



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119072464 A

(43) 申请公布日 2024. 12. 03

(21) 申请号 202380035765.6

S · 阿迪卡里 R · 埃德曼

(22) 申请日 2023.03.24

(74) 专利代理机构 北京汇知杰知识产权代理有限公司 11587

(30) 优先权数据

专利代理师 杨巍 柴春玲

63/323,948 2022.03.25 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int. Cl.

2024.10.23

C07D 207/16 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 9/127 (2006.01)

PCT/US2023/016300 2023.03.24

C07D 211/60 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

C07D 403/04 (2006.01)

W02023/183616 EN 2023.09.28

C07D 403/12 (2006.01)

(71) 申请人 赛欧生物医药股份有限公司

A61K 31/445 (2006.01)

地址 美国马萨诸塞州

A61K 31/40 (2006.01)

(72) 发明人 A · 巴尔托洛齐 J · 普劳德富特

A · 阿迪卡里 S · 帕特尔 A · 豪

D · 萨勒诺 J · 尤尼恩

权利要求书29页 说明书216页 附图1页

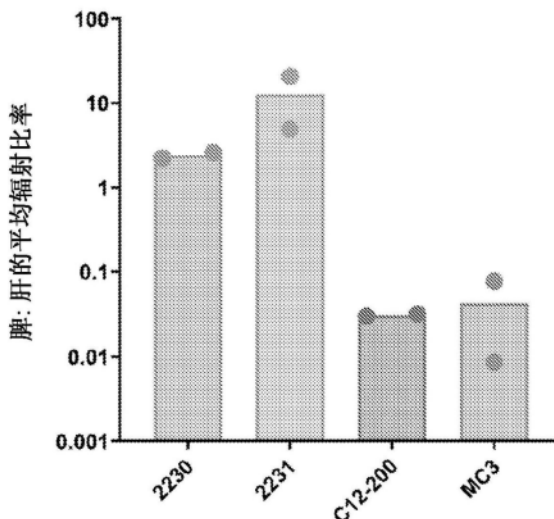
(54) 发明名称

新型可电离脂质和脂质纳米颗粒以及其使用方法

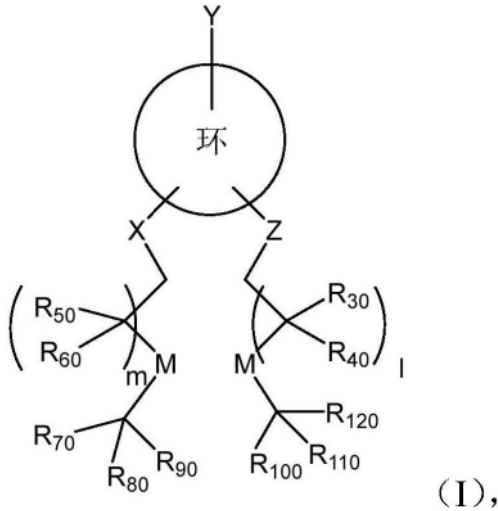
(57) 摘要

本公开涉及可以用于递送治疗剂的新型可电离脂质以及包括这些可电离脂质的脂质组合物和药物组合物。

脾与肝的比率



1. 一种式 (I) 的化合物:



其药学上可接受的盐或前述中的任一者的立体异构体,  
其中:



Y是烷基、羟基、羟烷基或  $\text{-}\overset{\text{S}}{\text{---}}\text{-A}\overset{\text{t1}}{\text{---}}\text{W}$ ;

A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-或二价杂环;

X和Z中的每一者独立地不存在,是-O-、-CO-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-; -亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟基、羟烷基或氨基烷基;

每个M独立地是可生物降解部分;

R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>70</sub>、R<sub>80</sub>、R<sub>90</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基;

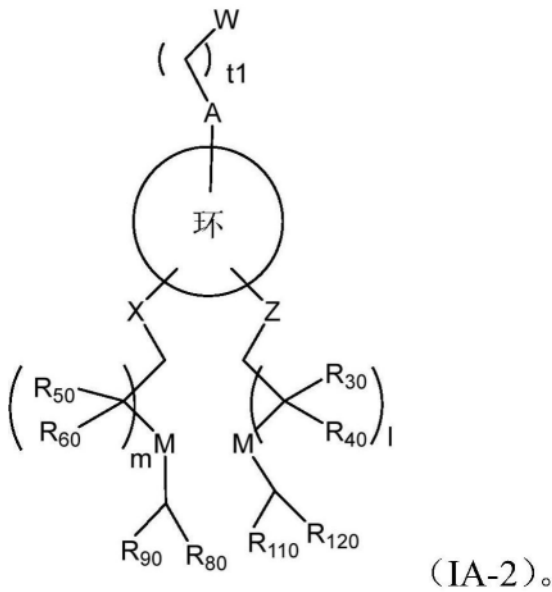
l和m中的每一者是1至10的整数;

t1是0至10的整数;并且

W是羟基、经取代的或未经取代的羟烷基、经取代的或未经取代的氨基、经取代的或未经取代的氨基羰基或经取代的或未经取代的杂环基或杂芳基。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中Y是羟基或  $\text{-}\overset{\text{S}}{\text{---}}\text{-A}\overset{\text{t1}}{\text{---}}\text{W}$ 。

3. 根据权利要求2所述的化合物,其具有以下结构:



4. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中环具有式 的结构,

其中:

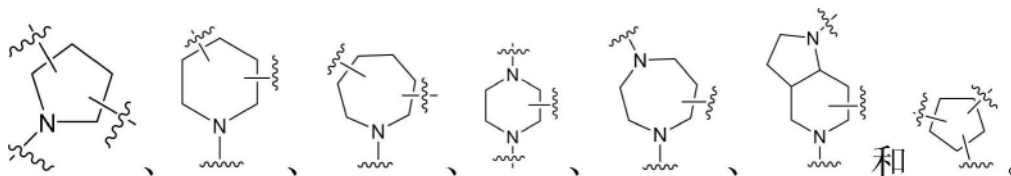
$G_1$ 、 $G_2$ 、 $G_3$ 、 $G_4$ 、 $G_5$ 、 $G_6$ 和 $G_7$ 中的每一者独立地是C(R') (R'')、O或N,条件是 $G_1$ - $G_7$ 中的不超过两者是O或N;

R'和R''各自独立地不存在,是H、烷基或来自一起形成第二5至7元环状环或杂环的两个相邻G的两个R';并且

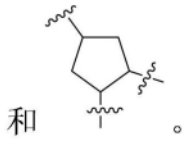
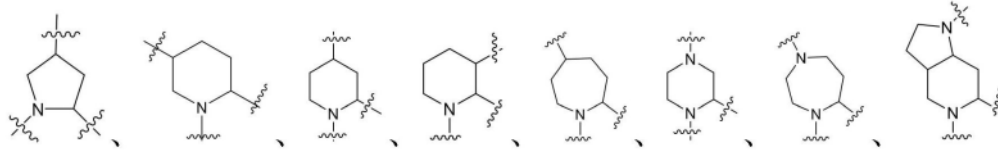
$n_1$ 和 $n_2$ 各自独立地是0或1。

5. 根据权利要求4所述的化合物,其中环选自由以下组成的组:吡咯烷、哌啶、哌嗪、环己烷、环戊烷、四氢呋喃、四氢吡喃、吗啉和二噁烷。

6. 根据权利要求4所述的化合物,其中环选自由以下组成的组:



7. 根据权利要求6所述的化合物,其中环选自由以下组成的组:



8. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中X不存在,是-O-或-C(O)-。

9. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中Z是-O-、-C(O)O-或-OC(O)-。

10. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>和R<sub>60</sub>中的每一者是H或C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>支链或非支链烷基。

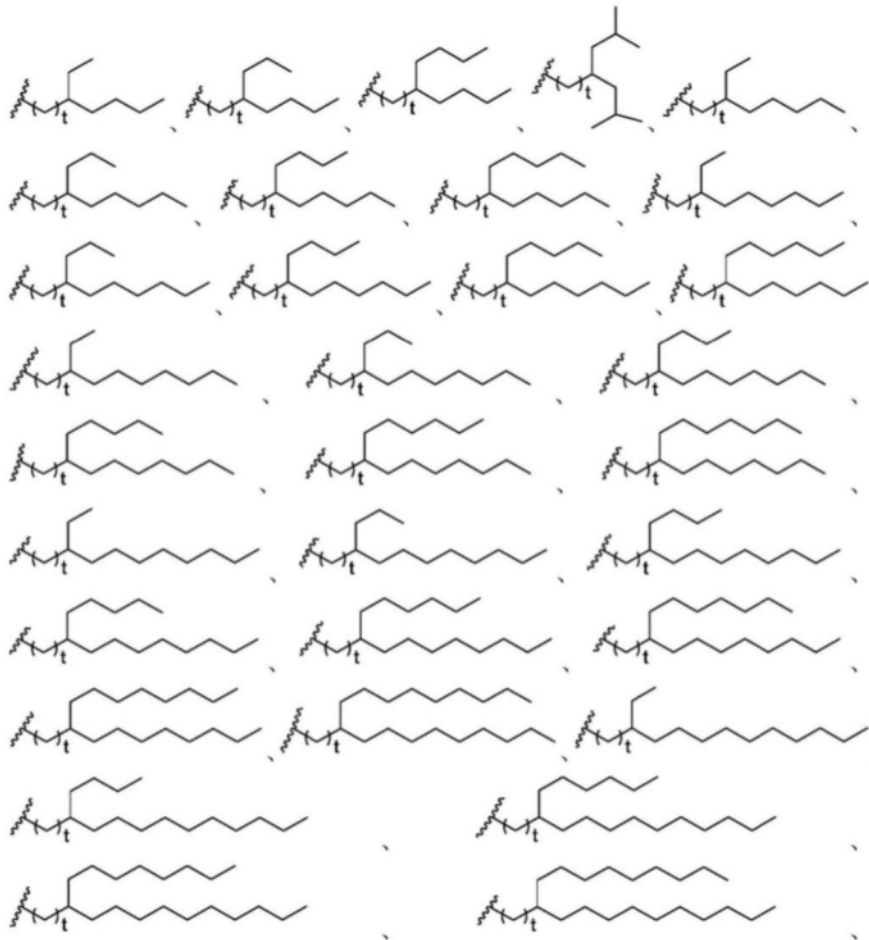
11. 根据权利要求10所述的化合物,其中R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>和R<sub>60</sub>中的每一者是H。

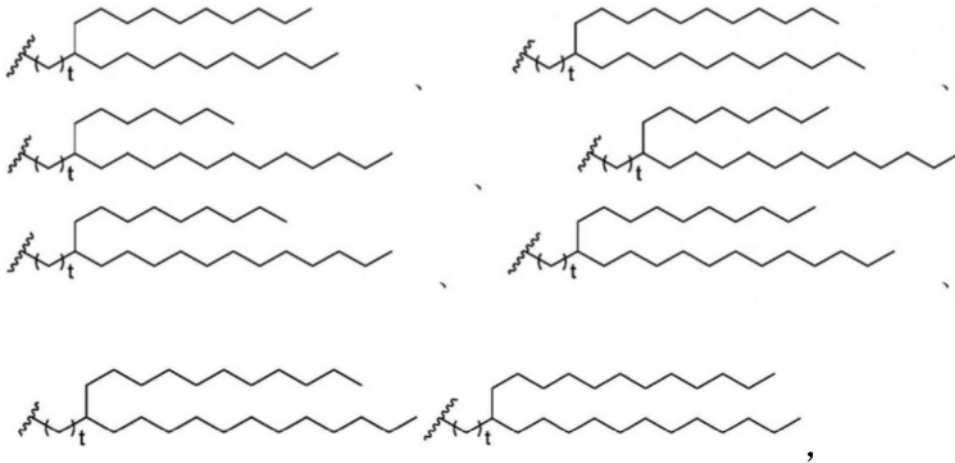
12. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中:

R<sub>70</sub>是H;并且R<sub>80</sub>和R<sub>90</sub>中的每一者独立地是H或C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>支链或非支链烷基;并且

R<sub>100</sub>是H;并且R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H或C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>支链或非支链烷基,条件是R<sub>80</sub>和R<sub>90</sub>中的至少一者不是H,并且R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的至少一者不是H。

13. 根据权利要求12所述的化合物,其中 或 独立地选自由以下组成的组:





其中t是0、1、2、3、4或5。

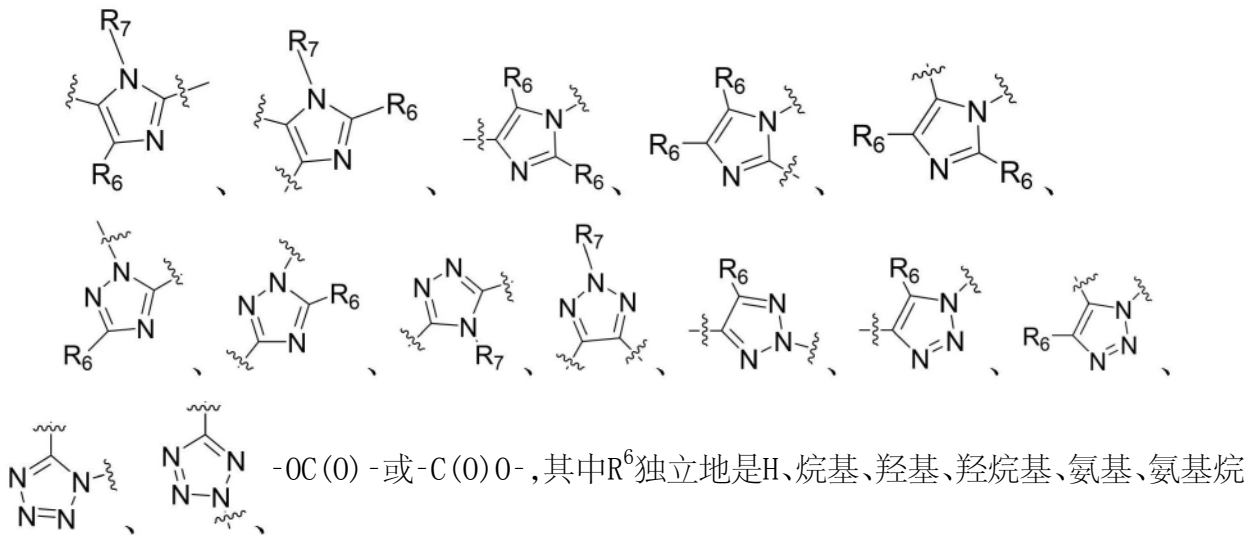
14. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中1是3至7的整数。

15. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中m是1至5的整数。

16. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中M是-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(O-R<sub>13</sub>)-O-、-C(O)O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-或-C(O-R<sub>13</sub>)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-,其中每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基;R<sub>13</sub>是支链或非支链C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>烷基,并且r是1、2、3、4或5。

17. 根据权利要求16所述的化合物,其中M是-OC(O)-或-C(O)O-。

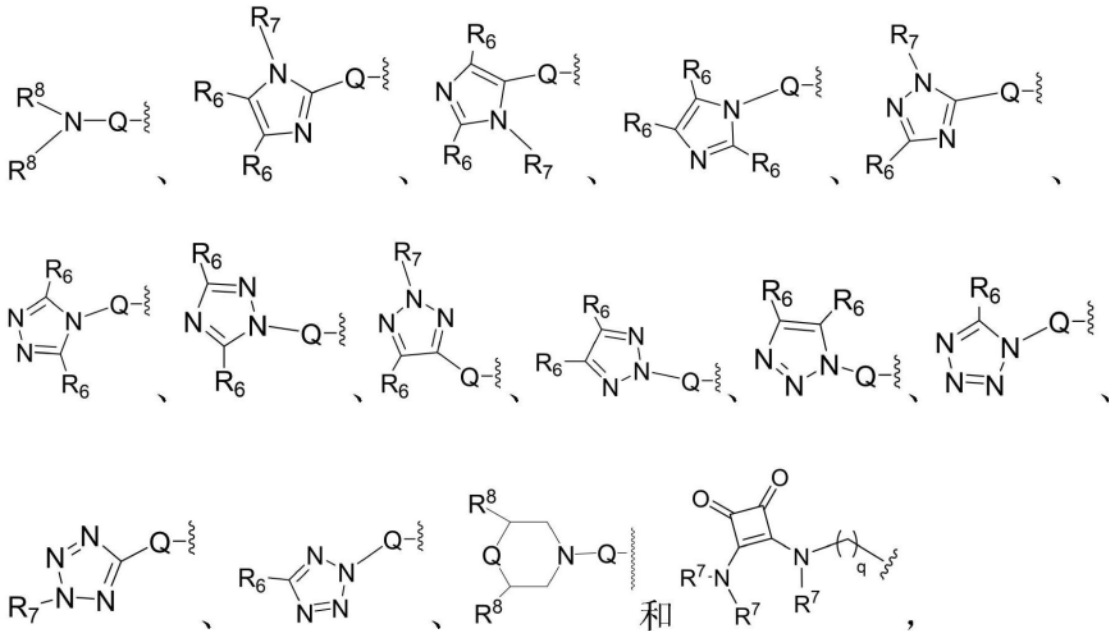
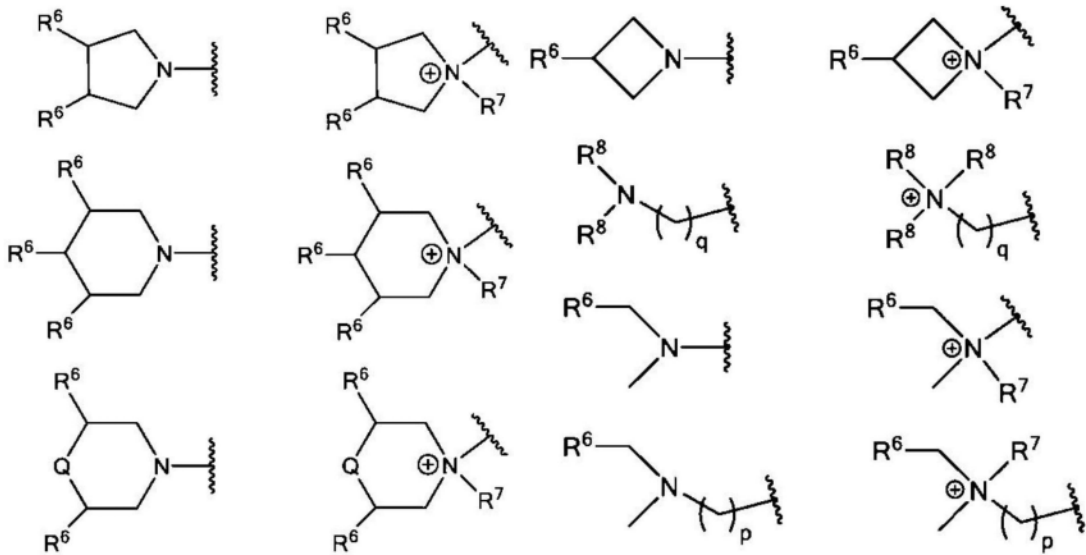
18. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、



基、硫醇、硫醇烷基或N<sup>(R<sup>7</sup>)</sup><sub>3</sub>-亚烷基-Q-;并且R<sup>7</sup>是H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基。

19. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中t1是0、1、2、3或4。

20. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者:



其中：

每个Q独立地不存在，是-O-、-C(O)-、-C(S)-、-C(O)O-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(S)N(R<sup>7</sup>)-或-N(R<sup>7</sup>)-；

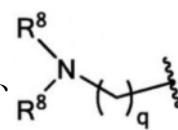
每个R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、硫醇烷基或N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-亚烷基-Q-；

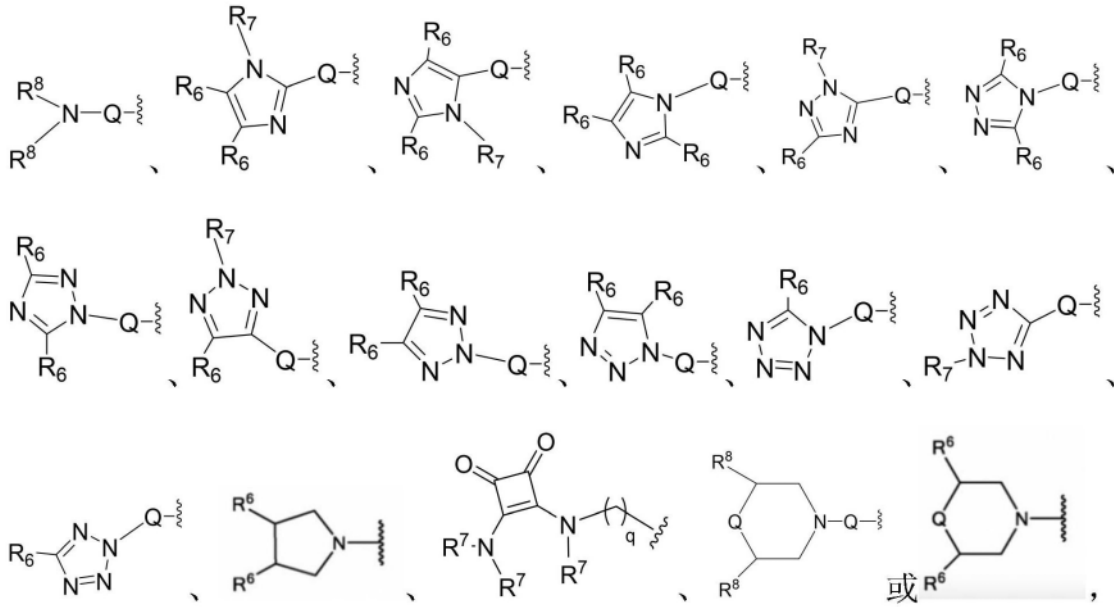
每个R<sup>8</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基，或者两个R<sup>8</sup>与氮原子一起可形成环；

每个q独立地是0、1、2、3、4或5；并且

每个p独立地是0、1、2、3、4或5。

21. 根据权利要求1或3所述的化合物，其中W是OH、





其中:

q是0,

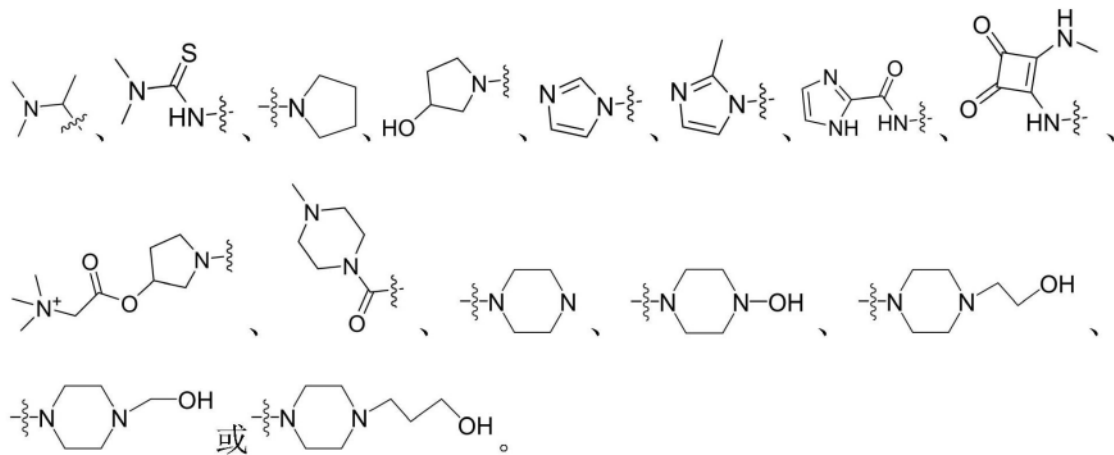
每个R<sup>8</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或羟烷基,或者两个R<sup>8</sup>与氮原子一起形成任选地被一个或多个烷基取代的5元环,

每个R<sup>6</sup>独立地是H、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或-Q-亚烷基-N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>,

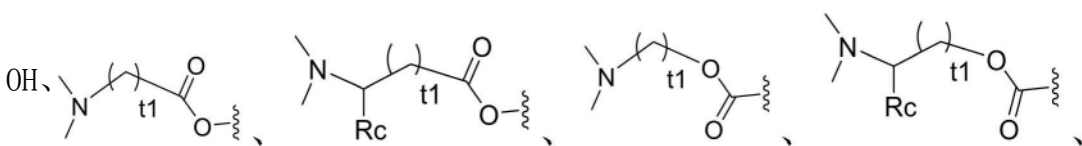
每个Q独立地不存在,是-O-、-C(O)-、-N(R<sup>7</sup>)-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)O-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-C(S)N(R<sup>7</sup>)-,并且

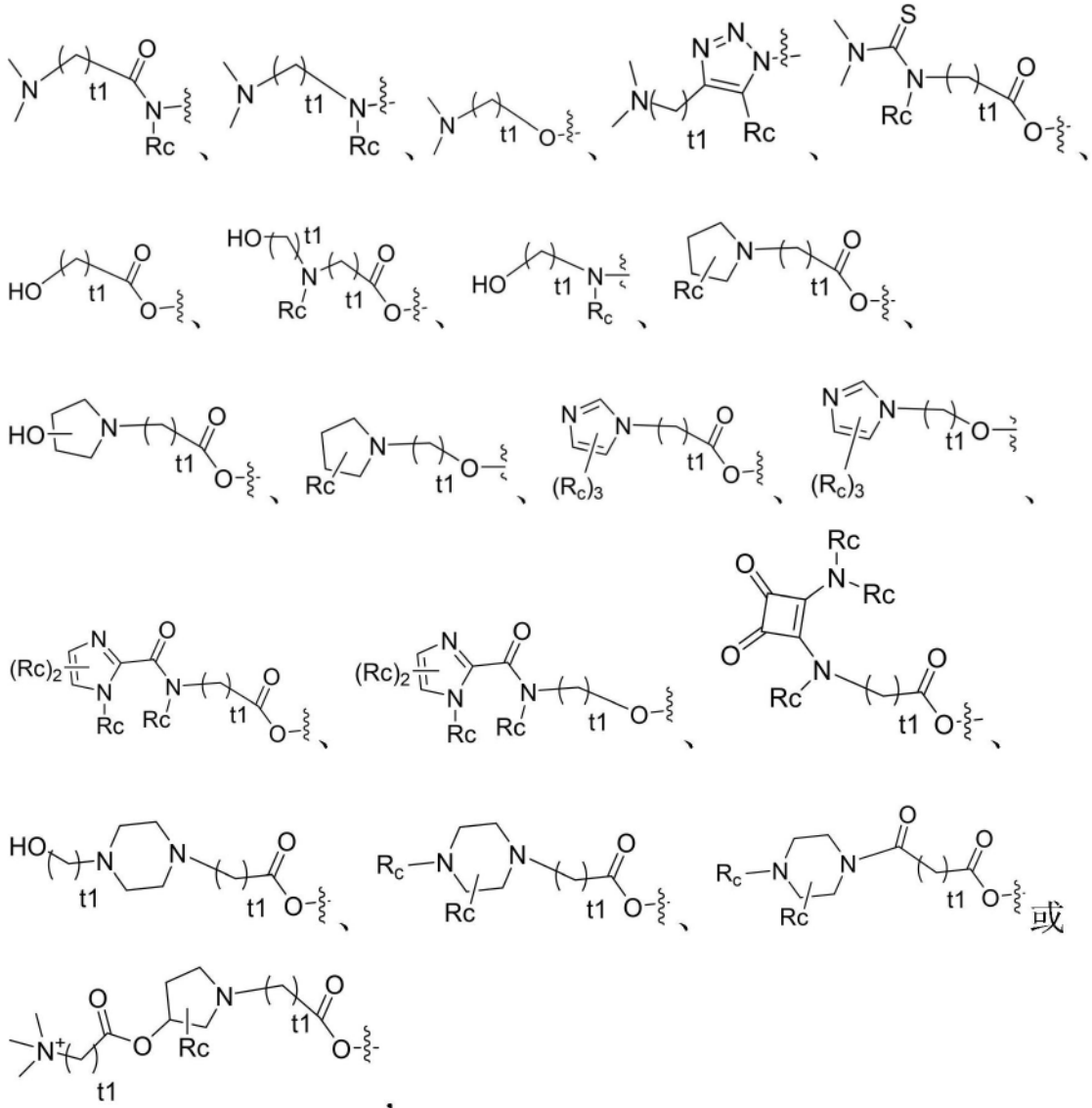
每个R<sup>7</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、羟基或羟烷基。

22. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中W是OH、、、



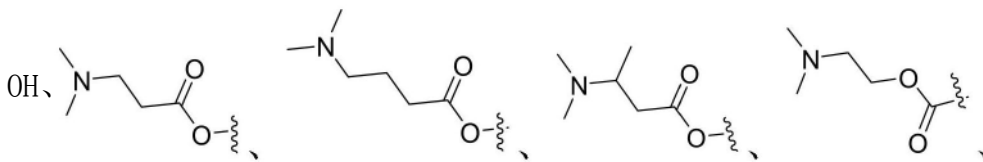
23. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中Y或<sub>t1</sub>W是:

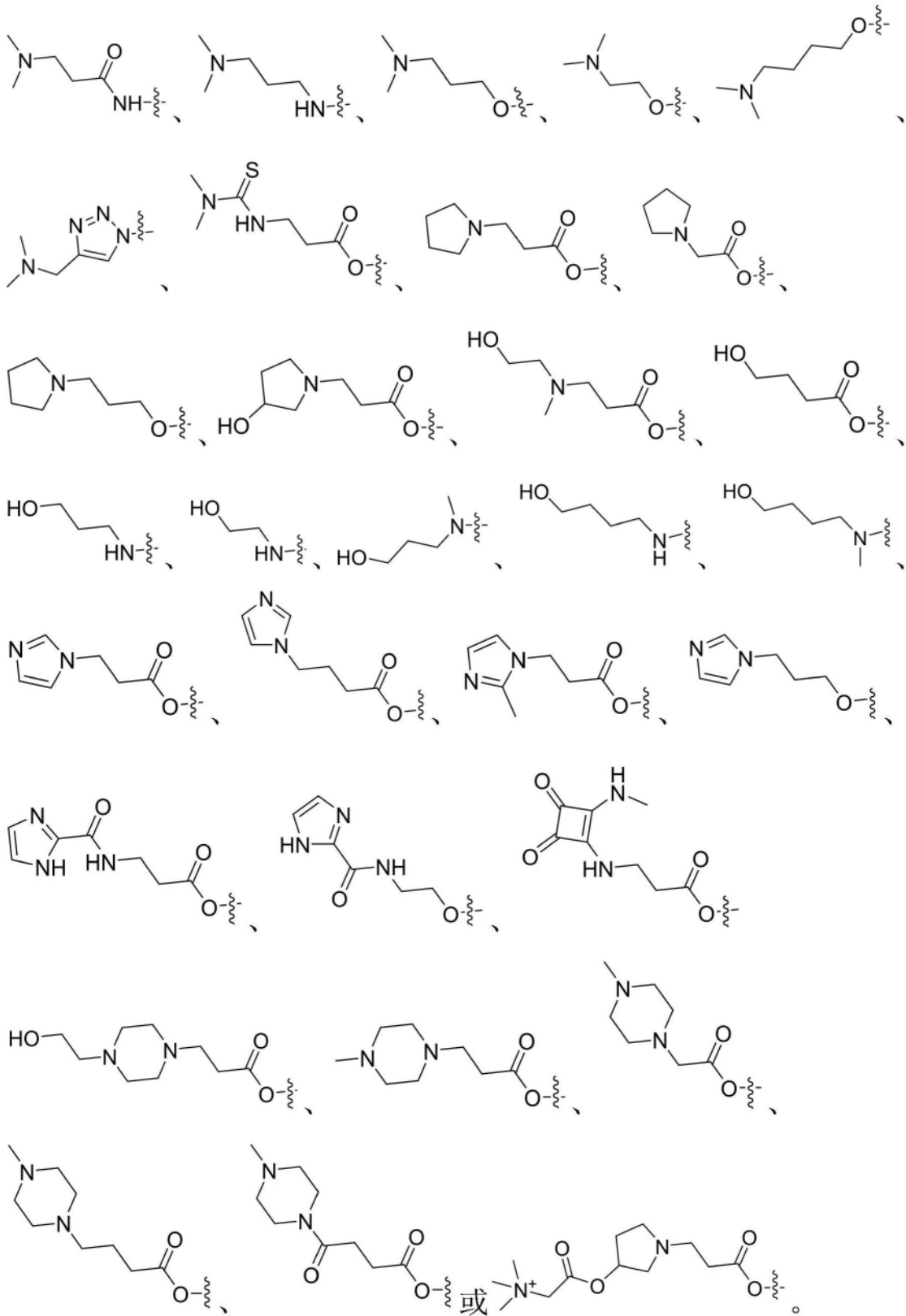




其中每个R<sup>c</sup>独立地是H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基,并且每个t<sub>1</sub>独立地是1、2、3或4。

24. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中Y或  $\text{---} \text{A} \text{---} \text{W}$  是:





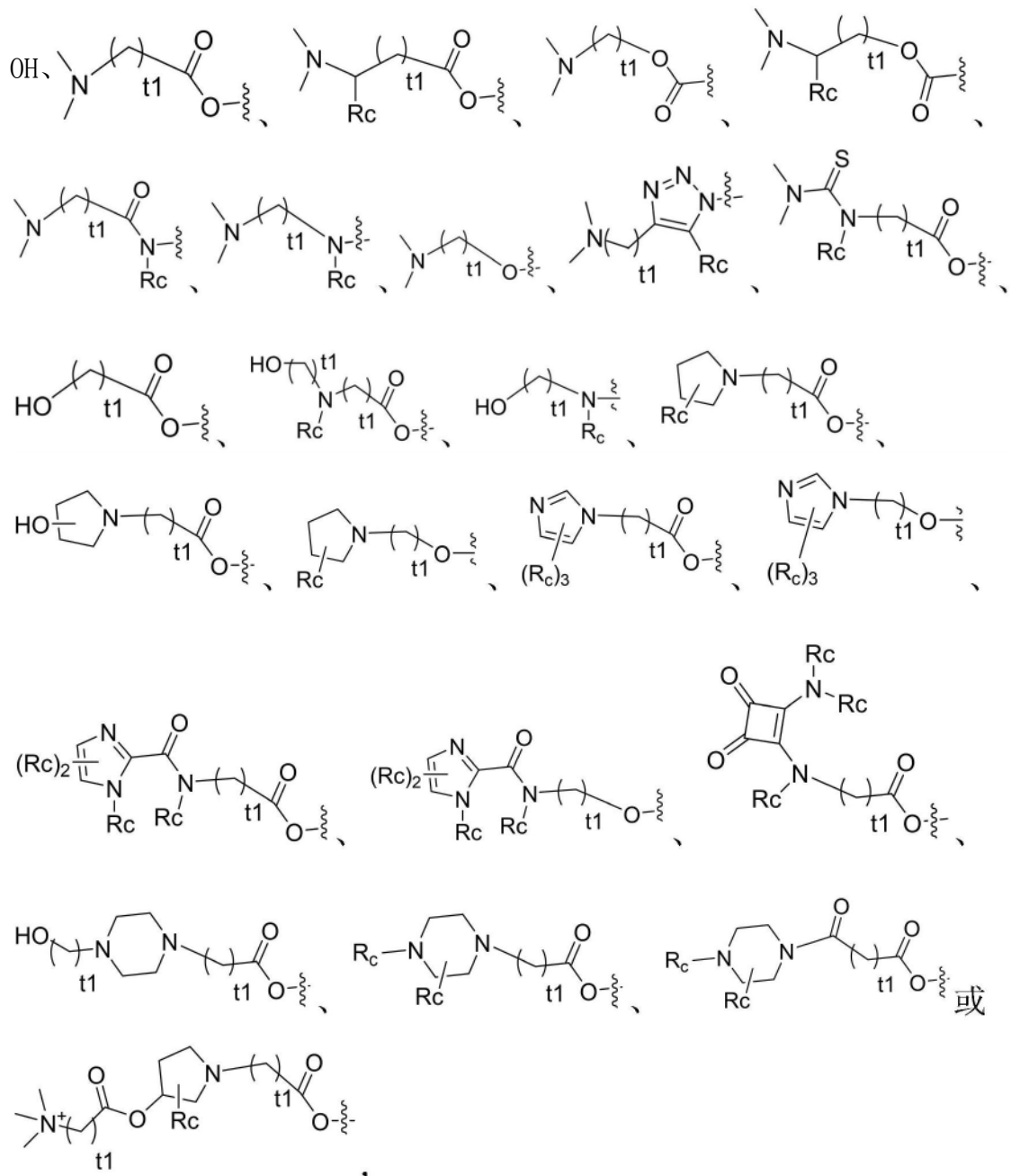
25. 根据权利要求1或3所述的化合物,其中:

X不存在,是-O-或-C(O)-;

Z是-O-、-C(O)O-或-OC(O)-;

M是-OC(O)-或-C(O)O-;

Y或  $\text{---A---}$   $\text{---W}$  是:



每个  $R^c$  独立地是 H 或  $C_1$ - $C_3$  烷基;

每个  $t_1$  独立地是 1、2、3 或 4;

$R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$  和  $R_{60}$  中的每一者是 H 或  $C_1$ - $C_4$  支链或非支链烷基;

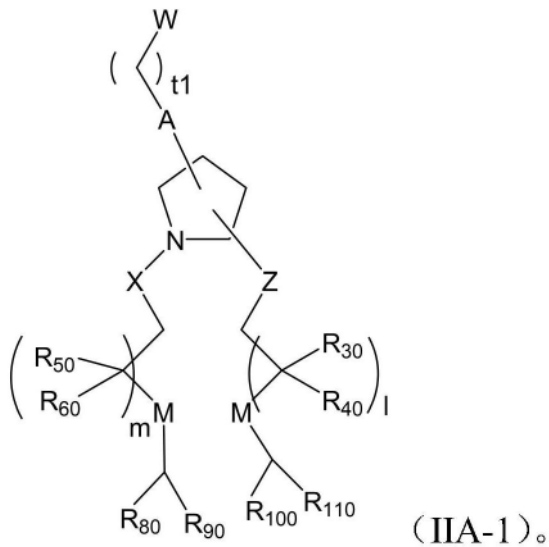
$R_{70}$  是 H; 并且  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1$ - $C_{12}$  支链或非支链烷基;

$R_{100}$  是 H; 并且  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1$ - $C_{12}$  支链或非支链烷基, 条件是  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的至少一者不是 H, 并且  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的至少一者不是 H;

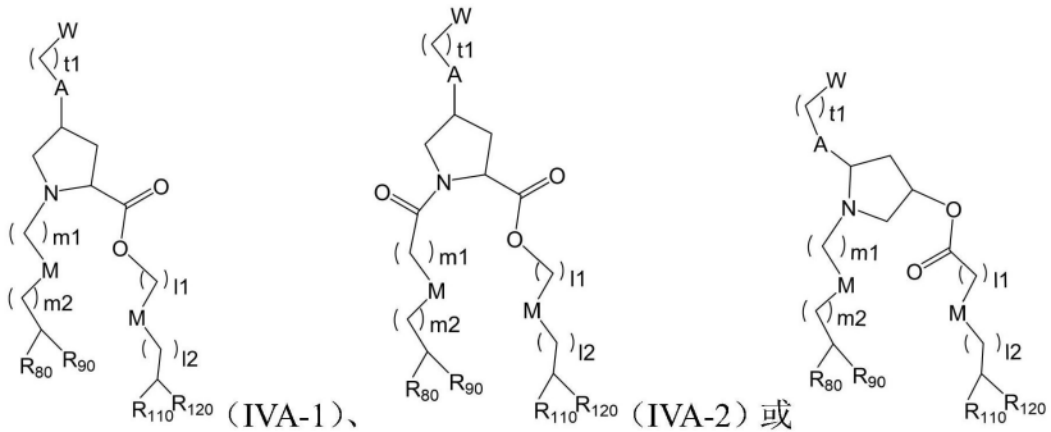
1 是 3 至 7; 并且

m 是 1 至 5。

26. 根据权利要求 1 至 25 中任一项所述的化合物, 其具有下式:



27. 根据权利要求26所述的化合物,其具有下式:



其中:

每个 $m_1$ 独立地是3至6的整数,

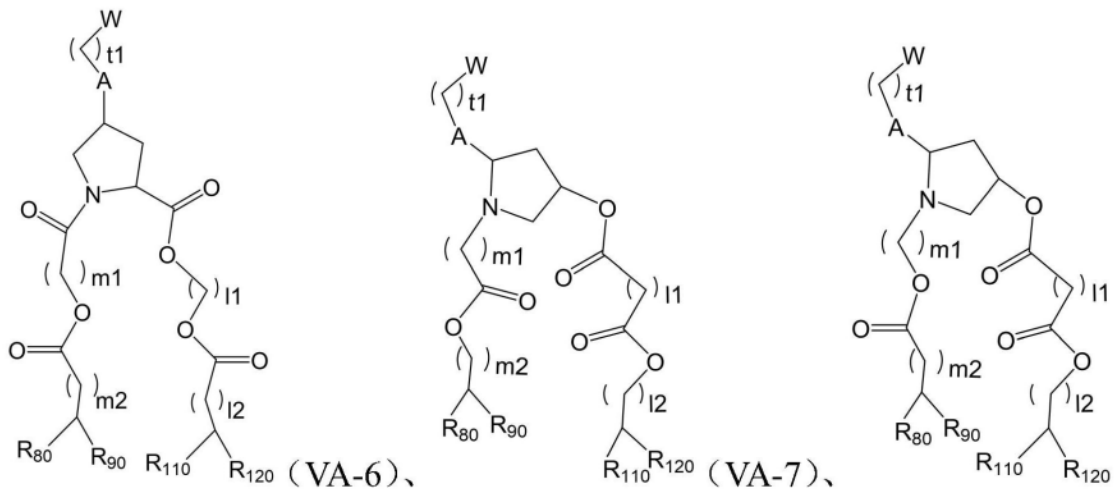
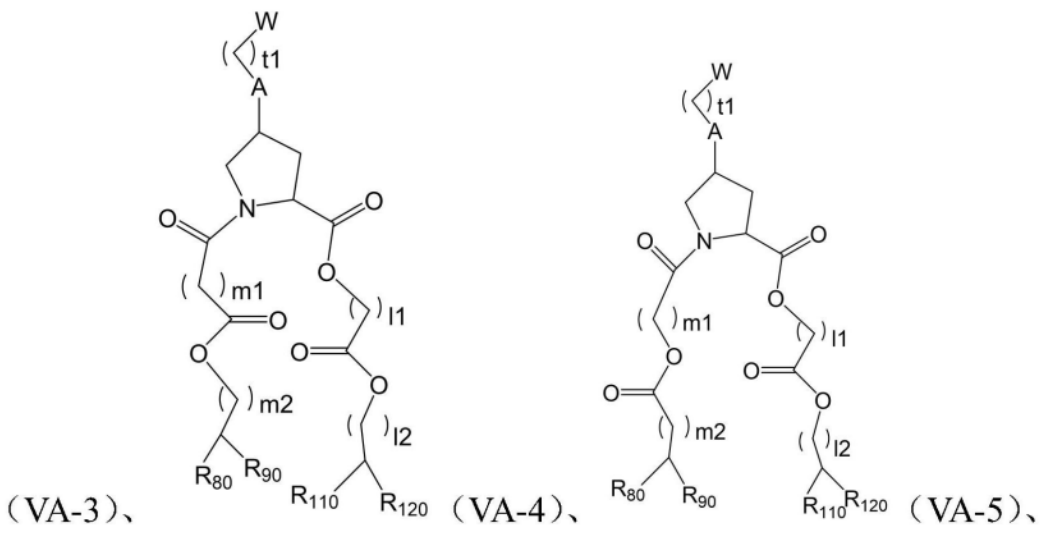
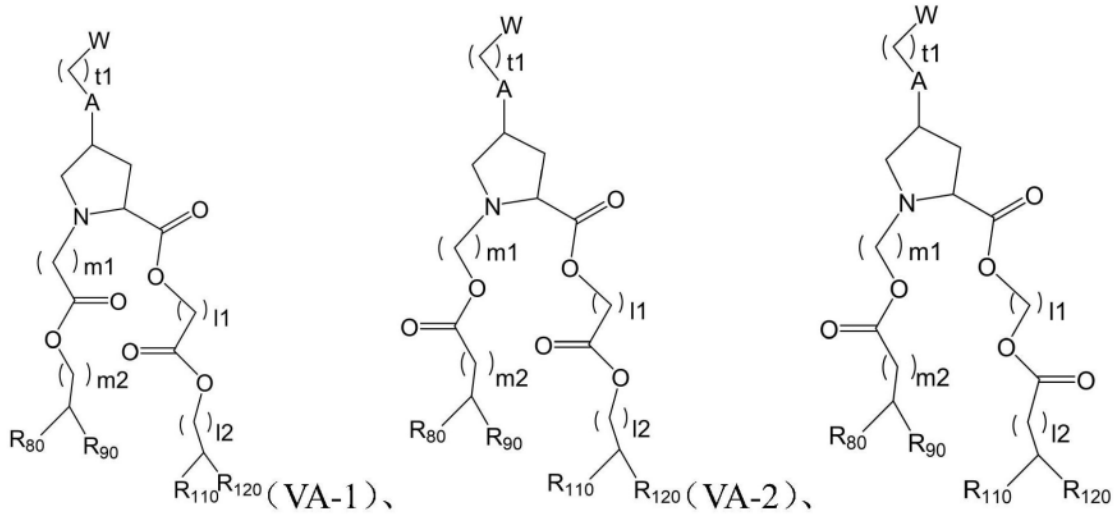
每个 $l_1$ 独立地是4至8的整数,

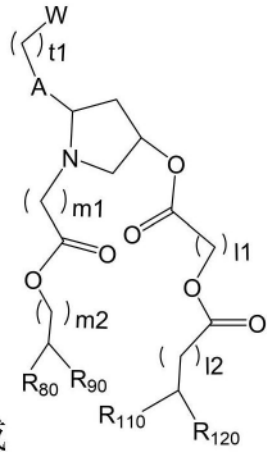
$m_2$ 和 $l_2$ 各自独立地是0至3的整数;

$R_{80}$ 和 $R_{90}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基;或者 $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_4$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_5-C_{11}$ 烷基;并且

$R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基;或者 $R_{110}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_4$ 烷基,并且 $R_{120}$ 是未经取代的 $C_5-C_{11}$ 烷基。

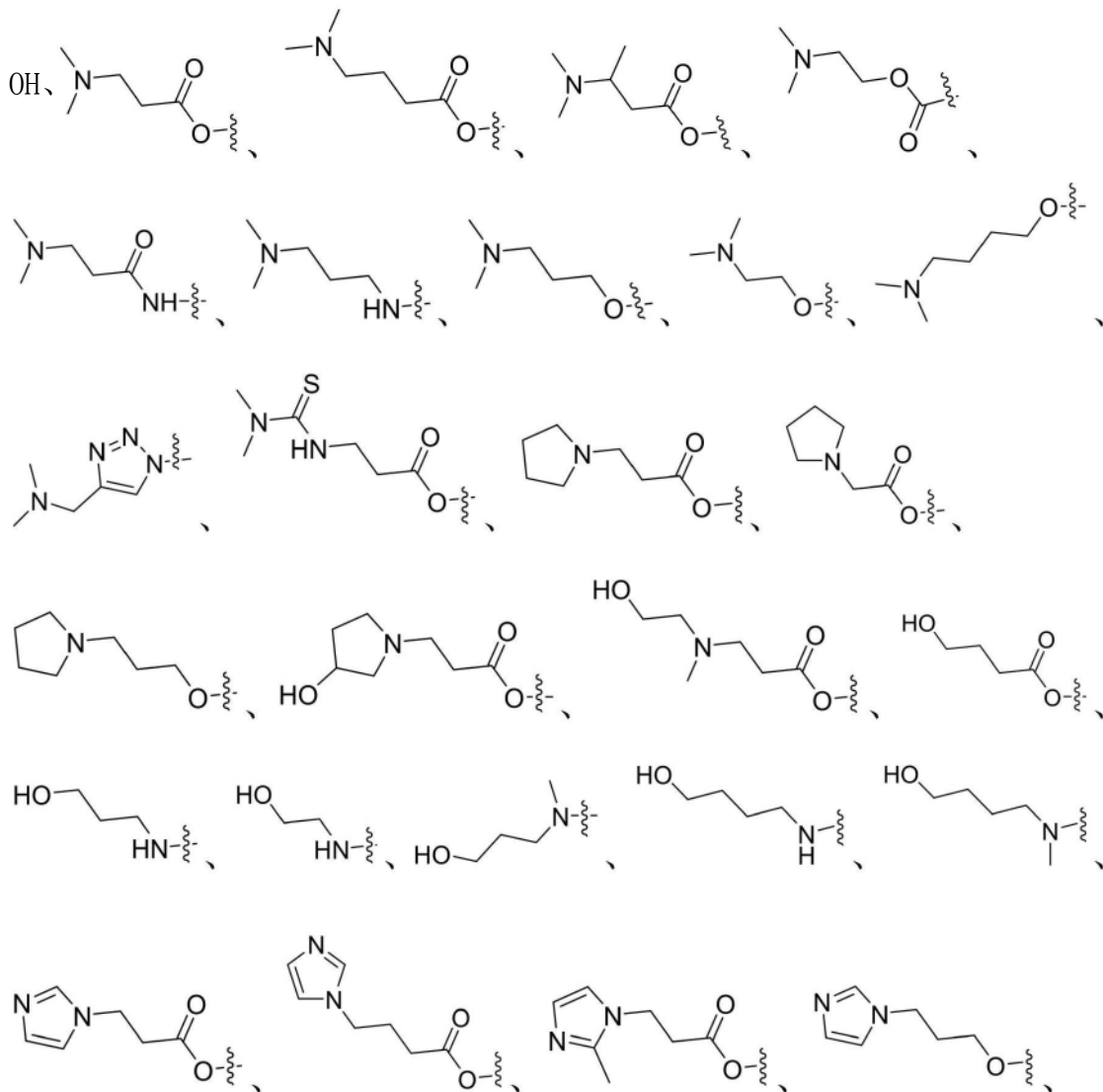
28. 根据权利要求27所述的化合物,其具有下式:

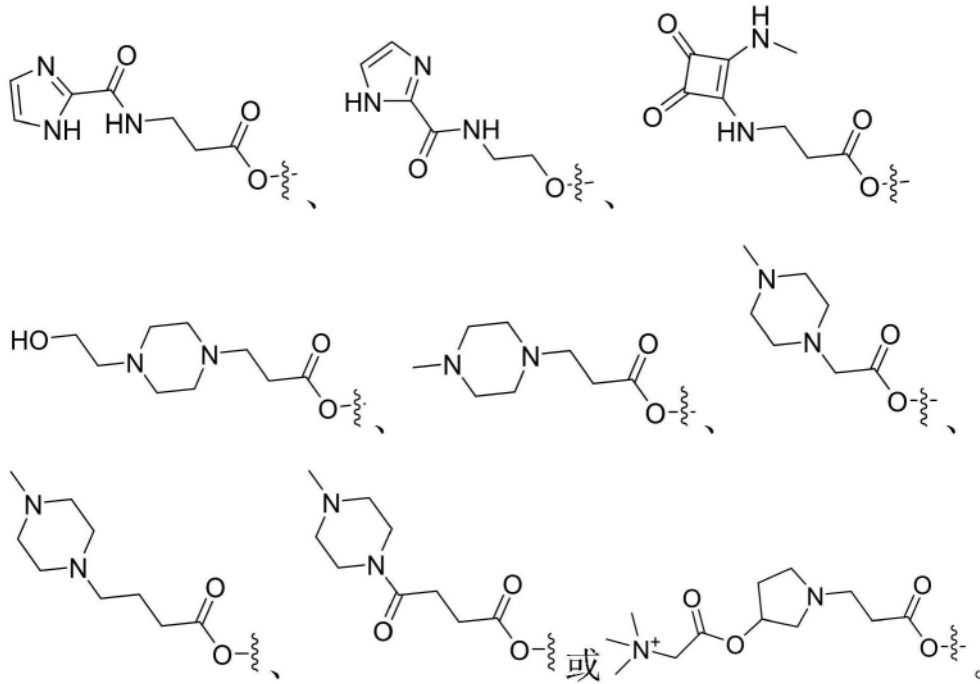




(VA-8) 或 (VA-9),

其中  $\text{---} \text{A} \text{---} \text{W}$  是:





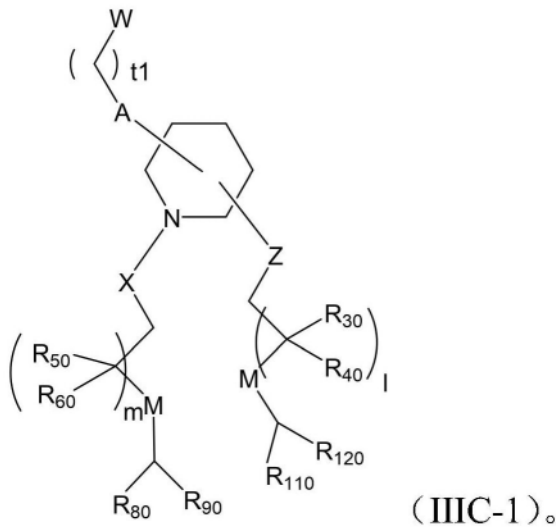
29. 根据权利要求27或28所述的化合物,其中

$R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_2$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_6-C_{10}$ 烷基;并且

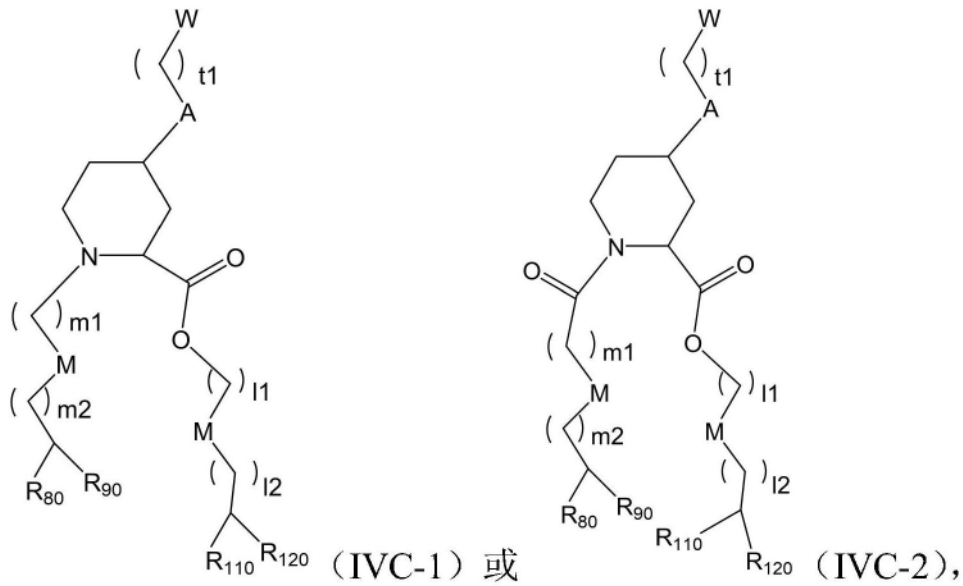
$R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。

30. 根据权利要求27所述的化合物,其中 $R_{80}$ 、 $R_{90}$ 、 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。

31. 根据权利要求1至25中任一项所述的化合物,其具有下式:



32. 根据权利要求31所述的化合物,其具有下式:



其中:

每个m1独立地是3至6的整数,

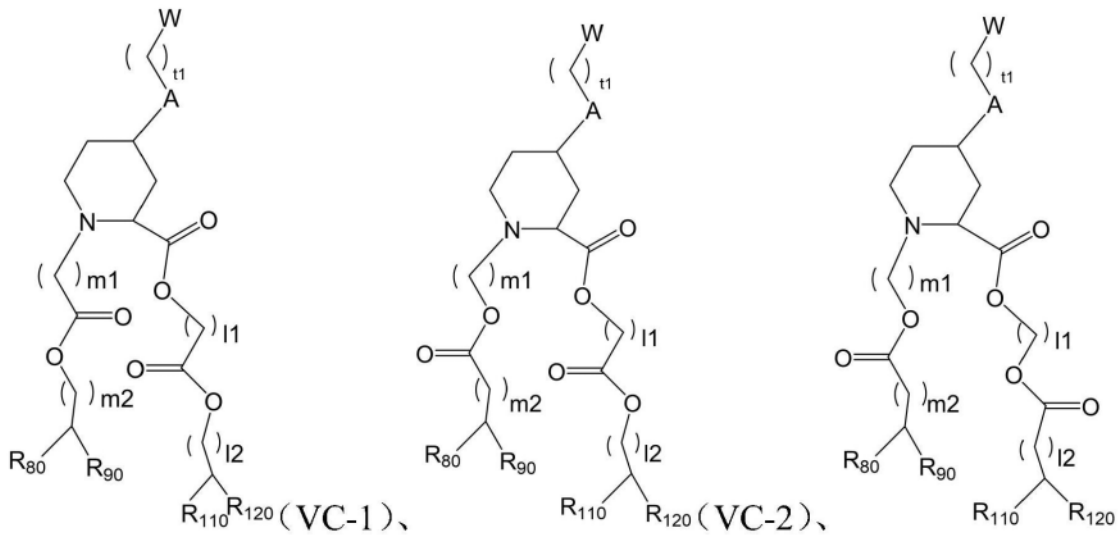
每个l1独立地是4至8的整数,

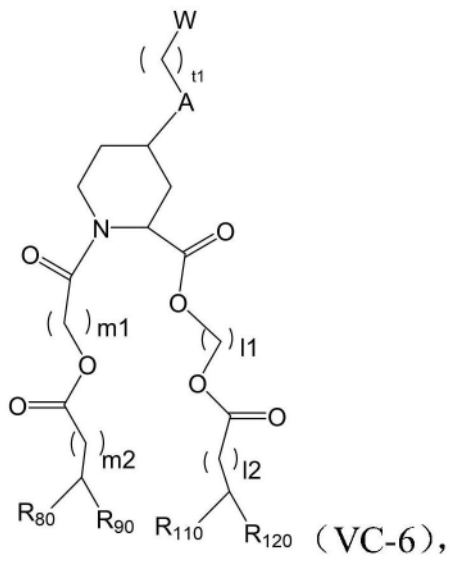
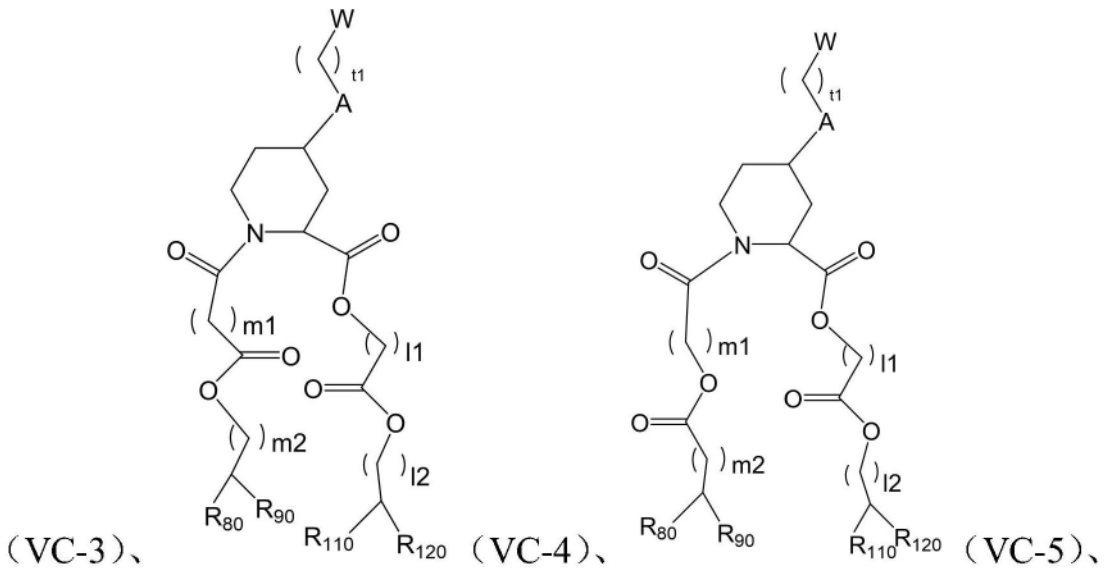
m2和l2各自独立地是0至3的整数;

R<sub>80</sub>和R<sub>90</sub>各自独立地是未经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>烷基;或者R<sub>80</sub>是H或未经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基,并且R<sub>90</sub>是未经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub>烷基;并且

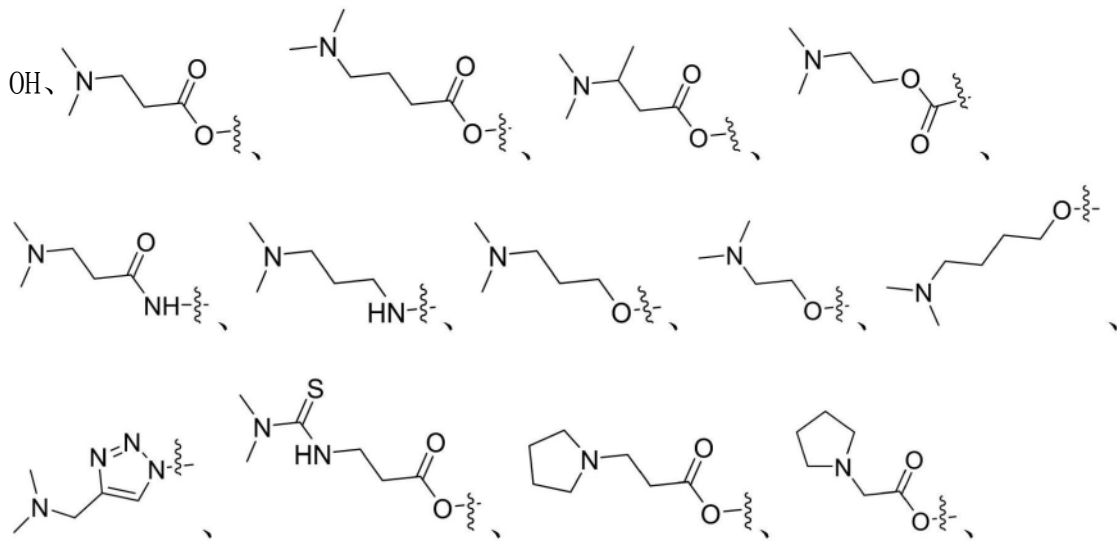
R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>各自独立地是未经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>烷基;或者R<sub>110</sub>是H或未经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基,并且R<sub>120</sub>是未经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>11</sub>烷基。

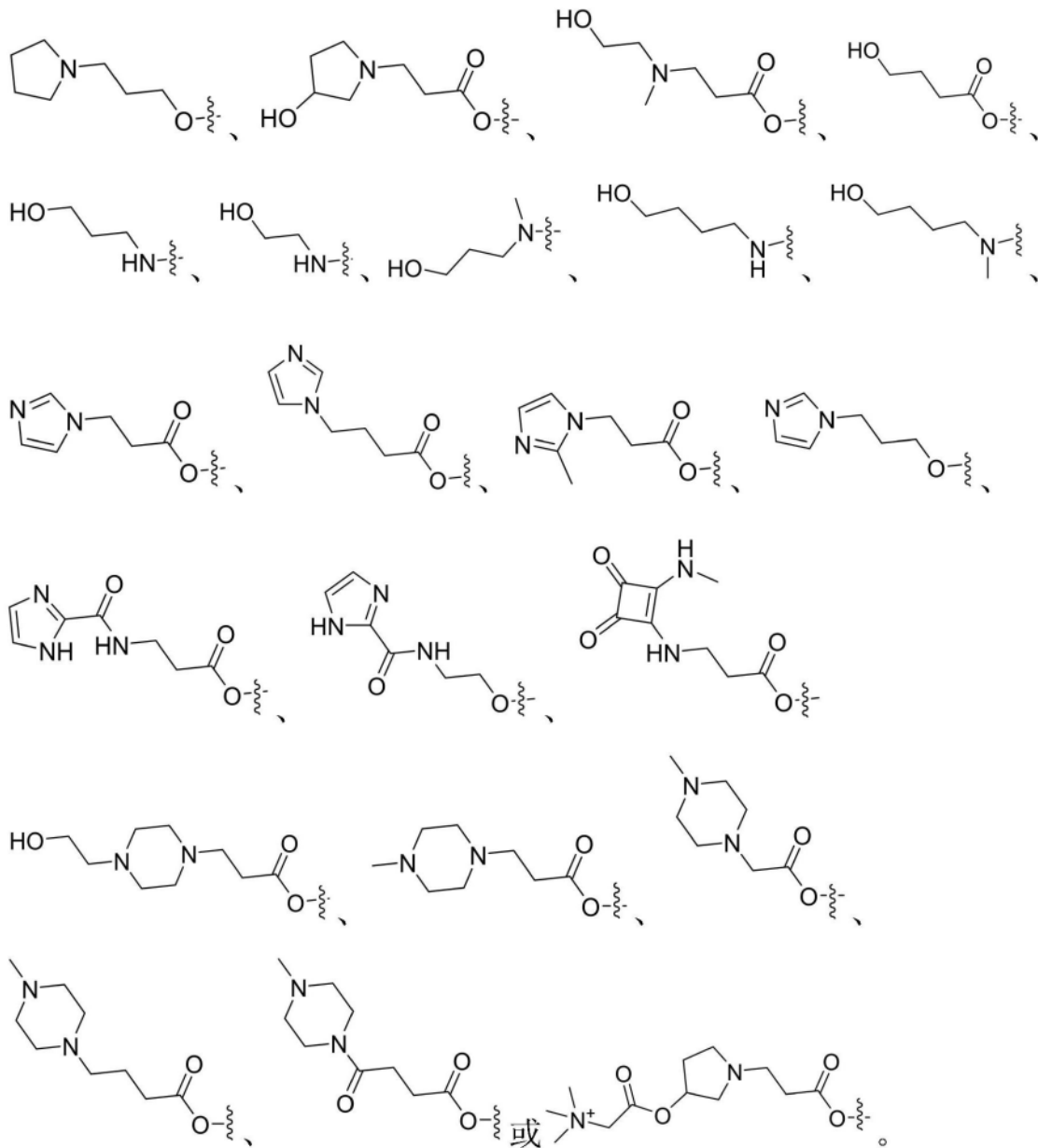
33. 根据权利要求32所述的化合物,其具有下式:





其中  $\text{---A---(CH}_2\text{)}_{t1}\text{---W}$  是:





34. 根据权利要求32或33所述的化合物,其中

$R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1$ - $C_2$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_6$ - $C_{10}$ 烷基;并且

$R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5$ - $C_8$ 烷基。

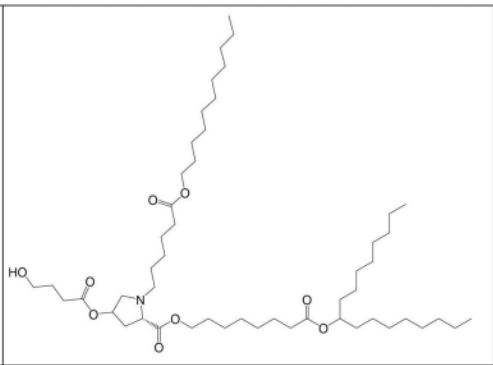
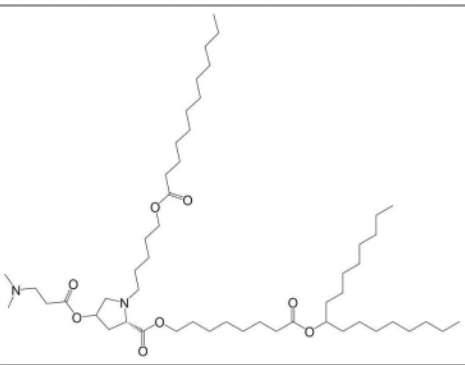
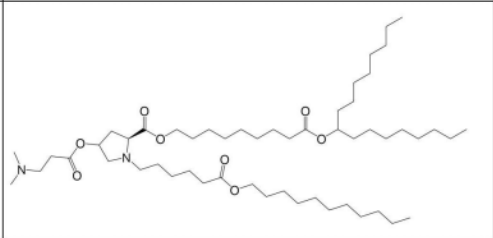
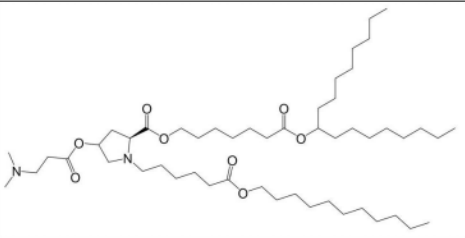
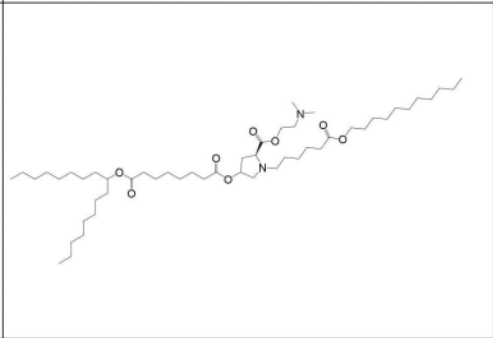
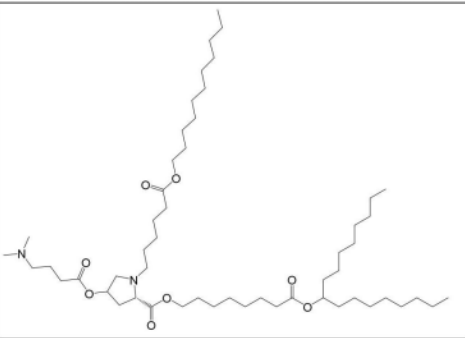
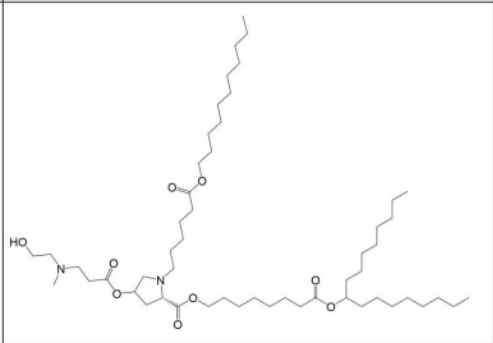
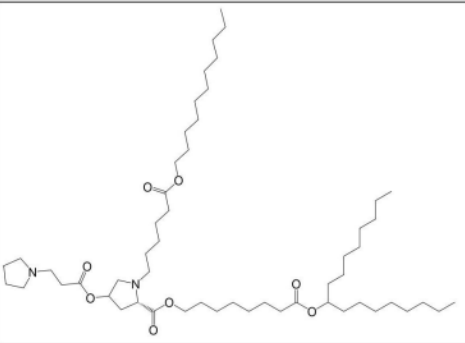
35. 根据权利要求32或33所述的化合物,其中 $R_{80}$ 、 $R_{90}$ 、 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5$ - $C_8$ 烷基。

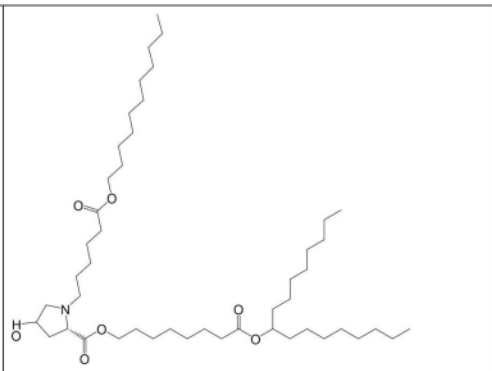
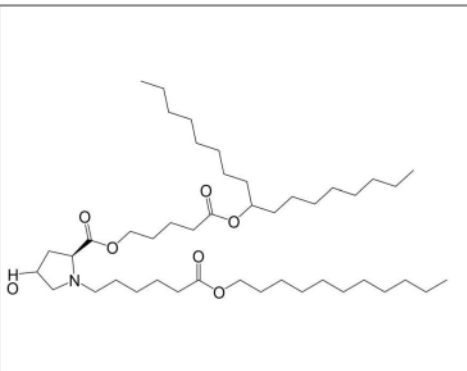
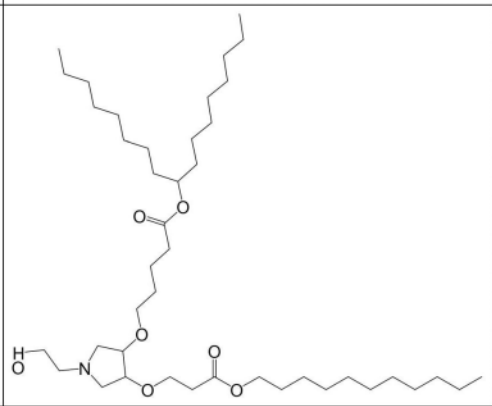
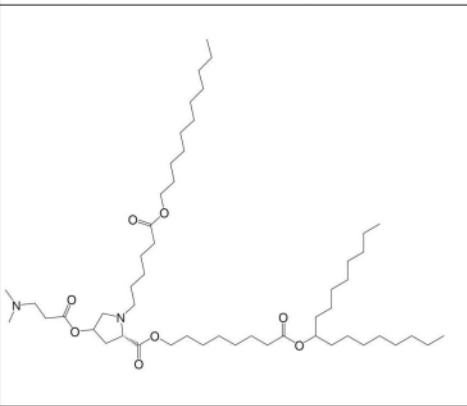
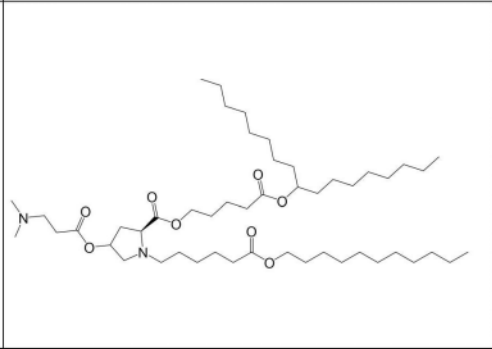
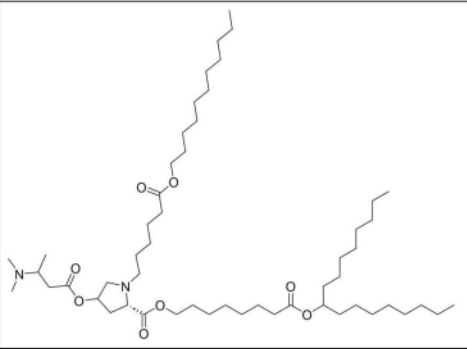
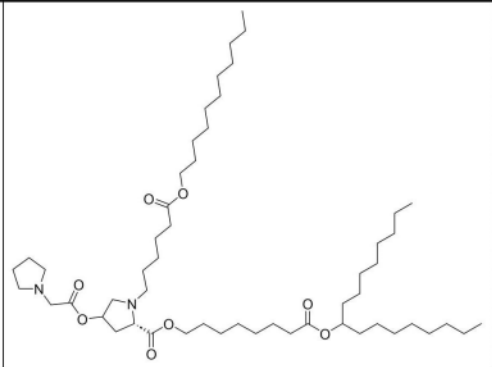
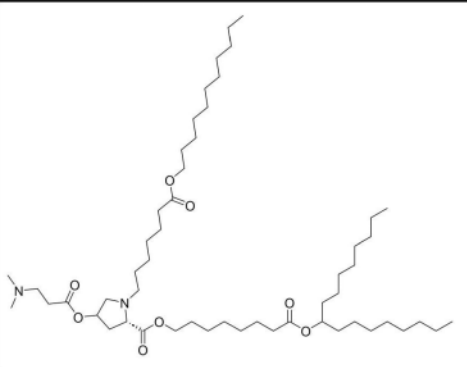
36. 根据权利要求1至35中任一项所述的化合物,其中所述化合物的质子化形式的pKa是约4.5至约8.0。

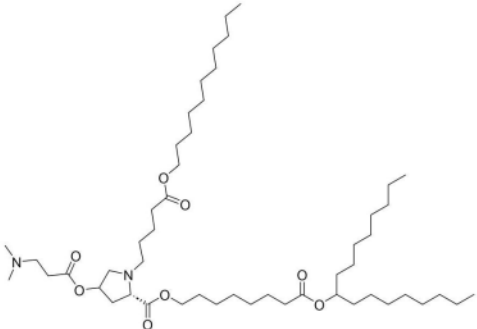
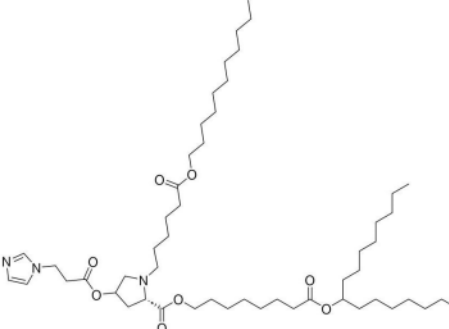
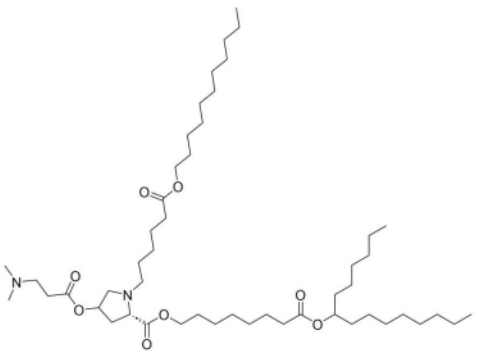
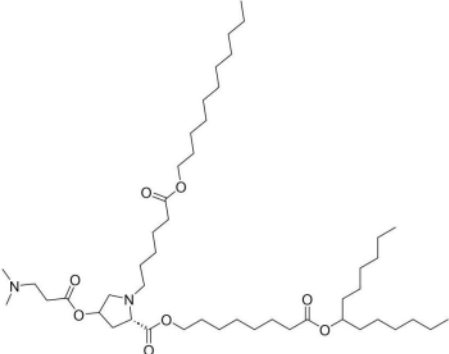
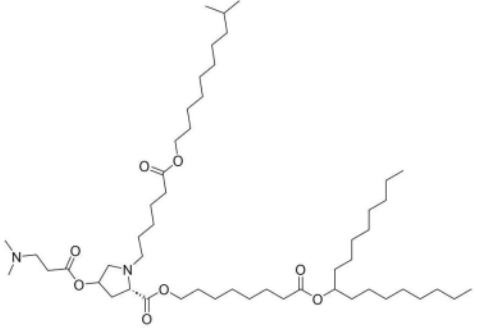
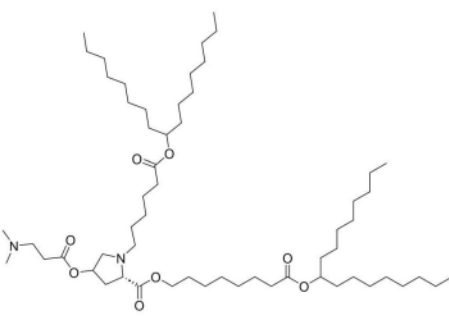
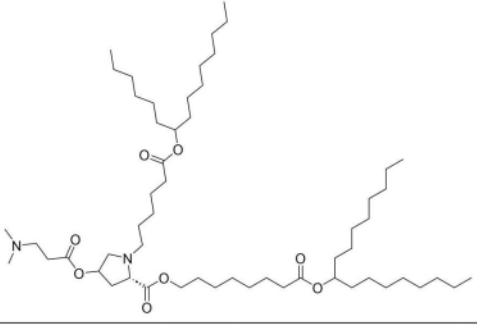
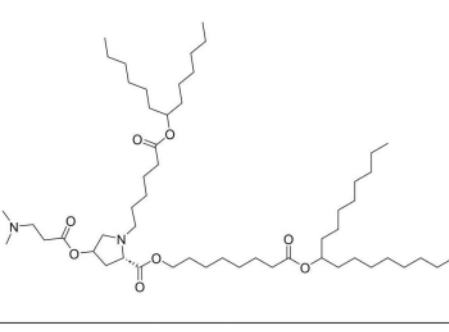
37. 根据权利要求36所述的化合物,其中所述化合物的质子化形式的pKa是约4.6至约7.8。

38. 根据权利要求1或3所述的化合物,其具有以下结构中之一者:

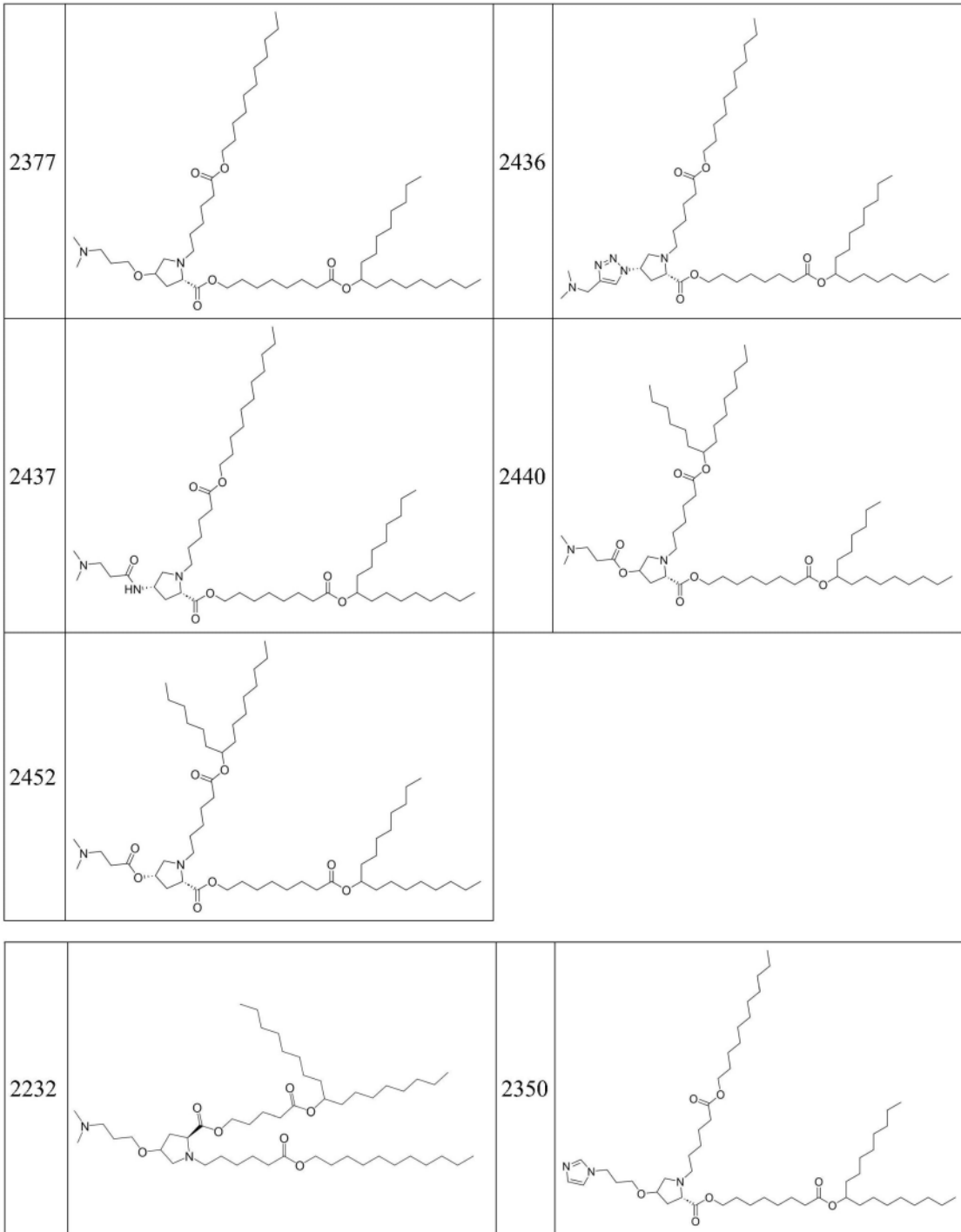
<p>2310</p>		<p>2309</p>	
<p>2308</p>		<p>2307</p>	
<p>2306</p>		<p>2305</p>	
<p>2304</p>		<p>2298</p>	

<p>2297</p>		<p>2296</p>	
<p>2295</p>		<p>2294</p>	
<p>2293</p>		<p>2292</p>	
<p>2291</p>		<p>2290</p>	

2270		2260	
2240		2231	
2230		2329	
2336		2337	

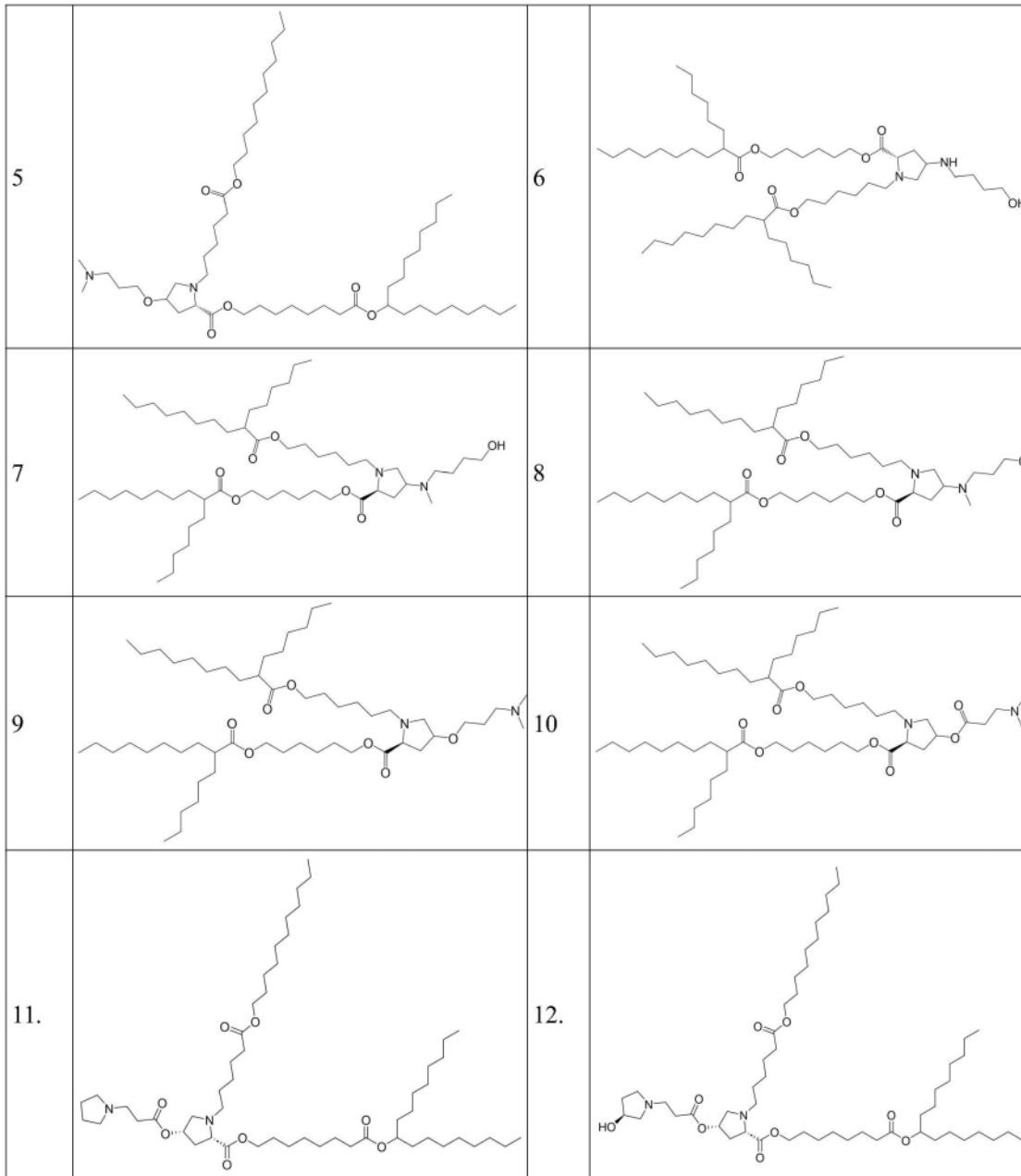
2338		2339	
2340		2341	
2342		2343	
2344		2345	

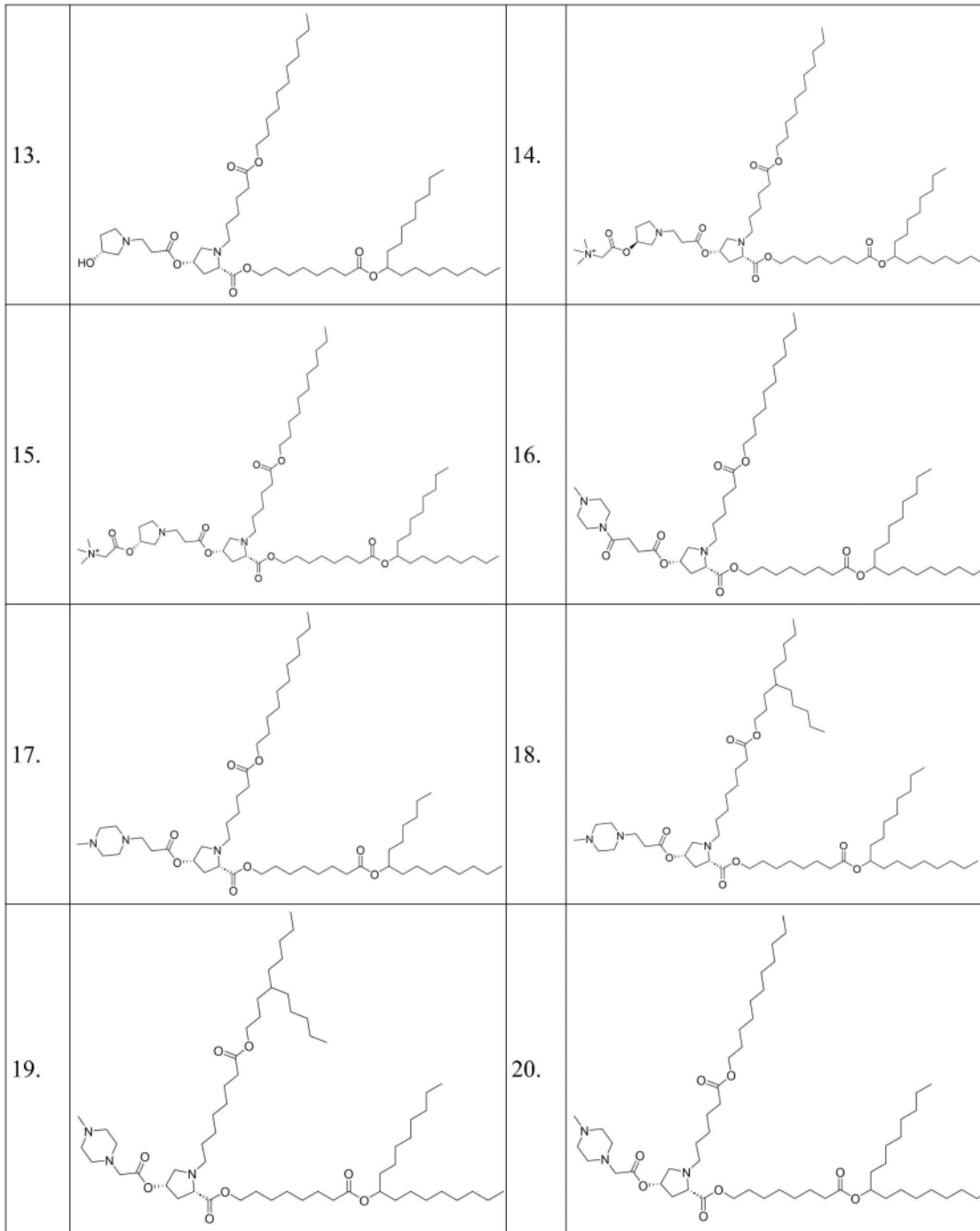
<p>2348</p>		<p>2349</p>	
<p>2352</p>		<p>2371</p>	
<p>2372</p>		<p>2373</p>	
<p>2375</p>		<p>2376</p>	

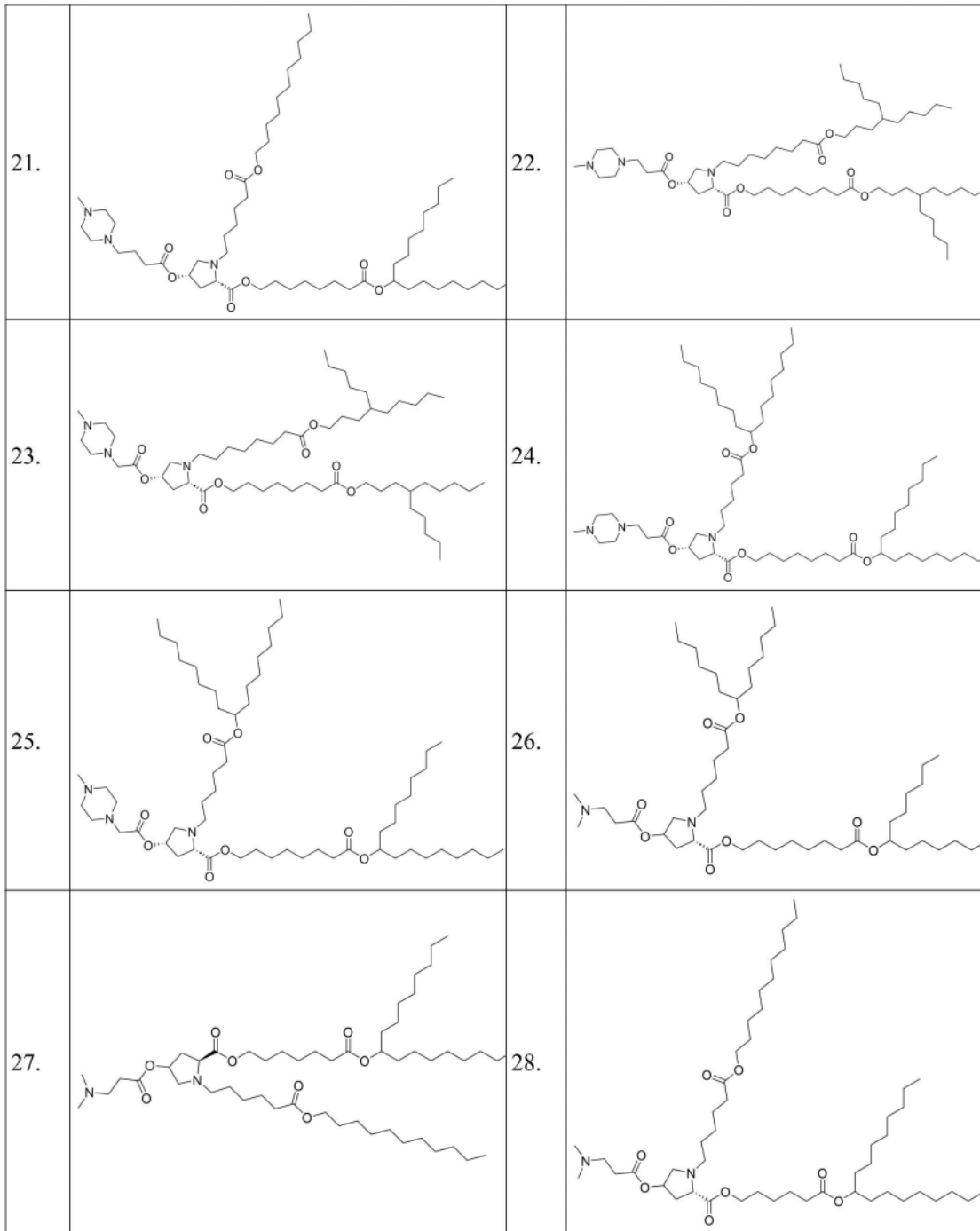


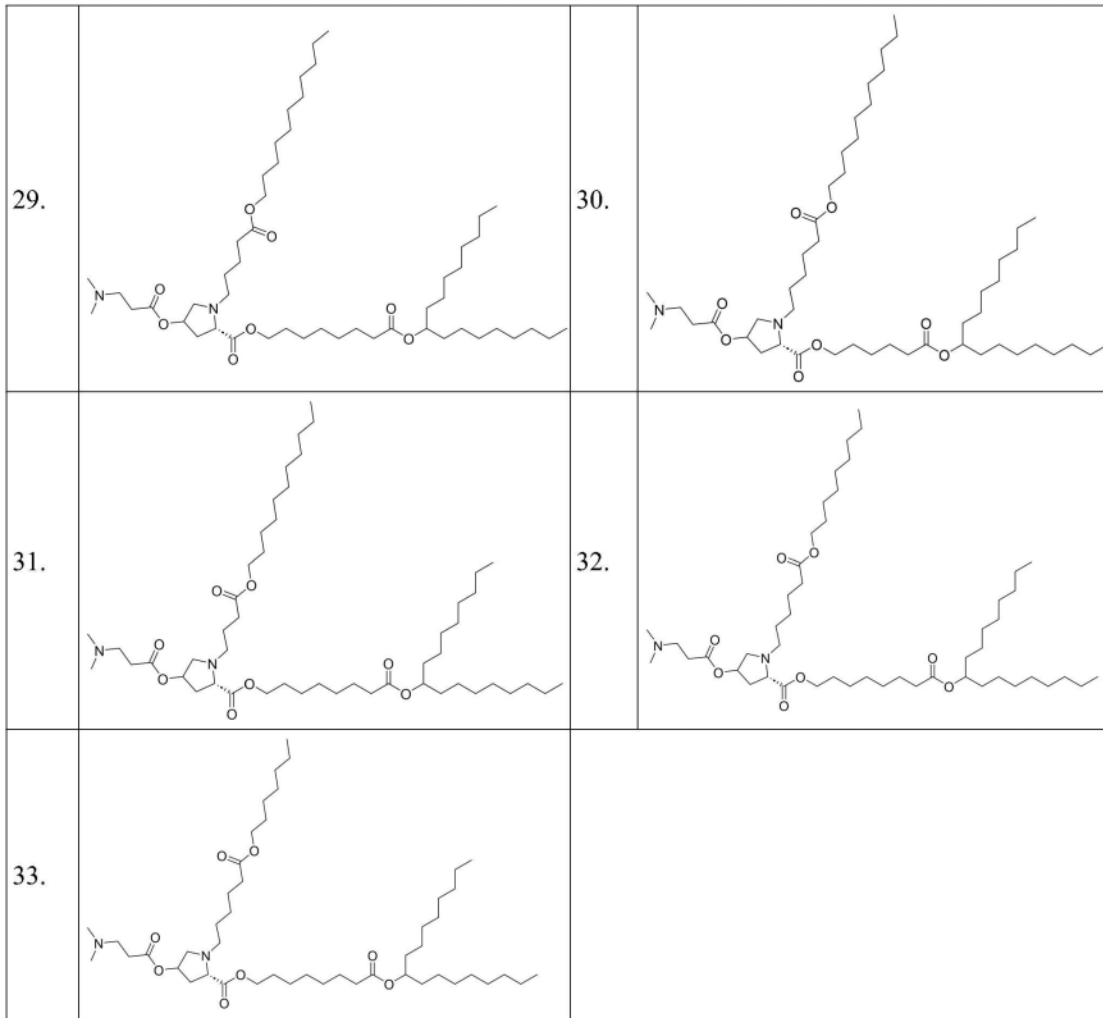
<p>2351</p>		<p>2359</p>	
<p>2360</p>		<p>2363</p>	
<p>2364</p>		<p>2374</p>	
<p>2422</p>		<p>2423</p>	
<p>2429</p>		<p>2430</p>	

2431		2438	
2451		2455	
1		2	
3		4	









39. 一种脂质组合物,其包括根据前述权利要求中任一项所述的化合物,其中所述脂质组合物是LNP。

40. 根据权利要求39所述的脂质组合物,其进一步包括第二脂质。

41. 根据权利要求40所述的脂质组合物,其中所述脂质组合物包括的所述化合物和所述第二脂质的比率是约1:1。

42. 根据权利要求40所述的脂质组合物,其中所述第二脂质是阳离子、阴离子、可电离或两性离子脂质。

43. 根据权利要求39所述的脂质组合物,其进一步包括固醇和PEG脂质。

44. 根据权利要求39所述的脂质组合物,其进一步包括固醇、PEG脂质、磷脂和/或中性脂质。

45. 一种药物组合物,其包括根据权利要求39至44中任一项所述的脂质组合物以及药学上可接受的赋形剂。

46. 根据权利要求45所述的药物组合物,其进一步包括治疗剂。

47. 根据权利要求45所述的药物组合物,其中所述治疗剂是核酸分子。

48. 根据权利要求47所述的药物组合物,其中所述核酸分子是RNA或DNA。

49. 根据权利要求48所述的药物组合物,其中所述核酸分子是RNA,其中所述RNA包括mRNA。

50. 根据权利要求46所述的药物组合物,其中所述治疗剂是蛋白质或小分子药物。

51. 根据权利要求45所述的药物组合物,其中所述药物组合物是疫苗。

52. 一种向受试者递送治疗剂的方法,所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求45至51中任一项所述的药物组合物。

53. 一种用于将治疗剂递送到有需要的受试者的胰腺、脾或肺的方法,所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求45至51中任一项所述的药物组合物。

54. 根据权利要求53所述的方法,其中将少于50%、30%或10%的所述治疗剂递送到肝。

55. 根据权利要求53所述的方法,其中将大于50%、70%或90%的所述治疗剂递送到所述受试者的胰腺、脾和/或肺。

## 新型可电离脂质和脂质纳米颗粒以及其使用方法

[0001] 相关申请交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年3月25日提交的美国临时申请第63/323,948号的优先权的权益,所述美国临时申请通过引用整体并入本文。

### 背景技术

[0003] 由含有可电离的胺的脂质形成的脂质纳米颗粒(“LNP”)可以用作治疗性货物媒剂以用于将生物活性剂,如编码RNA(即,信使RNA(mRNA)、向导RNA)和非编码RNA(即,反义、siRNA)递送到细胞中。LNP可以促进寡核苷酸药剂跨细胞膜的递送,并且可以用于将组分和组合物引入到活细胞中。

[0004] 特别难以递送到细胞的生物活性剂包含蛋白质、基于核酸的药物及其衍生物,特别是包含相对较大的寡核苷酸(如mRNA或向导RNA)的药物。用于将有前景的mRNA疗法或编辑技术递送到细胞中(如用于递送CRISPR/Cas9系统组分)的组合物已受到特别的关注。

[0005] 随着最近大流行的出现,信使RNA疗法已成为治疗各种疾病(包含病毒感染性疾病和与一种或多种蛋白质缺乏相关的疾病)的越来越重要的选择。具有用于体外和体内递送的可以稳定化和/或递送RNA组分的有用特性的组合物也已受到特别的关注。

[0006] 因此,本领域仍然需要新型脂质化合物来开发脂质纳米颗粒或其它脂质递送机制以用于治疗剂递送。本发明解决了所述需求。

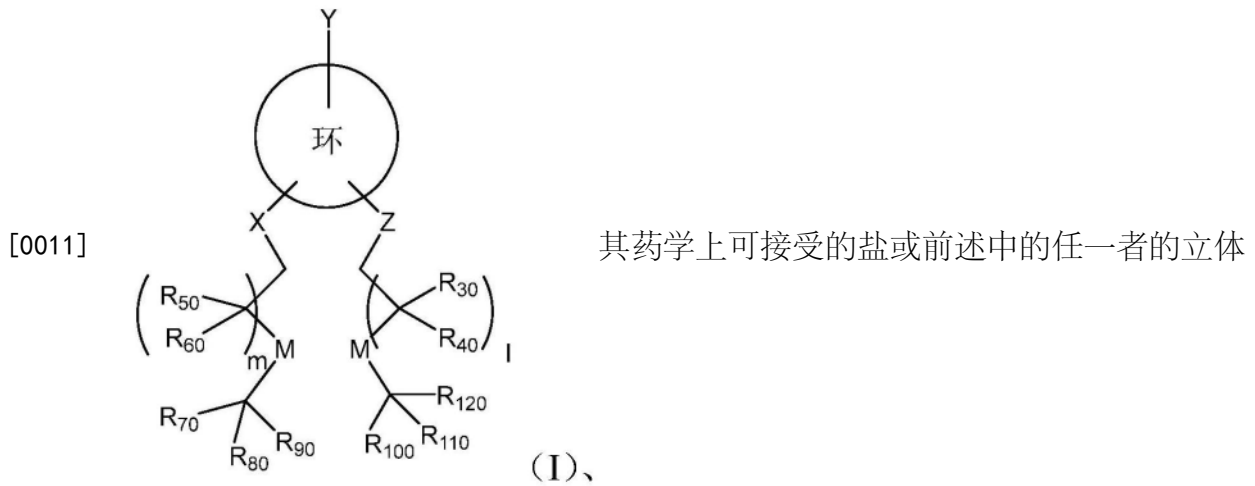
### 发明内容

[0007] 本文公开了新型可电离脂质,其可以与至少一种其它脂质组分(如中性脂质、胆固醇和聚合物缀合脂质)组合使用以形成脂质纳米颗粒组合物。所述脂质纳米颗粒组合物可用于促进治疗核酸在体外和/或在体内的胞内递送。

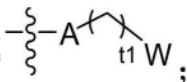
[0008] 本文公开了可用于形成脂质纳米颗粒组合物的含有可电离的胺的脂质。此类LNP组合物可以具有有利于向细胞递送核酸货物(如递送编码和非编码RNA)的特性。还提供了使用所公开的脂质纳米颗粒治疗各种疾病或病状(如由感染实体和/或蛋白质不足引起的疾病或病状)的方法。

[0009] 下文公开了各种式,包含例如式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)、(VC-1)-(VC-6)的可电离脂质。

[0010] 本发明的一方面涉及一种式(I)的化合物:



[0012]  是环状或杂环部分;

[0013] Y是烷基、羟基、羟烷基或 ;

[0014] A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-或二价杂环;

[0015] X和Z中的每一者独立地不存在,是-O-、-CO-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

[0016] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟基、羟烷基或氨基烷基;

[0017] 每个M独立地是可生物降解部分;

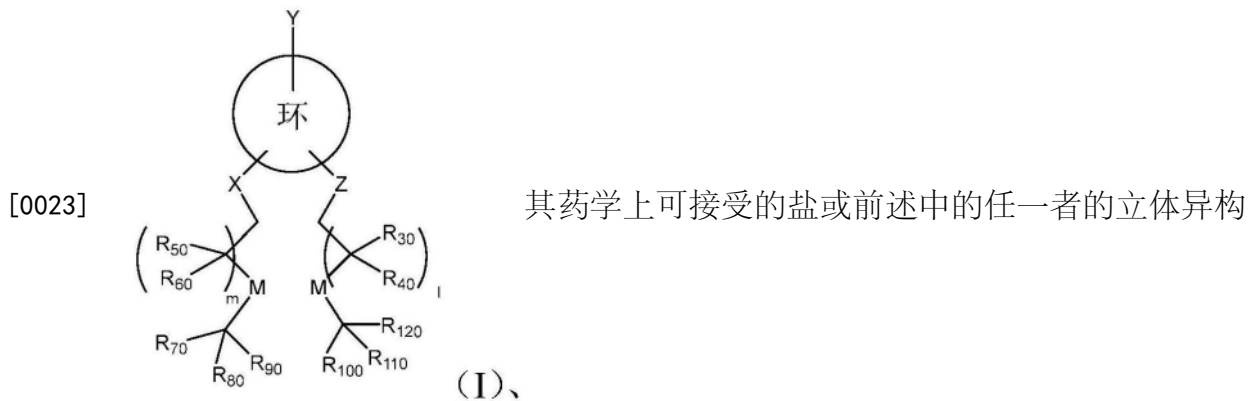
[0018] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>70</sub>、R<sub>80</sub>、R<sub>90</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基;

[0019] 1和m中的每一者是1至10的整数;

[0020] t1是0至10的整数;并且

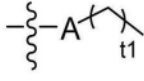

[0021] W是羟基、经取代的或未经取代的羟烷基、经取代的或未经取代的氨基、经取代的或未经取代的氨基羰基或经取代的或未经取代的杂环基或杂芳基。

[0022] 在一些实施例中,公开了式(I)的可电离脂质:



体,其中:

[0024]  是环状或杂环部分;

[0025] Y是烷基、羟基、羟烷基、 或  ;

[0026] A不存在,是-0-、-N(R<sup>7</sup>)-、-0-亚烷基-、-亚烷基-0-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-或二价杂环;

[0027] X和Z中的每一者独立地不存在,是-0-、-N(R<sup>7</sup>)-、-0-亚烷基-; -亚烷基-0-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

