

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 913 626**

51 Int. Cl.:

C07D 211/14 (2006.01)
C07D 211/16 (2006.01)
C07D 295/13 (2006.01)
C07D 295/185 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 31/45 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2016 PCT/US2016/068300**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.06.2017 WO17112865**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2016 E 16831870 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **12.02.2025 EP 3394030**

54 Título: **Compuestos y composiciones para la administración intracelular de agentes**

30 Prioridad:

22.12.2015 US 201562271160 P
22.12.2015 US 201562271146 P
22.12.2015 US 201562271179 P
22.12.2015 US 201562271137 P
22.12.2015 US 201562271200 P
18.05.2016 US 201662338474 P
26.10.2016 US 201662413345 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:
12.05.2025

73 Titular/es:

MODERNATX, INC. (100.00%)
325 Binney Street
Cambridge, MA 02142, US

72 Inventor/es:

BENENATO, KERRY E. y
BUTCHER, WILLIAM

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 913 626 T5

DESCRIPCIÓN

Compuestos y composiciones para la administración intracelular de agentes

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica la prioridad y el beneficio de la Solicitud Provisional Estadounidense n.º 62/271.160, depositada el 22 de diciembre de 2015, 62/271.179, depositada el 22 de diciembre de 2015, 62/271.137, depositada el 22 de diciembre de 2015, 62/271.200, depositada el 22 de diciembre de 2015, 62/271.146, depositada el 22 de diciembre de 2015; 62/338.474, depositada el 18 de mayo de 2016; 62/413.345, depositada el 26 de octubre de 2016.

Campo técnico

15 La presente descripción proporciona compuestos, composiciones que comprenden dichos compuestos y procedimientos que involucran composiciones de nanopartículas lipídicas para administrar uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos y/o producir polipéptidos en células u órganos de mamífero. Además de un aminolípido, las composiciones de nanopartículas de lípidos de la descripción pueden incluir uno o más aminolípidos catiónicos y/o ionizables, fosfolípidos que incluyen lípidos poliinsaturados, lípidos PEG, lípidos estructurales y/o agentes terapéuticos y/o profilácticos en fracciones específicas.

Antecedentes

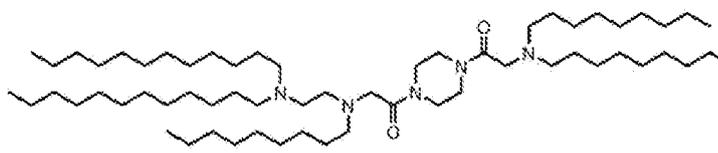
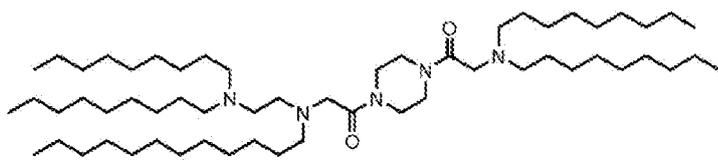
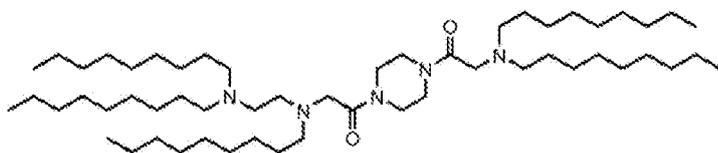
25 La administración dirigida eficaz de sustancias biológicamente activas tales como fármacos de molécula pequeña, proteínas y ácidos nucleicos representa un desafío médico continuo. En particular, la administración de ácidos nucleicos a las células se dificulta debido a la inestabilidad relativa y a la baja permeabilidad celular de dichas especies. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar procedimientos y composiciones para facilitar la administración de agentes terapéuticos y/o profilácticos tales como ácidos nucleicos a las células.

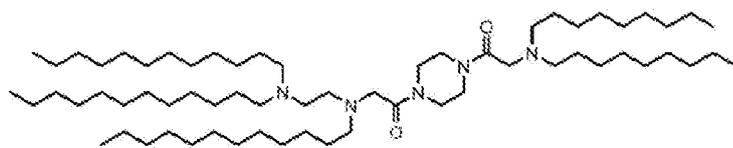
30 Las composiciones de nanopartículas que contienen lípidos, liposomas y lipoplejos han demostrado ser eficaces como vehículos de transporte en células y/o compartimientos intracelulares para sustancias biológicamente activas tales como fármacos de molécula pequeña, proteínas y ácidos nucleicos. Dichas composiciones generalmente incluyen uno o más lípidos "catiónicos" y/o aminolípidos (ionizables), fosfolípidos que incluyen lípidos poliinsaturados, lípidos estructurales (por ejemplo, esteroides) y/o lípidos que contienen polietilenglicol (lípidos PEG). Los lípidos catiónicos y/o ionizables incluyen, por ejemplo, lípidos que contienen amina que se pueden protonar fácilmente. Aunque se ha demostrado una variedad de dichas composiciones de nanopartículas que contienen lípidos, aún faltan mejoras en la seguridad, eficacia y especificidad.

Resumen

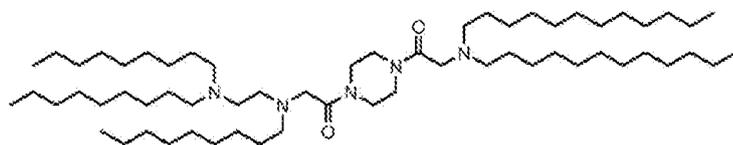
40 La presente descripción proporciona compuestos y composiciones y procedimientos que los involucran.

La presente invención proporciona compuestos seleccionados de:

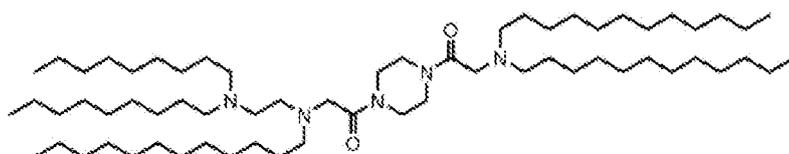




(Compuesto 7),

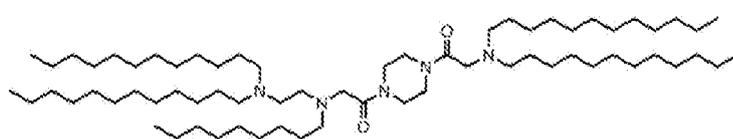


(Compuesto 8),

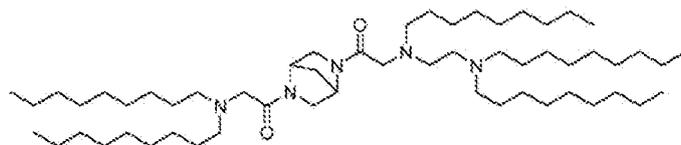


5

(Compuesto 9),

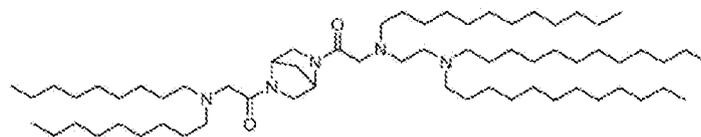


(Compuesto 10),

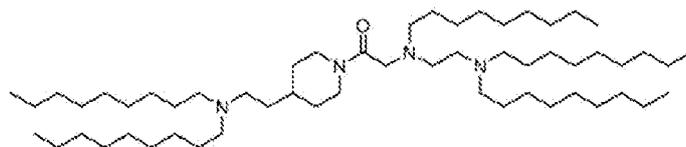


10

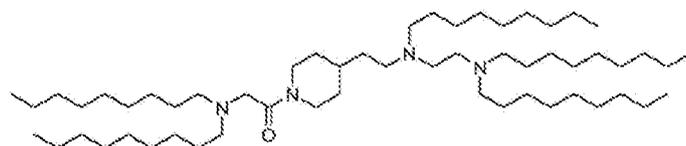
(Compuesto 42),



(Compuesto 43),

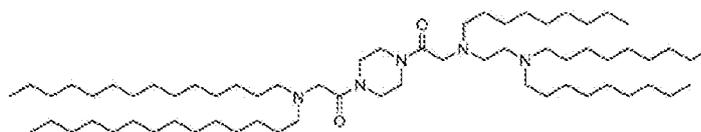


(Compuesto 49),

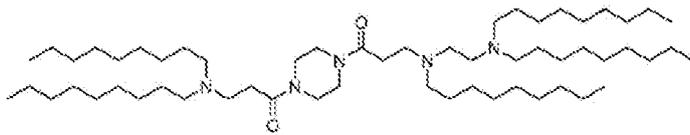


15

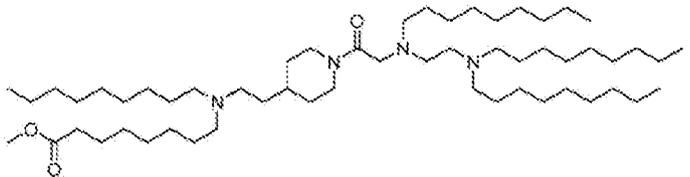
(Compuesto 50),



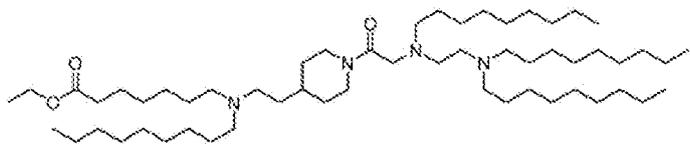
(Compuesto 51),



(Compuesto 52),

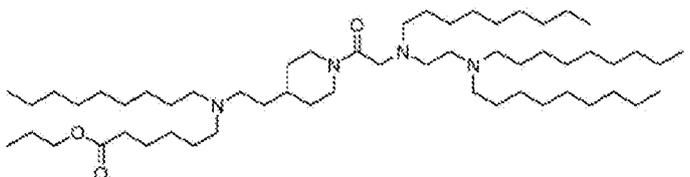


(Compuesto 57),

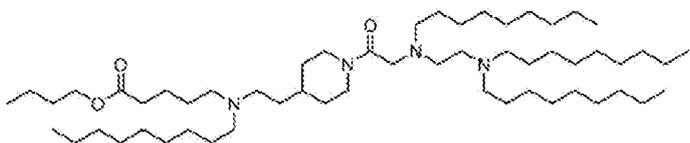


(Compuesto 58),

5

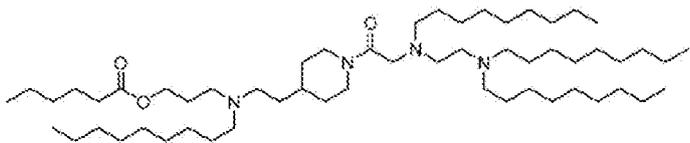


(Compuesto 59),

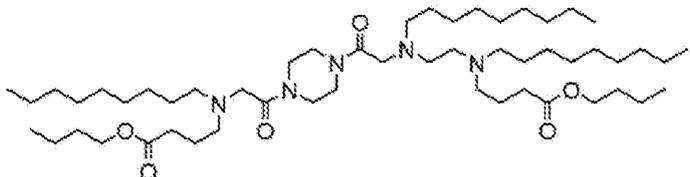


(Compuesto 60),

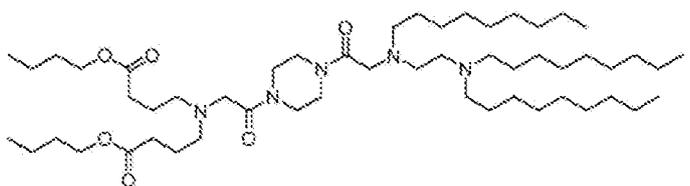
10



(Compuesto 61),

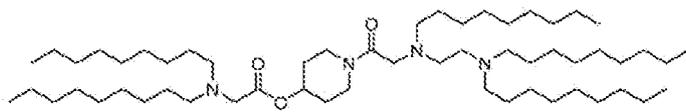


(Compuesto 63),

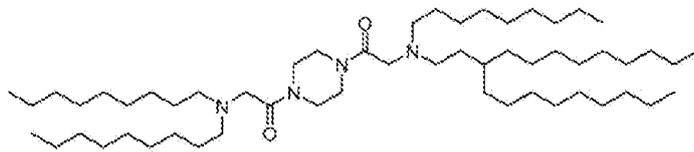


(Compuesto 64),

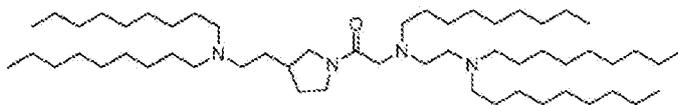
15



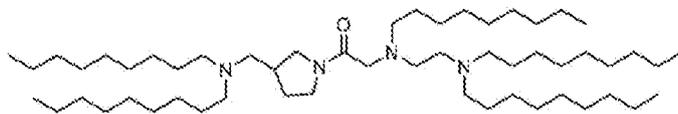
(Compuesto 65),



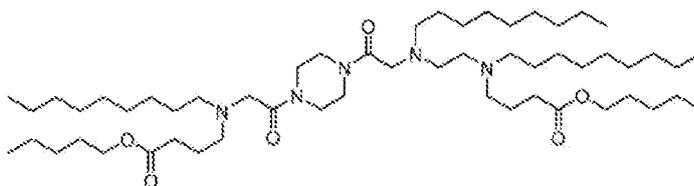
(Compuesto 66),



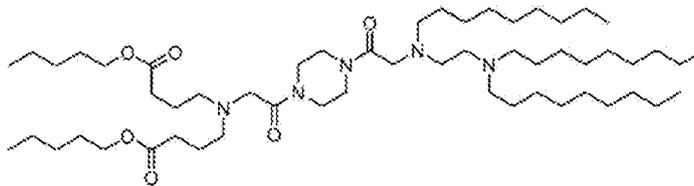
(Compuesto 69),



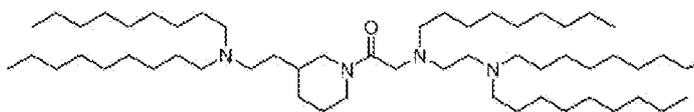
(Compuesto 70),



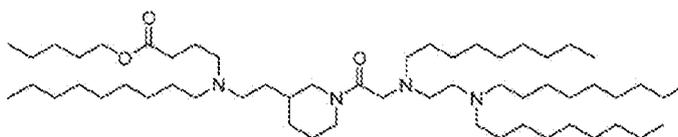
(Compuesto 71),



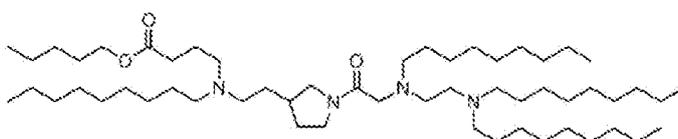
(Compuesto 72),



(Compuesto 73),



(Compuesto 80),

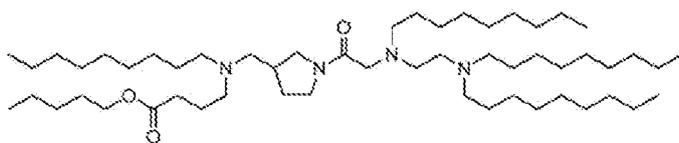


(Compuesto 81),

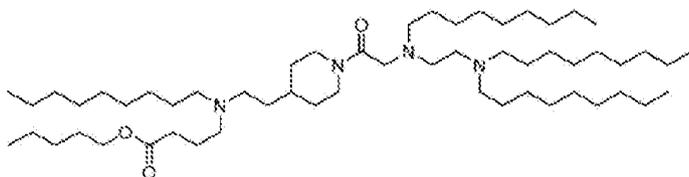
5

10

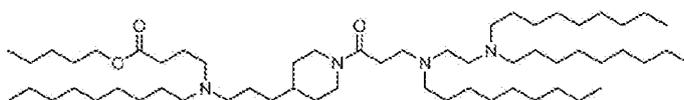
15



(Compuesto 82),

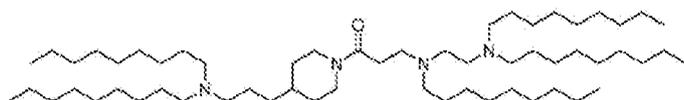


(Compuesto 83),

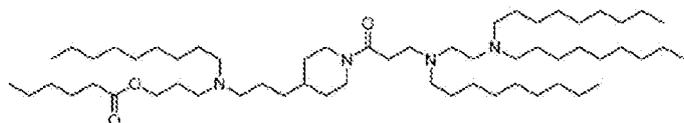


(Compuesto 84),

5

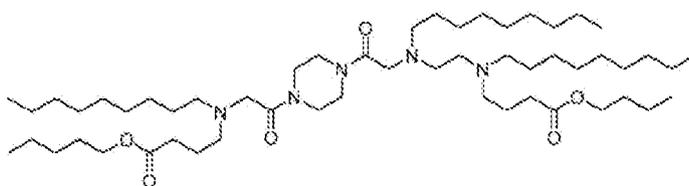


(Compuesto 85),

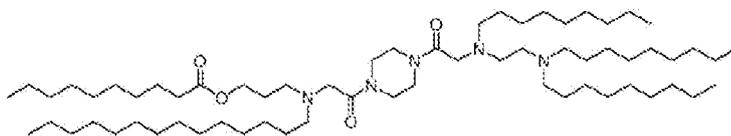


(Compuesto 87),

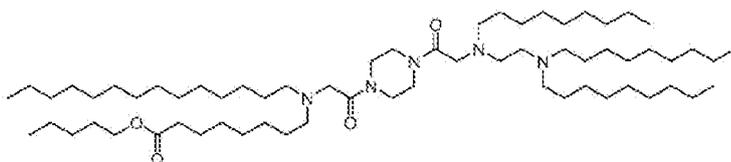
10



(Compuesto 88),

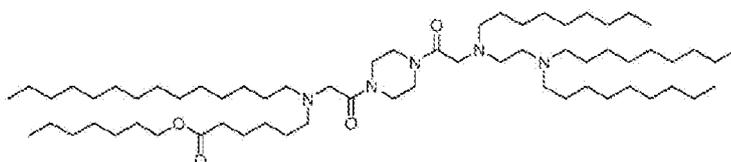


(Compuesto 89),

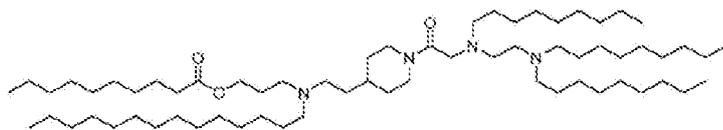


(Compuesto 90),

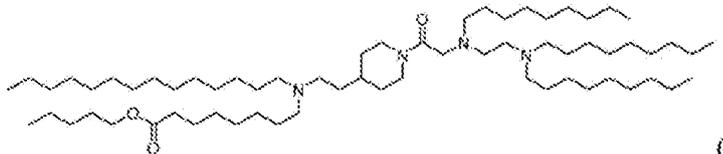
15



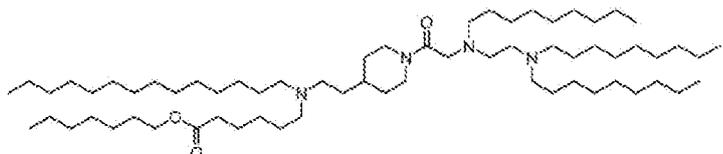
(Compuesto 91),



(Compuesto 92),

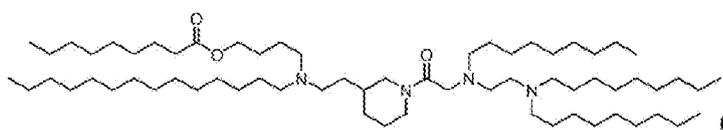


(Compuesto 93),

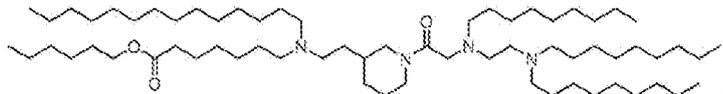


(Compuesto 94),

5

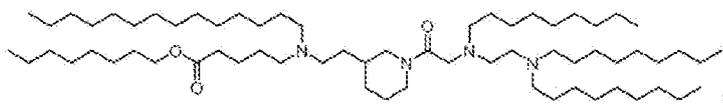


(Compuesto 95),

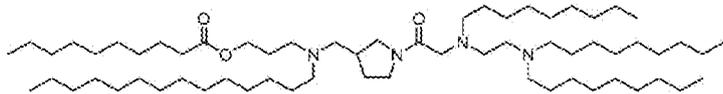


(Compuesto 96),

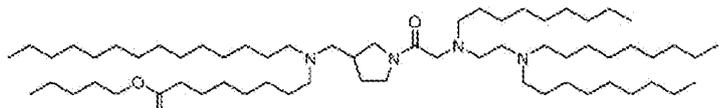
10



(Compuesto 97),

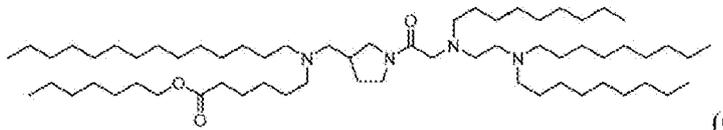


(Compuesto 98),

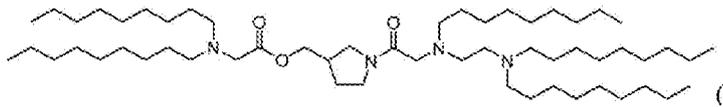


(Compuesto 99),

15

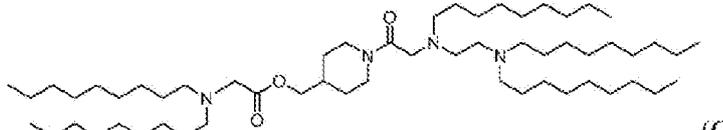


(Compuesto 100),

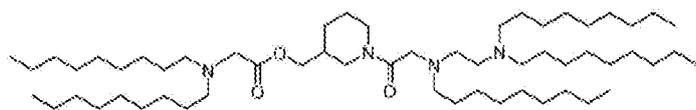


(Compuesto 102),

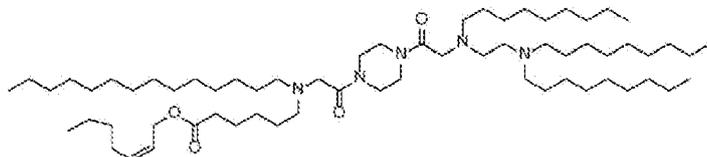
20



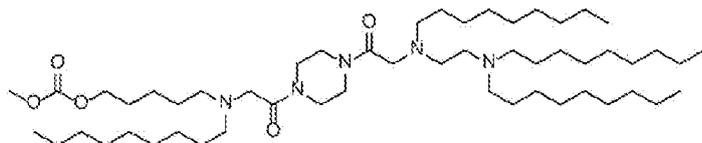
(Compuesto 104),



(Compuesto 106),



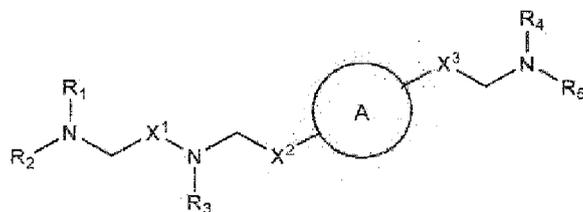
(Compuesto 108), y



(Compuesto 109),

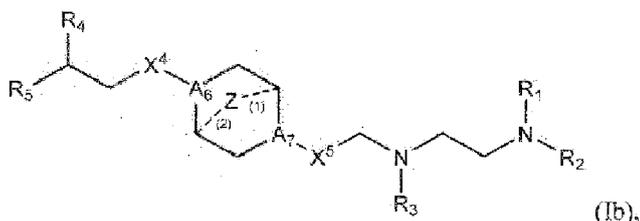
5

y sales de los mismos. También se divulga un compuesto que tiene fórmula (I) o fórmula (Ib)



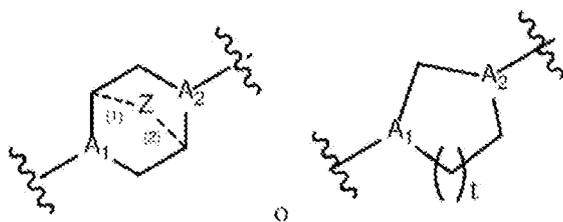
(I),

10



(Ib),

o una sal o isómero del mismo, donde el anillo A es



15

t es 1 o 2;

cada uno de A₁ y A₂ se seleccionan independientemente de entre CH o N;

20

cada uno de A₆ y A₇ se seleccionan independientemente de entre CH o N, donde al menos uno de A₆ y A₇ es N;

25

Z es CH₂ o está ausente cuando Z es CH₂, cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀, alqueniilo C₅₋₂₀, -R''MR', -R''YR'', -YR'' y -R''OR'';

30

cada M se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -OC(O)O-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR')O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo; donde cuando el compuesto es de fórmula (Ib), entonces M no es -OC(O)O-;

ES 2 913 626 T5

X^1 , X^2 y X^3 se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en un enlace, $-\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CHR}-$, $-\text{CHY}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{OC}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}_2-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{C}(\text{S})-$ y $-\text{CH}(\text{SH})-$;

5

X^4 y X^5 se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CHR}-$, $-\text{CHY}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{CH}_2-$, $-\text{OC}(\text{O})-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}_2-\text{OC}(\text{O})-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{C}(\text{S})-$ y $-\text{CH}(\text{SH})-$;

10 cada Y es independientemente un carbociclo C_{3-6} ;

cada R^* se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} y alquenilo C_{2-12} ;

cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} y un carbociclo C_{3-6} ;

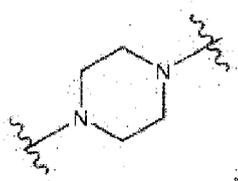
15

cada R' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} y H; y

20

cada R'' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{3-12} y alquenilo C_{3-12} ,

donde cuando el compuesto es de fórmula (I), y cuando el anillo A es



25 entonces

i) al menos uno de X^1 , X^2 y X^3 no es $-\text{CH}_2-$; y/o

ii) al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 es $-\text{R}''\text{MR}'$; y

30

cuando el compuesto es de fórmula (I), y el anillo A es

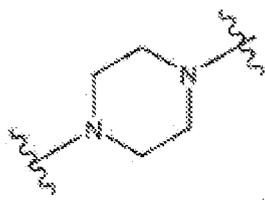


35 y cada uno de X^1 , X^2 y X^3 son $-\text{CH}_2-$, entonces

al menos uno de A^1 y A^2 es N,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{6-20} y alquenilo C_{6-20} , y cuando el anillo A es

40



entonces

45

i) R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son iguales, donde R_1 no es alquilo C_{12} , alquilo C_{18} o alquenilo C_{18} ;

ii) solo uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se selecciona de entre alquenilo C_{6-20} ;

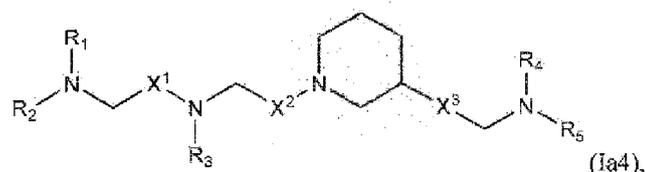
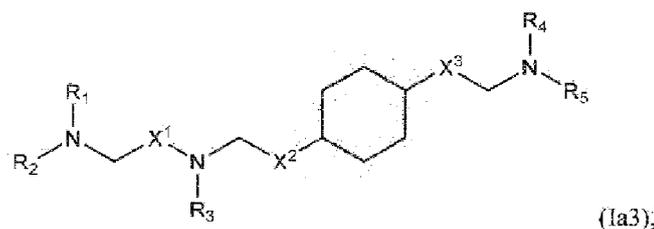
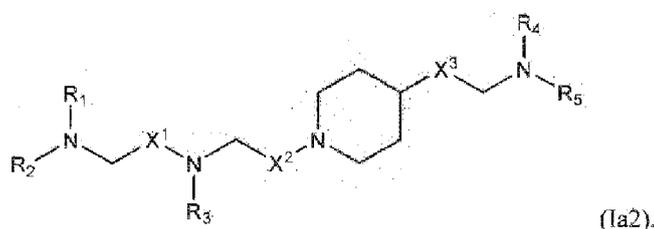
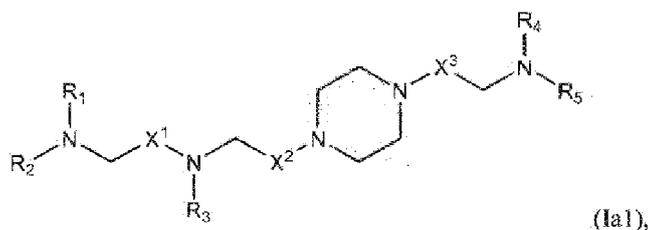
iii) al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen un número diferente de átomos de carbono que al menos otro de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅;

5 iv) R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀; o

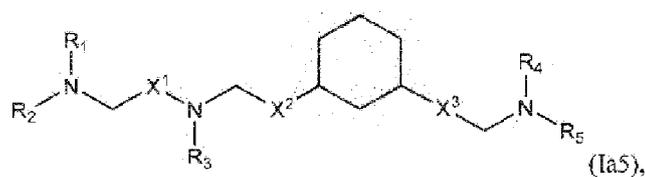
v) R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀.

Los compuestos de fórmula (I) pueden incluir una o más de las siguientes características cuando corresponda.

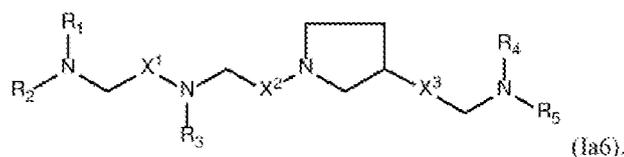
10 En algunos ejemplos, el compuesto es de cualquiera de las fórmulas (Ia1)-(Ia6):



15



o



20

En algunos ejemplos, al menos uno de X¹, X² y X³ no es -CH₂-. Por ejemplo, en determinados ejemplos, X¹ no es -CH₂-. En algunos ejemplos, al menos uno de X¹, X² y X³ es -C(O)-. En algunos ejemplos, X³ es un enlace mientras que cada uno de X¹ y X² no es un enlace. En algunos ejemplos, ninguno de X¹, X² y X³ es un enlace.

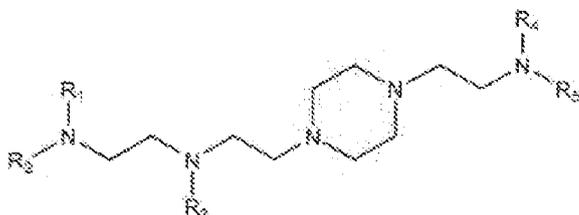
25

En algunos ejemplos, R₁ y R₂ son iguales. En determinados ejemplos, R₁, R₂ y R₃ son iguales. En algunos

ejemplos, R₄ y R₅ son iguales. En determinados ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales.

- En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -R''MR'. En algunos ejemplos, como máximo uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -R''MR'. Por ejemplo, al menos uno de R₁, R₂ y R₃ puede ser -R''MR', y/o al menos uno de R₄ y R₅ es -R''MR'. En determinados ejemplos, al menos un M es -C(O)O-. En algunos ejemplos, cada M es -C(O)O-. En algunos ejemplos, al menos un M es -OC(O)-. En algunos ejemplos, cada M es -OC(O)-. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₃. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₃. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₅. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₅. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₆. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₆. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₇. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₇. En algunos ejemplos, al menos un R' es alquilo C₅. En determinados ejemplos, cada R' es alquilo C₅. En otros ejemplos, al menos un R' es alquilo C₁. En determinados ejemplos, cada R' es alquilo C₁. En algunos ejemplos, al menos un R' es alquilo C₂. En determinados ejemplos, cada R' es alquilo C₂.
- En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es alquilo C₁₂. En determinados ejemplos, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son alquilo C₁₂.

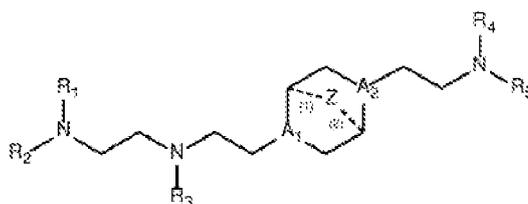
En algunos ejemplos, el compuesto es de fórmula (IIa):



(IIa).

- En algunos ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales y no son alquilo C₁₂, alquilo C₁₈ o alqueno C₁₈. En algunos ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales y son alquilo C₉ o alquilo C₁₄.
- En algunos ejemplos, solo uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se selecciona de entre alqueno C₆₋₂₀. En determinados ejemplos de este tipo, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen el mismo número de átomos de carbono. En algunos ejemplos, R₄ se selecciona de entre alqueno C₅₋₂₀. Por ejemplo, R₄ puede ser alqueno C₁₂ o alqueno C₁₈.
- En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen un número diferente de átomos de carbono que al menos otro de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅.
- En determinados ejemplos, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀. En otros ejemplos, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀. En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃ tienen el mismo número de átomos de carbono, y/o R₄ y R₅ tienen el mismo número de átomos de carbono. Por ejemplo, R₁, R₂ y R₃, o R₄ y R₅, pueden tener 6, 8, 9, 12, 14 o 18 átomos de carbono. En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃, o R₄ y R₅, son alqueno C₁₈ (por ejemplo, linoleilo). En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃, o R₄ y R₅, son grupos alquilo que incluyen 6, 8, 9, 12 o 14 átomos de carbono.
- En algunos ejemplos, R₁ tiene un número diferente de átomos de carbono que R₂, R₃, R₄ y R₅. En otros ejemplos, R₃ tiene un número diferente de átomos de carbono que R₁, R₂, R₄ y R₅. En ejemplos adicionales, R₄ tiene un número diferente de átomos de carbono que R₁, R₂, R₃, y R₅.

También se describe un compuesto que tiene la fórmula (II):



(II).

o una sal o isómero del mismo, donde

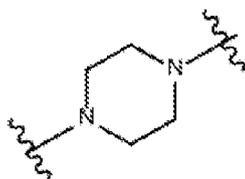
ES 2 913 626 T5

cada uno de A_1 y A_2 se seleccionan independientemente de entre CH o N y al menos uno de A_1 y A_2 es N;

Z es CH_2 o está ausente cuando Z es CH_2 , cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

5

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{6-20} y alqueno C_{6-20} ; donde cuando el anillo A es



10

entonces

i) R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son iguales, donde R_1 no es alquilo C_{12} , alquilo C_{18} o alqueno C_{18} ;

15

ii) solo uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se selecciona de entre alqueno C_{6-20} ;

iii) al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 tienen un número diferente de átomos de carbono que al menos otro de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 ;

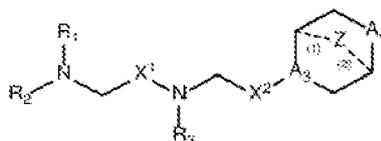
20

iv) R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan de entre alqueno C_{6-20} , y R_4 y R_5 se seleccionan de entre alquilo C_{6-20} ; o

v) R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan de entre alquilo C_{6-20} , y R_4 y R_5 se seleccionan de entre alqueno C_{6-20} .

También se describe un compuesto según la fórmula (III):

25



(III).

o una sal o isómero del mismo, en el que

30

A_3 es CH o N;

A_4 es CH_2 o NH; y al menos uno de A_3 y A_4 es N o NH;

35

Z es CH_2 o está ausente donde cuando Z es CH_2 , cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{5-20} , alqueno C_{5-20} , $-R''MR'$, $-R^*YR''$, $-YR''$ y $-R^*OR''$;

40

cada M se selecciona independientemente de entre $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)N(R')$, $-N(R')C(O)-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(S)S-$, $-SC(S)-$, $-CH(OH)-$, $-P(O)(OR')O-$, $-S(O)_2-$, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

45

X^1 y X^2 se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-CHR-$, $-CHY-$, $-C(O)-$, $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)CH_2-$, $-CH_2C(O)-$, $-C(O)OCH_2-$, $-OC(O)CH_2-$, $-CH_2C(O)O-$, $-CH_2OC(O)-$, $-CH(OH)-$, $-C(S)-$ y $-CH(SH)-$;

cada Y es independientemente un carbociclo C_{3-6} ;

50

cada R^* se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} y alqueno C_{2-12} ;

cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} y un carbociclo C_{3-6} ;

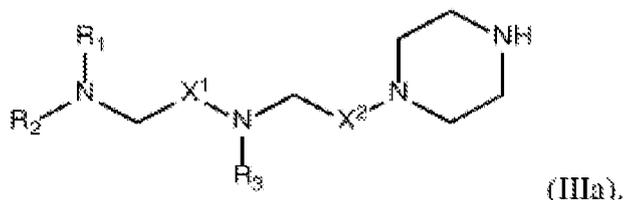
cada R' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} , alqueno C_{2-12} y H; y

cada R" se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂.

Los compuestos de fórmula (III) pueden incluir una o más de las siguientes características cuando corresponda.

5

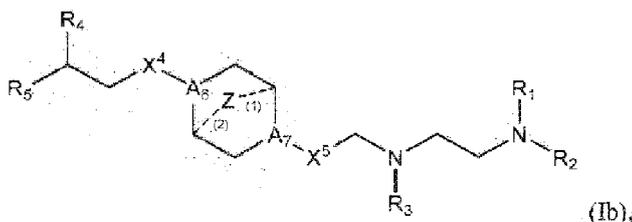
El compuesto de fórmula (III) puede ser un compuesto de fórmula (IIIa):



10 R₁, R₂ y R₃ pueden seleccionarse independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀ y alquenilo C₅₋₂₀. R₁, R₂ y R₃ pueden ser iguales. R₁, R₂ y R₃ pueden ser alquilo C₆, C₉, C₁₂ o C₁₄. R₁, R₂ y R₃ pueden ser alquenilo C₁₈. Por ejemplo, R₁, R₂ y R₃ pueden ser linoleilo.

15 En algunos ejemplos, al menos uno de X¹ y X² no es -CH₂-. Por ejemplo, en determinados casos, X¹ no es -CH₂-. En algunos casos, al menos uno de X¹ y X² es -C(O)-.

En algunos ejemplos, el compuesto es un compuesto según la fórmula (Ib):



20

o una sal o isómero del mismo, en el que

cada uno de A₆ y A₇ se seleccionan independientemente de entre CH o N, donde al menos uno de A₆ y A₇ es N;

25

Z es CH₂ o está ausente donde cuando Z es CH₂, cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

30

X⁴ y X⁵ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en -CH₂-, -(CH₂)₂-, -CHR-, -CHY-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O-, -CH₂-OC(O)-, -CH(OH)-, -C(S)- y -CH(SH)-;

35

cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀, alquenilo C₅₋₂₀, -R"MR', -R"YR", -YR" y -R"OR";

cada M se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR')O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

40

cada Y es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R* se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenilo C₂₋₁₂;

45

cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃ y un carbociclo C₃₋₆;

cada R' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; y

50

cada R" se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂.

Los compuestos de fórmula (Ib) pueden incluir una o más de las siguientes características cuando corresponda.

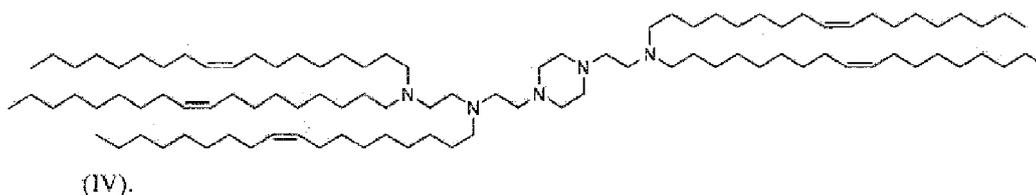
En algunos ejemplos, R₁ y R₂ son iguales. En determinadas realizaciones, R₁, R₂ y R₃ son iguales. En algunos ejemplos, R₄ y R₅ son iguales. En determinadas realizaciones, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales.

- 5 En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es alquilo C₉₋₁₂. En determinadas realizaciones, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ independientemente es alquilo C₉, C₁₂ o C₁₄. En determinadas realizaciones, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es alquilo C₉.

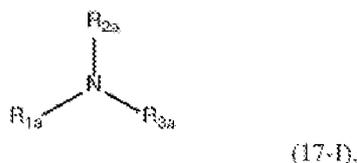
En algunos ejemplos, A₆ es N y A₇ es N. En algunos ejemplos, A₆ es CH y A₇ es N.

- 10 En algunos ejemplos, X⁴ es -CH₂- y X⁵ es -C(O)-. En algunos ejemplos, X⁴ y X⁵ son -C(O)-.

En un ejemplo, el compuesto tiene la fórmula (IV)



- 15 También se describe un compuesto que tiene la fórmula (17-1):



- 20 o una sal o isómero del mismo, donde R_{1a} es -(CH₂)_{n^a}Q^a, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_{n^a}N(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

- 25 cada uno de R_{2a} y R_{3a} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₂₄, alqueno C₃₋₂₄, -R^aY^aR^a, -Y^aR^a y -R^aOR^a;

cada Y^a es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

- 30 cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alqueno C₁₋₁₂;

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alqueno C₂₋₃ y H; y

- 35 cada R^a se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alqueno C₃₋₁₂;

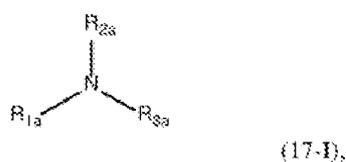
donde R_{2a} incluye 7 o menos átomos de carbono.

- 40 En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es -CH₃.

En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

En algunos ejemplos, R_{3a} incluye 7 o menos átomos de carbono.

- 45 También se describe en esta invención un compuesto que tiene la fórmula (17-I):



- 50 o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1a} es -(CH₂)_{na}Q^a, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_{na}N(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

5

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

R_{2a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquenilo C₈₋₂₄;

10 R_{3a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₈₋₂₄; y

cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H.

En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es -CH₃.

15

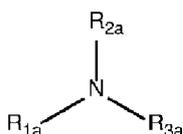
En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

En algunos ejemplos, R_{3a} es un alquilo que incluye 9, 12, 14 o 18 átomos de carbono.

20

En algunos ejemplos, R_{2a} es alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo).

La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (17-I)



25

(17-I),

o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1a} es -(CH₂)_{na}Q^a, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_{na}N(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

30

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

R_{2a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₃₋₂₀;

35

R_{3a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₈₋₂₀; y

cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H.

40

En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es -CH₃.

En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

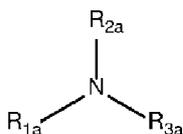
45

En algunos ejemplos, R_{2a} y R_{3a} son iguales.

En algunos ejemplos, R_{2a} y/o R_{3a} es alquilo C₁₄.

La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (17-I)

50



55

(17-I),

o una sal o isómero del mismo, donde

ES 2 913 626 T5

R_{1a} es $-(CH_2)_{n^a}Q^a$, donde Q^a es $-OR^a$, R^a se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , alquenido C_{2-3} y H, y n^a se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5; y

5 cada uno de R_{2a} y R_{3a} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquenido C_{8-20} , donde

i) R^a se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} y alquenido C_{2-3} ; o

10 ii) R_{1a} es $-(CH_2)_2OH$, y cada uno de R_{2a} y R_{3a} incluyen uno o menos enlaces dobles.

En algunos ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es $-CH_3$.

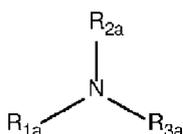
En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

15 En determinados ejemplos, R_{1a} es $-(CH_2)_2OCH_3$. En otros ejemplos, R_{1a} es $-(CH_2)_2OH$.

En algunos ejemplos, R_{2a} es alquenido C_{18} (por ejemplo, linoleilo). En determinados ejemplos, R_{3a} es alquenido C_{18} (por ejemplo, linoleilo).

20 En algunos ejemplos, R_{2a} y R_{3a} son iguales.

La descripción también proporciona un compuesto de fórmula (17-1)



(17-I).

25

o una sal o isómero del mismo, donde

30 R_{1a} es $-(CH_2)_{n^a}Q^a$, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, $-OR^a$, $-O(CH_2)_{n^a}N(R^a)_2$, $-C(O)OR^a$, $-OC(O)R^a$, $-CX^{a_3}$, $-CX^{a_2}H$, $-CX^aH_2$, $-CN$, $-N(R^a)_2$, $-C(O)N(R^a)_2$, $-N(R^a)C(O)R^a$ y $-N(R^a)S(O)_2R^a$ y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

35 R_{2a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{8-12} ;

R_{3a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{8-20} ; y

cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , alquenido C_{2-3} y H.

40

En algunos ejemplos, Q^a es $-OR^a$. En determinados ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es $-CH_3$.

En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

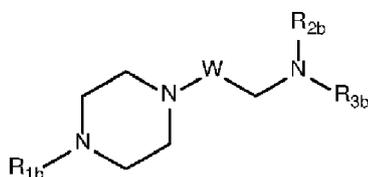
45

En determinados ejemplos, Q^a es $-OR^a$ y n^a se selecciona de entre 2, 3 y 4.

En algunos ejemplos, R_{2a} es alquilo C_9 . En otros ejemplos, R_{2a} es alquilo C_{12} .

50 En algunos ejemplos, R_{2a} y R_{3a} son iguales.

La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (19-I),



(19-I).

o una sal o isómero del mismo, donde

5 R_{1b} se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₅, alquenilo C₂₋₅, -R^{b''}M^bR^{b'}, un carbociclo C₃₋₆, -(CH₂)_nQ^b y -(CH₂)_nCHQ^bR^b, donde Q^b se selecciona de entre un heterociclo, -OR^b, -O(CH₂)_nN(R^b)₂, -C(O)OR^b, -OC(O)R^b, -CX^b₃, -CX^b₂H, -CX^bH₂, -CN, -N(R^b)₂, -C(O)N(R^b)₂, -N(R^b)C(O)R^b y -N(R^b)S(O)₂R^b y cada n se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

10 R_{2b} y R_{3b} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alquenilo C₂₋₂₀, -R^{b''}MR^{b'}, -R^{b''}YR^{b''}, -YR^{b''} y -R^{b''}OR^{b''};

15 cada M^b se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R^{b'})-, -N(R^{b'})C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR^{b'})O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

W se selecciona de entre el grupo que consiste en -CH₂-, -CHR^b-, -C(O)-, -CH(OH)-, -C(S)- y -CH(SH)-;

cada X^b se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

20 cada Y^b es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R^{b''} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenilo C₁₋₁₂;

25 cada R^b se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, un carbociclo C₃₋₆, alquenilo C₂₋₃ y H;

cada R^{b'} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; y

30 cada R^{b''} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂.

En algunos ejemplos, W no es -CH₂-. En dichos ejemplos en particular, W es -C(O)-.

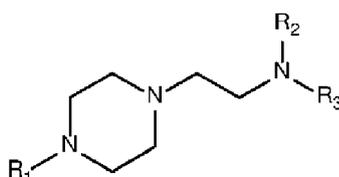
35 En algunos ejemplos, al menos uno de R_{2b} y R_{3b} es -R^{b''}M^bR^{b'}. En determinados ejemplos, al menos un M^b es -C(O)O-. En algunos ejemplos, al menos un R^{b''} es alquilo C₅. En determinados ejemplos, al menos un R^{b'} es alquilo C₅.

40 En algunos ejemplos, R_{2b} y/o R_{3b} se seleccionan de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀. Por ejemplo, R_{2b} y/o R_{3b} pueden ser grupos alquilo que incluyen 9 o 12 átomos de carbono. En otros ejemplos, R_{2b} y/o R_{3b} se seleccionan de entre el grupo que consiste en alquenilo C₂₋₂₀. Por ejemplo, R_{2b} y/o R_{3b} pueden ser grupos alquenilo que incluyen 18 átomos de carbono (por ejemplo, grupos linoleilo). En determinados ejemplos, R_{2b} y R_{3b} son iguales.

45 En algunos ejemplos, R_{1b} es H, mientras que, en otros ejemplos, R_{1b} se selecciona de entre alquilo C₁₋₅. Por ejemplo, R_{1b} puede ser alquilo C₁.

En determinados ejemplos, R_{1b} es -(CH₂)_nQ^b. En dichos ejemplos, Q^b es un heterociclo tal como un grupo fenilo. Por ejemplo, Q^b puede ser un grupo fenilo con uno o más sustituyentes, tal como se describe en esta invención.

50 También se describen en esta invención compuestos de fórmula (19-11):



o una sal o isómero de los mismos, donde

55 R_{1b} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₆₋₂₀; y

R_{2b} y R_{3b} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquenilo C₆₋₂₀.

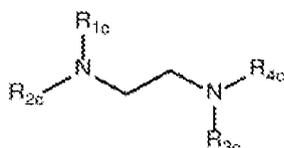
60 En ejemplos particulares, R_{1b} es alquilo C₁₂.

En algunos ejemplos, R2b y/o R3b son alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo).

En determinados ejemplos, R2b y R3b son ambos linoleilo.

5

También se describen en esta invención compuestos de fórmula (20-1):



(20-1).

10 o una sal o isómero de los mismos, donde

R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en un carbociclo C₃₋₆, -(CH₂)_{nc}Q^c, -(CH₂)_{nc}CHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre un heterociclo, -OR^c, -O(CH₂)_{nc}N(R^c)₂, -C(O)OR^c, -OC(O)R^c, -CX^c₃, -CX^c₂H, -CX^cH₂, -CN, -N(R^c)₂, -C(O)N(R^c)₂, -N(R^c)C(O)R^c y -N(R^c)S(O)₂R^c y cada n^c se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

15

R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alquenilo C₂₋₂₀, -R^oM^cR^o, -R^cY^cR^o, -Y^cR^o y -R^cOR^o;

20

cada M^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R^c)-, -N(R^c)C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR^c)O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

25

cada X^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

30

cada Y^c es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenilo C₁₋₁₂;

35

cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H;

cada R^o se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; y

40

cada R^o se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂,

donde

i) R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en un carbociclo C₃₋₆, -(CH₂)_{nc}Q^c, -(CH₂)_{nc}CHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre un heterociclo, -O(CH₂)_{nc}N(R^c)₂, -C(O)OR^c, -OC(O)R^c, -CX^c₃, -CX^c₂H, -CX^cH₂, -C(O)N(R^c)₂, -N(R^c)C(O)R^c y -N(R^c)S(O)₂R^c y cada n^c se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5; y/o

45

ii) al menos uno de R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} es -R^oM^cR^o.

50

En algunos ejemplos, R₁ se selecciona de entre el grupo que consiste en -(CH₂)_{nc}Q^c, -(CH₂)_{nc}CHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre un heterociclo, -O(CH₂)_{nc}N(R^c)₂ -C(O)OR^c, -

OC(O)R^c, -CX^c₃, -CX^c₂H, -CX^cH₂, -CN, -C(O)N(R^c)₂, -N(R^c)C(O)R^c y -N(R^c)S(O)₂R^c y cada n se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5. En determinados ejemplos, R_{1c} es -(CH₂)_nQ^c. En algunos ejemplos, es 2. En algunos ejemplos, Q^c es -C(O)OR^c, donde R^c es, por ejemplo, H.

55

En algunos ejemplos, al menos uno de R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} es -R^oM^cR^o. Por ejemplo, R_{2c}, R_{3c} y/o R_{4c} pueden ser -R^oM^cR^o. En algunos ejemplos, al menos un M^c es -C(O)O-. En determinados ejemplos, cada M^c es -C(O)O-. En algunos ejemplos, al menos un R^o es alquilo C₅ o C₇. En determinados ejemplos, cada R^o es alquilo C₅. En otros ejemplos, cada R^o es alquilo C₇. En algunos ejemplos, al menos un R^o es alquilo C₅, C₇ o C₉. En determinados ejemplos, cada R^o es alquilo C₅. En otros ejemplos, cada R^o es alquilo C₇. En otros ejemplos, cada R^o es alquilo C₉. En algunos ejemplos, R^o está ramificado.

En algunos ejemplos, R_{2c} , R_{3c} y R_{4c} se seleccionan de entre el grupo que consiste en alquilo C_{5-20} . En determinados ejemplos, R_{2c} , R_{3c} y R_{4c} son alquilo C_{12} .

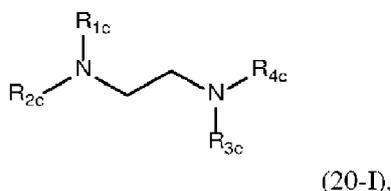
5 En algunos ejemplos, R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{5-20} y alqueno C_{5-20} . Por ejemplo, R_{2c} puede ser alquilo C_{12} .

En algunos ejemplos, R_{3c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{5-20} y alqueno C_{5-20} . Por ejemplo, R_{3c} puede ser alquilo C_6 , C_9 o C_{12} .

10 En algunos ejemplos, R_{4c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{5-20} y alqueno C_{5-20} . Por ejemplo, R_{4c} puede ser alquilo C_6 , C_9 o C_{12} .

En algunos ejemplos, R_{3c} y R_{4c} son iguales.

15 La descripción también proporciona un compuesto según la fórmula (20-1):



o una sal o isómero del mismo, donde

20 R_1 se selecciona de entre el grupo que consiste en $-(CH_2)_nQ^c$, $-(CH_2)_nCHQ^cR^c$, $-CHQ^cR^c$ y $-CQ^c(R^c)_2$, donde Q^c se selecciona de entre $-OR^c$, $-CN$ y $-N(R^c)_2$, y n^c se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

25 R_{2c} y R_{3c} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{6-20} y alqueno C_{6-20} ;

R_{4c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{13-20} y alqueno C_{5-20} ; y

cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , alqueno C_{2-3} y H.

30 En algunos ejemplos, R_{3c} es alquilo C_{14} .

En algunos ejemplos, R_{4c} es alquilo C_{14} .

35 En algunos ejemplos, R_{3c} es alqueno C_{18} . Por ejemplo, R_{3c} puede ser linoleilo.

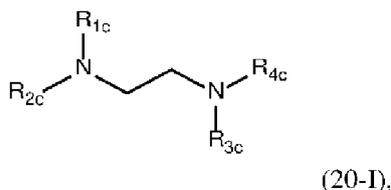
En algunos ejemplos, R_{4c} es alqueno C_{18} . Por ejemplo, R_{4c} puede ser linoleilo.

40 En algunos ejemplos, R_{2c} es alquilo C_{12} . En otros ejemplos, R_{2c} es alquilo C_{14} . En algunos ejemplos, R_{2c} es alqueno C_{18} . Por ejemplo, R_{2c} puede ser linoleilo.

En algunos ejemplos, R_{3c} y R_{4c} son iguales.

45 En algunos ejemplos, R_{1c} es $-(CH_2)_{nc}Q^c$. En algunos ejemplos, Q^c es $-OR^c$. Por ejemplo, Q^c puede ser $-OH$. En algunos ejemplos, n^c es 2 o 3.

La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (20-1):



50 o una sal o isómero del mismo, donde

R_1 se selecciona de entre el grupo que consiste en $-(CH_2)_{nc}Q^c$, $-(CH_2)_{nc}CHQ^cR^c$, $-CHQ^cR^c$ y $-CQ^c(R^c)_2$, donde Q^c se selecciona de entre $-OR^c$, $-CN$ y $-N(R^c)_2$, y n^c se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

ES 2 913 626 T5

R_{2c} , R_{3c} y R_{4c} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{6-20} y alquenido C_{6-20} ; y cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , alquenido C_{2-3} y H;

5 donde

i) R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-11} y alquenido C_{2-5} , y/o

ii) R_{3c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-11} y alquenido C_{2-5} .

10

En algunos ejemplos, R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-11} y alquenido C_{2-5} . Por ejemplo, R_{2c} puede ser alquilo C_6 o C_9 .

15

En algunos ejemplos, R_{3c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-11} y alquenido C_{2-5} . Por ejemplo, R_{3c} puede ser alquilo C_6 o C_9 .

En algunos ejemplos, R_{3c} es alquilo C_{12} .

20

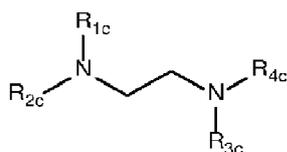
En algunos ejemplos, R_{2c} es alquilo C_{12} .

En algunos ejemplos, R_{4c} es alquilo C_6 , C_9 o C_{12} .

25

En algunos ejemplos, R_{1c} es $-(CH_2)_n Q^c$. En determinados ejemplos, Q^c es $-OR^c$. En algunos ejemplos, R^c es H. En algunos ejemplos, n^c es 2 o 3.

La descripción también proporciona un compuesto según la fórmula (20-1):



(20-I),

30

o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en $-(CH_2)_n Q^c$, $-(CH_2)_n CHQ^c R^c$, $-CHQ^c R^c$ y $-CQ^c (R^c)_2$, donde Q^c se selecciona de entre $-OR^c$, $-CN$ y $-N(R^c)_2$, y n^c se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

35

R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{12-20} y alquenido C_{6-20} ;

R_{3c} y R_{4c} son alquilo C_{12} ; y

40

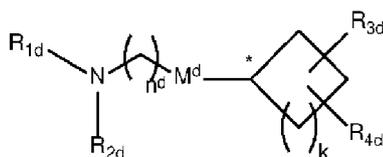
cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , alquenido C_{2-3} y H.

En algunos ejemplos, R_{2c} es H. En otros ejemplos, R_{2c} es alquilo o alquenido C_{12} . En algunos ejemplos, R_{2c} es alquilo C_{14} . En otros ejemplos, R_{2c} es alquenido C_{18} . Por ejemplo, R_{2c} puede ser linoleilo.

45

En algunos ejemplos, R_{1c} es $-(CH_2)_n Q^c$. En determinados ejemplos, Q^c es $-OR^c$. Por ejemplo, Q^c puede ser OH. En algunos ejemplos, n^c es 2, 3 o 4.

La descripción también proporciona compuestos de fórmula (21-1):



(21-I),

50

o sales o isómeros de los mismos, donde

R_{1d} y R_{2d} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-5} y alquenido C_{2-5} ;

n^d se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

k se selecciona de entre 0, 1, 2 y 3;

5

R_{3d} y R_{4d} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-20} , alquenilo C_{2-20} , $-R^{d''}M^dR^{d'}$, $-R^{d''}Y^dR^{d''}$, $-Y^dR^{d''}$ y $-R^{d''}OR^{d''}$;

10 cada M^d se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)N(R^{d'})-$, $-N(R^{d'})C(O)-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(S)S-$, $-SC(S)-$, $-CH(OH)-$, $-P(O)(OR^{d'})O-$ y $-S(O)_2-$, o está ausente;

cada $R^{d'}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} y H; cada Y^d es independientemente un carbociclo C_{3-6} ;

15

cada $R^{d''}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} y alquenilo C_{1-12} ;

cada $R^{d'}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} y H; y

20

cada $R^{d''}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{3-12} y alquenilo C_{3-12}

donde R_{3d} y R_{4d} están unidos a i) el mismo átomo de carbono o ii) átomos de carbono adyacentes.

25 En algunos ejemplos, R_{3d} y R_{4d} están unidos al mismo átomo de carbono. Por ejemplo, R_{3d} y R_{4d} pueden estar unidos a un átomo de carbono adyacente a C^* . En determinados ejemplos, R_{3d} y R_{4d} no están unidos a un átomo de carbono adyacente a C^* .

30 En otros ejemplos, R_{3d} y R_{4d} están unidos a átomos de carbono adyacentes. En determinados ejemplos, uno o ambos de R_{3d} y R_{4d} están unidos a átomos de carbono adyacentes a C^* .

En algunos ejemplos, k es 0. En otros ejemplos, k es 1, 2 o 3.

35 En determinados ejemplos, M^d está ausente. En otros ejemplos, M^d se selecciona de entre el grupo que consiste en $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)N(R^{d'})-$, $-N(R^{d'})C(O)-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(S)S-$, $-SC(S)-$, $-CH(OH)-$, $-P(O)(OR^{d'})O-$ y $-S(O)_2-$. En dichos ejemplos en particular, M^d es $-C(O)O-$.

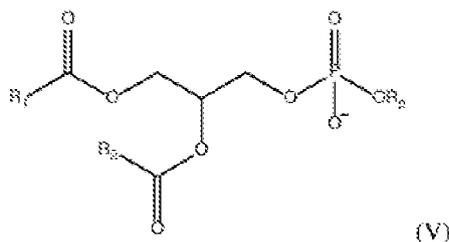
En algunos ejemplos, n^d es 1, 2 o 3.

40 En algunos ejemplos, R_{1d} y/o R_{2d} se seleccionan de entre alquilo C_{1-5} . En determinados ejemplos, R_{1d} y/o R_{2d} son alquilo C_1 .

45 En determinados ejemplos, R_{3d} y/o R_{4d} se seleccionan de entre alquenilo C_{2-20} . En determinados ejemplos, R_{3d} y/o R_{4d} son grupos alquenilo que incluyen 17, 18 o 19 átomos de carbono. Por ejemplo, R_{3d} y/o R_{4d} pueden ser grupos alquenilo C_{18} (por ejemplo, linoleilo).

50 En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición de nanopartículas que incluye un componente lipídico que comprende un compuesto según una de las fórmulas (I) o (Ib) como se ha descrito anteriormente. También se describen composiciones de nanopartículas que incluyen un componente lipídico que comprende un compuesto según una de las fórmulas (Ia1)-(Ia6), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-II) y (20-1). En algunas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye un fosfolípido. En determinadas realizaciones, un fosfolípido de una composición de nanopartículas incluye un resto de fosfolípido y uno o más restos de ácidos grasos, uno o más de los cuales pueden estar insaturados. Por ejemplo, una composición de nanopartículas puede incluir un lípido según la fórmula (V)

55



en la que R_p representa un resto de fosfolípido y R_1 y R_2 representan restos de ácidos grasos insaturados que

pueden ser iguales o diferentes.

Un resto de fosfolípido puede seleccionarse de entre el grupo no limitativo que consiste en fosfatidil colina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil glicerol, fosfatidil serina, ácido fosfatídico, 2-lisofosfatidil colina y una esfingomielina. Un resto de ácido graso puede seleccionarse de entre el grupo no limitativo que consiste en ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido erúcico, ácido araquídico, ácido araquidónico, ácido fitánico, ácido eicosapentaenoico, ácido behénico, ácido docosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, un fosfolípido se selecciona de entre el grupo que consiste en 1,2-dilinoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-diundecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DUPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1,2-di-O-octadecenil-sn-glicero-3-fosfocolina (18:0 Diéter PC), 1-oleoil-2-colesterilhemisuccinoil-sn-glicero-3-fosfocolina (OChemPC), 1-hexadecil-sn-glicero-3-fosfocolina (C16 Liso PC), 1,2-dilinoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-diaraquidonoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-didocosahexaenoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE), 1,2-difitanoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (ME 16.0 PE), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dilinoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dilinoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-diaraquidonoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-didocosahexaenoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal sódica de 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo-rac-(1-glicerol) (DOPG) y esfingomielina. En determinadas realizaciones, el fosfolípido es DOPE. En otras realizaciones, el fosfolípido es DSPC. También se contemplan especies no naturales que incluyen especies naturales con modificaciones y sustituciones que incluyen ramificación, oxidación, ciclación y alquinos.

En algunas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye un lípido estructural. En determinadas realizaciones, un lípido estructural se selecciona de entre el grupo que consiste en colesterol, fecosterol, sitosterol, ergosterol, campesterol, estigmasterol, brasicasterol, tomatidina, ácido ursólico y alfa-tocoferol. En determinadas realizaciones, el lípido estructural es colesterol.

En algunas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye un lípido PEG. En determinadas realizaciones, el lípido PEG se selecciona de entre el grupo que consiste en una fosfatidiletanolamina modificada con PEG, un ácido fosfatídico modificados con PEG, una ceramida modificada con PEG, una dialquilamina modificada con PEG, un diacilglicerol modificados con PEG y un dialquiglicerol modificados con PEG.

En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas incluye un componente lipídico que comprende un compuesto según una de las fórmulas (I) o (Ib), un fosfolípido (que puede estar insaturado o no), un lípido PEG y un lípido estructural. También se describe una composición de nanopartículas que incluye un componente lipídico que comprende un compuesto según las fórmulas (Ia1)-(Ia6), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), un fosfolípido (que puede o no estar insaturado), un lípido PEG y un lípido estructural. En determinadas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye de alrededor del 30 % en moles a alrededor del 60 % en moles de compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-II), (20-1) y (21-1), de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 30 % en moles de fosfolípido, de alrededor del 18,5 % en moles a alrededor del 48,5 % en moles de lípido estructural y de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 10 % en moles de lípido PEG. En algunas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye de alrededor del 30 % en moles a alrededor del 45 % en moles de compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-II), (20-1) y (21-1), de alrededor del 5 % en moles a alrededor del 25 % en moles de fosfolípido, de alrededor del 30 % en moles a alrededor del 40 % en moles de lípido estructural y de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 10 % en moles de lípido PEG. En algunas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye de alrededor del 35 % en moles a alrededor del 55 % en moles de compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-II), (20-1) y (21-1), de alrededor del 5 % en moles a alrededor del 25 % en moles de fosfolípido, de alrededor del 30 % en moles a alrededor del 40 % en moles de lípido estructural y de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 10 % en moles de lípido PEG. En determinadas realizaciones, el componente lipídico incluye alrededor del 50 % en moles de dicho compuesto, alrededor del 10 % en moles de fosfolípido, alrededor del 38,5 % en moles de lípido estructural y alrededor del 1,5 % en moles de lípido PEG. En otras realizaciones, el componente lipídico incluye alrededor del 40 % en moles de dicho compuesto, alrededor del 20 % en moles de fosfolípido, alrededor del 38,5 % en moles de lípido estructural y alrededor del 1,5 % en moles de lípido PEG. En algunas de estas realizaciones, el fosfolípido es DOPE, mientras que en otras realizaciones el fosfolípido es DSPC. En determinadas realizaciones, el lípido estructural es colesterol. En determinadas realizaciones, el lípido PEG es PEG-DMG. En cualquiera de los anteriores, el contenido total del componente lipídico no podrá exceder el 100 %.

En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas incluye más de un fosfolípido, lípido PEG, lípido estructural u otro lípido. En determinadas realizaciones, la composición de nanopartículas incluye además un lípido catiónico y/o ionizable tal como un aminolípido. En determinadas realizaciones, un lípido catiónico y/o

ionizable se selecciona de entre el grupo que consiste en 3-(didodecilamino)-*N*1,*N*1,4-tridodecil-1-piperazinaetanamina (KL10), *N*1-[2-(didodecilamino)etil]-*N*1,*N*4,*N*4-tridodecil-1,4-piperazinadietanamina (KL22), 14,25-ditridecil-15,18,21,24-tetraaza-octatriacontano (KL25), 1,2-dilinoleiloxi-*N,N*-dimetilaminopropano (DLin-DMA), 2,2-dilinoleil-4-dimetilaminometil-[1,3]-dioxolano (DLin-K-DMA), 4-(dimetilamino)butanoato de heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo (DLin-MC3-DMA o MC3), 2,2-dilinoleil-4-(2-dimetilaminoetil)-[1,3]-dioxolano (DLin-KC2-DMA), 1,2-dioleiloxi-*N,N*-dimetilaminopropano (DODMA), 2-({8-[(3 β)-colest-5-en-3-iloxi]octil}oxi)-*N,N*-dimetil-3-[(9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]propan-1-amina (Octil-CLinDMA), (2*R*)-2-({8-[(3 β)-colest-5-en-3-iloxi]octil}oxi)-*N,N*-dimetil-3-[(9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]propan-1-amina (Octil-CLinDMA (2*R*)), (2*S*)-2-({8-[(3 β)-colest-5-en-3-iloxi]octil}oxi)-*N,N*-dimetil-3-[(9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]propan-1-amina (Octil-CLinDMA (2*S*)), (12*Z*,15*Z*)-*N,N*-dimetil-2-nonilhenicosa-12,15-dien-1-amina y *N,N*-dimetil-1-((1*S*,2*R*)-2-octilciclopropil}heptadecan-8-amina.

En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas incluye un agente terapéutico y/o profiláctico. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico y/o profiláctico puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en una proteína, un fármaco de molécula pequeña, un agente citotóxico, un ion radiactivo, un agente quimioterapéutico, una vacuna, un compuesto que provoca una respuesta inmunitaria, y/o un ácido nucleico (tal como un ácido desoxirribonucleico o un ácido ribonucleico). En determinadas realizaciones, el agente terapéutico y/o profiláctico es un ácido ribonucleico (ARN). Un ARN puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en un ARN interferente pequeño (ARNip), un ARN interferente asimétrico (ARNia), un microARN (miARN), un ARN de Dicer sustrato (ARNds), un ARN de horquilla pequeña (ARNhp), un ARN mensajero (ARNm) y mezclas de los mismos. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico y/o profiláctico es un ARN mensajero (ARNm). Un ARN de una composición de nanopartículas puede ser de origen natural o no natural y puede incluir uno o más de un bucle en horquilla, un nucleósido de terminación de cadena, una secuencia poliA, una señal de poliadenilación y/o una estructura de cap 5'.

En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas incluye más de un agente terapéutico y/o profiláctico, tal como uno o más ARN. Los agentes terapéuticos y/o profilácticos pueden ser del mismo tipo o de tipos diferentes (por ejemplo, dos ARNm, dos ARNip, un ARNm y un ARNip, un ARNm y un fármaco de molécula pequeña, etc.).

En algunas realizaciones, la eficiencia de encapsulación de un agente terapéutico y/o profiláctico de una composición de nanopartículas es de al menos el 50 %. En determinadas realizaciones, la eficiencia de encapsulación es de al menos el 80 %. En determinadas realizaciones, la eficiencia de encapsulación es mayor del 90 %.

En algunas realizaciones, la relación p/p del componente lipídico a un agente terapéutico y/o profiláctico en la composición de nanopartículas es de alrededor de 10:1 a alrededor de 60:1. En determinadas realizaciones, la relación p/p es de alrededor de 20:1.

En algunas realizaciones, la relación N:P de la composición de nanopartículas es de alrededor de 2:1 a alrededor de 30:1. En determinadas realizaciones, la relación N:P es de alrededor de 2:1 a alrededor de 8:1. En determinadas realizaciones, la relación N:P es de alrededor de 5:1 a alrededor de 8:1. Por ejemplo, la relación N:P puede ser de alrededor de 5,0:1, alrededor de 5,5:1, alrededor de 5,67:1, alrededor de 6,0:1, alrededor de 6,5:1 o alrededor de 7,0:1. En algunas realizaciones, el tamaño medio de una composición de nanopartículas es de alrededor de 40 nm a alrededor de 150 nm. En determinadas realizaciones, el tamaño medio es de alrededor de 70 nm a alrededor de 100 nm. En una realización, el tamaño medio puede ser de alrededor de 80 a alrededor de 100 nm. En determinadas realizaciones, el tamaño medio puede ser de alrededor de 80 nm. En otras realizaciones, el tamaño medio puede ser de alrededor de 100 nm.

El índice de polidispersidad de la composición de nanopartículas es de alrededor de 0 a alrededor de 0,25 en determinadas realizaciones. En determinadas realizaciones, el índice de polidispersidad es de alrededor de 0,10 a alrededor de 0,20.

En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas tiene un potencial zeta de alrededor de -10 mV a alrededor de +20 mV.

En algunas realizaciones, al poner en contacto el compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) (por ejemplo, cualquiera de los Compuestos 1-109) o una composición de nanopartículas del mismo con una célula de mamífero, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas es independiente de LDLR. En algunas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas depende de LDLR. En algunas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas es independiente de apoE. En algunas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas depende de apoE. En algunas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas es independiente de la interacción LDLR-apoE. En algunas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas depende de la interacción LDLR-apoE.

En algunas realizaciones, al poner en contacto el compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) (por ejemplo, cualquiera de los Compuestos 1-109) o la composición de nanopartículas del mismo con una célula de mamífero para producir un polipéptido, la producción del polipéptido es mayor en hepatocitos de mamíferos que en células de un tejido diferente (por ejemplo, bazo o riñón).

5

En algunas realizaciones, al poner en contacto el compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) (por ejemplo, cualquiera de los Compuestos 1-109) o la composición de nanopartículas del mismo con una célula de mamífero para producir un polipéptido, la producción del polipéptido se produce sustancialmente en los hepatocitos de mamíferos (por ejemplo, poca o ninguna producción del polipéptido en otras células, por ejemplo, células del bazo o células renales).

10

En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas incluye uno o más componentes diferentes que incluyen, pero sin limitarse a, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, moléculas hidrofóbicas pequeñas, agentes terapéuticos y/o profilácticos, carbohidratos, polímeros, moléculas potenciadoras de la permeabilidad, tamponadores y agentes que alteran la superficie.

15

En otro aspecto más, la descripción presenta una composición farmacéutica que comprende una composición de nanopartículas según los aspectos anteriores y un portador farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, la composición farmacéutica se refrigera o congela para su almacenamiento y/o envío (por ejemplo, se almacena a una temperatura de 4 °C o menor, tal como una temperatura entre alrededor de -150 °C y alrededor de 0 °C o entre alrededor de -80 °C y alrededor de -20 °C (por ejemplo, alrededor de -5 °C, -10 °C, -15 °C, -20 °C, -25 °C, -30 °C, -40 °C, -50 °C, -60 °C, -70 °C, -80 °C, -90 °C, -130 °C o -150 °C). Por ejemplo, la composición farmacéutica es una solución que se refrigera para su almacenamiento y/o envío a, por ejemplo, alrededor de -20 °C, -30 °C, -40 °C, -50 °C, -60 °C, -70 °C, o -80 °C.

20

25

También se describe, pero no forma parte de la invención, un procedimiento para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm) a una célula (por ejemplo, una célula de mamífero). Este procedimiento incluye la etapa de administrar a un sujeto (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido (tal como un lípido poliinsaturado), un lípido PEG, un lípido estructural y un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico, en el que administrar implica poner en contacto la célula con la composición de nanopartículas, mediante lo cual el agente terapéutico y/o profiláctico se administra a la célula.

30

35

También se describe un procedimiento para producir un polipéptido de interés en una célula (por ejemplo, una célula de mamífero). El procedimiento incluye la etapa de poner en contacto la célula con una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido (tal como un lípido poliinsaturado), un lípido PEG, un lípido estructural y un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I) y (ii) un ARNm que codifica el polipéptido de interés, mediante lo cual el ARNm es capaz de traducirse en la célula para producir el polipéptido.

40

En otro aspecto más, la invención proporciona una composición de nanopartículas de la invención para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero (por ejemplo, un ser humano) que lo necesita. El procedimiento incluye la etapa de administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición de nanopartículas, por ejemplo, una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido (tal como un lípido poliinsaturado), un lípido PEG, un lípido estructural y un compuesto según una de las fórmulas (I) o (Ib), y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm). También se describen ejemplos de un procedimiento de este tipo donde el compuesto es según una de las fórmulas (Ia1)-(Ia6), (II), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1). En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno se caracteriza por una actividad proteica o polipeptídica disfuncional o aberrante. Por ejemplo, la enfermedad o trastorno se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedades raras, enfermedades infecciosas, cáncer y enfermedades proliferativas, enfermedades genéticas (por ejemplo, fibrosis quística), enfermedades autoinmunes, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardio y renovasculares y enfermedades metabólicas.

45

50

55

También se describe un procedimiento para administrar (por ejemplo, administrar específicamente) un agente terapéutico y/o profiláctico a un órgano de mamífero (por ejemplo, administrar específicamente) un agente terapéutico y/o profiláctico a un órgano de mamífero (por ejemplo, hígado, bazo, pulmón o fémur). Este procedimiento incluye la etapa de administrar a un sujeto (por ejemplo, un mamífero) una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido, un lípido PEG, un lípido estructural y un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I) y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm), en el que administrar implica poner en contacto la célula con la composición de nanopartículas, mediante lo cual el agente terapéutico y/o profiláctico se administra al órgano tal como un hígado.

