



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107879960 B

(45) 授权公告日 2021.06.22

(21) 申请号 201711096767.9

A61K 47/18 (2006.01)

(22) 申请日 2014.03.06

A61K 47/22 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

C07C 217/58 (2006.01)

申请公布号 CN 107879960 A

C07C 219/06 (2006.01)

(43) 申请公布日 2018.04.06

C07C 229/12 (2006.01)

C07C 229/14 (2006.01)

(续)

(30) 优先权数据

61/774,759 2013.03.08 US

61/918,162 2013.12.19 US

(56) 对比文件

US 4723039 A, 1988.02.02

CN 102884041 A, 2013.01.16

CN 102281899 A, 2011.12.14

US 4438131 A, 1984.03.20

(62) 分案原申请数据

201480025066.4 2014.03.06

Ibnelwaleed A. Hussein et

(73) 专利权人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

al. Rheological behavior of associating ionic polymers based on diallylammonium salts containing single-, twin-, and triple-tailed hydrophobes.《European Polymer Journal》.2010,第46卷第1063-1073页.

(72) 发明人 J·L·巴伊扎

R·E·J·贝克威思 K·鲍曼

(续)

GEORGE R. PETTIT et al. Antineoplastic agents: IX. N-Benzyl-N-bis(2-haloethyl) amines.《Canadian Journal of Chemistry》.1963,第2962-2968页.

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 沈晓书 黄革生

Rolf W. Saalfrank, et al. Six-Membered Metalla-coronands. Synthesis and Crystal Packing: Columns, Compartments, and 3D-Networks.《Inorg. Chem.》.2004,第43卷(第14期),第4372-4382页.

(51) Int. Cl.

C07D 205/04 (2006.01)

C07D 213/69 (2006.01)

C07D 213/79 (2006.01)

C07D 295/096 (2006.01)

C07D 317/28 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 38/22 (2006.01)

审查员 唐建刚

权利要求书4页 说明书164页

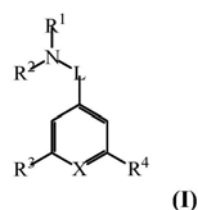
序列表4页

(54) 发明名称

用于传递活性成分的脂质和脂质组合物

(57) 摘要

本发明涉及用于传递活性成分的脂质和脂质组合物。本发明提供了式(I)化合物或其可药用的盐,在式(I)中, $R^1-R^4$ 、L和X如本文所定义。式(I)化合物及其可药用的盐为阳离子脂质,用于将生物活性成分传递至细胞和组织。



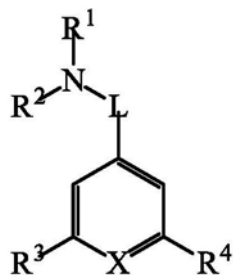
(I)

[接上页]

(72) 发明人 C·拜尔斯 T·法扎尔  
G·G·甘伯 C·C-M·李  
R·B·提库尔 C·瓦热塞 S·王  
L·韦斯特 T·扎巴瓦 J·赵

(51) Int.Cl.  
*C07C 235/42* (2006.01)  
*C12N 15/113* (2010.01)

1. 式 (I) 化合物或其可药用的盐:



(I)

其中:

L为C<sub>1-6</sub>亚烷基、\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-或\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-C<sub>1-4</sub>亚烷基-,

其中\*表示与NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团的连接部分;

L2,以任何一个方向连接的,为-C(=O)-;

R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立为任选取代的C<sub>1-6</sub>烷基;其中所述C<sub>1-6</sub>烷基任选被1或2个各自独立选自下列基团的取代基取代:OH、C<sub>1-3</sub>烷氧基、COOH和COO-C<sub>1-4</sub>烷基;

R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立为:

(c) -Z<sup>1</sup>-R<sup>b</sup>-Z<sup>2</sup>-R<sup>b</sup>-Z<sup>3</sup>-R<sup>a</sup>,

(e) -R<sup>b</sup>-Z<sup>1</sup>-R<sup>a</sup>,

(f) -R<sup>b</sup>-Z<sup>1</sup>-R<sup>b</sup>-Z<sup>2</sup>-R<sup>a</sup>,

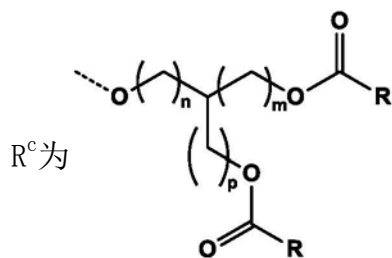
(g) -R<sup>b</sup>-Z<sup>1</sup>-R<sup>b</sup>-Z<sup>2</sup>-R<sup>b</sup>-Z<sup>3</sup>-R<sup>a</sup>,或

(i) -R<sup>c</sup>,

其中Z<sup>1</sup>,以任何一个方向连接的,各自独立为-O-或-C(=O)-;Z<sup>2</sup>和Z<sup>3</sup>,以任何一个方向连接的,各自独立为-C(=O)-;

R<sup>a</sup>为C<sub>2-22</sub>烷基、C<sub>2-22</sub>链烯基或C<sub>2-22</sub>炔基;

每个R<sup>b</sup>独立为C<sub>1-20</sub>亚烷基、C<sub>2-20</sub>亚链烯基或C<sub>2-20</sub>亚炔基;



(c1);

R为C<sub>5-22</sub>烷基、C<sub>5-22</sub>链烯基或C<sub>5-22</sub>炔基;

n为0-12;

m和p各自独立为0、1、2、3或4;

前提是链 (c) 和 (e) - (g) 具有12-30个碳原子,链 (i) 具有12-70个碳原子;

X为CR<sup>6</sup>;并且

R<sup>6</sup>为H、卤素、C<sub>1-6</sub>烷基或R<sup>4</sup>。

2. 权利要求1的化合物或其可药用的盐,其中R<sup>6</sup>为H、氯、溴或C<sub>1-3</sub>烷基。

3. 权利要求2的化合物或其可药用的盐,其中R<sup>6</sup>为H。

4. 权利要求3的化合物或其可药用的盐, 其中:

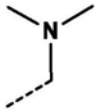
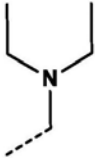
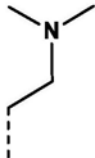
L为亚甲基、亚乙基或亚丙基, 或

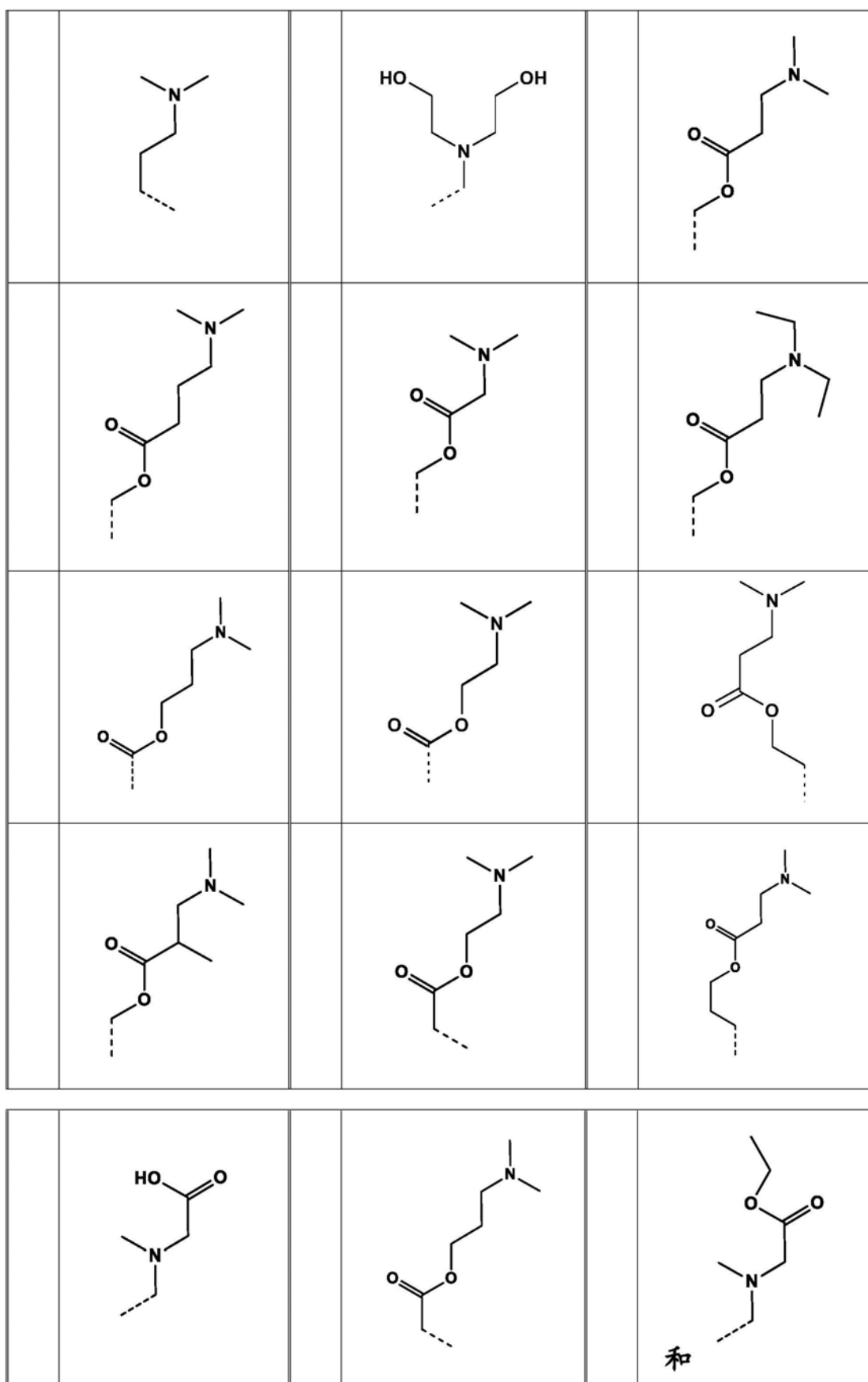
L为 $^{*}\text{-C}_{1-3}$ 亚烷基-OC(O)-, 或

L为 $^{*}\text{-C}_{1-4}$ 亚烷基-L2- $\text{C}_{1-2}$ 亚烷基-。

5. 权利要求4的化合物或其可药用的盐, 其中 $\text{R}^1$ 和 $\text{R}^2$ 各自独立为任选取代的甲基或任选取代的乙基。

6. 权利要求3的化合物或其可药用的盐, 其中式(I)的 $\text{L-NR}^1\text{R}^2$ 基团为选自下列的基团:

	结构		结构		结构
					



其中虚线表示与式(I)的连接点。

7. 权利要求6的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为:

- (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,
- (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ ,
- (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,
- (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ , 或
- (i)  $-R^c$ .

8. 权利要求7的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为:

- (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ .

9. 权利要求8的化合物或其可药用的盐, 其中 $Z^1$ 为 $-O-$ ;  $R^b$ 为 $C_{1-10}$ 亚烷基; 并且 $R^a$ 为 $C_{5-18}$ 烷基或具有1-3个双键的 $C_{11-18}$ 链烯基。

10. 权利要求7的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为 (i)  $-R^c$ ;  $n$ 为1或2;  $m$ 为0或1;  $p$ 为1。

11. 权利要求1的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^4$ 和 $R^3$ 是相同的。

12. 脂质组合物, 其含有权利要求1的化合物或其可药用的盐。

13. 权利要求12的脂质组合物, 该脂质组合物还含有mRNA。

14. 权利要求13的脂质组合物, 该脂质组合物还含有辅助脂质、中性脂质、隐形脂质或其组合。

15. 权利要求14的脂质组合物, 其中所述辅助脂质为胆固醇, 中性脂质为DSPC, 隐形脂质为PEG-DMG、S010或S011。

16. 权利要求15的脂质组合物, 为脂质纳米颗粒形式。

## 用于传递活性成分的脂质和脂质组合物

[0001] 本申请为2014年3月6日提交的、发明名称为“用于传递活性成分的脂质和脂质组合物”的PCT申请PCT/IB2014/059503的分案申请,所述PCT申请进入中国国家阶段的日期为2015年11月3日,申请号为201480025066.4。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及阳离子脂质化合物和含有此类化合物的组合物。本发明还涉及制备此类化合物和组合物的方法以及此类化合物和组合物例如将生物活性成分例如RNAi成分传递至细胞和组织的方法和用途。

### 背景技术

[0003] 生物活性成分(包括治疗上相关的化合物)向个体的传递由于化合物达到靶细胞或组织的困难而常常受到阻碍。具体地讲,许多生物活性成分向活细胞中的输送受到复杂的细胞膜系统的严格限制。这些限制导致需要使用极高浓度的生物活性成分,该浓度远高于获得满意的结果所需要的浓度,导致毒性作用和副作用增加。解决该问题的一个方法是采用特殊的载体分子,其能够选择性进入细胞。脂质载体、可生物降解聚合物和各种共轭系统可以用于改善生物活性成分向细胞的传递。

[0004] 特别难以传递至细胞的一类生物活性成分为生物治疗药物(包括核苷类、核苷酸类、多聚核苷酸类、核酸类和衍生物,例如RNAi成分)。通常,核酸在细胞或血浆中仅在有限的时间内能够保持稳定。RNA干扰、RNAi治疗、RNA药物、反义治疗和基因治疗等的发展增加对将核酸成分引入细胞中的有效方法的需求。为此,特别关注能够使得核酸类成分稳定并将其传递到细胞中的组合物。

[0005] 改善向细胞中传递异源核酸的最充分的研究方法包括使用病毒载体或阳离子脂质。病毒载体可以用于将基因类有效地转运到某些类型的细胞中,但是它们通常不能用于将化学合成的分子引入细胞中。

[0006] 另一种方法是采用含有阳离子脂质的传递组合物,一方面所述脂质与生物活性成分相互作用,另一方面与膜系统相互作用(综述参见:Felgner,1990,Advanced Drug Delivery Reviews,5,162-187和Felgner,1993,J.Liposome Res.,3,3-16)。据报道此类组合物含有脂质体。

[0007] 自从1965年Bangham第一次描述脂质体(J.Mol.Biol.13,238-252)以来,人们持续关注并努力开发脂质类载体系统,用于传递生物活性成分。通过采用带正电荷的脂质体将功能性核酸引入培养的细胞中的方法首先由Philip Felgner等在Proc.Natl.Acad.Sci., USA,84,7413-7417(1987)中进行了报道。该方法后经K.L.Brigham等,Am.J.Med.Sci., 298,278-281(1989)在体内进行了证明。

[0008] 脂质体是令人关注的载体,因为它们能够保护生物分子避免降解并同时改善其细胞摄取。在各种类型的脂质体中,含有阳离子的脂质体通常可以用于传递多阴离子(例如核酸)。此类脂质体可以单独采用阳离子脂质形成,任选也包括其它脂质和两亲性分子,例如

磷脂酰乙醇胺。本领域众所周知的是,脂质制剂的组合物及其制备方法能够影响聚集体的结构和大小。

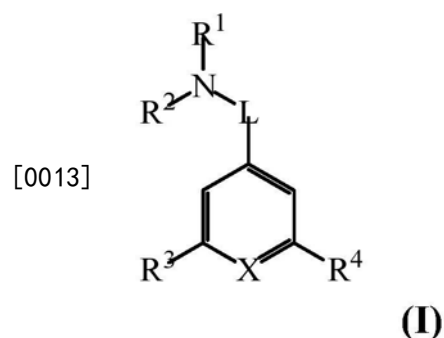
[0009] 采用阳离子脂质进行生物活性成分的细胞传递具有多种优点。由于静电相互作用,采用阳离子脂质包封阴离子化合物可以基本上定量进行。另外,据认为阳离子脂质与带负电荷的细胞膜之间的相互作用能够启动细胞膜转运(Akhtar等,1992,Trends Cell Bio.,2,139;Xu等,1996,Biochemistry 35,5616)。

[0010] 因此,需要能够促进生物活性成分的系统 and 局部传递的其它阳离子脂质,例如RNAi成分向细胞的传递。相对于本领域中已知的那些阳离子脂质而言,还需要能够增进生物活性成分向细胞中传递的阳离子脂质。还需要具有最佳物理特性的脂质制剂,能够改善生物活性成分向特定器官和肿瘤的系统 and 局部的传递,特别是肝外肿瘤。

## 发明内容

[0011] 发明概述

[0012] 一方面,本发明提供了式(I)化合物或其可药用的盐:



[0014] 其中 $R^1-R^4$ 、L和X如本文所定义。式(I)化合物及其可药用的盐为阳离子脂质,用于向细胞和组织中传递生物活性成分。

[0015] 第二方面,本发明提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物(即本发明的脂质组合物)或其可药用的盐。在另一个实施方案中,存在至少一种其它脂质成分。在另一个实施方案中,所述脂质组合物还含有生物活性成分以及任选的一或多种其它脂质成分。在另一个实施方案中,所述脂质组合物为脂质体形式。在另一个实施方案中,所述脂质组合物为脂质纳米颗粒(LNP)形式。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于传递至肝中。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于传递至肿瘤中。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于免疫用途。

[0016] 第三方面,本发明提供了药用组合物(即制剂),其含有本发明的脂质组合物和可药用的载体或赋形剂。在另一个实施方案中,脂质组合物中存在至少一种其它脂质成分。在另一个实施方案中,所述脂质组合物为脂质体形式。在另一个实施方案中,所述脂质组合物为脂质纳米颗粒形式。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于传递至肝中。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于传递至肿瘤中。在另一个实施方案中,所述生物活性成分为DNA或RNA。在另一个实施方案中,所述生物活性成分为siRNA。在另一个实施方案中,所述生物活性成分为mRNA。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于免疫用途,所述生物活性成分为编码免疫原的RNA。

[0017] 第四方面,本发明提供了治疗疾病或病症的方法,该方法包括给予需要该治疗的



患者治疗有效量的本发明的脂质组合物的步骤。在一个实施方案中,所述疾病或病症可以通过给予siRNA成分治疗。在另一个实施方案中,所述疾病或病症可以通过给予mRNA成分治疗。

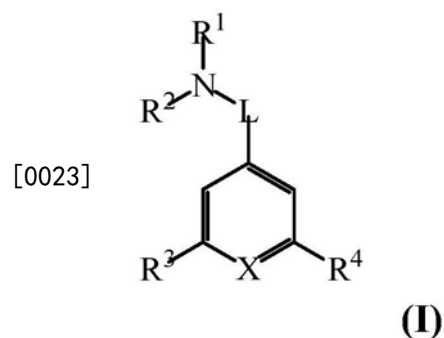
[0018] 第五方面,本发明提供了本发明的脂质组合物在患者中治疗疾病或病症的用途。在一个实施方案中,所述疾病或病症可以通过给予RNAi成分治疗。在另一个实施方案中,所述疾病或病症可以通过给予mRNA成分治疗。

[0019] 第六方面,本发明提供了用于使得患者免疫对抗相关免疫原的方法,其包括组合给予患者免疫有效量的本发明的脂质组合物和编码免疫原的RNA的步骤。

[0020] 第七方面,本发明提供了本发明的脂质组合物用于使得患者免疫对抗相关免疫原的用途。所述脂质与编码免疫原的RNA组合使用。

[0021] 发明详述

[0022] 本发明提供了式(I)化合物:



[0024] 其中:

[0025] L为C<sub>1-6</sub>亚烷基、C<sub>2-6</sub>亚链烯基、C<sub>2-6</sub>亚炔基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-C<sub>3-7</sub>亚环烷基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-C<sub>3-7</sub>亚环烯基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-C<sub>3-7</sub>亚环炔基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-、\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-



示与NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团的连接部分;

[0026] L2,以任何一个方向连接的,为-O-、-S-、-C(O)-、-C(O)O-、-OC(O)O-、-CONH-、S(O)<sub>2</sub>NH-、NHCONH-或NHCSNH-;

[0027] 每个s独立为0、1或2;

[0028] 每个t独立为0、1、2、3或4;

[0029] u为0、1、2、3、4、5或6;

[0030] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立为任选取代的C<sub>1-6</sub>烷基、任选取代的C<sub>2-6</sub>链烯基、任选取代的C<sub>2-6</sub>炔基、任选取代的C<sub>3-7</sub>环烷基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、任选取代的C<sub>3-7</sub>环烯基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、任选取代的C<sub>3-7</sub>环炔基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-或任选取代的苯基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-;其中所述C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>链烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-7</sub>环烷基、C<sub>3-7</sub>环烯基、C<sub>3-7</sub>环炔基和苯基任选被1或2个各自独立选自下列基团的取代基取代:OH、C<sub>1-3</sub>烷氧基、COOH和COO-C<sub>1-4</sub>烷基,

[0031] 或者

[0032]  $R^1$ 和 $R^2$ 一起结合形成任选取代的4—12元杂环环,所述杂环环任选被1—3个各自独立选自下列基团的取代基取代:OH、卤素、 $C_{1-3}$ 烷基、 $C_{1-3}$ 烷氧基、二甲基氨基、 $-COO-C_{1-4}$ 烷基、苯基、哌啶基和吗啉基;

[0033]  $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为:

[0034] (a)  $-Z^1-R^a$ ,

[0035] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,

[0036] (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,

[0037] (d)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^b-Z^4-R^a$ ,

[0038] (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ ,

[0039] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,

[0040] (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,

[0041] (h)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^b-Z^4-R^a$ ,

[0042] (i)  $-R^c$ ,

[0043] (j)  $-Z^1-R^b-R^c$ ,或

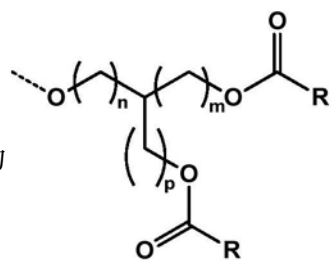
[0044] (k)  $-R^b-Z^1-R^b-R^c$ ;

[0045] 其中 $Z^1$ 、 $Z^2$ 、 $Z^3$ 和 $Z^4$ ,以任何一个方向连接的,各自独立为 $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)O-$ 或 $CONH-$ ;

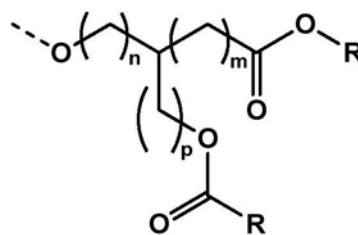
[0046]  $R^a$ 为 $C_{2-22}$ 烷基、 $C_{2-22}$ 链烯基或 $C_{2-22}$ 炔基;

[0047] 每个 $R^b$ 独立为 $C_{1-20}$ 亚烷基、 $C_{2-20}$ 亚链烯基或 $C_{2-20}$ 亚炔基;

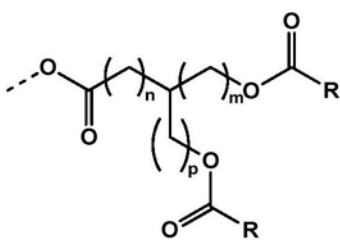
[0048]  $R^c$ 为



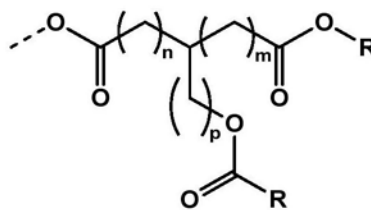
(c1)、



(c2)、

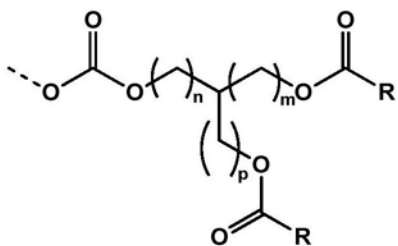


(c3)、

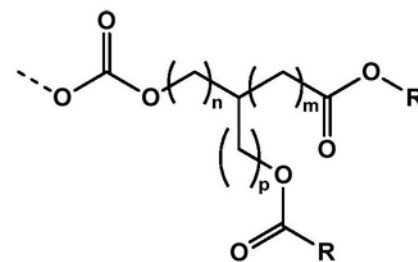


(c4)、

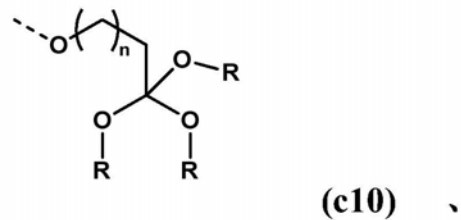
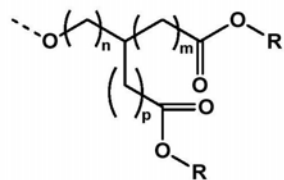
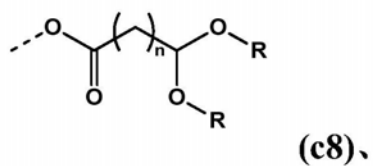
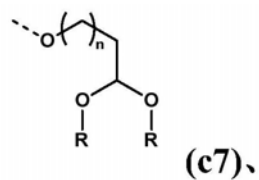
[0049]



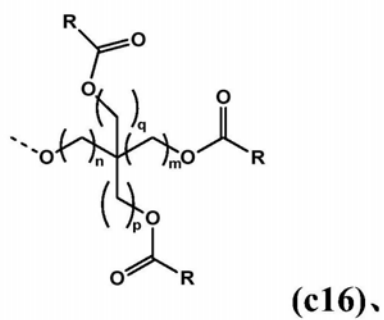
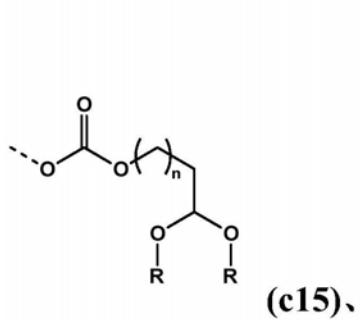
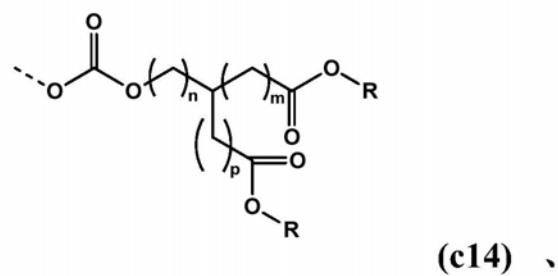
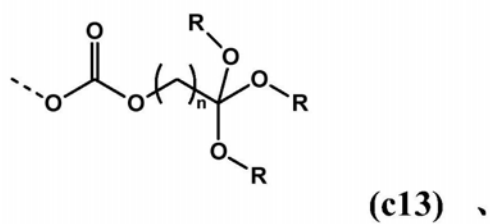
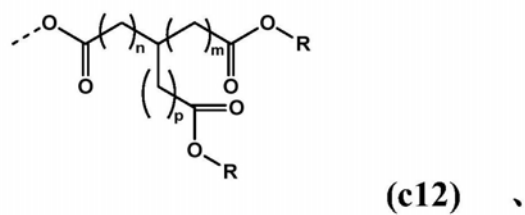
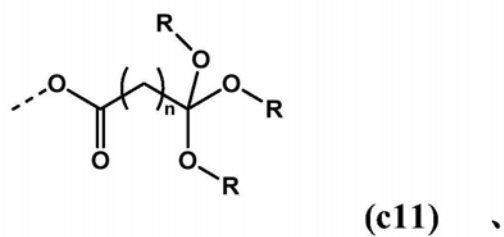
(c5)、

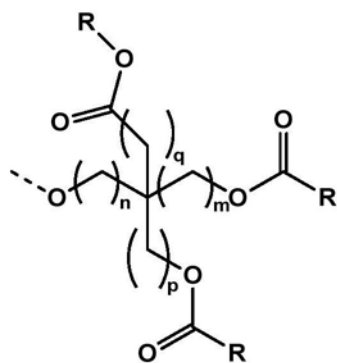


(c6)、

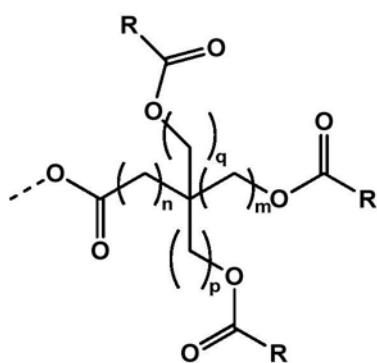


[0050]

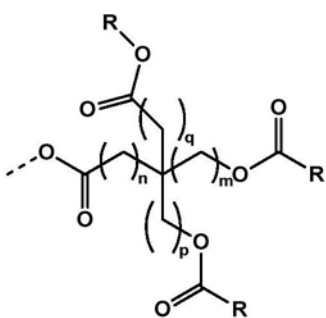




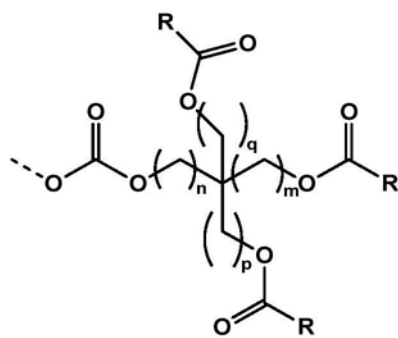
(c17)、



(c18)、

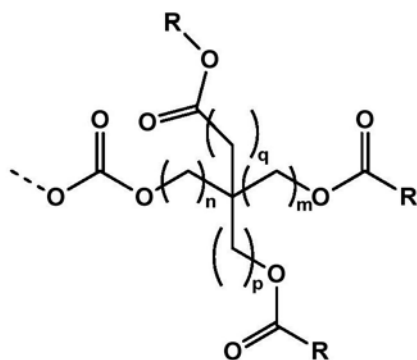


(c19)、

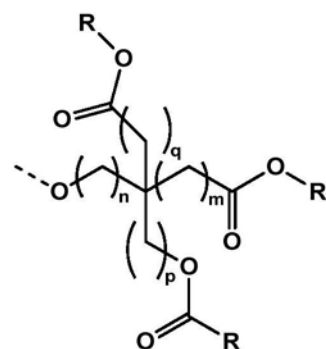


(c20)、

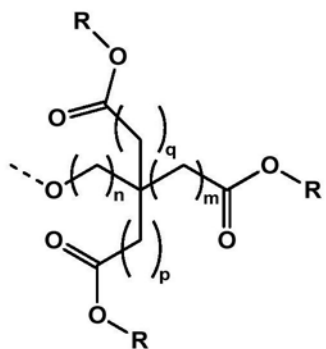
[0051]



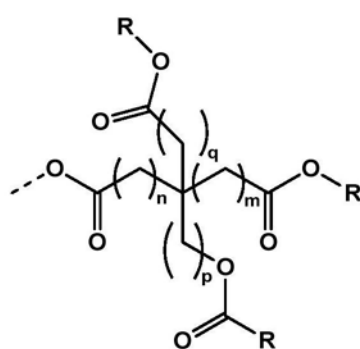
(c21)、



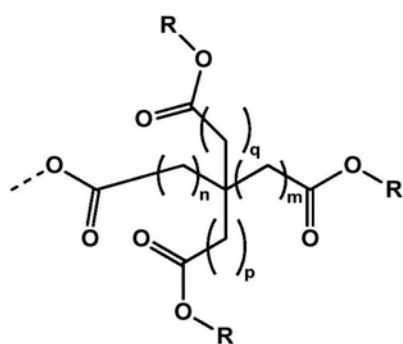
(c22)、



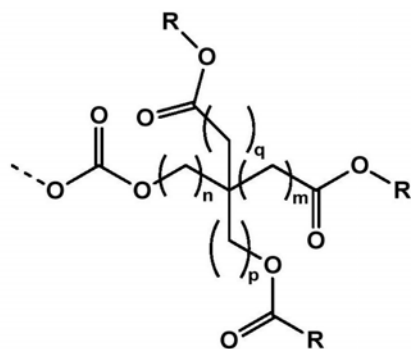
(c23)、



(c24)、

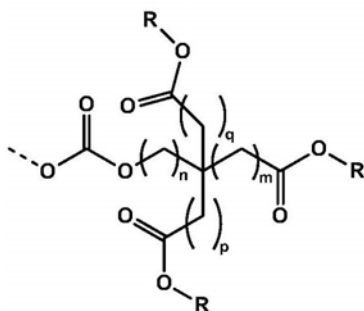


(c25)、

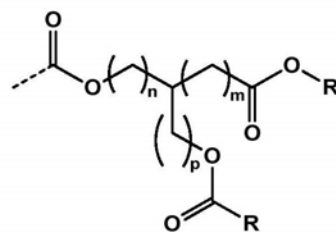


(c26)、

[0052]



(c27) 或



(c28)

[0053] R为 $C_{5-22}$ 烷基、 $C_{5-22}$ 链烯基或 $C_{5-22}$ 炔基；

[0054] n为0—12；

[0055] m、p和q各自独立为0、1、2、3或4；

[0056] 前提是链(a) — (h) 具有12—30个碳原子，链(i) — (k) 具有12—70个碳原子；

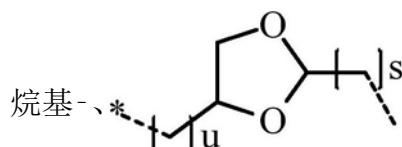
[0057] X为 $CR^6$ 或N；并且[0058]  $R^6$ 为H、卤素、 $C_{1-6}$ 烷基或 $R^4$ 。

[0059] 实施方案

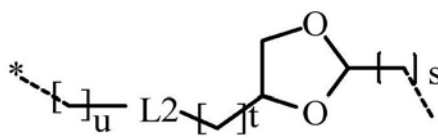
[0060] 在一个实施方案中， $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立为任选取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在另一个实施方案中， $R^1$ 和 $R^2$ 各自独立为任选取代的甲基或任选取代的乙基。在另一个实施方案中， $R^1$ 为甲基， $R^2$ 为任选取代的乙基。在另一个实施方案中， $R^1$ 和 $R^2$ 均为甲基。

[0061] 在另一个实施方案中， $R^1$ 和 $R^2$ 一起结合形成任选取代的4—7元杂环环。在另一个实施方案中，所述4—7元杂环环为任选取代的氮杂环丁基、任选取代的吡咯基或任选取代的哌啶基。在另一个实施方案中，所述4—7元杂环环为氮杂环丁基、吡咯基或哌啶基，它们每一个任选被一个OH取代。在另一个实施方案中，所述4—7元杂环环为氮杂环丁基、吡咯基或哌啶基。

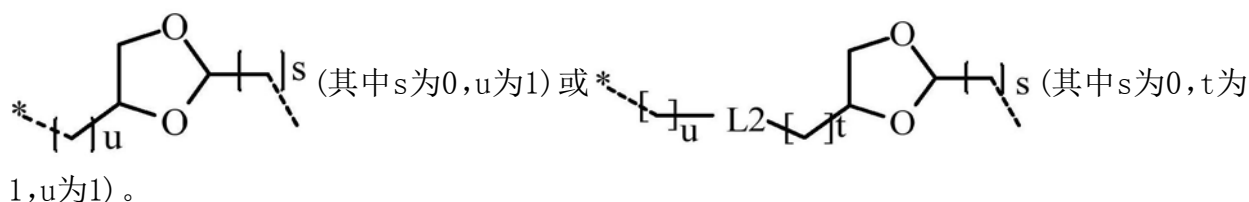
[0062] 在另一个实施方案中，L为 $C_{1-6}$ 亚烷基、 $^*-C_{1-4}$ 亚烷基-L2-、 $^*-C_{1-4}$ 亚烷基-L2- $C_{1-4}$ 亚



或



[0063] 在另一个实施方案中，L为 $^*-C_{1-3}$ 亚烷基-L2-、 $^*-C_{1-4}$ 亚烷基-L2- $C_{1-2}$ 亚烷基-、



[0064] 在另一个实施方案中,L为亚甲基、亚乙基或亚丙基。在另一个实施方案中,L为亚甲基。

[0065] 在另一个实施方案中,L2,以任何一个方向连接的,为-C(=O)O-、-OC(=O)-或-CONH-。

[0066] 在另一个实施方案中,L为\*-C<sub>1-3</sub>亚烷基-O-C(=O)-。

[0067] 在另一个实施方案中,L为\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-C<sub>1-2</sub>亚烷基-,其中L2,以任何一个方向连接的,为-C(=O)O-或-OC(=O)-。

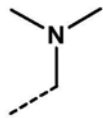
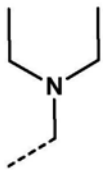
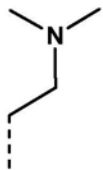
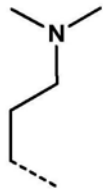
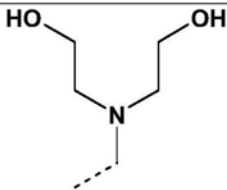
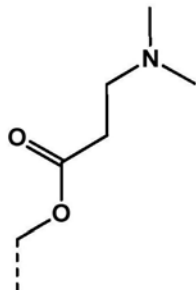
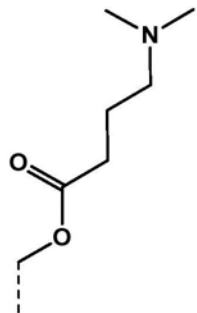
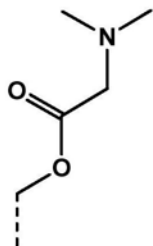
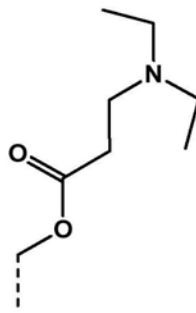
[0068] 在另一个实施方案中,L为:



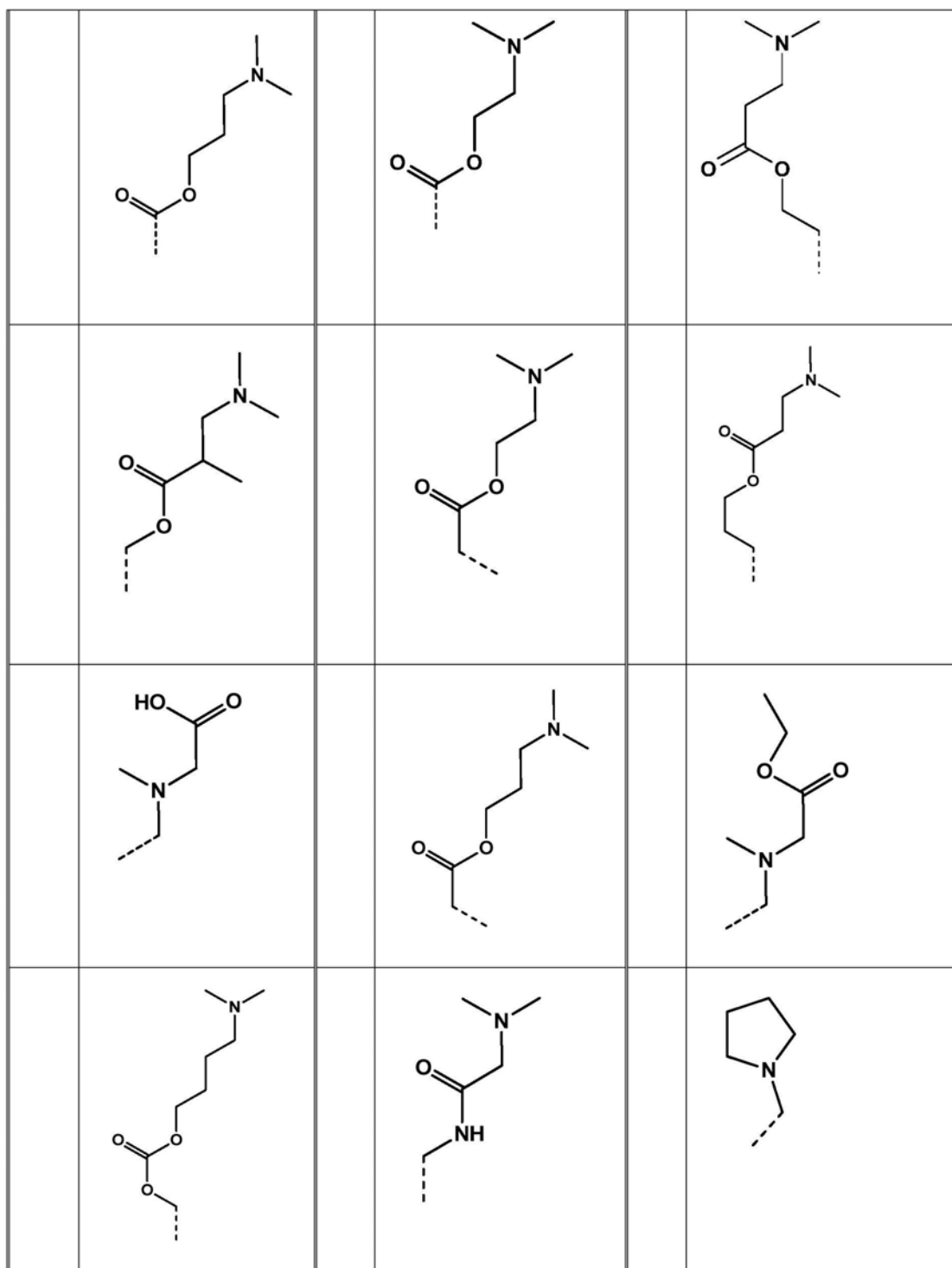
[0070] 在一个实施方案中,式(I)的L-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团选自表1中的目录。

[0071] 表1. 式(I)的L-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团,其中虚线表示与式(I)的连接点。

[0072]

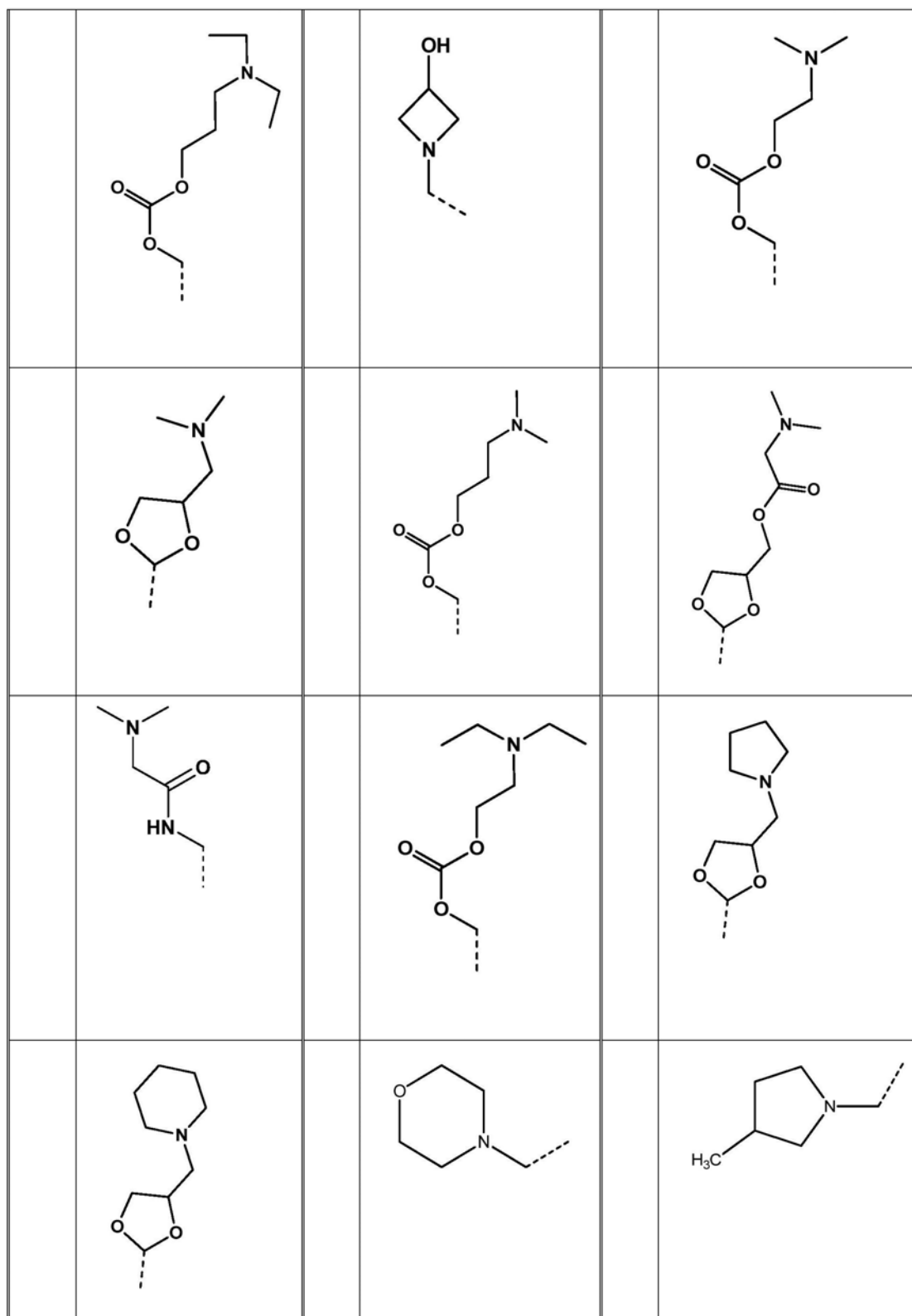
结构	结构	结构
		
		
		

[0073]

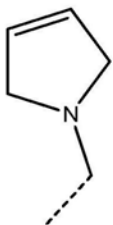
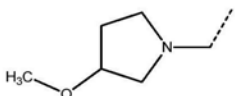
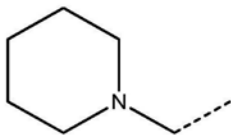
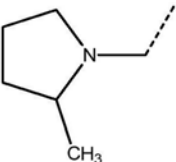
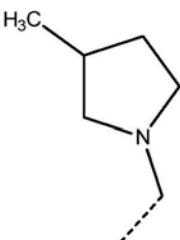
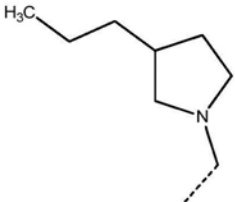
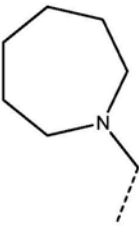
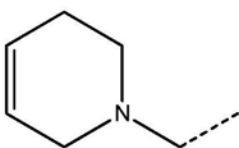
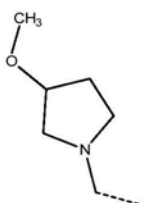




[0074]

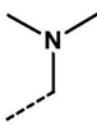
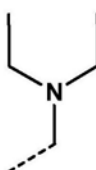
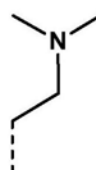


[0075]

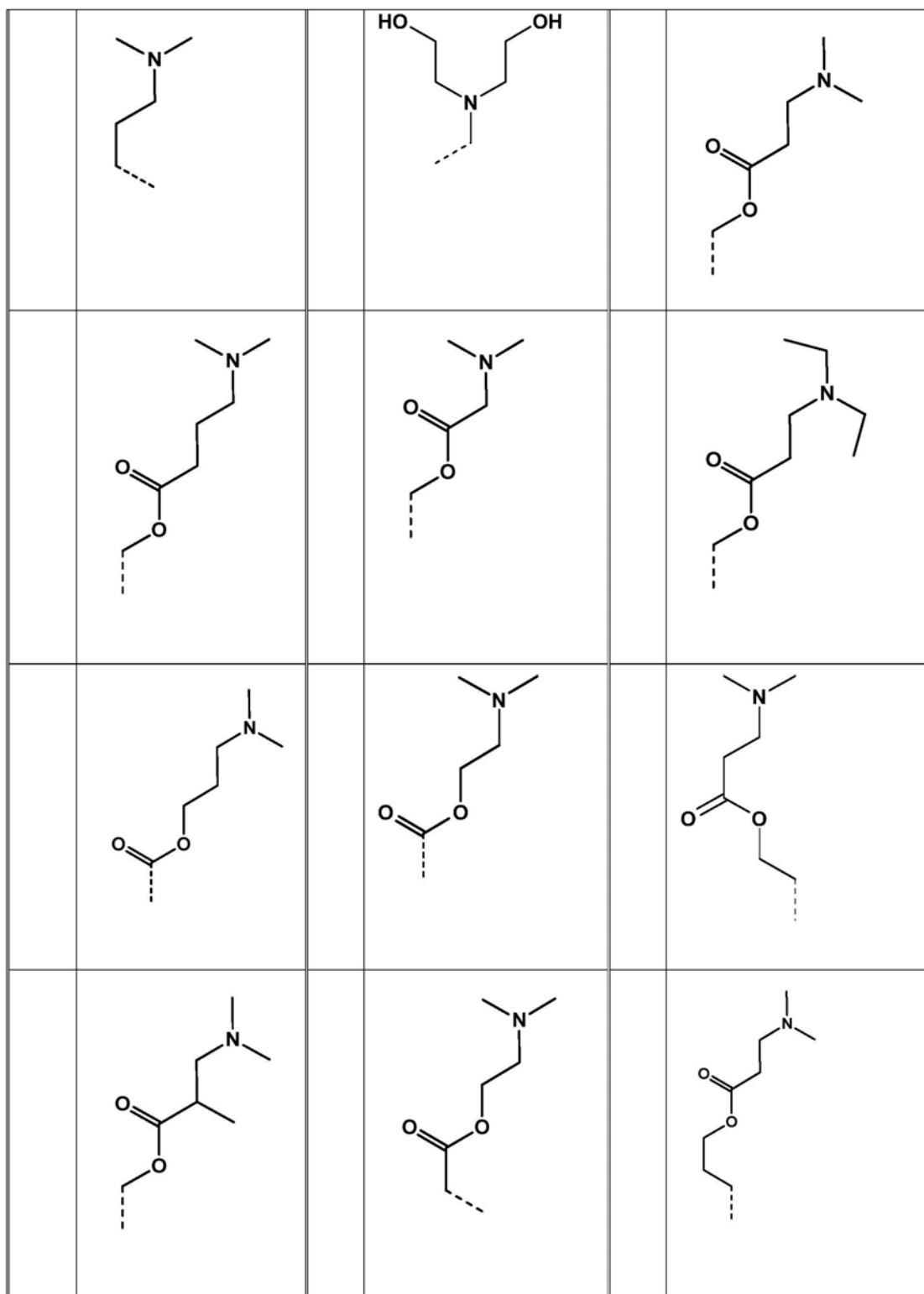
		
		
		

[0076] 在另一个实施方案中,式(I)的L-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团选自表2中的目录。[0077] 表2. 式(I)的L-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团。其中虚线表示与式(I)的连接点。

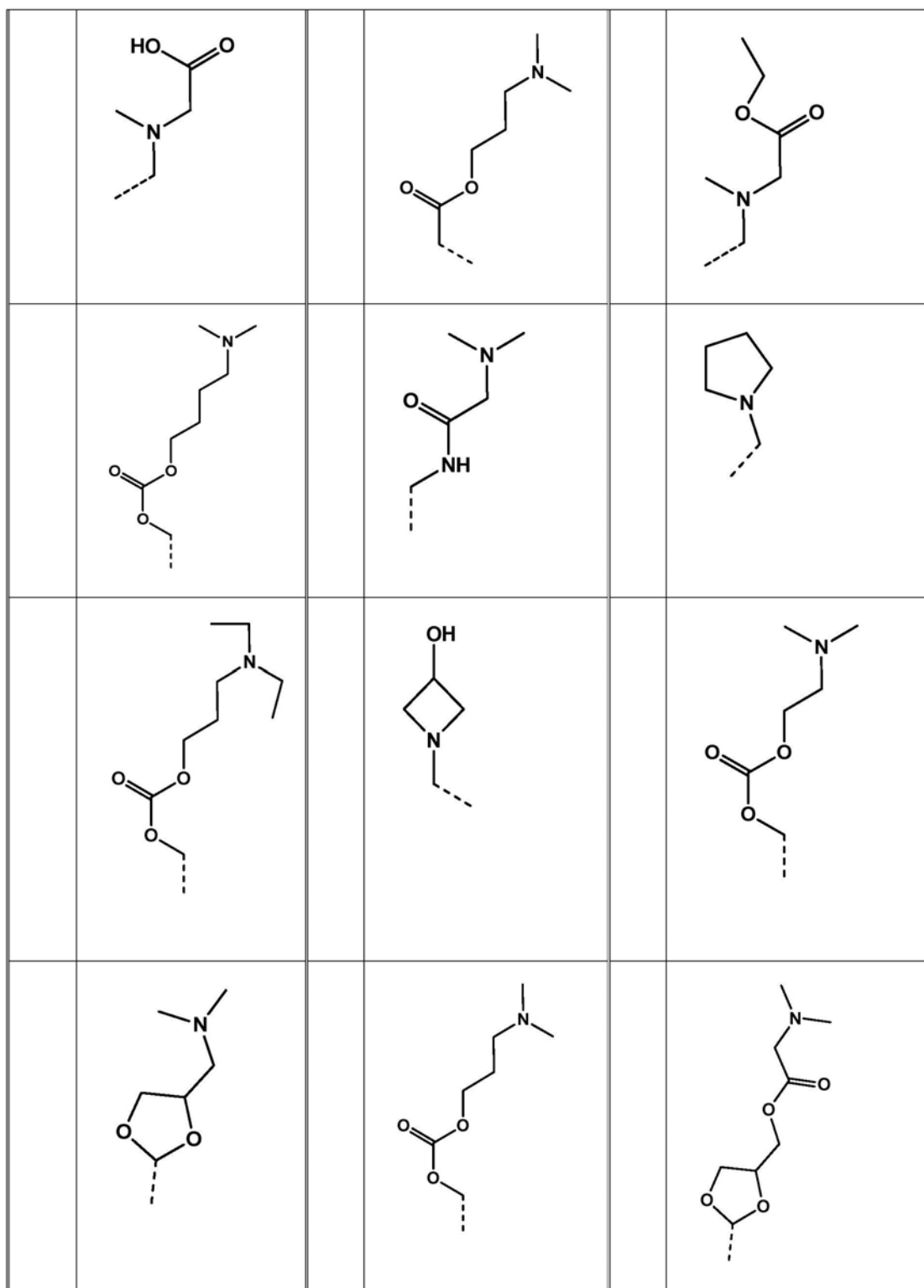
[0078]

结构	结构	结构
		

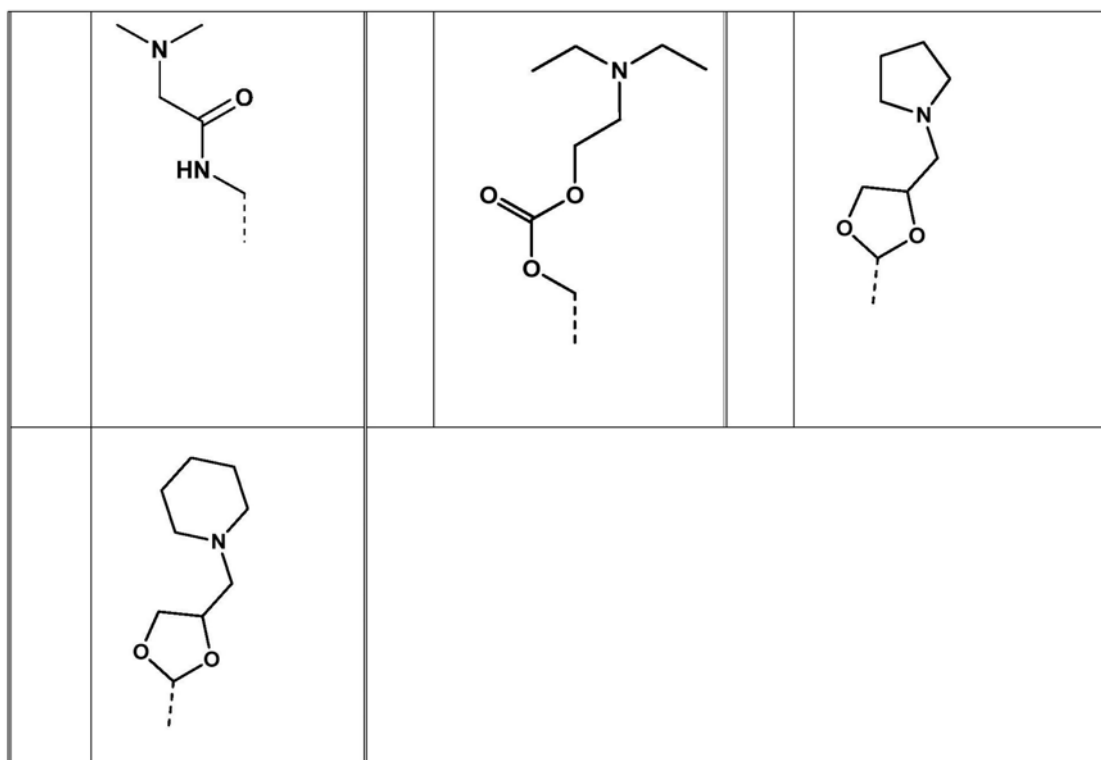
[0079]



[0080]



[0081]

[0082] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为:[0083] (a)  $-Z^1-R^a$ ,[0084] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,[0085] (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,[0086] (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ ,[0087] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,[0088] (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,[0089] (i)  $-R^c$ , 或[0090] (j)  $-Z^1-R^b-R^c$ 。[0091] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为:[0092] (a)  $-Z^1-R^a$ ,[0093] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,[0094] (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,[0095] (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ ,[0096] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$  或[0097] (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ 。[0098] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为:[0099] (a)  $-Z^1-R^a$ ,[0100] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$  或[0101] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ 。[0102] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为:[0103] (a)  $-Z^1-R^a$ , 其中  $R^a$  为  $C_{12-18}$  链烯基。[0104] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为:

- [0105] (a)  $-Z^1-R^a$ , 其中  $R^a$  为  $C_{16-18}$  链烯基。
- [0106] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ 。
- [0107] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ 。
- [0108] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (i)  $-R^c$  或 (j)  $-Z^1-R^b-R^c$ 。
- [0109] 在另一个实施方案中,  $R^4=R^3$ 。
- [0110] 在另一个实施方案中,  $R^a$  为  $C_{2-22}$  烷基或  $C_{2-22}$  链烯基。在另一个实施方案中,  $R^a$  为  $C_{4-20}$  烷基。在另一个实施方案中,  $R^a$  为  $C_{5-18}$  烷基。在另一个实施方案中,  $R^a$  为具有 1—3 个双键的  $C_{2-22}$  链烯基。在另一个实施方案中,  $R^a$  为具有 1—3 个双键的  $C_{10-20}$  链烯基, 优选具有 1 或 2 个双键。在另一个实施方案中,  $R^a$  为具有 1—3 个双键的  $C_{11-18}$  链烯基, 优选 1 或 2 个双键, 更优选 2 个双键。在另一个实施方案中,  $R^a$  为具有 1—3 个双键的  $C_{12-18}$  链烯基, 优选 1 或 2 个双键, 更优选 2 个双键。在另一个实施方案中,  $R^a$  为具有 1—3 个双键的  $C_{16-18}$  链烯基, 优选 1 或 2 个双键, 更优选 2 个双键。
- [0111] 在另一个实施方案中, 每个  $R^b$  独立为  $C_{1-20}$  亚烷基。在另一个实施方案中, 每个  $R^b$  独立为  $C_{1-15}$  亚烷基, 优选为  $C_{1-10}$  亚烷基。
- [0112] 在另一个实施方案中,  $R^c$  为 (c1) 或 (c3)。在另一个实施方案中,  $R^c$  为 (c1) 或 (c3), 其中  $n$  为 1 或 2;  $m$  为 0 或 1;  $p$  为 1。
- [0113] 在另一个实施方案中,  $Z^1$  为  $-O-$ 、 $-OCO-$  或  $-CONH-$ 。优选  $Z^1$  为  $-O-$ 。优选  $Z^1$  为  $-OCO-$ 。
- [0114] 在另一个实施方案中,  $Z^2$  为  $-OCO-$ 、 $-COO-$ 、 $-NHCO-$  或  $-OCOO-$ 。优选  $Z^2$  为  $OCO-$  或  $COO-$ 。优选  $Z^2$  为  $-OCO-$ 。
- [0115] 在另一个实施方案中,  $Z^3$  为  $-OCO-$  或  $-COO-$ 。
- [0116] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (a)  $-Z^1-R^a$ 、(b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$  或 (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-O-$ 。
- [0117] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ 、(f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$  或 (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-OCO-$ 。
- [0118] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (a)  $-Z^1-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-O-$ 、 $-OCO-$  或  $CONH-$ ,  $R^a$  为  $C_{12-18}$  链烯基, 优选为具有 1—3 个双键的  $C_{15-18}$  链烯基, 优选 1 或 2 个双键, 更优选为 2 个双键。优选  $R^4=R^3$ 。
- [0119] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-O-$ ,  $Z^2$  为  $-OCO-$ ,  $R^b$  为  $C_{1-15}$  亚烷基 (优选为  $C_{2-10}$  亚烷基),  $R^a$  为  $C_{5-18}$  烷基或具有 1—3 个双键的  $C_{11-18}$  链烯基。优选  $R^4=R^3$ 。
- [0120] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  是相同的, 均为 (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-O-$ ,  $Z^2$  为  $-OCO-$ ,  $R^b$  为  $C_{3-9}$  亚烷基,  $R^a$  为具有 2 个双键的  $C_{16-18}$  链烯基。在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  是相同的, 均为 (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-O-$ ,  $Z^2$  为  $-OCO-$ ,  $R^b$  为  $C_{3-9}$  亚烷基,  $R^a$  为  $C_{7-11}$  烷基。
- [0121] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-O-$ ,  $Z^2$  为  $-O-$  或  $-OCO-$ ,  $Z^3$  为  $-O-$ ,  $R^b$  独立为  $C_{2-7}$  亚烷基和  $R^a$  为  $C_{8-9}$  烷基或具有 2 个双键的  $C_{17}$  链烯基。优选  $R^4=R^3$ 。
- [0122] 在另一个实施方案中,  $R^3$  和  $R^4$  各自独立为 (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ , 其中  $Z^1$  为  $-OCO-$ ,  $R^b$  为亚甲基,  $R^a$  为  $C_{12-18}$  烷基或具有 2 个双键的  $C_{17}$  链烯基。优选  $R^4=R^3$ 。

[0123] 在另一个实施方案中,  $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为 $(f)R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ , 其中 $Z^1$ 为 $-OC(=O)-$ ,  $Z^2$ 为 $-C(=O)-$ 、 $-NHCO-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)-$ , 每个 $R^b$ 独立为 $C_{2-9}$ 亚烷基,  $R^a$ 为 $C_{7-9}$ 烷基或具有2个双键的 $C_{17-18}$ 链烯基。优选 $R^4=R^3$ 。

[0124] 在另一个实施方案中, X为 $CR^6$ , 其中 $R^6$ 为H、氯、溴或 $C_{1-3}$ 烷基。优选X为CH。

[0125] 在另一个实施方案中, X为N。

[0126] 本发明的一个实施方案中的化合物选自:

[0127] 1-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)-N,N-二甲基甲胺;

[0128] 1-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-N,N-二甲基甲胺;

[0129] 2,2'-((3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)氮杂二基)二乙醇;

[0130] 1-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)吡咯烷;

[0131] 1-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)氮杂环丁烷-3-醇;

[0132] 2-((3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)(甲基)氨基)乙酸乙酯;

[0133] 1-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)吡咯烷;

[0134] 2-((3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)(甲基)氨基)乙酸

[0135] 1-((2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基)吡咯烷;

[0136] 1-(2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)-N,N-二甲基甲胺;

[0137] 1-((2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基)哌啶;

[0138] (2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基2-(二甲基氨基)乙酸酯;

[0139] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基4-(二甲基氨基)丁酸酯;

[0140] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基3-(二甲基氨基)丙酸酯;

[0141] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基2-(二甲基氨基)乙酸酯;

[0142] 4-甲基-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基3-(二甲基氨基)丙酸酯;

[0143] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基3-(二甲基氨基)-2-甲基丙酸酯;

[0144] 2-(二甲基氨基)乙基2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)异烟酸酯;

[0145] 3-(二甲基氨基)丙基2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)异烟酸酯;

[0146] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯);

[0147] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((4-(二甲基氨基)丁酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯);

[0148] (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基3-(二乙基氨基)丙酸酯;

[0149] (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基4-(二甲基氨基)丁酸酯;

- [0150] (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基3-(二甲基氨基)丙酸酯;
- [0151] 1-(2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)-N,N-二甲基甲胺;
- [0152] 二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基)5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)异邻苯二甲酸酯;
- [0153] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氨基甲酰基)苄基3-(二甲基氨基)丙酸酯;
- [0154] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氨基甲酰基)苄基4-(二甲基氨基)丁酸酯;
- [0155] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基3-(二甲基氨基)丙酸酯;
- [0156] 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基(3-(二甲基氨基)丙基)碳酸酯;
- [0157] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-((((2-(二甲基氨基)乙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯);
- [0158] 3-(二甲基氨基)丙基4-异丙基-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基碳酸酯;
- [0159] 4-溴-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基(3-(二甲基氨基)丙基)碳酸酯;
- [0160] 4-氯代-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基(3-(二甲基氨基)丙基)碳酸酯;
- [0161] N-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-2-(二甲基氨基)乙酰胺;
- [0162] 3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)丙基3-(二甲基氨基)丙酸酯;
- [0163] N,N-二甲基-1-(3,4,5-三((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)甲胺;
- [0164] 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-N,N-二甲基乙胺;和
- [0165] 3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-N,N-二甲基丙-1-胺。
- [0166] 本发明的另一个实施方案中的化合物选自下列化合物:
- [0167] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);
- [0168] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);
- [0169] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((2-(二甲基氨基)乙酰氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);
- [0170] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((2-(二甲基氨基)乙酰氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);
- [0171] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);
- [0172] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((4-(二甲基氨基)丁酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)



二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0173] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0174] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0175] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0176] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二己酸酯；

[0177] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二辛酸酯；

[0178] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(癸烷-10,1-二基)二辛酸酯；

[0179] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(癸烷-10,1-二基)二己酸酯；

[0180] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0181] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0182] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二(癸酸酯)；

[0183] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二辛酸酯；

[0184] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0185] (8Z,8'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二(十二碳-8-烯酸酯)；

[0186] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-2-甲基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0187] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)；

[0188] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)双十二烷酸酯；

[0189] (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二乙基氨基)甲基)-2-甲基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0190] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(3-辛基十一烷酸酯)；

[0191] 二癸基8,8' - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二辛酸酯；

[0192] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)双十二烷酸酯；

[0193] (Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二油酸酯；

[0194] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)双十四烷酸酯;

[0195] (9Z,9'Z,12Z,12'Z,15Z,15'Z)-(5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12,15-三烯酸酯);

[0196] (9Z,12Z)-4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-(油酰基氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12-二烯酸酯;

[0197] (9Z,12Z,15Z)-4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酰基氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12,15-三烯酸酯;

[0198] 二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基)5,5'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二戊酸酯;

[0199] 二(十二烷基)6,6'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二己酸酯;

[0200] (9Z,12Z)-3-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(3-(3-辛基十一酰基)氧基)丙氧基)苯氧基)丙基十八-9,12-二烯酸酯;

[0201] (5-((二甲基氨基)甲基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三(癸烷-10,1-二基)三辛酸酯;

[0202] (5-((二乙基氨基)甲基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三(癸烷-10,1-二基)三辛酸酯;

[0203] (9Z,12Z)-4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-(Z)-十二碳-8-烯酰基氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12-二烯酸酯;

[0204] (9Z,12Z)-4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-(3-辛基十一酰基)氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12-二烯酸酯;

[0205] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(吡咯烷-1-基甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);

[0206] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(7-己基十三烷酸酯);

[0207] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(9-戊基十四烷酸酯);

[0208] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(5-庚基十二烷酸酯);

[0209] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(3-辛基十一烷酸酯);

[0210] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(3-(哌啶-1-基)丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);

[0211] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(3-(二甲基氨基)丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);

[0212] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(3-吗啉代丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯);

[0213] (5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯);和

[0214] (5-(((4-(二甲基氨基)丁酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)。

[0215] 本发明另一个实施方案中的化合物选自下列：

[0216] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0217] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0218] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)双十三烷酸酯；

[0219] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(3-辛基十一烷酸酯)；

[0220] (9Z,12Z)-3-((二甲基氨基)甲基)-5-(((3-辛基十一酰基)氧基)甲基)苄基十八-9,12-二烯酸酯；

[0221] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0222] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((((2-(二甲基氨基)乙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0223] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((((3-(二甲基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0224] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(5-庚基十二烷酸酯)；

[0225] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(7-己基十三烷酸酯)；和

[0226] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(9-戊基十四烷酸酯)。

[0227] 本发明另一个实施方案中的化合物选自下列：

[0228] 0,0'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基)二琥珀酸酯；

[0229] 0,0'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(10-(辛酰基氧基)癸基)二琥珀酸酯；

[0230] 0<sup>1</sup>,0<sup>1</sup>-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))8-二壬基二辛酸酯；

[0231] 0<sup>1</sup>,0<sup>1</sup>-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))9-二辛基二壬二酸酯；

[0232] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0233] (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(8-氧代辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)；

[0234] (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二辛酸酯；

[0235] (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(6-氧代己烷-6,1-二基)二辛酸酯；

[0236] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(10-(辛酰基氧基)癸酸酯)；

[0237] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(8-(辛酰基氧基)辛酸酯)；

[0238] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(6-氧代己烷-6,1-二基)二(癸酸酯)；

[0239] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(8-癸酰胺基辛酸酯)；和

[0240] (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(6-(((壬基氧基)羰基)氧基)己酸酯)。

[0241] 本发明另一个实施方案中的化合物选自下列：

[0242] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基))二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0243] (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((二乙基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基))二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)；

[0244] (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二(癸酸酯)；和

[0245]  $0'^1,0^1$ -((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基))9-二辛基二壬二酸酯。

[0246] 本发明另一个实施方案中的化合物选自下列：

[0247] 4,4'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-1,2-二基)四辛酸酯；

[0248] (R)-4-(3-((S)-3,4-二(辛酰基氧基)丁氧基)-5-((二甲基氨基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯；

[0249] (S)-4-(3-((S)-3,4-二(辛酰基氧基)丁氧基)-5-((二甲基氨基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯；

[0250] (R)-4-(3-((R)-3,4-二(辛酰基氧基)丁氧基)-5-((二甲基氨基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯；

[0251] 2-(3-(4-(5-((二甲基氨基)甲基)-2-甲基-3-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯氧基)丁氧基)-3-氧代丙基)丙烷-1,3-二基二己酸酯；

[0252] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基))二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯；

[0253] ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(亚甲基))二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯；和

[0254] (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基))二(氧基))二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯。

[0255] 本文中使用的术语“烷基”是指具有规定数目碳原子的完全饱和的支链或非支链烃链。例如， $C_{1-6}$ 烷基是指具有1—6个碳原子的烷基。烷基可以任选被一或多个式(I)中所定义的取代基取代。烷基的代表性示例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基、正癸基、正十一烷基、正十二烷基、正十三烷基、9-甲基十七烷基等。

[0256] 本文中使用的术语“亚烷基”是指上文中所定义的二价烷基。亚烷基的代表性示例包括但不限于亚甲基、亚乙基、正亚丙基、异亚丙基、正亚丁基、仲亚丁基、异亚丁基、叔亚丁

基、正亚戊基、异亚戊基、新亚戊基、正-亚己基、3-甲基亚己基、2,2-二甲基亚戊基、2,3-二甲基亚戊基、正亚庚基、正亚辛基、正亚壬基、正亚癸基等。

[0257] 本文中使用的术语“链烯基”是指具有规定数目碳原子并且在链中具有一或多个碳-碳双键的不饱和的支链或非支链烃链。例如,  $C_{2-6}$  链烯基是指具有2—6个碳原子并且在链中具有一或多个碳-碳双键的链烯基。在某些实施方案中, 链烯基在链中具有一个碳-碳双键。在其它实施方案中, 链烯基在链中具有一个以上的碳-碳双键。链烯基可以任选被一或多个式(I)中所定义的取代基取代。链烯基的代表性示例包括但不限于乙烯基、丙烯基、丁烯基、戊烯基、己烯基等。链烯基的其它示例包括但不限于: Z-十八-9-烯基、Z-十一碳-7-烯基、Z-十七-8-烯基、(9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯基、(8Z, 11Z)-十七-8, 11-二烯基和(8Z, 11Z, 14Z)-十七-8, 11, 14-三烯基。

[0258] 本文中使用的术语“亚链烯基”是指上文所定义的二价链烯基。亚链烯基的代表性示例包括但不限于亚乙烯基、亚丙烯基、亚丁烯基、亚戊烯基、亚己烯基等。

[0259] 本文中使用的术语“炔基”是指具有规定数目碳原子和一或多个碳-碳三键的不饱和的支链或非支链烃链。例如  $C_{2-6}$  炔基是指具有2—6碳原子并且在链中具有一或多个碳-碳三键的炔基。在某些实施方案中, 炔基在链中具有一个碳-碳三键。在其它实施方案中, 炔基在链中具有一个以上的碳-碳三键。炔基可以任选被一或多个式(I)中所定义的取代基取代。炔基的代表性示例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、炔丙基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。

[0260] 本文中使用的术语“亚炔基”是指上文所定义的二价炔基。亚炔基的代表性示例包括但不限于亚乙炔基、亚丙炔基、亚炔丙基、亚丁炔基、亚戊炔基、亚己炔基等。

[0261] 本文中使用的术语“烷氧基”是指通过氧桥连接的任何烷基部分(即  $-O-C_{1-3}$  烷基基团, 其中  $C_{1-3}$  烷基如本文所定义)。此类基团的示例包括但不限于甲氧基、乙氧基和丙氧基。

[0262] 本文中使用的术语“环烷基”是指具有指定数目碳原子的饱和的单环、双环或三环烃环。例如,  $C_{3-7}$  环烷基是指具有3—7个碳原子的环烷基环。环烷基可以任选被一或多个式(I)中所定义的取代基取代。环烷基的代表性示例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、双环[2.1.1]己基、双环[2.2.1]庚基、金刚烷基等。

[0263] 本文中使用的术语“亚环烷基”是指如上文所定义的二价环烷基。

[0264] 本文中使用的术语“环烯基”是指具有规定数目碳原子和一或多个碳-碳双键的非芳族、不饱和的单环、双环或三环烃环。例如,  $C_{3-7}$  环烯基是指具有3—7个碳原子和一或多个碳-碳双键的环烯基。在某些实施方案中, 环烯基在环中具有一个碳-碳双键。在其它实施方案中, 环烯基在环中具有一个以上的碳-碳双键。环烯基的代表性示例包括但不限于环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基等。

[0265] 本文中使用的术语“亚环烯基”是指如上文所定义的二价环烯基。

[0266] 本文中使用的术语“环炔基”是指具有规定数目碳原子和一或多个碳-碳三键的不饱和的单环、双环或三环烃环。例如,  $C_{3-7}$  环炔基是指具有3—7个碳原子的环炔基。在某些实施方案中, 环炔基在环中具有一个碳-碳三键。在其它实施方案中, 环炔基在环中具有一个以上的碳-碳三键。环炔基的代表性示例包括但不限于环丙炔基、环丁炔基、环戊炔基、环己炔基、环庚炔基等。