[0028] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟基、羟烷基或氨基烷基;

[0029] 每个M独立地是可生物降解部分;

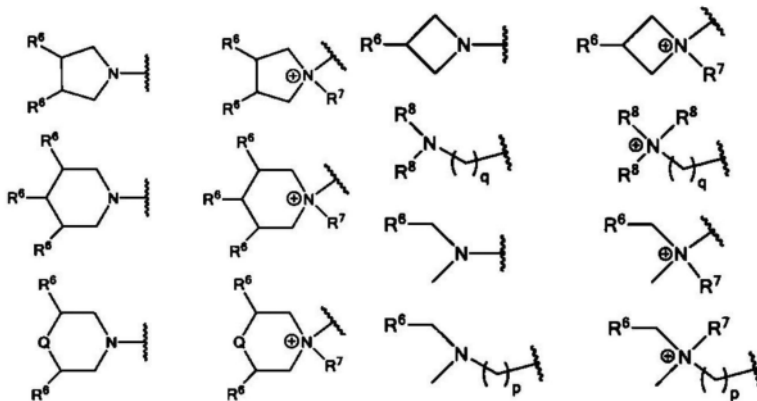
[0030] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>70</sub>、R<sub>80</sub>、R<sub>90</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基;

[0031] l和m中的每一者是1至10的整数;

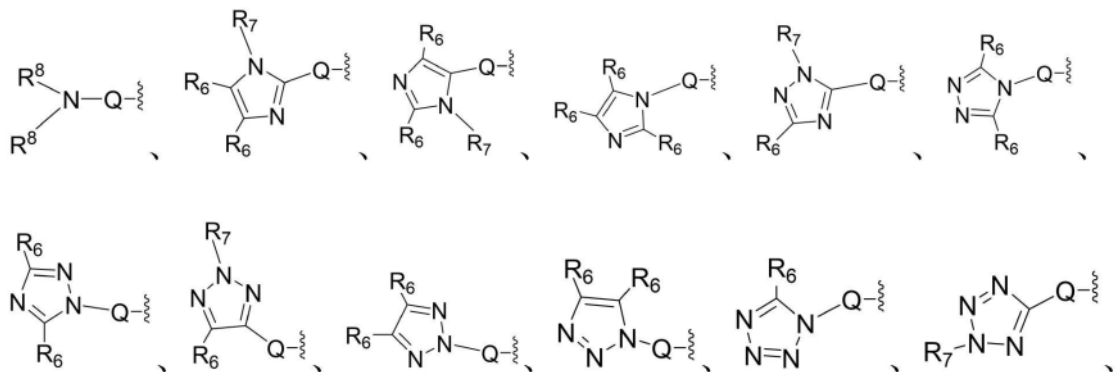
[0032] t是0、1、2或3;

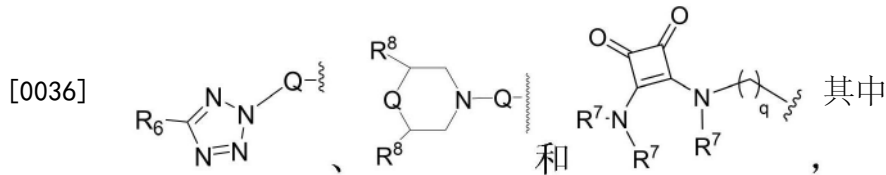
[0033] t1是0至10的整数;并且

[0034] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者:



[0035]





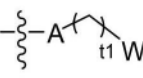
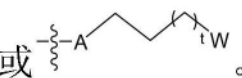
[0037] 每个Q独立地不存在,是-O-、-C(O)-、-C(S)-、-C(O)O-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(S)N(R<sup>7</sup>)-或-N(R<sup>7</sup>);

[0038] R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、硫醇烷基或N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-亚烷基-Q-;

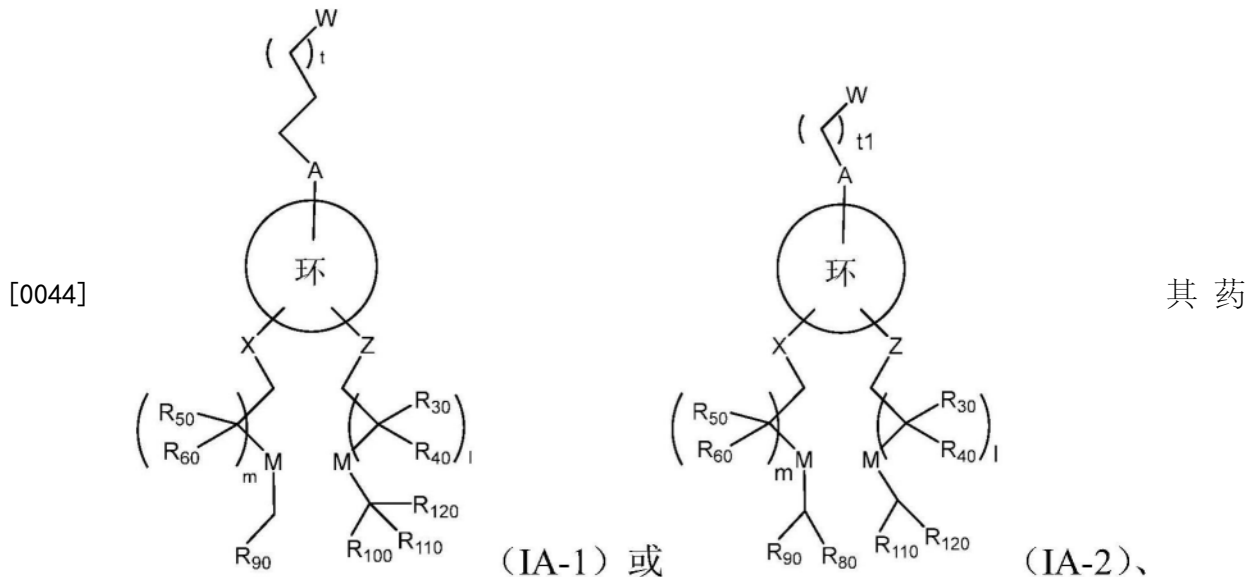
[0039] 每个R<sup>8</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基,或者两个R<sup>8</sup>与氮原子一起可形成环;

[0040] q是0、1、2、3、4或5;并且

[0041] p是0、1、2、3、4或5。

[0042] 在一些实施例中,Y是羟基、、或。

[0043] 在一些实施例中,公开了式(IA-1)或(IA-2)的可电离脂质:



学上可接受的盐或前述中的任一者的立体异构体,

[0045] 其中

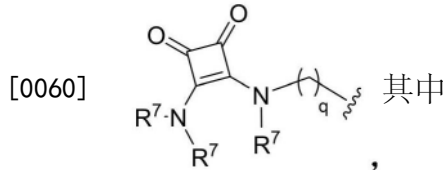
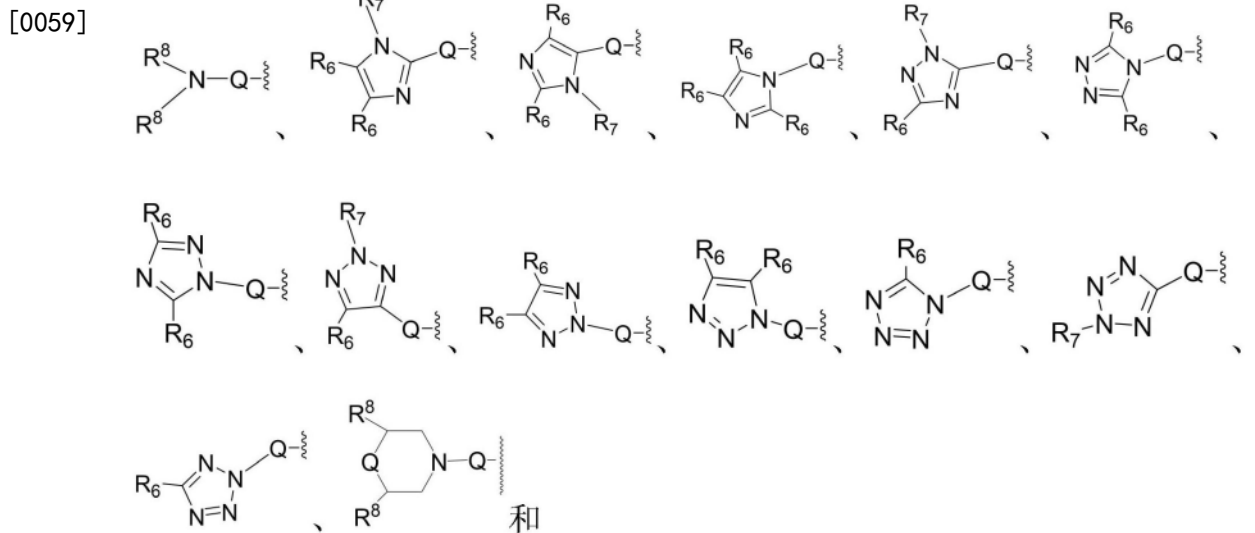
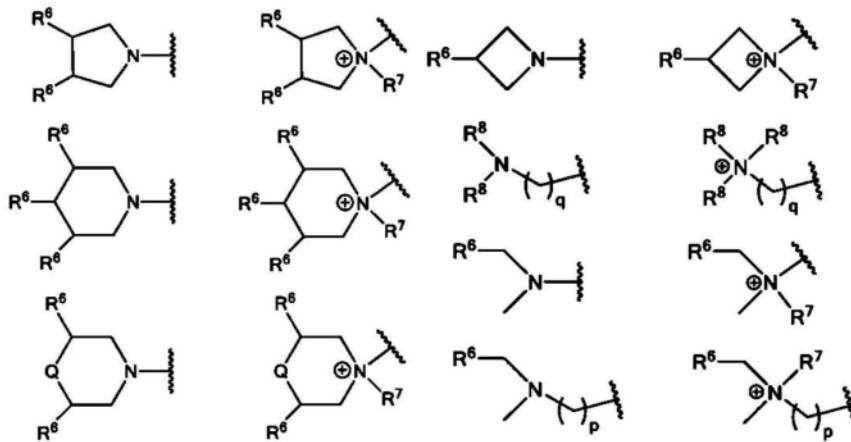
[0046]  是环状或杂环部分;

[0047] A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、N(R<sup>7</sup>)C(O)NH-、-S-、-S-S-或二价杂环;

[0048] X不存在,是-O-、-C(O)-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-; -亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

[0049] Z不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-; -亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

- [0050] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基；
- [0051] 每个M独立地是可生物降解部分；
- [0052] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基；
- [0053] R<sub>90</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>支链或非支链烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>支链或非支链烯基或环烷基或经取代的环烷基；并且
- [0054] t是0、1、2或3；
- [0055] t1是0至10的整数；
- [0056] l是1至10的整数；
- [0057] m是1至10的整数；并且
- [0058] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者：



- [0061] Q是-O-、-C(O)-、-C(S)-、-C(O)O-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(S)N(R<sup>7</sup>)-或-N(R<sup>7</sup>)；
- [0062] 每个R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、

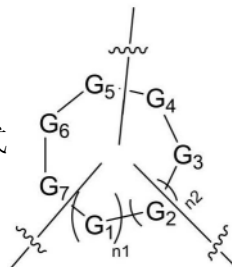
硫醇烷基或 $N^+(R^7)_3$ -亚烷基-Q-;

[0063] 每个 $R^8$ 独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基,或者两个 $R^8$ 与氮原子一起可形成环;

[0064] q是0、1、2、3、4或5;并且

[0065] p是0、1、2、3、4或5。

[0066] 在一些实施例中,环具有式



的结构,其中:

[0067]  $G_1$ 、 $G_2$ 、 $G_3$ 、 $G_4$ 、 $G_5$ 、 $G_6$ 和 $G_7$ 中的每一者独立地是C( $R'$ ) ( $R''$ )、O或N,条件是 $G_1$ - $G_7$ 中的不超过两者是O或N;

[0068]  $R'$ 和 $R''$ 各自独立地不存在,是H、烷基或来自一起形成第二5至7元环状环或杂环的两个相邻G的两个 $R'$ ;并且

[0069]  $n_1$ 和 $n_2$ 各自独立地是0或1。

[0070] 在一些实施例中,环选自吡咯烷、哌啶、哌嗪、环己烷、环戊烷、四氢呋喃、四氢吡喃、吗啉和二噁烷。

[0071] 在一些实施例中,环是5至7元单环。在一些实施例中,环是5至7元单

环、环烷烃环。在一些实施例中,环是5至7元单环、杂环。

[0072] 在一些实施例中,环是双环或三环,即含有两个或更多个环,如稠合环。

[0073] 在一些实施例中,X不存在,是-O-或-C(O)-。

[0074] 在一些实施例中,Z是-O-、-C(O)O-或-OC(O)-。

[0075] 在一些实施例中, $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H或 $C_1$ - $C_4$ 支链或非支链烷基。

[0076] 在一些实施例中, $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H。

[0077] 在一些实施例中, $R_{70}$ 和 $R_{80}$ 中的每一者是H;并且 $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基、环烷基或经取代的环烷基。在一些实施例中, $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中, $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。

[0078] 在一些实施例中, $R_{70}$ 是H;并且 $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的

每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_8$ 支链或非支链烷基。

[0079] 在一些实施例中, $R_{100}$ 是H;并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_8$ 支链或非支链烷基。

[0080] 在一些实施例中,1是3至10、3至7或4至7。在一些实施例中,1是4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,1是4、5、6或7。

[0081] 在一些实施例中,m是4至10、5至8、1至7、3至7或1至5。在一些实施例中,m是4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,m是3、4或5。在一些实施例中,m是5、6、7或8。

[0082] 在一些实施例中,M是 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^7)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$ 、 $-C(O-R_{13})-O-$ 、 $-C(O)O(CH_2)_r-$ 、 $-C(O)N(R^7)(CH_2)_r-$ 或 $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_r-$ ,其中每个 $R^7$ 独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基; $R_{13}$ 是支链或非支链 $C_3$ - $C_{10}$ 烷基;并且r是1、2、3、4或5。

[0083] 本发明的另一方面涉及一种脂质组合物,其包括如本文所公开的任何式,例如,式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)中的任一者的脂质化合物,其中所述脂质组合物是脂质纳米颗粒(LNP)。在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括第二脂质。在一些实施例中,所述脂质组合物包括的所述化合物和所述第二脂质的比率是约1:1。在一些实施例中,所述第二脂质是阳离子、阴离子、可电离或两性离子脂质。

[0084] 本文还公开了药物组合物,其包括药学上可接受的赋形剂和本文所述的脂质组合物,所述脂质组合物包括一种或多种选自式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的可电离脂质的脂质化合物。所述药物组合物可以进一步包括治疗剂。在一些实施例中,所述药物组合物进一步包括一种或多种选自中性脂质、带电荷的脂质、类固醇和聚合物缀合脂质的组分。此类组合物可用于形成脂质纳米颗粒以递送治疗剂。

[0085] 本公开的另一面提供了用于将治疗剂递送到有需要的受试者(例如,患者)的方法,所述方法包括向所述受试者(例如,患者)施用包括脂质纳米颗粒组合物以及所述治疗剂的药物组合物、所述脂质纳米颗粒组合物包括式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的脂质化合物,其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体。在一些实施例中,所述方法进一步包括制备脂质纳米颗粒组合物和治疗剂,所述脂质纳米颗粒组合物包括式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)和(IIIA)-(IIIC)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的脂质化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体。

[0086] 本公开的另一面提供了治疗剂向受试者(例如,向胰腺、脾或肺)的肝外递送,所

述肝外递送包括向所述受试者施用包括脂质纳米颗粒组合物以及所述治疗剂的药物组合物,所述脂质纳米颗粒组合物包括式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的脂质化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少1。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少5。

[0087] 在参考以下详细描述后,本公开的这些和其它方面将是显而易见的。

### 附图说明

[0088] 图1表示,如实例7所述,基于通过每种脂质纳米颗粒组合物的体内生物发光成像所确定的EP0水平,与分别含有C12-200和MC3的比较性脂质纳米颗粒组合物相比,含有示例性脂质化合物(LNP 2230、LNP 2231)的各种示例性脂质纳米颗粒组合物的脾:肝的平均辐射比率(p/s/cm<sup>2</sup>/sr)。

### 具体实施方式

[0089] 定义

[0090] 如本文所使用的,除非另有规定,否则以下术语具有赋予其的含义。

[0091] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的技术人员通常理解的不同含义。

[0092] 除非上下文另有明确指示,否则如本说明书和权利要求书中所用,单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“所述(the)”包含复数指代物。

[0093] 除非上下文另有要求,否则在整个本说明书和权利要求书中,词语“包括(comprise)”及其变型,如“包括(comprises)”和“包括(comprising)”应以开放和包容的意义解释,即“包含但不限于”。

[0094] 短语“诱导期望的蛋白质的表达”是指核酸增加期望的蛋白质的表达的能力。为了检查蛋白质表达的程度,使测试样品(例如,表达期望的蛋白质的培养物中的细胞样品)或测试哺乳动物(例如,哺乳动物,如人或动物)模型,如啮齿动物(例如,小鼠)或非人灵长类动物(例如,猴)模型与核酸(例如,与本公开的脂质组合的核酸)接触。将测试样品或测试动物中期望的蛋白质的表达与不跟核酸接触或不施用核酸的对照样品(例如,表达期望的蛋白质的培养物中的细胞样品)或对照哺乳动物(例如,哺乳动物,如人或动物)模型(如啮齿动物(例如,小鼠)或非人灵长类动物(例如,猴)模型)中期望的蛋白质的表达进行比较。当期望的蛋白质存在于对照样品或对照哺乳动物中时,期望的蛋白质在对照样品或对照哺乳动物中的表达可以被指定为1.0的值。在一些实施例中,当测试样品或测试哺乳动物中的期望的蛋白质表达与对照样品或对照哺乳动物中的期望的蛋白质表达水平的比率大于1(例如,约1.1、1.5、2.0、5.0或10.0)时,实现诱导期望的蛋白质的表达。当对照样品或对照哺乳动物中不存在期望的蛋白质时,当检测到测试样品或测试哺乳动物中期望的蛋白质的任何可测量水平时,实现诱导期望的蛋白质的表达。本领域普通技术人员将理解适于确定样品中的蛋白质表达水平的测定,例如斑点印迹、北方印迹、原位杂交、ELISA、免疫沉淀、酶功能

和表型测定或基于可以在适当条件下产生荧光或发光的报告蛋白的测定。

[0095] 短语“抑制靶基因的表达”是指核酸沉默、降低或抑制靶基因的表达的能力。为了检查基因沉默的程度,使测试样品(例如,表达靶基因的培养物中的细胞样品)或测试哺乳动物(例如,哺乳动物,如人或动物)模型,如啮齿动物(例如,小鼠)或非人灵长类动物(例如,猴)模型与沉默、降低或抑制靶基因表达的核酸接触。将测试样品或测试动物中靶基因的表达与不跟核酸接触或不施用核酸的对照样品(例如,表达靶基因的培养物中的细胞样品)或对照哺乳动物(例如,哺乳动物,如人或动物)模型(如啮齿动物(例如,小鼠)或非人灵长类动物(例如,猴)模型)中靶基因的表达进行比较。靶基因在对照样品或对照哺乳动物中的表达可以被指定为值100%。在一些实施例中,当测试样品或测试哺乳动物中靶基因表达的水平相对于对照样品或对照哺乳动物中靶基因表达的水平为约95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或0%时,实现对靶基因表达的沉默、抑制或降低。换句话说,相对于不跟核酸接触或不施用核酸的对照样品或对照哺乳动物中靶基因表达的水平,核酸能够将在测试样品或测试哺乳动物中的靶基因表达沉默、降低或抑制至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。用于确定靶基因表达水平的合适测定包含但不限于使用本领域技术人员已知的技术来检查蛋白质或mRNA水平,所述技术例如斑点印迹、北方印迹、原位杂交、ELISA、免疫沉淀、酶功能、以及本领域技术人员已知的表型测定。

[0096] 活性剂或治疗剂,如治疗核酸的“有效量”或“治疗有效量”是足以产生期望的效应,例如与在不存在核酸的情况下检测到的正常表达水平相比靶序列表达的增加或抑制的量。当在不存在核酸的情况下不存在的表达产物的情况下检测到任何可测量水平时,实现靶序列表达的增加。在与核酸接触之前表达产物以某一水平存在的情况下,当用核酸如mRNA获得的值相对于对照的倍数增加为约1.05、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.75、2、2.5、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100、250、500、750、1000、5000、10000或更大时,实现表达的增加。当相对于对照用核酸如反义寡核苷酸获得的值为约95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或0%时,实现靶基因或靶序列表达的抑制。用于测量靶基因或靶序列的表达的合适测定包含例如使用本领域技术人员已知的技术如,斑点印迹、北方印迹、原位杂交、ELISA、免疫沉淀、酶功能、合适报告蛋白的荧光或发光以及本领域技术人员已知的表型测定来检查蛋白质或RNA水平。

[0097] 如本文所用,术语“核酸”是指含有至少两个单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸的聚合物,并且包含DNA、RNA及其杂交体。DNA可以呈反义分子、质粒DNA、cDNA、PCR产物或载体的形式。RNA可以呈小发夹RNA(shRNA)、信使RNA(mRNA)、反义RNA、miRNA、micRNA、多价RNA、切丁酶底物RNA或病毒RNA(vRNA)及其组合的形式。核酸包含含有已知核苷酸类似物或经修饰的主链残基或键的核酸,其是合成的、天然存在的和非天然存在的,并且其具有与参考核酸相似的结合特性。此类类似物的实例包含但不限于硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、甲基磷酸酯、手性-甲基磷酸酯、2'-O-甲基核糖核苷酸和肽-核酸(PNA)。除非特别限制,否则所述术语涵盖具有与参考核酸相似的结合特性的、含有天然核苷酸的已知类似物的核酸。除非另有指示,否则特定核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体(例如,简并


密码子取代)、等位基因、直系同源物、单核苷酸多态性和互补序列以及明确指示的序列。具体地,简并密码子取代可以通过产生序列来实现,在所述序列中,一个或多个所选的(或全部)密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代(Batzer等人,《核酸研究(Nucleic Acid Res.)》,19:5081(1991);Ohtsuka等人,《生物化学杂志(J.Biol.Chem.)》,260:2605-2608(1985);Rossolini等人,《分子和细胞探针(Mol.Cell.Probes)》,8:91-98(1994))。“核苷酸”含有糖脱氧核糖(DNA)或核糖(RNA)、碱基和磷酸基团(phosphate group)。核苷酸通过磷酸基团连接在一起。

[0098] “碱基”包含嘌呤和嘧啶,其进一步包含天然化合物腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、肌苷和天然类似物;以及嘌呤和嘧啶的合成衍生物,其包含但不限于放置新的反应性基团(如但不限于胺、醇、硫醇、羧酸根和烷基卤化物)的修饰。

[0099] 术语“基因”是指包括产生多肽或前体多肽所必需的部分长度或整个长度编码序列的核酸(例如,DNA或RNA)序列。

[0100] 如本文所用,“基因产物”是指基因的产物,如RNA转录物或多肽。

[0101] 术语“脂质”是指一组有机化合物,其包含但不限于脂肪酸的酯并且通常特征在于不易溶于水,但可溶于许多有机溶剂。其通常分为至少三类:(1)“简单脂质”,其包含脂肪和油以及蜡;(2)“化合物脂质”,其包含磷脂和糖脂;以及(3)“衍生脂质”,如类固醇。

[0102] “类固醇”是包括以下碳骨架的化合物: 类固醇的非限制性实例是

胆固醇。

[0103] 如本文所用,术语“化合物”意指包含所描述的结构的所有异构体和同位素、其所有药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物,以及其所有晶体形式(例如,晶体多晶型物)、晶体形式混合物或酸酐或水合物。

[0104] “同位素”是指原子序数相同但质量数不同(由原子核中不同数量的中子引起)的原子。例如,氢的同位素包含氕(3H)和氘(2H)。

[0105] “异构体”。本文所述的化合物或其药学上可接受的盐可以包含所有异构体,如几何异构体、基于不对称碳的光学异构体、立体异构体、互变异构体等。例如,化合物可以含有一个或多个立体中心,因此可以产生几何异构体(例如,双键产生几何E/Z异构体)、对映异构体、非对映异构体(例如,对映异构体(即,(+)或(-))或顺式/反式异构体),以及其它立体异构构型,所述立体异构构型可以根据绝对立体化学定义为(R)-或(S)-,如糖异构体,或定义为(D)-或(L)-,如氨基酸等。本公开意在包含所有此类可能的异构体及其外消旋和光学纯的形式。光学活性(+)和(-)、(R)-和(S)-、或(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备,或者使用常规技术(例如,色谱法和级分结晶)来解析。用于制备/分离单独的对映异构体的常规技术包含从合适的光学纯前体进行手性合成或使用例如手性高压液相色谱法(HPLC)拆分外消旋体(或盐或衍生物的外消旋体)。化合物的对映异构体和立体异构体混合物以及将其解析为其组分对映异构体或立体异构体的方法是众所周知的。当本文所述的这些化合物含有烯烃双键或几何不对称的其它中心时,并且除非另有说明,否则意图是这些化合物包含E几何异构体和Z几何异构体两者。同样,也旨在包含所有互变异构形式。

[0106] 术语“晶体多晶型物”、“多晶型物”或“晶体形式”意指其中化合物(或其盐或溶剂

化物)可以不同的晶体堆积排列而结晶的晶体结构,所有这些晶体结构具有相同的元素组成。不同的晶体形式通常具有不同的X射线衍射图、红外光谱、熔点、密度、硬度、晶体形状、光学和电学性质、稳定性和溶解性。重结晶溶剂、结晶速率、储存温度和其它因素可能使一种晶体形式占主导地位。化合物的晶体多晶型物可以通过在不同条件下结晶来制备。本文公开的化合物的结晶可以产生溶剂化物。

[0107] 如本文所用,术语“溶剂化物”是指包括本公开的可电离脂质的一个或多个分子与溶剂的一个或多个分子的聚集体。溶剂可以是水,在这种情况下,溶剂化物可以是水合物,包含一水合物、二水合物、半水合物、倍半水合物、三水合物、四水合物等。可替代地,溶剂可以是有机溶剂。

[0108] 如本文所用,“可电离脂质”是指能够带电荷的脂质。在一些实施例中,可电离脂质包含一个或多个带正电荷的胺基团。在一些实施例中,可电离脂质是可电离的,使其可以根据pH而以带正电荷或中性的形式存在。可电离脂质的电离影响包括所述可电离脂质的脂质纳米颗粒在不同pH条件下的表面电荷。脂质纳米颗粒的表面电荷进而可能影响其血浆蛋白吸收、血液清除和组织分布(Semple, S.C.等人,《高级药物递送综述(Adv. Drug Deliv Rev)》32:3-17(1998))以及其形成内体溶解的非双层结构的能力(Hafez, I.M.等人,《基因疗法(Gene Ther)》8:1188-1196(2001)),这可能影响核酸的胞内递送。

[0109] 术语“聚合物缀合脂质”是指包括脂质部分和聚合物部分两者的分子。聚合物缀合脂质的非限制性实例是聚乙二醇化脂质。术语“聚乙二醇化脂质”是指包括脂质部分和聚乙二醇部分两者的分子。聚乙二醇化脂质是本领域已知的,并且包含例如1-(单甲氧基-聚乙二醇)-2,3-二肉豆蔻酰甘油(PEG-DMG)等。如本文所用,术语“PEG-脂质”或“PEG化脂质”是可互换的并且是指包括聚乙二醇组分的脂质。

[0110] 术语“中性脂质”是指在选定的pH下以不带电或中性两性离子形式存在的任何脂质。在生理pH下,此类脂质包含但不限于磷脂酰胆碱,如1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-二棕榈酰-5n-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-二肉豆蔻酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1-棕榈酰-2-油酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPE);磷脂酰乙醇胺,如1,2-二油酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE);鞘磷脂(SM);神经酰胺;以及类固醇,如固醇;及其衍生物。中性脂质可以是合成的或天然来源的。

[0111] 如本文所用,“磷脂”是包含磷酸部分和一个或多个碳链(如不饱和脂肪酸链)的脂质。磷脂可以包含一个或多个多重键(例如,双键或三键)(一个或多个不饱和基团)。特定的磷脂可以促进与膜的融合。例如,阳离子磷脂可以与膜(例如,细胞膜或胞内膜)的一个或多个带负电荷的磷脂相互作用。磷脂与膜的融合可以允许含脂质组合物中的一个或多个要素穿过膜,从而允许例如将一个或多个要素递送到细胞。

[0112] 如本文所用,术语“脂质体”是指包括可能含有货物的内部水空间周围的外脂质层膜(例如,称为单层脂质体的单个脂质双层或称为多层脂质体的多个脂质双层)的组合物。参见例如,Cullis等人,《生物化学和生物物理学学报(Biochim. Biophys Acta)》,559:399-420(1987),所述文献通过引用整体并入本文。单层脂质体的直径通常在约20至约400纳米(nm)、约50至约300nm、约100至约200nm或约300至约400nm的范围内。多层脂质体的直径通常在约1至约10 $\mu$ m的范围内,并且可以包括2至数百个与水相层交替的同心脂质双层。

[0113] 术语“脂质纳米颗粒”是指至少一维为纳米数量级(例如,1-1,000nm)并包括一种

或多种式(I)的化合物的颗粒。在一些实施例中,包括一种或多种式(I)的化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体的脂质纳米颗粒包含于组合物中,所述组合物可以用于将治疗剂如核酸(例如,mRNA)递送到所关注的靶位点(例如,细胞、组织、器官、肿瘤等)。在一些实施例中,脂质纳米颗粒包括一种或多种式(I)的化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体和核酸。在一些实施例中,脂质纳米颗粒包括一种或多种式(I)的化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体和核酸以及一种或多种选自中性脂质、带电荷的脂质、类固醇和聚合物缀合脂质的其它脂质。在一些实施例中,治疗剂如核酸可以包封在脂质纳米颗粒的脂质部分中或由脂质纳米颗粒的脂质部分中的一些或全部包封的水性空间中,从而保护其免受由宿主生物体或细胞的机制诱导的酶促降解或其它不期望的效应,例如不良免疫应答。

[0114] 在一些实施例中,脂质纳米颗粒的平均直径为约30nm至约150nm、约40nm至约150nm、约50nm至约150nm、约60nm至约130nm、约70nm至约110nm、约70nm至约100nm、约80nm至约100nm、约90nm至约100nm、约70至约90nm、约80nm至约90nm、约70nm至约80nm,或约30nm、35nm、40nm、45nm、50nm、55nm、60nm、65nm、70nm、75nm、80nm、85nm、90nm、95nm、100nm、105nm、110nm、115nm、120nm、125nm、130nm、135nm、140nm、145nm或150nm,并且是基本上无毒的。在一些实施例中,当存在于脂质纳米颗粒中时,核酸在水性溶液中对用核酸酶降解具有抗性。包括核酸的脂质纳米颗粒及其制备方法公开于例如美国专利公开第2004/0142025号、第2007/0042031号和PCT公开第W0 2013/016058号和第W0 2013/086373号、第8,569,256号、第5,965,542号和美国专利公开第2016/0199485号、第2016/0009637号、第2015/0273068号、第2015/0265708号、第2015/0203446号、第2015/0005363号、第2014/0308304号、第2014/0200257号、第2013/086373号、第2013/0338210号、第2013/0323269号、第2013/0245107号、第2013/0195920号、第2013/0123338号、第2013/0022649号、第2013/0017223号、第2012/0295832号、第2012/0183581号、第2012/0172411号、第2012/0027803号、第2012/0058188号、第2011/0311583号、第2011/0311582号、第2011/0262527号、第2011/0216622号、第2011/0117125号、第2011/0091525号、第2011/0076335号、第2011/0060032号、第2010/0130588号、第2007/0042031号、第2006/0240093号、第2006/0083780号、第2006/0008910号、第2005/0175682号、第2005/017054号、第2005/0118253号、第2005/0064595号、第2004/0142025号、第2007/0042031号、第1999/009076号以及PCT公开第W0 99/39741号、第W0 2017/117528号、第W0 2017/004143号、第W0 2017/075531号、第W0 2015/199952号、第W0 2014/008334号、第W0 2013/086373号、第W0 2013/086322号、第W0 2013/016058号、第W0 2013/086373号、第W02011/141705号和第W0 2001/07548号中,所述文献的全部公开内容出于所有目的通过引用整体并入本文。

[0115] 如本文所用,术语“大小”是指脂质纳米颗粒群体的流体动力学直径。脂质纳米调配物的大小的测量可用于指示组合物的大小和群体分布(多分散指数,PDI)。

[0116] 如本文所用,“多分散指数”是重均摩尔质量与 $M_n$ 之间的比率, $M_n$ 是数均摩尔质量,其描述了系统粒径分布的均匀性。例如小于0.3的小值指示窄粒径分布。

[0117] 多分散指数可用于指示脂质组合物(例如,脂质体或LNP)的均匀性,例如脂质体或LNP的粒径分布。小(例如,小于0.3)的多分散指数通常指示窄的粒径分布。脂质组合物的多分散指数可以为约0至约0.25,如0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、

0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24或0.25。在一些实施例中,脂质组合物的多分散指数可以为约0.10至约0.20。

[0118] 如本文所用,术语“表观pKa”是指50%的脂质纳米调配物(例如,LNP)被质子化时的pH。这可以用作脂质纳米调配物(例如,LNP)将被质子化的pH范围的指标,并且从而启动核苷酸递送期间的内体逃逸过程。

[0119] 如本文所用,术语“ $\zeta$ 电位”是指例如在脂质纳米调配物(例如,LNP组合)中脂质的电动电位。 $\zeta$ 电位可以描述LNP组合物的表面电荷。 $\zeta$ 电位可以用于预测器官向性和与血清蛋白的潜在相互作用。

[0120] 脂质组合物(例如,脂质体或LNP)的 $\zeta$ 电位可以用于指示组合物的电动电位。在一些实施例中, $\zeta$ 电位可以描述脂质体或LNP的表面电荷。具有相对低电荷(正电荷或负电荷)的脂质组合物(例如,脂质体或LNP)通常是期望的,因为更高电荷的物质可能与细胞、组织和体内其它元素发生不期望的相互作用。在一些实施例中,脂质体或LNP的 $\zeta$ 电位可以为约-10mV至约+20mV、约-10mV至约+15mV、约-10mV至约+10mV、约-10mV至约+5mV、约-10mV至约0mV、约-10mV至约-5mV、约-5mV至约+20mV、约-5mV至约+15mV、约-5mV至约+10mV、约-5mV至约+5mV、约-5mV至约0mV、约0mV至约+20mV、约0mV至约+15mV、约0mV至约+10mV、约0mV至约+5mV、约+5mV至约+20mV、约+5mV至约+15mV或约+5mV至约+10mV。

[0121] 如本文所用,被脂质“包封”是指治疗剂如核酸(例如,mRNA)被脂质纳米颗粒完全或部分包封。在一些实施例中,核酸(例如,mRNA)被完全包封在脂质纳米颗粒中。

[0122] 如本文所用,“包封效率”或“截留效率”是指相对于所提供的治疗剂和/或预防剂的初始总量,成功掺入(例如,被包封或以其它方式缔合)到脂质组合物(例如,LNP或脂质体)的被包封货物(例如,治疗剂和/或预防剂)的百分比。例如,如果最初提供的总共100mg的治疗剂和/或预防剂中有97mg的治疗剂和/或预防剂被包封在脂质组合物中,则包封效率可以为97%。包封效率可以用于指示使用特定的调配方法和调配配方将被包封货物(例如,核酸分子)装载到脂质组合物中的效率。

[0123] 如蛋白质和/或核酸等货物的包封效率描述了相对于提供的最初量,在制备后被包封或以其它方式与脂质组合物(例如,脂质体或LNP)缔合的蛋白质和/或核酸的量。包封效率期望是高的(例如,至少70%、80%、90%、95%、近100%)。例如,可以通过比较在用一种或多种有机溶剂或去污剂分解脂质体或LNP之前和之后含有脂质体或LNP的溶液中蛋白质或核酸的量来测量包封效率。阴离子交换树脂可以用于测量溶液中游离蛋白质或核酸(例如,RNA)的量。荧光可以用于测量溶液中游离蛋白质和/或核酸(例如,RNA)的量。对于本文所述的脂质体或LNP,蛋白质和/或核酸的包封效率可以为至少50%,例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一些实施例中,所述包封效率可以为至少80%。在一些实施例中,所述包封效率可以为至少90%。在一些实施例中,所述包封效率可以为至少95%。

[0124] 关于核酸-脂质纳米颗粒的“血清稳定的”意指核酸在暴露于将显著降解游离DNA或RNA的血清或核酸酶测定之后不被显著降解。合适的测定包含例如标准血清测定、DNA酶测定或RNA酶测定。

[0125] 一些施用技术可以使某些药剂全身递送,但不会使其它药剂全身递送。“全身递送”意指有用(如治疗)量的药剂被递送到身体的大多数部位。脂质纳米颗粒的全身递送可

以通过本领域已知的任何手段(包含例如静脉内、动脉内、皮下和腹膜内递送)进行。在一些实施例中,脂质纳米颗粒的全身递送是通过静脉内递送。

[0126] 如本文所用,“局部递送”是指药剂直接递送到生物体内的靶位点。例如,药剂可以通过直接注射到疾病部位(如肿瘤)、其它靶位点(如炎症部位)或靶器官(如肝、心脏、胰腺、肾等)中来局部递送。局部递送还可以包含局部施用或局部注射技术,如肌内、皮下或皮内注射。局部递送不排除全身药理学作用。

[0127] 如本文所用,“施用方法”可以包含全身递送和局部递送。“全身递送”意指有用(如治疗)量的药剂被递送到身体的大多数部位。脂质体或LNP的全身递送可以通过本领域已知的任何方式(包含例如静脉内、动脉内、肌内、皮内、皮下和腹膜内递送)进行。在一些实施例中,脂质纳米颗粒的全身递送是通过静脉内递送。如本文所用,“局部递送”是指药剂直接递送到生物体内的靶位点。例如,药剂可以通过直接注射到疾病部位(如肿瘤)、其它靶位点(如炎症部位)或靶器官(如肝、心脏、胰腺、肾等)中来局部递送。局部递送还可以包含局部施用或局部注射技术,如肌内、皮下或皮内注射。局部递送不排除全身药理学作用。

[0128] 如本文所用,术语“多肽”或“所关注的多肽”是指通常由肽键接合的氨基酸残基的聚合物,其可以天然产生(例如,经分离或经纯化)或合成产生。

[0129] “核酸”意在定义寡核苷酸或多核苷酸序列。寡核苷酸或多核苷酸的非限制性实例为DNA、质粒DNA、自扩增RNA、mRNA、siRNA和tRNA。所述术语还涵盖RNA/DNA杂合体。核苷酸通常通过磷酸二酯键连接在核酸中,但术语“核酸”还涵盖具有其它类型的键或主链(例如,磷酸酰胺、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、O-甲基亚磷酸酰胺、吗啉代、锁核酸(LNA)、甘油核酸(GNA)、苏糖核酸(TNA)和肽核酸(PNA)键或主链等)的核酸类似物。核酸可以是单链的、双链的或含有单链和双链序列两者的部分。核酸可以含有脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸的任何组合,以及碱基的任何组合,包含例如腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、鸟嘌呤、尿嘧啶和经修饰或非规范的碱基(包含例如次黄嘌呤、黄嘌呤、7-甲基鸟嘌呤、5,6-二氢尿嘧啶、5-甲基胞嘧啶和5羟甲基胞嘧啶)。

[0130] 如本文所用,“RNA”是指核糖核酸,其可以是天然存在的或非天然存在的。例如, RNA可以包含经修饰的和/或非天然存在的组分,如一种或多种核碱基、核苷、核苷酸或接头。RNA可以包含帽结构、链终止核苷、茎环、polyA序列和/或聚腺苷酸化信号。RNA可以具有编码所关注的多肽的核苷酸序列。例如, RNA可以是信使RNA(mRNA)。编码特定多肽的mRNA的翻译,例如哺乳动物细胞内mRNA的体内翻译,可以产生经编码的多肽。RNA可以选自由以下组成的非限制性组:小干扰RNA(siRNA)、不对称干扰RNA(aiRNA)、微小RNA(miRNA)、切丁酶-底物RNA(dsRNA)、小发夹RNA(shRNA)、mRNA及其混合物。

[0131] “烷基”是指仅由碳原子和氢原子组成的直链或支链烃链自由基,其具有例如一至二十四个碳原子(C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>烷基)、四至二十个碳原子(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>烷基)、六至十六个碳原子(C<sub>6</sub>-C<sub>16</sub>烷基)、六至九个碳原子(C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>烷基)、一至十五个碳原子(C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>烷基)、一至十二个碳原子(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基)、一至八个碳原子(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>烷基)或一至六个碳原子(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基),并且所述烷基通过单键附接到分子的其余部分,例如甲基、乙基、正丙基、1-甲基乙基(异丙基)、正丁基、正戊基、1,1-二甲基乙基(叔丁基)、3-甲基己基、2-甲基己基、乙烯基、丙-1-烯基、丁-1-烯基、戊-1-烯基、戊-1,4-二烯基、乙炔基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基等。除非本说明书中另有具体说明,否则烷基任选地被取代。



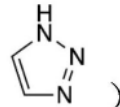
为实例,在具有0-3个选自氧、硫或氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可以是N(如在3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如在吡咯烷基中)或+NR(如在经N-取代的吡咯烷基中)。

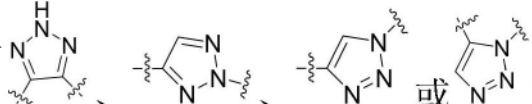
[0138] 杂环基的实例包含三唑基、四唑基、哌嗪基、吡咯烷基、二氧杂环己烷基、二氧戊烷基、二氮杂环基、氧氮杂环基、硫氮杂环基、吗啉基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢苯硫基、吡咯烷基、哌啶基、吡咯啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、噁唑烷基、奎宁环基等。

[0139] 杂环基的实例还包含那些典型的杂芳基,如吡咯基、吡啶基、哒嗪基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、呋喃基、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、吡嗪基、吡啶基、苯硫基或噻吩基、喹啉基、吡啶基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、嘌呤基、萘啶基、蝶啶基、异吡啶基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、吡唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、4H-喹唑啉基、咪唑基、吡啶基、吩嗪基、吩噻唑基、吩噁唑基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基和吡啶并[2,3-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮等。

[0140] 烷基、烯基、芳基、杂芳基、环烷基、杂环基的二价自由基是通过分别从烷基、烯基、芳基、杂芳基、环烷基和杂环基自由基上去除一个氢原子(或通过分别从烷烃、烯烃、芳烃、杂芳烃、环烷烃或杂环上去除两个氢原子)形成的。

[0141] 例如,术语“二价杂环(bivalent heterocycle)”或“二价杂环(divalent heterocycle)”是指杂环的二价形式,即通过从杂环基自由基上去除一个氢原子(或通过从杂环上去除两个氢原子)而形成的二价(bivalent)或二价(divalent)自由基。例如,杂环的二价(bivalent)或二价(divalent)形式是通过从杂环的两个不同原子中的每一者上去除一个氢原子形成的。通过实例的方式,1,2,3,三唑的二价(bivalent)或二价(divalent)形式

式  是通过从三唑环的两个不同原子(从碳原子或氮原子)中的每一者上去除一

个氢原子形成的,并且可以具有  的结构。

[0142] 术语“烷氧基”是指-O-烷基自由基。

[0143] 术语“氨基烷基”是指被氨基取代的烷基。术语“烷基氨基”是指被烷基取代的氨基。

[0144] 术语“氨基羰基”是指-C(O)-氨基自由基。

[0145] 本文所用的术语“被取代”意指上述基团中的任一者(例如,烷基、羟烷基、亚烷基、环烷基、亚环烷基、氨基、氨基羰基、杂环基或杂芳基),其中一个或多个氢原子通过键被替换成非氢原子,如但不限于:卤素原子,如F、Cl、Br或I;氧代基团(=O);羟基(-OH);烷氧基、烷氧基烷基、芳烷氧基、烷基如C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基;环烷基;烯基、炔基、芳基、芳烷基杂环基、杂环基、杂芳基、硫醇、烷硫基、芳硫基、烷基硫代烷基、芳基硫代烷基、烷基磺酰基、烷基磺酰基烷基、芳基磺酰基烷基、芳氧基、羧基烷基、烷氧基羰基烷基、氨基羰基烷基、酰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、芳基氨基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、卤代烷基、氨基、三氟甲基、氰基、硝基、烷基氨基、芳基氨基、烷基氨基烷基、芳基氨基烷基、氨基烷基氨基、芳烷氧基羰基、磺酰基、烷基氨基内酰胺、烷基氨基杂芳基、烷基氨基杂环基和氨基磺酰胺。示例性取代

基还包含： $-(C=O)OR$ ； $-O(C=O)R$ ； $-C(=O)R$ ； $-OR$ ； $-S(O)_xR$ ； $-S-SR$ ； $-C(=O)SR$ ； $-SC(=O)R$ ； $-NRR'$ ； $-R'C(=O)R$ ； $-C(=O)RR'$ ； $-RC(=O)R'R''$ ； $-OC(=O)RR'$ ； $-RC(=O)OR'$ ； $-R'S(O)_xR''R$ ； $-R'S(O)_xR$ ；和 $-S(O)_xRR'$ ，其中： $R$ 、 $R'$ 和 $R''$ 在每次出现时独立地是可以任选地被取代的 $H$ 、 $C_1$ - $C_{15}$ 烷基或环烷基、杂环基或杂芳基，并且 $x$ 是0、1或2。在一些实施例中，所述取代基是 $C_1$ - $C_{12}$ 烷基。在一些实施例中，所述取代基是环烷基。在一些实施例中，所述取代基是卤代基团，如氟。在一些实施例中，所述取代基是氧代基团。在一些实施例中，所述取代基是羟基。在一些实施例中，所述取代基是羟基亚烷基（ $-R-OH$ ）。在一些实施例中，所述取代基是烷氧基（ $-OR$ ）。在一些实施例中，所述取代基是羧基。在一些实施例中，所述取代基是氨基（ $-NRR'$ ）。合适的取代基还包含饱和碳原子上的二价取代基，包含但不限于： $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^*2$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS(O)2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^*2))2-30-$ 或 $-S(C(R^*2))2-3S-$ ，其中 $R^*$ 每次独立地出现时选自氢、经取代的或未经取代的 $C_1$ -6烷基，或未经取代的5-6元饱和或部分不饱和环，或具有0-4个独立地选自氮、氧或硫的杂原子的芳基环。

[0146] “卤代”或“卤素”是指氟、氯、溴或碘的任何自由基。

[0147] “任选的”或“任选地”（例如，任选取代的）意指随后描述的情况事件可能会或可能不会发生，并且所述描述包含所述事件或情况发生的实例和不发生的实例。例如，“任选取代的烷基”意指烷基自由基可以或可以不被取代，并且所述描述包含经取代的烷基自由基和未经取代的烷基自由基两者。

[0148] 本公开还意在包含通过用具有不同原子质量或质量数的原子替换一个或多个原子而被同位素标记的本文所确定的所有式的所有药学上可接受的化合物。可以掺入到所公开的化合物中的同位素的实例分别包含氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘的同位素，如 $^2H$ 、 $^3H$ 、 $^{11}C$ 、 $^{13}C$ 、 $^{14}C$ 、 $^{13}N$ 、 $^{15}N$ 、 $^{15}O$ 、 $^{17}O$ 、 $^{18}O$ 、 $^{31}P$ 、 $^{32}P$ 、 $^{35}S$ 、 $^{18}F$ 、 $^{36}Cl$ 、 $^{123}I$ 和 $^{125}I$ 。这些经同位素标记的化合物可以用于通过表征例如作用位点或模式或对药理学上重要的作用位点的结合亲和力来帮助确定或测量化合物的有效性。某些经同位素标记的结构（I）、（IA）或（IB）的化合物，例如掺入放射性同位素的化合物，可用于药物和/或底物组织分布研究。放射性同位素氚（即 $^3H$ ）和碳14（即 $^{14}C$ ）鉴于其易于掺入和现成的检测手段可用于此目的。

[0149] 用更重的同位素（如氘，即 $^2H$ ）取代可以提供由更大的代谢稳定性引起的某些治疗优点，例如体内半衰期增加或剂量需求减少，并且因此在一些情况下可能是有用的。

[0150] 用如 $^{11}C$ 、 $^{18}F$ 、 $^{15}O$ 和 $^{13}N$ 等正电子发射同位素取代可以用于正电子发射断层扫描（PET）研究以进行检查底物受体占有率。经同位素标记的式（I）的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过如下文所示在制备和实例中所描述的方法类似的方法使用适当的经同位素标记的试剂代替先前采用的未经标记的试剂来制备。

[0151] 本公开还意在涵盖所公开的化合物的体内代谢产物。此类产物可能主要由于酶促过程而由例如所施用的化合物的氧化、还原、水解、酰胺化、酯化等产生。因此，本公开的实施例包含通过包括向哺乳动物施用本公开的可电离脂质持续足以产生其代谢产物的时间段的方法产生的化合物。此类产物通常通过以下方式来鉴定：将本公开的经放射性标记的化合物以可检测剂量施用于动物（如大鼠、小鼠、豚鼠、猴或人），允许足够的时间以发生代谢，并且将其转化产物与尿液、血液或其它生物样品分离。

[0152] “药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂”包含但不限于任何佐剂、载剂、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、风味增强剂、表面活性剂、润湿剂、分散剂、

悬浮剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂,其已被美国食品和药物管理局(United States Food and Drug Administration)认可用于人或家畜是可接受的。

[0153] “药学上可接受的盐”包含酸加成盐和碱加成盐两者。

[0154] “药学上可接受的酸加成盐”是指保留游离碱的生物学有效性和特性的那些盐,所述盐在生物学上或其它方面不是不期望的,并且所述盐由无机酸和有机酸形成,所述无机酸如但不限于盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,所述有机酸如但不限于乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、海藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、樟脑酸、樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环拉酸(cyclamic acid)、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖酸、龙胆酸、葡萄糖庚酸、葡萄糖酸、葡萄糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代-戊二酸、甘油磷酸、乙醇酸、马尿酸、异丁酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、帕莫酸(pamoic acid)、丙酸、焦谷氨酸、丙酮酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、酒石酸、硫氰酸、甲苯磺酸、三氟乙酸、十一烯酸等。

[0155] “药学上可接受的碱加成盐”是指保留游离酸的生物学有效性和特性的那些盐,所述盐在生物学上或其它方面不是不期望的。这些盐通过向游离酸中添加无机碱或有机碱来制备。衍生自无机碱的盐包含但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐等。无机盐的非限制性实例是铵盐、钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。衍生自有机碱的盐包含但不限于以下的盐:伯胺、仲胺和叔胺;经取代的胺(包含天然存在的经取代的胺);环状胺;以及碱性离子交换树脂,如氨、异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、二乙醇胺、乙醇胺、丹醇、2-二甲基氨基乙醇、2-二乙基氨基乙醇、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、苄乙苄胺、苜星青霉素、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、三乙醇胺、氨丁三醇、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、多胺树脂等。有机碱的非限制性实例是异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己胺、胆碱和咖啡因。

[0156] 本文所公开的可电离脂质的结晶可以产生溶剂化物。如本文所用,术语“溶剂化物”是指包括本公开的可电离脂质的一个或多个分子与溶剂的一个或多个分子的聚集体。溶剂可以是水,在这种情况下,溶剂化物可以是水合物。可替代地,溶剂可以是有机溶剂。因此,本公开的化合物可以作为水合物,包含一水合物、二水合物、半水合物、倍半水合物、三水合物、四水合物等,以及对应的溶剂化形式存在。本公开的化合物的溶剂化物可以是真正的溶剂化物,而在其它情况下,本公开的化合物可以仅保留外源水或者是水加一些外源溶剂的混合物。

[0157] “药物组合物”是指可以包括本公开的可电离脂质和本领域中通常接受的用于将生物活性化合物递送到哺乳动物(例如,人)的介质的组合物。此类介质因此包含药学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂。

[0158] “有效量”或“治疗有效量”是指本公开的可电离脂质在向哺乳动物(如人)施用时足以实现对哺乳动物(如人)的治疗的量。构成“治疗有效量”的本公开的脂质纳米颗粒的量将依据化合物、病状及其严重程度、施用方式和要治疗的哺乳动物的年龄而变化,但可以由本领域的普通技术人员根据其自己的知识和本公开来常规地进行确定。

[0159] 如本文所用的“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”涵盖患有所关注的疾病或

病状的哺乳动物(如人)的所关注疾病或病状的治疗,并且包含:

[0160] (i) 预防所述疾病或病状在哺乳动物中发生,特别是当此类哺乳动物易患所述病状但尚未被诊断为患有所述病状时;

[0161] (ii) 抑制所述疾病或病状,即阻止其发展;

[0162] (iii) 缓解所述疾病或病状,即,引起所述疾病或病状消退;或

[0163] (iv) 缓解由所述疾病或病状引起的症状,即缓解疼痛而不解决潜在的疾病或病状。如本文所用,术语“疾病”和“病状”可以互换使用或可以不同,因为特定疾病或病状可能不具有已知的致病源(因此病因学尚未确定),并且因此所述特定疾病或病状尚未被识别为疾病,而仅被识别为一种不期望的病状或综合征,其中临床医生已鉴定出或多或少的具体的症状组。

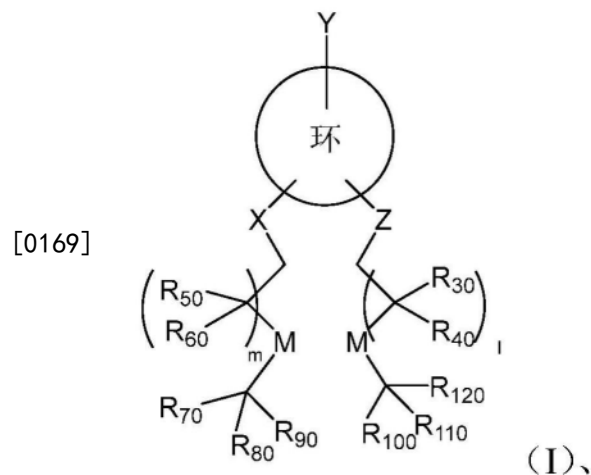
[0164] 本公开的化合物或其药学上可接受的盐可以含有一个或多个立体中心,并且因此可以产生对映异构体、非对映异构体和其它立体异构形式,其可以根据绝对立体化学定义为(R)-或(S)-,或定义为(D)-或(L)-用于氨基酸。本公开意在包含所有此类可能的异构体及其外消旋和光学纯的形式。光学活性(+)和(-)、(R)-和(S)-、或(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备,或者使用常规技术(例如,色谱法和级分结晶)来解析。用于制备/分离单独的对映异构体的常规技术包含从合适的光学纯前体进行手性合成或使用例如手性高压液相色谱法(HPLC)拆分外消旋体(或盐或衍生物的外消旋体)。当本文所述的这些化合物含有烯烃双键或几何不对称的其它中心时,并且除非另有说明,否则意图是这些化合物包含E几何异构体和Z几何异构体两者。同样,也旨在包含所有互变异构形式。

[0165] “立体异构体”是指由通过相同键键合的相同原子构成但是具有不同三维结构的相同原子的化合物,所述立体异构体是不可互换的。本公开设想了各种立体异构体及其混合物,并且包含“对映异构体”,所述对映异构体是指其分子是彼此不可叠加的镜像的两个立体异构体。

[0166] 在以下描述中,阐述某些具体细节以提供对本公开的各种实施例的透彻理解。然而,本领域普通技术人员将理解,可以在没有这些细节的情况下实践本公开。

[0167] 可电离脂质化合物

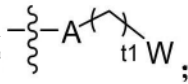
[0168] 本发明的一方面涉及一种式(I)的化合物:



其药学上可接受的盐或前述中的任一者的立体

异构体,其中:

[0170]  是环状或杂环部分；

[0171] Y是烷基、羟基、羟烷基或 ；

[0172] A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-或二价杂环；

[0173] X和Z中的每一者独立地不存在,是-O-、-CO-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-；

[0174] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟基、羟烷基或氨基烷基；

[0175] 每个M独立地是可生物降解部分；

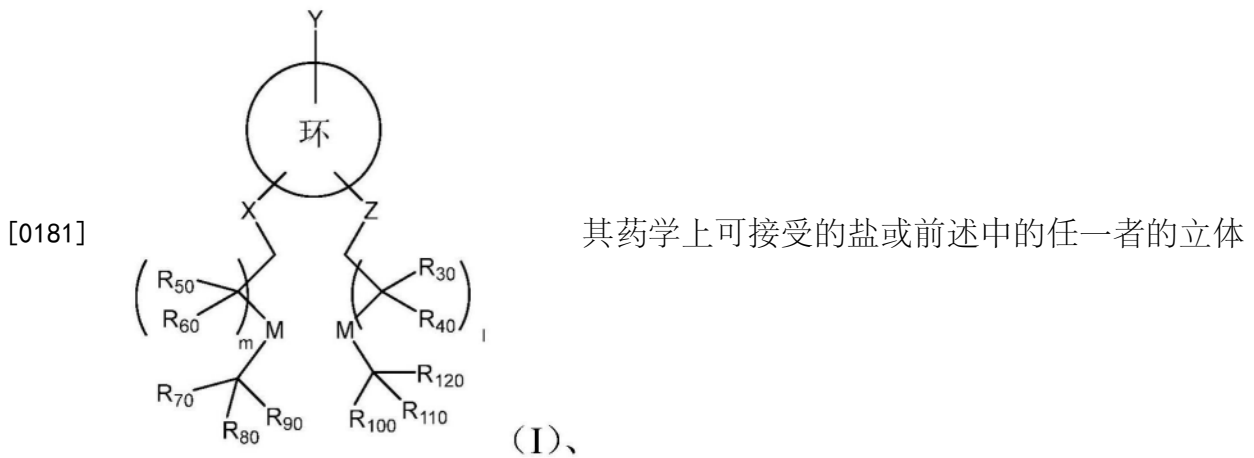
[0176] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>70</sub>、R<sub>80</sub>、R<sub>90</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基；

[0177] l和m中的每一者是1至10的整数；

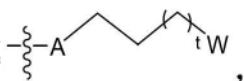
[0178] t1是0至10的整数；并且

[0179] W是羟基、经取代的或未经取代的羟烷基、经取代的或未经取代的氨基、经取代的或未经取代的氨基羰基或经取代的或未经取代的杂环基或杂芳基。

[0180] 在一些实施例中,公开了式(I)的可电离脂质：



[0182]  是环状或杂环部分；

[0183] Y是烷基、羟基、羟烷基或 ，

[0184] A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-；

[0185] X和Z中的每一者独立地不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-；

[0186] 每个 $R^7$ 独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟基、羟烷基或氨基烷基；

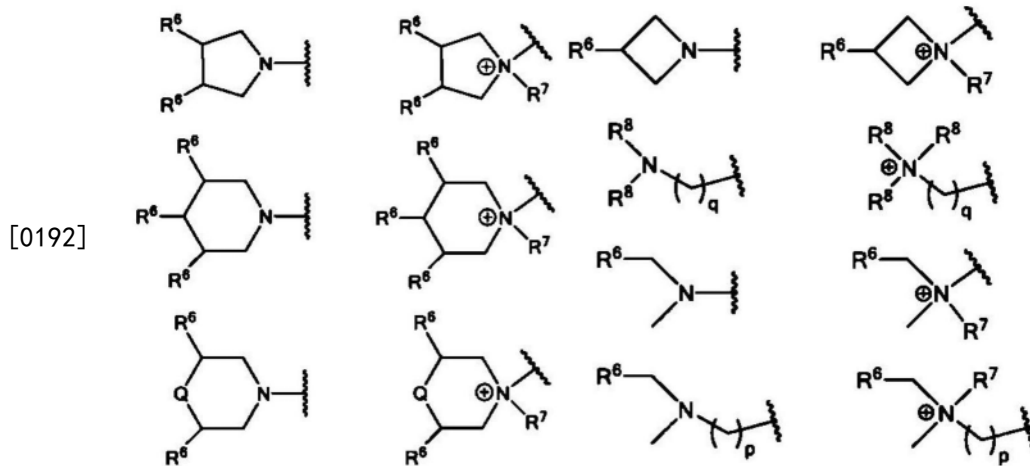
[0187] 每个M独立地是可生物降解部分；

[0188]  $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 、 $R_{60}$ 、 $R_{70}$ 、 $R_{80}$ 、 $R_{90}$ 、 $R_{100}$ 、 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的 $C_1$ - $C_{16}$ 支链或非支链烷基或 $C_1$ - $C_{16}$ 支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基；

[0189] 1和m中的每一者是1至10的整数；

[0190] t是0、1、2或3；并且

[0191] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者：



[0193] 其中

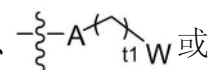
[0194] Q是-O-或-N( $R^7$ )；

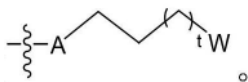
[0195]  $R^6$ 独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基；

[0196] 每个 $R^8$ 独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基，或者两个 $R^8$ 可以形成环；

[0197] q是0、1、2、3、4或5；并且

[0198] p是0、1、2、3、4或5。

[0199] 在一些实施例中，在本文所述的式中的任一者中，Y是羟基、或

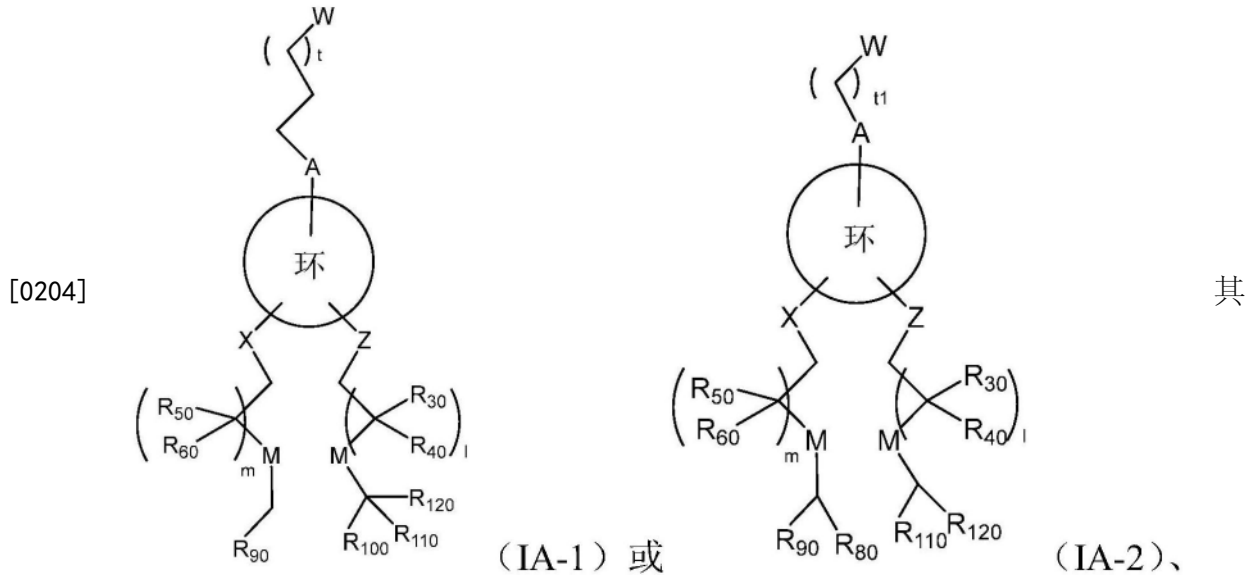


[0200] 在一些实施例中， $R_{70}$ 和 $R_{80}$ 中的每一者是H；并且 $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基、环烷基或经取代的环烷基。在一些实施例中， $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中， $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中， $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。

[0201] 在一些实施例中， $R_{70}$ 是H；并且 $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基。在一些实施例中， $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中， $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中， $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中， $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_8$ 支链或非支链烷基。

[0202] 在一些实施例中,  $R_{100}$  是H; 并且  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是  $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是  $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烯基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是  $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是  $C_1$ - $C_{12}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是  $C_1$ - $C_8$  支链或非支链烷基。

[0203] 在一些实施例中, 公开了式 (IA-1) 或 (IA-2) 的可电离脂质:



药学上可接受的盐或前述中的任一者的立体异构体, 其中:

[0205]  是环状或杂环部分;

[0206] A 不存在, 是 -O-、-N( $R^7$ )-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N( $R^7$ )C(O)-、-C(O)N( $R^7$ )-、-N( $R^7$ )C(O)N( $R^7$ )-、-S-、-S-S- 或二价杂环;

[0207] X 不存在, 是 -O-、-CO-、-N( $R^7$ )-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N( $R^7$ )C(O)-、-C(O)N( $R^7$ )- 或 -S-;

[0208] Z 不存在, 是 -O-、-N( $R^7$ )-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N( $R^7$ )C(O)-、-C(O)N( $R^7$ )- 或 -S-;

[0209] 每个  $R^7$  独立地是 H、烷基、烯基、环烷基、羟基、羟烷基或氨基烷基;

[0210] 每个 M 独立地是可生物降解部分;

[0211]  $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 、 $R_{60}$ 、 $R_{100}$ 、 $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H、任选地被杂原子间杂或被 OH、SH 或卤素取代的  $C_1$ - $C_{16}$  支链或非支链烷基或  $C_1$ - $C_{16}$  支链或非支链烯基;

[0212]  $R_{90}$  是  $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$  支链或非支链烯基或环烷基或经取代的环烷基;

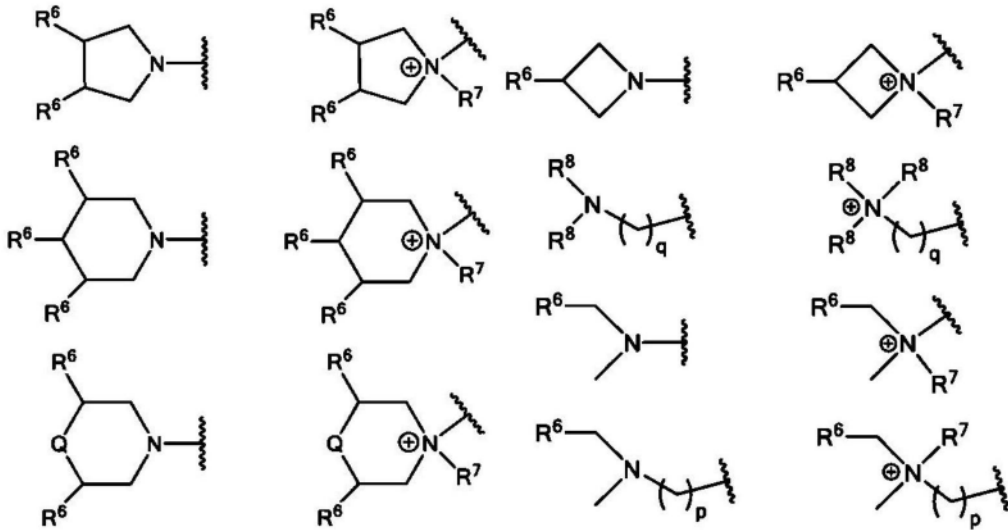
[0213] t 是 0、1、2 或 3;

[0214] t1 是 0 至 10 的整数;

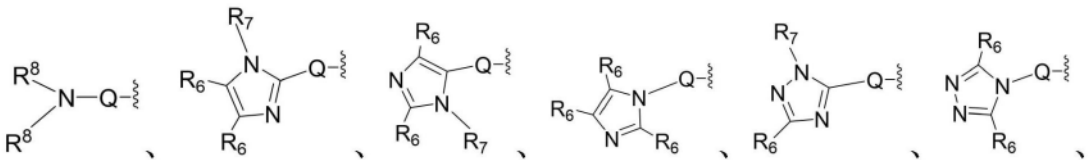
[0215] l 是 1 至 10 的整数;

[0216] m 是 1 至 10 的整数; 并且

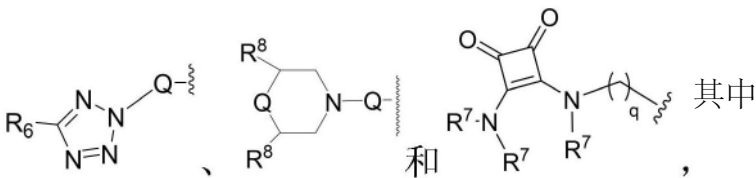
[0217] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者：



[0219]



[0220]



[0221] 每个Q独立地不存在,是-O-、-C(O)-、-C(S)-、-C(O)O-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(S)N(R<sup>7</sup>)-或-N(R<sup>7</sup>);

[0222] 每个R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、硫醇烷基或N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-亚烷基-Q-;

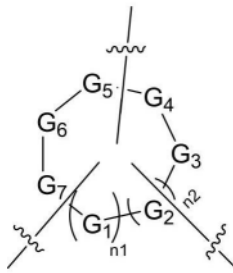
[0223] 每个R<sup>8</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基,或者两个R<sup>8</sup>与氮原子一起可形成环;

[0224] 每个q独立地是0、1、2、3、4或5;并且

[0225] 每个p独立地是0、1、2、3、4或5。

[0226] 下文进一步讨论了关于式(I)和(IA-1)以及(IA-2)中各种变量的实施例。

[0227] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中, 环 具有式



的结构,其中:

[0228]  $G_1$ 、 $G_2$ 、 $G_3$ 、 $G_4$ 、 $G_5$ 和 $G_6$ 中的每一者独立地是C(R') (R'')、O或N,条件是 $G_1$ - $G_6$ 中的不超过两者是O或N;

[0229] R'和R''各自独立地不存在,是H、烷基或来自一起形成第二5至7元环状环或杂环的两个相邻G的两个R';并且

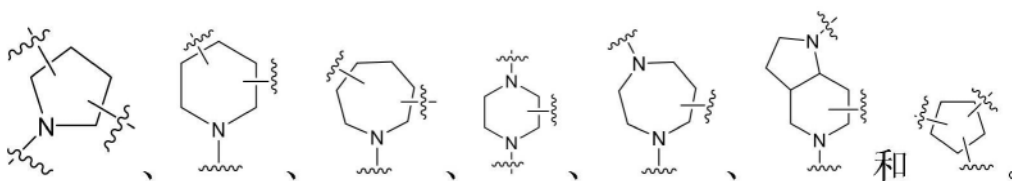
[0230]  $n_1$ 和 $n_2$ 各自独立地是0或1。

[0231] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,环选自吡咯烷、哌啶、哌嗪、环己烷、环戊烷、四氢呋喃、四氢吡喃、吗啉和二噁烷。

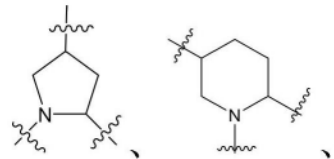
[0232] 在本文所述的式中的任一者中,在一些实施例中,环是5至7元单环。在一些实施例中,环是5至7元单环、环烷烃环。在一些实施例中,环是5至7元单环、杂环。

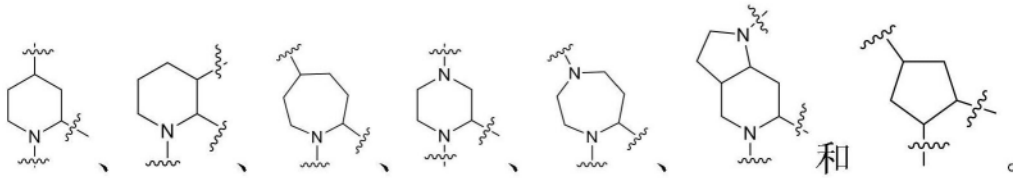
[0233] 在本文所述的式中的任一者中,在一些实施例中,环是双环或三环,即含有两个或更多个环,如稠合环。

[0234] 在本文所述的式中的任一者中,在一些实施例中,环选自由以下组成的组:

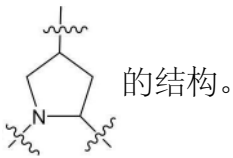


[0235] 在一些实施例中,环选自由以下组成的组:

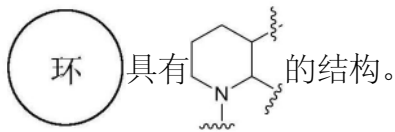
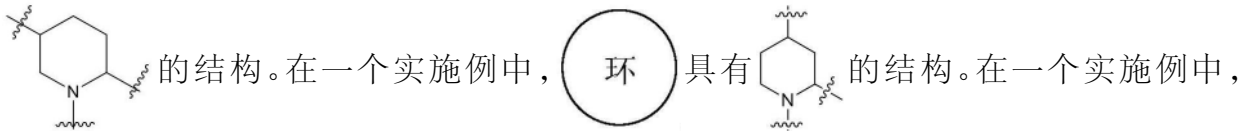




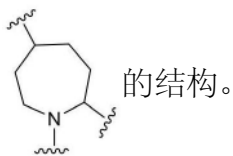
[0236] 在一些实施例中，(环) 具有 的结构。在一个实施例中，(环) 具有



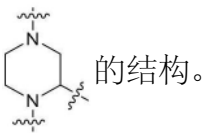
[0237] 在一些实施例中，(环) 具有 的结构。在一个实施例中，(环) 具有式



[0238] 在一些实施例中，(环) 具有 的结构。在一个实施例中，(环) 具有

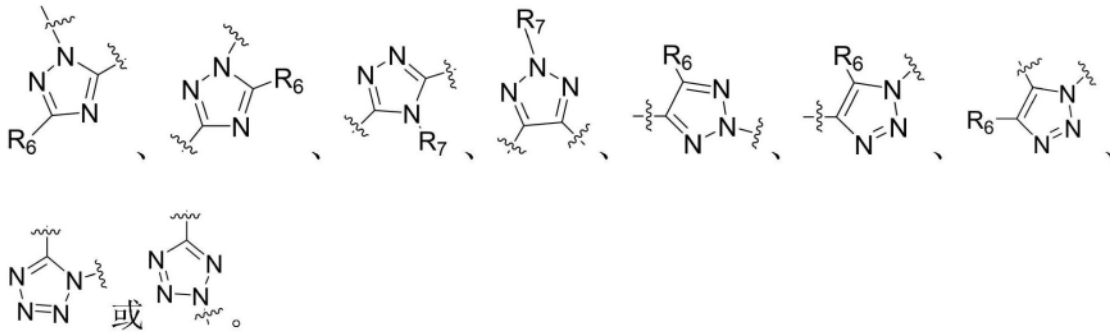


[0239] 在一些实施例中，(环) 具有 的结构。在一个实施例中，(环) 具有

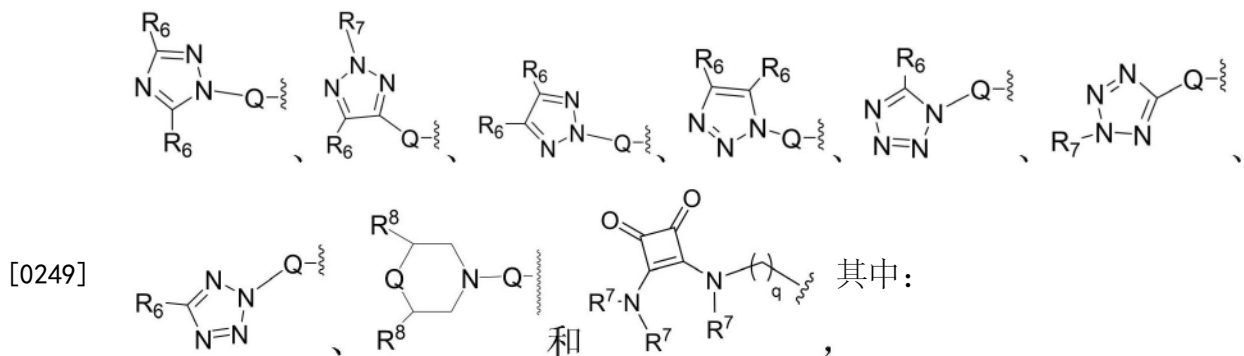
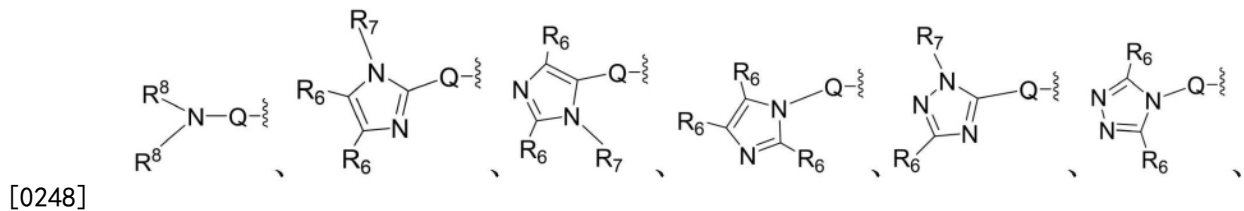
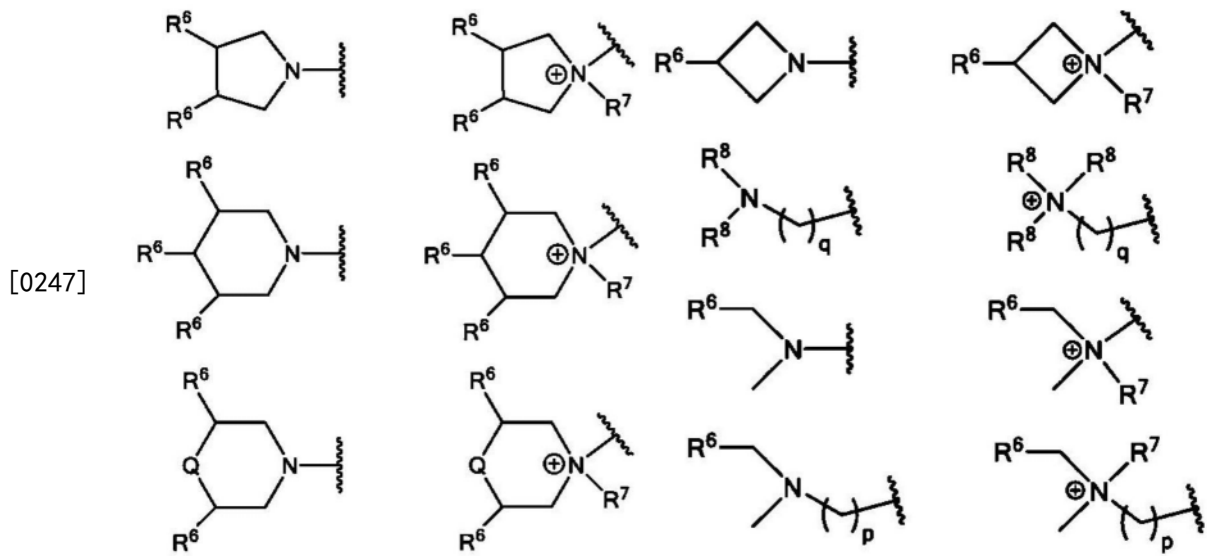


[0240] 在一些实施例中，(环) 具有 的结构。在一个实施例中，(环) 具有





[0246] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者:



[0250] 每个Q独立地不存在,是-O-、-C(O)-、-C(S)-、-C(O)O-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(S)N(R<sup>7</sup>)-或-N(R<sup>7</sup>)-;

[0251] 每个R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、

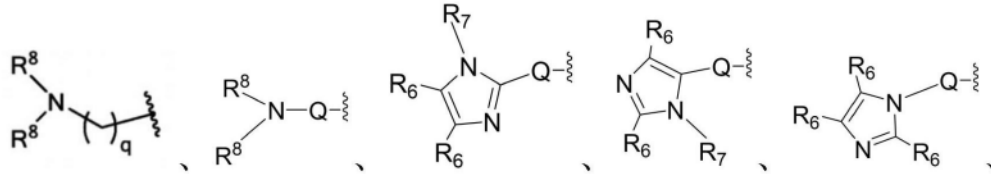
硫醇烷基或 $N^+(R^7)_3$ -亚烷基-Q-;

[0252] 每个 $R^8$ 独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基,或者两个 $R^8$ 与氮原子一起可形成环;

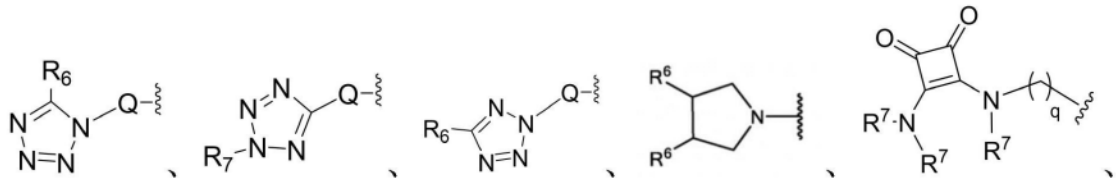
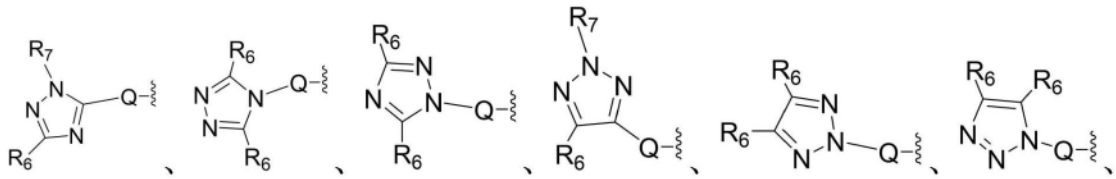
[0253] 每个q独立地是0、1、2、3、4或5;并且

[0254] 每个p独立地是0、1、2、3、4或5。

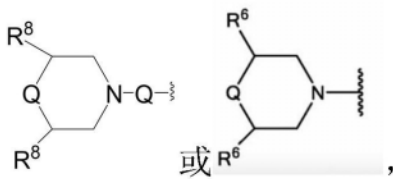
[0255] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,W是OH、



[0256]



[0257]



[0258] 其中:

[0259] q是0,

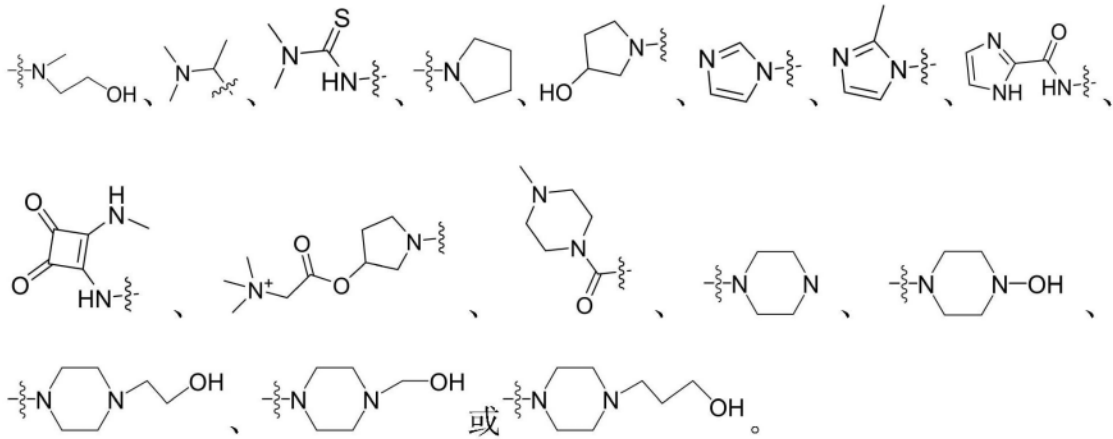
[0260] 每个 $R^8$ 独立地是H、 $C_1$ - $C_3$ 烷基或羟烷基,或者两个 $R^8$ 与氮原子一起形成任选地被一个或多个烷基取代的5元环,

[0261] 每个 $R^6$ 独立地是H、羟基、 $C_1$ - $C_3$ 烷基或-Q-亚烷基- $N^+(R^7)_3$ ,

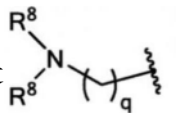

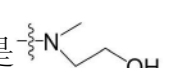
[0262] 每个Q独立地不存在,是-O-、-C(O)-、-N( $R^7$ )-、-C( $R^7$ )<sub>2</sub>-、-C(O)O-、-C(O)N( $R^7$ )-或-C(S)N( $R^7$ )-,并且

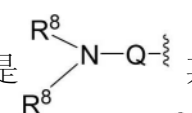
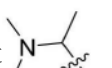
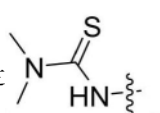
[0263] 每个 $R^7$ 独立地是H、 $C_1$ - $C_3$ 烷基或羟烷基。

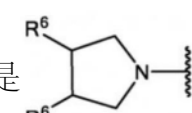

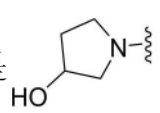
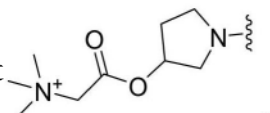
[0264] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,W是OH、 $\begin{matrix} \text{---} \\ \text{---} \end{matrix} \text{N} \begin{matrix} \text{---} \\ \text{---} \end{matrix}$ 、

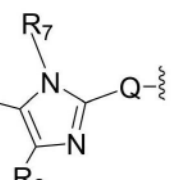
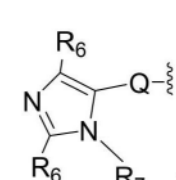
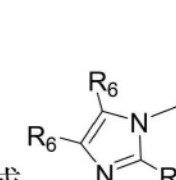
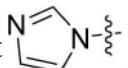


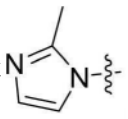
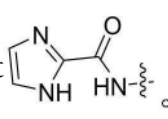
[0265] 在一些实施例中,W是OH。

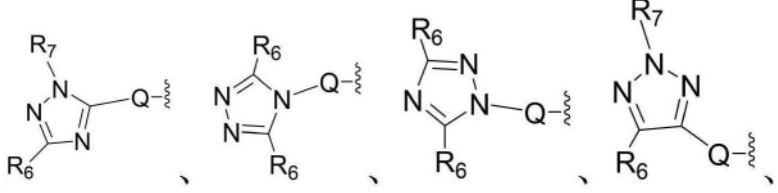
[0266] 在一些实施例中,W是  其中q是0,并且每个R<sup>8</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或羟烷基。在一个实施例中,W是 。在一个实施例中,W是 。

[0267] 在一些实施例中,W是  其中每个R<sup>8</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或羟烷基,Q是-N(R<sup>7</sup>)-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)O-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-C(S)N(R<sup>7</sup>)-;并且每个R<sup>7</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或羟烷基。在一个实施例中,W是 。在一个实施例中,W是 。

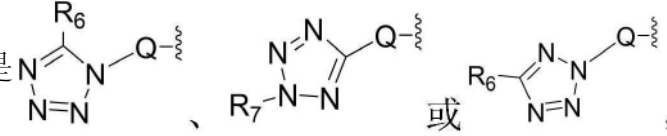
[0268] 在一些实施例中,W是  其中每个R<sup>6</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基或-Q-亚烷基-N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>。在一个实施例中,W是 。在一个实施例中,W是 。在一个实施例中,W是 。

[0269] 在一些实施例中,W是 、 或  其中每个Q独立地不存在,是-N(R<sup>7</sup>)-、-C(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>-、-C(O)O-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-C(S)N(R<sup>7</sup>)-;每个R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、硫醇烷基或N<sup>+</sup>(R<sup>7</sup>)<sub>3</sub>-亚烷基-Q-;并且每个R<sup>7</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基、羟基或羟烷基。在一个实施例中,W是 。

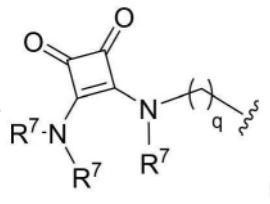
一个实施例中, W是  在一个实施例中, W是 .

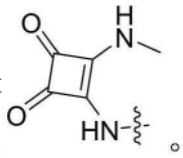
[0270] 在一些实施例中, W是 .

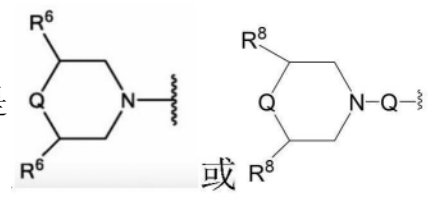
其中每个Q独立地不存在, 是  $-N(R^7)-$ 、 $-C(R^7)_2-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$  或  $-C(S)N(R^7)-$ ; 每个  $R^6$  独立地是 H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、硫醇烷基或  $N^+(R^7)_3-$  亚烷基-Q; 并且每个  $R^7$  独立地是 H、 $C_1-C_3$  烷基、羟基或羟烷基。

[0271] 在一些实施例中, W是  其中每个Q

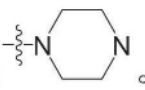
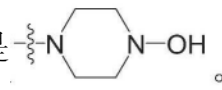
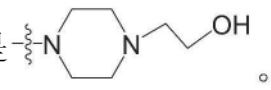
独立地不存在, 是  $-N(R^7)-$ 、 $-C(R^7)_2-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$  或  $-C(S)N(R^7)-$ ; 每个  $R^6$  独立地是 H、烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氨基、氨基烷基、烷基氨基、硫醇、硫醇烷基或  $N^+(R^7)_3-$  亚烷基-Q; 并且每个  $R^7$  独立地是 H、 $C_1-C_3$  烷基、羟基或羟烷基。

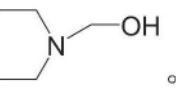
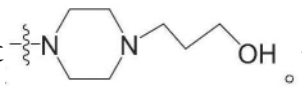
[0272] 在一些实施例中,  其中 q 是 0 或 1, 并且每个  $R^7$  独立地是 H、 $C_1-C_3$

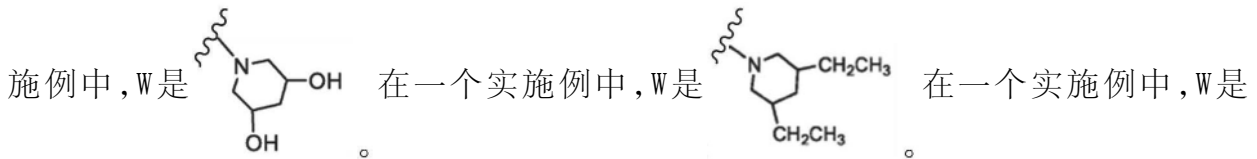
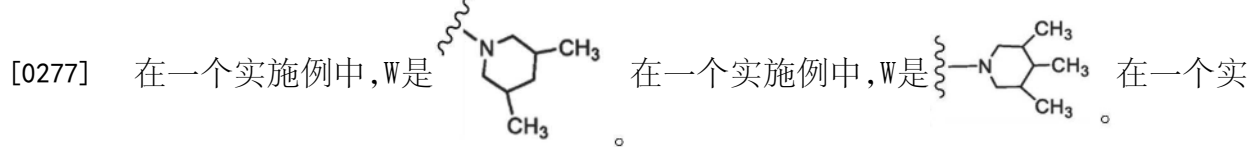
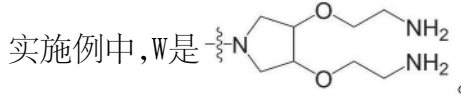
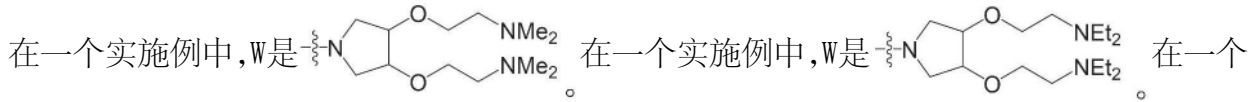
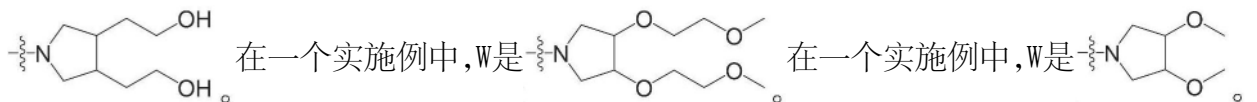
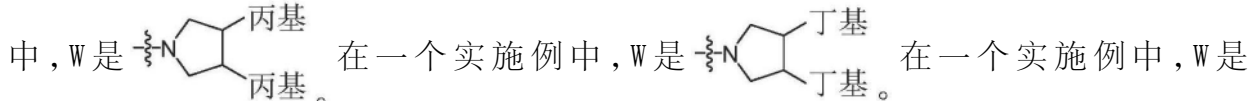
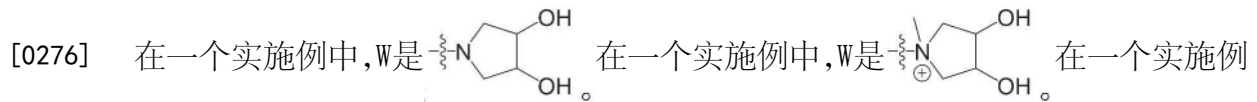
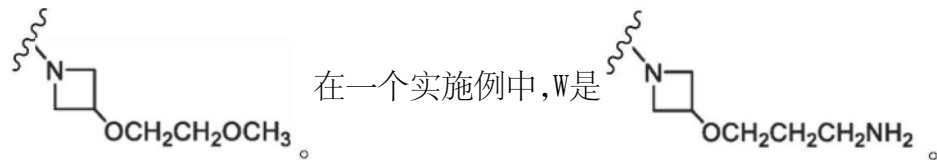
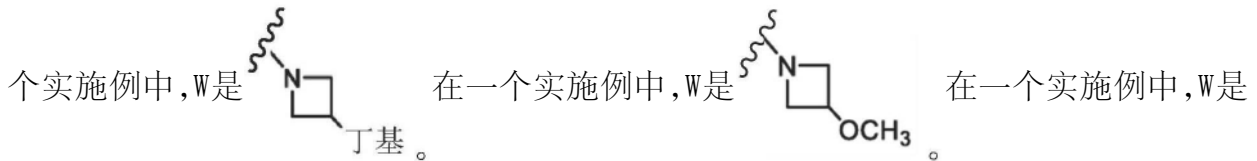
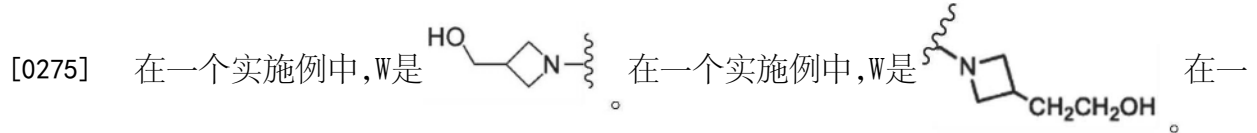
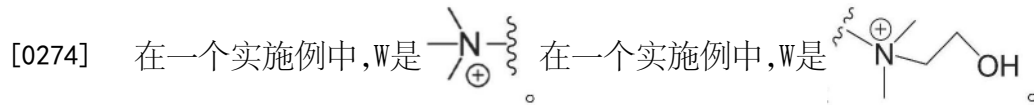
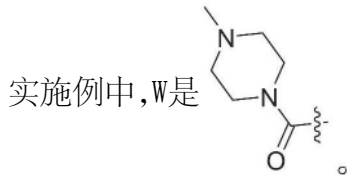
烷基。在一个实施例中, W是 .

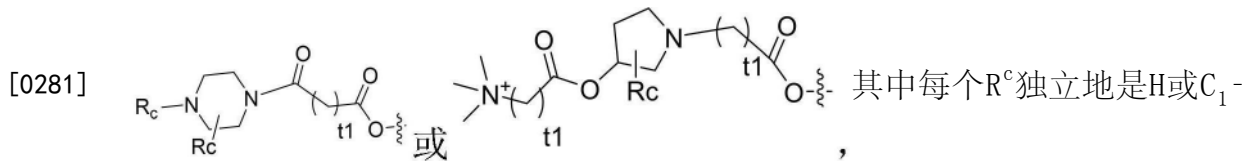
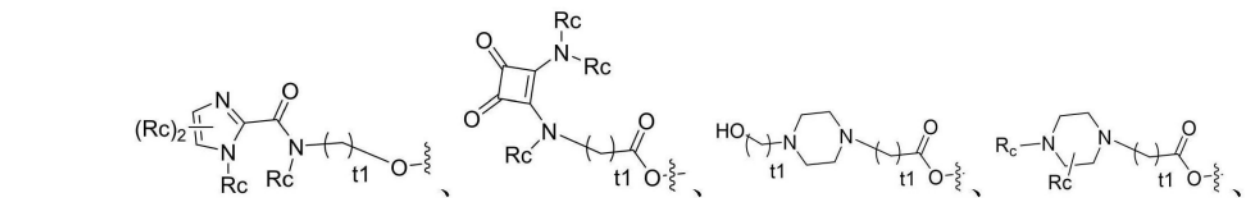
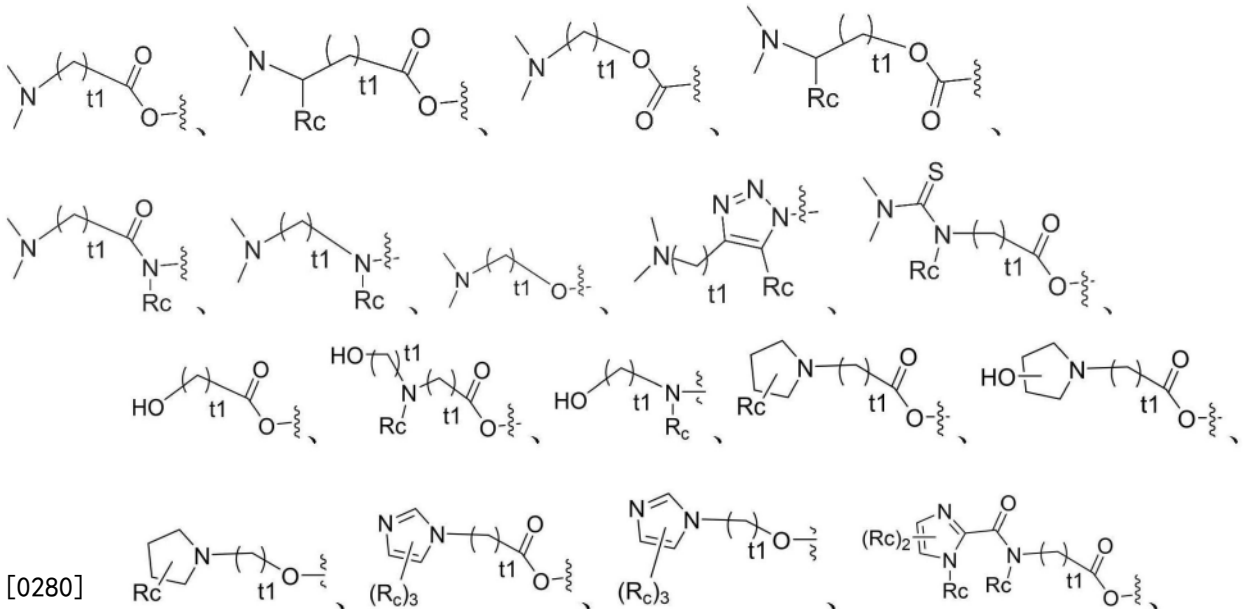
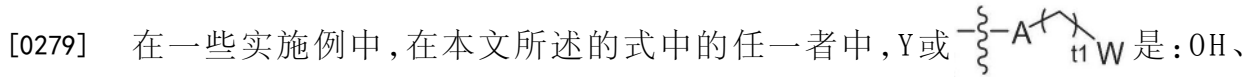
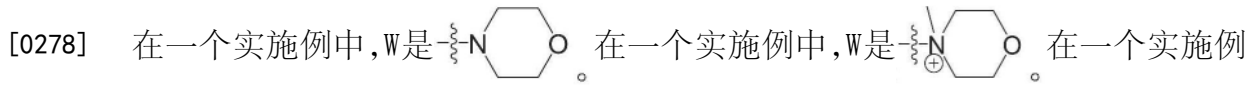
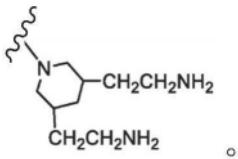
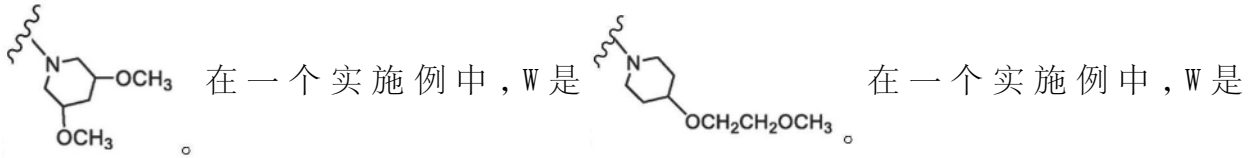
[0273] 在一些实施例中, W是  其中每个Q独立地是  $-N$

$(R^7)-$ 、 $-C(R^7)_2-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R^7)-$  或  $-C(S)N(R^7)-$ ; 每个  $R^6$  独立地是 H 或  $C_1-C_3$  烷基, 每个Q独立地是  $-O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-N(R^7)$ , 并且  $R^7$  是 H、 $C_1-C_3$  烷基、羟基或羟烷基。在一个实施例中, W是

 在一个实施例中, W是  在一个实施例中, W是 .

