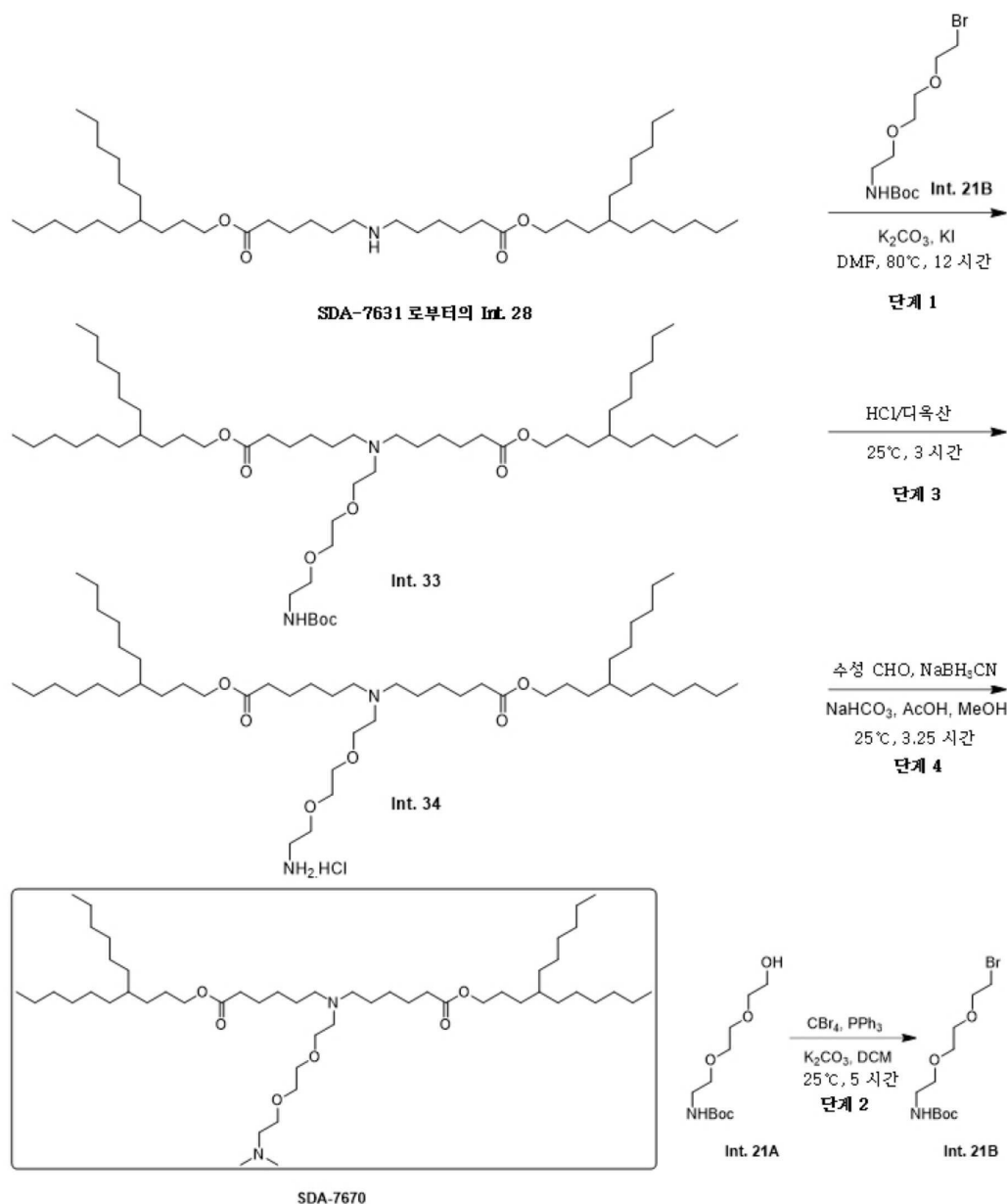
[0707] DCM(5mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(0.4g, 2.79mmol, 1당량) 및 옥살릴 이염화물(1.77g, 13.97mmol, 1.22mL, 5당량)의 용액에 2 방울의 DMF(20.42mg, 279.36 μ mol, 21.49 μ L, 0.1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(0.5g, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다. 미정제물을 직접 사용하였다.

[0708] DCM(3mL) 중 4-헥실테실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.4g, 576.23 μ mol, 1당량), 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(372.54mg, 2.30mmol, 4당량)의 용액에 TEA(174.93mg, 1.73mmol, 240.61 μ L, 3당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실테실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]헥사노에이트(190mg, 231.90 μ mol, 40% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0709] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.97-4.08 (m, 4H), 3.21-3.31 (m, 4H), 2.89 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.52-2.65 (m, 6H), 2.25-2.35 (m, 4H), 1.93 (brs, 4H), 1.52-1.67 (m, 12H), 1.15-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 12H)

[0710] [M+H]⁺: 819.6

[0711] 7670의 합성



[0712]

[0713] 단계 1:

[0714] DMF(3mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(1.0g, 1.44mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(995.52mg, 7.20mmol, 5당량) 및 KI(478.28mg, 2.88mmol, 2당량), tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(1.80g, 5.76mmol, 354.38 μ L, 4당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 6-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트 (0.5g, 540.28 μ mol, 38% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0715] 단계 2:

[0716] DCM(50mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(1.0g, 4.01mmol, 1당량)의 용액에 DCM(10mL) 중 사브롬화탄소(1.73g, 5.21mmol, 1.3당량), K₂CO₃(720.68mg, 5.21mmol, 1.3당량) 및 PPh₃(1.68g, 6.42mmol, 1.6당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 tert-부틸 N-

[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(2.6g, 8.33mmol, 42% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0717] 단계 3:

HCl/디옥산(4M, 9.35mL, 69.23당량) 중 4-헥실데실 6-[2-[2-(2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시)에톡시]에틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.5g, 540.28 μ mol, 1당량)의 용액을 N₂ 분위기 하에 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 4-헥실데실 6-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.55g, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다.

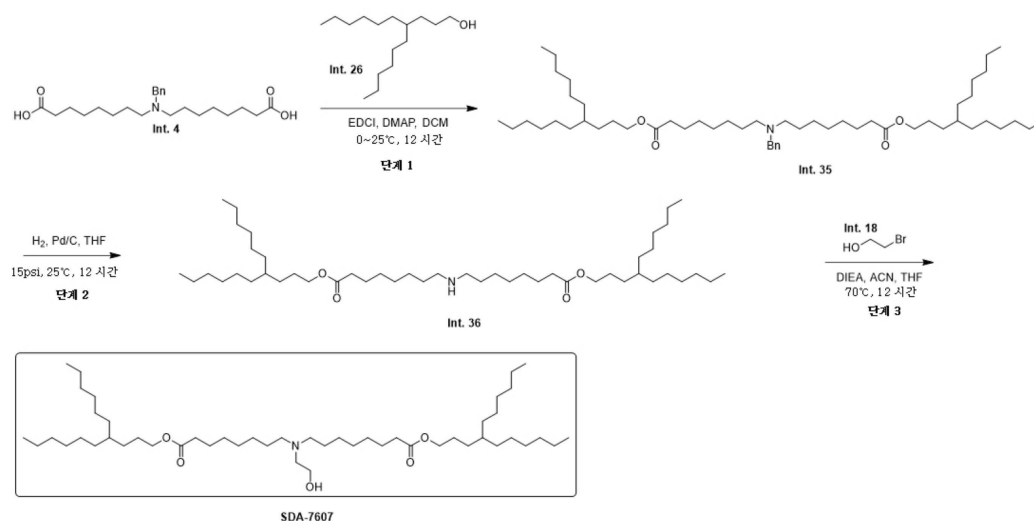
[0719] 단계 4:

MeOH(10mL) 중 4-헥실데실 6-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.55g, 638.20 μ mol, 1당량, HCl), 포름알데히드(5.45g, 67.16mmol, 5mL, 37% 순도, 105.23당량)의 용액에 NaHCO₃(160.85mg, 1.91mmol, 74.47 μ L, 3 당량)을 25℃에서 첨가하고, 25℃에서 15분 동안 교반한 다음, AcOH(1.16g, 19.23mmol, 1.10mL, 30.14당량), NaBH₃CN(120.31mg, 1.91mmol, 3당량)을 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 6-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(227mg, 266.00 μ mol, 42% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.04 (t, J=7.2 Hz, 4H), 3.61(s, 4H), 3.58 (t, J=6.4 Hz, 2H), 3.53 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.65 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.52 (t, J=5.6 Hz, 2H), 2.45 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 4H), 2.27 (s, 6H), 1.55-1.69 (m, 8H), 1.40-1.49 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 12H)

[M+H]⁺: 853.7

[0723] 7607의 합성



[0725] 단계 1:

DCM(20mL) 중 8-[벤질(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(1.7g, 4.34mmol, 1 당량)의 용액에 DMAP(265.21mg, 2.17mmol, 0.5당량), 4-헥실데칸-1-올(2.16g, 8.90mmol, 2.05당량) 및 EDCI(2.50g, 13.02mmol, 3당량)를 0℃에서 첨가하고, N₂ 분위기 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여

4-헥실데실 8-[벤질-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(2.9g, 3.45mmol, 80% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0728] 단계 2:

[0729] THF(30mL) 중 Pd/C(1.0g, 1.78mmol, 10% 순도, 1당량)의 용액에 4-헥실데실 8-[벤질-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(1.5g, 1.78mmol, 1당량)를 첨가하고, H₂(15psi) 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여액을 감압 하에 제거하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(700mg, 933.00 μmol, 52% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

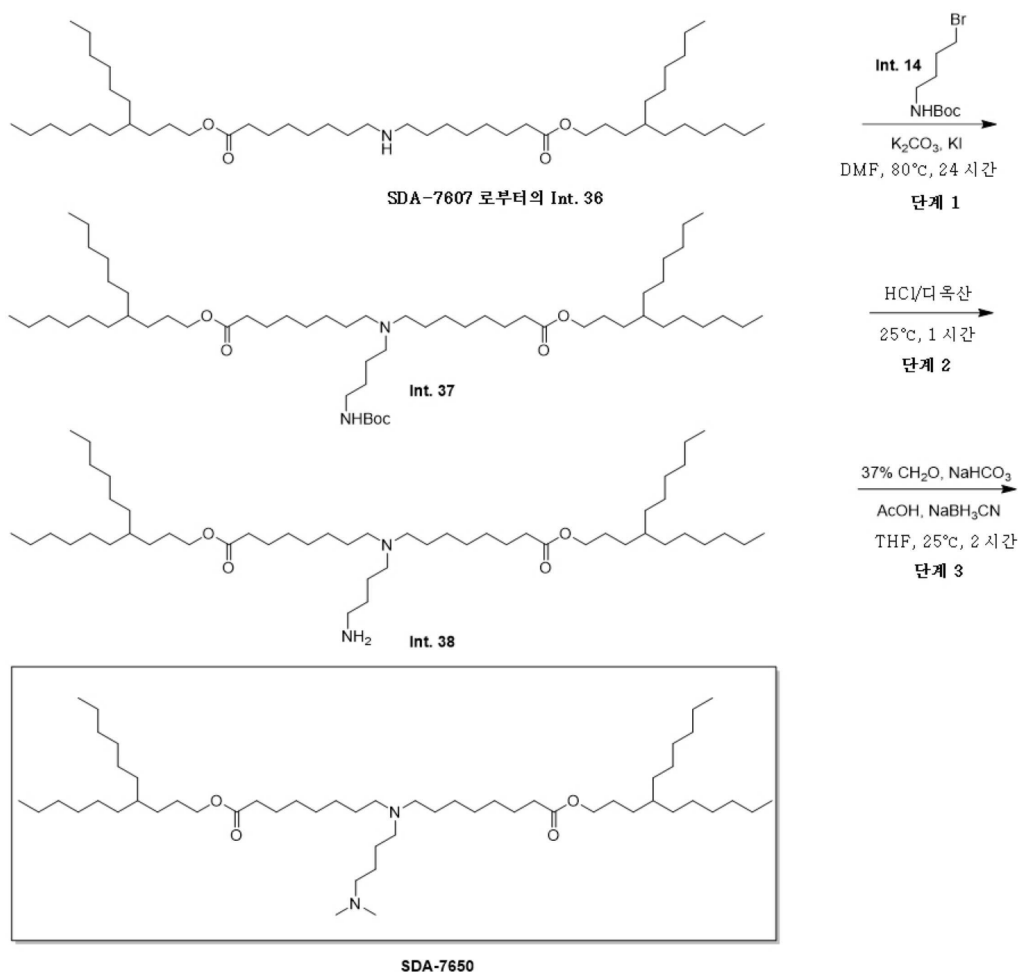
[0730] 단계 3:

[0731] ACN(0.5mL) 및 THF(1mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 199.93 μmol, 1당량)의 용액에 DIEA(51.68mg, 399.86 μmol, 69.65 μL, 2당량)를 첨가한 다음, THF(0.5mL) 중 2-브로모모에탄올(64.55mg, 399.86 μmol, 36.67 μL, 2당량, HCl)의 용액을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 석유 에테르로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-(2-하이드록시에틸)아미노]옥타노에이트(60mg, 75.15 μmol, 38% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0732] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.53 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.58 (t, J=4.8 Hz, 2H), 2.45 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.29 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.5-1.62 (m, 8H), 1.42-1.45 (m, 4H), 1.24-1.30 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0733] [M+H]⁺: 794.6

[0734] 7650의 합성



[0735]

[0736] 단계 1:

[0737] DMF(5mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 199.93 μmol , 1당량)의 용액에 DMF(2mL) 중 K_2CO_3 (138.16mg, 999.64 μmol , 5당량), KI(66.38mg, 399.86 μmol , 2당량) 및 tert-부틸 N-(4-브로모부틸)카바메이트(252.06mg, 999.64 μmol , 204.93 μL , 5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(140mg, 151.93 μmol , 76% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0738] 단계 2:

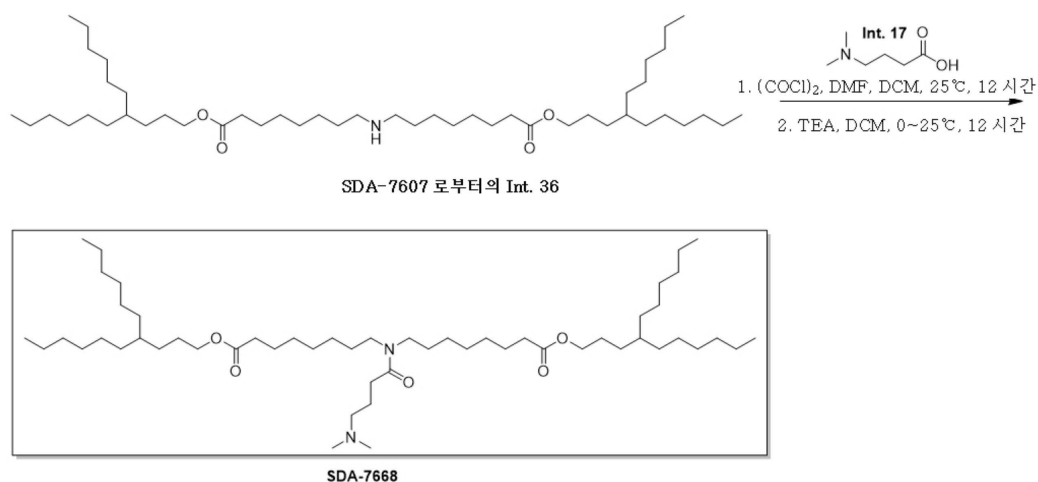
[0739] HCl/디옥산(4M, 4.70mL, 173.08당량) 중 4-헥실데실 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 108.52 μmol , 1당량)의 용액을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-헥실데실 8-[4-아미노부틸-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(90mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0740] 단계 3:

[0741] MeOH(5mL) 중 4-헥실데실 8-[4-아미노부틸-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(125mg, 145.71 μmol , 1당량, HCl) 및 포름알데히드(509.36mg, 16.96mmol, 467.30 μL , 116.42당량)의 용액에 NaHCO_3 (36.72mg, 437.14 μmol , 17.00 μL , 3당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 10분 동안 교반한 다음, AcOH(262.51mg, 4.37mmol, 250.01 μL , 30당량) 및 NaBH_3CN (27.47mg, 437.14 μmol , 3당량)을 혼합물에 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과한 다음, 수성 NaHCO_3 으로 희석하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[4-(디메틸아미노)부틸-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(24mg, 28.25 μmol , 19% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0742] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.49-2.55 (m, 6H), 2.31-2.37 (m, 2H), 2.28-2.30 (m, 10H), 1.53-1.64 (m, 16H), 1.24-1.32 (m, 58H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H)

[0743] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 849.6

[0744] 7668의 합성

[0745]

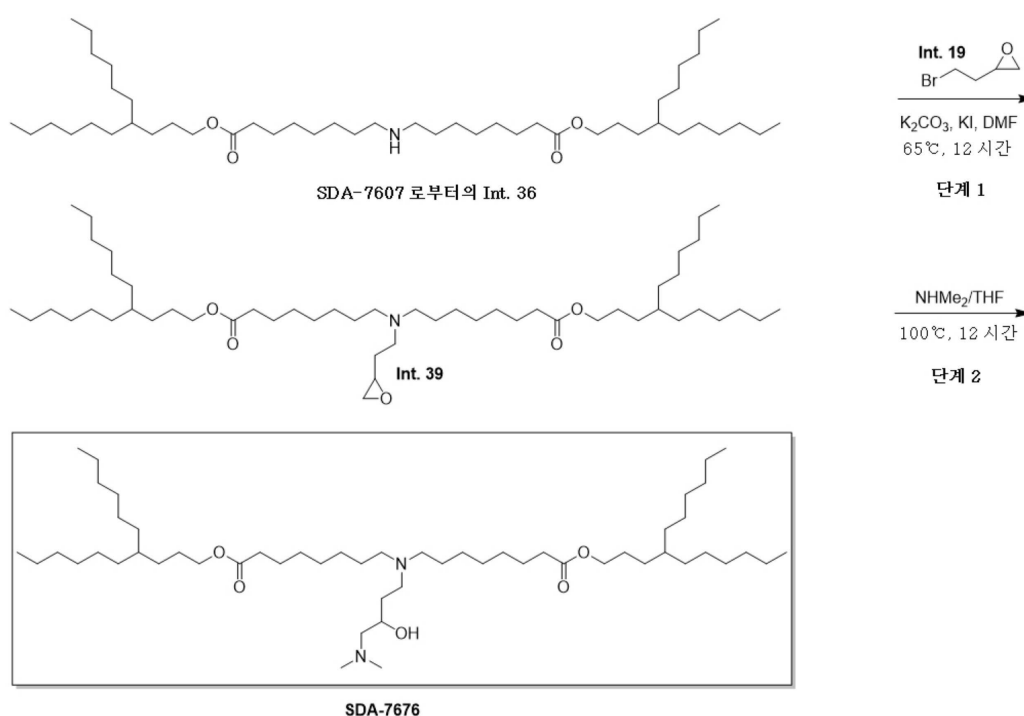
[0746] DCM(5mL) 중 4-(디메틸아미노)부탄산(100mg, 596.54 μmol , 1당량, HCl)의 용액에 옥살릴 이염화물(227.15mg, 1.79mmol, 156.65 μL , 3당량) 및 DMF(1mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(110mg, 미정제, HCl)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0747] 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(49.60mg, 266.57 μmol , 2당량, HCl)를 0℃에서 DCM(2mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 133.29 μmol , 1당량) 및 TEA(40.46mg, 399.86 μmol , 55.66 μL , 3당량)의 용액에 적가하고 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(36mg, 41.11 μmol , 31% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0748] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.02-4.06 (m, 4H), 3.28 (t, J=7.6 Hz, 2H), 3.20 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.30-2.34 (m, 8H), 2.24 (s, 6H), 1.79-1.86 (m, 2H), 1.61-1.62 (m, 8H), 1.48-1.52(m, 4H), 1.24-1.31 (m, 58 H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)

[0749] [M+H]⁺: 863.7

[0750] 7676의 합성



[0751]

[0752] 단계 1:

[0753] DMF(2mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(400mg, 533.14 μmol , 1당량)의 용액에 K₂CO₃(368.42mg, 2.67mmol, 5당량) 및 KI(177.01mg, 1.07mmol, 2당량)를 첨가한 다음, 2-(2-브로모에틸)옥시란(322.02mg, 2.13mmol, 4당량)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 65℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 H₂O에 첨가하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]옥타노에이트(140mg, 170.66 μmol , 32% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0754] 단계 2:

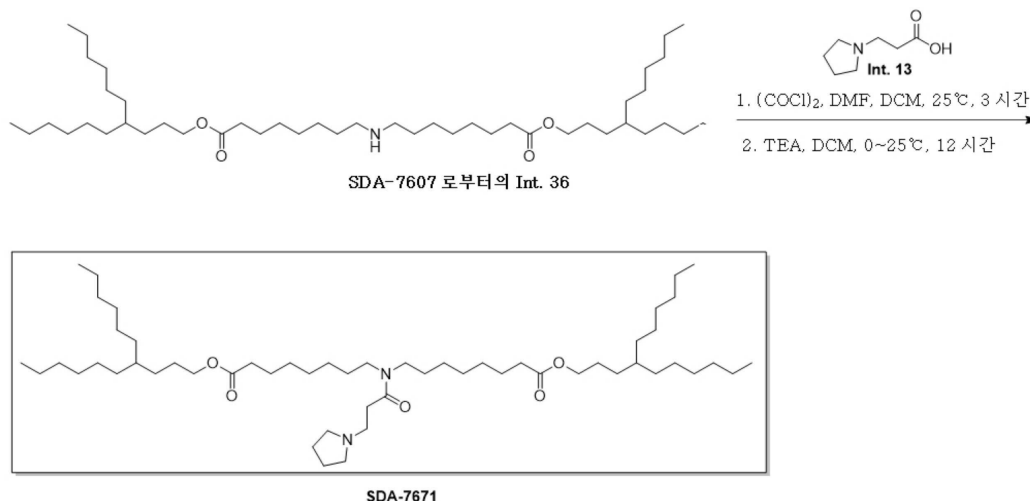
[0755] N-메틸메탄아민(5.48g, 121.48mmol, 6.15mL, 996.61당량, THF 2M 용액) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 121.90 μmol , 1당량)의 용액을 100℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 NaHCO₃으로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC로 정제하여

4-헥실데실 8-[[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트 (30mg, 34.66 μ mol, 28% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0756] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, $J=6.4$ Hz, 4H), 3.82-3.88 (m, 1H), 2.48-2.70 (m, 4H), 2.25-2.45 (m, 14H), 1.52-1.72 (m, 10H), 1.40-1.50 (m, 4H), 1.18-1.35 (m, 58H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H)

[0757] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 865.7

[0758] 7671의 합성



[0759]

[0760] 단계 1:

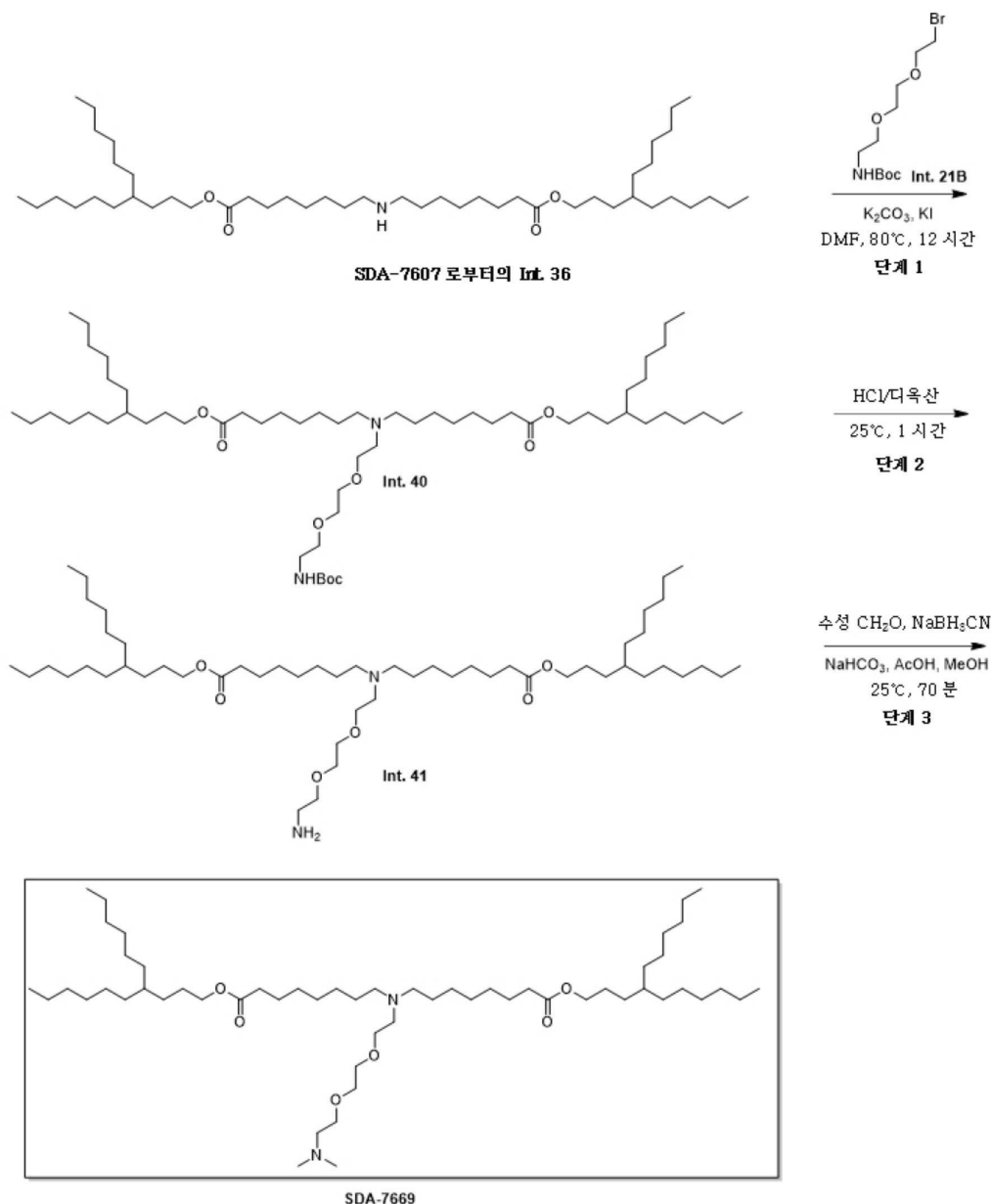
[0761] DCM(15mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(450mg, 3.14mmol, 1당량)의 용액에 $(\text{COCl})_2$ (1.20g, 9.43mmol, 825.32 μ L, 3당량) 및 DMF(3mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(600mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0762] DCM(4mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(396.04mg, 2.00mmol, 5당량, HCl)를 0°C에서 DCM(3mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 399.86 μ mol, 1당량) 및 TEA(121.38mg, 1.20mmol, 166.96 μ L, 3당량)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC로 정제한 다음, 감압 하에 농축시켜 ACN을 제거한 다음, 수성 NaHCO_3 으로 pH 8로 조정하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-[3-피롤리딘-1-일프로판노일]아미노]옥타노에이트(116mg, 128.53 μ mol, 32% 수율)를 투명한 무색 오일로서 수득하였다.

[0763] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.02-4.06 (m, 4H), 3.28 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 3.21 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.86 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.48-2.68 (m, 6H), 2.27-2.32 (m, 4H), 1.82(brs, 4H), 1.57-1.65(m, 8H), 1.45-1.54(m, 4H), 1.23-1.32 (m, 58H), 0.89 (t, $J=6.4$ Hz, 12H)

[0764] $[\text{M}+\text{H}]^+$: 875.7

[0765] 7669의 합성



[0766]

[0767] 단계 1:

[0768] DMF(5mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(200mg, 266.57 μ mol, 1당량)의 용액에 DMF(2mL) 중 K₂CO₃(184.21mg, 1.33mmol, 5당량), KI(88.50mg, 533.14 μ mol, 2당량) 및 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(416.12mg, 1.33mmol, 5당량)를 첨가한 다음, 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O로 희석하고 EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실데실 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 152.82 μ mol, 57% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0769]

단계 2:

[0770] HCl/디옥산(4M, 6.17mL, 173.08당량) 중 4-헥실데실 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(140mg, 142.63 μ mol, 1당량)의 용액을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-헥실데실 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(125mg, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

- [0771] **단계 3:**
- [0772] MeOH(10mL) 중 4-헥실테실 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(125mg, 141.81 μ mol, 1당량) 및 포름알데히드(495.72mg, 16.51mmol, 454.79 μ L, 116.42당량)의 용액에 NaHCO₃(35.74mg, 425.44 μ mol, 16.55 μ L, 3당량)을 첨가하고 25℃에서 10분 동안 교반한 다음, AcOH(255.49mg, 4.25mmol, 243.32 μ L, 30당량) 및 NaBH₃CN(26.74mg, 425.44 μ mol, 3당량)을 혼합물에 25℃에서 1시간 동안 첨가하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 수성 NaHCO₃으로 희석하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC로 정제하고 감압 하에 농축시켜 ACN을 제거한 다음, 수성 NaHCO₃으로 희석하고, EtOAc로 추출하였다. 합한 유기층을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 4-헥실테실 8-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(25mg, 27.21 μ mol, 19% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0773] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.04 (t, J=7.2 Hz, 4H), 3.50-3.61 (m, 8H), 2.67 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.55 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.40-2.50(m, 4 H), 2.25-2.35 (m, 10H), 1.55-1.65 (m, 8H), 1.40-1.48 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H)
- [0774] [M+H]⁺: 909.7
- [0775] **실시예 2. 지질 나노입자 조성물의 제조**
- [0776] C12-200은 상업적으로 이용 가능한 이온화 가능 지질로, 화학명이 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. 조성물은 각각 35:16:46.5:2.5의 몰비로 이온화 가능 지질:구조적 지질:스테롤:PEG-지질(C12-200:DOPE:콜레스테롤:14:0 PEG2000 PE)로 이루어진다. 지질을 에탄올에 용해시켰다. 이들 지질을 상기 표시한 몰비로 혼합하고, 에탄올(유기상)에 희석하여 5.5mM의 총 지질 농도를 수득하였다. mRNA 용액(수성상)을 RNase-무함유 물 및 100mM 구연산염 완충액 pH 3으로 제조하여 50mM 구연산염 완충액의 최종 농도를 수득하였다. 이온화 가능 지질 대 mRNA의 N:P 비는 15:1로 유지되었다.
- [0777] 다른 모든 조성물(즉, MC3의 조성물(화학명이 (6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아콘-6,9,28,31-테트라엔-19-일 4-(디메틸아미노)부타노에이트인 상업적으로 이용 가능한 이온화 가능 지질, 및 신규한 이온화 가능 지질 7669, 7671, 7668, 767, 7650의 조성물)은 각각 50:38.5:10:1.5의 몰비로 이온화 가능 지질:구조적 지질:스테롤:PEG-지질(SDA 지질 #:DSPC:콜레스테롤:14:0 PEG2000 PE)로 이루어졌다. 지질을 에탄올에 용해시켰다. 그런 다음, 제형을 이온화 가능 지질 대 mRNA의 N:P 비를 6:1로 유지한 것을 제외하고는, 조성물을 전술한 바와 같이 취급하였다. 지질 혼합물 및 mRNA 용액을 9mL/분의 총 유속으로 NanoAssemblr Ignite(Precision Nanosystems) 상에서, 각각 1:3 부피비로 혼합하였다. 그런 다음, 생성된 조성물을 Slide-A-LyzerG2 투석 카세트(10k MWCO)에 로딩하고, 부드럽게 교반하면서 실온에서 4시간 동안 1xPBS의 샘플 부피의 200배로 투석하였다. PBS를 새로 교환하고, 조성물을 부드럽게 교반하면서 4℃에서 적어도 14시간 동안 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.

[0778] 조성물 각각의 성분들의 물비가 아래에 요약되어 있다.

지질 번호	물비				
	이온화 가능 성분	클레스테롤	DSPC	DOPE	DMPE-PEG
7596	50	38.5	10	-	1.5
7667	50	38.5	10	-	1.5
7668	50	38.5	10	-	1.5
7669	50	38.5	10	-	1.5
7670	50	38.5	10	-	1.5
7671	50	38.5	10	-	1.5
7676	50	38.5	10	-	1.5
7649	50	38.5	10	-	1.5
7650	50	38.5	10	-	1.5
7651	50	38.5	10	-	1.5
7677	50	38.5	10	-	1.5
C12-200	35	46.5	-	16	2.5
MC3	50	38.5	10	-	1.5

[0779]

[0780] 실시예 3. 생체 내 생물발광 영상화

[0781]

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, 10 µg의 총 mRNA(5 µg Fluc + 5 µg EPO)를 함유하는 100 µL의 전술된 지질 나노입자 조성물을 29G 인슐린 주사기(Covidien)를 사용하여 정맥내 주사하였다. 발생한 임의의 출혈을 멸균 거즈 패드(Fisher Scientific)를 사용하여 지혈하고, 동물을 우리에 다시 넣었다. 투여 후 4 내지 6시간 차에 동물에게 200 µL의 15mg/mL D-루시페린(GoldBio)을 주입하고, 분당 1리터 내지 2리터의 산소 유속으로 2.5% 이소플루란을 전달하도록 설정된 이소플루란 유도 챔버에 넣었다. 5분 동안 이소플루란에 노출된 후, 마우스를 IVIS Lumina LT 영상기(PerkinElmer) 내부의 노즈콘 세트에 넣었다. 영상화를 위해 LivingImage 소프트웨어를 사용하였다. 자동 노출 시 전신 생물발광을 포착한 후, 동물을 IVIS에서 꺼내어 안락사를 위해 CO2 챔버에 넣었다. 각 동물을 등을 대고 눕힌 후 심장 천자를 수행하였고, 25G 인슐린 주사기(BD)를 사용하여 채혈을 수행하였다. 리튬-헤파린 코팅된 튜브(Fisher Scientific)에 혈액을 수집하고 즉시 얼음 위에 놓았다. 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 Diagnostics)를 사용하여 혈장 내 EPO 수준을 결정하였다. 결과는 아래에 나타나 있다.