[0267] 本文中使用的术语“亚环炔基”是指如上文所定义的二价环炔基。

[0268] 本文中使用的术语“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

[0269] 本文中使用的术语“杂环”是指含有1—4个杂原子的4—12元饱和的或不饱和的单环或双环。杂环环系不为芳族。含有一个以上杂原子的杂环基团可能含有不同的杂原子。杂环基团可以任选被一或多个式(I)中所定义的取代基取代。杂环基团可以是单环、螺环或稠合的或桥连的双环环系。单环杂环基团的示例包括四氢呋喃基、二氢呋喃基、1,4-二噁烷基、吗啉基、1,4-二噻烷基、氮杂环丁基、哌嗪基、哌啶基、1,3-二氧戊环基、咪唑烷基、咪唑啉基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、1,2,3,6-四氢吡啶基、氧硫杂环戊烷基、二硫杂环戊烷基、1,3-二噁烷基、1,3-二噻烷基、氧杂噻烷基、硫代吗啉基、1,4,7-三氧杂-10-氮杂环十二烷基、氮杂环庚基(azapanyl)等。螺杂环的示例包括但不限于1,5-二氧杂-9-氮杂螺[5.5]十一烷基、1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸基、2-氮杂-7-氮杂螺[3.5]壬基等。稠合的杂环环系具有8—11个环原子,包括其中杂环与苯环稠合的基团。稠合杂环的示例包括但不限于十氢喹啉基(decahydroquiniliny)、(4aS,8aR)-十氢异喹啉基、(4aS,8aS)-十氢异喹啉基、八氢环戊二烯并[c]吡咯基、isoinolinyl、(3aR,7aS)-六氢-[1,3]二氧杂环戊烯并(dioxolo)[4.5-c]吡啶基、八氢-1H-吡咯并[3,4-b]吡啶基、四氢异喹啉基等。

[0270] 本文中使用的术语“光学异构体”或“立体异构体”是指本发明指定化合物可能存在的任何各种立体异构构型,包括几何异构体。应当理解,取代基可以与碳原子的手性中心连接。术语“手性”是指与其镜像分子对具有非重叠性特征的分子,而术语“非手性”是指与其镜像分子对能够重叠的分子。因此,本发明包括化合物的对映异构体、非对映异构体或外消旋体。“对映异构体”是彼此镜像不重叠的一对立体异构体。一对对映异构体的1:1混合物为“外消旋”混合物。在适当的时候,该术语用于命名外消旋混合物。“非对映异构体”为具有至少两个不对称原子的立体异构体,但是它们不是彼此的镜像。绝对立体化学根据Cahn-Ingold-Prelog R-S系统说明。当化合物为纯对映体时,每个手性碳的立体化学可以指定为R或S。根据它们在钠D线波长处旋转平面偏振光的方向(右旋或左旋),可以将绝对构型未知的拆分化合物指定为(+)或(-)。本文中所述的某些化合物含有一或多个不对称中心或轴,因此可以产生对映异构体、非对映异构体和其它立体异构形式,它们可以根据绝对立体化学指定为(R)-或(S)-。

[0271] 根据选择的原料和工艺方法,化合物可以是可能存在的异构体形式之一,或者是其混合物的形式,例如根据不对称碳原子的数目,可以是纯光学异构体或异构体混合物,例如外消旋体和非对映异构体混合物,或者几何(顺式或反式)异构体。本发明应当包括所有此类可能的异构体,包括外消旋混合物、非对映异构体混合物和光学纯形式。光学活性的(R)-和(S)-异构体可以采用手性合成子或手性试剂制备,或者采用常规技术拆分。如果化合物含有双键,则取代基可以是E或Z构型。如果化合物含有二取代的环烷基,则该环烷基取代基可以具有顺式-或反式-构型。还应当包括所有的互变异构形式。

[0272] 本发明化合物的任何不对称原子(例如碳原子等)可以存在外消旋或对映体富集,例如(R)-、(S)-或(R,S)-构型。在某些实施方案中,在(R)-或(S)-构型中每个不对称原子具有至少50%的对映体过量、至少60%的对映体过量、至少70%的对映体过量、至少80%的对映体过量、至少90%的对映体过量、至少95%的对映体过量或至少99%的对映体过量。如果可能的话,具有不饱和双键的原子的取代基可以存在顺式-(Z)-或反式-(E)-形式。

[0273] 因此,本文中使用的本发明化合物可以是下列可能存在的形式之一:异构体、旋转

异构体、阻转异构体、互变异构体或其混合物,例如基本上纯的几何(顺式或反式)异构体、非对映异构体、光学异构体(对映体)、外消旋体或其混合物。

[0274] 任何获得的异构体混合物可以根据其组成成分的物理化学性质的不同分离为纯的或基本上纯的几何或光学异构体、非对映异构体、外消旋体,例如通过色谱方法和/或分步结晶的方法分离。

[0275] 任何获得的终产物或中间体的外消旋物根据已知的方法拆分为光学异构体,例如通过分离采用光学活性的酸或碱获得的其非对映体盐,释放出光学活性的酸性或碱性化合物。因此,尤为特别的是,碱性部分可以用于将本发明化合物拆分为其光学对映体,例如通过盐的分步结晶方法拆分,所述盐采用光学活性的酸形成,例如酒石酸、二苯甲酰基酒石酸、二乙酰基酒石酸、二-0,0'-对-苯甲酰基酒石酸、扁桃酸、苹果酸或樟脑-10-磺酸。外消旋产物也可以通过手性色谱方法拆分,例如采用手性吸附剂的高效液相色谱(HPLC)方法。

[0276] 本文中使用的术语“盐”是指本发明化合物的酸加成盐或碱加成盐。“盐”特别包括可药用的盐。术语“可药用的盐”是指能够保持本发明化合物的生物学效能和特性的盐,其通常不具有生物学上或其它方面的不希望的特性。在多种情况下,由于氨基和/或羧基基团或其相似基团的存在,本发明化合物能够形成酸和/或碱盐。

[0277] 可药用的酸加成盐可以采用无机酸和有机酸形成,例如乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、chlorthephyllonate、柠檬酸盐、乙二磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐/碘化物、羟乙基磺酸盐、乳酸盐、乳糖酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。

[0278] 用于盐衍生的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

[0279] 用于盐衍生的有机酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、磺基水杨酸等。可药用的碱加成盐可以用无机碱或有机碱形成。

[0280] 用于盐衍生的无机碱包括例如铵盐和来自周期表I-XII族的金属。在某些实施方案中,盐可以衍生自钠、钾、铵、钙、镁、铁、银、锌和铜;特别适合的盐包括铵盐、钾盐、钠盐、钙盐和镁盐。

[0281] 用于盐衍生的有机碱包括例如伯、仲和叔胺、取代的胺(包括天然存在的取代的胺)、环状胺、碱性离子交换树脂等。某些有机胺包括异丙胺、苄星青霉素(benzathine)、胆碱酸盐(choline)、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、葡甲胺、哌嗪和氨丁三醇。

[0282] 本发明的可药用的盐可以通过常规化学方法由碱性或酸性部分合成。一般而言,此类盐可以通过使这些化合物的游离酸形式与化学计量的适宜的碱(例如Na、Ca、Mg或K的氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐等)反应制备,或者通过使这些化合物的游离碱形式与化学计量的适宜的酸反应来制备。此类反应通常在水中或在有机溶剂中或在两者的混合物中进行。一般而言,如果可行,使用非水性介质如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈是合乎需要的。其它适合的盐的列表可见于例如“Remington's Pharmaceutical Sciences(雷明顿

药物科学)”,第20版,Mack Publishing Company,Easton,Pa.,(1985)以及Stahl和Wermuth的“Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties,Selection,and Use(药用盐手册:性质、选择和用途)”(Wiley-VCH,Weinheim,德国,2002)。

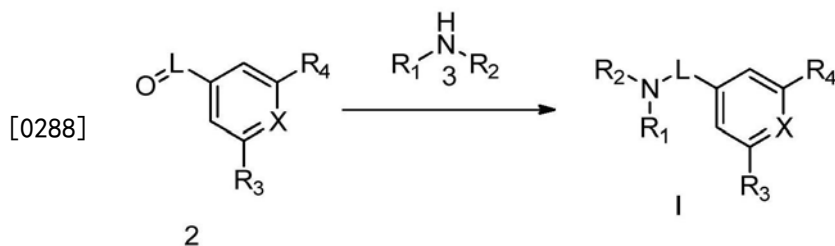
[0283] 合成阳离子脂质的通用方法

[0284] 本发明还包括制备式(I)化合物的方法。在所述反应中,当需要反应性官能团存在于终产物中时,有必要保护这些官能团,例如羟基、氨基、亚氨基、巯基或羧基,避免它们参与反应。

[0285] 本发明的化合物和方法结合下面的合成流程可以获得更好地理解,这些流程仅旨在说明制备化合物的通用方法,不应当限定权利要求中所定义的本发明的范围。

[0286] 最终的式(I)化合物可以根据流程I中所述制备。

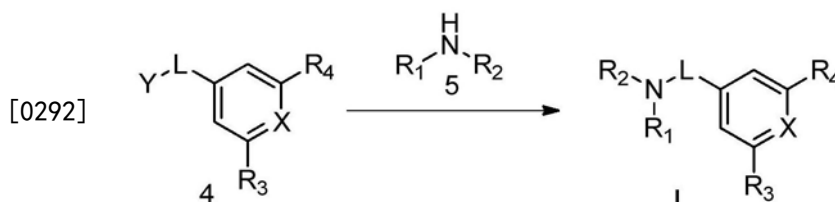
[0287] 流程I



[0289] 采用适当的还原剂(例如乙酰氧基硼氢化钠等)和任选的路易斯酸(例如四异丙醇钛等),在适当的溶剂(例如乙醇)中,使得式2化合物与式3化合物反应,可以制备式(I)化合物。该反应可以于室温至80℃之间进行,至多24小时可以完成反应。

[0290] 式(I)化合物还可以根据流程II所述方法制备。

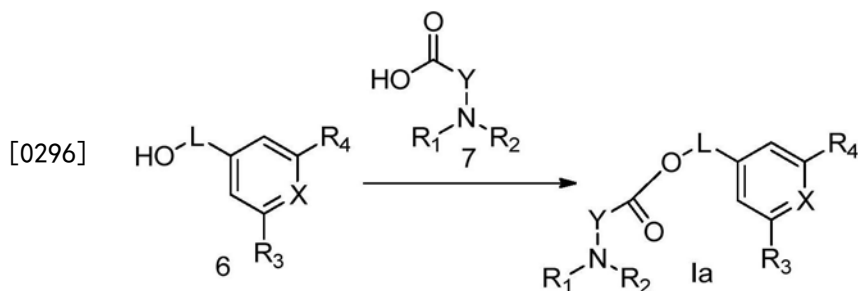
[0291] 流程II



[0293] 在DMF或其它适当的溶剂中,于20—180℃,使得式4化合物(其中Y为氯、溴、碘、甲磺酰基、甲苯磺酰基或其它离去基团)与式5化合物反应,可以制备式I化合物。

[0294] 最终的式(Ia)化合物可以根据流程III中所述制备。

[0295] 流程III



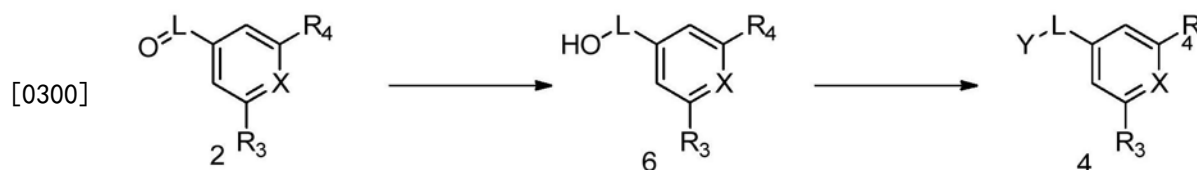
[0297] 在二氯甲烷或其它适当的溶剂中,采用EDC或其它适当的偶合剂以及任选的碱类催化剂(例如DMAP)、于20℃—150℃,通过使得式6的醇与式7的酸反应,可以制备式(Ia)化



合物。

[0298] 根据本领域技术人员已知的方法,例如流程IV中所述方法,可以采用式7的适当的前体制备式4和6化合物。

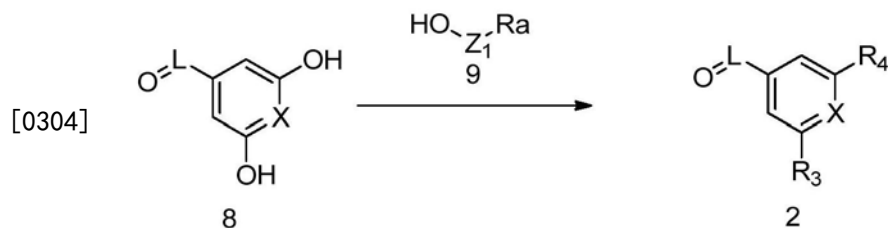
[0299] 流程IV



[0301] 在乙醇或其它适当的溶剂中,于 $-20^{\circ}\text{C}$ 至 $150^{\circ}\text{C}$ ,通过使得式2化合物与硼氢化钠或其它适当的还原剂(例如二异丁基氢化铝、硼氢化锂等)反应,可以制备式6化合物。在二氯甲烷或其它适当的溶剂中,于 $-20^{\circ}\text{C}$ 至 $80^{\circ}\text{C}$ ,通过使得式6化合物与甲磺酸酐或其它适当的活化剂(例如甲苯磺酰氯、磷酰氯等)反应,可以制备式4化合物。

[0302] 式2化合物可以根据流程V所述制备。

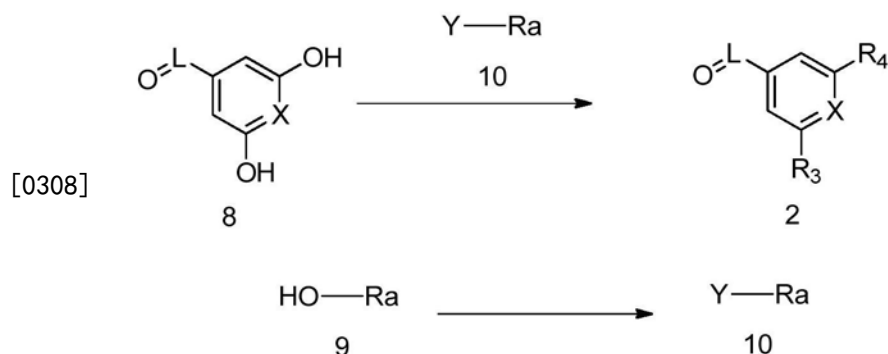
[0303] 流程V



[0305] 在DIAD或其它适当的重氮化合物(例如DEAD等)以及三苯膦或其它适当的膦(例如三甲基膦)存在下,在二氯甲烷或其它适当的溶剂中,于 $-20^{\circ}\text{C}$ 至 $50^{\circ}\text{C}$ ,通过使得式8化合物与式9化合物反应,可以制备式2化合物。

[0306] 或者,式2化合物可以根据流程VI制备。

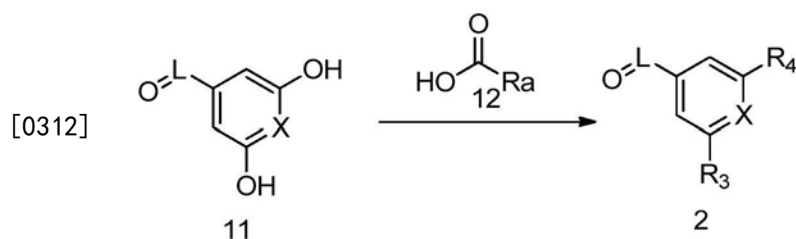
[0307] 流程VI



[0309] 在DMF或其它适当的溶剂中,于 $20$ 至 $180^{\circ}\text{C}$ ,在碳酸钾或其它适当的碱(例如碳酸铯、磷酸三钾等)存在下,通过使得式8化合物式10化合物(其中 $\text{Y}$ 为卤素、甲磺酸酯基或其它适当的离去基团)反应,可以制备式2化合物。在二氯甲烷或其它适当的溶剂中,于 $-20^{\circ}\text{C}$ 至 $180^{\circ}\text{C}$ ,在吡啶或其它适当的碱存在下,通过使得式9化合物与甲磺酰氯或其它适当的活化剂(例如甲苯磺酰氯、磷酰氯等)反应,可以制备式10化合物。

[0310] 或者,式2化合物可以根据流程VII制备。

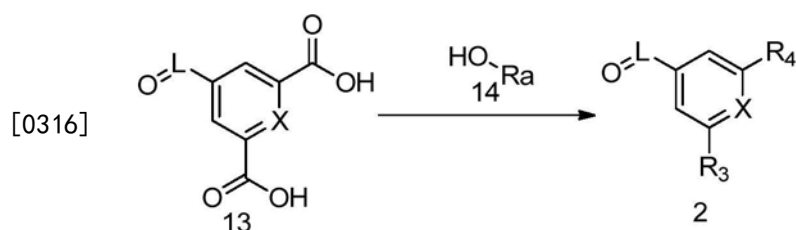
[0311] 流程VII



[0313] 在二氯甲烷或其它适当的溶剂(例如DMF、DCE等)中,于0℃至180℃,在DMAP或其它适当的催化剂以及DIEA或其它适当的碱存在下,通过使得式11化合物与式12化合物和EDC或其它适当的偶合剂(例如DIC、HATU等)反应,可以制备式2化合物。

[0314] 或者,式2化合物可以根据流程VIII制备。

[0315] 流程VIII



[0317] 在二氯甲烷或其它适当的溶剂(例如DMF、DCE等)中,于0℃至180℃。在DMAP或其它适当的催化剂以及DIEA或其它适当的碱存在下,通过使得式13化合物与式14和EDC或其它适当的偶合剂(例如DIC、HATU等)反应,可以制备式2化合物。

[0318] 阳离子脂质的pKa

[0319] 式(I)化合物为阳离子脂质,用于将生物活性成分传递至细胞和组织。已经发现,通过仅仅改变制剂中的阳离子脂质,可以将用于传递生物活性成分的脂质组合物调节至优先靶向一类细胞或器官而非另一类。例如,当用于传递至肝的制剂时,pKa为约5.1至约7.4的阳离子脂质通常是有效的。在一个实施方案中,用于传递至肝的阳离子脂质的pKa为约5.1至约7.4。在另一个实施方案中,用于传递至肝的阳离子脂质的pKa为约5.3至约7.0。在另一个实施方案中,用于传递至肝的阳离子脂质的pKa为约5.3至约6.6。对于肿瘤传递而言,当用于将生物活性成分传递至肿瘤的制剂时,pKa为约5.3至约6.4的阳离子脂质是特别有效的。因此,在一个实施方案中,用于传递至肿瘤的阳离子脂质的pKa为约5.3至约6.4。在另一个实施方案中,用于传递至肿瘤的阳离子脂质的pKa为约5.4至约6.2。在另一个实施方案中,用于传递至肿瘤的阳离子脂质的pKa为约5.8至约6.1。为了免疫治疗的目的,阳离子脂质的pKa通常为5.0—7.6,例如5.7—5.9(参见W02012/006378)。

[0320] 脂质组合物

[0321] 本发明提供了脂质组合物,其含有至少一种式(I)化合物,即本发明的脂质组合物。在一个实施方案中,存在至少一种其它脂质成分。此类组合物还可以含有生物活性成分,任选与一或多种其它脂质成分组合。

[0322] 本发明的一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物和其它脂质成分。此类其它脂质成分包括但不限于阳离子脂质、中性脂质、阴离子脂质、辅助脂质和隐形脂质。

[0323] 适用于本发明的脂质组合物的阳离子脂质包括但不限于N,N-二油烯基-N,N-二甲基氯化铵(DODAC)、N,N-二硬脂基-N,N-二甲基溴化铵(DDAB)、N-(1-(2,3-二油酰基氧基)丙

基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTAP)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、N-(1-(2,3-二油烯基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、1,2-二油酰基氨甲酰基-3-二甲基铵-丙烷(DOCDAP)、1,2-二亚麻酰基(dilinoeyl)-3-二甲基铵-丙烷(DLINDAP)、二月桂基(C<sub>12:0</sub>)三甲基铵丙烷(DLTAP)、双十八烷基酰胺基甘氨酸基精胺(DOGS)、DC-Chol、二油酰基氧基-N-[2-精胺甲酰胺基]乙基}-N,N-二甲基-1-丙铵三氟乙酸盐(DOSPA)、1,2-二豆蔻基氧基丙基-3-二甲基-羟基乙基溴化铵(DMRIE)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3-β-氧基丁-4-氧基)-1-(cis,cis-9,12-十八碳二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、N,N-二甲基-2,3-二油烯基氧基)丙基胺(DODMA)、2-[5'-(胆甾-5-烯-3[β]-氧基)-3'-氧杂戊氧基]-3-二甲基-1-(cis,cis-9',12'-十八碳二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)和N,N-二甲基-3,4-二油烯基氧基苄基胺(DMOBA)和1,2-N,N'-二油烯基氨甲酰基-3-二甲基氨基丙烷(DOcaR<sup>b</sup>DAP)。在一个实施方案中,所述阳离子脂质为DOTAP或DLTAP。

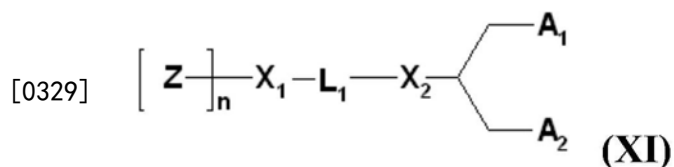
[0324] 适用于本发明的脂质组合物的中性脂质包括例如各种中性的、不带电荷的或两性离子脂质。适用于本发明的中性磷脂的示例包括但不限于:5-十七烷基苯-1,3-二醇(间苯二酚)、胆固醇半琥珀酸酯(CHEMS)、二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)、二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)、磷酸胆碱(DOPC)、二豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC)、磷脂酰胆碱(PLPC)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DAPC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、蛋磷脂酰胆碱(EPC)、二月桂酰基磷脂酰胆碱(DLPC)、二豆蔻酰基磷脂酰胆碱(DMPC)、1-豆蔻酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱(MPPC)、1-棕榈酰基-2-豆蔻酰基磷脂酰胆碱(PMPC)、1-棕榈酰基-2-硬脂酰基磷脂酰胆碱(PSPC)、1,2-二花生四烯酰基(diaR<sup>a</sup>chidoyl)-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DBPC)、1-硬脂酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱(SPPC)、1,2-双二十碳烯酰基(dieicosenoyl)-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DEPC)、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱(POPC)、溶血磷脂酰胆碱、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二亚油酰基磷脂酰胆碱二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、溶血磷脂酰乙醇胺以及它们的组合。在一个实施方案中,中性磷脂选自二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)和二豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)。

[0325] 适用于本发明的阴离子脂质包括但不限于磷脂酰甘油、心磷脂、二酰基磷脂酰丝氨酸、二酰基磷脂酸、N-十二酰基磷脂酰乙醇胺、N-琥珀酰基磷脂酰乙醇胺、N-戊二酰基磷脂酰乙醇胺和赖氨酰基磷脂酰甘油。

[0326] 适当的中性和阴离子脂质还包括描述于US 2009/0048197中的那些。

[0327] 辅助脂质是能够将转染(例如包括生物活性成分的纳米颗粒的转染)提高至一定程度的脂质。辅助脂质提高转染的机制可能包括例如提高粒子的稳定性和/或改善膜的融合性(fusogenicity)。辅助脂质包括甾体类和烷基间苯二酚类。适用于本发明的辅助脂质包括但不限于胆固醇、5-十七烷基间苯二酚和胆固醇半琥珀酸酯。

[0328] 隐形脂质是能够增加纳米颗粒在体内(例如在血液中)存在的时间长度的脂质。适用于本发明的脂质组合物的隐形脂质包括但不限于具有与脂质部分连接的亲水性头部基团的隐形脂质。此类隐形脂质的示例包括如W02011/076807中描述的式(XI)化合物或其盐或可药用的衍生物:



[0330] 其中：

[0331] Z为亲水性头部基团，选自PEG和下列聚合物：聚(噁唑啉)、聚(环氧乙烷)、聚乙烯醇)、聚(丙三醇)、聚(N-乙烯基吡咯烷酮)、聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺]、多糖和聚(氨基酸)，其中所述聚合物可以是线性的或支链的，并且其中该聚合物可以任选被取代；

[0332] 其中Z为n个亚基的聚合；

[0333] n为数均聚合度，为10—200个Z单元，其中n为对不同聚合物类型的优化；

[0334] L<sub>1</sub>为任选取代的C<sub>1-10</sub>亚烷基或C<sub>1-10</sub>杂亚烷基连接基，其包含0、1、2或多个醚(例如-O-)、酯(例如-C(O)O-)、琥珀酸酯(例如-O(O)C-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)O-)、氨基甲酸酯(例如-OC(O)-NR'-)、碳酸酯(例如-OC(O)O-)、酮(例如-C-C(O)-C-)、羰基(例如-C(O)-)、脲(例如-NR<sup>c</sup>(O)NR'-)、胺(例如-NR'-)、酰胺(例如-C(O)NR'-)、亚胺(例如-C(NR')-)、硫醚(例如-S-)、黄酸酯(例如-OC(S)<sub>s</sub>-)和磷酸二酯(例如-OP(O)<sub>2</sub>O-)；其任何一种可以被0、1或多个Z基团取代；

[0335] 其中R' 独立选自-H、-NH-、-NH<sub>2</sub>、-O-、-S-、磷酸酯或任选取代的C<sub>1-10</sub>亚烷基；

[0336] X<sub>1</sub>和X<sub>2</sub>独立选自碳或杂原子，所述杂原子选自-NH-、-O-、-S-或磷酸酯；

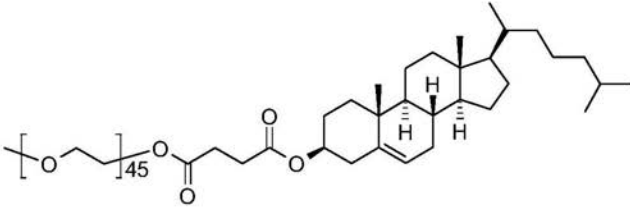
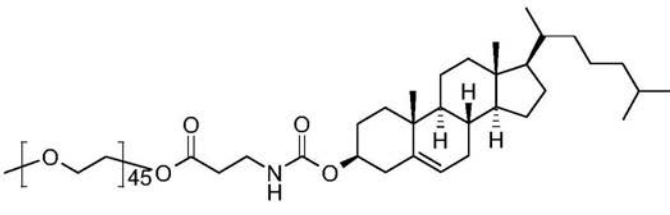
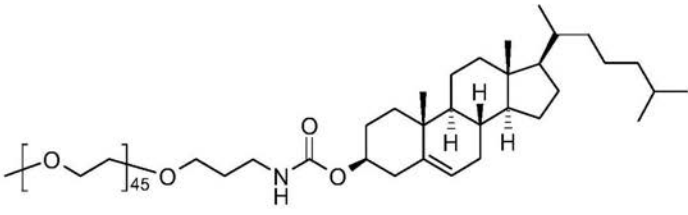
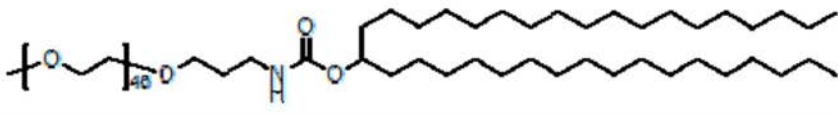
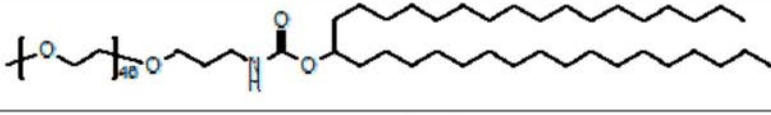
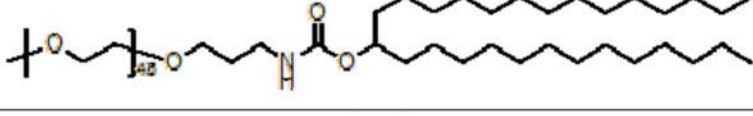
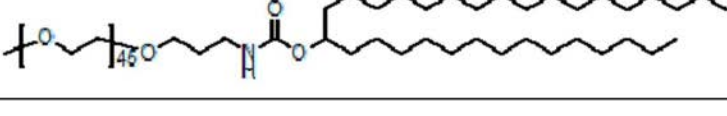
[0337] A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>独立选自C<sub>6-30</sub>烷基、C<sub>6-30</sub>链烯基和C<sub>6-30</sub>炔基，其中A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>可以是相同或不同的，

[0338] 或者其中A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>与它们所连接的碳原子一起形成任选取代的甾体。

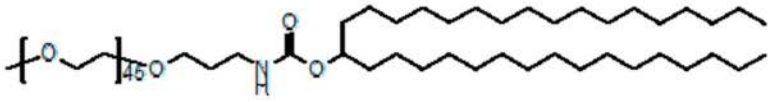
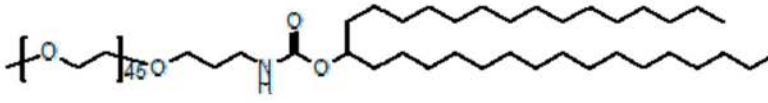
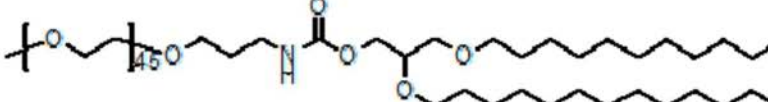
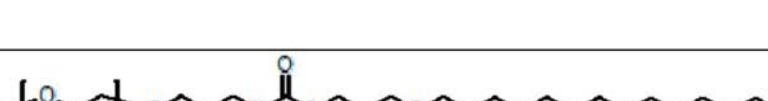
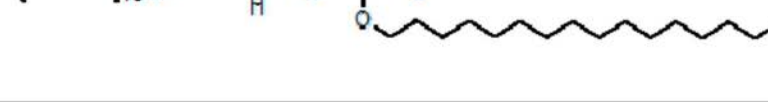

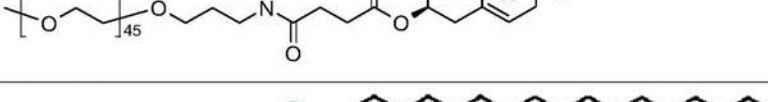
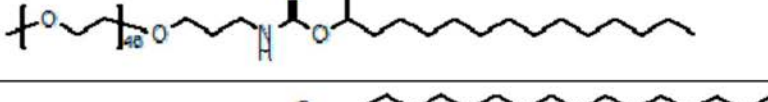
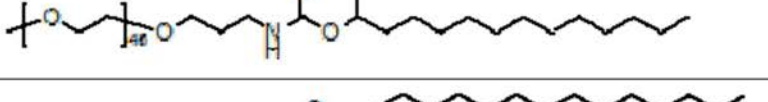
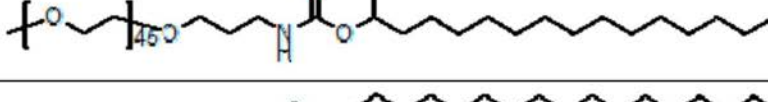
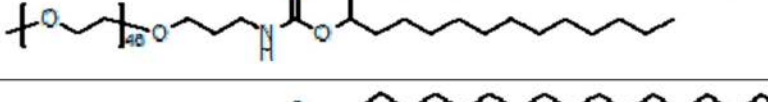
[0339] 具体的隐形脂质包括但不限于表3中所示。

[0340] 表3. 隐形脂质

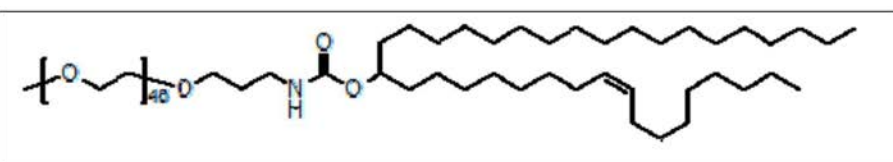
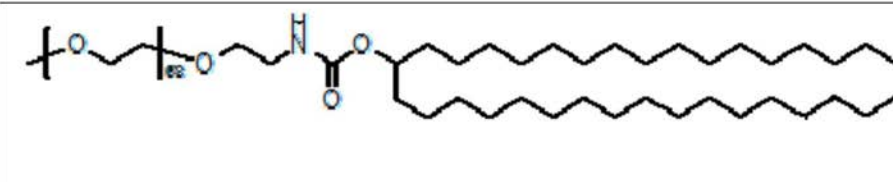
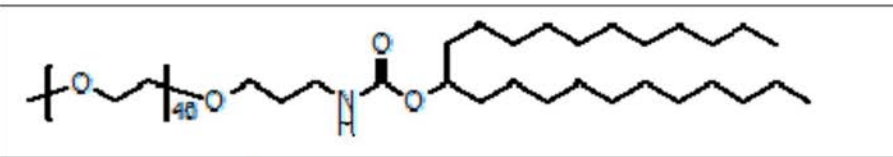
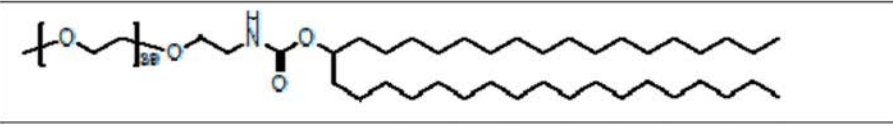
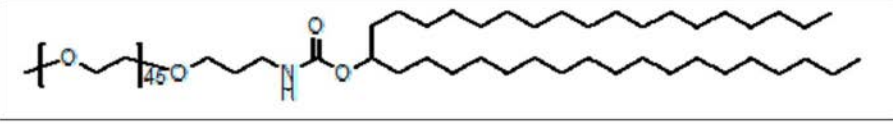
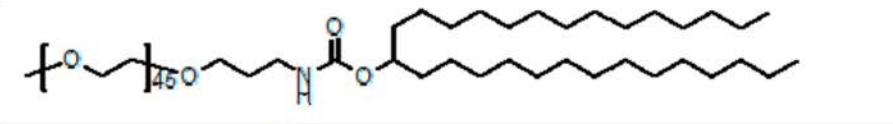
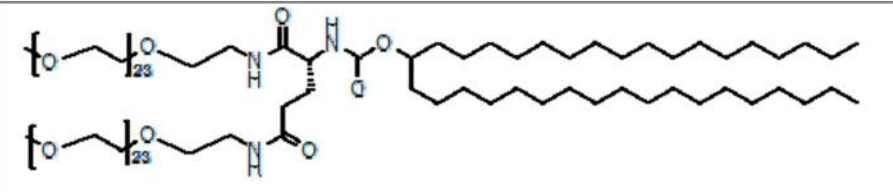
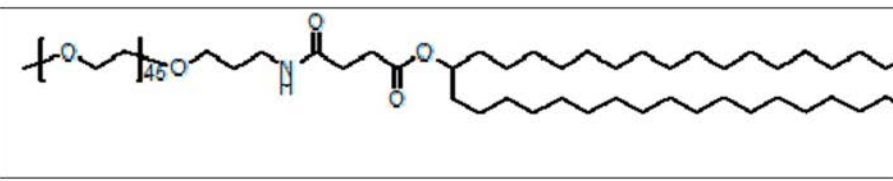
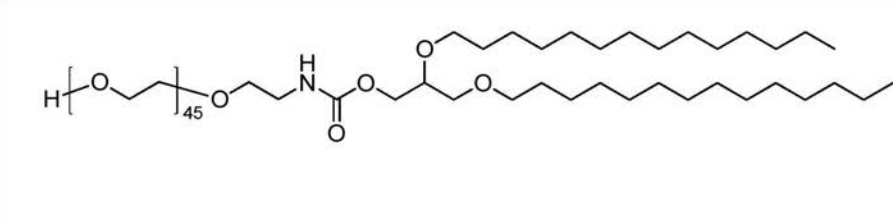
[0341]

隐形脂质	脂质
S001	
S002	
S003	
S004	
S005	
S006	
S007	

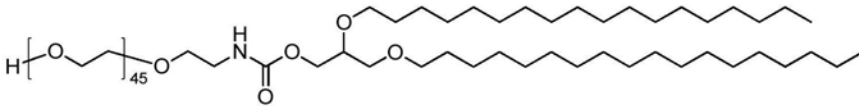
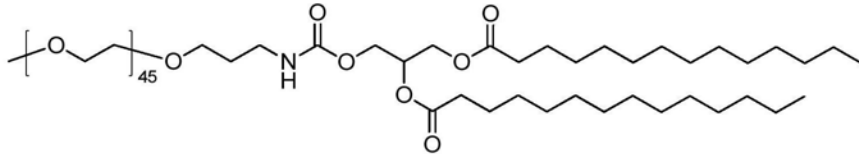
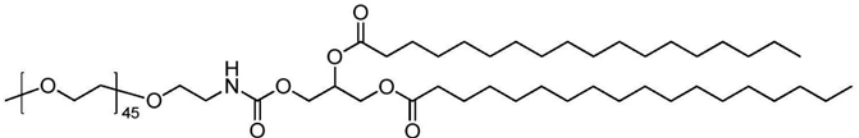
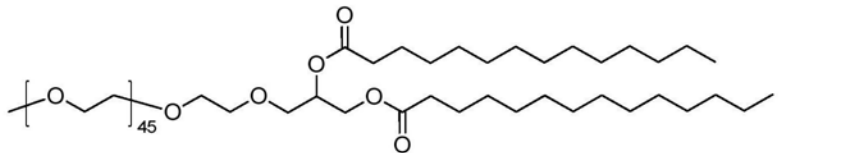
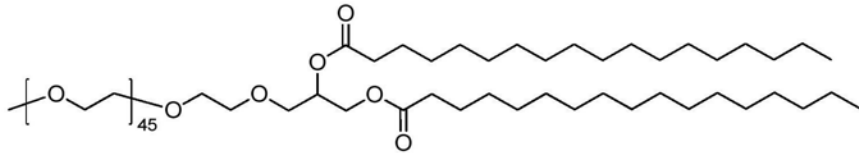
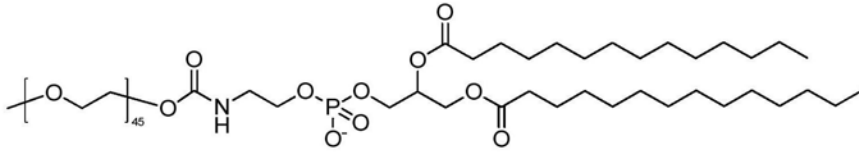
[0342]

S008	
S009	
S010	
S011	
S012	
S013	
S014	
S015	
S016	
S017	
S018	

[0343]

S019	
S020	
S021	
S022	
S023	
S024	
S025	
S026	
S027	

[0344]

<b>S028</b>	
<b>S029</b>	
<b>S030</b>	
<b>S031</b>	
<b>S032</b>	
<b>S033</b>	

[0345] 适用于本发明的脂质组合物的其它隐形脂质和此类脂质的生化信息可以参见 Romberg等, *Pharmaceutical Research*, 第25卷, 第1期, 2008, 第55—71页和 Hoekstra等, *Biochimica et Biophysica Acta* 1660 (2004) 41—52。

[0346] 在一个实施方案中, 适当的隐形脂质含有选自下列的基团: PEG (有时被称为聚(环氧乙烷)) 和基于聚(噁唑啉)、聚(乙烯醇)、聚(丙三醇)、聚(N-乙烯基吡咯烷酮)、聚氨基酸和聚[N-(2-羟基丙基)甲基丙烯酰胺]的聚合物。其它适当的PEG脂质公开于例如WO 2006/007712。

[0347] 具体的适当的隐形脂质包括聚乙二醇-二酰基甘油或聚乙二醇-二酰基咪唑二酰



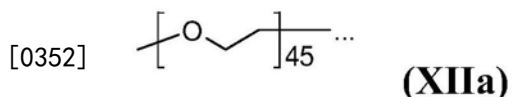
胺(diacylglycamide) (PEG-DAG) 共轭物,包括那些含有二烷基甘油或二烷基咪唑二酰胺(dialkylglycamide)基团的共轭物,其烷基链长度独立含有约C<sub>4</sub>至约C<sub>40</sub>饱和的或不饱和的碳原子。二烷基甘油或二烷基咪唑二酰胺还可以含有一或多个取代的烷基。在本文所述的任何实施方案中,PEG共轭物可以选自PEG-二月桂基甘油、PEG-二豆蔻基甘油(PEG-DMG)(目录号GM-020,源自NOF,东京,日本)、PEG-二棕榈酰基甘油、PEG-二甾醇基甘油、PEG-二月桂基咪唑二酰胺、PEG-二豆蔻基咪唑二酰胺、PEG-二棕榈酰基咪唑二酰胺和PEG-二甾醇基咪唑二酰胺、PEG-胆固醇(1-[8'-(胆甾-5-烯-3[β]-氧基)甲酰胺基-3',6'-二氧杂辛基]氨基甲酰基-[Ω]-甲基-聚(乙二醇)、PEG-DMB(3,4-双十四烷基(tetradecoxy)苄基-[Ω]-甲基-聚(乙二醇)醚)、1,2-二豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)-2000](目录号880150P源自Avanti Polar lipids,Alabaster,Alabama,USA)。

[0348] 在一个实施方案中,隐形脂质为S010、S011或S024。

[0349] 在另一个实施方案中,隐形脂质为PEG-二豆蔻基甘油(PEG-DMG)。

[0350] 除非另有说明,本文中使用的术语“PEG”是指任何聚乙二醇或其它聚亚烷基醚聚合物。在一个实施方案中,PEG为乙二醇或环氧乙烷的任选取代的直链或支链聚合物。在一个实施方案中,PEG为未取代的。在一个实施方案中,PEG为取代的,例如被一或多个烷基、烷氧基、酰基或芳基取代。在一个实施方案中,该术语包括PEG共聚合物,例如PEG-聚氨酯或PEG-聚丙烯(参见例如J.Milton Harris,聚(乙二醇)化学:生物技术和生物医学应用(poly(glycol)chemistry:biotechnical and biomedical applications)(1992));在另一个实施方案中,该术语不包括PEG共聚物。在一个实施方案中,PEG的分子量为约130至约50,000,在一个子实施方案中为约150至约30,000,在一个子实施方案中为约150至约20,000,在一个子实施方案中为约150至约15,000,在一个子实施方案中为约150至约10,000,在一个子实施方案中为约150至约6000,在一个子实施方案中为约150至约5000,在一个子实施方案中为约150至约4000,在一个子实施方案中为约150至约3000,在一个子实施方案中为约300至约3000,在一个子实施方案中为约1000至约3000,在一个子实施方案中为约1500至约2500。

[0351] 在某些实施方案中,PEG为“PEG-2K”,也称为“PEG 2000”,其平均分子量为约2000道尔顿。PEG-2K在本文中由下面式(XIIa)表示,其中n为45,也就是说,数均聚合度包括约45个亚基。然而,也可以采用本领域中已知的其它PEG实施方案,包括例如其中数均聚合度含有约23个亚基(n=23)和/或68个亚基(n=68)的那些。



[0353] 本发明的脂质组合物也可以包含一或多种生物活性成分、包括但不限于抗体(例如单克隆的、嵌合的、人源化的纳米抗体及其片段等)、胆固醇、激素、肽、蛋白质、化疗剂和其它类型的抗肿瘤药物、低分子量药物、维生素、辅助因子、核苷、核苷酸、寡核苷酸、酶的核酸、反义核酸、三链形成寡核苷酸、反义DNA或RNA的组合物、嵌合的DNA:RNA的组合物、异型酶、适体、核酶、诱饵及其类似物、质粒和其它类型的表达载体以及小核酸分子、RNAi试剂、短干扰核酸(siNA)、短干扰RNA(siRNA)、双链RNA(dsRNA)、微-RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)、分子肽核酸(PNA)、锁核酸核糖核苷酸(LNA)、吗啉代核苷酸、苏糖核酸(TNA)、乙二醇核酸(GNA)、sisRNA(小内部分段干扰RNA)、aiRNA(不对称干扰RNA)和具有1、2个或多个

有义和反义链之间错配到相关细胞和/或组织的siRNA,例如在细胞培养、个体或有机体中错配。本发明的脂质组合物还可以包括作为生物活性成分的mRNA(信使RNA)。此类化合物可以是纯化的或部分纯化的,可以是天然存在的或合成的,可以是化学修饰的。在一个实施方案中,生物活性成分为RNAi成分、短干扰核酸(siNA)、短干扰RNA(siRNA)、双链RNA(dsRNA)、微-RNA(miRNA)或短发夹RNA(shRNA)分子。在一个实施方案中,生物活性成分为RNAi成分,用于介导RNA干扰(RNAi)。在另一个实施方案中,生物活性成分为siRNA成分。在另一个实施方案中,生物活性成分为mRNA。

[0354] 将生物活性成分加载到脂质组合物(例如脂质体和脂质纳米颗粒)中的各种方法在本领域中是可用的,包括被动和主动加载方法。使用的精确方法可以基于多种因素进行选择,包括但不限于例如待加载的生物活性成分、加载后使用的储存方法、获得的粒子的大小以及计划的剂量方案。方法包括例如:将药物和脂质机械混合,在脂质体形成或重构时,将所有成分溶于有机溶剂,将它们浓缩为干膜,形成pH或离子梯度,使得活性成分进入脂质体的内部,产生跨膜电位和离子载体介导的加载。参见,例如,PCT公开号W0 95/08986、美国专利号5,837,282、美国专利号5,837,282和美国专利号7,811,602。

[0355] “脂质纳米颗粒”是指含有多种(即一种以上)脂质分子的颗粒,所述脂质分子通过分子间力彼此物理结合。脂质纳米颗粒可以是例如微球(包括单层和多层囊泡,例如脂质体)、乳剂中的分散相、混悬液中的胶束或内相。

[0356] 脂质纳米颗粒的大小为约1至约2,500nm,约1至约1,500nm,约1至约1,000nm,在一个子实施方案中为约50至约600nm,在一个子实施方案中为约50至约400nm,在一个子实施方案中为约50至约250nm,在一个子实施方案中为约50至约150nm。除非另有说明,本文中所述的所有大小是完整成形的纳米颗粒的平均大小(直径),通过Malvern Zetasizer的动态光散射测定。将纳米颗粒样品在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中稀释至计数率为约200—400kcts。该数据表示为强度测定的加权平均值。

[0357] 本发明的一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物和其它脂质成分。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物和辅助脂质(例如胆固醇)。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)和中性脂质(例如DSPC)。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DSPC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024)。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DSPC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024)和生物活性成分(例如siRNA)。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DSPC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024)和生物活性成分(例如mRNA)。另一个实施方案提供了脂质纳米颗粒,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DSPC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024)和生物活性成分(例如siRNA)。另一个实施方案提供了脂质纳米颗粒,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DSPC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024)和生物活性成分(例如mRNA)。

[0358] 本发明的实施方案还提供了根据制剂中脂质组分不同摩尔比描述的脂质组合物,其中斜线("/")表示本文中提供的各个组分。

[0359] 本发明的另一个实施方案为脂质组合物,其含有式(I)化合物和辅助脂质(例如胆

固醇),其中脂质摩尔比为55-40式(I)化合物/55-40辅助脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)和中性脂质(例如DPSC),其中脂质摩尔比为55-40式(I)化合物/55-40辅助脂质/15-5中性脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DPSC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024),其中脂质摩尔比为55-40式(I)化合物/55-40辅助脂质/15-5中性脂质/10-1隐形脂质。

[0360] 本发明的另一个实施方案为脂质组合物,其含有式(I)化合物和辅助脂质(例如胆固醇),其中脂质摩尔比为50-40式(I)化合物/50-40辅助脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)和中性脂质(例如DPSC),其中脂质摩尔比为50-40式(I)化合物/50-40辅助脂质/15-5中性脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DPSC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024),其中脂质摩尔比为50-40式(I)化合物/50-40辅助脂质/15-5中性脂质/5-1隐形脂质。

[0361] 本发明的另一个实施方案为脂质组合物,其含有式(I)化合物和辅助脂质(例如胆固醇),其中脂质摩尔比为47-43式(I)化合物/47-43辅助脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)和中性脂质(例如DPSC),其中脂质摩尔比为47-43式(I)化合物/47-43辅助脂质/12-7中性脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DPSC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024),其中脂质摩尔比为47-43式(I)化合物/47-43辅助脂质/12-7中性脂质/4-1隐形脂质。

[0362] 本发明的另一个实施方案为脂质组合物,其含有式(I)化合物和辅助脂质(例如胆固醇),其中脂质摩尔比为约45式(I)化合物/约44辅助脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)和中性脂质(例如DPSC),其中脂质摩尔比为约45式(I)化合物/约44辅助脂质/约9中性脂质。另一个实施方案提供了脂质组合物,其含有式(I)化合物、辅助脂质(例如胆固醇)、中性脂质(例如DPSC)和隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024),其中脂质摩尔比为约45式(I)化合物/约44辅助脂质/约9中性脂质/约2隐形脂质(例如PEG-DMG、S010、S011或S024)。

[0363] 在上面脂质组合物中使用的优选的式(I)化合物在实施例38、40、41、42、43、44、47、52、62、63、92、93、94和112给出。特别优选的化合物在实施例38和52给出。在上面脂质组合物中使用的优选的生物活性成分为siRNA's。在上面脂质组合物中使用的另一种优选的生物活性成分为mRNA。

[0364] 本发明的脂质组合物还可以由本领域技术人员通过将具有需要的pKa范围的阳离子脂质、隐形脂质、辅助脂质和中性脂质在制剂中组合而进一步优化,所述制剂包括例如脂质体制剂、脂质纳米颗粒(LNP)制剂等,用于传递至体内特定的细胞和组织。在一个实施方案中,进一步优化可以通过调节这些各种类型的脂质的脂质摩尔比而完成。在一个实施方案中,进一步优化可以通过调节下列一或多种因素而完成:需要的粒子大小、N/P比例、制剂方法和/或剂量方案(例如一段时间内给予的剂量数、准确的剂量mg/kg、给药的时间、与其它治疗方法的组合等)。本领域技术人员已知的与上述实施方案相关的各种优化技术应当被视为是本发明的一部分。

[0365] 制备脂质纳米颗粒的通用方法

[0366] 下面的方法可以用于制备本发明的脂质纳米颗粒。为了使得颗粒的粒径减小和/或均匀度增加,技术人员可以采用下面所列示的方法步骤,试用不同的组合。另外,技术人员可以采用脂质体制剂中使用的超声、过滤或其它分选(sizing)技术。

[0367] 本发明组合物的制备方法通常包括:提供在第一个容器中的含有生物活性成分的水溶液(例如柠檬酸盐缓冲液),提供含有脂质的有机溶液(例如有机醇,如乙醇)的第二个容器,然后将水溶液与有机脂质溶液混合。第一个容器任选与第二个容器之间以流体连通。所述混合步骤任选随后是温育步骤、过滤步骤以及稀释步骤和/或浓缩步骤。温育步骤包括使得获自混合步骤的溶液于约室温下在容器中静置约0至约100小时(优选约0至约24小时)并任选避光保护。在一个实施方案中,温育步骤后是稀释步骤。稀释步骤包括采用缓冲水溶液(例如柠檬酸盐缓冲液)稀释,例如采用泵装置(如蠕动泵)。过滤步骤为超滤。超滤包括浓缩稀释液,随后是渗滤,例如采用适当的泵系统(例如泵装置,如蠕动泵或类似装置)以及超滤膜(例如GE中空纤维滤芯或等同物)。

[0368] 在一个实施方案中,混合步骤提供了澄清的单相。

[0369] 在一个实施方案中,混合步骤后,除去有机溶剂提供了颗粒的混悬液,其中生物活性成分被脂质包封,例如在脂质双层中。

[0370] 有机溶剂的选择退出包括考虑溶剂的极性以及在颗粒形成的后期该溶剂是否易于除去。有机溶剂也可以用作增溶剂,优选使用的量足以提供生物活性成分和脂质的澄清的单相混合物。有机溶剂可以选自下列一或多种(例如两种):氯仿、二氯甲烷、乙醚、环己烷、环戊烷、苯、甲苯、甲醇和其它脂肪醇类(例如C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>),例如乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、叔丁醇、异丁醇、戊醇和己醇。

[0371] 混合步骤可以通过多方法进行,例如通过机械设备,如涡旋混合器。

[0372] 用于除去有机溶剂的方法通常包括渗滤(diafiltration)或减压蒸发或者吹入惰性气体流(例如氮气或氩气)穿过混合物。

[0373] 在其它实施方案中,该方法该包括加入非脂质聚合阳离子,其可以用于促进使用本发明组合物对细胞的转化。适当的非脂质聚合阳离子包括但不限于海美溴铵(hexadimethrine bromide)(销售商品名POLYBRENE<sup>(R)</sup>,源自Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wis., USA)或海地美胺的其它盐。其它适当的聚合阳离子包括例如聚-L-鸟氨酸、聚-L-精氨酸、聚-L-赖氨酸、聚-D-赖氨酸、聚烯丙基胺和聚乙烯亚胺的盐。

[0374] 在某些实施方案中,脂质纳米颗粒的形成可以在单相系统(例如Bligh和Dyer单相或水溶液和有机溶剂的类似混合物)或两相系统中通过适当的混合进行。

[0375] 脂质纳米颗粒可以在单相或两相系统中形成。在单相系统中,阳离子脂质和生物活性成分各自溶于大量的单相混合物中。将两种溶液混合可以获得单一混合物,其中形成复合体。在两相系统中,阳离子脂质与生物活性成分(存在于水相中)结合,将其“拉”入有机相。

[0376] 在一个实施方案中,脂质纳米颗粒通过包括下列步骤的方法制备:(a)使得生物活性成分与包含非阳离子脂质和去垢剂的溶液接触,形成化合物-脂质混合物;(b)使得阳离子脂质与化合物-脂质混合物接触以中和生物活性成分的部分负电荷,形成生物活性成分和脂质的电荷被中和的混合物;和(c)自电荷被中和的混合物去除除垢剂。

[0377] 在一组实施方案中,中性脂质和去垢剂的溶液为水溶液。使得生物活性成分与中性脂质和去垢剂的溶液接触通常可以通过将生物活性成分的第一种溶液与脂质和去垢剂的第二种溶液一起混合而完成。优选生物活性成分溶液也是去垢剂溶液。本方法中使用中性脂质的量通常根据使用的阳离子脂质的量确定,一般为约0.2—5倍的阳离子脂质的量,优选约0.5至约2倍的使用的阳离子脂质的量。

[0378] 将如此形成的生物活性成分-脂质混合物与阳离子脂质接触以中和存在的相关分子(或者其它聚阴离子材料)携带的部分负电荷。使用的阳离子脂质的量通常应当是足以中和生物活性成分的至少50%的负电荷的量。优选负电荷至少70%被中和,更优选至少90%被中和。

[0379] 用于除去去垢剂的方法通常包括渗析。当有机溶剂存在时,除去通常可以通过减压下的渗滤或蒸发,或者吹入惰性气体流(例如氮气或氩气)穿过混合物。

[0380] 本文公开了制备本发明组合物的装置。该装置通常包括用于盛放含有生物活性成分水溶液的第一个容器以及用于盛放有机脂质溶液的第二个容器。该装置还通常包括装配的机械泵,用于将水溶液和有机脂质溶液以基本上相同的流速泵入混合区或混合室。在一个实施方案中,混合区或混合室包含T形连接器或其等同物,它使得水液流和有机液流在输入T形连接器时混合,获得的混合的水溶液和有机溶液自T形连接器输出进入收集容器或其等同物。

[0381] 传递生物活性成分以及治疗疾病的方法

[0382] 式(I)的阳离子脂质及其脂质组合物可以用于药用组合物或制剂,用于传递生物活性成分。因此,含有式(I)的阳离子脂质或其脂质组合物的制剂可以是各种形式,包括但不限于颗粒形成传递剂(particle forming delivery agents),包括微粒、纳米颗粒和转染剂,它们用于将各种分子传递至细胞。特定的制剂可以有效地转染或传递生物活性成分,例如抗体(例如单克隆的、嵌合的、人源化的纳米抗体及其片段等)、胆固醇、激素、肽、蛋白质、化疗剂和其它类型的抗肿瘤药物、低分子量药物、维生素、辅助因子、核苷、核苷酸、寡核苷酸、酶的核酸、反义核酸、三链形成寡核苷酸、反义DNA或RNA的组合物、嵌合的DNA:RNA的组合物、异型酶、适体、核酶、诱饵及其类似物、质粒和其它类型的表达载体以及小核酸分子、RNAi试剂、短干扰核酸(siNA)、短干扰RNA(siRNA)、双链RNA(dsRNA)、微-RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)、分子肽核酸(PNA)、锁核酸核糖核苷酸(LNA)、吗啉代核苷酸、苏糖核酸(TNA)、乙二醇核酸(GNA)、sisRNA(小内部分段干扰RNA)、aiRNA(不对称干扰RNA)和具有1、2个或多个有义和反义链之间错配到相关细胞和/或组织的siRNA,例如在细胞培养、个体或有机体中错配。上述生物活性成分仅是典型示例,并非是加以限定。例如,脂质制剂也可以有效地将mRNA成分转染或传递至细胞。此类化合物可以纯化或者部分纯化,可以是天然存在的或合成,可以是化学修饰的。

[0383] 此类含有生物活性成分的制剂可以用于例如提供组合物以预防、抑制或治疗细胞、患者或有机体中的疾病、病症或症状(traits)。所述疾病、病症或症状包括但不限于增生性疾病,包括癌症、炎症性疾病、移植和/或组织排斥、自身免疫性疾病或病症、与年龄相关的疾病、神经或神经变性疾病、呼吸系统疾病、心血管疾病、眼部疾病、代谢疾病、皮肤病、听觉疾病、肝脏疾病、肾脏或肾功能疾病等。

[0384] 每次给予活性成分的量高于最小治疗量但低于中毒量。每次给药的实际量可以由

医师根据多种因素而确定,例如患者的病史、其它治疗方法的使用、提供的生物活性成分以及疾病的性质。给予的生物活性成分的量可以在治疗期间调整,取决于患者对治疗的响应以及任何与治疗有关的副作用的存在与否或严重程度。由适当的管理机构批准的化合物的典型剂量和治疗方法是本领域技术人员熟知的和可用的。参见,例如,Physician's Desk Reference (医师案头手册),第64版,Physician's Desk Reference Inc. (2010); Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物科学),Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa. (1985); Remington The Science and Practice of Pharmacy (雷明顿药理学和实践),第21版,Lippincott Williams&Williams Publishers (2005)。

[0385] 在一个实施方案中,可以给予需要的患者单次剂量的生物活性成分。在一个实施方案中,可以给予多剂量,其中多剂量可以同时、顺序或交替给予。在一个实施方案中,相同制剂可以多剂量给药。在一个实施方案中,制剂可以以不同的多剂量给药。在多个实施方案中,所述剂量可以每天给药一次,或者以1、2、3、4或更多连续天给药。在一个实施方案中,所述剂量可以每周给药一次。在一个实施方案中,所述剂量可以每隔一周给药一次。在一个实施方案中,患者接受至少两个疗程的治疗方案,有时可能为更多疗程,这取决于患者对治疗的响应。在单一成分的方案中,治疗的总疗程由患者和医师根据观察到的响应和毒性决定。上述治疗方案应当被视为非限定性示例。其它治疗方案也应当包含在本发明的范围内并取决于预期的治疗效果。

[0386] 本发明还提供了治疗疾病或病症的方法,该方法包括给予需要治疗的患者治疗有效量的本发明的脂质组合物。在一个实施方案中,所述疾病或病症通过给予siRNA药物可以治疗。在另一个实施方案中,所述疾病或病症通过给予mRNA药物可以治疗。

[0387] 本发明还提供了本发明的脂质组合物在患者中治疗疾病或病症的方法。在一个实施方案中,所述疾病或病症通过给予siRNA药物可以治疗。在另一个实施方案中,所述疾病或病症通过给予mRNA药物可以治疗。

[0388] 在一个实施方案中,给予的组合物中脂质的总量为约5至约30mg脂质/mg生物活性成分(例如siRNA),在另一个实施方案中,为约5至约25mg脂质/mg生物活性成分(例如siRNA),在另一个实施方案中,为约7至约25mg脂质/mg生物活性成分(例如siRNA),在一个实施方案中,为约7至约15mg脂质/mg生物活性成分(例如siRNA)。

[0389] 在另一个实施方案中,给予的组合物中脂质的总量为约5至约30mg脂质/mg生物活性成分(例如mRNA),在另一个实施方案中,为约5至约25mg脂质/mg生物活性成分(例如mRNA),在另一个实施方案中,为约7至约25mg脂质/mg生物活性成分(例如mRNA),在一个实施方案中,为约7至约15mg脂质/mg生物活性成分(例如mRNA)。

[0390] 本文中使用的“治疗”包括改善、治愈和预防性治疗。本文中使用的“患者”是指需要治疗的动物,优选哺乳动物,优选人类。

[0391] 术语“治疗有效量”是指用于治疗或改善目标疾病或病症的本发明化合物和生物活性成分(例如治疗性化合物)的量。

[0392] 术语“免疫有效量”是指本发明化合物和RNA的量,其能够编码诱发免疫应答所需要的免疫原,所述应答能够识别免疫原(例如在病原体的情况下)。术语“免疫原”是指当被引入机体时能够引发免疫应答的任何物质或生物体。短语“能够编码免疫原的RNA”是指多核苷酸,例如信使RNA或复制子,细胞或生物体能够根据此类RNA的密码子序列转译到多肽

中。

[0393] 本文中使用的“增生性疾病”是指任何疾病、病症、症状、基因型或表型，其特征在于本领域中公知的未经调节的细胞生长或复制。在一个实施方案中，所述增生性疾病为癌症。在一个实施方案中，所述增生性疾病为肿瘤。在一个实施方案中，所述增生性疾病包括但不限于例如液体肿瘤，如白血病，例如急性骨髓性白血病 (AML)、慢性髓细胞性白血病 (CML)、急性淋巴细胞性白血病 (ALL)、多发性骨髓瘤和慢性淋巴细胞白血病；实体瘤，例如 AIDS 相关癌症，如卡波济氏肉瘤；乳腺癌、骨癌、脑癌、头颈癌、非霍奇金淋巴瘤、腺瘤、鳞状细胞癌、喉癌、胆囊癌和胆管癌、视网膜癌、食道癌、胃肠癌、卵巢癌、子宫癌、甲状腺癌、睾丸癌、子宫内膜癌、黑素瘤、结肠直肠癌、肺癌、膀胱癌、前列腺癌、肺癌 (包括非小细胞肺癌)、胰腺癌、肉瘤、肾母细胞瘤、子宫颈癌、头颈癌、皮肤癌、鼻咽癌、脂肪肉瘤、上皮癌、肾细胞癌、胆管腺癌、子宫内膜肉瘤、多重耐药癌症。在一个实施方案中，所述增生性疾病包括与肿瘤血管生成相关的新血管形成、黄斑变性 (例如湿/干性年龄相关性黄斑变性)、角膜新血管形成、糖尿病性视网膜病变、新生血管性青光眼、近视变性。在一个实施方案中，所述增生性疾病包括再狭窄和多囊肾病。

[0394] 本文中使用的“自身免疫性疾病”是指任何疾病、病症、症状、基因型或表型，其特征在于本领域已知的自身免疫性。自身免疫性疾病包括但不限于例如多发性硬化、糖尿病、狼疮、硬皮、纤维肌痛、移植排斥 (例如预防同种异体移植排斥)、恶性贫血、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、皮炎、重症肌无力、红斑狼疮、多发性硬化症和格雷病 (Graves' diseases)。

[0395] “传染病”是指与感染原 (如病毒、细菌、真菌、朊病毒或寄生虫) 相关的任何疾病、障碍或病症。本发明可以用于免疫对抗导致感染性疾病的病原体。此类病原体在下面列出。

[0396] “神经性疾病”是指影响中枢或外周神经系统的任何疾病、病症或病状。神经性疾病包括但不限于外周或中枢神经系统的疾病或病症，包括例如阿尔茨海默氏病、动脉瘤、脑损伤、腕管综合征、脑动脉瘤、慢性疼痛、克雅氏病、癫痫、亨廷顿氏病、脑膜炎、癫痫症和其它神经性疾病、病症和综合征。

[0397] “呼吸系统疾病”是指影响呼吸道的任何疾病或病症。呼吸系统疾病包括但不限于例如哮喘、慢性阻塞性肺病 (COPD)、过敏性鼻炎、鼻窦炎、过敏症、呼吸不畅、呼吸窘迫综合征、囊性纤维化、肺动脉高血压或血管收缩和肺气肿。

[0398] “心血管疾病”是指影响心脏和血管的疾病或病症。心血管疾病包括但不限于例如冠状动脉心脏病 (CHD)、脑血管疾病 (CVD)、主动脉瓣狭窄、外周血管病、心肌梗死 (心脏病发作)、心律不齐、充血性心脏衰竭。

[0399] 本文中使用的“眼病”是指眼及相关结构的任何疾病、病症、症状、基因型或表型。眼部疾病包括但不限于例如囊样黄斑水肿、糖尿病性视网膜病、格子样变性、视网膜静脉阻塞、视网膜动脉阻塞、黄斑变性 (例如年龄相关的黄斑变性，如湿性 AMD 或干性 AMD)、弓形体病、色素性视网膜炎、结膜裂伤、角膜裂伤、青光眼等。

[0400] “代谢疾病”是指影响代谢途径的任何疾病或病症。代谢性疾病可以导致异常代谢过程，无论是由于遗传酶异常 (先天性代谢缺陷) 导致的先天性疾病或者由于内分泌器官疾病或重要的代谢器官如肝脏衰竭所导致的获得性疾病。在一个实施方案中，代谢性疾病包括肥胖、胰岛素抵抗和糖尿病 (例如 I 型和/或 II 型糖尿病)。

[0401] “皮肤病”是指皮肤、真皮或其中的任何亚结构(例如头发、毛囊等)的任何疾病或病症。皮肤病学的疾病、病症或症状可以包括牛皮癣、异位性皮炎、皮肤癌如黑色素瘤和基底细胞癌、脱发、脱毛和色素沉着改变。

[0402] “听觉病”是指听觉系统的任何疾病或病症,包括耳如内耳、中耳、外耳、听神经和其中的任何子结构。听觉疾病、病症、状况和症状包括听力丧失、耳聋、耳鸣、眩晕、平衡和运动失调。

[0403] 本文所用的术语“短干扰核酸”(siNA)是指能够通过以序列特异性方式介导RNA干扰(RNAi)或基因沉默而抑制或向下调节基因表达或病毒复制的任何核酸分子。它包括短干扰RNA(siRNA)、微RNA(miRNA)、短干扰寡核苷酸和化学修饰的短干扰核酸分子。siRNA负责RNA干扰,这是在动物和植物的序列特异性转录后基因沉默的过程。通过对沉默基因靶的同源的或特定的更长的双链RNA(dsRNA)的核糖核酸酶III切割产生siRNAs。

[0404] 术语“RNA干扰”(RNAi)技术是转录后、靶向的基因沉默技术,其使用RNAi试剂降解含有与RNAi试剂相同或非常相似序列的信使RNA(mRNA)。参见:Zamore和Haley,2005,Science,309,1519—1524;Zamore等,2000,Cell,101,25—33;Elbashir等,2001,Nature,411,494—498;和Kreutzer等,PCT公开WO 00/44895;Fire,PCT公开WO 99/32619;Mello和Fire,PCT公开WO 01/29058等。

[0405] 本文中使用的RNAi与其它用于描述序列特异性RNA干扰的术语相同,例如转录后基因沉默、转译抑制、转录抑制或表观遗传。例如,含有本发明脂质的制剂可以与siNA分子组合使用,同时在转录后水平和/或转录前水平在表观遗传学上沉默基因。在一个非限制性的示例中,通过siNA分子调节的基因表达可以通过RISC或者选择如本领域中已知的转译抑制导致siNA介导的RNA(编码或非编码RNA)的裂解。在另一个实施方案中,通过siNA调节的基因表达可以导致转录抑制,例如Janowski等,2005,Nature Chemical Biology,1,216—222所报道。

[0406] 术语“RNAi抑制剂”是可以在细胞或患者中向下调节(例如降低或抑制)RNA干扰的功能或活性的任何分子。通过与RNAi通路的任何成分的相互作用或干扰其功能,RNAi抑制剂可以下调、降低或抑制RNAi(例如RNAi介导的靶多核苷酸裂解、转译抑制或转录沉默),所述任何成分包括蛋白质成分(例如RISC)或核酸成分(例如miRNAs或siRNAs)。RNAi抑制剂可以是siNA分子、反义分子、适体或小分子,它们可以与细胞或患者中RNAi通路的RISC、miRNA或siRNA或任何其它成分相互作用或干扰其功能。通过抑制RNAi(例如RNAi介导的靶多核苷酸裂解、转译抑制或转录沉默),RNAi抑制剂可以用于调节(例如上调或下调)靶基因的表达。在一个实施方案中,通过转译抑制、转录沉默或RISC介导的多核苷酸(例如mRNA)裂解而干扰(例如降低或防止)基因表达的内源性下调或抑制,RNA抑制剂可以用于上调基因表达。因此,通过干扰基因表达的内源性抑制、沉默或抑制机制,本发明的RNAi抑制剂可以用于上调基因表达,用于治疗功能缺失导致的疾病或病症。在本文的各个实施方案中,术语“RNAi抑制剂”可以与术语“siNA”相互交换使用。

[0407] 术语“信使核糖核酸”(信使RNA,mRNA)是指核糖核酸(RNA)分子,其能够介导细胞质中的基因信息转移至核糖体,在那里它用作蛋白质合成的模板。它在转录的过程中合成自DNA模板。参见The American **Heritage**® Dictionary of the English Language,第4版(2009更新)。Houghton Mifflin Company。



[0408] 核糖核酸” (RNA) 为通过磷酸二酯键连接的核苷酸的聚合物, 其中每个核苷酸包含核糖或其作为糖成分的修饰物。每个核苷酸含有腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G)、胞嘧啶 (C)、尿嘧啶 (U) 或其作为碱基的修饰物。mRNA 分子中的遗传信息根据 mRNA 分子的核苷酸碱基序列进行编码, 其被排列为由每个含有 3 个核苷酸碱基的密码子。除了终止密码子外, 每个密码子编码多肽的一个特定的氨基酸, 这终止了转译 (蛋白质合成)。在活细胞中, mRNA 被运送到核糖体, 蛋白合成的部位, 在此处它为蛋白质合成 (转译) 提供了遗传信息。更详细的描述参见 Alberts B 等 (2007) *Molecular Biology of the Cell* (细胞的分子生物学), 第 5 版, Garland Science。

[0409] 在真核生物中, mRNA 在体内染色体中通过细胞酶 RNA 聚合酶被转录。在体内转录期间或之后, 将 5' 端 (cap) (也称为 RNA 端, RNA 7-甲基鸟苷端或 RNA m7G 端) 在体内添加至 mRNA 的 5' 端。5' 端为末端 7-甲基鸟苷残基, 其通过 5'-5'-三磷酸酯键与第一个转录的核苷酸连接。此外, 大多数真核生物 mRNA 分子在 mRNA 分子 3' 末端具有聚腺苷部分 (“聚 (A) 尾端”)。在体内, 真核细胞中转录后添加聚 (A) 尾端, 通常长度为约 250 个腺苷残基。因此, 典型的成熟真核 mRNA 具有如下结构: 由 5' 末端的 mRNA 端核苷酸开始, 随后是核苷酸的 5' 非转译区 (5' UTR), 然后是由起始密码子 (为核苷酸碱基的 AUG 三联体) 开始并结束于终止密码子 (可以是核苷酸碱基的 UAA、UAG 或 UGA 三联体) 的开放阅读框 (其为蛋白质的编码序列), 再然后是核苷酸的 3' 非转译区 (3' UTR), 以聚腺苷尾端结束。尽管典型的成熟真核 mRNA 的特征可以在体内真核细胞中天然产生, 然而相同的或者结构上和功能上相当的特征也可以在体外采用分子生物学的方法制备。因此, 任何具有与典型的成熟真核 mRNA 相似结构的 RNA 都可以起到 mRNA 的作用, 并且也包含在术语 “信使核糖核酸” 的范围内。

[0410] mRNA 分子通常具有能够被本发明脂质纳米颗粒包封的大小。而 mRNA 分子的大小实质上取决于编码特定蛋白质的 mRNA 种类的身份, mRNA 分子的平均大小是 500—10,000 个碱基的平均 mRNA 大小。

[0411] 本文中使用的术语 “酶性核酸” 是指在底物结合域中其能够与特定的靶基因具有互补性的核酸分子, 其还具有酶活性, 作用是特异性地裂解靶 RNA, 从而使得靶 RNA 分子失活。互补性域能够使得酶性核酸分子充分地杂交到靶 RNA 上, 因此使其裂解。优选 100% 互补, 但是互补性低至 50—75% 也可以用于本发明 (参见, 例如, Werner 和 Uhlenbeck, 1995, *Nucleic Acids Research*, 23, 2092—2096; Hammann 等, 1999, *Antisense and Nucleic Acids Drug Dev.*, 9, 25—31)。核酸可以在碱、糖和/或磷酸酯基团上进行修饰。术语酶性核酸可以与下列短语互换使用: 例如核酶、催化性 RNA、酶性 RNA、催化性 DNA、适配酶或适体结合核酶、可调节性核酶、催化性寡核苷酸、核酶 (nucleozyme)、DNA 酶、RNA 酶、内切核糖核酸酶、核酸内切酶、小核酶 (minizyme)、先导酶 (leadzyme)、寡酶 (oligozyme) 或 DNA 酶。所有这些术语描述了具有酶活性的核酸分子。酶性核酸分子的关键特性是其具有能够与一或多个靶核酸域互补的特异性底物结合部位, 其具有位于所述底物结合域中或者环绕该域的核苷酸序列, 其能够使得核酸裂解和/或具有与所述分子连接的活性 (参见, 例如, Cech 等, 美国专利 4,987,071; Cech 等, 1988, 260 JAMA 3030)。本发明的核酶和酶性核酸分子可以是化学修饰的, 例如如本领域中和本文中其它部分所述。

[0412] 本文中使用的术语 “反义核酸” 是指非酶性核酸分子, 其能够通过 RNA-RNA 或 RNA-DNA 或 RNA-PNA (蛋白质核酸; Egholm 等, 1993 *Nature* 365, 566) 相互作用与靶 RNA 结合, 从而

改变了靶RNA活性(综述参见Stein和Cheng,1993Science 261,1004;Woolf等,美国专利5,849,902)。反义DNA可以化学合成,或者通过使用单链DNA表达载体或其等同物表达。本发明的反义分子可以是化学修饰的,例如如本领域中所述。

[0413] 本文中使用的术语“RNase H激活域”是指能够与靶RNA结合形成非共价复合物的核酸分子的域(长度通常大于或等于4—25个核苷酸,优选长度为5—11个核苷酸),其可以被细胞RNase H酶识别(参见,例如,Arrow等,美国专利5,849,902;Arrow等,美国专利5,989,912)。RNase H酶可以与核酸分子—靶RNA复合物结合并裂解靶RNA序列。

