

# (19)대한민국특허청(KR)

## (12) 등록특허공보(B1)

|                                          |                                     |                                          |
|------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------|
| (51) Int. Cl. <sup>7</sup><br>C07H 15/10 | (45) 공고일자<br>(11) 등록번호<br>(24) 등록일자 | 2005년12월28일<br>10-0539197<br>2005년12월21일 |
|------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------|

|             |                   |             |                 |
|-------------|-------------------|-------------|-----------------|
| (21) 출원번호   | 10-2000-7000384   | (65) 공개번호   | 10-2001-0021820 |
| (22) 출원일자   | 2000년01월13일       | (43) 공개일자   | 2001년03월15일     |
| 번역문 제출일자    | 2000년01월13일       |             |                 |
| (86) 국제출원번호 | PCT/EP1999/003250 | (87) 국제공개번호 | WO 1999/58542   |
| 국제출원일자      | 1999년05월07일       | 국제공개일자      | 1999년11월18일     |

(81) 지정국

    국내특허 : 브라질, 중국, 일본, 대한민국, 미국,

    EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

(30) 우선권주장      98201647.9      1998년05월14일      유럽특허청(EPO)(EP)

(73) 특허권자      코스모페름 베.파우  
    네덜란드 2611 엑스티 델프트 워터링스웨그 1

(72) 발명자      웨베르피에테르기스베르트  
    네덜란드왕국엔엘-2985비엔리드데르케르크스타린그라안34

    드브르옴에릭  
    네덜란드왕국엔엘-2213제이엠레이텐드메이반스트리프케르크스트라아  
    트65

(74) 대리인      장용식  
    박종혁

심사관 : 조경주

### (54) 아미노알코올의 아실화 방법

#### 요약

본 발명은 산할로젠화물의 형태의 유기산을 사용하는 아미노알코올의 N-아실화를 위한 개선된 방법을 개시하며, 여기서 아실화는 물의 추가적인 존재하에 유기용매중에서 일어난다.

#### 색인어

산할로젠화물, 아미노알코올, 아실화, 유기산, 유기용매, 산소작용기, 히드록실 관능기, 스펅고이드염기

#### 명세서

## 기술분야

본 발명은 아미노알코올의 아실화 분야에 관한 것이다.

## 배경기술

세라미드는 피부의 상부층인, 각질층의 주 지질성분이다. 이 피부층은 피부에서 수분의 손실을 제한하는 반면에 외부 화합물을 일반적으로 못 들어오게 하는 중요한 관문 기능을 가진다. 세라미드는 예를 들면 피부상에서 수분을 유지하는 효과들 때문에 화장품에 적용된다.

전형적으로, 화장품에 사용하는 세라미드는 천연공급원으로부터, 화학적 합성 경로들에 의해 또는 발효적 및 화학적 합성의 조합공정에 의하여 얻어진다. 후자의 경로들은, 잠재적으로 유해한 감염체들이 포유류 공급원에 존재할 수 있다는 사실 때문에 바람직하다.

세라미드를 합성하는 다양한 방법들은 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 가장 자주 사용되는 방법은 출발물질로서 스펅고이드 염기 및 적합한 지방산 성분을 포함한다. 그 때문에 지방산 성분은 아미드 결합에 의하여 스펅고이드 염기의 아미노기에 결합된다.

아미노알코올의 아실화에 의해 지방산이 혼성 무수물로서 아미노기에 커플링되는 것이 WO 93/20038에 개시되어 있다. 혼성 무수물을 사용하는 이 반응은 본질적으로 비-수성 조건하에서 일어나는 것이 필수적이다.

Philippe *et al.* (Int.J.Cosm.Sci.17, 133-146, 1995)에는 용매로서 테트라히드로푸란(THF)을 그리고 유기 염기로서 트리에틸아민을 사용하여, 지방산이 산할로겐화물로서 아민에 커플링되는 아실화 방법이 개시되어 있다. 이 방법에서, 커플링 반응은 또한 비-수성 환경에서 일어난다.

비-수성 조건에 대한 요구는 하나 또는 두 출발 화합물이 물-함유 물질로서 송달되는 그런 경우에는 중요한 단점이다. 예를 들면, 스펅고이드 염기가 미생물의 발효 과정으로부터 생성된 젖은 결정 케이크 내에 함유되어 있는 경우이다.

상기 기재된 방법들의 추가의 단점은 그것들은 단지 보통의 생성물 수율을 가져온다는 것이다.

더 다른 아실화 방법으로 THF를 동부피의 50% NaAc용액과 혼합한 용매 시스템을 적용하는 것이 공지되어 있다(EP 212400 참조). 물이 이 시스템에 존재할지라도, 추가적인 높은 염농도가 요구된다. 높은 염농도는 비용이 들고 폐기물 부담을 증가시킨다는 점에서 바람직하지 않다.

그러므로 추가적으로 높은 염농도를 요구하지 않고, 현재 공지된 방법들보다 높은 생성물 수율을 얻으며, 스펅고이드 염기 반응물에 본질적으로 물이 없을 것을 요구하지 않는 아실화 방법이 적용될 수 있는 것이 바람직하다.

