



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월18일
 (11) 등록번호 10-1949453
 (24) 등록일자 2019년02월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 C07C 231/02 (2006.01) C07C 237/06 (2006.01)
 C07C 237/10 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
 C07C 231/02 (2013.01)
 C07C 237/06 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2015-0189843
 (22) 출원일자 2015년12월30일
 심사청구일자 2017년03월10일
 (65) 공개번호 10-2017-0079370
 (43) 공개일자 2017년07월10일
 (56) 선행기술조사문헌
 CN104826543 A*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 삼양바이오팜
 서울특별시 종로구 종로33길 31 (연지동)
 (72) 발명자
최성원
 대전광역시 서구 둔산중로 66, 1204호(둔산동, 메트로팰리스)
남혜영
 충청북도 청주시 서원구 신율로 43, 306동 1303호(개신동, 주공아파트)
서민호
 대전광역시 서구 둔산로 201, 204동 707호(둔산동, 국화아파트)
 (74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 16 항

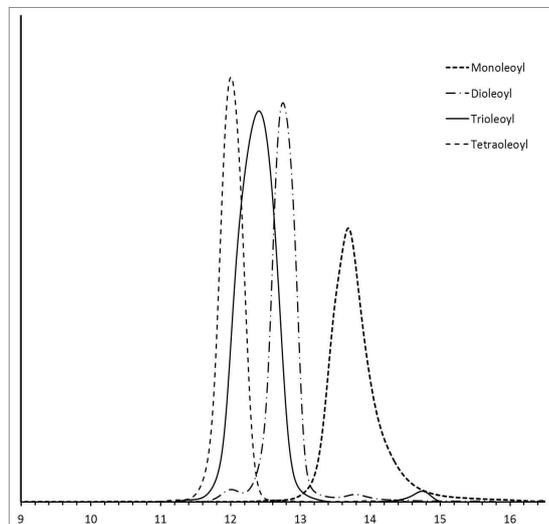
심사관 : 이선화

(54) 발명의 명칭 **양이온성 지질의 선택적 합성 방법**

(57) 요약

본 발명은 반응조건 변경에 의한 올리고알킬렌아민에 대한 지방산기의 도입률을 조절하여 양이온성 지질을 선택적으로 합성할 수 있는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07C 237/10 (2013.01)

명세서

청구범위

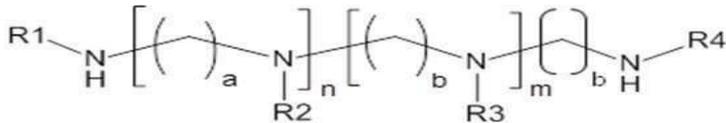
청구항 1

삭제

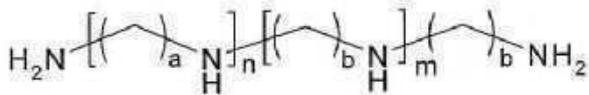
청구항 2

유기용매 부재 하에, 화학식 2의 올리고알킬렌아민을 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르와 반응시켜 화학식 1a의 양이온성 지질을 제조하는 단계를 포함하되, 지방산 알킬 에스테르에 대한 올리고알킬렌아민의 몰비를 5이상으로 하여, R1 및 R4 중 하나는 수소이고, R2 및 R3는 각각 수소인 화학식 1a의 양이온성 지질을 제조하는, 양이온성 지질의 제조 방법.

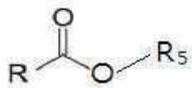
[화학식 1a]



[화학식 2]



[화학식 3]



상기 화학식 1a 내지 3에서,

n과 m은 각각 0 내지 12이되, $1 \leq n + m \leq 12$ 이며,

a와 b는 각각 1 내지 6이며,

R1 및 R4 중 하나는 수소이고, R1 및 R4 중 다른 하나는 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기이며,

R2 및 R3는 각각 수소이고,

R은 탄소수 11 내지 25개의 포화 또는 불포화 탄화수소를 나타내며,

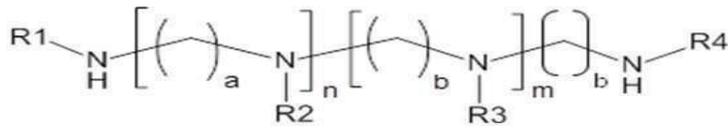
R5는 탄소수 1 내지 14개의 알킬기이다.

청구항 3

유기용매 부재 하에, 화학식 2의 올리고알킬렌아민을 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르와 반응시켜 화학식 1b의 양이온성 지질을 제조하는 단계를 포함하되,

올리고알킬렌아민에 대한 지방산 알킬 에스테르의 몰비를 1.5 이상 4 미만으로 하여, R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기이고 R2 및 R3는 수소인 화학식 1b의 양이온성 지질을 제조하는, 양이온성 지질의 제조 방법.

