

**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

**(11) 공개번호** 10-2015-0132188  
**(43) 공개일자** 2015년11월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C07C 231/12** (2006.01) **C07C 237/06** (2006.01)  
**C07F 9/10** (2006.01) **C07F 9/141** (2006.01)

(52) CPC특허분류  
**C07C 231/12** (2013.01)  
**C07C 237/06** (2013.01)

(21) 출원번호 **10-2015-7025911**

(22) 출원일자(국제) **2014년03월14일**  
심사청구일자 **없음**

(85) 번역문제출일자 **2015년09월21일**

(86) 국제출원번호 **PCT/IB2014/000494**

(87) 국제공개번호 **WO 2014/140787**  
국제공개일자 **2014년09월18일**

(30) 우선권주장  
61/801,641 2013년03월15일 미국(US)  
13306056.6 2013년07월23일  
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인  
**세레니스 세라퓨틱스 홀딩 에스에이**  
프랑스 에프-31670 라베즈 바트 아 뤼 드 라 테쿠  
베르트 265

(72) 발명자  
**오니씨유 다니엘라 카르멘**  
프랑스 에프-31000 툴루즈 아파트먼트 302 뤼 생  
트 안느 18  
**헥호프 스테판**  
독일 79541 웨어라흐 솔로스슈트라쎄 51아  
(뒷면에 계속)

(74) 대리인  
**김진희, 김태홍**

전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 **스핑고미엘린 및 디히드로스핑고미엘린의 합성 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 스핑고미엘린 및 디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 포함한다. 또한, 본 발명은 스핑고신 및 디히드로스핑고신의 합성 방법을 포함한다. 본 발명은 세라미드 및 디히드로세라미드의 합성 방법을 포함한다.

(52) CPC특허분류

**C07F 9/10** (2013.01)

**C07F 9/141** (2013.01)

(72) 발명자

**오스왈드 베노잇**

프랑스 에프-68110 이작크 뤼 폴 웨버 9에이

**레브만 피터**

스위스 씨에이치-4133 프라테인 뢰레벡 17/3

**피어 안드레아스**

스위스 씨에이치-1950 시옹 에비뉴 데 그랜드-첼프  
섹 2비

**곤잘레스 미구엘**

스위스 씨에이치-4435 니더도르프 홀텐벡 22

**소터 패트릭**

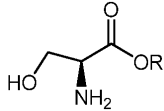
스위스 씨에이치-4107 에팅엔 하우프트슈트라쎄 22

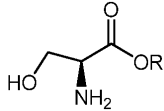
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

D-에리트르-스핑고신의 합성 방법으로서,



- a) 구조  를 갖는 L-세린 에스테르 또는 그의 염의 아미노 기를 tert-부톡시카르보닐 기로 보호하여, Boc-보호된 L-세린 에스테르를 생성하는 단계로서, 상기 구조에서 R은 C1-5 알킬 기인 단계;
- b) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사줄리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르를 생성하기에 효과적인 조건 하에 벤젠술폰산의 존재 하에 Boc-보호된 L-세린 에스테르를 2,2-디메톡시프로판과 반응시키는 단계;
- c) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사줄리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 n-부틸리튬의 존재 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사줄리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르를 디메틸 메틸포스포네이트와 반응시키는 단계;
- d) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사줄리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사줄리딘을 1-테트라데칸알과 반응시키는 단계;
- e) (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사줄리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사줄리딘을 수소화붕소나트륨 및 삼염화세륨과 반응시키는 단계; 및
- f) D-에리트르-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사줄리딘의 tert-부톡시카르보닐(Boc) 보호기를 제거하는 단계
- 를 포함하는 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, R이 메틸 기인 방법.

#### 청구항 3

N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신의 합성 방법으로서,

- a) (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논을 에틸글리시네이트와 반응시키는 단계;
- b) (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 클로로티타늄 트리이소프로폭시드 및 트리에틸아민의 존재 하에 (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(화합물 IIb)를 2-(E)-헥사데센-1-알과 반응시키는 단계;
- c) (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 염산과 반응시키는 단계;
- d) D-에리트르-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 수소화붕소나트륨

를 포함하는 방법.

e) N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-스핑고신을 팔미트산과 반응시키는 단계

를 포함하는 방법.

#### 청구항 4

N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법으로서,

a) D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;

b) 1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

c) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계;

d) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드의 트리틸 기를 제거하여 D-에리트로-3-O-벤조일-세라미드를 얻는 단계;

e) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;

f) N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

g) N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하는 단계

를 포함하는 방법.

#### 청구항 5

D-에리트로-3-O-벤조일-세라미드의 합성 방법으로서,

a) 1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

b) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계; 및

c) 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드의 트리틸 기를 제거하는 단계

를 포함하는 방법.

#### 청구항 6

제4항에 있어서, 지방산이 팔미트산인 방법.

#### 청구항 7

제5항에 있어서, D-에리트로-세라미드가 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신인 방법.

#### 청구항 8

제4항에 있어서, 트리메틸아민을 액체로서 첨가하는 것인 방법.

#### 청구항 9

제4항에 있어서, 단계 b)가 약 5% 미만의 1,3-O-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성하는 것인 방법.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 단계 a)가 약 5% 미만의 1,3-0,0-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성하는 것인 방법.

#### 청구항 11

N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법으로서,

- a) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;
- b) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 트리메틸아민과 반응시켜 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하는 단계; 및
- c) N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드의 벤조일기를 제거하는 단계를 포함하는 방법.

#### 청구항 12

제11항에 있어서, D-에리트로-3-O-벤조일세라미드가 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신인 방법.

#### 청구항 13

제11항에 있어서, 트리메틸아민을 액체로서 첨가하는 것인 방법.

#### 청구항 14

제11항에 있어서, 첨가 전에 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키는 것인 방법.

#### 청구항 15

N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법으로서,

- a) D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;
- b) 1-O-트리틸-D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;
- c) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-1-O-트리틸-디히드로세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계;
- d) 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드의 트리틸기를 제거하는 단계;
- e) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;
- f) N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 디히드로세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및
- g) N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린의 벤조일기를 제거하는 단계를 포함하는 방법.

#### 청구항 16

N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법으로서,

- a) N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미토일아미드를 생성하

기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신을 에틸렌 할로포스파이트와 반응시키는 단계;

b) 2-브로모에틸 ((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일)포스포로브로미데이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미토일아미드를 브롬과 반응시키는 단계; 및

c) N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 2-브로모에틸 ((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일)포스포로브로미데이트를 트리메틸아민과 반응시키는 단계

를 포함하는 방법.

#### 청구항 17

제16항에 있어서, 에틸렌 할로포스파이트가 에틸렌 클로로포스파이트인 방법.

#### 청구항 18

N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법으로서,

a) N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 에틸렌 클로로포스파이트와 반응시키는 단계;

b) 2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드를 브롬과 반응시키는 단계; 및

c) N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트를 트리메틸아민과 반응시키는 단계

를 포함하는 방법.

#### 청구항 19

제20항에 있어서, 에틸렌 할로포스파이트가 에틸렌 클로로포스파이트인 방법.

#### 청구항 20

N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법으로서,

a) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;

b) N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

c) N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하는 단계

를 포함하는 방법.

#### 청구항 21

제20항에 있어서, 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드가 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신인 방법.

#### 청구항 22

제1항에 있어서, 단계 a) 전에,

1) D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;

2) D-에리트로-1-O-트리틸-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

3) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트로-세라

미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계; 및

4) D-에리트로-3-O-벤조일-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드의 트리틸 기를 제거하는 단계

를 더 포함하는 방법.

#### 청구항 23

제23항에 있어서, 지방산이 팔미트산인 방법.

#### 청구항 24

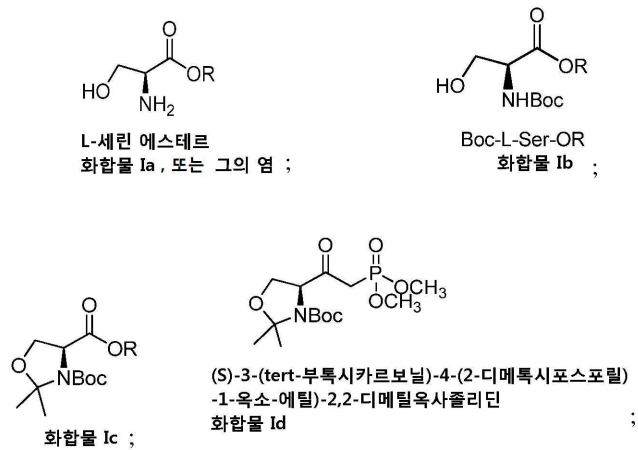
제20항에 있어서, 트리메틸아민을 액체로서 첨가하는 것인 방법.

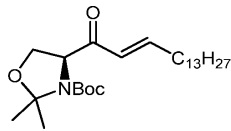
#### 청구항 25

제22항에 있어서, 단계 2)가 약 5% 미만의 1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성하는 것인 방법.

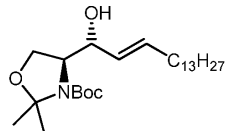
#### 청구항 26

하기 구조를 갖는 화합물:

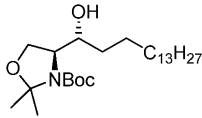




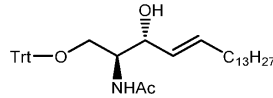
(S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘  
화합물 1e



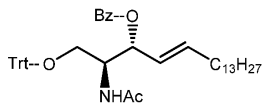
(2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘  
화합물 1f



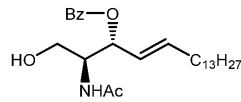
((S)-tert-부틸-4-((R)-1-히드록시헥사데실)-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카르복실레이트  
화합물 11a



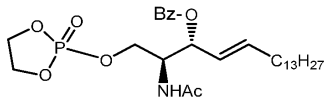
1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드  
화합물 1c-Trt



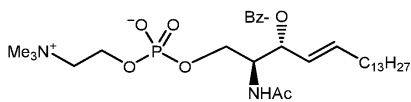
1-O-벤조일-3-O-트리틸-D-에리트르-세라미드  
화합물 1d-Bz-Trt



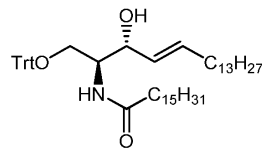
1-O-벤조일-D-에리트르-세라미드  
화합물 1e-Bz



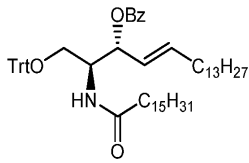
3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-세라미드  
화합물 1f-Bz



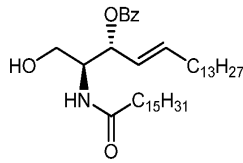
화합물 1g-Bz



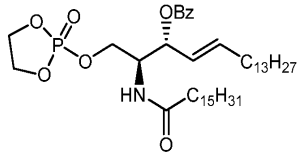
N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트르-스핑고신  
화합물 1a



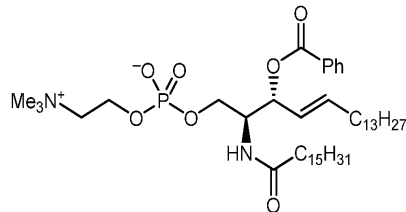
N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신  
화합물 VIb ;



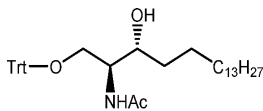
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신  
화합물 VIc ;



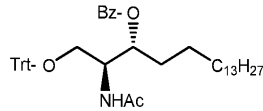
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-스핑고신  
화합물 VIId ;



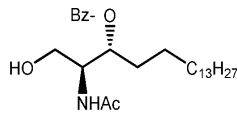
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린  
화합물 VIe ;



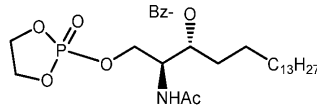
1-O-트리틸-D-에리트르-디히드로세라미드  
화합물 VIIc-Trt ;



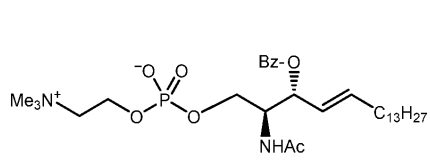
1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로세라미드  
화합물 VIIId ;



3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로세라미드  
화합물 VIIe ;

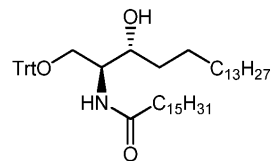


3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-디히드로세라미드  
화합물 VIIIf ;



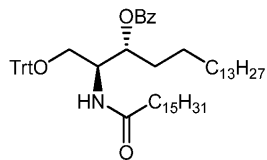
화합물 VIIg

;



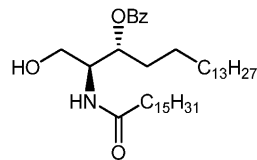
N-팔미토일-1-O-트리틸-  
D-에리트로-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIa

;



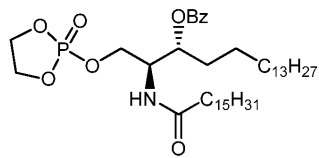
N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-  
D-에리트로-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIb

;



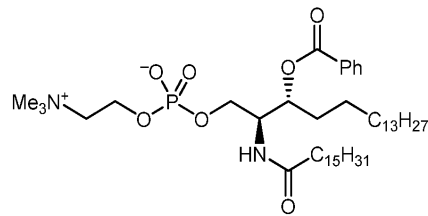
N-팔미토일-3-O-벤조일-  
D-에리트로-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIc

;



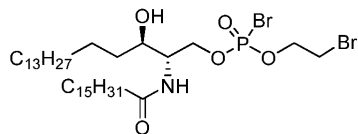
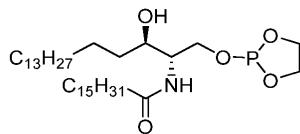
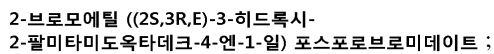
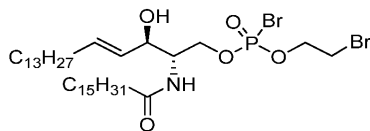
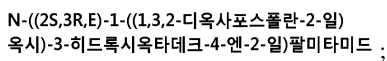
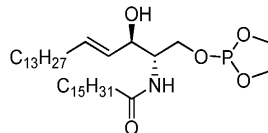
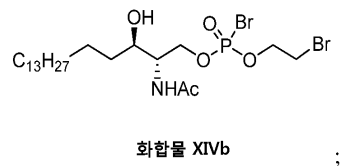
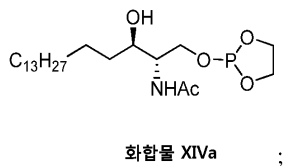
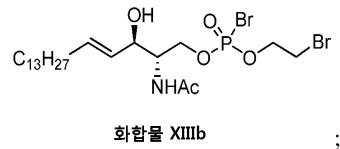
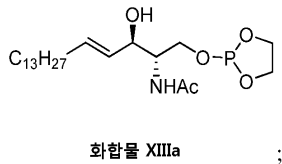
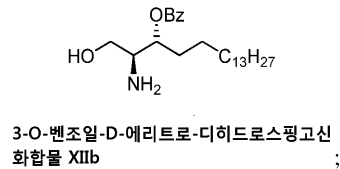
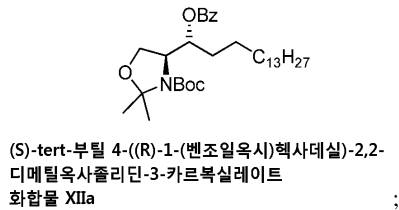
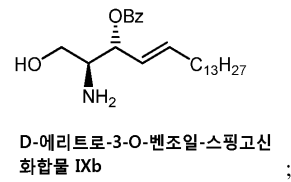
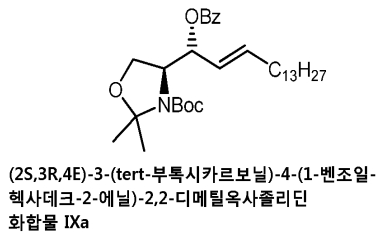
N-팔미토일-3-O-벤조일-1-O-  
(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-  
D-에리트로-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIId

;



N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-  
디히드로스핑고미엘린  
화합물 VIIIE

;



상기에서, Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기이며; R은 C1-5 알킬 기이다.

## 발명의 설명

## 기술 분야

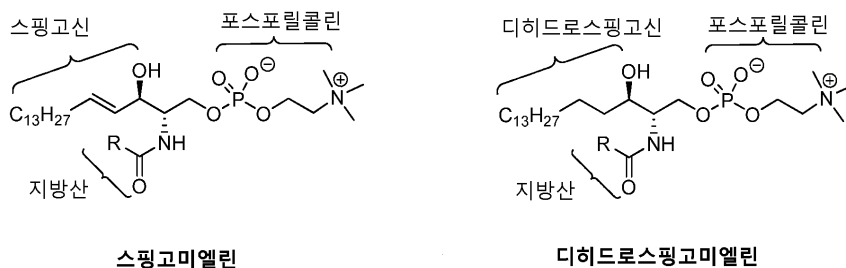
### 선행 출원에 대한 참조

본원은 2013년 3월 15일자로 출원된 미국 가출원 제61/801,641호 및 2013년 7월 23일자로 출원된 유럽 특허 제 13306056.6호를 우선권 주장으로 하며, 이들 각각의 출원은 본원에 그 전문을 참조로 포함된다.

## 배경 기술

스핑고미엘린은 생물학적 막 및 혈장 지단백질의 주요 인지질 성분이다. 스핑고미엘린은 세라미드 코어(아미드 결합에 의하여 지방산에 결합된 스핑고신) 및 포스포릴콜린 헤드 기로 이루어진다(하기 화학식 1, 좌측). 디히드로스핑고미엘린은 스핑고미엘린의 포화 동족체이며, 포화 세라미드 코어, 이른바 아미드 결합에 의하여 지방산에 결합된 디히드로스핑고신을 갖는다(하기 화학식 1, 우측).

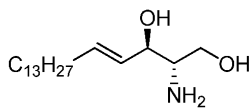
<화학식 1>



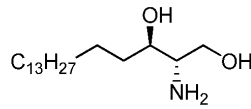
천연 스핑고미엘린에서 통상적으로 발견되는 스핑고신은 D-에리트르의 입체 화학 배치를 갖는 불포화 탄화수소쇄를 갖는 18-탄소 아미노 알콜인 D-에리트르-스핑고신이다. 이러한 스핑고신에 대한 IUPAC 명칭은 (2S,3R,E)-2-아미노옥타데크-4-엔-1,3-디올(화합물 A)이다. 디히드로스핑고신인 D-에리트르-디히드로스핑고신은 IUPAC 명칭 (2S,3R)-2-아미노옥타데칸-1,3-디올을 갖는 그의 포화 동족체이다(화합물 B).

시판 중인 스핑고미엘린은 일반적으로 천연 스핑고미엘린의 혼합물을 포함하는 자연적인 생성물이다. 이러한 혼합물의 실제의 조성은 생물학적 공급원에 의존하여 변경되며, 다양한 지방산쇄 길이를 함유한다. N-팔미토일-스핑고미엘린은 천연 스핑고미엘린에서의 주성분이다.

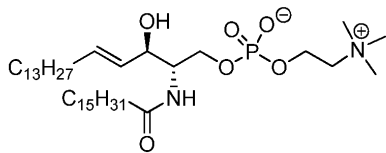
IUPAC 명칭 N-((2S,3R,E)-1,3-디히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미타미드를 갖는 팔미토일 스핑고미엘린의 이성질체 중 하나인 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린(화합물 C)은 주요 천연 이성질체인 것으로 여겨진다. 그의 해당 디히드로스핑고미엘린인 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린(화합물 D)은 IUPAC 명칭 (2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실 (2-(트리메틸암모니오)에틸)포스페이트를 갖는다.



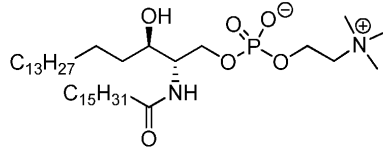
화합물 A



화합물 B



화합물 C



화합물 D

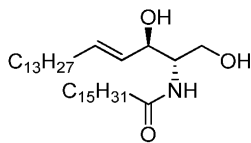
[0009]

[0010]

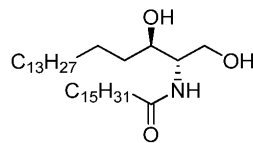
스핑고미엘린의 이러한 천연 공급원의 공업적 및 경제적 관련 합성 대안이 여전히 개발되고 있다. 관련 기술분야에 공지된 합성 경로는 스핑고미엘린, 특히 12 내지 25개의 탄소를 갖는 지방산을 갖는 것의 대규모 합성에 유용하지는 않다.

[0011]

세라미드인 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신(하기 화합물 E) 및 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고신(하기 화합물 F)은 각각 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린 및 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성에서의 중간체이다.



화합물 E



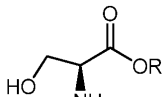
화합물 F

[0012]

### 발명의 내용

[0013]

한 실시형태에서, 본 발명은



[0014]

a) 구조 (여기서 R은 C1-5 알킬 기임)를 갖는 L-세린 에스테르 또는 그의 염의 아미노기를 tert-부톡시카르보닐 기로 보호하여, Boc-보호된 L-세린 에스테르를 생성하는 단계;

[0015]

b) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르를 생성하기에 효과적인 조건 하에 벤젠술폰산의 존재 하에 Boc-보호된 L-세린 에스테르를 2,2-디메톡시프로판과 반응시키는 단계;

[0016]

c) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 n-부틸리튬의 존재 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르를 디메틸 메틸포스포네이트와 반응시키는 단계;

[0017]

d) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 1-테트라데칸알과 반응시키는 단계;

[0018]

e) (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 수소화붕소나트륨 및 삼염화석과 반응시키는 단계; 및

[0019]

f) D-에리트로-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-

헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘의 tert-부톡시카르보닐(Boc) 보호기를 제거하는 단계를 포함하는 D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다.

[0020] 추가의 실시형태에서, 본 발명은

[0021] a) (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논을 에틸글리시네이트와 반응시키는 단계;

[0022] b) (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 클로로티타늄 트리이소프로폭시드 및 트리에틸아민의 존재 하에 (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(화합물 IIb)를 2-(E)-헥사데센-1-알과 반응시키는 단계;

[0023] c) (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 염산과 반응시키는 단계;

[0024] d) D-에리트르-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 수소화붕소나트륨과 반응시키는 단계; 및

[0025] e) N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-스핑고신을 팔미트산과 반응시키는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다.

[0026] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0027] a) D-에리트르-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;

[0028] b) 1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

[0029] c) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계;

[0030] d) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-세라미드의 트리틸 기를 제거하여 D-에리트르-3-O-벤조일-세라미드를 얻는 단계;

[0031] e) 3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트르-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;

[0032] f) N-아실-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

[0033] g) N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-아실-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하는 단계를 포함하는 N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

[0034] 특정 실시형태에서, 본 발명은

[0035] a) 1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

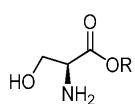
[0036] b) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계; 및

[0037] c) 3-O-벤조일-D-에리트르-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-세라미드의 트리틸 기를 제거하는 단계를 포함하는 D-에리트르-3-O-벤조일-세라미드의 합성 방법을 제공한다.

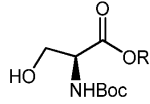
[0038] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은

- [0039] a) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)과 반응시키는 단계;
- [0040] b) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)세라미드를 트리메틸아민과 반응시키도록 하여 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하는 단계; 및
- [0041] c) N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드의 벤조일기를 제거하는 단계를 포함하는 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.
- [0042] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은
- [0043] a) D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;
- [0044] b) 1-O-트리틸-D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;
- [0045] c) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-1-O-트리틸-디히드로세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계;
- [0046] d) 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드의 트리틸기를 제거하는 단계;
- [0047] e) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란) 디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)과 반응시키는 단계;
- [0048] f) N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란) 디히드로세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및
- [0049] g) N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린의 벤조일기를 제거하는 단계를 포함하는 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.
- [0050] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은
- [0051] a) N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사포스포란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미토일아미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신을 에틸렌 할로포스파이트와 반응시키는 단계;
- [0052] b) 2-브로모에틸 ((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일)포스포로브로미데이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사포스포란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미토일아미드를 브롬과 반응시키는 단계; 및
- [0053] c) N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 2-브로모에틸 ((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일)포스포로브로미데이트를 트리메틸아민과 반응시키는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.
- [0054] 특정 실시형태에서, 본 발명은
- [0055] a) N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사포스포란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 에틸렌 클로로포스파이트와 반응시키는 단계;
- [0056] b) 2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사포스포란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드를 브롬과 반응시키는 단계; 및
- [0057] c) N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트를 트리메틸아민과 반응시키는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.
- [0058] 추가의 실시형태에서, 본 발명은

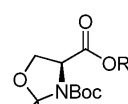
- [0059] a) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;
- [0060] b) N-아실-3-O-D-에리트로-벤조일-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및
- [0061] c) N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-D-에리트로-벤조일-스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하는 단계를 포함하는 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.
- [0062] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 방법을 위한 중간체로서 유용한 하기 화합물을 제공한다:
- [0063] 하기 구조를 갖는 화합물:



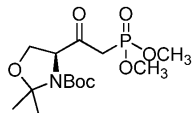
L-세린 에스테르  
화합물 Ia 및 그의 염



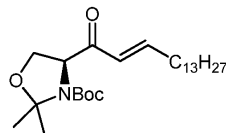
Boc-L-Ser-OR  
화합물 Ib



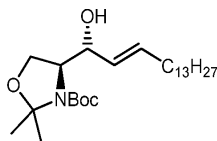
화합물 Ic



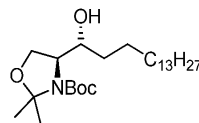
(S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-디메틸옥스포포릴)  
-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘  
화합물 Id



(S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소헥사데크  
-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘  
화합물 Ie

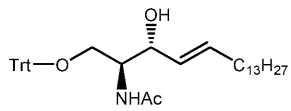


(2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시  
헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘  
화합물 If

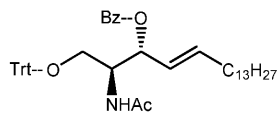


((S)-tert-부틸-4-((R)-1-히드록시헥사데실)  
-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카복실레이트  
화합물 IIa

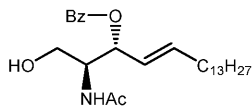
[0064]



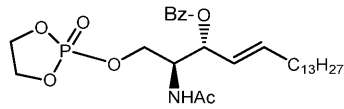
1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드  
화합물 Vc-Trt



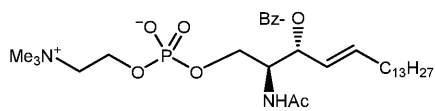
1-O-벤조일-3-O-트리틸-D-에리트르-세라미드  
화합물 Vd-Bz-Trt



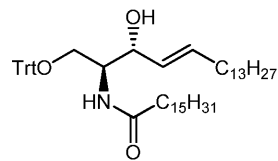
1-O-벤조일-D-에리트르-세라미드  
화합물 Ve-Bz



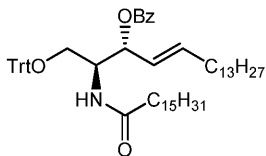
3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-세라미드  
화합물 Vf-Bz



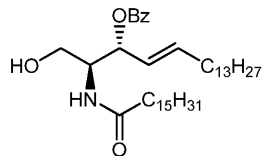
화합물 Vg-Bz



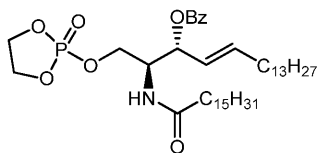
N-팔미토일-1-O-트리틸  
-D-에리트르-스핑고신  
화합물 VIa



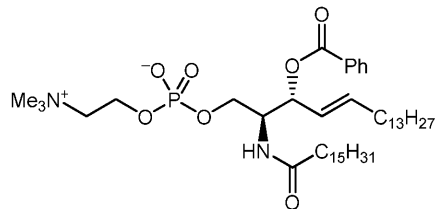
N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일  
-D-에리트르-스핑고신  
화합물 VIb



N-팔미토일-3-O-벤조일-  
D-에리트르-스핑고신  
화합물 VIc



N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르  
-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-스핑고신  
화합물 VIId



N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르  
-스핑고미엘린  
화합물 VIe

[0065]

1-O- 트리틸-D-에리트로-디히드로세라미드  
화합물 VIIc-Trt

1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-  
디히드로세라미드  
화합물 VIId

3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드  
화합물 VIIe

3-O-벤조일-D-에리트르-1-O-  
(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-디히드로세라미드  
화합물 VIIf

화합물 VIIg

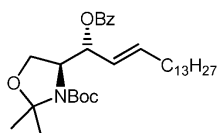
N-팔미토일-1-O-트리틸-  
D-에리트르-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIa

N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-  
D-에리트로-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIb

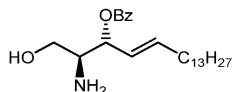
N-팔미토일-3-O-벤조일-  
D-에리트르-디히드로스핑고신  
화합물 VIIIc

N-팔미토일-3-O-벤조일-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란)-D-에리트로-디히드로스핑고신 화합물 VIII d

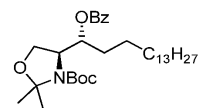
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-  
디히드로스핑고미엘린  
화합물 VIIIe



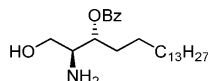
(2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-벤조일-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘 화합물 IXa



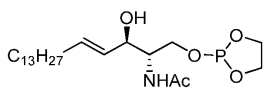
D-에리트르-3-O-벤조일-스핑고신 화합물 IXb



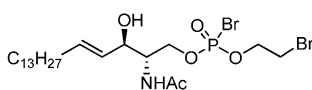
(S)-tert-부틸 4-((R)-1-(벤조일옥시)헥사데실)-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카르복실레이트 화합물 XIIa



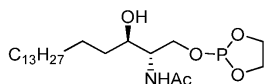
3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신 화합물 XIIb



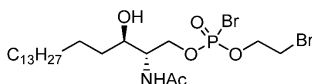
화합물 XIIIa



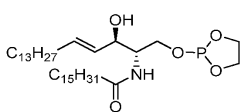
화합물 XIIIb



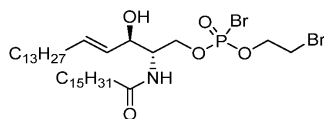
화합물 XIVa



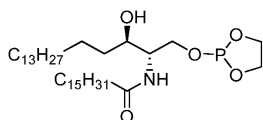
화합물 XIVb



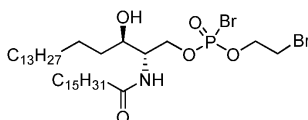
N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사스포플란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미타미드



2-브로모에틸 ((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일) 포스포로브로미데이트



N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사스포플란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드



2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트

[0067]

[0068]

(상기에서, Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기이며; R은 C1-5 알킬 기임).

## 도면의 간단한 설명

[0069]

도 1은 천연 에그 스펡고미엘린의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 2는 본 발명의 방법에 의하여 합성된 N-팔미토일-D-에리트르-스펙고미엘린의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 3은 본 발명의 방법에 의하여 합성된 N-팔미토일-D-에리트르-스펙고미엘린의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 4는 R-메톡시페닐아세트산 및 천연 에그 스펡고미엘린의 반응 혼합물로부터 얻은 샘플의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 5는 본 발명의 방법에 의하여 합성된 R-메톡시페닐아세트산 및 N-팔미토일-D-에리트르-스펙고미엘린의 반응 혼합물로부터 얻은 샘플의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 6은 본 발명의 방법에 의하여 합성된 R-메톡시페닐아세트산 및 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린의 반응 혼합물로부터 얻은 샘플의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼이다.

도 7은 예그 스팅고미엘린 1 당량 및, R-(-)-MPA 메톡시페닐아세트산(R-MPA)과 S-(+)-메톡시페닐아세트산(S-MPA)의 라세미 혼합물 1.2 당량, 디시클로헥실카르보디이미드(DCC) 1.2 당량 및 4-디메틸아미노피리딘(DMAP) 촉매량의 반응 혼합물로부터 얻은 샘플의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼(맨 아래) 및 R-MPA(맨위) 및 S-MPA(중앙) 에스테르에서 H2 수소 피크의 선택적 여기를 나타내는 1D-TOCSY(1 차원-총 상관 분광학) 스펙트럼이다.

