



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0136397
(43) 공개일자 2024년09월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 211/62 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01) C07D 211/34 (2006.01)
C07D 295/15 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 211/62 (2013.01)
A61K 39/00 (2023.05)
- (21) 출원번호 10-2024-7027282
- (22) 출원일자(국제) 2023년01월16일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년08월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2023/050891
- (87) 국제공개번호 WO 2023/135305
국제공개일자 2023년07월20일
- (30) 우선권주장
22305043.6 2022년01월17일
유럽특허청(EPO)(EP)

- (71) 출원인
사노피
프랑스 75017 파리 아브뉴 드 라 그랑 아르메 46
- (72) 발명자
데스마조, 파스칼
프랑스 75017 파리 아브뉴 드 라 그랑 아르메 46
에벤, 루크
프랑스 75017 파리 아브뉴 드 라 그랑 아르메 46
라메, 나탈리
프랑스 75017 파리 아브뉴 드 라 그랑 아르메 46
- (74) 대리인
양영준, 임근실

전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 지질 화합물 및 이의 용도

(57) 요약

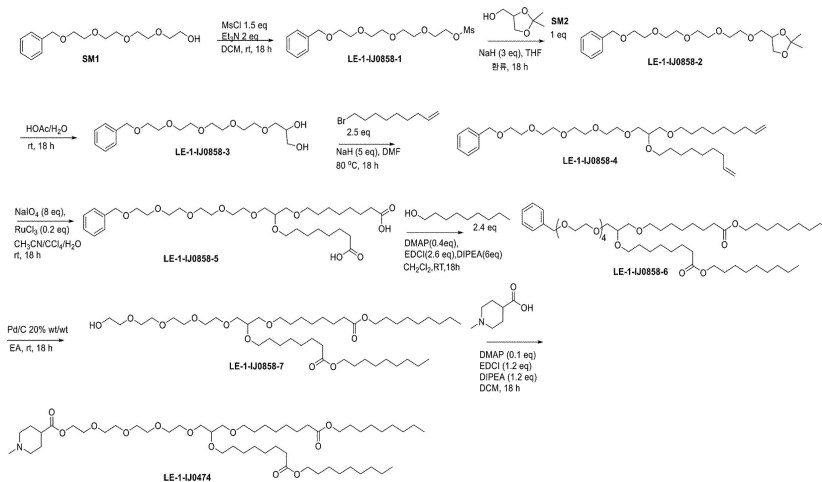
본 개시내용은 화학식 I의 지질 화합물:

[화학식 I]

A-(CH₂)_n-CX-B-Z-R1

(뒷면에 계속)

대표도



(상기 식에서, R1은 친유성 또는 소수성 테일 기(tail-group)를 나타내고, 여기서 R1은 선택적으로 치환된, 분지형, 포화 또는 불포화 C₁₀ 내지 C₅₅ 탄화수소 라디칼이고, 이때 탄화수소 골격에는 하나의 또는 몇몇 산소 또는 질소 원자 및/또는 하나의 또는 몇몇 모이어티 $-(C=O)-$, $-O-(C=O)-$ 또는 $-(C=O)-O-$ 가 선택적으로 개재되고, 하나의 질소 원자가 골격 내에 존재하는 경우 상기 Z 라디칼에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있고; Z는 스페이서 아암(spacer arm)이고; B는 O 또는 NH를 나타내고; X는 O 또는 S이고; n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고; A는 (i) R₂R₃N-, (ii) NR₂R₃-Alk-Y-(여기서, Y는 O 또는 N이고, Alk는 C₂ 내지 C₆에서 알킬렌 모이어티이고, R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기를 나타냄), 또는 (iii) 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼(상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환됨)을 나타냄); 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

(52) CPC특허분류

A61K 9/5123 (2013.01)

A61P 25/00 (2018.01)

A61P 3/00 (2018.01)

A61P 31/00 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

A61P 7/00 (2018.01)

C07D 211/34 (2013.01)

C07D 295/15 (2013.01)

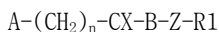
명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 지질 화합물:

[화학식 I]



(상기 식에서,

- R1은 C₁₀ 내지 C₅₇ 친유성 또는 소수성 테일 기(tail-group)를 나타내고, 여기서 R1은 선택적으로 치환된, 분지형 또는 비분지된 선형, 포화 또는 불포화 C₁₀ 내지 C₅₅ 탄화수소 라디칼이고, 이때 탄화수소 골격에는 하나의 또는 몇몇 산소 또는 질소 원자 및/또는 하나의 또는 몇몇 모이어티 $-(C=O)-$, $-O-(C=O)-$ 또는 $-(C=O)-O-$ 가 선택적으로 개재되고, 하나의 질소 원자가 골격 내에 존재하는 경우 상기 Z 라디칼에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있고;

- Z는 비분지된 선형 포화 또는 불포화 탄화수소 사슬 내에 2 내지 24개, 예를 들어 2 내지 18개, 예를 들어 4 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 스페이스 아암(spacer arm)이고, 상기 사슬에는 하나의 또는 몇몇 산소 원자 및/또는 $-S-S-$; $-(O=C)-$; $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$; $-S-$; $-NH-$, $-NH-(O=C)-$; $-(O=C)-NH-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 중에서 선택되는 모이어티, 예를 들어 $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 가 개재되고, 소수성 테일 기에 연결된 그의 말단에 대해 산소 원자 또는 $-NH-(O=C)-*$ $-O-(O=C)-*$; $-(C=O)-O-*$; 및 $-(O=C)-$ 중에서 선택되는 모이어티를 선택적으로 가지며, 이때 *는 상기 모이어티를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고;

- B는 산소 원자 또는 $-NH-$ 기를 나타내고;

- X는 산소 원자 또는 황 원자이고;

- n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고;

- A는 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 기를 나타냄:

- R2R3N- 기(여기서, R2 및 R3은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기를 나타냄),

- NR2R3-Alk-Y- 기(여기서, Y는 산소 또는 질소 원자이고, Alk는 C₂ 내지 C₆에서 알킬렌 모이어티이고, R2 및 R3은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기를 나타냄),

- 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼(상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환됨));

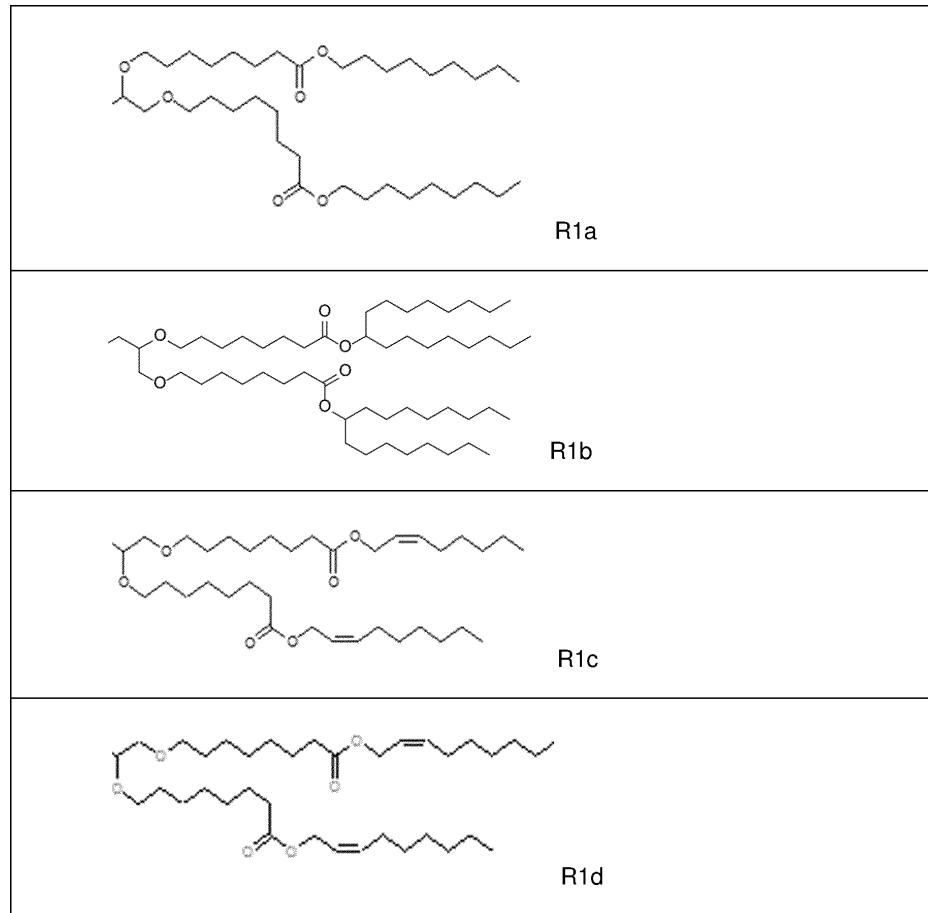
또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나(이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재함).

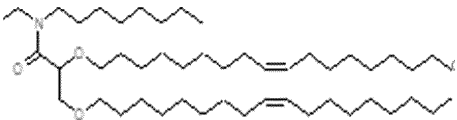
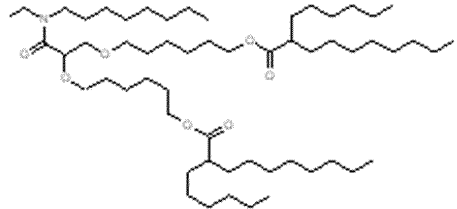
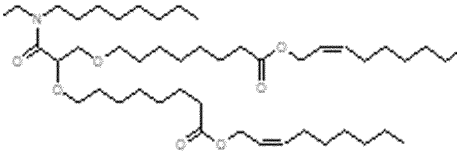
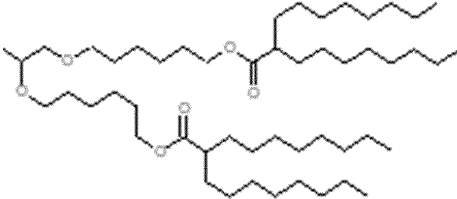
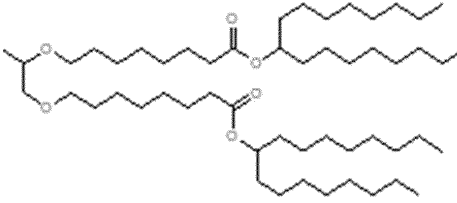
청구항 2

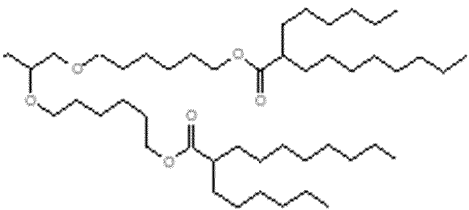
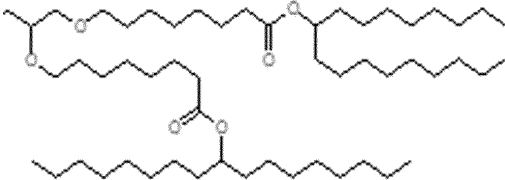
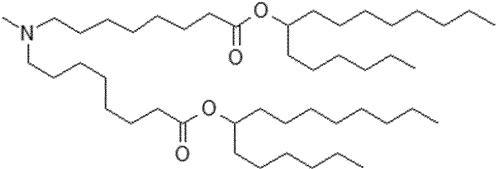
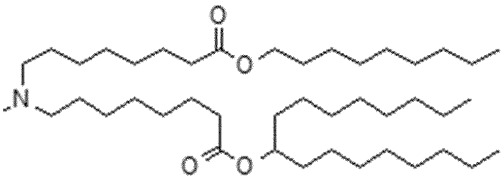
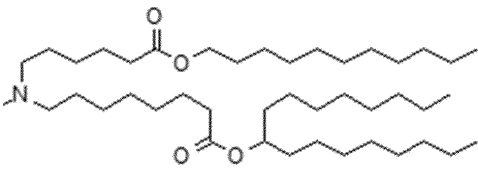
제1항에 있어서, 양이온 형태인 화합물.

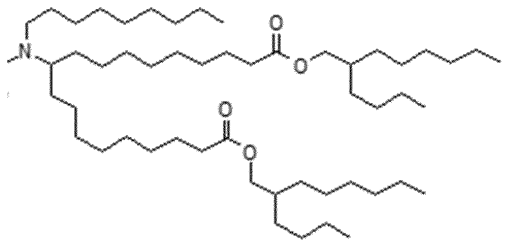
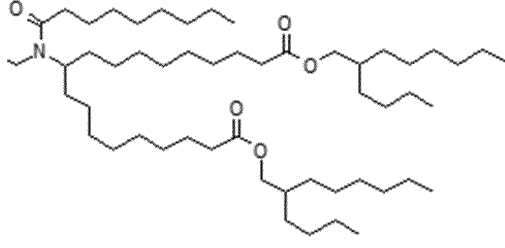
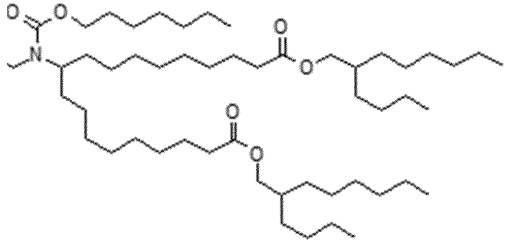
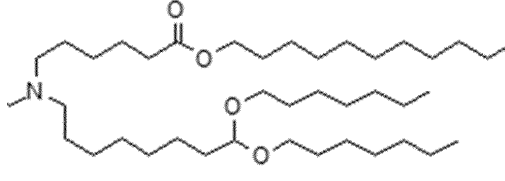
청구항 3

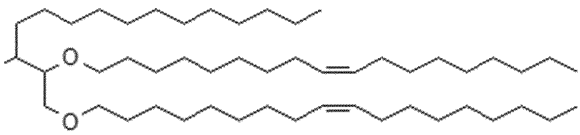
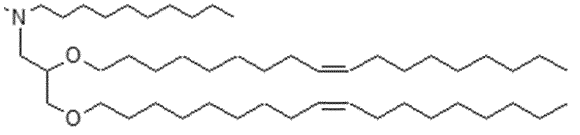
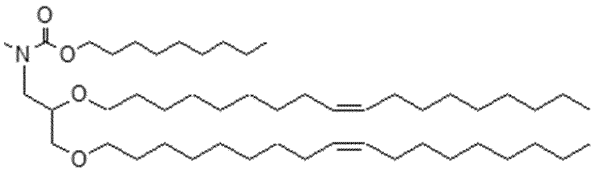
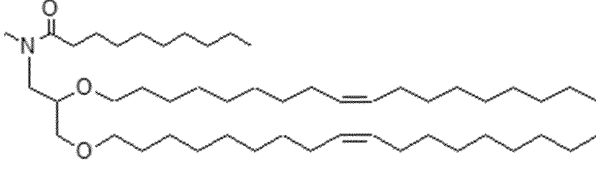
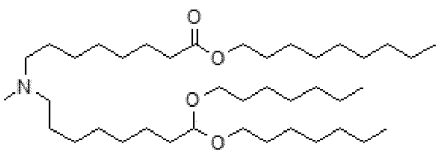
제1항 또는 제2항에 있어서, R1은 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 기를 나타내는, 화합물:

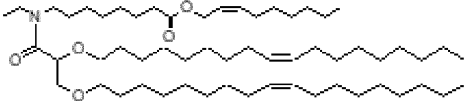
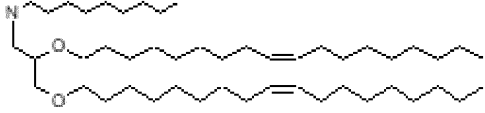
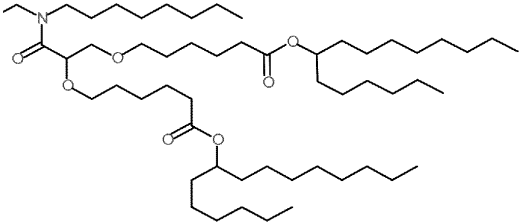
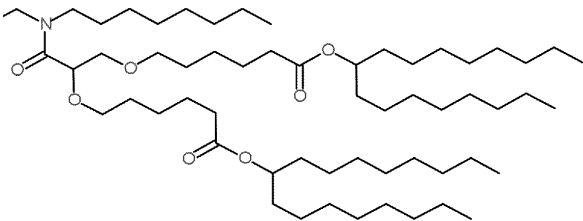
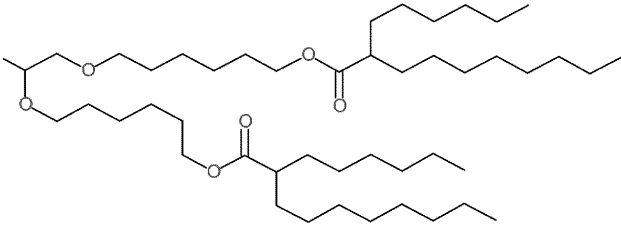


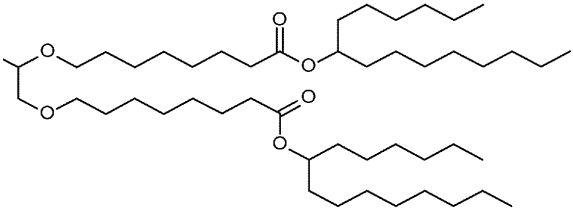
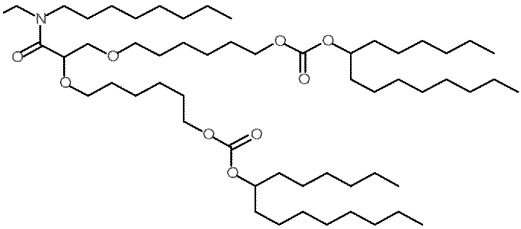
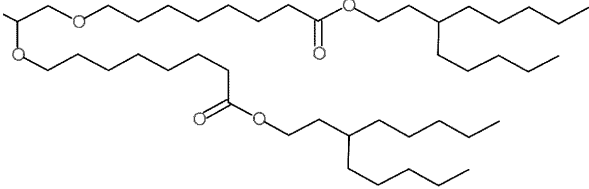
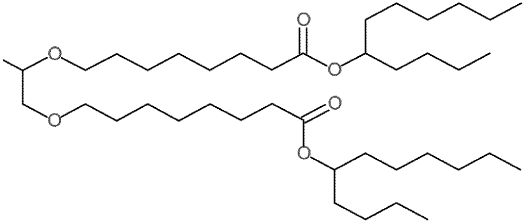
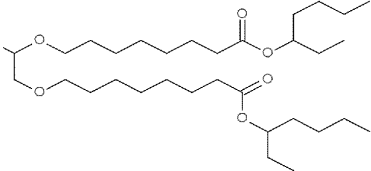
 R1e
 R1f
 R1g
 R1h
 R1i

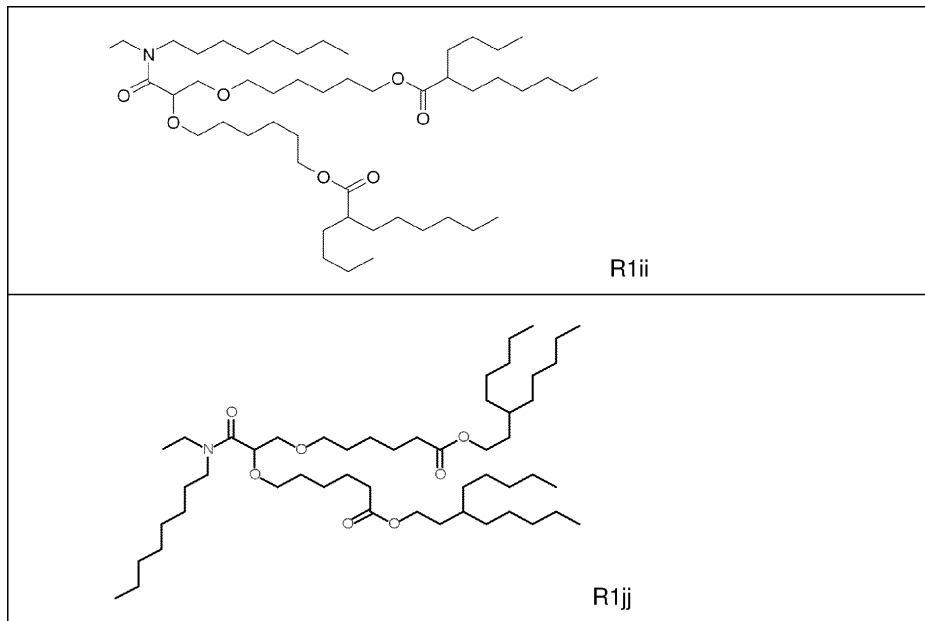
 R1j	 R1k
 R1l	 R1m
 R1n	

 R1o
 R1p
 R1q
 R1r

	R1s
	R1t
	R1u
	R1v
	R1w

 R1x
 R1y
 R1aa
 R1bb
 R1cc

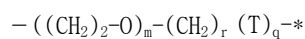
	R1dd
	R1ee
	R1ff
	R1gg
	R1hh



청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, Z는 하기 화학식의 라디칼을 나타내는, 화합물:

[화학식 Z]



(이때,

- *는 상기 라디칼을 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고,
- m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 4, 예를 들어 4의 정수이고,
- r은 0 또는 1 내지 4의 정수이고,
- q는 0 또는 1이고
- T는 $-(\text{O}=\text{C})-$; $-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-**$; $-\text{O}-(\text{O}=\text{C})-$; 및 $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-**$ 로 이루어진 군에서 선택되고, 이때 **는 상기 기를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타냄).

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, B는 산소 원자인, 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, B는 $-\text{NH}-$ 기인, 화합물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, X는 산소 원자인, 화합물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, n은 0, 1, 2, 3 또는 4인, 화합물.

청구항 9

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, A는 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{N}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3)_2$, $\text{O}-(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{N}-(\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 및 $\text{NR}_2\text{R}_3-\text{Alk}-\text{Y}-$ 기(여기서, Y는 산소 또는 질소 원자이고, Alk는 C2 내지 C6에서 알킬렌 모이어티이고, R2 및 R3은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C1-C6) 알킬 기를 나타냄)로 이루어진 군에서 선택되는, 화합물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, A는 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼을 나타내며, 상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C1-C6) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환되는, 화합물.

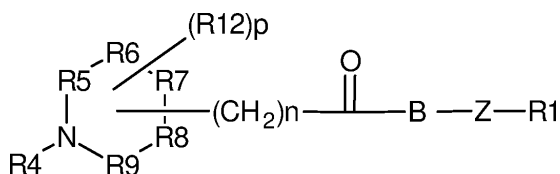
청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 겔보기 pKa가 7 미만, 또는 4.5 내지 7의 범위인 화합물.

청구항 12

제1항 내지 제8항 및 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 II의 화합물:

[화학식 II]



(상기 식에서,

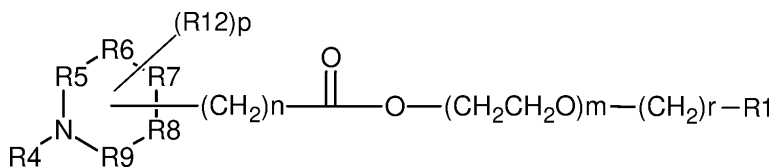
- Z, n 및 R1은 제1항 내지 제4항 및 제8항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같으며,
- R4는 (C1-C5) 알킬 기, 예를 들어 (C1-C4) 알킬 기, 예컨대 메틸 기이고;
- R12는 (C1-C5) 알킬 기, 예를 들어 (C1-C4) 알킬 기, 예컨대 메틸 기이고;
- p는 0 또는 1이고, 예를 들어 p는 0이고;
- R5, R6, R7, R8 및 R9는 서로 독립적으로 -CH2-; -CHR12- 및 -NH- 중에서 선택되는 모이어티이고, 분자의 나머지 부분과의 연결에 관여하는 R5, R6, R7, R8 및 R9 중 하나는 -CH-; -CR12- 및 -N- 중에서 선택되는 모이어티이되, 단, R5, R6, R7, R8 및 R9 중 단지 하나만이 -NH- 또는 -N-이고;
- B는 산소 원자 또는 -NH- 기, 예를 들어 산소 원자를 나타냄),

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재하는, 화합물.

청구항 13

제1항 내지 제8항, 제10항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 IIa의 화합물:

[화학식 IIa]



(상기 식에서,

- R1은 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같으며,
- n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 0 내지 4, 예컨대 0, 1 또는 2이고;
- r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2이고;
- R4 내지 R9, R12 및 p는 제12항에 정의된 바와 같으며, 예를 들어 p는 0이고,

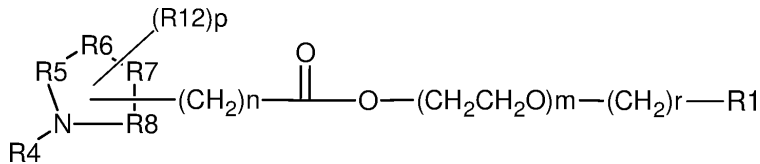
- m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수임);

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재하는, 화합물.

청구항 14

제1항 내지 제8항 및 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 III의 화합물:

[화학식 III]



(상기 식에서,

- R1은 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같으며,

- n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 0 내지 4, 예컨대 0, 1 또는 2이고;

- m 은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수이고;

- r 은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2이고;

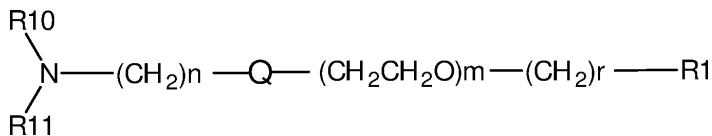
- R4 내지 R8, R12 및 p는 제13항에 정의된 바와 같으며, 예를 들어 p는 0임)

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재하는, 화합물.

청구항 15

제1항 내지 제9항 및 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 IV의 화합물:

[화학식 IV]



(상기 식에서,

- R1은 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같으며;

- Q는 $-(C=O)-O^*$; $-O(C=O)O^*$; $-N(C=O)O^*$ 및 $-O(C=O)N^*$ 로 이루어진 군에서 선택되는 모이어티이고, 이때 *는 모이어티 $(CH_2CH_2O)_m$ 에 대한 연결을 나타내고

- n 은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 1 내지 5, 예를 들어 2, 3 또는 4이고;

- r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2이고;

- R10 및 R11은 서로 독립적으로 (C₁-C₅) 알킬 기, 예를 들어 (C₁-C₄) 알킬 기, 예컨대 메틸 기 또는 프로필 기를 나타내고;

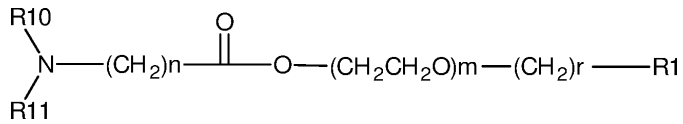
- m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수임);

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재하는, 화합물.

청구항 16

제1항 내지 제9항, 제11항 및 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은 화학식 V의 화합물:

[화학식 V]



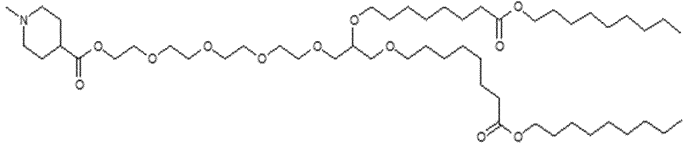
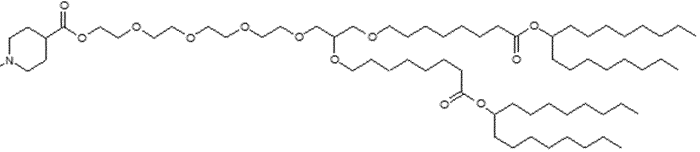
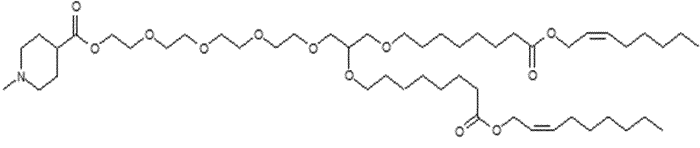
(상기 식에서,

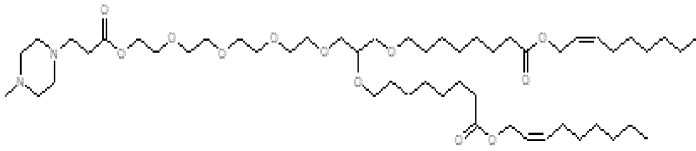
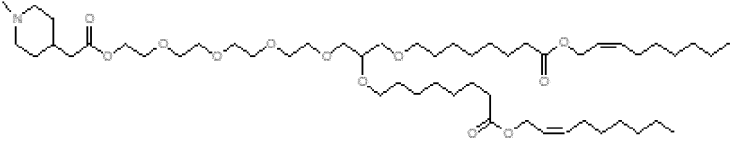
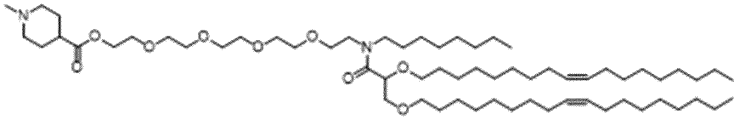
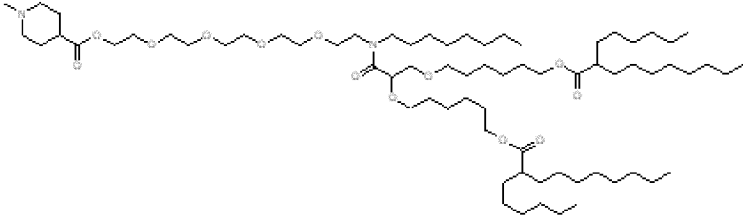
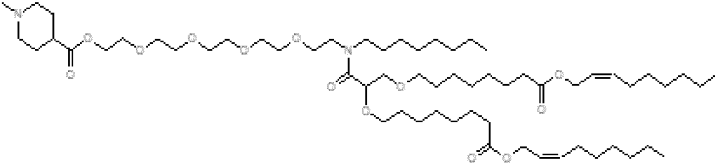
- R1, R10, R11, n, m 및 r은 제15항에 정의된 바와 같음),

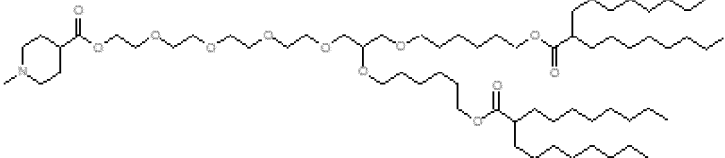
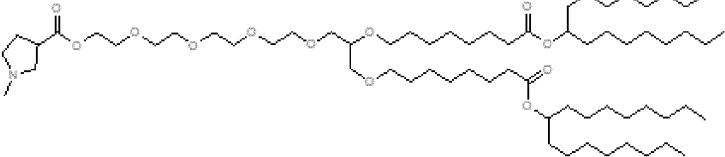
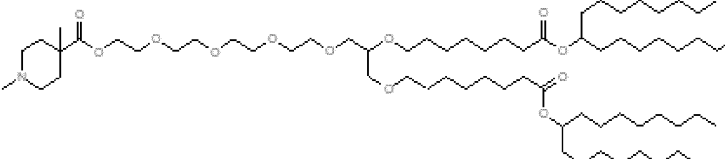
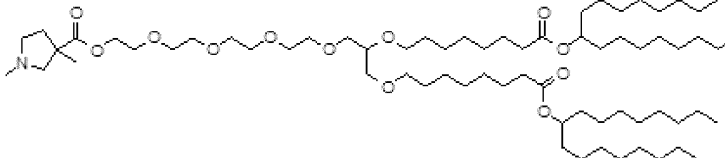
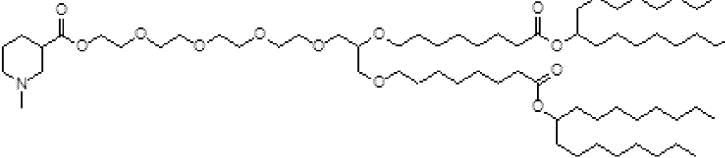
또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재하는, 화합물.

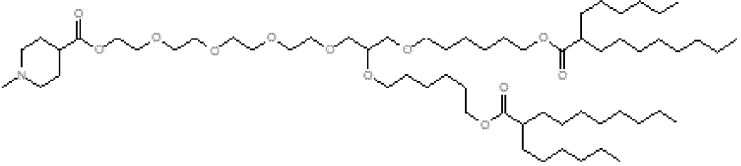
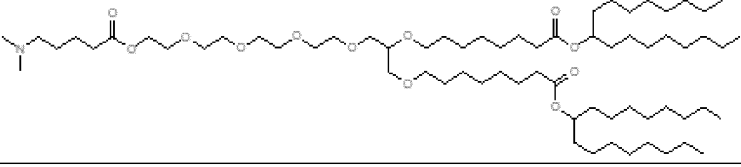
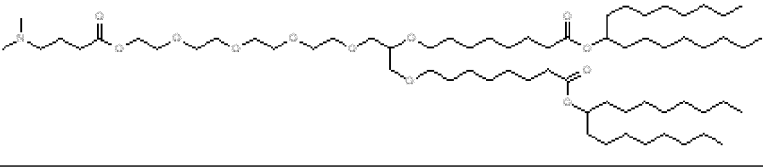
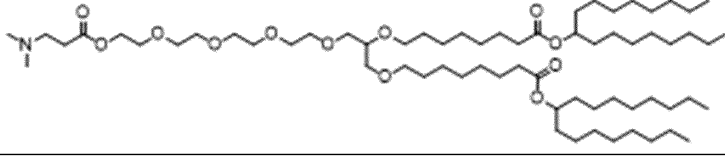
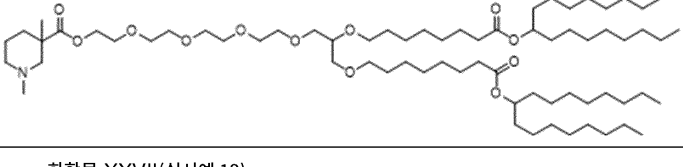
청구항 17

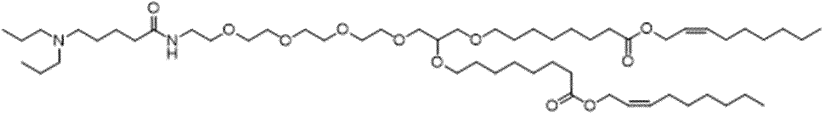
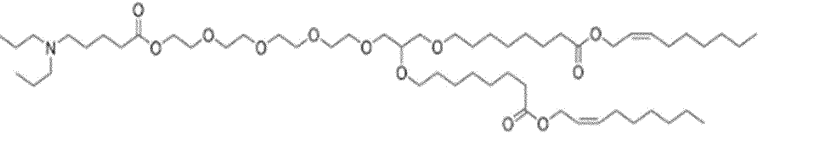
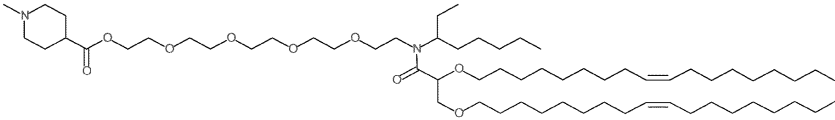
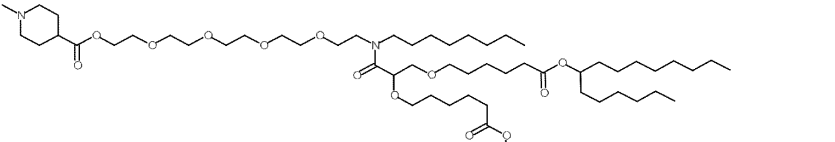
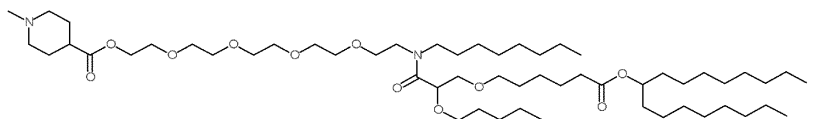
제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물은

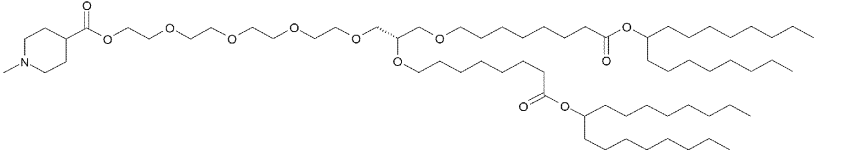
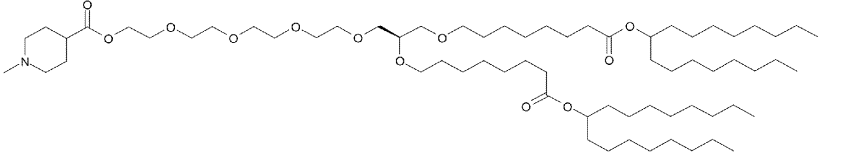
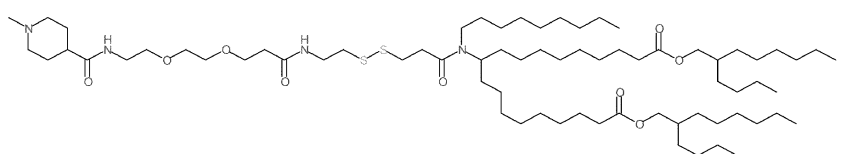
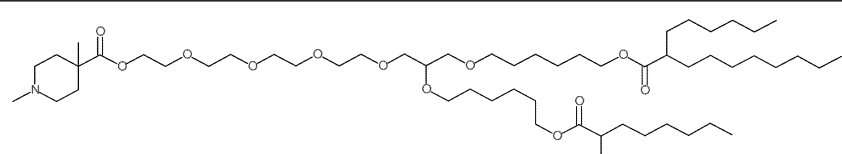
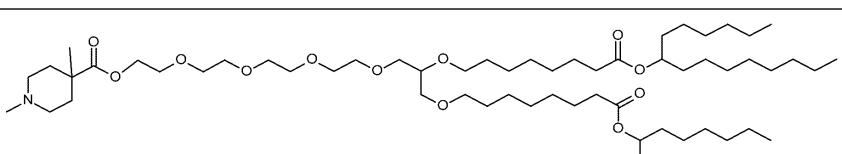
화합물 VI(실시예 1) 
화합물 VII(실시예 2) 
화합물 VIII(실시예 3) 
화합물 IX(실시예 4)

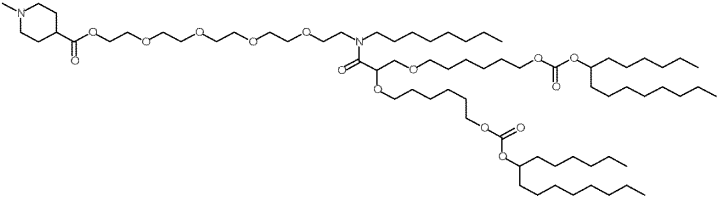
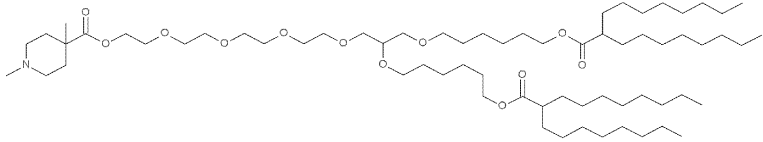
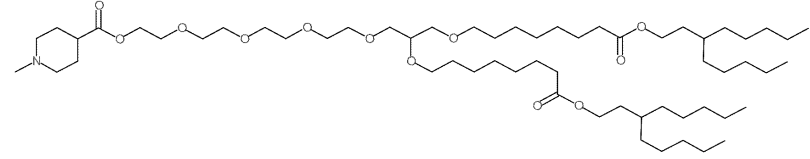
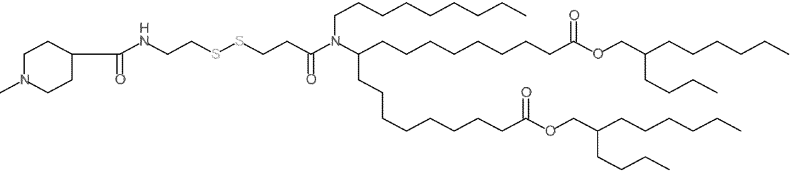
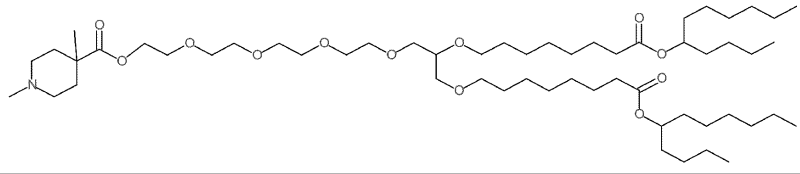

화합물 X(실시예 5)

화합물 XI(실시예 6)

화합물 XII(실시예 7)

화합물 XIII(실시예 8)

화합물 XIV(실시예 9)

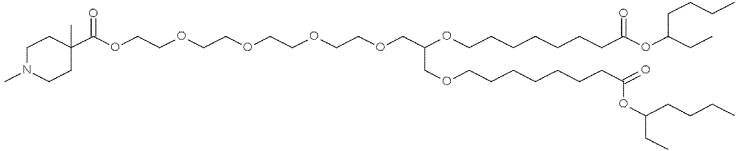
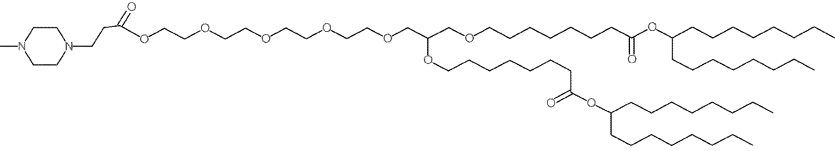
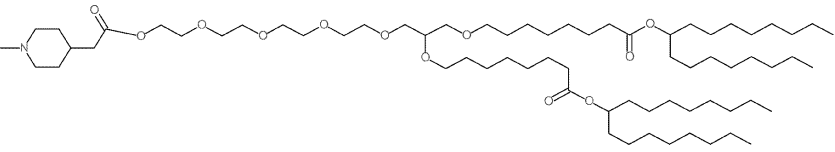
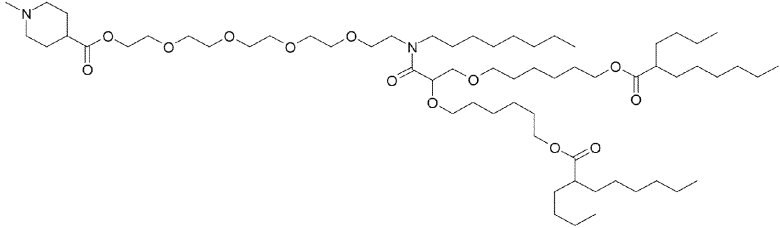
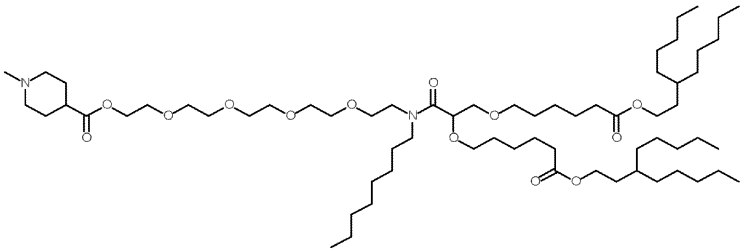

화합물 XV(실시예 10)

화합물 XVI(실시예 11)

화합물 XVII(실시예 12)

화합물 XVIII(실시예 13)

화합물 XIX(실시예 14)

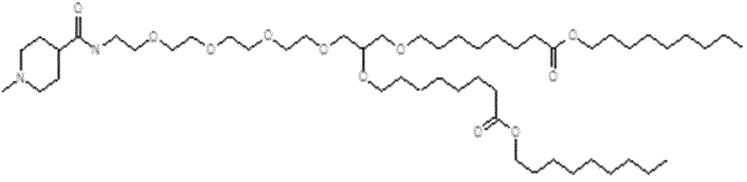
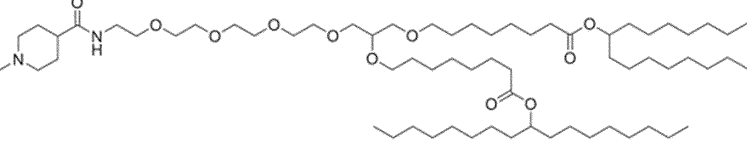
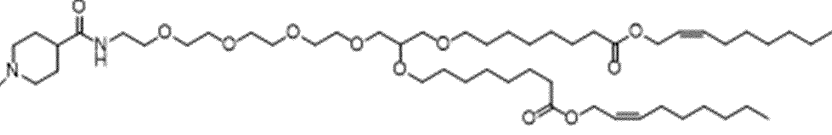

화합물 XX(실시예 15)

화합물 XXI(실시예 16)

화합물 XXII(실시예 17)

화합물 XXIII(실시예 18)

화합물 XXVII(실시예 19)


화합물 XXVIII(실시예 20)

화합물 XXIX(실시예 21)

화합물 XXX(실시예 22)

화합물 XXXI(실시예 23)

화합물 XXXII(실시예 24)(키랄)


화합물 XXXIII(실시예 25)(키랄)

화합물 XXXIV(실시예 26)

화합물 XXXV(실시예 27)

화합물 XXXVI(실시예 28)

화합물 XXXVII(실시예 29)


화합물 XXXVIII(실시예 30)

화합물 XXXIX(실시예 31)

화합물 XLVII(실시예 32)

화합물 XLI(실시예 33)

화합물 XLII(실시예 34)


화합물 XLIII(실시예 35)

화합물 XLIV(실시예 36)

화합물 XLV(실시예 37)

화합물 XLVI(실시예 38)


화합물 XXIV(실시예 39) 
화합물 XXV(실시예 40) 
화합물 XXVI(실시예 41) 

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나로 이루어진 군에서(이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재함), 특히 화합물 VI, 화합물 VII, 화합물 VIII, 화합물 XI, 화합물 XII, 화합물 XIV, 화합물 XV, 화합물 XVI, 화합물 XVII, 화합물 XVIII, 화합물 XIX, 화합물 XX, 화합물 XXI, 화합물 XXX, 화합물 XXXI, 화합물 XXXII, 화합물 XXXIII, 화합물 XXXIV, 화합물 XXXV, 화합물 XXXVI, 화합물 XXXVII 또는 화합물 XXXVIII로 이루어진 군에서 선택되는, 화합물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 따른 지질 화합물을 적어도 포함하는 지질 성분을 포함하는 조성물 또는 지질 나노입자(LNP).

청구항 19

제18항에 있어서, 지질 성분은 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질로부터 선택되는 지질을 적어도 추가로 포함하는, 조성물 또는 LNP.

청구항 20

제19항에 있어서, 중성 지질은 DSPC, DPPC, DMPC, POPC, DOPC와 같은 포스파티딜콜린; DOPE, DPPE, DMPE, DSPE, DLPE; DEPE; DPPS; DOPG와 같은 포스파티딜에탄올아민; 스팅고마이엘린; 및 세라마이드; 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물 또는 LNP.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, 구조적 지질은 스테롤 또는 이의 에스테르, 토마틴, 알파-토코페롤, 및 코르티코스테로이드, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물 또는 LNP.

청구항 22

제21항에 있어서, 스테롤 또는 이의 에스테르는 콜레스테롤 및 이의 유도체, 에르고스테롤, 데스모스테롤, 스티그마스테롤, 라노스테롤, 7-데하이드로콜레스테롤, 디하이드로라노스테롤, 자이모스테롤, 라토스테롤, 디오스게닌, 시토스테롤, 시토스타놀, 캄페스테롤, 페코스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르술산, 24-메틸렌 콜레스테롤, 콜레스테릴 마르가레이트, 콜레스테릴 올레에이트, 및 콜레스테릴 스테아레이트, 및 이들의 혼합물로 이

루어진 군으로부터 선택되는, 조성물 또는 LNP.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, PEG-지질은 PEG-DAG, DMG-PEG, PEG-PE, PEG-S-DAG, PEG-S-DMG, DSPC-PEG, DSPE-PEG, PEG-cer, mPEG-N,N-디테트라데실아세트아미드, PEG-디알키옥시프로필카르바메이트, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물 또는 LNP.

청구항 24

제19항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 30% 내지 약 70% 몰량의 지질 화합물, 약 0% 내지 약 50% 몰량의 중성 지질, 약 20% 내지 약 50% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1% 내지 약 15% 몰량의 PEG-지질을 적어도 포함하는 조성물 또는 LNP.

청구항 25

제19항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 생물학적 활성제를 추가로 포함하는 조성물 또는 LNP.

청구항 26

제25항에 있어서, 생물학적 활성제는 핵산인, 조성물 또는 LNP.

청구항 27

제26항에 있어서, 핵산은 적어도 항원을 인코딩하는, 조성물 또는 LNP.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 따른 조성물 또는 LNP 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 적어도 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 29

제28항에 따른 조성물 또는 LNP를 적어도 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 30

의약으로서 사용하기 위한 제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 따른 조성물 또는 LNP.

청구항 31

감염성 질병, 알레르기, 자가면역 질병, 혈액 장애, 대사 질병, 신경계 질병, 및 암 질병으로 이루어진 군에서 선택되는 질병을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 제26항 또는 제29항에 따른 조성물 또는 LNP.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 개시내용은 신규한 지질 화합물 분야에 속한다. 신규한 지질 화합물은 이온화 가능한 양이온성 지질이다. 지질 화합물은, 예를 들어, 다른 지질 성분, 예컨대 중성 지질, 구조적 지질 및 중합체 접합된 지질과 조합하여, 지질 나노입자를 형성하는 데 사용될 수 있다. 지질 나노입자는 치료제, 예컨대 핵산의 전달에 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002]

폴리뉴클레오티드 치료제 분야는 최근 몇 년에 걸쳐 놀라운 발전을 보였다. 폴리뉴클레오티드는 메신저 RNA(mRNA), 안티센스 올리고뉴클레오티드, 리보자임, DNA자임, 플라스미드 또는 면역 자극 핵산과 같은 다양한 핵산 기반 화합물을 포함한다. 일부 핵산, 예컨대 mRNA, 플라스미드 및 ssDNA는, 예를 들어 단백질 또는 효소의 결핍과 관련된 질병의 치료, 또는 특정 면역 반응을 유도하기 위한 백신 항원의 발현에 유용한 특정 세포 생성

물의 발현을 유도하는 데 사용될 수 있다. 번역 가능한 뉴클레오타이드 전달의 치료적 응용은, 작제물이 시스템에 고유한지 여부에 관계없이 임의의 선택된 단백질 서열을 생성하도록 합성될 수 있기 때문에 극도로 광범위하다. 핵산의 발현 생성물은 단백질의 기존 수준을 늘리거나, 누락 또는 비기능적 버전의 단백질을 대체하거나, 세포 또는 유기체에 새로운 단백질 및 관련 기능을 도입하거나, 특정 면역 반응을 유도하기 위해 외래 단백질에 노출시킬 수 있다.

[0003] 그러나, 생물학적 시스템에서 원하는 반응에 영향을 미치기 위한 폴리뉴클레오타이드의 전달과 관련된 많은 난제가 있으며, 이의 세포내 작용 부위로의 폴리뉴클레오타이드의 효과적인 전달은 주요 쟁점으로 남아 있다. 그 작용 부위에 효율적으로 전달되기 위해, 폴리뉴클레오타이드는 (i) 효소적 및 비효소적 분해로부터 보호되어야 하고, (ii) 관심 있는 생물학적 구획에 적절하게 분포되어야 하며, (iii) 표적화된 세포에 의해 효과적이고 효율적으로 내재화되어야 하고, 그 후 (iv) 관련 번역 기구가 있는 세포내 구획으로 전달되어야 한다.

[0004] 지질 나노입자(LNP)는 다양한 유형의 치료 활성제를 세포 내로 전달하는 데 효과적인 것으로 입증되었다(Thi et al., Vaccines, 2021, 9(4), 359). 예를 들어, 핵산을 함유하는 LNP, 예컨대 LNP-mRNA는 큰 관심을 끌었으며 최근 백신 분야에서 효능과 안전성이 입증되었고 코로나-19 팬데믹 관리에 극적으로 중요한 것으로 입증되었다(Reichmuth et al., Therapeutic delivery, 2016, 7(5), 319-334; Khurana et al., Nano today, 2021, 38, 101142).

[0005] 예를 들어, 다른 지질 성분, 예컨대 중성 지질, 콜레스테롤 및 페길화(PEGylated) 지질을 이용하여 제형화된 양이온성 지질로부터 형성된 지질 나노입자는 폴리뉴클레오타이드를 분해로부터 보호하고 이의 세포 흡수를 촉진하기 위해 사용되어 왔다.

[0006] 양이온성 지질 성분을 포함하는 지질 나노입자 기반 비히클은 캡슐화, 안정성 및 부위 국소화와 관련하여 유망한 결과를 보여주었지만, 지질 나노입자 기반 전달 시스템의 개선에 대한 큰 필요성이 여전히 남아 있다.

[0007] 개선된 약동학적 특성을 나타내고 다양한 유형의 폴리뉴클레오타이드를 매우 다양한 세포 유형 및 조직에 향상된 효율로 전달할 수 있는 개선된 양이온성 및 이온화 가능한 지질에 대한 필요성이 여전히 남아 있다.

[0008] 감소된 독성을 갖고 캡슐화된 폴리뉴클레오타이드를 표적화된 세포, 조직 및 기관에 효율적으로 전달할 수 있는 신규한 양이온성 이온화 가능 지질에 대한 필요성도 여전히 남아 있다.

[0009] 투여 후 생체내에서 용이하게 제거될 수 있고 감소된 독성을 갖는 신규한 양이온성 이온화 가능 지질에 대한 필요성이 있다.

[0010] 생분해성인 양이온성 이온화 가능 지질에 대한 필요성이 있다.

[0011] 폴리뉴클레오타이드의 전달을 위한 개선된 양이온성 지질 및 지질 나노입자는 또한 최적의 폴리뉴클레오타이드/지질 비를 제공하고, 폴리뉴클레오타이드가 혈청에서 분해 및 제거되는 것을 방지하고, 전신 또는 국소 전달에 적합하고, 폴리뉴클레오타이드의 세포내 전달을 제공할 것이다.

[0012] 또한, 지질-폴리뉴클레오타이드 입자는 내약성이 우수하고 적절한 치료 지수를 제공하여 폴리뉴클레오타이드의 유효 용량으로 환자를 치료하는 것이 환자에 대한 허용할 수 없는 독성 및/또는 위험과 관련되지 않도록 해야 한다.

[0013] 또한, 지질-핵산 입자는 약제학적으로 허용되는 완충액에서 4 내지 8°C에서 장기간 동안 저장하는 경우 액체 제형으로서 안정해야 한다.

[0014] 본 개시내용은 이들 필요성 전부 또는 그 중 일부를 만족시키는 것을 목적으로 한다.

발명의 내용

[0015] 이의 목적 중 하나에 따르면, 본 개시내용은 화학식 I의 지질 화합물:

[0016] [화학식 I]

[0017] $A-(CH_2)_n-CX-B-Z-R1$

[0018] (상기 식에서,

[0019] - R1은 C_{10} 내지 C_{57} 또는 C_{10} 내지 C_{55} 친유성 또는 소수성 테일 기이고;

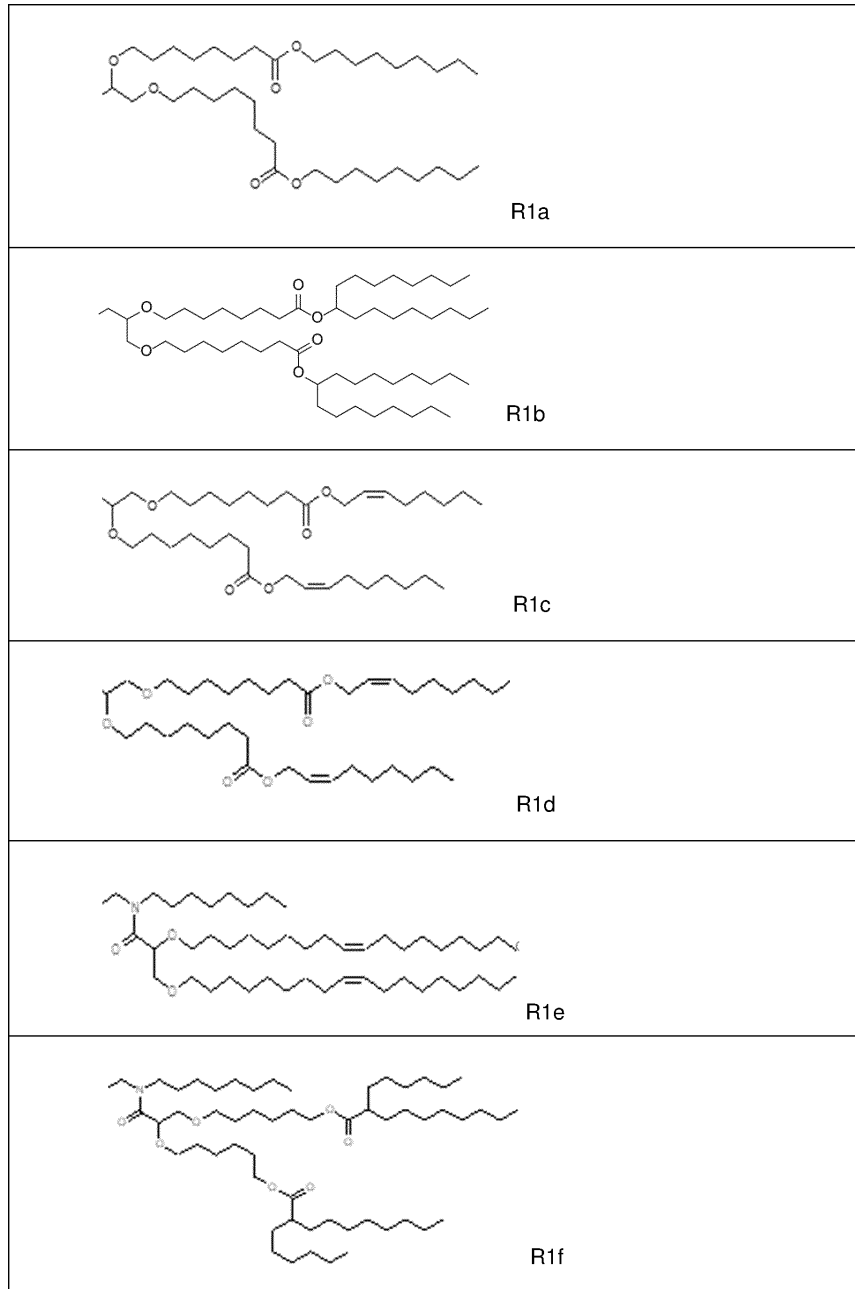
[0020] - Z는 분지형 또는 비분지된 선형 포화 또는 불포화 탄화수소 사슬 내에 2 내지 24개, 예를 들어 2 내지 18개,

예를 들어 4 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 스페이서 아암(spacer arm)일 수 있고, 상기 사슬에는 하나의 또는 몇몇 산소 원자 및/또는 $-S-S-$; $-(O=C)-$; $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$; $-S-$; $-NH-$, $-NH-(O=C)-$; $-(O=C)-NH-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 중에서 선택되는 모이어티, 예를 들어 $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 가 개재되고, 소수성 테일 기에 연결된 그의 말단에 대해 산소 원자 또는 $-NH-(O=C)-*$ $-O-(O=C)-*$; $-(C=O)-O-*$; 및 $-(O=C)-$ 중에서 선택되는 모이어티를 선택적으로 가지며, 이때 *는 상기 모이어티를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고;

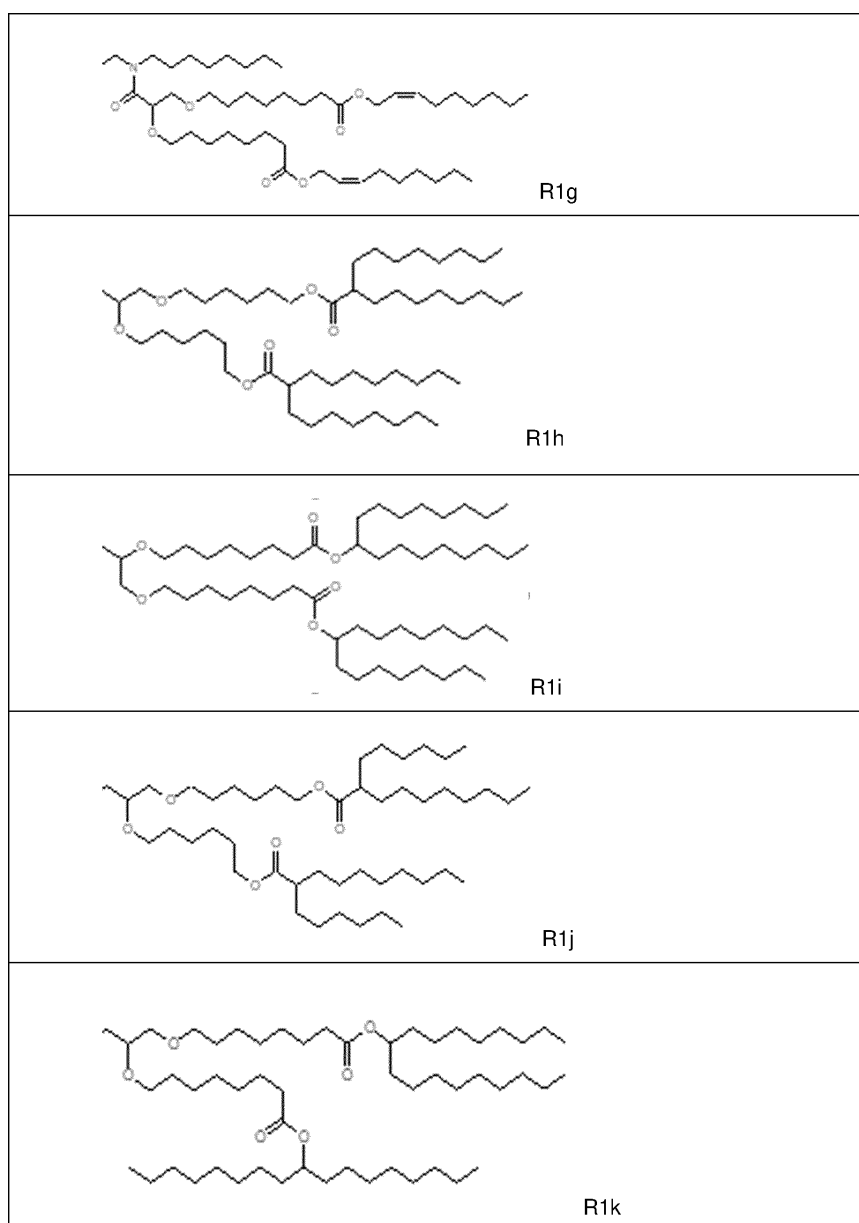
- [0021] - B는 산소 원자 또는 $-NH-$ 기이고;
- [0022] - X는 산소 원자 또는 황 원자일 수 있고;
- [0023] - n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일 수 있고;
- [0024] - A는 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 기임:
- [0025] - R_2R_3N- 기(여기서, R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기임);
- [0026] - $NR_2R_3-Alk-Y-$ 기(여기서, Y는 산소 또는 질소 원자이고, Alk는 C_2 내지 C_6 에서 알킬렌 모이어티일 수 있고, R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기임);
- [0027] - 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼(상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환됨));
- [0028] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.
- [0029] 이의 목적 중 또 다른 것에 따르면, 본 개시내용은 화학식 I의 지질 화합물:
- [0030] [화학식 I]
- [0031] $A-(CH_2)_n-CX-B-Z-R_1$
- [0032] (상기 식에서,
- [0033] - R_1 은 C_{10} 내지 C_{57} 또는 C_{10} 내지 C_{55} 친유성 또는 소수성 테일 기이고, 여기서 R_1 은 선택적으로 치환된, 분지형 또는 비분지된 선형, 포화 또는 불포화 C_{10} 내지 C_{57} 또는 C_{10} 내지 C_{55} 탄화수소 라디칼이고, 이때 탄화수소 골격에는 하나의 또는 몇몇 산소 또는 질소 원자 및/또는 하나의 또는 몇몇 모이어티 $-(C=O)-$, $-O-(C=O)-$ 또는 $-(C=O)-O-$ 가 선택적으로 개재되고, 하나의 질소 원자가 골격 내에 존재하는 경우 상기 Z 라디칼에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있고;
- [0034] - Z는 비분지된 선형 포화 또는 불포화 탄화수소 사슬 내에 2 내지 24개, 예를 들어 2 내지 18개, 예를 들어 4 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 스페이서 아암일 수 있고, 상기 사슬에는 하나의 또는 몇몇 산소 원자 및/또는 $-S-S-$; $-(O=C)-$; $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$; $-S-$; $-NH-$, $-NH-(O=C)-$; $-(O=C)-NH-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 중에서 선택되는 모이어티, 예를 들어 $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 가 개재되고, 소수성 테일 기에 연결된 그의 말단에 대해 산소 원자 또는 $-NH-(O=C)-*$ $-O-(O=C)-*$; $-(C=O)-O-*$; 및 $-(O=C)-$ 중에서 선택되는 모이어티를 선택적으로 가지며, 이때 *는 상기 모이어티를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고;
- [0035] - B는 산소 원자 또는 $-NH-$ 기이고;
- [0036] - X는 산소 원자 또는 황 원자일 수 있고;
- [0037] - n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6일 수 있고;
- [0038] - A는 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 기임:
- [0039] - R_2R_3N- 기(여기서, R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기임);

- [0040] - NR2R3-Alk-Y- 기(여기서, Y는 산소 또는 질소 원자이고, Alk는 C₂ 내지 C₆에서 알킬렌 모이어티일 수 있고, R2 및 R3은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기임);
- [0041] - 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼(상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환됨));
- [0042] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.
- [0043] 놀랍게도, 그리고 **실시예** 섹션에서 상세히 설명된 바와 같이, 본 발명자들은 본원에 개시된 바와 같은 신규한 지질 화합물이 mRNA 및/또는 다른 올리고뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드의 시험관내 및 생체내에서의 전달을 위한 개선된 조성물, 예컨대 지질 나노입자의 제형화를 가능하게 함을 관찰하였다.
- [0044] 본 개시내용의 지질 화합물을 사용하여 수득된 LNP는 감소된 그리고 균질한 크기를 갖는 것으로 나타났으며, 강한 단백질 발현을 유도할 수 있었다.
- [0045] 개선된 지질 나노입자는 mRNA에 의해 인코딩되는 단백질의 발현에 유용하다. 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자는 내인성 단백질의 발현을 조절하기 위한 miRNA 또는 miRNA 저해제, 또는 전이유전자의 발현을 위한 mRNA 또는 플라스미드를 전달함으로써 단백질 발현의 조절, 상향조절 또는 하향조절에 사용될 수 있다. 또한, 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자는 적합한 항원, 예컨대 인플루엔자 항원, 또는 항체를 인코딩하는 mRNA의 전달을 통해 감염에 대한 보호, 또는 단백질의 발현으로 인한 약리학적 효과를 유도하는 데 사용될 수 있다.
- [0046] 또한, 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자는 단백질, 예컨대 에리트로포이에틴(EPO)의 발현으로 인한 약리학적 효과를 유도하는 데 사용될 수 있고, 대사 질병 또는 단백질 결핍으로 인한 질병의 치료에 유용할 수 있다.
- [0047] 본원에 개시된 화합물은 양이온 형태일 수 있다.
- [0048] 본원에 개시된 화합물에서, R1은 선택적으로 치환된, 분지형 또는 비분지된 선형, 포화 또는 불포화 C₁₀ 내지 C₅₅ 탄화수소 라디칼이고, 이때 탄화수소 골격에는 하나의 또는 몇몇 산소 또는 질소 원자 및/또는 하나의 또는 몇몇 모이어티 -CO-, -O-CO- 또는 -CO-O-가 선택적으로 개재되고, 하나의 질소 원자가 골격 내에 존재하는 경우 본원에 정의된 바와 같은 상기 Z 라디칼에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있다.

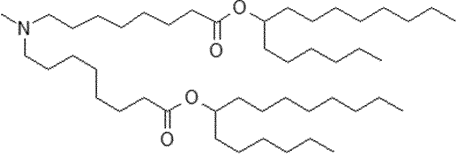
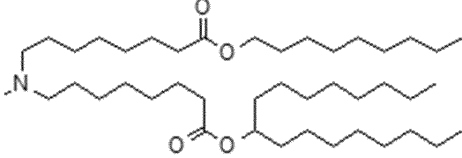
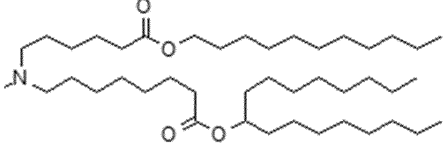
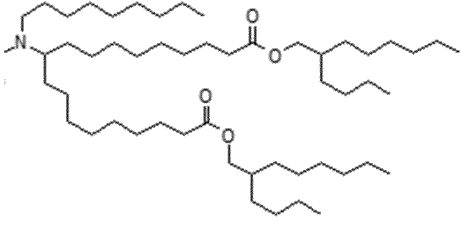
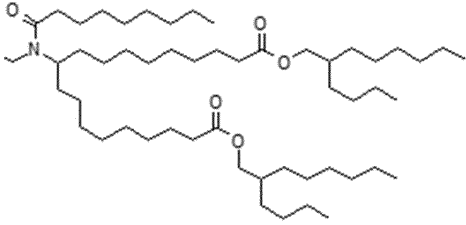
[0049] 본원에 개시된 화합물에서, R1은 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 기일 수 있다:



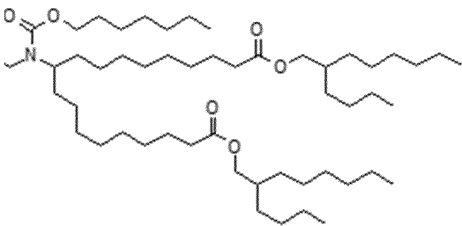
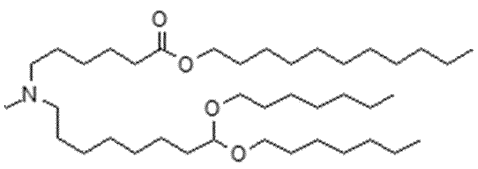
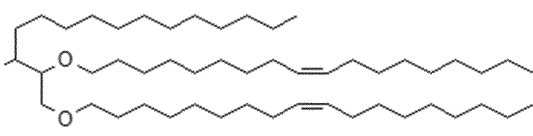
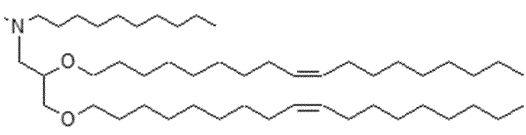
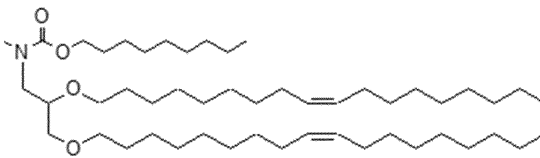
[0050]



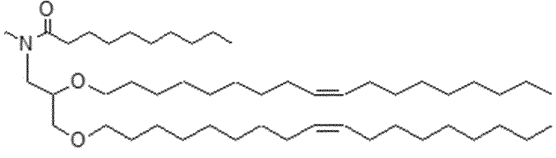
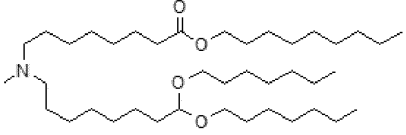
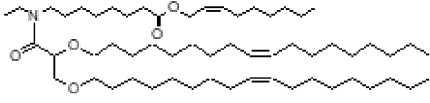
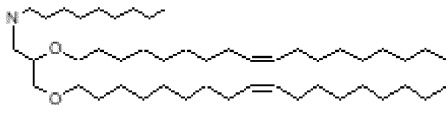
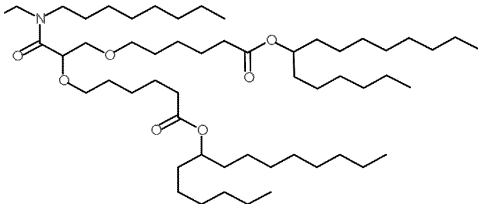
[0051]

 R1l
 R1m
 R1n
 R1o
 R1p

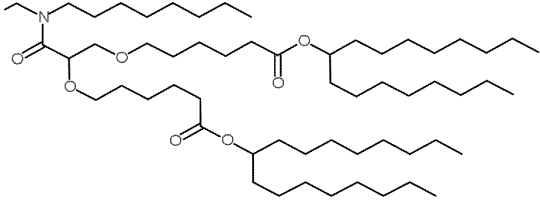
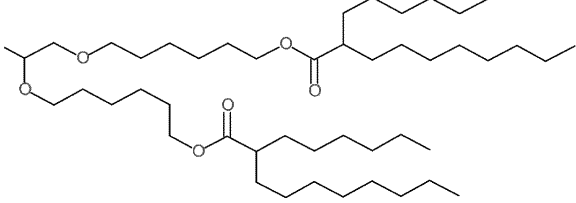
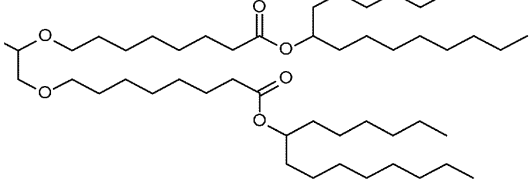
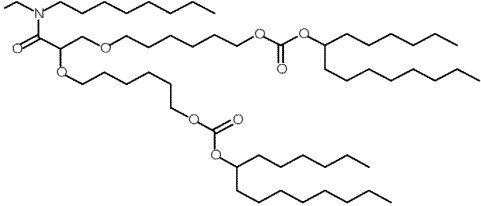
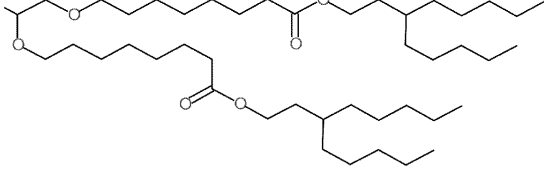
[0052]

 R1q
 R1r
 R1s
 R1t
 R1u

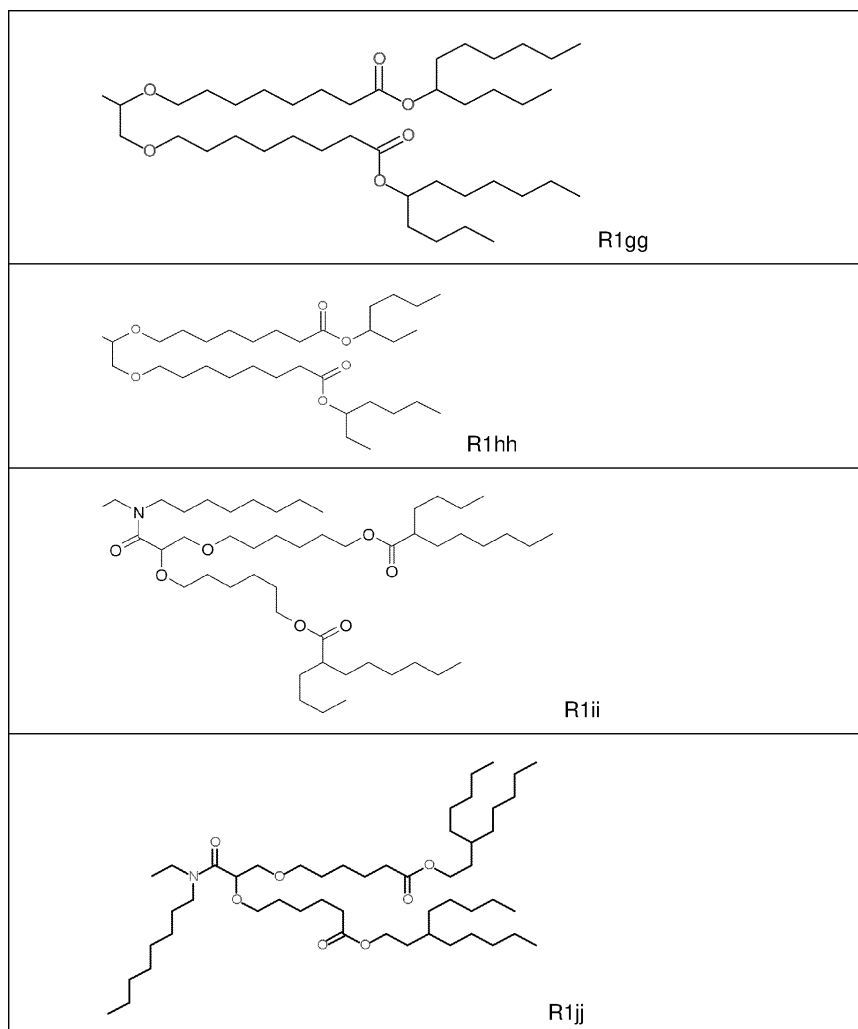
[0053]

 R1v
 R1w
 R1x
 R1y
 R1aa

[0054]

 R1bb
 R1cc
 R1dd
 R1ee
 R1ff

[0055]



[0056]

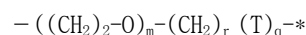
[0057]

본원에 개시된 화합물에서, Z는 분지형 또는 비분지된 선형 포화 또는 불포화 탄화수소 사슬 내에 2 내지 24개, 예를 들어 2 내지 18개, 예를 들어 4 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 스페이서 아암이고, 상기 사슬에는 하나의 또는 몇몇 산소 원자가 개재되고, 예를 들어 Z는 하기 화학식의 라디칼을 나타낸다:

[0058]

[화학식 Z]

[0059]



[0060]

(이때,

[0061]

- *는 상기 라디칼을 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고;

[0062]

- m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 4, 예를 들어 4의 정수이고;

[0063]

- r은 0 또는 1 내지 4의 정수이고;

[0064]

- q는 0 또는 1이고;

[0065]

- T는 $-(O=C)-$; $-(C=O)-O-*$; $-O-(O=C)-*$; 및 $-NH-(C=O)-O-*$ 로 이루어진 군에서 선택되고, 이때 **는 상기 기를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타냄).

[0066]

본원에 개시된 화합물에서, B는 산소 원자일 수 있다.

[0067]

본원에 개시된 화합물에서, B는 $-NH-$ 기일 수 있다.

[0068]

본원에 개시된 화합물에서, X는 산소 원자일 수 있다.

[0069]

본원에 개시된 화합물에서, n은 0, 1, 2, 3 또는 4일 수 있다.

[0070]

본원에 개시된 화합물에서, A는 $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_2-CH_2-CH_3)_2$, $O-(CH_2)_2N(CH_3)_2$, $N-(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 및 $NR_2R_3-A1k-Y-$

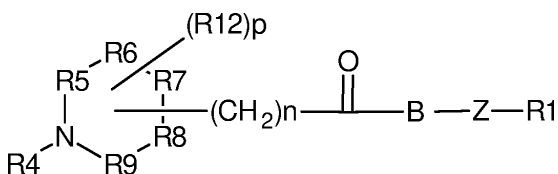
기(여기서, Y는 산소 또는 질소 원자일 수 있고, Alk는 C₂ 내지 C₆ 알킬렌이고, R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기임)로 이루어진 군에서 선택된다.

[0071] 본원에 개시된 화합물에서, A는 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼이며, 상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환된다.

[0072] 본원에 개시된 화합물은 겔보기 pKa가 7 미만, 또는 4.5 내지 7의 범위일 수 있다.

[0073] 본원에 개시된 화합물은 화학식 II의 화합물:

[0074] [화학식 II]



[0075]

[0076] (상기 식에서,

[0077] Z, n 및 R₁은 본원에 정의된 바와 같을 수 있으며;

[0078] R₄는 (C₁-C₅) 알킬 기, 예를 들어 (C₁-C₄) 알킬 기, 예컨대 메틸 기일 수 있고;

[0079] R₁₂는 (C₁-C₅) 알킬 기, 예를 들어 (C₁-C₄) 알킬 기, 예컨대 메틸 기일 수 있고;

[0080] p는 0 또는 1일 수 있고, 예를 들어 p는 0일 수 있고;

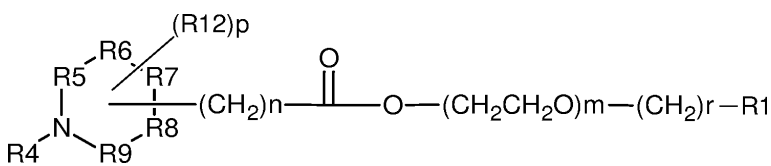
[0081] R₅, R₆, R₇, R₈ 및 R₉는 서로 독립적으로 -CH₂-; -CHR₁₂- 및 -NH- 중에서 선택되는 모이어티일 수 있고, 분자의 나머지 부분과의 연결에 관여하는 R₅, R₆, R₇, R₈ 및 R₉ 중 하나는 -CH-; -CR₁₂- 및 -N- 중에서 선택되는 모이어티이되, 단, R₅, R₆, R₇, R₈ 및 R₉ 중 단지 하나만이 -NH- 또는 -N-이고;

[0082] B는 산소 원자 또는 -NH- 기, 예를 들어 산소 원자임);

[0083] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나일 수 있으며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0084] 본원에 개시된 화합물은 화학식 IIa의 화합물:

[0085] [화학식 IIa]



[0086]

[0087] (상기 식에서,

[0088] R₁은 본원에 정의된 바와 같을 수 있으며;

[0089] n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 0 내지 4, 예컨대 0, 1 또는 2일 수 있고;

[0090] r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2일 수 있고;

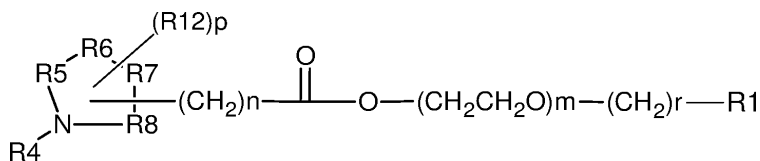
[0091] R₄ 내지 R₉, R₁₂ 및 p는 본원에 정의된 바와 같을 수 있으며, 예를 들어 p는 0이고;

[0092] m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수일 수 있음),

[0093] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나일 수 있으며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0094] 본원에 개시된 화합물은 화학식 III의 화합물:

[0095] [화학식 III]



[0096]

[0097] (상기 식에서,

[0098] R1은 본원에 정의된 바와 같을 수 있으며;

[0099] n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 0 내지 4, 예컨대 0, 1 또는 2일 수 있고;

[0100] m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수일 수 있고;

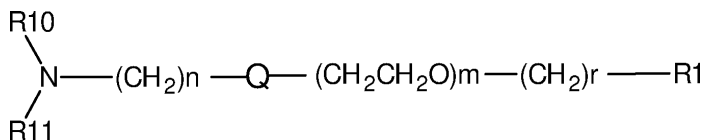
[0101] r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2일 수 있고;

[0102] R4 내지 R8, R12 및 p는 본원에 정의된 바와 같을 수 있으며, 예를 들어 p는 0임);

[0103] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나일 수 있으며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0104] 본원에 개시된 화합물은 화학식 IV의 화합물:

[0105] [화학식 IV]



[0106]

[0107] (상기 식에서,

[0108] R1은 본원에 정의된 바와 같을 수 있으며;

[0109] Q는 $-\text{O}(\text{C}=\text{O})-\ast$; $-(\text{C}=\text{O})-\text{O}\ast$; $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{O}\ast$; $-\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{O}-\ast$ 및 $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{N}-\ast$ 로 이루어진 군에서 선택되는 모이어티일 수 있고, 이때 $\ast$ 는 모이어티 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m$ 에 대한 연결을 나타내고

[0110] n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 1 내지 5, 예를 들어 2, 3 또는 4일 수 있고;

[0111] r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2일 수 있고;

[0112] R10 및 R11은 서로 독립적으로 (C_1-C_5) 알킬 기, 예를 들어 (C_1-C_4) 알킬 기, 예컨대 메틸 기 또는 프로필 기이고;

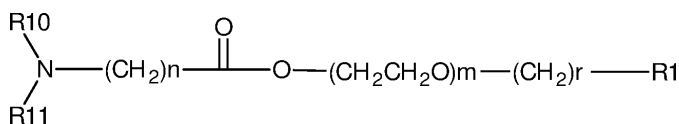
[0113] m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수일 수 있음);

[0114] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나일 수 있으며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0115] 일부 구현예에서, Q는 $-(\text{C}=\text{O})-\text{O}\ast$; $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{O}\ast$; $-\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{O}-\ast$ 및 $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{N}-\ast$ 로 이루어진 군에서 선택되는 모이어티일 수 있고, 이때 $\ast$ 는 모이어티 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m$ 에 대한 연결을 나타낸다.

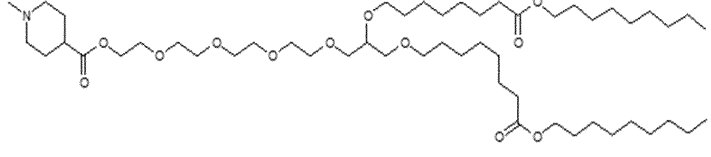
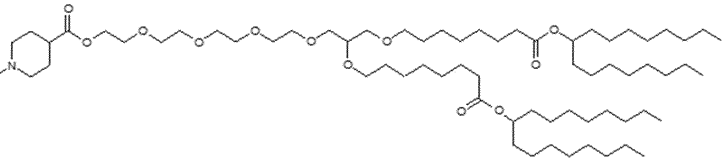
[0116] 본원에 개시된 화합물은 화학식 V의 화합물:

[0117] [화학식 V]

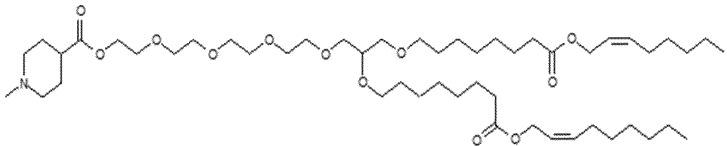
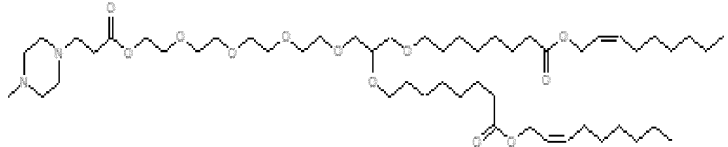
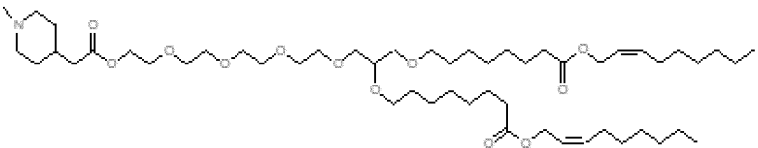
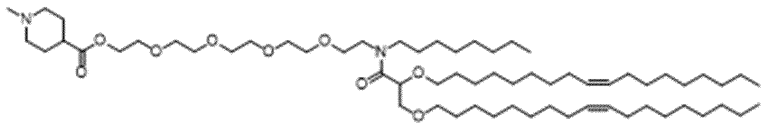
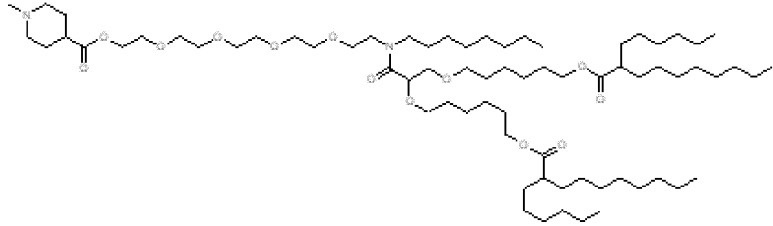


[0118]

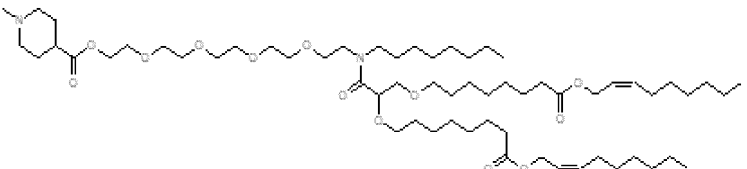
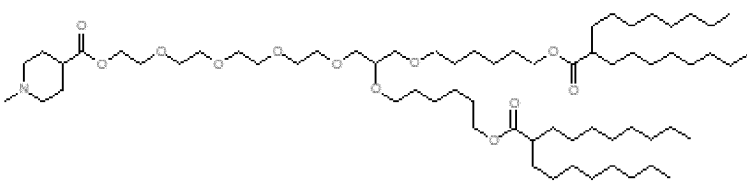
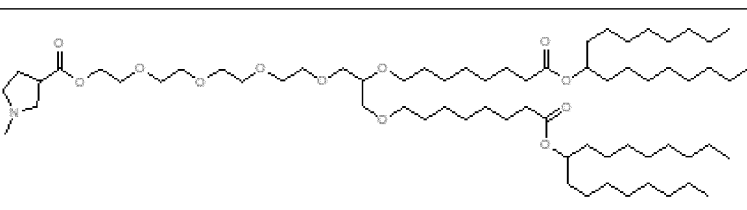
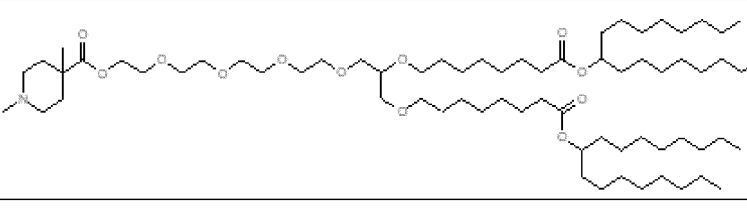
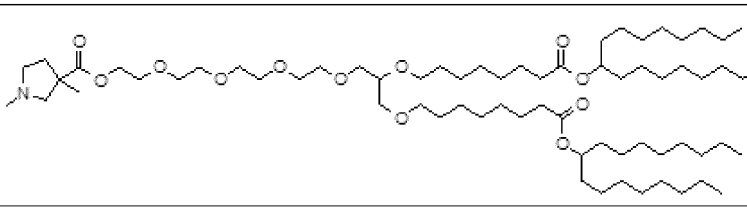
- [0119] (상기 식에서,
- [0120] R1, R10, R11, n, m 및 r은 본원에 정의된 바와 같을 수 있음);
- [0121] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나일 수 있으며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상 이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.
- [0122] 본원에 개시된 화합물은

화합물 VI(실시예 1)

화합물 VII(실시예 2)

화합물 VIII(실시예 3)

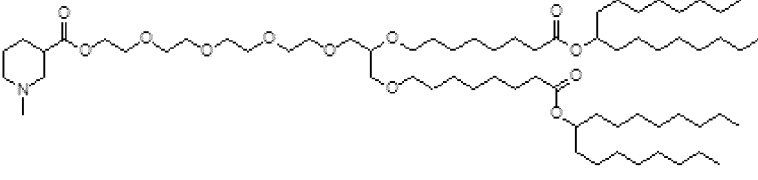
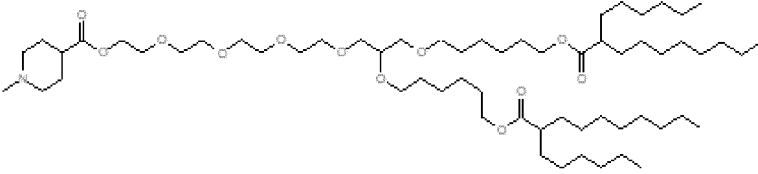
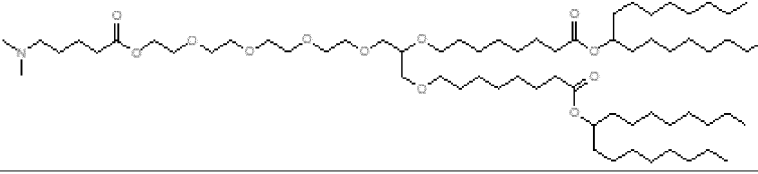
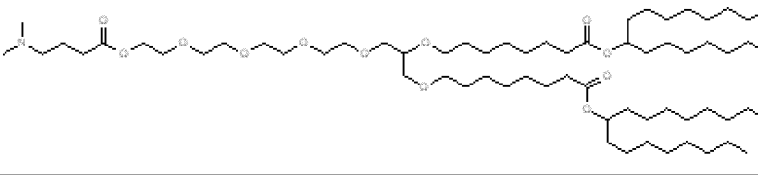
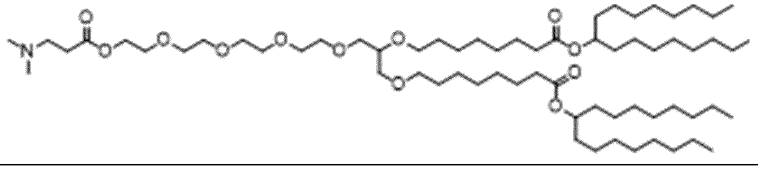
[0123]


화합물 IX(실시예 4)

화합물 X(실시예 5)

화합물 XI(실시예 6)

화합물 XII(실시예 7)

화합물 XIII(실시예 8)

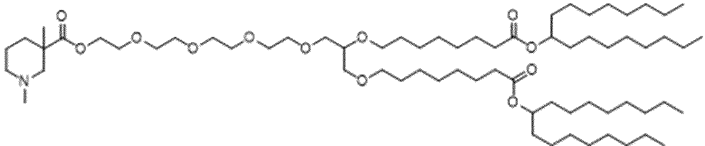
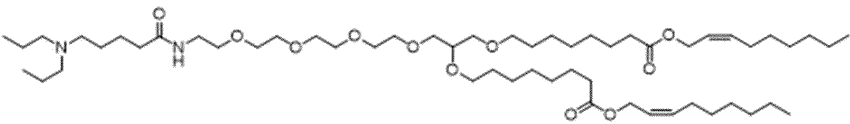
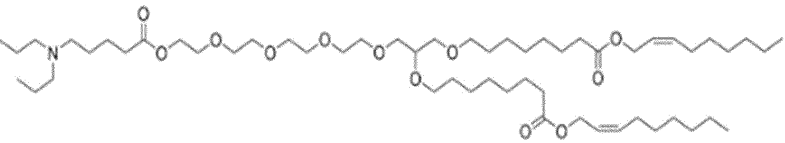
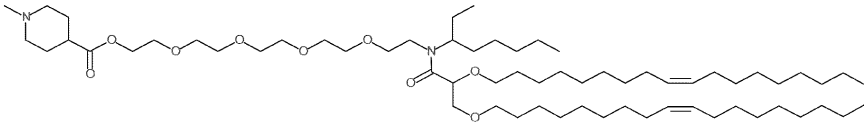
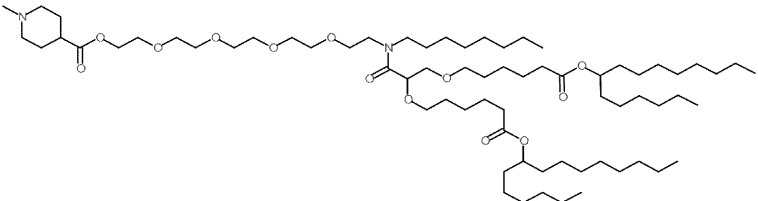
[0124]


화합물 XIV(실시예 9)

화합물 XV (실시예 10)

화합물 XVI(실시예 11)

화합물 XVII(실시예 12)

화합물 XVIII(실시예 13)

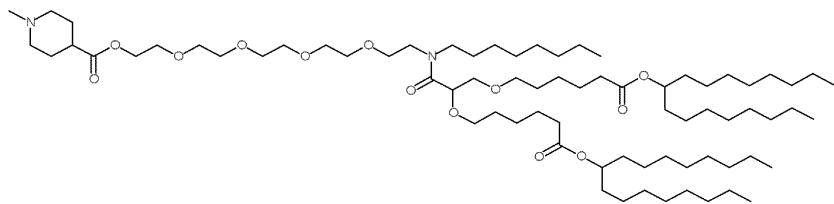
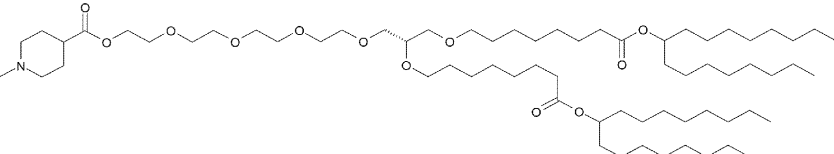
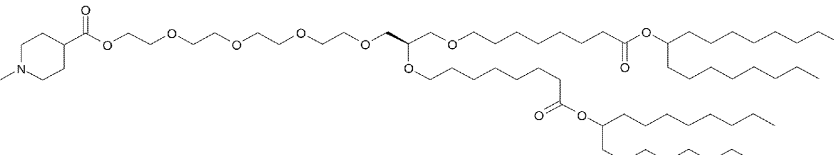
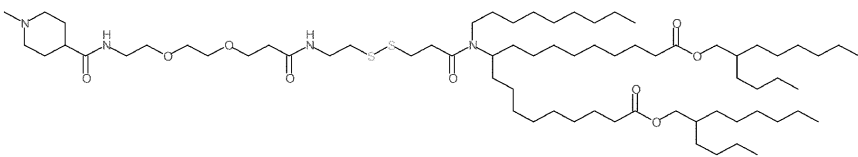
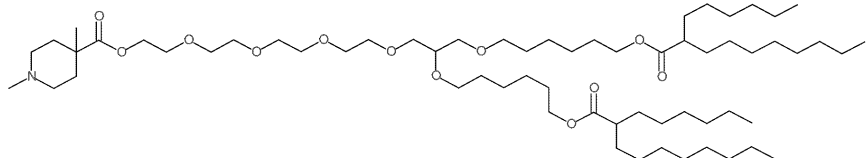
[0125]


화합물 XIX(실시예 14)

화합물 XX(실시예 15)

화합물 XXI(실시예 16)

화합물 XXII(실시예 17)

화합물 XXIII(실시예 18)

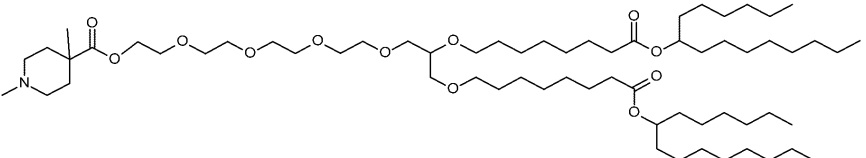
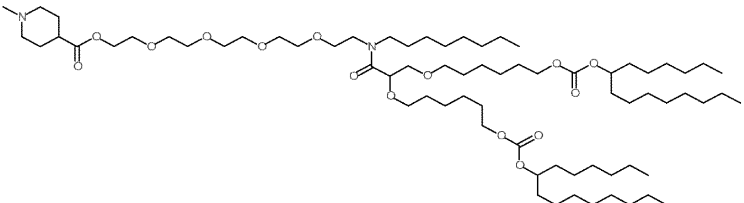
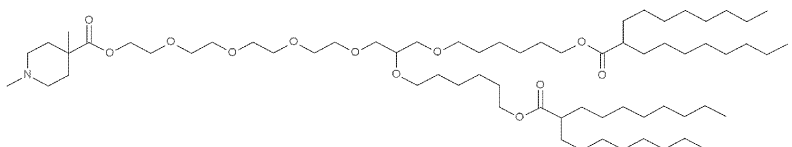
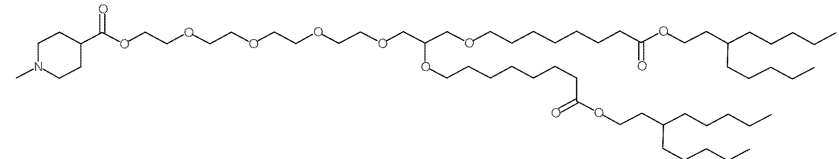
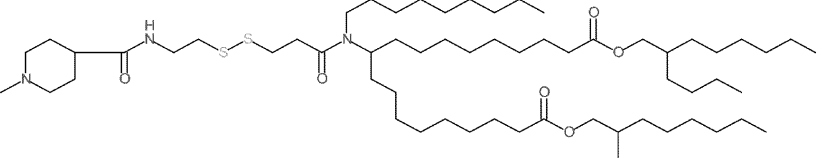
[0126]


화합물 XXVII(실시예 19)

화합물 XXVIII(실시예 20)

화합물 XXIX(실시예 21)

화합물 XXX(실시예 22)

화합물 XXXI(실시예 23)

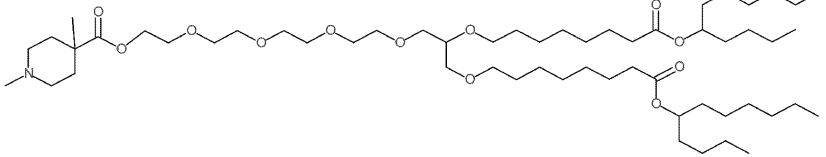
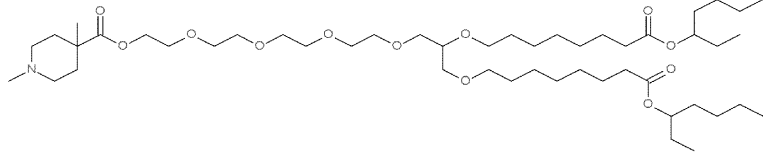
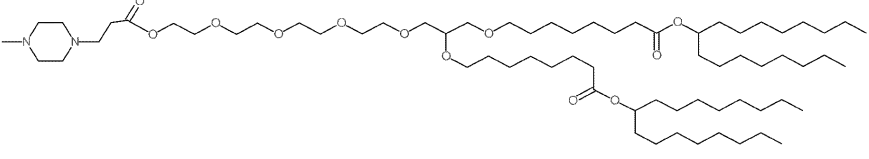
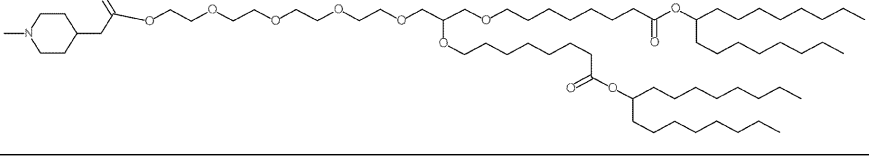
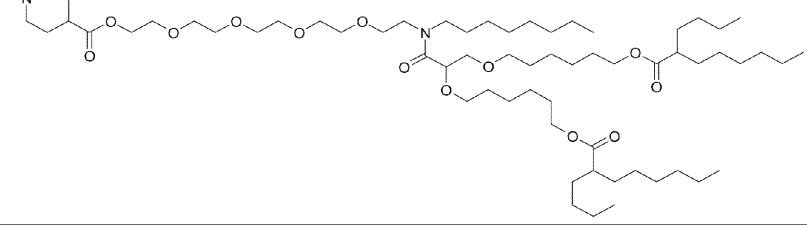
[0127]


화합물 XXXII(실시예 24)(키랄)

화합물 XXXIII(실시예 25)(키랄)

화합물 XXXIV(실시예 26)

화합물 XXXV(실시예 27)

화합물 XXXVI(실시예 28)

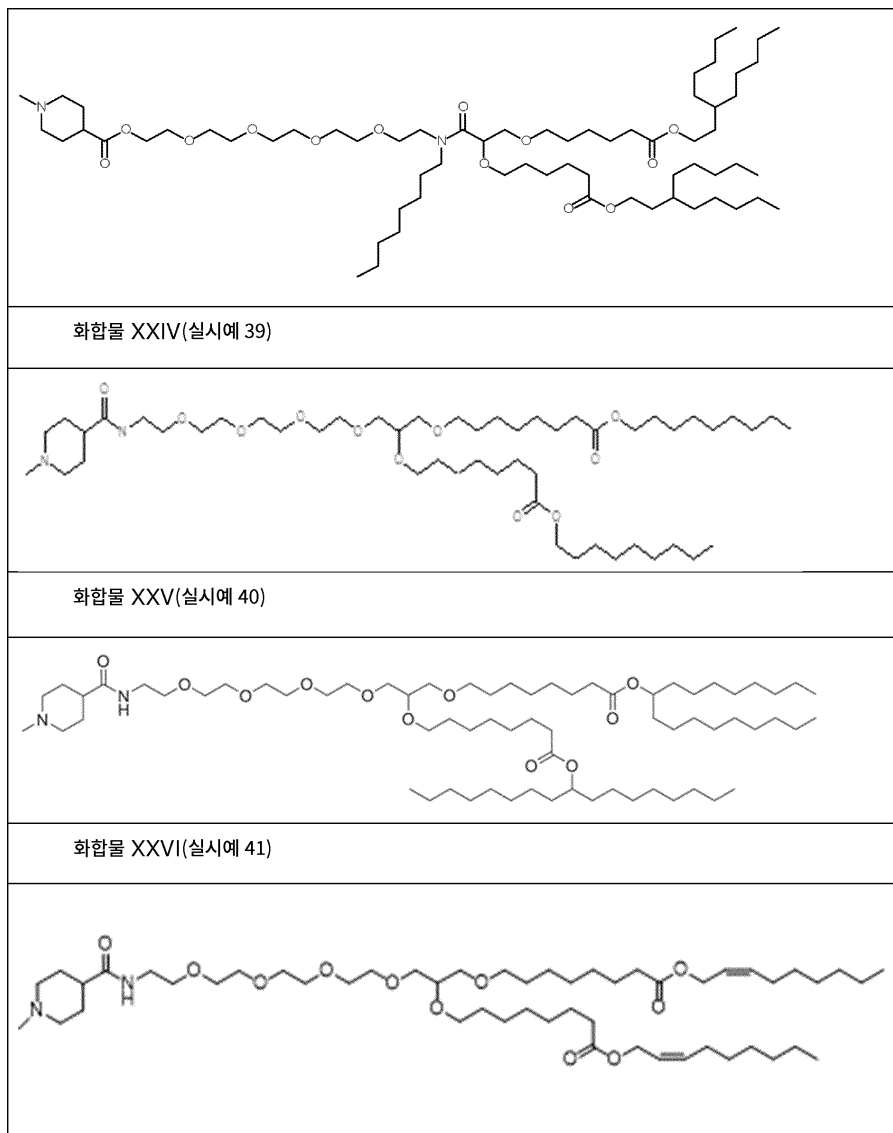
[0128]


화합물 XXXVII(실시예 29)

화합물 XXXVIII(실시예 30)

화합물 XXXIX(실시예 31)

화합물 XLVII(실시예 32)

화합물 XLI(실시예 33)

[0129]


화합물 XLII(실시예 34)

화합물 XLIII(실시예 35)

화합물 XLIV(실시예 36)

화합물 XLV(실시예 37)

화합물 XLVI(실시예 38)

[0130]



[0131]

[0132]

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나로 이루어진 군에서(이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재함), 특히 화합물 VI, 화합물 VII, 화합물 VIII, 화합물 XI, 화합물 XII, 화합물 XIV, 화합물 XV, 화합물 XVI, 화합물 XVII, 화합물 XVIII, 화합물 XIX, 화합물 XX, 화합물 XXI, 화합물 XXX, 화합물 XXXI, 화합물 XXXII, 화합물 XXXIII, 화합물 XXXIV, 화합물 XXXV, 화합물 XXXVI, 화합물 XXXVII 또는 화합물 XXXVIII로 이루어진 군에서, 또는 화합물 VI, 화합물 VII, 화합물 XII, 화합물 XIV, 화합물 XVI, 화합물 XVIII, 화합물 XIX, 화합물 XXI, 화합물 XXX, 화합물 XXXI, 화합물 XXXII, 화합물 XXXIII, 화합물 XXXIV, 화합물 XXXV, 화합물 XXXVI, 화합물 XXXVII 또는 화합물 XXXVIII로 이루어진 군에서, 또는 화합물 VII, 화합물 XII, 화합물 XIV, 화합물 XV, 화합물 XVI, 화합물 XIX, 화합물 XX 및 화합물 XXI 로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0133]

이의 목적 중 하나에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 지질 화합물을 적어도 포함하는 지질 성분을 포함하는 조성물 또는 지질 나노입자(LNP)에 관한 것이다.