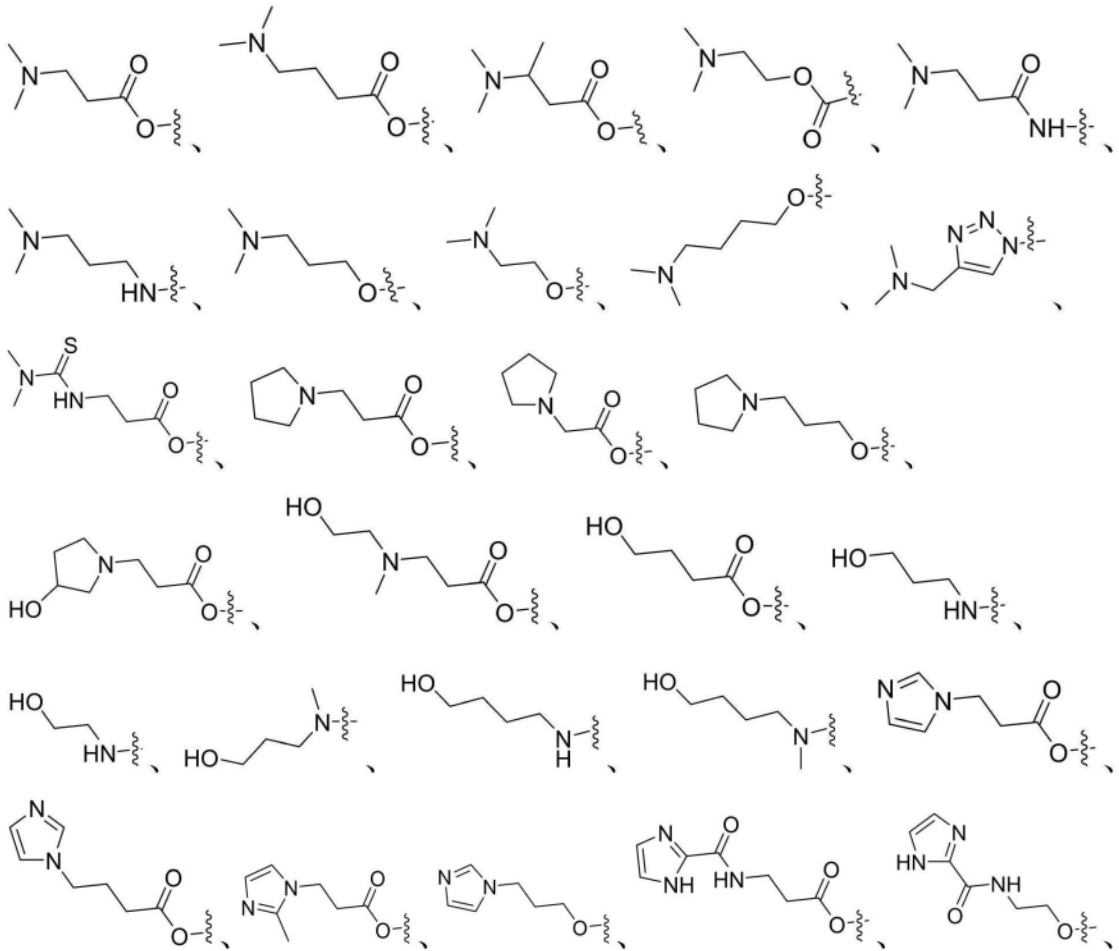
在一个实施例中, W是  在一个实施例中, W是  在一个



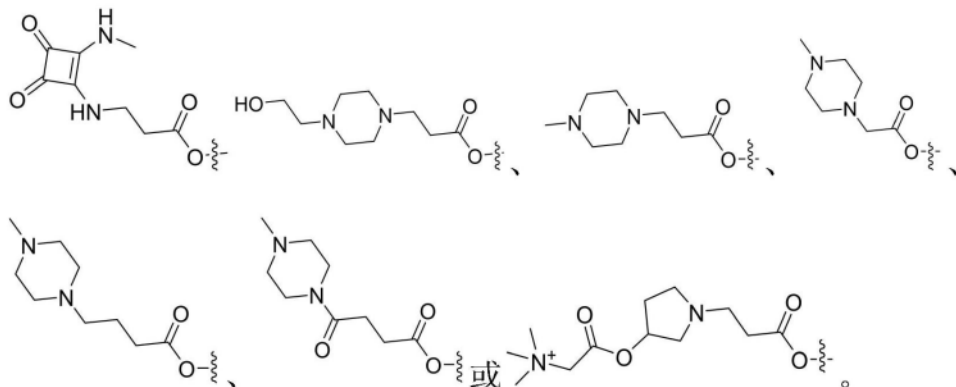


C<sub>3</sub>烷基, 并且每个t<sub>1</sub>独立地是1、2、3或4。

[0282] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,Y或是:OH、



[0283]



[0284] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,X不存在,是-O-或-C(O)-。

[0285] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中,Z是-O-、-C(O)O-或-OC(O)-。

[0286] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中, $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H或 $C_1$ - $C_4$ 支链或非支链烷基。

[0287] 在一些实施例中,在本文所述的式中的任一者中, $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H。

[0288] 在本文所述的式中的任一者中,在一些实施例中, $R_{70}$ 和 $R_{80}$ 中的每一者是H;并且 $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基、环烷基或经取代的环烷基。在一些实

施例中,  $R_{90}$  是  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基、 $C_1-C_{15}$  支链或非支链烯基。在一些实施例中,  $R_{90}$  是  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{90}$  是  $C_1-C_{12}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{90}$  是  $C_1-C_8$  支链或非支链烷基。

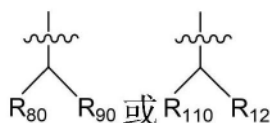
[0289] 在本文所述的式中的任一者中, 在一些实施例中,  $R_{70}$  是 H; 并且  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的每一者独立地是 H、 $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基、 $C_1-C_{15}$  支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基, 条件是  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的至少一者不是 H。在一些实施例中,  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的每一者独立地是 H、 $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基或  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烯基。在一些实施例中,  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_{12}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{80}$  和  $R_{90}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_8$  支链或非支链烷基。

[0290] 在本文所述的式中的任一者中, 在一些实施例中,  $R_{100}$  是 H; 并且  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H、 $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基、 $C_1-C_{15}$  支链或非支链烯基、或环烷基或经取代的环烷基, 条件是  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的至少一者不是 H。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基或  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烯基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_{15}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_{12}$  支链或非支链烷基。在一些实施例中,  $R_{110}$  和  $R_{120}$  中的每一者独立地是 H 或  $C_1-C_8$  支链或非支链烷基。

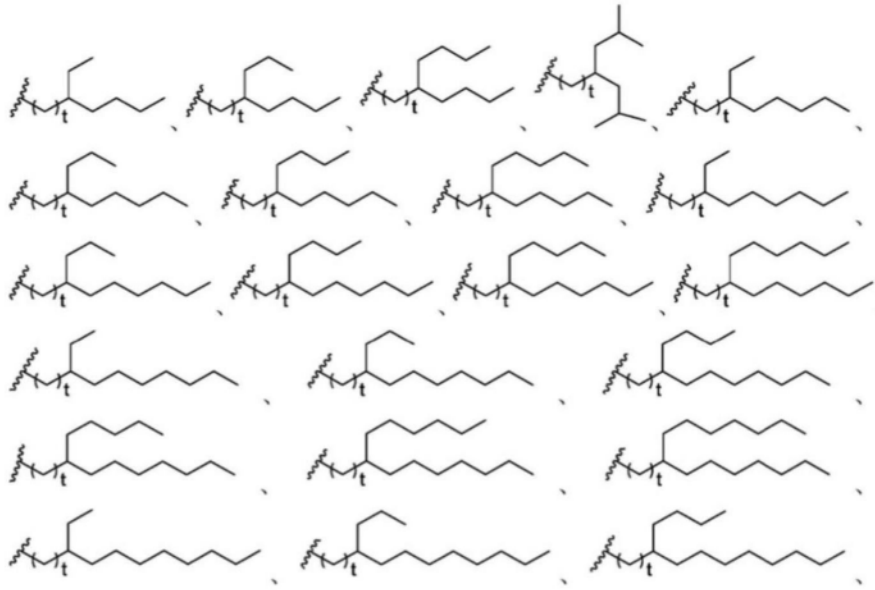
[0291] 在本文所述的式中的任一者中, 在一些实施例中,  $l$  是 3 至 10、3 至 7 或 4 至 7。在一些实施例中,  $l$  是 4、5、6、7、8、9 或 10。在一些实施例中,  $l$  是 3、4、5、6 或 7。在一些实施例中,  $l$  是 4、5、6 或 7。

[0292] 在本文所述的式中的任一者中, 在一些实施例中,  $m$  是 4 至 10、5 至 8、1 至 7、3 至 7 或 1 至 5。在一些实施例中,  $m$  是 4、5、6、7、8、9 或 10。在一些实施例中,  $m$  是 1、2、3、4 或 5。在一些实施例中,  $m$  是 3、4 或 5。在一些实施例中,  $m$  是 5、6、7 或 8。

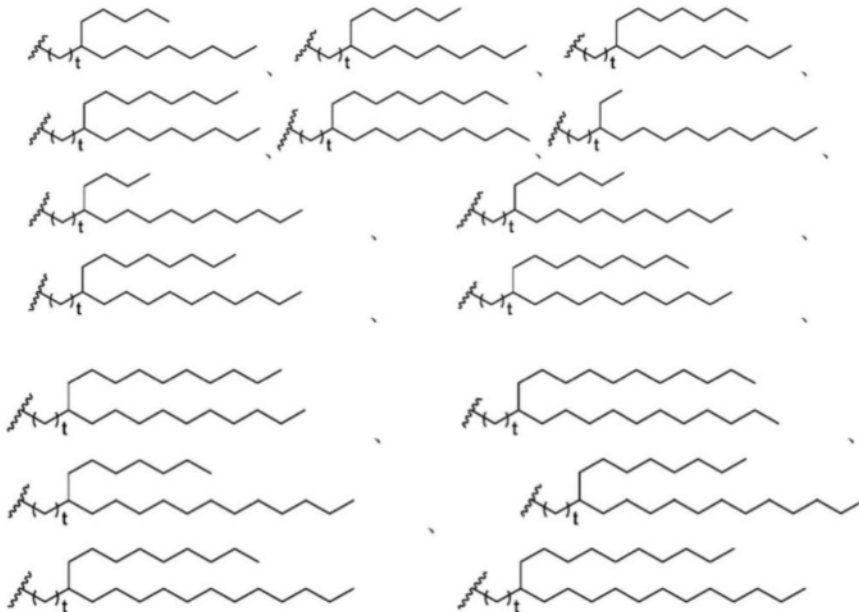
[0293] 在本文所述的式中的任一者中, 在一些实施例中,  $R_{70}$  是 H。在一些实施例中,  $R_{100}$  是 H。

[0294] 在本文所述的式中的任一者中, 在一些实施例中,  独立地选自:

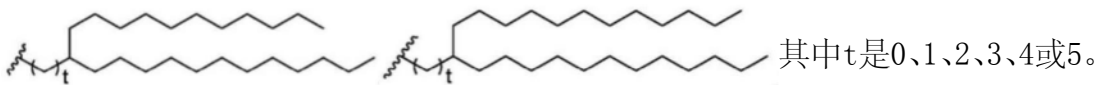
自:



[0295]



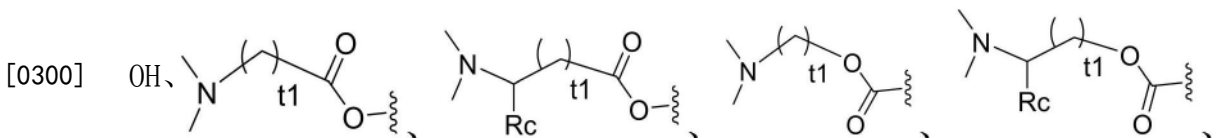
[0296]

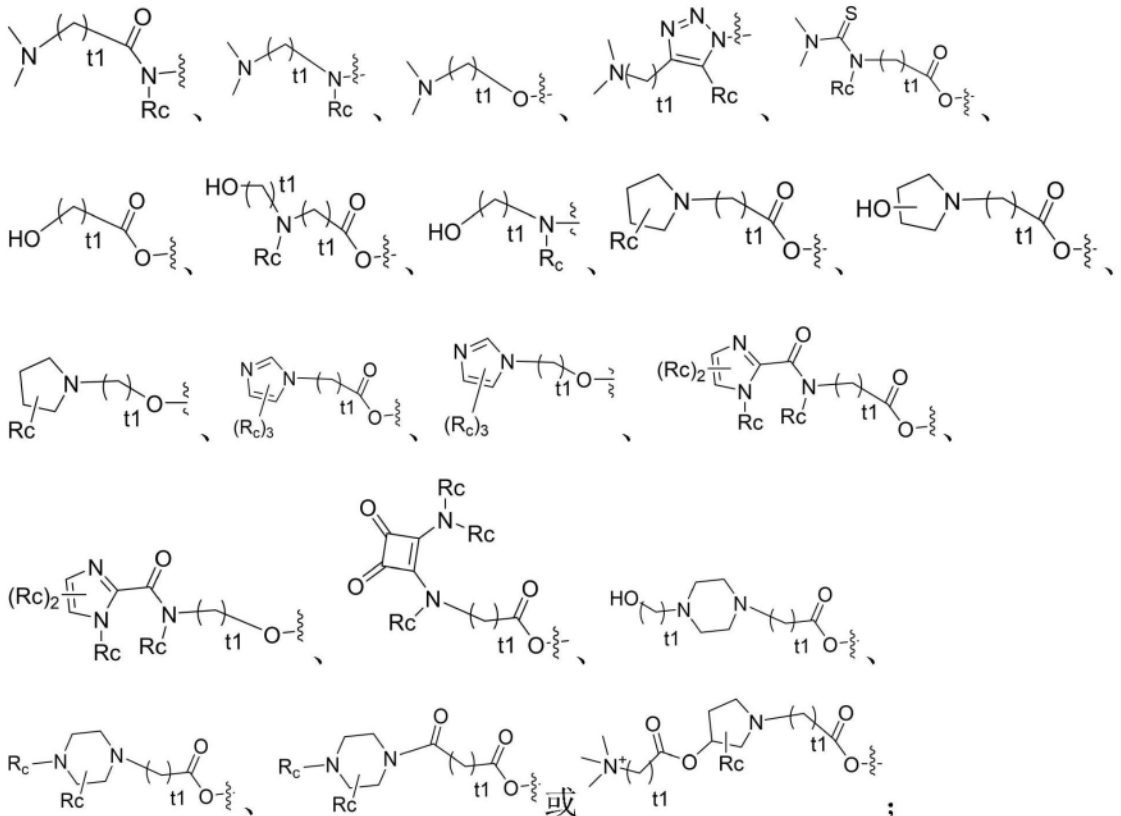


[0297] 在本文所述的式中的任一者中,在一些实施例中,M是-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(O-R<sub>13</sub>)-O-、-C(O)O(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-或-C(O-R<sub>13</sub>)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-,其中每个R<sup>7</sup>独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基;R<sub>13</sub>是支链或非支链C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>烷基,并且r是1、2、3、4或5。在一些实施例中,M是-OC(O)-或-C(O)O-。

[0298] 在本文所述的式中的任一者中,在一些实施例中,X不存在,是-O-或-C(O)-;

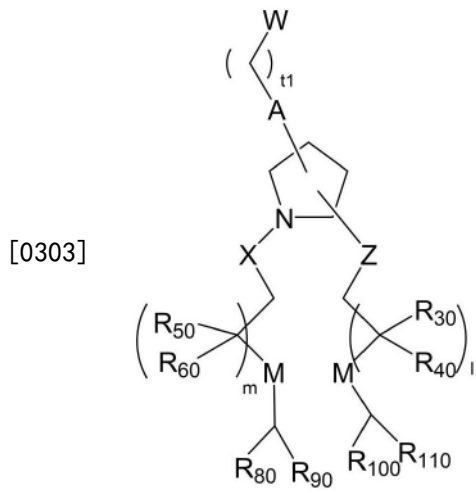
[0299] Z是-O-、-C(O)O-或-OC(O)-;M是-OC(O)-或-C(O)O-;Y或  $\text{---} \text{A} \text{---} \text{W}$  是:





[0301] 每个 $R^c$ 独立地是H或 $C_1-C_3$ 烷基;每个 $t_1$ 独立地是1、2、3或4; $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H或 $C_1-C_4$ 支链或非支链烷基; $R_{70}$ 是H;并且 $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是H或 $C_1-C_{12}$ 支链或非支链烷基; $R_{100}$ 是H;并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是H或 $C_1-C_{12}$ 支链或非支链烷基,条件是 $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的至少一者不是H,并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的至少一者不是H;1是3至7;并且 $m$ 是1至5。

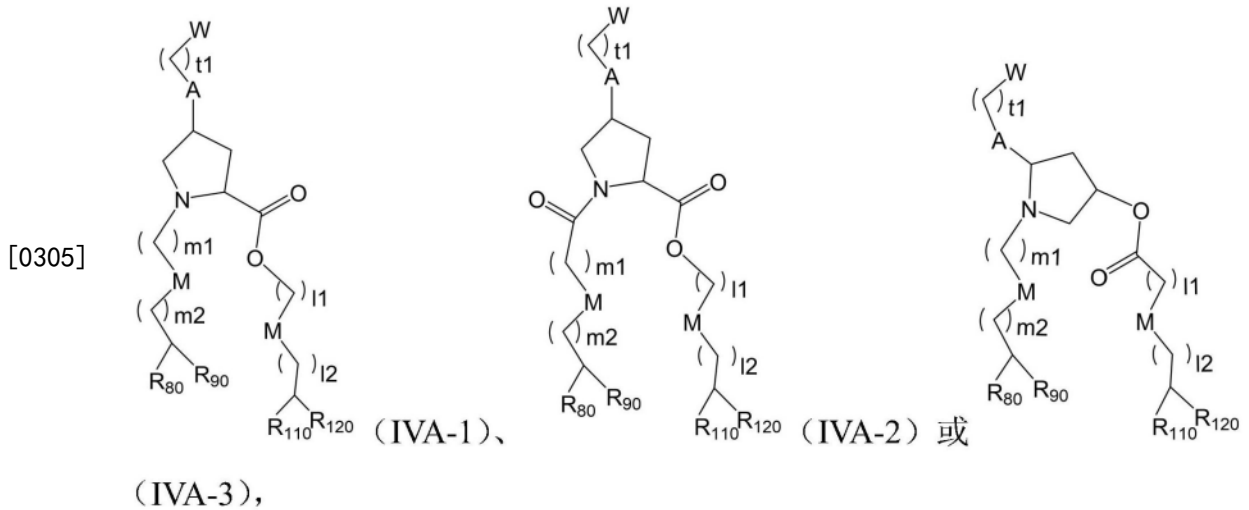
[0302] 在一些实施例中,本文所公开的包含具有下式的脂质化合物:



已对此式中的所有变量进行了定义并例示为

上述实施例中描述的那些变量。

[0304] 在一些实施例中,本文所公开的包含具有下式的脂质化合物:



[0306] 其中:

[0307] 每个m1独立地是3至6的整数,

[0308] 每个l1独立地是4至8的整数,

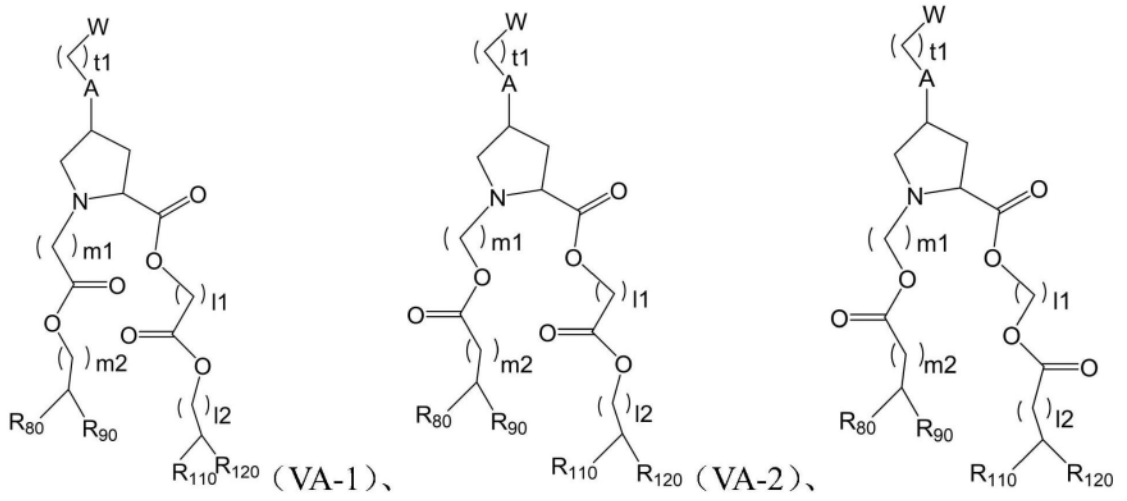
[0309] m2和l2各自独立地是0至3的整数;

[0310]  $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基;或者 $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_4$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_5-C_{11}$ 烷基;并且

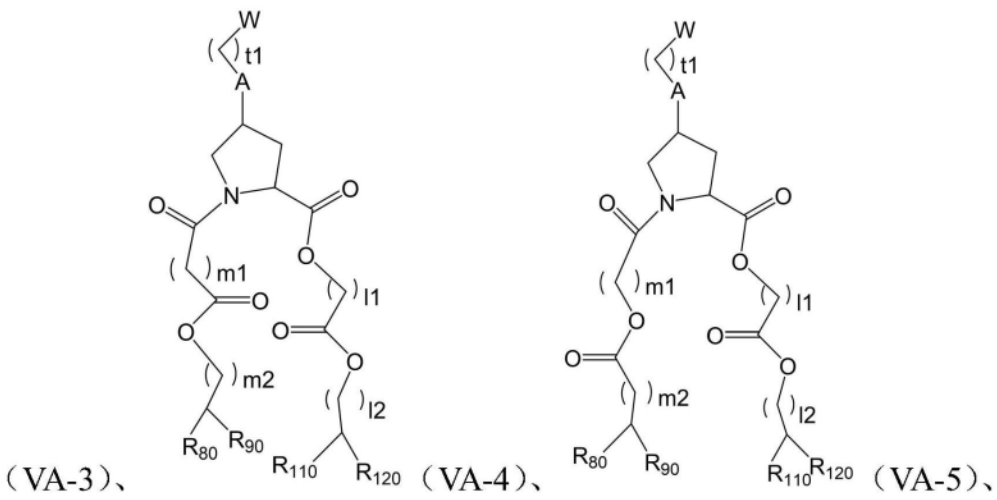
[0311]  $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基;或者 $R_{110}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_4$ 烷基,并且 $R_{120}$ 是未经取代的 $C_5-C_{11}$ 烷基。已对这些式中的所有其它变量进行了定义并例示为上述实施例中描述的那些变量。

[0312] 在一些实施例中,在这些式中, $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_2$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_6-C_{10}$ 烷基;并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 、 $R_{90}$ 、 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。

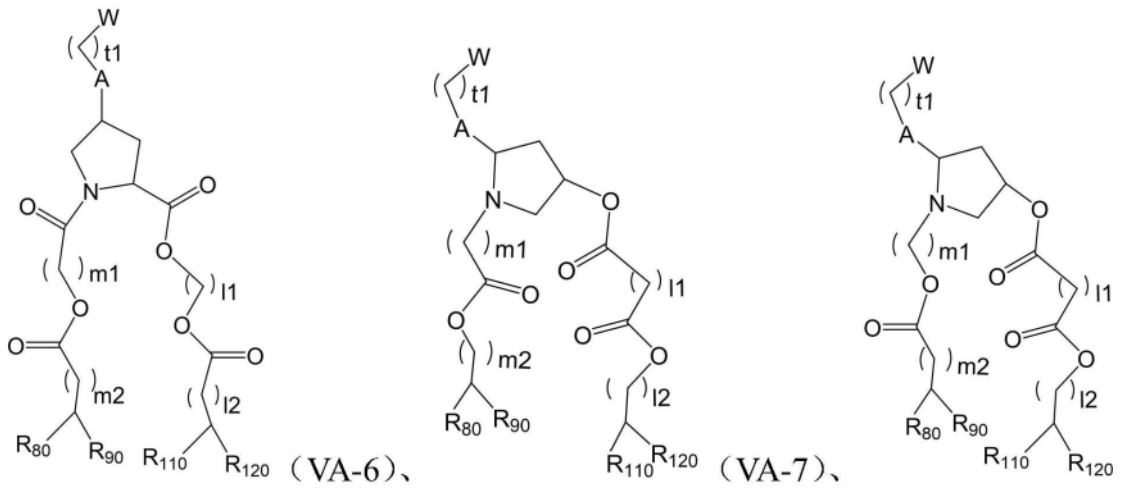
[0313] 在一些实施例中,本文所公开的包含具有下式的脂质化合物:



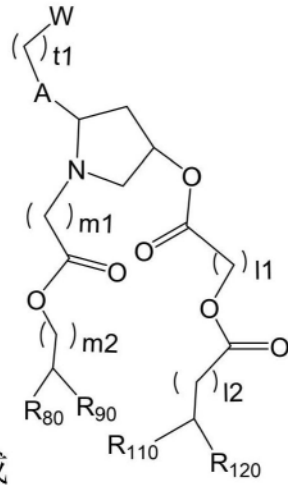
[0314]



[0315]



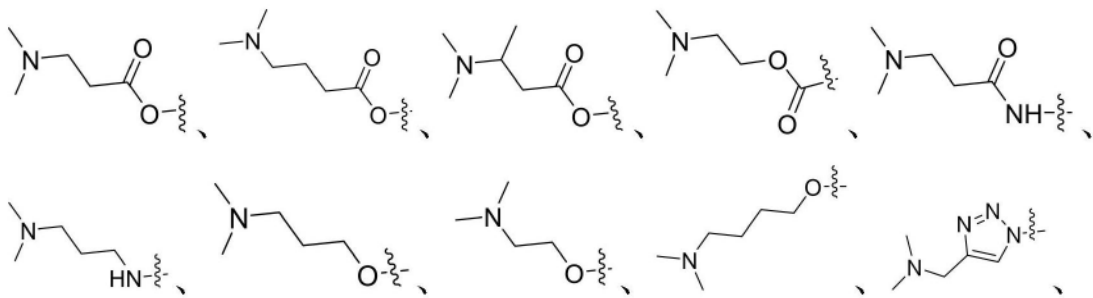
[0316]

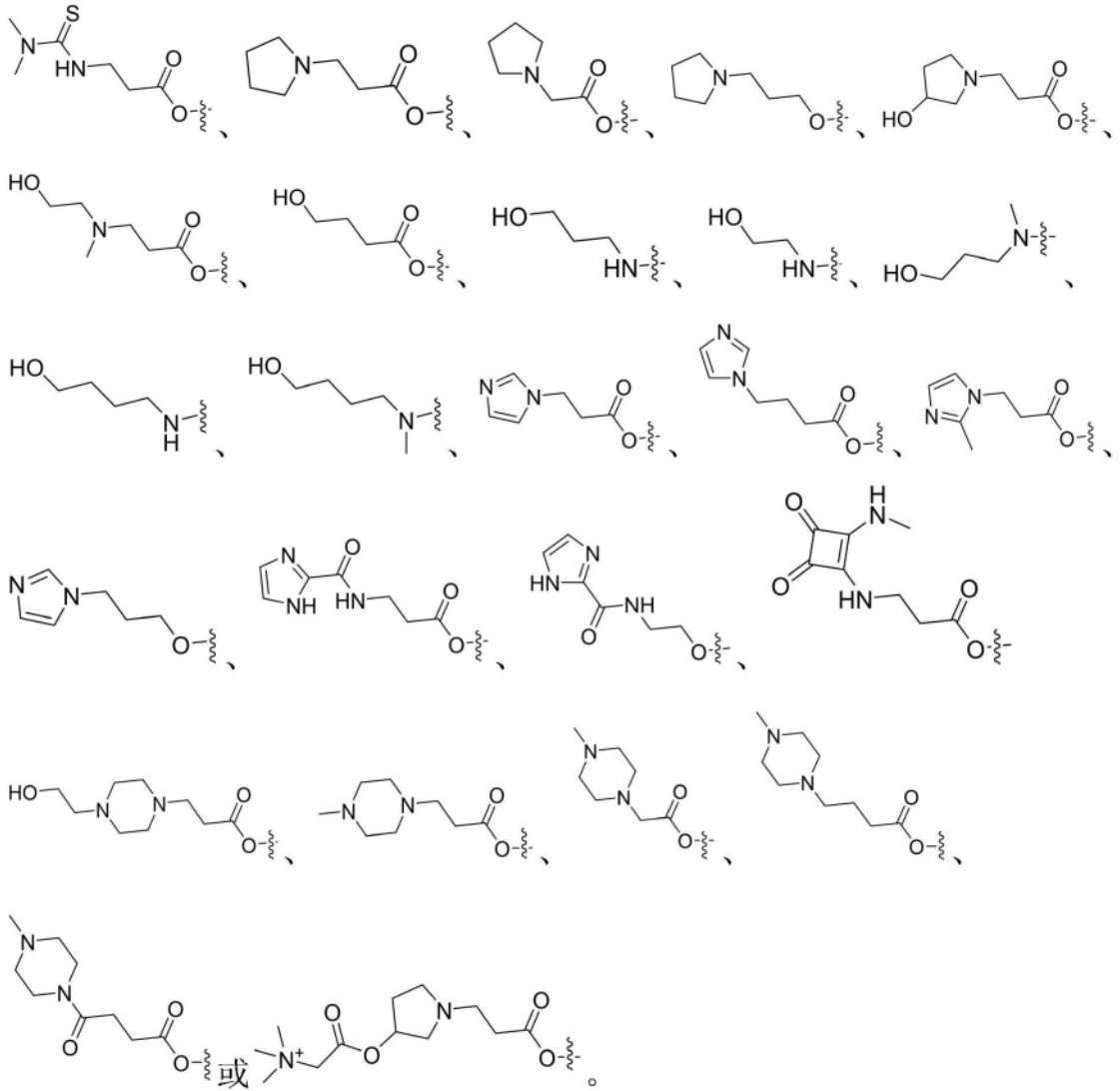


已对这些式中的所有变量进行了定

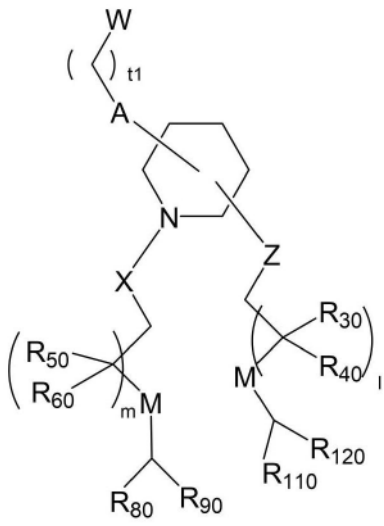
义并例示为上述实施例中描述的那些变量。在一些实施例中,在这些式中, $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_2$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_6-C_{10}$ 烷基;并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 、 $R_{90}$ 、 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。在一些

实施例中,  $\text{---} \text{A} \text{---} \text{W}$  是:OH、





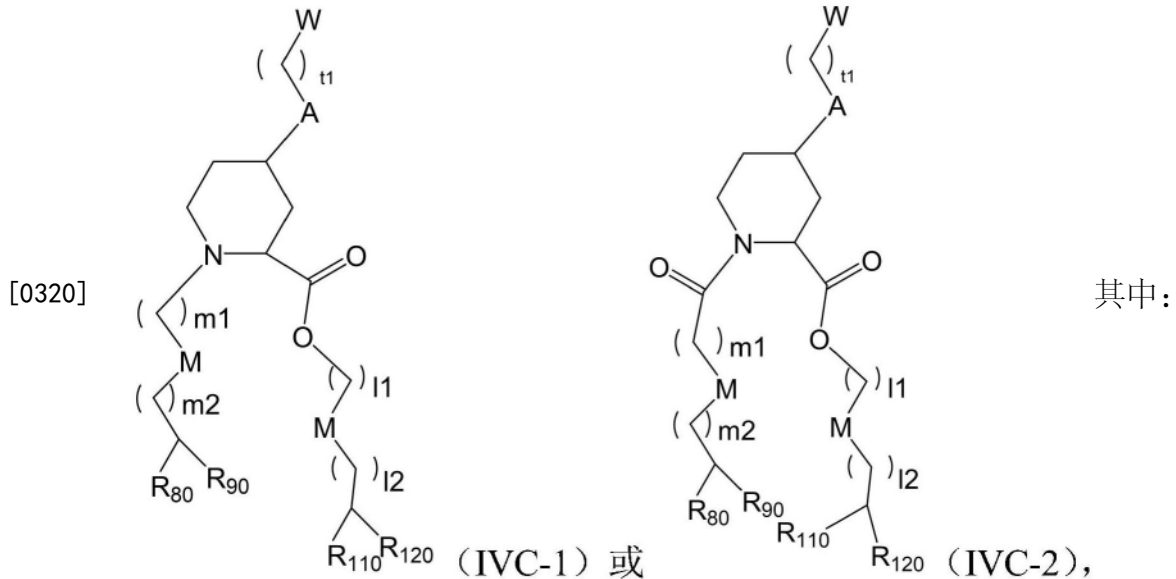
[0318] 在一些实施例中,本文所公开的包含具有下式的脂质化合物:



已对此式中的所有变量进行了定义并例

示为上述实施例中描述的那些变量。

[0319] 在一些实施例中,本文所公开的包含具有下式的脂质化合物:



[0321] 每个 $m_1$ 独立地是3至6的整数,

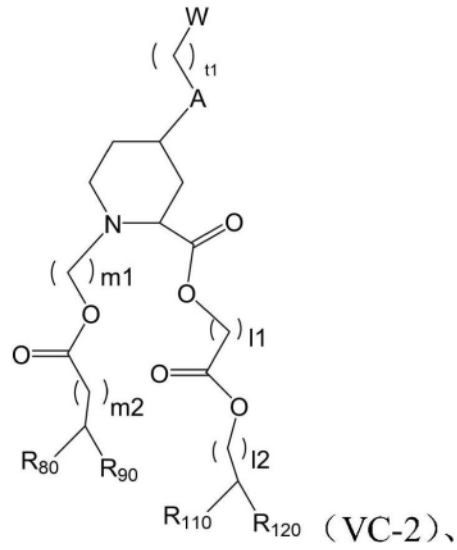
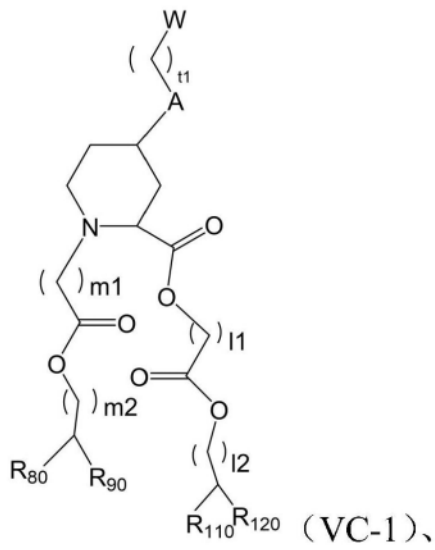
[0322] 每个 $l_1$ 独立地是4至8的整数,

[0323]  $m_2$ 和 $l_2$ 各自独立地是0至3的整数;

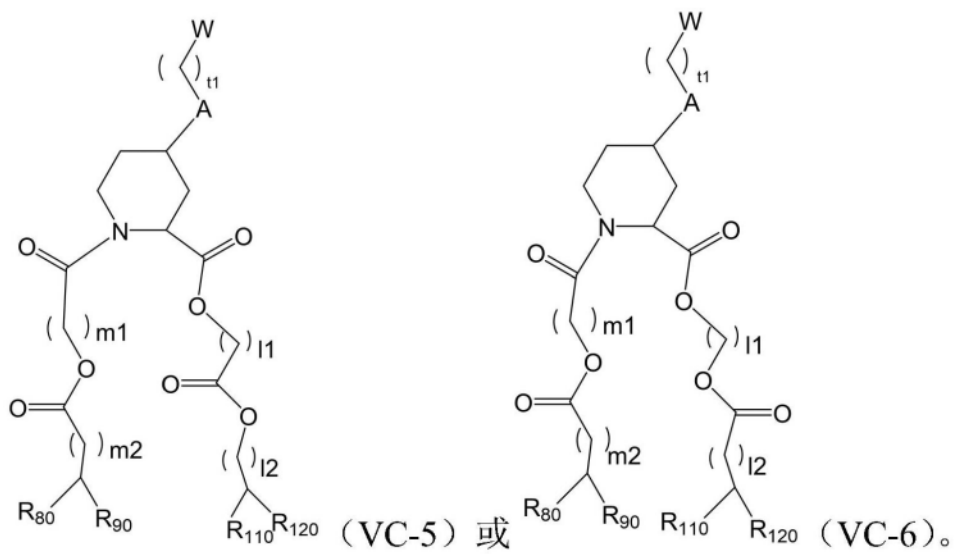
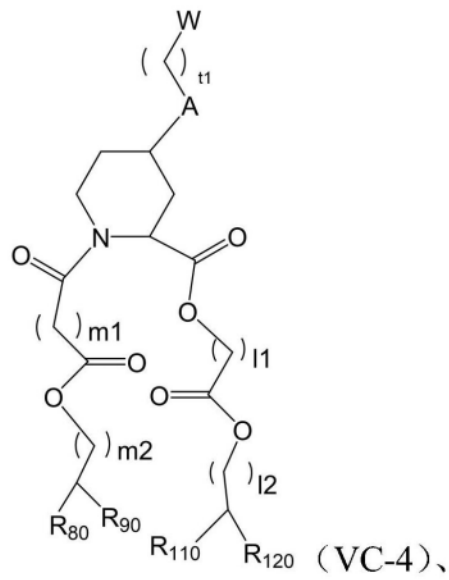
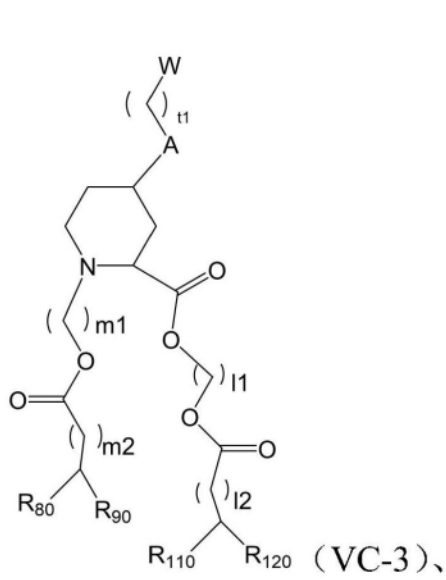
[0324]  $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基;或者 $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_4$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_5-C_{11}$ 烷基;并且

[0325]  $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基;或者 $R_{110}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_4$ 烷基,并且 $R_{120}$ 是未经取代的 $C_5-C_{11}$ 烷基。已对这些式中的所有其它变量进行了定义并例示为上述实施例中描述的那些变量。在一些实施例中,在这些式中, $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1-C_2$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_6-C_{10}$ 烷基;并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 、 $R_{90}$ 、 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 各自独立地是未经取代的 $C_5-C_8$ 烷基。

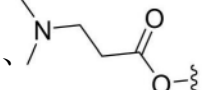
[0326] 在一些实施例中,本文所公开的包含具有下式的脂质化合物:

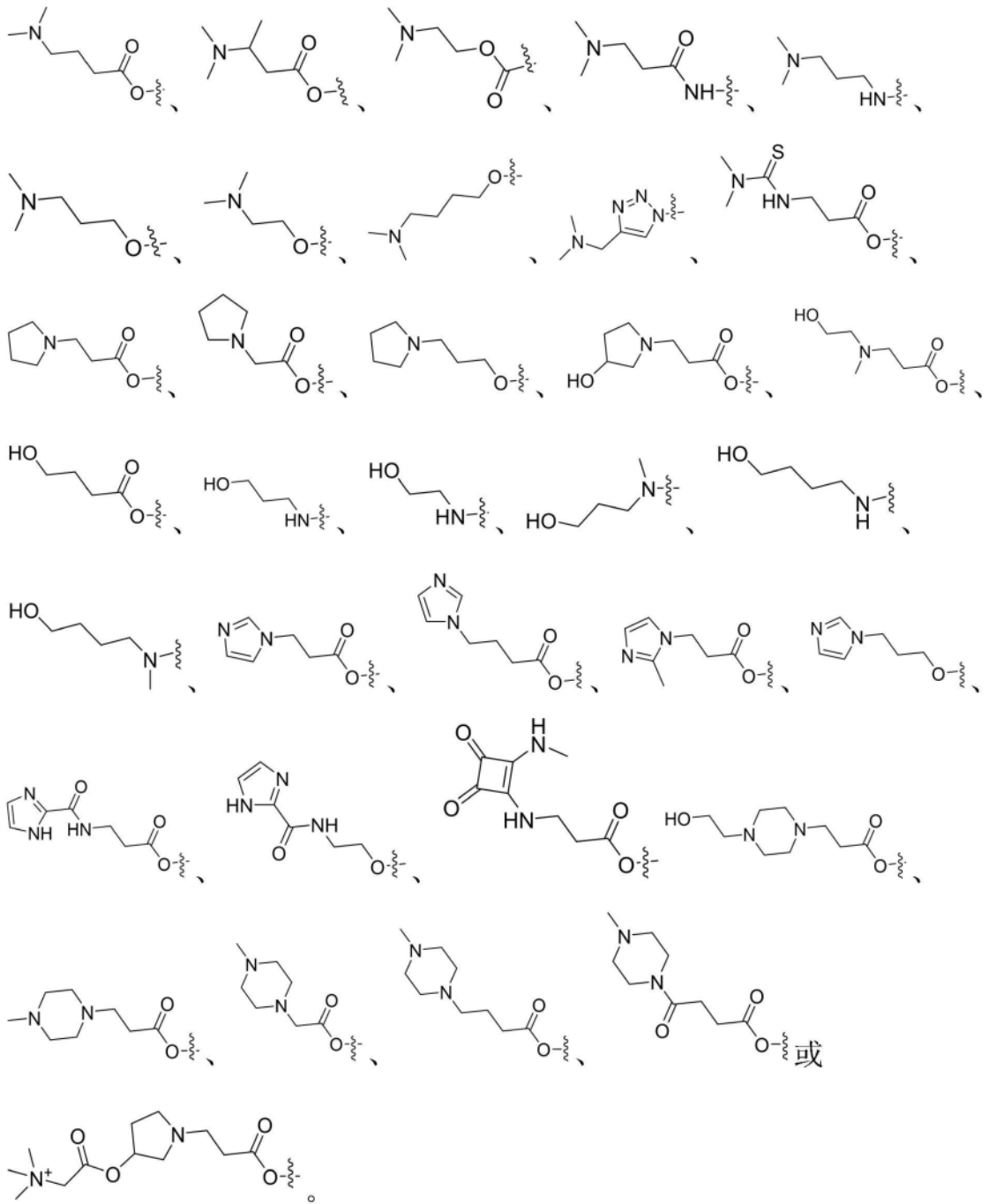


[0327]

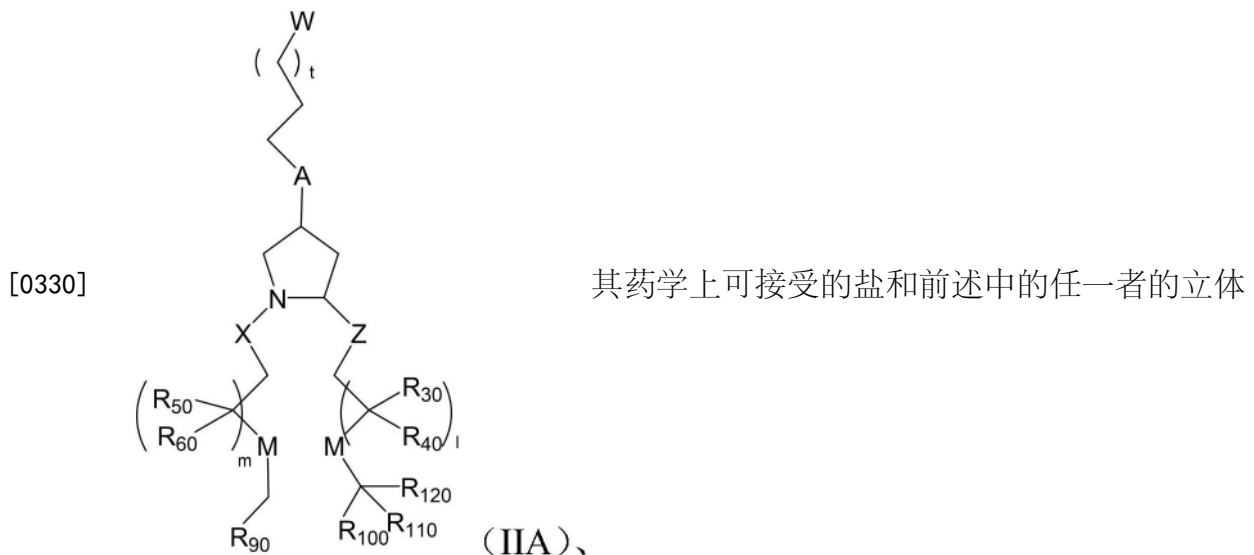


[0328] 已对这些式中的所有变量进行了定义并例示为上述实施例中描述的那些变量。在一些实施例中,在这些式中, $R_{80}$ 是H或未经取代的 $C_1$ - $C_2$ 烷基,并且 $R_{90}$ 是未经取代的 $C_6$ - $C_{10}$ 烷

基;并且R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>各自独立地是未经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>烷基。在一些实施例中,R<sub>80</sub>、R<sub>90</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>各自独立地是未经取代的C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>烷基。在一些实施例中,  $\text{---} \text{A} \text{---} \text{t1} \text{W}$  是: OH、



[0329] 在一些实施例中,本公开涉及式 (IIA) 的可电离脂质:



异构体,其中:

[0331] A不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-;

[0332] X不存在,是-O-、-CO-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

[0333] Z不存在,是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-、-C(O)NH-或-S-;

[0334] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>支链或非支链烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>支链或非支链烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基;

[0335] 每个M独立地是可生物降解部分;

[0336] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基;

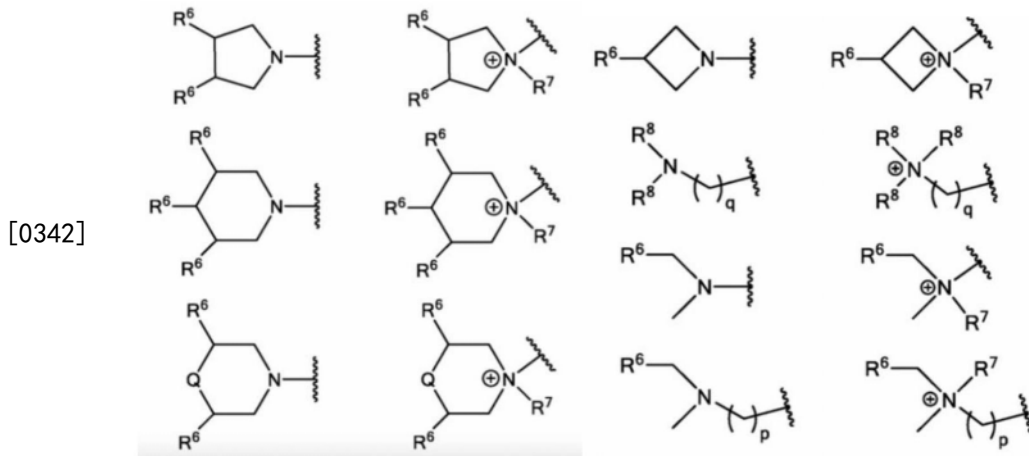
[0337] R<sub>90</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>支链或非支链烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>支链或非支链烯基或环烷基或经取代的环烷基;

[0338] t是0、1、2或3;

[0339] l是1至10的整数;

[0340] m是1至10的整数;并且

[0341] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者:



[0343] 其中

[0344] Q是-O-或-N(R<sup>7</sup>)；

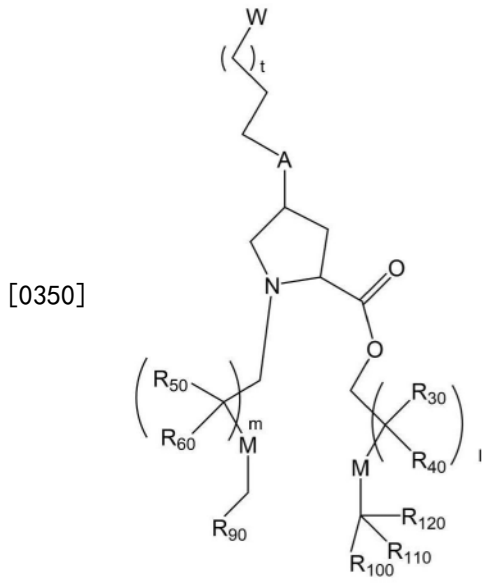
[0345] R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基；

[0346] 每个R<sup>8</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基，或者两个R<sup>8</sup>可以形成环；

[0347] q是0、1、2、3、4或5；并且

[0348] p是0、1、2、3、4或5。

[0349] 在一些实施例中，本公开涉及式(IIIA)的可电离脂质：

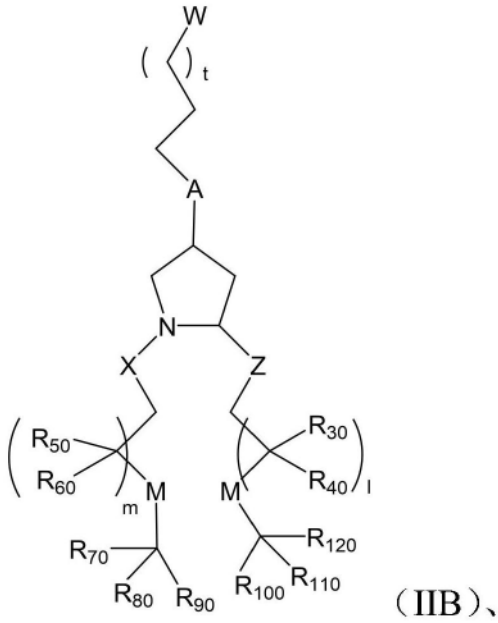


其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立

体异构体，其中(IIIA)中的变量的定义与(IIA)中的那些变量的定义相同。

[0351] 在一些实施例中，本公开涉及式(IIB)的可电离脂质：

[0352]



其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立

体异构体,其中:

[0353] A不存在,是-0-、-N(R<sup>7</sup>)-、-0-亚烷基-、-亚烷基-0-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-;

[0354] X不存在,是-0-、-CO-、-N(R<sup>7</sup>)-、-0-亚烷基-、-亚烷基-0-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-或-S-;

[0355] Z不存在,是-0-、-N(R<sup>7</sup>)-、-0-亚烷基-、-亚烷基-0-、-OC(O)-、-C(O)O-、-NHC(O)-、-C(O)NH-或-S-;

[0356] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>支链或非支链烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>支链或非支链烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基;

[0357] 每个M独立地是可生物降解部分;

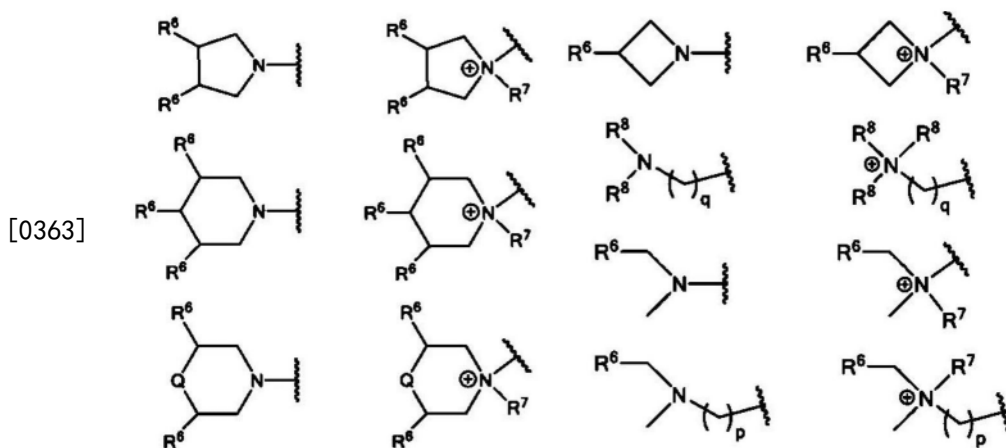
[0358] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>70</sub>、R<sub>80</sub>、R<sub>90</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基;

[0359] t是0、1、2或3;

[0360] 1是1至10的整数;

[0361] m是1至10的整数;并且

[0362] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者:



[0364] 其中

[0365] Q是-O-或-N(R<sup>7</sup>)；

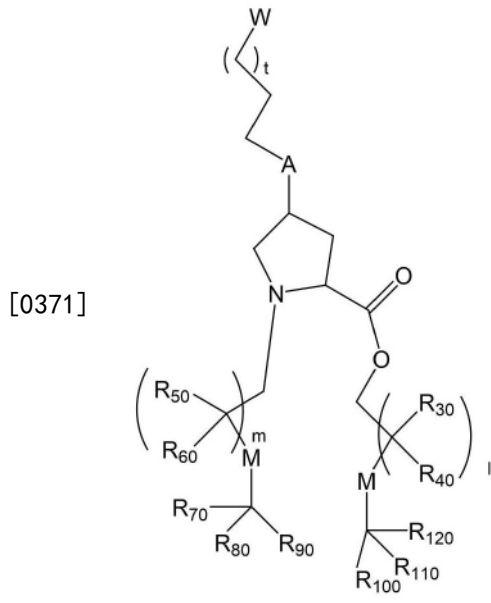
[0366] R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基；

[0367] 每个R<sup>8</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基，或者两个R<sup>8</sup>可以形成环；

[0368] q是0、1、2、3、4或5；并且

[0369] p是0、1、2、3、4或5。

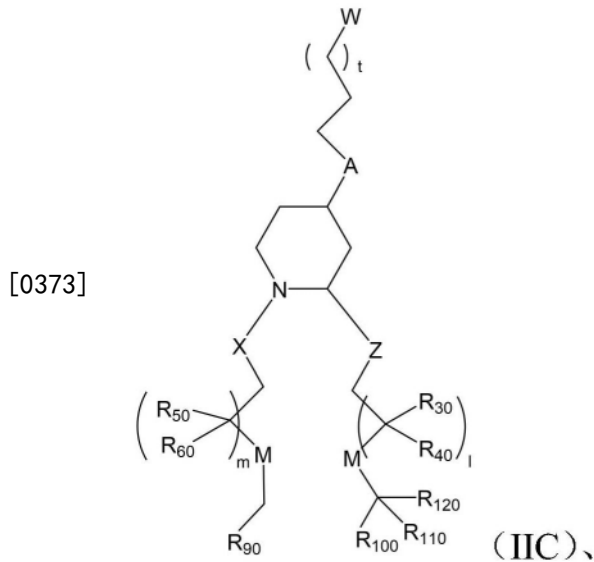
[0370] 在一些实施例中，本公开涉及式 (IIIB) 的可电离脂质：



其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立

体异构体，其中 (IIIB) 中变量的定义与 (IIB) 中变量的定义相同。

[0372] 在一些实施例中，本公开涉及式 (IIC) 的可电离脂质：



其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体

异构体，其中：

[0374] A不存在，是-O-、-N(R<sup>7</sup>)-、-O-亚烷基-、-亚烷基-O-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-S-、-S-S-；

[0375] R<sub>30</sub>、R<sub>40</sub>、R<sub>50</sub>、R<sub>60</sub>、R<sub>100</sub>、R<sub>110</sub>和R<sub>120</sub>中的每一者独立地是H、任选地被杂原子间杂或被

OH、SH或卤素取代的C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烷基或C<sub>1</sub>-C<sub>16</sub>支链或非支链烯基；

[0376] R<sub>90</sub>是C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>支链或非支链烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>支链或非支链烯基、环烷基或经取代的环烷基；

[0377] 每个R<sup>7</sup>独立地是H、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>支链或非支链烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>支链或非支链烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基；

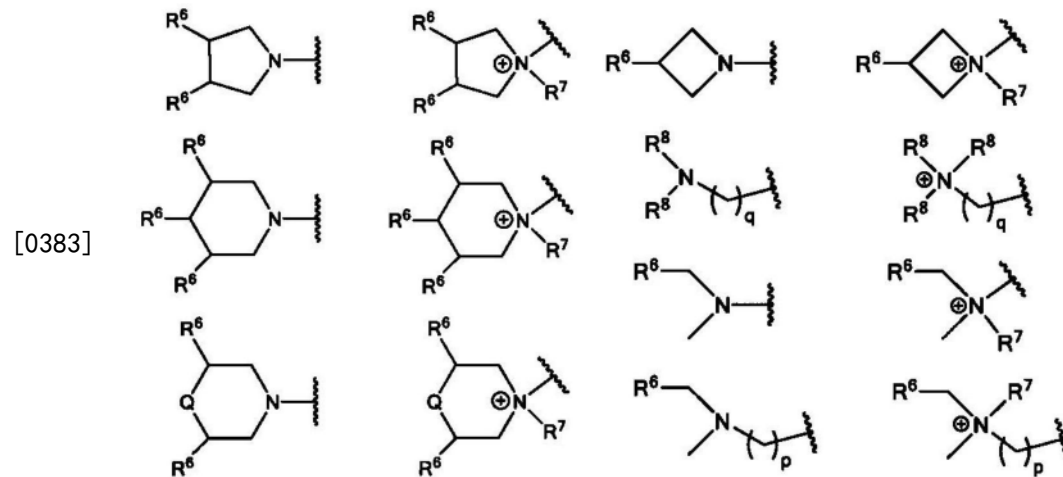
[0378] 每个M独立地是可生物降解部分；

[0379] t是0、1、2或3；

[0380] l是1至10的整数；

[0381] m是1至10的整数；并且

[0382] W是羟基、羟烷基或以下部分中的一者：



[0384] 其中

[0385] Q是-O-或-N(R<sup>7</sup>)-；

[0386] R<sup>6</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基；

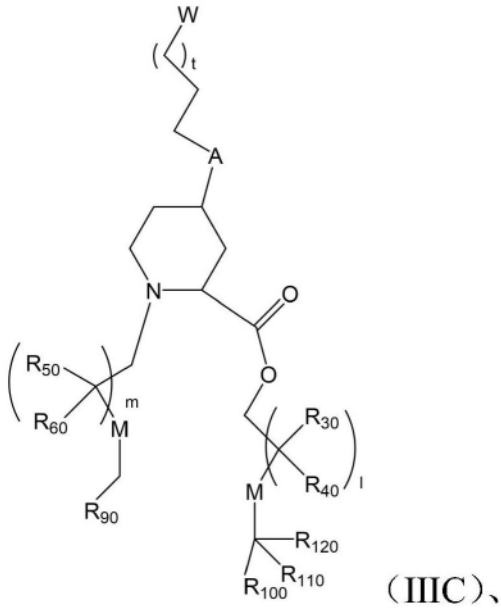
[0387] 每个R<sup>8</sup>独立地是H、烷基、羟烷基、氨基、氨基烷基、硫醇或硫醇烷基，或者两个R<sup>8</sup>可以形成环；

[0388] q是0、1、2、3、4或5；并且

[0389] p是0、1、2、3、4或5。

[0390] 在一些实施例中，本公开涉及式 (IIIC) 的可电离脂质：

[0391]

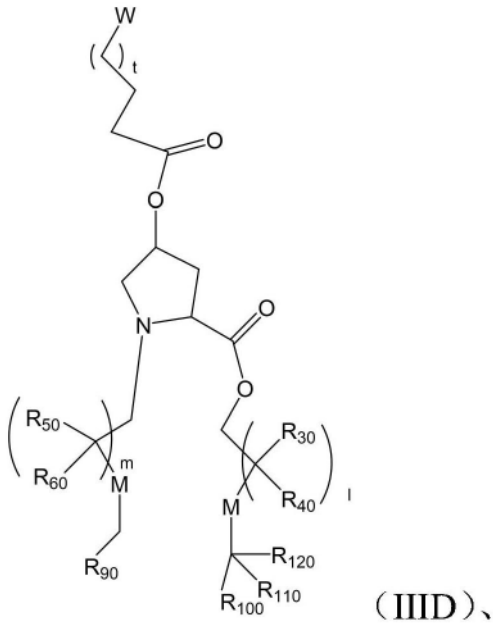


其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立

体异构体,其中(IIIA)中的变量的定义与(IIC)中的变量的定义相同。

[0392] 在一些实施例中,本公开涉及式(IIID)的可电离脂质:

[0393]

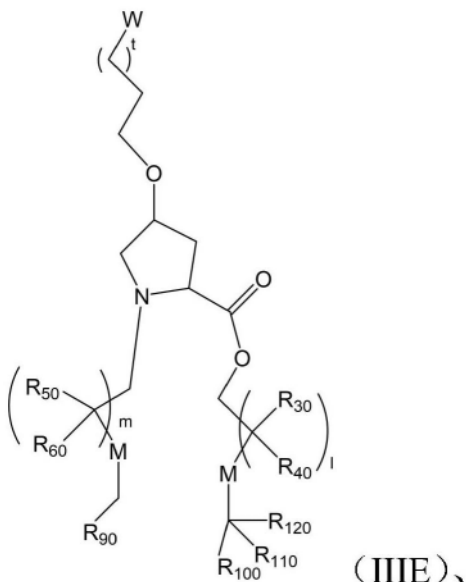


其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立

体异构体,其中(IIID)中的变量的定义与上文所定义的那些变量的定义相同。

[0394] 在一些实施例中,本公开涉及式(IIIE)的可电离脂质:

[0395]



其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体

异构体,其中(III D)中的变量的定义与上文所定义的那些变量的定义相同。

[0396] 下面进一步讨论关于式(IIA)、(IIB)、(IIC)、(IIIA)、(IIIB)、(IIIC)、(IIID)或(III E)中的各种变量的实施例。

[0397] 在一些实施例中,X不存在,是-O-或-C(O)-。在一个实施例中,X不存在。在一个实施例中,X是-O-。在一个实施例中,X是-C(O)-。

[0398] 在一些实施例中,Z是-O-、-C(O)O-或-OC(O)-。在一个实施例中,Z是-O-。在一个实施例中,Z是-C(O)O-或-OC(O)-。

[0399] 在一些实施例中, $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H或 $C_1$ - $C_4$ 支链或非支链烷基。

[0400] 在一些实施例中, $R_{30}$ 、 $R_{40}$ 、 $R_{50}$ 和 $R_{60}$ 中的每一者是H。

[0401] 在一些实施例中, $R_{70}$ 和 $R_{80}$ 中的每一者是H;并且 $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中, $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{90}$ 是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。

[0402] 在一些实施例中, $R_{70}$ 是H;并且 $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{80}$ 和 $R_{90}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_8$ 支链或非支链烷基。

[0403] 在一些实施例中, $R_{100}$ 是H;并且 $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基、 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烯基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{15}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_{12}$ 支链或非支链烷基。在一些实施例中, $R_{110}$ 和 $R_{120}$ 中的每一者独立地是 $C_1$ - $C_8$ 支链或非支链烷基。

[0404] 在一些实施例中,1是3至10、3至7或4至7。在一些实施例中,1是4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,1是4、5、6或7。

[0405] 在一些实施例中,m是4至10、5至8、1至7、3至7或1至5。

[0406] 在一些实施例中,m是4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,m是3、4或5。在一些实施例中,m是5、6、7或8。

[0407] 在一些实施例中,M是-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>7</sup>)C(O)-、-C(O)N(R<sup>7</sup>)-、-C(O-R<sub>13</sub>)-

0-、

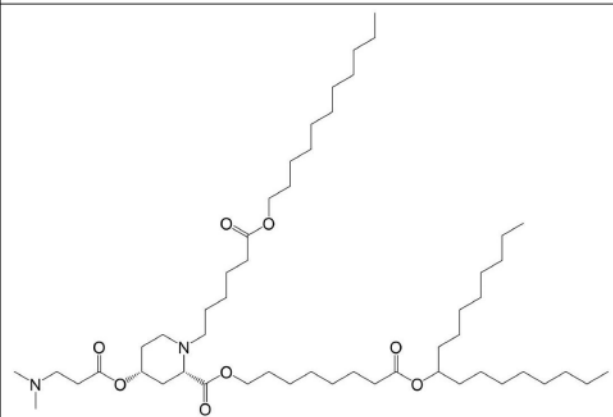
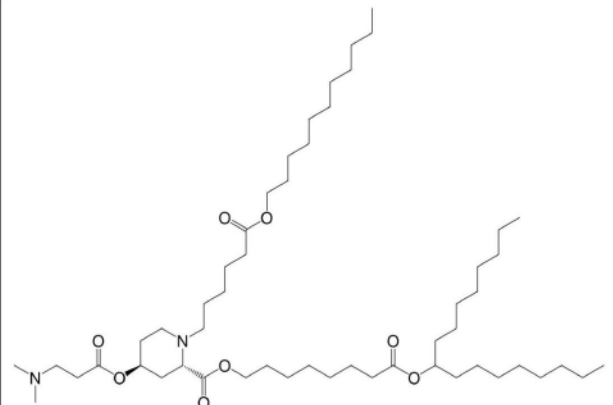
[0408]  $-C(O)O(CH_2)_r-$ 、 $-C(O)N(R^7)(CH_2)_r-$ 或 $-C(O-R_{13})-O-(CH_2)_r-$ ，其中每个 $R^7$ 独立地是H、烷基、烯基、环烷基、羟烷基或氨基烷基； $R_{13}$ 是支链或非支链 $C_3-C_{10}$ 烷基，并且r是1、2、3、4或5。在一些实施例中，M是 $-OC(O)-$ 或 $-C(O)O-$ 。

[0409] 在一些实施例中，本文所述的可电离脂质化合物的质子化形式的pKa是约4.5至约8.0，例如，约4.6至约7.8、约4.6至约7.3、约4.6至约6.8、约4.6至约6.2、约4.6至约6.0、约4.6至约5.9、约4.6至约5.8、约4.6至约5.6、约4.6至5.5、约5.7至约6.5、约5.7至约6.4或约5.8至约6.2。在一些实施例中，所述可电离脂质化合物的质子化形式的pKa是约4.6至约7.8。在一些实施例中，所述可电离脂质化合物的质子化形式的pKa是约4.6至约5.6。在一些实施例中，所述可电离脂质化合物的质子化形式的pKa是约5.5至约6.0。在一些实施例中，所述可电离脂质化合物的质子化形式的pKa是约6.1至约6.3。在一些实施例中，所述可电离脂质化合物的质子化形式的pKa是约4.7至约5.1。

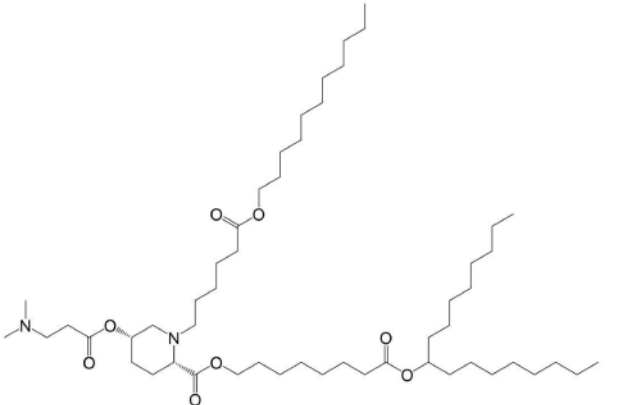
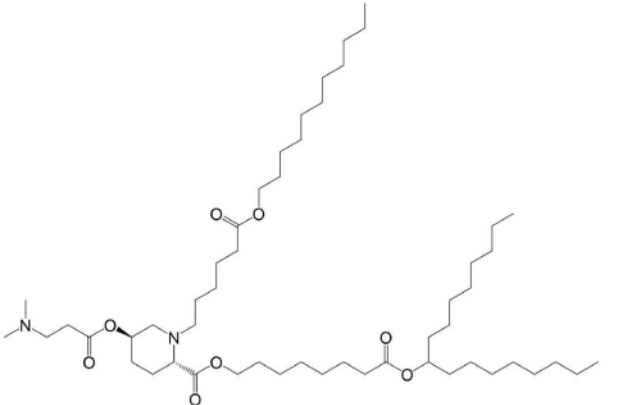
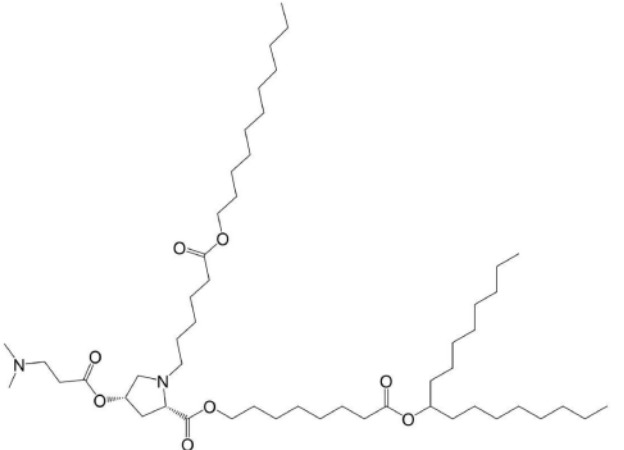
[0410] 此处公开的可电离脂质化合物的非限制性实例示出于下表1中。

[0411] 表1：示例性可电离脂质化合物。

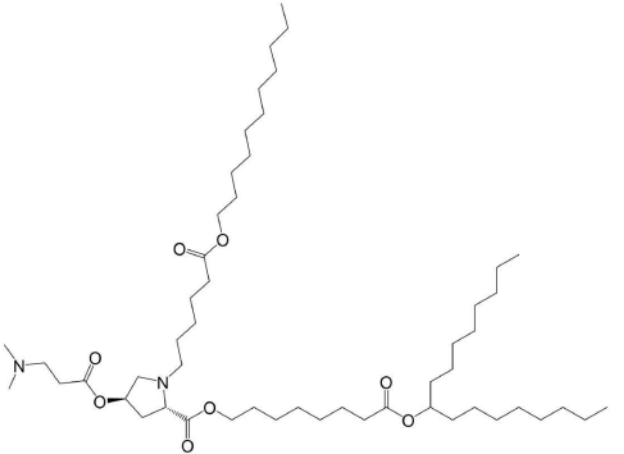
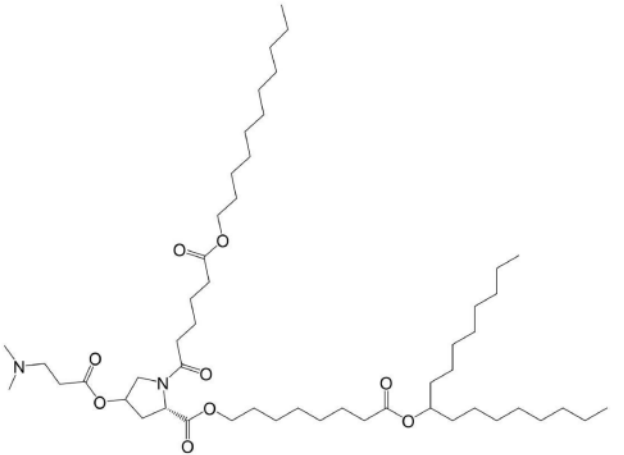
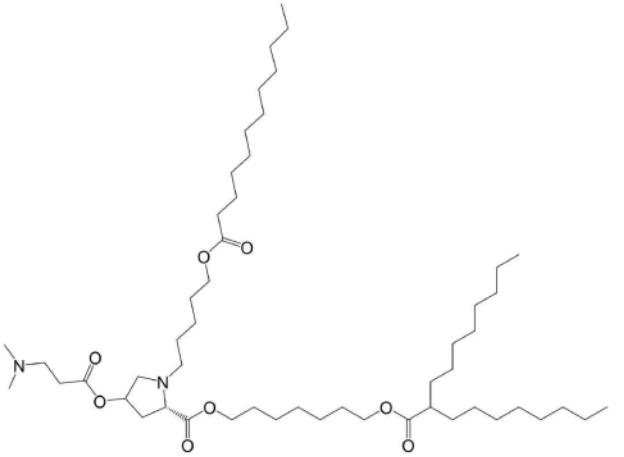
[0412]

化合物	结构	IUPAC 名称
2310		8-[(2S,4R)-4-{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基]-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]哌啶-2-羰基氧基辛酸十七烷-9-基酯
2309		8-[(2S,4S)-4-{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基]-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]哌啶-2-羰基氧基辛酸十七烷-9-基酯

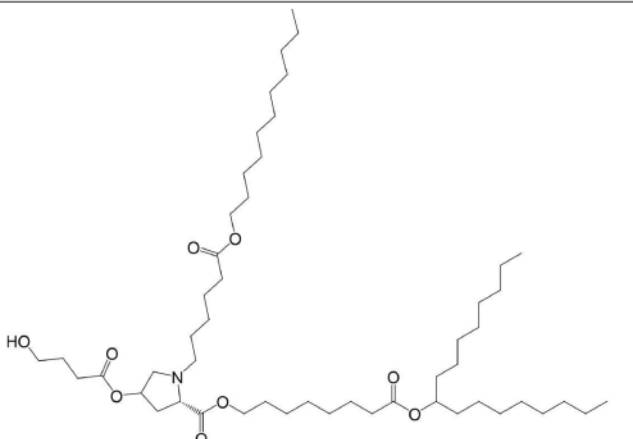
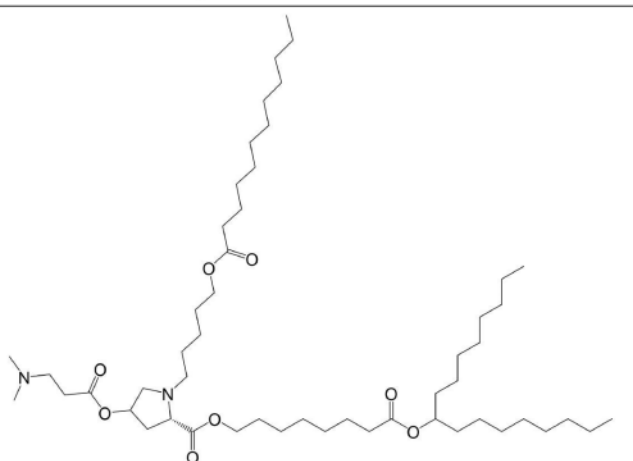
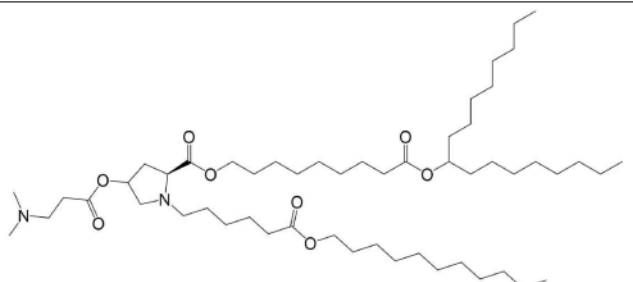
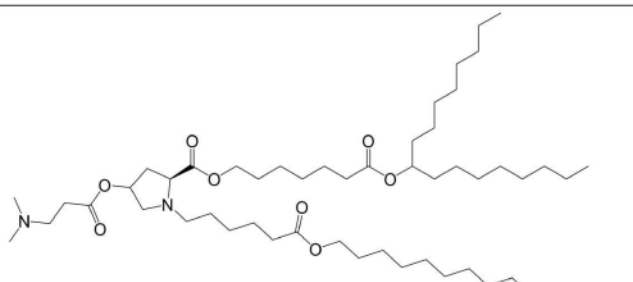
[0413]

2308		8-[(2S,5S)-5-{[3-(二甲基氨基)丙酰]氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]哌啶-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2307		8-[(2S,5R)-5-{[3-(二甲基氨基)丙酰]氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]哌啶-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2306		8-[(2S,4S)-4-{[3-(二甲基氨基)丙酰]氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯

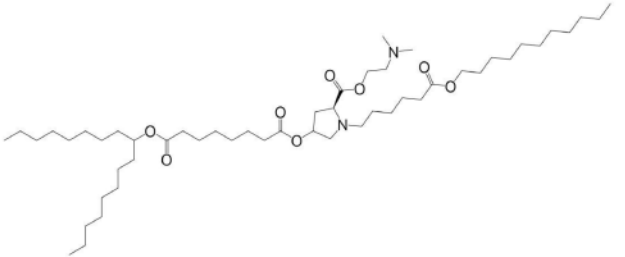
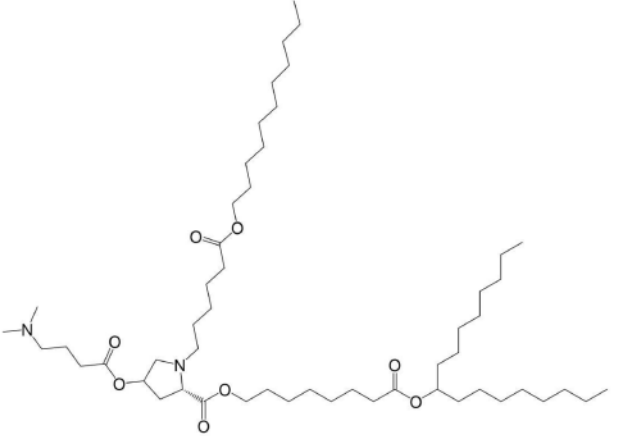
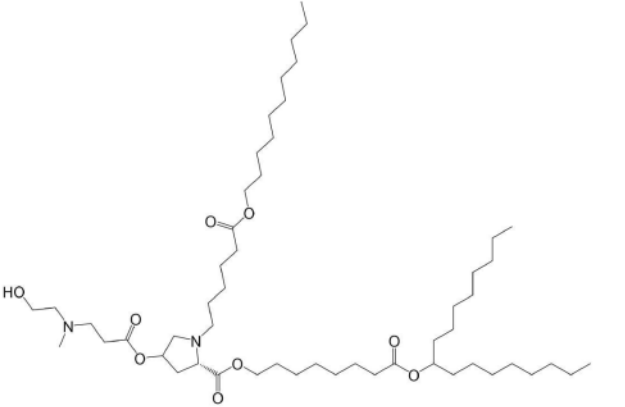
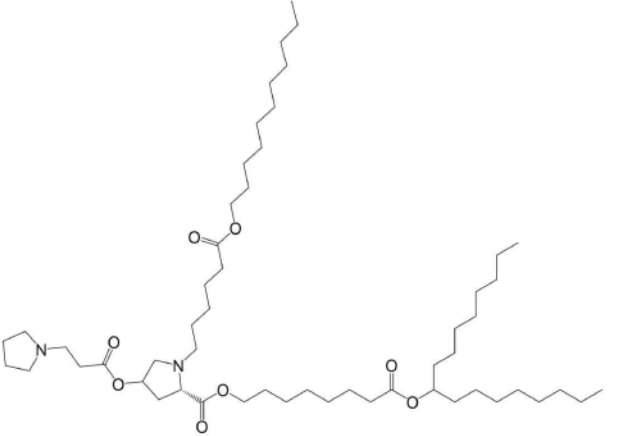
[0414]

2305		8-[(2S,4R)-4-{{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基
2304		8-[(2S)-4-{{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己酰]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2298		十二烷酸 5-[(2S)-4-{{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基}-2-[(7-[(2-辛基癸酰)氧基]庚基)氧基]羰基]吡咯烷-1-基]戊酯

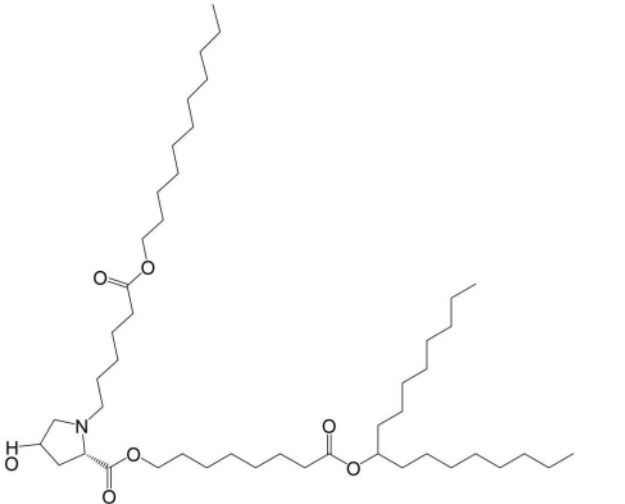
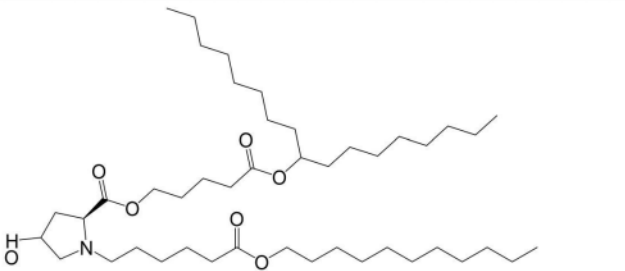
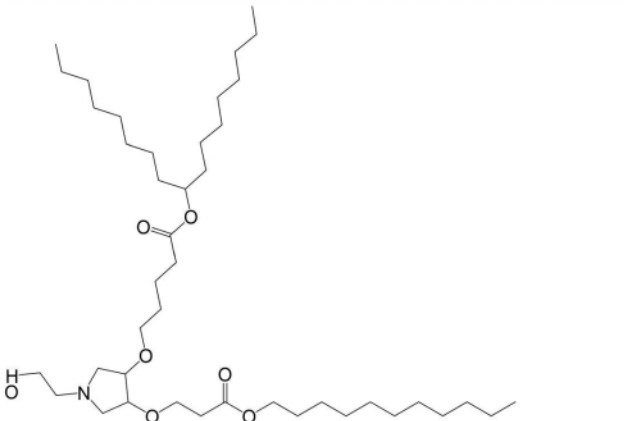
[0415]

2297		8-[(2S)-4-[(4-羟基丁酰)氧基]-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2296		十二烷酸 5-[(2S)-4-[[3-(二甲基氨基)丙酰]氧基]-2-[[8-(十一烷-9-基氧基)-8-氧代辛基]氧基]羰基]吡咯烷-1-基]戊酯
2295		9-[(2S)-4-[[3-(二甲基氨基)丙酰]氧基]-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]壬酸十七烷-9-基酯
2294		7-[(2S)-4-[[3-(二甲基氨基)丙酰]氧基]-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]庚酸十七烷-9-基酯

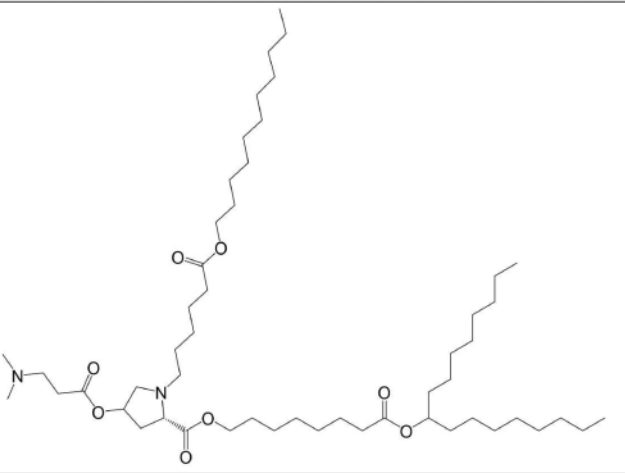
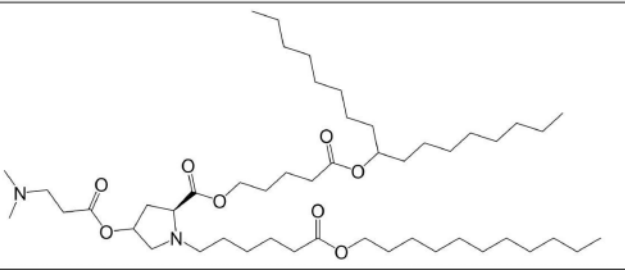
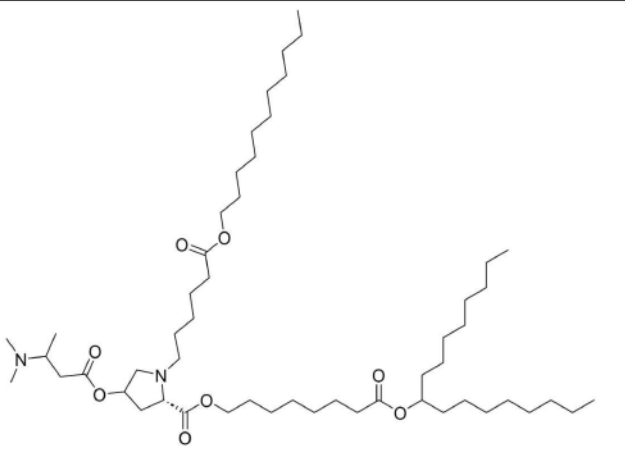
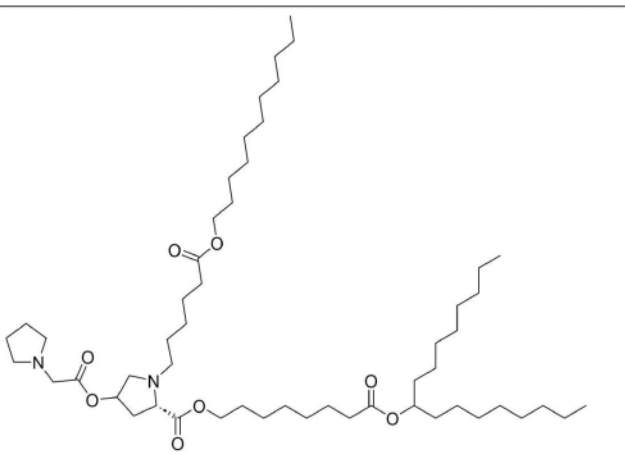
[0416]

2293		辛二酸(5S)-5-{{2-(二甲基氨基)乙氧基}羰基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-3-基酯 1-十七烷-9-基酯
2292		8-[(2S)-4-{{4-(二甲基氨基)丁酰}氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2291		8-[(2S)-4-{{3-[(2-羟乙基)(甲基)氨基]丙酰}氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2290		8-[(2S)-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]-4-{{3-(吡咯烷-1-基)丙酰}氧基}吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯

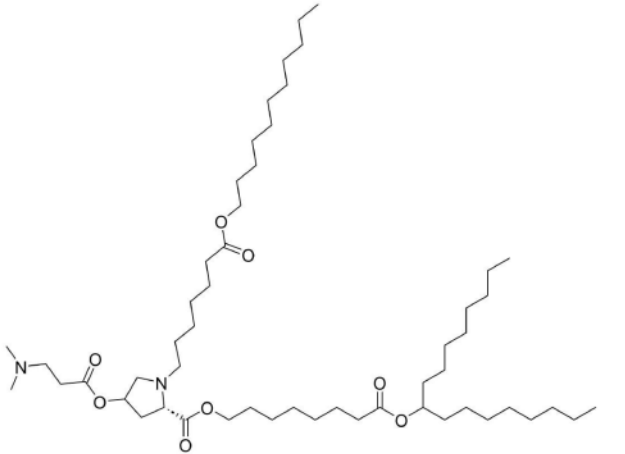
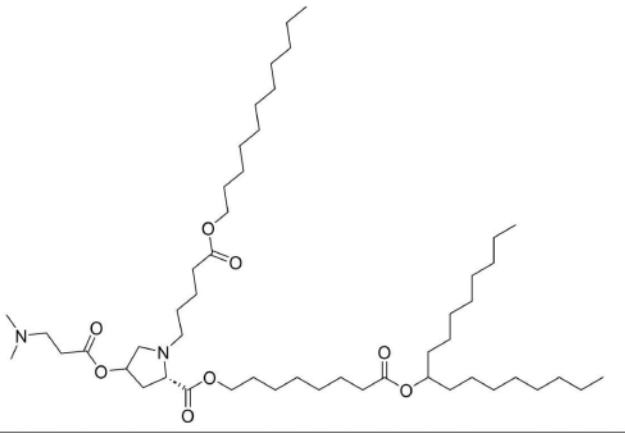
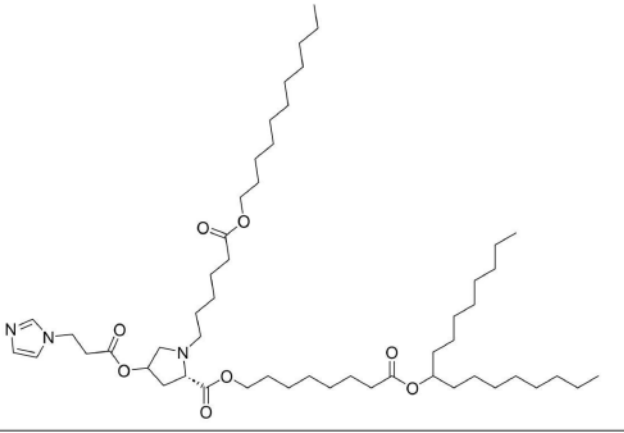
[0417]

2270		8-[(2S)-4-羟基-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2260		6-[(2S)-2-({[5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊基]氧基}羰基)-4-羟基吡咯烷-1-基]己酸十一烷基酯
2240		5-{[1-(2-羟乙基)-4-[3-氧代-3-(十一烷氧基)丙氧基]吡咯烷-3-基]氧基}戊酸十七烷-9-基酯

[0418]

2231		8-[(2S)-4-{{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基}-1-[6-氧代-6-(十一烷氧基)己基]吡咯烷-2-羰基氧基]辛酸十七烷-9-基酯
2230		6-[(2S)-4-{{3-(二甲基氨基)丙酰}氧基}-2-{{5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊基}氧基}羰基]吡咯烷-1-基]己酸十一烷基酯
22329		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丁酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
22336		(2S)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)-4-(2-(吡咯烷-1-基)乙酰氧基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

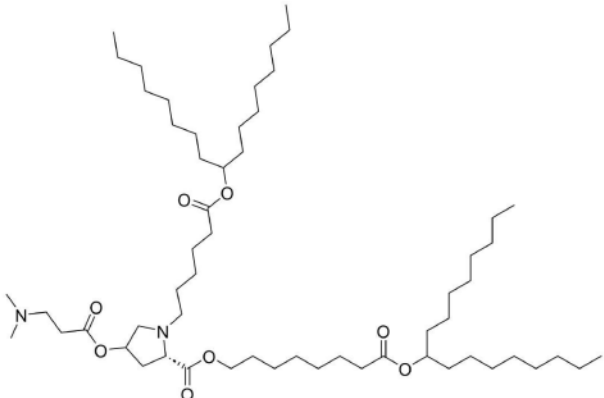
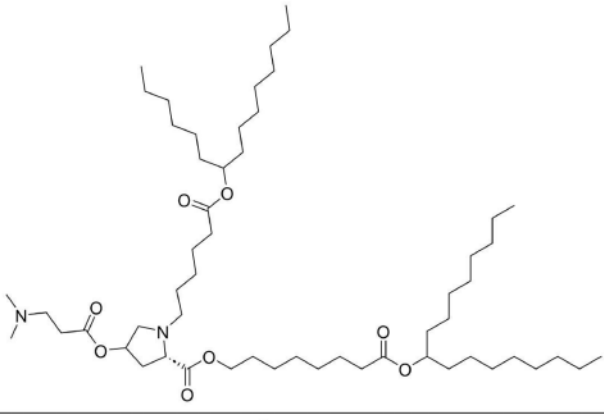
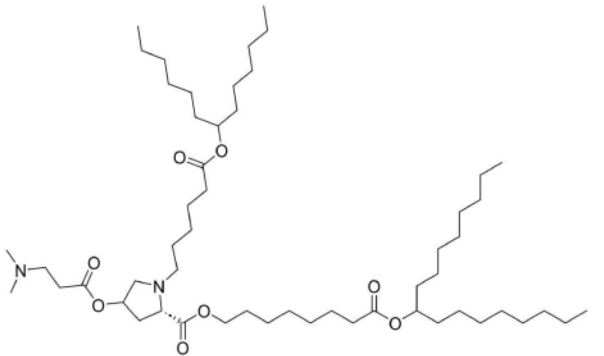
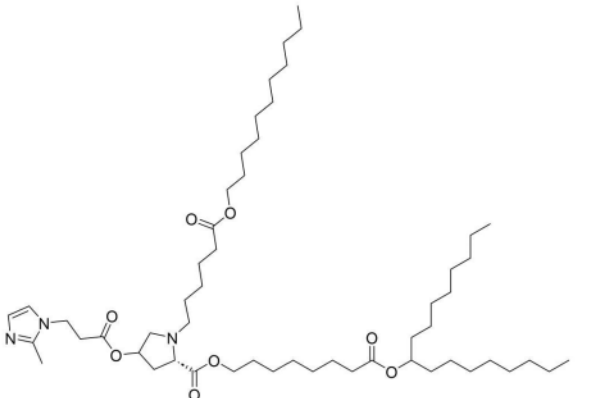
[0419]

2337		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(7-氧代-7-(十一烷氧基)庚基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2338		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(5-氧代-5-(十一烷氧基)戊基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2339		(2S)-4-((3-(1H-咪唑-1-基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

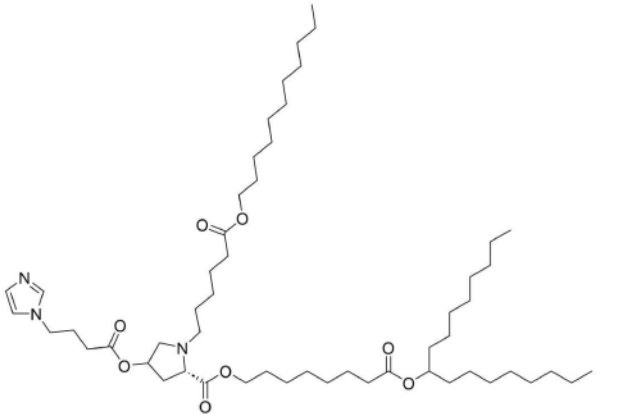
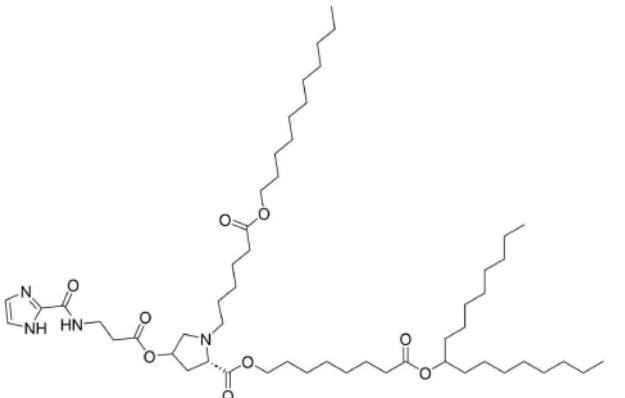
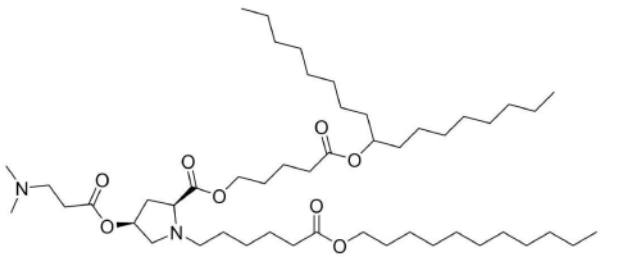
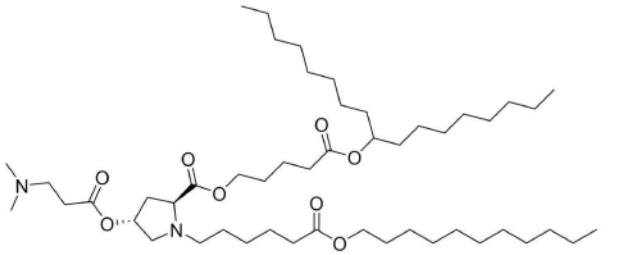
[0420]

2340		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-(十五烷-7-基氧基)辛酯
2341		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-(十三烷-7-基氧基)辛酯
2342		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-((9-甲基癸基)氧基)-6-氧代己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

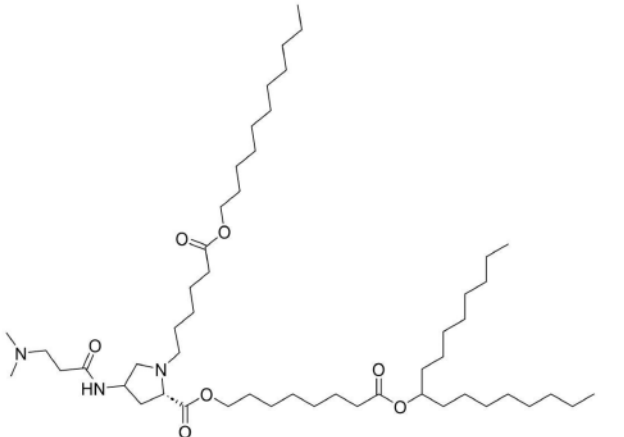
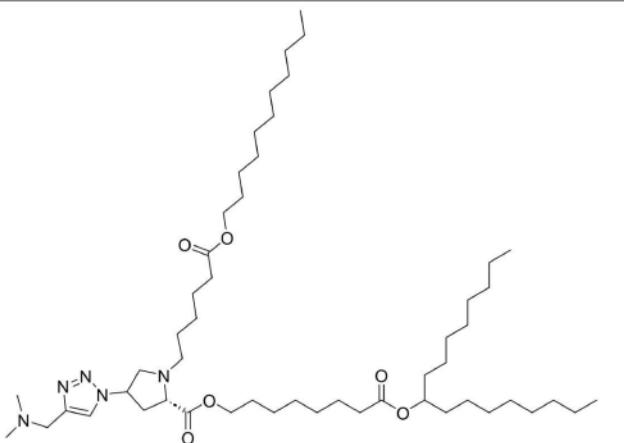
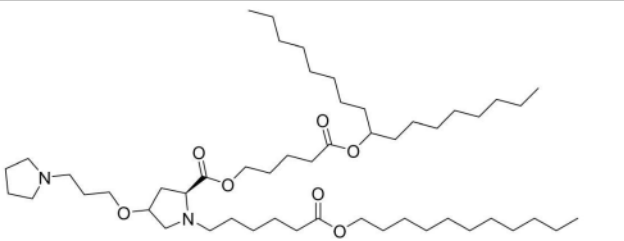
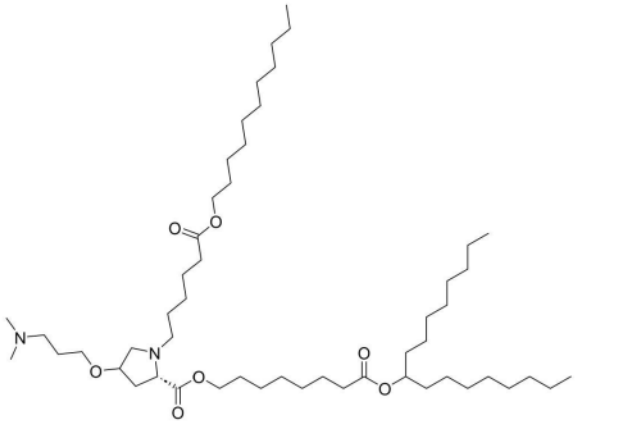
[0421]

2343		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-(十七烷-9-基氧基)-6-氧代己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2344		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十五烷-7-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2345		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十三烷-7-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2348		(2S)-4-((3-(2-甲基-1H-咪唑-1-基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

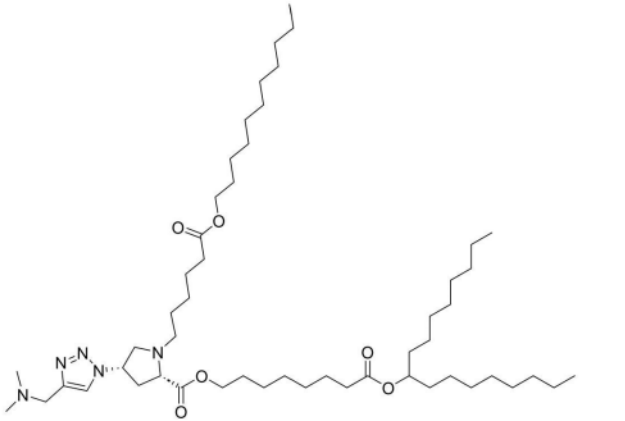
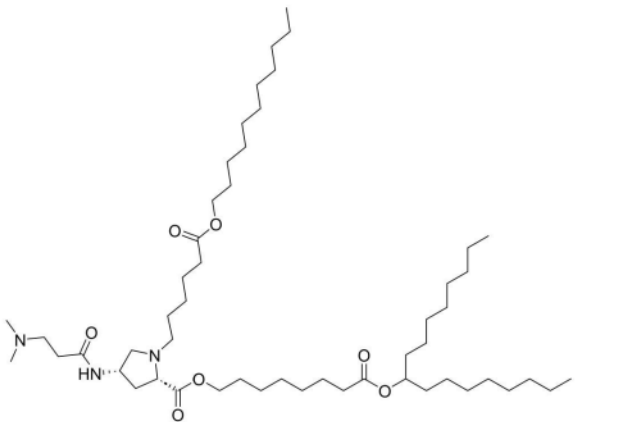
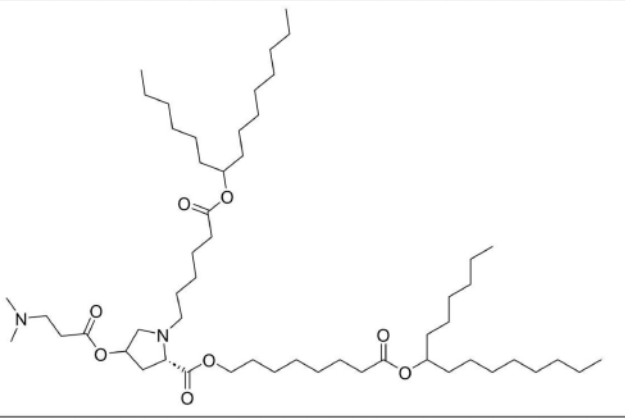
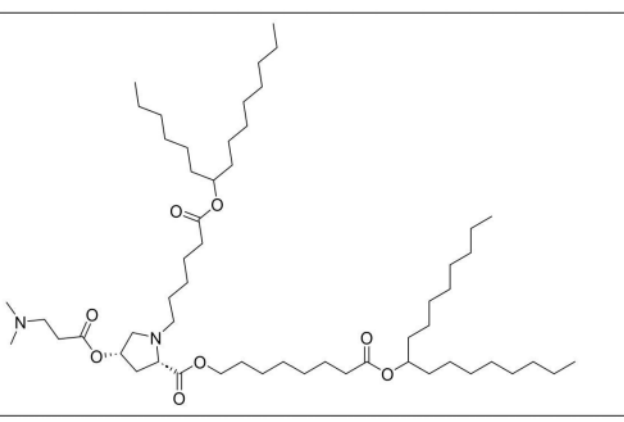
[0422]

2349		(2S)-4-((4-(1H-咪唑-1-基)丁基)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2352		(2S)-4-((3-(1H-咪唑-2-甲酰胺基)丙基)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2371		(2S,4S)-4-((3-(二甲基氨基)丙基)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊酯
2372		(2S,4R)-4-((3-(二甲基氨基)丙基)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊酯

[0423]

2373		(2S)-4-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2375		(2S)-4-(4-((二甲基氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2376		(2S)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)-4-(3-(吡咯烷-1-基)丙氧基)吡咯烷-2-甲酸 5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊酯
2377		(2S)-4-(3-(二甲基氨基)丙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

[0424]

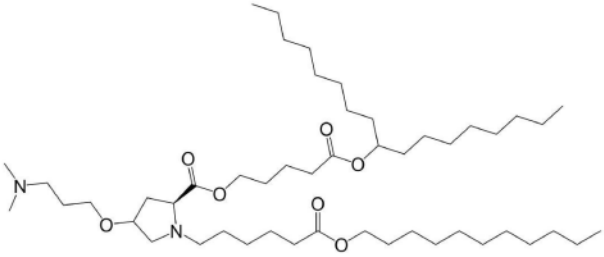
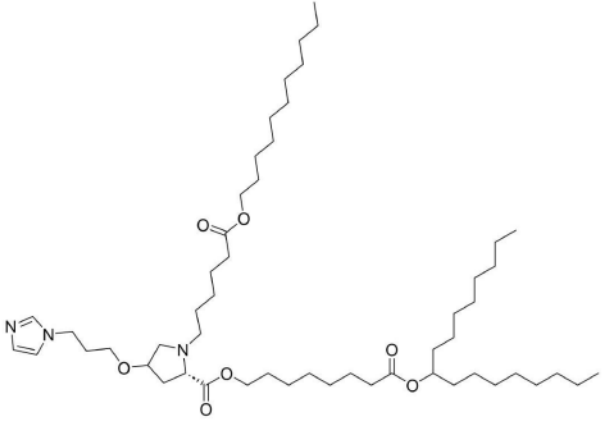
2436		(2S,4S)-4-(4-((二甲基氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2437		(2S,4S)-4-(3-(二甲基氨基)丙酰胺基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2440		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十五烷-7-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-(十五烷-7-基氧基)辛酯
2452		(2S,4S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十五烷-7-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

[0425]

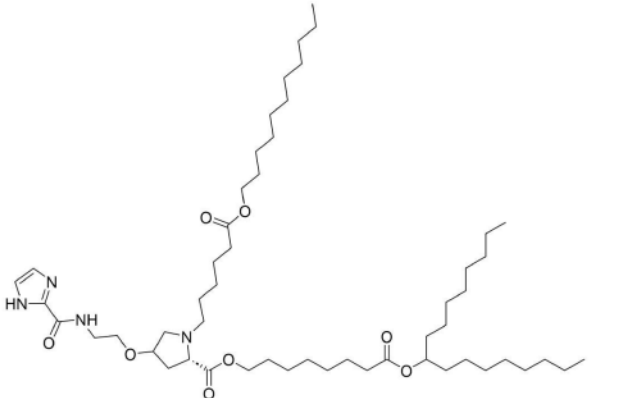
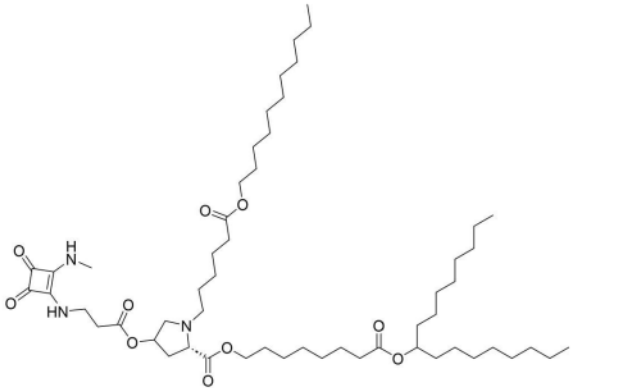
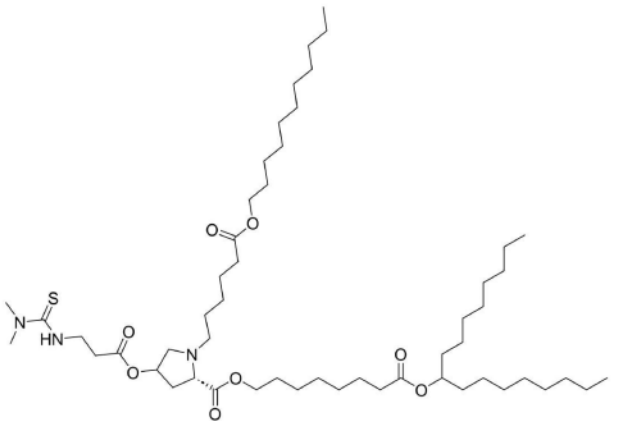
[0426] 此处公开的可电离脂质化合物的另外的非限制性实例示出于下表2中。

[0427] 表2: 示例性可电离脂质化合物。

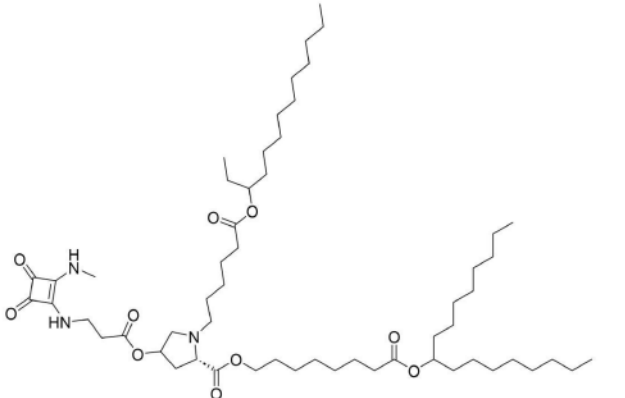
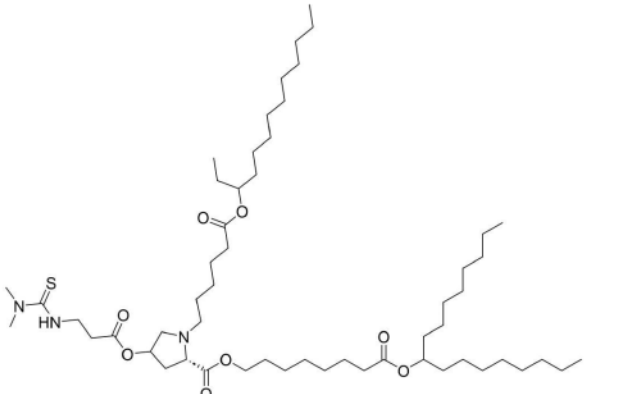
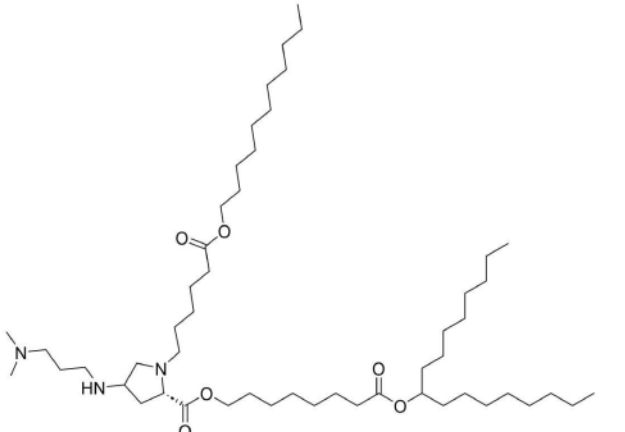
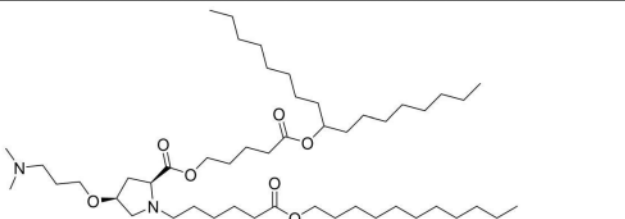
[0428]

<b>2232</b>		6-[(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]-2-({[5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊基]氧基}羰基)吡咯烷-1-基]己酸十一烷基酯
<b>2350</b>		(2S)-4-(3-(1H-咪唑-1-基)丙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

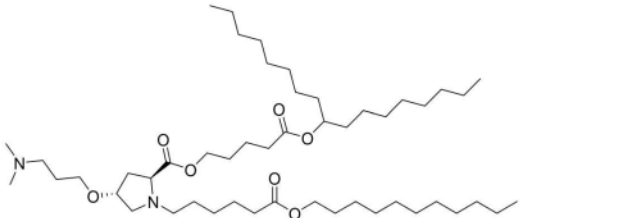
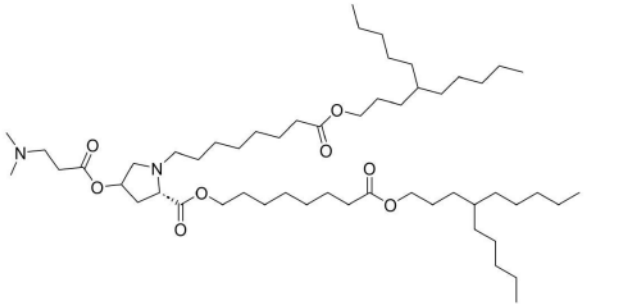
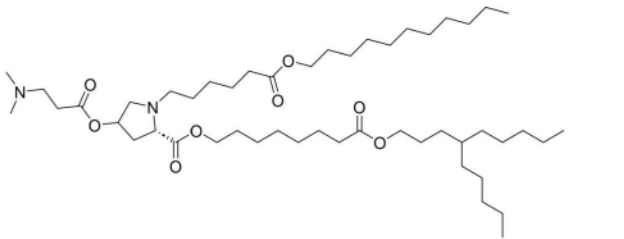
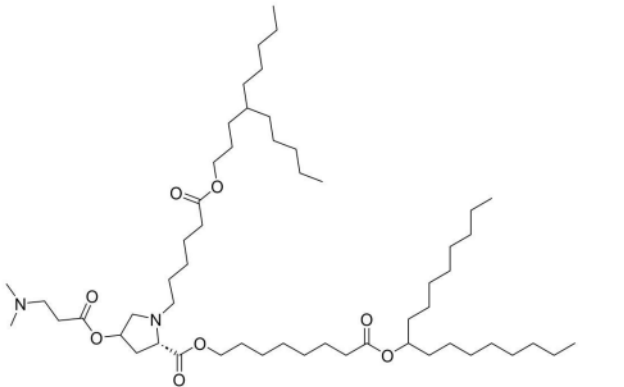
[0429]

2351		(2S)-4-(2-(1H-咪唑-2-甲酰胺基)乙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2359		(2S)-4-((3-((2-(甲基氨基)-3,4-二氧代环丁-1-烯-1-基)氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2360		(2S)-4-((3-(3,3-二甲基硫脲基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

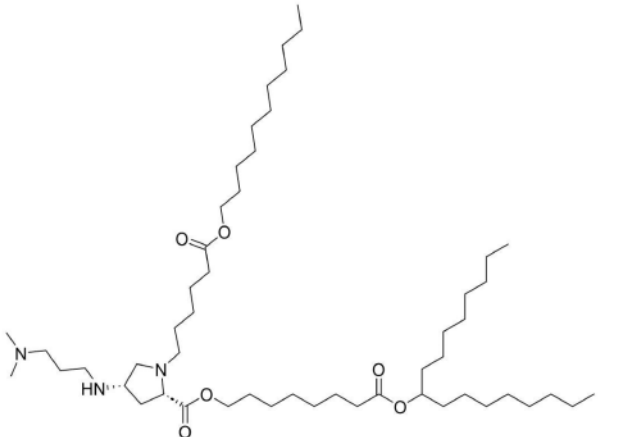
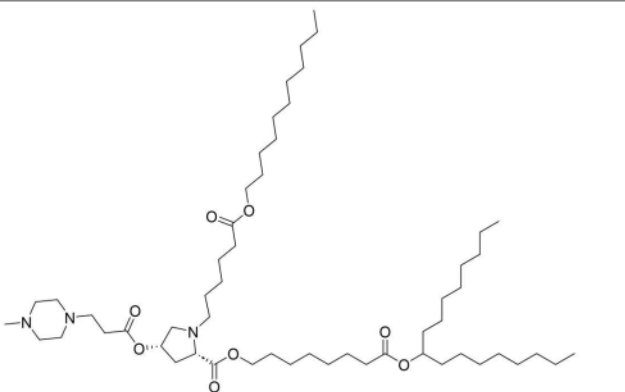
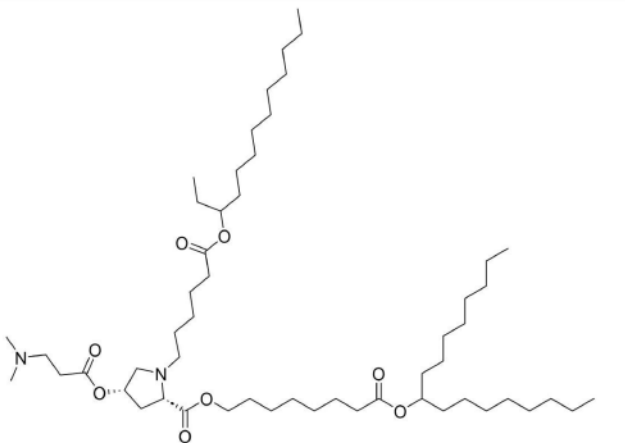
[0430]