## 발명의 상세한 설명

본 발명은 산할로겐화물의 형태로 된 지방산을 사용하는 아미노알코올의 아실화 방법을 개시하는데, 여기서 커플링은 추가적인 물의 존재하에 유기용매에서 일어난다.

반응 혼합물에 물이 존재한다는 사실은 여러가지 중요한 장점들을 가진다. 예를 들면, 아미노알코올 반응물을 아실화 방법에 적용하기 전에 건조시킬 필요가 없다. 이것은 아미노알코올, 예를 들면 스펅고이드 염기가, 미생물의 발효에 의하여 또는 수성 분위기에서 일어나는 반응으로부터의 생성물로서 얻어질 때 특히 유리하다. 게다가, 이 과정에서 pH는 잠재적으로 위험한 유기 염기 대신에, NaOH와 같은 단순한 미네랄 염기를 사용하여 유리하게 제어될 수 있다.

본 발명의 방법은 또한 EP 212400에 개시된 방법의 경우와 같이, 높은 염농도의 사용도 요구되지 않고, WO93/20038에 개시된 방법의 경우와 같이, 보조 화학물질의 화학양론적 양의 사용도 요구되지 않는다. 더 중요한 장점은 아실화된 반응 생성물이 단순히 물로 유기상을 세척한 다음 물의 공비 제거 및 결정화에 의해 유기상으로부터 회수된다는 것이다. 예상치 않게, 본 발명의 방법은 WO 93/20038에서 또는 Philippe *et al.*에 의해 얻어진 수율보다 상당히 더 높은 수율로 아실화된 아미노알코올을 제공한다. 게다가, 생성물은 고순도를 가진다. 즉, O-아실화가 단지 매우 작은 정도로 일어나기 때문에, 어떠한 바람직하지 않은 부산물을 함유하지 않는다.

본 발명의 방법에서, 아미노알코올은 화학식 RCOOH의 유기산으로 아실화되며, 유기산은 산할로젠화물의 형태이고, 상기 방법은 다음 단계들로 이루어진다:

- 유기용매 1 부피에 대하여 물 0.01 내지 10 부피의 존재하의 유기용매 중에 아미노알코올, 또는 그것의 염을 현탁 또는 용해하는 단계,
- pH를 약 5 내지 12의 값으로 유지하면서, 순수 화합물로서 또는 아미노알코올을 현탁하는데 사용되었던 유기용매 중의 용액 또는 현탁액으로서 유기 산할로젠화물을 첨가하는 단계,
- 아미노알코올이 N-아실화 화합물로 전환될 때까지 결과의 혼합물을 교반하는 단계,
- 유기상으로부터 N-아실화 아미노알코올을 회수하는 단계.

화학식 RCOOH의 유기산에서, R은 수소, 선택적으로 불포화되고, 선택적으로 치환되고, 선택적으로 하나 또는 그 이상의 헤테로원자를 함유하며, 55개까지의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지 알킬기; 선택적으로 불포화되고, 선택적으로 치환되고, 선택적으로 하나 또는 그 이상의 헤테로원자를 함유하는 C<sub>5-8</sub> 시클로알킬기; 선택적으로 치환된 아릴 또는 헤테로아릴기; 또는 선택적으로 치환된 벤질기이다.

본 발명의 바람직한 구체예에서, 알킬기는 선택적으로 산소 원자 또는 내부의 에스테르기에 의해 가로막힌다. 다른 바람직한 구체예에서, 알킬기는 1 내지 50개의 탄소원자, 더 바람직하게는 10 내지 50개의 탄소원자, 가장 바람직하게는 15 내지 45개의 탄소원자를 가진다.

상기 정의된 기들의 바람직한 치환기는 히드록실기, 특히 α-히드록실기다.

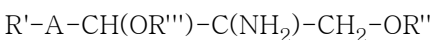
본 발명의 바람직한 구체예에서, 화학식 RCOOH의 유기산은 hex산, 옥탄산, 스테아르산, 올레산, 리놀레산, 27-스테아로일옥시-헵타코산산, 27-리놀레오일옥시-헵타코산산, α-히드록시-스테아르산, 락트산, 레티노산, 살리실산 또는 페루라산이다.

선택적 히드록실기를 위한 보호기들은 당해 기술분야에 잘 공지되어 있으며, Greene, T. (1981) Protective Groups in Organic Synthesis (John Wiley & Sons; New York)에 개시된 대로 적합한 기들로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 히드록실기는 아세틸에스테르 또는 메톡시메틸에테르로서 보호된다.

본 발명의 다른 구체예에서, 히드록실기는 할로젠기를 함유하는 산할로젠화물을 장차 히드록실기에 대응하는 위치에 먼저 커플링시키고, 이어서, 즉 커플링 후에 할로젠기를 산소작용기, 예를 들면 아세톡시기로 전환시킴에 의해 제공된다. 할로젠기의 산소작용기로의 전환 및 산소작용기의 히드록실기로의 후속 전환은 일반적으로 공지된 방법들을 사용하여 편리하게 수행된다. 바람직하게는, 할로젠기는 브롬기이다.