[0414] 本文中使用的术语“2—5A反义嵌合体”是指含有5′-磷酸化的2′-5′-连接的腺苷酸残基的反义寡核苷酸。这些嵌合体与靶RNA以序列特异性的方式结合并激活细胞2—5A-依赖性核糖核酸酶,其随后裂解靶RNA(Torrence等,1993Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90,1300;Silverman等,2000,Methods Enzymol.,313,522—533;Player和Torrence,1998,Pharmacol.Ther.,78,55—113)。2—5A反义嵌合体分子可以是化学修饰的,例如如本领域中所述。

[0415] 本文中使用的术语“三螺旋形成寡核苷酸”是指能够与双链DNA以序列特异性的方式结合形成三螺旋链的寡核苷酸。此类三螺旋结构的形成已经被证明能够抑制靶基因的转录(Duval-Valentin等,1992Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89,504;Fox,2000,Curr.Med.Chem.,7,17—37;PR<sup>a</sup>seuth等,2000,Biochim.Biophys.Acta,1489,181—206)。本发明的三螺旋形成寡核苷酸可以是化学修饰的,例如如本领域中所述。

[0416] 本文中使用的术语“诱饵RNA”是指RNA分子或适配子,其目的旨在优先与预定的配体结合。此类结合可以导致靶分子的抑制或激活。诱饵RNA或适配子可以与天然存在的用于结合特异性配体的结合靶竞争。同样,诱饵RNA目的旨在与受体结合并阻断效应分子的结合,或者目的旨在与相关受体结合并阻止与受体的相互作用。本发明的诱饵分子可以是化学修饰的,例如如本领域中所述。

[0417] 本文中使用的术语“DNA”(ssDNA)是指含有线性单链的天然存在的或合成的脱氧核糖核酸分子,例如ssDNA可以是有义或反义基因序列或EST(表达的序列标记(Expressed Sequence Tag))。

[0418] 本文中使用的术语“等位酶”是指变构酶性核酸分子,包括例如美国专利号5,834,186、5,741,679、5,589,332、5,871,914和PCT专利号WO 00/24931、WO 00/26226、WO 98/27104和WO 99/29842。

[0419] 本文中使用的术语“适配子”是指能够与靶分子特异性结合的多核苷酸组合物,其中所述多核苷酸的序列不同于细胞中靶分子所正常识别的序列。或者,适配子可以是能够与靶分子结合的核酸分子,其中靶分子不会天然地与核酸结合。靶分子可以为任何相关分子。本发明的适配子分子可以是化学修饰的,例如如本领域中所述。

[0420] 脂质组合物的制剂

[0421] 对于药物使用而言,本发明的脂质组合物可以通过肠内或肠胃外途径给药,包括静脉内、肌肉内、皮下、经皮、呼吸道(气雾剂)、口服、鼻内、直肠、阴道、颊腔、鼻咽(nasopharyngeal)、胃肠道或舌下给药。所述给药可以是全身性或局部性的。局部给药包括例如导管插入、植入、渗透泵、直接注入、真皮/经皮应用、支架、滴耳液/滴眼液或门静脉给药。可以对式(I)化合物的生物制药特性进行评价,例如溶解度和溶液稳定性(一定的pH范

围内 (across pH))、渗透性等,从而选择治疗建议的适应症的最适当的剂型和给药途径。

[0422] 本发明的组合物通常但是不是必须作为与一或多种可药用的赋形剂组合的制剂给药。术语“赋形剂”包括除了本发明化合物、其它脂质成分和生物活性成分之外的任何成分。赋形剂可以赋予制剂功能性 (例如药物释放速度控制) 和/或非功能性 (例如加工辅助或稀释) 特征。赋形剂的选择在很大程度上取决于下列因素: 例如具体的给药方式、赋形剂对溶解度和稳定性的影响以及剂型的性质。

[0423] 典型的可药用的赋形剂包括:

[0424] ● 稀释剂, 例如乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、纤维素和/或甘氨酸;

[0425] ● 润滑剂, 例如二氧化硅、滑石粉、硬脂酸及其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇;

[0426] ● 粘合剂, 例如硅酸铝镁、淀粉糊、明胶、黄芪胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和/或聚乙烯吡咯烷酮;

[0427] ● 崩解剂, 例如淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐或泡腾混合物; 和/或

[0428] ● 吸收剂、着色剂、矫味剂和/或甜味剂。

[0429] 赋形剂可以是水溶液载体, 其可以任选含有缓冲剂 (例如PBS缓冲剂) 和/或糖。

[0430] 可药用的赋形剂的充分讨论可以参见Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2000, 第20版 (ISBN: 0683306472)。

[0431] 本发明的组合物可以口服给药。口服给药可以包括吞咽给药以便于化合物进入胃肠道和/或包括通过颊腔、舌 (lingual) 或舌下给药从而使得化合物能够自口腔直接进入血液循环。

[0432] 本发明的组合物可以通过胃肠外给药。本发明的化合物和组合物可以给药直接进入血流、进入皮下组织、进入肌肉或进入内脏器官。适当的给药方式包括静脉内、动脉内、鞘内、心室内、尿道内、胸骨内、颅内、肌肉内、滑膜内和皮下。适当的给药器具包括针 (包括微针) 注射器、无针头注射器和输液装置。

[0433] 肠胃外制剂通常为水溶液或油溶液。当溶液为水溶液时, 赋形剂例如糖类 (包括但不限于葡萄糖、甘露醇、山梨醇等)、盐、碳水化合物和缓冲剂 (优选对于pH 3—9而言), 但是对于某些应用而言, 它们可以更为适当地配制为无菌的非水溶液或者干燥形式, 其可以与适当地载体例如无菌、无热原水 (WFI) 组合使用。

[0434] 肠胃外制剂可以包括来源于可降解聚合物的埋植剂, 所述聚合物例如聚酯类 (例如聚乳酸、聚丙交酯、聚交酯-共-乙交酯、聚己内酯、聚丁酸羟基酯)、聚原酸酯类和聚酞类。这些制剂可以通过手术切口给药至皮下组织、肌肉组织或者直接进入特定的器官。

[0435] 无菌条件下例如通过冷冻干燥法制备肠胃外制剂可以采用技术人员熟知的标准制药技术完成。

[0436] 制备胃肠外溶液剂中使用的化合物和组合物的溶解度可以通过使用适当的制剂技术得以增加, 所述技术例如组合使用共溶剂和/或增溶剂例如表面活性剂、胶束结构和环糊精。

[0437] 本发明的组合物可经鼻内或通过吸入给药, 通常为干粉吸入器中的干粉形式 (单独的形式; 作为混合物的形式, 例如与乳糖的干燥共混物; 或作为混合组分的颗粒, 例如与磷脂如磷脂酰胆碱混合)、来自加压容器、泵、喷射器、雾化器 (优选使用电流产生细雾的雾化器) 或喷雾器的气溶胶喷雾 (使用或不使用适当的抛射剂如1,1,1,2-四氟乙烷或1,1,1,

2,3,3,3-七氟丙烷)或作为滴鼻剂。对于鼻内使用而言,所述粉剂可以含有生物粘附剂,例如壳聚糖或环糊精。

[0438] 加压容器、泵、喷射器、雾化器或喷雾器含有本发明化合物的溶液或混悬液,包含例如乙醇、乙醇水溶液或适当的用于本发明组合物的分散、溶解或延迟释放的替代成分、作为溶剂的抛射剂和任选的表面活性剂,例如脱水山梨醇三油酸酯、油酸或寡聚乳酸。

[0439] 在使用干粉或混悬液制剂之前,应当将组合物微粉化至适合于吸入传递的大小(通常小于5微米)。这可以通过任何适当的粉碎方法实现,例如螺旋喷射研磨、流化床喷射研磨、形成纳米颗粒的超临界流体加工、高压均化或喷雾干燥。

[0440] 用于吸入器或吹入器中的胶囊(例如由明胶或羟丙基甲基纤维素制备)、泡罩和药筒可以配制成含有本发明化合物或组合物的粉末混合物、适当的粉末基质(如乳糖或淀粉)和性能改良剂(如异亮氨酸、甘露醇或硬脂酸镁)。乳糖可以为无水形式或单水合物形式,优选后者。其它的适当的赋形剂包括葡聚糖、葡萄糖、麦芽糖、山梨醇、木糖醇、果糖、蔗糖和海藻糖。

[0441] 用于吸入/鼻腔给药的制剂可以采用例如PGLA制成速释和/或改性释放制剂。改性释放制剂包括延缓、持续、脉冲、受控、靶向和按程序释放。

[0442] 适合于透皮应用的适当的制剂包含治疗有效量的本发明的化合物或组合物以及载体。有益的载体包括可吸收的药理学上可接受的溶剂以有助于通过宿主的皮肤。典型的透皮装置为绷带形式,它包括被膜、含有化合物以及任选的载体的储库、任选的能够以受控和预定的速度在持续较长的时间内将化合物传递通过宿主皮肤的控速屏障以及将该装置固定的皮肤上的工具。

[0443] 本发明的脂质组合物可以通过多种方式中的任意一种给药,包括肠胃外、静脉内、全身性、局部、口服、肿瘤内、肌肉内、皮下、腹膜内、吸入或任何此类传递方法。在一个实施方案中,所述组合物可以通过胃肠外给药,即关节内、静脉内、腹膜内、皮下或肌内给药。在一个具体的实施方案中,所述脂质体组合物可以通过静脉内输注或腹膜内推注给药。

[0444] 本发明的脂质组合物可以配制成适于递送给受试者的药用组合物。本发明的药用组合物通常还可以含有一或多种缓冲剂(例如中性缓冲的生理盐水或磷酸盐缓冲的生理盐水)、碳水化合物(例如葡萄糖、甘露醇、蔗糖、葡萄糖或葡聚糖)、甘露醇、蛋白质、多肽或氨基酸例如甘氨酸、抗氧化剂、抑菌剂、螯合剂例如EDTA或谷胱甘肽、辅助剂(例如氢氧化铝)、使得该制剂与接受者血液等渗、低渗或弱高渗的溶质、助悬剂、增稠剂和/或防腐剂。或者,本发明的组合物可以制成冷冻干燥物。

[0445] 本发明中使用的适当的制剂可以参考例如Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物科学), Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17<sup>sup</sup>.th Ed. (1985)。通常,静脉内使用的组合物可以包括悬浮于可接受的载体例如水性载体中的脂质体的溶液。

[0446] 在一个实施方案中,本发明提供了药用组合物(即制剂),其包含本发明的脂质组合物和可药用的载体或赋形剂。在另一个实施方案中,在脂质组合物中存在至少一种其它脂质成分。在另一个实施方案中,所述脂质组合物为脂质体形式。在另一个实施方案中,所述脂质组合物为脂质纳米颗粒形式。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于传递至肝脏。在另一个实施方案中,所述脂质组合物适合于传递至肿瘤。在另一个实施方案中,所

述生物活性成分为DNA或RNA。在另一个实施方案中,所述生物活性成分为siRNA。在另一个实施方案中,所述生物活性成分为mRNA。

[0447] 为了免疫的目的,组合物通常可以制备为可注射的,可以通过注射给药(例如通过肌肉内注射)。

[0448] 本发明还提供了含有本发明组合物的传递装置(例如注射器、喷雾器、吸入器、皮肤贴剂等)。该装置可以用于将药用组合物给予个体例如人类用于免疫治疗。

[0449] 本发明靶向的细胞和器官

[0450] 本发明的化合物、组合物、方法和用途可以用于将生物活性成分传递至患者中的下列一或多种:

[0451] 肝脏或肝脏细胞(例如肝细胞);

[0452] 肾脏或肾脏细胞;

[0453] 肿瘤或肿瘤细胞;

[0454] CNS或CNS细胞(中枢神经系统,例如脑和/或脊髓);

[0455] PNS或PNS细胞(外周神经系统);

[0456] 肺或肺细胞;

[0457] 血管或血管细胞;

[0458] 皮肤或皮肤细胞(例如真皮细胞和/或滤泡细胞);

[0459] 眼或眼细胞(例如黄斑、中央凹、角膜、视网膜);和

[0460] 耳或耳细胞(例如内耳、中耳和/或外耳细胞)。

[0461] 本发明的化合物、组合物、方法和用途还可以用于将生物活性成分(例如编码免疫原的RNA)传递至免疫系统的细胞。

[0462] 在一个实施方案中,本发明的化合物、组合物、方法和用途可以将生物活性成分传递至肝脏细胞(例如肝细胞)。在一个实施方案中,本发明的化合物、组合物、方法和用途可以将生物活性成分传递至肿瘤或肿瘤细胞(例如原发性肿瘤细胞或转移性肿瘤细胞)。

[0463] 为了将生物活性成分传递至肝脏或肝细胞,在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的肝脏或肝细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注入、导管插入、支架)以促进传递。

[0464] 为了将生物活性成分传递至肾脏或肾细胞,在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的肾脏或肾细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注入、导管插入、支架)以促进传递。

[0465] 为了将生物活性成分传递至肿瘤或肿瘤细胞,在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的肿瘤或肿瘤细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注入、门静脉注射、导管插入、支架)以促进传递。

[0466] 为了将生物活性成分传递至CNS或CNS细胞(例如脑细胞和/或脊髓细胞),在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的CNS或CNS细胞(例如脑细胞和/或脊髓细胞)接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注入、导管插入、支架、渗透泵给药(例如鞘内或心室))以促进传递。

[0467] 为了将生物活性成分传递至PNS或PNS细胞,在一个实施方案中,根据本领域中公

知的方法,使得本发明的组合物与患者的PNS或PNS细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注射)以促进传递。

[0468] 为了将生物活性成分传递至肺或肺细胞,在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的肺或肺细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如肺部直接给药于肺组织和细胞)以促进传递。

[0469] 为了将生物活性成分传递至血管或血管细胞,在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的血管或血管细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如夹紧、导管插入、支架)以促进传递。

[0470] 为了将生物活性成分传递至皮肤或皮肤细胞(如皮肤细胞和/或卵泡细胞),在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的皮肤或皮肤细胞接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接皮肤给药、离子电渗疗法)以促进传递。

[0471] 为了将生物活性成分传递至眼或眼细胞(例如黄斑、中央凹、角膜、视网膜),在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的眼或眼细胞(例如黄斑、中央凹、角膜、视网膜)接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注入、眼内注射、眼周注射、视网膜下注射、离子透入疗法、使用眼药水、埋植剂)以促进传递。

[0472] 为了将生物活性成分传递至耳或耳细胞(例如内耳、中耳和/或外耳的细胞),在一个实施方案中,根据本领域中公知的方法,使得本发明的组合物与患者的耳或耳细胞(例如内耳、中耳和/或外耳的细胞)接触,通过例如胃肠外给药(例如静脉内、肌肉内、皮下给药)或局部给药(例如直接注射)以促进传递。

[0473] 为了将生物活性成分(例如编码免疫原的RNA)传递至免疫系统细胞(例如抗原呈递细胞,包括专职性抗原呈递细胞),在一个实施方案中,本发明的组合物可以通过肌肉注射传递,然后免疫细胞可以渗透到传递部位并处理传递的RNA。此类免疫细胞包括巨噬细胞(例如骨髓来源的巨噬细胞)、树突细胞(例如骨髓来源的浆细胞样树突细胞和/或骨髓来源的骨髓样树突细胞)、单核细胞(例如人末梢血单核细胞)等(例如,参见W02012/006372)。

[0474] 本发明的免疫作用

[0475] 为了免疫的目的,本发明包括传递能够编码免疫原的RNA。免疫原可以引起能够辨识免疫原的免疫应答,所以可以用于提供对抗病原体或者对抗过敏原或对抗肿瘤抗原的免疫力。优选对抗由病原体导致的疾病和/或感染的免疫。

[0476] RNA可以通过本发明的脂质组合物(例如脂质体或LNP)传递,本发明通常使用其中包封编码免疫原的RNA的脂质体或LNP。脂质体中的包封可以保护RNA避免被核糖核酸酶消化。

[0477] 在一个实施方案中,本发明提供了脂质体,其具有包封含水核心的脂质双层,其中:(i)所述脂质双层含有本发明的脂质;和(ii)所述含水核心含有能够编码免疫原的RNA。如果组合物含有不同直径的脂质体群,并且如果(i)至少80%数量的脂质体的直径范围为60—180nm并且优选范围为80—160nm和/或(ii)该群平均直径(通过强度测定,例如Z-平均)的范围为60—180nm并且优选范围为80—160nm时,其可以用于免疫的目的。该多数脂质体中多数的直径多分散指数为<0.2比较理想。

[0478] 体内给予免疫组合物后,待传递的RNA被释放并转译到细胞内以在原位提供免疫原。RNA为正(“+”)链(plus strand),所以其可以被细胞转译而无需任何中间复制步骤(intervening replication steps),例如逆转录。其也可以与免疫细胞表达的TLR7受体结合,从而启动辅助作用。

[0479] 优选的正(+)链RNAs可以自我复制。当传递至脊椎动物细胞时,即使没有任何蛋白质存在,自我复制RNA分子(复制子)也可以通过自身转录导致多种子代RNAs的产生(通过其自身产生的反义复制)。因此,自我复制RNA分子通常为+链分子,传递至细胞后其可以直接转译,该转译提供了RNA-依赖性RNA聚合酶,然后其通过传递的RNA产生反义和正义转录。因此,传递的RNA导致多种子代RNAs的产生。这些子代RNAs以及共线的(collinear)亚基因组转录可以自身转译从而在原位提供被编码的免疫原的表达,或者可以被转录从而进一步提供与传递的RNA具有相同意义的转录,其被转译以提供免疫原的原位表达。这种顺序的转录的最终结果是被引入的复制子RNAs数量的巨大扩增,所以被编码的免疫原成为细胞的主要多肽产物。

[0480] 一种实现自我复制的适当的系统是使用甲病毒属RNA复制子。当传递至细胞后,这些+链复制子被转译以获得复制酶(或复制酶-转录酶)。该复制酶被转译为多聚蛋白,其可以自动裂解以提供复制复合物,其能够创建+链被传递RNA的基因组-链副本。这些-链转录可以自身被转录以进一步产生+链母本RNA的副本,还可以产生能够编码免疫原的亚基因组转录,因此,亚基因组转录的转译通过感染细胞导致免疫原的原位表达。适当的甲病毒属复制子可以采用源自下列病毒的复制酶:辛德毕斯病毒(sindbis virus)、森林脑炎病毒(semliki forest virus)、东部马脑炎病毒(eastern equine encephalitis virus)、委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)等。可以使用突变型或野生型病毒序列,例如VEEV的减毒TC83突变型已经被用于复制子中。

[0481] 因此,优选的自我复制RNA分子可以编码:(i) RNA-依赖性RNA聚合酶,其可以转录源自自我复制RNA分子的RNA和(ii)免疫原。所述聚合酶可以是甲病毒属复制酶,其可以例如包含一或多中甲病毒属蛋白nsP1、nsP2、nsP3和nsP4。

[0482] 鉴于天然甲病毒属基因组能够编码除了非结构性复制酶多聚蛋白之外的结构性病毒体蛋白,因此优选本发明的自我复制RNA分子不能编码甲病毒属结构蛋白。因此,优选的自我复制RNA可以导致其自身的基因组RNA副本在细胞中的产生,但是不会产生含有RNA的病毒体。没有产生这些病毒体的能力意味着自我复制RNA分子不像野生型甲病毒属,自身不能持久保持感染形式。野生型病毒持久保持所必需的甲病毒属结构蛋白不存在于本发明的自我复制RNA中,它们的位置被编码相关免疫原的基因所代替,因此亚基因组转录能够编码免疫原而非结构性甲病毒属病毒体蛋白。

[0483] 所以,本发明中使用的自我复制RNA可以具有两个开放阅读框。第一个(5')开放阅读框编码复制酶;第二个(3')开放阅读框编码免疫原。在某些实施方案中,RNA可以具有另外的(例如下游)开放阅读框,例如编码其它免疫原(见下文)或者编码辅助多肽。

[0484] 自我复制RNA分子具有5'序列,其与被编码的复制酶相容。

[0485] 自我复制RNA分子具有各种长度,但它们通常为5000—25000个核苷酸长度,例如8000—15000个核苷酸长度或9000—12000个核苷酸长度。因此RNA长于siRNA传递中所见到的。

[0486] RNA分子具有5'顶端(例如7-甲基鸟苷)。该顶端能够增强RNA的体内转译。

[0487] 本发明中使用的RNA分子的5'核苷酸可以具有5'三磷酸酯基团。在封端(capped)RNA中,其可以通过5'-至-5'的桥与7-甲基鸟苷连接。5'三磷酸酯可以增强RIG-I结合,因此可以促进辅助剂作用。

[0488] RNA分子可以具有3'聚A尾端。其也可以包含临近其3'末端的聚A聚合酶识别序列(例如AAUAAA)。

[0489] 本发明中使用的用于免疫目的的RNA分子通常为单链。通过与TLR7、TLR8、RNA解旋酶和/或PKR结合,单链RNAs通常能够引发辅助剂的作用。以双链形式传递的RNA(dsRNA)可以与TLR<sup>3</sup>结合,该受体也可以通过dsRNA触发,它是在单链RNA复制期间或者单链RNA二级结构中形成的。

[0490] 用于免疫目的的RNA分子可以方便地通过体外转录(IVT)制备。IVT可以使用(cDNA)模板创建并在细菌的质粒形式中繁殖或者合成方法创建(例如通过基因合成和/或聚合酶链-反应(PCR)的工程方法)。例如,DNA-依赖性RNA聚合酶(例如噬菌体T7、T3或SP6RNA聚合酶)可以用于自DNA模板转录RNA。可以根据需要使用适当的封端和聚A加合反应(尽管复制子的聚-A通常在DNA模板中编码)。这些RNA聚合酶对于转录的5'核苷酸具有严格的要求,在某些实施方案中,这些要求必须与被编码的复制酶的要求相匹配,从而保证IVT转录的RNA有效地作为用于其自我编码的复制酶的底物。

[0491] 根据WO2011/005799中所讨论的,自我复制RNA可以包含(除了任何5'顶端结构外)一或多个具有被修饰的核碱基的核苷酸。例如,自我复制RNA可以包含一或多个被修饰的嘧啶核碱基,例如假尿苷和/或5-甲基胞嘧啶残基。然而,在某些实施方案中,RNA不含有被修饰的核碱基,也不包含被修饰的核苷酸,即RNA中所有的核苷酸均为标准的A、C、G和U核糖核苷酸(除了任何5'顶端结构外,其可以包含7'-甲基鸟苷)。在其它实施方案中,RNA可以包含含有7'甲基鸟苷的5'顶端,第1、2或3个5'核糖核苷酸可以在核糖的2'位被甲基化。

[0492] 本发明中使用的用于免疫目的的RNA理想上仅包含核苷酸之间的磷酸二酯连接基,但是在某些实施方案中,其可以包含氨基磷酸酯、硫代磷酸酯和/或甲基磷酸酯连接基。

[0493] 每个脂质体中RNA的数量可以改变。每个脂质体中各个自我复制RNA分子的数量通常为每个脂质体中<50,例如<20、<10、<5或1-4。

[0494] 本发明中使用的用于免疫目的的RNA分子能够编码多肽免疫原。施用后RNA在体内被转译,该免疫原可以激发接受者的免疫响应。免疫原能够激发对抗病原体(例如细菌、病毒、真菌或寄生虫)的免疫响应,但是,在某些实施方案中,其能够激发对抗过敏原或肿瘤抗原的免疫响应。免疫响应包括抗体响应(通常包括IgG)和/或细胞介导的免疫响应。多肽免疫原通常能够激发识别相应的病原体(或过敏原或肿瘤)多肽的免疫响应,但是,在某些实施方案中,多肽作为模拟抗原(mimotope)能够激发识别糖类的免疫响应。免疫原通常为表面多肽,例如粘附素、血凝素、包络糖蛋白、刺突糖蛋白等。

[0495] RNA分子能够编码单一多肽免疫原或多种多肽。多种免疫原可以呈现为单一多肽免疫原(融合多肽)或各自不同的多肽。如果免疫原被表示为源自复制子的各自不同的多肽,则其中一或多种可以获自上游的IRES或其它病毒启动子元素。或者,多种免疫原可以用多聚蛋白表达,所述多聚蛋白能够编码与短的自催化蛋白酶(例如手足口病病毒2A蛋白)融合的各个免疫原或者作为内含肽。



[0496] 在某些实施方案中,免疫原能够激发对抗下列这些细菌之一的免疫响应:

[0497] 脑膜炎奈瑟氏球菌(*Neisseria meningitidis*):有用的免疫原,包括但不限于膜蛋白,例如粘附素、自动转运蛋白、毒素、铁采集蛋白和因子H结合蛋白。三个有用的多肽的组合公开于Giuliani等(2006)Proc Natl Acad Sci U S A 103 (29):10834-9。

[0498] 肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*):公开于W02009/016515的有用的多肽免疫原。它们包括但不限于RrgB菌毛亚单位、 $\beta$ -N-乙酰基-氨基己糖苷酶前体(spr0057)、spr0096、一般应激蛋白、GSP-781(spR<sup>2</sup>021,SP2216)、丝氨酸/苏氨酸激酶STKP(SP1732)和肺炎链球菌表面黏附素PsaA。

[0499] 酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*):有用的免疫原,包括但不限于在W0 02/34771和W0 2005/032582中公开的多肽。

[0500] 卡他莫拉菌(*Moraxella catarrhalis*)。

[0501] 百日咳杆菌(*Bordetella pertussis*):有用的百日咳免疫原,包括但不限于百日咳毒素或类毒素(PT)、丝状血凝素(FHA)、百日咳杆菌粘附素和凝集原2和3。

[0502] 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*):有用的免疫原包括但不限于在W02010/119343中公开的多肽,例如溶血素、esxA、esxB、高铁色素结合蛋白(sta006)和/或sta011脂蛋白。

[0503] 破伤风杆菌(*Clostridium tetani*):典型的免疫原为破伤风类毒素。

[0504] 白喉棒杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*):典型的免疫原为白喉类毒素。

[0505] 流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*):有用的免疫原包括但不限于在W02006/110413和W02005/111066中公开的多肽。

[0506] 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)

[0507] 无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*):有用的免疫原包括但不限于在W002/34771中公开的多肽。

[0508] 沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*):有用的免疫原包括但不限于PepA、LcrE、ArtJ、DnaK、CT398、OmpH-like、L7/L12、OmcA、AtoS、CT547、Eno、HtR<sup>a</sup>和MurG(例如W02005/002619公开的)。LcrE(W02006/138004)和HtR<sup>a</sup>(W02009/109860)为两种优选的免疫原。

[0509] 肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*):有用的免疫原包括但不限于在W002/02606中公开的多肽。

[0510] 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*):有用的免疫原包括但不限于CagA、VacA、NAP和/或脲酶(W003/018054)。

[0511] 大肠杆菌(*Escherichia coli*):有用的免疫原包括但不限于源自下列的免疫原:产肠毒素的大肠杆菌(ETEC)、肠聚集大肠杆菌(EAggEC)、弥散粘附性大肠杆菌(DAEC)、致病性大肠杆菌(EPEC)、肠外致病性大肠杆菌(ExPEC)和/或致肠出血性大肠杆菌(EHEC)。ExPEC菌株包括肾盂肾炎性大肠杆菌(UPEC)和脑膜炎/脓毒症相关的大肠杆菌(MNEC)。有用的UPEC免疫原公开于W0 2006/091517和W0 2008/020330。有用的MNEC免疫原公开于W0 2006/089264。多个大肠杆菌类型的有用的免疫原为AcfD(W0 2009/104092)。

[0512] 炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)

[0513] 鼠疫耶尔森氏菌(*Yersinia pestis*):有用的免疫原包括但不限于那些在W02007/049155和W02009/031043中公开的。

- [0514] 表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermis*)
- [0515] 产气荚膜杆菌 (*Clostridium perfringens*) 或肉毒梭菌 (*Clostridium botulinums*)
- [0516] 嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*)
- [0517] 贝氏柯克斯体 (*Coxiella burnetii*)
- [0518] 布鲁氏菌 (*Brucella*) , 例如牛布鲁氏菌 (*B.abortus*)、犬种布鲁氏菌 (*B.canis*)、羊布鲁氏菌 (*B.melitensis*)、沙林鼠布鲁氏菌 (*B.neotomae*)、绵羊布鲁氏菌 (*B.ovis*)、猪布鲁氏菌 (*B.suis*)、海豹布鲁氏菌 (*B.pinnipediae*)。
- [0519] 弗朗西斯氏菌, 例如新凶手弗朗西斯菌 (*F.novicida*)、唇楼弗朗西斯菌 (*F.philomirgia*)、*F.tularensis*。
- [0520] 淋球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)
- [0521] 梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*)
- [0522] 杜克雷嗜血杆菌 (*Haemophilus ducreyi*)
- [0523] 粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) 或屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)
- [0524] 腐生葡萄球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*)
- [0525] 小肠结肠炎耶尔森菌 (*Yersinia enterocolitica*)
- [0526] 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)
- [0527] 立克次体 (*Rickettsia*)
- [0528] 单核细胞增多性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*)
- [0529] 霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*)
- [0530] 伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)
- [0531] 伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)
- [0532] 牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*)
- [0533] 克雷伯氏杆菌 (*Klebsiella*)。
- [0534] 在某些实施方案中, 免疫原能够激发下列这些病毒之一的免疫响应:
- [0535] 正粘病毒 (*Orthomyxovirus*) : 有用的免疫原可以源自流感A、B或C病毒, 例如血细胞凝聚素、神经氨酸酶或基质M2蛋白质。其中免疫原是流感A病毒血凝素, 其可以是任何亚型, 例如H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15或H16。
- [0536] 副粘病毒科病毒 (*Paramyxoviridae viruses*) : 免疫原包括但不限于那些源自下列的病毒: 肺病毒 (例如呼吸道合胞病毒, RSV)、德国麻疹病毒 (*Rubulaviruses*) (如腮腺炎病毒)、副粘病毒 (例如副流感病毒)、偏肺病毒 (*Metapneumoviruses*) 和麻疹病毒 (*Morbilliviruses*) (如麻疹病毒)。
- [0537] 痘病毒科 (*Poxviridae*) : 免疫原包括但不限于那些源自正痘病毒的病毒, 例如天花病毒, 包括但不限于主要天花和次要天花。
- [0538] 微小RNA核糖核酸病毒 (*Picornavirus*) : 免疫原包括但不限于那些源自细小核糖核酸病毒的病毒, 例如肠病毒、鼻病毒、嗜肝RNA病毒 (*Heparnavirus*)、心脏病毒 (*Cardioviruses*) 和口蹄疫病毒 (*Aphthoviruses*)。在一个实施方案中, 肠病毒是脊髓灰质炎病毒, 例如1型、2型和/或3型脊髓灰质炎病毒。在另一个实施方案中, 肠病毒是EV71肠病毒。在另一个实施方案中, 肠病毒是柯萨奇A或B病毒。

[0539] 布尼亚病毒 (Bunyavirus): 免疫原包括但不限于那些源自下列的病毒: 正布尼亚病毒 (Orthobunyavirus) (例如加利福尼亚脑炎病毒)、白蛉病毒属 (如裂谷热病毒) 或内罗病毒属 (如克里米亚-刚果出血热病毒)。

[0540] 嗜肝RNA病毒 (Heparnavirus): 免疫原包括但不限于那些源自嗜肝RNA病毒的病毒, 例如甲型肝炎病毒 (HAV)。

[0541] 纤维病毒 (Filovirus): 免疫原包括但不限于那些源自纤维病毒的病毒, 例如埃博拉病毒 (包括扎伊尔、象牙海岸、雷斯顿或苏丹埃博拉病毒) 或马尔堡病毒。

[0542] 囊膜病毒 (Togavirus): 免疫原包括但不限于那些源自囊膜病毒的病毒, 例如风疹病毒、甲病毒或动脉炎病毒。其包括风疹病毒。

[0543] 黄病毒 (Flavivirus): 免疫原包括但不限于那些由黄病毒衍生的病毒、如蜱传脑炎 (TBE) 病毒、登革热 (1、2、3或4型) 病毒、黄热病病毒、日本脑炎病毒、科萨努尔森林病毒、西尼罗河脑炎病毒、圣路易斯脑炎病毒、俄罗斯春夏脑炎病毒、玻瓦森脑炎病毒。

[0544] 瘟病毒 (Pestivirus): 免疫原包括但不限于那些源自瘟病毒的病毒, 例如牛病毒性腹泻 (BVDV)、经典猪瘟 (CSFV) 或边界病 (BDV)。

[0545] 嗜肝DNA病毒 (Hepadnavirus): 免疫原包括但不限于那些源自嗜肝DNA病毒的病毒, 例如乙肝病毒。组合物包括乙肝病毒表面抗原 (HBsAg)。

[0546] 其它肝炎病毒: 组合物可以包括源自下列的免疫原: 丙型肝炎病毒、三角洲肝炎病毒、戊型肝炎病毒或庚型肝炎病毒。

[0547] 棒状病毒 (Rhabdovirus): 免疫原包括但不限于那些源自棒状病毒的病毒, 例如狂犬病病毒属 (例如狂犬病病毒) 和水泡性病毒 (VSV)。

[0548] 杯状病毒科 (Caliciviridae): 免疫原包括但不限于那些源自杯状病毒的病毒, 例如诺瓦克病毒 (诺沃克病毒) 和诺沃克样病毒, 如夏威夷病毒和雪山病毒。

[0549] 冠状病毒 (Coronavirus): 免疫原包括但不限于那些源自下列的病毒: SARS冠状病毒、禽传染性支气管炎 (IBV)、小鼠肝炎病毒 (MHV) 和猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV)。冠状病毒免疫原可以是尖多肽。

[0550] 逆转录病毒 (Retrovirus): 免疫原包括但不限于那些源自下列的病毒: 肿瘤病毒、慢病毒 (如HIV-1或HIV-2) 或泡沫病毒。

[0551] 呼肠孤病毒 (Reovirus): 免疫原包括但不限于那些下列病毒: 正呼肠孤病毒、轮状病毒、环状病毒或科婢病毒。

[0552] 细小病毒 (Parvovirus): 免疫原包括但不限于那些源自细小病毒B19的病毒。

[0553] 疱疹病毒 (Herpesvirus): 免疫原包括但不限于那些源自人疱疹病毒的病毒, 例如, 仅举例说明, 单纯疱疹病毒 (HSV) (例如HSV1和2型)、水痘-带状疱疹病毒 (VZV), 爱泼斯坦-巴尔病毒 (EBV)、巨细胞病毒 (CMV)、人疱疹病毒6 (HHV6)、人疱疹病毒7 (HHV7) 和人疱疹病毒8 (HHV8)。

[0554] 乳多空病毒 (Papovaviruses): 免疫原包括但不限于那些源自乳头状瘤病毒和多瘤病毒的病毒。(人) 乳头状瘤病毒可能是血清型1、2、4、5、6、8、11、13、16、18、31、33、35、39、41、42、47、51、57、58、63或65, 例如源自血清型6、11、16和/或18的一或多种。

[0555] 腺病毒 (Adenovirus): 免疫原包括源自血清型36 (Ad-36) 的那些。

[0556] 某些实施方案中, 免疫原能够激发对抗感染鱼的病毒的免疫响应、例如: 传染性鲑

鱼贫血病毒 (ISAV)、鲑鱼胰腺疾病病毒 (SPDV)、传染性胰腺坏死病病毒 (IPNV)、斑点叉尾鮰病毒 (CCV)、鱼类淋巴囊肿病病毒 (FLDV)、传染性造血器官坏死病毒 (IHNV)、锦鲤疱疹病、鲑鱼类核糖核酸病毒 (也称为大西洋鲑鱼的小核糖核酸样病毒)、淡水鲑鱼病毒 (LSV)、大西洋鲑鱼轮状病毒 (ASR)、鳟鱼草莓病病毒 (TSD)、银鲑肿瘤病毒 (CSTV) 或病毒性出血性败血症病毒 (VHSV)。

[0557] 真菌免疫原可以源自皮肤癣菌 (Dermatophytes), 包括: 絮状表皮癣菌 (*Epidermophyton floccusum*)、奥杜安氏小孢子菌 (*Microsporum audouini*)、犬小孢子菌 (*Microsporum canis*)、扭曲小孢子菌 (*Microsporum distortum*)、马小孢子菌 (*Microsporum equinum*)、石膏样孢子菌 (*Microsporum gypsum*)、矮小孢子菌 (*Microsporum nanum*)、同心性毛癣菌 (*Trichophyton concentricum*)、马毛癣菌 (*Trichophyton equinum*)、鸡毛癣菌 (*Trichophyton gallinae*)、石膏样毛癣菌 (*Trichophyton gypseum*)、麦格毛癣菌 (*Trichophyton megnini*)、须毛癣菌 (*Trichophyton mentagrophytes*)、昆克努毛癣菌 (*Trichophyton quinckeanum*)、红色毛癣菌 (*Trichophyton rubrum*)、许兰毛癣菌 (*Trichophyton schoenleinii*)、断发毛癣菌 (*Trichophyton tonsurans*)、疣状毛癣菌 (*Trichophyton verrucosum*)、疣状毛癣菌的白变种、盘变种、黄褐变种 (*T. verrucosum* var. *album*, var. *discoideus*, var. *ochraceum*)、紫色毛癣菌 (*Trichophyton violaceum*) 和/或蜜块状毛癣菌 (*Trichophyton faviforme*); 或者可以源自: 烟曲霉、黄曲霉、黑曲霉、构巢曲霉、土曲霉、萨氏曲霉、黄曲霉、灰绿曲霉、芽生裂殖菌 (*Blastoschizomyces capitatus*)、白色念珠菌、烯醇化酶念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌、近平滑念珠菌、星状假念珠菌、克鲁斯念珠菌、帕拉克斯念珠菌、葡萄牙念珠菌、伪热带念珠菌、吉利蒙念珠菌、卡氏枝孢霉、粗球孢子菌、皮炎芽生菌、新型隐球菌、棒地霉、组织胞浆菌、肺炎克雷伯氏菌、微孢子虫、脑胞内原虫属、肠有膈微孢虫 (*Septata intestinalis*) 和比氏肠胞虫 (*Enterocytozoon bieneusi*); 不太常见的是 *Brachyella* spp.、微孢子虫属 (*Microsporidium* spp.)、小孢子虫属 (*Nosema* spp.)、匹里虫属 (*Pleistophora* spp.)、人气管普孢虫 (*Tracheipleistophora* spp.)、条孢虫属 (*Vittaforma* spp.)、巴西副球孢子菌 (*Paracoccidioides brasiliensis*)、卡氏肺孢子菌 (*Pneumocystis carinii*)、苜蓿腐霉 (*Pythium insidiosum*)、糠疹癣菌属 (*Pityrosporum ovale*)、酿酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*)、鲍氏酵母菌 (*Saccharomyces boulardii*)、粟酒酵母 (*Saccharomyces pombe*)、尖端赛多孢子菌 (*Scedosporium apiospermum*)、申克孢子丝菌 (*Sporothrix schenckii*)、白吉利毛孢子菌 (*Trichosporon beigelii*)、刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*)、马尔尼菲青霉菌 (*Penicillium marneffei*)、马拉色菌属 (*Malassezia* spp.)、着色真菌属 (*Fonsecaea* spp.)、王氏霉菌属 (*Wangiella* spp.)、孢子丝菌属 (*Sporothrix* spp.)、蛙粪霉菌属 (*Basidiobolus* spp.)、耳霉菌属 (*Conidiobolus* spp.)、根霉菌属 (*Rhizopus* spp.)、毛霉菌属 (*Mucor* spp.)、犁头霉菌属 (*Absidia* spp.)、被孢霉菌属 (*Mortierella* spp.)、小克银汉霉菌属 (*Cunninghamella* spp.)、瓶霉菌属 (*Saksenaea* spp.)、链格孢属 (*Alternaria* spp.)、弯孢霉菌属 (*Curvularia* spp.)、长蠕孢霉菌属 (*Helminthosporium* spp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* spp.)、曲霉属 (*Aspergillus* spp.)、青霉菌属 (*Penicillium* spp.)、链核菌属 (*monolinia* spp.)、丝核菌属 (*Rhizoctonia* spp.)、拟青霉菌属 (*Paecilomyces* spp.)、皮司霉菌属 (*Pithomyces* spp.) 和枝孢菌属 (*Cladosporium* spp.)。

[0558] 在某些实施方案中,免疫原能够激发对抗源自疟原虫属的寄生虫的免疫响应,例如恶性疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫或卵形疟原虫。因此,本发明可以用于免疫对抗疟疾。在某些实施方案中,免疫原能够激发对抗源自鱼虱科(Caligidae)家族的寄生虫的免疫响应,特别是源自疮痂鱼虱(*Lepeophtheirus*)和鱼虱属(*Caligus geneR<sup>a</sup>*)的寄生虫,例如海虱,如鲑疮痂鱼虱(*Lepeophtheirus salmonis*)或智利鱼虱(*Caligus rogeR<sup>c</sup>resseyi*)。

[0559] 在某些实施方案中,免疫原能够激发对抗下列的免疫响应:花粉过敏原(树-、药草-、野草-和草坪花粉过敏原);昆虫或蜘蛛过敏原(吸入、唾液和毒液过敏原,例如螨过敏原,蟑螂和蚊蠓过敏原,膜翅类毒液过敏原);动物毛发和皮屑过敏原(源自例如狗、猫、马、大鼠、小鼠等);食物过敏原(如麦醇溶蛋白)。源自树、草和草药的重要花粉过敏原为例源自分类学的下列目:壳斗目、木犀目、松柏目和悬铃木科,包括但不限于桦树(桦木属)、桤木(桤木属)、榛(榛属)、角树(鹅耳枥属)和橄榄树(木犀榄属)、雪松(柳杉属和刺柏属)、梧桐(悬铃木属);禾本目,包括下列属的草:黑麦草、梯牧草、早熟禾、狗牙根、鸭茅、绒毛草、藜草、黑麦和高粱;菊目和荨麻目,包括下列属的药草:豚草、蒿和墙草。其它重要的吸入过敏原为那些源自下列的属:屋尘螨,表皮螨属(*Dermatophagoides*)和嗜霉螨属(*Euroglyphus*);储粮尘螨(storage mite),例如害嗜鳞螨属(*Lepidoglyphys*)、嗜甜螨属(*Glycyphagus*)和腐食螨属(*Tyrophagus*);源自蟑螂、蚊和跳蚤的过敏原,例如小蠊属(*Blattella*)、大蠊属(*Periplaneta*)、摇蚊属(*Chironomus*)和柿头圣属(*Ctenocephalides*),源自哺乳动物的过敏原,例如猫、狗和马;毒液过敏原,包括源自昆虫的刺蛰或叮咬,例如源自下列分类学的目:膜翅目,包括蜜蜂(蜜蜂科)、黄蜂(胡蜂科)和蚂蚁(蚁科)。

[0560] 在某些实施方案中,免疫原为选自下列的肿瘤抗原:(a)癌症-睾丸抗原,例如NY-ESO-1、SSX2、SCP1以及RAGE、BAGE、GAGE和MAGE家族多肽类,例如GAGE-1、GAGE-2、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6和MAGE-12(其可以用于例如治疗黑素瘤、肺、头颈、NSCLC、乳腺、胃肠道和膀胱肿瘤);(b)突变的抗原,例如p53(与各种实体瘤有关,例如结直肠癌、肺癌、头颈癌)、p21/Ras(与例如黑素瘤、胰腺癌和结直肠癌有关)、CDK4(与例如黑素瘤有关)、MUM1(与例如黑素瘤有关)、半胱天冬酶-8(与例如头颈癌有关)、CIA 0205(与例如膀胱癌有关)、HLA-A2-R<sup>1</sup>701、 $\beta$ 连环蛋白(与例如黑素瘤有关)、TCR(与例如T-细胞非霍奇金淋巴瘤有关)、BCR-abl(与例如慢性髓性白血病有关)、磷酸丙糖异构酶、KIA 0205、CDC-27和LDLR-FUT;(c)过度表达的抗原,例如半乳凝素4(与例如结直肠癌有关)、半乳凝素9(与例如霍奇金病有关)、蛋白酶3(与例如慢性髓性白血病有关)、WT 1(与例如各种白血病有关)、碳酸酐酶(与例如肾癌有关)、醛缩酶A(与例如肺癌有关)、PR<sup>a</sup>ME(与例如黑素瘤有关)、HER-2/neu(与例如乳癌、结肠癌、肺癌和卵巢癌有关)、乳腺珠蛋白、 $\alpha$ -甲胎蛋白(与例如肝细胞瘤有关)、KSA(与例如结直肠癌有关)、胃泌素(与例如胰腺癌和胃癌有关)、端粒酶催化蛋白、MUC-1(与例如乳癌和卵巢癌有关)、G-250(与例如肾细胞癌有关)、p53(与例如乳癌、结肠癌有关)和癌胚抗原(与例如乳癌、肺癌以及胃肠道癌症如结直肠癌有关);(d)共享抗原(shared antigens),例如黑素瘤-黑素细胞分化抗原,促黑激素例如MART-1/Melan A、gp100、MC1R、促黑激素受体、酪氨酸酶、酪氨酸酶相关蛋白-1/TRP1和酪氨酸酶相关蛋白-2/TRP2(与例如黑素瘤有关);(e)前列腺相关抗原,例如PAP、PSA、PSMA、PSH-P1、PSM-P1、PSM-P2,它们与例如前列腺癌有关;(f)免疫球蛋白个体基因型(与例如骨髓瘤和B细胞淋巴瘤有

关)。在某些实施方案中,肿瘤免疫原包括但不限于p15、Hom/Mel-40、H-R<sup>a</sup>s、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-R<sup>a</sup>R、Epstein Barr病毒抗原、EBNA、人乳头瘤病毒(HPV)抗原(包括E6和E7)、乙型肝炎和丙型肝炎病毒抗原、人T-细胞嗜淋巴细胞病毒抗原、TSP-180、p185eRBB2、p180eRBB-3、c-met、mn-23H1、TAG-72-4、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-Ras、p16、TAGE、PSCA、CT7、43-9F、5T4、791Tgp72、 $\beta$ -HCG、BCA225、BTAA、CA 125、CA 15-3(CA 27.29\BCAA)、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、CD68\KP1、C0-029、FGF-5、Ga733(EpCAM)、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、R<sup>c</sup>AS1、SDCCAG16、TA-90(Mac-2结合蛋白/亲环蛋白C-相关蛋白)、TAAL6、TAG72、TLP、TPS等。

[0561] 本发明的药用组合物,特别是用于免疫的组合物,可以包含一或多种小分子免疫增强剂。例如,组合物可以包含TLR<sup>2</sup>激动剂(例如Pam3CSK4)、TLR<sup>4</sup>激动剂(例如氨烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯,例如E6020)、TLR7激动剂(例如咪喹莫特)、TLR8激动剂(例如瑞奎莫特)和/或TLR9激动剂(例如IC31)。任何此类激动剂理想的分子量<2000Da。在某些实施方案中,此类激动剂可以被内含RNA的脂质体包封,但在其它实施方案中,它们可以是未包封的。

## 实施例

[0562] 式(I)的阳离子脂质

[0563] 下面的实施例旨在阐明本发明,不应当被视为对其加以限定。温度均为摄氏度。如果没有另外说明,所有的蒸发浓缩均在减压下进行,优选在约15mm Hg至100mm Hg(=20—133mbar)。终产物、中间体和原料的结构通过标准分析方法确证,例如微量元素分析或光谱特征分析,例如MS、IR或NMR。使用的缩写是本领域中的常规缩写,其中一些如下文所定义。

[0564] 快速柱纯化优选在硅胶柱上进行,采用适当的等度或梯度组合洗脱液。

[0565] 除非另有说明,HPLC分析采用Waters Atlantis dC18柱(4.6×150mm,3mm),梯度洗脱(0.1%v/v三氟乙酸改性的0%—95%的乙腈水溶液,洗脱20min,流速为1.4mL/min)。

[0566] <sup>1</sup>H NMR谱采用Bruker Avance II 400MHz光谱仪进行。所有的化学位移均以相当于四甲基硅烷的百万分之几( $\delta$ )报告。下列缩写用于表述信号模式:s=单峰,d=双峰,t=三重峰,q=四重峰,quin=五重峰,m=多重峰,br=宽峰。ES-MS数据采用Waters LTC Premier质谱仪记录,配备双电喷雾离子化源,Agilent 1100液相色谱。磺胺二甲氧嘧啶[Sigma,m/z=311.0814(M+1)]用作通过LockSpray<sup>TM</sup>通道每第三扫描获取的对照基准。

[0567] 缩写

[0568] C 摄氏度

[0569] DCM 二氯甲烷

[0570] Deg 度

[0571] DIEA N,N-二异丙基乙胺

[0572] DIPEA N,N-二异丙基乙胺

[0573] DMAP 4-二甲基氨基吡啶

[0574] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[0575] DMSO 二甲基亚砷

[0576] EDC 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺

[0577] ES-MS 电喷雾质谱

[0578]	EtOAc	乙酸乙酯
[0579]	EtOH	乙醇
[0580]	G	克
[0581]	H	小时
[0582]	HATU	2-(1H-7-氮杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脒鎓六氟磷酸盐
[0583]	HOBt	羟基苯并三唑
[0584]	HPLC	高效液相色谱
[0585]	Kg	千克
[0586]	L	升
[0587]	LAH	氢化铝锂
[0588]	LC	液相色谱
[0589]	LCMS	液相色谱和质谱
[0590]	MeOH	甲醇
[0591]	MS	质谱
[0592]	Mbar	毫巴
[0593]	Min	分钟
[0594]	mL	毫升
[0595]	mm	毫米
[0596]	$\mu\text{M}$	微摩尔
[0597]	m/z	质荷比
[0598]	nm	纳米
[0599]	nM	纳摩尔
[0600]	N	当量
[0601]	NaOEt	乙醇钠
[0602]	NMP	N-甲基吡咯烷酮
[0603]	NMR	核磁共振
[0604]	Pd/C	披钯炭
[0605]	$\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$	1,1'-二(二苯基膦基)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷复合物
[0606]	Psi	每平方英寸的磅数
[0607]	Ppm	百万分之
[0608]	pTsOH	对甲苯磺酸
[0609]	quin	五重峰
[0610]	$R^a_c$	外消旋的
[0611]	Rt	不保留时间
[0612]	TBAF	四丁基氟化铵
[0613]	TBDPS	叔-丁基二苯基甲硅烷基醚
[0614]	TBTU	O-(苯并三唑-1-基)-N,N',N'-四甲基脒鎓四氟硼酸盐
[0615]	TCEP	三(2-羧基乙基)膦
[0616]	TEA	三乙胺

[0617] TFA 三氟乙酸

[0618] THF 四氢呋喃

[0619] THP 四氢吡喃

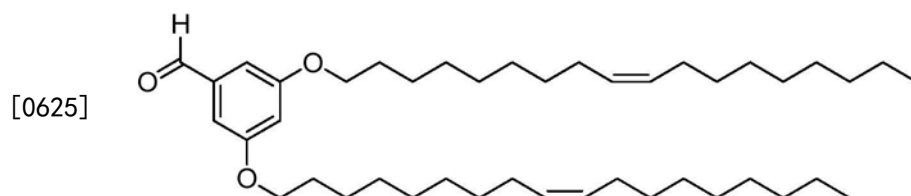
[0620] TLC 薄层色谱

[0621] TMS-CN 三甲基甲硅烷基氰化物

[0622] TsOH 对甲苯磺酸

[0623] 实施例1的合成:

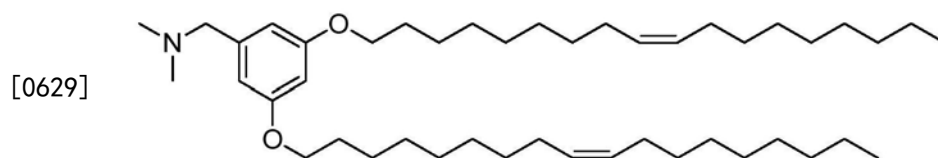
[0624] 中间体1a: 3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苯甲醛



[0626] 向含有DMF (40ml) 的烧瓶中加入3,5-二羟基苯甲醛 (2g, 14.2mmol)、碳酸钾 (5.88g, 42.6mmol) 和油烯基甲磺酸酯 (11.3g, 32.6mmol)。将获得的混合物搅拌加热至80℃过夜。冷却反应物, 加入水和EtOAc。收集有机层, 用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥。过滤混合物, 将滤液减压浓缩为粗品产物, 经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得8.53g目标产物。

[0627] TLC (硅胶, 10%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f = 0.56$ 。

[0628] 实施例1化合物: 1-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺



[0630] 将中间体1a (4g, 6.26mmol) 在EtOH (25ml) 中搅拌, 加入二甲基胺盐酸盐 (1.02g, 12.5mmol), 随后加入TEA (1.21ml, 8.76mmol) 和四异丙醇钛 (1.8ml, 6.3mmol)。将获得的混合物于室温下搅拌3h, 一次性加入硼氢化钠 (355mg, 9.39mmol)。将混合物于室温下搅拌过夜。反应物采用7N氨的MeOH溶液 (8.94ml, 62.6mmol) 骤冷, 获得的白色浆液通过硅藻土过滤, 用DCM洗涤。将滤液减压浓缩得到粗品产物, 其经硅胶色谱纯化, 采用0-50%的EtOAc庚烷洗脱, 获得2.66g目标产物。

[0631]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.46 (d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.36 (t,  $J = 2.5\text{Hz}$ , 1H), 5.41-5.31 (m, 4H), 3.93 (t,  $J = 6.9\text{Hz}$ , 4H), 3.34 (s, 2H), 2.24 (s, 6H), 2.09-1.98 (m, 8H), 1.81-1.69 (m, 4H), 1.50-1.21 (m, 44H), 0.89 (t,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

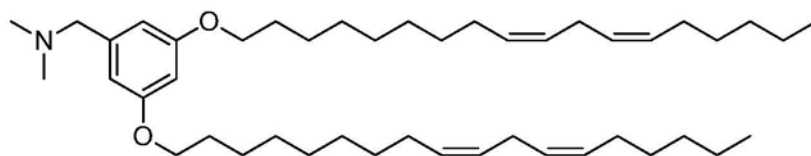
[0632] ES-MS  $m/z = 668.8$  (MH $^+$ )。

[0633] 实施例2-7可以采用实施例1制备所使用的类似方法制备。

[0634] 实施例2: 1-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺



[0635]

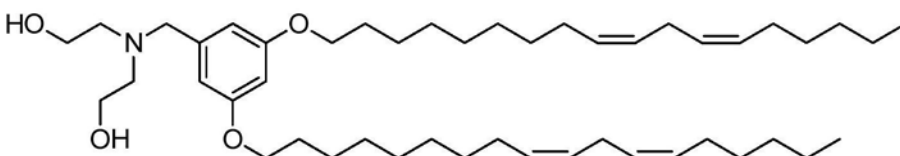


[0636]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.46 (d,  $J=2.5\text{Hz}$ , 2H), 6.35 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.44-5.30 (m, 8H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.34 (s, 2H), 2.78 (t,  $J=6.2\text{Hz}$ , 4H), 2.24 (s, 6H), 2.13-1.99 (m, 8H), 1.81-1.71 (m, 4H), 1.49-1.23 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm.

[0637] ES-MS  $m/z=664.9$  (MH $^+$ ).

[0638] 实施例3: 2,2'-((3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)氮烷二基)二乙醇

[0639]

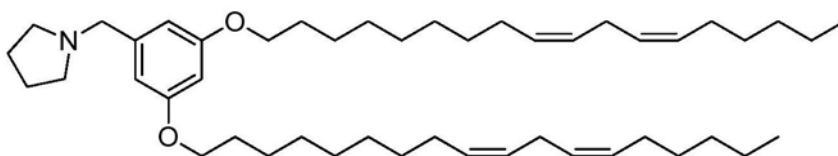


[0640]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.46-6.44 (m, 2H), 6.38-6.34 (m, 1H), 5.44-5.29 (m, 8H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.69-3.63 (m, 6H), 2.82-2.71 (m, 8H), 2.12-2.00 (m, 8H), 1.82-1.70 (m, 4H), 1.51-1.22 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H) ppm.

[0641] ES-MS  $m/z=724.6$  (MH $^+$ ).

[0642] 实施例4: 1-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)吡咯烷

[0643]

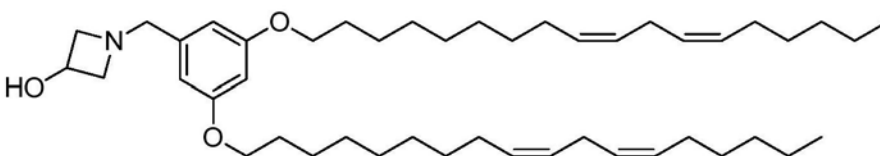


[0644]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.52-6.47 (m, 2H), 6.36-6.32 (m, 1H), 5.47-5.26 (m, 8H), 3.93 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 4H), 3.55 (s, 2H), 2.83-2.74 (m, 4H), 2.57-2.47 (m, 4H), 2.14-2.00 (m, 8H), 1.86-1.70 (m, 8H), 1.52-1.21 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm.

[0645] ES-MS  $m/z=690.5$  (MH $^+$ ).

[0646] 实施例5: 1-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)氮杂环丁烷-3-醇

[0647]

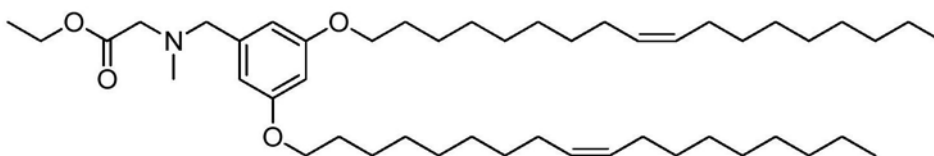


[0648]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.49 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.42 (t,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H), 5.33-5.47 (m, 7H), 4.46 (tt,  $J=6.7, 3.6\text{Hz}$ , 1H), 3.94 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H), 3.76-3.85 (m, 4H), 3.59 (d,  $J=10.3\text{Hz}$ , 2H), 2.80 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.00-2.12 (m, 8H), 1.78 (dtd,  $J=7.8, 6.8, 5.8\text{Hz}$ , 4H), 1.41-1.51 (m, 4H), 1.25-1.41 (m, 27H), 0.83-0.95 (m,  $J=6.8, 6.8\text{Hz}$ , 5H) ppm.

[0649] ES-MS  $m/z=692.5$  (MH $^+$ ).

[0650] 实施例6: 2-((3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)(甲基氨基)乙酸乙酯

[0651]

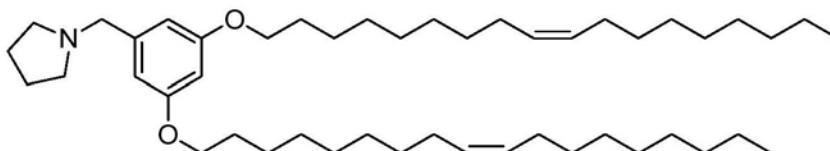


[0652]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.50 (s, 2H), 6.36 (s, 1H), 5.39-5.32 (m, 4H), 4.18 (q,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.60 (s, 2H), 3.24 (s, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.10-1.95 (m, 8H), 1.80-1.60 (m, 4H), 1.50-1.15 (m, 47H), 0.88 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0653] ES-MS  $m/z=740.9$  (MH $^+$ )。

[0654] 实施例7: 1-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)吡咯烷

[0655]

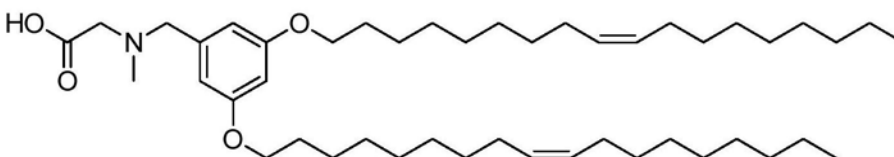


[0656]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.53 (s, 2H), 6.35 (s, 1H), 5.38-5.30 (m, 4H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.62 (s, br, 2H), 2.62 (m, 4H), 2.10-1.95 (m, 8H), 1.90-1.80 (m, 4H), 1.80-1.65 (m, 4H), 1.50-1.20 (m, 43H), 0.87 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0657] ES-MS  $m/z=694.9$  (MH $^+$ )。

[0658] 实施例8: 2-((3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)(甲基)氨基)乙酸

[0659]



[0660] 向实施例6的化合物(160mg, 0.22mmol)的二氧六环(7ml)溶液中加入50%的HCl水溶液(6.57ml)。将混合物加热至回流过夜, 然后冷却至室温。减压除去挥发物, 获得的产物采用强阳离子交换树脂纯化, 随后通过硅胶柱色谱纯化, 采用DCM/MeOH作为洗脱液, 获得123mg目标产物。

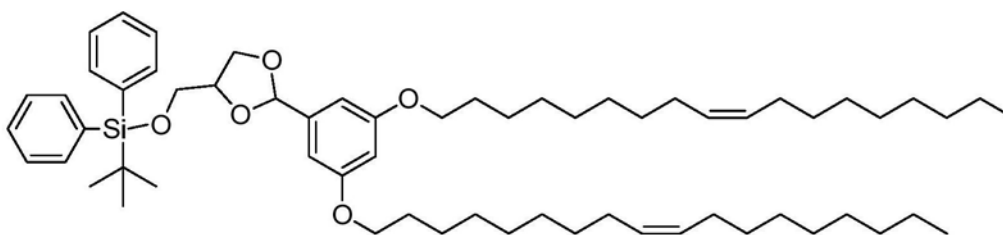
[0661]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.34 (s, br, 1H), 6.57 (s, 2H), 6.42 (s, 1H), 5.38-5.30 (m, 4H), 4.17 (s, 2H), 3.87 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.51 (s, 2H), 2.77 (s, 3H), 2.10-1.95 (m, 8H), 1.80-1.60 (m, 4H), 1.50-1.15 (m, 44H), 0.87 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0662]  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.6, 160.6, 132.3, 129.9, 129.7, 109.0, 101.8, 68.1, 60.0, 57.6, 41.1, 31.8, 29.7, 29.5, 29.5, 29.4, 29.4, 29.2, 29.2, 27.2, 26.0, 22.6, 14.1 ppm。

[0663] 实施例9的合成:

[0664] 中间体9a: ((2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苄基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲氧基)(叔-丁基)二苯基硅烷

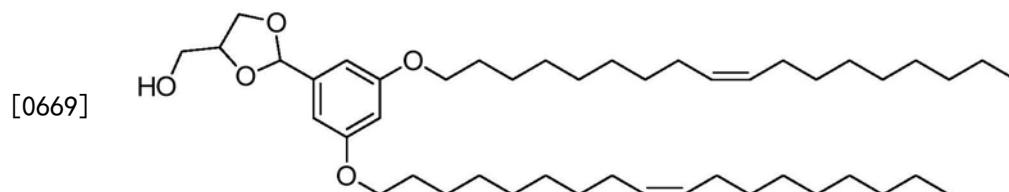
[0665]



[0666] 向中间体1a (1g, 1.56mmol) 的MePh (30ml) 溶液中加入TBDPS保护的甘油 (0.52g, 1.56mmol) 和TsOH单水合物 (0.03g, 0.16mmol)。将混合物加热至回流过夜, 然后冷却至室温。减压除去挥发物, 获得的产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.28g 含有目标产物的混合物。

[0667] TLC (硅胶, 10%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.45$ 。

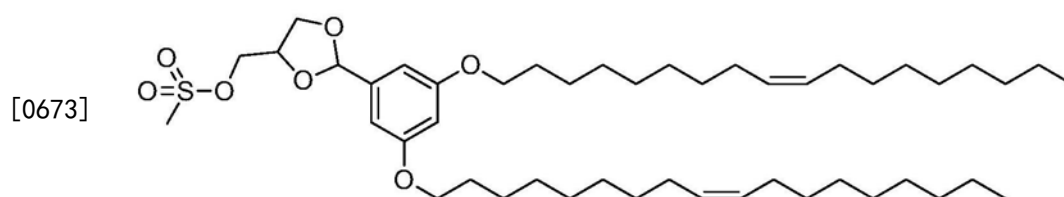
[0668] 中间体9b: (2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苯基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基) 甲醇



[0670] 向中间体9a (1.28g, 1.34mmol) 的THF (10ml) 溶液中加入TBAF (9.9ml, 1.0M的THF溶液, 9.93mmol)。将获得的溶液于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 获得的产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得638mg (67%) 目标产物。

[0671] TLC (硅胶, 50%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.65$ 。

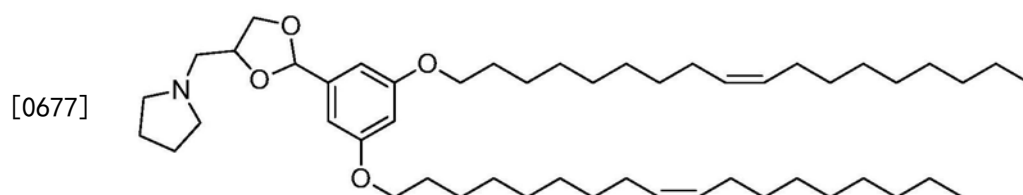
[0672] 中间体9c: (2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苯基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基) 甲基甲磺酸酯



[0674] 向中间体9b (638mg, 0.895mmol) 的DCM (20ml) 溶液中加入DIEA (0.78ml, 4.5mmol) 和MsCl (0.35ml, 4.5mmol)。将获得的溶液搅拌30min。减压除去挥发物, 获得的产物无需进一步纯化可以直接使用。

[0675] ES-MS  $m/z=791.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[0676] 实施例9化合物: 1-((2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苯基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基)吡咯烷



[0678] 将中间体9c (708mg, 0.895mmol) 溶于吡咯烷 (3.0ml, 36.2mmol), 在微波反应器中加热至140℃。减压除去挥发物, 获得的产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得292mg目标产物。

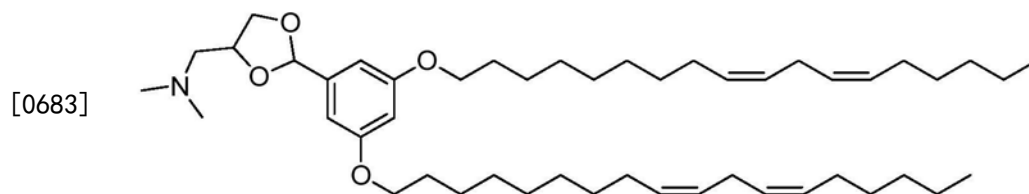
[0679] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.62 (dd,  $J=6.0$ Hz, 2.5Hz, 2H), 6.44-6.42 (m, 1H), 5.89 (s, 0.50H), 5.75 (s, 0.50H), 5.37-5.35 (m, 4H), 4.42-4.33 (m, 1H), 4.26-4.23 (m, 0.50H), 4.12 (dd,  $J=7.8$ Hz, 6.8Hz, 0.50H), 3.93 (t,  $J=6.3$ Hz, 4H), 3.80 (dd,  $J=7.8$ Hz, 6.8Hz, 0.50H), 3.71-3.67 (m, 0.50H), 2.81-2.73 (m, 2H), 2.65-2.57 (m, 4H), 2.05-2.00 (m, 8H),

1.81-1.73 (m, 8H), 1.48-1.27 (m, 44H), 0.89 (m, 6H) ppm。

[0680] ES-MS  $m/z=766.6$  (MH<sup>+</sup>)。

[0681] 实施例10和11可以采用实施例9制备所使用的类似方法制备。

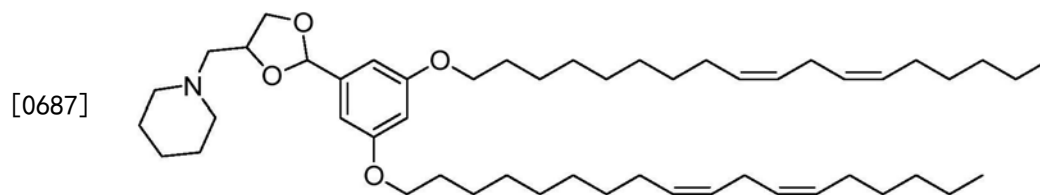
[0682] 实施例10: 1-(2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)-N,N-二甲基甲胺



[0684] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.59-6.65 (m, 2H), 6.44 (t, J=2.3Hz, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.32-5.44 (m, 6H), 4.32-4.42 (m, 1H), 4.08-4.18 (m, 1H), 3.94 (t, J=6.5Hz, 4H), 3.78 (dd, J=8.0, 6.5Hz, 1H), 2.74-2.83 (m, 4H), 2.51-2.66 (m, 2H), 2.31-2.37 (m, 6H), 2.00-2.11 (m, 8H), 1.68-1.85 (m, 6H), 1.20-1.50 (m, 32H), 0.84-0.93 (m, 6H) ppm。

[0685] ES-MS  $m/z=736.5$  (MH<sup>+</sup>)。

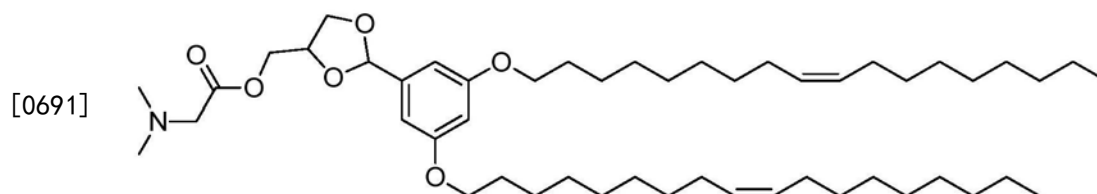
[0686] 实施例11: 1-((2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基)哌啶



[0688] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.63 (d, J=2.0Hz, 2H), 6.45 (t, J=2.3Hz, 1H), 5.74 (s, 1H), 5.29-5.48 (m, 8H), 4.38 (t, J=6.1Hz, 1H), 4.07-4.15 (m, 1H), 3.96 (t, J=6.6Hz, 4H), 3.78 (dd, J=8.1, 6.6Hz, 1H), 2.80 (t, J=6.3Hz, 4H), 2.62-2.72 (m, 1H), 2.50-2.62 (m, 4H), 2.40-2.50 (m, 2H), 2.08 (d, J=7.1Hz, 4H), 1.70-1.83 (m, 4H), 1.53-1.70 (m, 7H), 1.23-1.53 (m, 34H), 0.91 (t, J=7.1Hz, 6H) ppm。

[0689] ES-MS  $m/z$  776.7 (MH<sup>+</sup>)。

[0690] 实施例12: (2-(3,5-二((Z)-十八-9-烯-1-基氧基)苯基)-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)甲基2-(二甲基氨基)乙酸酯



[0692] 向中间体9b (2.42g, 3.39mmol) 的DCM (30ml) 溶液中加入N,N-二甲基甘氨酸 (0.38g, 3.73mmol), 随后加入HATU (1.55g, 4.07mmol) 和吡啶 (1.1ml, 13mmol)。将混合物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 获得的产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.14g目标产物。

[0693] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.60 (dt, J=8.8Hz, 2.0Hz, 2H), 6.44-6.41 (m, 1H), 5.87 (s, 0.33H), 5.73 (s, 0.33H), 5.45 (s, 0.33H), 5.36-5.30 (m, 4H), 4.74 (m, 0.33H), 3.91 (m,

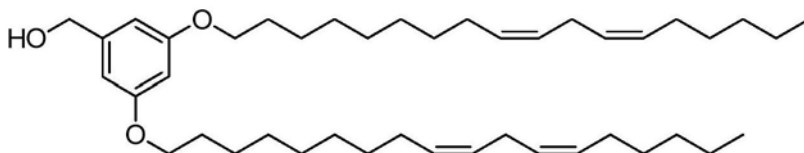
0.33H), 3.76 (m, 0.33H), 4.50-4.06 (m, 4H), 3.91 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.31 (s, 0.66H), 3.22 (s, 0.66H), 3.19 (s, 0.66H), 2.38 (s, 2H), 2.36 (s, 2H), 2.34 (s, 2H), 2.04-1.99 (m, 8H), 1.78-1.71 (m, 4H), 1.50-1.26 (m, 44H), 0.87 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0694] ES-MS  $m/z=798.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[0695] 实施例13的合成:

[0696] 中间体13a: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)甲醇

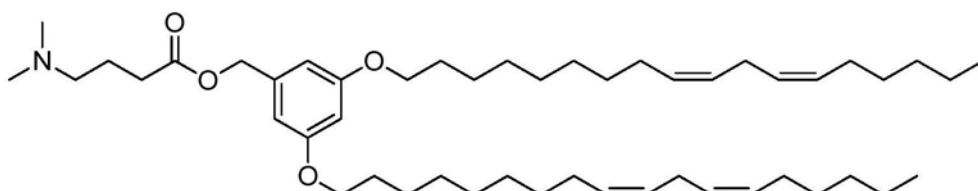
[0697]



[0698] 向中间体1a (1.5g, 2.4mmol) 的THF (10ml) 和MeOH (5ml) 溶液中加入硼氢化钠 (0.116g, 3.07mmol)。将获得的混合物搅拌过夜, 然后用MeOH和水骤冷。获得的产物用EtOAc萃取, 有机层经硫酸钠干燥。将产物轻轻倒出, 减压除去挥发物。产物无需进一步纯化可以直接用于下一步骤。

[0699] 实施例13化合物: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基4-(二甲基氨基)丁酸酯

[0700]



[0701] 向中间体13a (486mg, 0.762mmol) 的DCM (5ml) 溶液中加入4-二甲基氨基丁酸 (100mg, 0.762mmol), 随后加入DIEA (0.32ml, 1.83mmol)、DMAP (50mg, 0.41mmol) 和EDC (175mg, 0.92mmol)。将获得的混合物于室温下搅拌过夜, 通过硅胶色谱直接纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得319mg (56%) 目标产物。

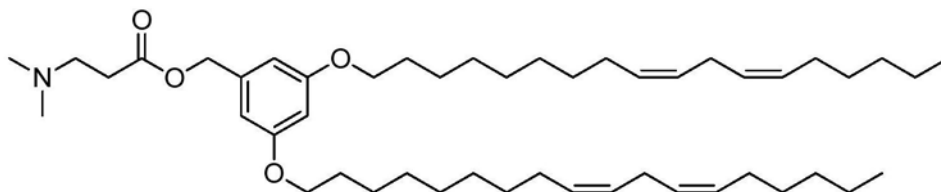
[0702] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.48-6.45 (m, 2H), 6.41-6.38 (m, 1H), 5.44-5.29 (m, 8H), 5.04 (s, 2H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.81-2.75 (m, 4H), 2.41 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.29 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 2.21 (s, 6H), 2.10-2.00 (m, 8H), 1.87-1.71 (m, 6H), 1.51-1.23 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0703] ES-MS  $m/z=750.7$  (MH<sup>+</sup>)。

[0704] 实施例14-17可以采用实施例13制备所使用的类似方法制备。

[0705] 实施例14: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基3-(二甲基氨基)丙酸酯

[0706]