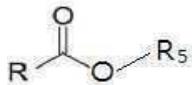
[화학식 1b]



[화학식 2]



[화학식 3]



상기 화학식 1b 내지 3에서,

n과 m은 각각 0 내지 12이되, $1 \leq n + m \leq 12$ 이며,

a와 b는 각각 1 내지 6이며,

R1 및 R4 가 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기이고, R2 및 R3는 수소이며,

R은 탄소수 11 내지 25개의 포화 또는 불포화 탄화수소를 나타내고,

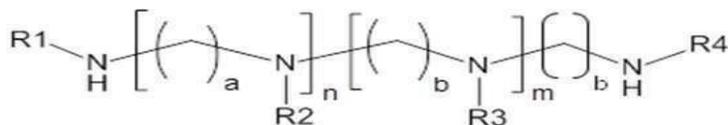
R5는 탄소수 1 내지 14개의 알킬기이다.

청구항 4

유기용매 부재 하에, 화학식 2의 올리고알킬렌아민을 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르와 반응시켜 화학식 1c의 양이온성 지질을 제조하는 단계를 포함하되,

올리고알킬렌아민에 대한 지방산 알킬 에스테르의 몰비를 4 이상으로 하여, R1, R2, R3 및 R4가 각각 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기인 화학식 1c의 양이온성 지질을 제조하는, 양이온성 지질의 제조 방법.

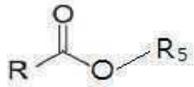
[화학식 1c]



[화학식 2]



[화학식 3]



상기 화학식 1c 내지 3에서,

n과 m은 각각 0 내지 12이되, $1 \leq n + m \leq 12$ 이며,

a와 b는 각각 1 내지 6이며,

R1, R2, R3 및 R4가 각각 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기이고,

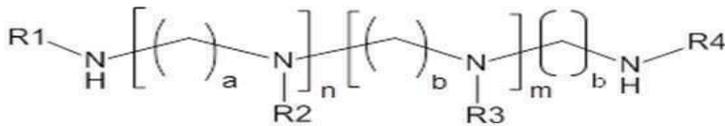
R은 탄소수 11 내지 25개의 포화 또는 불포화 탄화수소를 나타내며,

R5는 탄소수 1 내지 14개의 알킬기이다.

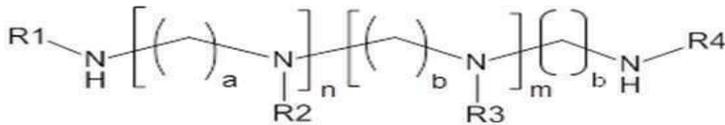
청구항 5

화학식 1b의 양이온성 지질을 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르와 반응시켜 화학식 1d의 양이온성 지질을 제조하는 단계를 포함하고, 화학식 1b의 양이온성 지질에 대한 지방산 알킬 에스테르의 몰비를 1 이상으로 하는, 화학식 1d의 양이온성 지질의 제조 방법.

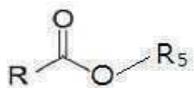
[화학식 1b]



[화학식 1d]



[화학식 3]



상기 화학식 1b, 1d, 및 3에서,

n과 m은 각각 0 내지 12이되, $1 \leq n + m \leq 12$ 이며,

a와 b는 각각 1 내지 6이며,

R1 및 R4는 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기이고,

R은 탄소수 11 내지 25개의 포화 또는 불포화 탄화수소를 나타내며,

R5는 탄소수 1 내지 14개의 알킬기이고,

상기 화학식 1d에서, R2 및 R3 중 하나는 수소이고, R2 및 R3 중 다른 하나는 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기며,

상기 화학식 1b에서, R2 및 R3는 수소이다.

청구항 6

삭제

청구항 7

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, n과 m은 독립적으로 0 내지 9이며, $1 \leq n+m \leq 10$ 인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 8

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, a 및 b가 독립적으로 2 내지 4인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 9

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기는, 탄소수 14 내지 22개의 불포화 지방산기인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 10

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기는, 라우로일 (lauroyl), 미리스토일 (myristoyl), 팔미토일 (palmitoyl), 스테아로일 (stearoyl), 아라키도일 (arachidoyl), 베헨노일 (behenoyl), 리그노세로일 (lignoceroyl), 세로토일 (cerotoyl), 미리스트올레오일 (myristoleoyl), 팔미트올레오일 (palmitoleoyl), 사피에노일 (sapienoyl), 올레오일 (oleoyl), 리놀레오일 (linoleoyl), 아라키도노일 (arachidonoyl), 에이코사펜타에노일 (eicosapentaenoyl), 에루코일 (erucoyl), 도코사헥사에노일 (docosahexaenoyl) 및 세로토일 (cerotoyl)로 이루어진 군에서 선택된 것인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 11