본 발명은 또한 관련된 유기산들의 혼합물, 예를 들면 상이한 사슬 길이 및/또는 상이한 불포화도의 알킬기를 가진 지방산들의 혼합물을 사용하는 옵션을 고찰한다.

본 발명의 다른 바람직한 구체예에서, 아미노알코올은 화학식



의 스펙고이드 염기 또는 그것의 염이며, 상기식에서:

삭제

R'는 선택적으로 하나 또는 그 이상의 이중결합을 함유할 수 있고 및/또는 바람직하게는 하나 또는 그 이상의 히드록실기로 선택적으로 치환될 수 있는 10 내지 22개의 탄소원자를 가진 직쇄 또는 분지 알킬기이며, 바람직하게는 12 내지 18개의 탄소원자를 가진 직쇄 알킬기이며, 더욱 바람직하게는 13개의 탄소원자를 가진 직쇄 알킬기이고,

R''는 수소 또는 헥소스 또는 펜토스 부분(선택적으로 추가의 탄수화물 부분에 연결됨)과 같은 탄수화물이고, 바람직하게는 수소 또는 글루코오스 또는 갈락토오스 부분이며,

A는  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ,  $\text{CH=CH}$  또는  $\text{CH}_2\text{-C(H)OR}'''$ 이며,

R'''는 수소 또는 1 내지 3개의 탄소원자의 아실기이며, 바람직하게는 수소 또는 아세틸기이다.

본 발명의 방법에서 사용되는 스펅고이드 염기는 바람직하게는 스펅고신, 스펅가닌 또는 피토스스펜고신이다. 더욱 바람직하게는, 스펅고이드 염기는 피토스스펜고신이다.

본 발명의 특히 바람직한 구체예에서, 피토스스펜고신은 미생물, 예를 들면 효모균 *Pichia ciferri*의 발효로부터 유래된 테트라아세틸피토스스펜고신의 탈아세틸화에 의하여 얻어진다. 테트라아세틸피토스스펜고신의 부분적 탈아세틸화에 의해 얻어진 아세틸피토스스펜고신을 사용하는 것이 또한 가능하다. 본 발명은 장점으로 간헐적인 회수 및/또는 건조 단계의 적용 없이, 피토스스펜고신 또는 부분적으로 탈아세틸화된 아세틸피토스스펜고신이 본 발명의 아실화 방법에 직접 사용되는 것을 허용한다.

스펜고이드 염기의 염으로서, HCl 또는 황산염이 바람직하다.

커플링 반응에 사용되는 유기용매는 아미노알코올의 충분한 용해, 즉 완전 용해, 또는 아미노알코올이 산할로젠화물과의 후속 반응에서 충분한 반응성을 유지할 정도의 용해를 가져오는 어떤 용매일 수 있다. 바람직하게는, 유기용매는 할로젠화 탄화수소, 에스테르, 에테르, 케톤, 알칸, 방향족 탄화수소 또는 방향족 알코올이다. 더욱 바람직하게는, 유기용매는 과산화물 형성성을 일으키지 않는 용매이다. 더욱 더 바람직하게는, 유기용매는 모든 혼합비로 물과 섞일 수 있는 용매는 아니다. 더욱 더 바람직하게는, 유기용매는 포름산, 아세트산 또는 프로피온산의 알킬에스테르이고, 알킬기는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸 또는 이소부틸기이다. 가장 바람직하게는, 유기용매는 에틸아세테이트, 이소프로필아세테이트 또는 부틸아세테이트와 같은 아세트산의 알킬에스테르이다. 아세트산의 알킬에스테르의 사용은 이들 용매가 이 과정으로부터 쉽게 회수되고 선택적으로 재사용되며, 저가이고 과산화물 형성체가 없다는 장점을 가진다.

본 발명의 방법에서, 아미노알코올은 물의 추가적인 존재하에 유기용매 중에 현탁된다. 물은 유기용매 중에 아미노알코올을 현탁하는 동안 또는 이후에 첨가될 수 있거나, 또는 아미노알코올 공급원으로부터 생길 수 있거나, 또는 둘 모두이다. 유기용매 중의 아미노알코올의 현탁액 또는 용액에 존재할 수 있는 물의 양은 유기용매 부피의 0.01에서 10 배까지 편리하게 변할 수 있다. 바람직하게는, 물의 양은 유기용매의 부피로 0.1 내지 0.5 배이다. 물의 양의 상한은 일반적으로 기술적 이유들, 예를 들면 반응 용기의 부피에 의해 결정될 것이다.

아미노알코올이 유기용매-물 혼합물에 존재하는 경우의 농도는 편리하게 1 내지 900g/l, 바람직하게는 25 내지 250g/l의 양일 수 있다.