2363		(2S)-4-((3-((2-(甲基氨基)-3,4-二氧代环丁-1-烯-1-基)氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十三烷-3-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2364		(2S)-4-((3-(3,3-二甲基硫脲基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十三烷-3-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2374		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2422		(2S,4S)-4-(3-(二甲基氨基)丙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊酯

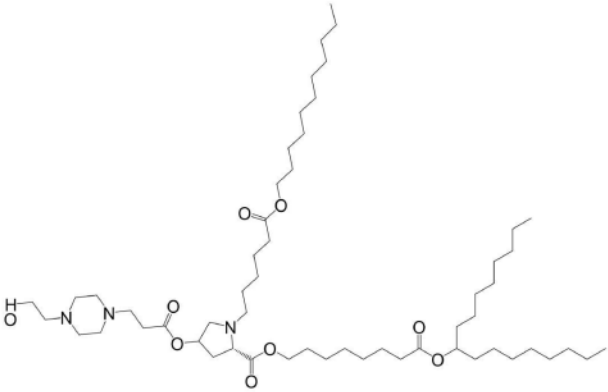
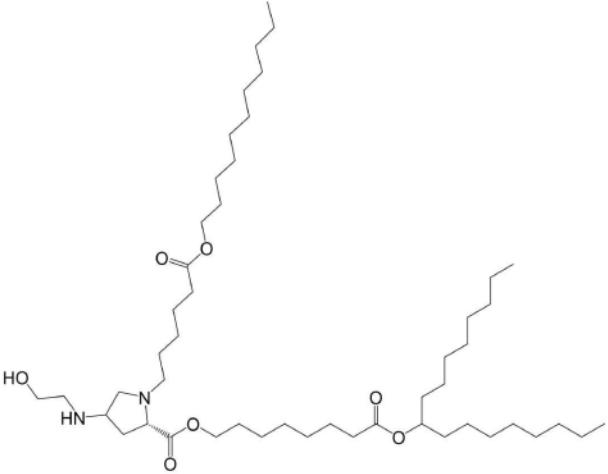
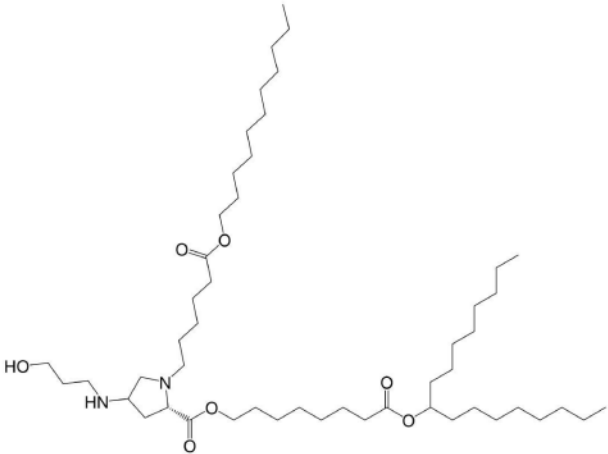
[0431]

2423		(2S,4R)-4-(3-(二甲基氨基)丙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 5-(十七烷-9-基氧基)-5-氧代戊酯
2429		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛酯
2430		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛酯
2431		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-((4-戊基壬基)氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

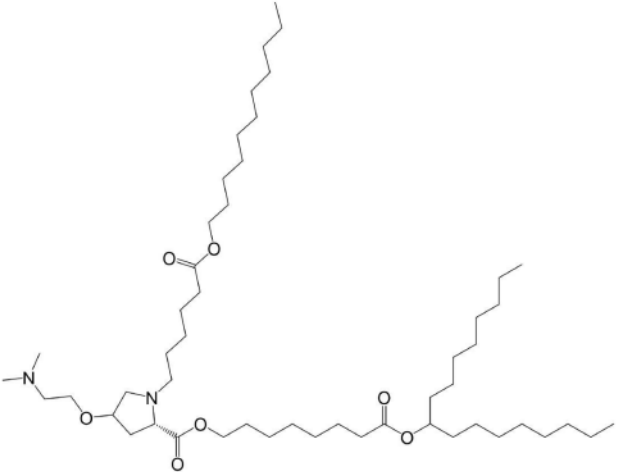
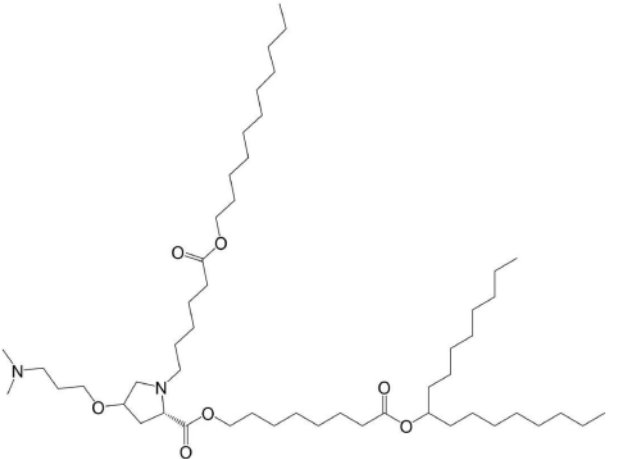
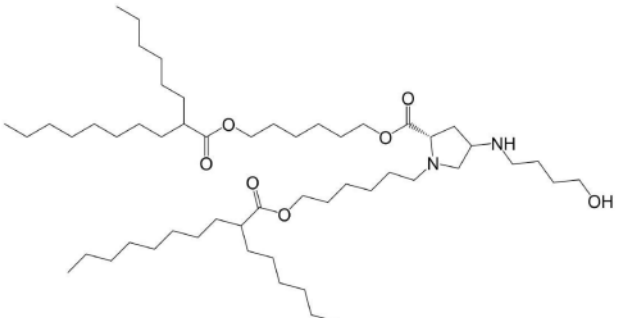
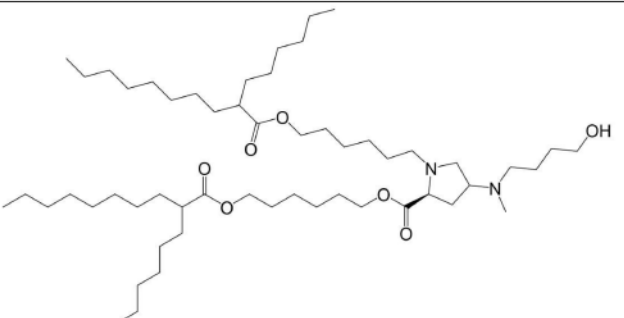
[0432]

2438		(2S,4S)-4-((3-(二甲基氨基)丙基)氨基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2451		(2S,4S)-4-((3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2455		(2S,4S)-4-((3-(二甲基氨基)丙基)氧基)-1-(6-氧代-6-(十三烷-3-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

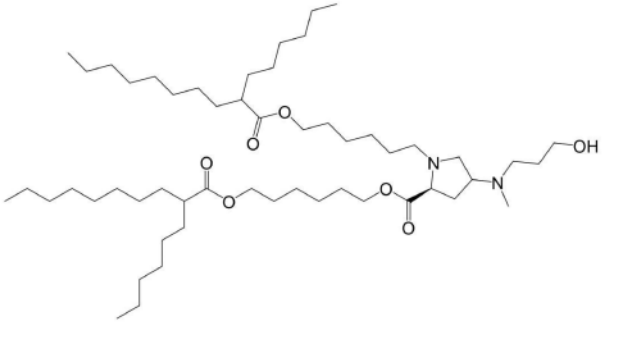
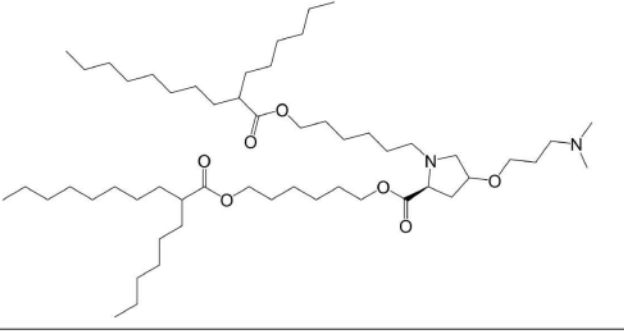
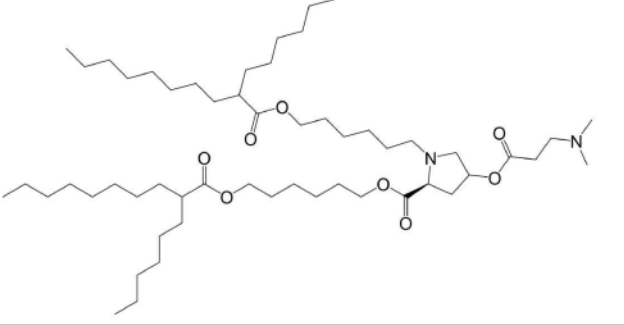
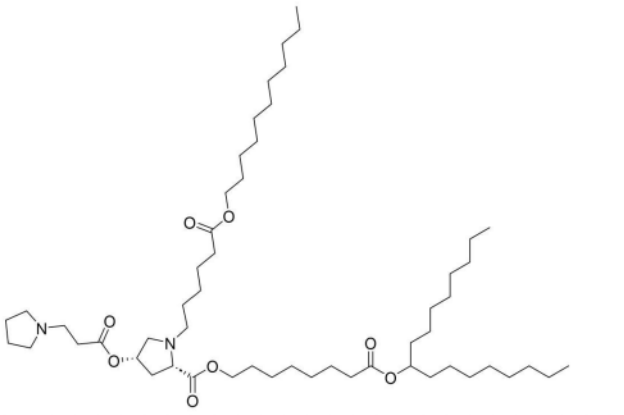
[0433]

1		(2 <i>S</i> )-4-((3-(4-(2-羟乙基)哌嗪-1-基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
2		(2 <i>S</i> )-4-((2-羟乙基)氨基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
3		(2 <i>S</i> )-4-((3-羟丙基)氨基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

[0434]

4		(2 <i>S</i> )-4-(2-(二甲基氨基)乙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
5		(2 <i>S</i> )-4-(3-(二甲基氨基)丙氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
6		(2 <i>S</i> )-1-(6-((2-己基癸酰)氧基)己基)-4-((4-羟丁基)氨基)吡咯烷-2-甲酸 6-((2-己基癸酰)氧基)己酯
7		(2 <i>S</i> )-1-(6-((2-己基癸酰)氧基)己基)-4-((4-羟丁基)(甲基)氨基)吡咯烷-2-甲酸 6-((2-己基癸酰)氧基)己酯

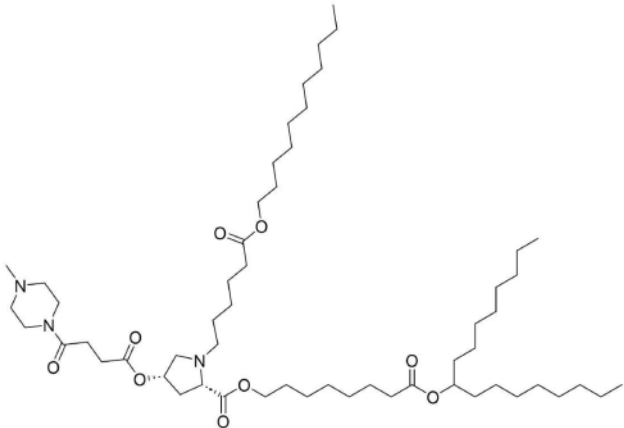
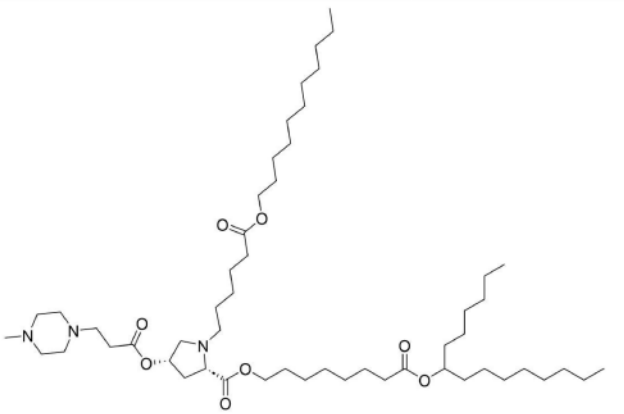
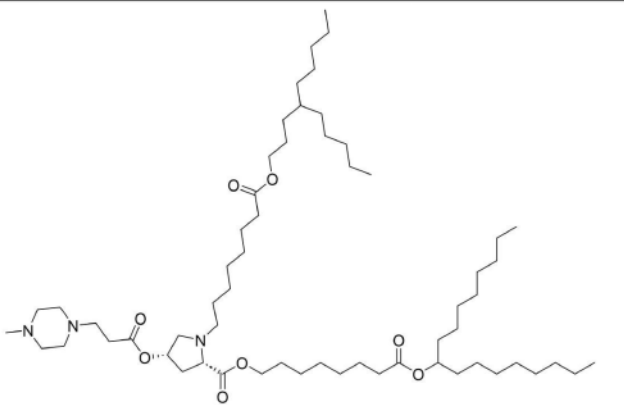
[0435]

8		(2 <i>S</i> )-1-(6-((2-己基癸酰)氧基)己基)-4-((3-羟丙基)(甲基)氨基)吡咯烷-2-甲酸 6-((2-己基癸酰)氧基)己酯
9		(2 <i>S</i> )-4-(3-(二甲基氨基)丙氧基)-1-(6-((2-己基癸酰)氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 6-((2-己基癸酰)氧基)己酯
10		(2 <i>S</i> )-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-((2-己基癸酰)氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 6-((2-己基癸酰)氧基)己酯
11		(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)-4-((3-(吡咯烷-1-基)丙酰)氧基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

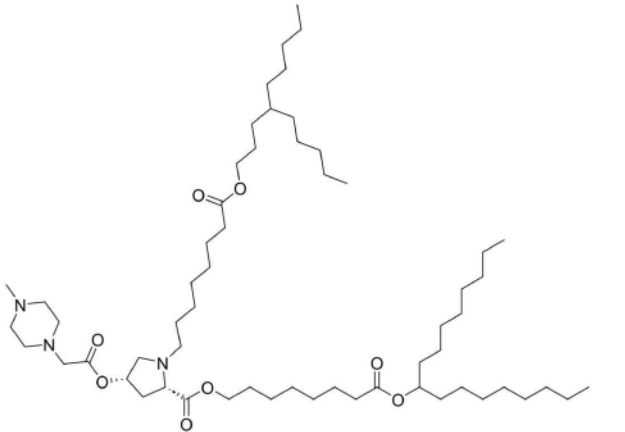
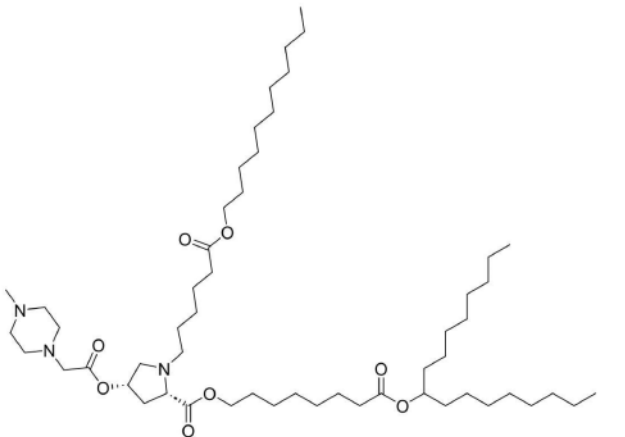
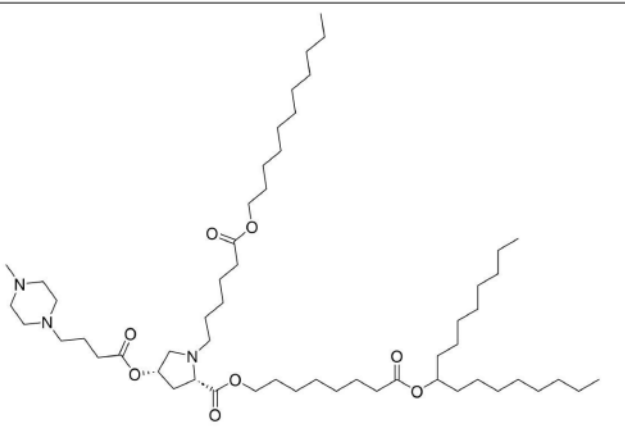
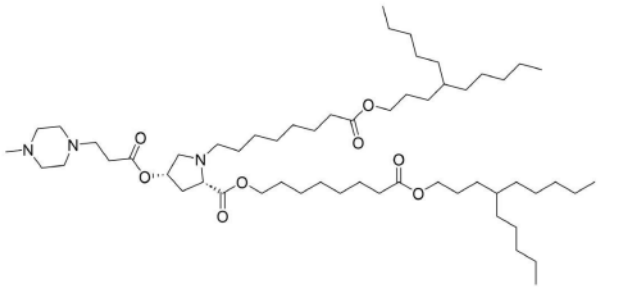
12.		(2S,4S)-4-((3-((S)-3-羟基吡咯烷-1-基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
13.		(2S,4S)-4-((3-((R)-3-羟基吡咯烷-1-基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
14.		2-(((S)-1-(3-(((3S,5S)-5-((8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛基)氧基)羰基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-3-基)氧基)-3-氧代丙基)吡咯烷-3-基)氧基)-N,N,N-三甲基-2-氧代乙烷-1-铵
15.		2-(((R)-1-(3-(((3S,5S)-5-((8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛基)氧基)羰基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-3-基)氧基)-3-氧代丙基)吡咯烷-3-基)氧基)-N,N,N-三甲基-2-氧代乙烷-1-铵

[0436]

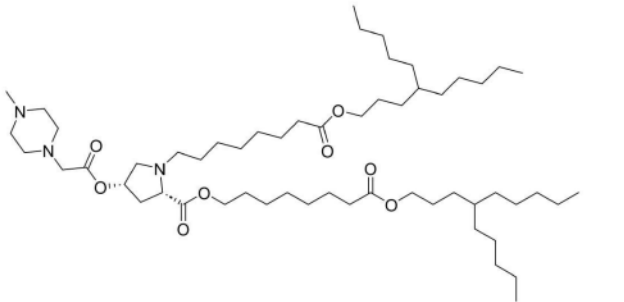
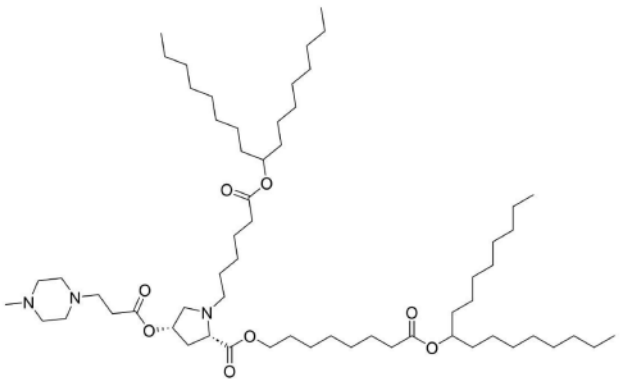
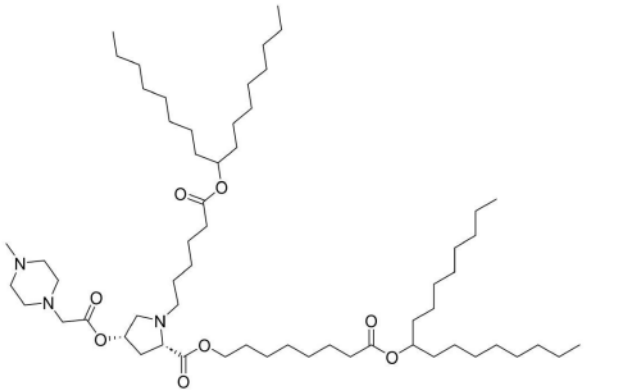
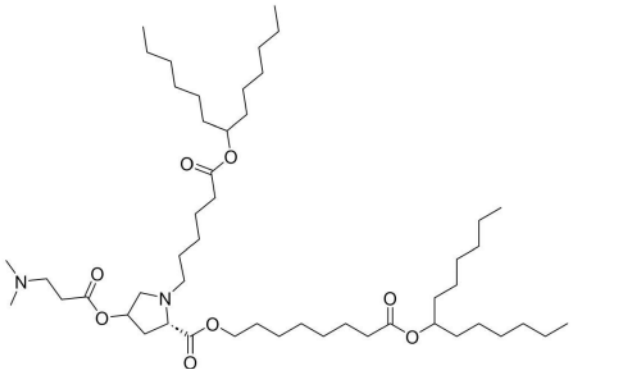
[0437]

16.		(2S,4S)-4-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)-4-氧代丁酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
17.		(2S,4S)-4-((3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-(十五烷-7-基氧基)辛酯
18.		(2S,4S)-4-((3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰)氧基)-1-(8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

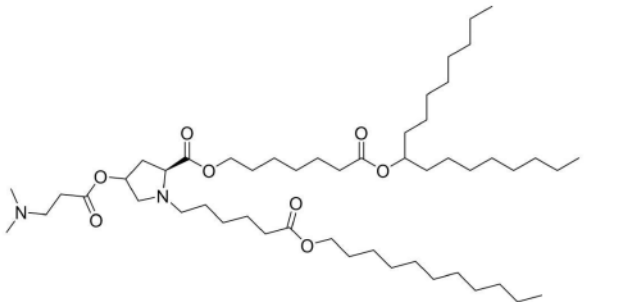
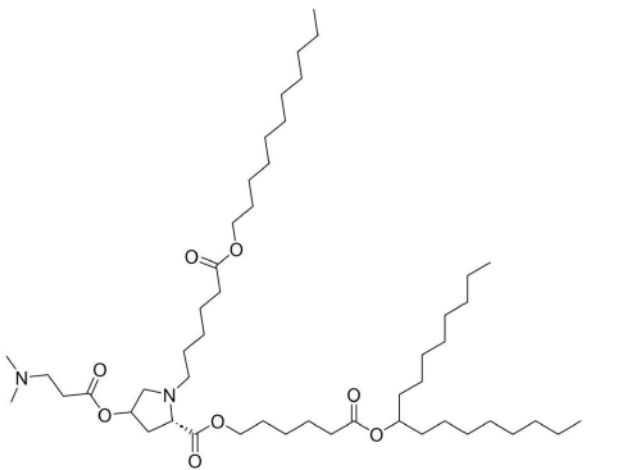
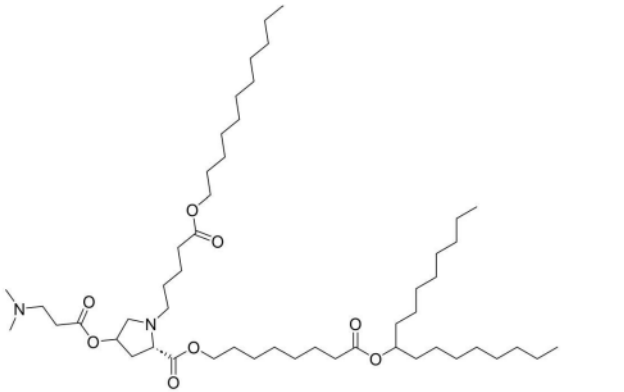
[0438]

19.		(2S,4S)-4-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰氧基)-1-(8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
20.		(2S,4S)-4-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
21.		(2S,4S)-4-((4-(4-甲基哌嗪-1-基)丁酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
22.		(2S,4S)-4-((3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰)氧基)-1-(8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛酯

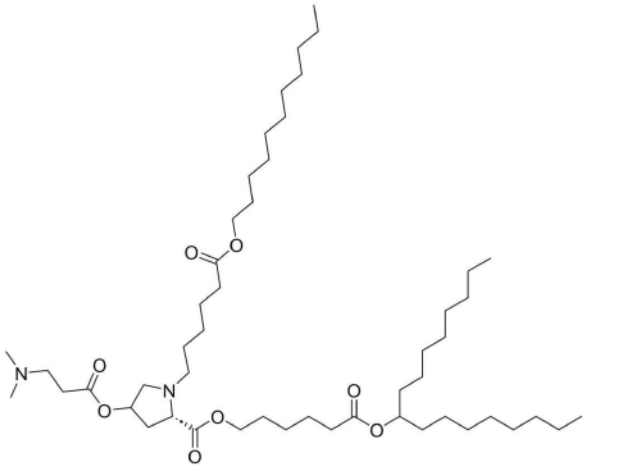
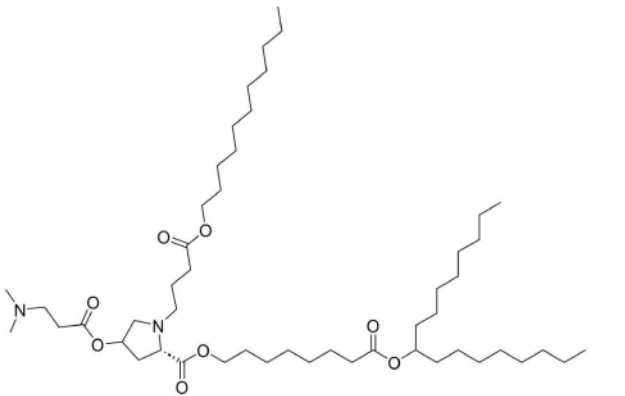
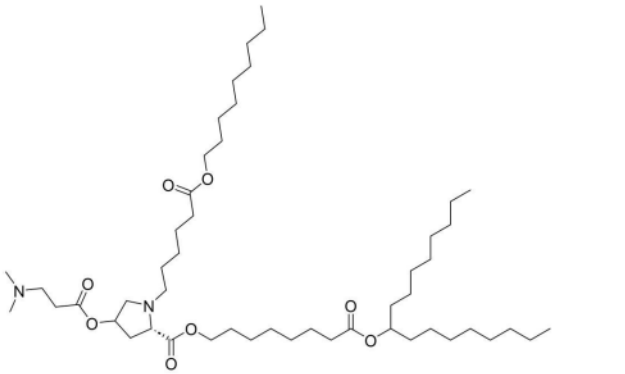
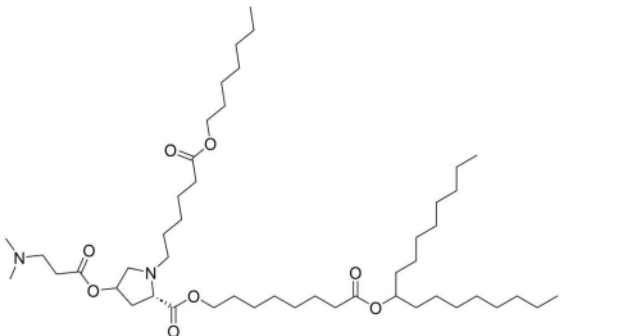
[0439]

23.		(2S,4S)-4-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰氧基)-1-(8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-((4-戊基壬基)氧基)辛酯
24.		(2S,4S)-1-(6-(十七烷-9-基氧基)-6-氧代己基)-4-((3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰)氧基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
25.		(2S,4S)-1-(6-(十七烷-9-基氧基)-6-氧代己基)-4-(2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰氧基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
26.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十三烷-7-基氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 8-氧代-8-(十三烷-7-基氧基)辛酯

[0440]

27.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 7-(十七烷-9-基氧基)-7-氧代庚酯
28.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 6-(十七烷-9-基氧基)-6-氧代己酯
29.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(5-氧代-5-(十一烷氧基)戊基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

[0441]

30.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)吡咯烷-2-甲酸 6-(十七烷-9-基氧基)-6-氧代己酯
31.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(4-氧代-4-(十一烷氧基)丁基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
32.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-(壬氧基)-6-氧代己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯
33.		(2S)-4-((3-(二甲基氨基)丙酰)氧基)-1-(6-(庚基氧基)-6-氧代己基)吡咯烷-2-甲酸 8-(十七烷-9-基氧基)-8-氧代辛酯

[0442] 脂质组合物

[0443] 本文所公开的可电离脂质可以用于形成脂质组合物。因此,本发明的另一方面涉及一种脂质组合物,其包括如在涉及新型可电离脂质化合物的本发明的上述方面中所述的脂质化合物。

[0444] 涉及脂质化合物,包含由式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)所覆盖的化合物的所有上述描述和上述方面中所论述的所有实施例都适用于涉及脂质组合物的本发明的这些方面。

[0445] 如本文所述,将用于脂质组合物的合适的脂质化合物包含上述化合物的所有异构体和同位素及其所有药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物,以及所有晶体形式、晶体形式混合物和酸酐或水合物。

[0446] 在一些实施例中,所述脂质组合物含有一种或多种本文所述的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,所述脂质组合物是脂质体或脂质纳米颗粒(LNP)。在一个实施例中,所述脂质组合物是LNP。

[0447] 除了本文所述的一种或多种化合物之外,所述脂质组合物可以进一步包含第二脂质。在一些实施例中,本公开涉及一种脂质组合物,其包括(i)一种或多种选自式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的脂质化合物和(ii)第二脂质。在一些实施例中,所述脂质组合物包括5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的所述一种或多种脂质化合物。

[0448] 在一些实施例中,所述第二脂质是阳离子的、非阳离子的(例如,中性的、阴离子的或两性离子的)或可电离的。在一些实施例中,所述脂质组合物包括的所述脂质化合物和所述第二脂质(例如,辅助脂质)的比率是约1:1。

[0449] 在一些实施例中,所述第二脂质是阳离子脂质、阴离子脂质、另一种可电离脂质或两性离子脂质。

[0450] 在一些实施例中,本公开涉及一种脂质纳米颗粒组合物,其包括(i)一种或多种如本文所述的可电离脂质化合物和(ii)一种或多种脂质组分。

[0451] 在一些实施例中,所述脂质组合物中的所述一种或多种脂质组分包括一种或多种辅助脂质和一种或多种PEG脂质。在一些实施例中,所述脂质组分包括一种或多种辅助脂质、一种或多种PEG脂质和一种或多种中性脂质。在一些实施例中,所述脂质组合物可以进一步包括固醇和PEG脂质。在一些实施例中,所述脂质组合物可以进一步包括固醇、PEG化脂质、磷脂和/或中性脂质。

[0452] 在一些实施例中,一种或多种天然存在的和/或合成的脂质化合物可以用于制备脂质组合物。脂质组合物可以含有带负电荷的脂质、带正电荷的脂质或其组合。

[0453] 不可电离脂质组分

[0454] 带电荷的和中性脂质

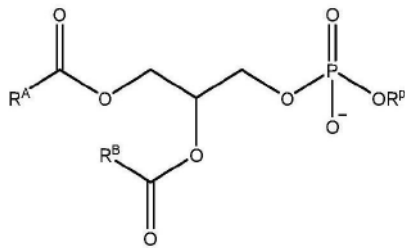
[0455] 合适的带负电荷的(阴离子)脂质的实例包含但不限于二肉豆蔻酰基-、二棕榈酰基-和二硬脂酰基-磷脂酰甘油;二肉豆蔻酰基-、二棕榈酰基-和二棕榈酰基-磷脂酸;二肉豆蔻酰基-、二棕榈酰基-和二棕榈酰基-磷脂酰乙醇胺;及其不饱和二酰基和混合酰基链对应物以及心磷脂。

[0456] 带正电荷的(阳离子)脂质的实例包含但不限于N,N'-二甲基-N,N'-双十八烷基溴化铵(DDAB)和氯(DDAC)、N-(1-(2,3-二油酰基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、3

$\beta$ -[N-(N',N'-二甲基氨基乙基)氨基甲酰基]胆固醇(DC-cho1)、1,2-二油酰基氧基-3-[三甲基铵]-丙烷(DOTAP)、1,2-双十八烷氧基-3-[三甲基铵]-丙烷(DSTAP)和1,2-二油酰基氧基丙基-3-二甲基-羟基乙基氯化铵(DORI)以及例如Martin等人,《现代药物设计(Current Pharmaceutical Design)》,第1-394页中描述的阳离子脂质,所述文献通过引用整体并入本文。

[0457] 另外的示例性阳离子脂质包含但不限于N,N-二油酰基-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)、N-(1-(2,3-二油酰基氧基)丙基)-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)、N,N-二甲基-(2,3-二油酰基氧基)丙胺(DODMA)、1,2-二油酰基-3-二甲基铵-丙烷(DODAP)、1,2-二油酰基氨基甲酰基-3-二甲基铵-丙烷(DOCDAP)、1,2-二亚油酸-3-二甲基铵-丙烷(DLINDAP)、3-二甲基氨基-2-(胆甾-5-烯-3- $\beta$ -氧基丁-4-氧基)-1-(顺式,顺式-9,12-十八烷二烯氧基)丙烷(CLinDMA)、2-[5'-(胆甾-5-烯-3- $\beta$ -氧基)-3'-(氧杂戊氧基)-3-二甲基-1-(顺式,顺式-9',12'-十八烷二烯氧基)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油酰基氧基苄胺(DMOBA)和/或其混合物。中性脂质可以包括二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰基磷脂酰胆碱(POPC)、卵磷脂酰胆碱(EPC)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)和/或其混合物。

[0458] 在一些实施例中,所述脂质组分包括一种或多种中性脂质。中性脂质可以是一种或多种磷脂,如一种或多种(多)不饱和脂质。磷脂可以组装成一个或多个脂质双层。一般来说,磷脂可以包含磷脂部分和一个或多个脂肪酸部分。例如,磷脂可以是根据下式的脂质:



其中R<sup>P</sup>表示磷脂部分,并且R<sup>A</sup>和R<sup>B</sup>表示可以是相同或不同的

不饱和或饱和的脂肪酸部分。磷脂部分可以是磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸、2-溶血磷脂酰胆碱或鞘磷脂。脂肪酸部分可以是月桂酸、肉豆蔻酸、肉豆蔻油酸(myristoleic acid)、棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 $\alpha$ -亚麻酸、芥酸、植烷酸(phytanic acid)、花生酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸、山萘酸、二十二碳五烯酸或二十二碳六烯酸。还设想了非天然物质,包含具有修饰和取代(包含支化、氧化、环化和炔烃)的天然物质。例如,磷脂可以用一种或多种炔烃(例如,其中一个或多个双键被三键替换的烯基)官能化或与之交联。在适当的反应条件下,炔烃可以在暴露于叠氮化物时经历经铜催化的环加成。此类反应可以用于使脂质纳米颗粒的脂质双层官能化以促进膜渗透或细胞识别,或用于将脂质纳米颗粒与有用的组分如靶向部分或成像部分(例如,染料)缀合。

[0459] 在一些实施例中,所述中性脂质可以是磷脂,如二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-二十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-二-0-十八

烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0二酰PC)、1-油酰基-2-胆甾醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(OChemsPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酸酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚麻酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酸酰-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰基-乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)或其混合物。

[0460] 中性脂质的另外的非限制性实例还包含磷脂,如卵磷脂、磷脂酰乙醇胺、溶血卵磷脂、溶血磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、鞘磷脂、卵鞘磷脂(ESM)、脑磷脂、心磷脂、磷脂酸、脑苷脂、磷酸双十六烷基酯、二硬脂酰基磷脂酰胆碱(DSPC)、二油酰基磷脂酰胆碱(DOPC)、二棕榈酰基磷脂酰胆碱(DPPC)、二油酰基磷脂酰甘油(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、棕榈酰油酰基-磷脂酰胆碱(POPC)、棕榈酰油酰基-磷脂酰乙醇胺(POPE)、棕榈酰油酰基-磷脂酰甘油(POPG)、二油酰基磷脂酰乙醇胺4-(N-马来酰亚胺甲基)-环己烷-1-甲酸酯(DOPE-mal)、二棕榈酰基-磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基-磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二硬脂酰基-磷脂酰乙醇胺(DSPE)、单甲基-磷脂酰乙醇胺、二甲基-磷脂酰乙醇胺、二反油酰基-磷脂酰乙醇胺(DEPE)、硬脂酰油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、溶血磷脂酰胆碱、二亚油酰基磷脂酰胆碱及其混合物。也可以使用其它二酰基磷脂酰胆碱和二酰基磷脂酰乙醇胺磷脂。这些脂质中的酰基可以是源自具有C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub>碳链的脂肪酸的酰基,例如月桂酰基、肉豆蔻酰基、棕榈酰基、硬脂酰基或油酰基。

#### [0461] 类固醇和其它不可电离脂质组分

[0462] 在一些实施例中,脂质组合物中的脂质组分包括一种或多种类固醇或其类似物。

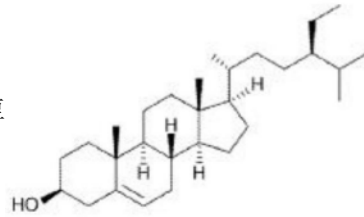
[0463] 在一些实施例中,脂质组合物中的脂质组分包括固醇,如胆固醇、谷甾醇及其衍生物。胆固醇衍生物的非限制性实例包含:极性类似物,如5a-胆甾烷醇、5a-粪醇、胆甾醇基-(2'-羟基)-乙基醚、胆甾醇基-(4'-羟基)-丁基醚和6-酮胆甾烷醇;非极性类似物,如5a-胆甾烷、胆甾烯酮、5a-胆甾酮、5a-胆甾酮和胆甾醇癸酸酯;及其混合物。在一些实施例中,所述胆固醇衍生物是极性类似物,如胆甾醇基-(4'-羟基)-丁基醚。

[0464] 在一些实施例中,所述不可电离脂质组分包括一种或多种磷脂和胆固醇或其衍生物的混合物,或由所述混合物组成。在一些实施例中,所述脂质组合物中存在的所述不可电离脂质组分包括一种或多种磷脂,例如无胆固醇脂质颗粒调配物或由所述一种或多种磷脂组成。在一些实施例中,所述脂质组合物中存在的所述不可电离脂质组分包括胆固醇或其衍生物,例如无磷脂脂质颗粒调配物或由所述胆固醇或其衍生物组成。

[0465] 在一些实施例中,所述脂质组合物(例如,LNP组合物)中的所述脂质组分包括植物甾醇或植物甾醇和胆固醇的组合。在一些实施例中,所述植物甾醇选自自由以下组成的组:b-谷甾醇、豆甾醇、b-谷甾醇、菜油甾醇、菜籽甾醇(brassicasterol)及其组合。在一些实施

例中,所述植物甾醇选自由以下组成的组:b-谷甾醇、b-谷甾烷醇、菜油甾醇、菜籽甾醇、化合物S-140、化合物S-151、化合物S-156、化合物S-157、化合物S-159、化合物S-160、化合物S-164、化合物S-165、化合物S-170、化合物S-173、化合物S-175及其组合。在一些实施例中,所述植物甾醇选自由以下组成的组:化合物S-140、化合物S-151、化合物S-156、化合物S-157、化合物S-159、化合物S-160、化合物S-164、化合物S-165、化合物S-170、化合物S-173、化合物S-175及其组合。在一些实施例中,所述植物甾醇是化合物S-141、化合物S-140、化合物S-143和化合物S-148的组合。在一些实施例中,所述植物甾醇包括谷甾醇或其盐或酯。在一些实施例中,所述植物甾醇包括豆甾醇或其盐或酯。

[0466] 在一些实施例中,所述植物甾醇是 $\beta$ -谷甾醇



其盐或其

酯。

[0467] 在一些实施例中,所述脂质组合物(例如,LNP组合物)包括植物甾醇或其盐或酯,以及胆固醇或其盐。

[0468] 在一些实施例中,所述脂质组合物的靶向递送细胞是本文所述的细胞(例如,肝细胞或脾细胞),并且所述植物甾醇或其盐或酯选自由以下组成的组:b-谷甾醇、b-谷甾烷醇、菜油甾醇和菜籽甾醇及其组合。在一些实施例中,所述植物甾醇是b-谷甾醇。在一些实施例中,所述植物甾醇是b-谷甾烷醇。在一些实施例中,所述植物甾醇是菜油甾醇。在一些实施例中,所述植物甾醇是菜籽甾醇。

[0469] 在一些实施例中,所述脂质组合物的靶向递送细胞是本文所述的细胞(例如,肝细胞或脾细胞),并且所述植物甾醇或其盐或酯选自由以下组成的组:b-谷甾醇和豆甾醇及其组合。在一些实施例中,所述植物甾醇是b-谷甾醇。在一些实施例中,所述植物甾醇是豆甾醇。

[0470] 不可电离脂质组分的其它实例包含不含磷的脂质,如硬脂胺、十二烷胺、十六烷胺、乙酰棕榈酸酯、甘油蓖麻酸酯、硬脂酸十六烷酯、肉豆蔻酸异丙酯、两性丙烯酸聚合物、三乙醇胺-月桂基硫酸酯、烷基-芳基硫酸酯聚乙氧基化脂肪酸酰胺、双十八烷基二甲基溴化铵、神经酰胺和鞘磷脂。

[0471] 在一些实施例中,所述不可电离脂质组分以脂质组合物中存在的总脂质的10mol%至60mol%、20mol%至55mol%、20mol%至45mol%、20mol%至40mol%、25mol%至50mol%、25mol%至45mol%、30mol%至50mol%、30mol%至45mol%、30mol%至40mol%、35mol%至45mol%、37mol%至42mol%、或35mol%、36mol%、37mol%、38mol%、39mol%、40mol%、41mol%、42mol%、43mol%、44mol%或45mol%(或其中的任何部分或范围)存在。

[0472] 在其中脂质组合物含有磷脂和胆固醇或胆固醇衍生物的混合物的实施例中,所述混合物可以脂质组合物中存在的总脂质的至多40mol%、45mol%、50mol%、55mol%或60mol%存在。

[0473] 在一些实施例中,所述混合物中的所述磷脂组分可以所述脂质组合物中存在的总脂质的2mol%至20mol%、2mol%至15mol%、2mol%至12mol%、4mol%至15mol%或4mol%

至10mol% (或其中的任何部分或范围) 存在。在一些实施例中,所述混合物中的所述磷脂组分以所述脂质组合中存在的总脂质的5mol%至10mol%、5mol%至9mol%、5mol%至8mol%、6mol%至9mol%、6mol%至8mol%或5mol%、6mol%、7mol%、8mol%、9mol%或10mol% (或其中的任何部分或范围) 存在。

[0474] 在一些实施例中,所述混合物中的所述固醇组分(例如,胆固醇组分)可以所述脂质组合中存在的总脂质的25mol%至45mol%、25mol%至40mol%、30mol%至45mol%、30mol%至40mol%、27mol%至37mol%、25mol%至30mol%或35mol%至40mol% (或其中的任何部分或范围) 存在。在一些实施例中,所述混合物中的所述胆固醇组分以所述脂质组合中存在的总脂质的25mol%至35mol%、27mol%至35mol%、29mol%至35mol%、30mol%至35mol%、30mol%至34mol%、31mol%至33mol%或30mol%、31mol%、32mol%、33mol%、34mol%或35mol% (或其中的任何部分或范围) 存在。

[0475] 在其中脂质组合不含磷脂的实施例中,胆固醇或其衍生物可以所述脂质组合中存在的总脂质的至多25mol%、30mol%、35mol%、40mol%、45mol%、50mol%、55mol%或60mol%存在。

[0476] 在一些实施例中,不含磷脂的脂质颗粒调配物中的固醇组分(例如,胆固醇或其衍生物)可以所述脂质组合中存在的总脂质的25mol%至45mol%、25mol%至40mol%、30mol%至45mol%、30mol%至40mol%、31mol%至39mol%、32mol%至38mol%、33mol%至37mol%、35mol%至45mol%、30mol%至35mol%、35mol%至40mol%或30mol%、31mol%、32mol%、33mol%、34mol%、35mol%、36mol%、37mol%、38mol%、39mol%或40mol% (或其中的任何部分或范围) 存在。

[0477] 在一些实施例中,所述不可电离脂质组分可以所述脂质组合中存在的总脂质的5mol%至90mol%、10mol%至85mol%、20mol%至80mol%、10mol% (例如,仅磷脂) 或60mol% (例如,磷脂和胆固醇或其衍生物) (或其中的任何部分或范围) 存在。

[0478] 脂质组合中存在的不可电离脂质的百分比是目标量,并且颗粒中存在的不可电离脂质的实际量可以变化,例如,±5mol%。

#### [0479] 脂质缀合物

[0480] 本文所述的脂质组合可以进一步包括一种或多种脂质缀合物。缀合脂质可以防止颗粒的聚集。缀合脂质的非限制性实例包含PEG-脂质缀合物、阳离子聚合物-脂质缀合物及其混合物。

[0481] 在一些实施例中,脂质缀合物是PEG-脂质或经PEG修饰的脂质(可替代地称为PEG化脂质)。PEG脂质是用聚乙二醇修饰的脂质。PEG-脂质的实例包含但不限于与二烷氧基丙基偶联的PEG(PEG-DAA)、与二酰基甘油偶联的PEG(PEG-DAG)、经PEG修饰的二烷基胺、经PEG修饰的二酰基甘油(PEG-DEG)、与磷脂如磷脂酰乙醇胺偶联的PEG(PEG-PE)、经PEG修饰的磷脂酸、与神经酰胺缀合的PEG(PEG-CER)、与胆固醇或其衍生物缀合的PEG及其混合物。

[0482] 例如,PEG脂质可以是PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC或PEG-DSPE脂质。

[0483] 在一些实施例中,所述PEG-脂质选自由以下组成的组:经PEG修饰的磷脂酰乙醇胺、经PEG修饰的磷脂酸、经PEG修饰的神经酰胺、经PEG修饰的二烷基胺、经PEG修饰的二酰基甘油和经PEG修饰的二烷基甘油。

[0484] 在一些实施例中,所述PEG-脂质选自由以下组成的组:1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油甲氧基聚乙二醇(PEG-DMG)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-[氨基(聚乙二醇)](PEG-DSPE)、PEG-二甾基甘油(PEG-DSG)、PEG-二棕榈酰基、PEG-二油烯基、PEG-二硬脂酰基、PEG-二酰基甘氨酸酰胺(PEG-DAG)、PEG-二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(PEG-DPPE)或PEG-1,2-二肉豆蔻基氧基丙基-3-胺(PEG-c-DMA)。

[0485] PEG是具有两个末端羟基的乙烯PEG重复单元的线性水溶性聚合物。PEG按其分子量分类;并且包含以下这些:单甲氧基聚乙二醇(MePEG-OH)、单甲氧基聚乙二醇-琥珀酸酯(MePEG-S)、单甲氧基聚乙二醇-琥珀酰亚胺基琥珀酸酯(MePEG-S-NHS)、单甲氧基聚乙二醇-胺(MePEG-NH<sub>2</sub>)、单甲氧基聚乙二醇-三氟乙基磺酸酯(MePEG-TRES)、单甲氧基聚乙二醇-咪唑基-羰基(MePEG-IM)以及含有末端羟基而不是末端甲氧基的此类化合物(例如,HO-PEG-S、HO-PEG-S-NHS、HO-PEG-NH<sub>2</sub>)。

[0486] 本文所述的PEG-脂质缀合物的PEG部分可以包括范围为550道尔顿至10,000道尔顿的平均分子量。在某些情况下,PEG部分的平均分子量为750道尔顿至5,000道尔顿(例如,1,000道尔顿至5,000道尔顿、1,500道尔顿至3,000道尔顿、750道尔顿至3,000道尔顿、750道尔顿至2,000道尔顿)。在一些实施例中,PEG部分的平均分子量为2,000道尔顿或750道尔顿。

[0487] 在某些情况下,PEG可以任选地被烷基、烷氧基、酰基或芳基取代。PEG可以直接与脂质缀合,或者可以经由接头部分与脂质连接。可以使用适合用于使PEG与脂质偶联的任何接头部分,包含例如不含酯的接头部分和含酯的接头部分。在一些实施例中,所述接头部分是不含酯的接头部分。合适的不含酯的接头部分包含但不限于酰胺(-C(O)NH-)、氨基(-NR-)、羰基(-C(O)-)、氨基甲酸酯(-NHC(O)O-)、脲(-NHC(O)NH-)、二硫化物(-S-S-)、醚(-O-)、琥珀酰基(-C(O)CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-)、琥珀酰胺基(-NHC(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)NH-)、醚、二硫化物及其组合(如含有氨基甲酸酯接头部分和酰胺接头部分两者的接头)。在一些实施例中,氨基甲酸酯接头用于使PEG与脂质偶联。

[0488] 在一些实施例中,含酯的接头部分用于使PEG与脂质偶联。合适的含酯的接头部分包含例如碳酸酯(-OC(O)O-)、琥珀酰基、磷酸酯(-O-(O)POH-O-)、磺酸酯及其组合。

[0489] 具有不同链长和饱和度的各种酰基链基团的磷脂酰乙醇胺可以与PEG缀合以形成脂质缀合物。此类磷脂酰乙醇胺是可商购获得的,或者可以使用本领域技术人员已知的常规技术分离或合成。

[0490] 在一些实施例中,磷脂酰乙醇胺含有碳链长度在C10至C20范围内的饱和或不饱和脂肪酸。也可以使用具有单不饱和脂肪酸或二不饱和脂肪酸以及饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的混合物的磷脂酰乙醇胺。合适的磷脂酰乙醇胺包含但不限于二肉豆蔻酰基-磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二棕榈酰基-磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二油酰基-磷脂酰乙醇胺(DOPE)和二硬脂酰基-磷脂酰乙醇胺(DSPE)。

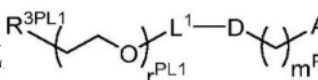
[0491] 术语“二酰基甘油”或“DAG”包含具有2条脂肪酰基链R1和R2的化合物,所述2条脂肪酰基链两者都独立地具有通过酯键与甘油的1位和2位键合的2至30个碳。酰基可以是饱和的或具有不同程度的不饱和。合适的酰基包含但不限于月桂酰基(C12)、肉豆蔻酰基(CM)、棕榈酰基(C16)、硬脂酰基(C18)和二十烷酰基(icosoyl)(C20)。在一些实施例中,R1和R2是相同的,即,R1和R2两者均为肉豆蔻酰基(即,二肉豆蔻酰基),R1和R2两者均为硬脂

酰基(即,二硬脂酰基)。

[0492] 术语“二烷氧基丙基”或“DAA”包含具有2条烷基链R和R'的化合物,所述2条烷基链两者都独立地具有2至30个碳。烷基可以是饱和的或具有不同程度的不饱和。

[0493] 在一些实施例中,PEG-DAA缀合物是PEG-二癸氧基丙基(C10)缀合物、PEG-二月桂基氧基丙基(C12)缀合物、PEG-二肉豆蔻基氧基丙基(C14)缀合物、PEG-二棕榈基氧基丙基(C16)缀合物或PEG-二硬脂基氧基丙基(C18)缀合物。在一些实施例中,所述PEG的平均分子量为750或2,000道尔顿。在一些实施例中,所述PEG的末端羟基被甲基取代。

[0494] 除前述之外,可以使用其它亲水性聚合物来代替PEG。可以用于代替PEG的合适聚合物的实例包含但不限于聚乙烯吡咯烷酮、聚甲基噁唑啉、聚乙基噁唑啉、聚羟丙基甲基丙烯酸酰胺、聚甲基丙烯酸酰胺和聚二甲基丙烯酸酰胺、聚乳酸、聚乙醇酸和衍生化纤维素(如羟甲基纤维素或羟乙基纤维素)。

[0495] 在一些实施例中,PEG-脂质是式  的化合物或其盐,其中:

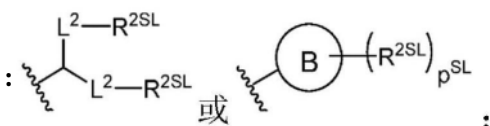
[0496]  $R^{3PL1}$  是  $-OR^{0PL1}$ ;

[0497]  $R^{0PL1}$  是氢、任选取代的烷基或氧保护基团;

[0498]  $r^{PL1}$  在1至100(包含端值)的整数;

[0499]  $L^1$  是任选取代的  $C_{1-10}$  亚烷基,其中所述任选取代的  $C_{1-10}$  亚烷基的至少一个亚甲基独立地被任选取代的亚碳环基、任选取代的亚杂环基、任选取代的亚芳基、任选取代的亚杂芳基、 $O$ 、 $N(R^{NPL1})$ 、 $S$ 、 $C(O)$ 、 $C(O)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(O)$ 、 $-C(O)O$ 、 $OC(O)$ 、 $OC(O)O$ 、 $OC(O)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(O)O$  或  $NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})$  替换;

[0500]  $D$  是通过点击化学获得的部分或在生理条件下可切割的部分; $m^{PL1}$  是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

[0501]  $A$  是下式的:  ;

[0502]  $L^2$  的每个实例独立地是键或任选取代的  $C_{1-6}$  亚烷基,其中所述任选取代的  $C_{1-6}$  亚烷基的一个亚甲基单元任选地被  $O$ 、 $N(R^{NPL1})$ 、 $S$ 、 $C(O)$ 、 $C(O)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(O)$ 、 $C(O)O$ 、 $OC(O)$ 、 $OC(O)O$ 、 $-OC(O)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(O)O$  或  $NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})$  替换;

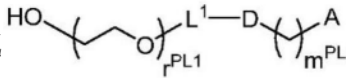
[0503]  $R^{2SL}$  的每个实例独立地是任选取代的  $C_{1-30}$  烷基、任选取代的  $C_{1-30}$  烯基或任选取代的  $C_{1-30}$  炔基;任选地其中  $R^{2SL}$  的一个或多个亚甲基单元独立地被任选取代的亚碳环基、任选取代的亚杂环基、任选取代的亚芳基、任选取代的亚杂芳基、 $N(R^{NPL1})$ 、 $O$ 、 $S$ 、 $C(O)$ 、 $C(O)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(O)$ 、 $-NR^{NPL1}C(O)N(R^{NPL1})$ 、 $C(O)O$ 、 $OC(O)$ 、 $OC(O)O$ 、 $OC(O)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(O)O$ 、 $C(O)S$ 、 $-SC(O)$ 、 $C(=NR^{NPL1})$ 、 $C(=NR^{NPL1})N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(=NR^{NPL1})$ 、 $-NR^{NPL1}C(=NR^{NPL1})N(R^{NPL1})$ 、 $C(S)$ 、 $C(S)N(R^{NPL1})$ 、 $NR^{NPL1}C(S)$ 、 $NR^{NPL1}C(S)N(R^{NPL1})$ 、 $S(O)$ 、 $OS(O)$ 、 $S(O)O$ 、 $OS(O)O$ 、 $OS(O)_2$ 、 $S(O)_2$ 、 $OS(O)_2O$ 、 $N(R^{NPL1})S(O)$ 、 $S(O)N(R^{NPL1})$ 、 $-N(R^{NPL1})S(O)N(R^{NPL1})$ 、 $OS(O)N(R^{NPL1})$ 、 $N(R^{NPL1})S(O)O$ 、 $S(O)_2N(R^{NPL1})S(O)_2$ 、 $-S(O)_2N(R^{NPL1})$ 、 $N(R^{NPL1})S(O)_2N(R^{NPL1})$ 、 $OS(O)_2N(R^{NPL1})$  或  $N(R^{NPL1})S(O)_2O$  替换;

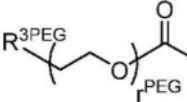
[0504]  $R^{NPL1}$  的每个实例独立地是氢、任选取代的烷基或氮保护基团;

[0505] 环  $B$  是任选取代的碳环基、任选取代的杂环基、任选取代的芳基或任选取代的杂芳

基;并且

[0506]  $p^{SL}$ 是1或2。

[0507] 在一些实施例中,PEG-脂质是式  的化合物或其盐,其中  $r^{PL1}$ 、 $L^1$ 、 $D$ 、 $m^{PL1}$ 和A如上文所定义的。

[0508] 在一些实施例中,PEG-脂质是式  的化合物或其盐或异构体,其中:

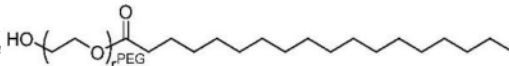
[0509]  $R^{3PEG}$ 是 $-OR^0$ ;

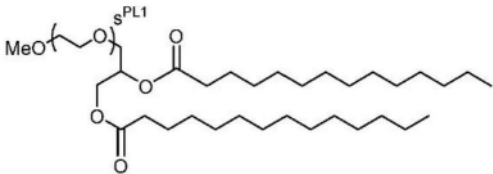
[0510]  $R^0$ 是氢、 $C_{1-6}$ 烷基或氧保护基团;

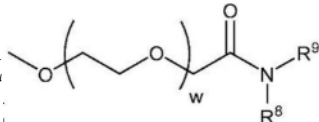
[0511]  $r^{PEG}$ 是1至100的整数(例如,40至50,例如,45);

[0512]  $R^{5PEG}$ 是 $C_{10-40}$ 烷基(例如, $C_{17}$ 烷基)、 $C_{10-40}$ 烯基或 $C_{10-40}$ 炔基;并且 $R^{5PEG}$ 的任选地一个或多个亚甲基独立地被 $C_{3-10}$ 亚碳环基、4至10元亚杂环基、 $C_{6-10}$ 亚芳基、4至10元亚杂芳基、 $-N(R^{NPEG})-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^{NPEG})-$ 、 $-NR^{NPEG}C(O)-$ 、 $-NR^{NPEG}C(O)N(R^{NPEG})-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-OC(O)N(R^{NPEG})-$ 、 $-NR^{NPEG}C(O)O-$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-C(=NR^{NPEG})-$ 、 $-C(=NR^{NPEG})N(R^{NPEG})-$ 、 $-NR^{NPEG}C(=NR^{NPEG})-$ 、 $-NR^{NPEG}C(=NR^{NPEG})N(R^{NPEG})-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)N(R^{NPEG})-$ 、 $-NR^{NPEG}C(S)-$ 、 $-NR^{NPEG}C(S)N(R^{NPEG})-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-OS(O)-$ 、 $-S(O)O-$ 、 $-OS(O)O-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、 $-S(O)_2O-$ 、 $-OS(O)_2O-$ 、 $-N(R^{NPEG})S(O)-$ 、 $-S(O)N(R^{NPEG})-$ 、 $-N(R^{NPEG})S(O)N(R^{NPEG})-$ 、 $-OS(O)N(R^{NPEG})-$ 、 $-N(R^{NPEG})S(O)O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R^{NPEG})S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^{NPEG})-$ 、 $-N(R^{NPEG})S(O)_2N(R^{NPEG})-$ 、 $-OS(O)_2N(R^{NPEG})-$ 或 $-N(R^{NPEG})S(O)_2O-$ 替换;并且

[0513]  $R^{NPEG}$ 的每个实例独立地是氢、 $C_{1-6}$ 烷基或氮保护基团。

[0514] 在一些实施例中,所述PEG-脂质是式  的化合物,其中 $r^{PEG}$ 是1至100的整数(例如,40至50,例如,45)。

[0515] 在一些实施例中,所述PEG-脂质是式  的化合物或其盐或异构体,其中 $s^{PL1}$ 是1至100的整数(例如,40至50,例如,45)。

[0516] 在一些实施例中,所述PEG-脂质具有式  或其药学上可接受的

的盐、互变异构体或立体异构体,其中:

[0517]  $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地是含有10至30个碳原子的直链或支链、饱和或不饱和烷基链,其中所述烷基链任选地被一个或多个酯键间杂(例如, $R^8$ 和 $R^9$ 各自独立地是含有12至16个碳原子的直链、饱和烷基链);并且

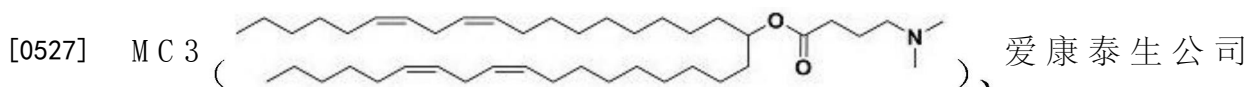
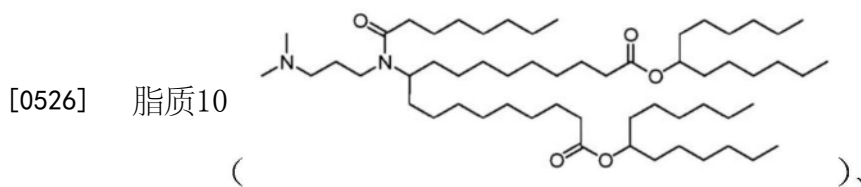
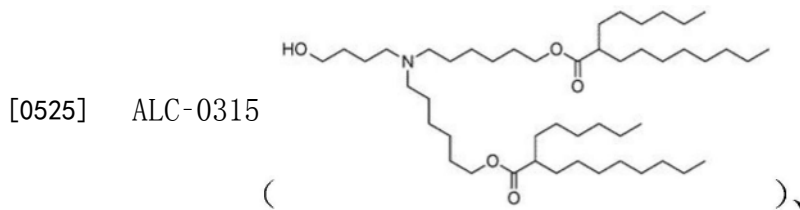
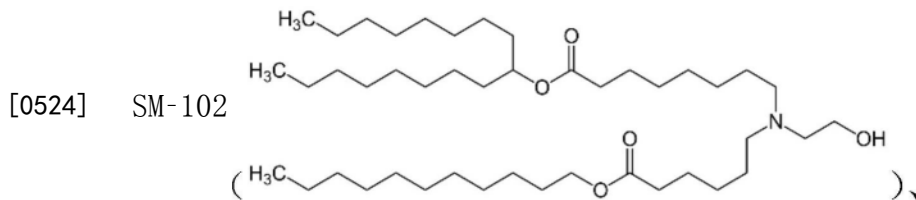
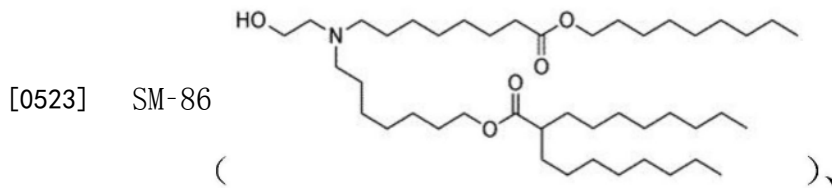
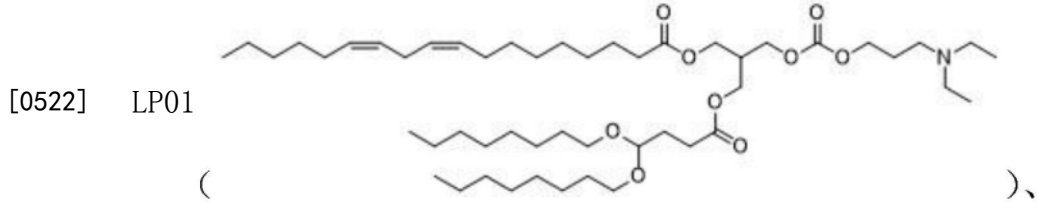
[0518]  $w$ 具有范围为30至60的平均值(例如,平均 $w$ 为约49)。

[0519] 在一些实施例中,在脂质组合物中掺入上述PEG-脂质中的任一者可以改善脂质组

合物的药代动力学和/或生物分布。例如,在脂质组合物中掺入上述PEG-脂质中的任一者可以降低加速血液清除(ABC)效应。

[0520] 其它可电离脂质

[0521] 在一些实施例中,所述脂质组合物可以包括不同于本文所述的可电离脂质的一种或多种另外的可电离脂质。示例性可电离脂质包含但不限于,



(Acuitas) 脂质9和爱康泰生公司脂质10(参见W0 2017/004143A1,所述文献通过引用整体并入本文)。

[0528] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是8-((2-羟乙基)(6-氧代-6-(十一烷氧基)己基)氨基)辛酸十七烷-9-基酯(SM-102);例如,如美国专利第9,867,888号(所述美国专利通过引用整体并入本文)的实例1中所描述的。

[0529] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是十八碳-9,12-二烯酸9Z,12Z)-3-((4,4-双(辛氧基)丁酰)氧基)-2-(((3-(二乙基氨基)丙氧基)羰基)氧基)甲基)丙酯(LP01),例如,如W0 2015/095340(所述文献通过引用整体并入本文)的实例13中所合成的。

[0530] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是二((Z)-壬-2-烯-1-基)9-((4-二甲基

氨基)丁酰)氧基)十七烷二酸酯(L319);例如,如US2012/0027803(所述文献通过引用整体并入本文)的实例7、8或9中所合成的。

[0531] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是1,1'-((2-(4-(2-((2-(双(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)乙基)氮烷二基)双(十二烷-2-醇)(C12-200),例如,如WO 2010/053572(所述文献通过引用整体并入本文)的实例14和16中所合成的。

[0532] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是咪唑胆固醇酯(ICE)脂质3-(1H-咪唑-4-基)丙酸(3S,10R,13R,17R)-10,13-二甲基-17-((R)-6-甲基庚烷-2-基)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊[a]菲-3-基酯,例如,来自WO 2020/106946(所述文献通过引用整体并入本文)的结构(I)。

[0533] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是MC3(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七烯-6,9,28,31-四烯-19-基-4-(二甲基氨基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA或MC3),例如,如WO 2019/051289A9(所述文献通过引用整体并入本文)的实例9中所描述的。

[0534] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是脂质ATX-002,例如,如WO 2019/051289A9(所述文献通过引用整体并入本文)的实例10中所描述的。

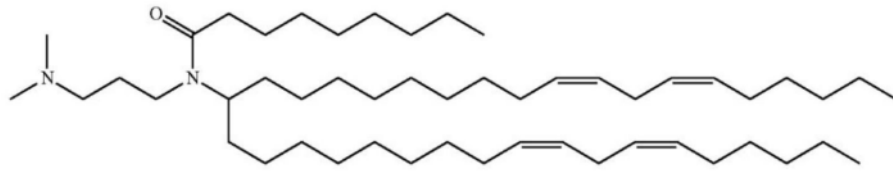
[0535] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是(13Z,16Z)-A,A-二甲基-3-壬基二十二碳-13,16-二烯-1-胺(化合物32),例如,如WO 2019/051289A9(所述文献通过引用整体并入本文)的实例11中所描述的。

[0536] 在一个实施例中,所述另外的可电离脂质是化合物6或化合物22,例如,如WO 2019/051289A9(所述文献通过引用整体并入本文)的实例12中所描述的。

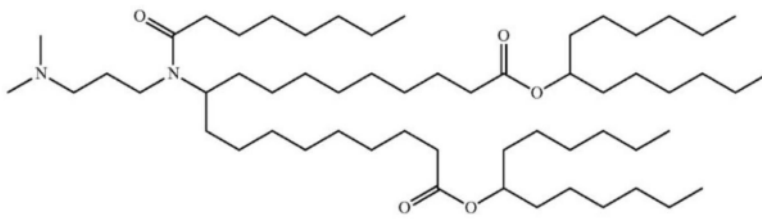
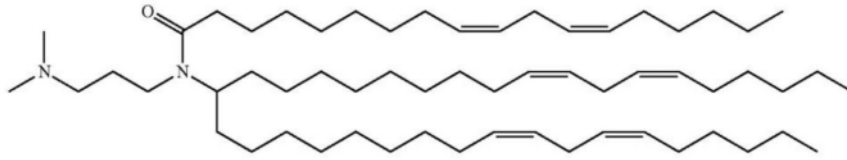
[0537] 可用于脂质组合物的另外的可电离脂质的实例包含WO 2019/051289的表1中列出的可电离脂质,所述文献通过引用并入本文。

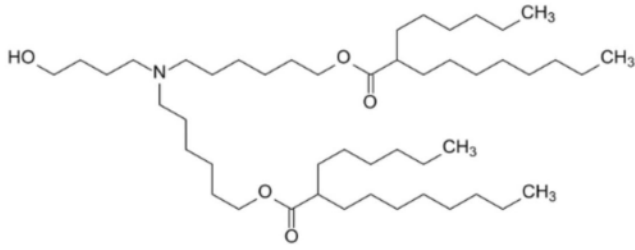
[0538] 另外的脂质组分

[0539] 可以用于(例如,与本文所述的可电离脂质化合物和其它脂质组分组合)形成脂质组合物的另外的脂质化合物的一些非限制性实例包含:

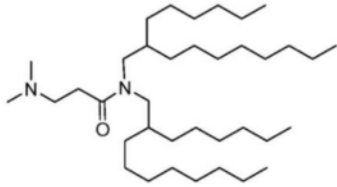


[0540]

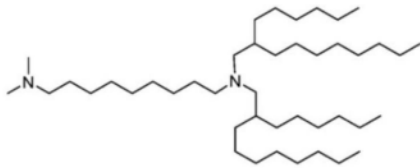




(iv)、

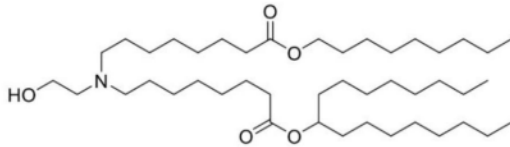


(v)、

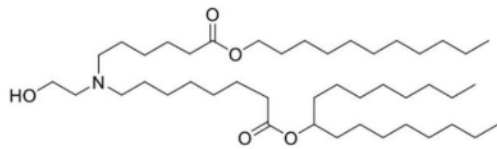


(vi)、

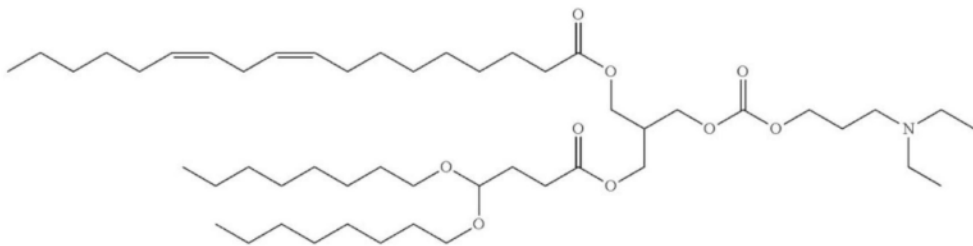
[0541]



(vii)、



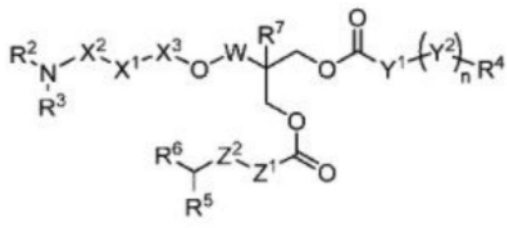
(viii) 或



(ix)。

[0542] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括式(i)、(ii)、(iii)、(iv)、(v)、(vi)、(vii)、(viii)或(ix)中的脂质。

[0543] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括具有以下结构的以下化合物:



其中:

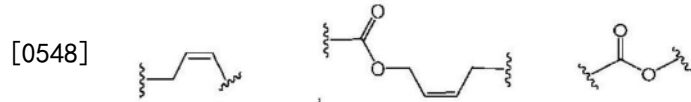
(x),

[0544]  $X^1$ 是O、NR<sup>1</sup>或直接键, $X^2$ 是C<sub>2-5</sub>亚烷基,并且 $X^3$ 是C(=O)或直接键;

[0545]  $R^1$ 是H或Me,  $R^3$ 是 $C_{1-3}$ 烷基、 $R^2$ 是 $C_{1-3}$ 烷基,或者 $R^2$ 与其所连接的氮原子和 $X^2$ 的1-3个碳原子一起形成4元、5元或6元环;或

[0546]  $X^1$ 是 $NR^1$ ,  $R^1$ 和 $R^2$ 与其所连接的氮原子一起形成5元或6元环,或者 $R^2$ 和 $R^3$ 与其所连接的氮原子一起形成5元、6元或7元环;

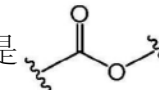
[0547]  $Y^1$ 是 $C_{2-12}$ 亚烷基,并且 $Y^2$ 选自



[0549] (任一方向)、(任一方向)、(任一方向),

[0550]  $n$ 是0至3;

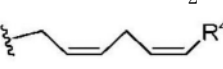
[0551]  $R^4$ 是 $C_{1-15}$ 烷基;

[0552]  $Z^1$ 是 $C_{1-6}$ 亚烷基或直接键,并且 $Z^2$ 是  (任一方向) 或不存在,条件是如果 $Z^1$ 是直接键,则 $Z^2$ 不存在;

[0553]  $R^5$ 是 $C_{5-9}$ 烷基或 $C_{6-10}$ 烷氧基,  $R^6$ 是 $C_{5-9}$ 烷基或 $C_{6-10}$ 烷氧基;

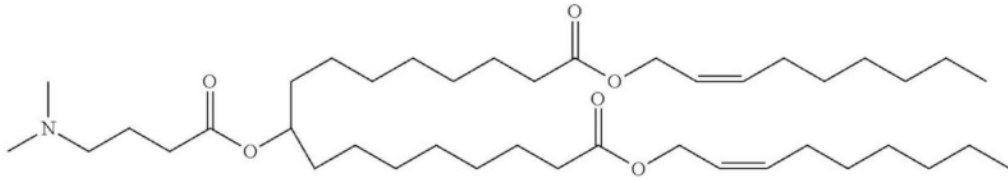
[0554]  $W$ 是亚甲基或直接键;并且

[0555]  $R^7$ 是H或Me,或其盐;

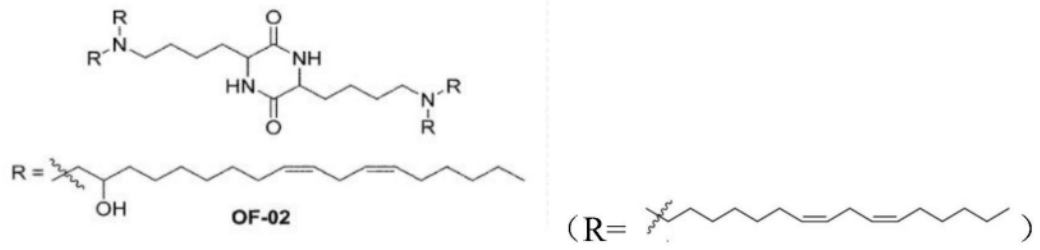
[0556] 条件是如果 $R^3$ 和 $R^2$ 是 $C_2$ 烷基,  $X^1$ 是O,  $X^2$ 是线性 $C_3$ 亚烷基,  $X^3$ 是 $C(=O)$ ,  $Y^1$ 是线性 $C_5$ 亚烷基,  $(Y^2)_n-R^4$ 是 ,  $R^4$ 是线性 $C_5$ 烷基,  $Z^1$ 是 $C_2$ 亚烷基,  $Z^2$ 不存在,  $W$ 是亚甲基并且 $R^7$ 是H,那么 $R^5$ 和 $R^6$ 不是 $C_2$ 烷氧基。

[0557] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种式(x)的化合物。

[0558] 可以被进一步包含于脂质组合物中的脂质化合物的另外的非限制性实例进一步包括(例如,与本文所述的脂质化合物和其它脂质组分组合):

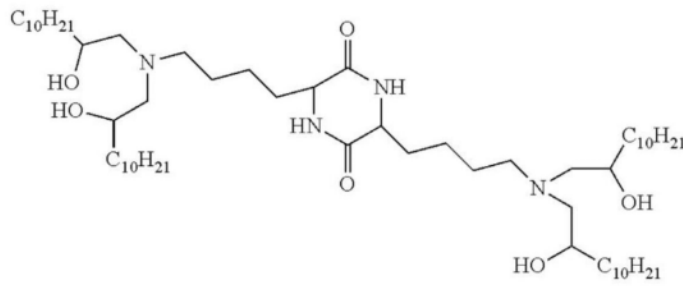


(xi)、

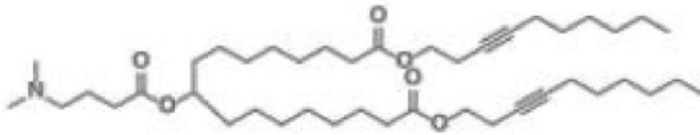


(xii)、

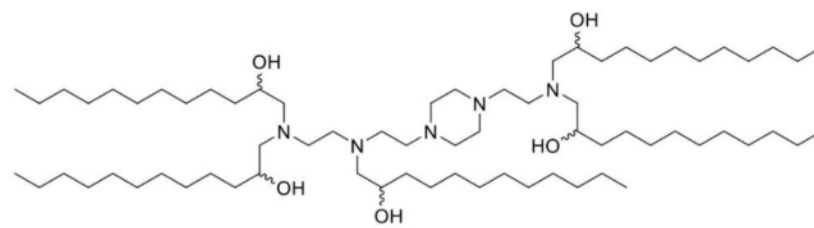
[0559]



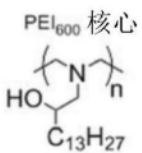
(xiii)、



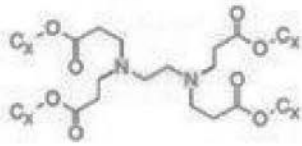
(xiv)、



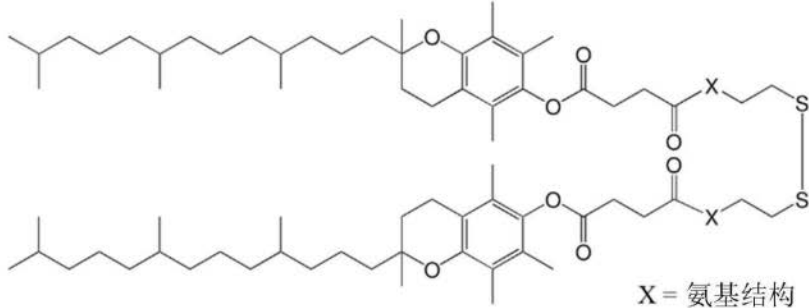
(xv)、



(xvi)、



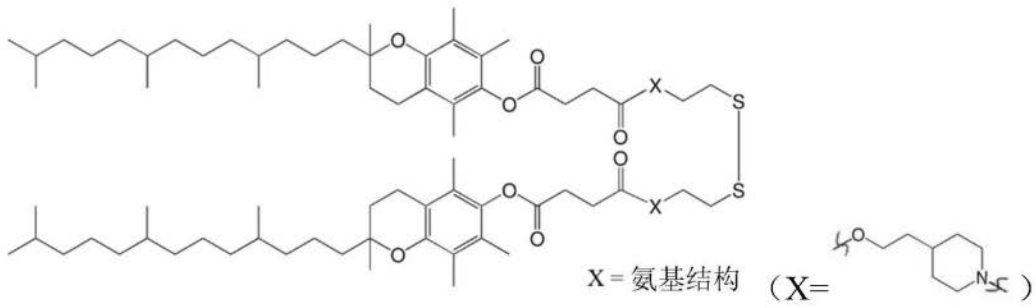
(xvii)、



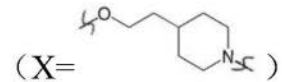
X = 氨基结构

(xviii)、

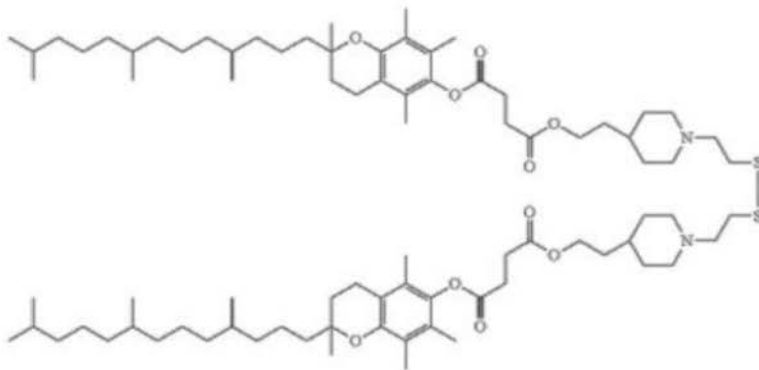
[0560]



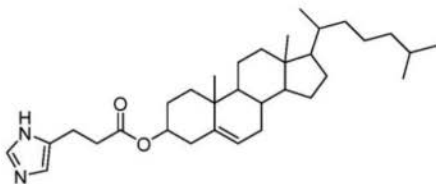
X = 氨基结构



(xviii) (a)、



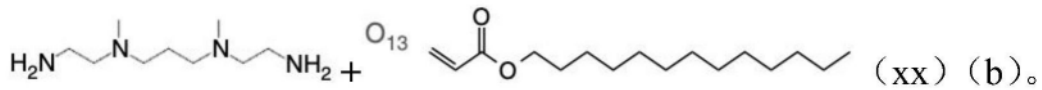
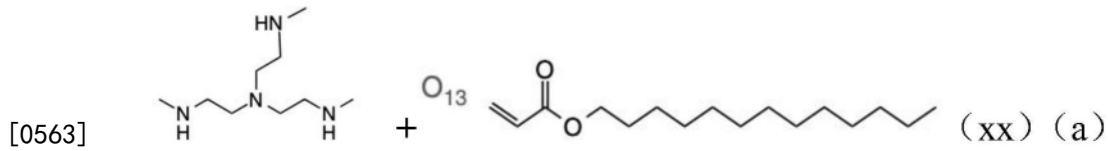
(xviii) (b)、



(xix)。

[0561] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种式(xi)、(xii)、(xiii)、(xiv)、(xv)、(xvi)、(xvii)、(xviii) (例如,(xviii)a、(xviii)b)或(xix)的化合物。

[0562] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括由以下反应中的一者形成的脂质:



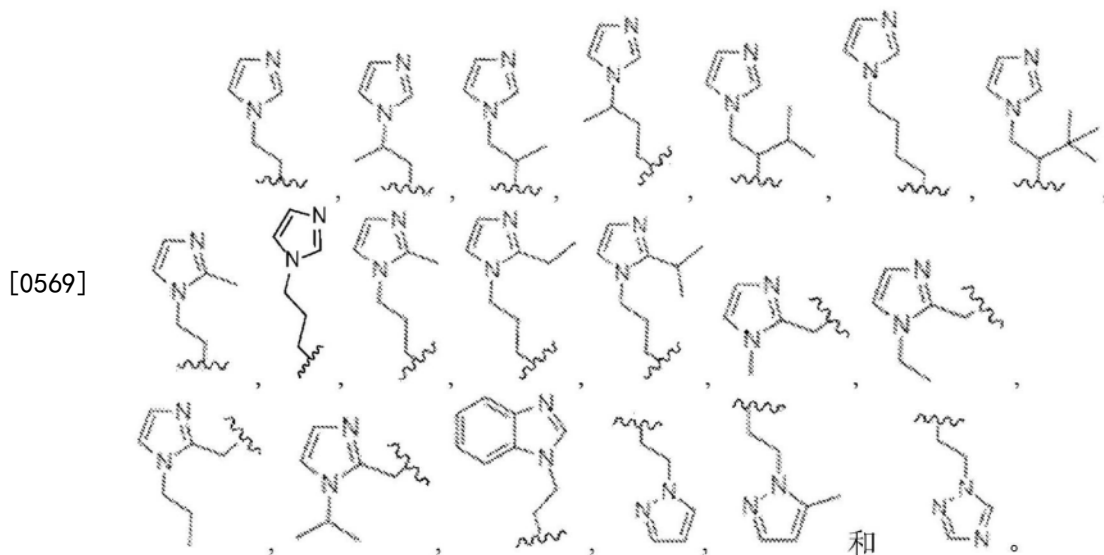
[0564] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括具有式 (xxi) 的脂质 (例如,与本文所述的脂质化合物和其它脂质组分组合): 
$$R_1-L_1-\left[CH_2-CH(R_2)\right]_n-N-\left[CH_2-CH(R_3)\right]_n-L_3-R_3 \quad (xxi),$$
 其中:

[0565] 每个n独立地是2-15的整数;

[0566]  $L_1$ 和 $L_3$ 各自独立地是 $-OC(O)-*$ 或 $-C(O)O-*$ ,其中“\*”指示与 $R_1$ 或者 $R_3$ 的附接点;

[0567]  $R_1$ 和 $R_3$ 各自独立地是任选地被选自以下组成的组的一个或多个取代基取代的线性或支链 $C_9-C_{20}$ 烷基或 $C_9-C_{20}$ 烯基:氧代、卤代、羟基、氰基、烷基、烯基、醛、杂环烷基、羟烷基、二羟烷基、羟烷基氨基烷基、氨基烷基、烷基氨基烷基、二烷基氨基烷基、(杂环基)(烷基)氨基烷基、杂环基、杂芳基、烷基杂芳基、炔基、烷氧基、氨基、二烷基氨基、氨基烷基羰基氨基、氨基羰基烷基氨基、(氨基羰基烷基)(烷基)氨基、烯基羰基氨基、羟基羰基、烷氧基羰基、氨基羰基、氨基烷基氨基羰基、烷基氨基烷基氨基羰基、二烷基氨基烷基氨基羰基、杂环烷基氨基羰基、(烷基氨基烷基)(烷基)氨基羰基、烷基氨基烷基羰基、二烷基氨基烷基羰基、杂环羰基、烯基羰基、炔基羰基、烷基亚砷、烷基亚砷烷基、烷基磺酰基和烷基砷烷基;并且

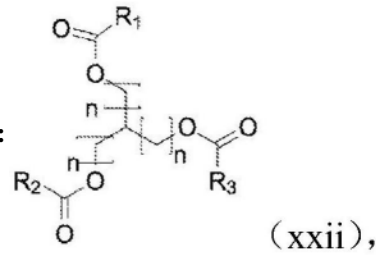
[0568]  $R_2$ 选自由以下组成的组:



[0570] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种式 (xxi) 的化合物。在一些实施例中,所述式 (xxi) 的化合物包含通过WO 2021/113777描述的脂质 (例如,式 (1) 的脂质,如WO 2021/113777的表1的脂质),所述文献通过引用整体并入本文。

[0571] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括具有式 (xxii) 的脂质 (例如,与本文

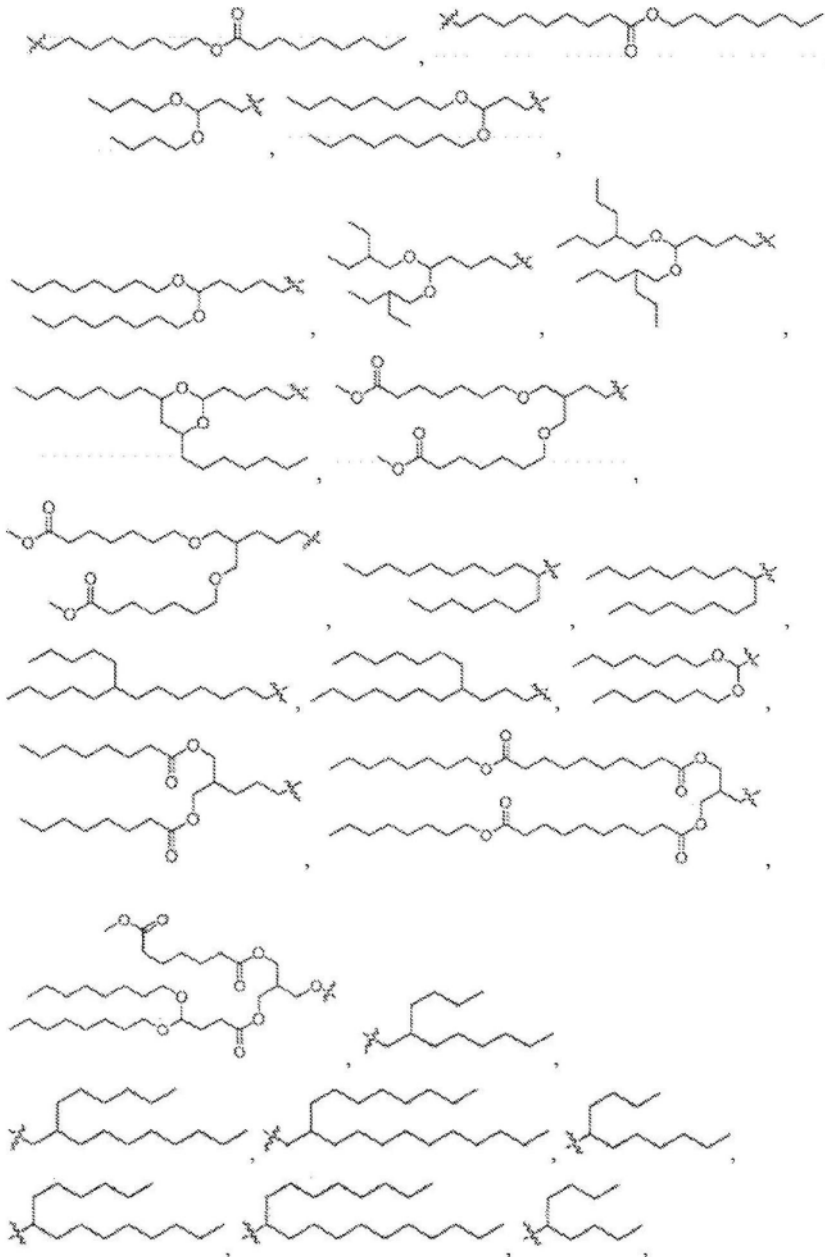
所述的脂质化合物和其它脂质组分组合)：



其中：

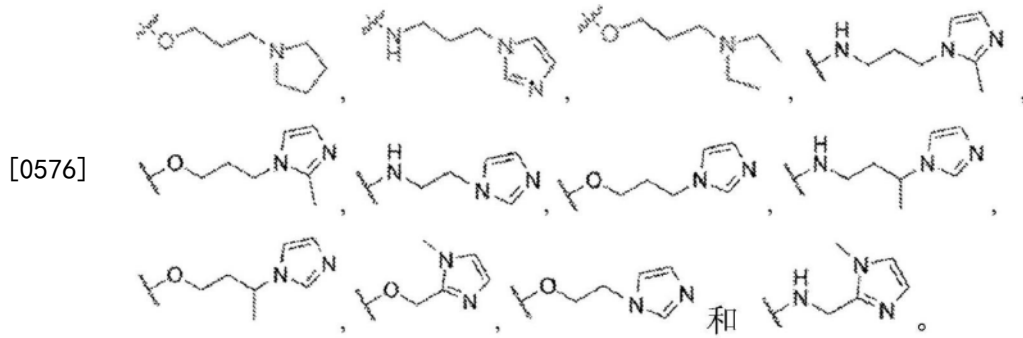
[0572] 每个n独立地是1-15的整数；

[0573] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地选自由以下组成的组：



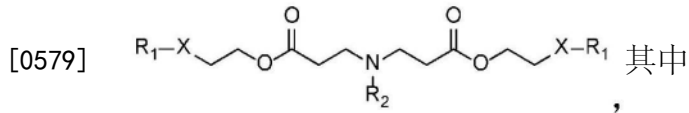
[0574]

[0575] R<sub>3</sub>选自由以下组成的组：



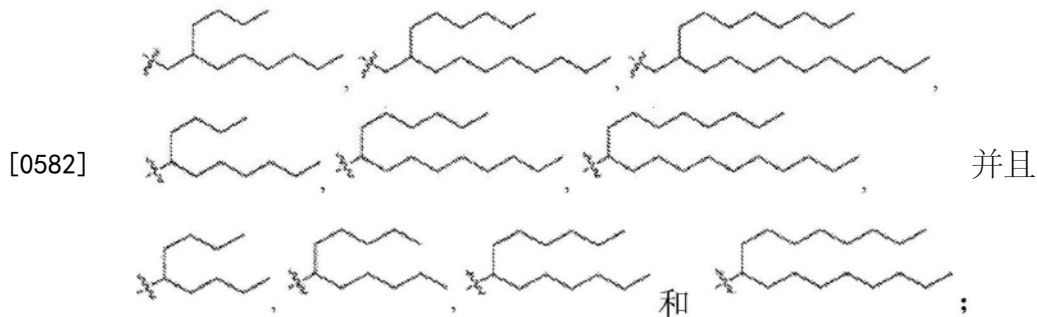
[0577] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种式(xxii)的化合物。在一些实施例中,所述式(xxii)的化合物包含通过WO 2021/113777描述的脂质(例如,式(2)的脂质,如WO 2021/113777的表2的脂质),所述文献通过引用整体并入本文。

[0578] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括具有式(xxiii)的脂质(例如,与本文所述的脂质化合物和其它脂质组分组合):

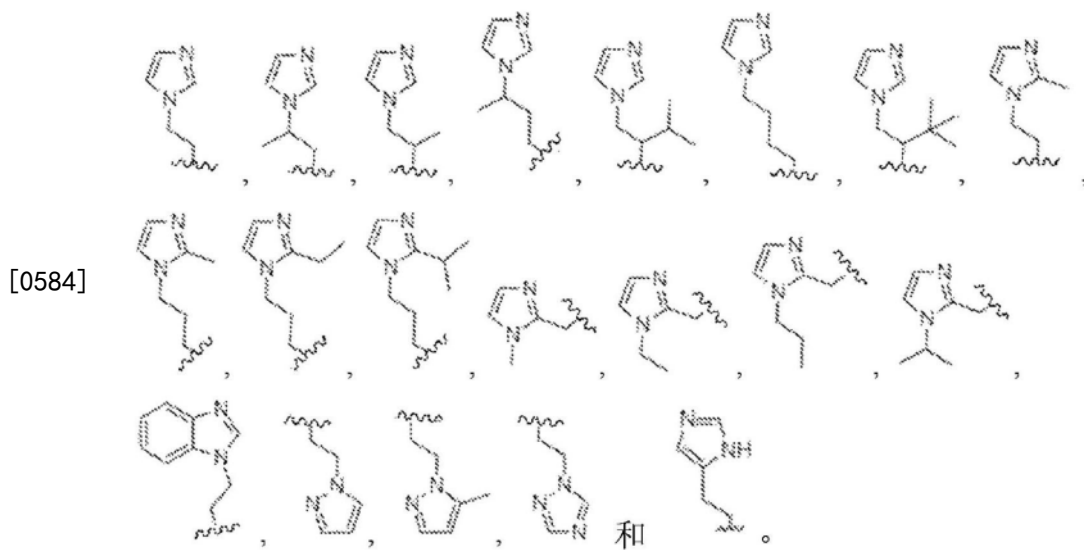


[0580] X选自-O-、-S-或-OC(O)-\*,其中\*指示与R<sub>1</sub>的附接点;

[0581] R<sub>1</sub>选自自由以下组成的组:



[0583] R<sub>2</sub>选自自由以下组成的组:



[0585] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种式(xxiii)的化合物。在一些实施例中,所述式(xxiii)的化合物包含通过WO 2021/113777描述的脂质(例如,式(3)

的脂质,如WO 2021/113777的表3的脂质),所述文献通过引用整体并入本文。

[0586] 可用于脂质组合物的另外的脂质的实例包含但不限于下式中的一者或多者: US2016/0311759的X;US20150376115或US2016/0376224中的I;US2016/0151284的I、II或III;US2017/0210967的I、IA、II或IIA;US2015/0140070的I-c;US2013/0178541的A;US2013/0303587或US 2013/0123338的I;US2015/0141678的I;US2015/0239926的II、III、IV或V;US2017/0119904的I;WO 2017/117528的I或II;US2012/0149894的A;US2015/0057373的A;WO 2013/116126的A;US2013/0090372的A;US2013/0274523的A;US2013/0274504的A;US2013/0053572的A;WO 2013/016058的A;WO 2012/162210的A;US2008/042973的I;US 2012/01287670的I、II、III或IV;US2014/0200257的I或II;US2015/0203446的I、II或III;US2015/0005363的I或III;US2014/0308304的I、IA、IB、IC、ID、II、IIA、IIB、IIC、IID或III-XXIV;US2013/0338210的;WO 2009/132131的I、II、III或IV;US2012/01011478的A;US2012/0027796的I或XXXV;US2012/0058144的XIV或XVII;US2013/0323269的;US 2011/0117125的I;US2011/0256175的I、II或III;US2012/0202871的I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、X、XI、XII;US2011/0076335的I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、X、XII、XIII、XIV、XV或XVI;US2006/008378的I或II;US2013/0123338的I;US2015/0064242的I或X-A-Y-Z;US 2013/0022649的XVI、XVII或XVIII;US2013/0116307的I、II或III;US 2013/0116307的I、II或III;US2010/0062967的I或II;US2013/0189351的I-X;US2014/0039032的I;US2018/0028664的V;US2016/0317458的I;US2013/0195920的I;US10,221,127的5、6或10;WO 2018/081480的III-3;WO 2020/081938的I-5或I-8;US 9,867,888的18或25;US2019/0136231的A;WO 2020/219876的II;US2012/0027803的1;US2019/0240349的OF-02;US10,086,013的23;Miao等人(2020)的cKK-E12/A6;WO 2010/053572的C12-200;Dahlman等人(2017)的7C1;Whitehead等人的304-013或503-013;U S9,708,628的TS-P4C2;WO 2020/106946的I;WO 2020/106946的I;WO 2021/113777的(1)、(2)、(3)或(4);以及WO 2021/113777的表1-16中的任一者,所述文献中的全部均通过引用整体并入本文。

[0587] 在一些实施例中,所述脂质缀合物(例如,PEG-脂质)以所述脂质组合物中存在的总脂质的0.1mol%至2mol%、0.5mol%至2mol%、1mol%至2mol%、0.6mol%至1.9mol%、0.7mol%至1.8mol%、0.8mol%至1.7mol%、0.9mol%至1.6mol%、0.9mol%至1.8mol%、1mol%至1.8mol%、1mol%至1.7mol%、1.2mol%至1.8mol%、1.2mol%至1.7mol%、1.3mol%至1.6mol%或1.4mol%至1.5mol%(或其中的任何部分或范围)存在。在一些实施例中,所述脂质缀合物(例如,PEG-脂质)以所述脂质组合物中存在的总脂质的0mol%至20mol%、0.5mol%至20mol%、2mol%至20mol%、1.5mol%至18mol%、2mol%至15mol%、4mol%至15mol%、2mol%至12mol%、5mol%至12mol%或2mol%(或其中的任何部分或范围)存在。

[0588] 在一些实施例中,所述脂质缀合物(例如,PEG-脂质)脂质组合物所述脂质组合物中存在的总脂质的4mol%至10mol%、5mol%至10mol%、5mol%至9mol%、5mol%至8mol%、6mol%至9mol%、6mol%至8mol%或5mol%、6mol%、7mol%、8mol%、9mol%或10mol%(或其中的任何部分或范围)。

[0589] 本公开的脂质组合物中存在的脂质缀合物(例如,PEG-脂质)的百分比是目标量,,并且组合物中存在的脂质缀合物的实际量可以变化,例如, $\pm 2\text{mol}\%$ 。本领域普通技术人员

将理解,脂质缀合物的浓度可以根据所使用的脂质缀合体和脂质颗粒变融合的速率而变化。

[0590] 通过控制脂质缀合物的组成和浓度,可以控制脂质缀合物交换出脂质组合物的速率,并且进而控制脂质组合物变融合的速率。另外,包含例如pH、温度或离子强度的其它变量可以用于改变和/或控制脂质组合物变融合的速率。在阅读本公开后,可以用于控制脂质组合物变融合的速率的其它方法对于本领域技术人员将变得显而易见。同样,通过控制脂质缀合物的组成和浓度,可以控制脂质粒径。

[0591] 在一些实施例中,含有可电离脂质化合物的脂质组合物可以包括30-70%的可电离脂质化合物、0-60%的胆固醇、0-30%的磷脂和1-10%的聚乙二醇(PEG)。在一些实施例中,所述脂质组合物包括30-40%的可电离脂质化合物、40-50%的胆固醇和10-20%的PEG。在一些实施例中,所述脂质组合物包括50-75%的可电离脂质化合物、20-40%的胆固醇和5-10%的磷脂以及1-10%的PEG。脂质组合物可以含有60-70%的可电离脂质化合物、25-35%的胆固醇和5-10%的PEG-脂质。

[0592] 在一些实施例中,所述脂质组合物的所述脂质组分包含约30mol%至约60mol%(例如,约35-55mol%或约40-50mol%)的如本文所述的可电离脂质化合物,约0mol%至约30mol%(例如,5-25mol%或10-20mol%)的磷脂,约15mol%至约50mol%(例如,18.5-48.5mol%或30-40mol%)的固醇和约0mol%至约10mol%(例如,1-5mol%或1.5-2.5mol%)的PEG化脂质,条件是所述脂质组分的总mol%不超过100%。

[0593] 在一些实施例中,所述脂质组合物可以含有至多90%的可电离脂质化合物和2-15%的辅助脂质。

[0594] 在一些实施例中,所述脂质组合物可以是脂质颗粒组合物,例如含有8-30%的可电离脂质化合物、5-30%的辅助脂质和0-20%的胆固醇。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒组合物含有4-25%的可电离脂质、4-25%的辅助脂质、2-25%的胆固醇、10-35%的胆固醇-PEG和5%的胆固醇-胺。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒组合物含有2-30%的可电离脂质、2-30%的辅助脂质、1-15%的胆固醇、2-35%的胆固醇-PEG和1-20%的胆固醇-胺。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒组合物含有至多90%的可电离脂质和2-10%的辅助脂质。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒组合物含有100%的可电离脂质。

[0595] LNP组合物的其它组分

[0596] 除了上文所述的组分之外,脂质纳米颗粒组合物还可以包含一种或多种组分。例如,LNP组合物可以包含一种或多种小疏水性分子,如维生素(例如,维生素A或维生素E)或固醇。

[0597] 脂质纳米颗粒组合物还可以包含一种或多种渗透增强剂分子、碳水化合物、聚合物、表面改变剂或其它组分。

[0598] 合适的碳水化合物可以包含单糖(例如,葡萄糖)和多糖(例如,糖原及其衍生物和类似物)。

[0599] 聚合物可以用于包封或部分包封纳米颗粒组合物。聚合物可以是可生物降解的和/或生物相容的。合适的聚合物包含但不限于聚胺、聚醚、聚酰胺、聚酯、聚氨基甲酸酯、聚脲、聚碳酸酯、聚苯乙烯、聚酰亚胺、聚砜、聚氨酯、聚乙炔、聚乙烯、聚乙烯亚胺、聚异氰酸酯、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯腈和聚芳酯。例如,聚合物可以包含聚(己内酯)

(PCL)、乙烯乙酸乙烯酯聚合物(EVA)、聚(乳酸)(PLA)、聚(L-乳酸)(PLLA)、聚(乙醇酸)(PGA)、聚(乳酸-共-乙醇酸)(PLGA)、聚(L-乳酸-共-乙醇酸)(PLLGA)、聚(D,L-丙交酯)(PDLA)、聚(L-丙交酯)(PLLA)、聚(D,L-丙交酯-共-己内酯)、聚(D,L-丙交酯-共-己内酯-共-乙交酯)、聚(D,L-丙交酯-共-PEO-共-D,L-丙交酯)、聚(D,L-丙交酯-共-PPO-共-D,L-丙交酯)、氰基丙烯酸聚烷基酯、聚氨酯、聚L-赖氨酸(PLL)、甲基丙烯酸羟丙酯(HPMA)、聚乙二醇、聚L-谷氨酸、聚(羟乙酸)、聚酞、聚原酸酯、聚(酯酰胺)、聚酰胺、聚(酯醚)、聚碳酸酯、聚烯烃(如聚乙烯和聚丙烯)、聚亚烷基二醇(如聚(乙二醇)(PEG))、聚环氧烷(PEO)、聚对苯二甲酸亚烷基酯(如聚(对苯二甲酸乙二醇酯))、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯醚、聚乙烯酯(如聚(乙酸乙烯酯))、聚乙烯卤化物(如聚(氯乙烯)(PVC))、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚硅氧烷、聚苯乙烯(PS)、聚氨酯、衍生纤维素(如烷基纤维素、羟烷基纤维素、纤维素醚、纤维素酯、硝基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素)、丙烯酸的聚合物(如聚((甲基)丙烯酸甲酯)(PMMA)、聚((甲基)丙烯酸乙酯)、聚((甲基)丙烯酸丁酯)、聚((甲基)丙烯酸异丁酯)、聚((甲基)丙烯酸己酯)、聚((甲基)丙烯酸异癸酯)、聚((甲基)丙烯酸月桂酯)、聚((甲基)丙烯酸苯酯)、聚(丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸异丙酯)、聚(丙烯酸异丁酯)、聚(丙烯酸十八酯)及其共聚物和混合物)、聚二噁烷酮及其共聚物、聚羟基链烷酸酯、富马酸聚丙烯酯、聚氧甲烯、泊洛沙姆(poloxamers)、聚氧化胺、聚(原酸)酯、聚(丁酸)、聚(戊酸)、聚(丙交酯-共-己内酯)、三亚甲基碳酸酯、聚(N-丙烯酰吗啉)(PACM)、聚(2-甲基-2-噁唑啉)(PMOX)、聚(2-乙基-2-噁唑啉)(PEOZ)和聚甘油。

[0600] 合适的表面改变剂包含但不限于阴离子蛋白质(例如,牛血清白蛋白)、表面活性剂(例如,阳离子表面活性剂,如二甲基双十八烷基-溴化铵)、糖或糖衍生物(例如,环糊精)、核酸、聚合物(例如,肝素、聚乙二醇和泊洛沙姆)、粘液溶解剂(例如,乙酰半胱氨酸、艾蒿、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、大青属、溴己新、羧甲司坦(carbocisteine)、依普拉酮(eprazinone)、美司钠(mesna)、氨溴索(ambroxol)、水合茛菪醇(sobrerol)、多米奥醇(domiodol)、来托司坦(letosteine)、司替罗宁(stepronin)、硫普罗宁(tiopronin)、凝溶胶蛋白(gelsolin)、胸腺肽 $\beta$ 4、阿法链道酶、奈替克新(neltenexine)和厄多司坦(erdosteine))以及DNA酶(例如,rhDNA酶)。表面改变剂可以被安置在脂质纳米颗粒内和/或脂质纳米颗粒的表面上(例如,通过涂覆、吸附、共价连接或其它方法)。

[0601] 脂质纳米颗粒组合物还可以包括一种或多种官能化脂质。例如,脂质可以用炔烃官能化,所述炔烃当在适当的反应条件下暴露于叠氮化物时可以经历环加成反应。具体地,脂质双层可以这种方式用一个或多个可用于促进膜渗透、细胞识别或成像的基团官能化。脂质纳米颗粒的表面也可以与一种或多种有用的抗体缀合。可用于靶向细胞递送、成像和膜渗透的官能团和缀合物是本领域所众所周知的。

[0602] 脂质纳米颗粒组合物可以包含可用于药物组合物的任何物质。例如,脂质纳米颗粒组合物可以包含一种或多种药学上可接受的赋形剂或辅助成分,如但不限于一种或多种溶剂、分散介质、稀释剂、分散助剂、悬浮助剂、造粒助剂、崩解剂、填充剂、助流剂、液体媒剂、粘合剂、表面活性剂、等渗剂、增稠剂或乳化剂、缓冲剂、润滑剂、油、防腐剂和其它物质。还可以包含赋形剂,如蜡、黄油、着色剂、涂层剂、调味剂和芳香剂。

[0603] 合适的稀释剂可以包含但不限于碳酸钙、碳酸钠、磷酸钙、磷酸二钙、硫酸钙、磷酸氢钙、磷酸钠、乳糖、蔗糖、纤维素、微晶纤维素、高岭土、甘露醇、山梨糖醇、肌醇、氯化钠、干

淀粉、玉米淀粉、糖粉和/或其组合。造粒剂和分散剂可以选自由以下组成的非限制性列表：马铃薯淀粉、玉米淀粉、木薯淀粉、羟乙酸淀粉钠、粘土、海藻酸、瓜尔胶、柑桔渣、琼脂、膨润土、纤维素和木制品、天然海绵、阳离子交换树脂、碳酸钙、硅酸盐、碳酸钠、交联聚(乙烯基-吡咯烷酮)(交聚维酮)、羧甲基淀粉钠(羟乙酸淀粉钠)、羧甲基纤维素、交联羧甲基纤维素钠(交联羧甲基纤维素)、甲基纤维素、预胶化淀粉(淀粉1500)、微晶淀粉、水不溶性淀粉、羧甲基纤维素钙、硅酸铝镁(VEEGUM®)、月桂基硫酸钠、季铵化合物和/或其组合。