화합물: 신체 면적	7669		7671		7668		7676		7650		C12-200		MC3	
전신	5120	2920	7800 00	7720 00	4850 0	2690 0	5090 0	3040 0	1090 0	1210 0	3.6E+0 8	4.32E+ 08	1.36E+ 08	969000 00
간	9240 0	1290 00	2960 00	1840 00	7400 0	1470 0	1830 00	1610 00	8310 0	5630 0	923000 00	697000 00	220000 00	203000 00
비장	1120 00	9170 0	4220 00	5740 00	5640 0	6050 0	2550 00	2590 00	1080 00	8240 0	128000 0	139000 0	166000 0	206000 0
췌장	1060 00	8780 0	1410 00	1850 00	2690 0	8080 0	1770 00	2200 00	8720 0	1270 00	236000	216000	192000	232000
폐	7300 0	7010 0	2150 00	1800 00	3750 0	7900 0	2620 00	1700 00	1380 00	1500 00	545000	266000	300000	258000

[0782]

[0783] 보이는 바와 같이, 신규한 화합물 7676, 7671, 7650, 7669, 및 7668은 전신에 걸쳐 췌장 및 폐, 간, 또는 비장

을 선택적으로 표적화하였다.

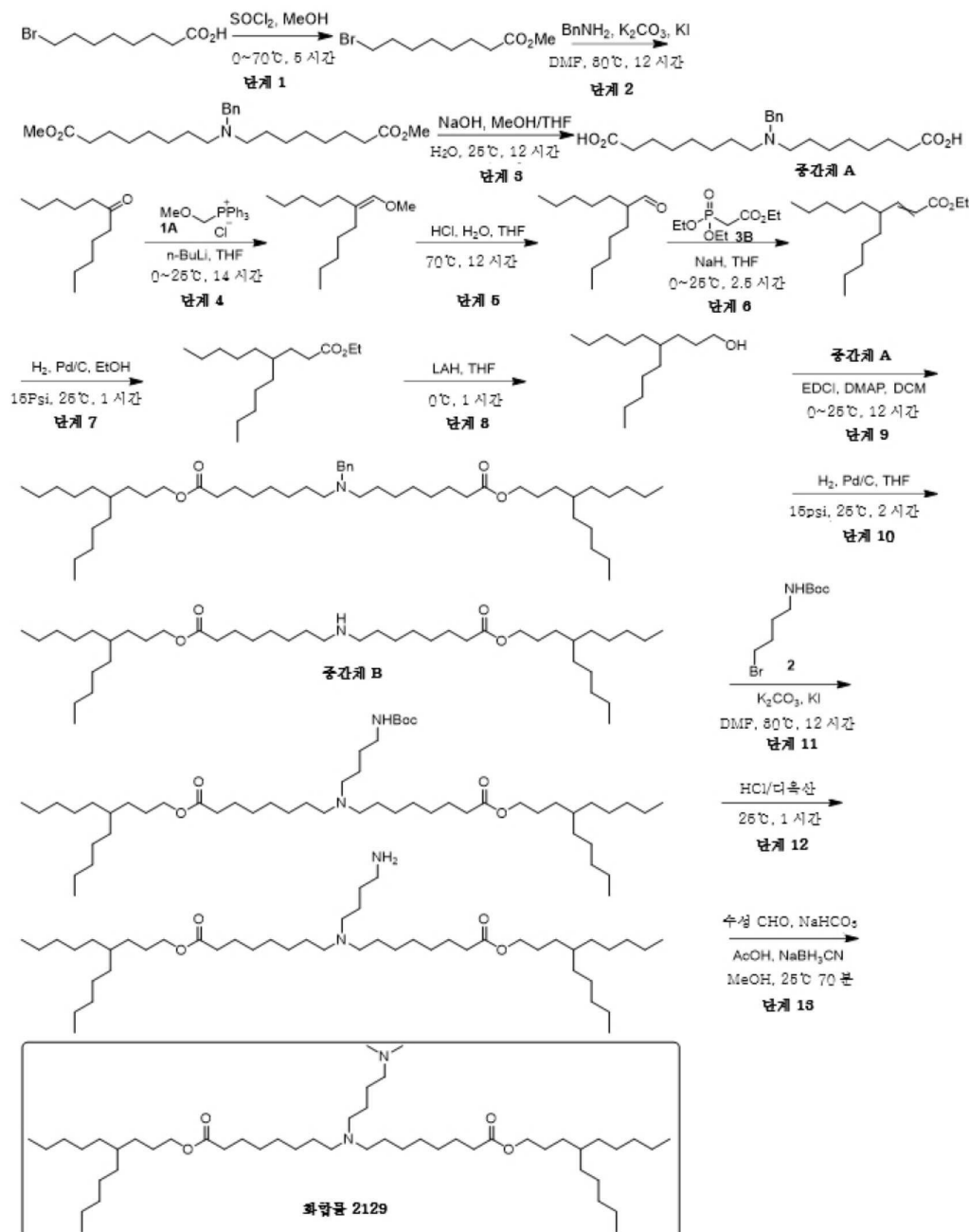
[0784] 도 2는 신규한 화합물 7669, 7671, 7668, 7676, 7650, C12-200, 및 MC3 중 하나를 투여 후 마우스 간(1초 후), 비장(1초 및 1분 후)에서의 생물발광 영상화 이미지를 포함한다.

[0785] 도 3 내지 도 6은 신규한 화합물 7669, 7671, 7668, 7676, 7650, C12-200, 및 MC3 중 하나를 투여 후 마우스에서의 전신 생물발광 영상화 이미지를 포함한다. 도 3 내지 도 6의 스케일은 이미지에 따라 상이하며 정규화되지 않았다.

[0786] 따라서, 이온화 가능 지질 스캐폴드는 간 외부에서의 치료 물질의 선택적 전달을 나타내며, 간에서의 지질 수준이 더 낮기 때문에, 간 독성이 더 낮을 것으로 예상된다.

[0787] 실시예 4: 예시적인 이온화 가능 지질 화합물의 합성.

[0788] 4.1. 화합물 2129의 합성



[0789]

[0790] 단계 1:

[0791] MeOH(50mL) 중 8-브로모옥탄산(5g, 22.41mmol, 1당량)의 용액에 SOCl_2 (5.33g, 44.82mmol, 3.25mL, 2당량)를 0

℃에서 적가한 다음, 혼합물을 70℃에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 메틸 8-브로모옥타노에이트(4.5g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0792] **단계 2:**

[0793] DMF(10mL) 중 BnNH_2 (0.78g, 7.28mmol, 793.49 μL , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (5.03g, 36.40mmol, 5당량), KI(3.02g, 18.20mmol, 2.5당량) 및 DMF(4mL) 중 메틸 8-브로모옥타노에이트(3.5g, 14.76mmol, 2.03당량)의 용액을 첨가한 다음, 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O (50mL)에 붓고 EtOAc(10mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(10mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 20/1)로 정제하여 메틸 8-[벤질-(8-메톡시-8-옥소-옥틸)아미노]-옥타노에이트(2.6g, 6.20mmol, 85.12% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0794] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 7.22-7.31 (m, 5H), 3.67 (s, 6H), 3.53 (s, 4H), 2.38 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.59-1.63 (m, 6H), 1.43-1.50 (m, 4H), 1.27-1.35 (m, 14H).

[0795] **단계 3:**

[0796] THF(3mL) 및 MeOH(10mL) 중 메틸 8-[벤질-(8-메톡시-8-옥소-옥틸)아미노]-옥타노에이트(2.6g, 6.20mmol, 1당량)의 용액에 H_2O (5mL) 중 NaOH(845.87mg, 21.15mmol, 3.41당량)의 용액을 첨가한 다음, 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 H_2O (10mL)에 첨가하고 EtOAc(10mL X 3)로 추출하였다. 수성상을 1N HCl로 pH 6~7로 조정한 다음, EtOAc(20mL X 5)로 추출하였다. 유기층을 염수(10mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 8-[벤질(7-카르복시헵틸)아미노]-옥탄산(2g, 5.11mmol, 82.43% 수율, - 순도)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0797] ^1H NMR (400 MHz, DMSO), 7.21-7.30 (m, 5H), 3.49 (s, 2H), 2.34 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 2.16 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 1.38-1.47 (m, 8H), 1.21-1.25 (m, 12H).

[0798] **단계 4:**

[0799] THF(360mL) 중 메톡시메틸(트리페닐)포스포늄 염화물(24.16g, 70.47mmol, 3당량)의 용액에 $n\text{-BuLi}$ (2.5M, 26.31mL, 2.8당량)를 0℃에서 적가하고, 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. THF(120mL) 중 운데칸-6-온(4g, 23.49mmol, 1당량)의 용액을 0℃에서 혼합물에 첨가한 다음, 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H_2O (200mL)에 붓고 EtOAc(100mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(100mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/0 내지 50/1)로 정제하여 6-(메톡시메틸렌)운데칸(18g, 90.75mmol, 77.27% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0800] **단계 5:**

[0801] THF(72mL) 및 HCl(3M, 18.00mL, 5.95e-1당량) 수용액 중 6-(메톡시메틸렌)운데칸(18g, 90.75mmol, 1당량)의 용액을 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H_2O (100mL)에 붓고 EtOAc(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(50mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 20/1)로 정제하여 2-헵틸헵타날(15g, 81.38mmol, 89.67% 수율, - 순도)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0802] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 5.75 (s, 1H), 3.52 (s, 3H), 2.05 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.85 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.28-1.35 (m, 12H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 6H).

[0803] **단계 6:**

[0804] THF(280mL) 중 NaH(3.95g, 98.74mmol, 7.05mL, 60% 순도, 1.3당량)의 용액에 에틸 2-디에톡시포스포릴아세테이트(22.14g, 98.74mmol, 19.59mL, 1.3당량)를 0℃에서 적가하고, 혼합물을 25℃에서 0.5시간 동안 교반하였다.

THF(70mL) 중 2-펜틸헵타날(14g, 75.96mmol, 1당량)의 용액을 0℃에서 혼합물에 첨가한 다음, 혼합물을 25℃로 가온시키고 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H₂O(200mL)에 붓고 EtOAc(100mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(50mL X2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 20/1)로 정제하여 에틸 4-펜틸논-2-에노에이트(16g, 62.89mmol, 82.80% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0805] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 9.56 (d, *J* = 3.2, 1H), 2.24-2.25 (m, 1H), 1.43-1.61 (m, 2H), 1.29-1.34 (m, 2H), 1.26 (s, 12H), 0.90 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H).

[0806] 단계 7:

[0807] EtOH(100mL) 중 Pd/C(2.5g, 10% 순도) 및 에틸 4-펜틸논-2-에노에이트(5g, 19.65mmol, 1당량)의 용액을 H₂(15Psi) 하에 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 화합물 에틸 4-펜틸노나노에이트(15g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0808] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 6.74 (dd, *J*₁ = 9.2 Hz, *J*₂ = 15.6 Hz, 1H), 5.76 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 4.19 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.09-2.15 (m, 1H), 1.30-1.42 (m, 2H), 1.24-1.29 (m, 17H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H).

[0809] 단계 8:

[0810] THF(50mL) 중 LAH(1.48g, 39.00mmol, 7.05mL, 2당량)의 용액에 THF(10mL) 중 에틸 4-펜틸노나노에이트(5g, 19.50mmol, 1당량)의 용액을 0℃에서 첨가하고 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H₂O(30mL)에 부은 다음, 혼합물을 여과하고, 여액을 EtOAc(50mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(50mL X2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 20/1)로 정제하여 4-펜틸노난-1-올(10g, 46.64mmol, 79.74% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[0811] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.13 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* = 8.0, 2H), 1.57-1.60 (m, 4H), 1.25-1.32 (m, 18H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H).

[0812] 단계 9:

[0813] DCM(10mL) 중 4-펜틸노난-1-올(1.15g, 5.36mmol, 2.1당량) 및 8-[벤질(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(1g, 2.55mmol, 1당량)의 용액에 DMAP(156.01mg, 1.28mmol, 0.5당량) 및 EDCI(1.47g, 7.66mmol, 3당량)를 0℃에서 첨가한 다음, 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H₂O(10mL)에 첨가하고 DCM(10mL X3)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(10mL X2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 30/1 내지 10/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[벤질-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(1.5g, 1.91mmol, 74.89% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0814] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.64 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.50-1.55 (m, 2H), 1.22-1.31 (m, 20H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H).

[0815] 단계 10:

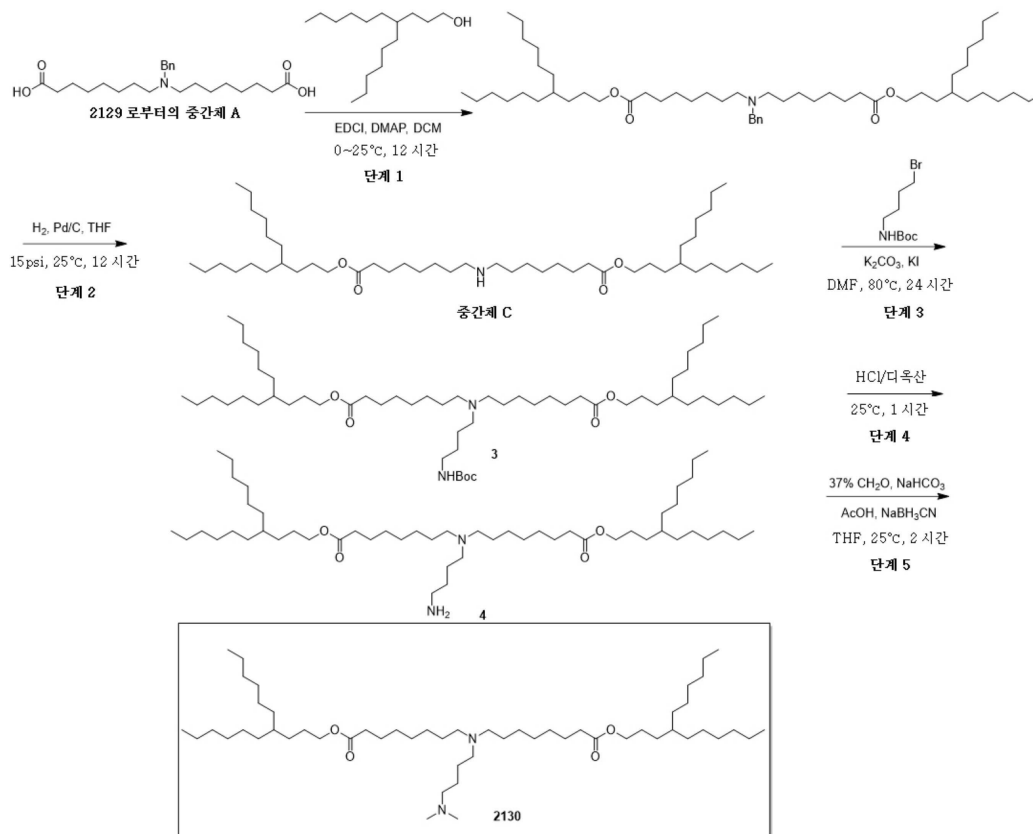
[0816] THF(20mL) 중 Pd/C(200mg, 637.52 μmol, 10% 순도, 1당량) 및 4-펜틸노닐 8-[벤질-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(500mg, 637.52 μmol, 1당량)의 용액을 H₂(15Psi) 하에 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 30/1 내지 5/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(900mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0817] 단계 11:

- [0818] DMF(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 216.09 μmol , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (149.33mg, 1.08mmol, 40.10 μL , 5당량) 및 KI(71.74mg, 432.18 μmol , 2당량)를 첨가한 다음, DMF(2mL) 중 tert-부틸 N-(4-브로모부틸)카바메이트(217.94mg, 864.35 μmol , 177.19 μL , 4당량)의 용액을 혼합물에 첨가하고, 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 3/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(120mg, 138.66 μmol , 64.17% 수율, - 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0819] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.60 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.30 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 1.60-1.63 (m, 12H), 1.24-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 12H).
- [0820] **단계 12:**
- [0821] HCl/디옥산(4M, 6.00mL, 173.08당량) 중 4-펜틸노닐 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(120mg, 138.66 μmol , 1당량)의 용액을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[4-아미노부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(110mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.
- [0822] **단계 13:**
- [0823] MeOH(10mL) 중 4-펜틸노닐 8-[4-아미노부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(110mg, 137.20 μmol , 1당량, HCl) 및 포름알데히드(1.30g, 15.97mmol, 1.19mL, 37% 순도, 116.42당량)의 용액에 NaHCO_3 (34.58mg, 411.60 μmol , 16.01 μL , 3당량)을 첨가하고, 25℃에서 10분 동안 교반한 다음, AcOH(247.17mg, 4.12mmol, 235.40 μL , 30당량) 및 NaBH_3CN (25.87mg, 411.60 μmol , 3당량)을 혼합물에 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO_3 (10mL)으로 켄칭하고 EtOAc(3 X 10mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(2 X 5mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트:MeOH = 30/1 내지 1/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[4-(디메틸아미노)부틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(87mg, 109.66 μmol , 79.93% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [0824] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J =6.8 Hz, 4H), 2.58-2.62 (m, 6H), 2.38 (t, J =6.4 Hz, 2H), 2.28-2.31 (m, 10H), 1.56-1.63 (m, 16H), 1.24-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, J =7.2 Hz, 12H).
- [0825] LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$):793.6, 3.527분

[0826]

4.2. 화합물 2130의 합성



[0827]

[0828]

단계 1:

[0829]

DCM(20mL) 중 8-[벤질(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(1.7g, 4.34mmol, 1당량)의 용액에 DMAP(265.21mg, 2.17mmol, 0.5당량), 4-헥실테칸-1-올(2.16g, 8.90mmol, 2.05당량) 및 EDCI(2.50g, 13.02mmol, 3당량)를 0℃에서 첨가하고, N₂ 분위기 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O(10mL)로 희석하고 EtOAc 15mL(5mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 91/9)로 정제하여 화합물 4-헥실테실 8-[벤질-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(2.9g, 3.45mmol, 79.51% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0830]

단계 2:

[0831]

THF(30mL) 중 Pd/C(1g, 1.78mmol, 10% 순도, 1당량)의 용액에 4-헥실테실 8-[벤질-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(1.5g, 1.78mmol, 1당량)를 첨가하고, H₂(15psi) 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여액을 감압 하에 제거하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실테실 8-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(700mg, 933.00 μmol, 52.27% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0832]

단계 3:

[0833]

DMF(5mL) 중 4-헥실테실 8-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 199.93 μmol, 1당량)의 용액에 DMF(2mL) 중 K₂CO₃(138.16mg, 999.64 μmol, 5당량), KI(66.38mg, 399.86 μmol, 2당량) 및 tert-부틸 N-(4-브로모부틸)카바메이트(252.06mg, 999.64 μmol, 204.93 μL, 5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 6mL로 희석하고 EtOAc 6mL(2mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 3mL(1mL X3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 6/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실테실 8-[4-

(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(140mg, 151.93 μmol , 75.99% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0834] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 5.1 (brs, 1H), 4.04 (t, $J=6.8$ Hz, 4H), 3.10-3.20(m, 2H), 2.40-2.44 (m, 6H), 2.29 (t, $J=7.2$ Hz, 4H), 1.53-1.64 (m, 12H), 1.44-1.48 (m, 13H), 1.24-1.32 (m, 58H), 0.89 (t, $J=7.2$ Hz, 12H).

[0835] 단계 4:

[0836] HCl/디옥산(4M, 4.70mL, 173.08당량) 중 4-헥실테실 8-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 108.52 μmol , 1당량)의 용액을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-헥실테실 8-[4-아미노부틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(90mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0837] 단계 5:

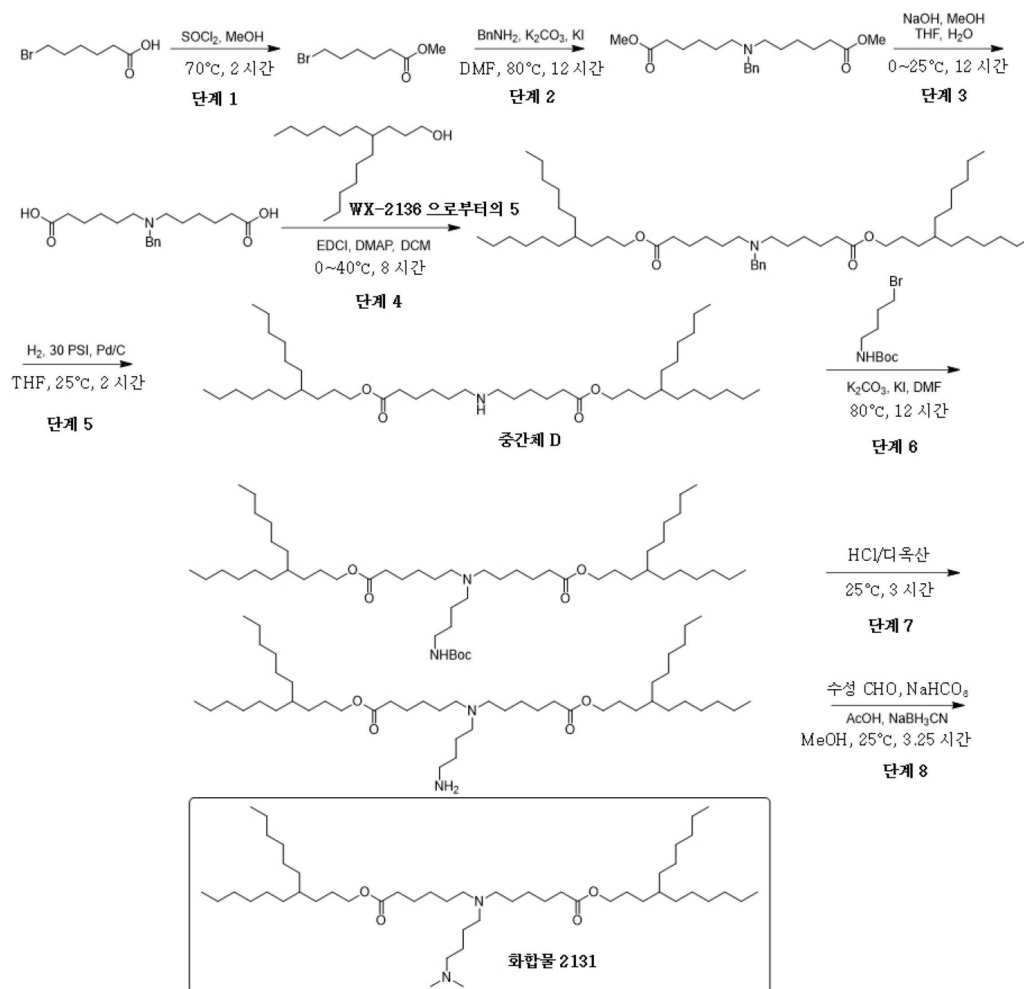
[0838] MeOH(5mL) 중 4-헥실테실 8-[4-아미노부틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(125mg, 145.71 μmol , 1당량, HCl) 및 포름알데히드(509.36mg, 16.96mmol, 467.30 μL , 116.42당량)의 용액에 NaHCO_3 (36.72mg, 437.14 μmol , 17.00 μL , 3당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 10분 동안 교반한 다음, AcOH(262.51mg, 4.37mmol, 250.01 μL , 30당량) 및 NaBH_3CN (27.47mg, 437.14 μmol , 3당량)을 혼합물에 첨가하고 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과한 다음, 수성 NaHCO_3 4mL로 희석하고, EtOAc 9mL(3mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 6mL(2mL X 3)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1 내지 0/1, 에틸 아세테이트/MeOH = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실테실 8-[4-(디메틸아미노)부틸-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(24mg, 28.25 μmol , 19.39% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0839] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, $J=6.8$ Hz, 4H), 2.49-2.55 (m, 6H), 2.31-2.37 (m, 2H), 2.28-2.30 (m, 10H), 1.53-1.64 (m, 16H), 1.24-1.32 (m, 58H), 0.89 (t, $J=7.2$ Hz, 12H).

[0840] LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 849.6, 3.694분.

[0841]

4.3. 화합물 2131의 합성



[0842]

[0843]

단계 1:

[0844]

MeOH(200mL) 중 6-브로모헥사노산(10g, 51.27mmol, 1당량)의 용액에 SOCl_2 (12.20g, 102.54mmol, 7.44mL, 2당량)를 첨가하였다. 혼합물을 70°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 200mL로 희석하고, PE 600mL(200mL X3)로 세척하고, EtOAc 600mL(200mL X3)로 추출하였다. 합한 EtOAc 층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 메틸 6-브로모헥사노에이트(10g, 47.83mmol, 93.29% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0845]

단계 2:

[0846]

DMF(50mL) 중 BnNH_2 (1.28g, 11.96mmol, 1.30mL, 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (8.26g, 59.79mmol, 5당량) 및 KI(4.96g, 29.89mmol, 2.5당량)를 첨가한 다음, DMF(20mL) 중 메틸 6-브로모헥사노에이트(5g, 23.91mmol, 2당량)의 용액을 혼합물에 첨가하고 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 EtOAc 200mL로 희석하고, 물 600mL(200mL X3)와 염수 400mL(200mL X2)로 세척하였다. 합한 유기층을 무수 Na_2SO_4 로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 99/1 내지 91/9)로 정제하여 화합물 메틸 6-[벤질-(6-메톡시-6-옥소-헥실)아미노]헥사노에이트(8.5g, 23.38mmol, 97.78% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0847]

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 7.24-7.28 (m, 5H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 2H), 2.36 (t, $J=7.2$ Hz, 4H), 2.26 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 1.55-1.60 (m, 4H), 1.35-1.48 (m, 4H), 1.24-1.35 (m, 4H).

[0848]

LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 364.1.

[0849] 단계 3:

[0850] MeOH(20mL) 중 메틸 6-[벤질-(6-메톡시-6-옥소-헥실)아미노]헥사노에이트(5g, 13.76mmol, 1당량)의 용액에 THF(6mL)를 H₂O(10mL) 중 NaOH(1.88g, 46.91mmol, 3.41당량)에 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 100mL로 희석하고 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하였다. 수성상을 1M HCl 수용액으로 pH 7로 조정한 후 동결 건조시켰다. 미정제 생성물을 EtOH(100mL)로 25℃에서 2시간 동안 분쇄한 다음, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 화합물 6-[벤질(5-카르복시펜틸)아미노]헥사논산(4.5g, 13.42mmol, 97.53% 수율)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0851] ¹H NMR (400 MHz, DMSO), 7.18-7.28 (m, 5H), 3.46 (s, 2H), 2.29 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.06 (t, J=7.2 Hz, 4H), 1.30-1.50 (m, 8H), 1.15-1.25 (m, 4H).

[0852] 단계 4:

[0853] DCM(10mL) 중 6-[벤질(5-카르복시펜틸)아미노]헥사논산(1g, 2.98mmol, 1당량)의 혼합물을 DMAP(182.10mg, 1.49mmol, 0.5당량), 4-헥실데칸-1-올(1.48g, 6.11mmol, 2.05당량), EDCI(1.71g, 8.94mmol, 3당량)를 0℃에서 첨가하고, 탈기하고, N₂로 3회 퍼징하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 40℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 91/9)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[벤질-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.96g, 1.22mmol, 41.06% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0854] 단계 5:

[0855] THF(50mL) 중 4-헥실데실 6-[벤질-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(960mg, 1.22mmol, 1당량) 및 Pd/C(0.6g, 1.22mmol, 10% 순도, 1.00당량)의 용액을 H₂(30psi) 하에 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 감압 하에 제거하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(650mg, 936.38 μmol, 76.50% 수율)를 갈색 오일로서 수득하였다.

[0856] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.27-7.30 (m, 5H), 4.03 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.53 (s, 2H), 2.39 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.27 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.50-1.62 (m, 8H), 1.40-1.48(m, 4H), 1.24-1.35(m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[0857] 단계 6:

[0858] DMF(3mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.3g, 432.18 μmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(298.65mg, 2.16mmol, 5당량) 및 KI(143.48mg, 864.35 μmol, 2당량), tert-부틸 N-(4-브로모부틸)카바메이트(435.89mg, 1.73mmol, 354.38 μL, 4당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1 내지 Y/1)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.25g, 288.88 μmol, 66.84% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0859] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 5.01 (brs, 1H), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.05-3.20 (m, 2H), 2.38-2.50 (m, 6H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.57-1.67 (m, 12H), 1.35-1.50 (m, 13H), 1.24-1.30 (m, 50H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H). LCMS: (M+H)⁺: 865.8.

[0860] 단계 7:

[0861] HCl/디옥산(4M, 4.00mL, 69.23당량) 중 4-헥실데실 6-[4-(tert-부톡시카르보닐아미노)부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.2g, 231.11 μmol, 1당량)의 용액을 N₂ 분위기 하에 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 4-헥실데실 6-[4-아미노부틸-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥

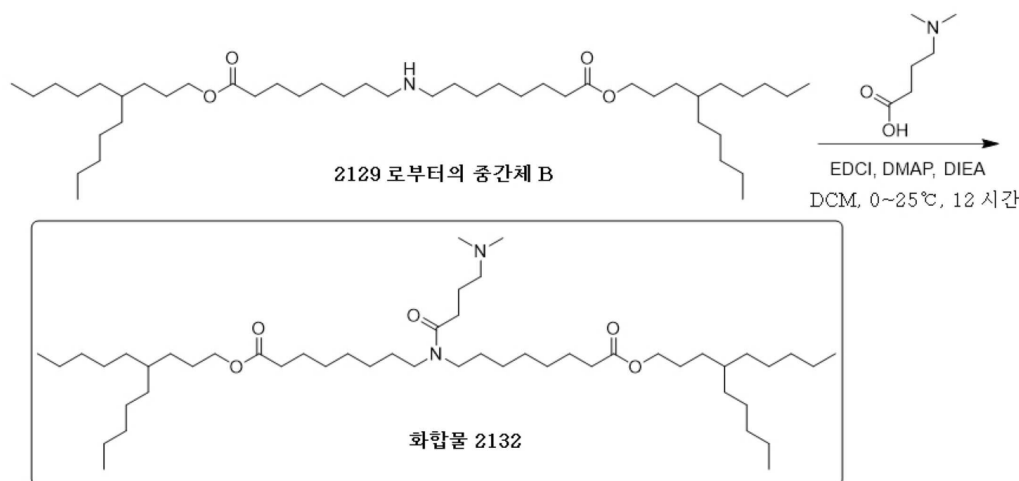
실]아미노]헥사노에이트(0.1g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0862] 단계 8:

[0863] MeOH(2mL) 중 4-헥실테실 6-[4-아미노부틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.1g, 130.67 μmol , 1당량), 포름알데히드(1.09g, 36.30mmol, 1.00mL, 277.81당량)의 용액에 NaHCO_3 (32.93mg, 392.01 μmol , 15.25uL, 3당량)을 25℃에서 첨가하고, 25℃에서 15분 동안 교반한 다음, AcOH(235.41mg, 3.92mmol, 224.20uL, 30당량) 및 NaBH_3CN (24.63mg, 392.01 μmol , 3당량)을 혼합물에 25℃에서 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 4-헥실테실 6-[4-(디메틸아미노)부틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(38mg, 47.90 μmol , 36.66% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0864] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.35-2.49 (m, 6H), 2.28-2.32 (m, 6H), 2.23 (s, 6H), 1.55-1.65(m, 8H), 1.43-1.45 (m, 8H), 1.24-1.30 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 793.6.