본 발명의 방법 중 후속 단계에서, 산할로젠화물은 아미노알코올-유기용매-물 혼합물에 교반하에 첨가되고, 여기서 산할로젠화물은 순수화합물로서 또는 아미노알코올을 현탁하는데 사용된 유기용매 중의 용액 또는 현탁액으로서 첨가될 수 있다.

본 발명의 바람직한 구체예에서, 산할로젠화물은 산 염화물이다.

본 발명은 또한 상기에서 정의한 것과 같은 적합한 유기산과 할로젠화제의 반응에 의하여 인시투로 산할로젠화물을 제조하기 위한 옵션을 고찰한다. 적합한 할로젠화제로는 삼염화인 또는 염화티오닐이 있다.

산할로젠화물은 전형적으로 아미노알코올-유기용매-물 혼합물에 아미노알코올의 몰당량인 양으로, 또는 아미노알코올의 양에 대하여 약간 물 초과하는 양으로 첨가된다.

아미노알코올-유기용매-물 현탁액에 산할로젠화물을 첨가하면서, 반응혼합물의 pH는 염기의 제어된 첨가에 의해, 5 내지 12의 범위내, 바람직하게는 6 내지 11의 범위내의 값에서 유지된다. 본 발명은 장점으로 pH 조절이 NaOH와 같은 단순한 미네랄 염기를 사용하여 수행되는 것을 허용한다. 커플링 동안 안정한 수준에서 pH를 유지하기 위하여, 탄산나트륨 또는 탄산칼륨과 같은 염기를 약간 첨가하는 것은 선택사항이다.

커플링 반응 동안 온도는 편리하게 혼합물의 완전한 교반을 허용하는 값에서 유지된다. 커플링 동안 온도는 또한 사용된 용매의 비등점에 좌우될 수 있다. 이 비등점이 높아질수록 적용될 수 있는 온도도 높아진다. 전형적으로, 어떤 세라미드와 같이 낮은 용해도를 가진 N-아실화 아미노알코올의 제조에서, 온도는 40-80℃의 값으로 유지된다.

반응 혼합물은 아미노알코올의 N-아실화 화합물로의 실질적으로 완전한 전환을 허용할 만큼 충분한 시간 동안 교반된다. 전환 정도는, 예를 들면 박층크로마토그래피, NMR 분광학, HPLC 등과 같은 당해분야에서 잘 공지된 방법들에 의해 편리하게 검사된다. 전형적으로, 실질적으로 완전한 전환은 약 30 내지 60 분의 시간 후에 얻어진다. 완전한 전환이 얻어지지 않는 경우에는, 추가적인 산염화물이 첨가될 수 있다.

본 발명의 한 구체예에서, 유기산 RCOOH의 R기 중에 존재하는 할로젠 치환기는, 커플링 단계에 이어 커플링 단계에서 사용된 것과 같은 유기용매에서 산소작용기로 전환된다.

본 발명의 방법에서 생성된 N-아실화 아미노알코올은 표준 기술을 사용하여 유기상으로부터 회수된다. 회수 방법은 일반적으로 물로 유기상을 세척하고, 물-용매 공비혼합물을 증류하는 것을 포함하는 단순한 방법이다.

요약하면, 반응의 완료 후, 반응 혼합물의 온도는 혼합물의 비등점 바로 아래의 값까지 증가된다. 물층은 제거되고 유기층은 선택적으로 물로 세척된다. 물-용매 공비혼합물은 증류된다. 선택적으로, 고체 입자를 제거하기 위한 열여과 단계 및/또는 탈색을 위한 활성탄 처리가 적용될 수 있다. 생성물은 냉각 및 결정질 생성물의 여과에 의해 유기상으로부터 회수된다.

본 발명의 방법에 의해 제조된 N-아실화 아미노알코올은 바람직하게는 세라미드, 세레브로시드, 레티노일-스핑고이드 염기, 살리실-스핑고이드 염기 또는 단-쇄 α-히드록시아실-스핑고이드 염기이다. 이들 화합물은 바람직하게는 화장품 또는 피부과적 조성물에 적용된다.

## 실시예

### 실시예 1

#### N-스테아로일-피토스핑고신의 제조

50 그램 피토스핑고신 (순도 95.4%), 700ml 이소프로필아세테이트 및 100ml 물의 현탁액을, 자켓을 통하여 50℃의 물을 펌프함으로써 반응 혼합물을 50℃로 유지하면서, 기계 교반기, pH-전극, 환류응축기 및 질소 투입구를 갖춘, 자켓이 설치된 1 L 반응기에서 질소 분위기하에 교반하였다. pH를 9.5ml의 36% 염산으로 7.1로 조정하였다. 커플링 동안, pH를 pH-조정 시스템 및 밸브에 의해, 필요시에 25% 수산화나트륨을 첨가하여 7 +/- 0.2로 유지하였다.