도 8은 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신(화합물 VIc)의 박층 크로마토그래피 평판의 사진이다. "미정제 생성물"로 표시한 컬럼에서, "A"로 확인된 점은 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신(화합물 E)이며, "B"로 확인된 점은 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신(화합물 VIc)이며, "C"로 확인된 점은 N-팔미토일-1-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신(벤조일-기 이동의 생성물)이며, "D"로 확인된 점은 트리페닐메탄올(트리틸-OH)이며, "E"로 확인된 점은 N-팔미토일-1,3-O,0-디벤조일-D-에리트르-스핑고신이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0070] 본 발명은 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 D-에리트르-디히드로스핑고신의 합성 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신 및 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고신의 합성 방법을 제공한다.
- [0071] 또한, 본 발명은 킬로그램 규모의 D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다. 특정 실시형태에서, D-에리트르-스핑고신은 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신이다.
- [0072] 또한, 본 발명은 킬로그램 규모의 D-에리트르-디히드로스핑고신의 합성 방법을 제공한다. 특정 실시형태에서, D-에리트르-스핑고신은 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고신이다.
- [0073] 본 발명은 스팅고미엘린의 합성 방법을 제공한다. 그러한 방법은 실질적으로 거울상이성질체 순수한 화합물의 대규모 합성 및 실질적으로 거울상이성질체 순수한 중간체의 사용을 허용한다. "실질적으로 거울상이성질체 순수한" 화합물은 약 10 몰% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유하며, 또 다른 실시형태에서 약 5 몰% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유하며, 또 다른 실시형태에서 약 2 몰% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유하며, 또 다른 실시형태에서 약 1 몰% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유하며, 또 다른 실시형태에서 약 0.1 몰% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 12 내지 25개의 탄소의 지방산 쇠 길이를 갖는 스팅고미엘린의 제조 방법을 제공한다.
- [0074] 본 발명은 N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, D-에리트르-스핑고미엘린은 적절한 L-세린 에스테르(메틸, 에틸, i-프로필, n-부틸 등)를 사용하여 상업적 관련성이 있는 대규모로 합성될 수 있다. 본 발명의 방법은 D-에리트르-스핑고미엘린의 합성에 유용하다.
- [0075] 또한, 본 발명은 D-에리트르-스핑고신의 합성에 유용한 방법을 제공한다.
- [0076] 또한, 본 발명은 중간체로서 유용한 화합물을 포함한, 본원에 기재된 방법을 사용하여 합성 가능한 화합물을 제공한다.
- [0077] 추가로, 본 발명은 본원에 개시된 방법의 중간체 또는 생성물을 합성하는데 유용한 본원에 개시된 방법의 각각의 개개의 단계를 포함한다.
- [0078] 본원에 기재한 바와 같이, 스팅고미엘린은 극성 헤드 기에 결합된 세라미드 코어를 갖는다.
- [0079] 세라미드 코어는 아마이드 결합에 의하여 지방산에 결합된 스팅고신을 포함한다. 용어 "세라미드-Cn"을 사용할 경우, n은 정수이며, 지방산 잔기에서의 탄소(C)의 수를 지칭하며, 예를 들면 세라미드-C16은 16-탄소 지방산 잔기를 갖는 세라미드 코어, 예컨대 팔미토일을 지칭하며, 세라미드-C18은 18-탄소 지방산 잔기를 갖는 세라미드 코어, 예컨대 스테아로일을 지칭한다.
- [0080] "세라미드" 또는 "세라미드 코어"는 지방산 탄소 쇠의 길이를 명시하지 않고 사용된 경우, 지방산 쇠 탄소가 임의의 적절한 길이일 수 있는 것으로 이해하여야 한다.
- [0081] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "스핑고미엘린"은 포스포릴콜린 작용기에 결합된 세라미드 코어를 기재한다.

- [0082] 지방산은 포화 또는 불포화일 수 있는 긴 지방족 테일을 갖는 카르복실산이다. 불포화 지방산은 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 가지며, 각각의 탄소-탄소 이중 결합은 시스 또는 트랜스 배치로 발생될 수 있다. 지방산 잔기는 지방산의 카르복실 기의 -OH 기보다 적은 지방산이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "Ac"는 지방산 잔기를 지칭한다.
- [0083] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 지방산 또는 지방산 잔기는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 지방산 또는 지방산 잔기는 4 내지 28개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 지방산 또는 지방산 잔기는 11 내지 25개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 지방산 또는 지방산 잔기는 11 내지 25개의 탄소 및 1 또는 2개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 지방산 또는 지방산 잔기는 14 내지 20개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 지방산 또는 지방산 잔기는 15 내지 17개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 지방산은 팔미트산이며, 지방산 잔기는 팔미토일이다.
- [0084] 또한, 적절한 지방산으로는  $\omega$  지방산, 예컨대  $\omega$ -3 또는  $\omega$ -6 또는  $\omega$ -9 지방산을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않으며; 필수 지방산으로는 예컨대 리놀레산(LA),  $\alpha$ -리놀렌산(ALA), n-3 지방산, 예를 들면 에이코사펜타에노산(EPA) 및 도코사헥사에노산(DHA)을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0085] 본 발명에 유용한 적절한 지방산으로는 프로피온산, 부티르산, 발레르산, 카프로산, 에난트산, 카프릴산, 펠라곤산, 카프르산, 운데실산, 라우르산, 트리데실산, 미리스트산, 펜타데실산, 팔미트산, 마르가르산, 스테아르산, 노나데실산, 아라키드산, 헤네이코실산, 베헨산, 트리코실산, 리그노세르산, 펜타코실산, 세로트산, 헵타코실산, 몬탄산, 노나코실산, 펠리스산, 헨나트리아콘틸산, 라세로산, 프실산, 게드산, 세로플라스트산, 헥사트리아콘틸산, 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산, 리놀레산, 리노엘라이드산,  $\alpha$ -리놀렌산 및 에루스산을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0086] 지방산이 모노불포화 지방산인 경우, 이는 올레산, 엘라이드산, 미리스톨레산, 팔미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산 및 에루스산을 비롯한(이에 한정되지 않음) 시스- 또는 트랜스-모노불포화 지방산일 수 있다.
- [0087] 본원에서 사용된 바와 같이, " $C_{13}H_{27}$ -" 및 " $C_{15}H_{31}$ -"은 각각  $CH_3(CH_2)_{12}$ -및  $CH_3(CH_2)_{14}$ -를 의미한다.
- [0088] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "아실"은 화학식  $-C(O)R$ 의 라디칼을 지칭하며, R은 2 내지 35개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 알킬 기이다.
- [0089] 본 발명의 특정 화합물은 염의 형태로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 염은 약학적으로 허용 가능한 염이다. 약학적으로 허용 가능한 염의 예로는 산 부가 염 및 염기 부가 염을 들 수 있다. 산 부가 염을 형성하는 산은 유기 산 또는 무기 산일 수 있다. 염기 첨가 염을 형성하는 염기는 유기 염기 또는 무기 염기일 수 있다. 일부 실시형태에서, 약학적으로 허용 가능한 염은 금속 염이다. 일부 실시형태에서, 약학적으로 허용 가능한 염은 암모늄 염이다.
- [0090] 산 부가 염은 본 발명의 화합물의 유리 염기 형태의 첨가로부터 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 산은 유기이다. 일부 실시형태에서, 산은 무기이다. 적절한 산의 비제한적인 예로는 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 질산, 아질산, 황산, 아황산, 인산, 니코틴산, 이소니코틴산, 락트산, 살리실산, 4-아미노살리실산, 타르타르산, 아스코르브산, 겐티신산, 글루콘산, 글루카론산, 사카르산, 포름산, 벤조산, 글루탐산, 판토텐산, 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 푸마르산, 숙신산, 시트르산, 옥살산, 말레산, 히드록시말레산, 메틸말레산, 글리콜산, 말산, 신남산, 만델산, 2-펜옥시벤조산, 2-아세톡시벤조산, 엠본산, 페닐아세트산, N-시클로헥실술폰산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 에탄-1,2-디술폰산, 4-메틸벤젠술폰산, 나프탈렌-2-술폰산, 나프탈렌-1,5-디술폰산, 2-포스포글리세르산, 3-포스포글리세르산, 글루코스-6-인산 및 아미노산을 들 수 있다.
- [0091] 적절한 산 부가 염의 비제한적인 예로는 염산염, 브롬화수소산염, 요오드화수소산염, 질산염, 아질산염, 황산염, 아황산염, 인산염, 인산수소산염, 인산이수소산염, 탄산염, 중탄산염, 니코틴산염, 이소니코틴산염, 락트산염, 살리실산염, 4-아미노살리실산염, 타르타르산염, 아스코르브산염, 겐티신산염, 글루콘산염, 글루카론산염, 사카르산염, 포름산염, 벤조산염, 글루탐산염, 판토텐산염, 아세트산염, 프로피온산염, 부티르산염, 푸마르산염, 숙신산염, 시트르산염, 옥살산염, 말레산염, 히드록시말레산염, 메틸말레산염, 글리콜산염, 말산염, 신남산염, 만델산염, 2-펜옥시벤조산염, 2-아세톡시벤조산염, 엠본산염, 페닐아세트산염, N-시클로헥실술폰산염, 메

탄술폰산염, 에탄술폰산염, 벤젠술폰산염, p-톨루엔술폰산염, 2-히드록시에탄술폰산염, 에탄-1,2-디술폰산염, 4-메틸벤젠술폰산염, 나프탈렌-2-술폰산염, 나프탈렌-1,5-디술폰산염, 2-포스포글리세르산염, 3-포스포글리세르산염, 글루코스-6-인산염 및 아미노산염을 들 수 있다.

[0092] 금속 염은 카르복실 기를 갖는 본 발명의 화합물에 무기 염기를 첨가하여 생성될 수 있다. 무기 염기는 염기성 반대 이온, 예를 들면 히드록시드, 카르보네이트, 비카르보네이트 또는 포스페이트와 쌍을 이루는 금속 양이온으로 이루어진다. 금속은 알칼리 금속, 알칼리 토금속, 전이 금속 또는 주족 금속일 수 있다. 적절한 금속의 비제한적인 예로는 리튬, 나트륨, 칼륨, 세슘, 세륨, 마그네슘, 망간, 철, 칼슘, 스트론튬, 코발트, 티타늄, 알루미늄, 구리, 카드뮴 및 아연을 들 수 있다.

[0093] 적절한 금속 염의 비제한적인 예로는 리튬 염, 나트륨 염, 칼륨 염, 세슘 염, 세륨 염, 마그네슘 염, 망간 염, 철 염, 칼슘 염, 스트론튬 염, 코발트 염, 티타늄 염, 알루미늄 염, 구리 염, 카드뮴 염 및 아연 염을 들 수 있다.

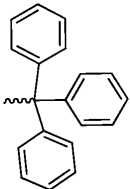
[0094] 암모늄 염은 카르복실 기를 갖는 본 발명의 화합물에 암모니아 또는 유기 아민을 첨가하여 생성될 수 있다. 적절한 유기 아민의 비제한적인 예로는 트리에틸 아민, 디이소프로필 아민, 에탄올 아민, 디에탄올 아민, 트리에탄올 아민, 모르폴린, N-메틸모르폴린, 피페리딘, N-메틸피페리딘, N-에틸피페리딘, 디벤질 아민, 피페라진, 피리딘, 피라졸, 이미다졸, 피라진, 피피라진, 에틸렌디아민, N,N'-디벤질에틸렌 디아민, 프로카인, 클로로프로카인, 콜린, 디시클로헥실 아민 및 N-메틸글루카민을 들 수 있다.

[0095] 적절한 암모늄 염의 비제한적인 예로는 트리에틸암모늄 염, 디이소프로필암모늄 염, 에탄올암모늄 염, 디에탄올암모늄 염, 트리에탄올암모늄 염, 모르폴리늄 염, N-메틸모르폴리늄 염, 피페리디늄 염, N-메틸피페리디늄 염, N-에틸피페리디늄 염, 디벤질암모늄 염, 피페라지늄 염, 피리디늄 염, 피라졸륨 염, 이미다졸륨 염, 피라지늄 염, 에틸렌디아민염, N,N'-디벤질에틸렌디아민염, 프로카인 염, 클로로프로카인 염, 콜린 염, 디시클로헥실암모늄 염 및 N-메틸글루카민 염을 들 수 있다.

[0096] 언급된 수치 표시와 관련하여 사용시 용어 "약"은 언급된 수치 표시 + 또는 - 그 언급된 수치 표시의 10% 이하를 의미한다. 예를 들면 용어 "약 50"은 45 내지 55 범위내를 포함한다.

# [0097] 일반적인 방법

[0098] "Trt"는 하기 구조를 갖는 트리틸 (트리페닐메틸) 보호기를 나타낸다:

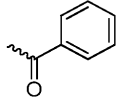


[0099]

[0100] 본원에서 사용된 바와 같이, 트리틸화제로는 트리틸 할라이드, 예컨대 트리틸 클로라이드 및 트리틸 브로마이드를 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0101] 트리틸 보호기의 제거는 통상적으로 하기와 같이 진행된다: 트리틸-보호된 스펅고미엘린을 유기 용매 중에 용해시키고, 산을 첨가한다. 반응은 약 22℃의 온도에서 1 내지 16 시간 동안 진행된다. 반응 혼합물은 염기를 첨가하여 중화된다. 유기 용매는 양성자성 극성 용매, 비양성자성 극성 용매 또는 그의 혼합물일 수 있다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 양성자성 극성 용매이며, 메탄올, 에탄올, n-프로판올 또는 이소프로판올이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매이다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 염소화되며, 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 사염화탄소이다. 또 다른 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 비염소화되며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 산은 트리틸 보호기의 제거에 적절한 것으로 당업자에게 공지된 임의의 산, 예를 들면 아세트산, 트리플루오로아세트산, 염산 및 p-톨루엔술폰산일 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 p-톨루엔술폰산이다. 특정한 실시형태에서, 염기는 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.

[0102] "Bz"는 하기 구조를 갖는 벤조일 보호기를 나타낸다:



[0103]

[0104] 본원에서 사용된 바와 같이, 벤조일화제의 예로는 벤조일 할라이드, 예컨대 벤조일 클로라이드 및 트리틸 브로마이드를 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0105] 벤조일 보호기의 제거는 통상적으로 하기와 같이 진행된다: 벤조일-보호된 스펅고미엘린을 양성자성 극성 용매 중에 용해시키고, 염기를 첨가한다. 반응은 8 내지 24 시간 동안 약 22℃에서 진행된다. 한 실시형태에서, 양성자성 극성 용매는 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 이소프로판올 또는 그의 혼합물이다. 또 다른 실시형태에서, 염기는 나트륨 메톡사이드, 탄산칼륨, 수산화나트륨이다. 특정 실시형태에서, 염기는 나트륨 메톡사이드이다.

[0106] **D-에리트르-스핑고신**

[0107] 특정 실시형태에서, 본 발명은 L-세린 에스테르를 사용한 D-에리트르-스핑고신, 예컨대 하기 반응식 I에서 화합물 Ia의 것의 합성 방법을 제공하며, 여기서 R은 C1-5 알킬이다. 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "알킬"은 다른 의미로 정의되지 않는다면 알칸으로부터 수소 원자를 제거하여 유도된 직쇄, 분지쇄 또는 시클릭 포화 기를 지칭한다. 대표적인 직쇄 알킬 기로는 -메틸, -에틸, -n-프로필, -n-부틸 및 -n-펜틸을 들 수 있다. 대표적인 분지쇄 알킬 기로는 -이소프로필, -sec-부틸, -이소부틸, -tert-부틸, -이소펜틸, -네오펜틸, 1-메틸부틸, 2-메틸부틸, 3-메틸부틸, 1,1-디메틸프로필 및 1,2-디메틸프로필을 들 수 있다. 대표적인 시클릭 알킬 기로는 시클로펜틸 및 시클로프로필을 들 수 있다.

[0108] 본 발명의 특정한 실시형태에서, L-세린 에스테르는 L-세린 메틸 에스테르이다. 또 다른 실시형태에서, L-세린 에스테르는 L-세린 에틸 에스테르이다. 또 다른 실시형태에서, L-세린 에스테르는 L-부틸 에스테르이다.

[0109] 본 발명의 한 실시형태에서, D-에리트르-스핑고신은

[0110] a) L-세린 에스테르(화합물 Ia)의 아미노 기를 tert-부톡시카르보닐 기로 보호하여, Boc-보호된 L-세린 에스테르(화합물 Ib)를 생성하는 단계;

[0111] b) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르(화합물 Ic)를 생성하기에 효과적인 조건 하에 벤젠술포산의 존재 하에 Boc-보호된 L-세린 에스테르를 2,2-디메톡시프로판과 반응시키는 단계;

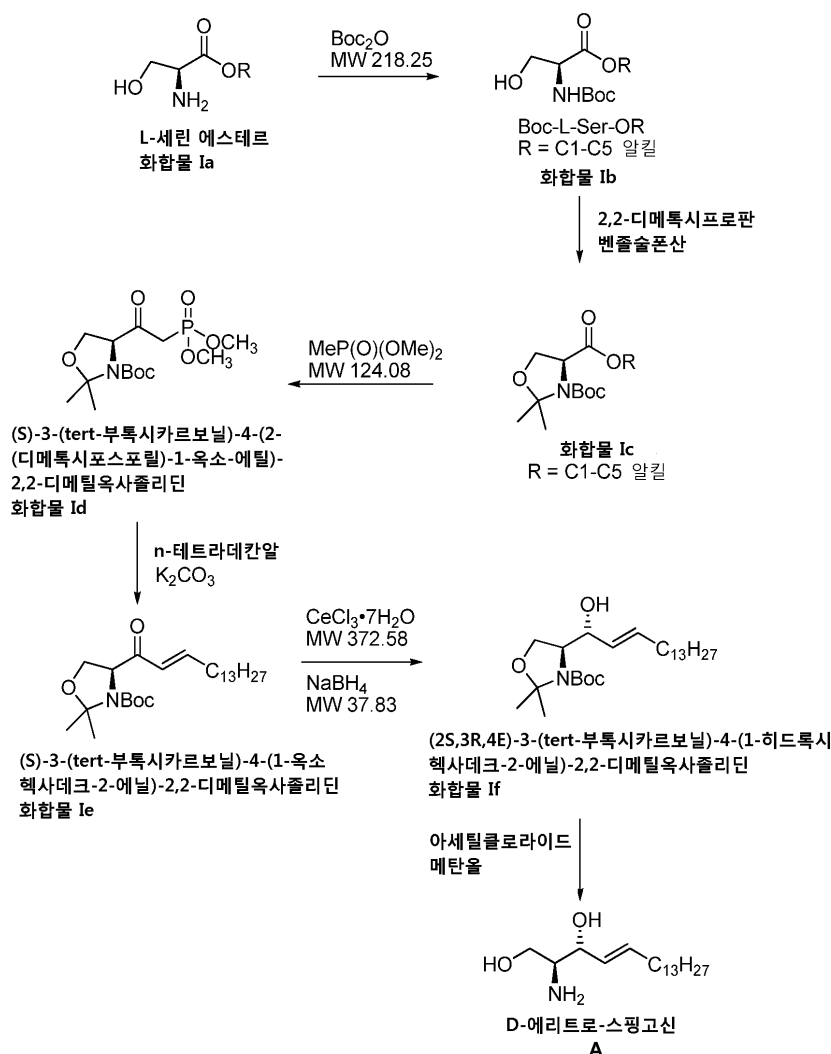
[0112] c) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Id)을 생성하기에 효과적인 조건 하에 n-부틸리튬의 존재 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르(화합물 Ic)를 디메틸 메틸포스포네이트와 반응시키는 단계;

[0113] d) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Ie)을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 1-테트라데칸알과 반응시키는 단계;

[0114] e) (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 수소화붕소나트륨 및 삼염화세륨과 반응시키는 단계; 및

[0115] f) (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘의 tert-부톡시카르보닐(Boc) 보호기를 제거하여 D-에리트르-스핑고신(화합물 A)을 생성하는 단계를 포함하는 하기 반응식 I에 제시된 방법에 의하여 합성된다:

[0116] <반응식 I>



[0117]

[0118]

본 발명의 한 양태에서, L-세린 에스테르(반응식 I의 화합물 Ia)의 아미노 기를 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘의 존재 하에 tert-부톡시카르보닐(Boc) 기로 보호하여, Boc-보호된 L-세린 에스테르(화합물 Ib)를 얻는다. 그 후, 반응은 유기층으로부터 회수한, 반응 생성물인 화합물 Ib 및 물을 첨가하여 켄칭시킬 수 있다.

[0119]

Boc 보호기의 상기 첨가는 비양성자성 유기 용매 중에서 약 22℃의 온도에서 약 6 내지 24 시간 동안 진행시킬 수 있다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 염소화된 탄화수소, 예를 들면 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 아염화탄소이다. 또 다른 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 비염소화되며, 예를 들면 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 염기는 통상적으로 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다. 반응 생성물인 화합물 Ib는 상기 기재된 비양성자성 유기 용매를 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 용매를 사용하여 유기층으로부터 추출될 수 있다.

[0120]

본 발명의 또 다른 양태에서, Boc-보호된 L-세린 에스테르(화합물 Ib)를 벤젠술폰산의 존재 하에 2,2-디메톡시프로판과 반응시켜 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산의 해당 C1-C5 알킬 에스테르(화합물 Ic)를 얻는다. 반응은 환류 온도에서 1-3 시간 동안 유기 용매 중에서 진행될 수 있다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성이며, 톨루엔, 벤젠 또는 헥산이다. 또 다른 실시형태에서, 유기 용매는 극성 유기이며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 그 후, 반응을 염기로 중화시키고, 용매를 증발시킬 수 있다. 그 후, 물 및 유기 용매를 나머지 잔류물에 첨가할 수 있고, 유기 용매를 사용하여 반응 생성물을 유기층으로부터 추출할 수 있다. 염기는 통상적으로 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다. 상기 기재된 유기 용매를 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 용매를 사용하여 반응 생성물을 유기층으로부터 추출할 수 있다.

- [0121] 본 발명의 또 다른 양태에서, (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 에스테르(화합물 Ic)를 디메틸 메틸포스포네이트의 존재 하에 n-부틸리튬과 반응시켜 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Id)을 생성한다. 반응을 물로 켄칭시킬 수 있으며, 유기 산을 첨가하여 pH를 조절할 수 있다. 생성물을 유기 상으로부터 회수할 수 있다. 반응은 유기 용매 중에서 약 -70 내지 -80℃의 온도에서 약 2 내지 4 시간 동안 진행시킬 수 있다. 특정한 실시형태에서, 유기 용매는 극성 유기 용매이며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 특정한 실시형태에서, 산은 시트르산 또는 아세트산이다.
- [0122] 본 발명의 추가의 실시형태에서, (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Id)은 염기의 존재 하에 테트라에탄알과 반응하여 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Ie)을 생성한다. 한 실시형태에서, 염기는 탄산칼륨이다. 반응은 실온에서, 예를 들면 약 22℃에서 및 유기 용매 및 물의 존재 하에 진행될 수 있다. 반응은 교반하면서 8-14 시간 동안 진행될 수 있다. 생성물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Ie)을 유기 상으로부터 회수할 수 있다. 특정한 실시형태에서, 유기 용매는 극성 유기 용매이며, 아세토니트릴, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다.
- [0123] 본 발명의 또 다른 실시형태에서, (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Ie)은 수소화붕소나트륨 및 염화세륨 7수화물의 존재 하에 환원시켜 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)을 생성한다. 예를 들면, 화합물 Ie 및 염화세륨 7수화물을 유기 용매 중에서 교반하고, 혼합물을 -20 내지 -15℃로 냉각시킨다. 수소화붕소나트륨을 혼합물에 1 내지 6 시간에 걸쳐 첨가한다. 수소화붕소나트륨의 첨가 후, 반응을 15 내지 90 분 동안 진행시킬 수 있으며, 이때 약 22℃로 1 내지 3 시간에 걸쳐 가온시킨다. 22℃에 도달된 후, 혼합물을 30 내지 90 분 동안 교반할 수 있다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 양성자성 극성 용매이며, 메탄올, 에탄올, n-프로판올 또는 이소프로판올이다. 특정한 실시형태에서, 수소화붕소나트륨을 고체로서 첨가한다. 기타 실시형태에서, 수소화붕소나트륨을 수용액으로서 첨가한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 용매의 적어도 일부를 증발에 의하여 제거하고, 침전된 염을 여과하고, 유기 용매로 세정한다. 생성물인 화합물 If를 생성된 여과액의 유기 상으로부터 회수할 수 있다.
- [0124] 본 발명의 특정한 실시형태에서, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)을 탈보호시켜 D-에리트로-스핑고신을 얻는다. 반응은 하기와 같이 진행시킬 수 있다: 메탄올을 약 0℃로 냉각시키고, 아세틸클로라이드를 약 15 내지 60 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 용액을 가온시켜 메탄올성 염산염 용액을 생성한다. (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 메탄올 중에 용해시키고, 메탄올성 염산염 용액을 약 15 내지 60 분에 걸쳐 첨가한다. 반응을 염기의 첨가에 의하여 중화시킬 수 있다. 그 후, 용매를 제거하고, 생성된 D-에리트로-스핑고신을 잔류물로부터 회수할 수 있다. 염기는 트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기일 수 있다.
- [0125] 본 발명의 특정한 실시형태에서, D-에리트로-스핑고신(화합물 A)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.
- [0126] 또한, 본 발명의 특정한 실시형태는 L-세린 메틸 에스테르를 사용한 D-에리트로-스핑고신의 합성 방법을 제공한다.
- [0127] 본 발명의 특정한 실시형태에서, L-세린 메틸 에스테르(화합물 Ia, R=메틸)를 에틸 아세테이트 중에서 현탁시키고, 약 2℃로 냉각시키고, 약 1.15 몰 당량의 트리에틸아민을 첨가한 후, 에틸 아세테이트 중의 약 1.15 몰 당량의 di-tert-부틸 디카르보네이트를 첨가한다. 반응 혼합물을 약 22℃로 가온시키고, 8 내지 12 시간 동안 교반한다. 정제수를 첨가하고, 상이 분리되었다. 반응 생성물 Boc-L-Ser-OMe(화합물 Ib, R=메틸)를 에틸 아세테이트로 유기층으로부터 추출하고, 생성된 분획을 진공 하에 건조시킬 수 있다.
- [0128] 본 발명의 특정한 실시형태에서, Boc-L-Ser-OMe(화합물 Ib, R=메틸)를 테트라히드로푸란 중에 용해시키고, 3-4 당량의 2,2-디메톡시프로판올을 첨가한 후, 테트라히드로푸란 중의 약 0.10 당량의 벤젠술폰산의 용액을 첨가하고, 일부 테트라히드로푸란을 증류시키면서 반응을 환류 가열한다. 트리에틸아민을 사용하여 약 22℃에서 반응을 pH 6.5로 중화시킨다. 용매를 증류시키고, 물 및 헥산을 첨가한다. 반응 생성물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 메틸에스테르(화합물 Ic, R=메틸)는 헥산층으로부터 분리될 수 있다.

다.

- [0129] 본 발명의 또 다른 양태에서, 2 당량의 디메틸 메틸포스포네이트를 테트라히드로푸란 중에 용해시키고, 생성된 혼합물을 약 -70 내지 -80℃로 냉각시킨다. 헵탄 중의 약 2 당량의 n-부틸리튬을 1 내지 3 시간에 걸쳐 혼합물을 약 -70 내지 -80℃에서 유지하면서 첨가한다. 약 1 시간 동안 교반한 후, 테트라히드로푸란 중의 1 당량의 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 메틸에스테르를 30 내지 90 분에 걸쳐 혼합물을 약 -70 내지 -80℃에서 유지하면서 첨가한다. 혼합물을 약 0℃로 30 내지 60 분에 걸쳐 가온시킨 후, 15 내지 60 분 동안 교반한다. 테트라히드로푸란 중의 물을 첨가하여 반응을 퀸칭시키고, 시트르산 용액을 첨가하여 pH를 pH 6-7로 조절한다. 에틸 아세테이트 또는 디에틸 에테르를 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 용매를 첨가하고, 생성물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Id)을 유기층으로부터 회수한다.
- [0130] 본 발명의 추가의 양태에서, 1 당량의 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Id) 및 약 2 당량의 탄산칼륨을 아세트니트릴 중에서 약 22℃에서 교반한 후, 약 0.5 당량의 1-테트라데칸알 및 물을 첨가한다. 반응을 교반하면서 8-14 시간 동안 진행시킨다. 염을 여과하고, 헥산으로 세정하고, 생성물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Ie)을 유기 상으로부터 회수한다.
- [0131] 본 발명의 추가의 양태에서, 1 당량의 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 Ie) 및 약 1.1 내지 1.5 당량의 염화세륨 7수화물을 메탄올 중에서 교반하고, 혼합물을 -20 내지 -15℃로 냉각시킨다. 약 1.5 당량의 수소화붕소나트륨 및 약 0.01 당량의 NaOH의 수용액을 약 0℃로 냉각시키고, (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘 혼합물에 약 4 내지 6 시간에 걸쳐 첨가한다. 약 15 내지 60 분의 추가의 교반 후, 혼합물을 약 22℃에 1 내지 3 시간에 걸쳐 가열한 후, 30 내지 90 분 동안 교반한다. 메탄올을 진공 하에 제거하고, 생성된 수성 현탁액을 여과한다. 생성된 고체를 유기 용매, 예컨대 톨루엔으로 세정한다. 수성 층을 유기 용매, 예컨대 톨루엔으로 2회 이상 추출한다. 유기 층을 합하고, 생성물인 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)을 유기층으로부터 회수한다.
- [0132] 본 발명의 특정한 실시형태에서, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)을 D-에리트로-스핑고신으로 전환시킨다. 반응은 하기와 같이 진행한다: 메탄올을 약 0℃로 냉각시키고, 약 2 당량의 아세틸클로라이드를 약 15 내지 60 분에 걸쳐 첨가하여 메탄올성 염산 용액을 생성한다. 그 후, 용액을 실온으로 가온시킨다. (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 메탄올 중에 용해시키고, 메탄올성 염산염 용액을 약 15 내지 60 분에 걸쳐 첨가한다. 트리에틸아민을 첨가하여 반응을 중화시킨다. 그 후, 용매를 제거하고, 생성된 D-에리트로-스핑고신을 잔류물로부터 회수할 수 있다.
- [0133] 특정 실시형태에서, 본 발명은
- [0134] a) L-세린 메틸 에스테르 또는 그의 염의 아미노 기를 tert-부톡시카르보닐 기로 보호하여, Boc-L-Ser-OMe를 얻는 단계;
- [0135] b) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 메틸에스테르를 생성하기에 효과적인 조건 하에 벤젠술폰산의 존재 하에 Boc-L-Ser-OMe를 2,2-디메톡시프로판과 반응시키는 단계;
- [0136] c) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 n-부틸리튬의 존재 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 메틸에스테르를 디메틸 메틸포스포네이트와 반응시키는 단계;
- [0137] d) (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시-포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 1-테트라데칸알과 반응시키는 단계;
- [0138] e) (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 수소화붕소나트륨 및 삼염화세륨과 반응시키는 단계; 및
- [0139] f) (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘의 tert-부톡시

카르보닐(Boc) 보호기를 제거하여 D-에리트르-스핑고신을 얻는 단계를 포함하는 D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다.