60

65

También se describe un procedimiento para la administración mejorada de un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm) a un tejido diana (por ejemplo, un hígado, bazo, pulmón o fémur). Este

- procedimiento incluye administrar a un sujeto (por ejemplo, un mamífero) una composición de nanopartículas, incluyendo la composición (i) un componente lipídico que incluye un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), un fosfolípido, un lípido estructural y un lípido PEG; y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico, incluyendo la administración poner en
- 5 contacto el tejido diana con la composición de nanopartículas, mediante lo cual el agente terapéutico y/o profiláctico se administra al tejido diana. La administración puede mejorarse en comparación con una composición de referencia que comprende un lípido de referencia en lugar de un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1).
- 10 También se describe, pero no forma parte de la invención, un procedimiento para reducir la inmunogenicidad que comprende introducir la composición de nanopartículas de la descripción en células, donde la composición de nanopartículas reduce la inducción de la respuesta inmunitaria celular de las células a la composición de nanopartículas, en comparación con la inducción de la respuesta inmunitaria celular en células inducidas por
- 15 una composición de referencia que comprende un lípido de referencia en lugar de un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1). Por ejemplo, la respuesta inmunitaria celular es una respuesta inmunitaria innata, una respuesta inmunitaria adaptativa o ambas.
- En determinadas realizaciones de los aspectos anteriores, una célula contactada en un procedimiento está en
- 20 un mamífero.
- En cualquiera de los aspectos anteriores, un mamífero puede ser, por ejemplo, un roedor, un primate no humano o un ser humano. En determinadas realizaciones, el mamífero es un ser humano. En determinadas realizaciones, el mamífero es deficiente en LDLR o es deficiente en apoE, o ambos. En determinadas
- 25 realizaciones, el mamífero no es deficiente en LDLR. En determinadas realizaciones, el mamífero no es deficiente en apoE. En determinadas realizaciones, el mamífero no es deficiente en LDLR ni es deficiente en apoE. En determinadas realizaciones, el mamífero tiene una interacción de LDLR-apoE anormal. En determinadas realizaciones, el mamífero tiene una interacción de LDLR-apoE normal.
- 30 En cualquiera de los aspectos anteriores, un agente terapéutico y/o profiláctico puede ser un ARNm.
- En algunas realizaciones de los procedimientos anteriores, el agente terapéutico y/o profiláctico puede administrarse específicamente a un tejido diana de interés (por ejemplo, un hígado, bazo, pulmón o fémur de
- 35 mamífero).
- En algunas realizaciones de los procedimientos anteriores, un polipéptido de interés puede producirse específicamente en una célula diana o tejido de interés (por ejemplo, un hepatocito, un hígado, bazo, pulmón o fémur de mamífero), por ejemplo, la producción de polipéptido es sustancialmente mayor en la célula o tejido
- 40 diana que en una célula/tejido no diana.
- En algunas realizaciones, la composición de nanopartículas se administra por vía intravenosa, intramuscular, intradérmica, subcutánea, intraarterial, intratumoral o por inhalación. Una dosis de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg de agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, ARNm) se administra a un mamífero
- 45 en determinadas realizaciones.
- En cualquiera de los aspectos anteriores, en algunas realizaciones, la administración (por ejemplo, la eficiencia de administración) del agente terapéutico y/o profiláctico a la célula de mamífero es independiente de LDLR. En algunas realizaciones, la administración del agente terapéutico y/o profiláctico a la célula de mamífero
- 50 depende de LDLR. En algunas realizaciones, la administración del agente terapéutico y/o profiláctico a la célula de mamífero es independiente de apoE. En algunas realizaciones, la administración del agente terapéutico y/o profiláctico a la célula de mamífero depende de apoE. En algunas realizaciones, la administración del agente terapéutico y/o profiláctico a la célula de mamífero es independiente de la interacción de LDLR-apoE. En algunas realizaciones, la administración del agente terapéutico y/o profiláctico a la célula de mamífero depende de la interacción de LDLR-apoE.
- 55 En cualquiera de los aspectos anteriores, en algunas realizaciones, la producción (por ejemplo, el rendimiento) del polipéptido de interés en la célula de mamífero es independiente de LDLR. En algunas realizaciones, la producción del polipéptido de interés en la célula de mamífero depende de LDLR. En algunas realizaciones, la producción del polipéptido de interés en la célula de mamífero es independiente de apoE. En algunas
- 60 realizaciones, la producción del polipéptido de interés en la célula de mamífero depende de apoE. En algunas realizaciones, la producción del polipéptido de interés en la célula de mamífero es independiente de la interacción de LDLR-apoE. En algunas realizaciones, la producción del polipéptido de interés en la célula de mamífero depende de la interacción de LDLR-apoE.
- 65 En los aspectos anteriores, se pueden usar en combinación una o más composiciones de nanopartículas, incluyendo cada una uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos. En algunas realizaciones, una o más

composiciones de nanopartículas, incluyendo cada una uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos, pueden ponerse en contacto simultáneamente con una célula o administrarse a una célula u órgano de mamífero. En otras realizaciones, la una o más composiciones de nanopartículas se ponen en contacto con una célula o se administran a una célula u órgano de mamífero en momentos diferentes.

5

En los aspectos anteriores, se pueden usar uno o más agentes o compuestos terapéuticos y/o profilácticos adicionales en combinación con una composición de nanopartículas que incluye un agente terapéutico y/o profiláctico. En algunas realizaciones, se puede administrar un agente o compuesto terapéutico y/o profiláctico adicional al mismo tiempo o casi al mismo tiempo que una composición de nanopartículas (por ejemplo, dentro de una hora). En otras realizaciones, un agente o compuesto terapéutico y/o profiláctico adicional puede administrarse antes o después (por ejemplo una o más horas antes o después) de una composición de nanopartículas como tratamiento previo o posterior al tratamiento. En algunas realizaciones, un agente o compuesto terapéutico y/o profiláctico adicional se selecciona de entre el grupo que consiste en un compuesto antiinflamatorio, un esteroide (por ejemplo, un corticosteroide), una estatina, un estradiol, un inhibidor de BTK, un agonista de S1P1, un modulador del receptor de glucocorticoides (GRM) o una antihistamina. En determinadas realizaciones, un agente o compuesto terapéutico y/o profiláctico adicional se selecciona de entre el grupo que consiste en dexametasona, metotrexato, acetaminofén, un bloqueador del receptor H1 o un bloqueador del receptor H2.

10

15

20

Breve descripción de los dibujos

El experto en la materia entenderá que los dibujos son principalmente para fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance del objeto inventivo descrito en esta invención. Los dibujos no son necesariamente a escala; en algunos aspectos, varios aspectos del objeto inventivo descrito en esta invención pueden mostrarse exagerados o ampliados en los dibujos para facilitar la comprensión de las diferentes características. En los dibujos, los caracteres de referencia similares generalmente se refieren a características similares (por ejemplo, elementos funcionalmente similares y/o estructuralmente similares).

25

Las características anteriores y otras se apreciarán más claramente a partir de la siguiente descripción detallada cuando se toma junto con los dibujos adjuntos.

30

La Figura 1 es un par de gráficos que comparan los niveles de expresión de luciferasa en ratones (cuerpo entero) después de la administración de composiciones de nanopartículas que contienen compuestos de la descripción a lo largo del tiempo.

35

La Figura 2 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa 3 h después de la administración de composiciones de nanopartículas que contienen compuestos de la descripción. Los valores de flujo de luz total se adquirieron a través de imágenes luminiscentes corporales (BLI) 3 h después de la administración. En esta Figura, los números 1-12 se refieren a las composiciones que contienen los Compuestos 42-52 y MC3 respectivamente.

40

La Figura 3 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa 6 h después de la administración de composiciones de nanopartículas que contienen compuestos de la descripción. Los valores de flujo de luz total se adquirieron a través de BLI 6 h después de la administración. En esta Figura, los números 1-12 se refieren a las composiciones que contienen los Compuestos 42-52 y MC3 respectivamente.

45

La Figura 4 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa 24 h después de la administración de composiciones de nanopartículas que contienen compuestos de la descripción. Los valores de flujo de luz total se adquirieron a través de BLI 24 h después de la administración. En esta Figura, los números 1-12 se refieren a las composiciones que contienen los Compuestos 42-52 y MC3 respectivamente.

50

La Figura 5 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa en hígado de ratón 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos de la descripción. En esta Figura, los números 1-12 se refieren a las composiciones que contienen los Compuestos 42-52 y MC3 respectivamente.

55

La Figura 6 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa en pulmones de ratón 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos de la descripción. En esta Figura, los números 1-12 se refieren a las composiciones que contienen los Compuestos 42-52 y MC3 respectivamente.

60

La Figura 7 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa en bazo de ratón 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos de la descripción. En esta Figura, los números 1-12 se refieren a las composiciones que contienen los Compuestos 42-52 y MC3 respectivamente.

65

La Figura 8 es un par de gráficos que ilustran los niveles de expresión de hEPO en ratas dosificadas con los compuestos de la descripción en comparación con KL22, que muestran que KL22 y sus derivados de longitud de cadena (anteriormente mostraban una expresión de proteína mejorada en ratones), no expresan hEPO en ratas. Se usa PBS (solución salina tamponada con fosfato) como control. El Gráfico A compara la concentración de hEPO después de la administración de composiciones de nanopartículas que contienen el Compuesto 23, el Compuesto 11, KL22 y MC3 a 2 mpk, administración iv. La LNP del Compuesto 11 mostró una expresión de hEPO comparable a la de MC3 y una tolerabilidad mejorada en comparación con KL22. El Gráfico B ilustra los resultados de un estudio de respuesta a la dosis utilizando el Compuesto 20, KL22 y MC3 a dosis de 0,2, 0,5 y 1 mpk. Se demostró que KL22 y el Compuesto 23 eran tóxicos a la dosis de 2 mg/kg. En el Gráfico A, los números 1-5 se refieren a composiciones que contienen lo siguiente: 1: Compuesto 23, 2: Compuesto 11, 3: KL22; 4: MC3; 5: PBS. En el Gráfico B, los números 1-9 se refieren a composiciones que contienen lo siguiente: 1: Compuesto 20, 0,2 mpk; 2: Compuesto 20, 0,5 mpk; 3: Compuesto 20, 1 mpk; 4: KL22, 0,2 mpk; 5: KL22, 0,5 mpk; 6: KL22, 1 mpk; 7: MC3, 0,2 mpk; 8: MC3, 0,5 mpk; 9: MC3, 1 mpk; 10: PBS.

La Figura 9 es un par de gráficos que ilustran el rendimiento del Compuesto 11 como un lípido independiente de LDLr. El Gráfico A es un gráfico de barras que muestra la expresión de luciferasa inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen el Compuesto 11 en dosis de 0,05 mpk, 0,25 mpk y 0,5 mpk a ratones de tipo silvestre e inactivados para LDLR -/-. El Gráfico B muestra los niveles de LDL-c en ratones inactivados para LDLR después de la administración de un ARNm de control, es decir, Factor IX no traducible ("NT-FIX") y varias composiciones que comprenden ARNm que codifican el receptor de LDL en ratones, con KL22 a 0,5 mpk, o con el Compuesto 11 a 0,5 y 1 mpk. Se encontró que los niveles de LDL-c en ratones caían con la composición de nanopartículas que contiene el Compuesto 11.

La Figura 10 es un gráfico que muestra los niveles de hEPO en primates no humanos hasta -50 h después de la administración de una composición de nanopartículas que contiene el Compuesto 4, en comparación con una composición que contiene MC3. La LNP del Compuesto 4 demostró una expresión triple de hEPO en comparación con MC3, estableciendo al Compuesto 4 como un lípido independiente de LDLr que se traduce en especies superiores.

La Figura 11 es un par de imágenes que comparan los resultados de una inmunohistoquímica (IHC) de hígado de ratón usando ARNm que expresa proteína verde fluorescente (GFP) después de la administración de composiciones de nanopartículas que contienen el Compuesto 4 y MC3. El Gráfico A muestra células de hígado de ratón CD-1 después de la administración de ARNm de GFP en una LNP de MC3, 6 h después de la administración intravenosa a una dosis de 0,5 mpk. La expresión de la proteína ARNm GFP de la composición LNP MC3 se observó tanto en hepatocitos como en células de Kupffer. El Gráfico B muestra células de hígado de ratón inactivado para LDLR después de la administración de ARNm de GFP en una LNP del Compuesto 4, 8 h después de la administración intravenosa a una dosis de 0,5 mpk. En contraste con MC3, la LNP que contiene el Compuesto 4 parece mostrar menos expresión de proteína en las células de Kupffer.

La Figura 12 es un conjunto de gráficos que ilustran los niveles de expresión de hEPO en ratones CD-1 dosificados con los compuestos de la descripción, en comparación con MC3. Se usa PBS como control. El Gráfico A muestra la concentración de hEPO 3 h después de la administración de las composiciones de nanopartículas. El Gráfico B muestra la concentración de hEPO 6 h después de la administración de las composiciones de nanopartículas. El Gráfico C muestra la concentración de hEPO 24 h después de la administración de las composiciones de nanopartículas. En los gráficos A-C, los números 1-14 se refieren a composiciones que contienen lo siguiente: 1: Compuesto 73, 2: Compuesto 80, 3: Compuesto 70; 4: Compuesto 81; 5: Compuesto 69; 6: Compuesto 82; 7: Compuesto 83; 8: Compuesto 62; 9: Compuesto 84; 10: Compuesto 85; 11: Compuesto 86; 12: Compuesto 87; 13: MC3; 14: PBS.

La Figura 13 es un gráfico que muestra los niveles de hEPO (pg/ml) en ratones CD-1 hasta -25 h después de la administración de una composición de nanopartículas que contiene los compuestos de la descripción, en comparación con una composición que contiene MC3. Los números 1-13 se refieren a composiciones que contienen lo siguiente: 1: Compuesto 73, 2: Compuesto 80, 3: Compuesto 70; 4: Compuesto 81; 5: Compuesto 69; 6: Compuesto 82; 7: Compuesto 83; 8: Compuesto 62; 9: Compuesto 84; 10: Compuesto 85; 11: Compuesto 86; 12: Compuesto 87; 13: MC3.

La Figura 14 es un par de gráficos que muestran porcentajes de células B activadas en los bazo de ratones CD-1 dosificados con los compuestos de la descripción, en comparación con MC3, y en comparación con ratones que no han recibido ningún tratamiento (sujeto de prueba sin tratamiento previo). Se usa PBS como control. El Gráfico A muestra el porcentaje de células CD19+. El Gráfico B muestra el porcentaje de células CD19+ CD69+ CD86+. Los números 1-13 se refieren a composiciones que contienen lo siguiente: 1: Compuesto 73, 2: Compuesto 80, 3: Compuesto 70; 4: Compuesto 81; 5: Compuesto 69; 6: Compuesto 82; 7: Compuesto 83; 8: Compuesto 62; 9: Compuesto 84; 10: Compuesto 85; 11: Compuesto 86; 12: Compuesto 87; 13: MC3; 14: PBS; 15: sujeto sin tratamiento previo.

La Figura 15 es un gráfico que resume los niveles de expresión de luciferasa 6 h después de la administración

de composiciones de nanopartículas que contienen compuestos de la descripción a ratones CD-1 a una dosis de 0,5 mpk. Los valores de flujo de luz total se adquirieron a través de imágenes luminiscentes corporales (BLI) 6 h después de la administración. En esta Figura, los números 1-7 y 10 hacen referencia a las composiciones que contienen los Compuestos 4-10 y MC3 respectivamente.

5 La Figura 16 es un gráfico que muestra los niveles de GFP en los hígados de ratones inactivados para LDLR entre 30 min y 24 h después de la administración intravenosa de un ARN de eGFP en una composición lipídica que contiene el Compuesto 4. Los niveles de GFP en el hígado se determinaron mediante IHC. Los marcadores cuadrados representan el número de células positivas para GFP tras la administración de una dosis de 0,1
10 mpk de la composición. Los marcadores circulares representan el número de células positivas para GFP tras la administración de una dosis de 0,5 mpk de la composición.

La Figura 17 es un par de gráficos que muestran la dependencia de ApoE de la expresión de luciferasa ("Luc") después de la administración de una composición que contiene ARNm de Luc y el Compuesto 4 a ratones a una dosis de 0,5 mpk. La expresión que sigue a la administración de una composición que contiene ARNm de Luc y MC3 se presenta para comparación. El Gráfico A muestra el flujo total en el hígado 6 h después de la administración. El % de cambio en la expresión de Luc en hígados de ratones inactivados para ApoE frente a ratones de tipo silvestre (es decir, $(\text{expresión media WT} - \text{expresión media KO}) / \text{expresión media WT} \times 100 \%$) fue del 91,9 % para el Compuesto 4 y del 97,5 % para MC3. El Gráfico B muestra el flujo total en el bazo 6 h después de la administración. El % de cambio en la expresión en bazo de ratones inactivados para ApoE frente a ratones de tipo silvestre fue del 4,34 % para el Compuesto 4 y del 72,2 % para MC3. Los números 1-4 se refieren a lo siguiente: 1: Composición que contiene el Compuesto 4, administrada a ratones inactivados para ApoE; 2: Composición que contiene el Compuesto 4, administrada a ratones de tipo silvestre; 3: Composición que contiene MC3, administrada a ratones inactivados para ApoE; 4: Composición que contiene
25 MC3, administrada a ratones de tipo silvestre.

La Figura 18 es un par de gráficos que muestran el efecto de una composición que contiene el Compuesto 4 sobre las enzimas hepáticas. La composición se administró a ratas a 0,1 mpk y 1 mpk. Los efectos de MC3 se muestran a modo de comparación. Se usa PBS como control. El Gráfico A muestra el efecto sobre la aspartato aminotransferasa (AST). El Gráfico B muestra el efecto sobre la alanina aminotransferasa (ALT).
30

La Figura 19 es un conjunto de gráficos que muestran la activación de células inmunitarias por una composición que contiene el Compuesto 4. Los efectos de MC3 se muestran a modo de comparación. Se usa PBS (solución salina tamponada con fosfato) como control. Las composiciones se administraron a ratas a 0,1 mpk o 1 mpk. El Gráfico A muestra el efecto sobre la activación de neutrófilo. El Gráfico B muestra el efecto sobre la activación de los linfocitos. El Gráfico C muestra el efecto sobre la activación de los monocitos. Los números 1-5 en los Gráficos A-C se refieren a lo siguiente: 1: Compuesto 4, 0,1 mpk; 2: Compuesto 4; 1 mpk; 3: MC3, 0,1 mpk 4: MC3, 1 mpk; 5: PBS.
35

La Figura 20 es un gráfico que muestra la expresión de la proteína Stefin A Quadruple Mutant-Tracy (SQT) en hígado de ratón determinada a través de FLAG IHC en diferentes momentos después de la administración intravenosa de varias composiciones de nanopartículas que comprenden ARNm de SQT y lípidos descritos en esta invención. Los números 1-11 en la figura se refieren a lo siguiente: 1: 0 h, PBS; 2: 0 h, Compuesto 4; 3: 0,5 h, Compuesto 4; 4: 4 h, Compuesto 4; 5: 8 h, Compuesto 4; 6: 24 h, Compuesto 4; 7: 0 h, MC3; 8: 0,5 h, MC3; 9: 4 h, MC3; 10: 8 h, MC3; 11: 24h, MC3.
40
45

Descripción detallada

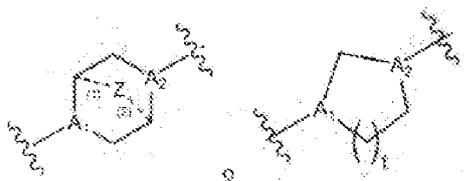
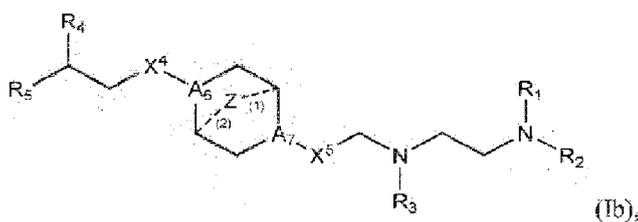
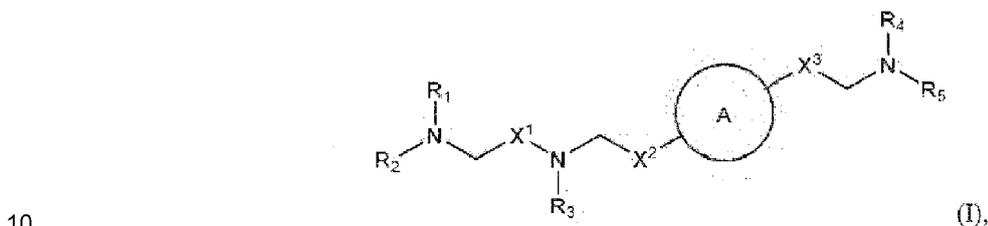
La descripción se refiere a lípidos novedosos y composiciones de nanopartículas lipídicas que incluyen un lípido novedoso. La descripción también proporciona procedimientos para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a una célula de mamífero, específicamente administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a un órgano de mamífero, producir un polipéptido de interés en una célula de mamífero y tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero que lo necesita. Por ejemplo, un procedimiento para producir un polipéptido de interés en una célula implica poner en contacto una composición de nanopartículas que comprende un ARNm con una célula de mamífero, mediante lo cual el ARNm se puede traducir para producir el polipéptido de interés. Un procedimiento para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a una célula u órgano de mamífero puede implicar la administración de una composición de nanopartículas que incluye el agente terapéutico y/o profiláctico a un sujeto, en el que la administración implica poner en contacto la célula u órgano con la composición, mediante lo cual el agente terapéutico y/o profiláctico se administra a la célula u órgano.
50
55
60

Lípidos

La presente descripción proporciona lípidos que incluyen un resto de piperazina central. Los lípidos descritos en esta invención pueden usarse ventajosamente en composiciones de nanopartículas lipídicas para la administración de agentes terapéuticos y/o profilácticos a células u órganos de mamíferos. Por ejemplo, los lípidos descritos en esta invención tienen poca o ninguna inmunogenicidad. Por ejemplo, el compuesto lipídico
65

de cualquiera de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) tiene una inmunogenicidad más baja en comparación con un lípido de referencia (por ejemplo, MC3, KC2 o DLinDMA). Por ejemplo, una formulación que comprende un lípido descrito en esta invención y un agente terapéutico o profiláctico tiene un índice terapéutico aumentado en comparación con una formulación correspondiente que comprende un lípido de referencia (por ejemplo, MC3, KC2 o DLinDMA) y el mismo agente terapéutico o profiláctico.

Los lípidos de la presente divulgación son compuestos de fórmula (I) o fórmula (Ib),



o una sal o isómero de los mismos, donde el anillo A es

15 t es 1 o 2;

cada uno de A₁ y A₂ se seleccionan independientemente de entre CH o N;

20 cada uno de A₆ y A₇ se seleccionan independientemente de entre CH o N, donde al menos uno de A₆ y A₇ es N;

Z es CH₂ o está ausente donde cuando Z es CH₂, cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

25 R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀, alqueniilo C₅₋₂₀, -R¹MR', -R²YR", -YR" y -R³OR";

30 cada M se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -OC(O)O-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR')O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo; donde cuando el compuesto es de fórmula (Ib), entonces M no es -OC(O)O-;

35 X¹, X² y X³ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en un enlace, -CH₂-, -(CH₂)₂-, -CHR-, -CHY-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O-, -CH₂-OC(O)-, -CH(OH)-, -C(S)- y -CH(SH)-;

40 X⁴ y X⁵ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en -CH₂-, -(CH₂)₂-, -CHR-, -CHY-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O-, -CH₂-OC(O)-, -CH(OH)-, -C(S)- y -CH(SH)-;

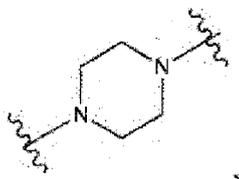
cada Y es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R^{*} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alqueniilo C₂₋₁₂;

45 cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₃ y un carbociclo C₃₋₆;

cada R' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alqueno C₂₋₁₂ y H;
y

5 cada R'' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alqueno C₃₋₁₂,
donde cuando el anillo A es

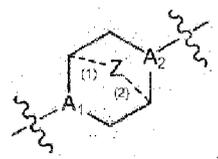


10 entonces

i) al menos uno de X¹, X² y X³ no es -CH₂-; y/o

15 ii) al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -R''MR'; o

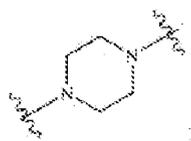
cuando el compuesto es de fórmula (I), y el anillo A es



20 y cada uno de X¹, X² y X³ son -CH₂, entonces

al menos uno de A¹ y A² es N,

25 R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₆₋₂₀ y alqueno C₆₋₂₀, y cuando el anillo A es



entonces

30

i) R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales, donde R₁ no es alquilo C₁₂, alquilo C₁₈ o alqueno C₁₈;

ii) solo uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se selecciona de entre alqueno C₆₋₂₀;

35

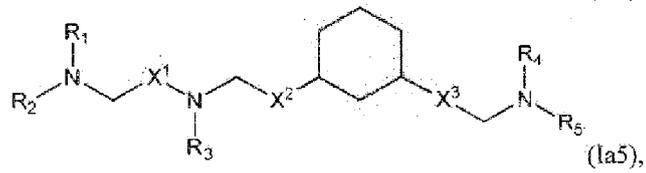
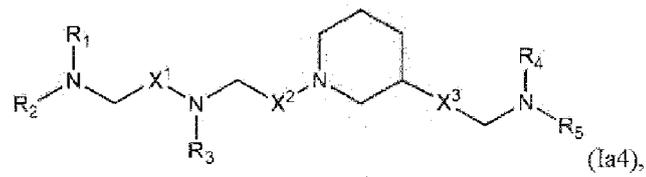
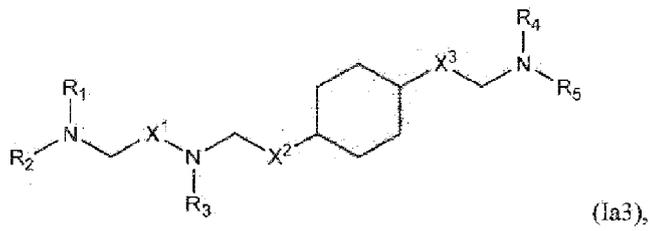
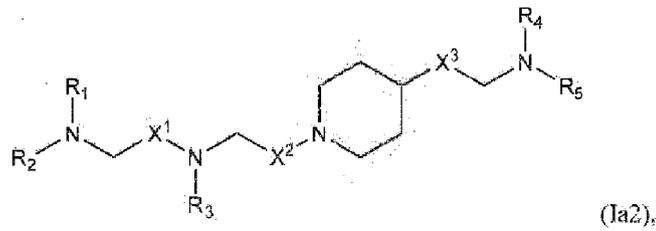
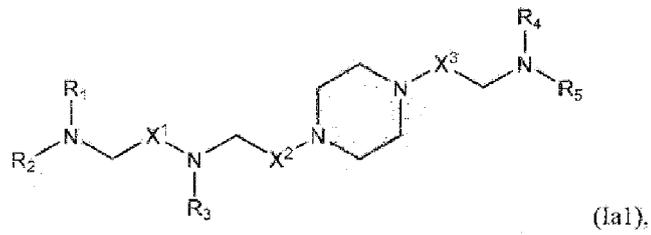
iii) al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen un número diferente de átomos de carbono que al menos otro de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅;

iv) R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀; o

40

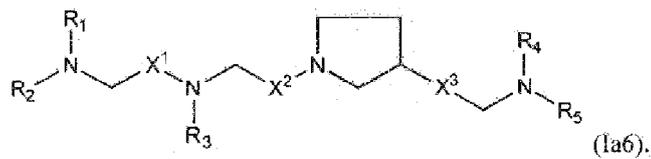
v) R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀.

En algunos ejemplos, el compuesto es de cualquiera de las fórmulas (Ia1)-(Ia6):



5

o

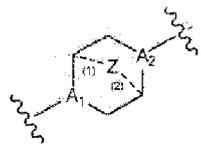


10

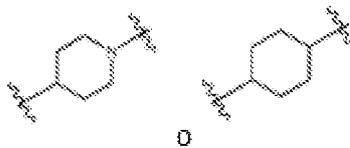
Los compuestos de Fórmula (I) o cualquiera de (Ia6) incluyen una o más de las siguientes características cuando corresponda, o

15

En algunos ejemplos, el anillo A es

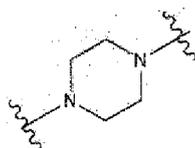


En algunos ejemplos, el anillo A es



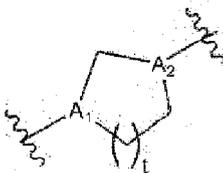
En algunos ejemplos, el anillo A es

5



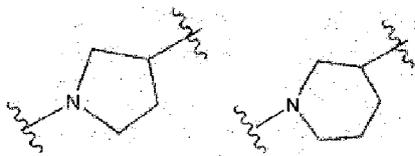
En algunos ejemplos, el anillo A es

10



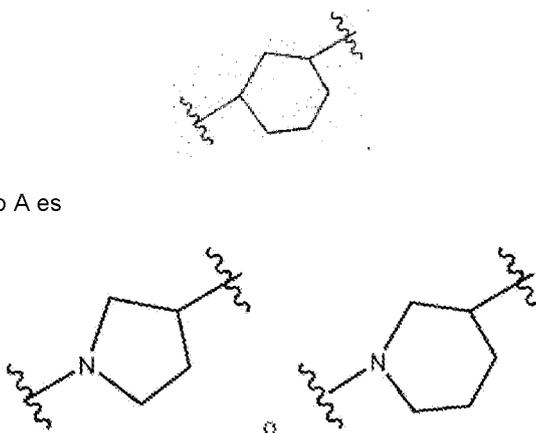
En algunos ejemplos, el anillo A es

15 o



En algunos ejemplos, el anillo A es

20



donde el anillo, en el que el átomo de N está conectado con X².

25 En algunos ejemplos, Z es CH₂.

En algunos ejemplos, Z está ausente.

En algunos ejemplos, al menos uno de A₁ y A₂ es N.

30

En algunos ejemplos, cada uno de A₁ y A₂ es N.

En algunos ejemplos, cada uno de A₁ y A₂ es CH.

En algunos ejemplos, A₁ es N y A₂ es CH.

En algunos ejemplos, A₁ es CH y A₂ es N.

5

En algunos ejemplos, al menos uno de X¹, X² y X³ no es -CH₂-. Por ejemplo, en determinados ejemplos, X¹ no es -CH₂-. En algunos ejemplos, al menos uno de X¹, X² y X³ es -C(O)-.

10

En algunos ejemplos, X² es -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O- o -CH₂-OC(O)-.

En algunos ejemplos, X³ es -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O- o -CH₂-OC(O)-. En otras realizaciones, X³ es -CH₂-.

15

En algunos ejemplos, X³ es un enlace o -(CH₂)₂-.

En algunos ejemplos, R₁ y R₂ son iguales. En determinados ejemplos, R₁, R₂ y R₃ son iguales. En algunos ejemplos, R₄ y R₅ son iguales. En determinados ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales.

20

En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -R''MR'. En algunos ejemplos, como máximo uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -R''MR'. Por ejemplo, al menos uno de R₁, R₂ y R₃ puede ser -R''MR', y/o al menos uno de R₄ y R₅ es -R''MR'. En determinados ejemplos, al menos un M es -C(O)O-. En algunos ejemplos, cada M es -C(O)O-. En algunos ejemplos, al menos un M es -OC(O)-. En algunos ejemplos, cada M es -OC(O)-. En algunos ejemplos, al menos un M es -OC(O)O-. En algunos ejemplos, cada M es -OC(O)O-.

25

En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₃. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₃. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₅. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₅. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₆. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₆. En algunos ejemplos, al menos un R'' es alquilo C₇. En determinados ejemplos, cada R'' es alquilo C₇.

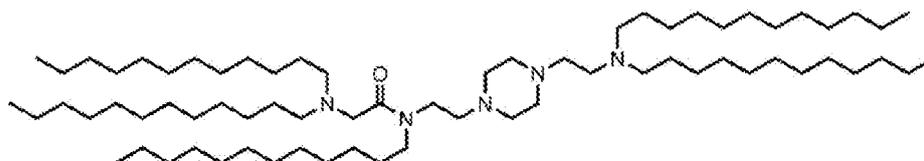
30

En algunos ejemplos, al menos un R' es alquilo C₅. En determinadas realizaciones, al menos un R' es alquilo C₁. En determinados ejemplos, cada R' es alquilo C₁. En algunos ejemplos, al menos un R' es alquilo C₂. En determinados ejemplos, cada R' es alquilo C₂.

En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es alquilo C₁₂. En determinados ejemplos, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son alquilo C₁₂.

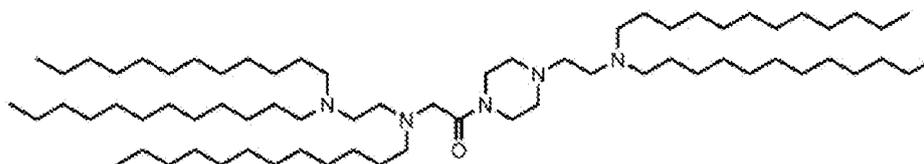
35

En ciertas realizaciones y ejemplos, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente, siendo compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 69, 70, 73, 80-85, 87-100, 102, 104, 106, 108, y 109 son compuestos de la la invención:

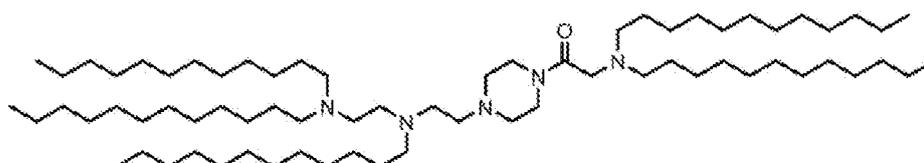


40

(Compuesto 1),

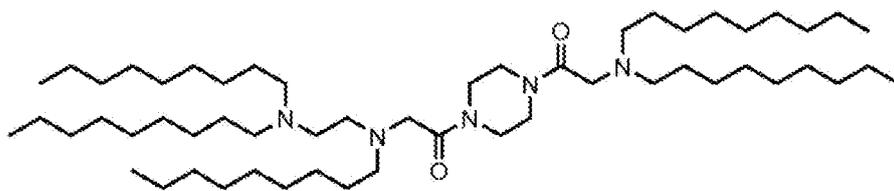


(Compuesto 2),

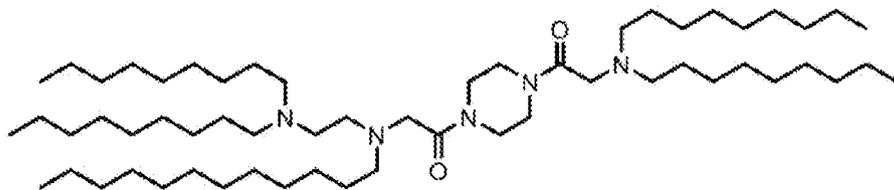


45

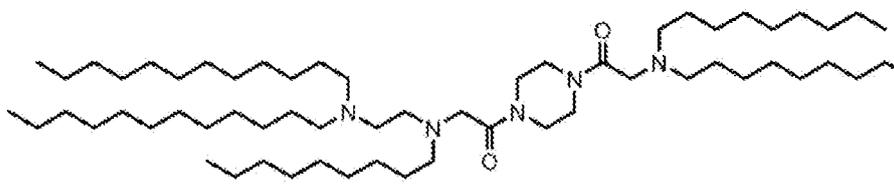
(Compuesto 3),



(Compuesto 4),

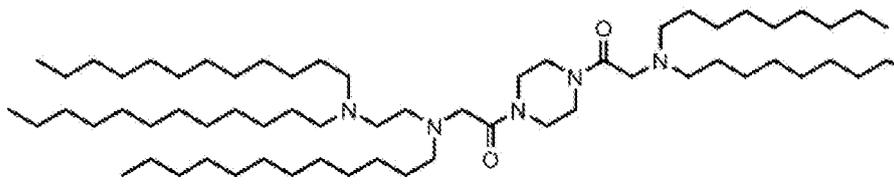


(Compuesto 5),

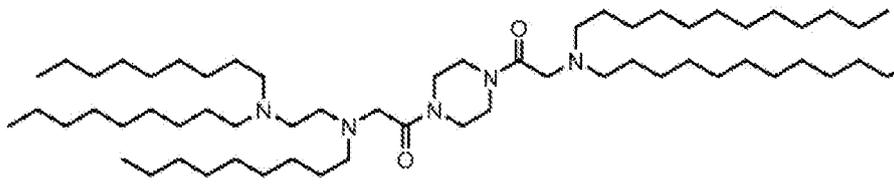


(Compuesto 6),

5

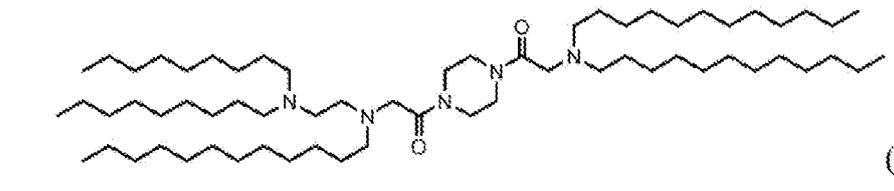


(Compuesto 7),

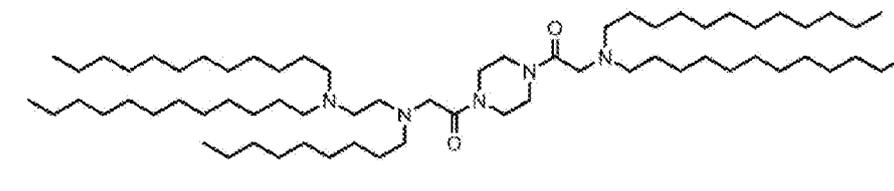


(Compuesto 8),

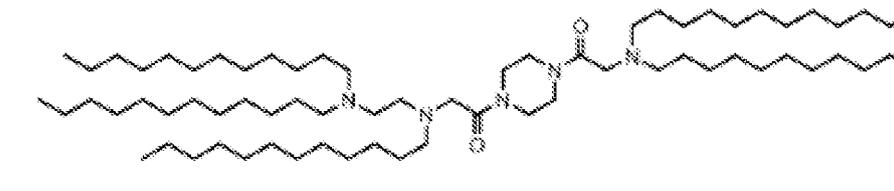
10



(Compuesto 9),

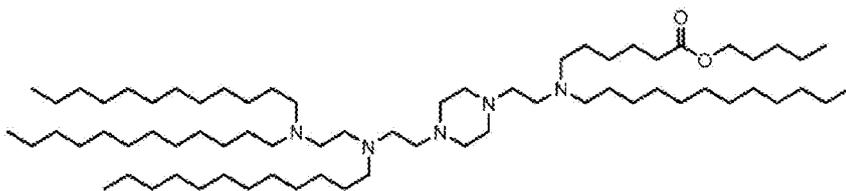


(Compuesto 10),

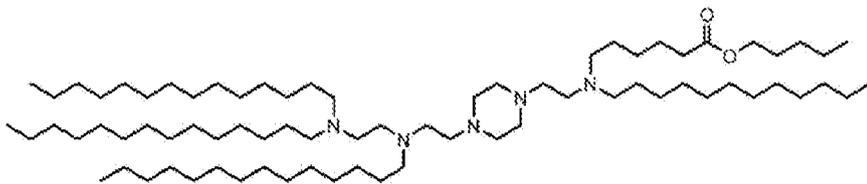


(Compuesto 11)

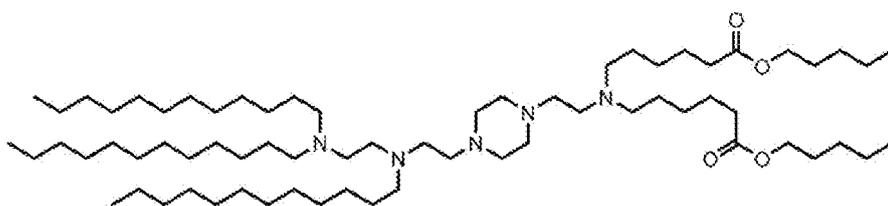
15



(Compuesto 12),

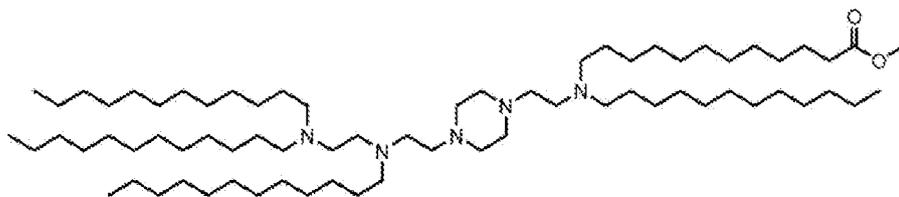


(Compuesto 13),

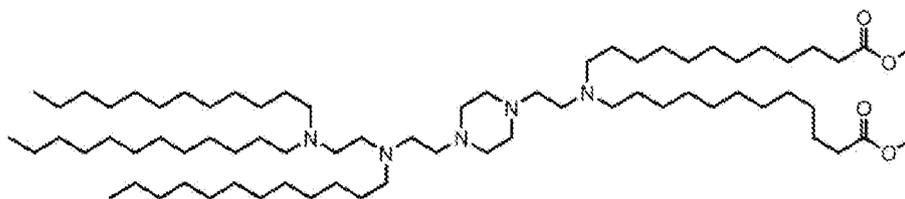


(Compuesto 14),

5

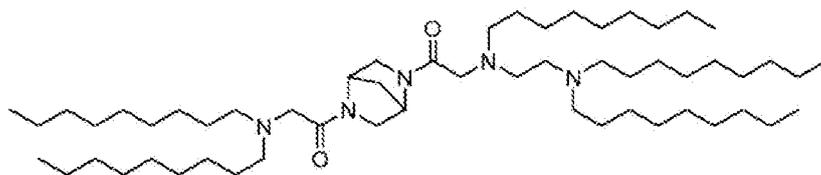


(Compuesto 15),

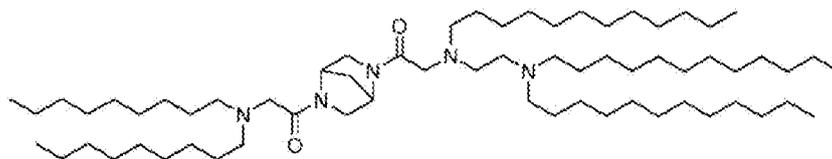


(Compuesto 16),

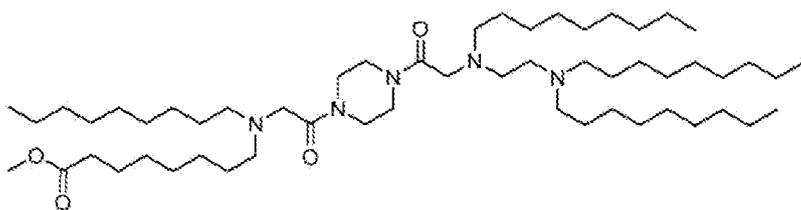
10



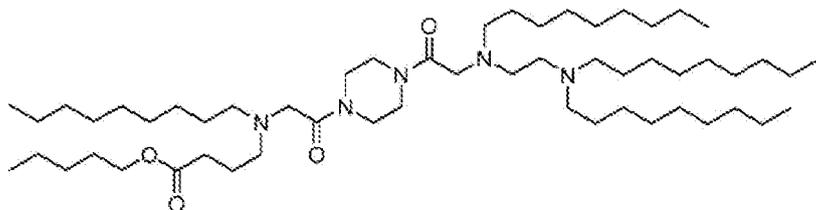
(Compuesto 42),



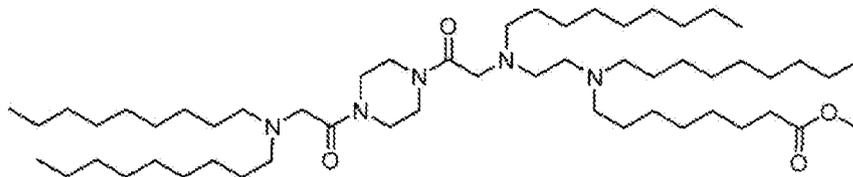
(Compuesto 43),



(Compuesto 44),

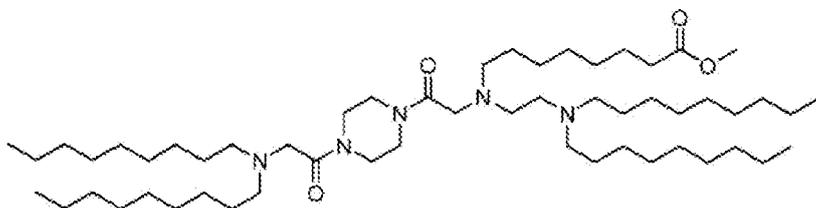


(Compuesto 45),

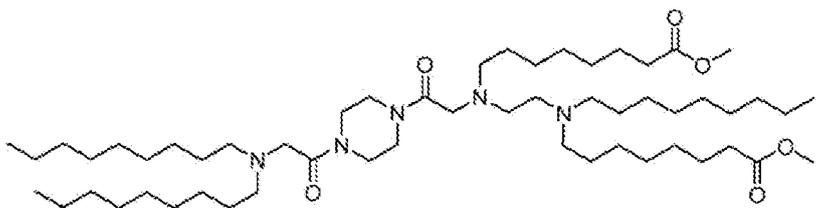


5

(Compuesto 46),

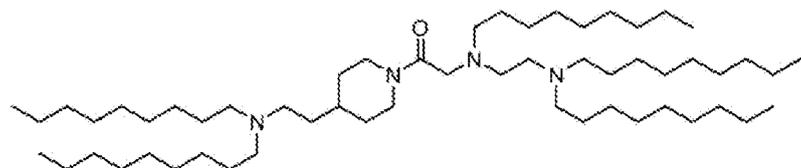


(Compuesto 47),

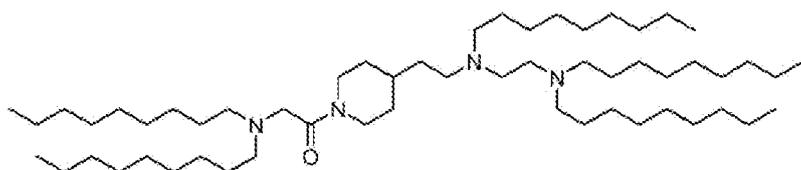


10

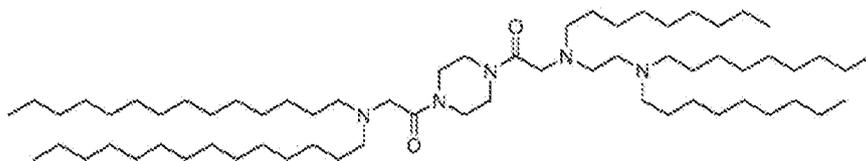
(Compuesto 48),



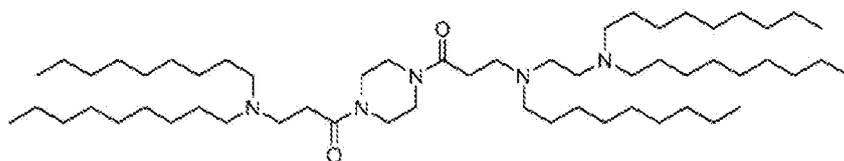
(Compuesto 49),



(Compuesto 50),

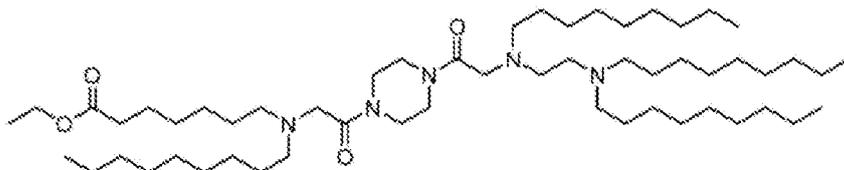


(Compuesto 51),

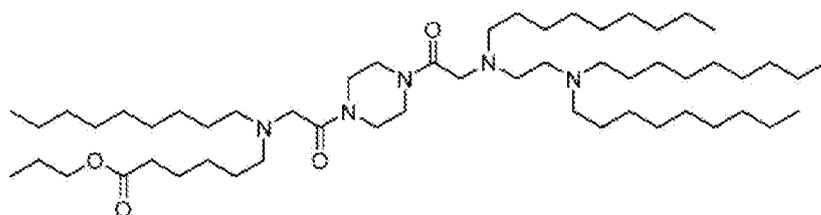


(Compuesto 52),

5

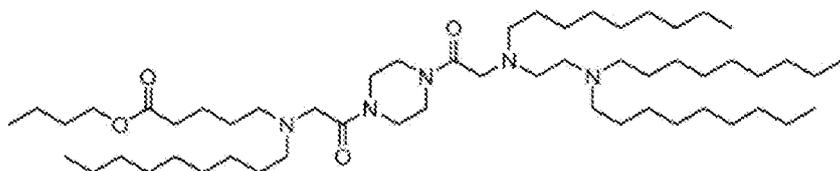


(Compuesto 53),

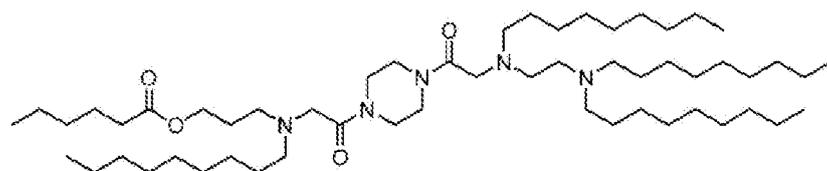


(Compuesto 54),

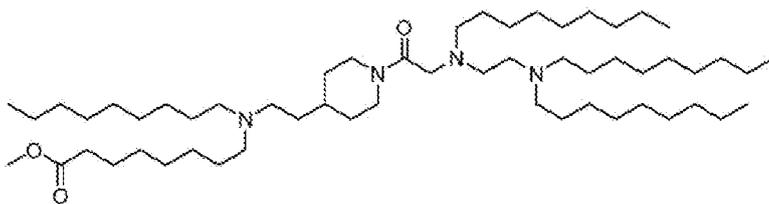
10



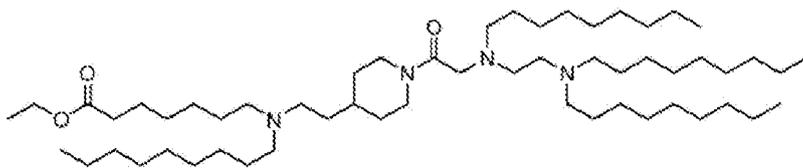
(Compuesto 55),



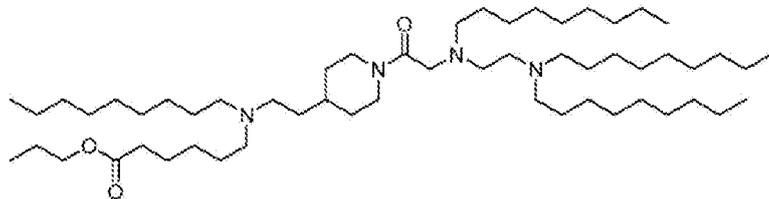
(Compuesto 56),



(Compuesto 57),

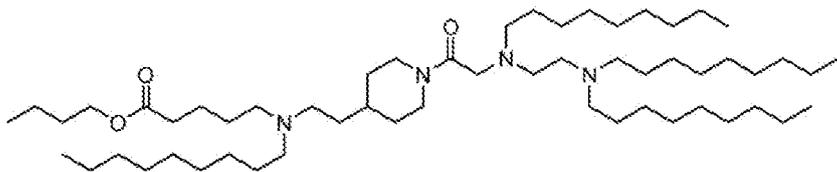


(Compuesto 58),

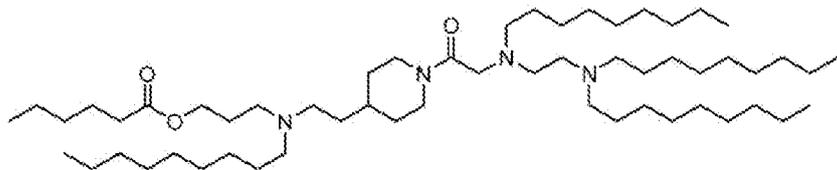


(Compuesto 59),

5

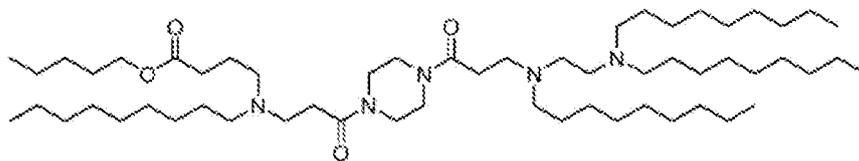


(Compuesto 60),

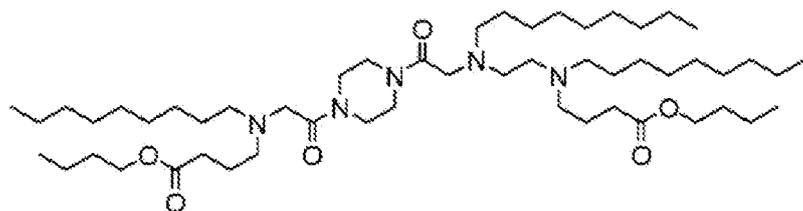


(Compuesto 61),

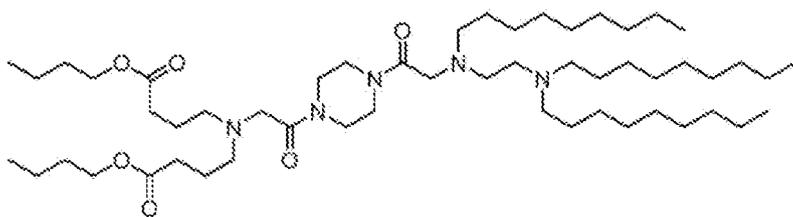
10



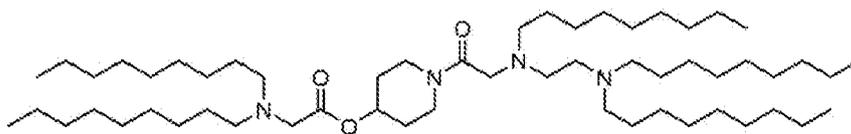
(Compuesto 62),



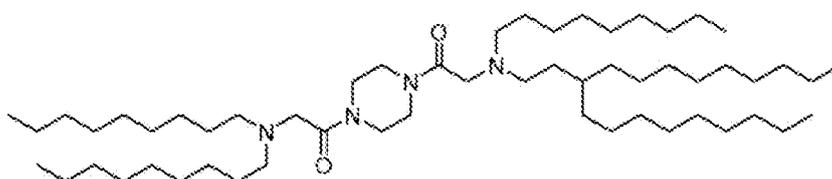
(Compuesto 63),



(Compuesto 64),

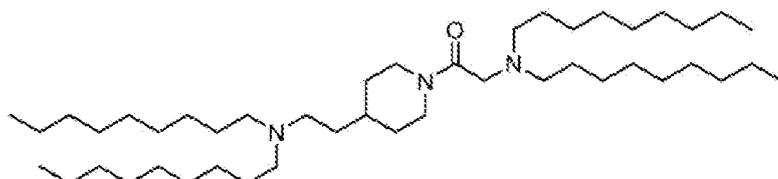


(Compuesto 65),

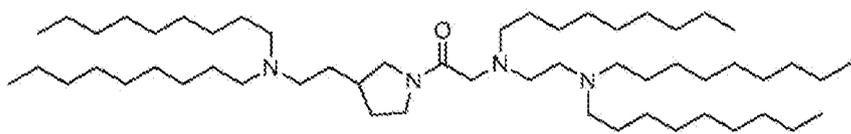


(Compuesto 66),

5

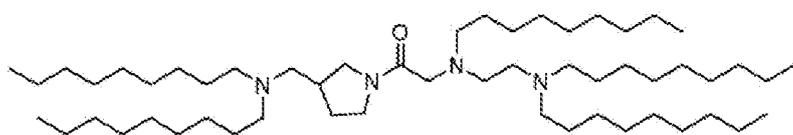


(Compuesto 68),

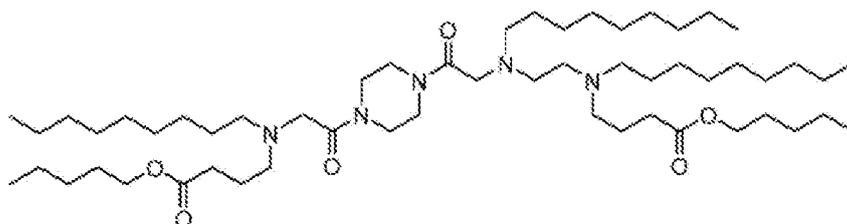


(Compuesto 69),

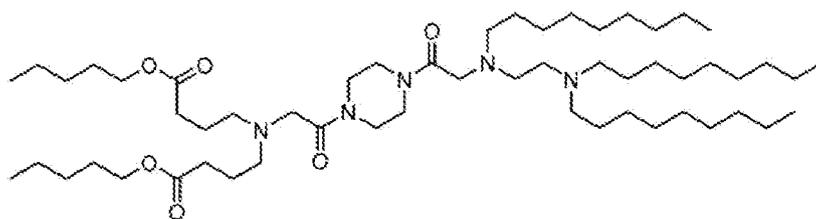
10



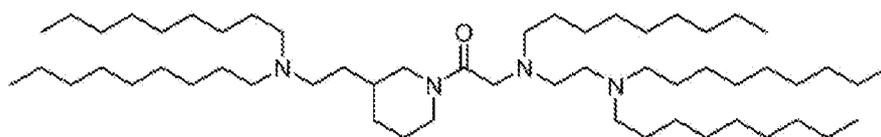
(Compuesto 70),



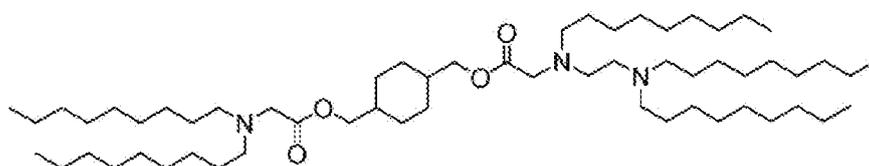
(Compuesto 71),



(Compuesto 72),

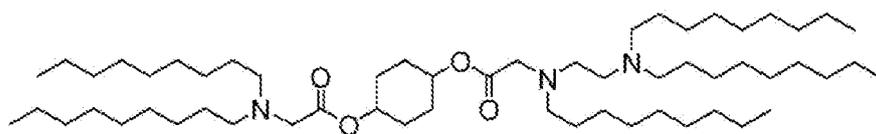


(Compuesto 73),

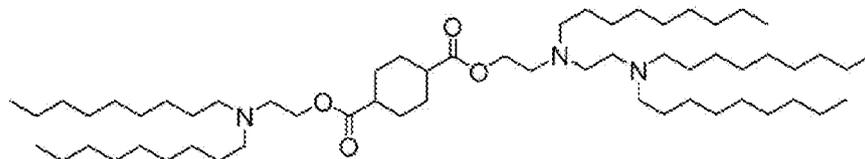


(Compuesto 74),

5

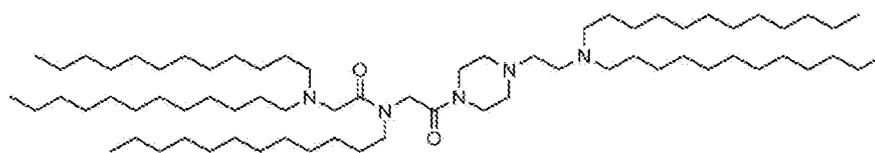


(Compuesto 75),

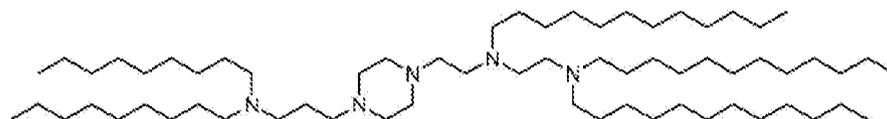


(Compuesto 76),

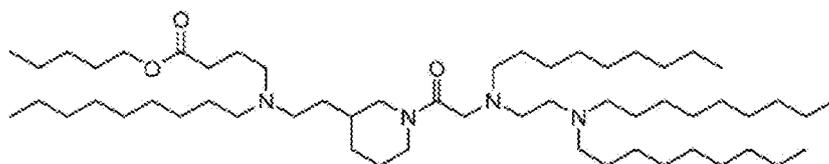
10



(Compuesto 78),

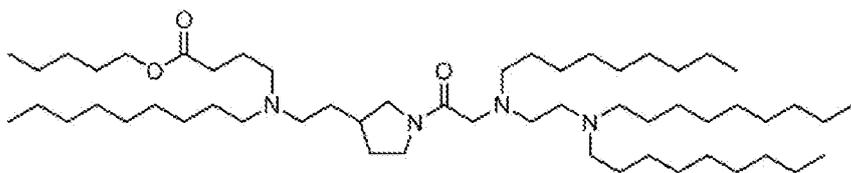


(Compuesto 79),

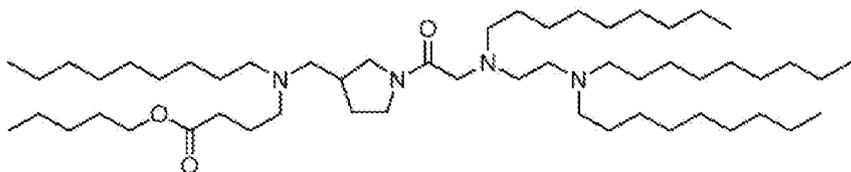


(Compuesto 80),

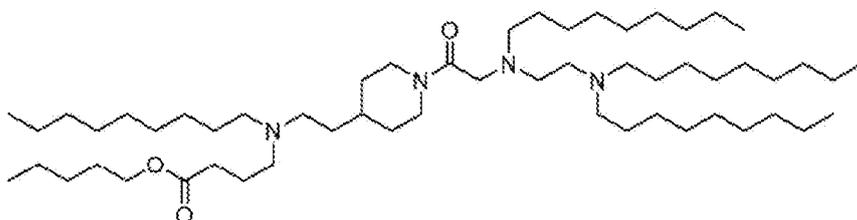
15



(Compuesto 81),

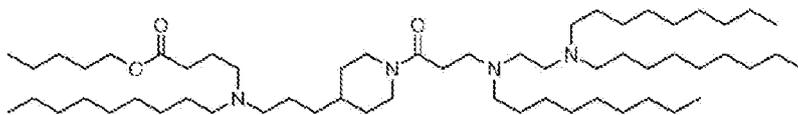


(Compuesto 82),

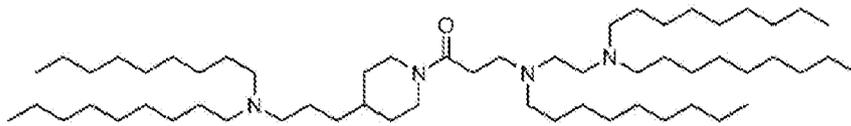


(Compuesto 83),

5

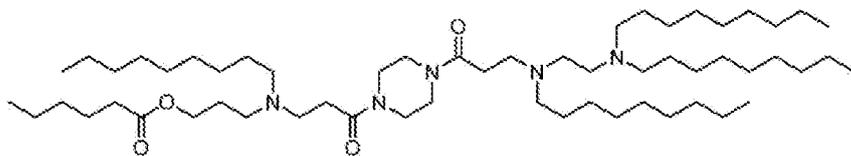


(Compuesto 84),

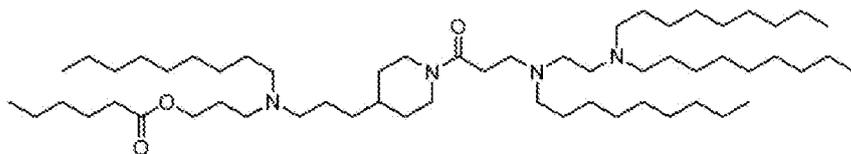


(Compuesto 85),

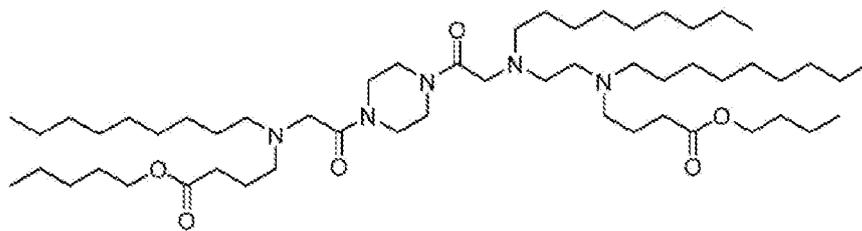
10



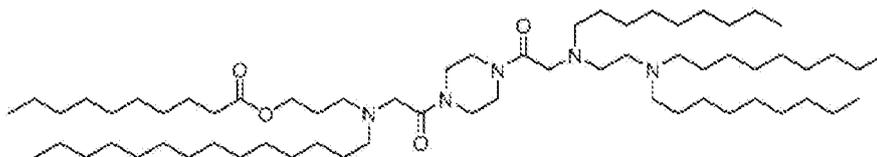
(Compuesto 86),



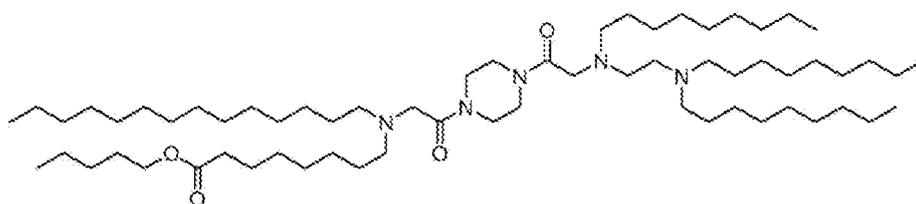
(Compuesto 87),



(Compuesto 88),

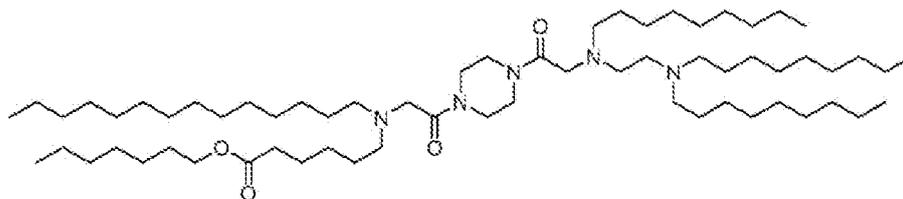


(Compuesto 89),

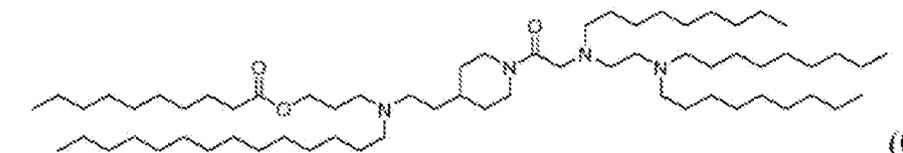


5

(Compuesto 90),

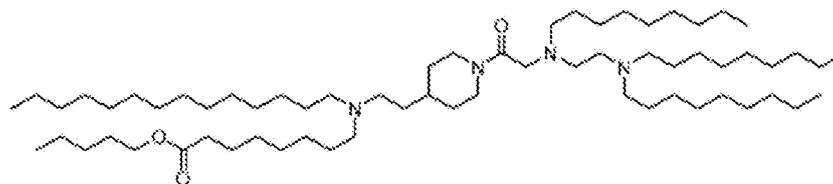


(Compuesto 91),

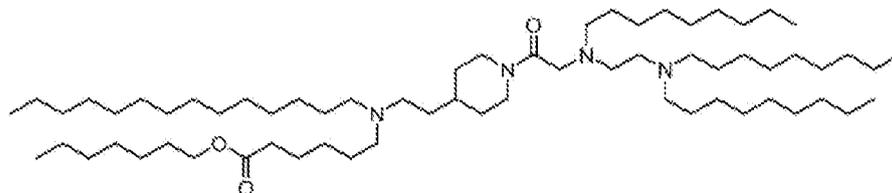


10

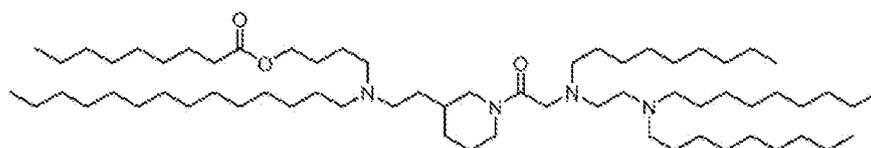
(Compuesto 92),



(Compuesto 93),

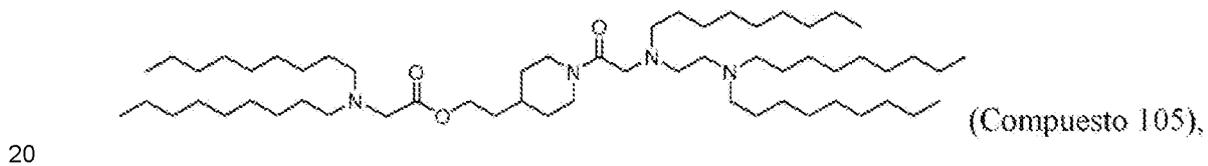
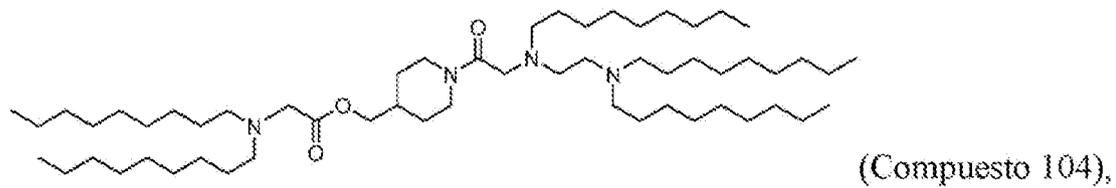
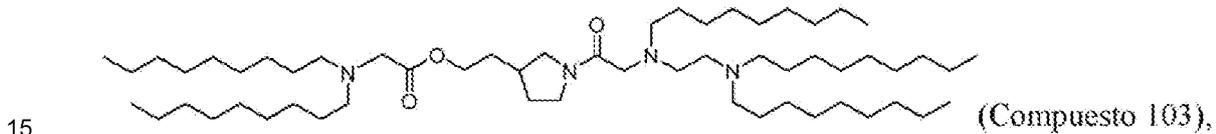
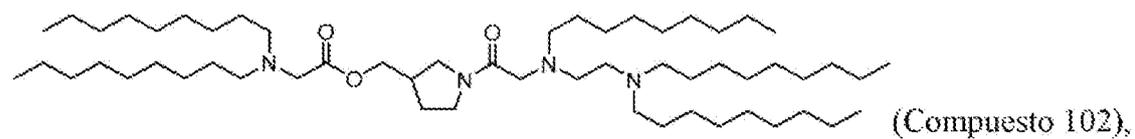
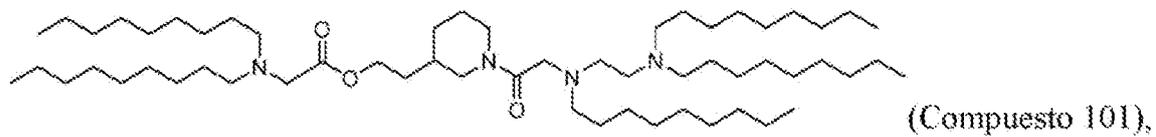
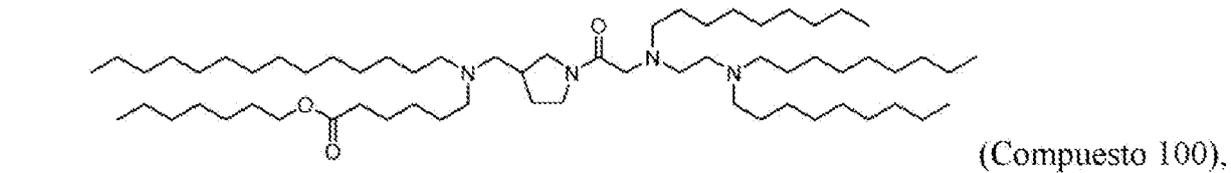
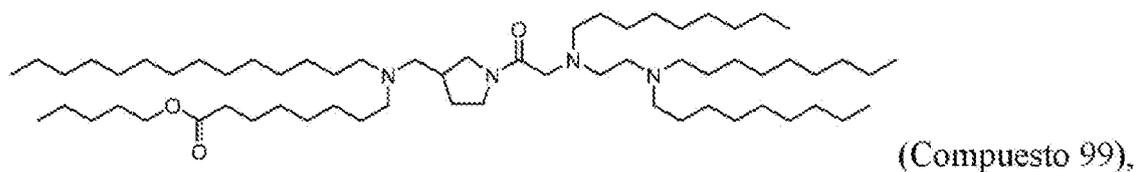
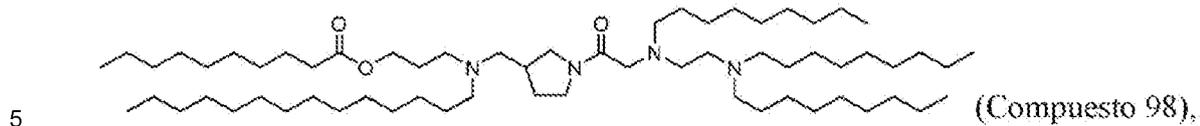
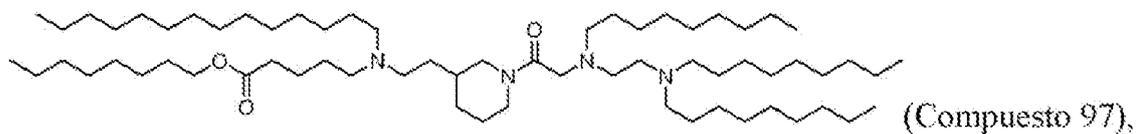
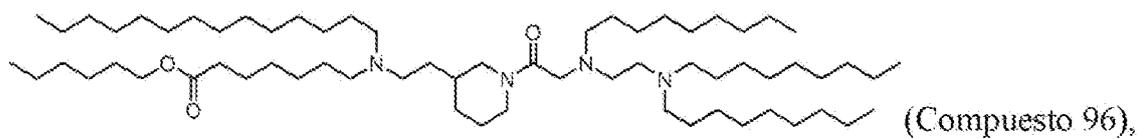


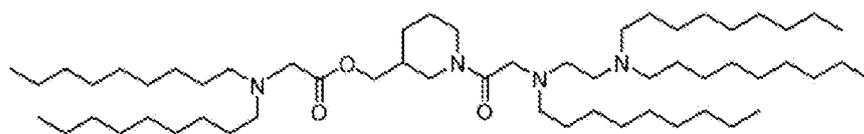
(Compuesto 94),



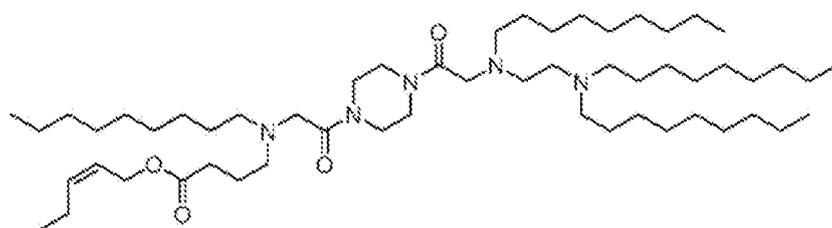
15

(Compuesto 95),

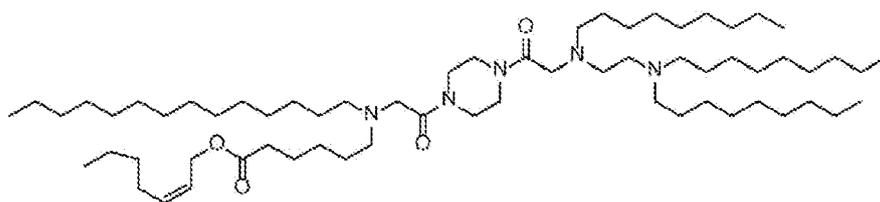




(Compuesto 106),



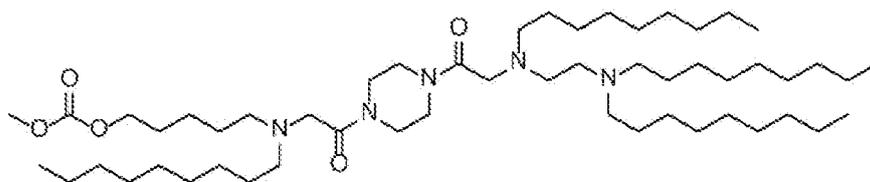
(Compuesto 107),



(Compuesto 108),

5

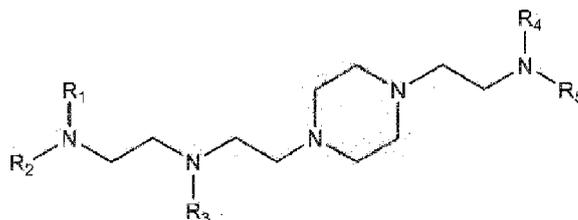
y



(Compuesto 109),

10

En algunos ejemplos, el compuesto es de fórmula (IIa):



(IIa).