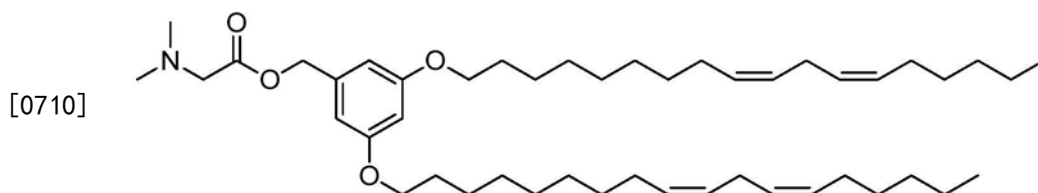


[0707] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.49-6.46 (m, 2H), 6.42-6.39 (m, 1H), 5.44-5.29 (m, 8H), 5.05 (s, 2H), 3.93 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H), 2.82-2.75 (m, 4H), 2.68-2.61 (m, 2H), 2.59-2.52 (m, 2H), 2.25 (s, 6H), 2.12-2.01 (m, 8H), 1.82-1.71 (m, 4H), 1.52-1.23 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=$

6.8Hz, 6H) ppm。

[0708] ES-MS  $m/z=736.8$  (MH<sup>+</sup>)。

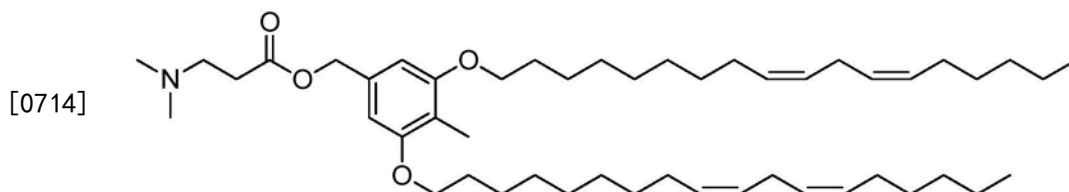
[0709] 实施例15: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基2-(二甲基氨基)乙酸酯



[0711] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.51-6.46 (m, 2H), 6.42-6.39 (m, 1H), 5.46-5.29 (m, 8H), 5.09 (s, 2H), 3.92 (t, J=6.5Hz, 4H), 3.23 (s, 2H), 2.83-2.75 (m, 4H), 2.37 (s, 6H), 2.12-2.00 (m, 8H), 1.83-1.70 (m, 4H), 1.50-1.23 (m, 32H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H) ppm。

[0712] ES-MS  $m/z=722.4$  (MH<sup>+</sup>)。

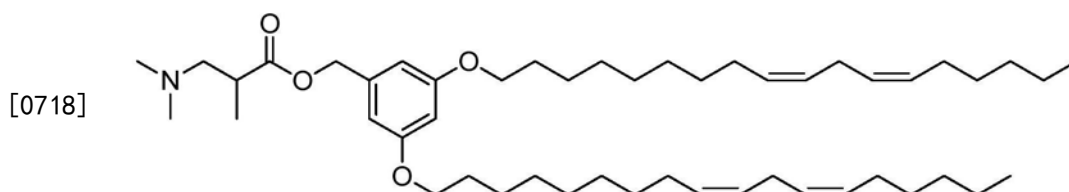
[0713] 实施例16: 4-甲基-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基3-(二甲基氨基)丙酸酯



[0715] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.51 (s, 2H), 5.31-5.45 (m, 8H), 5.07 (s, 2H), 3.97 (t, J=6.6Hz, 4H), 2.80 (dd, J=6.3, 6.3Hz, 4H), 2.68 (t, J=7.1Hz, 2H), 2.54 (t, J=7.3Hz, 2H), 2.27 (s, 6H), 2.04-2.13 (m, 11H), 1.76-1.85 (m, 4H), 1.46-1.53 (m, 4H), 1.26-1.45 (m, 32H), 0.92 (t, J=6.8Hz, 5H), 0.93 (br. s., 1H) ppm。

[0716] ES-MS  $m/z=750.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[0717] 实施例17: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基3-(二甲基氨基)-2-甲基丙酸酯

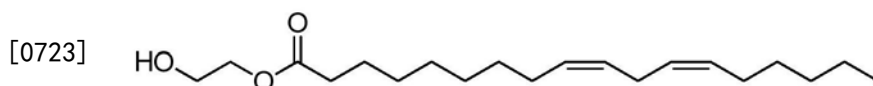


[0719] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.40 (d, J=2.0Hz, 2H), 6.34-6.29 (m, 1H), 5.36-5.21 (m, 8H), 4.98 (s, 2H), 3.85 (t, J=6.6Hz, 4H), 2.70 (t, J=6.3Hz, 4H), 2.66-2.54 (m, 2H), 2.14 (s, 6H), 1.98 (q, J=6.6Hz, 8H), 1.72-1.64 (m, 4H), 1.42-1.34 (m, 4H), 1.33-1.16 (m, 36H), 1.10 (d, J=6.6Hz, 3H), 0.85-0.79 (m, 6H) ppm。

[0720] ES-MS  $m/z=750.3$  (MH<sup>+</sup>)。

[0721] 实施例18的合成:

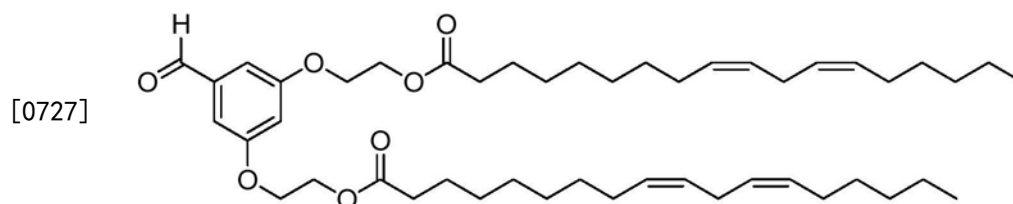
[0722] 中间体18a: (9Z,12Z)-2-羟基乙基十八-9,12-二烯酸酯



[0724] 将亚油酸 (5.0g, 17.83mmol) 在搅拌下溶于39.9mL的乙二醇中。向混合物中加入EDC (5.136g, 26.7mmol) 和HOBt (4.10g, 26.7mmol), 随后加入三乙胺 (7.45mL, 53.5mmol)。将反应物于室温下搅拌48小时, TLC检测反应完成。将粗品在100mL二氯甲烷中稀释, 用50mL水和50mL盐水洗涤。分离有机层, 经无水硫酸钠干燥。将粗品产物置于硅藻土上干燥, 通过硅胶色谱纯化, 采用10—40%的EtOAc庚烷梯度洗脱。回收为澄清油状物的产物 (3.884g, 67.1%)。

[0725] TLC (硅胶, 20%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.22$ 。

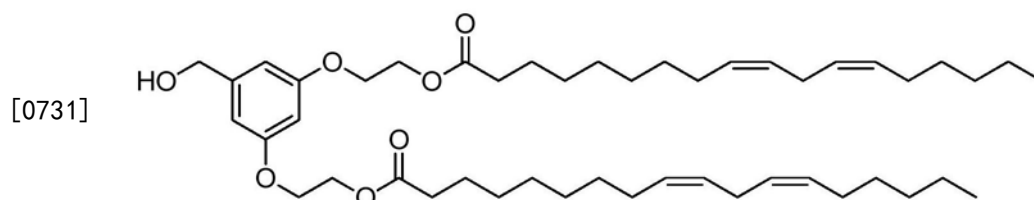
[0726] 中间体18b: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0728] 将中间体18a (1.5g, 4.62mmol)、3,5-二羟基苯甲醛 (0.319g, 2.311mmol) 和三苯膦 (1.273g, 4.85mmol) 溶于19mL无水THF。加入DIAD (0.944mL, 4.85mmol), 将反应物于室温下搅拌48小时。将反应混合物在硅藻土上直接浓缩, 通过硅胶色谱纯化, 采用10—20%的EtOAc庚烷梯度洗脱。产物分离为无色油状物 (1.077g, 62.1%)。

[0729]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.92 (s, 1H), 7.06 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.76 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.31—5.43 (m, 8H), 4.43—4.49 (m, 4H), 4.20—4.26 (m, 4H), 2.78 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.37 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 2.01—2.11 (m, 8H), 1.58—1.71 (m, 5H), 1.24—1.42 (m, 30H), 0.90 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

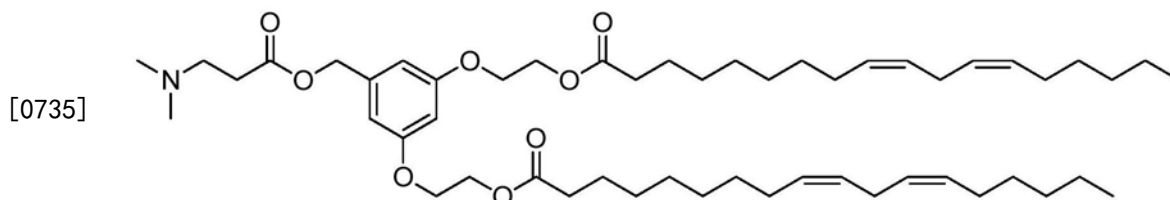
[0730] 中间体18c: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-(羟基甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0732] 在氮气环境中, 将中间体18b (465.2mg, 0.619mmol) 溶于4.1mL无水乙醇。一次性加入硼氢化钠 (46.9mg, 1.239mmol), 于室温下搅拌30分钟。TLC监测反应完成。反应物用乙酸骤冷, 用10mL水稀释, 萃取到30mL DCM中。合并获得的有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。产物回收为429mg的澄清油状物。

[0733] TLC (硅胶, 30%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.55$ 。

[0734] 实施例18化合物: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



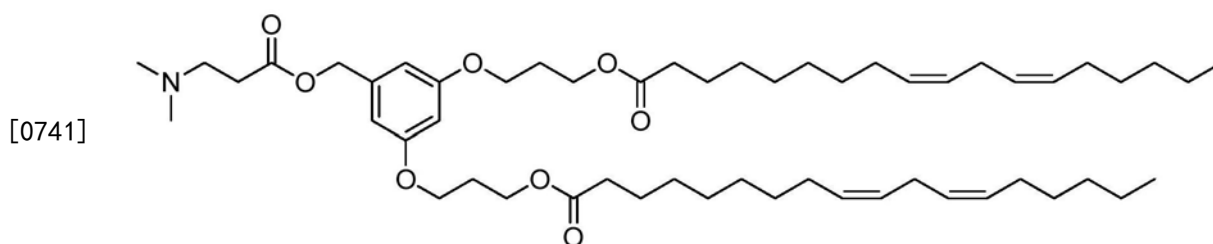
[0736] 将中间体18c (50mg, 0.066mmol) 和N,N-二甲基氨基丙酸 (10.20mg, 0.066mmol) 溶于4mL DCM。加入HATU (37.9mg, 0.100mmol), 随后加入三乙胺 (9.25uL, 0.066mmol)。将反应物于室温下搅拌18小时, 通过LCMS监测。反应物用100mL DCM和50mL水稀释。分离有机层, 然后用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗品通过硅胶色谱纯化, 采用甲醇和二氯甲烷作为洗脱液。产物通过HPLC进一步纯化 (Waters Sunfire C8柱, 5—100%的1:1乙腈:异丙醇的水溶液, 用0.1% TFA改性)。将含有产物的组分在二氯甲烷和饱和的碳酸氢钠水溶液之间分配1小时。二氯甲烷层经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 获得目标化合物。

[0737]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.54 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H), 6.45 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H), 5.28—5.49 (m, 8H), 5.07 (s, 2H), 4.35—4.48 (m, 4H), 4.08—4.22 (m, 4H), 2.79 (t,  $J=6.53\text{Hz}$ , 4H), 2.60—2.72 (m, 2H), 2.49—2.60 (m, 2H), 2.37 (t,  $J=7.65\text{Hz}$ , 4H), 2.27 (s, 6H), 1.97—2.14 (m, 8H), 1.56—1.74 (m, 4H), 1.23—1.44 (m, 28H), 0.85—0.97 (m, 6H) ppm。

[0738] ES-MS  $m/z=852.7$  (MH $^+$ )。

[0739] 实施例19-23可以采用实施例18制备所使用的类似方法制备。

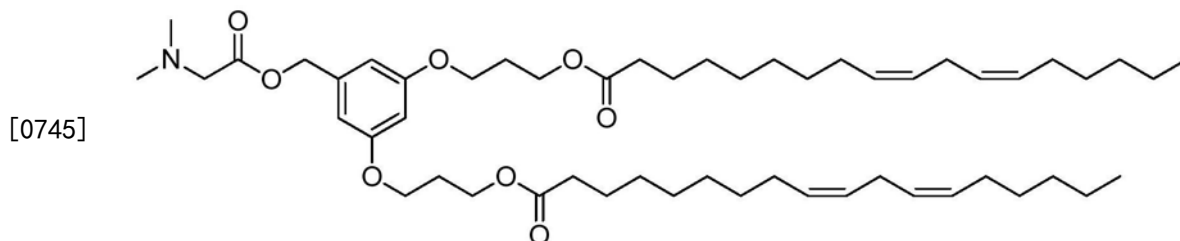
[0740] 实施例19: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1, 3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0742]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.50 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.41 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.33—5.44 (m, 8H), 5.07 (s, 2H), 4.27 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 4.03 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 2.73—2.78 (m, 4H), 2.64 (d,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 2.29—2.37 (m, 10H), 2.12 (dd,  $J=6.3, 6.3\text{Hz}$ , 4H), 2.02—2.10 (m, 8H), 1.63 (dd,  $J=7.3, 7.3\text{Hz}$ , 5H), 1.25—1.41 (m, 32H), 0.91 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0743] ES-MS  $m/z=880.4$  (MH $^+$ )。

[0744] 实施例20: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-((2-(二甲基氨基)乙酰氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



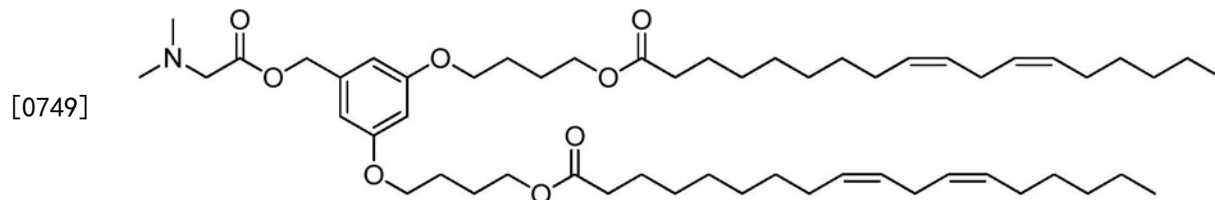
[0746]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.42 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.27—



5.47 (m, 8H), 5.11 (s, 2H), 4.27 (dd,  $J=6.4, 6.4\text{Hz}$ , 4H), 4.03 (dd,  $J=6.1, 6.1\text{Hz}$ , 4H), 3.30 (s, 2H), 2.79 (dd,  $J=6.4, 6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.44 (s, 6H), 2.32 (dd,  $J=7.5, 7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.03–2.15 (m, 12H), 1.53–1.77 (m, 14H), 1.25–1.43 (m, 32H), 0.91 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0747] ES-MS  $m/z=866.4$  (MH<sup>+</sup>)。

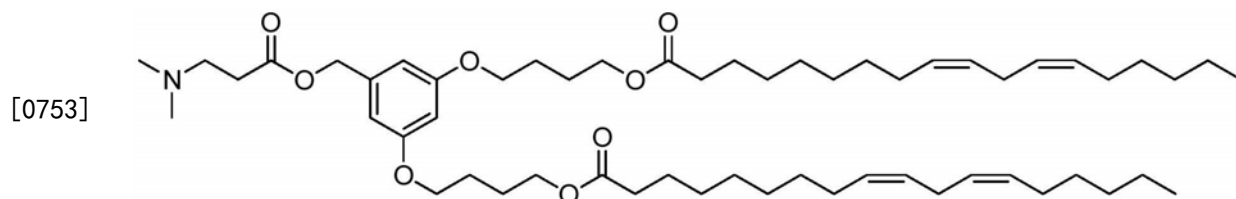
[0748] 实施例21: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-((2-(二甲基氨基)乙酰氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0750] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.48 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.40 (t,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H), 5.43–5.32 (m, 8H), 5.11 (s, 2H), 4.17–4.10 (m, 4H), 3.96 (dd,  $J=5.6, 5.6\text{Hz}$ , 4H), 3.54 (s, 2H), 3.20–3.27 (m,  $J=7.3\text{Hz}$ , 3H), 2.81 (s, 22H), 2.77 (dd,  $J=6.7, 6.7\text{Hz}$ , 4H), 2.63 (s, 6H), 2.30 (dd,  $J=7.7, 7.7\text{Hz}$ , 4H), 2.01–2.08 (m, 8H), 1.86–1.78 (m, 8H), 1.66–1.58 (m, 5H), 1.42–1.37 (m, 7H), 1.37–1.23 (m, 36H), 0.91–0.87 (m, 6H) ppm。

[0751] ES-MS  $m/z=894.5$  (MH<sup>+</sup>)。

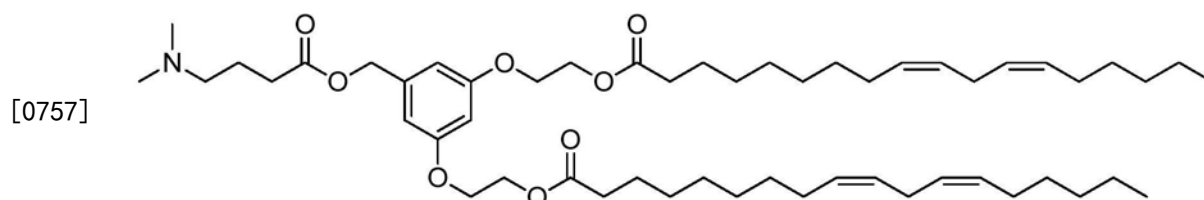
[0752] 实施例22: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0754] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.48 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.40 (br. s, 1H), 5.32–5.43 (m, 8H), 5.11 (s, 2H), 4.10–4.17 (m, 4H), 3.96 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 4H), 3.54 (s, 2H), 3.23 (q,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 2.77 (dd,  $J=6.7, 6.7\text{Hz}$ , 4H), 2.63 (s, 6H), 2.30 (dd,  $J=7.7, 7.7\text{Hz}$ , 4H), 2.02–2.07 (m, 8H), 1.79–1.88 (m, 8H), 1.58–1.68 (m, 5H), 1.23–1.39 (m, 38H), 0.89 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 7H) ppm。

[0755] ES-MS  $m/z=908.7$  (MH<sup>+</sup>)。

[0756] 实施例23: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-(((4-(二甲基氨基)丁酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



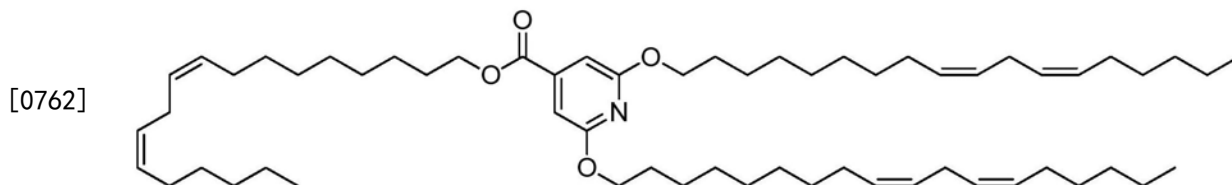
[0758] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.84 (s, 1H), 6.74 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 2H), 5.21–5.35 (m, 8H), 5.07 (s, 2H), 4.31 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 4.03–4.08 (m, 4H), 2.69 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 2.47–2.58 (m, 8H), 2.35–2.41 (m, 7H), 2.23–2.28 (m, 5H), 1.95–2.00 (m, 8H), 1.79–1.86 (m,

2H), 1.52–1.59 (m, 5H), 1.17–1.32 (m, 37H), 0.82 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0759] ES-MS  $m/z=866.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[0760] 实施例24的合成:

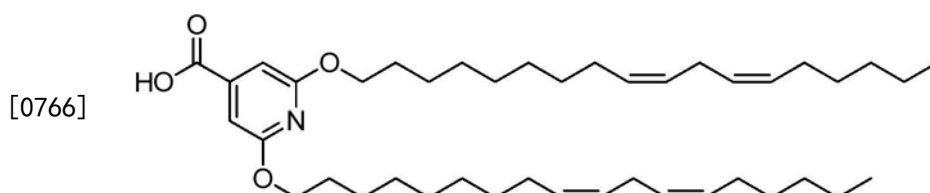
[0761] 中间体24a: (9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)异烟酸酯



[0763] 将柠檬酸(1.8g, 11.6mmol)的DMF (60ml) 溶液于室温下搅拌, 加入亚油醇甲磺酸酯(16.0g, 46.4mmol) 和碳酸钾(8.02g, 58.0mmol)。将混合物加热至80℃过夜, 然后冷却至室温, 加入水(50ml) 和EtOAc (100ml)。收集有机相, 经硫酸钠干燥, 然后减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得5.2g目标产物。

[0764] <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ165.3, 163.5, 142.9, 130.2, 130.1, 130.1, 120.8, 127.9, 101.2, 66.6, 65.7, 31.6, 29.7, 29.7, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 29.1, 28.6, 27.2, 26.1, 26.0, 25.6, 22.6, 14.1ppm。

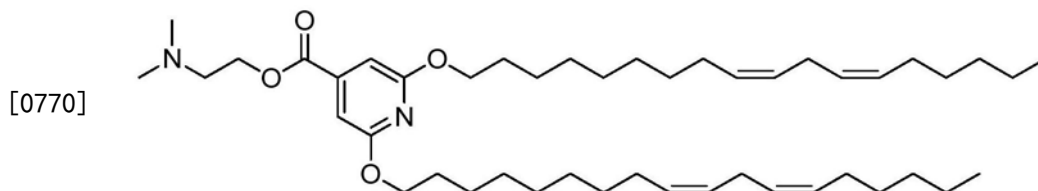
[0765] 中间体24b: 2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)异烟酸



[0767] 将中间体24a (3.06g, 3.40mmol) 在EtOH (15ml) 中搅拌, 加入氢氧化钾(329mg, 5.10mmol)。浑浊的溶液变得澄清, 加入水(10ml) 和THF (8ml)。将获得的混合物于室温下搅拌过夜, 然后减压除去挥发物。获得的残留物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.6g目标产物。

[0768] ES-MS  $m/z=652.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[0769] 实施例24化合物: 2-(二甲基氨基)乙基2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)异烟酸酯



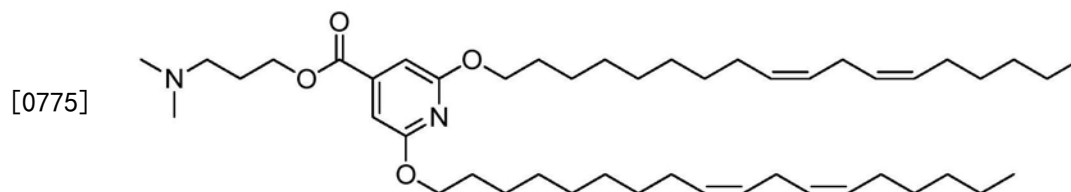
[0771] 将中间体24b (311mg, 0.477mmol) 在DMF (15ml) 和HBTU (651mg, 1.717mmol) 中搅拌, 加入HOBT (120mg, 0.444mmol) 和DIEA (0.582ml, 3.34mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 将反应物倒入水(50ml) 中, 将获得的混合物用EtOAc萃取。收集有机相, 经硫酸钠干燥, 然后减压浓缩。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得207mg目标产物。

[0772] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.85 (s, 2H), 5.32-5.44 (m, 8H), 4.42 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 2H), 4.27

(t, J=8Hz, 2H), 2.79 (t, J=8Hz, 2H), 2.71 (t, J=8Hz, 2H), 2.34 (s, 6H), 2.07 (dd, J=8Hz, 8H), 1.78 (q, J=8Hz, 4H), 1.27-1.48 (m, 32H), 0.91 (t, J=8Hz, 6H) ppm。

[0773] ES-MS  $m/z=723.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[0774] 实施例25: 3-(二甲基氨基)丙基2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)异烟酸酯



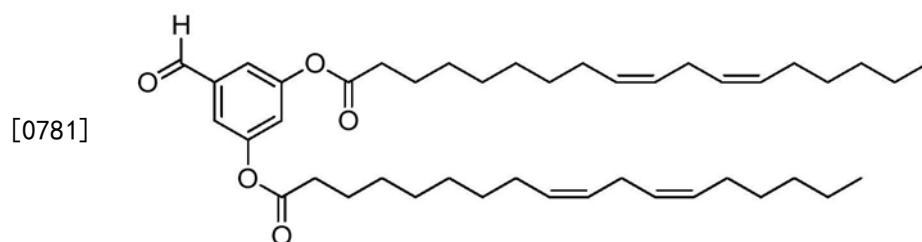
[0776] 实施例25可以采用实施例24制备所使用的类似方法制备。

[0777] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.84 (s, 2H), 5.32-5.44 (m, 8H), 4.37 (t, J=8Hz, 2H), 4.28 (t, J=8Hz, 4H), 2.79 (t, J=8Hz, 4H), 2.45 (t, J=8Hz, 2H), 2.29 (s, 6H), 2.07 (dd, J=8Hz, 8H), 1.97 (q, J=5Hz, 2H), 1.78 (q, J=8Hz, 6H), 1.27-1.48 (m, 32H), 0.90 (t, J=8Hz, 6H) ppm。

[0778] ES-MS  $m/z=737.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[0779] 实施例26的合成:

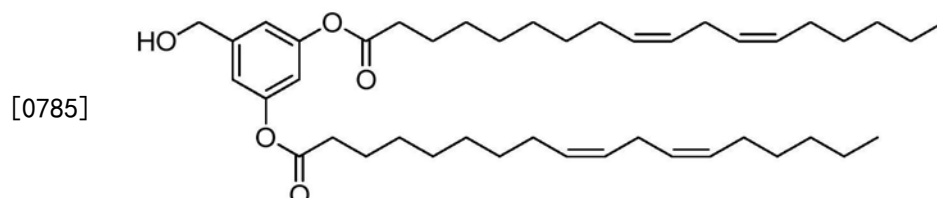
[0780] 中间体26a: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-甲酰基-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0782] 将3,5-二羟基苯甲醛(500mg, 3.62mmol)的DCE(9ml)溶液置于微波瓶中,加入亚油酸(2.03g, 7.24mmol)、DIEA(1.26ml, 7.24mmol)、DMAP(442mg, 3.62mmol)和EDC(1.74g, 9.05mmol)。将反应物在微波反应器中加热至80℃20min,然后于4℃放置2天。减压除去挥发物,获得的产物经硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得1.44g目标产物。

[0783] <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ190.2, 171.6, 151.7, 138., 130.3, 130.0, 128.1, 127.9, 121.5, 119.9, 34.3, 31.5, 29.6, 29.4, 29.2, 29.1, 29.1, 27.2, 27.2, 25.6, 24.8, 22.6, 14.1ppm。

[0784] 中间体26b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(羟基甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯)

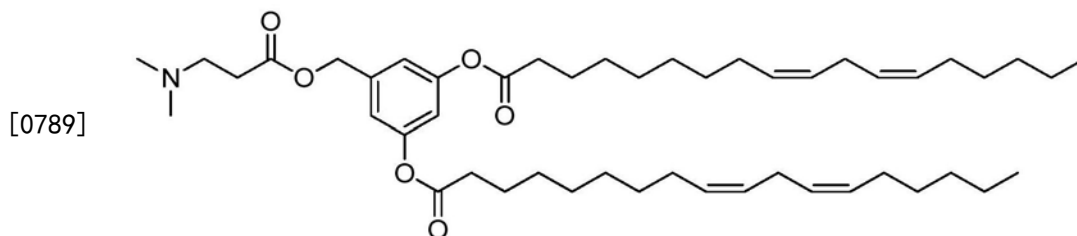


[0786] 将中间体26a(1.44g, 2.17mmol)在THF(18ml)和EtOH(18ml)中搅拌,将获得的溶液在冰浴中冷却。加入硼氢化钠(25mg, 0.65mmol),将反应物于0℃搅拌1h。反应物用EtOAc稀释,用水洗涤二次。获得的有机层经硫酸钠干燥,然后减压除去挥发物。粗品产物经硅胶色

谱纯化,先采用庚烷/EtOAc、然后采用DCM/MeOH作为洗脱液,获得850mg (59%) 目标产物。

[0787]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.01-6.97 (m, 2H), 6.82-6.80 (m, 1H), 5.45-5.30 (m, 8H), 4.71 (s, 2H), 2.82-2.75 (m, 4H), 2.58-2.51 (m, 4H), 2.12-2.01 (m, 8H), 1.80-1.70 (m, 4H), 1.45-1.23 (m, 28H), 0.93-0.86 (m, 6H) ppm。

[0788] 实施例26化合物: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) -5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯)

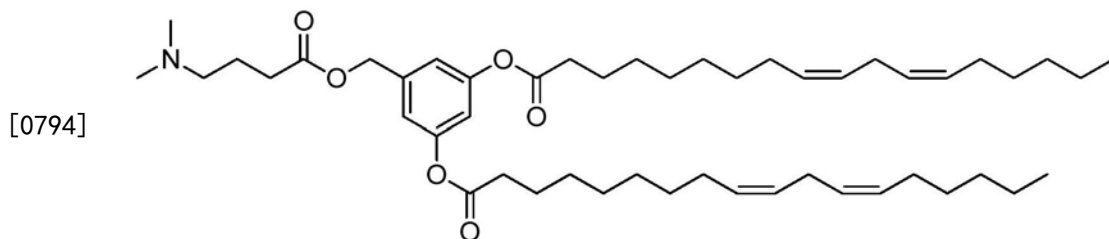


[0790] 向中间体26b (330mg, 0.496mmol) 的DCM (30ml) 溶液中加入3-二甲基氨基丙酸盐盐酸盐 (114mg, 0.744mmol)、EDC (143mg, 0.744mmol)、DMAP (6mg, 0.05mmol) 和TEA (0.277ml, 1.98mmol)。将获得的混合物于室温下搅拌过夜,然后通过甲酸改性的硅胶色谱直接纯化,先采用庚烷/EtOAc、然后采用DCM/MeOH作为洗脱液,获得428mg为甲酸盐的目标产物和697mg的游离碱。甲酸盐特征。

[0791]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.41 (d,  $J=1.26\text{Hz}$ , 0.5H, 甲酸盐), 6.99 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H), 6.89 (t,  $J=2.13\text{Hz}$ , 1H), 5.26-5.48 (m, 8H), 5.13 (s, 2H), 2.93 (q,  $J=7.03\text{Hz}$ , 2H), 2.80 (t,  $J=6.80\text{Hz}$ , 4H), 2.67-2.77 (m, 2H), 2.56 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H), 2.45 (d,  $J=5.52\text{Hz}$ , 6H), 1.97-2.17 (m, 8H), 1.75 (quin,  $J=7.47\text{Hz}$ , 4H), 1.23-1.50 (m, 28H), 0.81-0.98 (m, 6H) ppm。

[0792] ES-MS  $m/z=764.6$  (MH $^+$ )。

[0793] 实施例27: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) -5-(((4-(二甲基氨基)丁酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0795] 实施例27可以采用实施例26制备所使用的类似方法制备。

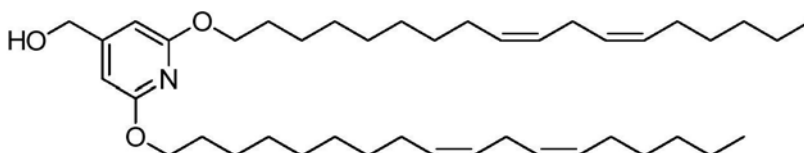
[0796]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.97 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.87 (t,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H), 5.27-5.48 (m, 8H), 5.10 (s, 2H), 2.78 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.54 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.41 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.27-2.35 (m, 2H), 2.22 (s, 6H), 2.00-2.12 (m, 8H), 1.82 (quin,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 1.74 (quin,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.23-1.46 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0797] ES-MS  $m/z=778.5$  (MH $^+$ )。

[0798] 实施例28的合成:

[0799] 中间体28a: (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲醇

[0800]

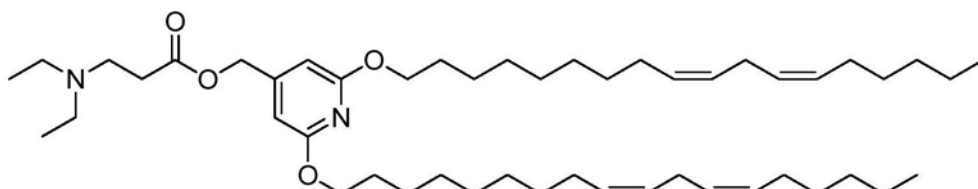


[0801] 将中间体24b (3.5g, 3.89mmol) 在THF (50ml) 中搅拌, 将溶液在冰浴中冷却。向该冷却的溶液中缓慢加入氢化铝锂 (570mg, 15mmol)。加入完成后, 将反应物温热至室温, 搅拌过夜。小心地加入冰, 将获得的混合物用EtOAc萃取。收集有机层, 经硫酸钠干燥, 然后减压浓缩。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.3g目标产物。

[0802]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.27 (s, 2H), 5.44-5.27 (m, 8H), 4.63 (s, 2H), 4.23 (t,  $J=5.7\text{Hz}$ , 4H), 2.82-2.75 (m, 4H), 2.10-2.02 (m, 8H), 1.80-1.72 (m, 4H), 1.47-1.23 (m, 32H), 0.93-0.86 (m, 6H) ppm。

[0803] 实施例28化合物: (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基3-(二乙基氨基)丙酸酯

[0804]



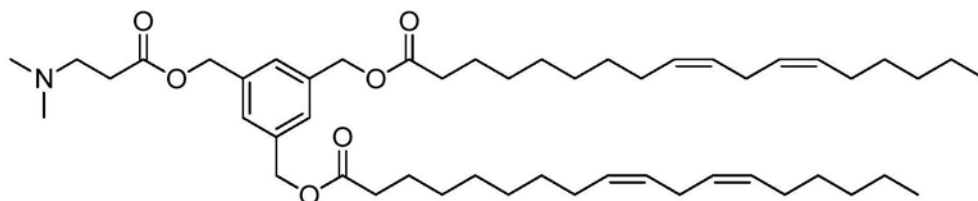
[0805] 将中间体28a (334mg, 0.523mmol) 在DCM (20ml) 中与3-二乙基氨基丙酸盐酸盐 (143mg, 0.785mmol) 一起搅拌。加入HATU (397mg, 1.05mmol), 将反应物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得171mg目标产物。

[0806]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.25 (s, 2H), 5.32-5.44 (m, 8H), 5.04 (s, 2H), 4.24 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.78-2.87 (m, 6H), 2.55 (dd,  $J=8\text{Hz}$ , 6H), 2.07 (dd,  $J=8\text{Hz}$ , 8H), 1.78 (q,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 1.27-1.48 (m, 32H), 1.05 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 6H), 0.91 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0807] ES-MS  $m/z=765.7$  (MH $^+$ )。

[0808] 实施例29: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

[0809]



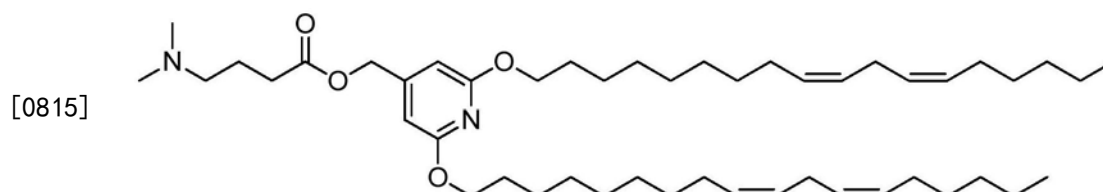
[0810] 实施例29可以根据制备中间体33a和实施例18所采用的类似方法制备。

[0811]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.30 (s, 3H), 5.28-5.45 (m, 8H), 5.14 (s, 2H), 5.11 (s, 4H), 2.77 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.61-2.70 (m, 2H), 2.51-2.59 (m, 2H), 2.37 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.25 (s, 6H), 2.05 (q,  $J=6.9\text{Hz}$ , 8H), 1.59-1.73 (m, 6H), 1.22-1.43 (m, 26H), 0.89 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0812] ES-MS  $m/z=792.4$  (MH $^+$ )。

[0813] 实施例30-31可以采用实施例28制备所使用的类似方法制备。

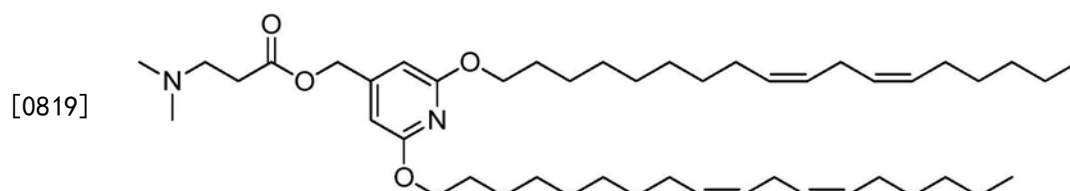
[0814] 实施例30: (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基4-(二甲基氨基)丁酸酯



[0816]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.24 (s, 2H), 5.46–5.33 (m, 8H), 5.05 (s, 2H), 4.24 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H), 2.81–2.72 (m, 7H), 2.66–2.61 (m, 2H), 2.34 (s, 6H), 2.02–2.11 (m, 8H), 1.80–1.72 (m, 4H), 1.49–1.40 (m,  $J=6.0, 13.8\text{Hz}$ , 5H), 1.40–1.25 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0817] ES-MS  $m/z=751.7$  (MH $^+$ )。

[0818] 实施例31: (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基3-(二甲基氨基)丙酸酯

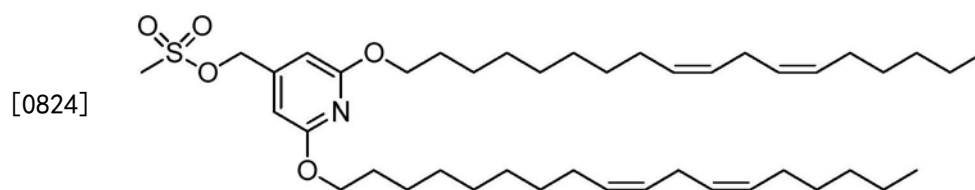


[0820]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.42 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.44–5.30 (m, 8H), 5.11 (s, 2H), 4.27 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 4.03 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 3.30 (s, 2H), 2.79 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.44 (s, 6H), 2.32 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.17–2.10 (m, 4H), 2.09–2.03 (m, 9H), 1.68–1.57 (m, 10H), 1.42–1.26 (m, 34H), 0.91 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H)。

[0821] ES-MS  $m/z=737.5$  (MH $^+$ )。

[0822] 实施例32的合成:

[0823] 中间体32a: (2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)甲基甲磺酸盐

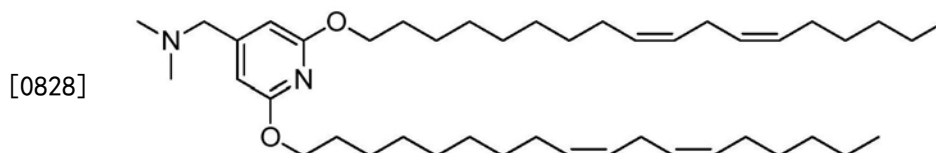


[0825] 将中间体28a (330mg, 0.517mmol) 在DCM (30ml) 中与TEA (0.290ml, 2.07mmol) 一起搅拌, 将获得的溶液在冰浴中冷却。加入MsCl (0.08ml, 1.0mmol), 将获得的混合物温热至室温, 搅拌4h。将反应物用HCl (30ml, 1M的水溶液) 和DCM (50ml) 处理, 收集有机层。产物经硫酸钠干燥, 减压除去挥发物, 获得360mg产物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[0826]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.27–6.36 (s, 2H), 5.32–5.44 (m, 10H), 5.14 (s, 1H), 4.39–4.50 (m, 1H), 4.17–4.30 (m, 5H), 3.41 (q,  $J=7.03\text{Hz}$ , 1H), 3.01–3.06 (m, 2H), 2.74–2.84 (m, 5H), 2.07 (q,  $J=6.86\text{Hz}$ , 10H), 1.70–1.87 (m, 5H), 1.66 (s, 2H), 1.24–1.55 (m, 34H), 0.91 (t,  $J=6.78\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0827] 实施例32化合物: 1-(2,6-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)吡啶-4-基)-

N,N-二甲基甲胺



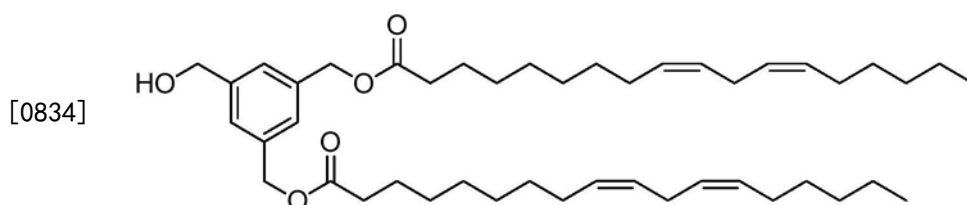
[0829] 将中间体32a (360mg, 0.503mmol) 在DMF (3ml) 中与二甲基胺 (3ml, 2M, 11.9mmol) 一起搅拌, 将混合物在微波反应器中加热至140°C 30min。重复该加热过程直到TLC确定所有的原料已经反应。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得123mg目标产物。

[0830]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.27 (s, 2H), 5.32-5.44 (m, 8H), 4.26 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 3.33 (s, 2H), 2.80 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.26 (s, 6H), 2.07 (dd,  $J=8\text{Hz}$ , 8H), 1.78 (q,  $J=5\text{Hz}$ , 4H), 1.27-1.48 (m, 32H), 0.92 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0831] ES-MS  $m/z=665.5$  (MH $^+$ )。

[0832] 实施例33的合成:

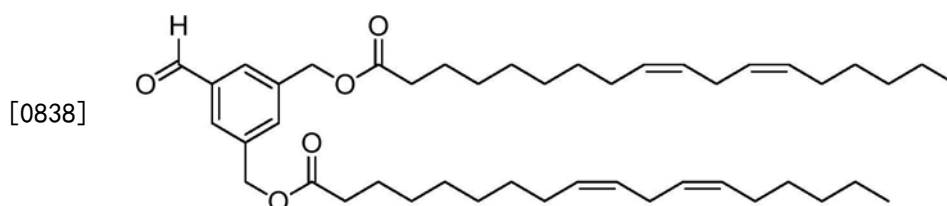
[0833] 中间体33a: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - (5-(羟基甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9, 12-二烯酸酯)



[0835] 将亚油酸 (3.42g, 12.19mmol) 与EDC (2.33g, 12.2mmol) 的DCM (30ml) 溶液一起搅拌。溶解后, 加入DIEA (2.60ml, 14.9mmol) 和DMAP (145mg, 1.19mmol)。搅拌10分钟后, 加入苯-1,3,5-三基三甲醇 (1.0g, 6.0mmol), 将获得的混合物于室温下搅拌3天。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.36g目标产物。

[0836] TLC (硅胶, 20%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.12$ 。

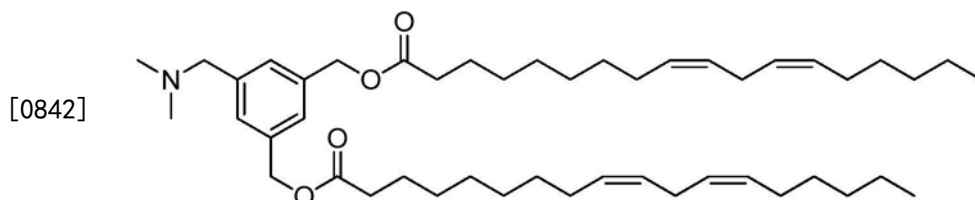
[0837] 中间体33b: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - (5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9, 12-二烯酸酯)



[0839] 将中间体33a (214mg, 0.309mmol) 在DCM (30ml) 中搅拌, 加入PDC (244mg, 0.648mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得210mg目标产物。

[0840] TLC (硅胶, 20%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.44$ 。

[0841] 实施例33化合物: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9, 12-二烯酸酯)



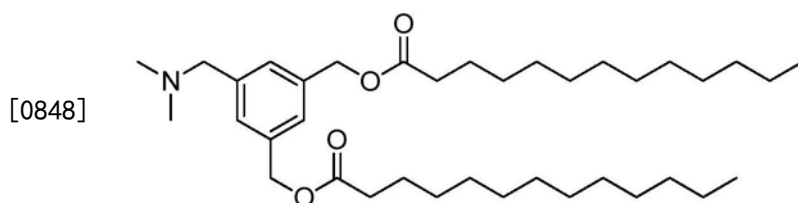
[0843] 将中间体33b (210mg, 0.30mmol) 在DCE (10ml) 中搅拌, 加入二甲基胺 (0.53ml, 2.0M 的THF溶液, 1.06mmol)。加入乙酸 (0.017ml, 0.304mmol) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (129mg, 0.608mmol), 将产物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 先采用庚烷/EtOAc、随后采用DCM/MeOH作为洗脱液, 获得186mg目标产物。

[0844]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.29-7.25 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 1H), 5.44-5.27 (m, 8H), 5.10 (s, 4H), 3.44 (s, 2H), 2.81-2.74 (m, 4H), 2.36 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.25 (s, 6H), 2.10-2.01 (m, 8H), 1.70-1.58 (m, 4H), 1.42-1.21 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0845] ES-MS  $m/z=721.1$  (MH $^+$ )。

[0846] 实施例34-36可以采用实施例33制备所使用的类似方法制备。

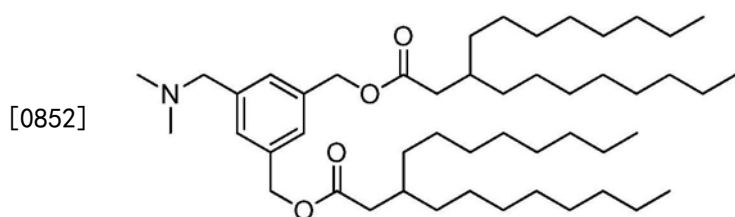
[0847] 实施例34: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)双十三烷酸酯



[0849]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.21 (s, 2H); 7.18 (s, 1H), 5.03 (s, 4H); 3.42 (br s, 2H); 2.28 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H); 2.22 (s, 6H); 1.61-1.53 (m, 4H); 1.27-1.15 (m, 36H); 0.81 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0850] ES-MS  $m/z=588.5$  (MH $^+$ )。

[0851] 实施例35: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(3-辛基十一烷酸酯)

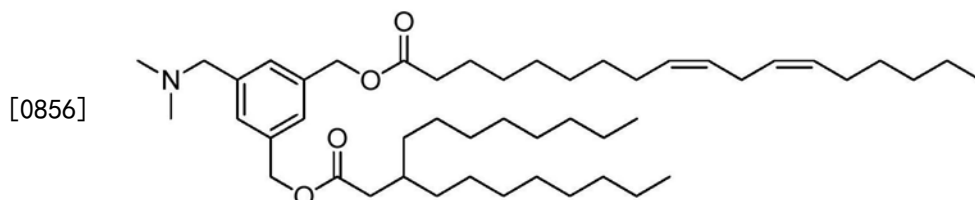


[0853]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.26 (s, 2H), 7.24 (s, 1H), 5.10 (s, 4H), 3.43 (s, 2H), 2.29 (d,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.25 (s, 6H), 1.87 (m, 2H), 1.31-1.25 (m, 58H), 0.91-0.87 (m, 12H) ppm。

[0854] ES-MS  $m/z=756.6$  (MH $^+$ )。

[0855] 实施例36: (9Z, 12Z)-3-((二甲基氨基)甲基)-5-(((3-辛基十一酰基)氧基)甲基)苕基十八-9, 12-二烯酸酯



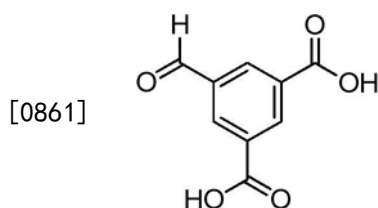


[0857]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28-7.25 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 1H), 5.44-5.29 (m, 4H), 5.10 (s, 4H), 3.43 (s, 2H), 2.83-2.73 (m, 2H), 2.36 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.29 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 2.25 (s, 6H), 2.10-2.00 (m, 4H), 1.92-1.80 (m, 1H), 1.71-1.57 (m, 2H), 1.43-1.17 (m, 42H), 0.94-0.83 (m, 9H) ppm。

[0858] ES-MS  $m/z=736.6$  (MH $^+$ )。

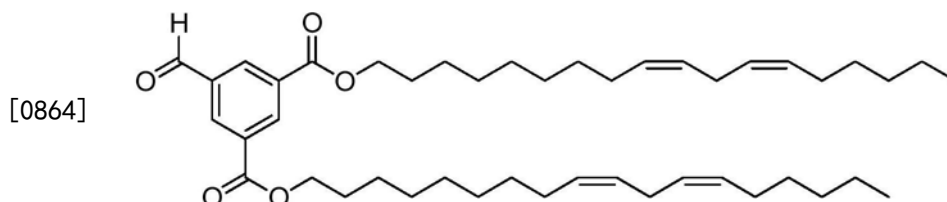
[0859] 实施例37的合成:

[0860] 中间体37a: 5-甲酰基间苯二甲酸



[0862] 向3-甲酰基-5-(甲氧基羰基)苯甲酸(1g, 4.80mmol)的THF(25ml)溶液中加入LiOH(12.01ml, 24.02mmol), 于室温下搅拌16h。观察到部分水解。将反应物再加热至50℃16h。反应物用EtOAc(50ml)和水(50ml)稀释, 采用1N HCl将pH调节至中性。收集有机层, 用水洗涤(2×50ml), 经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得的产物无需进一步纯化可以直接使用。

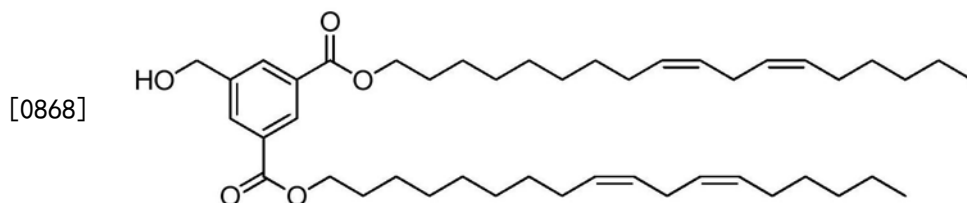
[0863] 中间体37b: 二((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基) 5-甲酰基异邻苯二甲酸酯



[0865] 将中间体37a(700mg, 0.36mmol)在DCM(15ml)中搅拌, 加入草酰氯(3.16ml, 36mmol)以及一滴DMF。将获得的混合物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 将获得的残留物再溶于THF(10ml)。加入亚油醇(2.02g, 7.57mmol), 随后加入TEA(2.51ml, 18.0mmol), 将获得的混合物在冰浴中搅拌3h。反应物用EtOAc(50ml)和水(50ml)稀释。收集有机层, 用水洗涤(2×50ml), 经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得350mg目标产物。

[0866]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.66 (s, 1H), 8.26 (s, 2H), 5.25-5.53 (m, 8H), 4.16-4.43 (m, 4H), 3.47-3.67 (m, 1H), 2.77 (t,  $J=5.68\text{Hz}$ , 4H), 2.05 (d,  $J=6.32\text{Hz}$ , 7H), 1.91 (br. s., 2H), 1.65-1.85 (m, 4H), 1.37-1.53 (m, 5H), 1.09-1.37 (m, 28H), 0.88 (t,  $J=6.19\text{Hz}$ , 6H) ppm。

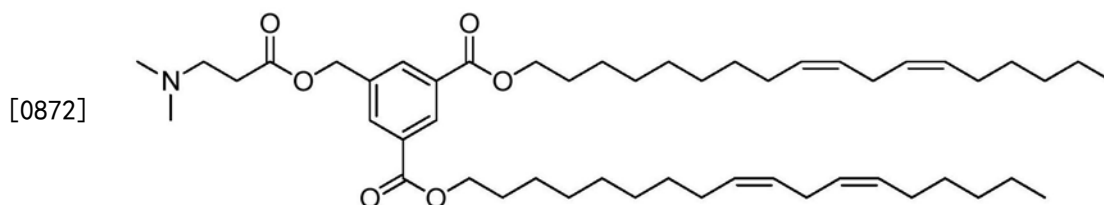
[0867] 中间体37c: 二((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基) 5-(羟基甲基)异邻苯二甲酸酯



[0869] 向中间体37b (250mg, 0.36mmol) 的THF (30ml) 和EtOH (15ml) 溶液中加入硼氢化钠 (17.8mg, 0.47mmol)。将反应物于室温下搅拌30min, 然后用EtOAc (50ml) 和水 (50ml) 稀释。收集有机层, 用水洗涤 (2×50ml), 经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得260mg目标产物。

[0870]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.60 (t,  $J=1.51\text{Hz}$ , 1H), 8.13–8.32 (m, 2H), 5.22–5.46 (m, 8H), 4.82 (d,  $J=5.77\text{Hz}$ , 2H), 4.34 (t,  $J=6.78\text{Hz}$ , 4H), 2.77 (t,  $J=6.53\text{Hz}$ , 4H), 1.93–2.13 (m, 9H), 1.70–1.86 (m, 4H), 1.20–1.49 (m, 32H), 0.76–1.00 (m, 6H) ppm。

[0871] 实施例37化合物: 二((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基) 5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)异邻苯二甲酸酯



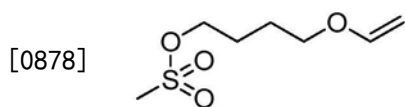
[0873] 向3-二甲基氨基丙酸 (25mg, 0.16mmol) 的DCM (3ml) 溶液中加入EDC (31mg, 0.16mmol) 和DMAP (1.32mg, 0.011mmol), 随后加入TEA (0.06ml, 0.43mmol)。将获得的溶液于室温下搅拌30min, 加入中间体37c (75mg, 0.11mmol)。将反应物搅拌16h, 然后用DCM (20ml) 和水 (20ml) 稀释。收集有机层, 用水洗涤 (2×20ml), 然后经硫酸镁干燥。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得41mg目标产物。

[0874]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.63 (t,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H), 8.20 (d,  $J=1.8\text{Hz}$ , 2H), 5.47–5.26 (m, 8H), 5.22 (s, 2H), 4.35 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H), 2.89–2.74 (m, 6H), 2.74–2.65 (m,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 2.39 (s, 6H), 2.12–1.95 (m, 8H), 1.87–1.71 (m, 4H), 1.49–1.19 (m, 33H), 0.89 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0875] ES-MS  $m/z=792.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[0876] 实施例38的合成:

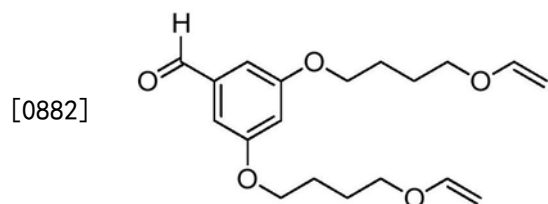
[0877] 中间体38a: 4-(乙烯基氧基)丁基甲磺酸酯



[0879] 将4-(乙烯基氧基)丁-1-醇 (50g, 430mmol) 的DCM (430ml) 溶液在冰浴中冷却。向该溶液中加入TEA (90ml, 646mmol), 随后滴加甲磺酰氯 (36.9ml, 473mmol)。在加入后一半时, 白色沉淀物形成, 加入完成时, 反应物转变为浅橙色。将反应物搅拌过夜, 使得冰熔融, 反应物升高至室温。将反应物倒入分液漏斗, 用400mL饱和的碳酸氢钠(aq)和400mL EtOAc稀释。分层, 水层用300mL EtOAc萃取二次以上。EtOAc层用200mL饱和的碳酸氢钠洗涤, 随后用水洗涤, 然后EtOAc层经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 获得84g (100%) 目标产物。

[0880]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.47 (dd,  $J=6.8, 14.3\text{Hz}$ , 1H), 4.29 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 2H), 4.19 (dd,  $J=2.0, 14.3\text{Hz}$ , 1H), 4.02 (dd,  $J=2.0, 6.8\text{Hz}$ , 1H), 3.74 (t,  $J=5.9\text{Hz}$ , 2H), 3.03 (s, 3H), 1.96–1.85 (m, 2H), 1.86–1.73 (m, 2H) ppm。

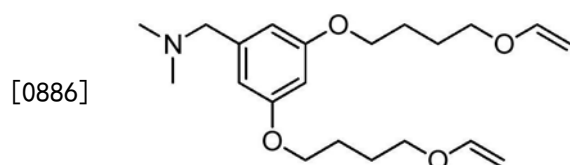
[0881] 中间体38b: 3,5-二(4-(乙烯基氧基)丁氧基)苯甲醛



[0883] 将中间体38a (84g, 435mmol) 在DMF (400ml) 中搅拌, 加入3,5-二羟基苯甲醛 (27.3g, 198mmol), 随后加入碳酸钾 (109mg, 791mmol)。将反应物加热至80℃过夜。冷却至室温后, 反应物用EtOAc (600ml) 和水 (700ml) 稀释。收集有机层, 水层用EtOAc (300ml) 再次洗涤。合并有机层, 用水洗涤 (4×300ml), 经硫酸钠干燥, 然后减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得56g目标产物。

[0884] ES-MS  $m/z=335.1$  (MH<sup>+</sup>)。

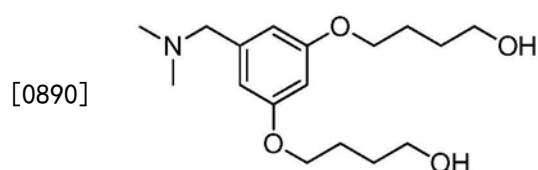
[0885] 中间体38c: 1-(3,5-二(4-(乙烯基氧基)丁氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺



[0887] 将中间体38b (37g, 111mmol) 与二甲基胺 (116ml, 2M的THF溶液, 332mmol) 和乙酸 (6.33ml, 111mmol) 一起在DCM (400ml) 中搅拌。向该混合物中加入三乙酰氧基硼氢化钠 (58.6g, 277mmol), 将反应物于室温下搅拌过夜。向该反应物中加入饱和的碳酸氢钠 (800ml) 和EtOAc (1000ml)。收集有机相, 水相用EtOAc萃取 (500ml)。合并的有机相经硫酸钠干燥, 减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得34g目标产物。

[0888] ES-MS  $m/z=364.9$  (MH<sup>+</sup>)。

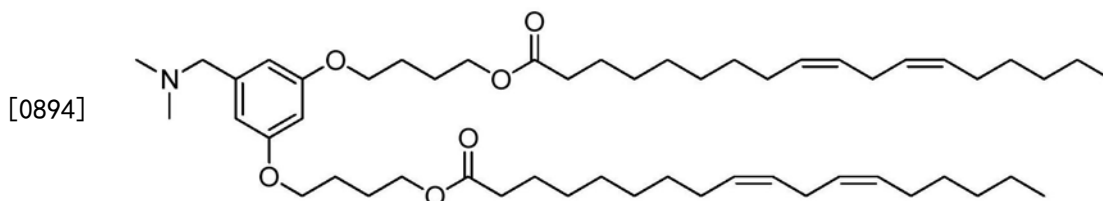
[0889] 中间体38d: 4,4'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁-1-醇)



[0891] 向中间体38c (42g, 116mmol) 的EtOAc (200ml) 溶液中加入HCl (87ml, 4M的二氧六环溶液, 348mmol)。当TLC监测发现反应完成时, 加入饱和的碳酸氢钠水溶液 (500ml), 通过加入固体碳酸钾将pH调节至10。加入EtOAc (600ml), 收集有机层。水层用EtOAc萃取 (3×500ml), 合并的有机层经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得35g产物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[0892]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.50 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.37 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 4.01 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 3.79–3.68 (m, 6H), 3.36 (s, 2H), 2.26 (s, 6H), 1.93–1.82 (m, 4H), 1.82–1.67 (m, 4H) ppm。

[0893] 实施例38化合物: (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



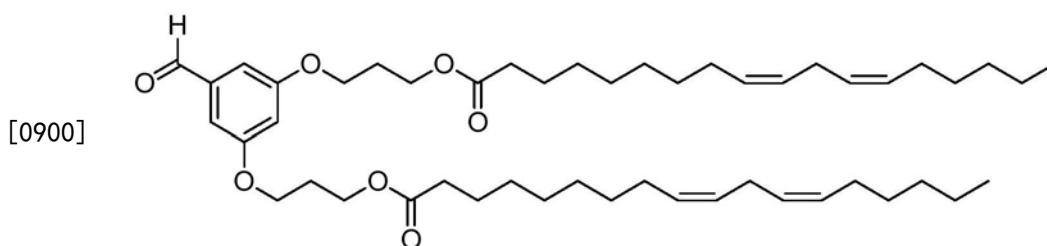
[0895] 向中间体36 (10g, 32mmol) 的DCM (161ml) 溶液中加入DMAP (392mg, 3.21mmol)、DIEA (16.8ml, 96mmol) 和亚油酸 (18.9g, 67.4mmol)。加入EDC (14.8g, 77mmol), 将产物于室温下搅拌过夜。加入饱和的碳酸氢钠水溶液 (500ml), 将获得的混合物用EtOAc萃取 (3×600ml)。合并的有机层经硫酸钠干燥, 然后减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得18.6g目标产物。

[0896]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.50 (br s, 2H), 6.36 (br s, 1H), 5.28-5.45 (m, 8H), 4.14 (t,  $J=6.05\text{Hz}$ , 4H), 3.98 (t,  $J=5.70\text{Hz}$ , 4H), 3.39 (br s, 2H), 2.78 (t,  $J=6.55\text{Hz}$ , 4H), 2.16-2.41 (m, 10H), 1.98-2.12 (m, 8H), 1.77-1.90 (m, 8H), 1.52-1.71 (m, 4H), 1.20-1.43 (m, 28H), 0.90 (t,  $J=6.85\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0897] ES-MS  $m/z=836.7$  (MH $^+$ )。

[0898] 实施例39的合成:

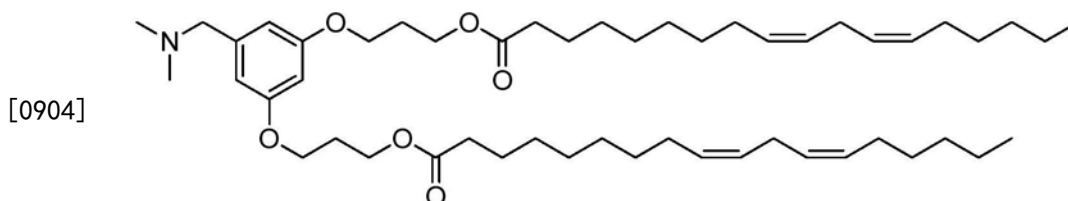
[0899] 中间体39a: (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0901] 中间体39a可以根据制备中间体18b的类似方法采用亚油酸和1,3-丙二醇作为原料制备。

[0902] TLC (硅胶, 40%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.74$ 。

[0903] 实施例39化合物: (9Z,9'Z,12Z,12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0905] 向中间体39a (2.42g, 3.11mmol) 的DCE (20ml) 溶液中加入二甲基胺 (3.25ml, 2.0M 的THF溶液, 6.5mmol) 和乙酸 (0.18ml, 3.1mmol), 随后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (1.32g, 6.21mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 然后加入饱和的碳酸氢钠水溶液, 随后加入DCM。收集有机层, 然后用另一份饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤。获得的水层再用DCM萃取, 合并有

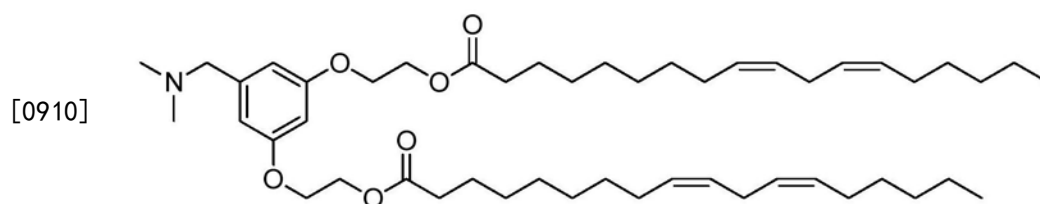
机层,经硫酸钠干燥。减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化,先采用庚烷/EtOAc、然后采用DCM/MeOH作为洗脱液,获得1.4g目标产物。

[0906]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.89 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 6H) 1.21–1.43 (m, 28H) 1.55–1.71 (m, 4H) 1.98–2.14 (m, 12H) 2.25 (s, 6H) 2.30 (t,  $J=7.65\text{Hz}$ , 4H) 2.77 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 4H) 3.35 (s, 2H) 4.02 (t,  $J=6.15\text{Hz}$ , 4H) 4.25 (t,  $J=6.40\text{Hz}$ , 4H) 5.24–5.52 (m, 8H) 6.35 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.48 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[0907] ES-MS  $m/z=809.2$  (MH $^+$ )。

[0908] 实施例40-64可以采用制备实施例38、实施例39和实施例52所采用的类似方法制备。

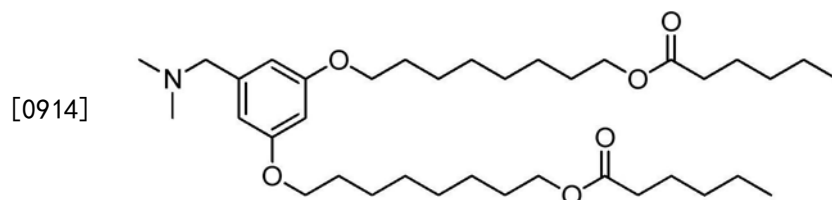
[0909] 实施例40: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0911]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 6H) 1.22–1.42 (m, 28H) 1.56–1.71 (m, 4H) 1.98–2.10 (m, 8H) 2.23 (s, 6H) 2.34 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H) 2.76 (t,  $J=6.53\text{Hz}$ , 4H) 3.34 (s, 2H) 4.08–4.20 (m, 4H) 4.35–4.46 (m, 4H) 5.26–5.44 (m, 8H) 6.38 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.51 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[0912] ES-MS  $m/z=781.3$  (MH $^+$ )。

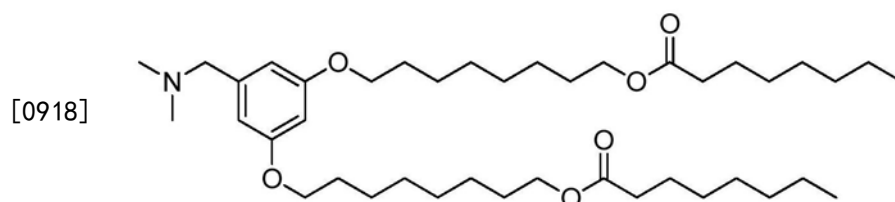
[0913] 实施例41: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二己酸酯



[0915]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.90 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 6H) 1.29–1.52 (m, 24H) 1.63 (quin,  $J=7.45\text{Hz}$ , 8H) 1.71–1.82 (m, 4H) 2.26 (s, 6H) 2.30 (t,  $J=7.58\text{Hz}$ , 4H) 3.37 (s, 2H) 3.93 (t,  $J=6.57\text{Hz}$ , 4H) 4.06 (t,  $J=6.69\text{Hz}$ , 4H) 6.35 (t,  $J=2.27\text{Hz}$ , 1H) 6.47 (d,  $J=2.27\text{Hz}$ , 3H) ppm。

[0916] ES-MS  $m/z=620.2$  (MH $^+$ )。

[0917] 实施例42: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二辛酸酯

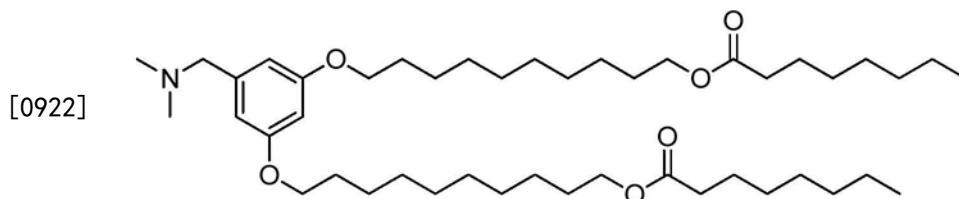


[0919]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 6H) 1.19–1.50 (m, 32H) 1.55–1.68

(m, 8H) 1.71–1.85 (m, 4H)<sub>2</sub>.21–2.39 (m, 10H) 3.40 (br. s., 2H) 3.94 (t, J=6.44Hz, 4H) 4.07 (t, J=6.69Hz, 4H) 6.36 (t, J=2.27Hz, 1H) 6.49 (d, J=2.02Hz, 2H) ppm。

[0920] ES-MS m/z=676.6 (MH<sup>+</sup>)。

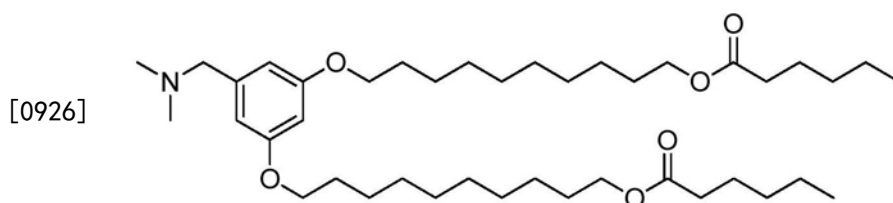
[0921] 实施例43: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(癸烷-10,1-二基)二辛酸酯



[0923] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.88 (t, J=8.00Hz, 6H) 1.21–1.50 (m, 40H) 1.62 (quin, J=6.95Hz, 8H) 1.70–1.82 (m, 4H)<sub>2</sub>.25 (s, 6H)<sub>2</sub>.29 (t, J=7.58Hz, 4H) 3.35 (s, 2H) 3.93 (t, J=6.57Hz, 4H) 4.06 (t, J=6.82Hz, 4H) 6.35 (t, J=2.27Hz, 1H) 6.46 (d, J=2.27Hz, 2H) ppm。

[0924] ES-MS m/z=732.1 (MH<sup>+</sup>)。

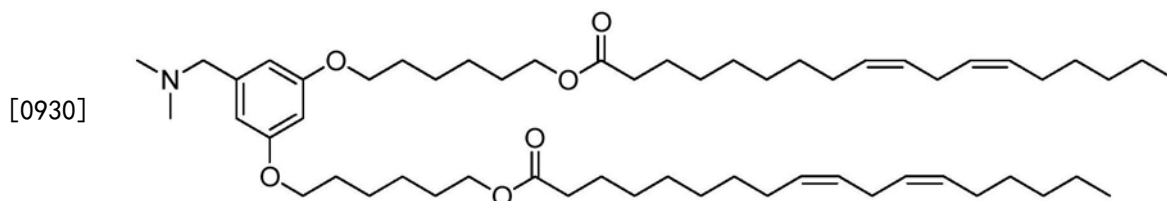
[0925] 实施例44: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(癸烷-10,1-二基)二己酸酯



[0927] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.89 (t, J=8.00Hz, 6H) 1.23–1.51 (m, 32H) 1.57–1.69 (m, 8H) 1.70–1.82 (m, 4H)<sub>2</sub>.24–2.39 (m, 10H) 3.43 (br. s., 2H) 3.94 (t, J=6.57Hz, 4H) 4.06 (t, J=6.69Hz, 4H) 6.37 (t, J=2.15Hz, 1H) 6.50 (d, J=1.52Hz, 2H) ppm。

[0928] ES-MS m/z=676.6 (MH<sup>+</sup>)。

[0929] 实施例45: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

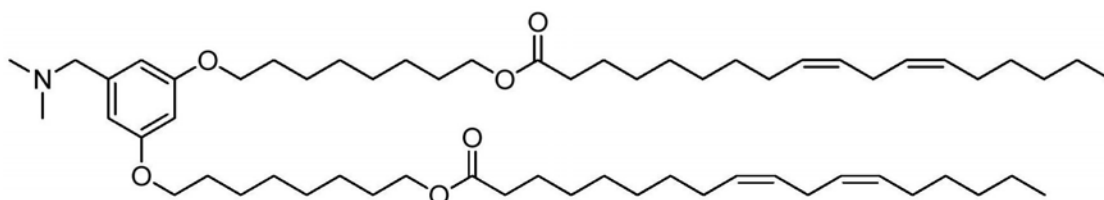


[0931] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.90 (t, J=8.00Hz, 6H) 1.23–1.52 (m, 36H) 1.65 (dt, J=14.59, 7.48Hz, 8H) 1.73–1.83 (m, 4H) 1.99–2.11 (m, 8H)<sub>2</sub>.24 (s, 6H)<sub>2</sub>.30 (t, J=7.58Hz, 4H)<sub>2</sub>.78 (t, J=6.57Hz, 4H) 3.39 (br. s., 2H) 3.94 (t, J=6.44Hz, 4H) 4.08 (t, J=6.69Hz, 4H) 5.25–5.49 (m, 8H) 6.35 (t, J=2.27Hz, 1H) 6.46 (d, J=2.27Hz, 2H) ppm。

[0932] ES-MS m/z=892.8 (MH<sup>+</sup>)。

[0933] 实施例46: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

[0934]

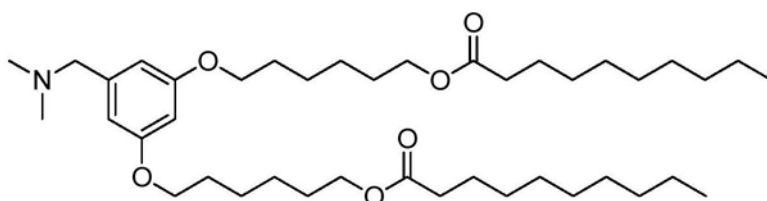


[0935]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.89 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 6H) 1.23–1.51 (m, 44H) 1.55–1.69 (m, 8H) 1.71–1.82 (m, 4H) 1.99–2.11 (m, 8H) 2.24 (s, 6H) 2.30 (t,  $J=7.58\text{Hz}$ , 4H) 2.78 (t,  $J=6.57\text{Hz}$ , 4H) 3.35 (s, 2H) 3.93 (t,  $J=6.57\text{Hz}$ , 4H) 4.07 (t,  $J=6.69\text{Hz}$ , 4H) 5.28–5.45 (m, 8H) 6.35 (t,  $J=2.27\text{Hz}$ , 1H) 6.46 (d,  $J=2.27\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[0936] ES-MS  $m/z=948.8$  (MH $^+$ )。

[0937] 实施例47: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二(癸酸酯)

[0938]