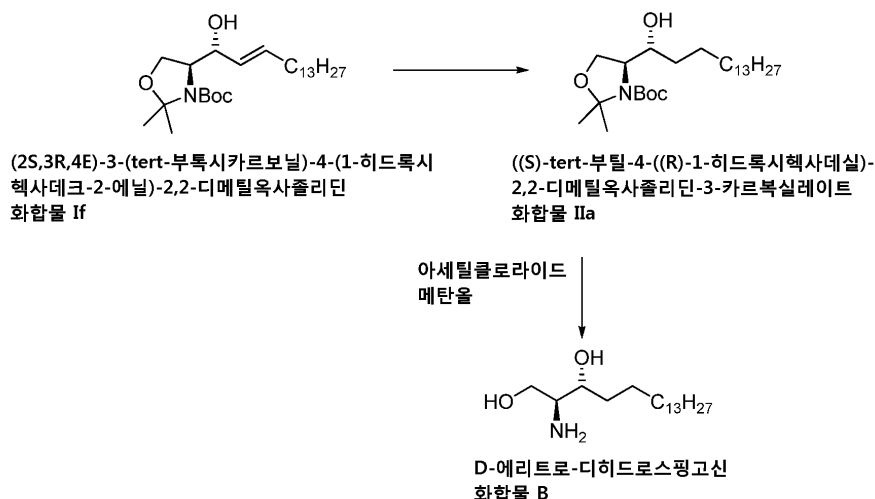
#### [0140] D-에리트르-디히드로스핑고신

특정 실시형태에서, 본 발명은 적절한 L-세린 에스테르, 예컨대 화합물 Ia의 것을 사용한 D-에리트르-디히드로스핑고신의 합성 방법을 제공한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, R은 1 내지 5개의 탄소를 갖는 알킬기이다. 본원에서 사용된 바와 같이 용어 "알킬"은 다른 의미로 정의되지 않는다면, 알칸으로부터 수소 원자를 제거하여 유도된 직쇄, 분지쇄 또는 시클릭 포화 기를 지칭한다. 대표적인 직쇄 알킬 기로는 -메틸, -에틸, -n-프로필, -n-부틸, -n-펜틸 및 n-헵틸을 들 수 있다. 대표적인 분지쇄 알킬 기로는 -이소프로필, -sec-부틸, -이소부틸, -tert-부틸, -이소펜틸, -네오펜틸, 1-메틸부틸, 2-메틸부틸, 3-메틸부틸, 1,1-디메틸프로필 및 1,2-디메틸프로필을 들 수 있다. 대표적인 시클릭 알킬 기로는 시클로헥실, 시클로펜틸 및 시클로프로필을 들 수 있다.

본 발명의 특정한 실시형태에서, L-세린 에스테르는 L-세린 메틸 에스테르이다. 또 다른 실시형태에서, L-세린 에스테르는 L-세린 에틸 에스테르이다. 또 다른 실시형태에서, L-세린 에스테르는 L-세린 부틸 에스테르이다.

본 발명의 한 실시형태에서, D-에리트르-디히드로스핑고신은 하기 반응식 II에 제시된 방법에 의하여 합성된다. 반응은 하기 단계를 포함한다:

[0144] <반응식 II>



화합물 If를 환원제와 반응시켜 그의 해당 포화 화합물인 화합물 IIa를 얻는다. 반응은 1차 또는 2차 알콜, THF 또는 2-메틸-THF를 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 용매 중에서 탄소상 팔라듐(0) 촉매, 루테늄(II) 촉매, 예를 들면  $\text{Ru}(\text{OAc})_2(\text{BINAP})$ ,  $[\{\text{RuCl}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_6)\}_2]$  또는  $\text{Ru}(\text{OH})_x/\text{Al}_2\text{O}_3$ 을 비롯한(이에 한정되지 않음) 촉매 및  $\text{H}_2$ 의 존재 하에 수행한다.

특정 실시형태에서, 화합물 If를 이소프로필 알콜 중에서  $80^\circ\text{C}$ 에서  $[\{\text{RuCl}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_6)\}_2]$ 의 존재 하에 환류하에  $\text{H}_2$ 와 반응시킨다. 반응 혼합물을 켄칭시키고, HPLC, 박층 크로마토그래피 또는 IR을 비롯한 당업자에게 공지된 방법을 사용하여 출발 알릴 알콜인 화합물 If가 더 이상 검출되지 않을 때 워크-업 처리한다. 특정한 실시형태에서,  $\text{H}_2$ 를 기체로서 첨가하고, 반응을 수소화 용기내에서 가압하에 수행한다.

그리하여 얻은 화합물 IIa의 미정제 또는 정제한 것을 메탄올 중에 약  $0^\circ\text{C}$ 에서 용해시키고, 아세틸클로라이드를 약 15 내지 60 분에 걸쳐 첨가하여 메탄올성 염산을 생성한다. 출발 물질(또는 전환)이 예컨대 크로마토그래피 방법 등의 방법에 의하여 더 이상 검출되지 않을 때, 반응을 트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기 또는 수용액 중의 무기 염기, 예컨대 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 암모늄의 중탄산염 또는 탄산염일 수 있는 염기로 처리한다. 추가로, 반응 혼합물을 용매, 예컨대 염소화된 용매, 에틸 아세테이트 또는 에테르, 예컨대 디에틸 에테르, THF, t-부틸 메틸 에테르, 이소프로필 에테르 등으로 추출한다. 그 후, 용

매를 제거하고, 생성된 D-에리트르-디히드로스핑고신을 유리 염기로서 회수한다. 염기를 염산으로 처리하여 해당 염산염 염을 생성할 수 있다.

[0149]

**D-에리트르-스핑고신**

[0150]

또 다른 실시형태에서, 본 발명은 하기 반응식 III에 제시된 바와 같이 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다.

[0151]

또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0152]

a) (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(화합물 IIb)를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피난(화합물 IIIa)을 에틸글리시네이트와 반응시키는 단계;

[0153]

b) 클로로티타늄 트리이소프로폭시드 및 트리에틸아민의 존재 하에 (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(화합물 IIb)를 2-(E)-헥사데센-1-알과 반응시켜 (2S,3R,E)-에틸-3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일렌)아미노)옥타데크-4-에노에이트(화합물 IIc) 및 (2S,3R,E)-이소프로필-3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일렌)아미노)옥타데크-4-에노에이트(화합물 IIc') 중 하나 또는 둘 다를 얻는 단계;

[0154]

c) (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트(화합물 IIId) 및 (2R,3R,E)-이소프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트(화합물 IIId') 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2S,3R,E)-에틸-3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일렌)아미노)옥타데크-4-에노에이트(화합물 IIc) 및 (2S,3R,E)-이소프로필-3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일렌)아미노)옥타데크-4-에노에이트(화합물 IIc') 중 하나 또는 둘 다를 염산과 반응시키는 단계;

[0155]

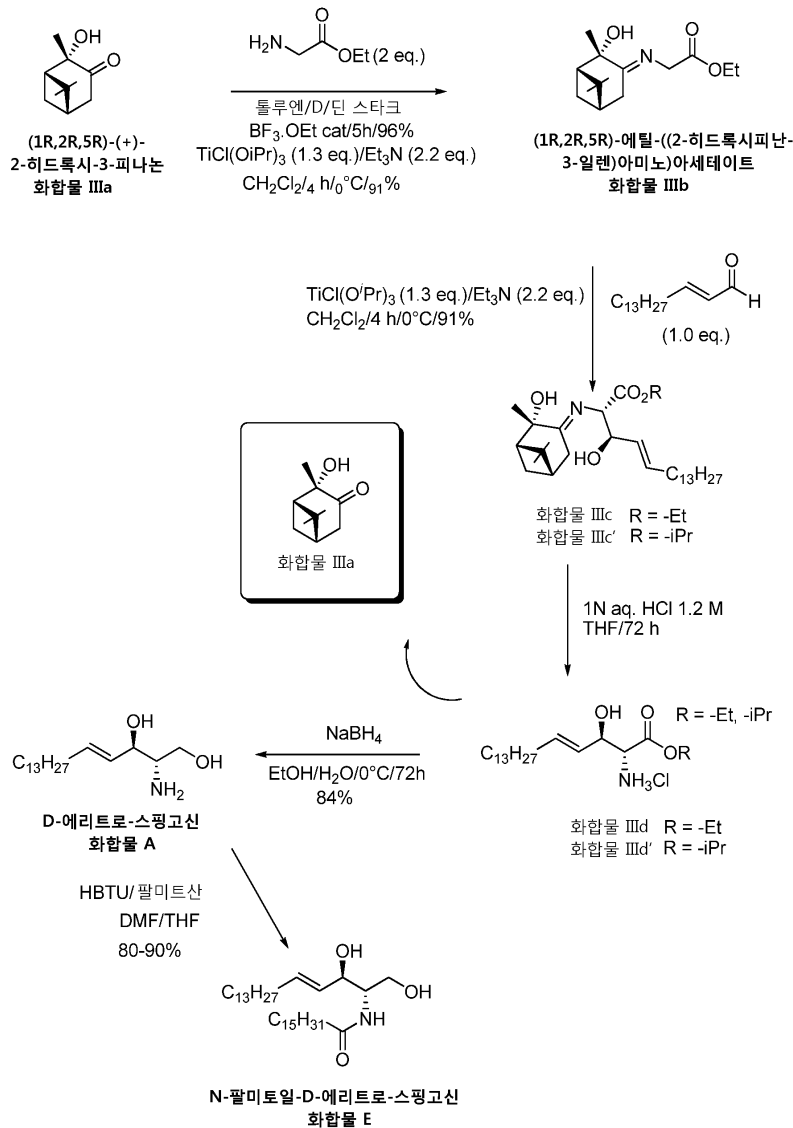
d) D-에리트르-스핑고신(화합물 A)을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-이소프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 중 하나 또는 둘 다를 수소화붕소나트륨과 반응시키는 단계; 및

[0156]

e) N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신(화합물 E)을 얻기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-스핑고신을 팔미트산과 반응시키는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신의 합성 방법을 제공한다:

[0157]

<반응식 III>



[0158]

[0159]

D-에리트르-디히드로스핑고신

[0160]

또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0161]

a) (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(화합물 IIIb)를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논(화합물 IIIa)을 에틸글리시네이트와 반응시키는 단계;

[0162]

b) (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-(((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데카노에이트(화합물 IVc) 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-(((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데카노에이트(화합물 IVc') 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 클로로티타늄 트리이소프로폭시드의 존재 하에 (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(화합물 IIIb)를 헥사데칸알과 반응시키는 단계;

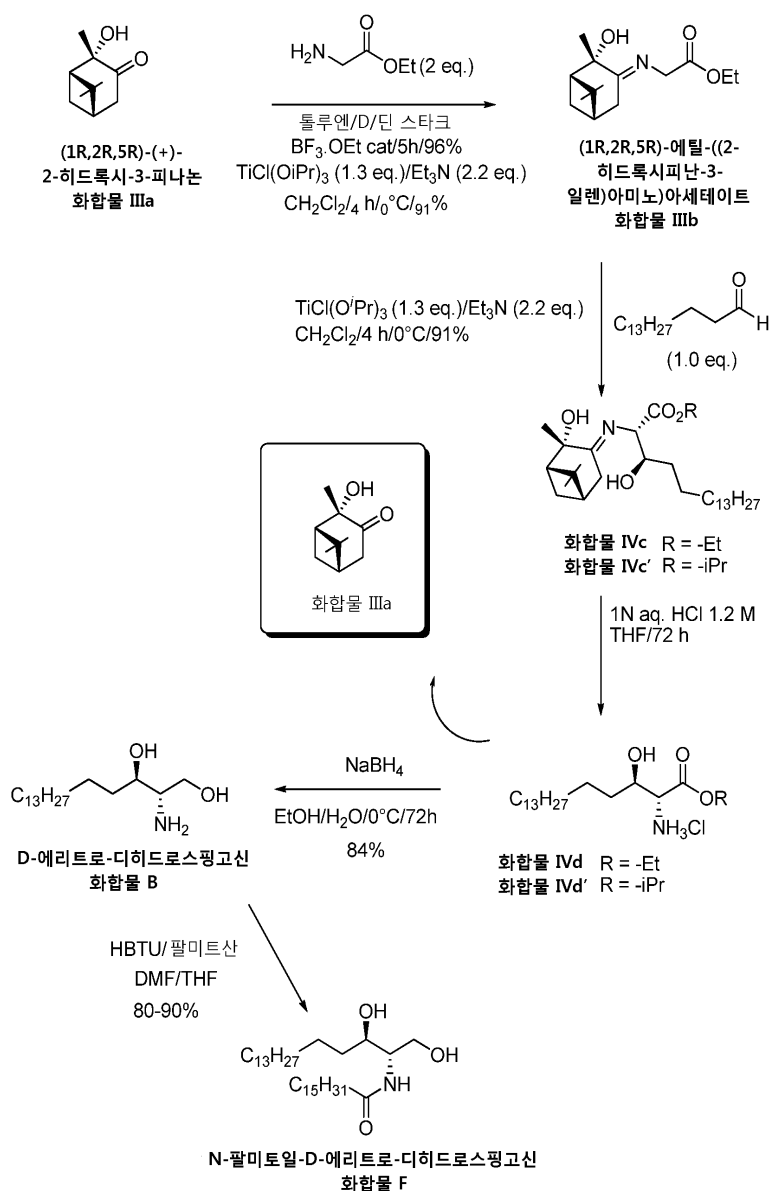
[0163]

c) (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데카노에이트(화합물 IVd) 및 (2R,3R,E)-이소프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데카노에이트(화합물 IVd') 중 하나 또는 둘 다를 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-(((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데카노에이트(화합물 IVc) 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-(((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리텐)아미노)옥타데카노에이트(화합물 IVc') 중 하나 또는 둘 다를 염산과 반응시키는 단계;

[0164] d) D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 B)을 생성하기에 효과적인 조건 하에 (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데카노에이트(화합물 IVd) 및 (2R,3R,E)-[이소프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데카노에이트(화합물 IVd')] 중 하나 또는 둘 다를 수소화붕소나트륨과 반응시키는 단계;

[0165] e) N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 F)을 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 B)을 팔미트산과 반응시키는 단계를 포함하는 하기 반응식 IV에 제시된 바와 같이 D-에리트르-디히드로스핑고신의 합성 방법을 제공한다:

[0166] <반응식 IV>



[0167]

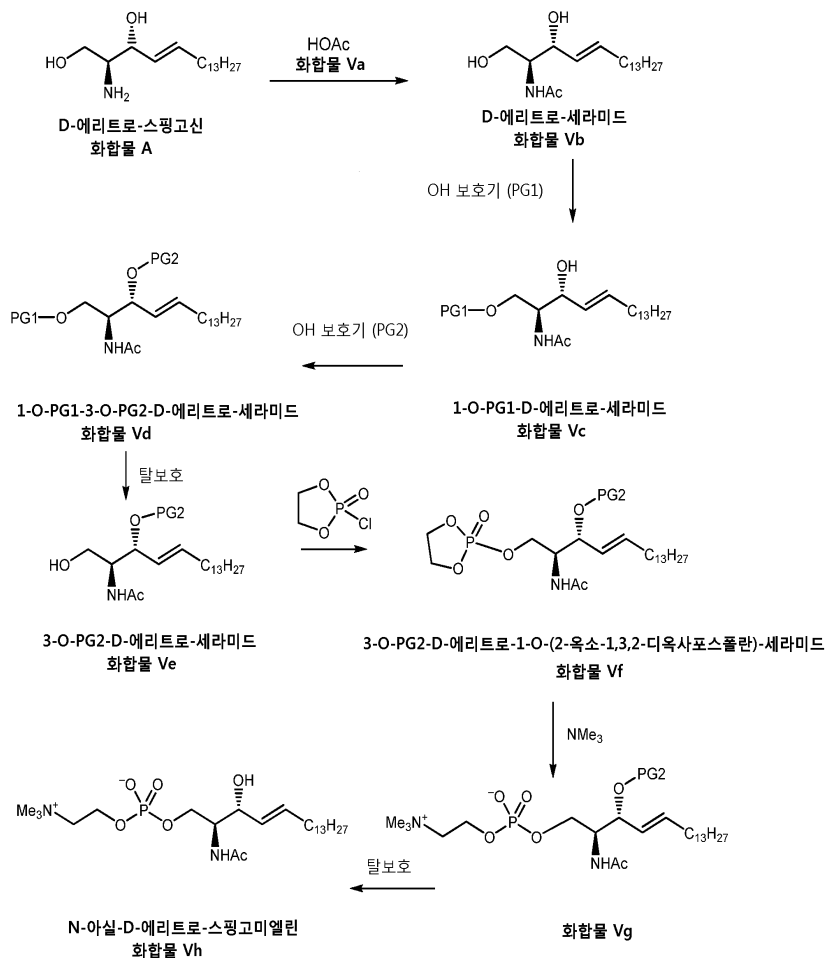
[0168] N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성

[0169] 추가의 실시형태에서, 본 발명은

[0170] a) D-에리트르-세라미드(화합물 Vb)를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-스핑고신을 지방산(화합물 Va)과 반응시키는 단계;

[0171] b) D-에리트르-세라미드(화합물 Vb)의 1차 히드록실 기를 제1의 보호기로 보호하여, 화합물 Vc를 생성하는 단계;

- [0172] c) 화합물 Vc의 2차 히드록실 기를 제2의 보호기로 보호하여, 화합물 Vd를 얻는 단계;
- [0173] d) 화합물 Vd의 제1의 보호기를 제거하여 화합물 Ve를 얻는 단계;
- [0174] e) 화합물 Vf를 생성하기에 효과적인 조건 하에 화합물 Ve를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)과 반응시키는 단계;
- [0175] f) 화합물 Vg를 생성하기에 효과적인 조건 하에 화합물 Vf를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및
- [0176] g) 나트륨 메톡시드를 사용하여 화합물 Vg의 제2의 보호기를 제거하여 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 Vh)을 얻는 단계를 포함하는, 하기 반응식 V에 제시한 바와 같이 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다:
- [0177] <반응식 V>



HOAc는 지방산임.  
 Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기임.  
 PG1 및 PG2는 당업계에 공지된 임의의 적절한 보호기임.  
 특정 실시양태에서, PG1은 트리페닐메틸 (Trt)임.  
 특정 실시양태에서, PG2는 벤조일 (Bz)임.

- [0178]
- [0179] N-아실-D-에리트로-세라미드의 합성
- [0180]

본 발명의 특정한 실시형태에서, 지방산을 사용하여 D-에리트로-스핑고신을 N-아실화시켜 N-아실-D-에리트로-세라미드를 얻는 것은 반응식 V에 제시된 단계를 포함한다. 단계는 하기와 같다: D-에리트로-스핑고신(화합물 A), 지방산(화합물 Va) 및 amid-형성제를 비양성자성 유기 용매 중에 현탁시키고, 혼합물을 약 0-5℃의 온도에서 냉각시킨다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, amid-형성제는 0-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로로포스페이트(HBTU)이다.

- [0181] 트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기를 D-에리트로-스핑고신(화합물 A), 지방산(화합물 Va) 및 아마이드-형성제의 혼합물에 첨가한다. 특정한 실시형태에서, 유기 염기는 비양성자성 유기 용매이며, 테트라히드로푸란, 디메틸 포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 유기 염기를 약 15 내지 90 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 혼합물을 1 내지 15 시간 동안 약 0-22℃의 온도에서 교반한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응은 약 0-5℃의 온도에서 진행된다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 약 22℃에서 진행된다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 대략 실온에서 진행된다.
- [0182] 약 1 내지 15 시간 동안 교반한 후, 산을 첨가하여 생성물인 화합물 Vb를 침전시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 유기 산, 예컨대 시트르산, 아세트산 또는 옥살산이다. 산은 첨가시 수용액 중에 존재할 수 있다. 반응은 산의 첨가시 약 22℃에서 실시된다. 생성된 현탁액을 30 내지 120 분 동안 약 0-5℃의 온도에서 교반할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 현탁액을 약 22℃에서 교반한다.
- [0183] 교반 후, 현탁액을 여과한다. 그 후, 생성된 생성물인 화합물 Vb를 물 중에 재현탁시키고, 그 후 여과 및 세정할 수 있다. 재현탁을 적어도 1회 더 반복할 수 있다. 생성된 생성물인 D-에리트로-세라미드(화합물 Vb)를 물, 아세톤 또는 그의 혼합물로 세정할 수 있다.
- [0184] 보호된 D-에리트로-세라미드의 합성
- [0185] 본 발명의 특정한 실시형태에서, D-에리트로-세라미드의 1차 히드록실 기를 보호한 후, 2차 히드록실을 보호하고, 1차 히드록실을 탈보호한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실 보호된 D-에리트로-세라미드의 분리 또는 정제 없이 보호 및 탈보호 단계를 진행시킨다.
- [0186] 본 발명의 특정한 실시형태에서, D-에리트로-세라미드를 트리틸 할라이드, 예컨대 트리틸 클로라이드 및 트리틸 브로마이드를 비롯한 트리틸화제와 반응시켜 1차 히드록실 기를 트리틸 기로 보호한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1-O-보호된 D-에리트로-세라미드를 벤조일 할라이드, 예컨대 벤조일 클로라이드 및 트리틸 브로마이드를 비롯한(이에 한정되지 않음) 벤조일화제와 반응시켜 2차 히드록실 기를 벤조일 기로 보호한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실 기를 트리틸 기로 보호하며, 2차 히드록실을 벤조일 기로 보호한다.
- [0187] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1차 히드록실 기의 보호는 하기와 같이 진행한다: D-에리트로-세라미드(화합물 Vb) 및 트리틸 클로라이드를 염기의 존재 하에 유기 용매 중에 현탁시킨다. 반응을 약 25-55℃의 온도에서 약 10 내지 60 시간 동안 진행시켜 트리틸 보호된 D-에리트로-세라미드(1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드 화합물 Vc, 여기서 PG1=Trt)를 얻는다. 유기 용매는 비극성 또는 극성 용매일 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성 용매이며, 톨루엔, 벤젠, 헥산 또는 그의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매이다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 사염화탄소이다. 또 다른 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 비염소화되며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 염기는 통상적으로 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.
- [0188] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 보호는 미정제 반응 생성물의 약 10 몰% 이하의 1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 탈보호는 미정제 반응 생성물의 약 7 몰% 이하의 1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 탈보호는 미정제 반응 생성물의 약 5 몰% 이하의 1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 탈보호는 미정제 반응 생성물의 약 1 몰% 이하의 1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성한다.
- [0189] 본 발명의 추가의 실시형태에서, 2차 히드록실 기의 보호는 하기와 같이 직접 진행된다: 상기 반응 혼합물을 약 0-5℃로 냉각시키고, 벤조일 클로라이드 및 염기를 첨가한다. 반응은 약 0-5℃의 온도에서 약 1 내지 16 시간 동안 진행된다. 반응 생성물인 3-벤조일 및 1-트리틸 보호된 D-에리트로-세라미드(화합물 Vd; PG1=Trt; PG2=Bz)를 상기 기재된 비양성자성 유기 용매를 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 용매를 사용하여 유기층으로부터 추출할 수 있다. 그 후, 유기 용매는 증발, 예를 들면 진공 하에서의 농축을 비롯한(이에 한정되지 않음) 당업자에게 공지된 적절한 방법에 의하여 제거된다. 특정한 실시형태에서, 염기는 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.
- [0190] 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실 기의 탈보호는 하기와 같이 직접 진행한다: 상기 반응으로부터의

잔류물을 유기 용매 중에 용해시키고, 산을 첨가한다. 반응을 약 22℃의 온도에서 1 내지 16 시간 동안 진행한다. 염기를 첨가하여 반응 혼합물을 중화시킨다. 유기 용매는 양성자성 극성 용매, 비양성자성 극성 용매 또는 그의 혼합물일 수 있다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 양성자성 극성 용매이며, 메탄올, 에탄올, n-프로판올 또는 이소프로판올이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매이다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 염소화되며, 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 사염화탄소이다. 또 다른 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 비염소화되며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 산은 트리틸 보호기, 예를 들면 아세트산, 트리플루오로아세트산, 염산 및 p-톨루엔술폰산의 제거에 적절한 것으로 당업자에게 공지된 임의의 산일 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 p-톨루엔술폰산이다. 특정한 실시형태에서, 염기는 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.

[0191] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 상기 탈보호 생성물(화합물 Ve; PG2=Bz)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0192] 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기 위한 3-벤조일-보호된 D-에리트로-세라미드의 포스포릴화 및 아미노화

[0193] 본 발명의 추가의 실시형태에서, 3-벤조일-보호된 D-에리트로-세라미드(화합물 Ve; PG2=Bz)는 하기와 같이 포스포릴화한다: 3-벤조일-보호된 D-에리트로-세라미드를 유기 용매 중에 용해시키고, 유기 염기를 첨가한다. 약 4-9℃로 냉각시킨 후, 유기 용매 중의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란의 용액을 첨가한다. 반응을 약 4-22℃의 온도에서 약 2 내지 6 시간 동안 진행시켜 3-O-벤조일-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-세라미드(화합물 Vf, 여기서 PG2=Bz)를 생성한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응을 약 4-9℃에서 약 15 분 내지 2 시간 동안 진행시킨 후, 약 22℃로 가온시키고, 추가의 2 내지 4 시간 동안 진행한다. 유기 용매는 비극성 용매, 극성 용매 또는 그의 혼합물일 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성 용매이며, 톨루엔, 벤젠, 헥산 또는 그의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매, 예컨대 아세토니트릴, 에틸 아세테이트, 테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 유기 염기는 통상적으로 테트라메틸에틸렌디아민 또는 트리에틸아민이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 유기 염기는 테트라메틸에틸렌디아민이다.

[0194] 특정한 실시형태에서, 3-O-벤조일-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-세라미드(화합물 Vf, PG2=Bz)의 아미노화는 포스포릴화 벤조일-보호된 D-에리트로-세라미드 출발 물질의 정제 또는 분리 없이 실시된다. 상기 반응을 약 2 내지 6 시간 동안 진행한 후, 추가의 유기 용매 및 트리메틸아민을 첨가하고, 반응 혼합물을 60-70℃로 가열하고, 반응을 10 내지 16 시간 동안 진행하도록 하여 3-벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 Vg, PG2=Bz)을 얻는다. 유기 용매는 비극성 용매, 극성 용매 그의 혼합물일 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성 용매이며, 톨루엔, 벤젠, 헥산 또는 그의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매, 예컨대 아세토니트릴, 에틸 아세테이트, 테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 특정한 실시형태에서, 트리메틸아민은 액체로서 첨가된다. 기타 실시형태에서, 트리메틸아민은 기체 형태로 첨가된다. 특정한 실시형태에서, 액체 트리메틸아민은 무수 상태이다. 특정한 실시형태에서, 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 액체로서 첨가한다. 특정한 실시형태에서, 반응을 약 -10℃ 내지 0℃로 냉각시킨 후, 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 추가의 실시형태에서, 반응을 약 -10℃로 냉각시킨 후, 액체 트리메틸아민을 첨가한다.

[0195] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 3-벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0196] N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기 위한 3-O-벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 탈보호

[0197] 3-O-벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린으로부터 벤조일 보호기의 제거는 하기와 같이 진행한다: 3-O-벤조일-보호된 스팅고미엘린을 양성자성 극성 용매 중에 용해시키고, 염기를 첨가한다. 반응은 8 내지 24 시간 동안 약 22℃에서 진행한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 비양성자성 용매 및 물을 반응 혼합물에 첨가하고, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 Vh)을 유기층으로부터 회수한다. 한 실시형태에서, 양성자성 극성 용매는 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 이소프로판올 또는 그의 혼합물이다. 또 다른 실시형태에서, 염기는 나트륨 메톡사이드이다.

[0198] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0199] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 85% 이상의 거울상이성질체 순도

를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다.

[0200] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0201] a) D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;

[0202] b) 1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

[0203] c) 1-O-트리틸-3-O-D-에리트로-벤조일-세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트로-세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계;

[0204] d) 1-O-트리틸-3-O-D-에리트로-벤조일-세라미드의 트리틸 기를 제거하여 D-에리트로-3-O-벤조일-세라미드를 얻는 단계;

[0205] e) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란) 세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;

[0206] f) N-아실-D-에리트로-3-O-벤조일-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

[0207] g) 나트륨 메톡시드를 사용하여 N-아실-D-에리트로-3-O-벤조일-스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하여 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 얻는 단계를 포함하는 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

[0208] **N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성**

[0209] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0210] a) O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트 및 트리메틸아민의 존재 하에 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-스핑고신을 팔미트산과 반응시키는 단계;

[0211] b) N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신을 트리틸 기로 보호하여, N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트로-스핑고신을 얻는 단계;

[0212] c) N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트로-스핑고신을 벤조일 기로 보호하여, N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 얻는 단계;

[0213] d) 파라-톨루엔술포산의 존재 하에 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 트리틸 기를 제거하여 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 얻는 단계;

[0214] e) N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란과 반응시키는 단계;

[0215] f) N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-스핑고신을 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

[0216] g) 나트륨 메톡시드를 사용하여 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하여 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 얻는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

[0217] 본 발명의 특정한 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 하기 반응식 VI에 제시된 바와 같이 합성한다:

[0218] 1 당량의 팔미트산, 1 당량의 D-에리트로-스핑고신(화합물 A) 및 1.10 당량의 O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(HBTU)를 테트라히드로푸란 및 디메틸포름아미드 중에 현탁시키고, 약 0-5

℃로 냉각시킨다. 2 내지 3 당량의 트리에틸아민을 첨가하고, 혼합물을 약 1 내지 12 시간 동안 약 0-5℃에서 교반한다. 혼합물을 약 22℃로 가온시킨다. 시트르산의 수용액을 첨가하고, 혼합물을 15 내지 90 분 동안 약 22℃에서 교반한다. 생성된 현탁액을 여과하고, 케이크를 실온에서 물 중에 현탁시킨다. 현탁액을 여과하고, 물 및 아세톤으로 세정한다. 그 후, 생성된 생성물인 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신(화합물 E)을 건조시킬 수 있다.

[0219] 제1의 히드록실 보호의 경우, 1 당량의 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신(화합물 E)을 피리딘 및 메틸렌 클로라이드 중에 현탁시킨다. 메틸렌 클로라이드 중의 약 1.05 당량의 트리틸 클로라이드의 용액을 첨가한 후, 추가의 메틸렌 클로라이드를 첨가한다. 반응 혼합물을 약 25℃에서 50-60 시간 동안 교반한다.

[0220] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1차 히드록실 기의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-스핑고신 10 몰% 미만을 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-스핑고신 약 7 몰% 이하를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-스핑고신의 약 5 몰% 이하를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트로-스핑고신 약 1 몰% 이하를 생성한다.

[0221] 제2의 히드록실 기 보호의 경우, 화합물 VIa를 포함하는 반응 혼합물을 약 2℃로 냉각시킨다. 약 0.10 당량의 N,N-디메틸아미노피리딘, 약 1.50 당량의 벤조일 클로라이드 및 추가의 메틸렌 클로라이드를 첨가한다. 박층 크로마토그래피(TLC) 분석이 약 5% 미만의 출발 물질 N-팔미토일-1-O-트리틸-스핑고신의 존재를 나타낼 때까지 반응을 약 2℃에서 교반하면서 진행하도록 한다. 에틸 아세테이트 및, 시트르산 및 염화나트륨 수용액을 반응 혼합물에 첨가하고, N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 VIb)을 유기 상으로부터 회수한다.

[0222] 트리틸 보호기를 제거하기 위하여, N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 VIb)을 메탄올 및 메틸렌 클로라이드 중에 용해시키고, 2℃로 냉각시킨다. 메탄올 중의 0.57 당량의 파라-톨루엔 술폰산 일수화물의 용액을 사용하여 pH를 2.5로 조절한다. TLC 분석이 5% 미만의 출발 물질 1-O-트리틸-3-O-벤조일-스핑고신의 존재를 나타낼 때까지 반응을 약 22℃에서 교반하면서 진행하도록 한다. 트리메틸아민을 첨가하여 pH를 약 7.0으로 조절한다. 반응 혼합물을 무수 상태로 증발시키고, 생성된 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 헥산 중에 약 40℃에서 현탁시키고, 약 0℃로 냉각시킨다. 약 30 내지 60 분 후, 고체를 여과에 의하여 분리하고, 헥산으로 세정한다. 그 후, 생성된 생성물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 VIc)을 적절한 방법, 예컨대 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 정제할 수 있다.

[0223] 1 당량의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 VIc)을 톨루엔 중에 용해시키고, 약 0.6 내지 1 당량의 테트라메틸에틸렌디아민(TMEDA)을 첨가하고, 혼합물을 약 4-9℃로 냉각시키고, 아세토니트릴 중의 약 1 내지 2 당량의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)을 첨가한 후, 추가의 아세토니트릴을 첨가한다. 반응을 약 22℃로 가온시키고, 교반을 1-3 시간 동안 지속시킨다. 추가의 아세토니트릴을 첨가하고, 온도를 약 -10 내지 0℃로 감온시킨다. 기체 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 상기 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 반응 혼합물을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행시켜 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 VIe)을 생성한다. 반응을 약 -30℃로 냉각시키고, 생성된 현탁액을 여과한다. 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제한다.