15 Los compuestos de Fórmula (II) o (IIa) incluyen una o más de las siguientes características cuando corresponda.

En algunos ejemplos, Z es CH₂.

20 En algunos ejemplos, Z está ausente.

En algunos ejemplos, al menos uno de A₁ y A₂ es N.

En algunos ejemplos, cada uno de A₁ y A₂ es N.

25

En algunos ejemplos, cada uno de A₁ y A₂ es CH.

En algunos ejemplos, A₁ es N y A₂ es CH.

30 En algunos ejemplos, A₁ es CH y A₂ es N.

En algunos ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales y no son alquilo C₁₂, alquilo C₁₈ o alqueno C₁₈. En algunos ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales y son alquilo C₉ o alquilo C₁₄.

En algunos ejemplos, solo uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se selecciona de entre alqueno C₆₋₂₀. En determinados ejemplos de este tipo, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen el mismo número de átomos de carbono. En algunos ejemplos, R₄ se selecciona de entre alqueno C₅₋₂₀. Por ejemplo, R₄ puede ser alqueno C₁₂ o alqueno C₁₈.

5

En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen un número diferente de átomos de carbono que al menos otro de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅.

10

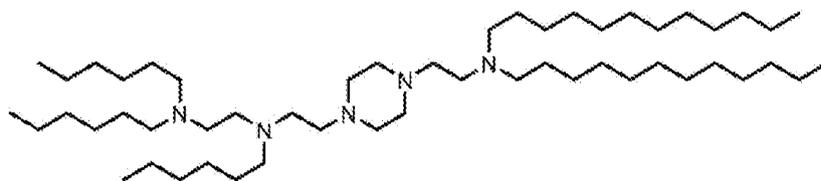
En determinados ejemplos, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀. En otros ejemplos, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alqueno C₆₋₂₀. En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃ tienen el mismo número de átomos de carbono, y/o R₄ y R₅ tienen el mismo número de átomos de carbono. Por ejemplo, R₁, R₂ y R₃, o R₄ y R₅, pueden tener 6, 8, 9, 12, 14 o 18 átomos de carbono. En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃, o R₄ y R₅, son alqueno C₁₈ (por ejemplo, linoleilo). En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃, o R₄ y R₅, son grupos alquilo que incluyen 6, 8, 9, 12 o 14 átomos de carbono.

15

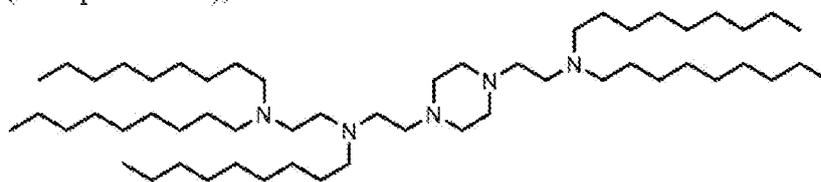
En algunos ejemplos, R₁ tiene un número diferente de átomos de carbono que R₂, R₃, R₄ y R₅. En otros ejemplos, R₃ tiene un número diferente de átomos de carbono que R₁, R₂, R₄ y R₅. En ejemplos adicionales, R₄ tiene un número diferente de átomos de carbono que R₁, R₂, R₃, y R₅.

20

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

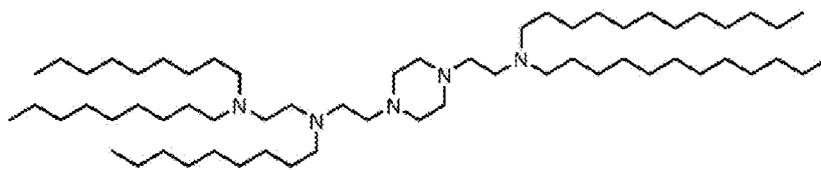


(Compuesto 17),

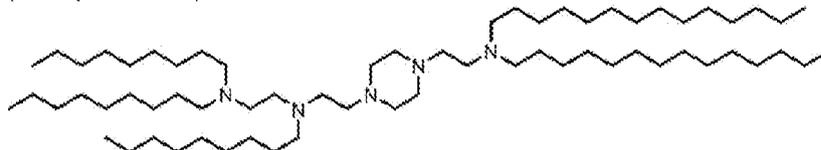


(Compuesto 18),

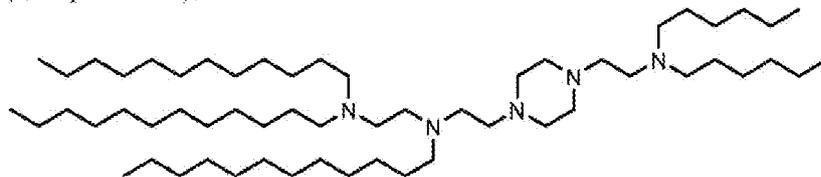
25



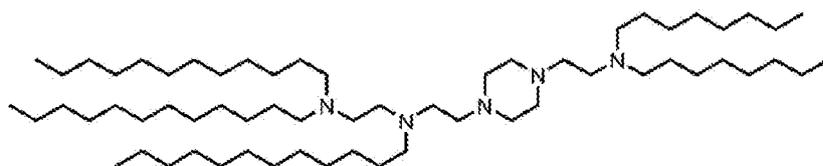
(Compuesto 19),



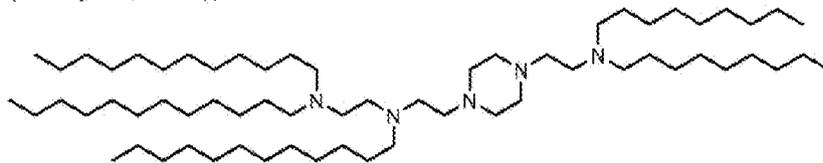
(Compuesto 20),



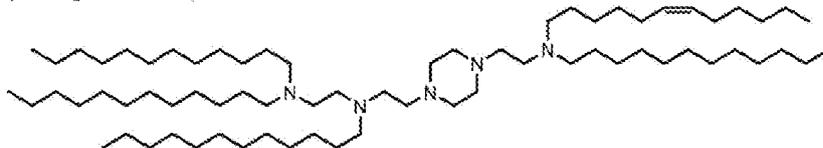
(Compuesto 21),



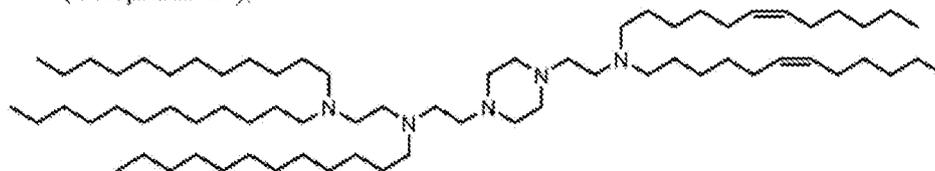
(Compuesto 22),



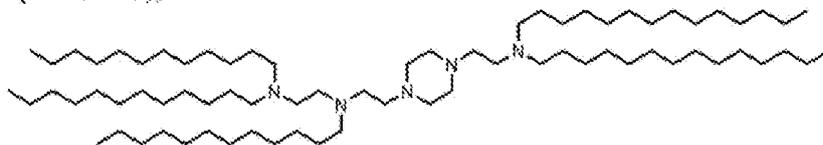
(Compuesto 23),



(Compuesto 24),

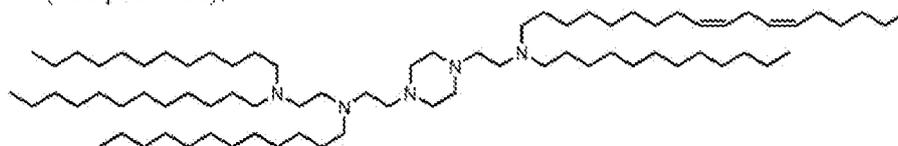


(Compuesto 25),

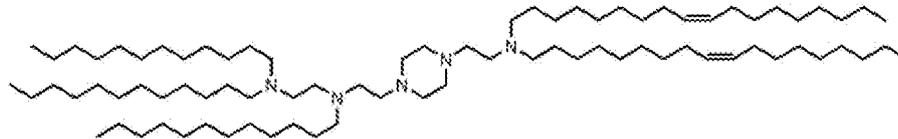


(Compuesto 26),

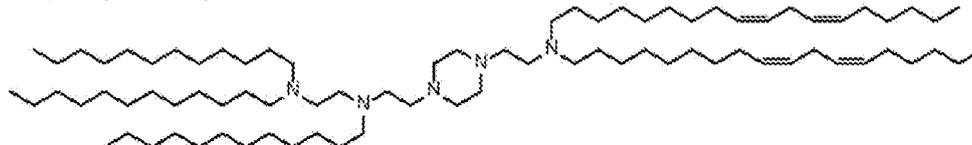
5



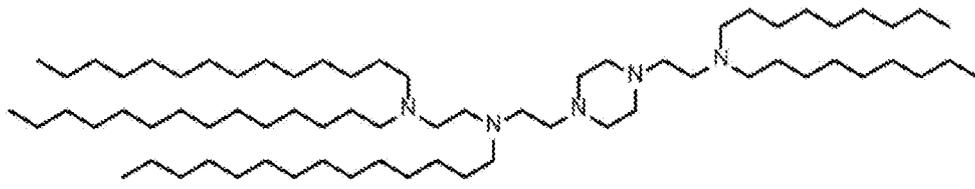
(Compuesto 27),



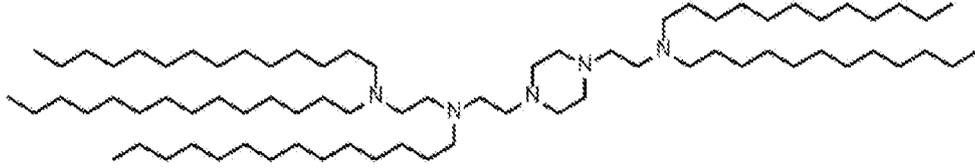
(Compuesto 28),



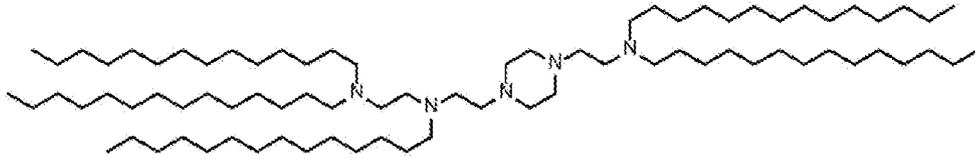
(Compuesto 29),



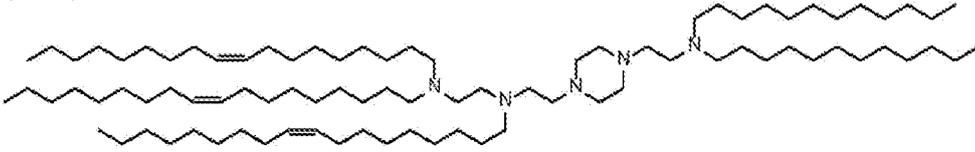
(Compuesto 30),



(Compuesto 31),



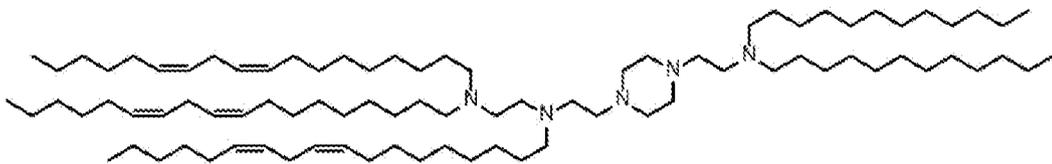
(Compuesto 32),



(Compuesto 33),

5

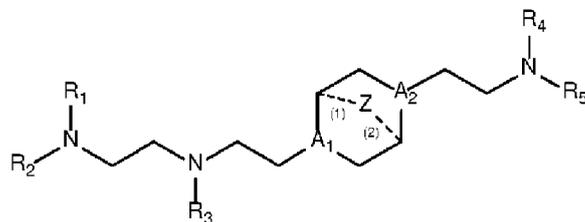
y



(Compuesto 34).

10

También se describe en esta invención un lípido de fórmula (II),



(II),

15

o una sal o isómero del mismo, donde

cada uno de A₁ y A₂ se seleccionan independientemente de entre CH o N y al menos uno de A₁ y A₂ es N;

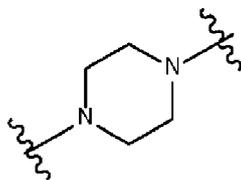
20

Z es CH₂ o está ausente cuando Z es CH₂, cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₆₋₂₀ y alqueno C₆₋₂₀;

25

donde cuando el anillo A es



5 entonces

i) R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales, donde R₁ no es alquilo C₁₂, alquilo C₁₈ o alquenilo C₁₈;

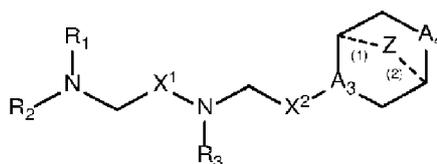
10 ii) solo uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se selecciona de entre alquenilo C₆₋₂₀;

iii) al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ tienen un número diferente de átomos de carbono que al menos otro de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅;

15 iv) R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alquenilo C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀; o

v) R₁, R₂ y R₃ se seleccionan de entre alquilo C₆₋₂₀, y R₄ y R₅ se seleccionan de entre alquenilo C₆₋₂₀.

También se describe un compuesto de fórmula (III)



(III).

20

o una sal o isómero del mismo, en el que

A₃ es CH o N;

25

A₄ es CH₂ o NH; y al menos uno de A₃ y A₄ es N o NH;

Z es CH₂ o está ausente donde cuando Z es CH₂, cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, las líneas discontinuas (1) y (2) están ambas ausentes;

30

R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀, alquenilo C₅₋₂₀, -R"MR', -R*YR", -YR" y -R'OR";

35

cada M se selecciona independientemente de entre -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR')O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

X¹ y X² se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en -CH₂-, -(CH₂)₂-, -CHR-, -CHY-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O-, -CH₂-OC(O)-, -CH(OH)-, -C(S)- y -CH(SH)-;

40

cada Y es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R* se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenilo C₂₋₁₂;

45

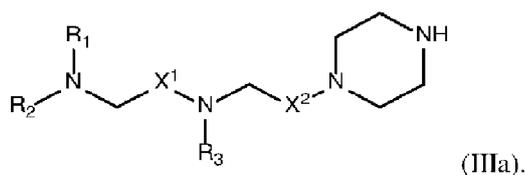
cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃ y un carbociclo C₃₋₆;

cada R' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; y

50

cada R" se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂.

En algunos ejemplos, el compuesto es de fórmula (IIIa):



Los compuestos de Fórmula (III) o (IIIa) incluyen una o más de las siguientes características cuando corresponda.

5

En algunos ejemplos, Z es CH₂.

En algunos ejemplos, Z está ausente.

10

En algunos ejemplos, al menos uno de A₃ y A₄ es N o NH.

En algunos ejemplos, A₃ es N y A₄ es NH.

En algunos ejemplos, A₃ es N y A₄ es CH₂.

15

En algunos ejemplos, A₃ es CH y A₄ es NH.

En algunos ejemplos, al menos uno de X¹ y X² no es -CH₂-. Por ejemplo, en determinados ejemplos, X¹ no es -CH₂-. En algunos ejemplos, al menos uno de X¹ y X² es -C(O)-.

20

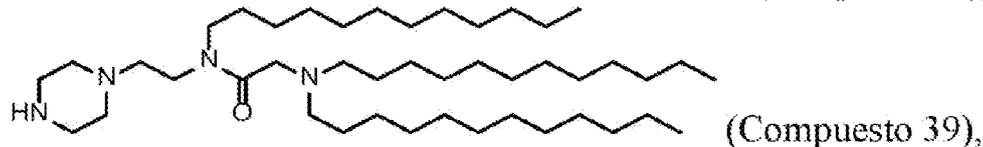
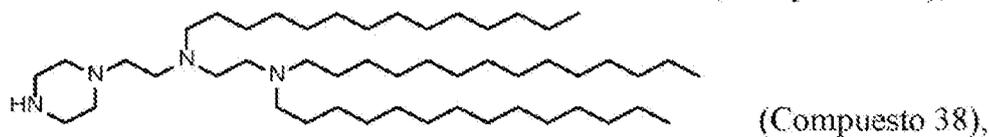
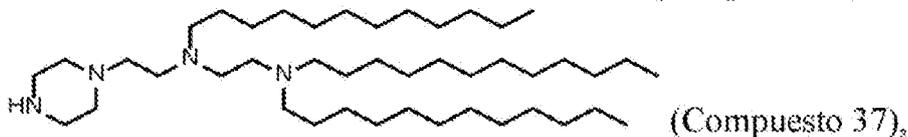
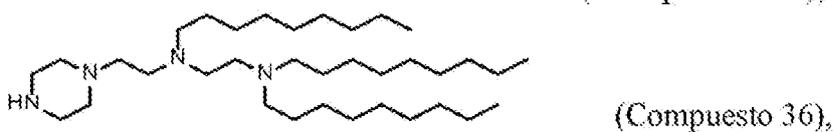
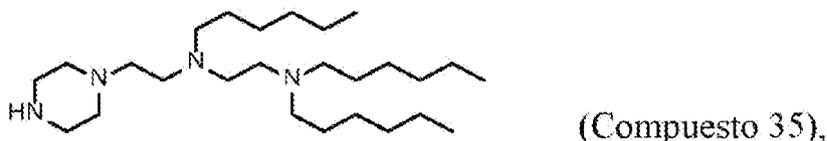
En algunos ejemplos, X² es -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O- o -CH₂-OC(O)-.

En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀ y alqueniilo C₅₋₂₀. En algunos ejemplos, R₁, R₂ y R₃ son iguales. En determinados ejemplos R₁, R₂ y R₃ son alquilo C₆, C₉, C₁₂ o C₁₄. En otros ejemplos, R₁, R₂ y R₃ son alqueniilo C₁₈. Por ejemplo, R₁, R₂ y R₃ pueden ser linoleilo.

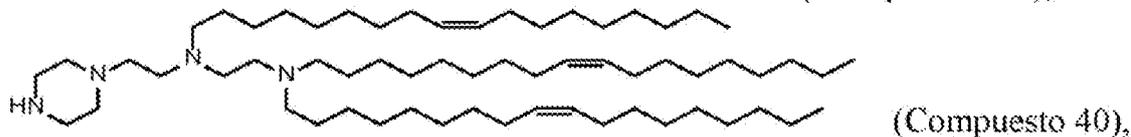
25

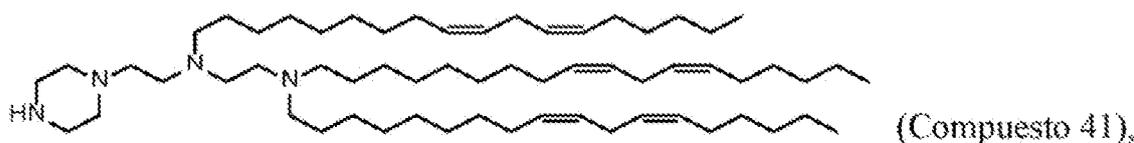
En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

30

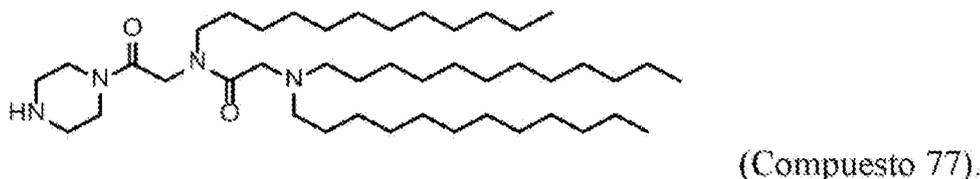


35



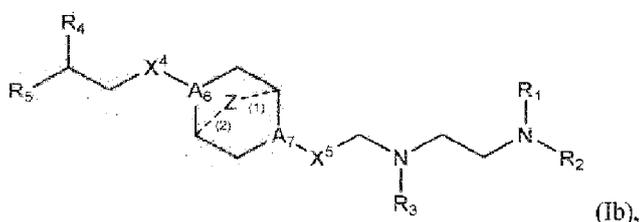


y



5

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto según la fórmula (Ib):



10

o una sal o isómero del mismo, en el que

cada uno de A₆ y A₇ se seleccionan independientemente de entre CH o N, donde al menos uno de A₆ y A₇ es N;

15

Z es CH₂ o está ausente cuando Z es CH₂, cada una de las líneas discontinuas (1) y (2) representan un enlace sencillo; y cuando Z está ausente, ambas líneas discontinuas (1) y (2) están ausentes;

20

X⁴ y X⁵ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en -CH₂-, -(CH₂)₂-, -CHR-, -CHY-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)-, -C(O)O-CH₂-, -OC(O)-CH₂-, -CH₂-C(O)O-, -CH₂-OC(O)-, -CH(OH)-, -C(S)- y -CH(SH)-;

25

cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀, alquenido C₅₋₂₀, -R^{''}MR', -R^{''}YR'', -YR'' y -R^{*}OR'';

30

cada M se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R')-, -N(R')C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR')O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

35

cada Y es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R^{*} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenido C₂₋₁₂;

cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃ y un carbociclo C₃₋₆;

cada R' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenido C₂₋₁₂ y H;

cada R'' se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenido C₃₋₁₂.

40

En algunas realizaciones, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₆₋₂₀ y alquenido C₆₋₂₀.

45

En algunos ejemplos, R₁ y R₂ son iguales. En determinados ejemplos, R₁, R₂ y R₃ son iguales. En algunos ejemplos, R₄ y R₅ son iguales. En determinados ejemplos, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son iguales.

En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es alquilo C₉₋₁₂. En determinados ejemplos, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ independientemente es alquilo C₉, C₁₂ o C₁₄. En determinados ejemplos, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es alquilo C₉.

ES 2 913 626 T5

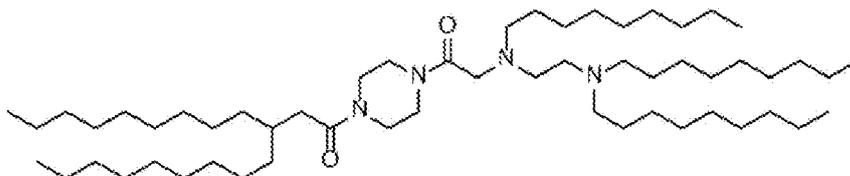
En algunos ejemplos, A₆ es N y A₇ es N. En algunos ejemplos, A₆ es CH y A₇ es N.

5 En algunos ejemplos, X⁴ es -CH₂- y X⁵ es -C(O)-. En algunos ejemplos, X⁴ y X⁵ son -C(O)-.

En algunos ejemplos, cuando A₆ es N y A₇ es N, al menos uno de X⁴ y X³ no es -CH₂-, por ejemplo, al menos uno de X⁴ y X⁵ es -C(O)-. En algunos ejemplos, cuando A₆ es N y A₇ es N, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ es -R''MR'.

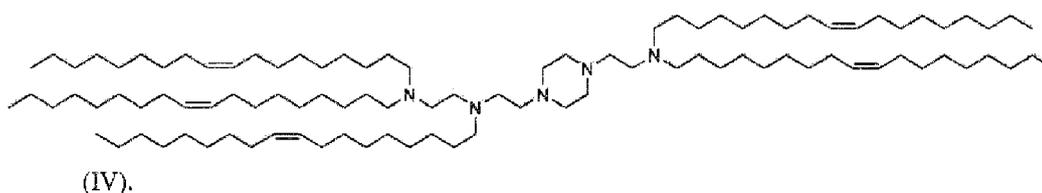
10 En algunos ejemplos, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ no es -R''MR'.

En algunas realizaciones, el compuesto es

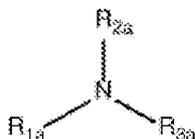


(Compuesto 67).

15 En un ejemplo, el compuesto tiene la fórmula (IV)



20 La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (17-1)



(17-1).

25 o una sal o isómero del mismo, donde R_{1a} es -(CH₂)_nQ^a, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_nN(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

30 cada uno de R_{2a} y R_{3a} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₂₄, alqueno C₃₋₂₄, -R^aY^aR^a, -Y^aR^a y -R^aOR^a;

35 cada Y^a es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R^{a*} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alqueno C₁₋₁₂;

40 cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alqueno C₂₋₃ y H; y

45 cada R^a se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alqueno C₃₋₁₂;

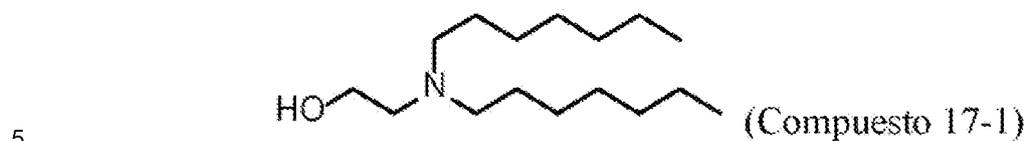
donde R_{2a} incluye 7 o menos átomos de carbono.

En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otras realizaciones, R^a es -CH₃.

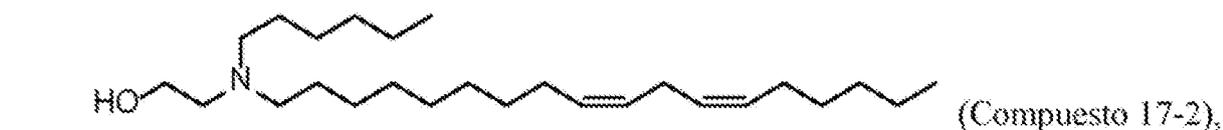
En algunos ejemplos, n^a es 1. En otras realizaciones, n^a es 2. En otros ejemplos, n es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

En algunos ejemplos, R_{3a} incluye 7 o menos átomos de carbono.

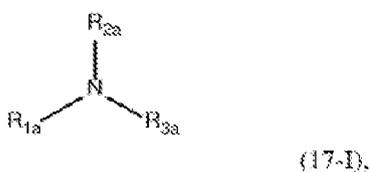
En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:



y



La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (17-I)



15 o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1a} es -(CH₂)^{n^a}Q^a, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_{n^a}N(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

20

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

R_{2a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquenilo C₈₋₂₄;

25

R_{3a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₈₋₂₄; y

cada R se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H.

30

En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es -CH₃.

30

En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

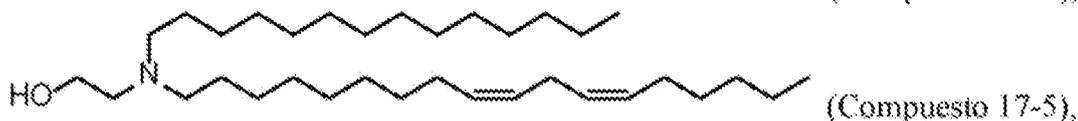
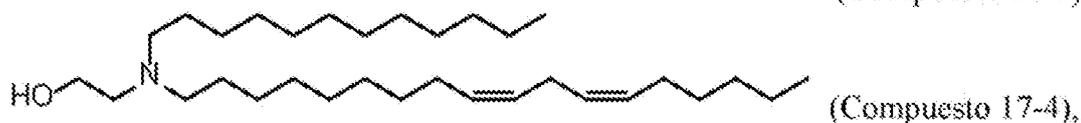
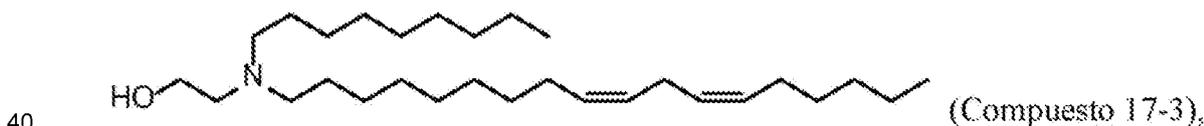
35

En algunos ejemplos, R_{3a} es un alquilo que incluye 9, 12, 14 o 18 átomos de carbono.

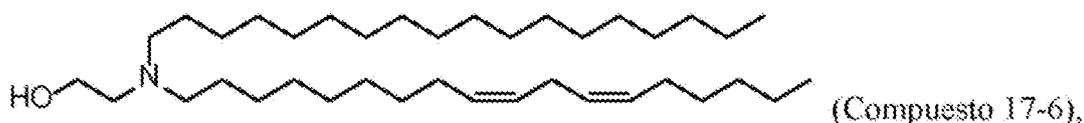
35

En algunos ejemplos, R_{2a} es alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo).

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

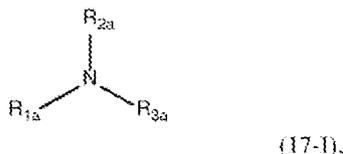


y



5

La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (17-1)



10 o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1a} es $-(CH_2)_n^a Q^a$, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_{na}N(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

15

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

R_{2a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₃₋₂₀;

20

R_{3a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₈₋₂₀; y

cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H.

En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otras realizaciones, R^a es -CH₃.

25

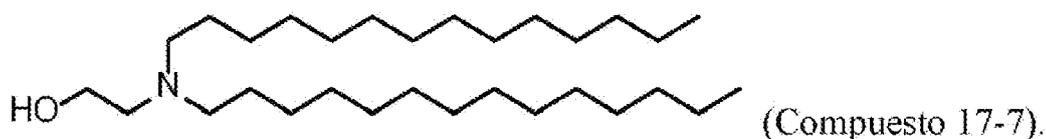
En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

En algunos ejemplos, R_{2a} y R_{3a} son iguales.

30

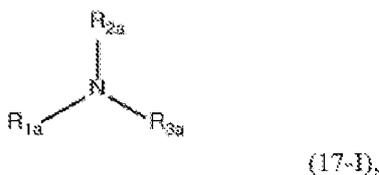
En algunos ejemplos, R_{2a} y/o R_{3a} es alquilo C₁₄.

En algunos ejemplos, el compuesto es



35

La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (17-1)



40

o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1a} es $-(CH_2)_n^a Q^a$, donde Q^a es -OR^a, R^a se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H, y n^a se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5; y

45

cada uno de R_{2a} y R_{3a} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquenilo C₈₋₂₀, donde

iii) R^a se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃ y alquenilo C₂₋₃; o

iv) R_{1a} es -(CH₂)₂OH, y cada uno de R_{2a} y R_{3a} incluyen uno o menos enlaces dobles.

5

En algunos ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es -CH₃.

En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n^a es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

10

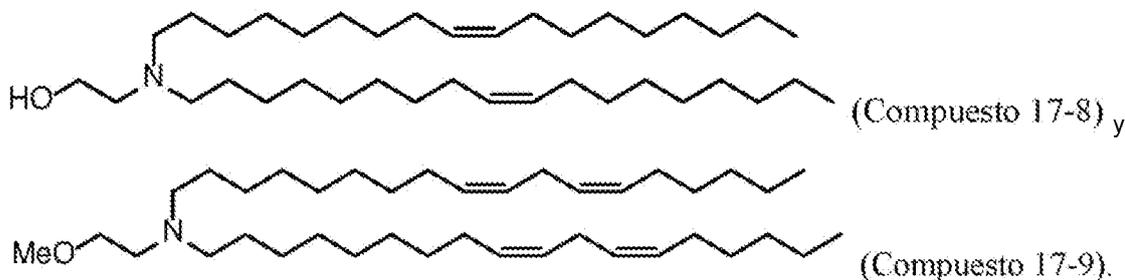
En determinados ejemplos, R_{1a} es -(CH₂)₂OCH₃. En otros ejemplos, R_{1a} es -(CH₂)₂OH.

En algunos ejemplos, R_{2a} es alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo). En determinados ejemplos, R_{3a} es alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo).

15

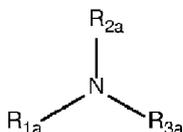
En algunos ejemplos, R_{2a} y R_{3a} son iguales.

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:



La descripción también proporciona un compuesto de fórmula (17-1)

25



(17-I),

o una sal o isómero del mismo, donde

30 R_{1a} es -(CH₂)_n^aQ^a, donde Q^a se selecciona de entre un heterociclo, -OR^a, -O(CH₂)_{na}N(R^a)₂, -C(O)OR^a, -OC(O)R^a, -CX^a₃, -CX^a₂H, -CX^aH₂, -CN, -N(R^a)₂, -C(O)N(R^a)₂, -N(R^a)C(O)R^a y -N(R^a)S(O)₂R^a y cada n^a se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

cada X^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

35

R_{2a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₈₋₁₂;

R_{3a} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₈₋₂₀; y

40 cada R^a se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H.

En algunos ejemplos, Q^a es -OR^a. En determinados ejemplos, R^a es H. En otros ejemplos, R^a es -CH₃.

En algunos ejemplos, n^a es 1. En otros ejemplos, n^a es 2. En otros ejemplos, n es 3. En otros ejemplos, n^a es 4. En algunos ejemplos, n^a es 5.

45

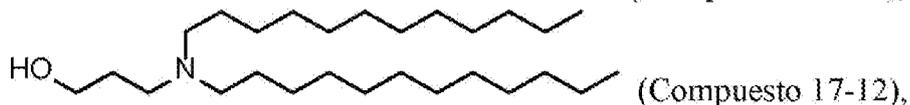
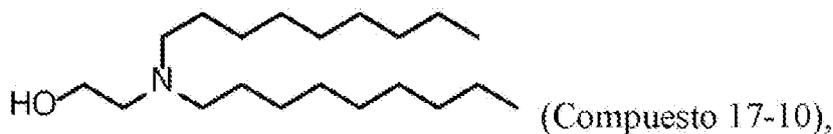
En determinados ejemplos, Q^a es -OR^a y n^a se selecciona de entre 2, 3 y 4.

En algunos ejemplos, R_{2a} es alquilo C₉. En otros ejemplos, R_{2a} es alquilo C₁₂.

50

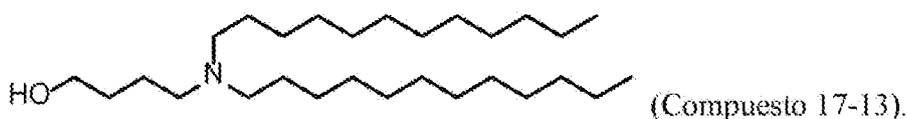
En algunos ejemplos, R_{2a} y R_{3a} son iguales.

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

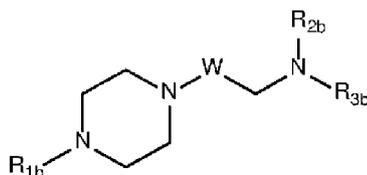


5

y



10 La descripción también proporciona un compuesto que tiene la fórmula (19-1),



(19-1),

o una sal o isómero del mismo, donde

15

R_{1b} se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-5} , alquenilo C_{2-5} , $-R^{b''}M^bR^{b'}$, un carbociclo C_{3-6} , $-(CH_2)_nQ^b$ y $-(CH_2)_nCHQ^bR^b$, donde Q^b se selecciona de entre un heterociclo, $-OR^b$, $-O(CH_2)_nN(R^b)_2$, $-C(O)OR^b$, $-OC(O)R^b$, $-CX^b_3$, $-CX^b_2H$, $-CX^bH_2$, $-CN$, $-N(R^b)_2$, $-C(O)N(R^b)_2$, $-N(R^b)C(O)R^b$ y $-N(R^b)S(O)_2R^b$ y cada n se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

20

R_{2b} y R_{3b} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-20} , alquenilo C_{2-20} , $-R^{b''}MR^b$, $-R^{b''}YR^{b''}$, $-YR^{b''}$ y $-R^{b''}OR^{b''}$;

25

cada M^b se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en $-C(O)O-$, $-OC(O)-$, $-C(O)N(R^b)-$, $-N(R^b)C(O)-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(S)S-$, $-SC(S)-$, $-CH(OH)-$, $-P(O)(OR^b)O-$, $-S(O)_2-$, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

W se selecciona de entre el grupo que consiste en $-CH_2-$, $-CHR^b-$, $-C(O)-$, $-CH(OH)-$, $-C(S)-$ y $-CH(SH)-$;

30

cada X^b se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

cada Y^b es independientemente un carbociclo C_{3-6} ;

35

cada $R^{b'}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} y alquenilo C_{1-12} ;

cada R^b se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , un carbociclo C_{3-6} , alquenilo C_{2-3} y H;

40

cada $R^{b''}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} y H;

cada $R^{b''}$ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{3-12} y alquenilo C_{3-12} .

45

En algunos ejemplos, W no es $-CH_2-$, por ejemplo, W es $-C(O)-$.

En algunos ejemplos, al menos uno de R_{2b} y R_{3b} es $-R^{b''}M^bR^{b'}$. En determinados ejemplos, al menos un M^b es

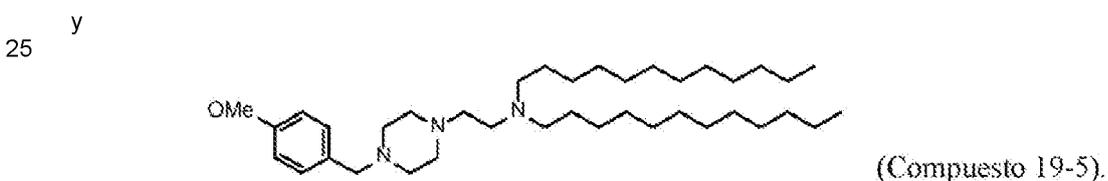
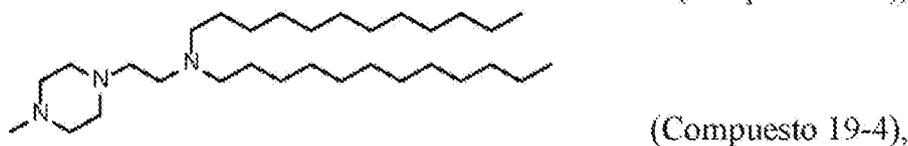
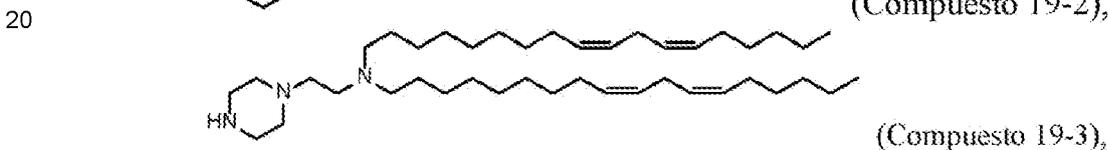
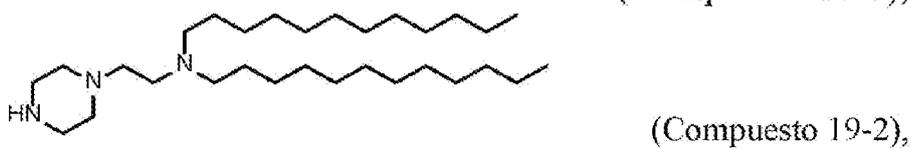
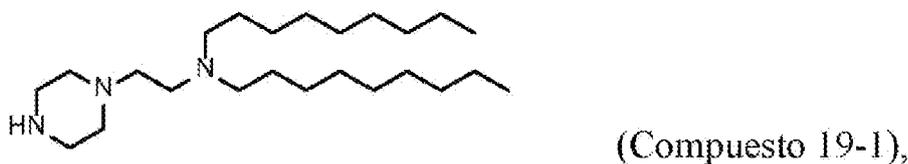
-C(O)O-. En algunos ejemplos, al menos un R^{b'} es alquilo C₅. En determinados ejemplos, al menos un R^{b'} es alquilo C₅.

5 En algunos ejemplos, R_{2b} y/o R_{3b} se seleccionan de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀. Por ejemplo, R_{2b} y/o R_{3b} pueden ser grupos alquilo que incluyen 9 o 12 átomos de carbono. En otros ejemplos, R_{2b} y/o R_{3b} se seleccionan de entre el grupo que consiste en alqueno C₂₋₂₀. Por ejemplo, R_{2b} y/o R_{3b} pueden ser grupos alqueno que incluyen 18 átomos de carbono (por ejemplo, grupos linoleilo). En determinados ejemplos, R_{2b} y R_{3b} son iguales.

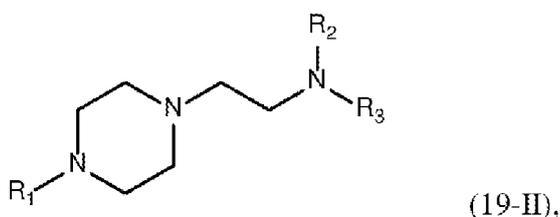
10 En algunos ejemplos, R_{1b} es H, mientras que en otros ejemplos, R_{1b} se selecciona de entre alquilo C₁₋₅. Por ejemplo, R_{1b} puede ser alquilo C₁.

15 En determinados ejemplos, R_{1b} es -(CH₂)_nQ^b. En dichos ejemplos, Q^b es un heterociclo tal como un grupo fenilo. Por ejemplo, Q^b puede ser un grupo fenilo con uno o más sustituyentes, tal como se describe en esta invención.

En determinados ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:



En otros ejemplos, los lípidos son compuestos de fórmula (19-II)



30 o una sal o isómero de los mismos, donde

35 R_{1b} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₆₋₂₀; y

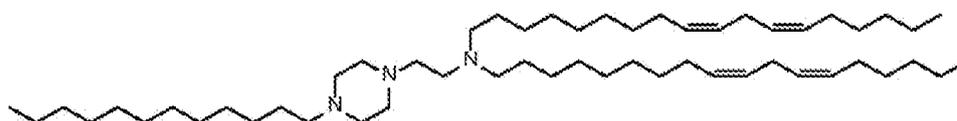
R_{2b} y R_{3b} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alqueno C₆₋₂₀.

En ejemplos particulares, R_{1b} es alquilo C₁₂.

En algunos ejemplos, R_{2b} y/o R_{3b} son alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo).

5 En determinados ejemplos, R_{2b} y R_{3b} son ambos linoleilo.

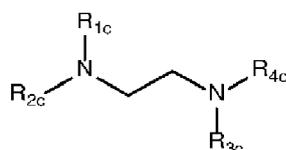
En un ejemplo, el compuesto es



(Compuesto 19-6).

10

Los lípidos pueden ser compuestos de fórmula (20-1),



(20-I),

15 o una sal o isómero de los mismos, donde

R_{1c}, se selecciona de entre el grupo que consiste en un carbociclo C₃₋₆, -(CH₂)_{nc}Q^c, -(CH₂)_{nc}CHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre un heterociclo, -OR^c, -O(CH₂)_{nc}N(R^c)₂, -C(O)OR^c, -OC(O)R^c, -CX^c₃, -CX^c₂H, -CX^cH₂, -CN, -N(R^c)₂, -C(O)N(R^c)₂, -N(R^c)C(O)R^c y -N(R^c)S(O)₂R^c y cada n^c se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

20

R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alquenilo C₂₋₂₀, -R^oM^cR^o, -R^cY^cR^o, -Y^cR^o y -R^cOR^o;

25 cada M^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R^o)-, -N(R^o)C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR^o)O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo;

30

cada X^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en F, Cl, Br e I;

cada Y^c es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenilo C₁₋₁₂;

35

cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H;

cada R^o se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; y

40

cada R^o se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂,

donde

45 i) R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en un carbociclo C₃₋₆, -(CH₂)_{nc}Q^c, -(CH₂)_{nc}CHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre un heterociclo, -O(CH₂)_{nc}N(R^c)₂, -C(O)OR^c, -OC(O)R^c, -CX^c₃, -CX^c₂H, -CX^cH₂, -C(O)N(R^c)₂, -N(R^c)C(O)R^c y -N(R^c)S(O)₂R^c y cada n^c se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5; y/o

50

ii) al menos uno de R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} es -R^oM^cR^o.

55 En algunos ejemplos, R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en -(CH₂)_nQ^c, -(CH₂)_{nc}CHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre un heterociclo, -O(CH₂)_{nc}N(R^c)₂, -C(O)OR^c, -OC(O)R^c, -CX^c₃, -CX^c₂H, -CX^cH₂, -CN, -C(O)N(R^c)₂, -N(R^c)C(O)R^c y -N(R^c)S(O)₂R^c y cada n se selecciona independientemente de entre 1, 2, 3, 4 y 5. En determinados ejemplos, R_{1c} es -(CH₂)_{nc}Q^c. En algunos ejemplos, n^c es 2. En algunos ejemplos, Q^c es -C(O)OR^c, donde R^c es, por ejemplo, H.

5 En algunos ejemplos, al menos uno de R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} es -R^{o'}M^oR^{o'}. Por ejemplo, R_{2c}, R_{3c} y/o R_{4c} pueden ser -R^{o'}M^oR^{o'}. En algunos ejemplos, al menos un M^o es -C(O)O-. En determinados ejemplos, cada M^o es -C(O)O-. En algunos ejemplos, al menos un R^{o'} es alquilo C₅ o C₇. En determinados ejemplos, cada R^{o'} es alquilo C₅. En otros ejemplos, cada R^{o'} es alquilo C₇. En algunos ejemplos, al menos un R^{o'} es alquilo C₅, C₇ o C₉. En determinados ejemplos, cada R^{o'} es alquilo C₅. En otros ejemplos, cada R^{o'} es alquilo C₇. En otros ejemplos, cada R^{o'} es alquilo C₉. En algunos ejemplos, R^{o'} está ramificado.

10 En algunos ejemplos, R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} se seleccionan de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀. En determinados ejemplos, R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} son alquilo C₁₂.

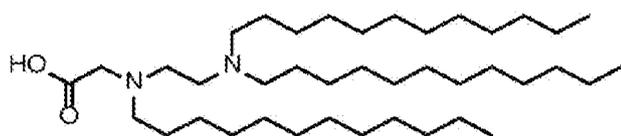
En algunos ejemplos, R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀ y alqueno C₅₋₂₀. Por ejemplo, R_{2c} puede ser alquilo C₁₂.

15 En algunos ejemplos, R_{3c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀ y alqueno C₅₋₂₀. Por ejemplo, R_{3c} puede ser alquilo C₆, C₉ o C₁₂.

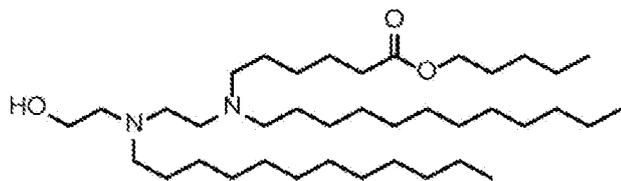
En algunos ejemplos, R_{4c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₅₋₂₀ y alqueno C₅₋₂₀. Por ejemplo, R_{4c} puede ser alquilo C₆, C₉ o C₁₂.

20 En algunos ejemplos, R_{3c} y R_{4c} son iguales.

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

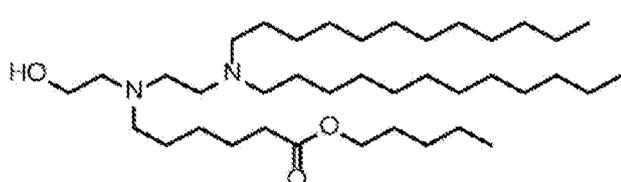


(Compuesto 20-1),

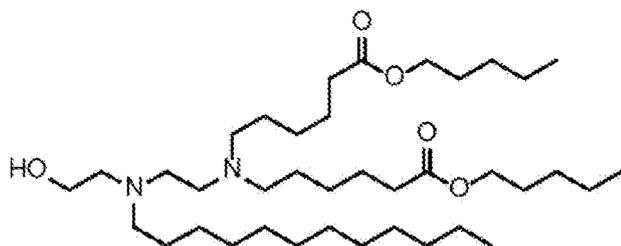


25

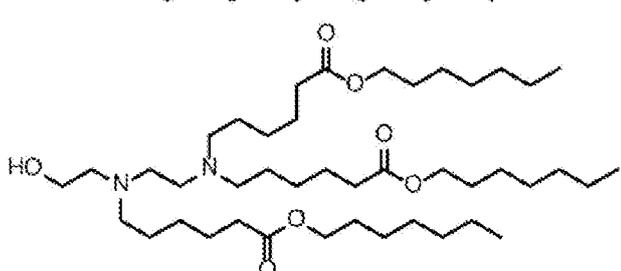
(Compuesto 20-2),



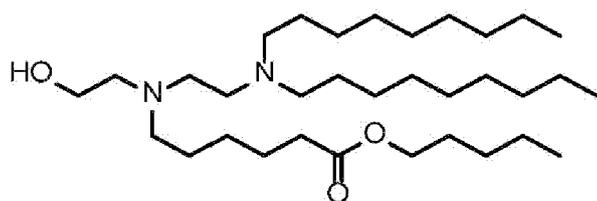
(Compuesto 20-3),



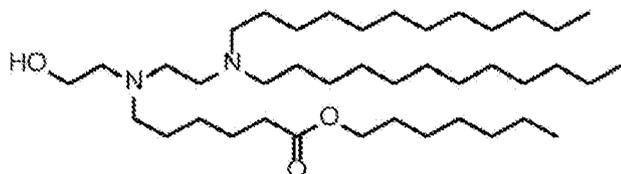
(Compuesto 20-4),



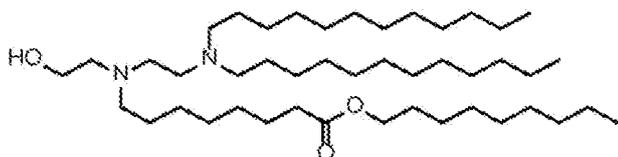
(Compuesto 20-5),



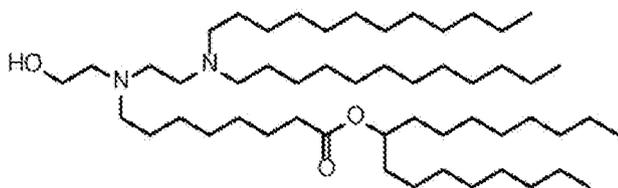
(Compuesto 20-6),



(Compuesto 20-7),



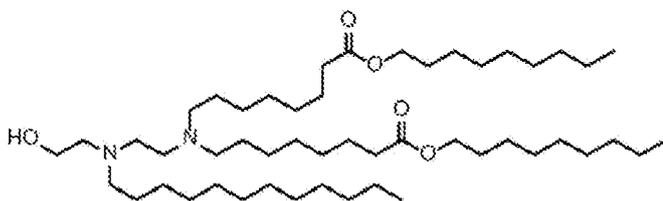
(Compuesto 20-8),



(Compuesto 20-9),

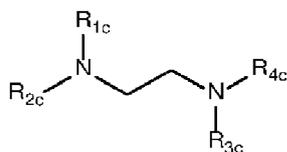
5

y



(Compuesto 20-10).

10 En otros ejemplos, el lípido es un compuesto según la fórmula (20-1)



(20-I),

o una sal o isómero del mismo, donde

15

R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en $-(CH_2)_{nc}Q^c$, $-(CH_2)_{nc}CHQ^cR^c$, $-CHQ^cR^c$ y $-CQ^c(R^c)_2$, donde Q^c se selecciona de entre $-OR^c$, $-CN$ y $-N(R^c)_2$, y n^c se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

20

R_{2c} y R_{3c} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{6-20} y alqueno C_{6-20} ;

R_{4c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C_{13-20} y alqueno C_{5-20} ; y

cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C_{1-3} , alqueno C_{2-3} y H.

25

En algunos ejemplos, R_{3c} es alquilo C_{14} .

En algunos ejemplos, R_{4c} es alquilo C_{14} .

En algunos ejemplos, R_{3c} es alqueno C_{18} . Por ejemplo, R_{3c} puede ser linoleilo.

En algunos ejemplos, R_{4c} es alquenilo C₁₈. Por ejemplo, R_{4c} puede ser linoleilo.

5 En algunos ejemplos, R_{2c} es alquilo C₁₂. En otros ejemplos, R_{2c} es alquilo C₁₄. En algunos ejemplos, R_{2c} es alquenilo C₁₈. Por ejemplo, R_{2c} puede ser linoleilo.

En algunos ejemplos, R_{3c} y R_{4c} son iguales.

10 En algunos ejemplos, R_{1c} es -(CH₂)_nQ^c. En algunos ejemplos, Q^c es -OR^c. Por ejemplo, Q^c puede ser -OH. En algunos ejemplos, n^c es 2 o 3.

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:



(Compuesto 20-11),

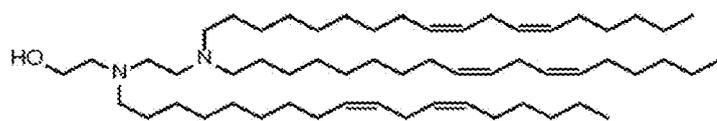


(Compuesto 20-12),



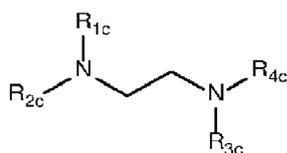
(Compuesto 20-13),

y



(Compuesto 20-14).

En otros ejemplos, el lípido es un compuesto que tiene la fórmula (20-1):



(20-1),

o una sal o isómero del mismo, donde

R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en -(CH₂)_nQ^c, -(CH₂)_nCHQ^cR^c, -CHQ^cR^c y -CQ^c(R^c)₂, donde Q^c se selecciona de entre -OR^c, -CN y -N(R^c)₂, y n^c se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

R_{2c}, R_{3c} y R_{4c} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₆₋₂₀ y alquenilo C₆₋₂₀; y cada R^c se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y H;

donde

i) R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₁ y alquenilo C₂₋₅, y/o

ii) R_{3c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₁ y alquenilo C₂₋₅.

En algunos ejemplos, R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₁ y alquenilo C₂₋₅. Por ejemplo, R_{2c} puede ser alquilo C₆ o C₉.

En algunos ejemplos, R_{3c} se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₁ y alquenilo C₂₋₅. Por

ejemplo, R_{3c} puede ser alquilo C₆ o C₉.

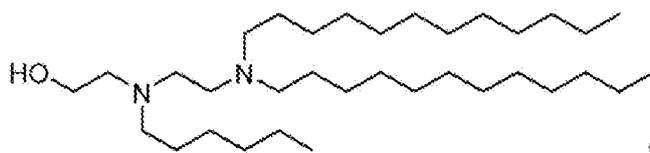
En algunos ejemplos, R_{3c} es alquilo C₁₂.

5 En algunos ejemplos, R_{2c} es alquilo C₁₂.

En algunos ejemplos, R_{4c} es alquilo C₆, C₉ o C₁₂.

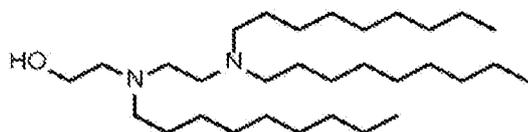
10 En algunos ejemplos, R_{1c} es -(CH₂)_nQ[°]. En determinados ejemplos, Q[°] es -OR[°]. En algunos ejemplos, R[°] es H. En algunos ejemplos, n[°] es 2 o 3.

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

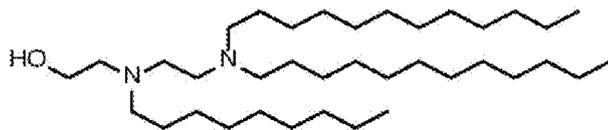


(Compuesto 20-15)

15



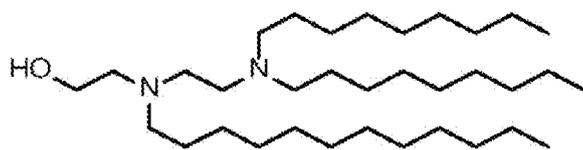
(Compuesto 20-16),



(Compuesto 20-17),

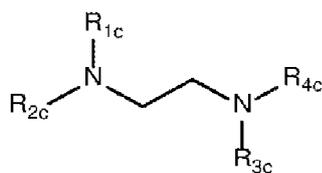
y

20



(Compuesto 20-18).

En otros ejemplos, el lípido es un compuesto según la fórmula (20-1)



(20-I).

25

o una sal o isómero del mismo, donde

30 R_{1c} se selecciona de entre el grupo que consiste en -(CH₂)_nQ[°], -(CH₂)_nCHQ[°]R[°], -CHQ[°]R[°] y -CQ[°](R[°])₂, donde Q[°] se selecciona de entre -OR[°], -CN y -N(R[°])₂, y n[°] se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

R_{2c} se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₂₋₂₀ y alqueno C₆₋₂₀;

R_{3c} y R_{4c} son alquilo C₁₂; y

35

cada R[°] se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, alqueno C₂₋₃ y H.

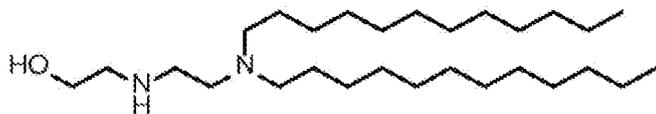
En algunos ejemplos, R_{2c} es H. En otros ejemplos, R_{2c} es alquilo o alqueno C₁₂. En algunos ejemplos, R_{2c} es alquilo C₁₄. En otros ejemplos, R_{2c} es alqueno C₁₈. Por ejemplo, R_{2c} puede ser linoleilo.

40

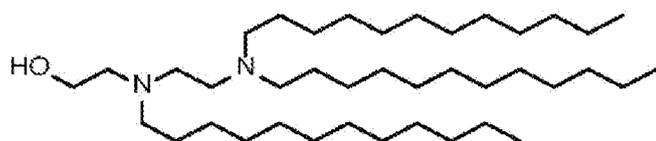
En algunas realizaciones, R_{1c} es $-(CH_2)_{nc}Q^c$. En determinados ejemplos, Q^c es $-OR^c$. Por ejemplo, Q^c puede ser OH. En algunos ejemplos, n^c es 2, 3 o 4.

En algunos ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

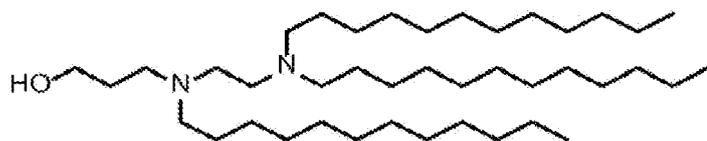
5



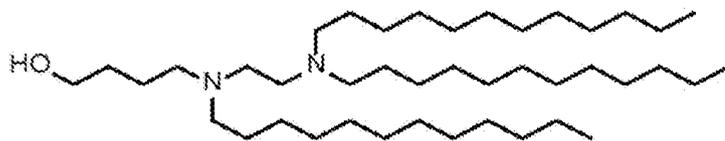
(Compuesto 20-19),



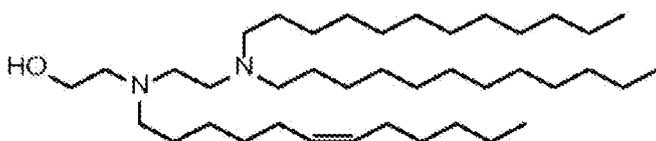
(Compuesto 20-20),



(Compuesto 20-21),



(Compuesto 20-22),



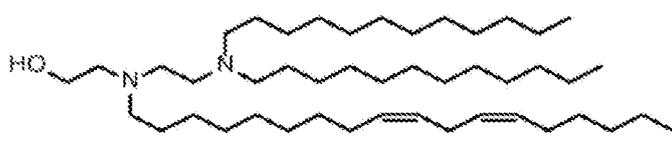
(Compuesto 20-23),

10



(Compuesto 20-24),

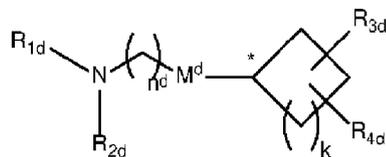
y



(Compuesto 20-25).

15

En otro ejemplo, los lípidos pueden ser compuestos de fórmula (21-1),



(21-1),

20

o una sal o isómero de los mismos, donde

R_{1d} y R_{2d} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-5} y alquenilo C_{2-5} ;

25

n^d se selecciona de entre 1, 2, 3, 4 y 5;

k se selecciona de entre 0, 1, 2 y 3;

R_{3d} y R_{4d} se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alquenilo C₂₋₂₀, -R^{di}M^dR^{di}, -R^dY^dR^{di}, -Y^dR^{di} y -R^dOR^{di};

5 cada M^d se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R^{di})-, -N(R^{di})C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR^{di})O- y -S(O)₂-, o está ausente;

cada R^{di} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; cada Y^d es independientemente un carbociclo C₃₋₆;

10 cada R^d se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂ y alquenilo C₁₋₁₂;

cada R^{di} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂ y H; y

15 cada R^{di} se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en alquilo C₃₋₁₂ y alquenilo C₃₋₁₂,

donde R_{3d} y R_{4d} están unidos a i) el mismo átomo de carbono o ii) átomos de carbono adyacentes.

20 En algunos ejemplos, R_{3d} y R_{4d} están unidos al mismo átomo de carbono. Por ejemplo, R_{3d} y R_{4d} pueden estar unidos a un átomo de carbono adyacente a C*. En determinados ejemplos, R_{3d} y R_{4d} no están unidos a un átomo de carbono adyacente a C*.

En otros ejemplos, R_{3d} y R_{4d} están unidos a átomos de carbono adyacentes. En determinados ejemplos, uno o ambos de R_{3d} y R_{4d} están unidos a átomos de carbono adyacentes a C*.

25

En algunos ejemplos, k es 0. En otros ejemplos, k es 1, 2 o 3.

En determinados ejemplos, M^d está ausente. En otros ejemplos, M^d se selecciona de entre el grupo que consiste en -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R^{di})-, -N(R^{di})C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR^{di})O- y -S(O)₂-. En dichos ejemplos en particular, M^d es -C(O)O-.

30

En algunos ejemplos, n^d es 1, 2 o 3.

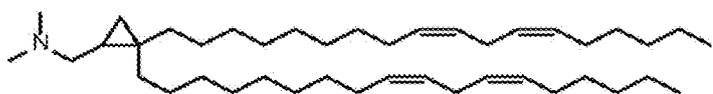
En algunos ejemplos, R_{1d} y/o R_{2d} se seleccionan de entre alquilo C₁₋₅. En determinados ejemplos, R_{1d} y/o R_{2d} son alquilo C₁.

35

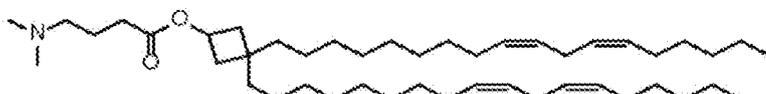
En determinados ejemplos, R_{3d} y/o R_{4d} se seleccionan de entre alquenilo C₂₋₂₀. En determinados ejemplos, R_{3d} y/o R_{4d} son grupos alquenilo que incluyen 17, 18 o 19 átomos de carbono. Por ejemplo, R_{3d} y/o R_{4d} pueden ser grupos alquenilo C₁₈ (por ejemplo, linoleilo).

40

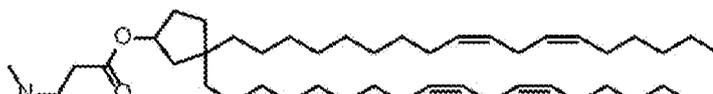
En determinados ejemplos, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:



(Compuesto 21-1),



(Compuesto 21-2),

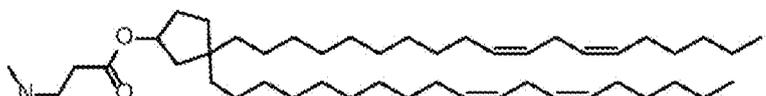


(Compuesto 21-3),

45

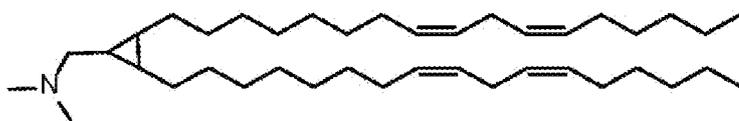


(Compuesto 21-4),



(Compuesto 21-5),

y



(Compuesto 21-6).

5

Como se usa en esta invención, el término "alquilo" o "grupo alquilo" significa un hidrocarburo saturado lineal o ramificado que incluye uno o más átomos de carbono (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, dieciséis, diecisiete, dieciocho, diecinueve, veinte o más átomos de carbono), que está opcionalmente sustituido. Por ejemplo, la notación "alquilo C₁₋₂₄" significa un hidrocarburo saturado lineal o ramificado opcionalmente sustituido que incluye 1-24 átomos de carbono. Un grupo alquilo descrito en esta invención se refiere tanto a un grupo alquilo no sustituido como sustituido a menos que se especifique lo contrario.

10

15

Como se usa en esta invención, el término "alqueno" o "grupo alqueno" significa un hidrocarburo lineal o ramificado que incluye dos o más átomos de carbono (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, dieciséis, diecisiete, dieciocho, diecinueve, veinte o más átomos de carbono) y al menos un enlace doble, que está opcionalmente sustituido. La notación "alqueno C₂₋₂₄" significa un hidrocarburo lineal o ramificado opcionalmente sustituido que incluye de 2 a 24 átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono. Un grupo alqueno puede incluir uno, dos, tres, cuatro o más dobles enlaces carbono-carbono. Por ejemplo, alqueno C₁₈ puede incluir uno o más dobles enlaces. Un grupo alqueno C₁₈ que incluye dos enlaces dobles puede ser un grupo linoleilo. Un grupo alqueno descrito en esta invención se refiere tanto a los no sustituidos como a los sustituidos a menos que se especifique lo contrario.

20

25

Como se usa en esta invención, el término "carbociclo" o "grupo carbocíclico" significa un sistema monocíclico o multicíclico opcionalmente sustituido que incluye uno o más anillos de átomos de carbono. Los anillos pueden ser anillos de tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce miembros. La notación "carbociclo C₃₋₆" significa un carbociclo que incluye un único anillo que tiene 3-6 átomos de carbono. Los carbociclos pueden incluir uno o más enlaces dobles o triples carbono-carbono y pueden ser no aromáticos o aromáticos (por ejemplo, grupos cicloalquilo o arilo). Los ejemplos de carbociclos incluyen grupos ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, fenilo, naftilo y 1,2-dihidronaftilo. Los carbociclos descritos en esta invención se refieren tanto a carbociclos no sustituidos como sustituidos a menos que se especifique lo contrario. El término "cicloalquilo", tal como se usa en esta invención, significa un carbociclo no aromático y puede incluir o no cualquier enlace doble o triple. A menos que se especifique lo contrario, los carbociclos descritos en esta invención se refieren tanto a grupos carbociclo no sustituidos como sustituidos, es decir, carbociclos opcionalmente sustituidos.

30

35

Como se usa en esta invención, el término "heterociclo" o "grupo heterocíclico" significa un sistema monocíclico o multicíclico opcionalmente sustituido que incluye uno o más anillos, donde al menos un anillo incluye al menos un heteroátomo. Los heteroátomos pueden ser, por ejemplo, átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los anillos pueden ser anillos de tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce miembros. Los heterociclos pueden incluir uno o más dobles o triples enlaces y pueden ser no aromáticos o aromáticos. Los ejemplos de heterociclos incluyen grupos imidazolilo, imidazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, tiazolilo, tiazolidinilo, pirazolidinilo, pirazolilo, isoxazolidinilo, isoxazolilo, isotiazolidinilo, isotiazolilo, morfolinilo, pirrolilo, pirrolidinilo, furilo, tetrahydrofurilo, tiofenilo, piridinilo, piperidinilo, quinolilo e isoquinolilo. Los heterociclos pueden estar opcionalmente sustituidos.

40

45

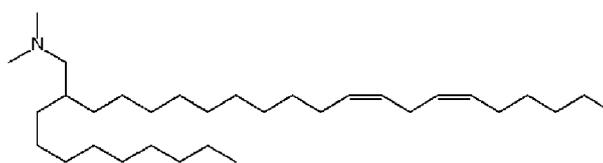
Como se usa en esta invención, un "grupo biodegradable" es un grupo que puede facilitar el metabolismo más rápido de un lípido en una entidad mamífera. Un grupo biodegradable puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en, pero sin limitarse a, -C(O)O-, -OC(O)-, -C(O)N(R)-, -N(R')C(O)-, -C(O)-, -C(S)-, -C(S)S-, -SC(S)-, -CH(OH)-, -P(O)(OR')O-, -S(O)₂-, un grupo arilo y un grupo heteroarilo. Como se usa en esta invención, un "grupo arilo" es un grupo carbocíclico que incluye uno o más anillos aromáticos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen grupos fenilo y naftilo. Como se usa en esta invención, un "grupo heteroarilo" es un grupo heterocíclico que incluye uno o más anillos aromáticos. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen pirrolilo, furilo, tiofenilo, imidazolilo, oxazolilo y tiazolilo. Los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Por ejemplo, cada M, M^b, M^c o M^d se pueden seleccionar independientemente de entre el grupo no limitativo que consiste en fenilo, oxazol y tiazol. En las fórmulas anteriores, M, M^b, M^c o M^d se pueden seleccionar independientemente de entre la lista de grupos biodegradables anterior.

50

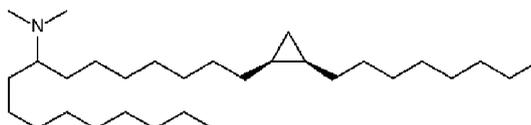
55

60

Los grupos alquilo, alqueno y ciclilo (por ejemplo, carbociclilo y heterociclilo) pueden estar opcionalmente sustituidos a menos que se especifique lo contrario. Los sustituyentes opcionales se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en, pero sin limitarse a, un átomo de halógeno (por ejemplo, un grupo cloruro, bromuro, fluoruro o yoduro), un ácido carboxílico (por ejemplo, -C(O)OH), un alcohol (por ejemplo, un hidroxilo,



(es decir, (12Z,15Z)-*N,N*-dimetil-2-nonilhenicososa-12,15-dien-1-amina) y



5

(es decir, *N,N*-dimetil-1-((1S,2R)-2-octilciclopropil)heptadecan-8-amina).

Además de estos, un lípido catiónico también puede ser un lípido que incluye un grupo amina cíclico. Los lípidos catiónicos y/o ionizables adicionales que son adecuados para las formulaciones y los procedimientos descritos en esta invención incluyen los descritos en los documentos WO2015199952, WO2016176330 y WO2015011633.

10

Lípidos PEG

El componente lipídico de una composición de nanopartículas puede incluir uno o más lípidos PEG o modificados con PEG. Dichas especies pueden denominarse alternativamente lípidos PEGilados. Un lípido PEG es un lípido modificado con polietilenglicol. Un lípido PEG se puede seleccionar de entre el grupo no limitativo que consiste en fosfatidiletanolaminas modificadas con PEG, ácidos fosfatídicos modificados con PEG, ceramidas modificadas con PEG, dialquilaminas modificadas con PEG, diacilglicerolos modificados con PEG, dialquiliglicerolos modificados con PEG y mezclas de los mismos. Por ejemplo, un lípido PEG puede ser PEG-c-DOMG, PEG-DMG, PEG-DLPE, PEG-DMPE, PEG-DPPC o un lípido PEG-DSPE.

15

20

Lípidos estructurales

El componente lipídico de una composición de nanopartículas puede incluir uno o más lípidos estructurales. Los lípidos estructurales se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en, pero sin limitarse a, colesterol, fecosterol, sitosterol, ergosterol, campesterol, estigmasterol, brasicasterol, tomatidina, tomatina, ácido ursólico, alfa-tocoferol y mezclas de los mismos. En determinadas realizaciones, el lípido estructural es colesterol. En algunas realizaciones, el lípido estructural incluye colesterol y un corticosteroide (tal como prednisolona, dexametasona, prednisona e hidrocortisona), o una combinación de los mismos.

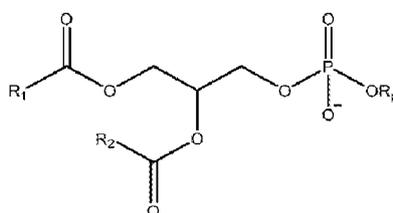
25

30

Fosfolípidos

El componente lipídico de una composición de nanopartículas puede incluir uno o más fosfolípidos, tales como uno o más lípidos (poli)insaturados. Los fosfolípidos pueden ensamblarse en una o más bicapas lipídicas. En general, los fosfolípidos pueden incluir un resto de fosfolípido y uno o más restos de ácidos grasos. Por ejemplo, un fosfolípido puede ser un lípido según la fórmula (V)

35



40

(V),

en la que R_p representa un resto de fosfolípido y R₁ y R₂ representan restos de ácidos grasos con o sin insaturación que pueden ser iguales o diferentes. Un resto de fosfolípido puede seleccionarse de entre el grupo no limitativo que consiste en fosfatidil colina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil glicerol, fosfatidil serina, ácido fosfatídico, 2-lisofosfatidil colina y una esfingomielina. Un resto de ácido graso puede seleccionarse de entre el grupo no limitativo que consiste en ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido erúcido, ácido fitánico, ácido araquídico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico, ácido behénico, ácido docosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. También se contemplan especies no naturales que incluyen especies naturales con modificaciones y sustituciones que incluyen ramificación, oxidación, ciclación y alquinos. Por ejemplo, un

50

fosfolípido puede funcionalizarse o reticularse con uno o más alquinos (por ejemplo, un grupo alqueno en el que uno o más dobles enlaces se reemplazan con un triple enlace). En condiciones de reacción adecuadas, un grupo alquino puede someterse a una cicloadición catalizada por cobre tras la exposición a un azida. Dichas reacciones pueden ser útiles en la funcionalización de una bicapa lipídica de una composición de nanopartículas para facilitar la permeación de la membrana o el reconocimiento celular o en la conjugación de una composición de nanopartículas con un componente útil tal como un resto de direccionamiento o formación de imágenes (por ejemplo, un tinte).

Los fosfolípidos útiles en las composiciones y procedimientos descritos en esta invención se pueden seleccionar de entre el grupo no limitativo que consiste en 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE), 1,2-dilinoleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC), 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-diundecanoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DUPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1,2-di-O-octadecenil-sn-glicero-3-fosfocolina (18:0 Diéter PC), 1-oleoil-2-colesterilhemisuccinoil-sn-glicero-3-fosfocolina (OChemPC), 1-hexadecil-sn-glicero-3-fosfocolina (C16 Liso PC), 1,2-dilinoleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-diaraquidonoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-didocosahexaenoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-difitanoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (ME 16.0 PE), 1,2-diestearoil-1-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dilinoleoil-1-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dilinoleoil-1-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-diaraquidonoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-didocosahexaenoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, sal sódica de 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfo-rac-(1-glicerol) (DOPG) y esfingomielina.