[0604] 合适的表面活性剂和/或乳化剂可以包含但不限于天然乳化剂(例如,阿拉伯树胶、琼脂、海藻酸、海藻酸钠、黄蓍胶、chondrux、胆固醇、黄原胶、果胶、明胶、蛋黄、酪蛋白、羊毛脂、胆固醇、蜡和卵磷脂)、胶质粘土(例如,膨润土[硅酸铝]和VEEGUM®[硅酸铝镁])、长链氨基酸衍生物、高分子量醇(例如,硬脂醇、鲸蜡醇、油醇、单硬脂酸三乙酸甘油酯、二硬脂酸乙二醇酯、单硬脂酸甘油酯以及单硬脂酸丙二醇酯、聚乙烯醇)、卡波姆(carbomer)(例如,羧聚甲烯、聚丙烯酸、丙烯酸聚合物和羧乙烯基聚合物)、角叉菜胶、纤维素衍生物(例如,羧甲基纤维素钠、粉末状纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素)、脱水山梨糖醇脂肪酸酯(例如,聚氧乙烯脱水山梨糖醇单月桂酸酯[TWEEN®20]、聚氧乙烯脱水山梨糖醇[TWEEN®60]、聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯[TWEEN®80]、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯[SPAN®40]、脱水山梨糖醇单硬脂酸酯[SPAN®60]、脱水山梨糖醇三硬脂酸酯[SPAN®65]、单油酸甘油酯、脱水山梨糖醇单油酸酯[SPAN®80])、聚氧乙烯酯(例如,聚氧乙烯单硬脂酸酯[MYRJ®45]、聚氧乙烯氢化蓖麻油、聚乙氧基化蓖麻油、聚甲醛硬脂酸酯和SOLUTOL®)、蔗糖脂肪酸酯、聚乙二醇脂肪酸酯(例如,CREMOPHOR®)、聚氧乙烯醚(例如,聚氧乙烯月桂基醚[BRIJ®30])、聚(乙烯基-吡咯烷酮)、二乙二醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯、油酸钠、油酸钾、油酸乙酯、油酸、月桂酸乙酯、月桂基硫酸钠、PLURONIC®F 68、POLOXAMER®188、西曲溴铵、西吡氯铵、苯扎氯铵、多库酯钠和/或其组合。

[0605] 合适的结合剂可以是淀粉(例如,玉米淀粉和淀粉糊剂);明胶;糖(例如,蔗糖、葡萄糖、右旋糖、糊精、糖蜜、乳糖、乳糖醇、甘露醇);天然和合成树胶(例如,阿拉伯树胶、海藻酸钠、爱尔兰苔藓的提取物、潘瓦尔树胶(panwar gum)、茄替胶(ghatti gum)、车前子(isapol)壳的粘液、羧甲基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、微晶纤维素、乙酸纤维素、聚(乙烯基-吡咯烷酮)、硅酸铝镁(VEEGUM®)和落叶松阿拉伯半乳聚糖);藻酸盐;聚环氧乙烷;聚乙二醇;无机钙盐;硅酸;聚甲基丙烯酸酯;蜡;水;醇;及其组合或任何其它合适的结合剂。

[0606] 合适的防腐剂可以包含但不限于抗氧化剂、螯合剂、抗微生物防腐剂、抗真菌防腐剂、醇防腐剂、酸性防腐剂和/或其它防腐剂。抗氧化剂的实例包含但不限于 $\alpha$ 生育酚、抗坏血酸、抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基苯甲醚、丁基化羟基甲苯、单硫代甘油、偏亚硫酸氢钾、丙酸、没食子酸丙酯、抗坏血酸钠、亚硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠和/或亚硫酸钠。螯合剂的实例包含乙二胺四乙酸(EDTA)、柠檬酸一水合物、依地酸二钠、依地酸二钾、依地酸、富马酸、苹果酸、磷酸、依地酸钠、酒石酸和/或依地酸三钠。抗微生物防腐剂的实例包含但不限于苯扎氯铵(benzalkonium chloride)、苄索氯铵(benzethonium chloride)、苄醇、溴硝丙二醇、溴棕三甲铵、西吡氯铵(cetylpyridinium chloride)、氯己定(chlorhexidine)、氯丁醇、氯甲酚、氯二甲酚、甲酚、乙醇、甘油、海克替啶(hexetidine)、咪脲(imidurea)、苯酚、苯

氧乙醇、苯乙醇、硝酸苯汞、丙二醇和/或硫柳汞。抗真菌防腐剂的实例包含但不限于对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸、羟基苯甲酸、苯甲酸钾、山梨酸钾、苯甲酸钠、丙酸钠和/或山梨酸。醇防腐剂的实例包含但不限于乙醇、聚乙二醇、苄醇、苯酚、酚类化合物、双酚、氯丁醇、羟基苯甲酸酯和/或苯乙醇。酸性防腐剂的实例包含但不限于维生素A、维生素C、维生素E、 $\beta$ -胡萝卜素、柠檬酸、乙酸、脱氢抗坏血酸、抗坏血酸、山梨酸和/或植酸。其它防腐剂包含但不限于生育酚、生育酚乙酸酯、甲磺酸去铁铵(deteroxime mesylate)、溴棕三甲铵、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、乙二胺、月桂基硫酸钠(SLS)、月桂基醚硫酸钠(SLES)、亚硫酸氢钠、偏亚硫酸氢钠、亚硫酸钾、偏亚硫酸氢钾、GLYDANT PLUS®、PHENONIP®、对羟基苯甲酸甲酯、GERMALL®115、GERMABEN®II、NEOLONE™、KATHON™和/或EUXYL®。

[0607] 合适的润滑剂包含但不限于硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、二氧化硅、滑石、麦芽、山嵛酸甘油酯、氢化植物油、聚乙二醇、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、亮氨酸、月桂基硫酸镁、月桂基硫酸钠及其组合。

[0608] 合适的油包含但不限于杏仁油、杏核油、鳄梨油、巴巴苏油、佛手柑油、黑醋栗籽油、琉璃苣油、杜松油、春黄菊油、菜籽油、葛缕子油、巴西棕榈油、蓖麻油、肉桂油、可可脂油、椰子油、鱼肝油、咖啡油、玉米油、棉籽油、鸚鵡油、桉树油、月见草油、鱼油、亚麻籽油、香叶醇油、葫芦油、葡萄籽油、榛子油、牛膝草油、肉豆蔻酸异丙酯、荷荷巴油、夏威夷果油、醒目薰衣草油、薰衣草油、柠檬油、山苍子油、澳洲坚果油、锦葵油、芒果籽油、白池花籽油、水貂油、肉豆蔻油、橄榄油、甜橙油、深海鱼油(orange roughy oil)、棕榈油、棕榈仁油、桃仁油、花生油、罌粟籽油、南瓜籽油、油菜籽油、米糠油、迷迭香油、红花油、檀香油、山茶花油(sasquana oil)、夏香薄荷油(savoury oil)、沙棘油、芝麻油、乳木果油、甲酮油、大豆油、向日葵油、茶树油、茴油、椿油、岩兰草油、核桃油和小麦胚芽油,以及硬脂酸丁酯、辛酸甘油三酯、癸酸甘油三酯、环甲基硅油、癸二酸二乙酯、二甲硅油360、西甲硅油、肉豆蔻酸异丙酯、矿物油、辛基十二烷醇、油醇、硅油和/或其组合。

[0609] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种冷冻保护剂。合适的冷冻保护剂包含但不限于多元醇(例如,二醇或三醇,如丙二醇(即,1,2-丙二醇)、1,3-丙二醇、甘油、(+/-)-2-甲基-2,4-戊二醇、1,6-己二醇、1,2-丁二醇、2,3-丁二醇、乙二醇或乙二醇)、非洗涤剂磺基甜菜碱(例如,NDSB-201(3-(1-吡啶并)-1-丙烷磺酸酯))、渗透物(例如,L-脯氨酸或三甲胺N-氧化物二水合物)、聚合物(例如,聚乙二醇200(PEG 200)、PEG 400、PEG 600、PEG 1000、PEG<sub>2k</sub>-DMG、PEG 3350、PEG 4000、PEG 8000、PEG 10000、PEG 20000、聚乙二醇单甲醚550(mPEG 550)、mPEG 600、mPEG 2000、mPEG 3350、mPEG 4000、mPEG 5000、聚乙烯吡咯烷酮(例如,聚乙烯吡咯烷酮K15)、季戊四醇丙氧酯或聚丙二醇P400)、有机溶剂(例如,二甲亚砜(DMSO)或乙醇)、糖(例如,D-(+)-蔗糖、D-山梨糖醇、海藻糖、D-(+)-麦芽糖一水合物、间赤藓醇、木糖醇、肌醇、D-(+)-棉子糖五水合物、D-(+)-海藻糖二水合物或D-(+)-葡萄糖一水合物)或盐(例如,乙酸锂、氯化锂、甲酸锂、硝酸锂、硫酸锂、乙酸镁、乙酸钠、氯化钠、甲酸钠、丙二酸钠、硝酸钠、硫酸钠或其任何水合物)或其任何组合。

[0610] 在一些实施例中,所述冷冻保护剂包括蔗糖。在一些实施例中,所述冷冻保护剂和/或所述赋形剂是蔗糖。在一些实施例中,所述冷冻保护剂包括乙酸钠。在一些实施例中,所述冷冻保护剂和/或所述赋形剂是乙酸钠。在一些实施例中,所述冷冻保护剂包括蔗糖和

乙酸钠。

[0611] 在一些实施例中,所述组合物进一步包括一种或多种缓冲液。合适的缓冲剂包含但不限于柠檬酸盐缓冲液溶液、乙酸盐缓冲液溶液、磷酸盐缓冲液溶液、氯化铵、碳酸钙、氯化钙、柠檬酸钙、葡乳醛酸钙、葡庚糖酸钙、葡萄糖酸钙、d-葡萄糖酸、甘油磷酸钙、乳酸钙、乳糖醛酸钙、丙酸、戊酮酸钙、戊酸、磷酸氢钙、磷酸、磷酸三钙、磷酸氢氧化钙、乙酸钾、氯化钾、葡萄糖酸钾、钾混合物、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、磷酸钾混合物、乙酸钠、碳酸氢钠、氯化钠、柠檬酸钠、乳酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸钠混合物、氨丁三醇、氨基磺酸盐缓冲液(例如,HEPES)、氢氧化镁、氢氧化铝、海藻酸、无热原水、等渗盐水、林格氏溶液、乙醇和/或其组合。

[0612] 在一些实施例中,所述缓冲液是乙酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、tris缓冲液或其组合。

[0613] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种核酸、可电离脂质、两亲物、磷脂、胆固醇和/或经PEG连接的胆固醇。

[0614] 药物组合物

[0615] 本公开的另一方面还提供了包括如本文所述的脂质组合物和药学上可接受的赋形剂的药物组合物,所述脂质组合物包括一种或多种选自本文所述的可电离脂质化合物的脂质化合物(例如,具有式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的结构脂质化合物)。药物组合物可以进一步包括治疗剂。

[0616] 涉及脂质化合物,包含由式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IIIC-1)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)所覆盖的化合物,以及示例性变量和化合物的各方面的所有上述描述和上述方面中所论述的所有实施例都适用于涉及药物组合物的本发明的这些方面。

[0617] 涉及脂质组合物,包含各种其它脂质组分的各方面的所有上述描述和上述方面中所论述的所有实施例都适用于涉及药物组合物的本发明的这些方面。

[0618] 在含有治疗剂的脂质组合物中,总脂质组分与货物(例如,经包封的治疗剂,如核酸)的比率可以根据需要变化。例如,总脂质组分与货物(质量或重量)的比率可以为约10:1至约30:1。在一些实施例中,总脂质组分与货物的比率(质量/质量比率;w/w比率)可以在约1:1至约25:1、约10:1至约14:1、约3:1至约15:1、约4:1至约10:1、约5:1至约9:1或约6:1至约9:1的范围内。可以调节总脂质组分和货物的量以提供期望的N/P比率,例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或更高的N/P比率。通常,脂质组合物的总脂质含量可以在约5mg/ml至约30mg/mL的范围内。

[0619] 治疗剂

[0620] 核酸分子

[0621] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种核酸分子。核酸分子可以是质粒、免疫刺激性寡核苷酸、反义寡核苷酸、安塔够妙(antagomir)、适体、脱氧核酶(DNA酶)和核酶。

[0622] 在一些实施例中,所述脂质组合物进一步包括一种或多种RNA和/或DNA。

[0623] 在一些实施例中,所述核酸分子是DNA。在一些实施例中,所述DNA是线性DNA、环状

DNA、单链DNA或双链DNA。

[0624] 在一些实施例中,所述核酸分子是RNA。在一些实施例中,所述RNA是mRNA、miRNA、siRNA、RNA适体、线性RNA、环状RNA、单链RNA、双链RNA、tRNA、微小RNA(miRNA)或miRNA前体、切丁酶底物小干扰RNA(dsiRNA)、短发夹RNA(shRNA)、不对称干扰RNA(aiRNA)、向导RNA(gRNA)、lncRNA、ncRNA、sncRNA、rRNA、snRNA、piRNA、snoRNA、snRNA、scaRNA、exRNA、scaRNA、YRNA或hnRNA。在一些实施例中,所述RNA是mRNA。在一个实施例中,所述mRNA是经修饰的mRNA。

[0625] 在一些实施例中,所述核酸分子是酶促核酸分子。术语“酶促核酸分子”指在底物结合区与特定基因靶标具有互补性并且还具酶促活性的对特异性切割靶RNA有活性的核酸分子。也就是说,酶促核酸分子能够在分子间切割RNA,并且由此使靶RNA分子失活。术语酶促核酸可与如核酶(ribozyme)、催化RNA、酶促RNA、催化DNA、适体酶或适体结合核酶、可调节核酶、催化寡核苷酸、核酶(nucleozyme)、DNA酶、RNA酶、内切核糖核酸酶、核酸内切酶、小核酶、前导酶、寡核苷酸酶或DNA酶等短语互换使用。所有这些术语描述了具有酶促活性的核酸分子。

[0626] 在一些实施例中,所述核酸分子是反义核酸。术语“反义核酸”指通过RNA-RNA或RNA-DNA或RNA-PNA(蛋白质核酸)相互作用与靶RNA结合并改变靶RNA活性的非酶促核酸分子。

[0627] 在一些实施例中,所述核酸分子可以是2-5A反义嵌合体。术语“2-5A反义嵌合体”是指含有经5'-磷酸化的2'-5'连接的腺苷酸残基的反义寡核苷酸。

[0628] 在一些实施例中,所述核酸分子可以是形成三链体的寡核苷酸。术语“形成三链体的寡核苷酸”是指可以序列特异性方式与双链DNA结合以形成三链螺旋的寡核苷酸。

[0629] 在一些实施例中,所述核酸分子可以是诱饵RNA。术语“诱饵RNA”是指被设计成优先与预定配体结合的RNA分子或适体。此类结合可以使靶分子抑制或激活。

[0630] 在一些实施例中,所述核酸分子(例如, RNA或DNA)编码治疗性肽或多肽,所述治疗性肽或多肽可操作地与DNA的启动子连接。治疗性肽或多肽可以是例如,转录因子;染色质重塑因子;抗原;激素;酶(如核酸酶,例如核酸内切酶,例如CRISPR系统的核酸酶元件,例如Cas9、dCas9、aCas9-切口酶、Cpf/Cas12a);经Crispr连接的酶,例如碱基编辑器或引物编辑器;可移动遗传因子蛋白(例如,转座酶、逆转录转座酶、重组酶、整合酶);基因编写器(Gene Writer);聚合酶;甲基化酶;去甲基化酶;乙酰化酶;去乙酰化酶;激酶;磷酸酶;连接酶;去泛素化酶;整合酶;重组酶;拓扑异构酶;旋转酶;解旋酶;溶酶体酸水解酶;抗体;受体配体;受体;凝血因子;膜蛋白;线粒体蛋白;核蛋白;抗体或其它蛋白质支架结合剂,如centyrin、darpin或adnectin。

[0631] 在一些实施例中,所述核酸分子是包括gRNA核酸的RNA。在一些实施例中,所述gRNA核酸是gRNA。在一些实施例中,所述核酸分子是包括2类Cas核酸酶mRNA和gRNA的RNA。在一些实施例中,所述gRNA核酸是或编码双向导RNA(dgRNA)。在一些实施例中,所述gRNA核酸是或编码单向导RNA(sgRNA)。在一些实施例中,所述gRNA是经修饰的gRNA。在一些实施例中,所述经修饰的gRNA包括在5'端处的前五个核苷酸中的一个或多个处的修饰。在一些实施例中,所述经修饰的gRNA包括在3'端处的最后五个核苷酸中的一个或多个处的修饰。

[0632] 在一些实施例中,所述核酸分子是包括mRNA的RNA。在一些实施例中,所述RNA组分

包括经RNA引导的DNA结合剂,例如Cas核酸酶mRNA(如2类Cas核酸酶mRNA)或Cas9核酸酶mRNA。

[0633] 本文所述的所有核酸分子均可以被化学修饰。针对核酸分子的各种修饰策略是本领域技术人员所众所周知的。在一些实施例中,所述核酸分子包括一种或多种选自以下组成的组的修饰:假尿苷、5-溴尿嘧啶、5-甲基胞嘧啶、肽核酸、异源核酸、吗啉代、锁核酸、甘油核酸、苏糖核酸、双脱氧核苷酸、虫草素、7-脱氮-GTP、荧光团(例如,与糖连接的罗丹明或荧光素)、含硫醇的核苷酸、经生物素连接的核苷酸、荧光碱基类似物、CpG岛、甲基-7-鸟苷、甲基化核苷酸、肌苷、硫尿苷、假尿苷、二氢尿苷、腺苷和怀俄苷。在一些实施例中,所述反义寡核苷酸可以是锁核酸寡核苷酸(LNA)。术语“锁核酸(LNA)”是指含有一个或多个核苷酸构建块的寡核苷酸,其中额外的亚甲基桥将核糖部分固定在C3'-内切( $\beta$ -D-LNA)或C2'-内切( $\alpha$ -L-LNA)构象中(Grunweller A, Hartmann R K,《生物制药(BioDrugs)》,21(4):235-243(2007))。

[0634] 在一些实施例中,所述组合物进一步包括一种或多种模板核酸。

[0635] 核酸分子(包含肿瘤抑制基因、反义寡核苷酸、siRNA、miRNA或shRNA)的另外的实例可见于美国公开专利申请第2007/0065499号和美国专利第7,780,882号,所述文献通过引用整体并入本文。

[0636] 在一些实施例中,所述药物组合物可以包含多种可以是相同或不同类型的核酸分子。

[0637] 用于本公开的实施例的核酸可以根据任何可用的技术制备。对于mRNA,制备的主要方法是但不限于酶促合成(也称为体外转录),所述酶促合成目前代表产生生长序列特异性mRNA的最有效方法。体外转录描述了由包含与编码所关注的基因的下游序列连接的上游噬菌体启动子序列(例如,包含但不限于来自T7、T3和SP6大肠杆菌噬菌体的序列)的经工程化的DNA模板的经模板定向的RNA分子合成的方法。可以用本领域众所周知的适当技术从许多来源制备用于体外转录的模板DNA,所述技术包含但不限于质粒DNA和聚合酶链式反应扩增(参见Linpinsel, J.L和Conn, G.L.,《用于制备质粒DNA模板的通用方案(General protocols for preparation of plasmid DNA template)》和Bowman, J.C., Azizi, B., Lenz, T.K., Ray, P.和Williams, L.D.于RNA体外转录和通过使PAGE变性进行的RNA纯化(RNA in vitro transcription and RNA purification by denaturing PAGE)于《重组和体外RNA合成方法(Recombinant and in vitro RNA syntheses Methods)》中941卷Conn G.L.(编辑),纽约州纽约市的胡玛纳出版社(New York, N.Y. Humana Press), 2012)。

[0638] 在支持聚合酶活性同时使所得mRNA转录物的潜在降解最小化的条件下,在存在对应的RNA聚合酶和腺苷、鸟苷、尿苷和胞苷三磷酸核糖核苷(rNTP)的情况下,使用线性化DNA模板在体外进行RNA转录。体外转录可以使用各种可商购获得的试剂盒以及可商购获得的试剂进行,所述可商购获得的试剂盒包含但不限于RiboMax大规模RNA产生系统(普洛麦格公司(Promega))、MegaScript转录试剂盒(生命技术公司(Life Technologies)),所述试剂包含RNA聚合酶和rNTP。用于mRNA的体外转录的方法在本领域中是众所周知的。(参见例如, Losick, R., 1972, 体外转录(In vitro transcription),《生物化学年鉴(Ann Rev Biochem)》41:409-46卷; Kamakaka, R.T.和Kraus, W.L. 2001. 体外转录.《当代细胞生物学实验指南(Current Protocols in Cell Biology)》2:11.6:11.6.1-11.6.17; Beckert, B.和

Masquida, B., (2010) 通过RNA体外转录合成RNA (Synthesis of RNA by In Vitro Transcription in RNA) 于《分子生物学方法 (Methods in Molecular Biology)》中第703卷 (Neilson, H. 编辑), 纽约州纽约市的胡玛纳出版社, 2010; Brunelle, J.L. 和 Green, R., 2013, 第五章-由质粒或经PCR扩增的DNA进行的体外转录 (Chapter Five-In vitro transcription from plasmid or PCR-amplified DNA), 《酶学方法 (Methods in Enzymology)》第530卷, 101-114; 所述文献中的所有文献均通过引用并入本文)。

[0639] 期望的经体外转录的mRNA可以从转录或相关反应的不期望的组分(包含未掺入的rNTP、蛋白质酶、盐、短RNA寡核苷酸等)纯化。用于分离mRNA转录物的技术是本领域众所周知的。对于非限制性实例, 众所周知的程序包含在存在一价阳离子或氯化锂的情况下用醇(乙醇、异丙醇)提取或沉淀苯酚/氯仿。

[0640] 可以使用的纯化程序的另外的非限制性实例包含尺寸排除色谱法(Lukavsky, P.J. 和 Puglisi, J.D., 2004, 不含聚丙烯酰胺的RNA寡核苷酸的大规模制备和纯化 (Large-scale preparation and purification of polyacrylamide-free RNA oligonucleotides), RNA第10卷, 889-893); 基于二氧化硅的亲色色谱法和聚丙烯酰胺凝胶电泳(Bowman, J.C., Azizi, B., Lenz, T.K., Ray, P. 和 Williams, L.D. 于RNA体外转录和通过使PAGE变性进行的RNA纯化于《重组和体外RNA合成方法》中第941卷Conn G.L. (编辑), 纽约州纽约市的胡玛纳出版社, 2012)。可以使用各种可商购获得的试剂盒进行纯化, 所述可商购获得的试剂盒包含但不限于SV总分离系统(普洛麦格公司)和体外转录清理和浓缩试剂盒(诺冠生物科技公司(NorgenBiotek))。

[0641] 此外, 虽然逆转录可以产生大量的mRNA, 但产物可以含有与可能需从全长mRNA制剂中去除的不期望的聚合酶活性相关的许多异常RNA杂质。这些包含由终止转录起始产生的短RNA以及由RNA依赖性RNA聚合酶活性产生的双链RNA(dsRNA)、来自RNA模板的由RNA引发的转录和自互补3'延伸。已经证实, 具有dsRNA结构的这些污染物可以通过与真核细胞中的各种先天免疫传感器相互作用来产生不期望的免疫刺激活性, 所述免疫传感器用于识别特定核酸结构并诱导有效的免疫应答。这继而可以显著减少mRNA翻译, 因为蛋白质合成在先天免疫应答期间减少。因此, 已经开发了另外的去除这些dsRNA污染物的技术, 并且这些技术在本领域中是已知的, 包含但不限于可扩展的HPLC纯化(参见例如, Kariko, K., Muramatsu, H., Ludwig, J. 和 Weissman, D., 2011, 生成用于疗法的最佳mRNA: HPLC纯化消除了免疫激活并提高了经核苷修饰的编码蛋白质的mRNA的翻译 (Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA), 《核酸研究》, 第39卷 e142; Weissman, D., Pardi, N., Muramatsu, H. 和 Kariko, K., 合成信使RNA中的经体外转录的长RNA的HPLC纯化与细胞代谢调控 (HPLC Purification of in vitro transcribed long RNA in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation) 于《分子生物学方法》中第969卷 (Rabinovich, P.H. 编辑), 2013)。据报道, 经HPLC纯化的mRNA以高得多的水平翻译, 特别是在原代细胞和在体内。

[0642] 本领域已经描述了各种各样的修饰, 所述修饰用于改变经体外转录的mRNA的特定特性, 并且可以改善其效用。这些包含但不限于对mRNA的5'和3'末端的修饰。内源性真核mRNA通常含有成熟分子的5'端上的帽结构, 所述帽结构在介导mRNA帽结合蛋白(CBP)的结

合方面起重要作用,这继而负责增强细胞中的mRNA稳定性和mRNA翻译的效率。因此,用加帽的mRNA转录物实现最高水平的蛋白质表达。5'帽含有最5'核苷酸与鸟嘌呤核苷酸之间的5'-5'三磷酸酯键。经缀合的鸟嘌呤核苷酸在N7位置处被甲基化。另外的修饰包含2'-羟基上最后的和倒数第二的最5'核苷酸的甲基化。

[0643] 多种不同的帽结构可以用于产生经体外转录的合成mRNA的5'-帽。合成mRNA的5'-加帽可以与化学帽类似物共转录地执行(即,在体外转录期间加帽)。例如,抗反向帽类似物(ARC A)帽含有5'-5'-三磷酸酯鸟嘌呤-鸟嘌呤键,其中一个鸟嘌呤含有N7甲基和3'-0-甲基。然而,在此共转录过程中,至多20%的转录物保持未加帽,并且合成帽类似物与真实的细胞mRNA的5'-帽结构不同,从而潜在地降低了可翻译性和细胞稳定性。可替代地,合成mRNA分子也可以在转录后酶促加帽。这些可以产生更真实的5'-帽结构,所述5'-帽结构在结构或功能上更接近地模拟内源性5'-帽,所述内源性5'-帽具有增强的帽结合蛋白的结合、增加的半衰期和降低的对5'核酸内切酶的敏感性和/或降低的5'脱帽。已经开发了许多合成的5'帽类似物,并且所述类似物在本领域中已知增强mRNA稳定性和可翻译性(参见例如,Grudzien-Nogalska,E.,Kowalska,J.,Su,W.,Kuhn,A.N.,Slepenkov,S.V.,Darynkiewicz,E.,Sahin,U.,Jemielity,J.和Rhoads,R.E.,在合成信使RNA与细胞代谢调控中具有优异的翻译和稳定性特性的合成mRNA (Synthetic mRNAs with superior translation and stability properties in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation)于《分子生物学方法》中第969卷(Rabinovich,P.H.编辑),2013)。

[0644] 在RNA加工过程中,通常在mRNA分子的3'末端添加一条腺嘌呤核苷酸长链(poly-A尾)。转录物的3'端在转录后立即被切割以释放3'羟基,聚A聚合酶在称为聚腺苷酸化的方法中向所述3'羟基添加RNA的腺嘌呤核苷酸链。poly-A尾已被广泛显示增强mRNA的翻译效率和稳定性两者(参见Bernstein,P.和Ross,J.,1989,Poly(A)、poly(A)结合蛋白和mRNA稳定性的调节(Poly(A),poly(A) binding protein and the regulation of mRNA stability),《生化科学趋势(Trends Bio Sci)》第14卷373-377;Guhaniyogi,J.和Brewer,G.,2001,哺乳动物细胞中mRNA稳定性的调节(Regulation of mRNA stability in mammalian cells),《基因(Gene)》,第265卷,11-23;Dreyfus,M.和Regnier,P.,2002,mRNA的poly(A)尾:真核生物的卫士,细菌的清道夫(The poly(A) tail of mRNAs:Bodyguard in eukaryotes,scavenger in bacteria),《细胞(Cell)》,第11卷,611-613)。

[0645] 经体外转录的mRNA的Poly(A)加尾可以使用各种方法实现,所述方法包含但不限于将poly(T)束克隆到DNA模板中,或者通过使用Poly(A)聚合酶进行转录后添加。第一情况允许具有限定长度的poly(A)尾的mRNA的体外转录,这取决于poly(T)束的尺寸,但需要模板的另外的操纵。后一种情况涉及使用poly(A)聚合酶向经体外转录的mRNA酶促添加poly(A)尾,所述poly(A)聚合酶催化腺嘌呤残基掺入到RNA的3'末端上,不需要另外操作DNA模板,但产生具有不同长度的poly(A)尾的mRNA。5'加帽和3'-poly(A)加尾可以使用各种可商购获得的试剂盒(包含但不限于Poly(A)聚合酶加尾试剂盒(EpiCenter公司(EpiCenter))、mMESSAGE mMACHINE T7 Ultra试剂盒和Poly(A)加尾试剂盒(生命技术公司))以及可商购获得的试剂、各种ARCA帽、Poly(A)聚合酶等来执行。

[0646] 除了5'帽和3'聚腺苷酸化之外,已报道体外转录物的其它修饰提供了与翻译效率和稳定性相关的益处。本领域众所周知,致病性DNA和RNA可以由真核生物内的各种传感器

识别并触发有效的先天免疫应答。已显示区分致病性和自体DNA和RNA的能力至少部分地基于结构和核苷修饰,因为来自天然来源的大多数核酸含有经修饰的核苷。相比之下,体外合成的RNA缺乏这些修饰,因此使其具有免疫刺激性,这继而可以抑制如上所概述的有效mRNA翻译。将经修饰的核苷引入到经体外转录的mRNA中可以用于防止RNA传感器的识别和激活,因此减轻了这种不期望的免疫刺激活性并增强了翻译能力(参见例如,Kariko,K.和Weissman,D.2007,天然存在的核苷修饰抑制RNA的免疫刺激活性:对治疗性RNA开发的启示(Naturally occurring nucleoside modifications suppress the immunostimulatory activity of RNA:implication for therapeutic RNA development),《药物发现与开发新见(Curr Opin Drug Discov Devel)》,第10卷523-532;Pardi,N.,Muramatsu,H.,Weissman,D.,Kariko,K.,合成信使RNA中含有经修饰的核苷的长RNA的体外转录和细胞代谢调控(Invitro transcription of long RNA containing modified nucleosides in Synthetic Messenger RNA and Cell Metabolism Modulation)于《分子生物学方法》中第969卷(Rabinovich,P.H.编辑),2013;Kariko,K.,Muramatsu,H.,Welsh,F.A.,Ludwig,J.,Kato,H.,Akira,S.,Weissman,D.,2008,将假尿苷掺入到mRNA中产生了具有增加的翻译能力和生物稳定性的优异的非免疫原性载体(Incorporation of Pseudouridine Into mRNA Yields Superior Nonimmunogenic Vector With Increased Translational Capacity and Biological Stability),《分子疗法(Mol Ther)》第16卷,1833-1840)。可以使用本领域已知的通用方法和程序来制备、监测和利用合成经修饰的RNA中所使用的经修饰的核苷和核苷酸。可获得多种核苷修饰,所述多种核苷修饰可以单独或与其它经修饰的核苷在一定程度上组合掺入到经体外转录的mRNA中(参见例如,US2012/0251618)。据报道,经核苷修饰的mRNA的体外合成具有降低的激活免疫传感器的能力以及翻译能力的增强。

[0647] 可以被修饰以在可翻译性和稳定性方面提供益处的mRNA的其它组分包含5'和3'非翻译区(UTR)。UTR的优化(良好的5'和3'UTR可以从细胞或病毒RNA中获得),无论是两者还是独立地,都已示出增加mRNA稳定性和经体外转录的mRNA的翻译效率(参见例如,Pardi,N.,Muramatsu,H.,Weissman,D.,Kariko,K.,合成信使RNA中含有经修饰的核苷的长RNA的体外转录和细胞代谢调控于《分子生物学方法》中第969卷(Rabinovich,P.H.编辑),2013)。

[0648] 除了mRNA之外,其它核酸有效载荷可以用于本公开。对于寡核苷酸,制备方法包含但不限于化学合成和酶促化学切割较长前体、如上所述的体外转录等。合成DNA和RNA核苷酸的方法在本领域中被广泛使用并且众所周知(参见例如,Gait,M.J.(编辑)《寡核苷酸合成:实用方法(Oligonucleotide synthesis:a practical approach)》,牛津郡牛津伊斯灵顿特区的IRL出版社(Oxford[Oxfordshire],Ishington,D.C.:IRL Press),1984;以及Herdewijn,P.(编辑)寡核苷酸合成:方法和应用(Oligonucleotide synthesis:methods and applications),《分子生物学方法》,第288卷(新泽西州克利夫顿(Clifton,N.J.))新泽西州托托瓦(Totowa,N.J.)的胡玛纳出版社,2005;所述文献中的两者均通过引用并入本文)。

[0649] 对于质粒DNA,用于与本公开的实施例一起使用的制备通常利用但不限于在含有所关注的质粒的细菌的液体培养物中将质粒DNA在体外扩增和分离。所关注的质粒中编码对特定抗生素(青霉素(penicillin)、卡那霉素(kanamycin)等)的抗性的基因的存在允许含有所关注的质粒的那些细菌选择性地含有抗生素的培养物中生长。分离质粒DNA的方

法在本领域中被广泛使用并且众所周知(参见例如,Heilig,J.,Elbing,K.L.和Brent,R.,(2001),质粒DNA的大规模制备(Large-Scale Preparation of Plasmid DNA),《当代分子生物学实验指南(Current Protocols in Molecular Biology)》,41:11:1.7:1.7.1-1.7.16; Rozkov,A.,Larsson,B.,Gillstrom,S.,Bjornestedt,R.和Schmidt,S.R.,(2008),用于哺乳动物细胞培养中瞬时表达的不含内毒素的质粒的大规模产生(Large-scale production of endotoxin-free plasmids for transient expression in mammalian cell culture),《生物技术与生物工程(Biotechnol. Bioeng.)》,99:557-566;以及US 6,197,553 B1)。质粒分离可以使用多种可商购获得的试剂盒(包括但不限于质粒Plus(凯杰公司(Qiagen))、GenJET质粒MaxiPrep(赛默公司(Thermo))和纯产率MaxiPrep(普洛麦格公司)试剂盒)以及可商购获得的试剂执行。

[0650] 在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒组合物可用于表达由mRNA编码的蛋白质。在一些实施例中,本文提供了用于表达由mRNA编码的蛋白质的方法。

[0651] 在一些实施例中,所述脂质组合物的N/P比率为约1:1至约30:1,例如约3:1至约20:1、约3:1至约15:1、约3:1至约10:1或约3:1至约6:1。例如,经核酸分子包封的脂质组合物的N/P比率可以为 $6 \pm 1$ ,或者经核酸分子包封的脂质组合物的N/P比率可以为 $6 \pm 0.5$ 。在一些实施例中,所述经核酸分子包封的脂质组合物的N/P比率在约3:1至约15:1的范围内。在一些实施例中,所述经核酸分子包封的脂质组合物的N/P比率为约6。N:P比是指脂质组合物或脂质纳米调配物中存在的胺(例如可电离脂质中的胺)与核酸分子中存在的磷酸酯的摩尔比。这是有效包装和效力的一个因素。

#### [0652] 其它治疗剂

[0653] 治疗剂可以是包封在脂质组合物中的肽或蛋白质、小分子药物。药物组合物可以含有两种或更多种不同于核酸分子、肽或蛋白质以及小分子药物的治疗剂。

[0654] 在一些实施例中,所述蛋白质可以是肽或多肽,例如转录因子;染色质重塑因子;抗原;激素;酶(如核酸酶,例如核酸内切酶,例如CRISPR系统的核酸酶元件,例如Cas9、dCas9、aCas9-切口酶、Cpf/Cas12a);经Crispr连接的酶,例如碱基编辑器或引物编辑器;可移动遗传因子蛋白(例如,转座酶、逆转录转座酶、重组酶、整合酶);基因编写器;聚合酶;甲基化酶;去甲基化酶;乙酰化酶;去乙酰化酶;激酶;磷酸酶;连接酶;去泛素化酶;整合酶;重组酶;拓扑异构酶;旋转酶;解旋酶;溶酶体酸水解酶;抗体;受体配体;受体;凝血因子;膜蛋白;线粒体蛋白;核蛋白;抗体或其它蛋白质支架结合剂,如centyrin、darpin或adnectin。

[0655] 在一些实施例中,所述药物组合物可以包含多种可以是相同或不同类型的蛋白质分子。

[0656] 在一些实施例中,所述治疗剂是小分子药物,例如经适当的监管机构批准用于人类的小分子药物。

[0657] 在一些实施例中,所述药物组合物可以包含多种可以是相同或不同类型的小分子药物。

[0658] 在一些实施例中,所述治疗剂是疫苗。在一些实施例中,所述疫苗是RNA疫苗,如RNA癌症疫苗或用于传染病的RNA疫苗(例如,流感病毒疫苗或冠状病毒疫苗(例如,COVID-19疫苗))。

#### [0659] 其它成分

[0660] 药物组合物可以含有一种或多种药学上可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂是根据施用方式和途径来选择的。用于药物调配物的合适的药物载剂或赋形剂描述于《雷明顿:药学技术与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,第21版,Gennaro编辑,利平科特威廉斯和威尔金斯出版公司(Lippencott Williams和Wilkins)(2005);《药物赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients)》,第6版,Rowe等人编辑,医药出版社(Pharmaceutical Press)(2009);以及USP/NF(美国药典和国家处方集(United States Pharmacopeia and the National Formulary)),所述文献通过引用整体并入本文。

[0661] 在一些实施例中,所述药学上可接受的赋形剂包含以下中的一种或多种:抗氧化剂、结合剂、抗粘附剂、缓冲液、着色剂、稀释剂(例如,固体或液体)、崩解剂(例如,包衣崩解剂)、分散剂、染料、填料、乳化剂、调味剂、润滑剂、pH调节剂、颜料、防腐剂、稳定剂、增溶剂、溶剂、悬浮剂、甜味剂或润湿剂或其组合。

[0662] 合适的赋形剂的实例包含但不限于阿拉伯树胶(acacia)、海藻酸盐、磷酸钙、碳酸钙、硅酸钙、卡波普凝胶、羧甲基纤维素、巴西棕榈蜡、纤维素、交聚维酮、右旋糖、二乙酰化单甘油酯、乙基纤维素、明胶、单硬脂酸甘油酯40-50、阿拉伯树胶(gum acacia)、阿拉伯树胶(gum arabic)、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸羟丙甲纤维素、羟丙甲纤维素、乳糖、卵磷脂、硬脂酸镁、高岭土、C型甲基丙烯酸共聚物、甘露醇、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、微晶纤维素、聚维酮、聚乙二醇、聚山梨醇酯80、聚乙烯吡咯烷酮、丙基羟基苯甲酸酯、羧甲基纤维素钠、氢氧化钠、硬脂酰富马酸钠、羟基乙酸淀粉钠、淀粉、脱水山梨糖醇单油酸酯、山梨糖醇、山梨酸、蔗糖、滑石、黄耆胶、滑石、柠檬酸三乙酯、二氧化钛、黄色氧化铁、滑石、油介质(例如,花生油、液体石蜡,矿物油、橄榄油、杏仁油、甘油、丙二醇)或水。

[0663] 当赋形剂用作稀释剂时,其可以是固态、半固态或液态材料(例如,生理盐水),所述材料用作活性成分的媒剂、载剂或介质。如本领域已知的,稀释剂的类型可以根据预期的施用途径而变化。

[0664] 药物组合物可以包括呈经冻干的调配物或水溶液形式的药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在所使用的剂量和浓度下对接受者无毒,并且可以包括:缓冲液,如磷酸盐、柠檬酸盐和其它有机酸;抗氧化剂,包含抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯;六甲铵氯;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烷基酯,如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;以及间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其它碳水化合物,包含葡萄糖、甘露糖或葡聚糖;螯合剂,如EDTA;糖,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇;成盐反离子,如钠;金属络合物(例如,Zn蛋白质络合物);和/或非离子型表面活性剂,如TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇(PEG)。

[0665] 用于药物组合物的合适的载剂或赋形剂也可以包含增强个体身体吸收LNP或脂质体能力的物质。合适的载剂和/或赋形剂还包含可以用于用LNP或脂质体填充调配物的任何物质,以使剂量方便且准确。此外,可以在制造过程中使用载剂和/或赋形剂,以帮助处理LNP或脂质体。根据施用途径和药物形式,可以使用不同的载剂和/或赋形剂。

[0666] 载剂和/或赋形剂也可以包含媒剂和/或稀释剂。“媒剂”指示通常作为溶剂或载剂的各种介质中的任一者；“稀释剂”指示用于稀释组合物的活性成分的稀释剂；合适的稀释剂包含可以降低药物粘度的任何物质。载剂和/或赋形剂的类型和量根据所选药物形式来选择；合适的药物形式是液态系统，如溶液、输注液、悬浮液；半固态系统，如胶体、凝胶、糊剂或乳膏；固态系统，如粉末、颗粒、片剂、胶囊、团粒、微粒、迷你片、微胶囊、微团粒、栓剂等。

[0667] 使用本领域众所周知的技术，上述系统中的每一者都可以被适当地调配以正常、延迟或加速释放。

[0668] 调配物、剂量和施用途径

[0669] 本文所述的药物组合物可以根据标准技术以及本文所述的那些技术来制备。例如，药物组合物可以常规方式，例如通过常规的混合、溶解、制粒、制糖衣丸、磨细、乳化、包封、包埋或冻干方法进行制备。本领域所众所周知的用于制备调配物的方法是本领域已知的。参见例如，《雷明顿：药学技术与实践》第21版，Gennaro编辑，利平科特威廉斯和威尔金斯出版公司(2005)以及《药剂百科全书(Encyclopedia of Pharmaceutical Technology)》，编辑J.Swarbrick和J.C.Boylan,1988-1999,纽约的马塞尔德克尔公司(Marcel Dekker, NewYork)。

[0670] 治疗剂可以被包封在脂质组合物中，例如治疗剂可以完全或部分位于LNP的内部空间中，在脂质层/膜内，或与脂质层/膜的外表面缔合。将治疗剂掺入到LNP中的一个目的是保护治疗剂免受可能含有降解治疗剂的酶或化学物质或条件和/或导致治疗剂快速排泄的系统或受体的环境的影响。此外，将治疗剂掺入到LNP中可以促进治疗剂的吸收，并且因此可以增强治疗效果。

[0671] 在一些实施例中，在所述药物组合物中，所述脂质组分与治疗剂的比率(质量/质量比；w/w比)可以在约1:1至约25:1、10:1至约14:1、约3:1至约15:1、约4:1至约10:1、约5:1至约9:1或约6:1至约9:1的范围内。

[0672] 基于脂质组合物或药物组合物的重量，脂质组合物或药物组合物可以含有约5至约95重量%的治疗剂。在一些实施例中，基于所述LNP或所述药物组合物的重量，所述脂质组合物或所述药物组合物含有约5重量%、约10重量%、约20、约30、约40、约50、约60、约70、约80、约90或约95重量%的治疗剂。在一些实施例中，基于所述脂质组合物或所述药物组合物的重量，所述脂质组合物或所述药物组合物含有以下量的治疗剂：约5-95%、约5-90%、约5-80%、约5-70%、约5-60%、约5-50%、约5-40%、约5-30%、约5-20%、约5-10%、约10-95%、约10-90%、约10-80%、约10-70%、约10-60%、约10-50%、约10-40%、约10-30%、约10-20%、约20-95%、约20-90%、约20-80%、约20-70%、约20-60%、约20-50%、约20-40%、约20-30%、约30-95%、约30-90%、约30-80%、约30-70%、约30-60%、约30-50%、约30-40%、约40-95%、约40-90%、约40-80%、约40-70%、约40-60%、约40-50%、约50-95%、约50-90%、约50-80%、约50-70%、约50-60%、约60-95%、约60-90%、约60-80%、约60-70%、约70-95%、约70-90%、约70-80%、约80-95%、约80-90%或约90-95%。

[0673] 基于脂质组合物或药物组合物的重量，脂质组合物或药物组合物可以含有以约5至约95重量%的量的总脂质。在一些实施例中，基于所述脂质组合物或所述药物组合物的重量，所述脂质组合物或所述药物组合物含有以下量的总脂质：约5-95%、约5-90%、约5-

80%、约5-70%、约5-60%、约5-50%、约5-40%、约5-30%、约5-20%、约5-10%、约10-95%、约10-90%、约10-80%、约10-70%、约10-60%、约10-50%、约10-40%、约10-30%、约10-20%、约20-95%、约20-90%、约20-80%、约20-70%、约20-60%、约20-50%、约20-40%、约20-30%、约30-95%、约30-90%、约30-80%、约30-70%、约30-60%、约30-50%、约30-40%、约40-95%、约40-90%、约40-80%、约40-70%、约40-60%、约40-50%、约50-95%、约50-90%、约50-80%、约50-70%、约50-60%、约60-95%、约60-90%、约60-80%、约60-70%、约70-95%、约70-90%、约70-80%、约80-95%、约80-90%或约90-95%。

[0674] 本公开的脂质组合物或药物组合物可以通过各种途径,例如,通过静脉内、肠胃外、腹膜内、肌内、导管内或局部途径进行的全身递送进行施用。在一些实施例中,siRNA可以在胞内,例如在靶组织(如肺或肝)的细胞中或在发炎的组织中递送。在一些实施例中,本公开提供了用于体内递送siRNA的方法。可以将核酸-脂质组合物静脉内、皮下或腹膜内施用于受试者。

[0675] 如本文所用,术语“肠胃外”是指除肠内施用以外的施用途径。肠胃外施用的实例包含但不限于颊、皮试、硬膜外、羊膜外、动脉内、关节内、心内、海绵窦内、脑内、脑室内、皮内、病灶内、肌内、眼内、骨内输注、腹膜内、肺内、鞘内、子宫内、阴道内、静脉内、膀胱内、玻璃体内、鼻腔、血管周围、皮下、舌下、经皮、局部、经上皮或经粘膜。肠胃外施用可以通过在选定的时间段内连续输注来进行。

[0676] 本公开的组合物和方法可以通过多种粘膜施用模式,包含通过口服、直肠、阴道、鼻内、肺内或经皮或真皮递送,或者通过局部递送到眼睛、耳朵、皮肤或其它粘膜表面来施用于受试者。在本公开的一些方面,粘膜组织层包含上皮细胞层。上皮细胞可以是肺、气管、支气管、肺泡、鼻、颊、表皮或胃肠道。本公开的组合物可以使用常规致动器(如机械喷雾装置)以及加压、电激活或其它类型的致动器来施用。

[0677] 本公开的组合物可以作为鼻喷雾剂或肺喷雾剂在水溶液中施用,并且可以通过本领域技术人员已知的多种方法以喷雾形式分配。本公开的组合物通过以滴剂、颗粒或喷雾剂的形式施用组合物来实现,所述滴剂、颗粒或喷雾剂可以是例如气溶胶化的、粉化的或雾化的。组合物的颗粒、喷雾剂或气溶胶可以呈液体或固体形式。用于分配液体作为鼻喷雾剂的系统的非限制性实例公开于美国专利第4,511,069号中。此类调配物可以通过将根据本公开的组合物溶解在水中以产生水溶液并使所述溶液无菌来方便地制备。调配物可以存在于多剂量容器中,例如在美国专利第4,511,069号中公开的密封分配系统中。其它合适的鼻喷雾递送系统描述于《经皮全身用药(TRANSDERMAL SYSTEMIC MEDICATION)》, Y.W.Chien编辑,纽约的爱思唯尔出版社(Elsevier Publishers, New York), 1985;以及美国专利第4,778,810号中。另外的气溶胶递送形式可以包含例如压缩空气喷射、超声和压电喷雾器,所述压缩空气喷射、超声和压电喷雾器递送溶解或悬浮在药物溶剂(例如,水、乙醇或其混合物)中的生物活性剂。

[0678] 本公开的鼻和肺喷雾溶液通常包括药物或待递送的药物,任选地与表面活性剂如非离子表面活性剂(例如,聚山梨醇酯-80)和一种或多种缓冲液一起调配。在本公开的一些实施例中,所述鼻喷雾溶液进一步包括推进剂。鼻喷雾溶液的pH可以为pH 6.8至7.2。所采用的药物溶剂也可以是pH 4-6的微酸性水性缓冲液。可以添加其它组分以增强或维持化学稳定性,包含防腐剂、表面活性剂、分散剂或气体。

[0679] 在一些实施例中,本公开是药物产品,所述药物产品包含含有本公开的组合物的溶液以及用于肺、粘膜或鼻内喷雾或气溶胶的致动器。

[0680] 本公开的组合物的剂型可以是液体,呈液滴或乳液的形式或呈气溶胶的形式。

[0681] 本公开的组合物的剂型可以是固体,其可以在施用之前在液体中复原。固体可以作为粉末施用。固体可以呈胶囊、片剂或凝胶的形式。

[0682] 为了制备在本公开内用于肺递送的组合物,生物活性剂可以与各种药学上可接受的添加剂以及用于分散活性剂的基底或载剂组合。

[0683] 添加剂的实例包含pH控制剂,如精氨酸、氢氧化钠、甘氨酸、盐酸、柠檬酸及其混合物。其它添加剂包含局部麻醉剂(例如,苄醇)、等渗剂(例如,氯化钠、甘露醇、山梨糖醇)、吸附抑制剂(例如,Tween 80)、溶解度增强剂(例如,环糊精及其衍生物)、稳定剂(例如,血清白蛋白)和还原剂(例如,谷胱甘肽)。当用于粘膜递送的组合物是液体时,如参考作为一体的0.9% (w/v)生理盐水溶液的张力所测量的,组合物的张力通常被调节至在施用部位处的粘膜中不会引起实质性、不可逆的组织损伤的值。通常,溶液的张力被调节至1/3至3、更通常1/2至2、以及最通常3/4至1.7的值。

[0684] 生物活性剂可以分散在基底或媒剂中,所述基底或媒剂可以包括具有分散活性剂的能力的亲水化合物和任何期望的添加剂。基底可以选自广泛范围的合适载剂,包括但不限于聚羧酸或其盐,羧酸酐(例如,马来酸酐)与其它单体(例如,(甲基)丙烯酸甲酯、丙烯酸等)的共聚物;亲水性乙烯基聚合物,如聚乙酸乙烯酯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮;纤维素衍生物,如羟甲基纤维素、羟丙基纤维素等;以及天然聚合物,如壳聚糖、胶原蛋白、海藻酸钠、明胶、透明质酸及其无毒金属盐。通常,选择可生物降解聚合物作为基底或载剂,例如聚乳酸、聚(乳酸-乙醇酸)共聚物、聚羟基丁酸、聚(羟基丁酸-乙醇酸)共聚物及其混合物。可替代地或另外地,如聚甘油脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯等合成脂肪酸酯可以用作载剂。亲水性聚合物和其它载剂可以单独使用或组合使用,并且可以通过部分结晶、离子键合、交联等赋予载剂增强的结构完整性。载剂可以多种形式提供,包含流体或粘性溶液、凝胶、糊剂、粉末、微球和膜,以用于直接施用到鼻粘膜。在此上下文中使用所选载剂可以促进生物活性剂的吸收。

[0685] 用于粘膜、鼻或肺递送的组合物可以含有亲水性低分子量化合物作为基底或赋形剂。此类亲水性低分子量化合物可以提供通道介质,水溶性活性剂,如生理活性肽或蛋白质可以通过所述通道介质扩散通过所述基底到达其中活性剂被吸收的身体表面。亲水性低分子量化合物可以任选地从粘膜或施用大气吸收水分,并且可以溶解水溶性活性肽。在一些实施例中,所述亲水性低分子量化合物的分子量小于或等于10,000,如不超过3,000。亲水性低分子量化合物的实例包含多元醇化合物,如寡糖、二糖和单糖,包含蔗糖、甘露醇、乳糖、L-阿拉伯糖、D-赤藓糖、D-核糖、D-木糖、D-甘露糖、D-半乳糖、乳果糖、纤维二糖、龙胆二糖、甘油、聚乙二醇及其混合物。亲水性低分子量化合物的另外的实例包含N-甲基吡咯烷酮、醇(例如,低聚乙烯醇、乙醇、乙二醇、丙二醇等)及其混合物。

[0686] 本公开的组合物可以可替代地含有近似生理条件所需的药学上可接受的载剂物质,如pH调节剂和缓冲剂、张力调节剂和润湿剂,例如乙酸钠、乳酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、油酸三乙醇胺及其混合物。对于固体组合物,可以使用常规的无毒药学上可接受的载剂,其包含例如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、

滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。

[0687] 在本公开的某些实施例中,生物活性剂可以延时释放调配物施用,例如在包含缓慢释放聚合物的组合物中施用。活性剂可以用将防止快速释放的载剂(例如,控制释放媒介,如聚合物、微胶囊化递送系统或生物粘合剂凝胶)制备。在本公开的各种组合物中,活性剂的延长递送可以通过包含在延迟吸收的组合物药剂(例如单硬脂酸铝水凝胶和明胶)中来实现。

[0688] 在一些实施例中,所述脂质组合物、所述药物组合物或剂量单位含有约0.01至约1000mg的一种或多种本文所述的脂质化合物。在一些实施例中,所述脂质组合物、所述药物组合物或所述剂量单位含有约0.01、约0.1、约0.5、约1、约5、约10、约25、约50、约75、约100、约125、约150、约175、约200、约225、250、约275、约300、约350、约400、约450、约500、约550、约600、约650、约700、约750、约800、约850、约900、约950或约1000mg的一种或多种本文所述的脂质化合物。在一些实施例中,所述脂质组合物、所述药物组合物或所述剂量单位含有约0.01至约750mg、约0.01至约500mg、约0.01至约250mg、约0.01至约100mg、约0.01至约50mg、约0.01至约25mg、约0.01至约10mg、约0.01至约5mg、约0.01至约0.1mg、约0.1至约1000mg、约0.1至约750mg、约0.1至约500mg、约0.1至约250mg、约0.1至约100mg、约0.1至约50mg、约0.1至约25、约0.1至约10mg、约0.1至约5mg、约0.1至约1mg、约1至约1000mg、约1至约750mg、约1至约500mg、约1至约250mg、约1至约100mg、约1至约50mg、约1至约25mg、约1至约10mg、约1至约5mg、约5至约1000mg、约5至约750mg、约5至约500mg、约5至约250mg、约5至约100mg、约5至约50mg、约5至约25mg、约5至约10mg、约10至约1000mg、约10至约750mg、约10至约500、约10至约250mg、约10至约100mg、约10至约50mg、约10至约25mg、约25至约1000mg、约25至约750mg、约25至约500mg、约25至约250mg、约25至约100mg、约25至约50mg、约50至约1000mg、约50至约750mg、约50至约500mg、约50至约250mg、约50至约100mg、约100至约1000mg、约100至约750mg、约100至约500mg、约100至约250mg、约250至约1000mg、约250至约750mg、约250至约500mg、约500至约1000mg、约500至约750mg或约750至约1000mg的一种或多种本文所述的脂质化合物。

[0689] 使用脂质组合物的方法

[0690] 本公开的另一方面提供了用于将治疗剂递送到有需要的受试者(例如,患者)的方法,所述方法包括向所述受试者(例如,患者)施用包括脂质纳米颗粒组合物以及所述治疗剂的药物组合物,所述脂质纳米颗粒组合物包括式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的脂质化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体。

[0691] 本公开的另一方面涉及一种将治疗剂肝外递送到有需要的受试者的除肝以外的至少一个器官(例如,胰腺、一个或两个肺或脾)的方法,其中受试者的身体中的其它部位(如肝)中递送的量最少。所述方法包括向所述受试者施用药物组合物,所述药物组合物包括脂质纳米颗粒组合物以及治疗剂,所述脂质纳米颗粒组合物包括式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA)-(IIC)、(IIA-1)、(IIIA)-(IIIE)、(IVA-1)-(IVA-3)、(IVC-1)-(IVC-2)和(VC-1)-(VC-6)的脂质化合物、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体。在一些实施例中,所述方法将所述治疗剂递送到有需要的受试者的胰腺和/或一个或两个肺,其中受试者的身体中的其它部位(如肝)中递送的量最少。

[0692] 在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的少于55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或1%被递送到所述受试者的肝。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的少于6%、7%、8%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%被递送到所述受试者的肝。

[0693] 在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的超过99%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%被递送到所述受试者的胰腺、脾和/或一个或两个肺。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的超过99%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%被递送到所述受试者的胰腺。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的超过99%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%被递送到所述受试者的肺。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的超过99%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%被递送到所述受试者的脾。

[0694] 在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145或150。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少1。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗货物的脾与肝的比率为至少5。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少10。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少25。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少70。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少75。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少100。在一些实施例中,向所述受试者施用的总治疗剂的脾与肝的比率为至少110。

[0695] 如本文所用,向所述受试者施用并递送到所述受试者体内某一位置的总治疗剂的百分比量通过蛋白质表达水平或mRNA敲低水平来测量。

[0696] 在一些实施例中,上文所公开的递送治疗剂的方法包括向受试者施用包括治疗剂的脂质组合物。在一些实施例中,所述脂质组合物中的脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(I)、(IA-1)、(IA-2)、(IIA) - (IIC)、(IIA-1)、(IIIA) - (IIIE)、(IVA-1) - (IVA-3)、(IVC-1) - (IVC-2)和(VC-1) - (VC-6)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(I)、(IA-1)、(IA-2)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(IIA) - (IIC)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(IIA-1)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(IIIA) - (IIIE)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(IVA-1) -

(IVA-3)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(IVC-1) - (IVC-3)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。在一些实施例中,所述脂质纳米颗粒由一种或多种选自式(VC-1) - (VC-6)的可电离脂质、其药学上可接受的盐和前述中的任一者的立体异构体的化合物形成。

[0697] 在一些实施例中,本文所公开的脂质组合物可用于多种目的,包含在体外和/或体内将经包封的或经缔合的(例如,复合的)治疗剂,如核酸递送到细胞。因此,在一些实施例中,提供了治疗或预防有需要的受试者的疾病或病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用脂质组合物。在一些实施例中,所述脂质组合物包封合适的治疗剂或与其缔合,其中所述脂质组合物包括本文所述的新型可电离脂质、其药学上可接受的盐和/或前述中的任一者的立体异构体中的一种或多种。

[0698] 在一些实施例中,本公开的脂质组合物可用于治疗剂的递送。在一些实施例中,所述治疗剂选自一种或多种核酸,包含例如mRNA、反义寡核苷酸、质粒DNA、微小RNA(miRNA)、miRNA抑制剂(安塔够妙/antimir)、信使RNA-干扰互补RNA(micRNA)、DNA、多价RNA、切丁酶底物RNA、互补DNA(cDNA)等。因此,在一些实施例中,本文公开了通过使细胞与包括一种或多种本文所述的新型可电离脂质的脂质组合物接触来诱导期望的蛋白质在体外和/或体内的表达的方法,其中脂质纳米颗粒包封被表达以产生期望的蛋白质(例如,编码期望的蛋白质的信使RNA或质粒)或抑制终止mRNA表达的过程(例如,miRNA抑制剂)的核酸或与其缔合。在一些实施例中,本文公开了通过使细胞与包括一种或多种本文所述的新型可电离脂质的脂质组合物接触来降低靶基因和蛋白质在体外和/或体内的表达的方法,其中脂质纳米颗粒包封降低靶基因表达的核酸(例如,反义寡核苷酸或小干扰RNA(siRNA))或与其缔合。在一些实施例中,本文公开了用于单独地或组合共递送一种或多种核酸(例如,mRNA和质粒DNA)的方法,如可用于提供需要不同核酸(例如,编码合适的基因修饰酶的mRNA和用于掺入到宿主基因组中的DNA片段)的共定位的效果。

[0699] 在一些实施例中,所述脂质组合物可用于通过递送靶向一种特定miRNA或调节一种靶mRNA或若干mRNA的一组miRNA的miRNA抑制剂来上调内源性蛋白质表达。在一些实施例中,本文提供了用于上调内源性蛋白质表达的方法,所述方法包括递送靶向一种或多种调节一种或多种mRNA的miRNA的miRNA抑制剂。在一些实施例中,所述脂质组合物可用于下调(例如沉默)靶基因的蛋白质水平和/或mRNA水平。在一些实施例中,本文提供了用于下调(例如,沉默)靶基因的蛋白质和/或mRNA水平的方法。

[0700] 在一些实施例中,所述脂质组合物可用于递送用于转基因表达的mRNA和质粒。在一些实施例中,本文提供了用于递送用于转基因表达的mRNA和质粒的方法。

[0701] 在一些实施例中,所述脂质组合物可用于诱导由蛋白质表达产生的药理学效应,例如,通过递送合适的促红细胞生成素mRNA增加红细胞生成,或通过递送编码合适抗原或抗体的mRNA保护免受感染。在一些实施例中,本文提供了用于诱导由蛋白质表达产生的药理学效应,例如,通过递送合适的促红细胞生成素mRNA增加红细胞生成,或通过递送编码合适抗原或抗体的mRNA保护免受感染的方法。

[0702] 本公开的可电离脂质的非限制性示例性实施例、包括所述可电离脂质的脂质组合物及其用于递送药剂(例如,治疗剂,如核酸)和/或调控基因和/或蛋白质表达的用途将在

下文中进一步详细描述。

[0703] 在一些实施例中,本公开涉及基因编辑的方法,所述方法包括使细胞与LNP组合物接触。在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑方法,所述方法包括切割DNA。

[0704] 在一些实施例中,本公开涉及切割DNA的方法,所述方法包括使细胞与LNP组合物接触。

[0705] 在一些实施例中,本公开涉及任何切割本文所述的DNA的方法,其中所述切割步骤包括引入单链DNA切口。在一些实施例中,本公开涉及任何切割本文所述的DNA的方法,其中切割步骤包括引入双链DNA断裂。在一些实施例中,本公开涉及任何切割本文所述的DNA的方法,其中所述LNP组合物包括2类Cas mRNA和向导RNA核酸。在一些实施例中,本公开涉及任何切割本文所述的DNA的方法,所述方法进一步包括将至少一个模板核酸引入到细胞中。在一些实施例中,本公开涉及任何切割本文所述的DNA的方法,所述方法包括使细胞与包括模板核酸的LNP组合物接触。

[0706] 在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述方法包括将LNP组合物施用于动物,例如人。在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述方法包括将LNP组合物施用于细胞,如真核细胞。

[0707] 在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述方法包括施用在第一LNP组合物和第二LNP组合物中调配的mRNA,所述第一LNP组合物和所述第二LNP组合物包括mRNA、gRNA、gRNA核酸和模板核酸中的一种或多种。在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述第一LNP组合物和所述第二LNP组合物同时施用。在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述第一LNP组合物和所述第二LNP组合物依序施用。

[0708] 在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述方法包括施用在单一LNP组合物中调配的mRNA和向导RNA核酸。在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述基因编辑产生基因敲除。在一些实施例中,本公开涉及任何本文所述的基因编辑的方法,其中所述基因编辑产生基因校正。

[0709] 在一些实施例中,本公开涉及用于将干扰RNA体内递送到哺乳动物受试者的肺的方法。

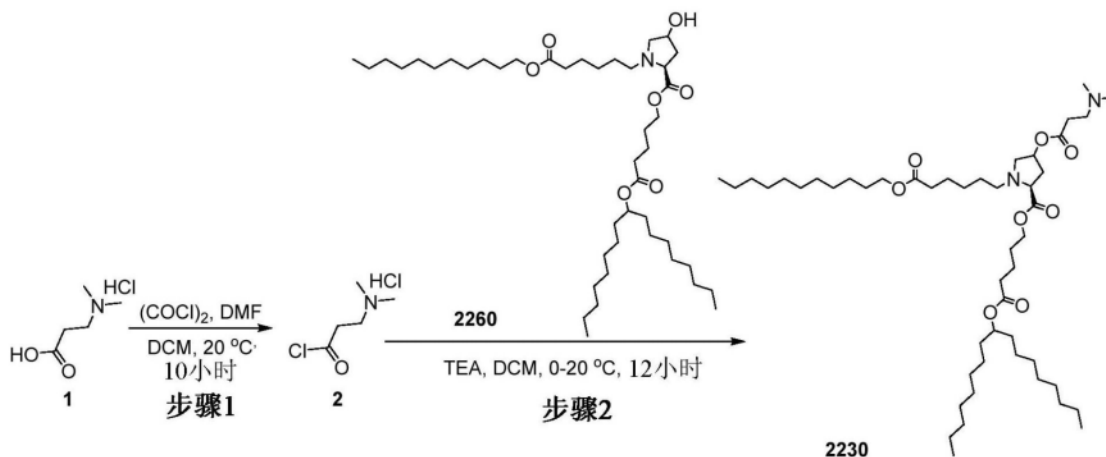
[0710] 在一些实施例中,涉及治疗哺乳动物受试者的疾病或病症的方法。在一些实施例中,这些方法包括将治疗有效量的本公开的脂质组合物施用于患有与可以被所述脂质组合物降低、减少、下调或沉默的基因的表达或过表达相关的疾病或病症的受试者。

[0711] 实例

[0712] 以下实例仅出于说明目的,并且不旨在以任何方式限制本发明的范围。

[0713] 实例1:化合物2230的合成

[0714]



[0715] 步骤1:

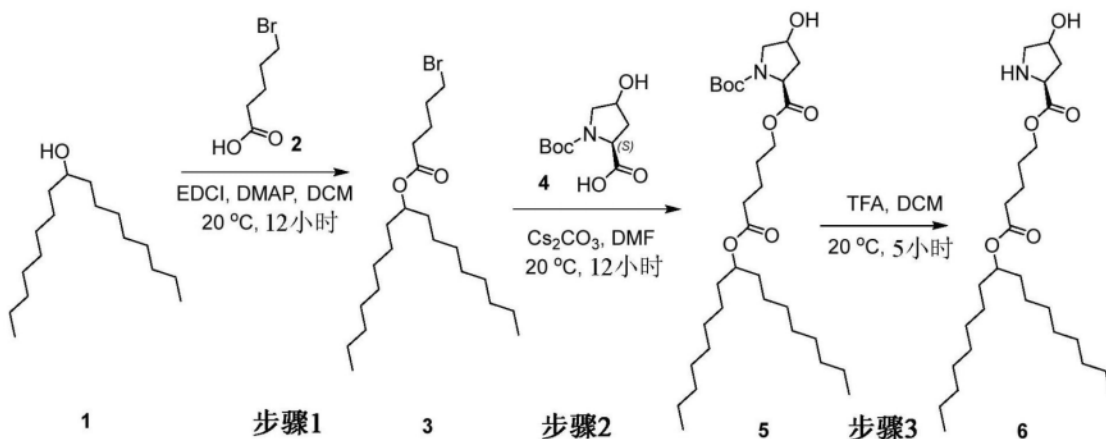
[0716] 向3-(二甲基氨基)丙酸(0.2g, 1.30mmol, 1当量, HCl)和草酰二氯(826.30mg, 6.51mmol, 569.86 $\mu$ L, 5当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加两滴DMF(9.52mg, 130.20 $\mu$ mol, 10.02 $\mu$ L, 0.1当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且在20 $^{\circ}$ C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌10小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油的3-(二甲基氨基)丙酰氯(0.2g,粗产物,HCl)。

[0717] 步骤2:

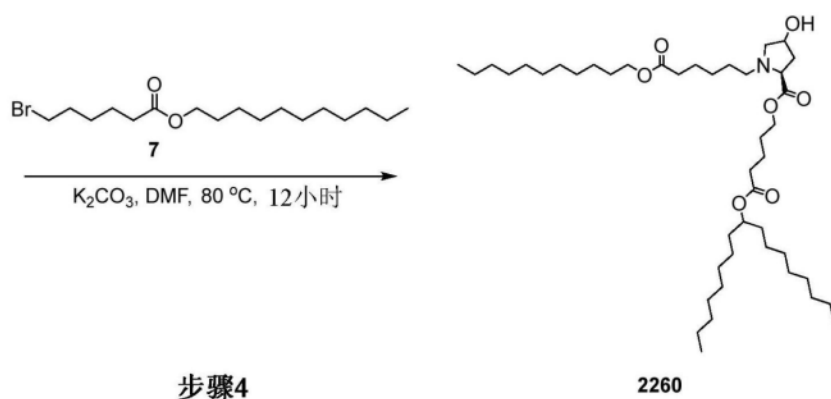
[0718] 在0 $^{\circ}$ C下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(100.00mg, 135.48 $\mu$ mol, 1当量), 3-(二甲基氨基)丙酰氯(93.24mg, 541.91 $\mu$ mol, 4当量, HCl)于DCM(3mL)中的溶液中添加TEA(123.38mg, 1.22mmol, 169.71 $\mu$ L, 9当量)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌12小时。将反应混合物用H<sub>2</sub>O 20mL稀释,并且用60mL EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O=1/0/0.1至3/1/0.1)和制备型HPLC(柱:菲罗门公司(Phenomenex)Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%,10分钟)纯化,以得到残余物。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液将残余物调节至pH=7,并且用60mL EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。然后将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O=1/0/0.1至5/1/0.1)纯化,以得到呈黄色油的2230,(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(17mg, 20.30 $\mu$ mol, 14.99%产率,100%纯度)。

[0719] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.21-5.27(m, 1H), 4.86-4.89(m, 1H), 4.14-4.16(m, 2H), 4.06(t, J=6.4Hz, 2H), 3.44-3.55(m, 1H), 3.10-3.26(m, 1H), 2.45-2.73(m, 7H), 2.32-2.33(m, 10H), 2.16-2.28(m, 1H), 2.05-2.06(m, 1H), 1.60-1.65(m, 6H), 1.51-1.52(m, 6H), 1.27-1.31(m, 46H), 0.89(t, J=6.8Hz, 9H)。LCMS:(1/2M+H<sup>+</sup>):在2.971分钟处419.2。

[0720] 实例2:化合物2260的合成



[0721]



[0722] 步骤1:

[0723] 将十七烷-9-醇 (10g, 38.99mmol, 1当量)、5-溴戊酸 (7.06g, 38.99mmol, 1当量)、DMAP (952.72mg, 7.80mmol, 0.2当量) 和EDCI (7.47g, 38.99mmol, 1当量) 于DCM (70mL) 中的溶液在20°C下搅拌12小时。将合并的有机相用200mL EtOAc稀释, 并用600mL水 (200mL×3) 和400mL盐水 (200mL×2) 洗涤, 经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至10/1) 纯化, 以得到呈无色油的5-溴戊酸1-辛基壬酯 (25g, 59.60mmol, 76.42%产率)。

[0724] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.91 (m, 1H), 3.42 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.34 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.90-1.93 (m, 2H), 1.79-1.81 (m, 2H), 1.52-1.57 (m, 4H), 1.27-1.51 (m, 24H), 0.89 (t, J=6.4Hz, 6H)。

[0725] 步骤2:

[0726] 将(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸 (2.30g, 9.93mmol, 1当量)、5-溴戊酸1-辛基壬酯 (5g, 11.92mmol, 1.2当量)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.12g, 21.85mmol, 2.2当量) 于DMF (60mL) 中的混合物在20°C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌12小时。在0°C下将反应混合物通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭。将混合物用30mL EtOAc (10mL×3) 萃取, 并且将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至3/1) 纯化, 以得到呈白色固体的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯 (4.5g, 3.95mmol, 39.75%产率, 50%纯度)。

[0727] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.89 (m, 1H), 4.17-4.39 (m, 4H), 3.50-3.69 (m, 2H), 2.33-2.34 (m, 2H), 1.61-1.72 (m, 4H), 1.42-1.52 (m, 14H), 1.25-1.30 (m, 25H), 0.88 (t, J=

6.8Hz, 6H)。

[0728] 步骤3:

[0729] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(4.00g, 7.02mmol, 1当量)于DCM(50mL)的溶液中添加TFA(23.10g, 202.60mmol, 15.00mL, 28.86当量)。将混合物在20℃下搅拌5小时。将反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液调节至pH=7,并且用600mL EtOAc(200mL×3)萃取,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=0/1至乙酸乙酯/MeOH=3/1)纯化以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(2.5g, 4.52mmol, 64.45%产率, 85%纯度)。

[0730] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.89(m, 1H), 4.37-4.45(m, 1H), 4.15-4.25(m, 2H), 3.82-4.14(m, 1H), 2.97-3.15(m, 2H), 2.33-2.35(m, 2H), 1.69-1.70(m, 4H), 1.50-1.52(m, 4H), 1.26-1.32(m, 26H), 0.88(t, J=6.8Hz, 6H)。

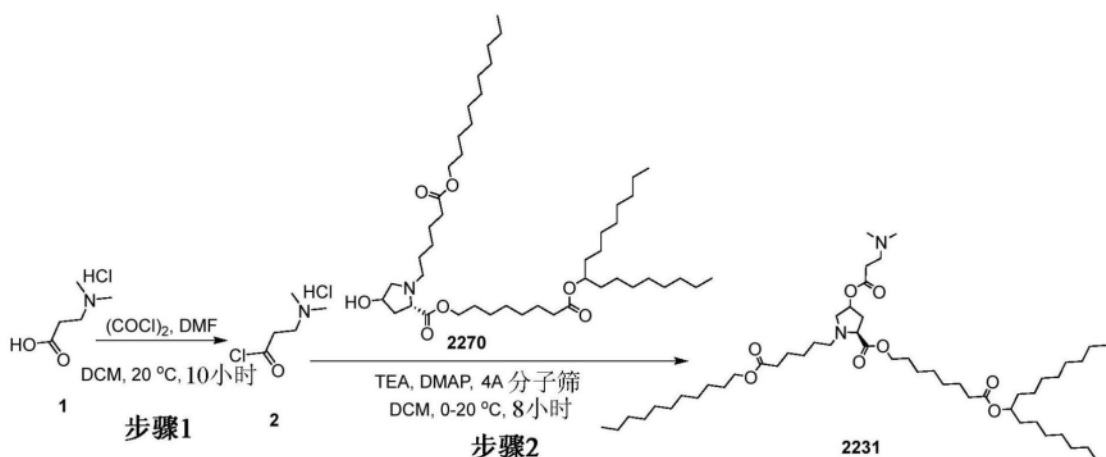
[0731] 步骤4:

[0732] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(500.00mg, 1.06mmol, 1当量)、6-溴己酸十一烷基酯(446.26mg, 1.28mmol, 1.2当量)于DMF(10mL)的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(441.37mg, 3.19mmol, 3当量)。将混合物在80℃下搅拌12小时。将反应混合物用20mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯/NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O=10/1/1至1/1/0.5)纯化,以得到呈黄色油的2260, (2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(0.6g, 715.32μmol, 67.20%产率, 88%纯度)。

[0733] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86-4.91(m, 1H), 4.28-4.49(m, 1H), 4.13-4.16(m, 2H), 4.06(t, J=6.4Hz, 2H), 3.07-3.54(m, 2H), 2.48-2.65(m, 3H), 2.28-2.34(m, 4H), 1.95-2.23(m, 2H), 1.60-1.64(m, 6H), 1.50-1.52(m, 6H), 1.27-1.35(m, 44H), 0.89(t, J=6.4Hz, 9H), (M+H<sup>+</sup>): 738.3。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 738.3, 持续2.843分钟。

[0734] 实例3:化合物2231的合成

[0735]



[0736] 步骤1:

[0737] 在20℃下向3-(二甲基氨基)丙酸(0.2g, 1.30mmol, 1当量, HCl)和草酰二氯(826.30mg, 6.51mmol, 569.86μL, 5当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加两滴DMF(9.52mg,

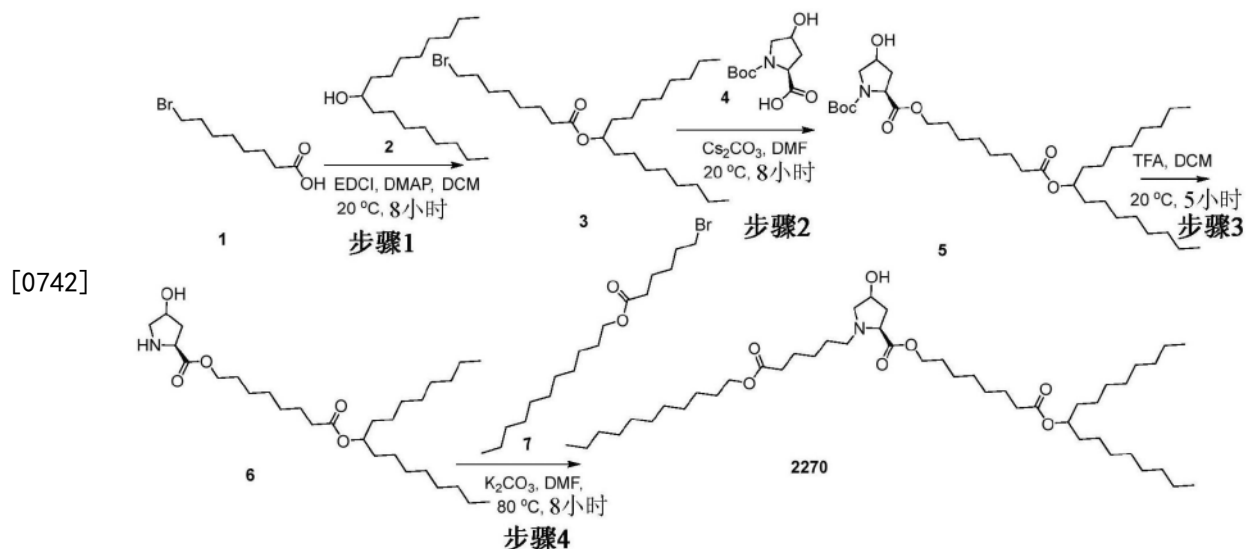
130.20 $\mu$ mol, 10.02 $\mu$ L, 0.1当量)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌10小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油的3-(二甲基氨基)丙酰氯(0.2g,粗产物,HCl)。

[0738] 步骤2:

[0739] 在0 $^{\circ}$ C向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg, 256.34 $\mu$ mol, 1当量)、DMAP(6.26mg, 51.27 $\mu$ mol, 0.2当量)、TEA(207.51mg, 2.05mmol, 285.44 $\mu$ L, 8当量)和4A分子筛(100mg)于DCM(15mL)中的悬浮液中添加DCM(10mL)中的3-(二甲基氨基)丙酰氯(220.52mg, 1.28mmol, 5当量,HCl)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物用20mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL EtOAc(20mL  $\times$  3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O=1/0/0.1至3/1/0.1)和制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:55%-85%,10分钟)纯化,以得到残余物。将残余物用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液调节至pH=7,并且用60mL EtOAc(20mL  $\times$  3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。然后将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯/NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O=1/0/0.1至5/1/0.1)纯化,以得到呈黄色油的2231, (2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(40mg, 45.49 $\mu$ mol, 13.33%产率, 100%纯度)。

[0740] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.21-5.27(m, 1H), 4.84-4.90(m, 1H), 4.04-4.13(m, 4H), 3.08-3.54(m, 2H), 2.32-2.65(m, 7H), 2.29-2.31(m, 10H), 2.27-2.28(m, 2H), 1.63-1.65(m, 8H), 1.60-1.62(m, 6H), 1.27-1.52(m, 48H), 0.89(t, J=6.4Hz, 9H)。LCMS:(1/2M+H<sup>+</sup>):在2.155分钟处879.6。

[0741] 实例4:化合物2270的合成



[0743] 步骤1:

[0744] 向8-溴辛酸(10g, 44.82mmol, 1当量)于DCM(1000mL)中的混合物中添加DMAP(1.10g, 8.96mmol, 0.2当量)、十七烷-9-醇(11.50g, 44.82mmol, 1当量)和EDCI(8.59g, 44.82mmol, 1当量),并且脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。将混合物在20 $^{\circ}$ C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应用200mL EtOAc稀释,并用600mL水(200mL  $\times$  3)和400mL盐水(200mL  $\times$  2)洗涤,经无水

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至1/0)纯化,以得到呈无色油的5-溴戊酸μ1-辛基壬酯(25g,59.60mmol,76.42%产率)。

[0745] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.86-4.89(m,1H),3.41(t,J=7.2Hz,2H),2.29(t,J=7.6Hz,2H),1.80-1.90(m,2H),1.60-1.63(m,2H),1.44-1.51(m,4H),1.34-1.35(m,2H),1.27-1.33(m,28H),0.89(t,J=6.8Hz,6H)。

[0746] 步骤2:

[0747] 将(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(3.34g,14.44mmol,1当量)、8-溴辛酸1-辛基壬酯(8g,17.33mmol,1.2当量)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10.35g,31.78mmol,2.2当量)于DMF(60mL)中的混合物在20℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。在0℃下将反应混合物通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭。将混合物用30mL EtOAc(10mL×3)萃取,并且将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至3/1)纯化,以得到呈白色固体的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(6g,9.81mmol,67.89%产率)。

[0748] 步骤3:

[0749] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(5.5g,8.99mmol,1当量)于DCM(50mL)中的溶液中添加TFA(23.10g,202.59mmol,15mL,22.54当量)。将混合物在20℃下搅拌5小时。将反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液调节至pH=7,并且用600mL EtOAc(200mL×3)萃取,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=0/1至乙酸乙酯/MeOH=3/1)纯化,以得到呈黄色油的[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基](2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸酯(2.5g,4.52mmol,64.45%产率,85%纯度)。

[0750] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.85-4.89(m,1H),4.45-4.47(m,1H),4.02-4.18(m,3H),2.99-3.19(m,2H),2.29-2.31(m,4H),2.07-2.27(m,1H),2.05-2.06(m,1H),1.61-1.66(m,4H),1.50-1.52(m,4H),1.26-1.35(m,30H),0.88(t,J=6.8Hz,6H)。

[0751] 步骤4:

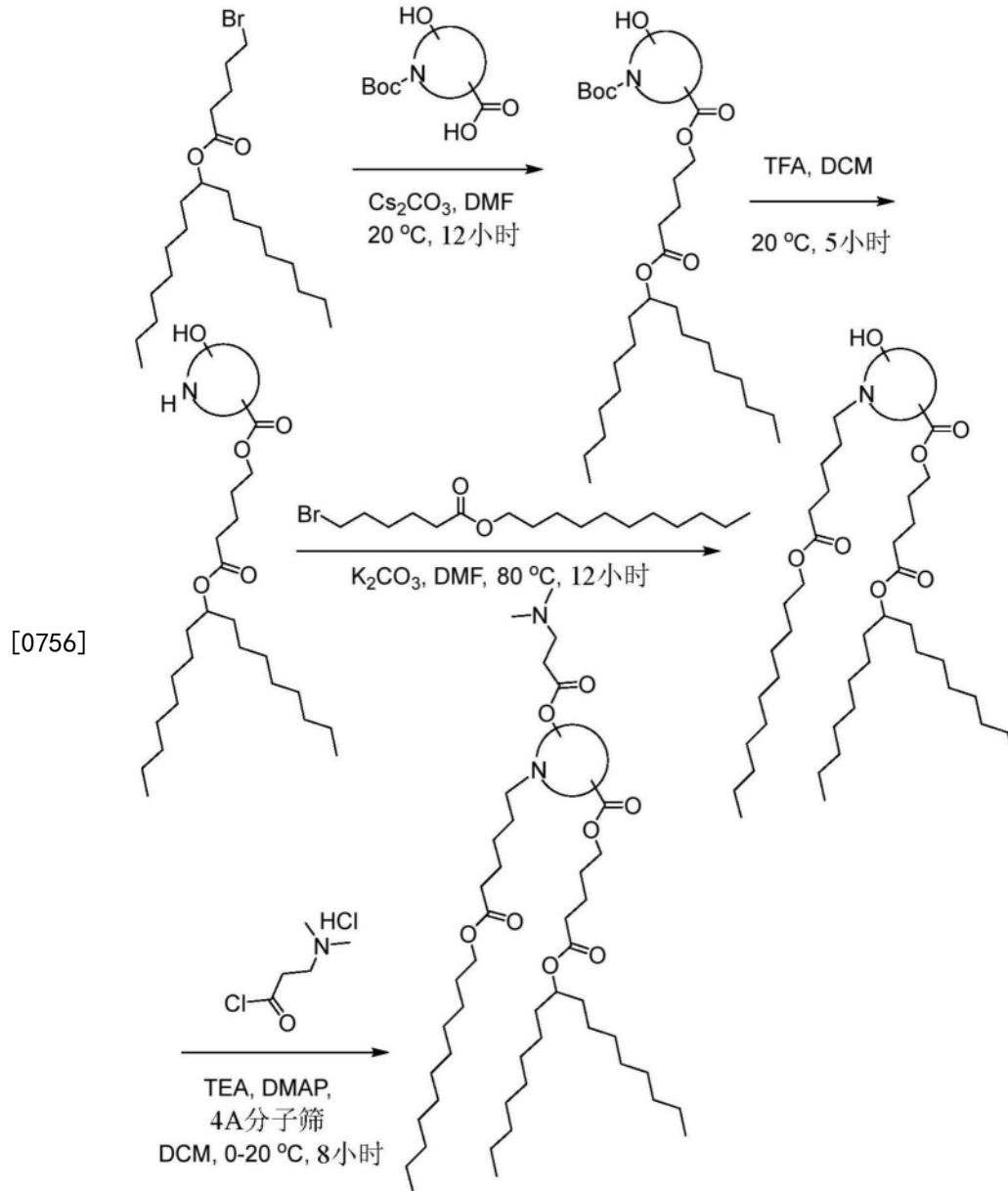
[0752] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g,3.91mmol,1当量)、6-溴己酸十一烷基酯(1.64g,4.69mmol,1.2当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.62g,11.72mmol,3当量)。将混合物在80℃下搅拌8小时。将反应混合物用20mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯/NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O=10/1/1至1/1/0.5)纯化,以得到呈黄色油的2270,(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3g,3.85mmol,98.39%产率,100%纯度)。

[0753] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.84-4.90(m,1H),4.49-4.52(m,1H),4.04-4.39(m,5H),3.05-3.66(m,2H),2.48-2.69(m,2H),1.94-2.32(m,6H),1.60-1.66(m,8H),1.50-1.52(m,6H),1.27-1.34(m,48H),0.89(t,J=6.8Hz,9H)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在2.889分钟处780.5。

[0754] 实例5:用于合成示例性可电离脂质化合物的通用反应方案

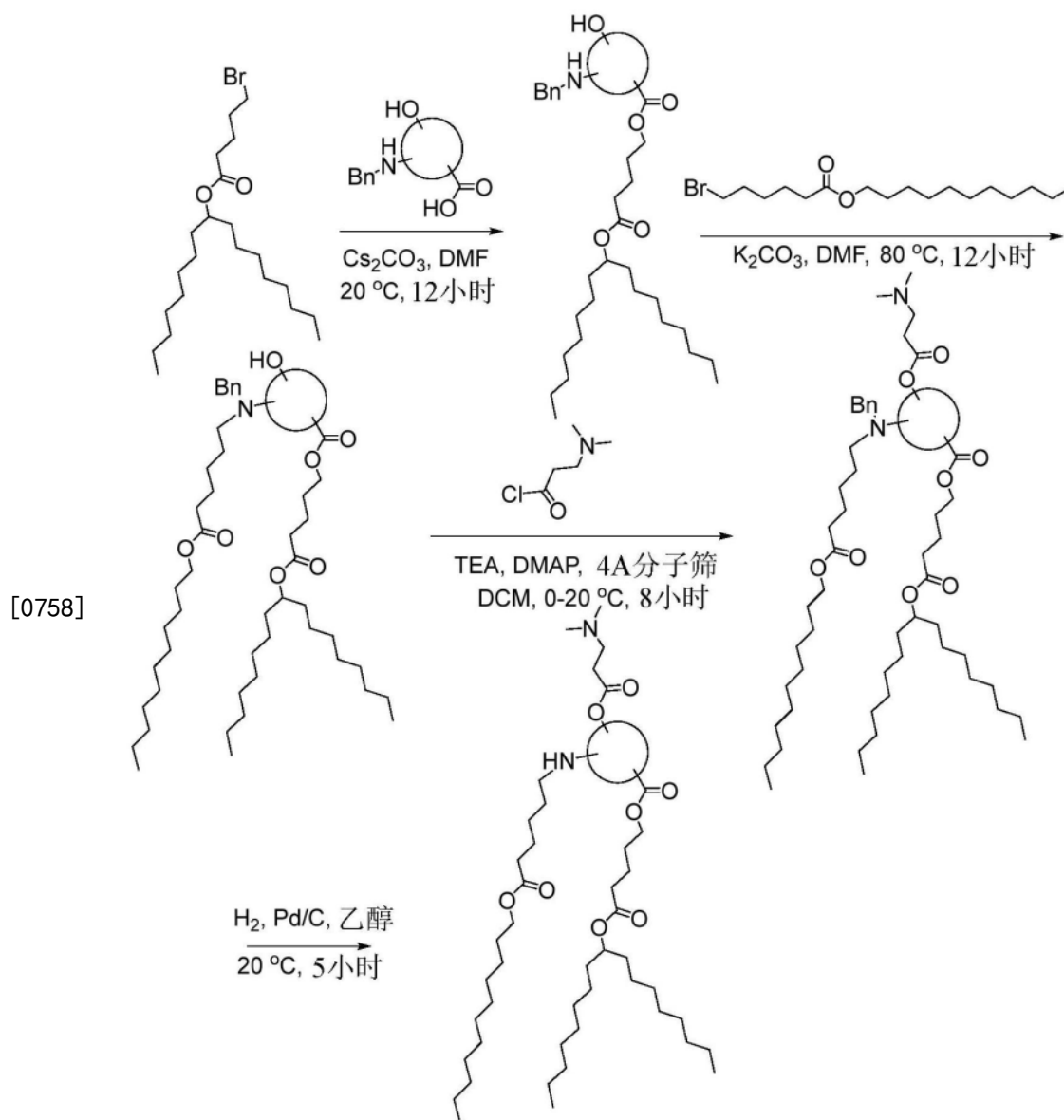
[0755] 用于合成示例性可电离脂质化合物的通用反应方案示出于方案1中,所述示例性

可电离脂质化合物含有杂环核心结构(例如,含N核心)。



### 方案 1

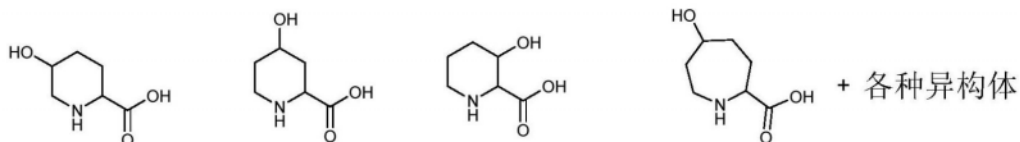
[0757] 用于合成示例性可电离脂质化合物的通用反应方案示出于方案2中,所述示例性可电离脂质化合物含有环烷基核心结构。



## 方案 2

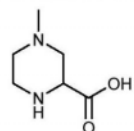
[0759] 在方案1或2中,用于制备示例性可电离脂质化合物的替代性起始杂环或环烷基核心结构的非限制性实例示出于方案3中。

## 杂环核心的示例性起始化合物

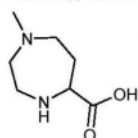


头基或尾基，  
通过烷基或酰胺连接

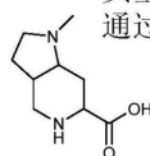
[0760]



头基或尾基，  
通过烷基或酰胺连接

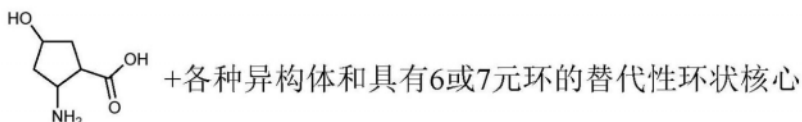


头基或尾基，  
通过烷基或酰胺连接



+各种异构体和具有5,5或5,6  
元环的替代性双环核心

## 环烷基核心的示例性起始化合物



## 方案 3

[0761] 实例6:具有或不具有货物的脂质纳米颗粒组合物的制备

[0762] 示例性脂质纳米颗粒组合物。

[0763] 制备示例性脂质纳米颗粒组合物,以使得可电离脂质:结构脂质:固醇:PEG-脂质的摩尔比分别为50:10:38.5:1.5。例如,此实例中的示例性脂质纳米颗粒组合物示出于下表中。用于每个示例性脂质纳米颗粒组合物的示例性可电离脂质是化合物2230、2231、2260和2270(LNP 2230、LNP 2231、LNP 2260、LNP 2270)。

	脂质	摩尔比
	示例性可电离脂质	50
[0764]	DSPC	10
	胆固醇	38.5
	DMPE-PEG2k	1.5

[0765] 为了制备这些组合物,将根据上表的脂质溶解于乙醇中,以上述摩尔比混合,并在乙醇(有机相)中稀释,以获得5.5mM的总脂质浓度。

[0766] 比较性脂质纳米颗粒组合物。

[0767] 制备含有C12-200 (LNP C12-200) 的脂质纳米颗粒组合物作为对照,以使得C12-200:DOPE:胆固醇(14:0):DMPE-PEG2k的摩尔比分别为35:16:46.5:2.5。C12-200是可商购获得的可电离脂质并具有化学名称1,1'-((2-(4-(2-((2-(双(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)乙基)氮烷二基)双(十二烷-2-醇)。将脂质溶解在乙醇中。将这些脂质以上述指示的摩尔比混合,并在乙醇(有机相)中稀释,以获得5.5mM的总脂质浓度。

[0768] 制备含有MC3 (LNP MC3) 的另一种脂质纳米颗粒组合物作为对照,以使得MC3:DSPC:胆固醇:14:0DMPE-PEG2k的摩尔比分别为50:38.5:10:1.5。MC3是可商购获得的可电

离脂质,具有化学名称4-(二甲基氨基)丁酸(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七烷-6,9,28,31-四烯-19-基酯。将脂质溶解在乙醇中。将脂质溶解在乙醇中。将这些脂质以上述指示的摩尔比混合,并在乙醇(有机相)中稀释,以获得5.5mM的总脂质浓度。

[0769] 包封mRNA的脂质纳米颗粒组合物。

[0770] 用不含RNA酶的水和pH 3的100mM柠檬酸盐缓冲液制备mRNA溶液(水相,fluc:EPO mRNA),以得到最终浓度为50mM的柠檬酸盐缓冲液和0.167mg/mLmRNA浓度(1:1Fluc:EPO)。使调配物的可电离脂质与mRNA维持处于对于LNP C12-200对照,可电离脂质氮:mRNA磷酸酯(N:P)比为率15:1,并且对于示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2230、LNP 2231、LNP 2260、LNP 2270)以及对于LNP MC3对照,可电离脂质氮:mRNA磷酸酯(N:P)比率为6:1。

[0771] 对于每种LNP组合物,将脂质混合物和mRNA溶液分别以1:3体积比在NanoAssemblr Ignite(精密纳米系统有限公司(PrecisionNanosystems))上以9毫升/分钟的总流动速率混合。然后将所得组合物装载到Slide-A-Lyzer G2透析盒(10k MWCO)中,并在轻轻搅拌的情况下,在室温下在200倍样品体积的1x PBS中透析2小时。更新PBS,并且在轻轻搅拌的情况下,使组合物在4°C下进一步透析至少14小时。然后收集经透析的组合物,并且通过使用亚米康公司(Amicon)超离心过滤器(100k MWCO)以2000xg离心进行浓缩。使用ZetasizerUltra(马尔文帕纳科公司(MalvernPanalytical))对经浓缩的颗粒的大小、多分散性和颗粒浓度进行表征,并使用Quant-iT RiboGreen RNA测定试剂盒(赛默飞世尔科技公司(ThermoFisher Scientific))来表征mRNA包封效率。

[0772] 对于pKa测量,根据Sabnis等人,《分子疗法(Molecular Therapy)》,26(6):1509-19(所述文献通过引用整体并入本文)中描述的方法进行TNS测定。简而言之,使用1M氢氧化钠和1M盐酸制备20种具有独特的范围为3.0-12.0的pH值的缓冲液(10mM磷酸钠、10mM硼酸钠、10mM柠檬酸钠和150mM氯化钠,于蒸馏水中)。将3.25 $\mu$ L的LNP组合物(0.04mg/mL mRNA,于PBS中)用2 $\mu$ L的TNS试剂(0.3mM,于DMSO中)和90 $\mu$ L的用于每个pH值的缓冲液(如上所述)在96孔黑色壁板中温育。每个pH条件在三个孔中进行。使用伯腾公司(Biotek)Cytation读板仪在321/445nm的激发/发射波长下测量TNS荧光。然后将荧光值绘图并使用4参数S形曲线拟合。根据拟合,计算产生半最大荧光的pH值,并报告为表观LNP pKa值。

[0773] 下表示出了每种示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2230、LNP 2231、LNP 2260、LNP 2270)的颗粒表征数据。

LNP	大小 (nm)	PDI	包埋效率%	pKa
2230	87.57	0.10	92.4	4.84
2260	62.62	0.14	90	4.72
2270	68.41	0.02	88.7	4.85
2231	91.57	0.05	93.9	5.03

[0775] 实例7:体内生物发光成像

[0776] 本实例中使用根据实例6制备的包封mRNA(EPO)的示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2230、LNP 2231、LNP 2260、LNP 2270)和比较性脂质纳米颗粒组合物(LNP C12-200和LNP MC3)。

[0777] 生物发光筛选。

[0778] 利用8-9周龄雌性Ba1b/c小鼠进行基于生物发光的可电离脂质筛选工作。小鼠从

杰克逊实验室 (Jackson Laboratories) (JAX货号:000651) 获得,并在操作前适应环境一周。将动物放在加热灯下几分钟,之后将其引入限制隔室。将尾巴用酒精片 (费舍尔科技公司 (Fisher Scientific)) 擦拭,并且对于上述每种LNP组合物,使用29G胰岛素注射器 (柯惠医疗公司 (Covidien)) 静脉内注射100 $\mu$ L的含有10 $\mu$ g总mRNA (5 $\mu$ g Fluc+5 $\mu$ g EPO) 的脂质纳米颗粒组合物。给药后4-6小时,向动物注射200 $\mu$ L的15mg/mL D-荧光素 (金生物科技公司 (GoldBio)),并置于IVIS Lumina LT成像仪 (珀金埃尔默公司 (PerkinElmer)) 内的固定鼻锥中。利用LivingImage软件进行成像。在自动曝光时捕获全身生物发光,之后将动物从IVIS中取出并置于CO<sub>2</sub>隔室中进行安乐死。在将每只动物置于背卧位后对其进行心脏穿刺,并使用25G胰岛素注射器 (BD) 进行血液收集。一旦收集了所有的血液样品,就使用台式离心机以2000G旋转试管10分钟,并且将血浆等分到单独的艾本德管 (Eppendorftube) (费舍尔科技公司) 中,并在-80 $^{\circ}$ C下储存以用于后续EPO定量。使用EPO MSD试剂盒 (中尺度诊断公司 (Meso Scale Diagnostics)) 确定血浆中的EPO水平。

[0779] hEPOMSD测量结果。

[0780] 用于测量hEPO水平的试剂包含:

[0781] ●MSD洗涤缓冲液 (#R61AA-1)

[0782] ●MSD EPO试剂盒 (#K151VXK-2)

[0783] ○MSD GOLD 96小点链霉亲和素板

[0784] ○稀释剂100

[0785] ○稀释剂3

[0786] ○稀释剂43

[0787] ○校准品9

[0788] ○捕获Ab

[0789] ○检测Ab

[0790] ○MSD GOLD读取缓冲液B

[0791] 通用程序。对板进行涂覆。将200 $\mu$ L的经生物素化的捕获抗体添加到3.3mL的稀释剂100中,并通过涡旋混合。将25 $\mu$ L的上述溶液添加到所提供的MSD GOLD小点链霉亲和素板的每个孔中。将板用粘附板密封进行密封,并在室温下在振荡的情况下温育1小时或在2-8 $^{\circ}$ C下温育过夜。将板用至少150 $\mu$ L/孔的1X MSD洗涤缓冲液洗涤3次。

[0792] 校准品标准品的制备。将校准品小瓶置于室温下。通过向玻璃小瓶中添加250 $\mu$ L的稀释剂43来重构每个校准品小瓶,从而得到经5倍浓缩的校准品储备液。将经重构的校准品倒置至少3次,并在室温下平衡15-30分钟,并且然后短暂涡旋。通过向200 $\mu$ L的稀释剂43中添加50 $\mu$ L的经重构的校准品并涡旋来制备校准品标准品1。通过向225 $\mu$ L的稀释剂43中添加75 $\mu$ L的校准品标准品1并涡旋来制备校准品标准品2。将四倍系列稀释液另外重复5次,以产生共计7个校准品标准品。每个系列稀释液之间通过涡旋混合。稀释剂43用作校准品标准品8 (零校准品)。

[0793] 样品和校准品添加。将25 $\mu$ L的稀释剂43添加到每个孔中。将25 $\mu$ L的经制备的校准品标准品或样品添加到每个孔中。将板用粘附板密封进行密封,并在室温下在振荡的情况下温育1小时。

[0794] 检测抗体溶液的制备和添加。将检测抗体溶液作为100倍储备溶液提供。工作溶液

为1倍。将60 $\mu$ L的所供应的100倍检测抗体添加到5940 $\mu$ L的稀释剂3中。将板用至少150 $\mu$ L/孔的1倍MSD洗涤缓冲液洗涤3次。将50 $\mu$ L的上述制备的检测抗体溶液添加到每个孔中。将板用粘附板密封进行密封,并在室温下在振荡的情况下温育1小时。

[0795] 样品读数。将板用至少150 $\mu$ L/孔的1倍MSD洗涤缓冲液洗涤3次。将150 $\mu$ L的MSD GOLD读取缓冲液B添加到每个孔中。在MSD仪器上分析板以读取EPO水平。

[0796] 下表中示出了通过体内生物发光成像确定的每个示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2230、LNP 2231、LNP 2260、LNP 2270)的平均辐射水平。

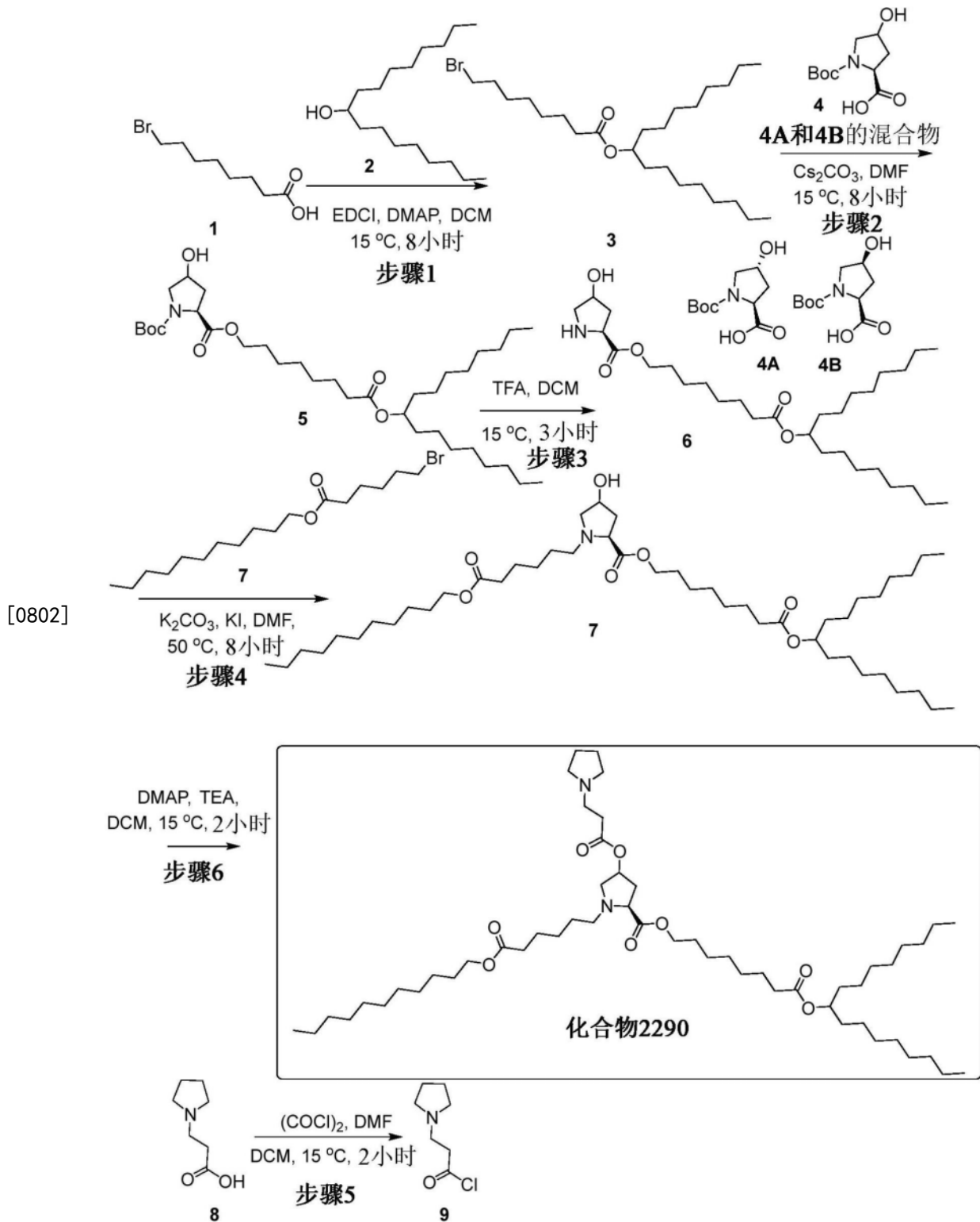
LNP	生物发光			hEPO
	肝	脾	肺	
2230	6.62E+05	1.61E+06	1.02E+04	1.22E+05
2260	6.13E+03	9.73E+03	1.17E+03	2.16E+02
2270	3.02E+03	6.45E+03	1.13E+03	9.09E+01
2231	4.22E+05	3.77E+06	1.83E+04	4.70E+04

[0798] 与比较性脂质纳米颗粒组合物(LNP C12-200、LNP MC3)相比,确定了示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2230、LNP 2231)的脾:肝的平均辐射比率,并且结果示出于图1。如图所示,示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2230、LNP 2231)表现出与比较性脂质纳米颗粒组合物(LNP C12-200、LNP MC3)的脾与肝的比率相比明显较高的脾与肝的比率( $\gg 1v. \ll 0.1$ ),从而表明与比较性脂质纳米颗粒组合物表现出的主要通过肝的标准递送不同,示例性脂质纳米颗粒组合物除了肝递送之外,还表现出令人惊讶的至脾递送的高递送。

[0799] 因此,采用本文所述的新型可电离脂质的脂质纳米颗粒证明了治疗性货物在肝外的选择性递送,并且由于肝中较低的脂质水平,预期具有较低的肝毒性。

[0800] 实例8:示例性可电离脂质化合物的合成。

[0801] 8.1.化合物2290的合成



[0803] 步骤1:

[0804] 向8-溴辛酸(4.35g, 19.50mmol, 1当量)和十七烷-9-醇(5g, 19.50mmol, 1当量)于DCM(100mL)中的溶液中添加EDCI(4.48g, 23.39mmol, 1.2当量)和DMAP(1.19g, 9.75mmol, 0.5当量)。将混合物在15°C下搅拌8小时。将反应混合物在15°C下通过添加200mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用600mL EtOAc(200mL×3)萃取。将合并的有机层用400mL盐水(200mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油

醚/乙酸乙酯=1/0至20/1)纯化,以得到呈无色油的8-溴辛酸1-辛基壬酯(35g,75.83mmol,97.24%产率)。

[0805]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.90 (m, 1H), 3.41 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 2.29 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 1.82-1.88 (m, 2H), 1.62-1.65 (m, 2H), 1.42-1.52 (m, 6H), 1.25-1.36 (m, 28H), 0.89 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 6H)。

[0806] 步骤2:

[0807] 将8-溴辛酸1-辛基壬酯(1g,2.17mmol,1.2当量)、(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(417.51mg,1.81mmol,1当量)、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.29g,3.97mmol,2.2当量)于DMF(10mL)中的混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后将混合物在 $15^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物在 $15^\circ\text{C}$ 下通过添加50mL  $\text{H}_2\text{O}$ 淬灭,并且然后用150mL EtOAc (50mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用100mL盐水(50mL $\times$ 2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=20/1至3/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(4.55g,7.44mmol,82.37%产率)。

[0808]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.18-4.52 (m, 3H), 4.06-4.10 (m, 1H), 3.42-3.72 (m, 2H), 2.21-2.39 (m, 3H), 2.07-2.11 (m, 1H), 1.25-1.67 (m, 48H), 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H)。

[0809] 步骤3:

[0810] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(4.5g,7.35mmol,1当量)于DCM(30mL)中的溶液中添加TFA(23.10g,202.59mmol,15mL,27.55当量)。将混合物在 $15^\circ\text{C}$ 下搅拌3小时。将反应混合物在 $15^\circ\text{C}$ 下通过添加60mL无水 $\text{NaHCO}_3$ 淬灭,并且然后用150mL EtOAc (50mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用100mL盐水(50mL $\times$ 2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3.76g,7.35mmol,100.00%产率)。