1 1/4 시간에 걸쳐서 55ml (48.42g) 염화스테아르산과 50ml 이소프로필아세테이트의 혼합물을 50℃로 온도를 유지하면서 적하할때기로 첨가하였다. 현탁액을 얻었다. 적하할때기를 25ml 이소프로필아세테이트로 행구었다. 50℃에서 0.5 시간 동안 교반을 계속하였다. TLC(용리제로서 클로로포름/메탄올 9/1, 지질 검출용으로 에탄올 중의 5% 포스포몰리브덴산을 사용)는 피토스핑고신이 존재하지 않음을 나타내었다.

물 온도를 80℃로 상승시켜 혼합물을 77℃로 가열하였고, 교반을 멈추어 층들을 분리시켰다. 수성층을 일부 중간층과 함께 제거하였다. 유기층을 77℃에서 100ml 물과 함께 교반하였고 층들을 분리시켰다. 수성층을 최초 수성층과 합하였고 50 ml 이소프로필아세테이트로 가온 추출하였다. 유기층을 최초 유기층에 첨가하였고, 수성층을 제거한 후에 증류액을 반응기로 되돌아가게 하면서 혼합물을 증류하였다. 약 0.5 L의 증류액 후, 액체의 온도는 82℃(증기 72℃)가 되었고, 26ml 물이 제거되었다.

혼합물을 천천히 교반하면서 하룻밤 동안 19℃로 냉각시킨 후, 유리(G4) 필터로 여과하였다. 필터케이크를 교체하는데 사용되었던 이소프로필아세테이트 200ml로 조금씩 반응기를 행구었다. 필터케이크를 또 다른 100ml 이소프로필아세테이트로 세척하였고, 젖은 필터케이크(198g)를 35℃에서 기류하에 건조시켰다. 40℃에서 진공하에 더 건조하여 87.5g의 N-스테아로일-피토스핑고신을 얻었다. 수율은 91%이었다.

### 실시예 2

N-스테아로일-피토스핑고신의 제조

50 그램 피토스핑고신, 750ml 이소프로필아세테이트 및 100ml 물의 현탁액을, 자켓을 통하여 50℃의 물을 펌프함으로써 반응 혼합물을 50℃로 유지하면서, 기계 교반기, pH-전극, 환류응축기 및 질소투입구를 갖춘, 자켓이 설치된 1 L 반응기에서 질소 분위기하에 교반하였다. 커플링 동안 pH를 pH-조절 시스템 및 밸브에 의해, 필요시에 25% 수산화나트륨을 첨가하여 7로 유지하였다.

1 1/2 시간에 걸쳐서 55ml (48.42g) 염화스테아르산과 50ml 이소프로필아세테이트의 혼합물을 50℃로 온도를 유지하면서 적하할때기로 첨가하였다. 약 40ml 혼합물의 첨가 후, pH는 7로 떨어졌고 pH-조절을 시작했다. 적하할때기를 5ml 이소프로필아세테이트로 행구었다. 50℃에서 0.5 시간 동안 교반을 계속하였고, TLC는 피토스핑고신이 존재하지 않음을 나타내었다.

물 온도를 80℃로 상승시켜 혼합물을 76℃로 가열하였고, 교반을 멈추어 층들을 분리시켰다. 수성층을 일부 중간층과 함께 제거하였다. 유기층을 80℃에서 100ml 물과 함께 교반하였고 층들을 분리시켰다. 수성층을 100ml 이소프로필아세테이트로 가온 추출하였다. 유기층을 최초 유기층에 첨가하였고, 수성층을 제거한 후에 증류액을 반응기로 되돌아가게 하면서 혼합물을 증류하였다. 약 0.4 L의 증류액 후, 액체의 온도는 84℃가 되었고, 32ml 물이 제거되었다.

혼합물을 천천히 교반하면서 19℃로 냉각시킨 후(78℃에서 결정화 시작), 유리(G3) 필터로 여과하였다. 필터케이크를 교체하는데 사용되었던 이소프로필아세테이트로 조금씩 반응기를 행구었다(총 300ml). 젖은 필터케이크(156g)를 35℃에서 기류하에 건조시켰다. 진공하에 더 건조하여 98%의 순도를 가진 88g의 N-스테아로일-피토스핑고신을 얻었다. 수율은 98%이었다.

실시예 3N-올레오일-피토스핑고신의 제조

50 그램 피토스핑고신, 750ml 이소프로필아세테이트 및 100ml 물의 현탁액을, 자켓을 통하여 50℃의 물을 펌프함으로써 반응 혼합물을 50℃로 유지하면서, 기계 교반기, pH-전극, 환류응축기 및 질소 투입구를 갖춘, 자켓이 설치된 1 L 반응기에서 질소 분위기하에 교반하였다. pH를 10ml의 36% 염화수소산으로 7로 조정하였다. 커플링 동안, pH를 pH-조절 시스템 및 밸브에 의해, 필요시에 25% 수산화나트륨을 첨가하여 7로 유지하였다.

1.25 시간에 걸쳐서 55ml 염화올레산과 50ml 이소프로필아세테이트의 혼합물을 50℃로 온도를 유지하면서 적하할때기로 첨가하였다. 적하할때기를 5ml 이소프로필아세테이트로 행구었다. 50℃에서 0.5 시간 동안 교반을 계속하였고, TLC는 피토스핑고신이 존재하지 않음을 나타내었다.