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화학식 2의 올리고알킬렌아민은 올리고에틸렌아민인 것인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 올리고에틸렌아민은 다이에틸렌트리아민 (diethylenetriamine), 트리에틸렌테트라민 (triethylenetetramine), 테트라에틸렌펜타민 (tetraethylenepentamine), 펜타에틸렌헥사민 (pentaethylenehexamine), 헥사에틸렌헵타민 (hexaethyleneheptamine), 헵타에틸렌옥타민 (heptaethyleneoctamine), 옥타에틸렌노나민 (octaethylenenonamine), 노나에틸렌데카민 (nonaethylenedecamine), 데카에틸렌운데카민 (decaethyleneundecamine), 운데카에틸렌도데카민 (undecaethylenedodecamine), 도데카에틸렌트리데카민 (dodecaethylenetridecamine) 및 트리데카에틸렌테트라데카민 (tridecaethylenetetradecamine)로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 올리고에틸렌아민은 트리에틸렌테트라민, 테트라에틸렌펜타민, 펜타에틸렌헥사민 및 헥사에틸렌헵타민으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 14

삭제

청구항 15

제2항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 반응 후 비극성 유기용매를 가하여 양이온성 지질을 미반응물로부터 침전 분리하여 정제하는 단계를 추가로 포함하는, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 비극성 유기용매는 탄소수 4 내지 12개의 알칸 또는 에테르인 것인, 양이온성 지질의 제조방

법.

청구항 17

제16항에 있어서, 비극성 유기용매는 헥산, 헵탄 또는 디에틸 에테르인 것인, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 18

제5항에 있어서, 비극성 유기용매에 용해 후 산을 첨가하여 양이온성 지질을 산부가염 형태로 유기용매로부터 수상층으로 분리 후 중화하여 비극성 유기용매로 추출 정제하는 단계를 추가로 포함하는, 양이온성 지질의 제조방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 비극성 유기용매는 클로로포름 또는 디클로로메탄인 것인, 양이온성 지질의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 양이온성 지질의 합성시에 올리고알킬렌아민에 도입되는 지방산기의 도입률 및 도입위치를 조절할 수 있도록 하는 합성 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 지금까지 올리고알킬렌아민의 아민기에 포화 또는 불포화 지방산기를 도입한 양이온성 지질의 합성은 올리고알킬렌아민 양 말단의 1차 아민에 지질을 도입시키는 것으로 보고되고 있다(한국등록특허 제1308591호, 미국특허 제5,744,355호 등 참조). 그러나, 선행기술의 합성 조건에서는 올리고알킬렌아민의 1차 및 2차 아민기에 비특이적으로 지방산기가 반응하기 때문에, 이러한 종래의 합성법으로 올리고알킬렌아민의 말단 양쪽 또는 한쪽의 1차 아민기에만 선택적으로 지질을 반응시키는 것은 불가능하다. 따라서, 지질의 도입률이 각기 다른 혼합물이 합성되기 쉽고, 매 반응시마다 양이온성 지질의 조성이 다른 혼합물이 합성될 수 있다. 이렇게 합성된 양이온성 지질 혼합물을 도입률이 동일한 지질로 각각 분리 정제하는 것은 매우 어려우며 많은 공정이 필요한 문제점이 있다. 따라서, 올리고알킬렌아민계 양이온성 지질을 친환경적이고 경제적으로 제조할 수 있고 아민기에 선택적으로 지질을 도입 합성할 수 있는 방법이 필요하다.

[0003] 이러한 배경 하에서, 본 발명자들은 상기와 같은 양이온성 지질의 합성에 있어, 올리고알킬렌아민에 원하는 위치와 도입률로 지방산기를 도입할 수 있는 선택적 합성 방법을 예의 연구한 결과, 반응하는 올리고알킬렌아민과 지방산 유도체의 조건을 변경하는 경우 예측하지 못하게 목적하는 지방산기의 도입률 및 위치를 갖는 양이온성 지질을 간이하고 경제적이며 친환경적인 방법으로 수득할 수 있음을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

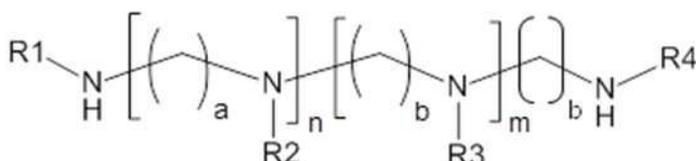
발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 이에, 본 발명의 하나의 목적은, 하기 화학식 1로 표기되는 양이온성 지질의 합성시 지방산기를 올리고알킬렌아민의 1차 또는 2차 아민기에 선택적으로 도입할 수 있고 도입되는 지방산기의 도입률을 조절할 수 있는 합성법을 제공하는 것이다.

[0005] 본 발명의 또 다른 목적은 효율적으로 양이온성 지질을 정제할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.

[0006] [화학식 1]



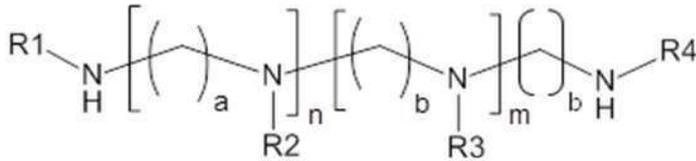
[0007]

[0008] 상기 식에서, 치환기 정의는 아래 정의하는 바와 같다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 지방산기의 도입률을 조절하여 하기 화학식 1로 표기되는 양이온성 지질을 고순도로 합성할 수 있는 방법에 관한 것이다.