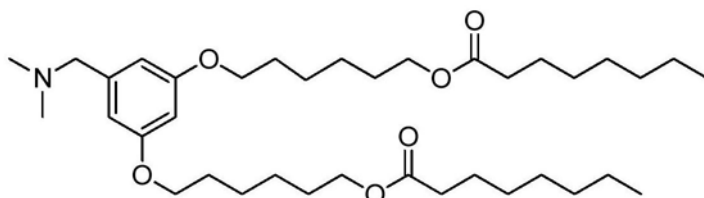


[0939]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.49–6.43 (m, 2H), 6.37–6.32 (m, 1H), 4.07 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 4H), 3.93 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 3.35 (s, 2H), 2.29 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 4H), 2.25 (s, 6H), 1.84–1.72 (m, 4H), 1.72–1.55 (m, 8H), 1.55–1.36 (m, 8H), 1.36–1.16 (m, 24H), 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0940] ES-MS  $m/z=676.4$  (MH $^+$ )。

[0941] 实施例48: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二辛酸酯

[0942]

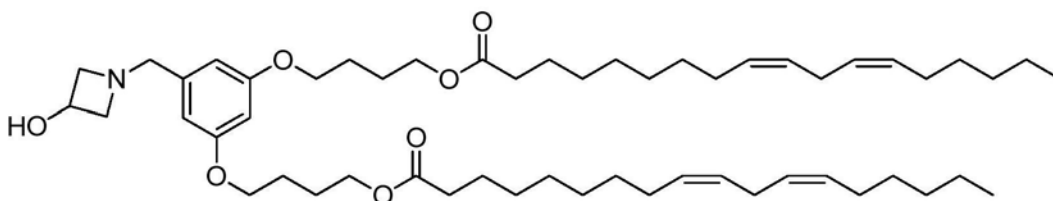


[0943]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.65–6.58 (m, 2H), 6.44–6.39 (m, 1H), 4.07 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 4H), 3.96 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 4H), 3.72 (s, 2H), 2.52 (s, 6H), 2.29 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.84–1.73 (m, 4H), 1.72–1.56 (m, 8H), 1.55–1.36 (m, 8H), 1.36–1.18 (m, 16H), 0.91–0.84 (m, 6H) ppm。

[0944] ES-MS  $m/z=620.4$  (MH $^+$ )。

[0945] 实施例49: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

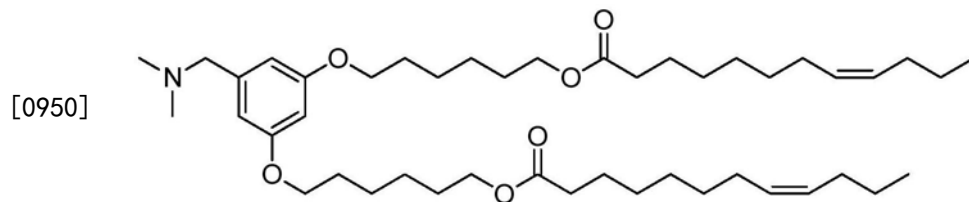
[0946]



[0947]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.45 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H) 6.35 (t,  $J=1.00\text{Hz}$ , 1H), 5.31-5.44 (m, 8H), 4.11-4.19 (m, 5H), 3.97 (t,  $J=1.00\text{Hz}$ , 4H), 3.65-3.76 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 2.79 (t,  $J=1.00\text{Hz}$ , 4H), 2.32 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H), 2.07 (q,  $J=6.78\text{Hz}$ , 8H), 1.80-1.89 (m, 8H), 1.64 (d,  $J=16.81\text{Hz}$ , 6H), 1.24-1.43 (m, 31H), 0.91 (t,  $J=1.00\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0948] ES-MS  $m/z=864.6$  (MH $^+$ )。

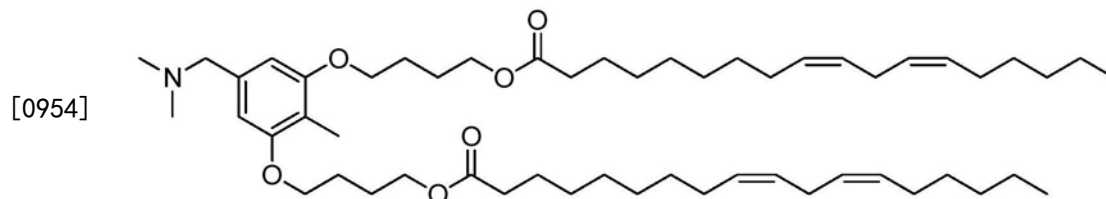
[0949] 实施例50: (8Z, 8'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)二(十二碳-8-烯酸酯)



[0951]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.35 (t,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 5.43-5.25 (m, 4H), 4.08 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H), 3.94 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 3.38 (s, 2H), 2.30 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 4H), 2.27 (s, 6H), 2.07-1.90 (m, 8H), 1.85-1.70 (m, 4H), 1.71-1.55 (m, 8H), 1.55-1.29 (m, 24H), 0.90 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0952] ES-MS  $m/z=728.5$  (MH $^+$ )。

[0953] 实施例51: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-((二甲基氨基)甲基)-2-甲基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

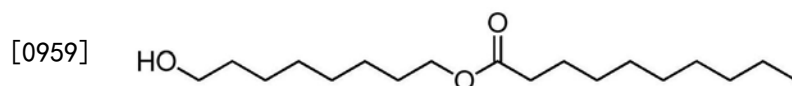


[0955]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (s, 2H), 5.32-5.44 (m, 8H), 4.17 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 4.01 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 3.37 (s, 2H), 2.79 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.32 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.25 (s, 6H), 2.10 (s, 3H), 2.08 (dd,  $J=8\text{Hz}$ , 8H), 1.87 (q,  $J=5\text{Hz}$ , 8H), 1.64 (m, 4H), 1.27-1.48 (m, 28H), 0.90 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0956] ES-MS  $m/z=850.6$  (MH $^+$ )。

[0957] 实施例52的合成:

[0958] 中间体52a: 8-羟基辛基癸酸酯



[0960] 在圆底烧瓶中,将辛烷-1,8-二醇(21.90g, 150mmol)、癸酸乙基酯(10g, 49.9mmol)和对甲苯磺酸三水合物(0.4g, 2.103mmol)混合。将烧瓶在减压下(100mbar)置于旋转蒸发器上,在100℃油浴中缓慢旋转以形成澄清的融化物。6h后,压力降低至10mbar,反应持续15分钟。然后将反应物用150mL庚烷稀释并搅拌直到辛烷-二醇开始固化。将反应物置于冰浴中,搅拌10分钟,然后过滤。残留物用另一份150mL庚烷洗涤,将合并的滤液转移至分液漏斗中。庚烷层用3×150mL水洗涤,然后合并的水洗涤液再用100mL庚烷萃取。合并的庚烷萃取液经硫酸镁干燥,过滤并减压浓缩,获得目标产物(混杂有二-酰化的产物),其无需进一步

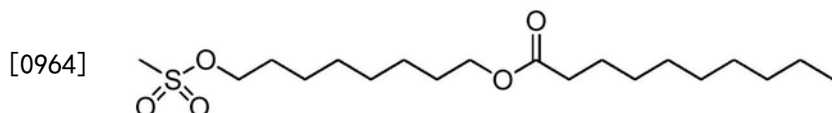


纯化可以直接使用。

[0961] 或者,中间体52a可以如下合成。在圆底烧瓶中,将辛烷-1,8--二醇(58.5g, 400mmol)溶于吡啶(100ml)。向获得的溶液中滴加癸酰氯(41.5ml, 200mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜。将反应物减压浓缩形成固体残留物。加入庚烷(300ml),将获得的悬浮液剧烈搅拌30分钟。将反应物过滤,残留物用500mL另一份庚烷洗涤。滤液用1N HCl水溶液洗涤(3×200ml),合并的水层再用150mL庚烷萃取。合并的庚烷层经硫酸镁干燥并过滤。将滤液减压浓缩,获得目标产物(混杂有二-酰化的产物),其无需进一步纯化可以直接使用。

[0962] ES-MS  $m/z=301.6$  (MH<sup>+</sup>)。

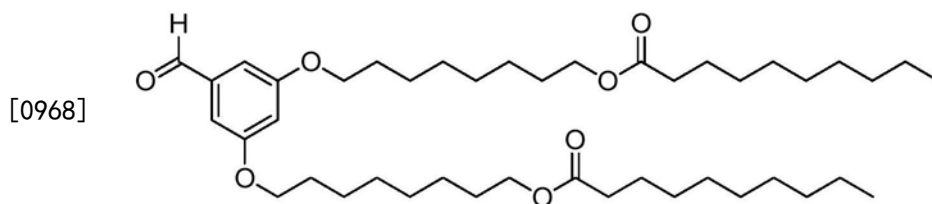
[0963] 中间体52b:8-((甲基磺酰基)氧基)辛基癸酸酯



[0965] 在圆底烧瓶中,将中间体52a(62.7g, 210mmol)和三乙胺(32.2ml, 231mmol)加入二氯甲烷(无水, 400ml)。将溶液在冰水浴中冷却,5分钟内滴加甲磺酰氯(16.38ml, 210mmol)。将反应物在冰水浴中搅拌2h,然后移除冷却浴,将反应物温热至室温。将反应物转移至分液漏斗,用1N HCl水溶液洗涤(3×200ml)。合并的水洗涤液再用100mL二氯甲烷萃取。合并的DCM萃取液经硫酸镁干燥并干燥。将滤液减压浓缩,获得目标化合物(68%的质量纯度),其无需进一步纯化可以直接使用。

[0966] ES-MS  $m/z=378.7$  (MH<sup>+</sup>)。

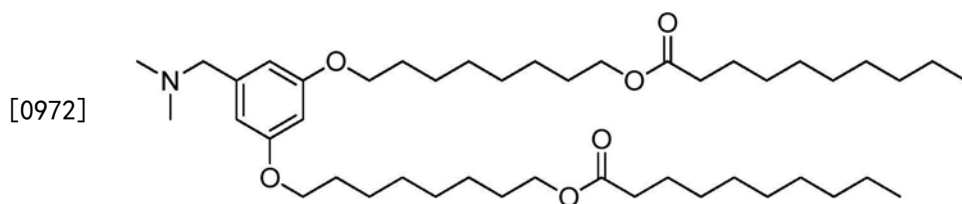
[0967] 中间体52c:((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)



[0969] 在圆底烧瓶中,将中间体52b(78.0g, 206mmol)中间体52b)、3,5-二羟基苯甲醛(12.5g, 91mmol)和碳酸铯(88g, 272mmol)溶于DMF(500ml)。将反应物在油浴中自室温加热至80℃。于80℃16h后,将反应物冷却至室温,转移至分液漏斗中,用500mL乙酸乙酯、500mL庚烷和1500mL水稀释。将全部反应物通过硅藻土垫过滤,将其用500mL乙酸乙酯和500mL庚烷分别洗涤。滤液分层,过滤后水层用硅藻土洗涤液萃取,随后用1000mL庚烷洗涤。合并的有机层用500mL水洗涤,经硫酸镁干燥,将深棕色滤液浓缩。产物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[0970] ES-MS  $m/z=703.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[0971] 实施例52化合物:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)

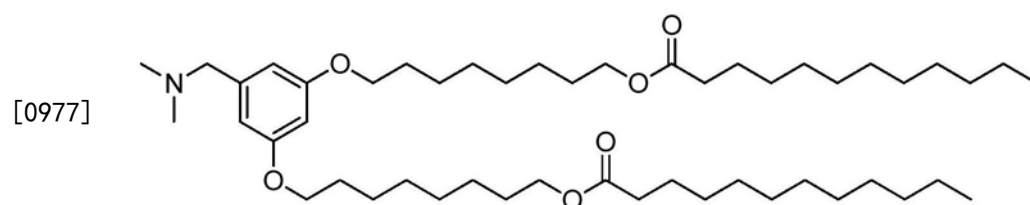


[0973] 在圆底烧瓶中,将中间体52c (47.5g,67.6mmol)溶于二氯甲烷(300ml),随后加入二甲基胺(2M的THF溶液,203ml,406mmol)和乙酸(3.87ml,67.6mmol)。向获得的溶液中加入三乙酰氧基硼氢化钠(35.8g,169mmol)。于室温下16h后,将反应物用300mL饱和的碳酸氢钠水溶液和300mL水骤冷,分离获得的各层。有机层用2×200mL饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤。合并的水层用2×300mL二氯甲烷萃取。合并的二氯甲烷萃取液经硫酸镁干燥并干燥。将滤液减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用丙酮和庚烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[0974]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88 (t,  $J=8.00\text{Hz}$ , 6H) 1.18–1.50 (m, 40H) 1.56–1.70 (m, 8H) 1.70–1.81 (m, 4H)  $\delta$  2.24 (s, 6H)  $\delta$  2.30 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H) 3.34 (s, 2H) 3.93 (t,  $J=6.53\text{Hz}$ , 4H) 4.06 (t,  $J=6.78\text{Hz}$ , 4H) 6.35 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.46 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[0975] ES-MS  $m/z=732.5$  (MH $^+$ )。

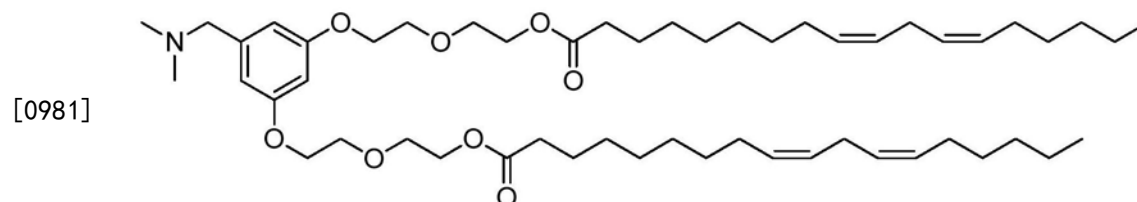
[0976] 实施例53: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)双十二烷酸酯



[0978]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.83–0.97 (m, 6H) 1.19–1.51 (m, 48H) 1.56–1.68 (m, 8H) 1.71–1.83 (m, 4H)  $\delta$  2.24 (s, 6H)  $\delta$  2.30 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H) 3.34 (s, 2H) 3.93 (t,  $J=6.53\text{Hz}$ , 4H) 4.06 (t,  $J=6.78\text{Hz}$ , 4H) 6.35 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.46 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[0979] ES-MS  $m/z=788.6$  (MH $^+$ )。

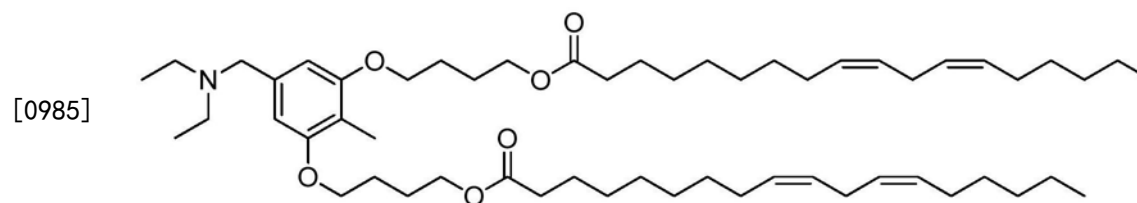
[0980] 实施例54: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基))二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0982]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.59 (br s, 2H), 6.44 (br s, 1H), 5.27–5.44 (m, 8H), 4.26 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 4H), 4.13 (t,  $J=4.65\text{Hz}$ , 4H), 3.85 (t,  $J=4.65\text{Hz}$ , 4H), 3.77 (t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 4H), 3.50 (br s, 2H), 2.77 (t,  $J=6.65\text{Hz}$ , 4H), 2.21–2.52 (m, 10H), 1.96–2.12 (m, 8H), 1.55–1.70 (m, 4H), 1.19–1.45 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=6.90\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0983] ES-MS  $m/z=868.9$  (MH $^+$ )。

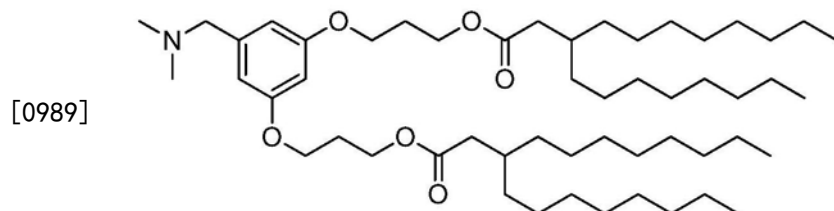
[0984] 实施例55: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((二乙基氨基)甲基)-2-甲基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0986]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.52 (s, 2H), 5.32-5.44 (m, 8H), 4.16 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 4.00 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 3.52 (s, 2H), 2.79 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.54 (dd,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.32 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 4H), 2.09 (s, 3H), 2.08 (dd,  $J=8\text{Hz}$ , 8H), 1.87 (q,  $J=5\text{Hz}$ , 8H), 1.64 (m, 4H), 1.27-1.48 (m, 28H), 1.06 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 6H), 0.91 (t,  $J=8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0987] ES-MS  $m/z=878.6$  (MH $^+$ )。

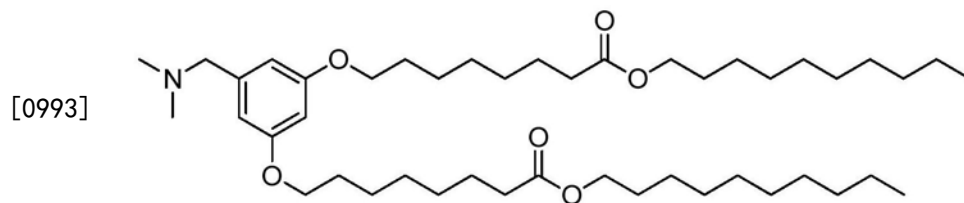
[0988] 实施例56: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)二(3-辛基十一烷酸酯)



[0990]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=2.02\text{Hz}$ , 2H) 6.35 (t,  $J=2.27\text{Hz}$ , 1H) 4.25 (t,  $J=6.32\text{Hz}$ , 4H) 4.03 (t,  $J=6.19\text{Hz}$ , 4H) 3.35 (s, 2H) 2.20-2.30 (m, 10H) 2.10 (quin,  $J=6.25\text{Hz}$ , 4H) 1.84 (br. s., 2H) 1.19-1.36 (m, 56H) 0.81-0.97 (m, 12H) ppm。

[0991] ES-MS  $m/z=844.7$  (MH $^+$ )。

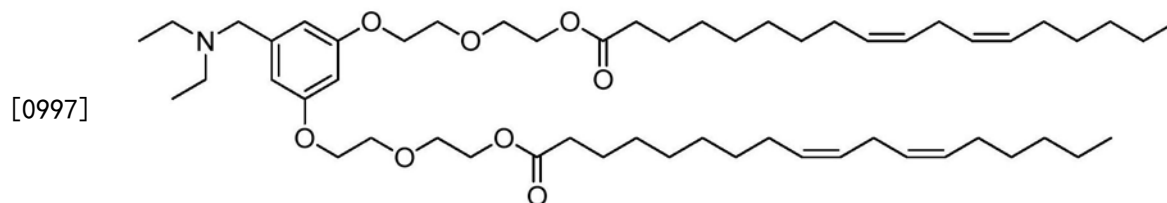
[0992] 实施例57: 二癸基8,8'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二辛酸酯



[0994]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51-6.45 (m, 2H), 6.38-6.33 (m, 1H), 4.06 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.40 (s, 2H), 2.30 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.28 (s, 6H), 1.82-1.71 (m, 4H), 1.70-1.56 (m, 8H), 1.54-1.20 (m, 40H), 0.93-0.84 (m, 6H) ppm。

[0995] ES-MS  $m/z=732.4$  (MH $^+$ )。

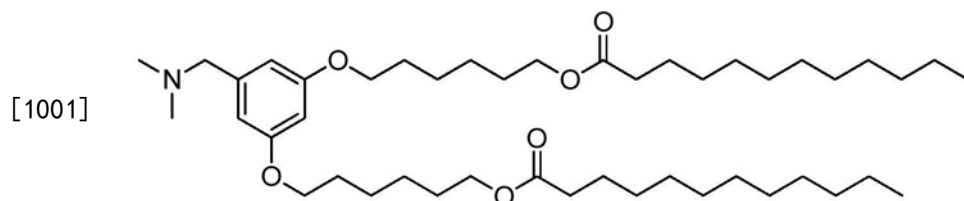
[0996] 实施例58: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((二乙基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(乙烷-2,1-二基))二(氧基))二(乙烷-2,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[0998]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.54 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.37 (t,  $J=2.25\text{Hz}$ , 1H), 5.25-5.46 (m, 8H), 4.26 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 4.11 (t,  $J=4.75\text{Hz}$ , 4H), 3.85 (t,  $J=4.75\text{Hz}$ , 4H), 3.77 ((t,  $J=4.9\text{Hz}$ , 4H), 3.48 (s, 2H), 2.77 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.50 (q,  $J=7.1\text{Hz}$ , 4H), 2.34 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 1.98-2.13 (m, 8H), 1.55-1.70 (m, 4H), 1.22-1.42 (m, 28H), 1.03 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 6H), 0.89 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[0999] ES-MS  $m/z=896.8$  (MH $^+$ )。

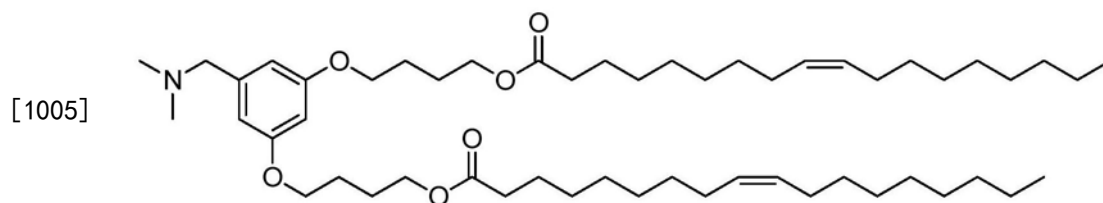
[1000] 实施例59: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(己烷-6,1-二基)双十二烷酸酯



[1002]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) 6.36 (t,  $J=2.51\text{Hz}$ , 1H) 4.08 (t,  $J=6.65\text{Hz}$ , 4H) 3.94 (t,  $J=6.40\text{Hz}$ , 4H) 3.43 (s, 2H) 2.23-2.35 (m, 10H) 2.03 (s, 1H) 1.78 (ddt,  $J=14.05, 13.30, 7.53, 7.53\text{Hz}$ , 4H) 1.57-1.70 (m, 8H) 1.38-1.53 (m, 8H) 1.22-1.34 (m, 33H) 0.88 (t,  $J=6.02\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1003] ES-MS  $m/z=732.6$  (MH $^+$ )。

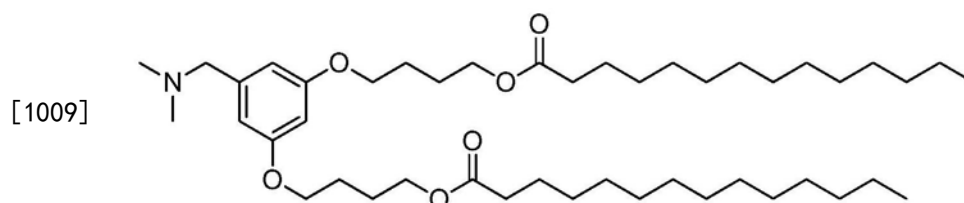
[1004] 实施例60: (Z)-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二油酸酯



[1006]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.49 (br. s., 2H), 6.36 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.44-5.28 (m, 4H), 4.15 (t,  $J=5.8\text{Hz}$ , 4H), 3.98 (t,  $J=5.8\text{Hz}$ , 4H), 3.36 (br. s., 2H), 2.38-2.18 (m, 10H), 2.10-1.95 (m, 8H), 1.92-1.76 (m, 8H), 1.71-1.56 (m,  $J=7.3, 7.3\text{Hz}$ , 4H), 1.30 (d,  $J=15.6\text{Hz}$ , 40H), 0.90 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1007] ES-MS  $m/z=840.7$  (MH $^+$ )。

[1008] 实施例61: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)双十四烷酸酯

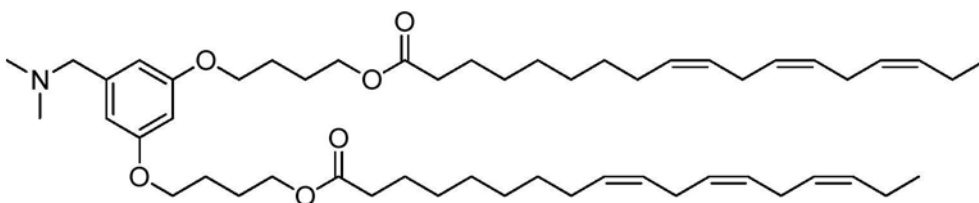


[1010]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.54 (br s, 2H) 6.37 (br s, 1H) 4.14 (t,  $J=6.30\text{Hz}$ , 4H) 3.98 (t,  $J=5.65\text{Hz}$ , 4H) 3.48 (br s, 2H) 2.22-2.51 (m, 10H) 1.73-1.93 (m, 8H) 1.62 (m, 4H) 1.19-1.49 (m, 40H), 0.88 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1011] ES-MS  $m/z=732.7$  (MH $^+$ )。

[1012] 实施例62: (9Z,9'Z,12Z,12'Z,15Z,15'Z)-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12,15-三烯酸酯)

[1013]

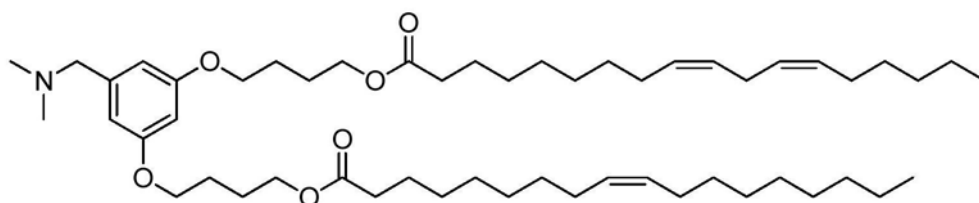


[1014]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (d,  $J=1.8\text{Hz}$ , 2H), 6.36 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.55–5.18 (m, 12H), 4.15 (t,  $J=5.5\text{Hz}$ , 4H), 3.98 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 4H), 3.41 (br. s., 2H), 2.82 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 8H), 2.39–2.22 (m, 10H), 2.17–2.00 (m, 8H), 1.92–1.74 (m, 9H), 1.71–1.55 (m, 4H), 1.45–1.22 (m, 16H), 0.99 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1015] ES-MS  $m/z=833.0$  (MH $^+$ )。

[1016] 实施例63: (9Z, 12Z) -4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-(油酰基氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12-二烯酸酯

[1017]

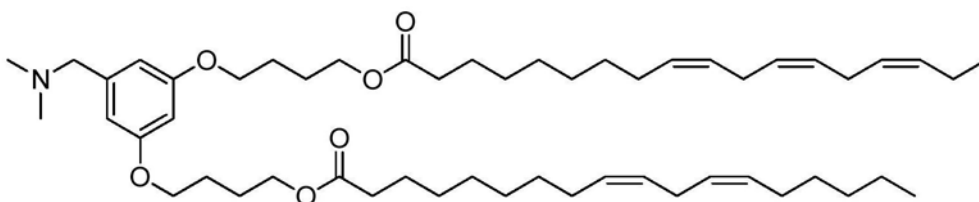


[1018]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (s, 2H), 6.37 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H), 5.49–5.23 (m, 6H), 4.15 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 3.99 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 4H), 3.42 (br. s., 2H), 2.79 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 2.39–2.21 (m, 10H), 2.18–1.95 (m, 8H), 1.94–1.73 (m, 8H), 1.73–1.55 (m, 4H), 1.44–1.19 (m, 34H), 0.95–0.86 (m,  $J=4.0, 6.8, 6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1019] ES-MS  $m/z=838.7$  (MH $^+$ )。

[1020] 实施例64: (9Z, 12Z, 15Z) -4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-((9Z, 12Z) -十八-9,12-二烯酰基氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12,15-三烯酸酯

[1021]



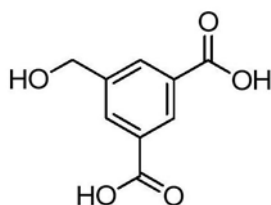
[1022]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.35 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.48–5.27 (m, 10H), 4.15 (t,  $J=5.8\text{Hz}$ , 4H), 3.98 (t,  $J=5.8\text{Hz}$ , 4H), 3.36 (s, 2H), 2.90–2.73 (m, 6H), 2.32 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 2.26 (s, 6H), 2.16–2.00 (m, 8H), 1.93–1.75 (m, 8H), 1.64 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 4H), 1.44–1.22 (m, 22H), 0.99 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 3H), 0.91 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H) ppm。

[1023] ES-MS  $m/z=835.0$  (MH $^+$ )。

[1024] 实施例65的合成:

[1025] 中间体65a: 5-(羟基甲基)间苯二酸

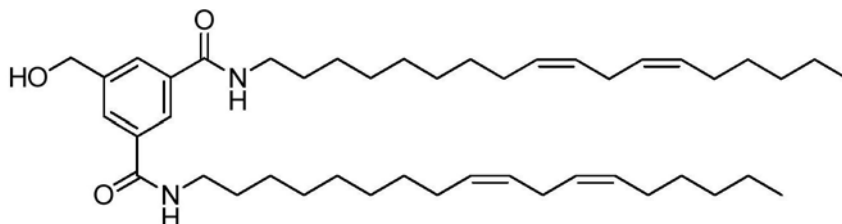
[1026]



[1027] 向二乙基5-(羟基甲基)异邻苯二甲酸酯(509mg, 2.02mmol)的THF(5ml)溶液中加入NaOH(5.04ml, 1.0M的水溶液, 5.04mmol)。将反应物于室温下搅拌3天。减压除去挥发物, 获得的产物无需进一步纯化可以直接使用。

[1028] 中间体65b: 5-(羟基甲基)-N<sup>1</sup>, N<sup>3</sup>-二((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基)异酞酰胺

[1029]

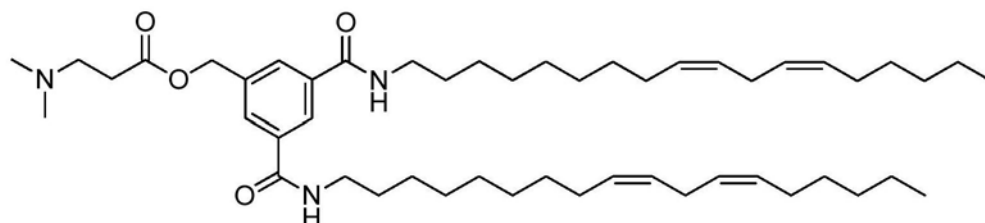


[1030] 将中间体65a(168mg, 0.694mmol)在DCM(25ml)中搅拌, 加入EDC(399mg, 2.08mmol)和HOBt(319mg, 2.08mmol), 随后加入TEA(0.481ml, 3.47mmol)。将反应物于室温下搅拌5min, 加入亚油醇胺盐酸盐(419mg, 1.39mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 然后用DCM(100ml)和水(100ml)稀释。收集有机层, 用水洗涤(2×50ml), 经硫酸镁干燥。减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得150mg目标产物。

[1031] ES-MS  $m/z$  = 691.4 (MH<sup>+</sup>)。

[1032] 实施例65化合物: 3, 5-二((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基氨基甲酰基)苄基3-(二甲基氨基)丙酸酯

[1033]



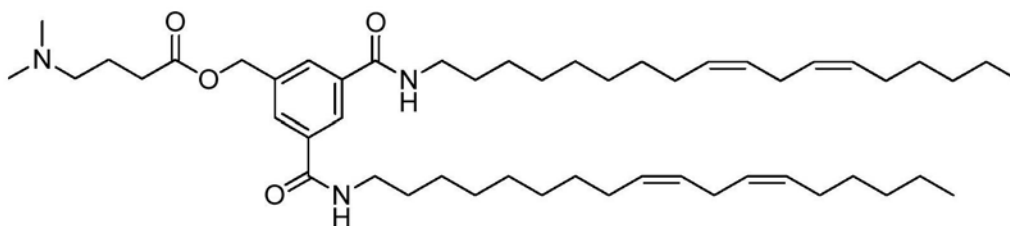
[1034] 实施例65可以采用制备实施例37的类似条件制备自中间体65b。

[1035] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.11 (t, J = 1.5Hz, 1H), 7.89 (d, J = 1.5Hz, 2H), 6.43 (t, J = 5.6Hz, 2H), 5.25–5.48 (m, 8H), 5.19 (s, 2H), 3.33–3.53 (m, 4H), 2.77 (t, J = 6.5Hz, 4H), 2.60–2.70 (m, 2H), 2.49–2.60 (m, 2H), 2.26 (s, 6H), 2.05 (q, J = 6.9Hz, 8H), 1.55–1.71 (m, 4H), 1.18–1.47 (m, 32H), 0.89 (t, J = 7.0Hz, 6H) ppm。

[1036] ES-MS  $m/z$  = 790.4 (MH<sup>+</sup>)。

[1037] 实施例66: 3, 5-二((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基氨基甲酰基)苄基4-(二甲基氨基)丁酸酯

[1038]



[1039] 实施例66可以采用实施例65制备所使用的类似方法制备。

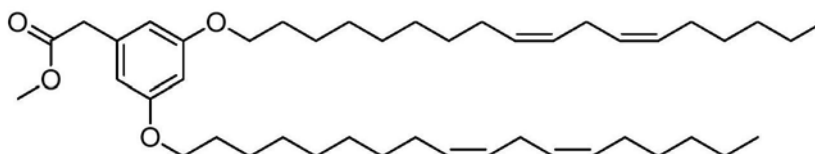
[1040]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11 (t,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H), 7.88 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 2H), 6.50 (t,  $J=5.6\text{Hz}$ , 2H), 5.20–5.48 (m, 8H), 5.15 (s, 2H), 3.31–3.55 (m, 4H), 2.66–2.85 (m, 4H), 2.41 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.28 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 2.20 (s, 6H), 2.04 (q,  $J=6.9\text{Hz}$ , 8H), 1.82 (q,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 1.54–1.67 (m, 4H), 1.17–1.45 (m, 32H), 0.88 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm.

[1041] ES-MS  $m/z=804.5$  (MH $^+$ )。

[1042] 实施例67的合成:

[1043] 中间体67a: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)乙酸甲酯

[1044]

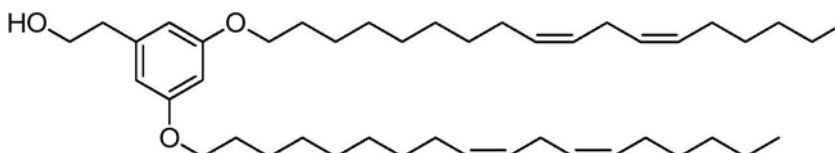


[1045] 向甲基-3-(3,5-二羟基苯基)乙酸酯(1.0g, 5.4mmol)的DMF (25ml)溶液中加入亚油醇甲磺酸酯(4.16g, 12.1mmol)和碳酸钾(3.0g, 21.6mmol)。将反应物加热至100℃ 4h,然后将反应物冷却至室温,加入水(100ml)。将获得的混合物用EtOAc萃取(3×50ml)。合并有机层,用盐水洗涤,经硫酸钠干燥,减压除去挥发物。获得的粗品产物经硅胶色谱纯化,采用正己烷/EtOAc作为洗脱液,得到3.3g目标产物。

[1046] ES-MS  $m/z=680$  (MH $^+$ )。

[1047] 中间体67b: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)乙醇

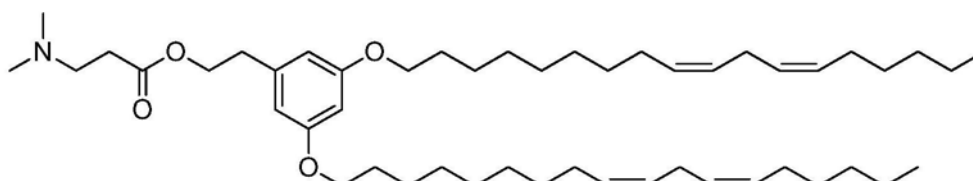
[1048]



[1049] 将中间体67a (3.3g, 4.8mmol)在THF (50ml)中搅拌,在冰浴中冷却。将氢化铝锂(370mg, 97mmol)的THF (3ml)溶液缓慢加至该搅拌的反应物中。加入后,将反应物于室温下搅拌3h。然后将产物在冰浴中再次冷却,加入水(5ml)和EtOAc (5ml)。10分钟后,获得的浆液通过硅藻土过滤,将滤液减压浓缩,获得2.8g产物,无需进一步纯化可以直接使用。

[1050] 实施例67化合物: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯乙基3-(二甲基氨基)丙酸酯

[1051]



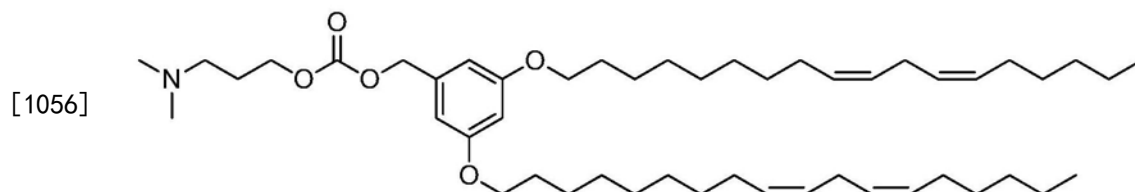
[1052] 向中间体67b (75mg, 0.12mmol)的DCM (3ml)溶液中加入3-二甲基氨基丙酸盐盐酸盐

(26mg, 0.17mmol) 和 HATU (88mg, 0.23mmol), 随后加入 TEA (0.016ml, 0.12mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 然后加入水 (2ml)。将混合物用 DCM (3×5ml) 萃取, 合并的有机层经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得的粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用 DCM/MeOH 作为洗脱液, 获得 72mg 目标产物。

[1053]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.32–6.37 (m, 3H), 5.28–5.44 (m, 8H), 4.37 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 3.92 (t,  $J=6.6\text{Hz}$ , 4H), 3.36 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 2H), 2.86–2.92 (m, 8H), 2.75–2.81 (m, 6H), 2.06 (ddd,  $J=6.7, 6.7, 6.7\text{Hz}$ , 8H), 1.71–1.80 (m, 4H), 1.41–1.49 (m, 4H), 1.24–1.41 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1054] ES-MS  $m/z=750.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[1055] 实施例68: 3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基(3-(二甲基氨基)丙基)碳酸酯

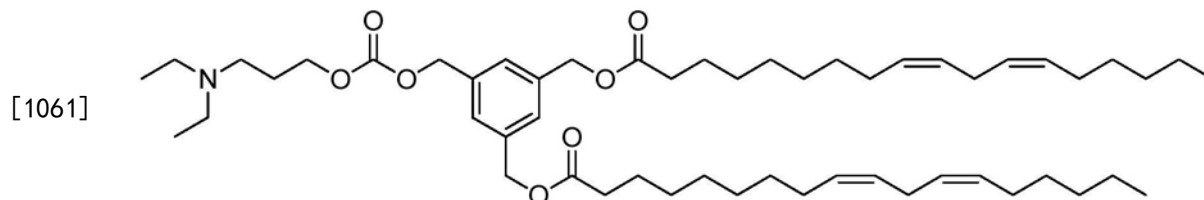


[1057] 将中间体13a (82.5mg, 0.130mmol) 溶于无水  $\text{CDCl}_3$  (2ml), 加入4-硝基苯基氯甲酸酯 (28.7mg, 0.142mmol), 随后加入吡啶 (0.011mL, 0.129mmol)。将其于50℃搅拌30分钟。然后停止加热, 将反应物于室温下搅拌过夜。反应通过TLC监测, 其表明SM完全消耗。浓缩中间体, 再溶于二氯甲烷 (3ml), 加入3-(二甲基氨基)丙-1-醇 (66.8mg, 0.648mmol), 随后加入 DMAP (3.16mg, 0.026mmol)。将反应物于室温下搅拌72h。反应物用水 (2ml) 骤冷, 萃取到另一份 DCM 中 (3×5ml)。浓缩有机层。粗品产物经硅胶色谱纯化, 采用0–6%的MeOH的DCM溶液作为洗脱液, 得到47mg目标产物。

[1058]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.42 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.32–5.48 (m, 8H), 5.09 (s, 2H), 4.23 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 3.94 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.80 (dd,  $J=6.4, 6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.37 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 2.24 (s, 6H), 1.99–2.16 (m, 8H), 1.82–1.91 (m, 2H), 1.72–1.82 (m, 4H), 1.41–1.50 (m, 5H), 1.27–1.41 (m, 29H), 0.83–0.97 (m,  $J=6.8, 6.8\text{Hz}$ , 5H) ppm。

[1059] ES-MS  $m/z=766.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[1060] 实施例69: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



[1062] 实施例69可以根据中间体33a和实施例68所述类似方法制备。

[1063]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.33 (s, 2H), 7.31 (s, 1H), 5.25–5.45 (m, 8H), 5.16 (s, 2H), 5.11 (s, 4H), 4.22 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.73–2.82 (m, 4H), 2.43–2.55 (m, 6H), 2.37 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.01–2.09 (m, 8H), 1.83 (quin,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 1.57–1.71 (m, 5H), 1.21–

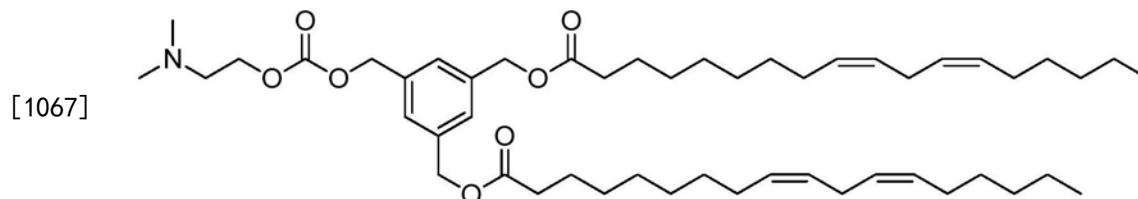


1.42 (m, 28H), 1.01 (t, J=7.2Hz, 6H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H) ppm。

[1064] ES-MS  $m/z=850.6$  (MH<sup>+</sup>)。

[1065] 实施例70和71可以采用实施例69制备所使用的类似方法制备。

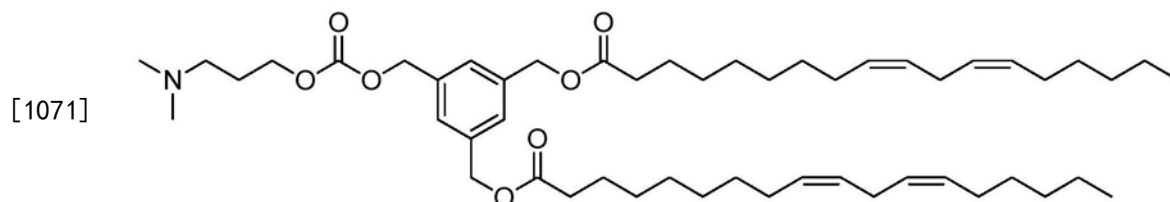
[1066] 实施例70: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - (5-(((2-(二甲基氨基)乙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(亚甲基二(十八-9,12-二烯酸酯))



[1068] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.33 (s, 2H), 7.30 (s, 1H), 5.29–5.43 (m, 8H), 5.16 (s, 2H), 5.11 (s, 4H), 4.25 (t, J=5.8Hz, 2H), 2.77 (t, J=6.5Hz, 4H), 2.60 (t, J=5.8Hz, 2H), 2.37 (t, J=7.7Hz, 4H), 2.29 (s, 6H), 2.05 (q, J=6.8Hz, 8H), 1.52–1.75 (m, 4H), 1.24–1.40 (m, 29H), 0.88 (t, J=6.8Hz, 5H) ppm。

[1069] ES-MS  $m/z=808.5$  (MH<sup>+</sup>)。

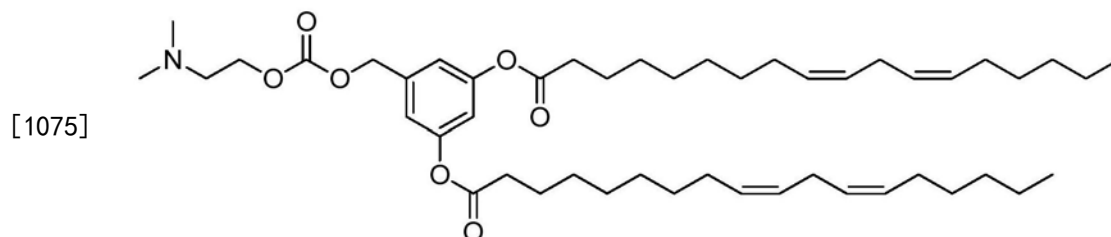
[1070] 实施例71: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - (5-(((3-(二甲基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(亚甲基二(十八-9,12-二烯酸酯))



[1072] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.34 (s, 2H), 7.32 (s, 1H), 5.29–5.45 (m, 8H), 5.17 (s, 2H), 5.12 (s, 4H), 4.24 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.79 (t, J=6.5Hz, 4H), 2.34–2.41 (m, 6H), 2.24 (s, 6H), 2.06 (q, J=6.7Hz, 8H), 1.87 (quin, J=6.5Hz, 2H), 1.61–1.72 (m, 4H), 1.25–1.42 (m, 29H), 0.91 (t, J=7.0Hz, 6H) ppm。

[1073] ES-MS  $m/z=822.6$  (MH<sup>+</sup>)。

[1074] 实施例72: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - 5-(((2-(二甲基氨基)乙氧基)羰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基二(十八-9,12-二烯酸酯)



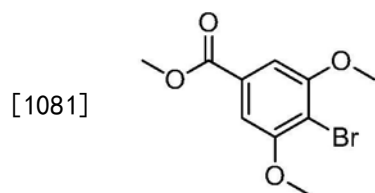
[1076] 实施例72可以采用合成中间体26b和实施例68的类似方法制备。

[1077] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.01 (d, J=2.0Hz, 2H), 6.89 (t, J=2.1Hz, 1H), 5.30–5.46 (m, 8H), 5.14 (s, 2H), 4.26 (t, J=5.8Hz, 2H), 2.79 (t, J=6.4Hz, 4H), 2.61 (t, J=5.8Hz, 2H), 2.54 (t, J=7.5Hz, 4H), 2.29 (s, 6H), 2.01–2.11 (m, 8H), 1.74 (dt, J=14.7, 7.5Hz, 4H), 1.24–1.46 (m, 31H), 0.90 (t, J=7.0Hz, 6H) ppm。

[1078] ES-MS  $m/z=780.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[1079] 实施例73的合成：

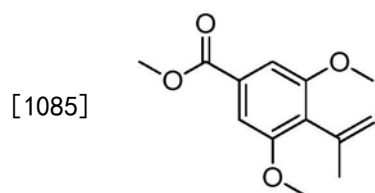
[1080] 中间体73a:4-溴-3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯



[1082] 向4-溴-3,5-二羟基苯甲酸 (28g, 120.7mmol) 的丙酮 (300ml) 溶液中加入硫酸二甲基酯 (53g, 422.4mmol) 和碳酸钾 (58g, 422.4mmol)。将反应物于回流下保持4h, 然后冷却至室温。过滤反应物, 将滤液减压浓缩。残留物在甲醇中重结晶, 获得目标化合物。

[1083] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.82$ 。

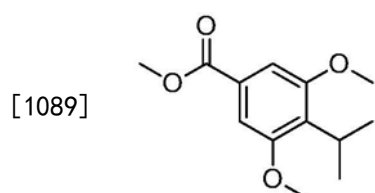
[1084] 中间体73b:3,5-二甲氧基-4-(丙-1-烯-2-基)苯甲酸甲酯



[1086] 向中间体73a (6.0g, 21.9mmol) 的DMF (100ml) 溶液中加入异丙基三丁基锡烷 (7.98g, 24.1mmol)、氟化铯 (6.66g, 43.8mmol) 和[(叔-丁基)<sub>3</sub>P]<sub>4</sub>钼 (225mg, 0.44mmol)。将反应物在100℃热浴中加热3h, 然后冷却至室温。将反应物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取 (2×100ml)。合并的有机萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1087] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.45$ 。

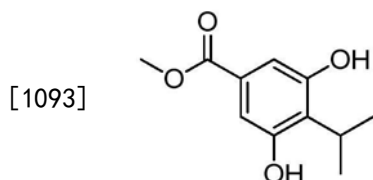
[1088] 中间体73c:4-异丙基-3,5-二甲氧基苯甲酸甲酯



[1090] 向中间体73b (4.0g, 16.94mmol) 的甲醇 (200ml) 溶液中加入10%的Pd/C (4.0g) 和甲酸铵 (21.35g, 339.0mmol)。将反应物在90℃热浴中加热48h。将反应物冷却至室温, 通过硅藻土过滤。将滤液减压浓缩, 残留物用水稀释, 用二氯甲烷萃取 (2×100ml), 合并的DCM萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1091] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.50$ 。

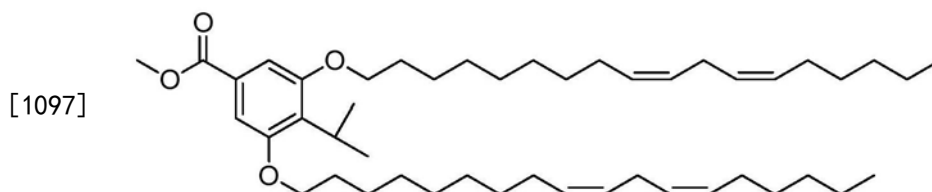
[1092] 中间体73d:3,5-二羟基-4-异丙基苯甲酸甲酯



[1094] 向冰水浴中冷却的中间体73c (2.0g, 8.40mmol) 的二氯甲烷 (200ml) 溶液中加入三溴化硼 (42ml, 1M的DCM溶液, 42mmol) 和四丁基碘化铵 (15.53g, 42.01mmol)。3h后, 将反应混合物倒入饱和的氯化铵水溶液中。将反应物用二氯甲烷萃取 (2×100ml), 合并的DCM萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1095] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f = 0.05$ 。

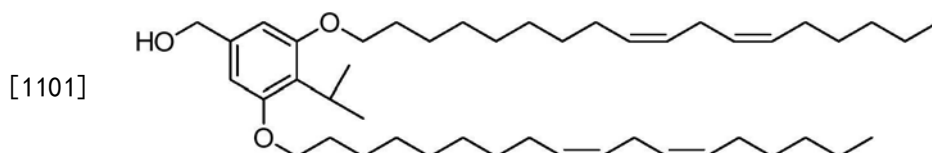
[1096] 中间体73e: 4-异丙基-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲酸甲酯



[1098] 向中间体73d (1.4g, 6.66mmol) 的DMF (60ml) 溶液中加入亚油醇甲磺酸酯 (5.05g, 14.66mmol) 和碳酸钾 (3.68g, 26.66mmol)。将反应物在100℃油浴中加热2h, 然后冷却至室温。将反应物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取 (2×200ml)。合并的有机萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1099] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f = 0.82$ 。

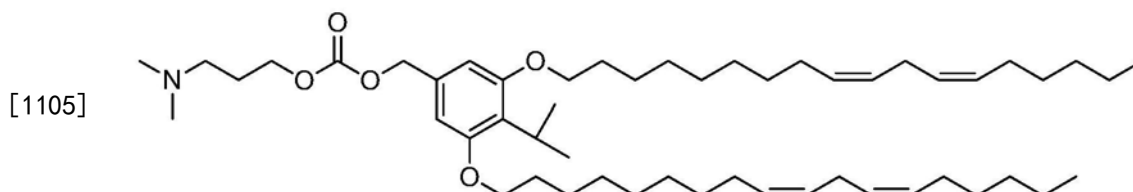
[1100] 中间体73f: (4-异丙基-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)甲醇



[1102] 向冰水浴中冷却的中间体73e (3.8g, 5.38mmol) 的THF (80ml) 溶液中加入氢化铝锂 (410mg, 10.76mmol)。将反应物搅拌30分钟, 然后用水骤冷。反应物通过硅藻土过滤, 滤液用乙酸乙酯萃取 (2×150ml)。合并的有机萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1103] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f = 0.21$ 。

[1104] 实施例73化合物: 3-(二甲基氨基)丙基4-异丙基-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基碳酸酯



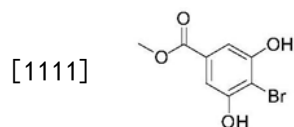
[1106] 实施例73可以采用合成实施例68中使得的类似方法制备自中间体73f。

[1107]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.52 (s, 2H), 5.50–5.25 (m, 8H), 5.07 (s, 2H), 4.21 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 3.93 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 3.63 (quin,  $J=7.1\text{Hz}$ , 1H), 2.79 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.36 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.22 (s, 6H), 2.06 (q,  $J=6.8\text{Hz}$ , 8H), 1.92–1.71 (m, 6H), 1.56–1.41 (m, 4H), 1.41–1.20 (m, 34H), 0.90 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H) ppm。

[1108] ES-MS  $m/z=808.8$  (MH $^+$ )。

[1109] 实施例74的合成:

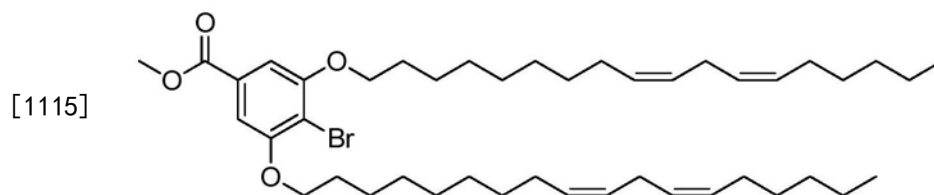
[1110] 中间体74a: 4-溴-3,5-二羟基苯甲酸甲酯



[1112] 向4-溴-3,5-二羟基苯甲酸 (7.0g, 30.2mmol) 的甲醇溶液中加入氯代三甲基硅烷 (8.11g, 75.4mmol)。将反应物于回流下加热3h, 然后冷却至室温。将反应物减压浓缩, 残留物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取 (2×50ml)。合并的有机萃取液用饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 获得目标化合物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1113] TLC (硅胶, 30%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.33$ 。

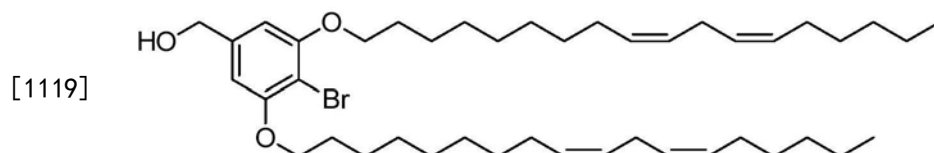
[1114] 中间体74b: 4-溴-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲酸甲酯



[1116] 中间体74b可以采用中间体73e合成中使用的类似方法制备自中间体74a。

[1117] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.70$ 。

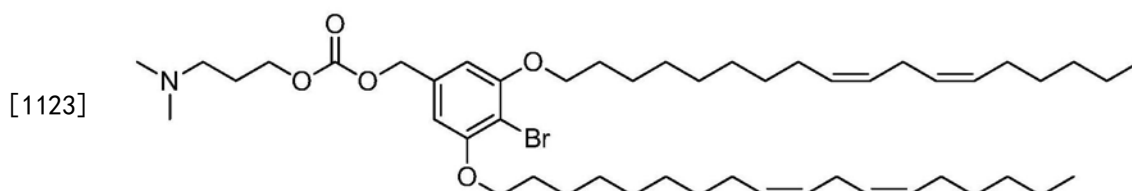
[1118] 中间体74c: (4-溴-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)甲醇



[1120] 向在干冰/丙酮浴中冷却的中间体74b (500mg, 0.67mmol) 的二氯甲烷 (20ml) 溶液中加入DIBAL-H (25%的甲苯溶液, 0.96ml)。将反应物搅拌15min, 然后用饱和的氯化铵水溶液骤冷。将反应物通过硅藻土过滤, 滤液用二氯甲烷萃取 (2×50ml)。合并的DCM萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1121] TLC (硅胶, 20%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.49$ 。

[1122] 实施例74化合物: 4-溴-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基(3-(二甲基氨基)丙基)碳酸酯



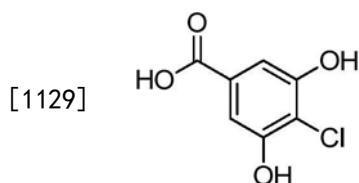
[1124] 实施例74可以采用实施例68的合成中使用的类似方法制备自中间体74c。

[1125]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.55 (s, 2H), 5.44–5.30 (m, 8H), 5.08 (s, 2H), 4.22 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H), 4.02 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.78 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 4H), 2.35 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 2H), 2.22 (s, 6H), 2.06 (q,  $J=6.7\text{Hz}$ , 8H), 1.90–1.77 (m, 6H), 1.55–1.46 (m, 4H), 1.42–1.22 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1126] ES-MS  $m/z=844.4$  (MH<sup>+</sup>), 观察到溴同位素特征。

[1127] 实施例75的合成:

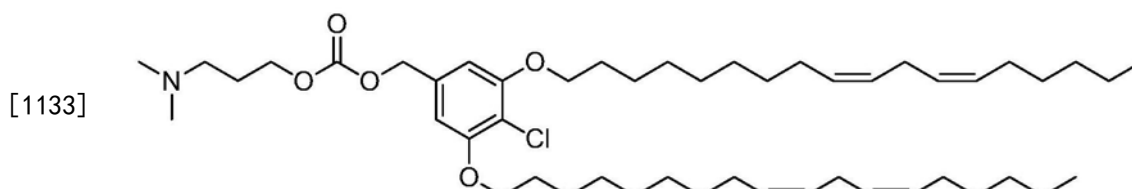
[1128] 中间体75a: 4-氯代-3,5-二羟基苯甲酸



[1130] 在1h内向3,5-二羟基苯甲酸 (4g, 26.0mmol) 的甲醇 (25ml) 溶液中加入N-氯代琥珀酰亚胺 (3.64g, 27.3mmol) 的甲醇 (10ml) 溶液。16h后, 将反应物倒入冰水中, 用乙酸乙酯萃取 (2×50ml)。合并的有机萃取液用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 获得目标化合物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1131] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.15$ 。

[1132] 实施例75化合物: 4-氯代-3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基(3-(二甲基氨基)丙基)碳酸酯



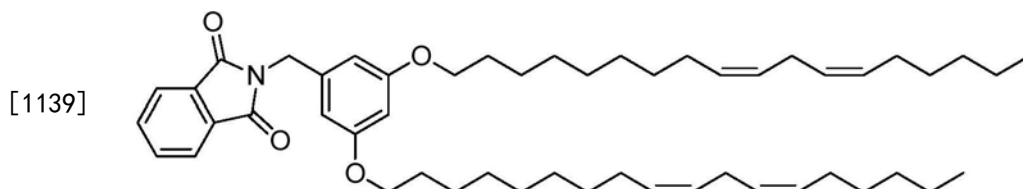
[1134] 实施例75可以采用实施例74的合成所使用的类似方法制备自中间体75a。

[1135]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.59 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 6.48 (d,  $J=2.8\text{Hz}$ , 1H), 5.51–5.29 (m, 8H), 5.26 (s, 2H), 4.25 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 4.00 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 3.94 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.80 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.38 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 2.24 (s, 6H), 2.07 (q,  $J=6.7\text{Hz}$ , 8H), 1.91–1.75 (m, 6H), 1.55–1.44 (m, 4H), 1.44–1.24 (m, 30H), 0.91 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1136] ES-MS  $m/z=800.6$  (MH<sup>+</sup>), 观察到氯同位素特征。

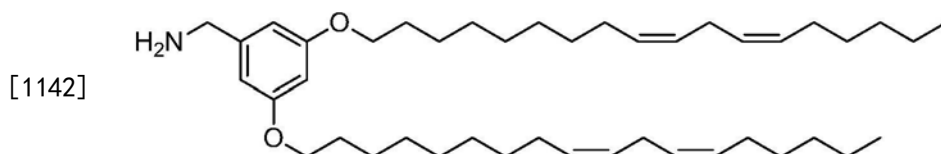
[1137] 实施例76的合成:

[1138] 中间体76a: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)异吲哚啉-1,3-二酮



[1140] 将中间体13a (120mg, 0.188mmol)、异吲哚啉-1,3-二酮 (34.6mg, 0.235mmol) 和三苯膦 (64, 2mg, 0.245mmol) 溶于THF (1.5ml)。然后滴加DIAD (0.044ml, 0.226mmol)。将反应物于室温下搅拌16小时。通过LCMS监测反应完成。浓缩反应物, 然后用水洗涤, 然后用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥并浓缩。获得作为含有三苯膦氧化物的混合物的目标产物, 得到144.0mg产物。

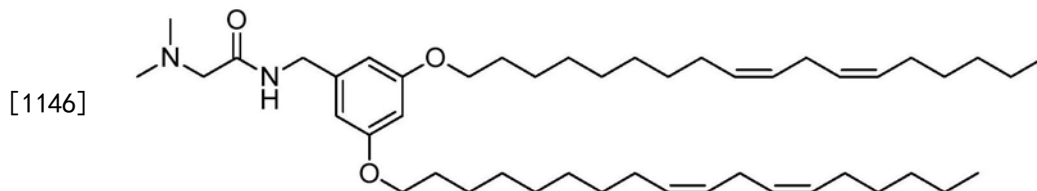
[1141] 中间体76b: (3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)甲胺



[1143] 将中间体76a (144mg, 0.188mmol, mixture) 溶于EtOH (3.7ml)。加入胍 (0.030mL, 0.940mmol), 将反应物于50℃加热4小时。通过LCMS监测反应完成。浓缩反应物, 将其悬浮于DCM (10ml)。过滤反应物。然后将滤液置于DCM预平衡的BondElute SCX柱上。该柱用3CV的DCM洗涤, 然后产物用DCM+5%的7N氨的甲醇溶液洗脱, 回收57mg目标产物。

[1144] ES-MS  $m/z = 636.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[1145] 实施例76化合物: N-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苄基)-2-(二甲基氨基)乙酰胺



[1147] 将中间体76b (36.1mg, 0.057mmol)、2-(二甲基氨基)乙酸盐 (23.77mg, 0.170mmol) 和HATU (43.2mg, 0.114mmol) 溶于DCM (4ml)。然后加入三乙胺 (0.032ml, 0.227mmol), 将反应物于室温下搅拌18小时, 通过LCMS监测。反应物用水骤冷 (2ml), 萃取到另一份DCM中 (3×5ml)。反应物通过硅胶色谱纯化, 采用0—5%的MeOH DCM溶液洗脱, 获得20mg目标产物。

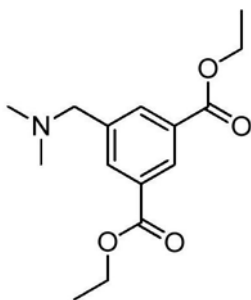
[1148] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.34 (br. s., 1H), 6.43 (d, J=2.0Hz, 2H), 6.40—6.33 (m, 1H), 5.54—5.30 (m, 8H), 4.40 (d, J=6.1Hz, 2H), 3.94 (t, J=6.6Hz, 4H), 3.01 (s, 2H), 2.80 (t, J=6.3Hz, 4H), 2.30 (s, 6H), 2.13—1.98 (m, 8H), 1.70—1.82 (m, J=6.6Hz, 4H), 1.53—1.23 (m, 41H), 0.91 (t, J=7.1Hz, 6H) ppm。

[1149] ES-MS  $m/z = 721.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[1150] 实施例77的合成:

[1151] 中间体77a: 5-((二甲基氨基)甲基)异邻苯二甲酸二乙基酯

[1152]

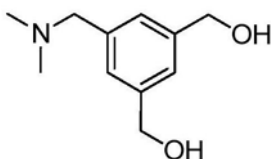


[1153] 在圆底烧瓶中,将5-(羟基甲基)异邻苯二甲酸二乙基酯(15.53g,47.6mmol)和DIPEA(10.39ml,59.5mmol)溶于氯仿(40ml)。将获得的悬浮液搅拌1h。向获得的悬浮液中加入对甲苯磺酸酐(10g,39.6mmol),将反应物于室温下搅拌。20h后,在~30分钟内将反应溶液滴加至二甲基胺(60ml,120mmol)中以控制放热反应在回流以下。将反应物于室温下搅拌3h。将反应物用二氯甲烷(200ml)、饱和的碳酸氢钠水溶液(200ml)和水(50ml)稀释。分层,水层用二氯甲烷萃取(3×100ml)。合并的有机部分用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤(3×100ml)。有机部分经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。残留物经快速色谱纯化(硅胶,0%—10%的甲醇二氯甲烷溶液),随后通过快速色谱纯化(硅胶,0%—100%的乙酸乙酯二氯甲烷溶液,0%—10%的甲醇乙酸乙酯溶液),获得7.3g目标产物。

[1154]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.44 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 6H) ; 2.29 (s, 6H) ; 3.55 (s, 2H) ; 4.43 (q,  $J=7.1\text{Hz}$ , 4H) ; 8.20 (d,  $J=1.5\text{Hz}$ , 2H) ; 8.61 (t,  $J=1.5\text{Hz}$ , 1H) ppm。

[1155] 中间体77b: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二甲醇

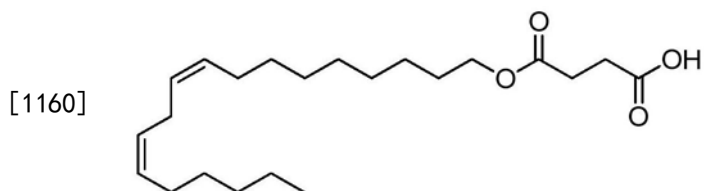
[1156]



[1157] 在圆底烧瓶中,将LAH(2.480g,65.3mmol)溶于四氢呋喃(50ml),将反应物置于室温水浴中。10分钟内将溶于THF(10ml)的中间体77a(7.3g,26.1mmol)滴加至LAH悬浮液中,保持放热反应低于回流温度。将获得的绿色悬浮液于室温下搅拌过夜,此时其变为深灰色。反应物用另一份THF稀释至150mL,通过滴加水骤冷(2.5ml)保持温度低于回流。于室温下搅拌15分钟后,5分钟内反应物通过滴加2.5M NaOH水溶液(5ml)再次骤冷。将反应物于室温下搅拌5分钟,1分钟内滴加水(7.5ml),此时悬浮液变为白色。将反应物于室温下搅拌2h,然后将盐通过硅藻土过滤,用乙酸乙酯洗涤。收集滤液,获得粘性无色油状物。将产物溶于二氯甲烷,通过快速柱色谱纯化(硅胶,0%—50%的甲醇二氯甲烷溶液)。收集产物组分,减压除去溶剂,获得无色油状物。将产物溶于二氯甲烷(100ml)并过滤。用乙酸乙酯洗涤残留物获得另一份沉淀物。减压除去溶剂,将产物再溶于乙酸乙酯(100mL),过滤并减压除去溶剂,获得4g目标产物。

[1158]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.21 (s, 6H) ; 3.37 (s, 2H) ; 3.77 (br s, 2H) ; 4.56 (s, 4H) ; 7.16 (s, 2H) ; 7.21 (s, 1H) ppm。

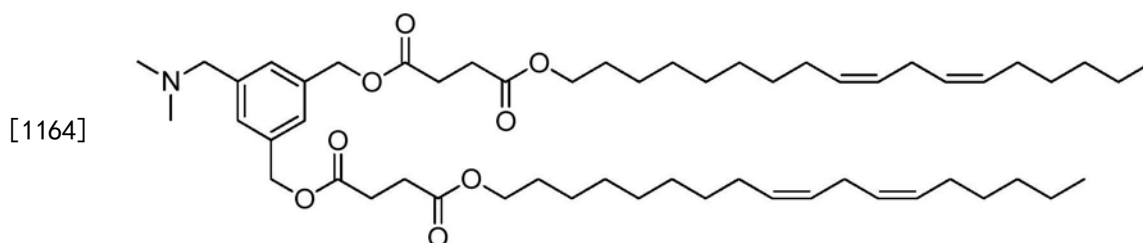
[1159] 中间体77c: 4-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)-4-氧代丁酸



[1161] 在硼硅玻璃瓶中,将亚油醇 (2g, 7.51mmol) 和DMAP (0.046g, 0.375mmol) 在氯仿 (7ml) 中搅拌。加入琥珀酸酐 (1.127g, 11.26mmol), 将反应物于室温下搅拌。3天后, 反应物通过快速柱色谱直接纯化 (硅胶, 0—10% 的甲醇二氯甲烷溶液), 获得2.73g目标产物。

[1162]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.91 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 3H); 1.27-1.41 (m, 17H); 1.64 (m, 2H); 2.07 (dd,  $J=7.0, 13.8\text{Hz}$ , 4H); 2.62-2.73 (m, 4H); 2.79 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 2H); 4.11 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H); 5.32-5.44 (m, 4H) ppm。

[1163] 实施例77化合物: 0,0'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基)二琥珀酸酯

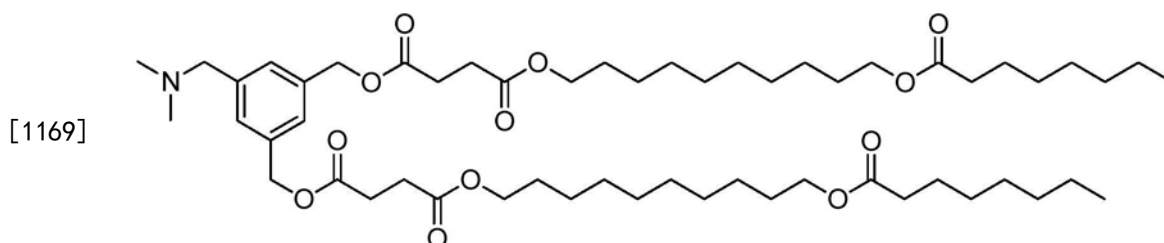


[1165] 在硼硅玻璃瓶中,将中间体77b (250mg, 1.280mmol) 在二氯甲烷 (10ml) 中搅拌。按顺序加入DIPEA (0.671ml, 3.84mmol)、DMAP (15.64mg, 0.128mmol)、EDC (736mg, 3.84mmol) 和中间体77c的产物 (1032mg, 2.82mmol)。将反应物密封, 于室温下搅拌。2天后, 反应物通过快速柱色谱纯化 (硅胶, 用1% 的甲酸二氯甲烷平衡, 采用0%—10% 的甲醇二氯甲烷溶液纯化), 获得916mg目标产物。

[1166]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.24 (s, 0.5H, 甲酸盐); 7.55 (s, 2H); 7.41 (s, 1H); 5.43-5.31 (m, 8H); 5.20 (s, 4H); 4.16 (s, 2H); 4.08 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H); 2.79 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H); 2.75 (s, 6H); 2.75-2.66 (m, 8H); 2.06 (q,  $J=6.6\text{Hz}$ , 8H); 1.66-1.59 (m, 4H); 1.40-1.27 (m, 32H); 0.90 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1167] ES-MS  $m/z=892.7$  (MH $^+$ )。

[1168] 实施例78: 0,0'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(10-(辛酰基氧基)癸基)二琥珀酸酯



[1170] 实施例78可以采用中间体18a和实施例77的合成中使用的类似方法制备。

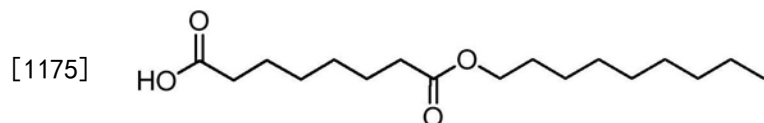
[1171]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.37 (s, 1.6H, 甲酸盐); 7.42 (s, 2H); 7.38 (s, 1H); 5.18 (s, 4H); 4.10-4.05 (m, 10H); 2.74-2.65 (m, 14H); 2.31 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H); 1.66-1.59 (m, 12H); 1.40-1.25 (m, 40H); 0.90 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H) ppm。



[1172] ES-MS  $m/z=960.9$  (MH<sup>+</sup>)。

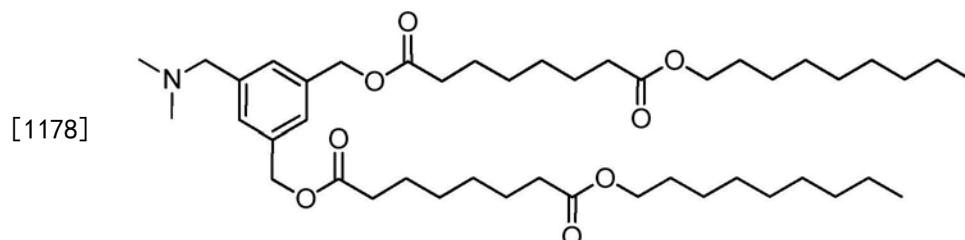
[1173] 实施例79的合成:

[1174] 中间体79a:8-(壬基氧基)-8-氧代辛酸



[1176] 在配备搅拌棒的250mL圆底烧瓶中,将辛二酸(5g,28.7mmol)和EDC(6.60g,34.4mmol)溶于DCM(150ml)。加入DIPEA(15.04ml,86mmol),随后加入DMAP(1.403g,11.48mmol),将混合物于室温下搅拌1hr,然后加入1-壬醇(5.01ml,28.7mmol)。将混合物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物,获得的产物通过硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得1g目标产物。

[1177] 实施例79化合物:0<sup>1</sup>,0<sup>1</sup>-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))8-二壬基二辛二酸酯

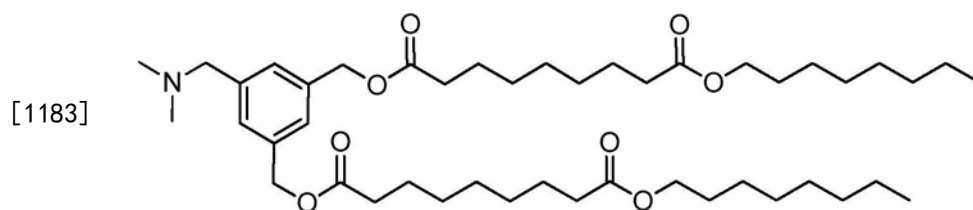


[1179] 实施例79可以采用实施例77使用的类似方法制备。

[1180] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.26 (s,2H),7.23 (s,1H),5.10 (s,4H),4.05 (t,J=6.8Hz,4H),3.44 (s,2H),2.36 (t,J=7.7Hz,4H),2.31-2.25 (m,10H),1.69-1.58 (m,12H),1.36-1.27 (m,32H),0.88 (t,J=7.0Hz,6H) ppm。

[1181] ES-MS  $m/z=760.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[1182] 实施例80:0<sup>1</sup>,0<sup>1</sup>-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))9-二辛基二壬二酸酯