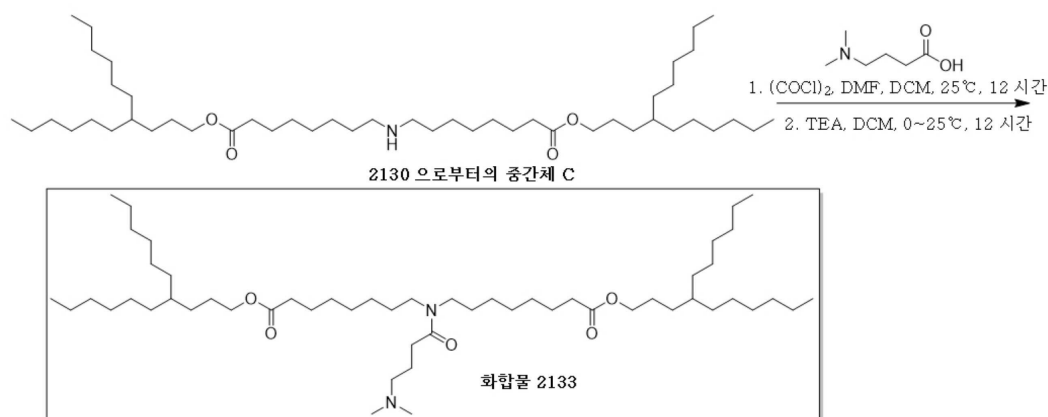
[0865] 4.4. 화합물 2132의 합성



[0866] DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(160mg, 230.49 μmol , 1당량) 및 4-(디메틸아미노)부탄산(60.47mg, 360.72 μmol , 1.56당량, HCl)의 용액에 DMAP(28.16mg, 230.49 μmol , 1당량), DIEA(59.58mg, 460.99 μmol , 80.30uL, 2당량) 및 EDCI(132.56mg, 691.48 μmol , 3당량)를 0℃에서 첨가하고 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X 30mm X 5 μm ; 이동상: [물 (HCl)-ACN]; B%: 65%-95%, 10분)로 정제하고, 포화 NaHCO_3 (5mL)으로 유리시키고, EtOAc(5mL X 3)로 추출하고, 유기층을 염수(5mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[4-(디메틸아미노)부타노일-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(21mg, 26.01 μmol , 11.29% 수율, 100% 순도)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0868] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.27 (t, J=8.0 Hz, 2H), 3.20 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.26-2.37 (m, 14H), 1.81-1.87 (m, 2H), 1.57-1.67 (m, 8H), 1.48-1.53 (m, 4H), 1.24-1.31(m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$):807.6, 3.942분.

[0869] 4.5. 화합물 2133의 합성

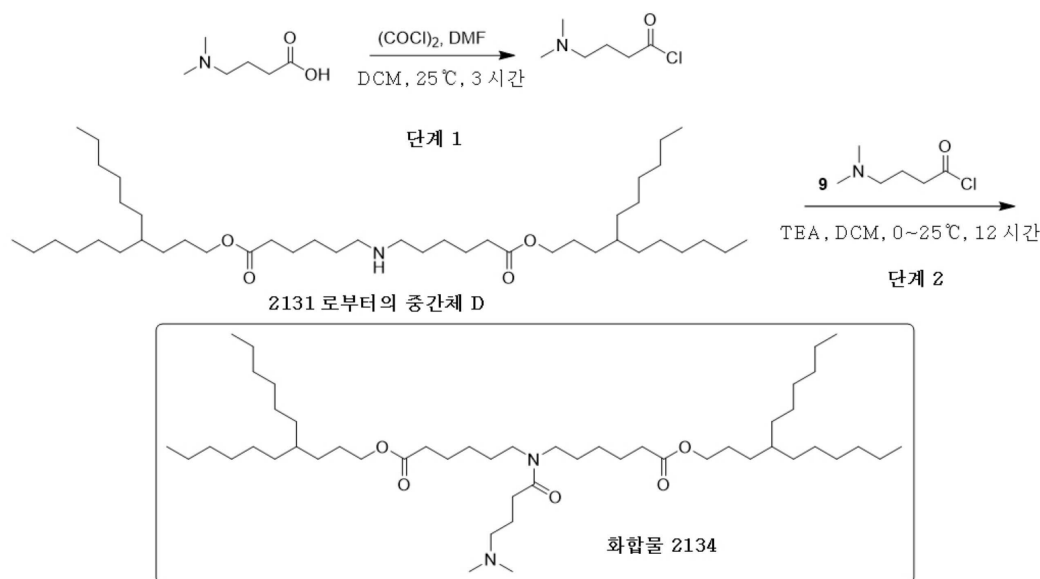


[0870]

[0871] CH₂Cl₂(5mL) 중 4-(디메틸아미노)부탄산(100mg, 596.54 μmol, 1당량, HCl)의 용액에 옥살릴 이염화물(227.15mg, 1.79mmol, 156.65 μL, 3당량) 및 DMF(1mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(110mg, 미정제, HCl)를 백색 고형분으로서 수득하였다. 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(49.60mg, 266.57 μmol, 2당량, HCl)를 0°C에서 DCM(2mL) 중 4-헥실테실 8-[[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 133.29 μmol, 1당량) 및 TEA(40.46mg, 399.86 μmol, 55.66 μL, 3당량)의 용액에 적가하고 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 6mL로 희석하고 EtOAc 9mL(3mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 6mL(2mL X3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1, 에틸 아세테이트/메탄올 = 10/1 내지 8/1)로 정제하여 4-헥실테실 8-[4-(디메틸아미노)부타노일-[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(36mg, 41.11 μmol, 30.84% 수율, 98.6% 순도)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0872] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.02-4.06 (m, 4H), 3.28 (t, J=7.6 Hz, 2H), 3.20 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.30-2.34 (m, 8H), 2.24 (s, 6H), 1.79-1.86 (m, 2H), 1.61-1.62 (m, 8H), 1.48-1.52(m, 4H), 1.24-1.31 (m, 58 H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: (M+H⁺): 863.7, 4.085분.

[0873] 4.6. 화합물 2134의 합성



[0874]

[0875] 단계 1:

[0876] DCM(5mL) 중 4-(디메틸아미노)부탄산염산염(0.4g, 2.39mmol, 1당량) 및 옥살릴 이염화물(1.77g, 13.97mmol, 1.22mL, 5당량)의 용액에 2방울의 DMF(20.42mg, 279.36 μ mol, 21.49 μ L, 0.1당량)를 첨가하고, N₂ 분위기 하에 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(0.4g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

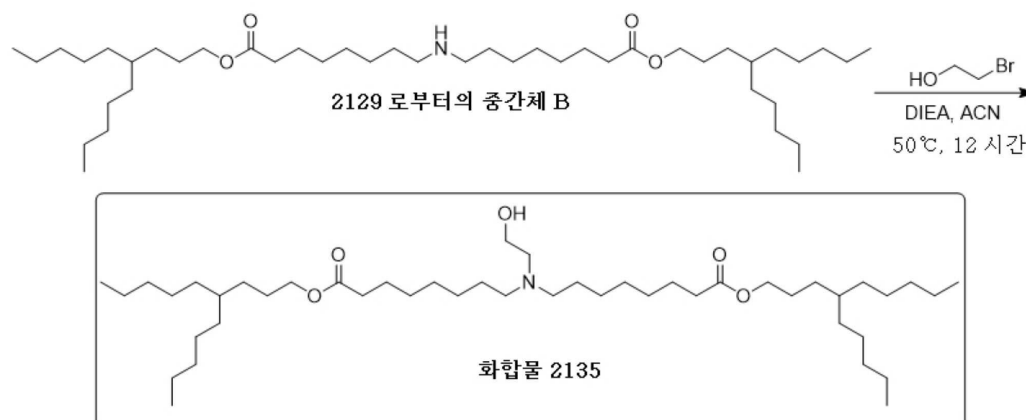
[0877] 단계 2:

[0878] DCM(3mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.4g, 576.23 μ mol, 1당량), 4-(디메틸아미노)부타노일 염화물(344.86mg, 2.30mmol, 4당량)의 용액에 TEA(174.93mg, 1.73mmol, 240.61 μ L, 3당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[4-(디메틸아미노)부타노일-6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(174mg, 215.53 μ mol, 37.40% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0879] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.01-4.07 (m, 4H), 3.20-3.31 (m, 4H), 2.28-2.35 (m, 8H), 2.24 (s, 6H), 1.80-1.84 (m, 2H), 1.57-1.70 (m, 12H), 1.24-1.34 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[0880] LCMS: (M+H)⁺: 807.6, 3.898분.

[0881] 4.7. 화합물 2135의 합성

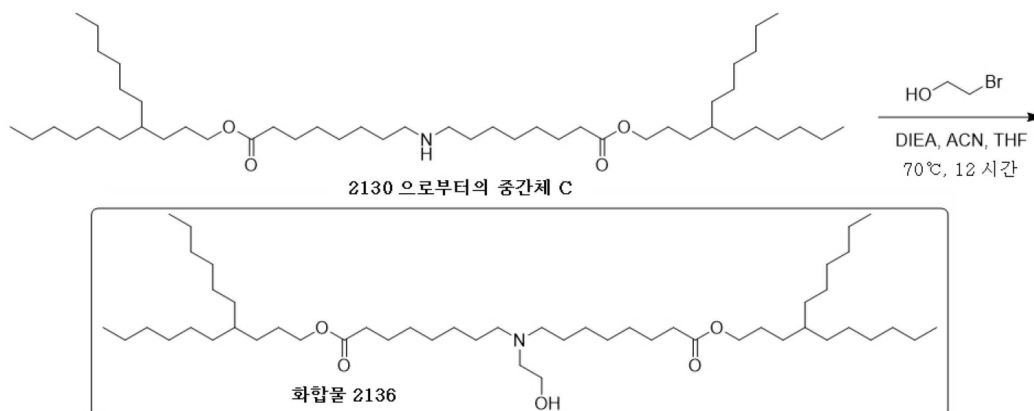


[0882]

[0883] ACN(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(250mg, 360.15 μ mol, 1당량)의 용액에 DIEA(93.09mg, 720.29 μ mol, 125.46 μ L, 2당량) 및 2-브로모에탄올(90.01mg, 720.29 μ mol, 51.14 μ L, 2당량)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O(10mL)에 붓고 EtOAc 45mL(15mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 50mL(25mL X 3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X 30mm X 5 μ m; 이동상: [물(HCl)-MeOH]; B%: 70%~90%, 10분)로 정제하였다. 이동상을 NaHCO₃ 포화 용액으로 pH 7로 조정하고 EtOAc 15mL(5mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 4-펜틸노닐 8-[2-하이드록시에틸-8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(40mg, 54.18 μ mol, 15.00% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0884] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05 (t, J=6.8 Hz 4H), 3.55 (t, J=4.8 Hz, 2H), 2.59 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.46 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.57-1.64 (m, 8H), 1.40-1.50 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: (M+H)⁺: 738.7, 3.257분.

[0885] 4.8. 화합물 2136의 합성

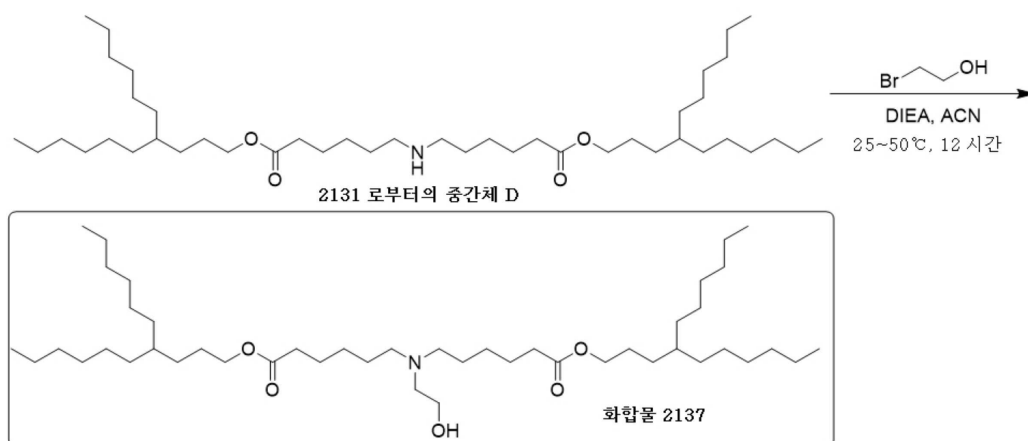


[0886]

[0887] ACN(0.5mL) 및 THF(1mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 199.93 μ mol, 1당량)의 용액에 DIEA(51.68mg, 399.86 μ mol, 69.65 μ L, 2당량)를 첨가한 다음, THF(0.5mL) 중 2-브로모에탄올(64.55mg, 399.86 μ mol, 36.67 μ L, 2당량, HCl)의 용액을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 70°C에서 12 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O(6mL)로 희석하고 PE 6mL(2mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 3mL(1mL X 3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 4/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-(2-하이드록시에틸)아미노]옥타노에이트(60mg, 75.15 μ mol, 37.59% 수율, 99.49% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0888] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.53 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.58 (t, J=4.8 Hz, 2H), 2.45 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.29 (t, J=7.6 Hz, 4H), 1.5-1.62 (m, 8H), 1.42-1.45 (m, 4H), 1.24-1.30 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: (M+H)⁺: 794.6, 4.085분.

[0889] 4.9. 화합물 2137의 합성



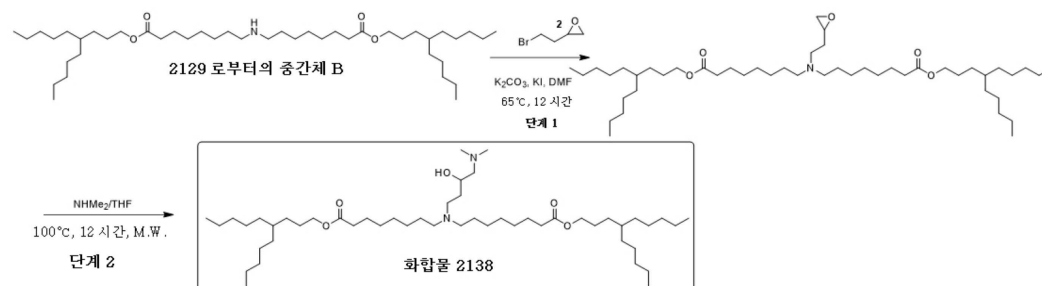
[0890]

[0891] ACN(3mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.2g, 288.12 μ mol, 1당량)의 용액에 DIEA(74.47mg, 576.23 μ mol, 100.37 μ L, 2당량), 2-브로모에탄올(72.01mg, 576.23 μ mol, 40.91 μ L, 2당량)을 25°C에서 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-(2-하이드록시에틸)아미노]헥사노에이트(28mg, 37.93 μ mol, 13.16% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0892] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.04 (t, $J=6.8$ Hz, 4H), 3.54 (t, $J=5.2$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J=5.2$ Hz, 2H), 2.47 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 2.3 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 1.66-1.70 (m, 4H), 1.55-1.57 (m, 4H), 1.43-1.49 (m, 4H), 1.24-1.33 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H).

[0893] LCMS: $(\text{M}+\text{H}^+)$: 738.5, 3.419분.

[0894] 4.10: 화합물 2138의 합성



[0895]

[0896] 단계 1:

[0897] DMF(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(500mg, 720.29 μmol , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (497.76mg, 3.60mmol, 40.10 μL , 5당량), KI(239.14mg, 1.44mmol, 2당량) 및 2-(2-브로모에틸)옥시란(435.06mg, 2.88mmol, 58.49 μL , 4당량)을 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O (5mL)에 첨가하고 EtOAc(5mL X3)로 추출하였다. 유기층을 염수 10mL(5mL X2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 4-펜틸노닐 8-[2-(옥시란-2-일)에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(400mg, 523.39 μmol , 72.66% 수율, - 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0898] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, $J=6.4$ Hz, 4H), 2.95-2.98 (m, 1H), 2.77 (t, $J=4.8$ Hz, 1H), 2.55-2.65 (m, 1H), 2.46-2.51 (m, 1H), 2.39-2.40 (m, 3H), 2.30 (t, $J=7.6$ Hz, 4H), 1.59-1.64 (m, 12H), 1.40-1.44 (m, 4H), 1.24-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H).

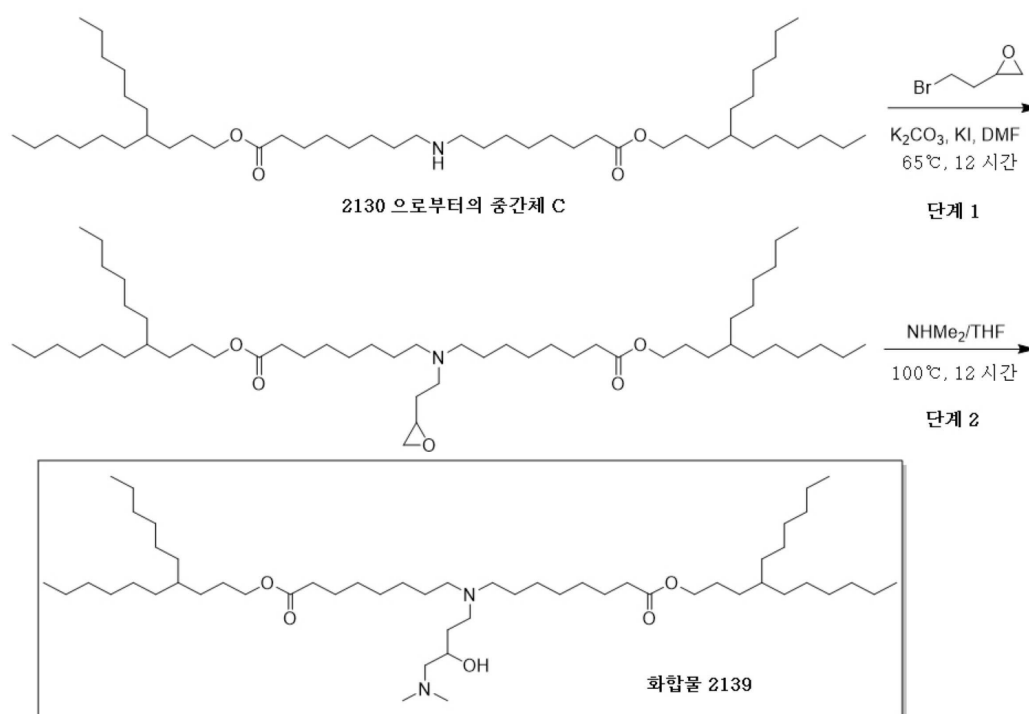
[0899] $(\text{M}+\text{H}^+)$: 764.8.

[0900] 단계 2:

[0901] THF 중 Me_2NH (2M, 20.00mL) 중 4-펜틸노닐 8-[2-(옥시란-2-일)에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(200mg, 261.69 μmol , 1당량)의 용액을 마이크로파 하에 100°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X30mm X5 μm ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 50%~80%, 10분)로 정제하여 화합물 4-펜틸노닐 8-[[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(52mg, 64.25 μmol , 26.00% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0902] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.06 (t, $J=6.8$ Hz, 4H), 3.82-3.88 (m, 1H), 2.50-2.75(m, 4H), 2.20-2.45 (m, 14H), 1.55-1.68 (m, 10H), 1.43-1.52 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H). LCMS: $(\text{M}+\text{H}^+)$: 809.6, 3.526분

[0903] 4.11: 화합물 2139의 합성



[0904]

[0905] 단계 1:

[0906]

DMF(2mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(400mg, 533.14 μmol , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (368.42mg, 2.67mmol, 5당량) 및 KI(177.01mg, 1.07mmol, 2당량)를 첨가한 다음, 2-(2-브로모에틸)옥시란(322.02mg, 2.13mmol, 4당량)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O 6mL에 첨가하고 EtOAc 15mL(5mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 12mL(4mL X 3)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]옥타노에이트(140mg, 170.66 μmol , 32.01% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0907]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.96-2.98 (m, 1H), 2.77 (t, J=4.8 Hz, 1H), 2.58 (t, J=4.8 Hz, 2H), 2.49 (t, J=4.8 Hz, 1H), 2.37(t, J=4.8 Hz, 4H), 2.30 (t, J=7.2 Hz, 4H), 1.60-1.62 (m, 10H), 1.38-1.47 (m, 4H), 1.24-1.32 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[0908]

($\text{M}+\text{H}^+$): 820.8.

[0909]

단계 2:

[0910]

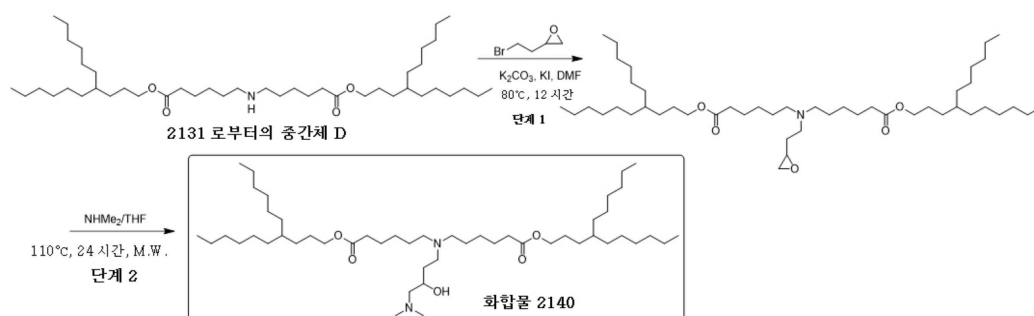
N-메틸메탄아민(5.48g, 121.48mmol, 6.15mL, 996.61당량, THF 2M 용액) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 121.90 μmol , 1당량)의 용액을 100°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 NaHCO_3 10mL로 희석하고 EtOAc 24mL(8mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 15mL(5mL X 3)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X30mm X 5 μm ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 55~85%, 10분)로 정제하여 4-헥실데실 8-[[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(30mg, 34.66 μmol , 28.44% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0911]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.05 (t, J=6.4 Hz 4H), 3.82-3.88 (m, 1H), 2.48-2.70 (m, 4H), 2.25-2.45 (m, 14H), 1.52-1.72 (m, 10H), 1.40-1.50 (m, 4H), 1.18-1.35 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS:

(M+H⁺): 865.7, 3.699분.

[0912] 4.12: 화합물 2140의 합성



[0913]

[0914] 단계 1:

[0915] DMF(10mL) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(1g, 1.44mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(995.52mg, 7.20mmol, 5당량) 및 KI(478.27mg, 2.88mmol, 2당량), 2-(2-브로모에틸)옥시란(870.12mg, 5.76mmol, 354.38 μL, 4당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. TLC는 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트가 완전히 소모되고 하나의 새로운 스팟이 형성되었음을 나타낸다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥사노에이트(0.5g, 654.23 μmol, 45.41% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

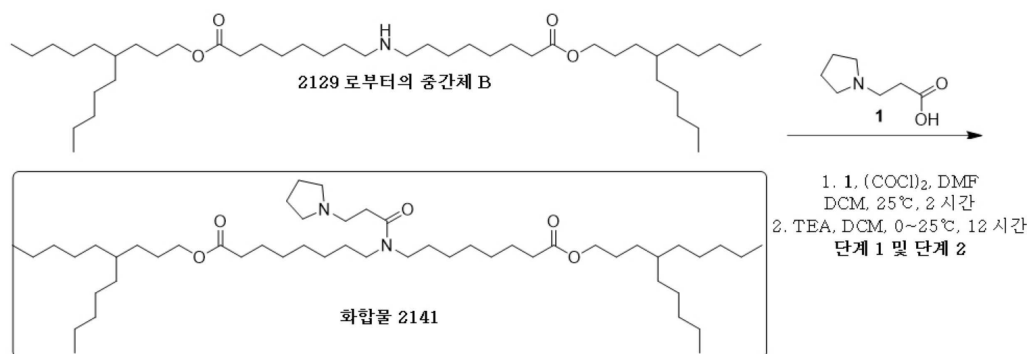
[0916] 단계 2:

[0917] Me₂NH(1M, 261.69 μL, 1당량) 중 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥사노에이트(0.2g, 261.69 μmol, 1당량)의 혼합물을 마이크로파 튜브에 넣었다. 밀봉된 튜브를 마이크로파 하에 110°C에서 24시간 동안 가열하였다. TLC는 4-헥실데실 6-[[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥사노에이트가 남아 있으며 새로운 스팟이 형성되었음을 나타낸다. 합한 유기상을 EtOAc 20mL로 희석하고, 물 60mL(20mL X 3)와 염수 40mL(20mL X 2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X 30mm X 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 45%~75%, 10분)로 정제하여 화합물 4-헥실데실 6-[[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[6-(4-헥실데옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(42mg, 51.89 μmol, 19.83% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0918] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05 (t, J=6.8 Hz 4H), 3.65-3.88 (m, 1H), 2.25-2.61 (m, 18H), 1.52-1.70 (m, 10H), 1.42-1.50 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[0919] LCMS: (M+H⁺): 809.6, 3.602분.

[0920] 4.13: 화합물 2141의 합성



[0921]

[0922] 단계 1:

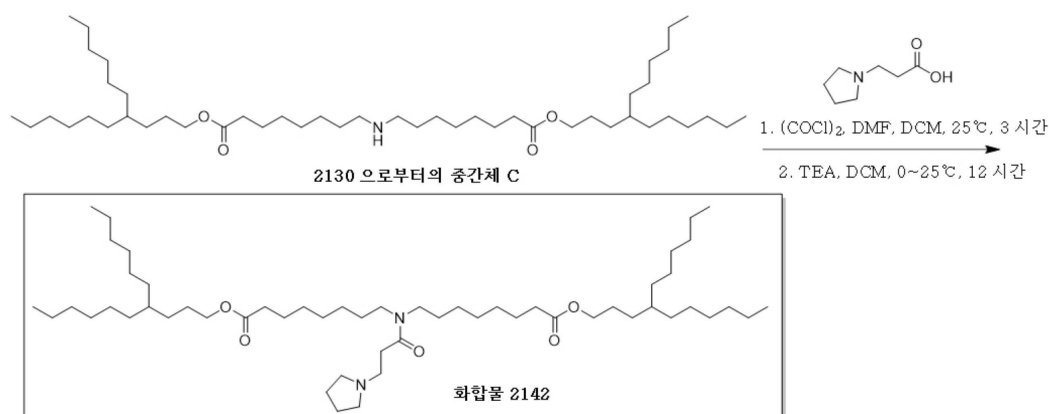
[0923] DCM(5mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(100mg, 698.41 μmol, 1당량)의 용액에 (COCl)₂(443.24mg, 3.49mmol, 305.69 μL, 5당량) 및 DMF(5.10mg, 69.84 μmol, 5.37 μL, 0.1당량)를 첨가하고, 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(112mg, 미정제)를 황색 고형분으로서 수득하였다. 미정제물을 직접 사용하였다.

[0924] 단계 2:

[0925] DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 144.06 μmol, 1당량)의 용액에 TEA(43.73mg, 432.18 μmol, 60.15 μL, 3당량) 및 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(114.15mg, 576.24 μmol, 4당량, HCl)을 0°C에서 첨가하고, 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트/MeOH = 50/1 내지 1/1)로 정제하여 화합물 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]옥타노에이트(87mg, 101.94 μmol, 70.76% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0926] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.03-4.07 (m, 4H), 3.15-3.40 (m, 4H), 2.85 (brs, 2H), 2.59 (brs, 6H), 2.27-2.33 (m, 4H), 1.82(s, 4H), 1.48-1.62(m, 12 H), 1.24-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: (M+H)⁺: 819.6, 3.842분.

[0927] 4.14: 화합물 2142의 합성



[0928]

[0929] 단계 1:

[0930] CH₂Cl₂(15mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(450mg, 3.14mmol, 1당량)의 용액에 (COCl)₂(1.20g, 9.43mmol, 825.32 μL, 3당량) 및 DMF(3mL)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(600mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

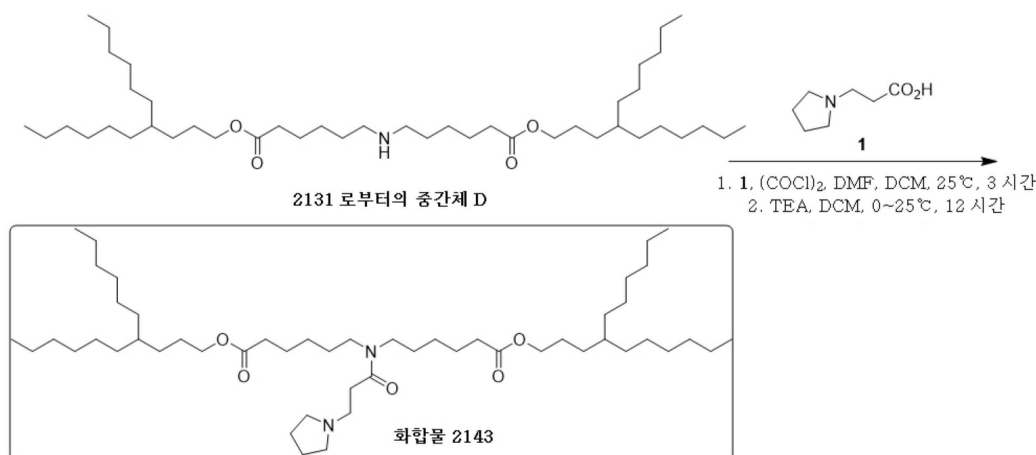
[0931] DCM(4mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(396.04mg, 2.00mmol, 5당량, HCl)를 0°C에서 DCM(3mL) 중 4-헥

실테실 8-[[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 399.86 μmol , 1당량) 및 TEA(121.38mg, 1.20mmol, 166.96 μL , 3당량)의 용액에 적가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 5mL로 희석하고 EtOAc 12mL(4mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 9mL(3mL X3)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X30mm X5 μm ; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 70%~95%, 10분)로 정제한 다음, 감압 하에 농축시켜 ACN을 제거한 다음, 수성 NaHCO_3 20mL로 pH 8로 조정하고 EtOAc 30mL(10mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 24mL(8mL X3)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1 내지 0/1, 에틸 아세테이트/MeOH = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실테실 8-[[8-(4-헥실테옥시)-8-옥소-옥틸]-(3-피롤리딘-1-일프로파노일)아미노]옥타노에이트(116mg, 128.53 μmol , 32.14% 수율, 97% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0932] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.02-4.06 (m, 4H), 3.28 (t, J=7.6 Hz, 2H), 3.21 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.86 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.48-2.68 (m, 6H), 2.27-2.32 (m, 4H), 1.82(brs, 4H), 1.57-1.65(m, 8H), 1.45-1.54(m, 4H), 1.23-1.32 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 12H).

[0933] LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 875.7, 3.678분.

[0934] 4.15: 화합물 2143의 합성



[0935]

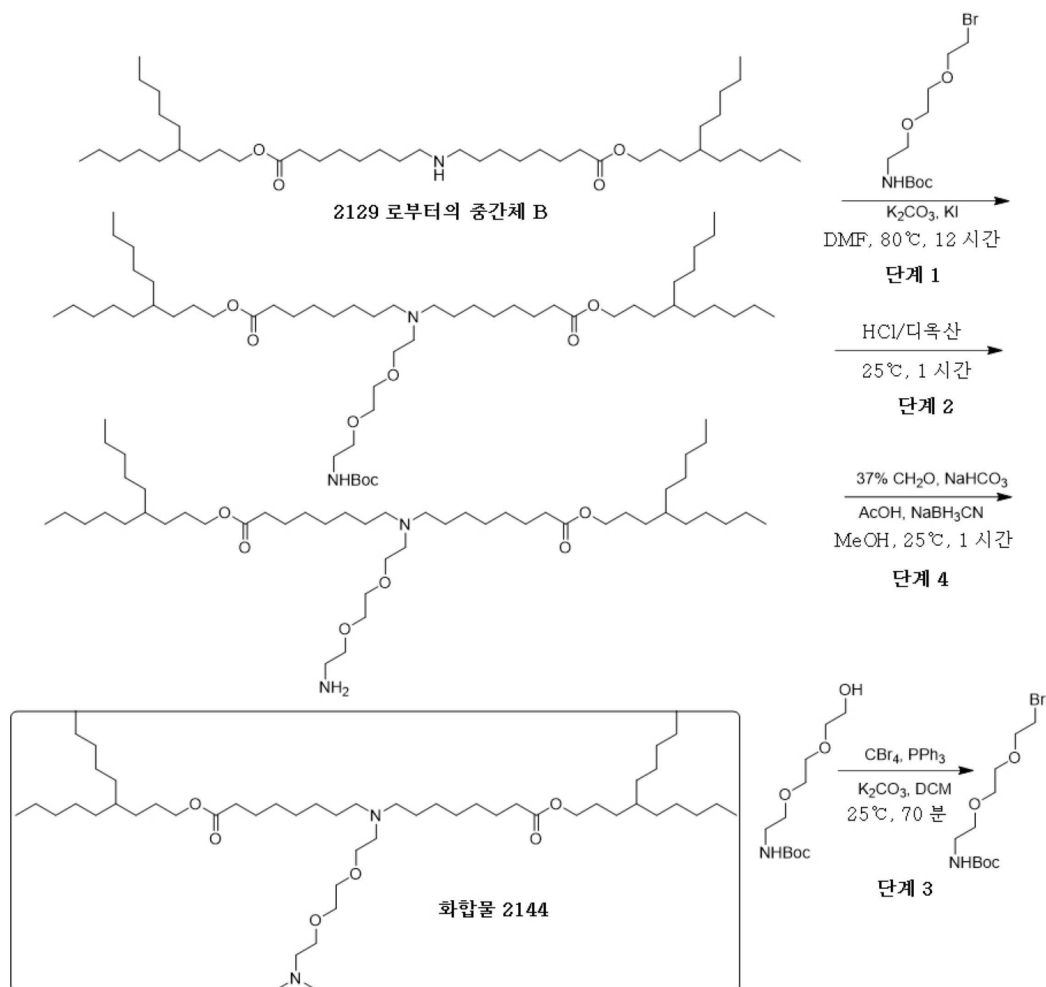
[0936] DCM(5mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(0.4g, 2.79mmol, 1당량) 및 옥살릴 이염화물(1.77g, 13.97mmol, 1.22mL, 5당량)의 용액에 2 방울의 DMF(20.42mg, 279.36 μmol , 21.49 μL , 0.1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 분위기 하에 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 3-피롤리딘-1-일프로파노일 염화물(0.5g, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다. 미정제물을 직접 사용하였다.