[0134]

지질 성분은 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질로부터 선택되는 지질을 적어도 추가로 포함할 수 있다.

[0135]

중성 지질은 DSPC, DPPC, DMPC, POPC, DOPC와 같은 포스파티딜콜린; DOPE, DPPE, DMPE, DSPE, DLPE, DEPE; DPPS; DOPG와 같은 포스파티딜에탄올아민; 스핑고마이엘린; 및 세라마이드; 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0136]

구조적 지질은 스테롤 또는 이의 에스테르, 토마틴, 알파-토코페롤, 및 코르티코스테로이드, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

- [0137] 스테롤 또는 이의 에스테르는 콜레스테롤 및 이의 유도체, 에르고스테롤, 데스모스테롤, 스티그마스테롤, 라노스테롤, 7-데하이드로콜레스테롤, 디하이드로라노스테롤, 자이모스테롤, 라토스테롤, 디오스게닌, 시토스테롤, 시토스타놀, 캄페스테롤, 페코스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르솔산, 24-메틸렌 콜레스테롤, 콜레스테릴 마르가레이트, 콜레스테릴 올레에이트, 및 콜레스테릴 스테아레이트, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0138] PEG-지질은 PEG-DAG, DMG-PEG, PEG-PE, PEG-S-DAG, PEG-S-DMG, DSPC-PEG, DSPE-PEG, PEG-cer, mPEG-N,N-디테트라데실아세트아미드, PEG-디알키옥시프로필카르바메이트, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0139] LNP의 조성물은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 30% 내지 약 70% 몰량의 본원에 개시된 지질 화합물, 약 0% 내지 약 50% 몰량의 중성 지질, 약 20% 내지 약 50% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1% 내지 약 15% 몰량의 PEG-지질을 포함할 수 있다.
- [0140] 본원에 개시된 LNP의 조성물은 적어도 하나의 생물학적 활성제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0141] 생물학적 활성제는 핵산일 수 있다.
- [0142] 핵산은 적어도 항원을 인코딩할 수 있다.
- [0143] 이의 목적 중 하나에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 조성물 또는 LNP 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 적어도 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [0144] 이의 목적 중 하나에서, 본 개시내용은, 예를 들어 적어도 항원을 인코딩하는 핵산을 포함하는, 본원에 개시된 조성물 또는 LNP를 적어도 포함하는 면역원성 조성물에 관한 것이다.
- [0145] 이의 목적 중 하나에서, 본 개시내용은 의약으로서 사용하기 위한 본원에 개시된 조성물 또는 LNP에 관한 것이다.
- [0146] 이의 목적 중 하나에서, 본 개시내용은 감염성 질병, 알레르기, 자가면역 질병, 혈액 장애, 대사 질병, 신경계 질병, 및 암 질병으로 이루어진 군에서 선택되는 질병을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 본원에 개시된 조성물 또는 LNP에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0147] 도 1: 화합물 VI(실시예 1)의 합성 반응도식(schema);
- 도 2: 화합물 VII(실시예 2)의 합성 반응도식;
- 도 3: 화합물 VIII(실시예 3)의 합성 반응도식;
- 도 4: 화합물 X(실시예 5)의 합성 반응도식;
- 도 5: 화합물 XI(실시예 6)의 합성 반응도식;
- 도 6: 화합물 XII(실시예 7)의 합성 반응도식;
- 도 7: 화합물 XIII(실시예 8)의 합성 반응도식;
- 도 8: 화합물 XIV(실시예 9)의 합성 반응도식;
- 도 9: 화합물 XV(실시예 10)의 합성 반응도식;
- 도 10: 화합물 XVI(실시예 11)의 합성 반응도식;
- 도 11: 화합물 XVII(실시예 12)의 합성 반응도식;
- 도 12: 화합물 XIX(실시예 14)의 합성 반응도식;
- 도 13: 화합물 XX(실시예 15)의 합성 반응도식;
- 도 14: 화합물 XXI(실시예 16)의 합성 반응도식;
- 도 15: 화합물 XXIII(실시예 18)의 합성 반응도식;

- 도 16: 화합물 XXVI(실시예 41)의 합성 반응도식;
- 도 17: 화합물 XXVII(실시예 19)의 합성 반응도식;
- 도 18: 화합물 XXVIII(실시예 20)의 합성 반응도식;
- 도 19: 화합물 XXIX(실시예 21)의 합성 반응도식;
- 도 20: 화합물 XXX(실시예 22)의 합성 반응도식;
- 도 21: 화합물 XXXII(실시예 24)의 합성 반응도식;
- 도 22: 화합물 XXXIII(실시예 25)의 합성 반응도식;
- 도 23a 및 도 23b: 화합물 XXXIV(실시예 26)의 합성 반응도식;
- 도 24: 화합물 XXXV(실시예 27)의 합성 반응도식;
- 도 25: 화합물 XXXVI(실시예 28)의 합성 반응도식;
- 도 26a 및 도 26b: 화합물 XXXVII(실시예 29)의 합성 반응도식;
- 도 27: 화합물 XXXVIII(실시예 30)의 합성 반응도식;
- 도 28: 화합물 XXXIX(실시예 31)의 합성 반응도식;
- 도 29: 화합물 XLVII(실시예 32)의 합성 반응도식;
- 도 30: 화합물 XLI(실시예 33)의 합성 반응도식;
- 도 31: 화합물 XLII(실시예 34)의 합성 반응도식;
- 도 32: 화합물 XLIII(실시예 35)의 합성 반응도식;
- 도 33: 화합물 XLIV(실시예 36)의 합성 반응도식;
- 도 34a 및 도 34b: 화합물 XLV(실시예 37)의 합성 반응도식;
- 도 35: 화합물 XLVI(실시예 38)의 합성 반응도식;
- 도 36: 화합물 XXIV(실시예 39)의 합성 반응도식;
- 도 37: 화합물 XXV(실시예 40)의 합성 반응도식;
- 도 38: 화합물 XXXI(실시예 23)의 합성 반응도식;
- 도 39a 및 도 39b: mRNA-luc를 함유하고 다음 2개의 상이한 물비로 제형화된 LNP Lip (VII) 및 LNP SS-OP로 형질감염된 Huh7 세포에서 24 h째에 얻어진 발광을 나타낸다: 50/39.5/10/0.5(-1) 및 40/44.5/15/0.5(-2)(도 39a) 또는 세포 생존력(도 39b).
- 도 40: mRNA를 인코딩하는 루시페라제를 함유하는 LNP SS-OP(채워진 정사각형) 또는 LNP Lip. (VII)(채워진 원) 또는 PBS(채워진 오각형)로 처리된 마우스에서 얻어진 전신 생물발광 이미징(bioluminescence imaging, BLI)를 나타낸다.
- 도 41a 내지 도 41c: 주사 후 6 h(흑색 막대), 24 h(백색 막대) 또는 48 h(회색 막대)째에 LNP SS-OP(도 41a), LNP Lip. (VII)(도 41b) 또는 PBS(도 41c)로 처리된 마우스에서 루시페라제 단백질 발현의 mRNA-luc 생체내 분포를 나타낸다.
- 도 42a 및 도 42b: LNP SS-OP(도 42a) 또는 LNP Lip. (VII)(도 42b)로 처리된 마우스에서 루시페라제 단백질 발현의 mRNA-luc 생체의 조직 분포를 나타낸다.
- 도 43: 인간 에리트로포이에틴을 인코딩하는 고도로 정제된 비복제 mRNA를 포함하는 LNP Lip. (XIV), LNP Lip. (XVII), LNP Lip. (XVIII), LNP Lip. (XIX), LNP Lip. (XXX), LNP Lip. (XXXI), LNP Lip. (XXXII), LNP Lip. (XXXIII), LNP Lip. (XXXIV), LNP Lip. (XXXV), LNP Lip. (XXXVI), LNP Lip. (XXXVII), LNP Lip. (XXXVIII), 및 LNP Lip. MC3의 주사 후 6시간째에 측정된 마우스에서 EPO의 혈장 분비량(단위: ng/mL)을 나타낸다.
- 도 44: 인플루엔자 바이러스주 A/California/07/09(H1N1)의 전장 헤마글루티닌(HA)을 인코딩하는 천연 비복제

mRNA를 포함하는 LNP Lip. (VII), LNP Lip. (VIII) 또는 LNP Lip. (XII)로 두 번째 번역화 후 3주째에 측정된 마우스에서의 HI 역가를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0148] 정의

[0149] 본 명세서에서 사용된 용어는 일반적으로 본 개시내용의 맥락 내에서 그리고 각 용어가 사용된 특정 맥락에서 당업계에서 통상적인 의미를 갖는다. 특정 용어는 본 개시내용의 조성물 및 방법 및 이들을 제조하고 사용하는 방법을 설명하는 데 있어서의 추가 지침을 제공하기 위해 아래 또는 본 명세서의 다른 곳에서 논의된다. 청구범위를 포함하여 본 명세서에 대해 하기 정의가 제공된다.

[0150] 용어 "**약제학적으로 허용되는 염**"은 이러한 화합물과 예를 들어 비독성 산 부가 염의 조합으로부터 유래된 본원에 개시된 바와 같은 화합물의 부가 염을 포함한다.

[0151] 용어 "**산 부가 염**"은 염산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 황산, 질산 및 인산과 같은 무기 산과, 아세트산, 시트르산, 프로피온산, 타르타르산, 글루탐산, 살리실산, 옥살산, 메탄설폰산, 파라-톨루엔설폰산, 석신산 및 벤조산과 같은 유기 산, 및 관련 무기 및 유기 산을 포함한다.

[0152] 본원에 개시된 바와 같은 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은 또한 물, 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아미드, 에틸 아세테이트 등과 같은 다양한 용매화물로서 존재할 수 있다. 그러한 용매화물의 혼합물이 또한 제조될 수 있다. 이러한 용매화물의 공급원은 결정화 용매로부터의 것이거나, 제조 또는 결정화 용매에 내재되어 있거나, 이러한 용매에 우발적인 것일 수 있다. 그러한 용매화물은 본 개시내용의 범주 내에 있다.

[0153] 본 개시내용의 맥락에서 아래의 화학 용어는 하기 의미를 갖는다:

[0154] 할로젠 원자: 불소, 염소, 브롬 또는 아이오딘;

[0155] Ct-Cz: t 내지 z개의 탄소 원자를 가질 수 있는 탄소 사슬(여기서, t 및 z는 1 내지 7의 값을 가질 수 있음); 예를 들어, C₁-C₄는 1 내지 4개의 탄소 원자를 가질 수 있는 탄소 사슬이고;

[0156] Alk는 분지형 또는 선형 알킬렌 C₂ 내지 C₆를 의미하고;

[0157] 본원에서 사용되는 바와 같이, C₁-C₄ 알킬은 각각 C₁-C₄ 노르말, 이차 또는 삼차 포화 탄화수소를 지칭한다. 비제한적 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸 또는 tert-부틸이 있고;

[0158] C₁-C₄ 알콕시는 -O-(C₁-C₄)알킬 라디칼을 의미하는 것으로 하고자 하며, 여기서 C₁-C₄ 알킬 기는 상기에 정의된 바와 같다. 비제한적 예로는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 이소프로폭시, 부톡시, sec-부톡시 또는 tert-부톡시가 있고;

[0159] 헤테로원자는 질소, 산소 또는 황을 의미하는 것으로 이해되며;

[0160] 헤테로방향족 고리는 1 또는 2개의 헤테로원자를 포함하는 5원 또는 6원 방향족 고리를 나타내고;

[0161] 방향족 고리는 모 방향족 고리 시스템의 탄소 원자로부터 1개의 수소를 제거함으로써 유래된 6 내지 20개의 원자, 예를 들어 6개의 원자의 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭, 예를 들어 모노사이클릭 방향족 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 본원에 개시된 바와 같은 방향족 고리는 예를 들어 페닐 기이다.

[0162] 본원에서 달리 정의되지 않는 한, 본 개시내용과 관련하여 사용되는 과학 및 기술 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 가질 것이다. 예를 들어, 문헌[Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press]; 문헌[The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press]; 및 문헌[Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press]은 당업자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어의 일반 사전을 제공할 수 있다. 예시적인 방법 및 물질이 아래에 기재되지만, 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 또한 본 개시내용의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있다. 상충되는 경우에, 정의를 포함하여 본 명세서가 우선할 것이다. 일반적으로, 본원에 기술된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 바이러스학, 면역학, 미생물학, 유전학, 분석 화학, 합성 유기 화학, 의학 및 약 화학 및 단백질 및 핵산 화학 및 혼성화와 관련하여 사용되는 명명법 및 이들의 기법은 당해 기술분야에 잘 알려져 있고 흔히 사용되는 것이다. 반응 및 정제 기법은 당업계에서 일반적으로 달성되는 바와 같이 또는 본원에 기재된 바와 같이, 제조업체의 사양서에 따라 수행된다. 또한, 달리 문맥에 의

해 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수 용어를 포함할 것이며, 복수 용어는 단수 용어를 포함해야 한다.

- [0163] 단위, 접두어 및 기호는 이들의 국제단위계(Système International des Unités SI) 허용 형태로 표시된다. 숫자 범위는 해당 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 달리 나타내지 않는 한, 아미노산 서열은 좌측에서 우측으로 아미노 → 카르복시 배향으로 표기되고, 핵산 서열은 좌측에서 우측으로 5' → 3' 방향으로 표기된다. 본원에 제공된 표제는 본 개시내용의 다양한 양태를 제한하는 것이 아니다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 본 명세서 전체를 참조하여 더욱 완전하게 정의된다.
- [0164] 본 명세서 및 구현에 전반에 걸쳐, 단어 "갖다(have)" 및 "포함하다(comprise)", 또는 "가진다(has)", "갖는(having)", "포함한다(comprises)", 또는 "포함하는(comprising)"과 같은 변형은 언급된 정수 또는 정수의 군을 포함하되, 임의의 다른 정수 또는 정수의 군을 배제하지 않음을 암시하는 것으로 이해될 것이다. "갖다" 및 "포함하다", 또는 "갖고 있다", "갖고 있는", "포함하고 있다", 또는 "포함하는"과 같은 변형은 언급된 요소(들)(예컨대 물질의 조성물 또는 방법 단계)의 포함을 의미하며 임의의 다른 요소의 배제를 의미하는 것은 아님이 이해될 것이다. "~로 이루어진"이라는 용어는 임의의 추가 요소를 제외하고 언급된 요소(들)를 포함함을 암시한다. "~로 본질적으로 이루어진"이라는 용어는 언급된 요소 및 가능하게는 다른 요소(들)(여기서, 다른 요소(들)는 본 개시내용의 기본적인 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않음)의 포함을 암시한다. 용어 "포함하는"을 이용한 본 개시내용의 상이한 구현에 또는 균등물은 이러한 용어가 "~만을 포함하는", "~로 이루어진" 또는 "~로 본질적으로 이루어진"으로 대체된 구현예를 아우르는 것으로 이해된다.
- [0165] 본원에서 양태가 "포함하는"이라는 말로 기술되는 경우에, 달리 "~로 이루어진" 및/또는 "~로 본질적으로 이루어진"이라는 용어로 기술되는 유사한 양태도 제공되는 것으로 이해된다.
- [0166] 단수 용어("a" 또는 "an")의 엔티티는 이러한 엔티티 중 하나 이상을 지칭하며; 예를 들어 "뉴클레오타이드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 나타내는 것으로 이해됨을 주목해야 한다. 따라서, 단수형 용어("a"(또는 "an")), 용어 "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환 가능하게 사용될 수 있다.
- [0167] 추가로, 본원에 사용된 "및/또는"은 두 가지의 명시된 특징 또는 구성요소의 각각을 다른 것과 함께 또는 다른 것 없이 구체적으로 개시하는 것으로서 간주되어야 한다. 따라서, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용된 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A"(단독) 및 "B"(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용된 용어 "및/또는"은 하기의 양태 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).
- [0168] 용어 "대략" 또는 "약"은 대략, 거의, 가량 또는 '~의 부근'을 의미하기 위해 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우, 이는 기재된 수치값의 위와 아래로 경계를 확장하여 그 범위를 수식한다. 일반적으로, 용어 "약"은 예를 들어 10 퍼센트 위 또는 아래의(더 높거나 더 낮은) 변량만큼 언급된 값보다 높은 및 낮은 수치값을 수식할 수 있다. 일부 구현예에서, 용어는 지시된 수치값으로부터 $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 3\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.9\%$, $\pm 0.8\%$, $\pm 0.7\%$, $\pm 0.6\%$, $\pm 0.5\%$, $\pm 0.4\%$, $\pm 0.3\%$, $\pm 0.2\%$, $\pm 0.1\%$, $\pm 0.05\%$, 또는 $\pm 0.01\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 10\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 5\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 4\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 3\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 2\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 1\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.9\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.8\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.7\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.6\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.5\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.4\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.3\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.1\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.05\%$ 만큼의 편차를 나타낸다. 일부 구현예에서, "약"은 지시된 수치값으로부터 $\pm 0.01\%$ 만큼의 편차를 나타낸다.
- [0169] 본 개시내용 내에서, 특징 또는 파라미터에 대해, 예를 들어 "~와 유의하게 상이한" 또는 "~와 실질적으로 상이한"과 같이, 차이 또는 변화를 정성화하는 데 사용되는 용어 "유의하게" 또는 "실질적으로"는 관찰 변화 또는 차이가 현저하고/하거나 그것이 통계적인 의미를 갖는다는 것을 의미하는 것으로 하고자 한다. 역으로, 특징 또

는 파라미터에 대해, 예를 들어 "~와 유의하게 상이하지 않은" 또는 "~와 실질적으로 동일한"과 같이, 유사성 또는 동일성을 정성화하는 데 사용되는 용어 "유의하게" 또는 "실질적으로"는 변화 또는 차이가 현저하지 않거나 어떠한 관찰된 변화 또는 차이도 통계적으로 상이하지 않거나 관심 파라미터 또는 특징의 성질 및 기능이 실질적으로 영향을 미치지 않도록 한다는 것을 의미하는 것으로 하고자 한다.

[0170] 본원에 사용되는 바와 같이, "투여하다" 또는 "투여하는"은 본원에 기술된 조성물, 예를 들어, 지질 나노입자를 대상체에게 전달하는 것을 지칭한다. 조성물은 당업계에 알려진 방법을 사용하여 대상체에게 투여될 수 있다. 특히, 조성물은 정맥내, 피하, 근육내, 피내, 또는 임의의 점막 표면을 통해, 예를 들어 경구, 설하, 협측, 비강, 직장, 질, 또는 폐 경로를 통해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여는 피하로 이루어진다. 일부 구현예에서, 투여는 근육내로 이루어진다. 일부 구현예에서, 투여는 정맥내로 이루어진다. 일부 구현예에서, 투여는 자가-투여이다.

[0171] 용어 "항원"은 면역 반응을 유발하고/하거나 면역 반응이 유도되는 적어도 하나의 에피토프를 포함하는 임의의 분자, 예를 들어 펩티드 또는 단백질을 포함한다. 예를 들어, 항원은, 선택적으로 프로세싱 후에, 예를 들어 항원 또는 항원을 발현시키는 세포에 특이적인 면역 반응을 유도하는 분자이다. 프로세싱 후에, 항원은 MHC 분자에 의해 제시될 수 있으며 T 림프구(T 세포)와 특이적으로 반응한다. 따라서, 항원 또는 이의 단편은 T 세포 수용체에 의해 인식 가능해야 하고, 적절한 공동자극 신호의 존재 하에 항원 또는 단편을 특이적으로 인식하는 T 세포 수용체를 지닌 T 세포의 클론 확장을 유도할 수 있어야 하는데, 이는 항원 또는 항원을 발현하는 세포에 대한 면역 반응을 가져온다. 면역 반응을 위한 후보인 임의의 적합한 항원이 구상될 수 있다. 항원은 자연 발생 항원에 상응하거나 자연 발생 항원으로부터 유래될 수 있다. 이러한 자연 발생 항원은 알레르기원, 바이러스, 박테리아, 진균, 기생충 및 기타 감염원 및 병원체를 포함할 수 있거나 이로부터 유래될 수 있거나, 또는 항원은 또한 종양 항원일 수 있다. 항원은 항원을 인코딩하는 핵산으로서 제공될 수 있다. 개체에게 투여한 후에, 핵산은 펩티드에서 또는 단백질에서 번역되어 면역 반응을 이끌어낼 수 있다.

[0172] "하전된 지질"이라는 표현은 유용한 생리학적 범위, 예를 들어 pH 약 3 내지 pH 약 9 내에서 양으로 하전되거나 음으로 하전된 형태로 존재하는 다수의 지질종 중 임의의 것을 지칭하는 것으로 하고자 한다. 하전된 지질은 합성 또는 천연 유래일 수 있다. 하전된 지질의 예는 포스파티딜세린, 포스파티드산, 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜이노시톨, 스테롤 헤미석시네이트, 디알킬 트리메틸암모늄-프로판(예를 들어 DOTAP, DODAP, DOTMA), 디알킬 디메틸아미노프로판, 에틸 포스포콜린, 디메틸아미노에탄 카르바모일 스테롤(예를 들어 DC-Choi)을 포함한다.

[0173] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "개체" 또는 "대상체"는 포유동물이다. 포유동물은 가축(예를 들어, 소, 양, 고양이, 개, 및 말), 영장류(예를 들어, 인간 및 비-인간 영장류, 예를 들어, 원숭이), 토끼, 및 설치류(예를 들어, 마우스 및 래트)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 일부 구현예에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.

[0174] "이온화 가능한 양이온성 지질"이라는 표현은 생리학적 pH에서는 양성자화될 수 있지만 8, 9, 10, 11 또는 12 초과 pH에서는 탈양성자화될 수 있는 하나 이상의 기를 함유하는 지질을 지칭한다. 이온화 가능한 양이온성 기는 생리학적 pH에서 양이온성 기를 형성할 수 있는 하나 이상의 양성자화 가능한 아민을 함유할 수 있다. 양이온성 이온화 가능 지질 화합물은 또한 하나 이상의 지질 성분, 예컨대 C₆-C₂₄ 알킬 또는 알케닐 탄소 기를 갖는 둘 이상의 지방산을 추가로 포함할 수 있다. 이들 화합물은 텐드리머, 텐드론, 중합체 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0175] "지질 성분"이라는 표현은 지방산의 에스테르를 포함하지만 이에 한정되지 않고 일반적으로 물에는 난용성이지만 많은 유기 용매에는 용해성인 것을 특징으로 하는 유기 화합물 군을 지칭한다. 지질은 지방, 지방 오일, 에센셜 오일, 왁스, 인지질, 당지질, 설포지질, 아미노지질, 크로몰지질(리포크롬) 및 지방산을 포괄하는 일반적인 용어이다. 본 개시내용 내에서, "지질"은 중성 지질, 스테로이드 알코올 또는 이의 에스테르, 및 폐길화 지질을 포함한다.

[0176] "지질 나노입자"(LNP)라는 표현은 적어도 하나의 치수가 나노미터 정도(예를 들어, Nanoparticle Tracking Analysis(NTA)에 의해 측정될 때 1 내지 1 000 nm, 또는 예를 들어 10 내지 800 nm, 예를 들어 약 80 내지 약 200 nm)인 입자를 지칭한다. LNP는 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 지질 화합물을 포함할 수 있다. LNP는 중성 지질, 구조적 지질, 및/또는 PEG-지질을 추가로 포함할 수 있다. LNP는 생물학적 활성제, 예컨대 예방제, 치료제 또는 진단제를 관심 표적 부위(예를 들어, 세포, 조직, 기관, 종양 등)에 전달하는 데 사용될 수 있는 제형 내에 포함될 수 있다.

[0177] "중성 지질"이라는 표현은 선택된 pH, 예를 들어 생리학적 pH에서 이온화될 수 없거나 중성 쥘비터이온성 화합물인 임의의 지질 성분을 지칭한다. 이러한 지질은 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 스펅고마이엘린(SM), 또는 중성 스펅고지질, 예컨대 세라마이드를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 중성 지질은 합성 또는 천연 유래일 수 있다. 중성 지질은 또한 "헬퍼" 지질로도 칭해질 수 있다.

[0178] 내용에 따라서, 용어 "뉴클레오타이드" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 단일 핵산뿐만 아니라 복수의 핵산을 포괄할 수 있다. 본 개시내용 내에서, 용어 "핵산", "폴리뉴클레오타이드" 및 "올리고뉴클레오타이드"는 상호교환 가능하게 사용된다. 이들은 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 중 어느 하나, 또는 이들의 유사체의 중합체 형태를 지칭한다. 핵산은 임의의 3차원 구조를 가질 수 있으며, 알려지거나 알려지지 않은 임의의 기능을 수행할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 단리된 핵산 분자 또는 작제물, 예를 들어, 메신저 RNA(mRNA) 또는 플라스미드 DNA(pDNA)이다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 통상적인 포스포디에스테르 결합을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리뉴클레오타이드는 비통상적 결합(예를 들어, 펩티드 핵산(peptide nucleic acid: PNA)에서 발견되는 것과 같은 아미드 결합)을 포함한다. 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오타이드 내에 존재하는 임의의 하나 이상의 핵산 세그먼트, 예를 들어 DNA 또는 RNA 단편을 지칭할 수 있다. "단리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는, 그의 천연 환경으로부터 분리된, 핵산 분자, DNA 또는 RNA를 의도한다. 단리된 폴리뉴클레오타이드의 추가의 예는 이중 속주 세포 내에서 유지되거나 또는 용액 중에서 다른 폴리뉴클레오타이드로부터 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 재조합 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 단리된 RNA 분자는 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체를 포함한다. 본 개시내용에 따른 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 합성적으로 생산된 이러한 분자를 추가로 포함한다. 또한, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 프로모터, 인핸서, 리보솜 결합 부위, 또는 전사 종결 신호와 같은 조절 요소를 포함할 수 있다. "핵산", "폴리뉴클레오타이드", 및 "올리고뉴클레오타이드"는 선형 또는 환형일 수 있다. 다음은 폴리뉴클레오타이드의 비제한적 예이다: 유전자 또는 유전자 단편의 코딩 또는 비코딩 영역, 연관 분석으로부터 정해진 유전자 좌(들), 엑손, 인트론, 메신저 RNA(mRNA), 전달 RNA, 리보솜 RNA, 리보자임, cDNA, 폐쇄-말단 DNA(ceDNA), 자가 증폭 RNA(saRNA), 가닥 DNA(ssDNA), 작은 간섭 RNA(siRNA) 및 마이크로 RNA(miRNA), 재조합 폴리뉴클레오타이드, 분지형 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 핵산 프로브, 및 프라이머. 핵산은 변형된 뉴클레오타이드, 예를 들어, 메틸화된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드 유사체를 포함할 수 있다. 존재 시, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전 또는 후에 제공될 수 있다. 핵산의 서열에는 비-뉴클레오타이드 성분이 개재될 수 있다. 핵산은 예를 들어, 표지 성분과의 접합에 의해 중합 후에 추가로 변형될 수 있다. 용어 "핵산의 보체"는 참조 서열과 완전한 충실도로 혼성화할 수 있도록 참조 서열과 비교하여 상보적인 염기 서열 및 역방향향을 갖는 핵산 분자를 나타낸다. 핵산에 적용되는 바와 같이 "재조합체"는 핵산이 시험관내 클로닝, 제한 및/또는 라이게이션 단계, 및 속주 세포에서 잠재적으로 발현될 수 있는 작제물을 생성하는 기타 절차의 다양한 조합의 생성물임을 의미한다.

[0179] "PEG-지질" 또는 "폐길화 지질"이라는 표현은 상호교환 가능하게 사용되며, 지질 부분과 폴리에틸렌 글리콜 부분 둘 모두를 포함하는 분자를 지칭하도록 의도된다. PEG-지질은 당업계에 공지되어 있으며 1-(모노메톡시-폴리에틸렌글리콜)-2,3-디미리스토일글리세롤(PEG-DMG) 등을 포함한다.

[0180] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리펩티드"는 단일 "폴리펩티드" 및 복수의 "폴리펩티드"를 포함하는 의미이며, 아미드 결합(펩티드 결합이라고도 함)에 의해 선형으로 연결된 단량체(아미노산)로 구성된 분자를 지칭한다. 용어 "폴리펩티드"는 2개 이상의 아미노산으로 이루어진 임의의 사슬 또는 사슬들을 의미하고, 특정 길이의 생성물을 의미하지는 않는다. 따라서, 펩티드, 디펩티드, 트리펩티드, 올리고펩티드, "단백질", "아미노산 사슬" 또는 2개 이상의 아미노산의 사슬 또는 사슬들을 의미하기 위해 사용된 임의의 다른 용어는 "폴리펩티드"의 정의 내에 포함되고, 용어 "폴리펩티드"는 임의의 이들 용어 대신에 또는 이것과 상호교환 가능하게 사용될 수 있다. 용어 "폴리펩티드"는 제한 없이 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 또는 비자연 발생 아미노산에 의한 변형을 포함하는 폴리펩티드의 발현 후 변형의 생성물을 의미하는 것으로 또한 의도된다. 폴리펩티드는 천연 생물학적 공급원으로부터 유래되거나 재조합 기술로 생성될 수 있지만, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역되는 것은 아니다. 이는 화학적 합성을 포함하여 어떤 방식으로든 생성될 수 있다. "단리된" 폴리펩티드 또는 이의 단편, 변이체, 또는 유도체는 그의 천연적 환경에 있지 않은 폴리펩티드를 지칭한다. 특정 수준의 정제가 필요하지는 않다. 예를 들어, 단리된 폴리펩티드는 그의 고유 환경 또는 천연 환경으로부터 간단히 제거될 수 있다. 재조합적으로 생성된 폴리펩티드 및 속주 세포에서 발현된 단백질은 임의의 적합한 기법에 의해 분리되거나, 분획화되거나, 또는 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 천연 또는 재조합 폴리펩티드와 마찬가지로 본 개시내용의 목적상 단리된 것으로 간주된다.

- [0181] "스테롤" 또는 "스테로이드 알코올"이라는 표현은 상호교환 가능하게 사용되며 하이드록실 모이어티를 갖는 스테란 코어로 구성된 지질 군을 지칭하는 것으로 하고자 한다. 스테로이드 알코올의 예로는 콜레스테롤, 캄페스테롤, 시토스테롤, 스티그마스테롤 및 에르고스테롤을 들 수 있다. 스테로이드 알코올의 에스테르 또는 스테롤의 에스테르는 카르복실산과 스테로이드 알코올의 하이드록실 기의 에스테르를 지칭한다. 적합한 카르복실산은 카르복실 모이어티에 추가로 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형 알킬 기를 포함한다. 일부 구현예에서 알킬 기는 C_1 - C_{20} 알킬 기일 수 있다. 다른 구현예에서, 카르복실산은 지방산일 수 있다.
- [0182] 본원에서 사용되는 바와 같이, 질병 또는 장애와 관련하여 "예방하다", "예방하는" 또는 "~의 진행을 지연시키다"(및 이의 문법적 변형)라는 용어는 예를 들어, 질병에 걸린 것으로 의심되거나 질병 발생 위험이 있는 개체에서의 질병의 예방적 치료와 관련된다. 예방은 질병의 발병 또는 진행을 예방하거나 지연시키는 것 및/또는 질병의 적어도 하나의 증상을 원하는 수준으로 유지하거나 병리학적 수준 미만으로 유지하는 것을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. "예방"이라는 용어는 사건 발생 가망성 또는 가능성을 100% 제거할 것을 요구하지 않는다. 오히려, 이것은 본원에 기술된 바와 같은 조성물 또는 방법의 존재 하에 사건 발생 가능성이 감소되었음을 나타낸다.
- [0183] 본 명세서에서 "치료하다" 또는 "치료" 또는 "요법"이라는 용어는 질환의 증상, 장애를 고치거나, 치료하거나, 완화시키거나, 경감시키거나, 변경하거나, 해소하거나, 좋아지게 하거나, 개선하거나, 또는 영향을 주거나, 또는 증상, 합병증의 발병을 예방 또는 지연하거나, 그렇지 않으면 통계적으로 유의한 방식으로 장애의 추가 발생을 저지하거나 저해할 목적으로 위한 본원에 개시된 바와 같은 조성물을 투여하거나 소비하는 것을 지칭한다.
- [0184] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료적 유효량" 및 "예방적 유효량"은 고려되는 병리학적 프로세스의 치료, 예방 또는 관리에서 치료적 이익을 제공하는 양을 지칭한다. 치료적으로 효과적인 특정한 양은 일반 의사가 쉽게 결정할 수 있으며, 고려되는 병리학적 프로세스의 유형 및 단계, 환자의 병력 및 연령, 및 다른 치료제의 투여와 같은 요인에 따라 달라질 수 있다.
- [0185] 본원에서 사용되는 바와 같이, "표적 세포" 또는 "표적화된 세포"는 관심 세포를 지칭한다. 세포는 시험관내, 생체내, 원위치에서 또는 유기체의 조직 또는 기관에서 발견될 수 있다. 유기체는 동물, 예를 들어 포유동물, 예를 들어 인간, 예를 들어 인간 환자일 수 있다. 일부 구현예에서, 표적 세포는 개체로부터 분리된 세포이다.
- [0186] 명확성을 위해, 개별 구현예의 맥락에서 기재되는 본 개시내용의 특정 특징은 또한 단일 구현예와 조합하여 제공될 수 있음이 이해된다. 이와 대조적으로, 간략화를 위하여, 단일 구현예의 맥락에서 기재되는 본 개시내용의 다양한 특징은 또한 개별적으로 또는 임의의 적합한 하위조합으로 제공될 수 있다.
- [0187] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 개시내용이 속하는 분야의 당업자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 또한 본 개시내용의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다. 본원에 언급된 모든 간행물은 간행물이 인용되는 것과 관련된 방법 및/또는 물질을 개시하고 기술하기 위해 본원에 참고로 포함된다.
- [0188] 이하에 기술된 바와 같은 공급원, 성분 및 구성요소의 목록은 이들의 조합 및 혼합물이 또한 고려되고 본원의 범주 내에 있도록 열거되어 있다.
- [0189] 본 명세서 전반에 걸쳐 주어진 모든 최대 수치 한계치는 마치 모든 수치 하한치가 본원에 명시적으로 기재된 것처럼 이러한 모든 수치 하한치를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서 전반에 걸쳐 주어진 모든 최소 수치 한계치는 마치 모든 수치 상한치가 본원에 명시적으로 기재된 것처럼 이러한 모든 수치 상한치를 포함할 것이다. 본 명세서 전반에 걸쳐 주어진 모든 수치 범위는 마치 모든 더 좁은 수치 범위가 모두 본원에 명시적으로 기재된 것처럼 그러한 더 넓은 수치 범위 내에 속하는 모든 더 좁은 수치 범위를 포함할 것이다.
- [0190] 예를 들어 성분 목록과 같은 모든 항목 목록은 Markush 군으로 해석하는 것으로 하고자 하며 그렇게 해석되어야 한다. 따라서 모든 목록은 항목의 목록 "및 이들의 조합 및 혼합물"로 "이루어진 군으로부터 선택되는" 항목으로 판독되고 해석될 수 있다.
- [0191] 본 개시내용에 사용되는 다양한 성분을 포함하는 구성요소에 대한 상표명이 본원에 참조될 수 있다. 본원에서 본 발명자들은 임의의 특정 상표명 하의 물질에 의해 제한되는 것으로 의도하지 않는다. 상표명으로 언급된 것과 동등한 물질(예를 들어, 상이한 명칭 또는 참조 번호로 상이한 공급처로부터 수득된 것)이 본원의 설명에서 치환 및 사용될 수 있다.
- [0192] 본원에 언급된 모든 간행물 및 다른 참고문헌은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다. 다수의 문헌이 본원에 인용

되지만, 이러한 인용은 임의의 이들 문헌이 당업계의 통상적인 일반 지식의 일부를 형성함을 인정하는 것으로 간주되지 않는다.

[0193] **지질 화합물**

[0194] 본원에 개시된 지질 화합물은 이온화 가능한 양이온성 지질 화합물이다.

[0195] 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물은 예를 들어 이온화 가능하며 그 이유는 이것이 아민-함유 지질 화합물이기 때문이다. 이러한 화합물은 쉽게 양성자화될 수 있으므로 pH 값에 따라 pKa가 변경된다. 예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 화합물은 예를 들어 7 미만, 예를 들어 4.5 내지 6.7 범위의 pKa를 갖는다.

[0196] 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물은 비대칭 중심, 키랄 축 및 키랄 평면을 가질 수 있으며(문헌[E. L. Eliel and S. H. Wilen, Stereochemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1994, pages 1119-1190]에 설명된 바와 같음), 라세미체, 라세미 혼합물 및 개별 부분입체이성질체로서 나타나며, 이때 광학 이성질체를 포함한 모든 가능한 이성질체들 및 이들의 혼합물이 본 개시내용에 포함된다. 또한, 본원에 개시된 양이온성 지질은 호변이성질체로서 존재할 수 있고, 단지 하나의 호변이성질체 구조가 묘사되더라도, 두 호변이성질체 형태 모두 본 개시내용의 범주에 포함되는 것으로 의도된다.

[0197] 본원에 개시된 바와 같은 화합물의 약제학적으로 허용되는 염은, 일반적으로 생리학적으로 허용되는 하나 또는 여러 개의 반대 이온을 갖는다. 가능한 반대 이온으로는 예를 들어 할라이드, 포스페이트, 트리플루오로아세트이트, 설페이트, 니트레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 갈락투론산 라디칼, 알킬설포네이트, 알킬카르복실레이트, 프로피오닉 설포네이트 및 메탄설포산 라디칼을 들 수 있다.

[0198] 본원에 개시된 바와 같은 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염은 또한 물, 메탄올, 에탄올, 디메틸포름아미드, 에틸 아세테이트 등에 의한 것과 같은 다양한 용매화물로서 존재할 수 있다. 그러한 용매화물의 혼합물이 또한 제조될 수 있다. 이러한 용매화물의 공급원은 결정화 용매로부터의 것이거나, 제조 또는 결정화 용매에 내재되어 있거나, 이러한 용매에 우발적인 것일 수 있다. 그러한 용매화물은 본 개시내용의 범주 내에 있다.

[0199] 예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물은 화학식 I:

[0200] [화학식 I]

[0201] $A-(CH_2)_n-CX-B-Z-R1$

[0202] (상기 식에서,

[0203] - R1은 C₁₀ 내지 C₅₇ 또는 C₁₀ 내지 C₅₅ 친유성 또는 소수성 테일 기이고;

[0204] - Z는 분지형 또는 비분지된 선형 포화 또는 불포화 탄화수소 사슬 내에 2 내지 24개, 예를 들어 2 내지 18개, 예를 들어 4 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 스페이서 아암이고, 상기 사슬에는 하나의 또는 몇몇 산소 원자 및/또는 $-S-S-$; $-(O=C)-$; $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$; $-S-$; $-NH-$, $-NH-(O=C)-$; $-(O=C)-NH-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 중에서 선택되는 모이어티, 예를 들어 $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$ 및 $-NH-(C=O)-O-$ 가 개재되고, 소수성 테일 기에 연결된 그의 말단에 대해 산소 원자 또는 $-NH-(O=C)-*$ $-O-(O=C)-*$; $-(C=O)-O-*$; 및 $-(O=C)-$ 중에서 선택되는 모이어티를 선택적으로 가지며, 이때 *는 상기 모이어티를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고;

[0205] - B는 산소 원자 또는 $-NH-$ 기를 나타내고;

[0206] - X는 산소 원자 또는 황 원자이고;

[0207] - n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이고;

[0208] - A는 다음으로 이루어진 군에서 선택되는 기를 나타냄:

[0209] - R₂R₃N- 기(여기서, R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기를 나타냄),

[0210] - NR₂R₃-Alk-Y- 기(여기서, Y는 산소 또는 질소 원자이고, Alk는 C₂ 내지 C₆에서 알킬렌 모이어티이고, R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기를 나타냄),

[0211] - 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼(상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되

고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C1-C6) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환됨));

[0212] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나를 가지며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0213] 일 구현예에 따르면, 본원에 개시된 바와 같은 화합물은 양이온 형태이다.

[0214] 일 구현예에 따르면, B는 산소 원자이다.

[0215] 일 구현예에 따르면, B는 -NH- 기이다.

[0216] 일 구현예에 따르면, X는 산소 원자이다.

[0217] 일 구현예에 따르면, n은 0, 1, 2, 3 또는 4이다.

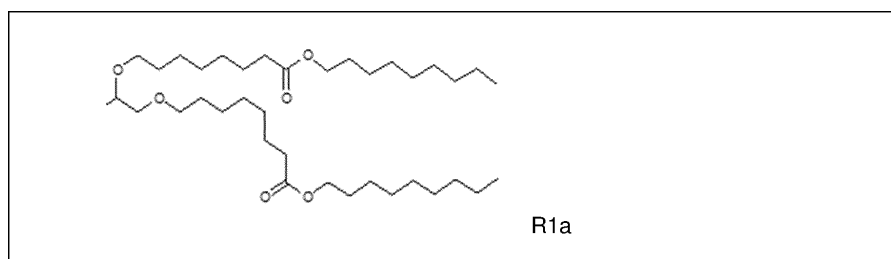
[0218] 일부 구현예에서, R1은 C₁₀ 내지 C₅₅ 친유성 또는 소수성 테일 기이다.

[0219] 구체적인 일 구현예에 따르면, R1은 선택적으로 치환된, 분지형 또는 비분지된 선형, 포화 또는 불포화 C₁₀ 내지 C₅₇, 또는 C₁₀ 내지 C₅₅, 예를 들어 C₁₀ 내지 C₅₅ 탄화수소 라디칼이고, 이때 탄화수소 골격에는 하나의 또는 몇몇 산소 또는 질소 원자 및/또는 하나의 또는 몇몇 모이어티 $-(O=C)-$; $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$ 가 선택적으로 개재되고, 하나의 질소 원자가 골격 내에 존재하는 경우 상기 Z 라디칼에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있다.

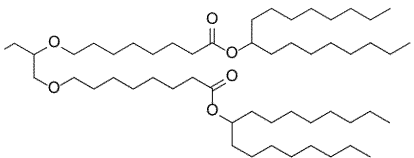
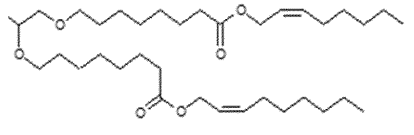
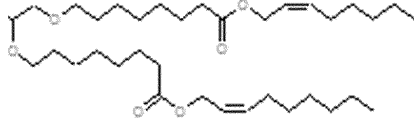
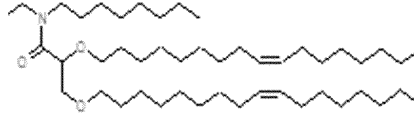
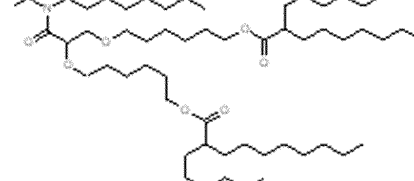
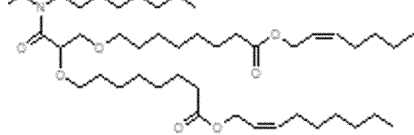
[0220] 예를 들어, 소수성 또는 친유성 테일, R1은 적어도 2개, 3개 또는 그 이상의 탄화수소 사슬(각각 독립적으로, 선택적으로 치환된 C₈-C₂₄, 예를 들어 C₁₀-C₂₀ 알킬 사슬, 선택적으로 치환된 가변적 포화 또는 불포화 C₈-C₂₄, 예를 들어 C₁₀-C₂₀ 알케닐 사슬 및 선택적으로 치환된 포화, 가변적 포화 또는 불포화 C₈-C₂₄, 예를 들어 C₁₀-C₂₀ 아실 사슬로부터 선택되고, 이때 상기 알킬, 알케닐 또는 아실 사슬에는 하나의 또는 몇몇 산소 또는 질소 원자 및/또는 하나의 또는 몇몇 모이어티, 예컨대 $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$, 바람직하게는 적어도 하나의 모이어티, 예컨대 $-(C=O)-O-$; $-O-(O=C)-$ 가 개재될 수 있음)을 포함할 수 있다.

[0221] 각각의 탄화수소 사슬은 -OH 및 -CO₂H로부터 선택되는 적어도 하나의 라디칼에 의해 치환될 수 있다.

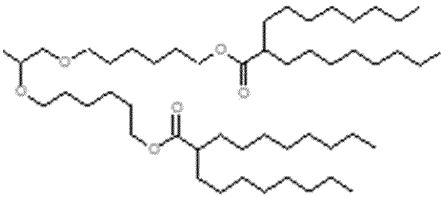
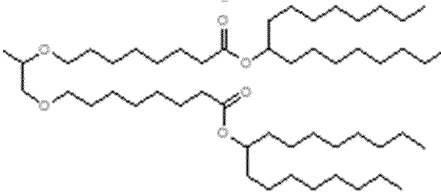
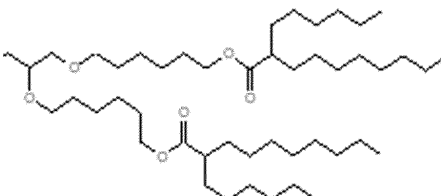
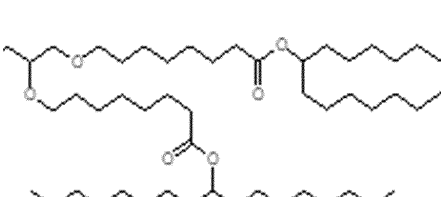
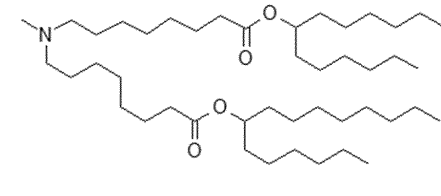
[0222] 구체적인 일 구현예에 따르면, 소수성 또는 친유성 테일은 다음으로 이루어진 군에서 선택된다:



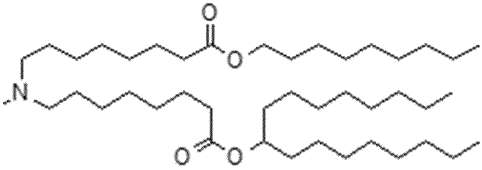
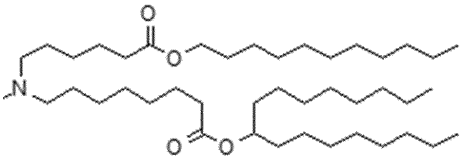
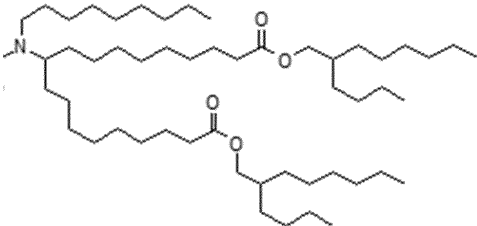
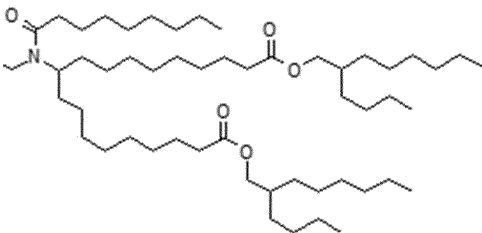
[0223]

 R1b
 R1c
 R1d
 R1e
 R1f
 R1g

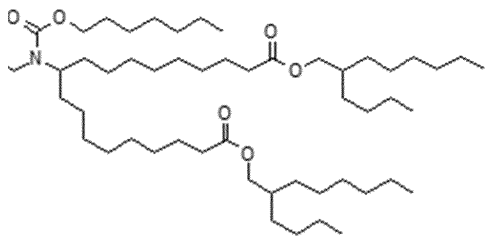
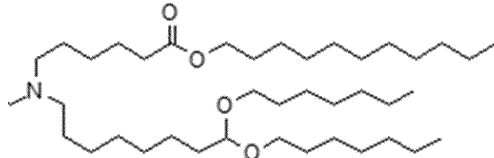
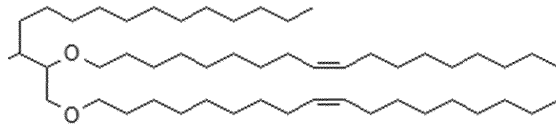
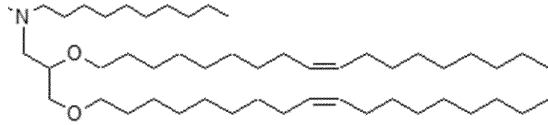
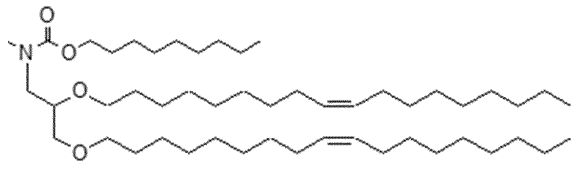
[0224]

 R1h
 R1i
 R1j
 R1k
 R1l

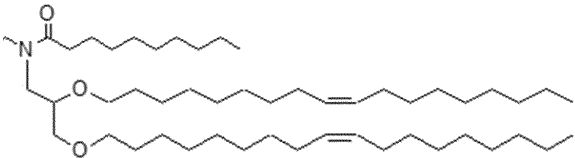
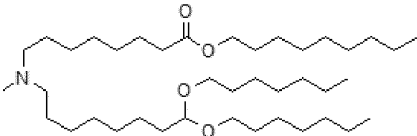
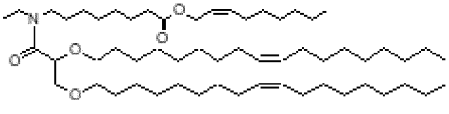
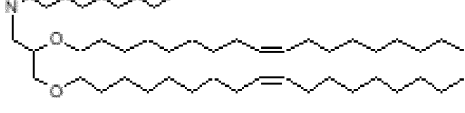
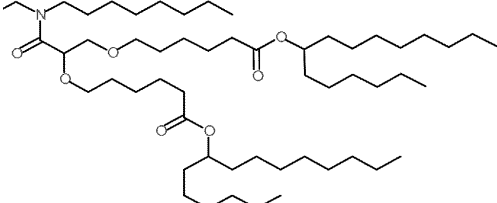
[0225]

 R1m	
 R1n	
 R1o	
 R1p	

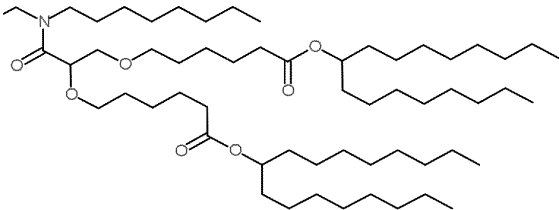
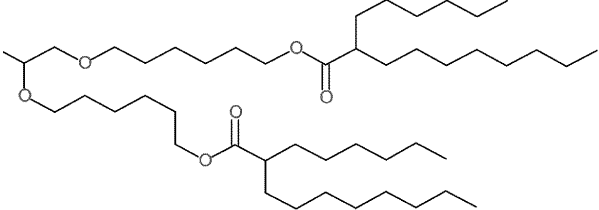
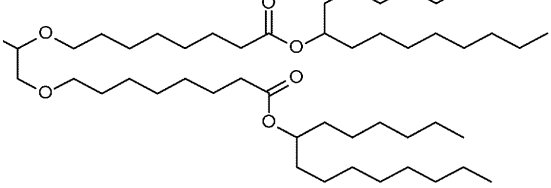
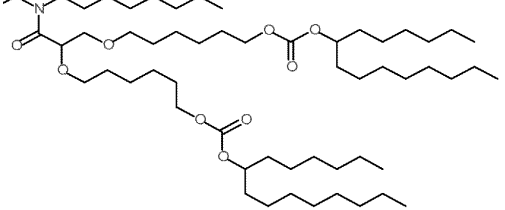
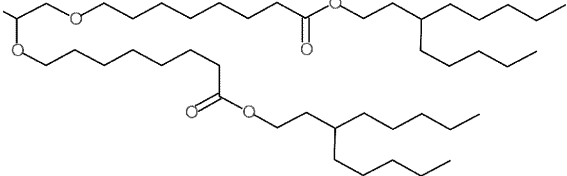
[0226]

	R1q
	R1r
	R1s
	R1t
	R1u

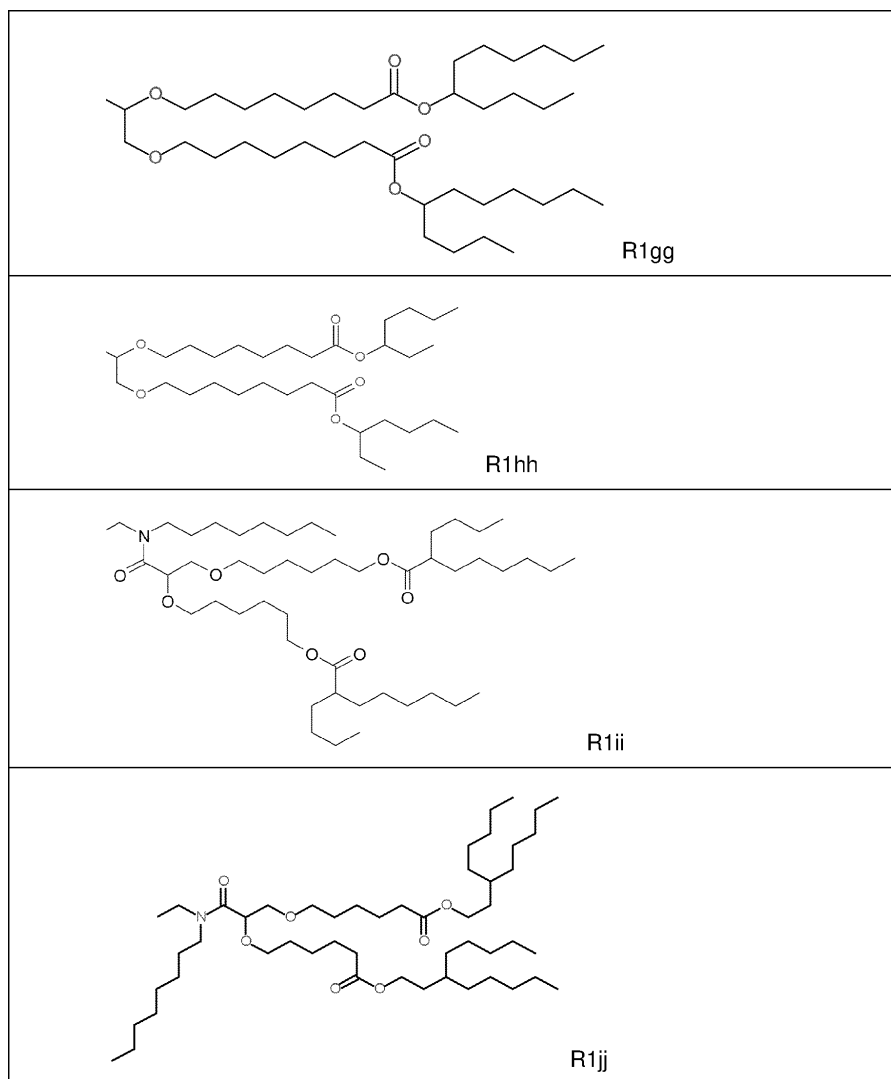
[0227]

 R1v
 R1w
 R1x
 R1y
 R1aa

[0228]

 R1bb
 R1cc
 R1dd
 R1ee
 R1ff

[0229]



[0230]

[0231]

일 구현예에서, 본 개시내용에 따른 화합물의 소수성 또는 친유성 테일은 어떠한 질소 원자도 포함하지 않는다. 구체적인 이 구현예에서, 소수성 또는 친유성 테일은 특히 R1a, b, c, d, h, i, j, k, s, cc, dd, ff, gg 및 hh 중에서 선택된다.

[0232]

또 다른 구현예에서, 본 개시내용에 따른 화합물의 소수성 또는 친유성 테일은 하나의 질소 원자를 함유하고, 이것은 Z에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 구체적인 이 구현예에서, 소수성 또는 친유성 테일은 특히 R1e, f, g, l, m, n, o, p, q, r, t, u, v, w, x, y, z, aa, bb, ee, ii, 및 jj 중에서 선택된다.

[0233]

또 다른 구현예에서, 본 개시내용에 따른 화합물의 소수성 또는 친유성 테일은, 예를 들어 소수성 또는 친유성 테일 R1b, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o, p, q, r, s, t, u, v, w, x, y, z, aa, bb, cc, dd, ee, ff, gg, hh, ii 및 jj에서와 같이 적어도 3개 또는 그 이상의 탄화수소 사슬을 함유한다. 각각의 탄화수소 사슬은 치환된 C₈-C₂₄, 예를 들어 C₁₀-C₂₀ 알킬 사슬 및 치환된 가변적 포화 또는 불포화 C₈-C₂₄, 예를 들어 C₁₀-C₂₀ 알케닐 사슬 중에서 선택될 수 있으며, 이때 상기 알킬 또는 알케닐 사슬에는 선택적으로 그리고 바람직하게는 하나의 또는 몇몇 모이어티, 예컨대 -(C=O)-, -O-(C=O)-** 또는 -(C=O)-O-**가 개재된다.

[0234]

구체적인 구현예에서, 본 개시내용에 따른 화합물의 소수성 또는 친유성 테일은 R1b, R1f, R1h, R1i, R1j, R1bb, R1hh, R1ii, 특히 R1i 중에서 선택되는 테일이다.

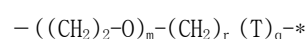
[0235]

또 다른 구현예에 따르면, 본원에 개시된 바와 같은 양이온성 및/또는 이온화 가능한 지질 화합물은 하기 화학식의 Z 라디칼을 갖는다:

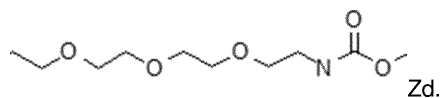
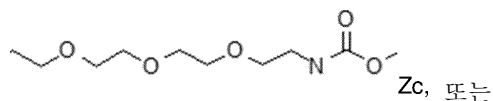
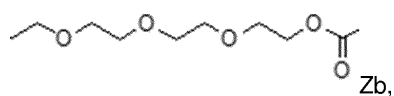
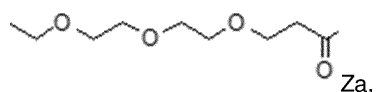
[0236]

[화학식 Z]

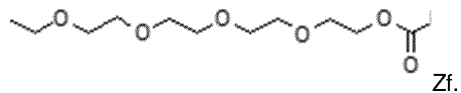
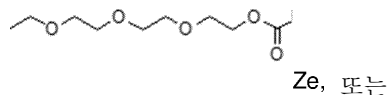
[0237]



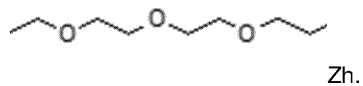
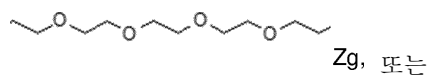
- [0238] (이때,
- [0239] - *는 상기 라디칼을 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타내고,
- [0240] - m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 4, 예를 들어 4의 정수이고,
- [0241] - r은 0 또는 1 내지 4의 정수이고,
- [0242] - q는 0 또는 1이고
- [0243] - T는 —(O=C)— ; —(C=O)—O—** ; —O—(O=C)—** ; 및 —NH—(C=O)—O—** 로 이루어진 군에서 선택되고, 이때 **는 상기 기를 소수성 테일 기에 연결하는 단일 결합을 나타냄).
- [0244] 구체적인 구현예에서, q 및 r은 0과 상이하고, 예를 들어, r은 1 또는 2이다. 예를 들어, Z는 Za, Zb, Zc, 또는 Zd이다:



- [0249] 또 다른 구체적인 구현예에서, q는 1이고, r은 0이다. 예를 들어, Z는 Ze 또는 Zf이다:

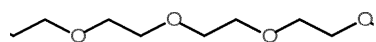


- [0252] 또 다른 구체적인 구현예에서, q는 0이고, r은 0과 상이하고, 예를 들어 r은 1 또는 2이다. 예를 들어, Z는 Zg 또는 Zh이다:



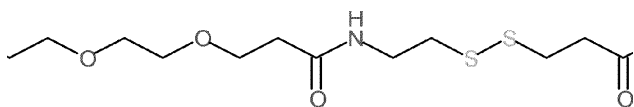
- [0255] 또 다른 구체적인 구현예에서, r 및 q는 0이고, Z는 $\text{—((CH}_2\text{)}_2\text{—O)}_m\text{—}$ (여기서, m은 본원의 상기에 정의된 바와 같음)이다.

- [0256] 또 다른 구체적인 구현예에서, Z는 다음과 같다:

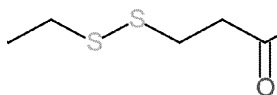


- [0257] Zi.

[0258] 또 다른 구체적인 구현예에서, Z는 다음과 같다:



[0259] Zj, 또는

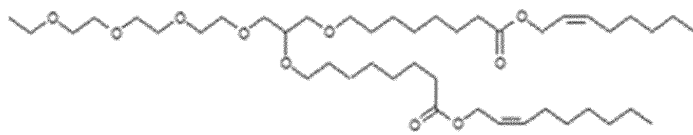
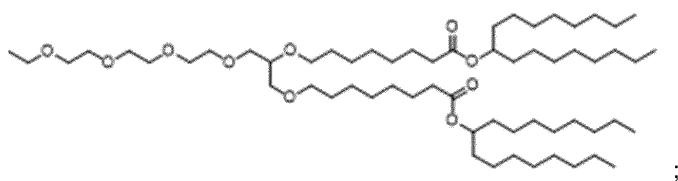
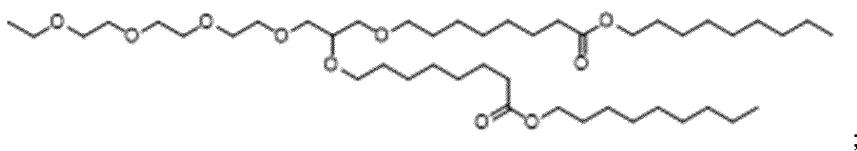


[0260] Zk.

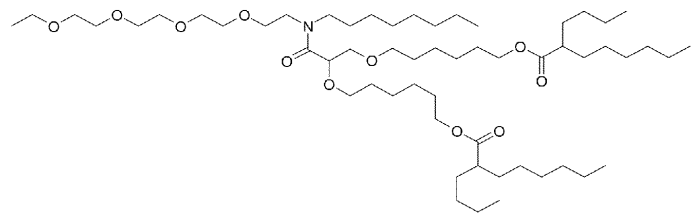
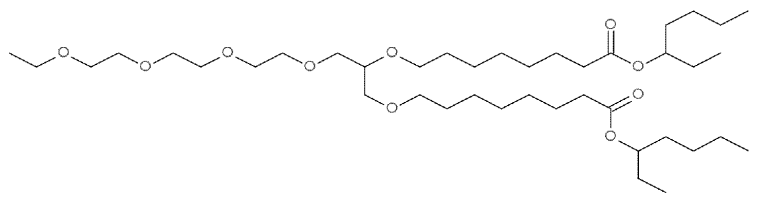
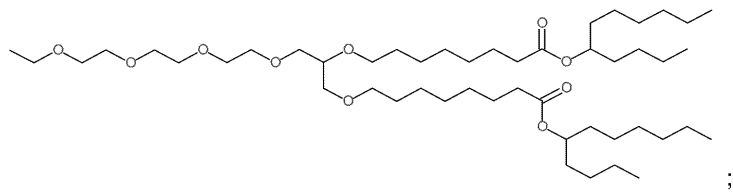
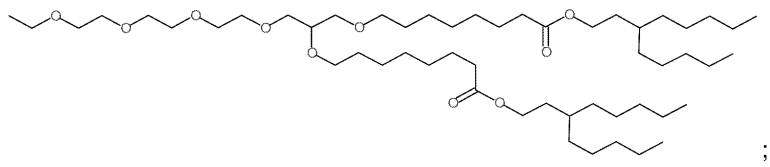
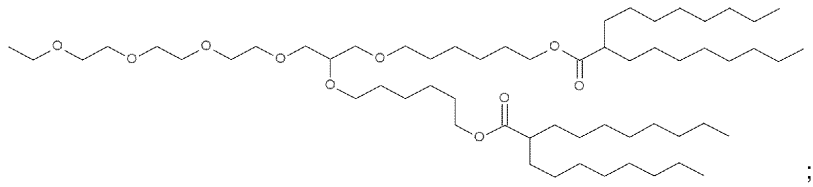
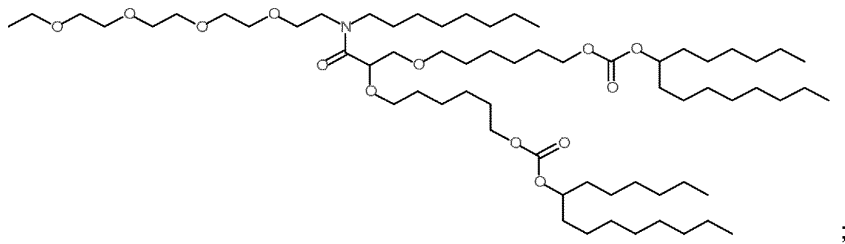
[0261] 구체적인 구현예에서, Z는 Z_a, b, c, d, f, g, h, l, j 및 k 중에서 선택된다.

[0262] 라디칼 A에 관하여, 이는 구체적인 구현예에서 R₂R₃N- 기를 나타내며, 여기서 R₂ 및 R₃은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C₁-C₆) 알킬 기를 나타낸다. 예를 들어, A는 -N(CH₃)₂, -N(CH₂-CH₂-CH₃)이다.

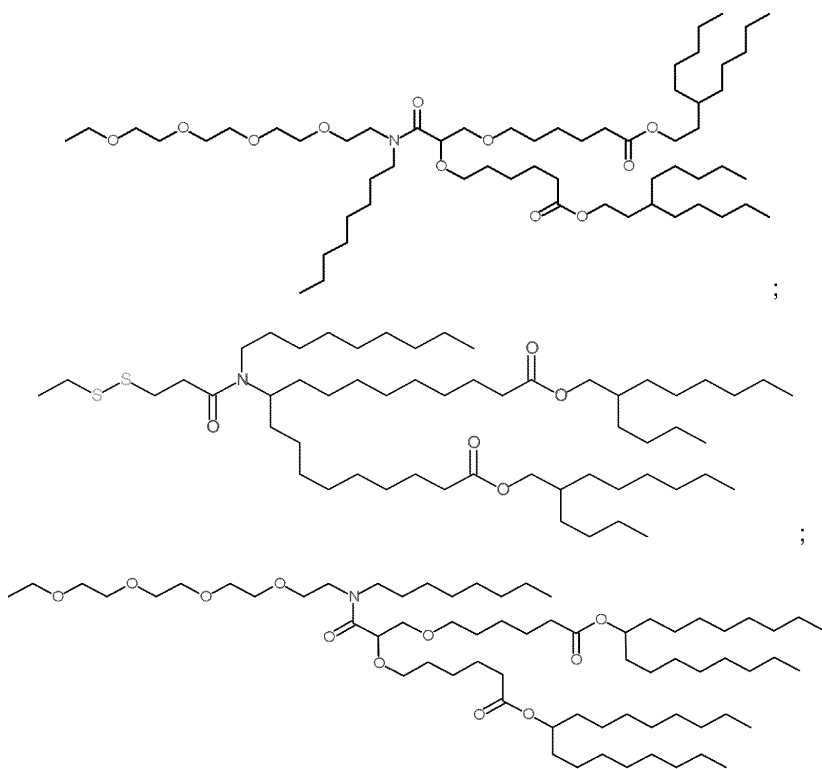
[0263] 구체적인 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 것들 중에서 선택되는 하나의 R1-Z- 모이어티를 포함한다:



[0264] ;



[0271]



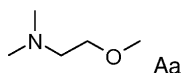
[0272]

[0273]

일 구현예에 따르면, 라디칼 A는 R_2R_3N- 기이며, 여기서 R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기, 예를 들어 디메틸 아미노 또는 디프로필아미노를 나타낸다.

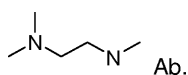
[0274]

또 다른 구현예에 따르면, 라디칼 A는 $NR_2R_3-Alk-Y-$ 기를 나타내며, 여기서 Y는 산소 또는 질소 원자이고, Alk는 C_2 내지 C_6 알킬렌이고, R_2 및 R_3 은 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기를 나타낸다. 예를 들어, A는 Aa 또는 Ab이다:



[0275]

또는



[0277]

[0278]

구체적인 구현예에 따르면, 라디칼 A는 $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_2CH_2-CH_3)_2$, $-O-(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 및 $-N-(CH_2)_2N(CH_3)_2$ 로 이루어진 군에서 선택된다.

[0279]

또 다른 구현예에 따르면, 라디칼 A는 3 내지 7개의 탄소 원자 및 1 또는 2개의 질소 원자를 포함하는 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼을 나타내고, 상기 4원 내지 8원 포화 헤테로사이클릭 라디칼은 탄소 원자 또는 질소 원자에 의해 분자의 나머지 부분에 연결되고, 서로 독립적으로 선형 또는 분지형 (C_1-C_6) 알킬 기로부터 선택되는 1 내지 4개의 치환체에 의해 선택적으로 치환된다. 예를 들어, A는 피페리디닐 라디칼, 피페라지닐 라디칼 및 피롤리디닐 라디칼로 이루어진 군에서 선택된다. 예를 들어, A는 3 피페리디닐 라디칼, 4 피페리디닐 라디칼, 1 또는 2개의 메틸 기에 의해 치환된 3 피페리디닐 라디칼, 1 또는 2개의 메틸 기에 의해 치환된 4 피페리디닐 라디칼, 1-피페라지닐 라디칼, 메틸 기에 의해 치환된 1-피페라지닐 라디칼, 3 피롤리디닐 라디칼, 및 1 또는 2개의 메틸 기에 의해 치환된 3 피롤리디닐 라디칼로 이루어진 군에서 선택된다.

[0280]

구체적인 이 구현예에 따르면, A는, 예를 들어 피페리디닐, 1-메틸피페리디닐, 1,3-디메틸피페리디닐, 피롤리디닐 및 1,3-디메틸피롤리디닐 중에서 선택된다.

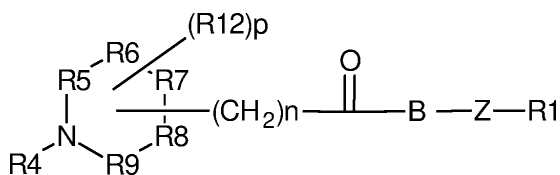
[0281]

일 구현예에 따르면, 화학식 I의 화합물은 겔보기 pKa가 7 미만, 또는 4.5 내지 7의 범위이다.

[0282]

본 개시내용의 또 다른 목적은 화학식 II의 하나의 화합물:

[0283] [화학식 II]



[0284]

[0285] (상기 식에서,

[0286] - Z, n 및 R1은 본원의 상기에 정의된 바와 같으며,

[0287] - R4는 (C₁-C₅) 알킬 기, 예를 들어 (C₁-C₄) 알킬 기, 예컨대 메틸 기이고;

[0288] - R12는 (C₁-C₅) 알킬 기, 예를 들어 (C₁-C₄) 알킬 기, 예컨대 메틸 기이고;

[0289] - p는 0 또는 1이고, 예를 들어 p는 0이고;

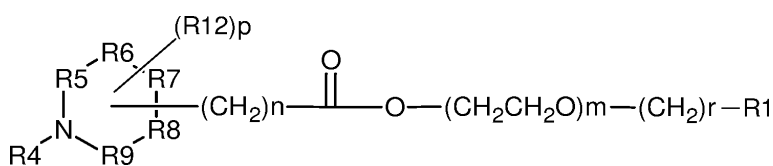
[0290] - R5, R6, R7, R8 및 R9는 서로 독립적으로 -CH₂-; -CHR₁₂- 및 -NH- 중에서 선택되는 모이어티이고, 분자의 나머지 부분과의 연결에 관여하는 R5, R6, R7, R8 및 R9 중 하나는 -CH-; -CR₁₂- 및 -N- 중에서 선택되는 모이어티이되, 단, R5, R6, R7, R8 및 R9 중 단지 하나만이 -NH- 또는 -N-이고;

[0291] - B는 산소 원자 또는 -NH- 기, 예를 들어 산소 원자를 나타냄),

[0292] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0293] 본 개시내용의 또 다른 목적은 화학식 IIa의 하나의 화합물:

[0294] [화학식 IIa]



[0295]

[0296] (상기 식에서,

[0297] - R1은 본원의 상기에 정의된 바와 같으며;

[0298] - n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 0 내지 4, 예컨대 0, 1 또는 2이고;

[0299] - r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2이고;

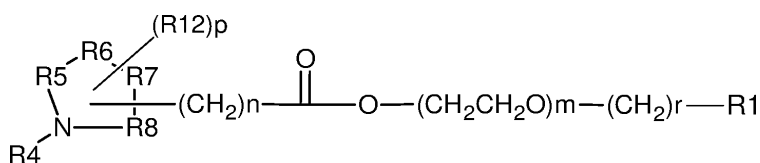
[0300] - R4 내지 R9, R12 및 p는 본원의 상기에 정의된 바와 같으며, 예를 들어 p는 0이고,

[0301] - m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수임);

[0302] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0303] 본 개시내용의 또 다른 목적은 화학식 III의 하나의 화합물:

[0304] [화학식 III]



[0305]

[0306] (상기 식에서,

[0307] - R1은 본원의 상기에 정의된 바와 같으며;

[0308] - n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 0 내지 4, 예컨대 0, 1 또는 2이고;

[0309] - m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수이고;

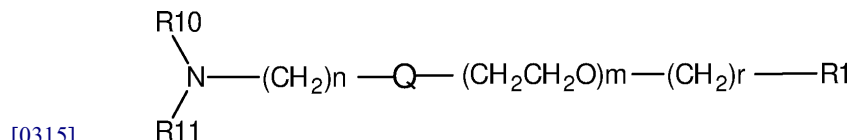
[0310] - r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2이고;

[0311] - R₄ 내지 R₈, R₁₂ 및 p는 본원의 상기에 정의된 바와 같으며, 예를 들어 p는 0임)

[0312] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0313] 본 개시내용의 또 다른 목적은 화학식 IV의 하나의 화합물:

[0314] [화학식 IV]



[0316] (상기 식에서,

[0317] - R₁은 본원의 상기에 정의된 바와 같으며;

[0318] - Q는 -O(CO)-*; -(C=O)-O*; -O(C=O)O*; -N(CO)O-* 및 -O(CO)N-*로 이루어진 군에서 선택되는 모이어티이고, 이때 *는 모이어티 (CH₂CH₂O)_m에 대한 연결을 나타내고

[0319] - n은 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 1 내지 5, 예를 들어 2, 3 또는 4이고;

[0320] - r은 0, 1, 2, 3 또는 4, 예를 들어 0, 1 또는 2이고;

[0321] - R₁₀ 및 R₁₁은 서로 독립적으로 (C₁-C₅) 알킬 기, 예를 들어 (C₁-C₄) 알킬 기, 예컨대 메틸 기 또는 프로필 기를 나타내고;

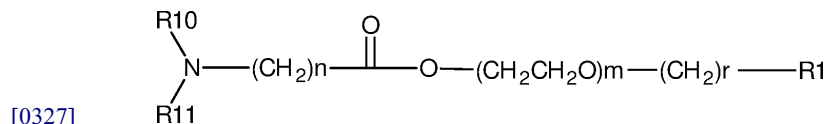
[0322] - m은 1 내지 12, 예를 들어 2 내지 6, 예를 들어 4의 정수임);

[0323] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0324] 일부 구현예에서, Q는 -(C=O)-O*; -O(C=O)O*; -N(C=O)O-* 및 -O(C=O)N-*로 이루어진 군에서 선택되는 모이어티일 수 있고, 이때 *는 모이어티 (CH₂CH₂O)_m에 대한 연결을 나타낸다.

[0325] 본 개시내용의 또 다른 목적은 화학식 V의 하나의 화합물:

[0326] [화학식 V]



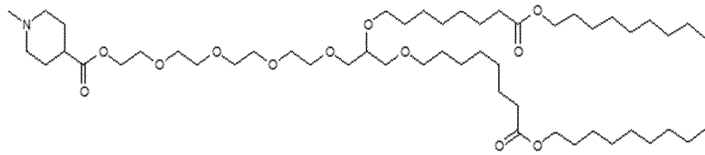
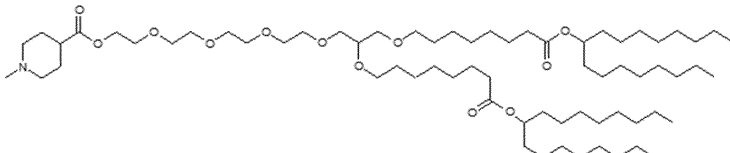
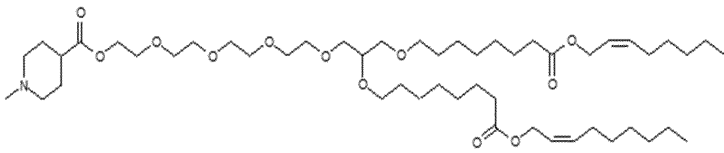
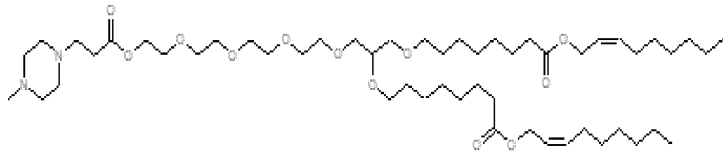
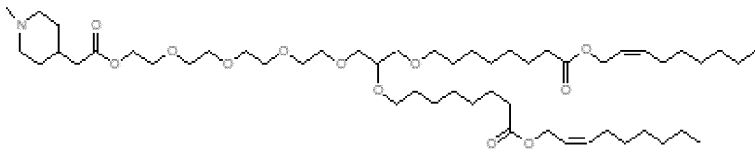
[0328] (상기 식에서,

[0329] - R₁, R₁₀, R₁₁, n, m 및 r은 본원의 상기에 정의된 바와 같음),

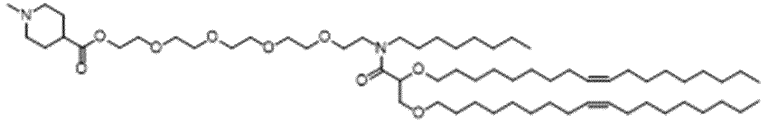
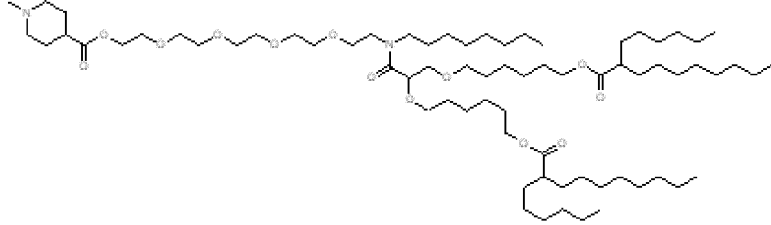
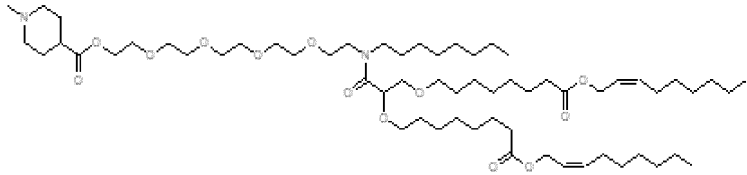
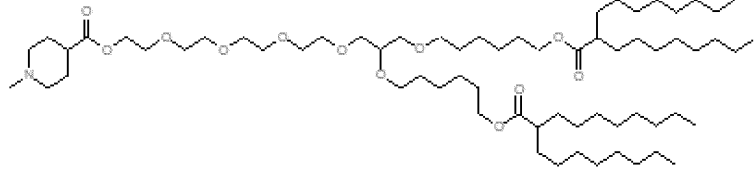
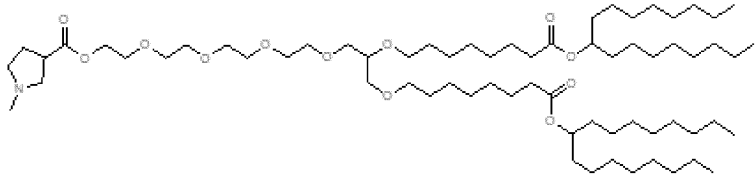
[0330] 또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나에 관한 것이며; 이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재한다.

[0331] 일 구현예에 따르면, 화학식 II의 화합물은 하기 표 1의 화합물 VI 내지 화합물 XLVII로 이루어진 군에서 선택된다. 참고로, 개발된 하기 화학식에서, 이차 아미노 모이어티는 -NH- 또는 -N-로 구분 없이 표기될 수 있다:

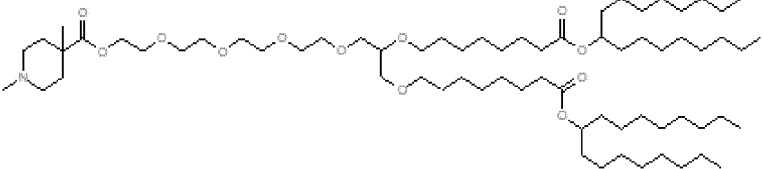
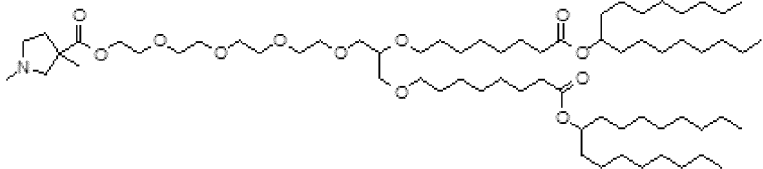
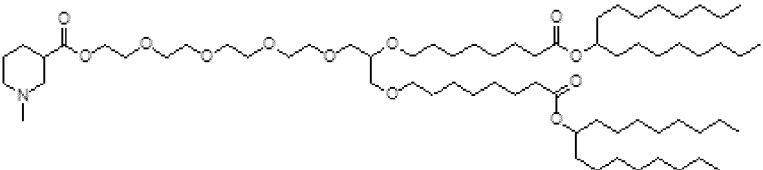
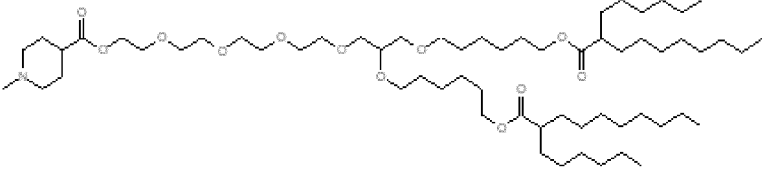
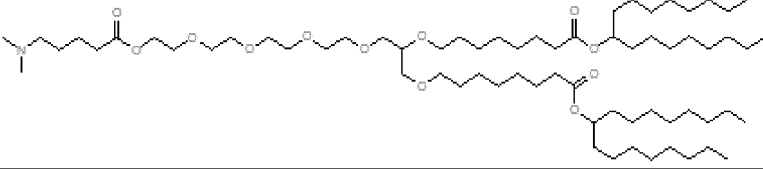
[0332] [표 1]

화합물 VI(실시예 1)

화합물 VII(실시예 2)

화합물 VIII(실시예 3)

화합물 IX(실시예 4)

화합물 X(실시예 5)

화합물 XI(실시예 6)

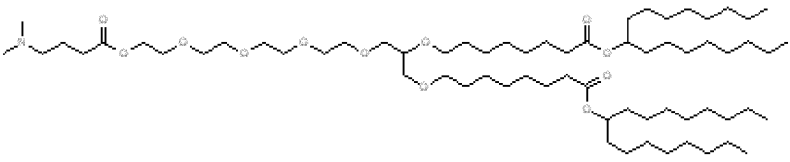
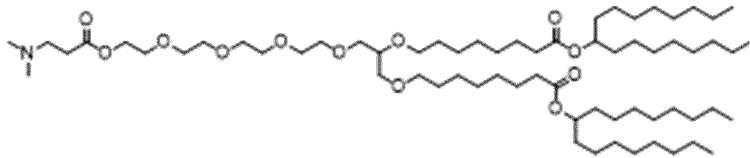
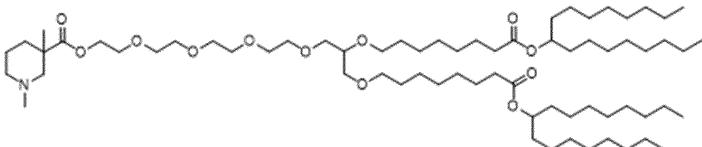
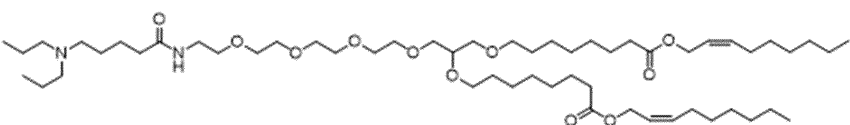
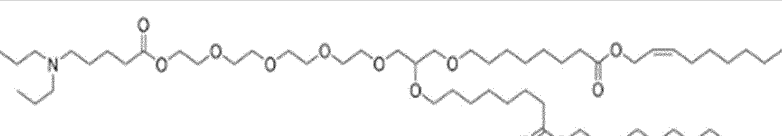
[0333]


화합물 XII(실시예 7)

화합물 XIII(실시예 8)

화합물 XIV(실시예 9)

화합물 XV(실시예 10)

화합물 XVI(실시예 11)

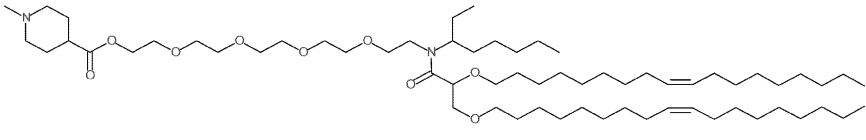
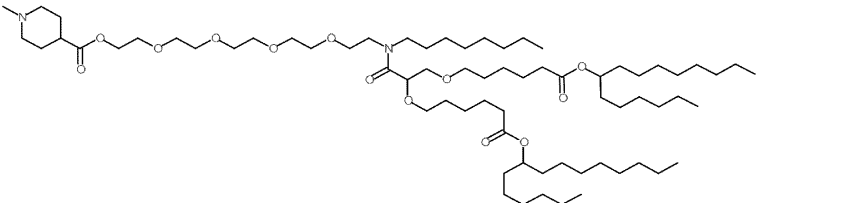
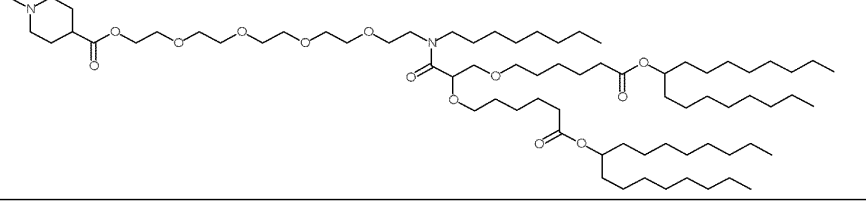
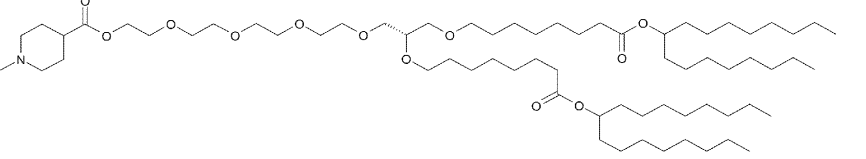
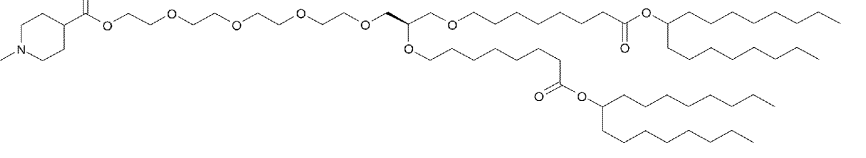
[0334]


화합물 XVII(실시예 12)

화합물 XVIII(실시예 13)

화합물 XIX(실시예 14)

화합물 XX(실시예 15)

화합물 XXI(실시예 16)

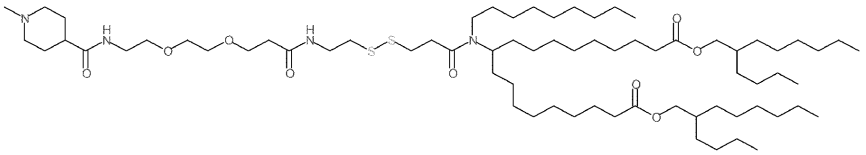
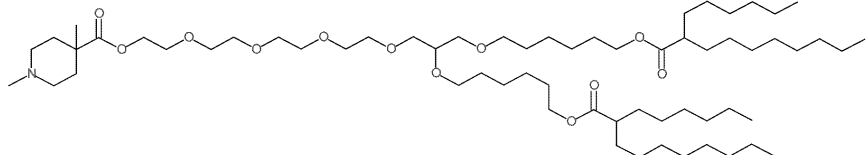
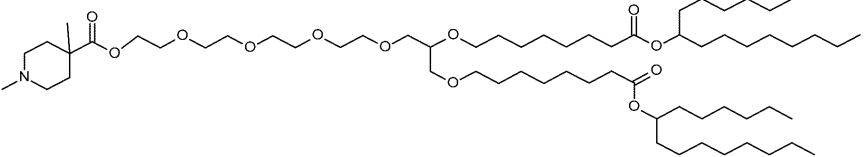
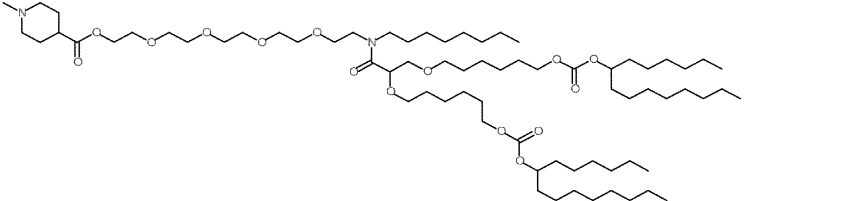
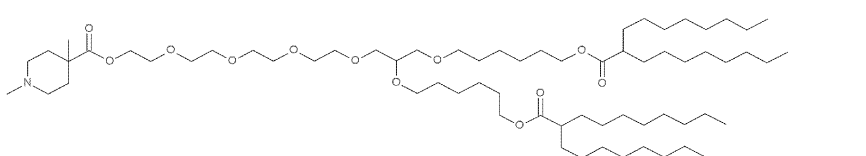
[0335]


화합물 XXII(실시예 17)

화합물 XXIII(실시예 18)

화합물 XXVII(실시예 19)

화합물 XXVIII(실시예 20)

화합물 XXIX(실시예 21)

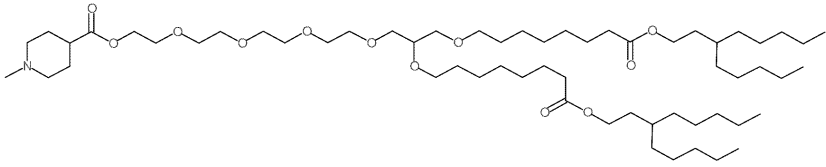
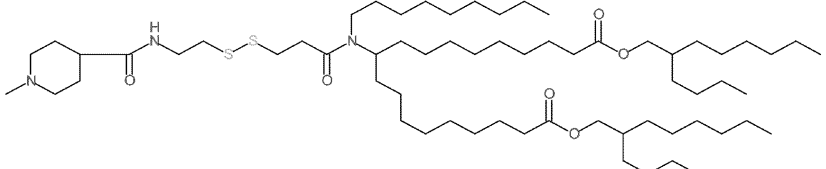
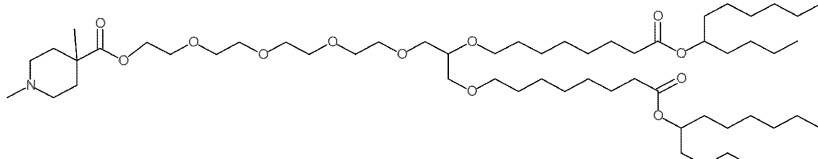
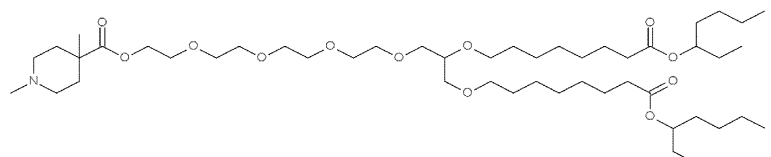
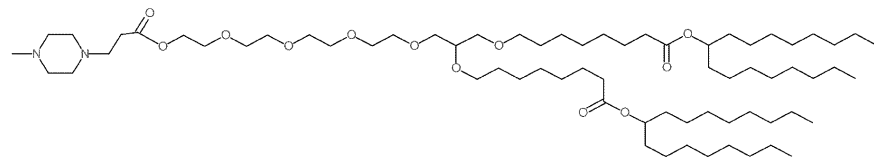
[0336]


화합물 XXX(실시예 22)

화합물 XXXI(실시예 23)

화합물 XXXII(실시예 24)(키랄)

화합물 XXXIII(실시예 25)(키랄)

화합물 XXXIV(실시예 26)

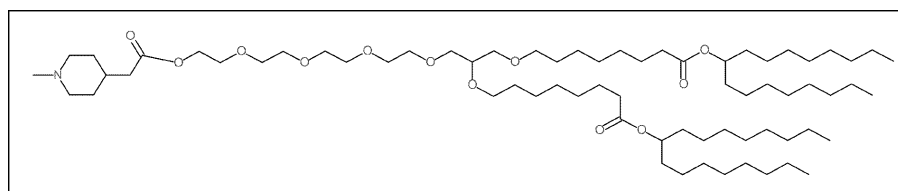
[0337]


화합물 XXXV(실시예 27)

화합물 XXXVI(실시예 28)

화합물 XXXVII(실시예 29)

화합물 XXXVIII(실시예 30)

화합물 XXXIX(실시예 31)

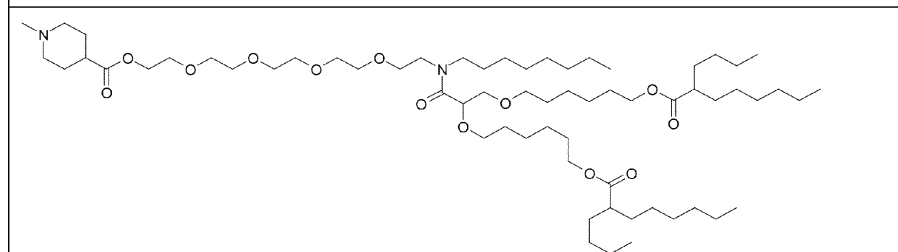
[0338]


화합물 XLVII(실시예 32)

화합물 XLI(실시예 33)

화합물 XLII(실시예 34)

화합물 XLIII(실시예 35)

화합물 XLIV(실시예 36)

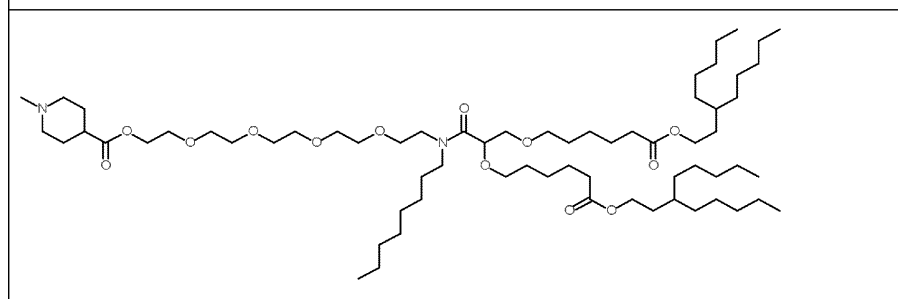
[0339]



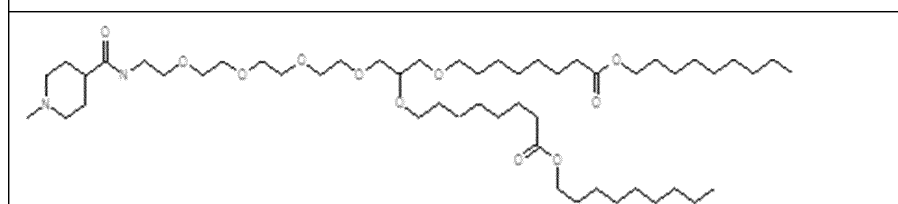
화합물 XLV(실시예 37)



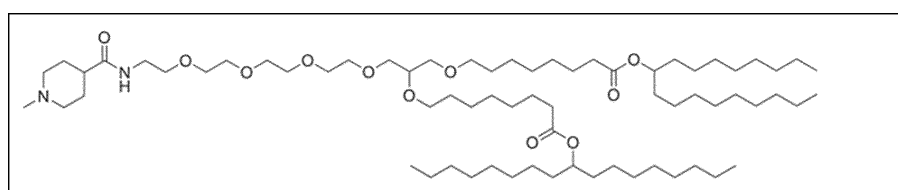
화합물 XLVI(실시예 38)



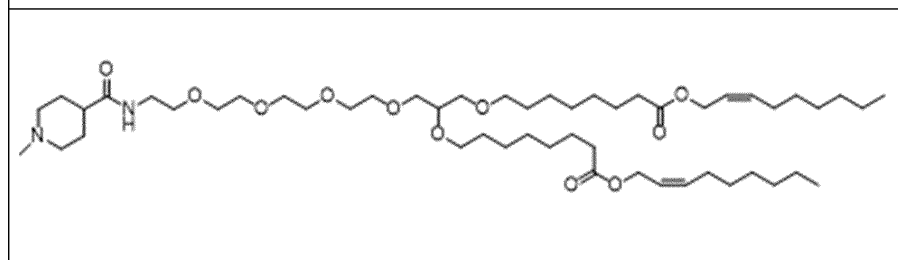
화합물 XXIV(실시예 39)



화합물 XXV(실시예 40)



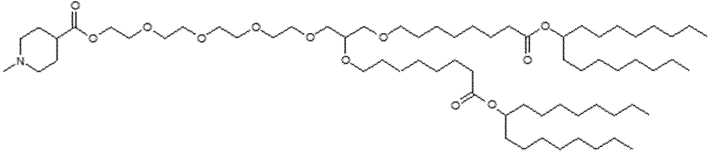
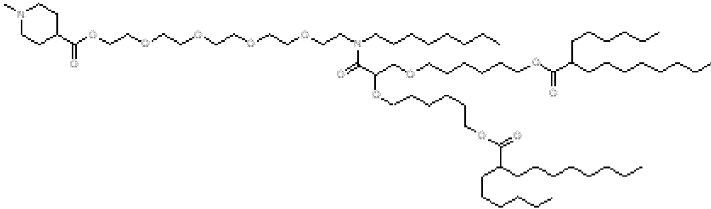
화합물 XXVI(실시예 41)



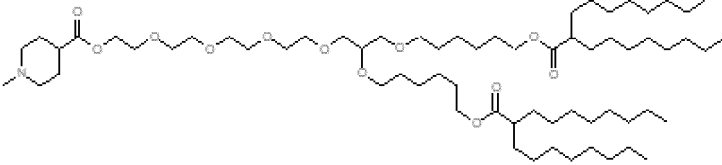
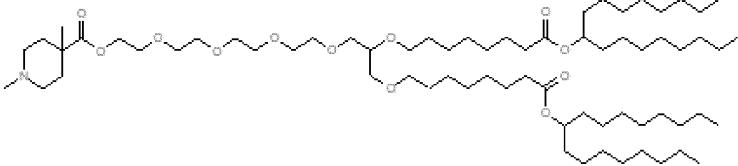
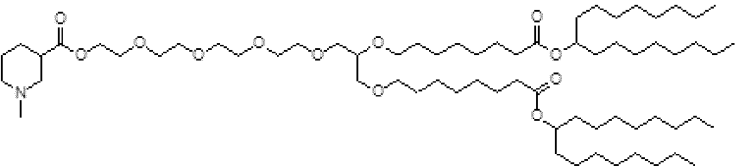
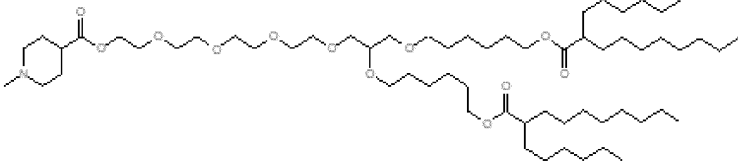
또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나(이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재함).