[0811] 步骤4:

[0812] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g,3.91mmol,1当量)和6-溴己酸十一烷基酯(1.64g,4.69mmol,1.2当量)于DMF(40mL)中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (1.62g,11.72mmol,3当量)和KI(324.37mg,1.95mmol,0.5当量)。将混合物在 $50^\circ\text{C}$ 下搅拌8小时。将反应混合物在 $15^\circ\text{C}$ 下通过添加50mL  $\text{H}_2\text{O}$ 淬灭并且用150mL EtOAc (50mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用100mL (50mL $\times$ 2)盐水洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=20/1至1/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.6g,2.05mmol,52.48%产率)。

[0813]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.86-4.90 (m, 1H), 4.24-4.53 (m, 1H), 4.04-4.15 (m, 4H), 2.99-3.69 (m, 2H), 1.84-2.84 (m, 8H), 1.59-1.68 (m, 8H), 1.45-1.54 (m, 6H), 1.15-1.44 (m, 50H), 0.89 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 9H)。LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ):在13.579分钟处780.4。

[0814] 步骤5:

[0815] 向3-吡咯烷-1-基丙酸(100mg,698.41 $\mu\text{mol}$ ,1当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加 $(\text{COCl})_2$ (443.23mg,3.49mmol,305.68 $\mu\text{L}$ ,5当量)和DMF(5.10mg,69.84 $\mu\text{mol}$ ,5.37 $\mu\text{L}$ ,0.1当

量)。将混合物在15℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-吡咯烷-1-基丙酰氯(138mg,696.65 $\mu$ mol,99.75%产率,HCl)。

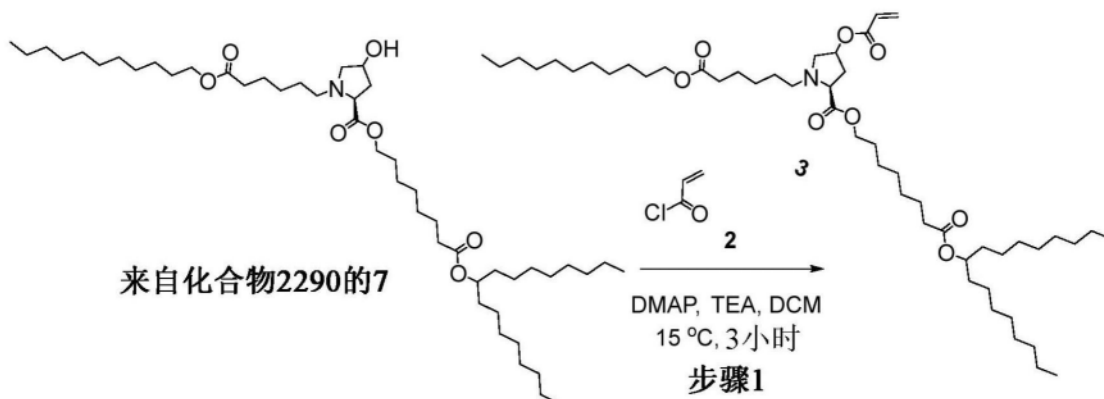
[0816] 步骤6:

[0817] 在15℃下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg,256.34 $\mu$ mol,1当量)、TEA(77.82mg,769.03 $\mu$ mol,107.04 $\mu$ L,3当量)和DMAP(15.66mg,128.17 $\mu$ mol,0.5当量)于DCM(3mL)中的悬浮液中逐滴添加DCM(1mL)中的[3-吡咯烷-1-基丙酰氯(126.95mg,640.85 $\mu$ mol,2.5当量,HCl)。将混合物在15℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将反应混合物在15℃下通过添加10mL饱和NaHCO<sub>3</sub>淬灭,并且然后用30mL EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用20mL盐水(10mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,EtOAc:MeOH=10:1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-(3-吡咯烷-1-基丙酰氧基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(100mg,108.24 $\mu$ mol,49.00%产率,98%纯度)。

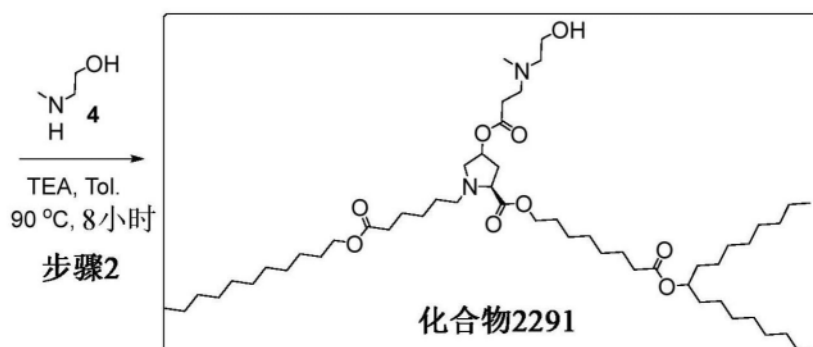
[0818] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 5.19-5.31(m,1H), 4.84-4.89(m,1H), 4.04-4.15(m,4H), 3.43-3.55(m,1H), 3.09-3.26(m,1H), 2.49-2.81(m,10H), 2.24-2.36(m,5H), 1.95-2.22(m,1H), 1.80(s,3H), 1.59-1.68(m,8H), 1.44-1.54(m,6H), 1.12-1.42(m,50H), 0.85-0.93(m,9H)。

[0819] LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在1.950/2.035分钟处905.4。

[0820] 8.2.化合物2291的合成



[0821]



[0822] 步骤1:

[0823] 向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1g,1.28mmol,1当量)、TEA(648.47mg,6.41mmol,891.99 $\mu$ L,5当量)和

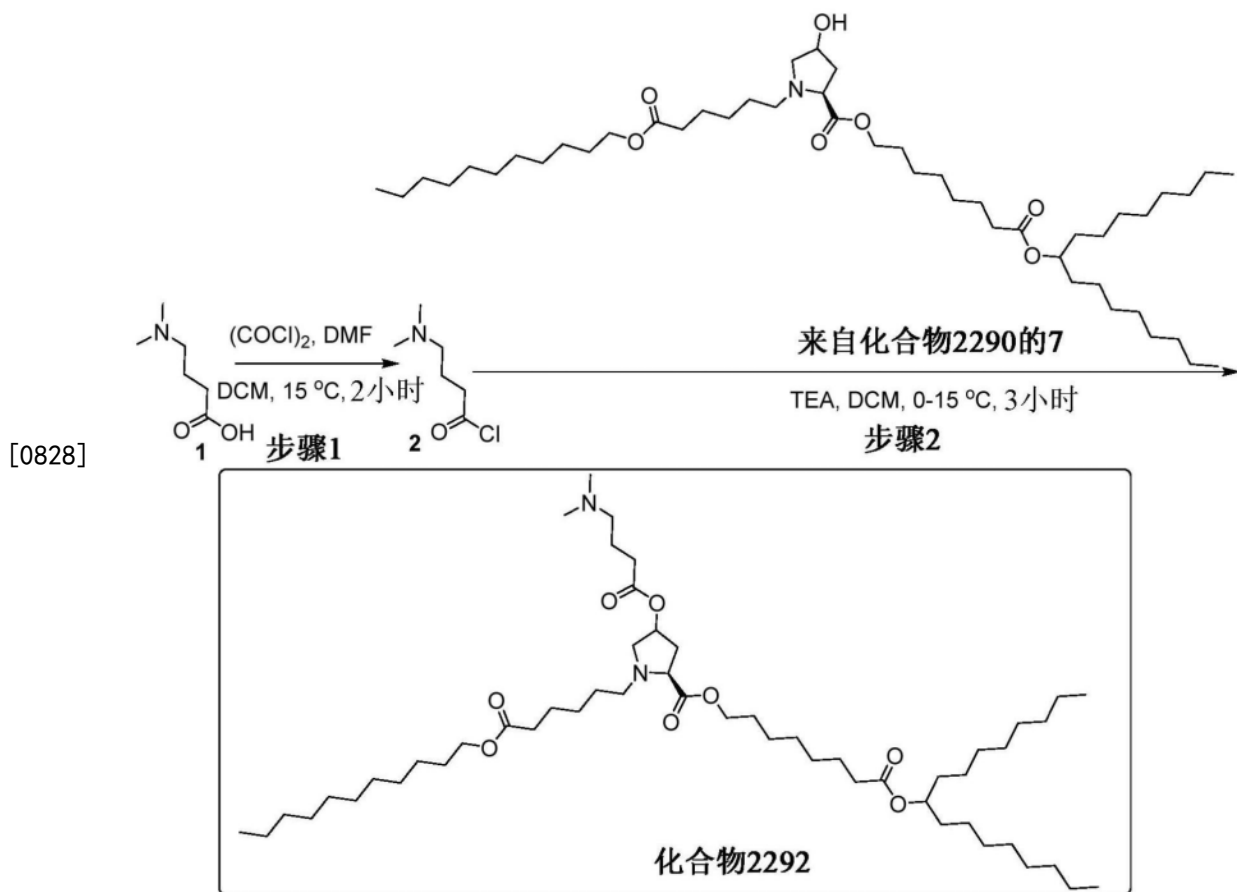
DMAP (78.29mg, 640.85 $\mu$ mol, 0.5当量)于DCM (9mL)中的悬浮液中逐滴添加丙-2-烯酰氯 (464.02mg, 5.13mmol, 418.04 $\mu$ L, 4当量)于DCM (3mL)中的溶液。将混合物在15 $^{\circ}$ C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌3小时。将反应混合物在15 $^{\circ}$ C下通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用30mL EtOAc (10mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用20mL盐水 (10mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至8/1)纯化,以得到呈无色油的 (2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-丙-2-烯酰氧基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (300mg, 359.60 $\mu$ mol, 28.06%产率)。

[0824] 步骤2:

[0825] 将 (2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-丙-2-烯酰氧基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (300mg, 359.60 $\mu$ mol, 1当量)、2-(甲基氨基)乙醇 (27.01mg, 359.60 $\mu$ mol, 28.89 $\mu$ L, 1当量)于甲苯 (3mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后将混合物在90 $^{\circ}$ C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC (柱:菲罗门公司Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%,10分钟)纯化,以得到溶液。将溶液用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节pH=约7,用EtOAc (20mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水 (20mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且将滤液在减压下浓缩,以得到呈无色油的 (2S)-4-[3-[2-羟乙基(甲基)氨基]丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (30mg, 32.59 $\mu$ mol, 9.06%产率, 98.8%纯度)。

[0826] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.15-5.31 (m, 1H), 4.81-4.93 (m, 1H), 4.01-4.18 (m, 4H), 3.39-3.72 (m, 3H), 3.04-3.31 (m, 1H), 1.97-2.88 (m, 18H), 1.59-1.66 (m, 8H), 1.47-1.55 (m, 6H), 1.23-1.38 (m, 48H), 0.84-0.95 (m, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>):在9.772分钟处909.7。

[0827] 8.3.化合物2292的合成



[0829] 步骤1:

[0830] 向3-(二甲基氨基)丙酸(100mg, 651.01 $\mu$ mol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(354.59mg, 2.79mmol, 244.55 $\mu$ L, 4当量)和DMF(5.10mg, 69.84 $\mu$ mol, 5.37 $\mu$ L, 0.1当量)。将混合物在15 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(112mg, 650.96 $\mu$ mol, 99.99%产率, HCl)。

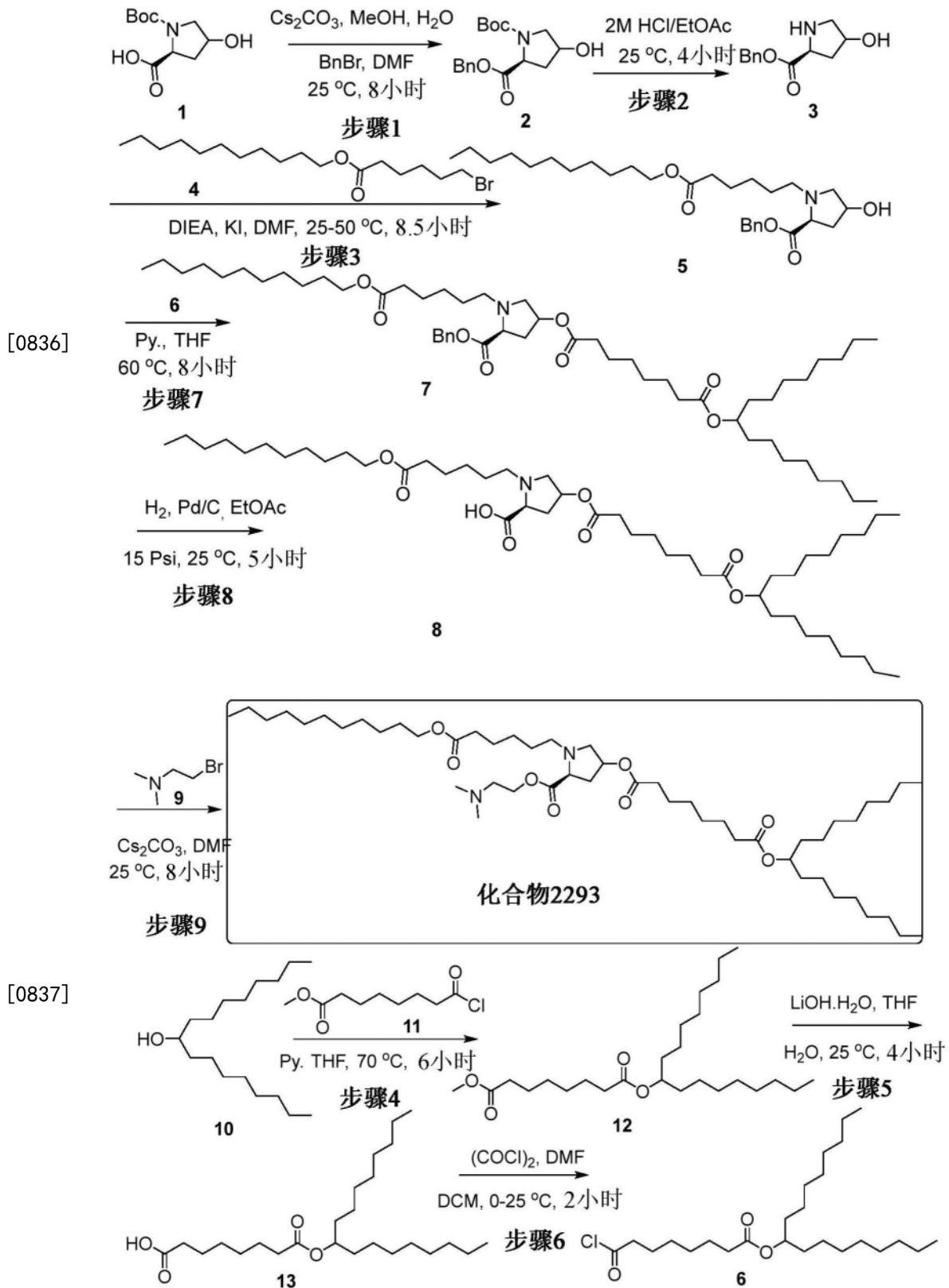
[0831] 步骤2:

[0832] 在0 $^{\circ}$ C下,向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg, 256.34 $\mu$ mol, 1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加TEA(129.69mg, 1.28mmol, 178.40 $\mu$ L, 5当量)和3-(二甲基氨基)丙酰氯(112mg, 650.96 $\mu$ mol, 2.54当量, HCl)。将混合物在15 $^{\circ}$ C下搅拌3小时。将反应混合物在15 $^{\circ}$ C下通过添加10mL NaHCO<sub>3</sub>淬灭,并且然后用30mL EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用20mL盐水(10mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>, EtOAc:MeOH=10:1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-[4-(二甲基氨基)丁酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(33mg, 36.42 $\mu$ mol, 14.7%产率, 98.6%纯度)。

[0833] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.11-5.34(m, 1H), 4.84-4.90(m, 1H), 4.03-4.14(m, 4H), 3.43-3.54(m, 1H), 3.09-3.25(m, 1H), 2.03-2.77(m, 19H), 1.77-1.82(m, 2H), 1.60-1.65(m, 8H), 1.49-1.52(m, 6H), 1.27-1.34(m, 48H), 0.87-0.90(m, 9H)。

[0834] LCMS: (M/2+1): 在10.022分钟处893.4。

[0835] 8.4. 化合物2293的合成



[0838] 步骤1:

[0839] 将(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(10g, 43.24mmol, 1当量)于MeOH(50mL)和H<sub>2</sub>O(20mL)中的溶液用碳酸二铯(8.45g, 25.95mmol, 0.6当量)调节至pH=7.0。将混合物在减压下浓缩以得到残余物。将残余物溶解于DMF(100mL),然后在25°C下添加BnBr(7.40g, 43.24mmol, 5.14mL, 1当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后在25°C下在N<sub>2</sub>

气氛下搅拌8小时。将反应混合物用50mL H<sub>2</sub>O稀释,用300mL EtOAc(100mL×3)萃取。将合并的有机层用100mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=8/1至2/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O<sub>2</sub>-苄酯O<sub>1</sub>-叔丁酯(13g,40.45mmol,93.54%产率)。

[0840] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),7.31-7.40(m,5H),4.99-5.16(m,3H),4.23-4.29(m,2H),3.35-3.55(m,1H),3.10-3.30(m,1H),2.10-2.40(m,1H),1.80-1.90(m,1H),1.20-1.40(m,9H)。

[0841] 步骤2:

[0842] 在20℃下向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O<sub>2</sub>-苄酯O<sub>1</sub>-叔丁酯(13g,40.45mmol,1当量)于EtOAc(80mL)中的溶液中逐滴添加HCl/EtOAc(4M,80mL,7.91当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌4小时。将反应混合物过滤,并且收集残余物并且在减压下浓缩,以得到呈白色固体的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸苄酯(9g,34.92mmol,86.33%产率,HCl)。

[0843] 步骤3:

[0844] 在25℃下向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸苄酯(1g,3.88mmol,1当量,HCl)于DMF(70mL)中的溶液中添加DIEA(1.00g,7.76mmol,1.35mL,2当量),并且在N<sub>2</sub>气氛下搅拌0.5小时。向混合物中添加6-溴己酸十一烷基酯(1.36g,3.88mmol,1当量)和KI(128.83mg,776.06μmol,0.2当量),并且在50℃在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物用50mL H<sub>2</sub>O稀释,用300mL EtOAc(150mL×2)萃取。将合并的有机层用200mL盐水(100mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至5/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸苄酯(2.8g,5.72mmol,49.12%产率)。

[0845] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),7.25-7.55(m,5H),5.14-5.25(m,2H),4.25~4.48(m,1H),4.05(t,J=6.8Hz,2H),3.15-3.65(m,2H),2.55-2.75(m,1H),2.40-2.55(m,1H),2.30-2.40(m,1H),2.20-2.30(m,2H),2.05-2.15(m,1H),1.90-2.00(m,1H),1.55-1.75(m,4H),1.40-1.50(m,2H),1.20-1.35(m,18H),0.89(t,J=6.4Hz,3H)。

[0846] 步骤4:

[0847] 将8-氯-8-氧代-辛酸甲酯(3.22g,15.60mmol,2.21mL,1当量)、十七烷-9-醇(4g,15.60mmol,1当量)和吡啶(1.23g,15.60mmol,1.26mL,1当量)于THF(20mL)中的混合物在70℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌6小时。将反应混合物过滤,并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至20/1)纯化,以得到呈无色油的辛二酸O<sub>1</sub>-甲酯O<sub>8</sub>-(1-辛基壬基)酯(3.6g,8.44mmol,54.10%产率)。

[0848] 步骤5:

[0849] 在25℃下向辛二酸O<sub>1</sub>-甲酯O<sub>8</sub>-(1-辛基壬基)酯(3.6g,8.44mmol,1当量)于THF(15mL)中的溶液中逐滴添加H<sub>2</sub>O(1mL)中的LiOH·H<sub>2</sub>O(424.88mg,10.12mmol,1.2当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌4小时。将反应混合物用500mL H<sub>2</sub>O稀释,用60mL EtOAc(30mL×2)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至5/1)纯化,以得到呈无色油的8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛酸(2.1g,5.09mmol,60.32%产率)。

[0850] 步骤6:

[0851] 在0℃下向8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛酸(2.1g, 5.09mmol, 1当量)于DCM(25mL)中的溶液中逐滴添加(COCl)<sub>2</sub>(3.23g, 25.45mmol, 2.23mL, 5当量)和DMF(37.20mg, 508.91μmol, 39.15μL, 0.1当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈无色油的粗产物8-氯-8-氧代-辛酸1-辛基壬酯(2.3g, 粗产物),并且在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[0852] 步骤7:

[0853] 将(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸苄酯(0.4g, 816.85μmol, 1当量)、8-氯-8-氧代-辛酸1-辛基壬酯(704.27mg, 1.63mmol, 2当量)和吡啶(64.61mg, 816.85μmol, 65.93μL, 1当量)于THF(15mL)中的混合物在60℃在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物过滤,并且将滤液用10mL H<sub>2</sub>O稀释,然后用60mL EtOAc(30mL×2)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至10/1)纯化,以得到呈无色油的辛二酸01-[(5S)-5-苄氧基羰基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-3-基]酯08-(1-辛基壬基)酯(330mg, 373.17μmol, 45.68%产率)。

[0854] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.31-7.39(m, 5H), 5.14-5.25(m, 3H), 4.85-4.89(m, 1H), 4.06(t, J=6.8Hz, 2H), 3.10-3.55(m, 2H), 2.20-2.75(m, 11H), 2.05-2.20(m, 1H), 1.58-1.75(m, 6H), 1.40-1.55(m, 6H), 1.20-1.35(m, 48H), 0.89(t, J=6.4Hz, 9H)。

[0855] 步骤8:

[0856] 向Pd/C(500mg, 10%纯度)于EtOAc(400mL)中的溶液中添加辛二酸01-[(5S)-5-苄氧基羰基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-3-基]酯08-(1-辛基壬基)酯(500mg, 565.41μmol, 1当量)。将混合物在25℃下在H<sub>2</sub>下在15Psi下搅拌5小时。将混合物过滤,并将滤液在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛酰]氧基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸(350mg, 粗产物)。

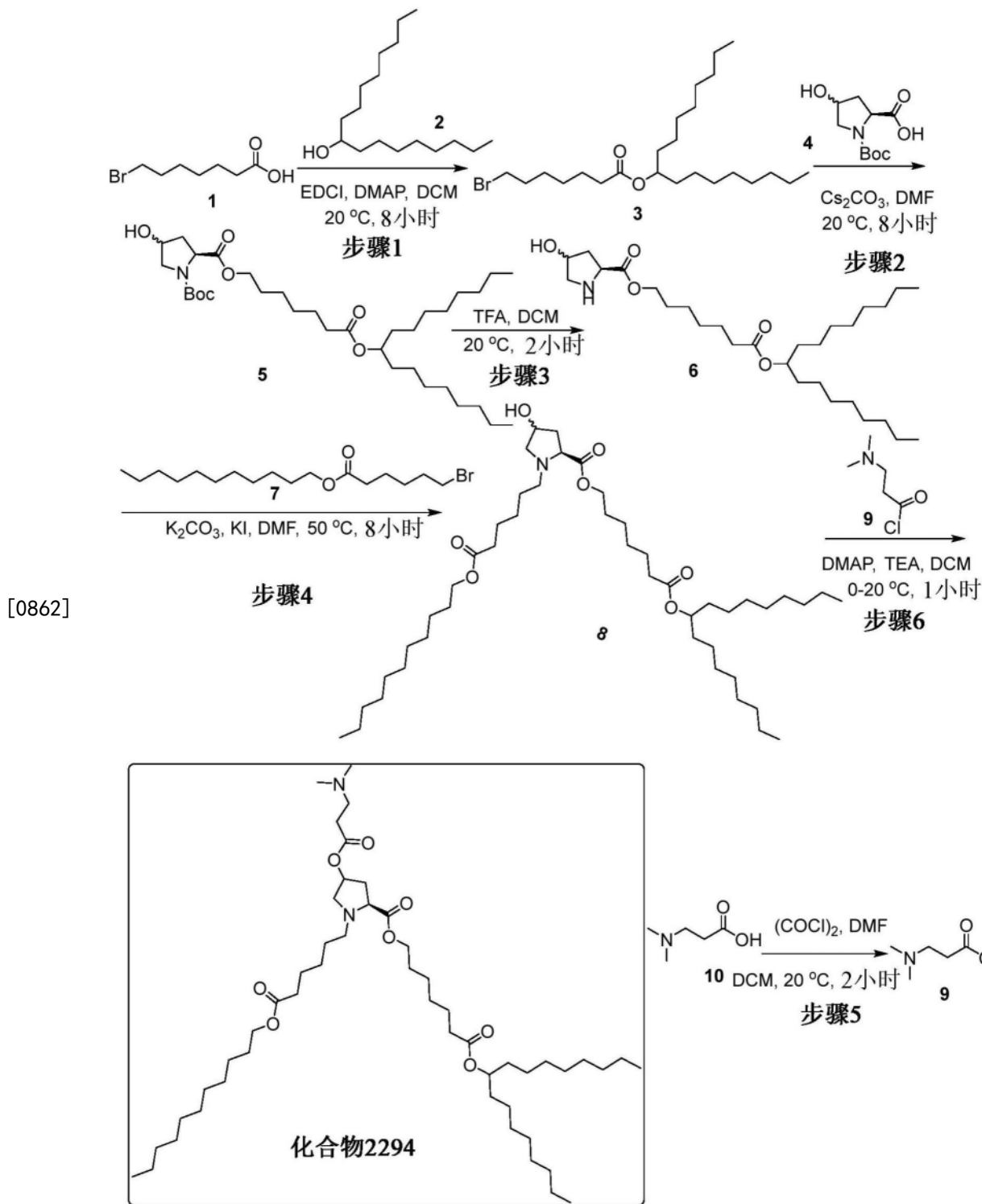
[0857] 步骤9:

[0858] 向(2S)-4-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛酰]氧基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸(200mg, 251.83μmol, 1当量)和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(164.10mg, 503.66μmol, 2当量)于DMF(5mL)中的溶液中添加2-溴-N,N-二甲基-乙胺(45.94mg, 302.19μmol, 1.2当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(10mL)中,用EtOAc(10mL×3)萃取。将有机层用盐水(10mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)以及通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>, 乙酸乙酯:MeOH=1:0, 添加1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈无色油的辛二酸01-[(5S)-5-[2-(二甲基氨基)乙氧基羰基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-3-基]酯08-(1-辛基壬基)酯(125mg, 143.01μmol, 56.79%产率, 99%纯度)。

[0859] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.14-5.25(m, 1H), 4.85-4.89(m, 1H), 4.23-4.28(m, 2H), 4.05(t, J=6.8Hz, 2H), 3.10-3.60(m, 2H), 2.25-2.80(m, 18H), 2.00-2.10(m, 1H), 1.58-1.65(m, 8H), 1.40-1.55(m, 6H), 1.20-1.35(m, 46H), 0.89(t, J=6.4Hz, 9H)。

[0860] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在10.196/10.709分钟处865.7。

[0861] 8.5. 化合物2294的合成



[0863] 步骤1:

[0864] 向十七烷-9-醇 (10g, 38.99mmol, 1当量) 和7-溴庚酸 (8.82g, 42.17mmol, 1.08当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加DMAP (2.38g, 19.50mmol, 0.5当量) 和EDCI (8.97g, 46.79mmol, 1.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (200mL) 中, 用EtOAc (50mL × 3) 萃取。将有机层用盐水 (50mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色油的7-溴庚酸1-辛基壬酯 (12g, 26.81mmol, 68.77%产率)。

[0865] 步骤2:

[0866] 向(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(950mg, 4.11mmol, 1当量)和7-溴庚酸1-辛基壬酯(2.02g, 4.52mmol, 1.1当量)于DMF(50mL)中的溶液中添加 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (2.94g, 9.04mmol, 2.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到 $\text{H}_2\text{O}$ (50mL)中,用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[7-(1-辛基壬氧基)-7-氧代-庚基]酯(1.5g, 2.51mmol, 61.07%产率)。

[0867] 步骤3:

[0868] 将(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(1.5g, 2.40mmol, 1当量)于DCM(30mL)和TFA(6.93g, 60.78mmol, 4.50mL, 25.36当量)中的溶液在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物。将残余物用EtOAc(20mL)溶解,并且将有机层用饱和 $\text{NaHCO}_3$ (50mL×4)、盐水(20mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(1g, 1.90mmol, 79.36%产率)。

[0869] 步骤4:

[0870] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[7-(1-辛基壬氧基)-7-氧代-庚基]酯(0.5g, 1.00mmol, 1当量)、 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (416.49mg, 3.01mmol, 3当量)和KI(83.38mg, 502.26 $\mu\text{mol}$ , 0.5当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加6-溴己酸十一烷基酯(386.02mg, 1.10mmol, 1.1当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将混合物添加到 $\text{H}_2\text{O}$ (20mL),用EtOAc(20mL×3)萃取,并且将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,并且通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu\text{m}$ ;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:55%-85%,10分钟)纯化,以得到溶液。向溶液中添加饱和 $\text{NaHCO}_3$ 直到pH=约7,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[7-(1-辛基壬氧基)-7-氧代-庚基]酯(1g, 1.31mmol, 64.96%产率)。

[0871]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.91(m, 1H), 4.25-4.55(m, 1H), 4.04-4.20(m, 4H), 3.05-3.75(m, 2H), 1.91-2.85(m, 9H), 1.60-1.70(m, 8H), 1.45-1.55(m, 6H), 1.20-1.40(m, 46H), 0.89(t, J=6.4Hz, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在13.405分钟处766.4。

[0872] 步骤5:

[0873] 向3-(二甲基氨基)丙酸(300mg, 1.95mmol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加 $(\text{COCl})_2$ (991.60mg, 7.81mmol, 683.86 $\mu\text{L}$ , 4当量)和DMF(14.27mg, 195.30 $\mu\text{mol}$ , 15.03 $\mu\text{L}$ , 0.1当量),在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(336mg, 1.95mmol, 99.99%产率, HCl)。

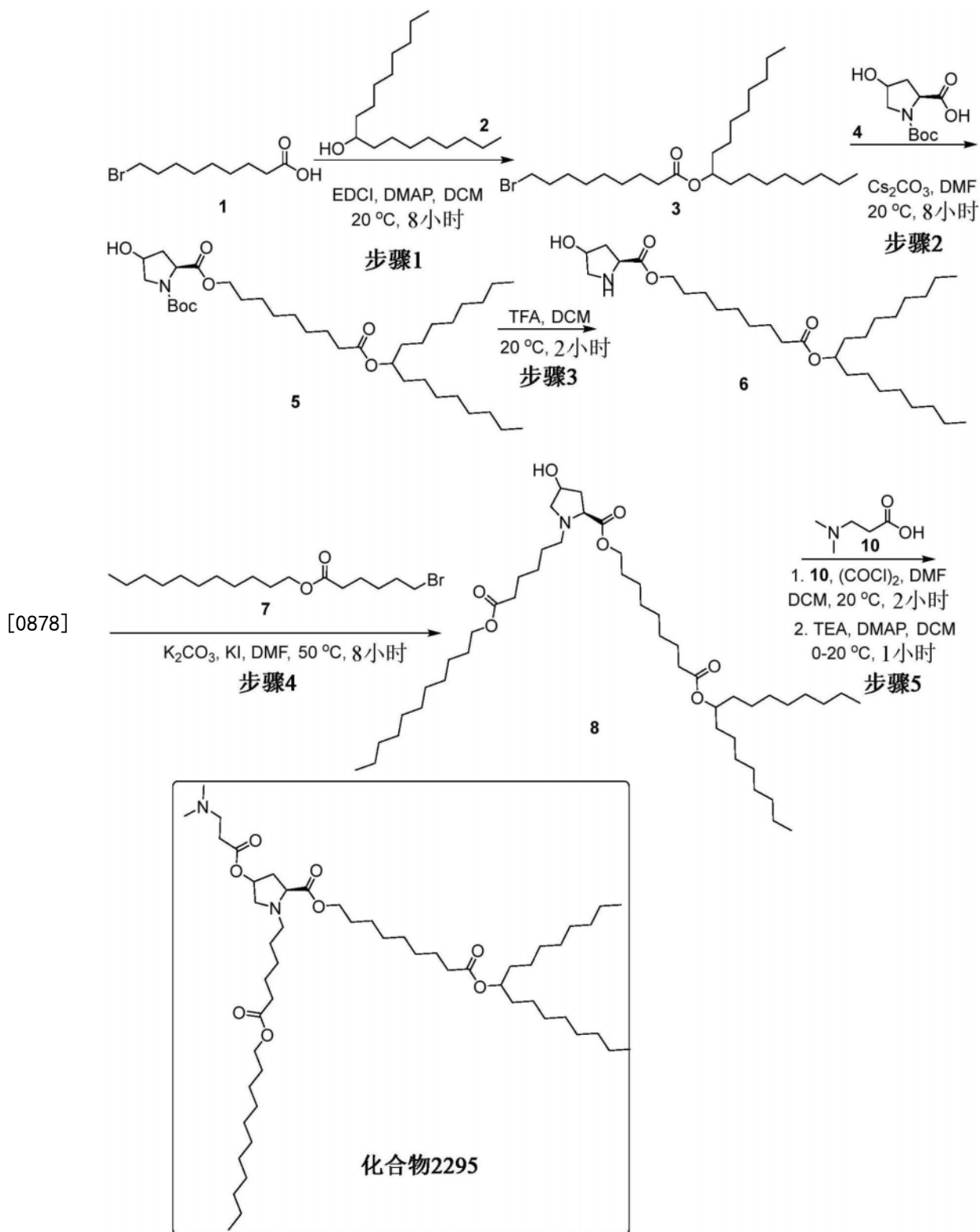
[0874] 步骤6:

[0875] 在 $\text{N}_2$ 下在0℃下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[7-(1-辛基壬氧基)-7-氧代-庚基]酯(200mg, 261.03 $\mu\text{mol}$ , 1当量)、DMAP(15.95mg, 130.52 $\mu\text{mol}$ , 0.5当量)和TEA(132.07mg, 1.31mmol, 181.66 $\mu\text{L}$ , 5当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加

3-(二甲基氨基)丙酰氯(112.00mg, 650.96 $\mu$ mol, 2.49当量, HCl), 并且然后将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)中, 并且用EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(10mL $\times$ 2)洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)纯化, 并且通过制备型HPLC(柱: 菲罗门公司Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m; 流动相: [水(HCl)-ACN]; B%: 45%-75%, 10分钟)纯化, 以得到溶液。向溶液中添加饱和NaHCO<sub>3</sub>直到pH=约7, 并且用EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(20mL $\times$ 2)洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[7-(1-辛基壬氧基)-7-氧代-庚基]酯(70mg, 80.90 $\mu$ mol, 30.99%产率, 100%纯度)。

[0876] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.28(m, 1H), 4.83-4.90(m, 1H), 4.03-4.15(m, 4H), 3.43-3.55(m, 1H), 3.09-3.27(m, 1H), 2.00-2.80(m, 17H), 1.55-1.70(m, 8H), 1.45-1.55(m, 6H), 1.20-1.40(m, 48H), 0.86-0.90(m, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在9.871/9.920分钟处865.4。

[0877] 8.6. 化合物2295的合成



[0879] 步骤1:

[0880] 向十七烷-9-醇 (10g, 38.99mmol, 1当量) 和9-溴壬酸 (10g, 42.17mmol, 1.08当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加DMAP (2.38g, 19.50mmol, 0.5当量) 和EDCI (8.97g, 46.79mmol, 1.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (200mL) 中, 并且用EtOAc (100mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (100mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色

油的9-溴壬酸1-辛基壬酯(15g,31.54mmol,80.89%产率)。

[0881] 步骤2:

[0882] 向(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(5g,21.62mmol,1当量)和9-溴壬酸1-辛基壬酯(12.34g,25.95mmol,1.2当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (15.50g,47.57mmol,2.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到 $\text{H}_2\text{O}$ (200mL)中,并且用EtOAc(100mL×3)萃取。将有机层用盐水(100mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(10g,15.98mmol,73.89%产率)。

[0883]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.85-4.89(m,1H),4.05-4.55(m,4H),3.40-3.80(m,2H),2.25-2.40(m,3H),2.05-2.15(m,1H),1.60-1.75(m,4H),1.40-1.60(m,14H),1.20-1.35(m,32H),0.88(t,J=6.4Hz,6H)。

[0884] 步骤3:

[0885] 将(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(10g,15.98mmol,1当量)于DCM(60mL)和TFA(57.75g,506.48mmol,37.50mL,31.70当量)中的溶液在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物。将残余物用EtOAc(100mL)溶解,用饱和 $\text{NaHCO}_3$ (200mL×2)和盐水(200mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(7g,粗产物)。

[0886] 步骤4:

[0887] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(2g,3.80mmol,1当量)、 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (1.58g,11.41mmol,3当量)和KI(315.71mg,1.90mmol,0.5当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加6-溴己酸十一烷基酯(1.59g,4.56mmol,1.2当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将混合物添加到 $\text{H}_2\text{O}$ (20mL)中,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,并且通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu\text{m}$ ;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:55%-80%,10分钟)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(2g,2.52mmol,66.20%产率)。

[0888]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.85-4.90(m,1H),4.20-4.55(m,1H),4.00-4.15(m,4H),3.05-3.60(m,2H),1.90-2.80(m,9H),1.55-1.75(m,8H),1.45-1.55(m,6H),1.20-1.40(m,50H),0.88(t,J=6.4Hz,9H)。

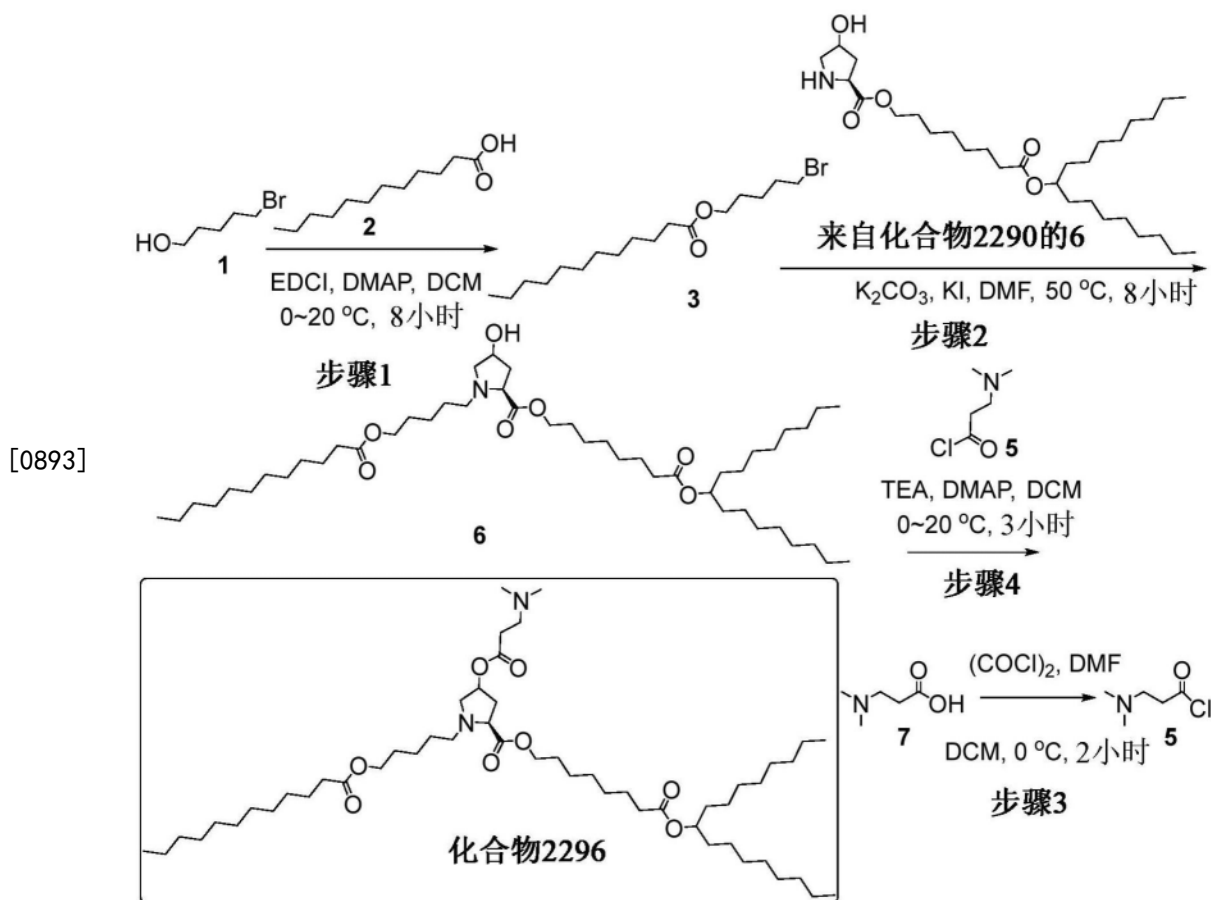
[0889] 步骤5:

[0890] 向3-(二甲基氨基)丙酸(100mg,651.01 $\mu\text{mol}$ ,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加 $(\text{COCl})_2$ (330.53mg,2.60mmol,227.95 $\mu\text{L}$ ,4当量)和DMF(4.76mg,65.10 $\mu\text{mol}$ ,5.01 $\mu\text{L}$ ,0.1当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(112mg,粗产物,HCl)。然后在 $\text{N}_2$ 下在0℃下将3-(二甲基氨基)丙酰氯(112mg,650.96 $\mu\text{mol}$ ,2.59当量,HCl)添加到(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(200mg,251.81 $\mu\text{mol}$ ,1当量)、DMAP

(15.38mg, 125.91 $\mu$ mol, 0.5当量)和TEA(127.41mg, 1.26mmol, 175.25 $\mu$ L, 5当量)于DCM(5mL)中的溶液中,并且然后将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)中,并且用EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(10mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)纯化,并且通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,乙酸乙酯/MeOH=5:1,添加3%NH<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O)进一步纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[9-(1-辛基壬氧基)-9-氧代-壬基]酯(100mg, 108.58 $\mu$ mol, 43.12%产率, 97%纯度)。

[0891] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.29(m, 1H), 4.85-4.89(m, 1H), 4.03-4.18(m, 4H), 3.44-3.55(m, 1H), 3.09-3.26(m, 1H), 2.05-2.80(m, 19H), 1.60-1.65(m, 8H), 1.45-1.55(m, 6H), 1.18-1.40(m, 50H), 0.86-0.91(m, 9H)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在10.397/10.417分钟处893.5。

[0892] 8.7. 化合物2296的合成



[0894] 步骤1:

[0895] 在0 $^{\circ}$ C下向5-溴戊-1-醇(10g, 59.86mmol, 1当量)和十二烷酸(12.59g, 62.86mmol, 1.05当量)于DCM(100mL)中的溶液中添加EDCI(22.95g, 119.73mmol, 2当量)和DMAP(3.66g, 29.93mmol, 0.5当量)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌8小时。在0 $^{\circ}$ C下将反应混合物通过添加mL的H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用300mL EtOAc(100mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用300mL饱和盐水(100mL $\times$ 3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=100/1至5/1)纯化,以得到呈白色固体的十二烷酸5-溴戊酯(15g, 42.94mmol, 71.72%产率)。

[0896] 步骤2:

[0897] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(800mg, 1.56mmol, 1当量)于DMF(10mL)中的溶液中添加 $K_2CO_3$ (648.13mg, 4.69mmol, 3当量)和KI(129.75mg, 781.59 $\mu$ mol, 0.5当量)。然后将十二烷酸5-溴戊酯(600.70mg, 1.72mmol, 1.1当量)添加到混合物中。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加20mL  $H_2O$ 淬灭,并且然后用60mL EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用60mL饱和盐水(20mL $\times$ 3)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-1-(5-十二烷酰氧基戊基)-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(820mg, 1.05mmol, 67.23%产率)。

[0898] 步骤3:

[0899] 在0℃下向3-(二甲基氨基)丙酸(400mg, 2.60mmol, 1当量, HCl)于DCM(10mL)中的溶液中添加DMF(9.52mg, 130.20 $\mu$ mol, 10.02 $\mu$ L, 0.05当量)和 $(COCl)_2$ (396.63mg, 3.12mmol, 273.54 $\mu$ L, 1.2当量)。将混合物在0℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(450mg, 粗产物, HCl)。

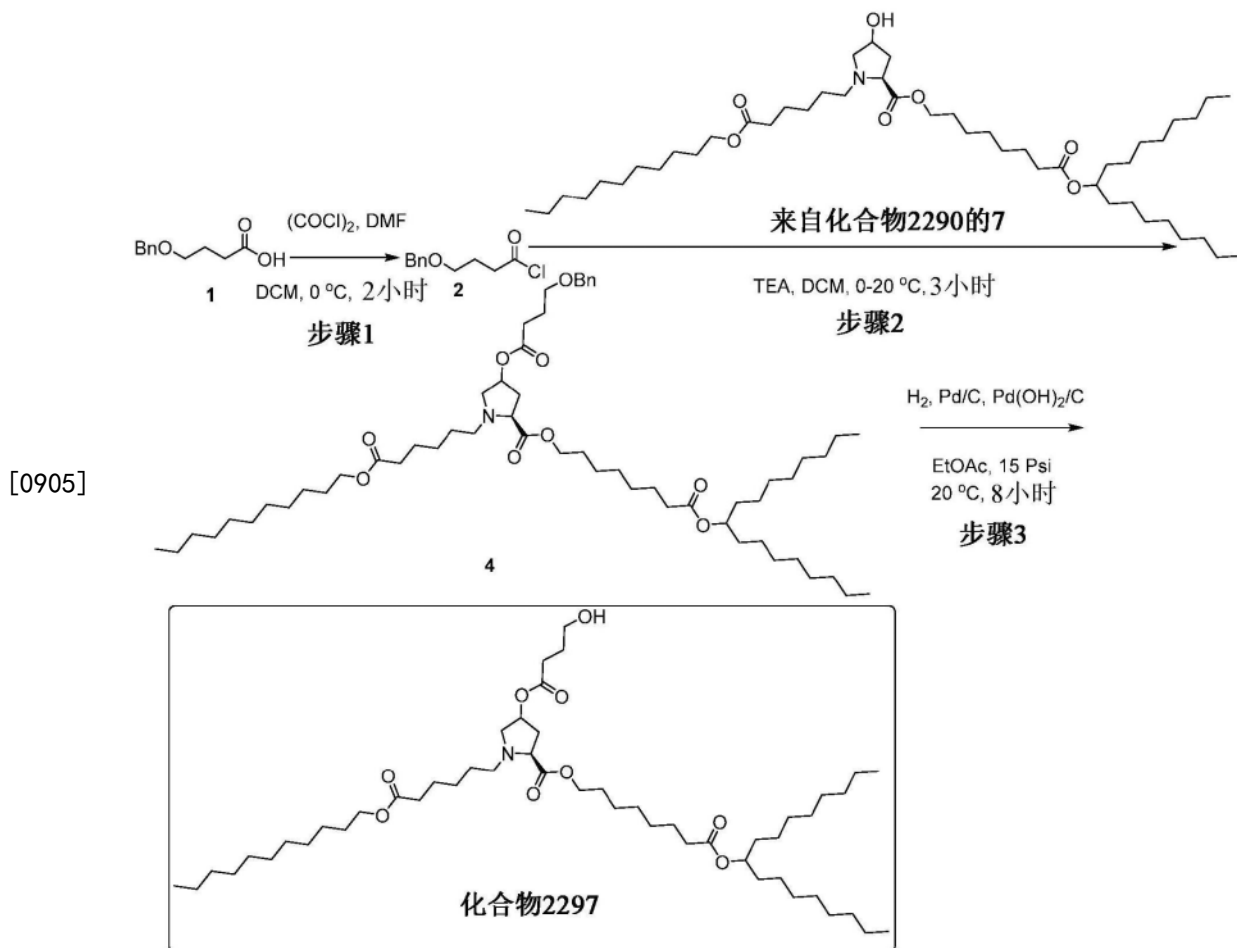
[0900] 步骤4:

[0901] 在0℃下向(2S)-1-(5-十二烷酰氧基戊基)-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(400mg, 512.68 $\mu$ mol, 1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加TEA(518.78mg, 5.13mmol, 713.59 $\mu$ L, 10当量)和3-(二甲基氨基)丙酰氯(352.83mg, 2.05mmol, 4当量, HCl)。将混合物在20℃下搅拌3小时。将反应混合物在0℃下通过添加10mL  $H_2O$ 淬灭,并且然后用30mL EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(10mL $\times$ 3)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%,10分钟)纯化,以得到溶液。将溶液用饱和 $NaHCO_3$ 调节至pH=8,并且用30mL EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(5-十二烷酰氧基戊基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(108mg, 51.58 $\mu$ mol, 10.06%产率, 42%纯度)。

[0902]  $^1H$  NMR(400MHz,  $CDCl_3$ ), 5.21-5.28(m, 1H), 4.84-4.88(m, 1H), 4.10-4.13(m, 2H), 4.06(t, J=6.8Hz, 2H), 3.12-3.55(m, 2H), 1.97-2.35(m, 7H), 2.40-2.57(m, 12H), 1.60-1.65(m, 6H), 1.50-1.52(m, 6H), 1.26-1.38(m, 50H), 0.89(t, J=6.8Hz, 9H)。

[0903] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在10.062分钟处879.4。

[0904] 8.8. 化合物2297的合成



[0906] 步骤1:

[0907] 在0°C下向4-苄氧基丁酸 (2g, 10.30mmol, 1.82mL, 1当量) 于DCM (20mL) 中的溶液中添加DMF (15.05mg, 205.95 $\mu$ mol, 15.85 $\mu$ L, 0.02当量) 和(COCl)<sub>2</sub> (1.57g, 12.36mmol, 1.08mL, 1.2当量)。将混合物在0°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的4-苄氧基丁酰氯 (2.2g, 粗产物)。

[0908] 步骤2:

[0909] 在0°C下向 (2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.5g, 1.92mmol, 1当量) 于DCM (20mL) 中的溶液中添加TEA (1.95g, 19.23mmol, 2.68mL, 10当量) 和4-苄氧基丁酰氯 (2.04g, 9.61mmol, 5当量)。将混合物在20°C下搅拌3小时。将反应混合物在0°C下通过添加20mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL  $\times$  3) 萃取。将合并的有机层用60mL 盐水 (20mL  $\times$  3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 20/1至1/1) 纯化,以得到呈黄色油的 (2S)-4-(4-苄氧基丁酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.3g, 1.36mmol, 70.70% 产率)。

[0910] 步骤3:

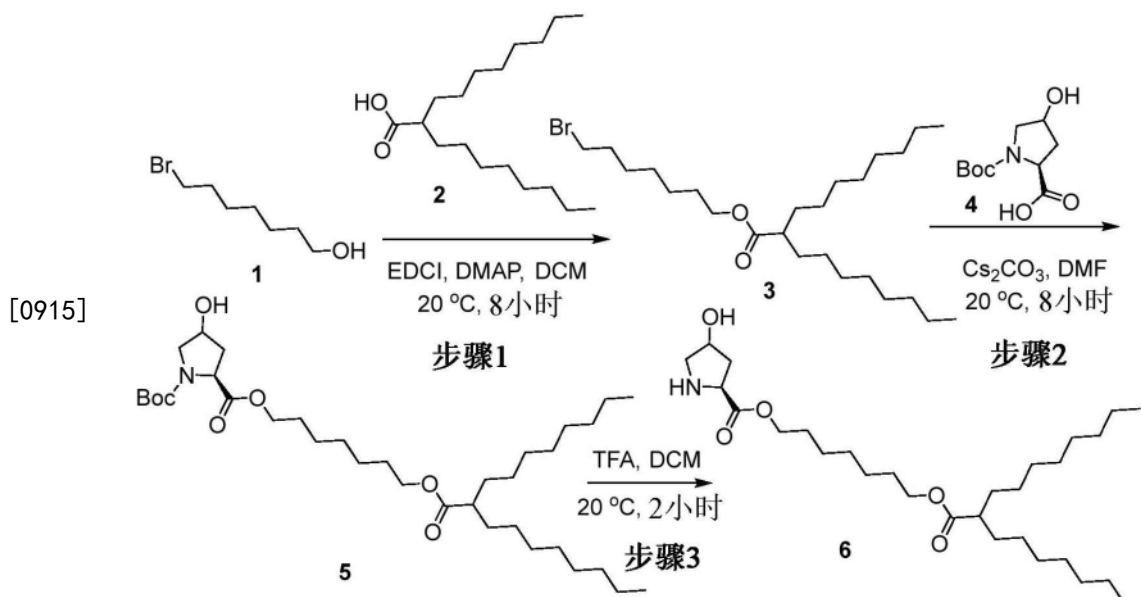
[0911] 向 (2S)-4-(4-苄氧基丁酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (600mg, 627.34 $\mu$ mol, 1当量) 于EtOAc (10mL) 中的溶液中添加Pd/C (0.3g, 10% 纯度) 和Pd(OH)<sub>2</sub>/C (0.3g, 427.25 $\mu$ mol, 20% 纯度, 6.81e-1当量)。将混合物在20°C下在H<sub>2</sub>气氛下 (15psi) 搅拌8小时。将混合物过滤,并且将滤液在减压下浓缩,

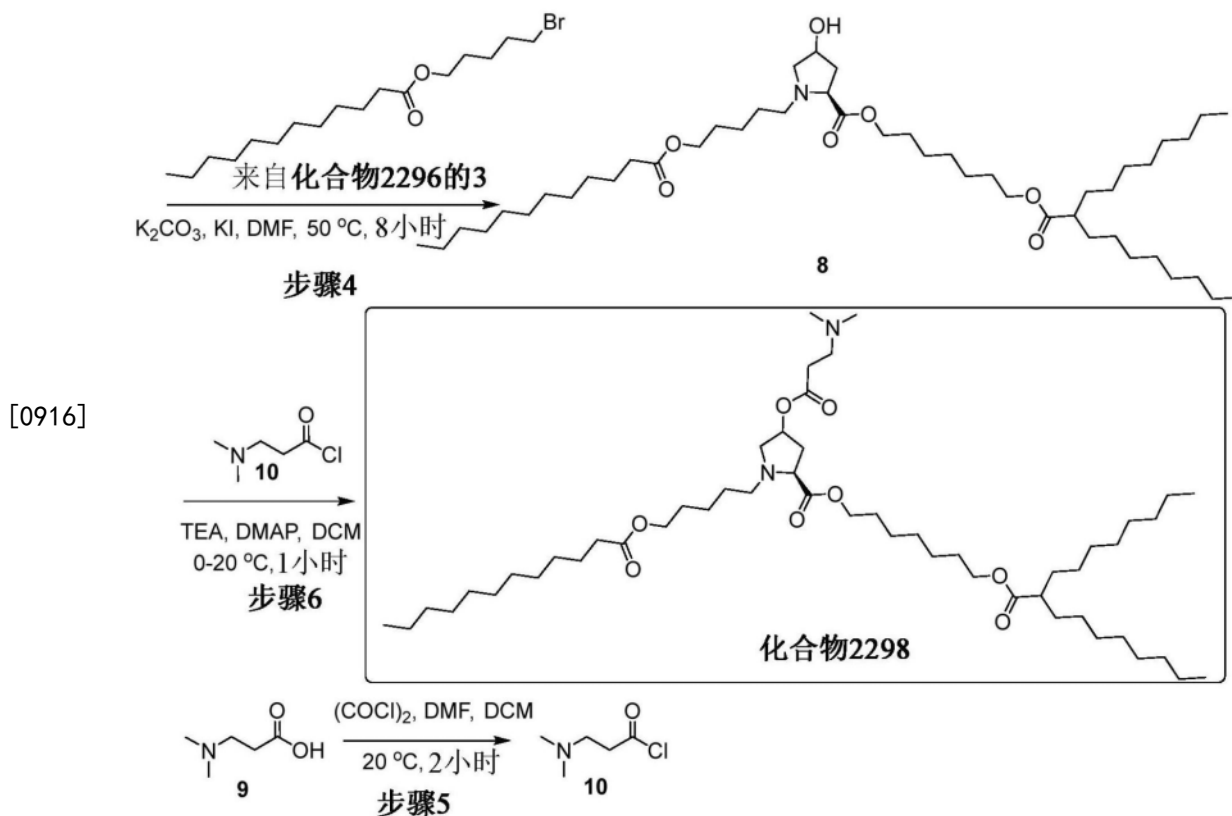
以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:50%-80%,10分钟)纯化。然后将混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-(4-羟基丁酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(191mg,220.48 $\mu$ mol,35.15%产率)。

[0912] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),5.15-5.28(m,1H),4.85-4.88(m,1H),4.03-4.12(m,4H),3.27-3.73(m,4H),2.26-2.72(m,11H),1.86-1.91(m,2H),1.60-1.70(m,8H),1.45-1.55(m,6H),1.26-1.34(m,48H),0.89(t,J=5.2Hz,9H).(M+H<sup>+</sup>):866.8。

[0913] LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在13.884分钟处866.8。

[0914] 8.9.化合物2298的合成





[0917] 步骤1:

[0918] 向7-溴庚-1-醇 (3.60g, 18.46mmol, 1.05当量) 和2-辛基癸酸 (5g, 17.58mmol, 1当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加DMAP (1.07g, 8.78mmol, 0.5当量) 和EDCI (4.04g, 21.10mmol, 1.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (200mL) 中, 并且用EtOAc (200mL × 3) 萃取。将有机层用盐水 (200mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色油的2-辛基癸酸7-溴庚酯 (7g, 15.17mmol, 粗产物)。

[0919] 步骤2:

[0920] 向(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸 (3g, 12.96mmol, 1当量) 和2-辛基癸酸7-溴庚酯 (6.99g, 15.18mmol, 1.17当量) 于DMF (100mL) 中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (9.30g, 28.53mmol, 2.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (20mL) 中, 并且用EtOAc (20mL × 3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[7-(2-辛基癸酰氧基)庚基]酯 (5g, 8.17mmol, 62.99%产率)。

[0921] 步骤3:

[0922] 将(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[7-(2-辛基癸酰氧基)庚基]酯 (5g, 8.18mmol, 1当量) 于DCM (30mL) 和TFA (23.10g, 101.30mmol, 15.02mL, 24.79当量) 中的溶液在20°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物, 并将残余物用EtOAc (20mL) 溶解。将有机层用饱和NaHCO<sub>3</sub> (50mL × 4) 和盐水 (20mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸7-(2-辛基癸酰氧基)庚

酯(4g,粗产物)。

[0923] 步骤4:

[0924] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸7-(2-辛基癸酰氧基)庚酯(2g,3.91mmol,1当量)、 $K_2CO_3$ (1.62g,11.72mmol,3当量)和KI(324.36mg,1.95mmol,0.5当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加十二烷酸5-溴戊酯(1.50g,4.30mmol,1.1当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将混合物添加到 $H_2O$ (20mL)中,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,并且通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:50%-80%,10分钟)纯化,以得到溶液。向溶液中添加饱和 $NaHCO_3$ 直到所述溶液具有pH=约7,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-1-(5-十二烷酰氧基戊基)-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸7-(2-辛基癸酰氧基)庚酯(2g,2.56mmol,65.59%产率)。

[0925]  $^1H$  NMR(400MHz, $CDCl_3$ ),4.25-4.55(m,1H),3.95-4.25(m,6H),3.05-3.75(m,2H),1.80-2.85(m,8H),1.60-1.70(m,8H),1.40-1.55(m,6H),1.23-1.40(m,48H),0.89(t,J=6.4Hz,9H)。

[0926] LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在13.242和13.267分钟处780.4。

[0927] 步骤5:

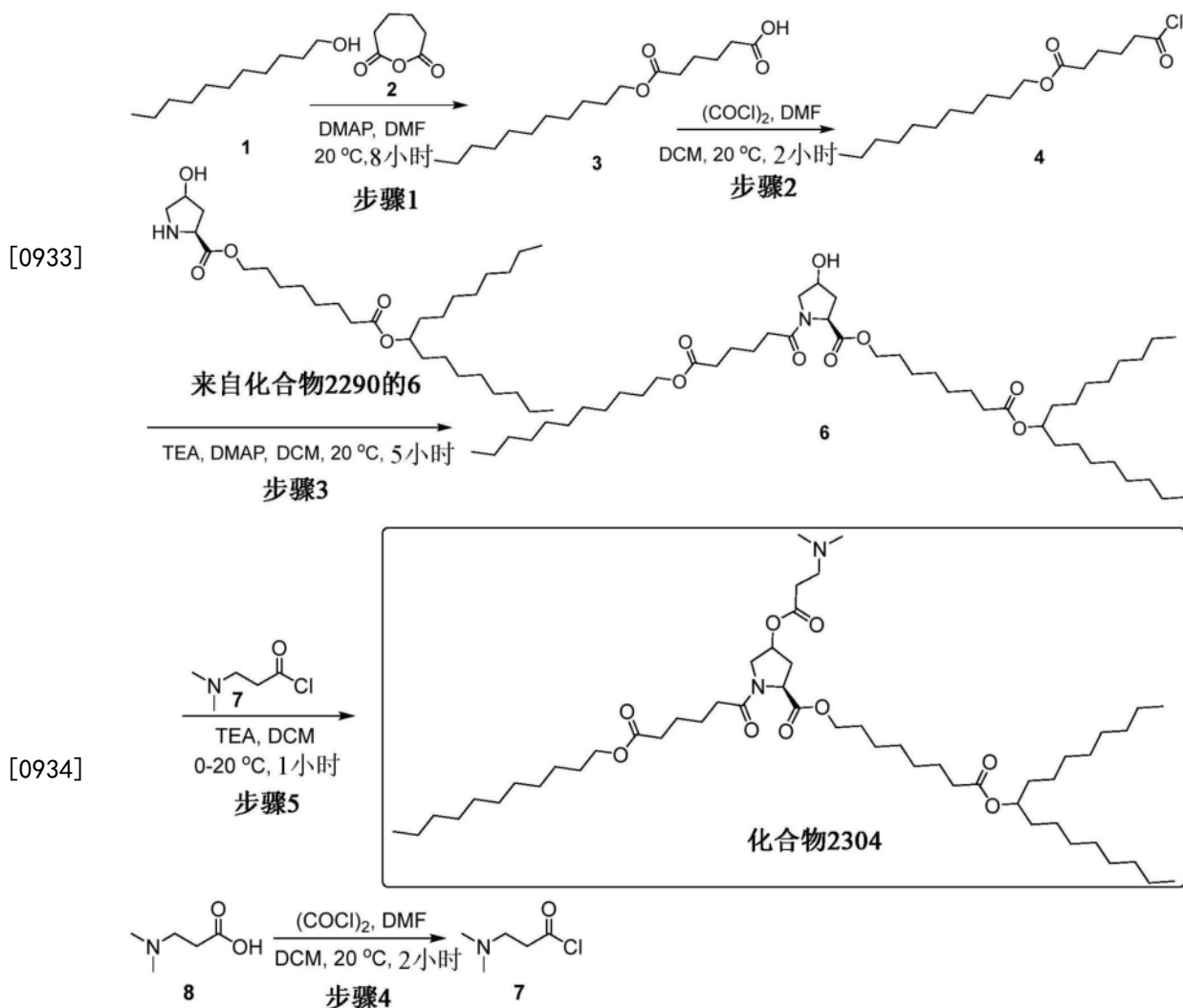
[0928] 向3-(二甲基氨基)丙酸(300mg,1.95mmol,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(991.60mg,7.81mmol,683.86 $\mu$ L,4当量)和DMF(14.27mg,195.30 $\mu$ mol,15.03 $\mu$ L,0.1当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(336mg,1.95mmol,99.99%产率,HCl)。

[0929] 步骤6:

[0930] 在 $N_2$ 下在0℃下向(2S)-1-(5-十二烷酰氧基戊基)-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸7-(2-辛基癸酰氧基)庚酯(350mg,448.60 $\mu$ mol,1当量)、DMAP(27.40mg,224.30 $\mu$ mol,0.5当量)和TEA(226.97mg,2.24mmol,312.20 $\mu$ L,5当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加3-(二甲基氨基)丙酰氯(294.00mg,1.71mmol,3.81当量,HCl),并且然后将混合物在20℃下搅拌1小时。将混合物添加到饱和 $NaHCO_3$ (20mL)中,并且用EtOAc(10mL×3)萃取。将有机层用盐水(10mL×2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)进行纯化,并且通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:50%-80%,10分钟)纯化,以得到溶液。向溶液中添加饱和 $NaHCO_3$ 直到所述溶液的pH=约7,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(5-十二烷酰氧基戊基)吡咯烷-2-甲酸7-(2-辛基癸酰氧基)庚酯(132mg,148.61 $\mu$ mol,45.40%产率,99%纯度)。

[0931]  $^1H$  NMR(400MHz, $CDCl_3$ ),5.20-5.30(m,1H),4.03-4.17(m,6H),3.25-3.55(m,1H),3.09-3.30(m,1H),2.00-2.80(m,18H),1.57-1.70(m,8H),1.45-1.55(m,6H),1.15-1.40(m,48H),0.89(t,J=6.8Hz,9H)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在9.868分钟处879.7。

[0932] 8.10.化合物2304的合成



[0935] 步骤1:

[0936] 向十一烷-1-醇 (5g, 29.02mmol, 1当量) 和DMAP (3.55g, 29.02mmol, 1当量) 于DMF (10mL) 中的溶液中添加氧杂环庚烷-2,7-二酮 (4.46g, 34.82mmol, 1.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (20mL) 中, 并且用EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈白色固体的6-氧代-6-十一烷氧基-己酸 (4g, 13.31mmol, 45.88%产率)。

[0937] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.07 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.33-2.41 (m, 4H), 1.60-1.71 (m, 6H), 1.19-1.41 (m, 17H), 0.89 (m, J=7.2Hz, 3H)。

[0938] 步骤2:

[0939] 向6-氧代-6-十一烷氧基-己酸 (2g, 6.66mmol, 1当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub> (2.53g, 19.97mmol, 1.75mL, 3当量) 和DMF (4.87mg, 66.57μmol, 5.12μL, 0.01当量)。将混合物在20°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩, 以得到呈白色固体的6-氯-6-氧代-己酸十一烷基酯 (2.12g, 粗产物)。

[0940] 步骤3:

[0941] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (3g,

5.86mmol, 1当量)、TEA(1.78g, 17.59mmol, 2.45mL, 3当量)和DMAP(71.61mg, 586.20 $\mu$ mol, 0.1当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加6-氯-6-氧代-己酸十一烷基酯(1.91g, 5.99mmol, 1.02当量)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌5小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(20mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈白色固体的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己酰)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g, 2.52mmol, 42.96%产率)。

[0942] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.80-4.90(m, 1H), 4.40-4.65(m, 2H), 4.05-4.25(m, 4H), 3.49-3.88(m, 2H), 2.20-2.40(m, 8H), 1.60-1.75(m, 10H), 1.40-1.53(m, 4H), 1.23-1.38(m, 46H), 0.89(t, J=6.8Hz, 9H)。

[0943] 步骤4:

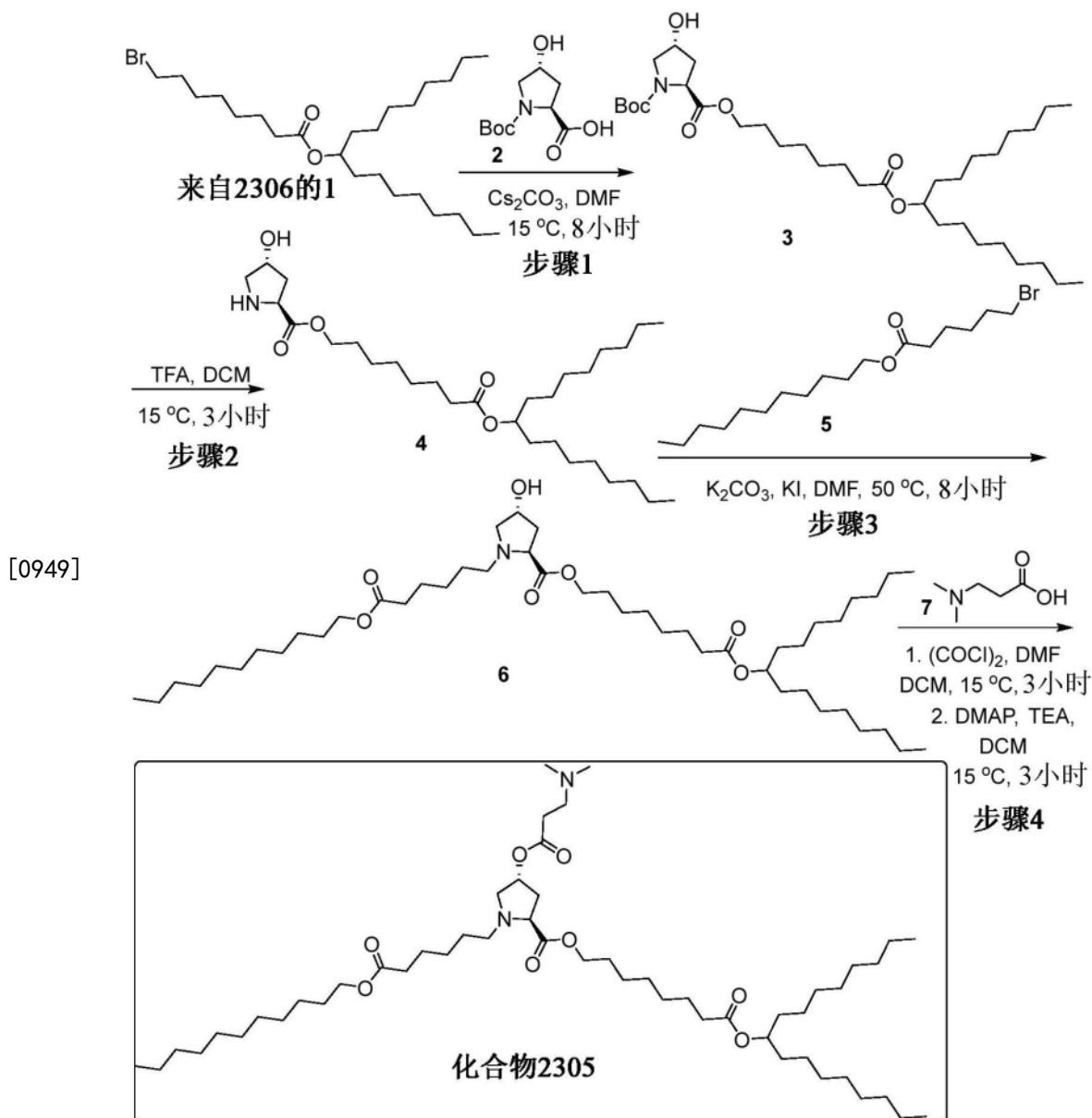
[0944] 向3-(二甲基氨基)丙酸(400mg, 2.60mmol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(1.32g, 10.42mmol, 911.81 $\mu$ L, 4当量)和DMF(19.03mg, 260.40 $\mu$ mol, 20.03 $\mu$ L, 0.1当量)。将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(448mg, 粗产物, HCl)。

[0945] 步骤5:

[0946] 在N<sub>2</sub>下在0 $^{\circ}$ C下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己酰)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 629.57 $\mu$ mol, 1当量)、TEA(318.53mg, 3.15mmol, 438.14 $\mu$ L, 5当量)和DMAP(38.46mg, 314.79 $\mu$ mol, 0.5当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加3-(二甲基氨基)丙酰氯(433.28mg, 2.52mmol, 4当量, HCl),并且然后将混合物在20 $^{\circ}$ C下搅拌1小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)中,并且用EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(10mL $\times$ 2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)纯化以得到产物。将产物用石油醚(2mL)溶解,并且用ACN(2mL $\times$ 2)洗涤。将石油醚相在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己酰)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg, 223.88 $\mu$ mol, 35.56%产率, 100%纯度)。

[0947] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.33-5.37(m, 1H), 4.80-4.90(m, 1H), 4.40-4.75(m, 1H), 4.11-4.15(m, 2H), 4.00-4.10(m, 2H), 3.85-3.88(m, 1H), 3.61-3.70(m, 1H), 2.52-2.65(m, 2H), 2.40-2.50(m, 3H), 2.15-2.38(m, 13H), 1.66-1.70(m, 8H), 1.45-1.53(m, 6H), 1.23-1.38(m, 46H), 0.86-0.91(m, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在13.385/13.687分钟处893.7。

[0948] 8.11. 化合物2305的合成



[0950] 步骤1:

[0951] 将(2S,4R)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(835.02mg,3.61mmol,1当量)、8-溴辛酸1-辛基壬酯(2g,4.33mmol,1.2当量)、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (2.59g,7.94mmol,2.2当量)于DMF(30mL)中的混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后将混合物在15°C下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物在15°C下通过添加100mL  $\text{H}_2\text{O}$ 淬灭,并且然后用300mL EtOAc(100mL×3)萃取。将合并的有机层用200mL盐水(100mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=20/1至3/1)纯化,以得到呈无色油的(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(11g,17.71mmol,98.08%产率,98.5%纯度)。

[0952]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.85-4.88(m,1H),4.36-4.51(m,2H),3.64-3.68(m,1H),3.42-3.56(m,1H),2.06-2.33(m,4H),1.60-1.64(m,5H),1.20-1.55(m,45H),0.88(t,J=6.4Hz,6H)。

[0953] 步骤2:

[0954] 向(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(8g,13.07mmol,1当量)于DCM(60mL)中的溶液中添加TFA(46.20g,405.19mmol,30mL,30.99当量)。将混合物在15℃下搅拌3小时。将反应混合物在15℃下通过添加50mLNaHCO<sub>3</sub>淬灭,并且然后用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层用100mL盐水(50mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物,以得到呈无色油的(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(5g,9.77mmol,74.73%产率)。

[0955] 步骤3:

[0956] 向6-溴己酸十一烷基酯(819.14mg,2.34mmol,1.2当量)和(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1g,1.95mmol,1当量)于DMF(15mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(810.18mg,5.86mmol,3当量)和KI(162.18mg,976.99μmol,0.5当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物在15℃下通过添加50mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层用100mL盐水(50mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至8/1)纯化,并且通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5μm;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:50%-80%,10分钟)纯化,以得到溶液。向溶液中添加饱和NaHCO<sub>3</sub>(200mL),并且然后用EtOAc(50mL×2)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3.6g,4.60mmol,78.52%产率,99.76%纯度)。

[0957] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.85-4.90(m,1H),4.51(brs,1H),4.04-4.15(m,4H),3.47-3.49(m,2H),2.57-2.78(m,2H),2.26-2.32(m,6H),1.50-1.66(m,17H),1.26-1.35(m,47H),0.88(t,J=6.8Hz,9H)。

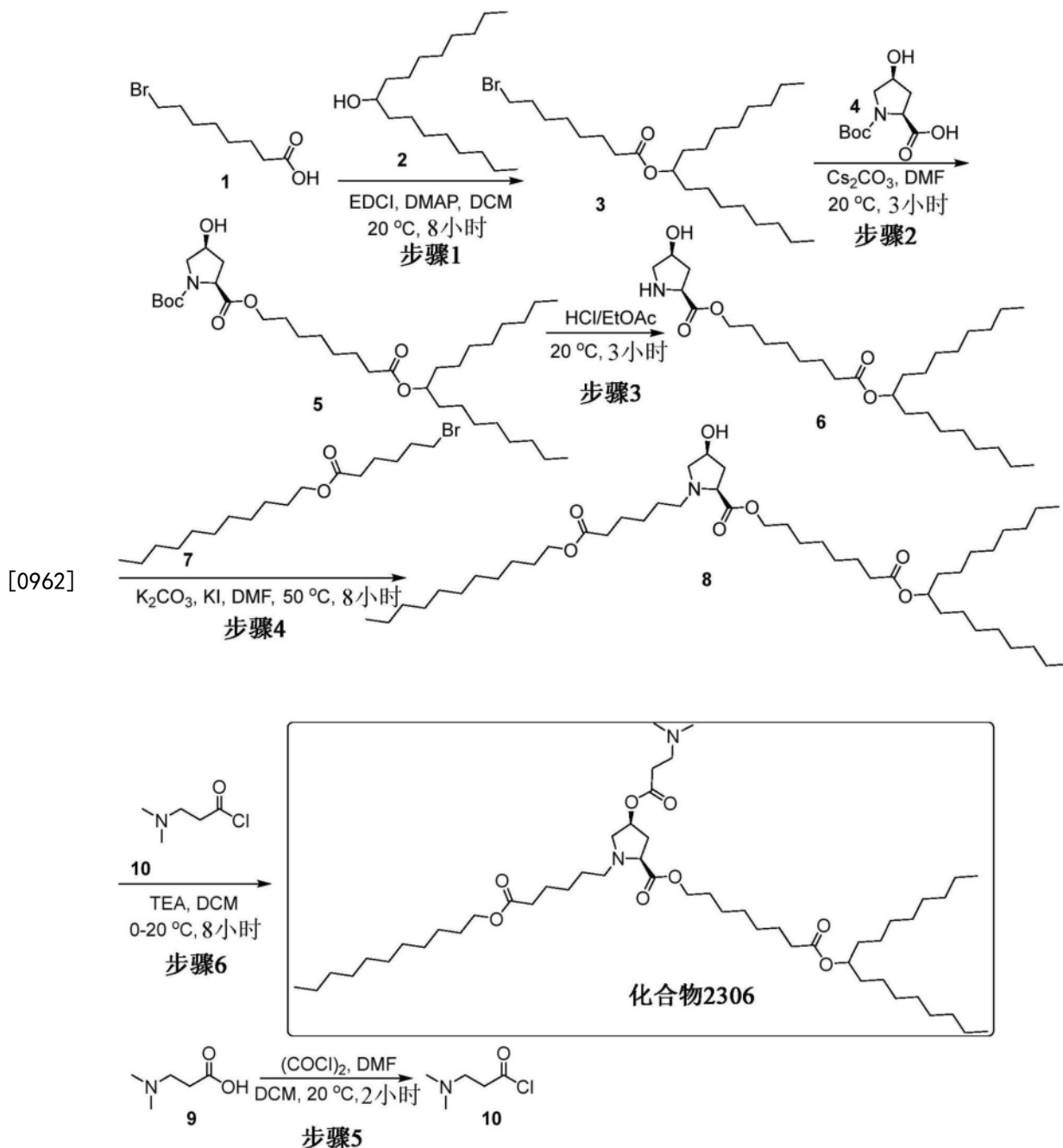
[0958] 步骤4:

[0959] 向3-(二甲基氨基)丙酸(300mg,1.95mmol,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(743.67mg,5.86mmol,512.88μL,3当量)和DMF(14.28mg,195.30μmol,15.03μL,0.1当量)。将混合物在15℃下搅拌3小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(336mg,1.95mmol,99.99%产率,HCl)。将3-(二甲基氨基)丙酰氯(330.78mg,1.92mmol,3当量,HCl)添加到(2S,4R)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg,640.85μmol,1当量)、TEA(324.24mg,3.20mmol,445.99μL,5当量)和DMAP(39.15mg,320.43μmol,0.5当量)于DCM(10mL)中的溶液中。将混合物在15℃下搅拌3小时。将反应混合物在15℃下通过添加10mL NaHCO<sub>3</sub>水溶液淬灭,并且然后用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层用20mL(10mL×2)盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至3/1)纯化,并且通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5μm;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%,10分钟)纯化,以得到溶液。向溶液中添加饱和NaHCO<sub>3</sub>(200mL),并且然后用EtOAc(50mL×2)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S,4R)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧

基)-8-氧代-辛基]酯(79mg, 89.39 $\mu$ mol, 13.95%产率, 99.5%纯度)。

[0960]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.24-5.29 (m, 1H), 4.84-4.88 (m, 1H), 4.04-4.13 (m, 4H), 3.44-3.54 (m, 2H), 2.26-3.03 (m, 16H), 2.08-2.22 (m, 1H), 1.60-1.65 (m, 10H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.26-1.37 (m, 48H), 0.88 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 9H)。LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在10.515分钟处879.8。

[0961] 8.12. 化合物2306的合成



[0963] 步骤1:

[0964] 向十七烷-9-醇(5g, 19.50mmol, 1当量)和8-溴辛酸(4.57g, 20.47mmol, 1.05当量)于DCM(100mL)中的溶液中添加DMAP(1.19g, 9.75mmol, 0.5当量)和EDCI(4.48g, 23.39mmol, 1.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(100mL)中,并且用EtOAc(100mL×3)萃取。将有机层用盐水(100mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈无色油的8-溴

辛酸1-辛基壬酯(30g,65.00mmol,83.35%产率,-纯度)。

[0965] 步骤2:

[0966] 将(2S,4S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(4.55g,19.70mmol,1当量)、8-溴辛酸1-辛基壬酯(10g,21.67mmol,1.1当量)、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (14.12g,43.33mmol,2.2当量)于DMF(100mL)中的混合物在20℃下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌3小时。在0℃下将反应混合物通过添加100mL  $\text{H}_2\text{O}$ 淬灭。将混合物用EtOAc 300mL(100mL×3)萃取,并且将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=10/1至3/1)纯化,以得到呈白色固体的(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(10g,16.34mmol,82.97%产率,100%纯度)。

[0967]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.85-4.88(m,1H),4.15-4.37(m,4H),3.54-3.70(m,2H),2.28-2.32(m,3H),2.05-2.07(m,1H),1.62-1.67(m,4H),1.43-1.56(m,11H),1.26-1.35(m,32H),0.88(t, $J=6.4\text{Hz}$ ,6H)。

[0968] 步骤3:

[0969] 向(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g,3.27mmol,1当量)于EtOAc(50mL)中的溶液中添加HCl/EtOAc(4M,6.21mL,7.60当量)。将混合物在20℃下搅拌3小时。将反应混合物用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液调节至pH=7,并且用600mL EtOAc(200mL×3)萃取,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=4/1至乙酸乙酯/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ =30/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(6g,11.72mmol,71.74%产率,100%纯度)。

[0970] 步骤4:

[0971] 向6-溴己酸十一烷基酯(409.57mg,1.17mmol,1.2当量)和(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.5g,976.99 $\mu\text{mol}$ ,1当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (405.09mg,2.93mmol,3当量)和KI(81.09mg,488.50 $\mu\text{mol}$ ,0.5当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。在15℃下将反应混合物通过添加50mL  $\text{H}_2\text{O}$ 淬灭,并且然后用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层用100mL盐水(50mL×2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化。并且然后将残余物通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu\text{m}$ ;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:50%-80%,10分钟)纯化。将混合物添加到500mL饱和 $\text{NaHCO}_3$ 中,并且用EtOAc(100mL×3)萃取。将有机层用盐水(50mL×3)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S,4S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(600mg,769.03 $\mu\text{mol}$ ,78.71%产率)。

[0972]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.77-4.80(m,1H),4.18(brs,1H),4.05(t, $J=6.8\text{Hz}$ ,2H),3.98(t, $J=6.4\text{Hz}$ ,2H),2.98-3.16(m,2H),2.49-2.60(m,2H),2.40-2.42(m,1H),2.13-2.23(m,5H),1.81-1.85(m,1H),1.53-1.57(m,8H),1.38-1.43(m,6H),1.18-1.26(m,48H),0.80(t, $J=6.0\text{Hz}$ ,9H)。

[0973] 步骤5:

[0974] 向3-(二甲基氨基)丙酸(500mg,3.26mmol,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加

加(COCl)<sub>2</sub> (1.24g, 9.77mmol, 854.80μL, 3当量)和DMF (23.79mg, 325.51μmol, 25.04μL, 0.1当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(560mg, 3.25mmol, 99.99%产率, HCl)。

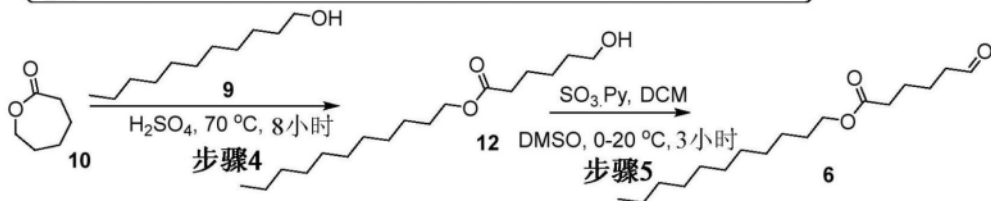
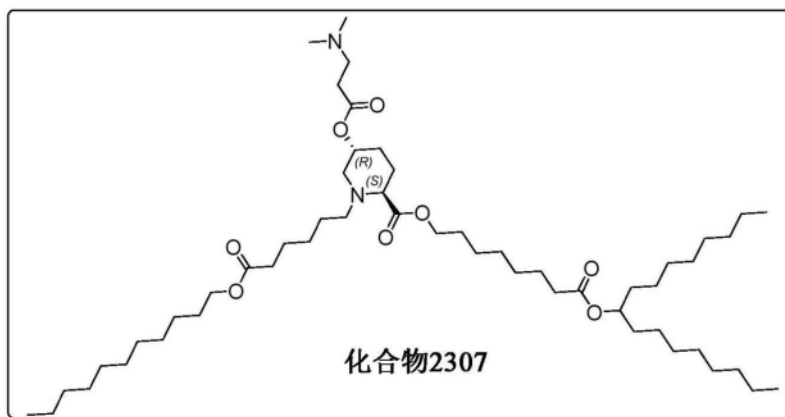
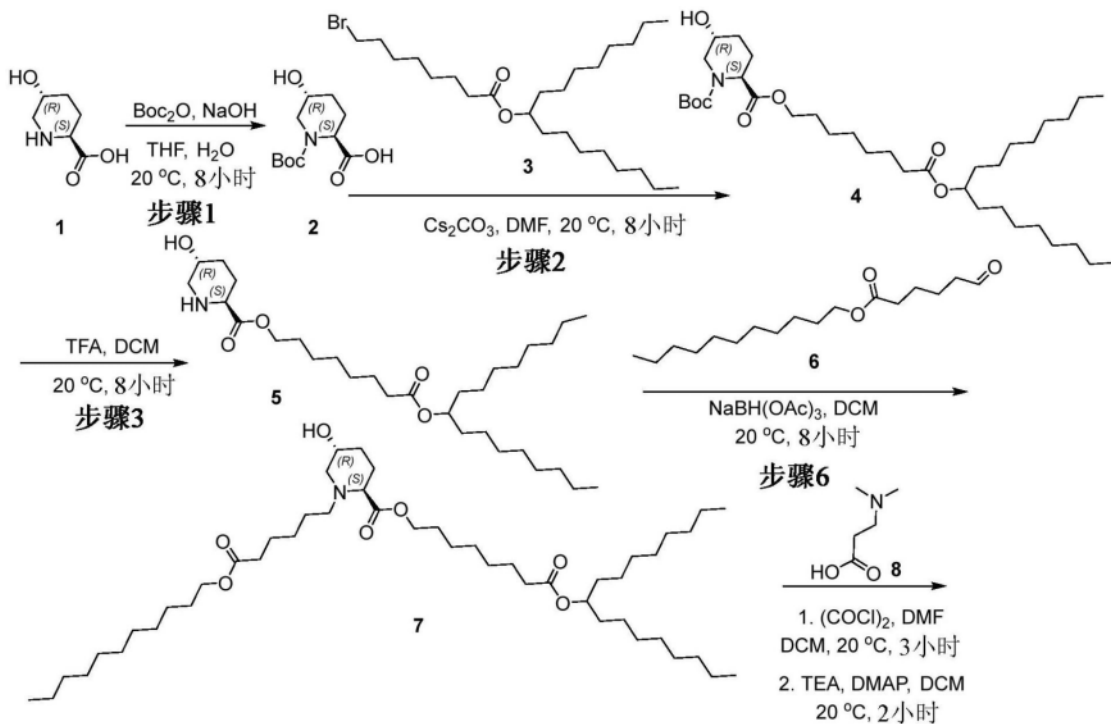
[0975] 步骤6:

[0976] 在0℃下向3-(二甲基氨基)丙酰氯(352.83mg, 2.05mmol, 4当量, HCl)于DCM(10mL)中的溶液中添加TEA(259.39mg, 2.56mmol, 356.79μL, 5当量)和DMAP(31.32mg, 256.34μmol, 0.5当量)以及(2S, 4S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(400.00mg, 512.68μmol, 1当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。在15℃下将反应混合物通过添加30mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL×3)萃取。将合并的有机层用40mL盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5μm;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%, 10分钟)和制备型TLC(SiO<sub>2</sub>, EtOAc:MeOH=3:1)纯化,以得到呈黄色油的(2S, 4S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(20.7mg, 23.54μmol, 60.88%产率)。

[0977] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.11-5.15 (m, 1H), 4.77-4.80 (m, 1H), 3.96-4.06 (m, 4H), 3.01-3.18 (m, 2H), 2.49-2.67 (m, 6H), 2.19-2.22 (m, 10H), 1.96-1.98 (m, 1H), 1.52-1.77 (m, 10H), 1.42-1.44 (m, 6H), 1.18-1.26 (m, 48H), 0.80 (t, J=6.4Hz, 9H)。

[0978] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在8.994分钟处879.8。

[0979] 8.13. 化合物2307的合成



[0981] 步骤1:

[0982] 向(2S,5R)-5-羟基哌啶-2-甲酸(0.5g,2.75mmol,1当量,HCl)于THF(25mL)中的溶液中添加NaOH水溶液(3.30g,8.26mmol,10%纯度,3当量)和Boc<sub>2</sub>O(721.01mg,3.30mmol,758.96μL,1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用EtOAc(10mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S,5R)-1-叔丁氧基羰基-5-羟基-哌啶-2-甲酸(500mg,粗产物)。

[0983] 步骤2:

[0984] 向(2S,5R)-1-叔丁氧基羰基-5-羟基-哌啶-2-甲酸(500mg,2.04mmol,1当量)和8-溴辛酸1-辛基酯(1.13g,2.45mmol,1.2当量)于DMF(10mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.46g,4.48mmol,2.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用

EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈黄色油的 (2S, 5R) -5-羟基哌啶-1, 2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (500mg, 798.83μmol, 39.19%产率)。

[0985] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.75-4.93 (m, 2H), 3.95-4.05 (m, 2H), 3.09-3.24 (m, 2H), 2.28 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.95-2.25 (m, 2H), 1.75-1.85 (m, 1H), 1.60-1.73 (m, 5H), 1.43-1.56 (m, 13H), 1.20-1.40 (m, 30H), 0.88 (t, J=6.4Hz, 6H)。

[0986] 步骤3:

[0987] 向 (2S, 5R) -5-羟基哌啶-1, 2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (500mg, 798.83μmol, 1当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加TFA (7.68g, 67.31mmol, 5mL, 84.26当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩。将残余物用EtOAc (20mL) 溶解, 并且将有机层用饱和NaHCO<sub>3</sub> (20mL×3) 和盐水 (20mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈黄色油的 (2S, 5R) -5-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (350mg, 粗产物)。

[0988] 步骤4:

[0989] 将十一烷-1-醇 (6.04g, 35.04mmol, 2当量)、氧杂环庚烷-2-酮 (2g, 17.52mmol, 1当量) 和H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (171.85mg, 1.75mmol, 93.40μL, 0.1当量) 的溶液在70℃下搅拌8小时。将混合物在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈黄色油的化合物6-羟基己酸十一烷基酯 (2.6g, 9.08mmol, 51.80%产率)。

[0990] 步骤5:

[0991] 在0℃下向6-羟基己酸十一烷基酯 (2.5g, 8.73mmol, 1当量) 和TEA (8.83g, 87.28mmol, 12.15mL, 10当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加SO<sub>3</sub>·Py (7.64g, 48.00mmol, 5.5当量) 于DMSO (25mL) 中的溶液。将混合物在20℃下搅拌3小时。将反应混合物用100mL 0.1M HCl稀释, 并用EtOAc (20mL×3) 萃取。然后将有机层用盐水 (30mL×3) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色油的6-氧代己酸十一烷基酯 (3.2g, 11.25mmol, 64.45%产率)。

[0992] 步骤6:

[0993] 向 (2S, 5R) -5-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (350mg, 665.65μmol, 1当量) 和6-氧代己酸十一烷基酯 (227.20mg, 798.78μmol, 1.2当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加NaBH(OAc)<sub>3</sub> (423.24mg, 2.00mmol, 3当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (20mL) 中, 并且用EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化, 以得到呈黄色油的 (2S, 5R) -5-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (380mg, 478.45μmol, 71.88%产率)。

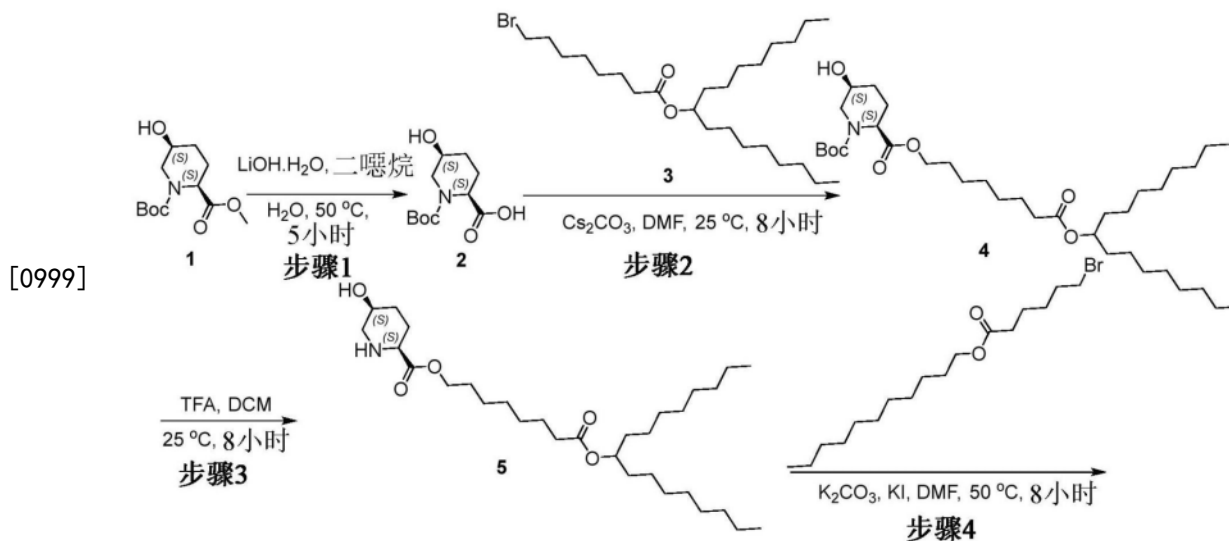
[0994] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.04-4.12 (m, 4H), 3.86 (s, 1H), 3.21-3.25 (m, 2H), 2.55-2.65 (m, 1H), 2.40-2.50 (m, 1H), 2.20-2.40 (m, 6H), 1.95-2.10 (m, 1H), 1.70-1.85 (m, 2H), 1.55-1.70 (m, 8H), 1.43-1.56 (m, 7H), 1.20-1.40 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 9H)。

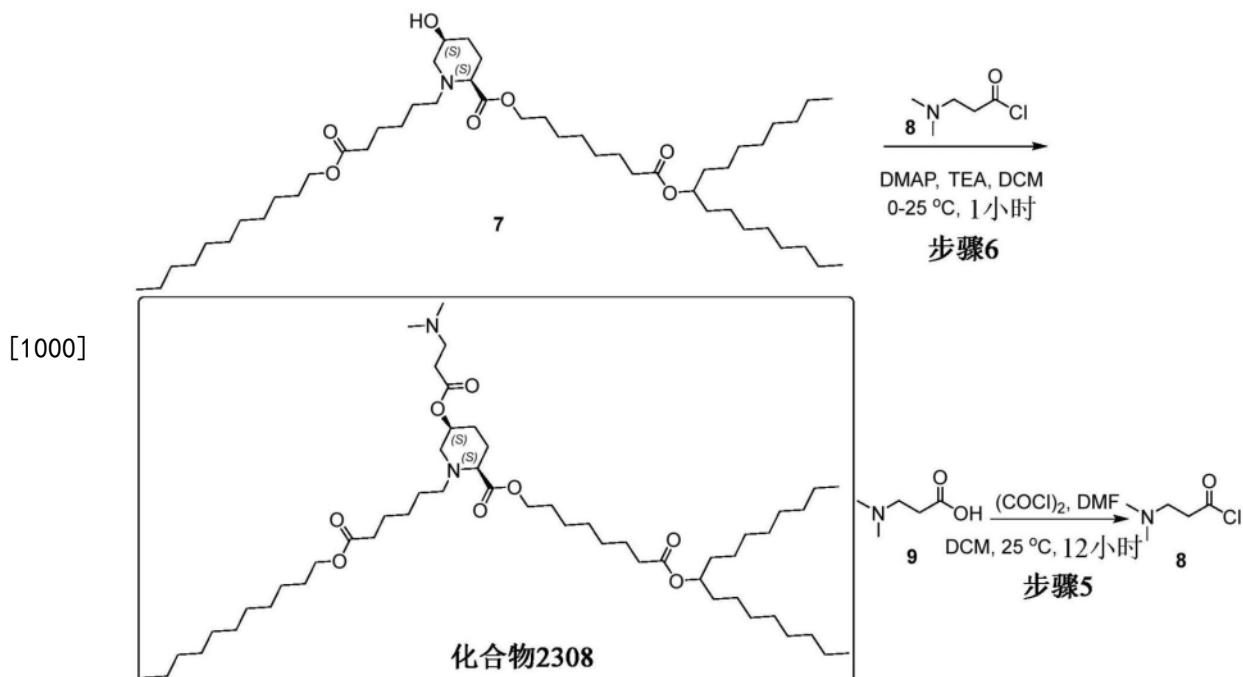
[0995] 步骤7:

[0996] 向3-(二甲基氨基)丙酸(300mg, 1.95mmol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(991.60mg, 7.81mmol, 683.86μL, 4当量)和DMF(14.27mg, 195.30μmol, 15.03μL, 0.1当量)。将混合物在20℃下搅拌3小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(1.68g, 粗产物, HCl)。将粗产物3-(二甲基氨基)丙酰氯(329.27mg, 1.91mmol, 4当量, HCl)添加到(2S, 5R)-5-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(380mg, 478.45μmol, 1当量)、TEA(290.48mg, 2.87mmol, 399.56μL, 6当量)和DMAP(11.69mg, 95.69μmol, 0.2当量)于DCM(10mL)中的溶液中,并在20℃下搅拌2小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)中,并且用DCM(20mL×2)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1, 添加5%NH<sub>3</sub>THF)纯化,以得到呈无色油的(2S, 5R)-5-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(55mg, 60.33μmol, 12.61%产率, 98%纯度)。

[0997] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.96(m, 2H), 4.03-4.13(m, 4H), 3.13-3.24(m, 2H), 2.46-2.64(m, 5H), 2.24-2.37(m, 12H), 1.90-2.10(m, 2H), 1.70-1.80(m, 1H), 1.55-1.70(m, 9H), 1.45-1.55(m, 6H), 1.20-1.40(m, 48H), 0.86-0.90(m, 9H)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在10.829分钟处893.8。

[0998] 8.14. 化合物2308的合成





[1001] 步骤1:

[1002] 向(2S,5S)-5-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(500mg,1.93mmol,1当量)于二噁烷(9mL)和H<sub>2</sub>O(3mL)中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O(242.75mg,5.78mmol,3当量)。将混合物在50℃下搅拌5小时。将混合物用1N HCl调节至pH=5,并且然后用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(10mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈白色固体的(2S,5S)-1-叔丁氧基羰基-5-羟基-哌啶-2-甲酸(400mg,粗产物)。粗产物在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[1003] 步骤2:

[1004] 向(2S,5S)-1-叔丁氧基羰基-5-羟基-哌啶-2-甲酸(400mg,1.63mmol,1当量)和8-溴辛酸1-辛基壬酯(828.00mg,1.79mmol,1.1当量)于DMF(5mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(797.04mg,2.45mmol,1.5当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈白色固体的(2S,5S)-5-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg,798.83μmol,48.98%产率)。

[1005] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.65-4.90(m,2H),4.10-4.20(m,3H),3.64(brs,1H),2.60-2.85(m,1H),2.28(t,J=7.6Hz,3H),1.90-2.05(m,1H),1.70-1.85(m,2H),1.58-1.65(m,4H),1.40-1.55(m,13H),1.20-1.40(m,32H),0.89(t,J=6.8Hz,6H)。

[1006] 步骤3:

[1007] 向(2S,5S)-5-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg,798.83μmol,1当量)于DCM(4mL)中的溶液中添加TFA(3.08g,27.01mmol,2mL,33.81当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈白色固体

的(2S,5S)-5-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(400mg,760.74 $\mu$ mol,95.23%产率)。

[1008] 步骤4:

[1009] 向(2S,5S)-5-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(350mg,665.65 $\mu$ mol,1当量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(276.00mg,2.00mmol,3当量)和KI(22.10mg,133.13 $\mu$ mol,0.2当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加6-溴己酸十一烷基酯(395.32mg,1.13mmol,1.7当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,用EtOAc(20mL×3)萃取,并且将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈白色固体的(2S,5S)-5-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(480mg,604.36 $\mu$ mol,90.79%产率)。

[1010] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.80-4.90(m,1H),4.04-4.15(m,4H),3.75-3.88(m,1H),2.90-3.15(m,2H),2.20-2.60(m,8H),1.95-2.05(m,1H),1.60-1.75(m,11H),1.45-1.53(m,6H),1.20-1.40(m,48H),0.86-0.91(m,9H)。

[1011] 步骤5:

[1012] 向3-(二甲基氨基)丙酸(170mg,1.11mmol,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(561.90mg,4.43mmol,387.52 $\mu$ L,4当量)和DMF(8.09mg,110.67 $\mu$ mol,8.51 $\mu$ L,0.1当量)。将混合物在25℃下搅拌12小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(380mg,粗产物,HCl)。

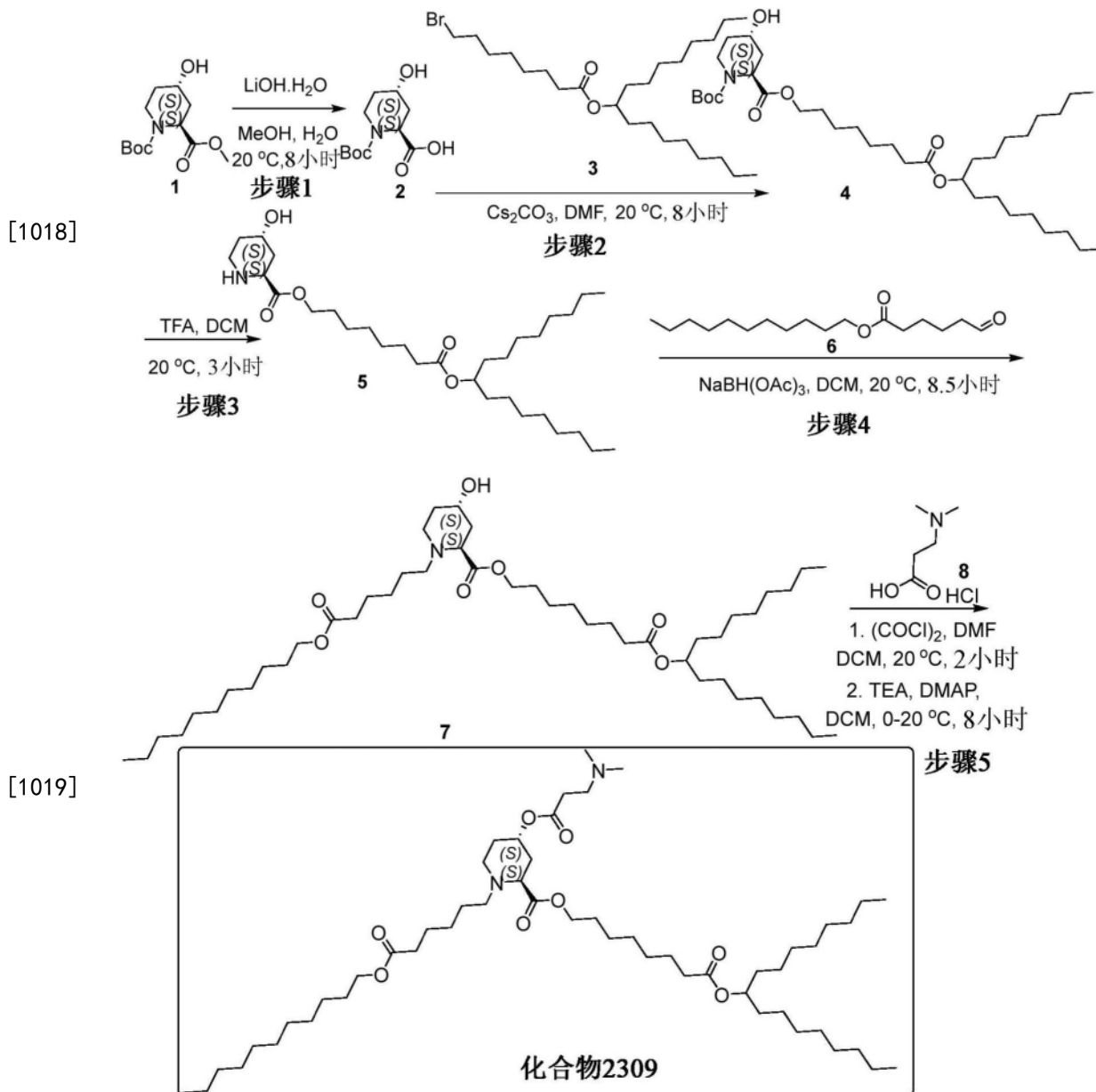
[1013] 步骤6:

[1014] 在N<sub>2</sub>下在0℃下向(2S,5S)-5-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg,251.81 $\mu$ mol,1当量)、DMAP(15.38mg,125.91 $\mu$ mol,0.5当量)和TEA(127.41mg,1.26mmol,175.25 $\mu$ L,5当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加3-(二甲基氨基)丙酰氯(173.30mg,1.01mmol,4当量,HCl),并且然后将混合物在25℃下搅拌1小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)中,并且用EtOAc(10mL×3)萃取。将有机层用盐水(10mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)纯化,并且通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,乙酸乙酯/MeOH=0:1,添加3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)进一步纯化,以得到呈黄色油的(2S,5S)-5-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(158mg,175.09 $\mu$ mol,34.77%产率,99%纯度)。

[1015] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.83-4.89(m,2H),4.00-4.12(m,4H),3.55(t,J=4.4Hz,1H),2.93-2.98(m,1H),2.45-2.80(m,7H),2.20-2.35(m,10H),1.95-2.10(m,1H),1.75-1.90(m,2H),1.60-1.65(m,7H),1.40-1.55(m,8H),1.20-1.40(m,48H),0.86-0.91(m,9H)。

[1016] LCMS(M+H<sup>+</sup>):893.7。

[1017] 8.15.化合物2309的合成



[1020] 步骤1:

[1021] 向(2S,4S)-4-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(2g,7.71mmol,1当量)于MeOH(12mL)和H<sub>2</sub>O(6mL)中的溶液中添加LiOH.H<sub>2</sub>O(647.34mg,15.43mmol,2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物用1NHCl调节至pH=3,并且然后用60mL EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机层用40mL饱和盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S,4S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-哌啶-2-甲酸(1.8g,7.34mmol,95.15%产率)。

[1022] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),5.98-6.80(m,1H),4.88-5.05(m,1H),4.01-4.10(m,1H),3.72-3.77(m,1H),2.97-3.09(m,1H),2.35-2.60(m,1H),1.90-2.00(m,1H),1.60-1.75(m,1H),1.47(s,9H)。

[1023] 步骤2:

[1024] 向(2S,4S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-哌啶-2-甲酸(1.8g,7.34mmol,1当量)和8-溴辛酸1-辛基壬酯(4.06g,8.81mmol,1.2当量)于DMF(30mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.26g,

16.15mmol, 2.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将反应混合物通过添加30mL H<sub>2</sub>O在0℃下淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。将合并的有机层用60mL饱和盐水 (30mL×2) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至3/1) 纯化,以得到呈无色油的 (2S, 4S) -4-羟基哌啶-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (2g, 3.20mmol, 43.54%产率)。

[1025] 步骤3:

[1026] 向 (2S, 4S) -4-羟基哌啶-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (2g, 3.20mmol, 1当量) 于DCM (12mL) 中的溶液中添加TFA (6mL)。将混合物在20℃下搅拌3小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物,然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1, 添加0.5%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈无色油的 (2S, 4S) -4-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.4g, 粗产物)。