[0937] DCM(3mL) 중 4-헥실테실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.4g, 576.23 μmol , 1당량), 3-피롤리딘-1-일프로파노일 염화물(372.54mg, 2.30mmol, 4당량)의 용액에 TEA(174.93mg, 1.73mmol, 240.61 μL , 3당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 화합물 4-헥실테실 6-[[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]-(3-피롤리딘-1-일프로파노일)아미노]헥사노에이트(190mg, 231.90 μmol , 40.24% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0938] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 3.97-4.08 (m, 4H), 3.21-3.31 (m, 4H), 2.89 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.52-2.65 (m, 6H), 2.25-2.35 (m, 4H), 1.93 (brs, 4H), 1.52-1.67 (m, 12H), 1.15-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 819.6, 3.905분.

[0939]

4.16: 화합물 2144의 합성



[0940]

[0941]

단계 1:

[0942]

DMF(10mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 432.18 μmol , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (298.65mg, 2.16mmol, 40.10 μL , 5당량), KI(143.48mg, 864.35 μmol , 2당량) 및 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(674.63mg, 2.16mmol, 5당량)를 첨가하고, 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 물(10mL)로 켄칭하고 디클로로메탄(3 X 10mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(2 X 5mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1 내지 0/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(350mg, 378.19 μmol , 87.51% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0943]

단계 2:

[0944]

HCl/디옥산(4M, 6.00mL, 74.04당량) 중 4-펜틸노닐 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 324.17 μmol , 1당량)의 용액을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공에서 농축시켜 4-펜틸노닐 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[0945]

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 5.10 (brs, 1H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 3.64 (s, 4H), 3.55-3.56 (m, 4H), 3.32-3.33 (m, 2H), 2.66 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.44 (t, J = 5.2 Hz, 4H), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.55-1.65 (m, 8H), 1.44-1.45 (m, 13H), 1.24-1.31 (m, 50H), 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$):825.8, 0.980분.

[0946] 단계 3:

[0947] DCM(20mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(2g, 8.02mmol, 1당량)의 용액에 CBr₄(3.46g, 10.43mmol, 1.3당량) 및 K₂CO₃(1.44g, 10.43mmol, 1.3당량)을 첨가한 다음, DCM(40mL) 중 PPh₃(3.37g, 12.84mmol, 1.6당량)의 용액을 첨가하고, 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 30/1 내지 5/1)로 정제하여 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(1.2g, 3.84mmol, 47.91% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0948] 단계 4:

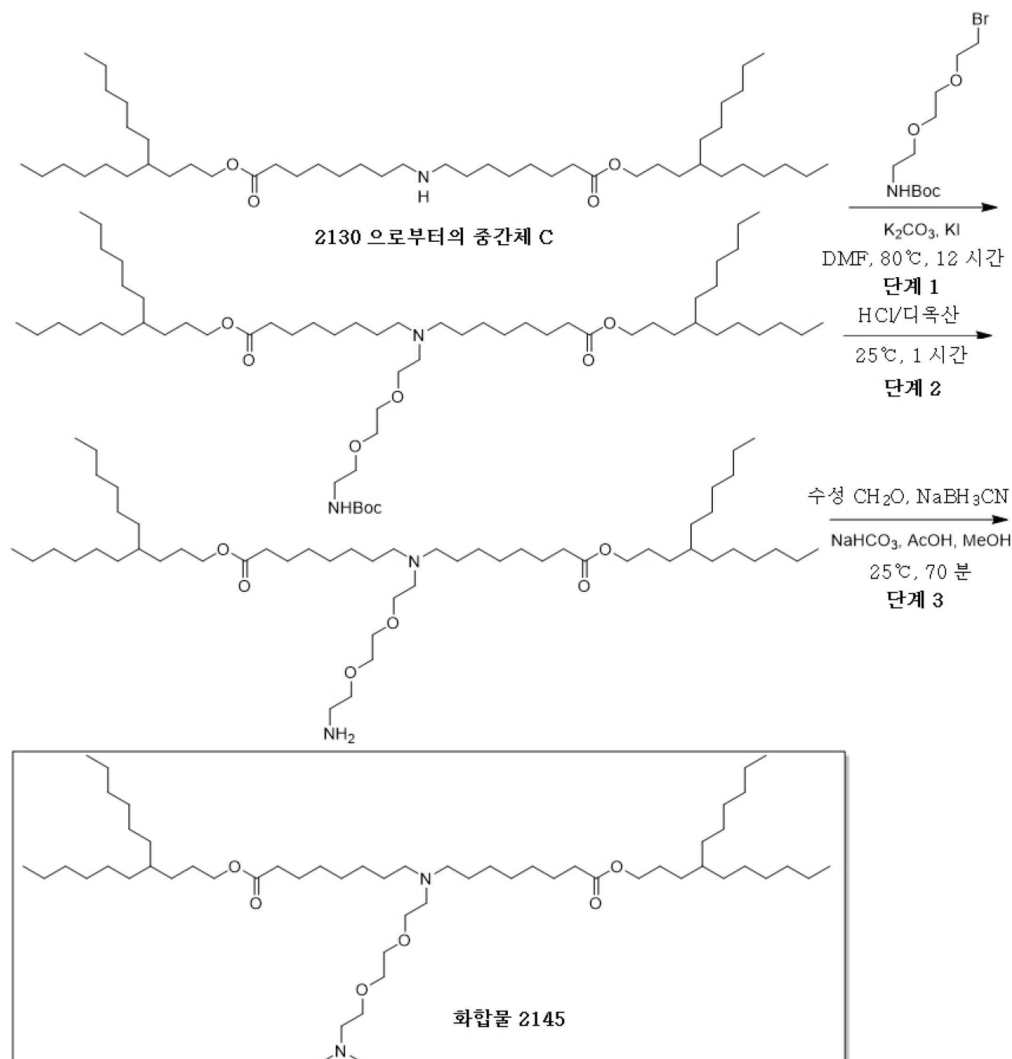
[0949] MeOH(5mL) 중 4-펜틸노닐 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(300mg, 348.11 μmol, 1당량, HCl) 및 포름알데히드(2.81g, 34.62mmol, 2.58mL, 37% 순도, 99.44당량)의 용액에 NaHCO₃(87.73mg, 1.04mmol, 40.62 μL, 3당량)을 첨가한 다음, 25℃에서 10분 동안 교반하였다. AcOH(627.14mg, 10.44mmol, 597.28 μL, 30당량) 및 NaBH₃CN(65.63mg, 1.04mmol, 3당량)을 혼합물에 첨가하고 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃(10mL)으로 켄칭하고 EtOAc(3 X 10mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(2 X 5mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 20/1 내지 1/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(104mg, 121.87 μmol, 35.01% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0950] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.50-3.61 (m, 8H), 2.67 (t, J=3.2 Hz, 2H), 2.53 (t, J=5.6 Hz, 2H), 2.44-2.48 (m, 4H), 2.27-2.32 (m, 10H), 1.55-1.64 (m, 8H), 1.40-1.47 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[0951] LCMS: (M+H)⁺:853.6, 3.493분.

[0952]

4.17: 화합물 2145의 합성



[0953]

[0954]

단계 1:

[0955]

DMF(5mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(200mg, 266.57 μmol , 1당량)의 용액에 DMF(2mL) 중 K_2CO_3 (184.21mg, 1.33mmol, 5당량), KI(88.50mg, 533.14 μmol , 2당량) 및 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(416.12mg, 1.33mmol, 5당량)를 첨가한 다음, 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 9mL로 희석하고 EtOAc 12mL(4mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 9mL(3mL X 3)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1, 에틸 아세테이트/MeOH = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실데실 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 152.82 μmol , 57.33% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0956]

단계 2:

[0957]

HCl/디옥산(4M, 6.17mL, 173.08당량) 중 4-헥실데실 8-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(140mg, 142.63 μmol , 1당량)의 용액을 25°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 4-헥실데실 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(125mg, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0958]

단계 3:

[0959]

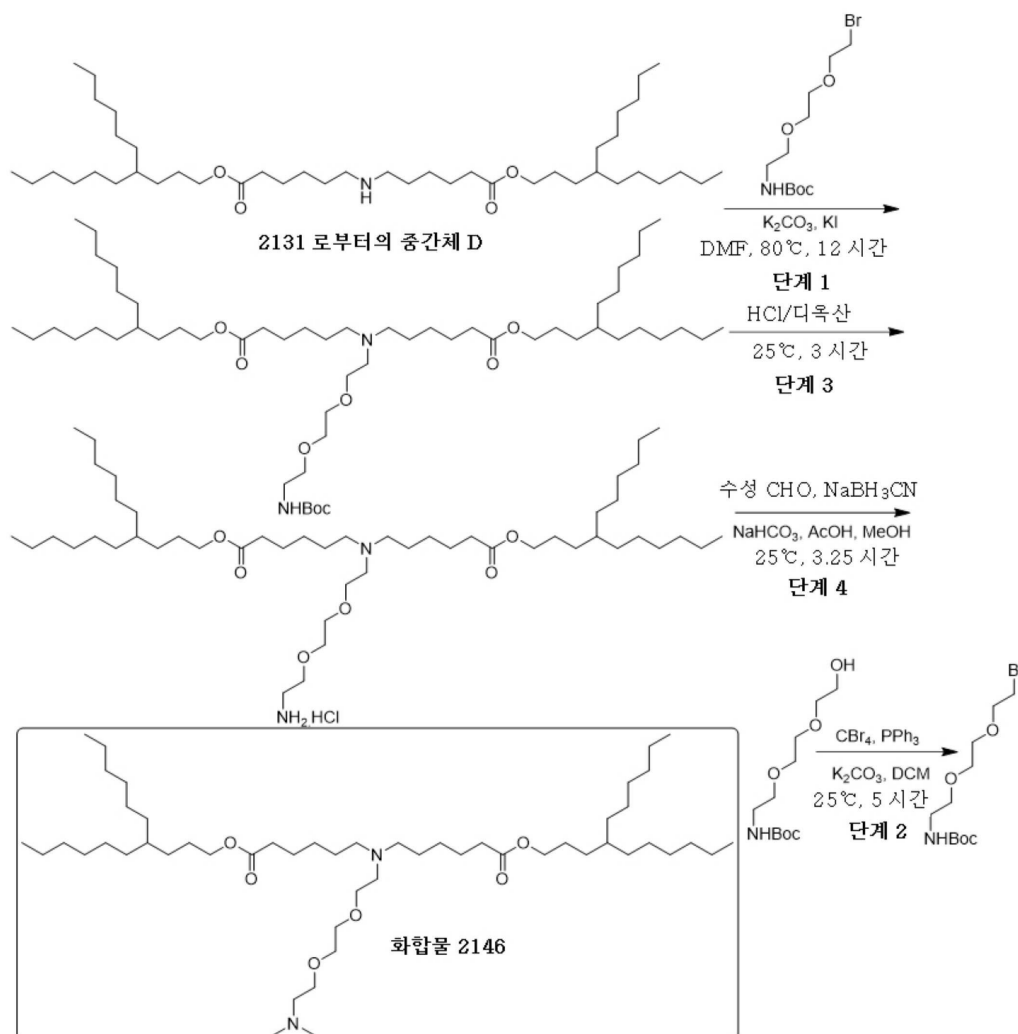
MeOH(10mL) 중 4-헥실데실 8-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸]-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(125mg, 141.81 μmol , 1당량) 및 포름알데히드(495.72mg, 16.51mmol, 454.79 μL , 116.42당량)의 용액에

NaHCO₃(35.74mg, 425.44 μmol, 16.55 μL, 3당량)을 첨가하고 25℃에서 10분 동안 교반하였다. 그런 다음, AcOH(255.49mg, 4.25mmol, 243.32 μL, 30당량) 및 NaBH₃CN(26.74mg, 425.44 μmol, 3당량)을 25℃에서 1시간 동안 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 수성 NaHCO₃ 20ml로 희석하고 EtOAc 30mL(10mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 24mL(8mL X 3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X 30mm X 5 μm; 이동상: [물(HCl)-ACN]; B%: 55%~85%, 10분)로 정제하고, 감압 하에 농축시켜 ACN을 제거한 다음, 수성 NaHCO₃ 20ml로 희석하고, EtOAc 30mL(10mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 24mL(8mL X 3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1 내지 0/1, 에틸 아세테이트:메탄올 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 4-헥실데실 8-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(25mg, 27.21 μmol, 19.19% 수율, 99% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0960] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.04 (t, J=7.2 Hz, 4H), 3.50-3.61 (m, 8H), 2.67 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.55 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.40-2.50(m, 4 H), 2.25-2.35 (m, 10H), 1.55-1.65 (m, 8H), 1.40-1.48 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 58H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[0961] LCMS: (M+H⁺): 909.7, 3.641분.

[0962] 4.18: 화합물 2146의 합성



[0963]

[0964] 단계 1:

[0965] DMF(3mL) 중 4-헥실테실 6-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(1g, 1.44mmol, 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (995.52mg, 7.20mmol, 5당량), KI(478.28mg, 2.88mmol, 2당량), 및 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(1.80g, 5.76mmol, 354.38 μ L, 4당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 10/1)로 정제하여 화합물 4-헥실테실 6-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.5g, 540.28 μ mol, 37.50% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0966] 단계 2:

[0967] DCM(50mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(1g, 4.01mmol, 1당량)의 용액에 DCM(10mL) 중 사브롬화탄소(1.73g, 5.21mmol, 1.3당량), K_2CO_3 (720.68mg, 5.21mmol, 1.3당량) 및 PPh_3 (1.68g, 6.42mmol, 1.6당량)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(2.6g, 8.33mmol, 41.52% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[0968] 단계 3:

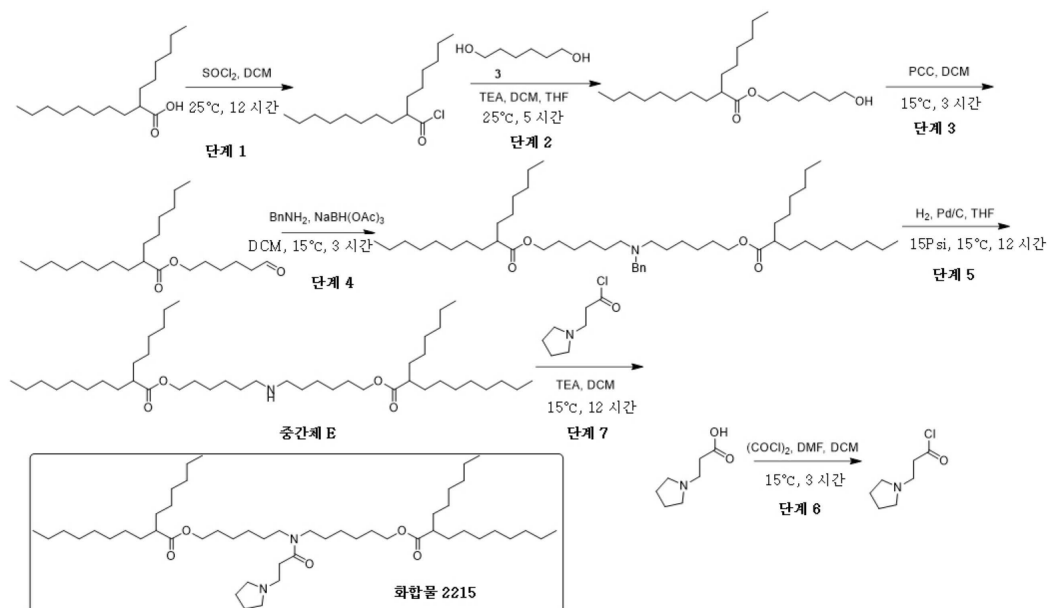
[0969] HCl/디옥산(4M, 9.35mL, 69.23당량) 중 4-헥실테실 6-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.5g, 540.28 μ mol, 1당량)의 용액을 N_2 분위기 하에 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 4-헥실테실 6-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.55g, 미정제, HCl)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0970] 단계 4:

[0971] MeOH(10mL) 중 4-헥실테실 6-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(0.55g, 638.20 μ mol, 1당량, HCl), 포름알데히드(5.45g, 67.16mmol, 5mL, 37% 순도, 105.23당량)의 용액에 $NaHCO_3$ (160.85mg, 1.91mmol, 74.47 μ L, 3당량)을 25℃에서 첨가하고 25℃에서 15분 동안 교반하였다. 그런 다음, AcOH(1.16g, 19.23mmol, 1.10mL, 30.14당량) 및 $NaBH_3CN$ (120.31mg, 1.91mmol, 3당량)을 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 4-헥실테실 6-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[6-(4-헥실테옥시)-6-옥소-헥실]아미노]헥사노에이트(227mg, 266.00 μ mol, 41.68% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0972] ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), 4.04 (t, J=7.2 Hz, 4H), 3.61(s, 4H), 3.58 (t, J=6.4 Hz, 2H), 3.53 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.65 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.52 (t, J=5.6 Hz, 2H), 2.45 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.30 (t, J=7.6 Hz, 4H), 2.27 (s, 6H), 1.55-1.69 (m, 8H), 1.40-1.49 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 12H).
LCMS: (M+H)⁺: 853.7, 2.979분.

[0973] 4.18: 화합물 2215의 합성



[0974]

[0975] 단계 1:

[0976] DCM(200mL) 중 2-헥실데칸산(30g, 116.99mmol, 1당량)의 혼합물을 SOCl_2 (13.92g, 116.99mmol, 8.49mL, 1.5당량)를 N_2 분위기 하에 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 2-헥실데카노일 염화물(32g, 미정제)을 황색 오일로서 수득하였다. 미정제 생성물을 다음 단계를 위해 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[0977] 단계 2:

[0978] DCM(20mL) 및 THF(20mL) 중 헥산-1,6-디올(13.76g, 116.42mmol, 13.90mL, 1당량)의 혼합물에 TEA(11.78g, 116.42mmol, 16.20mL, 1당량) 및 2-헥실데카노일 염화물(32g, 116.42mmol, 1당량)을 첨가한 다음, 혼합물을 N_2 분위기 하에 25°C에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1)로 정제하여 화합물 6-하이드록시헥실 2-헥실데카노에이트(16g, 44.87mmol, 38.54% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0979] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.07 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.65 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.31-2.36 (m, 1H), 1.57-1.66 (m, 6H), 1.35-1.45 (m, 6H), 1.20-1.30 (m, 20H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[0980] 단계 3:

[0981] DCM(150mL) 중 6-하이드록시헥실 2-헥실데카노에이트(12g, 33.65mmol, 1당량)의 용액에 PCC(8.70g, 40.38mmol, 1.2당량)를 15°C에서 첨가한 다음, N_2 분위기 하에 15°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 50/1)로 정제하여 화합물 6-옥소헥실 2-헥실데카노에이트(8.1g, 22.84mmol, 67.88% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0982] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 9.76 (s, 1H), 4.07 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.42-2.46 (m, 2H), 2.26-2.34 (m, 1H), 1.55-1.70 (m, 6H), 1.36-1.46 (m, 4H), 1.24-1.28 (m, 20H), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[0983] 단계 4:

[0984] DCM(150mL) 중 6-옥소헥실 2-헥실데카노에이트(7.7g, 21.72mmol, 2.5당량), 페닐메탄아민(930.80mg, 8.69mmol, 946.90 μL , 1당량) 및 나트륨;트리아세톡시보라나이드(5.52g, 26.06mmol, 3당량)의 혼합물을 N_2 분위기 하에 15°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 90mL(30mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에

서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 8/1)로 정제하여 화합물 6-[벤질[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(3g, 3.83mmol, 44.03% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0985] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 7.23-7.31 (m, 5H), 4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 4H), 3.54 (s, 2H), 2.40 (m, 4H), 2.28-2.35 (m, 2H), 1.59-1.62 (m, 8H), 1.40-1.47 (m, 8H), 1.26-1.32 (m, 48H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 784.7.

[0986] 단계 5:

[0987] THF(50mL) 중 Pd/C(1g, 10% 순도)의 현탁액에 THF(10mL) 중 6-[벤질[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(3g, 3.83mmol, 1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 H_2 (15Psi) 분위기 하에 15°C 에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1)로 정제하여 화합물 6-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(2.1g, 3.03mmol, 79.09% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0988] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.06 (t, $J = 6.8$ Hz, 4H), 2.56 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H), 2.67-2.34 (m, 2H), 1.25-1.66 (m, 65H), 0.87 (t, $J = 6.8$ Hz, 12H).

[0989] 단계 6:

[0990] DCM(8mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(200mg, 1.40mmol, 1당량)의 용액에 DMF(19.00mg, 259.94 μmol , 0.02mL, 1.86e-1당량) 및 옥살릴 이염화물(886.46mg, 6.98mmol, 611.35 μL , 5당량)를 15°C 에서 첨가한 다음, N_2 분위기 하에 15°C 에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(200mg, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다. 미정제 생성물을 다음 단계를 위해 다음 단계에서 바로 사용하였다.

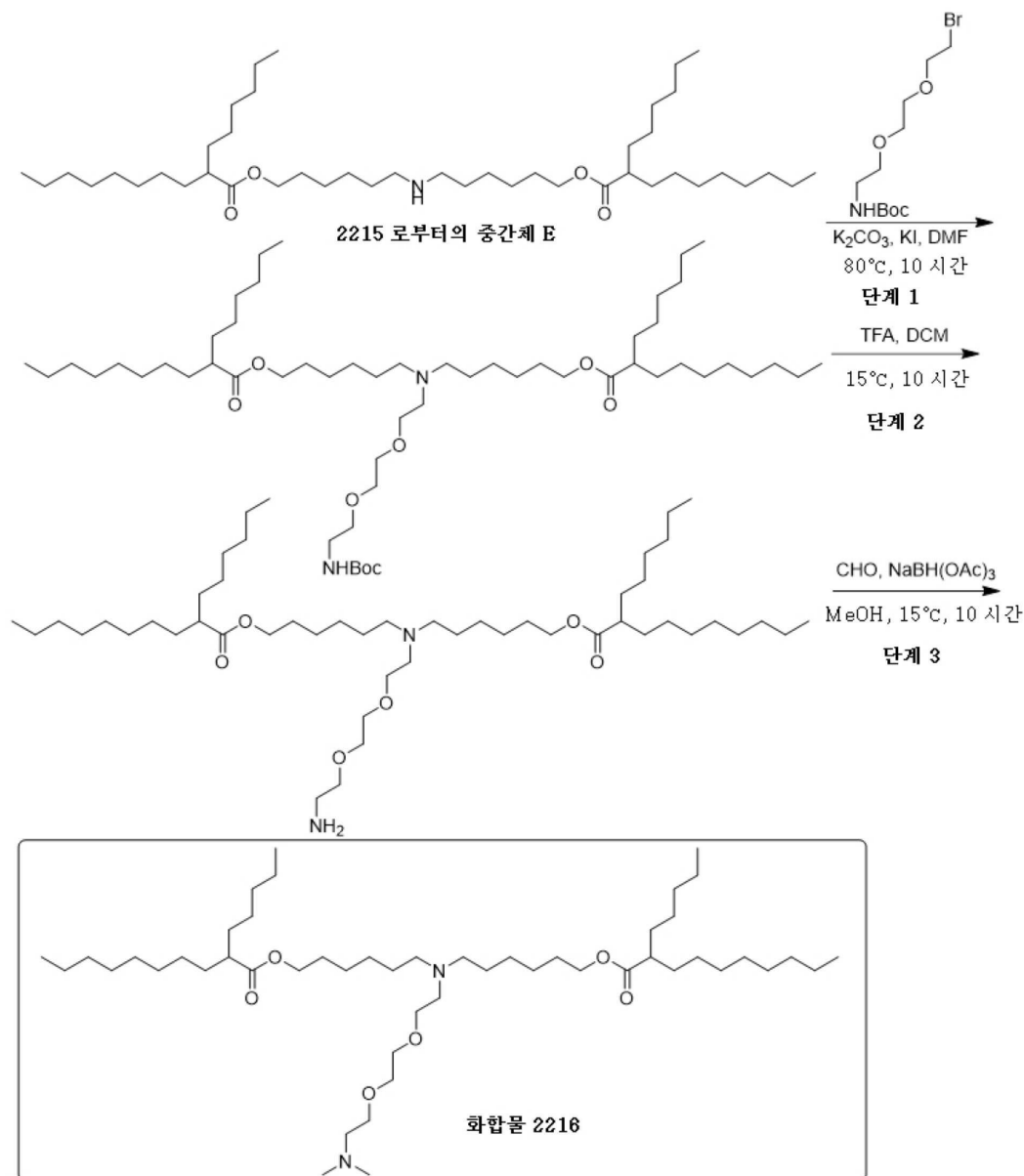
[0991] 단계 7:

[0992] DCM(8mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(186.27mg, 1.15mmol, 4당량)의 용액에 DCM(8mL) 중 6-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(200mg, 288.12 μmol , 1당량) 및 TEA(291.54mg, 2.88mmol, 401.02 μL , 10당량)를 15°C 에서 첨가한 다음, N_2 분위기 하에 15°C 에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1, 10% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)로 정제하여 화합물 6-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(64mg, 78.11 μmol , 27.11% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[0993] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.06 (q, $J = 6.4$ Hz, 4H), 3.20-3.31 (m, 4H), 2.81 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.52-2.56 (m, 6H), 2.27-2.35 (m, 2H), 1.78-1.81 (m, 4H), 1.50-1.66 (m, 14H), 1.26-1.45 (m, 50H), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 819.6, 3.495분.

[0994]

4.19: 화합물 2216의 합성



[0995]

[0996]

단계 1:

[0997]

DMF(10mL) 중 6-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(500mg, 720.29 μ mol, 1당량)의 용액에 tert-부틸 N-[2-[2-(2-브로모에톡시)에톡시]에틸]카바메이트(899.50mg, 2.88mmol, 4당량), K_2CO_3 (497.74mg, 3.60mmol, 5당량) 및 KI(239.14mg, 1.44mmol, 2당량)를 15°C에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N_2 로 3회 퍼징한 다음, N_2 분위기 하에 80°C에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 50ml H_2O 로 희석하고 EtOAc 30mL(15mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1, 5% $NH_3 \cdot H_2O$)로 정제하여 화합물 6-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸]-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실테카노에이트(430mg, 464.64 μ mol, 64.51% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[0998]

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), 5.04 (brs, 1H), 4.06 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 3.60 (s, 4H), 3.52-3.56 (m, 4H), 3.32 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 2.65 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.44 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.28-2.35 (m, 2H), 1.59-1.64 (m, 8H), 1.26-1.45 (m, 66H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[0999] LCMS: (M+H⁺): 925.8.

[1000] 단계 2:

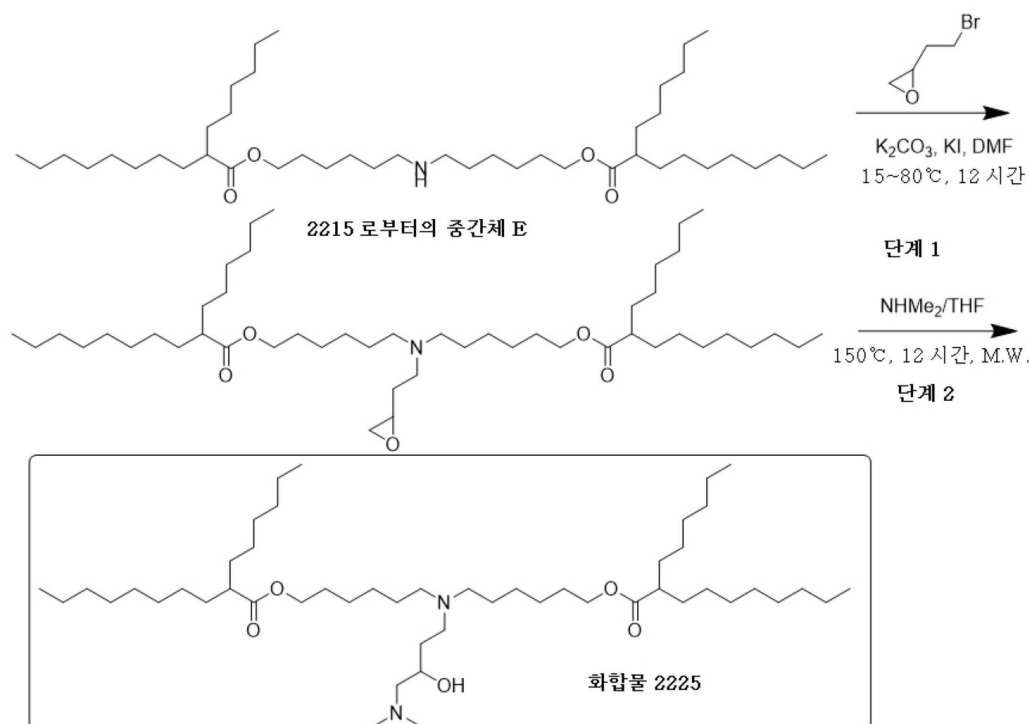
[1001] DCM(8mL) 중 6-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에틸-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(430mg, 464.64 μmol, 1당량)의 용액에 TFA(3.08g, 27.01mmol, 2mL, 58.14당량)를 15℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 15℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO₃으로 pH 7.0으로 조정하고 EtOAc 50mL(25mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 6-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(350mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다. 미정제 생성물을 다음 단계에 사용하였다.

[1002] 단계 3:

[1003] MeOH(5mL) 중 6-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에틸-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(250mg, 302.91 μmol, 1당량)의 용액에 포름알데히드(5.45g, 67.16mmol, 5.00mL, 37% 순도, 221.71당량) 및 NaBH(OAc)₃(192.60mg, 908.72 μmol, 3당량)을 15℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 15℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 수성 포화 NaHCO₃으로 pH 7.0으로 조정하고 EtOAc 100mL(50mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 2/1, 5% NH₃·H₂O)로 정제하여 화합물 6-[2-[2-[2-(디메틸아미노)에톡시]에톡시]에틸-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(66mg, 76.18 μmol, 25.15% 수율, 98.5% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1004] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.06 (t, J = 6.4 Hz, 4H), 3.52-3.61 (m, 8H), 2.66 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.52 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.45(t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.27-2.2 (m, 8H), 1.56-1.64 (m, 8H), 1.26-1.44 (m, 56H), 0.88 (t, J = 7.2 Hz, 12H). LCMS: (M+H⁺): 853.7, 2.960분.

[1005] 4.20: 화합물 2225의 합성



[1006]

[1007] 단계 1:

[1008] DMF(15mL) 중 6-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(500mg, 720.29 μmol , 1당량)의 용액에 2-(2-브로모에틸)옥시란(435.06mg, 2.88mmol, 4당량), K_2CO_3 (497.74mg, 3.60mmol, 5당량) 및 KI(239.14mg, 1.44mmol, 2당량)를 15℃에서 첨가한 다음, N_2 분위기 하에 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 20mL로 희석하고 EtOAc 80mL(40mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)로 정제하여 화합물 6-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(200mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1009] LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 764.7, 1.072분.

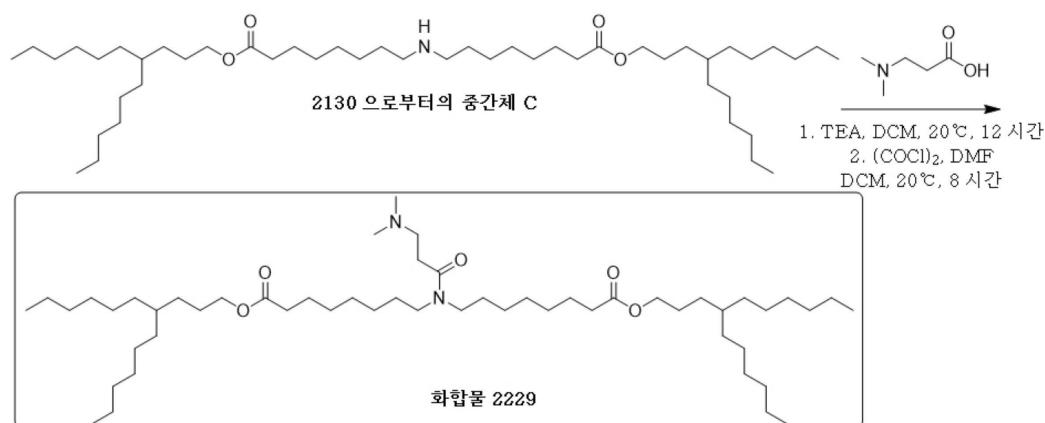
[1010] 단계 2:

[1011] 6-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실-[2-(옥시란-2-일)에틸]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(150mg, 196.27 μmol , 1당량) 및 $\text{Me}_2\text{NH}/\text{THF}$ (2M, 8mL, 81.52당량)의 혼합물을 마이크로 튜브에 넣었다. 밀봉된 튜브를 마이크로파 하에 150℃에서 12시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-HPLC(컬럼: Phenomenex Luna C18 100 X 30mm X 5 μm ; 이동상: [물(HCl)-MeOH]; B%: 60%~90%, 10분)로 정제한 다음, 수성 포화 NaHCO_3 으로 pH 8로 조정하고 EtOAc(30mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 6-[4-(디메틸아미노)-3-하이드록시-부틸]-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(30mg, 37.07 μmol , 18.89% 수율, 100% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1012] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.06 (t, J=6.8 Hz, 4H), 3.68-3.90 (m, 1H), 2.30-2.73 (m, 16H), 1.56-1.65 (m, 10H), 1.26-1.46 (m, 56H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1013] LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 809.6, 3.202분.