[0224] 1 당량의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 메탄올 중에 용해시키고, 약 0.2 당량의 나트륨 메톡시드를 첨가하고, 혼합물을 20-26 시간 동안 약 22℃에서 교반한다. 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하고, 염산을 첨가하여 pH를 약 7로 조절한다. N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 C)을 유기층으로부터 회수한다.

[0225] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0226] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신은 약 85% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울

상 이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상 이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상 이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상 이성질체를 함유한다.

[0227]

본 발명의 방법과 관련하여 2차 알콜(3-OH)을 보호하기 위한 벤조일 기의 사용은 2차 알콜(3-OH)로부터 1차 알콜(1-OH)로의 보호기 이동의 정도를 최소로 하는 놀랍고도 예상 밖의 잇점을 제공하는 것으로 밝혀졌다.

[0228]

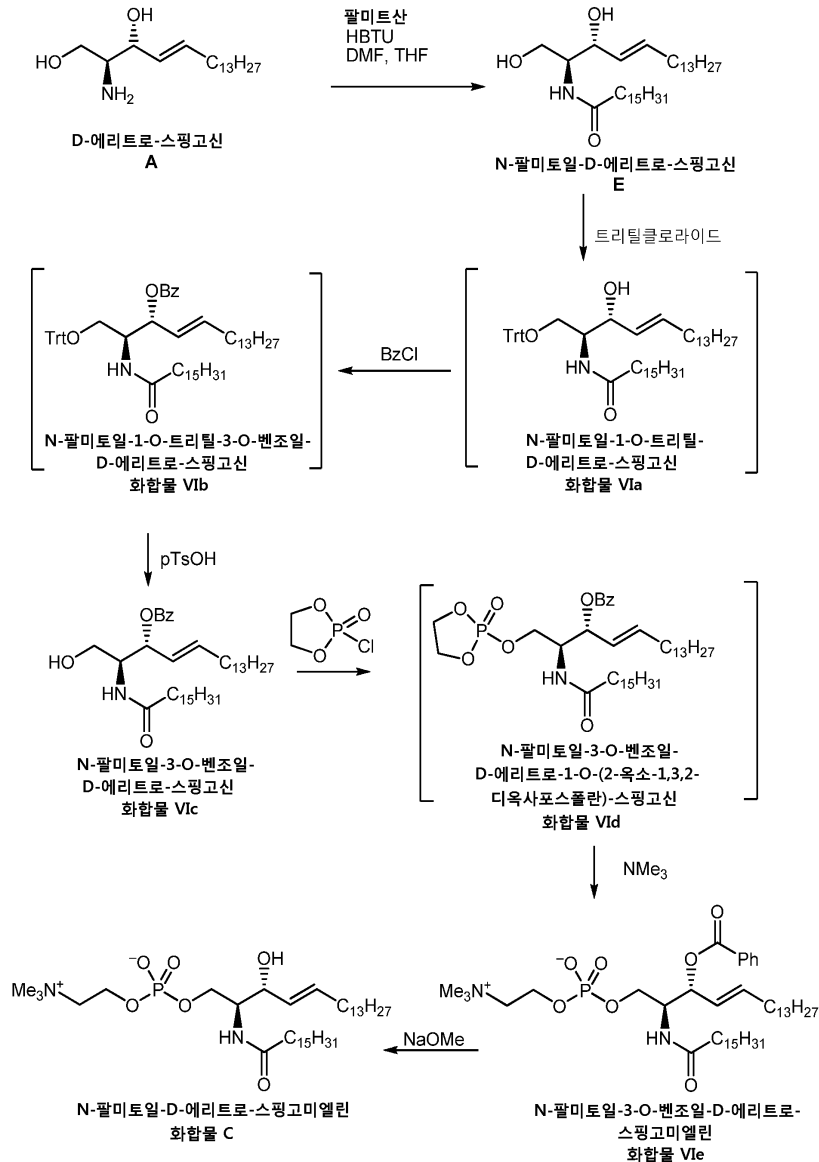
도 8은 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 VIc)의 박층 크로마토그래피 평판의 사진이다. N-팔미토일-1-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신은 약 1 중량% 미만의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 VIc) 및 약 0.5 중량% 미만의 미정제 반응 생성물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법으로부터 얻은 N-팔미토일-1-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신 대 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 중량비는 약 10:90이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법으로부터 얻은 N-팔미토일-1-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신 대 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 중량비는 약 5:95이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법으로부터 얻은 N-팔미토일-1-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신 대 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 중량비는 약 2:98이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법으로부터 얻은 N-팔미토일-1-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신 대 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 중량비는 약 1:99이다.

[0229]

본 발명의 추가의 실시형태는 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린, 특히 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 대 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 내지 약 5 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 내지 약 10 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 내지 약 50 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 내지 약 5 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 내지 약 10 킬로그램 규모로 합성할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 약 1 내지 약 50 킬로그램 규모로 합성할 수 있다.

[0230]

<반응식 VI>



[0231]

[0232]

*N*-아실-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린의 합성

[0233]

추가 실시형태에서, 본 발명은

[0234]

a) D-에리트르-디히드로세라미드(화합물 VIIb)를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트르-디히드로스핑고신을 지방산(화합물 VIIa)과 반응시키는 단계;

[0235]

b) D-에리트르-디히드로세라미드 VIIb의 1차 히드록실기를 제1의 보호기로 보호하여, 화합물 VIIe를 얻는 단계;

[0236]

c) D-에리트르-디히드로세라미드의 2차 히드록실기를 제2의 보호기로 보호하여, 화합물 VIId를 얻는 단계;

[0237]

d) 화합물 VIId의 제1의 보호기를 제거하여 화합물 VIIe를 얻는 단계;

[0238]

e) 화합물 VIIf를 생성하기에 효과적인 조건 하에 화합물 VIIe를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)과 반응시키는 단계;

[0239]

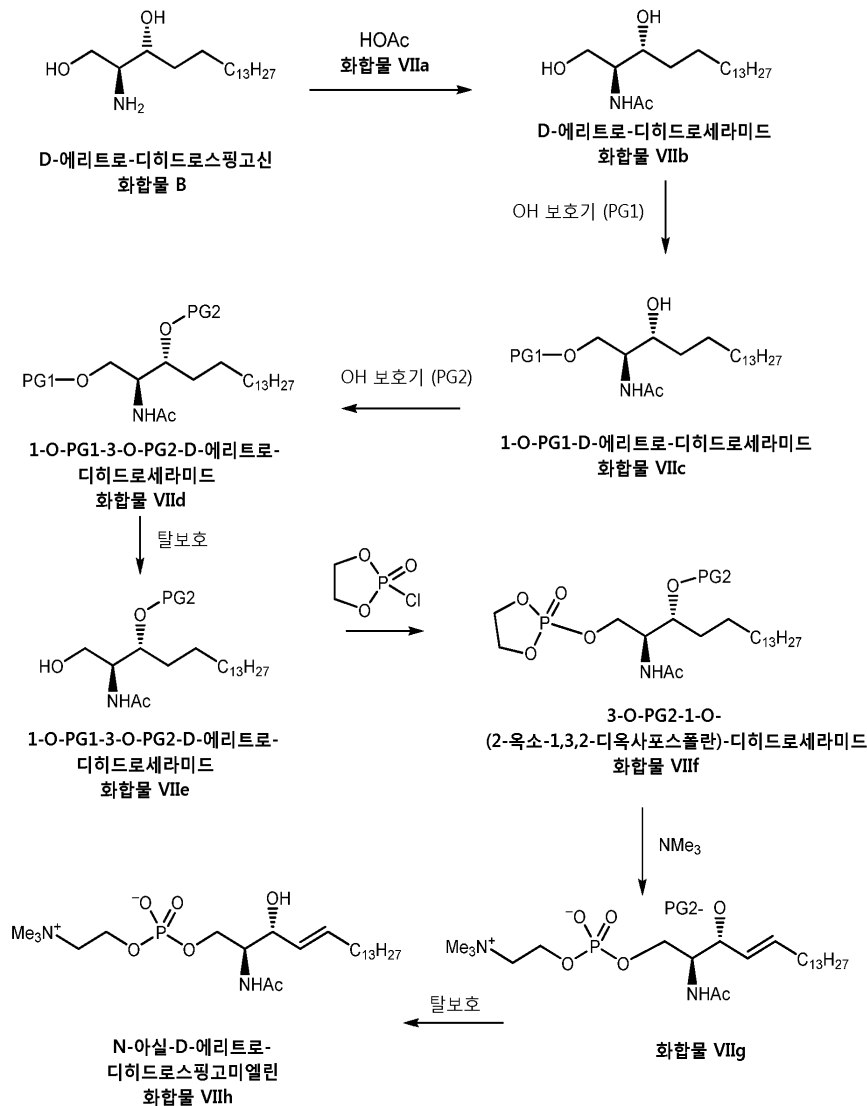
f) 화합물 VIIg를 생성하기에 효과적인 조건 하에 화합물 VIIf를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

[0240]

g) 나트륨 메톡사이드를 사용하여 화합물 VIIg의 제2의 보호기를 제거하여 D-에리트르-디히드로스핑고미엘린(화합물 C)을 얻는 단계;

물 VIIh)을 얻는 단계를 포함하는 하기 반응식 VII에 제시된 바와 같은 D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

<반응식 VII>



HOAc는 지방산임.

Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기임.

PG1 및 PG2는 당업계에 공지된 임의의 적절한 보호기임.

특정 실시양태에서, PG1은 트리페닐메틸 (Trt)임.

특정 실시양태에서, PG2는 벤조일 (Bz)임.

#### D-에리트로-디히드로세라미드의 합성

본 발명의 특정한 실시형태에서, 지방산을 사용한 D-에리트로-디히드로스핑고신을 N-아실화시켜 D-에리트로-디히드로세라미드를 얻는 것은 반응식 VII에 제시된 바와 같이 진행된다. 이러한 단계는 하기와 같다: D-에리트로-디히드로스핑고신 (화합물 B), 지방산 (화합물 VIIa) 및 아마이드 형성제를 비양성자성 유기 용매 중에 현탁시키고, 혼합물을 약 0-5°C의 온도에서 냉각시킨다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 아마이드 형성제는 O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(HBTU)이다.

트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기를 D-에리트로-디히드로스핑고신, 지방산 및 아마이드 형성제의 혼합물에 첨가한다. 특정한 실시형태에서, 유기 염기는 비양성자성 유기 용매이며, 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 유

기 염기는 약 15 내지 90 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 혼합물을 1 내지 15 시간 동안 약 0-22℃의 온도에서 교반한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응은 약 0-5℃의 온도에서 진행된다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 약 22℃에서 진행된다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 대략 실온에서 진행된다.

[0246] 약 1 내지 15 시간 동안 교반한 후, 생성물인 화합물 VIIb를 산의 첨가에 의하여 침전시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 유기 산, 예컨대 시트르산, 아세트산 또는 옥살산이다. 산은 첨가시 수용액 상태로 존재할 수 있다. 반응은 산을 첨가시 약 22℃에서 일 수 있다. 생성된 현탁액을 30 내지 120 분 동안 약 0-5℃의 온도에서 교반할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 현탁액을 약 22℃에서 교반한다.

[0247] 교반 후, 현탁액을 여과한다. 그 후, 생성된 생성물인 화합물 VIIb를 물 중에 재현탁시킬 수 있으며, 그 후 여과 및 세정할 수 있다. 재현탁은 적어도 1회 더 실시할 수 있다. 생성된 생성물인 D-에리트르-디히드로세라미드(화합물 VIIb)는 물, 아세톤 또는 그의 혼합물로 세정할 수 있다.

[0248] 벤조일-보호된 D-에리트르-디히드로세라미드의 합성

[0249] 본 발명의 특정한 실시형태에서, D-에리트르-세라미드의 1차 히드록실 기를 보호한 후, 2차 히드록실의 보호에 이어서 1차 히드록실의 탈보호를 실시한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 보호 및 탈보호 단계는 1차 히드록실 보호된 N-아실-D-에리트르-세라미드의 분리 또는 정제 없이 진행된다.

[0250] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1차 히드록실 기는 D-에리트르-디히드로세라미드를 트리틸 할라이드, 예컨대 트리틸 클로라이드 및 트리틸 브로마이드를 비롯한(이에 한정되지 않음) 트리틸화제와 반응시켜 트리틸 기로 보호한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1-O-보호된 D-에리트르-디히드로세라미드를 벤조일 할라이드, 예컨대 벤조일 클로라이드 및 트리틸 브로마이드를 비롯한(이에 한정되지 않음) 벤조일화제와 반응시켜 2차 히드록실 기를 벤조일 기로 보호한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실 기는 트리틸 기로 보호하고, 2차 히드록실을 벤조일 기로 보호한다.

[0251] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1차 히드록실 기의 보호는 하기와 같이 진행된다: D-에리트르-디히드로세라미드(화합물 VIIb) 및 트리틸 클로라이드를 염기의 존재 하에 유기 용매 중에 현탁시킨다. 반응은 약 25-55℃의 온도에서 약 10 내지 60 시간 동안 진행시켜 트리틸 보호된 D-에리트르-디히드로세라미드(1-O-트리틸-D-에리트르-세라미드 화합물 VIIe, 여기서 PG1=-Trt)를 얻는다. 유기 용매는 비극성 또는 극성 용매일 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성 용매이며, 톨루엔, 벤젠, 헥산 또는 그의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매이다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 사염화탄소이다. 또 다른 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 비염소화되며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 염기는 통상적으로 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.

[0252] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트르-스핑고신 약 10 몰% 이하를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트르-스핑고신 약 7 몰% 이하를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트르-스핑고신 약 5 몰% 이하를 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 예를 들면 트리틸 클로라이드를 사용한 1차 히드록실 기의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-O,0-디트리틸-D-에리트르-스핑고신 약 1 몰% 이하를 생성한다.

[0253] 본 발명의 추가의 실시형태에서, 2차 히드록실 기의 보호는 하기와 같이 직접 진행된다: 상기 반응 혼합물을 약 0-5℃로 냉각시키고, 벤조일 클로라이드 및 염기를 첨가한다. 반응을 약 0-5℃의 온도에서 약 1 내지 16 시간 동안 진행된다. 반응 생성물인 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로세라미드(화합물 Vd; PG1=-Trt; PG2=-Bz)를 상기 기재한 비양성자성 유기 용매를 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 용매를 사용하여 유기층으로부터 추출할 수 있다. 그 후, 유기 용매를 증발, 예를 들면 진공 하에서의 농축을 비롯한(이에 한정되지 않음) 당업자에게 공지된 적절한 방법에 의하여 제거한다. 특정한 실시형태에서, 염기는 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.

[0254] 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실 기의 탈보호는 하기와 같이 직접 진행된다: 상기 반응으로부터의 잔류물을 유기 용매 중에 용해시키고, 산을 첨가한다. 반응을 약 22℃의 온도에서 1 내지 16 시간 동안 진행한다. 염기를 첨가하여 반응 혼합물을 중화시킨다. 유기 용매는 양성자성 극성 용매, 비양성자성 극성 용매 또는

그의 혼합물일 수 있다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 양성자성 극성 용매이며, 메탄올, 에탄올, n-프로판올 또는 이소프로판올이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매이다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 염소화되며, 메틸렌 클로라이드, 클로로포름 또는 사염화탄소이다. 또 다른 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 비염소화되며, 디에틸 에테르, 테트라히드로푸란 또는 에틸 아세테이트이다. 산은 트리틸 보호기의 제거에 적절한 것으로 당업자에게 공지된 임의의 산, 예를 들면 아세트산, 트리플루오로아세트산, 염산 및 p-톨루엔술폰산일 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 p-톨루엔술폰산이다. 특정한 실시형태에서, 염기는 유기 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 피리딘이다.

[0255] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 상기 탈보호 생성물(화합물 VIIe; PG2=Bz)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0256] 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기 위한 벤조일-보호된 D-에리트로-디히드로세라미드의 포스포릴화 및 아미노화

[0257] 본 발명의 추가의 실시형태에서, 3-벤조일-보호된 D-에리트로-디히드로세라미드(화합물 VIIe; PG2=Bz)를 하기와 같이 포스포릴화시킨다: 3-벤조일-보호된 D-에리트로-디히드로세라미드를 유기 용매 중에 용해시키고, 아민을 첨가한 후, 약 4-9℃로 냉각시킨 후, 유기 용매 중의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란의 용액을 첨가한다. 반응은 약 4-22℃의 온도에서 약 2 내지 6 시간 동안 진행하여 3-O-벤조일-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-디히드로세라미드(화합물 VIIf; PG2=Bz)를 생성한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응은 약 4-9℃에서 약 15 분 내지 2 시간 동안 진행시킨 후, 약 22℃로 가온시키고, 추가의 2 내지 4 시간 동안 진행시킨다. 유기 용매는 비극성 용매, 극성 용매 또는 그의 혼합물일 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성 용매이며, 톨루엔, 벤젠, 헥산 또는 그의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매, 예컨대 아세토니트릴, 에틸 아세테이트, 테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 아민은 통상적으로 테트라메틸에틸렌디아민 또는 트리에틸아민이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 아민은 테트라메틸에틸렌디아민이다.

[0258] 특정한 실시형태에서, 3-O-벤조일-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-디히드로세라미드(화합물 VIIf, PG2=Bz)의 아미노화는 포스포릴화된 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-디히드로세라미드의 정제 또는 분리 없이 실시된다. 상기 반응을 약 2 내지 6 시간 동안 진행한 후, 추가의 유기 용매를 첨가하고, 반응을 약 -10 내지 0℃로 냉각시킨다. 기체 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 상기 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 반응 혼합물을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행하여 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 VIIg, PG2=Bz)을 얻는다. 유기 용매는 비극성 용매, 극성 용매 또는 그의 혼합물일 수 있다. 본 발명의 한 실시형태에서, 유기 용매는 비극성 용매이며, 톨루엔, 벤젠, 헥산 또는 그의 혼합물이다. 한 실시형태에서, 유기 용매는 비양성자성 극성 용매, 예컨대 아세토니트릴, 에틸 아세테이트, 테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 특정한 실시형태에서, 트리메틸아민은 액체로서 첨가된다. 기타 실시형태에서, 트리에틸아민은 기체 형태로 첨가된다. 특정한 실시형태에서, 액체 트리메틸아민은 무수 상태이다. 특정한 실시형태에서, 반응을 약 -10℃-0℃로 냉각시킨 후, 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 기타 실시형태에서, 반응을 약 -10℃로 냉각시킨 후, 액체 트리메틸아민을 첨가한다.

[0259] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0260] N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기 위한 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 탈보호

[0261] 벤조일-보호된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린으로부터 벤조일 보호기의 제거는 하기와 같이 진행된다: 벤조일-보호된 디히드로스핑고미엘린을 양성자성 극성 용매 중에 용해시키고, 염기를 첨가한다. 반응을 8 내지 24 시간 동안 약 22℃에서 진행시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 비양성자성 용매 및 물을 반응 혼합물에 첨가하고, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 VIIh)을 유기층으로부터 회수한다. 한 실시형태에서, 양성자성 극성 용매는 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 이소프로판올 또는 그의 혼합물이다. 또 다른 실시형태에서, 염기는 나트륨 메톡사이드이다.

[0262] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0263] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 85% 이상의 거울상이성

질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다.

또 다른 실시형태에서, 본 발명은

a) D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로스핑고신을 지방산과 반응시키는 단계;

b) 1-O-트리틸-D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로세라미드를 트리틸화제와 반응시키는 단계;

c) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 1-O-트리틸-D-에리트로-디히드로세라미드를 벤조일화제와 반응시키는 단계;

d) 1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드의 트리틸 기를 제거하여 3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 얻는 단계;

e) 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-디히드로세라미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드를 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란과 반응시키는 단계;

f) N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-디히드로세라미드를 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

g) 나트륨 메톡시드를 사용하여 N-아실-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하여 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 얻는 단계를 포함하는 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

#### **N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성**

또 다른 실시형태에서, 본 발명은

a) N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 D-에리트로-디히드로스핑고신을 팔미트산과 반응시키는 단계;

b) N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트로-디히드로스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 트리틸화제와 반응시키는 단계;

c) N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트로-디히드로스핑고신을 벤조일화제와 반응시키는 단계;

d) N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신의 트리틸 기를 제거하여 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 얻는 단계;

e) N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-디히드로스핑고신을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신을 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)과 반응시키는 단계;

f) N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-디히드로스핑고신을 트리메틸아민과 반응시키는 단계; 및

g) 나트륨 메톡시드를 사용하여 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 벤조일 기를 제거하여 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린을 얻는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

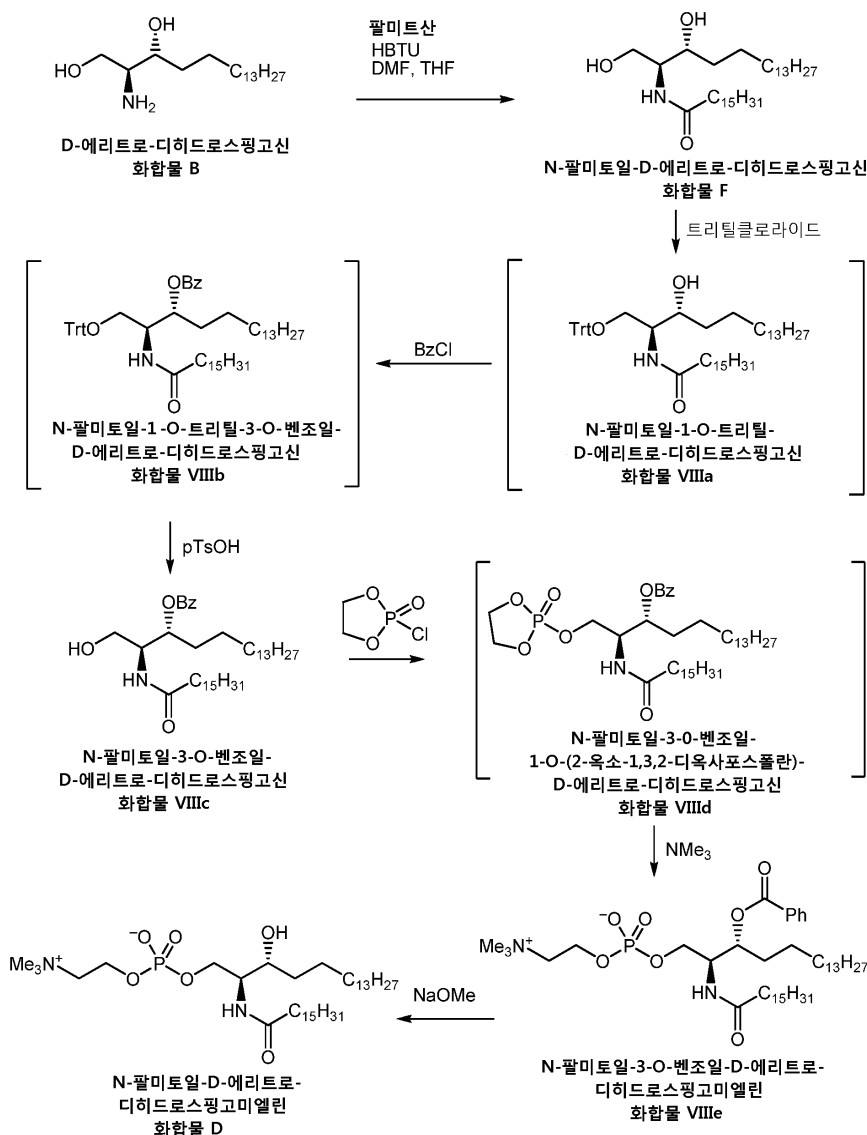
본 발명의 특정한 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 하기 반응식 VIII에 제시된 바와 같이 합성한다.

- [0282] 1 당량의 팔미트산, 1 당량의 D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 B) 및 1.10 당량의 O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(HBTU)를 테트라히드로푸란 및 디메틸포름아미드 중에 현탁시키고, 약 0-5℃로 냉각시킨다. 2 내지 3 당량의 트리에틸아민을 첨가하고, 혼합물을 약 1 내지 12 시간 동안 약 0-5℃에서 교반한다. 혼합물을 약 22℃로 가온시킨다. 시트르산의 수용액을 첨가하고, 혼합물을 15 내지 90 분 동안 약 22℃에서 교반한다. 생성된 현탁액을 여과하고, 케이크를 물 중에 실온에서 현탁시킨다. 현탁액을 여과하고, 물 및 아세톤으로 세정한다. 그 후, 생성된 생성물인 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 F)을 건조시킬 수 있다.
- [0283] 제1의 히드록실 보호의 경우, 1 당량의 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로세라미드(화합물 F)를 피리딘 및 메틸렌 클로라이드 중에 현탁시킨다. 메틸렌 클로라이드 중의 약 1.05 당량의 트리틸 클로라이드의 용액을 첨가한 후, 추가의 메틸렌 클로라이드를 첨가한다. 반응 혼합물을 약 25℃에서 50-60 시간 동안 교반한다.
- [0284] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-0,0-디트리틸-D-에리트르-디히드로스핑고신 10 몰% 미만을 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-0,0-디트리틸-D-에리트르-디히드로스핑고신 7 몰% 미만을 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-0,0-디트리틸-D-에리트르-디히드로스핑고신 5 몰% 미만을 생성한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 1차 히드록실의 보호는 미정제 반응 생성물의 N-팔미토일-1,3-0,0-디트리틸-D-에리트르-디히드로스핑고신 1 몰% 미만을 생성한다.
- [0285] 제2의 히드록실 보호의 경우, N-팔미토일-1-0-트리틸-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIA)을 포함하는 제1의 히드록실 보호로부터의 반응 혼합물을 약 2℃로 냉각시킨다. 약 0.10 당량의 N,N-디메틸아미노피리딘, 약 1.50 당량의 벤조일 클로라이드 및 추가의 메틸렌 클로라이드를 첨가한다. 박층 크로마토그래피(TLC) 분석이 약 5% 미만의 출발 물질 N-팔미토일-1-0-트리틸-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIA)의 함유량을 나타낼 때까지 반응을 교반하면서 약 2℃에서 진행되도록 한다. 에틸 아세테이트 및, 시트르산과 염화나트륨의 수용액을 반응에 첨가하고, N-팔미토일-1-0-트리틸-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIB)을 유기 상으로부터 회수한다.
- [0286] 트리틸 보호기를 제거하기 위하여, N-팔미토일-1-0-트리틸-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIB)을 메탄올 및 메틸렌 클로라이드 중에 용해시키고, 2℃로 냉각시킨다. 메탄올 중의 0.57 당량의 파라-톨루엔 술폰산 일수화물의 용액으로 pH를 2.5로 조절한다. TLC 분석이 5% 미만의 출발 물질인 N-팔미토일-1-0-트리틸-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIB)의 함유량을 나타낼 때까지 반응을 약 22℃에서 진행되도록 한다. 트리에틸아민을 첨가하여 pH를 약 7.0으로 조절한다. 반응 혼합물을 무수 상태로 증발시키고, 생성된 미정제 N-팔미토일-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIC)을 헥산 중에 약 40℃에서 현탁시키고, 약 0℃로 냉각시킨다. 약 30 내지 60 분 후, 고체를 여과에 의하여 분리하고, 헥산으로 세정한다. 그 후, 생성된 생성물을 적절한 방법, 예컨대 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 정제할 수 있다.
- [0287] 1 당량의 N-팔미토일-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 VIIIC)을 톨루엔 중에 용해시키고, 약 0.6 내지 1 당량의 테트라메틸에틸렌디아민을 첨가하고, 혼합물을 약 4-9℃로 냉각시킨다. 아세토니트릴 중의 약 1 내지 2 당량의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란을 첨가한 후, 추가의 아세토니트릴을 첨가한다. 반응을 약 22℃로 가온시키고, 1-3 시간 동안 교반을 지속한다. 추가의 아세토니트릴을 첨가한 후, 온도를 약 -10 내지 0℃로 감소시킨다. 기체 트리에틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 상기 액체 트리에틸아민을 첨가한다. 반응을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행하여 N-팔미토일-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린(화합물 VIIIE)을 얻는다. 반응을 약 -30℃로 냉각시키고, 생성된 현탁액을 여과한다. 미정제 N-팔미토일-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린을 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제한다.
- [0288] 1 당량의 N-팔미토일-3-0-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린(화합물 VIIIE)을 메탄올 중에 용해시키고, 약 0.2 당량의 나트륨 메톡시드를 첨가하고, 혼합물을 20-26 시간 동안 약 22℃에서 교반한다. 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하고, 염산을 첨가하여 pH를 약 7로 조절한다. N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린(화합물 D)을 유기층으로부터 회수한다.
- [0289] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.
- [0290] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고신은 약 85% 이상의 거울상이성

질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다.

[0291]

<반응식 VIII>



[0292]

[0293]

(2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)의 보호

[0294]

본 발명의 또 다른 실시형태에서, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(반응식 I에서의 화합물 If)의 2차 히드록실 기를 보호하고, 스핑고미엘린의 합성은 반응식 IX에 제시된 바와 같이 진행된다.

[0295]

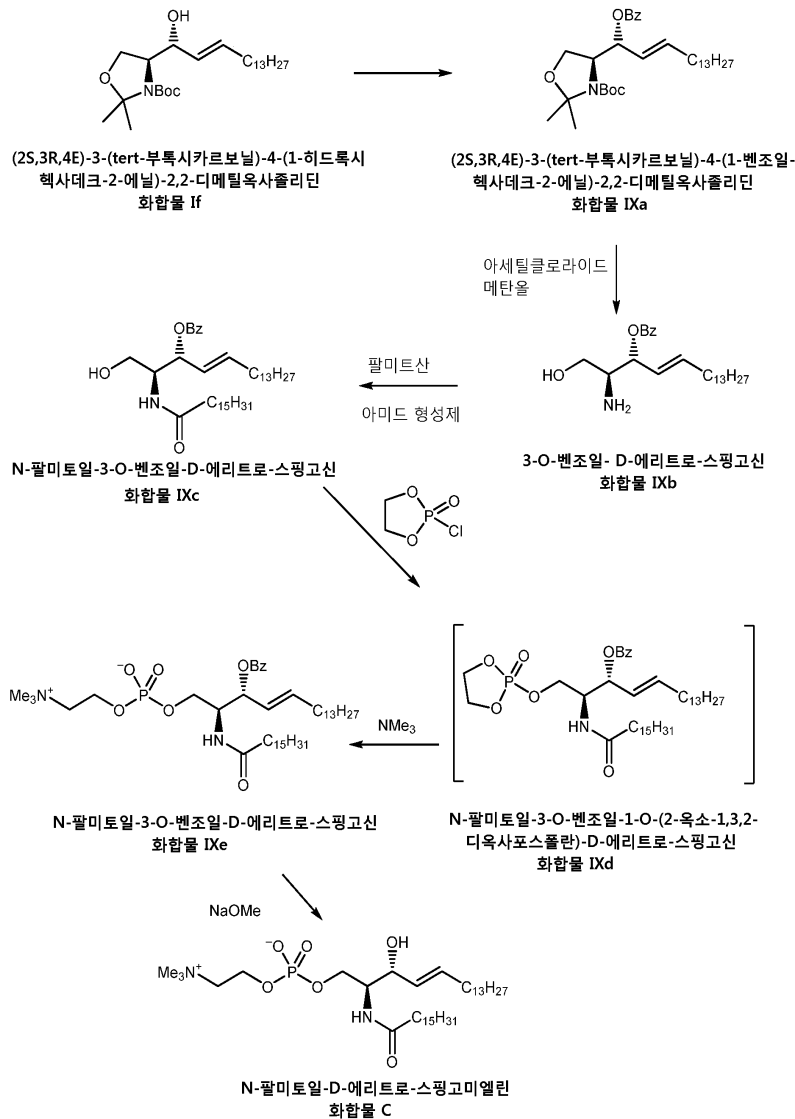
본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응식 IX에 제시한 바와 같이 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)의 2차 히드록실 기는 벤조일 기로 보호하여, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-벤조일-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 IXa)을 얻는다. 그 후, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-벤조일-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 메탄올 및 2 내지 3 당량의 아세틸 클로라이드 중에 용해시켜 염산을 생성하고, tert-부톡시카르보닐(Boc) 보호기를 제

거하여 3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 IXb)을 얻는다.