구체적인 일 구현예에 따르면, 화학식 I의 화합물은 표 2에 열거된 화합물 중에서 선택된다.

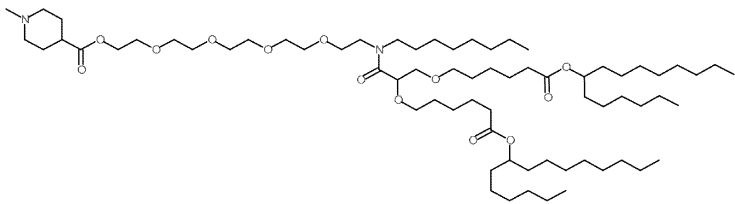
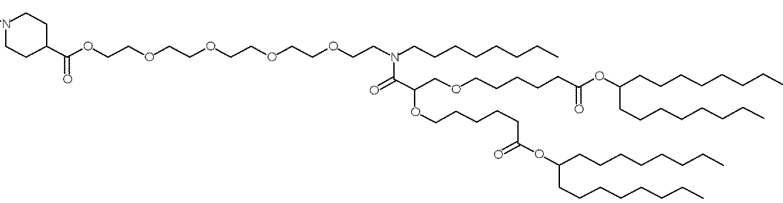
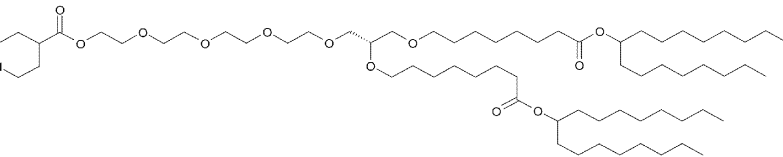
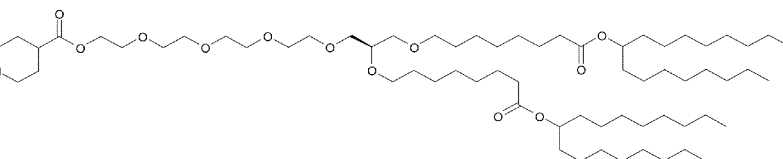
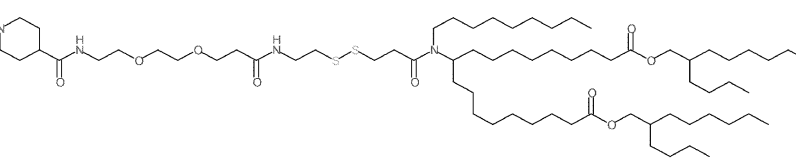
[0344] [표 2]

화합물 VII(실시예 2)

화합물 XII(실시예 7)


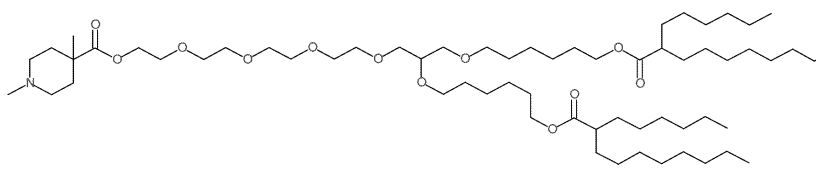
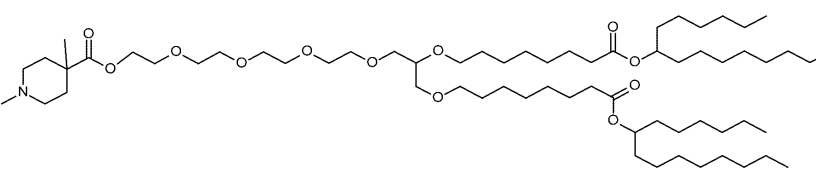
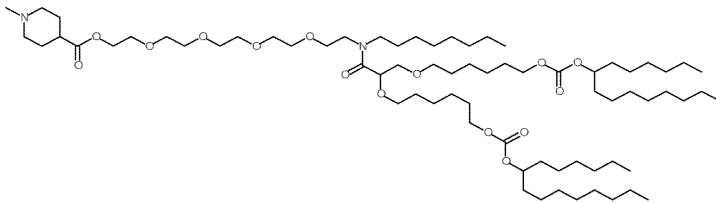
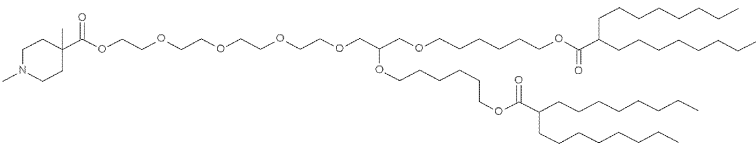
[0345]

화합물 XIV(실시예 9)

화합물 XVI(실시예 11)

화합물 XVIII(실시예 13)

화합물 XIX(실시예 14)

화합물 XXX(실시예 22)

[0346]


화합물 XXXI(실시예 23)

화합물 XXXII(실시예 24)

화합물 XXXIII(실시예 25)

화합물 XXXIV(실시예 26)


[0347]

화합물 XXXV(실시예 27)

화합물 XXXVI(실시예 28)

화합물 XXXVII(실시예 29)

화합물 XXXVIII(실시예 30)


[0348]

[0349]

또는 이의 그 약제학적으로 허용되는 염 중 하나(이때 상기 화합물은 모든 가능한 라세미, 거울상이성질체 및 부분입체이성질체의 이성질체 형태로 존재함).

[0350]

본 개시내용에 따른 화합물은 숙련자에게 공지된 방법 및 절차를 사용하여 쉽게 상업적으로 입수 가능하거나 문헌에 기술된 출발 물질로부터 제조될 수 있다.

[0351]

조성물, 지질 나노입자 및 제조 프로세스

[0352]

조성물 또는 지질 나노입자(LNP)는 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물을 적어도 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있다.

[0353]

지질 성분은 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질로부터 선택되는 지질을 적어도 추가로 포함할 수 있다.

[0354]

조성물 또는 LNP는 적어도 하나의 생물학적 활성제를 포함할 수 있다. 생물학적 활성제는 예방제, 치료제, 면역 조절제, 또는 진단제일 수 있다.

[0355]

이온화 가능한 양이온성 지질

[0356]

조성물 또는 LNP의 지질 성분은 본원에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 지질 화합물을 포함한다. 그러한 지질 화합물은 이온화 가능한 양이온성 지질이다.

[0357]

조성물 또는 LNP는 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 20 내지 약 60%, 또는 약 25% 내지 약 60%, 또는

약 30% 내지 약 55%, 또는 약 40% 내지 약 55%, 또는 약 40% 내지 약 50% 몰량의 본원에 개시된 지질 화합물을 포함할 수 있다.

- [0358] 조성물 또는 LNP는 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 20%, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 약 50, 약 55, 또는 약 60% 몰량의 본원에 개시된 지질 화합물을 포함할 수 있다.
- [0359] 본원에 개시된 지질 화합물은 조성물 또는 LNP의 지질 성분의 총 중량에 대해 약 50%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0360] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 I의 지질 화합물일 수 있다.
- [0361] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 II의 지질 화합물일 수 있다.
- [0362] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 IIa의 지질 화합물일 수 있다.
- [0363] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 III의 지질 화합물일 수 있다.
- [0364] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 IV의 지질 화합물일 수 있다.
- [0365] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 V의 지질 화합물일 수 있다.
- [0366] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 **표 1**에 나타낸 바와 같은 지질 화합물일 수 있다.
- [0367] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 **표 2**에 나타낸 바와 같은 지질 화합물일 수 있다.
- [0368] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0369] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0370] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있다.
- [0371] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있다.
- [0372] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 화학식 XX 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있다.
- [0373] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있다.
- [0374] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있다.
- [0375] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0376] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0377] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXX, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 또는 화학식 XXXVII의 화합물일 수 있다.
- [0378] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0379] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0380] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.

- [0381] **중성 지질**
- [0382] 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 중성 지질을 포함할 수 있다. 중성 지질의 존재는 지질 나노입자의 구조적 안정성을 개선할 수 있다. 중성 지질은 생물학적 활성제, 예컨대 핵산의 전달 효율의 관점에서 적절하게 선택될 수 있다.
- [0383] 중성 지질은 본원에 개시된 지질 화합물과 구별된다. 중성 지질은 선택된 pH에서 이온화할 수 없거나 중성 썬비터이온성 화합물이다.
- [0384] 중성 지질은 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 스펡고마이엘린, 및 세라마이드로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0385] 포스파티딜콜린 및 포스파티딜에탄올아민은 썬비터이온성 지질이다. 스펡고마이엘린 및 세라마이드는 이온화 가능한 지질이 아니다.
- [0386] 포스파티딜콜린의 예로는 DSPC(1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DPPC(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DMPC(1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린), POPC(1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린), DOPC(1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린), 및 이들의 혼합물을 들 수 있다.
- [0387] 포스파티딜에탄올아민의 예로서, DOPE(1,2-디올레일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민), DPPE(1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민), DMPE(1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민), DSPE(1,2-디스테아로일-s/i-글리세로-3-포스포에탄올아민), DLPE(1,2-디라우로일-SM-글리세로-3-포스포에탄올아민), DEPE(1,2-디에루코일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민), 16-0-모노메틸 PE, 16-0-디메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 또는 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민(SOPE), 및 이들의 혼합물이 언급될 수 있다.
- [0388] 중성 지질은 DSPC, DPPC, DMPC, POPC, DOPC와 같은 포스파티딜콜린; DOPE, DPPE, DMPE, DSPE, DLPE, DEPE와 같은 포스파티딜에탄올아민; 스펡고마이엘린; 세라마이드; 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0389] 일 구현예에서, 중성 지질은 DEPE, DSPC, DOPC, 또는 DOPE, 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 예를 들어 DEPE, DSPC 또는 DOPE, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0390] 일 구현예에서, 중성 지질은 DSPC, DOPC, 또는 DOPE, 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 예를 들어 DSPC 또는 DOPE, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0391] 일 구현예에서, 중성 지질은 DSPC일 수 있다.
- [0392] 조성물 또는 LNP는 조성물 또는 LNP의 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 0% 내지 약 50%, 약 5% 내지 약 45%, 약 8% 내지 약 40%, 또는 약 10% 내지 약 30% 범위의 몰량으로 중성 지질을 적어도 포함할 수 있다.
- [0393] 조성물 또는 LNP는 조성물 또는 LNP의 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 0%, 약 5, 약 10, 약 15, 약 20, 약 25, 약 30, 약 35, 약 40, 약 45, 또는 약 50%의 몰량으로 중성 지질을 적어도 포함할 수 있다.
- [0394] 중성 지질은 약 70:1 내지 약 1:2, 약 30:1 내지 약 1:1, 약 15:1 내지 약 2:1, 약 10:1 내지 약 4:1의 범위, 또는 약 5:1일 수 있는 지질 화합물:중성 지질의 몰비로 조성물 또는 LNP에 존재할 수 있다.
- [0395] **구조적 지질**
- [0396] 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 구조적 지질을 포함할 수 있다. 구조적 지질, 예컨대 스테롤 또는 스테롤의 에스테르의 존재는 지질 나노입자의 구조적 안정성을 개선할 수 있다.
- [0397] 본원에 개시된 바와 같은 LNP는 적어도 하나의 스테로이드 알코올(또는 스테롤) 또는 이의 에스테르를 포함할 수 있다.
- [0398] 구조적 지질은 스테롤 또는 이의 에스테르, 토마틴, 알파-토코페롤, 코르티코스테로이드, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0399] 스테롤은 콜레스테롤 또는 이의 유도체, 에르고스테롤, 데스모스테롤(3 β -하이드록시-5,24-콜레스타디엔), 스티그마스테롤(스티그마스타-5,22-디엔-3-올), 라노스테롤(8,24-라노스타디엔-3 β -올), 7-데하이드로콜레스테롤(Δ 5,7-콜레스테롤), 디하이드로라노스테롤(24,25-디하이드로라노스테롤), 자이모스테롤(5 α -콜레스타-8,24-디엔-3 β -올), 라토스테롤(5 α -콜레스타-7-엔-3 β -올), 디오스게닌((3 β ,25R)-스피로스트-5-엔-3-올), 시토스테롤

(22,23-디하이드로스티그마스테롤), 시토스타놀, 캄페스테롤(캄페스트-5-엔-3β-올), 캄페스타놀(5a-캄페스탄-3b-올), 페코스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르솔산, 24-메틸렌 콜레스테롤(5,24(28)-콜레스타디엔-24-메틸렌-3β-올); BHEM-콜레스테롤(2-((((3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-디메틸-17-((R)-6-메틸헵탄-2-일)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-테트라데카하이드로-1H-사이클로헵타[a]79헵난트렌-3-일)옥시)카르보닐)아미노)-N,N-비스(2-하이드록시에틸)-N-메틸에탄-1-아미늄 브로마이드); 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0400] 스테롤의 에스테르는 카르복실산과 스테로이드 알코올의 하이드록실 기의 에스테르를 지칭한다. 적합한 카르복실산은 카르복실 모이머티에 추가로 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형 알킬 기를 포함한다. 일부 구현예에서, 알킬 기는 C₁-C₂₀ 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, 알킬 기, 예를 들어 C₂-C₁₈, 예를 들어 C₄-C₁₆, 예를 들어 C₈-C₁₂ 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지형, 알킬 기일 수 있다. 다른 구현예에서, 카르복실산은 지방산일 수 있다. 예를 들어, 지방산은 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 스테아르산, 마르가르산, 올레산, 리놀레산, 또는 아라키드산일 수 있다.

[0401] 스테롤의 에스테르는 콜레스테릴 마르가레이트(콜레스트-5-엔-3β-일 헵타데카노에이트), 콜레스테릴 올레에이트, 콜레스테릴 스테아레이트; 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0402] 일 구현예에서, 스테롤의 에스테르는 콜레스테릴 에스테르일 수 있다.

[0403] 스테롤 또는 이의 에스테르는 콜레스테롤 또는 이의 유도체, 에르고스테롤, 데스모스테롤(3β-하이드록시-5,24-콜레스타디엔), 스티그마스테롤(스티그마스타-5,22-디엔-3-올), 라노스테롤(8,24-라노스타디엔-3b-올), 7-데하이드로콜레스테롤(Δ^{5,7}-콜레스테롤), 디하이드로라노스테롤(24,25-디하이드로라노스테롤), 자이모스테롤(5α-콜레스타-8,24-디엔-3β-올), 라토스테롤(5α-콜레스트-7-엔-3β-올), 디오스게닌((3β,25R)-스피로스트-5-엔-3-올), 시토스테롤(22,23-디하이드로스티그마스테롤), 시토스타놀, 캄페스테롤(캄페스트-5-엔-3β-올), 캄페스타놀(5a-캄페스탄-3b-올), 페코스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르솔산, 24-메틸렌 콜레스테롤(5,24(28)-콜레스타디엔-24-메틸렌-3β-올), 콜레스테릴 마르가레이트(콜레스트-5-엔-3β-일 헵타데카노에이트), 콜레스테릴 올레에이트, 콜레스테릴 스테아레이트, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0404] 대안적으로, 스테롤은 산화된 콜레스테롤과 같은 콜레스테롤 유도체일 수 있다.

[0405] 본 개시내용에 적합한 산화된 콜레스테롤은 25-하이드록시콜레스테롤, 27-하이드록시콜레스테롤, 20α-하이드록시콜레스테롤, 6-케토-5α-하이드록시콜레스테롤, 7-케토-콜레스테롤, 7β,25-하이드록시콜레스테롤, 7β-하이드록시콜레스테롤; 및 이들의 조합일 수 있다. 예를 들어, 산화된 콜레스테롤은 25-하이드록시콜레스테롤 및 20α-하이드록시콜레스테롤일 수 있고, 예를 들어 이것은 20α-하이드록시콜레스테롤 및 이들의 혼합물일 수 있다.

[0406] 일 구현예에서, 스테롤 또는 이의 에스테르는 콜레스테롤, 콜레스테릴 에스테르, 또는 콜레스테롤 유도체, 예를 들어 산화된 콜레스테롤일 수 있다.

[0407] 일 구현예에서, 스테롤은 콜레스테롤 또는 콜레스테릴 에스테르일 수 있다.

[0408] 일 구현예에서, 스테롤은 콜레스테롤일 수 있다.

[0409] 일 구현예에서, 스테롤은 시토스테롤일 수 있다.

[0410] 코르티코스테로이드는 프레드니솔론, 텍사메타손, 프레드니손, 하이드로코르티손, 또는 이들의 혼합물로부터 선택될 수 있다.

[0411] 구조적 지질은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % w/w 단위로, 약 20 내지 약 55%, 또는 약 20% 내지 약 50%, 또는 약 25% 내지 약 45% 범위의 몰량으로 조성물 또는 LNP의 지질 성분에 존재할 수 있다.

[0412] 구조적 지질은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % w/w 단위로, 약 20%, 약 22, 약 24, 약 26, 약 28, 약 30, 약 32, 약 34, 약 36, 약 38, 약 40, 약 42, 약 44, 약 46, 약 48, 약 50, 약 52, 약 54, 또는 약 55%의 몰량으로 조성물 또는 LNP의 지질 성분에 존재할 수 있다.

[0413] 일 구현예에서, 구조적 지질은 상기 LNP 또는 조성물의 지질 성분의 총 몰량에 대해 % w/w 단위로, 약 28.5%, 또는 약 38.5%, 또는 약 40.9%, 또는 약 42.7%의 양으로 존재할 수 있다.

[0414] 구조적 지질은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % w/w 단위로, 38.5%의 양으로 지질 성분에 존재할 수 있다.

- [0415] 일 구현예에서, 구조적 지질은 콜레스테롤일 수 있다.
- [0416] 구조적 지질은 약 4:1 내지 약 1:2, 예를 들어 약 3.5:1 내지 약 1:1.8, 예를 들어 약 2:1 내지 약 1:1.5, 예를 들어 약 1.5:1 내지 약 1:1.2의 범위, 예를 들어 약 1.3:1 내지 1:1.3 범위의 지질 화합물:구조적 지질의 몰비로 조성물 또는 LNP의 지질 성분에 존재할 수 있다.
- [0417] **PEG-지질**
- [0418] 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 PEG-지질(또는 폐길화 지질)을 포함할 수 있다.
- [0419] 고려되는 PEG-변형 지질은 C₆-C_ω 길이의 알킬 사슬(들)을 갖는 지질에 공유적으로 부착된 최대 5 kDa 길이의 폴리에틸렌 글리콜 사슬을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. LNP의 조성물에 PEG-변형 지질을 첨가하면 복잡한 응집을 방지할 수 있고, 순환 수명을 증가시키고 조성물 또는 지질 나노입자의 표적 세포로의 전달을 증가시키는 수단을 또한 제공할 수 있다.
- [0420] 적합한 PEG-지질은, 예를 들어, 폐길화 디아실글리세롤(PEG-DAG), 예컨대 λ-(모노메톡시-폴리에틸렌글리콜)-2,3-디미리스토일글리세롤(PEG-DMG); 폐길화 포스파티딜에탄올로아민(PEG-PE); PEG 석시네이트 디아실글리세롤(PEG-S-DAG), 예컨대 4-O-(2',3'-디(테트라데카노일옥시)프로필-λ-O-(코-메톡시(폴리에톡시)에틸)부탄디오에이트(PEG-S-DMG); 폐길화 세라마이드(PEG-cer); DSPC-PEG; DSPE-PEG; PEG 디알콕시프로필카르바메이트, 예컨대 ω-메톡시(폴리에톡시)에틸-N-(2,3-디(테트라데카노시)프로필)카르바메이트; 2,3-디(테트라데카노시)프로필-N-(코-메톡시(폴리에톡시)에틸) 카르바메이트; 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 및 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0421] 일 구현예에서, 적합한 PEG-지질은 PEG-DAG; PEG-DMG; PEG-PE; PEG-S-DAG; PEG-S-DMG; DSPC-PEG; DSPE-PEG; PEG-cer; PEG-디아일옥시프로필카르바메이트; 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159); 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0422] 예를 들어, PEG-지질은 PEG-DMG, PEG-PE, DSPC-PEG, 또는 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159), 및 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0423] 일 구현예에서, PEG-지질은 PEG-PE, 예컨대 PEG-2000-PE일 수 있다.
- [0424] 일 구현예에서, PEG-지질은 PEG-DMG, 예컨대 DMG-PEG-2000일 수 있다.
- [0425] 일 구현예에서, PEG-지질은 DSPC-PEG, 예컨대 DSPC-PEG-2000일 수 있다.
- [0426] 일 구현예에서, PEG-지질은 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159)일 수 있다.
- [0427] PEG-지질은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 1 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 1% 내지 약 5%, 또는 약 1% 내지 약 3.5% 범위의 몰량으로 조성물 또는 LNP의 지질 성분에 존재할 수 있다.
- [0428] PEG-지질은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 1%, 약 2, 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 또는 약 15%의 몰량으로 조성물 또는 LNP의 지질 성분에 존재할 수 있다.
- [0429] 일 구현예에서, PEG-지질은 MDG-PEG, 예를 들어 DMG-PEG-2000일 수 있으며, 이는, 예를 들어 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 1.5%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0430] 일 구현예에서, PEG-지질은, 상기 LNP의 지질 성분들의 총 중량에 대해 % w/w 단위로, 예를 들어, 약 1.6% 또는 약 1.7%의 양으로 존재하는 2-[(폴리에틸렌 글리콜)-2000]-N,N-디테트라데실아세트아미드(ALC-0159)일 수 있다.
- [0431] PEG-지질 및 본원에 개시된 지질 화합물은 약 70:1 내지 약 4:1, 약 40:1 내지 약 10:1, 약 35:1 내지 약 15:1, 또는 약 33:1, 또는 약 14:1의 지질 화합물 대 PEG-지질의 몰비로 조성물 또는 LNP의 지질 성분에 존재할 수 있다.
- [0432] **LNP 제형**
- [0433] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP는 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 30% 내지 약 70% 몰량의 본원에 개시된 지질 화합물, 약 0% 내지 약 50% 몰량의 중성 지질, 약 20% 내지 약 50% 몰량의 구조적 지질, 및 선택적으로 약 1% 내지 약 15% 몰량의 PEG-지질을 적어도 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있다.
- [0434] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP는 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 30% 내지 약 70% 몰량의 본원에

개시된 지질 화합물, 약 0% 내지 약 50% 몰량의 중성 지질, 약 20% 내지 약 50% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1% 내지 약 15% 몰량의 PEG-지질을 적어도 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있다.

- [0435] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP는 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 PEG-지질을 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있으며, 이들은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 35% 내지 약 55% 몰량의 본원에 개시된 지질 화합물, 약 5% 내지 약 35% 몰량의 중성 지질, 약 25% 내지 약 45% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1.0% 내지 약 2.5% 몰량의 PEG-지질로서 존재한다.
- [0436] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP는 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 PEG-지질을 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있으며, 이들은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 약 40% 내지 약 50% 몰량의 지질 화합물, 약 9% 내지 약 30% 몰량의 중성 지질, 약 28% 내지 약 45% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1.5% 내지 약 2.5% 몰량의 PEG-지질로서 존재한다.
- [0437] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP는 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 PEG-지질을 약 35/16/46.5/1.5, 약 50/10/38.5/1.5, 약 57.2/7.1/34.3/1.4, 약 40/15/40/5, 약 50/10/35/4.5/0.5, 약 50/10/35/5, 약 40/10/40/10, 약 35/15/40/10, 또는 약 52/13/30/5의 몰비로 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있다.
- [0438] 일 구현예에서, 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 PEG-지질의 몰비는 약 35/16/46.5/1.5 또는 약 50/10/38.5/1.5일 수 있다.
- [0439] 일 구현예에서, 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 PEG-지질의 몰비는 약 50/10/38.5/1.5일 수 있다.
- [0440] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP는 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 PEG-지질을 포함하는 지질 성분을 포함할 수 있으며, 이들은 상기 LNP의 지질 성분의 총 중량에 대해 % 단위로, 약 50% 몰량의 지질 화합물, 약 10% 몰량의 중성 지질, 약 38.5% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1.5% 몰량의 PEG-지질로서 존재한다.
- [0441] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 I의 지질 화합물일 수 있다.
- [0442] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 II의 지질 화합물일 수 있다.
- [0443] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 IIa의 지질 화합물일 수 있다.
- [0444] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 III의 지질 화합물일 수 있다.
- [0445] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 IV의 지질 화합물일 수 있다.
- [0446] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 화학식 V의 지질 화합물일 수 있다.
- [0447] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 **표 1**에 나타난 바와 같은 지질 화합물일 수 있다.
- [0448] 일 구현예에서, 적합한 지질 화합물은 **표 2**에 나타난 바와 같은 지질 화합물일 수 있다.
- [0449] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0450] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0451] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있다.
- [0452] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있다.
- [0453] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 화학식 XX 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있다.

- [0454] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있다.
- [0455] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있다.
- [0456] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0457] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0458] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXX, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0459] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0460] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0461] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있다.
- [0462] 일 구현예에서, 중성 지질은 DEPE일 수 있다.
- [0463] 일 구현예에서, 중성 지질은 DOPE일 수 있다.
- [0464] 일 구현예에서, 중성 지질은 DSPC일 수 있다.
- [0465] 일 구현예에서, 구조적 지질은 콜레스테롤일 수 있다.
- [0466] 일 구현예에서, PEG-지질은 PEG-PE(PEG-2000-PE) 또는 PEG-DMG(PEG-2000-DMG)일 수 있다.
- [0467] 일 구현예에서, PEG-지질은 PEG-DMG(PEG-2000-DMG)일 수 있다.
- [0468] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000) 또는 PEG-PE(PE-PEG 2000)일 수 있다.
- [0469] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000) 또는 PEG-PE(PE-PEG 2000)일 수 있다.
- [0470] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000) 또는 PEG-PE(PE-PEG 2000)일 수 있다.
- [0471] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000) 또는 PEG-PE(PE-PEG 2000)일 수 있다.
- [0472] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 화학식 XX 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000) 또는 PEG-PE(PE-PEG 2000)일 수 있다.
- [0473] 일부 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있다.

- [illegible]

2000)일 수 있다.

- [0503] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC 또는 DOPE일 수 있고, 구조적 지질은 콜레스테롤 또는 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000) 또는 PEG-PE(PE-PEG 2000)일 수 있다.
- [0504] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0505] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0506] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 또는 화학식 XII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0507] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 또는 화학식 XII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0508] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 화학식 XX 또는 화학식 XXI의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0509] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 또는 화학식 XXI의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0510] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 VI, 화학식 VII 또는 화학식 XII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0511] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0512] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0513] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXX, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.
- [0514] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 XVI, 화학식

XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.

[0515] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.

[0516] 일 구현예에서, 조성물 또는 LNP의 지질 성분은 지질 성분의 총 몰량에 대해 % 단위로, 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 또는 화학식 XXXVIII의 50%의 지질 화합물, 10%의 DSPC 또는 DOPE, 38.5%의 콜레스테롤 또는 시토스테롤, 및 1.5%의 PEG-DMG(PEG-2000-DMG) 또는 PEG-PE(PE-PEG2000)를 포함할 수 있다.

[0517] 중성 지질은 DSPC일 수 있다.

[0518] 구조적 지질은 콜레스테롤일 수 있다.

[0519] PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0520] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0521] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0522] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0523] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0524] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 화학식 XX 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0525] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XIX, 또는 화학식 XXI의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0526] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 VI, 화학식 VII 또는 화학식 XII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0527] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0528] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0529] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고,

중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0530] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0531] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0532] 일 구현예에서, 지질 화합물은 화학식 XVIII, 화학식 XXXIII, 또는 화학식 XXXVIII의 화합물일 수 있고, 중성 지질은 DSPC일 수 있고, 구조적 지질은 시토스테롤일 수 있고, PEG-지질은 PEG-DMG(DMG-PEG-2000)일 수 있다.

[0533] LNP 제조 방법

[0534] LNP를 제조하는 방법은 당업계에 알려져 있다.

[0535] 일 구현예에서, 생물학적 활성제, 예를 들어 핵산을 함유하는 LNP는 적어도 다음 단계들을 포함하는 방법에 의해 수득 가능할 수 있다:

[0536] i) 수혼화성 유기 용매에, LNP의 지질 성분들을 용해시키는 단계,

[0537] ii) 단계 a)에서 수득된 유기 용매를, 생물학적 활성제를 함유하는 수성 용매와 혼합하는 단계, 및

[0538] iii) 수성 용매 중, 상기 LNP를 수득하는 단계.

[0539] 일 구현예에서, LNP를 제조하는 방법은 적어도 다음 단계들을 포함할 수 있다:

[0540] i) 수혼화성 유기 용매 중, 적어도 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질을 용해시키는 단계,

[0541] ii) 단계 i)에서 수득된 유기 용매를, 생물학적 활성제를 함유하는 수성 용매와 혼합하는 단계, 및

[0542] iii) 수성 용매 중, 생물학적 활성제를 함유하는 지질 나노입자를 수득하는 단계.

[0543] 생물학적 활성제는 핵산일 수 있다.

[0544] 유용한 수혼화성 유기 용매는 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물 및 임의의 다른 첨가된 지질을 용해시킬 수 있는 임의의 수혼화성 유기 용매일 수 있다. 적합한 유기 용매의 예로는 에탄올 또는 메탄올, 1-프로판올, 이소프로판올, t-부탄올, THF, DMSO, 아세톤, 아세토니트릴, 디글라임, DMF, 1,4-디옥산, 에틸렌 글리콜, 글리세린, 헥사메틸포스포르아미드, 헥사메틸포스포러스 트리아미드를 들 수 있다. 일 구현예에서, 유기 용매는 에탄올 및 이소프로판올일 수 있다.

[0545] 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물은 지질 나노입자를 구조화하고 캡슐화된 임의의 페이로드(payload)를 캡슐화하기에 충분한 양으로 존재할 수 있다. 사용되는 지질 화합물의 양은 임의의 공지된 기법에 따라 당업자에 의해 결정될 수 있고, 페이로드의 성질 및 양, 및 존재할 수 있는 다른 지질의 성질 및 양에 따라 조정된다.

[0546] 본원에 개시된 지질 화합물, 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 폐길화 지질은 각각, 지질 성분의 총량에 대해 % 단위로, 약 30% 내지 약 70% 몰량의 지질 화합물, 약 0% 내지 약 50% 몰량의 중성 지질, 20% 내지 약 50% 몰량의 구조적 지질, 및 약 1% 내지 약 15% 몰량의 PEG-지질로서 유기 용매에 존재할 수 있다.

[0547] 단계 ii)에서 사용 가능한 수성 용매는 수성 완충 용액을 포함한다.

[0548] 적합한 수성 완충 용액의 예로는 시트레이트 완충액, 아세트산나트륨 완충액, 석시네이트 완충액, 보레이트 완충액 또는 인산염 완충액 등을 포함하는 산성 완충액을 들 수 있다. 예를 들어, 수성 완충 용매는 시트레이트 완충 용액 또는 아세테이트 완충 용액일 수 있다.

[0549] 수성 용매의 pH는 약 3.5 내지 약 7.0, 예를 들어 약 4.0 내지 약 6.5, 예를 들어 약 4.5 내지 약 6.0의 범위일 수 있고, 예를 들어 약 5.5일 수 있다. 일 구현예에서, pH는 약 4.0일 수 있다.

[0550] 단계 ii)에서, 유기 용매 및 수성 용매는 약 1:1 내지 약 1:6 범위의 유기 용매:수성 용매의 비로 혼합될 수 있다. 일 구현예에서, 비는 약 1:2 내지 약 1:4의 범위일 수 있고, 예를 들어 약 1:3의 비일 수 있다.

- [0551] 일 구현예에 따르면, 단계 ii)에서 유기 용매와 수성 용매는 약 0.01 ml/분 내지 약 12 ml/분의 범위의 유량으로 혼합될 수 있다. 일부 구현예에서, 유량은 약 0.02 ml/분 내지 약 10 ml/분, 약 0.5 ml/분 내지 약 8 ml/분, 약 1 ml/분 내지 약 6 ml/분의 범위, 또는 약 4 ml/분일 수 있다.
- [0552] 혼합 단계는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, 두 용매 모두는 T-튜브 또는 Y-커넥터를 이용하여 혼합될 수 있다. 대안적으로, 혼합은 문헌[Belliveau *et al.* (*Mol Ther Nucleic Acids*. 2012;1(8):e37)](이의 내용은 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같이, 마이크로유체 마이크로믹서로 층류 혼합하여 수행될 수 있다.
- [0553] 나타낸 바와 같이, 단계 ii)에서의 수성 용매는 생물학적 활성제로서 핵산을 포함한다. 적합한 핵산은 예를 들어 아래에 상세히 설명된 바와 같을 수 있다.
- [0554] 본 방법은 필요한 경우 pH를 산성에서 중성으로 증가시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0555] 추가 구현예에서, 본 방법은 단계 iii)에서 수득된 LNP를 함유하는 수성 용매의 pH를 약 5.5 내지 약 7.5, 예를 들어 약 6.0 내지 약 7.5 범위의 pH로 증가시키는 단계 iv)를 포함할 수 있다.
- [0556] pH를 증가시키는 단계는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들어, pH의 변화는 투석 또는 정용여과 단계에 의해 수행될 수 있다.
- [0557] 추가로, LNP를 제조하는 방법은 지질 나노입자를 수확, 정제, 농축 및/또는 멸균하여 약제학적 조성물, 예를 들어 면역원성 조성물로서 추가로 제형화하기에 적합한 임의의 추가 단계를 포함할 수 있다.
- [0558] 정제는 투석 또는 정용여과에 의해 수행될 수 있다. 투석 또는 정용여과 단계는 pH 범위가 약 5.5 내지 약 7.5, 예를 들어 약 6.0 내지 약 7.0, 예를 들어 약 6.5 내지 약 7.0, 예를 들어 약 6.5인 수성 용매에 대해 이루어질 수 있다.
- [0559] 추가로, 필요한 경우, 체내에 등장성 용액을 주사하기 위해 290 mOsmol/kg에 가까운 최종 삼투질농도에 도달하도록 오스몰농도를 조정할 수 있다.
- [0560] 지질 나노입자는 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물인 지질 화합물, DSPC 또는 DOPE인 중성 지질, 콜레스테롤인 구조적 지질, 및 PEG-PE(PEG2000-PE) 또는 DMG-PEG(DMG-PEG2000)인 PEG-지질로 제조될 수 있다.
- [0561] 지질 나노입자는 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물인 지질 화합물, DSPC 또는 DOPE인 중성 지질, 콜레스테롤인 구조적 지질, 및 PEG-PE(PEG2000-PE) 또는 DMG-PEG(DMG-PEG2000)인 PEG-지질로 제조될 수 있다.
- [0562] 지질 나노입자는 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XV, 화학식 XVI, 화학식 XVII, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물인 지질 화합물, DSPC인 중성 지질, 콜레스테롤인 구조적 지질, 및 DMG-PEG(DMG-PEG2000)인 PEG-지질로 제조될 수 있다.
- [0563] 지질 나노입자는 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 XII, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXI, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII 또는 화학식 XXXVIII의 화합물인 지질 화합물, DSPC인 중성 지질, 콜레스테롤인 구조적 지질, 및 DMG-PEG(DMG-PEG2000)인 PEG-지질로 제조될 수 있다.
- [0564] **지질 나노입자(LNP)**
- [0565] 지질 나노입자(LNP)는 평균 직경 크기, 모드 직경 크기, LNP의 크기 분포의 균질성을 반영하는 다분산 지수 (PI), pKa, 및/또는 LNP의 전체 표면 전하를 반영하는 제타 전위와 같이 당업자에게 잘 알려진 여러 파라미터로 특징지어질 수 있다.
- [0566] LNP는 적어도 하나의 생물학적 활성제를 캡슐화하는 데 사용될 수 있다. 그러한 제제의 캡슐화율 및 총 함량이 또한 LNP를 특징짓는 파라미터로서 사용될 수 있다.

- [0567] 모드 직경 크기, 평균 직경 크기 및 PI는 96웰 플레이트 오토-샘플러 또는 동적 광 산란(DLS)이 장착된 Malvern 으로부터의 나노입자 추적 분석(Nanoparticles Tracking Analysis, NTA) NS300으로 측정될 수 있다. pKa는 형광 프로브 2-(p-톨루이디노)-6-나프탈렌 설폰산(TNS)을 사용하여 결정될 수 있다. 제타 전위는 전기영동 이동도 또는 동적 전기영동 이동도 측정을 사용하여, 예를 들어 Nicomp 380 ZLS 시스템 또는 Malvern nanoZS로 결정될 수 있다.
- [0568] LNP의 "평균 직경 크기"는 나노입자 추적 분석(NTA)으로 결정될 수 있으며, 샘플에서 분석된 모든 입자의 평균 직경을 나타낸다. "모드 직경 크기"는 샘플 수에서 가장 빈번한 입자 집단의 크기를 나타낸다. 달리 말해, 가장 높은 빈도를 갖는 입자의 크기이다. 샘플의 크기 분포 프로파일과 관련하여, 모드 직경 크기는 분포에서 나타나는 피크의 가장 높은 지점을 나타낸다.
- [0569] NTA는 액체 현탁액에서 샘플의 입자 크기 분포를 얻기 위해 브라운 운동과 광 산란 둘 모두의 특성을 모두 사용한다. 레이저 빔이 샘플 챔버를 통과하고 빔 경로에서 현탁액 중 입자가 광을 산란시켜, 카메라가 장착된 확대 현미경을 통해 이를 볼 수 있다. 입자 이동을 프레임 단위로 캡처한다. 관찰된 각 입자의 중심을 식별하고 추적하여 x 및 y 평면에서 이동한 평균 거리를 구한다. 이 값은 입자 확산 계수(Dt)를 결정하는 데 도움이 되는데, 샘플 온도 T와 용매 점도 η 를 알면, 스토크스-아인슈타인(Stokes-Einstein) 식으로 입자의 구-등가 유체역학적 직경 d를 결정할 수 있다:
- $$Dt = \frac{TK_B}{3\pi\eta d}$$
- (여기서, KB는 볼츠만(Boltzmann) 상수임).
- [0570] LNP는 전신 투여, 예를 들어 비경구 투여, 또는 근육내, 피내 또는 피하 투여에 적합하도록 하는 직경을 가질 수 있다. 통상적으로, 지질 나노입자는 600 나노미터(nm) 미만, 예를 들어 400 nm 미만의 평균 애버리지 직경 크기를 갖는다.
- [0571] 일 구현예에서, LNP는 평균 애버리지 직경 크기가 200 nm 미만이다. 이러한 크기는 유리하게는 멸균 여과와 양립 가능하고, 근육내 또는 피하 투여 후 림프관을 통한 이동에 가장 적절하다. 이 크기는 정맥내 투여에도 적절하며, 그 이유는 더 큰 입자 주사가 모세혈관 혈전증을 유발할 수 있기 때문이다.
- [0572] 일부 구현예에서, LNP는 평균 직경 크기가 약 20 nm 내지 약 300 nm, 예를 들어 약 25 nm 내지 약 250 nm, 예를 들어 약 30 nm 내지 약 200 nm, 약 40 nm 내지 약 180 nm, 약 60 nm 내지 약 170 nm, 약 70 내지 약 160 nm, 및 약 80 내지 약 150 nm 범위일 수 있다. 일 구현예에서, LNP는 동적 광 산란(DLS) 및 나노입자 추적 분석(NTA)에 의해 측정될 때 평균 직경 크기가 약 85 내지 약 140 nm의 범위일 수 있다. 본원에 개시된 방법의 액체 조성물(단계 a)에서, LNP는 DLS 및 NTA로 측정할 때 모드 직경 크기가 약 70 nm 내지 약 250 nm, 또는 약 80 nm 내지 약 200 nm, 또는 약 85 내지 약 140 nm, 또는 약 90 내지 약 120 nm일 수 있다.
- [0573] NTA 기법은 샘플이 액체일 것을 필요로 한다. 따라서, 냉동 또는 냉동-건조 단계 후 LNP의 평균 직경 크기를 결정하기 위해, 수득된 냉동된 또는 냉동-건조된 LNP를 해동하거나, 수성 완충액 또는 주사용수(WFI)와 같은 용액 중에 재현탁한다.
- [0574] 일부 구현예에서, 지질 나노입자는 약 20 nm 내지 약 300 nm, 예를 들어 약 20 nm 내지 약 250 nm, 예를 들어 약 30 nm 내지 약 200 nm, 약 40 nm 내지 약 180 nm, 약 60 nm 내지 약 170 nm, 약 80 내지 약 160 nm, 약 90 내지 약 150 nm, 또는 약 90 내지 약 130 nm의 범위의 Z-평균 직경 크기를 가질 수 있다. 일 구현예에서, 나노입자는 약 90 내지 약 150 nm의 범위의 직경을 가질 수 있다.
- [0575] 지질 나노입자의 "Z-평균 크기"는 동적 광 산란(DLS)에 의해 결정될 수 있다. 동적 광 산란에 사용되는 Z-평균 크기 또는 Z-평균 평균치는 누적 평균으로도 공지되어 있는 파라미터이다. 이것은 당해 기법에 의해 생성된 일차적이고 가장 안정한 파라미터이다. Z-평균 평균치는 '고조파 강도 평균 입자 직경'으로 정의된다. Z-평균 크기는 제타 사이저 Nano ZS 광 산란 기기(Malvern Instruments)로 측정될 수 있다. Nano ZS를 사용한 정확한 입자 크기 측정을 위해, 완충액의 점도 및 물질의 굴절률을 장비 소프트웨어에 제공해야 했다(PBS: $\nu=1.02$ cP, RI=1.45).
- [0576] 제조 프로세스 중에 크기에 약간의 변동이 발생할 수 있으므로 명시된 치수의 최대 20 내지 30%의 변동이 허용 가능하며, 이는 명시된 크기 내인 것으로 간주된다. 대안적으로 크기는 여과 스크리닝 검정에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 입자의 적어도 90%, 예를 들어 적어도 95%, 예를 들어 적어도 97%가 명시된 크기의 "스크린 타입" 필터를 통과하는 경우 입자 제제는 명시된 크기보다 작다.
- [0577] "다분산 지수"(PI)는 지질 나노입자 혼합물에서 개별 지질 나노입자의 균질한 또는 불균일 크기 분포의 측정치

이며, 혼합물 중 입자 분포의 폭을 나타낸다. PI는 예를 들어 본원에 기술된 바와 같이 결정될 수 있다.

- [0578] 일 구현예에서, 동적 광 산란에 의해 측정된 본원에 기술된 나노입자의 다분산 지수는 0.5 이하, 예를 들어 0.4 이하, 예를 들어 0.3 이하, 또는 심지어 예를 들어 0.2 이하이다. PI는 약 0.05 내지 약 0.2의 범위, 또는 약 0.09 내지 약 0.17의 범위일 수 있다.
- [0579] 일 구현예에서, 지질 나노입자는 응집, 침전, 또는 동적 광 산란에 의해 측정된 크기 및 다분산 지수의 증가가 주어진 기간에 걸쳐, 예를 들어 적어도 2시간 내지 수 개월에 걸쳐, 예를 들어 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 12개월에 걸쳐 관찰되지 않을 수 있거나 실질적으로 관찰되지 않을 수 있다는 의미에서 콜로이드적으로 안정하다.
- [0580] 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자는 4.5 내지 6.7의 범위의 pKa를 갖는다.
- [0581] 이 pKa는 형광 프로브 2-(p-톨루이디노)-6-나프탈렌 설펜산(TNS) 및 대략 6 mM의 총 지질 농도의 PBS 중 양이온성 지질/DOPE/콜레스테롤/PEG-지질(35:16:35:2.5 mol%)로 구성된 사전 형성된 LNP를 이용하여 결정될 수 있다. 간단히 말해서, TNS를 증류수 중 100 μ M 스톱으로서 제조한다. LNP는 10 mM HEPES, 10 mM 4-모르폴린에탄설펜산, 10 mM 아세트산암모늄, 130 mM NaCl을 포함하는 완충 용액(3회 반복시험물) 90 μ L에서 총 지질 100 μ M까지 희석되며, 여기서, pH 범위는 2.71 내지 11.5이다. 스톱 TNS 10 마이크로리터를 LNP 용액들에 첨가하고 흑색 96웰 플레이트에서 잘 혼합한다. 형광 강도는 321 및 445 nm의 여기 및 방출 파장을 사용하여 Tecan Pro200 플레이트 판독기에서 모니터링된다. 생성된 형광 값을 이용하여, 형광 대 완충액 pH의 S자형 도표를 생성한다. 이 곡선의 변곡점의 로그는 LNP 제형의 겉보기 pKa이다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌[Semple, S. C. et al. Rational design of cationic lipids for siRNA delivery. Nat. Biotechnol. 28, 172-176 (2010)]에 상세히 기술되어 있다.
- [0582] LNP는 생물학적 활성제로서 적어도 핵산을 수용하거나 캡슐화할 수 있다. 그러한 경우에, LNP는 입자 표면의 음전하와 양전하의 합이고 제타 전위로 표시되는 전체 표면 전하를 가질 수 있다. 제타 전위는 분산 매질과 분산된 입자에 부착된 정지 유체층 사이의 전위차이다. 제타 전위는 이중층에서 전하의 크기를 정량화하는 데 널리 사용된다.
- [0583] 제타 전위는 이론적 모델을 사용하여 계산될 수 있으며, 전기영동 이동도 또는 동적 전기영동 이동도 측정을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다. 미립자의 제타 전위를 추정하기 위해 전기영동을 사용할 수 있다. 실제로, 분산액의 제타 전위는 분산액에 전기장을 적용하여 측정할 수 있다. 제타 전위가 있는 분산액 내의 입자는 제타 전위의 크기에 비례하는 속도로 반대 전하의 전극을 향해 이동한다. 이 속도는 레이저 도플러 풍속계(Laser Doppler Anemometer) 기법을 사용하여 측정할 수 있다. 이러한 이동 중인 입자에 의해 야기되는 입자 레이저 빔의 주파수 편이 또는 위상 편이는 입자 이동도로서 측정될 수 있으며, 이 이동도는 분산제의 점도 및 유전율을 입력하고 Smoluchowski 이론을 적용하여 제타 전위로 변환할 수 있다. 전기영동 속도는 측정 가능한 파라미터인 전기영동 이동도에 비례한다. 전기영동 이동도와 제타 전위를 연결하는 몇 가지 이론이 있다.
- [0584] Nicomp 380 ZLS 시스템 또는 Malvern nanoZS와 같은 적합한 시스템을 제타 전위의 결정에 사용할 수 있다. 이러한 시스템은 일반적으로 액체 현탁액에서 하전 입자의 전기영동 이동도 및 안정성을 측정한다. 이들 값은 현탁액 중 입자에 의해 가해지는 반발력의 예측 변수이며 콜로이드 시스템의 안정성과 직접적으로 관련된다.
- [0585] 중성 pH에서, 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자의 제타 전위는 중성에 가깝다.
- [0586] 한 가지 장점은 0에 가까운 제타 전위를 갖는 것이 체내에서 입자 이동성을 촉진하고, 옴소닌화를 줄이고, 표적 조직에 대한 접근을 늘린다는 것이다.
- [0587] 일 구현예에서, pH 6.0 내지 7.5에서, 지질 나노입자의 제타 전위는 약 -3 mV 내지 약 +3 mV, 예를 들어 약 -1 mV 내지 약 +1 mV, 예를 들어 약 -0.5 mV 내지 약 +0.5 mV일 수 있다.
- [0588] 본원에 기술된 지질 나노입자는 본원에 개시된 바와 같은 이온화 가능한 지질 화합물(사차 암모늄으로부터의 양전하: 화학식 I의 말단 라디칼의 N):핵산(포스페이트로부터의 음전하: P)의 전하비에 따라, 제조 시에 양전하: 음전하를 조정하고 핵산과 지질 화합물을 혼합함으로써 형성될 수 있다. 이온화 가능한 지질 화합물 및 핵산의 전하는 약 3.0 내지 약 4.5인 제형화 프로세스의 pH와 같은 선택된 pH에서의 전하이다.
- [0589] 본원에 개시된 바와 같은 지질 화합물:핵산의 +/- (N/P) 전하비는 하기 방정식에 의해 계산될 수 있다. (+/- 전하비)=[(양이온성 지질의 양(mol)) * (양이온성 지질의 총 양전하 수)] : [(핵산의 양(mol)) * (핵산의 총 음전하 수)]

하 수)].

- [0590] 핵산의 양 및 지질 화합물의 양은 나노입자 제조시 로딩량을 고려하여 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0591] 일 구현예에서, 양전하 대 음전하의 계산된 전하비는 약 1:1 내지 약 14:1, 예를 들어 약 2:1 내지 약 12:1, 예를 들어 약 4:1 내지 약 10:1, 예를 들어 약 6:1 내지 약 8:1의 범위일 수 있으며, 예를 들어 약 6:1이다.
- [0592] 일 구현예에서, 핵산을 캡슐화하는 지질 나노입자는 Z-평균 크기가 약 110 내지 130 nm이고, PI가 약 0.15 내지 약 0.95이고, 계산된 전하비 N/P가 약 6:1일 수 있다.
- [0593] **생물학적 활성제**
- [0594] 생물학적 활성제는 예방제, 치료제 또는 진단제일 수 있다.
- [0595] 일부 구현예에서, 생물학적 활성제는 핵산이다.
- [0596] 일부 구현예에서, 치료제는 핵산이다.
- [0597] 핵산은 치료제일 수 있거나 치료제를 인코딩할 수 있다. 일부 구현예에서, 핵산은 치료제를 인코딩하는 mRNA일 수 있다.
- [0598] "치료제"는 이것이 투여되는 개체에서 질병 상태 또는 질병 상태의 증상의 발생 위험을 예방하거나 감소시키거나, 또는 질병 상태의 강도를 감소시키거나 또는 이를 치유하거나, 또는 질병 상태의 적어도 하나의 증상을 치유하거나 감소시키기 위해 제안된 활성 성분을 지칭하는 것으로 하고자 한다. "개체"는 인간 및 동물을 지칭하는 것으로 하고자 한다.
- [0599] 치료제는 펩티드, 단백질, 핵산일 수 있다. 일부 구현예에서, 치료제는 핵산일 수 있다. 핵산은 다양한 치료 펩티드 또는 단백질을 인코딩할 수 있다.
- [0600] 치료제는 게놈-편집 폴리펩티드, 케모카인, 사이토카인, 성장 인자, 항체, 효소, 구조적 단백질, 혈액 단백질, 호르몬, 전사 인자, 또는 항원일 수 있다.
- [0601] 일 구현예에서, 치료제는 게놈-편집 폴리펩티드일 수 있다. 일부 구현예에서, 게놈-편집 폴리펩티드는 CRISPR 단백질, 예컨대 CRISPR/Cas9, 제한 뉴클레아제, 메가뉴클레아제, 전사 활성화 인자 유사 이펙터 단백질(TALE 뉴클레아제, TALEN을 포함한 TALE), 또는 징크 핑거 단백질(ZF 뉴클레아제, ZFN을 포함한 ZF)이다. 예를 들어, 국제 공개 공보 제WO 2020/139783호를 참조한다.
- [0602] 치료제는 면역 반응을 자극하거나 저해하거나, 세포 성장을 자극하거나 예방하거나, 염증을 감소시키는 데 적합한 사이토카인 또는 케모카인일 수 있다. 적합한 사이토카인 또는 케모카인의 예는 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자, 인간 성장 호르몬(hGH), 조직 플라스미노겐 활성화 인자(tPA), 사이토카인, 예컨대 인터류킨(IL), 예를 들어 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, 인터페론(IFN) 알파, IFN 베타, IFN 감마, IFN 오메가 또는 IFN 타우, 종양 괴사 인자(TNF), 예컨대 TNF 알파 및 TNF 베타, TNF 감마, TNF 관련 아포토시스 유도 리간드(TRAIL); 림프톡신-β(LT-β), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 대식세포 콜로니 자극 인자(M-CSF), 단백질 화학주성 단백질-1(MCP-1) 및 성장 인자, 예컨대 혈관 내피 성장 인자(VEGF)를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 에리트로포이에틴 또는 임의의 다른 호르몬 성장 인자의 생성이 또한 포함된다. 사이토카인 또는 케모카인은 핵산에서 인코딩될 수 있다.
- [0603] 일부 구현예에서, 치료제는 항체일 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 2개의 경쇄 폴리펩티드 및 2개의 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 전체 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭한다. 항체는 특정 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화성을 나타내는 단일클론 항체(예를 들어, 전장 단일클론 항체)일 수 있다. 항원 결합 단편은 단쇄 항체, 단쇄 Fv 단편(scFv), Fd 단편, Fab 단편, Fab' 단편, 또는 F(ab')₂ 단편일 수 있다. 항체는 보호 또는 치료 면역 반응이 요구되는 종양 항원 또는 감염성 질병 항원, 예를 들어 종양 세포에 의해 발현되는 항원을 인식할 수 있다. 항체의 예는 예를 들어 아달리무맙, 인플릭시맙, 리툭시맙, 이필리무맙, 토실리주맙, 카나키누맙, 이톨리주맙 또는 트랄로키누맙을 포함한다. 항체는 핵산에서 인코딩될 수 있다.
- [0604] 일부 구현예에서, 치료 펩티드 또는 단백질은 대상체에서의 대사 또는 성장의 조절을 위한 바람직한 용도를 갖는 효소일 수 있다. 일부 구현예에서, 부재하거나 기능장애가 있는 내인성 효소를 대체하기 위해 효소가 투여될

수 있다. 일부 구현예에서, 대사성 축적병을 치료하기 위해 효소가 사용될 수 있다. 대사성 축적병은 내인성 효소의 부재 또는 기능장애로 인해 대사산물이 전신적으로 축적되어 발생한다. 이러한 대사산물은 지질, 당단백질, 및 점액다당류를 포함한다. 효소 대체 요법의 예는 리소좀 질병, 예컨대 고셔병, 파브리병, MPS I, MPS II(헌터 증후군), MPS VI 및 글리코겐 축적병 유형 II를 포함한다. 치료 펩티드 또는 단백질은 핵산에서 인코딩될 수 있다.

[0605] 구조적 단백질은 예를 들어 콜라겐, 피브로인, 피브리노겐, 엘라스틴, 튜블린, 액틴 및 미오신일 수 있다. 구조적 단백질은 핵산에서 인코딩될 수 있다.

[0606] 혈액 단백질은 예를 들어 트롬빈, 혈청 알부민, 인자 VII, 인슐린, 인자 IX, 인자 X, 조직 플라스미노겐 활성화 인자, 단백질 C, 폰 빌레브란트(von Willebrand) 인자, 항트롬빈 III, 글루코세레브로시다제, 에리트로포이에틴 과립구 콜로니 자극 인자(GCSF) 또는 항응고인자 동일 수 있다. 혈액 단백질은 핵산에서 인코딩될 수 있다.

[0607] 호르몬은 예를 들어 인슐린, 갑상선 호르몬, 성선 자극 호르몬, 영양 호르몬, 프로락틴, 옥시토신, 도파민, 소소마토트로핀, 렙틴 동일 수 있다. 호르몬은 핵산에서 인코딩될 수 있다.

[0608] 전사 인자(TF)는 특정 DNA 서열을 인식하여 염색질과 전사를 제어하여, 게놈의 발현을 가이드하는 복잡한 시스템을 형성한다. 여러 패밀리의 전사 인자가 존재하며, 각각의 패밀리의 구성원은 구조적 특성을 공유할 수 있다. 전사 인자의 예로는 나선-턴(turn)-나선(예를 들어, Oct-1), 나선-루프-나선(예를 들어, E2A), 징크 핑거(예를 들어, 글루코코르티코이드 수용체, GATA 단백질), 염기성 단백질-류신 지퍼[환형 AMP 반응 요소 결합 인자(CREB), 활성화 단백질-1(AP-1)] 또는 β -시트 모티프[예를 들어 핵인자- κ B(NF- κ B)]를 들 수 있다. 전사 인자는 핵산에서 인코딩될 수 있다.

[0609] 치료제는 예를 들어 암 요법에서 또는 감염성 질병(예를 들어, 바이러스, 박테리아, 진균, 원생동물 또는 기생충 감염)의 치료에서 면역 반응을 촉발하는 데 적합한 항원일 수 있다. 항원은 핵산에서 인코딩될 수 있다.

[0610] 따라서, 일부 구현예에 따르면, 항원을 포함하는 본원에 개시된 바와 같은 LNP를 함유하는 조성물은 면역원성 또는 백신 조성물일 수 있다.

[0611] 항원-함유 조성물은 그의 결합가가 다양할 수 있다. 결합가는 조성물 중 항원 성분의 수를 지칭한다. 면역원성 또는 백신 조성물은 1가 또는 다가, 즉 2가, 3가 조성물 또는 그 이상의 조성물일 수 있다. 다가 조성물은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 항원 또는 항원성 모이어티(예를 들어, 항원성 펩티드 등)를 포함할 수 있다. 항원 성분은 단일 폴리뉴클레오타이드 상에 또는 별개의 폴리뉴클레오타이드 상에 있을 수 있다.

[0612] 본원에 개시된 바와 같은 조성물은 박테리아, 바이러스, 진균, 원생동물 및 기생충과 같은 감염원과의 접촉으로부터 발생하는 감염을 보호, 치료 또는 치유하기 위해 사용될 수 있다.

[0613] 본원에 개시된 바와 같은 조성물은 암 질병을 보호, 치료 또는 치유하기 위해 사용될 수 있다.

[0614] 핵산은 적어도 하나의 항원을 인코딩할 수 있다.

[0615] 일부 구현예에 따르면, 핵산은 박테리아 항원, 바이러스 항원, 및 종양 항원으로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나의 항원을 인코딩할 수 있다.

[0616] 박테리아 항원

[0617] 박테리아는 그람-양성 박테리아 또는 그람-음성 박테리아일 수 있다. 박테리아 항원은 다음으로부터 수득될 수 있다: 아시네토박터 바우만니이(Acinetobacter baumannii), 바실루스 안트라시스(Bacillus anthracis), 바실루스 서틸리스(Bacillus subtilis), 보르테텔라 페르투스시(Bordetella pertussis), 보렐리아 부르그도르페리(Borrelia burgdorferi), 브루셀라 아보르투스(Brucella abortus), 브루셀라 카니스(Brucella canis), 브루셀라 멜리텐시스(Brucella melitensis), 브루셀라 수이스(Brucella suis), 캄필로박터 제주니(Campylobacter jejuni), 클라미디아 뉴모니아(Chlamydia pneumoniae), 클라미디아 트라코마티스(Chlamydia trachomatis), 클라미도필라 시타시(Chlamydophila psittaci), 클로스트리듐 보툴리눔(Clostridium botulinum), 클로스트리듐 디피실레(Clostridium difficile), 클로스트리듐 페르프링겐스(Clostridium perfringens), 클로스트리듐 테타니(Clostridium tetani), 코아굴라제 음성 스탕필로코커스(coagulase Negative Staphylococcus), 코리네박테리움 디프테리아(Corynebacterium diphtheria), 엔테로코커스 파에칼리스(Enterococcus faecalis), 엔테로코커스 파에시움(Enterococcus faecium), 에스케리키아 콜리(Escherichia coli), 장독소생성 에스케리키아 콜리(ETEC),

장병원성 E. 콜리, E. 콜리 0157:H7, 엔테로박터(Enterobacter) sp., 프란시셀라 툴라렌시스(Francisella tularensis), 헤모필루스 인플루엔자에(Haemophilus influenzae), 헬리코박터 파일로리(Helicobacter pylori), 클렙시엘라 뉴모니아(Klebsiella pneumoniae), 레지오넬라 뉴모필라(Legionella pneumophila), 랩토스피라 인터로간스(Leptospira interrogans), 리스테리아 모노시토크네스(Listeria monocytogenes), 모락셀라 카타랄리스(Moraxella catarrhalis), 마이코박테륨 레프라에(Mycobacterium leprae), 마이코박테륨 투베르쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis), 마이코플라스마 뉴모니아(Mycoplasma pneumoniae), 네이세리아 고노로에아에(Neisseria gonorrhoeae), 네이세리아 메닝기티데스(Neisseria meningitides), 프로테우스 미라빌리스(Proteus mirabilis), 프로테우스(Proteus) sps., 슈도모나스 아에루기노사(Pseudomonas aeruginosa), 리케차 리케치이(Rickettsia rickettsii), 살모넬라 티피(Salmonella typhi), 살모넬라 티피무름(Salmonella typhimurium), 세라티아 마르세센스(Serratia marcescens), 시겔라 플렉스네리(Shigella flexneri), 시겔라 손네이(Shigella sonnei), 스탕필로코커스 아우레우스(Staphylococcus aureus), 스탕필로코커스 에피데르미디스(Staphylococcus epidermidis), 스탕필로코커스 사프로피티쿠스(Staphylococcus saprophyticus), 스트렙토코커스 아갈락티에(Streptococcus agalactiae), 스트렙토코커스 뮤탄스(Streptococcus mutans), 스트렙토코커스 뉴모니아(Streptococcus pneumoniae), 스트렙토코커스 피오게네스(Streptococcus pyogenes), 트레포네마 팔리둠(Treponema pallidum), 비브리오 콜레라에(Vibrio cholerae), 및 예르시니아 페스티스(Yersinia pestis).

[0618] 바이러스 항원

[0619] 바이러스 항원은 다음으로부터 취득될 수 있다: 아데노바이러스; 헤르페스 심플렉스, 1형; 헤르페스 심플렉스, 2형; 뇌염 바이러스, 유두종 바이러스, 바리셀라-조스터 바이러스; 엡스타인-바 바이러스; 인간 사이토메갈로 바이러스; 인간 헤르페스바이러스, 8형; 인유두종 바이러스; BK 바이러스; JC 바이러스; 스몰포क्स; 폴리오 바이러스, B형 간염 바이러스; 인간 보카바이러스; 파코바이러스 B19; 인간 아스트로바이러스; 노윙크 바이러스; 콕사키바이러스; A형 간염 바이러스; 폴리오바이러스; 리노바이러스; 중증 급성 호흡기 증후군 바이러스; C형 간염 바이러스; 황열병 바이러스; 뎅기 바이러스; 웨스트 나일 바이러스; 루멜라 바이러스; E형 간염 바이러스; 인간 면역결핍 바이러스(HIV); 인플루엔자 바이러스, A형 또는 B형; 파나리토 바이러스; 주니 바이러스; 라사 바이러스; 마추포 바이러스; 사비아 바이러스; 크리미안-콩고 출혈열 바이러스; 에볼라 바이러스; 마버그 바이러스; 홍역 바이러스; 볼거리 바이러스; 파라인플루엔자 바이러스; 호흡기 세포융합 바이러스(RSV); 인간 메타뉴모 바이러스; 헨드라 바이러스; 니파 바이러스; 광견병 바이러스; D형 간염; 로타바이러스; 오르비바이러스; 콜티 바이러스; 한타바이러스, 중등 호흡기 코로나바이러스; SARS-Cov-2 바이러스; 치쿤구냐 바이러스; 지카 바이러스; 파라인플루엔자 바이러스; 인간 엔테로바이러스; 한타 바이러스; 일본 뇌염 바이러스; 수포성 발진증 바이러스(Vesicular exanthemavirus); 동부 말 뇌염(Eastern equine encephalitis); 또는 반나 바이러스.

[0620] 일 구현예에서, 항원은 인플루엔자 A 또는 인플루엔자 B 바이러스 주 또는 이들의 조합으로부터의 것이다. 인플루엔자 A 또는 인플루엔자 B 주는 새, 돼지, 말, 개, 인간 또는 비-인간 영양류와 관련될 수 있다.

[0621] 핵산은 헤마글루티닌 단백질 또는 이의 단편을 인코딩할 수 있다. 헤마글루티닌 단백질은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18 또는 이의 단편일 수 있다. 헤마글루티닌 단백질은 헤드 도메인(HA1)을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있다. 대안적으로, 헤마글루티닌 단백질은 세포질 도메인을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있다.

[0622] 구현예들에서, 헤마글루티닌 단백질은 절단형 헤마글루티닌 단백질이다. 절단형 헤마글루티닌 단백질은 막관통 도메인의 일부를 포함할 수 있다.

[0623] 일부 구현예에서, 바이러스는 H1N1, H3N2, H7N9, H5N1 및 H10N8 바이러스 또는 B 주 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0624] 또 다른 구현예에서, 항원은 호흡기 세포융합 바이러스(RSV)로부터의 것일 수 있다. 적합한 RSV 항원은 RSV A 및/또는 RSV B 주로부터의 것일 수 있다. RSV 항원은 예를 들어 융합 당단백질 F 단백질 또는 부착 단백질 G 단백질을 포함할 수 있다.

[0625] 또 다른 구현예에서, 항원은 코로나바이러스, 예컨대 SARS-Cov-1 바이러스, SARS-Cov-2 바이러스 또는 MERS-Cov 바이러스로부터의 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 항원은 SARS-Cov2 항원, 예컨대 SARS-Cov2로부터의 스파이크 단백질을 포함할 수 있다.

[0626] 종양 항원

[0627] 항원은 종양 항원, 즉 암세포에서 발현되는 단백질 또는 펩티드와 같은 암세포의 구성성분일 수 있다. 용어 "종

양 항원"은 정상적인 조건 하에서 제한된 수의 조직 및/또는 기관에서 또는 특정 발달 단계에서 특이적으로 발현되고 적어도 하나의 종양 또는 암 조직에서 발현되거나 비정상적으로 발현되는 단백질에 관한 것이다. 종양 항원은 예를 들어 분화 항원, 예를 들어 세포 유형 특이적 분화 항원, 즉 정상적인 조건 하에서 특정 분화 단계에서 특정 세포 유형에서 특이적으로 발현되는 단백질 및 생식세포 계열 특이적 항원을 포함한다. 예를 들어, 종양 항원은 이것이 발현되는 암세포에 의해 제시된다.

[0628] 예를 들어, 종양 항원은 암배아 항원, 1-태아단백질, 이소페리틴, 태아 설포당단백질, cc2-H-철단백질 및 γ -태아단백질을 포함할 수 있다.

[0629] 본 개시내용에 유용할 수 있는 종양 항원의 다른 예로는 p53, ART-4, BAGE, 베타-카테닌/m, Bcr-abL CAMEL, CAP-1, CASP-8, CDC27/m, CD 4/m, CEA, 클라우딘 패밀리의 세포 표면 단백질, 예컨대 CLAUDIN-6, CLAUDIN-18.2 및 CLAUDIN-12, c-MYC, CT, Cyp-B, DAM, ELF2M, ETV6-AML1, G250, GAGE, GnT-V, Gap1 OO, HAGE, HER-2/neu, HPV-E7, HPV-E6, HAST-2, hTERT(또는 hTERT), LAGE, LDLR/FUT, MAGE- A, 예를 들어 MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE- A5, MAGE-A6, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, 또는 MAGE- A12, MAGE-B, MAGE-C, MART-1/Melan-A, MC1 R, Myosin/m, MUC1, MUM-1, -2, -3, NA88-A, NF1, NY-ESO-1, NY-BR-1, p1 90 마이너(minor) BCR-abL, Pm 1/RARa, PRAME, 프로테아제 3, PSA, PSM, RAGE, RU1 또는 RU2, SAGE, SART-1 또는 SART-3, SCGB3A2, SCP 1, SCP2, SCP3, SSX, SURVrVIN, TEL/AML1, TPI/m, TRP-1, TRP-2, TRP-2/INT2, TPTE 및 WT, 예를 들어 WT-1이 있다.

[0630] 아주반트

[0631] 항원을 인코딩하는 핵산을 함유하는 조성물 또는 LNP는 아주반트 또는 면역 증강제를 추가로 포함할 수 있거나, 이와 공동 투여될 수 있다.

[0632] 아주반트는 천연 또는 합성 아주반트를 포함할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 이는 유기물이거나 무기물일 수 있다.

[0633] 아주반트는 다음의 임의의 부류로부터 선택될 수 있다: (1) 미네랄 염, 예를 들어 수산화알루미늄 및 인산알루미늄 또는 인산칼슘 겔; (2) 다음을 포함하는 에멀션: 오일 에멀션 및 계면활성제 기반 제형, 예를 들어 미세유동화 세제 안정화 수중유 에멀션, 정제된 사포닌, 수중유 에멀션, 안정화 유중수 에멀션; (3) 미립자형 아주반트, 예를 들어 바이로솜(인플루엔자 헤마글루티닌을 포함하는 단층 리포솜 비히클), 사포닌 및 지질의 구조화된 복합체, 폴리락티드 코-글리콜라이드(PLG); (4) 미생물 유도체; (5) 내인성 인간 면역조절제; 및/또는 (6) 금 입자와 같은 불활성 비히클; (7) 미생물 유래 아주반트; (8) 장력작용성(tensioactive) 화합물; (9) 탄수화물; 또는 이들의 조합.

[0634] 적절한 아주반트 및 적절한 아주반트 양의 선택은 당업자에게 자명할 것이다.

[0635] 특정 아주반트는 제한 없이, 양이온성 리포솜-DNA 복합체 JVRS-100, 수산화알루미늄 백신 아주반트, 인산알루미늄 백신 아주반트, 황산칼륨알루미늄 아주반트, 알하이드로겔, ISCOM(s)TM, 프로인트 완전 아주반트(Freund's Complete Adjuvant), 프로인트 불완전 아주반트, CpG DNA 백신 아주반트, 콜레라 독소, 콜레라 독소 B 하위단위, 리포솜, 사포닌 백신 아주반트, DDA 아주반트, 스쿠알렌 기반 아주반트, Etx B 하위단위 아주반트, IL-12 백신 아주반트, LTK63 백신 돌연변이 아주반트, TiterMax Gold 아주반트, 리비 백신 아주반트, Montanide ISA 720 아주반트, 코리네박테륨(Corynebacterium)-derb/ed P40 백신 아주반트, MPLTM 아주반트, AS04, AS02, AS01, 리포폴리사카라이드 백신 아주반트, 무라밀 디펩티드 아주반트, CRL1005, 코리네박테륨 파르부름(Corynebacterium parvum) 사백신 아주반트, Montanide ISA 51, 보르데텔라 페르투스시스(Bordetella pertussis) 성분 백신 아주반트, 양이온성 리포솜 백신 아주반트, 아다만틸아미드 디펩티드 백신 아주반트, Arlcel A, VSA-3 아주반트, 알루미늄 백신 아주반트, Polygen 백신 아주반트, AdjumerTM, 조류 글루칸(Algal Glucan), Bay R1005, Theramide®, 스테아릴 티로신, 스페콜(Specol), 알감물린(Algammulin), Avridine®, 인산칼슘 겔, CTA1-DD 유전자 융합 단백질, DOC/Alum 복합체, 감마 이눌린, Gerbu 아주반트, GM-CSF, GMDP, 재조합 h1FN-감마/인터페론- γ , 인터류킨- β , 인터류킨-2, 인터류킨-7, Sclavo 펩티드, Rehydragel LV, Rehydragel HPA, 록소리빈(Loxoribine), MF59, MTP-PE 리포솜, 무라메티드(Murametide), 무라팔미틴(Murapalmitine), D-무라팔미틴, NAGO, 비이온성 계면활성제 소포, PMMA, PAA, Protein Cochleate, QS-21, SPT(항원 제형), 나노에멀션 백신 아주반트, AS03, Quil-A 백신 아주반트, RC529 백신 아주반트, LTR192G 백신 아주반트, E. 콜리 열-불안정성 독소, LT, 비정질 알루미늄 하이드록시포스페이트 설페이트 아주반트, 인산칼슘 백신 아주반트, Montanide 불완전 섹픽 아주반트(Incomplete Seppic Adjuvant), 이미퀴모드(Imiquimod), 레스퀴모드

(Resiquimod), AF03, 플라젤린(Flagellin), Poly(LC), ISCOMATRIX®, Abisco-100 백신 아쥬반트, 알부민-헤파린 미립자 백신 아쥬반트, AS-2 백신 아쥬반트, B7-2 백신 아쥬반트, DHEA 백신 아쥬반트, 공동자극 분자에 대한 항체를 함유하는 이뮤노리포솜, SAF-1, 센다이 프로테오리포솜(Sendai Proteoliposome), 센다이-함유 지질 매트릭스, 트레오닐 무라밀 디펩티드(TMDP), Ty 입자 백신 아쥬반트, 부피바카인(Bupivacaine) 백신 아쥬반트, DL-PGL(폴리에스테르 폴리(DL-락티드-코-글리콜라이드)) 백신 아쥬반트, IL-15 백신 아쥬반트, LTK72 백신 아쥬반트, MPL-SE 백신 아쥬반트, 콜레라 독소 mCT-E1 12K의 비독성 돌연변이 E1 12K, 및/또는 Matrix-S를 포함할 수 있다.

[0636] 단백질 발현

[0637] 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하거나 캡슐화하는 조성물 또는 LNP가 상기 단백질이 결핍된 개체를 치료하는데 사용될 수 있다. 따라서, 조성물 또는 LNP는 적어도 하나의 핵산, 예를 들어 mRNA를 포함하는 조성물 또는 LNP를 투여하는 단계를 포함하는, 단백질이 결핍된 개체를 치료하는 방법에 사용될 수 있으며, 여기서, 핵산은 개체에서 결핍된 단백질에 상응하는 기능 단백질을 인코딩한다. 구현예들에서, 표적 세포에 의한 핵산의 발현 후에 기능 단백질이 생성된다.

[0638] 본 개시내용은 또한 기존의 유전적 결함을 교정할 수 있고/있거나 적어도 하나의 표적 세포에 유익한 기능을 제공할 수 있는 핵산의 세포내 전달 방법에 관한 것이다. 표적 조직 및 세포로의 성공적인 전달 후, 조성물 및 핵산은 그 표적 세포를 형질감염시키고, 핵산(예를 들어, mRNA)은 관심 있는 유전자 생성물(예를 들어, 기능 단백질 또는 효소)로 번역될 수 있거나 그렇지 않으면 관심 유전자 생성물의 존재 또는 발현을 조정 또는 조절할 수 있다.

[0639] 본원에 제공된 조성물 및 방법은 다수의 질병, 예를 들어 단백질 및/또는 효소 결핍으로 인한 질병의 관리 및 치료에 유용하다. 이러한 질병을 앓고 있는 개체는, 예를 들어 단백질의 비합성, 단백질의 합성 감소, 또는 단백질의 합성 결여 또는 생물학적 활성 감소를 포함한, 단백질 또는 효소의 발현 손상을 초래하는 근본적인 유전적 결함을 가질 수 있다.

[0640] 대안적으로, 핵산은 전장 항체 또는 더 작은 항체(예를 들어, 중쇄 및 경쇄 둘 모두)를 인코딩하여 대상체에게 면역성을 부여할 수 있다. 대안적인 구현예에서, 본 개시내용의 조성물은 대상체에서 일시적으로 또는 만성적으로 기능적 반응에 영향을 미치기 위해 사용될 수 있는 항체를 인코딩한다. 예를 들어, 본 개시내용의 mRNA 핵산은 기능적 단일클론 또는 다중클론 항체를 인코딩할 수 있으며, 이는 번역 시에(및 적용 가능한 경우, 표적 세포로부터의 전신 배출 시에) 생물학적 표적(예를 들어, 중앙 피사 인자와 같은 자극성 사이토카인)을 표적화하고/하거나 불활성화시키는 데 유용할 수 있다. 이와 유사하게, 본 개시내용의 mRNA 핵산은 예를 들어, 막중식성 사구체신염 II형 또는 급성 용혈성 요독 증후군의 치료에 유용한 기능적 항-신염 인자 항체를 인코딩할 수 있거나, 또는 대안적으로, 암과 같은 항-혈관 내피 성장 인자(VEGF)-매개 질병의 치료에 유용한 항-혈관 내피 성장 인자(VEGF) 항체를 인코딩할 수 있다.

[0641] 대안적으로, 조성물 또는 LNP는 단백질의 과량의 발현으로부터 고생하고 있는 개체를 치료하기 위하여 상기 단백질의 발현을 감소 또는 예방할 수 있는 RNAi를 인코딩하거나 나타내는 핵산을 포함하거나 캡슐화할 수 있다.

[0642] **핵산**

[0643] 본 개시내용에 적합한 핵산은 데옥시리보핵산(DNA) 또는 리보핵산(RNA)일 수 있다. 핵산은 게놈 DNA, cDNA, mRNA, 재조합적 생성 및 화학적 합성 분자를 포함한다.

[0644] 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥 분자로서, 선형이거나 공유적으로 폐쇄되어 원을 형성하는 분자일 수 있다. 핵산은 이중 가닥 RNA(dsRNA); 단일 가닥 RNA(ssRNA); 이중 가닥 DNA(dsDNA); 단일 가닥 DNA(ssDNA); 및 이들의 조합일 수 있다.

[0645] 핵산을 함유하는 조성물 또는 LNP는 예를 들어 재조합 단백질 발현, 유전자 대체, 숙주 단백질의 발현의 억제 또는 증가를 위해 핵산을 세포 내로 도입하는 것, 즉 핵산으로 세포를 형질감염시키는 것에 사용될 수 있다.

[0646] 핵산은 진핵 또는 원핵 기원일 수 있고, 예를 들어 인간, 동물, 식물, 박테리아, 효모 또는 바이러스 기원 등일 수 있다. 이것은 당업자에게 공지된 임의의 기법에 의해 수득될 수 있으며, 예를 들어 라이브러리 스크리닝, 화학적 합성 또는 대안적으로 라이브러리 스크리닝에 의해 얻어진 서열의 화학적 또는 효소적 변형을 포함하는 혼합 방법에 의해 수득될 수 있다. 이는 화학적으로 변형될 수 있다.

[0647] 핵산은 벡터에 포함될 수 있다. 벡터는 당업자에게 공지되어 있고 플라스미드 벡터, 코스미드 벡터, 람다 파지

와 같은 파지 벡터, 아데노바이러스 또는 바클로바이러스 벡터와 같은 바이러스 벡터, 또는 박테리아 인공 염색체(BAC), 효모 인공 염색체(YAC), 또는 PI 인공 염색체(PAC)와 같은 인공 염색체 벡터를 포함할 수 있다. 벡터는 발현 벡터 및 클로닝 벡터를 포함한다. 발현 벡터는 플라스미드 및 바이러스 벡터를 포함하고, 일반적으로, 원하는 코딩 서열, 및 특정 숙주 유기체(예를 들어, 박테리아, 효모, 식물, 곤충 또는 포유동물)에서 또는 시험관내 발현 시스템에서 작동 가능하게 연결된 코딩 서열을 발현하는 데 필요한 적절한 DNA 서열을 함유한다. 일반적으로 클로닝 벡터는 원하는 특정 DNA 단편을 조작하고 증폭하는 데 사용되며 원하는 DNA 단편의 발현에 필요한 기능적 서열이 결여되어 있을 수 있다.

[0648] 핵산은 메신저 RNA(mRNA); 마이크로RNA(miRNA); 짧은(또는 작은) 간섭 RNA(siRNA); 작은 헤어핀 RNA(shRNA); 긴 비코딩 RNA(lncRNA); 비대칭 간섭 RNA(aiRNA); 자가 증폭 RNA(saRNA); 작은 핵 RNA(snRNA); 작은 핵소체 RNA(snoRNA); 가이드 RNA(gRNA); 안티센스 올리고뉴클레오타이드(ASO); 플라스미드 DNA(pDNA); 폐쇄형 DNA(ceDNA) 및 이들의 조합일 수 있다.

[0649] 일부 구현예에서, 핵산은 RNA일 수 있다.

[0650] 일부 구현예에서, 핵산은 메신저 RNA(mRNA); 마이크로RNA(miRNA); 짧은(또는 작은) 간섭 RNA(siRNA); 작은 헤어핀 RNA(shRNA); 긴 비코딩 RNA(lncRNA); 비대칭 간섭 RNA(aiRNA); 자가 증폭 RNA(saRNA); 가이드 RNA(gRNA); 및 이들의 조합일 수 있다.

[0651] 일부 구현예에서, LNP는 핵산으로서 CRISPR/Cas9와 같은 CRISPR 단백질을 인코딩하는 mRNA 및 가이드 RNA(gRNA)를 함유할 수 있다. gRNA는 rRNA:tracrRNA 이중체로서 또는 단일 가이드 RNA(sgRNA)로서 제공될 수 있다. 일부 구현예에서, CRISPR 단백질은 CRISPR 단백질을 인코딩하는 mRNA가 아닌 폴리펩티드로 직접적으로 제공될 수 있다.

[0652] 일부 구현예에서, RNA는 메신저 RNA(mRNA)일 수 있다.

[0653] 일부 구현예에서, 핵산은 게놈-편집 폴리펩티드, 케모카인, 사이토카인, 성장 인자, 항체, 효소, 구조적 단백질, 혈액 단백질, 호르몬, 전사 인자, 또는 항원, 예컨대 본원에 기술된 것을 인코딩할 수 있다.

[0654] **메신저 RNA(mRNA)**

[0655] mRNA는 통상적으로 DNA로부터 리보솜으로 정보를 전달하는 유형의 RNA로 간주된다. mRNA가 존재하는 것은 통상적으로 매우 잠시 동안이며, 프로세싱 및 번역, 이어서 분해를 포함한다. 통상적으로 진핵 생물에서 mRNA 프로세싱은 N 말단(5') 단부에 "캡"을 부가하고 C 말단(3') 단부에 "테일"을 부가하는 것을 포함한다.

[0656] 통상적인 캡은 7-메틸구아노신 캡이며, 이는 5'-5'-트리포스페이트 결합을 통해 첫 번째 전사 뉴클레오타이드에 연결되는 구아노신이다. 캡의 존재는 대부분의 진핵 세포에서 발견되는 뉴클레아제에 대한 저항성을 제공하는 데 중요하다. 5' 캡은 통상적으로 다음과 같이 부가된다: 첫째, RNA 말단 포스파타제는 5' 뉴클레오타이드로부터 말단 포스페이트 기를 중 하나를 제거하여, 2개의 말단 포스페이트를 남기고; 그 후 구아노신 삼인산염(GTP)은 구아닐릴 트랜스퍼라제를 통해 말단 포스페이트에 추가되어, 5' '5' '5 삼인산염 연결을 생성하고; 그 후, 구아닌의 7-질소는 메틸트랜스퍼라제에 의해 메틸화된다.

[0657] 통상적으로 테일은 폴리아데닐릴 모이어티가 mRNA 분자의 3' 말단에 부가되는 폴리아데닐화 사건이다. 이러한 "테일"의 존재는 엑소뉴클레아제 분해로부터 mRNA를 보호하는 역할을 한다. 메신저 RNA는 리보솜에 의해 단백질 구성하는 일련의 아미노산으로 번역된다.

[0658] 일부 구현예에서, mRNA는 5' 및/또는 3' 비번역 영역(UTR)을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 mRNA는 mRNA의 안정성 또는 번역에 영향을 미치는 하나 이상의 요소를 포함하는 5' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' UTR의 길이는 약 50 내지 500개의 뉴클레오타이드일 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 mRNA는 폴리아데닐화 신호, mRNA의 세포 내 위치 안정성에 영향을 미치는 단백질에 대한 결합 부위, 또는 miRNA에 대한 하나 이상의 결합 부위 중 하나 이상을 포함하는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 3' UTR의 길이는 50 내지 500개의 뉴클레오타이드 또는 그 이상일 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 mRNA는 mRNA 전사체에 의해 인코딩된 유전자와 구별되는 유전자로부터 유래된 5' 또는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 mRNA는 키메라인 5' 또는 3' UTR을 포함한다.

[0659] 본원에 개시된 mRNA는 임의의 다양한 공지된 방법에 따라 합성될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용에 따른 mRNA는 시험관내 전사(IVT)를 통해 합성될 수 있다. 시험관내 전사 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Geall et al. (2013) Semin. Immunol. 25(2): 152-159]; 문헌[Brunelle et al. (2013) Methods Enzymol.

530:101-14]을 참조하며, 이의 내용은 참고로 포함된다. 간단히 말해서, IVT는 통상적으로 프로모터를 함유하는 선형 또는 원형 DNA 주형, 리보뉴클레오타이드 트리포스페이트의 풀, DTT 및 마그네슘 이온을 포함할 수 있는 완충 시스템, 및 적절한 RNA 폴리머라제(예를 들어, T3, T7, 또는 SP6 RNA 폴리머라제), DNase I, 피로포스파타제, 및/또는 RNase 저해제를 사용하여 수행된다. 정확한 조건은 특정 응용에 따라 달라질 것이다. 이들 시약의 존재는 최종 mRNA 생성물에서 바람직하지 않으며, 치료적 용도에 적합한 깨끗하고 균질한 mRNA를 제공하기 위해 정제되어야 하는 불순물 또는 오염물로 간주된다. 일부 구현예에서 시험관내 전사 반응으로부터 제공된 mRNA가 바람직할 수 있지만, 박테리아, 진균, 식물 및/또는 동물로부터 생성된 야생형 mRNA를 포함하는 mRNA의 다른 공급원이 본 개시내용에 따라 사용될 수 있다.

[0660] 본원에 개시된 mRNA는 변형 또는 비변형될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 mRNA는 통상적으로 RNA 안정성을 향상시키는 하나 이상의 변형을 함유한다. 예시적인 변형은 백본 변형, 당 변형, 또는 염기 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 개시된 mRNA는 퓨린(아데닌(A), 구아닌(G)) 또는 피리미딘(티민(T), 시토신(C), 우라실(U))이 포함되지만 이에 한정되지 않는 자연 발생 뉴클레오타이드 및/또는 뉴클레오타이드 유사체(변형된 뉴클레오타이드), 및 퓨린과 피리미딘의 변형된 뉴클레오타이드 유사체 또는 유도체로서, 예를 들어 1-메틸-아데닌, 2-메틸-아데닌, 2-메틸티오-N-6-이소펜테닐-아데닌, N6-메틸-아데닌, N6-이소펜테닐-아데닌, 2-티오-시토신, 3-메틸-시토신, 4-아세틸-시토신, 5-메틸-시토신, 2,6-디아미노퓨린, 1-메틸-구아닌, 2-메틸-구아닌, 2,2-디메틸-구아닌, 7-메틸-구아닌, 이노신, 1-메틸-이노신, 슈도우라실(5-우라실), 디하이드로-우라실, 2-티오-우라실, 4-티오-우라실, 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오-우라실, 5-(카르복시하이드록시메틸)-우라실, 5-플루오로-우라실, 5-브로모-우라실, 5-카르복시메틸아미노메틸-우라실, 5-메틸-2-티오-우라실, 5-메틸-우라실, N-우라실-5-옥시 아세트산 메틸 에스테르, 5-메틸아미노메틸-우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오-우라실, 5'-메톡시카르보닐메틸-우라실, 5-메톡시-우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸 에스테르, 우라실-5-옥시아세트산(v), 1-메틸-슈도우라실, 큐에오신(queosine), β-D-만노실-큐에오신, 포스포르아미데이트, 포스포로티오에이트, 펩티드 뉴클레오타이드, 메틸포스포네이트, 7-테아자구아노신, 5-메틸시토신 및 이노신으로부터 합성될 수 있다. 일부 구현예에서, 개시된 mRNA는 슈도우리딘, N1-메틸슈도우리딘, 2-티오우리딘, 4'-티오우리딘, 5-메틸시토신, 2-티오-1-메틸-1-테아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오-디하이드로슈도우리딘, 2-티오-디하이드로우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 4-티오-슈도우리딘, 5-아자-우리딘, 디하이드로슈도우리딘, 5-메틸우리딘, 5-메틸우리딘, 5-메톡시우리딘, 및 2'-O-메틸 우리딘으로 이루어진, 이를 포함하지만, 이에 한정되지 않는 적어도 하나의 화학적 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형된 뉴클레오타이드는 N1-메틸슈도우리딘을 포함한다. 그러한 유사체의 제조는, 예를 들어 미국 특허 제4,373,071호, 미국 특허 제4,401,796호, 미국 특허 제4,415,732호, 미국 특허 제4,458,066호, 미국 특허 제4,500,707호, 미국 특허 제4,668,777호, 미국 특허 제4,973,679호, 미국 특허 제5,047,524호, 미국 특허 제5,132,418호, 미국 특허 제5,153,319호, 미국 특허 제5,262,530호, 및 미국 특허 제5,700,642호(이의 내용은 참고로 포함됨)로부터, 당업자에게 공지되어 있다.

[0661] 용어 "RNA"는 리보뉴클레오타이드 잔기를 포함하는 분자, 예를 들어 전적으로 또는 실질적으로 리보뉴클레오타이드 잔기로 구성된 분자에 관한 것이다. "리보뉴클레오타이드"는 β-D-리보푸라노실 기의 2'-위치에 하이드록실 기를 갖는 뉴클레오타이드에 관한 것이다. 이것은 이중 가닥 RNA, 단일 가닥 RNA, 단리된 RNA, 예컨대 부분적으로 정제된 RNA, 본질적으로 순수한 RNA, 합성 RNA, 또는 재조합적으로 생성된 RNA를 포함한다.

[0662] 명확히 하기 위해, mRNA는 진핵 숙주에 의해 단백질로 번역될 수 있는 임의의 코딩 RNA 분자를 포함한다. 일반적으로 코딩 RNA 분자는 관심 단백질을 코딩하고 진핵 숙주에 의해 번역될 수 있는 서열을 포함하는 RNA 분자를 지칭하며, 상기 서열은 시작 코돈(ATG)으로 시작하고 예를 들어 정지 코돈(즉, TAA, TAG, TGA)으로 종결된다.

[0663] RNA는 자연 발생 RNA이거나 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 부가, 결실, 치환 및/또는 변경에 의해 자연 발생 RNA와 상이해진 변형된 RNA일 수 있다. 그러한 변경은 예를 들어 RNA의 말단(들)에 또는 내부적으로, 예를 들어 RNA의 적어도 하나의 뉴클레오타이드와 같은 것에 비-뉴클레오타이드 물질이 부가된 것을 포함할 수 있다. RNA 분자의 뉴클레오타이드는 또한 비자연 발생 뉴클레오타이드 또는 화학적 합성 뉴클레오타이드 또는 데옥시뉴클레오타이드와 같은 비표준 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 이러한 변경된 RNA는 자연 발생 RNA의 유사체 또는 유사체로 지칭될 수 있다.

[0664] mRNA는 DNA 주형을 사용하여 시험관내 전사에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, RNA는 화학적 합성에 의해 얻어질 수 있다. 이러한 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 상업적으로 입수 가능한 다양한 시험관내 전사 키트가 있다.

- [0665] RNA는 적절한 세포 추출물 및 적절한 DNA 주형을 사용하여 무세포 시스템에서 시험관내에서 합성될 수 있다. 예를 들어, 클로닝 벡터가 전사체 생성에 적용된다. 전사 조절을 위한 프로모터는 임의의 RNA 폴리머라제에 대한 임의의 프로모터일 수 있다. RNA 폴리머라제의 일부 예로는 T7, T3 및 SP6 RNA 폴리머라제가 있다. 시험관내 전사를 위한 DNA 주형은 핵산, 예를 들어 cDNA를 클로닝하고 이를 시험관내 전사를 위한 적절한 벡터에 도입함으로써 획득될 수 있다. cDNA는 RNA의 역전사에 의해 획득될 수 있다. 예를 들어, 클로닝 벡터는 전사체를 생성하는 데 사용되는데, 이는 일반적으로 전사 벡터로 표기된다.
- [0666] RNA는 단백질 또는 펩티드를 인코딩할 수 있다. 즉, 적절한 환경, 예를 들어 세포, 예컨대 항원 제시 세포, 예를 들어 수지상 세포 내에 존재하는 경우, RNA는 이것이 인코딩하는 단백질 또는 펩티드를 생성하도록 발현될 수 있다. RNA의 안정성 및 번역 효율은 필요에 따라 변경될 수 있다.
- [0667] 일부 구현예에서, mRNA는 게놈-편집 폴리펩티드, 케모카인, 사이토카인, 성장 인자, 항체, 효소, 구조적 단백질, 혈액 단백질, 호르몬, 전사 인자, 또는 항원, 예컨대 본원에 기술된 것을 인코딩할 수 있다.
- [0668] 일부 구현예에서, mRNA는 항원을 인코딩할 수 있다.
- [0669] RNA 분자는 가변적 길이의 것일 수 있다. 따라서, RNA 분자는 짧은 RNA 분자, 예를 들어 약 100개 뉴클레오타이드보다 짧은 RNA 분자, 또는 예를 들어 약 100개 뉴클레오타이드보다 길거나 심지어 약 300개 뉴클레오타이드보다 긴 RNA 분자일 수 있다.
- [0670] mRNA는 길이가 적어도 30개의 뉴클레오타이드일 수 있다.
- [0671] mRNA는 5' 캡 구조, 5'-UTR 서열, 단백질 또는 펩티드를 코딩하는 ORF 서열, 3'-UTR 서열, 및 폴리(A) 테일을 포함할 수 있다.
- [0672] 통상적으로, mRNA는 하기 일반식을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다:
- [0673] [5'Cap]w - [5'UTR]x - [관심 유전자] - [3'UTR]y - [폴리A]z
- [0674] [5'Cap]은 5'→5' 연결을 통해 mRNA에 연결된 메틸 구아닌 뉴클레오타이드를 포함하고,
- [0675] 여기서, [5'UTR] 및 [3'UTR]은 비번역 영역(UTR)이고,
- [0676] [5'UTR]은 Kozak 서열을 포함하고,
- [0677] [관심 유전자]는 관심 단백질을 코딩하는 임의의 유전자이고,
- [0678] [폴리A]는 폴리(A) 테일이고,
- [0679] w, x, y 및 z는 동일하거나 상이하고 0 또는 1이다.
- [0680] Kozak 서열은, 일반적으로 컨센서스(consensus) 서열(진핵생물 mRNA에서 발생)이고 번역 프로세스의 개시에 중요한 역할을 하는 서열을 지칭한다. Kozak 서열 및 Kozak 컨센서스 서열은 당업계에서 잘 알려져 있다.
- [0681] [3'UTR]은 어떤 단백질도 발현하지 않는다. [3'UTR]의 목적은 mRNA의 안정성을 증가시키는 것이다. 일 구현예에 따르면, α-글로빈 UTR은 불안정성이 없는 것으로 알려져 있기 때문에 선택된다.
- [0682] 고려되는 숙주 내에서 만족스러운 단백질 생성을 얻기 위해 관심 유전자에 상응하는 서열을 코돈-최적화할 수 있다.
- [0683] 폴리(A) 테일은 당업계에서 잘 알려진 다수의 아데노신 모노포스페이트로 이루어진다. 폴리(A) 테일은 일반적으로 성숙 메신저 RNA의 생성 동안 일반적으로 발생하는 번역 후 변형 중 하나인 폴리아데닐화로 칭해지는 단계 동안 생성된다. 이러한 폴리(A) 테일은 mRNA의 안정성과 반감기에 기여하며 가변적 길이의 것일 수 있다. 예를 들어, 폴리(A) 테일은 10개 이상의 A 뉴클레오타이드일 수 있는데, 이는 20개 이상의 A 뉴클레오타이드를 포함하고, 이는 100개 이상의 A 뉴클레오타이드, 예를 들어 약 120개의 A 뉴클레오타이드를 포함한다.
- [0684] RNA 분자는 다음을 포함할 수 있다:
- [0685] (i) 캡핑된 비변형 RNA 분자;
- [0686] (ii) 캡핑된 변형 RNA 분자;
- [0687] (iii) 비캡핑 비변형 RNA 분자;

- [0688] (iv) 비캡핑 변형 RNA 분자.
- [0689] *캡핑 및 비캡핑 RNA 분자*
- [0690] "캡핑된 RNA 분자"는 5' 말단이 구아노신 또는 변형된 구아노신, 예를 들어 7-메틸구아노신(m7G)(5'→5' 트리포스페이트 연결에 연결됨) 또는 유사체에 연결된 RNA 분자를 지칭한다. 이 정의는 5'캡에 대해 가장 널리 받아들여지는 정의와 일치한다.
- [0691] "캡 유사체"는 7-메틸구아노신(m7G)(5'→5' 트리포스페이트 연결에 연결)과 생물학적으로 동등하고 따라서 진행속주에서 상응하는 메신저 RNA의 단백질 발현을 손상시키지 않고서 치환이 또한 될 수 있는 캡을 포함한다.
- [0692] 캡의 예로서, m7GpppN, m7GpppG, m7GppspG, m7GppspspG, m7GppspspG, m7Gppppm7G, m27',3'-OGpppG, m27',2'-OGpppG, m27',2'-OGppspG, 또는 m27',2'-OGppspG가 언급될 수 있다.
- [0693] 캡 유사체의 예로는 다음이 있을 수 있다: 글리세릴, 역전 데옥시 비염기성 잔기(모이어티), 4',5' 메틸렌 뉴클레오타이드, 1-(베타-D-에리트로푸라노실) 뉴클레오타이드, 4'-티오 뉴클레오타이드, 카르보사이클릭 뉴클레오타이드, 1,5-엔하이드로헥시톨 뉴클레오타이드, L-뉴클레오타이드, 알파-뉴클레오타이드, 변형 염기 뉴클레오타이드, 트레오-펜토푸라노스 1 뉴클레오타이드, 비환형 3',4'-세코 뉴클레오타이드, 비환형 3,4-디하이드록시부틸 뉴클레오타이드, 비환형 3,5 디하이드록시펜틸 뉴클레오타이드, 3'-3'-역전 뉴클레오타이드 모이어티, 3'-3'-역전 비염기성 모이어티, 3'-2'-역전 뉴클레오타이드 모이어티, 3'-2'-역전 비염기성 모이어티, 1,4-부탄디올 포스페이트, 3'-포스포프아미데이트, 헥실포스페이트, 아미노헥실 포스페이트, 3'-포스페이트, 3'포스포티오에이트, 포스포로디티오에이트, 또는 가교 또는 비가교 메틸포스포네이트 모이어티.
- [0694] 캡 유사체의 다른 예는 항-역전 캡 유사체(ARCA), N1-메틸-구아노신, 2'-플루오로-구아노신, 7-데아자-구아노신, 8-옥소-구아노신, 2-아미노-구아노신, LNA-구아노신 및 2 -아지도-구아노신을 포함한다.
- [0695] 주목할 점은 캡 유사체 중 일부가 단백질 발현에 적합하지만 다른 것은 반대로 단백질 발현을 방해할 수 있다는 것이다. 그러한 구별은 당업자에 의해 이해된다.
- [0696] RNA에 5'-캡 또는 5'-캡 유사체를 제공하는 것은 상기 5'-캡 또는 5'-캡 유사체의 존재 하에 DNA 주형의 시험관내 전사에 의해 달성될 수 있으며, 여기서 상기 5'-캡은 생성된 RNA 가닥 내로 공동 전사에 혼입되거나, 또는 상기 RNA는 예를 들어 시험관내 전사에 의해 생성될 수 있고, 5'-캡은 캡핑 효소, 예를 들어 백시니아 바이러스의 캡핑 효소를 사용하여 상기 RNA에 전사 후 부착될 수 있다.
- [0697] "비캡핑 RNA 분자"는 "캡핑된 RNA 분자"의 정의에 속하지 않는 임의의 RNA 분자를 지칭한다.
- [0698] 따라서, 일반적인 구현예에 따르면, "비캡핑 mRNA"는 5' 말단이 7-메틸구아노신(5'→5' 트리포스페이트 연결을 통해), 또는 이전에 정의된 바와 같은 유사체에 연결된 것이 아닌 mRNA를 지칭할 수 있다.
- [0699] 비캡핑 RNA 분자, 예컨대 메신저 RNA는 (5')p p p(5'), (5')p p(5'), (5')p(5') 또는 심지어 (5')OH 말단을 갖는 비캡핑 RNA 분자일 수 있다. 이러한 RNA 분자는 각각 5'p p p RNA; 5'p p RNA; 5'p RNA; 5'OH RNA로 약칭될 수 있다.
- [0700] 비제한적 방식으로, 비캡핑 RNA 분자의 제1 염기는 아데노신, 구아노신, 시토신 또는 우라실일 수 있다.
- [0701] RNA는 비캡핑 5'-트리포스페이트를 갖지 않을 수 있다. 이러한 비캡핑 5'-트리포스페이트의 제거는 RNA를 포스파타제로 처리함으로써 달성될 수 있다.
- [0702] *변형 및 비변형 RNA 분자*
- [0703] RNA는 추가 변형, 예컨대 자연 발생 폴리(A) 테일의 연장 또는 절단 또는 5'- 또는 3'-비번역 영역(UTR)의 변경, 예컨대 RNA의 코딩 영역과 관련되지 않은 UTR의 도입, 예를 들어 기존 3'-UTR을 글로빈 유전자, 예컨대 알파 2-글로빈, 알파 1-글로빈, 베타-글로빈, 예를 들어 베타-글로빈, 및 예를 들어 인간 베타-글로빈으로부터 유래된 3'-UTR의 적어도 하나의, 예를 들어 2개의 카피와 교환하는 것, 또는 글로빈 유전자, 예컨대 알파 2-글로빈, 알파 1-글로빈, 베타-글로빈, 예를 들어 베타-글로빈, 및 예를 들어 인간 베타-글로빈으로부터 유래된 3'-UTR의 적어도 하나의, 예를 들어 2개의 카피의 삽입을 포함할 수 있다.
- [0704] "변형된 RNA 분자"는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오시드 당, 또는 염기, 예컨대 변형된 퓨린 또는 변형된 피리미딘을 함유하는 RNA 분자를 지칭한다. 변형된 뉴클레오시드 또는 염기는 A, U, C 또는 G(각각 뉴클레오시드의 경우 아데노신, 우라실, 시티딘 또는 구아노신; 및 당 모이어티만을 언급하는 경우 아데닌, 우

라실, 시토신 또는 구아닌)가 아닌 임의의 뉴클레오타이드 또는 염기일 수 있다.