[1014] 4.21: 화합물 2229의 합성



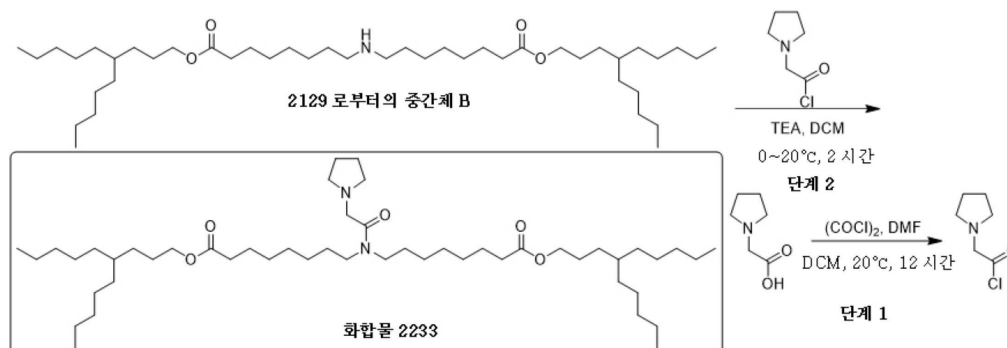
[1015]

[1016] DCM(5mL) 중 3-(디메틸아미노)프로판산(170mg, 1.11mmol, 1당량, HCl)의 용액에 $(\text{COCl})_2$ (702.38mg, 5.53mmol, 484.40 μL , 5당량) 및 DMF(8.09mg, 110.67 μmol , 8.51 μL , 0.1당량)를 첨가하고, 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(191mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[1017] DCM(2mL) 중 4-헥실데실 8-[[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(150mg, 199.93 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(141.62mg, 1.40mmol, 194.79 μL , 7당량) 및 3-(디메틸아미노)프로파노일 염화물(190mg, 1.10mmol, 5.52당량, HCl)를 0℃에서 첨가하고, 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트/MeOH = 50/1 내지 1/1)로 정제하여 4-헥실데실 8-[3-(디메틸아미노)프로파노일-[8-(4-헥실데옥시)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(39mg, 45.91 μmol , 22.97% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1018] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.02-4.07 (m, 4H), 3.28 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 3.21 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.68 (brs, 2H), 2.52 (brs, 2H), 2.25-2.32 (m, 10H), 1.55-1.66 (m, 8H), 1.48-1.55 (m, 4H), 1.24-1.35 (m, 58H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 849.7, 3.383분.

[1019] 4.22: 화합물 2233의 합성



[1020]

[1021] 단계 1:

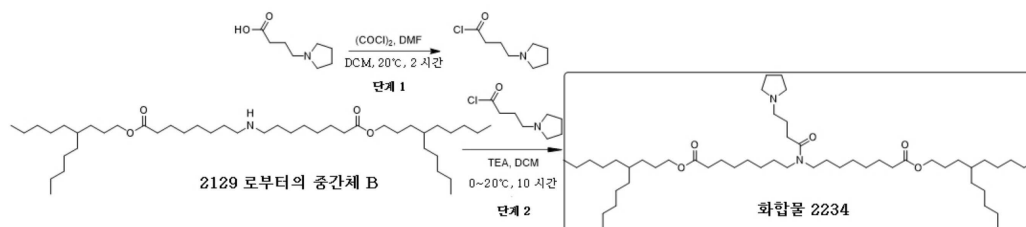
[1022] DCM(5mL) 중 2-피롤리딘-1-일아세트산(100mg, 774.25 μmol , 1당량)의 용액에 $(\text{COCl})_2$ (491.38mg, 3.87mmol, 338.88 μL , 5당량) 및 DMF(5.66mg, 77.43 μmol , 5.96 μL , 0.1당량)를 첨가하고, 20°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 2-피롤리딘-1-일아세트 염화물(114mg, 미정제)을 황색 고형분으로서 수득하였다. 미정제 생성물을 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1023] 단계 2:

[1024] DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(100mg, 144.06 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(58.31mg, 576.24 μmol , 80.20 μL , 4당량) 및 2-피롤리딘-1-일아세트 염화물(106.06mg, 576.24 μmol , 4당량, HCl)을 0°C에서 첨가하고, 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 출발 반응물이 소모되었음을 보여주었다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트/MeOH = 50/1 내지 1/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]-(2-피롤리딘-1-일아세트)아미노]옥타노에이트(58mg, 72.02 μmol , 49.99% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1025] ^1H NMR (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$), 4.03 (t, $J=6.8$ Hz, 4H), 3.41 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 3.28 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.24 (s, 2H), 2.49-2.52 (m, 4H), 2.26-2.30 (m, 4H), 1.71-1.75 (m, 4H), 1.50-1.63 (m, 12H), 1.28-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 805.7, 1.079분.

[1026] 4.23: 화합물 2234의 합성



[1027]

[1028] 단계 1:

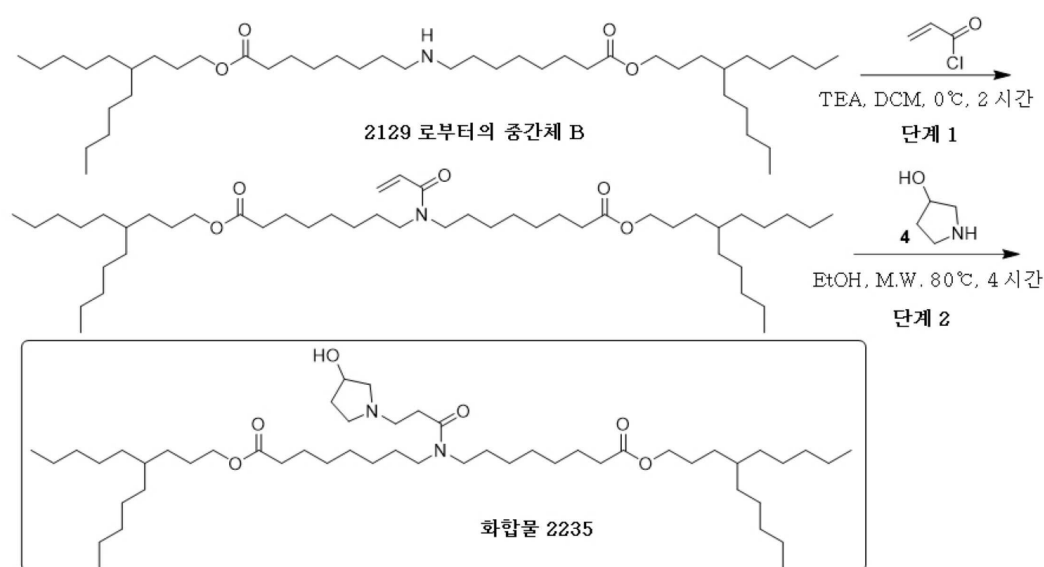
[1029] DCM(5mL) 중 4-피롤리딘-1-일부탄산(160mg, 1.02mmol, 1당량)의 용액에 $(\text{COCl})_2$ (645.91mg, 5.09mmol, 445.46 μL , 5당량) 및 DMF(7.44mg, 101.77 μmol , 7.83 μL , 0.1당량)를 첨가하고, 반응 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. TLC는 출발 반응물이 소모되었음을 보여주었다(MeOH로 켄칭됨). 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 4-피롤리딘-1-일부탄산 염화물(216mg, 미정제, HCl)을 황색 고형분으로서 수득하였다. 미정제물을 다음 단계에서 바로 사용하였다.

단계 2:

DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(170mg, 244.90 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(99.13mg, 979.60 μmol , 136.35 μL , 4당량) 및 4-피롤리딘-1-일부타노일 염화물(207.79mg, 979.60 μmol , 4당량, HCl)을 0℃에서 첨가하고, 20℃에서 10시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트/MeOH = 50/1 내지 1/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]-(4-피롤리딘-1-일부타노일)아미노]옥타노에이트(101mg, 119.98 μmol , 48.99% 수율, 99% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.02-4.07 (m, 4H), 3.28 (t, J=8.0 Hz, 2H), 3.21 (t, J=8.0 Hz, 2H), 2.45-2.52 (m, 6H), 2.27-2.36 (m, 6H), 1.86 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.77 (brs, 4H), 1.58-1.66 (m, 8H), 1.48-1.55 (m, 4H), 1.24-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H).

LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 833.7, 3.207분.

4.24: 화합물 2235의 합성**단계 1:**

DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(500mg, 720.29 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(364.43mg, 3.60mmol, 501.28 μL , 5당량) 및 프로프-2-에노일 염화물(260.77mg, 2.88mmol, 234.93 μL , 4당량)를 0℃에서 첨가하였다. 그런 다음, 반응 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 1/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]-프로프-2-에노일-아미노]옥타노에이트(400mg, 미정제)를 무색 오일로서 수득하였다.

단계 2:

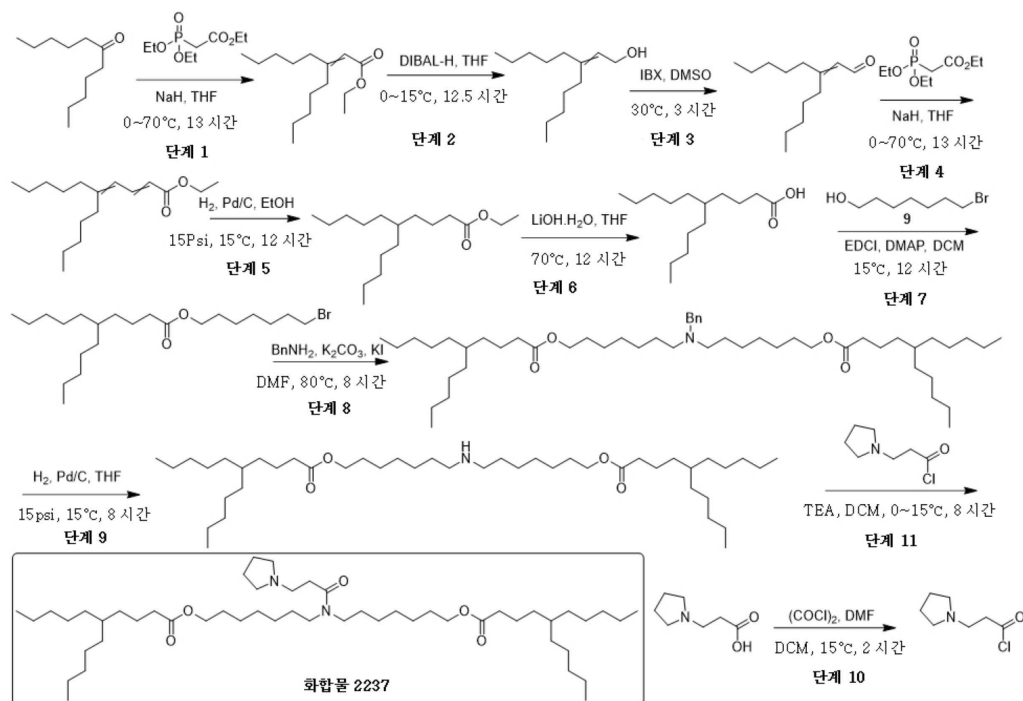
EtOH(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]-프로프-2-에노일-아미노]옥타노에이트(200mg, 267.30 μmol , 1당량)의 용액에 피롤리딘-3-올(69.86mg, 801.91 μmol , 64.69 μL , 3당량)을 첨가하였다. 그런 다음, 반응 혼합물을 M.W. 조건 하에 80℃에서 4시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트/MeOH = 50/1 내지 1/1)로 정제하여 4-펜틸노닐 8-[3-(3-하이드록시피롤리딘-1-일)프로파노일]-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(88mg, 104.29 μmol , 39.02% 수율, 99% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.35-4.38 (m, 1H), 4.02-4.07 (m, 4H), 3.19-3.31 (m, 4H), 2.75-2.99 (m, 4H), 2.50-2.59 (m, 2H), 2.35-2.40 (m, 1H), 2.25-2.30 (m, 4H), 2.15-2.25 (m, 1H), 1.70-1.85 (m, 1H), 1.45-

1.66 (m, 13H), 1.24-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H).

LCMS: (M+H)⁺: 835.8, 2.227분.

4.25. 화합물 2237의 합성



단계 1:

THF(40mL) 중 NaH(1.17g, 29.36mmol, 60% 순도, 1당량)의 용액에 에틸 2-디에톡시포스포릴아세테이트(9.87g, 44.04mmol, 8.74mL, 1.5당량)를 15°C에서 적가한 다음, 15°C에서 30분 동안 교반한 다음, 0°C로 냉각시켰다. 온 데칸-6-온(5g, 29.36mmol, 1당량)을 0°C에서 혼합물에 적가하였다. 혼합물을 15°C에서 30분 동안 교반하고 70°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 수성 포화 NaHCO₃ 50mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 100mL(50mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 에틸 3-펜틸옥트-2-에노에이트(16.58g, 68.97mmol, 58.73% 수율, 4 배치)를 무색 오일로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 5.62 (s, 1H), 4.10-4.17 (m, 2H), 2.58-2.61 (m, 2H), 2.10-2.15 (m, 2H), 1.43-1.48 (m, 4H), 1.20-1.45 (m, 12H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).

단계 2:

THF(100mL) 중 에틸 3-펜틸옥트-2-에노에이트(11.5g, 47.84mmol, 1당량)의 용액에 DIBAL-H(1M, 143.55mL, 3.00당량)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 0.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 15°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 Na₂SO₄·10H₂O(20g)를 첨가하여 켄칭한 다음, 30ml H₂O 및 Na₂SO₄를 첨가하였다. 그 후, 여과하고 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 3-펜틸옥트-2-엔-1-올(7.8g, 39.33mmol, 82.20% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 5.38 (t, J=6.8 Hz, 1H), 4.10-4.17 (m, 2H), 2.00-2.06 (m, 5H), 1.20-1.45 (m, 14H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).

단계 3:

- [1051] DMSO(60mL) 중 3-펜틸옥트-2-엔-1-올(5.8g, 29.24mmol, 1당량)의 용액에 IBX(12.28g, 43.86mmol, 1.5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H₂O 60mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, 여과하여 여액을 수득하고, EtOAc 180mL(60mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 120mL(60mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트= 1/0 내지 80/1)로 정제하여 화합물 3-펜틸옥트-2-에날(2.7g, 13.75mmol, 47.03% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.
- [1052] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 9.99 (d, J=8.0 Hz, 1H), 5.86 (d, J=8.4 Hz, 1H), 2.55 (t, J=8.0 Hz, 2H), 2.21 (t, J=6.8 Hz, 2H), 1.31-1.53 (m, 12H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).
- [1053] 단계 4:
- [1054] THF(30mL) 중 NaH(825.07mg, 20.63mmol, 60% 순도, 1.5당량)의 용액에 에틸 2-디에톡시포스포릴아세테이트(6.17g, 27.50mmol, 5.46mL, 2당량)를 15℃에서 적가하고 15℃에서 30분 동안 교반한 다음, 0℃로 냉각시켰다. 3-펜틸옥트-2-에날(2.7g, 13.75mmol, 1당량)을 혼합물에 적가하였다. 혼합물을 15℃에서 30분 동안 교반하고 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 NaHCO₃ 50mL를 첨가하여 퀀칭한 다음, EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 100mL(50mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 40/1)로 정제하여 화합물 에틸 5-펜틸데카-2,4-디에노에이트(3.5g, 13.14mmol, 95.53% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1055] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.55-7.62 (m, 1H), 5.97 (d, J=11.6 Hz, 1H), 5.78 (d, J=15.2 Hz, 1H), 4.17-4.23 (m, 2H), 2.27 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.14 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.26-1.50 (m, 16H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).
- [1056] 단계 5:
- [1057] EtOH(35mL) 중 Pd/C(500mg, 13.14mmol, 10% 순도, 1당량)의 용액에 에틸 5-펜틸데카-2,4-디에노에이트(3.5g, 13.14mmol, 1당량)를 N₂ 분위기 하에 첨가하였다. 현탁액을 탈기하고 H₂로 3회 퍼징하였다. 혼합물을 H₂(15Psi) 하에 15℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 화합물 에틸 5-펜틸데카노에이트(2.5g, 9.24mmol, 70.36% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1058] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.10-4.16 (m, 2H), 2.27 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.57-1.62 (m, 2H), 1.23-1.32 (m, 22H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).
- [1059] 단계 6:
- [1060] THF(50mL) 및 H₂O(10mL) 중 에틸 5-펜틸데카노에이트(2.5g, 9.24mmol, 1당량)의 용액에 LiOH·H₂O(581.86mg, 13.87mmol, 1.5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 70℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 PE 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 수성상을 pH가 6~7이 될 때까지 1M HCl을 적가하고, EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 100mL(50mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 5-펜틸데칸산(1.95g, 8.02mmol, 86.80% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.
- [1061] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 2.34 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.57-1.62 (m, 2H), 1.23-1.32 (m, 20H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).
- [1062] 단계 7:
- [1063] DCM(30mL) 중 5-펜틸데칸산(1.9g, 7.84mmol, 1당량) 및 7-브로모헵탄-1-올(1.84g, 9.41mmol, 1.2당량)의 용액에 EDCI(2.25g, 11.76mmol, 1.5당량) 및 DMAP(478.80mg, 3.92mmol, 0.5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크

로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 80/1)로 정제하여 화합물 7-브로모헵틸 5-펜틸데카노에이트(3g, 7.15mmol, 91.24% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1064] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.05-4.15 (m, 2H), 3.41 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.28 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.86-1.88 (m, 2H), 1.57-1.80 (m, 4H), 1.23-1.32 (m, 26H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 6H).

[1065] 단계 8:

[1066] DMF(75mL) 중 페닐메탄아민(377.50mg, 3.52mmol, 384.03 μL , 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (2.43g, 17.62mmol, 5당량) 및 KI(1.46g, 8.81mmol, 2.5당량)를 첨가한 다음, DMF(30mL) 중 7-브로모헵틸 5-펜틸데카노에이트(3g, 7.15mmol, 2.03당량)의 용액을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 H_2O 100mL를 첨가하여 냉정한 다음, EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 100mL(50mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1)로 정제하여 화합물 7-[벤질-7-(5-펜틸 데카노일옥시)헵틸]아미노]헵틸 5-펜틸데카노에이트(1.5g, 1.91mmol, 54.29% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1067] 단계 9:

[1068] THF(10mL) 중 7-[벤질-7-(5-펜틸데카노일옥시)헵틸]아미노]헵틸 5-펜틸데카노에이트(1.5g, 1.91mmol, 1당량) 및 Pd/C(150mg, 10% 순도)의 용액을 H_2 (15Psi) 하에 15°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 7-[7-(5-펜틸데카노일옥시)헵틸아미노]헵틸 5-펜틸데카노에이트(391mg, 563.27 μmol , 29.45% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1069] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.06 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.28 (t, $J=7.2$ Hz, 4H), 1.58-1.66 (m, 7H), 1.48-1.55 (m, 5H), 1.22-1.35 (m, 44H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H).

[1070] 단계 10:

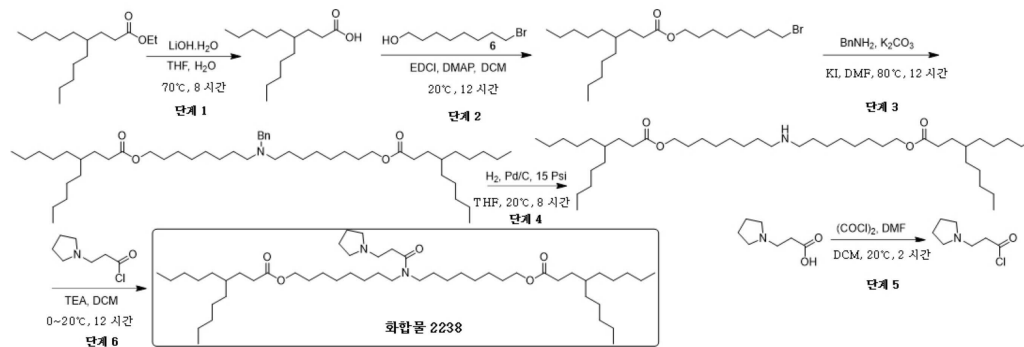
[1071] DCM(5mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(170mg, 1.19mmol, 1당량)의 용액에 $(\text{COCl})_2$ (753.49mg, 5.94mmol, 519.65 μL , 5당량) 및 DMF(8.68mg, 118.73 μmol , 9.14 μL , 0.1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 화합물 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(235.19mg, 1.19mmol, 미정제, HCl 염)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

[1072] 단계 11:

[1073] DCM(5mL) 중 7-[7-(5-펜틸데카노일옥시)헵틸아미노]헵틸 5-펜틸데카노에이트(150mg, 216.09 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(153.06mg, 1.51mmol, 210.54 μL , 7당량) 및 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(235.19mg, 1.19mmol, 5.49당량, HCl)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 7-[7-(5-펜틸데카노일옥시)헵틸-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]헵틸 5-펜틸데카노에이트(29mg, 35.39 μmol , 16.38% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1074] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.03-4.09 (m, 4H), 3.29 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 3.23 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.41-3.10 (m, 8H), 2.25-2.30 (m, 4H), 1.70-2.05 (brs, 4H), 1.58-1.66 (m, 8H), 1.48-1.55 (m, 4H), 1.17-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 12H. LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 819.6, 3.180분.

[1075] 4.26. 화합물 2238의 합성



[1076]

[1077] 단계 1:

[1078] THF(10mL) 중 에틸 4-펜틸노나노에이트(1.2g, 4.68mmol, 1당량)의 용액에 H₂O(2mL) 중 LiOH.H₂O(294.57mg, 7.02mmol, 7.05mL, 1.5당량)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 70℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃에서 H₂O(20mL)를 첨가한 다음, 감압 하에 농축시켜 THF를 제거하였다. 수상을 석유 에테르(10mL X 3)로 추출한 다음, 1N 수성 HCl로 pH 약 3으로 조정하고, EtOAc(20mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(50mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 4-펜틸노난산(1g, 미정제)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1079] 단계 2:

[1080] DCM(5mL) 중 4-펜틸노난산(1g, 4.38mmol, 1당량) 및 8-브로모옥탄-1-올(1.01g, 4.82mmol, 825.65 μL, 1.1당량)의 용액에 DMAP(267.48mg, 2.19mmol, 0.5당량) 및 EDCI(1.26g, 6.57mmol, 1.5당량)를 첨가하고, 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H₂O(5mL)에 첨가하고 EtOAc(5mL X 3)로 추출하였다. 유기층을 염수(5mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1)로 정제하여 8-브로모옥틸 4-펜틸노나노에이트(1.7g, 4.05mmol, 92.55% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1081] 단계 3:

[1082] DMF(5mL) 중 BnNH₂(210mg, 1.96mmol, 213.63 μL, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(1.35g, 9.80mmol, 5당량) 및 KI(813.33mg, 4.90mmol, 2.5당량)를 첨가하였다. 그런 다음, DMF(5mL) 중 8-브로모옥틸 4-펜틸노나노에이트(1.67g, 3.97mmol, 2.03당량)의 용액을 혼합물에 첨가하고 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H₂O(50mL)에 붓고 EtOAc(10mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(10mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 20/1)로 정제하여 8-[벤질-[8-(4-펜틸노나노일옥시)옥틸]아미노]옥틸 4-펜틸노나노에이트(700mg, 892.53 μmol, 45.54% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1083] 단계 4:

[1084] THF(50mL) 중 Pd/C(100mg, 892.53 μmol, 10% 순도, 1당량)의 용액에 8-[벤질-[8-(4-펜틸노나노일옥시)옥틸]아미노]옥틸 4-펜틸노나노에이트(700mg, 892.53 μmol, 1당량)를 첨가하고, 15Psi 하의 H₂ 하에 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 8-[8-(4-펜틸노나노일옥시)옥틸아미노]옥틸 4-펜틸노나노에이트(300mg, 432.18 μmol, 48.42% 수율)를 갈색 오일로서 수득하였다.

[1085] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.06 (t, J=6.4 Hz, 4H), 2.60 (t, J=7.6 Hz, 4H), 2.25-2.30 (m, 4H), 1.45-1.66 (m, 16H), 1.20-1.31 (m, 46H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1086] 단계 5:

[1087] DCM(5mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(320.00mg, 2.23mmol, 1당량)의 용액에 (COCl)₂(1.42g, 11.17mmol,

978.19 μL , 5당량) 및 DMF(16.33mg, 223.49 μmol , 17.19 μL , 0.1당량)를 첨가하고, 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 3-피롤리딘-1-일프로파노일 염화물(443mg, 미정제)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

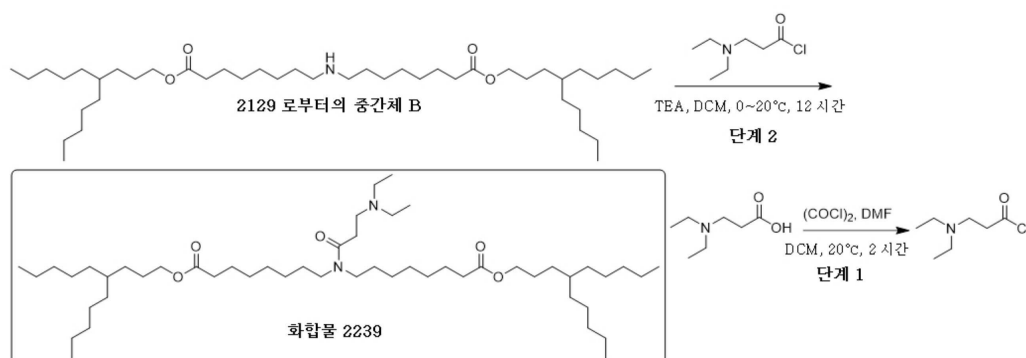
[1088] 단계 6:

DCM(2mL) 중 8-[8-(4-펜틸노나노일옥시)옥틸아미노]옥틸 4-펜틸노나노에이트(300mg, 432.18 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(306.12mg, 3.03mmol, 421.08 μL , 7당량) 및 3-피롤리딘-1-일프로파노일 염화물(428.05mg, 2.16mmol, 5당량, HCl)을 0°C에서 첨가하고, 20°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트/MeOH = 50/1 내지 1/1)로 정제하여 8-[8-(4-펜틸노나노일옥시)옥틸-(3-피롤리딘-1-일프로파노일)아미노]옥틸 4-펜틸노나노에이트(34mg, 40.67 μmol , 9.41% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.02-4.07 (m, 4H), 3.28 (t, J=7.6 Hz, 2H), 3.22 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.78-2.83 (m, 2H), 2.56 (brs, 6H), 2.25-2.30 (m, 4H), 1.81 (brs, 4H), 1.58-1.66 (m, 8H), 1.48-1.55 (m, 4H), 1.24-1.35 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 819.8, 2.258분.

[1092] 4.26. 화합물 2239의 합성



[1094] 단계 1:

DCM(5mL) 중 3-(디에틸아미노)프로판산(130mg, 715.62 μmol , 1당량, HCl)의 용액에 (COCl)₂(363.33mg, 2.86mmol, 250.57 μL , 4당량) 및 DMF(5.23mg, 71.56 μmol , 5.51 μL , 0.1당량)를 첨가한 다음, 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 3-(디에틸아미노)프로파노일 염화물(150mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하였다.

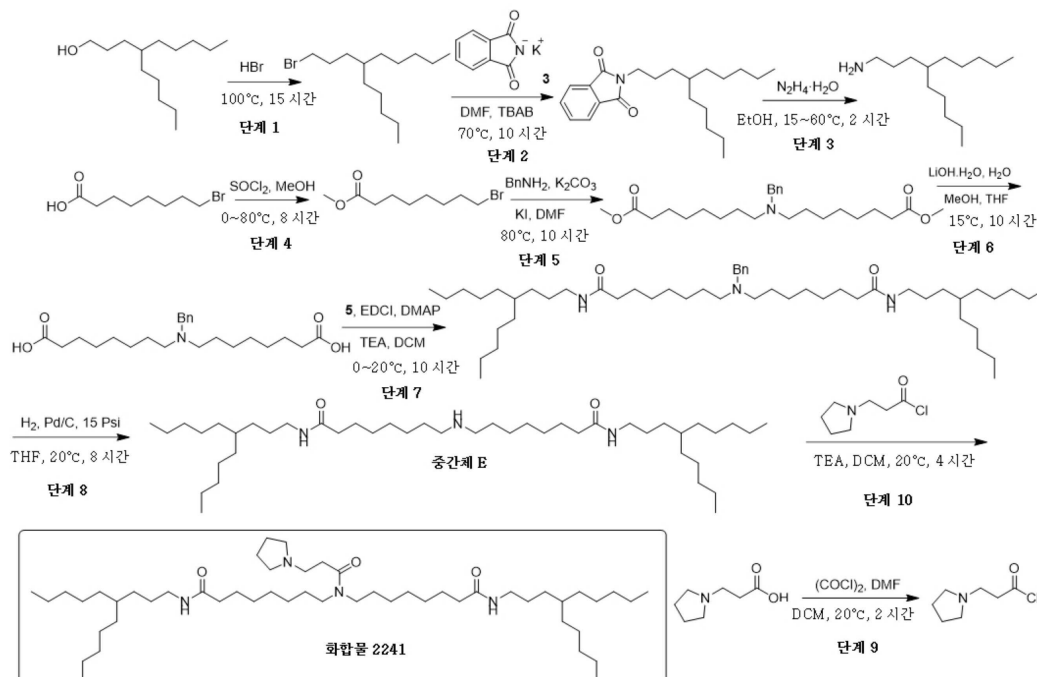
[1096] 단계 2:

DCM(2mL) 중 4-펜틸노닐 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(130mg, 187.28 μmol , 1당량)의 용액에 TEA(94.75mg, 936.38 μmol , 130.33 μL , 5당량) 및 3-(디에틸아미노)프로파노일 염화물(149.90mg, 749.10 μmol , 4.00당량, HCl)를 0°C에서 첨가한 다음, 혼합물을 20°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르:에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하였다. 4-펜틸노닐 8-[3-(디에틸아미노)프로파노일-[8-옥소-8-(4-펜틸노녹시)옥틸]아미노]옥타노에이트(70mg, 83.52 μmol , 44.60% 수율, 98% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 4.02-4.07 (m, 4H), 3.28 (t, J=7.6 Hz, 2H), 3.22 (t, J=8.0 Hz, 2H), 2.78-1.83 (m, 2H), 2.52-2.57 (m, 4H), 2.35-2.48 (m, 2H), 2.27-2.30 (m, 4H), 1.58-1.66 (m, 8H), 1.48-1.55 (m, 4H), 1.24-1.35 (m, 50H), 1.01-1.07 (m, 6H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H).

LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 821.9, 2.562분.