- [0296] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 팔미트산을 사용하여 3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 N-아실화시켜 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 IXc)을 얻는 것은 하기 반응식 IX에 제시한 바와 같이 진행된다. 그 단계는 하기와 같다: 3-O 벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 IXb), 팔미트산 및 아마이드 형성제를 비양성자성 유기 용매 중에 현탁시키고, 혼합물을 약 0-5℃의 온도에서 냉각시킨다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 아마이드 형성제는 O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(HBTU)이다.
- [0297] 트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기를 3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신, 팔미트산 및 아마이드 형성제의 혼합물에 첨가한다. 특정한 실시형태에서, 유기 염기는 비양성자성 유기 용매 중에 존재하며, 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 유기 염기를 약 15 내지 90 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 혼합물을 1 내지 15 시간 동안 약 0-22℃의 온도에서 교반한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응은 약 0-5℃의 온도에서 진행된다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 약 22℃에서 진행된다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 대략 실온에서 진행된다.
- [0298] 약 1 내지 15 시간 동안 교반한 후, 산을 첨가하여 생성물을 침전시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 유기 산, 예컨대 시트르산, 아세트산 또는 옥살산이다. 산은 첨가시 수용액 중에 존재할 수 있다. 반응은 산의 첨가시 약 22℃에서 일 수 있다. 생성된 현탁액은 30 내지 120 분 동안 약 0-5℃의 온도에서 교반될 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 현탁액을 약 22℃에서 교반한다.
- [0299] 교반 후, 현탁액을 여과한다. 그 후, 생성된 생성물을 물 중에 재현탁시킬 수 있으며, 그 후 여과 및 세정할 수 있다. 재현탁은 적어도 1회 더 실시할 수 있다. 생성된 생성물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 IXc)을 물, 아세톤 또는 그의 혼합물로 세정할 수 있다.
- [0300] 본 발명의 특정한 실시형태에서, N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신 또는 그의 중간체 중 1종 이상은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.
- [0301] 1 당량의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 IXc)을 톨루엔 중에 용해시키고, 약 0.6 내지 1 당량의 테트라메틸에틸렌디아민(TMEDA)을 첨가하고, 혼합물을 약 4-9℃로 냉각시킨다. 아세트니트릴 중의 약 1 내지 2 당량의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)을 첨가한 후, 추가의 아세트니트릴을 첨가한다. 반응을 약 22℃로 가온시키고, 1-3 시간 동안 교반을 지속한다. 추가의 아세트니트릴을 첨가하고, 온도를 약 -10 내지 0℃로 감온시킨다. 기체 트리에틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 상기 액체 트리에틸아민을 첨가한다. 반응 혼합물을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행하여 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 IXe)을 얻는다. 반응을 약 -30℃로 냉각시키고, 생성된 현탁액을 여과한다. 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 IXe)을 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제한다.
- [0302] 1 당량의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 IXe)을 메탄올 중에 용해시키고, 약 0.2 당량의 나트륨 메톡시드를 첨가하고, 혼합물을 20-26 시간 동안 약 22℃에서 교반한다. 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하고, 염산을 첨가하여 pH를 약 7로 조절한다. N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 C)을 유기층으로부터 회수한다.
- [0303] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 C)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.
- [0304] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신은 약 85% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다:

[0305]

<반응식 IX>



[0306]

[0307]

본 발명의 특정한 실시형태에서, N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린은 하기 기재한 바와 같이 생성한다.

[0308]

본 발명의 한 양태에서, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)의 2차 히드록실 기는 에스테르 또는 에테르를 비롯한(이에 한정되지 않음) 보호기로 보호될 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 보호기는 에스테르, 예컨대 벤조일 에스테르 또는 플루오레닐메틸옥시카르보닐 에스테르를 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 보호기는 에테르, 예컨대 t-부틸디페닐실릴 에테르를 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

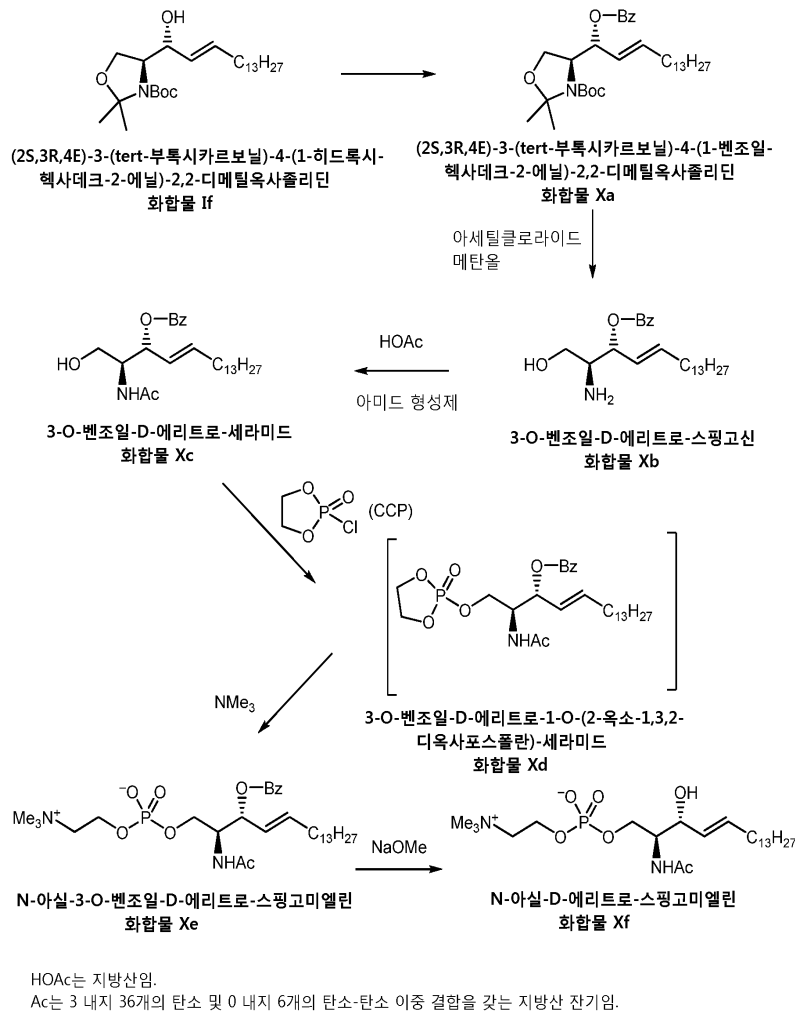
[0309]

본 발명의 특정한 실시형태에서, 하기 반응식 X에 제시된 바와 같이 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 If)의 2차 히드록실 기를 벤조일 기로 보호하여, (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-벤조일-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(화합물 IXa)을 얻는다. 그 후, 화합물 IXa를 메탄올 및 2 내지 3 당량의 아세틸 클로라이드 중에 용해시켜 염산을 생성하고, tert-부톡시카르보닐(Boc) 보호기를 제거하여 3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신(화합물 IXb)을 얻는다. 그 후, 적절한 지방산 및 아מיד 형성제를 첨가하여 3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신을 N-아실화시킬 수 있다. 단계는 하기와 같다: 3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신(화합물 IXb), 지방산 및 아מיד 형성제를 비양성자성 유기 용매 중에 현탁시키고, 혼합물을 약 0-5℃의 온도로 냉각시킨다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 아מיד 형성제는 O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(HBTU)이다.

- [0310] 트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기를 3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(화합물 Xb), 지방산 및 아마이드 형성제의 혼합물에 첨가한다. 특정한 실시형태에서, 유기 염기는 비양성자성 유기 용매이고, 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 유기 염기를 약 15 내지 90 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 혼합물을 1 내지 15 시간 동안 약 0-22℃의 온도에서 교반한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응을 약 0-5℃의 온도에서 진행한다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응을 약 22℃에서 진행한다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 대략 실온에서 진행한다.
- [0311] 약 1 내지 15 시간 동안 교반한 후, 산을 첨가하여 생성물(화합물 Xc)을 침전시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 유기 산, 예컨대 시트르산, 아세트산 또는 옥살산이다. 산은 첨가시 수용액 상태일 수 있다. 반응은 산 첨가시 약 22℃에서 실시될 수 있다. 생성된 현탁액을 30 내지 120 분 동안 약 0-5℃의 온도에서 교반할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 현탁액을 약 22℃에서 교반한다.
- [0312] 교반 후, 현탁액을 여과한다. 그 후, 생성된 생성물을 물 중에 재현탁시킬 수 있으며, 그 후 여과 및 세정할 수 있다. 재현탁은 적어도 1회 더 실시할 수 있다. 생성된 생성물인 3-O-벤조일-D-에리트로-세라미드(화합물 Xc)를 물, 아세톤 또는 그의 혼합물로 세정할 수 있다.
- [0313] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 화합물 Xc 또는 그의 중간체 중 1종 이상을 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.
- [0314] 1 당량의 화합물 Xc를 톨루엔 중에 용해시키고, 약 0.6 내지 1 당량의 테트라메틸에틸렌디아민(TMEDA)을 첨가하고, 혼합물을 약 4-9℃로 냉각시킨다. 아세트오니트릴 중의 약 1 내지 2 당량의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)을 첨가한 후, 추가의 아세트오니트릴을 첨가한다. 반응을 약 22℃로 가온시키고, 교반을 1-3 시간 동안 지속한다. 추가의 아세트오니트릴을 첨가하고, 온도를 약 -10 내지 0℃로 감온시킨다. 기체 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 반응 혼합물을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행하여 N-아실-0-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 Xe)을 얻는다. 반응을 약 -30℃로 냉각시키고, 생성된 현탁액을 여과한다. 미정제 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 Xe)을 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제한다.
- [0315] 1 당량의 N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 Xe)을 메탄올 중에 용해시키고, 약 0.2 당량의 나트륨 메톡시드를 첨가하고, 혼합물을 20-26 시간 동안 약 22℃에서 교반한다. 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하고, 염산을 첨가하여 pH를 약 7로 조절한다. N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 XI)을 유기층으로부터 회수한다.
- [0316] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린(화합물 XI)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.
- [0317] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-아실-D-에리트로-스핑고신은 약 85% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다:

[0318]

<반응식 X>



[0319]

[0320]

(S)-tert-부틸 4-((R)-1-히드록시헥사데실)-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카르복실레이트(화합물 IIa)의 보호

[0321]

본 발명의 또 다른 실시형태에서, 스핑고신 전구체 (S)-tert-부틸 4-((R)-1-히드록시헥사데실)-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카르복실레이트(반응식 II에서 화합물 IIa)의 2차 히드록실을 보호하고, 디히드로스핑고미엘린의 합성을 반응식 XI에 제시된 바와 같이 진행한다.

[0322]

본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응식 XI에 제시된 바와 같이 (S)-tert-부틸 4-((R)-1-히드록시헥사데실)-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카르복실레이트(화합물 IIa)의 2차 히드록실 기를 벤조일 기로 보호하여, (S)-tert-부틸 4-((R)-1-(벤조일옥시)헥사데실)-2,2-디메틸옥사졸리딘-3-카르복실레이트(화합물 XIa)를 얻는다. 그 후, 화합물 XIa를 메탄올 및 2 내지 3 당량의 아세틸 클로라이드 중에 용해시켜 염산을 생성하고, tert-부톡시카르보닐(Boc) 보호기를 제거하여 3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 XIb)을 얻는다.

[0323]

본 발명의 특정한 실시형태에서, 팔미트산을 사용하여 3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신을 N-아실화시켜 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 XIc)을 얻는 것은 하기와 같이 진행한다: 3-O 벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신(화합물 XIb), 팔미트산 및 아미드 형성제를 비양성자성 유기 용매 중에 현탁시키고, 혼합물을 약 0-5℃의 온도로 냉각시킨다. 한 실시형태에서, 비양성자성 유기 용매는 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 아미드 형성제는 0-벤조트리아졸-N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(HBTU)이다.

[0324]

트리에틸아민 또는 피리딘을 비롯한(이에 한정되지 않음) 유기 염기를 3-O-벤조일-D-에리트르-디히드로스핑고신, 팔미트산 및 아미드 형성제의 혼합물에 첨가한다. 특정한 실시형태에서, 유기 염기는 비양성자성 유기 용매 중에 존재하며, 테트라히드로푸란, 디메틸포름아미드, 2-메틸테트라히드

로푸란 또는 그의 혼합물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 유기 염기를 약 15 내지 90 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 혼합물을 1 내지 15 시간 동안 약 0-22℃의 온도에서 교반한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응을 약 0-5℃의 온도에서 진행한다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응을 약 22℃에서 진행한다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 대략 실온에서 진행한다.

[0325] 약 1 내지 15 시간 동안 교반한 후, 산을 첨가하여 생성물을 침전시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 유기 산, 예컨대 시트르산, 아세트산 또는 옥살산이다. 산은 첨가시 수용액 상태일 수 있다. 반응은 산 첨가시 약 22℃에서 실시될 수 있다. 생성된 현탁액을 30 내지 120 분 동안 약 0-5℃의 온도에서 교반할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 현탁액을 약 22℃에서 교반한다.

[0326] 교반 후, 현탁액을 여과한다. 그 후, 생성된 생성물을 물 중에 재현탁시킬 수 있으며, 그 후 이를 여과 및 세정할 수 있다. 재현탁은 적어도 1회 더 실시할 수 있으며, 그 후 여과 및 세정한다. 재현탁은 적어도 1회 더 실시할 수 있다. 생성된 생성물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신(화합물 XIc)을 물, 아세톤 또는 그의 혼합물로 세정할 수 있다.

[0327] 본 발명의 특정한 실시형태에서, N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신 또는 그의 중간체 중 1종 이상은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0328] 1 당량의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고신(화합물 XIc)을 톨루엔 중에 용해시키고, 약 0.6 내지 1 당량의 테트라메틸에틸렌디아민(TMEDA)을 첨가하고, 혼합물을 약 4-9℃로 냉각시킨다. 아세트니트릴 중의 약 1 내지 2 당량의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스포란(CCP)을 첨가한 후, 추가의 아세트니트릴을 첨가한다. 반응을 약 22℃로 가온시키고, 교반을 1-3 시간 동안 지속한다. 추가의 아세트니트릴을 첨가하고, 온도를 약 -10 내지 0℃로 감온시킨다. 기체 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 상기 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 반응 혼합물을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행하여 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIe)을 얻는다. 반응을 약 -30℃로 냉각시키고, 생성된 현탁액을 여과한다. 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIe)을 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제한다.

[0329] 1 당량의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIe)을 메탄올 중에 용해시키고, 약 0.2 당량의 나트륨 메톡시드를 첨가하고, 혼합물을 20-26 시간 동안 약 22℃에서 교반한다. 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하고, 염산을 첨가하여 pH를 약 7로 조절한다. N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 D)을 유기층으로부터 회수한다.

[0330] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 D)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0331] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고신은 약 85% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-팔미토일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다:

((S)-tert-부틸-4-((R)-1-히드록시헥사데실)-2,2-  
 디메틸옥사스피리딘-3-카르복실레이트  
 화합물 11a

(S)-tert-부틸 4-((R)-1-(벤조일옥시)헥사데실)-2,2-  
 디메틸옥사스피리딘-3-카르복실레이트  
 화합물 11a

아세틸클로라이드  
 메탄올

HBTU/팔미트산  
 DMF/THF

HO-CH<sub>2</sub>-CH(OBz)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>  
 HO-CH<sub>2</sub>-CH(OBz)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-  
 디히드로스피로고신  
 화합물 11c

N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-  
 디히드로스피로고신  
 화합물 11b

OBz  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 N-팔미토일-3-O-벤조일-1-O-(2-옥소-1,3,2-  
 디옥사스포스폴란)-D-에리트르-디히드로스피로고신  
 화합물 11d

NME<sub>3</sub>

Me<sub>3</sub>N<sup>+</sup>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P(=O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OBz)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-  
 디히드로스피로고미엘린  
 화합물 11e

NaOMe

Me<sub>3</sub>N<sup>+</sup>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-P(=O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 NH-C(=O)-C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
 N-팔미토일-D-에리트르-  
 디히드로스피로고미엘린  
 화합물 10

[0333]

[0334]

[0335]

[0336]

[0337]

- 49 -

혼합물이다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, 유기 염기를 약 15 내지 90 분에 걸쳐 첨가한다. 그 후, 혼합물을 1 내지 15 시간 동안 약 0-22℃의 온도에서 교반한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응을 약 0-5℃의 온도에서 진행한다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응을 약 22℃에서 진행한다. 본 발명의 기타 실시형태에서, 반응은 대략 실온에서 진행한다.

[0338] 약 1 내지 15 시간 동안 교반한 후, 산을 첨가하여 생성물(화합물 XIIc)을 침전시킨다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 산은 유기 산, 예컨대 시트르산, 아세트산 또는 옥살산이다. 산은 첨가시 수용액 상태일 수 있다. 반응은 산 첨가시 약 22℃에서 실시될 수 있다. 생성된 현탁액을 30 내지 120 분 동안 약 0-5℃의 온도에서 교반할 수 있다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 현탁액을 약 22℃에서 교반한다.

[0339] 교반 후, 현탁액을 여과한다. 그 후, 생성된 생성물을 물 중에 재현탁시킬 수 있으며, 그 후 여과 및 세정할 수 있다. 재현탁은 적어도 1회 더 실시할 수 있다. 생성된 생성물인 3-O-벤조일-D-에리트로-디히드로세라미드(화합물 XIIc)를 물, 아세톤 또는 그의 혼합물로 세정할 수 있다.

[0340] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 화합물 XIIc 또는 그의 중간체 중 1종 이상은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0341] 1 당량의 화합물 XIII을 톨루엔 중에 용해시키고, 약 0.6 내지 1 당량의 테트라메틸에틸렌디아민(TMEDA)을 첨가하고, 혼합물을 약 4-9℃로 냉각시킨다. 아세토니트릴 중의 약 1 내지 2 당량의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)을 첨가한 후, 추가의 아세토니트릴을 첨가한다. 반응을 약 22℃로 가온시키고, 교반을 1-3 시간 동안 지속시킨다. 추가의 아세토니트릴을 첨가하고, 온도를 약 -10 내지 0℃로 감온시킨다. 기체 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 약 40 내지 60 당량의 액체 트리메틸아민을 첨가한다. 반응 혼합물을 약 60-70℃로 가열하고, 10 내지 16 시간 동안 진행시켜 N-아실-O-벤조일-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIIe)을 얻는다. 반응을 약 -30℃로 냉각시키고, 생성된 현탁액을 여과한다. 미정제 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIIe)을 실리카 겔 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제한다.

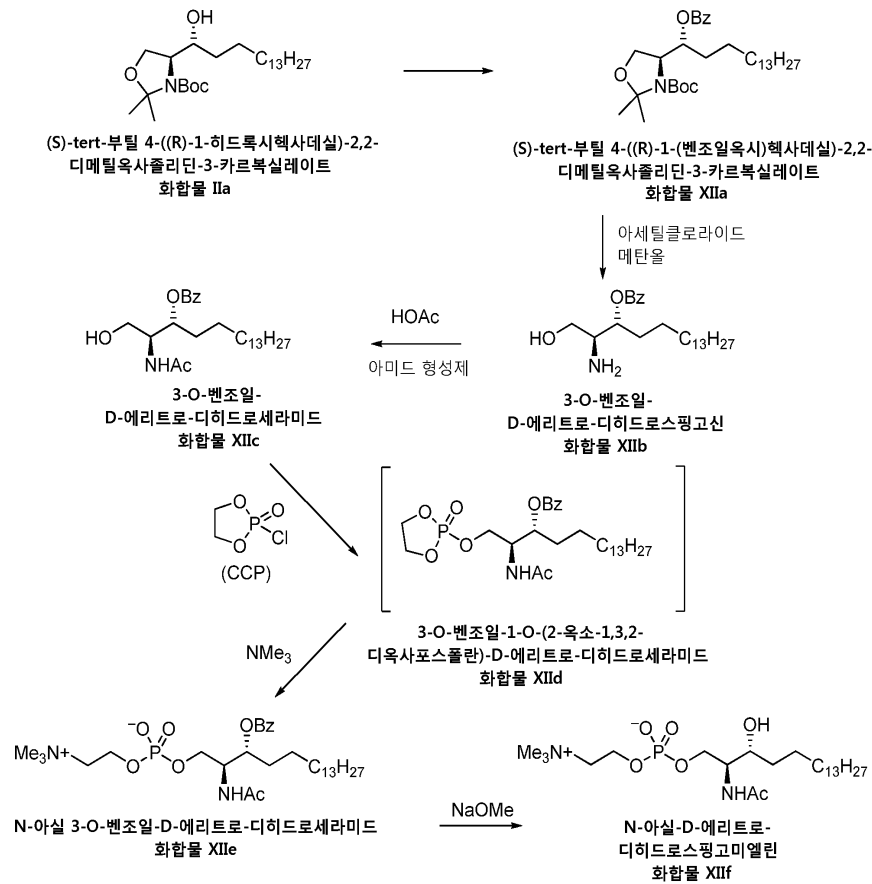
[0342] 1 당량의 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIIe)을 메탄올 중에 용해시키고, 약 0.2 당량의 나트륨 메톡시드를 첨가하고, 혼합물을 20-26 시간 동안 약 22℃에서 교반한다. 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하고, 염산을 첨가하여 pH를 약 7로 조절한다. N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIIe)을 유기층으로부터 회수한다.

[0343] 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린(화합물 XIIe)은 재결정화, 실리카 겔 크로마토그래피, 고 성능 액체 크로마토그래피 또는 당업자에게 공지된 기타 방법에 의하여 정제될 수 있다.

[0344] 본 발명의 특정한 실시형태에서, 생성된 N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고신은 약 85% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 15% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 90% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 10% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 95% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다. 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트로-디히드로스핑고미엘린은 약 98% 이상의 거울상이성질체 순도를 가지며, 약 2% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유한다:

[0345]

<반응식 XII>



HOAc는 지방산임.  
Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기임.

[0346]

[0347]

[0348]

## 2차 히드록실 기의 보호를 실시하지 않은 N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성

본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응식 XIII에 제시한 바와 같이 D-에리트르-세라미드(화합물 Vb)를 에틸렌 할로포스파이트로 직접 포스포릴화시킨다. 반응은 약 2.5-3.5 당량의 에틸렌 할로포스파이트의 존재 하에 약 4-10 당량의 염기의 존재 하에 큰 유전율(>20) 및 큰 쌍극자 모멘트를 갖는 비양성자성 극성 용매 중에서 진행된다. 특정한 실시형태에서, 반응은 약 -20 내지 +20℃에서 진행된다. 특정한 실시형태에서, 비양성자성 극성 용매는 20 초과의 유전율을 갖는다. 특정한 실시형태에서, 비양성자성 극성 용매는 클로로포름, 니트로메탄, 아세토니트릴, 아세톤, 디메틸 술폰시드 또는 그의 혼합물이다. 특정한 실시형태에서, 할로포스파이트는 클로로포스파이트이다. 추가의 실시형태에서, 반응은 3 당량의 에틸렌 클로로포스파이트를 사용하여 진행된다. 기타 실시형태에서, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민이다. 기타 실시형태에서, 반응은 5 당량의 N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여 진행된다.

[0349]

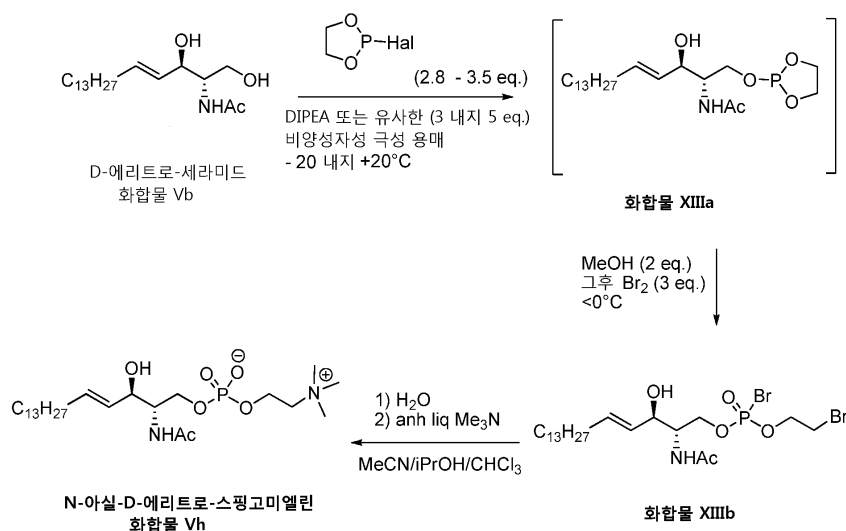
임의의 특정한 메커니즘으로 한정하지 않지만, 상기 용매는 예를 들면 히드록실 부분의 용매화, 세라미드에서의 분자내 수소 결합에 의하여 방해되는 것으로 여겨진다. 적절한 용매로는 클로로포름, 니트로메탄, 아세토니트릴, 아세톤 또는 디메틸 술폰시드를 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0350]

미반응 에틸렌 할로포스파이트를 알콜로 켄칭시킨 후, 시클릭 포스페이트(화합물 XIIIa)를 산화시키고, 브롬의 존재 하에 약 -50 내지 10℃, 한 실시형태에서는 약 -20℃의 온도에서 고리를 개환시켜 P-Br 결합이 물의 첨가에 의하여 가수분해된 세라미드-브로마이드 유도체(화합물 XIIIb)를 생성한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 알콜은 메탄올 또는 에탄올이다. 화합물 XIIIb는 무수 액체 트리메틸아민으로 4차화시켜 N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린(화합물 Vh)을 얻는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트르-스핑고미엘린은 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린이다:

[0351]

<반응식 XIII>



[0352]

Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기임.

[0353]

또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0354]

a) N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미토일아미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신을 에틸렌 클로로포스파이트와 반응시키는 단계;

[0355]

b) 2-브로모에틸((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일)포스포로브로미데이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데크-4-엔-2-일)팔미토일아미드를 브롬과 반응시키는 단계; 및

[0356]

c) N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 2-브로모에틸((2S,3R,E)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데크-4-엔-1-일)포스포로브로미데이트를 트리메틸아민과 반응시키는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

[0357]

## 2차 히드록실 기의 보호를 실시하지 않은 N-아실-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린의 합성

[0358]

본 발명의 특정한 실시형태에서, 반응식 XIV에 제시된 바와 같이 D-에리트르-디히드로세라미드(화합물 VIIb)를 에틸렌 할로포스파이트로 직접 포스포릴화시킨다. 반응은 약 2.5-3.5 당량의 에틸렌 할로포스파이트의 존재 하에 큰 유전율(>20) 및 큰 쌍극자 모멘트를 갖는 비양성자성 극성 용매 중의 약 4-10 당량의 염기의 존재 하에 진행된다. 특정한 실시형태에서, 반응은 약 -20 내지 +20°C에서 진행된다. 특정한 실시형태에서, 비양성자성 극성 용매는 20 초과의 유전율을 갖는다. 특정한 실시형태에서, 비양성자성 극성 용매는 클로로포름, 니트로메탄, 아세토니트릴, 아세톤, 디메틸 술폰 또는 그의 혼합물이다. 특정한 실시형태에서, 할로포스파이트는 에틸렌 클로로포스파이트이다. 추가의 실시형태에서, 반응은 3 당량의 에틸렌 클로로포스파이트를 사용하여 진행된다. 기타 실시형태에서, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민이다. 기타 실시형태에서, 반응은 5 당량의 N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여 진행된다.

[0359]

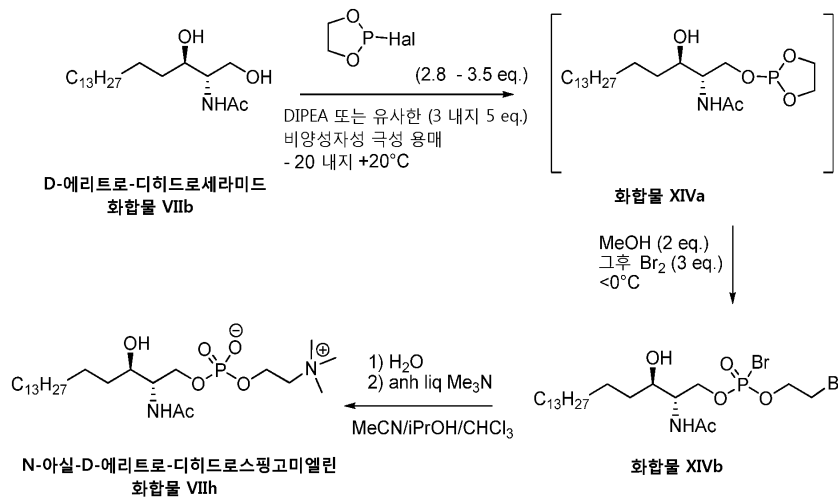
임의의 특정한 메커니즘으로 한정하지 않지만, 상기 용매는 히드록실 부분의 용매화, 아실 디히드로세라미드에서의 분자내 수소 결합에 의하여 방해되는 것으로 여겨진다. 적절한 용매로는 클로로포름, 니트로메탄, 아세토니트릴, 아세톤 또는 디메틸 술폰을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0360]

미반응 에틸렌 할로포스파이트를 알콜로 켄칭시킨 후, 시클릭 포스파이트(화합물 XIVa)를 동시에 산화시키고, 브롬의 존재 하에 약 -50 내지 10°C(바람직하게는 약 -20°C)의 온도에서 고리를 개환시켜 P-Br 결합이 물의 첨가에 의하여 가수분해된 디히드로세라미드 브로마이드 유도체(화합물 XIVb)를 생성한다. 본 발명의 특정한 실시형태에서, 알콜은 메탄올 또는 에탄올이다. 무수 액체 트리메틸아민을 사용하여 화합물 XIVb를 4차화시켜 N-아실-D-에리트르-디히드로스핑고미엘린(화합물 VIIh)을 얻는다. 본 발명의 추가의 실시형태에서, N-아실-D-에리트르-디히드로스핑고신은 N-팔미토일-D-에리트르-디히드로스핑고신이다:

[0361]

<반응식 XIV>



Ac는 3 내지 36개의 탄소 및 0 내지 6개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 지방산 잔기임.

[0362]

[0363]

또 다른 실시형태에서, 본 발명은

[0364]

a) N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-팔미토일-D-에리트르-D-티드로스핑고신을 에틸렌 클로로포스파이트와 반응시키는 단계;

[0365]

b) 2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트를 생성하기에 효과적인 조건 하에 N-((2S,3R)-1-((1,3,2-디옥사포스폴란-2-일)옥시)-3-히드록시옥타데칸-2-일)팔미타미드를 브롬과 반응시키는 단계; 및

[0366]

c) N-팔미토일-D-에리트르-D-티드로스핑고미엘린을 생성하기에 효과적인 조건 하에 2-브로모에틸 ((2S,3R)-3-히드록시-2-팔미타미도옥타데실)포스포로브로미데이트를 트리메틸아민과 반응시키는 단계를 포함하는 N-팔미토일-D-에리트르-D-티드로스핑고미엘린의 합성 방법을 제공한다.

[0367]

**실시예**

[0368]

**실시예 1: N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린의 합성**

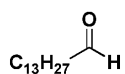
[0369]

**단계 1: 2-(E)-헥사데센알의 합성**

[0370]

**단계 1.1: 1-테트라데칸알**

[0371]



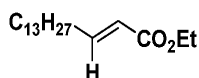
[0372]

메틸렌 클로라이드(1,500 ml) 중의 1-테트라데칸올(110.0 g; 0.513 mol) 및 트리클로로이소시아누르산(178.1 g; 0.77 mol)의 용액에 -30°C에서 (2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실(TEMPO)(800 mg; 0.051 mol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1.5 시간 동안 0°C에서 교반하고, 셀라이트 위에서 여과하였다. 그 후, 수집한 유기 상을 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>의 포화 용액(800 ml)에 이어서 HCl 1N(800 ml)로 세정하였다. 그 후, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 표제 화합물인 1-테트라데칸알을 백색 고체로서 얻었다(99.6 g; 91%).