- [0705] "비변형 RNA 분자"는 변형된 RNA 분자의 정의에 상응하지 않는 임의의 RNA 분자를 지칭한다.
- [0706] 용어 "변형된 및 비변형된"은 "캡핑된 및 비캡핑된"이라는 용어와 구별되는 것으로 간주되며, 이는 후자가 구체적으로 RNA 분자의 5'-말단에 있는 염기와 관련되기 때문이다.
- [0707] 변형된 뉴클레오타이드의 존재는 핵산의 안정성을 증가시키고/시키거나 세포독성을 감소시킬 수 있다. RNA의 안정성이라는 용어는 RNA의 반감기, 즉 분자의 활성, 양 또는 수의 절반을 제거하는 데 필요한 시간에 관한 것이다. RNA의 반감기는 RNA의 안정성을 나타낼 수 있다. RNA의 반감기는 RNA 발현 지속기간에 영향을 미칠 수 있다. 반감기가 긴 RNA는 장기간 발현될 것으로 예상할 수 있다.
- [0708] 비제한적 방식으로, 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 및 염기의 예는 WO 2015/024667A1에 개시되어 있다. 변형된 RNA는 백본 변형, 당 변형 또는 염기 변형을 포함하는 변형된 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드 또는 염기를 포함할 수 있다. 변형된 염기 및/또는 변형된 RNA 분자는 당염기에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌[Warren et al. ("Highly Efficient Reprogramming to Pluripotency and Directed Differentiation of Human Cells with Synthetic Modified mRNA"; Cell Stem Cell; 2010)]에 교시되어 있으며, 이의 내용은 참고로 포함된다.
- [0709] 당 변형은 뉴클레오타이드 당의 화학적 변형을 포함한다. 당 변형은 2' 하이드록시(OH) 기의 대체 또는 변형으로 이루어질 수 있으며, 이는 다수의 상이한 "옥시" 또는 "데옥시" 치환체로 변형 또는 대체될 수 있다.
- [0710] "옥시" -2' 하이드록실 기 변형의 예는 알콕시 또는 아릴옥시(-OR, 예를 들어, R = H, 알킬, 사이클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴 또는 당); 폴리에틸렌글리콜(PEG), -O(CH₂CH₂O)_nCH₂CH₂O; 2' 하이드록실이 예를 들어 메틸렌 가교체에 의해 동일 리보스 당의 4' 탄소에 연결된 "잠긴" 핵산(LNA); 및 아미노 기(-O-아미노, 여기서 아미노 기, 예를 들어 NRR은 알킬아미노, 디알킬아미노, 헤테로사이클릴, 아릴아미노, 디아릴아미노, 헤테로아릴아미노, 또는 디헤테로아릴 아미노, 에틸렌 디아민, 폴리아미노일 수 있음) 또는 아미노알콕시를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.
- [0711] "데옥시" 변형은 수소, 아미노(예를 들어, NH₂; 알킬아미노, 디알킬아미노, 헤테로사이클릴, 아릴아미노, 디아릴 아미노, 헤테로아릴 아미노, 디헤테로아릴 아미노 또는 아미노산)를 포함하거나; 또는 아미노 기는 링커를 통해 당에 부착될 수 있으며, 여기서, 링커는 원자 C, N 및 O 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0712] 당 기는 또한 리보스의 상응하는 탄소와 반대되는 입체화학적 배열을 갖는 적어도 하나의 탄소를 함유할 수 있다. 따라서 변형된 RNA는 예를 들어 아라비노스를 당으로 포함하는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.
- [0713] 백본 변형은 뉴클레오타이드 백본의 포스페이트가 화학적으로 변형된 변형을 포함한다. 백본의 포스페이트 기는 적어도 하나의 산소 원자를 다른 치환체로 대체함으로써 변형될 수 있다. 추가로, 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드는 비변형 포스페이트 모이어티를 본원에 기술된 변형된 포스페이트로 완전히 대체하는 것을 포함할 수 있다.
- [0714] 변형된 포스페이트 기의 예는 포스포로티오에이트, 포스포셀레네에이트, 보라노 포스페이트, 보라노 포스페이트 에스테르, 수소 포스포네이트, 포스포아미데이트, 알킬 또는 아릴 포스포네이트 및 포스포트리에스테르를 포함하지만, 이에 한정되지 않는다. 포스포로티오에이트는 두 비-연결 산소 모두가 황으로 대체된 것을 갖는다. 또한 포스페이트 링커는 연결 산소를 질소(가교 포스포아미데이트), 황(가교 포스포로티오에이트) 및 탄소(가교 메틸렌-포스포네이트)로 대체하여 변형될 수 있다.
- [0715] 염기 변형은 뉴클레오타이드의 염기 모이어티의 화학적 변형을 포함한다. 이와 관련하여 뉴클레오타이드 유사체 또는 변형은 예를 들어 진핵 세포에서 RNA 분자의 전사 및/또는 번역에 적합한 뉴클레오타이드 유사체로부터 선택된다. 변형된 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드는 핵염기 모이어티가 변형될 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오타이드 및 뉴클레오타이드는 주요 홈면(groove face)에서 화학적으로 변형될 수 있다. 주요한 홈의 화학적 변형은 아미노 기, 티올 기, 알킬 기 또는 할로 기를 포함할 수 있다. 변형된 염기는 변형된 퓨린 염기 또는 변형된 피리미딘 염기일 수 있다. 변형된 퓨린 염기의 예는 변형된 아데노신 및/또는 변형된 구아노신, 예컨대 하이포잔틴; 잔틴; 7-메틸구아닌; 이노신; 잔토신 및 7-메틸구아노신을 포함한다. 변형된 피리미딘 염기는 변형된 시티딘 및/또는 변형된 우리딘, 예컨대 5,6-디하이드로우라실; 슈도우리딘; 5-메틸시티딘; 5-하이드록시메틸시티딘; 디하이드로우리딘 및 5-메틸시티딘을 포함한다.
- [0716] 예를 들어, 뉴클레오타이드 유사체/변형은 하기 염기 변형으로부터 선택될 수 있다: 2-아미노-6-클로로퓨린리보시드-5'-트리포스페이트, 2-아미노퓨린-리보시드-5'-트리포스페이트; 2-아미노아데노신-5'-트리포스페이트, 2'-아

미노-2'-데옥시시티딘-트리포스페이트, 2-티오시티딘-5'-트리포스페이트, 2-티오우리딘-5'-트리포스페이트, 2'-플루오로티미딘-5'-트리포스페이트, 2'-0-메틸 이노신-5'-트리포스페이트 4-티오우리딘-5'-트리포스페이트, 5-아미노알릴시티딘-5'-트리포스페이트, 5-아미노알릴우리딘-5'-트리포스페이트, 5-브로모시티딘-5'-트리포스페이트, 5-브로모우리딘-5'-트리포스페이트, 5-브로모-2'-데옥시시티딘-5'-트리포스페이트, 5-브로모-2'-데옥시우리딘-5'-트리포스페이트, 5-요오도시티딘-5'-트리포스페이트, 5-요오도-2'-데옥시시티딘-5'-트리포스페이트, 5-요오도우리딘-5'-트리포스페이트, 5-요오도-2'-데옥시우리딘-5'-트리포스페이트, 5-메틸시티딘-5'-트리포스페이트, 5-메틸우리딘-5'-트리포스페이트, 5-프로피닐-2'-데옥시시티딘-5'-트리포스페이트, 5-프로피닐-2'-데옥시우리딘-5'-트리포스페이트, 6-아자시티딘-5'-트리포스페이트, 6-아자우리딘-5'-트리포스페이트, 6-클로로퓨린리보시드-5'-트리포스페이트, 7-데아자아데노신-5'-트리포스페이트, 7-데아자구아노신-5'-트리포스페이트, 8-아자아데노신-5'-트리포스페이트, 8-아지도아데노신-5'-트리포스페이트, 벤즈이미다졸리보시드-5'-트리포스페이트, N1-메틸아데노신-5'-트리포스페이트, N1-메틸구아노신-5'-트리포스페이트, N6-메틸아데노신-5'-트리포스페이트, O6-메틸구아노신-5'-트리포스페이트, 슈도우리딘-5'-트리포스페이트, 또는 퓨로마이신-5'-트리포스페이트, 및 잔토신-5'-트리포스페이트.

[0717] 변형된 뉴클레오시드는 다음으로 이루어진 목록으로부터 선택될 수 있다: 피리딘-4-온 리보뉴클레오시드, 5-아자-우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오우리딘, 4-티오-슈도우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 5-하이드록시우리딘, 3-메틸우리딘, 5-카르복시메틸-우리딘, 1-카르복시메틸-슈도우리딘, 5-프로피닐-우리딘, 1-프로피닐-슈도우리딘, 5-타우리노메틸우리딘, 1-타우리노메틸-슈도우리딘, 5-타우리노메틸-2-티오-우리딘, 1-타우리노메틸-4-티오-우리딘, 5-메틸-우리딘, 1-메틸-슈도우리딘, 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 디하이드로우리딘, 디하이드로슈도우리딘, 2-티오-디하이드로우리딘, 2-티오-디하이드로슈도우리딘, 2-메톡시우리딘, 2-메톡시-4-티오-우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 및 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘.

[0718] 변형된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드는 5-아자-시티딘, 슈도이소시티딘, 3-메틸-시티딘, N4-아세틸시티딘, 5-포르밀시티딘, N4-메틸시티딘, 5-하이드록시메틸시티딘, 1-메틸-슈도이소시티딘, 피콜로-시티딘, 피콜로-슈도이소시티딘, 2-티오-시티딘, 2-티오-5-메틸-시티딘, 4-티오-슈도이소시티딘, 4-티오-1-메틸-슈도이소시티딘, 4-티오-1-메틸-1-데아자-슈도이소시티딘, 1-메틸-1-데아자-슈도이소시티딘, 제불라린, 5-아자-제불라린, 5-메틸-제불라린, 5-아자-2-티오-제불라린, 2-티오-제불라린, 2-메톡시-시티딘, 2-메톡시-5-메틸-시티딘, 4-메톡시-슈도이소시티딘, 및 4-메톡시-1-메틸-슈도이소시티딘을 포함할 수 있다.

[0719] 변형된 뉴클레오시드는 2-아미노퓨린, 2,6-디아미노퓨린, 7-데아자-아데닌, 7-데아자-8-아자-아데닌, 7-데아자-2-아미노퓨린, 7-데아자-8-아자-2-아미노퓨린, 7-데아자-2, 6-디아미노퓨린, 7-데아자-8-아자-2, 6-디아미노퓨린, 1-메틸아데노신, N6-메틸아데노신, N6-이소펜테닐아데노신, N6-(시스-하이드록시이소펜테닐)아데노신, 2-메틸티오-N6-(시스-하이드록시이소펜테닐)아데노신, N6-글리시닐카르바모일아데노신, N6-트레오닐카르바모일아데노신, 2-메틸티오-N6-트레오닐 카르바모일아데노신, N6,N6-디메틸아데노신, 7-메틸아데닌, 2-메틸티오-아데닌, 및 2-메톡시-아데닌을 포함할 수 있다.

[0720] 변형된 뉴클레오시드는 이노신, 1-메틸-이노신, 와이오신, 와이부토신, 7-데아자-구아노신, 7-데아자-8-아자-구아노신, 6-티오-구아노신, 6-티오-7-데아자-구아노신, 6-티오-7-데아자-8-아자-구아노신, 7-메틸-구아노신, 6-티오-7-메틸-구아노신, 7-메틸이노신, 6-메톡시-구아노신, 1-메틸구아노신, N2-메틸구아노신, N2,N2-디메틸구아노신, 8-옥소-구아노신, 7-메틸-8-옥소-구아노신, 1-메틸-6-티오-구아노신, N2-메틸-6-티오-구아노신, 및 N2,N2-디메틸-6-티오-구아노신을 포함할 수 있다.

[0721] 비차단 폴리-A 서열을 갖는 RNA는 차단 폴리-A 서열을 갖는 RNA보다 더 효율적으로 번역될 수 있다. "비차단 폴리-A 서열"은 RNA 분자의 3' 말단에 있는 폴리-A 서열이 폴리-A 서열의 A로 종결되고 폴리-A 서열의 3' 말단에, 즉 하류에 위치하는 A 이외의 뉴클레오티드가 뒤따르지 않음을 의미한다. 또한, 약 120개 염기쌍의 긴 폴리-A 서열은 최적의 전사체 안정성 및 RNA 번역 효율을 가져온다.

[0722] 따라서, RNA의 안정성 및/또는 발현을 증가시키기 위해, 폴리-A 서열은 예를 들어 10 내지 500개, 예를 들어 30 내지 300개, 예를 들어 65 내지 200개, 및 예를 들어 100 내지 150개의 아데노신 잔기의 길이를 갖도록 변형될 수 있다. 폴리-A 서열은 대략 120개의 아데노신 잔기의 길이를 가질 수 있다. RNA의 안정성 및/또는 발현을 추가로 증가시키기 위해, 폴리-A 서열은 비차단될 수 있다.

[0723] RNA 분자의 3'-비번역 영역에 3'-비번역 영역(UTR)을 포함시키면 번역 효율을 높일 수 있다. 상승 효과는 이러한 3'-비번역 영역 중 2개 이상을 포함시킴으로써 달성될 수 있다. 3'-비번역 영역은 이들이 도입되는 RNA에 대

해 자가 또는 이중 영역일 수 있다. 3'-비번역 영역은 인간 β -글로빈 유전자로부터 유래될 수 있다.

- [0724] 상기 기술된 변형들의 조합, 즉 폴리-A 서열의 혼입, 폴리-A 서열의 비차단 및 적어도 하나의 3'-비번역 영역의 혼입은 RNA의 안정성 및 번역 효율 증가에 상승적 영향을 미칠 수 있다.
- [0725] RNA의 발현은 펩티드 또는 단백질을 인코딩하는 서열의 변형에 의해, 예를 들어 GC-함량을 증가시켜 mRNA 안정성을 증가시킴에 의해 및/또는 코돈 최적화를 수행하여 세포 내 번역을 향상시킴에 의해 추가로 증가될 수 있다.
- [0726] **약제학적 조성물 및 이의 용도**
- [0727] 본원에 개시된 조성물 또는 LNP는 약제학적 조성물에 사용될 수 있다. 약제학적 조성물은 본원에 개시된 조성물 또는 LNP 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함할 수 있다.
- [0728] 조성물 또는 LNP는 본원에 개시된 바와 같은 생물학적 활성제를 포함할 수 있다.
- [0729] 생물학적 활성제는 본원에 개시된 바와 같은 핵산일 수 있다.
- [0730] 또한, 적어도 항원을 인코딩하는 핵산을 포함하는 조성물 또는 LNP를 적어도 포함하는 개시된 면역원성 조성물이 개시된다.
- [0731] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 생물학적 활성제, 예를 들어 핵산을 함유하는 본원에 개시된 조성물 또는 LNP는 의약으로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0732] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 생물학적 활성제, 예를 들어 핵산을 함유하는 본원에 개시된 조성물 또는 LNP는 감염성 질병, 알레르기, 자가면역 질병, 혈액 장애, 대사 질병, 신경계 질병, 및 암 질병으로 이루어진 군에서 선택되는 질병을 예방 및/또는 치료하기 위한 방법에 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0733] 의약 또는 약제학적 조성물의 제조 방법이 또한 개시되며, 상기 방법은 적어도 하나의 생물학적 활성제, 예를 들어 핵산을 포함하는, 본원에 개시된 바와 같은 조성물 또는 LNP를 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 부형제와 혼합하는 단계를 적어도 포함한다.
- [0734] 의약 또는 약제학적 조성물의 제조 방법은 상기에 나타난 바와 같은 LNP의 조성물을 제조하는 단계들을 추가로 포함할 수 있다.
- [0735] 상기 방법은 조성물 또는 LNP를 약제학적으로 허용되는 용매 중에 현탁 또는 희석시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0736] "약제학적으로 허용되는 용매"는 냉동-건조된 LNP를 재현탁하거나 용해하기에 적합하고 이를 필요로 하는 개체에 장내 또는 비경구 투여하기 위해 약제학적으로 허용되는 임의의 용매일 수 있다. 약제학적으로 허용되는 용매는 주사용수 또는 완충액, 예컨대 식염수, 시트레이트, 히스티딘, 또는 인산염 완충액일 수 있다.
- [0737] 약제학적 조성물 또는 면역원성 조성물은 멸균 상태일 수 있다.
- [0738] 약제학적 조성물 및 제제의 제형화 및 제조에 대한 일반 가이드라인은, 예를 들어, 문헌[Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 2006]에서 이용 가능하다. 부형제가 LNP의 하나 이상의 성분과 양립할 수 없는 경우를 제외하고는, 임의의 약제학적으로 허용되는 부형제가 약제학적 조성물에 사용될 수 있다.
- [0739] 본원에 개시된 바와 같은 조성물은 분말, 용액, 현탁액 또는 주사제와 같은 고체, 반고체, 액체 형태의 제제로 제형화될 수 있다.
- [0740] 사용될 수 있는 예시적인 약제학적으로 허용되는 부형제는 희석제, 예컨대 주사용수, 또는 생리 식염수, 예컨대 아미노산 완충액(히스티딘, 아르기닌, 글리신, 프롤린, 글리실글리신), 식염수 완충액(무기염 NaCl, 염화칼슘), 인산염 완충액, 아세테이트 완충액, 시트레이트 완충액, 석시네이트 완충액; 당 또는 폴리알코올, 예컨대 텍스트로스, 글리세롤, 에탄올, 수크로스, 트레할로스, 만니톨; 계면활성제, 예컨대 폴리소르베이트 80, 폴리소르베이트 20, 폴록사머 188 등뿐만 아니라 이들의 조합으로부터 선택될 수 있다. 다수의 경우에, 조성물에 등장화제, 예컨대 당, 폴리알코올, 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이며, 제형은 또한 산화방지제, 예컨대 트립타민 및 안정제, 예컨대 Tween 20 또는 80, 다른 용매, 예컨대 1가 알코올, 예컨대 에탄올, 또는 이소프로판올, 및 다가 알코올, 예컨대 글리콜 및 식용유, 예컨대 대두유, 코코넛유, 올리브유, 홍

화유, 면실유, 유성 에스테르, 에컨대 에틸 올레에이트, 이소프로필 미리스테이트; 결합제, 아췌반트, 가용화제, 증점제, 안정제, 봉해제, 윤활제, 완충제, 유화제, 습윤제, 현탁화제, 감미제, 착색제, 향미제, 보존제, 산화방지제, 가공제, 약물 전달 변경제 및 인헨서, 에컨대 인산칼슘, 스테아르산마그네슘, 활석, 단당류, 이당류, 전분, 젤라틴, 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 텍스트로스, 하이드록시프로필- β -사이클로덱스트린, 폴리비닐피롤리돈 또는 폴리에틸렌 글리콜을 함유할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 부형제는 또한 생리학적으로 양립 가능한 임의의 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 향균 및 항진균제 등을 포함할 수 있다.

- [0741] 적절한 농도 및 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다.
- [0742] 본원에 개시된 바와 같은 약제학적 조성물 및 면역원성 조성물의 투여는 유사한 용도를 제공하기 위한 조성물의 임의의 허용된 투여 방식을 통해 수행될 수 있다.
- [0743] 이러한 약제학적 및 면역원성 조성물을 투여하는 통상적인 경로는 제한 없이 경구, 국소, 경피, 흡입, 비경구, 설하, 협측, 비강내를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 비경구라는 용어는 피하 주사, 정맥내, 근육내, 피내, 흉골내 주사 또는 주입 기법을 포함한다.
- [0744] 약제학적 및 면역원성 조성물은, 조성물의 형태(고체 또는 액체), 투여될 개체, LNP에 함유된 치료제의 성질 등과 같이 당업계에 공지된 파라미터에 따라 임의의 적합한 경로로 투여될 수 있다.
- [0745] 예를 들어, 약제학적 조성물 또는 면역원성 조성물은 전신, 경구, 설하, 비강내, 피내, 또는 피하 투여될 수 있다.
- [0746] 수용액으로 비경구 투여 시, 예를 들어, 이러한 용액은 필요에 따라 적절하게 완충되어야 하고, 액체 희석제는 먼저 충분한 식염수 또는 글루코스로 등장성이 되도록 하여야 한다. 이러한 수용액은 특히 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 투여에 적합하다. 이와 관련하여, 사용될 수 있는 멸균 수성 매질은 당업자에게 알려져 있을 것이다.
- [0747] 일부 구현예에서, 약제학적 조성물 또는 면역원성 조성물은 피하 투여에 적합할 수 있다.
- [0748] 일부 구현예에서, 약제학적 조성물 또는 면역원성 조성물은 근육내 투여에 적합할 수 있다.
- [0749] 그러한 투여형을 제조하는 실제 방법은 공지되어 있거나 당업자에게 자명할 것이고, 예를 들어, 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition (Philadelphia College of Pharmacy and Science, 2000)]을 참조한다.
- [0750] 조성물은 적어도 하나의 불활성 희석제 또는 담체를 함유할 수 있다.
- [0751] 일 구현예에서, 조성물은 액체, 예를 들어 용액, 에멀션 또는 현탁액의 형태일 수 있다. 액체는 주사에 의한 전달을 위한 것일 수 있다. 주사 투여용 조성물은 계면활성제, 보존제, 습윤제, 분산제, 현탁화제, 완충액, 안정제 중 적어도 하나를 함유할 수 있으며, 등장화제가 포함될 수 있다. 본원에 개시된 바와 같은 액체 조성물은 다음 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: 멸균 희석제, 에컨대 주사용수, 식염수, 예를 들어 생리 식염수, 링거액, 등장성 염화나트륨, 용매 또는 현탁 매질로서의 역할을 할 수 있는 합성 모노 또는 디글리세리드와 같은 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 용매; 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 향균제; 아스코르브산 또는 중아황산나트륨과 같은 산화방지제; 에틸렌디아민테트라아세트산과 같은 킬레이팅제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충액 및 염화나트륨 또는 텍스트로스와 같은 장성 조절제; 수크로스 또는 트레할로스와 같은 동결 보호제로 작용하는 제제.
- [0752] 비경구 제제는 앰플, 일회용 시린지 또는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 다회 용량 바이알에 밀봉될 수 있다. 주사 가능한 약제학적 조성물은 예를 들어 멸균 조성물이다.
- [0753] 본원에 개시된 바와 같은 약제학적 조성물 및 면역원성 조성물은 제약 분야에 잘 알려진 방법론에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사 투여용 약제학적 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자를 멸균 증류수 또는 다른 담체와 배합하여 용액을 형성함으로써 제조될 수 있다. 균질한 용액 또는 현탁액의 형성을 촉진하기 위해 계면활성제를 첨가할 수 있다.
- [0754] 본원에 개시된 바와 같은 조성물은 치료적 유효량으로 투여되며, 이는 사용된 특정 치료제의 활성; 치료제의 대사 안정성 및 작용 시간 길이; 환자의 연령, 체중, 전반적인 건강, 성별 및 식이; 투여 방식 및 시간; 배출 속도; 약물 조합; 특정 장애 또는 질환의 중증도; 및 치료를 받고 있는 대상체를 포함하는 다양한 요인에 따라 달

라질 것이다.

- [0755] 본원에 개시된 바와 같은 조성물은 또한 적어도 하나의 다른 치료제의 투여와 동시에, 그 이전에, 또는 그 이후에 투여될 수 있다. 이러한 조합 요법은 본원에 개시된 바와 같은 조성물 및 적어도 하나의 추가 활성제의 단일한 약제학적 투여 제형의 투여와, 본원에 개시된 바와 같은 조성물 및 각각의 활성제(그 자체의 별개의 약제학적 투여 제형의 형태)의 투여를 포함한다. 별개의 투여 제형이 사용되는 경우, 본원에 개시된 바와 같은 조성물 및 적어도 하나의 추가 활성제는 본질적으로 동일한 시간에, 즉 동시적으로, 또는 별개로 시차를 둔 시간에, 즉 순차적으로 투여될 수 있으며; 조합 요법은 이러한 모든 치료법을 포함하는 것으로 이해된다.
- [0756] 약제학적 또는 면역원성 조성물은 약물 조합 디바이스, 예컨대, 적어도 하나의 챔버는 고체 형태의 약제학적 조성물을 수용하고 적어도 하나의 챔버는 조성물의 현탁 또는 용해를 위한 약제학적으로 허용되는 용매를 수용하는 다중 챔버 시린지를 통해 투여될 수 있다.
- [0757] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 LNP는 인플루엔자 A 바이러스 및/또는 인플루엔자 B 바이러스로부터의 항원을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함할 수 있다. 그러한 LNP는 인플루엔자 A 및/또는 인플루엔자 B 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 그러한 LNP는 인플루엔자 A 바이러스 및/또는 인플루엔자 B 바이러스에 대한 면역원성 조성물로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0758] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 양이온성 이온화 가능 지질, 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질을 포함하는 지질 성분을 포함하고, 인플루엔자 A 바이러스 및/또는 인플루엔자 B 바이러스로부터의 항원을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 LNP에 관한 것이다. 그러한 LNP는 인플루엔자 A 및/또는 인플루엔자 B 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 그러한 LNP는 인플루엔자 A 바이러스 및/또는 인플루엔자 B 바이러스에 대한 면역원성 조성물로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0759] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 LNP는 호흡기 세포융합 A 바이러스 및/또는 호흡기 세포융합 B 바이러스로부터의 항원을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함할 수 있다. 그러한 LNP는 호흡기 세포융합 A 바이러스 및/또는 호흡기 세포융합 B 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 그러한 LNP는 호흡기 세포융합 A 바이러스 및/또는 호흡기 세포융합 B 바이러스에 대한 면역원성 조성물로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0760] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 양이온성 이온화 가능 지질, 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질을 포함하는 지질 성분을 포함하고, 호흡기 세포융합 A 바이러스 및/또는 호흡기 세포융합 B 바이러스로부터의 항원을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 LNP에 관한 것이다. 그러한 LNP는 호흡기 세포융합 A 바이러스 및/또는 호흡기 세포융합 B 바이러스 감염을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 그러한 LNP는 호흡기 세포융합 A 바이러스 및/또는 호흡기 세포융합 B 바이러스에 대한 면역원성 조성물로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0761] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 LNP는 SARS-Cov2 항원을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함할 수 있다. 그러한 LNP는 SARS-Cov-2 감염을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 그러한 LNP는 SARS-Cov-2에 대한 면역원성 조성물로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0762] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 양이온성 이온화 가능 지질, 중성 지질, 구조적 지질, 및 선택적으로 PEG-지질을 포함하는 지질 성분을 포함하고, SARS-Cov2 항원을 인코딩하는 적어도 하나의 핵산을 포함하는 LNP에 관한 것이다. 그러한 LNP는 SARS-Cov-2 감염을 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 그러한 LNP는 SARS-Cov-2에 대한 면역원성 조성물로서 사용하기 위한 것일 수 있다.
- [0763] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 핵산을 포함하는 본원에 개시된 바와 같은 조성물 또는 LNP는 의학의 제조에 사용될 수 있다.
- [0764] 일부 구현예는 약제학적 조성물의 제조에서의 적어도 하나의 생물학적 활성제를 포함하는 본원에 개시된 바와 같은 조성물 또는 LNP의 용도에 관한 것이다.
- [0765] **치료 방법**
- [0766] 일부 구현예에서, 본 개시내용은 또한 질병의 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 개체에서 질병을 예방 및/또는 치료하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 하나의 생물학적 활성제를 포함하는, 본원에 개시된 바와 같은 조성물 또는 LNP의 유효량을 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본원에 개시된 바와 같은 조성물 또는 LNP는 감염성 질병, 알레르기, 자가면역 질병, 혈액 장애, 대사 질병, 신경계 질병, 및 종양 또는

암 질병을 예방 및/또는 치료하기 위한 치료 방법에 사용하기 위한 것일 수 있다.

[0767] 일부 구현예에서, 혈액 장애, 대사 질병, 신경계 질병은 희귀 질병일 수 있다. 희귀 질병은, 예를 들어 약 1/1,000 내지 약 1/200,000명의 범위의 발병률로 작은 백분율의 집단에게 영향을 주는 질병이다.

[0768] 예를 들어, 본 개시내용과 관련될 수 있는 질병은 바이러스 감염성 질병, 박테리아 감염성 질병, 진균 또는 기생충 감염성 질병과 같은 감염성 질병일 수 있다. 또한 본 개시내용과 관련된 질병은 암 또는 종양 질병일 수 있다.

[0769] 바이러스 감염성 질병은 급성 열성 인두염, 인두결막염, 유행성 각결막염, 유헤르펠트-소르시 증후군, 콕사키(Coxsackie) 감염, 감염성 단핵구증, 벡티 림프종, 급성 간염, 만성 간염, 간경변증, 간세포암, 일차성 HSV-1 감염(예컨대, 아동에서의 치은구내염, 성인에서의 편도염 및 인두염, 각결막염), 잠복성 HSV-1 감염(예컨대, 헤르페스 구순염 및 구순 포진), 일차성 HSV-2 감염, 잠복성 HSV-2 감염, 무균성 수막염, 감염성 단핵구증, 거대세포포방입체병, 카포시 육종, 다중심 캐슬만 병, 원발성 삼출액 림프종, AIDS, 인플루엔자, 라이 증후군, 홍역, 감염후뇌척수염, 볼거리, 과증식성 상피 병변(예컨대, 보통, 편평, 족저 및 성기 사마귀, 후두 유두종, 사마귀 양 표피이형성증), 경부암종, 편평세포암종, 크루프(croup), 폐렴, 세기관지염, 일반 감기, 소아마비, 광견병, 세기관지염, 폐렴, 인플루엔자-유사 증후군, 폐렴을 갖는 중증 세기관지염, 풍진, 선천성 풍진, 수두, 코비드-19, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) 감염, 및 대상포진일 수 있다.

[0770] 일 구현예에서, 질병은 인플루엔자, 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) 감염, 또는 코비드-19이며, 예를 들어 인플루엔자이다.

[0771] 박테리아 감염성 질병은 농양, 방선균증, 급성 전립선염, 아에로모나스 히드로필라(aeromonas hydrophila), 애뉴얼 라이그래스 독성(annual ryegrass toxicity), 탄저병, 바실루스 자색반병, 균혈증, 세균성 위장염, 세균성 수막염, 세균성 폐렴, 세균성 질염, 세균-관련 피부 질환, 바르토넬라증, BCG-oma, 포도상진균증, 보툴리눔 독소증, 브라질 자반열, 브로디 농양, 브루셀라병, 부롤리 케양, 캄필로박터증, 카리에스(caries), 카리온 병, 고양이 할킴병, 봉소염, 클라미디아 감염, 콜레라, 만성 세균성 전립선염, 만성 재발성 다소성 골수염, 클로스트리듐 괴사 장염, 조합 치주-근관 병변, 전염성 소 농막폐렴, 디프테리아, 디프테리아성 구내염, 에르리키아증, 단독증, 후두개염, 단독증, 피츠-휴-커티스(Fitz-Hugh-Curtis) 증후군, 벼룩-매개 홍반열(flea-borne spotted fever), 부제병(감염성 지간염), 가래(Garre) 경화성 골수염, 임질, 서해부 육아종, 인간 과립구 아나플라즈마증, 인간 단핵구성 에르리키아증, 백일해, 농가진, 만기 선천 매독성 안병증, 레지오넬라증, 레미에르 증후군, 나병(한센병), 렙토스피라증, 리스테리아증, 라임병, 림프절염, 유비저, 수막구균성 질병, 수막구균성 패혈증, 메티실린-내성 황색포도상구균(MRSA) 감염, 마이크로박테륨 아비뉴-인트라셀룰라(MAI), 마이코플라스마 폐렴, 괴사 근막염, 노카르디아증, 노마(수양암 또는 괴저성 구내염), 제대염, 안와 봉소직염, 골수염, 전격성 비장적출술 후 감염(OPSI), 양 브루셀라병, 파스퇴렐라증, 안와 봉소염, 백일해(pertussis(whooping cough)), 페스트, 폐렴구균성 폐렴, 포트 병, 직장염, 슈도모나스 감염, 앵무병, 농혈증, 화농근육염, Q 열, 재귀열(회귀열), 류마티스 열, 로키산 홍반열(RMSF), 리케차병, 살모넬라증, 성홍열, 패혈증, 셀라티아 감염, 시겔라증, 남부 진드기-관련 발진 병, 포도알균성 화상피부 증후군, 포도알균성 인두염, 수영장 육아종, 돼지 브루셀라병, 매독, 매독성 대동맥염, 파상풍, 독성 쇼크 증후군(TSS), 트라코마, 참호열, 열대폐양, 결핵, 야토병, 장티푸스, 발진 티푸스, 비노생식기 결핵, 요로 감염, 반코마이신-내성 황색포도상구균 감염, 워터하우스-프리카데릭센 증후군, 가성결핵(에르시니아) 병, 및 에르시니아증과 같은 것일 수 있다.

[0772] 기생충 감염성 질병은 아메바증, 편모충증, 트리코모나스증, 아프리카 수면병, 아메리카 수면병, 리슈만편모충증(Kala-Azar), 바란티디움증, 톡소플라스마증, 말라리아, 가시아메바 각막염, 및 바베시아증일 수 있다.

[0773] 진균 감염성 질병은 아스페르길루스증, 분아균증, 칸디다증, 콕시디오이데스 진균증, 호모균증, 히스토플라스마증, 진균증, 파라코시디오이드진균증, 및 족부 백선일 수 있다. 추가로, 면역 결핍이 있는 사람은 예를 들어 아스페르길루스, 칸디다, 크립토코쿠스, 히스토플라스마, 및 뉴모시스티스와 같은 진균 속에 의한 질병에 걸리기 쉽다. 다른 진균, 소위 피부사상균 및 각질진화진균은 눈, 손발톱, 모발, 및 특히 피부를 공격할 수 있으며, 다양한 질환을 유발할 수 있으며, 그 중에는 무좀과 같은 백선이 흔하다. 진균 포자는 또한 알레르기의 주요 원인이며, 다양한 분류학적 군으로부터의 광범위한 진균이 일부 사람들에게 알레르기 반응을 일으킬 수 있다.

[0774] 암 또는 종양 질병은, 예를 들어, 흑색종, 악성 흑색종, 결장 암종, 림프종, 육종, 모세포종, 신장 암종, 위장관 종양, 신경아교종, 전립선 종양, 방광암, 직장 종양, 위암, 식도암, 췌장암, 간암, 유암종(= 유방암), 자궁암, 자궁경부암, 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 림프구

성 백혈병(CLL), 간종양, 다양한 바이러스-유발 종양, 예를 들어, 유두종 바이러스-유발 암종(예컨대 경부암종 = 자궁경부암), 선암종, 헤르페스 바이러스-유발 종양(예컨대 버킷 림프종, EBV-유발 B-세포 림프종), B형 간염-유발 종양(간세포 암종), HTLV-1- 및 HTLV-2-유발 림프종, 청신경종, 폐 암종(= 폐암 = 기관지 암종), 소세포 폐 암종, 인두 암 및 암종, 교모세포종, 직장 암종, 성상세포종, 뇌암, 망막모세포종, 기저세포종, 뇌 전이, 수 모세포종, 질암, 췌장암, 고환암, 호지킨 증후군, 수막종, 슈니버거(Schneeberger) 병, 뇌하수체 종양, 균상식 육종, 카르시노이드, 신경초종, 척수종(spinalioma), 버킷 림프종, 후두암, 직장암, 흉선종, 자궁체부 암종, 골 암, 비-호지킨 림프종, 요도암, CUP 증후군, 두경부 암종, 핼지교종, 외음부암, 장암, 결장 암종, 식도 암종(= 식도암), 사마귀 관련, 소장암의 종양, 두개인두종, 난소 암종, 생식기 종양, 난소암(= 난소 암종), 췌장 암종(= 췌장암), 자궁내막암종, 간 전이, 음경암, 설암, 담낭암, 백혈병, 형질세포종, 안검 종양, 전립선암(= 전립선 종양)로부터 선택되는 암 또는 종양 질병일 수 있다.

[0775] 본 개시내용이 치료적 개입으로서 유용할 수 있는 질병에는 SMN1-관련 척수성 근위축(SMA); 근위축성 측삭경화증(ALS); GALT-관련 갈락토스혈증; 낭포성 섬유증(CF); 시스틴뇨증을 포함하는 SLC3A1-관련 장애; 알포트 증후군을 포함하는 COL4A5-관련 장애; 갈락토세레브로시다제 결핍; X-연관 부신백질형성장애 및 부신척수신경병; 프리드리히 실조증; 펠리체우스-메르츠바허 병; TSC1 및 TSC2-관련 결절성 경화증; 산필리포 B 증후군(MPS IIIB); CTNS-관련 시스틴증; 취약 X 증후군, 취약 X-관련 진전/실조 증후군 및 취약 X 조기 난소 부전을 포함하는 FMR1-관련 장애; 프레더-윌리 증후군; 유전성 출혈성 모세혈관확장증(AT); 니만-피크 병 타입 C1; 연소성 신경원성세로이드 리포푸신증(JNCL), 연소성 바텐 병, 산타부로리-할티아(Santavuori-Haltia) 병, 얀스키-비엘쇼스키 병, 및 PTT-1 및 TPP1 결핍을 포함하는 신경원성세로이드 리포푸신증-관련 질병; 중추신경계 저수초화/소실성 백질을 갖는 EIF2B1, EIF2B2, EIF2B3, EIF2B4 및 EIF2B5-관련 유아기 실조증; CACNA1A 및 CACNB4-관련 발작적 실조증 타입 2; 고전적 레트 증후군, MECP2-관련 중증 신생아 뇌병증 및 PPM-X 증후군을 포함하는 MECP2-관련 장애; CDKL5-관련 비통상적 레트 증후군; 케네디 병(SBMA); Notch-3 관련 피질하 경색과 백질뇌증을 동반하는 상염색체 우성 뇌동맥질병(CADASIL); SCN1A 및 SCN1B-관련 경련 장애; 알퍼스-허튼로처(Alpers-Huttenlocher) 증후군, POLG-관련 감각 실조 신경병증, 구음장애, 및 안구운동마비, 및 미토콘드리아 DNA 결손을 갖는 상염색체 우성 및 열성 진행성 외부 안구운동마비를 포함하는 폴리머라제 G-관련 장애; X-연관 부신 저형성증; X-연관 무감마글로불린혈증; 파브리 병; 및 윌슨 병과 같은 질병이 포함된다.

[0776] 일 구현예에서, 본 개시내용의 핵산, 및 예를 들어 mRNA는 기능 단백질 또는 효소를 인코딩할 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 조성물은 에리트로포이에틴(EPO), α 1-안티트립신, 카르복시펩티다제 N, 알파 갈락토시다제(GLA), 오르니틴 카르바모일트랜스퍼라제(OTC), 또는 인간 성장 호르몬(hGH)을 인코딩하는 mRNA를 포함할 수 있다.

[0777] 다른 구현예에서, 본 개시내용은 적어도 하나의 단리된 표적 세포를 핵산으로 형질감염시키는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 상기 적어도 하나의 표적 세포를 유효량의 적어도 하나의 핵산 폴리뉴클레오타이드 및 (i) 적어도 하나의 핵산 및 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 지질 화합물, 또는 (ii) 핵산을 함유하는, 본원에 기술된 바와 같은 적어도 하나의 조성물, 또는 (iii) 본원에 기술된 바와 같은, 핵산을 함유하는 적어도 하나의 지질 나노입자와 접촉시켜 상기 적어도 하나의 표적 세포를 상기 핵산으로 형질감염시키는 단계를 포함한다.

[0778] 표적 세포는 림프질, 간세포, 상피 세포, 조혈 세포, 상피 세포, 내피 세포, 폐세포, 골세포, 줄기 세포, 중간엽 세포, 신경 세포(예를 들어, 수막, 성상 세포, 운동 뉴런, 후각 신경절 및 전각 운동 뉴런의 세포), 광수용기 세포(예를 들어 간상세포 및 원추세포), 망막 색소 상피 세포, 분비 세포, 심장 세포, 지방 세포, 혈관 평활근 세포, 심근 세포, 골격근 세포, 베타 세포, 뇌하수체 세포, 윤활막 내층 세포, 난소 세포, 고환 세포, 섬유아세포, B 세포, T 세포, 항원 제시 세포, 예컨대 수지상 세포, 망상적혈구, 백혈구, 과립구 및 종양 세포를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0779] 일 구현예에서, 표적화되는 세포는 비장, 간, 폐, 심장 및 신장 세포일 수 있다. 또 다른 구현예에서, 표적화되는 세포는 비장 및 신장 세포일 수 있고, 예를 들어 비장 세포일 수 있다.

[0780] 일부 구현예에서, 간 클리어런스를 피하는 것을 가능하게 하는 본원에 개시된 바와 같은 지질 나노입자 또는 조성물이 특히 관심의 대상일 수 있다.

[0781] 예를 들어, 지질 나노입자 내에 캡슐화된 핵산에 의한 적어도 하나의 표적 세포의 형질감염 후, 그러한 핵산에 의해 인코딩되는 폴리펩티드 또는 단백질의 생성이 예를 들어 자극될 수 있고 이러한 표적 세포가 핵산을 발현하고 예를 들어 관심 폴리펩티드 또는 단백질을 생성하는 능력이 향상된다. 예를 들어, mRNA를 캡슐화하는 조성물에 의한 표적 세포의 형질감염은 이러한 mRNA에 의해 인코딩되는 단백질 또는 효소의 생성을 향상(즉, 증가)

시킬 것이다.

[0782] 다른 구현예에서, 본 개시내용은 적어도 하나의 표적 세포에서 폴리펩티드를 생성하는 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 상기 적어도 하나의 표적 세포를 유효량의 (i) 적어도 하나의 핵산 및 본원에 개시된 바와 같은 적어도 하나의 지질 화합물, 또는 (ii) 핵산을 함유하는, 본원에 기술된 바와 같은 적어도 하나의 조성물, 또는 (iii) 본원에 기술된 바와 같은, 핵산을 함유하는 적어도 하나의 지질 나노입자와 접촉시켜, 상기 폴리펩티드를 작동 가능하게 인코딩하는 핵산으로 상기 적어도 하나의 표적 세포를 형질감염시키는 단계를 포함한다.

[0783] 달리 지시되지 않는 한 또는 모순이나 불일치가 발생한다는 것이 당업자에게 명백하지 않는 한, 본 개시내용은 열거된 청구범위 중 적어도 하나로부터의 적어도 하나의 제한, 요소, 절, 설명적 용어 등이 동일한 기본 청구항 (또는 관련되는 경우, 임의의 다른 청구항)에 의존하는 또 다른 청구항에 도입되는 모든 변형, 조합 및 순열을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 요소가 목록으로 제시되는 경우(예컨대 Markush 군 또는 유사한 형식), 요소의 각 하위군이 또한 개시되며 임의의 요소(들)가 군에서 제거될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 일반적으로, 본 개시내용 또는 본 개시내용의 양태가 특정 요소, 특징 등을 포함하는 것으로 지칭되는 경우, 그들은 또한 이러한 요소, 특징 등으로 이루어지거나 본질적으로 이루어지는 구현예를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 단순함을 위해 이들 구현예는 모든 경우에 본원에 그렇게 많은 단어로 구체적으로 제시되지 않았다. 또한 본 개시내용의 임의의 구현예 또는 양태는 특정 배제가 본 명세서에 인용되는지 여부에 관계없이 청구범위에서 명시적으로 배제될 수 있음을 이해해야 한다. 본 개시내용의 배경기술을 기술하고 그의 실행에 관한 추가 세부 사항을 제공하기 위해 본원에서 참조된 간행물 및 기타 참고 자료는 본원에 참고로 포함된다.

[0784] 다음 실시예는 제한이 아니라 설명을 위해 제공된다.

[0785] [실시예]

[0786] 물질 및 방법

[0787] 핵 자기 공명 분광법(H, C NMR)

[0788] - H 및 C NMR 스펙트럼을 하기 분광계에서 실온에서 기록하였다: Bruker Advance 400(NMR H: 400 MHz 및 NMR C: 75 MHz).

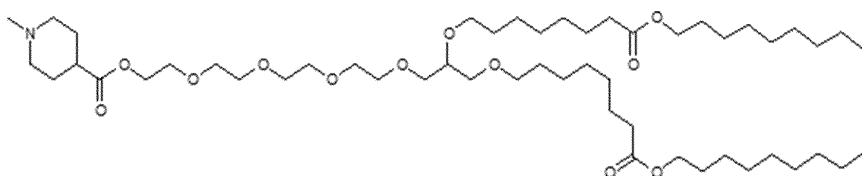
[0789] 기록된 이동을 백만분율(δ)로 보고하고, 다음을 사용하여 보정하였다: 잔존 비중수소화 3: H 7.26 ppm; C 77.16 ppm, MeOH H 3.31 ppm; C: 49.0 ppm). 데이터를 다음과 같이 표시하였다: 화학 이동, 다중도(s = 단일선, d = 이중선, t = 삼중선, q = 사중선 및 m = 다중선), 결합 상수(J(Hz)), 적분 및 속성.

[0790] NMR 스펙트럼을 상업적 소프트웨어 NMRnotebook을 사용하여 얻었다.

[0791] - **고해상도 질량 스펙트럼(HRMS)**을 Agilent Q-TOF(비행 시간) 6520을 사용하여 얻었고 저해상도 질량 스펙트럼(LCMS)을 Agilent HPLC 1200 SL이 갖춰진 Agilent MSD 1200 SL(ESI/APCI)을 사용하여 얻었다.

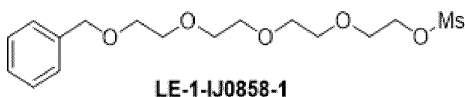
[0792] **실시예 1: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 VI)의 합성**

[0793] [화합물 VI]



[0794] 도 1에 제시된 합성 반응도식에 따라 화합물 VI를 제조한다.

[0796] 중간체 LE-1-IJ0858-1의 합성



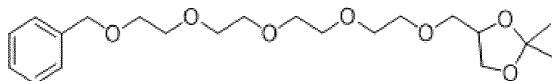
[0797] **LE-1-IJ0858-1**

[0798] 질소 하에서 건조 디클로로메탄(500 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 트리에틸아민(35.6 g, 352 mmol)을 -5°C까지 냉각시켰다. 건조 DCM(20 mL) 중 메탄설포닐 클로라이드(30.2

g, 264 mmol)를 0℃에서 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온까지 가온되게 하고, 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 트리에틸아민 하이드로클로라이드를 여과하고, DCM 용액을 0.1 N HCl로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 제거하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(69.1 g, 175 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[0799] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.39 - 4.33 (m, 2H), 3.78 - 3.73 (m, 2H), 3.69 - 3.60 (m, 12H), 3.06 (s, 3H).

[0800] 중간체 LE-1-IJ0858-2의 합성

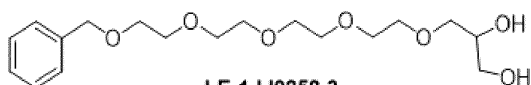


LE-1-IJ0858-2

[0802] THF(500 mL) 중 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(24.4 g, 175 mmol)의 용액에 NaH(14 g, 351 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 15 min 동안 가열하여 환류시켰다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(69.1 g, 175 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 24 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물로 킨칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 24-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(54.4 g, 70% 수율)을 수득하였다.

[0803] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.28 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.05 (dd, J = 8.3, 6.4 Hz, 1H), 3.72 (dd, J = 8.3, 6.4 Hz, 1H), 3.70 - 3.61 (m, 16H), 3.57 (dd, J = 10.0, 5.8 Hz, 1H), 3.49 (dd, J = 10.0, 5.5 Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

[0804] 중간체 LE-1-IJ0858-3의 합성

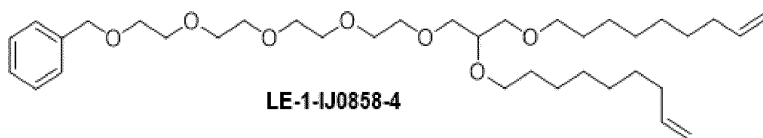


LE-1-IJ0858-3

[0806] AcOH(200 mL) 및 H_2O (200 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(54.4 g, 123 mmol)의 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(49 g, 123 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[0807] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.88 - 3.81 (m, 1H), 3.70 - 3.51 (m, 21H).

[0808] 중간체 LE-1-IJ0858-4의 합성

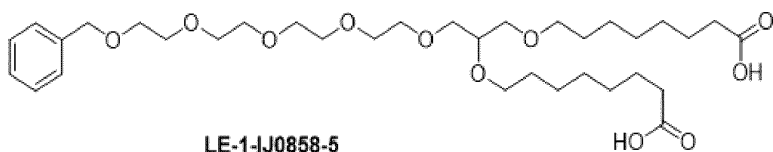


LE-1-IJ0858-4

[0809] 질소 하에서 건조 DMF(200 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(24 g, 60.3 mmol)의 용액에 NaH(9.64 g, 241 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 80℃에서 15 min 동안 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모노-1-엔(31.9 g, 151 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 80℃에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.5)는 새로운 스폿이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(50 mL)로 킨칭하고, 그 후 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸]벤젠(9.3 g, 14.6 mmol, 24.2% 수율)을 수득하였다.

[0811] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 5.89 - 5.72 (m, 2H), 5.04 - 4.89 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.60 (m, 17H), 3.59 - 3.38 (m, 9H), 2.03 (q, J = 6.7 Hz, 4H), 1.60 - 1.49 (m, 4H), 1.43 - 1.23 (m, 16H).

[0812] 중간체 LE-1-IJ0858-5의 합성



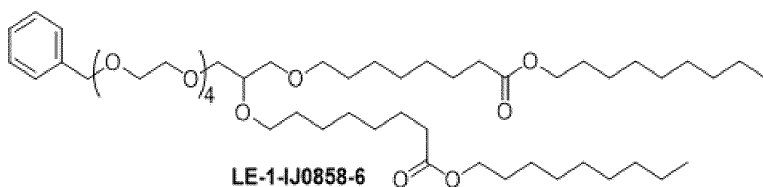
[0813]

[0814] MeCN(80 mL), CC14(80 mL) 및 물(80 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸벤젠(9.3 g, 14.6 mmol)의 용액에 NaIO_4 (24.9 g, 116 mmol) 및 RuCl_3 (656 mg, 2.91 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24 h 동안 교반하였다. LCMS는 표제 화합물이 부분 모노-알데하이드 생성물과 함께 주 생성물임을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(10 g, 12.4 mmol)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[0815] 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-옥소옥톡시)프로폭시]옥탄산(10 g, 8 mmol)을, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.73 g, 24 mmol), 2-메틸-2-부텐(40 mL) 및 아염소산나트륨(2.71 mg, 24 mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 160 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜, 밝은 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(10 g, 3.22 mmol, 정량적)을 수득하였다.

[0816] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.61 (m, 17H), 3.59 - 3.37 (m, 9H), 2.33 (t, J = 7.3 Hz, 4H), 1.69 - 1.51 (m, 8H), 1.39 - 1.28 (m, 14H).

[0817] 중간체 LE-1-IJ0858-6의 합성

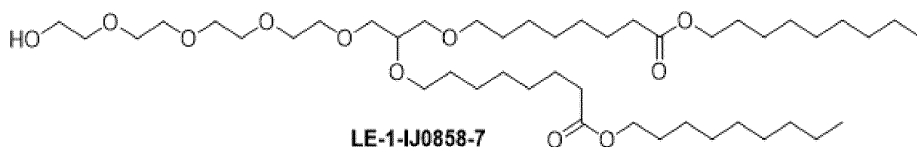


[0818]

[0819] 질소 하에서 건조 디클로로메탄(200 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(10 g, 14.8 mmol) 및 1-노난올(5.12 g, 35.5 mmol)의 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민(11.5 g, 88.7 mmol), 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)(0.722 g, 5.91 mmol) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드(EDCI)(7.37 g, 38.4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 55% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(5 g, 35.9%)를 수득하였다.

[0820] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 3.70 - 3.61 (m, 16H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.28 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.50 (m, 12H), 1.37 - 1.21 (m, 36H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[0821] 중간체 LE-1-IJ0858-7의 합성



[0822]

[0823] 에틸 아세테이트(100 mL) 중 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(5 g, 5.31 mmol)의 용액에 Pd/C(1.13 g, 20% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(에틸 아세테이트/석유 에테르 1/1)는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(4.22 g, 4.98 mmol, 93.8%)를 수득하였다.

[0824] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 3.74 - 3.38 (m, 27H), 2.28 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.68 - 1.50 (m, 12H), 1.39 - 1.21 (m, 37H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[0825] 화합물 VI의 합성

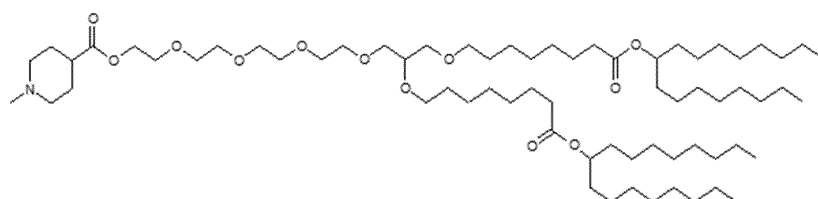
[0826] 디클로로메탄(15 mL) 중 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.152 g, 1.06 mol) 및 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.6 g, 0.708 mol)의 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민(0.11 g, 0.85 mmol) 및 DMAP(8.65 mg, 0.07 mol), 이어서 N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드(0.163 g, 0.85 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(디클로로메탄 중 0 내지 15% 메탄올)로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-(2,3-비스(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.281 g, 0.29 mmol, 41% 수율)를 수득하였다.

[0827] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.27 - 4.20 (m, 2H), 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 3.72 - 3.61 (m, 14H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.84 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.38 - 2.23 (m, 8H), 2.06 (s, 1H), 1.99 - 1.87 (m, 3H), 1.86 - 1.77 (m, 2H), 1.67 - 1.52 (m, 12H), 1.37 - 1.23 (m, 36H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[0828] MS (ESI) m/z =930.8 (M+H)⁺

[0829] 실시예 2: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 VII)의 합성

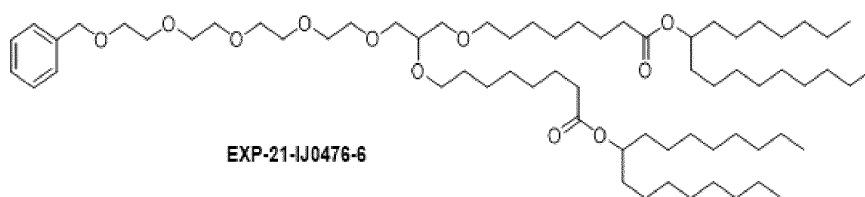
[0830] [화합물 VII]



[0831]

[0832] 도 2에 제시된 합성 반응도식에 따라 화합물 VII를 제조한다.

[0833] 중간체 EXP-21-IJ0476-6의 합성



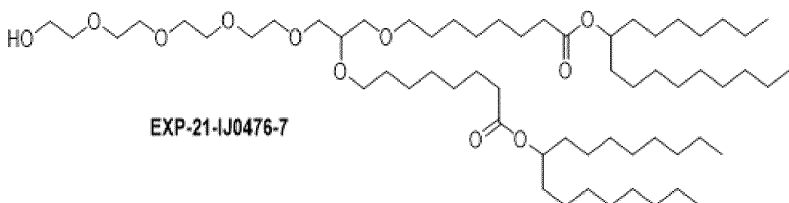
[0834]

[0835] 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(1.26 g, 1.96 mmol) 및 헵타데칸-8-올(1.51 g, 5.88 mmol)의 용액에 빙욕 하에서 DIPEA(1.52 g,

11.8 mmol), DMAP(0.096 g, 0.784 mmol) 및 EDCI(0.977 g, 5.10 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 NaHCO₃(30 mL)으로 켄칭하고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5%(2%) CH₃OH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 1-헵틸테실 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.600 g, 0.482 mmol, 24.6% 수율)를 수득하였다.

[0836] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.08 - 8.04 (m, 1H), 7.56 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.48 - 7.43 (m, 1H), 7.36 - 7.26 (m, 5H), 4.90 - 4.82 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 4.50 - 4.47 (m, 1H), 3.86 - 3.82 (m, 1H), 3.73 - 3.38 (m, 24H), 2.30 - 2.24 (m, 4H), 1.62 - 1.46 (m, 16H), 1.35 - 1.22 (m, 60H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 12H).

[0837] 중간체 EXP-21-IJ0476-7의 합성



[0838]

[0839] EtOAc(10 mL) 중 1-헵틸테실 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.600 g, 0.536 mmol)의 용액을 N₂로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(180 mg)를 첨가하고, 반응물을 N₂로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서 소기시키고, H₂로 3회 재충전(backfill)하였다. 그 다음, 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC(DCM 중 4% CH₃OH)는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 슬러리를 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 수회 행구었다. 그 다음, 합한 유기물을 진공 하에서 농축시켜, 무색 오일로서 1-헵틸테실 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.537 g, 0.495 mmol, 92.5% 수율)를 수득하였다.

[0840] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.85 (dd, J = 12.5, 6.2 Hz, 2H), 3.79 - 3.32 (m, 25H), 2.32 - 2.23 (m, 4H), 1.64 - 1.46 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 12H).

[0841] 화합물 VII의 합성

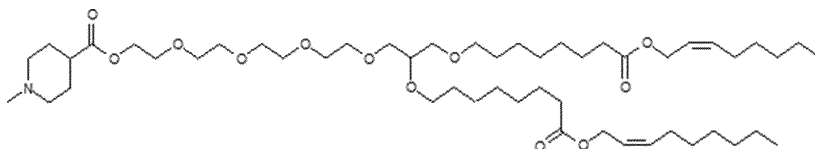
[0842] 디클로로메탄(20 mL) 중 1-헵틸테실 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.537 g, 0.522 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.299 g, 2.09 mmol)의 용액에 0°C에서 DIPEA(0.270 g, 2.09 mmol) 및 DMAP(0.026 g, 0.209 mmol), 이어서 EDCI(0.400 g, 2.09 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 실온에서 32 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 10% CH₃OH(4%))로 정제하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.370 g, 0.308 mmol, 59.0% 수율)를 수득하였다.

[0843] LCMS. MS (ESI) m/z=1155.9 (M+H)⁺

[0844] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.92 - 4.79 (m, 2H), 4.29 - 4.19 (m, 2H), 3.72 - 3.67 (m, 2H), 3.64 (d, J = 6.4 Hz, 12H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.85 (s, 2H), 2.39 - 2.22 (m, 8H), 1.89 (d, J = 56.9 Hz, 6H), 1.60 - 1.47 (m, 14H), 1.34 - 1.21 (m, 62H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[0845] 실시예 3: 2-[2-[2-[2-[2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-[8-[(Z)-옥트-2-에녹시]-8-옥소옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 VIII)의 합성

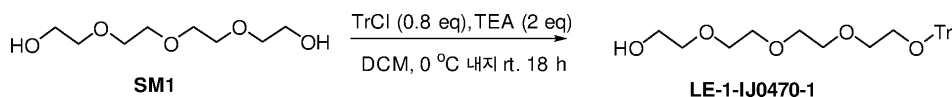
[0846] [화합물 VIII]



[0847]

[0848] 도 3에 상세히 설명된 합성 반응도식에 따라 화합물 VIII를 제조한다.

[0849] LE-1-IJ0470-1의 합성

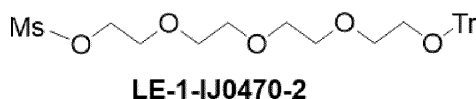


[0850]

[0851] 0℃까지 냉각된 DCM(400 mL) 중 2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(SM1)(50 g, 0.257 mol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(1.57 g, 12.9 mmol) 및 [클로로(디페닐)메틸]벤젠(57.4 g, 0.206 mol)의 혼합물에 N,N-디에틸에탄아민(52.1 g, 0.515 mol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(EA:PE = 2:1, Rf=0.5)는 새로운 스팟이 형성되었음을 나타내었다. 혼합물을 물(600 mL)에 붓고, DCM(2*400 mL)으로 추출하였다. 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, Na2SO4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 1:1 EA/PE로 용리되는 실리카 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(45.7 g, 40.7% 수율)을 수득하였다.

[0852] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (dt, J = 3.4, 1.9 Hz, 6H), 7.32 - 7.26 (m, 6H), 7.24 - 7.18 (m, 3H), 3.73 - 3.63 (m, 12H), 3.61 - 3.56 (m, 2H), 3.27 - 3.21 (m, 2H), 2.56 (t, J = 6.0 Hz, 1H).

[0853] LE-1-IJ0470-2의 합성

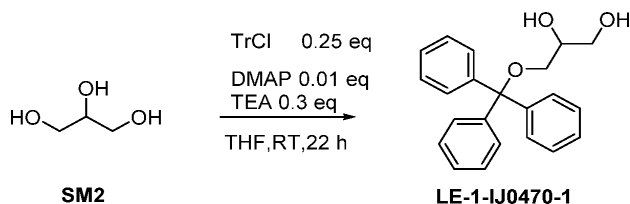


[0854]

[0855] DCM(600 mL) 중 2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(45.7 g, 0.105 mol) 및 N,N-디에틸에탄아민(21.2 g, 0.209 mol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설폰일 클로라이드(14.4 g, 0.126 mol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 제거하여, 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(53.5 g, 99.3%)를 수득하였다.

[0856] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (dt, J = 3.4, 1.9 Hz, 6H), 7.32 - 7.26 (m, 6H), 7.25 - 7.19 (m, 3H), 4.35 - 4.30 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.64 (m, 10H), 3.23 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.98 (s, 3H).

[0857] LE-1-IJ0470-1의 합성



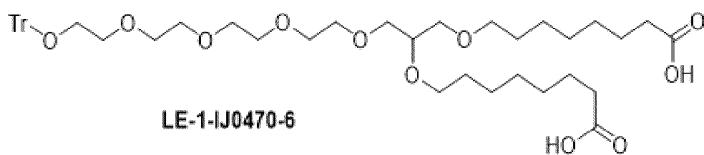
[0858]

[0859] 500 mL의 THF 중 트리틸 클로라이드(45.5 g, 163 mmol), 글리세롤(50 g, 543 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.663 g, 5.43 mmol)의 용액에 트리에틸아민(16.48 g, 163 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 22 h 동안 교반하였다. 그 후 300 mL의 에틸 아세테이트 및 150 mL의 H₂O를 용액에 첨가하였다. 유기 상을 수집하고, 수성 층을 2*300 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 200 mL의 10%(w/v) NaHCO₃로 세척하고, 그 후 200 mL의 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 실리카 겔 컬럼(CH₂Cl₂/MeOH로 용리됨) 상에서 정제하여, 백색 고체로서 3-트리틸옥시프로판-1,2-디올(50.4 g, 27.8% 수율)을 수득하였다.

[0860] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (dt, J = 3.4, 1.9 Hz, 6H), 7.35 - 7.26 (m, 7H), 7.26 - 7.21 (m, 2H), 3.91 - 3.82 (m, 1H), 3.74 - 3.56 (m, 2H), 3.25 (m, J = 15.7, 9.6, 5.2 Hz, 2H), 2.49 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 1.96 (dd, J = 7.1, 5.3 Hz, 1H).

(dt, $J = 7.8, 3.9$ Hz, 4H), 1.54 (dd, $J = 13.1, 6.5$ Hz, 4H), 1.38 - 1.25 (m, 16H).

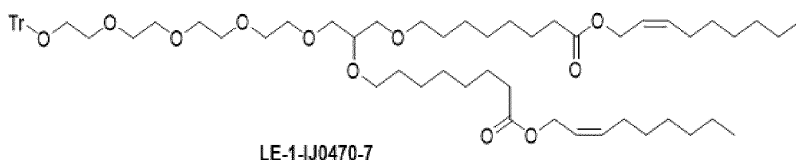
[0873] LE-1-IJ0470-6의 합성



MeCN(200 mL), CC14(200 mL) 및 물(200 mL) 중 [2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시-디페닐-메틸]벤젠(15.7 g, 20.7 mmol)의 용액에 NaIO4(35.4 g, 165 mmol) 및 RuCl3(0.933 g, 4.14 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 24 h 동안 교반하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(900 mL)로 세척하였다. 유기 층을 Na2S2O3 용액(700 mL x 2)으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 황색 오일로서 8-[2-(7-카르복시헵톡시)-3-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥탄산(9.4 g, 57.2% 수율)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 7.48 - 7.44 (m, 6H), 7.29 (dd, $J = 10.1, 4.7$ Hz, 6H), 7.24 - 7.20 (m, 3H), 3.72 - 3.38 (m, 24H), 3.23 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.35 (dt, $J = 24.3, 7.4$ Hz, 4H), 1.68 - 1.49 (m, 8H), 1.38 - 1.26 (m, 12H).

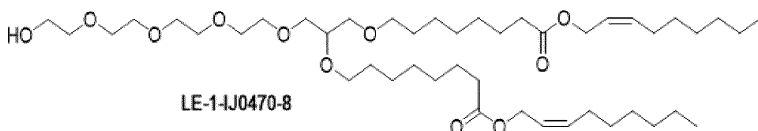
[0877] LE-1-IJ0470-7의 합성



건조 디클로로메탄(50 mL) 중 8-[2-(7-카르복시헵톡시)-3-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥탄산(1.0 g, 1.26 mmol) 및 (Z)-논-2-엔-1-올(0.43 g, 3.02 mmol)의 용액에 빙수욕 하에서 DIPEA(0.98 g, 7.55 mmol), DMAP(0.062 g, 0.503 mmol), 이어서 EDCI(2.56 g, 13.4 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 0% 내지 20%(15%) 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 [(Z)-논-2-엔일] 8-[2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.39 g, 29.7% 수율)를 수득하였다.

¹H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 7.47 - 7.45 (m, 6H), 7.29 (t, $J = 7.5$ Hz, 6H), 7.22 (dd, $J = 8.3, 6.2$ Hz, 3H), 5.64 (dd, $J = 18.4, 7.6$ Hz, 2H), 5.56 - 5.47 (m, 2H), 4.61 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H), 3.69 - 3.39 (m, 23H), 3.23 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.29 (dd, $J = 10.7, 4.4$ Hz, 4H), 2.14 - 2.03 (m, 4H), 1.61 - 1.50 (m, 8H), 1.40 - 1.22 (m, 28H), 0.88 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H).

[0881] LE-1-IJ0470-8의 합성



메탄올/THF(40 mL, 1/1 v/v) 중 [(Z)-논-2-엔일] 8-[2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.39 g, 0.374 mmol)의 용액에 실온에서 p-톨루엔 설폰산(0.322 g, 1.87 mmol)을 한꺼번에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르 중 30% 에틸 아세테이트)는 출발 물질이 완전히 사라졌음을 나타내었다. 5 mL의 트리ethyl아민을 첨가하여 반응물을 쉐킹하고, 용매를 진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 20%(10%) 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2,3-비스(논-8-에녹시)프로판-1-올(0.270 g, 90.2% 수율)을 수득하였다.

[0884] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.70 - 5.59 (m, 2H), 5.58 - 5.47 (m, 2H), 4.62 (d, J = 6.7 Hz, 4H), 3.77 - 3.37 (m, 27H), 2.70 (s, 1H), 2.37 - 2.24 (m, 4H), 2.10 (q, J = 6.8 Hz, 4H), 1.66 - 1.50 (m, 8H), 1.41 - 1.20 (m, 28H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

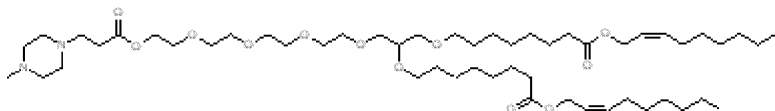
[0885] 화합물 VIII의 합성

[0886] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(570 mg, 0.711 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.153 g, 1.07 mmol)의 용액에 빙옥 하에서 DIPEA(0.110 g, 0.854 mmol), DMAP(0.009 g, 0.071 mmol) 및 EDCI(0.164 g, 0.854 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 20% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-[8-[(Z)-옥트-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.414 g, 63.8% 수율)를 수득하였다.

[0887] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.64 (dt, J = 10.9, 7.4 Hz, 2H), 5.52 (dt, J = 11.0, 6.8 Hz, 2H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 4.27 - 4.21 (m, 2H), 3.72 - 3.61 (m, 14H), 3.58 - 3.39 (m, 9H), 2.85 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.39 - 2.26 (m, 8H), 2.10 (dd, J = 14.0, 6.9 Hz, 5H), 1.94 (s, 2H), 1.82 (d, J = 10.6 Hz, 3H), 1.66 - 1.50 (m, 9H), 1.41 - 1.24 (m, 30H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

[0888] 실시예 4: [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 IX)의 합성

[0889] [화합물 IX]



[0890]

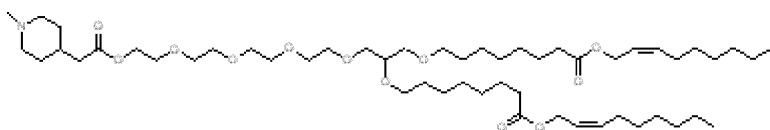
[0891] 화합물 LE616IJ0470-8(LE616IJ0470-8의 합성에 대해서는 실시예 3 참조)로부터 화합물 IX를 제조한다.

[0892] 그 후, 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(400 mg, 0.500 mmol) 및 3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판산(0.129 g, 0.750 mmol)의 용액에 DIPEA(0.078 g, 0.600 mmol), DMAP(0.006 g, 0.050 mmol)를 첨가하고, 빙옥 하에서 EDCI(0.115 g, 0.600 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 20%(9%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.378 g, 79.2% 수율)를 수득하였다.

[0893] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.69 - 5.47 (m, 4H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 4.26 - 4.21 (m, 2H), 3.75 - 3.60 (m, 17H), 3.60 - 3.38 (m, 11H), 2.72 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.57 - 2.49 (m, 6H), 2.33 - 2.27 (m, 8H), 2.10 (q, J = 6.9 Hz, 4H), 1.67 - 1.51 (m, 10H), 1.41 - 1.09 (m, 32H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[0894] 실시예 5: [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[2-(1-메틸-4-피페리딜)아세틸]옥시에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 X)의 합성

[0895] [화합물 X]



[0896]

[0897] 도 4의 합성 반응도식으로부터 화합물 X를 제조한다.

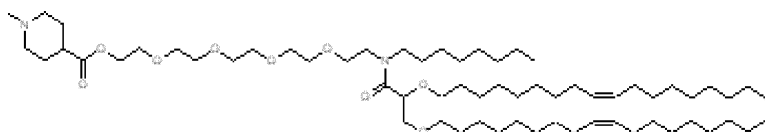
[0898] 그 후, 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(400 mg, 0.500 mmol) 및 2-(1-메틸-4-피페리딜)아세트산(0.118 g, 0.749 mmol)의 용액에 DIPEA(0.078 g, 0.600 mmol), DMAP(0.006 g, 0.050 mmol)를 첨

가하고, 빙옥 하에서 EDCI(0.115 g, 0.600 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 20%(9%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[2-(1-메틸-4-피페리딜)아세틸]옥시에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.271 g, 57.7% 수율)를 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.64 (dt, J = 10.9, 7.5 Hz, 2H), 5.57 - 5.47 (m, 2H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 4.26 - 4.20 (m, 2H), 3.76 - 3.60 (m, 16H), 3.60 - 3.37 (m, 11H), 3.02 (s, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.28 (dd, J = 24.3, 16.8 Hz, 9H), 2.10 (dd, J = 14.3, 7.1 Hz, 4H), 1.80 (d, J = 13.8 Hz, 4H), 1.65 - 1.51 (m, 11H), 1.40 - 1.20 (m, 31H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

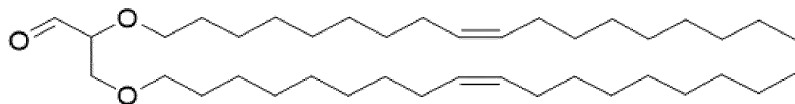
실시예 6: 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로파노일-옥틸아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XI)의 합성

[화합물 XI]



도 5의 합성 반응도식에 따라 화합물 XI를 제조한다.

중간체의 합성



0℃에서 DCM(100 ml) 중 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판-1-올(5 g, 8.43 mmol)의 용액에 테스-마틴 피아이오디난(5.36 g, 12.6 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 혼합물을 여과하고, 농축시켰다. 미정제 물질을 에틸 아세테이트(50 ml)로 희석시키고, Na₂S₂O₃/NaHCO₃(25 ml/ 25 ml x 3), 염수(50 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기물을 농축시켜, 무색 오일로서 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판알(5 g, 8.29 mmol, 수율 98.3%)을 수득하였으며, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.72 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 5.40 - 5.31 (m, 3H), 3.84 - 3.54 (m, 5H), 3.49 - 3.39 (m, 2H), 2.04 - 1.92 (m, 7H), 1.63 (dd, J = 14.2, 7.1 Hz, 2H), 1.58 - 1.53 (m, 2H), 1.34 - 1.24 (m, 44H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

중간체 LE-1-IY5612-2의 합성

2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판알(5 g, 8.46 mmol)을 NaH₂PO₄(3.05 g, 25.4 mmol), 2-메틸-2-부텐(17.8 ml) 및 아염소산나트륨(2.3 g, 25.4 mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 60 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 1 h 동안 교반하고, 에틸 아세테이트(150 ml)로 희석시키고, 물(200 ml x 2)로 세척하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트(50 ml)로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켜, 무색 오일로서 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판산(4.7 g, 7.6 mmol, 수율 89.7%)을 수득하였다.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.43 - 5.31 (m, 3H), 4.04 (dd, J = 4.9, 3.2 Hz, 1H), 3.81 - 3.41 (m, 6H), 2.04 - 1.92 (m, 6H), 1.65 - 1.55 (m, 4H), 1.34 - 1.24 (m, 44H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

중간체 LE-1-IY5612-1의 합성



IY5612-1

2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(11 g, 17.7 mmol)를 옥탄-1-아민(44 ml)에 첨가하고, 혼합물을 80℃에서 18 hr 동안 교반하였다. LCMS는 SM이 소비되고 생성물이 형성되었음을

나타내었다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EA)(500 ml)로 희석시키고, 물(500 ml x 2), 염수(500 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(DCM 중 10% MeOH)으로 정제하여, 황색 오일로서 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(10 g, 16.6 mmol, 수율 93.4%)을 수득하였다.

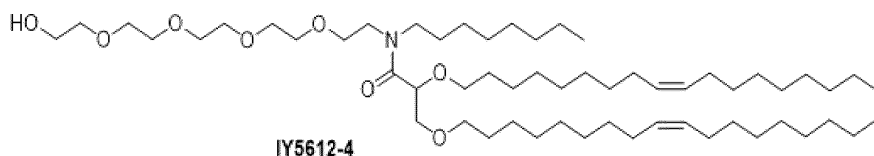
[0914] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.48 - 7.43 (m, 6H), 7.29 (dd, J = 10.3, 4.8 Hz, 6H), 7.25 - 7.20 (m, 3H), 3.75 - 3.53 (m, 16H), 3.24 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.86 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 2.70 - 2.63 (m, 2H), 1.62 - 1.51 (m, 2H), 1.26 (d, J = 5.0 Hz, 10H), 0.87 (t, J = 6.9 Hz, 3H).

[0915] 중간체 LE-1-IY5612-3의 합성

[0916] DCM(20 ml) 중 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(1.38 g, 1.98 mmol)의 용액에 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판산(1 g, 1.65 mmol), 4-디메틸아미노피리딘(20 mg), O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(940 mg, 2.47 mmol) 및 TEA(333 mg, 3.29 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 18 h 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 DCM(50 ml)으로 희석시키고, 물(250 mL x 2), 염수(250 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 플래시 크로마토그래피 컬럼(DCM 중 5% MeOH)으로 정제하여, 황색 오일로서 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]-N-옥틸-N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]프로판아미드(1.15 g, 0.95 mmol, 수율 57.9%)를 수득하였다.

[0917] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, J = 7.6 Hz, 6H), 7.28 (dd, J = 12.5, 4.6 Hz, 6H), 7.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 5.39 - 5.31 (m, 3H), 4.43 - 4.28 (m, 1H), 3.83 - 3.08 (m, 28H), 1.99 (dd, J = 15.5, 9.2 Hz, 7H), 1.56 - 1.19 (m, 60H), 0.92 - 0.84 (m, 9H).

[0918] 중간체 LE-1-IY5612-4의 합성



[0919]

[0920] THF/MeOH(10 ml, 1/1) 중 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]-N-옥틸-N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]프로판아미드(1.15 g, 0.97 mmol)의 용액에 톨루엔-4-설폰산(371 mg, 1.95 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2 hr 동안 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트(EA)(50 ml)로 희석시키고, NaHCO₃(50 ml), 염수(50 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(DCM 중 10% MeOH)으로 정제하여, 무색 오일로서 N-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]-2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]-N-옥틸-프로판아미드(730 mg, 0.78 mmol, 수율 79.9%)를 수득하였다.

[0921] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.43 - 5.31 (m, 3H), 4.45 - 4.30 (m, 1H), 4.00 - 3.19 (m, 28H), 2.10 - 1.90 (m, 8H), 1.67 - 1.16 (m, 60H), 0.95 - 0.82 (m, 9H).

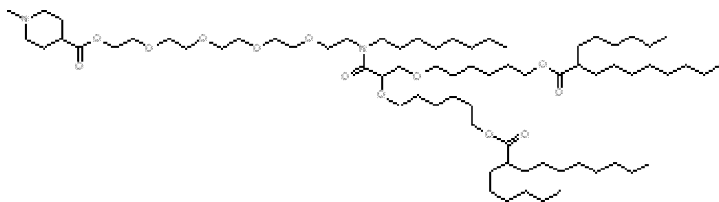
[0922] 화합물 XI의 합성

[0923] DCM(10 ml) 중 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(111 mg, 0.78 mmol)의 용액에 N-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]-2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]-N-옥틸-프로판아미드(730 mg, 0.78 mmol), DIEA(251 mg, 1.94 mmol), DMAP(19 mg) 및 EDC HCl(298 mg, 1.56 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 18 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 에틸 아세테이트(50 ml)로 희석시키고, 물(50 ml), 염수(50 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축시키고, 잔류물을 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 50% 에틸 아세테이트)으로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(318 mg, 0.29 mmol, 수율 37.6%)를 수득하였다.

[0924] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.35 (dd, J = 12.4, 7.2 Hz, 3H), 4.44 - 4.30 (m, 1H), 4.29 - 4.19 (m, 2H), 3.74 - 3.23 (m, 26H), 2.83 (s, 2H), 2.30 (s, 3H), 2.11 - 1.68 (m, 14H), 1.62 - 1.15 (m, 60H), 0.94 - 0.82 (m, 9H).

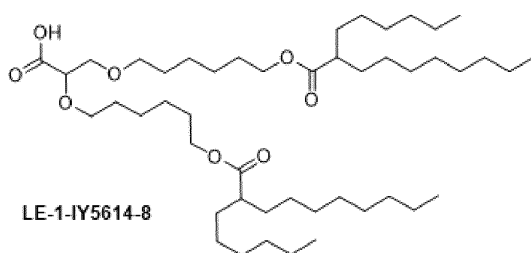
실시예 7: 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]프로파노일-옥틸아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XII)의 합성

[화합물 XII]



도 6의 합성 반응도식에 따라 화합물 XII를 제조한다.

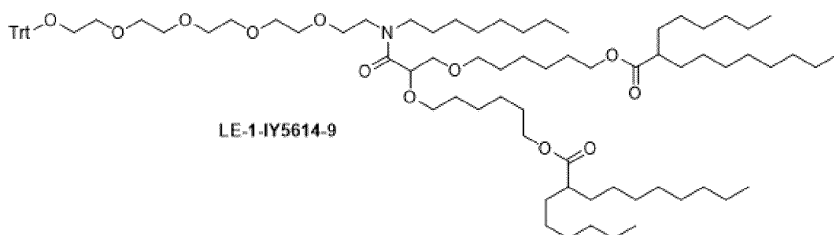
중간체 LE-1-IY5614-8의 합성



아세토니트릴(AcCN, 20 mL) 중 6-[2-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥실 2-헥실테카노에이트(1.5 g, 1.95 mmol)의 용액 및 PH=4-완충 용액(10 mL, AcOH:AcONa:물 = 92 mL:33 g:1000 mL)에 아염소산나트륨(0.97 g, 10.7 mmol) 및 차아염소산나트륨(0.0726 g, 0.975 mmol), 이어서 TEMPO((2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실)(0.152 g, 0.0975 mmol)를 첨가하였다. 반응물은 흑색이 되었으며, 20℃에서 4 hr 동안 교반하였다. LCMS는 투명한 반응물을 나타내었다. 반응물을 20 방울의 메탄올로 켄칭하고, 물(40 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트(60 mL x 3)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 5% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2,3-비스[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]프로판산(1.23 g, 80.5% 수율)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.11 - 4.02 (m, 5H), 3.82 - 3.41 (m, 6H), 2.36 - 2.26 (m, 2H), 1.70 - 1.52 (m, 12H), 1.47 - 1.34 (m, 12H), 1.25 (s, 40H), 0.87 (dd, J = 6.9, 6.2 Hz, 12H).

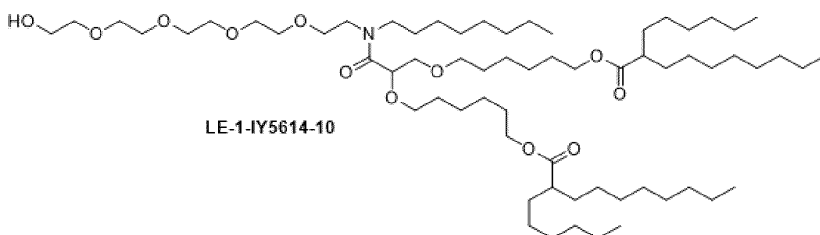
중간체 LE-1-IY5614-9의 합성



DCM(20 mL) 중 2,3-비스[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]프로판산(1.23 g, 1.57 mmol), EDC HCl(0.452 g, 2.36 mmol), N-하이드록시석신이미드(0.271 g, 2.36 mmol)의 혼합물. 반응 혼합물을 RT에서 2 h 동안 교반하였다. 그 후 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(1.12 g, 1.88 mmol) 및 DIEA(0.61 g, 4.71 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 RT에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(200 mL)에 붓고, NaHCO₃ 용액 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 2 내지 5% 메탄올(3%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 6-[2-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]-3-[옥틸-2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-헥실테카노에이트(1.27 g, 59.6% 수율)를 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 - 6.99 (m, 15H), 4.46 - 4.27 (m, 1H), 4.06 (q, J = 6.6 Hz, 4H), 3.89 - 3.19 (m, 26H), 2.35 - 2.26 (m, 2H), 1.75 - 1.33 (m, 28H), 1.25 (s, 50H), 0.88 (dd, J = 8.3, 4.3 Hz,

15H).

[0937] 중간체 LE-1-IY5614-8-10의 합성

[0938]

[0939] 메탄올/THF(30 mL, 1/1 v/v) 중 6-[2-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-헥실테카노에이트(1.27 g, 0.936 mmol)의 용액에 실온에서 한꺼번에 4-메틸벤젠설폰산(0.89 g, 4.68 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르 중 4% 에틸 아세테이트)는 출발 물질이 완전히 사라졌음을 나타내었다. 30 mL의 트리ethyl아민을 첨가하여 반응물을 켄칭하고, 용매를 진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% MeOH(4%)로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[2-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실-헥실테카노에이트(0.78 g, 74.8% 수율)를 수득하였다.

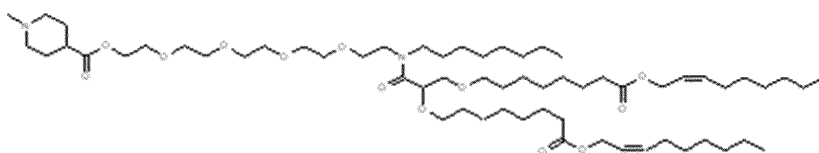
[0940] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.46 - 4.29 (m, 1H), 4.05 (td, J = 6.6, 2.1 Hz, 4H), 3.78 - 3.24 (m, 28H), 2.35 - 2.25 (m, 2H), 1.69 - 1.32 (m, 28H), 1.25 (s, 50H), 0.87 (dd, J = 6.7, 5.8 Hz, 15H).

[0941] 화합물 XII의 합성

[0942] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 6-[2-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-헥실테카노에이트(0.4 g, 0.359 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.103 g, 0.718 mmol)의 용액에 DIPEA(0.056 g, 0.431 mmol), DMAP(0.004 g, 0.036 mmol)를 첨가하고, 이어서 빙욕 하에서 EDCI(0.08 g, 0.431 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 0% 내지 20% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.278 g, 62.5% 수율)를 수득하였다.

[0943] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.43 - 4.30 (m, 1H), 4.27 - 4.21 (m, 2H), 4.05 (td, J = 6.6, 2.1 Hz, 4H), 3.72 - 3.29 (m, 26H), 2.84 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.38 - 2.23 (m, 6H), 2.05 (s, 2H), 1.95 (d, J = 15.4 Hz, 2H), 1.86 - 1.74 (m, 3H), 1.67 - 1.52 (m, 14H), 1.46 - 1.33 (m, 12H), 1.25 (s, 50H), 0.87 (t, 15H).

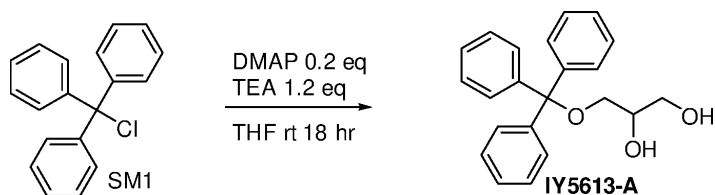
[0944] 실시예 8: -[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로파노일-옥틸아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XIII)의 합성

[0945] [화합물 XIII]

[0946]

[0947] 도 7의 합성 반응도식에 따라 화합물 XIII를 제조한다.

[0948] LE-1-IY5613의 합성

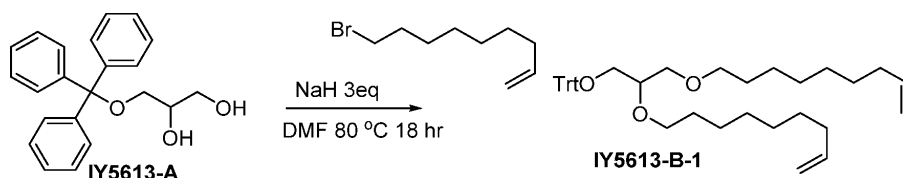


[0949]

[0950] 트리틸 클로라이드(96.6 g, 347 mmol), 글리세롤(129 g, 1400 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민(966 mg, 7.91 mmol)을 300 mL의 THF 중에 용해시켰다. 트리에틸아민(42.5 g, 420 mmol)을 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 22 h 동안 교반하였다. 그 후 300 mL의 에틸 아세테이트 및 300 mL의 H₂O를 용액에 첨가하였다. 유기 상을 수집하고, 2*300 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 200 mL의 10%(w/v) NaHCO₃로 세척하고, 그 후 200 mL의 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 증발시키고, 잔존 오일을 벤젠/헥산 중에서 재결정화하였다. 수득된 생성물을 실리카 겔 컬럼(용리 구배: CH₂Cl₂/MeOH, DCM 중 5% MeOH) 상에서 추가로 정제하여, 백색 고체로서 3-트리틸옥시프로판-1,2-디올(67.9 g, 203 mmol, 63.7% 수율)을 수득하였다.

[0951] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 (d, J = 7.8 Hz, 6H), 7.31 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 7.24 (dd, J = 8.9, 5.5 Hz, 3H), 3.85 (s, 1H), 3.62 (dt, J = 11.3, 8.5 Hz, 2H), 3.24 (ddd, J = 15.6, 9.6, 5.3 Hz, 2H), 2.53 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 2.02 (s, 1H).

[0952] IY5613-B-1의 합성

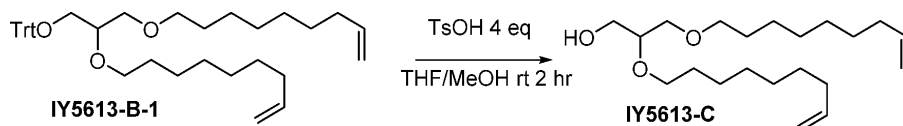


[0953]

[0954] 500 mL의 무수 N,N-디메틸포름아미드 중 NaH(24.4 g, 5.0 eq)의 현탁액에 3-트리틸옥시프로판-1,2-디올(67.9 g, 1.0 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 1 hr 동안 가열하고, 실온까지 냉각시켰다. 50 mL의 무수 DMF 중 9-브로모노-1-엔(104 g, 2.5 eq)을 0°C에서 혼합물에 적가하고, 그 후 이를 80°C 하에서 18 h 동안 가열하였다. RT까지 냉각시킨 후에, 1000 mL의 H₂O를 첨가하여 세척하고, 연속적으로 500 mL의 5%(w/v) NaHCO₃ 및 500 mL의 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에서 증발시키고, 생성된 오일을 석유 에테르/에틸 아세테이트(석유 에테르 중 0% 내지 20% 에틸 아세테이트)로 용리되는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여 무색 오일(20 g, 16.6% 수율)을 수득하였다.

[0955] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (dd, J = 5.2, 3.4 Hz, 6H), 7.31 - 7.26 (m, 6H), 7.25 - 7.20 (m, 3H), 5.80 (ttt, J = 13.1, 6.7, 2.7 Hz, 2H), 5.02 - 4.89 (m, 4H), 3.59 - 3.35 (m, 7H), 3.21 - 3.11 (m, 2H), 2.08 - 1.98 (m, 4H), 1.55 - 1.24 (m, 20H).

[0956] IY5613-C의 합성

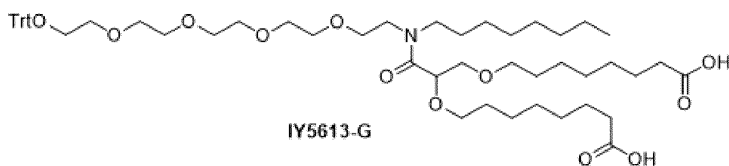


[0957]

[0958] THF/MeOH(100 ml/100 ml) 중 [2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시-디페닐-메틸]벤젠(27 g, 46.3 mmol)의 용액에 톨루엔-4-설폰산(6.53 g, 34.3 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 농축시키고, 에틸 아세테이트(100 ml)로 희석시키고, NaHCO₃ aq.(100 x 2 ml), 염수(100 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 20% EA)으로 정제하여, 무색 오일로서 2,3-비스(논-8-에녹시)프로판-1-올(12.8 g, 35.7 mmol, 수율 77.1%)을 수득하였다.

[0959] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.81 (ddt, J = 16.9, 10.2, 6.7 Hz, 2H), 5.06 - 4.88 (m, 4H), 3.76 - 3.41 (m, 9H), 2.04 (q, J = 6.9 Hz, 4H), 1.56 (dt, J = 13.6, 6.9 Hz, 4H), 1.40 - 1.27 (m, 16H).

[0972] IY5613-G의 합성



[0973]

[0974] ACN/CC14/H₂O(80 ml/80 ml/80 ml) 중 2,3-비스(옥트-7-에녹시)-N-옥틸-N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]프로판아미드(8.22 g, 9.13 mmol)의 용액에 NaIO₄(15.6 g, 73 mmol), 염화루테튬(III) 수화물(412 mg, 1.83 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 18 hr 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 에틸 아세테이트(EA)(500 ml)로 처리하고, Na₂S₂O₃ aq(300 ml), 염수(300 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 농축시키고, tert-부틸 알코올/물(120 ml/40 ml)로 처리하였다. 아염소산나트륨(2.48 g, 27.4 mmol), 2-메틸-2-부텐(16 g, 228 mmol) 및 인산이수소나트륨(3.29 g, 27.4 mmol)을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 에틸 아세테이트(EA)(500 ml)로 처리하고, 물(500 ml), 염수(300 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피(DCM 중 10% MeOH)로 정제하여, 회색 오일로서 7-[2-(6-카르복시헥소시)-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥탄산(5.11 g, 5.19 mmol, 수율 56.8%)을 수득하였다.

[0975] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.48 (dd, J = 15.2, 13.8 Hz, 6H), 7.29 (dd, J = 10.1, 4.8 Hz, 6H), 7.22 (dd, J = 8.3, 6.1 Hz, 3H), 4.38 (ddd, J = 35.0, 7.3, 4.4 Hz, 1H), 3.80 - 3.33 (m, 26H), 3.23 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.50 - 2.24 (m, 4H), 1.56 - 1.18 (m, 28H), 0.87 (q, J = 6.8 Hz, 3H).

[0976] IY5613-7의 합성

[0977] DCM(80 ml) 중 7-[2-(6-카르복시헥소시)-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥탄산(5.1 g, 5.45 mmol)의 용액에 (Z)-논-2-엔-1-올(1.86 mg, 13.1 mmol), EDC HCl(3.13 g, 16.3 mmol), DIEA(2.46 g, 19.1 mmol) 및 DMAP(333 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 18 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 25% EA)으로 정제하여, 무색 오일로서 [(Z)-논-2-엔일] 8-[2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]옥타노에이트(2.27 g, 1.83 mmol, 수율 33.7%)를 수득하였다.

[0978] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, J = 7.4 Hz, 6H), 7.29 (t, J = 7.5 Hz, 6H), 7.22 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 5.64 (dd, J = 18.3, 7.5 Hz, 2H), 5.55 - 5.47 (m, 2H), 4.61 (d, J = 6.9 Hz, 4H), 4.42 - 4.28 (m, 1H), 3.69 - 3.38 (m, 26H), 3.23 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.29 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 2.09 (q, J = 7.3 Hz, 4H), 1.52 - 1.24 (m, 48H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 9H).

[0979] IY5613-8의 합성

[0980] THF/MeOH(15 ml/15 ml) 중 [(Z)-논-2-엔일] 8-[2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]옥타노에이트(2.38 g, 1.96 mmol)의 용액에 톨루엔-4-설폰산(560 mg, 2.94 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 2 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 에틸 아세테이트(150 ml)로 희석시키고, 물(150 ml), 염수(150 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 혼합물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(DCM 중 5% MeOH)으로 정제하여, 무색 오일로서 [(Z)-논-2-엔일] 8-[3-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]-3-옥소-프로폭시]옥타노에이트(1.51 g, 1.52 mmol, 수율 77.7%)를 수득하였다.

[0981] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.69 - 5.46 (m, 4H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 4.43 - 4.29 (m, 1H), 3.74 - 3.40 (m, 28H), 2.29 (td, J = 7.7, 1.5 Hz, 4H), 2.10 (dd, J = 14.1, 7.0 Hz, 4H), 1.61 - 1.21 (m, 48H), 0.88 (td, J = 6.7, 4.3 Hz, 9H).

[0982] 화합물 XIII의 합성

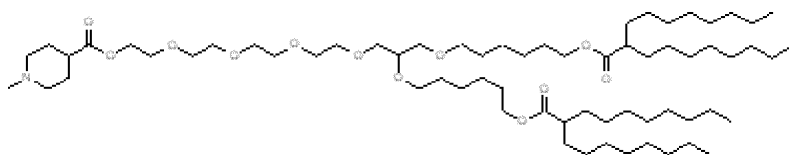
[0983] DCM(6 ml) 중 [(Z)-논-2-엔일] 8-[3-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-

옥소-옥톡시]-3-옥소-프로폭시]옥타노에이트(400 mg, 0.41 mmol)의 용액에 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(88.5 mg, 0.62 mmol), EDCI(158 mg, 0.82 mmol), DIEA(133 mg, 1.03 mmol) 및 DMAP(10 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 18 h 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 에틸 아세테이트(50 ml)로 희석시키고, 물(50 ml), 염수(50 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(DCM 중 5% MeOH)으로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(269 mg, 0.24 mmol, 수율 58.3%)를 수득하였다.

[0984] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.64 (dd, J = 18.3, 7.5 Hz, 2H), 5.56 - 5.47 (m, 2H), 4.62 (d, J = 6.9 Hz, 4H), 4.41 - 4.31 (m, 1H), 4.26 - 4.20 (m, 2H), 3.71 - 3.56 (m, 20H), 3.43 (ddd, J = 18.7, 12.5, 7.2 Hz, 6H), 2.84 (s, 2H), 2.49 - 2.24 (m, 9H), 2.10 (dd, J = 14.2, 6.8 Hz, 5H), 1.89 (d, J = 44.2 Hz, 4H), 1.60 (d, J = 6.8 Hz, 8H), 1.40 - 1.19 (m, 40H), 0.88 (dt, J = 6.9, 4.3 Hz, 9H).

[0985] **실시예 9: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-옥틸테카노일옥시)헥속시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XIV)의 합성**

[0986] [화합물 XIV]



[0987]

[0988] 도 8의 합성 반응도식에 따라 화합물 XIV를 제조한다.

[0989] EXP-21-IJ5617의 합성

[0990] 건조 DCM(20 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(6-하이드록시헥속시)프로폭시]헥산-1-올(1.6 g, 2.86 mmol)의 용액에 실온에서 2-옥틸테칸산(2.44 g, 8.59 mmol), DIPEA(2.22 g, 17.2 mmol) 및 DMAP(0.14 g, 1.15 mmol)를 첨가하였다. 그 후 혼합물을 0℃까지 냉각시키고, 15 min에 걸쳐 EDCI(1.43 g, 7.45 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 실온에서 17시간 동안 교반하였다. TLC(DCM 중 5% CH₃OH)는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 반응물을 물에 붓고, DCM으로 추출하였다. 물을 DCM으로 1회 더 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 그 후 DCM 중 CH₃OH(0 내지 4%)(3%)를 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸테카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-옥틸테카노에이트(1.65 g, 52.8% 수율)를 수득하였다.

[0991] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.10 - 4.01 (m, 4H), 3.71 - 3.38 (m, 25H), 2.35 - 2.26 (m, 2H), 1.67 - 1.34 (m, 24H), 1.33 - 1.17 (m, 50H), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[0992] EtOAc(20 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸테카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-옥틸테카노에이트(1.6 g, 1.47 mmol)의 용액을 N₂로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(20% wt/wt, 0.4 g)를 첨가하고, 반응물을 N₂로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서 소기시키고, H₂로 3회 재충전하였다. 그 다음, 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 슬러리를 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 수회 행구었다. 그 다음, 합한 유기물을 진공 하에서 농축시켜, 밝은 황색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸테카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-옥틸테카노에이트(1.38 g, 94.0% 수율)를 수득하였다.

[0993] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.15 - 4.02 (m, 4H), 3.75 - 3.40 (m, 25H), 2.35 - 2.26 (m, 2H), 1.68 - 1.53 (m, 12H), 1.46 - 1.34 (m, 12H), 1.27 (d, J = 16.3 Hz, 48H), 0.88 (t, J = 6.7 Hz, 12H).

[0994] 화합물 XIV의 합성

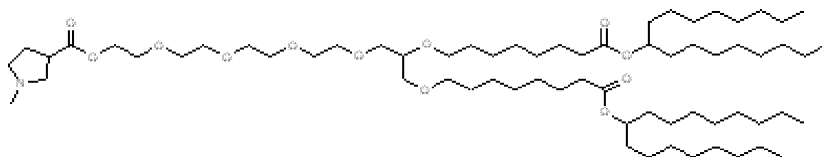
[0995] 건조 DCM(20 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸테카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-옥틸테카노에이트(1.0 g, 1.00 mmol)의 용액에 실온에서 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.21 g, 1.50 mmol), DIPEA(0.39 g, 3.00 mmol) 및 DMAP(0.02 g, 0.20 mmol)를 첨가하였다. 그 후 혼합물을 0℃까지 냉각시키고, 15 min에 걸쳐 EDCI(0.29 g, 1.50 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 실온에서 17시간 동안 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 반응물을 물에 붓고, DCM으로 추출하였다. 물을 DCM으로 1회

더 추출하였다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 그 후 DCM 중 CH₃OH(0 내지 10%)(8%)를 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥소시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(476 mg, 42.3% 수율)를 수득하였다.

[0996] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.27 - 4.20 (m, 2H), 4.10 - 4.02 (m, 4H), 3.71 - 3.39 (m, 23H), 2.82 (d, J = 11.6 Hz, 2H), 2.32 - 2.26 (m, 5H), 2.13 (s, 2H), 2.02 - 1.90 (m, 3H), 1.84 - 1.73 (m, 2H), 1.68 - 1.52 (m, 12H), 1.49 - 1.34 (m, 12H), 1.32 - 1.21 (m, 48H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[0997] **실시예 10: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥옥시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(화합물 XV)의 합성**

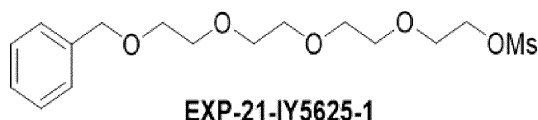
[0998] [화합물 XV]



[0999]

[1000] 도 9의 합성 반응도식에 따라 화합물 XV를 제조한다.

[1001] 하기 화합물의 합성

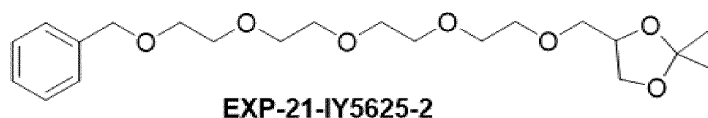


[1002]

[1003] DCM(400 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 Et₃N(35.6 g, 352 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설폰일 클로라이드(30.2 g, 264 mmol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설폰에이트(64.1 g, 172 mmol, 97.5% 수율)를 수득하였다.

[1004] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.40 - 4.33 (m, 2H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.69 - 3.60 (m, 12H), 3.06 (s, 3H).

[1005] EXP-21-IY5625-2의 합성



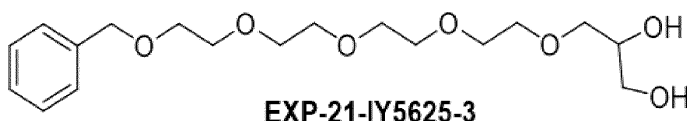
[1006]

[1007] THF(500 mL) 중 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(24.6 g, 177 mmol)의 용액에 NaH(14.1 g, 354 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80℃까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설폰에이트(64.1 g, 177 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 24 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(300 mL)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(600 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(EA)(600 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 24-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 116 mmol, 65.6% 수율)을 수득하였다.

[1008] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) m/z=421.4(M+23)⁺(2.154에서). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.26 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.32 - 4.22 (m, 1H), 4.07 - 4.01 (m, 1H), 3.75 - 3.70 (m, 1H), 3.69 - 3.60 (m, 16H),

3.59 - 3.55 (m, 1H), 3.51 - 3.47 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

[1009] EXP-21-IY5625-3의 합성

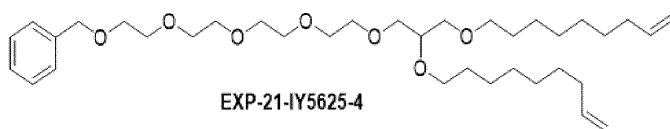


[1010]

[1011] AcOH(200 mL) 및 H₂O(200 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 122 mmol)의 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(43.7 g, 116 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1012] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.23 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.72 - 3.49 (m, 21H).

[1013] EXP-21-IY5625-4의 합성

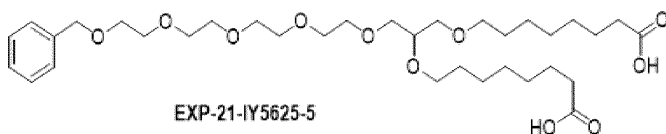


[1014]

[1015] 질소 하에서 건조 DMF(200 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(24 g, 60.3 mmol)의 용액에 NaH(9.64 g, 241 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 80°C에서 15 min 동안 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모노-1-엔(31.9 g, 151 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 80°C에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.5)는 새로운 스폿이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(50 mL)로 켄칭하고, 그 후 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸벤젠(13.24 g, 20.7 mmol, 32.6% 수율)을 수득하였다.

[1016] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 5.86 - 5.75 (m, 2H), 5.03 - 4.89 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 17H), 3.58 - 3.40 (m, 9H), 2.08 - 1.99 (m, 4H), 1.61 - 1.51 (m, 4H), 1.42 - 1.27 (m, 16H).