[1100] 4.27: 화합물 2241의 합성



[1101]

[1102] 단계 1:

[1103] 4-펜틸노난-1-올(10g, 46.64mmol, 1당량) 및 HBr(74.50g, 368.30mmol, 50mL, 40% 순도, 7.90당량)의 혼합물을 N₂ 분위기 하에 100℃에서 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 50mL로 희석하고 EtOAc 400mL(200mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 8/1)로 정제하여 화합물 6-(3-브로모프로필)운데칸(9.68g, 34.91mmol, 74.84% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1104] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.80-1.86 (m, 2H), 1.25-1.39 (m, 19H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1105] 단계 2:

[1106] DMF(150mL) 중 6-(3-브로모프로필)운데칸(9.68g, 34.91mmol, 1당량), 테트라부틸암모늄;브롬화물(2.25g, 6.98mmol, 0.2당량) 및 (1,3-디옥소이소인돌린-2-일)칼륨(9.70g, 52.37mmol, 1.5당량)의 혼합물을 N₂ 분위기 하에 70℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 수성 포화 NaCl 150mL로 희석하고, EtOAc 500mL(250mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 750mL(250mL X 3)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 8/1 내지 5/1)로 정제하여 화합물 2-(4-펜틸노닐)이소인돌린-1,3-디온(10.4g, 30.28mmol, 86.73% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1107] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.84-7.86 (m, 2H), 7.27-7.72 (m, 2H), 3.66 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.64-1.68 (m, 2H), 1.22-1.39 (m, 19H), 0.87 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1108] 단계 3:

[1109] EtOH(120mL) 중 2-(4-펜틸노닐)이소인돌린-1,3-디온(10.4g, 30.28mmol, 1당량)의 용액에 히드라진;수화물(20.52g, 327.87mmol, 19.92mL, 80% 순도, 10.83당량)을 15℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 60℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 3/1 내지 0/1, 5% NH₃ · H₂O)로

정제하여 화합물 4-펜틸노난-1-아민(3.76g, 17.62mmol, 58.20% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1110] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 2.66 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.38-1.40 (m, 2H), 1.23-1.30 (m, 19H), 1.16 (s, 2H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1111] **단계 4:**

[1112] MeOH(150mL) 중 8-브로모옥탄산(10g, 44.82mmol, 1당량)의 용액에 SOCl_2 (16.00g, 134.46mmol, 9.75mL, 3당량)를 0℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N_2 로 3회 퍼징한 다음, N_2 분위기 하에 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 메틸 8-브로모옥타노에이트(8g, 미정제)를 무색 오일로서 수득하고, 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[1113] **단계 5:**

[1114] DMF(250mL) 중 메틸 8-브로모옥타노에이트(8g, 33.74mmol, 2당량), 페닐메탄아민(1.81g, 16.87mmol, 1.84mL, 1당량), K_2CO_3 (11.66g, 84.34mmol, 5당량) 및 KI(7.00g, 42.17mmol, 2.5당량)의 혼합물을 N_2 분위기 하에 80℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 H_2O 300mL로 희석한 다음, EtOAc 1000mL(250mL X 4)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1 내지 1/1)로 정제하여 화합물 메틸 8-[벤질-(8-메톡시-8-옥소-옥틸)아미노]옥타노에이트(4g, 9.53mmol, 56.51% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1115] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 7.22-7.33 (m, 5H), 3.67 (s, 6H), 3.53 (s, 2H), 2.38 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 2.30 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 1.57-1.62 (m, 4H), 1.43-1.46 (m, 4H), 1.27-1.38 (m, 12H).

[1116] **단계 6:**

[1117] THF(10mL) 및 MeOH(30mL) 중 메틸 8-[벤질-(8-메톡시-8-옥소-옥틸)아미노]옥타노에이트(4g, 9.53mmol, 1당량)의 용액에 H_2O (10mL) 중 NaOH(1.30g, 32.51mmol, 3.41당량)를 15℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N_2 로 3회 퍼징한 다음, N_2 분위기 하에 15℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1N HCl 23mL로 pH 3.0으로 조정하고 EtOAc/MeOH = 10/1 200mL(100mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 감압 하에 농축시켜 화합물 8-[벤질-(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(3.2g, 8.17mmol, 85.73% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1118] **단계 7:**

[1119] DCM(150mL) 중 8-[벤질-(7-카르복시헵틸)아미노]옥탄산(3g, 7.66mmol, 1당량) 및 4-펜틸노난-1-아민(3.60g, 16.86mmol, 2.2당량)의 용액에 EDCI(4.41g, 22.99mmol, 3당량), DMAP(468.03mg, 3.83mmol, 0.5당량) 및 TEA(2.33g, 22.99mmol, 3.20mL, 3당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N_2 로 3회 퍼징한 다음, N_2 분위기 하에 20℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 100mL로 희석하고 EtOAc 800mL(400mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)로 정제하여 화합물 8-[벤질-[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(2.87g, 3.67mmol, 47.88% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1120] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 7.23-7.31 (m, 5H), 5.50 (brs, 2H), 3.53 (s, 2H), 3.21 (q, J = 8 Hz, 4H), 2.38 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 2.14 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 1.57-1.62 (m, 4H), 1.42-1.48 (m, 8H), 1.22-1.32 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1121] **단계 8:**

[1122] THF(20mL) 중 Pd/C(1g, 3.58mmol, 10% 순도)의 현탁액에 THF(30mL) 중 8-[벤질-[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(2.8g, 3.58mmol, 1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 H_2 (15Psi) 분위기 하에 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물

을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)로 정제하여 화합물 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(2g, 2.89mmol, 80.73% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1123] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 5.45 (brs, 2H), 3.22 (q, J = 8 Hz, 4H), 2.55 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 2.14 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 1.50-1.63 (m, 4H), 1.44-1.48 (m, 8H), 1.22-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1124] 단계 9:

[1125] DCM(9mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(70mg, 488.88 μmol , 1당량)의 용액에 DMF(19.00mg, 259.94 μmol , 0.02mL, 5.32e-1당량) 및 옥살릴 이염화물(310.26mg, 2.44mmol, 213.97 μL , 5당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N_2 로 3회 퍼징한 다음, N_2 분위기 하에 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(80mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

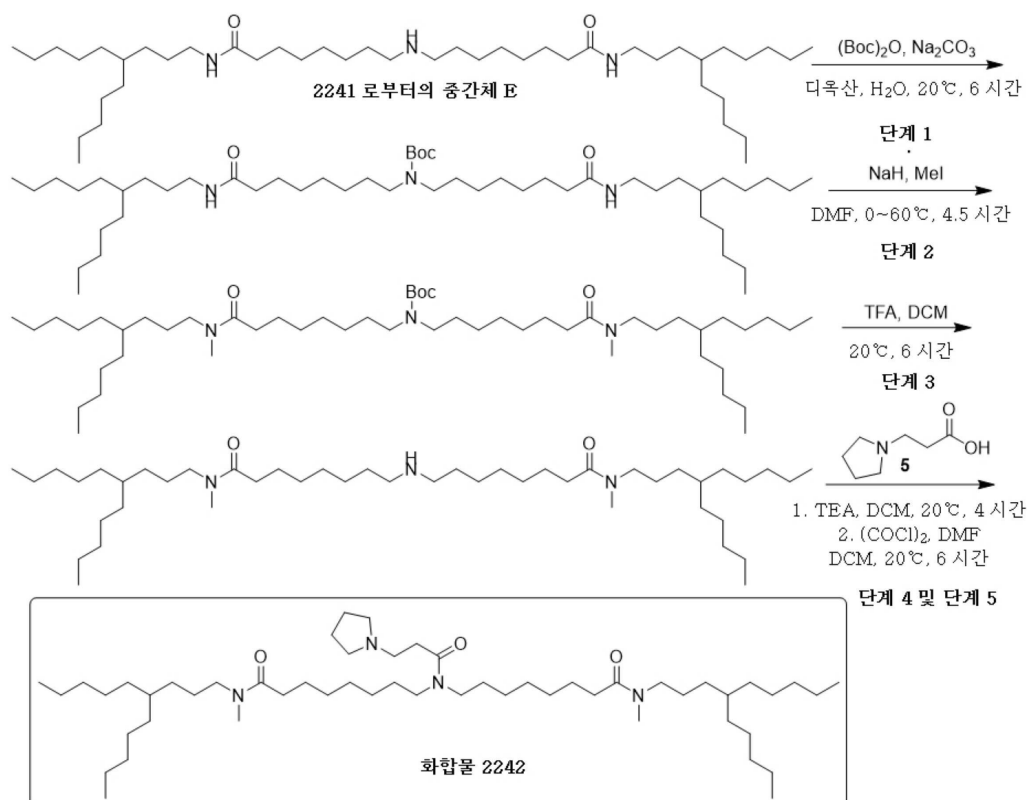
[1126] 단계 10:

[1127] DCM(8mL) 중 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(100mg, 144.47 μmol , 1당량) 및 TEA(43.86mg, 433.41 μmol , 60.32 μL , 3당량)의 용액에 DCM(2mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(70.05mg, 433.41 μmol , 3당량, HCl)을 20℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N_2 로 3회 퍼징한 다음, N_2 분위기 하에 20℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 10mL로 희석하고 EtOAc 40mL(20mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트= 4/1 내지 1/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)로 정제하여 미정제 생성물을 수득하였다. 그런 다음, 미정제 생성물을 분취-TLC(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)로 정제하여 화합물 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(23mg, 28.14 μmol , 19.48% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1128] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), 5.58-5.65 (m, 2H), 3.18-3.30 (m, 8H), 2.82 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 2.50-2.57 (m, 6H), 2.12-2.17 (m, 4H), 1.80 (s, 4H), 1.59-1.64 (m, 4H), 1.44-1.52 (m, 8H), 1.22-1.32 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 12H). LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 817.7, 3.041분.

[1129]

4.28. 화합물 2242의 합성



[1130]

[1131]

단계 1:

[1132]

H₂O(15mL) 및 디옥산(15mL) 중 8-[[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(500mg, 722.34 μmol, 1당량)의 용액에 (Boc)₂O(236.47mg, 1.08mmol, 248.92 μL, 1.5당량) 및 Na₂CO₃(153.12mg, 1.44mmol, 2당량)을 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 20℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 15mL로 희석하고 EtOAc 100mL(50mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 8/1 내지 3/1, 5% NH₃·H₂O)로 정제하여 화합물 tert-부틸 N,N-비스[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]카바메이트(425mg, 536.41 μmol, 74.26% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1133]

단계 2:

[1134]

DMF(15mL) 중 tert-부틸 N,N-비스[8-옥소-8-(4-펜틸노닐아미노)옥틸]카바메이트(325mg, 410.19 μmol, 1당량)의 용액에 NaH(82.03mg, 2.05mmol, 60% 순도, 5당량)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 0℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 그런 다음, 혼합물에 DMF(5mL) 중 MeI(1.16g, 8.20mmol, 510.72 μL, 20당량)를 20℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 60℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H₂O 20mL를 첨가하여 켄칭하고, EtOAc 200mL(100mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 100mL로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1, 5% NH₃·H₂O)로 정제하여 화합물 tert-부틸 N,N-비스[8-메틸(4-펜틸노닐)아미노]-8-옥소-옥틸]카바메이트(245mg, 298.65 μmol, 72.81% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1135]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.34 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.13 (s, 4H), 2.97 (s, 3H), 2.91 (s, 3H), 2.29 (q, J = 4.8 Hz, 4H), 1.60-1.68 (m, 4H), 1.46-1.50 (m, 17H), 1.22-1.33 (m, 50H),

0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1136] **단계 3:**

[1137] DCM(9mL) 중 tert-부틸 N,N-비스[8-[메틸(4-펜틸노닐)아미노]-8-옥소-옥틸]카바메이트(105mg, 127.99 μmol , 1당량)의 용액에 TFA(1.54g, 13.51mmol, 1.00mL, 105.52당량)를 20℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 20℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액으로 pH 7.0으로 조정하고 EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 3/1 내지 0/1, 5% NH₃ · H₂O)로 정제하여 화합물 N-메틸-8-[[8-[메틸(4-펜틸노닐)아미노]-8-옥소-옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(150mg, 208.26 μmol , 81.36% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1138] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.34 (t, J = 8 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 8 Hz, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.91 (s, 3H), 2.60 (t, J = 8 Hz, 4H), 2.29 (q, J = 4.8 Hz, 4H), 1.46-1.55 (m, 12H), 1.22-1.33 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1139] **단계 4:**

[1140] DCM(8mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판산(50mg, 349.20 μmol , 1당량)의 용액에 DMF(7.92mg, 108.31 μmol , 8.33 μL , 0.31당량) 및 옥살릴 이염화물(221.61mg, 1.75mmol, 152.84 μL , 5당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 20℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 미정제 생성물 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(70mg, 미정제, HCl)를 황색 고형분으로서 수득하고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

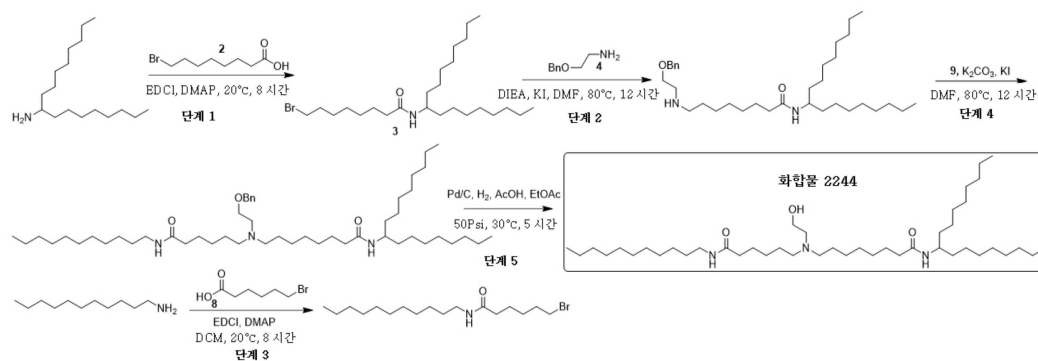
[1141] **단계 5:**

[1142] DCM(8mL) 중 N-메틸-8-[[8-[메틸(4-펜틸노닐)아미노]-8-옥소-옥틸]아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(100mg, 138.84 μmol , 1당량) 및 TEA(56.20mg, 555.37 μmol , 77.30 μL , 4당량)의 용액에 DCM(4mL) 중 3-피롤리딘-1-일프로판노일 염화물(68.76mg, 347.10 μmol , 2.5당량, HCl)을 20℃에서 적가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 20℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H₂O 15mL를 첨가하여 킨칭하고, EtOAc 80mL(40mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 15mL로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 1/1, 5% NH₃ · H₂O)로 정제하여 화합물 N-메틸-8-[[8-[메틸(4-펜틸노닐)아미노]-8-옥소-옥틸]-(3-피롤리딘-1-일프로판노일)아미노]-N-(4-펜틸노닐)옥탄아미드(22mg, 25.76 μmol , 18.56% 수율, 99% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1143] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.21-3.28 (m, 8H), 2.97 (d, J = 3.6 Hz, 3H), 2.91 (d, J = 2.8 Hz, 3H), 2.75-2.83 (m, 2H), 2.48-2.60 (m, 6H), 2.18-2.30 (m, 4H), 1.80 (s, 4H), 1.55-1.69 (m, 4H), 1.46-1.50 (m, 8H), 1.22-1.33 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 12H).

[1144] LCMS: (M+H)⁺: 845.7, 2.836분.

[1145] 4.29. 화합물 2244의 합성



[1146]

[1147] 단계 1:

[1148] DCM(20mL) 중 헵타데칸-9-아민(2g, 7.83mmol, 1당량) 및 8-브로모옥탄산(1.75g, 7.83mmol, 1당량)의 용액에 DMAP(478.20mg, 3.91mmol, 0.5당량) 및 EDCI(1.80g, 9.39mmol, 1.2당량)를 첨가하고, 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H₂O(20mL)에 첨가하고 EtOAc(20mL X3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20mL X2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 8-브로모-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(2.5g, 5.43mmol, 69.34% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1149] 단계 2:

[1150] DMF(20mL) 중 2-벤질옥시에탄아민(620mg, 4.10mmol, 1당량)의 용액에 KI(748.73mg, 4.51mmol, 1.1당량) 및 DIEA(1.06g, 8.20mmol, 1.43mL, 2당량)를 첨가한 다음, DMF(10mL) 중 8-브로모-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(1.98g, 4.31mmol, 1.05당량)의 용액을 혼합물에 첨가하고 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H₂O(50mL)에 첨가하고 EtOAc(10mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(10mL X2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1 내지 20/1)로 정제하여 8-(2-벤질옥시에틸아미노)-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(1g, 1.88mmol, 45.94% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1151] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.29-7.36 (m, 5 H), 5.05 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.90-3.92 (m, 1H), 3.62 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.83 (t, J=5.2 Hz, 2H), 2.61 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.15 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.55-1.65 (m, 2H), 1.47-1.55 (m, 4H), 1.25-1.33 (m, 34H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H). LCMS: (M+H)⁺: 531.3, 0.888분.

[1152] 단계 3:

[1153] DCM(10mL) 중 운테칸-1-아민(1g, 5.84mmol, 1당량) 및 6-브로모헥사논산(1.14g, 5.84mmol, 1당량)의 용액에 DMAP(356.55mg, 2.92mmol, 0.5당량) 및 EDCI(1.34g, 7.00mmol, 1.2당량)를 첨가하고, 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H₂O(20mL)에 첨가하고 EtOAc(20mL X3)로 추출하였다. 유기층을 염수(20mL X2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 6-브로모-N-운테실-헥산아미드(1.7g, 4.88mmol, 83.61% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1154] 단계 4:

[1155] DMF(10mL) 중 8-(2-벤질옥시에틸아미노)-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(500mg, 941.86 μmol, 1당량)의 용액에 KI(187.62mg, 1.13mmol, 1.2당량) 및 K₂CO₃(325.42mg, 2.35mmol, 32.81 μL, 2.5당량)을 첨가한 다음, DMF(5mL) 중 6-브로모-N-운테실-헥산아미드(360.92mg, 1.04mmol, 1.1당량)의 용액을 혼합물에 첨가한 다음, 80°C에서 12 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H₂O(50mL)에 첨가하고 EtOAc(10mL X3)로 추출하였다. 합한

유기층을 염수(10mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 8-[2-벤질옥시에틸-6-옥소-6-(운데실아미노)헥실]아미노-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(600mg, 751.58 μmol, 39.90% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

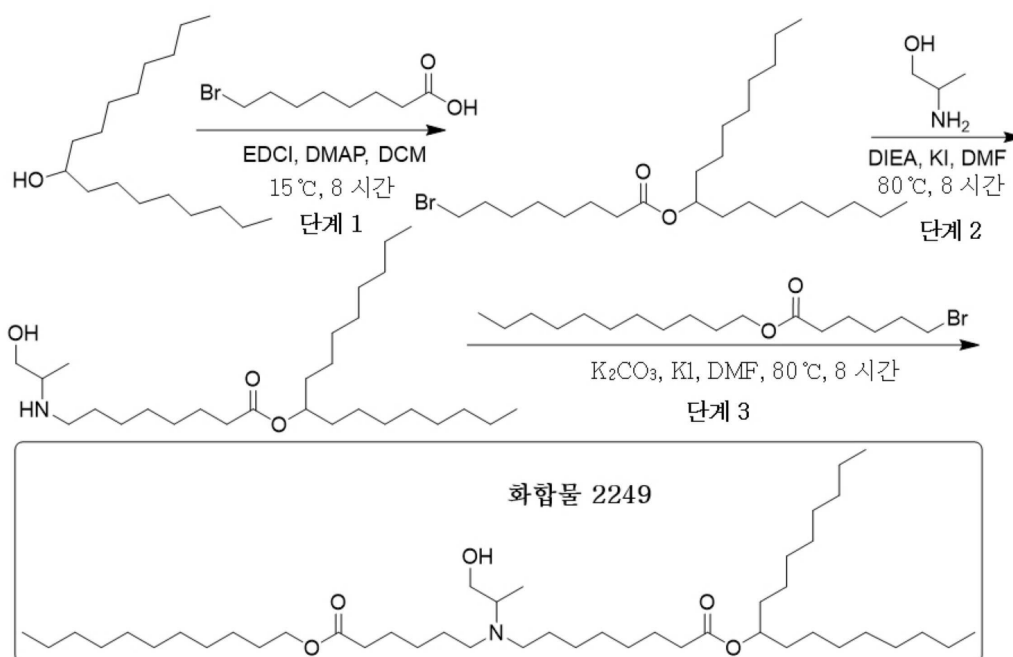
[1156] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.29-7.36 (m, 5 H), 5.60 (s, 1H), 5.18 (d, J=8.8 Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.89 (s, 1H), 3.55 (t, J=6.4 Hz, 2H), 3.20-3.25 (m, 2H), 2.53-2.70 (m, 2H), 2.35-2.46 (m, 4H), 2.14 (t, J=7.8 Hz, 4H), 1.51-1.63 (m, 4H), 1.40-1.50 (m, 8H), 1.25-1.33 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H)⁺: 798.5, 1.004분.

[1157] 단계 5:

[1158] EtOAc(10mL) 중 Pd(OH)/C(20mg, 10% 순도)의 용액에 8-[2-벤질옥시에틸-6-옥소-6-(운데실아미노)헥실]아미노-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(150mg, 187.90 μmol, 1당량) 및 AcOH(112.83 μg, 1.88 μmol, 1.07e-1 μL, 0.01 당량)를 첨가한 다음, 50psi 하의 H₂ 하에 30℃에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1) 및 분취-TLC(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 3:1)로 정제하여 8-[2-하이드록시에틸-6-옥소-6-(운데실 아미노)헥실]아미노-N-(1-옥틸노닐)옥탄아미드(30mg, 42.36 μmol, 22.55% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1159] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 5.61 (s, 1H), 5.21 (d, J=9.2 Hz, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.20-3.25 (m, 2H), 2.53 (s, 2H), 2.48 (s, 4H), 2.13-2.18 (m, 4H), 1.51-1.63 (m, 4H), 1.43-1.50 (m, 8H), 1.25-1.33 (m, 51H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H)⁺: 708.4, 3.194분.

[1160] 4.30. 화합물 2249의 합성



[1161]

[1162] 단계 1:

[1163] DCM(100mL) 중 헵타데칸-9-올(5g, 19.50mmol, 1당량) 및 8-브로모옥탄산(4.78g, 21.45mmol, 1.1당량)의 용액에 EDCI(4.48g, 23.39mmol, 1.2당량) 및 DMAP(1.19g, 9.75mmol, 0.5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H₂O 100mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 300mL(100mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 200mL(100mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 2/1)

로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(8.5g, 18.42mmol, 94.46% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1164] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.86-4.90 (m, 1H), 3.41 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.29 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 1.80-1.90 (m, 2H), 1.60-1.70 (m, 2H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 28H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 6H).

[1165] 단계 2:

[1166] DMF(10mL) 중 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(3.23g, 6.99mmol, 1.05당량) 및 2-아미노프로판-1-올(500mg, 6.66mmol, 530.22 μL , 1당량)의 용액에 DIEA(1.72g, 13.31mmol, 2.32mL, 2당량) 및 KI(1.22g, 7.32mmol, 1.1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 H_2O 30mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 90mL(30mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 60mL(30mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 1/4)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[(2-하이드록시-1-메틸-에틸)아미노]옥타노에이트(1.5g, 3.29mmol, 49.44% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1167] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.86-4.90 (m, 1H), 3.59-3.64 (m, 1H), 3.28-3.33 (m, 1H), 2.70-2.90 (m, 2H), 2.50-2.60 (m, 2H), 2.28 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 1.52-1.70 (m, 2H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 32H), 1.09 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 6H).

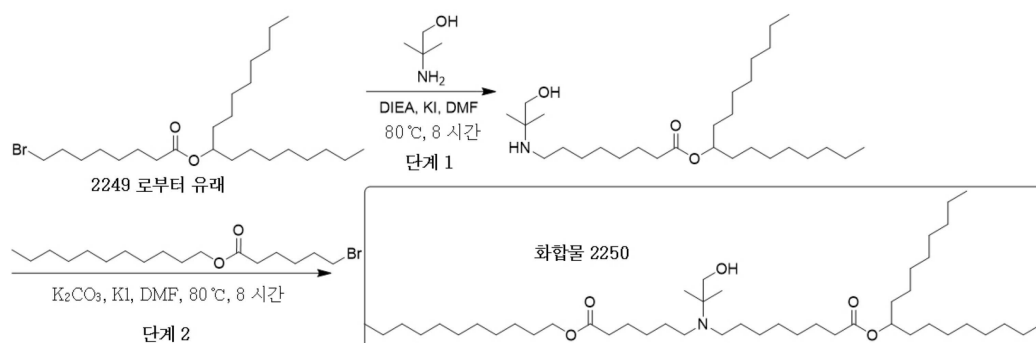
[1168] 단계 3:

[1169] DMF(10mL) 중 1-옥틸노닐 8-[(2-하이드록시-1-메틸-에틸)아미노]옥타노에이트(250mg, 548.54 μmol , 1당량) 및 운데실 6-브로모헥사노에이트(210.79mg, 603.39 μmol , 1.1당량)의 용액에 KI(109.27mg, 658.25 μmol , 1.2당량) 및 K_2CO_3 (189.53mg, 1.37mmol, 2.5당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 H_2O 30mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 90mL(30mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 60mL(30mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[(2-하이드록시-1-메틸-에틸)-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(96mg, 132.56 μmol , 12.08% 수율, 100% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1170] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.76-4.83 (m, 1H), 3.98 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.25-3.30 (m, 1H), 3.12-3.18 (m, 1H), 2.70-2.90 (m, 1H), 2.30-2.45 (m, 2H), 2.15-2.25 (m, 6H), 1.51-1.58 (m, 6H), 1.30-1.45 (m, 8H), 1.10-1.30 (m, 48H), 0.76-0.83 (m, 12H).

[1171] LCMS: $(\text{M}+\text{H})^+$:724.4, 13.085분.

[1172] 4.31. 화합물 2250의 합성



[1173]

[1174] 단계 1:

[1175] DMF(30mL) 중 1-옥틸노닐 8-브로모옥타노에이트(3g, 6.50mmol, 1.05당량) 및 2-아미노-2-메틸-프로판-1-올

(551.77mg, 6.19mmol, 590.76 μ L, 1당량)의 용액에 DIEA(1.60g, 12.38mmol, 2.16mL, 2당량) 및 KI(1.13g, 6.81mmol, 1.1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H₂O 30mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 90mL(30mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 60mL(30mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 1/4)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[(2-하이드록시-1,1-디메틸-에틸)아미노]옥타노에이트(2g, 4.26mmol, 68.77% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

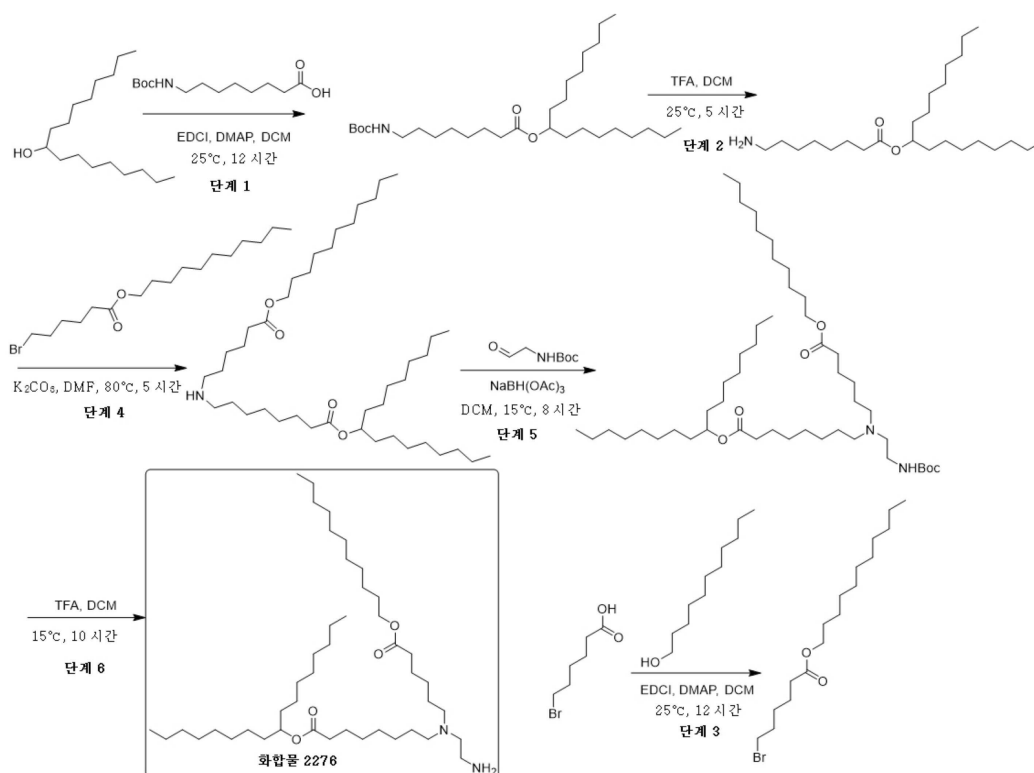
[1176] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.85-4.90 (m, 1H), 3.35 (s, 2H), 2.55 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.29 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.55-1.70 (m, 2H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 30H), 1.12 (s, 6H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1177] 단계 2:

[1178] DMF(10mL) 중 운데실 6-브로모헥사노에이트(297.45mg, 851.46 μ mol, 1.6당량) 및 1-옥틸노닐 8-[(2-하이드록시-1,1-디메틸-에틸)아미노]옥타노에이트(250mg, 532.16 μ mol, 1당량)의 용액에 KI(106.01mg, 638.60 μ mol, 1.2당량) 및 K₂CO₃(183.87mg, 1.33mmol, 2.5당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H₂O 30mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 90mL(30mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 60mL(30mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-TLC(SiO₂, PE:EA = 0:1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[(2-하이드록시-1,1-디메틸-에틸)-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(44mg, 59.25 μ mol, 5.57% 수율, 99.4% 순도)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1179] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.07 (t, J=7.2 Hz, 2H), 3.23 (s, 2H), 2.40-2.50 (m, 4H), 2.26-2.31 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 6H), 1.45-1.55 (m, 4H), 1.35-1.45 (m, 4H), 1.20-1.35 (m, 48H), 1.04 (s, 6H), 0.87-0.91 (m, 9H). LCMS: (M+H⁺):738.4, 13.185분.

[1180] 4.32: 화합물 2276의 합성



[1181]

[1182] 단계 1:

[1183] DCM(1000mL) 중 8-(tert-부톡시카르보닐아미노)옥탄산(25g, 96.40mmol, 1.2당량)의 혼합물에 DMAP(4.91g,

40.17mmol, 0.5당량), 헵타데칸-9-올(20.60g, 80.33mmol, 1당량), EDCI(46.20g, 241.00mmol, 3당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. LCMS는 원하는 생성물의 48%를 나타냈다. 반응 혼합물을 EtOAc(200mL X 3)로 희석하고 H₂O 200mL로 세척하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-(tert-부톡시카르보닐아미노)옥타노에이트(24g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1184] **단계 2:**

[1185] DCM(100mL) 중 1-옥틸노닐 8-(tert-부톡시카르보닐아미노)옥타노에이트(12g, 24.11mmol, 1당량)의 용액에 TFA(46.20g, 405.18mmol, 30mL, 16.81당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액으로 pH 7로 조정하고, EtOAc(200mL X 3)로 추출하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1, 에틸 아세테이트/MeOH = 3/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(15g, 37.72mmol, 78.23% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1186] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 5.64 (brs, 2H), 4.84-4.88 (m, 1H), 2.84 (t, J=7.6 Hz, 2H), 2.28 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.50-1.61 (m, 8H), 1.26-1.33 (m, 30H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1187] **단계 3:**

[1188] DCM(1mL) 중 6-브로모헥사논산(22.64g, 116.07mmol, 1당량)의 혼합물에 DMAP(2.84g, 23.21mmol, 0.2당량), 운테칸-1-올(20g, 116.07mmol, 1당량), EDCI(22.25g, 116.07mmol, 1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 200mL로 희석하고 EtOAc(200mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 40/1)로 정제하여 화합물 운테실 6-브로모헥사노에이트(36g, 103.05mmol, 88.78% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1189] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.07 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.41 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.33 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.87-1.91 (m, 2H), 1.63-1.68 (m, 4H), 1.48-1.50 (m, 2H), 1.27-1.32 (m, 16H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 3H).

[1190] **단계 4:**

[1191] DMF(20mL) 중 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(1g, 2.51mmol, 1당량), 운테실 6-브로모헥사노에이트(878.47mg, 2.51mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(1.04g, 7.54mmol, 3당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 5시간 동안 교반하였다. LCMS는 원하는 생성물의 56%를 나타냈다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[(6-옥소-6-운테옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(0.5g, 750.63 μmol, 29.85% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1192] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.06 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.59-2.60 (m, 4H), 2.28-2.31 (m, 4H), 1.60-1.65 (m, 6H), 1.50-1.52 (m, 8H), 1.27-1.36 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+H)⁺: 666.8, 1.168분.

[1193] **단계 5:**

[1194] DCM(10mL) 중 1-옥틸노닐 8-[(6-옥소-6-운테옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(0.5g, 0.75mmol, 1당량) 및 tert-부틸 N-(2-옥소에틸)카바메이트(0.24g, 1.50mmol, 2당량)의 용액에 나트륨;트리아세톡시보라누이드(0.48g, 2.25mmol, 3당량)를 15℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 15℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 H₂O 20mL

로 희석하고 EtOAc(30mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1, 5% NH₃ · H₂O)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(0.36g, 0.44mmol, 58.79% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

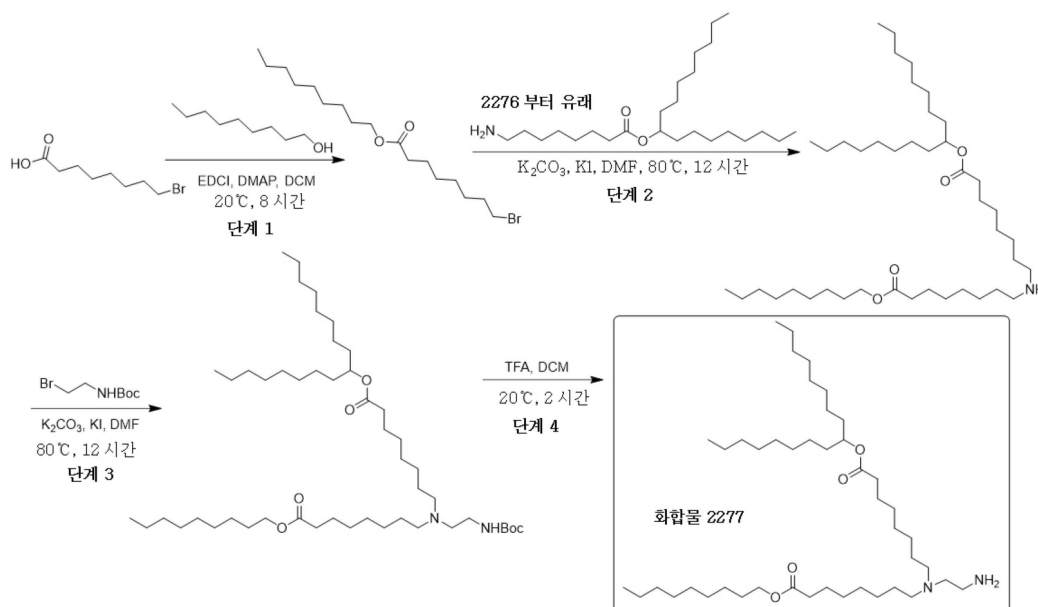
[1195] LCMS: (M+H)⁺: 809.7, 1.083분.