물 온도를 상승시켜 76℃로 혼합물을 가열하였고, 교반을 멈추어 층들을 분리시켰다. 수성층을 일부 중간층과 함께 제거하였다. 유기층을 76℃에서 100ml 물과 함께 교반하였고 층들을 분리시켰다. 증류액의 유기층을 다시 반응기로 되돌아가게 하면서 혼합물을 증류하였다. 액체의 온도가 84℃가 된 후에 혼합물을 천천히 교반하면서 12℃로 냉각시킨 후(46℃에서 결정화 시작), 유리(G3) 필터로 여과하였다. 필터케이크를 교체하는데 사용되었던 이소프로필아세테이트로 조금씩 반응기를 행구었다(총 300ml).

젖은 필터케이크(224g)를 35℃에서 기류하에 건조시켰다. 40℃에서 진공하에 더 건조하여 98%의 순도를 가진 81.5g의 N-올레오일-피토스핑고신을 얻었다. 수율은 91%이었다.

실시예 4N-α-히드록시스테아로일-피토스핑고신의 제조

50 그램 피토스핑고신술페이트, 500ml n-부틸아세테이트 및 25ml 물의 현탁액을, 반응 혼합물을 71℃로 유지하면서, 기계 교반기, pH-전극, 환류응축기 및 질소 투입구를 갖춘, 1 L 3구 플라스크에서 질소 분위기하에 교반하였다.

쿨링 동안 pH를 필요시에 Mettler DL21 적정기로 25% 수산화나트륨을 첨가하여 8.5로 유지시켰다. 혼합물을 11ml 25% NaOH로 사전-적정하여 약 3.2 내지 약 8로 pH를 변화시켰다. 다음에, 2.7 그램 탄산나트륨을 첨가하였고, pH는 약 9로 변화였다.

온도를 75℃까지 올리면서 약 55분에 걸쳐 50ml(60 그램) 염화/브롬 2-브로모스테아르산 혼합물과 50ml n-부틸아세테이트를 적하할때기로 첨가하였다. 침전물이 첨가 중간에 형성되었고, 온도를 80℃까지 상승시켜 용해도를 향상시켰다. 첨가 마지막에 가까이 가서는 더 많은 침전물이 형성되었고, 온도를 85℃까지 상승시켰다. 적하할때기를 20ml n-부틸 아세테이트로 행구었다. 85℃에서 1 시간 동안 교반을 계속하였다.

다음에, Dean-Stark 셋업으로 수성층을 분리하면서 혼합물을 환류 가열하였고, 온도를 130℃까지 올리면서 78ml 물층을 분리하였다. 116℃로 냉각시킨 후, 25 그램 무수아세트산칼륨을 첨가하였고, 혼합물을 약 129℃에서 2 시간 동안 환류시켰다. 실온에서 하룻밤 동안 유지시킨 후, 1.5 시간 환류를 더 계속했다.

다음에, 혼합물을 100℃로 냉각하였고, 200ml 물을 첨가하여 혼합물을 액체온도가 106℃에 도달할 때까지 증류시켰다. 증류하는 동안 500ml 증류액이 수집되었을 때 50ml 물을 조금씩 첨가하였다. 증류액은 165ml 수성층 및 460ml 유기층을 함유하였다. 다음에, 500ml 부탄올 및 100ml 물을 첨가하였고 혼합물을 약 88℃로 가열하였다. 교반을 멈춘 후 수성층을 흡입에 의해 제거하고, 유기층을 약 90℃에서 100ml 물로 2회 이상 세척하였다. 최종 물층은 5.7의 pH를 가졌다(부피는 각각 150, 60, 80ml). 다음에, 25% NaOH를 첨가하여 pH를 11 내지 12로 유지하였다. pH는 계속 떨어졌다. 약 2 시간이 지나 12ml의 25% NaOH가 소비된 후에, 온도를 약 70 내지 80℃로 유지했다. 교반을 멈추고 40ml 수성층을 흡입에 의해 제거하였다. 유기층을 증류하였다. 증류 동안 부탄올을 두번에 나누어 첨가하였다. 총 190ml 유기층 및 60ml 수성층의 증류액을 수집하였다. 액체 온도는 108℃에 도달하였다.

혼합물을 냉각하였고, 약 46℃에서 침전이 시작되었다. 교반 및 냉각을 2 시간 동안 계속하였고, 종말 온도는 2℃이었다.

침전물을 여과하였고, 이 케이크를 250ml 차가운 부탄올로 교체하고, 흡입 건조하였다(총 약 20분).

젖은 케이크를 500ml 메탄올 중에서 가열하였고, 종이 필터를 통해 따뜻하게 하면서(70℃) 여과시켰고, 25ml 따뜻한 메탄올로 세척하였다. 여과액을 냉각하였고 약 26℃에서 결정화가 시작되었다. 0℃로 더 냉각하였다. 0℃에서 1 시간 동안 교반한 후에 침전물을 여과하였고, 케이크를 250ml 차가운 메탄올로 교체하고, 빨리 여과했다. 젖은 필터케이크를 45℃에서 진공하에 건조시켜 60g의 생성물을 얻었다.