[1184] 实施例80可以采用实施例79制备所使用的类似方法制备。

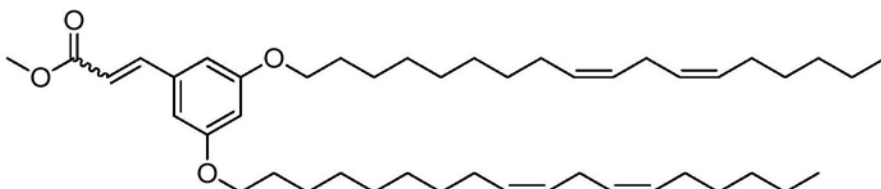
[1185] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ7.27 (s,2H),7.24 (s,1H),5.11 (s,4H),4.07 (t,J=6.8Hz,4H),3.44 (s,2H),2.37 (t,J=7.7Hz,4H),2.30 (t,J=7.5Hz,4H),2.26 (s,6H),1.67-1.59 (m,12H),1.33-1.29 (m,32H),0.90 (t,J=8.0Hz,6H) ppm。

[1186] ES-MS  $m/z=760.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[1187] 实施例81的合成:

[1188] 中间体81a:3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)丙烯酸甲酯

[1189]

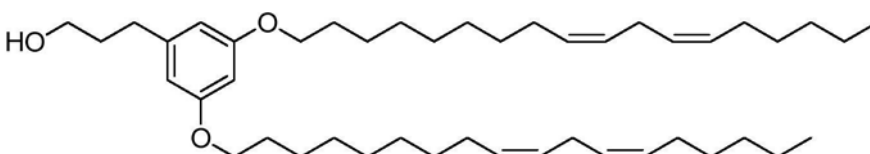


[1190] 将三甲基膦酰基 (phosphono) 乙酸酯 (357mg, 1.96mmol) 加至NaH (78mg, 1.96mmol) 的THF (10ml) 悬浮液中, 将其在冰浴中搅拌。10min后, 将采用实施例1a类似方法制备的原料醛 (1g, 1.63mmol) 溶于THF (5ml) 并缓慢加入。将反应物搅拌1h, 然后加入冰冷的水 (5ml), 将获得的混合物用EtOAc萃取 (3×30ml)。合并的有机层经硫酸钠干燥, 减压浓缩。获得的产物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.2g目标产物。

[1191] TLC (硅胶, 10%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f = 0.77$ 。

[1192] 中间体81b: 3- (3,5-二 ((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基) 苯基) 丙-1-醇

[1193]

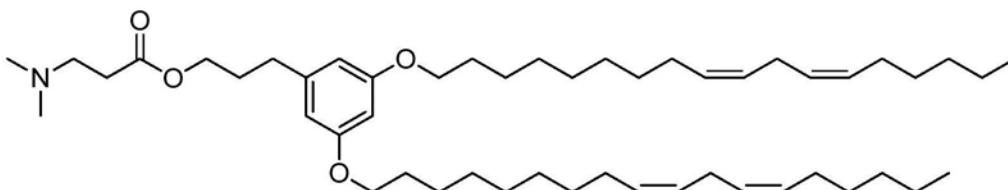


[1194] 将中间体81a (2.6g, 3.7mmol) 的THF (75ml) 溶液在冰浴中冷却, 分次加入氢化铝锂 (300mg, 7.9mmol)。将反应物在冷却浴中搅拌45min, 然后用冰冷的水骤冷。获得的产物通过硅藻土过滤, 将滤液减压浓缩。获得的产物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得2.5g目标产物。

[1195] TLC (硅胶, 10%的EtOAc己烷溶液):  $R_f = 0.21$ 。

[1196] 实施例81化合物: 3- (3,5-二 ((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基) 苯基) 丙基3- (二甲基氨基) 丙酸酯

[1197]



[1198] 实施例81可以采用实施例13的合成中所使用的类似方法制备自中间体81b。

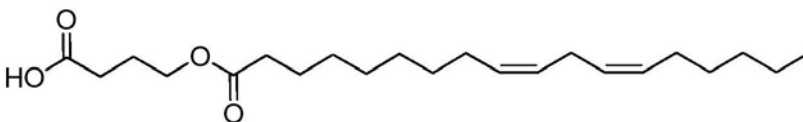
[1199]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.34 (d,  $J = 2.0\text{Hz}$ , 2H), 6.32 (d,  $J = 2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.27–5.47 (m, 8H), 4.16 (t,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 2H), 3.93 (t,  $J = 6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.92–3.03 (m, 2H), 2.80 (dd,  $J = 6.4, 6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.61–2.69 (m, 4H), 2.58 (s, 6H), 2.07 (q,  $J = 6.9\text{Hz}$ , 8H), 1.91–2.03 (m, 2H), 1.71–1.85 (m,  $J = 7.8\text{Hz}$ , 4H), 1.42–1.52 (m, 4H), 1.23–1.41 (m, 29H), 0.91 (t,  $J = 6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1200] ES-MS  $m/z = 764.6$  (MH $^+$ )。

[1201] 实施例82的合成:

[1202] 中间体82a: 4- ((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酰基氧基) 丁酸

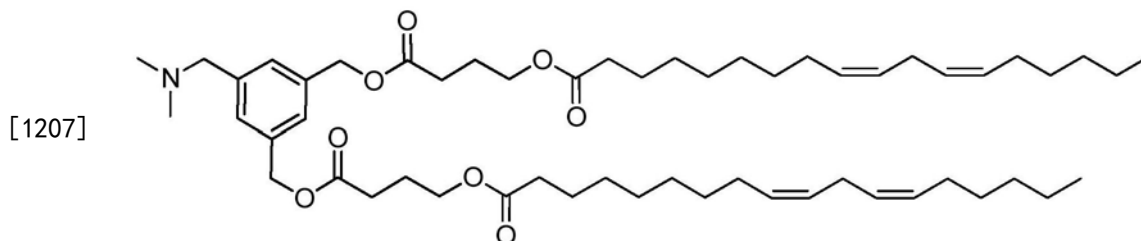
[1203]



[1204] 将原料醇、(9Z,12Z)-4-羟基丁基十八-9,12-二烯酸酯(1.0g,2.8mmol)(采用中间体18a的化学方法制备)在丙酮(25ml)中搅拌,在冰浴中冷却。滴加Jones试剂(2.27ml,2.5M,5.67mmol),移除冰浴。1h搅拌后,加入MeOH(5ml),随后加入EtOAc(220ml)。将获得的混合物用1:1水:盐水洗涤,然后用盐水洗涤。获得的有机层经硫酸钠干燥,然后减压除去挥发物。粗品产物通过硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得672mg目标产物。

[1205]  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.178.3,173.8,130.2,130.0,128.0,127.9,63.0,34.2,31.5,30.4,29.6,29.3,29.2,29.1,27.2,25.6,24.9,23.7,22.5,14.1ppm。

[1206] 实施例82化合物:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



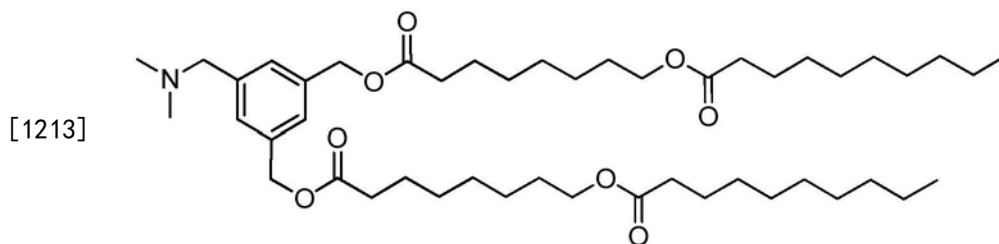
[1208] 将中间体82a(672mg,1.83mmol)在DCE(40ml)中搅拌。加入EDC(501mg,2.6mmol),随后加入获自中间体77b的产物(170mg,0.87mmol)的DCE(10ml)溶液。加入TEA(0.485ml,3.48mmol)和DMAP(21mg,0.17mmol),将反应物于室温下搅拌3天。将反应物减压浓缩,粗品产物通过硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得359mg目标产物。

[1209]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.31-7.28(m,2H),7.25-7.23(m,1H),5.44-5.28(m,8H),5.12(s,4H),4.11(t,  $J=6.4\text{Hz}$ ,4H),2.81-2.73(m,4H),2.46(t,  $J=7.4\text{Hz}$ ,4H),2.32-2.24(m,9H),2.09-1.94(m,12H),1.69-1.51(m,5H),1.42-1.22(m,28H),0.89(t,  $J=6.9\text{Hz}$ ,6H) ppm。

[1210] ES-MS  $m/z=892.7$  (MH $^+$ )。

[1211] 实施例83-88可以采用实施例82制备所使用的类似方法制备。

[1212] 实施例83:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(8-氧代辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)

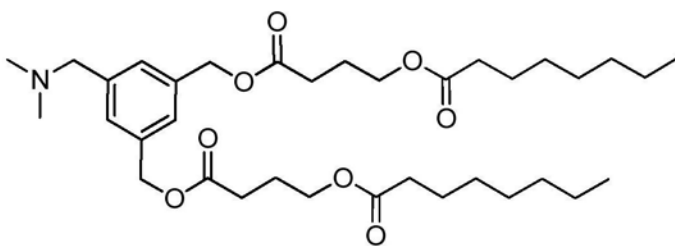


[1214]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.28-7.25(m,2H),7.24-7.21(m,1H),5.10(s,4H),4.05(t,  $J=6.8\text{Hz}$ ,4H),3.43(s,2H),2.36(t,  $J=7.6\text{Hz}$ ,4H),2.29(t,  $J=7.6\text{Hz}$ ,4H),2.25(s,6H),1.72-1.52(m,12H),1.42-1.14(m,36H),0.95-0.75(m,6H) ppm。

[1215] ES-MS  $m/z=788.4$  (MH $^+$ )。

[1216] 实施例84:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二辛酸酯

[1217]



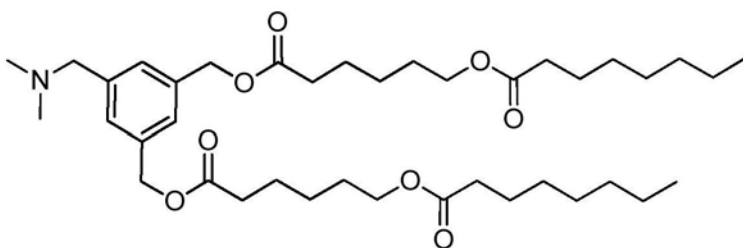
[1218] 实施例84被定性为甲酸盐。

[1219]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.33 (s, 1H, 甲酸盐); 7.54 (s, 2H); 7.39 (s, 1H); 5.17 (s, 4H); 4.15 (s, 2H); 4.12 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H); 2.74 (s, 6H); 2.50 (t,  $J=7.4\text{Hz}$ , 4H); 2.30 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H); 2.04-1.97 (m, 4H); 1.65-1.58 (m, 4H); 1.34-1.23 (m, 16H); 0.88 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1220] LCMS  $m/z=620.2$  (MH $^+$ )。

[1221] 实施例85: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基)二(6-氧代己烷-6,1-二基)二辛酸酯

[1222]

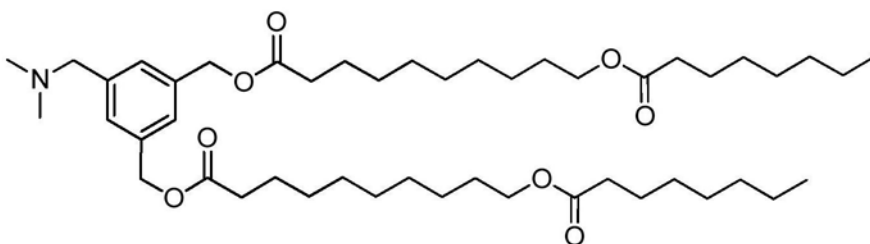


[1223]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.30 (s, 0.6H, 甲酸盐); 7.54 (s, 2H); 7.40 (s, 1H); 5.15 (s, 4H); 4.15 (s, 2H); 4.06 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H); 2.74 (s, 6H); 2.42 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H); 2.29 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H); 1.73-1.58 (m, 12H); 1.44-1.36 (m, 4H); 1.34-1.23 (m, 16H); 0.88 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1224] LCMS  $m/z=676.2$  (MH $^+$ )。

[1225] 实施例86: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(10-(辛酰基氧基)癸酸酯)

[1226]

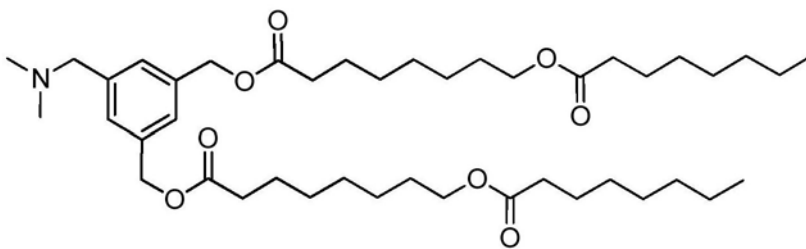


[1227]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.50 (s, 2H); 7.38 (s, 1H); 5.14 (s, 4H); 4.06 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 4H); 3.97 (s, 2H); 2.63 (s, 6H); 2.39 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H); 2.30 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H); 1.69-1.59 (m, 12H); 1.38-1.25 (m, 36H); 0.89 (t,  $J=7.0$ , 6H) ppm。

[1228] LCMS  $m/z=788.8$  (MH $^+$ )。

[1229] 实施例87: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(8-(辛酰基氧基)辛酸酯)

[1230]

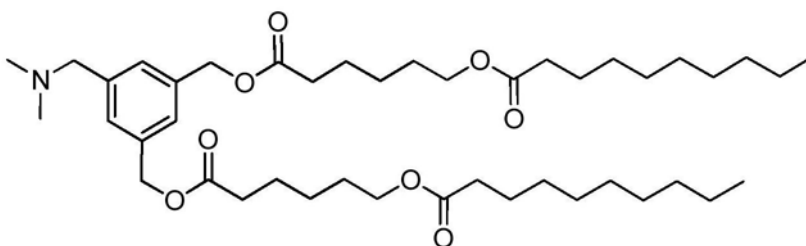


[1231] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52 (s, 2H) ; 7.38 (s, 1H) ; 5.15 (s, 4H) ; 4.06 (t, J=6.7Hz, 4H) ; 3.99 (s, 2H) ; 2.65 (s, 6H) ; 2.40 (t, J=7.5Hz, 4H) ; 2.30 (t, J=7.5Hz, 4H) ; 1.70-1.59 (m, 12H) ; 1.38-1.25 (m, 28H) ; 0.89 (t, J=6.8Hz, 6H) ppm。

[1232] LCMS m/z=732.8 (MH<sup>+</sup>)。

[1233] 实施例88: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二(氧基))二(6-氧代己烷-6,1-二基)二(癸酸酯)

[1234]



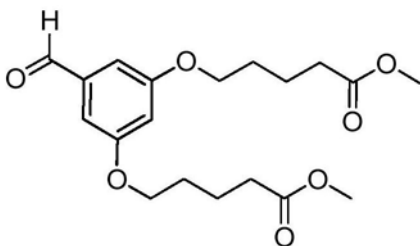
[1235] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.54 (s, 2H) ; 7.38 (s, 1H) ; 5.15 (s, 4H) ; 4.07 (t, J=6.7Hz, 4H) ; 4.02 (s, 2H) ; 2.66 (s, 6H) ; 2.42 (t, J=7.5Hz, 4H) ; 2.30 (t, J=7.7Hz, 4H) ; 1.74-1.58 (m, 12H) ; 1.45-1.37 (m, 4H) ; 1.35-1.22 (m, 24H) ; 0.89 (t, J=7.0Hz, 6H) ppm。

[1236] LCMS m/z=732.8 (MH<sup>+</sup>)。

[1237] 实施例89的合成:

[1238] 中间体89a: 5,5'-((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二戊酸二甲基酯

[1239]

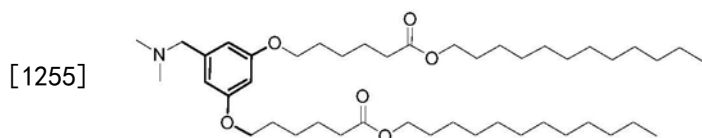


[1240] 向3,5-二羟基苯甲醛(1.0g, 7.24mmol)的丙酮(35ml)溶液中加入5-溴戊酸甲酯(3.53g, 18.1mmol)。加入碳酸钾(3.0g, 22mmol),将反应物在油浴中加热至回流。加热过夜后,冷却反应物至室温,将其搅拌4天。减压除去挥发物,将产物再悬浮于DCM。将获得的混合物过滤,滤液减压浓缩至粗品产物,将其通过硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得824mg目标产物。

[1241] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.89 (s, 1H) , 6.99 (s, 2H) , 6.68 (s, 1H) , 4.01 (m, 4H) , 3.68 (s, 6H) , 2.41 (m, 4H) , 1.84 (m, 8H) ppm。

[1242] 中间体89b: 5,5'-((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二戊酸

O=Cc1ccc(OCCCCC(=O)O)c(OCCCCC(=O)O)c1O=Cc1ccc(OCCCCOC(=O)CCCCC/C=C\\CCCC/C=C\\CCCC)c(OCCCCOC(=O)CCCCC/C=C\\CCCC/C=C\\CCCC)c1CN(C)Cc1ccc(OCCCC(=O)OCCCCC/C=C/C/C=C/C/C)cc1OCCCC(=O)OCCCCC/C=C/C/C=C/C/C



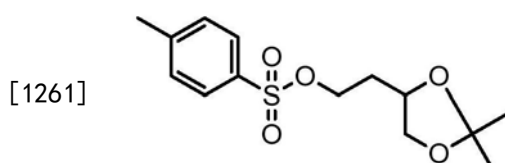
[1256] 实施例90可以采用实施例89制备所使用的类似方法制备。

[1257]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (br. s., 2H) 6.35 (br. s., 1H) 4.00–4.11 (m, 4H) 3.94 (t,  $J=6.44\text{Hz}$ , 4H) 2.34 (t,  $J=7.45\text{Hz}$ , 5H) 2.27 (br. s., 3H) 1.57–1.85 (m, 12H) 1.40–1.57 (m, 4H) 1.20–1.39 (m, 40H) 0.80–0.98 (m, 6H) ppm。

[1258] ES-MS  $m/z=732.1$  (MH $^+$ )。

[1259] 实施例91的合成:

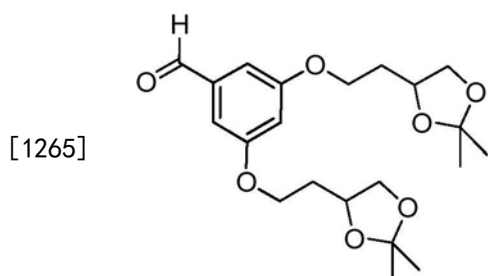
[1260] 中间体91a: 2-(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)乙基4-甲基苯磺酸酯



[1262] 向2-(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)乙醇(10g, 68.4mmol)的DCM(100ml)悬浮液中加入吡啶(25ml)。加入甲苯磺酸酐(26.8g, 82mmol), 将反应物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 获得的产物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得8.92g目标产物。

[1263]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.82–7.77 (m, 2H), 7.38–7.32 (m, 2H), 4.21–4.07 (m, 3H), 4.05–3.99 (m, 1H), 3.55–3.49 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 1.97–1.83 (m, 2H), 1.34 (s, 3H), 1.29 (s, 3H) ppm。

[1264] 中间体91b: 3,5-二(2-(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)乙氧基)苯甲醛

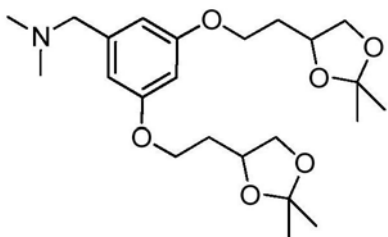


[1266] 向含有中间体91a(8.92g, 29.7mmol)的烧瓶中加入3,5-二羟基苯甲醛(dihydroxybenzaldehyde)(1.9g, 13.8mmol)和DMF(50ml)。加入碳酸钾(5.7g, 41.3mmol), 将反应物加热至80℃过夜。冷却反应物, 加入水。获得的产物用EtOAc萃取, 合并的有机层经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得的残留物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.9g目标产物。

[1267]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.89 (s, 1H), 7.02–6.99 (m, 2H), 6.72–6.68 (m, 1H), 4.36–4.26 (m, 2H), 4.18–4.07 (m, 6H), 3.68–3.62 (m, 2H), 2.10–2.02 (m, 4H), 1.43 (s, 3H), 1.37 (s, 3H) ppm。

[1268] 中间体91c: 1-(3,5-二(2-(2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)乙氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺

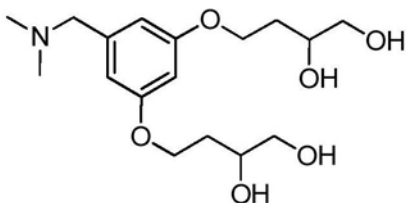
[1269]



[1270] 将中间体91b (1.4g, 3.55mmol) 在DCE (35ml) 中搅拌。加入二甲基胺 (7.10ml, 2M的THF溶液, 14.2mmol), 随后加入乙酸 (0.20ml, 3.6mmol), 然后加入三乙酰氧基硼氢化钠 (1.88g, 8.87mmol)。将反应物加盖, 将其于室温下搅拌过夜。将反应物用饱和的碳酸氢钠水溶液骤冷, 将获得的混合物用EtOAc萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥并减压浓缩, 获得1.34g粗品产物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1271] 中间体91d: 4,4' - ((5 - ((二甲基氨基) 甲基) - 1,3 - 亚苯基) 二(氧基)) 二(丁烷-1,2 - 二醇)

[1272]

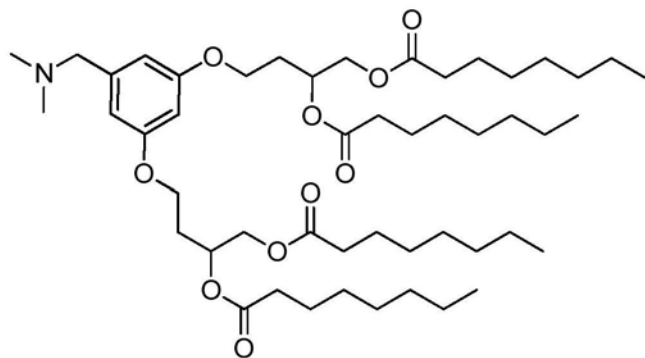


[1273] 将中间体91c (1.34g, 3.16mmol) 在MeOH (20ml) 中搅拌。加入浓盐酸水溶液 (0.19ml, 6.33mmol), 将反应物于室温下搅拌过夜。减压除去挥发物, 产物无需进一步纯化可以直接使用。

[1274] ES-MS  $m/z = 344.2$  (MH<sup>+</sup>)。

[1275] 实施例91化合物: 4,4' - ((5 - ((二甲基氨基) 甲基) - 1,3 - 亚苯基) 二(氧基)) 二(丁烷-1,2 - 二基) 四辛酸酯

[1276]



[1277] 将中间体91d (1.0g, 2.63mmol) 在DMF (6ml) 中搅拌直到溶解。加入DCM (6ml), 随后加入吡啶 (1.7ml, 21mmol) 和DMAP (0.096mg, 0.79mmol)。将辛酰氯 (2.14g, 13.16mmol) 缓慢加至搅拌的反应物中, 将获得的混合物于室温下搅拌3天。将反应物用水和饱和的碳酸氢钠水溶液稀释, 将获得的混合物用DCM和EtOAc萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 减压除去挥发物。产物采用硅胶色谱纯化, 其已经采用1%的乙酸DCM溶液 (体积比) 预洗涤。化合物用EtOAc/庚烷洗脱, 含有产物的组分采用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤。获得的有机部分经硫酸钠干燥, 然后减压浓缩。获得的产物通过硅胶色谱第二次纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 得到1.65g目标产物。

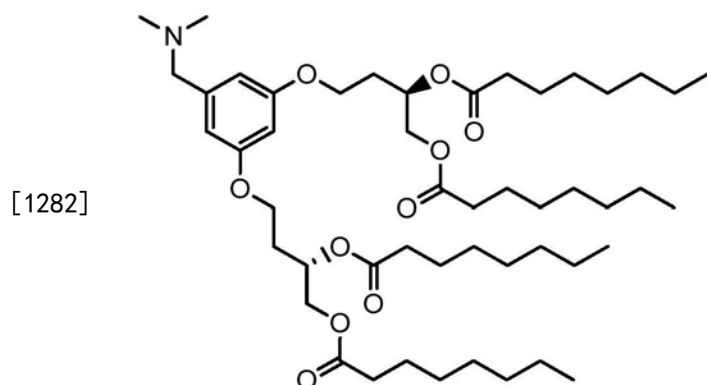


[1278]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.59 (br s, 2H) 6.36 (br s, 1H) 5.25–5.37 (m, 2H) 4.35 (dd,  $J=12.05, 3.26\text{Hz}$ , 2H) 4.12 (dd,  $J=11.92, 6.15\text{Hz}$ , 2H) 3.91–4.09 (m, 4H) 3.58 (br s, 2H) 2.25–2.55 (m, 14H) 2.01–2.13 (m, 4H) 1.49–1.70 (m, 8H) 1.13–1.39 (m, 32H) 0.77–0.99 (m, 12H) ppm。

[1279] ES-MS  $m/z=848.6$  (MH $^+$ )。

[1280] 实施例92-94可以采用实施例91制备所使用的类似方法制备。

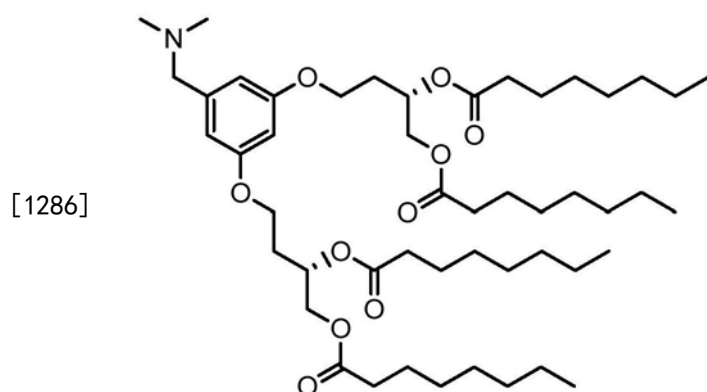
[1281] 实施例92: (R)-4-(3-((S)-3,4-二(辛酰基氧基)丁氧基)-5-((二甲基氨基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯



[1283]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.74–0.97 (m, 12H) 1.14–1.40 (m, 32H) 1.51–1.71 (m, 8H) 2.07 (q,  $J=5.94\text{Hz}$ , 4H) 2.21–2.46 (m, 14H) 3.44 (s, 2H) 3.89–4.07 (m, 4H) 4.12 (dd,  $J=11.92, 6.15\text{Hz}$ , 2H) 4.34 (dd,  $J=12.05, 3.26\text{Hz}$ , 2H) 5.20–5.40 (m, 2H) 6.32 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.49 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[1284] ES-MS  $m/z=848.3$  (MH $^+$ )。

[1285] 实施例93: (S)-4-(3-((S)-3,4-二(辛酰基氧基)丁氧基)-5-((二甲基氨基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯

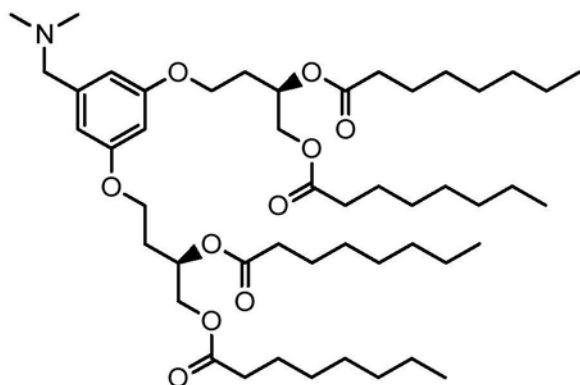


[1287]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.87 (m, 12H) 1.14–1.38 (m, 32H) 1.48–1.72 (m, 8H) 2.07 (q,  $J=6.19\text{Hz}$ , 4H) 2.22–2.41 (m, 14H) 3.44 (s, 2H) 3.87–4.07 (m, 4H) 4.12 (dd,  $J=11.92, 6.15\text{Hz}$ , 2H) 4.34 (dd,  $J=12.05, 3.26\text{Hz}$ , 2H) 5.20–5.40 (m, 2H) 6.32 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.49 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[1288] ES-MS  $m/z=848.3$  (MH $^+$ )。

[1289] 实施例94: (R)-4-(3-((R)-3,4-二(辛酰基氧基)丁氧基)-5-((二甲基氨基)甲基)苯氧基)丁烷-1,2-二基二辛酸酯

[1290]



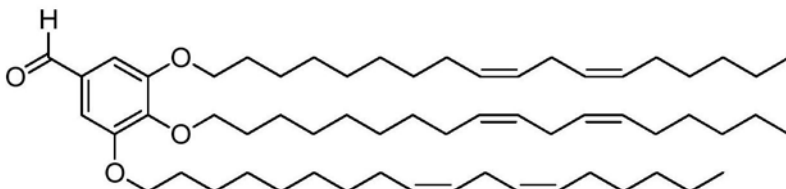
[1291]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.87 (m, 12H) 1.12–1.40 (m, 32H) 1.47–1.71 (m, 8H)  $\delta$  2.07 (q,  $J=6.44\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  2.18–2.38 (m, 14H) 3.47 (s, 2H) 3.85–4.06 (m, 4H) 4.12 (dd,  $J=11.92$ , 6.15Hz, 2H) 4.34 (dd,  $J=11.92$ , 3.39Hz, 2H) 5.20–5.40 (m, 2H) 6.33 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H) 6.49 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[1292] ES-MS  $m/z=848.3$  (MH $^+$ )。

[1293] 实施例95的合成：

[1294] 中间体95a: 3,4,5-三((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯甲醛

[1295]

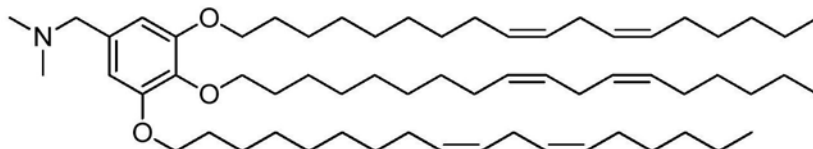


[1296] 将3,4,5-三羟基苯甲醛(600mg, 3.89mmol)、LinOMs(4427mg, 12.85mmol)和碳酸钾(2690mg, 19.47mmol)在DMF(30mL)中混合,加热至80℃过夜。将反应混合物倒入冰水(100mL),用乙醚萃取(100mL $\times$ 2)。收集有机相,经硫酸钠干燥,减压除去挥发物。残留物通过硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得2.76g,目标产物。

[1297]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.84 (s, 1H), 7.72 (dd,  $J=5.77$ , 3.26Hz, 1H), 7.50–7.58 (m, 1H), 7.09 (s, 2H), 5.22–5.47 (m, 13H), 4.23 (t,  $J=6.02\text{Hz}$ , 1H), 3.94–4.12 (m, 7H), 2.78 (t,  $J=6.40\text{Hz}$ , 7H), 2.06 (q,  $J=6.69\text{Hz}$ , 13H), 1.78–1.91 (m, 5H), 1.73–1.78 (m, 2H), 1.70 (dd,  $J=11.42$ , 5.40Hz, 1H), 1.58 (s, 1H), 1.42–1.55 (m, 8H) 1.22–1.42 (m, 51H) 0.82–0.98 (m, 13H) ppm。

[1298] 实施例95化合物:N,N-二甲基-1-(3,4,5-三((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)甲烷

[1299]



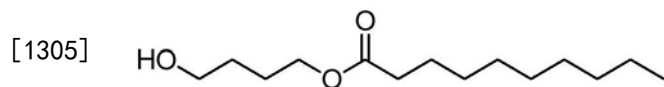
[1300] 实施例95可以采用制备实施例33中使用的类似的反应条件制备自中间体95a。

[1301]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.50 (s, 2H), 5.44–5.29 (m, 12H), 4.00–3.91 (m, 6H), 3.32 (s, 2H), 2.81–2.75 (m, 6H), 2.24 (s, 6H), 2.10–2.01 (m, 12H), 1.85–1.65 (m, 8H), 1.52–1.24 (m, 50H), 0.92–0.86 (m, 9H) ppm。

[1302]  $^{13}\text{C}$  NMR (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 152.9, 137.5, 134.1, 130.2, 130.1, 130.1, 128.0, 127.9, 107.3, 73.3, 69.0, 64.7, 45.4, 31.3, 30.3, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 27.3, 27.2, 27.2, 26.1, 25.6, 22.6, 14.1 ppm。

[1303] 实施例96的合成:

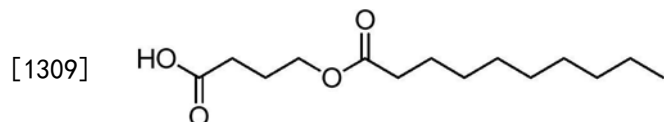
[1304] 中间体96a: 4-羟基丁基癸酸酯



[1306] 向丁二醇 (3.54g, 39.3mmol) 的DCM (80ml) 溶液中加入吡啶 (1.65ml, 20.4mmol) 和 DMAP (0.38g, 3.2mmol)。加入癸酰氯 (3.0g, 15.7mmol), 将反应物于室温下搅拌1h。减压除去挥发物, 获得的产物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 得到3.3g目标产物。

[1307]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 4.1 (m, 2H), 3.7 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 1.7 (m, 2H), 1.6 (m, 4H), 1.3 (m, 12H), 0.9 (m, 3H) ppm。

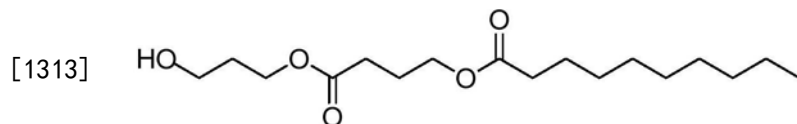
[1308] 中间体96b: 4-(癸酰基氧基)丁酸



[1310] 中间体96b可以采用中间体84a的合成中使用的类似条件制备自中间体98a。

[1311]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 4.1 (m, 2H), 2.5 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 2.0 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.3 (m, 12H), 0.9 (m, 3H) ppm。

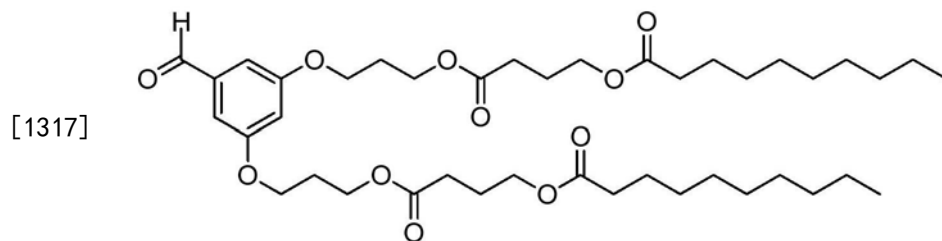
[1312] 中间体96c: 4-(3-羟基丙氧基)-4-氧代丁基癸酸酯



[1314] 中间体98c可以采用中间体18a的制备中使用的类似条件制备自中间体98b和1,3-丙二醇。

[1315]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 4.3 (m, 2H), 4.1 (m, 2H), 3.7 (m, 2H), 2.4 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 2.0 (m, 2H), 1.9 (m, 3H), 1.6 (m, 2H), 1.3 (m, 12H), 0.9 (m, 3H) ppm。

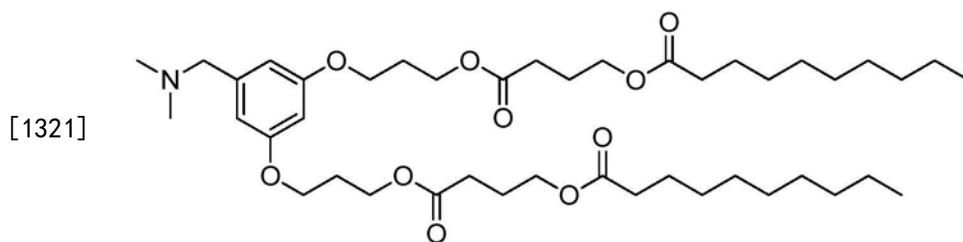
[1316] 中间体96d: (((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二(癸酸酯)



[1318] 中间体96d可以采用中间体18b的合成中使用的类似条件制备自中间体98c。

[1319]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 9.9 (s, 1H), 7.0 (s, 2H), 6.7 (s, 1H), 4.3 (m, 4H), 4.1 (m, 8H), 2.4 (m, 4H), 2.3 (m, 4H), 2.2 (m, 4H), 2.0 (m, 4H), 1.6 (m, 4H), 1.3 (m, 24H), 0.9 (m, 6H) ppm。

[1320] 实施例96化合物: (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基))二(氧基))二(4-氧代丁烷-4,1-二基)二(癸酸酯)



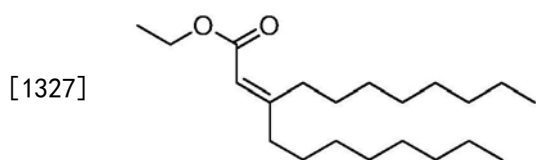
[1322] 实施例96可以采用实施例33的合成中使用的类似反应条件制备自中间体96d。

[1323]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.81–0.92 (m, 6H) 1.18–1.37 (m, 24H) 1.53–1.67 (m, 4H) 1.96 (quin,  $J=6.90\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  2.09 (quin,  $J=6.27\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  2.23 (s, 6H)  $\delta$  2.28 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  2.40 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  3.33 (s, 2H)  $\delta$  4.02 (t,  $J=6.02\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  4.09 (t,  $J=6.00\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  4.26 (t,  $J=6.27\text{Hz}$ , 4H)  $\delta$  6.33 (t,  $J=2.26\text{Hz}$ , 1H)  $\delta$  6.47 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) ppm。

[1324] ES-MS  $m/z=764.5$  (MH $^+$ )。

[1325] 实施例97的合成:

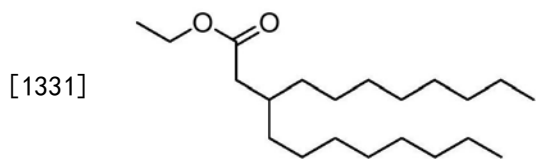
[1326] 中间体97a: 3-辛基十一碳-2-烯酸乙酯



[1328] 将9-十七酮 (15g, 59mmol) 和三乙基膦酰基乙酸酯 (13.2g, 59mmol) 的溶液在THF (100ml) 中搅拌。向该反应物中加入NaOEt (26.4ml, 21%的EtOH溶液, 70.7mmol), 将获得的溶液加热至回流48h。将反应物采用1M HCl酸化, 然后用EtOAc稀释。收集有机层, 用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤。获得的有机产物经硫酸钠干燥, 减压除去挥发物得到粗品产物, 将其通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得11.7g目标产物。

[1329]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.62 (s, 1H) 4.01–4.26 (m, 2H)  $\delta$  2.49–2.68 (m, 2H)  $\delta$  2.13 (m, 2H) 1.44 (dd,  $J=7.33, 4.80\text{Hz}$ , 4H) 1.17–1.35 (m, 23H) 0.83–0.98 (m, 6H) ppm。

[1330] 中间体97b: 3-辛基十一烷酸乙酯



[1332] 将中间体97a (11.75g, 36.2mmol) 在DCM (16.5ml) 和MeOH (165ml) 中搅拌。加入Pd/C (3.85g, 10%的Pd), 将反应烧瓶配备充入氢气的气囊。将反应物于室温下搅拌24h。将反应物用氮气脱气, 通过硅藻土过滤, 用DCM和MeOH洗涤。收集滤液, 减压除去挥发物, 获得10.6g产物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1333]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.13 (q,  $J=7.16\text{Hz}$ , 2H)  $\delta$  2.39 (t,  $J=7.45\text{Hz}$ , 2H)  $\delta$  2.22 (d,  $J=6.82\text{Hz}$ , 2H) 1.84 (br. s., 1H) 1.56 (t,  $J=7.20\text{Hz}$ , 2H) 1.19–1.36 (m, 27H) 0.81–0.95 (m, 6H) ppm。

[1334] 中间体97c: 3-辛基十一酸

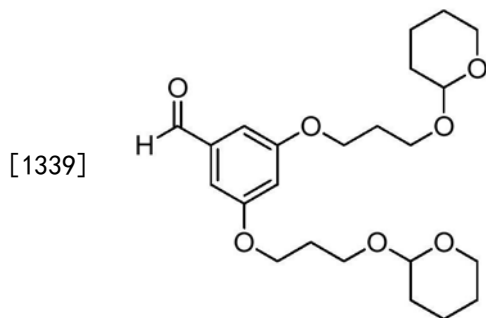
[1335]

The chemical structure shows a central carbon atom bonded to two phenyl rings and two isopropyl groups. Each phenyl ring is substituted with an octyloxy group (-O-C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>) at the para position. The octyl chains are represented by zigzag lines.

[1336] 将中间体97b (10.6g, 32.5mmol) 与NaOH (9.74ml, 10M, 97.4mmol) 在MeOH (100ml) 和DCM (10ml) 中搅拌。将反应物加热至回流过夜。加入HCl水溶液中和该溶液, 减压除去挥发物, 将获得的产物再溶于DCM。有机部分用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤, 获得的水层用DCM萃取。合并的有机部分经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。产物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液。将获得的产物溶于DCM, 上样于NH<sub>2</sub>官能化的柱上。将柱用DCM洗涤, 然后用DCM/MeOH洗涤。产物用酸性甲醇洗脱, 将洗脱液减压浓缩。将残留物溶于DCM, 用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩, 获得6.5g目标产物。

[1337]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.28 (d,  $J=7.07\text{Hz}$ , 2H) 1.86 (br. s., 1H) 1.15–1.44 (m, 28H) 0.82–0.97 (m, 6H) ppm.

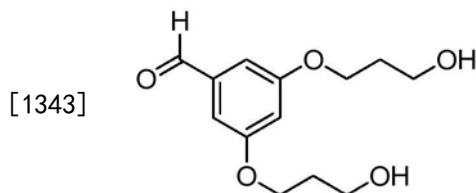
[1338] 中间体97d: 3,5-二(3-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙氧基)苯甲醛



[1340] 将3,5-二羟基苯甲醛(3g,22mmol)和2-(3-溴丙氧基)四氢-2H-吡喃(8.11ml,47.8mmo在DMF(100ml)中搅拌。加入碳酸钾(15g,109mmol),将反应物加热至80℃过夜。将反应物用盐水和EtOAc稀释,随后用饱和的碳酸氢钠水溶液稀释。将获得的混合物过滤,收集有机层,经硫酸钠干燥,减压除去挥发物。获得的产物通过硅胶色谱纯化,采用庚烷/EtOAc作为洗脱液,获得3.8g目标产物。

[1341]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.88 (s, 1H) 6.84–7.12 (m, 2H) 6.68 (t,  $J=2.40\text{Hz}$ , 1H) 4.52–4.76 (m, 1H) 4.13 (t,  $J=6.32\text{Hz}$ , 2H) 3.78–4.05 (m, 2H) 3.44–3.73 (m, 2H) 1.97–2.27 (m, 2H) 1.79–1.92 (m, 1H) 1.67–1.79 (m, 1H) 1.41–1.67 (m, 4H) ppm.

[1342] 中间体97e:3,5-二(3-羟基丙氧基)苯甲醛

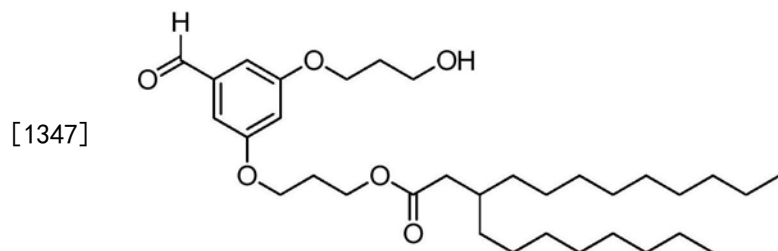


[1344] 将中间体97d (2.6g, 6.15mmol) 在MeOH (40ml) 和THF (40ml) 中与HCl (24.6ml, 1N的水溶液, 24.6mmol) 一起搅拌。将反应物于室温下搅拌4h。加入饱和的碳酸氢钠水溶液, 将反应物减压浓缩。获得的混合物用二氯甲烷萃取, 合并的有机部分经硫酸钠干燥。减压除去挥发物, 获得的产物通过硅胶色谱纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得1.4g目标产物。

[1345]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H) 7.03 (d,  $J=2.27\text{Hz}$ , 2H) 6.73 (t,  $J=2.27\text{Hz}$ ,

1H) 4.17 (t, J=6.06Hz, 4H) 3.88 (t, J=5.81Hz, 4H) 1.98–2.20 (m, 4H) ppm.

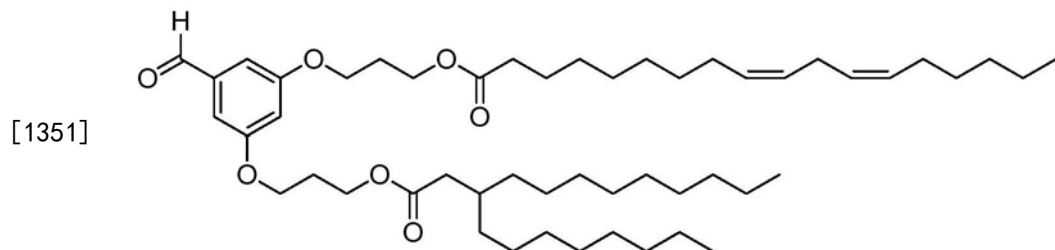
[1346] 中间体97f:3-(3-甲酰基-5-(3-羟基丙氧基)苯氧基)丙基3-辛基十二烷酸酯



[1348] 将中间体97e (1.0g, 3.93mmol)、源自中间体99c的酸 (1.41g, 4.72mmol)、EDC (0.90g, 4.7mmol)、DIEA (2.06ml, 11.8mmol) 和DMAP (0.48g, 3.93mmol) 溶于DCE (20ml), 将获得的溶液分成二份。将每一份在微波反应器中于70℃加热20min。将获得的混合物合并, 通过硅胶色谱直接纯化, 采用庚烷/EtOAc作为洗脱液, 获得680mg目标产物。

[1349]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H) 7.02 (ddd,  $J=7.83, 2.27, 1.26\text{Hz}$ , 1H) 6.72 (t,  $J=2.27\text{Hz}$ , 1H) 4.22–4.35 (m, 2H) 4.13–4.22 (m, 2H) 4.09 (t,  $J=6.06\text{Hz}$ , 1H) 3.88 (q,  $J=5.81\text{Hz}$ , 2H) 2.25 (d,  $J=6.82\text{Hz}$ , 2H) 1.99–2.19 (m, 4H) 1.84 (br. s., 1H) 1.14–1.38 (m, 30H) 0.89 (td,  $J=6.95, 3.54\text{Hz}$ , 6H) ppm.

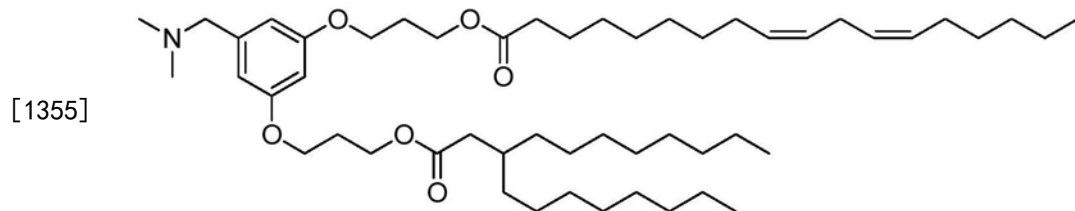
[1350] 中间体97g: (9Z,12Z)-3-(3-甲酰基-5-(3-((3-辛基十二酰基)氧基)丙氧基)苯氧基)丙基十八-9,12-二烯酸酯



[1352] 中间体97g可以采用制备中间体18a所使用的条件制备自中间体99f。

[1353]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, CDC13)  $\delta$  9.90 (s, 1H) 7.01 (d,  $J=2.27\text{Hz}$ , 2H) 6.70 (t,  $J=2.27\text{Hz}$ , 1H) 5.28–5.44 (m, 4H) 4.27 (t,  $J=6.32\text{Hz}$ , 4H) 4.02–4.17 (m, 4H) 2.78 (t,  $J=6.44\text{Hz}$ , 2H) 2.32 (t,  $J=7.45\text{Hz}$ , 2H) 2.25 (d,  $J=6.82\text{Hz}$ , 2H) 2.14 (quin,  $J=6.19\text{Hz}$ , 4H) 1.98–2.09 (m, 4H) 1.84 (br. s., 1H) 1.58–1.70 (m, 2H) 1.18–1.41 (m, 42H) 0.77–0.99 (m, 9H) ppm.

[1354] 实施例97化合物: (9Z,12Z)-3-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(3-((3-辛基十一酰基)氧基)丙氧基)苯氧基)丙基十八-9,12-二烯酸酯



[1356] 实施例97可以采用制备实施例39所使用的类似条件制备自中间体97g。

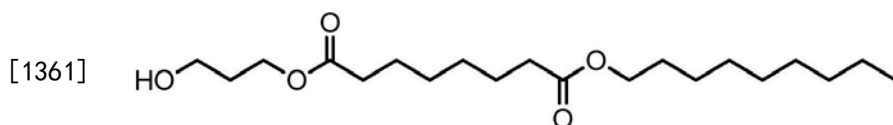
[1357]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.49 (br. s., 2H) 6.27–6.43 (m, 1H) 5.29–5.46 (m, 4H) 4.26 (t,  $J=6.32\text{Hz}$ , 4H) 4.03 (t,  $J=6.19\text{Hz}$ , 4H) 3.36 (br. s., 2H) 2.78 (t,  $J=6.57\text{Hz}$ , 2H) 2.18–2.39 (m, 10H) 1.96–2.18 (m, 8H) 1.84 (br. s., 1H) 1.48–1.73 (m, 4H) 1.17–1.47 (m,

40H) 0.74—1.03 (m, 9H) ppm。

[1358] ES-MS  $m/z=826.3$  (MH<sup>+</sup>)。

[1359] 实施例98的合成:

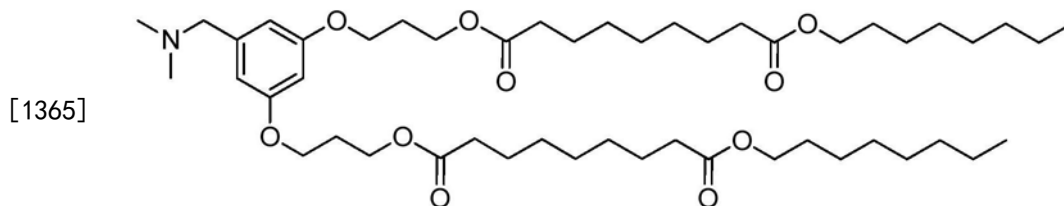
[1360] 中间体98a: 1-(3-羟基丙基) 8-壬基辛二酸酯



[1362] 中间体98a可以采用中间体18a的制备中使用的类似条件制备自中间体79a。

[1363] TLC (硅胶, 5%的MeOH的DCM溶液):  $R_f=0.51$ 。

[1364] 实施例98化合物: 0<sup>1</sup>, 0<sup>1</sup>-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丙烷-3,1-二基)) 9-二辛基二壬二酸酯



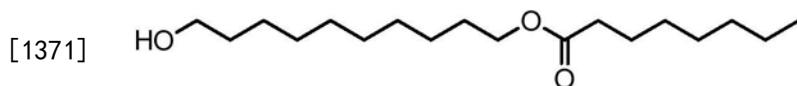
[1366] 实施例98可以采用实施例33的制备中所述类似条件制备自中间体98a。

[1367] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.47 (s, 2H), 6.34 (s, 1H), 4.25 (t, J=6.3Hz, 4H), 4.07-4.01 (m, 8H), 3.34 (s, 2H), 2.29 (q, J=7.2Hz, 8H), 2.24 (s, 6H), 2.09 (quin, J=6.2Hz, 4H), 1.65-1.58 (m, 12H), 1.31-1.28 (m, 32H), 0.88 (t, J=6.8Hz, 6H) ppm。

[1368] ES-MS  $m/z=848.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[1369] 实施例99的合成:

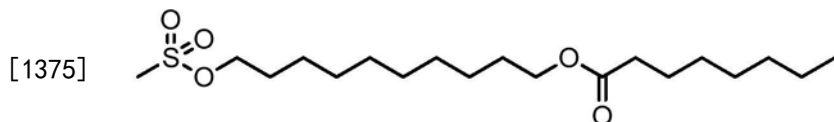
[1370] 中间体99a: 10-羟基癸基辛酸酯



[1372] 采用中间体96a的制备中所述类似条件, 制备自1,10-癸二醇和辛酰氯。

[1373] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.06 (t, J=6.65Hz, 2H), 3.64 (t, J=6.65Hz, 2H), 2.29 (t, J=7.65Hz, 2H), 1.50-1.70 (m, 5H), 1.18-1.41 (m, 19H), 0.88 (t, J=7.28Hz, 3H) ppm。

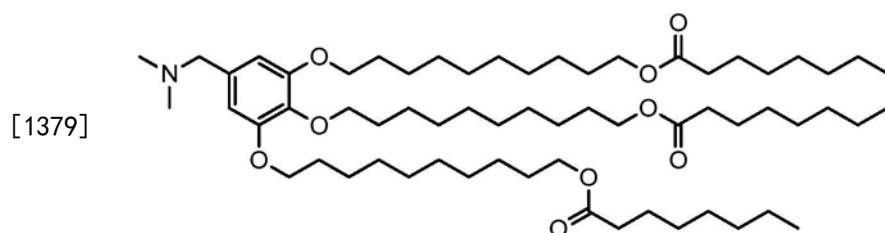
[1374] 中间体99b: 10-((甲基磺酰基)氧基)癸基辛酸酯



[1376] 将中间体99a (3.34g, 11.1mmol) 和三乙胺 (6.2ml, 44mmol) 的DCM (40ml) 混合物在冰浴中搅拌, 加入MsCl (1.04ml, 13.3mmol)。将反应物温热至室温并搅拌过夜。然后将反应物倒入冰水中。收集获得的有机相, 经硫酸钠干燥并减压浓缩, 得到4.2g产物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1377] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.23 (t, J=6.57Hz, 1H), 4.06 (t, J=6.82Hz, 2H), 3.15 (s, 1H), 3.01 (s, 1H), 2.30 (t, J=7.58Hz, 2H), 1.75 (dd, J=8.08, 6.82Hz, 1H), 1.62 (t, J=6.95Hz, 5H), 1.40 (t, J=7.33Hz, 4H), 1.18-1.34 (m, 17H), 0.89 (t, J=7.10Hz, 3H) ppm。

[1378] 实施例99化合物: ((5-((二甲基氨基)甲基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三(癸烷-10,1-二基)三辛酸酯

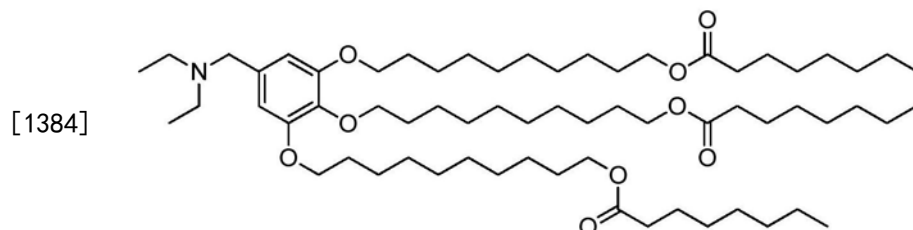


[1380] 根据中间体97d和实施例33的制备中使用的类似方法,最终化合物获自中间体99b。

[1381]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (s, 2H), 4.03–4.12 (m, 6H), 3.89–4.03 (m, 6H), 3.33 (s, 2H), 2.31 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 6H), 2.25 (s, 6H), 1.69–1.87 (m, 6H), 1.55–1.69 (m, 12H), 1.42–1.55 (m, 6H), 1.21–1.42 (m, 54H), 0.82–0.96 (m, 9H) ppm。

[1382] ES-MS  $m/z=1030.7$  (MH $^+$ )。

[1383] 实施例100: ((5-((二乙基氨基)甲基)苯-1,2,3-三基)三(氧基))三(癸烷-10,1-二基)三辛酸酯

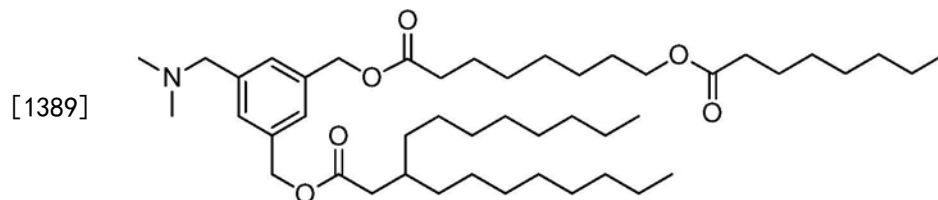


[1385] 实施例100可以采用实施例99制备所使用的类似方法制备。

[1386]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.55 (s, 2H), 4.02–4.12 (m, 6H), 3.90–4.02 (m, 6H), 3.48 (s, 2H), 2.53 (q,  $J=7.11\text{Hz}$ , 4H), 2.31 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 6H), 1.69–1.87 (m, 6H), 1.57–1.69 (m, 12H), 1.41–1.54 (m, 6H), 1.23–1.41 (m, 54H), 1.05 (t,  $J=7.03\text{Hz}$ , 6H), 0.84–0.96 (m, 9H) ppm。

[1387] ES-MS  $m/z=1058.7$  (MH $^+$ )。

[1388] 实施例101: 3-((二甲基氨基)甲基)-5-(((8-(辛酰基氧基)辛酰基)氧基)甲基)苄基3-辛基十一烷酸酯



[1390] 采用制备实施例77所使用的类似方法,实施例101可以制备自中间体77b和中间体97c,中间体77b为类似于中间体79a制备的酸。

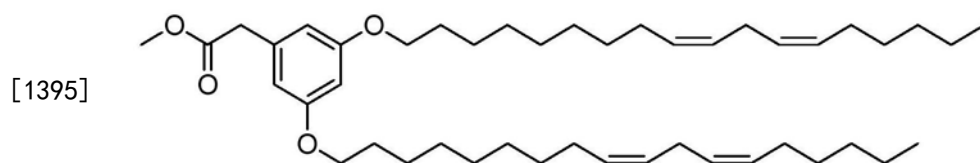
[1391]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (s, 2H), 7.24 (s, 1H), 5.11 (s, 4H), 4.06 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 3.44 (s, 2H), 2.37 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.32–2.29 (m, 4H), 2.26 (s, 6H), 1.88 (m, 1H), 1.70–1.59 (m, 6H), 1.35–1.26 (m, 42H), 0.89 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 9H) ppm。

[1392] ES-MS  $m/z=744.4$  (MH $^+$ )。



[1393] 实施例102的合成:

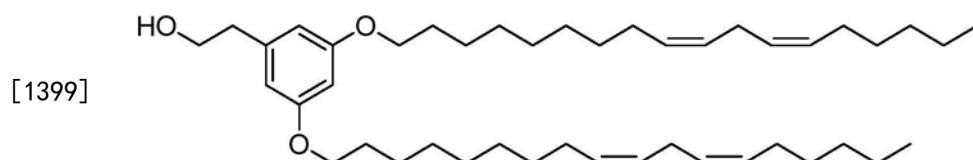
[1394] 中间体102a: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)乙酸甲酯



[1396] 向碳酸钾(12.1g, 88mmol)的二甲基甲酰胺(100ml)的悬浮液中加入2-(3,5-二羟基苯基)乙酸甲酯(4.0g, 22mmol)和亚油醇甲磺酸酯(16.6g, 48mmol)。将反应物在100℃浴中加热4h, 然后将其冷却至室温。加入水(100ml), 反应物用乙酸乙酯萃取(3×100ml)。合并的有机层用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和正己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1397] ES-MS  $m/z$  = 680 (MH<sup>+</sup>)。

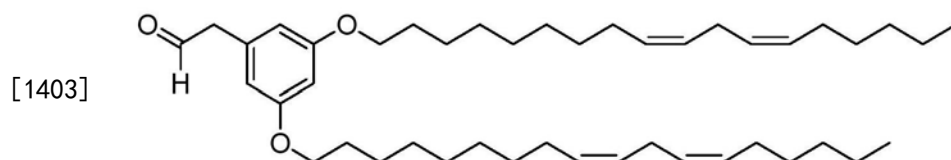
[1398] 中间体102b: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)乙醇



[1400] 向氢化铝锂(671mg, 17.6mmol)的四氢呋喃(50ml)悬浮液中缓慢加入中间体104a(6g, 8.8mmol)的THF(38ml)溶液。然后将反应物于室温下搅拌3h, 此时反应物在0℃浴中冷却, 采用水(5ml)和乙酸乙酯(5ml)骤冷。将反应物搅拌10min, 然后通过硅藻土过滤。将滤液减压浓缩, 获得目标化合物。

[1401] ES-MS  $m/z$  = 652 (MH<sup>+</sup>)。

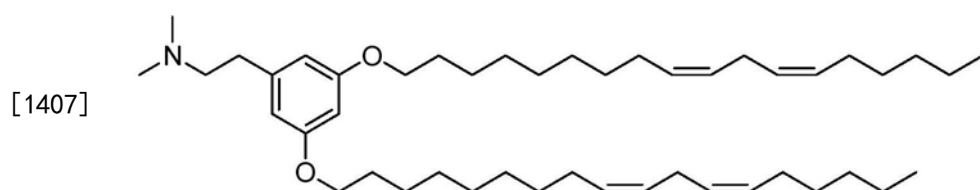
[1402] 中间体102c: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)乙醛



[1404] 向中间体102b(5.3g, 8.1mmol)的二氯甲烷(86ml)溶液中加入戴斯马丁氧化剂(10.3g, 24mmol)。将反应物于室温下搅拌2h, 此时将反应物通过加入碳酸氢钠水溶液骤冷。将反应物用二氯甲烷萃取, 合并的有机层经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和正己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1405] ES-MS  $m/z$  = 649 (MH<sup>+</sup>)。

[1406] 实施例102化合物: 2-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)-N,N-二甲基乙胺



[1408] 向中间体102c(2.5g, 3.8mmol)的乙醇(10ml)和四氢呋喃(10ml)溶液中加入二甲基胺盐酸盐(627mg, 5.7mmol), 随后加入三乙胺(1.1ml, 7.7mmol)和异丙醇钛(IV)(2.1g,

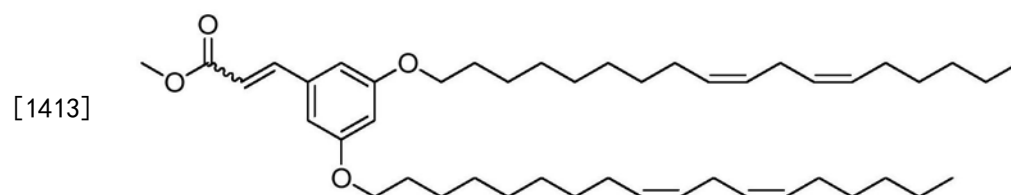
7.7mmol)。将反应物于室温下搅拌,此时加入硼氢化钠(216mg,5.7mmol)。将反应物于室温下再搅拌10h。反应物通过缓慢加入水(2ml)骤冷,将获得的混合物通过硅藻土过滤。残留物用四氢呋喃洗涤,将合并的滤液减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用含有0.1%氢氧化铵的甲醇二氯甲烷溶液作为洗脱液,获得目标化合物。

[1409]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.36 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H); 6.32 (t,  $J=2.0\text{Hz}$ , 1H); 5.44-5.32 (m, 8H); 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H); 2.81-2.74 (m, 6H); 2.62-2.58 (m, 2H); 2.36 (s, 6H); 2.08 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 4H); 2.06 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 4H); 1.78 (quin,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H); 1.48-1.27 (m, 32H), 0.90 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H)。

[1410] ES-MS  $m/z=678.7$  (MH $^+$ )。

[1411] 实施例103的合成:

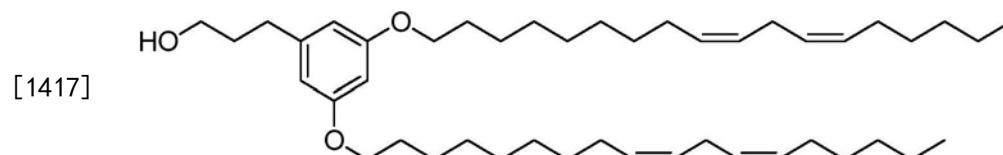
[1412] 中间体103a: 3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)丙烯酸甲酯



[1414] 向在0℃浴中冷却的氢化钠(60%的分散液,18mmol)的四氢呋喃(50ml)悬浮液中加入三甲基膦酰基乙酸酯(1.0g,18mmol)。将反应物搅拌10分钟,然后缓慢加入采用实施例1a中的类似条件制备的醛(7.5g,12mmol)的四氢呋喃(25ml)溶液。将反应物再搅拌1h,然后加入冰水(5ml)。反应物用乙酸乙酯萃取(3×100ml),合并的有机相经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和正己烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1415] TLC(硅胶,10%的EtOAc己烷):  $R_f=0.77$ 。

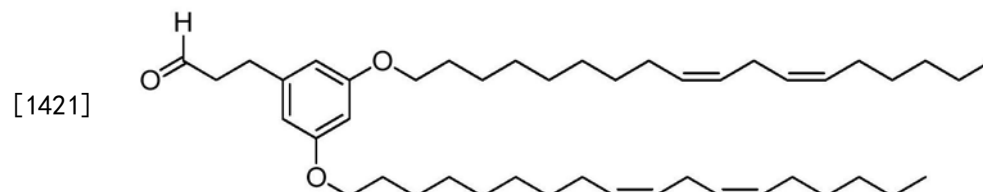
[1416] 中间体103b: 3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)丙-1-醇



[1418] 向在0℃浴中冷却的中间体103a(7.7g,11.1mmol)的THF(100ml)溶液中加入氢化铝锂(927mg,24mmol)。将反应物搅拌45分钟,然后缓慢加入冰水。将获得的混合物通过硅藻土过滤,将滤液减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和正己烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1419] TLC(硅胶,10%的EtOAc己烷溶液):  $R_f=0.21$ 。

[1420] 中间体103c: 3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)丙醛

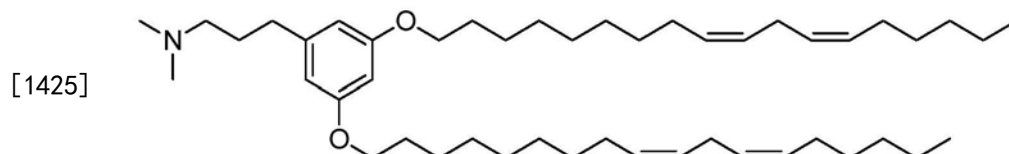


[1422] 将中间体105b(2.5g,3.8mmol)的四氢呋喃(40ml)溶液加入第二份2-碘氧基苯甲酸(2.3g,8.3mmol)的DMSO(8ml)溶液。将反应物于室温下搅拌2h。反应物用乙醚稀释并通过

硅藻土过滤。加入水,反应物用二氯甲烷萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和正己烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1423] TLC(硅胶,10%的EtOAc己烷溶液): $R_f=0.75$ 。

[1424] 实施例103化合物:3-(3,5-二((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯基)-N,N-二甲基丙-1-胺



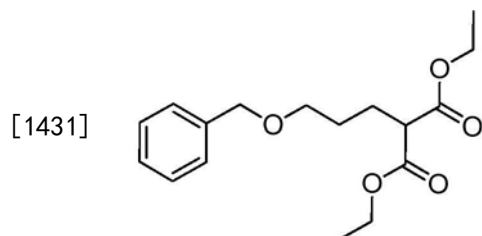
[1426] 向中间体103c (2.0g,3.0mmol) 的乙醇(40ml)溶液中加入二甲基胺盐酸盐(742mg,9.0mmol)、三乙胺(913mg,9.0mmol)和异丙醇钛(IV) (2.5g,9.0mmol)。将反应物于室温下搅拌10h,此时加入硼氢化钠(172mg,4.5mmol)。将反应物于室温下再搅拌10h,此时加入水(2ml)。将反应物通过硅藻土过滤,残留物用四氢呋喃洗涤。减压浓缩滤液。残留物通过硅胶色谱纯化,采用用0.1%氢氧化铵改性的甲醇和二氯甲烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1427]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.26 (d, $J=2.0\text{Hz}$ ,2H), 6.21 (t, $J=2.3\text{Hz}$ ,1H), 5.22—5.35 (m,8H), 3.84 (t, $J=6.7\text{Hz}$ ,4H), 2.71 (t, $J=6.3\text{Hz}$ ,4H), 2.49 (t, $J=7.8\text{Hz}$ ,2H), 2.22 (t, $J=7.3\text{Hz}$ ,2H), 2.15 (s,6H), 1.98 (q, $J=6.9\text{Hz}$ ,8H), 1.65—1.74 (m, $J=7.0\text{Hz}$ ,6H), 1.33—1.42 (m,5H), 1.15—1.33 (m,33H), 0.82 (t, $J=6.8\text{Hz}$ ,6H) ppm。

[1428] ES-MS  $m/z=692.5$  (MH $^+$ )。

[1429] 实施例104的合成:

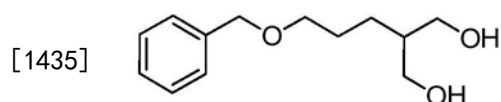
[1430] 中间体104a:2-(3-(苄基氧基)丙基)丙二酸二乙基酯



[1432] 向氢化钠(1.05g,26mmol)的四氢呋喃(40ml)悬浮液中加入丙二酸二乙基酯(7g,44mmol)。气体溢出停止后,加入((3-溴丙氧基)甲基)苯(5g,22mmol)。将反应混合物在90℃浴中加热6h,然后冷却至室温。将反应物用乙醚(100ml)稀释,用水(100ml)洗涤。分离水层,用乙醚萃取(2×100ml)。合并的有机层经硫酸镁干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1433]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 7.31-7.38 (m,4H), 7.25-7.31 (m,1H), 4.50 (s,2H), 4.10-4.27 (m,7H), 3.50 (t, $J=6.3\text{Hz}$ ,2H), 3.32-3.41 (m,2H), 1.93-2.08 (m,2H), 1.60—1.73 (m,2H), 1.20-1.38 (m,10H) ppm。

[1434] 中间体104b:2-(3-(苄基氧基)丙基)丙烷-1,3-二醇

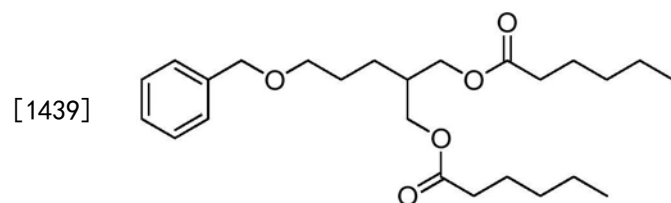


[1436] 向在0℃浴中冷却的中间体104a (7g,23mmol) 的四氢呋喃(100ml)溶液中加入氢化

铝锂 (2.58g, 68mmol)。移除冷却浴, 将混合物于室温下搅拌过夜。将冰加入反应物中, 混合物用乙酸乙酯萃取。有机相经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1437]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27-7.39 (m, 5H), 4.51 (s, 2H), 3.75-3.88 (m, 2H), 3.60-3.73 (m, 2H), 3.41-3.55 (m, 2H), 2.39 (t,  $J=5.1\text{Hz}$ , 2H), 1.76 (dt,  $J=7.2, 3.5\text{Hz}$ , 1H), 1.59-1.71 (m, 3H), 1.32-1.45 (m, 2H)

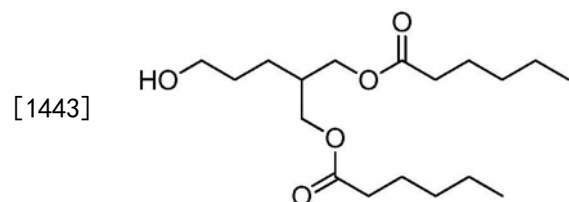
[1438] 中间体104c: 2-(3-(苄基氧基)丙基)丙-1,3-二基二己酸酯



[1440] 向中间体104b (600mg, 2.7mmol)、吡啶 (466mg, 5.9mmol) 和4-(二甲基氨基)吡啶 (16mg, 0.13mmol) 的二氯甲烷 (30ml) 混合物中加入己酰氯 (792mg, 5.9mmol)。将反应物于室温下搅拌1h, 然后倒入6M HCl水溶液 (20ml) 中。混合物用乙醚萃取 (2×40ml)。合并的有机相经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1441]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27-7.39 (m, 5H), 4.43 (s, 2H), 3.96-4.06 (m, 4H), 3.39-3.42 (t, 2H), 2.20-2.24 (t, 4H), 1.94 (m, 1H), 1.52-1.60 (m, 8H), 1.39 (m, 2H), 1.17-1.26 (m, 10H), 0.80-0.85 (t, 6H) ppm。

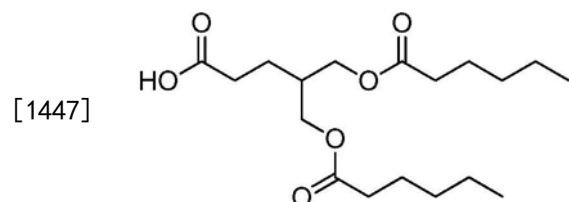
[1442] 中间体104d: 2-(3-羟基丙基)丙烷-1,3-二基二己酸酯



[1444] 将中间体104c (1g, 2.4mmol) 和钯 (10% 重量比在碳上, 20mg) 加入甲醇 (10ml) 中。将反应物用氢加压至54psi并于室温下搅拌过夜。释放压力, 过滤反应物。将滤液减压浓缩, 获得目标化合物。

[1445]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.06-4.14 (m, 4H), 3.66-3.70 (m, 2H), 2.03-2.06 (m, 1H), 1.59-1.69 (m, 6H), 1.46-1.48 (m, 2H), 1.29-1.36 (m, 10H), 0.89-0.93 (m, 6H) ppm。

[1446] 中间体104e: 5-(己酰基氧基)-4-((己酰基氧基)甲基)戊酸

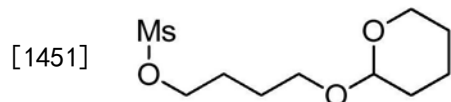


[1448] 向在冰水浴中冷却的中间体104d (760mg, 2.3mmol) 的丙酮 (10ml) 溶液中加入Jones试剂 (2M, 1.8mmol)。将反应物于室温下搅拌2h。加入甲醇 (1ml), 将反应物搅拌5min, 然后减压浓缩。将残留物溶于乙酸乙酯 (50ml) 和水 (540ml) 中, 收集有机相, 经硫酸钠干燥