En determinadas realizaciones, una composición de nanopartículas incluye DSPC. En determinadas realizaciones, una composición de nanopartículas incluye DOPE. En algunas realizaciones, una composición de nanopartículas incluye tanto DSPC como DOPE.

Adyuvantes

En algunas realizaciones, una composición de nanopartículas que incluye uno o más lípidos descritos en esta invención puede incluir además uno o más adyuvantes, por ejemplo, adyuvante de lípidos de glucopiranosilo (GLA), oligodesoxinucleótidos CpG (por ejemplo, clase A o B), poli(I:C), hidróxido de aluminio y Pam3CSK4.

Agentes terapéuticos

Las composiciones de nanopartículas pueden incluir uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos. La descripción presenta procedimientos para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a una célula u órgano de mamífero, producir un polipéptido de interés en una célula de mamífero y tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero que lo necesita que comprende administrar a un mamífero y/o poner en contacto una célula de mamífero con una composición de nanopartículas que incluye un agente terapéutico y/o profiláctico.

Los agentes terapéuticos y/o profilácticos incluyen sustancias biológicamente activas y se denominan alternativamente "agentes activos". Un agente terapéutico y/o profiláctico puede ser una sustancia que, una vez administrada a una célula u órgano, produce un cambio deseable en la célula, órgano u otro tejido o sistema corporal. Dichas especies pueden ser útiles en el tratamiento de una o más enfermedades, trastornos o afecciones. En algunas realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es un fármaco de molécula pequeña útil en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección particular. Los ejemplos de fármacos útiles en las composiciones de nanopartículas incluyen, pero sin limitarse a, agentes antineoplásicos (por ejemplo, vincristina, doxorubicina, mitoxantrona, camptotecina, cisplatino, bleomicina, ciclofosfamida, metotrexato y estreptozotocina), agentes antitumorales (por ejemplo, actinomicina D, vincristina, vinblastina, arabinósido de citosina, antraciclinas, agentes alquilantes, compuestos de platino, antimetabolitos y análogos de nucleósidos, tales como metotrexato y análogos de purina y pirimidina), agentes antiinfecciosos, anestésicos locales (por ejemplo, dibucaína y clorpromazina), bloqueadores beta-adrenérgicos (por ejemplo, propranolol, timolol y labetalol), agentes antihipertensivos (por ejemplo, clonidina e hidralazina), agentes antidepresivos (por ejemplo, imipramina, amitriptilina y doxepina), anticonvulsivos (por ejemplo, fenitoína), antihistaminas (por ejemplo, difenhidramina, clorfeniramina y prometazina), agentes antibióticos/antibacterianos (por ejemplo, gentamicina, ciprofloxacina y cefoxitina), agentes antifúngicos (por ejemplo, miconazol, terconazol, econazol, isoconazol, butaconazol, clotrimazol, itraconazol, nistatina, naftifina y anfotericina B), agentes antiparasitarios, hormonas, antagonistas de hormonas, inmunomoduladores, antagonistas de neurotransmisores, agentes antiglaucoma, vitaminas, narcóticos y agentes de formación de imágenes.

En algunas realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es una citotoxina, un ion radiactivo, un agente quimioterapéutico, una vacuna, un compuesto que provoca una respuesta inmunitaria y/u otro agente terapéutico y/o profiláctico. Una citotoxina o agente citotóxico incluye cualquier agente que pueda ser perjudicial para las células. Los ejemplos incluyen, pero sin limitarse a, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenipósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina,

daunorrubicina, dihidroxiantracenediona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, puromicina, maitansinoides, por ejemplo, maitansinol, raquelmicina (CC-1065) y análogos u homólogos de los mismos. Los iones radiactivos incluyen, pero sin limitarse a, yodo (por ejemplo, yodo 125 o yodo 131), estroncio 89, fósforo, paladio, cesio, iridio, fosfato, cobalto, itrio 90, samario 153 y praseodimio. Las vacunas incluyen compuestos y preparaciones que son capaces de proporcionar inmunidad contra una o más afecciones relacionadas con enfermedades infecciosas tales como influenza, sarampión, virus del papiloma humano (VPH), rabia, meningitis, tos ferina, tétanos, peste, hepatitis y tuberculosis y pueden incluir ARNm que codifican antígenos y/o epítopos derivados de enfermedades infecciosas. Las vacunas también incluyen compuestos y preparaciones que dirigen una respuesta inmunitaria contra células cancerosas y pueden incluir ARNm que codifican antígenos, epítopos y/o neoepítopos derivados de células tumorales. Los compuestos que provocan respuestas inmunitarias pueden incluir vacunas, corticosteroides (por ejemplo, dexametasona) y otras especies. En algunas realizaciones, una vacuna y/o un compuesto capaz de provocar una respuesta inmunitaria se administra por vía intramuscular a través de una composición que incluye un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-II), (20-I) y (21-1). Otros agentes terapéuticos y/o profilácticos incluyen, pero sin limitarse a, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo decarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tiotepa clorambucilo, raquelmicina (CC-1065), melfalán, carmustina (BSNU), lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina y antramina (AMC)) y agentes antimetabólicos (por ejemplo, vincristina, vinblastina, taxol y maitansinoides).

En otras realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es una proteína. Las proteínas terapéuticas útiles en las nanopartículas de la descripción incluyen, pero sin limitarse a, gentamicina, amikacina, insulina, eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor VIR, análogos de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), interferones, heparina, antígeno de superficie de la hepatitis B, vacuna contra la fiebre tifoidea y vacuna contra el cólera.

30 *Polinucleótidos y ácidos nucleicos*

En algunas realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es un polinucleótido o ácido nucleico (por ejemplo, ácido ribonucleico o ácido desoxirribonucleico). El término "polinucleótido", en su sentido más amplio, incluye cualquier compuesto y/o sustancia que sea o pueda ser incorporada en una cadena de oligonucleótidos. Los polinucleótidos ejemplares para su uso según la presente descripción incluyen, pero sin limitarse a, uno o más de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) que incluye ARNm mensajero (ARNm), híbridos de los mismos, agentes inductores de ARNi, agentes de ARNi, ARNip, ARNhp, miARN, ARN antisentido, ribozimas, ADN catalítico, ARN que inducen la formación de triple hélice, aptámeros, vectores, etc. En determinadas realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es un ARN. Los ARN útiles en las composiciones y procedimientos descritos en esta invención se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en, pero sin limitarse a, shortmers, antagomirs, antisentido, ribozimas, ARN interferente pequeño (ARNip), ARN interferente asimétrico (ARNia), microARN (miARN), ARN de Dicer sustrato (ARNds), ARN de horquilla pequeña (ARNhp), ARN de transferencia (ARNt), ARN mensajero (ARNm) y mezclas de los mismos. En determinadas realizaciones el ARN es un ARNm.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es un ARNm. Un ARNm puede codificar cualquier polipéptido de interés, incluyendo cualquier polipéptido de origen natural o no natural o modificado de cualquier otra manera. Un polipéptido codificado por un ARNm puede ser de cualquier tamaño y puede tener cualquier estructura o actividad secundaria. En algunas realizaciones, un polipéptido codificado por un ARNm puede tener un efecto terapéutico cuando se expresa en una célula.

En otras realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es un ARNip. Un ARNip puede ser capaz de inactivar o reducir selectivamente la expresión de un gen de interés. Por ejemplo, se podría seleccionar un ARNip para silenciar un gen asociado con una enfermedad, trastorno o afección en particular tras la administración a un sujeto que lo necesita de una composición de nanopartículas que incluye el ARNip. Un ARNip puede comprender una secuencia que es complementaria a una secuencia de ARNm que codifica un gen o proteína de interés. En algunas realizaciones, el ARNip puede ser un ARNip inmunomodulador.

En algunas realizaciones, un agente terapéutico y/o profiláctico es un ARNhp o un vector o plásmido que lo codifica. Un ARNhp puede producirse dentro de una célula diana tras la administración de una construcción adecuada al núcleo. Las construcciones y mecanismos relacionados con el ARNhp son bien conocidos en las técnicas pertinentes.

Los ácidos nucleicos y polinucleótidos útiles o adecuados para los compuestos y procedimientos de la descripción incluyen típicamente una primera región de nucleósidos enlazados que codifican un polipéptido de

interés (por ejemplo, una región codificante), una primera región flanqueante ubicada en el extremo 5' de la primera región (por ejemplo, una 5'-UTR), una segunda región flanqueante ubicada en el extremo 3' de la primera región (por ejemplo, una 3'-UTR), al menos una región 5'-cap y una región estabilizadora en 3'. En algunas realizaciones, un ácido nucleico o polinucleótido incluye además una región poli-A o una secuencia de Kozak (por ejemplo, en la 5'-UTR). En algunos casos, los polinucleótidos pueden contener una o más secuencias de nucleótidos intrónicos que se pueden extirpar del polinucleótido. En algunas realizaciones, un polinucleótido o ácido nucleico (por ejemplo, un ARNm) puede incluir una estructura de cap 5', un nucleótido de terminación de cadena, un bucle en horquilla, una secuencia poli A y/o una señal de poliadenilación. Cualquiera de las regiones de un ácido nucleico puede incluir uno o más componentes alternativos (por ejemplo, un nucleósido alternativo). Por ejemplo, la región estabilizadora en 3' puede contener un nucleósido alternativo tal como un L-nucleósido, una timidina invertida o un 2'-O-metil nucleósido y/o la región codificante, 5'-UTR, 3'-UTR, o la región de cap puede incluir un nucleósido alternativo tal como una uridina sustituida en 5 (por ejemplo, 5-metoxiuridina), una pseudouridina sustituida en 1 (por ejemplo, 1-metil-pseudouridina o 1-etil-pseudouridina), y/o una citidina sustituida en 5 (por ejemplo, 5-metil-citidina).

Generalmente, la longitud más corta de un polinucleótido puede ser la longitud de la secuencia de polinucleótidos que es suficiente para codificar un dipéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un tripéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un tetrapéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un pentapéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un hexapéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un heptapéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un octapéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un nonapéptido. En otra realización, la longitud de la secuencia de polinucleótidos es suficiente para codificar un decapeptido.

Los ejemplos de dipéptidos que las secuencias de polinucleótidos alternativos pueden codificar incluyen, pero sin limitarse a, camosina y anserina.

En algunos casos, un polinucleótido tiene más de 30 nucleótidos de longitud. En otra realización, la molécula de polinucleótido tiene más de 35 nucleótidos de longitud. En otra realización, la longitud es de al menos 40 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 45 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 55 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 50 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 60 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 80 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 90 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 100 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 120 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 140 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 160 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 180 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 200 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 250 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 300 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 350 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 400 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 450 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 500 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 600 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 700 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 800 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 900 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1000 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1100 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1200 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1300 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1400 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1500 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1600 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1800 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 2000 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 2500 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 3000 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 4000 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 5000 nucleótidos, o mayor que 5000 nucleótidos.

Los ácidos nucleicos y polinucleótidos pueden incluir uno o más componentes de origen natural, que incluyen cualquiera de los nucleótidos canónicos A (adenosina), G (guanosina), C (citocina), U (uridina) o T (timidina). En una realización, todos o sustancialmente todos los nucleótidos que comprenden (a) la 5'-UTR, (b) el marco de lectura abierto (ORF), (c) la 3'-UTR, (d) la cola poli A, y cualquier combinación de (a), b, c, o d anteriores) comprenden nucleótidos canónicos de origen natural A (adenosina), G (guanosina), C (citocina), U (uridina) o T (timidina).

Los ácidos nucleicos y polinucleótidos pueden incluir uno o más componentes alternativos, como se describe en esta invención, que transmiten propiedades útiles que incluyen una mayor estabilidad y/o la falta de una inducción sustancial de la respuesta inmunitaria innata de una célula en la que se introduce el polinucleótido. Por ejemplo, un polinucleótido o ácido nucleico alternativo presenta degradación reducida en una célula en la que se introduce el polinucleótido o ácido nucleico, con respecto a un polinucleótido o ácido nucleico inalterado

correspondiente. Estas especies alternativas pueden mejorar la eficiencia de la producción de proteínas, la retención intracelular de los polinucleótidos y/o la viabilidad de las células en contacto, además de poseer inmunogenicidad reducida.

5 Los polinucleótidos y ácidos nucleicos pueden ser de origen natural o no natural. Los polinucleótidos y ácidos nucleicos pueden incluir una o más nucleobases, nucleósidos, nucleótidos modificados (por ejemplo, alterados o alternativos) o combinaciones de los mismos. Los ácidos nucleicos y polinucleótidos útiles en la composición de nanopartículas descrita en esta invención pueden incluir cualquier modificación o alteración útil, tal como a la nucleobase, el azúcar o el enlace internucleosídico (por ejemplo, a un fosfato de enlace/a un enlace de fosfodiéster/a la cadena principal de fosfodiéster). En determinadas realizaciones, las alteraciones (por ejemplo, una o más alteraciones) están presentes en cada una de la nucleobase, el azúcar y el enlace internucleosídico. Las alteraciones según la presente descripción pueden ser alteraciones de ácidos ribonucleicos (ARN) a ácidos desoxirribonucleicos (ADN), por ejemplo, la sustitución del 2'-OH del anillo ribofuranosilo a 2'-H, ácidos nucleicos de treosa (TNA), ácidos nucleicos de glicol (GNA), ácidos nucleicos peptídicos (PNA), ácidos nucleicos bloqueados (LNA) o híbridos de los mismos. En esta invención se describen alteraciones adicionales.

20 Los polinucleótidos y ácidos nucleicos pueden alterarse o no uniformemente a lo largo de toda la longitud de la molécula. Por ejemplo, uno o más o todos los tipos de nucleótido (por ejemplo, purina o pirimidina, o cualquiera o más o la totalidad de A, G, U, C) pueden o no alterarse de manera uniforme en un polinucleótido o ácido nucleico, o en una región de secuencia predeterminada dada del mismo. En algunos aspectos, todos los nucleótidos X en un polinucleótido (o en una región de secuencia dada del mismo) se alteran, donde X puede cualquiera de los nucleótidos A, G, U, C, o cualquiera de las combinaciones A+G, A+U, A+C, G+U, G+C, U+C, A+G+U, A+G+C, G+U+C o A+G+C.

25 Pueden existir diferentes alteraciones de azúcar y/o enlaces internucleosídicos (por ejemplo, estructuras de cadena principal) en diversas posiciones en un polinucleótido. Un experto en la materia apreciará que los análogos de nucleótidos u otra(s) alteración(es) pueden estar ubicados en cualquier posición o posiciones de un polinucleótido de modo que la función del polinucleótido no disminuya sustancialmente. Una alteración también puede ser una alteración terminal 5' o 3'. En algunas realizaciones, el polinucleótido incluye una alteración en el extremo 3'. El polinucleótido puede contener de alrededor del 1 % a alrededor del 100 % de nucleótidos alternativos (ya sea en relación con el contenido de nucleótidos total, o en relación con uno o más tipos de nucleótidos, es decir, uno cualquiera o más de A, G, U o C) o cualquier porcentaje intermedio (por ejemplo, del 1 % al 20 %, del 1 % al 25 %, del 1 % al 50 %, del 1 % al 60 %, del 1 % al 70 %, del 1 % al 80 %, del 1 % al 90 %, del 1 % al 95 %, del 10 % al 20 %, del 10 % al 25 %, del 10 % al 50 %, del 10 % al 60 %, del 10 % al 70 %, del 10 % al 80 %, del 10 % al 90 %, del 10 % al 95 %, del 10 % al 100 %, del 20 % al 25 %, del 20 % al 50 %, del 20 % al 60 %, del 20 % al 70 %, del 20 % al 80 %, del 20 % al 90 %, del 20 % al 95 %, del 20 % al 100 %, del 50 % al 60 %, del 50 % al 70 %, del 50 % al 80 %, del 50 % al 90 %, del 50 % al 95 %, del 50 % al 100 %, del 70 % al 80 %, del 70 % al 90 %, del 70 % al 95 %, del 70 % al 100 %, del 80 % al 90 %, del 80 % al 95 %, del 80 % al 100 %, del 90 % al 95 %, del 90 % al 100 % y del 95 % al 100 %). Se entenderá que cualquier porcentaje restante se explica por la presencia de un nucleótido canónico (por ejemplo, A, G, U o C).

45 Los polinucleótidos pueden contener como mínimo cero y como máximo el 100 % de nucleótidos alternativos, o cualquier porcentaje intermedio, tal como al menos el 5 % de nucleótidos alternativos, al menos el 10 % de nucleótidos alternativos, al menos el 25 % de nucleótidos alternativos, al menos el 50 % de nucleótidos alternativos, al menos el 80 % de nucleótidos alternativos o al menos el 90 % de nucleótidos alternativos. Por ejemplo, los polinucleótidos pueden contener una pirimidina alternativa tal como un uracilo o citosina alternativos. En algunas realizaciones, al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o el 100 % del uracilo en un polinucleótido se reemplaza con un uracilo alternativo (por ejemplo, un uracilo sustituido en 5). El uracilo alternativo puede reemplazarse por un compuesto que tiene una única estructura, o puede reemplazarse por una pluralidad de compuestos que tienen diferentes estructuras (por ejemplo, 2, 3, 4 o más estructuras únicas). En algunos aspectos, al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 25 %, al menos el 50 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o el 100 % de la citosina en el polinucleótido se reemplaza con una citosina alternativa (por ejemplo, una citosina sustituida en 5). La citosina alternativa puede reemplazarse por un compuesto que tiene una única estructura, o puede reemplazarse por una pluralidad de compuestos que tienen diferentes estructuras (por ejemplo, 2, 3, 4 o más estructuras únicas).

60 En algunos aspectos, los ácidos nucleicos no inducen sustancialmente una respuesta inmunitaria innata de una célula en la que se introduce el polinucleótido (por ejemplo, ARNm). Las características de una respuesta inmunitaria innata inducida incluyen 1) mayor expresión de citocinas proinflamatorias, 2) activación de PRR intracelulares (RIG-1, MDA5, etc., y/o 3) terminación o reducción en la traducción de proteínas.

65 Los ácidos nucleicos pueden incluir opcionalmente otros agentes (por ejemplo, agentes inductores de ARNi, agentes de ARNi, ARNip, ARNhp, miARN, ARN antisentido, ribozimas, ADN catalítico, ARNt, ARN que inducen la formación de triple hélice, aptámeros y vectores). En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos pueden incluir uno o más ARN mensajeros (ARNm) que tienen uno o más nucleósidos o nucleótidos alternativos (es

decir, moléculas de ARNm alternativas).

En algunas realizaciones, una molécula de ácido nucleico (por ejemplo, ARNm), fórmula, composición o procedimiento asociado con la misma comprende uno o más polinucleótidos que comprenden características tal como se describen en los documentos WO2002/098443, WO2003/051401, WO2008/052770, WO2009/127230, WO2006/122828, WO2008/083949, WO2010/037539, WO2004/004743, WO2005/016376, WO2006/024518, WO2007/095976, WO2008/014979, WO2008/077592, WO2009/030481, WO2009/095226, WO2011/069586, WO2011/026641, WO2011/144358, WO2012/019780, WO2012/013326, WO2012/089338, WO2012/113513, WO2012/116811, WO2012/116810, WO2013/113502, WO2013/113501, WO2013/113736, WO2013/143698, WO2013/143699, WO2013/143700, WO2013/120626, WO2013/120627, WO2013/120628, WO2013/120629, WO2013/174409, WO2014/127917, WO2015/024669, WO2015/024668, WO2015/024667, WO2015/024665, WO2015/024666, WO2015/024664, WO2015/101415, WO2015/101414, WO2015/024667, WO2015/062738, WO2015/101416.

15 *Alternativas de nucleobases*

Los nucleósidos y nucleótidos alternativos pueden incluir una nucleobase alternativa. Una nucleobase de un ácido nucleico es una base orgánica tal como una purina o pirimidina o un derivado de las mismas. Una nucleobase puede ser una base canónica (por ejemplo, adenina, guanina, uracilo, timina y citosina). Estas nucleobases se pueden alterar o reemplazar completamente para proporcionar moléculas de polinucleótidos que tienen propiedades mejoradas, por ejemplo, mayor estabilidad tal como resistencia a nucleasas. Las bases no canónicas o modificadas pueden incluir, por ejemplo, una o más sustituciones o modificaciones que incluyen, pero sin limitarse a sustituciones alquilo, arilo, halo, oxo, hidroxilo, alquiloxy y/o tio; uno o más anillos fusionados o abiertos; oxidación; y/o reducción.

El apareamiento de bases de nucleótidos alternativos abarca no solo los pares de bases estándar adenina-timina, adenina-uracilo o guanina-citosina, sino también pares de bases formados entre nucleótidos y/o nucleótidos alternativos, incluidas bases no estándar o alternativas, donde la disposición de los donantes de enlaces de hidrógeno y los aceptores de enlaces de hidrógeno permite el enlace de hidrógeno entre una base no estándar y una base estándar o entre dos estructuras de base no estándar complementarias. Un ejemplo de dicho apareamiento de bases no estándar es el apareamiento de bases entre la inosina y adenina, citosina o uracilo del nucleótido alternativo.

En algunas realizaciones, la nucleobase es un uracilo alternativo. Las nucleobases y nucleósidos ejemplares que tienen un uracilo alternativo incluyen, pseudouridina (ψ), ribonucleósido piridin-4-ona, 5-aza-uracilo, 6-aza-uracilo, 2-tio-5-aza-uracilo, 2-tio-uracilo (s^2U), 4-tio-uracilo (s^4U), 4-tio-pseudouridina, 2-tio-pseudouridina, 5-hidroxi-uracilo (ho^5U), 5-aminoalil-uracilo, 5-halo-uracilo (por ejemplo, 5-yodo-uracilo o 5-bromo-uracilo), 3-metil-uracilo (m^3U), 5-metoxi-uracilo (mo^5U), ácido uracil 5-oxiacético (cmo^5U), éster metílico del ácido uracil 5-oxiacético ($mcmo^5U$), 5-carboximetil-uracilo (cm^5U), 1-carboximetil-pseudouridina, 5-carboxihidroximetil-uracilo (chm^5U), éster metílico de 5-carboxihidroximetil-uracilo ($mchm^5U$), 5-metoxicarbonilmetil-uracilo (mcm^5U), 5-metoxicarbonilmetil-2-tio-uracilo (mcm^5s^2U), 5-aminometil-2-tio-uracilo (nm^5s^2U), 5-metilaminometil-uracilo (mnm^5U), 5-metilaminometil-2-tio-uracilo (mnm^5s^2U), 5-metilaminometil-2-seleno-uracilo (mnm^5se^2U), 5-carbamoilmetil-uracilo (ncm^5U), 5-carboximetilaminometil-uracilo ($cmnm^5U$), 5-carboximetilaminometil-2-tio-uracilo ($cmnm^5s^2U$), 5-propinil-uracilo, 1-propinil-pseudouracilo, 5-aurinometil-uracilo ($1m^5U$), 1-aurinometil-pseudouridina, 5-aurinometil-2-tio-uracilo ($1m^5s^2U$), 1-aurinometil-4-tio-pseudouridina, 5-metil-uracilo (m^5U , es decir, que tiene la nucleobase desoxitimina), 1-metil-pseudouridina ($m^1\psi$), 1-etil-pseudouridina ($Et^1\psi$), 5-metil-2-tio-uracilo (m^5s^2U), 1-metil-4-tio-pseudouridina ($m^1s^4\psi$), 4-tio-1-metil-pseudouridina, 3-metil-pseudouridina ($m^3\psi$), 2-tio-1-metil-pseudouridina, 1-metil-1-deaza-pseudouridina, 2-tio-1-metil-1-deaza-pseudouridina, dihidrouracilo (D), dihidropseudouridina, 5,6-dihidrouracilo, 5-metil-dihidrouracilo (m^5D), 2-tio-dihidrouracilo, 2-tio-dihidropseudouridina, 2-metoxi-uracilo, 2-metoxi-4-tio-uracilo, 4-metoxi-pseudouridina, 4-metoxi-2-tio-pseudouridina, N1-metil-pseudouridina, 3-(3-amino-3-carboxipropil)uracilo (acp^3U), 1-metil-3-(3-amino-3-carboxipropil)pseudouridina ($acp^3\psi$), 5-(isopentenilaminometil)uracilo (inm^5U), 5-(isopentenilaminometil)-2-tio-uracilo (inm^5s^2U), 5,2'-O-dimetil-uridina (m^5Um), 2-tio-2'-O-metil-uridina (s^2Um), 5-metoxicarbonilmetil-2'-O-metil-uridina (mcm^5Um), 5-carbamoilmetil-2'-O-metil-uridina (ncm^5Um), 5-carboximetilaminometil-2'-O-metil-uridina ($cmnm^5Um$), 3,2'-O-dimetil-uridina (m^3Um), y 5-(isopentenilaminometil)-2'-O-metil-uridina (inm^5Um), 1-tio-uracilo, desoxitimidina, 5-(2-carbometoxivinil)-uracilo, 5-(carbamoilhidroximetil)-uracilo, 5-carbamoilmetil-2-tio-uracilo, 5-carboximetil-2-tiouracilo, 5-cianometil-uracilo, 5-metoxi-2-tio-uracilo y 5-[3-(1-E-propenilamino)]uracilo.

En algunas realizaciones, la nucleobase es una citosina alternativa. Las nucleobases y nucleósidos ejemplares que tienen una citosina alternativa incluyen 5-aza-citosina, 6-aza-citosina, pseudoisocitidina, 3-metil-citosina (m^3C), N4-acetil-citosina ($ac4C$), 5-formil-citosina ($f5C$), N4-metil-citosina ($m4C$), 5-metil-citosina ($m5C$), 5-halo-citosina (por ejemplo, 5-yodo-citosina), 5-hidroximetil-citosina ($hm5C$), 1-metil-pseudoisocitidina, pirrolo-citosina, pirrolo-pseudoisocitidina, 2-tio-citosina ($s2C$), 2-tio-5-metil-citosina, 4-tio-pseudoisocitidina, 4-tio-1-metil-pseudoisocitidina, 4-tio-1-metil-1-deaza-pseudoisocitidina, 1-metil-1-deaza-pseudoisocitidina, 1-metil-1-deaza-pseudoisocitidina, zebularina, 5-aza-zebularina, 5-metil-zebularina, 5-aza-2-tio-zebularina, 2-tio-zebularina, 2-metoxi-citosina, 2-metoxi-5-

metil-citosina, 4-metoxi-pseudoisocitidina, 4-metoxi-1-metil-pseudoisocitidina, lisidina (k2C), 5,2'-O-dimetil-citidina (m5Cm), N4-acetil-2'-O-metil-citidina (ac4Cm), N4,2'-O-dimetil-citidina (m4Cm), 5-formil-2'-O-metil-citidina (f5Cm), N4,N4,2'-O-trimetil-citidina (m42Cm), 1-tio-citosina, 5-hidroxi-citosina, 5-(3-azidopropil)-citosina y 5-(2-azidoetil)-citosina.

5

En algunas realizaciones, la nucleobase es una adenina alternativa. Las nucleobases y nucleósidos ejemplares que tienen una adenina alternativa incluyen 2-amino-purina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-halo-purina (por ejemplo, 2-amino-6-cloro-purina), 6-halo-purina (por ejemplo, 6-cloro-purina), 2-amino-6-metil-purina, 8-azido-adenina, 7-deaza-adenina, 7-deaza-8-azaadenina, 7-deaza-2-amino-purina, 7-deaza-8-aza-2-amino-purina, 7-deaza-2,6-diaminopurina, 7-deaza-8-aza-2,6-diaminopurina, 1-metil-adenina (m1A), 2-metil-adenina (m2A), N6-metil-adenina (m6A), 2-metiltio-N6-metil-adenina (ms2m6A), N6-isopentenil-adenina (i6A), 2-metiltio-N6-isopentenil-adenina (ms2i6A), N6-(cis-hidroxiisopentenil)adenina (io6A), 2-metiltio-N6-(cis-hidroxiisopentenil)adenina (ms2io6A), N6-glicinilcarbamoil-adenina (g6A), N6-treonilcarbamoil-adenina (t6A), N6-metil-N6-treonilcarbamoil-adenina (m6t6A), 2-metiltio-N6-treonilcarbamoil-adenina (ms2g6A), N6,N6-dimetil-adenina (m62A), N6-hidroxinorvalilcarbamoil-adenina (hn6A), 2-metiltio-N6-hidroxinorvalilcarbamoil-adenina (ms2hn6A), N6-acetil-adenina (ac6A), 7-metil-adenina, 2-metiltio-adenina, 2-metoxi-adenina, N6,2'-O-dimetil-adenosina (m6Am), N6,N6,2'-O-trimetil-adenosina (m62Am), 1,2'-O-dimetil-adenosina (m1Am), 2-amino-N6-metil-purina, 1-tio-adenina, 8-azido-adenina, N6-(19-amino-pentaoxonadecil)-adenina, 2,8-dimetil-adenina, N6-formil-adenina y N6-hidroximetil-adenina.

10

15

20

En algunas realizaciones, la nucleobase es una guanina alternativa. Las nucleobases y nucleósidos ejemplares que tienen una guanina alternativa incluyen inosina (I), 1-metil-inosina (m1I), wiosina (imG), metilwiosina (mimG), 4-demetil-wiosina (imG-14), isowiosina (imG2), wibutosina (yW), peroxiwibutosina (o2yW), hidroxiwibutosina (OHyW), hidroxiwibutosina submodificada (OHyW'), 7-deaza-guanina, queuosina (Q), epoxiqueuosina (oQ), galactosil-queuosina (galQ), manosil-queuosina (manQ), 7-ciano-7-deaza-guanina (preQ0), 7-aminometil-7-deaza-guanina (preQ1), arqueosina (G+), 7-deaza-8-aza-guanina, 6-tio-guanina, 6-tio-7-deaza-guanina, 6-tio-7-deaza-8-aza-guanina, 7-metil-guanina (m7G), 6-tio-7-metil-guanina, 7-metil-inosina, 6-metoxi-guanina, 1-metil-guanina (m1G), N2-metil-guanina (m2G), N2,N2-dimetil-guanina (m22G), N2,7-dimetil-guanina (m2,7G), N2,N2,7-dimetil-guanina (m2,2,7G), 8-oxo-guanina, 7-metil-8-oxo-guanina, 1-metil-6-tioguanina, N2-metil-6-tio-guanina, N2,N2-dimetil-6-tio-guanina, N2-metil-2'-O-metil-guanosina (m2Gm), N2,N2-dimetil-2'-O-metil-guanosina (m22Gm), 1-metil-2'-O-metil-guanosina (m1Gm), N2,7-dimetil-2'-O-metil-guanosina (m2,7Gm), 2'-O-metil-inosina (Im), 1,2'-O-dimetil-inosina (m1Im), 1-tio-guanina y O-6-metil-guanina.

25

30

35

La nucleobase alternativa de un nucleótido puede ser independientemente una purina, una pirimidina, un análogo de purina o de pirimidina. Por ejemplo, la nucleobase puede ser una alternativa a la adenina, citosina, guanina, uracilo o hipoxantina. En otra realización, la nucleobase también puede incluir, por ejemplo, derivados sintéticos y de origen natural de una base, que incluyen pirazolo[3,4-d]pirimidinas, 5-metilcitosina (5-me-C), 5-hidroximetil citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metilo y otros derivados alquilo de adenina y guanina, 2-propilo y otros derivados alquilo de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-propinil uracilo y citosina, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo (por ejemplo, 8-bromo), 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas sustituidas en 8, 5-halo, en particular 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas sustituidos en 5, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, deazaguanina, 7-deazaguanina, 3-deazaguanina, deazaadenina, 7-deazaadenina, 3-deazaadenina, pirazolo[3,4-d]pirimidina, imidazo[1,5-a]1,3,5 triazinonas, 9-deazapurinas, imidazo[4,5-d]pirazinas, tiazolo[4,5-d]pirimidinas, pirazin-2-onas, 1,2,4-triazina, piridazina; o 1,3,5 triazina. Cuando los nucleótidos se representan usando la abreviatura A, G, C, T o U, cada letra se refiere a la base representativa y/o derivados de la misma, por ejemplo, A incluye adenina o análogos de adenina, por ejemplo, 7-deaza adenina).

40

45

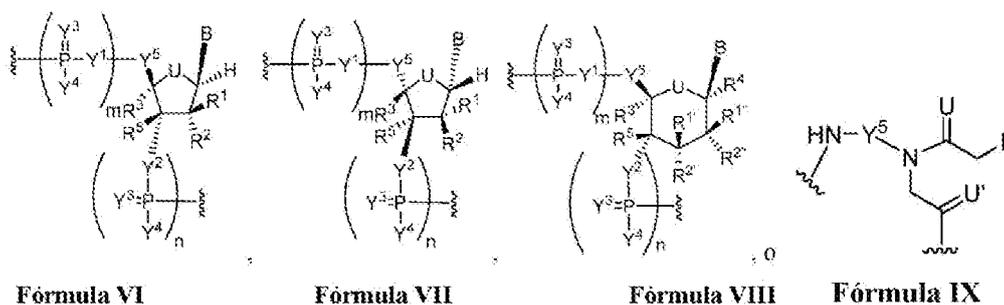
50

Alteraciones en el azúcar

Los nucleósidos incluyen una molécula de azúcar (por ejemplo, un azúcar de 5 carbonos o 6 carbonos, tal como pentosa, ribosa, arabinosa, xilosa, glucosa, galactosa o un derivado desoxi de las mismas) en combinación con una nucleobase, mientras que los nucleótidos son nucleósidos que contienen un nucleósido y un grupo fosfato o grupo alternativo (por ejemplo, boranofosfato, tiofosfato, selenofosfato, fosfonato, grupo alquilo, amidato y glicerol). Un nucleósido o nucleótido puede ser una especie canónica, por ejemplo, un nucleósido o nucleótido que incluye una nucleobase canónica, azúcar y, en el caso de nucleótidos, un grupo fosfato, o puede ser un nucleósido o nucleótido alternativo que incluye uno o más componentes alternativos. Por ejemplo, los nucleósidos y nucleótidos alternativos pueden alterarse en el azúcar del nucleósido o nucleótido. En algunas realizaciones, los nucleósidos o nucleótidos alternativos incluyen la estructura:

55

60



En cada una de las Fórmulas VI, VII, VIII y IX,

5 cada uno de m y n es independientemente, un número entero de 0 a 5,

cada uno de U y U' independientemente, es O, S, N(R^U)_{nu} o C(R^U)_{nu}, donde nu es un número entero de 0 a 2 y cada R^U es, independientemente, H, halo o alquilo opcionalmente sustituido;

10 cada uno de R¹, R², R^{1'}, R^{2'}, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, si está presente, H, halo, hidroxil, tiol, alquilo opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido, alqueniiloxi opcionalmente sustituido, alquiniiloxi opcionalmente sustituido, aminoalcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialcoxi opcionalmente sustituido, hidroxialcoxi opcionalmente sustituido, amino opcionalmente sustituido, azido, arilo opcionalmente sustituido, aminoalquilo opcionalmente sustituido, aminoalqueniilo opcionalmente sustituido, aminoalquiniilo
 15 opcionalmente sustituido o está ausente; donde la combinación de R³ con uno o más de R¹, R^{1'}, R², R^{2'} o R⁵, (por ejemplo, la combinación de R¹ y R³, la combinación de R^{1'} y R³, la combinación de R² y R³, la combinación de R^{2'} y R³ o la combinación de R⁵ y R³) pueden unirse entre sí para formar alqueniilo opcionalmente sustituido o heteroalqueniilo opcionalmente sustituido y, tomados junto con los carbonos a los que están unidos, proporcionan un heterociclilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, un heterociclilo bicíclico, tricíclico o tetracíclico); donde la combinación de R⁵ con uno o más de R¹, R^{1'}, R², R^{2'} (por ejemplo, la combinación de R¹ y R⁵, la combinación de R^{1'} y R⁵, la combinación de R² y R⁵, o la combinación de R^{2'} y R⁵) pueden unirse entre sí para formar alqueniilo opcionalmente sustituido o heteroalqueniilo opcionalmente sustituido y, tomados junto con los carbonos a los que están unidos, proporcionan un heterociclilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, un heterociclilo cíclico, tricíclico o tetracíclico); y donde la combinación de R⁴ y uno o más de R¹, R^{1'}, R², R^{2'}, R³ o R⁵ puede unirse entre sí para formar alqueniilo opcionalmente sustituido o heteroalqueniilo
 20 opcionalmente sustituido y, tomados junto con los carbonos a los que están unidos, proporcionan un heterociclilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, un heterociclilo bicíclico, tricíclico o tetracíclico); cada uno de m' y m'' es, independientemente, un número entero de 0 a 3 (por ejemplo, de 0 a 2, de 0 a 1, de 1 a 3 o de 1 a 2);

30 cada uno de Y¹, Y² e Y³ es, independientemente, O, S, Se, -NR^{N1}-, alqueniilo opcionalmente sustituido o heteroalqueniilo opcionalmente sustituido, donde R^{N1} es H, alquilo opcionalmente sustituido, alqueniilo opcionalmente sustituido, alquiniilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o está ausente;

35 cada Y⁴ es, independientemente, H, hidroxil, tiol, boranilo, alquilo opcionalmente sustituido, alqueniilo opcionalmente sustituido, alquiniilo opcionalmente sustituido, alcoxi opcionalmente sustituido, alqueniiloxi opcionalmente sustituido, alquiniiloxi opcionalmente sustituido, tioalcoxi opcionalmente sustituido, alcoxialcoxi opcionalmente sustituido o amino opcionalmente sustituido;

40 cada Y⁵ es, independientemente, O, S, Se, alqueniilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, metileno) o heteroalqueniilo opcionalmente sustituido; y

B es una nucleobase, ya sea modificada o no modificada. En algunas realizaciones, el grupo 2'-hidroxil (OH) se puede modificar o reemplazar con un número de sustituyentes diferentes. Las sustituciones ejemplares en
 45 la posición 2' incluyen, pero sin limitarse a, H, azido, halo (por ejemplo, fluoro), alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido (por ejemplo, metilo); alcoxi C₁₋₆ opcionalmente sustituido (por ejemplo, metoxi o etoxi); arilo C₆₋₁₀ opcionalmente sustituido; cicloalquilo C₃₋₈ opcionalmente sustituido; alcoxi C₁₋₆-arilo C₆₋₁₀ opcionalmente sustituido, (heterociclil)oxi C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido; un azúcar (por ejemplo, ribosa, pentosa o cualquiera de las descritas en esta invención); un polietilenglicol (PEG), -O(CH₂CH₂O)_nCH₂CH₂OR, donde R es H o alquilo
 50 opcionalmente sustituido, y n es un número entero de 0 a 20 (por ejemplo, de 0 a 4, de 0 a 8, de 0 a 10, de 0 a 16, de 1 a 4, de 1 a 8, de 1 a 10, de 1 a 16, de 1 a 20, de 2 a 4, de 2 a 8, de 2 a 10, de 2 a 16, de 2 a 20, de 4 a 8, de 4 a 10, de 4 a 16 y de 4 a 20); ácidos nucleicos "bloqueados" (LNA) en los que el 2'-hidroxil está conectado por un puente de alqueniilo C₁₋₆ o heteroalqueniilo C₁₋₆ al carbono 4' del mismo azúcar ribosa, donde los puentes ejemplares incluyen puentes metileno, propileno, éter o amino; aminoalquilo, como se define en esta invención; aminoalcoxi, como se define en esta invención; amino como se define en esta invención; y aminoácido, como se define en esta invención.

Generalmente, el ARN incluye el grupo de azúcar ribosa, que es un anillo de 5 miembros que tiene un oxígeno. Los nucleótidos alternativos no limitativos ejemplares incluyen el reemplazo del oxígeno en la ribosa (por ejemplo, con S, Se, o alquileo, tal como metileno o etileno); la adición de un enlace doble (por ejemplo, para reemplazar la ribosa con ciclopentenilo o ciclohexenilo); la contracción anular de la ribosa (por ejemplo, para formar un anillo de 4 miembros de ciclobutano u oxetano); la expansión anular de la ribosa (por ejemplo, para formar un anillo de 6 o 7 miembros que tiene un carbono o heteroátomo adicional, tal como para anhidrohexitol, altritol, manitol, ciclohexanilo, ciclohexenilo y morfolino (que también tiene una cadena principal de fosforamidato)); formas multicíclicas (por ejemplo, formas triciclo y "desbloqueadas", tal como ácido nucleico de glicol (GNA), R-GNA o S-GNA, donde la ribosa se reemplaza por unidades de glicol unidas a enlaces fosfodiéster), ácido nucleico de treosa (TNA, donde la ribosa se reemplaza por α -L-treofuranosil-(3'→2')), y ácido nucleico peptídico (PNA, donde los enlaces 2-amino-etil-glicina reemplazan la cadena principal de fosfodiéster y ribosa).

En algunas realizaciones, el grupo de azúcar contiene uno o más carbonos que poseen la configuración estereoquímica opuesta del carbono correspondiente en la ribosa. Por lo tanto, una molécula de polinucleótido puede incluir nucleótidos que contienen, por ejemplo, arabinosa o L-ribosa, como el azúcar.

En algunas realizaciones, el polinucleótido incluye al menos un nucleósido donde el azúcar es L-ribosa, 2'-O-metil-ribosa, 2'-fluoro-ribosa, arabinosa, hexitol, un LNA o un PNA.

Alteraciones en el enlace internucleosídico

Los nucleótidos alternativos se pueden alterar en el enlace internucleosídico (por ejemplo, cadena principal de fosfato). En esta invención, en el contexto de la cadena principal del polinucleótido, los términos "fosfato" y "fosfodiéster" se utilizan indistintamente. Los grupos fosfato de la cadena principal se pueden alterar reemplazando uno o más de los átomos de oxígeno con un sustituyente diferente.

Los nucleótidos alternativos pueden incluir el reemplazo total de un resto de fosfato inalterado con otro enlace internucleosídico tal como se describe en esta invención. Los ejemplos de grupos fosfato alternativos incluyen, pero sin limitarse a, fosforotioato, fosforoselenatos, boranofosfatos, ésteres de boranofosfato, hidrogenofosfonatos, fosforamidatos, fosforodiamidatos, fosfonatos de alquilo o arilo y fosfotriésteres. Los fosforoditioatos tienen ambos oxígenos no enlazantes reemplazados por azufre. El enlazador de fosfato también se puede alterar mediante el reemplazo de un oxígeno de enlace con nitrógeno (fosforamidatos en puente), azufre (fosforotioatos en puente) y carbono (metileno-fosfonatos en puente).

Los nucleósidos y nucleótidos alternativos pueden incluir el reemplazo de uno o más de los óxidos que no forman puentes con un resto de borano (BH₃), azufre (tio), metilo, etilo y/o metoxi. Como un ejemplo no limitativo, dos oxígenos que no forman puentes en la misma posición (por ejemplo, la posición alfa (α), beta (β) o gamma (γ)) pueden reemplazarse con un azufre (tio) y un metoxi.

El reemplazo de uno o más de los átomos de oxígeno en la posición α del resto fosfato (por ejemplo, α -tiosfosfato) se proporciona para conferir estabilidad (tal como contra exonucleasas y endonucleasas) al ARN y ADN a través de los enlaces de cadena principal de fosforotioato no naturales. El ADN y el ARN de fosforotioato tienen una mayor resistencia a las nucleasas y, posteriormente, una semivida más larga en un entorno celular.

En esta invención se describen otros enlaces internucleosídicos que se pueden emplear según la presente descripción, incluyendo enlaces internucleosídicos que no contienen un átomo de fósforo.

50 Sitios internos de entrada al ribosoma

Los polinucleótidos pueden contener un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES). Un IRES puede actuar como el único sitio de unión al ribosoma, o puede servir como uno de los múltiples sitios de unión al ribosoma de un ARNm. Un polinucleótido que contiene más de un sitio de unión al ribosoma funcional puede codificar varios péptidos o polipéptidos que se traducen independientemente por los ribosomas (por ejemplo, ARNm multicistónico). Cuando se proporcionan polinucleótidos con un IRES, opcionalmente se proporciona además una segunda región traducible. Los ejemplos de secuencias IRES que se pueden usar según la presente descripción incluyen, sin limitación, los de picornavirus (por ejemplo, FMDV), virus de plagas (CFFV), virus de la poliomiéltis (PV), virus de la encefalomiocarditis (ECMV), virus de la fiebre aftosa (FMDV), virus de la hepatitis C (HCV), virus de la peste porcina clásica (CSFV), virus de la leucemia murina (MLV), virus de la inmunodeficiencia de los simios (SIV) o virus de la parálisis del grillo (CrPV).

Estructura 5'-cap

Un polinucleótido (por ejemplo, un ARNm) puede incluir una estructura 5'-cap. La estructura 5'-cap de un polinucleótido está involucrada en la exportación nuclear y en el aumento de la estabilidad del polinucleótido y

se une a la proteína de unión a la cap de ARNm (CBP), que es responsable de la estabilidad del polinucleótido en la célula y la competencia de traducción a través de la asociación de CBP con la proteína de unión a poli-A para formar la especie de ARNm cíclico maduro. La cap ayuda además a la eliminación de intrones proximales 5' durante el splicing (empalme) de ARNm.

5 Las moléculas de polinucleótidos endógenas pueden tener un capping en el extremo 5' que genera un enlace 5'-ppp-5'-trifosfato entre un residuo de cap de guanosina terminal y el nucleótido sentido transcrito 5' terminal del polinucleótido. Esta cap de 5'-guanilato se puede metilar a continuación para generar un residuo de *N7*-metil-guanilato. Los azúcares ribosa de los nucleótidos transcritos terminales y/o anteterminales del extremo 5' del polinucleótido también pueden estar opcionalmente 2'-O-metilados. El decapping de 5' mediante hidrólisis y escisión de la estructura cap de guanilato puede dirigirse a una molécula de polinucleótido, tal como una molécula de ARNm, para su degradación.

15 Las alteraciones de polinucleótidos pueden generar una estructura de cap no hidrolizable que evita el decapping y, por lo tanto, aumenta la semivida del polinucleótido. Debido a que la hidrólisis de la estructura de cap requiere la escisión de los enlaces fosforodiéster 5'-ppp-5', se pueden usar nucleótidos alternativos durante la reacción de capping. Por ejemplo, se puede usar una enzima de capping de Vaccinia de New England Biolabs (Ipswich, MA) con nucleótidos de α -tio-guanosina según las instrucciones del fabricante para crear un enlace fosforotioato en la cap 5'-ppp-5'. Se pueden usar nucleótidos de guanosina alternativos adicionales tales como nucleótidos de α -metil-fosfonato y seleno-fosfato.

25 Las alteraciones adicionales incluyen, pero sin limitarse a, 2'-O-metilación de los azúcares ribosa de nucleótidos 5'-terminales y/o 5'-anteterminales del polinucleótido (como se mencionó anteriormente) en el grupo 2'-hidroxi del azúcar. Se pueden utilizar múltiples estructuras 5'-cap distintas para generar la 5'-cap de un polinucleótido, tal como una molécula de ARNm.

Las estructuras 5'-cap incluyen las descritas en las Publicaciones de Patentes internacionales n.º WO2008127688, WO 2008016473 y WO 2011015347.

30 Los análogos de cap, que en esta invención también se denominan análogos de cap sintéticos, cap químicas, análogos de cap químicos o análogos de cap estructurales o funcionales, difieren de las cap 5' naturales (es decir, endógenas, de tipo silvestre o fisiológicas) en su estructura química, mientras que conservan la función de cap. Los análogos de cap pueden sintetizarse química (es decir, no enzimáticamente) o enzimáticamente y/o unirse a un polinucleótido.

35 Por ejemplo, la cap Anti-Reverse Cap Analog (ARCA) contiene dos guanosinas unidas por un grupo 5'-5'-trifosfato, donde una guanosina contiene un grupo *N7*-metilo, así como un grupo 3'-O-metilo (es decir, *N7*,3'-O-dimetil-guanosina-5'-trifosfato-5'-guanosina, $m^7G-3'mppp-G$, que puede designarse de manera equivalente 3' O-Me- $m^7G(5')ppp(5')G$). El átomo 3'-O de la otra guanosina inalterada se une al nucleótido 5' terminal del polinucleótido con capping (por ejemplo, un ARNm). La guanosina *N7*- y 3'-O-metilada proporciona el resto terminal del polinucleótido con capping (por ejemplo, ARNm).

45 Otra cap ejemplar es mCAP, que es similar a ARCA, pero tiene un grupo 2'-O-metilo en la guanosina (es decir, *N7*,2'-O-dimetil-guanosina-5'-trifosfato-5'-guanosina, $m^7Gm-PPP-G$).

50 Una cap puede ser un análogo de cap de dinucleótido. Como un ejemplo no limitativo, el análogo de cap de dinucleótido puede modificarse en diferentes posiciones de fosfato con un grupo boranofosfato o un grupo fosforoselenoato, tal como los análogos de cap de dinucleótido descritos en la Patente Estadounidense n.º 8.519.110.

55 De manera alternativa, un análogo de cap puede ser un análogo de cap de dinucleótido sustituido con *N7*-(4-clorofenoxietilo) conocido en la técnica y/o descrito en esta invención. Los ejemplos no limitativos de análogos de cap de dinucleótido sustituidos con *N7*-(4-clorofenoxietilo) incluyen un análogo de cap de *N7*-(4-clorofenoxietil)- $G(5')ppp(5')G$ y un análogo de cap de *N7*-(4-clorofenoxietil)- $m^3-OG(5')ppp(5')G$ (véase, por ejemplo, los diversos análogos de cap y los procedimientos de síntesis de análogos de cap descritos en Kore y col. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2013 21:4570-4574). En otros aspectos, un análogo de cap útil en los polinucleótidos de la presente descripción es un análogo de 4-cloro/bromofenoxietilo.

60 Mientras que los análogos de cap permiten el capping concomitante de un polinucleótido en una reacción de transcripción *in vitro*, hasta el 20 % de los transcritos permanecen sin capping. Esto, así como las diferencias estructurales de un análogo de cap de estructuras 5'-cap endógenas de polinucleótidos producidos por la maquinaria de transcripción celular endógena, puede conducir a una capacidad de traducción reducida y una menor estabilidad celular.

65 Los polinucleótidos alternativos también pueden experimentar capping después de la transcripción, usando enzimas, con el fin de generar estructuras 5'-cap más auténticas. Como se usa en esta invención, la expresión

- "más auténtica" se refiere a una característica que refleja o imita estrechamente, ya sea estructural o funcionalmente, una característica endógena o de tipo silvestre. Es decir, una característica "más auténtica" es mejor representativa de una función y/o estructura celular endógena, de tipo silvestre, natural o fisiológica en comparación con las características sintéticas o análogas de la técnica anterior, o que supera la característica endógena, de tipo silvestre, natural o fisiológica correspondiente en uno o más aspectos. Los ejemplos no limitativos de estructuras 5'-cap más auténticas útiles en los polinucleótidos de la presente descripción son aquellas que, entre otras cosas, tienen una unión mejorada de las proteínas de unión a cap, una mayor semivida, una susceptibilidad reducida a las 5'-endonucleasas y/o una reducción del decapping en 5', en comparación con las estructuras 5'-cap sintéticas conocidas en la técnica (o a una estructura 5'-cap de tipo silvestre, natural o fisiológica). Por ejemplo, la enzima de capping del virus de la Vaccinia recombinante y la enzima 2'-O-metiltransferasa recombinante pueden crear un enlace 5'-5'-trifosfato canónico entre el nucleótido 5'-terminal de un polinucleótido y un nucleótido de cap de guanosina donde la guanosina cap contiene una N7-metilación y el nucleótido 5'-terminal del polinucleótido contiene un 2'-O-metilo. Tal estructura se denomina la estructura Cap1. Esta cap da como resultado una mayor competencia de traducción, estabilidad celular y una activación reducida de citocinas proinflamatorias celulares, en comparación, por ejemplo, con otras estructuras análogas de cap 5' conocidas en la técnica. Otras estructuras de cap ejemplares incluyen 7mG(5')ppp(5')N, pN2p (Cap 0), 7mG(5')ppp(5')NImpNp (Cap 1), 7mG(5')-ppp(5')NImpN2mp (Cap 2) y m(7)Gpppm(3)(6,6,2')Apm(2')Apm(2')Cpm(2)(3,2')Up (Cap 4).
- Debido a que los polinucleótidos alternativos pueden experimentar capping después de la transcripción, y debido a que este procedimiento es más eficiente, casi el 100 % de los polinucleótidos alternativos pueden experimentar capping. Esto contrasta con el ~80 % cuando un análogo de cap está unido a un polinucleótido en el curso de una reacción de transcripción *in vitro*.
- Las cap 5' terminales pueden incluir cap endógenas o análogos de cap. Una cap 5'-terminal puede incluir un análogo de guanosina. Los análogos de guanosina útiles incluyen inosina, N1-metil-guanosina, 2'-fluoro-guanosina, 7-deaza-guanosina, 8-oxo-guanosina, 2-amino-guanosina, LNA-guanosina y 2-azido-guanosina.

- En algunos casos, un polinucleótido contiene una cap 5' modificada. Una modificación en la cap 5' puede aumentar la estabilidad del polinucleótido, aumentar la semivida del polinucleótido y podría aumentar la eficiencia de traducción del polinucleótido. La 5'-cap modificada puede incluir, pero sin limitarse a, una o más de las siguientes modificaciones: modificación en la posición de 2' y/o 3' de un trifosfato de guanosina con capping (GTP), un reemplazo del oxígeno del anillo de azúcar (que produjo el anillo carbocíclico) con un resto de metileno (CH₂), una modificación en el resto de puente trifosfato de la estructura de cap, o una modificación en el resto de la nucleobase (G).

5'-UTR

- Se puede proporcionar una UTR 5' como una región flanqueante para polinucleótidos (por ejemplo, ARNm). Una UTR 5' puede ser homóloga o heteróloga a la región codificante que se encuentra en un polinucleótido. Pueden incluirse múltiples 5'-UTR en la región flanqueante y pueden ser iguales o de diferentes secuencias. Cualquiera porción de las regiones flanqueantes, incluyendo ninguna, puede optimizarse por codones y cualquiera puede contener independientemente una o más alteraciones estructurales o químicas diferentes, antes y/o después de la optimización por codones.
- Se muestra en la Tabla 21 de la Solicitud Provisional Estadounidense n.º 61/775.509, y en la Tabla 21 y en la Tabla 22 de la Solicitud Provisional Estadounidense n.º 61/829.372, una lista del sitio de inicio y finalización de polinucleótidos alternativos (por ejemplo, ARNm). En la Tabla 21 cada UTR 5' (5'-UTR-005 a 5'-UTR 68511) se identifica por su sitio de inicio y finalización en relación con su transcripción nativa o de tipo silvestre (homóloga) (ENST; el identificador utilizado en la base de datos ENSEMBL).

- Para alterar una o más propiedades de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm), se pueden modificar por ingeniería genética las 5'-UTR que son heterólogas a la región codificante de un polinucleótido alternativo (por ejemplo, ARNm). A continuación, los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) pueden administrarse a células, tejidos u organismos y los resultados tales como nivel de proteína, localización y/o semivida pueden medirse para evaluar los efectos beneficiosos que la 5'-UTR heteróloga puede tener sobre los polinucleótidos alternativos (ARNm). Las variantes de las 5'-UTR se pueden utilizar donde uno o más nucleótidos se añaden o eliminan de los extremos, incluyendo A, T, C o G. Las 5'-UTR también se pueden optimizar con codones, o alterar de cualquier manera descrita en esta invención.

- 5'-UTR, 3'-UTR y elementos de mejora de la traducción (TEE)

- La 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir al menos un elemento de mejora de la traducción. La expresión "elemento de mejora de la traducción" se refiere a secuencias que aumentan la cantidad de polipéptido o proteína producida a partir de un polinucleótido. Como un ejemplo no limitativo, el TEE puede estar ubicado entre el promotor de transcripción y el codón de inicio. Los polinucleótidos (por

ejemplo, ARNm) con al menos un TEE en la 5'-UTR pueden incluir una cap en la 5'-UTR. Además, al menos un TEE puede estar ubicado en la 5'-UTR de polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) que experimentan traducción dependiente de cap o independiente de cap.

- 5 En un aspecto, los TEE son elementos conservados en la UTR que pueden promover la actividad de traducción de un polinucleótido tal como, pero sin limitarse a, traducción dependiente de cap o independiente de cap. La conservación de estas secuencias ha sido demostrada previamente por Panek y col. (Nucleic Acids Research, 2013, 1-10) en 14 especies, incluidos los seres humanos.
- 10 En un ejemplo no limitativo, los TEE conocidos pueden estar en el líder 5' de la proteína de homeodominio Gtx (Chappell y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:9590-9594, 2004).

En otro ejemplo no limitativo, los TEE se describen en las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2009/0226470 y 2013/0177581, las Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO2009/075886, 15 WO2012/009644 y WO1999/024595, las Patentes Estadounidenses n.º 6.310.197 y 6.849.405.

En otro ejemplo no limitativo más, el TEE puede ser un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES), HCV-IRES o un elemento IRES tal como, pero sin limitarse a, los descritos en las Patentes Estadounidenses n.º 7.468.275, las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2007/0048776 y 2011/0124100 y las Publicaciones de 20 Patentes Internacionales n.º WO2007/025008 y WO2001/055369. Los elementos IRES pueden incluir, pero sin limitarse a, las secuencias Gtx (por ejemplo, Gtx9-nt, Gtx8-nt, Gtx7-nt) descritas por Chappell y col. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:9590-9594, 2004) y Zhou y col. (PNAS 102:6273-6278, 2005) y en las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2007/0048776 y 2011/0124100 y la Publicación de Patente Internacional n.º WO2007/025008.

25 "Los "polinucleótidos potenciadores de la traducción" son polinucleótidos que incluyen uno o más de los TEE específicos ejemplificados en esta invención y/o descritos en la técnica (véase, por ejemplo, las Patentes Estadounidenses n.º 6.310.197, 6.849.405, 7.456.273, 7.183.395, las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2009/0226470, 2007/0048776, 2011/0124100, 2009/0093049, 2013/0177581, las 30 Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO2009/075886, WO2007/025008, WO2012/009644, WO2001/055371, WO1999/024595 y las Patentes Europeas n.º 2610341 y 2610340) o sus variantes, homólogos o derivados funcionales. Una o múltiples copias de un TEE específico pueden estar presentes en un polinucleótido (por ejemplo, ARNm). Los TEE en los polinucleótidos potenciadores de la traducción pueden organizarse en uno o más segmentos de secuencia. Un segmento de secuencia puede albergar uno o más de 35 los TEE específicos ejemplificados en esta invención, con cada TEE presente en una o más copias. Cuando múltiples segmentos de secuencia están presentes en un polinucleótido potenciador de la traducción, pueden ser homogéneos o heterogéneos. Por lo tanto, los múltiples segmentos de secuencia en un polinucleótido potenciador de la traducción pueden albergar tipos idénticos o diferentes de los TEE específicos ejemplificados en esta invención, número idéntico o diferente de copias de cada uno de los TEE específicos y/u organización 40 idéntica o diferente de los TEE dentro de cada segmento de secuencia.

Un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir al menos un TEE que se describe en las Publicaciones de Patentes Internacionales N.º WO1999/024595, WO2012/009644, WO2009/075886, WO2007/025008, 45 WO1999/024595, las Publicaciones de Patentes Europeas N.º 2610341 y 2610340, las Patentes Estadounidenses N.º 6.310.197, 6.849.405, 7.456.273, 7.183.395 y las Publicaciones de Patentes Estadounidenses N.º 2009/0226470, 2011/0124100, 2007/0048776, 2009/0093049 y 2013/0177581. El TEE puede estar ubicado en la 5'-UTR de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm).

Un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir al menos un TEE que tiene al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o al menos el 99 % de identidad con los TEE descritos en las 50 Publicaciones de Patentes Estadounidenses N.º 2009/0226470, 2007/0048776, 2013/0177581 y 2011/0124100, las Publicaciones de Patentes Internacionales N.º WO1999/024595, WO2012/009644, WO2009/075886 y WO2007/025008, las Publicaciones de Patentes Europeas N.º 2610341 y 2610340, las Patentes Estadounidenses N.º 6.310.197, 6.849.405, 7.456.273, 7.183.395.

La 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18 al menos 19, al menos 20, 60 al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, al menos 45, al menos 50, al menos 55 o más de 60 secuencias TEE. Las secuencias TEE en la 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) pueden ser las mismas o diferentes secuencias TEE. Las secuencias TEE pueden estar en un patrón tal como ABABAB, AABBAABBAABB o ABCABCABC, o variantes de las mismas, repetidas una, dos o más de tres veces. En estos patrones, cada letra, A, B o C representa una secuencia TEE 65 diferente a nivel de nucleótido.

En algunos casos, la 5'-UTR puede incluir un espaciador para separar dos secuencias TEE. Como un ejemplo no limitativo, el espaciador puede ser un espaciador de 15 nucleótidos y/u otros espaciadores conocidos en la técnica. Como otro ejemplo no limitativo, la 5'-UTR puede incluir un módulo espaciador de secuencia TEE repetido al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces o más de 9 veces en la 5'-UTR.

En otros aspectos, el espaciador que separa dos secuencias TEE puede incluir otras secuencias conocidas en la técnica que pueden regular la traducción de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción tal como, pero sin limitarse a, secuencias miR (por ejemplo, sitios de unión miR y semillas miR). Como un ejemplo no limitativo, cada espaciador utilizado para separar dos secuencias TEE puede incluir una secuencia miR o un componente de una secuencia miR diferente (por ejemplo, secuencia semilla de miR).

En algunos aspectos, el TEE en la 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 15 %, al menos el 20 %, al menos el 25 %, al menos el 30 %, al menos el 35 %, al menos el 40 %, al menos el 45 %, al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 99 % o más del 99 % de las secuencias TEE descritas en las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2009/0226470, 2007/0048776, 2013/0177581 y 2011/0124100, las Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO1999/024595, WO2012/009644, WO2009/075886 y WO2007/025008, las Publicaciones de Patentes Europeas n.º 2610341 y 2610340, y las Patentes Estadounidenses n.º 6.310.197, 6.849.405, 7.456.273 y 7.183.395. En otra realización, el TEE en la 5'-UTR de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción puede incluir un fragmento de 5-30 nucleótidos, un fragmento de 5-25 nucleótidos, un fragmento de 5-20 nucleótidos, un fragmento de 5-15 nucleótidos, un fragmento de 5-10 nucleótidos de las secuencias TEE descritas en las

Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2009/0226470, 2007/0048776, 2013/0177581 y 2011/0124100, las Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO1999/024595, WO2012/009644, WO2009/075886 y WO2007/025008, las Publicaciones de Patentes Europeas n.º 2610341 y 2610340, y las Patentes Estadounidenses n.º 6.310.197, 6.849.405, 7.456.273 y 7.183.395.

En determinados casos, el TEE en la 5'-UTR de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción puede incluir al menos el 5 %, al menos el 10 %, al menos el 15 %, al menos el 20 %, al menos el 25 %, al menos el 30 %, al menos el 35 %, al menos el 40 %, al menos el 45 %, al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 99 % o más del 99 % de las secuencias de TEE descritas en Chappell y col. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:9590-9594, 2004) y Zhou y col. (PNAS 102:6273-6278, 2005), en la Tabla complementaria 1 y en la Tabla complementaria 2 descrita por Wellensiek y col (Genome-wide profiling of human cap-independent translation-enhancing elements, Nature Methods, 2013; DOI10.1038/NMETH.2522). En otra realización, el TEE en la 5'-UTR de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción puede incluir un fragmento de 5-30 nucleótidos, un fragmento de 5-25 nucleótidos, un fragmento de 5-20 nucleótidos, un fragmento de 5-15 nucleótidos, un fragmento de 5-10 nucleótidos de las secuencias TEE descritas en Chappell y col. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:9590-9594, 2004) y Zhou y col. (PNAS 102:6273-6278, 2005), en la Tabla complementaria 1 y en la Tabla complementaria 2 descrita por Wellensiek y col (Genome-wide profiling of human cap-independent translation-enhancing elements, Nature Methods, 2013; DOI: 10.1038/NMETH.2522).

En algunos casos, el TEE utilizado en la 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) es una secuencia IRES tal como, pero sin limitarse a, las descritas en la Patente Estadounidense n.º 7.468.275 y la Publicación de Patente Internacional n.º WO2001/055369.

En algunos aspectos, los TEE utilizados en la 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) se pueden identificar mediante los procedimientos descritos en las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2007/0048776 y 2011/0124100 y en las Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO2007/025008 y WO2012/009644.

En algunos casos, los TEE utilizados en la 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción pueden ser un elemento regulador de la transcripción descrito en las Patentes Estadounidenses n.º 7.456.273 y 7.183.395, la Publicación de Patente Estadounidense n.º 2009/0093049 y la Publicación Internacional n.º WO2001/055371. Los elementos reguladores de la transcripción se pueden identificar mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como, pero sin limitarse a, los procedimientos descritos en las Patentes Estadounidenses n.º 7.456.273 y 7.183.395, la Publicación de Patente Estadounidense n.º 2009/0093049 y la Publicación de Patente Internacional n.º WO2001/055371.

En otros aspectos más, los TEE utilizados en la 5'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) es un polinucleótido o una porción del mismo como se describe en las Patentes Estadounidenses n.º 7.456.273 y 7.183.395, la Publicación de Patente Estadounidense n.º 2009/0093049 y la Publicación Internacional n.º

WO2001/055371.

La 5'-UTR que incluye al menos un TEE descrito en esta invención puede incorporarse en una secuencia monocistrónica tal como, pero sin limitarse a, un sistema de vectores o un vector de polinucleótidos. Como un ejemplo no limitativo, los sistemas de vectores y vectores de polinucleótidos pueden incluir los descritos en las Patentes Estadounidenses n.º 7.456.273 y 7.183.395, las Publicaciones de Patentes Estadounidenses n.º 2007/0048776, 2009/0093049 y 2011/0124100, y las Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO2007/025008 y WO2001/055371.

Los TEE descritos en esta invención pueden estar ubicados en la 5'-UTR y/o la 3'-UTR de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm). Los TEE ubicados en la 3'-UTR pueden ser iguales y/o diferentes a los TEE ubicados en y/o descritos para su incorporación en la 5'-UTR.

En algunos casos, la 3'-UTR de un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18 al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, al menos 45, al menos 50, al menos 55 o más de 60 secuencias TEE. Las secuencias TEE en la 3'-UTR de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción pueden ser las mismas o diferentes secuencias TEE. Las secuencias TEE pueden estar en un patrón tal como ABABAB, AABBAABBAABB o ABCABCABC, o variantes de las mismas, repetidas una, dos o más de tres veces. En estos patrones, cada letra, A, B o C representa una secuencia TEE diferente a nivel de nucleótido.

En un aspecto, la 3'-UTR puede incluir un espaciador para separar dos secuencias TEE. Como un ejemplo no limitativo, el espaciador puede ser un espaciador de 15 nucleótidos y/u otros espaciadores conocidos en la técnica. Como otro ejemplo no limitativo, la 3'-UTR puede incluir un módulo espaciador de secuencia TEE repetido al menos una vez, al menos dos veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces o más de 9 veces en la 3'-UTR.

En otros casos, el espaciador que separa dos secuencias TEE puede incluir otras secuencias conocidas en la técnica que pueden regular la traducción de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) de la presente descripción tal como, pero sin limitarse a, secuencias miR descritas en esta invención (por ejemplo, sitios de unión miR y semillas miR). Como un ejemplo no limitativo, cada espaciador utilizado para separar dos secuencias TEE puede incluir una secuencia miR o un componente de una secuencia miR diferente (por ejemplo, secuencia semilla de miR).

En otros casos más, la incorporación de una secuencia miR y/o una secuencia TEE cambia la forma de la región de bucle en horquilla que puede aumentar y/o disminuir la traducción. (véase, por ejemplo, Kedde y col. A Pumilio-induced RNA structure switch in p27-3'UTR controls miR-221 and miR-22 accessibility (Un interruptor de estructura de ARN inducido por Pumilio en p27-3'UTR controla la accesibilidad de miR-221 y miR-22). Nature Cell Biology. 2010).

Bucles en horquilla

Los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) pueden incluir un bucle en horquilla tal como, pero sin limitarse a, un bucle en horquilla de histona. El bucle en horquilla puede ser una secuencia de nucleótidos que tiene alrededor de 25 o alrededor de 26 nucleótidos de longitud tal como, pero sin limitarse a, las que se describen en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/103659. El bucle en horquilla de histona puede estar ubicado 3' en relación con la región codificante (por ejemplo, en el extremo 3' de la región codificante). Como un ejemplo no limitativo, el bucle en horquilla puede estar ubicado en el extremo 3' de un polinucleótido descrito en esta invención. En algunos casos, un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) incluye más de un bucle en horquilla (por ejemplo, dos bucles en horquilla). Los ejemplos de secuencias de bucle en horquilla se describen en las Publicaciones de Patentes Internacionales n.º WO2012/019780 y WO201502667. En algunos aspectos, un polinucleótido incluye la secuencia de bucle en horquilla CAAAGGCTCTTTTCAGAGCCACCA (SEQ ID NO: 1). En otros, un polinucleótido incluye la secuencia de bucle en horquilla CAAAGGCUCUUUCAGAGCCACCA (SEQ ID NO: 2).

Un bucle en horquilla puede estar ubicado en una segunda región terminal de un polinucleótido. Como un ejemplo no limitativo, el bucle en horquilla puede estar ubicado dentro de una región no traducida (por ejemplo, 3'-UTR) en una segunda región terminal.

En algunos casos, un polinucleótido tal como, pero sin limitarse a ARNm, que incluye el bucle en horquilla de histona se puede estabilizar mediante la adición de una región estabilizadora en 3' (por ejemplo, una región estabilizadora en 3' que incluye al menos un nucleósido de terminación de cadena). Sin desear limitarse a la teoría, la adición de al menos un nucleósido de terminación de cadena puede retrasar la degradación de un polinucleótido y, por lo tanto, puede aumentar la semivida del polinucleótido.

En otros casos, un polinucleótido tal como, pero sin limitarse a ARNm, que incluye el bucle en horquilla de histona se puede estabilizar mediante una alteración en la región 3' del polinucleótido que puede evitar y/o inhibir la adición de oligo (U) (véase, por ejemplo, la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/103659).

5

En otros casos más, un polinucleótido tal como, pero sin limitarse a, ARNm, que incluye el bucle en horquilla de histona puede estabilizarse mediante la adición de un oligonucleótido que termina en un 3'-desoxinucleósido, 2',3'-didesoxinucleósido 3'-O-metilnucleósidos, 3'-O-etilnucleósidos, 3'-arabinósidos y otros nucleósidos alternativos conocidos en la técnica y/o descritos en esta invención.

10

En algunos aspectos, los polinucleótidos de la presente descripción pueden incluir un bucle en horquilla de histona, una región poli-A y/o una estructura 5'-cap. El bucle en horquilla de histona puede estar antes y/o después de la región poli-A. Los polinucleótidos que incluyen el bucle en horquilla de histona y una secuencia de región poli-A pueden incluir un nucleósido de terminación de cadena descrito en esta invención.

15

En otros aspectos, los polinucleótidos de la presente descripción pueden incluir un bucle en horquilla de histona y una estructura 5'-cap. La estructura 5'-cap puede incluir, pero sin limitarse a, las descritas en esta invención y/o conocidas en la técnica.

20

En algunos casos, la región de bucle en horquilla conservada puede incluir una secuencia miR descrita en esta invención. Como un ejemplo no limitativo, la región de bucle en horquilla puede incluir la secuencia semilla de una secuencia miR descrita en esta invención. En otro ejemplo no limitativo, la región de bucle en horquilla puede incluir una secuencia semilla de miR-122.

25

En determinados aspectos, la región de bucle en horquilla conservada puede incluir una secuencia miR descrita en esta invención y también puede incluir una secuencia TEE.

En algunos casos, la incorporación de una secuencia miR y/o una secuencia TEE cambia la forma de la región de bucle en horquilla que puede aumentar y/o disminuir la traducción. (véase, por ejemplo, Kedde y col. A Pumilio-induced RNA structure switch in p27-3'UTR controls miR-221 and miR-22 accessibility (Un interruptor de estructura de ARN inducido por Pumilio en p27-3'UTR controla la accesibilidad de miR-221 y miR-22). Nature Cell Biology. 2010).

30

Los polinucleótidos pueden incluir al menos un bucle en horquilla de histona y una región poli-A o señal de poliadenilación. Los ejemplos no limitativos de secuencias de polinucleótidos que codifican para al menos un bucle en horquilla de histona y una región poli-A o una señal de poliadenilación se describen en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/120497, WO2013/120629, WO2013/120500, WO2013/120627, WO2013/120498, WO2013/120626, WO2013/120499 y WO2013/120628. En determinados casos, el polinucleótido que codifica para un bucle en horquilla de histona y una región poli-A o una señal de poliadenilación puede codificar para un antígeno patógeno o fragmento del mismo, tal como las secuencias de polinucleótidos descritas en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/120499 y el documento WO2013/120628. En otros casos, el polinucleótido que codifica para un bucle en horquilla de histona y una región poli-A o una señal de poliadenilación puede codificar para una proteína terapéutica tal como las secuencias de polinucleótidos descritas en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/120497 y el documento WO2013/120629. En algunos casos, el polinucleótido que codifica para un bucle en horquilla de histona y una región poli-A o una señal de poliadenilación puede codificar para un antígeno tumoral o fragmento del mismo, tal como las secuencias de polinucleótidos descritas en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/120500 y el documento WO2013/120627. En otros casos, el polinucleótido que codifica para un bucle en horquilla de histona y una región poli-A o una señal de poliadenilación puede codificar para un antígeno alergénico o un autoantígeno autoinmunitario tal como las secuencias de polinucleótidos descritas en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/120498 y el documento WO2013/120626.

35

40

45

50

Regiones poli-A

55

Un polinucleótido o ácido nucleico (por ejemplo, un ARNm) puede incluir una secuencia de poliA y/o señal de poliadenilación. Una secuencia de poliA puede comprender en su totalidad o en su mayoría nucleótidos de adenina o análogos o derivados de los mismos. Una secuencia de poliA puede ser una cola ubicada adyacente a una región no traducida 3' de un ácido nucleico.

60

Durante el procesamiento de ARN, normalmente se añade una cadena larga de nucleótidos de adenosina (región poli-A) a las moléculas de ARN mensajero (ARNm) para aumentar la estabilidad de la molécula. Inmediatamente después de la transcripción, el extremo 3' del transcrito se escinde para liberar un hidroxilo 3'. A continuación, la poli-A polimerasa añade una cadena de nucleótidos de adenosina al ARN. El procedimiento, llamado poliadenilación, añade una región poli-A que tiene entre 100 y 250 residuos de largo.

65

Las longitudes de región poli-A únicas pueden proporcionar determinadas ventajas a los polinucleótidos

alternativos de la presente descripción.

Generalmente, la longitud de una región poli-A de la presente descripción tiene al menos 30 nucleótidos de longitud. En otra realización, la región poli-A tiene al menos 35 nucleótidos de longitud. En otra realización, la longitud es de al menos 40 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 45 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 55 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 60 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 70 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 80 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 90 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 100 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 120 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 140 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 160 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 180 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 200 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 250 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 300 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 350 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 400 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 450 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 500 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 600 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 700 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 800 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 900 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1000 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1100 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1200 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1300 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1400 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1500 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1600 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1700 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1800 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 1900 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 2000 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 2500 nucleótidos. En otra realización, la longitud es de al menos 3000 nucleótidos.

En algunos aspectos, la región poli-A puede tener 80 nucleótidos, 120 nucleótidos, 160 nucleótidos de longitud en una molécula de polinucleótida alternativa descrita en esta invención.