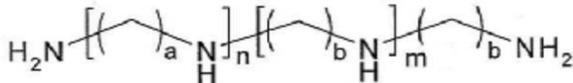
[0010] [화학식 1]



[0011]

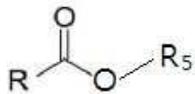
[0012] 구체적으로 본 발명은 하기 화학식 2의 올리고알킬렌아민을 하기 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르와 반응시키는 것을 특징으로 한다.

[0013] [화학식 2]



[0014]

[0015] [화학식 3]



[0016]

[0017] 상기 화학식 1 내지 3에서,

[0018] n과 m은 각각 0 내지 12이되, $1 \leq n + m \leq 12$ 이며, a와 b는 각각 1 내지 6이며,

[0019] R1, R2, R3 및 R4는 각각 독립적으로 수소 또는 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기로서, R1 및 R4 중 적어도 하나는 탄소수 12 내지 26개의 포화 또는 불포화 지방산기이고,

[0020] R은 탄소수 11 내지 25개의 포화 또는 불포화 탄화수소를 나타내고,

[0021] R5는 탄소수 1 내지 14개의 알킬기이다.

[0023] 지방산기의 밀도를 높게 유지하고 양이온으로부터 유발되는 세포독성을 최소화 하기 위해 n과 m은 상기와 같은 수치 및 범위를 가지는 것이 바람직하다.

[0024] 또한, 상기 R 및 R1 내지 R4과 관련하여, 만약 포화 또는 불포화탄화수소의 탄소수가 11보다 작으면 탄화수소 사슬간의 소수성 상호 작용의 감소로 음이온 약물과 안정한 제형을 형성할 수 없다. 반면, 상기 탄소수가 25보다 크면 탄화수소간의 소수성 상호 작용의 증가로 음이온성 약물과 과도하게 안정한 제형을 형성하여 체내에서 음이온성 약물의 해리 저하에 의한 효능 감소를 유발시킨다. 또한, 시스 (cis) 이중결합 증가에 의한 탄화수소 사슬의 만곡도 증가로 밀도가 낮은 제형을 형성하여 제형 안정성이 감소하게 된다.

[0025] 바람직한 하나의 양태로서, 본 발명에 따른 선택적 합성 방법에서, 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르에 대한 화학식 2의 올리고알킬렌아민의 몰비(올리고알킬렌아민/지방산 알킬 에스테르)를 5 이상으로 하여 상기 화학식 1 중 R1 및 R4 중 하나가 수소이고, R2 및 R3이 수소인 양이온성 지질을 제조할 수 있다.

[0026] 바람직한 또 하나의 양태로서, 본 발명에 따른 선택적 합성 방법에서, 화학식 2의 올리고알킬렌아민에 대한 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르의 몰비를 1.5 이상 4 미만으로 하여 상기 화학식 1 중 R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기이고 R2 및 R3이 수소인 양이온성 지질을 제조할 수 있다.