并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液,获得目标产物。

[1449] ES-MS  $m/z=343$  (M-H)。

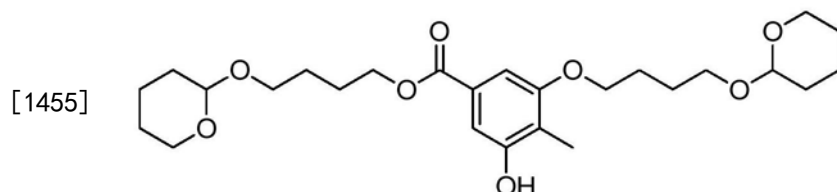
[1450] 中间体104f:4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁基甲磺酸酯



[1452] 向在冰水浴中冷却的THP保护的1,4-丁二醇 (9.2g, 53mmol) 和甲磺酰氯 (7.26g, 63mmol) 的二氯甲烷 (50ml) 混合物中加入三乙胺 (16.0g, 158mmol)。移除冷浴,将反应物于室温下搅拌30分钟。将反应物倒入冰水中。分离有机相,经硫酸钠干燥并减压浓缩,获得目标化合物。

[1453]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.49-4.51 (m, 1H), 4.22 (t, 2H), 3.69-3.80 (m, 2H), 3.33-3.47 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 1.44-1.83 (m, 11H) ppm。

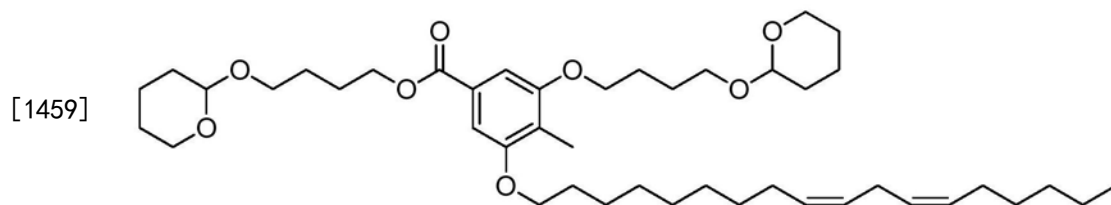
[1454] 中间体104g:4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁基3-羟基-4-甲基-5-(4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁氧基)苯甲酸酯



[1456] 将中间体104f (20.4g, 81mmol)、3,5-二羟基-4-甲基苯甲酸 (4.12g, 25mmol) 和碳酸钾 (13.55g, 98mmol) 的二甲基甲酰胺 (100ml) 混合物在80℃浴中加热过夜。将反应物冷却至室温,倒入冰水 (150ml) 中。将混合物用乙醚萃取 ( $2 \times 150\text{ml}$ ),合并的有机相经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1457] ES-MS  $m/z=479$  (M-H)。

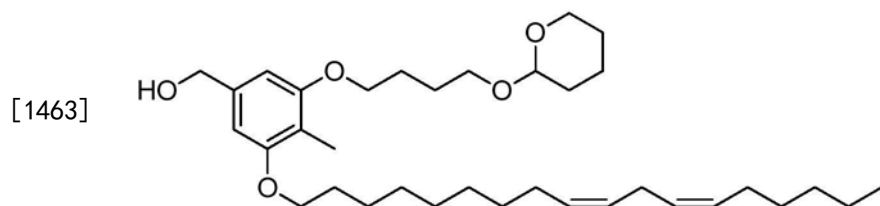
[1458] 中间体104h:4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁基4-甲基-3-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)-5-(4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁氧基)苯甲酸酯



[1460] 将中间体104g (2.07g, 4.3mmol)、亚油醇甲磺酸酯 (1.78g, 5.2mmol) 和碳酸钾 (2.38g, 17.2mmol) 的二甲基甲酰胺 (20ml) 混合物在80℃浴中加热过夜。将反应物冷却至室温,倒入冰水中。将混合物用乙醚萃取 ( $2 \times 100\text{ml}$ )。合并有机相,经硫酸钠干燥和减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液,获得目标产物。

[1461]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.20 (s, 2H), 5.34-5.42 (m, 4H), 4.60-4.63 (m, 2H), 4.36 (t, 2H), 4.00-4.08 (m, 4H), 3.83-3.86 (m, 4H), 3.47-3.51 (m, 4H), 2.80 (t, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.06-2.08 (m, 5H), 1.73-1.84 (m, 14H), 1.51-1.60 (m, 20H), 1.29-1.37 (m, 18H), 0.90 (m, 4H) ppm。

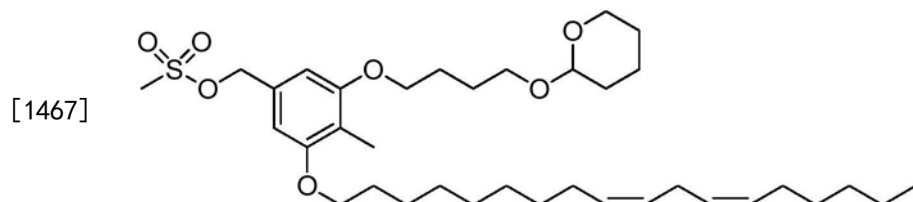
[1462] 中间体104i: (4-甲基-3-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)-5-(4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁氧基)苯基)甲醇



[1464] 向在冰水浴中冷却的中间体104h (1.55g, 2.1mmol) 的四氢呋喃 (25ml) 溶液中加入氢化铝锂 (89mg, 2.3mmol)。移除冷浴, 将反应物搅拌过夜。加入冰, 混合物用乙酸乙酯萃取。分离有机相, 经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

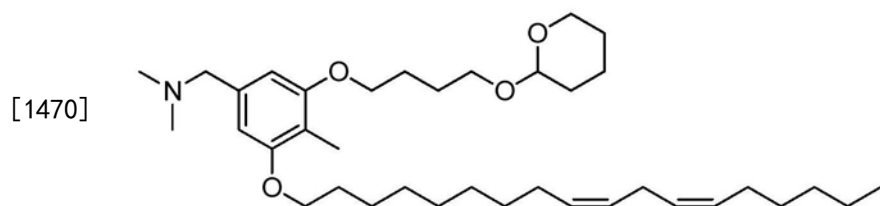
[1465]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.54 (s, 2H), 5.34-5.44 (m, 4H), 3.97-4.03 (m, 4H), 3.85-3.87 (m, 2H), 3.49-3.52 (m, 2H), 2.80 (t, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.07-2.08 (m, 4H), 1.72-1.90 (m, 18H), 1.26-1.35 (m, 16H), 0.91 (t, 4H) ppm。

[1466] 中间体104j: 4-甲基-3-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)-5-(4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁氧基)苄基甲磺酸酯



[1468] 向在冰浴中冷却的中间体104i (580mg, 1.0mmol) 和甲磺酰氯 (143mg, 1.2mmol) 的二氯甲烷 (20ml) 混合物中加入三乙胺 (420mg, 4.2mmol)。移除冷浴, 将反应物于室温下搅拌30分钟, 此时将反应物倒入冰水中。收集有机相, 经硫酸钠干燥和减压浓缩, 获得目标化合物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1469] 中间体104k: N,N-二甲基-1-(4-甲基-3-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)-5-(4-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丁氧基)苯基)甲胺

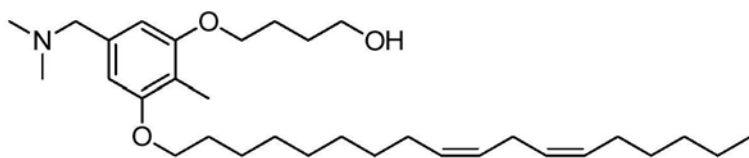


[1471] 将中间体104j (660mg, 1.0mmol)、碘化钠 (600mg, 4.0mmol) 和二甲基胺 (2M的四氢呋喃, 2ml) 加至二甲基甲酰胺 (5ml) 中。将反应物密封, 通过微波照射加热至120℃40分钟。将反应物冷却至室温, 减压浓缩。将残留物溶于乙酸乙酯 (50ml), 用水 (50ml) 洗涤。收集有机相, 经硫酸钠干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用二氯甲烷和甲醇作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1472] ES-MS  $m/z$  = 586.3 (MH<sup>+</sup>)。

[1473] 中间体104l: 4-(5-((二甲基氨基)甲基)-2-甲基-3-((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯-1-基氧基)苯氧基)丁-1-醇

[1474]

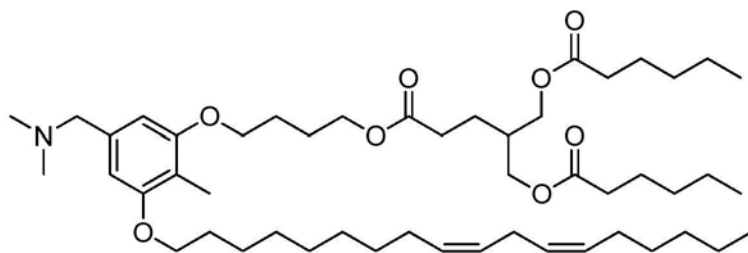


[1475] 向中间体104k (520mg, 0.89mmol) 的甲醇 (10ml) 溶液中加入HCl水溶液 (2M, 2ml)。将反应物于室温下搅拌30分钟, 然后减压浓缩。将残留物溶于甲苯 (3ml) 并减压浓缩, 获得目标化合物, 为盐酸盐。

[1476] ES-MS  $m/z = 502.3$  (MH<sup>+</sup>)。

[1477] 实施例104化合物: 2-(3-(4-(5-((二甲基氨基)甲基)-2-甲基-3-((9Z, 12Z)-十八-9, 12-二烯-1-基氧基)苯氧基)丁氧基)-3-氧代丙基)丙-1, 3-二基二己酸酯

[1478]



[1479] 向中间体104e (250mg, 0.73mmol) 的溶液中加入EDC1 (167mg, 0.871mmol)、二异丙基乙基胺 (0.190ml, 1.1mmol) 和4-(二甲基氨基)吡啶 (1.8mg, 0.015mmol)。将反应物于室温下搅拌1h, 然后加入实验1041的醇 (480mg, 0.892mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 然后减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用含有1%乙酸改性剂的二氯甲烷和甲醇洗脱。含有产物的组分用碳酸氢钠溶液洗涤, 减压浓缩。残留物再次通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

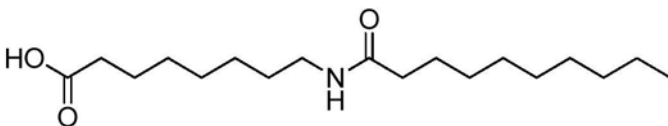
[1480] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.48 (s, 1H), 6.47 (s, 1H), 5.32-5.44 (m, 4H), 3.95-4.19 (m, 10H), 3.37 (s, 2H), 2.80 (t, J=8Hz, 2H), 2.42 (t, J=8Hz, 2H), 2.32 (t, J=8Hz, 4H), 2.25 (s, 6H), 2.10 (s, 3H), 2.08 (dd, J=8Hz, 4H), 1.86 (q, J=5Hz, 4H), 1.64 (m, 4H), 1.27-1.48 (m, 24H), 0.91 (t, J=8Hz, 9H) ppm。

[1481] ES-MS  $m/z = 828.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[1482] 实施例105的合成:

[1483] 中间体105a: 8-癸酰胺基辛酸

[1484]

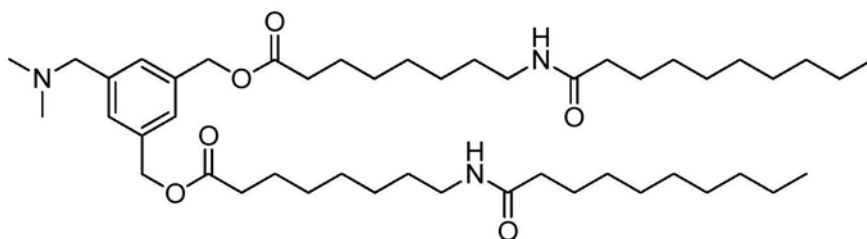


[1485] 向癸酰氯 (3.73g, 20mmol) 和吡啶 (3.10g, 39mmol) 的二氯甲烷 (50ml) 溶液中加入8-氨基辛酸 (3.27g, 21mmol)。将混合物于室温下搅拌2h。将混合物用水和二氯甲烷稀释, 水相用1N HCl水溶液和碳酸氢钠溶液调节至pH为4-6。分离有机相, 用水洗涤。有机相经硫酸镁干燥并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1486] TLC (硅胶, 5%的MeOH的DCM溶液):  $R_f = 0.25$ 。

[1487] 实施例105化合物: (5-((二甲基氨基)甲基)-1, 3-亚苯基)二(亚甲基)二(8-癸酰胺基辛酸酯)

[1488]



[1489] 实施例105可以采用实施例77的合成中所述类似条件制备自中间体105a。

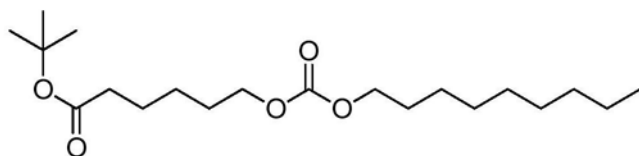
[1490]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.21 (s, 2H), 7.18 (s, 1H), 5.90 (t,  $J=5.4\text{Hz}$ , 2H), 5.05 (s, 4H), 3.38 (s, 2H), 3.17 (q,  $J=6.9\text{Hz}$ , 4H), 2.31 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.20 (s, 6H), 2.11 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 1.62-1.53 (m, 8H), 1.46-1.39 (m, 4H), 1.27-1.21 (m, 36H), 0.82 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1491] ES-MS  $m/z=786.5$  (MH $^+$ )。

[1492] 实施例106的合成:

[1493] 中间体106a: 6-(((壬基氧基)羰基)氧基)己酸叔-丁基酯

[1494]

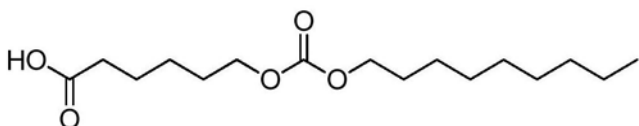


[1495] 向4-硝基苯基氯代甲酸酯(3.75g, 19mmol)、4-(二甲基氨基)吡啶(0.65g, 5.3mmol)和吡啶(3.15g, 40mmol)的二氯甲烷(30ml)溶液中加入6-羟基己酸叔-丁基酯(2.5g, 13mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜。加入壬醇(5.75g, 40mmol), 将混合物于室温下搅拌过夜。将混合物减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1496] TLC (根据, 20%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f=0.58$ 。

[1497] 中间体106b: 6-(((壬基氧基)羰基)氧基)己酸

[1498]

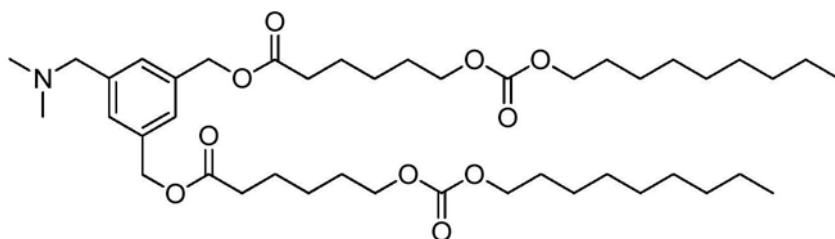


[1499] 将中间体106a(2.42g, 6.7mmol)的三氟乙酸(3.0ml)溶液涡旋1min, 然后减压浓缩。将残留物溶于二氯甲烷(10ml), 减压浓缩, 获得目标化合物。

[1500]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.20 (s, br, 1H), 4.18-4.13 (m, 4H), 2.45 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 2H), 1.76-1.64 (m, 6H), 1.50-1.27 (m, 14H), 0.89 (m, 3H) ppm。

[1501] 实施例106化合物: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(6-(((壬基氧基)羰基)氧基)己酸酯)

[1502]



[1503] 实施例106可以采用实施例77的合成中所使用的类似方法制备自中间体106b。

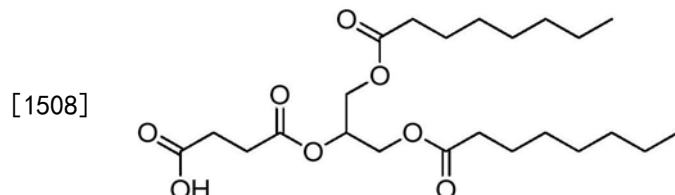


[1504]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.26 (s, 2H), 7.23 (s, 1H), 5.10 (s, 4H), 4.12 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 8H), 3.43 (s, 2H), 2.38 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.25 (s, 6H), 1.73-1.62 (m, 12H), 1.46-1.27 (m, 28H), 0.88 (m, 6H) ppm。

[1505] ES-MS  $m/z=764.3$  (MH $^+$ )。

[1506] 实施例107的合成:

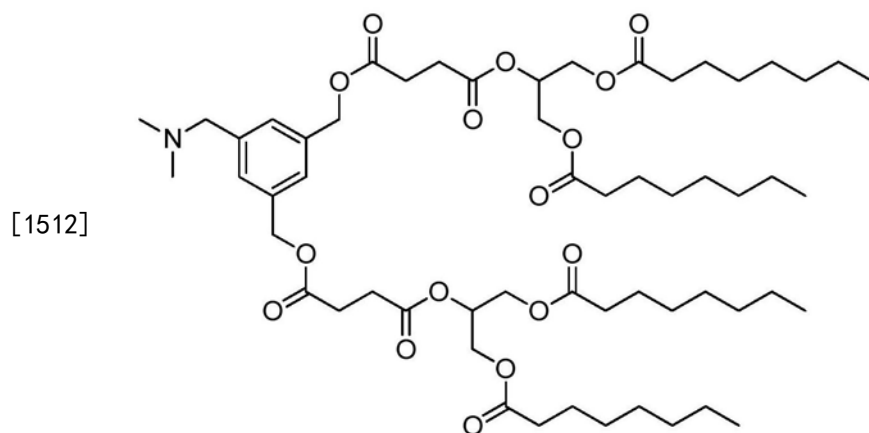
[1507] 中间体107a: 4-((1,3-二(辛酰基氧基)丙-2-基)氧基)-4-氧代丁酸



[1509] 向1,3-二辛酸甘油酯(1.0g, 2.9mmol)的甲苯(12ml)溶液中加入琥珀酸酐(0.320g, 3.2mmol)。将反应物密封,在微波照射下于140℃加热40分钟。将反应物冷却至室温并减压浓缩。将残留物悬浮于DCM中并通过硅藻土过滤。将滤液减压浓缩,获得目标化合物。

[1510]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.26 (s, br, 1H), 5.32-5.26 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.23-4.15 (m, 2H), 2.70-2.65 (m, 4H), 2.38-2.31 (m, 4H), 1.70-1.55 (m, 4H), 1.40-1.20 (m, 16H), 0.91-0.88 (m, 6H) ppm。

[1511] 实施例107化合物: 二(1,3-二(辛酰基氧基)丙-2-基)0,0'-((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基))二琥珀酸酯



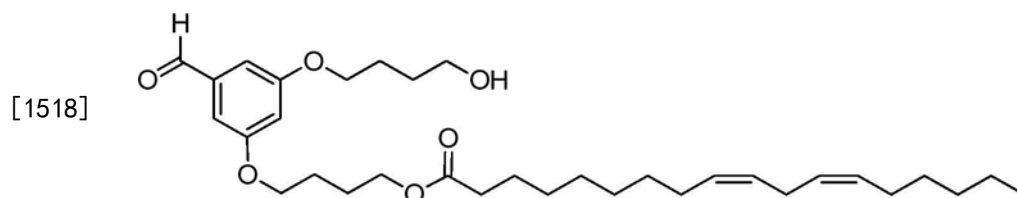
[1513] 实施例107可以采用实施例77的合成中所述类似条件制备自中间体107a。

[1514]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (s, 2H), 7.23 (s, 1H), 5.30-5.25 (m, 2H), 5.13 (s, 4H), 4.34-4.28 (m, 4H), 4.21-4.13 (m, 4H), 3.43 (s, 2H), 2.70-2.67 (m, 8H), 2.35-2.30 (m, 8H), 2.25 (s, 6H), 1.65-1.58 (m, 8H), 1.32-1.27 (m, 32H), 0.88 (m, 12H) ppm。

[1515] ES-MS  $m/z=1048.5$  (MH $^+$ )。

[1516] 实施例108的合成:

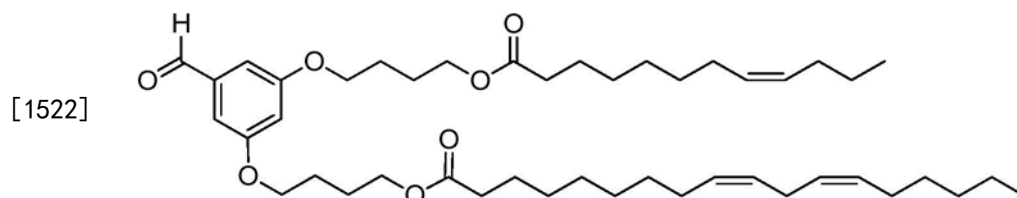
[1517] 中间体108a: (9Z,12Z)-4-(3-甲酰基-5-(4-羟基丁氧基)苯氧基)丁基十八-9,12-二烯酸酯



[1519] 向亚油酸 (2.33g, 8.3mmol) 的二氯乙烷 (21ml) 溶液中加入EDC1 (2.41g, 12.6mmol)、DIPEA (1.63g, 12.6mmol) 和DMAP (0.10g, 0.84mmol)。加入采用实施例99e中的类似条件制备的二醇, 将反应物密封, 在微波照射下于80℃加热20分钟。将反应物冷却至室温并减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 先采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 随后采用甲醇和二氯甲烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1520]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H), 7.00 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 6.69 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.22-5.47 (m, 4H), 4.15 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 2H), 3.97-4.10 (m, 2H), 2.77 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.31 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 1.97-2.14 (m, 4H), 1.72-1.97 (m, 5H), 1.46-1.70 (m, 4H), 1.23-1.45 (m, 15H), 0.89 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H) ppm。

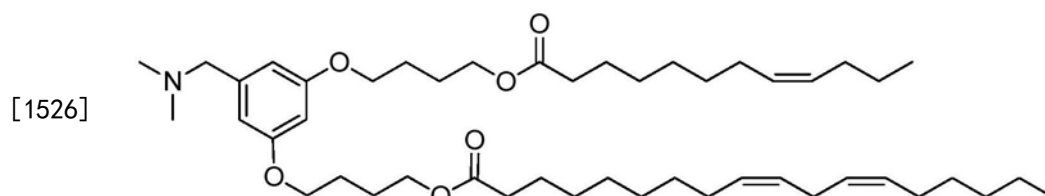
[1521] 中间体108b: (9Z, 12Z)-4-(3-(4-((Z)-十二碳-8-烯酰基氧基)丁氧基)-5-甲酰基苯氧基)丁基十八-9, 12-二烯酸酯



[1523] 向十二碳-8-烯酸 (60.1mg, 0.30mmol) 的二氯乙烷 (690uL) 溶液中加入EDC1 (79mg, 0.41mmol)、二异丙基乙胺 (53mg, 0.41mmol) 和4-(二甲基氨基)吡啶 (3.4mg, 0.03mmol)。加入中间体110a (150mg, 0.28mmol), 将反应物密封, 在微波照射下于80℃加热20分钟。将反应物减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 先采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 随后用甲醇和二氯甲烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1524]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.90 (s, 1H), 7.00 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 2H), 6.69 (t,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 5.23-5.45 (m, 6H), 4.15 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 4.03 (t,  $J=5.9\text{Hz}$ , 4H), 2.77 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.31 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 1.94-2.12 (m, 8H), 1.75-1.94 (m, 8H), 1.51-1.72 (m, 6H), 1.21-1.45 (m, 23H), 0.79-1.02 (m, 6H) ppm。

[1525] 实施例108化合物: (9Z, 12Z)-4-(3-((二甲基氨基)甲基)-5-(4-((Z)-十二碳-8-烯酰基氧基)丁氧基)苯氧基)丁基十八-9, 12-二烯酸酯



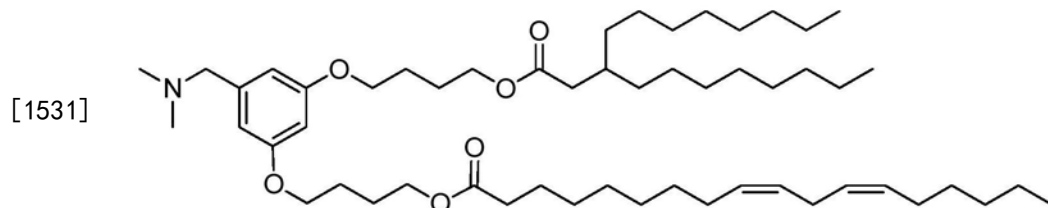
[1527] 实施例108可以采用实施例33的合成中所使用的类似条件制备自中间体108b。

[1528]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) 6.35 (t,  $J=1.00\text{Hz}$ , 1H) 5.37 (d,  $J=4.77\text{Hz}$ , 5H) 4.15 (s, 4H) 3.98 (s, 4H) 3.36 (s, 2H) 2.74-2.83 (m, 2H) 2.32 (t,  $J=7.53\text{Hz}$ , 4H)

)<sub>2</sub>.25 (s, 6H) 1.96-2.11 (m, 8H) 1.77-1.91 (m, 8H) 1.60 (s, 8H) 1.27-1.43 (m, 23H) 0.88-0.95 (m, 6H) ppm。

[1529] ES-MS  $m/z=754.5$  (MH<sup>+</sup>)。

[1530] 实施例109: (9Z, 12Z) -4- (3- ((二甲基氨基) 甲基) -5- (4- ((3-辛基十一酰基) 氧基) 丁氧基) 苯氧基) 丁基十八-9, 12-二烯酸酯



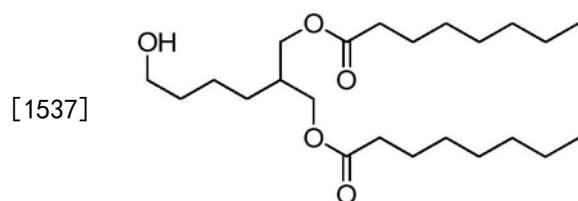
[1532] 实施例109可以根据制备中间体97c和实施例108所采用的类似方法制备。

[1533] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ6.49 (d, J=2.01Hz, 2H) 6.36 (t, J=4.30Hz, 1H) 5.37 (d, J=5.77Hz, 4H) 4.11-4.19 (m, 4H) 3.98 (t, J=5.65Hz, 4H) 3.40 (s, 2H) 2.79 (t, J=6.65Hz, 2H) 2.23-2.34 (m, 10H) 2.07 (d, J=7.78Hz, 5H) 1.79-1.90 (m, 9H) 1.23-1.40 (m, 44H) 0.86-0.94 (m, 9H) ppm。

[1534] ES-MS  $m/z=854.5$  (MH<sup>+</sup>)。

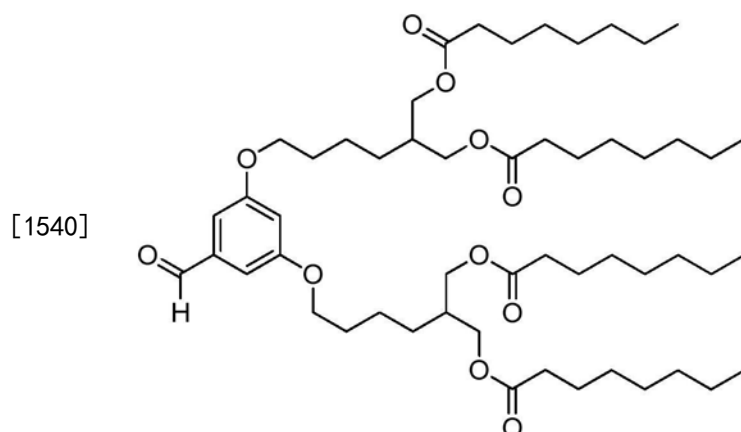
[1535] 实施例110的合成:

[1536] 中间体110a: 2- (4-羟基丁基) 丙-1, 3-二基二辛酸酯



[1538] 中间体110a可以采用中间体104d的合成中所使用的类似条件制备。该中间体无需纯化可以直接用于下一步骤。

[1539] 中间体110b: (((5-甲酰基-1, 3-亚苯基) 二(氧基)) 二(丁烷-4, 1-二基)) 二(丙烷-3, 2, 1-三基) 四辛酸酯

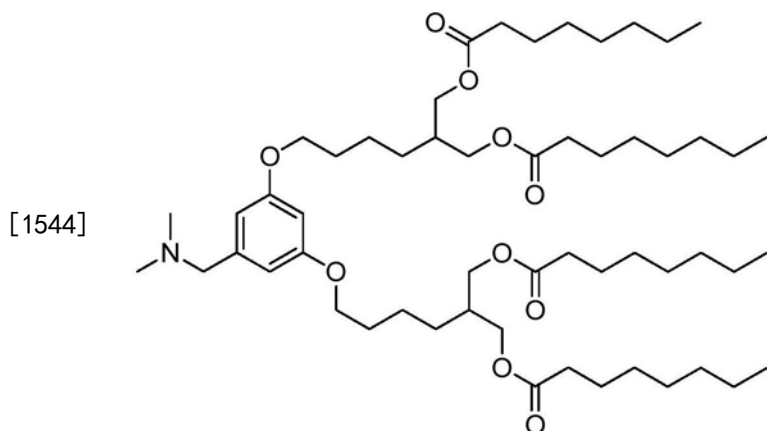


[1541] 中间体110b可以采用中间体104f和中间体104g的合成中所使用的类似条件制备自中间体110a。

[1542] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ9.87 (s, 1H) , 6.97 (s, 2H) , 6.67 (s, 1H) , 3.96-4.11 (m,

12H), 2.29 (t, 8H), 2.00 (m, 2H), 1.76-1.82 (m, 4H), 1.58-1.61 (m, 12H), 1.41-1.45 (m, 4H), 1.25-1.27 (m, 34H), 0.87 (t, 12H) ppm。

[1543] 实施例110化合物: (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基))二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯



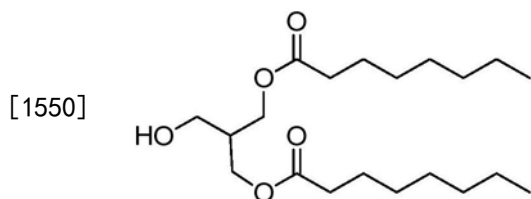
[1545] 实施例110可以采用实施例33的制备中所述类似条件制备自中间体110c。

[1546]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.49-6.44 (m, 2H), 6.35-6.31 (m, 1H), 4.14-4.01 (m, 8H), 3.97-3.90 (m, 4H), 3.35 (s, 2H), 2.34-2.27 (m, 8H), 2.25 (s, 6H), 2.08-1.98 (m, 2H), 1.82-1.71 (m, 4H), 1.68-1.38 (m, 16H), 1.36-1.19 (m, 32H), 0.93-0.84 (m, 12H) ppm。

[1547] ES-MS  $m/z$  = 932.6 (MH $^+$ )。

[1548] 实施例111的合成:

[1549] 中间体111a: 2-(羟基甲基)丙-1,3-二基二辛酸酯

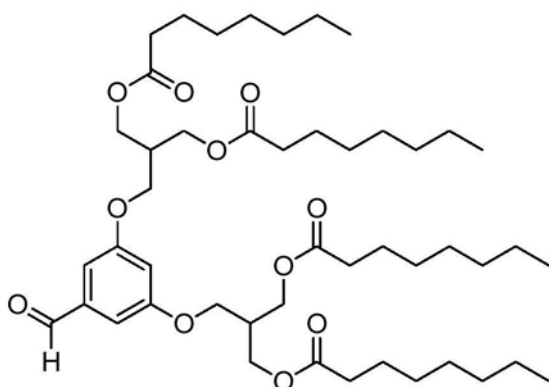


[1551] 向辛酰氯 (12.3g, 75mmol) 的二氯甲烷 (50ml) 溶液中加入 DMAP (1.84, 15mmol) 和吡啶 (11.9g, 150mmol)。将混合物于室温下搅拌 5min, 然后加入 2-(羟基甲基)-1,3-丙二醇 (4.0g, 38mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 然后减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷洗脱, 获得目标产物。

[1552] TLC (硅胶, 20% 的 EtOAc 庚烷溶液):  $R_f$  = 0.21。

[1553] 中间体111b: (((5-甲酰基-1,3-亚苯基)二(氧基))二(亚甲基))二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯

[1554]

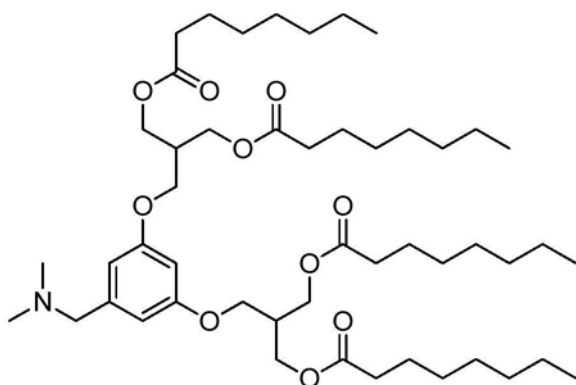


[1555] 中间体111b可以采用制备中间体18b所使用的类似条件制备自中间体111a。

[1556] TLC (硅胶, 20%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f = 0.44$ 。

[1557] 实施例111化合物: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(亚甲基)二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯

[1558]



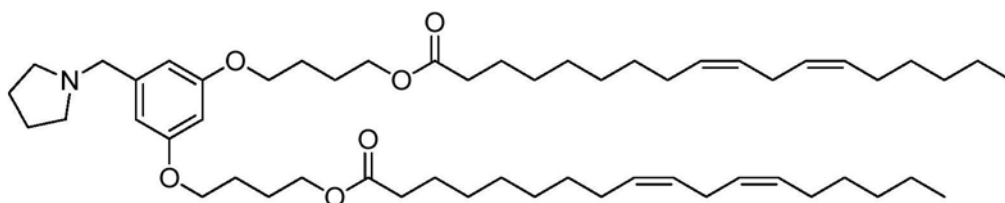
[1559] 实施例111可以采用实施例33的制备中所使用的类似条件制备自中间体111b。

[1560]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.51 (s, 2H), 6.37 (s, 1H), 4.25-4.22 (m, 8H), 4.00-3.98 (m, 4H), 3.52 (s, br, 2H), 2.53-2.50 (m, 2H), 2.34-2.30 (m, 14H), 1.65-1.58 (m, 8H), 1.31-1.25 (m, 32H), 0.87 (m, 12H) ppm。

[1561] ES-MS  $m/z = 848.4$  (MH $^+$ )。

[1562] 实施例112: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-(吡咯烷-1-基甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

[1563]



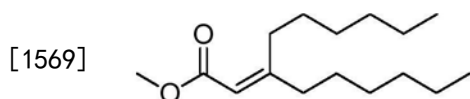
[1564] 实施例112可以采用实施例38的制备中所使用的类似条件制备自中间体38b。

[1565]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.52 (s, 2H), 6.35 (s, 1H), 5.44-5.32 (m, 8H), 4.15 (t,  $J = 5.6\text{Hz}$ , 4H), 3.98 (t,  $J = 5.1\text{Hz}$ , 4H), 3.57 (s, 2H), 2.79 (t,  $J = 6.4\text{Hz}$ , 4H), 2.54 (br s, 4H), 2.32 (t,  $J = 7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.07 (q,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 8H), 1.79-1.90 (m, 12H), 1.68-1.59 (m, 5H), 1.42-1.27 (m, 27H), 0.91 (t,  $J = 6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm。

[1566] ES-MS  $m/z = 862.8$  (MH $^+$ )。

[1567] 实施例113的合成:

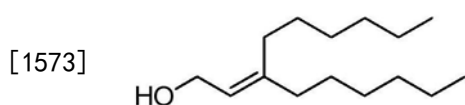
[1568] 中间体113a:3-己基壬-2-烯酸甲酯



[1570] 向在冰水浴中冷却的氢化钠(60%的石蜡油分散液,14.16g,335mmol)的THF(500ml)悬浮液中缓慢加入三甲基膦酰基乙酸酯(50.74g,278.8mmol)。2h后,缓慢加入十三烷基-7-酮(6.5g,32.8mmol),将反应物温热至室温。1h后,将反应物加热至回流。4天后,将反应物冷却,加入1N HCl(aq)骤冷反应物。反应物用乙酸乙酯萃取(3×200ml)。合并的有机萃取液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。浓缩液通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯/己烷作为洗脱液,获得8.0g目标产物。

[1571] TLC(硅胶,10%的乙酸乙酯己烷溶液): $R_f=0.72$ 。

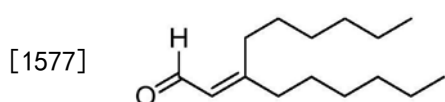
[1572] 中间体113b:3-己基壬-2-烯-1-醇



[1574] 向在冰水浴中冷却的中间体113a(8.1g,31.9mmol)的THF(100ml)溶液中加入二异丁基氢化铝(25%的甲苯溶液,54.4ml,95.6mmol)。30min后,将反应物温热至室温。6h后,在冰水浴中冷却反应物,采用冰冷的水(50ml)和1N HCl(aq,15ml)骤冷。将反应物用乙酸乙酯萃取(2×50ml)。合并的有机萃取液用水(2×60ml)和盐水(60ml)洗涤。有机萃取液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。浓缩液通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯/己烷作为洗脱液,获得6.8g目标产物。

[1575] TLC(硅胶,20%的乙酸乙酯己烷溶液): $R_f=0.29$ 。

[1576] 中间体113c:3-己基壬-2-烯醛



[1578] 向温热至30℃的搅拌的IBX(21.0g,75.12mmol)的DMSO(30ml)悬浮液中加中间体113b的THF(100ml)溶液。将反应物于25—30℃保持2h。将反应物用乙醚稀释,通过硅藻土过滤,用乙醚洗涤。滤液用水(2×200ml)和盐水(200ml)洗涤。有机萃取液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩,获得6.0g目标产物,其无需进一步纯化可以直接使用。

[1579] TLC(硅胶,10%的乙酸乙酯己烷溶液): $R_f=0.50$ 。

[1580] 中间体113d:7-己基十三碳-4,6-二烯酸

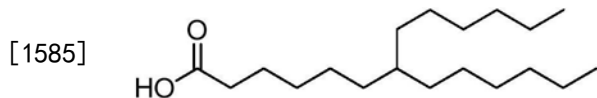


[1582] 向在冰水浴中冷却的(3-羧基丙基)三苯基膦溴化物(19.09g,44.6mmol)的THF(80ml)和HMPA(5ml)悬浮液中加入NaHMDS(1.0M的THF溶液,111mL,111mmol)。缓慢加入中间体113c(5.0g,22.3mmol)的THF(20ml)溶液,将反应物温热至30℃。16h后,反应物用200mL水稀释,用2N HCl(aq)酸化。将反应物用乙酸乙酯萃取(3×100ml)。合并的有机萃取液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。浓缩液通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯/己烷作为洗脱液,获得

4.0g目标产物。

[1583] TLC(硅胶,30%的EtOAc正己烷溶液): $R_f=0.21$ 。

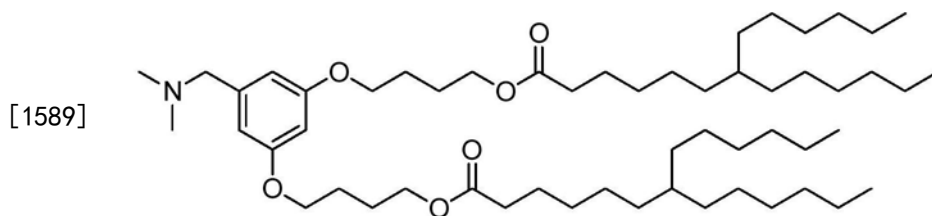
[1584] 中间体113e:7-己基十三酸



[1586] 向Paar-混合器容器中的中间体113d (4.0g, 13.6mmol) 的甲醇(100ml) 悬浮液中加入Pd/C (10%的Pd/C, 2.0g)。将反应物置于混合器装置上,用氢气加压至60psi。2h后,将反应混合物通过硅藻土过滤,采用甲醇洗涤(2×50ml)。将滤液减压浓缩,浓缩液通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯/正己烷作为洗脱液,获得3.9g目标产物。

[1587] TLC(硅胶,30%的EtOAc正己烷): $R_f=0.21$ 。

[1588] 实施例113化合物:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(7-己基十三烷酸酯)

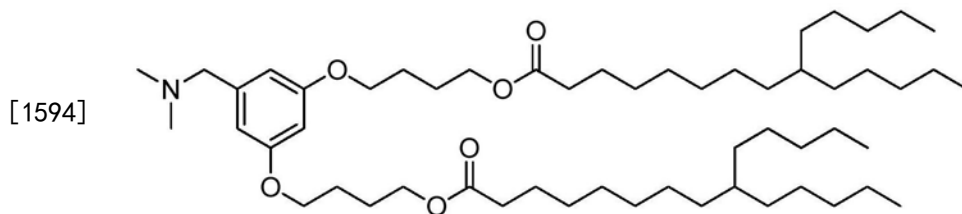


[1590] 实施例113可以采用制备实施例38所使用的类似方法制备自中间体38d和中间体113e。

[1591]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.58 (br. s., 2H), 6.38 (br. s., 1H), 4.08—4.19 (m, 4H), 3.93—4.08 (m, 4H), 3.56 (br. s., 2H), 2.41 (br. s., 6H), 2.23—2.35 (m, 4H), 1.75—1.93 (m, 8H), 1.51—1.73 (m, 6H), 1.13—1.41 (m, 52H), 0.75—1.02 (m, 12H) ppm。

[1592]  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 174.03 (2C), 160.29 (2C), 107.85 (3C), 101.26, 67.46 (2C), 63.89 (3C), 44.26 (2C), 37.37 (2C), 34.40 (2C), 33.63 (4C), 33.51 (2C), 31.98 (4C), 29.85 (4C), 29.71 (2C), 26.66 (4C), 26.38 (2C), 25.84, 25.80, 25.48 (2C), 25.07 (2C), 22.74 (4C), 14.18 (4C) ppm。

[1593] 实施例114:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(9-戊基四癸酸酯)



[1595] 实施例114以采用制备实施例113所使用的类似方法制备自中间体38d。

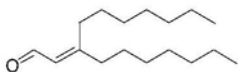
[1596]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 6.49 (br. s., 2H), 6.35 (s, 1H), 4.09—4.23 (m, 4H), 3.98 (t,  $J=5.56\text{Hz}$ , 4H), 3.38 (br. s., 2H), 2.19—2.37 (m, 10H), 1.75—1.94 (m, 8H), 1.48—1.75 (m, 10H), 1.14—1.39 (m, 48H), 0.89 (t,  $J=7.07\text{Hz}$ , 12H) ppm。

[1597] ES-MS  $m/z=872.9$  (MH $^+$ )。

[1598] 实施例115的合成:

[1599] 中间体115a:3-庚基十碳-2-烯醛

[1600]

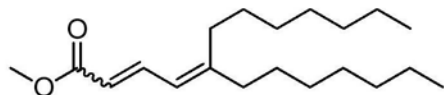


[1601] 中间体115a可以采用实施例113的合成中制备中间体113c所使用的类似方法制备。

[1602] TLC (硅胶, 10%的EtOAc己烷):  $R_f = 0.63$ 。

[1603] 中间体115b:5-庚基十二碳-2,4-二烯酸甲基酯

[1604]

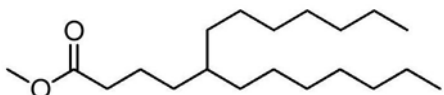


[1605] 向在冰水浴中冷却的氢化钠(55%的石蜡油分散液, 3.5g, 74.3mmol)的THF(70ml)悬浮液中加入三甲基膦酰基乙酸酯(9.6ml, 59.5mmol)。10min后,加入中间体115a(7.5g, 29.7mmol)的HF(10ml)溶液,将反应物温热至室温。2h后,反应物通过缓慢加入冰冷的水(20ml)骤冷。将反应物用乙酸乙酯萃取(2×100ml)。有机萃取液用水和盐水洗涤。有机部分经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩,获得8.0g目标产物。

[1606] TLC (硅胶, 10%的EtOAc己烷):  $R_f = 0.75$ 。

[1607] 中间体115c:5-庚基十二烷酸甲基酯

[1608]

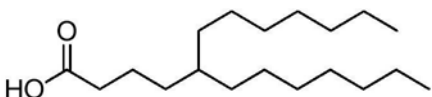


[1609] 向中间体115b(8.0g, 25.95mmol)的甲醇(350ml)溶液中加入披钯炭(10%Pd/C, 1.0g)。反应在通过气囊输送的1atm氢气压下进行。14h后,反应物通过硅藻土过滤,甲醇洗涤。将滤液减压浓缩,获得7.7g目标产物。

[1610] TLC (硅胶, 5%的甲醇二氯甲烷溶液):  $R_f = 0.63$ 。

[1611] 中间体115d:5-庚基十二烷酸

[1612]

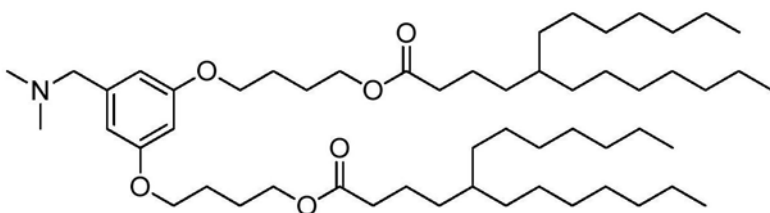


[1613] 向5N氢氧化钠(aq, 125ml)和甲醇(350ml)的混合物中加入中间体115c(7.7g, 24.7mmol),将反应物加热至回流。16h后,在冰水浴中冷却反应物,通过加入浓HCl水溶液骤冷直到酸化。将混合物用乙酸乙酯萃取(2×250ml)。有机萃取液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。浓缩液通过硅胶色谱纯化,采用乙酸乙酯/己烷作为洗脱液,获得7.0g目标产物。

[1614] TLC (硅胶, 50%的EtOAc庚烷溶液):  $R_f = 0.82$ 。

[1615] 实施例115化合物:((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(5-庚基十二烷酸酯)

[1616]



[1617] 实施例115可以采用制备实施例38所使用的类似方法制备自中间体38d和中间体

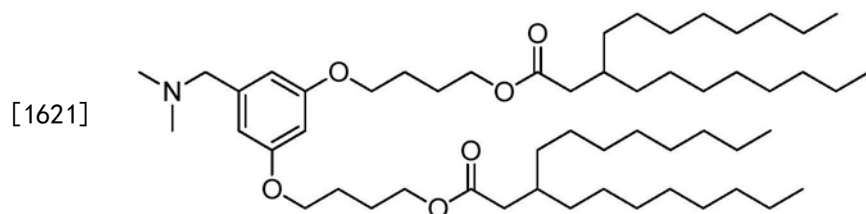


115d。

[1618]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=1.76\text{Hz}$ , 2H), 6.35 (t,  $J=2.13\text{Hz}$ , 1H), 4.14 (t,  $J=5.90\text{Hz}$ , 4H), 3.97 (t,  $J=5.52\text{Hz}$ , 4H), 3.38 (br. s., 2H), 2.19–2.36 (m, 10H), 1.76–1.93 (m, 8H), 1.60 (dt,  $J=15.31, 7.65\text{Hz}$ , 4H), 1.15–1.40 (m, 54H), 0.79–0.95 (m, 12H) ppm。

[1619] ES-MS  $m/z=873.0$  (MH $^+$ )。

[1620] 实施例116: ((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(3-辛基十一烷酸酯)

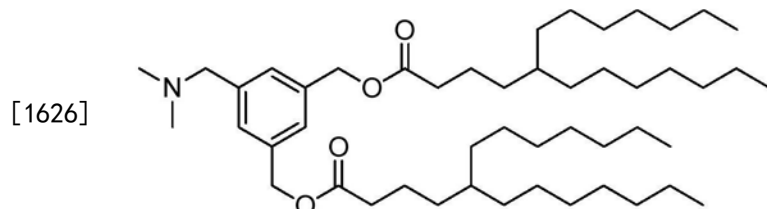


[1622] 实施例116可以采用制备实施例38所使用的类似方法制备自中间体38d和中间体97c。

[1623]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.63–6.82 (m, 2H), 6.38–6.52 (m, 1H), 4.09–4.23 (m, 4H), 4.02 (t,  $J=5.56\text{Hz}$ , 4H), 2.49–2.84 (m, 6H), 2.24 (d,  $J=7.07\text{Hz}$ , 4H), 1.75–1.98 (m, 10H), 1.49–1.69 (m, 2H), 1.16–1.39 (m, 56H), 0.79–0.94 (m, 12H) ppm。

[1624] ES-MS  $m/z=872.3$  (MH $^+$ )。

[1625] 实施例117: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(5-庚基十二烷酸酯)

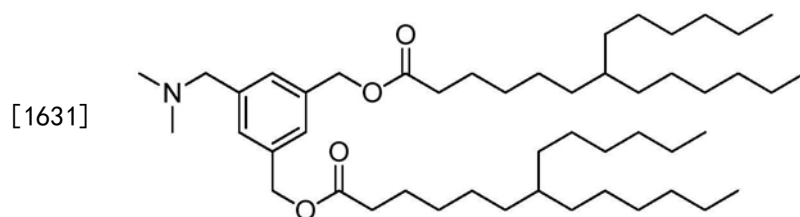


[1627] 实施例117可以采用实施例77的制备中所使用的类似方法制备自中间体77b和中间体115d。

[1628]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.35 (br. s., 2H), 7.29 (br. s., 1H), 5.12 (s, 4H), 3.62 (br. s., 2H), 2.35 (t,  $J=7.58\text{Hz}$ , 10H), 1.62 (dt,  $J=15.16, 7.58\text{Hz}$ , 4H), 1.14–1.43 (m, 54H), 0.80–0.99 (m, 12H) ppm。

[1629] ES-MS  $m/z=756.7$  (MH $^+$ )。

[1630] 实施例118: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(7-己基十三烷酸酯)

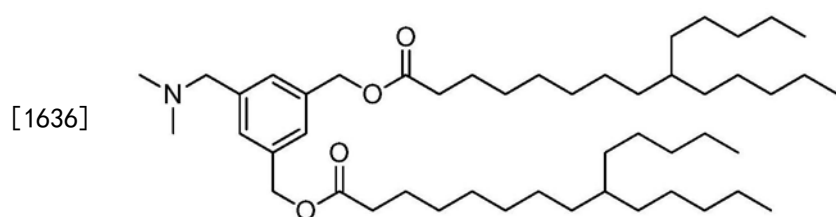


[1632] 实施例118可以采用实施例77的合成中所使用的类似方法制备自中间体77b和中间体113e。

[1633]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.30 (s, 2H), 7.22–7.29 (m, 1H), 5.11 (s, 4H), 3.55 (br. s., 2H), 2.23–2.46 (m, 10H), 1.65 (quin,  $J=7.40\text{Hz}$ , 4H), 1.18–1.41 (m, 54H), 0.79–0.94 (m, 12H) ppm。

[1634]  $^{13}\text{C}$  NMR (101MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  173.70 (2C), 136.83 (2C), 128.86 (3C), 127.01, 65.67 (2C), 63.60, 45.01 (2C), 37.38 (2C), 34.34 (2C), 33.63 (4C), 33.53 (2C), 31.97 (4C), 29.85 (4C), 29.70 (2C), 26.66 (4C), 26.40 (2C), 25.02 (2C), 22.74 (4C), 14.17 (4C) ppm。

[1635] 实施例119: (5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(亚甲基)二(9-戊基四癸酸酯)



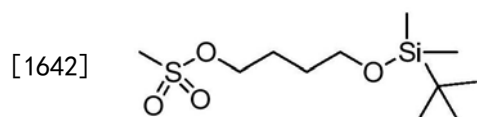
[1637] 实施例119可以采用制备实施例118所使用的类似方法制备自中间体77b。

[1638]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.24–7.34 (m, 3H), 5.11 (s, 4H), 3.55 (br. s., 2H), 2.23–2.43 (m, 10H), 1.64 (quin,  $J=7.28\text{Hz}$ , 4H), 1.11–1.41 (m, 54H), 0.88 (t,  $J=7.03\text{Hz}$ , 12H) ppm。

[1639] ES-MS  $m/z=756.5$  (MH $^+$ )。

[1640] 实施例120的合成:

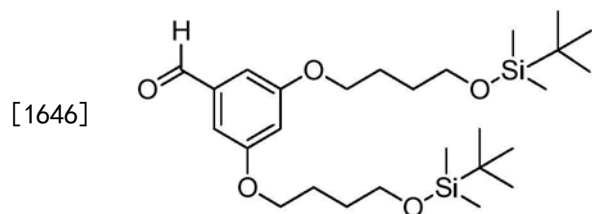
[1641] 中间体120a: 4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁基甲磺酸酯



[1643] 向4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁-1-醇(10.0g, 49.0mmol)的二氯甲烷(100ml)溶液中加入三乙胺(20.4ml, 147mmol)和甲磺酰氯(4.93ml, 63.7mmol)。5h后,反应物用水(150ml)骤冷,用二氯甲烷萃取(2 $\times$ 150ml)。合并的DCM层用盐水洗涤(100ml),经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩,获得目标化合物。

[1644] TLC(硅胶, 20%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f=0.42$ 。

[1645] 中间体120b: 3,5-二(4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁氧基)苯甲醛

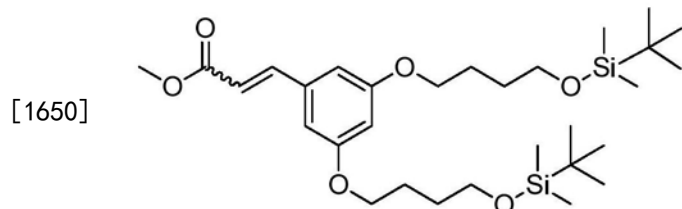


[1647] 向3,5-二羟基苯甲醛(2.5g, 18.1mmol)的DMF(50ml)溶液中加入碳酸钾(12.50g, 90.5mmol),随后加入中间体120a(12.76g, 45.3mmol)。将反应物加热至80 $^{\circ}\text{C}$ ,搅拌24h。冷却反应物,用水(200ml)骤冷,用乙酸乙酯萃取(2 $\times$ 200ml)。合并的有机层用盐水洗涤

(150ml), 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 获得的残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1648] TLC (硅胶, 30% 的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f = 0.71$ 。

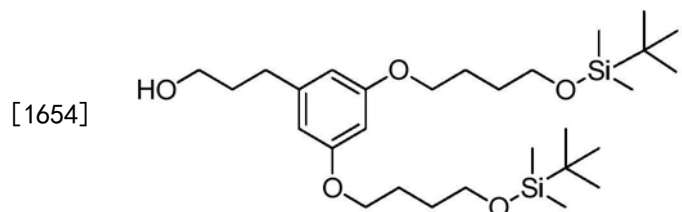
[1649] 中间体120c: 3-(3,5-二(4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁氧基)苯基)丙烯酸甲酯



[1651] 向在冰水浴中冷却的三甲基膦酰基乙酸酯 (3.0ml, 20.6mmol) 的 THF (70ml) 溶液中加入氢化钠 (898mg, 55% 的分散液, 20.6mmol)。将反应物搅拌 30min, 然后加入中间体120b (7.0g, 13.7mmol) 的 THF (30ml) 溶液。移除冷浴, 反应再持续 90 分钟。将反应物用水 (100ml) 骤冷, 用乙酸乙酯萃取 (2×200ml)。合并的有机萃取液用盐水洗涤 (200ml), 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1652] ES-MS  $m/z = 567.5$  (MH<sup>+</sup>)。

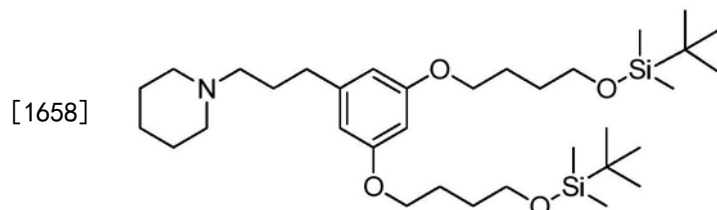
[1653] 中间体120d: 3-(3,5-二(4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁氧基)苯基)丙-1-醇



[1655] 向在冰水浴中冷却的中间体120c (7.0g, 12.4mmol) 的 THF (100ml) 溶液中加入氢化铝锂 (1.88g, 49.4mmol), 反应物搅拌 3h。将反应物用冷水骤冷, 通过硅藻土过滤。滤液用乙酸乙酯萃取 (2×200ml), 合并的有机萃取液用盐水 (200ml) 洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 获得目标产物, 其无需进一步纯化可以直接使用。

[1656] ES-MS  $m/z = 541.4$  (MH<sup>+</sup>)。

[1657] 中间体120e: 1-(3-(3,5-二(4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)丁氧基)苯基)丙基)哌啶

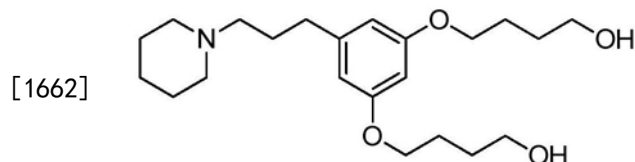


[1659] 向对甲苯磺酸酐 ( $\text{Ts}_2\text{O}$ , 1.81g, 5.55mmol) 的二氯甲烷 (25ml) 溶液中加入三乙胺 (1.03ml, 7.40mmol), 随后加入中间体120d (2.0g, 3.70mmol) 的 DCM (15ml) 溶液。1h 后, 加入哌啶 (3.15g, 18.50mmol), 将反应物密封。再过 15h 后, 将反应混合物用水稀释 (100ml), 用二

氯甲烷萃取(2×100ml)。合并的二氯甲烷萃取液用盐水洗涤(200ml),经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩,残留物通过硅胶色谱纯化,采用甲醇:二氯甲烷作为洗脱液,获得目标化合物。

[1660] ES-MS  $m/z=608.3$  (MH<sup>+</sup>)。

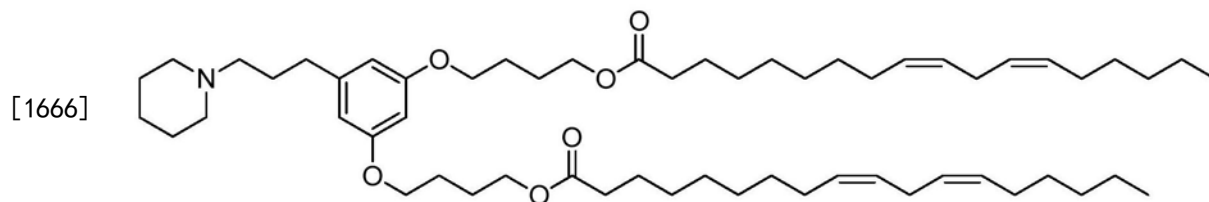
[1661] 中间体120f:4,4'-((5-(3-(哌啶-1-基)丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁-1-醇)



[1663] 向中间体120e(1.3g,2.14mmol)的乙醚(10ml)溶液中加入HCl的二氧六环溶液(20ml)。2h后,将反应物减压浓缩,用乙醚洗涤。残留物用饱和的碳酸氢钠水溶液稀释,用乙酸乙酯萃取(2×50ml)。合并的有机萃取液经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩,获得目标化合物,其无需进一步纯化可以直接使用。

[1664] ES-MS  $m/z=380.1$  (MH<sup>+</sup>)。

[1665] 实施例120化合物:(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(哌啶-1-基)丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)



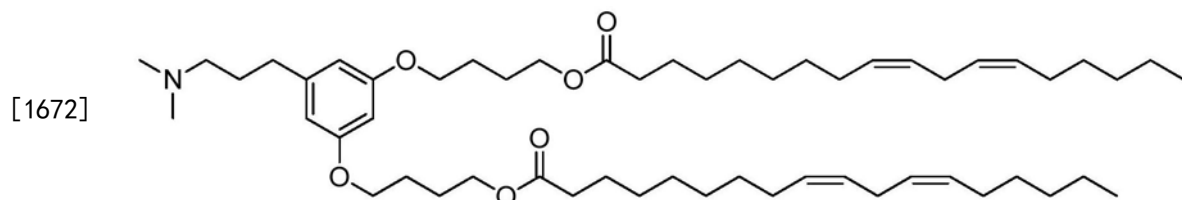
[1667] 实施例120可以采用制备实施例38所使用的类似方法制备自中间体120f。

[1668] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ6.33(d,J=2.01Hz,2H),6.21-6.31(m,1H),5.22-5.51(m,8H),4.07-4.22(m,4H),3.95(t,J=5.52Hz,4H),2.78(t,J=6.65Hz,4H),2.56(t,J=7.53Hz,2H),2.35-2.54(m,4H),2.26-2.35(m,4H),2.05(q,J=6.61Hz,8H),1.77-1.98(m,10H),1.55-1.76(m,8H),1.42-1.55(m,2H),1.20-1.42(m,30H),0.85-0.99(m,6H) ppm。

[1669] <sup>13</sup>C NMR(101MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ173.98(2C),160.07(2C),130.24(2C),130.07(2C),128.05(2C),127.91(2C),106.92(3C),98.74(1C),67.21(2C),63.91(2C),58.48,54.34(2C),34.36(2C),34.02,31.55(2C),29.63(2C),29.37(2C),29.21(2C),29.17(2C),29.15(2C),27.22(4C),25.90(2C),25.64(2C),25.47(2C),25.00(2C),24.21(2C),22.61(2C),14.12(2C) ppm。

[1670] ES-MS  $m/z=904.9$  (MH<sup>+</sup>)。

[1671] 实施例121:(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(二甲基氨基)丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

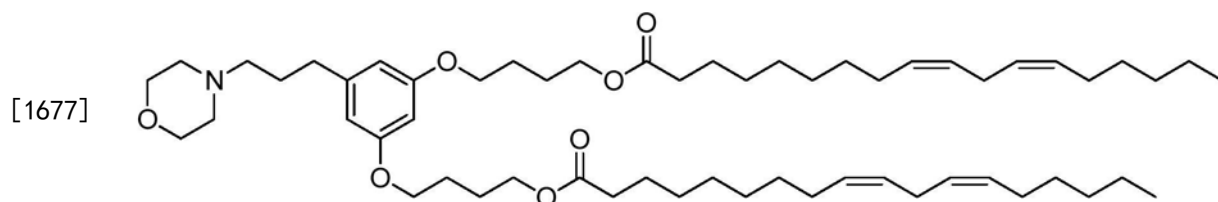


[1673] 实施例121可以采用制备实施例120所使用的类似方法制备自中间体120d。

[1674]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.33 (d,  $J=2.02\text{Hz}$ , 2H) 6.25–6.31 (m, 1H) 5.26–5.47 (m, 8H) 4.07–4.22 (m, 4H) 3.96 (t,  $J=5.56\text{Hz}$ , 4H) 2.78 (t,  $J=6.57\text{Hz}$ , 4H) 2.62 (t,  $J=7.33\text{Hz}$ , 4H) 2.52 (br. s., 6H) 2.30 (t,  $J=7.58\text{Hz}$ , 4H) 2.05 (q,  $J=6.65\text{Hz}$ , 10H) 1.76–1.94 (m, 8H) 1.55–1.70 (m, 4H) 1.21–1.46 (m, 28H) 0.81–0.98 (m, 6H) ppm。

[1675] ES-MS  $m/z=864.6$  (MH $^+$ )。

[1676] 实施例122: (9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ((5-(3-吗啉代丙基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基)二(十八-9,12-二烯酸酯)

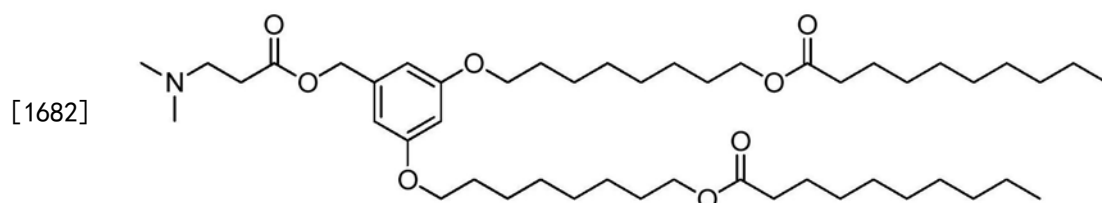


[1678] 实施例122可以采用制备实施例120所使用的类似方法制备自中间体120d。

[1679]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.33 (d,  $J=2.26\text{Hz}$ , 2H) , 6.23–6.30 (m, 1H) , 5.23–5.48 (m, 8H) , 4.07–4.22 (m, 4H) , 3.95 (t,  $J=5.52\text{Hz}$ , 4H) , 3.75 (br. s., 4H) , 2.78 (t,  $J=6.53\text{Hz}$ , 4H) , 2.56–2.64 (m, 2H) , 2.35–2.51 (m, 4H) , 2.30 (t,  $J=7.65\text{Hz}$ , 4H) , 2.05 (d,  $J=6.78\text{Hz}$ , 8H) , 1.75–1.97 (m, 10H) , 1.53–1.72 (m, 6H) , 1.16–1.44 (m, 28H) , 0.79–1.01 (m, 6H) ppm。

[1680] ES-MS  $m/z=906.9$  (MH $^+$ )。

[1681] 实施例123: ((5-(((3-(二甲基氨基)丙酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)

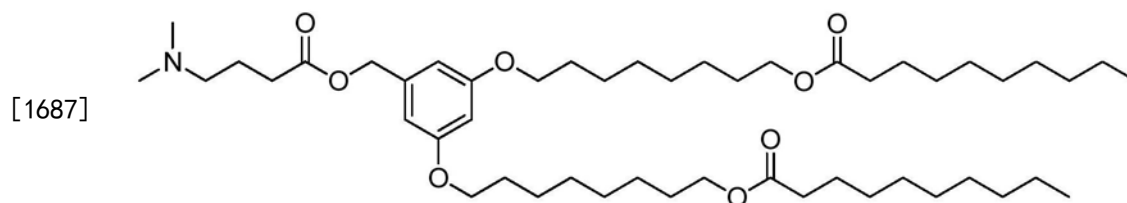


[1683] 实施例123可以采用制备实施例18和实施例52所使用的类似方法制备。

[1684]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.47 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 2H) , 6.40 (t,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H) , 5.07 (s, 2H) , 4.05 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H) , 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H) , 3.00 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H) , 2.71 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 2H) , 2.56 (s, 6H) , 2.29 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 4H) , 2.07 (s, 2H) , 1.76 (p,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H) , 1.61 (td,  $J=7.4, 7.0, 3.9\text{Hz}$ , 8H) , 1.43 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 4H) , 1.39–1.11 (m, 34H) , 0.91–0.83 (m, 6H)。

[1685] ES-MS  $m/z=805.0$  (MH $^+$ )

[1686] 实施例124: ((5-(((4-(二甲基氨基)丁酰基)氧基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(辛烷-8,1-二基)二(癸酸酯)



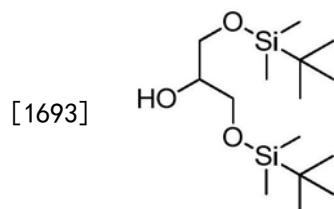
[1688] 实施例124可以采用制备实施例18和实施例52所使用的类似方法制备。

[1689]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.46 (d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 2H), 6.39 (t,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 5.04 (s, 2H), 4.05 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.62 (s, 6H), 2.51 (t,  $J=6.9\text{Hz}$ , 2H), 2.29 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.95 (p,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.80-1.71 (m, 4H), 1.61 (dq,  $J=7.2, 3.9\text{Hz}$ , 8H), 1.44 (t,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 1.40-1.20 (m, 38H), 0.87 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 6H)。

[1690] ES-MS  $m/z=819.0$  (MH $^+$ )

[1691] 实施例125:

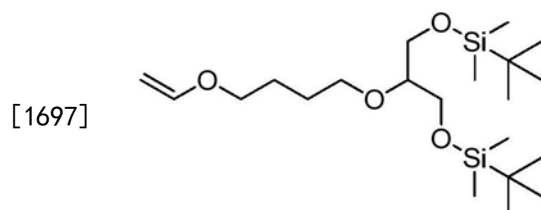
[1692] 中间体125a: 2,2,3,3,9,9,10,10-八甲基-4,8-二氮杂-3,9-二硅杂十一烷-6-醇



[1694] 将甘油 (5g, 54.3mmol)、咪唑 (8.1g, 119mmol) 和叔-丁基氯代二甲基硅烷 (16.37g, 109mmol) 在 THF (40ml) 中的悬浮液搅拌 15h。将反应物用水骤冷 (300ml)，用乙酸乙酯萃取。合并的有机萃取液用盐水洗涤，经硫酸镁干燥并过滤。将滤液减压浓缩，残留物通过硅胶色谱纯化，采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液，获得目标化合物。

[1695]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.55—3.76 (m, 4H), 2.47 (br. s., 1H), 1.61 (br. s., 1H), 0.79—1.06 (m, 18H), -0.06—0.21 (m, 12H) ppm。

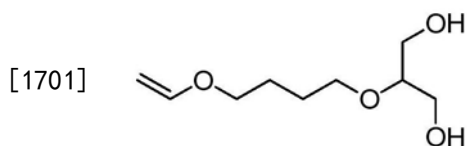
[1696] 中间体125b: 6-(((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2,2,3,3-四甲基-4,7,12-三氮杂-3-硅杂十四碳-13-烯



[1698] 向在干冰/丙酮浴中冷却的中间体38a (2g, 10.3mmol) 和中间体125a (3.30g, 10.3mmol) 的 THF (20ml) 溶液中加入氢化钠 (0.618g, 60% 的分散液, 15.44mmol)。1h后，移除冷却浴，将反应物温热至室温4天，然后回流1h。将混合物冷却至室温，用冰水骤冷。将反应物用乙酸乙酯萃取 (100ml)。有机萃取液经硫酸镁干燥，过滤，将滤液减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化，采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液，获得目标化合物。

[1699]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.47 (dd,  $J=14.31, 6.78\text{Hz}$ , 1H), 4.11—4.22 (m, 1H), 3.98 (dt,  $J=7.03, 2.01\text{Hz}$ , 1H), 3.56—3.76 (m, 6H), 3.42—3.56 (m, 2H), 3.30—3.42 (m, 1H), 1.60—1.81 (m, 4H), 0.80—1.01 (m, 18H), 0.00—0.12 (m, 12H) ppm。

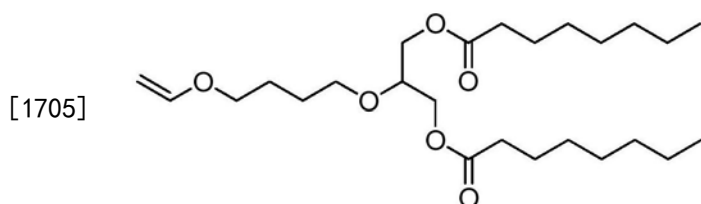
[1700] 中间体125c: 2-(4-(乙烯基氧基)丁氧基)丙烷-1,3-二醇



[1702] 向中间体125b (1.4g, 3.34mmol) 的THF (10ml) 溶液中加入四丁基氟化铵 (10ml, 1M 的THF溶液, 10mmol)。2h后, 将反应物减压浓缩。残留物用乙酸乙酯稀释, 用水和盐水洗涤, 经硫酸镁干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液, 获得需要的目标产物。

[1703] TLC (硅胶, 50%的乙酸乙酯己烷溶液):  $R_f = 0.10$ 。

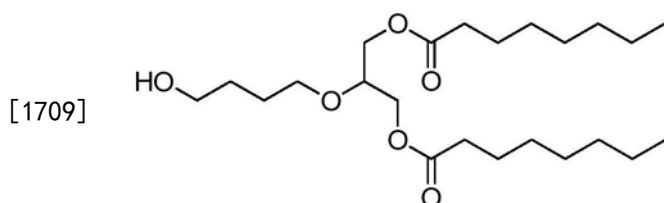
[1704] 中间体125d: 2-(4-(乙烯基氧基)丁氧基)丙-1,3-二基二辛酸酯



[1706] 向在冰水浴中冷却的辛酸 (584mg, 4.05mmol)、中间体125c (350mg, 1.84mmol)、DMAP (22.5mg, 0.184mmol) 和二异丙基乙胺 (713mg, 5.52mmol) 的二氯甲烷 (10ml) 溶液中加入EDC1 (846mg, 4.42mmol)。将反应物于室温下搅拌过夜, 此时将反应物减压浓缩。残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1707] TLC (硅胶, 50%的乙酸乙酯庚烷溶液):  $R_f = 0.85$ 。

[1708] 中间体125e: 2-(4-羟基丁氧基)丙-1,3-二基二辛酸酯

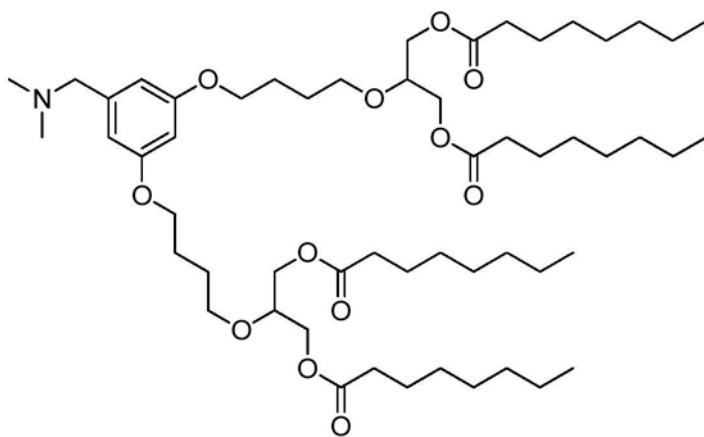


[1710] 向中间体125d (520mg, 1.18mmol) 的二氯甲烷 (10ml) 溶液中加入三氟乙酸 (0.181ml, 2.35mmol)。1h后, 将反应物减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液, 获得目标化合物。

[1711]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.23 (dd,  $J = 11.54, 5.02\text{Hz}$ , 2H), 4.12 (dd,  $J = 11.54, 5.52\text{Hz}$ , 2H), 3.71 (quin,  $J = 5.14\text{Hz}$ , 1H), 3.64 (dt,  $J = 15.43, 5.83\text{Hz}$ , 4H), 2.34 (t,  $J = 7.00\text{Hz}$ , 4H), 1.56–1.73 (m, 8H), 1.19–1.41 (m, 16H), 0.81–1.01 (m, 6H) ppm。

[1712] 实施例125化合物: (((5-((二甲基氨基)甲基)-1,3-亚苯基)二(氧基))二(丁烷-4,1-二基))二(氧基))二(丙烷-3,2,1-三基)四辛酸酯

[1713]



[1714] 实施例125可以采用实施例39或实施例52的制备中所使用的类似方法制备自中间体125e。

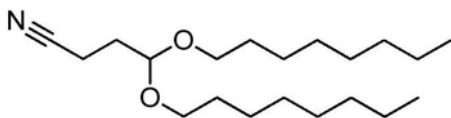
[1715]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.49 (s, 2H) 6.34 (t,  $J=2.01\text{Hz}$ , 1H) 4.17–4.26 (m, 4H) 4.08–4.17 (m, 4H) 3.95 (t,  $J=6.15\text{Hz}$ , 4H) 3.71 (quin,  $J=5.14\text{Hz}$ , 2H) 3.63 (t,  $J=6.27\text{Hz}$ , 4H) 3.42 (br.s., 2H) 2.24–2.40 (m, 14H) 1.79–1.90 (m, 4H) 1.69–1.79 (m, 4H) 1.62 (quin,  $J=7.34\text{Hz}$ , 8H) 1.21–1.38 (m, 32H) 0.83–0.94 (m, 12H) ppm。