En otros aspectos, la región poli-A puede tener 20, 40, 80, 100, 120, 140 o 160 nucleótidos de longitud en una molécula de polinucleótida alternativa descrita en esta invención.

En algunos casos, la región poli-A se diseña con respecto a la longitud del polinucleótido alternativo total. Este diseño puede basarse en la longitud de la región codificante del polinucleótido alternativo, la longitud de una característica o región particular del polinucleótido alternativo (tal como ARNm), o en la longitud del producto final expresado a partir del polinucleótido alternativo. Cuando se relaciona con cualquier característica del polinucleótido alternativo (por ejemplo, que no sea la porción de ARNm que incluye la región poli-A) la región poli-A puede tener el 10, el 20, el 30, el 40, el 50, el 60, el 70, el 80, el 90 o el 100 % más de longitud que la característica adicional. La región poli-A también se puede diseñar como una fracción del polinucleótido alternativo al que pertenece. En este contexto, la región poli-A puede tener el 10, el 20, el 30, el 40, el 50, el 60, el 70, el 80 o el 90 % o más de la longitud total de la construcción o la longitud total de la construcción menos la región poli-A.

En determinados casos, los sitios de unión modificados por ingeniería genética y/o la conjugación de polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) para la proteína de unión a poli-A se pueden utilizar para mejorar la expresión. Los sitios de unión modificados por ingeniería genética pueden ser secuencias de sensores que pueden funcionar como sitios de unión para ligandos del microambiente local de los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm). Como un ejemplo no limitativo, los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) pueden incluir al menos un sitio de unión modificado por ingeniería genética para alterar la afinidad de unión de la proteína de unión a poli-A (PABP) y análogos de la misma. La incorporación de al menos un sitio de unión modificado por ingeniería genética puede aumentar la afinidad de unión del PABP y análogos de la misma.

De manera adicional, múltiples polinucleótidos distintos (por ejemplo, ARNm) se pueden unir juntos a la PABP (proteína de unión a poli-A) a través del extremo 3' usando nucleótidos alternativos en el extremo 3' de la región poli-A. Los experimentos de transfección se pueden llevar a cabo en líneas celulares relevantes y la producción de proteínas se puede evaluar mediante ELISA a las 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas y el día 7 después de la transfección. Como un ejemplo no limitativo, los experimentos de transfección pueden usarse para evaluar el efecto de esta afinidad de unión sobre la PABP o análogos de la misma como resultado de la adición de al menos un sitio de unión modificado por ingeniería genética.

En determinados casos, se puede usar una región poli-A para modular la iniciación de la traducción. Sin desear limitarse a la teoría, la región poli-A recluta PABP que, a su vez, puede interactuar con el complejo de iniciación de la traducción y, por lo tanto, puede ser esencial para la síntesis de proteínas.

En algunos casos, también se puede usar una región poli-A en la presente descripción para proteger contra la

digestión con 3'-5'-exonucleasa.

En algunos aspectos, un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir un cuarteto poliA-G. El cuarteto G es una matriz cíclica de cuatro nucleótidos de guanosina con enlaces de hidrógeno que pueden formarse por secuencias ricas en G tanto en ADN como en ARN. En esta realización, el cuarteto G se incorpora en el extremo de la región poli-A. Los polinucleótidos resultantes (por ejemplo, ARNm) se pueden evaluar para determinar la estabilidad, la producción de proteínas y otros parámetros que incluyen la semivida en diversos puntos de tiempo. Se ha descubierto que el cuarteto poliA-G da como resultado una producción de proteínas equivalente a al menos el 75 % de la observada usando una región poli-A de 120 nucleótidos sola.

En algunos casos, un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir una región poli-A y puede estabilizarse mediante la adición de una región estabilizadora en 3'. Los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) con una región poli-A pueden incluir además una estructura 5'-cap.

En otros casos, un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) puede incluir un cuarteto poli-A-G. Los polinucleótidos (por ejemplo, ARNm) con un cuarteto poli-A-G pueden incluir además una estructura 5'-cap.

En algunos casos, la región estabilizadora en 3' que se puede utilizar para estabilizar un polinucleótido (por ejemplo, ARNm) que incluye una región poli-A o un cuarteto poli-A-G puede ser, pero sin limitarse a, las descritas en la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/103659. En otros casos, la región estabilizadora en 3' que se puede utilizar con los polinucleótidos de la presente descripción incluyen un nucleósido de terminación de cadena tal como 3'-desoxiadenosina (cordicepina), 3'-desoxiuridina, 3'-desoxicitosina, 3'-desoxiguanosina, 3'-desoxitimina, 2',3'-didesoxinucleósidos, tal como 2',3'-didesoxiadenosina, 2',3'-didesoxiuridina, 2',3'-didesoxicitosina, 2',3'-didesoxiguanosina, 2',3'-didesoxitimina, un 2'-deseoxinucleósido o un O-metilnucleósido.

En otros casos, un polinucleótido tal como, pero sin limitarse a ARNm, que incluye una región poliA o un cuarteto poli-A-G se puede estabilizar mediante una alteración en la región 3' del polinucleótido que puede evitar y/o inhibir la adición de oligio (U) (véase, por ejemplo, la Publicación de Patente Internacional n.º WO2013/103659).

En otros aspectos más, un polinucleótido tal como, pero sin limitarse a, ARNm, que incluye una región poli-A o un cuarteto poli-A-G puede estabilizarse mediante la adición de un oligonucleótido que termina en un 3'-deseoxinucleósido, 2',3'-didesoxinucleósido 3-O-metilnucleósidos, 3'-O-etilnucleósidos, 3'-arabinósidos y otros nucleósidos alternativos conocidos en la técnica y/o descritos en esta invención.

Nucleósidos de terminación de cadena

Un ácido nucleico puede incluir un nucleósido de terminación de cadena. Por ejemplo, un nucleósido de terminación de cadena puede incluir aquellos nucleósidos desoxigenados en las posiciones 2' y/o 3' de su grupo de azúcar. Dichas especies pueden incluir 3'-desoxiadenosina (cordicepina), 3'-desoxiuridina, 3'-desoxicitosina, 3'-desoxiguanosina, 3'-desoxitimina y 2',3'-didesoxinucleósidos, tales como 2',3'-didesoxiadenosina, 2',3'-didesoxiuridina, 2',3'-didesoxicitosina, 2',3'-didesoxiguanosina y 2',3'-didesoxitimina.

Otros componentes

Una composición de nanopartículas puede incluir uno o más componentes además de los descritos en las secciones anteriores. Por ejemplo, una composición de nanopartículas puede incluir una o más moléculas hidrofóbicas pequeñas tales como una vitamina (por ejemplo, vitamina A o vitamina E) o un esteroide.

Las composiciones de nanopartículas también pueden incluir una o más moléculas potenciadoras de la permeabilidad, carbohidratos, polímeros, agentes que alteran la superficie u otros componentes. Una molécula potenciadora de la permeabilidad puede ser una molécula descrita por la Publicación de Solicitud de Patente Estadounidense n.º 2005/0222064, por ejemplo. Los carbohidratos pueden incluir azúcares simples (por ejemplo, glucosa) y polisacáridos (por ejemplo, glucógeno y derivados y análogos de los mismos).

Un polímero se puede incluir en y/o utilizar para encapsular o encapsular parcialmente una composición de nanopartículas. Un polímero puede ser biodegradable y/o biocompatible. Un polímero se puede seleccionar de entre, pero sin limitarse a, poliaminas, poli éteres, poliamidas, poliésteres, policarbamatos, poliureas, policarbonatos, poliestirenos, poliimidias, polisulfonas, poliuretanos, poliacetilenos, polietilenos, polietileniminias, polisocianatos, poliacrilatos, polimetacrilatos, poliacrilonitrilos y poliariatos. Por ejemplo, un polímero puede incluir poli(caprolactona) (PCL), polímero de acetato de etileno y vinilo (EVA), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido L-láctico) (PLLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli(ácido L-láctico-co-ácido glicólico) (PLLGA), poli(D,L-lactida) (PDLA), poli(L-lactida) (PLLA), poli(D,L-lactida-co-caprolactona), poli(D,L-lactida-co-caprolactona-co-glicólido), poli(D,L-lactida-co-PEO-co-D,L-lactida), poli(D,L-lactida-co-PPO-co-D,L-lactida), poli(cianoacrilato de alquilo), poliuretano, poli-L-lisina (PLL),

hidroxipropil metacrilato (HPMA), polietilenglicol, ácido poli-L-glutámico, poli(hidroxiácidos), polianhídridos, polioortésteres, poli(ésteramidas), poliamidas, poli(éster éteres), policarbonatos, polialquilenos tales como polietileno y propileno, polialquilen glicoles tales como poli(etilenglicol) (PEG), óxidos de polialquileno (PEO), tereftalatos de polialquileno tales como poli(tereftalato de etileno), polivinil alcoholes (PVA), polivinil éteres, polivinil ésteres tales como poli(acetato de vinilo), polivinil haluros tales como poli(cloruro de vinilo) (PVC), polivinilpirrolidona (PVP), polisiloxanos, poliestireno (PS), poliuretanos, celulosas derivadas tales como alquil celulosas, hidroxialquil celulosas, éteres de celulosa, ésteres de celulosa, nitrocelulosas, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, polímeros de ácidos acrílicos, tales como poli(metil(met)acrilato) (PMMA), poli(etil(met)acrilato), poli(butil(met)acrilato), poli(isobutil(met)acrilato), poli(hexil(met)acrilato), poli(isodecil(met)acrilato), poli(lauril(met)acrilato), poli(fenil(met)acrilato), poli(acrilato de metilo), poli(acrilato de isopropilo), poli(acrilato de isobutilo), poli(acrilato de octadecilo) y copolímeros y mezclas de los mismos, polidioxanona y sus copolímeros, polihidroxicanoatos, fumarato de polipropileno, polioximetileno, poloxámeros, polioxaminas, poli(orto)ésteres, poli(ácido butírico), poli(ácido valérico), poli(lactida-co-caprolactona), carbonato de trimetileno, poli(*N*-acriloilmorfolina) (PAcM), poli(2-metil-2-oxazolina) (PMOX), poli(2-etil-2-oxazolina) (PEOZ) y poliglicerol.

Los agentes que alteran la superficie pueden incluir, pero sin limitarse a, proteínas aniónicas (por ejemplo, albúmina de suero bovino), tensioactivos (por ejemplo, tensioactivos catiónicos tales como bromuro de dimetildioctadecil-amonio), azúcares o derivados de azúcar (por ejemplo, ciclodextrina), ácidos nucleicos, polímeros (por ejemplo, heparina, polietilenglicol y poloxámero), agentes mucolíticos (por ejemplo, acetilcisteína, artemisa, bromelaína, papaína, clerodendro, bromhexina, carbocisteína, eprazinona, mesna, ambroxol, sobrerol, domiodol, letosteína, estepronina, tiopronina, gelsolina, timosina β4, domasa alfa, neltexina y erdosteína) y DNAsas (por ejemplo, rhDNasa). Un agente de alteración de la superficie puede disponerse dentro de una nanopartícula y/o en la superficie de una composición de nanopartículas (por ejemplo, mediante recubrimiento, adsorción, enlace covalente u otro procedimiento).

Una composición de nanopartículas también puede comprender uno o más lípidos funcionalizados. Por ejemplo, un lípido puede funcionalizarse con un grupo alquino que, cuando se expone a una azida en condiciones de reacción adecuadas, puede experimentar una reacción de cicloadición. En particular, una bicapa lipídica puede funcionalizarse de esta manera con uno o más grupos útiles para facilitar la permeación de la membrana, el reconocimiento celular o la formación de imágenes. La superficie de una composición de nanopartículas también se puede conjugar con uno o más anticuerpos útiles. Los grupos funcionales y conjugados útiles en la administración celular dirigida, formación de imágenes y permeación de membrana son bien conocidos en la técnica.

Además de estos componentes, las composiciones de nanopartículas pueden incluir cualquier sustancia útil en composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, la composición de nanopartículas puede incluir uno o más excipientes o ingredientes accesorios farmacéuticamente aceptables tales como, pero sin limitarse a, uno o más disolventes, medios de dispersión, diluyentes, auxiliares de dispersión, auxiliares de suspensión, auxiliares de granulación, desintegrantes, cargas, deslizantes, vehículos líquidos, aglutinantes, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, agentes tamponadores, agentes lubricantes, aceites, conservantes y otras especies. También se pueden incluir excipientes tales como ceras, mantecas, agentes colorantes, agentes de recubrimiento, saborizantes y agentes perfumantes. Los excipientes farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington 's The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición, A. R. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006).

Los ejemplos de diluyentes pueden incluir, pero sin limitarse a, carbonato de calcio, carbonato de sodio, fosfato de calcio, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, hidrógeno fosfato de calcio, fosfato de sodio lactosa, sacarosa, celulosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, sorbitol, inositol, cloruro de sodio, almidón seco, almidón de maíz, azúcar en polvo y/o combinaciones de los mismos. Los agentes de granulación y dispersión se pueden seleccionar de entre la lista no limitativa que consiste en almidón de patata, almidón de maíz, almidón de tapioca, glicolato almidón de sodio, arcillas, ácido algínico, goma guar, pulpa de cítricos, agar, bentonita, celulosa y productos de madera, esponja natural, resinas de intercambio catiónico, carbonato de calcio, silicatos, carbonato de sodio, poli(vinil-pirrolidona) reticulada (crospovidona), carboximetil almidón de sodio (glicolato almidón de sodio), carboximetil celulosa, carboximetil celulosa de sodio reticulada (croscarmelosa), metilcelulosa, almidón pregelatinizado (almidón 1500), almidón microcristalino, almidón insoluble en agua, carboximetil celulosa de calcio, silicato de aluminio y magnesio (VEEGUM®), lauril sulfato de sodio, compuestos de amonio cuaternario y/o combinaciones de los mismos.

Los agentes tensioactivos y/o emulsionantes pueden incluir, pero sin limitarse a, emulsionantes naturales (por ejemplo, acacia, agar, ácido algínico, alginato de sodio, tragacanto, condruj, colesterol, xantano, pectina, gelatina, yema de huevo, caseína, grasa de lana, colesterol, cera y lecitina), arcillas coloidales (por ejemplo, bentonita [silicato de aluminio] y VEEGUM® [silicato de aluminio y magnesio]), derivados de aminoácidos de cadena larga, alcoholes de alto peso molecular (por ejemplo, alcohol estearílico, alcohol cetílico, alcohol oleílico, monoestearato de triacetina, diestearato de etilenglicol, monoestearato de glicerilo y monoestearato de propilenglicol, alcohol polivinílico), carbómeros (por ejemplo, carboxipolimetileno, ácido poliacrílico, polímero

de ácido acrílico y polímero de carboxivinilo), carragenano, derivados celulósicos (por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, celulosa en polvo, hidroximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, metilcelulosa), ésteres de ácidos grasos de sorbitán (por ejemplo, monolaurato de sorbitán polioxietileno [TWEEN®20], sorbitán polioxietileno [TWEEN® 60], monooleato de sorbitán polioxietileno [TWEEN®80], monopalmitato de sorbitán [SPAN®40], monoestearato de sorbitán [SPAN®60], triestearato de sorbitán [SPAN®65], monooleato de glicerilo, monooleato de sorbitán [SPAN®80]), ésteres de polioxietileno (por ejemplo, monoestearato de polioxietileno [MYRJ® 45], aceite de ricino hidrogenado con polioxietileno, aceite de ricino polietoxilado, estearato de polioximetileno y SOLUTOL®), ésteres de ácidos grasos de sacarosa, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (por ejemplo, CREMOPHOR®), éteres de polioxietileno (por ejemplo, éter laurílico de polioxietileno [BRIJ® 30]), poli(vinil-pirrolidona), monolaurato de dietilenglicol, oleato de trietanolamina, oleato de sodio, oleato de potasio, oleato de etilo, ácido oleico, laurato de etilo, lauril sulfato de sodio, PLURONIC®F 68, POLOXAMER® 188, bromuro de cetrimonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio, docusato de sodio y/o combinaciones de los mismos.

Un agente aglutinante puede ser almidón (por ejemplo, almidón de maíz y pasta de almidón); gelatina; azúcares (por ejemplo, sacarosa, glucosa, dextrosa, dextrina, melaza, lactosa, lactitol, manitol); gomas naturales y sintéticas (por ejemplo, acacia, alginato de sodio, extracto de musgo irlandés, goma panwar, goma ghatti, mucílago de cáscaras de isapol, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, celulosa microcristalina, acetato de celulosa, poli(vinil-pirrolidona), silicato de aluminio y magnesio (VEEGUM®) y arabogalactano de alerce); alginatos; óxido de polietileno; polietilenglicol; sales inorgánicas de calcio; ácido silícico; polimetacrilatos; ceras; agua; alcohol y combinaciones de los mismos, o cualquier otro agente aglutinante adecuado.

Los ejemplos de conservantes pueden incluir, pero sin limitarse a, antioxidantes, agentes quelantes, conservantes antimicrobianos, conservantes antifúngicos, conservantes de alcohol, conservantes ácidos y/u otros conservantes. Los ejemplos de antioxidantes incluyen, pero sin limitarse a, alfa tocoferol, ácido ascórbico, palmitato de acorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, monotioglicerol, metabisulfito de potasio, ácido propiónico, galato de propilo, ascorbato de sodio, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio y/o sulfito de sodio. Los ejemplos de agentes quelantes incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cítrico monohidrato, edetato disódico, edetato dipotásico, ácido edético, ácido fumárico, ácido málico, ácido fosfórico, edetato de sodio, ácido tartárico y/o edetato trisódico. Los ejemplos de conservantes antimicrobianos incluyen, pero sin limitarse a, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, bronopol, cetrimida, cloruro de cetilpiridinio, clorhexidina, clorobutanol, clorocresol, cloroxilenol, cresol, alcohol etílico, glicerina, hexetidina, imidurea, fenol, fenoxietanol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico, propilenglicol y/o timerosal. Los ejemplos de conservantes antifúngicos incluyen, pero sin limitarse a, butil parabeno, metil parabeno, etil parabeno, propil parabeno, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, benzoato de potasio, sorbato de potasio, benzoato de sodio, propionato de sodio y/o ácido sórbico. Los ejemplos de conservantes de alcohol incluyen, pero sin limitarse a, etanol, polietilenglicol, alcohol bencílico, fenol, compuestos fenólicos, bisfenol, clorobutanol, hidroxibenzoato y/o alcohol feniletílico. Los ejemplos de conservantes ácidos incluyen, pero sin limitarse a, vitamina A, vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, ácido cítrico, ácido acético, ácido deshidroascórbico, ácido ascórbico, ácido sórbico y/o ácido fítico. Otros conservantes incluyen, pero sin limitarse a, tocoferol, acetato de tocoferol, mesilato de deteroxima, cetrimida, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etilendiamina, lauril sulfato de sodio (SLS), lauril éter sulfato de sodio (SLES), bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de potasio, metabisulfito de potasio, GLYDANT PLUS®, PHENONIP®, metilparabeno, GERMALL® 115, GERMABEN®II, NEOLONE™, KATHON™ y/o EUXYL®.

Los ejemplos de agentes tamponadores incluyen, pero sin limitarse a, soluciones tamponadoras de citrato, soluciones tamponadoras de acetato, soluciones tamponadoras de fosfato, cloruro de amonio, carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, glubionato de calcio, gluceptato de calcio, gluconato de calcio, ácido d-glucónico, glicerofosfato de calcio, lactato de calcio, lactobionato de calcio, ácido propanoico, levulinato de calcio, ácido pentanoico, fosfato de calcio dibásico, ácido fosfórico, fosfato de calcio tribásico, fosfato de hidróxido de calcio, acetato de potasio, cloruro de potasio, gluconato de potasio, mezclas de potasio, fosfato de potasio dibásico, fosfato de potasio monobásico, mezclas de fosfato de potasio, acetato de sodio, bicarbonato de sodio, cloruro de sodio, citrato de sodio, lactato de sodio, fosfato de sodio dibásico, fosfato de sodio monobásico, mezclas de fosfato de sodio, trometamina, amortiguadores de amino-sulfonato (por ejemplo, HEPES), hidróxido de magnesio, hidróxido de aluminio, ácido algínico, agua libre de pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico y/o combinaciones de los mismos. Los agentes lubricantes pueden seleccionarse de entre el grupo no limitativo que consiste en estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, sílice, talco, malta, behenato de glicerilo, aceites vegetales hidrogenados, polietilenglicol, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, leucina, lauril sulfato de magnesio, lauril sulfato de sodio y combinaciones de los mismos.

Los ejemplos de aceites incluyen, pero sin limitarse a, aceites de almendra, pepita de albaricoque, aguacate, babasú, bergamota, semilla de corriente negra, borraja, cade, manzanilla, canola, alcaravea, carnauba, ricino, canela, manteca de cacao, coco, hígado de bacalao, café, maíz, semilla de algodón, emú, eucalipto, onagra, pescado, linaza, geraniol, calabaza, semilla de uva, avellana, hisopo, miristato de isopropilo, jojoba, nuez de

5 kukui, lavandín, lavanda, limón, litsea cubeba, nuez de macademia, malva, semilla de mango, semilla de espuma de prado, visón, nuez moscada, oliva, naranja, reloj anaranjado, palma, pepita de palma, pepita de melocotón, cacahuete, semilla de amapola, semilla de calabaza, colza, salvado de arroz, romero, cártamo, sándalo, sasanqua, ajedrea, espinillo amarillo, sésamo, manteca de karité, silicona, soja, girasol, árbol de té, cardo, tsubaki, vetiver, nuez y germen de trigo, así como estearato de butilo, triglicérido caprílico, triglicérido cáprico, ciclometicona, sebacato de dietilo, dimeticona 360, simeticona, miristato de isopropilo, aceite mineral, octildodecanol, alcohol oleílico, aceite de silicona y/o combinaciones de los mismos.

10 *Formulaciones*

10 Las composiciones de nanopartículas pueden incluir un componente lipídico y uno o más componentes adicionales, tal como un agente terapéutico y/o profiláctico. Una composición de nanopartículas se puede diseñar para una o más aplicaciones u objetivos específicos. Los elementos de una composición de nanopartículas se pueden seleccionar en función de una aplicación u objetivo particular, y/o en función de la eficacia, toxicidad, coste, facilidad de uso, disponibilidad u otra característica de uno o más elementos. De manera similar, la formulación particular de una composición de nanopartículas se puede seleccionar para una aplicación u objetivo particular según, por ejemplo, la eficacia y toxicidad de combinaciones particulares de elementos.

20 El componente lipídico de una composición de nanopartículas puede incluir, por ejemplo, un lípido según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), un fosfolípido (tal como un lípido insaturado, por ejemplo, DOPE o DSPC), un lípido PEG y un lípido estructural. Los elementos del componente lipídico se pueden proporcionar en fracciones específicas.

25 En algunas realizaciones, el componente lipídico de una composición de nanopartículas incluye un lípido según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), un fosfolípido, un lípido PEG y un lípido estructural. En determinadas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye de alrededor del 30 % en moles a alrededor del 60 % en moles de un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 30 % en moles de fosfolípido, de alrededor del 18,5 % en moles a alrededor del 48,5 % en moles de lípido estructural, y de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 10 % en moles de lípido PEG, siempre que el % en moles total no exceda del 100 %. En algunas realizaciones, el componente lipídico de la composición de nanopartículas incluye de alrededor del 35 % en moles a alrededor del 55 % en moles de un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), de alrededor del 5 % en moles a alrededor del 25 % en moles de fosfolípido, de alrededor del 30 % en moles a alrededor del 40 % en moles de lípido estructural, y de alrededor del 0 % en moles a alrededor del 10 % en moles de lípido PEG. En determinadas realizaciones, el componente lipídico incluye alrededor del 50 % en moles de dicho compuesto, alrededor del 10 % en moles de fosfolípido, alrededor del 38,5 % en moles de lípido estructural y alrededor del 1,5 % en moles de lípido PEG. En otras realizaciones, el componente lipídico incluye alrededor del 40 % en moles de dicho compuesto, alrededor del 20 % en moles de fosfolípido, alrededor del 38,5 % en moles de lípido estructural y alrededor del 1,5 % en moles de lípido PEG. En algunas realizaciones, el fosfolípido puede ser DOPE o DSPC. En otras realizaciones, el lípido PEG puede ser PEG-DMG y/o el lípido estructural puede ser colesterol.

45 Las composiciones de nanopartículas se pueden diseñar para una o más aplicaciones u objetivos específicos. Por ejemplo, una composición de nanopartículas puede diseñarse para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico tal como un ARN a una célula, tejido, órgano o sistema particular o grupo de los mismos en un cuerpo de mamífero. Las propiedades fisicoquímicas de las composiciones de nanopartículas pueden alterarse para aumentar la selectividad para objetivos corporales particulares. Por ejemplo, los tamaños de partícula se pueden ajustar en función de los tamaños de fenestración de diferentes órganos. El agente terapéutico y/o profiláctico incluido en una composición de nanopartículas también se puede seleccionar en función del objetivo o los objetivos de administración deseados. Por ejemplo, se puede seleccionar un agente terapéutico y/o profiláctico para una indicación, afección, enfermedad o trastorno particular y/o para la administración a una célula, tejido, órgano o sistema particular o grupo de los mismos (por ejemplo, administración localizada o específica). En determinadas realizaciones, una composición de nanopartículas puede incluir un ARNm que codifica un polipéptido de interés capaz de traducirse dentro de una célula para producir el polipéptido de interés. Dicha composición se puede diseñar para administrarse específicamente a un órgano particular. En determinadas realizaciones, una composición puede diseñarse para administrarse específicamente a un hígado de mamífero.

60 La cantidad de un agente terapéutico y/o profiláctico en una composición de nanopartículas puede depender del tamaño, composición, objetivo y/o aplicación deseados, u otras propiedades de la composición de nanopartículas, así como de las propiedades del agente terapéutico y/o profiláctico. Por ejemplo, la cantidad de un ARN útil en una composición de nanopartículas puede depender del tamaño, la secuencia y otras características del ARN. Las cantidades relativas de un agente terapéutico y/o profiláctico y otros elementos (por ejemplo, lípidos) en una composición de nanopartículas también pueden variar. En algunas realizaciones,

la relación p/p del componente lipídico con respecto a un agente terapéutico y/o profiláctico en una composición de nanopartículas puede ser de alrededor de 5:1 a alrededor de 60:1, tal como 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, 12:1, 13:1, 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 18:1, 19:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1, 45:1, 50:1 y 60:1. Por ejemplo, la relación p/p del componente lipídico con respecto a un agente terapéutico y/o profiláctico puede ser de

5 alrededor de 10:1 a alrededor de 40:1. En determinadas realizaciones, la relación p/p es de alrededor de 20:1. La cantidad de un agente terapéutico y/o profiláctico en una composición de nanopartículas se puede medir, por ejemplo, usando espectroscopía de absorción (por ejemplo, espectroscopía visible por ultravioleta).

En algunas realizaciones, una composición de nanopartículas incluye uno o más ARN, y el uno o más ARN, lípidos y cantidades de los mismos se pueden seleccionar para proporcionar una relación N:P específica. La relación N:P de la composición se refiere a la relación molar de átomos de nitrógeno en uno o más lípidos con respecto a la cantidad de grupos fosfato en un ARN. En general, se prefiere una relación N:P más baja. El uno o más ARN, lípidos y cantidades de los mismos se pueden seleccionar para proporcionar una relación N:P de

10 alrededor de 2:1 a alrededor de 30:1, tal como 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 12:1, 14:1, 16:1, 18:1, 20:1, 22:1, 24:1, 26:1, 28:1 o 30:1. En determinadas realizaciones, la relación N:P puede ser de alrededor de

15 2:1 a alrededor de 8:1. En otras realizaciones, la relación N:P es de alrededor de 5:1 a alrededor de 8:1. Por ejemplo, la relación N:P puede ser de alrededor de 5,0:1, alrededor de 5,5:1, alrededor de 5,67:1, alrededor de 6,0:1, alrededor de 6,5:1 o alrededor de 7,0:1. Por ejemplo, la relación N:P puede ser de alrededor de 5,67:1.

20 *Propiedades físicas*

Las características de una composición de nanopartículas pueden depender de los componentes de la misma. Por ejemplo, una composición de nanopartículas que incluye colesterol como lípido estructural puede tener características diferentes que una composición de nanopartículas que incluye un lípido estructural diferente.

25 De manera similar, las características de una composición de nanopartículas pueden depender de las cantidades absolutas o relativas de sus componentes. Por ejemplo, una composición de nanopartículas que incluye una fracción molar más alta de un fosfolípido puede tener características diferentes que una composición de nanopartículas que incluye una fracción molar más baja de un fosfolípido. Las características también pueden variar en función del procedimiento y las condiciones de preparación de la composición de

30 nanopartículas.

Las composiciones de nanopartículas pueden caracterizarse por una variedad de procedimientos. Por ejemplo, se puede usar microscopía (por ejemplo, microscopía electrónica de transmisión o microscopía electrónica de barrido) para examinar la morfología y distribución de tamaño de una composición de nanopartículas. Se puede

35 usar potenciometría o dispersión dinámica de luz (por ejemplo, titulaciones potenciométricas) para medir los potenciales zeta. También se puede utilizar la dispersión dinámica de luz para determinar los tamaños de partícula. También se pueden usar instrumentos tales como el Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, RU) para medir múltiples características de una composición de nanopartículas, tales como tamaño de partícula, índice de polidispersidad y potencial zeta.

El tamaño medio de una composición de nanopartículas puede estar entre decenas de nm y centenas de nm. Por ejemplo, el tamaño medio puede ser de alrededor de 40 nm a alrededor de 150 nm, tal como alrededor de

40 40 nm, 45 nm, 50 nm, 55 nm, 60 nm, 65 nm, 70 nm, 75 nm, 80 nm, 85 nm, 90 nm, 95 nm, 100 nm, 105 nm, 110 nm, 115 nm, 120 nm, 125 nm, 130 nm, 135 nm, 140 nm, 145 nm o 150 nm. En algunas realizaciones, el tamaño medio de una composición de nanopartículas puede ser de alrededor de 50 nm a alrededor de 100 nm, de alrededor de 50 nm a alrededor de 90 nm, de alrededor de 50 nm a alrededor de 80 nm, de alrededor de 50 nm a alrededor de 70 nm, de alrededor de 50 nm a alrededor de 60 nm, de alrededor de 60 nm a

45 alrededor de 100 nm, de alrededor de 60 nm a alrededor de 90 nm, de alrededor de 60 nm a alrededor de 80 nm, de alrededor de 60 nm a alrededor de 70 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 100 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 90 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 80 nm, de alrededor de 70 nm a alrededor de 100 nm, de alrededor de 80 nm a alrededor de 90 nm o de alrededor de 90 nm a alrededor de 100 nm. En determinadas realizaciones, el tamaño medio de una composición de nanopartículas puede ser de

50 alrededor de 70 nm a alrededor de 100 nm. En algunas realizaciones, el tamaño medio puede ser de alrededor de 80 nm. En otras realizaciones, el tamaño medio puede ser de alrededor de 100 nm.

Una composición de nanopartículas puede ser relativamente homogénea. Se puede usar un índice de polidispersidad para indicar la homogeneidad de una composición de nanopartículas, por ejemplo, la distribución del tamaño de partícula de las composiciones de nanopartículas. Un índice de polidispersidad

55 pequeño (por ejemplo, inferior a 0,3) generalmente indica una distribución de tamaño de partícula estrecha. Una composición de nanopartículas puede tener un índice de polidispersidad de alrededor de 0 a alrededor de 0,25, tal como 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 o 0,25. En algunas realizaciones, el índice de polidispersidad de una composición de nanopartículas puede ser de alrededor de 0,10 a alrededor de 0,20.

El potencial zeta de una composición de nanopartículas se puede utilizar para indicar el potencial electrocinético de la composición. Por ejemplo, el potencial zeta puede describir la carga superficial de una

65

composición de nanopartículas. Las composiciones de nanopartículas con cargas relativamente bajas, positivas o negativas, son generalmente deseables, ya que las especies más altamente cargadas pueden interactuar de forma no deseada con células, tejidos y otros elementos del cuerpo. En algunas realizaciones, el potencial zeta de una composición de nanopartículas puede ser de alrededor de -10 mV a alrededor de +20 mV, de alrededor de -10 mV a alrededor de +15 mV, de alrededor de -10 mV a alrededor de +10 mV, de alrededor de -10 mV a alrededor de +5 mV, de alrededor de -10 mV a alrededor de 0 mV, de alrededor de -10 mV a alrededor de -5 mV, de alrededor de -5 mV a alrededor de -5 mV, a alrededor de +20 mV, de alrededor de -5 mV a alrededor de +15 mV, de alrededor de -5 mV a alrededor de +10 mV, de alrededor de -5 mV a alrededor de +5 mV, de alrededor de -5 mV a alrededor de 0 mV, de alrededor de 0 mV a alrededor de +20 mV, de alrededor de 0 mV a alrededor de +15 mV, de alrededor de 0 mV a alrededor de +10 mV, de alrededor de 0 mV a alrededor de +5 mV, de alrededor de +5 mV a alrededor de +20 mV, de alrededor de +5 mV a alrededor de +15 mV o de alrededor de +5 mV a alrededor de +10 mV.

La eficiencia de encapsulación de un agente terapéutico y/o profiláctico describe la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico que está encapsulado o asociado de cualquier otra manera con una composición de nanopartículas después de la preparación, con respecto a la cantidad inicial proporcionada. La eficiencia de encapsulación es deseablemente alta (por ejemplo, cercana al 100 %). La eficiencia de encapsulación se puede medir, por ejemplo, comparando la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico en una solución que contiene la composición de nanopartículas antes y después de fraccionar la composición de nanopartículas con uno o más disolventes o detergentes orgánicos. La fluorescencia se puede utilizar para medir la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico libre (por ejemplo, ARN) en una solución. Para las composiciones de nanopartículas descritas en esta invención, la eficiencia de encapsulación de un agente terapéutico y/o profiláctico puede ser de al menos el 50 %, por ejemplo, el 50 %, el 55 %, el 60 %, el 65 %, el 70 %, el 75 %, el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 %. En algunas realizaciones, la eficiencia de encapsulación puede ser de al menos el 80 %. En determinadas realizaciones, la eficiencia de encapsulación puede ser de al menos el 90 %.

Una composición de nanopartículas puede comprender opcionalmente uno o más recubrimientos. Por ejemplo, una composición de nanopartículas puede formularse en una cápsula, película o comprimido que tenga un recubrimiento. Una cápsula, película o comprimido que incluye una composición descrita en esta invención puede tener cualquier tamaño útil, resistencia a la tracción, dureza o densidad.

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones de nanopartículas se pueden formular en su totalidad o en parte como composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir una o más composiciones de nanopartículas. Por ejemplo, una composición farmacéutica puede incluir una o más composiciones de nanopartículas que incluyen uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos diferentes. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables o ingredientes accesorios tales como los descritos en esta invención. Las pautas generales para la formulación y fabricación de agentes y composiciones farmacéuticas están disponibles, por ejemplo, en Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición, A. R. Gennaro; Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006. Los excipientes e ingredientes accesorios convencionales se pueden usar en cualquier composición farmacéutica, excepto en la medida en que cualquier excipiente o ingrediente accesorio convencional pueda ser incompatible con uno o más componentes de una composición de nanopartículas. Un excipiente o ingrediente accesorio puede ser incompatible con un componente de una composición de nanopartículas si su combinación con el componente puede dar como resultado cualquier efecto biológico indeseable o efecto perjudicial de cualquier otra manera.

En algunas realizaciones, uno o más excipientes o ingredientes accesorios pueden constituir más del 50 % de la masa o volumen total de una composición farmacéutica que incluye una composición de nanopartículas. Por ejemplo, el uno o más excipientes o ingredientes accesorios pueden constituir el 50 %, el 60 %, el 70 %, el 80 %, el 90 % o más de una convención farmacéutica. En algunas realizaciones, un excipiente farmacéuticamente aceptable es al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 % puro. En algunas realizaciones, un excipiente está aprobado para su uso en seres humanos y para uso veterinario. En algunas realizaciones, un excipiente está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos. En algunas realizaciones, un excipiente es de grado farmacéutico. En algunas realizaciones, un excipiente cumple con los estándares de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), la Farmacopea Europea (EP), la Farmacopea Británica y/o la Farmacopea Internacional.

Las cantidades relativas de la una o más composiciones de nanopartículas, el uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables y/o cualquier ingrediente adicional en una composición farmacéutica conforme a la presente descripción variarán, dependiendo de la identidad, tamaño y/o condición del sujeto tratado y además de la vía por la cual se administra la composición. A modo de ejemplo, una composición farmacéutica puede comprender entre el 0,1 % y el 100 % (p/p) de una o más composiciones de nanopartículas.

En determinadas realizaciones, las composiciones de nanopartículas y/o composiciones farmacéuticas de la descripción se refrigeran o congelan para su almacenamiento y/o envío (por ejemplo se almacenan a una temperatura de 4 °C o menos, tal como una temperatura entre alrededor de -150 °C y alrededor de 0 °C o entre alrededor de -80 °C y alrededor de -20 °C (por ejemplo, alrededor de -5 °C, -10 °C, -15 °C, -20 °C, -25 °C, -30 °C, -40 °C, -50 °C, -60 °C, -70 °C, -80 °C, -90 °C, -130 °C o -150 °C). Por ejemplo, la composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las Fórmulas (I)-(IV) es una solución que se refrigera para su almacenamiento y/o envío a, por ejemplo, alrededor de -20 °C, -30 °C, -40 °C, -50 °C, -60 °C, -70 °C o -80 °C. En determinadas realizaciones, la descripción también se refiere a un procedimiento para aumentar la estabilidad de las composiciones de nanopartículas y/o composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de cualquiera de las fórmulas (I), (IIa1)-(IIa6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I) almacenando las composiciones de nanopartículas y/o composiciones farmacéuticas a una temperatura de 4 °C o menos, tal como una temperatura de entre alrededor de -150 °C y alrededor de 0 °C o de entre alrededor de -80 °C y alrededor de -20 °C, por ejemplo, alrededor de -5 °C, -10 °C, -15 °C, -20 °C, -25 °C, -30 °C, -40 °C, -50 °C, -60 °C, -70 °C, -80 °C, -90 °C, -130 °C o -150 °C). Por ejemplo, las composiciones de nanopartículas y/o composiciones farmacéuticas descritas en esta invención son estables durante alrededor de al menos 1 semana, al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas, al menos 5 semanas, al menos 6 semanas, al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 4 meses, al menos 6 meses, al menos 8 meses, al menos 10 meses, al menos 12 meses, al menos 14 meses, al menos 16 meses, al menos 18 meses, al menos 20 meses, al menos 22 meses o al menos 24 meses, por ejemplo, a una temperatura de 4 °C o menor (por ejemplo, entre alrededor de 4 °C y -20 °C). En una realización, la formulación se estabiliza durante al menos 4 semanas a alrededor de 4 °C. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la descripción comprende una composición de nanopartículas descrita en esta invención y un portador farmacéuticamente aceptable seleccionado de entre uno o más de Tris, un acetato (por ejemplo, acetato de sodio), un citrato (por ejemplo, citrato de sodio), solución salina, PBS y sacarosa. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica de la descripción tiene un valor de pH de entre alrededor de 7 y 8 (por ejemplo, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9 u 8,0, o entre 7,5 y 8 o entre 7 y 7,8). Por ejemplo, una composición farmacéutica de la descripción comprende una composición de nanopartículas descrita en esta invención, Tris, solución salina y sacarosa, y tiene un pH de alrededor de 7,5-8, que es adecuado para su almacenamiento y/o envío a, por ejemplo, alrededor de -20 °C. Por ejemplo, una composición farmacéutica de la descripción comprende una composición de nanopartículas descrita en esta invención y PBS y tiene un pH de alrededor de 7-7,8, adecuado para su almacenamiento y/o envío a, por ejemplo, alrededor de 4 °C o menos. "Estabilidad", "estabilizado" y "estable" en el contexto de la presente descripción se refiere a la resistencia de las composiciones de nanopartículas y/o composiciones farmacéuticas descritas en esta invención a cambios químicos o físicos (por ejemplo, degradación, cambio de tamaño de partícula, agregación, cambio en la encapsulación, etc.) en condiciones de fabricación, preparación, transporte, almacenamiento y/o en uso dadas, por ejemplo, cuando se aplica tensión tal como fuerza de cizallamiento, tensión de congelación/descongelación, etc.

Las composiciones de nanopartículas y/o las composiciones farmacéuticas que incluyen una o más composiciones de nanopartículas se pueden administrar a cualquier paciente o sujeto, incluyendo aquellos pacientes o sujetos que se pueden beneficiar de un efecto terapéutico proporcionado por la administración de un agente terapéutico y/o profiláctico a una o más células, tejidos, órganos o sistemas particulares o grupos de los mismos, tal como el sistema renal. Aunque las descripciones proporcionadas en esta invención de composiciones de nanopartículas y composiciones farmacéuticas que incluyen composiciones de nanopartículas se dirigen principalmente a composiciones que son adecuadas para su administración a seres humanos, el experto en la materia entenderá que dichas composiciones son generalmente adecuadas para su administración a cualquier otro mamífero. La modificación de las composiciones adecuadas para su administración a seres humanos con el fin de hacer las composiciones adecuadas para su administración a diversos animales se entiende bien y el farmacólogo veterinario experto en la materia puede diseñar y/o realizar dicha modificación con simple experimentación habitual, si es que la hay. Los sujetos a los que se contempla la administración de las composiciones incluyen, pero sin limitarse a, seres humanos, otros primates y otros mamíferos, que incluyen mamíferos comercialmente relevantes tales como ganado bovino, cerdos, caballos, ovejas, gatos, perros, ratones y/o ratas.

Una composición farmacéutica que incluye una o más composiciones de nanopartículas se puede preparar mediante cualquier procedimiento conocido o desarrollado en lo sucesivo en la técnica de la farmacología. En general, dichos procedimientos preparatorios incluyen asociar el ingrediente activo con un excipiente y/o uno o más ingredientes accesorios adicionales, y a continuación, si es deseable o necesario, dividir, dar forma y/o envasar el producto en una unidad de dosis única o múltiples deseada.

Una composición farmacéutica conforme a la presente descripción se puede preparar, empaquetar y/o vender a granel, como una dosis unitaria única y/o como una pluralidad de dosis unitarias únicas. Como se usa en esta invención, una "dosis unitaria" es una cantidad discreta de la composición farmacéutica que comprende una cantidad predeterminada del ingrediente activo (por ejemplo, composición de nanopartículas). La cantidad del ingrediente activo es generalmente igual a la dosificación del ingrediente activo que se administraría a un sujeto y/o una fracción conveniente de dicha dosificación tal como, por ejemplo, la mitad o un tercio de dicha

dosificación.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar en una variedad de formas adecuadas para una variedad de vías y procedimientos de administración. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas se pueden preparar en formas de dosificación líquidas (por ejemplo, emulsiones, microemulsiones, nanoemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires), formas inyectables, formas de dosificación sólidas (por ejemplo, cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos), formas de dosificación para administración tópica y/o transdérmica (por ejemplo, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizadores, inhalantes y parches), suspensiones, polvos y otras formas.

Las formas de dosificación líquidas para la administración por vía oral y parenteral incluyen, pero sin limitarse a, emulsiones, microemulsiones, nanoemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y/o elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los ingredientes activos, las formas de dosificación líquidas pueden comprender diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilen glicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir agentes terapéuticos y/o profilácticos adicionales, agentes adicionales tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y/o perfumantes. En determinadas realizaciones para administración parenteral, las composiciones se mezclan con agentes solubilizantes tales como Cremophor®, alcoholes, aceites, aceites modificados, glicoles, polisorbatos, ciclodextrinas, polímeros y/o combinaciones de los mismos.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles se pueden formular según la técnica conocida usando agentes dispersantes, agentes humectantes y/o agentes de suspensión adecuados. Las preparaciones inyectables estériles pueden ser soluciones, suspensiones y/o emulsiones inyectables estériles en diluyentes y/o disolventes parenterales aceptables no tóxicos, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la solución de Ringer, USP y la solución isotónica de cloruro de sodio. Los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo blando que incluya mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos tales como el ácido oleico pueden usarse en la preparación de inyectables.

Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención bacteriana, y/o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Para prolongar el efecto de un ingrediente activo, a menudo es deseable retardar la absorción del ingrediente activo de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede llevar a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco entonces depende de su velocidad de disolución la cual, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de fármaco administrado por vía parenteral se lleva a cabo al disolver o suspender el fármaco en un vehículo oleoso. Las formas de depósito inyectables se realizan formando matrices microencapsuladas de los fármacos en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación del fármaco con respecto al polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que sean compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son típicamente supositorios que se pueden preparar mezclando composiciones con excipientes no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio que son sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o cavidad vaginal y liberan el ingrediente activo.

Las formas de dosificación sólidas para administración por vía oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, películas, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, un ingrediente activo se mezcla con al menos un excipiente inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o cargas o extensores (por ejemplo, almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico), aglutinantes (por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa y acacia), humectantes (por ejemplo, glicerol), agentes desintegrantes (por ejemplo, agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato de sodio), agentes retardantes de solución (por ejemplo, parafina), aceleradores de absorción (por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario), agentes humectantes (por

ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol), absorbentes (por ejemplo, arcilla de caolín y bentonita, silicatos) y lubricantes (por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio) y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación puede comprender agentes tamponadores.

5

Se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden comprender agentes opacificantes y pueden ser de una composición que liberan el o los ingredientes activos solo, o preferiblemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de forma retardada. Los ejemplos de composiciones de incrustación que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras. Se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras utilizando excipientes tales como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

10

15

Las formas de dosificación para la administración tópica y/o transdérmica de una composición pueden incluir ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizadores, inhalantes y/o parches. Generalmente, un ingrediente activo se mezcla en condiciones estériles con un excipiente farmacéuticamente aceptable y/o cualquier conservante y/o tamponador necesario según sea necesario. Además, la presente descripción contempla el uso de parches transdérmicos, que a menudo tienen la ventaja adicional de proporcionar una administración controlada de un compuesto al cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden preparar, por ejemplo, disolviendo y/o dispensando el compuesto en el medio adecuado. De manera alternativa o adicional, la velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de velocidad y/o dispersando el compuesto en una matriz polimérica y/o gel.

20

25

Los dispositivos adecuados para su uso en la administración de composiciones farmacéuticas intradérmicas descritas en esta invención incluyen dispositivos de aguja corta tales como los descritos en las Patentes Estadounidenses 4.886.499; 5.190.521; 5.328.483; 5.527.288; 4.270.537; 5.015.235; 5.141.496; y 5.417.662. Las composiciones intradérmicas se pueden administrar mediante dispositivos que limitan la longitud de penetración efectiva de una aguja en la piel, tal como los descritos en la publicación PCT WO99/34850 y equivalentes funcionales de los mismos. Los dispositivos de inyección a chorro que administran composiciones líquidas a la dermis a través de un inyector de chorro líquido y/o a través de una aguja que perfora el estrato córneo y produce un chorro que llega a la dermis son adecuados. Los dispositivos de inyección a chorro se describen, por ejemplo, en las Patentes Estadounidenses 5.480.381; 5.599.302; 5.334.144; 5.993.412; 5.649.912; 5.569.189; 5.704.911; 5.383.851; 5.893.397; 5.466.220; 5.339.163; 5.312.335; 5.503.627; 5.064.413; 5.520.639; 4.596.556; 4.790.824; 4.941.880; 4.940.460; y las Publicaciones PCT WO 97/37705 y WO 97/13537. Los dispositivos balísticos de administración de polvo/partículas que utilizan gas comprimido para acelerar la vacuna en forma de polvo a través de las capas externas de la piel hasta la dermis son adecuados. De manera alternativa o adicional, se pueden usar jeringas convencionales en el procedimiento de mantoux clásico de administración intradérmica.

30

35

40

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen, pero sin limitarse a, preparaciones líquidas y/o semilíquidas tales como linimentos, lociones, emulsiones de aceite en agua y/o agua en aceite tales como cremas, ungüentos y/o pastas, y/o soluciones y/o suspensiones. Las formulaciones que se pueden administrar tópicamente, por ejemplo, pueden comprender de alrededor del 1 % a alrededor del 10 % (p/p) del ingrediente activo, aunque la concentración de ingrediente activo puede ser tan alta como el límite de solubilidad del ingrediente activo en el disolvente. Las formulaciones para la administración tópica pueden comprender además uno o más de los ingredientes adicionales descritos en esta invención.

45

50

Una composición farmacéutica se puede preparar, empaquetar y/o vender en una formulación adecuada para la administración pulmonar a través de la cavidad bucal. Dicha formulación puede comprender partículas secas que comprenden el ingrediente activo. Dichas composiciones se encuentran convenientemente en forma de polvos secos para su administración utilizando un dispositivo que comprende un depósito de polvo seco al que se puede dirigir una corriente de propulsor para dispersar el polvo y/o un recipiente dispensador de disolvente/polvo autopropulsado tal como un dispositivo que comprende el ingrediente activo disuelto y/o suspendido en un propulsor de bajo punto de ebullición en un recipiente sellado. Las composiciones de polvo seco pueden incluir un diluyente de polvo sólido fino tal como azúcar y se proporcionan convenientemente en una forma de dosis unitaria.

55

60

Los propulsores de bajo punto de ebullición generalmente incluyen propulsores líquidos que tienen un punto de ebullición inferior a 65 °F a presión atmosférica. Generalmente, el propulsor puede constituir del 50 % al 99,9 % (p/p) de la composición, y el ingrediente activo puede constituir del 0,1 % al 20 % (p/p) de la composición. Un propulsor puede comprender además ingredientes adicionales tales como un tensioactivo sólido aniónico y/o líquido no iónico y/o un diluyente sólido (que puede tener un tamaño de partícula del mismo

65

orden que las partículas que comprenden el ingrediente activo).

Las composiciones farmacéuticas formuladas para la administración pulmonar pueden proporcionar un ingrediente activo en forma de gotitas de una solución y/o suspensión. Dichas formulaciones se pueden preparar, empaquetar y/o vender como soluciones y/o suspensiones alcohólicas acuosas y/o diluidas, opcionalmente estériles, que comprenden el ingrediente activo, y se pueden administrar convenientemente usando cualquier dispositivo de nebulización y/o atomización. Dichas formulaciones pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales que incluyen, pero sin limitarse a, un agente saborizante tal como sacarina de sodio, un aceite volátil, un agente tamponador, un agente tensioactivo y/o un conservante tal como metilhidroxibenzoato. Las gotitas proporcionadas por esta vía de administración pueden tener un diámetro promedio en el intervalo de alrededor de 1 nm a alrededor de 200 nm.

Las formulaciones descritas en esta invención como útiles para la administración pulmonar son útiles para la administración intranasal de una composición farmacéutica. Otra formulación adecuada para la administración intranasal es un polvo grueso que comprende el ingrediente activo y que tiene una partícula promedio de alrededor de 0,2 μm a 500 μm . Dicha formulación se administra de la manera en que se toma el rapé, es decir, mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente del polvo que se mantiene cerca de la nariz.

Las formulaciones adecuadas para la administración nasal pueden comprender, por ejemplo, de tan sólo alrededor de un 0,1 % (p/p) y hasta el 100 % (p/p) del ingrediente activo, y pueden comprender uno o más de los ingredientes adicionales descritos en esta invención. Una composición farmacéutica se puede preparar, empaquetar y/o vender en una formulación adecuada para la administración bucal. Dichas formulaciones pueden estar, por ejemplo, en forma de comprimidos y/o grageas elaboradas usando procedimientos convencionales, y pueden, por ejemplo, del 0,1 % al 20 % (p/p) de ingrediente activo, comprendiendo el resto una composición soluble y/o degradable por vía oral y, opcionalmente, uno o más de los ingredientes adicionales descritos en esta invención. Alternativamente, las formulaciones adecuadas para la administración bucal pueden comprender un polvo y/o una solución y/o suspensión aerosolizada y/o atomizada que comprende el ingrediente activo. Dichas formulaciones en polvo, en aerosol y/o en aerosol, cuando se dispersan, pueden tener un tamaño de partícula y/o gotita promedio en el intervalo de alrededor de 0,1 nm a alrededor de 200 nm, y pueden comprender además uno o más de cualquiera de los ingredientes adicionales descritos en esta invención.

Una composición farmacéutica se puede preparar, empaquetar y/o vender en una formulación adecuada para la administración oftálmica. Dichas formulaciones pueden estar, por ejemplo, en forma de gotas para los ojos que incluyen, por ejemplo, una solución y/o suspensión al 0,1/1,0 % (p/p) del ingrediente activo en un excipiente líquido acuoso u oleoso. Dichas gotas pueden comprender además agentes tamponadores, sales y/o uno o más de cualquiera de los ingredientes adicionales descritos en esta invención. Otras formulaciones administrables oftálmicamente que son útiles incluyen aquellas que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina y/o en una preparación liposómica. Se contempla que las gotas para los oídos y/o gotas para los ojos están dentro del alcance de esta presente descripción.

Procedimientos para producir polipéptidos en células

La presente descripción proporciona procedimientos para producir un polipéptido de interés en una célula de mamífero. Los procedimientos para producir polipéptidos implican poner en contacto una célula con una composición de nanopartículas que incluye un ARNm que codifica el polipéptido de interés. Al poner en contacto la célula con la composición de nanopartículas, el ARNm se puede incorporar y traducir en la célula para producir el polipéptido de interés.

En general, la etapa de poner en contacto una célula de mamífero con una composición de nanopartículas que incluye un ARNm que codifica un polipéptido de interés se puede realizar *in vivo*, *ex vivo*, en cultivo o *in vitro*. La cantidad de composición de nanopartículas puesta en contacto con una célula, y/o la cantidad de ARNm en la misma, puede depender del tipo de célula o tejido en contacto, los medios de administración, las características fisicoquímicas de la composición de nanopartículas y el ARNm (por ejemplo, tamaño, carga y composición química) en la misma, y otros factores. En general, una cantidad efectiva de la composición de nanopartículas permitirá la producción eficiente de polipéptidos en la célula. Las métricas para la eficiencia pueden incluir traducción de polipéptidos (indicada por la expresión de polipéptidos), nivel de degradación de ARNm e indicadores de respuesta inmunitaria.

La etapa de poner en contacto una composición de nanopartículas que incluye un ARNm con una célula puede implicar o causar transfección. Un fosfolípido que se incluya en el componente lipídico de una composición de nanopartículas puede facilitar la transfección y/o aumentar la eficiencia de transfección, por ejemplo, al interactuar y/o fusionarse con una membrana celular o intracelular. La transfección puede permitir la traducción del ARNm dentro de la célula.

En algunas realizaciones, las composiciones de nanopartículas descritas en esta invención se pueden utilizar terapéuticamente. Por ejemplo, un ARNm incluido en una composición de nanopartículas puede codificar un polipéptido terapéutico (por ejemplo, en una región traducible) y producir el polipéptido terapéutico al ponerse en contacto y/o entrar (por ejemplo, transfección) en una célula. En otras realizaciones, un ARNm incluido en una composición de nanopartículas puede codificar un polipéptido que puede mejorar o aumentar la inmunidad de un sujeto. Por ejemplo, un ARNm puede codificar un factor estimulante de colonias de granulocitos o trastuzumab.

En determinadas realizaciones, un ARNm incluido en una composición de nanopartículas puede codificar un polipéptido recombinante que puede reemplazar uno o más polipéptidos que pueden estar sustancialmente ausentes en una célula en contacto con la composición de nanopartículas. El uno o más polipéptidos sustancialmente ausentes pueden faltar debido a una mutación genética del gen codificador o una vía reguladora del mismo. De manera alternativa, un polipéptido recombinante producido por traducción del ARNm puede antagonizar la actividad de una proteína endógena presente en, en la superficie de, o secretada por la célula. Un polipéptido recombinante antagonista puede ser deseable para combatir los efectos perjudiciales causados por las actividades de la proteína endógena, tales como actividades alteradas o localización causada por mutación. En otra alternativa, un polipéptido recombinante producido por traducción del ARNm puede antagonizar de forma indirecta o directa la actividad de un resto biológico presente en, en la superficie de, o secretado por la célula. Los restos biológicos antagonizados pueden incluir, pero sin limitarse a, lípidos (por ejemplo, colesterol), lipoproteínas (por ejemplo, lipoproteína de baja densidad), ácidos nucleicos, carbohidratos y toxinas de molécula pequeña. Los polipéptidos recombinantes producidos por traducción del ARNm pueden modificarse por ingeniería genética para la localización dentro de la célula, tal como dentro de un compartimiento específico tal como el núcleo, o pueden modificarse por ingeniería genética para la secreción de la célula o para la translocación a la membrana plasmática de la célula.

En algunas realizaciones, poner en contacto una célula con una composición de nanopartículas que incluye un ARNm puede reducir la respuesta inmunitaria innata de una célula a un ácido nucleico exógeno. Se puede poner una célula en contacto con una primera composición de nanopartículas que incluye una primera cantidad de un primer ARNm exógeno que incluye una región traducible y se puede determinar el nivel de la respuesta inmunitaria innata de la célula al primer ARNm exógeno. Posteriormente, la célula puede ponerse en contacto con una segunda composición que incluye una segunda cantidad del primer ARNm exógeno, siendo la segunda cantidad una cantidad menor del primer ARNm exógeno en comparación con la primera cantidad. De manera alternativa, la segunda composición puede incluir una primera cantidad de un segundo ARNm exógeno que es diferente del primer ARNm exógeno. Las etapas de poner en contacto la célula con la primera y segunda composiciones pueden repetirse una o más veces. Además, la eficiencia de la producción de polipéptidos (por ejemplo, traducción) en la célula se puede determinar opcionalmente, y la célula se puede volver a poner en contacto con la primera y/o segunda composición repetidamente hasta que se logre una eficiencia de producción de proteína diana.

En algunas realizaciones, un procedimiento para producir un polipéptido de interés en una célula de mamífero implica poner en contacto la célula con una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido, un lípido estructural, un lípido PEG y un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19 -II), (20-I) y (21-I), como se describe en esta invención; y (ii) un ARNm que codifica el polipéptido de interés, mediante lo cual el ARNm es capaz de traducirse en la célula para producir el polipéptido de interés.

Procedimientos para administrar agentes terapéuticos a células y órganos

La presente descripción proporciona procedimientos para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a una célula u órgano de mamífero. La administración de un agente terapéutico y/o profiláctico a una célula implica administrar una composición de nanopartículas que incluye el agente terapéutico y/o profiláctico a un sujeto, donde la administración de la composición implica poner la célula en contacto con la composición. Por ejemplo, una proteína, un agente citotóxico, un ion radiactivo, un agente quimioterapéutico o un ácido nucleico (tal como un ARN, por ejemplo ARNm) se pueden administrar a una célula u órgano. En el caso de que un agente terapéutico y/o profiláctico sea un ARNm, al poner en contacto una célula con la composición de nanopartículas, se puede traducir un ARNm traducible en la célula para producir un polipéptido de interés. Sin embargo, los ARNm que no son sustancialmente traducibles también se pueden administrar a las células. Los ARNm sustancialmente no traducibles pueden ser útiles como vacunas y/o pueden secuestrar componentes de traducción de una célula para reducir la expresión de otras especies en la célula.

En algunas realizaciones, una composición de nanopartículas puede dirigirse a un tipo o clase particular de células (por ejemplo, células de un órgano o sistema particular del mismo). Por ejemplo, una composición de nanopartículas que incluye un agente terapéutico y/o profiláctico de interés puede administrarse específicamente a un hígado, riñón, bazo, fémur o pulmón de mamífero. La administración específica a una clase particular de células, un órgano o un sistema o grupo de los mismos implica que una mayor proporción de composiciones de nanopartículas, incluido un agente terapéutico y/o profiláctico, se administran al destino

(por ejemplo, tejido) de interés con respecto a otros destinos, por ejemplo, tras la administración de una composición de nanopartículas a un mamífero. En algunas realizaciones, la administración específica puede resultar en un aumento mayor que 2 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces o 20 veces en la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico por 1 g de tejido del destino diana (por ejemplo, tejido de interés, tal como un hígado) en comparación con otro destino (por ejemplo, el bazo). En algunas realizaciones, el tejido de interés se selecciona de entre el grupo que consiste en un hígado, riñón, un pulmón, un bazo, un fémur, endotelio vascular en vasos (por ejemplo, intra-coronario o intra-femoral) o riñón, y tejido tumoral (por ejemplo, mediante inyección intratumoral).

Como otro ejemplo de administración dirigida o específica, un ARNm que codifica un compañero de unión a proteína (por ejemplo, un anticuerpo o fragmento funcional del mismo, una proteína de matriz de sostén o un péptido) o un receptor en una superficie celular puede incluirse en una composición de nanopartículas. Un ARNm puede usarse adicionalmente o en su lugar para dirigir la síntesis y localización extracelular de lípidos, carbohidratos u otros restos biológicos. De manera alternativa, se pueden seleccionar otros elementos o agentes terapéuticos y/o profilácticos (por ejemplo, lípidos o ligandos) de una composición de nanopartículas en función de su afinidad por receptores particulares (por ejemplo, receptores de lipoproteínas de baja densidad) de modo que una composición de nanopartículas pueda interactuar más fácilmente con una población de células diana que incluye los receptores. Por ejemplo, los ligandos pueden incluir, pero sin limitarse a, miembros de un par de unión específica, anticuerpos, anticuerpos monoclonales, fragmentos Fv, fragmentos Fv de cadena simple (scFv), fragmentos Fab', fragmentos F(ab')₂, anticuerpos de dominio simple, anticuerpos camelizados y fragmentos de los mismos, anticuerpos humanizados y fragmentos de los mismos, y versiones multivalentes de los mismos; reactivos de unión multivalentes que incluyen anticuerpos mono o biespecíficos tales como fragmentos Fv estabilizados con disulfuro, tándems scFv, diacuerpos, tricuerpos o tetracuerpos; y aptámeros, receptores y proteínas de fusión.

En algunas realizaciones, un ligando puede ser un anticuerpo unido a la superficie, que puede permitir la sintonización de la especificidad de direccionamiento celular. Esto es especialmente útil ya que se pueden generar anticuerpos altamente específicos contra un epítipo de interés para el sitio de direccionamiento deseado. En una realización, múltiples anticuerpos se expresan en la superficie de una célula, y cada anticuerpo puede tener una especificidad diferente para una diana deseada. Tales estrategias pueden aumentar la avidéz y especificidad de las interacciones de direccionamiento.

Por ejemplo, un experto en la materia de las técnicas biológicas puede seleccionar un ligando basándose en la localización o función deseada de la célula. Por ejemplo, un ligando de receptor de estrógeno, tal como tamoxifeno, puede dirigirse a células de células de cáncer de mama dependientes de estrógeno que tienen un mayor número de receptores de estrógeno en la superficie celular. Otros ejemplos no limitativos de interacciones de ligando/receptor incluyen CCR1 (por ejemplo, para el tratamiento de tejidos articulares inflamados o cerebro en artritis reumatoide y/o esclerosis múltiple), CCR7, CCR8 (por ejemplo, dirigirse al tejido de ganglios linfáticos), CCR6, CCR9, CCR10 (por ejemplo, para dirigirse al tejido intestinal), CCR4, CCR10 (por ejemplo, para dirigirse a la piel), CXCR4 (por ejemplo, para una transmigración general mejorada), HCELL (por ejemplo, para el tratamiento de inflamación y trastornos inflamatorios, médula ósea), Alfa4beta7 (por ejemplo, para dirigirse a la mucosa intestinal) y VLA-4/NCAM-1 (por ejemplo, dirigirse al endotelio). En general, cualquier receptor implicado en el direccionamiento (por ejemplo, metástasis de cáncer) se puede aprovechar para su uso en los procedimientos y composiciones descritos en esta invención.

Las células diana pueden incluir, pero sin limitarse a, hepatocitos, células epiteliales, células hematopoyéticas, células epiteliales, células endoteliales, células pulmonares, células óseas, células madre, células mesenquimales, células neurales, células cardíacas, adipocitos, células del músculo liso vascular, cardiomiocitos, células del músculo esquelético, células beta, células pituitarias, células de revestimiento sinovial, células ováricas, células testiculares, fibroblastos, células B, células T, reticulocitos, leucocitos, granulocitos y células tumorales.

En determinadas realizaciones, una composición de nanopartículas puede dirigirse a los hepatocitos. Se ha demostrado que las apolipoproteínas tales como la apolipoproteína E (apoE) se asocian con composiciones de nanopartículas neutras o casi neutras que contienen lípidos en el cuerpo, y se sabe que se asocian con receptores tales como receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDLR) que se encuentran en la superficie de los hepatocitos. Véase, por ejemplo, Akinc, A. y col., Mol. Ther. 2010, 18, 1357-1364 y Dong, Y. y col, PNAS 2014, 111, 3955-3960. Por lo tanto, una composición de nanopartículas que incluye un componente lipídico con una carga neutra o casi neutra que se administra a un sujeto puede adquirir apoE en el cuerpo de un sujeto y posteriormente puede administrar un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARN) a hepatocitos que incluyen LDLR de una manera específica.

En determinadas realizaciones, la absorción celular de un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) como se describe en esta invención o una composición de nanopartículas que comprende el compuesto puede depender de los niveles y/o actividades de LDLR, o la absorción celular de la composición de nanopartículas depende de LDLR. Por ejemplo, si la célula es deficiente en LDLR (por ejemplo,

tiene una actividad de LDLR aberrante y/o un nivel anormalmente bajo de LDLR), la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas puede disminuir en comparación con la absorción de una célula normal.

5 En determinadas realizaciones, la absorción celular de un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) como se describe en esta invención o una composición de nanopartículas que comprende el compuesto puede ser independiente de los niveles y/o actividades de LDLR, o la absorción celular de la composición de nanopartículas es independiente de LDLR. Por ejemplo, si la célula es deficiente en LDLR (por ejemplo, tiene una actividad de LDLR aberrante y/o un nivel anormalmente bajo de LDLR), la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas es sustancialmente la misma que la absorción de una célula normal.

15 En determinadas realizaciones, la absorción celular de un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) como se describe en esta invención o una composición de nanopartículas que comprende el compuesto puede depender de los niveles y/o actividades de apoE, o la absorción celular de la composición de nanopartículas depende de apoE. Por ejemplo, si la célula es deficiente en apoE (por ejemplo, tiene una actividad apoE aberrante y/o un nivel anormalmente bajo de apoE), la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas puede disminuir en comparación con la absorción de una célula normal.

20 En determinadas realizaciones, la absorción celular de un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa) y (IV) como se describe en esta invención o una composición de nanopartículas que comprende el compuesto puede ser independiente de los niveles y/o actividades de apoE, o la absorción celular de la composición de nanopartículas es independiente de apoE. Por ejemplo, si la célula es deficiente en apoE (por ejemplo, tiene una actividad apoE aberrante y/o un nivel anormalmente bajo de apoE), la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas es sustancialmente la misma que la absorción de una célula normal.

30 En determinadas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas descrita en esta invención puede depender tanto de LDLR como de apoE.

35 En determinadas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas descrita en esta invención puede depender de la interacción de LDLR y apoE. Por ejemplo, si la interacción de LDLR y apoE es anormal (por ejemplo, conduce a un nivel anormalmente bajo de señalización aguas abajo), la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas puede disminuir en comparación con la absorción de una célula normal.

40 En determinadas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas descrita en esta invención puede ser tanto independiente de LDLR como de apoE.

45 En determinadas realizaciones, la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas descrita en esta invención puede ser independiente de la interacción de LDLR y apoE. Por ejemplo, si la interacción de LDLR y apoE es anormal (por ejemplo, conduce a un nivel anormalmente bajo de señalización aguas abajo), la absorción celular del compuesto o composición de nanopartículas es sustancialmente la misma que la absorción de una célula normal.

En determinadas realizaciones, la apoE es apoE3.

50 En algunas realizaciones, un procedimiento para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a una célula de mamífero implica administrar a un sujeto una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido, un lípido estructural, un lípido PEG y un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I), como se describe en esta invención; y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm), donde la administración implica poner en contacto la célula con la composición de nanopartículas, mediante lo cual el agente terapéutico y/o profiláctico se administra a la célula.

60 En realizaciones adicionales, un procedimiento para administrar específicamente un agente terapéutico y/o profiláctico a un órgano de mamífero implica administrar a un mamífero una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido, un lípido estructural, un lípido PEG y un compuesto de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I), como se describe en esta invención; y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm), donde la administración implica poner en contacto el órgano de mamífero con la composición de nanopartículas, mediante lo cual el agente terapéutico y/o profiláctico se administra al órgano.

65 En determinadas realizaciones, la eficiencia de administración del agente terapéutico y/o profiláctico es independiente de LDLR o independiente de apoE, o de ambos. En determinadas realizaciones, la eficiencia de

administración del agente terapéutico y/o profiláctico depende de LDLR o depende de apoE, o de ambos. En determinadas realizaciones, la eficiencia de administración del agente terapéutico y/o profiláctico es independiente de la interacción de LDLR-apoE. En determinadas realizaciones, la eficiencia de administración del agente terapéutico y/o profiláctico depende de la interacción de LDLR-apoE.

5

Procedimientos para tratar enfermedades y trastornos

Las composiciones de nanopartículas pueden ser útiles para tratar una enfermedad, trastorno o afección. En particular, dichas composiciones pueden ser útiles en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección caracterizada por una actividad de polipéptido o proteína aberrante o faltante. Por ejemplo, una composición de nanopartículas que comprende un ARNm que codifica un polipéptido faltante o aberrante puede administrarse o suministrarse a una célula. La traducción posterior del ARNm puede producir el polipéptido, reduciendo o eliminando así un problema causado por la ausencia o actividad aberrante causada por el polipéptido. Debido a que la traducción puede producirse rápidamente, los procedimientos y las composiciones pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades agudas, trastornos o afecciones tales como sepsis, accidente cerebrovascular e infarto de miocardio. Un agente terapéutico y/o profiláctico incluido en una composición de nanopartículas también puede ser capaz de alterar la velocidad de transcripción de una especie dada, afectando así la expresión génica.

Las enfermedades, trastornos y/o afecciones caracterizadas por actividad proteica o polipéptida disfuncional o aberrante para la cual se puede administrar una composición incluyen, pero sin limitarse a, enfermedades raras, enfermedades infecciosas (tanto vacunas como terapias), cáncer y enfermedades proliferativas, enfermedades genéticas (por ejemplo, fibrosis quística), enfermedades autoinmunes, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardio y renovasculares y enfermedades metabólicas. Múltiples enfermedades, trastornos y/o afecciones pueden caracterizarse por la falta (o disminución sustancial de tal manera que no se produzca la función proteica adecuada) de actividad proteica. Dichas proteínas pueden no estar presentes, o pueden ser esencialmente no funcionales. Un ejemplo específico de una proteína disfuncional son las variantes de mutación sin sentido del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), que producen una variante de proteína disfuncional de la proteína CFTR, que causa fibrosis quística. La presente descripción proporciona un procedimiento para tratar dichas enfermedades, trastornos y/o afecciones en un sujeto mediante la administración de una composición de nanopartículas que incluye un ARN y un componente lipídico que incluye un lípido según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I), un fosfolípido (opcionalmente insaturado), un lípido PEG y un lípido estructural, donde el ARN puede ser un ARNm que codifica un polipéptido que antagoniza o supera de cualquier otra manera una actividad de proteína aberrante presente en la célula del sujeto.

En algunas realizaciones, un procedimiento para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero que lo necesita implica administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de nanopartículas que incluye (i) un componente lipídico que incluye un fosfolípido, un lípido estructural, un lípido PEG y un compuesto de fórmula (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II) o (20-I), como se describe en esta invención; y (ii) un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm).

La descripción proporciona procedimientos que implican la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos y composiciones farmacéuticas que incluyen los mismos. Los términos terapéutico y profiláctico se pueden utilizar indistintamente en esta invención con respecto a las características y realizaciones de la presente descripción. Las composiciones terapéuticas, o las composiciones de imágenes, diagnósticas o profilácticas de las mismas, se pueden administrar a un sujeto utilizando cualquier cantidad razonable y cualquier vía de administración eficaz para prevenir, tratar, diagnosticar u obtener imágenes de una enfermedad, trastorno y/o afección y/o cualquier otra finalidad. La cantidad específica administrada a un sujeto dado puede variar dependiendo de la especie, edad y condición general del sujeto; la finalidad de la administración; la composición particular; el modo de administración; y similares. Las composiciones conforme a la presente descripción se pueden formular en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de una composición de la presente descripción será decidido por un médico tratante dentro del alcance del buen criterio médico. El nivel de dosis específico terapéuticamente eficaz, profilácticamente eficaz o apropiado de cualquier otra manera (por ejemplo, para imágenes) para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la gravedad e identificación de un trastorno que se está tratando, si lo hay; el uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos empleados; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la velocidad de excreción de la composición farmacéutica específica empleada; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o coincidentes con la composición farmacéutica específica empleada; y factores similares conocidos en las técnicas médicas.

Una composición de nanopartículas que incluye uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos se puede administrar por cualquier vía. En algunas realizaciones, las composiciones, que incluyen composiciones profilácticas, diagnósticas o de imágenes que incluyen una o más composiciones de nanopartículas descritas

en esta invención, se administran por una o más de una variedad de vías, que incluyen vía oral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intratecal, subcutánea, intraventricular, trans o intradérmica, interdérmica, rectal, intravaginal, intraperitoneal, intraocular, subretiniana, intravítrea, tópica (por ejemplo, por polvos, ungüentos, cremas, geles, lociones y/o gotas), mucosa, nasal, bucal, enteral, vítreo, intratumoral, sublingual, intranasal; por instilación intratraqueal, instilación bronquial y/o inhalación; como un pulverizador y/o polvo oral, pulverizador nasal y/o aerosol, y/o a través de un catéter de vena porta. En algunas realizaciones, una composición se puede administrar por vía intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraarterial, intratumoral, subcutánea, intraocular, subretiniana, intravítrea o por inhalación. Sin embargo, la presente descripción abarca el suministro o administración de composiciones por cualquier vía apropiada teniendo en cuenta los avances probables en las ciencias del suministro de fármacos. En general, la vía de administración más adecuada dependerá de una variedad de factores que incluyen la naturaleza de la composición de nanopartículas que incluye uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos (por ejemplo, su estabilidad en diversos entornos corporales tales como el torrente sanguíneo y el tracto gastrointestinal), la condición del paciente (por ejemplo, si el paciente es capaz de tolerar vías de administración particulares), etc.

En determinadas realizaciones, las composiciones conforme a la presente descripción pueden administrarse a niveles de dosificación suficientes para administrar de alrededor de 0,0001 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 0,005 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 0,1 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 1 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 2 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 5 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg, de alrededor de 0,0001 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 0,005 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 0,1 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 1 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 2 mg/kg a alrededor de 5 mg/kg, de alrededor de 0,0001 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 0,005 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 0,1 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 1 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 2 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg, de alrededor de 0,0001 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg, de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg, de alrededor de 0,005 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg, de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg, de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg, de alrededor de 0,1 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg, de alrededor de 0,0001 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg, de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg, de alrededor de 0,005 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg, de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg, de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg o de alrededor de 0,1 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg de un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, un ARNm) en una dosis dada, donde una dosis de 1 mg/kg (mpk) proporciona 1 mg de un agente terapéutico y/o profiláctico por 1 kg de peso corporal del sujeto. En determinadas realizaciones, se puede administrar una dosis de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg de un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, ARNm) de una composición de nanopartículas. En otras realizaciones, se puede administrar una dosis de alrededor de 0,005 mg/kg a alrededor de 2,5 mg/kg de un agente terapéutico y/o profiláctico. En determinadas realizaciones, se puede administrar una dosis de alrededor de 0,1 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg. En otras realizaciones, se puede administrar una dosis de alrededor de 0,05 mg/kg a alrededor de 0,25 mg/kg. Se puede administrar una dosis una o más veces al día, en la misma cantidad o en una cantidad diferente, para obtener un nivel deseado de expresión de ARNm y/o efecto terapéutico, de diagnóstico, profiláctico o de imágenes. La dosificación deseada se puede administrar, por ejemplo, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, cada dos días, cada tres días, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas o cada cuatro semanas. En determinadas realizaciones, la dosificación deseada puede administrarse utilizando múltiples administraciones (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más administraciones). En algunas realizaciones, se puede administrar una sola dosis, por ejemplo, antes o después de un procedimiento quirúrgico o en el caso de una enfermedad, trastorno o afección aguda.