- [0027] 바람직한 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명에 따른 선택적 합성 방법에서, 화학식 2의 올리고알킬렌아민에 대한 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르의 몰비를 4 이상으로 하여 상기 화학식 1 중 R1, R2, R3 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기인 양이온성 지질을 제조할 수 있다.
- [0028] 본 발명에 따른 상기와 같은 합성 방법에서, 상기 올리고알킬렌아민과 지방산 알킬 에스테르의 반응시, 유기용매를 사용하지 않고 반응을 수행하는 것을 특징으로 한다.
- [0030] 나아가, 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은, R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기이고 R2 및 R3이 수소인, 상기 화학식 1의 양이온성 지질을 상기 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르와 반응시켜, R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기이고 R2 및 R3 중 하나가 수소인 화학식 1의 양이온성 지질을 제조하는 단계를 포함하는, R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기이고 R2 및 R3 중 하나가 수소인 화학식 1의 양이온성 지질의 제조방법에 관한 것이다:
- [0031] 바람직하게는, n과 m은 독립적으로 0 내지 9이며, $1 \leq n+m \leq 10$ 일 수 있다.
- [0032] 바람직하게는, a와 b는 2 내지 4일 수 있다.
- [0033] 바람직하게는, R1, R2, R3, 및 R4는 각각 독립적으로 탄소수 14 내지 22개의 불포화 지방산기일 수 있다.
- [0034] 바람직하게, R1, R2, R3, 및 R4의 하나 이상은 라우로일 (lauroyl), 미리스토일 (myristoyl), 팔미토일 (palmitoyl), 스테아로일 (stearoyl), 아라키도일 (arachidoyl), 베헨노일 (behenoyl), 리그노세로일 (lignoceroyl), 세로토일 (cerotoyl), 미리스트올레오일 (myristoleoyl), 팔미트올레오일 (palmitoleoyl), 사피에노일 (sapienoyl), 올레오일 (oleoyl), 리놀레노일 (linoleoyl), 아라키도노일 (arachidonoyl), 에이코사펜타에노일 (eicosapentaenoyl), 에루코일 (erucoyl), 도코사헥사에노일 (docosahexaenoyl), 및 세로토일 (cerotoyl)로 이루어진 군에서 선택된 것일 수 있다.
- [0035] 상기 R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기이고 R2 및 R3 중 하나가 수소인 화학식 1의 양이온성 지질의 제조방법에 있어서는, R1 및 R4가 탄소수 12 내지 26개의 지방산기이고 R2 및 R3이 수소인 화학식 1의 양이온성 지질에 대한 지방산 알킬 에스테르의 몰비를 1 이상으로 하는 것이 바람직하다.
- [0037] 본 발명에서 화학식 2의 올리고알킬렌아민은 구체적으로 올리고에틸렌아민이며, 더 구체적으로, 이에 제한되는 것은 아니나, 디에틸렌트리아민 (diethylenetriamine), 트리에틸렌테트라민 (triethylenetetramine), 테트라에틸렌펜타민 (tetraethylenepentamine), 펜타에틸렌헥사민 (pentaethylenehexamine), 헥사에틸렌헵타민 (hexaethyleneheptamine), 헵타에틸렌옥타민 (heptaethyleneoctamine), 옥타에틸렌노나민 (octaethylenenonamine), 노나에틸렌데카민 (nonaethylenedecamine), 데카에틸렌운데카민 (decaethyleneundecamine), 운데카에틸렌도데카민 (undecaethylenedodecamine), 도데카에틸렌트리데카민 (dodecaethylenetridecamine) 및 트리데카에틸렌테트라데카민 (tridecaethylenetetradecamine)로 이루어진 군에서 하나 이상 선택될 수 있다. 바람직하게는 트리에틸렌테트라민, 테트라에틸렌펜타민, 펜타에틸렌헥사민 및 헥사에틸렌헵타민으로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상이다.
- [0039] 이상과 같이 화학식 2의 올리고알킬렌아민과 화학식 3의 지방산 알킬 에스테르를 상기 당량비로 반응시키는 경우, 제조되는 양이온성 지질 내의 탄화수소 도입률을 조절하여 고순도의 양이온성 지질을 합성할 수 있다.
- [0040] 본 발명에 따른 방법에 의하면, 저렴한 올리고알킬렌아민과 지방산 알킬 에스테르와 같은 지방산 유도체를 사용하여 높은 수율로 쉽게 상기 양이온성 지질을 합성할 수 있으며, 친환경적이며 경제적이다. 아울러 상기 반응을 통해 합성된 지질은 비극성 유기용매에서 용해도가 낮아 쉽게 침전되어 합성물의 정제 공정이 매우 간단한 장점이 있다.
- [0041] 따라서, 또 다른 바람직한 일 양태로서, 본 발명은 상기 합성 방법에 의해 제조된 화학식 1의 양이온성 지질에 비극성 유기용매를 가하여 미반응물을 침전, 분리하여 양이온성 지질을 정제하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게, 상기 비극성 유기용매는 탄소수 4 내지 12개의 알칸 또는 에테르일 수 있고, 더욱 바람직하게는 헥산, 헵탄 또는 디에틸 에테르이나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 또 다른 바람직한 일 양태로서, 본 발명은 상기 합성 방법에 의해 제조된 화학식 1의 양이온성 지질을 비극성 유기용매를 가하여 용해시킨 후, 산을 첨가하여 양이온성 지질을 산부가염 형태로 유기용매로부터 수상층으로 분리 후 중화하여 비극성 유기용매로 추출시켜 분리 정제하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 또한 바람직한 비극성 유기용매는 클로로포름 또는 디클로로메탄일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0044] 상기와 같이, 본 발명에 따른 합성 방법에 의해 제조된 화학식 1의 양이온성 지질은 그 자체가 낮은 용해도를 나타내어, 쉽게 침전되고 균일한 도입률을 나타내기 때문에, 이러한 점을 이용한 본 발명의 정제방법은 종래 양이온성 지질의 정제방법에 비해 경제적, 친환경적이면서도 간이하다는 장점을 갖는다.