[1716] ES-MS  $m/z=964.7$  (MH $^+$ )。

[1717] 实施例126的合成：

[1718] 中间体126a: 4,4-二(辛基氧基)丁腈

[1719]

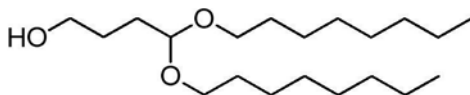


[1720] 向4,4-二乙氧基丁烷腈 (15g, 95mmol) 和辛醇 (37.3g, 286mmol) 的混合物中加入吡啶鎓对-甲苯磺酸盐 (1.2g, 4.77mmol), 将混合物加热至105℃。72h后, 将反应混合物冷却, 经硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯/庚烷作为洗脱液, 获得9.34g目标产物。

[1721]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  4.56 (t,  $J=5.40\text{Hz}$ , 1H), 3.61 (dt,  $J=9.16, 6.59\text{Hz}$ , 2H), 3.44 (dt,  $J=9.22, 6.68\text{Hz}$ , 2H), 2.43 (t,  $J=7.28\text{Hz}$ , 2H), 1.95 (td,  $J=7.34, 5.40\text{Hz}$ , 2H), 1.50–1.66 (m, 4H), 1.17–1.44 (m, 20H), 0.80–0.95 (m, 6H) ppm。

[1722] 中间体126b: 4,4-二(辛基氧基)丁-1-醇

[1723]



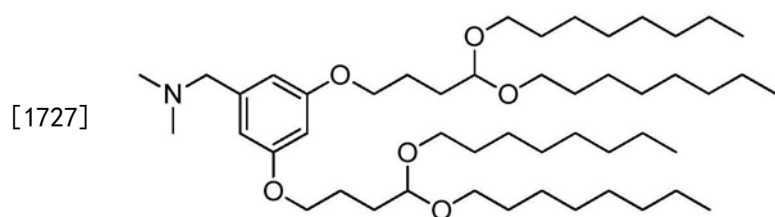
[1724] 向在干冰/丙酮浴中冷却的中间体126a (5g, 15.4mmol) 的二氯甲烷 (60ml) 溶液中加入DIBAL-H (1.0M的甲苯溶液, 15.4ml, 15.4mmol)。1.5h后, 移除冷却浴, 将反应物温热至室温。反应物用饱和的氯化铵水溶液 (20ml) 和水 (10ml) 骤冷, 用二氯甲烷萃取。DCM萃取液用盐水洗涤, 经硫酸镁干燥并过滤。浓缩滤液, 将残留物再溶于甲醇 (20ml)。加入硼氢化钠 (0.581g, 15.4mmol)。1h后, 反应物用水骤冷, 将反应物减压浓缩除去甲醇。将获得的混合物用乙酸乙酯萃取, 乙酸乙酯萃取液用饱和的碳酸氢钠水溶液洗涤, 经硫酸钠干燥并过滤。将滤液减压浓缩, 残留物通过硅胶色谱纯化, 采用乙酸乙酯和庚烷作为洗脱液。

[1725]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  4.34–4.46 (m, 2H), 3.47 (dt,  $J=9.03, 6.53\text{Hz}$ , 2H),



3.28—3.41 (m, 6H), 1.35—1.58 (m, 8H), 1.13—1.35 (m, 18H), 0.79—0.91 (m, 6H) ppm。

[1726] 实施例126化合物: 1-(3,5-二(4,4-二(辛基氧基)丁氧基)苯基)-N,N-二甲基甲胺



[1728] 实施例126可以采用实施例39或实施例52的制备中所使用的类似方法制备自中间体126b。

[1729]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (d,  $J=2.01\text{Hz}$ , 2H), 6.35 (t,  $J=2.13\text{Hz}$ , 1H), 4.48—4.58 (m, 2H), 3.96 (t,  $J=5.90\text{Hz}$ , 4H), 3.58 (dt,  $J=9.29, 6.65\text{Hz}$ , 4H), 3.33—3.49 (m, 6H), 2.28 (s, 6H), 1.73—1.92 (m, 8H), 1.57 (quin,  $J=6.96\text{Hz}$ , 8H), 1.18—1.42 (m, 40H), 0.79—0.97 (m, 12H) ppm。

[1730] ES-MS  $m/z=792.8$  (MH $^+$ )。

[1731] 脂质组合物

[1732] 通过冲击射流工艺,将等体积的溶于醇的脂质和溶于柠檬酸缓冲液的siRNA混合,形成脂质纳米颗粒(LNPs)。脂质溶液含有本发明的阳离子脂质化合物、辅助脂质(胆固醇)、任选的中性脂质(DSPC)和PEG(PEG)脂质,其浓度为8—16mg/mL醇,优选12mg/mL醇。此类脂质成分在本发明制剂中的相对摩尔比如表4和5所示。siRNA与总脂质的比例约为0.05(wt/wt)。当LNP制剂含有四种脂质成分时,在摩尔比中显示的脂质种类的顺序与它们在表中前四列中显示的顺序一致。脂质的比例的范围为:阳离子脂质的摩尔百分浓度范围为20—70,优选40—60;辅助脂质的摩尔百分浓度范围为20—70,优选30—50;中性脂质摩尔百分浓度范围为0—30;PEG脂质的摩尔百分浓度范围为1—6,优选2—5。siRNA溶液在柠檬酸钠:氯化钠缓冲液中的浓度范围为0.7—1.0mg/mL,优选为0.8—0.9mg/mL,缓冲液的pH为4—6,优选为4.5—5.5。通过冲击射流工艺,采用ID范围为0.25—2.0mm、流速为10—640mL/min的混合设备,将等体积的脂质乙醇溶液和溶于柠檬酸缓冲液的siRNA混合,形成LNPs。将混合的LNP溶液置于室温下0—24小时,随后进行稀释步骤。然后将溶液浓缩,采用超滤工艺,采用MW截留(cutoff)为30—500KD的膜,与适当的缓冲液一起渗滤。将终产物无菌过滤并于4℃储存。

[1733] siRNA's

[1734] 上述脂质纳米颗粒中使用的siRNA由对靶mRNA序列有特异性的双链siRNA序列组成。

[1735] 1.FVII siRNA双序列(duplex sequence)

[1736] 5' UUu AAU UGA AAC cAA GAc Auu 3' (SEQ ID NO:1)

[1737] 5' uGu cuu GGu uuc AAu uAA Auu 3' (SEQ ID NO:2)

[1738] 2.PLK1-424siRNA双序列

[1739] 5' UAU UUA AgG AGG GUG AuC Uuu 3' (SEQ ID NO:3)

[1740] 5' AGA Uca cCC Ucc uuA AAU auu 3' (SEQ ID NO:4)

[1741] 这些序列中使用下列缩写:

[1742] A=腺苷酸

[1743] U=尿苷

[1744] G=鸟苷

[1745] C=胞嘧啶

[1746] a=2'-O-甲基-腺苷

[1747] u=2'-O-甲基-尿苷

[1748] g=2'-O-甲基-鸟苷

[1749] c=2'-O-甲基-胞嘧啶

[1750] pKa测定

[1751] 除非另有说明,所有的本文中涉及的pKa均在标准温度和压力下测定。另外,除非另有说明,与pKa有关的所有引用均为采用下文技术所测定的pKa。

[1752] 称量脂质,然后将其溶于乙醇,制备脂质在乙醇中的2mM溶液。首先制备TNS在甲醇中的3mM溶液,然后采用乙醇将其稀释至0.3mM,制备荧光探针TNS在乙醇:甲醇9:1中的0.3mM溶液。

[1753] 制备含有200mM磷酸氢二钠和100mM柠檬酸的缓冲水溶液。将缓冲液分成十二份,采用12N HCl或6N NaOH将pH调节至4.21-4.33、4.86-4.99、5.23-5.37、5.46-5.54、5.65-5.74、5.82-5.89、6.09-6.18、6.21-6.32、6.45-6.52、6.66-6.72、6.83-6.87、7.19-7.28。将400uL的2mM脂质溶液和800uL的0.3mM TNS溶液混合。

[1754] 采用Hamilton Microlab Star高通量液体处理器和Hamilton运行控制软件,将7.5uL的探针/脂质混合物加入在1mL 96孔板(model NUNC 260252,Nalgae Nunc International)中的242.5uL缓冲液中。该操作在所有十二份缓冲液中进行。

[1755] 在1mL 96孔板中混合后,将100uL的各个探针/脂质/缓冲液混合物转移至250uL黑色透明底部的96孔板(型号COSTAR 3904,Corning)。

[1756] 在SpectraMax M5分光光度计上,采用软件SoftMax pro 5.2和下列参数进行荧光测定:

**读取模式:** 荧光, 顶端读数

**波长:** Ex 322nm, Em 431nm, Auto Cutoff On 420nm

**灵敏度:** Readings 6, PMT: Auto

**自动混合:** 操作前: 关闭

**自动校正:** 开

[1757] **试验板类型:** 96 孔标准 cLR<sup>h</sup>tm

**读取孔:** 读取全部板

**建立时间:** 关

**Column Wav. Priority:** Column priority

**Carriage Speed:** 正常

**自动读取:** 关

[1758] 测定后,自每个探针/脂质/缓冲液混合物的值中减去96孔板上一个空孔的背景荧

光值。然后,将荧光强度值归一化为最低pH处的值。然后利用Microsoft Excel软件绘制归一化的荧光强度对pH的图。将12个点连接为平滑的线。

[1759] 找到所述线上归一化的荧光强度等于0.5的点。找到对应于归一化的荧光强度等于0.5的pH,其被认为是脂质的pKa。

[1760] 采用该方法测定的pKa精确至约0.1pKa单位。

[1761] 多分散指数(PDI)的测定

[1762] 除非另有说明,本文所述所有的PDI均为完全形成的纳米颗粒的PDI,通过Malvern Zetasizer的动态光散射测定。将纳米颗粒样品在磷酸盐缓冲的生理盐水(PBS)中稀释,使得计数率约为200—400kcts。数据如表4和5所示,作为强度测定加权平均值。

[1763] 脂质纳米颗粒的粒度

[1764] 除非另有说明,表4和5中所示的所有粒度测定均为完全形成的纳米颗粒的Z-平均粒度,通过Malvern Zetasizer的动态光散射测定。将纳米颗粒样品在磷酸盐缓冲的生理盐水(PBS)中稀释,使得计数率约为200—400kcts。

[1765] 生物学试验

[1766] 小鼠因子VII给药

[1767] 雌性CD-1小鼠获自Harlan Labs,以标准试验食物喂饲,水随意。给药时动物称重约25克。将配制的因子VII siRNA通过尾静脉外侧以单剂量静脉给药。注射约48小时后,将小鼠通过吸入CO<sub>2</sub>致死,随后通过腔静脉放血。将血液收集在含有0.105M柠檬酸钠抗凝剂的试管中,用于进行血浆因子VII活性分析。

[1768] 因子VII活性分析

[1769] 采用获自Hyphen Biomedical的Biophen FVII试剂盒(目录号221304),对收集自注射小鼠的血浆进行因子VII酶活性分析。采用获自载体对照动物的收集的血浆等份量制备试验标准曲线。将所有样品稀释至标准曲线的线性范围内,报告相对于对照血浆的因子VII的活性。

[1770] 在因子VII活性测试包含脂质式(I)化合物和上述FVII siRNA双序列的脂质纳米颗粒。该分析的结果在下面表4中以血浆因子VII酶活性降低百分数表示,给药剂量为0.3mg/kg和0.03mg/kg。

[1771] 表4.采用FVII siRNA脂质纳米颗粒的因子VII活性分析结果

[1772]

式(I)阳 离子脂 质	辅助脂 质	中性脂 质	隐形脂 质	<sup>1</sup> 脂质摩 尔比	大小 (nm)	PDI	<sup>2</sup> pKa	KD FVII 0.3 mg/kg	KD FVII 0.03 mg/kg
实施例 1	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	87.16	0.124	5.59	---	30.8
实施例 1	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	98.2	0.05	5.59	75.1	---
实施例 2	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	92.85	0.067	5.57	---	55
实施例 2	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	97.4	0.04	5.46	95.5	---
实施例 14	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	81.74	0.059	6.11	---	---
实施例 26	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	121.6	0.046	6.45	---	---
实施例 26	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	104.3	0.04	6.45	58.1	---
实施例 31	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	81.16	0.049	6.01	---	---
实施例 33	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	79.15	0.042	5.85	---	---
实施例 33	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	107.8	0.06	5.75	90.4	---
实施例 34	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	113.8	0.036	5.95	---	---
实施例 34	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	126.0	0.06	5.61	0	---
实施例 38	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	120	0.04	5.93	---	43.6
实施例 38	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	108.0	0.02	5.9	99	---

[1773]

实施例 39	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	122.9	0.044	5.91	---	---
实施例 40	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	94.28	0.062	6.17	---	8.2
实施例 40	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	110.9	0.02	6.17	89.8	---
实施例 41	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	170.7	0.119	5.83	---	---
实施例 42	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	120	0.084	5.93	---	92.8
实施例 43	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	121.9	0.066	5.85	---	---
实施例 43	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	157.8	0.08	5.85	97.4	---
实施例 44	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	172.9	0.077	5.66	---	---
实施例 45	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	102.8	0.072	5.57	---	---
实施例 46	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	102.4	0.135	6.18	---	---
实施例 47	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	125.9	0.035	6.07	---	---
实施例 47	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	109.3	0.06	6.07	99	---
实施例 48	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	152.3	0.105	5.93	---	---
实施例 49	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	111.1	0.046	5.99	---	---
实施例 50	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	126	0.056	5.92	---	---
实施例 51	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	103.2	0.052	5.91	---	---
实施例 52	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	145.4	0.052	5.96	---	73.5
实施例 52	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	109.4	0.1	5.96	---	72.5

[1774]

实施例 53	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	113.3	0.079	6.03	---	---
实施例 53	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	129.1	0.1	5.84	96.6	---
实施例 55	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	106.9	0.043	6.37	---	---
实施例 55	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	101.9	0.10	6.03	98.0	---
实施例 56	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	99.47	0.114	5.93	---	---
实施例 56	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	110.1	0.01	5.71	71.0	---
实施例 57	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	123.8	0.059	5.94	---	---
实施例 57	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	108.4	0.03	5.94	96.7	---
实施例 58	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	138.9	0.022	5.9	---	15.25
实施例 58	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	120.6	0.06	6.02	78.1	---
实施例 59	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	92.56	0.064	6.09	---	48.24
实施例 60	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	95.55	0.098	6.21	---	49.75
实施例 61	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	81.79	0.076	5.82	---	0
实施例 62	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	102.5	0.066	5.9	---	85.8
实施例 63	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	91.66	0.057	5.92	---	75
实施例 69	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	98.13	0.053	5.3	---	---
实施例 77	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	154.1	0.014	6.09	---	---
实施例 78	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	178.2	0.043	6.02	---	---

[1775]

实施例 79	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2			6.48	---	---
实施例 82	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	119.2	0.064	6.03	---	---
实施例 83	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	128.5	0.005	6.15	---	---
实施例 85	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2			5.72	---	---
实施例 86	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	120.3	0.058	5.84	---	0
实施例 86	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	128.7	0.05	5.81	55.3	---
实施例 87	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	159.2	0.089	6.07	---	---
实施例 88	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	152.4	0.046	5.99	---	---
实施例 89	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	101.5	0.076	6.02	---	---
实施例 90	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	87.54	0.073	5.81	---	---
实施例 91	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	111.9	0.053	6.01	---	---
实施例 91	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	124.3	0.06	6.01	99.0	---
实施例 92	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	117.3	0.065	5.92	---	89.4
实施例 93	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	121.5	0.071	6.00	---	89.71
实施例 94	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	116.4	0.073	6.16	---	90
实施例 96	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	197.3	0.14	5.71	---	---
实施例 97	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	98.01	0.106	5.82	---	---
实施例 98	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	164.6	0.096	5.94	---	---

[1776]

实施例 99	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	96.61	0.061	5.75	---	---
实施例 100	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	105.9	0.121	6.17	---	26.9
实施例 100	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	106.4	0.07	5.69	94.0	---
实施例 101	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	---	---	6.32	---	---
实施例 104	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	---	---	6.02	---	---
实施例 106	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	149.3	0.083	6.04	---	---
实施例 107	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	191.7	0.071	6.11	---	---
实施例 109	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	91.98	0.09	5.98	---	68.97
实施例 110	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	183.3	0.071	5.66	---	---
实施例 111	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	161.9	0.048	6.27	---	---
实施例 112	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	96.1	0.1	6.08	---	86
实施例 113	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	87.5	0.132	6.03	---	57.6
实施例 114	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	94.9	0.1	5.97	---	44
实施例 115	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	89.0	0.1	5.87	---	78
实施例 116	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	87.5	0.094	5.67	---	29
实施例 117	---	---	---	---	---	---	5.46	---	---
实施例 118	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	84.8	0.058	5.67	---	46.3
实施例 119	Chol	DSPC	PEG- DMG	45/44/9/2	85.3	0.073	5.84	---	7.8



[1777]

实施例 120	<b>Chol</b>	<b>DSPC</b>	<b>PEG- DMG</b>	<b>45/44/9/2</b>	<b>96.5</b>	<b>0.056</b>	<b>6.31</b>	---	<b>83.7</b>
实施例 121	---	---	---	---	---	---		---	---
实施例 122	---	---	---	---	---	---	<b>5.06</b>	---	---
实施例 123	---	---	---	---	---	---	<b>6.08</b>	---	---
实施例 124	---	---	---	---	---	---	<b>7.11</b>	---	---
实施例 125	<b>Chol</b>	<b>DSPC</b>	<b>PEG- DMG</b>	<b>45/44/9/2</b>	<b>194.7</b>	<b>0.086</b>	<b>5.75</b>	---	---
实施例 126	<b>Chol</b>	<b>DSPC</b>	<b>PEG- DMG</b>	<b>45/44/9/2</b>	<b>95.2</b>	<b>0.075</b>	<b>5.54</b>	---	<b>31.7</b>

[1778] <sup>1</sup>在摩尔比中显示的脂质种类的顺序与它们在表中前四列中显示的顺序一致。

[1779] <sup>2</sup>pKa是指式(I)的阳离子脂质的pKa。

[1780] LS411N异种移植试验：

[1781] 将雌性Nu/Nu小鼠(6—8周龄)皮下植入 $5 \times 10^6$ 个LS411N细胞。在治疗开始前,采用卡尺监测肿瘤生长。在研究中随机选择并纳入携有 $150-250\text{mm}^3$ 皮下肿瘤的小鼠。将储备的siRNA制剂采用PBS稀释至 $0.3\text{m/ml}$ 用于给药。编入不同组的动物每天接受一次 $3\text{mg/kg}$  siRNA的IV推注,共三天。最后一次推注后24小时切除肿瘤,通过qRT-PCR评价靶基因的调节。

[1782] 在LS411N异种移植试验中测试包含式(I)脂质化合物和上述PLK1-424siRNA双序列的脂质纳米颗粒。该试验的结果在下面表5中以相对于对照的PLK-1mRNA降低百分数表示,给药剂量为 $3\text{mg/kg}$ ,每天单次给药,共三天。

[1783] 表5. 包含PLK1-424siRNA的脂质纳米颗粒和LS411N异种移植试验结果

[1784]

式(I)阳离子 脂质	中性脂 质	辅 助 脂质	隐形脂质	<sup>3</sup> 脂质摩 尔比	大 小 (nm)	PDI	<sup>4</sup> pKa	LS411 KD 3×3 mg/Kg
实施例 1	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	74.56	0.152	5.59	---
实施例 2	Chol	DSPC	S011	45/44/9/2	88.19	0.1	5.57	---
实施例 38	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	116.8	0.036	5.93	60
实施例 38	Chol	DSPC	PEG-DSG	45/44/9/2	116.8	0.036	5.93	58
实施例 39	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	114.3	0.039	5.91	55
实施例 42	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	181.1	0.06	5.93	50
实施例 43	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	150.7	0.046	5.85	40
实施例 52	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	132.2	0.06	5.96	50
实施例 52	Chol	DSPC	PEG-DSG	45/44/9/2	132.2	0.06	5.96	69
实施例 57	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	116.3	0.038	5.94	60
实施例 63	Chol	DSPC	PEG_DSG	45/44/9/2	108.6	0.047	5.9	66
实施例 91	Chol	DSPC	S010	45/44/9/2	136.1	0.032	6.01	45

[1785] <sup>3</sup>在摩尔比中显示的脂质种类的顺序与它们在表中前四列中显示的顺序一致。

[1786] <sup>4</sup>pKa是指式(I)的阳离子脂质的pKa。

[1787] 免疫研究

[1788] BALB/c采用DSPC、胆固醇和本发明的各种脂质(或者,采用阳离子脂质1,2-二亚油基氧基-N,N-二甲基-3-氨基丙烷或‘DLinDMA’作为比较)的脂质体进行免疫。脂质体包封0.1μg能够编码呼吸道合胞病毒F蛋白的“vA317”自我复制RNA复制子(参见W02012/031043)。作为阴性对照,小鼠接受1μg的“裸露(naked)”复制子。在第0和21天或第0和42天给药。每次给药后2周(2wp1,2wp2)评价免疫响应,在某些情况下,第二次给药后4周(4wp2)也对免疫响应评价。进行4个系列的试验,每个均有其自身的裸露对照(naked control)。在所有的试验中均对两个收集池中的血清进行评价,抗-RSV-F效价如下面表6所示。

[1789] 表6. 对抗RSV蛋白F的免疫效价

[1790]

式(I)的阳离子脂质	型式	2wp1 收集池 1	2wp1 收集池 2	2wp2 收集池 1	2wp2 收集池 2	4wp2 收集池 1	4wp2 收集池 2
裸露	A	115	264	692	5371	-	-
DLinDMA	A	819	954	18318	21731	-	-
实施例 2	A	217	259	12785	8232	-	-
实施例 13	A	495	620	7157	12316	-	-
实施例 14	A	1234	2089	44059	45246	-	-
实施例 9	A	1832	1352	29707	18788	-	-
裸露	B	155	48	3264	1440	4747	1954
DLinDMA	B	13	4	18290	5538	13936	7020
实施例 12	B	88	128	4550	4828	4787	3972
裸露	A	219	255	855	1052	1157	1726
DLinDMA	A	4336	6460	19155	19141	26504	28008
实施例 26	A	4	4	10	10	10	10
实施例 14	A	3098	3539	12785	14582	13687	18851
实施例 25	A	1217	1883	1611	1156	2850	1767
裸露	A	2699	905	5253	5491	4323	5008
DLinDMA	A	4585	3390	60395	56229	50799	35992
实施例 14	A	1192	1206	34906	28736	21375	21347
实施例 66	A	75	75	75	75	75	75
实施例 68	A	1031	494	11315	7800	12963	17734
实施例 81	A	1779	1553	24648	15304	41921	34684
实施例 29	A	2101	3584	12529	18669	23930	37278
实施例 70	A	1416	3110	31550	20124	18779	18358
实施例 69	A	2853	4481	23851	20793	19075	21504

[1791] 过程:A=第0和21天;B=第0和42天。

[1792] mRNA转录方案:

[1793] 构建环形质粒DNA模板,其包含由下列特征构成的mRNA转录盒(transcription cassette):共有序列(consensus) T7噬菌体DNA-依赖性RNA聚合酶启动子,5' 未转译区(UTR),Kozak序列和开放阅读框,3' UTR和120个核苷酸长度的多聚腺苷(polyA120)尾端。将该质粒DNA模板在大肠杆菌中繁殖、分离并通过限制性内切酶对poly120尾端3' 消化而线性化(linearized)。将质粒DNA与T7RNA聚合酶、核糖核苷酸、三磷酸盐、RNase抑制剂、焦磷酸酶、二硫苏糖醇、亚精胺和酶反应缓冲液混合,于37℃温育1小时。加入DNase I酶以消化质粒DNA模板,于37℃温育0.5小时。按顺序通过氯化锂沉淀、将沉淀在70%乙醇中洗涤、再将mRNA悬浮于水中、用异丙醇和乙酸钠再沉淀并将沉淀在70%乙醇中再次洗涤,分离mRNA。将最终的mRNA沉淀再次悬浮于水中。

	试剂	浓度	备注
[1794]	无核酸酶的水	保存体积	
	Tris-HCl pH 8.0 (mM)	40	
	MgCl <sub>2</sub> (mM)	20	
	ATP、CTP、GTP、UTP (mM)	4	
		4	制备 100% 的 PsU mRNA，在反应中不包含 UTP。制备 100% 的未改性的 mRNA，在反应中不包含 PsU。
	假尿苷 (mM)		
	DTT (mM)	10	
	亚精胺 (mM)	2	
	线性化质粒 DNA (ug/ul)	0.05	
	焦磷酸酶 (U/ul)	0.004	
	RNase 抑制剂 (U/ul)	1	
	T7 RNA 聚合酶(U/ul)	5	
	DNase I (U/ul)	0.04	
[1795]	TEV-hLeptin-GAopt-2xhBG-120A (序列号:5)		
[1796]	序列特征:		
[1797]	烟草蚀纹病毒(Tobacco Etch Virus) (TEV) 5' UTR:14—154		
[1798]	最佳Kozak序列:155—163		
[1799]	蛋白登记号NP_000221的编码人瘦素的氨基酸1-167,通过GeneArt优化的序列密码子:164—664		
[1800]	2终止密码子:665—670		
[1801]	人β-球蛋白3' UTR的2个副本:689—954		
[1802]	120个核苷酸的polyA尾端:961—1080		
[1803]	GGGAGACGCGUGUAAAAUAACAAAUCAACACAACAUUAUACAAAACAAACGAAUCUCAAGCAAUCAA GCAUUCUACUUCUAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUAAAAGCAAAAGCAAUUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUU ACGAACGAUAGCCGCCACCAUGCACUGGGGAACCCUGUGCGGAUUCUGUGGCUGUGGCCCUACCGUUCUAUGUG CAAGCCGUGCCCAUCCAGAAGGUGCAGGACGACACCAAGACCCUGAUCAAGACCAUCGUGACCCGGAUCAACGACA UCAGCCACACCCAGAGCGUGUCCAGCAAGCAGAAAGUGACCGGCCUGGACUUCAUCCCCGGCCUGCACCCUAUCCU GACCCUGUCCAAGAUGGACCAGACCCUGGCCGUGUACCAGCAGAUCCUGACCAGCAUGCCCAGCCGGAACGUGAUC CAGAUCAAGCAACGACCUGGAAAACCUGCGGGACCUGCUGCAGCUGUGGCCUUCAGCAAGAGCUGCCAUCUGCCUU GGGCCAGCGGCCUGGAAACCCUGGAUUCUCUGGGCGGAGUGCUGGAAGCCAGCGGCUACUCUACAGAGGUGGUGGC CCUGAGCAGACUGCAGGGCAGCCUGCAGGAUAUGCUGUGGCAGCUGGAUCUGAGCCCCGGCUGCUAAUAGCGGACC GGCGAUAGAUGAAGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAUUUUCUAUUAAAGGUCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAA ACUGGGGGGAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAAACAUUUUUUUCAUUGCAGCUCGC		

UUUCUUGCUGUCCAAUUCUAUUAAGGUUCCUUUGUUCCCUAAGUCCAACUACUAAACUGGGGGAUUAUAUGAAG  
GGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAACAUUUUAUUUCAUUGCGGCCGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
AA  
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA (序列号:5)

[1804] mRNA的包装:

[1805] 所有的设备和一次性用品均由生产商证明无RNase活性,或者通过使用RNaseZap试剂(LifeTechnologies)使其无RNase.mRNA以阳离子脂质胺与mRNA磷酸盐(N:P)摩尔比为4:1包封。将脂质(阳离子脂质、DSPC、胆固醇和脂质化(lipidated)PEG或隐形脂质)溶于乙醇。摩尔比分别为40:10:38:2。将混合物简单超声,然后轻轻搅拌5分钟,随后于37℃保存直到使用。采用Amicon UltR<sup>a</sup>-15离心浓缩器将mRNA交换到柠檬酸盐缓冲液(pH 5.8—6.0)中,将终浓度调节至0.5mg/ml,于37℃保存直到使用。等体积的脂质的乙醇溶液、mRNA的柠檬酸盐缓冲液和单独的柠檬酸盐缓冲液抽取到一次性注射器中。含有脂质和mRNA的注射器的管子与T型三头接头连接,将仅含有柠檬酸盐缓冲液的注射器的管子连接到离开T型接头的出口,下面连接有含有搅拌棒的收集容器,置于活动搅拌盘上。将注射器置于注射泵中,设定为以每分钟1mL的流速泵出内容物。

[1806] 将泵启动,将收集的脂质纳米颗粒中的mRNA转移至SnakeSkin透析管(10,000MWC0,Thermo Scientific)中。于4℃将物质对无RNase和无热原的1×磷酸盐缓冲的生理盐水透析过夜。

[1807] mRNA包封的测定:

[1808] 采用Quant-iT Ribogreen RNA分析试剂盒(Life Technologies)测定mRNA在脂质纳米颗粒中的包封百分率。将LNP-mRNA悬浮液在缓冲液(颗粒外mRNA)和缓冲液加Triton X-100去垢剂(总mRNA)中进行试验。计算的差即为颗粒内mRNA。通过试剂盒中提供的RNA制备1000ng/mL储备液,用于建立TE和TE+0.75%Triton X-100中的标准曲线(分别为0ng/ml、15.63—1000ng/ml)。以适当的稀释度制备TE缓冲液和TE缓冲液+0.75%Triton X-100中的LNP-mRNA样品,该稀释度应当使得读数位于标准曲线的范围内(400—2,000倍)。在384孔板(未经处理的Costar#3573)中,每个孔中加入0.04mL标准(一式二份)或样品(一式三份)。将Ribogreen试剂在TE缓冲液中稀释240倍,每个孔中加入0.06mL。将各个孔的内容物混合,测定荧光(激发光=480nm,发射光=520nm)。自标准和测试样品值中扣除背景值(没有RNA),采用标准曲线测定样品中RNA的浓度。通过(样品+Triton的浓度与样品在单独缓冲液中的浓度的差)除以(样品+Triton浓度)测定样品的包封百分率。

[1809] hLEPTIN

[1810] 小鼠尾静脉注射改性的合成瘦素mRNA

[1811] 在尾静脉注射前,记录小鼠的体重,饮食称重,根据其体重将小鼠分组。将小鼠在加热灯下加温约2分钟,小鼠距离加热灯约12英寸。

[1812] 为了进行尾静脉注射,将小鼠置于限制器中,将其尾部用70%酒精清洗。将与1mL注射器(Becton Dickinson,Catalogue#309659)连接的27号针头(Becton Dickinson,Catalogue#305109)植入尾静脉中,斜角面向上,将注射器柱塞向后拉以保证血液被抽取到注射器中。以适度的压力和速度手动注射需要体积的改性合成瘦素mRNA。然后将针头取出,用纱布按压注射部位止血。

[1813] 在体内研究中使用单独饲养的8—9周龄雄性C57BL/6小鼠。将其中尿苷被假尿苷取代的FPLC纯化的改性合成瘦素mRNA (序列号:5) 包封在阳离子脂质 (N:P摩尔比=8:1) 中, 然后在注射用生理盐水中稀释至剂量为每组平均体重10 $\mu$ g。

[1814] 在第0天, 将动物称重, 根据平均体重分类。在每个第1—7天和第9、11和16天, 对小鼠给药并记录食物的摄入 (FI)。

[1815] 小鼠皮下注射改性合成的瘦素mRNA

[1816] 在皮下注射前, 记录小鼠的体重, 饮食称重, 根据其体重将小鼠分组。将小鼠人工限制并置于工作台上。捏紧其后颈部并提起使之与下面的肌肉分离, 向该空间中插入与1mL注射器连接的25号针头。将注射器柱塞向后拉动, 确保没有液体被抽取到注射器中, 以适度的压力和速度手动注射需要体积的瘦素mRNA。然后将针头取出, 将小鼠放回到其笼子中。

[1817] 在体内研究中使用8—9周龄的雄性C57BL/6小鼠。将包封在多阳离子脂质中的其中尿苷被假尿苷取代的FPLC纯化的改性合成瘦素mRNA (SEQ ID NO:5) (N:P摩尔比=8:1) 在注射用生理盐水中稀释至剂量为每组平均体重10 $\mu$ g。

[1818] 在第0天, 将动物称重, 根据平均体重分类。小鼠于9AM给药, 于第0天的9AM取血。也在每个第1和2天的9AM取血, 测定瘦素蛋白水平。也要记录体重和食物摄取。

[1819] 小鼠血浆中的人瘦素通过ELISA测定。将购自R&D Systems duoset (Cat#DY398E, part#840279用于捕获抗体; part#840280用于检测抗体) 的抗体采用PBS重构, 测定效价 (titered), 再次用PBS重构。将捕获抗体在30 $\mu$ l/孔的白色 **Nunc**®Maxisorp 384孔板 (Cat#460372) 上以4 $\mu$ g/ml的浓度包被。于室温下温育过夜后, 将捕获抗体抽出, 将板采用90 $\mu$ l/孔的KPL牛奶封闭剂 (milk blocker) (Cat#50-82-00) 于室温下封闭2小时。温育完成后, 将板中液体吸出, 向板中加入30 $\mu$ l/孔的重组标准物和样品, 于37 $^{\circ}$ C 2小时, 同时以600rpm速度振摇。采用酪蛋白样品稀释液制备样品/标准物稀释液。然后采用100 $\mu$ l/孔的Teknova板洗涤溶液 (Cat#P1192) 洗涤/吸取3次。然后, 采用酪蛋白检测抗体稀释液将检测抗体稀释至12.5ng/ml, 以30 $\mu$ l/孔的量加入, 于室温下2小时。该温育后, 将板再次洗涤, 向每个孔中加入聚-链霉亲和素-HRP (Cat#21140) 在HRP稀释缓冲液中的1:1250稀释度的溶液 (30 $\mu$ l/孔), 于室温下温育30分钟。最终的洗涤/吸取除去HRP溶液, 以30 $\mu$ l/孔的量加入化学发光底物 (Cat#1859678和1859679)。采用Spectra<sup>®</sup>maxM5读板仪以50ms的整合时间 (integration time) 迅速读板。ELISA的动态范围为100—2,000pg/ml (6.25—125pM) 人瘦素。该试验适用于小鼠、大鼠和猕猴的血浆。

[1820]

实施例号	%包封	大小 (nm)	PDI	瘦素表达 IV- C57Bl/6, 24 h (ng/mL)	瘦素表达 SC- C57Bl/6, 24 h (ng/mL)
38	90.9	142.3	0.083	17.21	0.99
39	73.1	156.0	0.090	10.47	0.79
43	71.1	176.0	0.042	13.56	0.66
52	95.1	143.9	0.109	21.18	0.85
57	96.0	127.8	0.102	9.17	
59	87.0	134.7	0.106	8.08	1.16

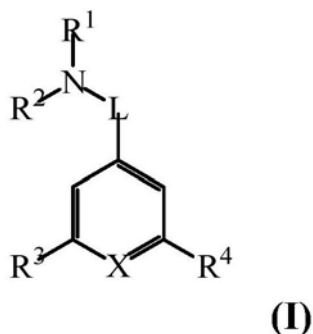
[1821]

78	71.1	164.0	0.150	0.96	
79	91.6	140.5	0.116	1.36 (6h)	
85	93.1	134.8	0.125	1.78	
90	80.9	164.7	0.090	0.74	
92	72.5	134.2	0.073	1.34	

[1822] 实施方案举例说明

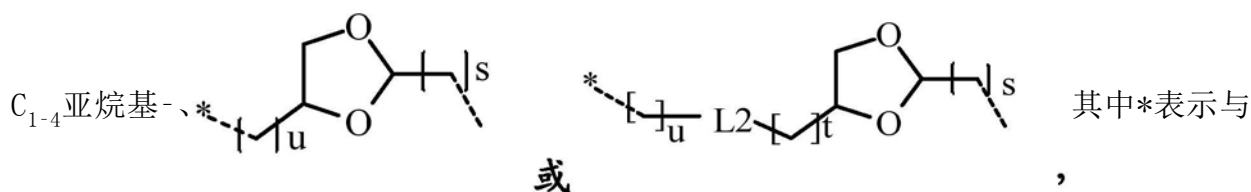
[1823] 实施方案1. 本发明提供了式 (I) 化合物或其可药用的盐:

[1824]



[1825] 其中:

[1826] L为C<sub>1-6</sub>亚烷基、C<sub>2-6</sub>亚链烯基、C<sub>2-6</sub>亚炔基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-C<sub>3-7</sub>亚环烷基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-C<sub>3-7</sub>亚环烯基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-C<sub>3-7</sub>亚环炔基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-、\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-

NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团的连接部分:

[1827] L2, 以任何一个方向连接的, 为-O-、-S-、-C(O)-、-C(O)O-、-OC(O)O-、-CONH-、S(O)<sub>2</sub>NH-、NHCONH-或NHCSNH-;

[1828] 每个s独立为0、1或2;

[1829] 每个t独立为0、1、2、3或4;

[1830] u为0、1、2、3、4、5或6;

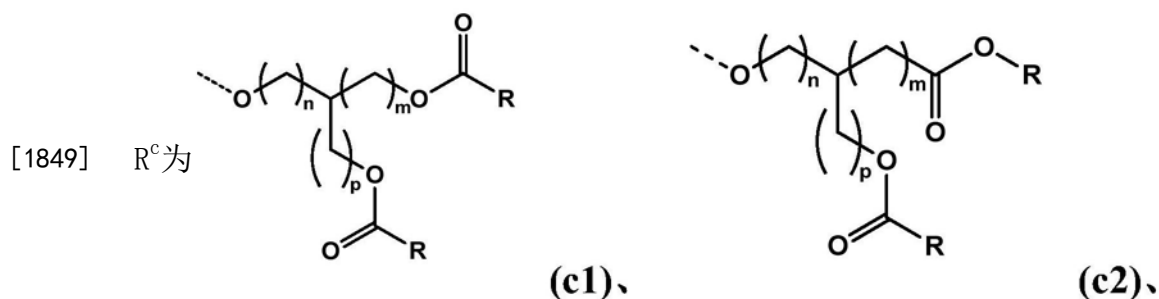
[1831] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立为任选取代的C<sub>1-6</sub>烷基、任选取代的C<sub>2-6</sub>链烯基、任选取代的C<sub>2-6</sub>炔基、任选取代的C<sub>3-7</sub>环烷基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、任选取代的C<sub>3-7</sub>环烯基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-、任选取代的C<sub>3-7</sub>环炔基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-或任选取代的苯基-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-; 其中所述C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>2-6</sub>链烯基、C<sub>2-6</sub>炔基、C<sub>3-7</sub>环烷基、C<sub>3-7</sub>环烯基、C<sub>3-7</sub>环炔基和苯基任选被1或2个各自独立选自下列基团的取代基取代: OH、C<sub>1-3</sub>烷氧基、COOH和COO-C<sub>1-4</sub>烷基,

[1832] 或者

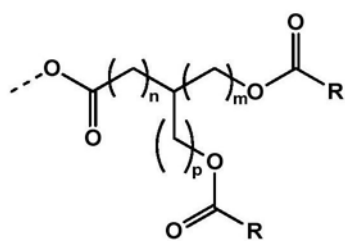
[1833] R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>一起结合形成任选取代的4-12元杂环环, 所述杂环环任选被1-3个各自独立选自下列基团的取代基取代: OH、卤素、C<sub>1-3</sub>烷基、C<sub>1-3</sub>烷氧基、二甲基氨基、-COO-C<sub>1-4</sub>烷基、苯基、哌啶基和吗啉基;

[1834] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>各自独立为:[1835] (a) -Z<sup>1</sup>-R<sup>a</sup>,

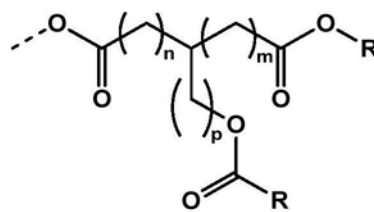
- [1836] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,  
 [1837] (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,  
 [1838] (d)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^b-Z^4-R^a$ ,  
 [1839] (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ ,  
 [1840] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,  
 [1841] (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,  
 [1842] (h)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^b-Z^4-R^a$ ,  
 [1843] (i)  $-R^c$ ,  
 [1844] (j)  $-Z^1-R^b-R^c$ , 或  
 [1845] (k)  $-R^b-Z^1-R^b-R^c$ ;  
 [1846] 其中  $Z^1$ 、 $Z^2$ 、 $Z^3$  和  $Z^4$ , 以任何一个方向连接的, 各自独立为  $-O-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)O-$  或  $CONH-$ ;  
 [1847]  $R^a$  为  $C_{2-22}$  烷基、 $C_{2-22}$  链烯基或  $C_{2-22}$  炔基;  
 [1848] 每个  $R^b$  独立为  $C_{1-20}$  亚烷基、 $C_{2-20}$  亚链烯基或  $C_{2-20}$  亚炔基;



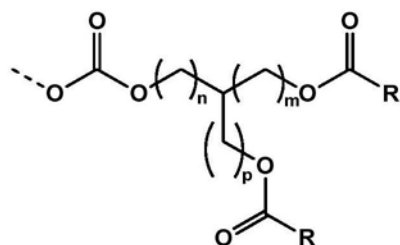




(c3)、

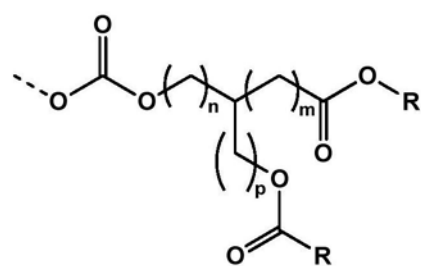


(c4)、

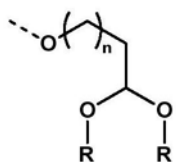


(c5)、

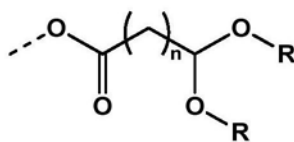
[1850]



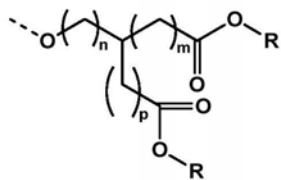
(c6)、



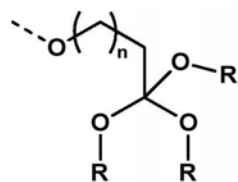
(c7)、



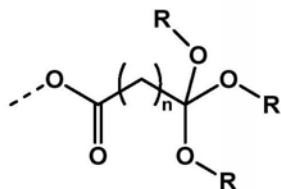
(c8)、



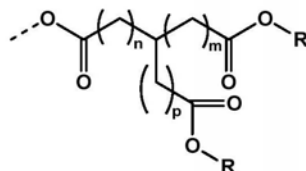
(c9) 、



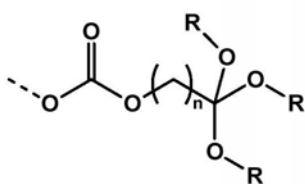
(c10) 、



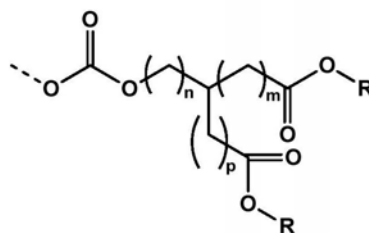
(c11) 、



(c12) 、

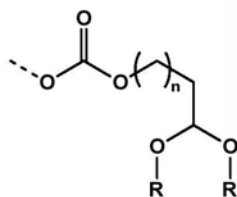


(c13) 、

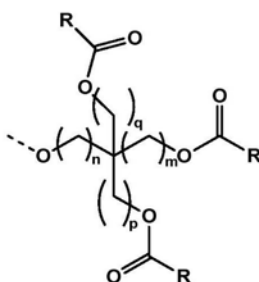


(c14) 、

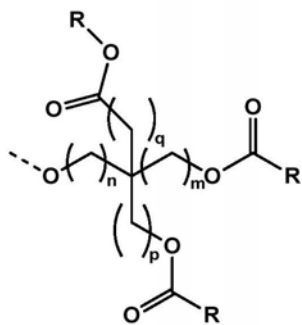
[1851]



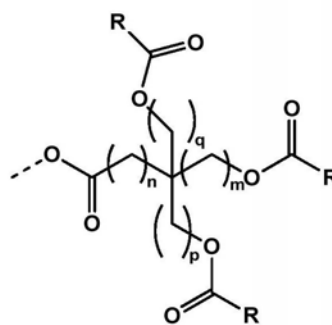
(c15)、



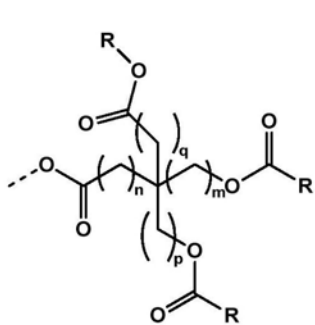
(c16)、



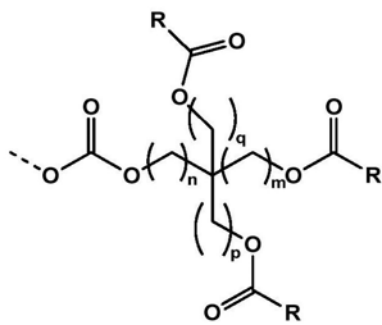
(c17)、



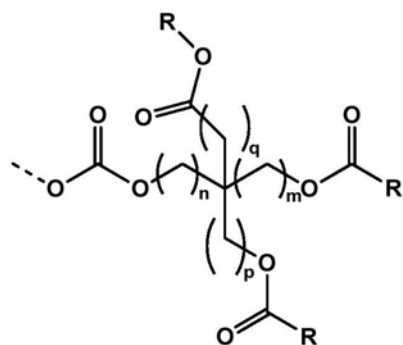
(c18)、



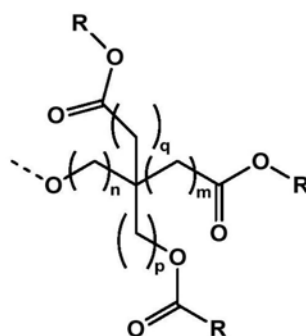
**(c19).**



**(c20)、**

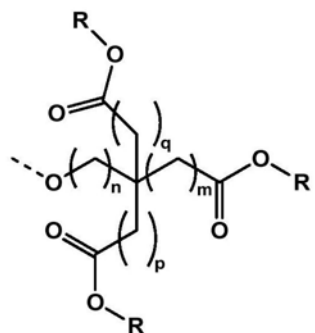


**(c21)、**

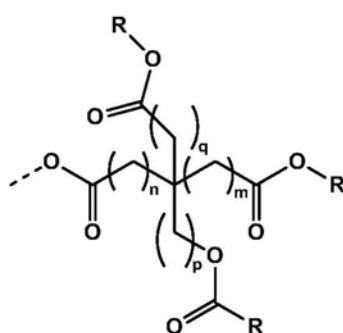


**(c22)、**

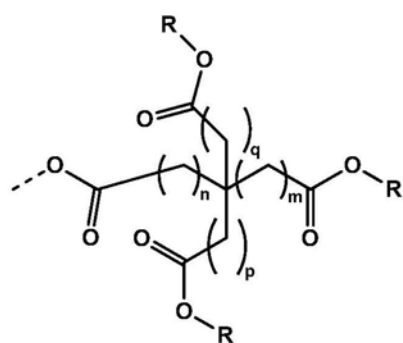
[1852]



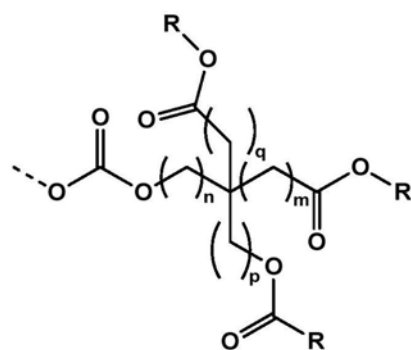
**(c23)、**



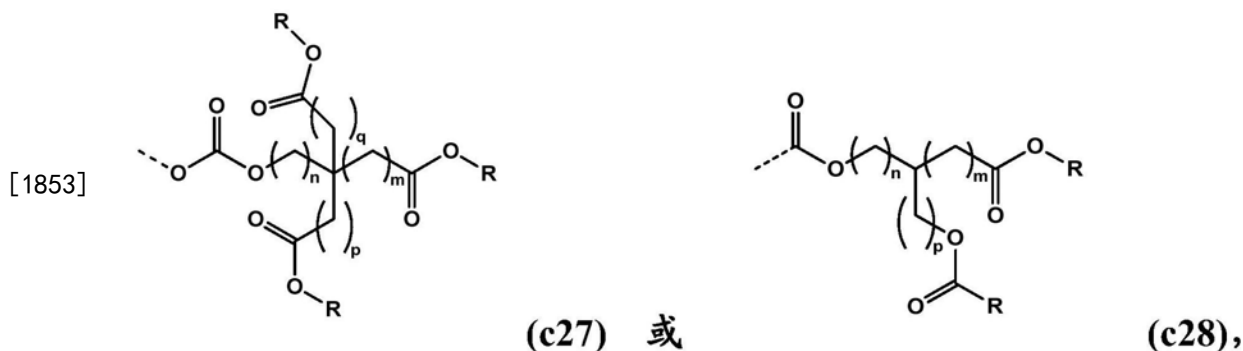
**(c24)、**



**(c25).**



**(c26)、**



[1854] R为C<sub>5-22</sub>烷基、C<sub>5-22</sub>链烯基或C<sub>5-22</sub>炔基；

[1855] n为0—12；

[1856] m、p和q各自独立为0、1、2、3或4；

[1857] 前提是链(a) — (h) 具有12—30个碳原子，链(i) — (k) 具有12—70个碳原子；

[1858] X为CR<sup>6</sup>或N；并且

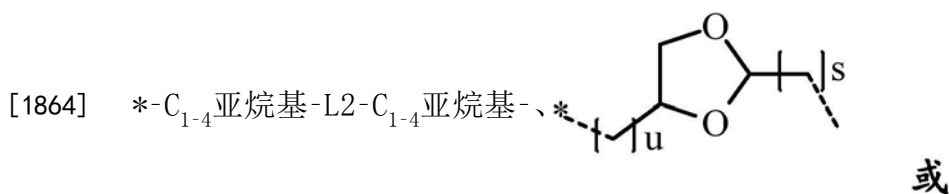
[1859] R<sup>6</sup>为H、卤素、C<sub>1-6</sub>烷基或R<sup>4</sup>。

[1860] 实施方案2.实施方案1的化合物或其可药用的盐，其中X为CR<sup>6</sup>。

[1861] 实施方案3.实施方案2的化合物或其可药用的盐，其中R<sup>6</sup>为H、氯、溴或C<sub>1-3</sub>烷基。

[1862] 实施方案4.实施方案3的化合物或其可药用的盐，其中R<sup>6</sup>为H。

[1863] 实施方案5.实施方案4的化合物或其可药用的盐，其中L为C<sub>1-6</sub>亚烷基、\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-、



[1865] 实施方案6.实施方案5的化合物或其可药用的盐，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立为任选取代的C<sub>1-6</sub>烷基或者R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>一起结合形成任选取代的4—7元杂环。

[1866] 实施方案7.实施方案6的化合物或其可药用的盐，其中：

[1867] L为亚甲基、亚乙基或亚丙基，或

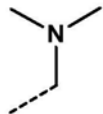
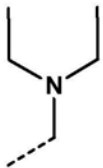
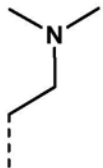
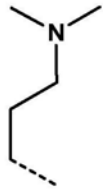
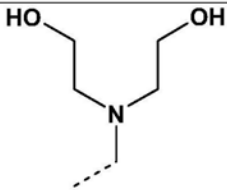
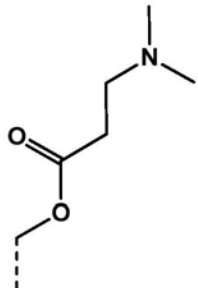
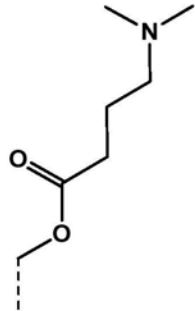
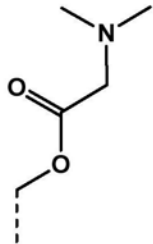
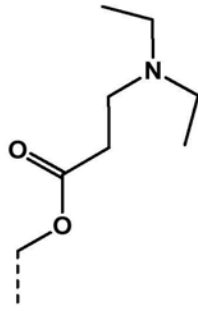
[1868] L为\*-C<sub>1-3</sub>亚烷基-OC(O)-，或

[1869] L为\*-C<sub>1-4</sub>亚烷基-L2-C<sub>1-2</sub>亚烷基-，其中L2，以任何一个方向连接的，为C(O)O或OC(O)O。

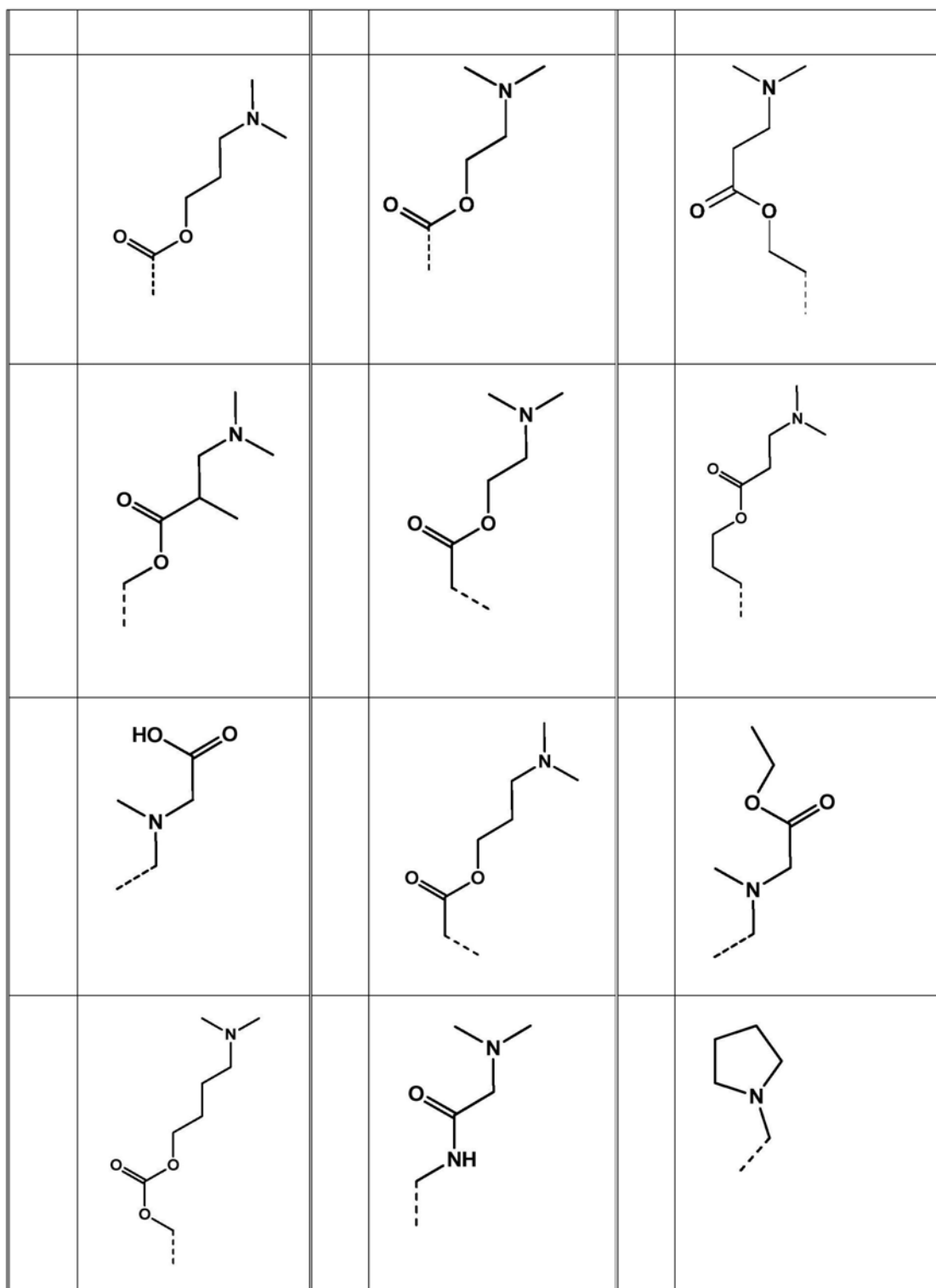
[1870] 实施方案8.实施方案7的化合物或其可药用的盐，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>各自独立为任选取代的甲基或任选取代的乙基。

[1871] 实施方案9.实施方案4的化合物或其可药用的盐，其中式(I)的L-NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>基团选自下列基团：

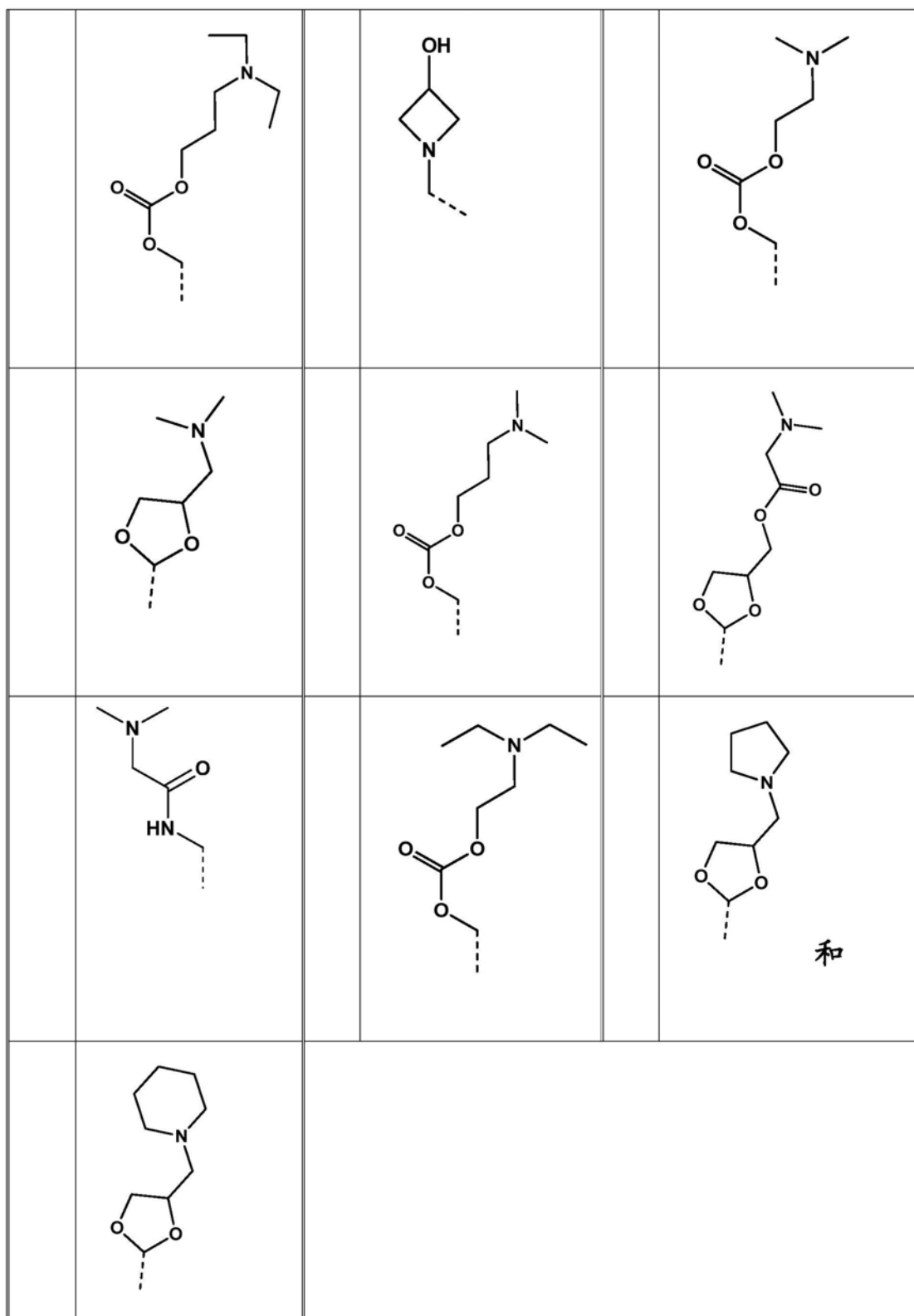
[1872]

结构	结构	结构
		
		
		

[1873]



[1874]

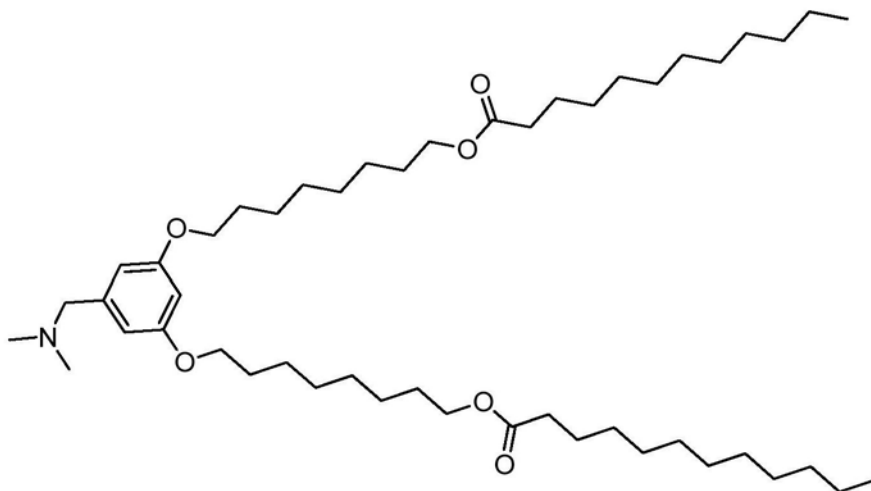


[1875] 其中虚线表示与式(I)的连接点。

[1876] 实施方案10. 实施方案9的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为:[1877] (a)  $-Z^1-R^a$ ,[1878] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,[1879] (c)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,

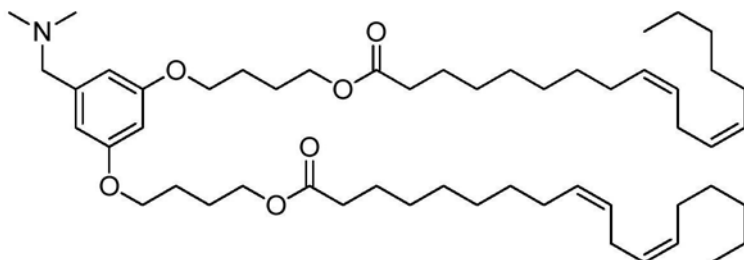
- [1880] (e)  $-R^b-Z^1-R^a$ ,  
 [1881] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ ,  
 [1882] (g)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^b-Z^3-R^a$ ,  
 [1883] (i)  $-R^c$ , 或  
 [1884] (j)  $-Z^1-R^b-R^c$ .  
 [1885] 实施方案11. 实施方案10的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为:  
 [1886] (a)  $-Z^1-R^a$ ,  
 [1887] (b)  $-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ , 或  
 [1888] (f)  $-R^b-Z^1-R^b-Z^2-R^a$ .  
 [1889] 实施方案12. 实施方案11的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为 (b) -  $Z^1-R^b-Z^2-R^a$ .  
 [1890] 实施方案13. 实施方案12的化合物或其可药用的盐, 其中 $Z^1$ 为  $-O-$ ;  $R^b$ 为  $C_{1-10}$  亚烷基;  $Z^2$ 为  $OC(O)-$ ;  $R^a$ 为  $C_{5-18}$  烷基或具有1-3个双键的  $C_{11-18}$  链烯基。  
 [1891] 实施方案14. 实施方案10的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为 (i) -  $R^c$ ;  $R^c$ 为  $c1$  或  $c3$ ;  $n$ 为1或2;  $m$ 为0或1;  $p$ 为1。  
 [1892] 实施方案15. 实施方案1-14中任一项的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^4=R^3$ .  
 [1893] 实施方案16. 具有下列结构式的实施方案1的化合物或其可药用的盐:

[1894]



[1895] 实施方案17. 具有下列结构式的实施方案1的化合物或其可药用的盐:

[1896]



[1897] 实施方案18. 脂质组合物, 其包含实施方案1-17中任一项的化合物或其可药用的盐。

[1898] 实施方案19. 实施方案18的脂质组合物, 其还包含生物活性成分。



- [1899] 实施方案20.实施方案19的脂质组合物,其中所述生物活性成分为siRNA。
- [1900] 实施方案21.实施方案20的脂质组合物,其还包含辅助脂质。
- [1901] 实施方案22.实施方案21的脂质组合物,其还包含中性脂质。
- [1902] 实施方案23.实施方案22的脂质组合物,其还包含隐形脂质。
- [1903] 实施方案24.实施方案23的脂质组合物,其中所述辅助脂质为胆固醇,所述中性脂质为DSPC,所述隐形脂质为PEG-DMG、S010或S011。
- [1904] 实施方案25.实施方案24的脂质组合物,为脂质纳米颗粒的形式。
- [1905] 实施方案26.实施方案25的脂质组合物,其中式(I)化合物/胆固醇/DSPC/S010或S011的摩尔比为约44/约45/约9/约2。
- [1906] 实施方案27.药用组合物,其包含实施方案19—26中任一项的脂质组合物和可药用的载体或赋形剂。
- [1907] 实施方案28.治疗疾病或病症的方法,该方法包括给予需要治疗的患者治疗有效量的实施方案19—26中任一项的脂质组合物的步骤。
- [1908] 实施方案29.治疗疾病或病症的方法,该方法包括给予治疗有效量的实施方案27的药用组合物。
- [1909] 实施方案30.实施方案19的脂质组合物,其中所述生物活性成分为mRNA。
- [1910] 实施方案31.实施方案30的脂质组合物,其还包含辅助脂质。
- [1911] 实施方案32.实施方案31的脂质组合物,其还包含中性脂质。
- [1912] 实施方案33.实施方案32的脂质组合物,其还包含隐形脂质。
- [1913] 实施方案34.实施方案33的脂质组合物,其中所述辅助脂质为胆固醇,所述中性脂质为DSPC,所述隐形脂质为PEG-DMG、S010、S011或S024。
- [1914] 实施方案35.实施方案34的脂质组合物,其为脂质纳米颗粒形式。
- [1915] 实施方案36.实施方案35的脂质组合物,其中式(I)化合物/胆固醇/DSPC/S010、S011或S024的摩尔比为约40/约38/约10/约2。
- [1916] 实施方案37.药用组合物,其包含实施方案30—36中任一项的脂质组合物和可药用的载体或赋形剂。
- [1917] 实施方案38.治疗疾病或病症的方法,该方法包括给予需要治疗的患者治疗有效量的实施方案30—36中任一项的脂质组合物的步骤。
- [1918] 实施方案39.治疗疾病或病症的方法,该方法包括给予治疗有效量的实施方案37的药用组合物。
- [1919] 实施方案40.实施方案11的化合物或其可药用的盐,其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为(a)- $Z^1-R^a$ ,其中 $Z^1$ 为-O-、-OCO-或CONH-, $R^a$ 为具有1—3个双键的 $C_{12-18}$ 链烯基。
- [1920] 实施方案41.实施方案13的化合物或其可药用的盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 均为甲基,L为亚甲基。
- [1921] 实施方案42.实施方案41的化合物或其可药用的盐,其中 $R^3$ 和 $R^4$ 相同; $R^b$ 为 $C_{3-9}$ 亚烷基; $R^a$ 为具有两个双键的 $C_{16-18}$ 链烯基。
- [1922] 实施方案43.实施方案41的化合物或其可药用的盐,其中 $R^3$ 和 $R^4$ 相同; $R^b$ 为 $C_{3-9}$ 亚烷基; $R^a$ 为 $C_{7-11}$ 烷基。
- [1923] 实施方案44.实施方案10和11的化合物或其可药用的盐,其中 $R^a$ 为 $C_{2-22}$ 烷基或 $C_{2-22}$

链烯基。

[1924] 实施方案45. 实施方案44的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为(a) -  $Z^1-R^a$ , 其中 $R^a$ 为 $C_{12-18}$ 链烯基。

[1925] 实施方案46. 实施方案45的化合物或其可药用的盐, 其中 $R^3$ 和 $R^4$ 各自独立为(a) -  $Z^1-R^a$ , 其中 $R^a$ 为 $C_{16-18}$ 链烯基。

[0001] 序列表

[0002] <110> 诺华股份有限公司  
[0003] <120> 用于传递活性成分的脂质和脂质组合物  
[0004] <130> PAT055439-W0-PCT  
[0005] <140> PCT/IB2014/059503  
[0006] <141> 2014-03-06  
[0007] <150> 61/918,162  
[0008] <151> 2013-12-19  
[0009] <150> 61/774,759  
[0010] <151> 2013-03-08  
[0011] <160> 5  
[0012] <170> PatentIn 版本3.5  
[0013] <210> 1  
[0014] <211> 21  
[0015] <212> RNA  
[0016] <213> 人工序列  
[0017] <220>  
[0018] <221> 来源  
[0019] <223> /注释="人工序列的描述：合成的寡核苷酸"  
[0020] <220>  
[0021] <221> 修饰的碱基  
[0022] <222> (3) .. (3)  
[0023] <223> 2'-O-甲基-核苷酸  
[0024] <220>  
[0025] <221> 修饰的碱基  
[0026] <222> (13) .. (13)  
[0027] <223> 2'-O-甲基-核苷酸  
[0028] <220>  
[0029] <221> 修饰的碱基  
[0030] <222> (18) .. (18)  
[0031] <223> 2'-O-甲基-核苷酸  
[0032] <220>  
[0033] <221> 修饰的碱基  
[0034] <222> (20) .. (21)  
[0035] <223> 2'-O-甲基-核苷酸  
[0036] <400> 1  
[0037] uuuuauugaa accaagacau u  
[0038] <210> 2  
[0039] <211> 21  
[0040] <212> RNA  
[0041] <213> 人工序列

21

[0042]	<220>	
[0043]	<221> 来源	
[0044]	<223> /注释="人工序列的描述：合成的寡核苷酸"	
[0045]	<220>	
[0046]	<221> 修饰的碱基	
[0047]	<222> (1) .. (1)	
[0048]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0049]	<220>	
[0050]	<221> 修饰的碱基	
[0051]	<222> (3) .. (6)	
[0052]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0053]	<220>	
[0054]	<221> 修饰的碱基	
[0055]	<222> (9) .. (12)	
[0056]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0057]	<220>	
[0058]	<221> 修饰的碱基	
[0059]	<222> (15) .. (16)	
[0060]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0061]	<220>	
[0062]	<221> 修饰的碱基	
[0063]	<222> (20) .. (21)	
[0064]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0065]	<400> 2	
[0066]	ugucuugguu ucaauuaau u	21
[0067]	<210> 3	
[0068]	<211> 21	
[0069]	<212> RNA	
[0070]	<213> 人工序列	
[0071]	<220>	
[0072]	<221> 来源	
[0073]	<223> /注释="人工序列的描述：合成的寡核苷酸"	
[0074]	<220>	
[0075]	<221> 修饰的碱基	
[0076]	<222> (8) .. (8)	
[0077]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0078]	<220>	
[0079]	<221> 修饰的碱基	
[0080]	<222> (17) .. (17)	
[0081]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0082]	<220>	
[0083]	<221> 修饰的碱基	

[0084]	<222> (20) .. (21)	
[0085]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0086]	<400> 3	
[0087]	uauuuuaagga gggugaucuu u	21
[0088]	<210> 4	
[0089]	<211> 21	
[0090]	<212> RNA	
[0091]	<213> 人工序列	
[0092]	<220>	
[0093]	<221> 来源	
[0094]	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的寡核苷酸"	
[0095]	<220>	
[0096]	<221> 修饰的碱基	
[0097]	<222> (5) .. (7)	
[0098]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0099]	<220>	
[0100]	<221> 修饰的碱基	
[0101]	<222> (11) .. (14)	
[0102]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0103]	<220>	
[0104]	<221> 修饰的碱基	
[0105]	<222> (19) .. (21)	
[0106]	<223> 2'-O-甲基-核苷酸	
[0107]	<400> 4	
[0108]	agaucacccu ccuuaauau u	21
[0109]	<210> 5	
[0110]	<211> 1080	
[0111]	<212> RNA	
[0112]	<213> 人工序列	
[0113]	<220>	
[0114]	<221> 来源	
[0115]	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多核苷酸"	
[0116]	<400> 5	
[0117]	gggagacgcg uguuaauuaa caaaucucaa cacaacauau acaaaacaaa cgaaucucaa	60
[0118]	gcaaucaagc auucuacuuc uauugcagca auuuaaaauca uuucuuuuua agcaaaagca	120
[0119]	auuuucugaa aaauuucacc auuuacgaac gauagccgcc accaugcacu ggggaacccu	180
[0120]	gugcggauuc cuguggcugu ggcccuaccu guucuaugug caagccgugc ccauccagaa	240
[0121]	ggugcaggac gacaccaaga ccugaucaa gaccaucgug acccggauga acgacauag	300
[0122]	ccacaccag agcgugucca gcaagcagaa agugaccggc cuggacuua uccccggccu	360
[0123]	gcaccuauuc cugaccugcu ccaagaugga ccagaccug gccguguacc agcagaucuu	420
[0124]	gaccagcaug cccagccgga acgugaucua gaucagcaac gaccuggaaa accugcgga	480
[0125]	ccugcugcac gugcuggccu ucagcaagag cugccaucug ccuugggcca gcggccugga	540

---

[0126]	aaccucggau ucucugggcg gagucugga agccagcggc uacucuacag aggugguggc 600
[0127]	ccugagcaga cugcagggca gccugcagga uaugcugugg cagcuggauc ugagccccgg 660
[0128]	cugcuauuag cggaccggcg auagaugaag cucgcuuucu ugcuguccaa uuucuauuaa 720
[0129]	agguuccuuu guucccuaag uccaacuacu aaacuggggg auauuaugaa gggccuugag 780
[0130]	caucuggauu cugccuaaua aaaaacauuu auuuucauug cagcucgcuu ucuugcuguc 840
[0131]	cauuuucuau uaaagguucc uuuguucccu aaguccaacu acuaaacugg gggauauuau 900
[0132]	gaagggccuu gagcaucugg auucugccua auaaaaaaca uuuaauuua uugcgccgc 960
[0133]	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020
[0134]	aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080