[1017] EXP-21-IY5625-5의 합성



[1018]

[1019] MeCN(120 mL), CC14(120 mL) 및 물(120 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸 벤젠(13.24 g, 20.7 mmol)의 용액에 NaIO₄(35.5 g, 166 mmol) 및 RuCl₃(935 mg, 4.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. LCMS는 표제 화합물이 부분 모노-알데하이드 생성물과 함께 주 생성물임을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 Na₂S₂O₃ 용액으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 담녹색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 8.28 mmol, 39.9% 수율)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

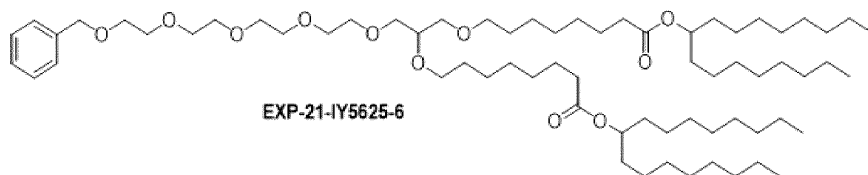
[1020] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.79 - 9.72 (m, 1H), 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.72 - 3.37 (m, 26H), 2.45 - 2.39 (m, 1H), 2.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.68 - 1.49 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1021] 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-옥소옥톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 12.7 mmol, 60% 순도)을 NaH₂PO₄·2H₂O(7.64 g, 63.7 mmol), 2-메틸-2-부텐(60 mL) 및 아염소산나트륨(7.2 g, 63.7

mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 100 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH₃OH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 맑은 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 9.83 mmol, 77.2% 수율) 및 부분 산화 생성물(2.78 g)을 수득하였다.

[1022] ¹H NMR (500 MHz, CDC13) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 16H), 3.58 - 3.40 (m, 10H), 2.38 - 2.25 (m, 4H), 1.68 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 14.9 Hz, 12H).

[1023] EXP-21-IY5625-6의 합성

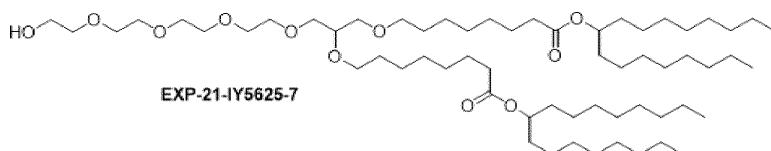


[1024]

[1025] 건조 DCM(100 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 10.3 mmol), 헵타데칸-9-올(7.96 g, 31 mmol), DMAP(506 mg, 4.14 mmol), EDCI HCl(5.16 g, 26.9 mmol) 및 DIEA(8.02 g, 62.1 mmol)의 혼합물. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(500 mL)을 첨가하고, 이를 1 N HCl, NaCl로 세척하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 CH₃OH(0 내지 4%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.05 mmol, 30.5% 수율)를 수득하였다.

[1026] ¹H NMR (400 MHz, CDC13) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.90 - 4.81 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.61 (m, 16H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.62 - 1.46 (m, 16H), 1.28 (d, J = 22.7 Hz, 60H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[1027] EXP-21-IY5625-7의 합성



[1028]

[1029] 에틸 아세테이트(50 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.22 mmol)의 용액에 Pd/C(1.1 g, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(CH₃OH/DCM(3%))는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시 에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.187 g, 3.1 mmol, 96.3% 수율)를 수득하였다.

[1030] ¹H NMR (400 MHz, CDC13) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.39 (m, 23H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

[1031] 화합물 XV의 합성

[1032] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시 에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.500 g, 0.486 mmol) 및 1-메틸피롤리딘-3-카르복실산(0.188 g, 1.46 mmol)의 용액에 DIPEA(0.188 g, 1.46 mmol) 및 DMAP(0.018 g, 0.146 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피

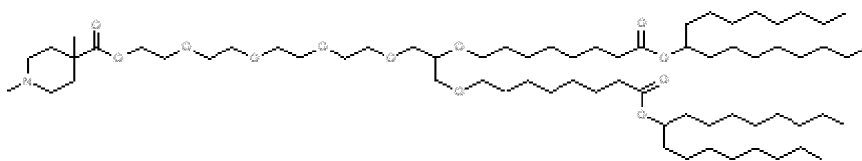
(DCM 중 0 내지 5% CH₃OH(4%))로 정제하여, 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피롤리딘-3-카르복실레이트(0.3149 g, 0.271 mmol, 55.7% 수율)를 수득하였다.

[1033] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=1141.9(M+H)^+$ (2.54에서)

[1034] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.92 - 4.80 (m, 2H), 4.29 - 4.22 (m, 2H), 3.75 - 3.37 (m, 23H), 3.18 - 3.06 (m, 1H), 2.92 (s, 1H), 2.78 - 2.51 (m, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.30 - 2.24 (m, 4H), 2.20 - 2.09 (m, 2H), 1.64 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.93 - 0.83 (m, 12H).

[1035] **실시예 11: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸 피페리딘-3-카르복실레이트(화합물 XVI)의 합성**

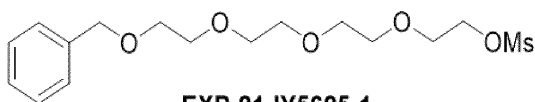
[1036] [화합물 XVI]



[1037]

[1038] 도 10의 합성 반응도식에 따라 화합물 XVI를 제조한다.

[1039] EXP-21-IY5625-1의 합성

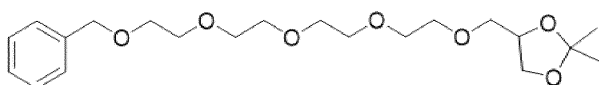


[1040] **EXP-21-IY5625-1**

[1041] DCM(400 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 Et₃N(35.6 g, 352 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설폰일 클로라이드(30.2 g, 264 mmol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)]에톡시]에틸 메탄설폰네이트(64.1 g, 172 mmol, 97.5% 수율)를 수득하였다.

[1042] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.40 - 4.33 (m, 2H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.69 - 3.60 (m, 12H), 3.06 (s, 3H)

[1043] EXP-21-IY5625-2의 합성



[1044] **EXP-21-IY5625-2**

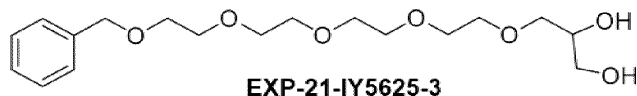
[1045] THF(500 mL) 중 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(24.6 g, 177 mmol)의 용액에 NaH(14.1 g, 354 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80℃까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)]에톡시]에틸 메탄설폰네이트(64.1 g, 177 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 24 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(300 mL)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(600 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(EA)(600 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 24-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)]에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 116 mmol, 65.6% 수율)을 수득하였다.

[1046] -LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=421.4(M+23)^+$ (2.154에서)

[1047] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.26 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.32 - 4.22 (m, 1H), 4.07 - 4.01 (m,

1H), 3.75 - 3.70 (m, 1H), 3.69 - 3.60 (m, 16H), 3.59 - 3.55 (m, 1H), 3.51 - 3.47 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

[1048] EXP-21-IY5625-3의 합성

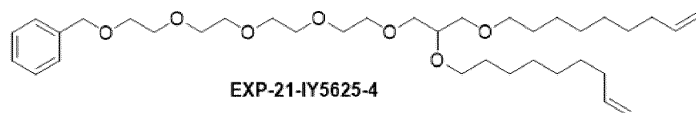


[1049]

[1050] AcOH(200 mL) 및 H₂O(200 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 122 mmol)의 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(43.7 g, 116 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1051] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.23 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.72 - 3.49 (m, 21H).

[1052] EXP-21-IY5625-4의 합성

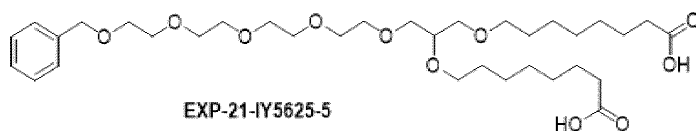


[1053]

[1054] 질소 하에서 건조 DMF(200 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(24 g, 60.3 mmol)의 용액에 NaH(9.64 g, 241 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 80°C에서 15 min 동안 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모노-1-엔(31.9 g, 151 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 80°C에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.5)는 새로운 스폿이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(50 mL)로 켄칭하고, 그 후 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]메틸벤젠(13.24 g, 20.7 mmol, 32.6% 수율)을 수득하였다.

[1055] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 5.86 - 5.75 (m, 2H), 5.03 - 4.89 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 17H), 3.58 - 3.40 (m, 9H), 2.08 - 1.99 (m, 4H), 1.61 - 1.51 (m, 4H), 1.42 - 1.27 (m, 16H).

[1056] EXP-21-IY5625-5의 합성



[1057]

[1058] MeCN(120 mL), CC14(120 mL) 및 물(120 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]메틸 벤젠(13.24 g, 20.7 mmol)의 용액에 NaIO₄(35.5 g, 166 mmol) 및 RuCl₃(935 mg, 4.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. LCMS는 표제 화합물이 부분 모노-알데하이드 생성물과 함께 주 생성물임을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 Na₂S₂O₃ 용액으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 담녹색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 8.28 mmol, 39.9% 수율)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

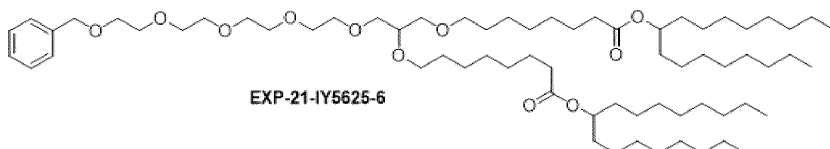
[1059] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.79 - 9.72 (m, 1H), 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.72 - 3.37 (m, 26H), 2.45 - 2.39 (m, 1H), 2.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.68 - 1.49 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1060] 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-옥소옥톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 12.7 mmol, 60% 순도)을 NaH₂PO₄·2H₂O(7.64 g, 63.7 mmol), 2-메틸-2-부텐(60 mL) 및 아염소산나트륨(7.2 g, 63.7

mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 100 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS 는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 맑은 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 9.83 mmol, 77.2% 수율) 및 부분 산화 생성물(2.78 g)을 수득하였다.

[1061] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 16H), 3.58 - 3.40 (m, 10H), 2.38 - 2.25 (m, 4H), 1.68 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 14.9 Hz, 12H).

[1062] EXP-21-IY5625-6의 합성

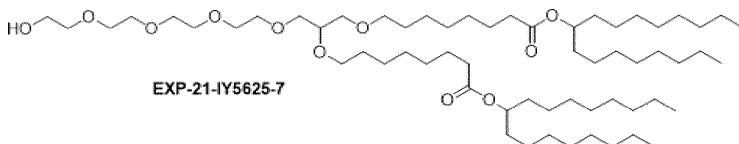


[1063]

[1064] 건조 DCM(100 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 10.3 mmol), 헵타데칸-9-올(7.96 g, 31 mmol), DMAP(506 mg, 4.14 mmol), EDCI HCl(5.16 g, 26.9 mmol) 및 디이소프로필에틸아민(DIEA)(8.02 g, 62.1 mmol)의 혼합물. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(500 mL)을 첨가하고, 이를 1 N HCl, NaCl로 세척하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 CH₃OH(0 내지 4%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.05 mmol, 30.5% 수율)를 수득하였다.

[1065] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.90 - 4.81 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.61 (m, 16H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.62 - 1.46 (m, 16H), 1.28 (d, J = 22.7 Hz, 60H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[1066] EXP-21-IY5625-7의 합성



[1067]

[1068] 에틸 아세테이트(50 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.22 mmol)의 용액에 Pd/C(1.1 g, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(CH₃OH/DCM(3%))는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시 에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.187 g, 3.1 mmol, 96.3% 수율)를 수득하였다.

[1069] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.39 (m, 23H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

[1070] 화합물 XVI의 합성

[1071] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.500 g, 0.486 mmol) 및 1-메틸피롤리딘-3-카르복실산(0.297 g, 1.46 mmol)의 용액에 DIPEA(0.377 g, 2.97 mmol) 및 DMAP(0.018 g, 0.146 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피

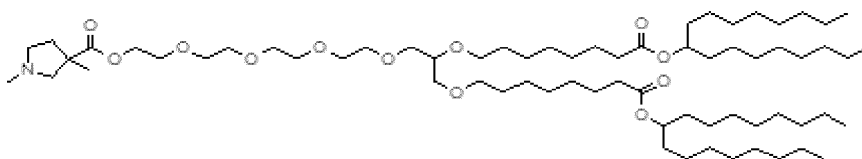
(DCM 중 0 내지 5% CH₃OH(4%))로 정제하여, 담황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.4171 g, 0.350 mmol, 72.0% 수율)를 수득하였다.

[1072] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=1169.1(M+H)^+$ (2.3 min에서)

[1073] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.91 - 4.81 (m, 2H), 4.31 - 4.25 (m, 2H), 3.72 - 3.39 (m, 23H), 2.78 (s, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.32 - 2.14 (m, 8H), 1.64 - 1.47 (m, 16H), 1.34 - 1.20 (m, 65H), 0.92 - 0.84 (m, 12H).

[1074] **실시예 12: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,3-디메틸피롤리딘-3-카르복실레이트(화합물 XVII)의 합성**

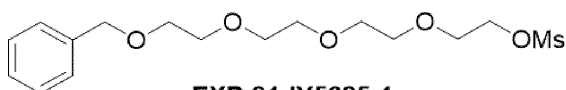
[1075] [화합물 XVII]



[1076]

[1077] 도 11의 합성 반응도식에 따라 화합물 XVII를 제조한다.

[1078] EXP-21-IY5627의 합성

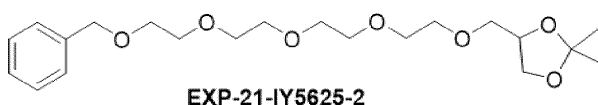


[1079]

[1080] DCM(400 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 Et₃N(35.6 g, 352 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설포닐 클로라이드(30.2 g, 264 mmol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(64.1 g, 172 mmol, 97.5% 수율)를 수득하였다.

[1081] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.40 - 4.33 (m, 2H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.69 - 3.60 (m, 12H), 3.06 (s, 3H).

[1082] EXP-21-IY5625-2의 합성



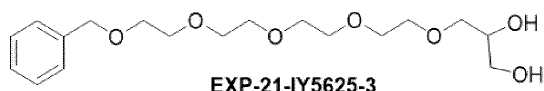
[1083]

[1084] THF(500 mL) 중 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(24.6 g, 177 mmol)의 용액에 NaH(14.1 g, 354 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80℃까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(64.1 g, 177 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 24 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(300 mL)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(600 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(EA)(600 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 24-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 116 mmol, 65.6% 수율)을 수득하였다.

[1085] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=421.4(M+23)^+$ (2.154에서). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.26 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.32 - 4.22 (m, 1H), 4.07 - 4.01 (m, 1H), 3.75 - 3.70 (m, 1H), 3.69 - 3.60 (m, 16H),

3.59 - 3.55 (m, 1H), 3.51 - 3.47 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

[1086] EXP-21-IY5625-3의 합성

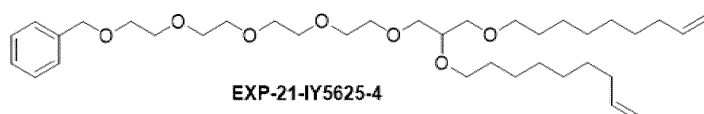


[1087]

[1088] AcOH(200 mL) 및 H₂O(200 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 122 mmol)의 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(43.7 g, 116 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1089] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.23 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.72 - 3.49 (m, 21H).

[1090] EXP-21-IY5625-4의 합성

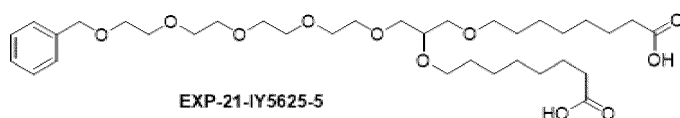


[1091]

[1092] 질소 하에서 건조 DMF(200 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(24 g, 60.3 mmol)의 용액에 NaH(9.64 g, 241 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 80°C에서 15 min 동안 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모논-1-엔(31.9 g, 151 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 80°C에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.5)는 새로운 스팟이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(50 mL)로 채청하고, 그 후 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸벤젠(13.24 g, 20.7 mmol, 32.6% 수율)을 수득하였다.

[1093] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 5.86 - 5.75 (m, 2H), 5.03 - 4.89 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 17H), 3.58 - 3.40 (m, 9H), 2.08 - 1.99 (m, 4H), 1.61 - 1.51 (m, 4H), 1.42 - 1.27 (m, 16H).

[1094] EXP-21-IY5625-5의 합성



[1095]

[1096] MeCN(120 mL), CCl₄(120 mL) 및 물(120 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸 벤젠(13.24 g, 20.7 mmol)의 용액에 NaIO₄(35.5 g, 166 mmol) 및 RuCl₃(935 mg, 4.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. LCMS는 표제 화합물이 부분 모노-알데하이드 생성물과 함께 주 생성물임을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 Na₂S₂O₃ 용액으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 담녹색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 8.28 mmol, 39.9% 수율)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

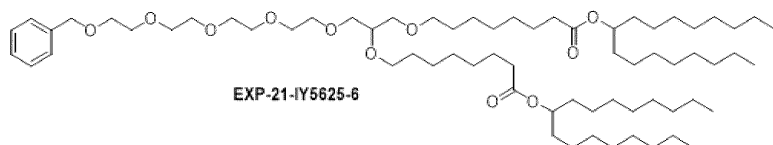
[1097] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.79 - 9.72 (m, 1H), 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.72 - 3.37 (m, 26H), 2.45 - 2.39 (m, 1H), 2.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.68 - 1.49 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1098] 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-옥소옥톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 12.7 mmol, 60% 순도)을 NaH₂PO₄·2H₂O(7.64 g, 63.7 mmol), 2-메틸-2-부텐(60 mL) 및 아염소산나트륨(7.2 g, 63.7

mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 100 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS 는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH₃OH로 용리 되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 맑은 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 9.83 mmol, 77.2% 수율) 및 부분 산화 생성물(2.78 g)을 수득하였다.

[1099] ¹H NMR (500 MHz, CDC13) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 16H), 3.58 - 3.40 (m, 10H), 2.38 - 2.25 (m, 4H), 1.68 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 14.9 Hz, 12H).

[1100] EXP-21-IY5625-6의 합성

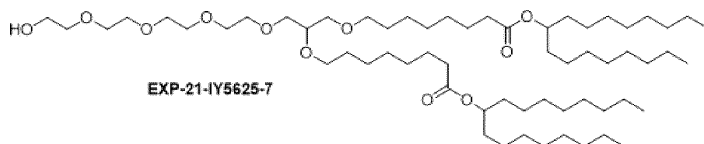


[1101]

[1102] 건조 DCM(100 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 10.3 mmol), 헵타데칸-9-올(7.96 g, 31 mmol), DMAP(506 mg, 4.14 mmol), EDCI HCl(5.16 g, 26.9 mmol) 및 DIEA(8.02 g, 62.1 mmol)의 혼합물. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(500 mL)을 첨가하고, 이를 1 N HCl, NaCl로 세척하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 CH₃OH(0 내지 4%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.05 mmol, 30.5% 수율)를 수득하였다.

[1103] ¹H NMR (400 MHz, CDC13) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.90 - 4.81 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.61 (m, 16H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.62 - 1.46 (m, 16H), 1.28 (d, J = 22.7 Hz, 60H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[1104] EXP-21-IY5625-7의 합성



[1105]

[1106] 에틸 아세테이트(50 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.22 mmol)의 용액에 Pd/C(1.1 g, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(CH₃OH/DCM(3%))는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시 에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.187 g, 3.1 mmol, 96.3% 수율)를 수득하였다.

[1107] ¹H NMR (400 MHz, CDC13) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.39 (m, 23H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

[1108] 화합물 XVI의 합성

[1109] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시 에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.500 g, 0.486 mmol) 및 1,3-디메틸피롤리딘-3-카르복실산(0.209 g, 1.46 mmol)의 용액에 DIPEA(0.188 g, 1.46 mmol) 및 DMAP(0.018 g, 0.146 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피

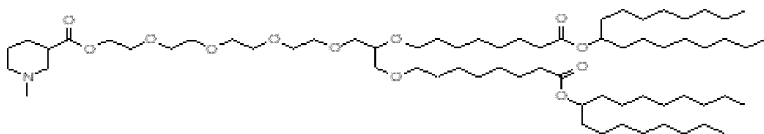
(DCM 중 0 내지 5% CH₃OH(4%))로 정제하여, 담황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,3-디메틸피페리딘-3-카르복실레이트(0.2761 g, 0.230 mmol, 47.3% 수율)를 수득하였다.

[1110] LCMSA; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=1155.9(M+H)^+$ (4.60 min에서)

[1111] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.91 - 4.82 (m, 2H), 4.31 - 4.22 (m, 2H), 3.70 (t, J = 4.9 Hz, 2H), 3.64 (d, J = 6.9 Hz, 12H), 3.60 - 3.39 (m, 9H), 3.03 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 2.66 (t, J = 25.5 Hz, 2H), 2.55 - 2.41 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.30 - 2.23 (m, 4H), 1.64 - 1.47 (m, 17H), 1.38 (s, 3H), 1.34 - 1.21 (m, 60H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 12H).

[1112] **실시예 13: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(화합물 XVIII)의 합성**

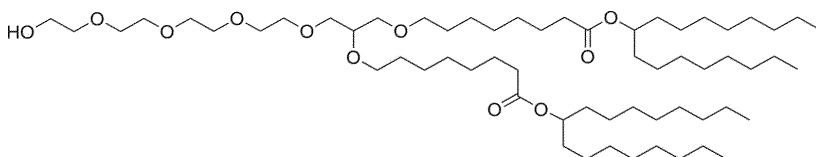
[1113] [화합물 XVIII]



[1114]

[1115] 중간체 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트로부터 도 12의 합성 반응도식에 따라 화합물 XVIII를 제조한다.

[1116] 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소옥톡시]프로폭시]옥타노에이트의 합성



[1117]

[1118] 에틸 아세테이트(50 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.22 mmol)의 용액에 Pd/C(1.1 g, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(CH₃OH/DCM(3%))는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.187 g, 3.1 mmol, 96.3% 수율)를 수득하였다.

[1119] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.39 (m, 23H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

[1120] 화합물 XVIII의 합성

[1121] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.500 g, 0.486 mmol) 및 1-메틸피페리딘-3-카르복실산(0.209 g, 1.46 mmol)의 용액에 DIPEA(0.188 g, 1.46 mmol) 및 DMAP(0.018 g, 0.146 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 5% CH₃OH(4%))로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-3-카르복실레이트(0.3595 g, 0.299 mmol, 61.5% 수율)를 수득하였다.

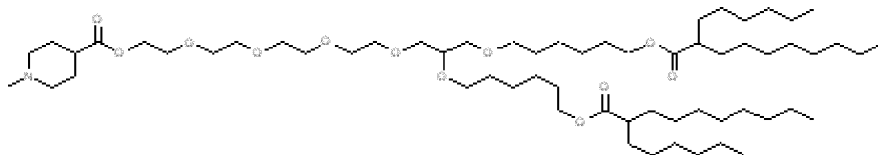
[1122] 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=1155.0(M+H)^+$ (3.88 min에서)

[1123] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.91 - 4.81 (m, 2H), 4.29 - 4.19 (m, 2H), 3.74 - 3.60 (m, 14H), 3.59 - 3.36 (m, 9H), 2.96 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 2.68 (d, J = 36.1 Hz, 2H), 2.34 - 2.22 (m, 7H), 2.17 (d, J = 10.7

Hz, 1H), 2.03 - 1.92 (m, 2H), 1.77 - 1.71 (m, 1H), 1.65 - 1.45 (m, 17H), 1.42 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 1.34 - 1.22 (m, 60H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 12H).

[1124] **실시예 14: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XIX)의 합성**

[1125] [화합물 XIX]



[1126]

[1127] 도 12의 합성 반응도식에 따라 화합물 XIX를 제조한다.

[1128] IY5616-SM1의 합성

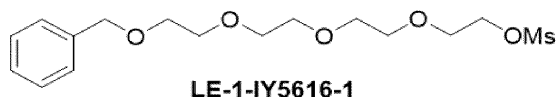


[1129]

[1130] DCM(500 mL) 중 6-브로모헥산-1-올(18 g, 0.10 mol) 및 3,4-디하이드로-2H-피란(8.61 g, 0.1 mol)의 용액에 피리디늄 p-톨루엔설포네이트(PPTS)(2.75 g, 0.01 mol)를 첨가하고, 그 후 실온에서 3 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/9, SM Rf: 0.2; 생성물, Rf: 0.7)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 0 내지 10% EA(5%))으로 정제하여, 무색 오일로서 2-(6-브로모헥속시)테트라하이드로피란(20.3 g, 77.0% 수율)을 수득하였다.

[1131] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.57 (t, J = 3.6 Hz, 1H), 3.92 - 3.82 (m, 1H), 3.79 - 3.69 (m, 1H), 3.56 - 3.46 (m, 1H), 3.46 - 3.34 (m, 3H), 1.94 - 1.77 (m, 3H), 1.75 - 1.69 (m, 1H), 1.66 - 1.35 (m, 10H).

[1132] IY5616-1의 합성

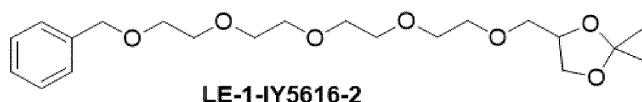


[1133]

[1134] 0℃에서 건조 디클로로메탄(100 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(10 g, 35.2 mmol) 및 트리에틸아민(7.12 g, 70.3 mmol). 건조 DCM(10 mL) 중 메탄설포닐 클로라이드(6.04 g, 52.8 mmol)를 0℃에서 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온까지 가온되게 하고, 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 트리에틸아민 하이드로클로라이드를 여과하고, DCM 용액을 0.1 N HCl로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 제거하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(12.8 g, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1135] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.41 - 4.31 (m, 2H), 3.79 - 3.72 (m, 2H), 3.70 - 3.60 (m, 12H), 3.05 (d, J = 9.8 Hz, 3H).

[1136] IY5616-2의 합성

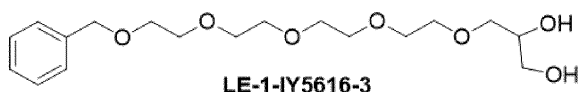


[1137]

[1138] THF(100 mL) 중 브로모메틸벤젠(12.8 g, 35.5 mmol)을 0℃에서 THF(50 mL) 중 NaH(4.24 g, 0.106 mol)에 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 30 min 동안 교반하였다. (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(4.67 g, 35.3 mmol)을 이 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 1 hr 동안 교반하고, 그 후 18 hr 동안 75℃까지 상승시켰다. 혼합물을 물로 토크닝하고, 에틸 아세테이트(EA)(500 mL)로 추출하였다. 유기물을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 플래시 크로마토그래피 컬럼(DCM 중 5% 내지 10%(8%) MeOH)으로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 4-(벤질옥시메틸)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(10.64 g, 수율 75.6%)을 수득하였다.

[1139] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.23 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.31 - 4.21 (m, 1H), 4.08 - 4.00 (m, 1H), 3.75 - 3.70 (m, 1H), 3.69 - 3.61 (m, 16H), 3.60 - 3.54 (m, 1H), 3.53 - 3.46 (m, 1H), 1.45 - 1.40 (m, 3H), 1.36 (d, J = 7.7 Hz, 3H).

[1140] IY5616-3의 합성

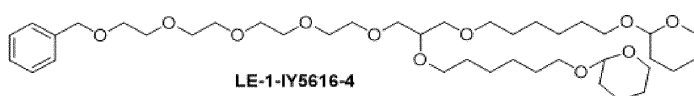


[1141]

[1142] AcOH(50 mL) 및 물(50 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(10.6 g, 26.7 mmol)의 혼합물. 혼합물을 주위 온도에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(10.0 g, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1143] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.34 - 7.13 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.89 - 3.81 (m, 1H), 3.68 - 3.52 (m, 20H).

[1144] IY5616-4의 합성

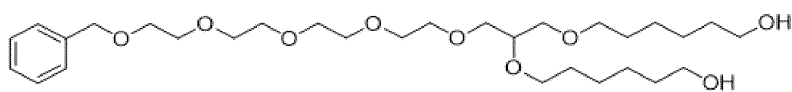


[1145]

[1146] 건조 DMF(120 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(10.0 g, 27.9 mmol)의 용액에 0°C 에서 NaH(5.58 g, 139 mmol)를 수회 첨가하고, 그 후 혼합물을 30 min 동안 80°C 까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 건조 DMF(30 mL) 중 2-(6-브로모헥속시)테트라하이드로피란(18.5 g, 69.7 mmol)을 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80°C 에서 18 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물로 켄칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0 내지 5%(1%) 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[6-[1-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2-(6-테트라하이드로피란-2-일옥시헥속시)에톡시]헥속시]테트라하이드로피란(8.0 g, 39.4% 수율)을 수득하였다.

[1147] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.24 (m, 5H), 4.57 (s, 4H), 3.90 - 3.83 (m, 2H), 3.78 - 3.33 (m, 31H), 1.79 - 1.67 (m, 3H), 1.62 - 1.50 (m, 17H), 1.41 - 1.34 (m, 8H).

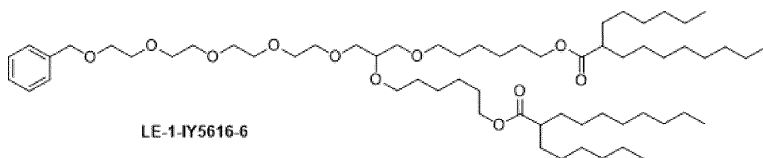
[1148] IY5616-5의 합성



[1149]

[1150] EtOH(120 mL) 중 2-[6-[1-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2-(6-테트라하이드로피란-2-일옥시헥속시)에톡시]헥속시]테트라하이드로피란(8.0 g, 11.0 mmol)의 용액에 실온에서 p-톨루엔설포산(2.1 g, 12.1 mmol)을 한꺼번에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 24 h 동안 교반하였다. TLC(DCM 중 4% CH_3OH)는 출발 물질이 완전히 사라졌음을 나타내었다. 반응물을 묽은 중탄산나트륨 용액(150 mL)으로 켄칭한 후, 용매를 EA(2*100 mL)로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10% CH_3OH (8%)로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(6-하이드록시헥속시)프로폭시]헥산-1-올(3.23 g, 52.5% 수율)을 수득하였다.

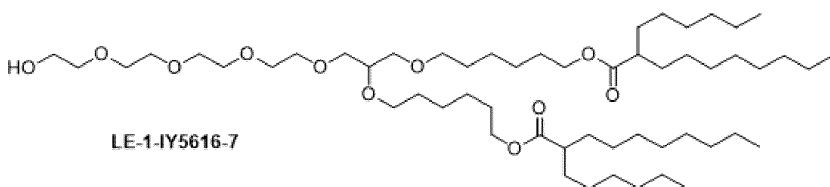
[1151] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.40 - 7.20 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.72 - 3.38 (m, 29H), 1.87 (s, 2H), 1.63 - 1.47 (m, 8H), 1.42 - 1.28 (m, 8H).

[1152] IY5616-6의 합성

[1153]

[1154] 건조 DCM(20 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(6-하이드록시헥속시)프로폭시]헥산-1-올(1.6 g, 2.86 mmol)의 용액에 실온에서 2-헥실데칸산(2.2 g, 8.59 mmol), DIPEA(2.22 g, 17.2 mmol) 및 DMAP(0.14 g, 1.15 mmol)를 첨가하였다. 그 후 혼합물을 0℃까지 냉각시키고, 15 min에 걸쳐 EDCI(1.43 g, 7.45 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 실온에서 17시간 동안 교반하였다. TLC(DCM 중 5% CH₃OH)는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 반응물을 물에 붓고, DCM으로 추출하였다. 물을 DCM으로 1회 더 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 CH₃OH(0 내지 4%)(3%)를 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(2.9 g, 97.8% 수율)를 수득하였다.

[1155] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.09 - 4.03 (m, 4H), 3.69 - 3.40 (m, 25H), 2.34 - 2.27 (m, 2H), 1.63 - 1.34 (m, 24H), 1.25 (s, 40H), 0.87 (t, J = 6.5 Hz, 12H).

[1156] IY5616-7의 합성

[1157]

[1158] EtOAc(30 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(2.90 g, 2.80 mmol)의 용액을 N₂로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(20% wt/wt, 0.6 g)를 첨가하고, 반응물을 N₂로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서 소거시키고, H₂로 3회 재충전하였다. 그 다음, 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 슬러리를 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 수회 행구었다. 그 다음, 합한 유기물을 진공 하에서 농축시켜, 밝은 황색 오일로서 6-[2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(1.7 g, 64.2% 수율)를 수득하였다.

[1159] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.09 - 4.03 (m, 4H), 3.69 - 3.40 (m, 25H), 2.34 - 2.27 (m, 2H), 1.63 - 1.34 (m, 24H), 1.25 (s, 40H), 0.87 (t, J = 6.5 Hz, 12H).

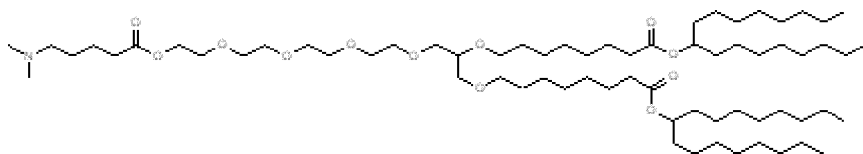
[1160] 화합물 XIX의 합성

[1161] 건조 DCM(20 mL) 중 6-[2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(1.0 g, 1.06 mmol)의 용액에 실온에서 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.23 g, 1.59 mmol), DIPEA(0.41 g, 3.17 mmol) 및 DMAP(0.03 g, 0.21 mmol)를 첨가하였다. 그 후 혼합물을 0℃까지 냉각시키고, 15 min에 걸쳐 EDCI(0.30 g, 1.59 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 반응물을 실온에서 17시간 동안 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 반응물을 물에 붓고, DCM으로 추출하였다. 물을 DCM으로 1회 더 추출하였다. 합한 유기물을 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시켰다. 그 후 DCM 중 CH₃OH(0 내지 10%)(8%)를 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(614 mg, 54.2% 수율)를 수득하였다.

[1162] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.28 - 4.21 (m, 2H), 4.10 - 4.01 (m, 4H), 3.72 - 3.61 (m, 14H), 3.60 - 3.40 (m, 9H), 2.83 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.33 - 2.28 (m, 5H), 2.05 (s, 3H), 1.96 - 1.90 (m, 2H), 1.84 - 1.76 (m, 2H), 1.65 - 1.54 (m, 12H), 1.47 - 1.35 (m, 12H), 1.25 (s, 40H), 0.90 - 0.85 (m, 12H).

[1163] 실시예 15: 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-[5-(디메틸아미노)펜타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥옥시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XX)의 합성

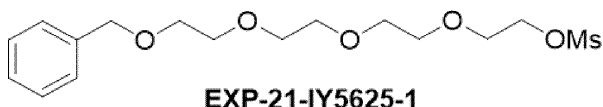
[1164] [화합물 XX]



[1165]

[1166] 도 13의 합성 반응도식에 따라 화합물 XX를 제조한다.

[1167] EXP-21-IY5625-1의 합성

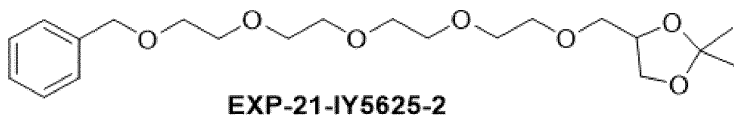


[1168]

[1169] DCM(400 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 Et₃N(35.6 g, 352 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설포닐 클로라이드(30.2 g, 264 mmol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(64.1 g, 172 mmol, 97.5% 수율)를 수득하였다.

[1170] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.40 - 4.33 (m, 2H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.69 - 3.60 (m, 12H), 3.06 (s, 3H).

[1171] EXP-21-IY5625-2의 합성



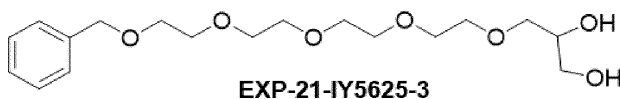
[1172]

[1173] THF(500 mL) 중 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(24.6 g, 177 mmol)의 용액에 NaH(14.1 g, 354 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80℃까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(64.1 g, 177 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 24 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(300 mL)로 키텝하고, 에틸 아세테이트(600 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(EA)(600 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 24-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 116 mmol, 65.6% 수율)을 수득하였다.

[1174] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) m/z=421.4(M+23)⁺ (2.154에서)

[1175] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.26 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.32 - 4.22 (m, 1H), 4.07 - 4.01 (m, 1H), 3.75 - 3.70 (m, 1H), 3.69 - 3.60 (m, 16H), 3.59 - 3.55 (m, 1H), 3.51 - 3.47 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

[1176] EXP-21-IY5625-3의 합성



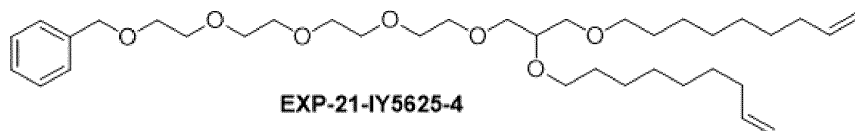
[1177]

[1178] AcOH(200 mL) 및 H₂O(200 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디

옥솔란(48.635 g, 122 mmol)의 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(43.7 g, 116 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1179] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 - 7.23 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.72 - 3.49 (m, 21H).

[1180] EXP-21-IY5625-4의 합성

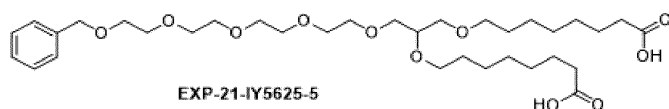


[1181]

[1182] 질소 하에서 건조 DMF(200 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(24 g, 60.3 mmol)의 용액에 NaH(9.64 g, 241 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 80°C에서 15 min 동안 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모논-1-엔(31.9 g, 151 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 80°C에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.5)는 새로운 스팟이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(50 mL)로 켄칭하고, 그 후 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]메틸벤젠(13.24 g, 20.7 mmol, 32.6% 수율)을 수득하였다.

[1183] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 5.86 - 5.75 (m, 2H), 5.03 - 4.89 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 17H), 3.58 - 3.40 (m, 9H), 2.08 - 1.99 (m, 4H), 1.61 - 1.51 (m, 4H), 1.42 - 1.27 (m, 16H).

[1184] EXP-21-IY5625-5의 합성



[1185]

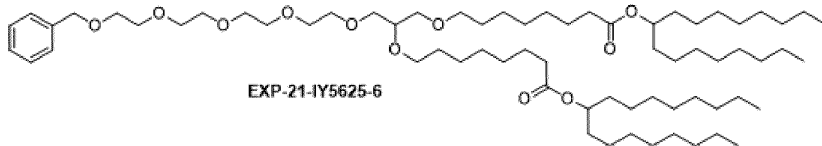
[1186] MeCN(120 mL), CCl_4 (120 mL) 및 물(120 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]메틸 벤젠(13.24 g, 20.7 mmol)의 용액에 NaIO_4 (35.5 g, 166 mmol) 및 RuCl_3 (935 mg, 4.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. LCMS는 표제 화합물이 부분 모노-알데하이드 생성물과 함께 주 생성물임을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 담녹색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 8.28 mmol, 39.9% 수율)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1187] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9.79 - 9.72 (m, 1H), 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.72 - 3.37 (m, 26H), 2.45 - 2.39 (m, 1H), 2.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.68 - 1.49 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1188] 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-옥소옥톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 12.7 mmol, 60% 순도)을 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (7.64 g, 63.7 mmol), 2-메틸-2-부텐(60 mL) 및 아염소산나트륨(7.2 g, 63.7 mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 100 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH_3OH 로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 9.83 mmol, 77.2% 수율) 및 부분 산화 생성물(2.78 g)을 수득하였다.

[1189] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 16H), 3.58 - 3.40 (m, 10H), 2.38 - 2.25 (m, 4H), 1.68 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 14.9 Hz, 12H).

[1190] EXP-21-IY5625-6의 합성

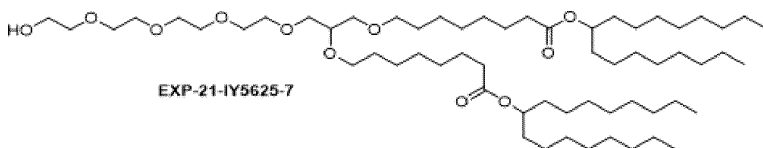


[1191]

[1192] 건조 DCM(100 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 10.3 mmol), 헵타데칸-9-올(7.96 g, 31 mmol), DMAP(506 mg, 4.14 mmol), EDCI HCl(5.16 g, 26.9 mmol) 및 DIEA(8.02 g, 62.1 mmol)의 혼합물. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(500 mL)을 첨가하고, 이를 1 N HCl, NaCl로 세척하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 CH_3OH (0 내지 4%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.05 mmol, 30.5% 수율)를 수득하였다.

[1193] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.90 - 4.81 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.61 (m, 16H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.62 - 1.46 (m, 16H), 1.28 (d, J = 22.7 Hz, 60H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[1194] EXP-21-IY5625-7의 합성



[1195]

[1196] 에틸 아세테이트(50 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.22 mmol)의 용액에 Pd/C(1.1 g, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC($\text{CH}_3\text{OH}/\text{DCM}$ (3%))는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.187 g, 3.1 mmol, 96.3% 수율)를 수득하였다.

[1197] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.39 (m, 23H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

[1198] 화합물 XX의 합성

[1199] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.500 g, 0.486 mmol) 및 5-(디메틸아미노)펜탄산 하이드로클로라이드(0.265 g, 1.46 mmol)의 용액에 DIPEA(0.377 g, 2.91 mmol) 및 DMAP(0.018 g, 0.146 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 5% CH_3OH (4%))로 정제하여, 황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[5-(디메틸아미노)펜타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.2896 g, 0.243 mmol, 50.0% 수율)를 수득하였다.

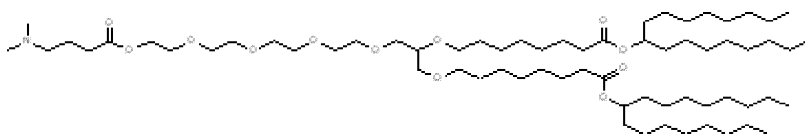
[1200] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) m/z =1157.9($\text{M}+\text{H}$)⁺ (4.553 min에서).

[1201] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.91 - 4.82 (m, 2H), 4.26 - 4.19 (m, 2H), 3.75 - 3.38 (m, 23H), 2.51 (s, 2H), 2.45 - 2.34 (m, 8H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.69 - 1.59 (m, 7H), 1.57 - 1.48 (m, 11H), 1.34 -

1.21 (m, 62H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 12H).

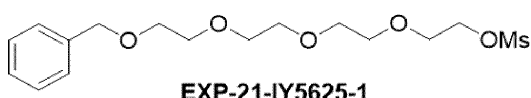
실시예 16: 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-[4-(디메틸아미노)부타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥옥시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXI)의 합성

[화합물 XXI]



도 14의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXI를 제조한다.

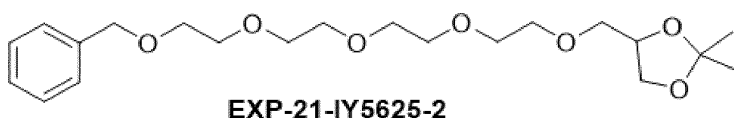
EXP-21-IY5625-1의 합성



DCM(400 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 Et₃N(35.6 g, 352 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설폰일 클로라이드(30.2 g, 264 mmol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설폰에이트(64.1 g, 172 mmol, 97.5% 수율)를 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.40 - 4.33 (m, 2H), 3.78 - 3.72 (m, 2H), 3.69 - 3.60 (m, 12H), 3.06 (s, 3H).

EXP-21-IY5625-2의 합성

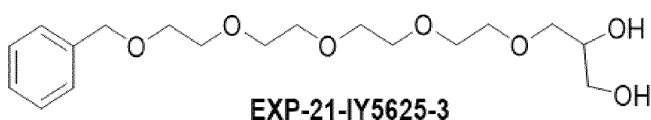


THF(500 mL) 중 (2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(24.6 g, 177 mmol)의 용액에 NaH(14.1 g, 354 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80℃까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설폰에이트(64.1 g, 177 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 24 h 동안 가열하였다. TLC는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(300 mL)로 퀀칭하고, 에틸 아세테이트(600 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(EA)(600 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 24-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 116 mmol, 65.6% 수율)을 수득하였다.

LCMS MS(ESI) m/z=421.4(M+23)⁺ (2.154에서)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.26 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.32 - 4.22 (m, 1H), 4.07 - 4.01 (m, 1H), 3.75 - 3.70 (m, 1H), 3.69 - 3.60 (m, 16H), 3.59 - 3.55 (m, 1H), 3.51 - 3.47 (m, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.35 (s, 3H).

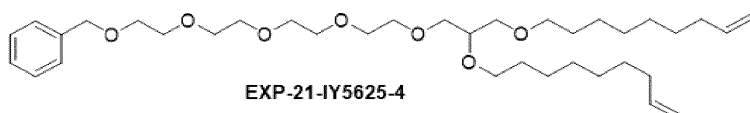
EXP-21-IY5625-3의 합성



[1217] AcOH(200 mL) 및 H₂O(200 mL) 중 4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48.635 g, 122 mmol)의 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE 1/1, SM Rf: 0.5; 생성물, Rf: 0.1)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔과 수회 공비혼합하였다. 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(43.7 g, 116 mmol, 정량적)를 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

[1218] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.23 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 3.89 - 3.80 (m, 1H), 3.72 - 3.49 (m, 21H).

[1219] EXP-21-IY5625-4의 합성

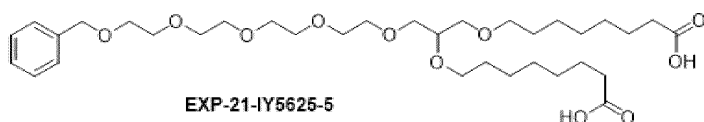


[1220]

[1221] 질소 하에서 건조 DMF(200 mL) 중 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(24 g, 60.3 mmol)의 용액에 NaH(9.64 g, 241 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 80℃에서 15 min 동안 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모논-1-엔(31.9 g, 151 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 80℃에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.5)는 새로운 스폿이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(50 mL)로 켄칭하고, 그 후 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 50% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸벤젠(13.24 g, 20.7 mmol, 32.6% 수율)을 수득하였다.

[1222] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 5.86 - 5.75 (m, 2H), 5.03 - 4.89 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 17H), 3.58 - 3.40 (m, 9H), 2.08 - 1.99 (m, 4H), 1.61 - 1.51 (m, 4H), 1.42 - 1.27 (m, 16H).

[1223] EXP-21-IY5625-5의 합성



[1224]

[1225] MeCN(120 mL), CCl₄(120 mL) 및 물(120 mL) 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시메틸 벤젠(13.24 g, 20.7 mmol)의 용액에 NaIO₄(35.5 g, 166 mmol) 및 RuCl₃(935 mg, 4.15 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. LCMS는 표제 화합물이 부분 모노-알데하이드 생성물과 함께 주 생성물임을 나타내었다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 Na₂S₂O₃ 용액으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 담녹색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 8.28 mmol, 39.9% 수율)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다.

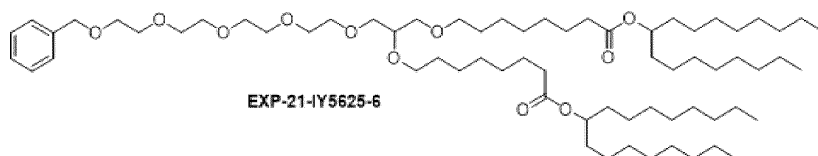
[1226] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.79 - 9.72 (m, 1H), 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.72 - 3.37 (m, 26H), 2.45 - 2.39 (m, 1H), 2.32 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.68 - 1.49 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1227] 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-옥소옥톡시)프로폭시]옥탄산(13.3 g, 12.7 mmol, 60% 순도)을 NaH₂PO₄·2H₂O(7.64 g, 63.7 mmol), 2-메틸-2-부텐(60 mL) 및 아염소산나트륨(7.2 g, 63.7 mmol)을 함유하는 t-BuOH:H₂O(3:1, 100 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 추출물을 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH₃OH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 9.83 mmol, 77.2% 수율) 및 부분 산화 생성물(2.78

g)을 수득하였다.

[1228] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.69 - 3.61 (m, 16H), 3.58 - 3.40 (m, 10H), 2.38 - 2.25 (m, 4H), 1.68 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 14.9 Hz, 12H).

[1229] EXP-21-IY5625-6의 합성

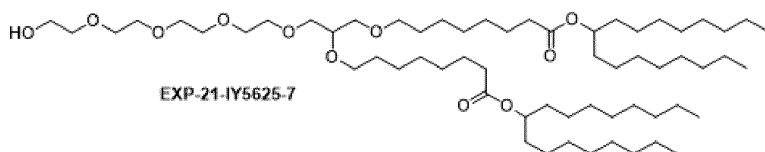


[1230]

[1231] 건조 DCM(100 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(6.65 g, 10.3 mmol), 헵타데칸-9-올(7.96 g, 31 mmol), DMAP(506 mg, 4.14 mmol), EDCI HCl(5.16 g, 26.9 mmol) 및 DIEA(8.02 g, 62.1 mmol)의 혼합물. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(500 mL)을 첨가하고, 이를 1 N HCl, NaCl로 세척하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 CH_3OH (0 내지 4%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.05 mmol, 30.5% 수율)를 수득하였다.

[1232] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 - 7.27 (m, 5H), 4.90 - 4.81 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.71 - 3.61 (m, 16H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.62 - 1.46 (m, 16H), 1.28 (d, J = 22.7 Hz, 60H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[1233] EXP-21-IY5625-7의 합성



[1234]

[1235] 에틸 아세테이트(50 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.6 g, 3.22 mmol)의 용액에 Pd/C(1.1 g, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC($\text{CH}_3\text{OH}/\text{DCM}$ (3%))는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시 에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(3.187 g, 3.1 mmol, 96.3% 수율)를 수득하였다.

[1236] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 3.75 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.39 (m, 23H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.45 (m, 16H), 1.35 - 1.20 (m, 60H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

[1237] 화합물 XXI의 합성

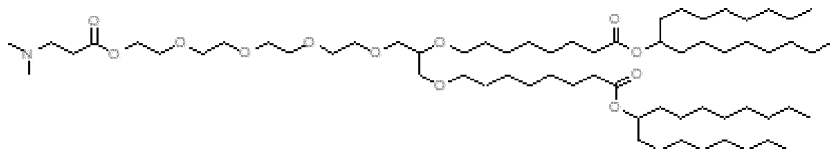
[1238] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.400 g, 0.398 mmol) 및 5-(디메틸아미노) 펜탄산 하이드로클로라이드(0.201 g, 1.17 mmol)의 용액에 DIPEA(0.301 g, 2.33 mmol) 및 DMAP(0.015 g, 0.117 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.223 g, 1.17 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 DCM으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 5% CH_3OH (4%))로 정제하여, 황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-[4-(디메틸아미노)부타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.2952 g, 0.251 mmol, 64.5% 수율)를 수득하였다.

[1239] LCMS MS(ESI) m/z =1143.0($\text{M}+\text{H}$)⁺ (4.635 min에서)

[1240] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.90 - 4.80 (m, 2H), 4.25 - 4.21 (m, 2H), 3.71 - 3.67 (m, 2H), 3.64 (d, J = 8.7 Hz, 12H), 3.59 - 3.39 (m, 9H), 2.45 - 2.34 (m, 4H), 2.34 - 2.22 (m, 10H), 1.88 - 1.81 (m, 2H), 1.61 (s, 4H), 1.57 - 1.47 (m, 12H), 1.34 - 1.23 (m, 60H), 0.91 - 0.85 (m, 12H).

[1241] **실시예 17:** 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-[3-(디메틸아미노)프로판노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXII)의 합성

[1242] [화합물 XXII]



[1243]

[1244] 화합물 XXII를 다음과 같이 제조한다:

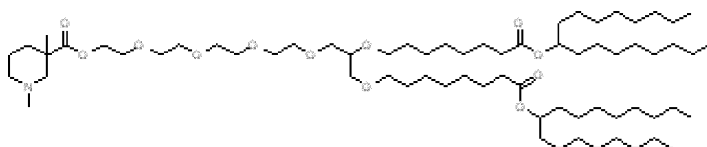
[1245] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.500 g, 0.486 mmol) 및 3-(디메틸아미노)프로판산 하이드로클로라이드(0.224 g, 1.46 mmol)의 용액에 DIPEA(0.377 g, 2.91 mmol) 및 DMAP(0.018 g, 0.146 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 5% CH_3OH (4%))로 정제하여, 황색 오일로서 목표 생성물(0.2991 g, 0.257 mmol, 52.9% 수율)을 수득하였다.

[1246] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=1129.1(\text{M}+\text{H})^+$ (4.496 min에서)

[1247] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.91 - 4.80 (m, 2H), 4.27 - 4.22 (m, 2H), 3.73 - 3.37 (m, 23H), 2.70 - 2.60 (m, 2H), 2.57 - 2.50 (m, 2H), 2.31 - 2.23 (m, 10H), 1.64 - 1.47 (m, 16H), 1.33 - 1.23 (m, 61H), 0.90 - 0.85 (m, 12H).

[1248] **실시예 18:** 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,3-디메틸피페리딘-3-카르복실레이트(화합물 XXIII)의 합성

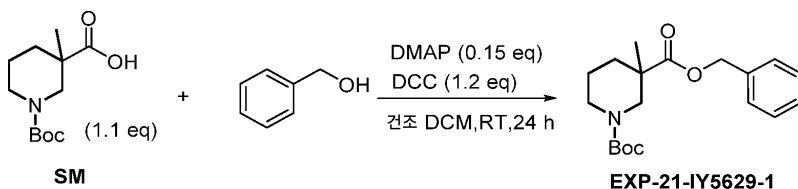
[1249] [화합물 XXIII]



[1250]

[1251] 도 15의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXIII를 제조한다.

[1252] EXP-21-IY5629-1의 합성



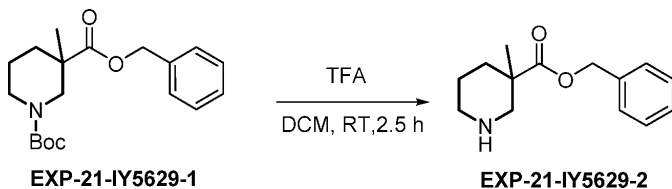
[1253]

[1254] 페닐메탄올(2.0 g, 18.5 mmol), 1-tert-부톡시카르보닐-3-메틸-피페리딘-3-카르복실산(4.95 g, 20.3 mmol) 및 DMAP(340 mg, 2.77 mmol)의 용액에 건조 DCM(50 mL) 중에 용해시켰다. 건조 DCM(20 mL) 중 DCC(4.58 g, 22.2 mmol)의 용액을 적가하고, 그 후 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 침전물이 형성되었고, 이를 여과에 의해 제거하였다. 용매를 증발시키고, 생성된 생성물을 컬럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트(EA) 중 PE(0 내지 10%))로 정제하여, 무색 오일로서 03-벤질 01-tert-부틸 3-메틸피페리딘-1,3-디카르복실레이트(3.3 g, 9.89 mmol, 53.4% 수율)를 수득하였다.

[1255] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=356.2(M+Na)^+$ (2.25 min에서).

[1256] ^1H NMR (400 MHz, CDC13) δ 7.41 - 7.28 (m, 5H), 5.20 - 5.05 (m, 2H), 3.82 (d, J = 13.3 Hz, 1H), 3.44 - 3.16 (m, 3H), 2.09 - 1.98 (m, 1H), 1.59 - 1.39 (m, 12H), 1.19 (s, 3H).

[1257] EXP-21-IY5629-2의 합성

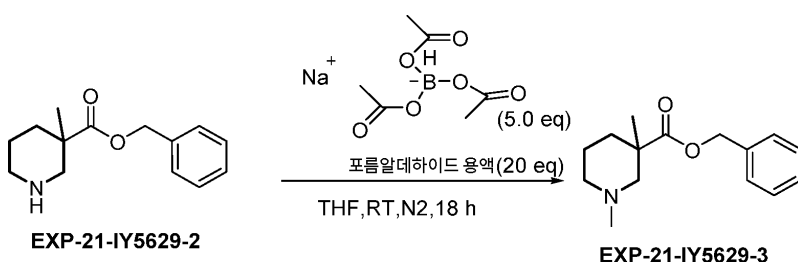


[1258]

[1259] 03-벤질 01-tert-부틸 3-메틸피페리딘-1,3-디카복실레이트(3.3 g, 9.9 mmol)를 30 mL의 DCM 중에 용해시키고, 그 후 TFA(12 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고(50 mL의 DCM*2), 그 후 DCM(100 mL) 중에 용해시키고, 포화 NaHCO₃(30 mL)으로 세척하고, 유기 층을 분리하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 용매를 감압 하에서 제거하여, 황색 오일로서 벤질 3-메틸피페리딘-3-카복실레이트(1.906 g, 7.76 mmol, 78.4% 수율)를 수득하였다.

[1260] ^1H NMR (500 MHz, CDC13) δ 7.40 - 7.29 (m, 5H), 5.20 - 5.12 (m, 2H), 3.34 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 2.91 (dd, J = 12.9, 3.9 Hz, 1H), 2.62 - 2.54 (m, 1H), 2.43 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 2.20 (dd, J = 7.8, 5.6 Hz, 1H), 1.53 (dt, J = 13.1, 4.0 Hz, 1H), 1.44 - 1.33 (m, 2H), 1.12 (s, 3H).

[1261] EXP-21-IY5629-3의 합성



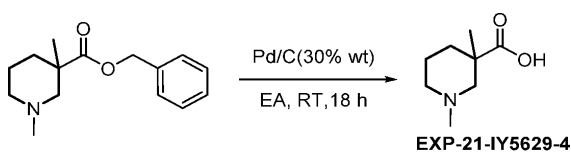
[1262]

[1263] THF(80 mL) 중 벤질 3-메틸피페리딘-3-카복실레이트(1.91 g, 8.17 mmol)의 용액에 RT에서 포름알데하이드 용액(물 중 37% 용액 13 g)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 30 min 동안 교반한 후, 나트륨 트리아세톡시보로하이드라이드(5.0 eq, 40.8 mmol, 8.66 g)를 도입하였다. 혼합물을 N₂ 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시켰다. 잔류물을 EA(50 mL*2) 중에 흡수시키고, NaHCO₃ 용액으로 세척하였다. Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후에, 용액을 농축시키고, 실리카 겔 상에서의 플래시 건조 컬럼 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 5% CH₃O H)로 정제하여, 황색 오일로서 벤질 1,3-디메틸피페리딘-3-카복실레이트(1.57 g, 6.22 mmol, 76.1% 수율)를 수득하였다.

[1264] ^1H NMR (400 MHz, CDC13) δ 7.40 - 7.27 (m, 5H), 5.16 (s, 2H), 2.99 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 2.56 (s, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.13 - 1.86 (m, 3H), 1.77 - 1.66 (m, 1H), 1.61 - 1.55 (m, 1H), 1.17 (s, 4H).

[1265] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) $m/z=248.21(M+H)^+$ (1.370 min에서)

[1266] EXP-21-IY5629-4의 합성



[1267]

[1268] 에틸 아세테이트(20 mL) 중 벤질 1,3-디메틸피페리딘-3-카복실레이트(1.57 g, 6.35 mmol)의 용액에 Pd/C(500 mg, 30% wt/wt)를 첨가하였다. 혼합물을 수소 하에서 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(CH₃OH/DCM(3%))는 출

발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트로 세척하여, 무색 오일로서 1-옥틸노닐 1,3-디메틸피페리딘-3-카르복실산(0.888 g, 5.65 mmol, 89.0% 수율)을 수득하였다.

[1269] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.41 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.34 - 3.23 (m, 1H), 2.61 (s, 3H), 2.30 - 2.21 (m, 1H), 2.21 - 1.99 (m, 3H), 1.75 - 1.65 (m, 1H), 1.19 - 1.06 (m, 4H).

[1270] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) m/z =158.2($\text{M}+\text{H}$) $^+$ (0.369 min에서)

[1271] 화합물 XXIII의 합성

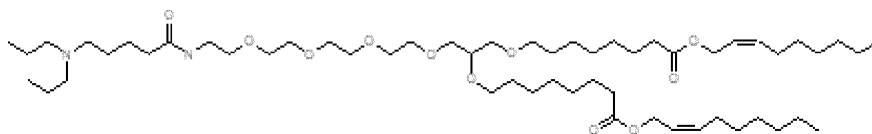
[1272] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸 노옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.700 g, 0.68 mmol) 및 1,3-디메틸피페리딘-3-카르복실산(0.321 g, 2.04 mmol)의 용액에 DIPEA(0.264 g, 2.04 mmol) 및 DMAP(0.025 g, 0.204 mmol)를 첨가하였다. 그 후 0°C에서 EDCI(0.391 g, 2.04 mmol)에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 18 h 동안 교반되게 하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨으로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기 층을 여과하고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(DCM 중 0 내지 5% CH_3OH (4%))로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-옥틸 노옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,3-디메틸피페리딘-3-카르복실레이트(0.5683 g, 0.467 mmol, 68.7% 수율)를 수득하였다.

[1273] LCMS; 피크 실측치 MS(ESI) m/z =1169.1($\text{M}+\text{H}$) $^+$ (4.41 min에서)

[1274] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.90 - 4.82 (m, 2H), 4.33 - 4.19 (m, 2H), 3.72 - 3.67 (m, 2H), 3.66 - 3.60 (m, 12H), 3.58 - 3.39 (m, 9H), 2.96 (s, 1H), 2.55 (s, 1H), 2.30 - 2.25 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 2.11 - 1.81 (m, 3H), 1.62 - 1.48 (m, 16H), 1.34 - 1.22 (m, 62H), 1.17 (s, 4H), 0.90 - 0.85 (m, 12H).

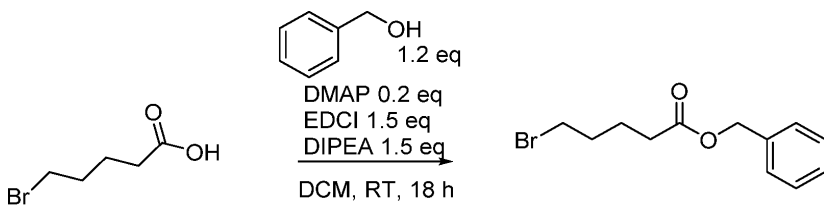
[1275] **실시예 19: [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[5-(디프로필아미노)펜타노일아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXVII)의 합성**

[1276] [화합물 XXVII]



[1277] 도 17의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXVII를 제조한다.

[1279] EXP-21-IJ0471-SM1-2의 합성



[1280] **LE-1-IJ0471-SM1-1**

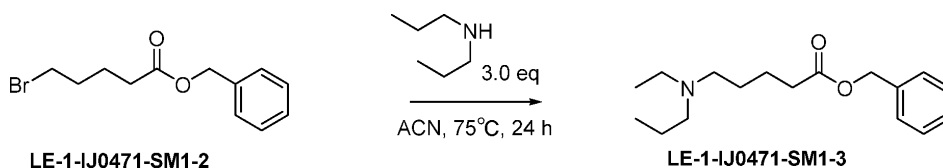
LE-1-IJ0471-SM1-2

[1281] 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 페닐메탄올(1.43 g, 0.0133 mol) 및 5-브로모펜탄산(2.0 g, 0.011 mol)의 용액에 병용 하에서 DIPEA(2.14 g, 0.0166 mol), DMAP(0.270 g, 2.21 mmol), 이어서 EDCI(3.18 g, 0.0166 mol)를 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 0% 내지 10%(9%) 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 벤질 5-브로모펜타노에이트(0.675 g, 23.2% 수율)를 수득하였다.

[1282] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45 - 7.27 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 3.57 - 3.36 (m, 2H), 2.40 (t, J = 7.2

Hz, 2H), 1.94 - 1.76 (m, 4H).

[1283] LE-1J04771-SM1-3의 합성



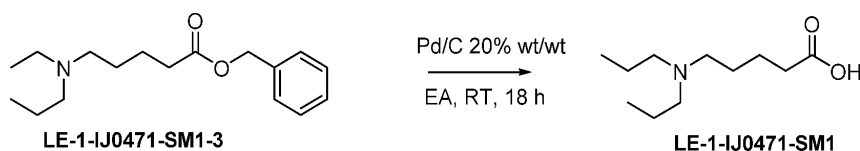
[1284] **LE-1-J0471-SM1-2**

LE-1-J0471-SM1-3

[1285] 20 mL의 아세트니트릴 중 벤질 5-브로모펜타노에이트(695 mg, 2.56 mmol) 및 N-프로필프로판-1-아민(0.778 g, 7.69 mmol)을 75°C에서 24 h 동안 교반하였다. 반응물을 실온까지 냉각시키고, 용매를 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 및 포화 중탄산나트륨 중에 흡수시켰다. 유기 층을 분리하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(PE 중 19 내지 25%(20%) EA)로 정제하여, 무색 오일로서 벤질 5-(디프로필아미노)펜타노에이트(0.48 g, 64.3 수율%)를 수득하였다.

[1286] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.41 - 7.28 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 2.44 - 2.30 (m, 8H), 1.70 - 1.60 (m, 2H), 1.51 - 1.37 (m, 6H), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 6H).

[1287] LE-1J04771-SM1의 합성



[1288] **LE-1-J0471-SM1-3**

LE-1-J0471-SM1

[1289] EtOAc(10 mL) 중 벤질 5-(디프로필아미노) 펜타노에이트(0.42 g, 1.44 mmol)의 용액을 N₂로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(20% wt/wt, 0.1 g)를 첨가하고, 반응물을 N₂로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서 소기시키고, H₂로 3회 재충전하였다. 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 슬러리를 셀라이트를 통해 여과하고, EtOAc로 수회 세척하였다. 합한 유기물을 진공 하에서 농축시켜, 백색 고체로서 5-(디프로필아미노) 펜탄산(0.27 g, 93.1% 수율)을 수득하였다.

[1290] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.55 (s, 1H), 2.94 - 2.78 (m, 6H), 2.31 - 2.21 (m, 2H), 1.78 - 1.55 (m, 8H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 6H).

[1291] 화합물 XXVII의 합성

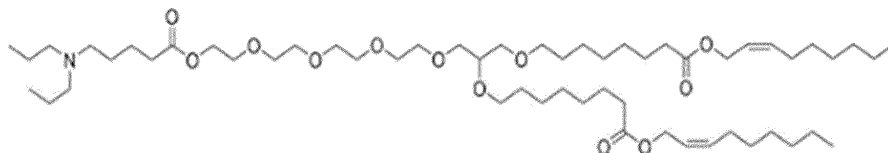
[1292] 건조 DCM(15 mL) 중 5-(디프로필아미노)펜탄산(0.138 g, 0.65 mmol), EDC HCl(0.144 g, 0.75 mmol), N-하이드록시석신이미드(0.086 g, 0.75 mmol)의 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반하였다. 그 후 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[5-(디프로필아미노)펜타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.4 g, 0.5 mmol) 및 DIEA(0.194 g, 1.5 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 rt에서 16 h 동안 교반하였다. TLC는 생성물 및 출발 물질이 거의 하나의 스팟임을 나타내었다. 혼합물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 물 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 MeOH(5 내지 15%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 맑은 황색 오일로서 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[5-(디프로필아미노)펜타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.309 g, 0.314 mmol, 62.9% 수율)를 수득하였다.

[1293] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.57 (s, 1H), 5.69 - 5.47 (m, 4H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 3.70 - 3.37 (m, 26H), 2.92 - 2.65 (m, 6H), 2.33 - 2.22 (m, 6H), 2.10 (q, J = 7.0 Hz, 4H), 1.73 - 1.50 (m, 14H), 1.41 - 1.20 (m, 31H), 0.96 (t, J = 7.3 Hz, 6H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[1294] -LCMS; Ms(M+H): 983.8

[1295] 실시예 20: [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[2-[5-(디프로필아미노)펜타노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXVIII)의 합성

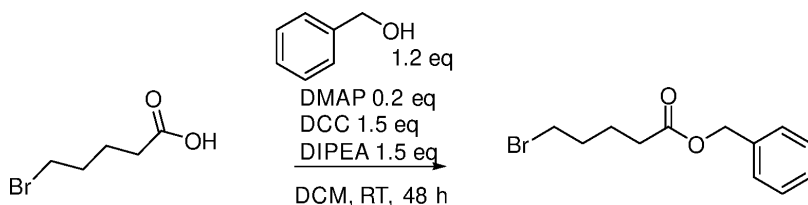
[1296] [화합물 XXVIII]



[1297]

[1298] 도 18의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXVIII를 제조한다.

[1299] SM1-2의 합성



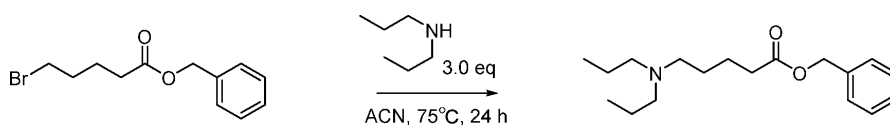
[1300] SM1-1

SM1-2

[1301] 5-브로모펜탄산(13.20 g, 72.97 mmol), 벤질 알코올(5.43 g, 66.34 mmol) 및 N,N-디메틸-4-아미노피리딘 (DMAP)(1.62 g, 10.04 mmol)을 건조 CH_2Cl_2 (200 mL) 중에 용해시켰다. 건조 CH_2Cl_2 (40 mL) 중 N,N'-디사이클로헥실카르보디이미드(DCC)(12.43 g, 79.66 mmol)의 용액을 적가하고, 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하였다. N,N'-디사이클로헥실우레아의 백색 침전물을 용액으로부터 여과하였다. 용매를 증발시키고, 생성된 생성물을 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔, 석유 에테르 중 0% 내지 10%(9%) 에틸 아세테이트)로 정제하여, 무색 오일로서 벤질 5-브로모펜타노에이트(0.675 g, 23.2% 수율)를 수득하였다.

[1302] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.40 - 7.30 (m, 5H), 5.12 (s, 2H), 3.40 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.93 - 1.76 (m, 4H).

[1303] SM1-3의 합성



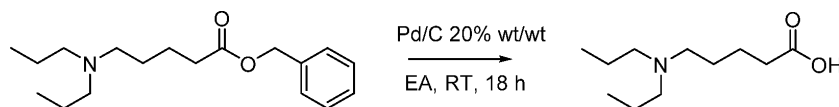
[1304] SM1-2

SM1-3

[1305] 40 mL의 아세토니트릴 중 벤질 5-브로모펜타노에이트(2.57 g, 9.48 mmol) 및 N-프로필프로판-1-아민(2.88 g, 28.4 mmol)을 75°C에서 24 h 동안 교반하였다. 반응물을 실온까지 냉각시키고, 용매를 진공 하에서 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 및 포화 중탄산나트륨 중에 흡수시켰다. 유기 층을 분리하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 크로마토그래피(PE 중 0 내지 25%(20%) EA)로 정제하여, 무색 오일로서 벤질 5-(디프로필아미노)펜타노에이트(2.17 g, 78.6% 수율)를 수득하였다.

[1306] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 - 7.27 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 2.45 - 2.28 (m, 8H), 1.71 - 1.59 (m, 2H), 1.51 - 1.35 (m, 6H), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 6H).

[1307] SM1의 합성



[1308] SM1-3

SM1

[1309] EtOAc(20 mL) 중 벤질 5-(디프로필아미노)펜타노에이트(2.17 g, 7.45 mmol)의 용액을 N_2 로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(20% wt/wt, 0.5 g)를 첨가하고, 반응물을 N_2 로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서

소기시키고, H₂로 3회 재충전하였다. 그 다음, 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC는 반응이 완료되었음을 나타내었다. 슬러리를 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 수회 행구었다. 그 다음, 합한 유기물을 진공 하에서 농축시켜, 무색 오일로서 5-(디프로필아미노)펜탄산(1.46 g, 97.4% 수율)을 수득하였다.

[1310] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.87 (s, 1H), 2.93 - 2.74 (m, 6H), 2.30 - 2.21 (m, 2H), 1.76 - 1.55 (m, 8H), 0.94 (t, J = 7.3 Hz, 6H).

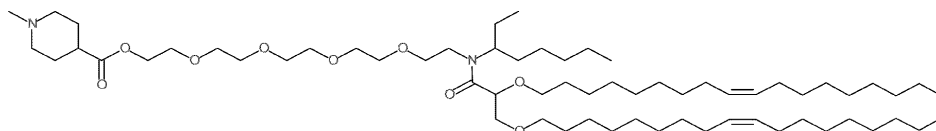
[1311] 화합물 XXVIII의 합성

[1312] 건조 디클로로메탄(15 mL) 중 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.4 g, 0.50 mmol) 및 5-(디프로필아미노)펜탄산(0.20 g, 1.00 mmol)의 용액에 DIPEA(0.08 g, 0.60 mmol), DMAP(0.006 g, 0.05 mmol), 이어서 EDCI(0.12 g, 0.60 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(6%) 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-[2-[2-[2-[2-(2-메톡시에틸아미노)아세틸]옥시에틸아미노]아세틸]옥시에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(325 mg, 66.1% 수율)를 수득하였다.

[1313] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.68 - 5.60 (m, 2H), 5.56 - 5.48 (m, 2H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 4.25 - 4.21 (m, 2H), 3.72 - 3.68 (m, 2H), 3.66 - 3.62 (m, 12H), 3.57 - 3.39 (m, 9H), 2.72 (s, 5H), 2.39 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.33 - 2.27 (m, 4H), 2.10 (q, J = 6.8 Hz, 4H), 1.80 - 1.48 (m, 19H), 1.33 - 1.24 (m, 26H), 0.95 (t, J = 7.3 Hz, 6H), 0.88 (t, J = 7.0 Hz, 6H).

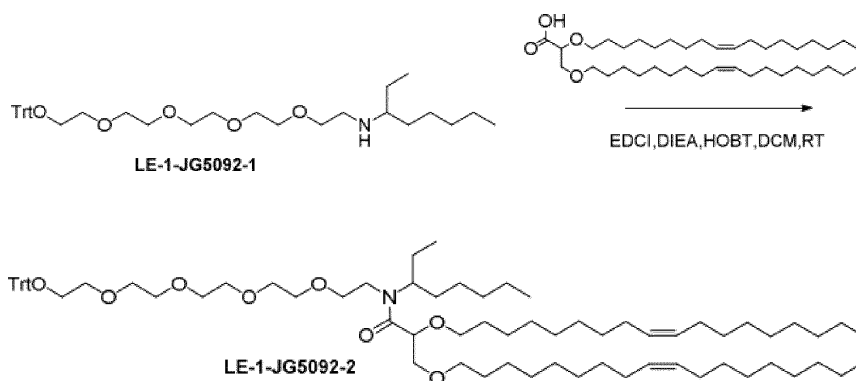
[1314] 실시예 21: 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판노일-(1-에틸헥실)아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카복실레이트(화합물 XXIX)의 합성

[1315] [화합물 XXIX]



[1316] 도 19에 제시된 합성 반응도식에 따라 화합물 XXIX를 제조한다.

[1318] 중간체 LE-1-JG5082-1의 합성

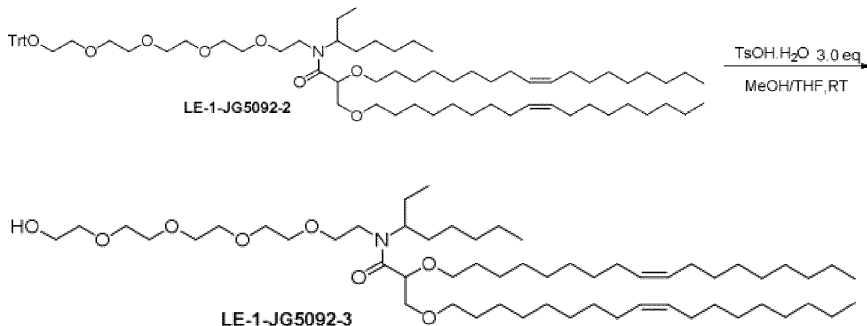


[1319] DCM(50 mL) 중 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-3-아민(0.5 g, 0.84 mmol)의 용액에 2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판산(0.76 g, 1.27 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민;하이드로클로라이드(320 mg, 1.96 mmol), 1-하이드록시벤조트리아졸(HOBT)(171 mg, 1.27 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(324 mg, 2.53 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 18 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 농축시키고, EA(50 mL)로 처리하고, 물(50 mL x 2), 염수(50 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 0 내지 30% EA)으로 정제하

여, 무색 오일로서 3N-(1-에틸헥실)-2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]-N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]프로판아미드(0.59 g, 수율 59.1%)를 수득하였다.

[1321] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, J = 7.6 Hz, 5H), 7.27 - 7.14 (m, 13H), 5.34 (s, 3H), 3.83 - 3.13 (m, 24H), 2.06 - 1.90 (m, 7H), 1.51 - 1.41 (m, 3H), 1.26 (s, 50H), 0.98 - 0.74 (m, 12H).

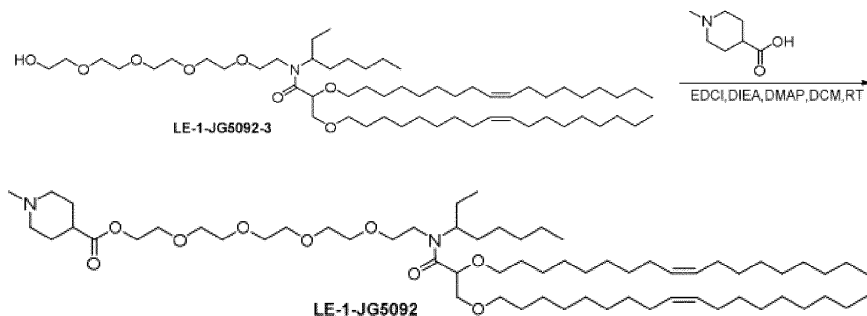
[1322] 중간체 LE-1-JG5092-3의 합성



[1323]

[1324] MeOH(5 mL) 중 N-(1-에틸헥실)-2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]-N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]프로판아미드(0.59 g, 0.5 mmol) 및 4-메틸벤젠설폰산 수화물(0.285 g, 1.5 mmol)의 혼합물. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 황색 오일로서 N-(1-에틸헥실)-N-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]-2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판아미드(0.4 g, 85.3%)를 수득하였다.

[1325] 화합물 XXIX의 합성



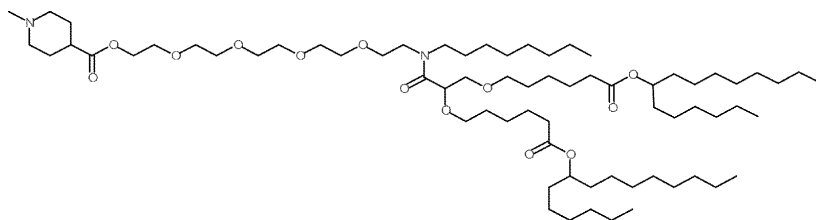
[1326]

[1327] 건조 디클로로메탄(5 mL) 중 N-(1-에틸헥실)-N-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]-2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판아미드(0.4 g, 0.42 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.183 g, 1.28 mmol)의 용액에 DIPEA(0.165 g, 1.28 mmol), DMAP(0.052 g, 0.42 mmol), 이어서 EDCI(0.163 g, 0.85 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 염수(25 mL)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(7%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[(Z)-옥타데크-9-에녹시]프로판노일-(1-에틸헥실)아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.4 g, 88.2% 수율)를 수득하였다.

[1328] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.33 (dd, J = 13.5, 8.3 Hz, 3H), 4.43 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 4.30 - 4.17 (m, 2H), 3.80 - 3.23 (m, 23H), 2.83 (s, 2H), 2.30 (s, 4H), 1.95 (dd, J = 41.9, 35.3 Hz, 13H), 1.57 - 1.43 (m, 10H), 1.23 (d, J = 28.9 Hz, 49H), 0.96 - 0.75 (m, 12H).

[1329] 실시예 22: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]프로판노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXX)의 합성

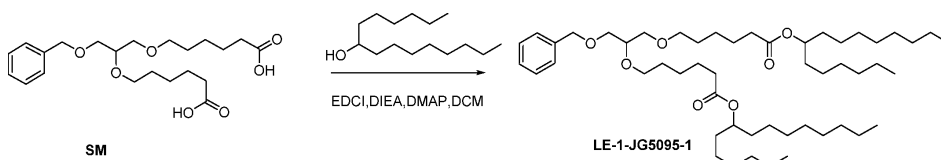
[1330] [화합물 XXX]



[1331]

[1332] 도 20의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXX를 제조한다.

[1333] 중간체 LE-1-JG5095-1의 합성

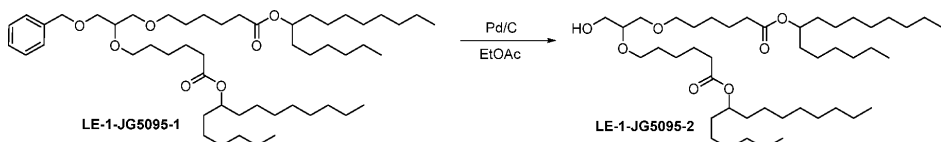


[1334]

[1335] DCM(50 ml) 중 6-[3-벤질옥시-2-(5-카르복시펜톡시)프로폭시]헥산산(1 g, 2.44 mmol)의 용액에 펜타데칸-7-올(1.67 g, 7.31 mmol), N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(0.945 g, 7.31 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.06 g, 0.49 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민; 하이드로클로라이드(1.4 g, 7.31 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 hr 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(100 mL)을 첨가하고, 이를 0.5 N HCl(50 ml), NaHCO₃(50 ml), NaCl(50 ml)로 세척하였다. 유기물을 농축시키고, 잔류물을 1:2 에틸 아세테이트/석유 에테르로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 1-헥실노닐 6-[3-벤질옥시-2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]프로폭시]헥사노에이트(2.2 g, 87%, 순도: 80%)를 수득하였다.

[1336] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 - 7.27 (m, 5H), 4.86 (p, J = 6.1 Hz, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.67 - 3.39 (m, 11H), 2.27 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.72 - 1.15 (m, 108H), 0.95 - 0.81 (m, 22H).

[1337] 중간체 LE-1-JG5095-2의 합성

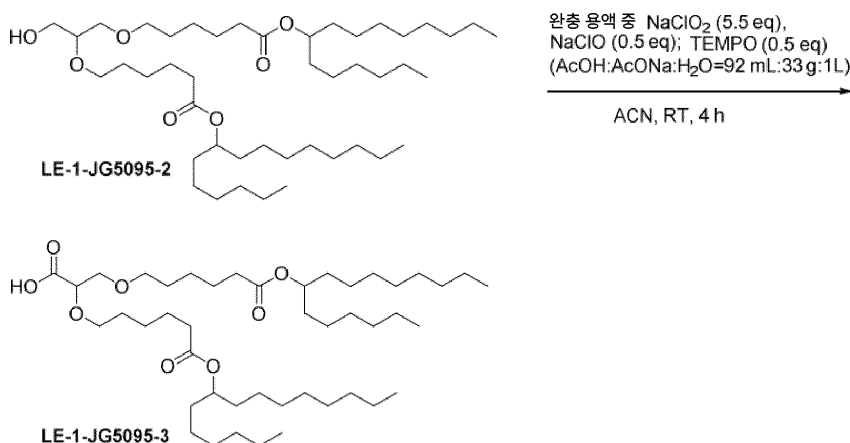


[1338]

[1339] 1-헥실노닐 6-[3-벤질옥시-2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]프로폭시]헥사노에이트(2.2 g, 2.12 mmol, 순도: 80%) 및 Pd/C(0.5 g)의 용액을 EtOAc(50 mL)와 혼합하고, 수소화 장치에 부착하였다. 시스템을 소기시키고, 그 후 수소로 재충전하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 잔류물을 1:2 에틸 아세테이트/석유 에테르로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 1-헥실노닐 6-[2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥사노에이트(1.4 g, 89%)를 수득하였다.

[1340] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.86 (p, J = 6.2 Hz, 2H), 3.77 - 3.69 (m, 1H), 3.66 - 3.39 (m, 8H), 2.29 (td, J = 7.5, 2.2 Hz, 4H), 1.71 - 1.18 (m, 64H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1341] 중간체 LE-1-JG5095-3의 합성

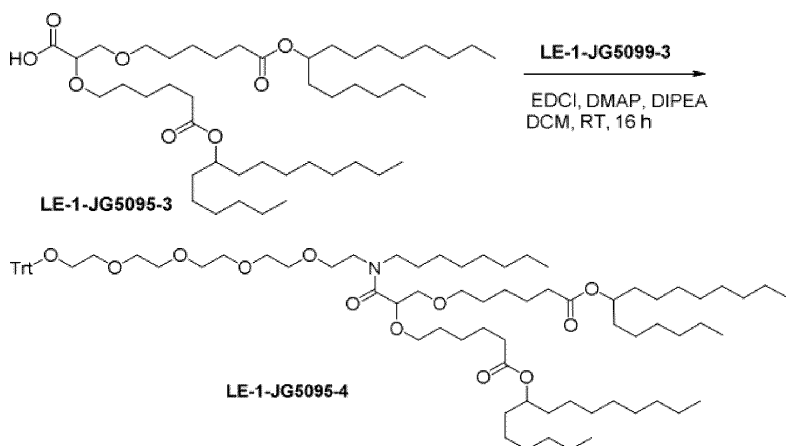


[1342]

[1343] 아세토니트릴(AcCN, 50 mL) 중 1-헥실노닐 6-[2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥사노에이트(1.4 g, 1.89 mmol)의 용액 및 PH=4-완충 용액(10 mL, AcOH:AcONa:물 = 92 mL:33 g:1000 mL)에 아염소산나트륨(0.854 g, 9.44 mmol) 및 차아염소산나트륨(0.141 g, 0.95 mmol), 이어서 TEMPO((2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실)(0.148 g, 0.95 mmol)를 첨가하였다. 반응물은 흑색이 되었으며, 20℃에서 4 hr 동안 교반하였다. LCMS는 투명한 반응물을 나타내었다. 반응물을 20 방울의 메탄올로 켄칭하고, 물(40 mL), 1 N HCl(10 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 5% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 무색 오일로서 2,3-비스[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]프로판산(1.2 g, 84.1% 수율)을 수득하였다.

[1344] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.94 - 4.79 (m, 2H), 4.09 - 3.99 (m, 1H), 3.84 -3.40 (m, 6H), 2.29 (td, J = 7.5, 3.7 Hz, 4H), 1.72 - 1.14 (m, 61H), 0.88 (t, J = 6.7 Hz, 12H).

[1345] 중간체 LE-1-JG5095-4의 합성



[1346]

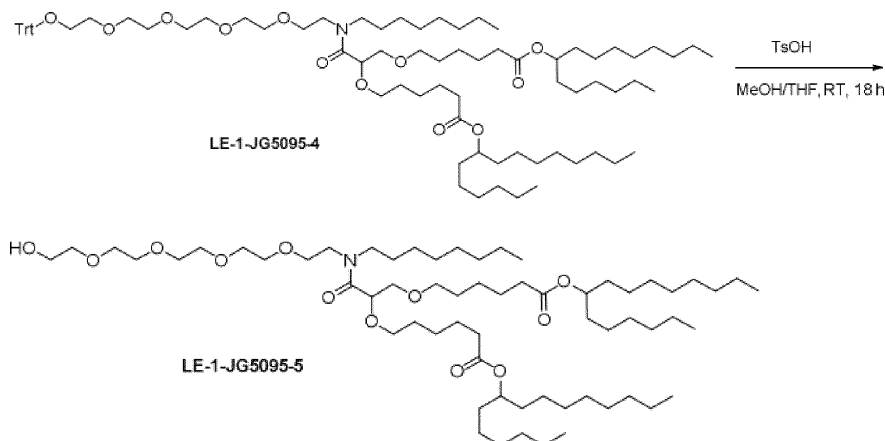
[1347]

[1348] DCM(20 mL) 중 2,3-비스[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]프로판산(1.2 g, 1.59 mmol), EDC HCl(0.609 g, 3.18 mmol), DIEA(0.411 g, 3.18 mmol)의 혼합물에 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(1.03 g, 1.75 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.039 g, 0.32 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 RT에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(200 mL)에 붓고, NaHCO_3 용액 및 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 1:3 에틸 아세테이트/석유 에테르로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 1-헥실노닐 6-[2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(1.2 g, 56.8%)를 수득하였다.

[1349] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.50 - 7.43 (m, 6H), 7.29 (dd, J = 10.1, 4.8 Hz, 6H), 7.22 (dd, J = 8.5, 6.0

Hz, 3H), 4.92 - 4.80 (m, 2H), 4.44 - 4.27 (m, 1H), 3.77 - 3.20 (m, 28H), 2.27 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.63 - 1.43 (m, 17H), 1.42 - 1.16 (m, 57H), 0.88 (dd, J = 8.4, 5.1 Hz, 15H).

[1350] 중간체 LE-1-JG5095-5의 합성

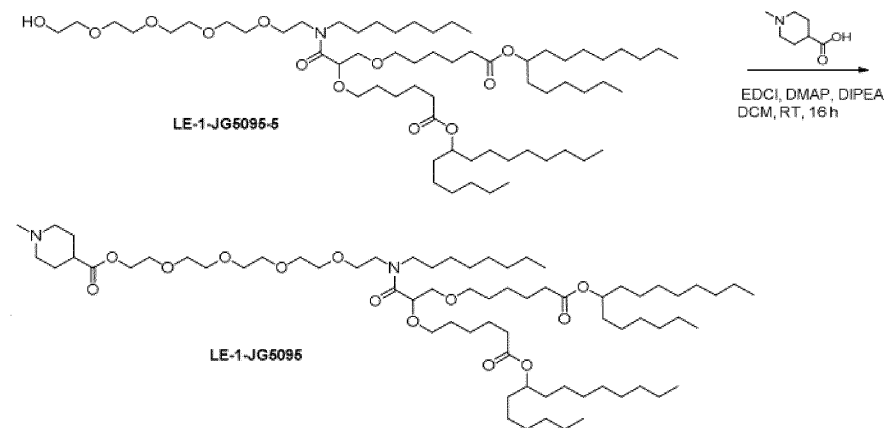


[1351]

[1352] 메탄올/THF(20 mL, 1/1 v/v) 중 1-헥실노닐 6-[2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-옥틸-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(1.2 g, 0.903 mmol)의 용액에 실온에서 한꺼번에 4-메틸벤젠설폰산(0.466 g, 2.71 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르 중 4% 에틸 아세테이트)는 출발 물질이 완전히 사라졌음을 나타내었다. 2 mL의 트리 에틸아민을 첨가하여 반응물을 퀀칭하고, 용매를 진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% MeOH(4%)로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 1-헥실노닐 6-[2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-옥틸-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(0.7 g, 71.3% 수율)를 수득하였다.

[1353] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.90 - 4.80 (m, 2H), 4.45 - 4.27 (m, 1H), 3.91 - 3.18 (m, 29H), 2.27 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.68 - 1.44 (m, 19H), 1.41 - 1.17 (m, 56H), 0.95 - 0.81 (m, 15H).

[1354] 화합물 XXX의 합성



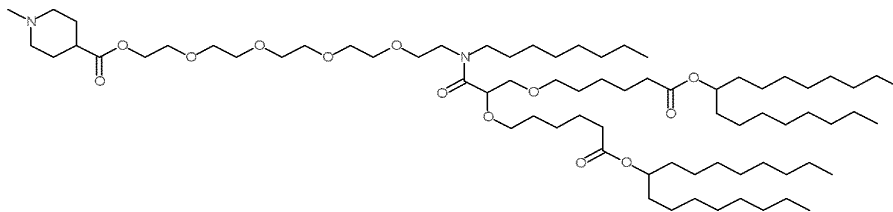
[1355]

[1356] 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 1-헥실노닐 6-[2-[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-옥틸-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(0.7 g, 0.644 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.277 g, 1.93 mmol)의 용액에 DIPEA(0.25 g, 1.93 mmol), DMAP(0.016 g, 0.129 mmol)를 첨가하고, 이어서 빙욕 하에서 EDCI(0.37 g, 1.93 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 0% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(1-헥실논옥시)-6-옥소-헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸-1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.318 g, 64.6% 수율)를 수득하였다.

[1357] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.90 - 4.81 (m, 2H), 4.43 - 4.28 (m, 1H), 4.26 - 4.21 (m, 2H), 3.75 - 3.24

(m, 27H), 2.83 (d, J = 13.4 Hz, 2H), 2.42 - 2.23 (m, 8H), 2.10 - 1.73 (m, 10H), 1.70 - 1.18 (m, 77H), 0.94 - 0.83 (m, 15H).

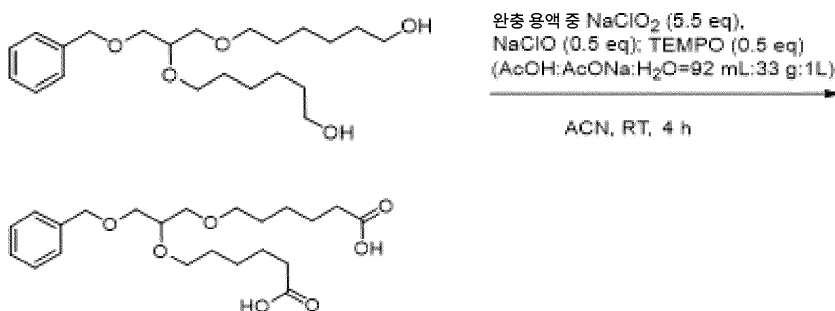
[1358] **실시예 23:** 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXI)의 합성



[1359]

[1360] 도 38의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXI를 제조한다.

[1361] 중간체 LE-1-JG5097-2의 합성

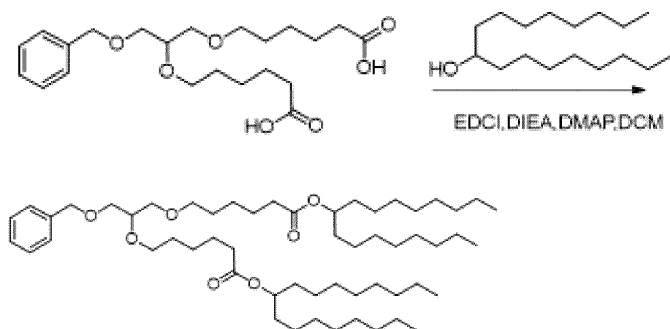


[1362]

[1363] ACN(80 ml) 중에 용해된 6-[3-벤질옥시-2-(6-하이드록시헥속시)프로폭시]헥산-1-올(7 g, 18.3 mmol)의 용액에 5 ml의 완충 용액을 첨가하여 pH를 4로 조정하였다. 그 후, 아염소산나트륨(18.2 g, 201 mmol) 및 클로로실나트륨(1.36 g, 18.3 mmol), TEMPO(2.86 g, 18.3 mmol)를 첨가하고, RT에서 4 h 동안 교반하였다. TLC(PE:EA = 1:1, RF: 0.3)는 원료가 소비되었음을 나타내었다. 혼합물을 5 ml의 메탄올로 켄칭하고, 물(80 ml)에 붓고, 에틸 아세테이트(80 ml x 3)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(80 ml)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치(batch)와 합한 잔류물을 디클로로메탄 중 5% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 6-[3-벤질옥시-2-(5-카르복시헥속시)프로폭시]헥산산(6.2 g, 82.5% 수율)을 수득하였다.

[1364] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37 - 7.27 (m, 5H), 4.54 (s, 2H), 3.62 - 3.41 (m, 9H), 2.35 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.71 - 1.52 (m, 8H), 1.46 - 1.34 (m, 4H).

[1365] 중간체 LE-1-JG5097-3의 합성

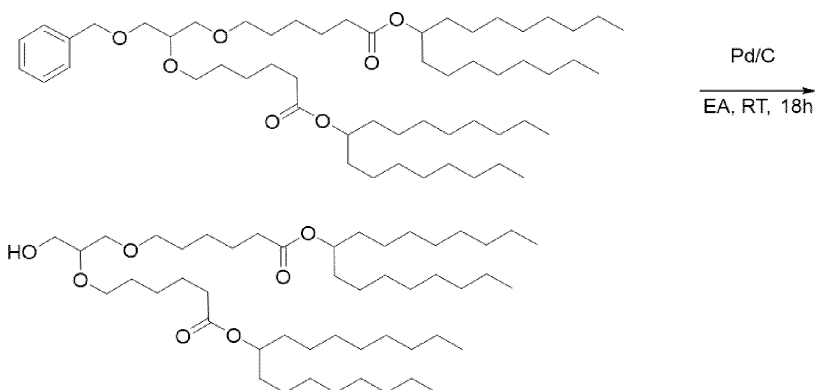


[1366]

[1367] DCM(100 mL) 중 6-[3-벤질옥시-2-(5-카르복시헥속시)프로폭시]헥산산(1.0 g, 2.4 mmol), 헵타데칸-9-올(2.5 g, 9.74 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.06 g, 0.4 mmol), 헵타데칸-9-올(1.26 g, 9.7 mmol), 3-(에틸이미노)헵타데칸-9-올(1.26 g, 9.7 mmol), 하이드로클로라이드(1.4 g, 7.31 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(PE:EA = 10:1, RF: 0.9)는 원료가 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 1 M HCl(30 ml)에 붓고, 에틸 아세테이트(60 ml x 3)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 그 후 석유 에테르 중 에틸 아세테이트(5 내지 10%)

를 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은색 고체로서 1-옥틸노닐 6-[3-벤질옥시-2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로폭시]헥사노에이트(2.0 g, 미정제 물질)를 수득하였다.

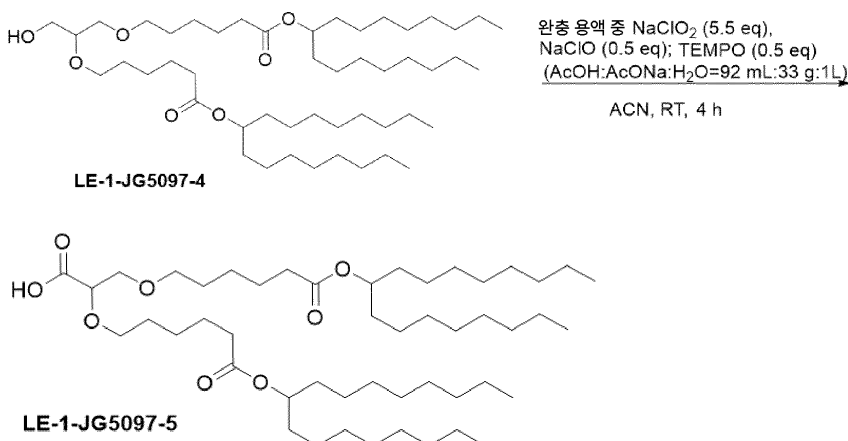
[1368] 중간체 LE-1-JG5097-4의 합성



[1369]

[1370] 에틸 아세테이트(20 mL) 중 1-옥틸노닐 6-[3-벤질옥시-2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로폭시]헥사노에이트(2.0 g, 2.25 mmol)의 용액에 100 ml 유리병에서 Pd-C(0.12 g, 1.13 mmol, 목재 활성탄 상의 10%, 50% 물 흡윤)를 첨가하고, H₂ 벌룬 하에서 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. TLC(PE:EA = 10:1, R_f: 약 0.5, 인몰리브텐 산)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 여과하고, 여과액을 농축시켜, 오일로서 1-옥틸노닐 6-[3-하이드록시-2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로폭시]헥사노에이트(1.1 g, 순도: 95%, 수율: 61.2%)를 수득하였다.

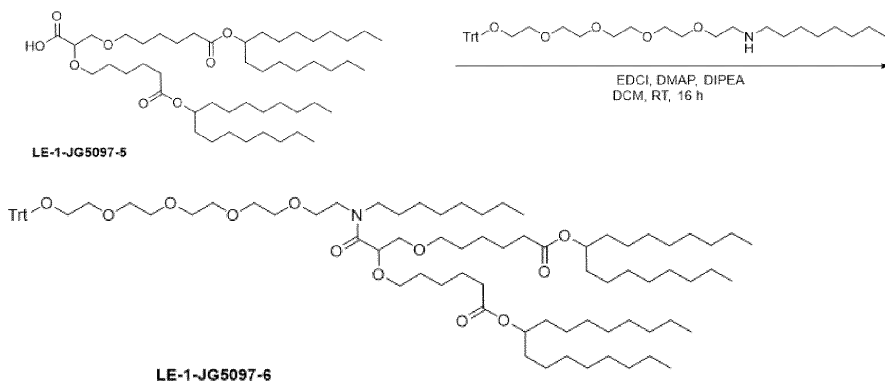
[1371] 중간체 LE-1-JG5097-5의 합성



[1372]

[1373] ACN(10 mL) 중에 용해된 1-옥틸노닐 6-[3-하이드록시-2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로폭시]헥사노에이트(1.15 g, 1.44 mmol)의 용액에 5 mL의 완충 용액을 첨가하여 pH를 4로 조정하였다. 그 후, 아염소산나트륨(7.93 g, 0.72 mmol) 및 차아염소산나트륨(0.05 g, 0.7 mmol), TEMPO(0.113 g, 0.72 mmol)를 첨가하고, RT에서 4 h 동안 교반하였다. TLC(PE:ACE = 2:1, R_f: 0.3)는 원료가 소비되었음을 나타내었다. 혼합물을 5 mL의 메탄올로 켄칭하고, 물(20 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트(20 mL x 3)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(20 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치와 합한 잔류물을 석유 에테르 중 10% 내지 20% 아세톤으로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2,3-비스[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로판산(0.57 g, 48.7% 수율)을 수득하였다.

[1374] 중간체 LE-1-JG5097-6의 합성

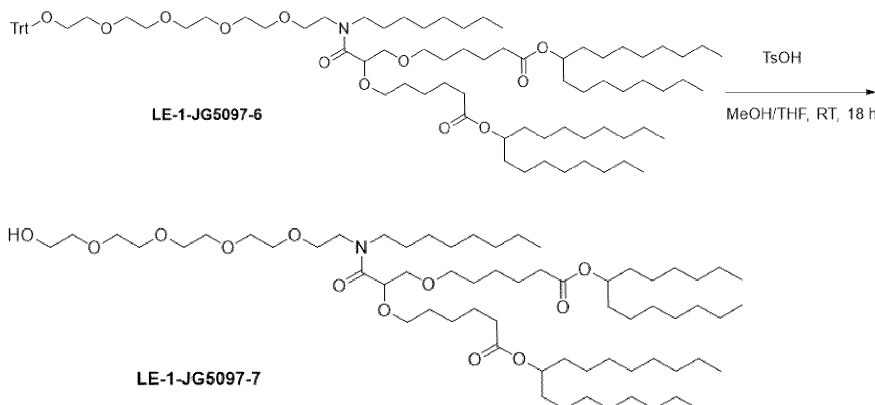


[1375]

[1376] 2,3-비스[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로판산(570 mg, 0.703 mmol), N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(541 mg, 0.913 mmol), N,N-디메틸 피리딘-4-아민(0.62 g, 5 mmol), N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(6.6 g, 51.2 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌 아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민;하이드로클로라이드(269 mg, 1.41 mmol)의 용액을 DCM(100 ml)에 용해시키고, RT에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(PE:EA = 2:1, RF: 0.8, 아이오딘)는 원료가 소비되었음을 나타 내었다. 반응물을 묽은 HCl(50 mL, 1 mol/L)에 붓고, 디클로로메탄(60 ml x 3)으로 추출하였다. 유기 층을 합하 고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치와 합한 잔 류물을 석유 에테르 중 5% 내지 10% 아세톤으로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 순수한 오일 로서 1-옥틸노닐 6-[2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(437 mg, 44.9% 수율)를 수득하였다.