Las composiciones de nanopartículas que incluyen uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos pueden usarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos, profilácticos, de diagnóstico o de imágenes. Por "en combinación con", no se pretende implicar que los agentes deban administrarse al mismo tiempo y/o formularse para la administración juntos, aunque estos procedimientos de administración están dentro del alcance de la presente descripción. Por ejemplo, se pueden administrar una o más composiciones de nanopartículas que incluyen uno o más agentes terapéuticos y/o profilácticos diferentes en combinación. Las composiciones se pueden administrar simultáneamente con, antes o después de, uno o más de otros procedimientos terapéuticos o médicos deseados. En general, cada agente se administrará a una dosis y/o en un cronograma determinado para ese agente. En algunas realizaciones, la presente descripción abarca la administración de composiciones, o composiciones de imágenes, diagnósticas o profilácticas de las mismas en combinación con agentes que mejoran su biodisponibilidad, reducen y/o modifican su metabolismo, inhiben su excreción y/o modifican su distribución dentro del cuerpo.

Se apreciará además que los agentes activos terapéuticos, profilácticos, diagnósticos o de imágenes utilizados

en combinación se pueden administrar juntos en una única composición o se pueden administrar por separado en diferentes composiciones. En general, se espera que los agentes utilizados en combinación se utilicen en niveles que no excedan los niveles en los que se utilizan individualmente. En algunas realizaciones, los niveles utilizados en combinación pueden ser más bajos que los utilizados individualmente.

5

La combinación particular de terapias (productos terapéuticos o procedimientos) para emplear en un régimen de combinación deberá tener en cuenta la compatibilidad de los productos terapéuticos y/o los procedimientos deseados y el efecto terapéutico deseado a conseguir. También se apreciará que las terapias empleadas puedan lograr un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, una composición útil para tratar el

10

cáncer se puede administrar simultáneamente con un agente quimioterapéutico), o pueden lograr efectos diferentes (por ejemplo, control de cualquier efecto adverso, tal como reacciones relacionadas con la infusión).

Se puede utilizar una composición de nanopartículas en combinación con un agente para aumentar la eficacia y/o la ventana terapéutica de la composición. Dicho agente puede ser, por ejemplo, un compuesto antiinflamatorio, un esteroide (por ejemplo, un corticosteroide), una estatina, un estradiol, un inhibidor de BTK, un agonista de S1P1, un modulador del receptor de glucocorticoides (GRM) o una antihistamina. En algunas realizaciones, se puede utilizar una composición de nanopartículas en combinación con dexametasona, metotrexato, acetaminofén, un bloqueador del receptor H1 o un bloqueador del receptor H2. En determinadas realizaciones, un procedimiento para tratar a un sujeto que lo necesita o para administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a un sujeto (por ejemplo, un mamífero) puede implicar tratar previamente al sujeto con uno o más agentes antes de administrar una composición de nanopartículas. Por ejemplo, un sujeto puede pretratarse con una cantidad útil (por ejemplo, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg o cualquier otra cantidad útil) de dexametasona, metotrexato, acetaminofén, un bloqueador del receptor H1 o un bloqueador del receptor H2. El pretratamiento puede producirse en 24 o menos horas (por ejemplo, 24 horas, 20 horas, 16 horas, 12 horas, 8 horas, 4 horas, 2 horas, 1 hora, 50 minutos, 40 minutos, 30 minutos, 20 minutos o 10 minutos) antes de la administración de la composición de nanopartículas y puede producirse una, dos o más veces en, por ejemplo, cantidades crecientes de dosificación.

15

20

25

30

En cualquier procedimiento o uso descrito en esta invención, en determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita es deficiente en LDLR o deficiente en apoE o ambos. En determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita no es deficiente en LDLR o tiene niveles y/o actividades normales de LDLR. En determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita no es deficiente en apoE o tiene niveles y/o actividades normales de apoE. En determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita tiene una interacción anormal de LDLR y apoE. En determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita tiene una interacción normal de LDLR y apoE.

35

Alrededor de, aproximadamente: Como se usa en esta invención, los términos "aproximadamente" y "alrededor de", como se aplican a uno o más valores de interés, se refieren a un valor que es similar a un valor de referencia establecido. En determinadas realizaciones, el término "aproximadamente" o "alrededor de" se refiere a un intervalo de valores que se encuentran dentro del 25 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o menos en cualquier dirección (mayor o menor que) del valor de referencia establecido a menos que se indique lo contrario o sea evidente de cualquier otra manera a partir del contexto (excepto cuando dicha cantidad exceda el 100 % de un valor posible). Por ejemplo, cuando se usa en el contexto de una cantidad de un compuesto dado en un componente lipídico de una composición de nanopartículas, "alrededor de" puede significar +/-10 % del valor mencionado. Por ejemplo, una composición de nanopartículas que incluye un componente lipídico que tiene alrededor del 40 % de un compuesto dado puede incluir el 30-50 % del compuesto.

40

45

Compuesto: Como se usa en esta invención, el término "compuesto" pretende incluir todos los isómeros e isótopos de la estructura representada. "Isótopos" se refiere a átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa resultantes de un número diferente de neutrones en los núcleos. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Además, un compuesto, sal o complejo de la presente descripción se puede preparar en combinación con moléculas de disolvente o agua para formar solvatos e hidratos mediante procedimientos de rutina.

50

Poner en contacto: Como se usa en esta invención, la expresión "poner en contacto" significa establecer una conexión física entre dos o más entidades. Por ejemplo, poner en contacto una célula de mamífero con una composición de nanopartículas significa que la célula de mamífero y una nanopartícula están hechas para compartir una conexión física. Los procedimientos para poner en contacto células con entidades externas tanto in vivo como ex vivo son bien conocidos en las técnicas biológicas. Por ejemplo, poner en contacto una composición de nanopartículas y una célula de mamífero dispuesta dentro de un mamífero se puede realizar mediante diversas vías de administración (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intradérmica y subcutánea) y puede involucrar diversas cantidades de composiciones de nanopartículas. Además, se puede poner en contacto más de una célula de mamífero mediante una composición de nanopartículas.

60

65

Administrar: Como se usa en esta invención, el término "administrar" significa proporcionar una entidad a un destino. Por ejemplo, administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a un sujeto puede implicar administrar

una composición de nanopartículas que incluye el agente terapéutico y/o profiláctico al sujeto (por ejemplo, mediante una vía intravenosa, intramuscular, intradérmica o subcutánea). La administración de una composición de nanopartículas a una célula de mamífero o mamífero puede implicar poner en contacto una o más células con la composición de nanopartículas.

5

Administración mejorada: Como se usa en esta invención, la expresión "administración mejorada" significa la administración de más (por ejemplo, al menos 1,5 veces más, al menos 2 veces más, al menos 3 veces más, al menos 4 veces más, al menos 5 veces más, al menos 6 veces más, al menos 7 veces más, al menos 8 veces más, al menos 9 veces más, al menos 10 veces más) de un agente terapéutico y/o profiláctico mediante una nanopartícula a un tejido diana de interés (por ejemplo, hígado de mamífero) en comparación con el nivel de administración de un agente terapéutico y/o profiláctico mediante una nanopartícula de control a un tejido diana de interés (por ejemplo, MC3, KC2 o DLinDMA). El nivel de administración de una nanopartícula a un tejido particular se puede medir comparando la cantidad de proteína producida en un tejido con el peso de dicho tejido, comparando la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico en un tejido con el peso de dicho tejido, comparando la cantidad de proteína producida en un tejido con la cantidad de proteína total en dicho tejido, o comparando la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico en un tejido con la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico total en dicho tejido. Se entenderá que no es necesario determinar la administración mejorada de una nanopartícula a un tejido diana en un sujeto que se está tratando, se puede determinar en un sustituto tal como un modelo animal (por ejemplo, un modelo de rata).

20

Administración específica: Como se usa en esta invención, la expresión "administración específica", "administrar específicamente" o "que administra específicamente" significa la administración de más (por ejemplo, al menos 1,5 veces más, al menos 2 veces más, al menos 3 veces más, al menos 4 veces más, al menos 5 veces más, al menos 6 veces más, al menos 7 veces más, al menos 8 veces más, al menos 9 veces más, al menos 10 veces más) de un agente terapéutico y/o profiláctico mediante una nanopartícula a un tejido diana de interés (por ejemplo, hígado de mamífero) en comparación con un tejido distinto de la diana (por ejemplo, bazo de mamífero). El nivel de administración de una nanopartícula a un tejido particular se puede medir comparando la cantidad de proteína producida en un tejido con el peso de dicho tejido, comparando la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico en un tejido con el peso de dicho tejido, comparando la cantidad de proteína producida en un tejido con la cantidad de proteína total en dicho tejido, o comparando la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico en un tejido con la cantidad de agente terapéutico y/o profiláctico total en dicho tejido. Por ejemplo, para el direccionamiento renovascular, se proporciona específicamente un agente terapéutico y/o profiláctico a un riñón de mamífero en comparación con el hígado y el bazo si se administra 1,5, 2 veces, 3 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces o 20 veces más agente terapéutico y/o profiláctico por 1 g de tejido a un riñón en comparación con el administrado al hígado o al bazo después de la administración sistémica del agente terapéutico y/o profiláctico. Se entenderá que no es necesario determinar la capacidad de una nanopartícula para administrar específicamente a un tejido diana en un sujeto que se está tratando, se puede determinar en un sustituto tal como un modelo animal (por ejemplo, un modelo de rata).

40

Eficiencia de encapsulación: Como se usa en esta invención, "eficiencia de encapsulación" se refiere a la cantidad de un agente terapéutico y/o profiláctico que se convierte en parte de una composición de nanopartículas, con respecto a la cantidad total inicial de agente terapéutico y/o profiláctico utilizado en la preparación de una composición de nanopartículas. Por ejemplo, si 97 mg de agente terapéutico y/o profiláctico se encapsulan en una composición de nanopartículas de un total de 100 mg de agente terapéutico y/o profiláctico proporcionado inicialmente a la composición, la eficiencia de encapsulación se puede dar como el 97 %. Como se usa en esta invención, "encapsulación" puede referirse a un encerramiento, confinamiento, entorno o envoltura completa, sustancial o parcial.

45

Expresión: Como se usa en esta invención, la "expresión" de una secuencia de ácido nucleico se refiere a la traducción de un ARNm en un polipéptido o proteína y/o modificación postraduccional de un polipéptido o proteína.

50

In vitro: Como se usa en esta invención, el término "in vitro" se refiere a eventos que se producen en un ambiente artificial, por ejemplo, en un tubo de ensayo o recipiente de reacción, en cultivo celular, en una placa de Petri, etc., en lugar de dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio).

55

In vivo: Como se usa en esta invención, el término "in vivo" se refiere a eventos que se producen dentro de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio o célula o tejido del mismo).

60

Ex vivo: Como se usa en esta invención, el término "ex vivo" se refiere a eventos que se producen fuera de un organismo (por ejemplo, animal, planta o microbio o célula o tejido del mismo). Los eventos ex vivo pueden tener lugar en un entorno mínimamente alterado de un entorno natural (por ejemplo, in vivo).

65

Isómero: Como se usa en esta invención, el término "isómero" significa cualquier isómero geométrico, tautómero, zwitterión, estereoisómero, enantiómero o diastereómero de un compuesto. Los compuestos pueden incluir uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por lo tanto, pueden existir como

- estereoisómeros, tales como isómeros de enlace doble (es decir, isómeros *E/Z* geométricos) o diastereómeros (por ejemplo, enantiómeros (es decir, (+) o (-)) o isómeros *cis/trans*). La presente descripción abarca todos y cada uno de los isómeros de los compuestos descritos en esta invención, incluidas las formas estereoméricamente puras (por ejemplo, geoméricamente puras, enantioméricamente puras o diastereoméricamente puras) y mezclas enantioméricas y estereoisoméricas, por ejemplo, racematos. Las mezclas enantioméricas y estereoméricas de compuestos y los medios para resolverlos en sus enantiómeros o estereoisómeros componentes son bien conocidos.
- 5
- Componente lipídico: Como se usa en esta invención, un "componente lipídico" es el componente de una composición de nanopartículas que incluye uno o más lípidos. Por ejemplo, el componente lipídico puede incluir uno o más lípidos catiónicos/ionizables, PEGilados, estructurales u otros, tales como fosfolípidos.
- 10
- Enlazador: Como se usa en esta invención, un "enlazador" es un resto que conecta dos restos, por ejemplo, la conexión entre dos nucleósidos de una especie cap. Un enlazador puede incluir uno o más grupos que incluyen pero sin limitarse a grupos fosfato (por ejemplo, fosfatos, boranofosfatos, tiofosfatos, selenofosfatos y fosfonatos), grupos alquilo, amidatos o gliceroles. Por ejemplo, dos nucleósidos de un análogo de cap pueden estar unidos en sus posiciones 5' por un grupo trifosfato o por una cadena que incluye dos restos fosfato y un resto boranofosfato.
- 15
- Procedimientos de administración: Como se usa en esta invención, los "procedimientos de administración" pueden incluir procedimientos intravenosos, intramusculares, intradérmicos, subcutáneos u otros para administrar una composición a un sujeto. Se puede seleccionar un procedimiento de administración para dirigir la administración (por ejemplo, para administrar específicamente) a una región o sistema específico de un cuerpo.
- 20
- Modificado: Como se usa en esta invención, "modificado" significa no natural. Por ejemplo, un ARN puede ser un ARN modificado. Es decir, un ARN puede incluir una o más nucleobases, nucleósidos, nucleótidos o enlazadores que no son de origen natural. Una especie "modificada" también puede denominarse en esta invención una especie "alterada". Las especies pueden modificarse o alterarse química, estructural o funcionalmente. Por ejemplo, una especie de nucleobases modificada puede incluir una o más sustituciones que no son de origen natural.
- 25
- 30
- Relación N:P: Como se usa en esta invención, la "relación N:P" es la relación molar de átomos de nitrógeno ionizables (en el intervalo de pH fisiológico) en un lípido con respecto a grupos fosfato en un ARN, por ejemplo, en una composición de nanopartículas que incluye un componente lipídico y un ARN.
- 35
- Composición de nanopartículas: Como se usa en esta invención, una "composición de nanopartículas" es una composición que comprende uno o más lípidos. Las composiciones de nanopartículas típicamente tienen un tamaño del orden de micrómetros o más pequeño y pueden incluir una bicapa lipídica. Las composiciones de nanopartículas abarcan nanopartículas lipídicas (LNP), liposomas (por ejemplo, vesículas lipídicas) y lipoplejos. Por ejemplo, una composición de nanopartículas puede ser un liposoma que tiene una bicapa lipídica con un diámetro de 500 nm o menos.
- 40
- De origen natural: Como se usa en esta invención, "de origen natural" significa que existe en la naturaleza sin ayuda artificial.
- 45
- Paciente: Como se usa en esta invención, "paciente" se refiere a un sujeto que puede buscar o necesitar tratamiento, requiere tratamiento, está recibiendo tratamiento, recibirá tratamiento o un sujeto que está bajo el cuidado de un profesional capacitado para una enfermedad o afección particular.
- 50
- Lípido PEG: Como se usa en esta invención, un "lípido PEG" o "lípido PEGilado" se refiere a un lípido que comprende un componente de polietilenglicol.
- 55
- Farmacéuticamente aceptable: La expresión "farmacéuticamente aceptable" se usa en esta invención para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen criterio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.
- 60
- Excipiente farmacéuticamente aceptable: La expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se usa en esta invención, se refiere a cualquier ingrediente distinto de los compuestos descritos en esta invención (por ejemplo, un vehículo capaz de suspender, formar complejos o disolver el compuesto activo) y que tiene las propiedades de no ser sustancialmente tóxico ni inflamatorio en un paciente. Los excipientes pueden incluir, por ejemplo: antiadherentes, antioxidantes, aglutinantes, recubrimientos, auxiliares de compresión, desintegrantes, colorantes (colores), emolientes, emulsionantes, cargas (diluyentes), formadores de película o recubrimientos, sabores, fragancias, deslizantes (potenciadores de flujo), lubricantes, conservantes, tintas de
- 65

impresión, sorbentes, agentes de suspensión o dispersantes, edulcorantes y aguas de hidratación. Los excipientes ejemplares incluyen, pero sin limitarse a: hidroxitolueno butilado (BHT), carbonato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), estearato de calcio, croscarmelosa, polivinil pirrolidona reticulada, ácido cítrico, crospovidona, cisteína, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, lactosa, 5 estearato de magnesio, maltitol, manitol, metionina, metilcelulosa, metil parabeno, celulosa microcristalina, polietilenglicol, polivinil pirrolidona, povidona, almidón pregelatinizado, propil parabeno, palmitato de retinilo, laca, dióxido de silicio, carboximetil celulosa de sodio, citrato de sodio, glicolato almidón de sodio, sorbitol, almidón (maíz), ácido esteárico, sacarosa, talco, dióxido de titanio, vitamina A, vitamina E (alfa-tocoferol), vitamina C, xilitol y otras especies descritas en esta invención.

En la presente memoria descriptiva, la fórmula estructural del compuesto representa un determinado isómero por conveniencia en algunos casos, pero la presente descripción incluye todos los isómeros, tales como isómeros geométricos, isómeros ópticos basados en un carbono asimétrico, estereoisómeros, tautómeros y similares, entendiéndose que no todos los isómeros pueden tener el mismo nivel de actividad. Además, puede estar presente un polimorfismo de cristal para los compuestos representados por la fórmula. Cabe señalar que cualquier forma cristalina, mezcla de forma cristalina o anhídrido o hidrato de las mismas se incluye en el alcance de la presente descripción.

El término "polimorfos cristalinos", "polimorfos" o "formas cristalinas" significa estructuras cristalinas en las cuales un compuesto (o una sal o solvato del mismo) puede cristalizarse en diferentes disposiciones de empaque de cristal, todas las cuales tienen la misma composición elemental. Las diferentes formas cristalinas tienen diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma del cristal, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. El disolvente de recristalización, la velocidad de cristalización, la temperatura de almacenamiento y otros factores pueden hacer que una forma cristalina domine. Los polimorfos cristalinos de los compuestos se pueden preparar mediante cristalización en diferentes condiciones.

Sales farmacéuticamente aceptables: Las composiciones también pueden incluir sales de uno o más compuestos. Las sales pueden ser sales farmacéuticamente aceptables. Como se usa en esta invención, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos donde el compuesto original se altera al convertir un ácido o resto base existente en su forma de sal (por ejemplo, al hacer reaccionar un grupo base libre con un ácido orgánico adecuado). Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitarse a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales de adición de ácido representativas incluyen sales de acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina, que incluyen, pero sin limitarse a, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente descripción incluyen las sales no tóxicas convencionales del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente descripción se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido, mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas ácidas o básicas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington 's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418, Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P.H. Stahl y C.G. Wermuth (eds.), Wiley-VCH, 2008 y Berge y col., 55 Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19 (1977).

Fosfolípido: Como se usa en esta invención, un "fosfolípido" es un lípido que incluye un resto fosfato y una o más cadenas de carbono, tales como cadenas de ácidos grasos insaturados. Un fosfolípido puede incluir uno o más enlaces múltiples (por ejemplo, dobles o triples) (por ejemplo, una o más insaturaciones). Los fosfolípidos particulares pueden facilitar la fusión a una membrana. Por ejemplo, un fosfolípido catiónico puede interactuar con uno o más fosfolípidos cargados negativamente de una membrana (por ejemplo, una membrana celular o intracelular). La fusión de un fosfolípido a una membrana puede permitir que uno o más elementos de una composición que contiene lípidos pasen a través de la membrana permitiendo, por ejemplo, la administración del uno o más elementos a una célula.

Índice de polidispersidad: Como se usa en esta invención, el "índice de polidispersidad" es una relación que

describe la homogeneidad de la distribución de tamaño de partícula de un sistema. Un valor pequeño, por ejemplo, inferior a 0,3, indica una distribución de tamaño de partícula estrecha.

5 Polipéptido: Como se usa en esta invención, el término "polipéptido" o "polipéptido de interés" se refiere a un polímero de residuos de aminoácidos típicamente unidos por enlaces peptídicos que se pueden producir naturalmente (por ejemplo, aislados o purificados) o sintéticamente.

10 ARN: Como se usa en esta invención, un "ARN" se refiere a un ácido ribonucleico que puede ser de origen natural o de origen no natural. Por ejemplo, un ARN puede incluir componentes modificados y/o de origen no natural tales como una o más nucleobases, nucleósidos, nucleótidos o enlazadores. Un ARN puede incluir una estructura de cap, un nucleósido de terminación de cadena, un bucle en horquilla, una secuencia de poliA y/o una señal de poliadenilación. Un ARN puede tener una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de interés. Por ejemplo, un ARN puede ser un ARN mensajero (ARNm). La traducción de un ARNm que codifica un polipéptido particular, por ejemplo, la traducción in vivo de un ARNm dentro de una célula de mamífero, puede producir el polipéptido codificado. Los ARN pueden seleccionarse de entre el grupo no limitativo que consiste en ARN interferente pequeño (ARNip), ARN interferente asimétrico (ARNia), microARN (miARN), ARN de Dicer sustrato (ARNds), ARN de horquilla pequeña (ARNhp), ARNm y mezclas de los mismos.

20 Dosis unitaria única: Como se usa en esta invención, una "dosis unitaria única" es una dosis de cualquier agente terapéutico administrada en una dosis/en un momento/vía única/punto de contacto único, es decir, un evento de administración única.

25 Dosis dividida: Como se usa en esta invención, una "dosis dividida" es la división de la dosis unitaria única o dosis diaria total en dos o más dosis.

Dosis diaria total: Como se usa en esta invención, una "dosis diaria total" es una cantidad administrada o prescrita en un período de 24 horas. Puede administrarse como una dosis unitaria única.

30 Tamaño: Como se usa en esta invención, "tamaño" o "tamaño medio" en el contexto de composiciones de nanopartículas se refiere al diámetro medio de una composición de nanopartículas.

35 Sujeto: Como se usa en esta invención, el término "sujeto" o "paciente" se refiere a cualquier organismo al cual se le puede administrar una composición conforme a la descripción, por ejemplo, con fines experimentales, diagnósticos, profilácticos y/o terapéuticos. Los sujetos típicos incluyen animales (por ejemplo, mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, primates no humanos y seres humanos) y/o plantas.

40 Células diana: Como se usa en esta invención, "células diana" se refiere a cualquiera de una o más células de interés. Las células pueden encontrarse in vitro, in vivo, in situ, o en el tejido u órgano de un organismo. El organismo puede ser un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano y lo más preferiblemente un paciente.

45 Tejido diana: Como se usa en esta invención, "tejido diana" se refiere a uno o más tipos de tejido de interés en los que la administración de un agente terapéutico y/o profiláctico daría como resultado un efecto biológico y/o farmacológico deseado. Los ejemplos de tejidos diana de interés incluyen tejidos, órganos y sistemas específicos o grupos de los mismos. En aplicaciones particulares, un tejido diana puede ser un riñón, un pulmón, un bazo, endotelio vascular en vasos (por ejemplo, intra-coronario o intra-femoral), o tejido tumoral (por ejemplo, mediante inyección intratumoral). Un "tejido que no es diana" se refiere a uno o más tipos de tejido en los que la expresión de la proteína codificada no produce un efecto biológico y/o farmacológico deseado. En aplicaciones particulares, los tejidos que no son diana pueden incluir el hígado y el bazo.

50 Agente terapéutico y/o profiláctico: El término "agente terapéutico" se refiere a cualquier agente que, cuando se administra a un sujeto, tiene un efecto terapéutico y/o diagnóstico y/o provoca un efecto biológico y/o farmacológico deseado. El término "agente profiláctico" se refiere a cualquier agente que, cuando se administra a un sujeto, tiene un efecto profiláctico. Los agentes terapéuticos y/o profilácticos también se denominan "activos" o "agentes activos". Dichos agentes incluyen, pero sin limitarse a, citotoxinas, iones radiactivos, agentes quimioterapéuticos, fármacos de molécula pequeña, proteínas y ácidos nucleicos.

60 Cantidad terapéuticamente efectiva: Como se usa en esta invención, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de un agente a administrar (por ejemplo, ácido nucleico, fármaco, composición, agente terapéutico, agente de diagnóstico, agente profiláctico, etc.) que es suficiente, cuando se administra a un sujeto que padece o es susceptible a una infección, enfermedad, trastorno y/o afección, para tratar, mejorar los síntomas, diagnosticar, prevenir y/o retrasar el inicio de la infección, enfermedad, trastorno y/o afección.

65 Transfección: Como se usa en esta invención, "transfección" se refiere a la introducción de una especie (por ejemplo, un ARN) en una célula. La transfección puede producirse, por ejemplo, in vitro, ex vivo o in vivo.

Tratar: Como se usa en esta invención, el término "tratar" se refiere a aliviar, mitigar, mejorar, rebajar, retrasar el inicio, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia parcial o completamente de uno o más síntomas o características de una infección, enfermedad, trastorno y/o afección particular. Por ejemplo, "tratar" el cáncer puede referirse a inhibir la supervivencia, el crecimiento y/o la propagación de un tumor. El tratamiento se puede administrar a un sujeto que no presenta signos de una enfermedad, trastorno y/o afección y/o a un sujeto que presenta solo signos tempranos de una enfermedad, trastorno y/o afección con el fin de disminuir el riesgo de desarrollar una patología asociada con la enfermedad, trastorno y/o afección.

Potencial zeta: Como se usa en esta invención, el "potencial zeta" es el potencial electrocinético de un lípido, por ejemplo, en una composición de partículas.

Los expertos en la materia reconocerán, o podrán determinar usando no más que experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas conforme a la presente descripción. El alcance de la presente descripción no pretende limitarse a la Descripción anterior, sino que más bien es como se establece en las reivindicaciones adjuntas.

En las reivindicaciones, los artículos tales como "un", "una" y "el", "la", pueden significar uno o más de uno a menos que se indique lo contrario o sea evidente de cualquier otra manera a partir del contexto. Las reivindicaciones o descripciones que incluyen "o" entre uno o más miembros de un grupo se consideran satisfechas si uno, más de uno o todos los miembros del grupo están presentes en, se emplean en, o de cualquier otra manera son relevantes para un producto o procedimiento dado, a menos que se indique lo contrario o sea evidente de cualquier otra manera a partir del contexto. La descripción incluye realizaciones en las que exactamente un miembro del grupo está presente en, se emplea en o de cualquier otra manera es relevante para un producto o procedimiento dado. La descripción incluye realizaciones en las que más de uno, o todos los miembros del grupo están presentes en, se emplean en, o de cualquier otra manera son relevantes para un producto o procedimiento dado. Como se usa en esta invención, las expresiones "uno o más de A, B o C," "uno o más A, B o C," "uno o más de A, B y C," "uno o más A, B y C," "seleccionado de entre A, B y C," "seleccionado de entre el grupo que consiste en A, B y C," y similares se usan indistintamente y todos se refieren a una selección de entre un grupo que consiste en A, B y/o C, es decir, uno o más A, uno o más B, uno o más C, o cualquier combinación de los mismos, a menos que se especifique lo contrario.

También se observa que la expresión "que comprende" pretende ser abierta y permite, pero no requiere la inclusión de elementos o etapas adicionales. Por lo tanto, cuando la expresión "que comprende" se utiliza en esta invención, las expresiones "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" también se abarcan y describen. A lo largo de la descripción, cuando se describe que las composiciones tienen, incluyen o comprenden componentes específicos, se contempla que las composiciones también consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes mencionados. De manera similar, cuando se describe que los procedimientos tienen, incluyen o comprenden etapas de procedimiento específicas, los procedimientos también consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento mencionadas. Además, debe entenderse que el orden de las etapas u orden para realizar determinadas acciones es irrelevante siempre y cuando la invención permanezca operable. Además, se pueden realizar dos o más etapas o acciones simultáneamente.

Cuando se dan intervalos, se incluyen los extremos finales. Además, debe entenderse que, a menos que se indique lo contrario o sea evidente de cualquier otra manera a partir del contexto y la comprensión de un experto en la materia, los valores que se expresan como intervalos pueden asumir cualquier valor o subintervalo específico dentro de los intervalos indicados en diferentes realizaciones de la descripción, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior del intervalo, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Los procedimientos sintéticos de la descripción pueden tolerar una amplia variedad de grupos funcionales, por lo tanto, se pueden usar diversos materiales de partida sustituidos. Los procedimientos generalmente proporcionan el compuesto final deseado en o cerca del final del procedimiento general, aunque puede ser deseable en determinados aspectos convertir adicionalmente el compuesto en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la presente descripción se pueden preparar de diversas maneras utilizando materiales de partida disponibles en el mercado, compuestos conocidos en la bibliografía o a partir de intermedios fácilmente preparados, mediante el empleo de procedimientos sintéticos estándar y procedimientos conocidos por los expertos en la materia, o que serán evidentes para el experto en la materia a la luz de las enseñanzas de esta invención. Los procedimientos sintéticos estándar y los procedimientos para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones y manipulaciones de grupos funcionales se pueden obtener de la bibliografía científica pertinente o de libros de texto estándar en el campo. Aunque sin limitarse a una o varias fuentes, textos clásicos tales como Smith, M. B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5ª edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 2001; Greene, T.W., Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 1999; R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's

Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) son libros de texto de referencia útiles y reconocidos de síntesis orgánica conocidos por los expertos en la materia. Las siguientes descripciones de procedimientos sintéticos están diseñadas para ilustrar, pero no limitar, los procedimientos generales para la preparación de los compuestos de la presente descripción.

Los compuestos de esta descripción que tienen cualquiera de las fórmulas descritas en esta invención pueden prepararse según los procedimientos ilustrados en los Esquemas 1-3 a continuación, a partir de materiales de partida disponibles en el mercado o materiales de partida que pueden prepararse usando procedimientos bibliográficos. Las variables en los esquemas (por ejemplo, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅) son como se definen en esta invención, por ejemplo, cada uno de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son independientemente alquilo. Un experto en la materia observará que, durante las secuencias de reacción y los esquemas sintéticos descritos en esta invención, se puede cambiar el orden de determinadas etapas, tales como la introducción y eliminación de grupos protectores.

Un experto en la materia reconocerá que determinados grupos pueden requerir protección frente a las condiciones de reacción mediante el uso de grupos protectores. También se pueden usar grupos protectores para diferenciar grupos funcionales similares en moléculas. Se puede encontrar una lista de grupos protectores y cómo introducir y eliminar estos grupos en Greene, T.W., Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3^a edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 1999. Los grupos protectores preferidos incluyen, pero sin limitarse a:

Para un resto hidroxilo: TBS, bencilo, THP, Ac;

Para ácidos carboxílicos: éster bencílico, éster metílico, éster etílico, éster alílico;

Para aminas: Fmoc, Cbz, BOC, DMB, Ac, Bn, Tr, Ts, trifluoroacetilo, ftalimida, bencilidenamina;

Para dioles: Ac (x2) TBS (x2), o cuando se toman juntos acetónidos;

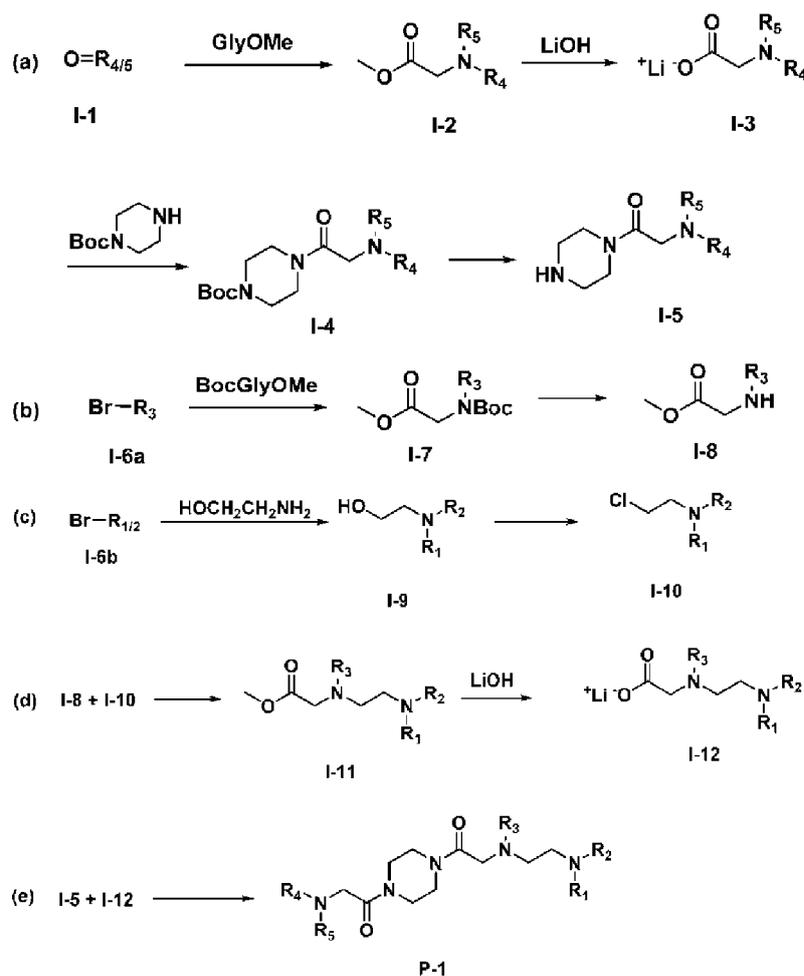
Para tioles: Ac;

Para bencimidazoles: SEM, bencilo, PMB, DMB;

Para aldehídos: acetales de di-alquilo tal como dimetoxi acetal o dietil acetilo.

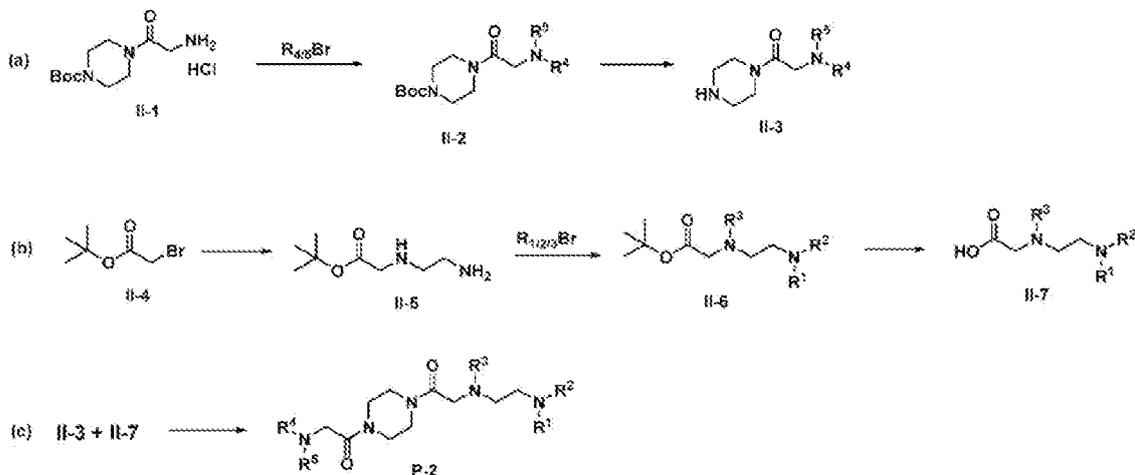
En los esquemas de reacción descritos en esta invención, se pueden producir múltiples estereoisómeros. Cuando no se indica ningún estereoisómero en particular, se entiende que significa todos los estereoisómeros posibles que podrían producirse a partir de la reacción. Un experto en la materia reconocerá que las reacciones se pueden optimizar para proporcionar un isómero preferiblemente, o se pueden diseñar nuevos esquemas para producir un único isómero. Si se producen mezclas, se pueden usar técnicas tales como cromatografía en capa fina preparativa, HPLC preparativa, HPLC quiral preparativa o SFC preparativa para separar los isómeros.

Esquema 1



El Esquema 1 anterior ilustra un procedimiento de 11 etapas para la síntesis de lípidos de la descripción. (a) Se hace reaccionar aldehído (I-1) con clorhidrato de éster metílico de glicina en presencia de un agente reductor, por ejemplo, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, y una base, por ejemplo, NEt_3 , en un disolvente apropiado, por ejemplo, AcOH, para producir dialquilglicinato de metilo (I-2). Esta reacción puede tener lugar en un disolvente orgánico, por ejemplo, dicloroetano. El dialquilglicinato de metilo (I-2) se hidroliza utilizando hidróxido de litio, por ejemplo, en THF, para producir el respectivo alquilglicinato de litio (I-3). Una solución de (I-3), por ejemplo, en THF, se hace reaccionar con 1-*tert*-butil-piperazina en presencia de una base, por ejemplo, diisopropiletilamina (DIPEA), y un agente de acoplamiento, por ejemplo, anhídrido de ácido propilfosfónico, para formar 4-(alquil) piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (I-4), que a continuación se desprotege, usando, por ejemplo, ácido trifluoroacético (TFA), para producir 2-(alquil)-1-(piperazina-1-il) etan-1-ona (I-5). Esta reacción puede tener lugar en un disolvente orgánico 150, por ejemplo, diclorometano (DCM). (b) Se hace reaccionar bromoalcano (I-6) con alquilglicinato de metilo-*tert*-butilo en presencia de una base fuerte, por ejemplo, NaH, y en un disolvente apropiado, por ejemplo, dimetilformamida (DMF), para formar *N*-(*tert*-butil)-*N*-alquilglicinato de metilo (I-7), que a continuación se desprotege, usando, por ejemplo, TFA, para producir alquilglicinato de metilo (I-8). Esta reacción de desprotección puede tener lugar en un disolvente orgánico, por ejemplo, diclorometano. (c) Se hace reaccionar bromoalcano (I-6) con etanol-1-amina en condiciones alcalinas (por ejemplo, K_2CO_3) y en presencia de un catalizador, por ejemplo, KI en un disolvente apropiado (por ejemplo, acetonitrilo), para formar 2-(dialquilamino) etanol (I-9), que se convierte en *N*-(2-cloroetil)-*N*-alquilalcan-1-amina (I-10) utilizando un reactivo adecuado, por ejemplo, cloruro de mesilo en presencia de una base, por ejemplo, trietilamina, y un disolvente apropiado, por ejemplo, DCM. (d) El alquilglicinato de metilo (I-8), obtenido según (b) y la *N*-(2-cloroetil)-*N*-alquilalcan-1-amina (I-10) obtenida según (c) se acoplan en presencia de una base, por ejemplo, K_2CO_3 y un catalizador nucleófilo, por ejemplo, KI en un disolvente apropiado (por ejemplo, acetonitrilo), para formar el intermedio de glicinato de metilo (I-11), que a continuación se hidroliza usando hidróxido de litio en un disolvente apropiado, por ejemplo, tetrahydrofurano (THF), para producir el compuesto de glicinato de litio (I-12). (e) La 2-(alquil)-1-(piperazina-1-il)etan-1-ona (I-5) obtenida según (a) y el compuesto (I-12) obtenido según (d) se hacen reaccionar en presencia de una base, por ejemplo, diisopropiletilamina (DIPEA), y un agente de acoplamiento, por ejemplo, anhídrido de ácido propilfosfónico, para producir el producto (P-1). Esta reacción puede tener lugar en un disolvente orgánico, por ejemplo, THF.

Esquema 2

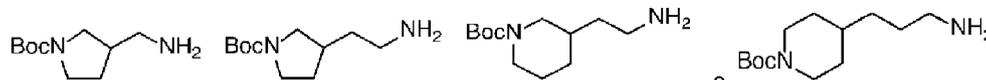


El Esquema 2 anterior ilustra un procedimiento de 6 etapas para la síntesis de lípidos de la descripción. (a) Se hace reaccionar clorhidrato de 4-glicilpiperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo disponible en el mercado (II-1) con bromoalcano en presencia de una base, por ejemplo, K₂CO₃ y un catalizador nucleófilo, por ejemplo, KI en un disolvente apropiado, por ejemplo, éter metílico de ciclopentilo/acetonitrilo, y se desprotege usando, por ejemplo, trifluoroacético (TFA) para producir 2-(dialquilamino)-1-(piperazin-1-il) etan-1-ona. La etapa de desprotección puede tener lugar en un disolvente orgánico, por ejemplo, diclorometano (DCM) (b) Se hace reaccionar 2-bromoacetato de *tert*-butilo (II-4) con 1,2-diaminoetano, en un disolvente apropiado, por ejemplo, DCM para producir (2-aminoetil)glicinato de *tert*-butilo (II-5) que se acopla con bromoalcano en presencia de una base, por ejemplo, K₂CO₃ y un catalizador nucleofílico, por ejemplo, KI en un disolvente apropiado, por ejemplo, acetonitrilo, para producir *N*-(2-(dialquilamino)etil)-*N*-alquilglicinato de *tert*-butilo (II-6). La desprotección de II-6, usando, por ejemplo, TFA, produce el compuesto de glicina correspondiente (II-7). (c) La reacción de (II-3), obtenida según (a), y el (II-7), obtenido según (b), en presencia de una base, por ejemplo, diisopropiletilamina (DIPEA), y un agente de acoplamiento, por ejemplo, anhídrido de ácido propilfosfónico, proporciona el producto (P-2). Esta reacción puede tener lugar en un disolvente orgánico, por ejemplo, 2-metiltetrahidrofurano.

Esquema 3



Como se ilustra en el Esquema 3 anterior, los intermedios para la síntesis de determinados compuestos de la descripción pueden obtenerse alquilando el grupo amino del 4-(2-aminoetil) piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo. Se pueden realizar reacciones similares con un material de partida diferente, tal como



Además, debe entenderse que cualquier realización particular de la presente descripción que se encuentre dentro de la técnica anterior puede excluirse explícitamente de una cualquiera o más de las reivindicaciones. Dado que se considera que dichas realizaciones son conocidas por un experto en la materia, pueden excluirse incluso si la exclusión no se establece explícitamente en esta invención.

En caso de declaraciones contradictorias de una fuente citada y de la presente solicitud, prevalecerá la declaración de la presente solicitud. La cita de publicaciones y documentos de patentes no pretende ser una admisión de que alguno es un estado de la técnica pertinente, ni constituye ninguna admisión en cuanto al contenido o la fecha de los mismos. Una vez que se ha descrito la invención a modo de descripción escrita, los expertos en la materia reconocerán que la invención se puede practicar en una variedad de realizaciones y que la descripción anterior y los ejemplos a continuación tienen fines ilustrativos y no limitativos de las reivindicaciones. que siguen.

40 Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-1).

5 A. Consideraciones generales

Todos los disolventes y reactivos utilizados se obtuvieron en el mercado y se utilizaron como tales, a menos que se indique lo contrario. Los espectros de RMN de ^1H se registraron en CDCl_3 , a 300 K utilizando un instrumento Bruker Ultrashield de 300 MHz o un instrumento Varian Unity Inova de 400MHz. Los cambios químicos se informan como partes por millón (ppm) en relación con TMS (0,00) para ^1H . Las cromatografías en gel de sílice se realizaron en instrumentos CombiFlash Rf+ Lumen de ISCO utilizando cartuchos Flash RediSep Rf Gold de ISCO (tamaño de partícula: 20-40 micrómetros). Las cromatografías de fase inversa se realizaron en instrumentos CombiFlash Rf+ Lumen de ISCO utilizando columnas RediSep Rf Gold C18 de alto rendimiento. Se determinó que todos los compuestos finales tenían una pureza superior al 85 % mediante análisis por UPLC-MS de fase inversa (tiempos de retención, TR, en minutos) utilizando el instrumento Waters Acquity UPLC con DAD y ELSD y una columna ZORBAX de alta definición de resolución rápida (RRHD) SB-C18 LC, 2,1 mm, 50 mm, 1,8 μm y un gradiente del 65 al 100 % de acetonitrilo en agua con TFA al 0,1 % durante 5 minutos a 1,2 ml/min. El volumen de inyección fue de 5 μl y la temperatura de la columna fue de 80 $^\circ\text{C}$. La detección se basó en la ionización por electropulverización (ESI) en modo positivo utilizando el espectrómetro de masas Waters SQD (Milford, MA, EE. UU.) y el detector de dispersión de luz evaporativa.

Los procedimientos descritos para la síntesis de los Compuestos 12 y 19 son aplicables a la síntesis de compuestos según las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I) en general. Los compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 67, 69, 70, 73, 80-85, 87-100, 102, 104, 106, 108 y 109 son compuestos de la invención.

Se emplean las siguientes abreviaturas en esta invención:

30 ta: Temperatura ambiente

MeOH: Metanol

DCM: Diclorometano

35 DCE: Dicloroetano

DMAP = 4-Dimetilaminopiridina

DMF = *N,N*-Dimetilformamida

40

EtOAc: Acetato de etilo

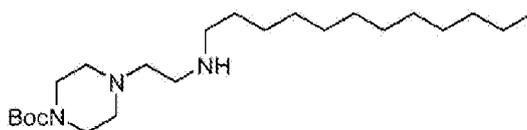
MeCN: Acetonitrilo

45 THF: Tetrahidrofurano

EDC·HCl: Clorhidrato de *N*-(3-Dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida

50 B. Compuesto 1: 2-(Didodecilamino)-*N*-(2-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*-dodecilacetamida

Etapa 1: 4-(2-Dodecilamino)etil piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



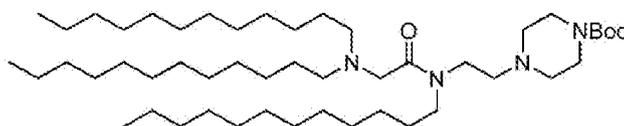
Fórmula química: $\text{C}_{23}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_2$

Peso molecular: 397,65

55 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-(dodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 1-bromododecano (3,3 g, 13,1 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (3,0 g, 13,1 mmol), K_2CO_3 (3,62 g, 26,2 mmol) y KI (217 mg, 1,31 mmol) en MeCN (60 ml). Rendimiento (1,42 g, 27 %). UPLC/ELSD: TR = 1,18 min. MS (ES): m/z (MH^+) 398,56 para $\text{C}_{23}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_2$

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,45 (br. m, 4H); 2,75 (br. m, 2H); 2,65 (br. m, 2H); 2,55 (br. m, 2H); 2,42 (br. m, 4H); 1,60-1,22 (br. m, 29H); 0,91 (br. m, 3H).

- 5 Etapa 2: 4-(2-(2-(Didodecilamino)-*N*-dodecilacetamido)etil) piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



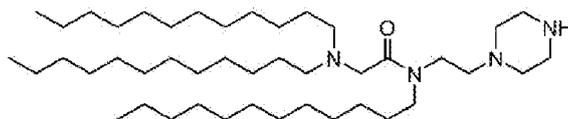
Fórmula química: C₄₉H₉₈N₄O₃

Peso molecular: 791,35

- 10 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(2-(2-(didodecilamino)-*N*-dodecilacetamido)etil) piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(2-(dodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (100 mg, 0,25 mmol), didodecilglicina de litio (0,10 g, 0,25 mmol), anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,45 ml, 0,75 mmol) e *i*-Pr₂EtN (0,044 ml, 0,25 mmol) en THF (2 ml). Rendimiento (0,12 g, 63 %).

- 15 UPLC/ELSD: TR = 3,36 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 792,082 para C₄₉H₉₈N₄O₃

Etapa 3: 2-(Didodecilamino)-*N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)acetamida



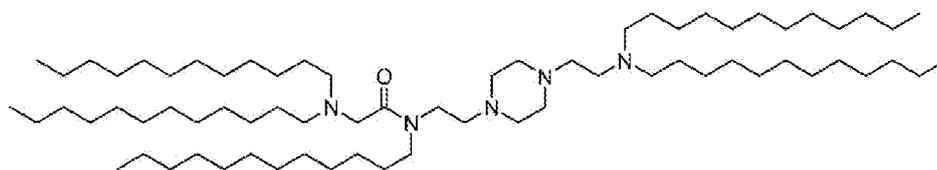
Fórmula química: C₄₄H₉₀N₄O

Peso molecular: 691,23

- 20 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(didodecilamino)-*N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)acetamida a partir de 4-(2-(2-(didodecilamino)-*N*-dodecilacetamido)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (0,12 g, 0,16 mmol) y TFA (0,25 ml, 3,2 mmol) en 0,25 ml de DCM.

- 25 UPLC/ELSD: TR = 3,06 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 692,984 para C₄₄H₉₀N₄O

Etapa 4: Compuesto 1: 2-(Didodecilamino)-*N*-(2-(4-(2-(didodecilamino)etil) piperazin-1-il)etil)-*N*-dodecilacetamida



Fórmula química: C₇₀H₁₄₃N₅O

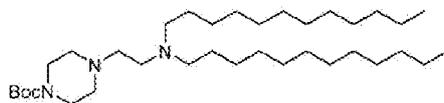
Peso molecular: 1070,95

- 30 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(didodecilamino)-*N*-(2-(4-(2-(didodecilamino)etil) piperazin-1-il)etil)-*N*-dodecilacetamida a partir de 2-(didodecilamino)-*N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)acetamida (65 mg, 0,094 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (42 mg, 0,10 mmol), K₂CO₃ (13 mg, 0,094 mmol) y KI (2 mg, 0,0094 mmol) en 0,5 ml de MeCN para producir 58,5 mg con un rendimiento del 58 %. UPLC/ELSD: TR = 3,75 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1072,585 para C₇₀H₁₄₃N₅O

- 35 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,82-3,23 (br. m. 8H); 3,04-2,90 (br. m., 2H); 2,47 (m, 18H); 1,24 (m, 100H); 0,96 (m, 15H).

- 40 C. Compuesto 2: 2-((2-(Didodecilamino)etil) (dodecil)amino)-1-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etan-1-ona

Etapla 1: 4-(2-Didodecilamino)etil piperazme-1-carboxilato de *terc*-butilo



Fórmula química: $C_{35}H_{71}N_3O_2$

Peso molecular: 565,97

5

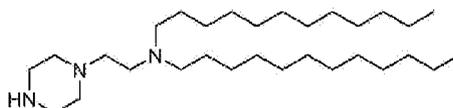
Se dejó agitar una mezcla de 1-bromododecano (1,1 ml, 4,6 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (1,0 g, 4,4 mmol), K_2CO_3 (0,61 g, 4,4 mmol), en 10 ml de MeCN a ta durante 12 h. Transcurrido este tiempo la reacción se filtró y se concentró. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM con NH_4OH al 1 % para producir 4-(2-(didodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (450 mg, 0,80 mmol, 18 %). UPLC/ELSD: TR = 2,87 min. MS (ES): m/z (MH^+) 566,655 para $C_{35}H_{71}N_3O_2$

10

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,40 (m, 4H); 2,56 (m, 2H); 2,40 (m, 10H); 1,44 (s, 9H); 1,40-1,24 (m, 40H); 0,86 (t, 6H).

15

Etapla 2: *N*-Dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina



Fórmula química: $C_{30}H_{63}N_3$

Peso molecular: 465,86

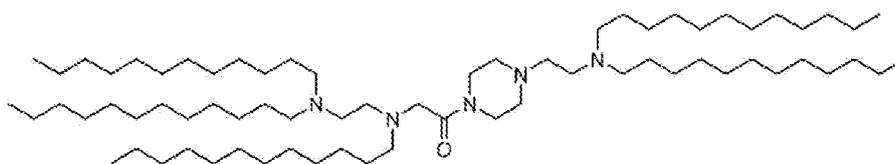
De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina a partir de 4-(2-(didodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,92 g, 1,63 mmol), TFA (6,2 ml, 82 mmol) en 6 ml de DCM para producir 490 mg con un rendimiento del 65 %. UPLC/ELSD: TR = 2,10 min. MS (ES): m/z (MH^+) 466,379 para $C_{30}H_{63}N_3$

20

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,88 (t, 4H); 2,61 (m, 2H); 2,45 (m, 10H); 1,43-1,24 (m, 40H); 0,86 (t, 6H).

25

Etapla 3: Compuesto 2: 2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)-1-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1 il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{70}H_{143}N_5O$

Peso molecular: 1070,95

30

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)-1-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de *N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina (32 mg, 0,069 mmol), *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodeciliglicina (43 mg, 0,069 mmol), anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,12 ml, 0,21 mmol) e *i*-Pr₂EtN (0,024 ml, 0,14 mmol) en 0,5 ml de THF para producir 17,7 mg (17 %).

35

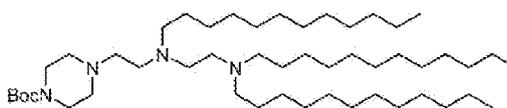
UPLC: TR = 3,90 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1071,475 para $C_{70}H_{143}N_5O$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,65 (m, 2H); 3,57 (m, 2H); 3,26 (s, 2H); 2,33-2,57 (m, 22H); 1,24-1,39 (m, 100H); 0,88 (t, 15H).

40

D. Compuesto 3: 2-(Didodecilamino)-1-(4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etan-1-ona Etapla 1: 4-(2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{49}H_{100}N_4O_2$

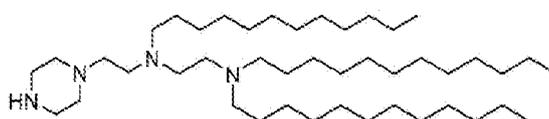
Peso molecular: 777,37

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(2-(dodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (700 mg, 1,76 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (806 mg, 1,93 mmol), K_2CO_3 (486 mg, 3,52 mmol) y KI (29 mg, 0,176 mmol) en THF (15 ml). Rendimiento (683 mg, 50 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,35 min. MS (ES): m/z (MH^+) 778,16 para $C_{49}H_{100}NaO_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,44 (t, 4H); 3,11-2,86 (br. m, 4H); 2,78-2,32 (br. m, 14H); 1,80-1,05 (br. m, 69H); 0,91 (t, 9H).

Etapa 2: *N*¹,*N*¹,*N*²-Tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{44}H_{92}N_4$

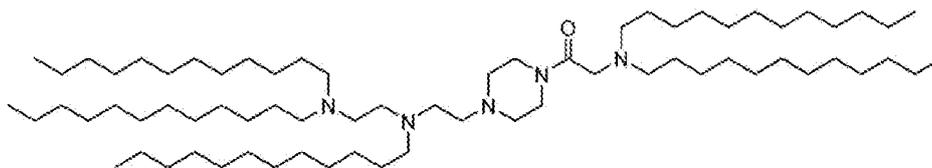
Peso molecular: 677,25

De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina a partir de 4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (683 mg, 0,879 mmol) y TFA (3,4 ml, 43,9 mmol) en DCM (3,4 ml). Rendimiento (595 mg, 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,94 min. MS (ES): m/z (MH^+) 678,16 para $C_{44}H_{92}N_4$

Etapa 3: Compuesto 3:

2-(Didodecilamino)-1-(4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{70}H_{143}N_5O$

Peso molecular: 1070,95

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se 2-(didodecilamino)-1-(4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (50 mg, 0,074 mmol), didodecilglicina de litio (33 mg, 0,078 mmol), anhídrido de ácido propilfosfónico (50 % en EtOAc, 0,13 ml, 0,22 mmol) e *i*-Pr₂EtN (0,026 ml) en 0,5 ml de THF para producir 33,9 mg (43 %).

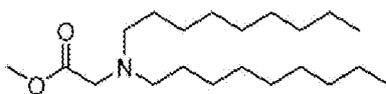
UPLC: TR = 3,90 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1071,475 para $C_{70}H_{143}N_5O$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,65 (m, 2H); 3,57 (m, 2H); 3,26 (s, 2H); 2,33-2,57 (m, 22H); 1,24-1,39 (m, 100H); 0,88 (t, 15H).

E. Compuesto 4: 2-(Dinonilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona

Etapa 1: Dinonilglicinato de metilo

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{21}H_{43}NO_2$

Peso molecular: 341,58

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 11, se sintetizó dinonilglicinato de metilo a partir de clorhidrato de éster metílico de glicina (5,0 g, 39,8 mmol), trietilamina (8,3 ml, 59,7 mmol), nonanal al 95 % (15,0 g, 99,6 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (21,1 g, 99,6 mmol) y ácido acético (5,7 ml, 99,6 mmol) en DCE (50 ml). Rendimiento (3,5 g, 26 %). UPLC/ELSD: TR = 1,82 min. MS (ES): m/z (MH^+) 343,62 para $C_{21}H_{43}NO_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,72 (s, 3H); 3,35 (s, 2H); 2,57 (t, 4H); 1,46 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 24H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 2: Dinonilglicinato de litio



Fórmula química: $C_{20}H_{40}LiNO_2$

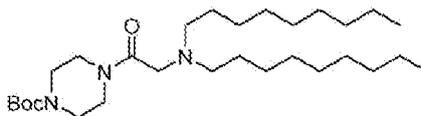
Peso molecular: 333,49

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 11, se sintetizó dinonilglicinato de litio a partir de dinonilglicinato de metilo (3,5 g, 10,2 mmol) y LiOH 1 M (50 ml, 50 mmol) en THF (50 ml). Rendimiento (3,0 g, 88 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,71 min. MS (ES): m/z (MH^+) 328,37 para $C_{20}H_{41}NO_2$

1H -RMN (300 MHz, CD_3OD) δ : ppm 3,13 (s, 2H); 2,59 (t, 4H); 1,51 (br. m, 4H); 1,32 (br. m, 24H); 0,92 (t, 6H).

Etapa 3: 4-(Dinonilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



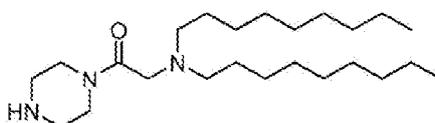
Fórmula química: $C_{29}H_{57}N_3O_3$

Peso molecular: 495,79

De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(dinonilglicil) piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de dinonilglicinato de litio (2,0 g, 6,00 mmol), 1-boc-piperazina (1,23 g, 6,58 mmol), *i*-Pr₂EtN (2,3 ml, 13,2 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 10,7 ml, 17,9 mmol). Rendimiento (824 mg, 28 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,19 min. MS (ES): m/z (MH^+) 496,72 para $C_{29}H_{57}N_3O_3$

Etapa 4: 2-(Dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{24}H_{49}N_3O$

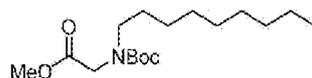
Peso molecular: 395,68

ES 2 913 626 T5

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 4-(dinonilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (824 mg, 1,66 mmol) y TFA (6,4 ml, 83,1 mmol) en DCM (6,4 ml). Rendimiento (246 mg, 37 %). UPLC/ELSD: TR = 1,25 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 396,68 para C₂₄H₄₉N₃O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,63 (br. m, 4H); 3,28 (s, 2H); 2,89 (br. m, 4H); 2,48 (t, 4H); 1,45 (br. m, 4H); 1,28 (br. m, 24H); 0,90 (t, 6H).

10 Etapa 5: *N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-*N*-nonilglicinato de metilo



Fórmula química: C₁₇H₃₃NO₄

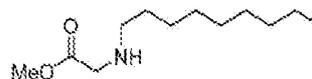
Peso molecular: 315,45

15 De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-nonilglicinato de metilo a partir de éster metílico de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)glicina (7,7 g, 40,7 mmol) y NaH (60 %, 1,71 g, 42,7 mmol) en DMF (100 ml). Rendimiento (3,32 g, 26 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,02-3,84 (br. m, 2H); 3,75 (s, 3H); 3,26 (br. m, 2H); 1,65-1,39 (br. m, 11H); 1,28 (br. m, 12H); 0,90 (t, 3H).

20

Etapa 6: Nonilglicinato de metilo



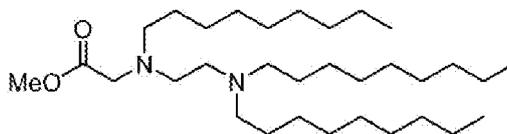
Fórmula química: C₁₂H₂₅NO₂

Peso molecular: 215,34

25 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 11, se sintetizó nonilglicinato de metilo a partir de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-nonilglicinato de metilo (3,32 g, 10,5 mmol) y TFA (16 ml, 210 mmol) en DCM (16 ml). Rendimiento (2,23 g, 98 %).

30 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,75 (s, 3H); 3,44 (s, 2H); 2,61 (t, 2H); 1,69 (br. m, 1H); 1,51 (br. m, 2H); 1,28 (br. m, 12H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 7: *N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicinato de metilo



Fórmula química: C₃₂H₆₆N₂O₂

Peso molecular: 510,89

35

De la misma manera que en la Etapa 9 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicinato de metilo a partir de nonilglicinato de metilo (449 mg, 2,08 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (830 mg, 2,50 mmol), K₂CO₃ (576 mg, 4,16 mmol) y KI (35 mg, 0,208 mmol) en MeCN (13 ml). Rendimiento (958 mg, 90 %). UPLC/ELSD: TR = 3,11 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 511,97 para C₃₂H₆₆N₂O₂

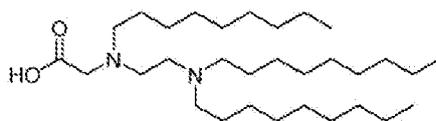
40

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,72 (s, 3H); 3,42 (s, 2H); 2,95-2,15 (br. m, 10H); 1,85-1,00 (br. m, 42H); 0,90 (t, 9H).

45

Etapa 8: *N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina

ES 2 913 626 T5



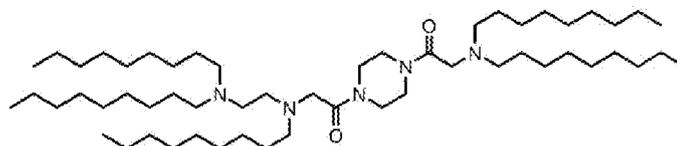
Fórmula química: $C_{33}H_{64}N_2O_2$

Peso molecular: 496,87

De la misma manera que en la Etapa 10 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-nonilglicina a partir de *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-nonilglicinato de metilo (958 mg, 1,88 mmol) y LiOH 1 M (10 ml, 10 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (514 mg, 55 %). UPLC/ELSD: TR = 2,75 min. MS (ES): *m/z* (MH^+) 497,95 para $C_{31}H_{64}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,92 (br. m, 6H); 3,14 (br. m, 6H); 1,77 (br. m, 6H); 1,45-1,13 (br. m, 36H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 9: Compuesto 4: 2-(Dionilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{55}H_{111}N_5O_2$

Peso molecular: 874,53

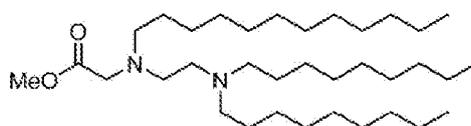
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(dionilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 2-(dionilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (61,5 mg, 0,155 mmol), *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-nonilglicina (85 mg, 0,171 mmol), *i*-Pr₂EtN (60 μ l, 0,342 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,278 ml, 0,466 mmol). Rendimiento (38 mg, 28 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,13 min. MS (ES): *m/z* (MH^+) 875,76 para $C_{55}H_{111}N_5O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,82-3,49 (br. m, 8H); 3,33 (s, 2H); 3,27 (s, 2H); 2,68-2,18 (br. m, 14H); 1,82-1,02 (br. m, 70H); 0,90 (t, 15H).

F. Compuesto 5: 2-(Dionilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona

Etapa 1: *N*-(2-(Dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo



Fórmula química: $C_{35}H_{72}N_2O_2$

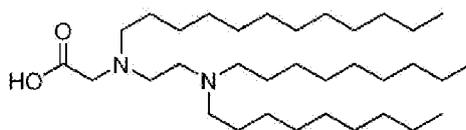
Peso molecular: 552,97

De la misma manera que en la Etapa 9 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo a partir de dodecilglicinato de metilo (535 mg, 2,08 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (830 mg, 2,50 mmol), K_2CO_3 (576 mg, 4,16 mmol) y KI (35 mg, 0,208 mmol) en MeCN (13 ml). Rendimiento (385 mg, 34 %). UPLC/ELSD: TR = 3,34 min. MS (ES): *m/z* (MH^+) 553,96 para $C_{35}H_{72}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,72 (s, 3H); 3,41 (s, 2H); 2,90-2,20 (br. m, 10H); 1,85-1,05 (br. m, 48H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 2: *N*-(2-(Dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicina

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{34}H_{70}N_2O_2$

Peso molecular: 538,95

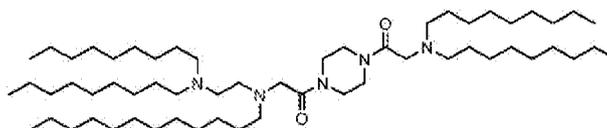
De la misma manera que en la Etapa 10 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicina a partir de *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (385 mg, 0,696 mmol) y LiOH 1 M (3,5 ml, 3,5 mmol) en THF (3,5 ml). Rendimiento (225 mg, 60 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,13 min. MS (ES): m/z (MH^+) 539,93 para $C_{34}H_{70}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,73 (s, 2H); 3,62-3,39 (br. m, 4H); 3,09 (br. m, 6H); 1,76 (br. m, 6H); 1,28 (br, 42H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 3: Compuesto 5:

2-(Dionilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{58}H_{117}N_5O_2$

Peso molecular: 916,61

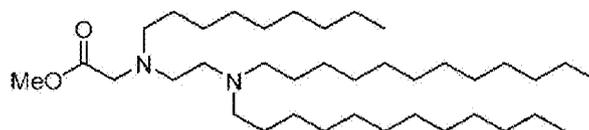
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(dionilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 2-(dionilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (62 mg, 0,155 mmol), *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-dodecilglicina (92 mg, 0,171 mmol), *i*-Pr₂EtN (60 μ l, 0,342 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,278 ml, 0,466 mmol). Rendimiento (38 mg, 26 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,32 min. MS (ES): m/z (MH^+) 917,67 para $C_{58}H_{117}N_5O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,86-3,45 (br. m, 8H); 3,33 (s, 2H); 3,28 (s, 2H); 2,73-2,27 (br. m, 14H); 1,86-1,00 (76H); 0,91 (t, 15H).

G. Compuesto 6:

2-((2-(Didodecilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(dionilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona Etapa 1: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicinato de metilo



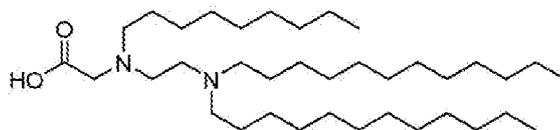
Fórmula química: $C_{38}H_{78}N_2O_2$

Peso molecular: 595,05

De la misma manera que en la Etapa 9 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicinato de metilo a partir de nonilglicinato de metilo (355 mg, 1,65 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (825 mg, 1,98 mmol), K_2CO_3 (457 mg, 3,30 mmol) y KI (27 mg, 0,165 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (460 mg, 47 %). UPLC/ELSD: TR = 3,62 min. MS (ES): m/z (MH^+) 596,03 para $C_{38}H_{78}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,72 (s, 3H); 3,42 (s, 2H); 2,80-2,24 (br. m, 10H); 1,56-1,00 (br. m, 54H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 2: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicina



Fórmula química: $C_{37}H_{76}N_2O_2$

Peso molecular: 581,03

5 De la misma manera que en la Etapa 10 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicina a partir de *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicinato de metilo (460 mg, 0,773 mmol) y LiOH 1 M (3,9 ml, 3,9 mmol) en THF (3,9 ml). Rendimiento (323 mg, 72 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,37 min. MS (ES): m/z (MH^+) 582,00 para $C_{37}H_{76}N_2O_2$

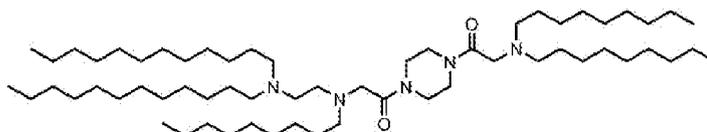
10

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,17 (s 2H); 4,00 (br. m, 2H); 3,84 (br. m, 2H); 3,34 (br. m, 2H); 3,18 (br. m, 4H); 1,82 (br. m, 6H); 1,27 (br. m, 48H); 0,91 (t, 9H).

Etapa 3: Compuesto 6:

15

2-((2-(Didodecilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{61}H_{123}N_5O_2$

Peso molecular: 958,69

20 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 2-(dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (62 mg, 0,155 mmol), *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicina (99 mg, 0,171 mmol), *i*-Pr₂EtN (60 μ l, 0,342 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,278 ml, 0,466 mmol). Rendimiento (45 mg, 30 %).

25

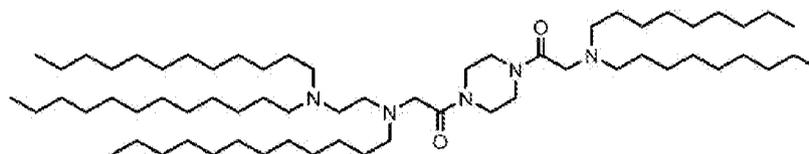
UPLC/ELSD: TR = 3,46 min. MS (ES): m/z (MH^+) 959,98 para $C_{61}H_{123}N_5O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,81-3,49 (br. m, 8H); 3,33 (s, 2H); 3,27 (s, 2H); 2,70-2,25 (br. m, 14H); 1,90-1,00 (br. m, 82H); 0,90 (t, 15H).

30

H. Compuesto 7:

2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)-1-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{64}H_{129}N_5O_2$

Peso molecular: 1000,77

35

40 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)-1-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 2-(dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (62 mg, 0,155 mmol), *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina (107 mg, 0,171 mmol), *i*-Pr₂EtN (60 μ l, 0,342 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,278 ml, 0,466 mmol). Rendimiento (34 mg, 20 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,60 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1001,97 para $C_{64}H_{129}N_5O_2$

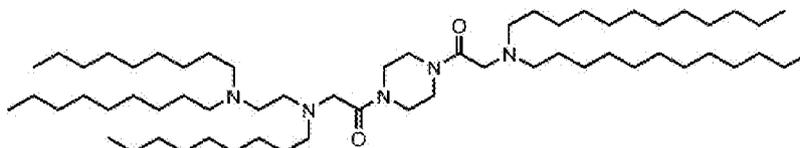
ES 2 913 626 T5

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,85-2,18 (br. m, 26H); 1,91-1,00 (br. m, 88H); 0,90 (t, 15H).

I. Compuesto 8:

5

2-(Didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: C₆₁H₁₂₃N₅O₂

Peso molecular: 958,69

10 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 2-(didodecilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (202 mg, 0,421 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (230 mg, 0,463 mmol), *i*-Pr₂EtN (0,162 ml, 0,926 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,752 ml, 1,26 mmol). Rendimiento (148 mg, 37 %).

15

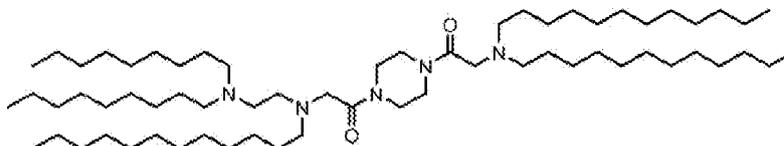
UPLC/ELSD: TR = 3,41 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 959,74 para C₆₁H₁₂₃N₅O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,82-3,49 (br. m, 8H); 3,33 (s, 2H); 3,27 (s, 2H); 2,66-2,30 (br. m, 14H); 1,85-1,02 (br. m, 82H); 0,90 (t, 15H).

20

J. Compuesto 9:

2-(Didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: C₆₄H₁₂₉N₅O₂

Peso molecular: 1000,77

25

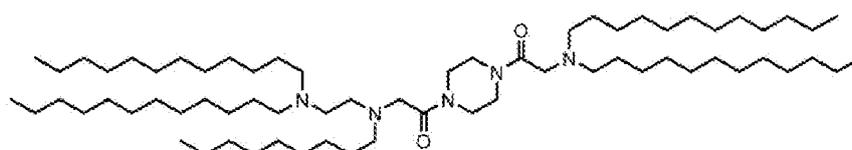
30 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de (76 mg, 0,157 mmol), (93 mg, 0,173 mmol), *i*-Pr₂EtN (60 μl, 0,342 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,278 ml, 0,466 mmol). Rendimiento (59 mg, 37 %). UPLC/ELSD: TR = 3,57 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1001,65 para C₆₄H₁₂₉N₅O₂

35

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,95-2,23 (br. m, 26H); 2,05-1,00 (br. m, 88H); 0,90 (t, 15H).

K. Compuesto 10:

2-(Didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: C₆₇H₁₃₅N₅O₂

Peso molecular: 1042,85

40

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de 2-(didodecilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-

ES 2 913 626 T5

1-ona (76 mg, 0,157 mmol), *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-nonilglicina (101 mg, 0,173 mmol), *i*-Pr₂EtN (60 μl, 0,342 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,278 ml, 0,466 mmol). Rendimiento (56 mg, 34 %).

5 UPLC/ELSD: TR = 3,72 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1043,88 para C₆₇H₁₃₅N₅O₂

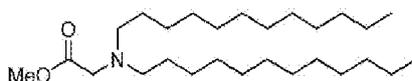
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,95-2,15 (br. m, 26H); 1,90-1,05 (br. m, 94H); 0,90 (t, 15H).

L. Compuesto 11:

10

2-(Didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona

Etapa 1: Didodecilglicinato de metilo



Fórmula química: C₂₇H₅₅NO₂

Peso molecular: 425,74

15

Se dejó agitar a temperatura ambiente una solución de clorhidrato de éster metílico de glicina (5,0 g, 39,8 mmol) y trietilamina (8,3 ml, 59,7 mmol) en DCE (50 ml) durante 15 minutos. Se añadió una solución de dodecanol al 92 % (20,0 g, 99,6 mmol) en DCE (50 ml) y la mezcla se enfrió a 0 °C. Se añadieron triacetoxiborohidruro de sodio (21,1 g, 99,6 mmol) y ácido acético (5,7 ml, 99,6 mmol) y la reacción se dejó volver a la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La reacción se inactivó mediante la adición lenta de solución saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con DCM. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-30 %/hexanos) proporcionó didodecilglicinato de metilo (7,7 g, 45 %).

20

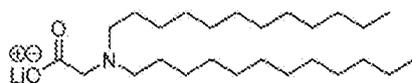
25

UPLC/ELSD: TR = 2,82 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 426,69 para C₂₇H₅₅NO₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,72 (s, 3H); 3,35 (s, 2H); 2,57 (t, 4H); 1,46 (m, 4H); 1,28 (br. m, 36H); 0,91 (t, 6H).

30

Etapa 2: Didodecilglicinato de litio



Fórmula química: C₂₆H₅₃LiNO₂

Peso molecular: 417,65

35

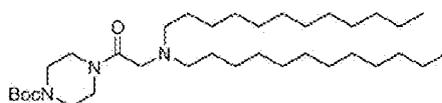
Se dejó agitar una solución de didodecilglicinato de metilo (7,7 g, 18,1 mmol) en THF (100 ml) y LiOH 1 M (90,4 ml, 90,4 mmol) a 65 °C durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró hasta un polvo blanco. El polvo se suspendió en agua, se filtró, se lavó con agua y éter dietílico y se secó al vacío para proporcionar didodecilglicinato de litio (7,0 g, 93 %).

40

UPLC/ELSD: TR = 2,74 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 412,83 para C₂₆H₅₃NO₂

¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD) δ: ppm 3,14 (s, 2H); 2,60 (t, 4H); 1,51 (m, 4H); 1,31 (br. m, 36H); 0,92 (t, 6H).