[0045] 본 발명에 따라 합성 및/또는 정제된 상기 화학식 1의 양이온성 지질은, 정상적인 생체내 환경인 중성영역의 수소이온농도(pH)에서 올리고알킬렌아민의 아민기가 양전하의 형태로 존재하게 되므로 세포내에서 양전하의 하전 상태를 보유하게 된다. 따라서 상기 양이온성 지질은 생체내와 같은 중성 pH에서 음전하를 띠고 있는 핵산을 포함한 음이온성 약물과 복합체를 형성하는 것을 가능하게 할 뿐만 아니라 생체 내에서 상대적으로 음전하를 띠는 표적 세포막과의 접촉을 증가시키는데 도움을 준다. 따라서 본 발명의 양이온성 지질은 핵산 전달 용도의 리포솜, 미셀, 에멀전 및 나노입자 등 다양한 형태의 음이온성 약물의 전달체 제형을 제조하기 위해 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0046] 본 발명에 따른 양이온성 지질의 합성 방법은 기존 방법과 달리 합성 조건 조절만으로 올리고알킬렌아민에 대한 지방산기의 도입률 조절이 가능하다. 따라서, 합성시 지질 도입률이 서로 다른 양이온성 지질 혼합물이 합성되는 기존 방법과 달리 항상 고순도로 균일한 도입률을 갖는 양이온성 지질을 합성할 수 있어 고난이도의 정제 과정이 불필요하다. 또한, 합성 및 정제 공정이 간편하여 대량 생산시의 경제성이 높아, 핵산 또는 음이온성 활성 물질과 같은 음이온성 약물과 함께 이들의 체액 내 안정성을 높일 수 있는 세포 내 전달용 복합체를 형성시키거나 리포솜, 미셀, 에멀전 및 나노입자 전달체를 형성시킬 수 있는 양이온성 지질을 제조함에 있어 매우 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 지질 도입수 변화에 의한 분자량 변화 측정 결과(GPC)를 나타낸 것이다.
 도 2는 1,6-다이올레오일 트리에틸렌테트라마이드의 수소핵자기공명 분광기 (¹H NMR) 로 분석한 결과를 나타낸 것이다.
 도 3은 테트라올레오일 트리에틸렌테트라마이드의 수소핵자기공명 분광기 (¹H NMR) 로 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의거하여 보다 자세하게 설명하나, 이들은 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐 이들에 의하여 본 발명의 범위가 어떤 식으로든 제한되는 것은 아니다.

[0050] 실시예 1. 1-모노올레오일 트리에틸렌테트라마이드 (1-monoleoyl triethylenetetramide)의 합성

[0051] 5.00 g (33.44 mmol) 트리에틸렌테트라민(triethylenetetramine)과 2.00 g (6.69 mmol) 메틸올리에이트(methyl oleate)를 둥근바닥 플라스크에 넣고 질소 충전 하에 65℃에서 5일 동안 마그네틱바로 교반하면서 반응시켰다.

[0052] 반응 종료 후 150 mL의 다이에틸에테르(diethyl ether)에 반응물을 용해시킨 후 분액 깔때기에서 30 mL의 1 M 수산화나트륨 (NaOH) 용액에 염화나트륨(NaCl)을 넣고 3회 세척하여 미반응 트리에틸렌테트라민을 제거하였다. 분액 깔때기 상부의 유기용매 층을 증류농축장치에서 가온, 감압 증류하였다.

[0053] 최종적으로 얻어진 생성물을 HP 1100 series 겔 크로마토그래피(gel chromatography)에서 Shodex KF-801과 KF-802 컬럼을 이용 0.5% v/v 트리에틸아민(trimethylamine)-테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran) 이동상으로 1 mL/min 유속으로 분석하였다. 그 결과를 도 1에 나타내었다. 또, Bruker AVANCE DPX 400 수소핵자기공명 분광기(¹H nuclear magnetic resonance spectrometer)로 듀테로화 클로로포름(deuterated chloroform)에서 올레오일기의 도입 정도를 분석하였다. Agilent Technologies 646 Triple quad 질량 분석기(mass spectrometer)를 이용 MeOH: 5mM ammonium formate-0/25% formic acid (70:30) 조건으로 합성된 양이온성 지질의 분자량을 분석하였다. 상기 분석을 통해 트리에틸렌테트라민 한 쪽 말단에 올레오일기가 도입된 것을 확인하였다. 수율은 73.8 %였고, 1.1 당량의 올레오일기가 트리에틸렌테트라민에 도입되었다. 순도는 GPC로부터 96.7 %로 확인하였다.

[0055] **실시예 2. 1,6-다이올레오일 트리에틸렌테트라마이드 (1,6-dioleoyl triethylenetetramide)의 합성**

[0056] 0.50 g (3.34 mmol) 트리에틸렌테트라민과 2.00 g (6.69 mmol) 메틸올리이트를 둥근바닥 플라스크에 넣고 질소 충전 하에 65℃에서 5일 동안 마그네틱바로 교반하면서 반응시켰다.

[0057] 반응 종료 후 반응물에 15 mL의 헥산(hexane)을 첨가하여 1,6-다이올레오일 트리에틸렌테트라마이드를 석출시키고 미반응 메틸올리이트를 추출하는 과정을 3회 반복하였다. 석출된 지질을 원심분리로 헥산으로부터 침전 분리시켜 회수 후 진공건조 하였다.

[0058] 정제된 양이온성 지질의 분자량 및 올레오일기의 도입 정도를 실시예 1과 동일하게 겔 크로마토그래피, 수소핵자기공명 분광기, 질량 분석기를 이용하여 확인하였다. 겔 크로마토그래피와 수소핵자기공명 분광기 결과를 각각 도 1과 도 2에 나타내었다. 수율은 79.9 %였고, 2.06 당량의 올레오일기가 트리에틸렌테트라민에 도입되었다. 순도는 GPC로부터 95.7 %로 확인하였다.