[1377]

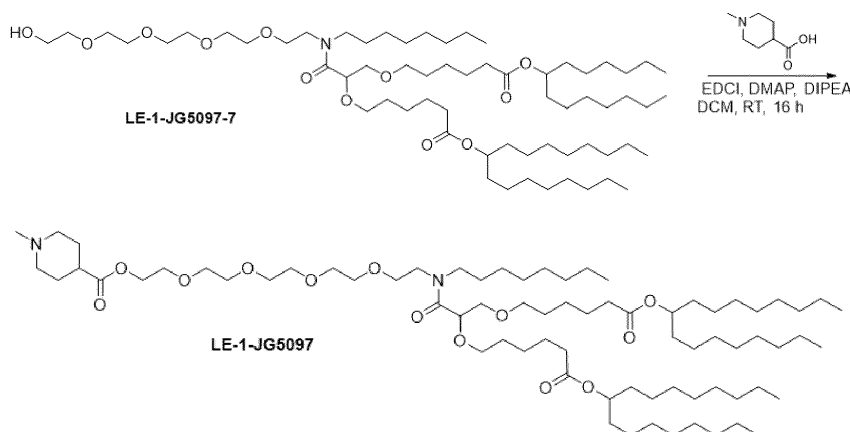
중간체 LE-1-JG5097-7의 합성



[1378]

[1379] 1-옥틸노닐 6-[2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(353 mg, 0.255 mmol) 및 4-메틸벤젠설포산(0.117 g, 0.6 mmol)의 용액을 메탄올/THF(1:1, 10 ml)에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(PE:EA). 반응물에 트리에틸아민 2 ml 를 첨가하고, 4-메틸벤젠설포산을 중화시키고, 묽은 HCl(50 mL, 1 mol/L)에 붓고, 디클로로메탄(60 ml x 3)으로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축 시켰다. 상기 배치와 합한 잔류물을 ACE 중 13% PE를 사용하여 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하 여, 황색 오일로서 1-옥틸노닐 6-[3-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)]에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미 노]-2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(0.27 g, 92.7% 수율)를 수득하였다.

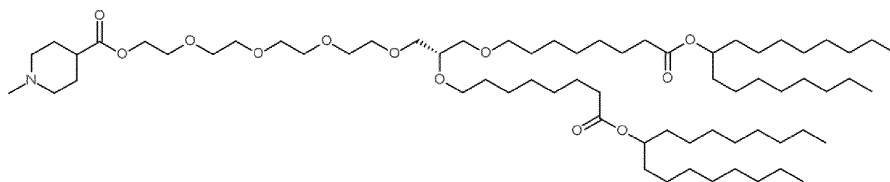
[1380] 화합물 XXXI의 합성



[1381]

[1382] DCM(10 mL) 중 1-옥틸놀 6-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-2-[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]-3-옥소-프로폭시]헥사노에이트(0.47 g, 0.4 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.01 g, 0.08 mmol), 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.17 g, 1.23 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민; 하이드로클로라이드(0.23 g, 1.23 mmol), N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(0.15 g, 1.23 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, RF: 0.4, 아이오딘). 반응물을 1 M HCl(30 ml)에 붓고, 에틸 아세테이트(60 ml x 3)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 그 후 MeOH 중 DCM(5 내지 7%)을 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(1-옥틸논옥시)-6-옥소-헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.47 g, 90.1% 수율)를 수득하였다.

[1383] **실시예 24:** 2-[2-[2-[2-[(2S)-2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXII)의 합성



[1384]

[1385] 도 21의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXII를 제조한다.

[1386] 중간체 LE-1-JG5059-1의 합성

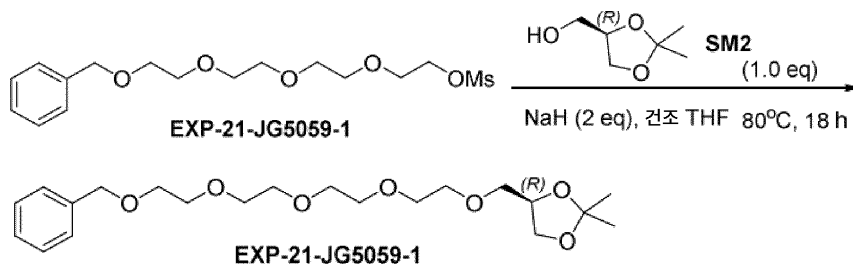


[1387]

[1388] DCM(500 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 N,N-디에틸에탄아민(17.8 g, 176 mmol)의 혼합물에 0°C에서 메탄설폰일 클로라이드(15.1 g, 132 mmol)를 서서히 첨가하였다. 그 후 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 5:1, Rf: 약 0.9, 아이오딘)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 혼합물에, 이 용액에 DCM(400 ml)을 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 500 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설폰에이트(63 g, 321 mmol, 98.9% 수율)를 수득하였다.

[1389] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40 - 7.19 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.37 - 4.32 (m, 2H), 3.76 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.59 (m, 12H), 3.04 (d, J = 10.0 Hz, 3H).

[1390] 중간체 LE-1-JG5059-2의 합성

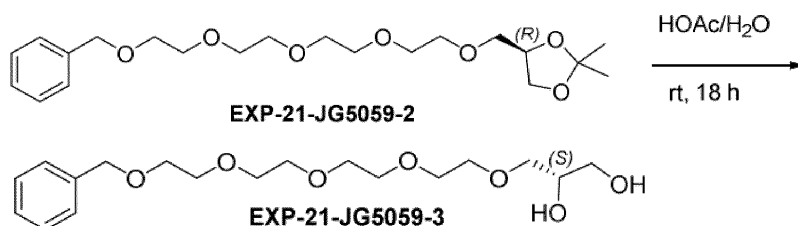


[1391]

[1392] THF(1200 mL) 중 [(4R)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일]메탄올(24.2 g, 174 mmol)의 용액에 NaH(23.1 g, 348 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80°C까지 가열하였다. 그 후 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(63 g, 174 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80°C에서 24 h 동안 가열하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, Rf: 약 0.5, 아이오딘)는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(200 mL)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(1000 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 중 50% 석유 에테르로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 (4R)-4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48 g, 114 mmol, 65.8% 수율)을 수득하였다.

[1393] ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39 - 7.25 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.76 - 3.35 (m, 25H), 2.33 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.69 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 10.1 Hz, 12H).

[1394] 중간체 LE-1-JG5059-3의 합성

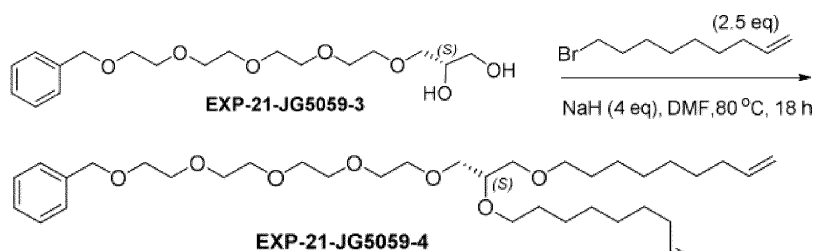


[1395]

[1396] HOAc(250 mL) 및 H₂O(250 mL) 중 (4R)-4-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시메틸]-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란(48 g, 120 mmol)의 용액을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 10/1, SM, Rf: 0.8; 생성물, Rf: 0.7)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(500 mL)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(500 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 0 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 황색 오일로서 3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(42 g, 117 mmol, 97.3% 수율)을 수득하였다.

[1397] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30 (dd, J = 24.7, 4.8 Hz, 6H), 4.56 (s, 2H), 3.93 -3.41 (m, 21H).

[1398] 중간체 LE-1-JG5059-4의 합성



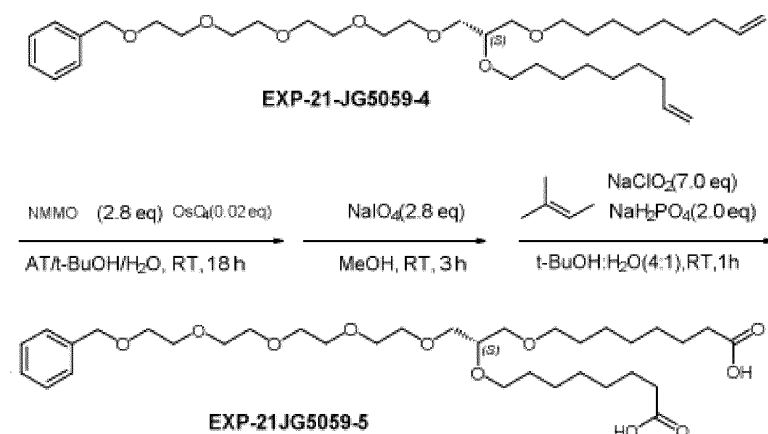
[1399]

[1400] 질소 하에서 건조 DMF(400 mL) 중 (2S)-3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로판-1,2-디올(42 g, 117 mmol)의 용액에 수소화나트륨(18.6 g, 777 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 15 min 동안 80°C까지 가열

하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모논-1-엔(60.1 g, 293 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 18 h 동안 80℃까지 가열하였다. TLC(에틸 아세테이트 중 50% 석유 에테르, RF: 0.5, 인몰리브덴산)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(70 mL)로 킨칭하고, 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 황색 오일로서 (S)-16-(논-8-엔-1-일옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헵타코스-26-엔(25.0 g, 41.2 mmol, 35.2% 수율)을 수득하였다.

[1401] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (dd, J = 24.7, 4.8 Hz, 6H), 4.56 (s, 2H), 3.93 - 3.41 (m, 21H).

[1402] 중간체 LE-1-JG5059-5의 합성

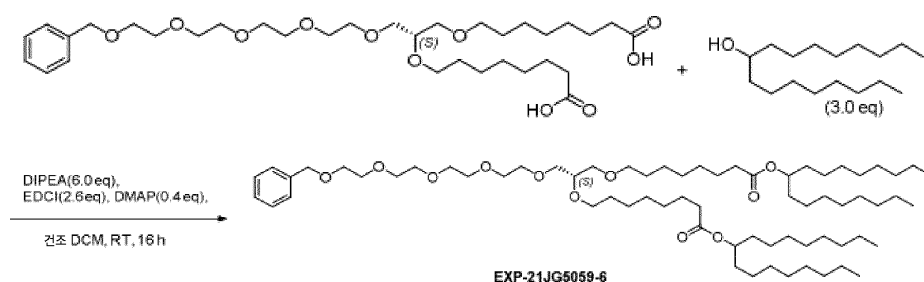


[1403]

[1404] 아세톤(200 mL), t-BuOH(40 mL), 및 H_2O (20 mL) 중 2-[2-[2-[2-(2S)-2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시벤젠(25 g, 41.8 mmol), 4-메틸-4-옥시도-모르폴린-4-움(13.5 g, 115 mmol) 및 테트라옥소오스륨(0.2 g, 0.84 mmol)의 용액을 실온에서 12 h 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, Rf: 약 0.5, 인몰리브덴산)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 혼합물을 농축시킨 후에, 잔류물을 EA 및 H_2O 중에 용해시켰다. 유기 용액을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 증발시켜 미정제 글리콜을 수득하였다. MeOH(250 mL) 중 미정제 글리콜 및 NaIO_4 (25.3 g, 118 mmol)의 혼합물을 실온에서 3 h 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 농축시켰다. EA(200 mL) 및 H_2O (200 mL)를 잔류물에 첨가하였다. 유기 용액을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조시켰다. 농축시켜 미정제 알데하이드를 수득하였다. t-BuOH(200 mL) 및 H_2O (50 mL) 중 미정제 알데하이드, 2-메틸-2부텐(180 mL), 및 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (9.4 g, 78.4 mmol)의 용액에 NaClO_2 (24.7 g, 274.4 mmol)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 1 h 동안 교반하고, 그 후 EA를 첨가하였다. 유기 용액을 분리하고, 염수로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조시켰다. 농축시키고, 이어서 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(DCM 중 MeOH(8%))를 수행하여, 무색 오일로서 8-[(2S)-2-(7-카르복시헵톡시)-3-[2-[2-[2-(2-페녹시에톡시)에톡시]에톡시]프로폭시]옥탄산(7.0 g, 36.7% 수율)을 수득하였다.

[1405] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.39 - 7.20 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.77 - 3.35 (m, 25H), 2.32 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.71 - 1.46 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1406] 중간체 LE-1-JG5059-6의 합성



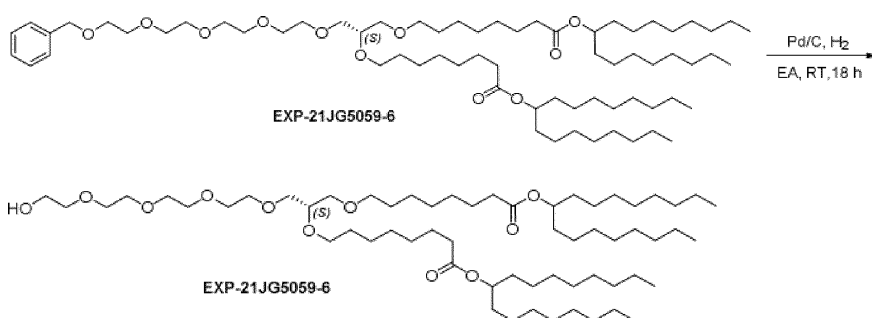
[1407]

[1408] DCM(50 mL) 중 8-[(2S)-3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]

옥탄산(5 g, 7.78 mmol), 헵타데칸-9-올(7.98 g, 31.1 mmol), 3-(((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-디메틸프로판-1-아민 하이드로클로라이드(494 mg, 4.04 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.38 g, 3.11 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(6.03 g, 46.7 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, Rf: 약 0.6, 인몰리브덴산)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 묽은 HCl(50 mL, 1 mol/L)에 붓고, 디클로로메탄(50 mL x 3)으로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(100 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치와 합한 잔류물을 EA 중 30% PE로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 담황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[(2S)-3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.0 g, 10.9% 수율)를 수득하였다.

[1409] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 - 7.27 (m, 4H), 4.90 - 4.79 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.75 - 3.35 (m, 25H), 2.27 (t, J = 7.0 Hz, 4H), 1.66 - 1.42 (m, 18H), 1.28 (d, J = 22.8 Hz, 60H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1410] 중간체 LE-1-JG5059-7의 합성

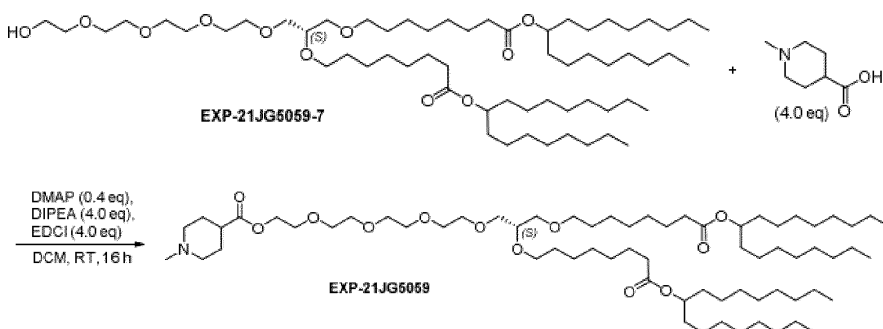


[1411]

[1412] 1-옥틸노닐 8-[(2S)-3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.0 g, 0.893 mmol)의 용액을 15 mL의 에틸 아세테이트 중에 용해시켰다. 혼합물에 50 mL 유리병에서 Pd-C(400 mg, 목재 활성탄 상의 10%, 50% 물 흡윤)를 첨가하고, H_2 벌룬 하에서 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, Rf: 약 0.5, 인몰리브덴산)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 그 후 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켜, 담색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[(2S)-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.8 g, 87.0% 수율)를 수득하였다.

[1413] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (p, J = 6.2 Hz, 2H), 3.78 - 3.31 (m, 25H), 2.28 (dd, J = 11.1, 3.9 Hz, 4H), 1.56 (ddd, J = 22.7, 14.6, 6.1 Hz, 16H), 1.38 - 1.15 (m, 60H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1414] 화합물 XXXII의 합성



[1415]

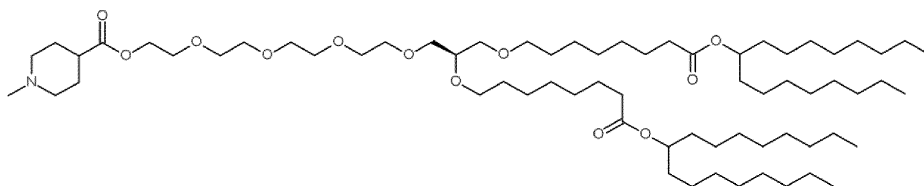
[1416] 20 mL의 DCM 중 1-옥틸노닐 8-[(2S)-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(800 mg, 0.77 mmol), 3-(((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-디메틸프로판-1-아민 하이드로클로라이드(387 mg, 2.02 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(19 mg, 0.155 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(0.603 g, 4.66 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, Rf: 약 0.4, 인몰리브덴산)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 반응물을 염수(10 mL)에 붓고, 디클로로메탄(10 mL x 3)으로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다.

다. 그 후 상기 배치와 합한 잔류물을 CH₃OH 중 DCM(0 내지 10%)을 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[(2S)-2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸-1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(475 mg, 52.9%)를 수득하였다.

[1417] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.92 - 4.78 (m, 2H), 4.28 - 4.18 (m, 2H), 3.70 - 3.42 (m, 23H), 2.85 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.37 - 2.23 (m, 8H), 1.82 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 1.64 - 1.46 (m, 18H), 1.38 - 1.21 (m, 63H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

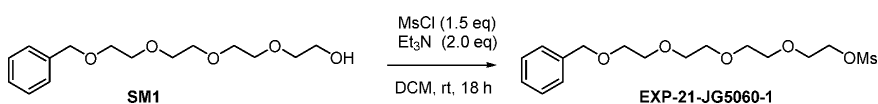
[1418] **실시예 25:** 2-[2-[2-[2-[(2R)-2,3-비스[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸-1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXIII)의 합성

[1419] [화합물 XXXIII]



[1420] 도 22의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXIII를 제조한다.

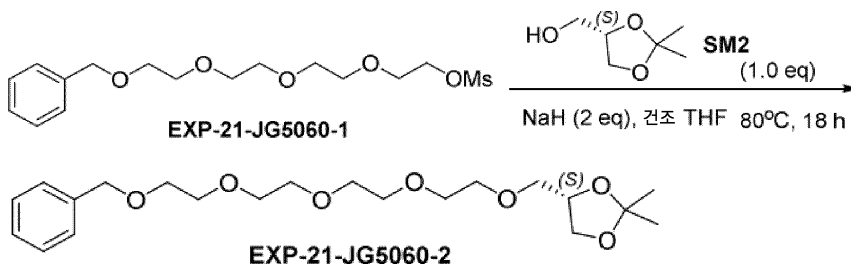
[1422] 중간체 LE-1-JG5060-1의 합성



[1424] DCM(500 mL) 중 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에탄올(50 g, 176 mmol) 및 N,N-디에틸에탄아민(17.8 g, 176 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설포닐 클로라이드(15.1 g, 132 mmol)를 서서히 첨가하였다. TLC(DCM:MeOH = 5:1, R_f: 약 0.9, 아이오딘)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 500 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 추가로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 그 후 용매를 제거하여, 주황색 오일로서 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(63 g, 321 mmol, 98.9% 수율)를 수득하였다.

[1425] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40 - 7.19 (m, 5H), 4.56 (s, 2H), 4.37 - 4.32 (m, 2H), 3.76 - 3.71 (m, 2H), 3.70 - 3.59 (m, 12H), 3.04 (d, J = 10.0 Hz, 3H).

[1426] 중간체 LE-1-JG5060-2의 합성

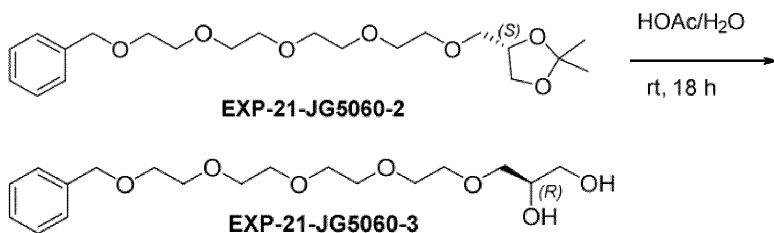


[1427] THF(1200 mL) 중 (S)-2,2-디메틸-1,3-디옥솔란-4-일)메탄올(23.6 g, 179 mmol)의 용액에 NaH(23.1 g, 348 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 30 min 동안 80℃까지 가열하였다. 그 후 반응물을 실온까지 냉각시키고, 2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(65 g, 179 mmol)를 질소 하에서 첨가하고, 반응물을 80℃에서 18 h 동안 가열하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, R_f: 약 0.5, 아이오딘)는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 물(200 mL)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(1000 mL)로 추출하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(500 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 중 50% 석유 에테르로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 (S)-2,2-디메틸-4-(15-페닐-2,5,8,11,14-펜타옥사펜타데실)-1,3-디옥솔란(54 g, 76.0% 수

을)을 수득하였다.

[1429] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.39 - 7.25 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.76 - 3.35 (m, 25H), 2.33 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.69 - 1.48 (m, 8H), 1.34 (d, J = 10.1 Hz, 12H).

[1430] 중간체 LE-1-JG5060-3의 합성

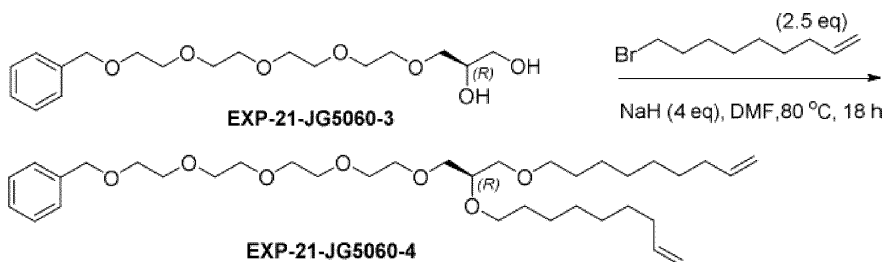


[1431]

[1432] HOAc(250 ml) 및 H_2O (250 ml) 중 (S)-2,2-디메틸-4-(15-페닐-2,5,8,11,14-펜타옥사헵타데실)-1,3-디옥솔란(54 g, 136 mmol)의 용액을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 10/1, SM, Rf: 0.8; 생성물: 0.7)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 용매를 진공 하에서 제거하고, 톨루엔으로 수회 추출하여, 황색 오일로서 (R)-1-페닐-2,5,8,11,14-펜타옥사헵타데칸-16,17-디올(42 g, 87.5% 수율)을 수득하였다.

[1433] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (dd, J = 24.7, 4.8 Hz, 6H), 4.56 (s, 2H), 3.93 - 3.41 (m, 21H).

[1434] 중간체 LE-1-JG5060-4의 합성

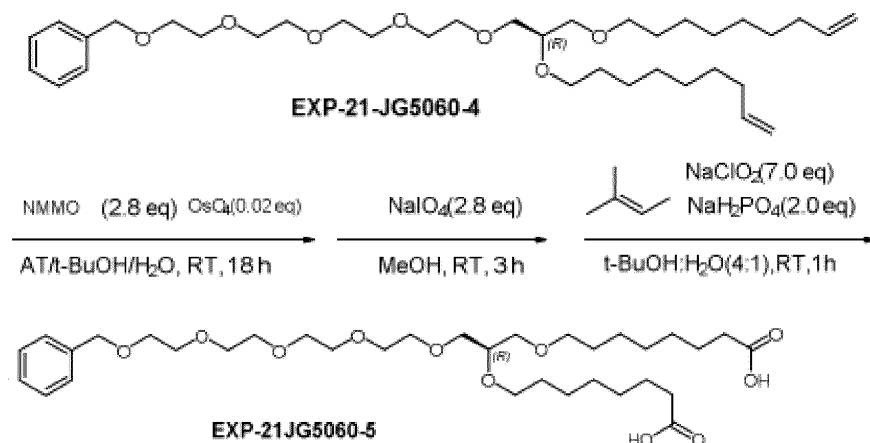


[1435]

[1436] 질소 하에서 건조 DMF(400 ml) 중 (R)-1-페닐-2,5,8,11,14-펜타옥사헵타데칸-16,17-디올(42 g, 117 mmol)의 용액에 수소화나트륨(18.6 g, 777 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 15 min 동안 80 $^\circ\text{C}$ 까지 가열하였다. 그 후, 반응물을 실온까지 냉각시키고, 9-브로모노-1-엔(60.1 g, 293 mmol)을 이 용액에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고, 그 후 18 h 동안 80 $^\circ\text{C}$ 까지 가열하였다. TLC(EA/PE = 1/1, Rf: 0.8)는 새로운 스팟이 형성되었음을 나타내었다. 반응물을 물(70 ml)로 켄칭하고, 에틸 아세테이트(400 mL)와 물(400 mL) 사이에 분배하였다. 수성 층을 다시 에틸 아세테이트(400 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 황색 오일로서 (R)-16-(논-8-엔-1-일옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헵타코스-26-엔(25.0 g, 35.2% 수율)을 수득하였다.

[1437] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.30 (dd, J = 24.7, 4.8 Hz, 6H), 4.56 (s, 2H), 3.93 - 3.41 (m, 21H).

[1438] 중간체 LE-1-JG5060-5의 합성

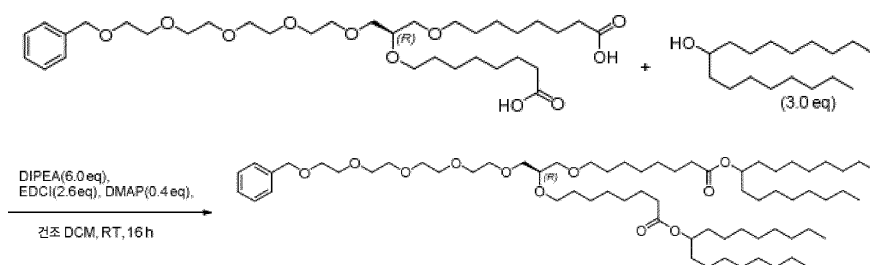


[1439]

[1440] 아세톤(200 mL), t-BuOH(40 mL), 및 H₂O(20 mL) 중 (R)-16-(논-8-엔-1-일옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헥사코산-26-엔(25 g, 41.8 mmol), 4-메틸-4-옥시도-모르폴린-4-움(13.5 g, 115 mmol) 및 테트라옥소오스뮴(0.2 g, 0.84 mmol)의 용액을 실온에서 12 h 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, R_f: 약 0.5, 인몰리브덴 산)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 혼합물을 농축시킨 후에, 잔류물을 EA 및 H₂O 중에 용해시켰다. 유기 용액을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시켰다. 용매를 증발시켜 미정제 글리콜을 수득하였다. MeOH(250 mL) 중 미정제 글리콜 및 NaIO₄(25.3 g, 118 mmol)의 혼합물을 실온에서 3 h 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 농축시켰다. EA(200 mL) 및 H₂O(200 mL)를 잔류물에 첨가하였다. 유기 용액을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시켰다. 농축시켜 미정제 알데하이드를 수득하였다. t-BuOH(200 mL) 및 H₂O(50 mL) 중 미정제 알데하이드, 2-메틸-2부텐(180 mL), 및 NaH₂PO₄·2H₂O(9.4 g, 78.4 mmol)의 용액에 NaClO₂(24.7 g, 274.4 mmol)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 1 h 동안 교반하고, 그 후 EA를 첨가하였다. 유기 용액을 분리하고, 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시켰다. 농축시키고, 이어서 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(DCM 중 MeOH(8%))를 수행하여, 무색 오일로서 (R)-16-((7-카르복시헵틸)옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헥사코산-26-오익산(7.0 g, 36.7% 수율)을 수득하였다.

[1441] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39 - 7.20 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 3.77 - 3.35 (m, 25H), 2.32 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.71 - 1.46 (m, 8H), 1.32 (s, 12H).

[1442] 중간체 LE-1-JG5060-6의 합성

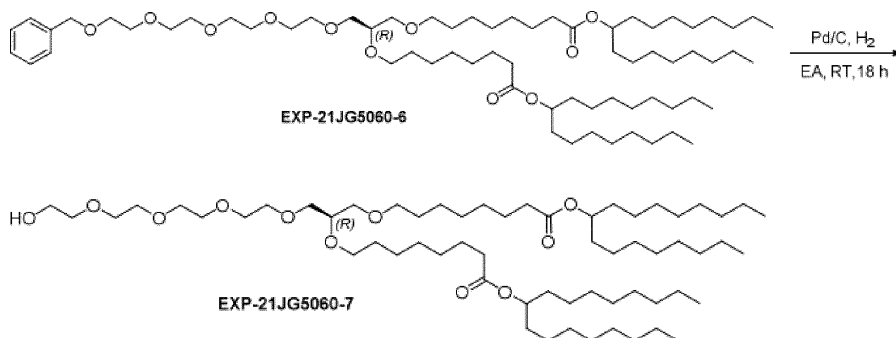


[1443]

[1444] DCM(50 mL) 중 (R)-16-((7-카르복시헵틸)옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헥사코산-26-오익산(5 g, 7.78 mmol), 헵타데칸-9-올(7.98 g, 31.1 mmol), 3-(((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-디메틸프로판-1-아민 하이드로클로라이드(494 mg, 4.04 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.38 g, 3.11 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(6.03 g, 46.7 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, R_f: 약 0.6, 인몰리브덴 산)는 모든 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응물을 묽은 HCl(50 mL, 1 mol/L)에 붓고, 디클로로메탄(50 mL x 3)으로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(100 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치와 합한 잔류물을 EA 중 30% PE로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 담황색 오일로서 헵타데칸-9-일 (R)-16-((8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸)옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헥사코산-26-오익트(1.0 g, 10.9% 수율)를 수득하였다.

[1445] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 - 7.27 (m, 4H), 4.90 - 4.79 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.75 - 3.35 (m, 25H), 2.27 (t, J = 7.0 Hz, 4H), 1.66 - 1.42 (m, 18H), 1.28 (d, J = 22.8 Hz, 60H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1446] 중간체 LE-1-JG5060-7의 합성

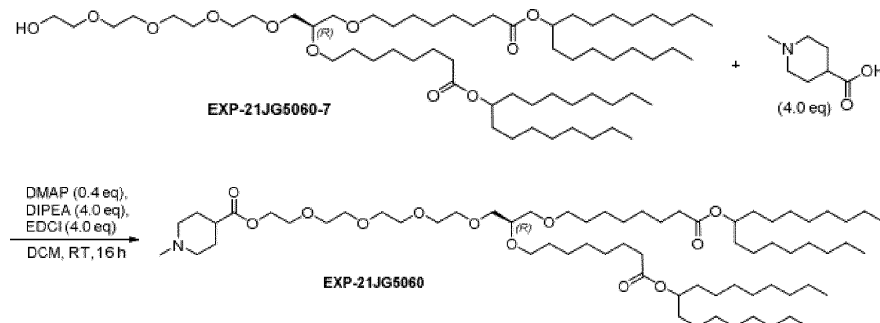


[1447]

[1448] 1-옥틸노닐 헵타데칸-9-일 (R)-16-((8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸)옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사헥사코산-26-오에이트(1.0 g, 0.893 mmol)의 용액을 15 mL의 에틸 아세테이트 중에 용해시켰다. 혼합물에 50 mL 유리병에서 Pd-C(400 mg, 목재 활성탄 상의 10%, 50% 물 흡윤)를 첨가하고, H_2 벌룬 하에서 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, R_f : 약 0.5, 인몰리브덴산)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 그 후 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켜, 담색 오일로서 헵타데칸-9-일 (R)-14-((8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸)옥시)-1-하이드록시-3,6,9,12,16-펜타옥사테트라코산-24-오에이트(0.8 g, 87.0% 수율)를 수득하였다.

[1449] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (p, J = 6.2 Hz, 2H), 3.78 - 3.31 (m, 25H), 2.28 (dd, J = 11.1, 3.9 Hz, 4H), 1.56 (ddd, J = 22.7, 14.6, 6.1 Hz, 16H), 1.38 - 1.15 (m, 60H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1450] 화합물 XXXIII의 합성



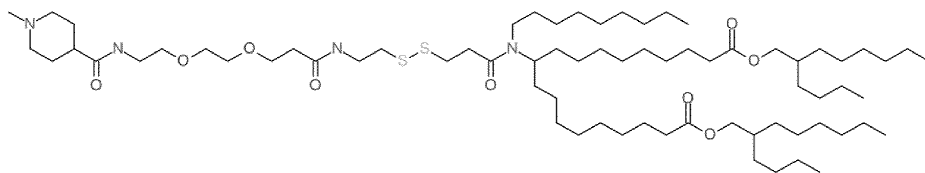
[1451]

[1452] 20 mL의 DCM 중 헵타데칸-9-일 (R)-14-((8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸)옥시)-1-하이드록시-3,6,9,12,16-펜타옥사테트라코산-24-오에이트(800 mg, 0.77 mmol), 3-(((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-디메틸프로판-1-아민 하이드로클로라이드(387 mg, 2.02 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(19 mg, 0.155 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(0.603 g, 4.66 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(DCM:MeOH = 10:1, R_f : 약 0.4, 인몰리브덴산)는 원료가 사라졌음을 나타내었다. 반응물을 염수(10 mL)에 붓고, 디클로로메탄(10 mL x 3)으로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 그 후 상기 배치와 합한 잔류물을 CH_3OH 중 DCM(0 내지 10%)을 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 (R)-14-((8-(헵타데칸-9-일옥시)-8-옥소옥틸)옥시)-26-옥틸-24-옥소-3,6,9,12,16,25-헥사옥사테트라트리아코닐 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(475 mg, 52.9%)를 수득하였다.

[1453] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.92 - 4.78 (m, 2H), 4.28 - 4.18 (m, 2H), 3.70 - 3.42 (m, 23H), 2.85 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.37 - 2.23 (m, 8H), 1.82 (d, J = 10.8 Hz, 2H), 1.64 - 1.46 (m, 18H), 1.38 - 1.21 (m, 63H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1454] **실시예 26:** 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐)아미노]에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸 디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트(화합물 XXXIV)의 합성.

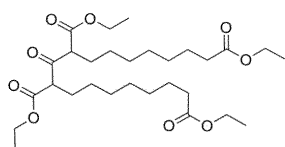
[1455] [화합물 XXXIV]



[1456]

[1457] 도 23a 및 도 23b의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXIV를 제조한다.

[1458] 중간체 EXP-21-IK5599의 합성

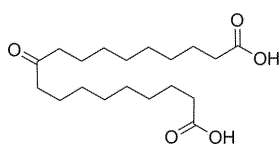


[1459]

[1460] 디에틸 3-옥소헵타디오에이트(20 g) 및 20% 나트륨 에톡사이드-에탄올 용액(33.5 g)의 혼합물을 80℃에서 20분 동안 교반하고, 그 후 에틸 8-브로모옥타노에이트(25 g)를 그에 첨가하고, 혼합물을 4시간 동안 교반하였다. 20% 나트륨 에톡사이드-에탄올 용액(33.5 g)을 반응 혼합물에 첨가하고, 반응 혼합물을 5분 동안 교반하고, 그 후 에틸 8-브로모옥타노에이트(25 g)를 그에 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 그 후 헥산 및 20% 수성 염화암모늄 용액(110 mL)을 그에 첨가하여 유기 층을 분리하고, 용매를 감압 하에서 증류 제거함으로써, 미정제 생성물로서 테트라에틸 9-옥소헵타데칸-1,8,10,17-테트라카르복실레이트(51.5 g)를 수득하였다.

[1461] LCMS: Rt = 2.194

[1462] 중간체 EXP-21-JB7501의 합성

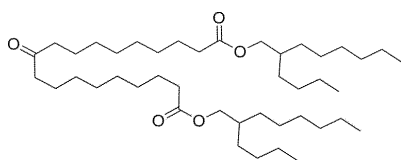


[1463]

[1464] 수득된 테트라에틸 9-옥소헵타데칸-1,8,10,17-테트라카르복실레이트(25 g), 아세트산(40 mL), 및 30% 수성 염산 용액(80 mL)의 혼합물을 115℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 그 후 용매를 감압 하에서 증류 제거하고, 물 및 아세톤을 잔류물에 첨가하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 물 및 아세톤으로 세척하고, 그 후 감압 하에서 건조시킴으로써, 백색 고체로서 10-옥소노난 데칸이산(0.6 g)을 수득하였다.

[1465] ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.97 (s, 2H), 2.38 (t, J = 7.3 Hz, 4H), 2.18 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.54 - 1.35 (m, 8H), 1.23 (s, 16H).

[1466] 중간체 EXP-21-JB7503의 합성



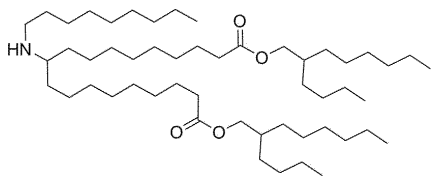
[1467]

[1468] 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 하이드로클로라이드(10.1 g, 52.6 mmol)를 10-옥소노난 데칸이산(7.35 g, 39.4 mmol), 2-부틸옥탄-1-올(9 g, 26.3 mmol), 트리에틸아민(11 mL), 디메틸아미노피리딘(321, 0.26 mmol) 및 디클로로메탄(500 mL)의 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반하였다. 10% 수성 황산수소칼륨 용액(1200 mL), 헥산(600 mL), 및 에틸 아세테이트(600 mL)를 반응 혼합물에 첨가하고, 유기 층을 분리하고, 그 후 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 용매를 감압 하에서 증류 제거하였다. 수득된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(에틸 아세테이트-헥산)로 정제함으로써, 무색 유성 물질로서 비스(2-부틸옥틸)10-옥소노난 데칸디오에이트(10 g, 56%)를 수득하였다.

[1469] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.97 (d, J = 5.8 Hz, 4H), 2.37 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 2.29 (t, J = 7.5 Hz,

4H), 1.71 - 1.43 (m, 11H), 1.28 (d, J = 1.2 Hz, 49H), 0.89 (td, J = 6.6, 4.1 Hz, 12H).

[1470] 중간체 EXP-21-JB7504의 합성

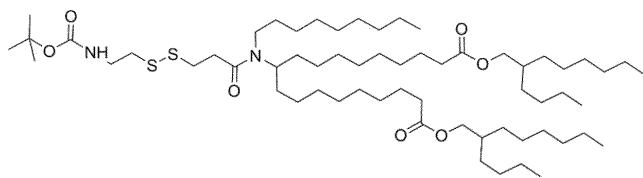


[1471]

[1472] DCE(10 mL) 중 비스(2-부틸옥틸) 10-옥소노나데칸디오에이트(6 g, 8.84 mmol) 및 1-데실아민(2.53 g, 13.2 mmol)의 용액을 실온에서 15분 동안 교반하고, 이어서 나트륨 트리야세톡시보로하이드라이드(2.79 g, 13.2 mmol) 및 아세트산(0.828 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반한 후에, 반응 혼합물을 농축시켰다. 잔류물을 헥산으로 희석시키고, 묽은 NaOH, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 상을 분리하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 미정제 생성물을 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/EtOAc, 95:5:0 내지 80:20:1)로 정제하여, 무색 오일로서 비스(2-부틸옥틸) 10-(노닐아미노)노나데칸디오에이트(2.5 g, 35% 수율)를 수득하였다.

[1473] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.97 (d, J = 5.8 Hz, 4H), 2.54 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.47 - 2.37 (m, 1H), 2.30 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.66 - 1.58 (m, 6H), 1.45 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 1.31 (dd, J = 32.7, 5.2 Hz, 70H), 0.94 - 0.79 (m, 16H).

[1474] 중간체 EXP-21-IJ0879의 합성



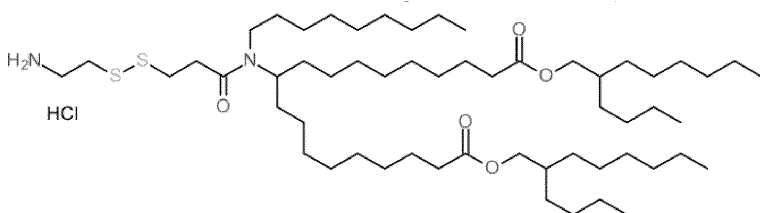
[1475]

[1476] DCM(30 mL) 중 3-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에틸디설파닐]프로판산(2.18 g, 7.75 mmol) 및 비스(2-부틸옥틸) 10-(노닐아미노)노나데칸디오에이트(2.5 g, 3.10 mol)의 용액에 HATU(3.54 g, 7.75 mmol) 및 DIPEA(1.20 g, 7.75 mol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 물(50 mL)로 퀀칭하고, 그 후 에틸 아세테이트(2*100 mL)로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 PE 중 0% 내지 10% EA로 용리되는 플래시 크로마토그래피 컬럼으로 정제하여, 무색 오일로서 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노) 에틸디설파닐]프로판노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트(2.03 g, 61.2% 수율)를 수득하였다.

[1477] LCMS: LC는 없음을 나타냄

[1478] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.11 (d, J = 25.7 Hz, 1H), 3.97 (d, J = 5.8 Hz, 4H), 3.58 (dd, J = 25.4, 18.4 Hz, 1H), 3.46 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.13 - 2.92 (m, 4H), 2.89 - 2.60 (m, 4H), 2.33 - 2.23 (m, 4H), 1.61 (d, J = 3.0 Hz, 6H), 1.44 (s, 14H), 1.28 (s, 66H), 0.94 - 0.81 (m, 15H).

[1479] 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-(2-아미노에틸디설파닐)프로판노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트; 하이드로클로라이드의 합성

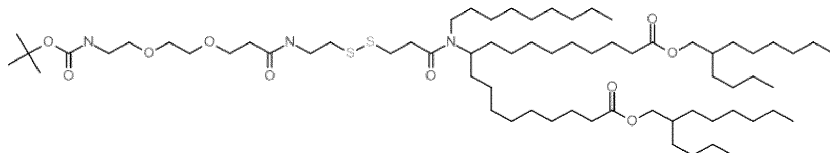


[1480]

[1481] 회전식 진탕기 상의 5 mL 마이크로파 튜브 내에, 중간체 EXP-21-IJ0879 및 디클로로메탄(4 mL)을 로딩한다. 4 N 염산 디옥산(2.337 mmol, 0.5842 mL)을 첨가하고, 실온에서 하룻밤 교반한다.

[1482] TLC DCM 90 MeOH 9.5, H₂O 0.5: 반응 완료. MR을 농축 건조시킨다. 그 후 크로메이트-플래시(10 g의 Merck 실리카 카트리지, 용리제: DCM/MeOH 구배: 35 min 내에 100부터 80/20까지)로 정제함으로써, 무색 오일로서 180 mg의 74% 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-(2-아미노에틸디설파닐)프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트 하이드로클로라이드를 수득한다.

[1483] 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트의 합성

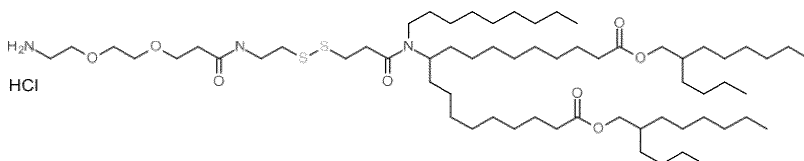


[1484]

[1485] 회전식 진탕기 테이블 상의 10 mL 마이크로파 튜브 내에, N-Boc-3-[2-(2-아미노(에톡시)에톡시)프로피온산 및 2 mL의 DCM을 채운다. HATU(0.2684 mmol, 102.054 mg) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.5367 mmol, 0.096 mL, 69.3648 mg)을 첨가한다. 실온에서 하룻밤 교반한다.

[1486] MR을 농축 건조시키고, 그 후 크로메이트-플래시(100 g의 Merck 실리카 카트리지, 용리제: DCM/MeOH/H₂O, 구배: 35 min 내에 100/0/0부터 80/10/1까지)로 정제함으로써, 무색 오일로서 200 mg의 90%의 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트를 수득한다.

[1487] 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]프로파노일아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트; 하이드로클로라이드의 합성



[1488]

[1489] 회전식 진탕기 상의 5 mL 마이크로파 튜브 내에, 이전의 중간체 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]프로파노일아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트 및 디클로로메탄(4 mL)을 로딩한다. 4 N 염산 디옥산(1.4647 mmol, 0.3662 mL)을 첨가하고, 실온에서 하룻밤 교반한다. TLC DCM 90 MeOH 9.5, H₂O 0.5: 반응 완료. MR을 농축 건조시킨다.

[1490] 플래시 크로마토그래피(10 g의 Merck 실리카 카트리지, 용리제: DCM/MeOH, 구배: 35 min 내에 100부터 80/20까지)로 정제함으로써, 무색 오일로서 115 mg의 65% 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]프로파노일아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트; 하이드로클로라이드를 수득한다.

[1491] 화합물 XXXIV의 합성

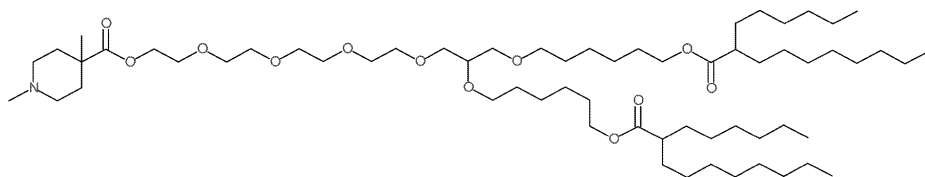
[1492] 회전식 진탕기 상의 5 mL 마이크로파 튜브 내에, 3 mL의 펩티드 DMF를 로딩한다. HATU(0.1382 mmol, 52.5481 mg) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.3948 mmol, 0.071 mL, 51.0252 mg)을 첨가하고, 그 후 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(19,788 mg, 0.1382 mmol)을 첨가한다. 실온에서 하룻밤 교반한다. MR을 농축 건조시킨다. 그 후 크로메이트-플래시(10 g의 Merck 실리카 카트리지, 용리제: DCM/MeOH, 구배: 35 min 내에 100/0부터 80/20까지)로 정제함으로써, 33 mg의 26% 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[3-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]프로파노일아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트; 하이드로클로라이드를 수득한다.

[1493] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 100°C) δ ppm 0.79 - 0.92 (m, 15 H), 1.14 - 1.76 (m, 78 H), 1.99 - 2.17 (m, 2 H), 2.20 - 2.28 (m, 9 H), 2.29 - 2.35 (m, 3 H), 2.60 - 2.70 (m, 2 H), 2.79 (t, J=7 Hz, 2 H), 2.81 - 3.13 (m 부분적으로 감추어짐, 7 H), 3.17 - 3.24 (m, 2 H), 3.29 - 3.38 (m, 2 H), 3.42 (t, J=6 Hz, 2 H), 3.49 (s, 4 H), 3.62 (t, J=7 Hz, 2 H), 3.92 (d, J=6 Hz, 4 H), 7.22 - 7.34 (m, 1 H), 7.52 - 7.67 (m, 1 H)

[1494] [M+H]⁺, rt = 6.54 min.

[1495] 실시예 27: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸-1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXV)의 합성

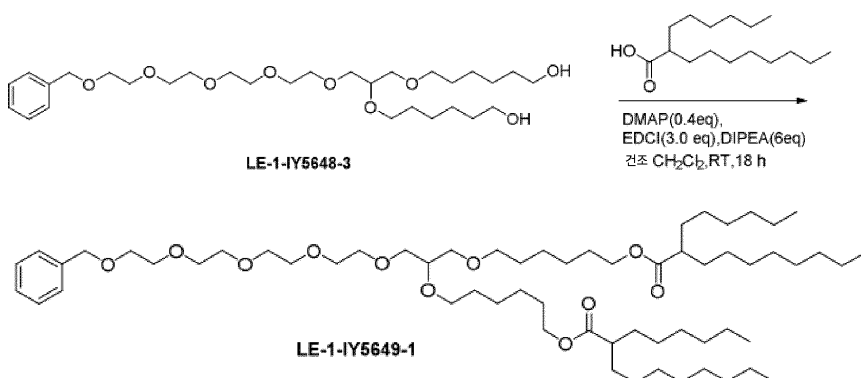
[1496] [화합물 XXXV]



[1497]

[1498] 도 24의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXV를 제조한다.

[1499] 중간체 LE-1-IY5649-1의 합성

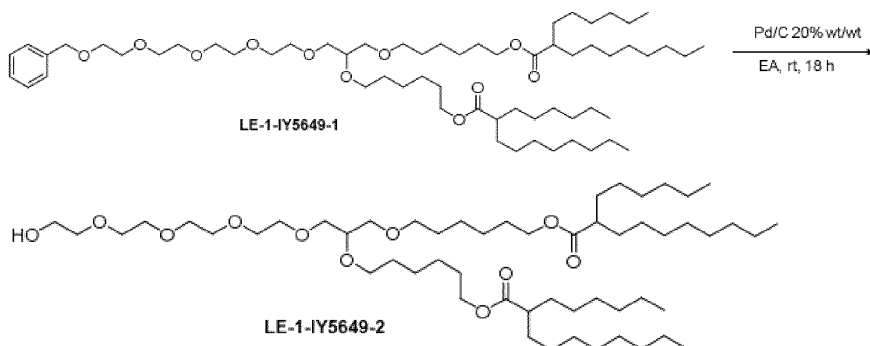


[1500]

[1501] 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 16-((6-하이드록시헥실)옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사테트라코산-24-올(1.1 g, 1.97 mmol) 및 2-헥실데칸산(1.51 g, 5.91 mmol)의 용액에 빙욕 하에서 DIPEA(1.53 g, 11.8 mmol), DMAP(0.096 g, 0.78 mmol) 및 EDCI(1.13 g, 5.91 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 0.1 M HCl 및 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH₃OH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(1.3 g, 1.26 mmol, 63.8% 수율)를 수득하였다.

[1502] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40 - 7.27 (m, 5H), 4.57 (s, 2H), 4.06 (td, J = 6.6, 1.3 Hz, 4H), 3.90 - 3.23 (m, 25H), 2.35 - 2.23 (m, 2H), 1.59 (dd, J = 16.6, 5.1 Hz, 12H), 1.45 - 1.20 (m, 54H), 0.87 (dd, J = 6.9, 6.1 Hz, 12H).

[1503] 중간체 LE-1-IY5649-2의 합성



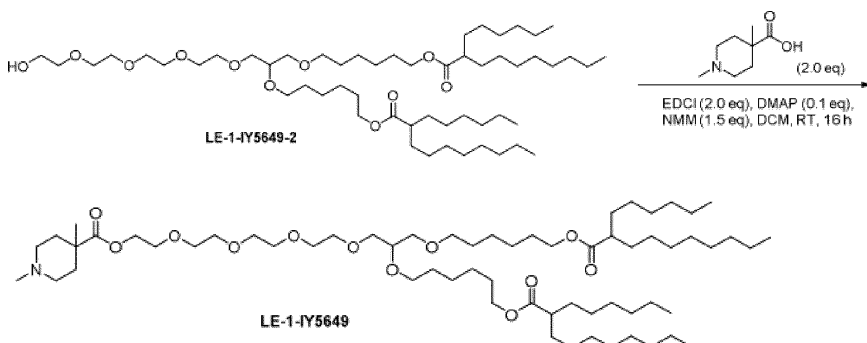
[1504]

[1505] EtOAc(30 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-헥실데카노에이트(1.3 g, 1.26 mmol)의 용액에 Pd/C(300 mg)를 첨가하고, 반응물을 H₂로 3회 재충전하였다. 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC(DCM 중 5% CH₃OH)는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 세척하였다. 유기 상을 진공 하에서 농축시켜, 무색으로서 6-[2-[6-(2-헥실데카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸-1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(1.3 g, 1.26 mmol, 63.8% 수율)를 수득하였다.

톡시]에톡시]프로폭시]헥실 2-헥실테카노에이트를 수득하였다.

[1506] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.10 - 3.98 (m, 4H), 3.76 - 3.34 (m, 25H), 2.37 - 2.23 (m, 2H), 1.68 - 1.52 (m, 12H), 1.46 - 1.21 (m, 52H), 0.87 (t, J = 6.5 Hz, 12H).

[1507] 화합물 XXXV의 합성



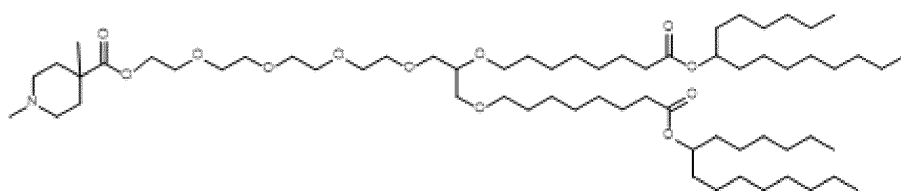
[1508]

[1509] DIPEA(1.37 g, 10.6 mmol)를 건조 디클로로메탄(40 mL) 중 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실산(0.24 g, 1.59 mmol)의 용액에 첨가하고, 용액이 투명해질 때까지 10 min 동안 교반하였다. 6-[2-[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]헥실 2-헥실테카노에이트(1.0 g, 1.06 mmol) 및 DMAP(0.129 g, 1.06 mmol) 및 EDCI(1.01 g, 5.29 mmol)를 병용 하에서 용액에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 Na_2CO_3 (30 mL) 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH_3OH 로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-헥실테카노일옥시)헥속시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.538 g, 0.49 mmol, 46.9% 수율)를 수득하였다.

[1510] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.32 - 4.19 (m, 2H), 4.06 (td, J = 6.6, 1.3 Hz, 4H), 3.74 - 3.34 (m, 23H), 2.60 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.43 - 1.89 (m, 11H), 1.69 - 1.22 (m, 66H), 1.19 (s, 3H), 0.87 (t, J = 6.5 Hz, 12H).

[1511] **실시예 28: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-헥실논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXVI)의 합성**

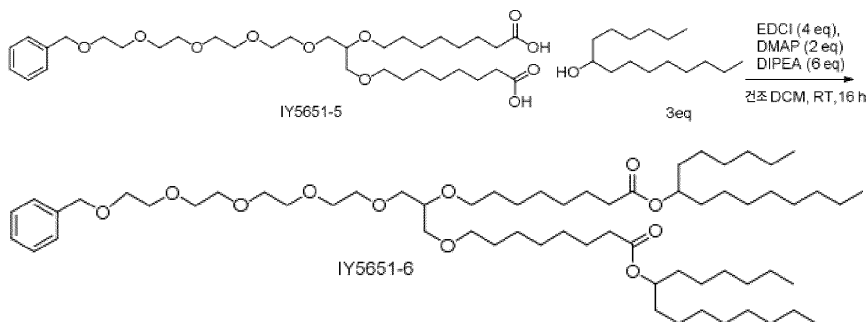
[1512] [화합물 XXXVI]



[1513]

[1514] 도 25의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXVI를 제조한다.

[1515] 중간체 LE-1-IY5651-6의 합성



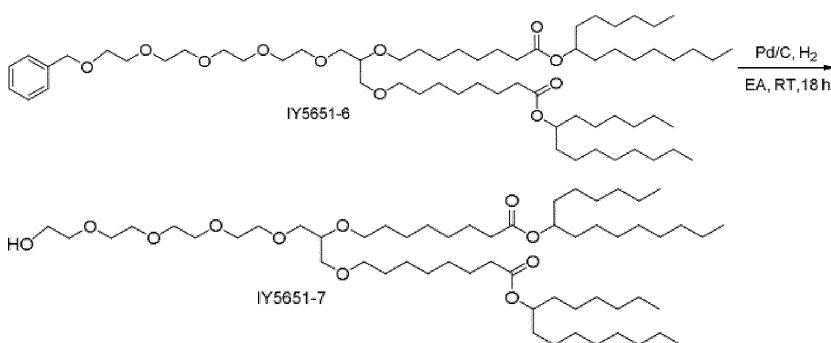
[1516]

[1517] DCM(20 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산

(1.0 g, 1.56 mmol)의 용액에 펜타데칸-7-올(1.07 g, 4.67 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민;하이드로클로라이드(1.19 g, 6.22 mmol), DMAP(190 mg, 1.56 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(1.01 g, 7.78 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 16 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 농축시키고, DCM(50 ml)으로 처리하고, 물(50 ml x 2), 염수(50 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 0 내지 40% EA)으로 정제하여, 무색 오일로서 1-헥실노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-헥실논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.89 g, 수율 53.8%)를 수득하였다.

[1518] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40 - 7.26 (m, 11H), 4.95 - 4.72 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.76 - 3.32 (m, 21H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.50 (d, J = 5.6 Hz, 11H), 1.28 (d, J = 22.6 Hz, 45H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

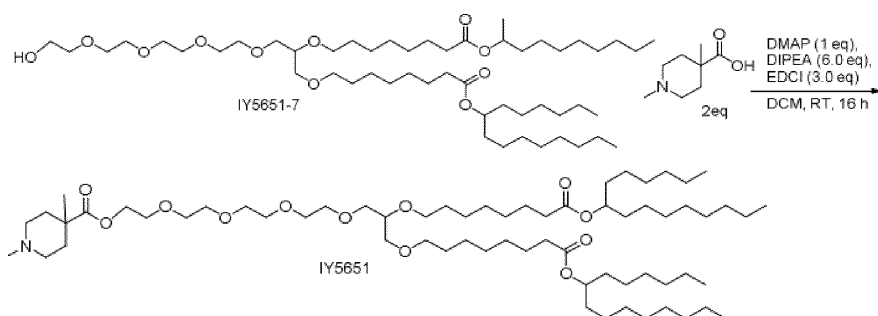
[1519] 중간체 LE-1-IY5651-7의 합성



[1520]

[1521] EtOAc(20 mL) 중 1-헥실노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-헥실논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.89 g, 0.837 mmol)의 용액을 N₂로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(0.2 g)를 첨가하고, 반응물을 N₂로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서 소기시키고, H₂로 3회 재충전하였다. 그 다음, 반응물을 H₂ 분위기 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC(DCM 중 4% CH₃OH)는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 슬러리를 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 수회 행구었다. 그 다음, 합한 유기물을 진공 하에서 농축시켜, 무색 오일로서 1-헥실노닐 8-[2-[8-(1-헥실논옥시)-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.78 g, 95.8% 수율)를 수득하였다.

[1522] 화합물 XXXVI의 합성



[1523]

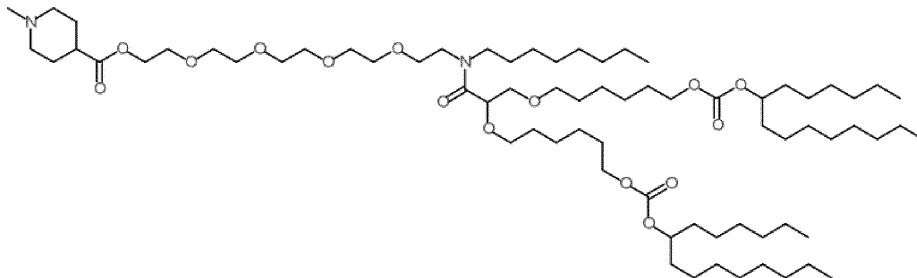
[1524] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 1-헥실노닐 8-[2-[8-(1-헥실논옥시)-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.78 g, 0.8 mmol) 및 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실산(0.25 g, 1.6 mmol)에 DIPEA(0.311 g, 2.4 mmol), DMAP(97 mg, 0.8 mmol), 이어서 EDCI(0.311 g, 1.6 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(6%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-헥실논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시] 에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.602 g, 67.5% 수율)를 수득하였다.

[1525] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.95 - 4.75 (m, 2H), 4.33 - 4.22 (m, 2H), 3.83 - 3.33 (m, 21H), 2.86 - 2.60

(m, 1H), 2.45 - 2.11 (m, 9H), 1.54 (dd, $J = 28.2, 11.7$ Hz, 22H), 1.26 (t, $J = 18.6$ Hz, 52H), 0.88 (t, $J = 6.7$ Hz, 12H).

[1526] **실시예 29:** 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(1-헥실논옥시 카르보닐옥시)헥속시]프로파노일-옥틸아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸 피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXVII)의 합성

[1527] [화합물 XXXVII]



[1528]

[1529] 도 26a 및 도 26b의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXVII를 제조한다.

[1530] 중간체 LE-1-JG5098-1의 합성



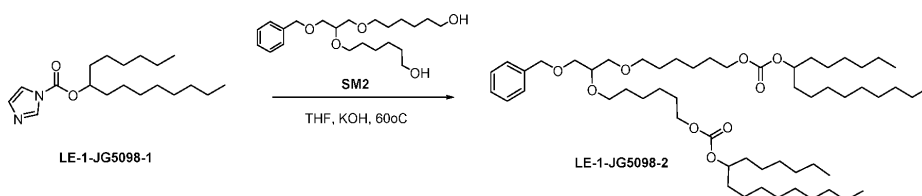
[1531] SM1

LE-1-JG5098-1

[1532] THF(30 mL) 중 펜타데칸-7-올(1.5 g, 5.88 mmol), CDI(5.68 g, 35.0 mmol)의 용액을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. EA(200 mL)로 희석시키고, 염수(30 mL*3)로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조시키고, 여과하고, 실리카-겔(EA/PE = 1/20)로 정제하여, 무색 오일로서 1-헥실노닐 이미다졸-1-카르복실레이트(5.2 g, 16.1 mmol, 92.1% 수율)를 수득하였다.

[1533] LC-MS: 323.3 [M+H]⁺

[1534] 중간체 LE-1-JG5098-2의 합성

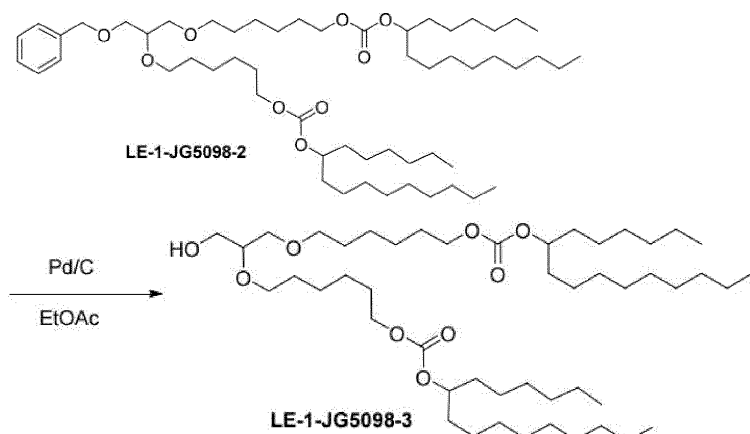


[1535]

[1536] THF(30 mL) 중 6-[3-벤질옥시-2-(6-하이드록시헥속시)프로폭시]헥산-1-올(2.4 g, 6.27 mmol), 1-헥실노닐 이미다졸-1-카르복실레이트(5.06 g, 15.7 mmol), 하이드록시칼륨(17.6 mg, 0.314 mmol)의 용액을 60°C에서 16 h 동안 교반하였다. EA(100 mL)로 희석시키고, 염수(30 mL*3)로 세척하고, Na_2SO_4 로 건조시키고, 여과하고, 실리카-겔(EA/PE = 1/20)로 정제하여, 무색 오일로서 6-[3-벤질옥시-2-[6-(1-헥실데옥시카르보닐옥시)헥속시]프로폭시]헥실 1-헥실데실 카르보네이트(2.5 g, 2.72 mmol, 43.3% 수율)를 수득하였다.

[1537] ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.41 - 7.27 (m, 5H), 4.73 - 4.61 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.17 - 4.03 (m, 4H), 3.66 - 3.34 (m, 9H), 1.69 - 1.51 (m, 18H), 1.41 - 1.23 (m, 50H), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 12H).

[1538] 중간체 LE-1-JG5098-3의 합성

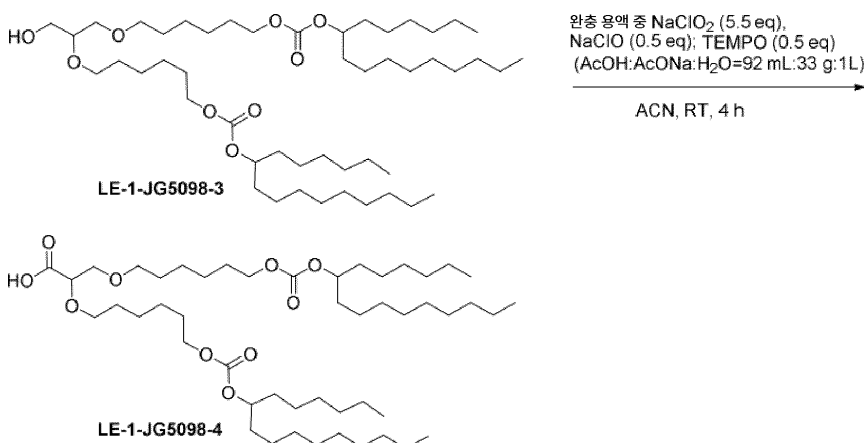


[1539]

[1540] EA(50 mL) 중 6-[3-벤질옥시-2-[6-(1-헥실테록시카르보닐옥시)헥속시]프로폭시]헥실 1-헥실테실 카르보네이트 (2.5 g, 2.72 mmol), 팔라듐(0.2 g, 0.43 mmol)의 용액을 H₂ 보호 하에서 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 여과하고, 농축시켜, 무색 오일로서 6-[2-[6-(1-헥실테록시카르보닐옥시)헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥실 1-헥실테실 카르보네이트(2.2 g, 2.65 mmol, 97.6% 수율)를 수득하였다.

[1541] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.75 - 4.61 (m, 2H), 4.12 (q, J = 6.9 Hz, 4H), 3.79 - 3.35 (m, 9H), 1.80 - 1.49 (m, 18H), 1.42 - 1.21 (m, 50H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1542] 중간체 LE-1-JG5098-4의 합성

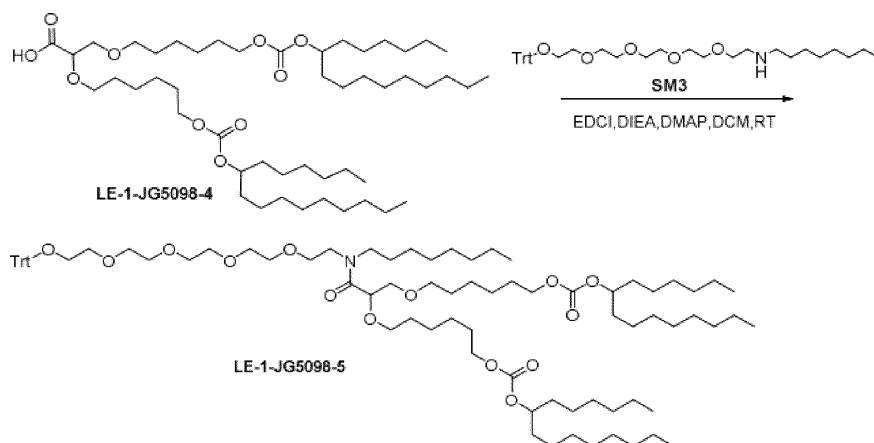


[1543]

[1544] 아세트니트릴(30 mL) 중 6-[2-[6-(1-헥실테록시카르보닐옥시)헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥실 1-헥실테실 카르보네이트(2.2 g, 2.65 mmol)의 용액 및 완충 용액(PH=4)(15 mL, AcOH:AcONa:물 = 92 mL:33 g:1000 mL)에 아염소산나트륨(1.32 g, 14.6 mmol) 및 차아염소산나트륨(0.098 g, 1.33 mmol), 이어서 TEMPO((2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실)(0.209 g, 1.33 mmol)를 첨가하였다. 반응물은 흑색이 되었으며, 20℃에서 4 hr 동안 교반하였다. 반응물을 20 방울의 메탄올로 켄칭하고, 물(40 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트(60 ml x 3)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치와 합한 잔류물을 디클로로메탄 중 5% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2,3-비스[6-(1-헥실테록시카르보닐옥시)헥속시]프로판산(2.1 g, 93.9% 수율)을 수득하였다.

[1545] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.78 - 4.60 (m, 2H), 4.12 (q, J = 7.0 Hz, 4H), 4.04 (dd, J = 4.9, 3.4 Hz, 1H), 3.82 - 3.39 (m, 6H), 1.74 - 1.48 (m, 16H), 1.46 - 1.14 (m, 51H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1546] 중간체 LE-1-JG5098-5의 합성

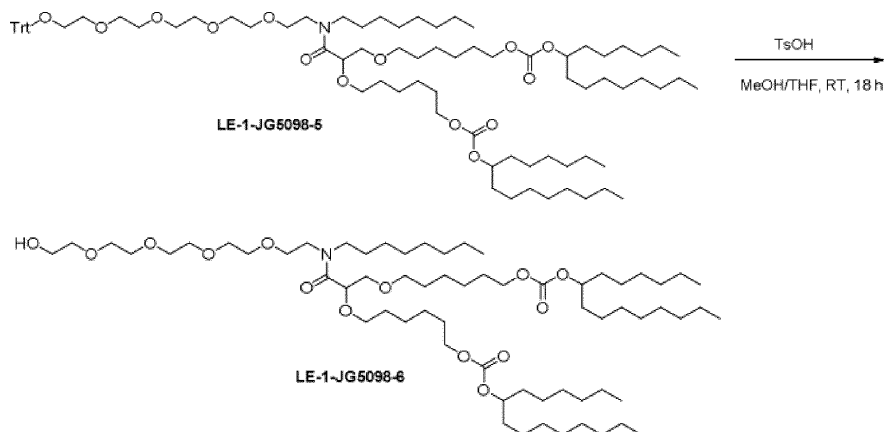


[1547]

[1548] 건조 디클로로메탄(30 mL) 중 2,3-비스[6-(1-헥실테르키카르보닐옥시)헥속시]프로판산(1.5 g, 1.78), N-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(1.58 g, 2.67 mmol), DIPEA(0.92 g, 7.12 mmol), DMAP(0.217 g, 1.78 mmol)의 용액에 0℃에서 EDCI(1.02 g, 5.34 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 1 M HCl(aq)(10 mL) 및 염수(30 mL*2)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 PE 중 25% EA로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[1-[6-(1-헥실테르키카르보닐옥시)헥속시메틸]-2-[옥틸-2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸]아미노]-2-옥소-에톡시]헥실 1-헥실노닐 카르보네이트(1.7 g, 1.22 mmol, 68.8% 수율)를 수득하였다.

[1549] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.53 - 7.38 (m, 6H), 7.32 - 7.18 (m, 9H), 4.76 - 4.58 (m, 2H), 4.46 - 4.25 (m, 1H), 4.17 - 4.01 (m, 4H), 3.73 - 3.19 (m, 28H), 1.62 (ddd, J = 39.1, 27.8, 21.6 Hz, 20H), 1.39 - 1.23 (m, 56H), 0.88 (dd, J = 8.3, 5.2 Hz, 15H).

[1550] 중간체 LE-1-JG5098-6의 합성

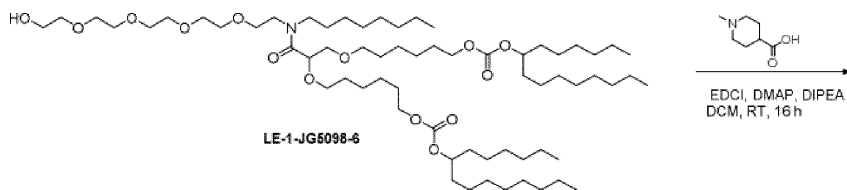


[1551]

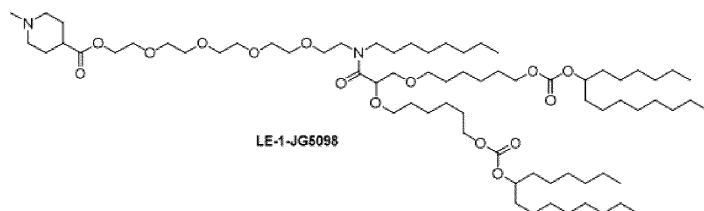
[1552] MeOH(15 mL) 및 THF(15 mL) 중 6-[1-[6-(1-헥실테르키카르보닐옥시)헥속시메틸]-2-[옥틸-2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸]아미노]-2-옥소-에톡시]헥실 1-헥실노닐 카르보네이트(1.7 g, 1.22 mmol)의 용액에 4-메틸벤젠설포산 수화물(0.698 g, 3.67 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응 용액을 EA(100 mL)로 희석시키고, Na_2CO_3 (aq)(30 mL) 및 염수(30 mL*2)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 5% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[2-[6-(1-헥실테르키카르보닐옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 1-헥실노닐 카르보네이트(1.3 g, 1.13 mmol, 92.6% 수율)를 수득하였다.

[1553] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.74 - 4.60 (m, 2H), 4.46 - 4.28 (m, 1H), 4.15 - 4.04 (m, 4H), 3.74 - 3.38 (m, 28H), 1.70 - 1.50 (m, 18H), 1.41 - 1.23 (m, 58H), 0.88 (dd, J = 9.0, 4.6 Hz, 15H).

[1554] 화합물 XXXVII의 합성



[1555]



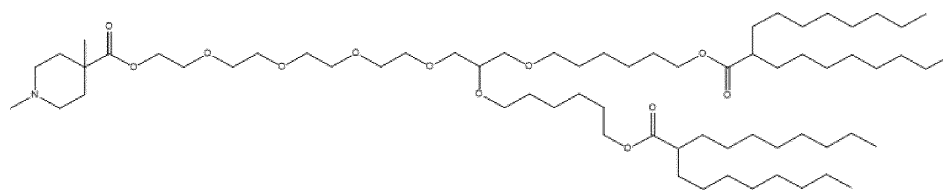
[1556]

[1557] DCM(30 mL) 중
6-[2-[6-(1-헥실논옥시카르보닐옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 1-헥실노닐 카르보네이트(1.3 g, 1.13 mmol), 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.487 g, 3.4 mmol), DIPEA(0.586 g, 4.53 mmol), DMAP(0.138 g, 1.13 mmol)의 용액에 0℃에서 EDCI(0.649 g, 3.4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 Na₂CO₃(aq)(20 mL) 및 염수(30 mL*2)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 5% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(1-헥실논옥시카르보닐옥시)헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(1.05 g, 0.826 mmol, 72.8% 수율)를 수득하였다.

[1558] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.75 - 4.60 (m, 2H), 4.46 - 4.28 (m, 1H), 4.26 - 4.18 (m, 2H), 4.10 (td, J = 6.6, 1.9 Hz, 4H), 3.72 - 3.57 (m, 19H), 3.52 - 3.25 (m, 7H), 2.82 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.35 - 2.21 (m, 4H), 1.97 (ddd, J = 16.6, 14.7, 4.2 Hz, 4H), 1.83 - 1.75 (m, 2H), 1.69 - 1.51 (m, 18H), 1.32 (d, J = 45.0 Hz, 58H), 0.88 (dd, J = 9.1, 4.4 Hz, 15H).

[1559] **실시예 30: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥속시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXVIII)의 합성**

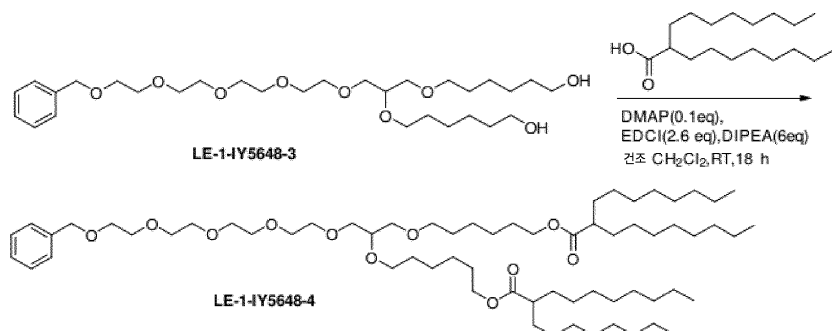
[1560] [화합물 XXXVIII]



[1561]

[1562] 도 27의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXVIII를 제조한다.

[1563] 중간체 LE-1-IY5648-4의 합성



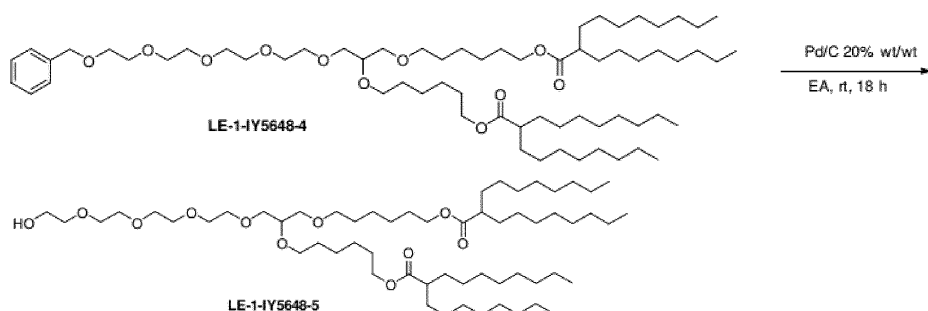
[1564]

[1565] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 16-((6-하이드록시헥실)옥시)-1-페닐-2,5,8,11,14,18-헥사옥사테트라코산-24-올

(1.1 g, 1.97 mmol) 및 2-옥틸데칸산(1.68 g, 5.91 mmol)의 용액에 병용 하에서 DIPEA(1.53 g, 11.8 mmol), DMAP(0.096 g, 0.78 mmol)를 첨가하고, 그 후 EDCI(1.13 g, 5.91 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 0.1 M HCl 및 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH₃OH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥소시]프로폭시]헥실 2-옥틸데카노에이트(1.3 g, 1.19 mmol, 60% 수율)를 수득하였다.

[1566] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 - 7.30 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 4.05 (td, J = 6.6, 1.5 Hz, 4H), 3.80 - 3.57 (m, 16H), 3.58 - 3.28 (m, 9H), 2.38 - 2.22 (m, 2H), 1.66 - 1.50 (m, 12H), 1.48 - 1.33 (m, 12H), 1.32 - 1.11 (m, 48H), 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1567] 중간체 LE-1-IY5648-5의 합성

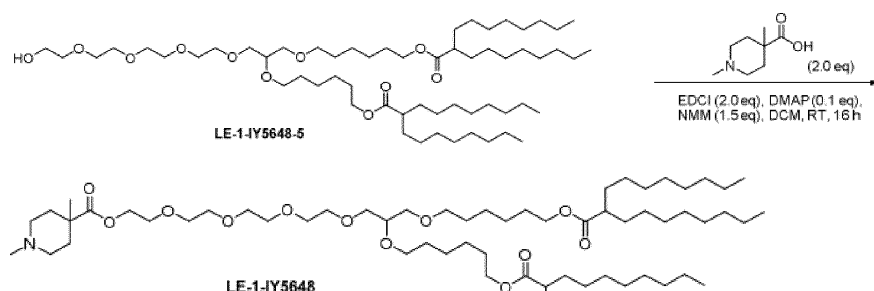


[1568]

[1569] EtOAc(50 mL) 중 6-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥소시]프로폭시]헥실 2-옥틸데카노에이트(1.3 g, 1.19 mmol)의 용액을 N₂로 10분 동안 퍼지하고, 이어서 Pd/C(260 mg)를 첨가하고, 반응물을 N₂로 계속 퍼지하였다. 그 다음, 반응물을 진공 하에서 소기시키고, H₂로 3회 재충전하였다. 반응물을 H₂ 벌룬 하에서 실온에서 하룻밤 교반하였다. TLC(DCM 중 5% CH₃OH)는 반응이 완료되었음을 나타낸다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 셀라이트를 EtOAc로 세척하였다. 유기 상을 진공 하에서 농축시켜, 무색 오일로서 6-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥소시]프로폭시]헥실 2-옥틸데카노에이트(1.1 g, 1.1 mmol, 92.2% 수율)를 수득하였다.

[1570] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.15 - 3.99 (m, 4H), 3.75 - 3.59 (m, 16H), 3.59 - 3.36 (m, 8H), 2.35 - 2.19 (m, 2H), 1.68 - 1.50 (m, 12H), 1.45 - 1.31 (m, 12H), 1.27 (d, J = 16.6 Hz, 48H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1571] 화합물 XXXVIII의 합성



[1572]

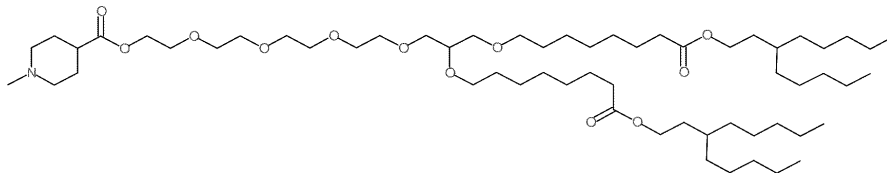
[1573] DIPEA(0.9 g, 6.99 mmol)를 건조 디클로로메탄(25 mL) 중 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실산(0.33 g, 2.1 mmol)의 용액에 첨가하고, 용액이 투명해질 때까지 10 min 동안 교반하였다. 6-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥소시]프로폭시]헥실 2-옥틸데카노에이트(0.7 g, 0.69 mmol), DMAP(0.042 g, 0.34 mmol) 및 EDCI(0.4 g, 2.1 mmol)를 병용 하에서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 Na₂CO₃(30 mL) 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% CH₃OH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-옥틸데카노일옥시)헥소시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸

피페리딘-4-카르복실레이트(0.420 g, 0.36 mmol, 52.7% 수율)를 수득하였다.

[1574] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.37 - 4.24 (m, 2H), 4.13 - 3.98 (m, 4H), 3.73 - 3.39 (m, 23H), 3.23 - 3.03 (m, 2H), 2.75 - 2.48 (m, 5H), 2.29 (ddd, J = 21.4, 13.2, 9.0 Hz, 4H), 2.04 (d, J = 11.7 Hz, 2H), 1.72 - 1.13 (m, 75H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

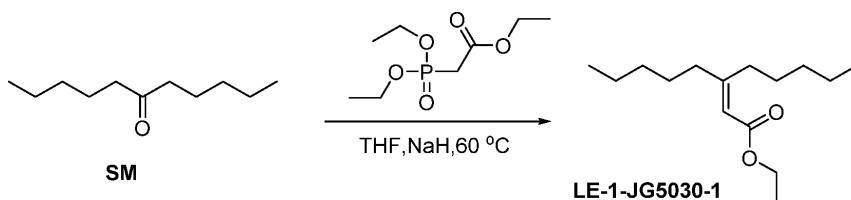
[1575] **실시예 31:** 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-옥소-8-(3-펜틸옥톡시)옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸 피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XXXIX)의 합성

[1576] [화합물 XXXIX]



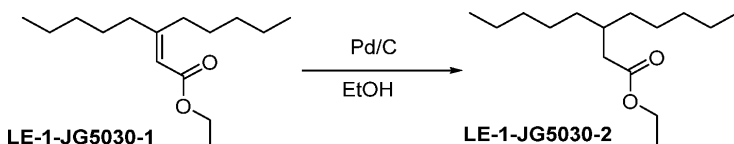
[1577]
[1578] 도 28의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXXIX를 제조한다.

[1579] 중간체 LE-1-JG5030-1의 합성



[1580]
[1581] 0℃에서 2000 mL의 THF 중 에틸 2-(디에톡시포스포릴)아세테이트(138 g, 658 mmol)의 용액에 NaH(26.3 g, 658 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반하고, 그 후 운데칸-6-온(14 g, 82.2 mmol)을 첨가하고, 생성된 반응 혼합물을 N_2 하에서 60℃에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(2000 ml)에 붓고, EA(2000 ml*2)로 분리하였다. 유기 층을 H_2O 로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 점성 잔류물을 수득하였다. 미정제 생성물을 PE:EA = 10:1로 용리되는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 생성물(19 g, 96.1%)을 수득하였다.

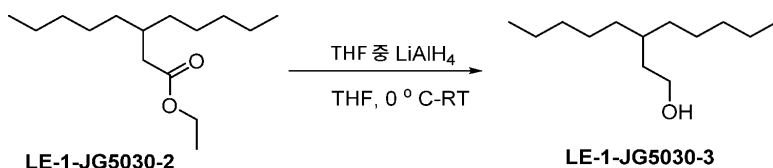
[1582] 중간체 LE-1-JG5030-2의 합성



[1583]
[1584] 에틸 3-펜틸옥타-2-에노에이트(20 g, 미정제 물질) 및 Pd/C(4.43 g, 10%)의 혼합물을 EtOH(100 ml)에 첨가하였다. 반응 혼합물을 H_2 하에서 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 헤파액을 셀라이트 패드를 통해 여과하고, EtOH(200 ml*2)로 세척하였다. 혼합물을 진공 하에서 농축시켜 오일 생성물(19 g, 94.2%)을 수득하였다.

[1585] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.12 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 2.22 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 1.84 (s, 1H), 1.36 - 1.14 (m, 23H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 7H).

[1586] 중간체 LE-1-JG5030-3의 합성

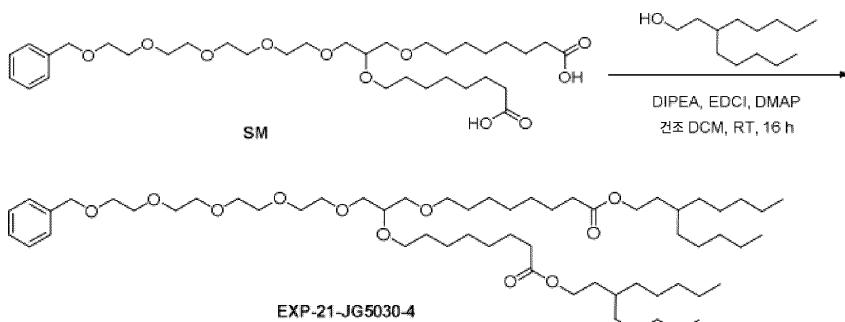


[1587]
[1588] THF(50 ml) 중 LiAlH_4 (1.88 g)의 혼합물에 THF(50 ml) 중 에틸 3-펜틸옥타노에이트(12 g, 49.5 mmol)를 적하하였다. 반응 혼합물을 N_2 하에서 0℃에서 2 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 100 mL의 H_2O , 이어서 100 mL의

15% 수성 NaOH를 첨가하여 켄칭하였다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후에, 고체를 여과에 의해 제거하였다. 여과액을 농축 건조시켜 미정제 생성물을 수득하였으며, 이를 PE:EA = 10:1로 용리되는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 생성물(9.5 g, 95.8%)을 수득하였다.

[1589] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.66 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 1.52 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 1.42 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 1.35 - 1.17 (m, 17H), 0.89 (t, J = 7.0 Hz, 6H).

[1590] 중간체 LE-1-JG5030-4의 합성

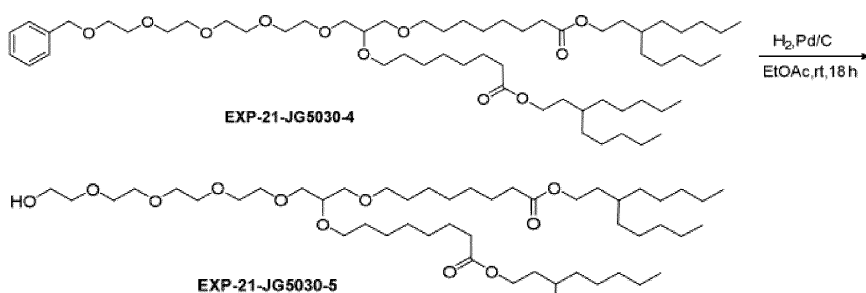


[1591]

[1592] DCM(20 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(1.0 g, 1.56 mmol), 3-펜틸옥탄-1-올(1.25 g, 6.22 mmol), N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드(494 mg, 4.04 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(76 mg, 0.622 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(1.21 g, 9.33 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 hr 동안 교반하였다. 용매를 농축시키고, 잔류물을 DCM 중 메탄올(0 내지 10%)을 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 3-펜틸옥틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-옥소-8-(3-펜틸옥톡시)옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.2 g, 순도: 95%, 수율: 72.7%)를 수득하였다.

[1593] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.60 (s, 2H), 4.39 - 4.32 (m, 2H), 4.10 - 3.94 (m, 8H), 3.84 (s, 2H), 3.70 (s, 4H), 3.62 (s, 12H), 3.48 (s, 2H), 3.35 (d, J = 10.4 Hz, 7H), 3.15 (d, J = 12.8 Hz, 4H), 2.35 - 2.26 (m, 2H), 1.76 - 1.51 (m, 12H), 1.49 - 1.33 (m, 12H), 1.25 (s, 40H), 0.87 (t, J = 6.4 Hz, 12H).

[1594] 중간체 LE-1-JG5030-5의 합성

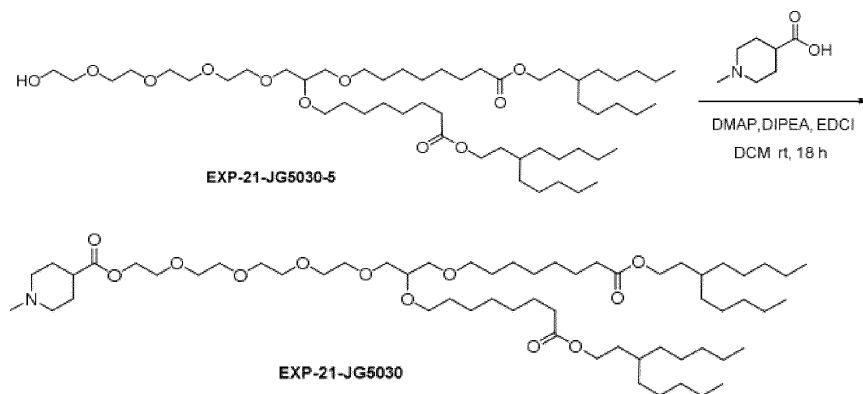


[1595]

[1596] EtOAc(10 mL) 중 3-펜틸옥틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-옥소-8-(3-펜틸옥톡시)옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.2 g, 1.19 mmol)의 혼합물에 팔라듐(300 mg)을 첨가하고, 가스 H_2 를 통해, 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 여과하고, 농축시켜, 오일로서 3-펜틸옥틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-옥소-8-(3-펜틸옥톡시)옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(650 mg, 순도: 95%, 수율: 56.5%)를 수득하였다.

[1597] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.01 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 3.66 - 3.33 (m, 25H), 2.21 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.52-1.47 (m, 12H), 1.33 - 1.18 (m, 49H), 0.81 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1598] 화합물 XXXIX의 합성



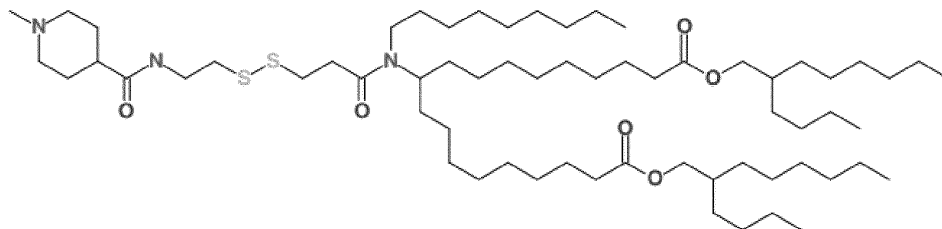
[1599]

[1600] 20 mL의 DCM 중 3-펜틸옥틸8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-옥소-8-(3-펜틸옥톡시)옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(650 mg, 0.709 mmol), 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(304 mg, 2.13 mmol), N-(3-디메틸아미노프로필) -N'-에틸카르보디이미테하이드로클로라이드(353 mg, 1.84 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(17.3 mg, 0.142 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(0.74 mL, 4.25 mmol)의 혼합물을 실온에서 16 hr 동안 교반하였다. 용매를 증발시켰다(50 mL의 DCM*3). 그 후 CH₃OH 중 DCM(0 내지 10%)을 사용하는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 담황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-옥소-8-(3-펜틸옥톡시)옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(600 mg, 정량적)를 수득하였다.

[1601] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.60 (s, 2H), 4.39 - 4.32 (m, 2H), 4.10 - 3.94 (m, 8H), 3.84 (s, 2H), 3.70 (s, 4H), 3.62 (s, 12H), 3.48 (s, 2H), 3.35 (d, J = 10.4 Hz, 7H), 3.15 (d, J = 12.8 Hz, 4H), 2.35 - 2.26 (m, 2H), 1.76 - 1.51 (m, 12H), 1.49 - 1.33 (m, 12H), 1.25 (s, 40H), 0.87 (t, J = 6.4 Hz, 12H).

[1602] **실시예 32: - 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐)아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트(화합물 XLVII)의 합성**

[1603] [화합물 XL]



[1604]

[1605] 도 29의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLVII를 제조한다.

[1606] (중간체 VA.ALCL00327.1의 합성에 대해서는, 실시예 29, 도 23b를 참조)

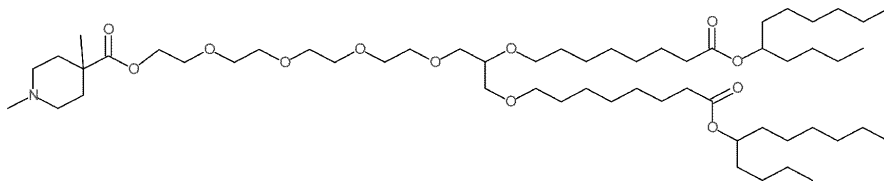
[1607] 화합물 XLVII의 합성

[1608] 회전식 진탕기 상의 10 mL 마이크로파 튜브 내에, 중간체 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-(2-아미노에틸디설파닐)프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트; 하이드로클로라이드 및 4 mL의 DCM을 로딩한다. HATU(0.2505 mmol, 95.2481 mg) 및 N,N-디이소프로필에틸아민(0.5367 mmol, 0.096 mL, 69.3648 mg)을 첨가하고, 그 후 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(35,8675 mg, 0.2505 mmol)을 첨가한다. 실온에서 하룻밤 교반한다. MR을 농축 건조시키고, 그 후 플래시 크로마토그래피(15 g의 merck 실리카 카트리지, 용리제: DCM/MeOH, 구배: 35 min 내에 100/0부터 90/10까지)로 정제함으로써, 무색 오일로서 118 mg의 59% 비스(2-부틸옥틸) 10-[3-[2-[(1-메틸 피페리딘-4 카르보닐)아미노]에틸디설파닐]프로파노일-노닐-아미노]노나데칸디오에이트를 수득하였다.

[1609] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 80°C) δ ppm 0.82 - 0.91 (m, 15 H), 1.11 - 1.73 (m, 77 H), 1.85 - 2.12 (m, 4 H), 2.19 (br s, 3 H), 2.25 (t, J=7.3 Hz, 4 H), 2.41 - 3.85 (m, 3 H), 2.64 - 2.70 (m, 2 H), 2.77 (br t, J=6.8 Hz, 2 H), 2.74 - 2.85 (m, 2 H), 2.88 - 2.96 (m, 2 H), 2.98 - 3.19 (m, 2 H), 3.27 - 3.40 (m, 2 H), 3.92 (d, J=5.8 Hz, 4 H), 7.55 - 7.73 (m, 1 H).

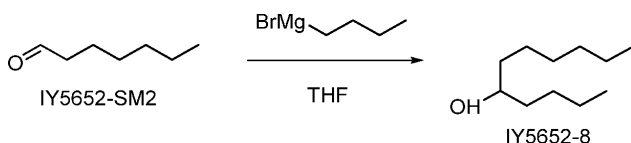
실시예 33: 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-부틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XLI)의 합성

[화합물 XLI]



도 30의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLI를 제조한다.

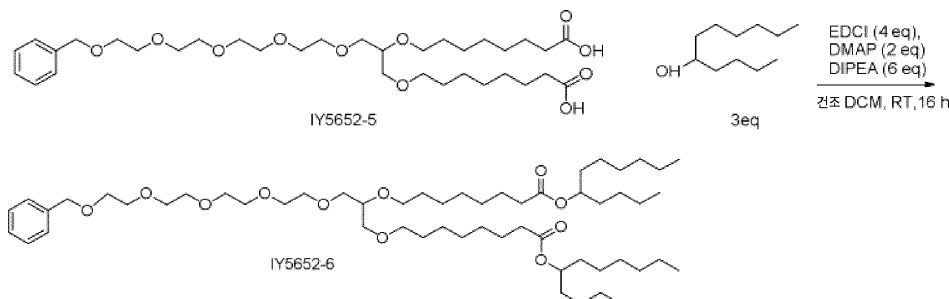
중간체 LE-1-IY5652-8의 합성



테트라하이드로푸란(50 mL) 중 헵타날(5 g, 43.8 mmol)의 혼합물에 0℃에서 브로모(부틸)마그네슘(8.48 g, 52.5 mmol)을 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. EtOAc(100 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 HCl(1 M, 200 mL)로 세척하였다. 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 유기 층을 물(200 mL) 및 염수(200 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 제거하고, 잔류물을 석유 에테르 중 0% 내지 10% 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 운데칸-5-올(1.1 g, 14.6%)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.71 - 3.47 (m, 1H), 1.52 - 1.15 (m, 16H), 0.90 (dt, *J* = 9.3, 6.9 Hz, 6H).

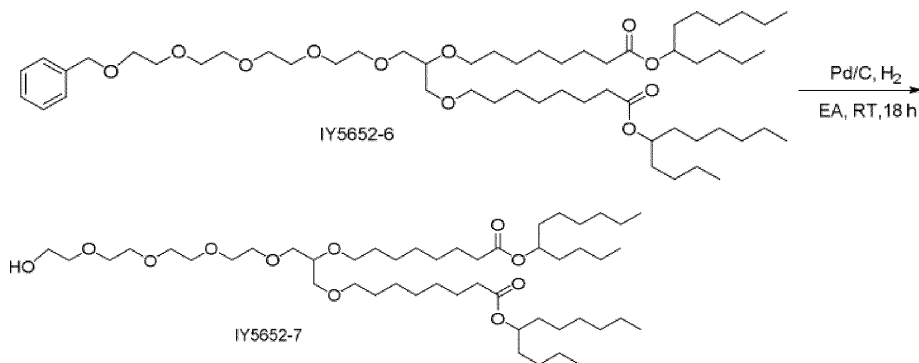
중간체 LE-1-IY5652-6의 합성



건조 디클로로메탄(20 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(1.1 g, 1.7 mmol) 및 운데칸-5-올(0.88 g, 5.13 mmol)의 용액에 DIPEA(1.11 g, 8.56 mmol), DMAP(0.209 g, 1.71 mmol), 이어서 EDCI(1.64 g, 8.56 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 1-부틸헵틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-부틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.76 g, 46.7% 수율)를 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31 (dd, *J* = 23.6, 8.0 Hz, 4H), 4.97 - 4.73 (m, 2H), 4.12 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.73 - 3.28 (m, 25H), 2.27 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H), 1.61 - 1.42 (m, 31H), 1.27 (dd, *J* = 17.5, 10.3 Hz, 42H), 0.92 - 0.81 (m, 12H).

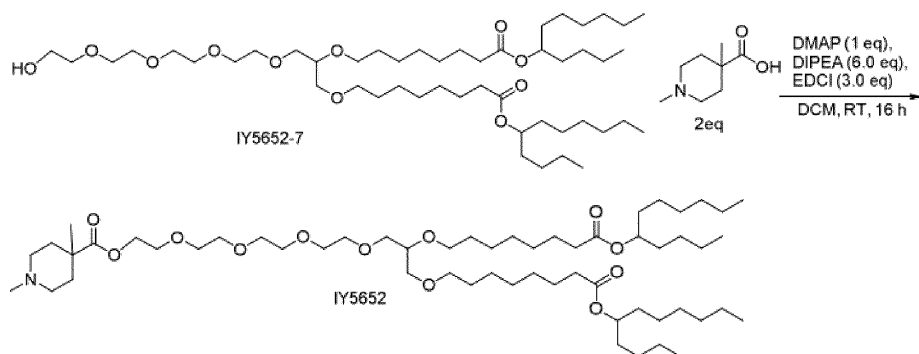
[1622] 중간체 LE-1-IY5652-7의 합성



[1623]

[1624] EtOAc(15 mL) 중 1-부틸헵틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-부틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.76 g, 0.8 mmol)의 혼합물에 팔라듐(100 mg)을 첨가하고, 가스 H₂를 통해, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 여과하고, 농축시켜, 무색 오일로서 1-부틸헵틸 8-[2-[8-(1-부틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.46 g, 수율: 66.9%)를 수득하였다.

[1625] 화합물 XLI의 합성



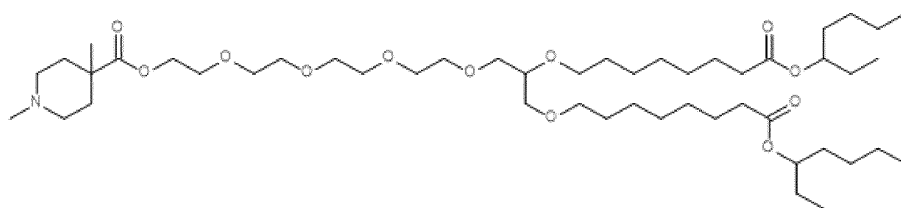
[1626]

[1627] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 1-부틸헵틸 8-[2-[8-(1-부틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.46 g, 0.53 mmol) 및 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실산(0.16 g, 1.07 mmol)의 용액에 DIPEA(0.345 g, 2.67 mmol), DMAP(0.065 g, 0.53 mmol), 이어서 EDCI(0.41 g, 2.14 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-부틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.265 g, 49.6% 수율)를 수득하였다.

[1628] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.94 - 4.78 (m, 2H), 4.36 - 4.19 (m, 2H), 3.79 - 3.29 (m, 21H), 2.91 - 2.57 (m, 1H), 2.44 - 2.08 (m, 9H), 1.55 (dd, *J* = 28.9, 15.7 Hz, 20H), 1.27 (dd, *J* = 25.7, 12.7 Hz, 40H), 0.95 - 0.77 (m, 12H).

[1629] **실시예 34:** 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-에틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XLII)의 합성

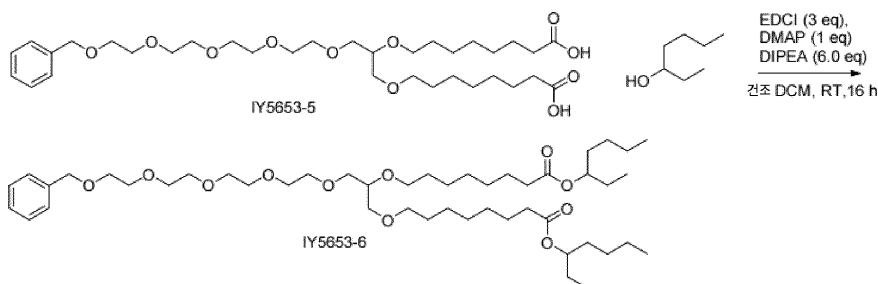
[1630] [화합물 XLII]



[1631]

[1632] 도 31의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLII를 제조한다.

[1633] 중간체 LE-1-IY5653-6의 합성

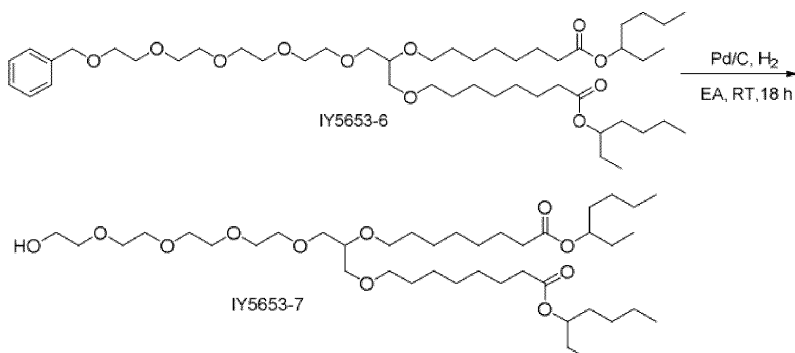


[1634]

[1635] 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 헵탄-3-올(0.542 g, 4.67 mmol) 및 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(1 g, 1.55 mmol)의 용액에 DIPEA(1.01 g, 1.78 mmol), DMAP(0.19 g, 1.55 mmol), 이어서 EDCI(1.19 g, 6.22 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(100 mL)으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 4% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 1-에틸헵틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-에틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.15 g, 88.1% 수율)를 수득하였다.