## 실시예 5

### N-옥탄오일-피토스핑고신의 제조

50 그램 피토스핑고신술페이트, 525ml 이소프로필아세테이트 및 75ml 데미워터(demiwater)의 현탁액을, 자켓을 통하여 70℃의 물을 펌프함으로써 반응 혼합물을 70℃로 유지하면서, 기계 교반기, pH-전극, 환류응축기 및 질소 투입구를 갖춘, 자켓이 설치된 1 L 반응기에서 질소 분위기하에 교반하였다.

쿨링 동안, pH를 Mettler DL21 적정기로 필요시에 25% w/w 수산화칼륨을 첨가하여 8.5로 유지하였다. 약 4.5의 초기 pH를 25% KOH로 약 7.5로 조정하고, 3.16g 탄산칼륨 무수물을 첨가하여 pH를 약 8.1로 하였다.

3/4 시간에 걸쳐서 20.55g 염화옥탄오일과 37ml 이소프로필아세테이트의 혼합물을 70℃로 온도를 유지하면서 적하할때기로 첨가하였다. 적하할때기를 10ml 이소프로필아세테이트로 행구었다. 70℃에서 교반을 계속하였다. 0.5 시간 동안 교반한 후에, 소량의 피토스핑고신의 존재가 TLC에 의해 검출되었고, 1ml 염화옥탄오일을 첨가하였다. 0.5 시간 후에 피토스핑고신은 여전히 존재하였고, 또 다른 1ml 염화옥탄오일을 첨가하였다. 10분 후에 반응을 멈추고, 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 유지시켰다.

혼합물을 70℃로 가열하였고, 또 다른 0.5ml 염화옥탄오일을 첨가하였다. 15분 동안 교반한 후, 교반을 멈추어 층들을 분리시켰고, 수성층에 고체가 존재하였는데, 이것은 100ml 물의 첨가 후 용해되었다. 10분 후에 수성층을 제거하였다. 유기

층을 71℃에서 100ml 물과 함께 교반하였고 분리시켰다. 수성층을 제거하였다. 증류액의 유기층을 다시 반응기로 되돌아가게 하면서 유기층을 증류하였다(Dean-Stark 셋업). 액체의 온도가 82.6℃에 도달했을 때 물층은 20ml이었다. 혼합물은 13.3mg H<sub>2</sub>O/g을 함유하였다.

약 3/4 시간 동안 8℃로 냉각하면서 교반을 계속하였고, 약 52℃에서 결정화가 시작되었다. 8℃에서 0.5 시간 동안 교반을 계속하였고 현탁액을 유리 필터(G3, 폭 10cm)로 여과하였다. 필터케이크를 교체하는데 사용되었던 이소프로필아세테이트(총 180ml)로 세번에 나누어 반응기를 행구었고, 케이크를 거의 건조 상태까지 흡수하였다. 젖은 필터케이크를 진공하에 건조시켜 55g의 생성물을 얻었다.

## 실시예 6

### N-헥산오일-피토스핑고신의 제조

50 그램 피토스핑고신술페이트, 525ml 이소프로필아세테이트 및 75ml 데미워터의 현탁액을, 자켓을 통하여 70℃의 물을 펌프함으로써 반응 혼합물을 70℃로 유지하면서, 기계 교반기, pH-전극, 환류응축기 및 질소 투입구를 갖춘, 자켓이 설치된 1 L 반응기에서 질소 분위기하에 교반하였다.

커플링 동안, pH를 Mettler DL21 적정기로 필요시에 25% w/w 수산화칼륨을 첨가하여 8.5로 유지하였다. 약 4.5의 초기 pH를 25% KOH로 약 7.5로 조정하고, 3.16g 탄산칼륨 무수물을 첨가하여 pH를 약 8.1로 하였다.

3/4 시간에 걸쳐서 19.26g 염화헥산오일과 40ml 이소프로필아세테이트의 혼합물을 70℃로 온도를 유지하면서 적하깔때기로 첨가하였다. 적하깔때기를 10ml 이소프로필아세테이트로 행구었다. 70℃에서 교반을 계속하였다. 0.5 시간 동안 교반한 후에 TLC는 피토스핑고신이 없음을 나타내었고, 교반을 멈추어 층들을 분리시켰다. 수성층에 고체가 존재하였는데, 이것은 50ml 물의 첨가 후 용해되었다. 10분 후에 수성층을 제거하였다. 유기층을 71℃에서 100ml 물과 함께 교반하였고 분리시켰다. 수성층을 제거하였다. 증류액의 유기층을 다시 반응기로 되돌아가게 하면서 유기층을 증류하였다(Dean-Stark 셋업). 액체의 온도가 82.6℃에 도달했을 때 물층은 20.5ml이었다. 따뜻하게 하면서 용액을 여과하였고, 따뜻한 40 ml 이소프로필아세테이트로 행구었다. 여과액은 11.8mg H<sub>2</sub>O/g을 함유하였다. 이것을 실온에서 주말 동안 방치하였다.