[0060] **실시예 3. 1,3,6-트리올레오일 트리에틸렌테트라마이드 (1,3,6-trioleoyl triethylenetetramide)**

[0061] 실시예 2에서 합성된 1,6-다이올레오일 트리에틸렌테트라마이드에 메틸올리이트를 추가로 반응시켜 1,3,6-트리올레오일 트리에틸렌테트라마이드를 합성하였다. 자세하게는, 400 mg (578.3 μmol)의 1,6-다이올레오일 트리에틸렌테트라마이드와 173.2 mg (578.3 μmol)의 메틸올리이트를 100 mL의 다이메틸포름아마이드(dimethylformamide)에 용해시킨 후 질소 충전 하에 90 °C에서 환류시키면서 5일 동안 교반하며 반응시켰다.

[0062] 반응 종료 후 반응물을 진공건조하여 다이메틸포름아마이드를 제거 후 50 mL의 헥산을 첨가하여 미반응 1,6-다이올레오일 트리에틸렌테트라마이드를 침전시킨 후 원심분리하였다. 이후, 분리한 상층액을 진공건조하였다. 여기에 10mL의 1M 염화수소 (HCl) 를 첨가하여 합성된 1,3,6-트리올레오일 트리에틸렌테트라마이드를 일염화수소염(1,3,6-trioleoyl triethylenetetramide · 1HCl) 형태로 변환시킨 후 50mL의 클로로포름을 첨가하여 분액 깔대기에서 미반응 메틸올레오일을 추출하여 제거하였다. 양이온성 지질이 용해되어있는 산성 수용액을 수산화나트륨으로 중화 후 클로로포름으로 지질을 추출하여진공 건조하였다.

[0063] 정제된 최종적으로 얻어진 생성물의 분자량 및 올레오일기의 도입 정도를 실시예 1과 동일하게 겔 크로마토그래피, 수소핵자기공명 분광기, 질량 분석기를 이용하여 확인하였다. 겔 크로마토그래피 결과를 도 1에 나타내었다. 수율은 47.5 %였고, 2.94 당량의 올레오일기가 트리에틸렌테트라민에 결합되어 있는 것을 확인하였다. 순도는 GPC로부터 94.3 %로 확인하였다.

[0065] **실시예 4. 테트라올레오일 트리에틸렌테트라마이드 (tetraoleoyl triethylenetetramide)**

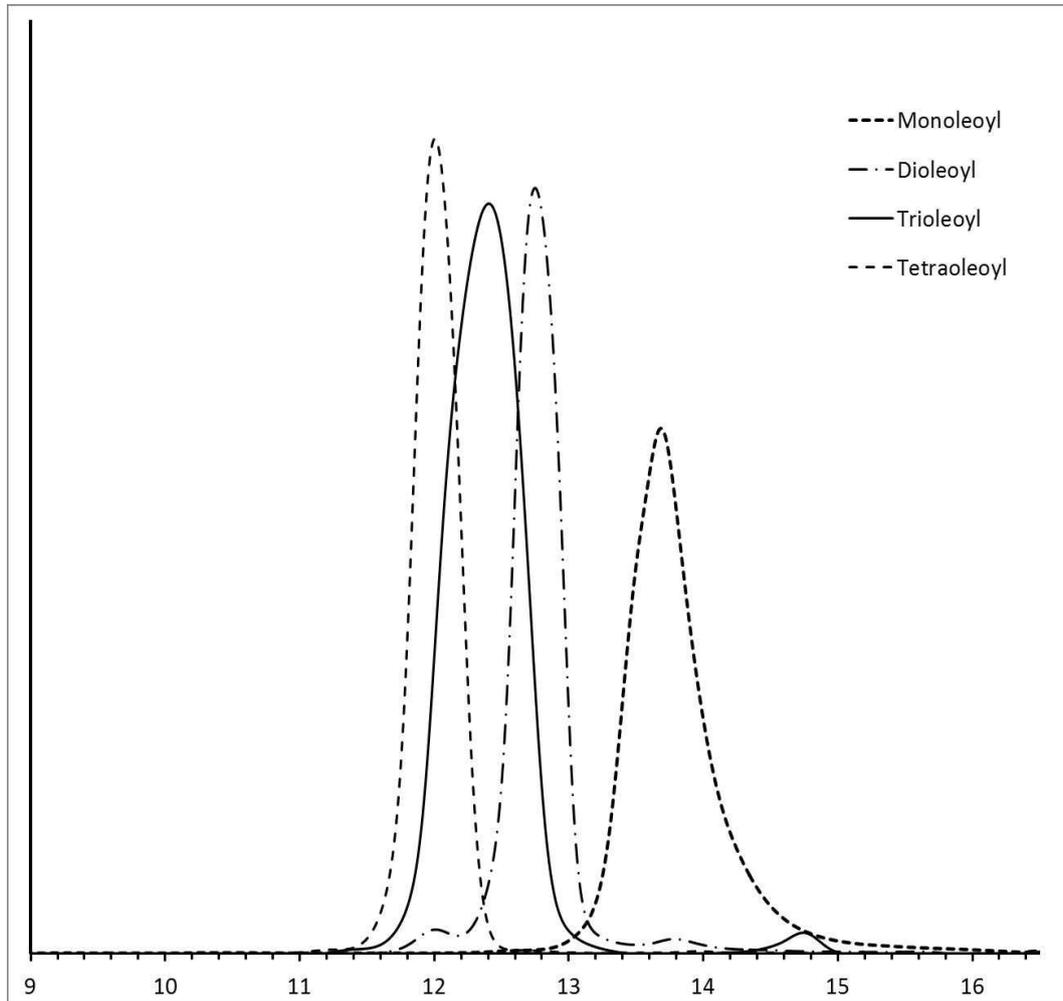
[0066] 0.50 g (3.34 mmol) 트리에틸렌테트라민과 8.00 g (26.76 mmol) 메틸올리이트를 둥근바닥 플라스크에 넣고 질소 충전 하에 65℃에서 5일 동안 마그네틱바로 교반하면서 반응시켰다.