[1636] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.40 - 7.27 (m, 4H), 4.89 - 4.70 (m, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.77 - 3.25 (m, 24H), 2.28 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.74 - 1.41 (m, 19H), 1.42 - 1.11 (m, 21H), 0.97 - 0.75 (m, 12H).

[1637] 중간체 LE-1-IY5653-7의 합성

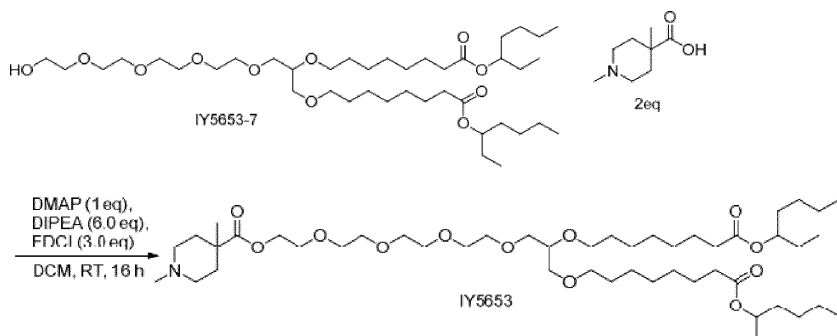


[1638]

[1639] 에틸 아세테이트(20 mL) 중 1-에틸헵틸 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-에틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.15 g, 1.37 mmol)의 혼합물에 팔라듐(292 mg)을 첨가하고, 가스 H_2 를 통해, 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 여과하고, 농축시켜, 오일로서 1-에틸헵틸 8-[2-[8-(1-에틸헵톡시)-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(1 g, 수율: 97.4%)를 수득하였다.

[1640] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.94 - 4.65 (m, 2H), 3.94 - 3.29 (m, 24H), 2.28 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 1.68 - 1.44 (m, 16H), 1.40 - 1.15 (m, 20H), 1.04 - 0.73 (m, 12H).

[1641] 화합물 XLII의 합성



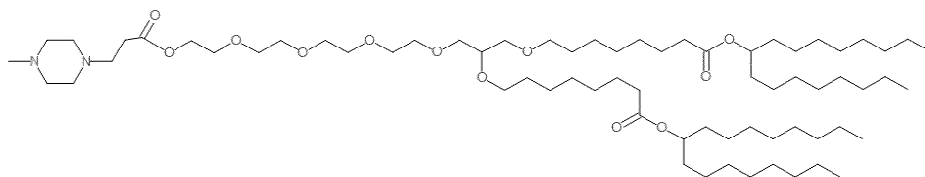
[1642]

[1643] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 1-에틸헨틸 8-[2-[8-(1-에틸헨톡시)-8-옥소-옥톡시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.5 g, 0.66 mmol) 및 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실산(0.21 g, 1.33 mmol)의 용액에 DIPEA(0.431 g, 3.3 mmol), DMAP(0.081 g, 0.66 mmol), 이어서 EDCI(0.384 g, 2 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 6% MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2,3-비스[8-(1-에틸헨톡시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1,4-디메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.325 g, 54.8% 수율)를 수득하였다.

[1644] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.98 - 4.69 (m, 2H), 4.41 - 4.24 (m, 2H), 3.82 - 3.25 (m, 22H), 3.04 (s, 2H), 2.51 (s, 4H), 2.38 - 2.16 (m, 6H), 1.97 - 1.42 (m, 23H), 1.41 - 1.11 (m, 25H), 0.99 - 0.75 (m, 12H).

[1645] **실시예 35:** 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[3-(4-메틸피페라진-1-일)프로파노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XLIII)의 합성

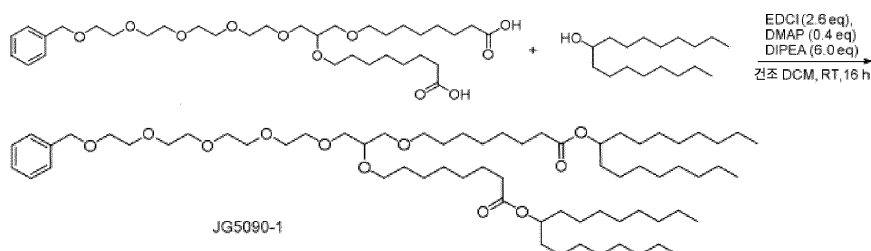
[1646] [화합물 XLIII]



[1647]

[1648] 도 32의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLIII를 제조한다.

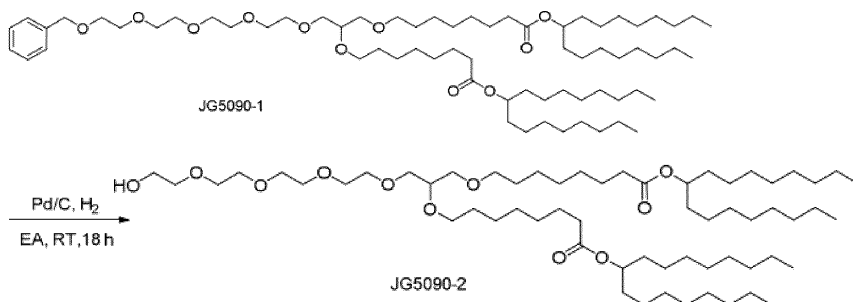
[1649] 중간체 JG5090-1의 합성



[1650]

[1651] 건조 디클로로메탄(30 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(2 g, 3.11 mmol) 및 헵타데칸-9-올(3.19 g, 12.4 mmol)의 용액에 DIPEA(1.61 g, 12.4 mmol), DMAP(0.38 g, 3.11 mmol), 이어서 EDCI(1.79 g, 9.33 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(150 mL)으로 희석시키고, 염수(100 mL)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(6%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.57 g, 45.1% 수율)를 수득하였다.

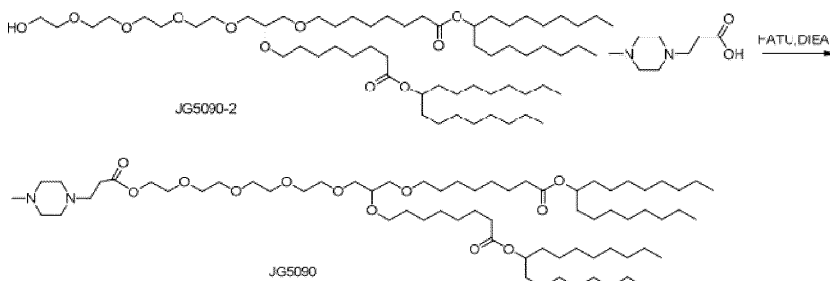
[1652] 중간체 JG5090-2의 합성



[1653]

[1654] EtOH(30 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-벤질옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.57 g, 1.4 mmol)의 혼합물에 팔라듐/C(149 mg)를 첨가하고, 혼합물을 H₂ 분위기 하에서 25℃에서 18 hr 동안 교반하였다. 여과하고, 농축시켜, 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.27 g, 수율: 88%)를 수득하였다.

[1655] 화합물 XLIII의 합성



[1656]

[1657] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.5 g, 0.48 mmol) 및 3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판산(0.24 g, 0.97 mmol)의 용액에 DIPEA(0.188 g, 1.46 mmol), DMAP(0.059 g, 0.48 mmol), 이어서 EDCI(0.186 g, 0.97 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 염수(50 mL)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(5%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-[3-(4-메틸피페라진-1-일)프로판노일옥시]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.244 g, 42.4% 수율)를 수득하였다.

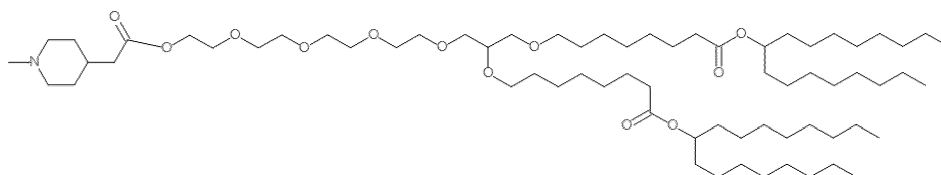
[1658]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.86 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.77 - 3.34 (m, 21H), 2.84 - 2.14 (m, 16H), 1.49 (s, 14H), 1.28 (d, *J* = 23.9 Hz, 59H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 12H).

[1659]

실시예 36: 1-옥틸노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-(1-메틸-4-피페리딜)아세틸]옥시에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XLIV)의 합성

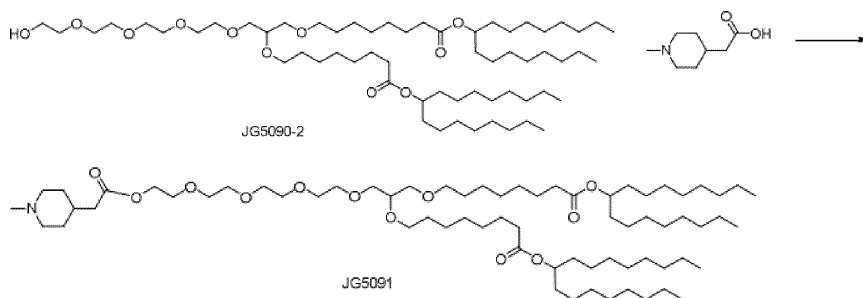
[1660] [화합물 XLIV]



[1661]

[1662] 도 33의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLIV를 제조한다.

[1663] 화합물 XLIV의 합성



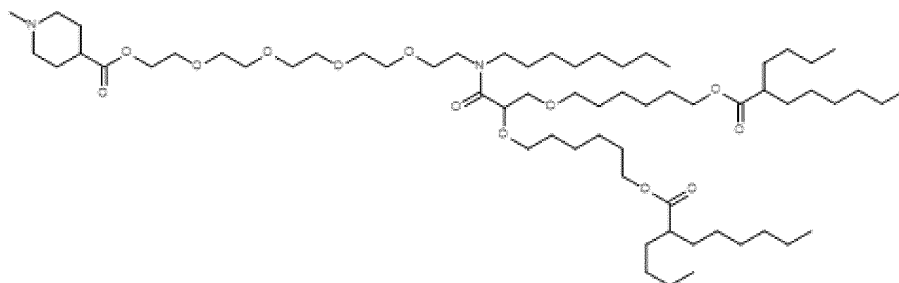
[1664]

[1665] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 1-옥틸놀 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.5 g, 0.48 mmol) 및 2-(1-메틸-4-피페리딜)아세트산(0.153 g, 0.97 mmol)의 용액에 DIPEA(0.188 g, 1.46 mmol), DMAP(0.059 g, 0.48 mmol), 이어서 EDCI(0.279 g, 1.46 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄(50 mL)으로 희석시키고, 염수(50 mL)로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(6%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 1-옥틸놀 8-[3-[2-[2-[2-[2-(1-메틸-4-피페리딜)아세틸]옥시에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.256 g, 45.1% 수율)를 수득하였다.

[1666] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.94 - 4.77 (m, 2H), 4.30 - 4.16 (m, 2H), 3.77 - 3.35 (m, 21H), 3.07 (s, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.38 - 2.19 (m, 7H), 1.81 (d, *J* = 12.1 Hz, 4H), 1.51 (s, 12H), 1.38 - 1.12 (m, 62H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 12H).

[1667] **실시예 37: 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XLV)의 합성**

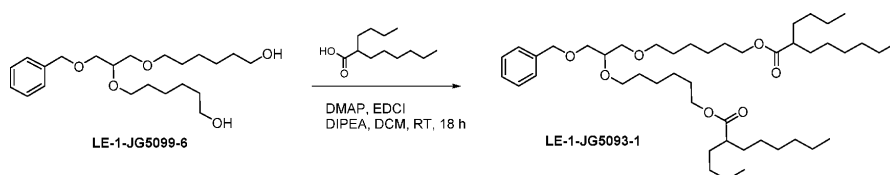
[1668] [화합물 XLV]



[1669]

[1670] 도 34a 및 도 34b의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLV를 제조한다.

[1671] 중간체 LE-1-JG5093-1의 합성

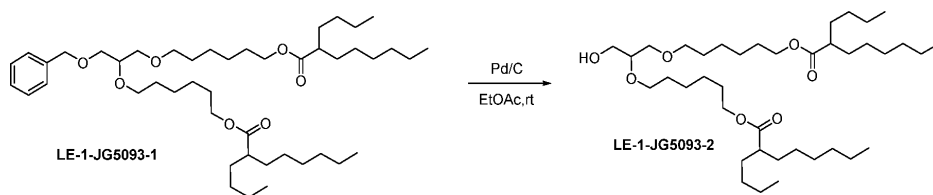


[1672]

[1673] DCM(50 mL) 중 6-[3-벤질옥시-2-(6-하이드록시헥속시)프로폭시]헥산-1-올(1 g, 2.61 mmol)의 용액에 2-부틸옥탄산(1.57 g, 7.84 mmol), N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(1.01 g, 7.84 mmol), N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.032 g, 0.26 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민; 하이드로클로라이드(1.5 g, 2.61 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 hr 동안 교반하였다. 혼합물에 DCM(100 mL)을 첨가하고, 이를 0.5 N HCl(50 mL), NaHCO₃(50 mL), NaCl(50 mL)로 세척하였다. 유기물을 농축시키고, 잔류물을 1:2 에틸 아세테이트/석유 에테르로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[3-벤질옥시-2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(1.7 g, 87%)를 수득하였다.

[1674] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 - 7.27 (m, 4H), 4.55 (s, 1H), 4.06 (td, J = 6.6, 1.7 Hz, 3H), 3.52 (dddd, J = 32.0, 30.3, 9.5, 5.1 Hz, 7H), 2.37 - 2.24 (m, 2H), 1.72 - 1.52 (m, 11H), 1.45 - 1.18 (m, 34H), 0.91 - 0.84 (m, 12H).

[1675] 중간체 LE-1-JG5093-2의 합성

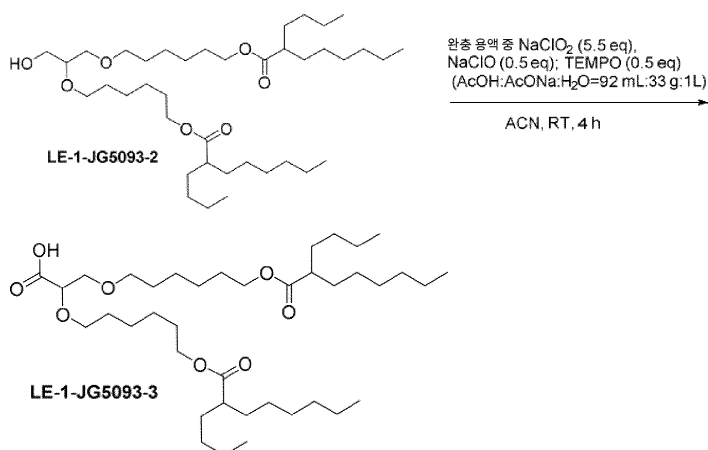


[1676]

[1677] 6-[3-벤질옥시-2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(1.7 g, 2.28 mmol) 및 Pd/C(0.5 g)의 용액을 EtOAc(50 mL)와 혼합하고, 수소화 장치에 부착하였다. 시스템을 소기시키고, 그 후 수소로 재충전하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켜, 무색 오일로서 6-[2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(1.5 g, 100%)를 수득하였다.

[1678] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.07 (t, J = 6.6 Hz, 3H), 3.76 - 3.70 (m, 1H), 3.65 - 3.40 (m, 7H), 2.38 - 2.26 (m, 3H), 1.68 - 1.54 (m, 11H), 1.49 - 1.22 (m, 36H), 0.88 (tt, J = 7.0, 3.5 Hz, 12H).

[1679] 중간체 LE-1-JG5093-3의 합성

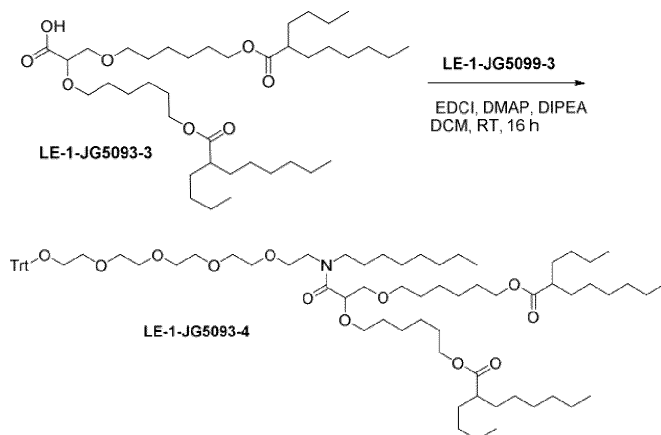


[1680]

[1681] 아세트니트릴(AcCN, 50 mL) 중 6-[2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]-3-하이드록시-프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(1.5 g, 2.28 mmol)의 용액 및 PH=4-완충 용액(10 mL, AcOH:AcONa:물 = 92 mL:33 g:1000 mL)에 아염소산나트륨(1.03 g, 11.4 mmol) 및 차아염소산나트륨(0.17 g, 1.14 mmol), 이어서 TEMPO((2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실)(0.178 g, 1.14 mmol)를 첨가하였다. 반응물은 흑색이 되었으며, 20℃에서 4 hr 동안 교반하였다. LCMS는 투명한 반응물을 나타내었다. 반응물을 20 방울의 메탄올로 켄칭하고, 물(40 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 5% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2,3-비스[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]프로판산(1.2 g, 78.3% 수율)을 수득하였다.

[1682] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.14 - 4.00 (m, 5H), 3.83 - 3.39 (m, 6H), 2.31 (dq, J = 9.0, 5.3 Hz, 2H), 1.72 - 1.52 (m, 12H), 1.51 - 1.17 (m, 37H), 0.88 (td, J = 6.9, 2.2 Hz, 12H).

[1683] 중간체 LE-1-JG5093-4의 합성



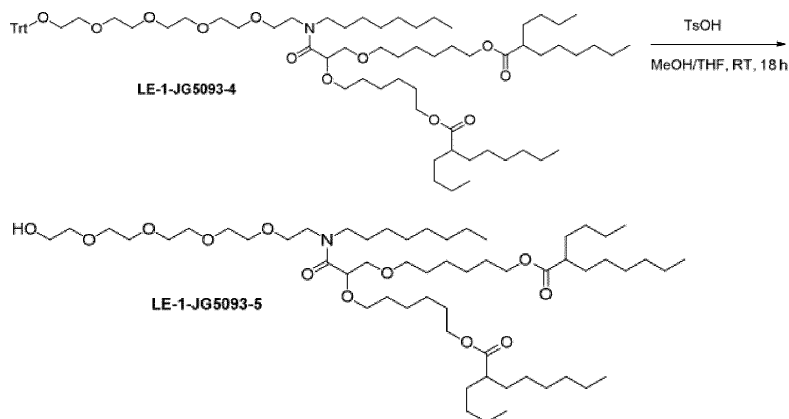
[1684]

[1685] DCM(20 mL) 중 2,3-비스[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]프로판산(1.2 g, 1.79 mmol), EDC HCl(0.686 g, 3.58 mmol), DIEA(0.462 g, 3.58 mmol)의 혼합물에 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(1.16 g, 1.97 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민(0.43 g, 0.36 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 RT에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(200 mL)에 붓고, NaHCO₃ 용액 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 1:3 에틸 아세테이트/석유 에테르로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(1.2 g, 53.9%)를 수득하였다.

[1686]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, J = 7.3 Hz, 6H), 7.34 - 7.26 (m, 7H), 7.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 4.37 (dt, J = 11.4, 5.9 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 5.8 Hz, 4H), 3.77 - 3.18 (m, 31H), 2.38 - 2.24 (m, 2H), 1.74 - 1.02 (m, 73H), 0.87 (dd, J = 7.8, 6.0 Hz, 16H).

[1687] 중간체 LE-1-JG5093-5의 합성



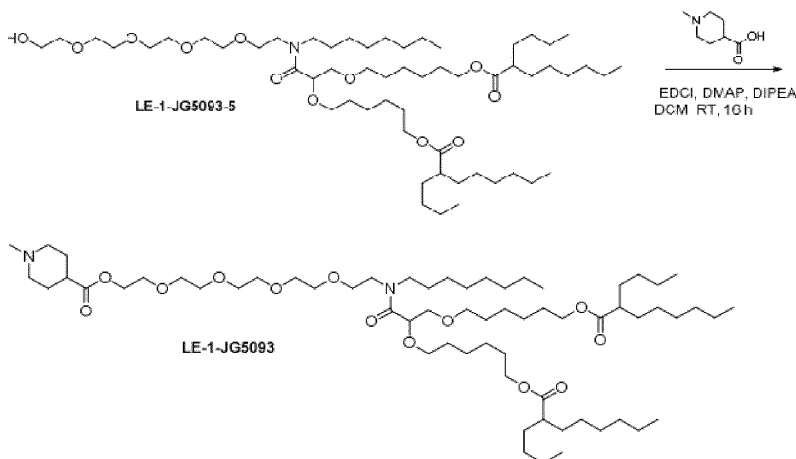
[1688]

[1689] 메탄올/THF(20 mL, 1/1 v/v) 중 6-[2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]-3-[옥틸-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(1.2 g, 0.848 mmol)의 용액에 실온에서 한꺼번에 4-메틸벤젠설폰산(0.498 g, 2.89 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르 중 4% 에틸 아세테이트)는 출발 물질이 완전히 사라졌음을 나타내었다. 2 mL의 트리에틸아민을 첨가하여 반응물을 켄칭하고, 용매를 진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 5% MeOH(4%)로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 6-[2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥속시]-3-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(0.85 g, 88% 수율)를 수득하였다.

[1690]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.47 - 4.27 (m, 1H), 4.05 (td, J = 6.6, 2.1 Hz, 4H), 3.82 - 3.23 (m, 29H), 2.40 - 2.23 (m, 2H), 2.05 (s, 3H), 1.75 - 1.17 (m, 62H), 0.87 (td, J = 6.9, 2.3 Hz, 15H).

[1691] 화합물 XLV의 합성



[1692]

[1693] 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 6-[2-[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥소시]-3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-프로폭시]헥실 2-부틸옥타노에이트(0.85 g, 0.848 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.364 g, 2.54 mmol)의 용액에 DIPEA(0.329 g, 2.54 mmol), DMAP(0.02 g, 1.7 mmol)를 첨가하고, 이어서 빙욕 하에서 EDCI(0.488 g, 2.54 mmol)를 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 중 0% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-(2-부틸옥타노일옥시)헥소시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.618 g, 64.6% 수율)를 수득하였다.

[1694]

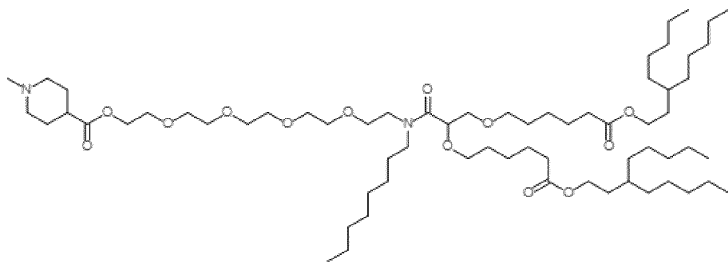
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.47 - 4.29 (m, 1H), 4.27 - 4.19 (m, 2H), 4.05 (td, J = 6.6, 2.0 Hz, 4H), 3.79 - 3.24 (m, 26H), 2.83 (d, J = 11.3 Hz, 2H), 2.38 - 2.24 (m, 6H), 2.10 - 1.89 (m, 4H), 1.87 - 1.70 (m, 6H), 1.67 - 1.54 (m, 13H), 1.48 - 1.21 (m, 46H), 0.87 (td, J = 6.9, 2.2 Hz, 15H).

[1695]

실시예 38: 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥소시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(화합물 XLVI)의 합성

[1696]

[화합물 XLVI]

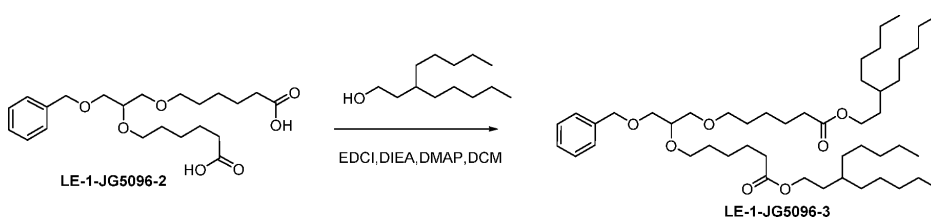


[1697]

[1698] 도 35의 합성 반응도식에 따라 화합물 XLVI를 제조한다.

[1699]

중간체 LE-1-JG5096-3의 합성



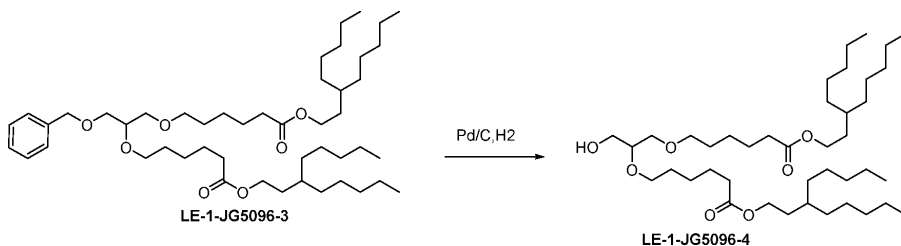
[1700]

[1701]

건조 디클로로메탄(20 mL) 중 6-[3-벤질옥시-2-(5-카르복시펜톡시)프로폭시]헥산산(1.0 g, 2.44 mmol) 및 3-펜틸옥탄-1-올(1.46 g, 7.3 mmol)의 용액에 DIPEA(0.945 g, 7.31 mmol), DMAP(0.298 g, 2.44 mmol), 이어서 EDCI(0.934 g, 4.87 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로

회석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 EA 중 PE 0% 내지 10%(7%)로 용리되는 플래시로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 3-펜틸옥틸 6-[3-벤질옥시-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥소키]프로폭시]헥사노에이트(1.69 g, 수율 84.7%)를 수득하였다.

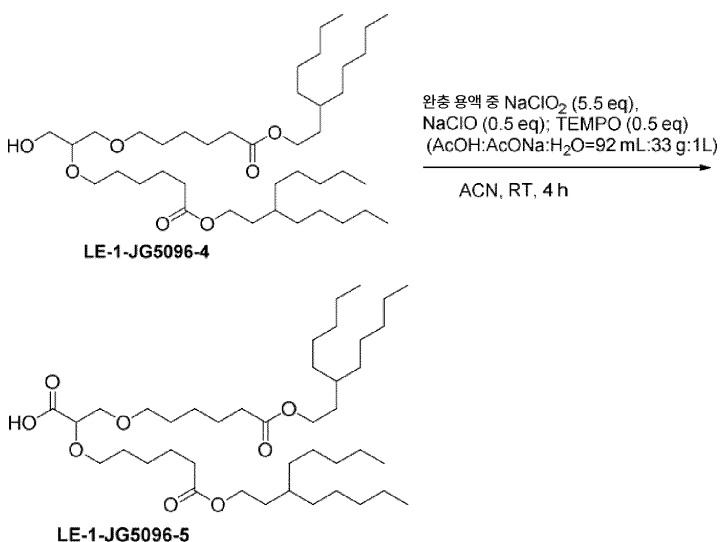
중간체 LE-1-JG5096-4의 합성



MeOH (20 mL) 중 3-펜틸옥틸 6-[3-벤질옥시-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥소시]프로폭시]헥사노에이트 (1.6 g, 2.06 mmol)의 혼합물에 팔라듐 (220 mg)을 첨가하고, 가스 H₂를 통해, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 여과하고, 농축시켜, 오일로서 3-펜틸옥틸 6-[3-하이드록시-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥소시]프로폭시]헥사노에이트 (1.40 g, 수율: 99%)를 수득하였다.

1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.10 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.74 (s, 1H), 3.68 – 3.37 (m, 9H), 2.37 – 2.19 (m, 5H), 1.78 – 1.58 (m, 27H), 1.58 – 1.17 (m, 43H), 0.90 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H).

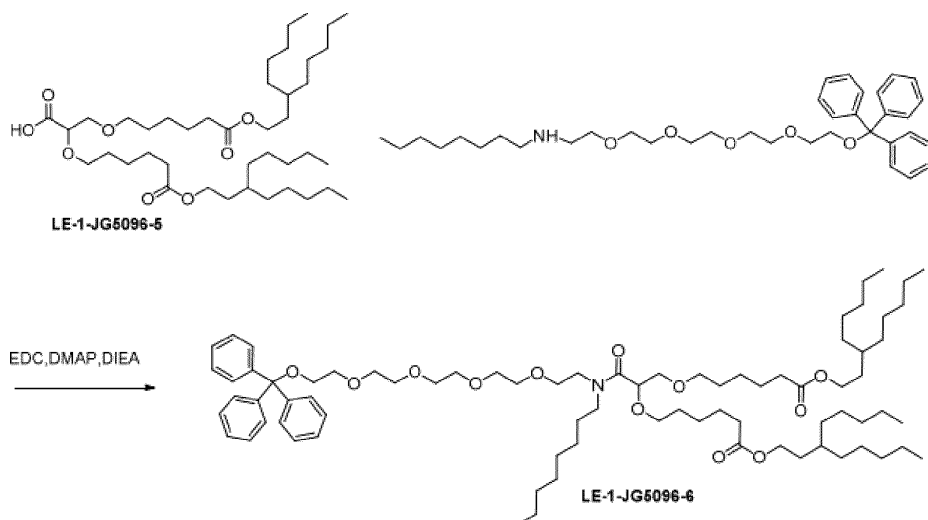
중간체 LE-1-JG5096-5의 합성



아세토니트릴(AcCN, 20 mL) 중 3-펜틸옥틸 6-[3-하이드록시-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로폭시]헥사노에이트(1.4 g, 2.04 mmol)의 용액 및 PH=4-완충 용액(10 mL, AcOH:AcONa:물 = 92 mL:33 g:1000 mL)에 아염소산나트륨(1.02 g, 11.2 mmol) 및 차아염소산나트륨(0.0726 g, 0.975 mmol), 이어서 TEMPO((2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-1-일)옥실)(0.152 g, 0.0975 mmol)를 첨가하였다. 반응물은 흑색이 되었으며, 20℃에서 4 hr 동안 교반하였다. LCMS는 투명한 반응물을 나타내었다. 반응물을 20 방울의 메탄올로 켄칭하고, 물(40 mL)에 붓고, 에틸아세테이트(60 ml x 3)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 염수(60 mL)로 세척하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 상기 배치와 합한 잔류물을 디클로로메탄 중 5% 내지 10% 메탄올로 용리되는 플래시 크로마토그래피를 통해 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2,3-비스[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로판산(1.403 g, 98% 수율)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.26 (s, 6H), 4.16 – 3.99 (m, 5H), 3.82 – 3.36 (m, 6H), 2.30 (td, *J* = 7.5, 3.6 Hz, 4H), 2.10 (s, 1H), 2.05 (s, 1H), 1.62 (ddt, *J* = 27.0, 13.8, 6.8 Hz, 17H), 1.46 – 1.15 (m, 42H), 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H).

[1710] 중간체 LE-1-JG5096-6의 합성

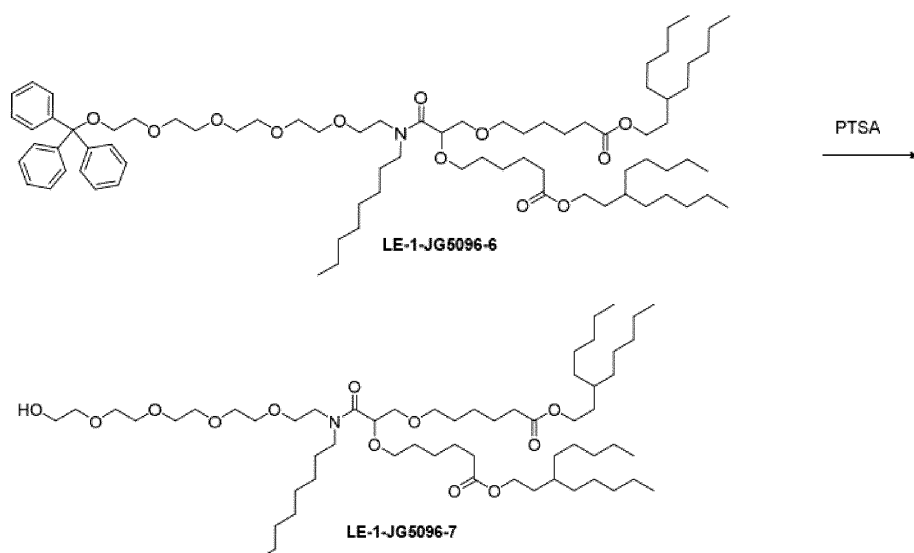


[1711]

[1712] DCM(20 ml) 중 N-[2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥탄-1-아민(1.02 g, 1.72 mmol)의 용액에 2,3-비스[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로판산(1 g, 1.43 mmol), 3-(에틸이미노메틸렌아미노)-N,N-디메틸-프로판-1-아민; 하이드로클로라이드(548 mg, 2.25 mmol), DMAP(175 mg, 1.43 mmol) 및 N-에틸-N-이소프로필-프로판-2-아민(555 mg, 4.29 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 18 hr 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 농축시키고, EA(50 ml)로 처리하고, 물(50 ml x 2), 염수(50 ml)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 유기물을 농축시키고, 플래시 크로마토그래피 컬럼(PE 중 40% EA)로 정제하여, 무색 오일로서 3-펜틸옥틸 6-[3-[옥틸-2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로판]헥사노에이트(1.2 g, 0.94 mmol, 수율 65.9%)를 수득하였다.

[1713] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46 (d, *J* = 7.4 Hz, 5H), 7.34 - 7.18 (m, 13H), 5.30 (s, 1H), 4.16 - 4.02 (m, 3H), 3.79 - 3.49 (m, 16H), 3.49 - 3.34 (m, 5H), 3.25 (dd, *J* = 14.7, 9.4 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 1.61 (d, *J* = 8.3 Hz, 24H), 1.58 - 1.07 (m, 47H), 0.88 (t, *J* = 6.9 Hz, 12H).

[1714] 중간체 LE-1-JG5096-7의 합성



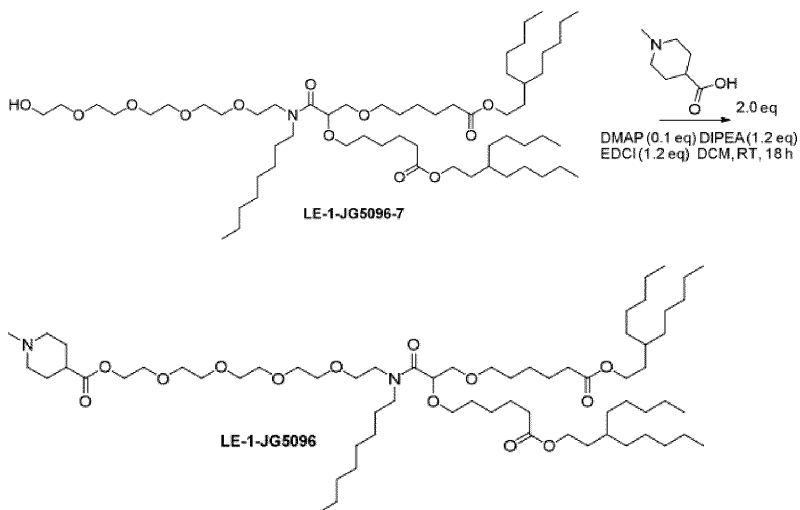
[1715]

[1716] 테트라하이드로푸란(10 mL) 중 3-펜틸옥틸 6-[3-[옥틸-2-[2-[2-[2-(2-트리틸옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]아미노]-3-옥소-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로판]헥사노에이트(0.5 g, 0.39 mmol) 및 4-메틸벤젠설폰산/수화물(448 mg, 2.36 mmol)의 혼합물. 혼합물을 주위 온도에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 황색 오일로서 3-펜틸옥틸 6-[3-[2-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸]옥틸-아미노]-3-옥소-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로판]헥사노에이트(0.1 g, 0.08 mmol, 수율 20.5%)를 수득하였다.

노]-3-옥소-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로폭시]헥사노에이트(0.35 g, 86.5% 수율)를 수득하였다.

[1717] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.07 (dd, $J = 7.1, 5.4$ Hz, 3H), 3.73 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.72 - 3.30 (m, 21H), 2.28 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 1.70 - 1.25 (m, 68H), 1.25 - 1.13 (m, 14H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 12H).

[1718] 화합물 XLVI의 합성



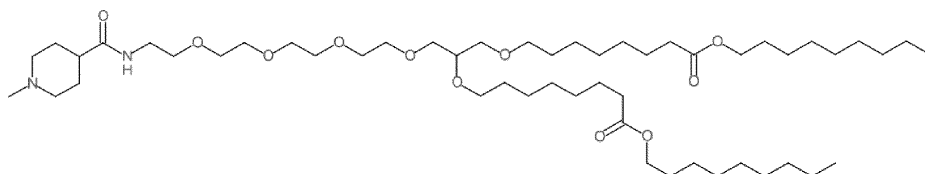
[1719]

[1720] 건조 디클로로메탄(10 mL) 중 3-펜틸옥틸 6-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에틸-옥틸-아미노]-3-옥소-2-[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로폭시]헥사노에이트(0.35 g, 0.4 mmol) 및 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(97 mg, 0.67 mmol)의 용액에 DIPEA(132 mg, 1.02 mmol), DMAP(41.5 mg, 0.34 mmol), 이어서 EDCI(130 mg, 0.67 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 0% 내지 10%(7%) MeOH로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 2-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스[6-옥소-6-(3-펜틸옥톡시)헥속시]프로파노일-옥틸-아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸 1-메틸피페리딘-4-카르복실레이트(0.359 g, 91.5% 수율)를 수득하였다.

[1721] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.47 - 4.16 (m, 2H), 4.07 (t, $J = 6.3$ Hz, 3H), 3.75 - 3.21 (m, 20H), 2.84 (s, 1H), 2.29 (dd, $J = 15.2, 7.6$ Hz, 6H), 1.84 (s, 4H), 1.59 - 1.48 (m, 10H), 1.47 - 1.12 (m, 42H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 12H).

[1722] **실시예 39:** 노닐 8-[3-[2-[2-[2-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐)아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXIV)의 합성

[1723] [화합물 XXIV]

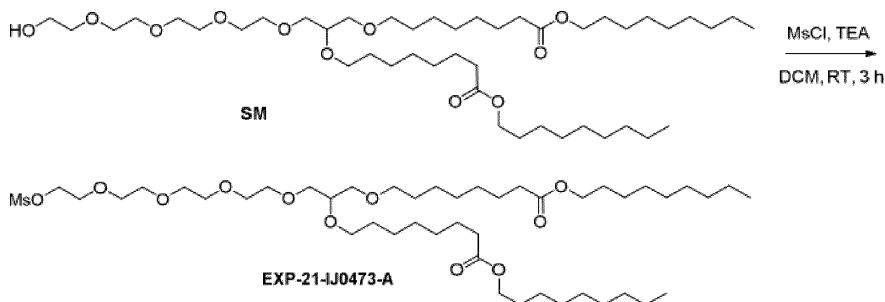


[1724]

[1725] 도 36의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXIV를 제조한다.

[1726] 실시예 19를 참조한다.

[1727] 중간체 LE-1-IJ0473-A의 합성



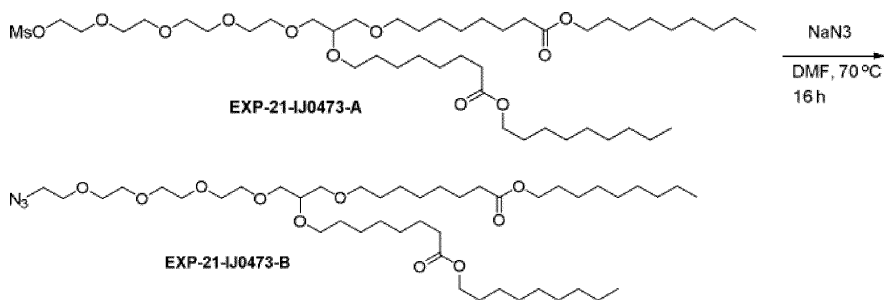
[1728]

[1729] 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.6 g, 0.745 mmol) 및 트리에틸아민(0.126 g, 2.24 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설포닐 클로라이드(0.128 g, 1.12 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 2 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(100 mL)에 붓고, 1 N HCl, sat NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜, 무색 오일로서 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.65 g, 99%)를 수득하였다.

[1730]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.41 - 4.35 (m, 2H), 4.05 (t, J = 6.7 Hz, 4H), 3.80 - 3.74 (m, 2H), 3.70 - 3.38 (m, 22H), 3.08 (s, 3H), 2.29 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.66 - 1.49 (m, 12H), 1.29 (d, J = 17.1 Hz, 36H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[1731] 중간체 LE-1-IJ0473-B의 합성



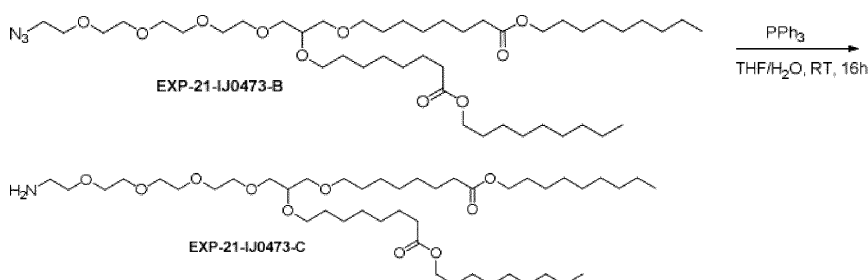
[1732]

[1733] 실온에서 DMF(15 mL) 중 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-메틸설포닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.65 g, 0.736 mmol) 및 아지도나트륨(0.096 g, 1.47 mmol)의 혼합물. 혼합물을 70℃에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 물(50 mL)에 붓고, EtOAc(200 mL)로 추출하였다. 유기 층을 물, sat NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜, 무색 오일로서 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.54 g, 88%)를 수득하였다.

[1734]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.05 (t, J = 6.7 Hz, 4H), 3.72 - 3.60 (m, 15H), 3.59 - 3.36 (m, 11H), 2.28 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.64 - 1.50 (m, 12H), 1.29 (d, J = 16.9 Hz, 37H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[1735] 중간체 LE-1-IJ0473-C의 합성



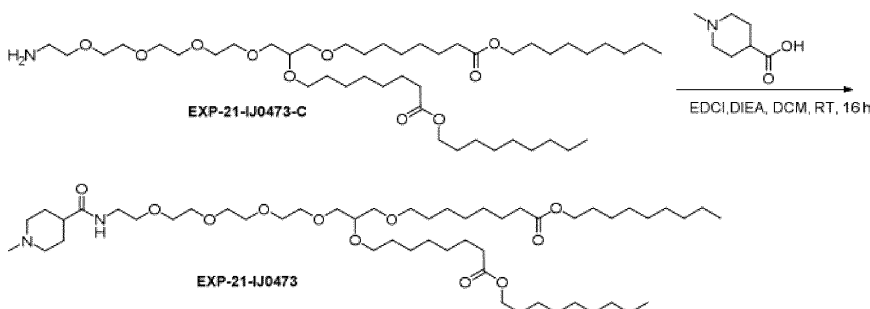
[1736]

[1737] 실온에서 THF/H₂O(5 mL/1 mL) 중 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥

소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.54 g, 0.65 mmol) 및 트리페닐포스판(0.853 g, 3.25 mmol)의 혼합물. 반응 혼합물을 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 DCM 중 2% 내지 8% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.41 g, 78.4%)를 수득하였다.

[1738] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.05 (t, J = 6.8 Hz, 4H), 3.73 - 3.38 (m, 24H), 2.93 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 2.28 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 1.67 - 1.50 (m, 12H), 1.29 (d, J = 16.8 Hz, 37H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[1739] 화합물 XXIV의 합성



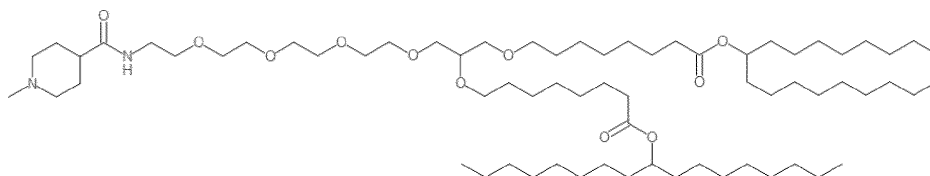
[1740]

[1741] DCM(15 mL) 중 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.109 g, 0.765 mmol), EDC HCl(0.147 g, 0.765 mmol)의 혼합물. 반응 혼합물을 주위 온도에서 2 h 동안 교반하였다. 그 후 노닐 8-[3-[2-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.41 g, 0.51 mmol) 및 DIEA(0.99 g, 0.765 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(100 mL)에 붓고, 1 N HCl, NaCl로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 2% 내지 8% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 백색 고체로서 노닐 8-[3-[2-[2-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐) 아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-(8-논옥시-8-옥소-옥톡시)프로폭시]옥타노에이트(0.243 g, 51.3%)를 수득하였다.

[1742] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.86 (s, 1H), 4.05 (t, J = 6.7 Hz, 4H), 3.69 - 3.27 (m, 28H), 2.67 (s, 3H), 2.50 (s, 1H), 2.37 - 2.20 (m, 6H), 2.07 (d, J = 14.1 Hz, 2H), 1.67 - 1.50 (m, 12H), 1.29 (d, J = 16.7 Hz, 37H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

[1743] 실시예 40: 옥타데칸-9-일 8-[2-(8-헵타데칸-9-일옥시-8-옥소옥톡시)-3-[2-[2-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐)아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXV)의 합성

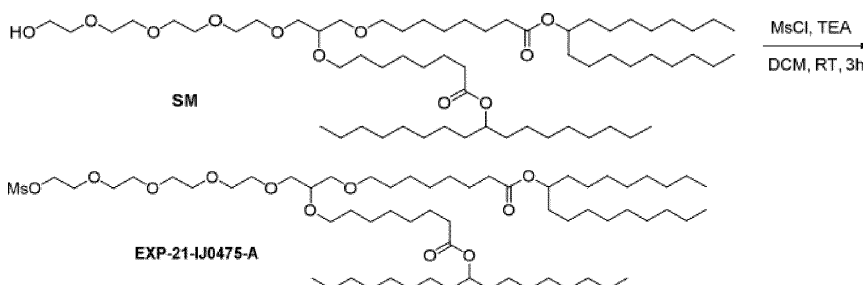
[1744] [화합물 XXV]



[1745]

[1746] 도 37의 합성 반응도식에 따라 화합물 XXV를 제조한다.

[1747] 중간체 LE-1-IJ0475-A의 합성



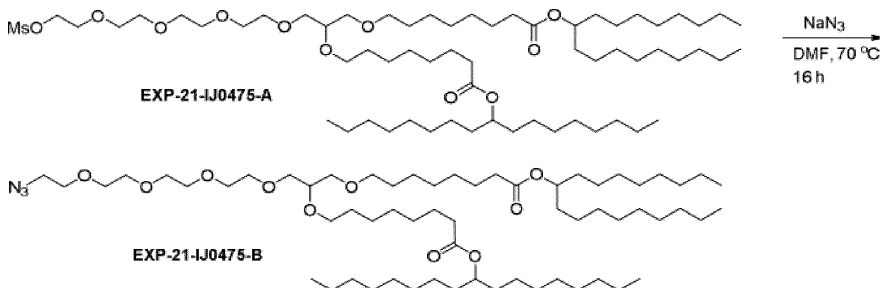
[1748]

[1749] DCM(20 mL) 중 1-옥틸테실 8-[3-[2-[2-[2-(2-하이드록시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-

옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.97 g, 0.93 mmol) 및 N,N-디에틸에탄아민(0.282 g, 2.79 mmol)의 혼합물에 0℃에서 메탄설폰닐 클로라이드(0.16 g, 1.39 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 주위 온도에서 3 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(100 mL)에 붓고, 1 N HCl, sat NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜, 무색 오일로서 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-(2-메틸설폰닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.0 g, 96%)를 수득하였다.

[1750] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.92 - 4.80 (m, 2H), 4.43 - 4.34 (m, 2H), 3.81 - 3.72 (m, 2H), 3.71 - 3.34 (m, 22H), 3.08 (s, 3H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.69 - 1.42 (m, 18H), 1.38 - 1.18 (m, 62H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1751] 중간체 LE-1-IJ0475-B의 합성

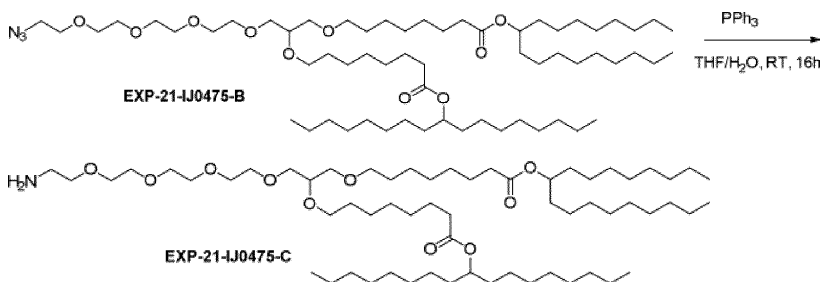


[1752]

[1753] 실온에서 DMF(10 mL) 중 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-(2-메틸설폰닐옥시에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(1.0 g, 0.891 mmol) 및 아지도나트륨(0.116 g, 1.78 mmol)의 혼합물. 혼합물을 70℃에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 물(50 mL)에 붓고, EtOAc(200 mL)로 추출하였다. 유기 층을 물, sat NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켜, 무색 오일로서 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.9 g, 94.5%)를 수득하였다.

[1754] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.93 - 4.80 (m, 2H), 3.74 - 3.34 (m, 26H), 2.27 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 1.66 - 1.45 (m, 17H), 1.38 - 1.19 (m, 62H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1755] 중간체 LE-1-IJ0475-C의 합성

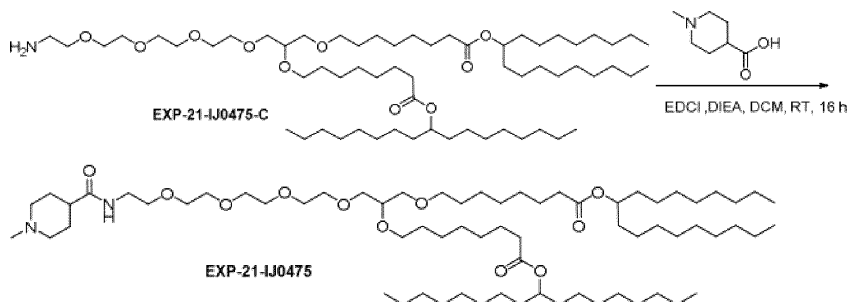


[1756]

[1757] 실온에서 THF/H₂O(10 mL/2 mL) 중 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.9 g, 0.842 mmol) 및 트리페닐포스판(1.1 g, 4.21 mmol)의 혼합물. 혼합물을 주위 온도에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 DCM 중 2% 내지 8% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.76 g, 86.6%)를 수득하였다.

[1758] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.86 (p, J = 6.3 Hz, 2H), 3.71 - 3.36 (m, 24H), 2.91 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 2.26 (dd, J = 20.0, 12.6 Hz, 9H), 1.69 - 1.44 (m, 17H), 1.28 (d, J = 23.4 Hz, 63H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1759] 화합물 XXV의 합성



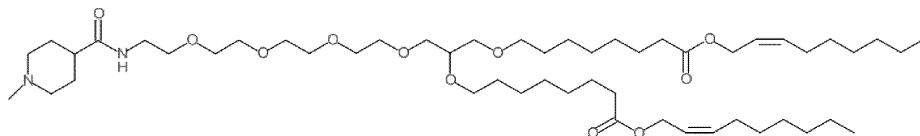
[1760]

[1761] DCM(15 mL) 중 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.072 g, 0.504 mmol), EDC HCl(0.097 g, 0.504 mmol)의 혼합물. 반응 혼합물을 주위 온도에서 2 h 동안 교반하였다. 그 후 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.35 g, 0.336 mmol) 및 DIEA(0.065 g, 0.504 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(100 mL)에 붓고, 1 N HCl, NaCl로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 2% 내지 8% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 백색 고체로서 1-옥틸데실 8-[3-[2-[2-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐)아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-(1-옥틸논옥시)-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.257 g, 65.6%)를 수득하였다.

[1762] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.90 - 4.81 (m, 2H), 3.74 - 3.36 (m, 26H), 3.25 (s, 2H), 2.59 (s, 3H), 2.27 (t, J = 7.5 Hz, 5H), 2.02 (s, 3H), 1.67 - 1.43 (m, 18H), 1.28 (d, J = 23.2 Hz, 63H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 12H).

[1763] **실시예 41: [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-[(1-메틸피페리딘-4-카르보닐)아미노]에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(화합물 XXVI)의 합성**

[1764] [화합물 XXVI]

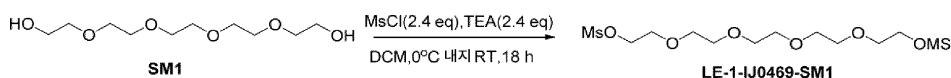


[1765]

[1766] 도 16의 합성 반응도식에 따라 화합물 L을 제조한다.

[1767] 실시예 22를 참조한다.

[1768] 중간체 EXP-21-IJ0469-SM1의 합성

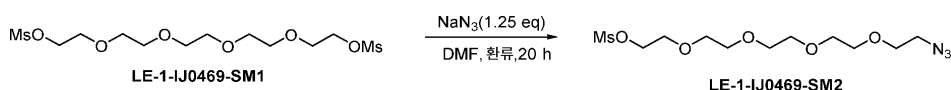


[1769]

[1770] DCM(600 mL) 중 3,6,9,12-테트라옥사테트라데칸-1,14-디올(100 g, 0.420 mol) 및 트리에틸아민(102 g, 1.01 mol)의 혼합물에 0°C에서 메탄설포닐 클로라이드(115 g, 1.01 mol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. CH₂Cl₂(400 mL)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 묽은 HCl(1 M, 1000 mL)로 세척하였다. 유기 층을 물(1000 mL) 및 염수(1000 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 황색 오일로서 3,6,9,12-테트라옥사테트라데칸-1,14-디일 디메탄설포네이트(160 g, 정량적)를 수득하였다.

[1771] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.45 - 4.33 (m, 4H), 3.82 - 3.74 (m, 4H), 3.72 - 3.57 (m, 8H), 3.08 (s, 6H).

[1772] 중간체 EXP-21-IJ0469-SM2의 합성



[1773]

[1774] DMF(500 mL) 중 3,6,9,12-테트라옥사테트라데칸-1,14-디일디메탄 설포네이트(160 g, 0.406 mol)의 용액에 NaN_3 (33 g, 0.507 mol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 70℃에서 20시간 동안 교반하였다. TLC은 출발 물질이 사라지고 새로운 스팟이 관찰되었음을 나타내었다. 그 후 물(1000 mL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(1000 mL*2)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수(1000 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켜 잔류물을 수득하였으며, 이를 DCM 중 CH_3OH 로 용리되는 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 액체로서 수득하였다(56 g, 42.0% 수율).

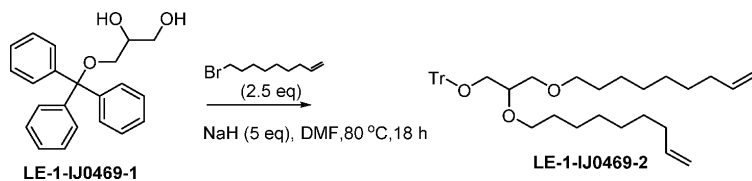
[1775] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.43 - 4.33 (m, 2H), 3.81 -3.73 (m, 2H), 3.72 - 3.58 (m, 10H), 3.43 - 3.34 (m, 2H), 3.08 (s, 3H).

[1776] 중간체 LE-1-IJ0469-1의 합성



[1778] 트리틸 클로라이드(75.7 g, 0.271 mol), 글리세롤(100 g, 1.09 mol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민(1.33 g, 0.0109 mol)을 500 mL의 THF 중에 용해시켰다. 트리에틸아민(33.0 g, 0.326 mol)을 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 22 h 동안 교반하였다. 그 후 300 mL의 에틸 아세테이트 및 150 mL의 H_2O 를 용액에 첨가하였다. 유기 상을 수집하고, 2*300 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 상을 합하고, 200 mL의 10%(w/v) NaHCO_3 로 세척하고, 그 후 200 mL의 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 용매를 증발시키고, 잔존 오일을 벤젠/헥산 중에서 재결정화하였다. 수득된 생성물을 실리카 겔 컬럼(용리 구배: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) 상에서 추가로 정제하여, 백색 고체로서 3-트리틸옥시프로판-1,2-디올(125 g, 34.4% 수율)을 수득하였다.

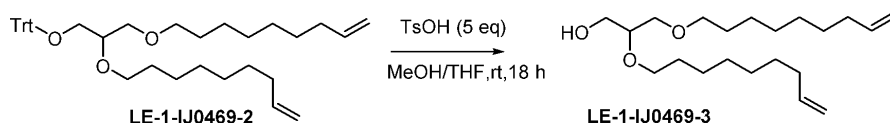
[1779] 중간체 LE-1-IJ0469-2의 합성



[1781] 500 mL의 무수 N,N-디메틸포름아미드 중 NaH (17.9 g, 0.748 mol)의 현탁액에 3-트리틸옥시프로판-1,2-디올(50.0 g, 0.15 mol)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 15분 동안 가열하고, 실온까지 냉각시켰다. 50 mL의 무수 DMF 중 9-브로모논-1-엔(76.7 g, 0.374 mol)을 혼합물에 적가하고, 그 후 이를 80℃ 하에서 18 h 동안 가열하였다. RT까지 냉각시킨 후, 1000 mL의 H_2O 를 첨가하고, 그 후 에틸 아세테이트(500 mL*3)로 추출하였다. 합한 유기 층을 500 mL의 5%(w/v) NaHCO_3 및 500 mL의 염수로 연속적으로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 용매를 감압 하에서 증발시키고, 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(석유 에테르 중 0% 내지 20% 에틸 아세테이트)로 용리되는 플래시 크로마토그래피 컬럼을 통해 정제하여 무색 오일(37.2 g, 42.7% 수율)을 수득하였다.

[1782] LCMS: RT=4.67, 92%, UV(214 nm)

[1783] 중간체 LE-1-IJ0469-3의 합성

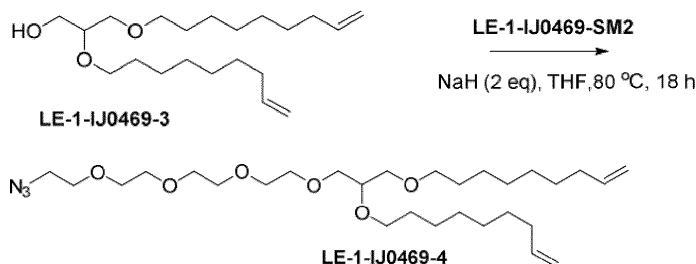


[1785] 메탄올/THF(600 mL, 1/1 v/v) 중 ((2,3-비스(논-8-엔-1-일옥시)프로폭시)메탄트리일)트리벤젠(38.3 g, 0.066 mol)의 용액에 실온에서 4-메틸벤젠설포산(56.6 g, 0.329 mol)을 한꺼번에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르 중 4% 에틸 아세테이트)는 출발 물질이 완전히 사라졌음을 나타내었으며, 50 mL의 트리에틸아민을 첨가하여 반응물을 킨칭하고, 용매를 진공 하에서 제거하였다. 잔류물을 석유 에테르 중

20% 내지 30% 에틸 아세테이트(21%)로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2,3-비스(논-8-에녹시)프로판-1-올(19.0 g, 84.9% 수율)을 수득하였다.

[1786] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.89 - 5.71 (m, 2H), 5.04 - 4.87 (m, 4H), 3.77 - 3.37 (m, 9H), 2.30 - 2.19 (m, 1H), 2.12 - 1.95 (m, 5H), 1.62 - 1.51 (m, 4H), 1.48 - 1.20 (m, 18H).

[1787] 중간체 LE-1-IJ0469-4의 합성

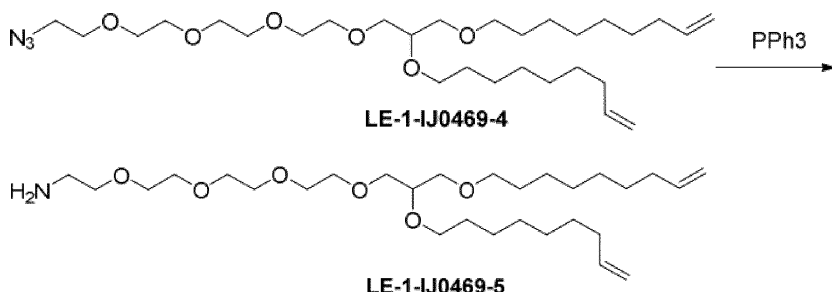


[1788]

[1789] 200 mL의 건조 THF 중 2,3-비스(논-8-에녹시)프로판-1-올(5.0 g, 1.0 eq)의 혼합물에 NaH(0.71 g, 2.0 eq)를 첨가하고, 그 후 80°C에서 15 min 동안 교반하였다. 그 후 용매를 실온으로 되돌린 후, 60 mL의 건조 THF 중에 용해된 2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에틸 메탄설포네이트(5.24 g, 1.2 eq)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 환류(80°C)에서 하룻밤 교반하였다. 반응 혼합물을 rt까지 냉각시키고, 물(200 mL)을 첨가하였다. EtOAc(400 mL)를 첨가하고, 혼합물을 진탕시키고, 층을 분리하고, 유기 층을 수집하였다. 수성 층을 EtOAc(400 mL*2)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 잔류물을 PE 중 EA(0 내지 15%)(14%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 황색 오일로서 목표 생성물(5.2 g, 65.4% 수율)을 수득하였다.

[1790] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.88 - 5.73 (m, 2H), 5.03 - 4.90 (m, 4H), 3.71 - 3.60 (m, 16H), 3.60 - 3.36 (m, 12H), 2.08 - 2.00 (m, 4H), 1.61 - 1.49 (m, 4H), 1.41 - 1.26 (m, 16H).

[1791] 중간체 LE-1-IJ0469-5의 합성

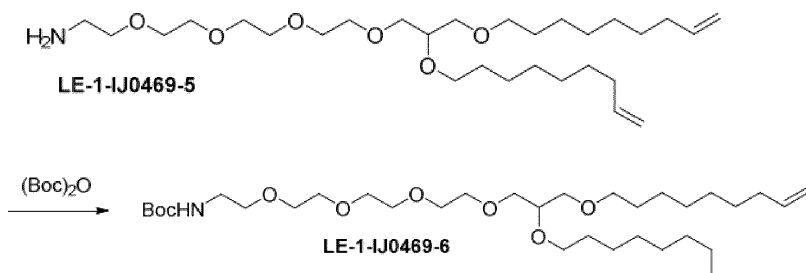


[1792]

[1793] 9-[3-[2-[2-[2-(2-아지도에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-논-8-에녹시-프로폭시] 논-1-엔(5.2 g, 9.6 mmol eq) 및 트리페닐포스핀(7.55 g, 28.8 mmol)을 THF(150 mL) 및 물(15 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온까지 하룻밤 교반하였다. 반응물을 농축시키고, DCM 중 5% 내지 25% MeOH로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에탄아민(3.6 g, 72.7% 수율)을 수득하였다.

[1794] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.87 - 5.74 (m, 2H), 5.03 - 4.90 (m, 4H), 3.71 - 3.60 (m, 13H), 3.61 - 3.38 (m, 12H), 2.87 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.04 (q, J = 6.7 Hz, 4H), 1.82 (s, 2H), 1.60 - 1.50 (m, 4H), 1.41 - 1.27 (m, 16H).

[1795] 중간체 LE-1-IJ0469-6의 합성

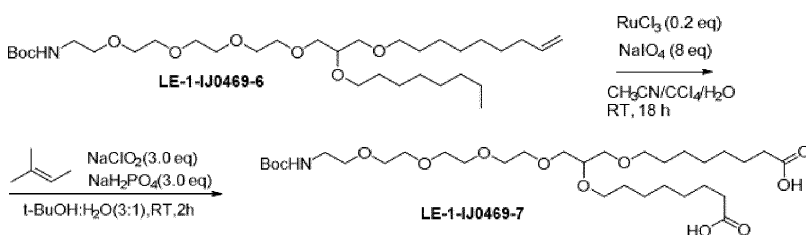


[1796]

[1797] 실온에서 100 mL의 CH_2Cl_2 중 2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에탄아민(3.6 g, 6.98 mmol) 및 N,N-디에틸에탄아민(1.41 g, 14 mmol)의 용액에 tert-부톡시카르보닐 tert-부틸 카르보네이트(1.83 g, 8.38 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. 혼합물을 HCl(20 mL 0.5 mol)로 킨칭하고, 유기 층을 분리하고, H_2O 및 염수로 세척하였다. 유기 상을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 플래시 크로마토그래피(실리카 겔, EA:PE = 2:3)로 정제하여, 무색 오일로서 tert-부틸 N-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸]카르바메이트(3.7 g, 86.1% 수율)를 수득하였다.

[1798] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.87 - 5.74 (m, 2H), 5.02 - 4.91 (m, 4H), 3.70 - 3.58 (m, 13H), 3.59 - 3.39 (m, 12H), 3.35 - 3.27 (m, 2H), 2.04 (q, J = 6.7 Hz, 4H), 1.74 (s, 1H), 1.61 - 1.50 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.40 - 1.24 (m, 16H).

[1799] 중간체 LE-1-IJ0469-7의 합성

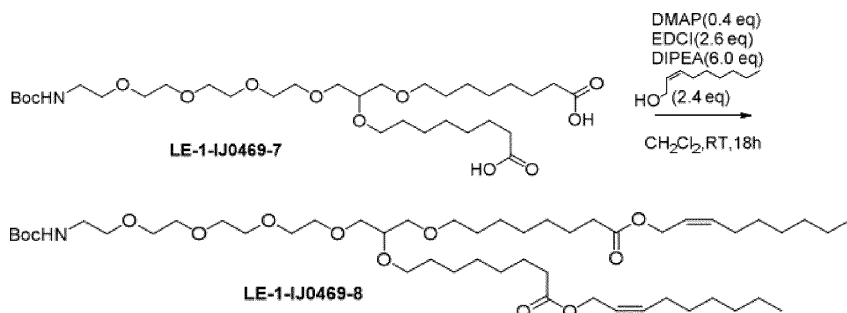


[1800]

[1801] MeCN(200 mL), CCl_4 (200 mL) 및 물(200 mL) 중 tert-부틸 N-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸]카르바메이트(12.9 g, 20.9 mmol)의 용액에 NaIO_4 (52.2 g, 244 mmol) 및 RuCl_3 (1.27 g, 6.1 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 여과하고, 여과액을 에틸 아세테이트(800 mL)로 희석시키고, 1N aq. HCl(900 mL)로 세척하였다. 유기 층을 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액(700 mL*2)으로 세척하고, 그 후 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 황색 오일로서 8-[3-[2-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(13.5 g, 정량적)을 수득하였으며, 이를 추가 정제 없이 사용하였다. N-[2-[2-[2-[2-[2,3-비스(논-8-에녹시)프로폭시]에톡시]에톡시]에톡시]에틸]카르바메이트(12.9 g, 20.9 mmol)를 NaH_2PO_4 (4.61 g, 17.0 mmol), 2-메틸-2-부텐(40 mL) 및 아염소산 나트륨(4.61 g, 51.0 mmol)을 함유하는 $t\text{-BuOH}:\text{H}_2\text{O}$ (3:1, 200 mL) 중에 용해시켰다. 반응물을 실온에서 2 h 동안 교반하였으며, LCMS는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 H_2O 로 희석시켰다. 수성 층을 에틸 아세테이트(800 mL*2)로 추출하였다. 잔류물을 DCM 중 CH_3OH (0 내지 15%) 9%로 용리되는 실리카 겔 상에서의 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 목표 생성물(12.0 g, 87.9% 수율)을 수득하였다.

[1802] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.11 (d, J = 27.7 Hz, 1H), 3.76 - 3.23 (m, 28H), 2.33 (t, J = 7.3 Hz, 4H), 1.67 - 1.51 (m, 8H), 1.44 (s, 10H), 1.35 (d, J = 10.3 Hz, 12H).

[1803] 중간체 LE-1-IJ0469-8의 합성

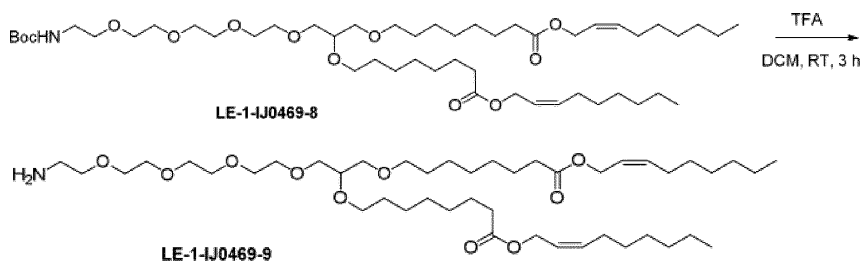


[1804]

[1805] 질소 하에서 건조 디클로로메탄(20 mL) 중 8-[3-[2-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-(7-카르복시헵톡시)프로폭시]옥탄산(1.0 g, 1.53 mmol) 및 (Z)-논-2-엔-1-올(0.524 g, 3.68 mmol)에 N,N-디이소프로필에틸아민(1.19 g, 9.2 mmol), DMAP(0.075 g, 0.614 mmol) 및 EDCI(0.761 g, 3.99 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 18 h 동안 교반하였다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 염수로 세척하였다. 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르 중 20% 내지 55%(27%) 에틸 아세테이트로 용리되는 플래시 크로마토그래피로 정제하여, 밝은 황색 오일로서 [(Z)-논-2-엔일] 8-[3-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.85 g, 61.5% 수율)를 수득하였다.

[1806] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.64 (dt, J = 10.8, 7.5 Hz, 2H), 5.52 (dt, J = 11.0, 6.8 Hz, 2H), 5.06 (s, 1H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 3.68 - 3.39 (m, 27H), 3.31 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 2.30 (t, J = 7.5 Hz, 4H), 2.14 - 2.04 (m, 4H), 1.65 - 1.59 (m, 4H), 1.58 - 1.51 (m, 4H), 1.44 (s, 10H), 1.40 - 1.24 (m, 30H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

[1807] 중간체 LE-1-IJ0469-9의 합성

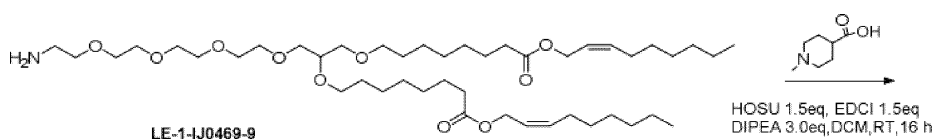


[1808]

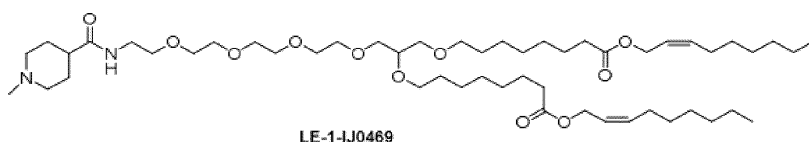
[1809] 0°C까지 냉각된 DCM(8 mL) 중 [(Z)-논-2-엔일] 8-[3-[2-[2-[2-(tert-부톡시카르보닐아미노)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(500 mg, 0.56 mmol)에 TFA(2 mL)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3 h 동안 교반하였다. TLC는 출발 물질이 사라졌음을 나타내었다. 반응물을 0°C에서 포화 NaHCO₃로 켄칭하였다. 유기 층을 포화 NaHCO₃, 0.1 M NaOH 및 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시켰다. 용매를 진공 하에서 제거하여 [(Z)-논-2-엔일] 8-[3-[2-[2-[2-(아미노에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(370 mg, 83.3% 수율)를 수득하였다.

[1810] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 5.68 - 5.60 (m, 2H), 5.51 (dt, J = 19.6, 7.7 Hz, 2H), 4.62 (d, J = 6.8 Hz, 4H), 3.70 - 3.37 (m, 25H), 2.87 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 2.10 (q, J = 7.2 Hz, 4H), 1.58 (dd, J = 35.2, 6.3 Hz, 9H), 1.40 - 1.23 (m, 33H), 0.88 (t, J = 6.9 Hz, 6H).

[1811] 화합물 XXVI의 합성



[1812]



[1813]

[1814]

DCM(15 mL) 중 1-메틸피페리딘-4-카르복실산(0.132 g, 0.925 mmol), EDC HCl(0.133 g, 0.694 mmol), N-하이드록시석신이미드(0.080 g, 0.694 mmol)의 혼합물. 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반하였다. 그 후 [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(0.37 g, 0.462 mmol) 및 DIPEA(0.179 g, 1.39 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 rt에서 16 h 동안 교반하였다. 혼합물을 DCM(100 mL)에 붓고, NaHCO₃ 용액 및 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 DCM 중 MeOH(13%)로 용리되는 실리카 겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, [(Z)-논-2-에닐] 8-[3-[2-[2-[2-(2-아미노에톡시)에톡시]에톡시]에톡시]에톡시]-2-[8-[(Z)-논-2-에녹시]-8-옥소-옥톡시]프로폭시]옥타노에이트(278 mg, 65% 수율)를 수득하였다.

[1815]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.63 (t, J = 9.1 Hz, 2H), 5.56 - 5.48 (m, 2H), 4.62 (d, J = 6.7 Hz, 4H), 3.68 - 3.28 (m, 23H), 2.69 (s, 4H), 2.30 (t, J = 7.3 Hz, 4H), 2.23 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.10 (dd, J = 14.5, 7.3 Hz, 5H), 1.86 (s, 7H), 1.58 (d, J = 29.6 Hz, 9H), 1.40 - 1.19 (m, 29H), 0.88 (t, J = 6.8 Hz, 6H).

[1816]

실시예 42: 핵산/mRNA를 함유하는 LNP의 제조

[1817]

유기 상의 제조

[1818]

50:10:38.5:1.5(지질 화합물:DSPC:콜레스테롤:DMPG-PEG)의 물비로 에탄올 중에 지질을 용해시켰다.

[1819]

화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 또는 화학식 XII의 지질 화합물을 사용하여 LNP를 제조하였다.

[1820]

콜레스테롤은 Sigma Aldrich(C3045)로부터 입수하였다. DSPC(1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린) 및 DMPG-PEG 2000은 Avanti Polar Lipids로부터 입수하였다.

[1821]

3.8 mg의 DSPC, 2 mg의 DMPG-PEG2000 및 7.2 mg의 콜레스테롤을 1477 μL의 에탄올 중에 용해시켰다. 그 후 화학식 VI, 화학식 VII, 화학식 VIII, 화학식 XI, 화학식 XII의 지질 화합물의 210 μL 스톡 용액(에탄올 중 100 mg/mL)을 첨가하여 20 mg/mL의 지질 상 용액을 수득하였다.

[1822]

수성 상의 제조

[1823]

수성 상에 사용할 핵산/mRNA 농도를 계산하여 6의 양이온성 아미노 기/음이온성 포스페이트 기 비(N/P=6)를 얻었다. 이 농도는 1 μg의 mRNA가 0.003 μmol의 포스페이트에 상응하는 것으로 가정하여 지질 화합물 농도로부터 결정하였다. 미국 캘리포니아주 샌디에이고 소재의 TriLink Biotechnologies로부터 입수된 인간 에리트로포이에틴을 인코딩하는 비복제, 고도 정제 mRNA인 CleanCap® EPO mRNA(5moU)(카탈로그 번호 L7209; hEPO mRNA)를 사용하였다.

[1824]

NanoAssemblR®(Precision Nanosystem의 Nanoassemblr Benchtop; 문헌[Belliveau et al., Molecular Therapy-Nucleic Acids (2012)])을 사용하여 3:1의 수용액:에탄올 용액의 비를 사용할 때 1.5 mL의 수용액이 2 mL의 LNP의 제조에 필요하기 때문에, 필요한 mRNA 농도는 305 μg/mL인 것으로 계산되었다.

[1825]

mRNA 용액을 50 mM 시트레이트 완충액(pH 4.0)에서 제조하였다.

[1826]

LNP의 제조

[1827]

제조업체 권장사항에 따라 NanoAssemblR 장비를 사용하여 LNP를 제조하였다.

[1828]

수성 및 유기 상 각각을 제조업체 권장사항에 따라 NanoAssemblR에 적합한 시린지에 로딩하였다. 유량을 비: 3:1 및 총 유량: 4 ml/분으로 설정하였다. 그 후, 수성 및 지질 상을 혼합하여 LNP를 수득하였다.

[1829]

LNP의 정제 및 수확

[1830]

수득된 LNP를 시트레이트 완충액(50 mM - pH 4.0)에 대해 투석하여 잔존 에탄올을 제거하고, 그 후 PBS 완충액(pH 7.4)에 대해 2회 투석하였다. 각 투석을 4°C에서 적어도 12시간 동안 수행하였다. 그 후 LNP를 0.22 μm 필터

터를 통해 여과하고, 질소 하에 +4℃에서 저장하였다.

[1831] 실시예 43: 루시페라제 mRNA의 시험관내 LNP 세포 전달

[1832] 물질 및 방법

[1833] LNP 시약

[1834] 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC) 및 DSPC-PEG는 Avanti Polar Lipids(미국 올버니 앨러배스터 소재)로부터 구입하였다. 3β-하이드록시-5-콜레스텐, 5-콜레스텐-3β-올(콜레스테롤) 및 Supor Membrane이 갖춰진 Acrodisc Syringe Filters(평균-0.2 μm, 13 mm)는 Sigma Aldrich(미국 미주리주 세인트 루이스 소재)로부터 구입하였다. COATSOME® SS-OP(SS-OP)를 NOF America Corporation(일본에 본사를 둔, 미국 뉴욕주 화이트 플레인스 소재)으로부터 구입하였다. 뉴클레아제 무함유 물, 10X PBS 완충액 pH 7.4, 시트르산나트륨, 이수화물, 시트르산, 염화나트륨, 수크로스, 에틸 알코올, BD Vacutainer General Use Syringe Needles(BD Blunt Fill Needle 18G), BD Slip Tip Sterile Syringes(3 ml 및 1 mL), Amicon Ultra Centrifugal Filter Units, DNA 무함유 마이크로원심분리 튜브(1.5 mL), Invitrogen RNase-free Microfuge Tubes(0.5 mL), Invitrogen Conical Tubes(15 mL)(DNase-RNase-무함유), Fisher Brand Semi-Micro Cuvette, Quant-iT™ RiboGreen® RNA Assay Kit 및 RnaseZap™을 Thermo Fisher Scientific(미국 매사추세츠주 월섬 소재)으로부터 구입하였다.

[1835] 루시페라제를 인코딩하는 mRNA는 TriLink™ Biotechnologies(mRNA-Luc - Ref.: L-7602)로부터 구입하였다.

[1836] LNP의 제조

[1837] 루시페라제를 인코딩하는 mRNA(CleanCap® FLuc mRNA(TriLink L-7202) - luc mRNA) 55 내지 240 ng을 포함하는 LNP를 실시예 42의 프로토콜에 따라 화학식 VII의 지질 화합물 또는 COATSOME® SS-OP(SS-OP)를 사용하여 제조하였다.

[1838] LNP 제형은 다음과 같았다: 50/39.5/10/0.5(LNP -1) 또는 40/44.5/15/0.5 몰비(LNP -2)의 이온화 가능한 지질/콜레스테롤/DSPC/DSPC-PEG.

[1839] 비 N/P = 6을 얻도록 20 mM의 이온화 가능한 양이온성 지질 Lip (VII) 및 시트레이트 완충액 50 mM 중 44 μg/ml의 mRNA(9.6 μl의 luc mRNA + 26.4 μl의 시트레이트 50 mM)를 사용하여 LNP Lip (VII) -1을 제조하였다. 수득된 LNP의 몰비는 다음과 같았다: 50/39.5/10/0.5의 지질(VII)/콜레스테롤/DSPC/DSPC-PEG2000.

[1840] 비 N/P = 6을 얻도록 20 mM의 이온화 가능한 양이온성 지질 Lip (VII) 및 시트레이트 완충액 50 mM 중 36 μg/ml의 mRNA(7.7 μl의 luc mRNA + 28.3 μl의 시트레이트 50 mM)를 사용하여 LNP Lip (VII) -2를 제조하였다. 수득된 LNP의 몰비는 다음과 같았다: 40/44.5/15/0.5의 지질(VII)/콜레스테롤/DSPC/DSPC-PEG2000.

[1841] 비 N/P = 12를 얻도록 20 mM의 이온화 가능한 양이온성 지질 SS-OP 및 시트레이트 완충액 50 mM 중 44 μg/ml의 mRNA(9.6 μl의 luc mRNA + 26.4 μl의 시트레이트 50 mM)를 사용하여 LNP SS-OP -1을 제조하였다. 수득된 LNP의 몰비는 다음과 같았다: 50/39.5/10/0.5의 SS-OP/콜레스테롤/DSPC/DSPC-PEG2000.

[1842] 비 N/P = 12를 얻도록 20 mM의 이온화 가능한 양이온성 지질 SS-OP 및 시트레이트 완충액 50 mM 중 36 μg/ml의 mRNA(7.7 μl의 luc mRNA + 28.3 μl의 시트레이트 50 mM)를 사용하여 LNP SS-OP -2를 제조하였다. 수득된 LNP의 몰비는 다음과 같았다: 40/44.5/15/0.5의 SS-OP/콜레스테롤/DSPC/DSPC-PEG2000.

[1843] 제조된 LNP는 다음과 같은 제형 및 특성을 가졌다:

[1844] [표 3A]

[1845] LNP 제형 및 특성

LNP	지질	지질 비	N/P
LNP Lip. (VII) -1	Lip. (VII)/Chol/DSPC/DSPC-PEG	50/39.5/10/0.5	6
LNP Lip. (VII) -2	Lip. (VII)/Chol/DSPC/DSPC-PEG	40/44/15/0.5	6
LNP SSOP -1	SSOP/Chol/DSPC/DSPC-PEG	50/39.5/10/0.5	12
LNP SSOP -2	SSOP/Chol/DSPC/DSPC-PEG	40/44/15/0.5	12

[1847] [표 3B]

[1848] LNP 제형 및 특성

LNP	크기 LNP (nm)	다분산 지수(PDI)	캡슐화 %
LNP Lip. (VII) -1	88	0.17	82
LNP Lip. (VII) -2	89	0.14	80
LNP SSOP -1	93	0.16	100
LNP SSOP -2	87	0.23	100

[1849]

[1850] 크기, 캡슐화율 및 다분산 지수(PDI)는 다음과 같이 측정하였다.

[1851] RNA 적정 / 캡슐화율

[1852] LNP에서의 캡슐화된 mRNA의 백분율 및 mRNA의 농도를 제조업체 권장사항(Invitrogen Detection Technologies)에 따라 Quant-iT Ribogreen RNA 시약 키트를 사용하여 측정하고, 플루오레세인 여기 및 방출 파장을 사용하여 표준 분광광도계 또는 형광 마이크로플레이트 판독기로 정량화하였다.

[1853] 비캡슐화 RNA의 정량화를 위해, LNP를 Tris/EDTA 검정 완충액(10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5)에 희석시켰다. RNA의 총량의 정량화를 위해, LNP를 0.5%(v/v) 트리톤 X100을 포함하는 Tris/EDTA 검정 완충액(10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5)에 희석시켰다. Ribogreen 염료(200배 희석)를 샘플(50/50 믹스; 샘플/Ribogreen 시약)에 첨가하고, 철저히 혼합하고, 암소에서 실온에서 5 min 동안 인큐베이션시켰다.

[1854] 형광을 플레이트 판독기에서 측정하였다.

[1855] 지질 정량화

[1856] 제형화 프로세스 동안 지질의 손실이 없는 것으로 가정하였다. 그 후, 투석 전 총 지질 농도는 5 mg/mL인 것으로 가정하였다. 투석 단계 동안 발생하는 희석 배율을 고려하여 최종 지질 농도를 정의하였다.

[1857] 입자 크기 분포, 다분산 지수 제타 전위 및 오스몰농도

[1858] 제조업체 권장사항에 따라 제타 사이저 Nano ZS 광 산란 기기(Malvern Instruments)를 사용하여 LNP의 제타 전위 및 입자 크기 분포를 측정하였다.

[1859] 입자 크기는 입자 크기 분포의 "폭"의 지표인 다분산 지수(PDI)와 함께 Z-평균 크기(고조파 강도 평균 입자 직경)로 보고하였다. 샘플을 측정 전에 인산염 완충 식염수(PBS)에서 1/100까지 희석시켰다. Nano ZS를 사용한 정확한 입자 크기 측정을 위해, 완충액의 점도 및 물질의 굴절률을 장비 소프트웨어에 제공해야 했다(PBS: $\eta=1.02$ cP, RI =1.45).

[1860] 제타 전위 측정을 위해 샘플을 물에 희석시켰다($\eta=0.8872$ cP). Malvern Instruments의 Zetasizer Software V 7.11을 사용하여 데이터를 분석하였다.

[1861] 장비의 제조업체 지침에 따라 각각 마이크로-샘플 오스모미터(Fiske Associates 모델) 및 pH계(Mettler Toledo)를 사용하여 제형의 오스몰농도 및 pH를 측정하였다.

[1862] 세포 배양 및 mRNA 전달

[1863] 루시퍼라제 mRNA를 사용하여 제형화된 LNP의 형질감염 능력을 시험하기 위해 검정 절차를 최적화하였다. 이 검정에서는 단층 간세포주 Huh7을 사용한다. 형질감염 하루 전날에, 흑색 투명바닥 384웰 플레이트(Greiner) 내로 웰당 1.0×10^4 개의 세포를 20 μ L의 완전 세포 배양 배지에 시딩하고, 인큐베이터(37°C 및 5% CO₂) 내에 넣었다.

[1864] 다음날, 55 내지 240 ng의 Luc-mRNA를 함유하는 5 μ l의 LNP를 음향 액적 분배기(acoustic droplet dispenser) ECHO 525(Labcyte)를 사용하여 세포 내로 첨가하였다.

[1865] 리포펙타민 MessengerMax™(Invitrogen LMRNA001)를 CleanCap® FLuc mRNA(TriLink L-7202)와 혼합함으로써 양성 대조군을 수득한다. 실온에서 1 H 동안 인큐베이션시킨 후에, 5 μ l의 이 형질감염 믹스를 웰당 55 ng의

mRNA에 상응하는 Cybiwell 분배기(Cybio)를 사용하여 세포 내로 첨가한다.

음성 대조군은 CleanCap® FLuc mRNA(TriLink L-7202)를 웰당 55 ng의 mRNA에 상응하는 Cybiwell 분배기(Cybio)를 사용하여 세포 플레이트에 첨가함으로써 수득한 것이거나 세포 단독이었다.

몇몇 검정 플레이트를 (형질감염 및 세포독성 판독을 위해) 유사하게 제조하고, 5% CO₂로 37℃에서 24 H 동안 인큐베이션시켰다.

인큐베이션 시간의 종료 시에, Bright-Glo™ 루시페라제 검정 시스템(Luciferase Assay System)(Promega)을 사용하여 루시페라제 생성을 측정한다. CellTiter-Glo® 발광 세포 생존력 검정(Luminescent Cell Viability Assay)(Promega)을 사용하여 세포 ATP 검출에 의해 세포독성 판독을 수행한다. 신호는 둘 모두 Pherastar 플레이트 판독기(BMG Labtech)를 사용하여 측정된다.

결과

얻어진 결과는 표 4에 요약되어 있다:

[표 4A]

발광 및 루시페라제 발현

LNP	mRNA의 농도/웰 (ng/웰)	OptiMEM	
		RLU	형질감염 %
LNP Lip. (VII) -1	220	98 472	105
LNP Lip. (VII) -2	180	120 081	128
LNP SSOP -1	240	557	0
LNP SSOP -2	200	1 363	1
대조군	POS: 50 nl 리포펙타민 + 55 ng mRNA	93 552	100
	NEG: 55 ng luc mRNA	320	0
	NEG: 세포 단독	154	0

POS : 양성 대조군

NEG : 음성 대조군

[표 4B]

발광 및 루시페라제 발현

LNP	mRNA의 농도/웰 (ng/웰)	OptiMEM + 10% 혈청	
		RLU	형질감염 %
LNP Lip. (VII) -1	220	97 629	362
LNP Lip. (VII) -2	180	11 5774	429
LNP SSOP -1	240	227	1
LNP SSOP -2	200	522	2
대조군	POS: 50 nl 리포펙타민 + 55 ng mRNA	27 050	100
	NEG: 55 ng luc mRNA	212	0
	NEG: 세포 단독	78	0

POS : 양성 대조군

- [1880] NEG : 음성 대조군
- [1881] 표 4(A 및 B)에 또는 도 39a에 제시된 결과에 의해 나타난 바와 같이, 본 개시내용의 지질 화합물(Lip. (VII))을 사용하여 제조되고 반딧불이 루시페라제를 인코딩하는 mRNA를 함유하는 LNP는 mRNA의 전달 및 루시페라제의 발현을 증가시킬 수 있었다. 본 개시내용의 LNP를 사용하여 얻어진 발광 및 형질감염률은 벤치마크 LNP SS-OP를 사용하여 얻어진 발광 및 형질감염률보다 훨씬 더 높았다.
- [1882] 더욱이, 도 39b에 나타난 바와 같이, 세포의 생존력은 LNP에 의해 약한 영향을 받았다.
- [1883] **실시예 44: LNP 전달 루시페라제 mRNA 이미징**
- [1884] 본 연구의 목적은 정상 마우스에서 상이한 LNP 제형들의 간 형질도입 효율 및 조직 생체분포를 결정하는 것이었다.
- [1885] **물질 및 방법**
- [1886] LNP 시약
- [1887] 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC) 및 1,2-디미리스토일-rac-글리세로-3-메톡시폴리에틸렌 글리콜-2000(DMG-PEG)은 Avanti Polar Lipids(미국 올버니 앨러베스터 소재)로부터 구입하였다. 3 β -하이드록시-5-콜레스텐, 5-콜레스텐-3 β -올(콜레스테롤) 및 Supor Membrane이 갖춰진 Acrodisc Syringe Filters(평균-0.2 μ m, 13 mm)는 Sigma Aldrich(미국 미주리주 세인트 루이스 소재)로부터 구입하였다. COATSOME® SS-OP(SS-OP)를 NOF America Corporation(일본에 본사를 둔, 미국 뉴욕주 화이트 플레인스 소재)으로부터 구입하였다. 뉴클레아제 무함유 물, 10X PBS 완충액 pH 7.4, 시트르산나트륨, 이수화물, 시트르산, 염화나트륨, 수크로스, 에틸 알코올, BD Vacutainer General Use Syringe Needles(BD Blunt Fill Needle 18G), BD Slip Tip Sterile Syringes(3 ml 및 1 mL), Amicon Ultra Centrifugal Filter Units, DNA 무함유 마이크로원심분리 튜브(1.5 mL), Invitrogen RNase-free Microfuge Tubes(0.5 mL), Invitrogen Conical Tubes(15 mL)(DNase-RNase-무함유), Fisher Brand Semi-Micro Cuvette, Quant-iT™ RiboGreen® RNA Assay Kit 및 RnaseZap™을 Thermo Fisher Scientific(미국 매사추세츠주 월섬 소재)으로부터 구입하였다. 루시페라제를 인코딩하는 mRNA를 TriLink™ Biotechnologies(mRNA-Luc - Ref.: L-7602)로부터 구입하였다.
- [1888] LNP의 제조
- [1889] **실시예 42 및 실시예 43**에 따라 Precision Nanosystems(캐나다 브리티시 콜럼비아 소재)로부터의 NanoAssemblr Benchtop을 사용하여 LNP SS-OP 및 LNP Lip. (VII)를 제조하였다.
- [1890] mRNA 반딧불이-루시페라제(TriLink®)를 핵산으로서 사용하였다.
- [1891] LNP 제형은 다음과 같았다: 50/38.5/10/1.5 몰비의 이온화 가능한 지질/콜레스테롤/DSPC/DMG-PEG.
- [1892] 동물 연구
- [1893] 10주령의 암컷 BALB/c ByJ 마우스를 Charles River lab(프랑스, 69210, 생-제르맹-누엘, 레 운신스 소재)으로부터 입수하였다. T0에서, 100 μ l의 LNP SS-OP(군 I, n=3), 루시페라제를 인코딩하는 mRNA(mRNA-Luc - Ref.: L-7602 TriLink™ Biotechnologies) 10 μ g을 함유하는 LNP Lip. (VII)(군 II, n=3), 또는 PBS(군 III, 음성 대조군, n=3)를 정맥내(IV) 경로에 의해 동물에게 주사하였다. PBS에 희석시킨 루시페린 칼륨 염(D-루시페린, K+ 염 Fluoprobes, Interchim)을 각 발광 획득 측정을 위해, 복강내(i.p) 경로를 통해 마우스당 3 mg(이는 루시페라제 양에 비해 크게 과량임))으로 주사하였다.
- [1894] 광학 이미징은 IVIS Spectrum CT 디바이스(PerkinElmer Inc., 프랑스 파리 소재)를 사용하여 수행하였다. 반딧불이-루시페라제의 발현을 기질의 주사 후 6 h, 24 h 및 48 h째에 측정하였다. 마지막으로, 조직(비장, 간, 근육, 장골, 신장, 폐, 심장)을 생체의 생물발광 이미징(BLI)을 위해 샘플링하였다. Living-Image® 소프트웨어(Living Image Software, PerkinElmer Inc., 프랑스 파리 소재)를 사용하여 전신에 대해, 해부학적으로 분할된 영역에서, 그리고 생체의 조직에 대해 생물발광 정량화를 수행하였다. 결과를 LNP/mRNA-Luc 주사 후 시간(h)의 함수로 총 플럭스(ph/s)로서 표현한다.
- [1895] **결과**
- [1896] LNP는 다음과 같은 특성을 가졌다:

[표 5]

LNP 특징

LNP	이온화 가능한 지질	직경 (nm)	다분산 지수(PDI)	캡슐화율(%)	mRNA 최종 농도 (μg/mL)
LNP-SSOP	SS-OP	121	0.147	95	100
LNP Lip. (VII)	화합식 VII의 화합물	108	0.086	99	100

직경 크기, 다분산 지수, 및 캡슐화율을 실시예 43에 나타난 바와 같이 결정하였다.

본 발명의 지질 화합물을 사용하여 수득된 LNP는 감소된 직경 및 개선된 균질한 크기 분포를 가졌다.

큰 크기의 미립자는 주사 시의 유해 반응, 예컨대 통증을 유도할 수 있는 것으로 알려져 있다. 본 발명의 LNP의 감소되고 균질한 크기는 유해 효과의 위험의 감소를 가능하게 한다.

도 40에 나타난 바와 같이, 최고의 전신 생물발광 신호가 모든 LNP에 대해 주사 후 6 h째에 관찰된다. LNP SS-OP 및 LNP Lip. (VII)에 사용하여 얻어진 전신 생물발광 신호는 매우 비슷하였다.

LNP는 상이한 생체분포를 나타내었다: 주사 후 6 h째에 LNP SSOP에 대한 고수준의 간 발현 및 LNP Lip. (VII)에 대한 더 확산된 신호가 관찰되었다.

도 41a(LNP SS-OP), 도 41b(LNP Lip. (VII)), 및 도 41c(PBS)에 나타난 바와 같이, LNP lip. (VII)는 주사 후 6 h째 정도로 조기에 간 내에서 고수준의 발현을 나타낸다.

도 42a(LNP SS-OP) 및 도 42b(LNP Lip. (VII))에 나타난 바와 같이, LNP 구조의 차이 및 관련 크기는 자발적 조직 분포의 차이와 관련되었으며, 이는 추가의 특정 표적화 효능에 영향을 줄 수 있었다:

- LNP SS-OP는 높은 전사 효능으로 간에 주로 분포되었으며,

- LNP Lip. (VII)는 중간 전사 효능으로 더 폭넓은 분포(간, 비장, 장골에서의 골수양조직)를 나타내었다.

실시예 45: 본 개시내용의 지질 화합물을 포함하는 LNP에서의 hEPO mRNA의 제형화

물질 및 방법

시약 및 LNP 제조

인간 에리트로포이에틴을 인코딩하는 비복제, 고도 정제 mRNA인 CleanCap® EPO mRNA(5moU)를 미국 캘리포니아 주 샌디에이고 소재의 TriLink Biotechnologies로부터 입수하였다(카탈로그 번호 L7209; hEPO mRNA). TriLink의 특허권이 있는(proprietary) 공동 전사 캡핑 방법인 CleanCap을 사용하여 이 mRNA를 캡핑하는데, 이는 자연 발생 Cap 1 구조를 생성하고, 이때 캡핑 효율은 높다. 이것은 폴리아데닐화되고, 5-메톡시우리딘으로 변형되고 포유동물 시스템에 최적화된다. 이것은 완전히 프로세싱된 성숙 mRNA를 모방한다.

화합식 VI, 화합식 VII, 화합식 VIII, 화합식 XI, 또는 화합식 XII의 이온화 가능한 지질, DSPC, 콜레스테롤(Chol), 및 DMG-PEG2000(몰비 = 50:10:38.5:1.5)과 hEPO mRNA를 N/P 전하비 = 6이 되도록 포함하는 LNP를 실시예 42에 나타난 바와 같이 Nanoassembler를 사용하여 제조하였다. 수득된 LNP는 LNP Lip. (VI), LNP Lip. (VII), LNP Lip. (VIII), LNP Lip. (XI), 및 LNP Lip. (XII)로 지칭된다.

3/1의 수성/에탄올 상 부피 비 및 4 mL/분의 총 유량을 사용하였다. LNP를 PBS 1X 중 60 μg의 hEPO mRNA/mL 농도로 제조하였다.

투여 전에, 용량당 1 μg의 mRNA를 달성하기 위해 조정된 부피로 PBS 완충액(pH 7.4) 중에 LNP를 재현탁시켰다.

동물

암컷 Balb/c ByJ 마우스(수령 시 7주령)를 Charles River Laboratories(프랑스 생-제르맹-누엘 소재)로부터 구입하고, 1주 적응을 위해 수용한 후 연구를 시작하였다. 마우스를 털 착색에 의해 개별적으로 식별하였다. 실험은 Sanofi Pasteur의 동물 윤리 위원회에 의해 승인을 받았으며 동물 관리 표준에 대한 유럽 가이드라인을 따랐다.

다.

[1918] 연구 스케줄

[1919] 군당 4 마리의 8주령 마우스에게 50 μ L의 최종 부피 하에서 LNP Lip. (VI), (VII), (VIII), (XI), 또는 (XI I)로 제형화된 1 μ g 용량의 hEPO mRNA를 사두근에 근육내 경로를 통해 D0에서 주사하였다. 음성 대조군으로서, 4 마리의 마우스는 동일한 부피의 PBS(가속화 안정성 연구 및 지질 스크리닝을 위해) 또는 시트레이트 완충액 (지질 스크리닝을 위해)을 제공받았다.

[1920] 특정 ELISA 검정을 사용하여 혈청에서 hEPO의 발현을 측정하기 위해 주사 후 6시간째에 혈액 샘플을 수집하였다.

[1921] 혈액 샘플

[1922] 혈액 샘플은 혈청-분리 튜브(BD Vacutainer # BD367957)에서 Imalgène/Rompun(1.6 mg의 케타민 / 0.32 mg의 자일라진)을 사용한 깊은 마취 하에 경동맥 절개에 의한 주사 후 6시간째에 수집하였다. 혈청을 분취하고, hEPO 결정 시까지 -20°C에서 저장하였다.

[1923] 마우스 혈청에서의 hEPO 결정

[1924] 마우스 혈청에서의 hEPO 발현을 인간 에리트로포이에틴 Quantikine IVD ELISA 키트(R&D Systems #DEP00)를 사용하여 평가하였다. ELISA를 공급업자의 지침에 따라 수행하였다. 간략하게는, 혈청을 사전 코팅된 플레이트에 첨가하고, 오비탈 진탕 하에 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시켰다. 혈청 제거 후, 에리트로포이에틴 접합체를 오비탈 진탕 하에 실온에서 1시간 동안 첨가하였다. 플레이트를 세척하고, 기질 용액을 실온에서 20 내지 25분 동안 첨가한 후 정지 용액으로 반응을 중단시켰다. 450 nm에서의 흡광도(650 nm 신호 차감)를 마이크로플레이트 판독기에서 결정하였다. 데이터를 SoftmaxPro 소프트웨어를 사용하여 분석하고, pg/mL 단위의 마우스 혈청에서 측정된 hEPO 농도의 log10으로 표현하였다.

[1925] 결과

[1926] LNP Lip.에 따른 혈장 EPO의 양은 다음과 같았다:

[1927] [표 6]

[1928] hEPO mRNA를 함유하는, LNP Lip/DSPC 또는 주어진 유사체의 근육내 주사를 제공받은 마우스에서의 hEPO 발현

LNP lip.	EPO 분비 IM (Log10 pg/ml)
LNP lip. (VI)	1.5
LNP lip. (VII)	3.4
LNP lip. (VIII)	1.8
LNP lip. (XI)	1.3
LNP lip. (XII)	1.9

[1929]

[1930] 실시예 46: 본 개시내용의 지질 화합물을 포함하는 LNP에서의 hEPO mRNA의 제형화

[1931] 물질 및 방법

[1932] LNP 시약

[1933] hEPO mRNA를 대신 사용한 것을 제외하고는, 실시예 42에 기재된 바와 같은 LNP 시약을 본 실시예에 사용하였다.

[1934] hEPO UNR을 인코딩하는 비복제 mRNA를 사용하였다. hEPO mRNA는 야생형 염기 및 T7 RNA 폴리머라제를 사용하여 PCR에 의해 생성된 선형 DNA 주형으로부터 비변형 mRNA 전사체로서 시험관내 전사(IVT)에 의해 생성되었다(문헌 [Avci-Adali et al. (J. Vis. Exp. (93), e51943, doi:10.3791/51943 (2014))] 및 문헌[Kwon et al., Biomaterials 156 (2018) 172e193]). mRNA는 3' 폴리아데닐화되고(A120) 5' 캡핑되었다(Cap 1).

[1935] Dnase 및 포스파타제 처리 후, mRNA를 실리카 막 여과, 이어서 HPLC에 의해 고순도까지 정제하였다. mRNA를 pH

6.4의 1 mM 시트르산나트륨 중 1 mg/mL 용액의 1 mL 분취물로서 패키징하였다.