혼합물을 교반하면서 60℃로 가열하여 용액을 얻었다. 냉각하면서 교반을 계속하였고, 35℃에서 결정화가 시작되었다. 교반 및 냉각을 약 1 시간 동안 1℃까지 계속하였다. 1 시간 동안 1℃에서 교반을 계속한 후에 현탁액을 유리 필터(G3, 폭 10cm)로 여과하였다. 필터케이크를 교체하는데 사용되었던 차가운 이소프로필아세테이트(총 200ml)로 세번에 나누어 플라스크를 행구었고, 케이크를 거의 건조 상태까지 흡수하였고, 총 여과는 약 2.5 시간이 걸렸다. 젖은 필터케이크를 49℃에서 진공하에 건조시켜 51g의 생성물을 얻었다.

## (57) 청구의 범위

### 청구항 1.

화학식 R-COOH

(여기서 R는 수소; 포화되거나 불포화된, 1 내지 55개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 분지 알킬기; 포화되거나 불포화된 C<sub>5-8</sub> 시클로알킬기; 비치환되거나 치환된 아릴기; 또는 비치환되거나 치환된 벤질기이다)의 유기산으로

화학식 R'-A-CH(OR''')-C(NH<sub>2</sub>)-CH<sub>2</sub>-OR''

(상기식에서 R'는 히드록실기를 함유할 수 있는, 포화되거나 또는 이중결합을 함유할 수 있는 10 내지 22개의 탄소원자를 가진 직쇄 또는 분지 알킬기이고,

R''는 수소 또는 탄수화물이고,

A는 CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, CH=CH 또는 CH<sub>2</sub>-C(H)OR'''이며,

R'''는 수소 또는 1 내지 3개의 탄소원자의 아실기이다)의 스펅고이드 염기 또는 그것의 염을 N-아실화하는 것을 포함하며, 유기산은 산할로젠화물의 형태이고, 커플링(N-아실화)이 물의 존재하에 유기용매 중에서 일어나는 것을 특징으로 하는 N-아실화 스펅고이드 염기의 제조방법.

## 청구항 2.

제 1 항에 있어서,

유기용매 1 부피에 대하여 물 0.01 내지 10 부피의 존재하의 유기용매중에 스펅고이드 염기 또는 그것의 염을 현탁 또는 용해하는 단계,

pH를 5 내지 12의 범위내의 값으로 유지하면서, 순수 화합물로서 또는 스펅고이드 염기를 현탁하는데 사용된 유기용매 중의 용액 또는 현탁액으로서 유기산할로젠화물을 첨가하는 단계,

스펅고이드 염기가 N-아실화 화합물로 전환될 때까지 결과의 혼합물을 교반하는 단계,

유기상으로부터 N-아실화 스펅고이드 염기를 재결정화하여 회수하는 단계로 이루어지는 것을 특징으로 하는 N-아실화 스펅고이드 염기의 제조방법.

## 청구항 3.

제 2 항에 있어서, pH는 6 내지 11의 값에서 유지되는 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 4.

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 산할로젠화물을 유기용매중에서 인시투 생성하는 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 5.

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 산할로젠화물은 산염화물인 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 6.

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, N-아실화 스펅고이드 염기의 N-아실기상의 히드록실 치환기가 유기산 할로젠화물의 R기상의 대응하는 할로젠 치환기에 의해 제공되고, 상기 할로젠 치환기는 커플링후에 산소작용기로 전환되고 이어서 상기 산소작용기는 히드록실 치환기로 전환되는 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 7.

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 유기용매는 에스테르인 것을 특징으로 하는 방법.

## 청구항 8.

삭제

#### 청구항 9.

제 7 항에 있어서, 유기용매는 아세트산의 알킬에스테르이고, 알킬기는 프로필, 이소프로필, 부틸 또는 이소부틸기인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 10.

제 9 항에 있어서, 유기용매는 에틸아세테이트, 이소프로필아세테이트 또는 부틸아세테이트인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 11.

삭제

#### 청구항 12.

제 1 항에 있어서, 스펅고이드 염기는 스펅가닌, 스펅고신 또는 피토스펀고신인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 13.

제 1 항에 있어서, R'는 히드록실기를 함유할 수 있는, 포화되거나 또는 이중결합을 함유할 수 있는 12 내지 18개의 탄소원자를 가진 직쇄 또는 분지 알킬기인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 14.

제 13 항에 있어서, R'는 히드록실기를 함유할 수 있는, 포화되거나 또는 이중결합을 함유할 수 있는 13개의 탄소원자를 가진 직쇄 또는 분지 알킬기인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 15.

제 1 항에 있어서, R''는 수소 또는 글루코오스 또는 갈락토오스 성분인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 16.

제 1 항에 있어서, R'''는 수소인 것을 특징으로 하는 방법.