45 Etapa 3: 4-(Didodecilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: C₅₅H₁₀₉N₃O₃

Peso molecular: 579,96

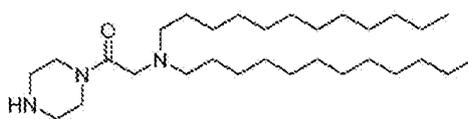
Se dejó agitar a temperatura ambiente una solución de didodecilglicinato de litio (2,0 g, 4,79 mmol), 1-boc-

ES 2 913 626 T5

piperazina (978 mg, 5,25 mmol), *i*-Pr₂EtN (1,84 ml, 10,5 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 8,53 ml, 14,3 mmol) en THF (24 ml) durante 48 horas. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 4-(didodecilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (983 mg, 35 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,06 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 581,02 para C₃₅H₆₉N₃O₃

Etapa 4: 2-(Didodecilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: C₃₀H₆₁N₃O

Peso molecular: 479,84

A una solución a 0 °C de 4-(didodecilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (983 mg, 1,69 mmol) en DCM (6,5 ml) se añadió gota a gota TFA (6,5 ml, 84,7 mmol). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el material bruto se disolvió en CHCl₃. La solución se lavó con Na₂CO₃ al 5 % y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar 2-(didodecilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (163 mg, 20 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,07 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 480,89 para C₃₀H₆₁N₃O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,67 (br. m, 4H); 3,32 (s, 2H); 2,92 (br. m, 4H); 2,53 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,28 (br. m, 36H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 5: *N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-*N*-dodecilglicinato de metilo

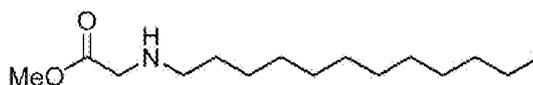


Fórmula química: C₂₀H₃₉NO₄

Peso molecular: 357,54

Se trató una solución a 0 °C de éster metílico de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)glicina (7,7 g, 40,7 mmol) en DMF (100 ml) con NaH (60 %, 1,71 g, 42,7 mmol) y la mezcla se dejó agitar durante 30 minutos. Se dejó que la solución volviera a la temperatura ambiente antes de añadir 1-bromododecano (15,2 g, 61,0 mmol). La reacción se inactivó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-20 %/hexanos) proporcionó *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (4,03 g, 28 %). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,01-3,84 (br. m, 2H); 3,75 (s, 3H); 3,27 (br. m, 2H); 1,67-1,39 (br. m, 11H); 1,28 (br. m, 18H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 6: Dodecilglicinato de metilo



Fórmula química: C₁₅H₃₁NO₂

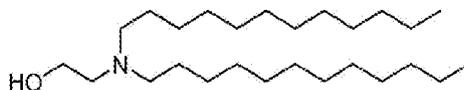
Peso molecular: 257,42

A una solución a 0 °C de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (4,03 g, 11,3 mmol) en DCM (17 ml) se añadió gota a gota TFA (17 ml, 226 mmol). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 6 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el material bruto se disolvió en DCM. La solución se lavó con NaOH al 10 % y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar dodecilglicinato de metilo (2,84 g, 98 %).

ES 2 913 626 T5

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,75 (s, 3H); 3,44 (s, 2H); 2,62 (t, 2H); 1,70 (br, 1H); 1,51 (m, 2H); 1,29 (br. m, 18H); 0,90 (t, 3H).

5 Etapa 7: 2-(Didodecilamino)etan-1-ol



Fórmula química: C₂₆H₅₅NO

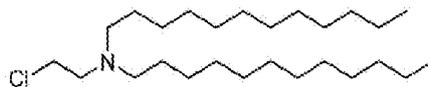
Peso molecular: 397,73

10 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(didodecilamino)etan-1-ol a partir de 1-bromododecano (10 g, 40,1 mmol), etanolamina (1,10 ml, 18,2 mmol), K₂CO₃ (11,1 g, 80,1 mmol) y KI (302 mg, 1,82 mmol) en MeCN (84 ml). Rendimiento (3,87 g, 53 %).

15 UPLC/ELSD: TR = 2,69 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 398,56 para C₂₆H₅₅NO

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,57 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,49 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 36H); 0,91 (t, 6H).

20 Etapa 8: *N*-(2-Cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina



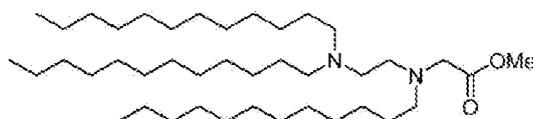
Fórmula química: C₂₆H₅₃ClN

Peso molecular: 416,18

25 De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina a partir de 2-(didodecilamino)etan-1-ol (3,87 g, 9,73 mmol), trietilamina (1,76 ml, 12,6 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,941 ml, 12,2 mmol) en DCM (50 ml). Rendimiento (1,92 g, 47 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,51 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,47 (br. m, 4H); 1,44 (br. m, 4H); 1,28 (br. m, 36H); 0,90 (t, 6H).

30 Etapa 9: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-dodeciliglicinato de metilo



Fórmula química: C₄₁H₈₄N₂O₂

Peso molecular: 637,14

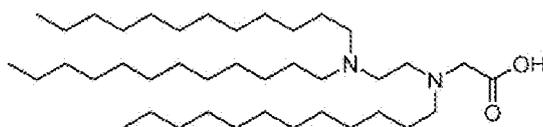
35 A una solución de dodeciliglicinato de metilo (425 mg, 1,65 mmol) en MeCN (10 ml) se añadió *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (825 mg, 1,98 mmol), K₂CO₃ (457 mg, 3,30 mmol) y KI (27 mg, 0,165 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 72 horas. La mezcla de reacción se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodeciliglicinato de metilo (652 mg, 62 %).

40 UPLC/ELSD: TR = 3,77 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 638,18 para C₄₁H₈₄N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,72 (s, 3H); 3,41 (s, 2H); 2,90-2,20 (br. m, 10H); 1,60-1,00 (br. m, 60H); 0,90 (t, 9H).

45 Etapa 10: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-dodeciliglicina

ES 2 913 626 T5



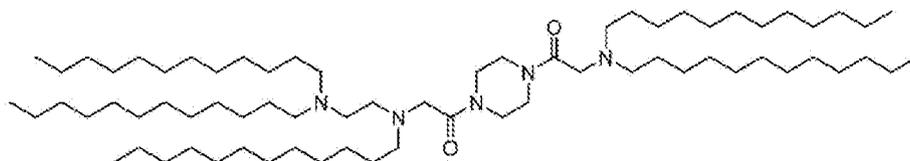
Fórmula química: $C_{40}H_{82}N_2O_2$

Peso molecular: 623,11

Se dejó agitar una solución de *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (652 mg, 1,02 mmol) en THF (6 ml) y LiOH 1 M (5 ml, 5 mmol) a 65 °C durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se acidificó con HCl al 10 %. La mezcla se extrajo con cloroformo y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina (153 mg, 24 %). UPLC/ELSD: TR = 3,60 min. MS (ES): m/z (MH^+) 624,07 para $C_{40}H_{82}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,02-3,40 (br. m, 6H); 3,16 (br. m, 6H); 1,78 (br. m, 6H); 1,46-1,01 (br. m, 54H); 0,90 (t, 9H).

Etapas 11: Compuesto 11: 2-(Didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona



Fórmula química: $C_{70}H_{141}N_5O_2$

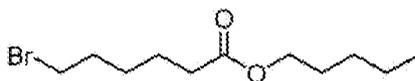
Peso molecular: 1084,93

A una solución de *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina (212 mg, 0,340 mmol) y 2-(didodecilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (163 mg, 0,340 mmol) en THF (4 ml) se añadió *i*-Pr₂EtN (0,119 ml, 0,680 mmol) y anhídrido de ácido propilfosfónico (solución de EtOAc al 50 %, 0,606 ml, 1,02 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (0-100 % [DCM, MeOH al 20 %, NH_4OH al 1 %]/MeOH) proporcionó 2-(didodecilamino)-1-(4-(*N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona (148 mg, 37 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,81 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1086,94 para $C_{70}H_{141}N_5O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,00-2,20 (br. m, 26H); 1,77 (br. m, 6H); 1,54-1,02 (br. m, 94H); 0,90 (t, 15H).

M. Compuesto 12: 6-((2-(4-(2-(2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo Etapa 1: 6-Bromohexanoato de pentilo



Fórmula química: $C_{11}H_{21}BrO_2$

Peso molecular: 265,19

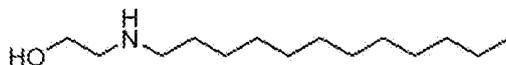
A una solución de ácido 6-bromohexanoico (2 g, 10,3 mmol) y pentan-1-ol (2,2 ml, 20,5 mmol) en 26 ml de DCM, se añadieron EDC·HCl (1,97 g, 10,3 mmol) y DMAP (0,26 g, 2,1 mmol). La solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de agua. La mezcla se extrajo tres veces con DCM. Los extractos orgánicos se agruparon y lavaron con solución saturada de $NaHCO_3$, ácido cítrico al 10 % y salmuera. A continuación, los extractos orgánicos se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) para producir el producto deseado (2,3 g, 8,67 mmol).

ES 2 913 626 T5

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,06 (t, 2H); 3,39 (t, 2H); 2,30 (t, 2H); 1,84 (m, 2H); 1,62 (m, 4H); 1,46 (m, 2H); 1,31 (m, 4H); 0,88 (t, 3H).

Etapa 2: 2-(Dodecilamino)etan-1-ol

5



Fórmula química: C₁₄H₃₁NO

Peso molecular: 229,41

Se disolvió dodeciliglicinato de metilo (3,4 g, 13,2 mmol) en 2 ml de THF bajo atmósfera de N₂ y se dejó enfriar el matraz de reacción en un baño de hielo. A la solución se añadió lentamente LiAlH₄ (0,55 g, 14,5 mmol). La reacción se dejó agitar a la misma temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición posterior de 0,55 ml de H₂O, 0,55 ml de NaOH al 10 % y a continuación 1,65 ml de H₂O. A continuación, la reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM, con NaOH al 1 %) para producir el alcohol deseado (1,9 g, 8,28 mmol, 63 % de rendimiento).

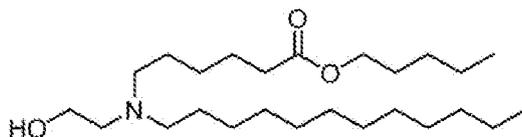
10

15

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,63 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 1,48 (m, 2H); 2,14 (m, 18H); 0,88 (t, 3H).

Etapa 3: 6-(Dodecil(2-hidroxietil)amino)hexanoato de pentilo

20



Fórmula química: C₂₅H₅₁NO₃

Peso molecular: 413,69

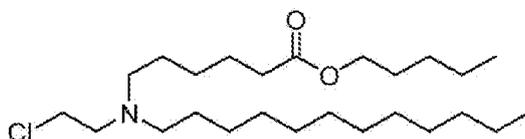
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 6-(dodecil(2-hidroxietil)amino)hexanoato de pentilo a partir de 6-bromohexanoato de pentilo (0,87 g, 3,27 mmol), 2-(dodecilamino)etan-1-ol (0,50 g, 2,18 mmol), K₂CO₃ (0,60 g, 4,36 mmol) y KI (36 mg, 0,22 mmol) en 10 ml de THF para producir 0,30 g del producto deseado (33 %).

25

30

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 2H); 3,51 (m, 2H); 2,56 (m, 2H); 2,42 (m, 4H); 2,28 (t, 2H); 1,60 (m, 4H); 1,42 (m, 4H); 1,30-1,24 (m, 24); 0,87 (m, 6H).

Etapa 4: 6-((2-Cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo



Fórmula química: C₂₅H₅₀ClNO₂

Peso molecular: 432,13

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó 6-((2-cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo a partir de 6-(dodecil(2-hidroxietil)amino)hexanoato de pentilo (300 mg, 0,73 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,062 ml, 0,80 mmol) y trietilamina (0,13 ml, 1,3 mmol) en 2 ml de DCM para producir 285 mg del producto deseado (66 %).

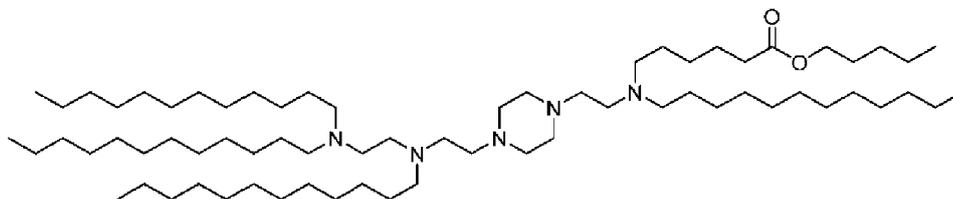
35

40

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 2H); 3,45 (t, 2H); 2,74 (t, 2H); 2,43 (m, 4H); 2,28 (t, 2H); 1,65-1,59 (m, 4H); 1,31-1,24 (m, 32H); 0,88 (m, 6H).

Etapa 5: Compuesto 12: 6-((2-(4-(2-((2-Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-

il)etil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo



5 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó 6-((2-(4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo a partir de 6-((2-cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo (75 mg, 0,17 mmol), N^1,N^1,N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (107 mg, 0,16 mmol), K_2CO_3 (23 mg, 0,17 mmol) y KI (2,7 mg, 0,1 mmol) en 1 ml de MeCN para producir 99 mg del producto deseado (58 %).

10

UPLC: TR = 3,53 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1073,325 para $C_{69}H_{141}N_5O_2$

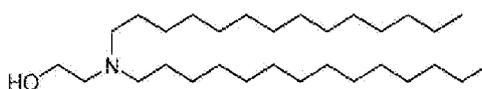
RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,03 (t, 2H); 2,56-2,37 (br. m., 30H); 2,27 (t, 2H); 1,61 (m, 4H); 1,40-1,23 (br. m., 90H); 0,87 (m, 15H).

15

N. Compuesto 13: 6-((2-(4-(2-((2-(Ditradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo

Etapa 1: 2-(Ditradecilamino)etan-1-ol

20



Fórmula química: $C_{30}H_{63}NO$

Peso molecular: 453,84

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(ditradecilamino)etan-1-ol a partir de 1-bromotetradecano (21,6 ml, 72,8 mmol), etanolamina (2 ml, 33,1 mmol), K_2CO_3 (20 g, 145,5 mmol) y KI (549 mg, 3,31 mmol) en MeCN (165 ml). Rendimiento (12 g, 81 %).

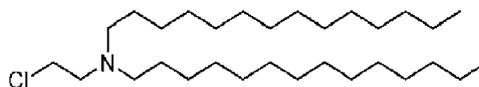
25

UPLC/ELSD: TR = 3,30 min. MS (ES): m/z (MH^+) 454,46 para $C_{30}H_{63}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,54 (br. m, 2H); 2,59 (br. m, 2H); 2,46 (br. m, 4H); 1,56-1,17 (br. m, 48H); 0,90 (br. m, 6H).

30

Etapa 2: N -(2-Cloroetil)- N -tetradeciltetradecan-1-amina



35

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó N -(2-cloroetil)- N -tetradeciltetradecan-1-amina a partir de 2-(ditradecilamino)etan-1-ol (10 g, 22,0 mmol), trietilamina (4,0 ml, 28,6 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (2,75 ml, 27,5 mmol) en DCM (110 ml). El material bruto se llevó a la siguiente etapa sin purificación. Rendimiento (10,2 g, 98 %).

40

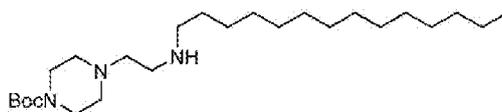
UPLC/ELSD: TR = 3,37 min. MS (ES): m/z (MH^+) 472,45 para $C_{30}H_{62}ClN$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,27-2,20 (br. m, 8H); 1,96-1,17 (br. m, 48H); 0,90 (br. m, 6H).

45

Etapa 3: 4-(2-(Tetradecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{25}H_{51}N_3O_2$

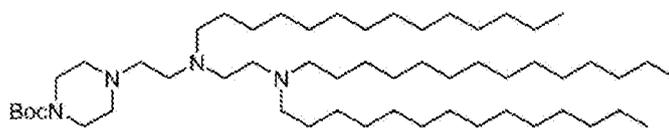
Peso molecular: 425,70

5 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-(tetradecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 1-bromotetradecano (3,63 g, 13,1 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (3,0 g, 13,1 mmol), K_2CO_3 (3,62 g, 26,2 mmol) y KI (217 mg, 1,31 mmol) en MeCN (60 ml). Rendimiento (1,42 g, 27 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,58 min. MS (ES): m/z (MH^+) 426,61 para $C_{25}H_{51}N_3O_2$

10 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,45 (t, 4H); 2,75 (t, 2H) 2,65 (t, 2H); 2,54 (t, 2H); 2,42 (t, 4H); 1,61-1,41 (br. m, 11H); 1,40-1,20 (br. m, 22H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 4: 4-(2-((2-(Ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: $C_{55}H_{112}N_4O_2$

Peso molecular: 861,53

15

20 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-((2-(ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(2-(tetradecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (700 mg, 1,64 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-tetradeciltetradecan-1-amina (1,01 g, 2,14 mmol), K_2CO_3 (455 mg, 3,29 mmol) y KI (27 mg, 0,164 mmol) en THF (15 ml). Rendimiento (740 mg, 52 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,81 min. MS (ES): m/z (MH^+) 862,47 para $C_{55}H_{112}N_4O_2$

25 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,45 (br. m, 4H); 3,10-2,83 (br. m, 4H); 2,74-2,34 (br. m, 14H); 1,75-1,20 (br. m, 81H); 0,91 (t, 9H).

Etapa 5: N^1 -(2-(Piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tritetradeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{50}H_{103}N_4$

Peso molecular: 761,41

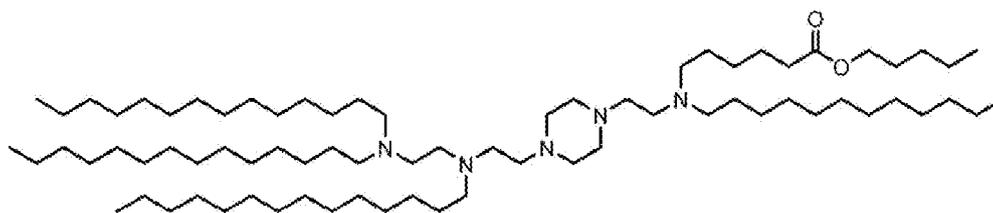
30

35 De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tritetradeciletano-1,2-diamina a partir de 4-(2-((2-(ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (740 mg, 0,859 mmol) y TFA (3,3 ml, 42,9 mmol) en DCM (3,3 ml). Rendimiento (661 mg, 99 %). UPLC/ELSD: TR = 3,38 min. MS (ES): m/z (MH^+) 762,42 para $C_{50}H_{104}N_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,92 (t, 4H); 2,70-2,30 (br. m, 18H); 1,46 (br. m, 6H); 1,37-1,20 (br. m, 66H); 0,90 (t, 9H).

40 Etapa 6: Compuesto 13: 6-((2-(4-(2-((2-(Ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{75}H_{153}N_5O_2$

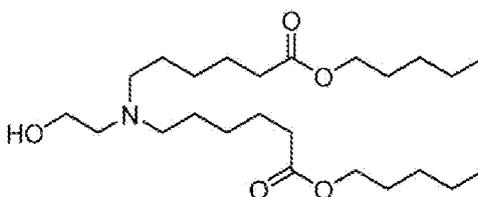
Peso molecular: 1157,08

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó 6-((2-(4-(2-((2-(ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo a partir de N^1 -(2-(piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tritetradeciletano-1,2-diamina (66 mg, 0,087 mmol), 6-((2-cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo (42 mg, 0,095 mmol), K_2CO_3 (24 mg, 0,17 mmol) y KI (2 mg, 0,012 mmol) en THF (2 ml). Rendimiento (38 mg, 38 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,81 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1157,70 para $C_{75}H_{153}N_5O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (m, 2H); 3,16-2,15 (br. m, 32H); 1,65 (br. m, 4H); 1,54-1,00 (br. m, 100H); 0,91 (br. m, 15H).

O. Compuesto 14: 6,6'-((2-(4-(2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo Etapa 1: 6,6'-((2-Hidroxi)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo



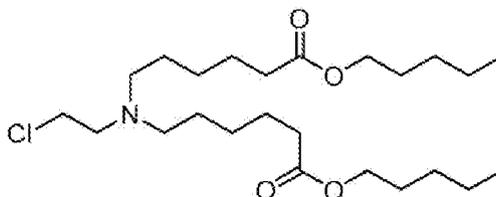
Fórmula química: $C_{24}H_{47}NO_5$

Peso molecular: 429,64

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 6,6'-((2-hidroxi)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo a partir de 6-bromohexanoato de pentilo (0,50 g, 1,89 mmol), etanolamina (0,052 ml, 0,86 mmol), K_2CO_3 (0,52 g, 3,77 mmol) y KI (14 mg, 0,098 mmol) en 4 ml de MeCN para proporcionar 234 mg (55 %).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08(t, 4H); 3,62 (m, 2H); 2,68-2,56 (br. m., 6H); 2,33 (t, 4H); 1,64-1,54 (m, 13H); 1,35 (m, 12H); 0,93 (t, 6H).

Etapa 2: 6,6'-((2-Cloro)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo



Fórmula química: $C_{24}H_{46}ClNO_4$

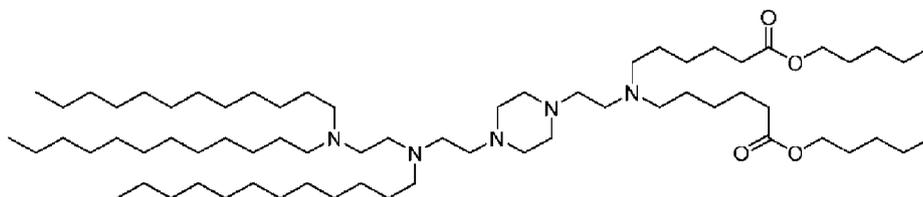
Peso molecular: 448,09

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó 6,6'-((2-cloro)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo a partir de 6,6'-((2-hidroxi)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo (124 mg, 0,29 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,025 ml, 0,32 mmol) y trietilamina (0,060 ml, 0,44 mmol) en 1,5 ml de DCM para proporcionar 84 mg (65 %).

ES 2 913 626 T5

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 4H); 3,46 (t, 2H); 2,73 (t, 2H); 2,43 (t, 4H); 2,28 (t, 4H); 1,60 (m, 8H); 1,40 (m, 4H); 1,29 (m, 12H); 0,89 (t, 6H).

- 5 Etapa 3: Compuesto 14: 6,6'-((2-(4-(2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo



Fórmula química: C₆₈H₁₃₇N₅O₄

Peso molecular: 1088,88

- 10 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó 6,6'-((2-(4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo a partir de N¹,N¹,N²-tridodecil-N²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (105 mg, 0,16 mmol), 6,6'-((2-cloroetil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo (84 mg, 0,19 mmol) y K₂CO₃ (22 mg, 0,16 mmol) en 1 ml de MeCN. Rendimiento (53 mg, 0,049 mmol, 30 %).

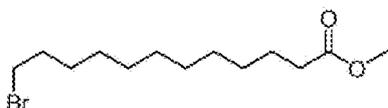
15

UPLC: TR = 3,47 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1089,53 para C₆₈H₁₃₇N₅O₄

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 4H); 2,89-2,98 (m, 4H); 2,39-2,68 (m, 26H); 2,27 (t, 4H); 1,57-1,71 (m, 10H); 1,35 (m, 4H); 1,28-1,35 (m, 74H); 0,90 (m, 15H).

20

P. Compuesto 15: 12-((2-(4-(2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)dodecanoato de metilo Etapa 1: 12-Bromododecanoato de metilo



Fórmula química: C₁₃H₂₅BrO₂

Peso molecular: 293,25

25

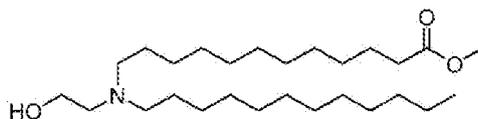
A una solución de ácido 12-bromododecanoico (2,5 g, 8,95 mmol) en THF (7 ml) se añadió metanol (7,2 ml, 179 mmol). Se añadió gota a gota ácido sulfúrico (0,50 ml, 8,95 mmol) y la reacción se dejó agitar a 65 °C durante dos horas. La mezcla de reacción se lavó con NaHCO₃ al 5 % y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-20 %/hexanos) proporcionó 12-bromododecanoato de metilo (2,40 g, 92 %).

30

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,44 (t, 2H); 2,33 (t, 2H); 1,88 (br. m, 2H); 1,64 (br. m, 2H); 1,45 (br. m, 2H); 1,31 (br. m, 12H).

35

Etapa 2: 12-(Dodecil(2-hidroxietil)amino)dodecanoato de metilo



Fórmula química: C₂₇H₅₃NO₃

Peso molecular: 441,74

- 40

A una solución de 12-((2-hidroxietil)amino)dodecanoato de metilo (413 mg, 1,51 mmol) en MeCN (5 ml) se añadió 1-bromododecano (452 mg, 1,81 mmol), K₂CO₃ (418 mg, 3,02 mmol) y KI (25 mg, 0,151 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con H₂O y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron

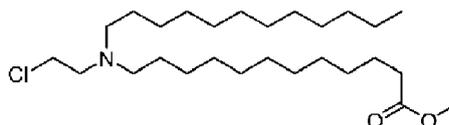
ES 2 913 626 T5

sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (0-100 % [DCM, MeOH al 20 %, NH₄OH al 1 %]/MeOH) proporcionó 12-(dodecil(2-hidroxietyl)amino)dodecanoato de metilo (409 mg, 61 %).

5 UPLC/ELSD: TR = 2,39 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 442,60 para C₂₇H₅₅NO₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,61 (t, 2H) 2,68 (t, 2H); 2,54 (t, 4H); 2,32 (t, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,50 (br. m, 4H); 1,28 (br. m, 32H); 0,90 (t, 3H).

10 Etapa 3: 12-((2-Cloroetil)(dodecil)amino)dodecanoato de metilo

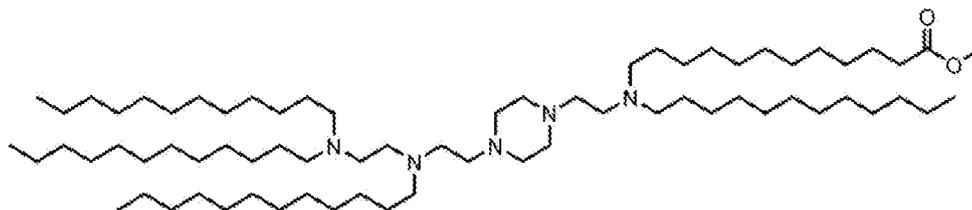


15 De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó 12-((2-cloroetil)(dodecil)amino)dodecanoato de metilo a partir de 12-((2-hidroxietyl)amino)dodecanoato de metilo (409 mg, 0,926 mmol), trietilamina (0,168 ml, 1,20 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,090 ml, 1,16 mmol) en DCM (5 ml). Rendimiento (307 mg, 72 %). UPLC/ELSD: TR = 4,30 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 460,80 para C₂₇H₅₄ClNO₂

20 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,59 (s 3H); 3,42 (br. m, 2H); 2,70 (br. m, 2H); 2,38 (br. m, 4H); 2,30 (t, 2H); 1,55 (m, 2H); 1,36 (br. m, 4H); 1,27-0,96 (br. m, 32H); 0,81 (t, 3H).

Etapa 4: Compuesto 15: 12-((2-(4-(2-((2-Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)dodecanoato de metilo

25



Fórmula química: C₇₁H₁₄₅N₅O₂

Peso molecular: 1100,97

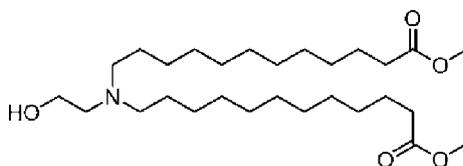
30 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó 12-((2-(4-(2-((2-didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)(dodecil)amino)dodecanoato de metilo a partir de N¹,N¹,N²-tridodecil-N²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (150 mg, 0,221 mmol), 12-((2-cloroetil)(dodecil)amino)dodecanoato de metilo (134 mg, 0,266 mmol), K₂CO₃ (61 mg, 0,443 mmol) y KI (4 mg, 0,024 mmol) en THF (5 ml). Rendimiento (32 mg, 15 %).

35 UPLC/ELSD: TR = 4,83 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1102,11 para C₇₁H₁₄₅N₅O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 2,75-2,24 (br. m, 32H); 1,64 (m, 2H); 1,52-1,00 (br. m, 96H); 0,90 (t, 12H).

40 Q. Compuesto 16: 12,12'-((2-(4-(2-((2-Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo

Etapa 1: 12,12'-((2-Hidroxietyl)azanodiil)didodecanoato de dimetilo



45

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 12,12'-((2-hidroxietyl)azanodiil)didodecanoato de dimetilo a partir de 12-bromododecanoato de metilo (1,5 g, 5,12 mmol),

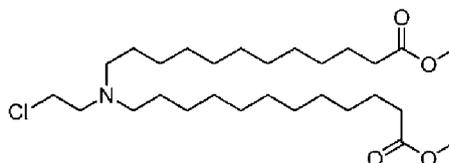
ES 2 913 626 T5

etanolamina (0,310 ml, 5,12 mmol), K_2CO_3 (1,42 g, 10,2 mmol) y KI (85 mg, 0,512 mmol) en MeCN (11 ml). Rendimiento (563 mg, 45 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,81 min. MS (ES): m/z (MH^+) 486,63 para $C_{28}H_{55}NO_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,69 (s, 6H); 3,59 (br. m, 2H); 2,75-2,40 (br. m, 6H); 2,32 (t, 4H); 1,64 (m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 28H).

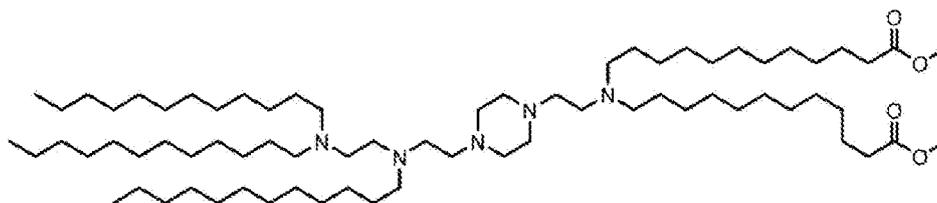
Etapa 2: 12,12'-((2-Cloroetil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo



De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó 12,12'-((2-cloroetil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo a partir de 12,12'-((2-hidroxietil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo (518 mg, 1,07 mmol), trietilamina (0,193 ml, 1,39 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,103 ml, 1,33 mmol) en DCM (5,5 ml). Rendimiento (376 mg, 70 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,17 min. MS (ES): m/z (MH^+) 504,75 para $C_{28}H_{54}ClNO_4$

Etapa 3: Compuesto 16: 12,12'-((2-(4-(2-((2-Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo



Fórmula química: $C_{72}H_{145}N_5O_4$

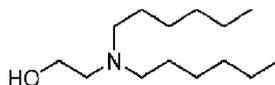
Peso molecular: 1144,98

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó 12,12'-((2-(4-(2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo a partir de N^1, N^1, N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (150 mg, 0,221 mmol), 12,12'-((2-cloroetil)azanodiil)didodecanoato de dimetilo (134 mg, 0,266 mmol), K_2CO_3 (61 mg, 0,443 mmol) y KI (4 mg, 0,024 mmol) en THF (5 ml). Rendimiento (32 mg, 15 %). UPLC/ELSD: TR = 3,46 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1146,07 para $C_{72}H_{145}N_5O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,69 (s, 6H); 2,75-2,24 (br. m, 34H); 1,64 (m, 4H); 1,52-1,00 (br. m, 92H); 0,90 (t, 9H).

R. Compuesto 17: N^1 -(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -trihexiletano-1,2-diamina

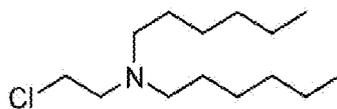
Etapa 1: 2-(Dihexilamino)etan-1-ol



De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(dihexilamino)etan-1-ol a partir de 1-bromohexano (5 g, 82 mmol), etanolamina (11,5 ml, 82 mmol), K_2CO_3 (22,7 g, 164 mmol) y KI (1,36 g, 8,2 mmol) en MeCN (380 ml). Rendimiento (2,58 g, 14 %). UPLC/ELSD: TR = 0,41 min. MS (ES): m/z (MH^+) 229,95 para $C_{14}H_{31}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,62 (t, 2H); 2,70 (t, 2H); 2,57 (t, 4H); 1,50 (br. m, 4H); 1,30 (br, 12H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 2: N -(2-Cloroetil)- N -hexilhexan-1-amina



Fórmula química: $C_{14}H_{30}ClN$

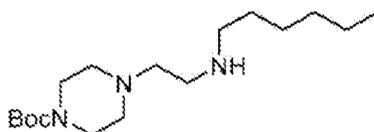
Peso molecular: 247,85

- 5 De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*-(2-cloroetil)-*N*-hexilhexan-1-amina a partir de 2-(dihexilamino)etan-1-ol (2,50 g, 10,9 mmol), trietilamina (2,0 ml, 14,2 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (1,0 ml, 13,6 mmol) en DCM (56 ml). Rendimiento (1,93 g, 71 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,42 min. MS (ES): m/z (MH^+) 247,86 para $C_{14}H_{30}ClN$

- 10 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,50 (t, 2H); 2,77 (t, 2H); 2,51 (t, 4H); 1,42 (br. m, 4H); 1,27 (br, 12H); 0,89 (t, 6H).

Etapa 3: 4-(2-(Hexilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: $C_{17}H_{35}N_3O_2$

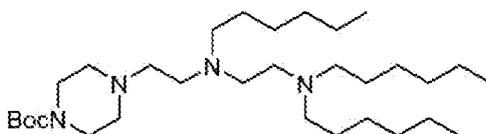
15

Peso molecular: 313,49

- 20 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-(hexilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 1-bromohexano (1,44 g, 8,72 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (2,0 g, 8,72 mmol), K_2CO_3 (2,4 g, 17,4 mmol) y KI (145 mg, 0,872 mmol). Rendimiento (446 mg, 16 %).

- 25 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,44 (br. m, 4H); 2,75 (br. m, 2H); 2,65 (br. m, 2H); 2,54 (br. m, 2H); 2,42 (br. m, 4H); 1,60-1,43 (br. m, 11H); 1,40-1,05 (br. m, 6H); 0,91 (br. m, 3H).

Etapa 4: 4-(2-((2-(Dihexilamino)etil)(hexil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: $C_{31}H_{64}N_4O_2$

Peso molecular: 524,88

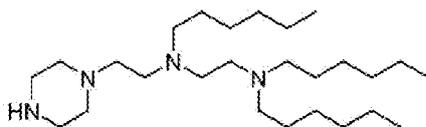
- 30 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-((2-(dihexilamino)etil)(hexil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(2-(hexilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (250 mg, 0,797 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-hexilhexan-1-amina (217 mg, 0,877 mmol), K_2CO_3 (220 mg, 1,59 mmol) y KI (13 mg, 0,0797 mmol) en THF (5 ml). Rendimiento 308 mg, 74 %).

35

UPLC/ELSD: TR = 1,40 min. MS (ES): m/z (MH^+) 525,83 para $C_{31}H_{64}N_4O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,45 (br. m, 4H); 3,15-2,15 (br. m, 18H); 1,85-1,00 (br. m, 33H); 0,91 (9H).

- 40 Etapa 5: N^1, N^1, N^2 -Trihexil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

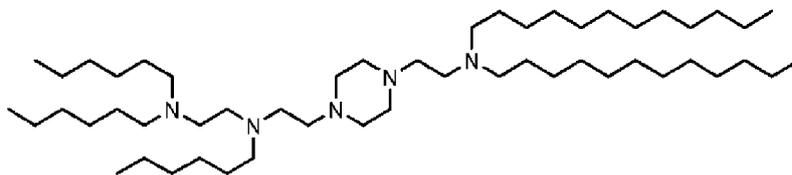
Fórmula química: $C_{26}H_{56}N_4$

Peso molecular: 424,76

De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1,N^1,N^2 -trihexil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina a partir de 4-(2-((2-(dihexilamino)etil)(hexil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (308 mg, 0,587 mmol) y TFA (2,25 ml, 29,3 mmol) en DCM (2,5 ml). Rendimiento (220 mg, 88 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,92 (br. m, 4H); 2,70-2,20 (br. m, 18H); 1,54-1,22 (br. m, 24H); 0,91 (br. M, 9H).

10 Etapa 6: Compuesto 17: N^1 -(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trihexiletano-1,2-diamina

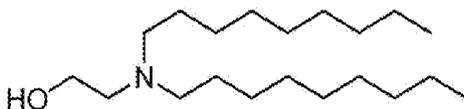


De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trihexiletano-1,2-diamina a partir de N^1,N^1,N^2 -trihexil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (110 mg, 0,259 mmol), N -(2-cloroetil)- N -dodecildodecan-1-amina (162 mg, 0,388 mmol), K_2CO_3 (72 mg, 0,518 mmol) y KI (5 mg, 0,0259 mmol) en THF (6 ml). Rendimiento (81 mg, 39 %). UPLC/ELSD: TR = 2,79 min. MS (ES): m/z (MH^+) 806,30 para $C_{52}H_{109}N_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,05-2,10 (br. m, 30H); 1,80-1,05 (br. m, 64H); 0,91 (br. m, 15H).

S: Compuesto 18: N^1 -(2-(4-(2-(Dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trinoniletano-1,2-diamina

25 Etapa 1: 2-(Dinonilamino)etan-1-ol

Fórmula química: $C_{20}H_{43}NO$

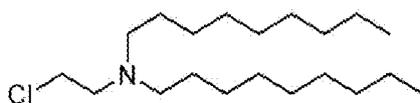
Peso molecular: 313,57

A una solución de 1-bromononano (8,31 g, 40,1 mmol) en MeCN (84 ml) se añadió etanolamina (1,10 ml 18,2 mmol), K_2CO_3 (11,1 g, 80,1 mmol) y KI (302 mg, 1,82 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 2-(dinonilamino)etan-1-ol (4,06 g, 71 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,57 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,49 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 24H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 2: N -(2-Cloroetil)- N -nonilnonan-1-amina

ES 2 913 626 T5



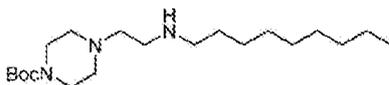
Fórmula química: $C_{20}H_{42}ClN$

Peso molecular: 332,01

A una solución a 0 °C de 2-(dionilamino)etan-1-ol (4,06 g, 12,9 mmol) y trietilamina (2,35 ml, 16,8 mmol) en DCM (65 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de metanosulfonilo (1,25 ml, 16,18 mmol) en DCM (5 ml). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con solución saturada de $NaHCO_3$ y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-10 %/hexanos) proporcionó *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (2,58 g, 60 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,51 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,47 (br. m, 4H); 1,44 (br. m, 4H); 1,28 (br. m, 24H); 0,90 (t, 6H).

Etapas 3: 4-(2-(Nonilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: $C_{20}H_{41}N_3O_2$

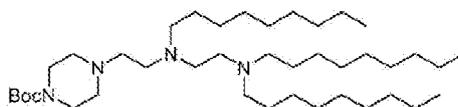
Peso molecular: 355,57

A una solución de 1-bromononano (1,81 g, 8,72 mmol) en MeCN (44 ml) se añadió 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (2,0 g, 8,72 mmol), K_2CO_3 (2,4 g, 17,4 mmol) y KI (145 mg, 0,872 mmol). La reacción se dejó agitar a 65 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 4-(2-(nonilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (775 mg, 25 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,47 min. MS (ES): m/z (MH^+) 356,41 para $C_{20}H_{41}N_3O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,44 (br. m, 4H); 2,74 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,53 (t, 2H); 2,41 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 9H); 1,30 (br. m, 14H); 0,90 (t, 3H).

Etapas 4: 4-(2-((2-(Dionilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



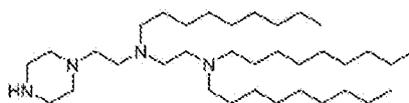
Fórmula química: $C_{40}H_{82}N_4O_2$

Peso molecular: 651,12

A una solución de 4-(2-(nonilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (500 mg, 1,41 mmol) en THF (9 ml) se añadió *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (514 mg, 1,55 mmol), K_2CO_3 (390 mg, 2,82 mmol) y KI (23 mg, 0,141 mmol). La reacción se dejó agitar a 65 °C durante 72 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-15 %/DCM) proporcionó 4-(2-((2-(dionilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (763 mg, 83 %). UP-LC/ELSD: TR = 2,61 min. MS (ES): m/z (MH^+) 651,91 para $C_{40}H_{82}N_4O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,45 (br. m, 4H); 2,75-2,30 (br. m, 18H); 1,55-1,20 (br. m, 51H); 0,91 (br. M, 9H).

Etapas 5: *N*¹,*N*¹,*N*²-Trinonil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

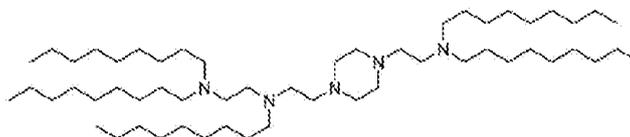
Fórmula química: $C_{35}H_{74}N_4$

Peso molecular: 551,01

A una solución a 0 °C de 4-(2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (763 mg, 1,17 mmol) en DCM (4,5 ml) se añadió gota a gota TFA (4,5 ml, 58,5 mmol). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el material bruto se disolvió en $CHCl_3$. La solución se lavó con Na_2CO_3 al 5 % y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (0-100 % [DCM, MeOH al 20 %, NH_4OH al 1 %]/MeOH) proporcionó N^1,N^1,N^2 -trinonil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (218 mg, 34 %). UPLC/ELSD: TR = 1,81 min. MS (ES): m/z (MH^+) 551,78 para $C_{35}H_{74}N_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,91 (br. m, 4H); 2,70-2,35 (br. m, 18H); 1,46 (br. m, 6H); 1,29 (br. m, 36H); 0,91 (br. m, 9H)

Etapa 6: Compuesto 18: N^1 -(2-(4-(2-(Dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trinoniletano-1,2-diamina

Fórmula química: $C_{55}H_{115}N_5$

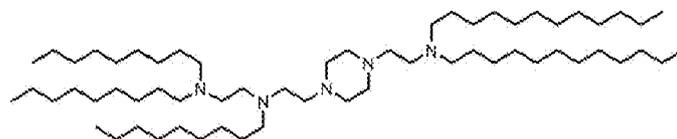
Peso molecular: 846,56

A una solución de N^1,N^1,N^2 -trinonil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (74 mg, 0,134 mmol) y N -(2-cloroetil)- N -nonilnonan-1-amina (58 mg, 0,175 mmol) en THF (4 ml), se añadió K_2CO_3 (37 mg, 0,269 mmol) y KI (3 mg, 0,0134 mmol). La reacción se dejó agitar a 65 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida ISCO C18 (50-100 % [MeCN TFA al 0,1 %]/[H_2O TFA al 0,1 %]) proporcionó el producto deseado como una sal de TFA. La sal se disolvió en $CHCl_3$ y la solución se lavó con Na_2CO_3 al 5 % y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar N^1 -(2-(4-(2-(dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trinoniletano-1,2-diamina (66 mg, 58 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,91 min. MS (ES): m/z (MH^+) 847,30 para $C_{55}H_{115}N_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,10-2,25 (br. m, 30H); 1,90-1,35 (br. m, 10H); 1,29 (br. m, 60H); 0,91 (br. m, 15H).

T: Compuesto 19: N^1 -(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trinoniletano-1,2-diamina

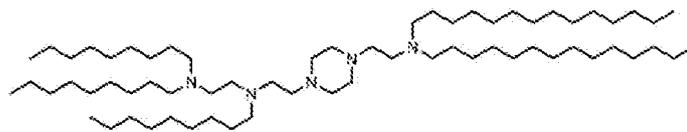
Fórmula química: $C_{61}H_{127}N_5$

Peso molecular: 930,72

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trinoniletano-1,2-diamina a partir de N^1,N^1,N^2 -trinonil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (70 mg, 0,127 mmol), N -(2-cloroetil)- N -dodecildodecan-1-amina (79 mg, 0,191 mmol), K_2CO_3 (35 mg, 0,254 mmol) y KI (2 mg, 0,0127 mmol) en THF (3 ml). Rendimiento (52 mg, 44 %). UPLC/ELSD: TR = 3,35 min. MS (ES): m/z (MH^+) 931,61 para $C_{61}H_{127}N_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,70 (br. m, 30H); 1,56-1,02 (br. m, 82H); 0,90 (t, 15H).

U: Compuesto 20: N^1 -(2-(4-(2-(Ditradecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -trinoniletano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{65}H_{135}N_5$

Peso molecular: 986,83

Fórmula química: $C_{65}H_{135}N_5$

5

Peso molecular: 986,83

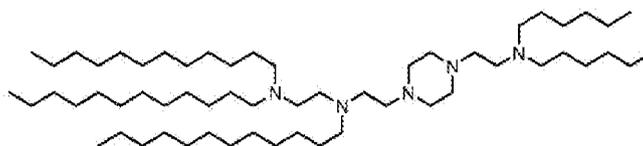
De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(4-(2-(ditetradecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^1,N^2 -trinonil-N²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (74 mg, 0,134 mmol), N -(2-cloroetil)- N -tetradecildecán-1-amina (95 mg, 0,201 mmol), K_2CO_3 (37 mg, 0,269 mmol) y KI (3 mg, 0,0134 mmol) en THF (2 ml). Rendimiento (50 mg, 38 %) UPLC/ELSD: TR = 3,55 min. MS (ES): m/z (MH^+) 987,87 para $C_{65}H_{135}N_5$

10

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,20-2,25 (br. m, 30H); 1,85-1,00 (br. m, 90H); 0,91 (t, 15H).

15

V: Compuesto 21: N^1 -(2-(4-(2-(Dihexilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{58}H_{121}N_5$

Peso molecular: 888,64

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(4-(2-(dihexilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina a partir de N^1,N^1,N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (67 mg, 0,099 mmol), N -(2-cloroetil)- N -hexilhexan-1-amina (32 mg, 0,129 mmol), K_2CO_3 (28 mg, 0,198 mmol) y KI (2 mg, 0,0099 mmol) en THF (2 ml). Rendimiento (30 mg, 34 %) UPLC/ELSD: TR = 3,24 min. MS (ES): m/z (MH^+) 890,58 para $C_{58}H_{121}N_5$

20

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,15-2,20 (br. m, 30H); 1,85-1,00 (br. m, 76H); 0,91 (br. m, 15H).

25

W: Compuesto 22: N^1 -(2-(4-(2-(Dioctilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina

Etapa 1: 2-(Dioctilamino)etan-1-ol

30



Fórmula química: $C_{18}H_{39}NO$

Peso molecular: 285,52

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó el compuesto a partir de etanolamina (5 g, 82 mmol), 1-bromooctano (14 ml, 82 mmol) y K_2CO_3 (11 g, 82 mmol) en 200 ml de MeCN. Rendimiento (3,13 g, 11 mmol, 13 %).

35

UPLC/ELSD: TR = 1,78 min. MS (ES): m/z (MH^+) 286,22 para $C_{18}H_{39}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,54 (m, 2H); 2,60-2,47 (m, 6H); 1,44 (m, 4H); 1,26 (m, 21H); 0,86 (t, 6H).

40

Etapa 2: N -(2-Cloroetil)- N -octiloctan-1-amina

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{18}H_{38}ClN$

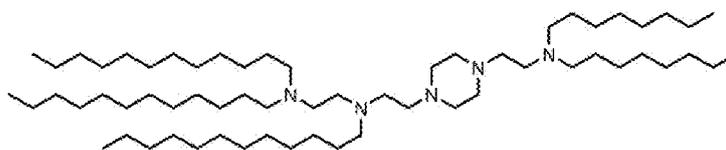
Peso molecular: 303,96

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*-(2-cloroetil)-*N*-octiloctan-1-amina a partir de 2-(dioctilamino)etan-1-ol (3,13 g, 11 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,85 ml, 11 mmol) y Et_3N (1,5 ml, 11 mmol) en 30 ml de DCM. Rendimiento (1,55 g, 5,1 mmol, 46 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,86 min. MS (ES): m/z (MH^+) 304,43 para $C_{18}H_{38}ClN$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,48 (2, 2H); 2,75 (t, 2H); 2,43 (t, 4H); 1,40-1,25 (m, 24H); 0,86 (t, 6H).

Etapa 3: Compuesto 22: *N*¹-(2-(4-(2-(Dioctilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina



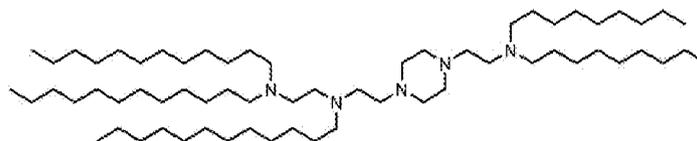
Fórmula química: $C_{62}H_{129}N_5$

Peso molecular: 944,75

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(dioctilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (150 mg, 0,221 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-octiloctan-1-amina 54 (81 mg, 0,266 mmol), K_2CO_3 (61 mg, 0,443 mmol) y KI (4 mg, 0,024 mmol) en THF (5 ml). Rendimiento (200 mg, 96 %). UPLC/ELSD: TR = 3,41 min. MS (ES): m/z (MH^+) 945,96 para $C_{62}H_{129}N_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,76-2,10 (br. m, 30H); 1,56-1,00 (br. m, 84H); 0,90 (t, 15H).

X: Compuesto 23: *N*¹-(2-(4-(2-(Dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{64}H_{133}N_5$

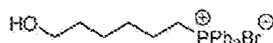
Peso molecular: 972,80

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (595 mg, 0,879 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (350 mg, 1,05 mmol), K_2CO_3 (243 mg, 1,76 mmol) y KI (15 mg, 0,0879 mmol) en THF (13 ml). Rendimiento (534 mg, 62 %). UPLC/ELSD: TR = 3,50 min. MS (ES): m/z (MH^+) 973,60 para $C_{64}H_{133}N_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,70-2,30 (br. m, 30H); 1,56-1,37 (br. m, 10H); 1,28 (br. m, 78H); 0,90 (t, 15H).

Y: Compuesto 24: (*Z*)-*N*¹-(2-(4-(2-(Dodec-6-en-1-il(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina

Etapa 1: Bromuro de (6-hidroxihexil)trifenilfosfonio



Fórmula química: $C_{24}H_{38}BrOP$

Peso molecular: 443,36

ES 2 913 626 T5

Se combinaron 6-bromo-1-hexanol (4,89 g, 27 mmol) y trifetilfosfina (7,87 g, 30 mmol) y 50 ml de MeCN en un matraz de fondo redondo. El matraz se equipó con un condensador y se colocó en una manta calefactora y la reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se dejó enfriar a ta y la solución se canuló en 200 ml de Et₂O, produciendo un precipitado blanco. Se dejaron sedimentar los sólidos y se eliminó el disolvente por decantación. Se añadieron 20 ml de DCM para disolver los sólidos y a continuación se añadieron lentamente 100 ml de Et₂O para producir un precipitado blanco. A continuación se eliminó el disolvente al vacío para producir bromuro de (6-hidroxihexil)trifenilfosfonio limpio (9,4 g, 21,2 mmol, con un rendimiento del 78 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 7,80 (m, 15H); 3,80 (m, 2H); 3,65 (m, 2H); 2,23 (m, 2H); 1,68 (m, 4H); 1,52 (m, 4H).

Etapa 2: (Z)-Dodec-6-en-1-ol



Fórmula química: C₁₂H₂₄O

Peso molecular: 184,32

Se dejó enfriar una solución de bromuro de (6-hidroxihexil)trifenilfosfonio (3,0 g, 6,77 mmol) en 25 ml de THF en un baño de acetona/hielo seco a -78 °C. Una vez enfriado, se añadió gota a gota *n*-BuLi (2,5 M en hexanos) (5,7 ml, 14,2 mmol). Después de 1 h, se añadieron 10 ml adicionales de THF y *n*-BuLi (1,35 ml) y se continuó agitando a la misma temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se añadió 1-hexanal (1,6 ml, 13,5 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta y se agitó durante 3 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de un exceso de solución saturada de NH₄Cl. La solución se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-50 % en hexanos) para producir el producto deseado como un aceite transparente (0,76 g, 4,1 mmol, 61 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,34 (m, 2H); 3,62 (t, 2H); 2,01 (m, 4H); 1,56 (m, 2H); 1,35-1,27 (m, 11H); 0,87 (t, 3H).

Etapa 3: Metanosulfato de (Z)-dodec-6-en-1-ilo



Fórmula química: C₁₃H₂₆O₃S

Peso molecular: 262,41

A una solución a 0 °C de (Z)-dodec-6-en-1-ol (1,81 g, 9,3 mmol) en 20 ml de DCM, se añadió Et₃N (1,7 ml, 12,1 mmol) y cloruro de metanosulfonylo (0,80 ml, 10,2 mmol). La reacción se dejó calentar lentamente hasta ta y se agitó durante la noche. La reacción se inactivó mediante la adición de agua y la mezcla se extrajo dos veces con DCM. Los extractos orgánicos se agruparon, se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) para producir el producto deseado limpio (2,2 g, 8,4 mmol, 90 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,34 (m, 2H); 4,20 (t, 2H); 2,98 (s, 3H); 2,01 (m, 4H); 1,74 (m, 2H); 1,38-1,27 (m, 10H); 0,87 (t, 3H).

Etapa 4: (Z)-1-Bromododec-6-eno



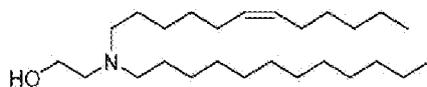
Fórmula química: C₁₂H₂₂Br

Peso molecular: 247,22

En un matraz de fondo redondo, bajo N₂, se disolvió metanosulfonato de (Z)-dodec-6-en-1-ilo (2,2 g, 8,3 mmol) en 40 ml de Et₂O. Se añadió MgBr₂·Et₂O (6,5 g, 25 mmol) y la reacción se dejó agitar durante 48 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de hielo. A continuación, la mezcla se extrajo con Et₂O tres veces. Los extractos orgánicos agrupados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) para producir el producto deseado (1,8 g, 7,28 mmol, 88 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,34 (m, 2H); 3,39 (t, 2H); 2,01-1,84 (m, 6H); 1,28 (m, 10H); 0,87 (t, 3H).

Etapa 5: (Z)-2-(Dodec-6-en-1-il(dodecil)amino)etan-1-ol



Fórmula química: $C_{26}H_{53}NO$

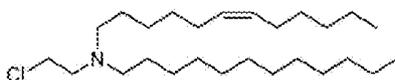
Peso molecular: 395,72

5

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó (Z)-2-(Dodec-6-en-1-il(dodecil)amino)etan-1-ol a partir de (Z)-1-bromododec-6-eno (0,25 g, 1,0 mmol), 2-(dodecilamino)etan-1-ol (0,23 g, 1,0 mmol), K_2CO_3 (0,14 g, 1,0 mmol) y KI (2 mg, 0,01 mmol) en 5 ml de MeCN.

10 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,34 (m, 2H); 3,65 (br. m., 2H); 2,64 (br. m, 6H); 2,00 (m, 4H); 1,55 (m, 6H); 1,24 (m, 26H); 0,86 (t, 6H).

Etapa 6: (Z)-N-(2-Cloroetil)-N-dodecildodec-6-en-1-amina



Fórmula química: $C_{26}H_{52}ClN$

Peso molecular: 414,16

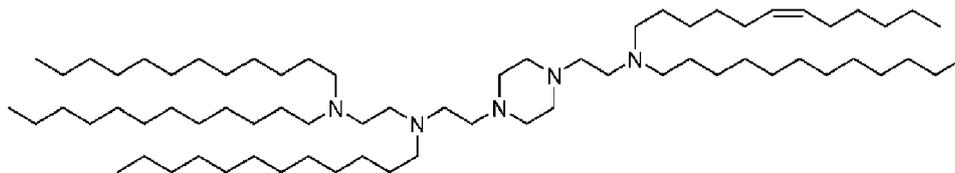
15

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó (Z)-N-(2-cloroetil)-N-dodecildodec-6-en-1-amina a partir de (Z)-2-(dodec-6-en-1-il(dodecil)amino)etan-1-ol (35 mg, 0,088 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,008 ml, 0,097 mmol) y trietilamina (0,018 ml, 0,13 mmol) en 0,5 ml de DCM. Rendimiento (17,3 mg, 47 %).

20

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,34 (m, 2H); 3,47 (t, 2H); 2,74 (t, 2H); 2,43 (t, 4H); 2,0 (m, 4H); 1,24 (m, 32H); 0,86 (t, 6H).

25 Etapa 7: Compuesto 24: (Z)- N^1 -(2-(4-(2-(Dodec-6-en-1-il(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina



30 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó (Z)- N^1 -(2-(4-(2-(dodec-6-en-1-il(dodecil)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina a partir de N^1,N^1,N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (27 mg, 0,040 mmol) y (Z)-N-(2-cloroetil)-N-dodecildodec-6-en-1-amina (17,3 mg, 0,042 mmol), K_2CO_3 (6 mg, 0,040 mmol) en 0,5 ml de DCM. Rendimiento (24 mg, 0,023 mmol, 57 %).

35

UPLC: TR = 3,78 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1056,376 para $C_{70}H_{143}N_3$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36 (m, 2H); 2,53-2,35 (m, 30H); 2,00 (m, 4H); 1,39-1,24 (m, 92H); 0,86 (m, 15H).

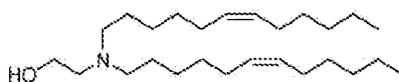
40

Z: Compuesto 25: N^1 -(2-(4-(2-(Di((Z)-dodec-6-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina

Etapa 1: 2-(Di((Z)-dodec-6-en-1-il)amino)etan-1-ol

45

ES 2 913 626 T5



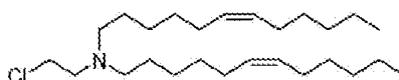
Fórmula química: $C_{26}H_{51}NO$

Peso molecular: 393,70

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(di((Z)-dodec-6-en-1-il)amino)etan-1-ol a partir de etanolamina (60 mg, 1,0 mmol), (Z)-1-bromododec-6-eno (0,51 g, 2,1 mmol) y K_2CO_3 (0,14 g, 1,0 mmol) en 5 ml de DCM. Rendimiento (0,22 g, 0,56 mmol, 56 %).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,34 (m, 4H); 3,59 (m, 2H); 2,65-2,53 (m, 6H); 2,00 (m, 9H); 1,49 (m, 4H); 1,23 (m, 20H); 0,86 (t, 6H).

Etapa 2: (Z)-N-(2-Cloroetil)-N-((Z)-dodec-6-en-1-il)dodec-6-en-1-amina



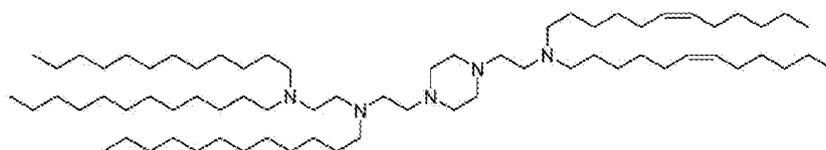
Fórmula química: $C_{26}H_{50}ClN$

Peso molecular: 412,14

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó (Z)-N-(2-cloroetil)-N-((Z)-dodec-6-en-1-il)dodec-6-en-1-amina a partir de 2-(di((Z)-dodec-6-en-1-il)amino)etan-1-ol (0,22 g, 0,56 mmol), cloruro de metanosulfonilo (0,047 ml, 0,61 mmol) y trietilamina (0,12 ml, 0,84 mmol) en 3 ml de DCM. Rendimiento (150 mg, 0,36 mmol, 65 %).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,34 (m, 4H); 3,47 (t, 2H); 2,74 (t, 2H); 2,43 (t, 4H); 2,00 (m, 8H); 1,41-1,27 (m, 24H); 0,87 (m, 6H).

Etapa 3: Compuesto 25: N^1 -(2-(4-(2-(Di((Z)-dodec-6-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{70}H_{141}N_5$

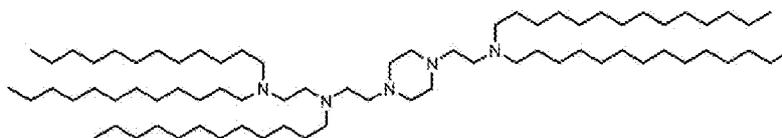
Peso molecular: 1052,93

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(4-(2-(di((Z)-dodec-6-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina a partir de (Z)-N-(2-cloroetil)-N-((Z)-dodec-6-en-1-il)dodec-6-en-1-amina (56 mg, 0,14 mmol), N^1, N^1, N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (84 mg, 0,12 mmol) y K_2CO_3 (17 mg, 0,12 mmol) en 1 ml de MeCN. Rendimiento (41,9 mg, 0,040 mmol, 33 %).

UPLC: TR = 3,74 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1053,564 para $C_{70}H_{141}N_5$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,33 (m, 4H); 2,55-2,35 (br. m, 30H); 1,98 (m, 8H); 1,32-1,24 (m, 84H); 0,86 (m, 15H).

AA: Compuesto 26: N^1 -(2-(4-(2-(Ditradecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{73}H_{155}N_5$

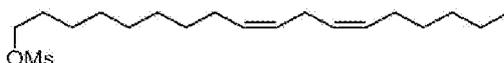
Peso molecular: 1113,97

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(ditetradecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (75 mg, 0,111 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-tetradeciltetradecan-1-amina (58 mg, 0,122 mmol), K₂CO₃ (31 mg, 0,221 mmol) y KI (3 mg, 0,0181 mmol) en THF (4 ml). Rendimiento (17 mg, 7 %). UPLC/ELSD: TR = 3,88 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 1113,59 para C₇₄H₁₅₃N₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,15-2,00 (br. m, 30H); 1,75-0,90 (br. m, 108H); 0,81 (t, 15H).

10 AB: Compuesto 27: *N*¹,*N*¹,*N*²-Tridodecil-*N*²-(2-(4-(2-(dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

Etapa 1: (6Z,9Z)-18-(Metilsulfonil)octadeca-6,9-dieno



Fórmula química: C₁₉H₃₆O₃S

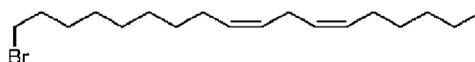
Peso molecular: 344,55

15

A una solución a 0 °C de alcohol linoleílico (10 ml, 31,2 mmol) y trietilamina (5,68 ml, 40,5 mmol) en DCM (50 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de metanosulfonilo (2,66 ml, 34,3 mmol) en DCM (20 ml). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se dejó agitar durante 4 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-40 %/hexanos) proporcionó (6Z,9Z)-18-(metilsulfonil)octadeca-6,9-dieno (10,0 g, 93 %).

25 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,35 (m, 4H); 4,22 (t, 2H); 2,99 (s, 3H); 2,77 (t, 2H); 2,04 (q, 4H); 1,74 (m, 2H); 1,30 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 2: (6Z,9Z)-18-Bromooctadeca-6,9-dieno

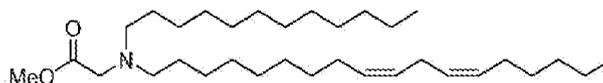


30

A una solución de (6Z,9Z)-18-(metilsulfonil)octadeca-6,9-dieno (10,0 g, 29,0 mmol) en éter dietílico (372 ml) se añadió etil eterato de bromuro de magnesio (22,5 g, 87,1 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con K₂CO₃ al 1 % y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO proporcionó (6Z,9Z)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (8,9 g, 93 %).

40 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,36 (m, 4H); 3,41 (t, 2H); 2,77 (t, 2H); 2,05 (q, 4H); 1,86 (m, 2H); 1,48-1,22 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 3: *N*-dodecil-*N*-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)glicinato de metilo



Fórmula química: C₃₃H₆₃NO₂

Peso molecular: 505,87

45

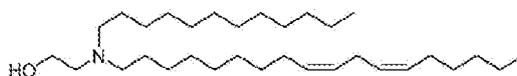
A una solución de dodeciliglicinato-HCl de metilo (1 g, 3,4 mmol) en 8,5 ml de DMF, se añadieron (Z)-1-bromooctadec-9-eno (1,68 g, 5,1 mmol) y K₂CO₃ (1,4 g, 10,2 mmol). A continuación, la reacción se dejó agitar a 85 °C durante 12 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se dejó enfriar a ta y se inactivó mediante la adición de un exceso de H₂O. La mezcla se extrajo 3 veces con EtOAc. Los extractos orgánicos se agruparon y lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-10 % en hexanos) para producir el producto deseado (0,87 g, 1,72 mmol, 50 %).

50 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,33 (m, 4H); 3,68 (s, 3H); 3,30 (s, 2H); 2,74 (t, 2H); 2,52 (m, 4H); 2,02 (m,

ES 2 913 626 T5

4H); 1,23 (m, 38H); 0,86 (m, 6H).

Etapa 4: 2-(Dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol



Fórmula química: $C_{32}H_{63}NO$

Peso molecular: 477,86

5

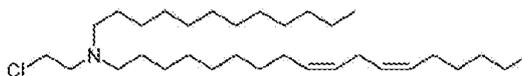
A una solución a 0 °C de *N*-dodecil-*N*-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)glicinato de metilo (980 mg, 1,94 mmol) en THF (10 ml) se añadió gota a gota hidruro de litio y aluminio (184 mg, 4,85 mmol). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se dejó agitar durante 3 horas. La mezcla se inactivó lentamente mediante la adición por etapas de agua (0,184 ml), NaOH al 10 % (0,552 ml) y agua (0,184 ml). La mezcla de reacción se filtró, se lavó con THF y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (0-100 % [DCM, MeOH al 20 %, NH_4OH al 1 %]/MeOH) proporcionó 2-(dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (660 mg, 71 %).

10

15 UPLC/ELSD: TR = 3,13 min. MS (ES): m/z (MH^+) 478,52 para $C_{32}H_{63}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,39 (br. m, 4H); 3,56 (br. m, 2H); 2,80 (br. m, 2H); 2,61 (br. m, 2H); 2,48 (br. m, 4H); 2,09 (br. m, 4H); 1,57-1,17 (br. m, 38H); 0,91 (br. m, 6H).

20 Etapa 5: (9Z,12Z)-*N*-(2-Cloroetil)-*N*-dodeciloctadeca-9,12-dien-1-amina



Fórmula química: $C_{32}H_{62}ClN$

Peso molecular: 496,31

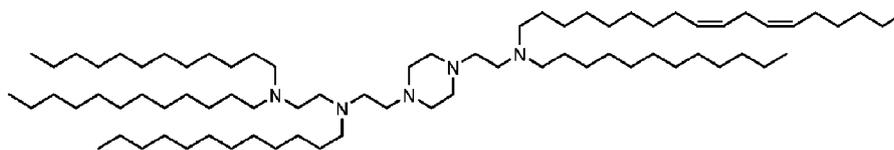
De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó (9Z,12Z)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-dodeciloctadeca-9,12-dien-1-amina a partir de 2-(dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (660 mg, 1,38 mmol), trietilamina (0,249 ml, 1,80 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,172 ml, 1,73 mmol) en DCM (7 ml). Rendimiento (123 mg, 18 %). UPLC/ELSD: TR = 3,23 min. MS (ES): m/z (MH^+) 496,72 para $C_{32}H_{62}ClN$

25

30 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,29 (br. m, 4H); 3,43 (br. m, 2H); 2,71 (br. m, 4H); 2,38 (br. m, 4H); 1,98 (br. m, 4H); 1,45-1,07 (br. m, 38H); 0,82 (br. m, 6H).

Etapa 6: Compuesto 27: N^1,N^1,N^2 -Tridodecil- N^2 -(2-(4-(2-(dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

35



De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1,N^1,N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(4-(2-(dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina a partir de N^1,N^1,N^2 -tridodecil- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (67 mg, 0,099 mmol), (9Z,12Z)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-dodeciloctadeca-9,12-dien-1-amina (64 mg, 0,129 mmol), K_2CO_3 (28 mg, 0,198 mmol) y KI (2 mg, 0,012 mmol) en THF (2 ml). Rendimiento (48 mg, 43 %).

40

UPLC/ELSD: TR = 3,90 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1137,95 para $C_{76}H_{153}N_5$

45

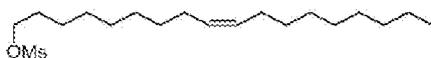
1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,48-5,29 (m, 4H); 3,15-2,15 (br. m, 32H); 2,07 (br. m, 4H); 1,83-1,00 (br. m, 98H); 0,91 (br. m, 15H).

AC: Compuesto 28: N^1 -(2-(4-(2-(Di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina

50

Etapa 1: (Z)-1-(Metilsulfonyl)octadec-9-eno

ES 2 913 626 T5



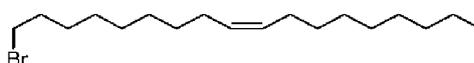
Fórmula química: $C_{19}H_{38}O_2S$

Peso molecular: 346,57

5 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 27, se sintetizó (Z)-1-(metilsulfonyl)octadec-9-eno a partir de alcohol oleílico (10 ml, 31,7 mmol), trietilamina (5,74 ml, 41,2 mmol) y cloruro de metanosulfonilo. (2,70 ml, 34,9 mmol) en DCM (50 ml). Rendimiento (8,55 g, 78 %).

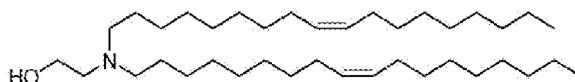
10 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,33 (m, 2H); 4,20 (t, 2H); 2,98 (s, 3H); 2,00 (m, 4H); 1,73 (m, 2H); 1,44-1,16 (br. m, 22H); 0,87 (t, 3H).

Etapa 2: (Z)-1-Bromooctadec-9-eno



15 De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 27, se sintetizó (Z)-1-bromooctadec-9-eno a partir de (Z)-1-(metilsulfonyl)octadec-9-eno (8,55 g, 24,7 mmol) y etil eterato de bromuro de magnesio (19,1 g, 74,1 mmol) en éter dietílico (317 ml). Rendimiento (7,42 g, 91 %). 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,35 (m, 2H); 3,41 (t, 2H); 2,01 (m, 4H); 1,85 (m, 2H); 1,48-1,14 (br. m, 22H); 0,88 (t, 3H).

20 Etapa 3: 2-(Di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etan-1-ol



Fórmula química: $C_{38}H_{75}NO$

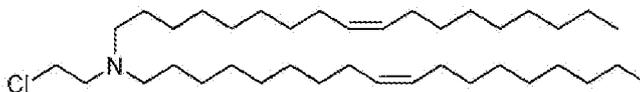
Peso molecular: 562,02

25 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etan-1-ol a partir de (Z)-1-bromooctadec-9-eno (5 g, 15,1 mmol), etanolamina (0,414 ml, 6,86 mmol), K_2CO_3 (4,17 g, 30,2 mmol) y KI (114 mg, 0,686 mmol) en MeCN (32 ml). Rendimiento (3,2 g, 83 %).

UPLC/ELSD: TR = 7,325 min. MS (ES): m/z (MH^+) 562,60 para $C_{38}H_{75}NO$

30 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,34 (m, 4H); 3,53 (t, 2H); 2,58 (t, 2H); 2,45 (t, 4H); 2,01 (m, 8H); 1,44 (m, 4H); 1,38-1,18 (br. m, 44H); 0,88 (t, 6H).

Etapa 4: (Z)-N-(2-Cloroetil)-N-((Z)-octadec-9-en-1-il)octadec-9-en-1-amina



Fórmula química: $C_{38}H_{74}ClN$

Peso molecular: 580,47

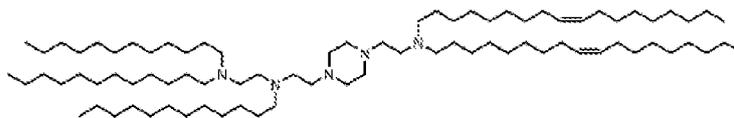
35

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó (Z)-N-(2-cloroetil)-N-((Z)-octadec-9-en-1-il)octadec-9-en-1-amina a partir de 2-(di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etan-1-ol (1,64 g, 2,92 mmol), trietilamina (0,529 ml, 3,79 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,282 ml, 3,65 mmol) en DCM (15 ml). Rendimiento (1,47 g, 87 %). UPLC/ELSD: TR = 3,75 min. MS (ES): m/z (MH^+) 580,64 para $C_{38}H_{74}ClN$

40

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,35 (m, 4H); 3,48 (br. m, 2H); 2,77 (br. m, 2H); 2,45 (br. m, 4H); 2,02 (br. m, 8H); 1,62-1,05 (br. m, 48H); 0,89 (t, 6H).

45 Etapa 5: Compuesto 28: N^1 -(2-(4-(2-(Di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tridodeciletano-1,2-diamina



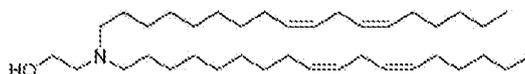
De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(di((*Z*)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (75 mg, 0,111 mmol), (*Z*)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-(1-il)octadec-9-en-1-amina (71 mg, 0,122 mmol), K₂CO₃ (31 mg, 0,222 mmol) y KI (3 mg, 0,018 mmol) en THF (1,5 ml). Rendimiento (20 mg, 15 %).

UPLC/ELSD: TR = 4,05 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1221,72 para C₈₂H₁₆₅N₅

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,29-5,14 (br. m, 4H); 2,95-2,00 (br. m, 30H); 1,96-1,77 (br. m, 8H); 1,60-0,85 (br. m, 108H); 0,76 (br. m, 15H).

AD: Compuesto 29: *N*¹-(2-(4-(2-(Di((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina

Etapa 1: 2-(Di((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol



Fórmula química: C₃₈H₇₁NO

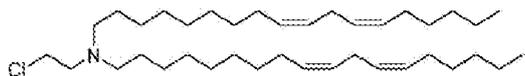
Peso molecular: 557,99

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 2-(di((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol a partir de (6*Z*, 9*Z*)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (4 g, 12,1 mmol), etanolamina (0,334 ml, 5,52 mmol), K₂CO₃ (3,36 g, 24,3 mmol) y KI (92 mg, 0,552 mmol) en MeCN (26 ml). Rendimiento (1,9 g, 62 %).

UPLC/ELSD: TR = 6,80 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 557,94 para C₃₈H₇₁NO

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,35 (m, 8H); 3,52 (t, 2H); 2,77 (t, 4H); 2,57 (t, 2H); 2,43 (t, 4H); 2,04 (q, 8H); 1,48-1,18 (br. m, 36H); 0,89 (t, 6H).

Etapa 2: (9*Z*, 12*Z*)-*N*-(2-Cloroetil)-*N*-((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina



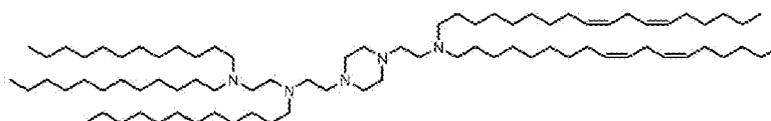
Fórmula química: C₃₈H₇₀ClN

Peso molecular: 576,44

De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó (9*Z*, 12*Z*)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina a partir de 2-(di((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (250 mg, 0,45 mmol), trietilamina (81 μl, 0,58 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (38 μl, 0,49 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (134 mg, 52 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,36 (m, 8H); 3,49 (t, 2H); 2,78 (m, 6H); 2,45 (t, 4H); 2,05 (q, 8H); 1,48-1,18 (br. m, 36H); 0,89 (t, 6H).