[1196] 단계 6:

[1197] DCM(5mL) 중 1-옥틸노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(0.36g, 0.44mmol, 1당량)의 용액에 TFA(1.18g, 10.34mmol, 0.76mL, 1.67당량)를 15℃에서 적가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 15℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액 15ml로 pH 7.0으로 조정하고 EtOAc 45mL(15 mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 3/1 내지 0/1, 5% NH₃ · H₂O)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[2-아미노에틸-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(0.22g, 0.31mmol, 99% 순도, 70.75% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1198] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.06 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.37-2.46 (m, 6H), 2.29 (q, J = 7.6 Hz, 4H), 1.59-1.68 (m, 6H), 1.38-1.52 (m, 8H), 1.27-1.31 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H)⁺: 709.4, 12.315분.

[1199] 4.33. 화합물 2277의 합성



[1200]

[1201] 단계 1:

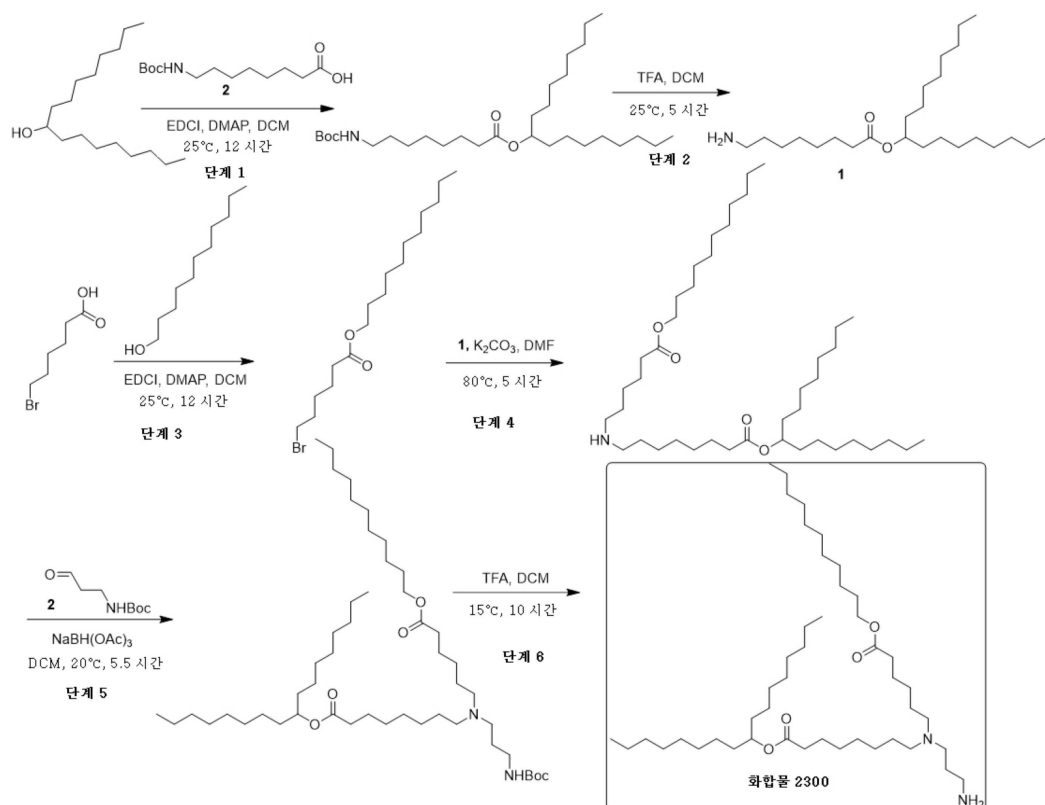
[1202] DCM(100mL) 중 8-브로모옥탄산(10.21g, 45.75mmol, 1.1당량) 및 노난-1-올(6g, 41.59mmol, 1당량)의 용액에 DMAP(1.02g, 8.32mmol, 0.2당량) 및 EDCI(9.57g, 49.91mmol, 1.2당량)를 첨가하고, 20℃에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 H₂O(50mL)에 첨가하고, EtOAc(50mL X 3)로 추출하고, 유기층을 염수(50mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 50/1 내지 10/1)로 정제하여 노닐 8-브로모옥타노에이트(10g, 27.19mmol, 65.38% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1203] 단계 2:

- [1204] DMF(100mL) 중 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(5g, 12.57mmol, 1.1당량)의 용액에 KI(2.28g, 13.74mmol, 1.2당량) 및 K_2CO_3 (4.75g, 34.35mmol, 3당량)을 첨가한 다음, DMF(20mL) 중 노닐 8-브로모옥타노에이트(4g, 11.45mmol, 1당량)의 용액을 혼합물에 첨가한 다음, 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O (50mL)에 첨가하고, EtOAc(30mL X 3)로 추출하고, 합한 유기층을 염수(30mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 노닐 8-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(4g, 5.40mmol, 47.20% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1205] ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.06 (t, J=7.2 Hz, 2H), 2.59 (t, J=6.8 Hz, 3H), 2.26-2.31 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 6H), 1.40-1.55 (m, 8H), 1.20-1.35 (m, 49H), 0.86-0.91 (m, 9H).
- [1206] 단계 3:
- [1207] DMF(5mL) 중 노닐 8-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(250mg, 375.31 μ mol, 1당량)의 용액에 K_2CO_3 (259.36mg, 1.88mmol, 5당량) 및 KI(62.30mg, 375.31 μ mol, 1당량)를 첨가한 다음, tert-부틸 N-(2-브로모에틸)카바메이트(336.42mg, 1.50mmol, 4당량)를 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 H_2O (5mL)에 첨가하고, EtOAc(5mL X 3)로 추출하고, 유기층을 염수(5mL X 2)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(200mg, 247.13 μ mol, 65.85% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1208] 단계 4:
- [1209] TFA(3.08g, 27.01mmol, 2mL, 136.63당량) 및 DCM(4mL) 중 노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(160mg, 197.70 μ mol, 1당량)의 용액을 20℃에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 에틸 아세테이트:메탄올 = 1/0 내지 5/1)로 정제하여 화합물 노닐 8-[2-아미노에틸-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(45mg, 63.45 μ mol, 32.10% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.
- [1210] ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.06 (t, J=6.4 Hz, 2H), 2.93 (t, J=5.6 Hz, 2H), 2.69 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.59 (t, J=7.6 Hz, 4H), 2.26-2.32 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 6H), 1.40-1.55 (m, 8H), 1.20-1.35 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). ($M+H^+$):709.4.
- [1211] LCMS: ($M+H^+$):709.4, 10.079분.

[1212]

4.34. 화합물 2300의 합성



[1213]

[1214]

단계 1:

[1215]

DCM(1000mL) 중 8-(tert-부톡시카르보닐아미노)옥탄산(25g, 96.40mmol, 1.2당량)의 혼합물에 DMAP(4.91g, 40.17mmol, 0.5당량), 헵타데칸-9-올(20.60g, 80.33mmol, 1당량), EDCI(46.20g, 241.00mmol, 3당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 분위기 하에 25°C에서 12시간 동안 교반하였다. LCMS는 원하는 생성물의 48%를 나타냈다. 반응 혼합물을 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 희석하고 H_2O 200mL로 세척하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-(tert-부톡시카르보닐아미노)옥타노에이트(24g, 미정제)를 황색 오일로서 수득하였다. 미정제 생성물을 ^1H NMR로 검출하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[1216]

단계 2:

[1217]

DCM(100mL) 중 1-옥틸노닐 8-(tert-부톡시카르보닐아미노)옥타노에이트(12g, 24.11mmol, 1당량)의 용액에 TFA(46.20g, 405.18mmol, 30mL, 16.81당량)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 $NaHCO_3$ 수용액으로 pH 7로 조정하고, EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 0/1, 에틸 아세테이트/MeOH = 3/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(15g, 37.72mmol, 78.23% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1218]

^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$), 5.64 (brs, 2H), 4.84-4.88 (m, 1H), 2.84 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.28 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 1.50-1.61 (m, 8H), 1.26-1.33 (m, 30H), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 6H).

[1219]

LCMS: ($M+H^+$): 398.6, 1.010분.

[1220]

단계 3:

[1221]

DCM(1mL) 중 6-브로모헥사논산(22.64g, 116.07mmol, 1당량)의 혼합물에 DMAP(2.84g, 23.21mmol, 0.2당량),운데칸-1-올(20g, 116.07mmol, 1당량), EDCI(22.25g, 116.07mmol, 1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 분위기 하

에 25℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 200mL로 희석하고 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 여액을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 40/1)로 정제하여 화합물 운데실 6-브로모헥사노에이트(36g, 103.05mmol, 88.78% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1222] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.07 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.41 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.33 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.87-1.91 (m, 2H), 1.63-1.68 (m, 4H), 1.48-1.50 (m, 2H), 1.27-1.32 (m, 16H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 3H).

[1223] 단계 4:

[1224] DMF(20mL) 중 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(1g, 2.51mmol, 1당량), 운데실 6-브로모헥사노에이트(878.47mg, 2.51mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(1.04g, 7.54mmol, 3당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 5시간 동안 교반하였다. LCMS는 원하는 생성물의 56%를 나타냈다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(0.5g, 750.63 μmol, 29.85% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1225] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.06 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.59-2.60 (m, 4H), 2.28-2.31 (m, 4H), 1.60-1.65 (m, 6H), 1.50-1.52 (m, 8H), 1.27-1.36 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4 Hz, 9H). LCMS: (M+H)⁺: 666.8, 1.168분.

[1226] 단계 5:

[1227] DCM(15mL) 중 1-옥틸노닐 8-[(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(1.5g, 2.25mmol, 1당량)의 용액에 tert-부틸 N-(3-옥소프로필)카바메이트(585.07mg, 3.38mmol, 1.5당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 20℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 혼합물에 나트륨;트리아세톡시보라누이드(954.53mg, 4.50mmol, 2당량)를 첨가한 다음, N₂ 분위기 하에 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 300mL(150mL X 2)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 8/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[3-(tert-부톡시카르보닐아미노)프로필-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(1.6g, 1.94mmol, 86.30% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

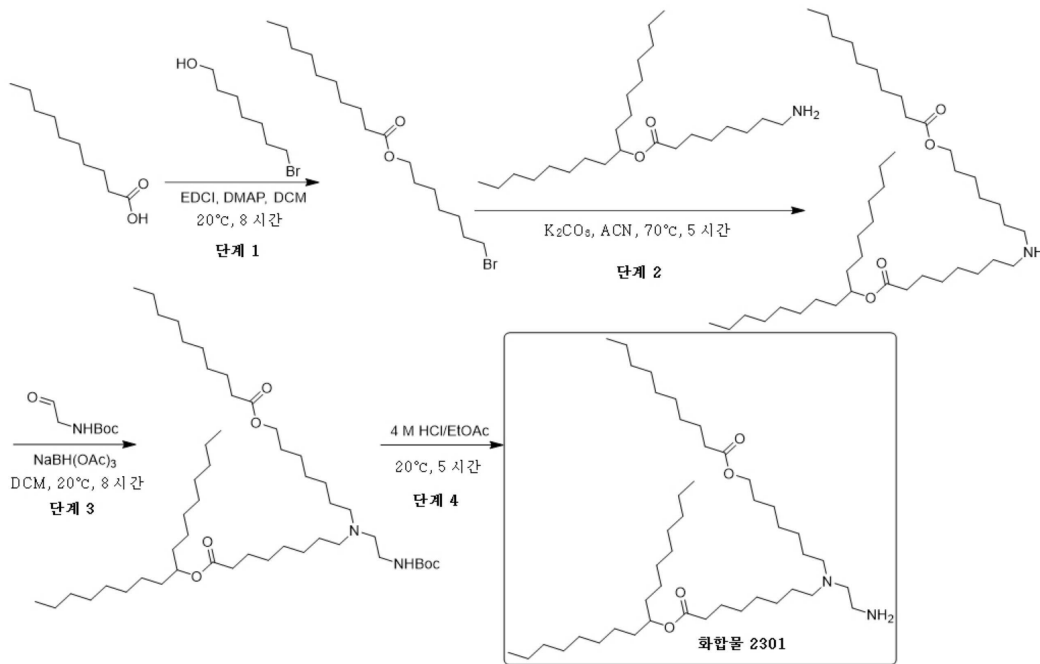
[1228] 단계 6:

[1229] DCM(45mL) 중 1-옥틸노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(5g, 6.18mmol, 1당량)의 용액에 TFA(16.50g, 144.71mmol, 10.71mL, 23.42당량)를 15℃에서 첨가하였다. 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, N₂ 분위기 하에 15℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액 80ml로 pH 7.0으로 조정하고 EtOAc 450mL(150mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 3/1 내지 0/1, 5% NH₃·H₂O)로 정제하여 화합물 1-옥틸노닐 8-[2-아미노에틸-(6-옥소-6-운데옥시-헥실)아미노]옥타노에이트(3.1g, 4.37mmol, 70.75% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1230] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.06 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.48 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.37-2.46 (m, 4H), 2.29 (q, J = 7.6 Hz, 4H), 1.58-1.68 (m, 8H), 1.44-1.48 (m, 4H), 1.50-1.52 (m, 4H), 1.26-1.31 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[1231] LCMS: (M/2+H)⁺: 723.4, 9.826분.

[1232] 4.35. 화합물 2301의 합성



[1233]

[1234] 단계 1:

[1235] DCM(500mL) 중 데칸산(17.66g, 102.51mmol, 19.78mL, 1당량)의 혼합물에 DMAP(2.50g, 20.50mmol, 0.2당량), 7-브로모헵탄-1-올(20g, 102.51mmol, 1당량), EDCI(19.65g, 102.51mmol, 1당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 200mL로 희석하고 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 40/1)로 정제하여 화합물 7-브로모헵틸 데카노에이트(30g, 85.87mmol, 83.77% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1236] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.07 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.41 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.31 (t, J=7.2 Hz, 2H), 1.85-1.87 (m, 2H), 1.62-1.63 (m, 4H), 1.45-1.48 (m, 2H), 1.37-1.42 (m, 4H), 1.27-1.31 (m, 12H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 3H).

[1237] 단계 2:

[1238] ACN(50mL) 중 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(6g, 15.09mmol, 1당량), 7-브로모헵틸 데카노에이트(5.27g, 15.09mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(8.34g, 60.35mmol, 4당량)을 첨가하였다. 혼합물을 70°C에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 200mL로 희석하고 EtOAc 300mL(100mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 에틸 아세테이트:MeOH = 1/0 내지 10/1)로 정제하여 화합물 7-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(3g, 4.50mmol, 29.85% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1239] 단계 3:

[1240] DCM(50mL) 중 7-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(3g, 4.50mmol, 1당량), tert-부틸 N-(2-옥소에틸)카바메이트(1.43g, 9.01mmol, 2당량)의 용액에 NaBH(OAc)₃(1.91g, 9.01mmol, 2당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EtOAc 60mL로 희석하고, 물 180mL(60mL X 3)와 염수 40mL(20mL X 2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1)로 정제하여 화합물 7-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(2g, 2.47mmol,

54.84% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1241] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 5.06 (brs, 1H), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.06 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 3.17 (brs, 2H), 2.28-2.66 (m, 10H), 1.63-1.66 (m, 6H), 1.48-1.62 (m, 15H), 1.26-1.42 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.0$ Hz, 9H).

[1242] 단계 4:

[1243] $\text{HCl/EtOAc}(4\text{M}, 617.82\ \mu\text{L}, 1\text{당량})$ 중 7-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(2g, 2.47mmol, 1당량)의 용액을 20°C 에서 5시간 동안 교반하였다. 미정제 반응 혼합물을 포화 NaHCO_3 으로 pH 7로 조정하고 EtOAc 120mL(40mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O} = 5/1/0$ 내지 $2/1/0.1$) 및 p-TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}=2/1/0.1$)로 정제하여 화합물 7-[2-아미노에틸-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(1g, 1.41mmol, 57.06% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1244] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.06 (t, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 2.52 (t, $J=5.2$ Hz, 4H), 2.27-2.32 (m, 4H), 1.61-1.64 (m, 6H), 1.48-1.52 (m, 6H), 1.27-1.32 (m, 50H), 0.89 (t, $J=6.4$ Hz, 9H).

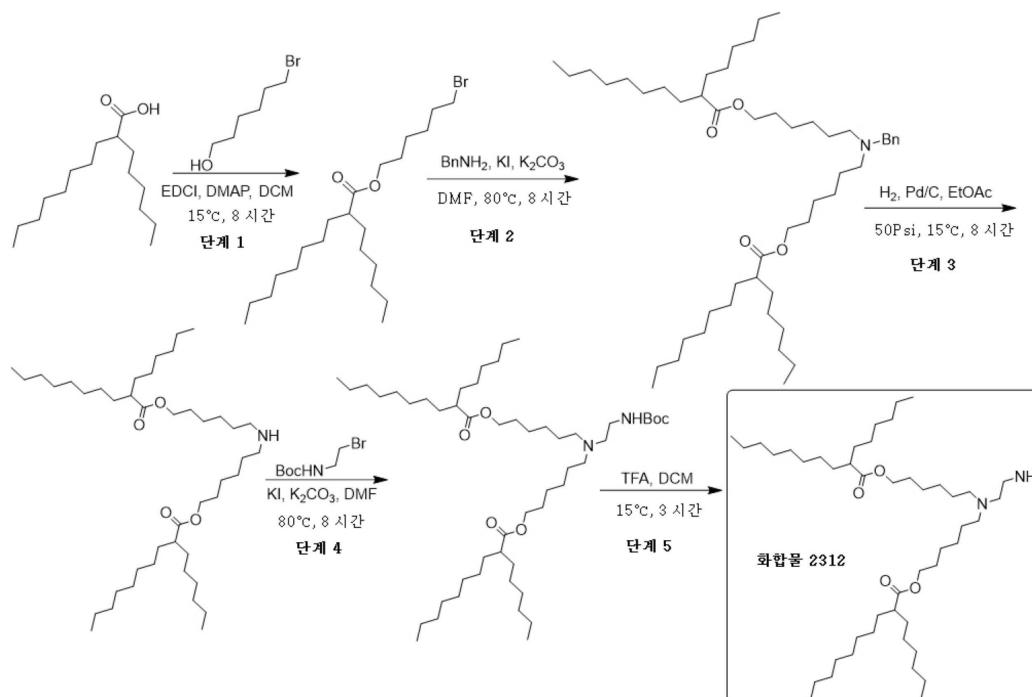
[1245] LCMS: ($\text{M}+\text{H}^+$): 709.4, 10.026분.

[1246] 단계 5:

[1247] $\text{DCM}(5\text{mL})$ 중 7-[2-아미노에틸-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(0.2g, 282.02 μmol , 1당량), TEA(28.54mg, 282.02 μmol , 39.25 μL , 1당량), DMAP(6.89mg, 56.40 μmol , 0.2당량)의 용액에 부탄디옥실 이염화물(21.85mg, 141.01 μmol , 15.50 μL , 0.5당량)를 0°C 에서 첨가하였다. 혼합물을 20°C 에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H_2O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O} = 5/1/0.1$ 내지 $2/1/0.1$) 및 분취-TLC(SiO_2 , 석유 에테르/에틸 아세테이트/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O} = 3/1/0.1$)로 정제하여 화합물 7-[2-[[4-[2-[7-데카노일옥시헵틸-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸]아미노]에틸아미노]-4-옥소-부타노일]아미노]에틸-[8-(1-옥틸노녹시)-8-옥소-옥틸]아미노]헵틸 데카노에이트(0.15g, 99.97 μmol , 35.45% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1248] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), 6.28 (brs, 1H), 4.84-4.90 (m, 2H), 4.06 (t, $J=6.4$ Hz, 4H), 3.28 (brs, 4H), 2.27-2.51 (m, 24H), 1.62-1.65 (m, 10H), 1.52-1.61 (m, 8H), 1.50-1.52 (m, 8H), 1.27-1.32 (m, 98H), 0.89 (t, $J=6.4$ Hz, 18H). LCMS: ($1/2\text{M}+\text{H}^+$): 750.5, 12.157분.

[1249] 4.36. 화합물 2312의 합성



[1250]

[1251] 단계 1:

[1252] DCM(50mL) 중 2-헥실데칸산(2.5g, 9.75mmol, 1당량) 및 6-브로모헥산-1-올(1.77g, 9.75mmol, 1.28mL, 1당량)의 용액에 EDCI(2.24g, 11.70mmol, 1.2당량) 및 DMAP(595.55mg, 4.87mmol, 0.5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 15°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 H₂O 200mL를 첨가하여 켄칭한 다음, EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 400mL(200mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 20/1)로 정제하여 화합물 6-브로모헥실 2-헥실데카노에이트(14g, 33.37mmol, 85.58% 수율, 4 배치)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1253] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.08 (t, J=6.8 Hz, 2H), 3.42 (t, J=6.8 Hz, 2H), 2.28-2.35 (m, 1H), 1.84-1.91 (m, 2H), 1.57-1.69 (m, 4H), 1.38-1.48 (m, 6H), 1.26-1.29 (m, 20H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 6H).

[1254] 단계 2:

[1255] DMF(75mL) 중 페닐메탄아민(851.48mg, 7.95mmol, 866.20 μL, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(5.49g, 39.73mmol, 5당량) 및 KI(3.30g, 19.87mmol, 2.5당량)를 첨가한 다음, DMF(25mL) 중 6-브로모헥실 2-헥실데카노에이트(7g, 16.69mmol, 2.1당량)의 용액을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15°C에서 H₂O 200mL를 첨가하여 켄칭하고, EtOAc 300mL(100mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 200mL(100mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 3/1)로 정제하여 화합물 6-[벤질-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(9g, 11.48mmol, 72.21% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1256] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 7.27-7.33 (m, 4H), 7.20-7.25 (m, 1H), 4.05 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.27-2.41 (m, 4H), 1.56-1.62 (m, 10 H), 1.40-1.48 (m, 8H), 1.26-1.32 (m, 50H), 0.88 (t, J=7.2 Hz, 12H).

[1257] 단계 3:

[1258] EtOAc(500mL) 중 Pd/C(1g, 10% 순도) 및 6-[벤질-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트

트(4.5g, 5.74mmol, 1당량)의 용액을 50Psi 하의 H₂ 하에 15℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 1/0)로 정제하여 화합물 6-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(1.8g, 2.59mmol, 45.19% 수율)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1259] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.07 (t, J=6.4 Hz, 4H), 2.63 (t, J=7.6 Hz, 4H), 2.28-2.35 (m, 2H), 1.52-1.66 (m, 12H), 1.26-1.45 (m, 52 H), 0.88 (t, J=7.2 Hz, 12H).

[1260] 단계 4:

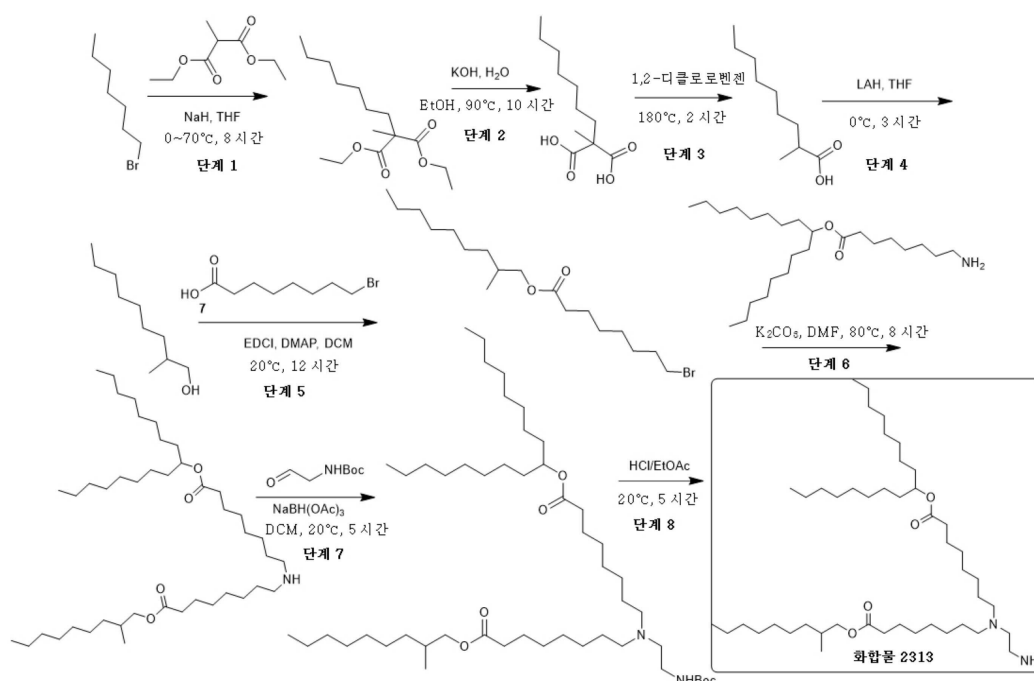
[1261] DMF(10mL) 중 6-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥실아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(800mg, 1.15mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(796.39mg, 5.76mmol, 5당량) 및 KI(191.31mg, 1.15mmol, 1당량)를 첨가한 다음, DMF(5mL) 중 tert-부틸 N-(2-브로모에틸)카바메이트(1.16g, 5.19mmol, 4.5당량)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15℃에서 H₂O 20mL를 첨가하여 켄칭하고, EtOAc 30mL(10mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 염수 20mL(10mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 3/1)로 정제하여 화합물 6-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(560mg, 668.78 μmol)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1262] 단계 5:

[1263] DCM(4mL) 및 TFA(3.59g, 31.51mmol, 2.33mL, 47.12당량) 중 6-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(560mg, 668.78 μmol, 1당량)의 용액을 15℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 분취-TLC(SiO₂, EA:MeOH = 10:1)로 정제하여 화합물 6-[2-아미노에틸-6-(2-헥실데카노일옥시)헥실]아미노]헥실 2-헥실데카노에이트(420mg, 552.61 μmol, 82.63% 수율, 97% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1264] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.07 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.79 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.53 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.45 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.29-2.34 (m, 2H), 2.21 (brs, 2 H), 1.59-1.65 (m, 8 H), 1.43-1.45 (m, 8 H), 1.26-1.42 (m, 48 H), 0.89 (t, J=7.2 Hz, 12H). LCMS: (M+H)⁺: 737.5, 11.219분.

[1265] 4.37. 화합물 2313의 합성



[1266]

[1267] 단계 1:

[1268] 3구 플라스크의 THF(1000mL) 중 디에틸 2-메틸프로판디오에이트(10g, 57.41mmol, 9.80mL, 1당량)의 용액에 NaH(2.30g, 57.41mmol, 60% 순도, 1당량)를 0℃에서 서서히 첨가하고 0℃에서 1시간 동안 교반하였다. 1-브로모헵탄(10.28g, 57.41mmol, 9.02mL, 1당량)을 첨가하고 20℃에서 0.5시간 동안 교반하고 70℃에서 6.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H₂O 2000mL를 첨가하여 킨칭하였다. 혼합물을 EtOAc 3000mL(1000mL X 3)로 추출하고, 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 50/1)로 정제하여 화합물 디에틸 2-헵틸-2-메틸-프로판디오에이트(45g, 165.21mmol, 71.95% 수율, 3 배치)를 무색 오일로서 수득하였다.

[1269] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.15-4.21 (m, 4H), 1.85-1.87 (m, 2H), 1.40 (s, 3H), 1.23-1.28 (m, 16H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 3H).

[1270] 단계 2:

[1271] EtOH(100mL) 및 H₂O(100mL) 중 디에틸 2-헵틸-2-메틸-프로판디오에이트(10g, 36.71mmol, 1당량)의 용액에 KOH(6.18g, 110.14mmol, 3당량)를 첨가하였다. 혼합물을 90℃에서 10시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 대부분의 EtOH를 제거하고, EtOAc 120mL(40mL X 3)로 세척하였다. 그런 다음, 수성상을 1M HCl 수용액으로 pH 2로 조정하고 EtOAc 120mL(40mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 화합물 2-헵틸-2-메틸-프로판디오산(45g, 208.07mmol, 94.46% 수율)을 정제 없이 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1272] 단계 3:

[1273] 1,2-디클로로벤젠(104.80g, 712.92mmol, 80.00mL, 15.42당량) 중 2-헵틸-2-메틸-프로판디오산(10g, 46.24mmol, 1당량)의 용액을 180℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 200mL로 희석하고 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 3/1)로 정제하여 화합물 2-메틸노난산(35g, 203.18mmol, 87.88% 수율)을 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1274] 단계 4:

[1275] THF(500mL) 중 LiAlH₄(3.08g, 81.27mmol, 2당량)의 용액에 2-메틸노난산(7g, 40.64mmol, 1당량)을 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 H₂O 200mL를 첨가하여 킨칭하였다. 혼합물을 EtOAc 300mL(100mL X 3)로 추출하고, 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 20/1 내지 10/1)로 정제하여 화합물 2-메틸노난-1-올(15g, 94.77mmol, 46.64% 수율)을 무색 오일로서 수득하였다.

[1276] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 3.50-3.54 (m, 1H), 3.42-3.45 (m, 1H), 1.61-1.64 (m, 1H), 1.20-1.39 (m, 11H), 1.05-1.15 (m, 1H), 0.87-0.93 (m, 6H).

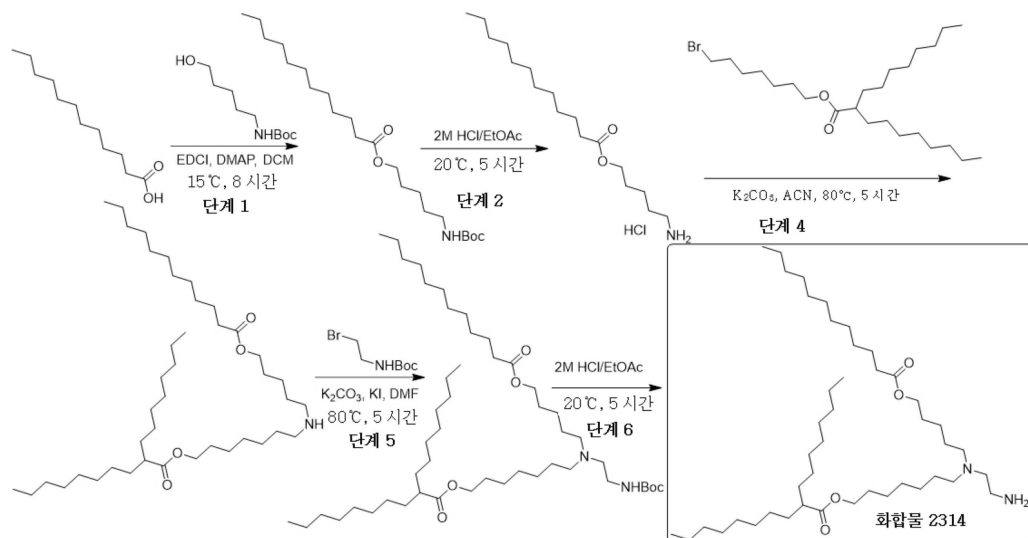
[1277] 단계 5:

[1278] DCM(1000mL) 중 8-브로모옥탄산(9.87g, 44.23mmol, 1당량)의 혼합물에 DMAP(1.08g, 8.85mmol, 0.2당량), 2-메틸노난-1-올(7g, 44.23mmol, 1당량), EDCI(8.48g, 44.23mmol, 1당량)를 20℃에서 첨가하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 20℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 희석하고, H₂O 200mL, 10% 수성 구연산 200mL(100mL X 2)로 세척하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여 화합물 2-메틸노닐 8-브로모옥타노에이트(12g, 33.02mmol, 74.67% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1279] 단계 6:

- [1280] ACN(100mL) 중 1-옥틸노닐 8-아미노옥타노에이트(4.38g, 11.01mmol, 1당량), 2-메틸노닐 8-브로모옥타노에이트(4g, 11.01mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(1.52g, 11.01mmol, 1당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 200mL로 희석하고 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH₃.H₂O = 10/1/1 내지 1/1/0.5)로 정제하여 화합물 2-메틸노닐 8-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(3.5g, 5.15mmol, 23.37% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.
- [1281] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.85-4.89 (m, 1H), 3.93-3.98 (m, 1H), 3.83-3.88 (m, 1H), 2.59 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.26-2.33 (m, 4H), 1.60-1.80 (m, 1H), 1.40-1.60 (m, 10H), 1.20-1.40 (m, 50H), 0.86-0.93 (m, 12H).
- [1282] 단계 7:
- [1283] DCM(50mL) 중 2-메틸노닐 8-[[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(3g, 4.41mmol, 1당량), tert-부틸 N-(2-옥소에틸)카바메이트(1.05g, 6.62mmol, 1.5당량)의 용액에 NaBH(OAc)₃(1.87g, 8.82mmol, 2당량)을 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 합한 유기상을 EtOAc 20mL로 희석하고, 물 60mL(20mL X 3)와 염수 40mL(20mL X 2)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 5/1)로 정제하여 화합물 2-메틸노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(2g, 2.43mmol, 55.07% 수율)를 백색 고형분으로서 수득하였다.
- [1284] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.85-4.89 (m, 1H), 3.93-3.98 (m, 1H), 3.83-3.87 (m, 1H), 3.14 (brs, 2H), 2.28-2.40 (m, 10H), 1.60-1.80 (m, 1H), 1.26-1.55 (m, 69H), 0.86-0.93 (m, 12H).
- [1285] 단계 8:
- [1286] HCl/EtOAc(4M, 9.37mL, 15.42당량) 중 2-메틸노닐 8-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(2g, 2.43mmol, 1당량)의 용액을 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액으로 pH 7로 조정하고 EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 2-메틸노닐 8-[2-아미노에틸-[8-(1-옥틸노닐)-8-옥소-옥틸]아미노]옥타노에이트(1.5g, 2.07mmol, 85.38% 수율, 100% 순도)를 정제 없이 백색 고형분으로서 수득하였다.
- [1287] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.84-4.90 (m, 1H), 3.94-3.98 (m, 1H), 3.83-3.87 (m, 1H), 2.73 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.46 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.40 (t, J=7.2 Hz, 4H), 2.27-2.36 (m, 4H), 1.72-1.82 (m, 1H), 1.60-1.65 (m, 4H), 1.50-1.54 (m, 4H), 1.39-1.45 (m, 4H), 1.23-1.34 (m, 46H), 1.12-1.27 (m, 2H), 0.87-0.93 (m, 12H). LCMS: (M+H)⁺: 723.4, 10.618분.