[0373]

**단계 1.2: 에틸-2-헥사데세노에이트**

[0374]



[0375]

무수 테트라히드로푸란(40 ml) 중의 NaH(2.4 g, 0.059 mol)의 현탁액에 트리에틸포스포노아세테이트(9.4 ml, 0.047 mol)를 0°C에서 첨가하였다. 30 분 동안 0°C에서 교반한 후, 테트라히드로푸란(40 ml) 중의 테트라데칸알(10.0 g, 0.047 mol)의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고, 추가의 3 시간 동안 교반하였다.

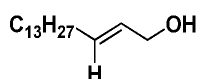
그 후, NaCl(50 ml)의 포화 용액을 첨가하고, 수성층을 Et<sub>2</sub>O(3×200 ml)로 추출하였다. 유기층을 모으고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 증발시켰다. 생성된 생성물을 실리카 겔 위의 플래쉬 크로마토그래피(헵탄-에틸 아세테이트: 95/5)에 의하여 정제하여 표제 화합물인 에틸-2-헥사데세노에이트를 무색 액체로서 얻었다(12.3 g; 92%).

**R<sub>f</sub>** = 0.24 (헥산/Et<sub>2</sub>O : 95/5).

**GC** : tr = 13.13 min (트리에틸포스포노아세테이트) ; tr = 15.80 min (1-테트라데칸알) ; tr = 20.60 min (에틸 2-헥사데세노에이트)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.87 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.25 (br, 20H) ; 1.28 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.44 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ; 2.18 (qd, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz) ; 4.18 (q, 2H, CH<sub>2</sub>) ; 5.80 (dt, 1H, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz) ; 6.96 (dt, 1H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz).

단계 1.3: 2-(E)-헥사데센-1-올



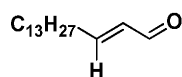
수소화다이소부틸알루미늄(54.5 ml, 시클로헥산 중의 1 M, 0.054 mol)을 0℃에서 테트라히드로푸란(20 ml) 중의 에틸-2-헥사데세노에이트(6.4 g, 0.023 mol)의 용액에 적가하였다. TLC에 의하여 모니터하여 출발 물질의 소비를 완료할 때까지 반응 혼합물을 0℃에서 교반하였다. 2개의 별개의 층이 뚜렷하게 보일 때까지 Et<sub>2</sub>O(50 ml) 및 타르타르산나트륨의 포화 용액(50 ml)을 연속적으로 첨가하였다. 수성층을 Et<sub>2</sub>O(2×50 ml)로 추출하였다. 유기층을 합하고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 용매를 진공 하에 제거하여 표제 화합물인 2-(E)-헥사데센-1-올을 백색 왁스질 고체로서 얻었다(5.3 g; 97%).

**R<sub>f</sub>** = 0.31 (헥산/Et<sub>2</sub>O : 1/1).

**GC** : tr = 19.1 min

**<sup>1</sup>H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.87 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.25 (br, 22H) ; 2.03 (q, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz) ; 4.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz) ; 5.66 (m, 2H).

단계 1.4: 2-(E)-헥사데센-1-알



메틸렌 클로라이드(30 ml) 중의 2-(E)-헥사데센-1-올(5.2 g; 0.022 mol)의 용액에 아르곤 하에 0℃에서 메틸렌 클로라이드(30 ml) 중의 피리디늄 클로로크로메이트(PCC)(16.3 g; 0.043 mol)의 현탁액에 이어서 셀라이트(20 g)를 첨가하였다. 3 시간 동안 0℃에서 교반한 후, 반응 혼합물을 20 ml의 에틸 에테르로 희석하고, 실리카 패드 위에서 여과하였다. 용매를 증발시키고, 미정제 생성물을 실리카 겔(헵탄-에틸 아세테이트: 95/5) 위에서 플래쉬 크로마토그래피에 의하여 정제하여 표제 화합물인 2-(E)-헥사데센-1-알을 백색 고체로서 얻는다(2.2 g; 43%).

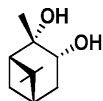
**R<sub>f</sub>** = 0.14 (헥산/Et<sub>2</sub>O : 95/5)

**GC** : tr = 18.9 min

**<sup>1</sup>H NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.26 (br, 20H) ; 1.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ; 2.35 (qd, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz) ; 6.1 (ddt, 1H, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J = 8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz) ; 6.85 (td, 1H, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7 Hz) ; 9.5 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8 Hz).

**단계 2: (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논의 합성**

단계 2.1: (1R,2R,3S,5R)-(-)-피난디올



17.3 ml의 피리딘, 107 ml의 아세톤 및 11.9 ml의 탈이온수 중에 용해된 S-(-)- $\alpha$ -피넨(24.3 g; 0.18 mol), 오스름산칼륨 2수화물(0.13 g), N-메틸모르폴린-N-옥사이드(물 중의 60%; 0.21 mol; 41.7 g)를 250 ml 3목 플라스크 내에서 합하였다. 반응 혼합물을 60 시간 동안 환류시킨 후, 메틸 tert-부틸 에테르(MTBE)(300 ml) 및 헥산(60 ml)으로 희석하였다. 그 후, 물(200 ml)을 첨가하고, 유기층을 기울려 따르고, 10% 시트르산(3×100 ml), NaHCO<sub>3</sub>의 포화 용액(100 ml), 염수(100 ml)로 연속적으로 세정한 후, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 여과한다. 용매를 진공 하에 제거하여 표제 화합물인 (1R,2R,3S,5R)-(-)-피난디올을 어두운 오렌지색 오일로서 얻었다(24.5 g).

**GC** : tr = 12.0 min (디올) ; tr = 10.9 min (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논 ; (5 - 10%)

단계 2.2: (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논



트리에틸아민(Et<sub>3</sub>N)(80.2 ml; 0.58 mol)을 디메틸 술폭시드/메틸렌 클로라이드 용매 혼합물(154 ml; 1/1) 중의 (1R,2R,3S,5R)-(-)-피난디올(24.5 g; 143.9 mmol)의 용액에 10℃에서 첨가하였다. 그 후, 온도를 20℃ 미만으로 유지하면서 SO<sub>3</sub>·피리딘(68.7 g; 0.43 mol)을 30 분에 걸쳐 일부분씩 첨가하였다. 반응 혼합물을 2 시간 동안 10℃에서 교반한 후, 에틸 아세테이트(300 ml)로 희석하였다. 유기층을 HCl 0.5 N(2×150 ml), 염수(150 ml)로 세정한 후, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 여과한다. 용매를 진공 하에 제거하여 갈색 오일을 얻었다. 미정제 생성물을 실리카 겔 위의 플래쉬 크로마토그래피(메틸시클로헥산-에틸 아세테이트: 9/1)에 의하여 정제하여 표제 화합물인 (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논을 황색 오일로서 얻었다 (19.2 g; 2개의 단계에 걸쳐 63%).

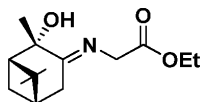
**GC** : tr = 10.9 min ;

증류 : **B.p** = 100-104℃( 3-4 mmHg)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.90 (s, 3H) ; 1.30 (s, 3H) ; 1.40 (s, 3H) ; 1.70 (d, 1H, J = 12.0 Hz) ; 2.10 (m, 2H) ; 2.30 (s, 1H) ; 2.50 (m, 1H) ; 2.60 (brs, 2H).

**단계 3: D-에리트르-스핑고신 염산염**

단계 3.1: (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트



NH<sub>3</sub> 기체를 톨루엔(100 ml) 중의 에틸글리시네이트 염산염(16.6 g; 0.13 mol)의 현탁액에 1 시간에 걸쳐 버블링 시켰다. 형성된 염화암모늄을 여과하고, (1R,2R,5R)-(+)-2-히드록시-3-피나논(단계 2.2)(10.0 g; 0.59 mol)을 유리 염기 에틸글리시네이트의 용액에 수 방울의 BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>와 함께 첨가하였다. 그 후, 반응 혼합물을 5 시간 동안 딥-스타크 장치를 사용하여 환류시켰다. 반응을 완료한 후, 용매를 증발시켰다. 생성된 생성물을 Et<sub>3</sub>N(에테르 중의 5%)로 함침된 실리카 겔 위의 플래쉬 크로마토그래피에 의하여 정제하고, 표제 화합물인 (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트를 Et<sub>2</sub>O로 용출시켰다.

Rf = 0,35 ( 시클로헥산 - 에틸 아세테이트 : 1/1)

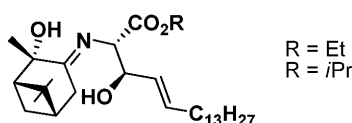
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 0.88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.30 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.0 Hz) ; 1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.53 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.57 (d, 1H, J = 10.0 Hz) ; 2.07 (m, 2H) ; 2.36 (dt, 1H, J = 10.0 Hz ; J = 6.0 Hz ; J = 1.5 Hz) ; 2.50 (d, 2H, J = 1.5 Hz ; J = 1.0 Hz) ; 2.61 (s, 1H, OH) ; 4.17 (s, 2H, =N-CH<sub>2</sub>) ; 4.23 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, J = 7.0 Hz).

NMR <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 180,0 (C-1 quat. 에스테르) ; 170,2 (C-1' quat. 아미드) ; 76,5 (C-2' quat.) ; 60,9 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 52,6 (C-2) ; 50,4 (C-3') ; 38,6 (C quat) ; 38,3 (C-5) ; 33,7 (C-6) ; 28,2 (CH<sub>3</sub>) ; 28,1 (C-4') ; 27,3 (CH<sub>3</sub>) ; 22,8 (CH<sub>3</sub>) ; 14,2 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

[0398]

[0399]

단계 3.2: (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트



[0400]

[0401]

메틸렌 클로라이드(15 ml) 중의 클로로티타늄 트리이소프로폭시드(5.2 g; 0.02 mol)의 용액, 메틸렌 클로라이드 (8 ml) 중의 2-(E)-헥사데센-1-알(4.35 g; 0.0018) 및 트리에틸아민(6.1 ml; 0.044 mol)의 용액을 메틸렌 클로라이드(9.6 ml) 중의 (1R,2R,5R)-에틸-((2-히드록시피난-3-일렌)아미노)아세테이트(5.0 g; 0.020 mol)의 용액에 아르곤 하에 0℃에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 4 시간 동안 0℃에서 교반한 후, 염수(25 ml)로 채칭시켰다. 수성층을 에틸 아세테이트로 추출하고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 용매를 진공 하에 제거하여 황색-오렌지색 오일(9.7 g), 73/27 이소프로필 및 에틸 에스테르, (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트의 혼합물을 얻었다.

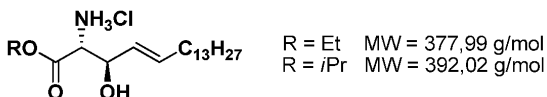
Rf = 0,7 (시클로헥산 - 에틸 아세테이트: 1/1)

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 0.88 (t, 3H, J = 6.5 Hz) ; 1.50-1.10 (m, 28H, (CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub> + 2CH<sub>3</sub>) ; 1.50 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.53 (d, 1H) ; 2.13 (q, 2H) ; 2.18-1.95 (m, 2H) ; 2.34 (dtd, 1H) ; 2.51 (m, 1H) ; 3.25 (s, 1H) ; 3.75 (s, 1H) ; 4.15 (d, 1H, J = 6.7 Hz) ; 4.20 (dt, 1H, J = 7.0 Hz ; J = 4.0 Hz) ; 4.55 (t, 1H, J = 6.7 Hz) ; 5.05 (hept, 1H, J = 6.3 Hz, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ; 5.55 (dd, 1H, J = 15.4 Hz ; J = 7.1 Hz) ; 5.70 (dt, 1H, J = 15.4 Hz ; J = 6.5 Hz).

[0402]

[0403]

단계 3.3: (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-이소프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트



[0404]

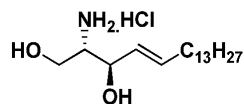
[0405]

HCl 1.2 M(203 ml)을 테트라히드로푸란(51 ml) 중의 상기 단계로부터의 이소프로필 및 에틸 에스테르인 (2S,3R,E)-에틸 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트 및 (2S,3R,E)-이소프로필 3-히드록시-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-히드록시-2,6,6-트리메틸비시클로[3.1.1]헵탄-3-일리덴)아미노)옥타데크-4-에노에이트의 미정제 혼합물(14.8 g; 0.030 mol)에 적가하였다. 그 후, 혼합물을 72 시간 동안 실온에서 교반하였다. 테트라히드로푸란을 증발시킨 후, 수성층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 용매의 제거 후, 유기층은 (+)-2-히드록시-3-피나논(6.8 g)을 함유하였다. 수성층을 건

조시켜 (2R,3R,E)-에틸 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트 및 (2R,3R,E)-이소프로필 2-아미노-3-히드록시옥타데크-4-에노에이트를 그의 염산염(5.7 g)으로서 얻었다.

Rf=0.45 (Et<sub>2</sub>O-MeOH : 96/4)

단계 3.4: D-에리트르-스핑고신 염산염

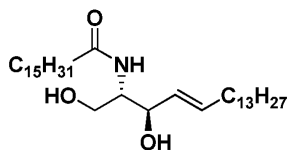


수소화붕소나트륨(4.40 g; 0.12 mol)을 EtOH/H<sub>2</sub>O(3/1)의 40 ml의 용매 혼합물 중의 상기 단계로부터의 아미노에스테르 염산염(2.2 g; 0.0058 mol)의 현탁액에 첨가하였다. 혼합물을 72 시간 동안 0℃에서 교반한 후, NH<sub>4</sub>Cl의 포화 용액(40 ml)을 첨가하였다. 수성층을 메틸렌 클로라이드(4\*100 ml)로 추출하고, 염수로 세정하고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 여과한다. 용매를 진공 하에 제거하여 표제 화합물인 D-에리트르-스핑고신 염산염을 백색 고체로서 얻었다(1.5 g; 86%).

Rf = 0.3 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O : 13/6/1)

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 0.90 (t, 3H, J = 6.5 Hz); 1.50-1.20 (m, 22H, (CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>); 2.00 (q, 2H, J = 7.8 Hz); 3.15 (s, 1H, OH); 3.70 (m, 4H); 4.30 (s, 1H, OH); 5.40 (dd, 1H, J = 15.5 Hz; J = 6.3 Hz); 5.80 (dt, 1H, J = 15.5 Hz; J = 7.8 Hz); 8.46 (brs, 3H).

단계 4: N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신

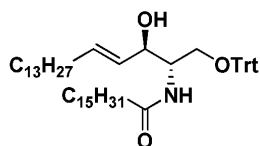


팔미트산(1.9 g; 0.074 mol) 및, 테트라히드로푸란(99 ml) 중의 D-에리트르-스핑고신(2.2 g; 0.074 mol)의 용액을 디메틸포름아미드(15 ml) 중의 O-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(3.1 g; 8.1 mmol)의 현탁액에 연속적으로 첨가하였다. 얻은 백색 현탁액을 0℃로 냉각시키고, 트리에틸아민(2.5 ml; 0.018 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 12 시간 동안 실온에서 교반하였다. 그 후, 5% 시트르산의 용액(400 ml)을 첨가하고, 현탁액을 여과하였다. 백색 고체를 실온에서 물(60 ml)과 혼합하고, 여과하고, 물로 세정하였다. 그 후, 진공 하에 40℃에서 건조시켜 표제 화합물인 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신(3.5 g; 80%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 0.97 (6H, t); 1.10-1.40 (m, 46H); 1.62 (2H, m); 2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub>-CH); 2.21 (t, 2H, J = 8.2 Hz, CH<sub>2</sub>CONH); 2.71 (m, 2H); 3.69 (m, 1H); 3.80-4.00 (m, 2H); 4.28 (m, 1H, CH(OH)CH); 5.52 (ddt, 1H, J = 15.4 Hz; J = 6.4 Hz; J = 1.0 Hz, CH(OH)CH); 5.77 (dtd, 1H, J = 15.4 Hz; J = 6.7 Hz; J = 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH); 6.22 (d, 1H, J = 6.8 Hz, NH).

단계 5: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신

[0416] 단계 5.1: N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트르-스핑고신



[0417]

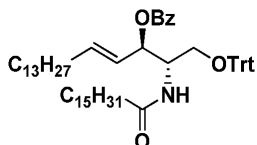
[0418] 메틸렌 클로라이드(14 ml) 중의 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신(0.58 g, 1.08 mmol), 트리에틸아민(1.2 ml), 4-디메틸아미노피리딘(5 mg) 및 트리틸 클로라이드(0.45 g, 1.62 mmol)의 현탁액을 60 시간 동안 환류 가열하였다. 휘발성 물질을 증발시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트 중에 재용해시키고, 혼합물을 1 M 염산, 수성 NaHCO<sub>3</sub> 및 염수로 연속적으로 세정하였다. 유기 상을 MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 증발시켰다. 잔류물을 헵탄/에틸 아세테이트(7:3) 중의 실리카 겔 위에서 크로마토그래피하여 N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트르-스핑고신(0.39 g, 46%)을 왁스질 고체로서 얻었다.

R<sub>f</sub> = 0.49 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/에틸 아세테이트/Et<sub>3</sub>N : 97/3/0.1)

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 0.88 (6H, t), 1.40–1.15 (46H, m), 1.64 (2H, m), 1.91 (2H, m), 2.20 (2H, t, J = 8.2 Hz), 3.28 (1H, dd, J = 9.6 Hz, J = 4.0 Hz), 3.40–3.35 (2H, m), 4.04 (1H, m), 4.17 (1H, m), 5.24 (1H, dd, J = 15.4 Hz, J = 6.2 Hz), 5.62 (1H, dt, J = 15.4 Hz, J = 6.6 Hz), 6.06 (1H, d, J = 7.5 Hz, NH), 7.35–7.20 (9H, m), 7.35–7.45 (6H, m).

[0419]

[0420] 단계 5.2: N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신



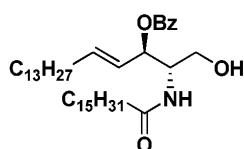
[0421]

[0422] 4-디메틸아미노피리딘(10 mg) 및 벤조일 클로라이드(0.1 ml, 0.85 mmol)를 피리딘(5 ml) 중의 N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트르-스핑고신(0.39 g, 0.50 mmol)의 용액에 질소 하에 첨가하고, 혼합물을 20 시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에 제거하고, 잔류물을 NaHCO<sub>3</sub> 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기 상을 염수로 세정하고, 건조시키고(MgSO<sub>4</sub>), 증발시키고, 잔류물을 헵탄/에틸 아세테이트-헥산(85:15 내지 1:1) 중의 실리카 겔 위에서 크로마토그래피하여 표제 화합물인 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신(207 mg, 60%)을 왁스질 고체로서 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 0.88 (6H, t), 1.31–1.23 (46H, m), 1.56 (2H, m), 1.99 (2H, m), 2.08 (2H, t), 3.17 (1H, dd, J = 7.4 Hz, J = 3.9 Hz, CH(H')OH), 3.43 (1H, dd, J = 9.7 Hz, 3.9 Hz, CH(H')OH), 4.47 (1H, m, CH- (NHCOR)), 5.43 [1H, dd, J = 15.3 Hz, J = 7.3 Hz, CH(OCOPh)CH=], 5.75–5.60 [2H, m, NH, CH(OCOPh)], 5.86 (1H, dt, J = 15.3 Hz, J = 7.9 Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 7.25–7.10 (9H, m), 7.40–7.30 (8H, m), 7.54 (1H, t, J = 7.5 Hz), 7.92 (2H, d, J = 7.3 Hz).

[0423]

[0424] 단계 5.3: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신



[0425]

[0426]

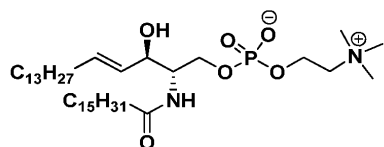
메틸렌 클로라이드(18 ml) 및 메탄올(18 ml) 중의 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(1.10 g, 1.24 mmol) 및 톨루엔-p-술폰산 일수화물(0.23 g, 1.36 mmol)의 용액을 질소 하에 3 시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 수성 NaHCO<sub>3</sub> 및 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기 상을 염수로 세정하고, MgSO<sub>4</sub> 위에서 건조시키고, 무수 상태로 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 위에서 헵탄/에틸 아세테이트(1:1)로 용출시키는 크로마토그래피로 처리하여 표제 화합물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(0.64 g; 80%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ 0.87 (6H, t), 1.30-1.10 (46H, m), 1.54 (2H, m), 1.96 (2H, m), 2.14 (2H, m), 2.77 (2H, br s), 3.71 (2H, m, CH<sub>2</sub>O), 4.24 (1H, m, CHN), 5.60-5.40 [2H, m, CH(OCOPh)CH=], 5.79 (1H, dt, J = 15.0 Hz, J = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 6.18 (1H, d, J = 9.6 Hz, NH), 7.38 (2H, dd, J = 7.6 Hz, J = 7.2 Hz), 7.52 (1H, dd, J = 7.6, J = 7.6 Hz), 7.96 (1H, d, J = 7.2 Hz).

[0427]

[0428]

단계 6: N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린



[0429]

[0430]

무수 톨루엔(5 ml) 중의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(0.2 g, 0.31 mmol) 및 테트라메틸에틸렌디아민(TMEDA)(51 μl, 0.53 mmol)의 용액을 약 8℃로 냉각시켰다. 이 용액에 0.1 ml의 아세토니트릴 중의 2-클로로-2-옥소-1,3,2 디옥사포스폴란(82 mg, 0.57 mmol)을 적가하였다. 그 후, 혼합물을 실온으로 가온시키고, 4 시간 동안 교반하였다. 아세토니트릴(5 ml)을 첨가한 후, 무수 트리메틸아민을 첨가하였다. 플라스크를 65-70℃로 14 시간 동안 가열하였다. 그 후, 계를 실온으로 냉각시키고, 플라스크를 열었다. 용매를 감압 하에 제거하였다.

[0431]

생성물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 메탄올(1.5 ml) 중에 용해시켰다. 나트륨 메톡사이드(메탄올 중의 30%, 15 μl)를 이 용액에 첨가하였다. 밤새 교반한 후, 메틸렌 클로라이드 및 물을 첨가하였다. pH를 조절하고, 유기층을 무수 상태로 증발시켰다. 미정제 물질을 컬럼 크로마토그래피에 의하여 정제하여 표제 화합물인 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린(66 mg, 3개의 단계에 걸쳐 30%)을 얻었다.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) δ: 0.90 (t, J = 7.1 Hz, 6H), 1.26 (m, 46H), 1.56 (m, (C=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, 2H), 1.99 (m, CH=CHCH<sub>2</sub>, 2H), 2.14 (t, (C=O)CH<sub>2</sub>, 2H), 3.24 (s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 9H), 3.68 (m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, 2H), 3.91 (m, POCH<sub>2</sub>CH, 2H), 4.04 (t, CHO, 4H, J = 7.7 Hz), 4.14 (m, CHN, 2H), 4.28 (m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, 2H), 5.44 (ddt, J = 15.4 Hz, J = 7.6 Hz, J = 1.5 Hz, 2H), 5.71 ddt, J = 15.4 Hz, J = 6.6 Hz, J = 0.5 Hz, 1H).

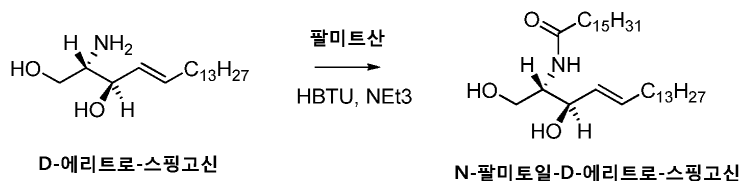
[0432]

[0433]

실시예 2: 실험실 규모의 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린의 합성

[0434]

단계 1: N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신



[0435]

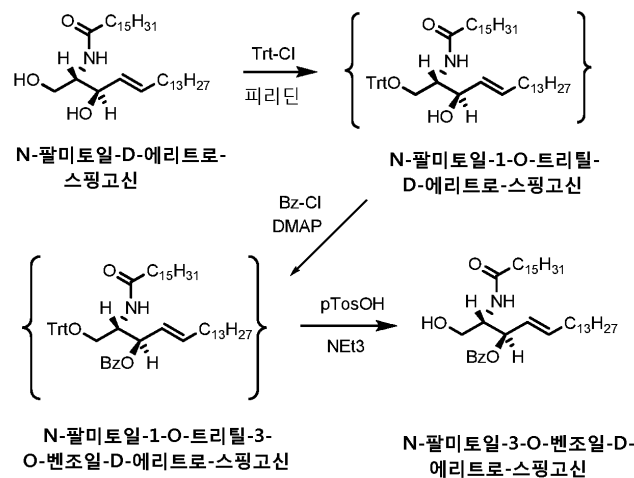
[0436]

테트라히드로푸란(890 ml) 중의 팔미트산(17.12 g, 66.8 mmol) 및 D-에리트로-스핑고신(20 g, 66.8 mmol)을 140 ml 디메틸포름아미드 중의 O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(27.84 g, 73.4 mmol)의 현탁액에 첨가하였다. 얻은 백색 현탁액을 0-5℃에서 냉각시키고, 22.5 ml(160.7 mmol) 트리에틸

아민을 30-60 분에 걸쳐 첨가하고, 혼합물을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 그 후, 박층 크로마토그래피 (TLC) 분석은 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신의 전환율 >99%를 나타냈다. 시트르산 5%(400 ml)를 첨가하고, 혼합물을 30 분 동안 0-5℃에서 교반하고, 얻은 현탁액을 여과하였다. 백색 케이크를 물(600 ml) 중에 실온에서 현탁시켰다. 현탁액을 여과하고, 물로 세정하였다. 12 시간 동안 감압 하에 40℃에서 건조시켜 32.4 g(수율 90%)의 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신을 얻었다. HPLC에 의한 순도는 98.1%이었으며, HPTLC에 의한 순도는 99.2%이었다.

<sup>1</sup>H NMR (δ ppm, CDCl<sub>3</sub>): 0.97 (6H, t), 1.1-1.4 (46H, m), 1.62 (2H, m), 2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH), 2.21 (2H, t, J 8.2 Hz, CH<sub>2</sub>CONH), 2.71 (2H, m), 3.69 (1H, m), 3.8-4.0 (2H, m), 4.28 (1H, m, CH(OH)CH), 5.52 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OH)CH), 5.77 (1H, dtd, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH), 6.22 (1H, d, J 6.8 Hz, NH).

## 단계 2: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신



### 단계 2.1: N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트로-스핑고신

톨루엔(150 ml) 중의 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신(16.30 g, 30.3 mmol), 피리딘(250 ml) 및 트리틸 클로라이드(10.15 g, 36.4 mmol)의 현탁액을 52℃에서 12 시간 동안 가열하였다. 12 시간 후 TLC 분석은 N-팔미토일-1-O-트리틸-D-에리트로-스핑고신으로의 전환율 90% 초과, 미반응 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신 약 5% 및 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-트리틸-D-에리트로-스핑고신 약 2-5%를 나타냈다. 현탁액을 0-5℃로 냉각하고, 여과하여 일부 염을 제거하였다.

### 단계 2.2: N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신

4-디메틸아미노피리딘(560 mg, 4.54 mmol) 및 벤조일 클로라이드(5.8 ml, 50 mmol)를 상기 단계로부터 미정제 반응 생성물의 용액에 첨가하고, 혼합물을 0-5℃에서 15 시간 동안 교반하였다. 15 시간 후, TLC 분석은 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신으로의 전환율 97% 초과를 나타냈다. 반응 혼합물을 물(130 ml) 및 에틸 아세테이트(530 ml) 사이에 분배시켰다. 유기 상을 물(160 ml)로 4회 세정하여 pH 7에 도달하였다. 유기 상을 감압 하에 증발시키고, 생성된 유상 황색 잔류물(34 g)을 메틸렌 클로라이드(300 ml) 및 메탄올(300 ml) 중에 5℃에서 용해시키고, 후속 탈트리틸화 단계에 직접 사용하였다.

### 단계 2.3: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신

톨루엔-p-술폰산 일수화물(2.88 g, 15.15 mmol)을 메틸렌 클로라이드/메탄올 중의 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 상기 용액에 첨가하였다. 혼합물을 18-22℃에서 3 시간 동안 교반하였다. 3 시간 후, TLC 분석은 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신으로의 전환율 97% 초과를 나타냈다. 반응 혼합물을 0-5℃에서 2.58 ml 트리에틸아민으로 중화시키고, 메틸렌 클로라이드를 증발시켰다(40℃/340 mbar). 얻은 잔류물을 0-5℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 현탁액을 여과하고, 메탄올로 세정하고, 35℃에서 12 시간 동안 건조시켜 21.9 g(113%)의 미정제 생성물 (N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신)을 얻었다.

[0446]

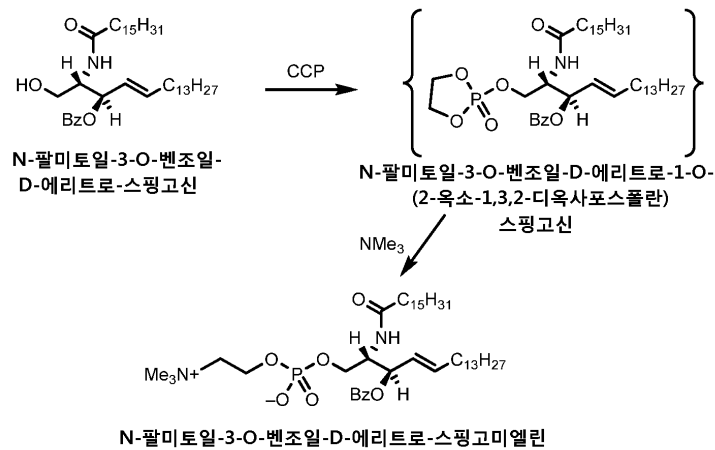
재결정화는 메탄올(500 ml) 및 메틸렌 클로라이드(5 ml)를 사용하여 42℃에서 수행하고, 용액을 20-22℃에서 1 시간 동안 교반한 후, 0-5℃로 1 시간 동안 냉각시켰다. 여과 후, 생성된 케이크를 메탄올(2×50 ml)로 세정하고, 12 시간 동안 35℃에서 감압 하에 건조시켜 13%의 미보호된 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고신으로 오염된 13.6 g의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 얻었다. 결정화된 물질을 185 g 실리카 겔 위의 컬럼 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제하였다. 이를 2.2 l 헥산/에틸 아세테이트 5/1, 2.2 l 헥산/에틸 아세테이트 3/1 및 마지막으로 4.4 l 헥산/에틸 아세테이트 2/1로 용출시켰다. 생성물 함유 분획을 합하고, 무수 상태로 40℃에서 증발시켜 12.1 g(수율 62%)의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신을 얻었다. HPLC에 의한 순도는 97.7%이었으며, HPTLC에 의한 순도는 99.6%이었다.

<sup>1</sup>H NMR (δ ppm, CDCl<sub>3</sub>): 0.87 (6H, t), 1.1-1.3 (46H, m), 1.54 (2H, m), 1.96 (2H, m), 2.14 (2H, m), 2.77 (2H, br s), 3.71 (2H, m, CH<sub>2</sub>O), 4.24 (1H, m, CHN), 5.4-5.6 (2H, m, CH(OCOPh)CH=), 5.79 (1H, dt, J 15.0, 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 6.18 (1H, d, J 9.6 Hz, NH), 7.38 (2H, dd, J 7.6, 7.2 Hz), 7.52 (1H, dd, J 7.6, 7.6 Hz), 7.96 (1H, d, J 7.2 Hz)

[0447]

[0448]

### 단계 3: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린



[0449]

[0450]

#### 단계 3.1: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-스핑고신

[0451]

N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(9.49 g, 14.8 mmol)을 톨루엔(200 ml) 중에 거의 완전하게 용해시키고, 가압 반응기에 넣었다. 테트라메틸에틸렌디아민(2.4 ml, 15.8 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 7℃로 냉각시킨 후, 아세토니트릴(5 ml) 중의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)(3.90 g, 27.3 mmol)의 용액을 첨가하였다. 7℃에서 2 시간 후, 반응을 2 시간 동안 21℃로 가온시켰다. TLC 분석은 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 중간체 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-스핑고신으로의 전환율 97% 초과를 나타냈다.