- [1936] *LNP의 제조*
- [1937] hEPO를 인코딩하는 mRNA(내부 IVT mRNA)를 약 30 내지 40 $\mu\text{g/mL}$ 포함하는 LNP를, 화학식 XIV, 화학식 XVI, 화학식 XVIII, 화학식 XIX, 화학식 XXX, 화학식 XXXI, 화학식 XXXII, 화학식 XXXIII, 화학식 XXXIV, 화학식 XXXV, 화학식 XXXVI, 화학식 XXXVII, 화학식 XXXVIII, 및 (DLIN-MC3-DMA CAS NO.:1224606)(비교예로서 사용되는 "MC3")의 지질 화합물, DSPC, 콜레스테롤(Chol), 및 DSPC-PEG2000(몰비 = 50:10:38.5:1.5) 및 hEPO mRNA를 사용하여 N/P 전하비 = 6이 되도록 제조하였으며, Nanoassembler[®]를 사용하여 제조하였다.
- [1938] 수득된 LNP는 LNP Lip. (XIV), LNP Lip. (XVI), LNP Lip. (XVIII), LNP Lip. (XIX), LNP Lip. (XXX), LNP Lip. (XXXI), LNP Lip. (XXXII), LNP Lip. (XXXIII), LNP Lip. (XXXIV), LNP Lip. (XXXV), LNP Lip. (XXXVI), LNP Lip. (XXXVII), LNP Lip. (XXXVIII), 및 LNP Lip. MC3으로 지칭된다.
- [1939] 3/1의 수성/에탄올 상 부피 비 및 4 mL/분의 총 유량을 사용하였다. LNP를 PBS 1X 중 60 μg 의 hEPO mRNA/mL 농도로 제조하였다.
- [1940] 투여 전에, 용량(50 μl)당 0.1 μg 의 mRNA를 달성하기 위해 조정된 부피로 PBS 완충액(pH 7.4) 중에 LNP를 재현탁시켰다.
- [1941] 동물
- [1942] 실시예 45에서와 같음.
- [1943] 연구 스케줄
- [1944] LNP Lip. (XIV), LNP Lip. (XVII), LNP Lip. (XVIII), LNP Lip. (XIX), LNP Lip. (XXX), LNP Lip. (XXXI), LNP Lip. (XXXII), LNP Lip. (XXXIII), LNP Lip. (XXXIV), LNP Lip. (XXXV), LNP Lip. (XXXVI), LNP Lip. (XXXVII), LNP Lip. (XXXVIII), 및 LNP Lip. (MC3)을 사용한 것을 제외하고는 실시예 45에서와 같음.
- [1945] 혈액 샘플
- [1946] 혈액 샘플은 혈청-분리 튜브(BD Vacutainer # BD367957)에서 Imalgène/Rompun(1.6 mg의 케타민 / 0.32 mg의 자일라진)을 사용한 깊은 마취 하에 경동맥 절개에 의한 주사 후 6시간째에 수집하였다. 혈청을 분취하고, hEPO 결정 시까지 -20°C에서 저장하였다.
- [1947] 마우스 혈청에서의 hEPO 결정
- [1948] 실시예 45에서와 같음.
- [1949] 크기, 캡슐화율 및 다분산 지수(PDI)는 다음과 같이 측정하였다.
- [1950] RNA 적정 / 캡슐화율
- [1951] LNP에서의 캡슐화된 mRNA의 백분율 및 mRNA의 농도를 제조업체 권장사항(Invitrogen Detection Technologies)에 따라 Quant-iT Ribogreen RNA 시약 키트를 사용하여 측정하고, 플루오레세인 여기 및 방출 파장을 사용하여 표준 분광광도계 또는 형광 마이크로플레이트 판독기로 정량화하였다.
- [1952] 비캡슐화 RNA의 정량화를 위해, LNP를 Tris/EDTA 검정 완충액(10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5)에 희석시켰다. RNA의 총량의 정량화를 위해, LNP를 0.5%(v/v) 트리톤 X100을 포함하는 Tris/EDTA 검정 완충액(10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5)에 희석시켰다. Ribogreen 염료(200배 희석)를 샘플(50/50 믹스; 샘플/Ribogreen 시약)에 첨가하고, 철저히 혼합하고, 암소에서 실온에서 5 min 동안 인큐베이션시켰다.
- [1953] 형광을 플레이트 판독기에서 측정하였다.
- [1954] 지질 정량화
- [1955] 제형화 프로세스 동안 지질의 손실이 없는 것으로 가정하였다. 그 후, 투석 전 총 지질 농도는 5 mg/mL인 것으로 가정하였다. 투석 단계 동안 발생하는 희석 배율을 고려하여 최종 지질 농도를 정의하였다.
- [1956] 입자 크기 분포, 다분산 지수 제타 전위 및 오스몰농도
- [1957] 제조업체 권장사항에 따라 제타 사이저 Nano ZS 광 산란 기기(Malvern Instruments)를 사용하여 LNP의 제타 전

위 및 입자 크기 분포를 측정하였다.

[1958] 입자 크기는 입자 크기 분포의 "폭"의 지표인 다분산 지수(PDI)와 함께 Z-평균 크기(고조파 강도 평균 입자 직경)로 보고하였다. 샘플을 측정 전에 인산염 완충 식염수(PBS)에서 1/100까지 희석시켰다. Nano ZS를 사용한 정확한 입자 크기 측정을 위해, 완충액의 점도 및 물질의 굴절률을 장비 소프트웨어에 제공해야 했다(PBS: $\eta=1.02$ cP, $RI=1.45$).

[1959] 제타 전위 측정을 위해 샘플을 물에 희석시켰다($\eta=0.8872$ cP). Malvern Instruments의 Zetasizer Software V 7.11을 사용하여 데이터를 분석하였다.

[1960] 장비의 제조업체 지침에 따라 각각 마이크로-샘플 오스모미터(Fiske Associates 모델) 및 pH계(Mettler Toledo)를 사용하여 제형의 오스몰농도 및 pH를 측정하였다.

[1961] 결과

[1962] LNP Lip.에 따른 혈장 EPO의 양은 다음과 같았다:

[1963] [표 7]

[1964] hEPO mRNA를 함유하는, LNP Lip/DSPC 또는 주어진 유사체의 근육내 주사를 제공받은 마우스에서의 hEPO 발현

LNP lip. (번호)	실시예	EPO 혈장 분비량(ng/mL)
LNP lip. (XIV)	실시예 9	2.5
LNP lip. (XVI)	실시예 11	3.4
LNP lip. (XVIII)	실시예 13	7.1
LNP lip. (XIX)	실시예 14	1.7
LNP lip. (XXX)	실시예 22	2.5
LNP lip. (XXXI)	실시예 23	2.0
LNP lip. (XXXII)	실시예 24	2.4
LNP lip. (XXXIII)	실시예 25	5.1
LNP lip. (XXXIV)	실시예 26	4.0
LNP lip. (XXXV)	실시예 27	2.7
LNP lip. (XXXVI)	실시예 28	2.8
LNP lip. (XXXVII)	실시예 29	1.8
LNP lip. (XXXVIII)	실시예 30	7.0
LNP Lip. (MC3)		6.1

[1965]

[1966] 데이터는 도 43에 나타나 있다.

[1967] 제조된 LNP는 다음과 같은 제형 및 특성을 가졌다:

[1968] [표 8]

[1969] LNP 제형 및 특성

LNP lip. (번호)	지질 성분	지질 비	N/P
LNP lip. (XIV)	지질/Chol/DSPC/DSPC-PEG	50/38.5/10/1.5	6
LNP lip. (XVI)			
LNP lip. (XVIII)			
LNP lip. (XIX)			
LNP lip. (XXX)			
LNP lip. (XXXI)			
LNP lip. (XXXII)			
LNP lip. (XXXIII)			
LNP lip. (XXXIV)			
LNP lip. (XXXV)			
LNP lip. (XXXVI)			
LNP lip. (XXXVII)			
LNP lip. (XXXVIII)			
LNP Lip. (MC3)			

[1970]

[1971] [표 9]

LNP 제형 및 특성

LNP	크기 LNP (nm)	다분산 지수 (PDI)	캡슐화 %
LNP lip. (XIX)	104	0.120	>98%
LNP lip. (XIV)	65	0.120	>98%
LNP lip. (XVII)	73	0.010	>98%
LNP lip. (XVIII)	119	0.051	>98%
LNP lip. (XXXII)	61	0.110	>98%
LNP lip. (XXXIII)	65	0.100	>98%
LNP lip. (XXXVI)	78	0.150	>98%
LNP lip. (XXXVIII)	99	0.100	>98%
LNP lip. (XXXV)	82	0.170	>98%
LNP lip. (XXX)	100	0.080	>98%
LNP lip. (XXXVII)	105	0.180	>98%
LNP lip. (XXXIV)	82	0.170	>98%
LNP lip. (XXX)	120	0.180	>98%
LNP Lip. (MC3)	106	0.150	>98%

실시예 47: 마우스에서 인플루엔자 HA mRNA를 포함하는 LNP의 면역원성

본 연구의 목적은 인플루엔자 바이러스의 전장 헤마글루티닌(HA)을 인코딩하는 비복제 mRNA를 함유하는 그리고 본원에 개시된 바와 같은 상이한 지질 화합물로 만들어진 상이한 LNP로 유도된 면역원성을 평가하는 것이었다.

물질 및 방법

시약 및 LNP 제조

LNP를 실시예 42에 기술된 바와 같이 제조하였고, 이는 항상 50:10:38.5:1.5의 몰비의 이온화 가능한 지질 /DSPC/Chol/DMG-PEG2000으로 구성되었다. 비 N/P는 항상 6이었다.

제형 VII, VIII 및 XII의 지질 화합물을 사용하였다. LNP는 LNP Lip. (VII), LNP Lip. (VIII) 및 LNP Lip. (XII)로 지칭된다.

인플루엔자 바이러스주 A/California/07/09(H1N1)의 전장 헤마글루티닌(HA)을 인코딩하는 천연 비복제 mRNA를 사용하였다.

지시된 양이온(N) / 음이온(P) 전하 비에 도달하도록 mRNA 및 양이온성 지질의 양을 조정하였다.

동물 및 투여 스케줄

BALBc/ByJ 마우스(D0에서 8주령; 군당 8 마리)를 3가지의 상이한 지질 나노입자에 제형화된 인플루엔자 바이러스 주 A/California/07/09(H1N1)의 전장 헤마글루티닌(HA)을 인코딩하는 천연, 비복제 mRNA 5 µg으로 면역화 하였다: LNP Lip. (VII), LNP Lip. (VIII) 및 LNP Lip. (XII).

8 마리의 BALBc/ByJ 마우스(D0에서 8주령)의 6개 군은 각각의 4가지의 LNP 제형과 함께 1 또는 5 µg의 mRNA의 근육내(IM) 주사를 2회 제공받았다(3주 간격으로 주어짐).

마우스의 음성 대조군을 시트레이트 완충액으로 면역화하였다.

두 번째 면역화 후 3주째에 HI 역가를 측정하였다.

혈구응집 저해 항체 역가(HI 역가)의 결정

이 기법은 HA에 대해 유도된 특정 기능적 항체를 함유하는 혈청이 인플루엔자 바이러스 혈구응집 활성을 저해하는 능력에 기초하여 인플루엔자 면역화 동물의 혈청에 존재하는 기능적 항-HA 항체를 적정하는 데 사용된다.

바이러스(청정 요막액) A/H1N1/California/7/2009 주의 연속 희석을 PBS에서 수행하여 바이러스 현탁을 보정하고 cRBC(PBS 중 0.5%)의 존재 하에 4 HAU(혈구응집 단위)를 얻었다. 그 후, 보정된 바이러스(50 µL)를 96웰 플레이트의 V자형 웰에 PBS 중 혈청 연속 희석액(2배)(1:10으로부터 시작) 50 µL 상으로 첨가하고, 실온에서 1시간 인큐베이션시켰다.

HA에 대해 유도된 혈청 비특이적 저해제를 제거하기 위해, 각각의 혈청을 수용체-파괴 효소(receptor-destroying enzyme; RDE)(비브리오 콜레라에로부터의 뉴라미니다제 - 타입 III - Sigma Aldrich N7885) 및 닭 적혈구(cRBC)로 처리하였다. 간략하게는, 10 mU/mL의 RDE를 각각의 혈청에 첨가하였다. 그 후, 믹스를 37°C에서

18 h 동안 인큐베이션시키고, 이어서 56℃에서 1 h 동안 불활성화하였다. 냉각을 위해, "혈청-RDE" 혼합물을 30 min 내지 4시간의 범위의 시간 동안 4℃에서 두었다. 그 후 "혈청-RDE" 혼합물을 실온에서 30 min 동안 PBS 중 10% cRBC에 흡수시키고, 그 후, 5℃에서 700 g에서 10 min 동안 원심분리하였다. 10배 희석된 혈청에 상응하는 상층액을 수집하여 HI 검정을 수행하였다.

[1991] 그 후 닭 적혈구(PBS 중 0.5%)(50 μ L)를 각각의 웰에 첨가하고, 실온에서 1시간 후에 혈구응집 저해 또는 혈구 응집을 시각적으로 판독하였다.

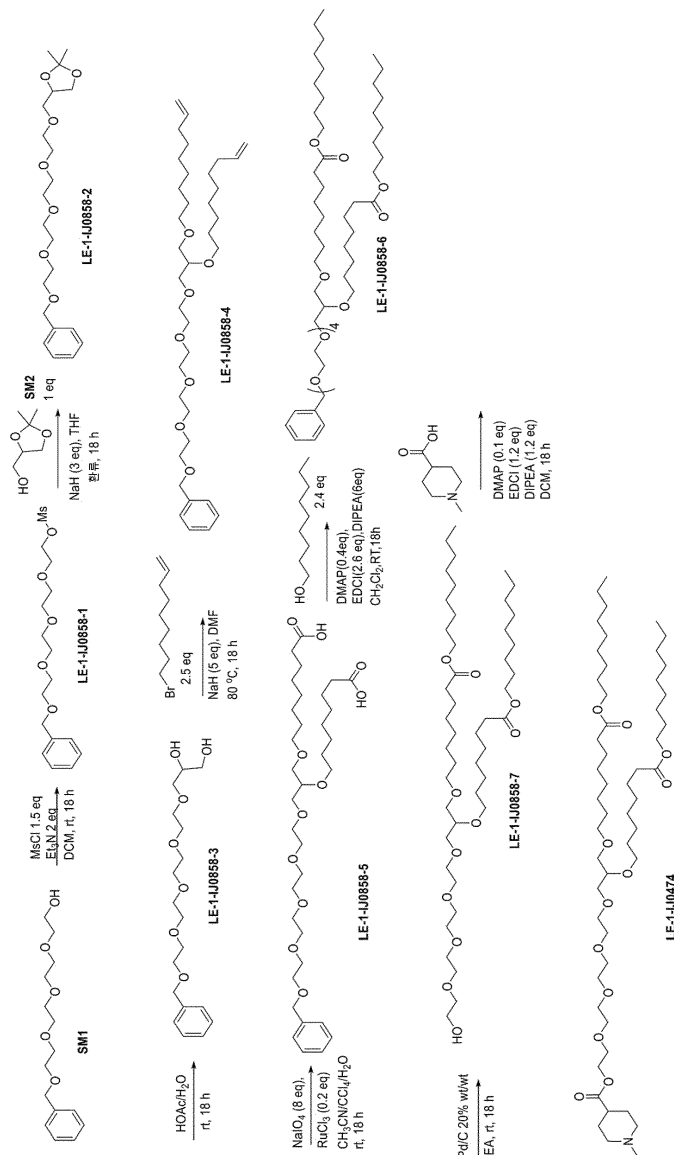
[1992] HI 항체의 역가는 혈구응집을 일으키지 않는 마지막 희석률의 역수이다. 통계적 분석을 수행하기 위해 음성으로 판정된 모든 혈청에 대해 초기 희석률(1:10)의 절반에 상응하는 5의 값을 임의로 부여하였다.

[1993] **결과**

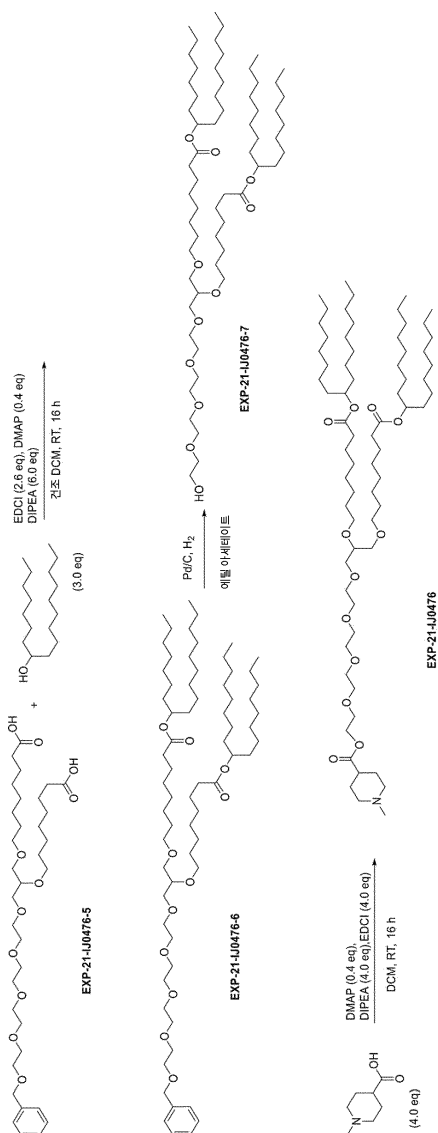
[1994] 도 44에 나타낸 바와 같이, HA mRNA를 함유하는 LNP Lip. (VII) 및 LNP Lip. (XII)가 주사된 마우스는 강한 항체 반응을 유도할 수 있었다. LNP Lip. (VIII)를 사용하여 얻어진 면역 반응은 더 약했지만, 여전히 대조군보다 높았다.

도면

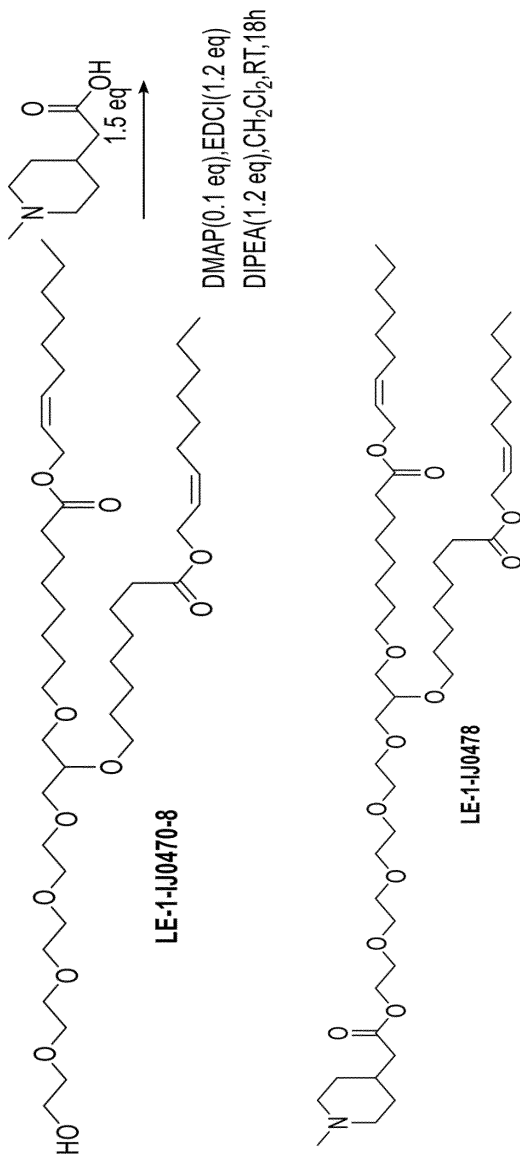
도면1



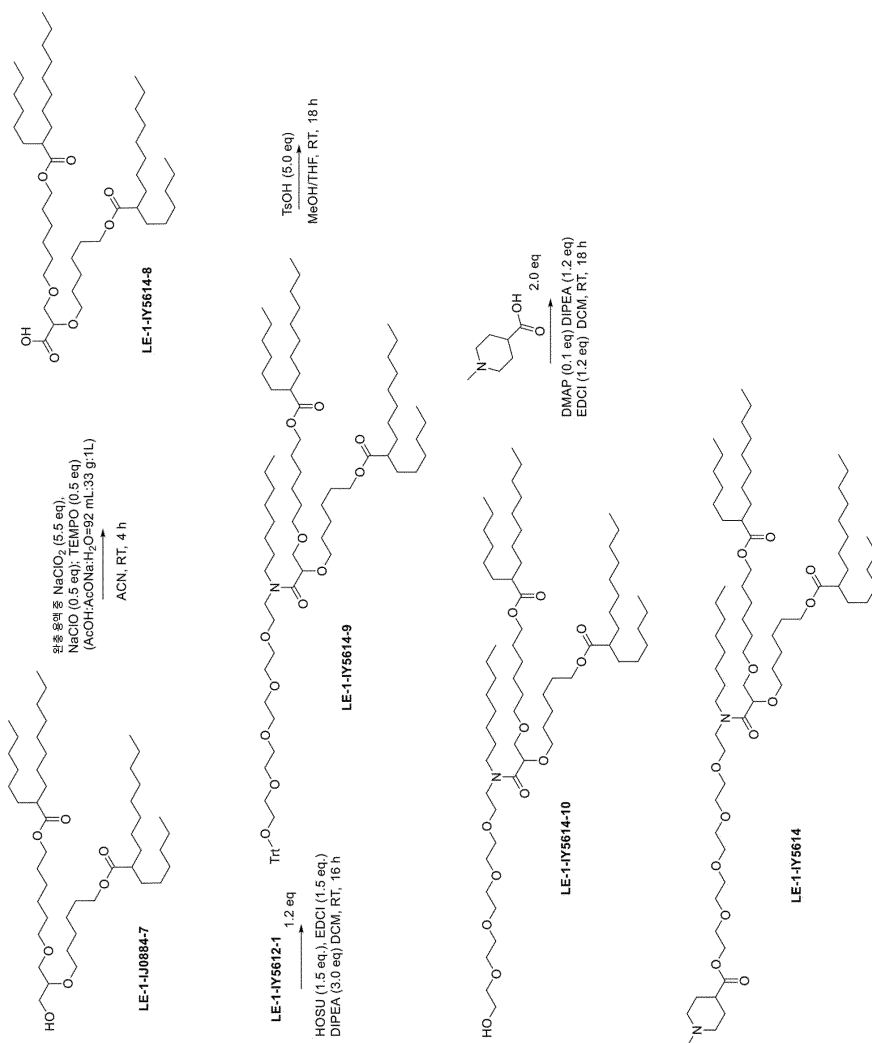
도면2



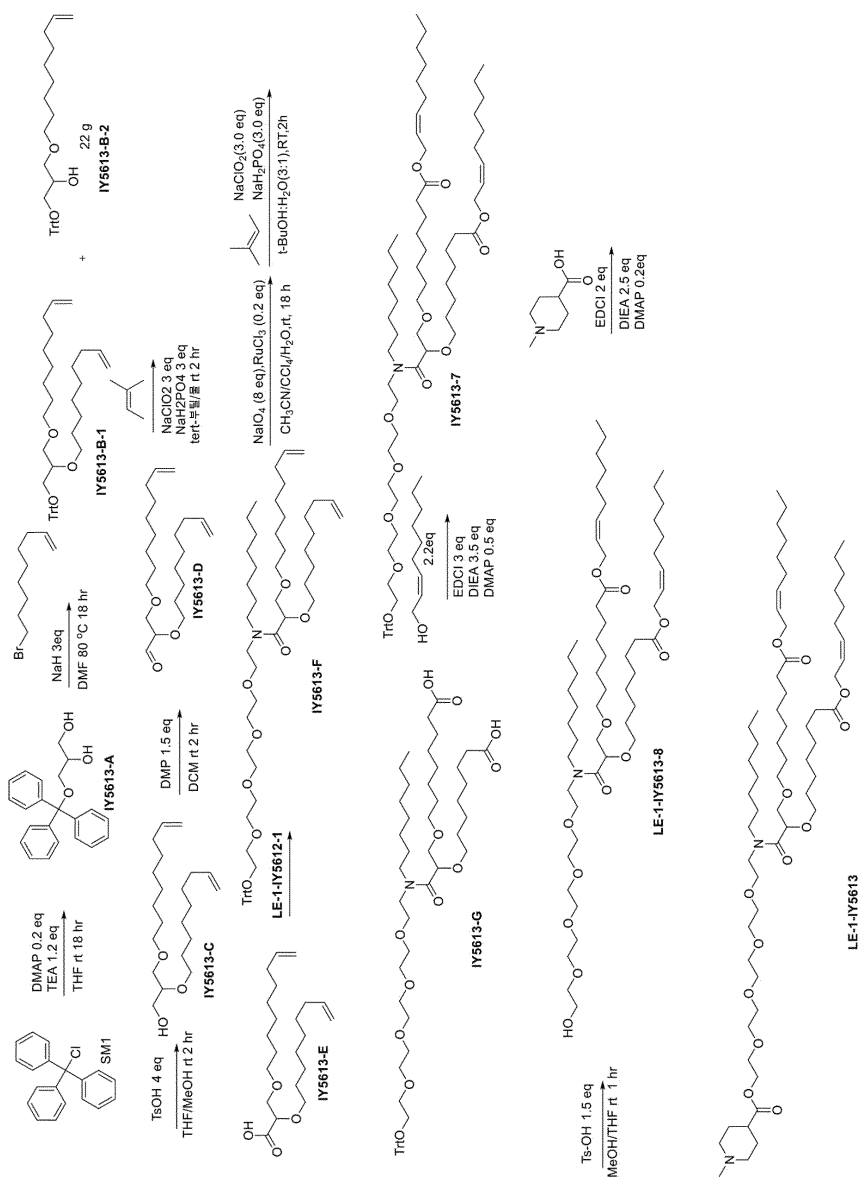
도면4



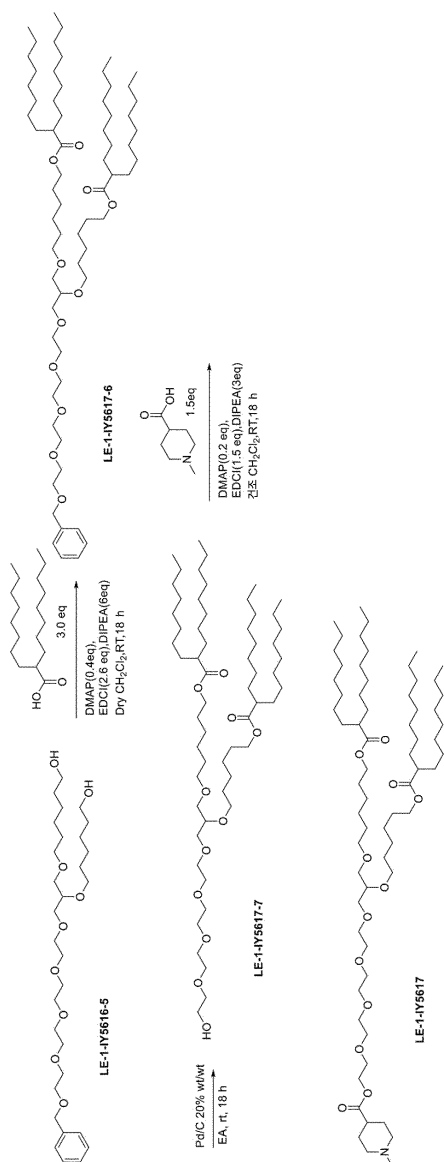
도면6



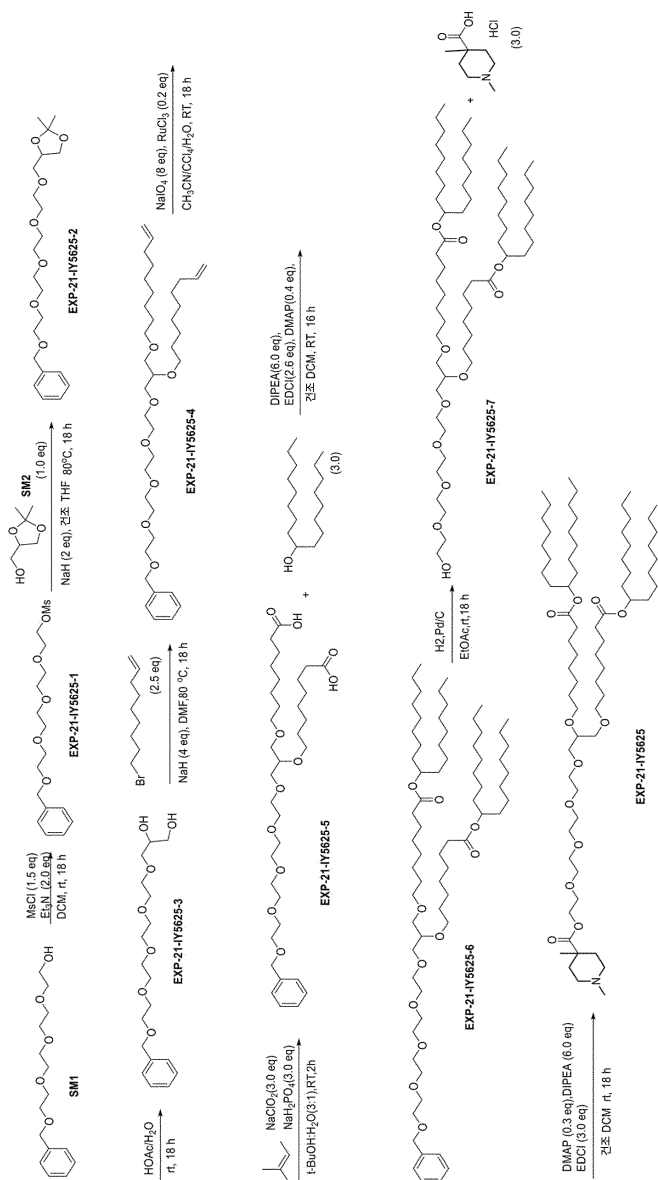
도면7



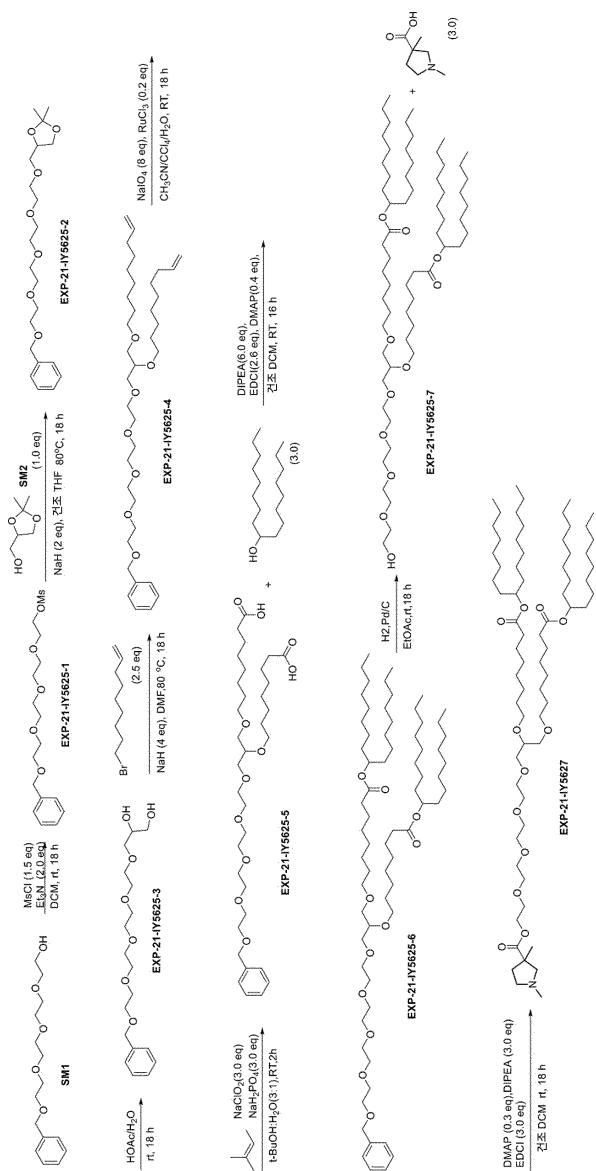
도면8



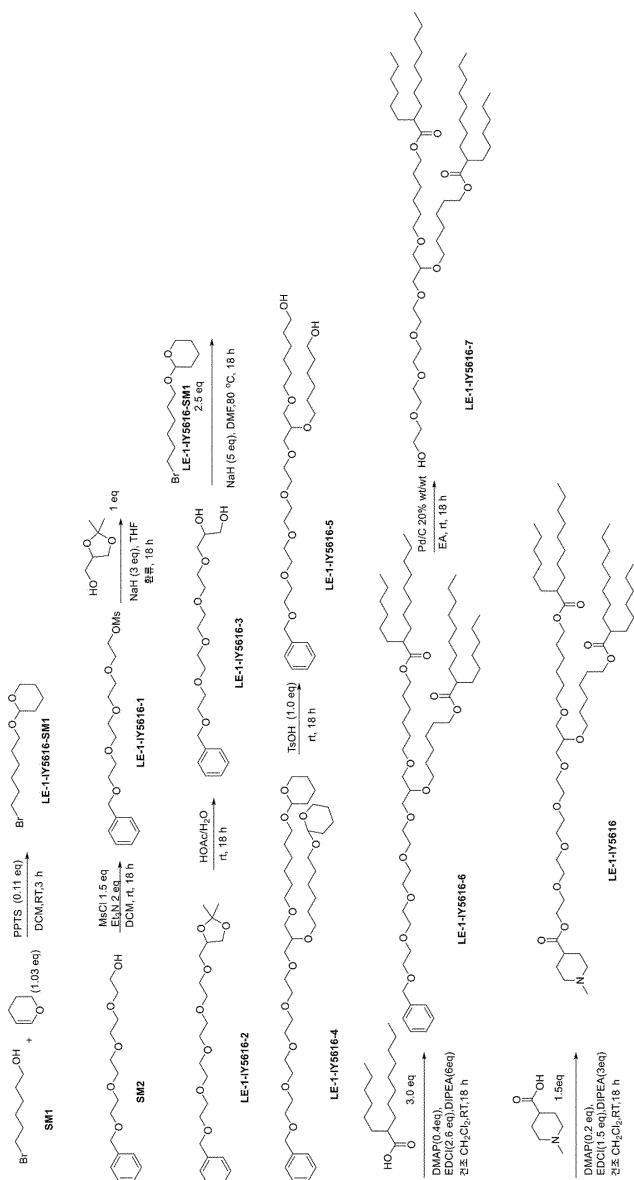
도면10



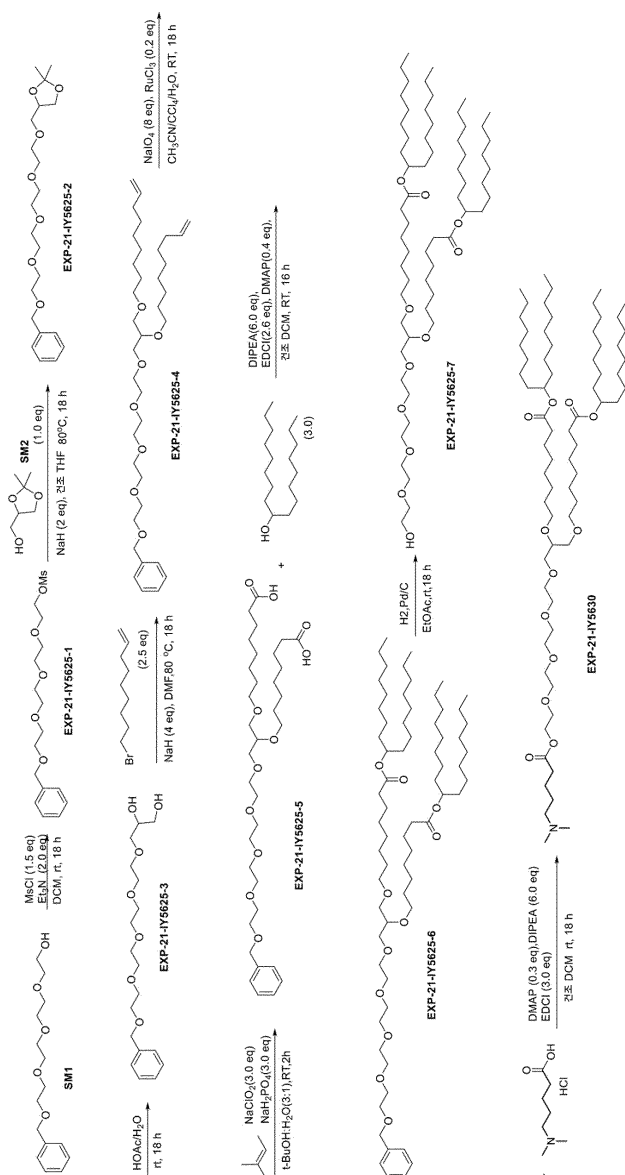
도면11



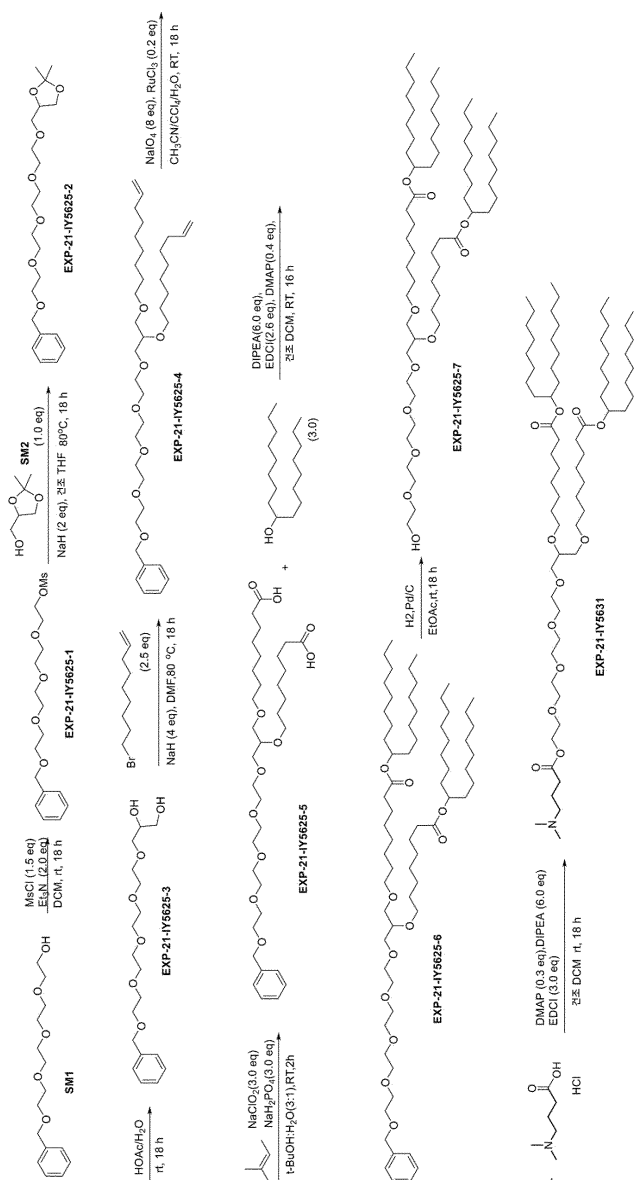
도면12



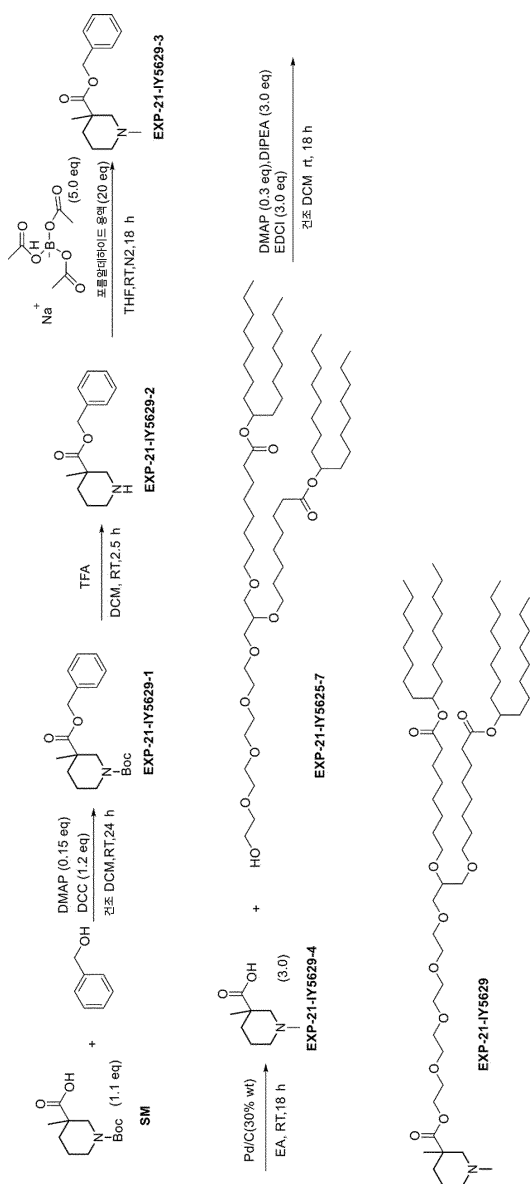
도면13



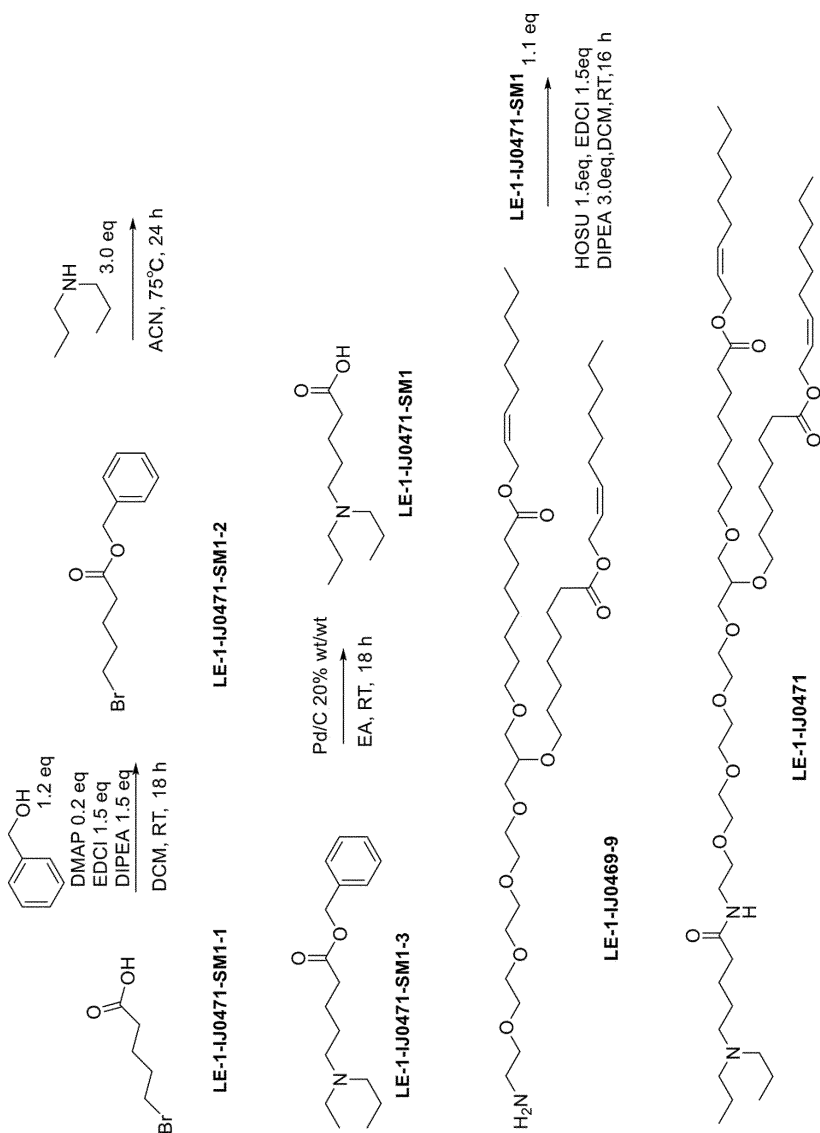
도면14



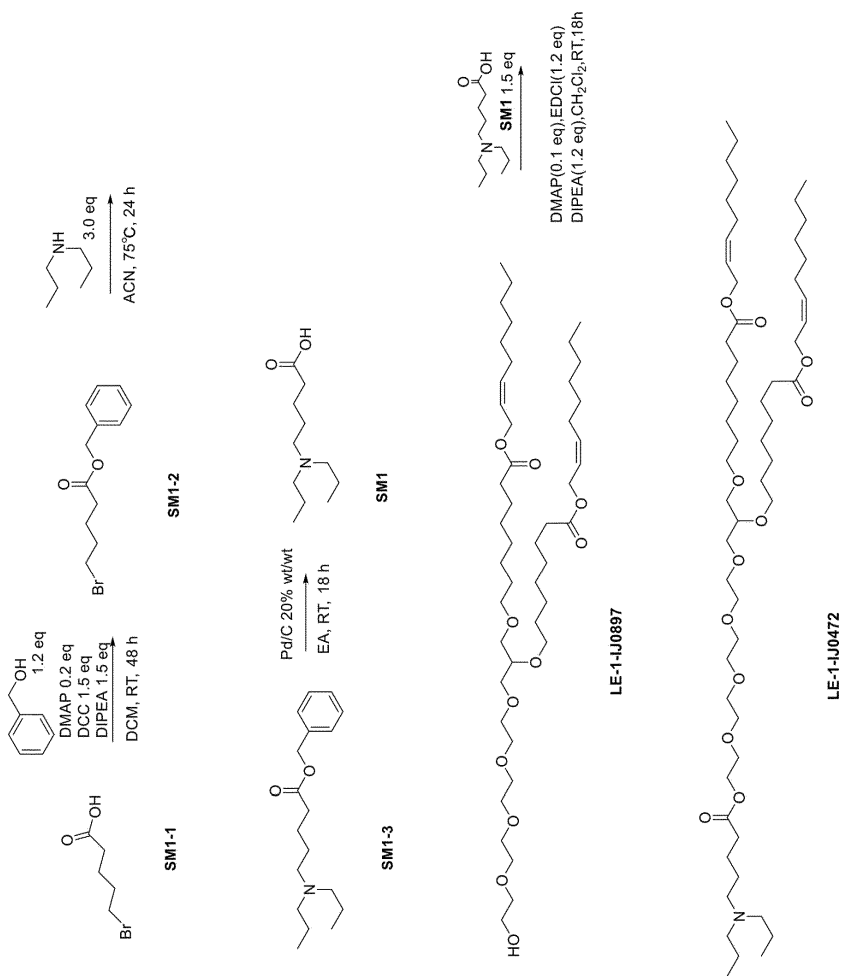
도면15



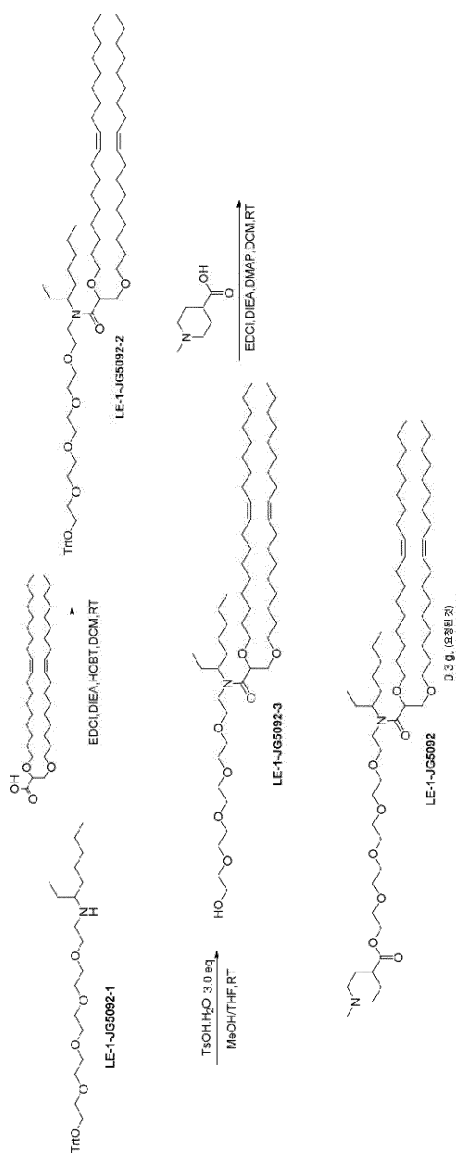
도면17



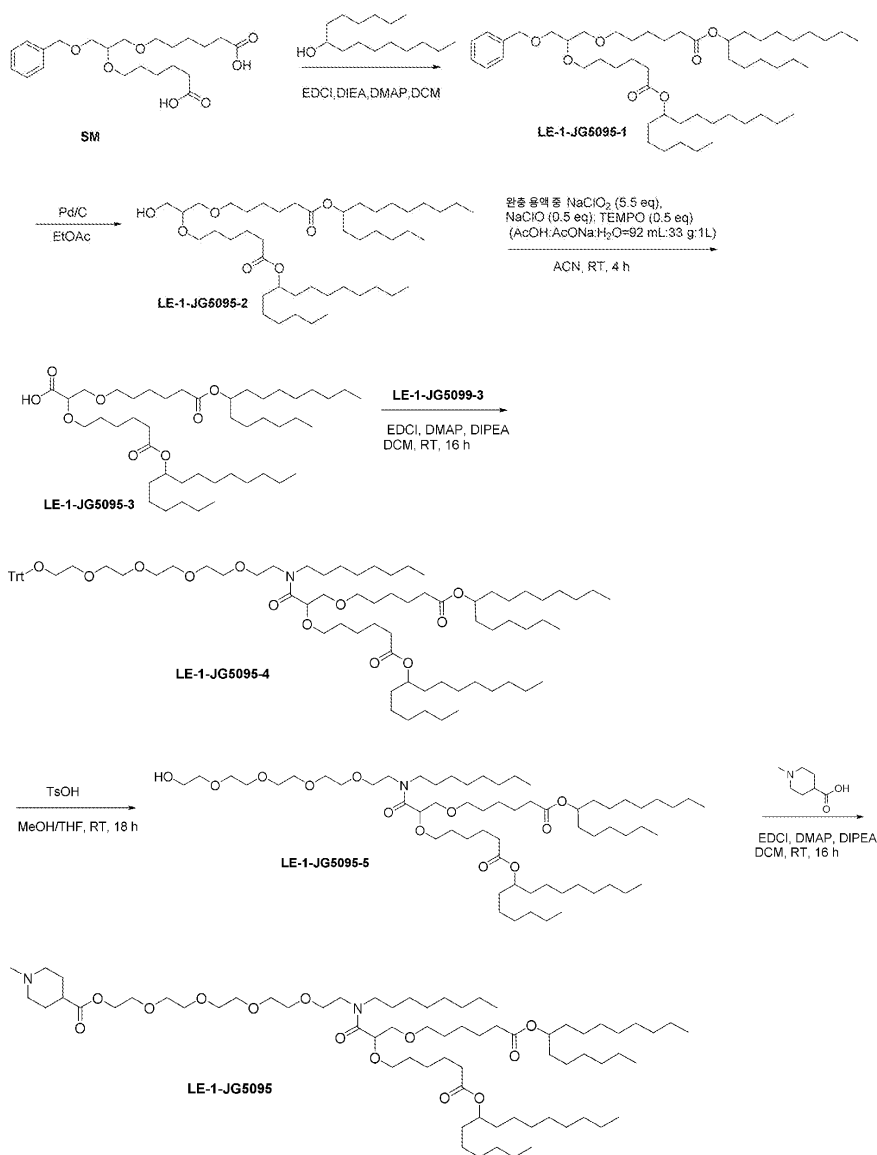
도면18



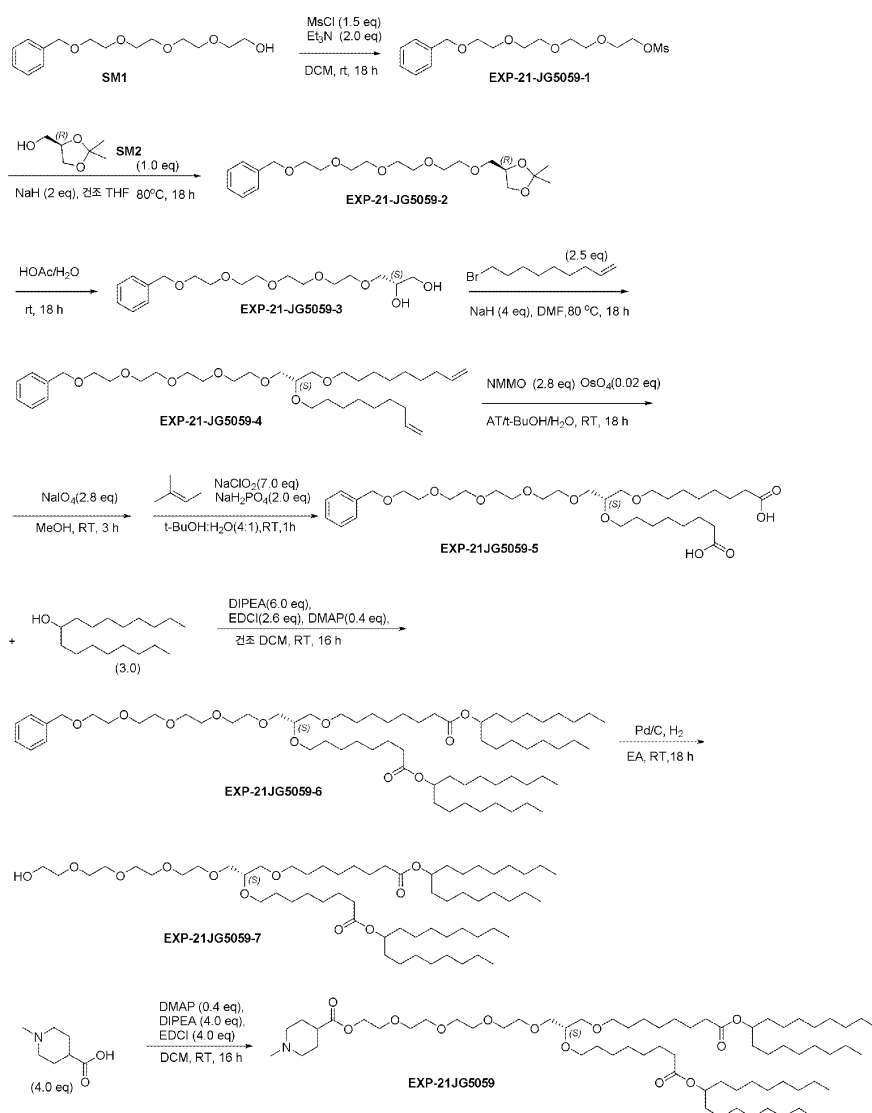
도면19



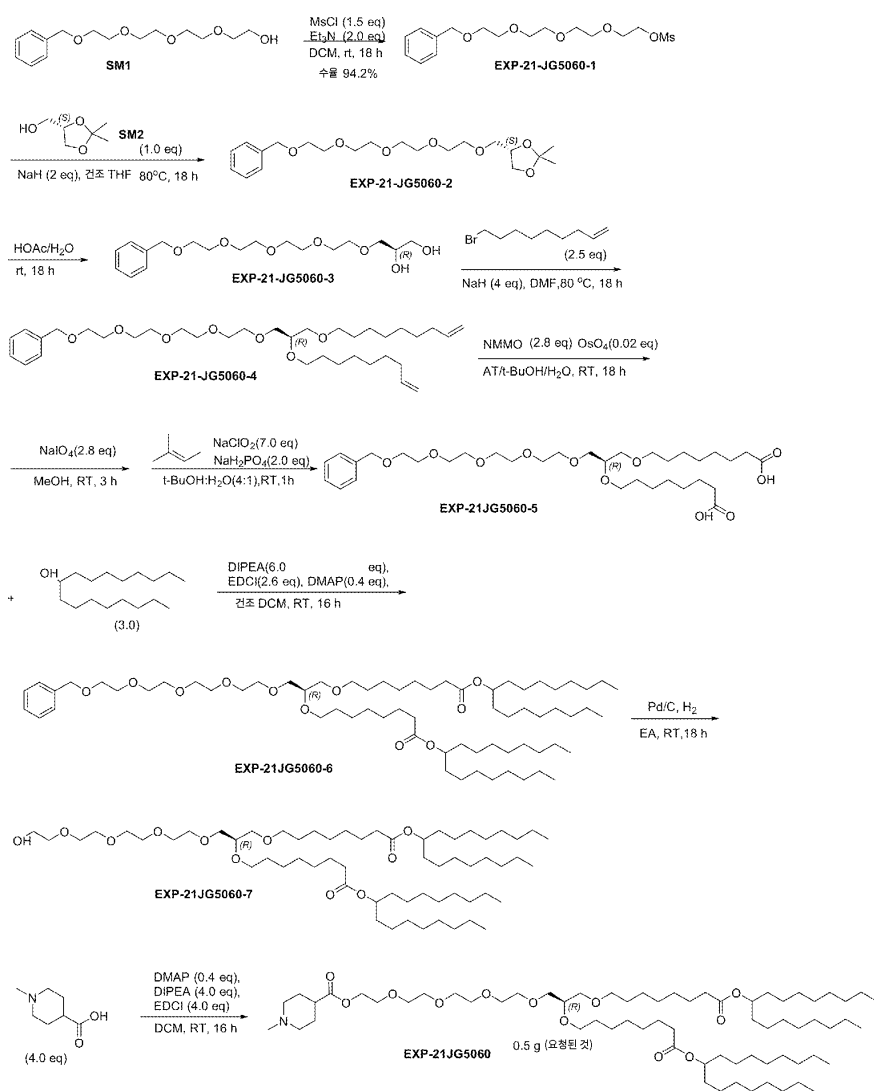
도면20



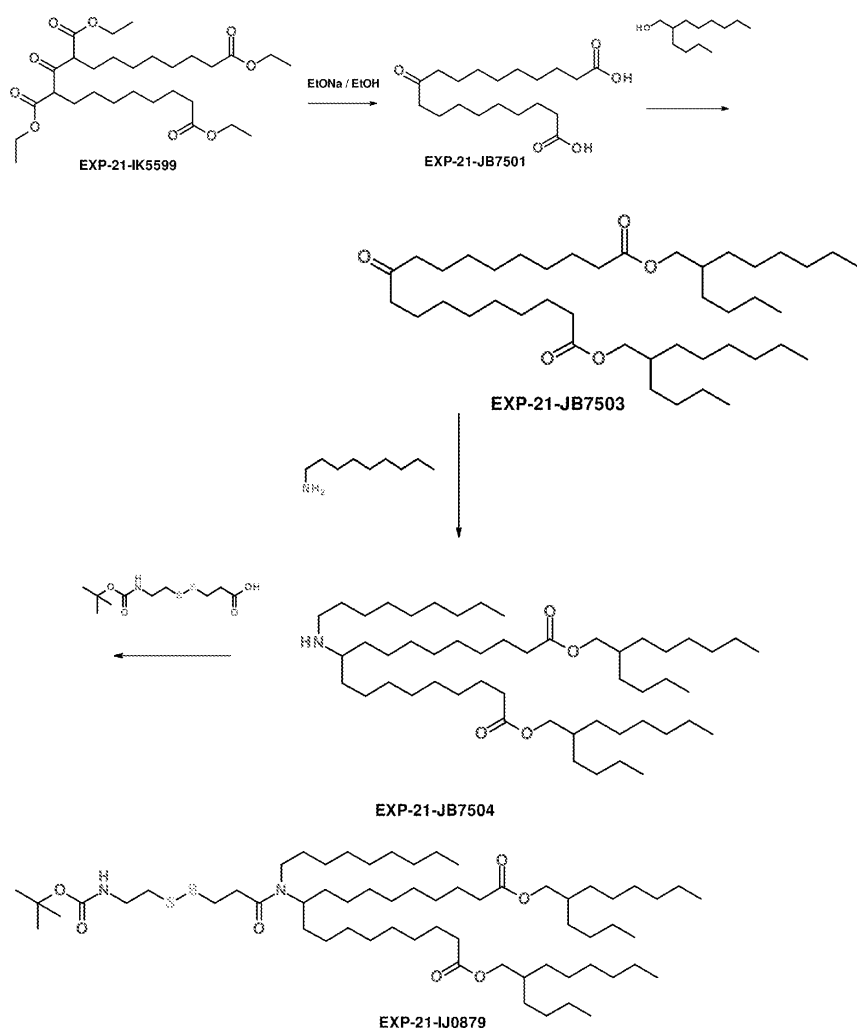
도면21



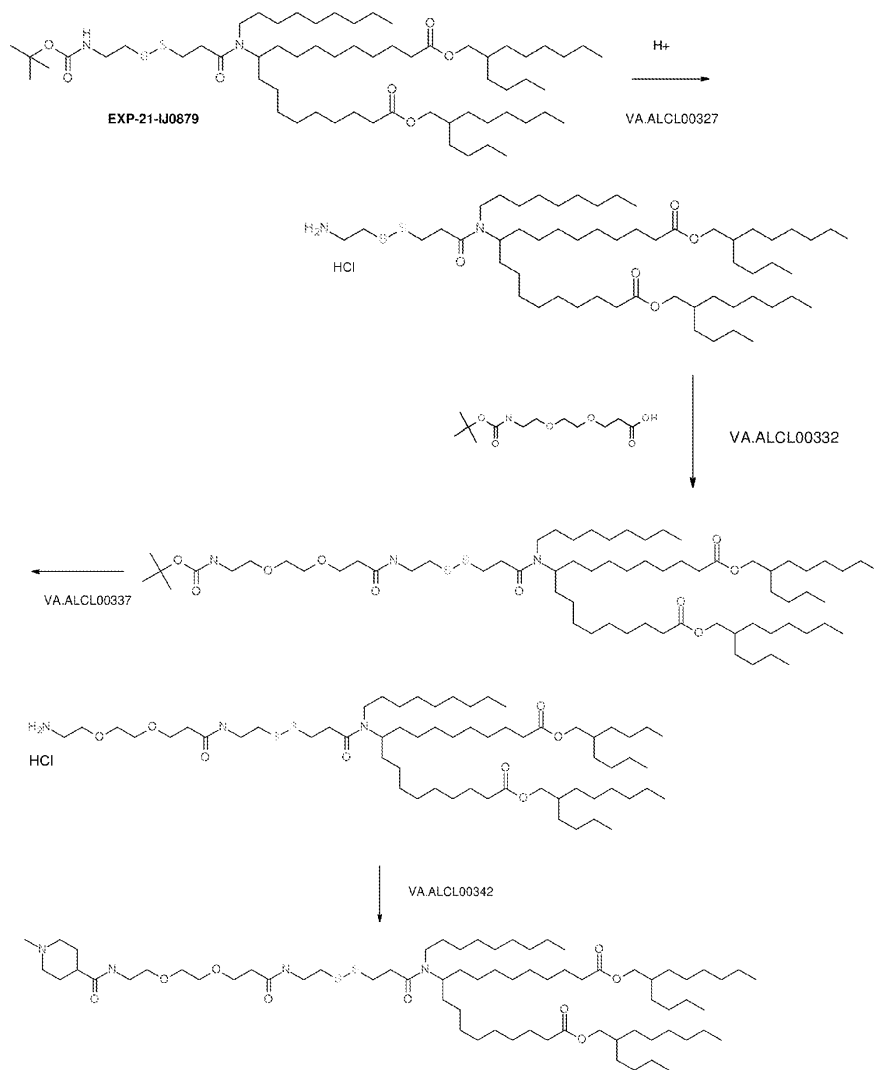
도면22



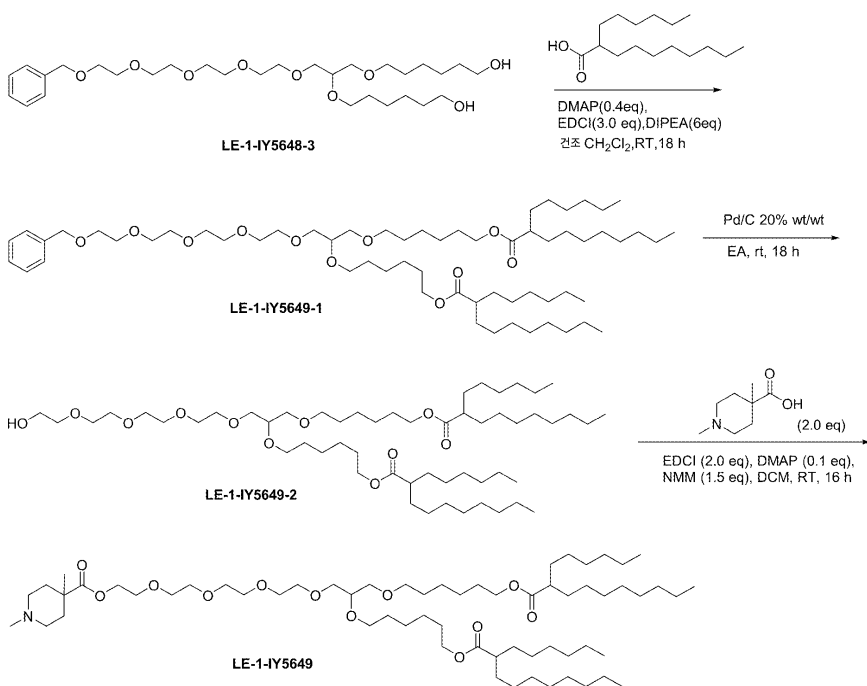
도면23a



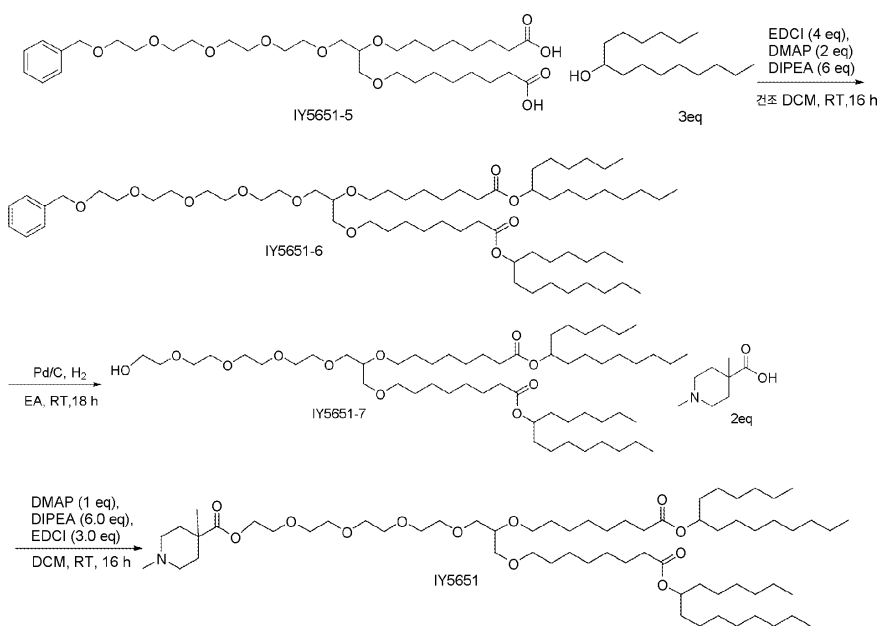
도면23b



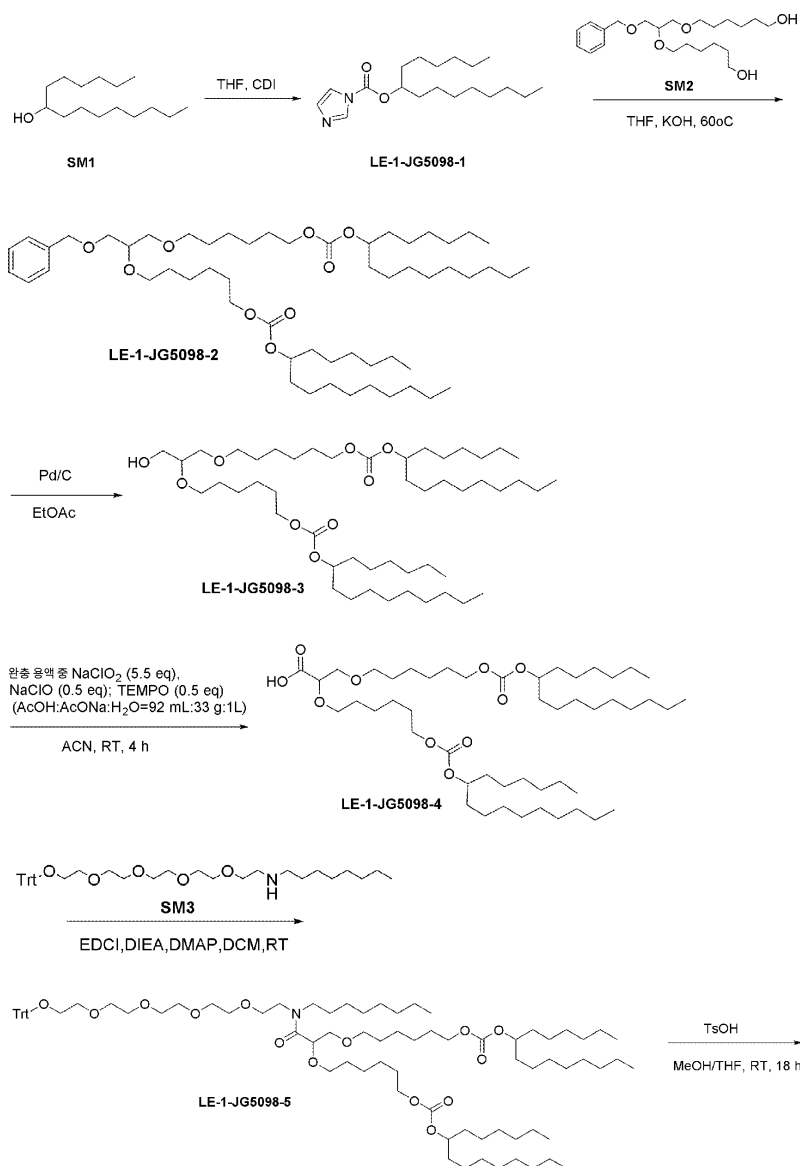
도면24



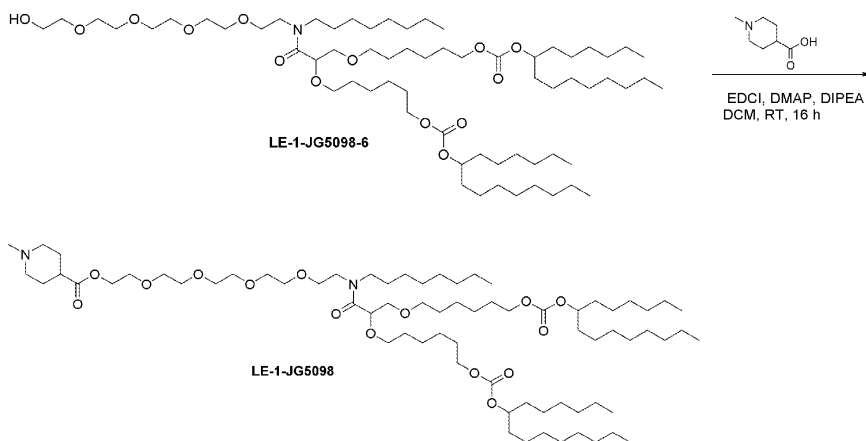
도면25



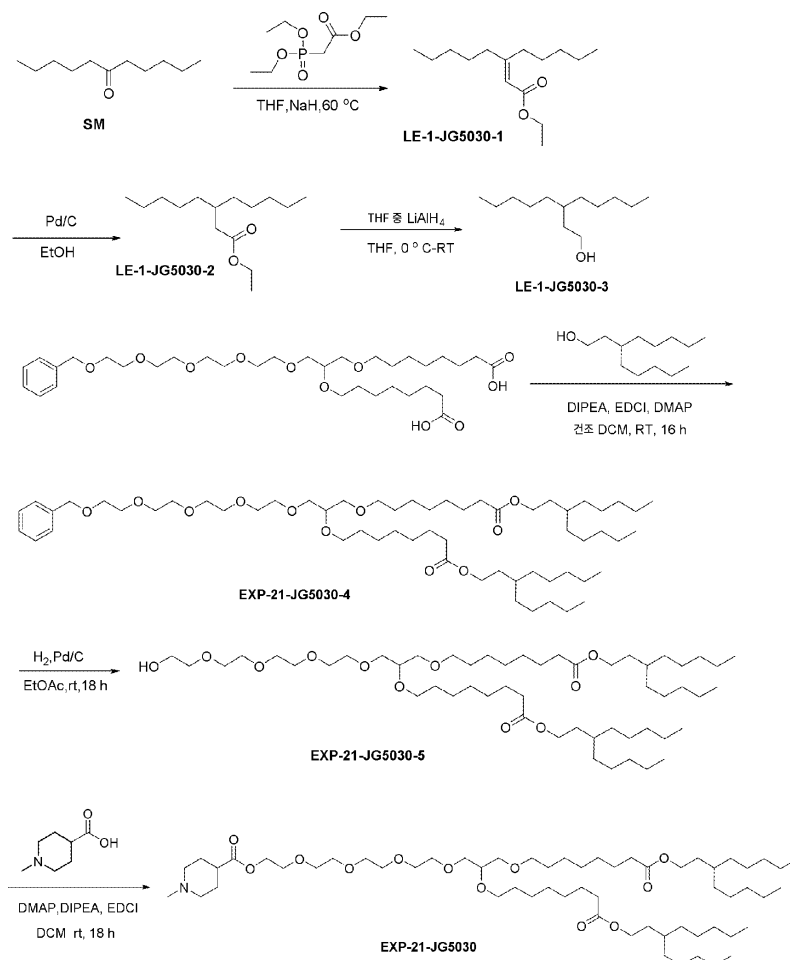
도면26a



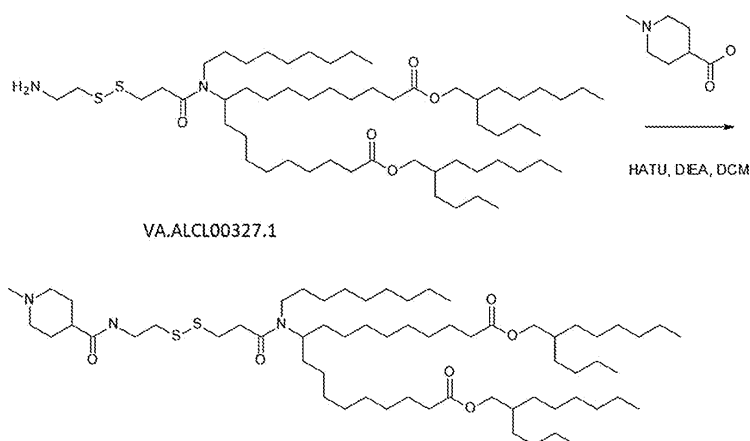
도면26b



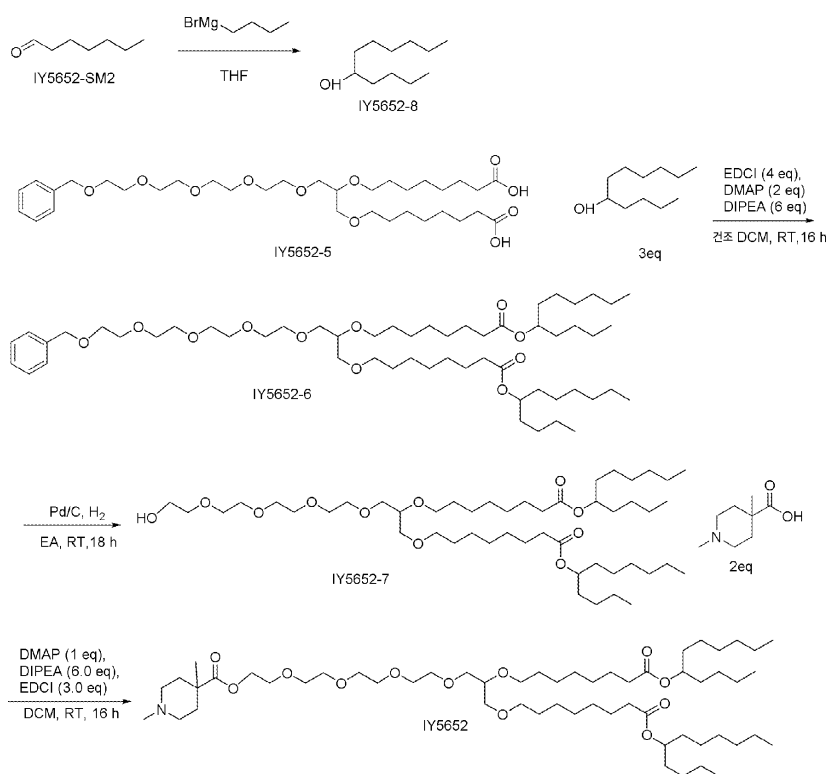
도면28



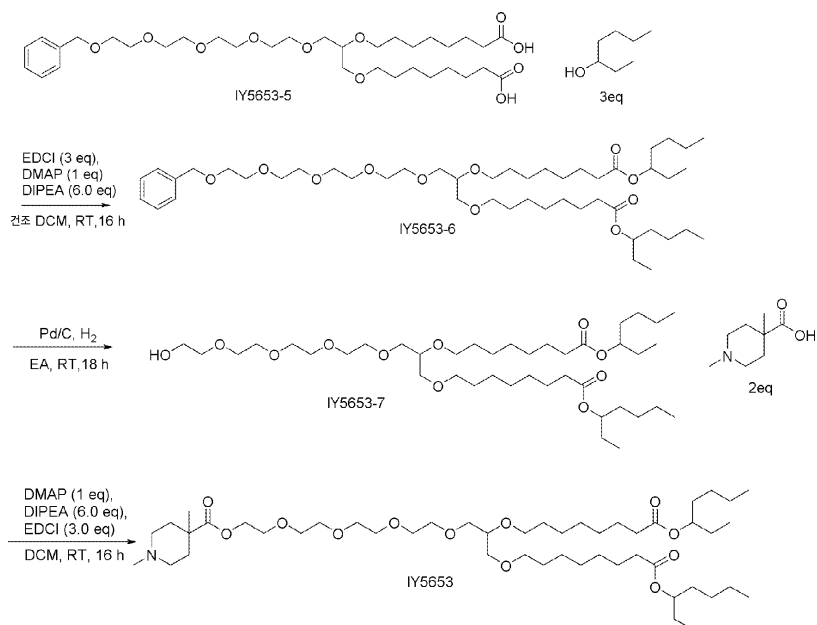
도면29



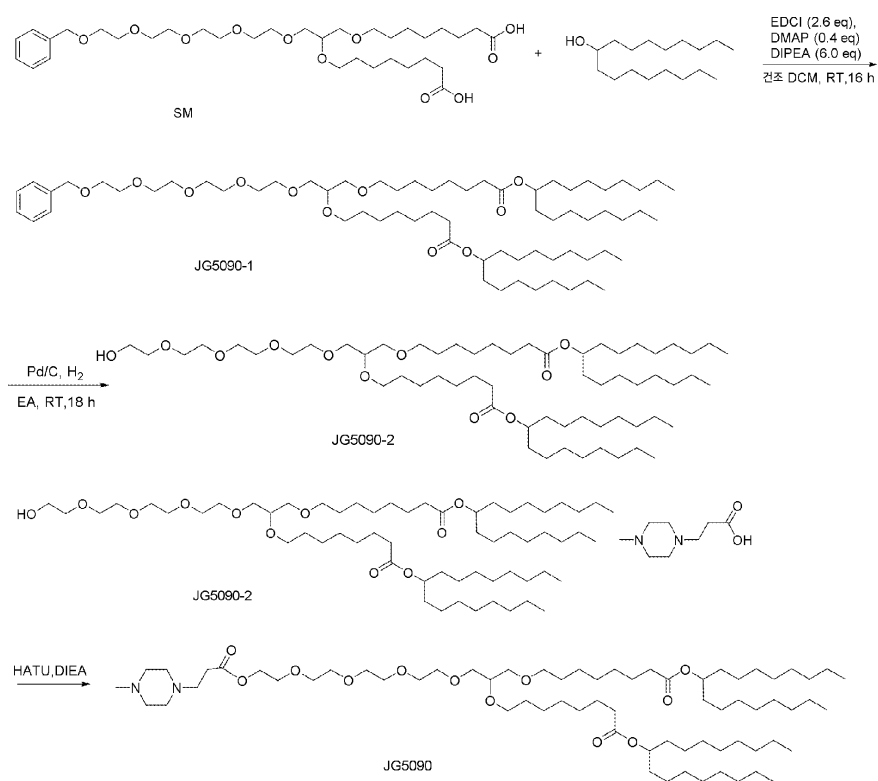
도면30



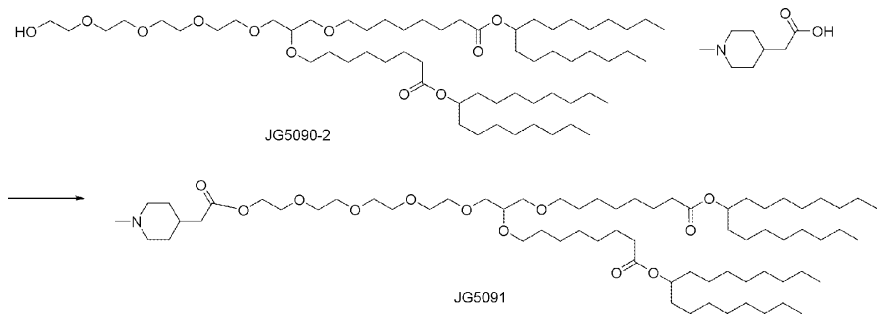
도면31



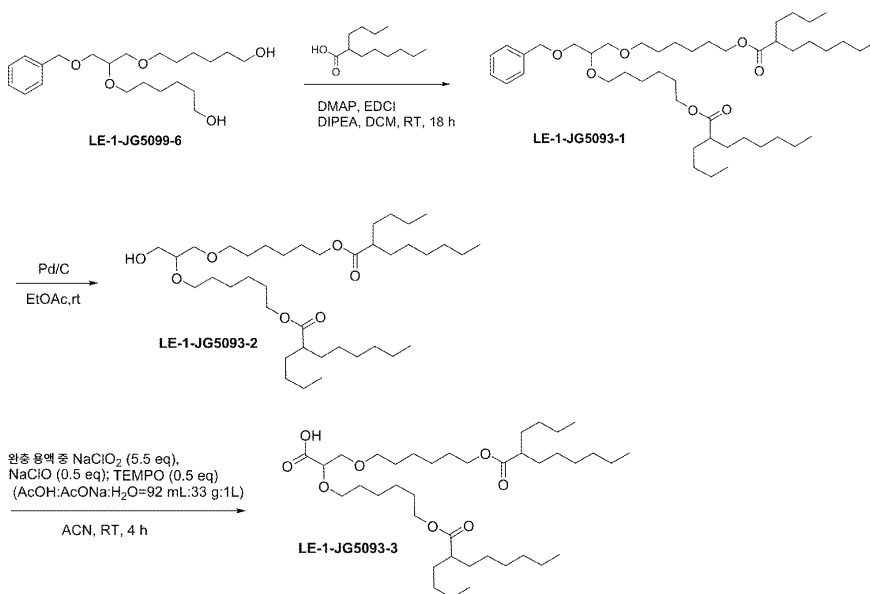
도면32



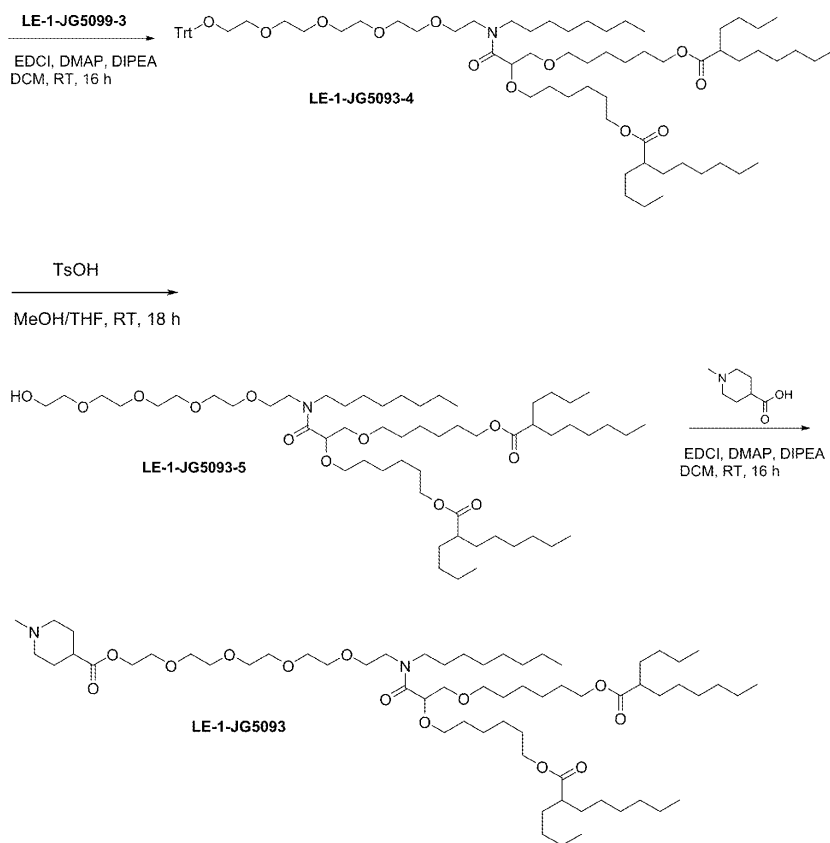
도면33



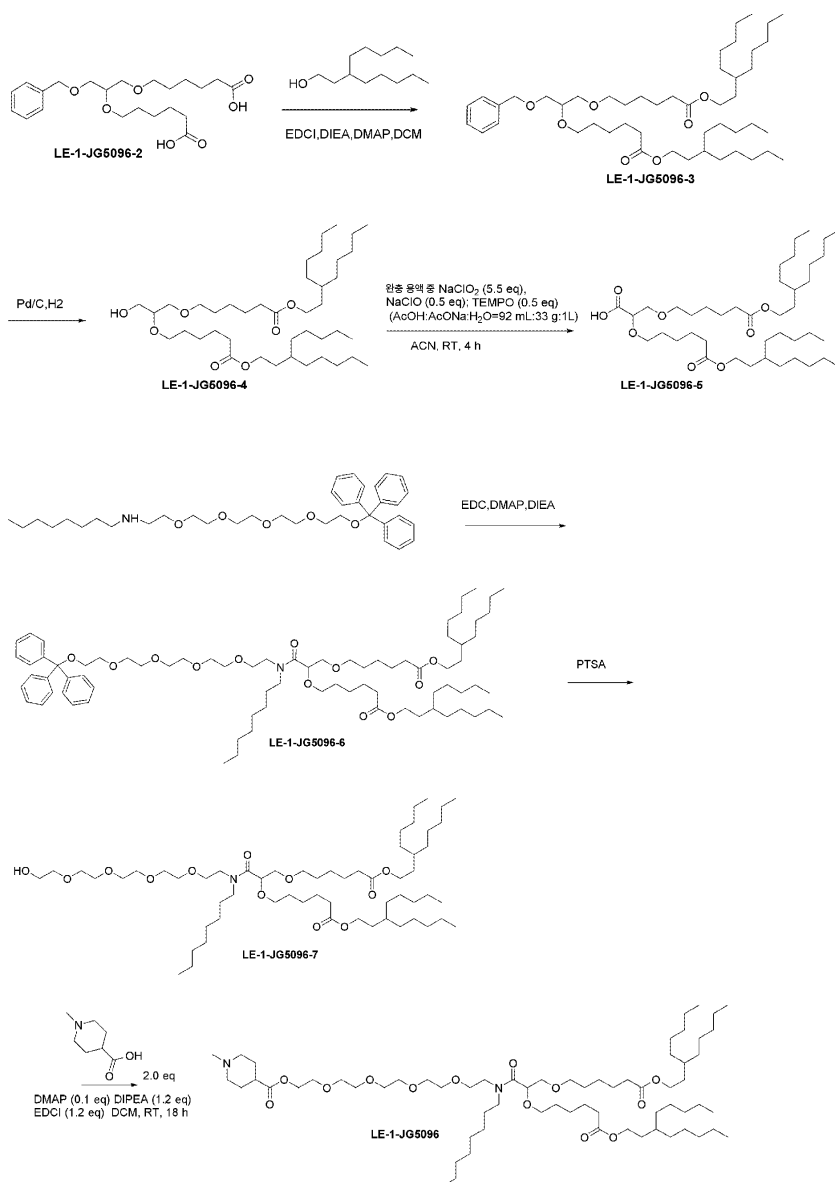
도면34a



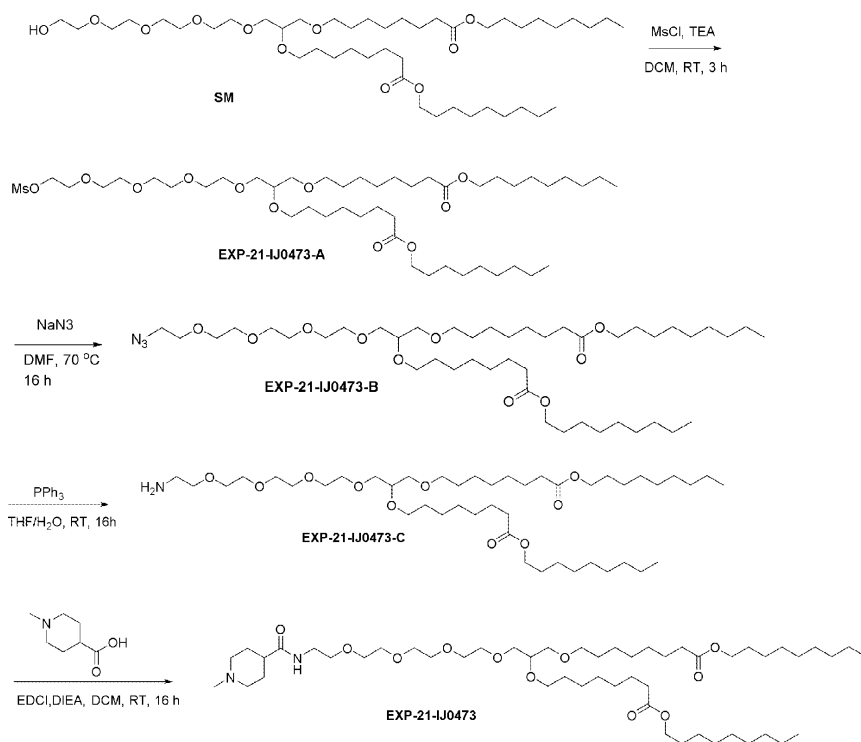
도면34b



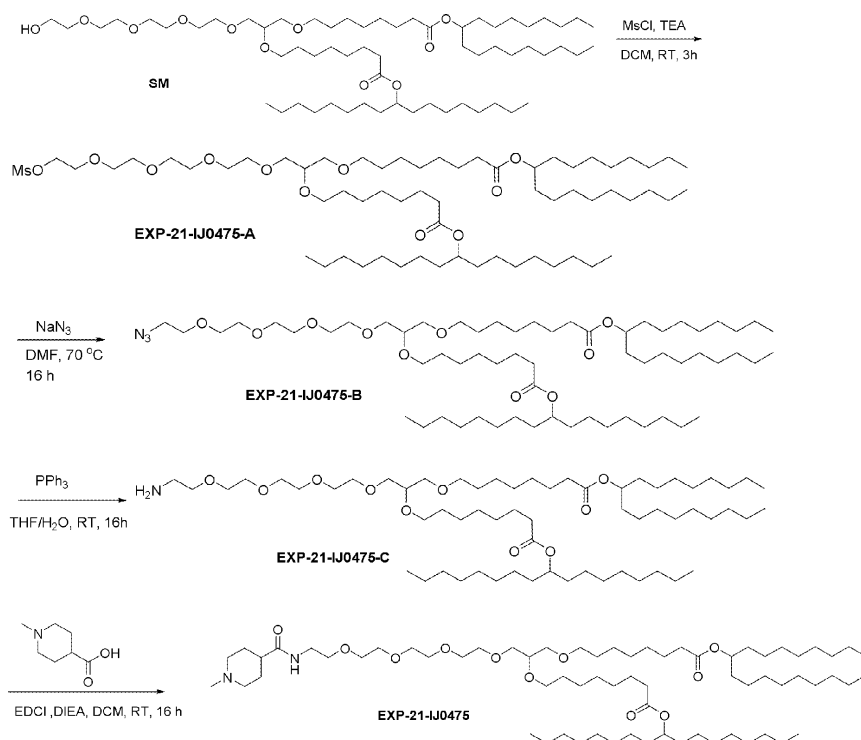
도면35



도면36

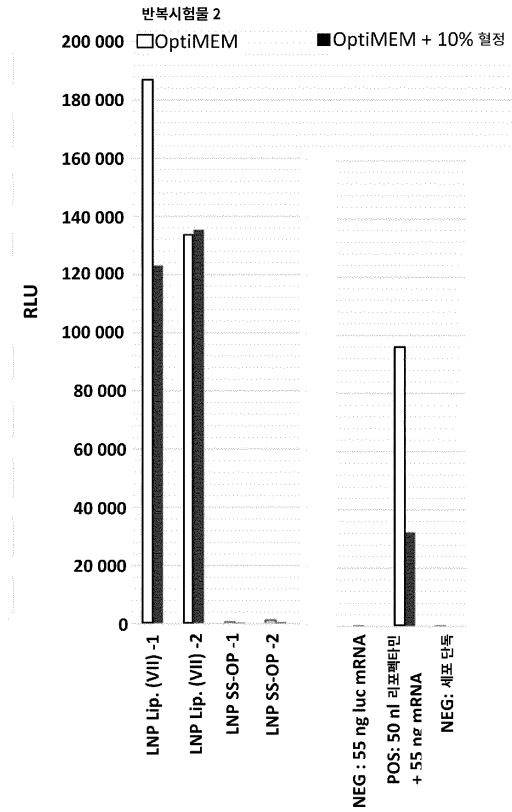


도면37



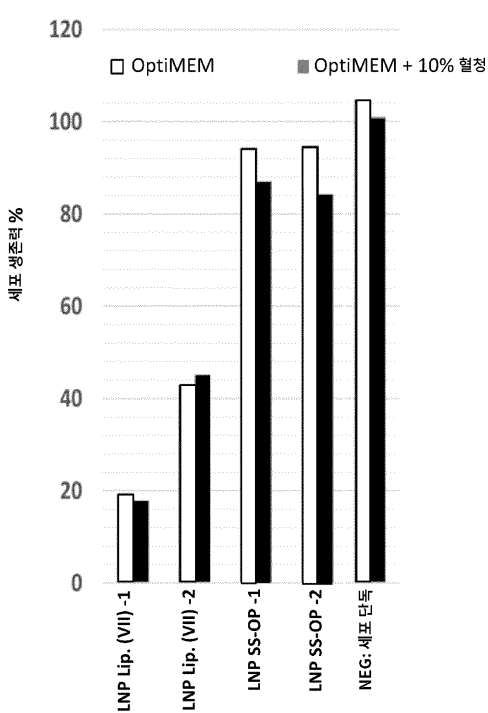
도면39a

Huh7 검정 형질감염 LNP - RLU 데이터 결과 - 24H -

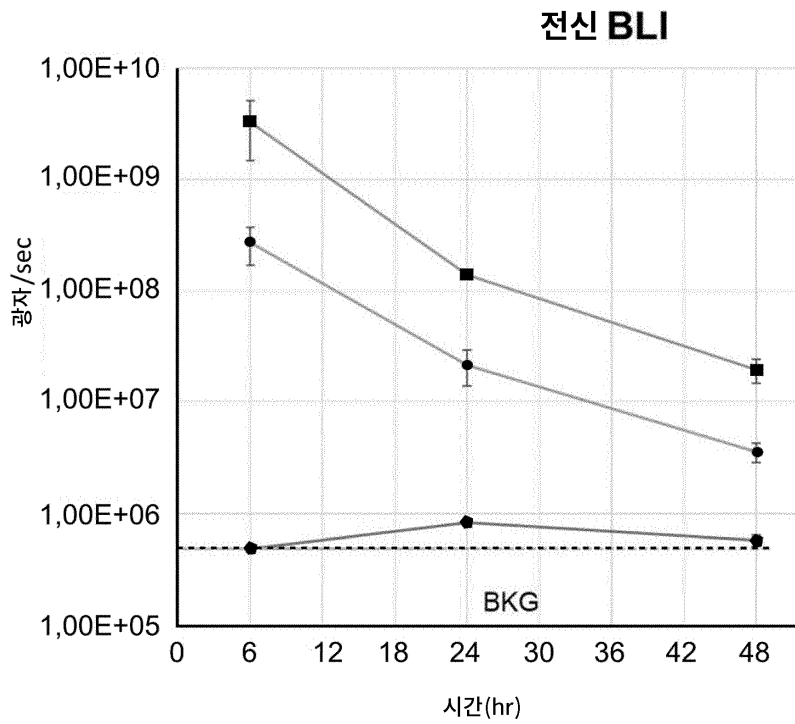


도면39b

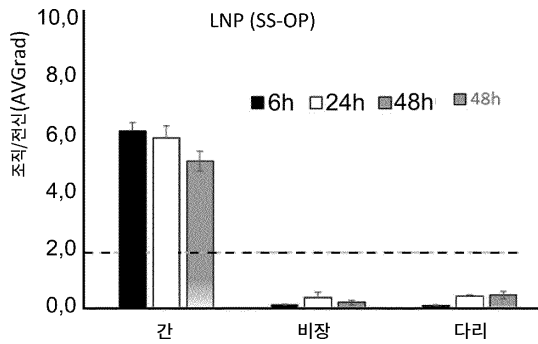
Huh7 세포 생존력 LNP - 24H - 반복시험물 2



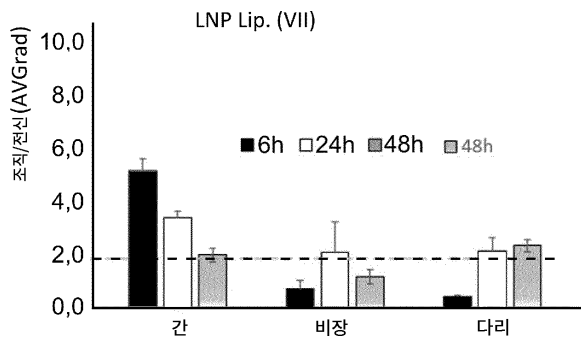
도면40



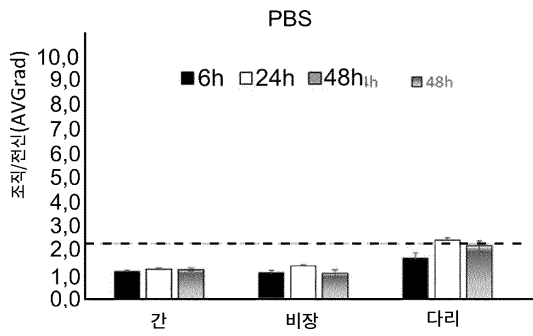
도면41a



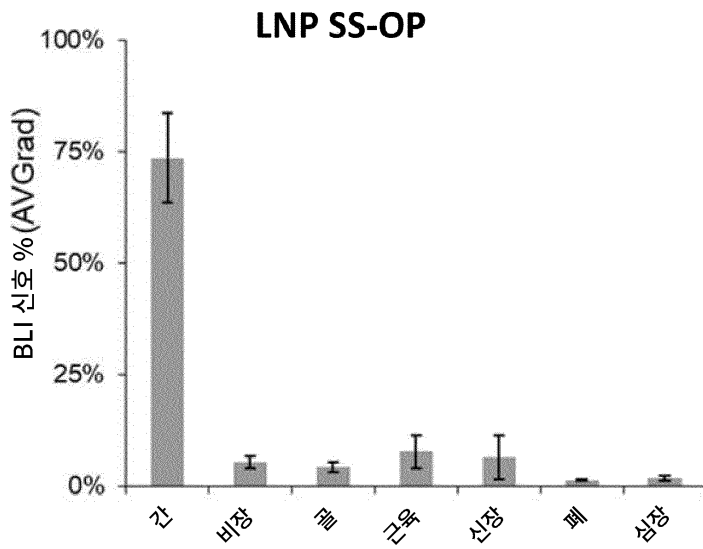
도면41b



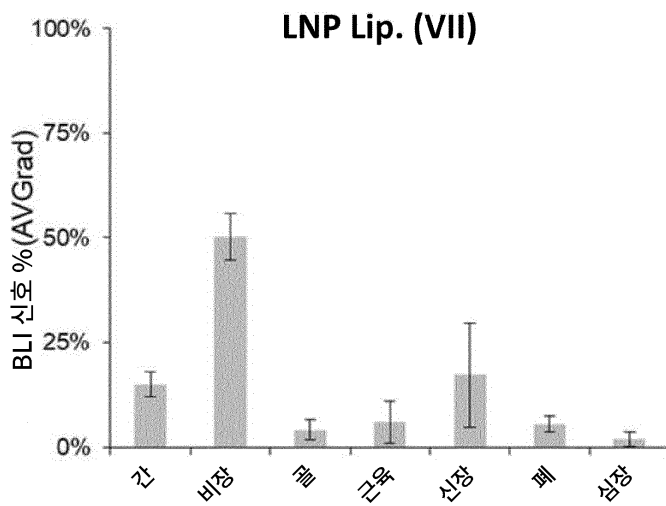
도면41c



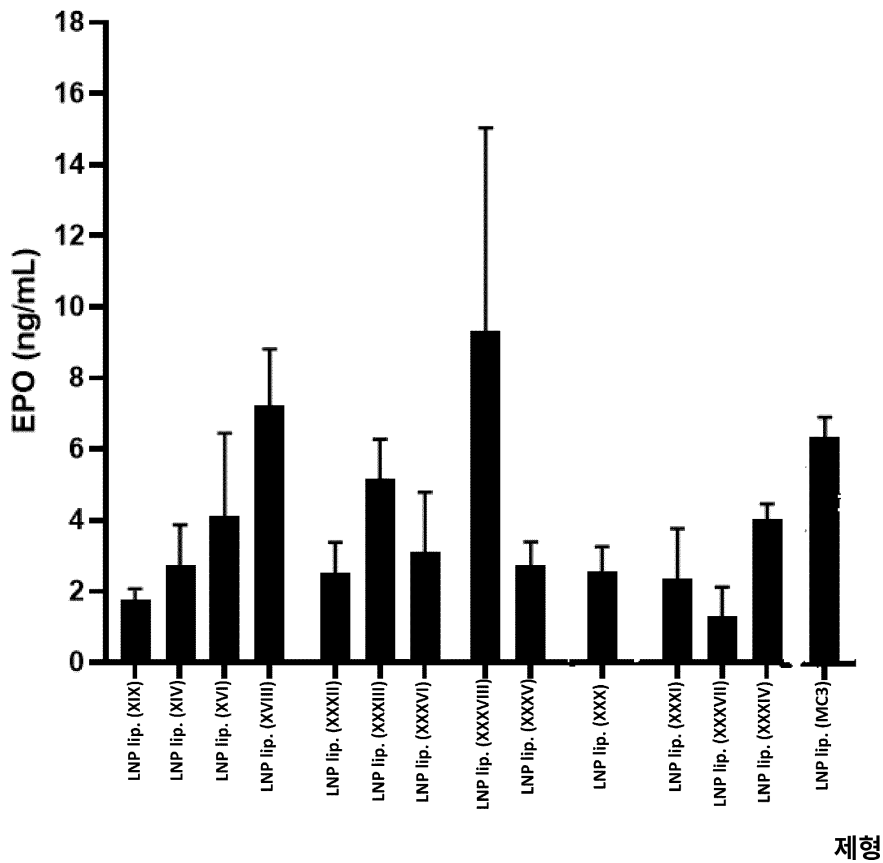
도면42a



도면42b



도면43



도면44

부스트 후 D42에서의 HAI 역가