[1027] 步骤4:

[1028] 向 (2S, 4S) -4-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1g, 1.90mmol, 1当量) 和6-氧代己酸十一烷基酯 (649.14mg, 2.28mmol, 1.2当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中。将混合物在20℃下搅拌30分钟。然后将NaBH(OAc)<sub>3</sub> (1.21g, 5.71mmol, 3当量) 添加到混合物中。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=50/1至1/1, 添加0.5%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈无色油的 (2S, 4S) -4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.3g, 1.64mmol, 86.06%产率)。

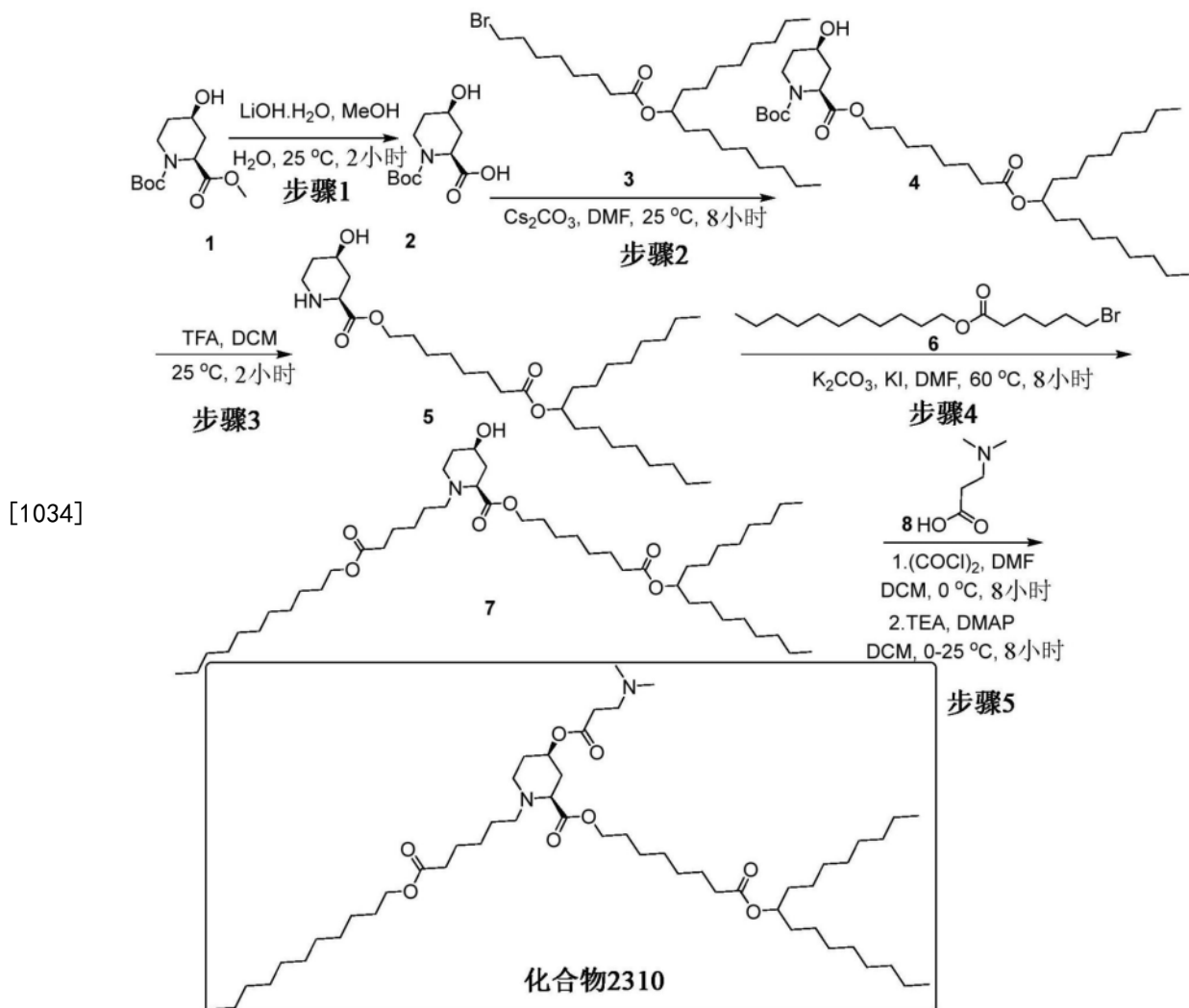
[1029] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.03-4.11 (m, 5H), 3.51 (t, J=4.8Hz, 1H), 2.92-2.98 (m, 1H), 2.53-2.62 (m, 2H), 2.38-2.45 (m, 1H), 2.26-2.31 (m, 4H), 2.05-2.07 (m, 1H), 1.89-1.94 (m, 1H), 1.74-1.82 (m, 1H), 1.58-1.65 (m, 9H), 1.46-1.55 (m, 6H), 1.26-1.35 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.8Hz, 9H)。

[1030] 步骤5:

[1031] 向3-(二甲基氨基)丙酸 (0.7g, 4.56mmol, 1当量, HCl) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加DMF (16.65mg, 227.85μmol, 17.53μL, 0.05当量) 和(COCl)<sub>2</sub> (694.10mg, 5.47mmol, 478.69μL, 1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈粗产物的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (780mg, 粗产物, HCl)。将粗产物3-(二甲基氨基)丙酰氯 (758.19mg, 4.41mmol, 5当量, HCl) 添加到 (2S, 4S) -4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (700mg, 881.35μmol, 1当量)、TEA (891.83mg, 8.81mmol, 1.23mL, 10当量) 和DMAP (53.84mg, 440.68μmol, 0.5当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中。将混合物在20℃下搅拌8小时。在0℃下将反应混合物通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用30mL EtOAc (10mL×3) 萃取。将合并的有机层用饱和盐水20mL (10mL×2) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1, 添加0.5%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈无色油的 (2S, 4S) -4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (175mg, 186.09μmol, 21.11%产率, 96%纯度)。

[1032]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.02-5.06 (m, 1H), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.05-4.13 (m, 4H), 3.36-3.39 (m, 1H), 2.94-2.99 (m, 1H), 2.23-2.63 (m, 17H), 1.89-2.03 (m, 3H), 1.60-1.65 (m, 9H), 1.49-1.53 (m, 6H), 1.26-1.33 (m, 48H), 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 9H)。LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在9.863分钟处893.8。

[1033] 8.16. 化合物2310的合成



[1035] 步骤1:

[1036] 向(2S,4R)-4-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(2g, 7.71mmol, 1当量)于MeOH(12mL)和 $\text{H}_2\text{O}$ (6mL)中的溶液中添加 $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (647.34mg, 15.43mmol, 2当量)。将混合物在25°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物。然后将溶液用1N HCl调节至 $\text{pH}=3$ ,并且用EtOAc45mL(15mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S,4R)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-哌啶-2-甲酸(1.6g, 6.52mmol, 84.58%产率),并且在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[1037] 步骤2:

[1038] 向(2S,4R)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-哌啶-2-甲酸(1.6g, 6.52mmol, 1当量)和8-溴辛酸1-辛基壬酯(3.61g, 7.83mmol, 1.2当量)于DMF(15mL)中的溶液中添加 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (4.68g, 14.35mmol, 2.2当量)。将混合物在25°C下搅拌8小时。将反应混合物在0°C下通过添加20mL

H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1) 纯化,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g,3.20mmol,49.02%产率)。

[1039] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 4.64-4.89(m,1H), 4.11-4.20(m,3H), 3.70-3.92(m,1H), 3.27-3.42(m,1H), 2.41-2.44(m,1H), 2.27-2.29(m,2H), 1.87-1.93(m,1H), 1.58-1.64(m,8H), 1.45-1.51(m,14H), 1.26-1.34(m,30H), 0.88(t, J=6.8H,6H)。

[1040] 步骤3:

[1041] 向(2S,4R)-4-羟基哌啶-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g,3.20mmol,1当量)于DCM(14mL)中的溶液中添加TFA(7mL)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用EtOAc 90mL (30mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1,添加3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.5g, 2.85mmol,89.29%产率)。

[1042] 步骤4:

[1043] 向(2S,4R)-4-羟基哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 950.93μmol,1当量)于DMF(10mL)中的溶液中添加6-溴己酸十一烷基酯(996.61mg, 2.85mmol,3当量)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(394.27mg,2.85mmol,3当量)和KI(157.86mg,950.93μmol,1当量)。将混合物在60℃下搅拌8小时。将反应混合物通过添加H<sub>2</sub>O 60mL淬灭,并且然后用EtOAc (50mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1) 纯化,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(550mg,692.49μmol,72.82%产率)。

[1044] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 4.82-4.88(m,1H), 4.02-4.14(m,2H), 3.72-3.74(m,1H), 3.07-3.72(m,2H), 2.48-2.55(m,1H), 2.26-2.30(m,8H), 1.89-1.92(m,1H), 1.73-1.78(m,2H), 1.57-1.63(m,8H), 1.49-1.52(m,6H), 1.24-1.33(m,50H), 0.87(t, J=6.4Hz,9H)。

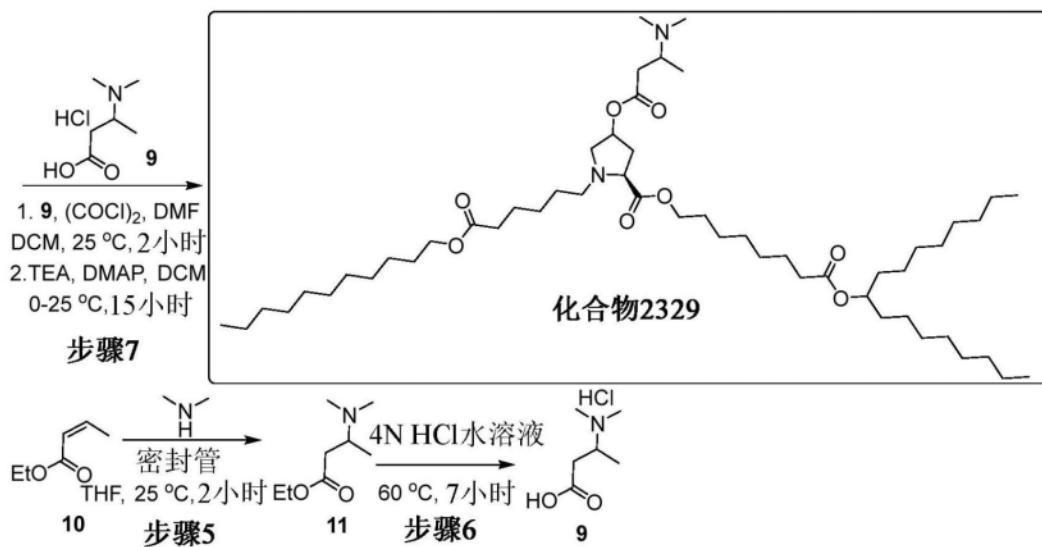
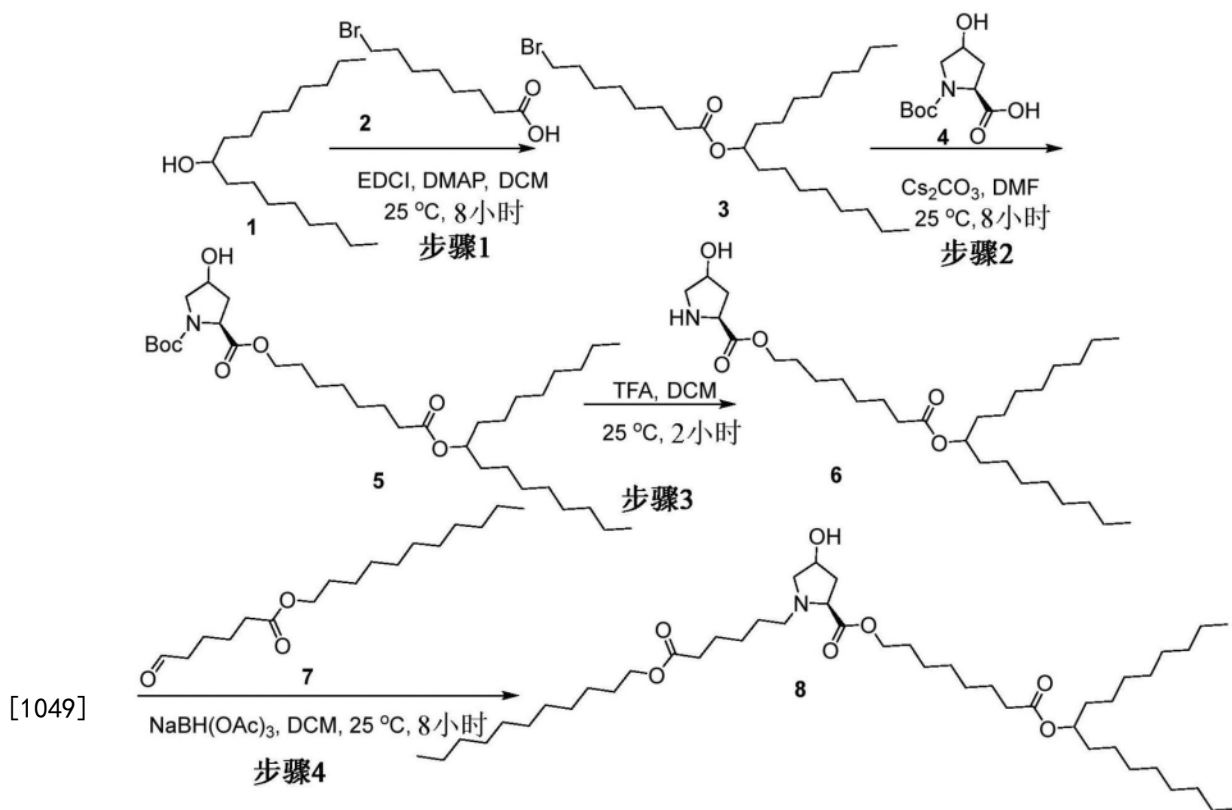
[1045] 步骤5:

[1046] 向3-(二甲基氨基)丙酸(440mg,2.86mmol,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加DMF(10.47mg,143.22μmol,11.02μL,0.05当量)和草酰二氯(436.29mg,3.44mmol,300.89μL,1.2当量)。将混合物在0℃下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油的3-(二甲基氨基)丙酰氯(492mg,粗产物,HCl)。将粗油残余物用DCM(5mL)溶解,并且然后在0℃下添加到(2S,4R)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg,629.54μmol,1当量)、TEA(637.02mg,6.30mmol,876.23μL,10当量)和DMAP(38.45mg,314.77μmol,0.5当量)于DCM(10mL)中的溶液中。将合并的混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用15mL EtOAc(5mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC(柱:Xselect CSH C18100×30mm×5μm;流动相:[H<sub>2</sub>O(0.04% HCl)-THF:ACN=1:3];梯度:在10.0分钟内30%-70%B) 纯化,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-[3-(二甲

基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)哌啶-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(29mg, 32.46 $\mu$ mol, 36.25%产率, HCl盐)。

[1047]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 12.86-13.00 (m, 2H), 5.16 (brs, 1H), 4.82-4.85 (m, 1H), 3.85-4.20 (m, 6H), 3.30 (brs, 4H), 2.71-3.12 (m, 10H), 2.50-2.54 (m, 1H), 2.26-2.32 (m, 4H), 2.13 (brs, 1H), 1.96 (brs, 1H), 1.2 (brs, 1H), 1.63-1.82 (m, 8H), 1.49-1.50 (m, 4H), 1.25-1.50 (m, 49H), 0.87 (t,  $J=6.4\text{H}$ , 9H)。LCMS (CAD): ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在9.371分钟处893.3。

[1048] 8.17. 化合物2329的合成



[1050] 步骤1:

[1051] 在25 $^\circ\text{C}$ 下向8-溴辛酸(5g, 22.41mmol, 1.2当量)于DCM(500mL)中的溶液中添加

EDCI (5.37g, 28.01mmol, 1.5当量)、DMAP (456.31mg, 3.74mmol, 0.2当量)、十七烷-9-醇 (4.79g, 18.68mmol, 1当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物用500mL H<sub>2</sub>O稀释,并且然后用800mL EtOAc (400mL×2) 萃取。将合并的有机层用500mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至10/1) 纯化,以得到呈无色油的8-溴辛酸1-辛基壬酯 (24g, 52.00mmol, 92.81%产率)。

[1052] 步骤2:

[1053] 在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下向(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(2.5g, 10.81mmol, 1当量)和Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(7.75g, 23.78mmol, 2.2当量)于DMF(30mL)中的溶液中添加8-溴辛酸1-辛基壬酯(5.99g, 12.97mmol, 1.2当量)。然后将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物用100mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。然后将合并的有机层用90mL盐水(30mL×3) 洗涤。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1) 纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(10.78g, 17.62mmol, 81.48%产率)。

[1054] 步骤3:

[1055] 将TFA(465.86mg, 4.09mmol, 303.49μL, 1当量)于DCM(12mL)中的溶液添加到(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2.5g, 4.09mmol, 1当量)中,并且用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。然后将残余物用EtOAc(30mL)溶解,并且将有机层用60mL饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL×3)和60mL盐水(20mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/0至1/0, 3% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3.14g, 6.14mmol, 75.09%产率)。

[1056] 步骤4:

[1057] 将(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3.1g, 6.06mmol, 1当量)和6-氧代己酸十一烷基酯(2.07g, 7.27mmol, 1.2当量)于DCM(30mL)中的溶液在25℃下搅拌30分钟,并且然后添加NaBH(OAc)<sub>3</sub>(3.85g, 18.17mmol, 3当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌7.5小时。将反应混合物用50mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL DCM(20mL×3) 萃取。然后将合并的有机层用90mL盐水(30mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至1:1) 纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2.86g, 3.67mmol, 60.52%产率)。

[1058] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.25-4.55 (m, 1H), 4.01-4.20 (m, 5H), 3.40-3.60 (m, 1H), 3.06-3.32 (m, 1H), 2.40-2.71 (m, 3H), 2.15-2.40 (m, 5H), 1.90-2.05 (m, 1H), 1.55-1.80 (m, 11H), 1.15-1.40 (m, 51H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 9H)。

[1059] 步骤5:

[1060] 将(Z)-丁-2-烯酸乙酯(1g, 8.76mmol, 1当量)于N-甲基甲胺(2M, 20mL, 4.57当量, THF)中的溶液在100mL的密封管中在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得

到残余物。将残余物通过柱色谱法 ( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=1/0至1/0) 纯化, 以得到呈无色油的3-(二甲基氨基)丁酸乙酯(0.64g, 4.02mmol, 45.88%产率)。

[1061] 步骤6:

[1062] 将3-(二甲基氨基)丁酸乙酯(0.32g, 2.01mmol, 1当量)溶解于HCl水溶液(4M, 20.98mL, 41.76当量)中, 并且在60°C下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌7小时。将反应混合物用20mL水稀释, 并用60mL EtOAc(20mL×3)萃取, 并且然后将水相冷冻干燥, 以得到呈白色固体的3-(二甲基氨基)丁酸(0.231g, 1.76mmol, 87.63%产率, HCl)。

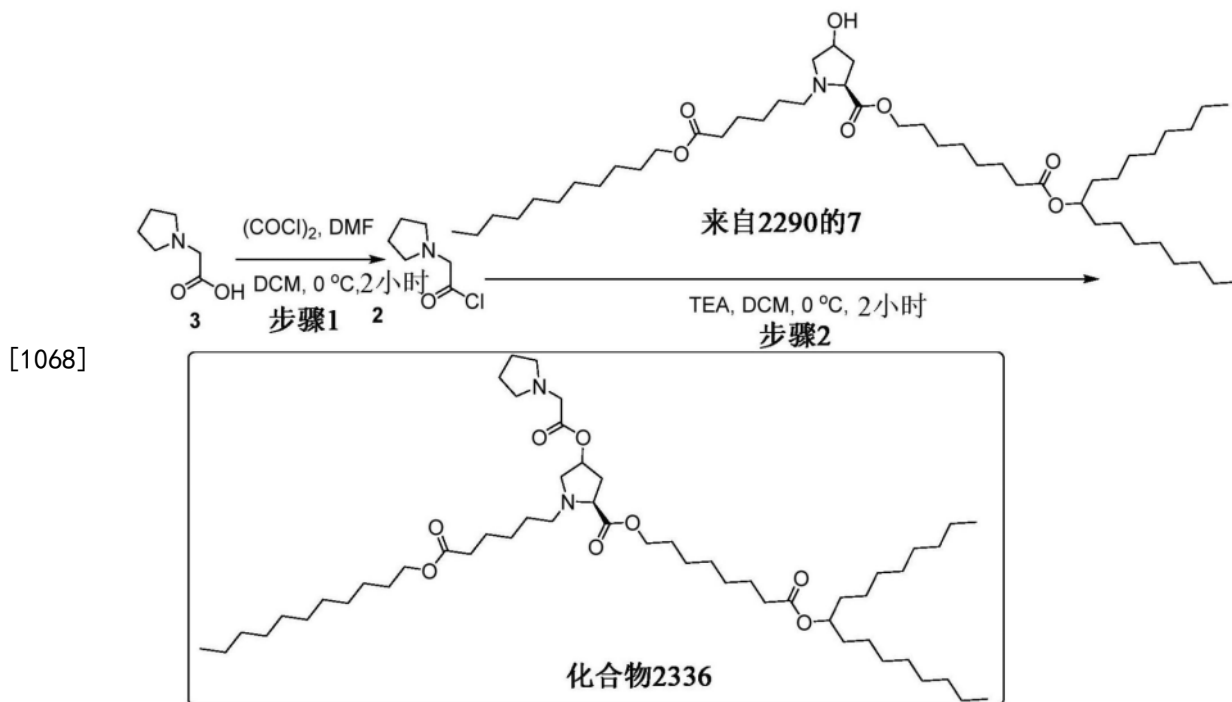
[1063] 步骤7:

[1064] 在25°C下在 $\text{N}_2$ 气氛下向3-(二甲基氨基)丁酸(0.231g, 1.76mmol, 231.00 $\mu\text{L}$ , 1当量)于DCM(20mL)中的混合物中添加 $(\text{COCl})_2$ (1.12g, 8.81mmol, 770.77 $\mu\text{L}$ , 5当量)和DMF(6.44mg, 88.05 $\mu\text{mol}$ , 6.77 $\mu\text{L}$ , 0.05当量)。将混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次, 并且然后在25°C下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩, 以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丁酰氯(0.24g, 1.60mmol, 91.09%产率)。在0°C下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.25g, 320.43 $\mu\text{mol}$ , 1当量)、TEA(226.97mg, 2.24mmol, 312.20 $\mu\text{L}$ , 7当量)和DMAP(19.57mg, 160.21 $\mu\text{mol}$ , 0.5当量)于DCM(25mL)中的溶液中逐滴添加3-(二甲基氨基)丁酰氯(239.71mg, 1.60mmol, 5当量)于DCM(5mL)中的溶液。将混合物在25°C下搅拌15小时。将混合物添加到30mL饱和 $\text{NaHCO}_3$ 中, 并且然后用150mL DCM(50mL×3)萃取。将合并的有机层用盐水(50mL×3)洗涤, 经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/0, 3% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )和制备型HPLC(柱:Xselect CSH C18100×30mm×5 $\mu\text{m}$ ; 流动相:[ $\text{H}_2\text{O}$ (0.04% HCl)-ACN:THF=1:1]; 梯度:在8.0分钟内40%-80%B)纯化, 以得到呈白色固体的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丁酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(47mg, 51.30 $\mu\text{mol}$ , 47.70%产率, HCl)。

[1065]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 11.43-13.32(m, 2H), 5.23-5.55(m, 1H), 4.80-4.95(m, 1H), 4.40-4.70(m, 1H), 3.90-4.40(m, 6H), 3.50-3.90(m, 2H), 2.60-3.40(m, 10H), 2.50-2.60(m, 1H), 2.20-2.40(m, 4H), 1.60-2.02(m, 9H), 1.20-1.50(m, 56H), 0.87(t, J=6.8Hz, 9H)。

[1066] LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在11.259分钟处893.7。

[1067] 8.18. 化合物2336的合成



[1069] 步骤1:

[1070] 向2-吡咯烷-1-基乙酸 (500mg, 3.87mmol, 1当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加DMF (28.30mg, 387.13 $\mu$ mol, 29.79 $\mu$ L, 0.1当量) 和(COCl)<sub>2</sub> (589.64mg, 4.65mmol, 406.65 $\mu$ L, 1.2当量)。将混合物在0°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的2-吡咯烷-1-基乙酰氯 (570mg, 粗产物)。

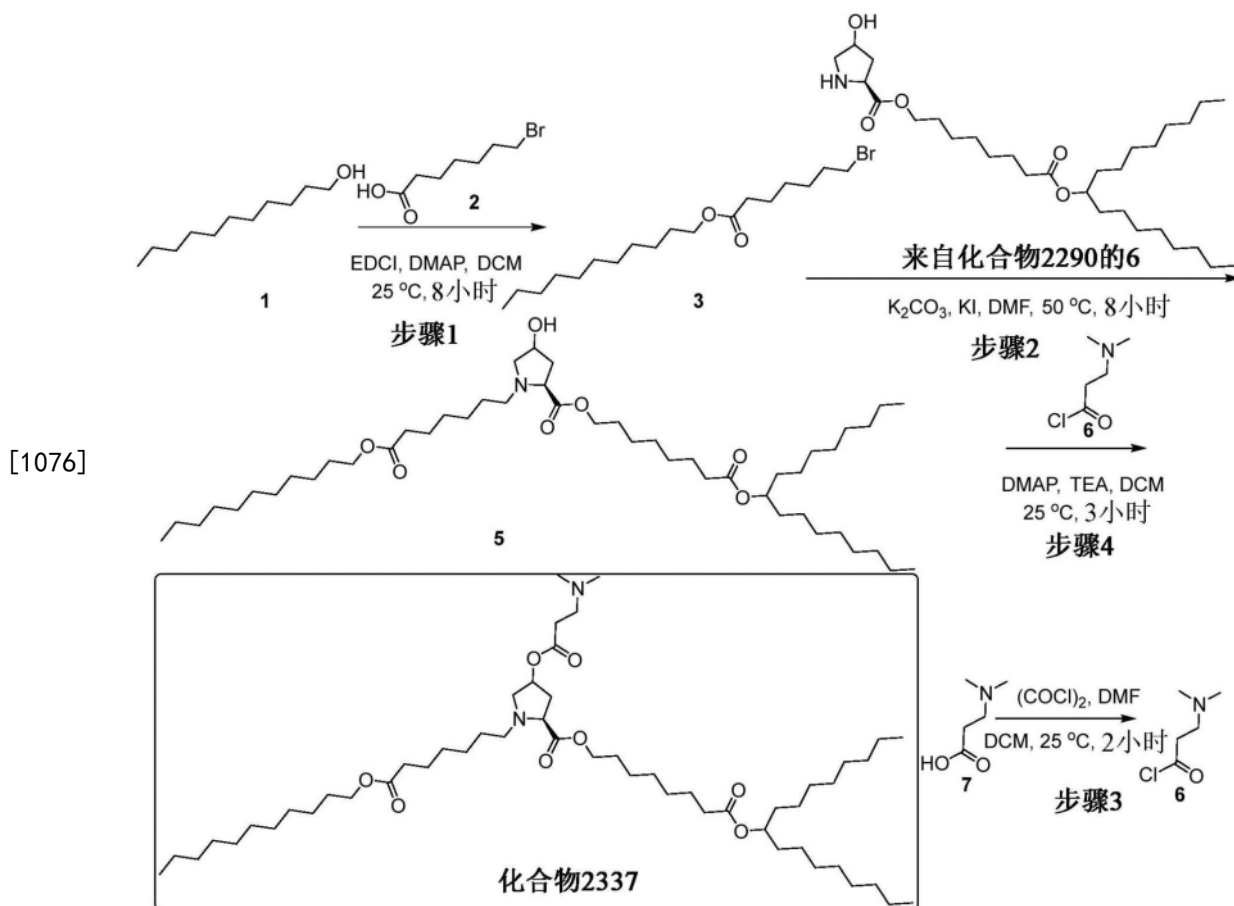
[1071] 步骤2:

[1072] 向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (600mg, 769.03 $\mu$ mol, 1当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加TEA (778.17mg, 7.69mmol, 1.07mL, 10当量) 和2-吡咯烷-1-基乙酰氯 (567.55mg, 3.85mmol, 5当量)。将混合物在0°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC (柱: 菲罗门公司Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m; 流动相: [水 (HCl) - ACN]; B%: 45% - 75%, 10分钟) 纯化。然后将混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8, 并且用30mL EtOAc (10mL $\times$ 3) 萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水 (10mL $\times$ 3) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以得到呈黄色油的 (2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-(2-吡咯烷-1-基乙酰氧基)-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (127mg, 142.48 $\mu$ mol, 18.53%产率)。

[1073] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.22-5.29 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 1H), 4.04-4.14 (m, 4H), 3.12-3.55 (m, 4H), 2.13-2.70 (m, 13H), 1.83 (d, J=3.6Hz, 4H), 1.61-1.65 (m, 8H), 1.45-1.55 (m, 6H), 1.26-1.34 (m, 48H), 0.88 (t, J=6.4Hz, 9H). (M+H<sup>+</sup>): 891.7。

[1074] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在10.183和10.335分钟处891.7。

[1075] 8.19. 化合物2337的合成



[1077] 步骤1:

[1078] 向十一烷-1-醇 (5g, 29.02mmol, 1当量) 和7-溴庚酸 (6.07g, 29.02mmol, 1当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加DMAP (1.77g, 14.51mmol, 0.5当量) 和EDCI (6.68g, 34.82mmol, 1.2当量)。将混合物在25 °C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (200mL) 中, 并且用EtOAc (200mL × 3) 萃取。将有机层用盐水 (200mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色油的7-溴庚酸十一烷基酯 (7g, 19.26mmol, 66.39%产率)。

[1079] 步骤2:

[1080] 向 (2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸 [8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基] 酯 (0.5g, 976.99μmol, 1当量) 和7-溴庚酸十一烷基酯 (426.01mg, 1.17mmol, 1.2当量) 于DMF (15mL) 中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (405.09mg, 2.93mmol, 3当量) 和KI (81.09mg, 488.50μmol, 0.5当量)。将混合物在50 °C下搅拌8小时。在25 °C下将反应混合物通过添加H<sub>2</sub>O 20mL淬灭, 并且然后用EtOAc (20mL × 3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (20mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 20/1至0/1) 纯化, 以得到呈黄色油的 (2S)-4-羟基-1-(7-氧代-7-十一烷氧基-庚基) 吡咯烷-2-甲酸 [8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基] 酯 (700mg, 881.35μmol, 45.11%产率)。

[1081] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.82-4.92 (m, 1H), 4.03-4.16 (m, 6H), 2.22-2.37 (m, 6H), 1.58-1.67 (m, 12H), 1.47-1.53 (m, 4H), 1.24-1.37 (m, 52H), 0.85-0.92 (m, 9H)。

[1082] 步骤3:

[1083] 向3-(二甲基氨基)丙酸 (200mg, 1.71mmol, 1当量) 于DCM (5mL) 中的溶液中添加

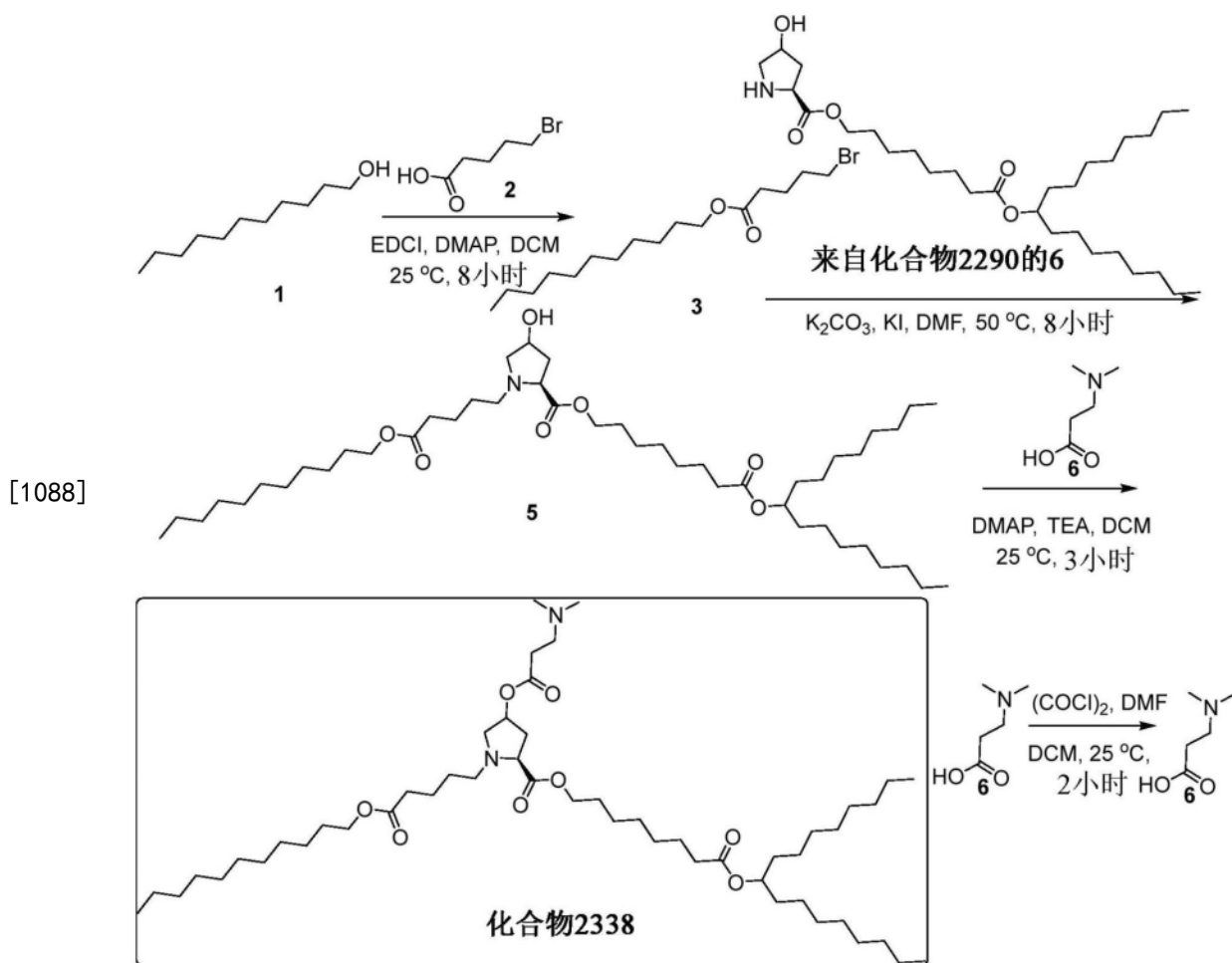
(COCl)<sub>2</sub> (1.08g, 8.54mmol, 747.26μL, 5当量) 和DMF (12.48mg, 170.73μmol, 13.14μL, 0.1当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩, 以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (293.7mg, 1.71mmol, 99.99%产率, HCl)。

[1084] 步骤4:

[1085] 在25℃下向(2S)-4-羟基-1-(7-氧代-7-十一烷氧基-庚基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (400mg, 503.63μmol, 1当量)、TEA (254.81mg, 2.52mmol, 350.50μL, 5当量) 和DMAP (30.76mg, 251.81μmol, 0.5当量) 于DCM(3mL) 中的悬浮液中逐滴添加DCM(1mL) 中的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (259.95mg, 1.51mmol, 3当量, HCl)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌3小时。将反应混合物在25℃下通过添加10mL NaHCO<sub>3</sub>水溶液淬灭, 并且然后用30mL EtOAc (10mL × 3) 萃取。将合并的有机层用20mL 盐水 (10mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC (柱: 菲罗门公司Luna C18100 × 30mm × 5μm; 流动相: [水 (HCl) - ACN]; B%: 40% - 70%, 10分钟) 纯化, 以得到溶液。向溶液中添加饱和NaHCO<sub>3</sub>直到所述溶液的pH = 约7, 并且然后用EtOAc (20mL × 3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(7-氧代-7-十一烷氧基-庚基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (60mg, 156.71μmol, 13.34%产率)。

[1086] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.17-5.32 (m, 1H), 4.80-4.93 (m, 1H), 4.02-4.17 (m, 4H), 3.06-3.58 (m, 2H), 1.91-2.85 (m, 19H), 1.60 (s, 8H), 1.48-1.54 (m, 6H), 1.24-1.36 (m, 50H), 0.85-0.91 (m, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在10.113/10.172分钟处893.7。

[1087] 8.20. 化合物2338的合成



[1089] 步骤1:

[1090] 向十一烷-1-醇 (5g, 29.02mmol, 1当量) 和5-溴戊酸 (5.25g, 29.02mmol, 1当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加DMAP (1.77g, 14.51mmol, 0.5当量) 和EDCI (6.68g, 34.82mmol, 1.2当量)。将混合物在25 °C下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (200mL) 中, 并且用EtOAc (100mL × 3) 萃取。将有机层用盐水 (100mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至5/1) 纯化, 以得到呈无色油的5-溴戊酸十一烷基酯 (7g, 20.88mmol, 71.94%产率)。

[1091] 步骤2:

[1092] 向 (2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸 [8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基] 酯 (0.5g, 976.99μmol, 1当量) 和5-溴戊酸十一烷基酯 (393.12mg, 1.17mmol, 1.2当量) 于DMF (15mL) 中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (405.09mg, 2.93mmol, 3当量) 和KI (81.09mg, 488.50μmol, 0.5当量)。将混合物在50 °C下搅拌8小时。将反应混合物在15 °C下通过添加20mL H<sub>2</sub>O淬灭, 并且然后用60mL EtOAc (20mL × 3) 萃取。将合并的有机层用40mL盐水 (20mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至0/1) 纯化, 以得到呈黄色油的 (2S)-4-羟基-1-(5-氧代-5-十一烷氧基-戊基) 吡咯烷-2-甲酸 [8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基] 酯 (700mg, 913.62μmol, 46.76%产率)。

[1093] 步骤3:

[1094] 向3-(二甲基氨基) 丙酸 (200mg, 1.71mmol, 1当量) 于DCM (5mL) 中的溶液中添加

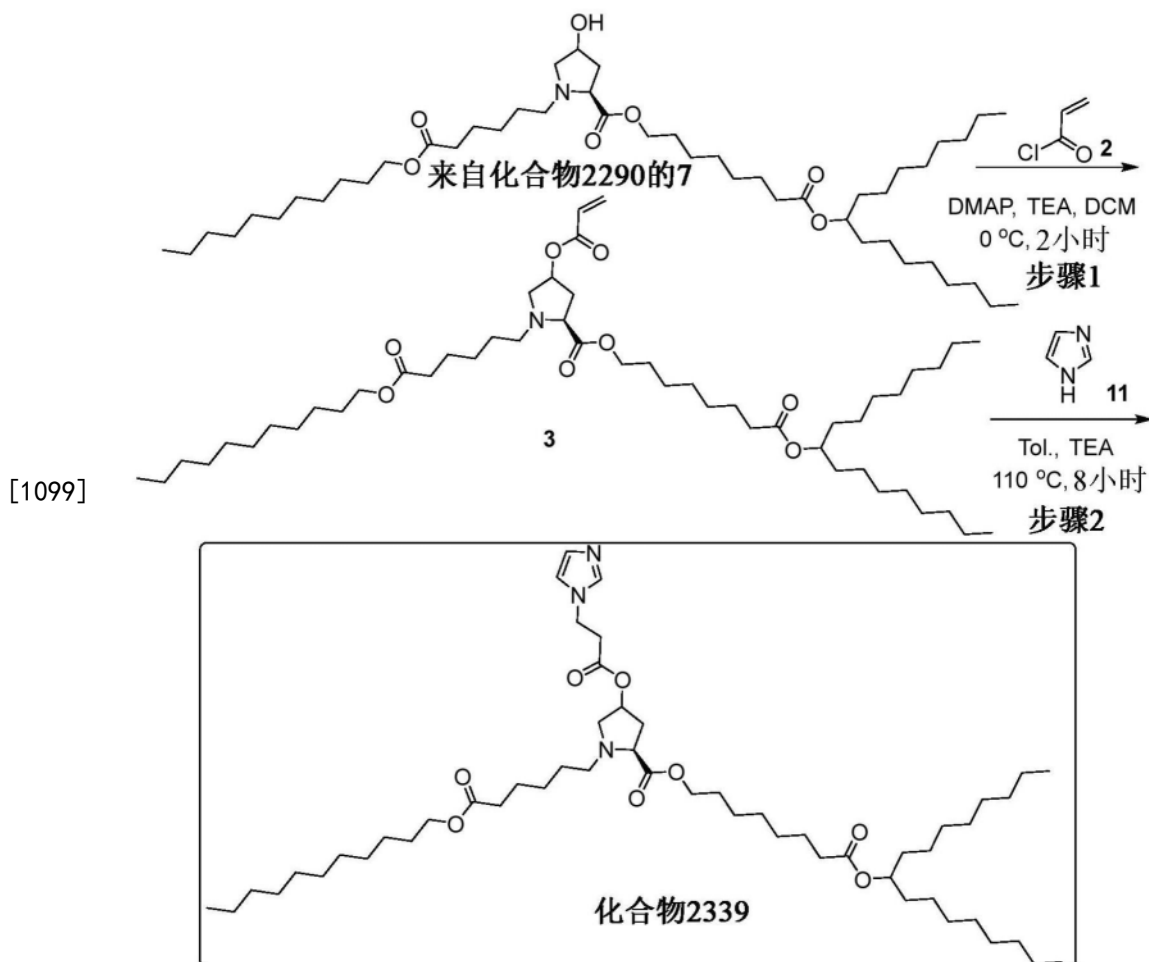
(COCl)<sub>2</sub> (1.08g, 8.54mmol, 747.26μL, 5当量) 和DMF (12.48mg, 170.73μmol, 13.14μL, 0.1当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩, 以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (293.7mg, 1.71mmol, 99.99%产率, HCl)。

[1095] 步骤4:

[1096] 在25℃下向3-(二甲基氨基)丙酰氯 (269.47mg, 1.57mmol, 3当量, HCl)、TEA (264.14mg, 2.61mmol, 363.33μL, 5当量) 和DMAP (31.89mg, 261.03μmol, 0.5当量) 于DCM (5mL) 中的悬浮液中逐滴添加DCM (3mL) 中的 (2S)-4-羟基-1-(5-氧代-5-十一烷氧基-戊基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (400mg, 522.07μmol, 1当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌3小时。将反应混合物在25℃下通过添加10mL NaHCO<sub>3</sub>水溶液淬灭, 并且然后用30mL EtOAc (10mL×3) 萃取。将合并的有机层用20mL盐水 (10mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC (柱: 菲罗门公司Luna C18100×30mm×5μm; 流动相: [水 (HCl) -ACN]; B%: 40%-70%, 10分钟) 纯化, 以得到溶液。将溶液添加到饱和NaHCO<sub>3</sub> (100mL) 中, 并且用EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且将滤液在减压下浓缩, 以得到呈无色油的 (2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(5-氧代-5-十一烷氧基-戊基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (110mg, 161.79μmol, 24.35%产率)。

[1097] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.14-5.32 (m, 1H), 4.81-4.95 (m, 1H), 3.99-4.19 (m, 4H), 3.06-3.60 (m, 2H), 2.41-2.83 (m, 7H), 1.99-2.35 (m, 12H), 1.59-1.67 (m, 8H), 1.47-1.56 (m, 6H), 1.23-1.37 (m, 46H), 0.82-0.94 (m, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在11.572分钟处865.6。

[1098] 8.21. 化合物2339的合成



[1100] 步骤1:

[1101] 在0°C下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1g, 1.28mmol, 1当量)、TEA(648.47mg, 6.41mmol, 891.99 $\mu$ L, 5当量)和DMAP(78.29mg, 640.85 $\mu$ mol, 0.5当量)于DCM(10mL)中的溶液中逐滴添加丙-2-烯酰氯(464.02mg, 5.13mmol, 418.04 $\mu$ L, 4当量),并且然后将混合物在0°C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至3/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-丙-2-烯酰氧基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.45g, 539.40 $\mu$ mol, 42.08%产率)。

[1102] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 6.42(d, J=11.6Hz, 1H), 6.08-6.18(m, 1H), 5.58(t, J=10.0Hz, 1H), 5.21-5.48(m, 1H), 4.86-4.88(m, 1H), 4.04-4.15(m, 5H), 3.15-3.75(m, 2H), 2.03-2.89(m, 9H), 1.50-1.66(m, 17H), 1.27-1.30(m, 44H), 0.87(t, J=5.6Hz, 9H)。

[1103] 步骤2:

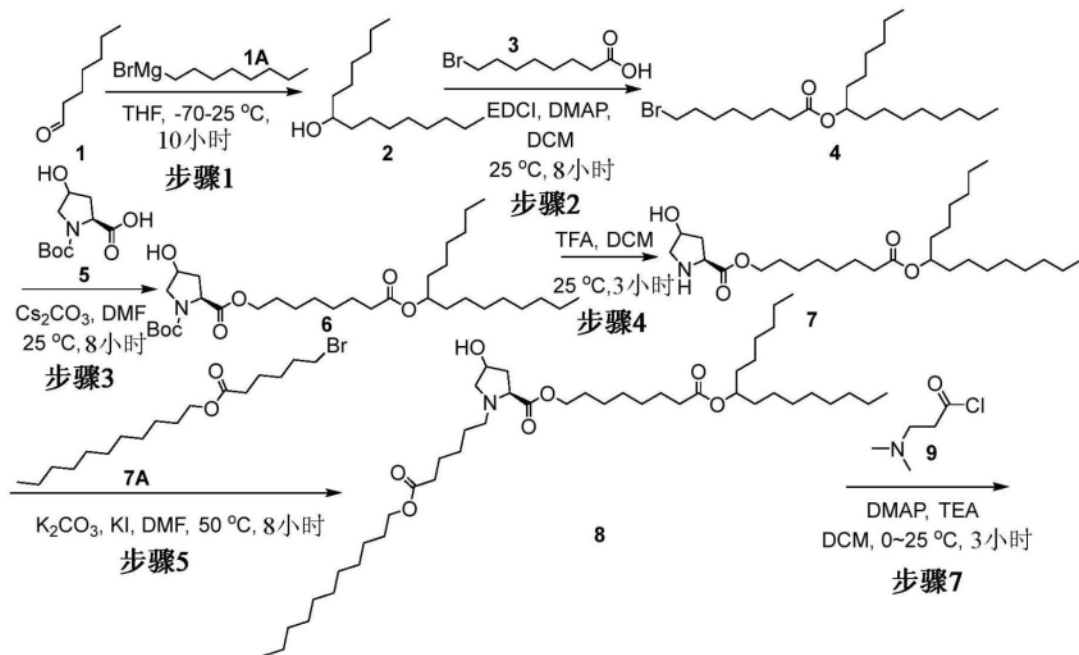
[1104] 将(2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-丙-2-烯酰氧基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg, 239.73 $\mu$ mol, 1当量)、咪唑(48.96mg, 719.20 $\mu$ mol, 3当量)、TEA(24.26mg, 239.73 $\mu$ mol, 33.37 $\mu$ L, 1当量)于甲苯(5mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后将混合物在110°C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=0:1, 0.3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)

和制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%,10分钟)纯化。将混合物在减压下浓缩,并且然后用饱和30mLNaHCO<sub>3</sub>洗涤,并用60mL EtOAc(30mL×2)萃取。将合并的有机层用20mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-(3-咪唑-1-基丙酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(45mg,49.87 $\mu$ mol,37.50%产率)。

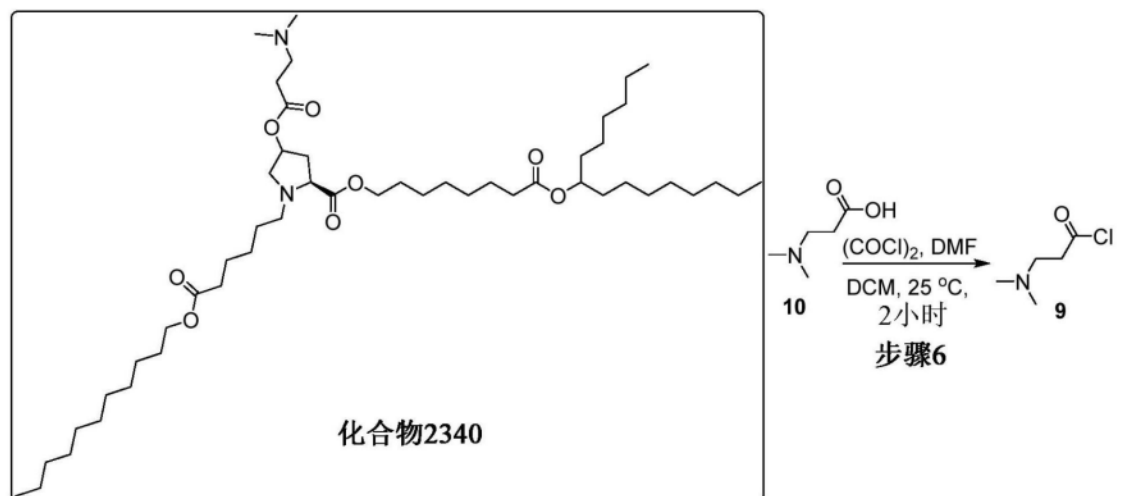
[1105] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),7.62(d,J=27.2Hz,1H),7.08(s,1H),7.96(d,J=27.2Hz,1H),5.19-5.27(m,1H),4.85-4.89(m,1H),4.28(t,J=6.8Hz,2H),4.04-4.12(m,4H),3.44-3.48(m,1H),3.01-3.33(m,1H),2.77-2.80(m,2H),2.48-2.71(m,3H),2.28-2.31(m,5H),2.01-2.21(m,1H),1.50-1.62(m,14H),1.27-1.45(m,48H),0.89(t,J=6.8Hz,9H)。

[1106] LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在11.521分钟处902.6。

[1107] 8.22.化合物2340的合成



[1108]



[1109] 步骤1:

[1110] 在-70℃下向庚醛(20g,175.15mmol,24.45mL,1当量)于THF(200mL)中的溶液中添加溴(辛基)镁(2M,96.33mL,1.1当量)。将混合物在25℃下搅拌10小时。在0℃下将反应混合物(合并5个批次)通过添加300mL饱和NH<sub>4</sub>Cl淬灭,然后用2000mL H<sub>2</sub>O稀释,并用EtOAc(500mL×3)萃取。将合并的有机层用500mL饱和NaCl洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至50/1)纯化,以得到呈白色固体的十五烷-7-醇(20g,87.56mmol,25.00%产率)。

[1111] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),3.49-3.56(m,1H),1.15-1.36(m,24H),0.79-0.82(m,6H)。

[1112] 步骤2:

[1113] 向十五烷-7-醇(5g,21.89mmol,1当量)和8-溴辛酸(4.88g,21.89mmol,1当量)于DCM(50mL)中的溶液中添加EDCI(5.04g,26.27mmol,1.2当量)和DMAP(1.34g,10.95mmol,0.5当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物用50mL水稀释,并用EtOAc 60mL(20mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(10mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0)纯化,以得到呈无色油的8-溴辛酸1-己基壬酯(6.5g,14.99mmol,68.50%产率)。

[1114] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.84-4.91(m,1H),3.41(t,J=6.8Hz,2H),2.29(t,J=7.6Hz,2H),1.82-1.89(m,2H),1.59-1.67(m,2H),1.40-1.52(m,6H),1.26-1.36(m,24H),0.88(t,J=6.4Hz,6H)。

[1115] 步骤3:

[1116] 向8-溴辛酸1-己基壬酯(3g,6.92mmol,1.2当量)于DMF(30mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(4.13g,12.69mmol,2.2当量)和(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(1.33g,5.77mmol,1当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物用50mL水稀释,并且用60mL EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(10mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至3/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2.7g,4.62mmol,80.19%产率)。

[1117] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.86-4.89(m,1H),4.28-4.52(m,2H),4.11-4.25(m,3H),3.46-3.69(m,2H),2.29-2.40(m,3H),2.06-2.11(m,2H),1.26-1.53(m,41H),0.89(t,J=6.4Hz,6H)。

[1118] 步骤4:

[1119] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g,3.43mmol,1当量)于DCM(14mL)中的溶液中添加TFA(10.78g,94.54mmol,7mL,27.60当量)。将混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物在减压下浓缩以去除溶剂。将反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层用20mL饱和盐水(10mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.5g,粗产物)。

[1120] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.86-4.91(m,1H),4.41-4.49(m,1H),4.12-4.20(m,3H),3.07-3.21(m,2H),2.30(t,J=7.6Hz,3H),2.06-2.11(m,2H),1.62-1.67(m,4H),1.51-1.53(m,4H),1.27-1.36(m,26H),0.89(t,J=6.4Hz,6H)。

[1121] 步骤5:

[1122] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.5g, 3.10mmol, 1当量)于DMF(30mL)中的溶液中添加 $K_2CO_3$ (1.29g, 9.30mmol, 3当量)和KI(257.38mg, 1.55mmol, 0.5当量)以及6-溴己酸十一烷基酯(1.19g, 3.41mmol, 1.1当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物用50mL水稀释,并且用60mL EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(15mL×2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g, 2.66mmol, 85.75%产率)。

[1123] 步骤6:

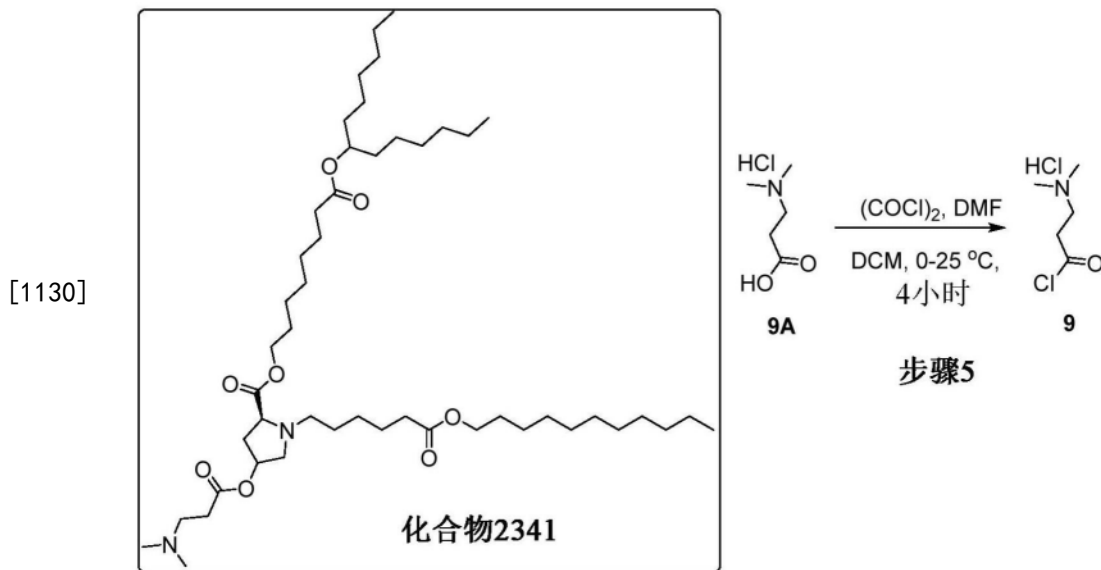
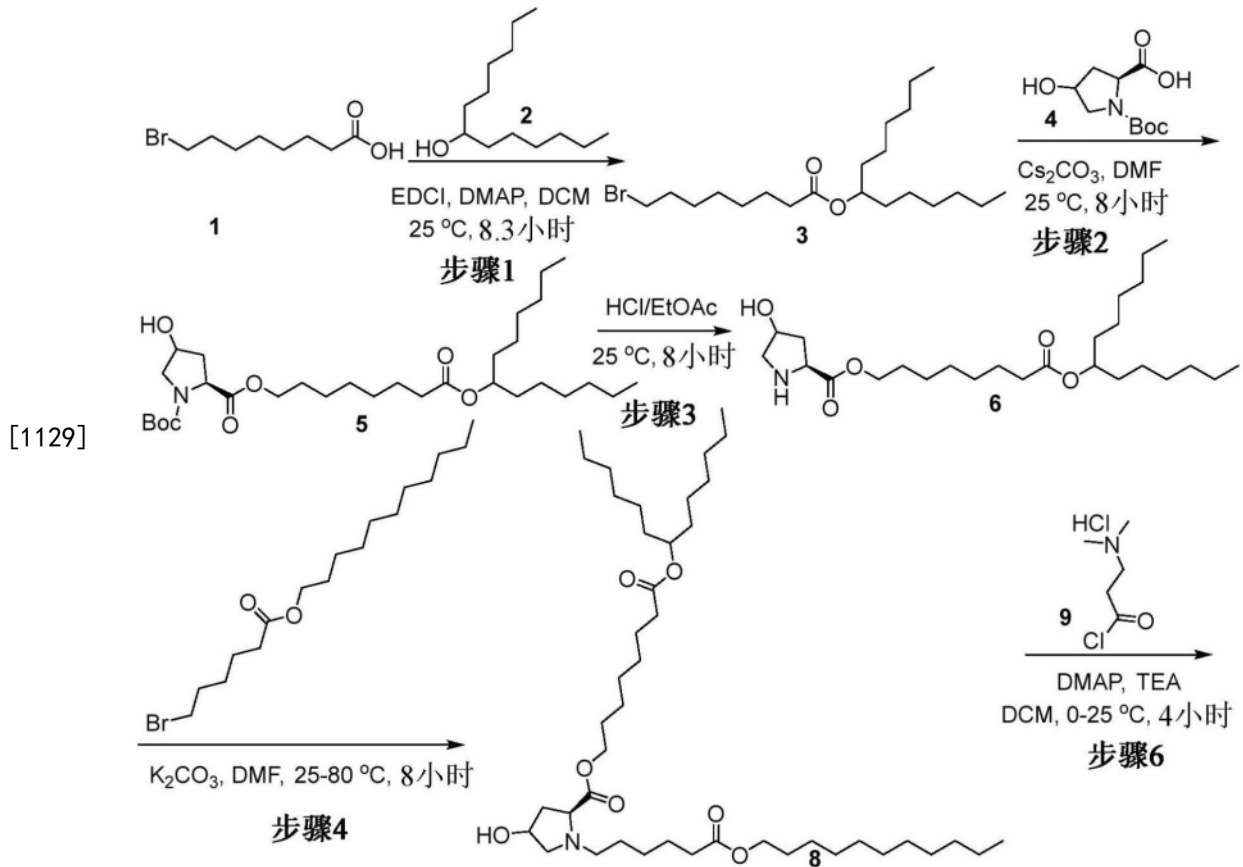
[1124] 向3-(二甲基氨基)丙酸(500mg, 3.26mmol, 1当量, HCl)于DCM(10mL)中的溶液中添加DMF(23.79mg, 325.51 $\mu$ mol, 25.04 $\mu$ L, 0.1当量)和 $(COCl)_2$ (495.78mg, 3.91mmol, 341.92 $\mu$ L, 1.2当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(560mg, 粗产物, HCl)。

[1125] 步骤7:

[1126] 在0℃下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 664.76 $\mu$ mol, 1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加DMAP(16.24mg, 132.95 $\mu$ mol, 0.2当量)和TEA(672.66mg, 6.65mmol, 925.25 $\mu$ L, 10当量)以及3-(二甲基氨基)丙酰氯(554.71mg, 3.22mmol, 4.85当量, HCl)。将混合物在25℃下搅拌3小时。将反应混合物用40mL水稀释,并且用45mL EtOAc(15mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL盐水(15mL×2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=0/1至1/1)纯化。然后将残余物通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5 $\mu$ m;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:40%-70%,10分钟)纯化。然后将混合物用饱和 $NaHCO_3$ 调节至pH=8,用EtOAc 45mL(15mL×3)萃取。将合并的有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(380mg, 446.38 $\mu$ mol, 67.15%产率)。

[1127]  $^1H$  NMR(400MHz,  $CDCl_3$ ), 5.18-5.28(m, 1H), 4.85-4.88(m, 1H), 4.03-4.14(m, 4H), 3.09-3.54(m, 2H), 2.47-2.62(m, 7H), 2.00-2.31(m, 12H), 1.61-1.63(m, 8H), 1.49-1.51(m, 6H), 1.26-1.33(m, 44H), 0.88(t, J=6.8Hz, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在10.805分钟处851.8。

[1128] 8.23. 化合物2341的合成



[1131] 步骤1:

[1132] 向8-溴辛酸 (9.47g, 42.42mmol, 1.7当量) 于DCM (200mL) 中的溶液中添加EDCI (8.13g, 42.42mmol, 1.7当量) 和DMAP (3.35g, 27.45mmol, 1.1当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次, 并且然后在25 °C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌0.3小时。向混合物中添加十三烷-7-醇 (5g, 24.96mmol, 1当量), 并且将混合物在25 °C在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩, 并且然后用200mL H<sub>2</sub>稀释, 并用900mL EtOAc (300mL × 3) 萃取。将合并的有机层用200mL 盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至10/1) 纯化, 以得到呈无色油的8-溴辛酸1-己基庚酯

(7.78g, 19.18mmol, 76.85%产率)。

[1133]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) , 4.85-4.88 (m, 1H) , 3.41 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H) , 2.29 (t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H) , 1.84-1.90 (m, 2H) , 1.59-1.67 (m, 2H) , 1.40-1.57 (m, 8H) , 1.25-1.38 (m, 18H) , 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) 。

[1134] 步骤2:

[1135] 在25℃下向8-溴辛酸1-己基庚酯(7.28g, 17.95mmol, 1.2当量)和(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(3.46g, 14.95mmol, 1当量)于DMF(200mL)中的溶液中添加 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (10.72g, 32.90mmol, 2.2当量)。将混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物用100mL  $\text{H}_2\text{O}$ 稀释,并且用600mL EtOAc (200mL  $\times$  3)萃取。将合并的有机层用300mL盐水(300mL  $\times$  2)mL洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(6.31g, 11.36mmol, 75.97%产率)。

[1136]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) , 4.85-4.88 (m, 1H) , 4.05-4.35 (m, 2H) , 4.35-4.55 (m, 2H) , 3.38-3.75 (m, 2H) , 2.20-2.44 (m, 3H) , 2.25-2.17 (m, 1H) , 1.59-1.67 (m, 4H) , 1.40-1.55 (m, 13H) , 1.20-1.38 (m, 22H) , 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H) 。

[1137] 步骤3:

[1138] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(5.7g, 10.26mmol, 1当量)于EtOAc(31.5mL)中的溶液中添加HCl/EtOAc(4M, 31.5mL, 12.29当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(60mL)调节至pH=7.0,并且用300mL EtOAc(100mL  $\times$  3)萃取。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(4.39g, 9.63mmol, 93.94%产率)。

[1139] 步骤4:

[1140] 在25℃下向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(4.36g, 9.56mmol, 1当量)和6-溴己酸十一烷基酯(4.00g, 11.48mmol, 1.2当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (3.97g, 28.72mmol, 3当量)。将混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后在80℃下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物过滤并用150mL  $\text{H}_2\text{O}$ 稀释,并且用400mL EtOAc(100mL  $\times$  4)萃取。将合并的有机层用300mL盐水(150mL  $\times$  2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=8/1至1/1, 5% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(4.21g, 5.81mmol, 60.77%产率)。

[1141] 步骤5:

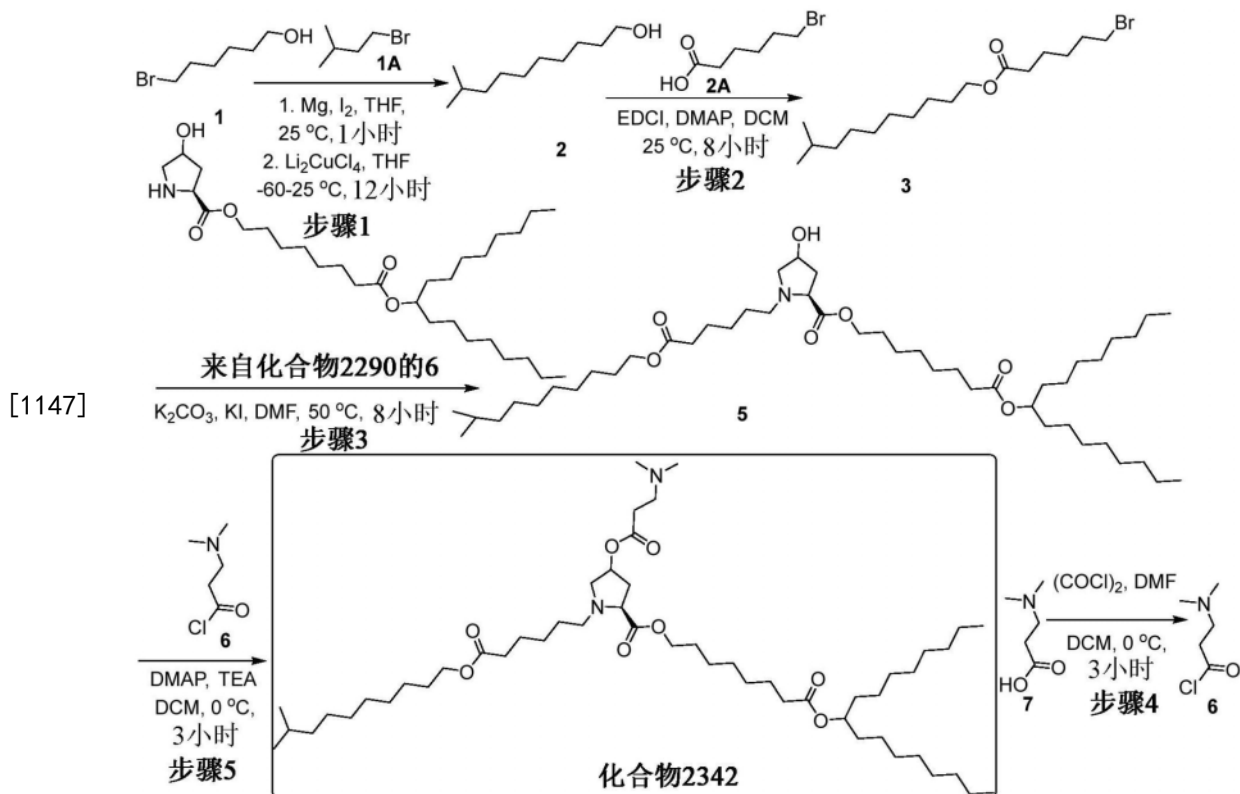
[1142] 在0℃下向3-(二甲基氨基)丙酸(600mg, 3.91mmol, 1当量, HCl)于DCM(10mL)中的溶液中添加草酰二氯(2.48g, 19.53mmol, 1.71mL, 5当量)和DMF(19.00mg, 259.94 $\mu\text{mol}$ , 0.02mL, 6.65e-2当量)。将混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后温热到25℃,并在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的粗产物3-(二甲基氨基)丙酰氯(700mg, 粗产物, HCl),并且在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[1143] 步骤6:

[1144] 在0℃下向(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 690.51μmol, 1当量)和DMAP(8.44mg, 69.05μmol, 0.1当量)、TEA(698.72mg, 6.91mmol, 961.10μL, 10当量)于DCM(10mL)中的溶液中逐滴添加DCM(5mL)中的3-(二甲基氨基)丙酰氯(594.02mg, 3.45mmol, 5当量, HCl)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次, 并且然后在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌4小时。将反应混合物通过添加40mL H<sub>2</sub>O淬灭, 并且用400mL EtOAc(200mL × 2)萃取。将合并的有机层用盐水100mL洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC(柱: 菲罗门公司Luna C18100 × 30mm × 5μm; 流动相: [水(HCl) - ACN]; B%: 40% - 70%, 10分钟)以及制备型TLC(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1:10, 2%NH<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O)纯化, 以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基庚氧基)-8-氧代-辛基]酯(76mg, 92.43μmol, 100%纯度, 24.18%产率)。

[1145] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.27(m, 1H), 4.85-4.88(m, 1H), 4.03-4.12(m, 4H), 3.05-3.57(m, 2H), 1.98-2.62(m, 19H), 1.62-1.64(m, 8H), 1.45-1.52(m, 6H), 1.22-1.41(m, 40H), 0.88(t, J=6.8Hz, 9H)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在8.281分钟内823.6。

[1146] 8.24. 化合物2342的合成



[1148] 步骤1:

[1149] 向Mg(3.84g, 158.00mmol, 1.19当量)于THF(400mL)中的溶液中添加I<sub>2</sub>(168.04mg, 662.06μmol, 133.36μL, 0.005当量)和1-溴-3-甲基-丁烷(20g, 132.42mmol, 16.66mL, 1当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌1小时。将混合物添加到6-溴己-1-醇(5g, 27.60mmol, 1.45mL, 1当量)于THF(50mL)中的溶液中, 并且然后在-60℃下添加四氯合铜(II)酸二锂(0.1M, 13.8mL, 0.05当量)。将混合物在25℃下搅拌12小时。将反应混合物在0℃

下通过添加100mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用150mL EtOAc (50mL×3) 萃取。将合并的有机层用150mL饱和盐水 (50mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=50/1至3/1) 纯化,以得到呈无色油的9-甲基癸烷-1-醇 (4g, 23.21mmol, 84.07%产率)。

[1150] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 3.64 (t, J=6.8Hz, 2H), 1.53-1.57 (m, 3H), 1.14-1.34 (m, 12H), 0.86 (d, J=6.8Hz, 6H)。

[1151] 步骤2:

[1152] 向9-甲基癸烷-1-醇 (4g, 23.21mmol, 1当量) 和6-溴己酸 (4.53g, 23.21mmol, 1当量) 于DCM (30mL) 中的溶液中添加EDCI (5.34g, 27.86mmol, 1.2当量) 和DMAP (1.42g, 11.61mmol, 0.5当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加100mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用150mL EtOAc (50mL×3) 萃取。将合并的有机层用150mL盐水 (50mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至50/1) 纯化,以得到呈黄色油的6-溴己酸9-甲基癸酯 (4.5g, 12.88mmol, 55.49%产率)。

[1153] 步骤3:

[1154] 向6-溴己酸9-甲基癸酯 (1.50g, 4.30mmol, 1.1当量) 于DMF (20mL) 中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.62g, 11.72mmol, 3当量)、KI (324.37mg, 1.95mmol, 0.5当量) 和(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (2g, 3.91mmol, 1当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加50mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用90mL EtOAc (30mL×3) 萃取。将合并的有机层用90mL盐水 (30mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1, 添加0.1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-羟基-1-[6-(9-甲基癸氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (2g, 2.56mmol, 65.59%产率)。

[1155] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86 (t, J=6.4Hz, 1H), 4.17-4.40 (m, 1H), 4.03-4.09 (m, 4H), 3.23-3.65 (m, 3H), 2.31-3.21 (m, 3H), 2.27-2.98 (m, 4H), 1.27-1.70 (m, 60H), 1.24-1.59 (m, 3H), 0.85-0.87 (m, 12H)。

[1156] 步骤4:

[1157] 向3-(二甲基氨基)丙酸 (700mg, 4.56mmol, 1当量, HCl) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加DMF (33.31mg, 455.71μmol, 35.06μL, 0.1当量) 和(COCl)<sub>2</sub> (694.10mg, 5.47mmol, 478.69μL, 1.2当量)。将混合物在0℃下搅拌3小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (780mg, 粗产物, HCl)。

[1158] 步骤5:

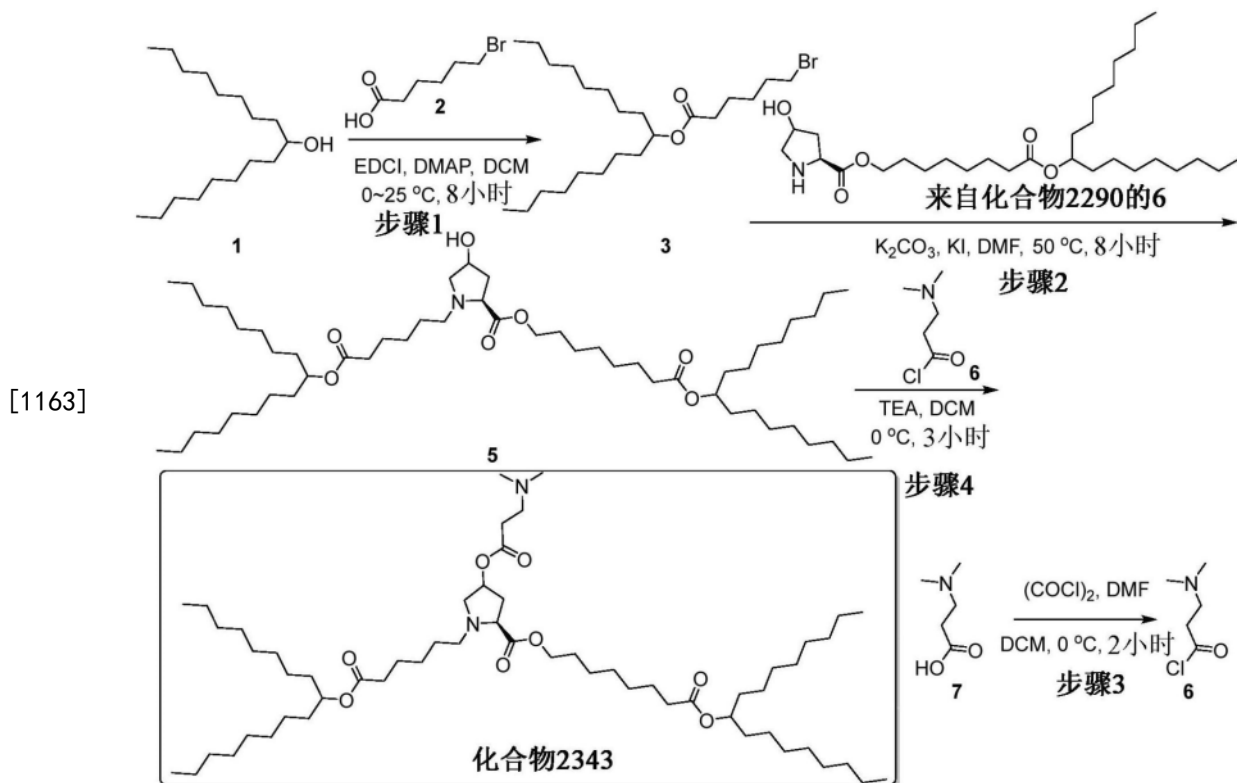
[1159] 向(2S)-4-羟基-1-[6-(9-甲基癸氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (700mg, 897.20μmol, 1当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加TEA (907.86mg, 8.97mmol, 1.25mL, 10当量)、DMAP (21.92mg, 179.44μmol, 0.2当量) 和3-(二甲基氨基)丙酰氯 (771.82mg, 4.49mmol, 5当量, HCl)。将混合物在0℃下搅拌3小时。将反应混合物在0℃下通过添加20mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用30mL EtOAc (10mL×3) 萃取。将合并的有机层用30mL盐水 (10mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1, 添加0.1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈

无色油的 (2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-[6-(9-甲基癸氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (500mg, 568.61 $\mu$ mol, 63.38% 产率)。

[1160]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.20-5.27 (m, 1H), 4.86 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 1H), 4.03-4.13 (m, 4H), 3.08-3.53 (m, 2H), 2.49-2.79 (m, 7H), 2.24-2.31 (m, 11H), 2.03-2.17 (m, 1H), 1.59-1.64 (m, 8H), 1.48-1.53 (m, 7H), 1.26-1.34 (m, 42H), 1.14-1.16 (m, 2H), 0.85-0.89 (m, 12H)。

[1161] LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在10.027和10.102分钟处879.7。

[1162] 8.25. 化合物2343的合成



[1164] 步骤1:

[1165] 在0°C下向十七烷-9-醇 (5g, 19.50mmol, 1当量) 和6-溴己酸 (3.80g, 19.50mmol, 1当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加EDCI (4.48g, 23.39mmol, 1.2当量) 和DMAP (1.19g, 9.75mmol, 0.5当量)。将混合物在25°C下搅拌8小时。将反应混合物在0°C下通过添加100mL  $\text{H}_2\text{O}$  淬灭, 并且然后用300mL EtOAc (100mL  $\times$  3) 萃取。将合并的有机层用300mL 盐水 (100mL  $\times$  3) 洗涤, 经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 ( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至20/1) 纯化, 以得到呈无色油的6-溴己酸1-辛基壬酯 (5.8g, 13.38mmol, 68.63% 产率)。

[1166]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.86-4.89 (m, 1H), 3.41 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 2.31 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 2H), 1.85-1.92 (m, 2H), 1.62-1.68 (m, 2H), 1.48-1.52 (m, 6H), 1.24-1.30 (m, 24H), 0.88 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 6H)。

[1167] 步骤2:

[1168] 向6-溴己酸1-辛基壬酯 (1.86g, 4.30mmol, 1.1当量) 于DMF (20mL) 中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.62g, 11.72mmol, 3当量)、KI (324.37mg, 1.95mmol, 0.5当量) 和 (2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (2g, 3.91mmol, 1当量)。将混合物在50°C下搅

拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加30mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。将合并的有机层用60mL盐水 (20mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1, 添加0.1% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈无色油的 (2S)-4-羟基-1-[6-(1-辛基壬氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.8g, 2.08mmol, 53.29%产率)。

[1169] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.87 (t, J=6.0Hz, 2H), 4.28-4.49 (m, 1H), 4.10-4.13 (m, 2H), 3.63-3.66 (m, 1H), 3.06-3.26 (m, 1H), 2.50-2.63 (m, 2H), 2.28 (t, J=7.2Hz, 4H), 1.62-1.64 (m, 8H), 1.50-1.51 (m, 8H), 1.26-1.34 (m, 56H), 0.88 (t, J=6.8Hz, 12H)。

[1170] 步骤3:

[1171] 向3-(二甲基氨基)丙酸 (500mg, 3.26mmol, 1当量, HCl) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加DMF (237.92mg, 3.26mmol, 250.45μL, 1当量) 和(COCl)<sub>2</sub> (495.78mg, 3.91mmol, 341.92μL, 1.2当量)。将混合物在0℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (560mg, 粗产物, HCl)。

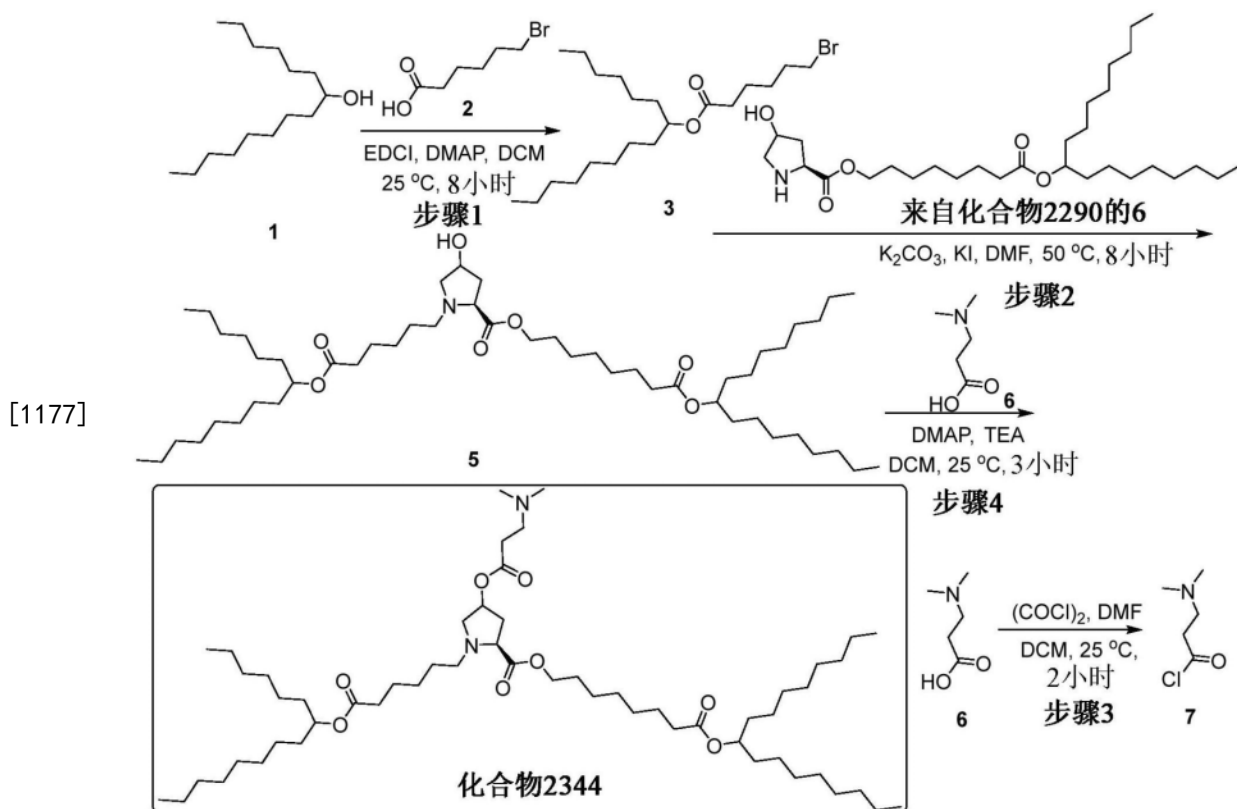
[1172] 步骤4:

[1173] 向(2S)-4-羟基-1-[6-(1-辛基壬氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (500mg, 578.46μmol, 1当量) 于DCM (10mL) 中的溶液中添加TEA (585.34mg, 5.78mmol, 805.14μL, 10当量) 和3-(二甲基氨基)丙酰氯 (497.63mg, 2.89mmol, 5当量, HCl)。将混合物在0℃下搅拌3小时。将反应混合物在0℃下通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用30mL EtOAc (10mL×3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (10mL×3) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC (柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5μm; 流动相:[水 (HCl)-ACN]; B%:45%-75%, 10分钟) 纯化。然后将混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用45mL EtOAc (15mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的 (2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-[6-(1-辛基壬氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (70mg, 72.65μmol, 12.56%产率)。

[1174] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 5.20-5.26 (m, 1H), 4.84-4.88 (m, 2H), 4.09-4.14 (m, 2H), 3.11-3.52 (m, 2H), 2.49-2.63 (m, 7H), 2.28-2.30 (m, 10H), 2.25-2.26 (m, 2H), 1.63-1.65 (m, 10H), 1.51-1.61 (m, 4H), 1.26-1.34 (m, 58H), 0.88 (t, J=6.4Hz, 12H)。

[1175] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在13.048和13.134分钟处963.8

[1176] 8.26. 化合物2344的合成



[1178] 步骤1:

[1179] 向十五烷-7-醇 (2.5g, 10.95mmol, 1当量) 和6-溴己酸 (2.13g, 10.95mmol, 1当量) 于DCM (100mL) 中的溶液中添加EDCI (2.52g, 13.13mmol, 1.2mL当量) 和DMAP (668.57mg, 5.47mmol, 0.5当量)。将混合物在25°C下搅拌8小时。将反应混合物在0°C下通过添加100mL H<sub>2</sub>O淬灭, 并且然后用150mL EtOAc (50mL × 3) 萃取。将合并的有机层用150mL盐水 (50mL × 3) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至10/1) 纯化, 以得到呈无色油的6-溴己酸1-己基壬酯 (5g, 12.33mmol, 56.34%产率)。

[1180] 步骤2:

[1181] 向6-溴己酸1-己基壬酯 (950.69mg, 2.34mmol, 1.2当量) 和(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1g, 1.95mmol, 1当量) 于DMF (50mL) 中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (810.18mg, 5.86mmol, 3当量) 和KI (162.18mg, 976.99μmol, 0.5当量)。将混合物在50°C下搅拌8小时。将反应混合物在15°C下通过添加50mL H<sub>2</sub>O淬灭, 并且然后用EtOAc (50mL × 3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL × 2) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至8/1) 纯化, 以得到呈黄色油的(2S)-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.2g, 1.43mmol, 36.72%产率)。

[1182] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.80-4.94 (m, 2H), 4.09-4.15 (m, 2H), 2.99-3.99 (m, 4H), 2.44-2.60 (m, 2H), 2.28 (t, J=7.6Hz, 4H), 1.61-1.70 (m, 8H), 1.49-1.52 (m, 6H), 1.16-1.38 (m, 56H), 0.88 (t, J=7.2Hz, 12H)。

[1183] 步骤3:

[1184] 向3-(二甲基氨基)丙酸 (300mg, 1.95mmol, 1当量, HCl) 于DCM (5mL) 中的溶液中添加

加 $(\text{COCl})_2$  (1.24g, 9.77mmol, 854.82 $\mu\text{L}$ , 5当量)和DMF (14.27mg, 195.30 $\mu\text{mol}$ , 15.03 $\mu\text{L}$ , 0.1当量)。将混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (336mg, 1.95mmol, 99.99%产率, HCl)。

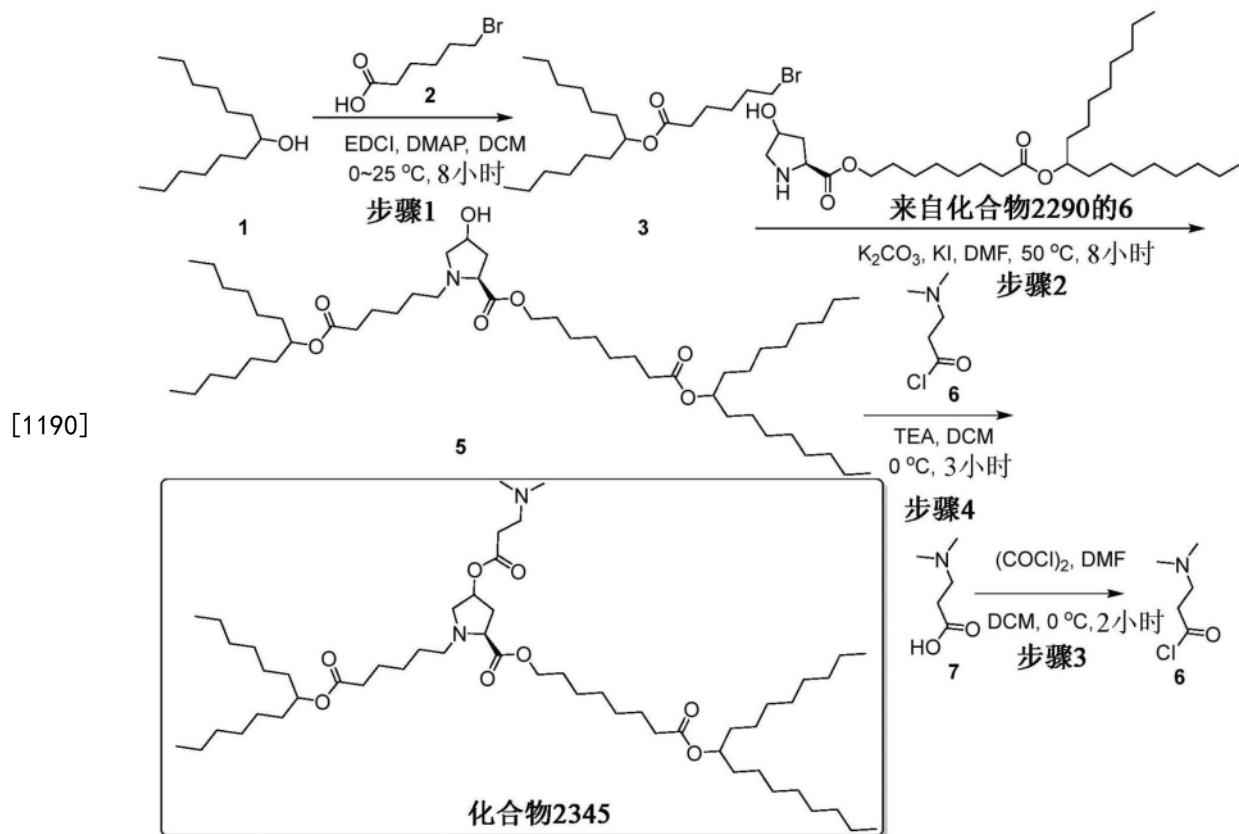
[1185] 步骤4:

[1186] 向(2S)-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (500mg, 597.86 $\mu\text{mol}$ , 1当量)、DMAP (36.52mg, 298.93 $\mu\text{mol}$ , 0.5当量)和TEA (302.49mg, 2.99mmol, 416.08 $\mu\text{L}$ , 5当量)于DCM (5mL)中的悬浮液中逐滴添加DCM (3mL)中的3-(二甲基氨基)丙酰氯 (308.59mg, 1.79mmol, 3当量, HCl)。将混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌3小时。将反应混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下通过添加10mL  $\text{NaHCO}_3$ 水溶液淬灭,并且然后用30mL EtOAc (10mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用20mL盐水 (10mL $\times$ 2)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 ( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,并且通过制备型HPLC (柱:菲罗门公司Luna C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu\text{m}$ ;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:45%-75%,10分钟)纯化。然后将混合物用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 调节至pH=8,并且用45mL EtOAc (15mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (220mg, 231.65 $\mu\text{mol}$ , 47.11%产率)。

[1187]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.20-5.30 (m, 1H), 4.84-4.90 (m, 2H), 4.09-4.15 (m, 2H), 3.43-3.55 (m, 1H), 3.08-3.26 (m, 1H), 2.20-2.80 (m, 18H), 1.98-2.20 (m, 1H), 1.60-1.70 (m, 6H), 1.45-1.55 (m, 10H), 1.20-1.38 (m, 52H), 0.88 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 12H)。

[1188] LCMS: (M/2+H $^+$ ): 在11.390/11.490分钟处935.7。

[1189] 8.27. 化合物2345的合成



[1191] 步骤1:

[1192] 在0℃下向十三烷-7-醇(5.14g, 25.63mmol, 1当量)和6-溴己酸(5g, 25.63mmol, 1当量)于DCM(100mL)中的溶液中添加EDCI(5.90g, 30.76mmol, 1.2当量)和DMAP(1.57g, 12.82mmol, 0.5当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加100mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用300mL EtOAc(100mL×3)萃取。将合并的有机层用300mL盐水(100mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至20/1)纯化,以得到呈无色油的6-溴己酸1-己基庚酯(8g, 21.20mmol, 82.69%产率)。

[1193] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.90(m, 1H), 3.41(t, J=6.8Hz, 2H), 2.31(t, J=7.2Hz, 2H), 1.88-1.92(m, 2H), 1.62-1.70(m, 2H), 1.48-1.52(m, 6H), 1.24-1.30(m, 16H), 0.88(t, J=6.4Hz, 6H)。

[1194] 步骤2:

[1195] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g, 3.91mmol, 1当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(1.62g, 11.72mmol, 3当量)、KI(324.37mg, 1.95mmol, 0.5当量)和6-溴己酸1-己基庚酯(1.62g, 4.30mmol, 1.1当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加50mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用90mL EtOAc(30mL×3)萃取。将合并的有机层用90mL盐水(30mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/1,添加0.1%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈无色油的(2S)-1-[6-(1-己基庚氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.7g, 2.10mmol, 53.82%产率)。

[1196] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.86(t, J=6.0Hz, 2H), 4.25-4.48(m, 1H), 4.10-4.13(m, 2H), 3.05-3.65(m, 3H), 2.49-2.63(m, 7H), 1.50-1.64(m, 18H), 1.26-1.34(m, 48H), 0.88(t, J=6.4Hz, 12H)。

[1197] 步骤3:

[1198] 向3-(二甲基氨基)丙酸(500mg, 3.26mmol, 1当量, HCl)于DCM(10mL)中的溶液中添加DMF(23.79mg, 325.51μmol, 25.04μL, 0.1当量)和(COCl)<sub>2</sub>(495.78mg, 3.91mmol, 341.92μL, 1.2当量)。将混合物在0℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(560mg, 粗产物, HCl)。

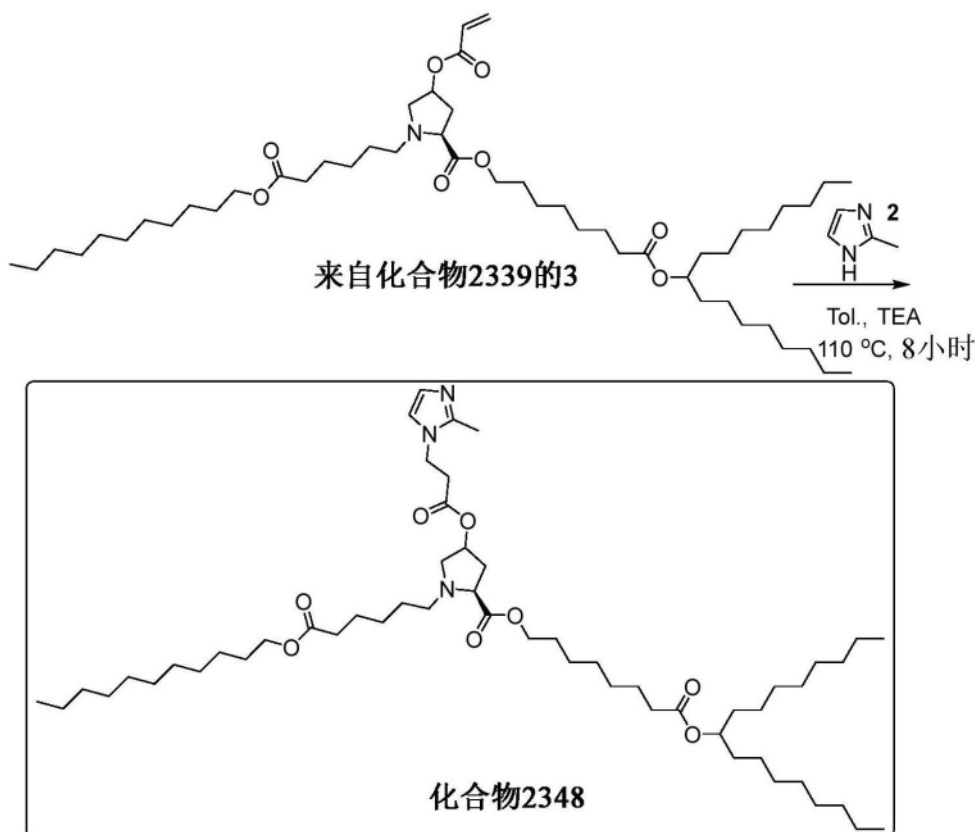
[1199] 步骤4:

[1200] 向(2S)-1-[6-(1-己基庚氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 618.61μmol, 1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加TEA(625.97mg, 6.19mmol, 861.03μL, 10当量)和3-(二甲基氨基)丙酰氯(532.17mg, 3.09mmol, 5当量, HCl)。将混合物在0℃下搅拌3小时。将反应混合物在0℃下通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL盐水(10mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型HPLC(柱:菲罗门公司Luna C18100×30mm×5μm;流动相:[水(HCl)-ACN];B%:40%-70%,10分钟)纯化。然后将溶液用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧

基]-1-[6-(1-己基庚氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(48mg, 52.90 $\mu\text{mol}$ , 8.55%产率)。

[1201]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.19-5.21 (m, 1H), 4.86 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 2H), 4.07-4.14 (m, 2H), 3.11-3.45 (m, 2H), 2.48-2.64 (m, 7H), 1.86-2.30 (m, 12H), 1.63 (s, 5H), 1.50 (d,  $J=5.2\text{Hz}$ , 10H), 1.26-1.34 (m, 50H), 0.88 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 12H)。LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在11.723和11.808分钟处907.7。

[1202] 8.28. 化合物2348的合成



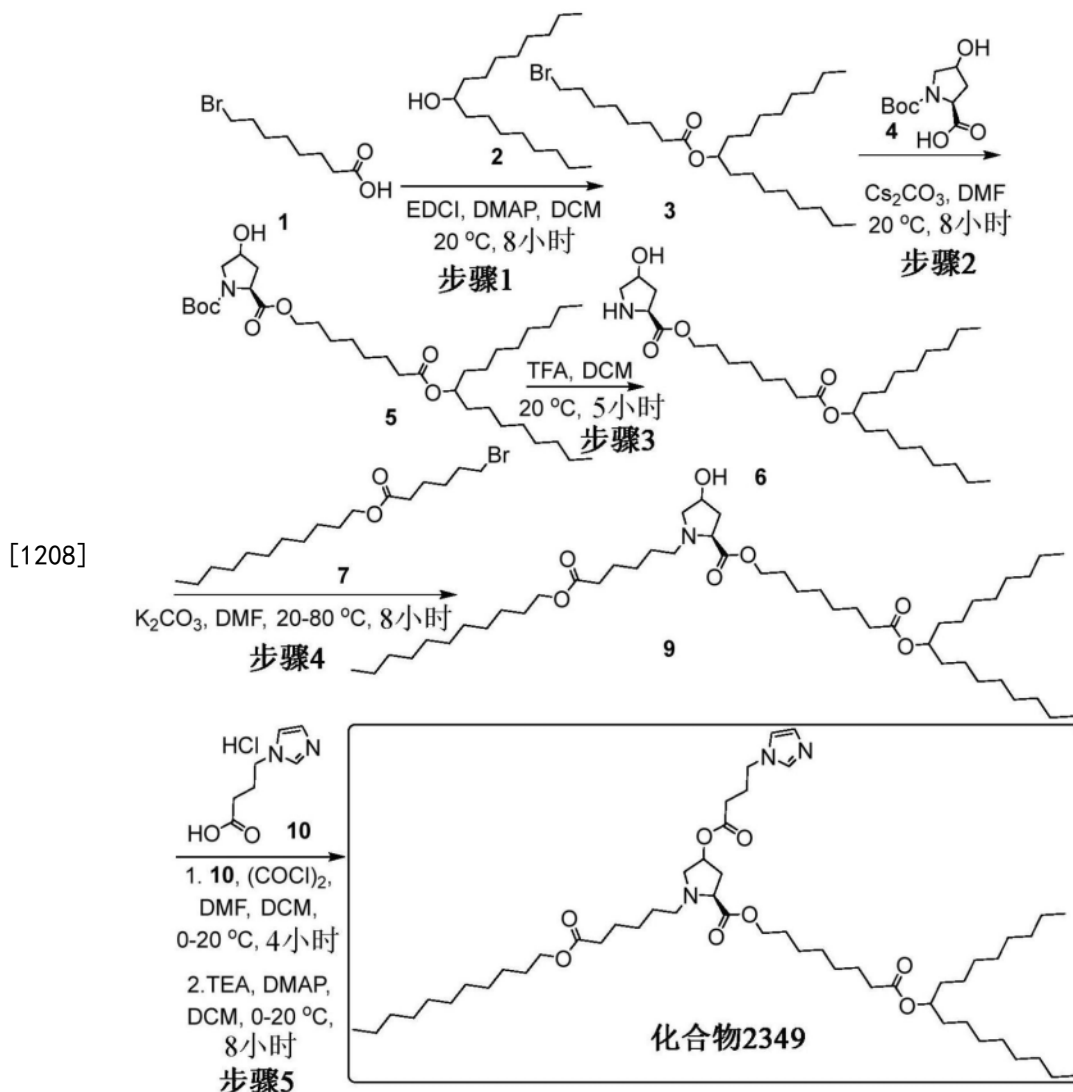
[1203]

[1204] 将(2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-丙-2-烯酰氧基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(200mg, 239.73 $\mu\text{mol}$ , 1当量)、2-甲基-1H-咪唑(59.05mg, 719.20 $\mu\text{mol}$ , 3当量)和TEA(24.26mg, 239.73 $\mu\text{mol}$ , 33.37 $\mu\text{L}$ , 1当量)于甲苯(10mL)中的混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后将混合物在110 $^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物用20mL  $\text{H}_2\text{O}$ 稀释,并且用100mL EtOAc (50mL $\times$ 2)萃取。将合并的有机层用20mL盐水洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=5/1至1/1, 3% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ )、柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=3/1至0/1, 3% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ )和制备型TLC( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=1:8, 1% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ )纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(2-甲基咪唑-1-基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(89mg, 97.12 $\mu\text{mol}$ , 40.51%产率, 100%纯度)。

[1205]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 6.85-6.92 (m, 2H), 5.25-5.27 (m, 1H), 4.85-4.90 (m, 1H), 4.03-4.16 (m, 6H), 3.05-3.50 (m, 2H), 2.38-2.60 (m, 8H), 2.25-2.35 (m, 5H), 1.97-2.10 (m, 1H), 1.59-1.64 (m, 8H), 1.42-1.50 (m, 6H), 1.21-1.35 (m, 48H), 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 9H)。

[1206] LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在9.723分钟处916.6。

## [1207] 8.29. 化合物2349的合成



## [1209] 步骤1:

[1210] 在20°C下向8-溴辛酸(5g, 22.41mmol, 1.2当量)于DCM(50mL)中的溶液中添加EDCI(5.37g, 28.01mmol, 1.5当量)、DMAP(456.31mg, 3.74mmol, 0.2当量)和十七烷-9-醇(4.79g, 18.68mmol, 1当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后在20°C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将残余物用500mL H<sub>2</sub>O稀释,并且然后用800mL EtOAc(400mL×2)萃取。将合并的有机层用500mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至10/1)纯化,以得到呈无色油的8-溴辛酸1-辛基壬酯(24g, 52.00mmol, 92.81%产率)。

## [1211] 步骤2:

[1212] 在20°C下向8-溴辛酸1-辛基壬酯(5g, 10.83mmol, 1.2当量)和(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(2.09g, 9.03mmol, 1当量)于DMF(70mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(6.47g, 19.86mmol, 2.2当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后在20°C下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物过滤,并用50mL H<sub>2</sub>O稀释,并且然后用200mL EtOAc(100mL×2)萃取。将合并的有机层用300mL盐水(150mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=8/1至3/1)纯化,以得到呈

无色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(27g,44.13mmol,97.76%产率)。

[1213]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.85-4.89(m, 1H), 4.11-4.55(m, 4H), 3.35-3.75(m, 2H), 2.05-2.35(m, 4H), 1.55-1.63(m, 10H), 1.26-1.50(m, 37H), 0.88(t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H)。

[1214] 步骤3:

[1215] 在20℃下向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(10g,16.34mmol,1当量)于DCM(60mL)中的溶液中添加TFA(46.05g,403.87mmol,30mL,24.71当量)。将混合物在20℃下搅拌5小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将反应混合物用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液调节至 $\text{pH}=7.0$ ,并且用100mL EtOAc(25mL $\times$ 4)萃取。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(7.14g,13.95mmol,85.37%产率)。

[1216] 步骤4:

[1217] 在20℃下向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(7.14g,13.95mmol,1当量)和6-溴己酸十一烷基酯(5.85g,16.74mmol,1.2当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (5.78g,41.85mmol,3当量)。将混合物在80℃下搅拌8小时。将反应混合物过滤,并且在减压下浓缩以得到残余物。将反应混合物用300mL  $\text{H}_2\text{O}$ 稀释,并且用600mL EtOAc(200mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层用150mL盐水(50mL $\times$ 3)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=5/1至0/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(9.6g,粗产物)。

[1218]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.76-4.82(m, 1H), 4.22-4.52(m, 1H), 4.10-4.20(m, 2H), 4.07(t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 2H), 3.40-3.68(m, 1H), 3.02-3.24(m, 1H), 2.45-2.78(m, 3H), 2.25-2.33(m, 4H), 1.86-2.17(m, 2H), 1.51-1.56(m, 8H), 1.42-1.44(m, 6H), 1.19-1.38(m, 48H), 0.80(t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 9H)。

[1219] 步骤5:

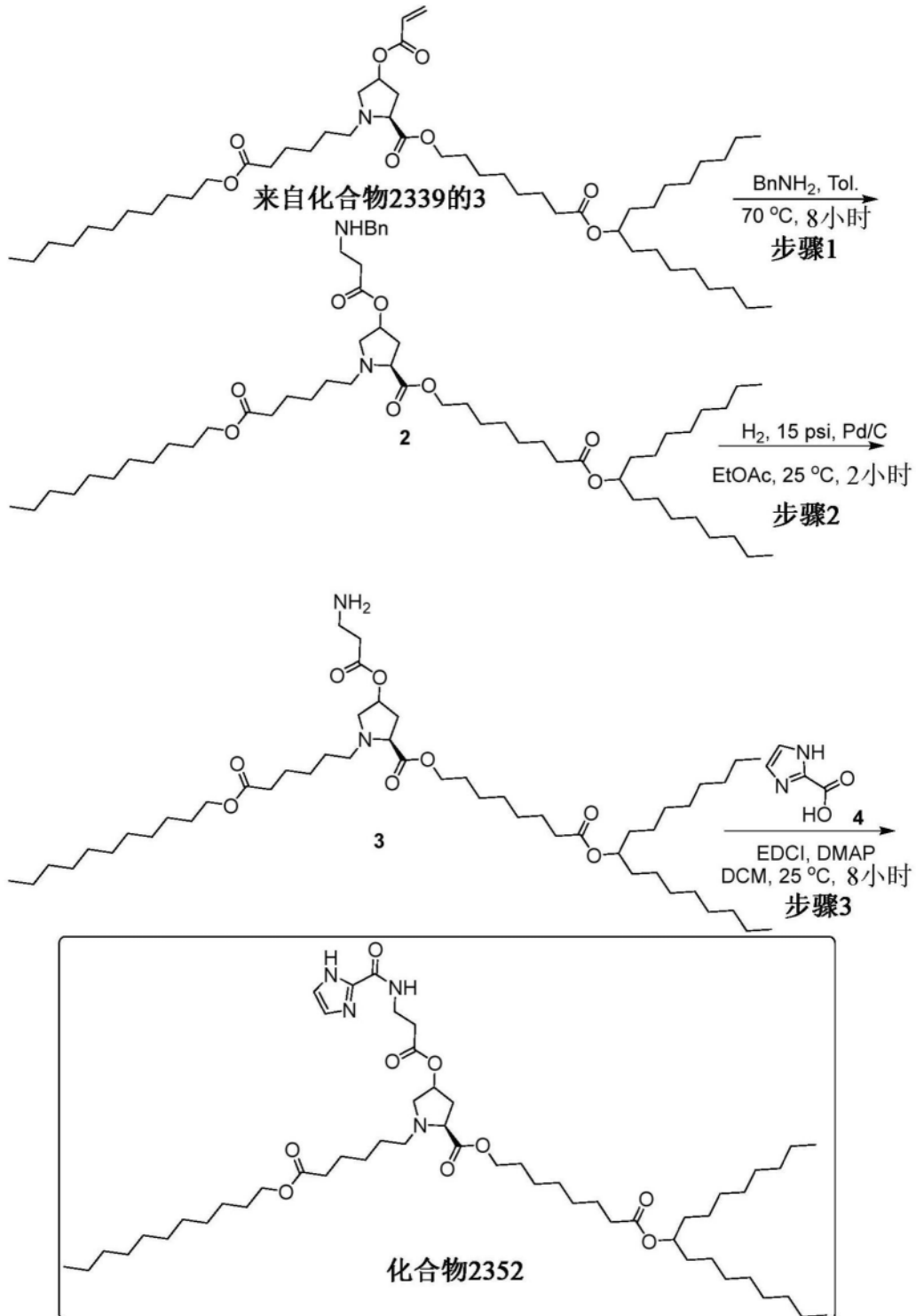
[1220] 在0℃下向4-咪唑-1-基丁酸(0.35g,2.27mmol,1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加草酰二氯(1.44g,11.35mmol,993.65 $\mu\text{L}$ ,5当量)和DMF(19.00mg,259.94 $\mu\text{mol}$ ,0.02mL,1.14e-1当量)。将混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且然后在20℃下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌4小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈无色油的4-咪唑-1-基丁酰氯(0.5g,粗产物,  $\text{HCl}$ )。将粗油残余物用DCM(10mL)溶解,并且然后在0℃下添加到(2S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.312g,399.89 $\mu\text{mol}$ ,1当量)、TEA(404.65mg,4.00mmol,556.60 $\mu\text{L}$ ,10当量)和DMAP(9.77mg,79.98 $\mu\text{mol}$ ,0.2当量)于DCM(3mL)中的溶液中。然后将混合物在20℃下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到残余物。将反应混合物用20mL饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液稀释,并且用100mL EtOAc(25mL $\times$ 4)萃取。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=8/1至0/1,5% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ )纯化以得到残余物。将残余物用己烷(8mL)和盐水(8mL)萃取。将己烷层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-(4-咪唑-1-基丁酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-

2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.121g, 132.04 $\mu$ mol, 34.57%产率)。