[0452]

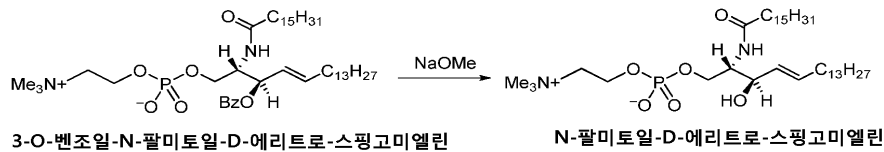
#### 단계 3.2: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린

[0453]

아세토니트릴(200 ml)을 반응기에 주입한 후, 0.5-0.7 bar의 일정한 압력이 도달될 때까지 기체 트리메틸아민을 주입한다. 67℃로 가열하는 동안 압력은 1.8-2.0 bar로 상승하였다. 14 시간 후, TLC 분석은 중간체 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-1-O-(2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란)-스핑고신의 거의 완전한 반응을 나타냈다. -5℃로 냉각시킨 후, 현탁액을 여과한다. 미정제 3-O-벤조일-N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 35℃에서 건조시켜 9.1 g(76%)을 얻었다. 미정제 물질을 90 g 실리카 겔 위의 컬럼 크로마토그래피에 의하여 추가로 정제하였다. 이를 1.1 l 메틸렌 클로라이드/메탄올 6/1; 1.1 l 메틸렌 클로라이드/메탄올 4/1; 및 마지막으로 4.3 l 메틸렌 클로라이드/메탄올 3/1로 용출시켰다. 생성물 함유 분획을 합하고, 무수 상태로 35℃에서 증발시켜 8.0 g(수율 88%)의 3-O-벤조일-N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 얻었다. HPLC에 의한 순도는 94.8%이었다.

[0454]

**단계 4: N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린**



[0455]

[0456]

3-O-벤조일-N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린(8.0 g, 9.9 mmol)을 메탄올(40 ml) 중에 용해시켰다. 나트륨 메톡시드(메탄올 중의 30%, 5.4 M, 367  $\mu$ l, 2.0 mmol)를 용액에 첨가하여 pH 11로 만들었다. 밤새 교반한 후, TLC 분석은 벤조일에스테르의 거의 완전한 반응을 나타냈다. 메틸렌 클로라이드(80 ml)를 첨가한 후, 38 ml 물을 첨가하고, 1.8 ml 1M 염산을 사용하여 pH를 6-7로 조절하였다. 하부층을 무수 상태로 35℃에서 증발시키고, 잔류물을 8.5 ml 메탄올 및 8.5 ml 메틸렌 클로라이드 중에서 취하였다. 아세톤(95 ml)을 맑은 용액에 첨가하였다. 현탁액을 0℃에서 수 시간 동안 교반하고, 여과한다. 생성된 잔류물을 30℃에서 건조시켜 4.3 g의 표제 생성물인 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린(62%)을 얻었다. HPLC에 의한 순도는 98.9%이었다. NMR 분석에 기초하여 시스 이성질체 및 L-트레오 이성질체의 함유량은 각각 1% 미만이었다.

<sup>1</sup>H NMR ( $\delta$  ppm, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>4</sub>OD): 0.88 (6H, t, 2 x CH<sub>3</sub>), 1.25 (46H, m, 23 x CH<sub>2</sub>), 1.56 (2H, m, (C=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.99 (2H, m, CH=CHCH<sub>2</sub>), 2.14 (2H, t, (C=O)CH<sub>2</sub>), 3.24 (9H, br s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.68 (2H, m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 3.91 (2H, m, POCH<sub>2</sub>CH), 4.04 (1H, t, CHO, J 7.7 Hz), 4.14 (1H, m, CHN), 4.28 (2H, m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 5.42-5.46 (2H, dd, CHCH=CHCH<sub>2</sub>, J 15.3, 7.4 Hz), 5.65-5.70 (1H, dt, CHCH=CHCH<sub>2</sub>, J 14.6, 7.2 Hz)

[0457]

[0458]

**실시예 3: 파일럿 규모의 팔미토일 스펅고미엘린의 합성**

[0459]

**단계 1: Boc-L-Ser-OMe**

[0460]

32.2 kg L-Ser-OMe · HCl(206.97 mol)을 630 l 용기 내의 288 kg 에틸 아세테이트 중에 현탁시키고, 2℃로 냉각시켰다. 약 2℃에서의 액체 트리에틸아민(24.1 kg, 238.17 mol, 1.15 eq.)을 첨가한 후, 24 kg 에틸 아세테이트 중의 Boc<sub>2</sub>O(51.9 kg, 237.80 mol, 1.15 eq.)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 22℃로 가온시키고, 밤새 교반하였다. TLC 분석은 L-Ser-OMe · HCl의 함유량이 1% 미만인 것으로 나타났다. 114 l 정제수를 첨가하고, 상이 분리되었다. 114 l 정제수를 사용하여 세정을 2회 반복하였다. 3개의 수성상을 합하고, 102 kg 에틸 아세테이트로 추출하였다. TLC 분석은 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 2개의 유기 상을 합하고, 무수 상태로 60℃에서 증발시켰다. 88 kg 톨루엔을 잔류물에 첨가하고, 60℃에서 증류시켰다. 이러한 절차를 반복하였다. 미정제 Boc-L-Ser-OMe의 순도는 TLC 분석에 의하여 95-97%이었다.

[0461]

**단계 2: (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사줄리딘카르복실산 메틸에스테르**

[0462]

미정제 Boc-L-Ser-OMe(약 45.4 kg, 206.97 mol)를 630 l 용기 내에서 256 kg 테트라히드로푸란 중에 22℃에서 용해시켰다. 71.8 kg 2,2-디메톡시프로판(689.39 mol, 3.33 eq.)을 첨가한 후, 20 kg 테트라히드로푸란 중의 3.3 kg 벤젠술폰산(20.86 mol, 0.10 eq.)의 용액을 첨가하고, 20 kg 테트라히드로푸란으로 세정하였다. 반응 혼합물을 환류 가열하고, 210 l 테트라히드로푸란을 3 시간 이내에 증류시켰다. TLC 분석은 1-2%의 Boc-L-Ser-OMe의 함유량을 나타냈다. pH 6.5로의 중화는 1.0 kg 트리에틸아민(9.88 mol, 0.05 eq.)을 사용하여 22℃에서 수행하였다. 반응 혼합물을 무수 상태로 60℃에서 증발시킨 후 82 kg 헥산 및 26 l 정제수를 25℃에서 첨가하였다. 유기 상을 45 l 정제수로 세정하였다. TLC 분석은 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 유기 상을 무수 상태로 60℃에서 증발시켰다. 톨루엔(88 kg)을 잔류물에 첨가하고, 60℃에서 2회 증류시켰다. 생성물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사줄리딘카르복실산 메틸에스테르(48.89 kg, 188.55 mol, L-Ser-OMe · HCl로부터 수율 91%)를 황색 액체로서 분리하였다. 순도는 TLC 분석에 의하여 97%로 밝혀졌다. 건조시 손실율은 4.2%이었으며, 물 함유량은 0.1%이었다. 정제는 MS 및 <sup>1</sup>H NMR에 의하여 확인하였다.

[0463]

**단계 3: (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡스포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사줄리딘**

[0464]

100 l 용기를 15 kg 테트라히드로푸란으로 상태조절하고, 진공 하에 50℃에서 건조시켰다. 디메틸 메틸포스포네이트(4.6 kg, 37.07 mol, 2.00 eq)를 용기에 주입하고, 29 kg 테트라히드로푸란 중에 용해시켰다. 혼합물을

-75℃로 냉각시키고, 혼합물을 -70 내지 -75℃에서 유지하면서 헵탄 중의 25% n-부틸리튬 9.4 kg의 용액(2.34 kg n-부틸리튬, 36.58 mol, 1.98 eq)을 2 시간에 걸쳐 첨가한 후, 5 ℓ 헵탄으로 세정하였다. 1 시간 동안 교반한 후, 혼합물을 -70 내지 -75℃에서 유지하면서 4 kg 테트라히드로푸란 중의 4.8 kg 미정제 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 메틸에스테르(18.51 mol)의 용액을 1 시간에 걸쳐 첨가한 후, 5 ℓ 테트라히드로푸란으로 세정하였다. 반응 혼합물을 0℃로 40 분에 걸쳐 가온시키고, 30 분 동안 교반하였다.

[0465]

TLC 분석은 10-15%의 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-2,2-디메틸-4-옥사졸리딘카르복실산 메틸에스테르의 함유량을 나타냈다. 4.8 kg 테트라히드로푸란 중의 정제수 600 ml의 용액으로 켄칭을 20℃ 미만에서 수행하였다. 정제수 중의 20% 시트르산 일수화물의 용액 13 ℓ를 사용하여 20℃ 미만에서 pH를 6-7로 조절하였다. 10 ℓ 에틸 아세테이트를 첨가한 후, 상이 분리되었다. 수성상을 13 kg 에틸 아세테이트로 추출하였다. TLC 분석은 수성상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 2개의 유기 상을 합하고, 20 ℓ의 부피로 60℃에서 증발시켰다. 회전 증발기내에서 40℃에서 최종 건조는 7.2 kg(20.49 mol, 111%)의 표제 화합물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 황색 오일로서 얻었다. 순도는 TLC 분석에 의하여 약 70%이었다. 건조시 손실율은 14.4%이며, 물 함유량은 1.4%이었다. 정제는 MS에 의하여 확인하였다.

[0466]

**단계 4: (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘**

[0467]

(S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(2-(디메톡시포스포릴)-1-옥소-에틸)-2,2-디메틸옥사졸리딘(21.6 kg, 61.48 mol) 및 17.0 kg 탄산칼륨(123.0 mol, 2.00 eq.)을 22℃에서 250 ℓ 용기 내의 239 kg 아세트니트릴에 교반하면서 첨가하였다. 1-테트라데칸알(6.53 kg, 30.75 mol, 0.50 eq) 및 3.1 ℓ 정제수를 첨가하여 9.0의 pH를 얻었다. 반응을 밤새 진행되도록 한 후, TLC 분석은 5-10%의 1-테트라데칸알의 함유량 및 2%의 포스포네이트의 함유량을 나타냈다. 염을 여과하고, 270 ℓ 헥산으로 일부분씩 세정하였다. 합한 유기 상을 무수 상태로 60℃에서 증발시켰다. 잔류물을 48 kg 헥산 중에 용해시키고, 18 ℓ 정제수 중의 0.9 kg 염화나트륨의 용액으로 2회 세정하였다. TLC 분석은 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 유기 상을 무수 상태로 60℃에서 증발시키고, 75 kg 헥산 중에 용해시켰다. 증발기내에서 40℃에서 최종 건조에 의하여 16.9 kg(38.61 mol, 포스포네이트를 기준으로 63%)의 표제 화합물인 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 갈색 오일로서 얻었다. 순도는 검출 방법에 의존하여 TLC에 의하여 약 50-86%이었으며, HPLC 분석에 의하여 81%이었다. 건조시 손실율은 2.2%이었으며, 물 함유량은 0.05%이었다. 정제는 MS에 의하여 확인하였다.

[0468]

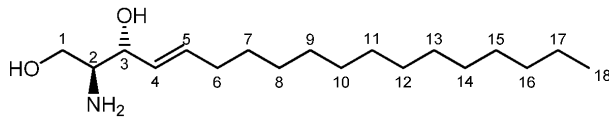
**단계 5: (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘**

[0469]

미정제 (S)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-옥소-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(16.9 kg, 38.61 mol) 및 15.8 kg 염화세륨 7수화물(42.49 mol, 1.10 eq.)을 1,000 ℓ 용기내의 305 kg 메탄올 중에서 교반하고, -18℃로 냉각시켰다. 8.8 ℓ 정제수 중의 2.19 kg 수소화붕소나트륨(57.89 mol, 1.50 eq.) 및 58 g 30% 가성 소다(0.44 mol)의 용액(0.2% 가성 소다를 생성함)을 0℃로 냉각시킨 후, 케톤에 5 시간에 걸쳐 첨가하였다. 추가의 30 분 교반 후, TLC 분석은 1% 미만의 케톤의 함유량을 나타냈다. 반응 혼합물을 22℃로 2 시간에 걸쳐 가온시킨 후, 1 시간 동안 교반하여 과잉의 수소화붕소나트륨을 탈활성화시켰다. 메탄올(320 ℓ)을 60℃에서 증류시켰다. 침전된 염을 여과하고, 44 kg 톨루엔으로 2개의 부분으로 세정하였다. 여과액을 2개의 상으로 분리하고, 수성상을 33 kg 톨루엔으로 2회 추출하였다. TLC 분석은 여과 잔류물 및 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 합한 유기 상을 77 ℓ 에틸 아세테이트로 희석하고, 39 ℓ 정제수, 3.9 kg EDTA 및 1.9 ℓ 30% 가성 소다의 혼합물로 세정한 후, 39 ℓ 정제수 중의 1.9 kg 염화나트륨으로 세정하였다. TLC 분석은 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 유기 상을 무수 상태로 60℃에서 증발시키고, 18 kg 톨루엔 중에 용해시켰다. 회전 증발기내에서 60℃에서 최종 건조시켜 15.95 kg(36.28 mol, 94%)의 표제 화합물인 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘을 황색 오일로서 얻었다. 순도는 검출 방법에 의존하여 TLC에 의하여 약 70-90%이었으며, HPLC 분석에 의하여 90%이었다. 건조시 손실율은 5.2%이며, 물 함유량은 0.05%이었다. 정제는 MS에 의하여 확인하였다.

[0470]

**단계 6: D-에리트르-스핑고신**



**D-에리트르-스핑고신**

[0471]

[0472]

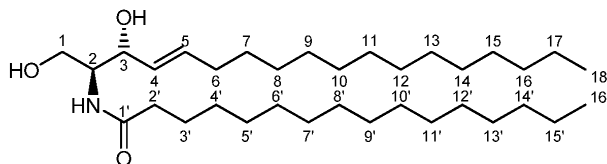
60 ℓ 용기내에서 24 kg 메탄올을 0℃로 냉각시켰다. 30 분에 걸쳐 5.69 kg 아세틸클로라이드(72.48 mol, 2.00 eq.)을 투입하였다. 그 후, 22℃로 가온시켜 메탄올성 염산염 용액을 생성하였다. 미정제 (2S,3R,4E)-3-(tert-부톡시카르보닐)-4-(1-히드록시-헥사데크-2-에닐)-2,2-디메틸옥사졸리딘(15.95 kg, 36.28 mol)을 160 ℓ 용기내의 31 kg 메탄올 중에 22℃에서 용해시켰다. 메탄올성 염산염 용액을 30 분에 걸쳐 첨가하였다. 7 시간 후, TLC 분석은 1% 미만의 출발 물질을 나타냈다. 반응을 10 kg 메탄올 중의 7.34 kg 트리에틸아민(72.54 mol, 2.00 eq.)의 용액으로 중화시켰다. 반응 혼합물을 무수 상태로 60℃에서 증발시키고, 105 kg 메틸렌 클로라이드, 31 kg 2-프로판올 및 40 ℓ 정제수 중에 용해시켰다. 상 분리후, 유기 상을 40 ℓ 정제수로 세정한 후, 40 ℓ 탈염수 및 7 kg 2-프로판올로 세정하였다. TLC 분석은 제3의 수성 상 중의 생성물을 제외하고 2개의 제1의 수성 상내의 생성물의 부재를 나타냈다. 생성물을 40 ℓ 메틸렌 클로라이드로 추출하였다. 합한 유기 상을 무수 상태로 60℃에서 증발시켰다. 잔류물을 33 kg 에틸 아세테이트 중에 현탁시키고, 다시 무수 상태로 증발시켰다. 결정화는 36 ℓ 에틸 아세테이트 및 7.2 ℓ 헥산의 혼합물로부터 -20℃에서 수행하였다. 생성된 고체를 여과하고, 7.2 ℓ 에틸 아세테이트 및 1.4 ℓ 헥산의 혼합물로 여러 부분으로 세정한 후, 7.2 ℓ의 순수한 에틸 아세테이트로 세정하였다. 30℃에서 건조시킨 후, 생성된 6.45 kg을 24 ℓ 에틸 아세테이트 및 8 ℓ 헥산의 혼합물로부터 -20℃에서 재결정시켰다. 고체를 여과하고, 4.8 ℓ 에틸 아세테이트 및 1.6 ℓ 헥산의 혼합물로 여러 부분으로 세정한 후, 6.4 ℓ의 순수한 에틸 아세테이트로 세정하였다. 30℃에서 건조시킨 후, 생성된 5.90 kg을 다시 16 ℓ 에틸 아세테이트 및 16 ℓ 헥산의 혼합물로부터 -20℃에서 재결정시켰다. 고체를 여과하고, 3.2 ℓ 에틸 아세테이트 및 3.2 ℓ 헥산의 혼합물로 여러 부분으로 세정하고, 6.4 ℓ 순수한 에틸 아세테이트로 세정하였다. 30℃에서의 최종 건조에 의하여 5.60 kg(18.71 mol, 52%)의 표제 화합물인 D-에리트르-스핑고신을 갈색 고체로서 얻었다. 순도는 HPTLC에 의하여서는 89.2%이었으며, HPLC 분석에 의하여서는 0.61% L-트레오-스핑고신과 함께 95.6%이었다. 건조시 손실율은 0.4%이며, 물 함유량은 0.6%이었다. 정체는 MS 및 <sup>1</sup>H NMR에 의하여 확인하였다.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, δ ppm, CDCl<sub>3</sub>), 위치: 0.88 (3H, t) 18, 1.2-1.3 (20H, m) 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17; 1.37 (2H, m) 7; 2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH) 6; 3.17 (1H, m, CHNH<sub>2</sub>) 2; 3.77 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH) 1; 4.34 (1H, m, CH(OH)CH) 3; 5.46 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OH)CH) 4; 5.79 (1H, dtd, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH) 5.

[0473]

[0474]

**단계 7: N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신**



**N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신**

[0475]

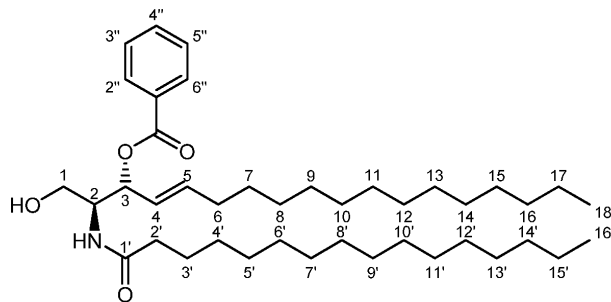
[0476]

5.50 kg D-에리트르-스핑고신(18.36 mol), 4.71 kg 팔미트산(18.37 mol, 1.00 eq.) 및 7.66 kg O-벤조트리아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로-포스페이트(20.20 mol, 1.10 eq.)를 250 ℓ 용기내에서 36 kg 디메틸포름아미드 및 118 kg 테트라히드로푸란 중에 현탁시키고, 2℃로 냉각시켰다. 5 ℓ 테트라히드로푸란 중의 트리에틸아민(5.06 kg, 50.00 mol, 2.72 eq.)을 첨가하여 pH 9.0으로 만들었다. 90 분 후, TLC 분석은 1% 미만의 D-에리트르-스핑고신의 함유량 및, 1.5% 미만의 팔미트산의 함유량을 나타냈다. 반응 혼합물을 22℃로 가온시켰다. 생성물을 89 kg 정제수 중의 4.7 kg 시트르산의 용액을 첨가하여 침전시켰다. 22℃에서 1 시간 후, 반응 혼합물을 여과하였다. 미정제 생성물을 154 ℓ 정제수 중에 1 시간 동안 22℃에서 현탁시켰다. 여과에 이어

서 28 ℓ 정제수로 3회, 28 ℓ 아세톤으로 3회 세정하였다. 현탁을 122 kg 아세톤 중에서 반복하고, 28 ℓ 아세톤으로 3회 세정하였다. 35℃에서의 최종 건조에 의하여 6.08 kg(11.31 mol, 62%)의 표제 화합물인 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신을 약한 황색 고체로서 얻었다. 순도는 HPTLC에 의하여 96.2%이었으며, HPLC 분석에 의하여 99.2%이었다. 건조시 손실율은 0.2%이며, 물 함유량은 0.3%이었다. 정제는 MS 및 <sup>1</sup>H NMR에 의하여 확인하였다.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, δ ppm, CDCl<sub>3</sub>): 0.88 (6H, t) 18, 16'; 1.2-1.4 (44H, m) 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 4', 5', 6', 7', 8', 9', 10', 11', 12', 13', 14', 15'; 1.37 (2H, m) 7; 1.64 (2H, m) 3'; 2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH) 6; 2.23 (2H, t, CH<sub>2</sub>CO) 2'; 3.71 (1H, dd, CHNH<sub>2</sub>) 2; 3.93 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH) 1; 4.31 (1H, m, CH(OH)CH) 3; 5.53 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OH)CH) 4; 5.79 (1H, dtd, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH) 5; 6.25 (1H, d) NH.

**단계 8: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신**



**N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신**

제1의 보호의 경우, 6.08 kg의 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신(11.31 mol)을 60 ℓ 용기내의 11.91 kg 피리딘 및 2.5 kg 메틸렌 클로라이드 중에 현탁시켰다. 9.5 kg 메틸렌 클로라이드 중의 트리틸 클로라이드(3.31 kg, 11.87 mol, 1.05 eq.)의 용액을 첨가한 후, 2.5 kg 메틸렌 클로라이드를 첨가하였다. 반응 혼합물을 25℃에서 56 시간 동안 교반하였다. TLC 분석은 3-5%의 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신의 함유량을 나타냈다.

제2의 단계의 경우 반응 혼합물을 2℃로 냉각시켰다. N,N-디메틸아미노피리딘(0.139 kg, 1.14 mol, 0.10 eq.) 및 2.38 kg 벤조일 클로라이드(16.93 mol, 1.50 eq.)를 혼합물에 첨가한 후, 5 kg 메틸렌 클로라이드를 첨가하였다. 2℃에서 90 분 후, TLC 분석은 1% 미만의 중간체 N-팔미토일-1-O-트리틸 D-에리트르-스핑고신의 함유량을 나타냈다. 워크업은 55 kg 에틸 아세테이트 및, 33 ℓ 정제수 중의 1.7 kg 시트르산 및 3.0 kg 염화나트륨의 용액을 사용하여 수행하였다. 유기 상을 다시 33 ℓ 정제수 중의 1.7 kg 시트르산 및 3.0 kg 염화나트륨의 용액으로 세정하고, 30 ℓ 정제수 중의 3.5 kg 염화나트륨의 용액으로 2회 세정하였다. TLC 분석은 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 유기 상을 무수 상태로 50℃에서 증발시켰다. 생성물인 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신을 함유하는 잔류물을 27 kg 톨루엔 중에 용해시킨 후, 무수 상태로 50℃에서 증발시켰다. 이러한 절차를 2회 반복하였다.

제3의 단계의 경우 이전의 반응으로부터의 잔류물을 67 kg 메탄올 및 161 kg 메틸렌 클로라이드 중에 용해시키고, 2℃로 냉각시켰다. 23 kg 메탄올 중의 파라-톨루엔 술폰산 일수화물(6.41 mol 0.57 eq.)의 용액을 사용하여 pH를 2.5로 조절하였다. 22℃로 가온시키고, 14 시간 동안 교반한 후, TLC 분석은 1% 미만의 중간체 N-팔미토일-1-O-트리틸-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신의 함유량을 나타냈다. 969 g 트리에틸아민(9.58 mol, 0.85 eq.)의 첨가는 pH를 7.0으로 증가시켰다. 반응 혼합물을 무수 상태로 50℃에서 증발시켰다. 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신을 69 kg 헥산 중에 40℃에서 현탁시키고, 0℃로 냉각시켰다. 40 분 후, 고체를 여과에 의하여 분리하고, 20 kg 헥산으로 세정하였다. 35℃에서 건조시켜 38 kg 메틸렌 클로라이드 중에 용해된 5.40 kg을 생성하였다. 이러한 용액을 175 kg 헥산 및 49 kg 에틸 아세테이트의 혼합물로 상태조절한 76 kg 실리카 겔 위에서 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 12 kg 메틸렌 클로라이드, 502 kg 헥산과 137 kg 에틸 아세테이트의 혼합물 및 482 kg 헥산과 647 kg 에틸 아세테이트의 혼합물을 사용한 용출을 수행하였다. 수집한 분획은 생성물을 함유하지 않았다. 생성물을 451 kg 헥산과 205 kg 에틸 아세테이트의 혼합물 및 802 kg 헥산과 547 kg 에틸 아세테이트의 혼합물로 용출시켰다. 용매를 50℃에서 증발시켰다. 생성된 잔류물을 24 ℓ 헥산 중에 40℃에서 현탁시키고, 0℃로 냉각시켰다. 45 분 후, 표제 생성물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑

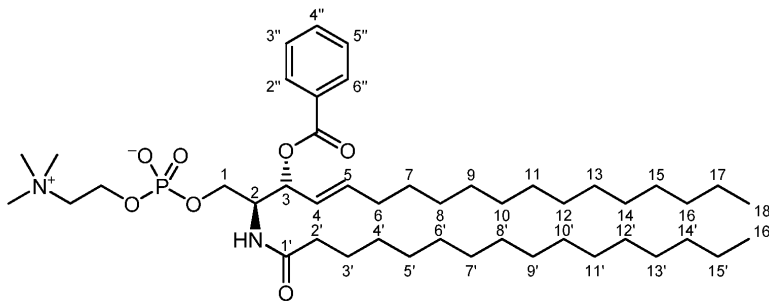
고신을 여과에 의하여 고체로 분리하였으며, 4.8 ℓ 헥산으로 여러 부분으로 세정하였다. 35℃에서 건조시켜 3.15 kg(4.91 mol, 43%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 얻었다. 순도는 HPTLC에 의하여 100.0%이었으며, HPLC 분석에 의하여 96.3%이었다. 건조시 손실율은 0.05%이며, 물 함유량은 0.2%이었다. 정제는 MS 및  $^1\text{H}$  NMR에 의하여 확인하였다.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.88 (6H, t) 18, 16'; 1.2-1.4 (44H, m) 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 4', 5', 6', 7', 8', 9', 10', 11', 12', 13', 14', 15'; 1.35 (2H, m) 7; 1.61 (2H, m) 3'; 2.05 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 6; 2.19 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ) 2'; 3.71 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ) 1; 4.27 (1H, m,  $\text{CHNH}$ ) 2; 5.54 (1H, t,  $\text{CH}(\text{OCOPh})\text{CH}$ ) 3; 5.62 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz,  $\text{CH}(\text{OCOPh})\text{CH}$ ) 4; 5.85 (1H, dtd, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 5; 6.05 (1H, d) NH; 7.46 (2H, dd, J 7.6, 7.2 Hz) 3'', 5''; 7.59 (1H, dd, J 7.6, 7.6 Hz) 4''; 8.04 (2H, d, J 7.2 Hz) 2'', 6''.

[0483]

[0484]

**단계 9: N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린**



**N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린**

[0485]

[0486]

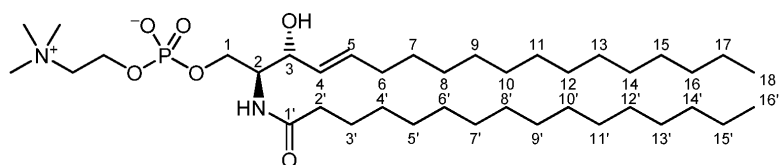
1.60 kg N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(2.50 mol) 및 0.20 kg 테트라메틸에틸렌디아민 (TMEDA)(1.73 mol, 0.69 eq.)을 100 ℓ 용기내에서 38 ℓ 톨루엔 중에 35℃에서 용해시켰다. 6℃로 냉각시킨 후, 1 ℓ 아세트니트릴 중의 2-클로로-2-옥소-1,3,2-디옥사포스폴란(CCP)(0.47 kg, 3.30 mol, 1.32 eq.)의 용액을 15 분 동안 첨가한 후, 3 ℓ 아세트니트릴을 첨가하였다. 반응 혼합물을 22℃로 가온시켰다. 교반을 2 시간 동안 지속하였다. TLC 분석은 0.5% 미만의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신의 함유량을 나타냈다. 32 ℓ 아세트니트릴의 첨가 후, 온도를 -10℃로 감온시켰다. 기체 트리메틸아민을 그의 비점 미만으로 냉각시키고, 생성된 액체 트리메틸아민(7.42 kg, 125.53 mol, 50.21 eq.)을 투입하였다. 그 다음 반응 단계는 65℃로 15 시간 동안 가열하여 개시하였다. TLC 분석은 0.5% 미만의 중간체 고리의 함유량을 나타냈다. 생성물을 -30℃로 냉각시켜 결정화시키고, 여과에 의하여 분리하고, 후에 13 ℓ 아세트니트릴로 세정하였다. 35℃에서 건조시켜 1.85 kg의 회백색 고체를 얻었다. 1.58 kg N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고신(2.45 mol)을 사용하여 반응을 반복하여 또 다른 1.82 kg 미정제 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 얻었다. 미정제 물질 모두를 합하고, 29 ℓ 메틸렌 클로라이드 및 14.5 ℓ 메탄올 중에 용해시켰다. 이 용액을 337 kg 메틸렌 클로라이드 및 33 kg 메탄올의 혼합물로 상태조절한 72 kg 실리카 겔 위에서 크로마토그래피에 의하여 정제하였다. 966 kg 메틸렌 클로라이드와 95 kg 메탄올의 혼합물, 1,866 kg 메틸렌 클로라이드와 223 kg 메탄올의 혼합물, 328 kg 메틸렌 클로라이드와 82 kg 메탄올의 혼합물, 1,345 kg 메틸렌 클로라이드와 268 kg 메탄올의 혼합물, 530 kg 메틸렌 클로라이드와 158 kg 메탄올의 혼합물 및 371 kg 메틸렌 클로라이드와 221 kg 메탄올의 혼합물을 사용한 용출을 수행하였다. 수집한 분획의 부피는 140 ℓ 이었다. 분획 17-38의 용매를 50℃에서 증류시켰다. 회전 증발기에서 40℃에서 최종 건조시켜 3.36 kg(건조물 기준으로 2.92 kg, 3.61 mol, 73%)의 표제 화합물인 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린을 약간 황색 고체로서 얻었다. 순도는 HPTLC에 의하여 99.5%이며, HPLC 분석에 의하여 98.7%이었다. 건조시 손실율은 11.5%이며, 물 함유량은 1.7%이었다. 정제는 MS 및  $^1\text{H}$  NMR에 의하여 확인하였다.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.88 (6H, t) 18, 16'; 1.2-1.4 (44H, m) 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 4', 5', 6', 7', 8', 9', 10', 11', 12', 13', 14', 15'; 1.35 (2H, m) 7; 1.61 (2H, m) 3'; 2.05 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 6; 2.19 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ) 2'; 3.71 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ) 1; 4.27 (1H, m,  $\text{CHNH}$ ) 2; 5.54 (1H, t,  $\text{CH}(\text{OCOPh})\text{CH}$ ) 3; 5.62 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz,  $\text{CH}(\text{OCOPh})\text{CH}$ ) 4; 5.85 (1H, dtd, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 5; 6.05 (1H, d) NH; 7.46 (2H, dd, J 7.6, 7.2 Hz) 3'', 5''; 7.59 (1H, dd, J 7.6, 7.6 Hz) 4''; 8.04 (2H, d, J 7.2 Hz) 2'', 6''.