[0067] 반응 종료 후 반응물에 15 mL의 헥산을 첨가하여 테트라올레오일 트리에틸렌테트라마이드를 석출시키고 미반응 메틸올리이트 추출 과정을3회 반복하였다. 정제된 테트라올레오일 트리에틸렌테트라마이드 지질을 원심분리로 헥산으로부터 침전 분리시켜 회수 후 진공건조 하였다.

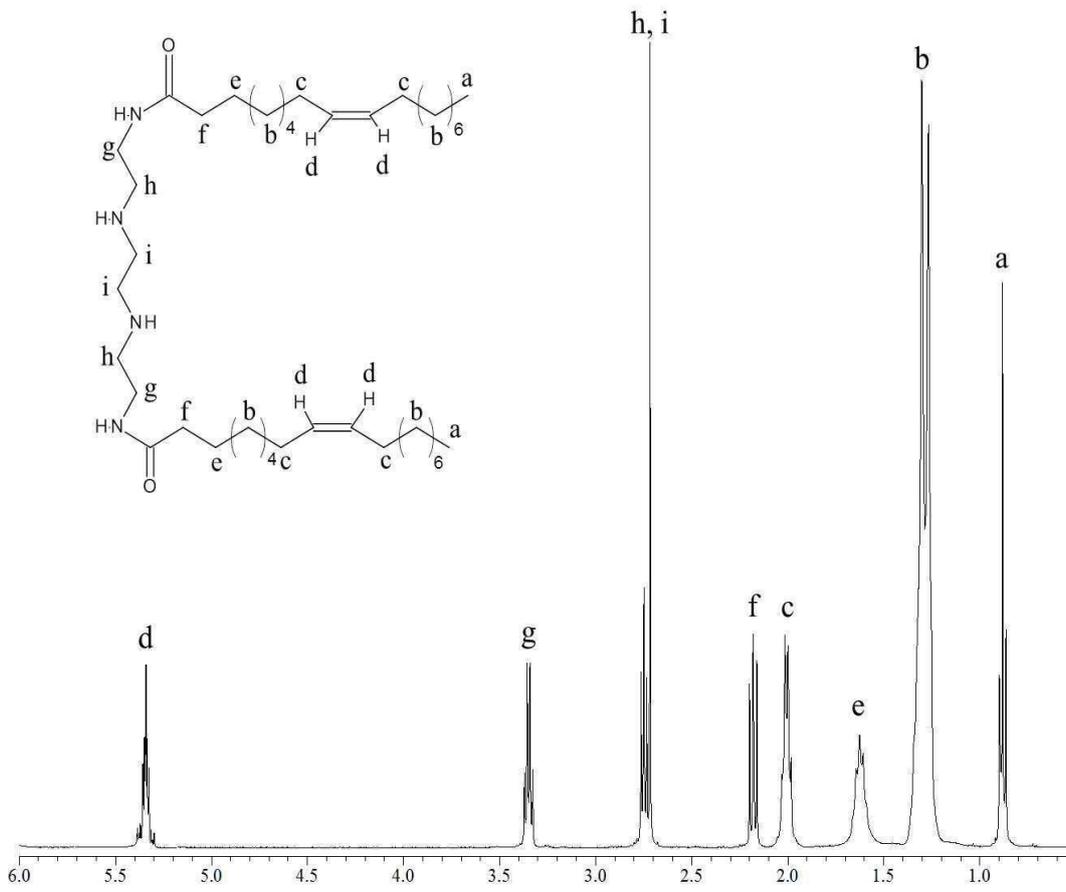
[0068] 정제된 양이온성 지질의 분자량 및 올레오일기의 도입 정도를 실시예 1과 동일하게 겔 크로마토그래피, 수소핵자기공명 분광기, 질량 분석기를 이용하여 확인하였다. 겔 크로마토그래피와 수소핵자기공명 분광기 결과를 각각 도 1과 도 3에 나타내었다. 수율은 89.1 %였고, 4.05 당량의 올레오일기가 트리에틸렌테트라민에 도입되었다. 순도는 GPC로부터 99.4 %로 확인하였다.

도면

도면1



도면2



도면3