[1288] 4.38. 화합물 2314의 합성



[1289]

[1290] 단계 1:

[1291] DCM(1000mL) 중 도데칸산(4.93g, 24.60mmol, 1당량)의 혼합물을 DMAP(1.50g, 12.30mmol, 0.5당량), tert-부틸 N-(5-하이드록시펜틸)카바메이트(5g, 24.60mmol, 5.00mL, 1당량), EDCI(9.43g, 49.19mmol, 2당량)에 첨가하고, 탈기하고 N₂로 3회 퍼징하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 200mL로 희석하고 H₂O 200mL로 세척하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여 화합물 5-(tert-부톡시카르보닐아미노) 펜틸 도데카노에이트(6g, 15.56mmol, 63.26% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1292] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.52 (brs, 1H), 4.06 (t, J=6.4 Hz, 2H), 3.10-3.13 (m, 2H), 2.29 (t, J=7.6 Hz, 2H), 1.64-1.66 (m, 4H), 1.51-1.61 (m, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.44-1.45 (m, 2H), 1.26-1.38 (m, 16H), 0.88 (t, J=6.4 Hz, 3H).

[1293] 단계 2:

[1294] HCl/EtOAc(2M, 60.00mL, 15.42당량) 중 5-(tert-부톡시카르보닐아미노)펜틸 도데카노에이트(6g, 15.56mmol, 1당량)를 20°C에서 5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 감압 하에 농축시켜 화합물 5-아미노펜틸 도데카노에이트(4g, 12.43mmol, 79.85% 수율, HCl)를 정제 없이 백색 고형분으로서 수득하였다.

[1295] LCMS: (M+H)⁺: 386.3, 0.887분.

[1296] 단계 3:

[1297] DCM(1000mL) 중 7-브로모헵탄-1-올(3.43g, 17.58mmol, 1당량)의 혼합물을 DMAP(429.46mg, 3.52mmol, 0.2당량), 2-옥틸데칸산(5g, 17.58mmol, 1당량), EDCI(3.37g, 17.58mmol, 1당량)에 첨가하고, 탈기하고 N₂로 3회 퍼징하였다. 혼합물을 N₂ 분위기 하에 20°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc 600mL(200mL X 3)로 희석하고 H₂O 200mL로 세척하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/0 내지 1/0)로 정제하여 화합물 7-브로모헵틸 2-옥틸데카노에이트(5g, 10.83mmol, 61.63% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1298] 단계 4:

[1299] ACN(100mL) 중 5-아미노펜틸 도데카노에이트(2g, 6.21mmol, 1당량, HCl), 7-브로모헵틸 2-옥틸데카노에이트(2.87g, 6.21mmol, 1당량)의 용액에 K₂CO₃(2.58g, 18.64mmol, 3당량)을 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 5시간

동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트/NH₃·H₂O = 10/1/1 내지 1/1/0.5)로 정제하여 화합물 7-(5-도데카노일옥시펜틸아미노)헵틸 2-옥틸데카노에이트(1.5g, 2.25mmol, 36.25% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1300] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.05-4.09 (m, 4H), 2.59-2.63 (m, 4H), 2.27-2.31 (m, 3H), 1.60-1.70 (m, 8H), 1.45-1.60 (m, 4H), 1.35-1.45 (m, 8H), 1.20-1.35 (m, 44H), 0.88 (t, J=6.8 Hz, 9H).

[1301] 단계 5:

[1302] DMF(10mL) 중 7-(5-도데카노일옥시펜틸아미노)헵틸 2-옥틸데카노에이트(1.5g, 2.25mmol, 1당량), tert-부틸 N-(2-브로모에틸)카바메이트(2.52g, 11.26mmol, 30.22 μL, 5당량)의 용액에 K₂CO₃(1.56g, 11.26mmol, 5당량), KI(373.81mg, 2.25mmol, 1당량)를 첨가하고 80℃에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 H₂O 20mL로 희석하고 EtOAc 60mL(20mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1 내지 1/1)로 정제하여 화합물 7-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-(5-도데카노일옥시펜틸)아미노]헵틸 2-옥틸데카노에이트(1g, 1.24mmol, 54.87% 수율)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1303] 단계 6:

[1304] HCl/EtOAc(2M, 4.76mL, 15.42당량) 중 7-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸-(5-도데카노일옥시펜틸)아미노]헵틸 2-옥틸데카노에이트(1g, 1.24mmol, 1당량)를 20℃에서 5시간 동안 교반하였다. 미정제 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액으로 pH 7로 조정하고 EtOAc 150mL(50mL X 3)로 추출하였다. 합한 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1 내지 0/1)로 정제하여 화합물 7-[2-아미노에틸(5-도데카노일옥시펜틸)아미노]헵틸 2-옥틸데카노에이트(0.7g, 977.19 μmol, 79.08% 수율, 99% 순도)를 황색 오일로서 수득하였다.

[1305] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), 4.07 (t, J=6.8 Hz, 4H), 2.73 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.47 (t, J=6.0 Hz, 2H), 2.39-2.44 (m, 4H), 2.30 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.61-1.66 (m, 6H), 1.44-1.47 (m, 6H), 1.20-1.36 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8 Hz, 9H). LCMS: (M+H)⁺: 709.3, 10.360분.

[1306] 실시예 5. 지질 나노입자 조성물의 제조

[1307] 예시적인 지질 나노입자 조성물을 제조하여 아래 차트에 나타난 몰비로 이온화 가능 지질:구조적 지질:스테롤:PEG-지질을 생성하였다.

[1308] 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
2129	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2130	FLUC/EPO 1:1	50	10	46.5	1.5
2131	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2132	EGFP	50	10	46.5	1.5

[1309]

2132	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2133	FLUC/EPO 1:1	50	10	46.5	1.5
2134	EGFP	50	10	46.5	1.5
2134	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2135	EGFP	50	10	46.5	1.5
2136	EGFP	50	10	46.5	1.5
2138	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2139	FLUC/EPO 1:1	50	10	46.5	1.5
2140	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2141	EGFP	50	10	46.5	1.5
2141	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2141	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2142	FLUC/EPO 1:1	50	10	46.5	1.5
2143	EGFP	50	10	46.5	1.5
2143	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2144	EGFP	50	10	46.5	1.5
2144	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2145	FLUC/EPO 1:1	50	10	46.5	1.5
2146	CRE/FLUC 1:1	50	10	46.5	1.5
2215	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2216	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2225	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2233	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2235	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2241	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2242	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2243	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2244	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2249	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2250	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2335	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5

[1310]

[1311]

예시적인 지질 나노입자 조성물을 제조하기 위해, 상기 차트에 따른 지질 성분을 에탄올에 용해시키고, 상기 표
시된 몰비로 혼합하고, 에탄올(유기상)에 희석하여 5.5mM의 총 지질 농도를 획득하였다.

[1312]

각각의 LNP 조성물에 대한 상기 차트에 따른 mRNA 용액(수상, fluc:EPO mRNA, cre:fluc mRNA, 또는 EGFP mRNA)
A)을 RNase-무함유 물 및 100mM 구연산염 완충액 pH 3으로 제조하여 50mM 구연산염 완충액 및 0.167mg/mL mRNA
농도(1:1 Fluc:EPO, 1:1 cre:Fluc, 또는 EGFP)의 최종 농도를 획득하였다. 제형을 6:1의 이온화 가능 지질 질
소:mRNA 인산염(N:P) 비율로 이온화 가능 지질 대 mRNA를 유지시켰다.

[1313]

각각의 LNP 조성물의 경우, 지질 혼합물 및 mRNA 용액을 NanoAssemblr Ignite(Precision Nanosystems) 상에서
각각 1:3 부피비로 9mL/분의 총 유속으로 혼합하였다. 그런 다음, 생성된 조성물을 Slide-A-Lyzer G2 투석 카세
트(10k MWCO) 내로 로딩하고, 2시간 동안 실온에서 부드럽게 교반하면서 1xPBS의 샘플 부피의 200배로 투석하였
다. PBS를 새로 갈고, 조성물을 4℃에서 적어도 14시간 동안 부드럽게 교반하면서 추가로 투석하였다. 그런 다
음, 투석된 조성물을 수집하고 Amicon Ultra 원심분리 필터(100k MWCO)를 사용하여 3000xg에서 원심분리하여 농
축시켰다. 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 효
율에 대해 특성 분석하였다.

[1314]

pKa 측정을 위해 Sabnis 등의 문헌[Molecular Therapy, 26(6):1509-19])에 기술된 바에 따라 TNA 검정을 수행
하였으며, 동 문헌은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 간략하게, 1M) 수산화나트륨 및 1M 염산을 사용하여
3.0 내지 12.0 범위의 고유 pH 값의 20개의 완충액(중류수 중 10mM 인산나트륨, 10mM 붕산나트륨, 10mM 구연산
나트륨, 및 150mM 염화나트륨)을 제조하였다. (전술한) 각각의 pH 값에 대해 96-웰 흑색 플레이트에 3.25 μ L의
LNP 조성물(PBS 중 0.04mg/mL mRNA)을 2 μ L의 TNS 시약(DMSO 중 0.3mM) 및 90 μ L의 완충액과 함께 인큐베이션
하였다. 각각의 pH 조건을 삼중 웰에서 수행하였다. TNS 형광은 321/445nm의 여기/방출 파장에서 Biotek
Cytation Plate 판독기를 사용하여 측정되었다. 그런 다음, 4-파라미터 시그모이드 곡선(sigmoid curve)을 사용

하여 형광 값을 도표화하고 조정하였다. 조정으로부터 최대 형광의 절반을 산출하는 pH 값을 계산하고 겔보기 LNP pKa 값으로서 보고하였다.

[1315] 각각의 예시적인 지질 나노입자 조성물에 대한 입자 특성 분석 데이터를 아래 표에 나타내었다.

이온화 가능 지질 번호	mRNA	크기(nm)	PDI	EE 백분율(%)	pKa(TNS)
2129	CRE/FLUC 1:1	81.1	0.07	97.0	-
2130	FLUC/EPO 1:1	68.7	0.13	98.5	-
2131	CRE/FLUC 1:1	71.2	0.13	97.1	-
2132	EGFP	90.4	0.20	97.2	-
2132	CRE/FLUC 1:1	76.3	0.13	97.7	-
2133	FLUC/EPO 1:1	87.7	0.08	98.7	7.96
2134	EGFP	107.1	0.20	98.3	-
2134	CRE/FLUC 1:1	92.9	0.11	98.3	-
2135	EGFP	81.8	0.04	96.2	-
2136	EGFP	77.5	0.04	95.5	-
2138	CRE/FLUC 1:1	112.7	0.35	97	-
2139	FLUC/EPO 1:1	88.6	0.18	98.3	-
2140	CRE/FLUC 1:1	86.9	0.16	96.9	-
2141	EGFP	109.3	0.21	95.4	-
2141	CRE/FLUC 1:1	79.4	0.11	95.6	-
2141	FLUC/EPO 1:1	73.83	0.06	95.9	7.57
2142	FLUC/EPO 1:1	69.2	0.06	96.7	-
2143	EGFP	83.4	0.08	97.3	-

[1316]

2143	CRE/FLUC 1:1	78.6	0.11	97.1	-
2144	EGFP	73.5	0.29	98.3	-
2144	CRE/FLUC 1:1	78.0	0.26	96.8	-
2145	FLUC/EPO 1:1	95.4	0.21	97.6	-
2146	CRE/FLUC 1:1	81.0	0.26	96.5	-
2215	FLUC/EPO 1:1	80.18	0.1	96.3	7.12
2216	FLUC/EPO 1:1	88.81	0.11	96.8	7
2225	FLUC/EPO 1:1	81.88	0.07	97.9	7.25
2233	FLUC/EPO 1:1	85.5	0.04	91.2	6.83
2235	FLUC/EPO 1:1	84.84	0.067	97.5	7.76
2241	FLUC/EPO 1:1	100.89	0.15	94.7	-
2242	FLUC/EPO 1:1	154.2	0.079	89.5	-
2243	FLUC/EPO 1:1	87.77	0.04	94.9	7.1
2249	FLUC/EPO 1:1	86.05	0.08	93.3	5.84
2250	FLUC/EPO 1:1	73.75	0.068	92.2	6.31
2335	FLUC/EPO 1:1	87.74	0.02	93.3	6.4

[1317]

시예 6. 생체 내 생물발광 영상화

[1318]

[1319] 실시예 5에 따라 제조되고, 상기 실시예 5에 나타난 표에 따라 mRNA를 캡슐화하는 예시적인 지질 나노입자 조성물을 본 실시예에 사용하였다.

[1319]

[1320] 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, 5 µg Fluc + 5 µg Cre, 또는 5 µg EGFP)를 함유하는 100 µL의 전술된 지질 나노입자 조성물을 29G 인슐린 주사기(Covidien)를 사용하여 정맥내 주사하였다.

[1320]

[1321] 투여 후 4~6시간 차에 동물에게 200 µL의 15mg/mL D-루시페린(GoldBio)을 주입하고, IVIS Lumina LT 영상기(PerkinElmer) 내부의 노즈콘 세트에 넣었다. 영상화를 위해 LivingImage 소프트웨어를 사용하였다. 자동 노출 시 전신 생물발광을 포착한 후, 동물을 IVIS에서 꺼내어 안락사를 위해 CO₂ 챔버에 넣었다. 각 동물을 등을 대

[1321]

고 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℃에서 보관하였다. EPO MSD 키트(Meso Scale Diagnostics)를 사용하여 혈장 내 EPO 수준을 결정하였다.

[1322] 생체 내 생물발광 영상화에 의해 결정된 각각의 지질 나노입자 조성물에 대한 EPO 수준이 아래 표에 나타나 있다.

이온화 가능 지질 번호	mRNA 투여량	생물발광(IV)					
		전신	간	비장	폐	hEPO	비장: 간 비율
2129	5µg FLUC	1.9E+04	1.4E+05	9.2E+03	2.1E+03		0.066
2130	5µg FLUC + 5µg EPO	1.2E+04	7.0E+04	3.0E+03	1.4E+05	1.5E+02	0.045
2131	5µg FLUC	1.2E+04	1.3E+05	9.5E+03	2.4E+03		0.076
2132	5µg FLUC	7.0E+03	1.4E+05	2.5E+04	1.7E+03		0.212
2133	5µg FLUC + 5µg EPO	3.8E+04	4.4E+04	3.9E+04	5.8E+04	2.5E+02	1.574
2134	5µg FLUC	5.4E+03	7.5E+04	4.3E+03	1.4E+03		0.063
2138	5µg FLUC	3.7E+03	1.7E+05	2.8E+04	1.2E+03		0.236
2139	5µg FLUC + 5µg EPO	4.1E+04	1.7E+05	1.0E+05	2.2E+05	2.0E+02	0.583
2140	5µg FLUC	4.3E+04	1.6E+03	1.2E+05	5.3E+03		76.18
2141	5µg FLUC	5.5E+06	5.6E+05	2.3E+05	7.1E+03		0.527
2141	5µg FLUC + 5µg EPO	1.9E+05	3.1E+04	1.3E+05	6.8E+04	2.1E+03	6.131
2142	5µg FLUC + 5µg EPO	7.8E+05	2.4E+05	5.6E+05	2.0E+05	7.3E+03	2.758

[1323]

2143	5µg FLUC	1.7E+05	1.3E+05	6.5E+05	6.3E+03		5.050
2144	5µg FLUC	7.1E+03	7.4E+04	3.0E+04	1.2E+03		0.401
2145	5µg FLUC + 5µg EPO	4.0E+03	1.1E+05	1.2E+03	7.2E+04	8.4E+02	0.012
2146	5µg FLUC	7.4E+03	9.7E+04	4.7E+04	1.2E+03		0.505
2215	5µg FLUC + 5µg EPO	3.2E+07	2.2E+06	6.6E+05	6.5E+04		0.449
2216	5µg FLUC + 5µg EPO	1.5E+06	3.2E+05	3.8E+05	9.0E+03		1.539
2225	5µg FLUC + 5µg EPO	3.5E+05	1.8E+05	2.2E+05	1.0E+04		1.261
2233	5µg FLUC + 5µg EPO	5.4E+08	6.1E+07	4.7E+06	4.1E+04	2.8E+06	0.077
2235	5µg FLUC + 5µg EPO	9.8E+03	2.0E+03	2.9E+04	7.6E+03	2.2E+02	14.407
2241	5µg FLUC + 5µg EPO	3.1E+04	3.5E+03	7.6E+04	5.4E+04	1.6E+03	22.241
2243	5µg FLUC + 5µg EPO	1.6E+08	3.0E+07	4.2E+06	1.0E+05	2.7E+06	0.138
2249	5µg FLUC + 5µg EPO	7.2E+07	1.2E+07	3.2E+06	7.9E+03	7.6E+05	0.258
2250	5µg FLUC + 5µg EPO	1.5E+08	2.7E+07	2.7E+06	7.9E+03	9.5E+05	0.099
2335	5µg FLUC + 5µg EPO	3.00E+08	4.30E+07	4.80E+06	8.80E+04	2.60E+06	0.1147

[1324]

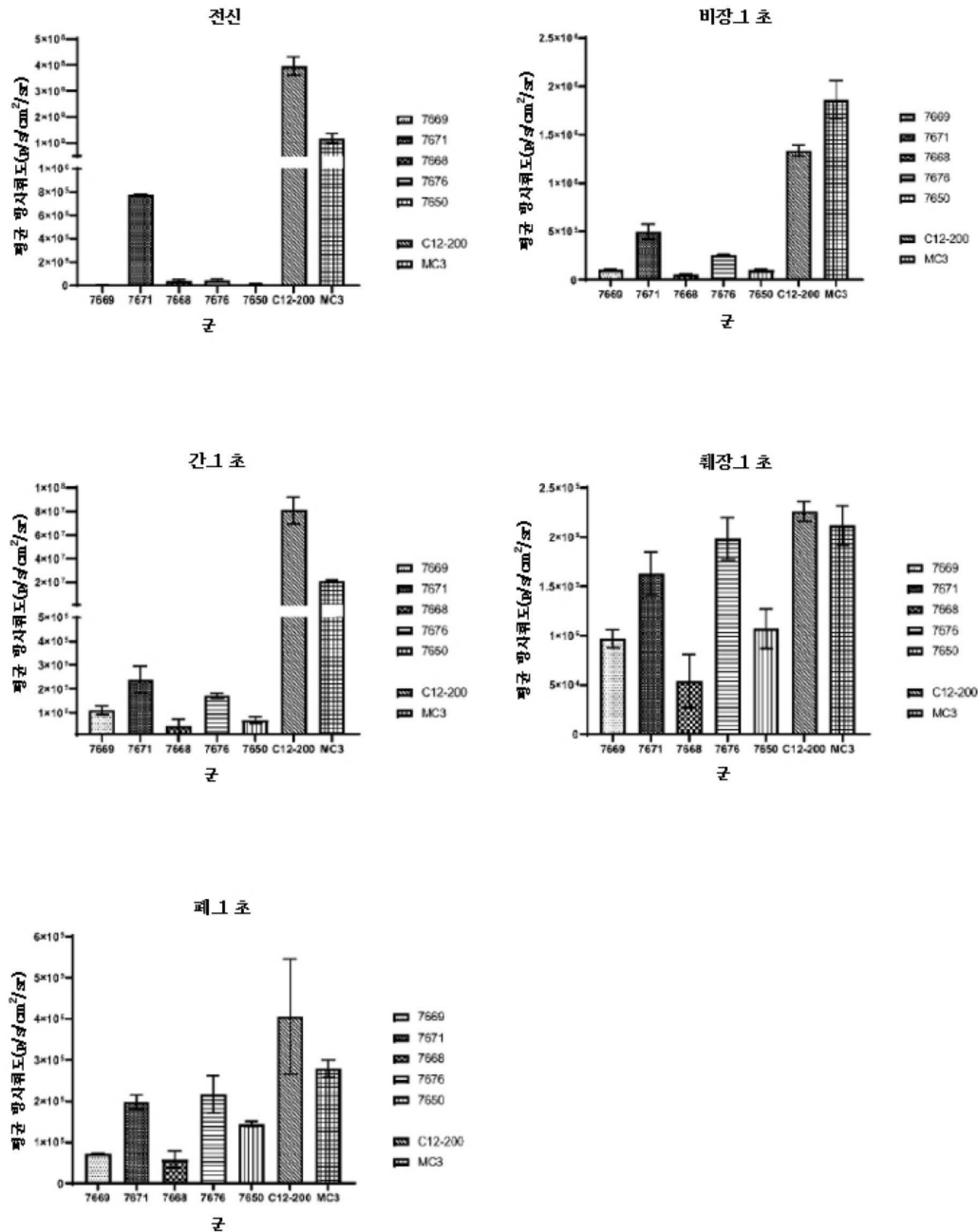
[1325] 알 수 있는 바와 같이, 신규한 이온화 가능 지질 화합물을 함유하는 지질 나노입자 조성물은 간 외부에서의 치료 물질의 선택적 전달을 나타내며, 간에서의 지질 수준이 더 낮기 때문에, 간 독성이 더 낮을 것으로 예상된다.

[1326]

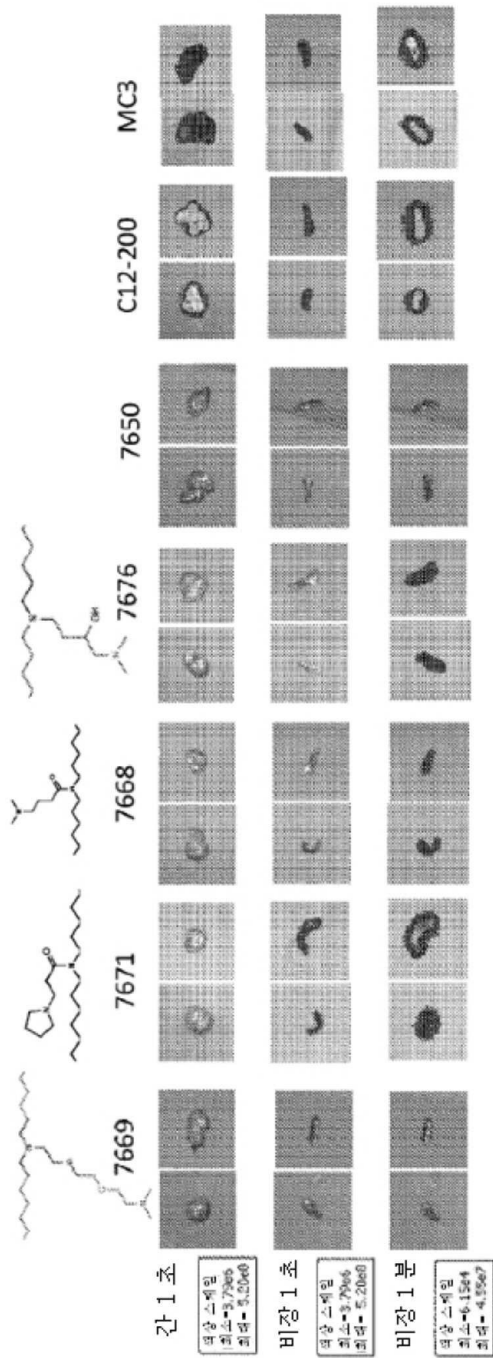
본 개시가 일부 구현예와 관련하여 설명되었으며 많은 세부 사항이 예시의 목적으로 제시되었지만, 본 개시는 추가 구현예를 포함하며, 본원에 기술된 세부 사항 중 일부는 본 개시를 벗어나지 않으며 상당히 변경될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 본 개시는 이러한 추가 구현예, 변형, 및 등가물을 포함한다. 특히, 본 개시는 다양한 예시적인 구성 요소 및 실시예의 특징, 용어, 또는 요소의 임의의 조합을 포함한다.

도면

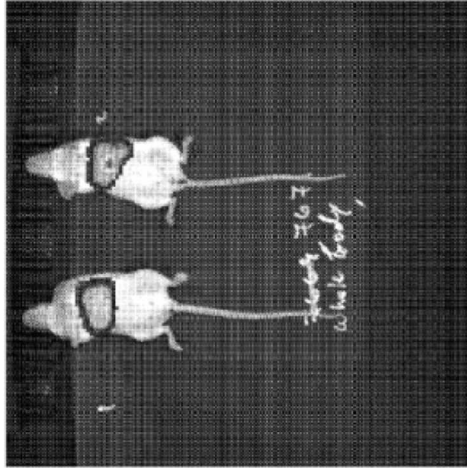
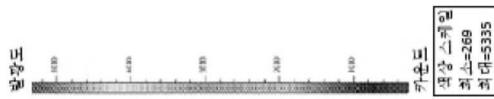
도면1



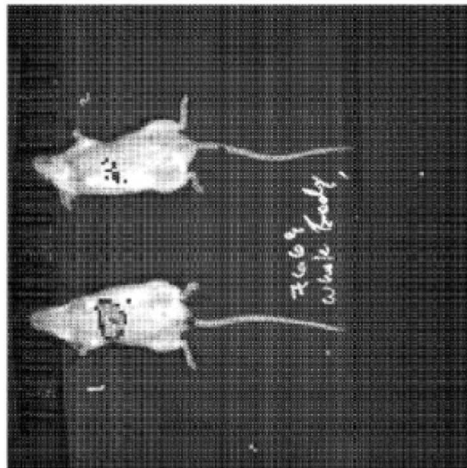
도면2



도면3



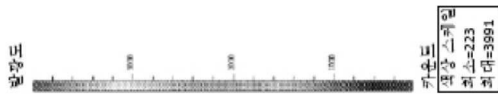
지질 번호 7671
전신



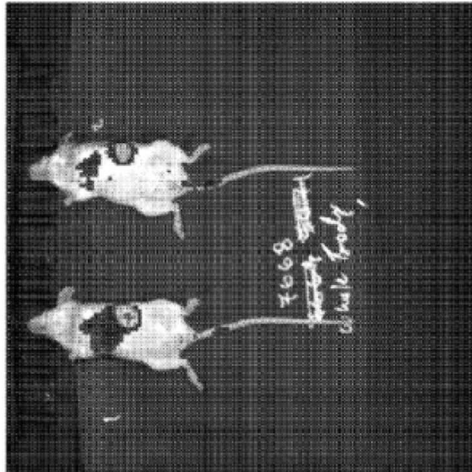
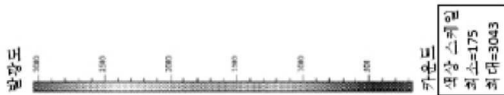
지질 번호 7669
전신

참고: 스케일은 이미지에 따라 상이하며 정규화되지 않았음

도면4



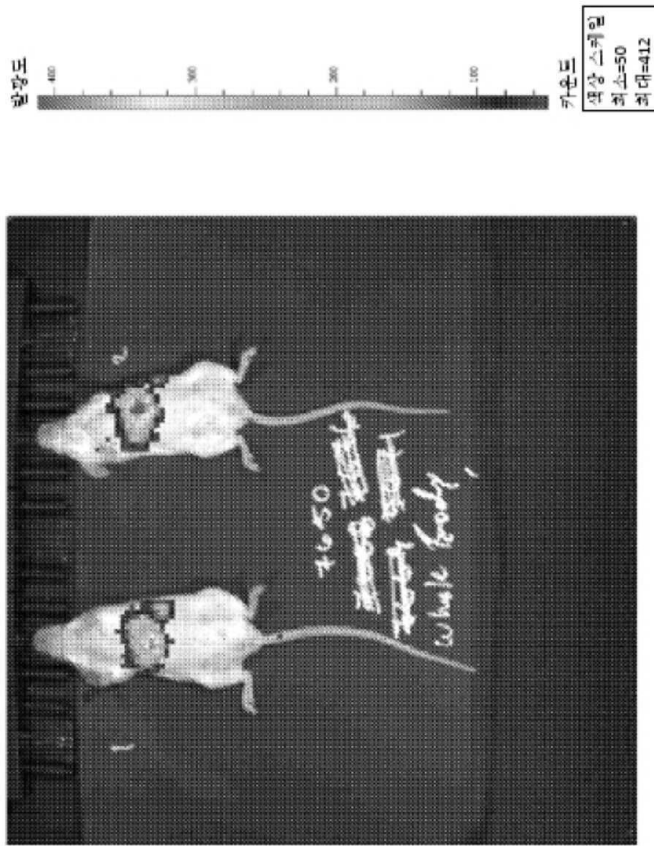
지질 번호 7676
전신



지질 번호 7668
전신

참고: 스케일은 이미지에 따라 상이하며 정규화되지 않았음

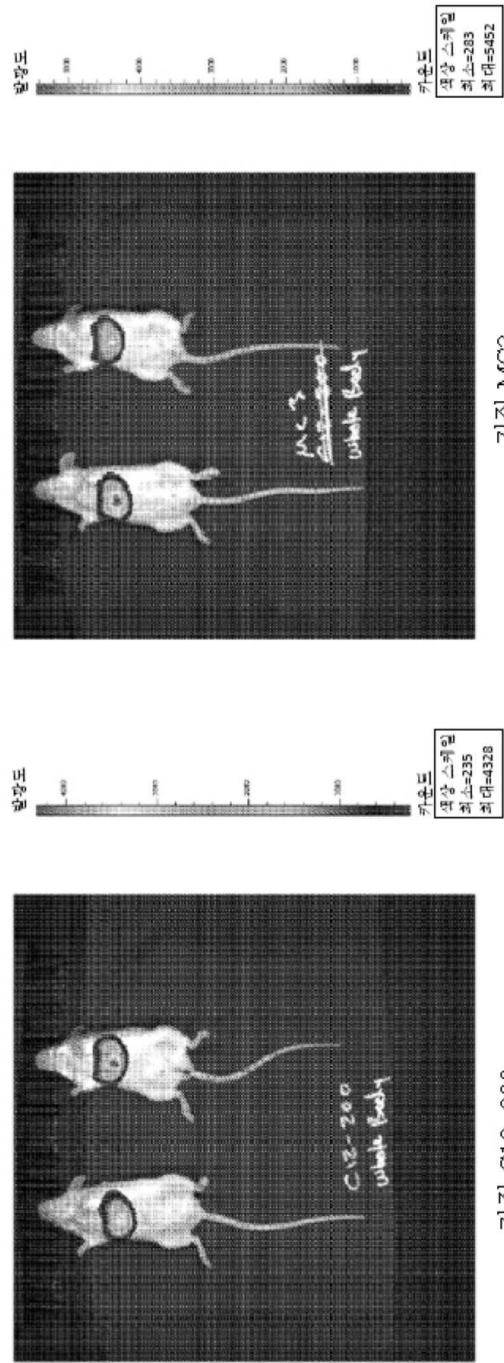
도면5



지질 번호 7650
전신

참고: 스케일은 이미지에 따라 상이하며 정규화되지 않았음

도면6



참고: 스케일은 이미지에 따라 상이하며 정규화되지 않음