[0487]

[0488]

단계 10: N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린



N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린

[0489]

[0490]

3.36 kg N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린 (건조물 기준으로 2.92 kg, 3.61 mol)을 회전 증발기내에서 22℃에서 10 ℓ 메탄올 중에 용해시키고, 5 ℓ 메탄올의 70 ℓ 용기에 옮겼다. 메탄올 중의 나트륨 메톡시드의 용액 138 ml(30%, 0.75 mol, 0.21 eq.)를 사용하여 pH를 11.5로 조절하였다. 교반을 23 시간 동안 22℃에서 지속하였다. TLC 분석은 0.5% 미만의 N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트로-스핑고미엘린의 함유량을 나타냈다. 31 ℓ 메틸렌 클로라이드 및 13 ℓ 정제수의 투입 후 상 분리가 발생하였다. 8 ℓ 메탄올, 8 ℓ 정제수 및 55 ml 1M 염산을 사용하여 유기 상을 pH 7.0로 중화시켰다. TLC 분석은 수성 상 중의 생성물의 부재를 나타냈다. 유기 상을 무수 상태로 35℃에서 증발시켰다. 잔류물을 6 ℓ 2-프로판올로 2회, 12 ℓ 메틸렌 클로라이드로 2회 동시증발시켰다. 미정제 생성물을 2.6 ℓ 메탄올 및 2.6 ℓ 메틸렌 클로라이드 중에 용해시키고, 0.2  $\mu\text{m}$  필터에 여과하고, 1.2 ℓ 메탄올 및 1.2 ℓ 메틸렌 클로라이드로 세정하였다. 42 ℓ 아세톤을 첨가하여 결정화를 유발시키고, 0℃로 냉각시켰다. 15 시간 후, 침전물을 분리하고, 24 ℓ 아세톤으로 4개의 부분으로 세정하였다. 젖은 생성물을 22℃에서 2.5 시간 동안 19 ℓ 아세톤 중에 현탁시켰다. 분리 및 12 ℓ 아세톤을 4개의 부분으로 나누어 세정 후, 30℃에서 46 시간 동안 건조시켜 마무리하였다. 2.29 kg(3.25 mol, 90%)의 N-팔미토일-D-에리트로-스핑고미엘린을 백색 분말로서 얻었다. 순도는 HPTLC에 의하여 99.2%이며, HPLC 분석에 의하여 99.0%이었다. 물 함유량은 0.7%이었다. 정제는 MS 및  $^1\text{H}$  NMR에 의하여 확인하였다.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.88 (6H, t)18, 16'; 1.2-1.3 (46H, m) 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 4', 5', 6', 7', 8', 9', 10', 11', 12', 13', 14', 15'; 1.57 (2H, m) 3'; 1.99 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 6; 2.15 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ) 2'; 3.23 (9H, s,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ; 3.65 (2H, m,  $\text{POCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{CH}_2\text{N}$ ; 3.91 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OP}$ ) 1; 4.05 (1H, t, J 7.7 Hz,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}$ ) 3; 4.15 (1H, m,  $\text{CHNH}$ ) 2; 4.26 (2H, m,  $\text{POCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{POCH}_2$ ; 5.45 (1H, dd, J 15.3 Hz, 7.4 Hz,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}$ ) 4; 5.69 (1H, dt, J 14.6 Hz, 7.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 5.

[0491]

[0492]

하기 표 1은 120-g 규모(실시예 2)에서의 수율 및 /중간체/생성물 특징을 나타낸다. 하기 표 2는 2-kg 규모(실시예 3)에 대한 결과를 나타낸다.

표 1

반응 출발 물질	반응 생성물	수율	HPLC	HPTLC	LoD	KF
D-에리트르-스핑고신	N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신	91.6%	98.4%	99.0%	0.1%	0.2%
N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신	N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신	57.9%	97.1%	-	0.2%	0.2%
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신	N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린	14.2%	99.0%	98.8%	3.2%	2.8%
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린	N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린	68.5%	98.6%	99.4%	-	4.4%

LoD = 건조시 손실율, KF = 수분 함유량

표 2

반응 출발 물질	반응 생성물	수율	HPLC	HPTLC	LoD	KF
D-에리트르-스핑고신	N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신	61.6%	99.2%	96.2%	0.2%	0.3%
N-팔미토일-D-에리트르-스핑고신	N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신	43.4%	96.3%	100.0%	0.05%	0.2%
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고신	N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린	72.7%	99.0%	99.5%	11.5%	1.7%
N-팔미토일-3-O-벤조일-D-에리트르-스핑고미엘린	N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린	90.1%	99.0%	99.2%	< 250 ppm	0.7%

LoD = 건조시 손실율, KF = 수분 함유량

#### 실시예 4: 천연 생성물인 예그 스팅고미엘린을 사용한 광학 순도, 정체 및 절대 배치의 확인

NMR 스펙트럼은  $^1\text{H}$ 의 경우 500 MHz에서 및  $^{13}\text{C}$ 의 경우 125 MHz에서 작동하며, 5 mm 3중 공명 탐침 및 z축 구배가 장착된 배리언 이노바(Varian Inova) 분광계를 사용하여 얻었다. 용매는 클로로포름-d이었으며, 온도는 25°C이었다.  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$ 에 대한 화학적 이동은 테트라메틸실란 스케일에 대하여 잔류 용매 시그널,  $^1\text{H}$ 의 경우 7.27 ppm 및  $^{13}\text{C}$ 의 경우 77 ppm을 기준으로 하였다.

양성자 스펙트럼은 4 과도(transient), 90° 펄스로 18 내지 -1 ppm의 스펙트럼 윈도우에서 구하였다. 획득 시간은 5 s이었으며, 이완 지연은 5 s이었다. FID에서 94842 포인트를 스펙트럼에서 131072 포인트로 변환하였으며, 아포디제이션(apodization)은 없었다.

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHMBACD 스펙트럼은  $^{13}\text{C}$ 에서의 단일 펄스를 사용하여 표준 배리언 펄스 시퀀스로 얻었으며, 이를 8 Hz의 커플링 상수에 대하여 최적화시켰다. 양성자 차원에서 4096 포인트를 1.24 내지 8.74 ppm의 3755 Hz의 분광 윈도우에 걸쳐 얻었으며, 이를 스펙트럼에서의 동일수의 포인트로 변환시키고, 이동된 가우스 함수(gf=0.277, gfs=0.126)로 계량하였다. 탄소 차원에서, 2\*512 증분은 10 내지 190 ppm의 분광 윈도우에 걸쳐 각각 1 과도로 구하였으며, 이동된 가우스 함수(gf=0.019, gfs=0.005)를 사용하여 4096 포인트로 변환시켰다. 이완 지연은 1 s이었다.

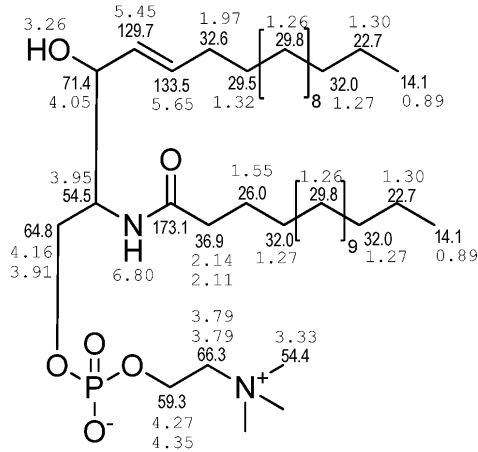
#### N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린에서의 화학적 이동 할당

화학적 이동 할당은 DQCOSY 스펙트럼에서 나타난  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  커플링 및  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gHSQC 및 gHMBC 스펙트럼에서 나타난 1-결합 및 장 범위에 기초한다. 할당은 하기 반응식 XV에 제시한다:

[0501]

<반응식 XV>

25 °C에서 클로로포름-*d* 중의 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린에서의 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C 화학적 이동의 할당



[0502]

[0503]

할당은 아마이드 양성자이어야만 하는 탄소에 결합되지 않은 6.80에서의 양성자로 개시하였다. gDQCOSY 스펙트럼은 스핑고신 주쇄의 시퀀스 6.80-3.95-4.05-5.45-5.65-1.97인 것으로 밝혀졌다. gHSQC 스펙트럼에서 나타난 3개의 메틸렌 기 중에서, 1개는 3.33에서 트리메틸아미노 양성자와 커플링되는 66.3에서의 탄소를 갖는다. 3.79에서의 그의 양성자는 4.27 및 4.53에서의 양성자와 커플링된다. 나머지 메틸렌 기 4.16의 양성자 중 하나는 실제로 3.95와의 커플링을 나타낸다. 아마이드 탄소는 2.14 및 2.11에서의 양성자와 크로스-피크를 나타낸다.

[0504]

에그 및 합성 스핑고미엘린의 비교

[0505]

적분의 정확도를 최대도 하기 위하여, 3개의 샘플에 대한 양성자 스펙트럼을 64 과도, 45° 펄스로 14 내지 -1 ppm의 분광 윈도우로 얻었다. 획득 시간은 5 s이었으며, 이완 지연은 15 s이었다. FID에서의 79872 포인트는 스펙트럼에서의 131072 포인트로 변환시키고, 아포디제이션은 없었다.

[0506]

본 발명의 방법에 의하여 합성된 것 및 에그로부터의 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린에 대한 <sup>1</sup>H 스펙트럼은 도 1-3에 제시한다. 적분은 3.33 ppm(9H)에서의 트리메틸아미노 기의 시그날을 기준으로 한다. 도 1에서의 2.58 및 도 2 및 도 3에서의 3.00에서의 시그날은 물이다. 2개의 합성 샘플은 동일하며, 적분 정확도내에서 약 1%이다. 천연 샘플은 더 짧은 평균 알킬 쇄를 가지며, 일부 불순물은 NH 및 알켄 시그날에 대하여 뚜렷하다.

[0507]

스핑고신 주쇄는 2개의 키랄 탄소를 갖는데, 이는 4종의 입체이성질체의 가능성을 갖는다. 합성 샘플은 부분입체이성질체의 혼합물에 대하여 예상되는 시그날의 2배를 나타내지 않는다. 에그 스핑고미엘린에 대하여서는 상기 평가를 실시하지 않았는데, 그 이유는 혼합물이기 때문이다. 거울상이성질체 순도를 확인하기 위하여, 본 발명의 방법에 의하여 합성된 것 및 에그로부터의 N-팔미토일-D-에리트르-스핑고미엘린의 샘플을 과잉의 R-메톡시페닐아세트산(R-MPA), 디시클로헥실카르보다이미드(DCC) 및 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 시험관내에서 처리하였으며, 영역 5.20-5.95 ppm을 조사하였으며, 도 4-6에 제시한다. 5.42에서의 삼중선(도 5)은 H3이며(표 3에서의 캡션 참조), 5.49에서의 이중선의 이중선은 H4이며, 5.73에서의 삼중선의 이중선은 H5이다. 도 4는 반응 혼합물이 숙성됨에 따라 5.53에서 이중선의 증가를 나타내며, 이러한 이중선은 또한 도 6에서 알 수 있다. 기타 이들 시그날에서, 에스테르의 시그날의 5% 초과한 시그날이 존재하지 않으므로, 샘플의 거울상이성질체 순도는 95% 이상에서 나타나는 것으로 측정되며, 즉 샘플은 약 5% 이하의 그의 해당 반대 거울상이성질체를 함유하는 것으로 측정되었다. 3종 샘플 모두의 절대 배치는 동일한데, 그 이유는 그의 R-MPA 에스테르에서의 H3-H5의 시그날이 동일한 화학적 이동을 갖기 때문이다.

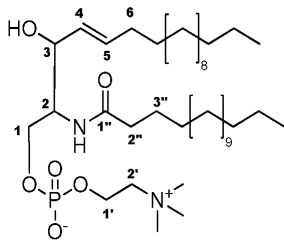
[0508]

절대 배치의 측정

[0509]

절대 배치를 입증하기 위하여, 에그로부터 1 당량의 팔미토일 스핑고미엘린을 NMR 시험관내에서 R-(-)-α-메톡시페닐아세트산(R-MPA) 및 S-(+)-α-메톡시페닐아세트산(S-MPA)의 라세미 혼합물 1.2 당량, 디시클로헥실카르보다이미드(DCC) 1.2 당량 및 4-디메틸아미노피리딘(DMAP) 촉매량으로 처리하였다. 도 7(맨 아래)은 이러한 반응

혼합물의  $^1\text{H}$  NMR 스펙트럼을 나타낸다. 또한, 도 7은 R-MPA(맨 위)에서 H2 수소 피크의 선택적 여기를 나타내는 ID-TOCSY(1 차원-전체 보정 분광학) 스펙트럼을 도시하며, S-MPA(중양) 에스테르는 맨 위에 있다. ID-TOCSY 스펙트럼에서 측정된 DdRS는 하기 표 3에 제시한다.



**표 3**

에그 스펙고미엘린에서의 **DdRS**

위치	1a	1b	2	3	4	5	6	NH
알콜	4.16	3.91	3.95	4.05	5.45	5.65	1.97	6.8
R-MPA	3.85	3.45	4.21	5.39	5.47	5.73	1.97	7.54
S-MPA	3.97	3.97	4.3	5.39	5.26	5.44	1.82	7.4
DdRS	-0.12	-0.52	-0.09	0	0.21	0.29	0.15	0.14

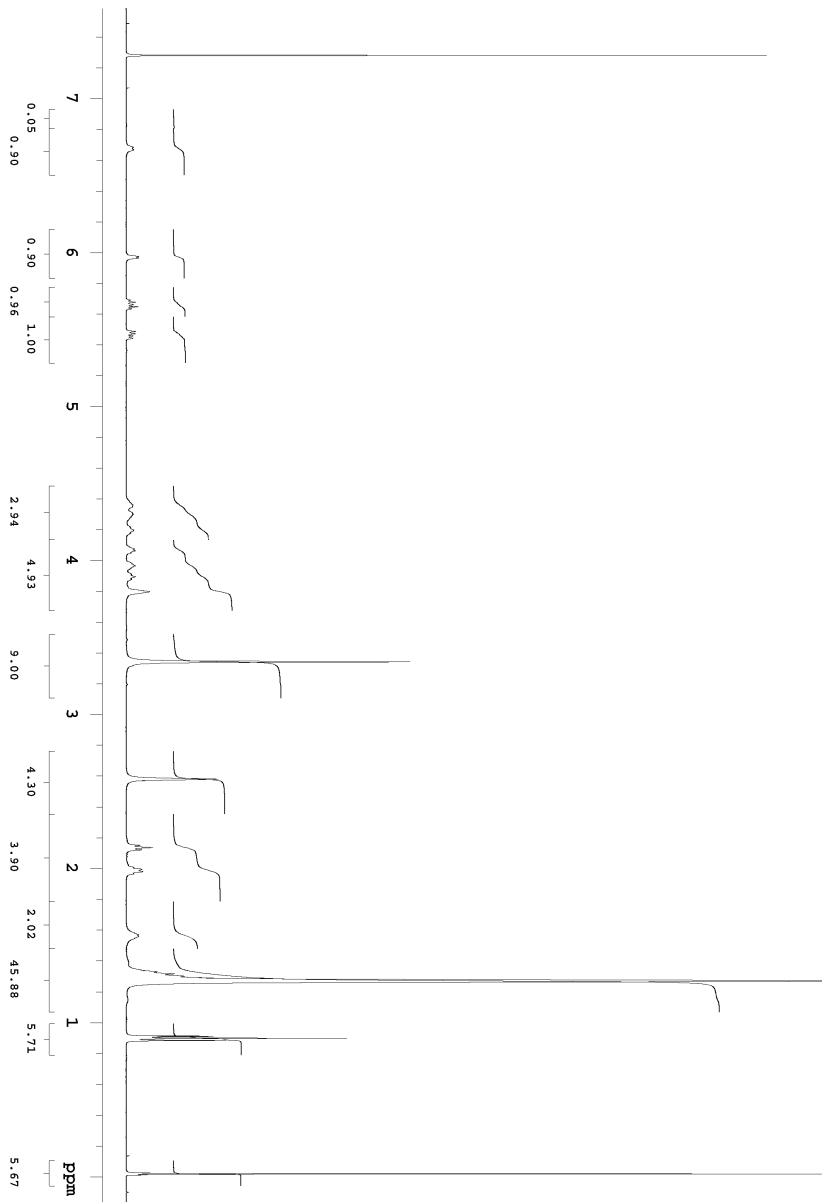
H4-H6에 대한 양의 DdRS 및 H1a, H1b 및 H2에 대한 음의 DdRS는 C3에서의 절대 배치가 R이라는 것을 나타낸다.

본 발명은 본 발명의 일부 양태의 예시로서 의도하는 실시예에 개시된 특정 실시형태에 의한 범주로 한정되지 않아야 하며, 기능적으로 등가인 임의의 실시형태도 본 발명의 범주에 포함된다. 사실상, 본원에 제시 및 기재된 것 이외에 본 발명의 각종 변형에는 당업자에게 자명할 것이며, 첨부된 청구범위 내에 포함시키고자 한다.

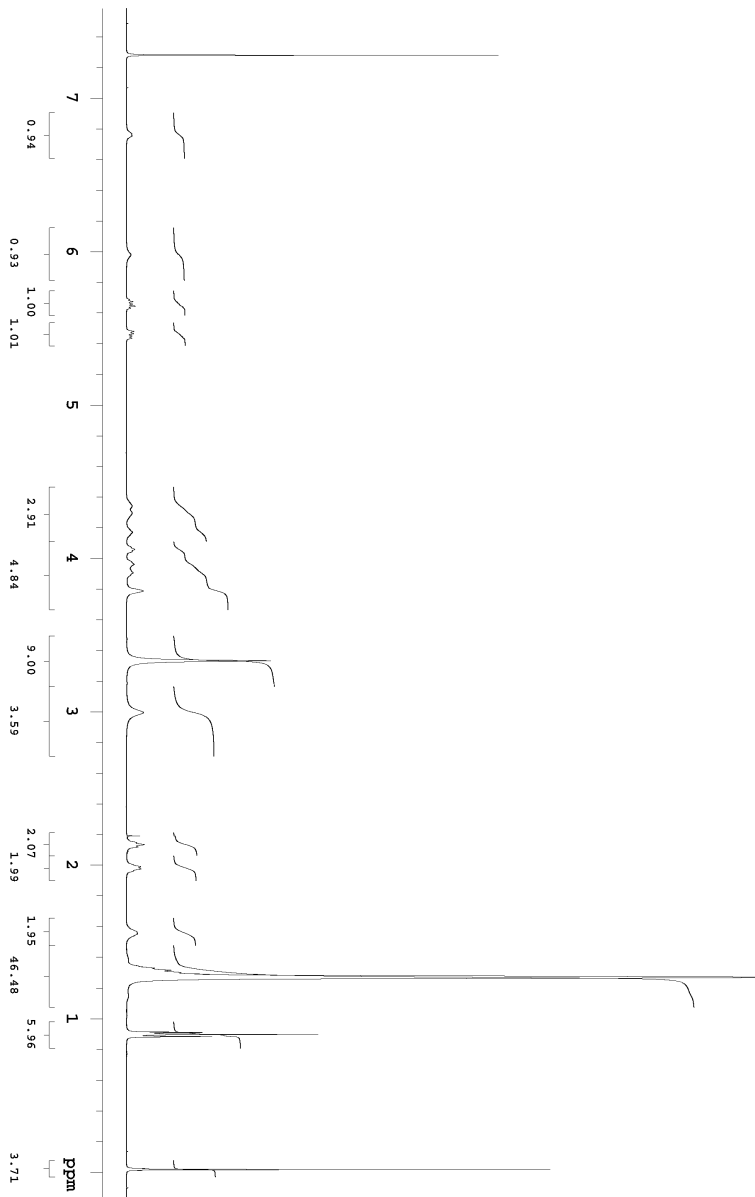
본원에 개시된 각각의 참조 문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

도면

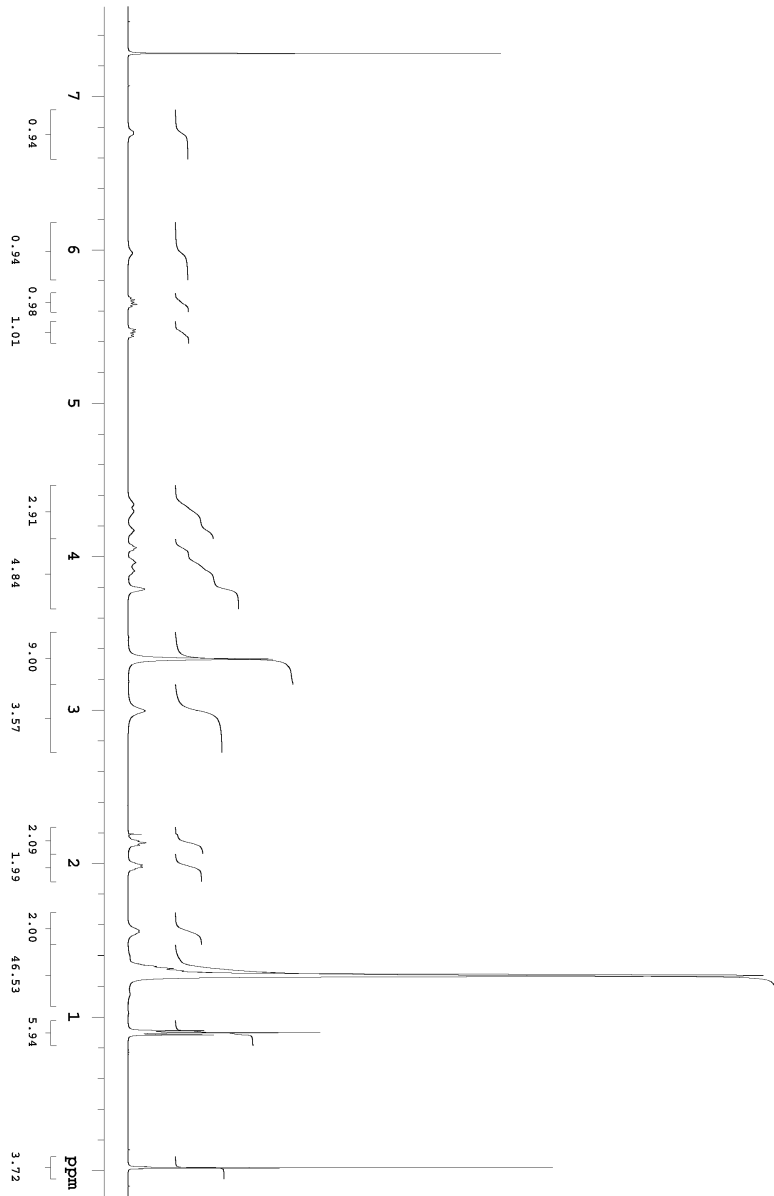
도면1



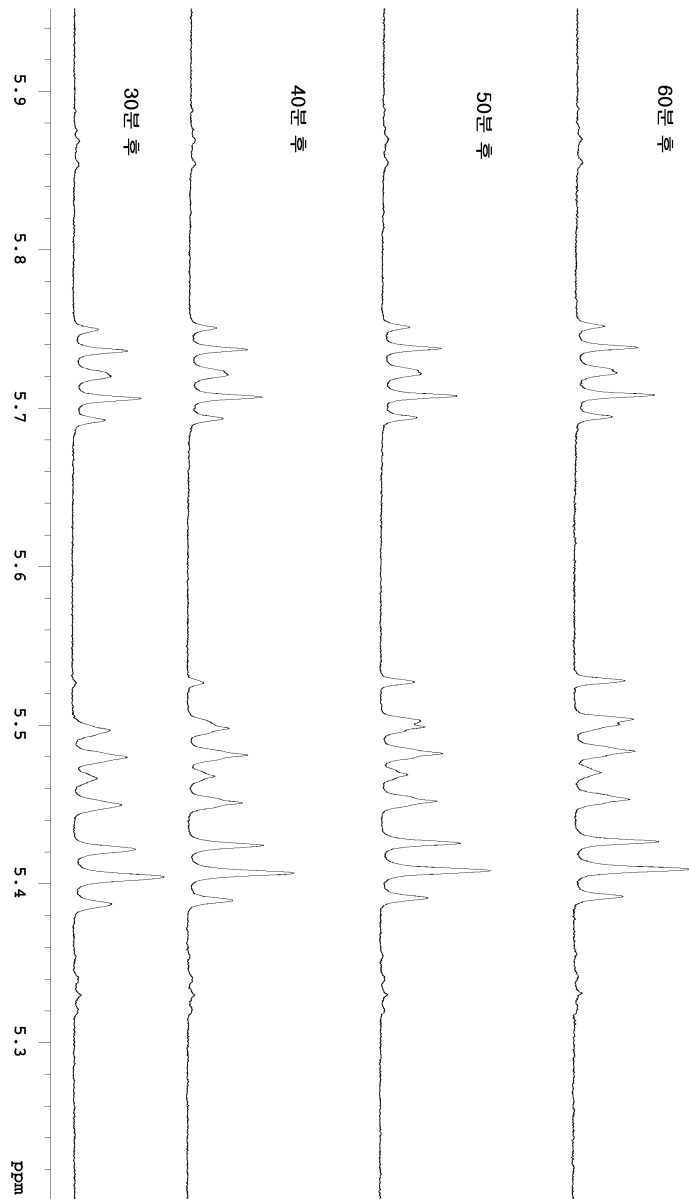
도면2



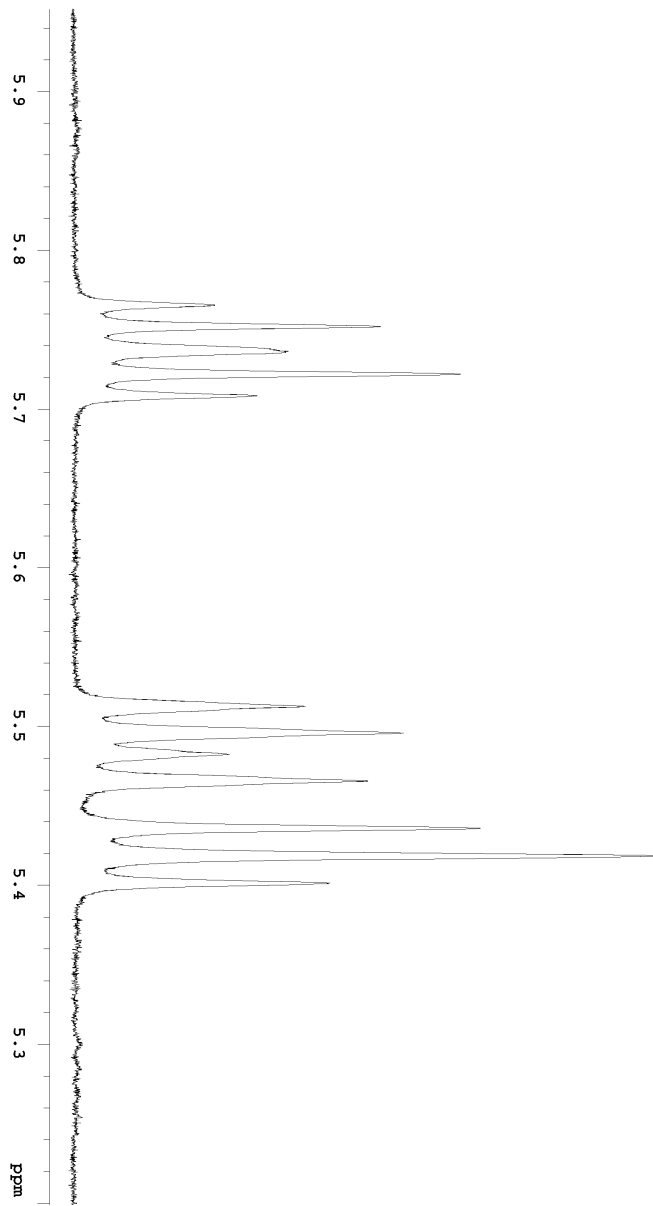
도면3



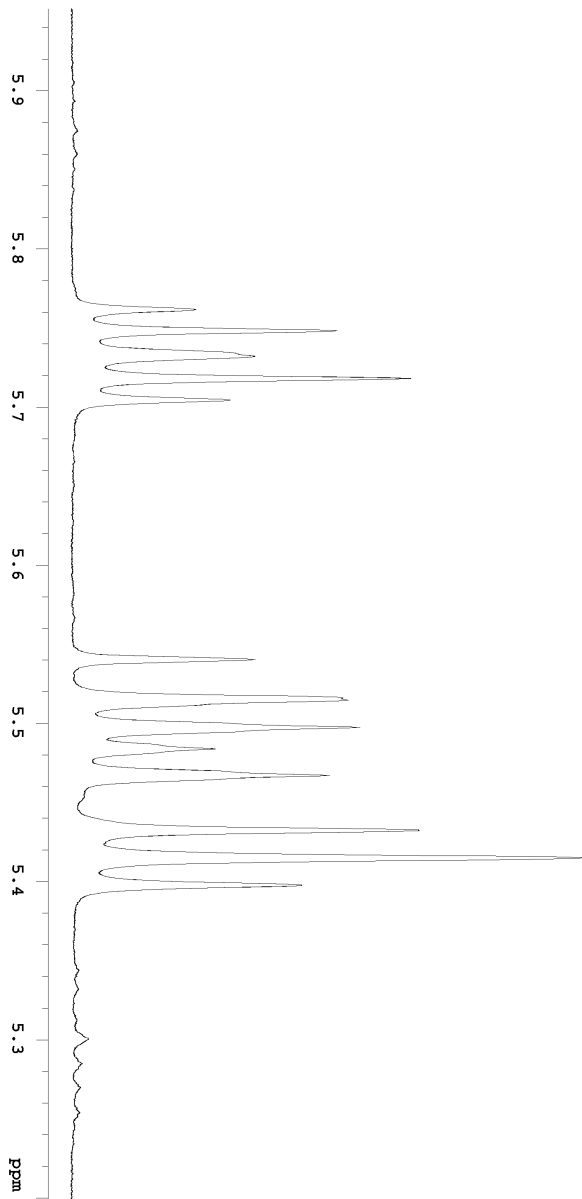
도면4



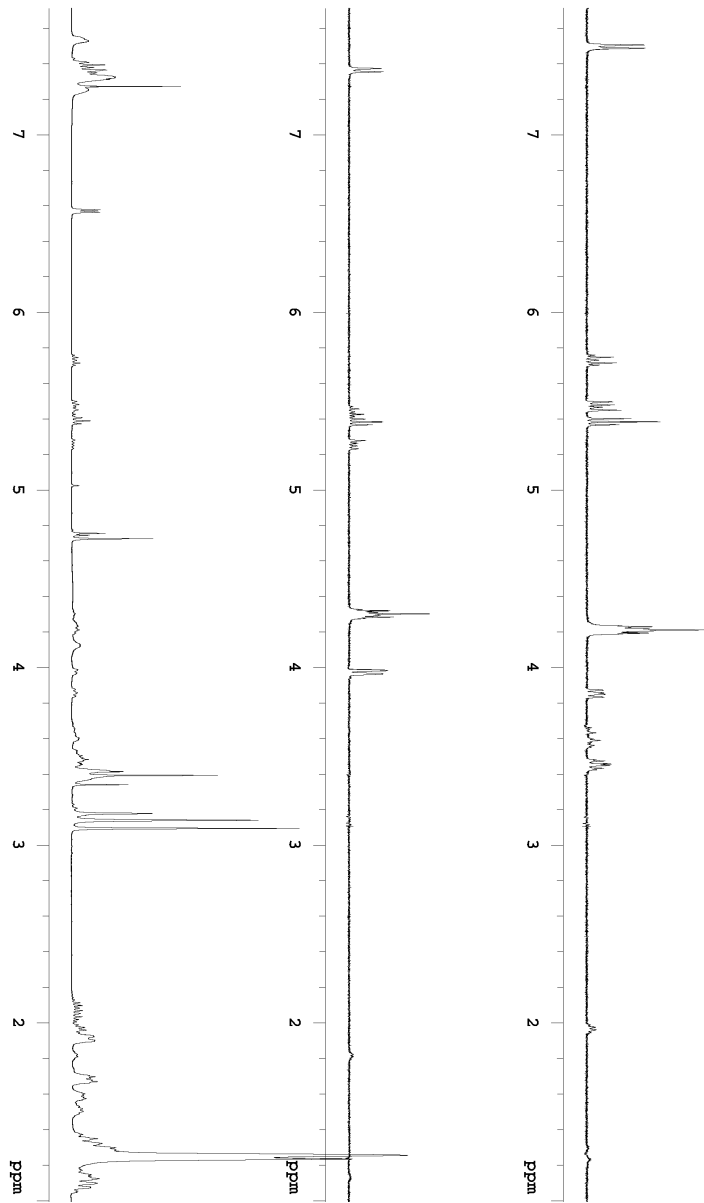
도면5



도면6



도면7



도면8