[1221]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.49-7.50(m, 1H), 7.07-7.08(m, 1H), 6.92(s, 1H), 5.25-5.27(m, 1H), 4.85-4.88(m, 1H), 4.03-4.13(m, 6H), 3.24-3.52(m, 2H), 2.28-2.59(m, 10H), 1.98-2.10(m, 3H), 1.60-1.66(m, 8H), 1.40-1.50(m, 6H), 1.26-1.34(m, 48H), 0.88(t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 9H)。

[1222] LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在9.878分钟处916.8。

[1223] 8.30. 化合物2352的合成



[1224]

[1225] 步骤1:

[1226] 向(2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-丙-2-烯酰氧基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.4g, 479.47 $\mu$ mol, 1当量)于甲苯(10mL)中的混合物中添加苯甲胺(513.76mg, 4.79mmol, 522.65 $\mu$ L, 10当量),并且然后脱气,并用N<sub>2</sub>吹扫3次。将混合物在70℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物用20mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL EtOAc (20mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至5/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(苄氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.3g, 315.48 $\mu$ mol, 65.80%产率, 99%纯度)。

[1227] 步骤2:

[1228] 在N<sub>2</sub>下将(2S)-4-[3-(苄氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.3g, 318.67 $\mu$ mol, 1当量)于EtOAc(10mL)中的溶液添加到Pd/C(0.3g, 10%纯度, 1当量)于EtOAc(10mL)中的溶液中。使悬浮液在真空下脱气并用H<sub>2</sub>吹扫若干次。将混合物在H<sub>2</sub>(15psi)下在25℃下搅拌2小时。将混合物过滤,并且在减压下去除溶剂,以得到呈白色固体的(2S)-4-(3-氨基丙酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.2g, 230.24 $\mu$ mol, 72.25%产率)。

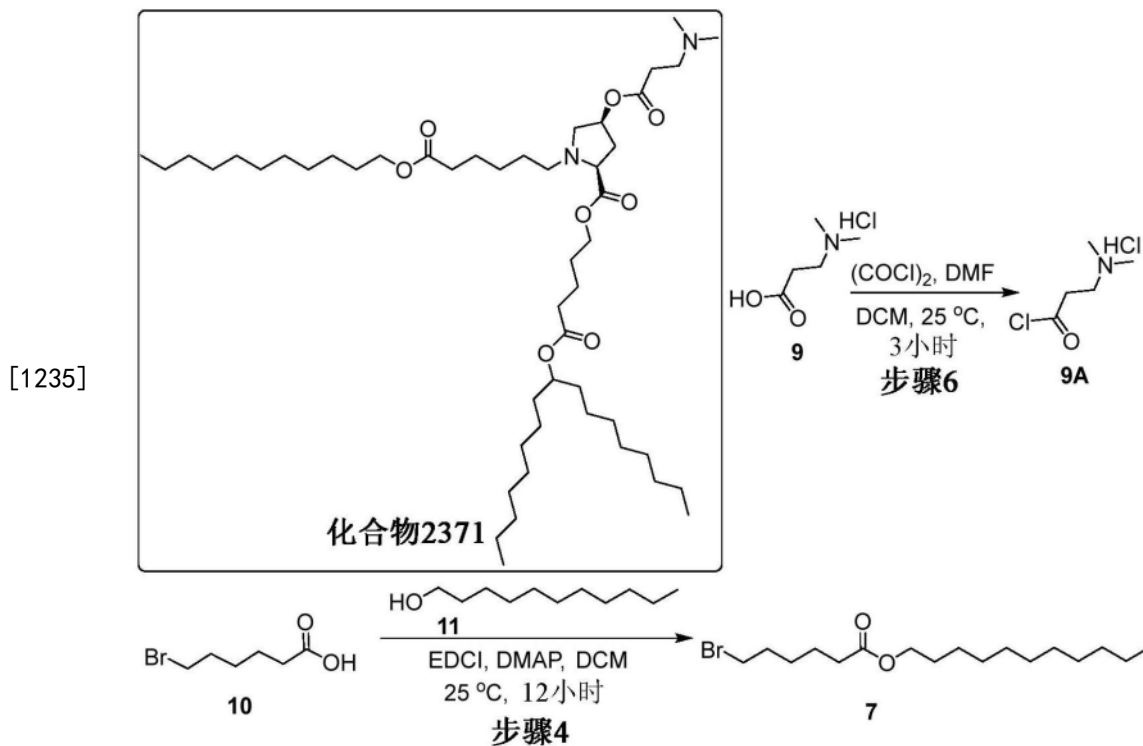
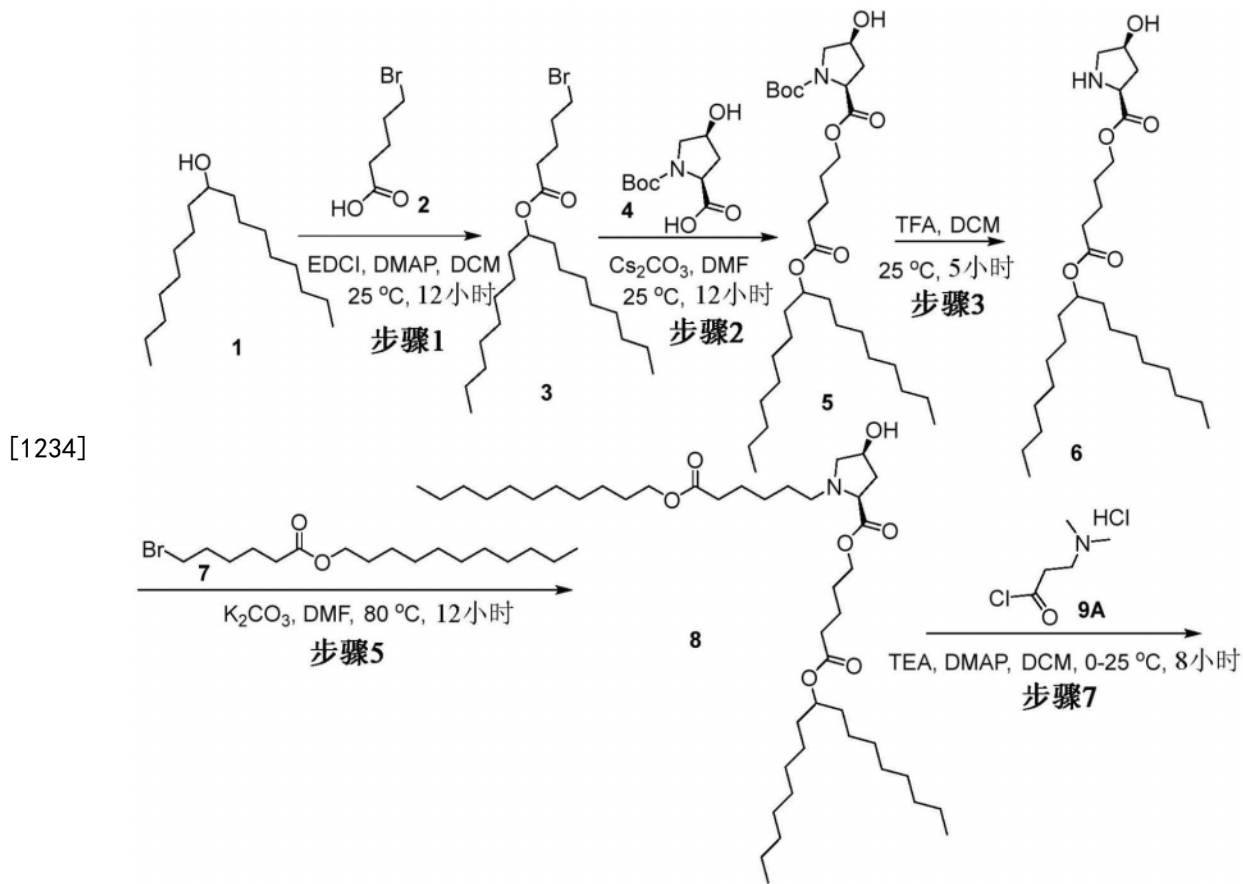
[1229] 步骤3

[1230] 向1H-咪唑-2-甲酸(19.75mg, 176.20 $\mu$ mol, 1.5当量)、EDCI(45.04mg, 234.94 $\mu$ mol, 2当量)、DMAP(14.35mg, 117.47 $\mu$ mol, 1当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加DCM(1mL)中的(2S)-4-(3-氨基丙酰氧基)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.1g, 117.47 $\mu$ mol, 1当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物用20mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用60mL EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至1/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)和制备型TLC(SiO<sub>2</sub>,PE:EtOAc=1:1,1%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(1H-咪唑-2-羰基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.021g, 26.45 $\mu$ mol, 22.51%产率, 100%纯度)。

[1231] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.67(brs, 1H), 7.15(s, 2H), 5.21-5.39(m, 1H), 4.84-4.90(m, 1H), 4.04-4.12(m, 4H), 3.70-3.75(m, 2H), 3.13-3.69(m, 2H), 2.20-2.66(m, 11H), 1.61-1.65(m, 6H), 1.45-1.55(m, 6H), 1.26-1.34(m, 50H), 0.88(t, J=6.8Hz, 9H)。

[1232] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在12.369分钟处945.7。

[1233] 8.31. 化合物2371的合成



[1236] 步骤1:

[1237] 将十七烷-9-醇 (10g, 38.99mmol, 1当量)、5-溴戊酸 (7.06g, 38.99mmol, 1当量)、DMAP (952.72mg, 7.80mmol, 0.2当量)、EDCI (7.47g, 38.99mmol, 1当量) 于DCM (70mL) 的溶液在25 °C下搅拌12小时。将合并的有机相用200mL EtOAc稀释, 并用600mL水 (200mL × 3) 和

400mL盐水(200mL×2)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至10/1)纯化,以得到呈无色油的5-溴戊酸1-辛基壬酯(25g,59.60mmol,76.42%产率)。

[1238] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.85-4.91(m,1H),3.42(t,J=6.8Hz,2H),2.34(t,J=7.2Hz,2H),1.90-1.93(m,2H),1.79-1.81(m,2H),1.52-1.57(m,4H),1.27-1.51(m,24H),0.89(t,J=6.4Hz,6H)。

[1239] 步骤2:

[1240] 将5-溴戊酸1-辛基壬酯(2g,4.77mmol,1当量)、(2S,4S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基吡咯烷-2-甲酸(1.32g,5.72mmol,1.2当量)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.42g,10.49mmol,2.2当量)于DMF(20mL)中的混合物脱气,并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌12小时。将混合物通过硅藻土过滤,并且将溶剂用120mL EtOAc稀释,并用150mL水(50mL×3)和200mL盐水(100mL×2)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至8/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈黄色油的(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1.5g,2.58mmol,54.08%产率,98%纯度)。

[1241] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.81-4.93(m,1H),4.08-4.41(m,4H),3.45-3.68(m,2H),2.11-2.33(m,4H),1.68-1.74(m,4H),1.33-1.51(m,13H),1.25-1.31(m,24H),0.88(t,J=6.8Hz,6H)

[1242] 步骤3:

[1243] 向(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1.50g,2.63mmol,1当量)于DCM(20mL)中的溶液中添加TFA(5.00g,43.85mmol,3.25mL,16.66当量)。将混合物在25℃下搅拌5小时。将粗反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液调节至pH=7,并且用180mL EtOAc(60mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到无需纯化的呈黄色油的化合物(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1g,2.04mmol,77.64%产率,96%纯度)。

[1244] 步骤4:

[1245] 向6-溴己酸(22.64g,116.07mmol,1当量)于DCM(1mL)中的混合物中添加DMAP(2.84g,23.21mmol,0.2当量)、十一烷-1-醇(20g,116.07mmol,1当量)、EDCI(22.25g,116.07mmol,1当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌12小时。将反应混合物用200mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用600mL EtOAc(200mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至40/1)纯化,以得到呈黄色油的6-溴己酸十一烷基酯(36g,103.05mmol,88.78%产率)。

[1246] 步骤5:

[1247] 向(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1.00g,2.13mmol,1当量)、6-溴己酸十一烷基酯(892.52mg,2.55mmol,1.2当量)于DMF(10mL)的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(882.74mg,6.39mmol,3当量)。将混合物在80℃下搅拌12小时。将合并的有机相用120mL EtOAc稀释,并用360mL水(120mL×3)和240mL盐水(120mL×2)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈黄色油的(2S,4S)-4-羟基-1-(6-氧代-

6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(0.5g,663.84 $\mu$ mol,31.18%产率,98%纯度)。

[1248]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.84-4.88(m, 1H), 4.23-4.35(m, 1H), 4.09-4.21(m, 2H), 4.06(t, J=6.8Hz, 2H), 3.21-3.33(m, 2H), 3.05-3.15(m, 1H), 2.44-2.75(m, 3H), 2.25-2.43(m, 5H), 1.83-2.01(m, 1H), 1.58-1.63(m, 6H), 1.42-1.55(m, 6H), 1.06-1.41(m, 44H), 0.88(t, J=6.4Hz, 9H)。

[1249] 步骤6:

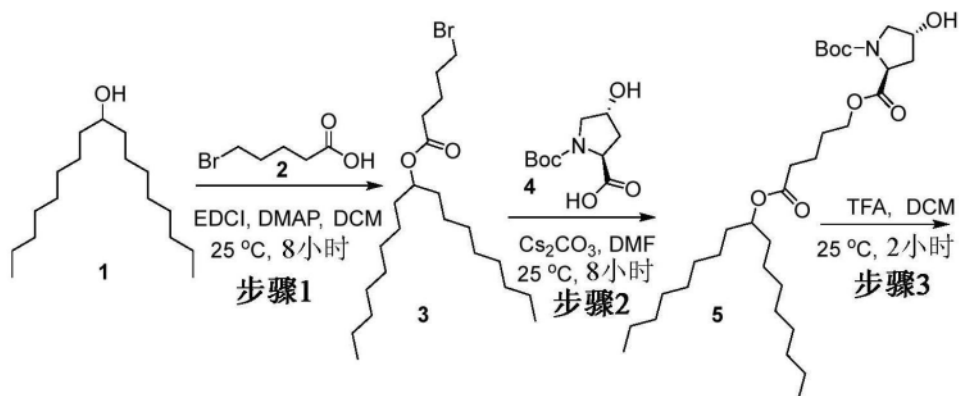
[1250] 向3-(二甲基氨基)丙酸(0.3g,1.95mmol,1当量,HCl)、草酰二氯(1.24g,9.77mmol,854.82 $\mu$ L,5当量)、4A分子筛(0.5g)于DCM(10mL)的溶液中添加两滴DMF(14.27mg,195.30 $\mu$ mol,15.03 $\mu$ L,0.1当量)。将混合物脱气并用 $\text{N}_2$ 吹扫3次,并且在25 $^\circ\text{C}$ 下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌3小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到无需纯化的呈黄色固体的化合物3-(二甲基氨基)丙酰氯(0.3g,1.74mmol,89.28%产率,HCl)。

[1251] 步骤7:

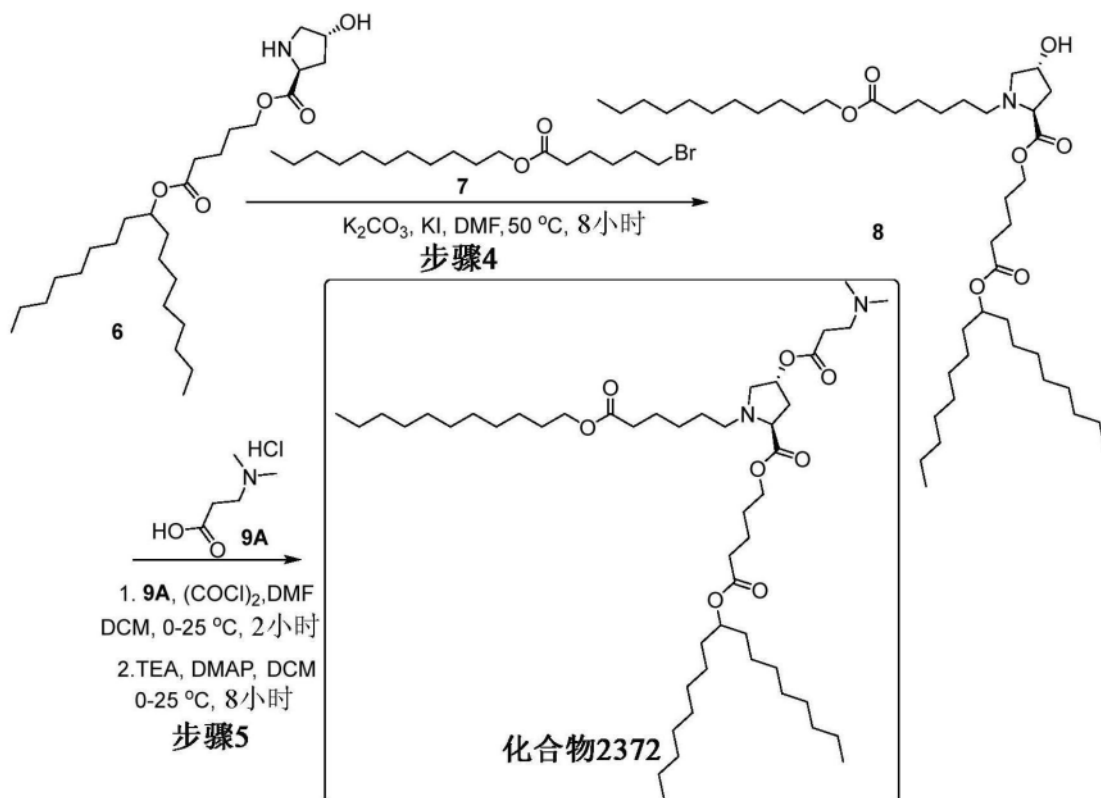
[1252] 在0 $^\circ\text{C}$ 下向(2S,4S)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(0.3g,406.43 $\mu$ mol,1当量)、TEA(370.14mg,3.66mmol,509.13 $\mu$ L,9当量)、DMAP(4.97mg,40.64 $\mu$ mol,0.1当量)于DCM(3mL)中的溶液中添加3-(二甲基氨基)丙酰氯(279.71mg,1.63mmol,4当量,HCl)。将混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下搅拌8小时。将合并的有机相用60mL EtOAc稀释,并用180mL水(60mL $\times$ 3)和60mL盐水(30mL $\times$ 2)洗涤,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=20/1至3/1,3% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ )纯化,以得到呈黄色油的(2S,4S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(0.025g,29.86 $\mu$ mol,33.33%产率,100%纯度)。

[1253]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.13-5.39(m, 1H), 4.81-4.92(m, 1H), 4.13-4.23(m, 2H), 4.05(t, J=6.8Hz, 2H), 3.21-3.32(m, 1H), 3.04-3.18(m, 1H), 2.52-2.84(m, 7H), 2.25-2.37(m, 10H), 1.98-2.12(m, 1H), 1.58-1.63(m, 5H), 1.45-1.51(m, 6H), 1.16-1.43(m, 46H), 0.89(t, J=6.8Hz, 9H)。LCMS: (M+H $^+$ ): 在9.196分钟处837.6。

[1254] 8.32.化合物2372的合成



[1255]



[1256] 步骤1:

[1257] 向5-溴戊酸 (39.03g, 215.62mmol, 1.58当量) 于DCM (600mL) 中的溶液中添加EDCI (39.24g, 204.71mmol, 1.5当量) 和DMAP (5.00g, 40.94mmol, 0.3当量)。将混合物在25℃下搅拌0.5小时, 并在25℃下添加十七烷-9-醇 (35g, 136.47mmol, 1当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次, 并且在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌7.5小时。将反应混合物在减压下浓缩, 然后用400mL H<sub>2</sub>稀释, 并用1500mL EtOAc (300mL × 5) 萃取。将合并的有机层用400mL盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯 = 1/0至10/1) 纯化, 以得到呈无色油的化合物5-溴戊酸1-辛基壬酯 (50g, 119.20mmol, 87.34%产率)。

[1258] 步骤2:

[1259] 将5-溴戊酸1-辛基壬酯 (10.88g, 25.95mmol, 1.2当量)、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15.50g, 47.57mmol, 2.2当量) 和 (2S, 4R)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸 (5.00g,

21.62mmol, 1当量)于DMF (100mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物添加到H<sub>2</sub>O (200mL)中,并且用150mL EtOAc (50mL × 3)萃取。将有机层用盐水(200mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=5/1至0/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈无色油的(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(9.8g,17.20mmol,79.54%产率)。

[1260] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89(m, 1H), 4.37-4.51(m, 2H), 4.15-4.30(m, 2H), 3.46-3.70(m, 2H), 2.20-2.35(m, 3H), 2.05-2.15(m, 1H), 1.62-1.67(m, 4H), 1.55-1.60(m, 4H), 1.42(s, 9H), 1.25-1.32(m, 24H), 0.89(t, J=7.2Hz, 6H)。

[1261] 步骤3:

[1262] 将(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(9.80g,17.20mmol,1当量)于TFA(30.80g,270.12mmol,20.00mL,15.71当量)和DCM(40mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将粗产物在减压下浓缩以得到残余物。然后将残余物用EtOAc(50mL)溶解,并且将有机层用90mL饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(30mL × 3)和300mL盐水(100mL × 3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(6.8g,14.48mmol,84.18%产率)。

[1263] 步骤4:

[1264] 将(2S,4R)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(6.8g,14.48mmol,1当量)溶解于DMF(100mL),将KI(1.20g,7.24mmol,0.5当量)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(6.00g,43.43mmol,3当量)添加到混合物中,并且将6-溴己酸十一烷基酯(5.56g,15.93mmol,1.1当量)添加到反应混合物中。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物用200mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用270mL EtOAc(90mL × 3)萃取。然后将合并的有机层用90mL盐水(30mL × 3)洗涤。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=5/1至0/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈无色油的化合物(2S,4R)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1g,1.35mmol,9.36%产率,-纯度)。

[1265] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89(m, 1H), 4.49-4.51(m, 1H), 4.01-4.25(m, 4H), 3.34-3.83(m, 2H), 2.51-2.83(m, 2H), 2.29-2.34(m, 5H), 1.71-1.83(m, 16H), 1.15-1.32(m, 42H), 0.89(t, J=6.8Hz, 9H)。

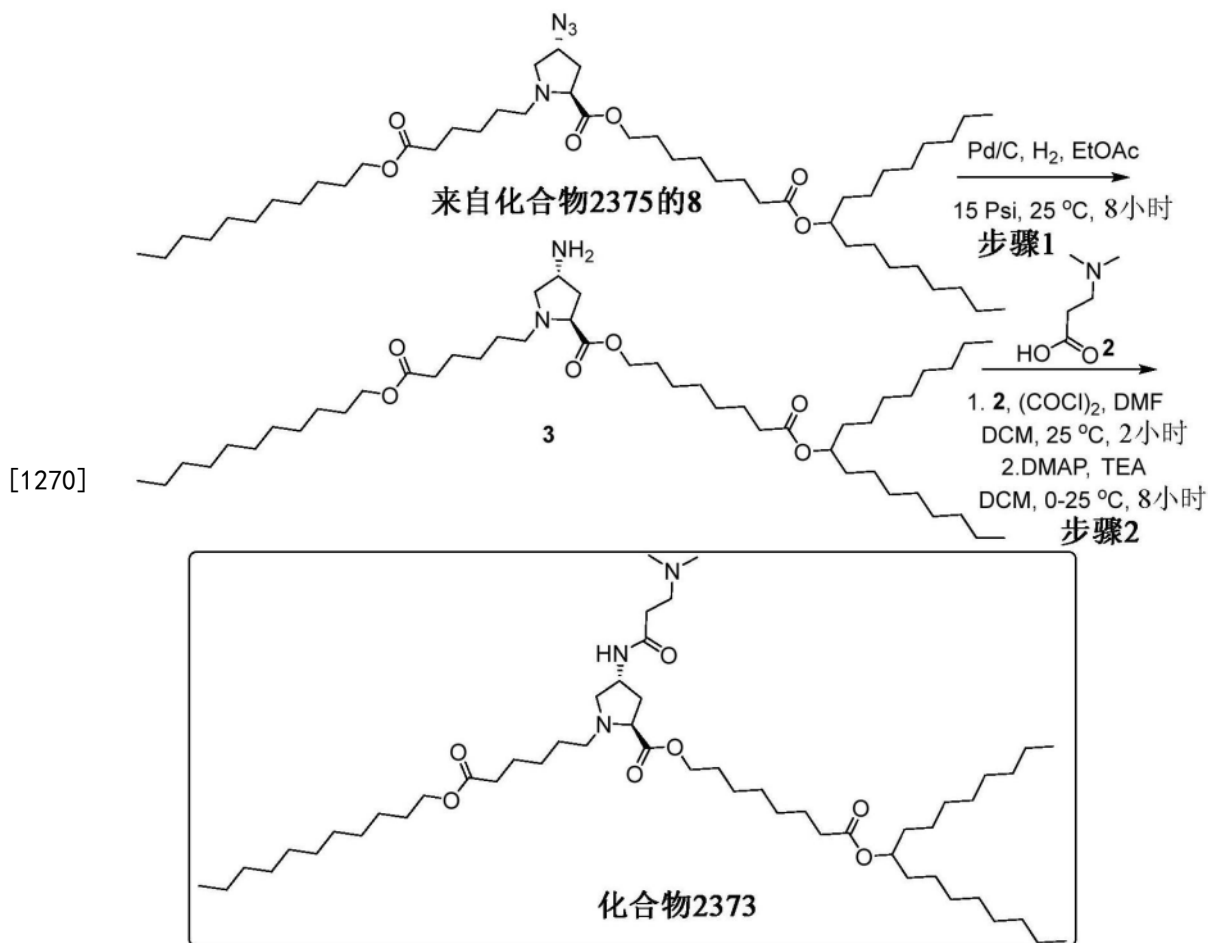
[1266] 步骤5:

[1267] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向3-(二甲基氨基)丙酸(550mg,3.58mmol,1当量,HCl)于DCM(100mL)中的混合物中逐滴添加(COCl)<sub>2</sub>(2.27g,17.90mmol,1.57mL,5当量)和DMF(13.09mg,179.03μmol,13.77μL,0.05当量)。将混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,并且然后在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌2小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(583mg,3.39mmol,94.64%产率,HCl)。将粗油残余物用DCM(10mL)溶解,并且然后在0℃下将混合物添加到(2S,4R)-4-羟基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(500mg,677.39μmol,1当量)、TEA(479.81mg,4.74mmol,659.99μL,7当量)和DMAP(41.38mg,338.69μmol,0.5当量)于DCM(10mL)中的溶液

中。将混合物在25℃下搅拌8小时。将粗反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液淬灭,并且用300mL DCM(100mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈黄色油的化合物(2S,4R)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(98mg,117.05μmol,17.28%产率)。

[1268] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>),5.26-5.28(m,1H),4.86-4.89(m,1H),4.04-4.14(m,4H),3.44-3.55(m,2H),2.12-2.90(m,17H),1.70-1.80(m,4H),1.60-1.66(m,4H),1.45-1.55(m,6H),1.15-1.40(m,44H),0.89(t,J=6.4Hz,9H)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):在9.227分钟处837.6。

[1269] 8.33.化合物2373的合成



[1271] 步骤1:

[1272] 向Pd/C(0.5g,2.36mmol,10%纯度,1当量)于EtOAc(20mL)中的溶液中添加(2S,4R)-4-叠氮基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.9g,2.36mmol,1当量)。将混合物在25℃下在15Psi下在H<sub>2</sub>下搅拌8小时。将混合物过滤,并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-氨基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.7g,粗产物)。

[1273] 步骤2:

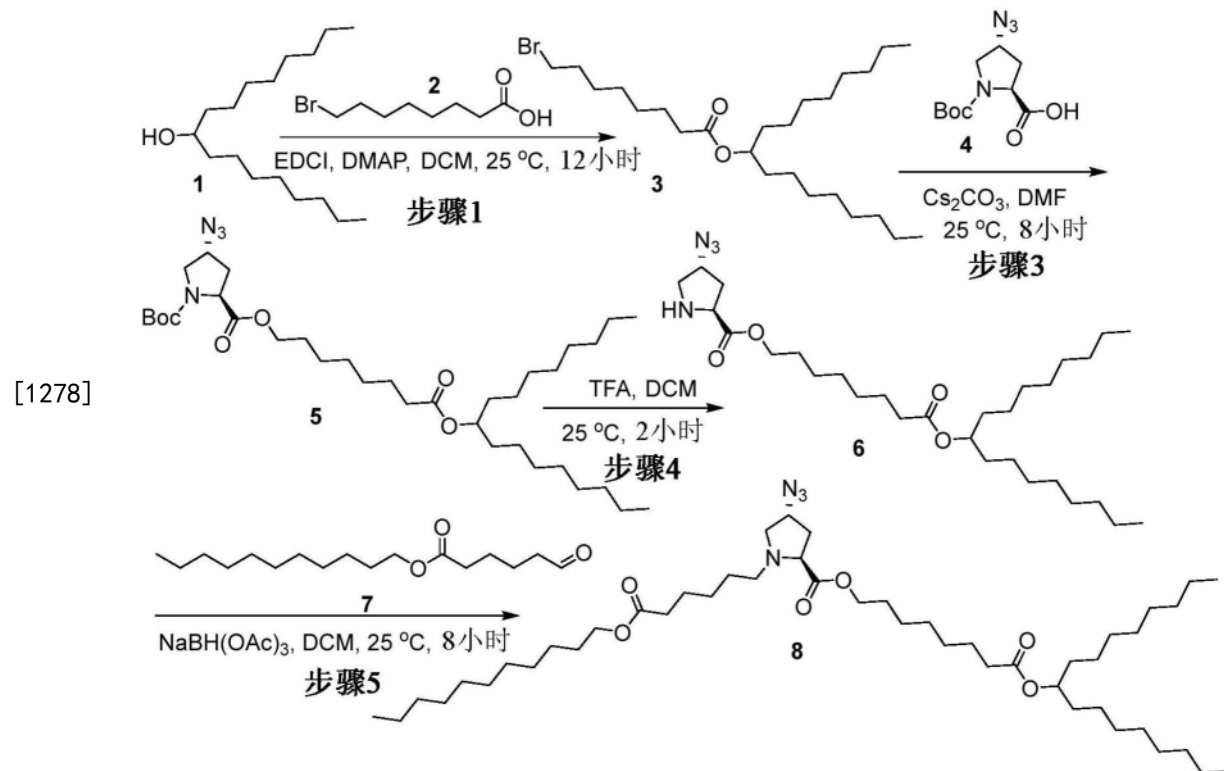
[1274] 向3-(二甲基氨基)丙酸(430mg,2.80mmol,1当量,HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(1.42g,11.20mmol,980.20μL,4当量)和DMF(20.46mg,279.94μmol,21.54μL,0.1当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二

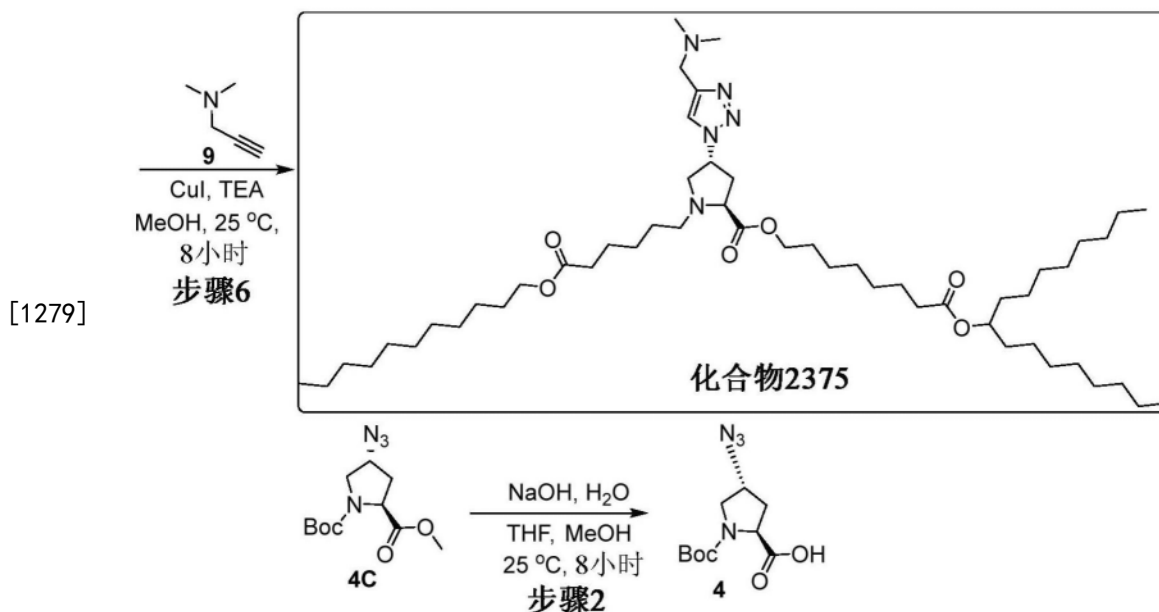
甲基氨基)丙酰氯(2.4g,粗产物,HCl)。在 $N_2$ 下在 $0^\circ C$ 下向(2S,4R)-4-氨基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg,641.66 $\mu mol$ ,1当量)和TEA(324.65mg,3.21mmol,446.56 $\mu L$ ,5当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加DMAP(39.20mg,320.83 $\mu mol$ ,0.5当量)和3-(二甲基氨基)丙酰氯(473.08mg,2.75mmol,4.29当量,HCl),并且然后将混合物在 $25^\circ C$ 下搅拌8小时。将混合物添加到饱和 $NaHCO_3$ (20mL)中,并且用EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(10mL $\times$ 2)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)和制备型TLC( $SiO_2$ ,乙酸乙酯/MeOH=5:1,添加3% $NH_3\cdot H_2O$ )纯化,以得到呈黄色油的(2S,4R)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氨基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(20mg,54.65 $\mu mol$ ,8.52%产率,97.5纯度)。

[1275]  $^1H$  NMR(400MHz, $CDCl_3$ ), 8.32-8.41(m,1H), 4.80-4.90(m,1H), 4.46-4.50(m,1H), 4.03-4.15(m,4H), 3.38-3.47(m,2H), 2.55-2.75(m,3H), 2.25-2.45(m,15H), 1.91-1.95(m,1H), 1.59-1.68(m,8H), 1.45-1.56(m,6H), 1.20-1.40(m,48H), 0.89(t, $J=6.8Hz$ ,9H)。

[1276] LCMS:( $M+H^+$ ):在10.175分钟处878.8。

[1277] 8.34.化合物2375的合成





[1280] 步骤1:

[1281] 向8-溴辛酸(36.00g, 161.36mmol, 2.25当量)、EDCI(27.50g, 143.43mmol, 2当量)、DMAP(3.50g, 28.69mmol, 0.4当量)于DCM(300mL)中的混合物中添加十七烷-9-醇(18.39g, 71.71mmol, 1当量), 并且脱气, 并用 $N_2$ 吹扫3次, 并且然后将混合物在25℃下在 $N_2$ 气氛下搅拌8小时。将反应混合物用200mL  $H_2O$ 稀释, 并且用200mL EtOAc(100mL×2)萃取。将合并的有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=1/0至20/1)纯化, 以得到呈无色油的8-溴辛酸1-辛基壬酯(32.4g, 70.20mmol, 97.88%产率)。

[1282] 步骤2:

[1283] 向(2S, 4R)-4-叠氮基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(2g, 7.40mmol, 1当量)于THF(20mL)和MeOH(10mL)中的溶液中添加NaOH(1.78g, 44.40mmol, 6当量)于 $H_2O$ (7.39g, 410.48mmol, 7.39mL, 55.47当量)中的溶液。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物用1N HCl调节至pH=3, 并且然后用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(10mL×3)洗涤, 经 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以得到呈无色油的(2S, 4R)-4-叠氮基-1-叔丁氧基羰基-吡咯烷-2-甲酸(1.9g, 粗产物), 所述产物在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[1284] 步骤3:

[1285] 向(2S, 4R)-4-叠氮基-1-叔丁氧基羰基-吡咯烷-2-甲酸(1.9g, 7.41mmol, 1当量)和8-溴辛酸1-辛基壬酯(4.11g, 8.90mmol, 1.2当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加 $CS_2CO_3$ (5.31g, 16.31mmol, 2.2当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物添加到 $H_2O$ (200mL)中, 并且用EtOAc(200mL×3)萃取。将有机层用盐水(200mL×2)洗涤, 经 $Na_2SO_4$ 干燥, 过滤, 并且将滤液在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化, 以得到呈黄色油的(2S, 4R)-4-叠氮基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(4g, 6.28mmol, 84.71%产率)。

[1286]  $^1H$  NMR(400MHz,  $CDCl_3$ ), 4.85-4.90(m, 1H), 4.30-4.40(m, 1H), 4.05-4.25(m, 3H), 3.45-3.75(m, 2H), 2.10-2.45(m, 4H), 1.60-1.70(m, 4H), 1.57(s, 3H), 1.40-1.55(m, 13H),

1.20-1.40(m, 30H), 0.88(t, J=6.0Hz, 6H)。

[1287] 步骤4:

[1288] 向(2S, 4R)-4-叠氮基吡咯烷-1, 2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g, 3.14mmol, 1当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加TFA(30.80g, 270.12mmol, 20.00mL, 86.02当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(200mL)中,并且用EtOAc(100mL×3)萃取。将有机层用盐水(50mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且将滤液在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S, 4R)-4-叠氮基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.7g, 粗产物)。

[1289] 步骤5:

[1290] 向(2S, 4R)-4-叠氮基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.7g, 3.17mmol, 1当量)和6-氧代己酸十一烷基酯(1.08g, 3.80mmol, 1.2当量)于DCM(20mL)中的溶液中添加NaBH(OAc)<sub>3</sub>(2.01g, 9.50mmol, 3当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到获得呈黄色油的(2S, 4R)-4-叠氮基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(2g, 2.48mmol, 78.43%产率, -纯度)。

[1291] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.90(m, 1H), 4.05-4.25(m, 5H), 3.45-3.48(m, 2H), 2.40-2.75(m, 3H), 2.15-2.40(m, 6H), 1.45-1.75(m, 16H), 1.20-1.40(m, 49H), 0.88(t, J=6.0Hz, 9H)。

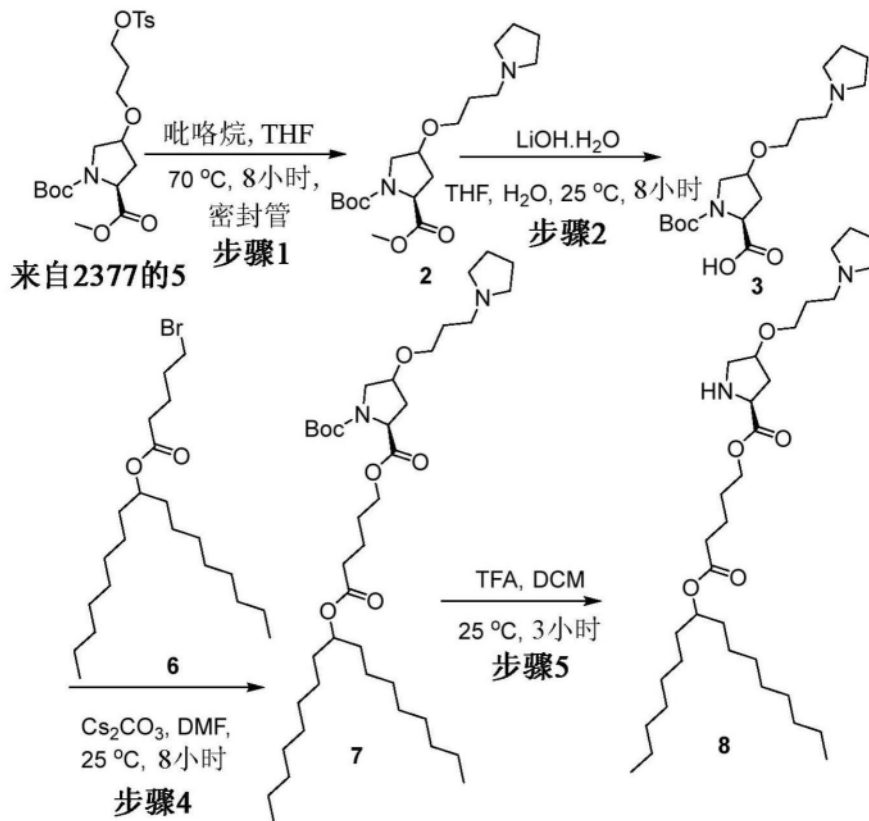
[1292] 步骤6:

[1293] 向(2S, 4R)-4-叠氮基-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(150mg, 186.28μmol, 1当量)、CuI(3.55mg, 18.63μmol, 0.1当量)和TEA(1.88mg, 18.63μmol, 2.59μL, 0.1当量)于MeOH(5mL)中的溶液中添加N,N-二甲基丙-2-炔-1-胺(18.58mg, 223.54μmol, 23.70μL, 1.2当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O(20mL)中,并且用EtOAc(20mL×3)萃取。将有机层用盐水(20mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将残余物通过制备型TLC(SiO<sub>2</sub>, 乙酸乙酯/MeOH=10/1, 添加3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,并且通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S, 4R)-4-[4-[(二甲基氨基)甲基]三唑-1-基]-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(120mg, 168.85μmol, 90.64%产率, 99%纯度)。

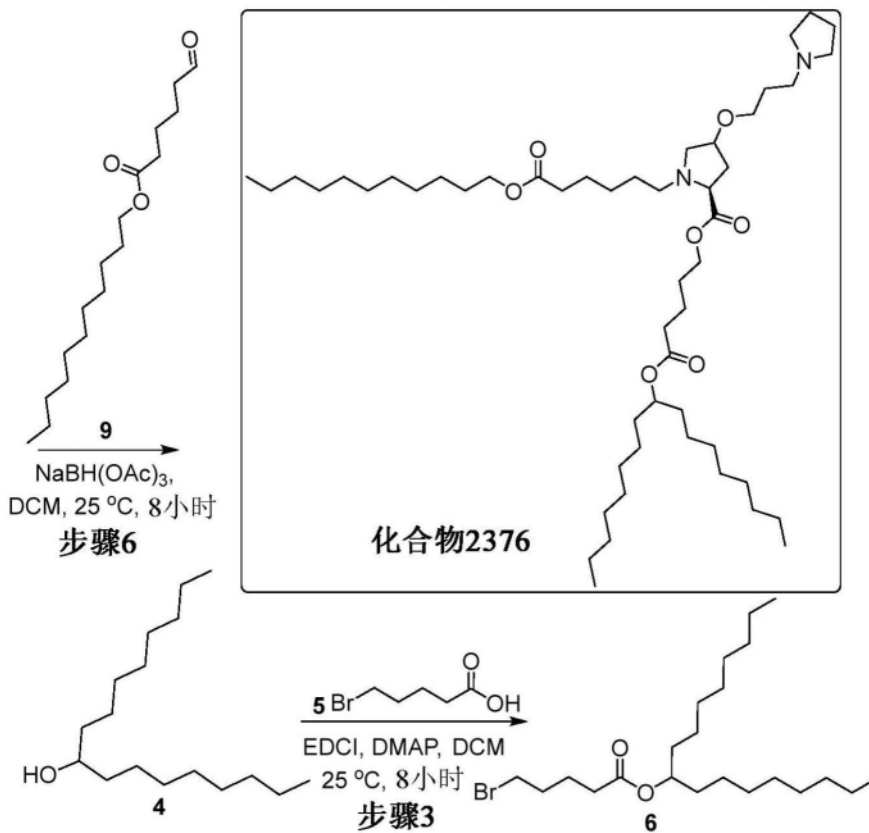
[1294] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 7.62(s, 1H), 5.26-5.32(m, 1H), 4.80-4.90(m, 1H), 4.03-4.15(m, 4H), 3.70-3.74(m, 1H), 3.56-3.62(m, 3H), 2.90-3.00(m, 1H), 2.45-2.80(m, 4H), 2.25-2.65(m, 10H), 1.59-1.68(m, 8H), 1.47-1.56(m, 6H), 1.26-1.40(m, 48H), 0.88(t, J=6.4Hz, 9H)。

[1295] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在13.974分钟处888.4。

[1296] 8.35. 化合物2376的合成



[1297]



[1298] 步骤1:

[1299] 向(2S)-4-[3-(对甲苯磺酰氧基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(6g, 13.11mmol, 1当量)于THF(60mL)中的溶液中添加吡咯烷(932.65mg, 13.11mmol,

1.09mL, 1当量)。将混合物在密封管中在70℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加20mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1, 添加0.5%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(2.1g, 5.89mmol, 44.93%产率)。

[1300] 步骤2:

[1301] 向(2S)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(2.1g, 5.89mmol, 1当量)于THF (10mL)中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O (494.44mg, 11.78mmol, 2当量)和H<sub>2</sub>O (10mL)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物用20mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用30mL EtOAc (10mL×3) 萃取。将水层在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-2-甲酸(2g, 粗产物, Li<sup>+</sup>盐)。

[1302] 步骤3:

[1303] 向十七烷-9-醇(5g, 19.50mmol, 1当量)于DCM (100mL)中的溶液中添加EDCI (5.61g, 29.24mmol, 1.5当量)、DMAP (714.53mg, 5.85mmol, 0.3当量)和5-溴戊酸(5.58g, 30.80mmol, 1.58当量)。将混合物在25℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加100mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用150mL EtOAc (50mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1) 纯化,以得到呈黄色油的5-溴戊酸1-辛基壬酯(12g, 28.61mmol, 73.37%产率)。

[1304] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.89 (m, 1H), 3.42 (t, J=6.8Hz, 2H), 2.33 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.77-1.93 (m, 4H), 1.51-1.56 (m, 4H), 1.25-1.45 (m, 24H), 0.88 (t, J=5.6Hz, 6H)

[1305] 步骤4:

[1306] 向(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-2-甲酸(2g, 5.84mmol, 1当量)于DMF (20mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4.19g, 12.85mmol, 2.2当量)和5-溴戊酸1-辛基壬酯(2.94g, 7.01mmol, 1.2当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加20mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用60mL EtOAc (20mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1, 添加0.5%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1.8g, 2.64mmol, 45.26%产率)。

[1307] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.85-4.88 (m, 1H), 4.05-4.33 (m, 4H), 3.43-3.67 (m, 3H), 2.32-2.61 (m, 8H), 1.99-2.18 (m, 1H), 1.60-1.80 (m, 14H), 1.42-1.51 (m, 13H), 1.26-1.41 (m, 25H), 0.88 (t, J=6.4Hz, 6H)。

[1308] 步骤5:

[1309] 向(2S)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1.8g, 2.64mmol, 1当量)于DCM (16mL)中的溶液中添加TFA (8mL)。将混合物在25℃下搅拌3小时。将混合物在减压下浓缩,然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用90mL EtOAc (30mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以

得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至1:1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(1.5g,2.58mmol,97.70%产率)。

[1310]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.85-4.88(m,1H),3.90-4.17(m,4H),3.75-3.80(m,1H),3.42-3.43(m,2H),3.05-3.22(m,7H),2.85-2.86(m,1H),2.18-2.33(m,6H),1.99-2.07(m,8H),1.50-1.52(m,4H),1.26-1.31(m,25H),0.88(t, $J=6.4\text{Hz}$ ,6H)。

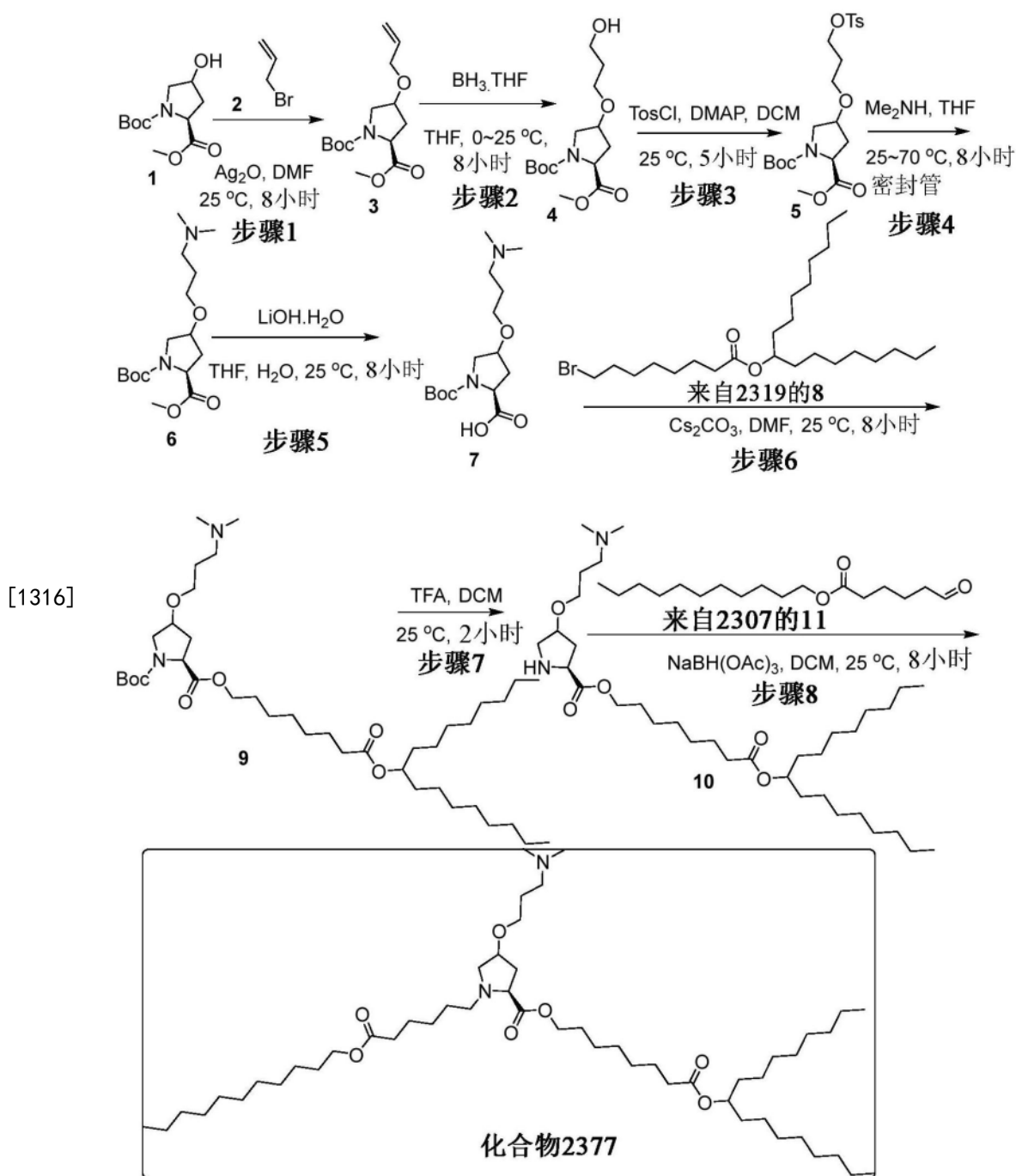
[1311] 步骤6:

[1312] 向(2S)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)吡咯烷-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(500mg,860.76 $\mu\text{mol}$ ,1当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加6-氧代己酸十一烷基酯(293.80mg,1.03mmol,1.2当量)和 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (547.29mg,2.58mmol,3当量)。将混合物在25 $^\circ\text{C}$ 下搅拌8小时。将反应混合物在0 $^\circ\text{C}$ 下通过添加20mL  $\text{H}_2\text{O}$ 淬灭,并且然后用60mL EtOAc(20mL $\times$ 3)萃取。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过制备型TLC( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=0/1,添加0.5% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ )纯化,以得到呈黄色油的(2S)-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)-4-(3-吡咯烷-1-基丙氧基)-2-甲酸[5-(1-辛基壬氧基)-5-氧代-戊基]酯(200mg,235.48 $\mu\text{mol}$ ,27.36%产率)。

[1313]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz, $\text{CDCl}_3$ ),4.85-4.88(m,1H),3.99-4.14(m,5H),3.42(t, $J=6.8\text{Hz}$ ,2H),3.08-3.23(m,2H),2.27-2.54(m,15H),1.98-2.01(m,1H),1.70-1.81(m,5H),1.65-1.69(m,4H),1.61-1.63(m,4H),1.50-1.52(m,6H),1.26-1.34(m,41H),0.88(t, $J=6.4\text{Hz}$ ,9H)。

[1314] LCMS(CAD):(M+H $^+$ ):在8.653分钟处847.2。

[1315] 8.36.化合物2377的合成



[1317] 步骤1:

[1318] 于黑暗中向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(10g, 40.77mmol, 1当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加 $\text{Ag}_2\text{O}$ (14.17g, 61.16mmol, 1.5当量)、3-溴丙-1-烯(8.88g, 73.39mmol, 1.8当量)。将混合物在25°C下搅拌8小时。将反应混合物过滤,并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=1/0至3/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-烯丙氧基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(6g, 21.03mmol, 51.58%产率)。

[1319]  $^1\text{H}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 5.78-5.99(m, 1H), 5.12-5.30(m, 2H), 4.38-4.49(m, 1H), 4.03-4.20(m, 1H), 3.87-4.02(m, 2H), 3.68-3.78(m, 3H), 3.43-3.67(m, 2H), 2.01-2.44(m, 2H), 1.40-1.51(m, 9H)。

[1320] 步骤2:

[1321] 在0℃下在N<sub>2</sub>气氛下向(2S)-4-烯丙氧基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(10g, 35.05mmol, 1当量)于THF(300mL)中的溶液中添加BH<sub>3</sub>·THF(1M, 12.62mL, 0.36当量)的溶液。然后将反应液体温热到25℃,并搅拌8小时。将混合物冷却到0℃,并且然后在N<sub>2</sub>气氛下将饱和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(100mL)添加到混合物中。将混合物用搅拌10分钟,并且然后用300mL EtOAc(100mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-(3-羟基丙氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(12g, 39.56mmol, 28.22%产率,100%纯度)。

[1322] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 4.28-4.53(m, 1H), 3.33-4.09(m, 10H), 2.15-2.40(m, 2H), 1.73-1.84(m, 2H), 1.39-1.51(m, 9H)。

[1323] 步骤3:

[1324] 向(2S)-4-(3-羟基丙氧基)吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(12g, 39.56mmol, 1当量)于DCM(50mL)中的溶液中添加DMAP(9.67g, 79.12mmol, 2当量)和TosCl(11.31g, 59.34mmol, 1.5当量)。将混合物在25℃下搅拌5小时。将合并的有机相用200mL EtOAc稀释,并用600mL水(200mL×3)和400mL盐水(200mL×2)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/1至0/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(对甲苯磺酰氧基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(7.2g, 15.74mmol, 39.78%产率)。

[1325] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 7.65-7.78(m, 2H), 7.24-7.35(m, 2H), 3.76-4.39(m, 4H), 3.58-3.70(m, 3H), 3.24-3.54(m, 4H), 2.33-2.45(s, 3H), 2.03-2.26(m, 2H), 1.87-1.98(m, 1H), 1.69-1.83(m, 2H), 1.37-1.45(m, 9H)。

[1326] 步骤4:

[1327] 在25℃下向(2S)-4-[3-(对甲苯磺酰氧基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(4g, 8.74mmol, 1当量)于THF(30mL)中的溶液中添加N-甲基甲胺(2M, 26.67mL, 6.10当量, THF)。将所得混合物在70℃下搅拌8小时。将合并的有机相用60mL EtOAc稀释,并用180mL饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(60mL×3)和120mL饱和盐水(60mL×2)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至1/1,3%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈无色油的化合物(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(2g, 6.05mmol, 69.24%产率)。

[1328] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 4.25-4.46(m, 1H), 3.92-4.13(m, 1H), 3.68-3.79(m, 3H), 3.25-3.65(m, 4H), 2.18-2.35(m, 9H), 1.98-2.12(m, 1H), 1.58-1.83(m, 2H), 1.49-1.51(m, 9H)。

[1329] 步骤5:

[1330] 向(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-甲酯(2g, 6.05mmol, 1当量)于THF(5mL)中的溶液中添加H<sub>2</sub>O(5mL)中的LiOH·H<sub>2</sub>O(289.91mg, 12.11mmol, 2当量)。将混合物在25℃下搅拌8小时。将粗产物用水(20mL)稀释,并将水相冷冻干燥,以得到呈白色固体的(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-2-甲酸(1.5g, 4.74mmol, 78.32%产率, Li<sup>+</sup>盐)。

[1331]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 3.88-4.85 (m, 2H), 3.20-3.65 (m, 4H), 2.25-2.52 (m, 10H), 1.65-1.87 (m, 2H), 1.36-1.55 (m, 9H)。

[1332] 步骤6:

[1333] 将(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-2-甲酸(0.85g, 2.69mmol, 1当量)、8-溴辛酸1-辛基壬酯(1.49g, 3.22mmol, 1.2当量)、 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.93g, 5.91mmol, 2.2当量)于DMF(5mL)中的混合物在25℃下在 $\text{N}_2$ 气氛下搅拌8小时。将合并的有机相用20mL EtOAc稀释,并用60mL水(20mL×3)和40mL盐水(20mL×2)洗涤,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}=10/1/0$ 至 $1/1/0.1$ )纯化,以得到呈无色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.8g, 1.15mmol, 42.72%产率, 100%纯度)。

[1334]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.81-4.93 (m, 1H), 3.93-4.44 (m, 4H), 3.46-3.73 (m, 4H), 2.20-2.41 (m, 11H), 1.98-2.12 (m, 1H), 1.58-1.79 (m, 7H), 1.39-1.53 (m, 13H), 1.24-1.35 (m, 29H), 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H)。

[1335] 步骤7:

[1336] 向(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(800.00mg, 1.15mmol, 1当量)于DCM(5mL)中的溶液中添加TFA(23.03g, 201.93mmol, 15mL, 175.94当量)。将混合物在25℃下搅拌2小时。将反应混合物用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液调节至 $\text{pH}=7$ ,并且用60mL EtOAc(20mL×3)萃取,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.75g, 粗产物)。

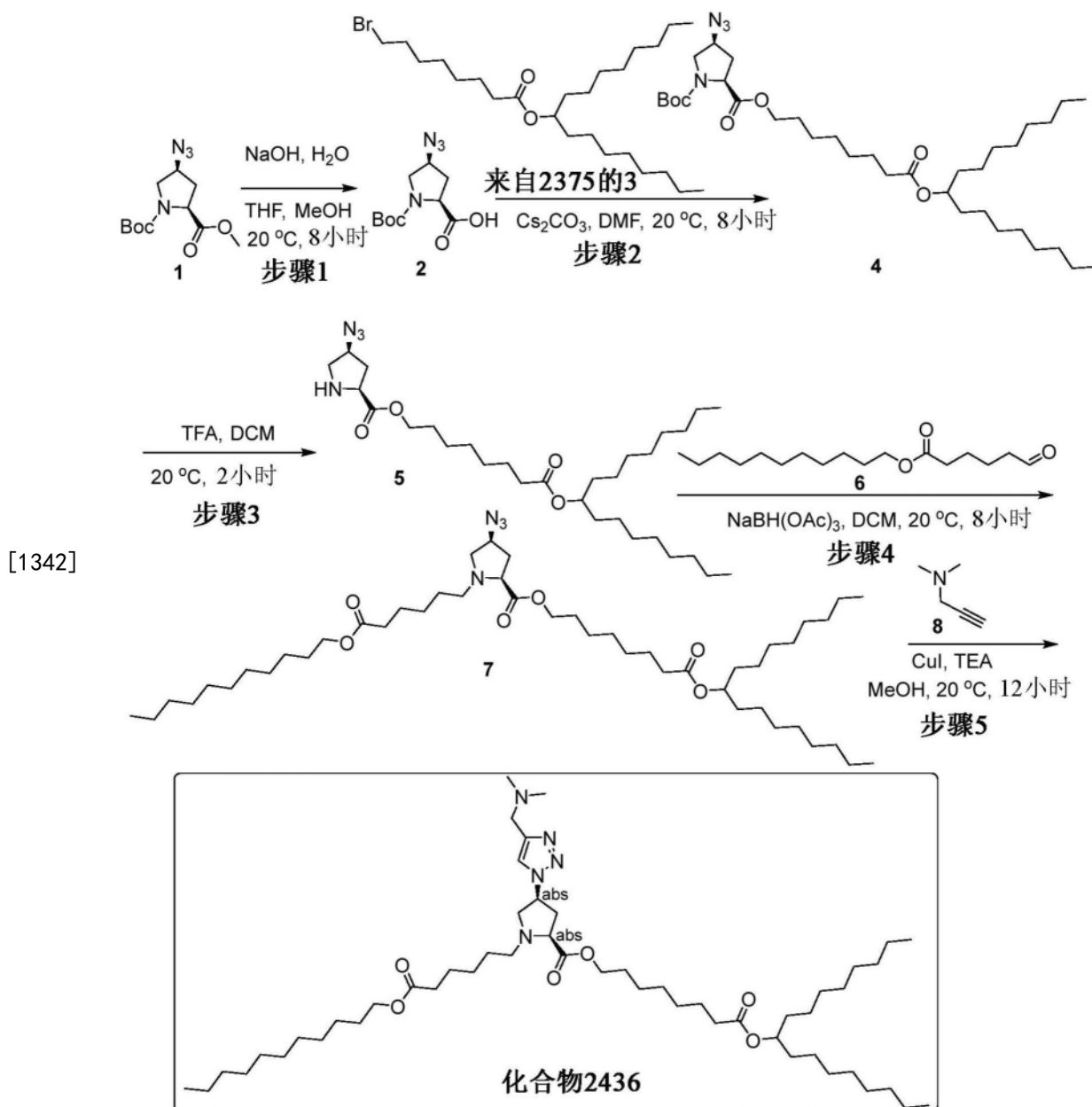
[1337] 步骤8:

[1338] 将(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.2g, 335.05 $\mu\text{mol}$ , 1当量)、6-氧代己酸十一烷基酯(142.95mg, 502.58 $\mu\text{mol}$ , 1.5当量)于DCM(2mL)中的溶液在25℃下搅拌0.5小时,并且然后在25℃下添加 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (213.03mg, 1.01mmol, 3当量)。将所得混合物在25℃下搅拌7.5小时。将合并的有机相用60mL EtOAc稀释,并用180mL水(60mL×3)和120mL盐水(60mL×2)洗涤,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $\text{SiO}_2$ ,石油醚/乙酸乙酯/ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}=10/1/1$ 至 $1/1/0.5$ )纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙氧基]-1-(6-氧代-6-十一烷基氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.12g, 137.15 $\mu\text{mol}$ , 40.93%产率, 98.9%纯度)。

[1339]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 4.80-4.95 (m, 1H), 3.92-4.16 (m, 5H), 3.05-3.49 (m, 4H), 2.60-2.78 (m, 1H), 2.24-2.45 (m, 14H), 2.06-2.14 (m, 1H), 1.92-2.03 (m, 1H), 1.73-1.78 (m, 2H), 1.58-1.64 (m, 6H), 1.42-1.51 (m, 6H), 1.11-1.41 (m, 50H), 0.88 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 9H)。

[1340] LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在10.120分钟处865.8。

[1341] 8.37. 化合物2436的合成



[1343] 步骤1:

[1344] 向(2S,4S)-4-叠氮基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-甲酯(2.00g,7.40mmol,1当量)于THF(20mL)和MeOH(10mL)中的溶液中添加NaOH(1.78g,44.40mmol,6当量)于 $\text{H}_2\text{O}$ (7.39g,410.48mmol,7.39mL,55.47当量)中的溶液。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物用1N HCl调节至pH=3,并且然后用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL饱和盐水(10mL×3)洗涤,经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的(2S,4S)-4-叠氮基-1-叔丁氧基羰基-吡咯烷-2-甲酸(1.9g,粗产物),所得产物在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[1345] 步骤2:

[1346] 向(2S,4S)-4-叠氮基-1-叔丁氧基羰基-吡咯烷-2-甲酸(1.9g,7.41mmol,1当量)和8-溴辛酸1-辛基壬酯(4.11g,8.90mmol,1.2当量)于DMF(100mL)中的溶液中添加 $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (5.31g,16.31mmol,2.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到 $\text{H}_2\text{O}$ (200mL)

中,并且用EtOAc (200mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (200mL×2) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化,以得到呈黄色油的 (2S,4S) -4-叠氮基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (4g,6.28mmol,84.71%产率)。

[1347] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 4.84-4.89 (m,1H), 4.30-4.49 (m,1H), 4.05-4.30 (m,3H), 3.65-3.85 (m,1H), 3.40-3.60 (m,1H), 2.35-2.60 (m,1H), 2.30 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.10-2.20 (m,1H), 1.60-1.75 (m,4H), 1.50-1.60 (m,4H), 1.47-1.51 (m,9H), 1.15-1.37 (m,28H), 0.89 (t, J=6.4Hz, 6H)。

[1348] 步骤3:

[1349] 向 (2S,4S) -4-叠氮基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (2g,3.14mmol,1当量) 于DCM (20mL) 中的溶液中添加TFA (15.35g,134.63mmol,10mL,42.87当量)。将混合物在20℃下搅拌2小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub> (100mL) 中,并且用EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的 (2S,4S) -4-叠氮基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.2g,粗产物)。

[1350] 步骤4:

[1351] 向 (2S,4S) -4-叠氮基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.2g,2.24mmol,1当量) 和6-氧代己酸十一烷基酯 (763.03mg,2.68mmol,1.2当量) 于DCM (20mL) 中的溶液中添加NaBH(OAc)<sub>3</sub> (1.42g,6.71mmol,3当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (20mL) 中,并且用EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至5/1) 纯化,以得到呈黄色油的 (2S,4S) -4-叠氮基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基) 吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (1.5g,1.86mmol,83.33%产率)。

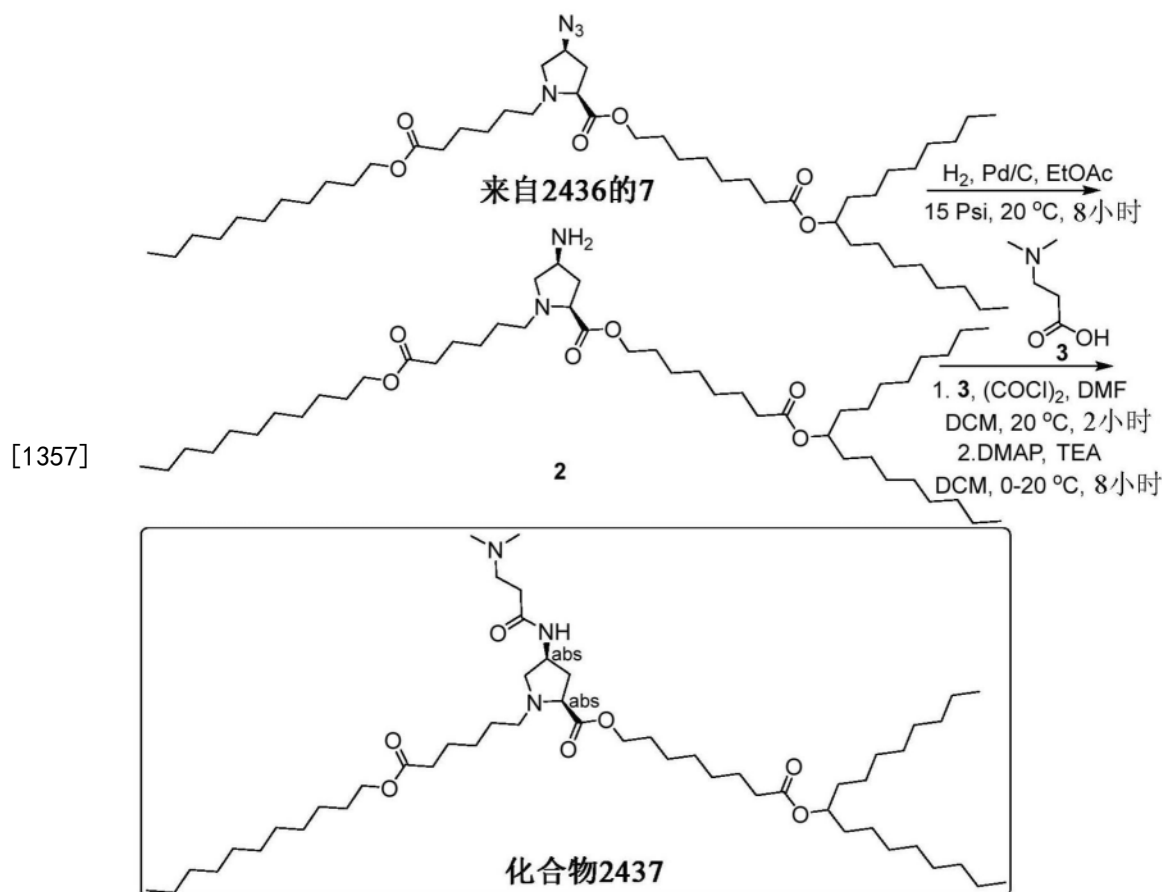
[1352] 步骤5:

[1353] 向 (2S,4S) -4-叠氮基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基) 吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (500mg,620.95μmol,1当量)、CuI (11.83mg,62.09μmol,0.1当量) 和TEA (6.28mg,62.09μmol,8.64μL,0.1当量) 于MeOH (10mL) 中的溶液中添加N,N-二甲基丙-2-炔-1-胺 (61.94mg,745.14μmol,79.01μL,1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物添加到H<sub>2</sub>O (20mL) 中,并且用EtOAc (20mL×3) 萃取。将有机层用盐水 (20mL×2) 洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并且将滤液在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1,添加5%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) 纯化,以得到呈黄色油的 (2S,4S) -4-[4-[(二甲基氨基)甲基]三唑-1-基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基) 吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (150mg,168.85μmol,27.19%产率)。

[1354] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>), 8.12 (s,1H), 5.30-5.35 (m,1H), 4.83-4.90 (m,1H), 4.03-4.20 (m,4H), 3.61 (s,2H), 3.23-3.36 (m,2H), 2.75-2.95 (m,3H), 2.35-2.45 (m,1H), 2.25-2.35 (m,10H), 2.10-2.20 (m,1H), 1.58-1.64 (m,8H), 1.45-1.55 (m,6H), 1.20-1.40 (m,48H), 0.86-0.91 (m,9H)。

[1355] LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 在10.067分钟处888.7。

[1356] 8.38. 化合物2437的合成



[1358] 步骤1:

[1359] 向Pd/C(660.81mg, 620.95 $\mu$ mol, 10%纯度, 1当量)于EtOAc(20mL)中的溶液中添加(2S, 4S)-4-叠氮基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 620.95 $\mu$ mol, 1当量)、Pd/C(660.81mg, 620.95 $\mu$ mol, 10%纯度, 1当量)。将混合物在20°C下在15Psi下在H<sub>2</sub>下搅拌8小时。将混合物过滤并且在减压下浓缩,以得到呈黄色油的(2S, 4S)-4-氨基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(350mg, 粗产物)。

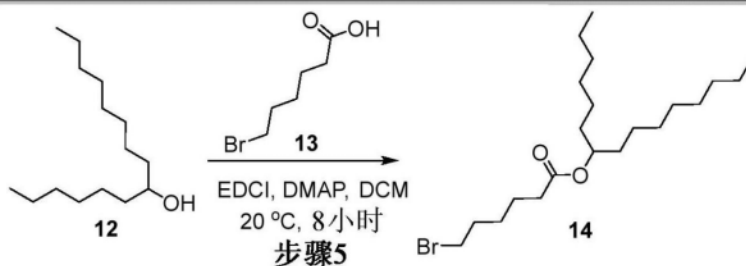
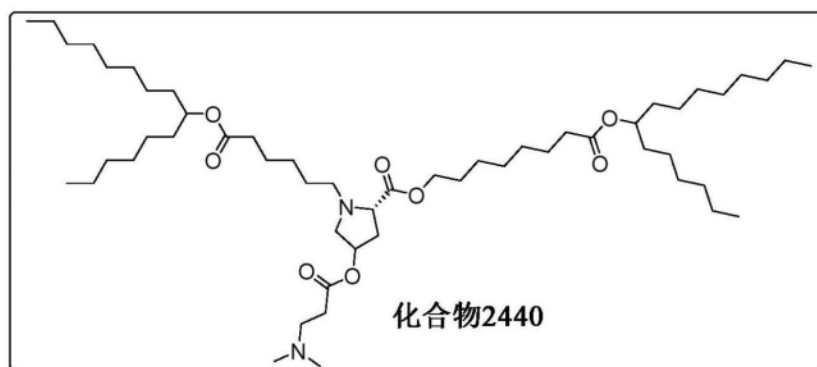
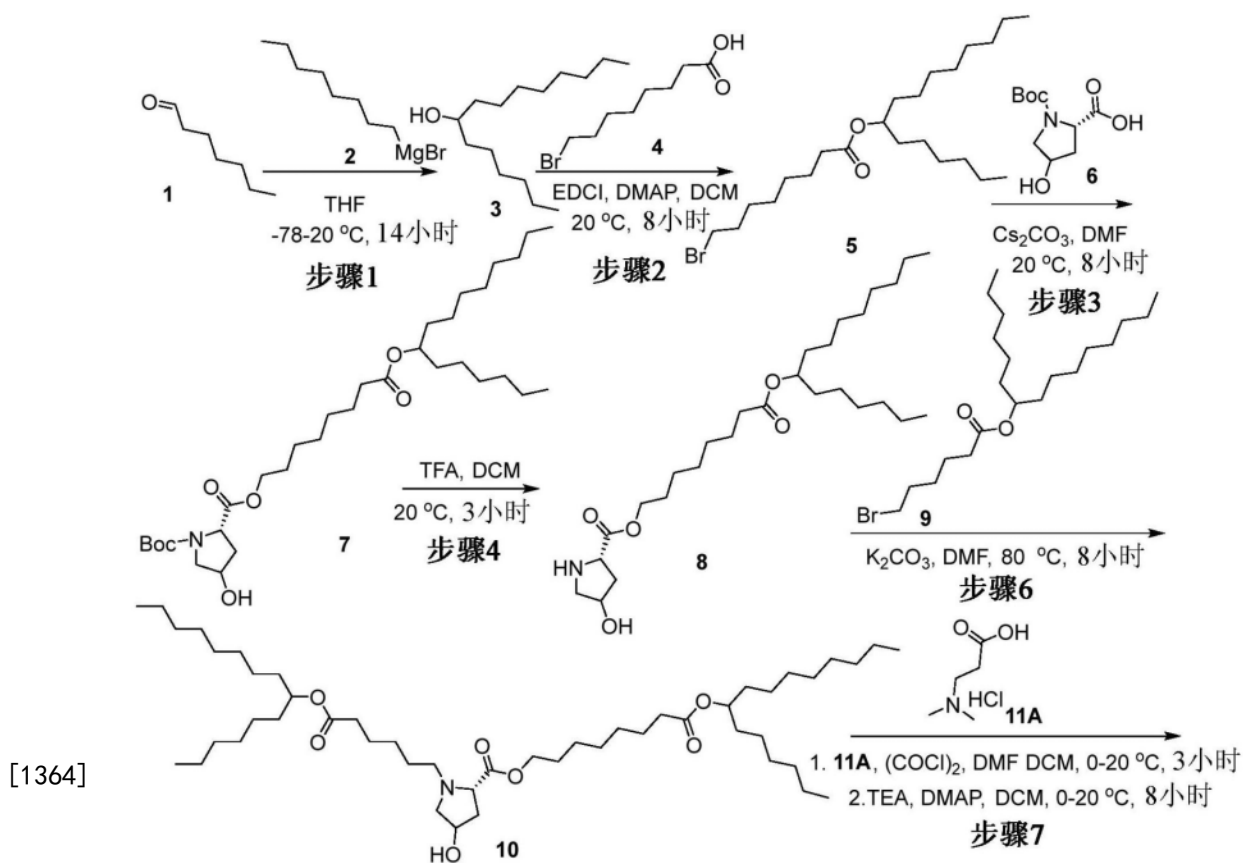
[1360] 步骤2:

[1361] 向3-(二甲基氨基)丙酸(300mg, 1.95mmol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加(COCl)<sub>2</sub>(991.60mg, 7.81mmol, 683.86 $\mu$ L, 4当量)和DMF(14.27mg, 195.30 $\mu$ mol, 15.03 $\mu$ L, 0.1当量)。将混合物在20°C下搅拌2小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色固体的3-(二甲基氨基)丙酰氯(1.6g, 粗产物, HCl)。在N<sub>2</sub>下在0°C下向(2S, 4S)-4-氨基-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(350mg, 449.16 $\mu$ mol, 1当量)和TEA(227.26mg, 2.25mmol, 312.59 $\mu$ L, 5当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加DMAP(27.44mg, 224.58 $\mu$ mol, 0.5当量)和3-(二甲基氨基)丙酰氯(331.15mg, 1.92mmol, 4.29当量, HCl), 并且然后将混合物在20°C下搅拌8小时。将混合物添加到饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)中, 并且用EtOAc(10mL $\times$ 3)萃取。将有机层用盐水(10mL $\times$ 2)洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并且将滤液在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1, 添加5% NH<sub>3</sub>·THF)和制备型HPLC(柱:Xselect CSH C18100 $\times$ 30mm $\times$ 5 $\mu$ m; 流动相:[H<sub>2</sub>O(0.04% HCl)-THF:ACN=1:3]; 梯度:在10.0分钟内30%-70%B)纯化。将溶液通过冻干浓缩, 以得到呈黄

色油的 (2S,4S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氨基]-1-(6-氧代-6-十一烷氧基-己基)吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (150mg, 227.70 $\mu$ mol, 50.69%产率, 96%纯度, HCl盐)。

[1362]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 11.26-11.52 (m, 2H), 9.67 (s, 1H), 4.83-4.90 (m, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.46 (s, 1H), 4.29-4.40 (m, 2H), 4.16 (s, 1H), 4.05 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.35-3.55 (m, 4H), 3.23 (s, 1H), 2.97-3.05 (m, 1H), 2.86-2.95 (m, 6H), 2.75-2.85 (m, 1H), 2.65-2.75 (m, 1H), 2.25-2.35 (m, 4H), 1.90 (s, 1H), 1.58-1.72 (m, 8H), 1.40-1.55 (m, 6H), 1.20-1.38 (m, 48H), 0.89 (t, J=6.4Hz, 9H)。LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 在10.390分钟处878.8。

[1363] 8.39. 化合物2440的合成



[1365] 步骤1:

[1366] 在-78℃下向庚醛 (10g, 87.58mmol, 12.22mL, 1当量) 于THF (200mL) 中的溶液中添加溴(辛基)镁 (2M, 48.17mL, 1.1当量)。然后将混合物在-78℃下搅拌2小时。然后将混合物在20℃下搅拌12小时。将反应混合物通过添加1500mL饱和NH<sub>4</sub>O稀释, 并且然后用1500mL PE (500mL×3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0) 纯化, 以得到呈白色固体的化合物十

五烷-7-醇(80g,350.24mmol,39.99%产率)。

[1367] 步骤2:

[1368] 向十五烷-7-醇(5g,21.89mmol,1当量)和8-溴辛酸(5.13g,22.98mmol,1.05当量)于DCM(50mL)中的溶液中添加EDCI(5.04g,26.27mmol,1.2mL当量)和DMAP(1.34g,10.95mmol,0.5当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将反应混合物用100mL水稀释,并且用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层用30mL盐水(10mL×3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0)纯化,以得到呈无色油的8-溴辛酸1-己基壬酯(7.5g,17.30mmol,79.03%产率)。

[1369] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.85-4.91(m,1H),3.41(t,J=7.2Hz,2H),2.29(t,J=7.6Hz,2H),1.80-1.95(m,2H),1.62-1.67(m,2H),1.45-1.55(m,4H),1.35-1.39(m,2H),1.27-1.31(m,24H),0.89(t,J=6.4Hz,6H)。

[1370] 步骤3:

[1371] 向8-溴辛酸1-己基壬酯(7.5g,17.30mmol,1.2当量)和(2S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(3.33g,14.42mmol,1当量)于DMF(100mL)中的溶液中依序添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(10.33g,31.72mmol,2.2当量)。然后将混合物在20℃下搅拌8小时。将反应混合物用150mL H<sub>2</sub>O稀释,并且然后用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层用140mL盐水(70mL×2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至3/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(6g,10.28mmol,71.28%产率)。

[1372] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.85-4.88(m,2H),4.10-4.37(m,4H),3.30-3.68(m,2H),2.26-2.30(m,3H),2.05-2.08(m,1H),1.61-1.67(m,2H),1.42-1.50(m,13H),1.25-1.35(m,28H),0.88(t,J=6.8Hz,6H)。

[1373] 步骤4:

[1374] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸01-叔丁酯02-[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3.5g,5.99mmol,1当量)于DCM(27mL)中的溶液中添加TFA(13.82g,121.16mmol,9mL,20.21当量)。将混合物在20℃下搅拌3小时。将反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液调节至pH=7,并且用150mL EtOAc(50mL×3)萃取,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=10/1至2/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.3g,2.69mmol,43.33%产率)。

[1375] 步骤5:

[1376] 在20℃下向6-溴己酸(4.27g,21.89mmol,1当量)于DCM(50mL)中的混合物中添加EDCI(4.20g,21.89mmol,1当量)、十五烷-7-醇(5g,21.89mmol,1当量)、DMAP(534.86mg,4.38mmol,0.2当量),并且脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次。将混合物在20℃下在N<sub>2</sub>气氛下搅拌8小时。将反应混合物用100mL H<sub>2</sub>O稀释,并且用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至40/1)纯化,以得到呈无色油的6-溴己酸1-己基壬酯(8g,19.73mmol,90.14%产率)。

[1377] 步骤6:

[1378] 向(2S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(1.3g, 2.69mmol, 1当量)、6-溴己酸1-己基壬酯(1.31g, 3.22mmol, 1.2当量)于DMF(20mL)中的溶液中添加 $K_2CO_3$ (1.11g, 8.06mmol, 3当量)。将混合物在80℃下搅拌8小时。将反应混合物用50mL  $H_2O$ 稀释,并且用120mL EtOAc(40mL×3)萃取。将合并的有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1/0至10/1)纯化,以得到呈无色油的(2S)-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.4g, 494.89 $\mu$ mol, 18.41%产率, 100%纯度)。

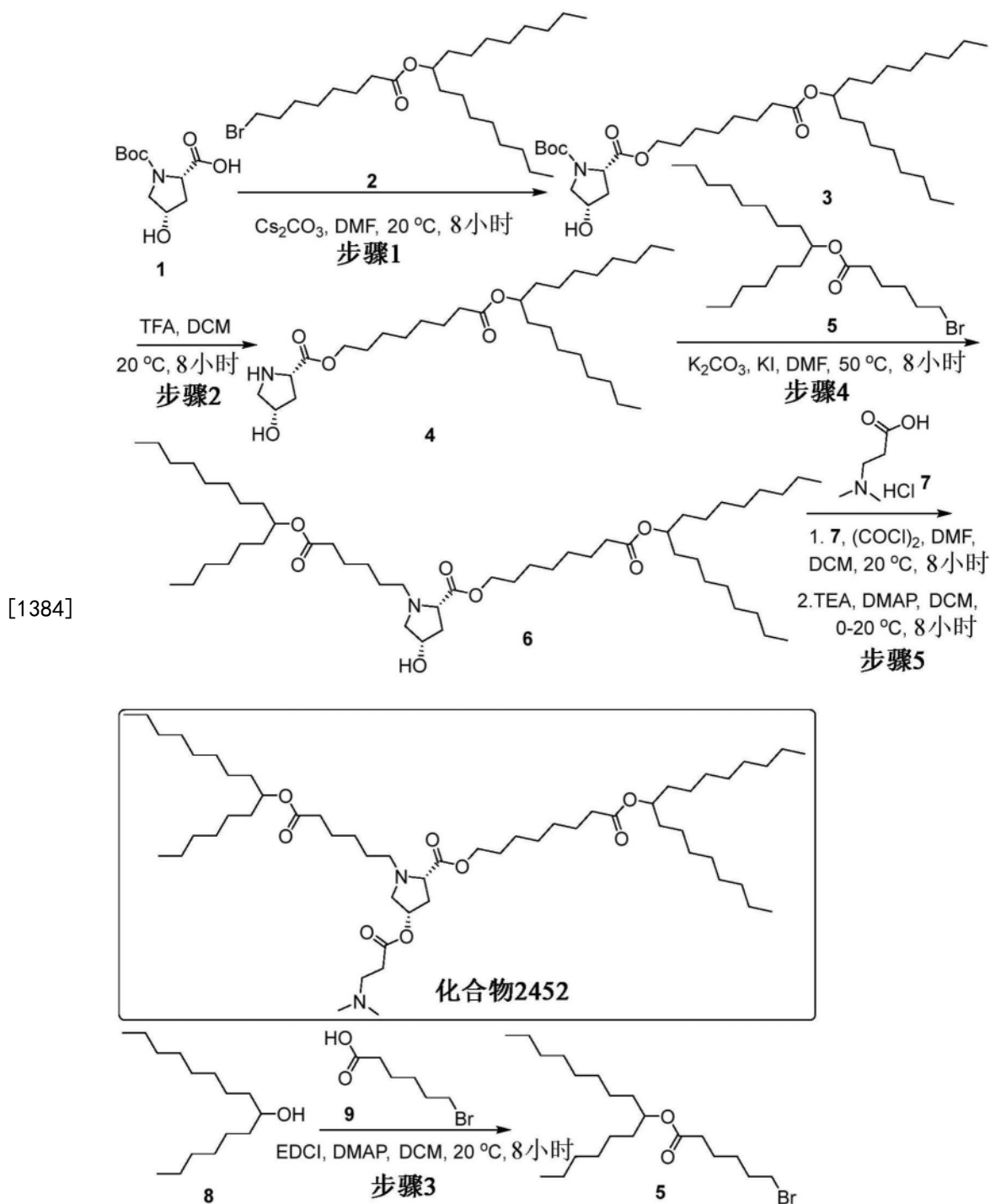
[1379]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ), 4.86-4.90 (m, 2H), 4.26-4.28 (m, 1H), 4.13 (t, J=6.8Hz, 2H), 3.05-3.26 (m, 3H), 2.27-2.64 (m, 8H), 1.83-1.92 (m, 1H), 1.61-1.67 (m, 8H), 1.50-1.52 (m, 6H), 1.27-1.45 (m, 50H), 0.89 (t, J=6.8Hz, 12H)。

[1380] 步骤7:

[1381] 在0℃下向3-(二甲基氨基)丙酸(0.6g, 3.91mmol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的混合物中添加 $(COCl)_2$ (2.48g, 19.53mmol, 1.71mL, 5当量)、DMF(28.55mg, 390.61 $\mu$ mol, 30.05 $\mu$ L, 0.1当量)。将混合物在20℃下在 $N_2$ 气氛下搅拌3小时。将反应混合物在减压下浓缩,以得到呈白色固体的化合物3-(二甲基氨基)丙酰氯(0.6g, 粗产物, HCl)。在0℃下向(2S)-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(0.4g, 494.89 $\mu$ mol, 1当量)、TEA(250.39mg, 2.47mmol, 344.41 $\mu$ L, 5当量)、DMAP(12.09mg, 98.98 $\mu$ mol, 0.2当量)于DCM(10mL)中的溶液中添加3-(二甲基氨基)丙酰氯(425.73mg, 2.47mmol, 5当量, HCl)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将反应混合物用20mL  $H_2O$ 稀释,并且用60mL EtOAc(20mL×3)萃取。将合并的有机层经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=1:0至1:0)、制备型HPLC(柱:沃特世公司(Waters)Xbridge BEH C18100×30mm×10 $\mu$ m;流动相:[ $H_2O$ (0.04% HCl)-THF:ACN=1:3];梯度:在10.0分钟内35%-70%B)和制备型HPLC(柱:菲罗门公司Gemini-NX 80×40mm×3 $\mu$ m;流动相:[ $H_2O$ (0.04% HCl)-THF:ACN=1:3];梯度:在10.0分钟内45%-90%B)纯化,以得到呈白色固体的(2S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-己基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(108mg, 112.31 $\mu$ mol, 38.15%产率, HCl)。

[1382]  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ), 11.53-13.46 (m, 2H), 5.37-5.42 (m, 1H), 4.83-4.87 (m, 2H), 4.16-4.51 (m, 4H), 2.31-3.58 (m, 15H), 2.29 (t, J=7.2Hz, 4H), 1.61-1.87 (m, 14H), 1.26-1.36 (m, 50H), 0.88 (t, J=6.8Hz, 12H)。LCMS: (M+ $H^+$ ): 在10.114分钟处907.7。

[1383] 8.40. 化合物2452的合成



[1385] 步骤1:

[1386] 向(2S,4S)-1-叔丁氧基羰基-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸(2.2g,9.51mmol,1当量)于DMF(30mL)中的溶液中添加Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(4.65g,14.27mmol,1.5当量)和8-溴辛酸1-辛基壬酯(5.27g,11.42mmol,1.2当量)。将混合物在20°C下搅拌8小时。将反应混合物在0°C下通过添加200mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用300mL EtOAc(100mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1)纯化,以得到呈无色油的(2S,4S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(20g,32.69mmol,85.87%产率)。

[1387] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>),4.84-4.89(m,1H),4.14-4.36(m,4H),3.53-3.68(m,2H),

2.28-2.35(m, 3H), 2.06-2.10(m, 1H), 1.51-1.66(m, 4H), 1.46-1.49(m, 14H), 1.25-1.34(m, 32H), 0.88(t, J=6.4H, 6H)。

[1388] 步骤2:

[1389] 向(2S, 4S)-4-羟基吡咯烷-1,2-二甲酸O1-叔丁酯O2-[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(4g, 6.54mmol, 1当量)于DCM(30mL)中的溶液中添加TFA(15mL)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物在减压下浓缩,然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>调节至pH=8,并且用200mL EtOAc(40mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1)纯化,以得到呈无色油的(2S, 4S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(16g, 31.26mmol, 95.64%产率)。

[1390] 步骤3:

[1391] 向6-溴己酸(6.75g, 34.59mmol, 1.58当量)于DCM(50mL)中的溶液中添加EDCI(6.29g, 32.84mmol, 1.5当量)、DMAP(802.28mg, 6.57mmol, 0.3当量)和十五烷-7-醇(5g, 21.89mmol, 1当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加50mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用90mL EtOAc(30mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到呈无色油的6-溴己酸1-己基壬酯(8.88g, 粗产物)。

[1392] 步骤4:

[1393] 向(2S, 4S)-4-羟基吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3.6g, 7.03mmol, 1当量)于DMF(90mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.92g, 21.10mmol, 3当量)和KI(1.17g, 7.03mmol, 1当量)和6-溴己酸1-己基壬酯(8.56g, 21.10mmol, 3当量)。将混合物在50℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加50mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用150mL EtOAc(50mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=50/1至0/1)纯化,以得到呈黄色油的(2S, 4S)-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(3g, 3.57mmol, 50.77%产率, 99.5%纯度)。

[1394] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>), 4.83-4.89(m, 2H), 4.11-4.26(m, 3H), 3.05-3.67(m, 3H), 2.60-2.63(m, 3H), 2.26-2.30(m, 5H), 1.90-1.93(m, 1H), 1.61-1.66(m, 6H), 1.50-1.51(m, 9H), 1.26-1.35(m, 52H), 0.88(t, J=6.4H, 12H)。

[1395] 步骤5:

[1396] 向3-(二甲基氨基)丙酸(480mg, 3.12mmol, 1当量, HCl)于DCM(5mL)中的溶液中添加DMF(11.42mg, 156.24μmol, 12.02μL, 0.05当量)和草酰二氯(475.95mg, 3.75mmol, 328.24μL, 1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌8小时。将混合物在减压下浓缩,以得到呈黄色油的3-(二甲基氨基)丙酰氯(537.6mg, 粗产物, HCl)。将粗油残余物用DCM(10mL)溶解,然后在0℃下添加到(2S, 4S)-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]-4-羟基-吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯(500mg, 597.86μmol, 1当量)、TEA(604.97mg, 5.98mmol, 832.15μL, 10当量)和DMAP(36.52mg, 298.93μmol, 0.5当量)于DCM(5mL)中的溶液中。将混合物在20℃下搅拌8小时。将反应混合物在0℃下通过添加10mL H<sub>2</sub>O淬灭,并且然后用30mL EtOAc(10mL×3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并且在减压下浓缩以得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至1/1,添加0.1%NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)纯化,以得到呈

黄色油的 (2S,4S)-4-[3-(二甲基氨基)丙酰氧基]-1-[6-(1-己基壬氧基)-6-氧代-己基]吡咯烷-2-甲酸[8-(1-辛基壬氧基)-8-氧代-辛基]酯 (280mg, 299.32 $\mu$ mol, 50.07%产率)。

[1397]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), 12.36-13.34 (m, 2H), 5.36 (brs, 1H), 4.82-4.89 (m, 2H), 4.29-4.45 (m, 4H), 2.83-3.56 (m, 16H), 2.29 (t, J=7.6Hz, 4H), 1.61-1.72 (m, 6H), 1.50 (brs, 8H), 1.26-1.36 (m, 54H), 0.88 (t, J=6.8H, 12H)。

[1398] 实例9: 脂质纳米颗粒组合物的制备

[1399] 示例性脂质纳米颗粒组合物。

[1400] 制备示例性脂质纳米颗粒组合物, 以得到以如下表中所示的摩尔比的可电离脂质: 结构脂质: 固醇: PEG-脂质。

[1401] 每种脂质纳米颗粒组合物的脂质组分的摩尔比总结如下。

可电离脂质编号	mRNA	摩尔比			
		可电离组分	结构性 DSPC	植物胆固醇	DMPE-PEG2k
2230	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2231	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2260	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2270	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2290	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2291	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2293	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2298	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2306	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2307	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2308	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2309	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2310	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2336	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2337	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2338	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2339	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2340	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2341	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2342	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2343	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2344	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2345	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2348	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2349	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2352	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2371	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2372	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2373	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2375	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2376	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2377	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2436	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5
2452	FLUC/EPO 1:1	50	10	38.5	1.5

[1404] 为了制备示例性脂质纳米颗粒组合物, 将根据上表的脂质组分溶解于乙醇中, 以指示的摩尔比混合, 并在乙醇 (有机相) 中稀释, 以获得 5.5mM 的总脂质浓度。

[1405] 包封mRNA的脂质纳米颗粒组合物。

[1406] 用不含RNA酶的水和pH 3的100mM柠檬酸盐缓冲液根据上表中的每种LNP组合物制备mRNA溶液(水相,fluc:EPO mRNA),以得到最终浓度为50mM的柠檬酸盐缓冲液和0.167mg/mL mRNA浓度(1:1Fluc:EPO)。使调配物的可电离脂质与mRNA的比率维持处于可电离脂质氮:mRNA磷酸盐(N:P)比率为6:1。

[1407] 对于每种LNP组合物,将脂质混合物和mRNA溶液分别以1:3体积比在NanoAssemblr Ignite(精密纳米系统有限公司)上以9毫升/分钟的总流动速率混合。然后将所得组合物装载到Slide-A-Lyzer G2透析盒(10k MWC0)中,并在轻轻搅拌的情况下,在室温下在200倍样品体积的1x PBS中透析2小时。更新PBS,并且在轻轻搅拌的情况下,使组合物在4°C下进一步透析至少14小时。然后收集经透析的组合物,并且通过使用亚米康公司超离心过滤器(100k MWC0)以2000xg离心进行浓缩。使用ZetasizerUltra(马尔文帕纳科公司)对经浓缩的颗粒的大小、多分散性和颗粒浓度进行表征,并使用Quant-iT RiboGreen RNA测定试剂盒(赛默飞世尔科技公司)来表征mRNA包封效率。

[1408] 对于pKa测量,根据Sabnis等人,《分子疗法》,26(6):1509-19(所述文献通过引用整体并入本文)中描述的方法进行TNS测定。简而言之,使用1M氢氧化钠和1M盐酸制备20种具有独特的范围为3.0-12.0的pH值的缓冲液(10mM磷酸钠、10mM硼酸钠、10mM柠檬酸钠和150mM氯化钠,于蒸馏水中)。将3.25 $\mu$ L的LNP组合物(0.04mg/mLmRNA,于PBS中)用2 $\mu$ L的TNS试剂(0.3mM,于DMSO中)和90 $\mu$ L的用于每个pH值的缓冲液(如上所述)在96孔黑色壁板中温育。每个pH条件在三个孔中进行。使用伯腾公司Cytation读板仪在321/445nm的激发/发射波长下测量TNS荧光。然后将荧光值绘图并使用4参数S形曲线拟合。根据拟合,计算产生半最大荧光的pH值,并报告为表观LNPpKa值。

[1409] 下表中示出了每种示例性脂质纳米颗粒组合物的颗粒表征数据,所述颗粒表征数据由其制备所依据的相同可电离脂质数进行标记。

[1410]

LNP 编号	mRNA	大小 (nm)	PDI	%EE	pKa (TNS)
2230	FLUC/EPO 1:1	87.6	0.10	92.4	4.84
2231	FLUC/EPO 1:1	91.6	0.05	93.9	5.03
2260	FLUC/EPO 1:1	62.6	0.14	90	4.72
2270	FLUC/EPO 1:1	68.4	0.02	88.7	4.85
2290	FLUC/EPO 1:1	117.5	0.06	94.6	5.76
2291	FLUC/EPO 1:1	93.2	0.10	95	4.65
2293	FLUC/EPO 1:1	92.3	0.05	86.5	6.02
2298	FLUC/EPO 1:1	120.7	0.09	90	5.14
2306	FLUC/EPO 1:1	124.5	0.08	94.8	5.20
2307	FLUC/EPO 1:1	173.0	0.09	95.9	
2308	FLUC/EPO 1:1	98.3	0.06	96.5	5.70
2309	FLUC/EPO 1:1	128.1	0.10	96.7	
2310	FLUC/EPO 1:1	138.5	0.13	96.1	
2336	FLUC/EPO 1:1	92.1	0.05	93.4	5.67
2337	FLUC/EPO 1:1	123.8	0.06	90.1	5.78
2338	FLUC/EPO 1:1	120.8	0.10	89.3	5.91

[1411]	2339	FLUC/EPO 1:1	79.2	0.07	95.8	4.68
	2340	FLUC/EPO 1:1	123.2	0.09	89.3	5.93
	2341	FLUC/EPO 1:1	104.2	0.10	89.1	5.58
	2342	FLUC/EPO 1:1	113.4	0.05	89	5.81
	2343	FLUC/EPO 1:1	90.8	0.07	93.5	4.93
	2344	FLUC/EPO 1:1	88.1	0.03	91.5	5.54
	2345	FLUC/EPO 1:1	91.8	0.03	90.1	
	2348	FLUC/EPO 1:1	105.4	0.08	93.6	5.59
	2349	FLUC/EPO 1:1	90.4	0.13	96.8	
	2352	FLUC/EPO 1:1	151.7	0.32	32.8	
	2371	FLUC/EPO 1:1	107.0	0.05	94.7	6.17
	2372	FLUC/EPO 1:1	95.8	0.06	95.6	5.98
	2373	FLUC/EPO 1:1	84.8	0.34	97.9	7.28
	2375	FLUC/EPO 1:1	127.6	0.12	96.7	6.77
	2376	FLUC/EPO 1:1	104.1	0.04	97.4	7.66
	2377	FLUC/EPO 1:1	101.2	0.33	96.5	7.78
	2436	FLUC/EPO 1:1	134.0	0.15	93.4	6.60
	2452	FLUC/EPO 1:1	109.2	0.11	95.2	5.91

[1412] 实例10:体内生物发光成像

[1413] 在本实例中使用根据实例9制备的包封根据上述实例9中所示的表的mRNA的示例性脂质纳米颗粒组合物。

[1414] 生物发光筛选。

[1415] 利用8-9周龄雌性Balb/c小鼠进行基于生物发光的可电离脂质筛选工作。小鼠从杰克逊实验室(JAX货号:000651)获得,并在操作前适应环境一周。将动物放在加热灯下几分钟,之后将其引入限制隔室。将尾巴用酒精片(费舍尔科技公司)擦拭,并且对于上述每种LNP组合物,使用29G胰岛素注射器(柯惠医疗公司)静脉内注射100uL的含有10 $\mu$ g总mRNA(5 $\mu$ gFluc+5 $\mu$ g EPO)的上述脂质纳米颗粒组合物。给药后4-6小时,向动物注射200 $\mu$ L的15mg/mL D-荧光素(金生物科技公司),并置于IVIS Lumina LT成像仪(珀金埃尔默公司)内的固定鼻锥中。利用LivingImage软件进行成像。在自动曝光时捕获全身生物发光,之后将动物从IVIS中取出并置于CO<sub>2</sub>隔室中进行安乐死。在将每只动物置于背卧位后对其进行心脏穿刺,并使用25G胰岛素注射器(BD)进行血液收集。一旦收集了所有的血液样品,就使用台式离心机以2000G旋转试管10分钟,并且将血浆等分到单独的艾本德管(费舍尔科技公司)中,并在-80 $^{\circ}$ C下储存以用于后续EPO定量。使用EPO MSD试剂盒(中尺度诊断公司)确定血浆中的EPO水平。hEPO MSD测量方案与实例7中的部分hEPOMSD测量结果中描述的测量方案相同。

[1416] 通过体内生物发光成像确定的每种脂质纳米颗粒组合物的平均辐射水平示出于下表。

[1417]

LNP 编号	mRNA 剂量	生物发光 (静脉内)					
		全身	肝	脾	肺	hEPO	脾:肝比率
2230	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	4.8E+06	6.6E+05	1.6E+06	1.0E+04	1.2E+05	2.409
2231	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.4E+06	4.2E+05	3.8E+06	1.8E+04	4.7E+04	12.767
2260	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	4.2E+04	6.1E+03	9.7E+03	1.2E+03	2.2E+02	2.501
2270	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.4E+04	3.0E+03	6.4E+03	1.1E+03	9.1E+01	2.260
2290	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.5E+07	1.8E+06	4.9E+06	2.8E+04	1.5E+05	2.707
2291	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.0E+05	1.2E+04	3.2E+05	1.7E+03	1.6E+03	27.074
2293	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.9E+04	4.0E+03	2.9E+05	3.3E+03	5.8E+02	72.893
2298	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.4E+07	3.0E+06	8.6E+06	3.1E+04	1.4E+05	3.448
2306	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.5E+07	2.6E+06	6.4E+06	2.5E+04	2.2E+05	3.685
2307	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	7.7E+04	1.1E+04	7.5E+04	1.8E+03	4.9E+03	6.690
2308	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	8.5E+05	6.6E+04	7.8E+06	1.2E+04	1.1E+04	112.706
2309	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	7.4E+06	8.8E+05	5.1E+06	4.4E+04	8.1E+04	5.742
2310	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.3E+07	8.9E+05	4.8E+06	1.1E+05	1.09E+05	5.580
2336	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.1E+05	2.1E+04	9.6E+04	1.4E+03	1.2E+03	5.843
2337	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	5.8E+06	1.6E+06	8.4E+06	1.5E+05	1.3E+05	5.281
2338	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	7.8E+06	8.4E+05	3.5E+06	1.3E+04	1.7E+05	4.171
2339	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.2E+04	4.0E+03	3.1E+05	7.8E+03	7.6E+03	79.023
2340	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	3.2E+07	3.6E+06	7.5E+06	4.9E+04	3.1E+05	1.993
2341	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.3E+07	2.2E+06	1.2E+06	8.9E+03	2.7E+05	0.559

[1418]	2342	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.2E+07	2.3E+06	6.9E+06	4.1E+04	8.9E+04	3.514
	2343	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	5.0E+07	8.4E+06	9.4E+05	7.0E+03	7.5E+05	0.113
	2344	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.0E+08	3.7E+07	4.2E+06	3.3E+04	1.4E+06	0.123
	2345	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	8.4E+07	1.7E+07	4.2E+06	7.1E+03	5.3E+06	0.239
	2348	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.5E+05	3.8E+04	4.6E+05	4.4E+03	7.3E+03	12.192
	2349	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	5.3E+04	8.0E+03	2.6E+04	7.8E+02	3.8E+02	4.520
	2352	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.2E+04	4.1E+03	2.3E+03	7.8E+02	4.1E+02	0.599
	2371	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.6E+07	3.2E+06	5.3E+06	1.9E+04	2.5E+05	1.647
	2372	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	5.9E+04	1.4E+04	6.2E+04	2.5E+02	4.3E+04	4.623
	2373	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	7.9E+03	1.2E+03	7.2E+03	1.1E+03	1.9E+03	6.493
	2375	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.2E+04	1.7E+03	2.1E+04	1.1E+03	1.2E+02	12.568
	2376	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	3.0E+03	4.6E+02	5.8E+04	1.4E+03	6.9E+02	112.877
	2377	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	2.3E+04	2.7E+03	2.6E+05	3.9E+03	3.1E+02	109.114
	2436	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	7.14E+05	1.05E+05	6.25E+05	2.62E+03	1.3E+04	5.93
2452	5 $\mu$ g FLUC + 5 $\mu$ g EPO	1.62E+06	1.59E+05	2.59E+05	2.61E+03	1.73E+05	1.855	

[1419] 如所见的,含有新型可电离脂质化合物的脂质纳米颗粒组合物证明了治疗性货物在肝外的选择性递送,并且由于肝中较低的脂质水平,预期具有较低的肝毒性。

[1420] 具体地,对于所有示例性脂质纳米颗粒组合物,确定了平均辐射的脾:肝比率。如实施7中所述,比较性脂质纳米颗粒组合物(LNP C12-200、LNP MC3)具有非常低的脾与肝的比率( $\ll 0.1$ ),而所有示例性脂质纳米颗粒组合物都表现出与比较性脂质纳米颗粒组合物(LNP C12-200、LNP Mc3)的脾与肝的比率相比明显较高的脾与肝的比率,其值 $>0.1$ 。大多数示例性脂质纳米颗粒组合物(除了5)表现出脾与肝的比率 $>1$ 。几种示例性脂质纳米颗粒组合物(LNP 2231、LNP 2291、LNP 2293、LNP 2308、LNP 2339、LNP 2348、LNP 2375、LNP 2376和LNP 2377)表现出脾与肝的比率 $>10$ 。这些结果指示,与比较性脂质纳米颗粒组合物表现出的主要通过肝的标准递送不同,示例性脂质纳米颗粒组合物除了肝递送之外,还表现出令人惊讶的至脾递送的高递送。

[1421] 虽然已经关于一些实施例描述了本公开,并且出于说明的目的阐述了许多细节,但对于本领域技术人员将显而易见的是,本公开包含另外的实施例,并且在不脱离本公开的情况下,本文所述的一些细节可以显著变化。本公开包含此类另外的实施例、修饰和等效物。特别地,本公开包含各种说明性组分和实例的特征、术语或元件的任何组合。

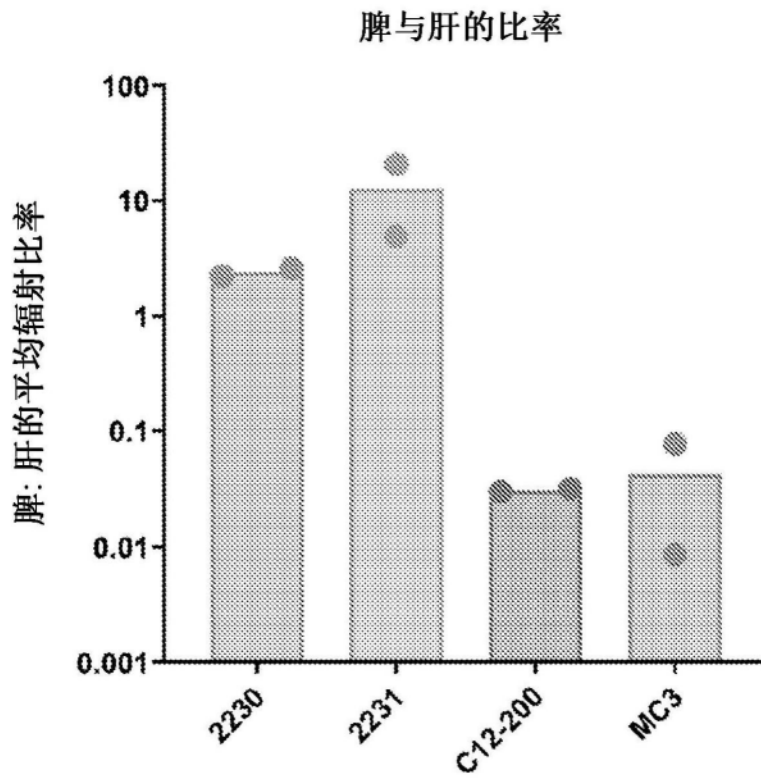


图1