Etapa 3: Compuesto 29: *N*¹-(2-(4-(2-(Di((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: C₈₂H₁₆₅N₅

Peso molecular: 1217,23

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(di((9*Z*, 12*Z*)-octadeca-

ES 2 913 626 T5

9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tridodeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (75 mg, 0,111 mmol), (9*Z*,12*Z*)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina (71 mg, 0,122), K₂CO₃ (31 mg, 0,222 mmol) y KI (3 mg, 0,018 mmol) en THF (3 ml). Rendimiento (20 mg, 15 %).

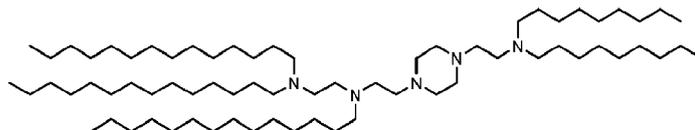
5

UPLC/ELSD: TR = 3,97 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1217,95 para C₈₂H₁₆₁N₅

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,48-5,28 (m, 12H); 3,30-2,20 (br. m, 36H); 2,17-1,92 (br. m, 12H); 1,90-1,00 (br. m, 94H); 0,87 (br. m, 15H).

10

AE: Compuesto 30: *N*¹-(2-(4-(2-(Dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina



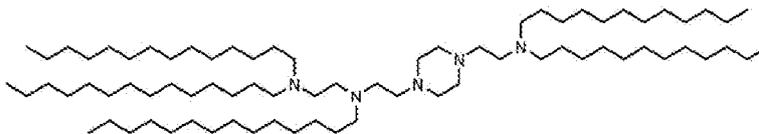
15

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(dinonilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹-(2-(piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina (150 mg, 0,197 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (79 mg, 0,236 mmol), K₂CO₃ (54 mg, 0,394 mmol) y KI (3 mg, 0,0134 mmol) en THF (4 ml). Rendimiento (50 mg, 24 %). UPLC/ELSD: TR = 3,79 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1057,74 para C₇₀H₁₄₅N₅

20

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,15-2,20 (br. m, 30H); 1,90-1,00 (br. m, 100H); 0,90 (t, 15H).

AF: Compuesto 31: *N*¹-(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: C₇₆H₁₅₇N₅

25

Peso molecular: 1141,13

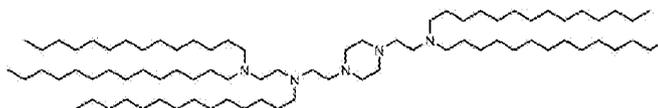
30

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹-(2-(piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina (150 mg, 0,197 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (98 mg, 0,236 mmol), K₂CO₃ (54 mg, 0,394 mmol) y KI (3 mg, 0,0134 mmol) en THF (4 ml). Rendimiento (42 mg, 19 %). UPLC/ELSD: TR = 3,98 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1142,14 para C₇₆H₁₅₇N₅

35

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,20-2,20 (br. m, 30H); 1,90-1,00 (br. m, 112H); 0,90 (t, 15H).

AG: Compuesto 32: *N*¹-(2-(4-(2-(Ditradecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina



Fórmula química: C₈₀H₁₆₅N₅

40

Peso molecular: 1197,24

45

De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(ditradecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina a partir de *N*¹-(2-(piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina (150 mg, 0,197 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-tetradeciltetradecan-1-amina (130 mg, 0,276 mmol), K₂CO₃ (54 mg, 0,394 mmol) y KI (3 mg, 0,0134 mmol) en THF (4 ml). Rendimiento (17 mg, 7 %). UPLC/ELSD: TR = 4,11 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1198,32 para C₈₀H₁₆₅N₅

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,20-2,15 (br. m, 30H); 1,90-1,00 (br. m, 120H); 0,90 (t, 15H).

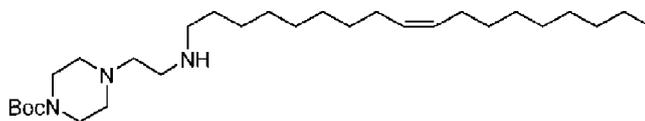
50

AH: Compuesto 33: *N*¹-(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tri((*Z*)-octadec-9-en-1-

il)etano-1,2-diamina

Etapa 1: (Z)-4-(2-(Octadec-9-en-1-ilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

5



Fórmula química: $C_{29}H_{57}N_3O_2$

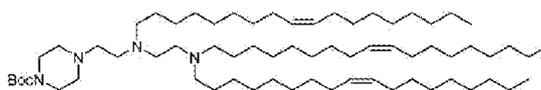
Peso molecular: 479,79

De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 18, se sintetizó (Z)-4-(2-(octadec-9-en-1-ilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de (Z)-1-bromo-octadec-9-eno (1,95 g, 11,8 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (1,35 g, 5,89 mmol), K_2CO_3 (1,60 g, 11,8 mmol) y KI (98 mg, 0,689 mmol) en MeCN (30 ml). Rendimiento (790 mg, 28 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,32 (m, 2H); 3,45 (br, 4H); 2,75 (t, 2H); 2,65 (t, 2H); 2,57 (t, 2H); 2,40 (br, 4H); 2,09 (br, 4H); 1,48 (br. m, 11H); 1,41-1,10 (br, 22H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 2: 4-(2-((2-(Di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo

20



Fórmula química: $C_{67}H_{130}N_4O_2$

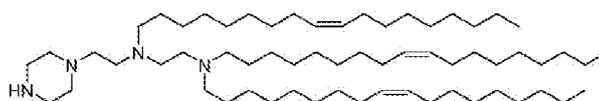
Peso molecular: 1023,80

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-((2-(di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de (Z)-4-(2-(octadec-9-en-1-ilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (573 mg, 1,19 mmol), (Z)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-((Z)-octadec-9-en-1-il)octadec-9-en-1-amina (693 mg, 1,19 mmol), K_2CO_3 (329 mg, 2,38 mmol) y KI (20 mg, 0,119 mmol) en THF (6 ml). Rendimiento (918 mg, 75 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,37 (m, 6H); 3,45 (br. m, 4H); 2,72-2,18 (br. m, 18H); 2,04 (br. m, 12H); 1,65-1,05 (br. m, 81H); 0,91 (br. m, 9H).

30

Etapa 3: N^1, N^1, N^2 -Tri((Z)-octadec-9-en-1-il)- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{62}H_{122}N_4$

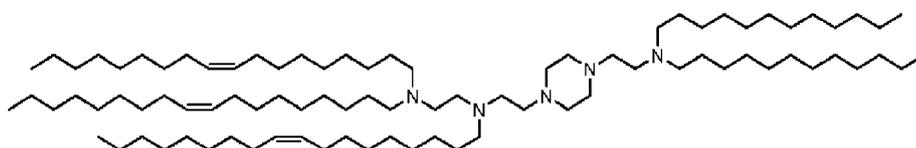
Peso molecular: 923,69

De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1, N^1, N^2 -tri((Z)-octadec-9-en-1-il)- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina a partir de 4-(2-((2-(di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (740 mg, 0,859 mmol) y TFA (3,3 ml, 42,9 mmol) en DCM (3,3 ml). Rendimiento (115 mg, 14 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36 (m, 6H); 2,91 (br, 4H); 2,74-2,34 (br. m, 18H); 2,03 (br. m, 12H); 1,54-1,04 (br. m, 72H); 0,90 (br. m, 9H).

45

Etapa 4: Compuesto 33: N^1 -(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1, N^2, N^2 -tri((Z)-octadec-9-en-1-il)etano-1,2-diamina



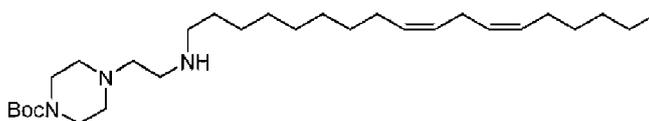
De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1 -(2-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tri((*Z*)-octadec-9-en-1-il)etano-1,2-diamina a partir de N^1,N^1,N^2 -tri((*Z*)-octadec-9-en-1-il)- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (58 mg, 0,063 mmol), N -(2-cloroetil)- N -dodecildodecan-1-amina (31 mg, 0,075 mmol), K_2CO_3 (17 mg, 0,13 mmol) y KI (1 mg, 0,006 mmol) en THF (1,5 ml). Rendimiento (30 mg, 37 %).

UPLC/ELSD: TR = 4,16 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1304,03 para $C_{88}H_{175}N_5$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36-5,24 (br. m, 6H); 2,66-2,08 (br. m, 30H); 2,04-1,82 (br. m, 12H); 1,57-0,87 (br. m, 112H); 0,81 (br. m, 15H).

Al: Compuesto 34: N^1 -(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)- N^1,N^2,N^2 -tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)etano-1,2-diamina

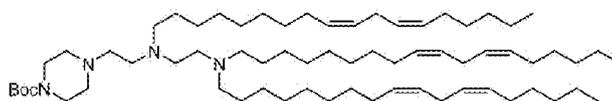
Etapa 1: 4-(2-(((9*Z*,12*Z*)-Octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo



De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-(((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de (6*Z*,9*Z*)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (3,0 g, 9,11 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (2,09 g, 9,11 mmol), K_2CO_3 (2,52 g, 18,22 mmol) y KI (151 mg, 0,911 mmol) en MeCN (44 ml). Rendimiento (1,20 g, 27 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,35 (m, 4H); 3,42 (t, 4H); 2,77 (t, 2H); 2,73 (t, 2H); 2,62 (t, 2H); 2,51 (t, 2H); 2,38 (t, 4H); 2,04 (q, 4H); 1,60-1,20 (br. m, 27H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 2: 4-(2-((2-(Di((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo



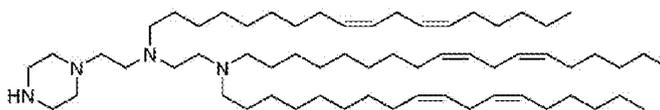
Fórmula química: $C_{67}H_{124}N_4O_2$

Peso molecular: 1017,76

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-(2-((2-(di((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(2-(((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (600 mg, 1,26 mmol), (9*Z*,12*Z*)- N -(2-cloroetil)- N -((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina (796 mg, 1,38 mmol), K_2CO_3 (347 mg, 2,51 mmol) y KI (21 mg, 0,126 mmol) en THF (8 ml). Rendimiento (793 mg, 62 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,95 min. MS (ES): m/z (MH^+) 1018,19 para $C_{67}H_{124}N_4O_2$

Etapa 3: N^1,N^1,N^2 -Tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina



Fórmula química: $C_{62}H_{116}N_4$

Fórmula química: 917,64

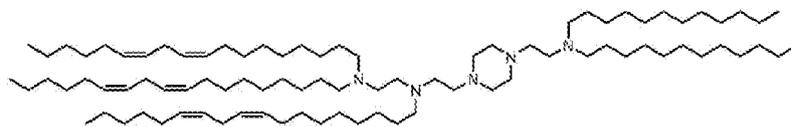
De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 18, se sintetizó N^1,N^1,N^2 -tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)- N^2 -(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina a partir de 4-(2-((2-(di((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (793 mg, 0,779 mmol) y TFA (3,0 ml, 39,0 mmol) en DCM (3,0 ml). Rendimiento (374 mg, 52 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,68 min. MS (ES): m/z (MH^+) 918,84 para $C_{62}H_{116}N_4$

ES 2 913 626 T5

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,36 (m, 12H); 4,12 (m, 6H); 3,30-2,55 (22H); 2,04 (q, 12H); 1,80-1,00 (br. m, 54H); 0,89 (t, 9H).

5 Etapa 4: *N*¹-(2-(4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)etano-1,2-diamina



Fórmula química: C₈₈H₁₆₈N₃

Peso molecular: 1297,36

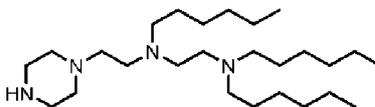
10 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(didodecilamino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)etano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (75 mg, 0,082 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (37 mg, 0,090), K₂CO₃ (23 mg, 0,163 mmol) y KI (2 mg, 0,012 mmol) en THF (3 ml). Rendimiento (20 mg, 15 %).

15 UPLC/ELSD: TR = 4,00 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1297,88 para C₈₈H₁₆₈N₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,48-5,28 (br, 12H); 3,30-2,20 (br. m, 36H); 2,17-1,92 (br. m, 12H); 1,90-1,00 (br. m, 94H); 0,87 (br. m, 15H).

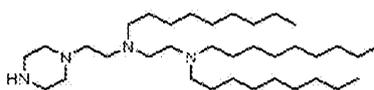
20 AJ: Compuesto 35: *N*¹,*N*¹,*N*²-Trihexil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

El Compuesto 35 se sintetizó según las Etapas 1-5 para el Compuesto 17.



25

AK: Compuesto 36: *N*¹,*N*¹,*N*²-Trinonil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina El Compuesto 36 se sintetizó según las Etapas 1-5 descritas para el Compuesto 18.

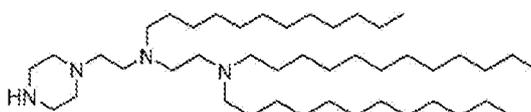


Fórmula química: C₃₅H₇₄N₄

Peso molecular: 551,01

30

AL: Compuesto 37: *N*¹,*N*¹,*N*²-Tridodecil-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina El Compuesto 37 se sintetizó según las Etapas 1 y 2 para el Compuesto 3.



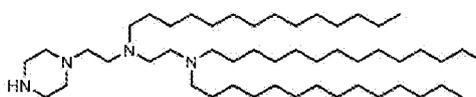
Fórmula química: C₄₃H₉₂N₄

Peso molecular: 677,25

35

AM: Compuesto 38: *N*¹-(2-(Piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tritradeciletano-1,2-diamina

El Compuesto 38 se sintetizó según las Etapas 1-5 para el Compuesto 13.



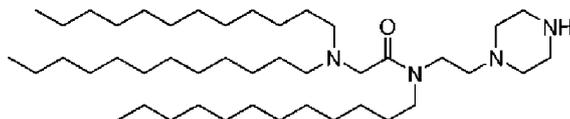
Fórmula química: C₅₀H₁₀₄N₄

Peso molecular: 761,41

40

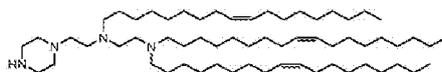
AN: Compuesto 39: 2-(Didodecilamino)-*N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)acetamida

5 El Compuesto 39 se sintetizó según las Etapas 1-3 para el Compuesto 1.



AO: Compuesto 40: *N*¹,*N*¹,*N*²-Tri((*Z*)-octadec-9-en-1-il)-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

10 El Compuesto 40 se sintetizó según las Etapas 1-3 para el Compuesto 33.

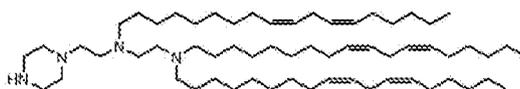


Fórmula química: C₆₃H₁₁₇N₄

Peso molecular: 923,69

AP: Compuesto 41: *N*¹,*N*¹,*N*²-Tri((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina

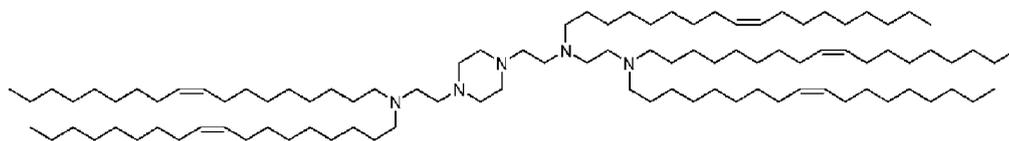
15 El Compuesto 41 se sintetizó según las Etapas 1-3 para el Compuesto 34.



Fórmula química:

Peso molecular:

20 AQ: Compuesto según la fórmula (IV): *N*¹-(2-(4-(2-(Di((*Z*)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tri((*Z*)-octadec-9-en-1-il)etano-1,2-diamina



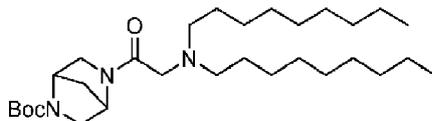
25 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 18, se sintetizó *N*¹-(2-(4-(2-(di((*Z*)-octadec-9-en-1-il)amino)etil)piperazin-1-il)etil)-*N*¹,*N*²,*N*²-tri((*Z*)-octadec-9-en-1-il)etano-1,2-diamina a partir de *N*¹,*N*¹,*N*²-tri((*Z*)-octadec-9-en-1-il)-*N*²-(2-(piperazin-1-il)etil)etano-1,2-diamina (75 mg, 0,0812 mmol), (*Z*)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-(*Z*)-octadec-9-en-1-il)octadec-9-en-1-amina (57 mg, 0,0974 mmol), K₂CO₃ (22 mg, 0,162 mmol) y KI (2 mg, 0,012 mmol) en THF (1,5 ml). Rendimiento (30 mg, 25 %).

30 UPLC/ELSD: TR = 4,41 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1469,08 para C₁₀₀H₁₉₅N₅

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,40-5,27 (br. m, 10H); 3,18-2,22 (br. m, 30H); 2,06-1,89 (m, 20H); 1,80-0,97 (br. m, 120H); 0,88 (t, 15H).

35 AR: Compuesto 42: 2-(Dinonilamino)-1-(5-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-il)etan-1-ona

40 Etapa 1: 5-(Dinonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *tert*-butilo



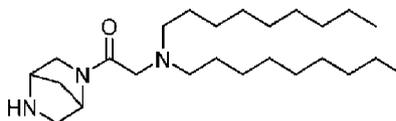
45 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó, 5-(dinonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *tert*-butilo a partir de dinonilglicinato de litio (500 mg, 1,50 mmol), 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *tert*-butilo (357 mg, 1,80 mmol), *i*Pr₂EtN (628 μl, 3,60 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 2,68 ml, 4,50 mmol) en THF (15 ml). Rendimiento (710 mg, 78 %).

ES 2 913 626 T5

UPLC/ELSD: TR = 0,87 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 508,44 para C₃₀H₅₇N₃O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,98-4,46 (br. m, 2H); 4,30-3,15 (br. m, 10H); 2,14-1,60 (br. m, 6H); 1,49 (s, 9H); 1,40-1,00 (br. m, 24H); 0,89 (t, 6H).

Etapla 2: 1-(2,5-Diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-2-(dinonilamino)etan-1-ona



10

Fórmula química: C₂₅H₄₉N₃O

Peso molecular: 407,69

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 1-(2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-2-(dinonilamino)etan-1-ona a partir de 5-(dinonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato de *terc*-butilo (710 mg, 1,40 mmol) y TFA (5,4 ml, 70 mmol) en DCM (5 ml). Rendimiento (446 mg, 78 %).

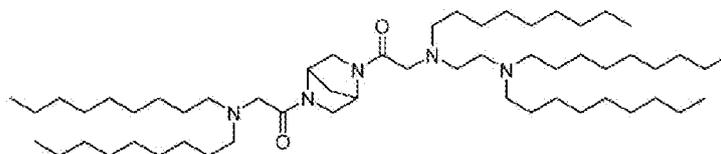
15

UPLC/ELSD: TR = 0,67 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 408,64 para C₂₅H₄₉N₃O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,90-3,00 (br. m, 8H); 2,49 (br. m, 4H); 1,79 (br. m, 2H); 1,58-1,08 (br. m, 28H); 0,90 (t, 6H).

20

Etapla 3: 2-(Dinonilamino)-1-(5-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)etan-1-ona



Fórmula química: C₅₆H₁₁₁N₅O₂

Peso molecular: 886,54

25

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-(dinonilamino)-1-(5-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)etan-1-ona a partir de 1-(2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-2-(dinonilamino)etan-1-ona (100 mg, 0,25 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (134 mg, 0,27 mmol), *i*Pr₂EtN (94 μl, 0,54 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 438 μl, 0,74 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (50 mg, 23 %).

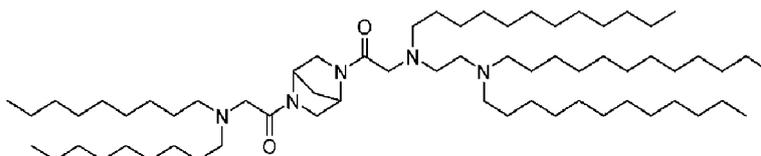
30

UPLC/ELSD: TR = 3,60 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 887,12 para C₅₆H₁₁₁N₅O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,15-2,28 (br. m, 26H); 2,16-1,00 (br. m, 70H); 0,90 (t, 15H).

35

AS: Compuesto 43: 2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)-1-(5-(dinonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)etan-1-ona 3



40

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)-1-(5-(dinonilglicil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)etan-1-ona a partir de 1-(2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-2-(dinonilamino)etan-1-ona (100 mg, 0,25 mmol), *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina (168 mg, 0,27 mmol), *i*Pr₂EtN (94 μl, 0,54 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 438 μl, 0,74 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (150 mg, 60 %).

45

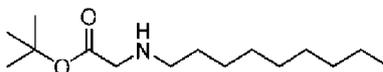
UPLC/ELSD: TR = 3,60 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 1013,24 para C₆₅H₁₂₉N₅O₂

ES 2 913 626 T5

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,15-2,26 (br. m, 24H); 2,13-1,09 (br. m, 90H); 0,90 (t, 15H).

5 AT: Compuesto 44: 8-((2-(4-(N-(2-(Dinonilamino)etil)-N-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)octanoato de metilo

Etapa 1: Nonilglicinato de *tert*-butilo



10

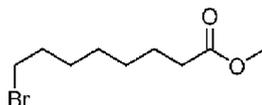
A una mezcla de *tert*-butilglicina (3,0 g, 23 mmol) y 1-bromononano (2,4 g, 11,5 mmol) en MeCN (100 ml) se añadió K₂CO₃ (3,2 g, 23 mmol) y KI (190 mg, 1,1 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 24 horas. La suspensión se enfrió a TA y se filtró a través de un tapón de celite, enjuagando con hexanos. El MeCN se extrajo 3 x con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-15 %/DCM) proporcionó nonilglicinato de *tert*-butilo como un aceite incoloro transparente (848 mg, 29 %).

15

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,31 (s, 2H); 2,60 (t, 2H); 1,82-1,63 (br, 1H); 1,56-1,20 (br. m, 23H); 0,90 (t, 3H).

20

Etapa 2: 8-Bromooctanoato de metilo



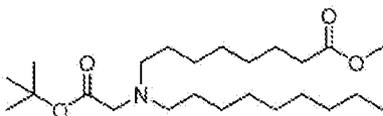
25

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 15, se sintetizó 8-bromooctanoato de metilo a partir de ácido 8-bromooctanoico (5,0 g, 22 mmol), metanol (20 ml, 450 mmol) y H₂SO₄ (1,2 ml, 22 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (5,0 g, 95 %).

30

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,42 (t, 2H); 2,33 (t, 2H); 1,88 (quint. m, 2H); 1,65 (quint, 2H); 1,54-1,27 (br. m, 6H).

Etapa 3: 8-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)octanoato de metilo



Fórmula química: C₂₃H₄₇NO₄

Peso molecular: 413,64

35

A una mezcla de nonilglicinato de *tert*-butilo (300 mg, 1,17 mmol) y 8-bromooctanoato de metilo (290 mg, 1,22 mmol) en MeCN (12 ml) se añadió K₂CO₃ (341 mg, 2,45 mmol) y KI (19 mg, 0,12 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA y se filtró a través de un tapón de celite, enjuagando con hexanos. El MeCN se extrajo 3 x con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-10 %/Hexanos) proporcionó 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)octanoato de metilo (353 mg, 73 %).

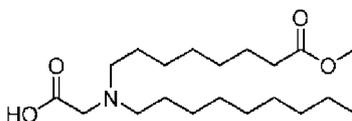
40

UPLC/ELSD: TR = 1,60 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 414,51 para C₂₄H₄₇NO₄

45

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,23 (s, 2H); 2,57 (t, 4H); 2,32 (t, 2H); 1,70-1,18 (br. m, 33H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 4: *N*-(8-Metoxi-8-oxooctil)-*N*-nonilglicina



50

ES 2 913 626 T5

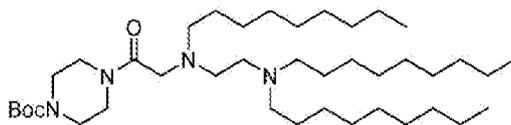
A una solución de 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)octanoato de metilo (353 mg, 0,85 mmol) en DCM (4 ml) se añadió TFA (3,3 ml, 43 mmol) y la solución se dejó agitar a TA durante 4 horas. La solución se concentró al vacío, se recogió en DCM y se lavó con Na₂CO₃ al 5 % y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar *N*-(8-metoxi-8-oxooctil)-*N*-nonilglicina (305 mg, 99 %).

5

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,49 (s, 2H); 3,06 (t, 4H); 2,32 (t, 2H); 1,79-1,14 (br. m, 24H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 5: 4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo

10



Fórmula química: C₄₀H₈₀N₄O₃

Peso molecular: 665,11

A una solución de *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (1,0 g, 2,0 mmol) y 1-boc-piperazina (412 mg, 2,2 mmol) en THF (20 ml) se añadió *i*Pr₂EtN (773 μl, 4,4 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 3,6 ml, 6,0 mmol) y la solución se dejó agitar a TA durante 12 horas. La reacción se inactivó con agua y se extrajo 3 x con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (961 mg, 72 %). UPLC/ELSD: TR = 3,27 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 665,79 para C₄₀H₈₀N₄O₃

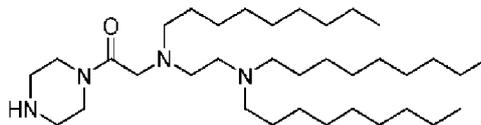
15

20

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,43-2,90 (br. m, 20H); 2,04-0,99 (br. m, 51H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 6: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etano-1-ona

25



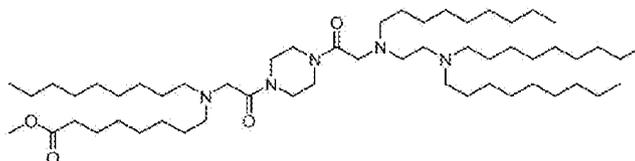
A una solución de 4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (961 mg, 1,44 mmol) en DCM (6 ml) se añadió TFA (5,5 ml, 72 mmol) y la solución se dejó agitar a TA durante 4 horas. La solución se concentró al vacío, se recogió en DCM y se lavó con Na₂CO₃ al 5 % y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etano-1-ona (743 mg, 91 %). UPLC/ELSD: TR = 2,14 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 565,82 para C₃₅H₇₂N₄O

30

35

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,59 (br, 4H); 3,36 (br, 2H); 2,99-2,03 (br. m, 14H); 1,74-1,01 (br. m, 42H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 7: 8-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)octanoato de metilo



Fórmula química: C₅₃H₁₀₈N₅O₄

Peso molecular: 904,51

40

A una solución de *N*-(8-metoxi-8-oxooctil)-*N*-nonilglicina (100 mg, 0,28 mmol) y 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etano-1-ona (174 mg, 0,31 mmol) en THF (25 ml) se añadió *i*Pr₂EtN (107 μl, 0,62 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,50 ml, 0,84 mmol) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %/[DCM MeOH al 20 % NH₄OH al 1 %]) proporcionó 8-((2-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-

45

ES 2 913 626 T5

oxoetil)(nonil)amino)octanoato de metilo (121 mg, 48 %).

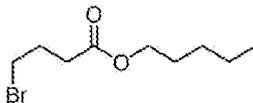
UPLC/ELSD: TR = 2,88 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 905 para C₅₅H₁₀₉N₅O₄

5 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,64-3,36 (br. m, 11H); 3,18 (s, 2H); 3,13 (s, 2H); 2,54-2,09 (br. m, 16H); 1,55-0,88 (br. m, 66H); 0,76 (t, 12H).

AU: Compuesto 45: 4-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

10

Etapla 1: 4-Bromobutanoato de pentilo



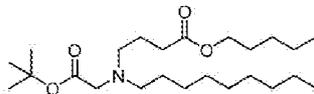
Fórmula química: C₉H₁₇BrO₂

Peso molecular: 237,14

15 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 15, se sintetizó 4-bromobutanoato de pentilo a partir de ácido 4-bromobutanoico (2,0 g, 12 mmol), pentanol (1,7 ml, 15,6 mmol) y H₂SO₄ (0,65 ml, 12 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (1,26 g, 44 %).

20 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,10 (t, 2H); 3,49 (t, 2H); 2,52 (t, 2H); 2,20 (quint, 2H); 1,65 (quint, 2H); 1,35 (m, 4H); 0,93 (t, 3H).

Etapla 2: 4-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



Fórmula química: C₂₄H₄₇NO₄

Peso molecular: 413,64

25

De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó 4-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de nonilglicinato de *tert*-butilo (300 mg, 1,17 mmol) y se añadió 4-bromobutanoato de pentilo (290 mg, 1,22 mmol) en MeCN (12 ml), K₂CO₃ (341 mg, 2,45 mmol) y KI (19 mg, 0,12 mmol). Rendimiento (343 mg, 71 %).

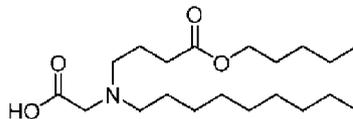
30

UPLC/ELSD: TR = 1,81 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 415 para C₂₄H₄₇NO₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,23 (s, 2H); 2,60 (br. m, 4H); 2,37 (t, 2H); 1,78 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,52-1,20 (br. m, 27H); 0,90 (m, 6H).

35

Etapla 3: *N*-Nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina



40 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina a partir de 4-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo (343 mg, 0,83 mmol) y TFA (3,17 ml, 41,5 mmol) en DCM (4 ml). Rendimiento (296 mg, 99 %).

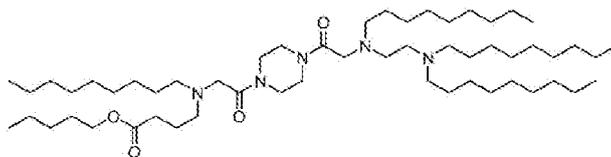
UPLC/ELSD: TR = 1,29 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 358 para C₂₀H₃₉NO₄

45

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,43 (br, 2H); 2,94 (br, 4H); 2,41 (t, 2H); 1,98 (br. m, 2H); 1,74-1,54 (br. m, 4H); 1,40-1,16 (br. m, 16H); 0,91 (m, 6H).

50 Etapla 4: 4-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{55}H_{109}N_5O_4$

Peso molecular: 904,51

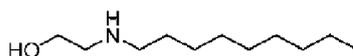
De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 4-((2-(4-(*N*(2-(dionilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de *N*-nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina (100 mg, 0,28 mmol), 2-((2-(dionilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (174 mg, 0,31 mmol), *i*Pr₂EtN (107 μ l, 0,62 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,50 ml, 0,84 mmol) en THF (25 ml). Rendimiento (121 mg, 48 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,01 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 905 para $C_{55}H_{109}N_5O_4$

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,93 (t, 2H); 3,61-3,31 (br. m, 8H); 3,17 (m, 4H); 2,55-2,08 (br. m, 16H); 1,71-0,90 (br. m, 64H); 0,75 (m, 15H).

AV: Compuesto 46: 8-((2-(2-(4-(Dionilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo

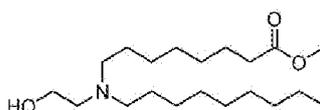
Etapa 1: 2-(Nonilamino)etan-1-ol



A una mezcla de etanolamina (4,4 ml, 72 mmol) y 1-bromononano (3,0 g, 14,5 mmol) en MeCN (150 ml) se añadió K₂CO₃ (4,0 g, 29 mmol) y KI (240 mg, 1,5 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA y se filtró sobre una capa de celite, enjuagando con hexanos. El MeCN se extrajo con hexanos 3x y los hexanos combinados se concentraron. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %[DCM MeOH al 20 % NH₄OH al 1 %]) proporcionó 2-(nonilamino)etan-1-ol (1,0 g, 38 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,66 (t, 2H); 2,80 (t, 2H); 2,62 (t, 2H); 1,96 (br. m, 2H); 1,50 (br. m, 2H); 1,28 (br. m, 12H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 2: 8-((2-Hidroxietil)(nonil)amino)octanoato de metilo



Fórmula química: $C_{20}H_{41}NO_3$

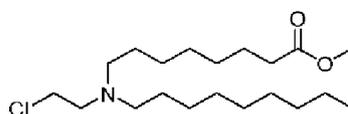
Peso molecular: 343,55

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 8-((2-hidroxietil)(nonil)amino)octanoato de metilo a partir de 2-(nonilamino)etan-1-ol (500 mg, 2,67 mmol), 8-bromo-octanoato de metilo (665 mg, 2,8 mmol), K₂CO₃ (780 mg, 5,6 mmol) y KI (44 mg, 0,27 mmol) en MeCN (30 ml). Rendimiento (578 mg, 63 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,01 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 344,31 para $C_{20}H_{44}NO_3$

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,69 (s, 3H); 3,59 (t, 2H); 2,65 (br, 2H); 2,51 (t, 4H); 2,32 (t, 2H); 1,65 (br. m, 2H); 1,49 (br. m, 4H); 1,30 (br. m, 18H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 3: 8-((2-cloroetil)(nonil)amino)octanoato de metilo



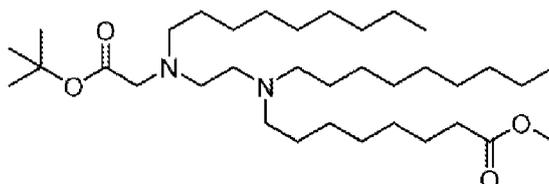
De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó 8-((2-cloroetil)(nonil)amino)octanoato de metilo a partir de 8-((2-hidroxi-etil)(nonil)amino)octanoato de metilo (578 mg, 1,68 mmol), cloruro de metanosulfonilo (163 μ l, 2,10 mmol) y trimetilamina (305 μ l, 2,20 mmol) en DCM (10 ml). Rendimiento (418 mg, 69 %). UPLC/ELSD: TR = 1,21 min. MS (ES): m/z (MH^+) 363 para $C_{20}H_{40}ClNO_2$

5

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,69 (br, 3H); 3,51 (br, 2H), 2,78 (br. m, 2H); 2,47 (br. m, 4H); 2,33 (t, 2H); 1,72-1,20 (br. m, 24H); 0,91 (t, 3H).

Etapa 4: 8-((2-((2-*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo

10



A una mezcla de nonilglicinato de *tert*-butilo (218 mg, 0,85 mmol) y 8-((2-cloroetil)(nonil)amino)octanoato de metilo (337 mg, 0,93 mmol) en MeCN (10 ml) se añadió K_2CO_3 (236 mg, 1,69 mmol) y KI (14 mg, 0,08 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA y se filtró a través de una capa de celite, enjuagando con hexanos. La mezcla se extrajo con hexanos 3x y los hexanos combinados se concentraron. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-10 %/DCM) proporcionó 8-((2-((2-*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo (283 mg, 57 %).

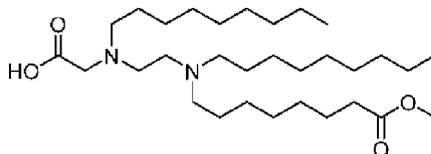
15

UPLC/ELSD: TR = 2,92 min. MS (ES): m/z (MH^+) 584 para $C_{35}H_{70}N_2O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,69 (s, 3H); 3,28 (s, 2H); 2,80-2,20 (br. m, 12H); 1,85-1,10 (br. m, 47H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 5: *N*-(2-((8-Metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)-*N*-nonilglicina

25



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)-*N*-nonilglicina a partir de 8-((2-((2-*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo (283 mg, 0,49 mmol) y TFA (1,86 ml, 24,3 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (255 mg, 99 %).

30

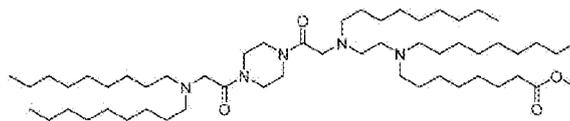
UPLC/ELSD: TR = 2,18 min. MS (ES): m/z (MH^+) 528 para $C_{31}H_{62}N_2O_4$

35

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,69 (s, 3H), 3,26 (s, 2H), 2,79 (br. m, 8H), 2,59 (t, 2H), 2,33 (t, 2H), 1,76-1,08 (br. m, 38H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 6: 8-((2-((2-(4-(Dinonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo

40



Fórmula química: $C_{55}H_{108}N_5O_4$

Peso molecular: 904,51

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 8-((2-((2-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo a partir de 2-(dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)etano-1-ona (75 mg, 0,20 mmol), *N*-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)-*N*-nonilglicina (150 mg, 0,28 mmol), *i*Pr₂EtN (88 μ l, 0,50 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 409 μ l, 0,69 mmol). Rendimiento (57 mg, 32 %). UPLC/ELSD: TR = 2,88 min. MS (ES): m/z (MH^+) 905 para $C_{33}H_{109}N_5O_4$

45

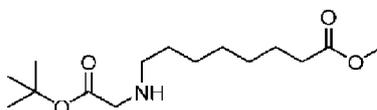
1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,82-2,87 (br. m, 27H); 2,64 (m, 2H); 2,33 (t, 2H); 1,80-1,15 (br. m, 66H);

0,90 (t, 12H).

AW: Compuesto 47: 8-((2-(Dinonilamino)etil)(2-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo

5

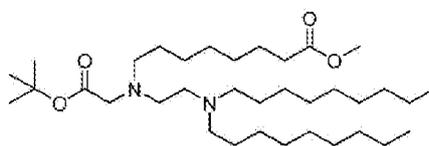
Etapa 1: 8-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo



10 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 44, se sintetizó 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo a partir de *tert*-butilglicina (2,0 g, 12 mmol), 8-bromooctanoato de metilo (2,8 g, 12 mmol), K₂CO₃ (3,3 g, 24 mmol) y KI (198 mg, 1,2 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (1,16 g, 34 %).

15 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,33 (s, 2H); 2,62 (t, 2H); 2,32 (s, 2H); 2,16-1,80 (br, 1H); 1,72-1,42 (br. m, 13H); 1,34 (br. m, 6H).

Etapa 2: 8-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(2-(dinonilamino)etil)amino)octanoato de metilo



Fórmula química: C₃₅H₇₀N₂O₄

Peso molecular: 582,96

20

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 46, se sintetizó 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(2-(dinonilamino)etil)amino)octanoato de metilo a partir de 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo (300 mg, 1,0 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (381 mg, 1,15 mmol), K₂CO₃ (320 mg, 2,3 mmol) y KI (17 mg, 0,10 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (285 mg, 47 %).

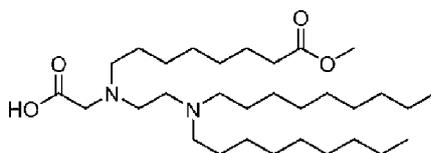
25

UPLC/ELSD: TR = 2,89 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 584 para C₃₅H₇₀N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,29 (s, 2H); 3,10 (br. m, 8H); 2,59 (t, 2H); 2,32 (t, 2H); 1,82 (br. m, 4H); 1,74-1,16 (br. m, 43H); 0,91 (t, 6H).

30

Etapa 3: *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-(8-metoxi-8-oxooctil)glicina



35 De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 46, se sintetizó *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-(8-metoxi-8-oxooctil)glicina a partir de 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(2-(dinonilamino)etil)amino)octanoato de metilo (285 mg, 0,50 mmol) y TFA (1,87 ml, 24,4 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (254 mg, 98 %).

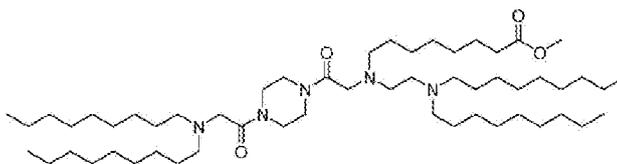
40

UPLC/ELSD: TR = 2,16 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 528 para C₃₁H₆₂N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 3,25 (s, 2H); 2,90-2,72 (br. m, 8H); 2,59 (t, 2H); 2,32 (t, 2H); 1,66 (br. m, 6H); 1,48 (br. m, 2H); 1,40-1,20 (br. m, 30H); 0,91 (t, 6H).

45 Etapa 4: 8-((2-(Dinonilamino)etil)(2-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{53}H_{109}N_5O_4$

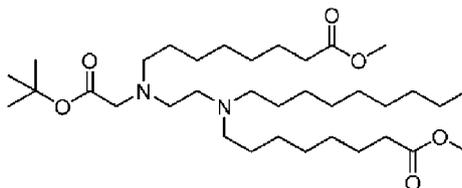
Peso molecular: 904,51

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 8-((2-(dionilamino)etil)(2-(4-(dionilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo a partir de 2-(dionilamino)-1-(piperazin-1-il)etano-1-ona (75 mg, 0,20 mmol), *N*-(2-(dionilamino)etil)-*N*-(8-metoxi-8-oxooctil)glicina (150 mg, 0,28 mmol), *i*Pr₂EtN (88 μ l, 0,50 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 409 μ l, 0,69 mmol). Rendimiento (80 mg, 39 %). UPLC/ELSD: TR = 2,87 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 905 para $C_{53}H_{109}N_5O_4$

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,81-2,21 (br. m, 31H); 1,89-1,05 (br. m, 66H); 0,90 (t, 12H).

AX: Compuesto 48: 8-((2-(4-(Dionilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)amino)octanoato de metilo

Etapa 1: 8-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)amino)octanoato de metilo

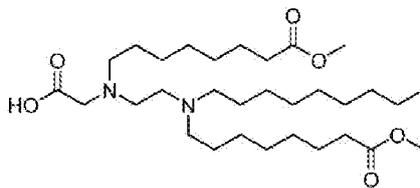


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 46, se sintetizó 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)amino)octanoato de metilo a partir de 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)amino)octanoato de metilo (65 mg, 0,23 mmol), 8-((2-cloroetil)(nonil)amino)octanoato de metilo (86 mg, 0,24 mmol), K₂CO₃ (69 mg, 0,50 mmol) y KI (4 mg, 0,02 mmol) en MeCN (4 ml). Rendimiento (60 mg, 43 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,42 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 614 para $C_{35}H_{68}N_2O_6$

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,66 (s, 6H); 3,25 (s, 2H); 2,66 (m, 2H); 2,54 (m, 4H); 2,38 (m, 4H); 2,28 (t, 4H); 1,61 (m, 4H); 1,54-1,10 (br. m, 39H); 0,87 (t, 3H).

Etapa 2: *N*-(8-metoxi-8-oxooctil)-*N*-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)glicina



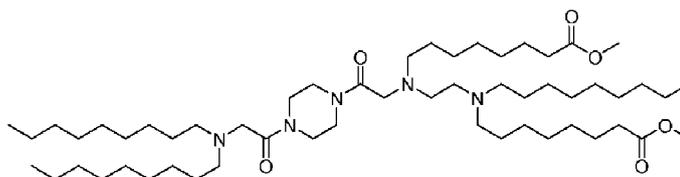
Fórmula química: $C_{31}H_{60}N_2O_6$

Peso molecular: 556,83

De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 46, se sintetizó *N*-(8-metoxi-8-oxooctil)-*N*-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)glicina a partir de 8-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)amino)octanoato de metilo (60 mg, 0,10 mmol) y TFA (0,37 ml, 4,9 mmol) en DCM (1 ml). Rendimiento (54 mg, 99 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,60 (s, 6H); 3,15 (s, 2H); 2,72 (br. m, 8H); 2,50 (t, 2H); 2,22 (t, 4H); 1,70-1,05 (br. m, 34H); 0,81 (t, 3H).

Etapa 3: 8-((2-(4-(Dionilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)amino)octanoato de metilo



De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 8-((2-(4-(dinonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)amino)octanoato de metilo a partir de 2-(dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (26 mg, 0,07 mmol), *N*-(8-metoxi-8-oxooctil)-*N*-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)glicina (54 mg, 0,10 mmol), *i*Pr₂EtN (30 μ l, 0,17 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 140 μ l, 0,24 mmol). Rendimiento (20 mg, 27 %).

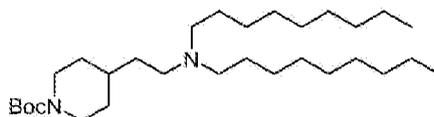
UPLC/ELSD: TR = 2,56 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 935 para C₃₃H₁₀₇N₃O₆

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,70-3,00 (br. m, 18H); 2,55-2,05 (br. m, 18H); 1,70-0,95 (br. m, 62H); 0,76 (t, 9H).

AY: Compuesto 49: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(2-(dinonilamino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona

15

Etapa 1: 4-(2-(Dinonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: C₃₀H₆₀N₂O₂

Peso molecular: 480,82

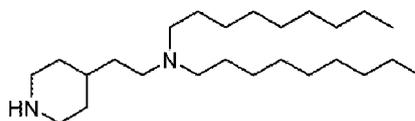
A una mezcla de 4-(2-aminoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,50 g, 6,6 mmol) y 1-bromononano (1,36 g, 6,57 mmol) en MeCN (100 ml) se añadió K₂CO₃ (1,83 g, 13,1 mmol) y KI (109 mg, 0,66 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA, se filtró sobre una capa de celite enjuagando con hexanos y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %/[DCM MeOH al 20 % NH₄OH al 1 %]) proporcionó 4-(2-(dinonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (602 mg, 19 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,41 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 482 para C₃₀H₆₀N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,20-2,26 (br. m, 10H); 1,77-1,10 (br. m, 44H); 0,91 (t, 6H).

30

Etapa 2: *N*-Nonil-*N*-(2-(piperidin-4-il)etil)nonan-1-amina



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(2-(piperidin-4-il)etil)nonan-1-amina a partir de 4-(2-(dinonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (602 mg, 1,25 mmol) y TFA (4,8 ml, 63 mmol) en DCM (5 ml). Rendimiento (406 mg, 85 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,27 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 382 para C₂₅H₅₂N₂

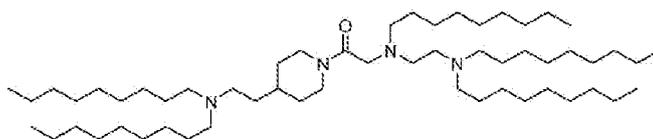
40

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,15 (br. m, 2H); 2,65 (br. m, 2H); 2,42 (br. m, 6H); 1,83-1,04 (br. m, 35H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 3: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(2-(dinonilamino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona

45

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{56}H_{114}N_4O$

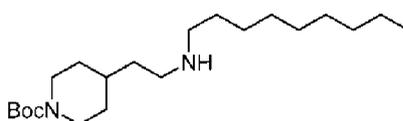
Peso molecular: 859,56

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-
 (dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(2-(dinonilamino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona a partir de *N*-nonil-*N*-(2-
 5 (piperidin-4-il)etil)nonan-1-amina (200 mg, 0,53 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (287 mg, 0,58
 mmol), *i*Pr₂EtN (201 μ l, 1,2 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 938 μ l, 1,6 mmol) en THF (10 ml).
 Rendimiento (90 mg, 20 %). UPLC/ELSD: TR = 3,26 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 860 para C₅₆H₁₁₄N₄O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,62-4,09 (br. m, 2H); 3,55-2,21 (br. m, 20H); 1,94-1,00 (br. m, 77H); 0,91
 10 (t, 15H).

AZ: Compuesto 50: 2-(Dinonilamino)-1-(4-(2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona

15 Etapa 1: 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

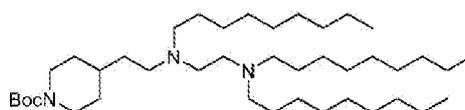


De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-
 20 carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(2-aminoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,50 g, 6,6 mmol), 1-
 bromononano (1,36 g, 6,57 mmol), K₂CO₃ (1,83 g, 13,1 mmol) y KI (109 mg, 0,66 mmol) en MeCN (100 ml).
 Rendimiento (288 mg, 13 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,23 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 356 para C₂₁H₄₂N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,08 (br. m, 2H); 2,67 (br. m, 6H); 1,80-0,98 (br. m, 30H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 2: 4-(2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: $C_{41}H_{83}N_3O_2$

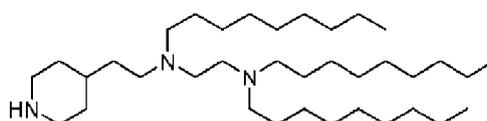
Peso molecular: 650,13

30 A una mezcla de 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (288 mg, 0,81 mmol) y *N*-(2-
 cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (297 mg, 0,89 mmol) en MeCN (20 ml) se añadió K₂CO₃ (249 mg, 1,79 mmol)
 y KI (13 mg, 0,08 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA y
 35 se filtró sobre una capa de celite enjuagando con hexanos y se concentró. La purificación mediante
 cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %/[DCM MeOH al 20 % NH₄OH al 1 %])
 proporcionó 4-(2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (216 mg, 41 %)
 UPLC/ELSD: TR = 2,72 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 651 para C₄₁H₈₃N₃O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,08 (br, 2H); 2,83-2,29 (br. m, 14H); 1,75-1,00 (br. m, 58H); 0,90 (t, 9H).

40

Etapa 3: *N*¹,*N*¹,*N*²-Trinonil-*N*²-(2-(piperidin-4-il)etil)etano-1,2-diamina



45 De la misma manera que en la Etapa 6 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*¹,*N*¹,*N*²-trinonil-*N*²-(2-(piperidin-4-

ES 2 913 626 T5

il)etil)etano-1,2-diamina a partir de 4-(2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (216 mg, 0,33 mmol) y TFA (1,27 ml, 16,6 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (178 mg, 97 %).

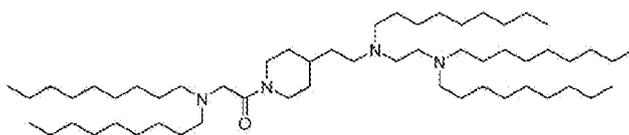
UPLC/ELSD: TR = 1,84 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 551 para C₃₆H₇₅N₃

5

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,08 (br. m, 2H); 2,70-2,25 (br. m, 14H); 2,0 (br, 1H); 1,80-1,02 (br. m, 49H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 4: 2-(Dinonilamino)-1-(4-(2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona

10



Fórmula química: C₃₆H₇₅N₃O

Peso molecular: 559,56

De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 2-(dinonilamino)-1-(4-(2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona a partir de dinonilglicina (96 mg, 0,29 mmol), *N*¹, *N*¹, *N*²-trinonil-*N*²-(2-(piperidin-4-il)etil)etano-1,2-diamina (178 mg, 0,32 mmol), *i*Pr₂EtN (112 μl, 0,65 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 525 μl, 0,88 mmol) en THF (6 ml). Rendimiento (121 mg, 48 %).

15

UPLC/ELSD: TR = 2,96 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 860 para C₅₆H₁₁₄N₄O

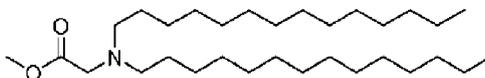
20

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,63-4,08 (br. m, 4H); 3,34-2,25 (br. m, 18H); 1,90-1,01 (br. m, 77H); 0,91 (t, 15H).

BA: Compuesto 51: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(ditetradecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona

25

Etapa 1: Ditetradecilglicinato de metilo



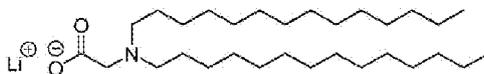
De la misma manera que en la Etapa 1 del Compuesto 11, se sintetizó 3-(ditetradecilamino)propanoato de metilo a partir de clorhidrato de éster metílico de glicina (564 mg, 4,49 mmol), tetradecanal (2,1 g, 9,89 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (2,1 g, 9,89 mmol), ácido acético (0,6 ml, 9,89 mmol), trimetilamina (0,93 ml, 6,74 mmol), en DCE (22 ml). Rendimiento (1,93 g, 89 %).

30

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,72 (s, 3H); 3,34 (s, 2H); 1,56 (t, 4H); 1,60-1,03 (br. m, 48H); 0,91 (t, 6H).

35

Etapa 2: Ditetradecilglicinato de litio



Fórmula química: C₃₀H₆₀LiNO₂

Peso molecular: 473,76

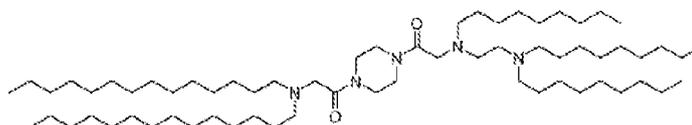
De la misma manera que en la Etapa 2 del Compuesto 11, se sintetizó ditetradecilglicinato de litio a partir de ditetradecilglicinato de metilo (1,93 g, 4,0 mmol) y LiOH 1 M (20 ml, 20 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (1,81 g, 97 %).

40

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,17 (s, 2H); 2,64 (t, 4H); 1,52 (br. m, 4H); 1,31 (br. m, 44H); 0,93 (t, 6H).

45

Etapa 3: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(ditetradecilglicil)piperazm-1-il)etan-1-ona



ES 2 913 626 T5

De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(ditetradecilglicil)piperazin-1-il)etan-1-ona a partir de ditetradecilglicinato de litio (126 mg, 0,26 mmol), 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (134 mg, 0,24 mmol), *i*Pr₂EtN (91 µl, 0,52 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 424 µl, 0,71 mmol) en THF (4 ml)

5

UPLC/ELSD: TR = 3,64 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 1016 para C₆₃H₁₃₁N₃O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,84-2,34 (br. m, 26H); 1,88-0,99 (br. m, 90H); 0,90 (t, 15H).

10 BB: Compuesto 52: 3-(Dinonilamino)-1-(4-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)propan-1-ona

Etapa 1: 3-(Dinonilamino)propanoato de metilo



15

Fórmula química: C₂₂H₄₅NO₂

Peso molecular: 355,61

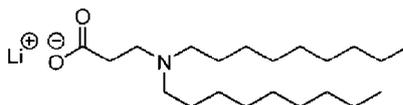
20

A una mezcla de clorhidrato de 3-aminopropanoato de metilo (2,0 g, 14 mmol) y 1-bromononano (2,7 ml, 14 mmol) en MeCN (100 ml) se añadió K₂CO₃ (4,0 g, 29 mmol) y KI (238 mg, 1,4 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA y se filtró sobre una capa de celite lavando con hexanos y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-10 %/DCM) proporcionó 3-(dinonilamino)propanoato de metilo (663 mg, 13 %).

25

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69 (s, 3H); 2,80 (t, 2H); 2,41 (br. m, 6H); 1,70-1,10 (br. m, 28H); 0,90 (t, 6H).

30 Etapa 2: 3-(Dinonilamino)propanoato de litio

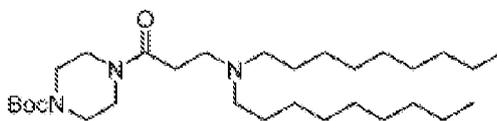


35

De la misma manera que en la Etapa 2 del Compuesto 11, se sintetizó 3-(dinonilamino)propanoato de litio a partir de 3-(dinonilamino)propanoato de metilo (663 mg, 1,86 mmol) y LiOH 1 M (9,32 ml, 9,32 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (636 mg, 99 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 2,94-1,65 (br. m, 8H); 1,65-1,04 (br. m, 28H); 0,90 (t, 6H). 4-(3-(Dinonilamino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo

40



Fórmula química: C₃₀H₅₉N₃O₃

Peso molecular: 509,82

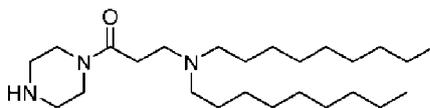
De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(3-(dinonilamino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-(dinonilamino)propanoato de litio (636 mg, 1,83 mmol), 1-boc-piperazina (388 mg, 2,08 mmol), *i*Pr₂EtN (726 µl, 4,17 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 3,4 ml, 5,68 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (839 mg, 87 %).

45

UPLC/ELSD: TR = 2,26 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 511 para C₃₀H₅₉N₃O₃

50 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,71-2,21 (br. m, 16H); 1,92-0,98 (br. m, 37H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 3: 3-(Dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)propan-1-ona



- 5 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 3-(dinonilamino)-1-(piperazin-1-il)propan-1-ona a partir de 4-(3-(dinonilamino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (839 mg, 1,65 mmol) y TFA (6,3 ml, 83 mmol) en DCM (7 ml). Rendimiento (501 mg, 74 %).

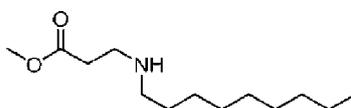
UPLC/ELSD: TR = 1,19 min. MS (ES): m/z (MH^+) 411 para $C_{25}H_{51}N_3O$

10

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,61 (t, 2H); 3,47 (t, 2H); 2,86 (br. m, 6H); 2,46 (br. m, 6H); 1,80 (br, 1H); 1,56-1,08 (br. m, 28H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 4: 3-(Nonilamino)propanoato de metilo

15



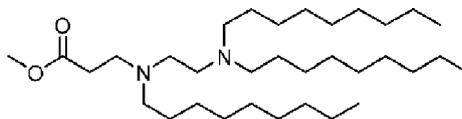
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 52, se sintetizó 3-(nonilamino)propanoato de metilo a partir de clorhidrato de 3-aminopropanoato de metilo (2,0 g, 14 mmol), 1-bromononano (2,7 ml, 14 mmol), K_2CO_3 (4,0 g, 29 mmol) y KI (238 mg, 1,4 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (300 mg, 9 %).

20

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,70 (s, 3H); 2,91 (t, 2H); 2,60 (br. m, 4H); 1,90 (br, 1H); 1,58-1,02 (br. m, 14H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 5: 3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoato de metilo

25



De la misma manera que en la Etapa 9 del Compuesto 10, se sintetizó 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoato de metilo a partir de 3-(nonilamino)propanoato de metilo (300 mg, 1,31 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (478 mg, 1,44 mmol), K_2CO_3 (400 mg, 2,88 mmol) y KI (22 mg, 0,13 mmol) en MeCN (20 ml). Rendimiento (348 mg, 51 %).

30

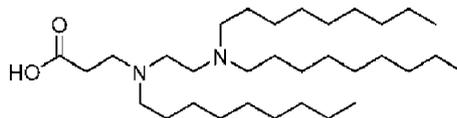
UPLC/ELSD: TR = 2,66 min. MS (ES): m/z (MH^+) 526 para $C_{33}H_{68}N_2O_2$

35

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,69 (s, 3H); 2,82 (t, 2H); 2,44 (br. m, 12H); 1,85-1,05 (br. m, 42H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 6: Ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico

40



De la misma manera que en la Etapa 10 del Compuesto 10, se sintetizó ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico a partir de 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoato de metilo (348 mg, 0,66 mmol) y LiOH 1 M (3,3 ml, 3,3 mmol) en THF (3,3 ml). Rendimiento (338 mg, 99 %).

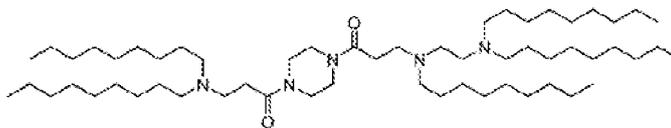
45

UPLC/ELSD: TR = 2,29 min. MS (ES): m/z (MH^+) 512 para $C_{32}H_{66}N_2O_2$

Etapa 7: 3-(Dinonilamino)-1-(4-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)propan-1-ona

50

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{57}H_{115}N_5O_2$

Peso molecular: 902,58

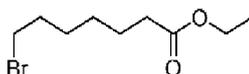
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 3-(dionilamino)-1-(4-(3-((2-(dionilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)propan-1-ona a partir de 3-(dionilamino)-1-(piperazin-1-il)propan-1-ona (298 mg, 0,73 mmol), ácido 3-((2-(dionilamino)etil)(nonil)amino)propanoico (338 mg, 0,68 mmol), iPr_2EtN (254 μ l, 1,46 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,18 ml, 1,98 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (218 mg, 37 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,89 min. MS (ES): m/z (MH^+) 903 para $C_{57}H_{115}N_5O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,65 (br. M, 4H); 3,50 (br. m, 4H); 2,82 (br. m, 4H); 2,66-2,30 (br. m, 18H); 1,61-1,02 (br. m, 70H); 0,90 (t, 15H).

BC: Compuesto 53: 7-((2-(4-(*N*-(2-(Dionilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)heptanoato de etilo

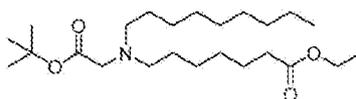
Etapa 1: 7-Bromoheptanoato de etilo



De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 15, se sintetizó 7-bromoheptanoato de etilo a partir de ácido 7-bromoheptanoico (1,0 g, 4,8 mmol), etanol (5,6 ml, 96 mmol) y H_2SO_4 (0,25 ml, 4,8 mmol) en THF (6 ml). Rendimiento (911 mg, 80 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,15 (q, 2H); 3,42 (t, 2H); 2,33 (t, 2H); 1,87 (m, 2H); 1,66 (m, 2H); 1,57-1,14 (br. m, 7H).

Etapa 2: 7-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)heptanoato de etilo



Fórmula química: $C_{24}H_{47}NO_4$

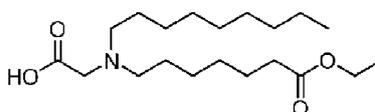
Peso molecular: 413,64

De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó 7-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)heptanoato de etilo a partir de nonilglicinato de *tert*-butilo (250 mg, 0,97 mmol), 7-bromoheptanoato de etilo (253 mg, 1,07 mmol), K_2CO_3 (270 mg, 1,94 mmol) y KI (16 mg, 0,10 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (298 mg, 74 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,60 min. MS (ES): m/z (MH^+) 414,68 para $C_{24}H_{47}NO_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,14 (q, 2H); 3,23 (s, 2H); 2,57 (t, 4H); 2,31 (t, 2H); 1,74-1,12 (br. m, 34H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 3: *N*-(7-Etoxi-7-oxoheptil)-*N*-nonilglicina



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*-(7-etoxi-7-oxoheptil)-*N*-nonilglicina a partir de 7-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)heptanoato de etilo (298 mg, 0,72 mmol) y TFA (2,8 ml, 36 mmol) en DCM (3 ml). Rendimiento (244 mg, 95 %).

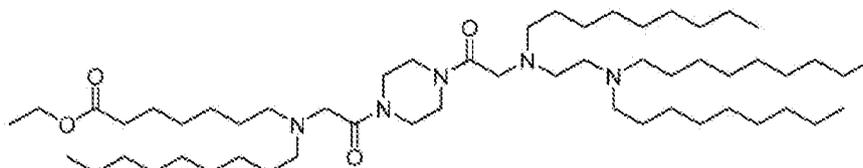
ES 2 913 626 T5

UPLC/ELSD: TR = 1,07 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 358,50 para C₂₀H₃₉NO₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,15 (q, 2H); 3,46 (br, 2H); 3,01 (br, 4H); 2,31 (t, 2H); 1,86-1,10 (br. m, 25H); 0,91 (t, 3H).

5

Etapa 4: 7-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonilamino)heptanoato de etilo



Fórmula química: C₅₅H₁₀₉N₅O₄

Peso molecular: 904,51

10 De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 7-((2-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)eti)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonilamino)heptanoato de etilo a partir de *N*-(7-etoxi-7-oxoheptil)-*N*-nonilglicina (111 mg, 0,31 mmol), 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonilamino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (160 mg, 0,28 mmol), *i*Pr₂EtN (109 μl, 0,62 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,51 ml, 0,81 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (70 mg, 27 %).

15

UPLC/ELSD: TR = 2,88 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 905,33 para C₃₃H₁₀₉N₅O₄

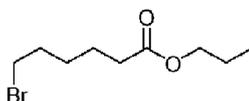
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,00 (q, 2H); 3,65-3,34 (br. m, 8H); 3,19 (s, 2H); 3,13 (s, 2H); 2,50-2,10 (br. m, 16H); 1,65-0,90 (br. m, 67H); 0,75 (t, 12H).

20

BD: Compuesto 54: 6-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonilamino)hexanoato de propilo

25

Etapa 1: 6-Bromohexanoato de propilo

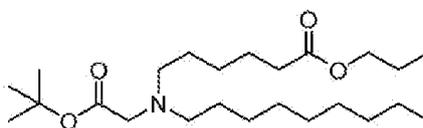


30 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 15, se sintetizó 6-bromohexanoato de propilo a partir de ácido 6-bromohexanoico (1,0 g, 5,1 mmol), 1-propanol (1,5 g, 26 mmol) y H₂SO₄ (0,27 ml, 5,1 mmol) en THF (5 ml). Rendimiento (1,14 g, 94 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,05 (t, 2H); 3,43 (t, 2H); 2,34 (t, 2H); 1,90 (m, 2H); 1,68 (m, 4H); 1,50 (m, 2H); 0,96 (t, 3H).

35

Etapa 2: 6-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonilamino)hexanoato de propilo



Fórmula química: C₂₄H₄₇NO₄

Peso molecular: 413,64

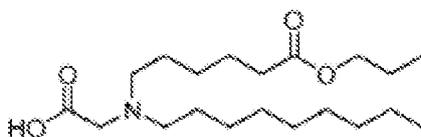
40 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó 6-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonilamino)hexanoato de propilo a partir de nonilglicinato de *tert*-butilo (250 mg, 0,97 mmol), 6-bromohexanoato de propilo (253 mg, 1,07 mmol), K₂CO₃ (270 mg, 1,94 mmol) y KI (16 mg, 0,10 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (258 mg, 64 %).

45

UPLC/ELSD: TR = 1,62 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 414,59 para C₂₄H₄₇NO₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,05 (t, 2H); 3,23 (s, 2H); 2,58 (br. m, 4H); 2,33 (t, 2H); 1,75-1,15 (br. m, 31H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 3: *N*-Nonil-*N*-(6-oxo-6-propoxihexil)glicina



5

Fórmula química: $C_{20}H_{39}NO_4$

Peso molecular: 357,54

10 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(6-oxo-6-propoxihexil)glicina a partir de 6-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)hexanoato de propilo (258 mg, 0,62 mmol) y TFA (2,4 ml, 31 mmol) en DCM (3 ml). Rendimiento (223 mg, 99 %).

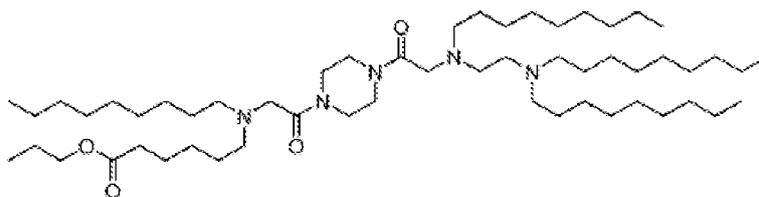
UPLC/ELSD: TR = 1,13 min. MS (ES): m/z (MH^+) 358,50 para $C_{20}H_{39}NO_4$

15

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,09 (t, 2H); 3,34 (s, 2H); 2,87 (br. m, 4H); 2,36 (t, 2H); 1,77-1,10 (br. m, 22H); 0,92 (m, 6H).

20

Etapa 4: 6-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)hexanoato de propilo



Fórmula química: $C_{53}H_{109}N_5O_4$

Peso molecular: 904,51

25

De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 6-((2-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)hexanoato de propilo a partir de *N*-nonil-*N*-(6-oxo-6-propoxihexil)glicina (111 mg, 0,31 mmol), 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (160 mg, 0,28 mmol), *i*Pr₂EtN (109 μ l, 0,62 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,51 ml, 0,81 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (72 mg, 28 %).

30

UPLC/ELSD: TR = 2,91 min. MS (ES): m/z (MH^+) 905,33 para $C_{53}H_{109}N_5O_4$

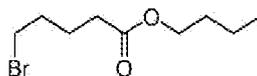
35

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,09 (t, 2H); 3,78-3,46 (br. m, 8H); 3,34 (s, 2H); 3,28 (s, 2H); 2,68-2,24 (br. m, 16H); 1,85-1,10 (br. m, 64H); 0,92 (m, 15H).

BE: Compuesto 55: 5-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)pentanoato de butilo

40

Etapa 1: 5-Bromopentanoato de butilo



Fórmula química: $C_9H_{17}BrO_2$

Peso molecular: 237,14

45

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 15, se sintetizó 5-bromopentanoato de butilo a partir de ácido 5-bromopentanoico (1,47 g, 8,1 mmol), 1-butanol (0,50 g, 6,8 mmol) y H_2SO_4 (0,36 ml, 6,8 mmol) en

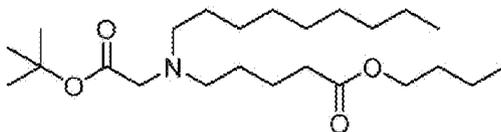
ES 2 913 626 T5

THF (7 ml). Rendimiento (1,42 g, 0,89 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,10 (t, 2H); 4,34 (t, 2H); 2,36 (t, 2H); 1,93 (m, 2H); 1,80 (m, 2H); 1,62 (m, 2H); 1,40 (m, 2H); 0,96 (t, 3H).

5

Etapa 2: 5-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)pentanoato de butilo



Fórmula química: C₂₄H₄₇NO₄

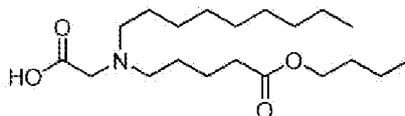
Peso molecular: 413,64

10 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó 5-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)pentanoato de butilo a partir de nonilglicinato de *tert*-butilo (250 mg, 0,97 mmol), 5-bromopentanoato de butilo (253 mg, 1,07 mmol), K₂CO₃ (270 mg, 1,94 mmol) y KI (16 mg, 0,10 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (284 mg, 71 %).

15 UPLC/ELSD: TR = 1,67 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 414,59 para C₂₄H₄₇NO₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,09 (t, 2H); 3,23 (s, 2H); 2,58 (m, 4H); 2,34 (t, 2H); 1,74-1,20 (br. m, 31H); 0,93 (m, 6H).

20 Etapa 3: *N*-(5-butoxi-5-oxopentil)-*N*-nonilglicina



Fórmula química: C₂₀H₃₉NO₄

Peso molecular: 357,54

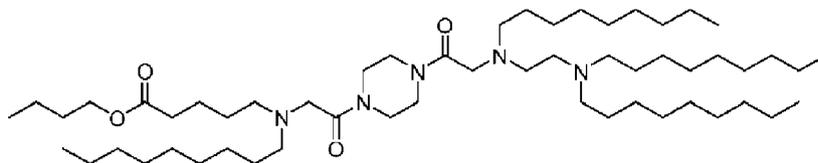
25 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*-(5-butoxi-5-oxopentil)-*N*-nonilglicina a partir de 5-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)pentanoato de butilo (284 mg, 0,69 mmol) y TFA (2,6 ml, 34 mmol) en DCM (3 ml). Rendimiento (245 mg, 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,09 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 358,50 para C₂₀H₃₉NO₄

30 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,05 (t, 2H); 3,48 (s, 2H); 3,03 (br. m, 4H); 2,34 (t, 2H); 1,85-1,15 (br. m, 22H); 0,93 (m, 6H).

Etapa 4: 5-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)pentanoato de butilo

35



40 De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 5-((2-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)pentanoato de butilo a partir de *N*-(5-butoxi-5-oxopentil)-*N*-nonilglicina (111 mg, 0,31 mmol), 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (160 mg, 0,28 mmol), *i*Pr₂EtN (109 μl, 0,62 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,51 ml, 0,81 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (92 mg, 36 %).

45 UPLC/ELSD: TR = 2,88 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 905,33 para C₃₃H₁₀₉N₅O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,90 (t, 2H); 3,65-3,35 (br. m, 8H); 3,19 (s, 2H); 3,13 (t, 2H); 2,52-2,06 (br.

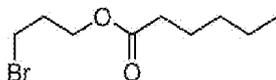
ES 2 913 626 T5

m, 1,65-0,95 (br. m, 64H); 0,77 (m, 15H).

BF: Compuesto 56: Hexanoato de 3-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)propilo

5

Etapa 1: Hexanoato de 3-bromopropilo



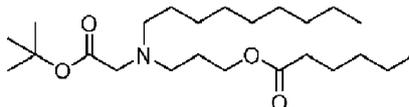
Fórmula química: $C_9H_{17}BrO_2$

Peso molecular: 237,14

- 10 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 15, se sintetizó hexanoato de 3-bromopropilo a partir de 3-bromopropan-1-ol (0,87 ml, 9,6 mmol), ácido hexanoico (10 ml, 8,0 mmol) y H_2SO_4 (1,0 ml, 8,0 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (823 mg, 44 %).

15 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,23 (t, 2H); 3,49 (t, 2H), 2,33 (t, 2H); 2,20 (m, 2H); 1,65 (m, 2H); 1,34 (m, 4H), 0,91 (t, 3H).

Etapa 2: Hexanoato de 3-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)propilo



20

De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó hexanoato de 3-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)propilo a partir de nonilglicinato de *tert*-butilo (250 mg, 0,97 mmol), hexanoato de 3-bromopropilo (253 mg, 1,07 mmol), K_2CO_3 (270 mg, 1,94 mmol) y KI (16 mg, 0,10 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (335 mg, 83 %).

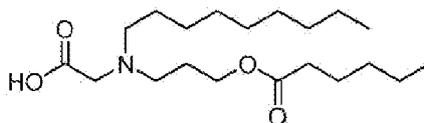
25

UPLC/ELSD: TR = 1,78 min. MS (ES): m/z (MH^+) 414,59 para $C_{24}H_{47}NO_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,14 (t, 2H); 3,23 (s, 2H); 2,68 (t, 2H); 2,58 (t, 2H); 2,30 (t, 2H); 1,79 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,55-1,20 (br. m, 27H); 0,91 (m, 6H).

30

Etapa 3: *N*-(3-(Hexanoiloxi)propil)-*N*-nonilglicina



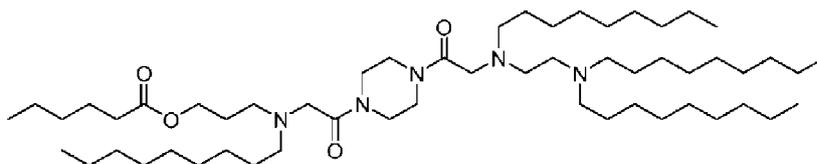
Fórmula química: $C_{20}H_{39}NO_4$

Peso molecular: 357,54

- 35 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó *N*-(3-(hexanoiloxi)propil)-*N*-nonilglicina a partir de hexanoato de 3-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)propilo (335 mg, 0,81 mmol) y TFA (3,1 ml, 40 mmol) en DCM (4 ml). Rendimiento (284 mg, 98 %).

40 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,11 (t, 2H); 3,17 (s, 2H); 2,68 (br. m, 4H); 2,30 (t, 2H); 1,87 (m, 2H); 1,63 (m, 2H); 1,48 (m, 2H); 1,28 (br. m, 16H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 4: Hexanoato de 3-((2-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)propilo



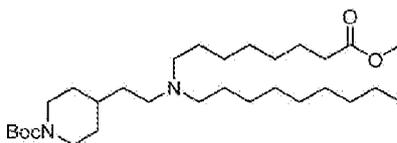
De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó hexanoato de 3-((2-(4-(N-(2-(dinonilamino)etil)-N-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)(nonil)amino)propilo a partir de N-(3-(hexanoiloxi)propil)-N-nonilglicina (111 mg, 0,31 mmol), 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazina-1-il)etan-1-ona (160 mg, 0,28 mmol), *i*Pr₂EtN (109 μ l, 0,62 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,51 ml, 0,81 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (55 mg, 21 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,94 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 905,25 para C₃₃H₁₀₉N₃O₄

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,01 (t, 2H); 3,77-3,43 (br. m, 8H); 3,23 (m, 4H); 2,64-2,15 (m, 16H); 1,70 (m, 2H); 1,54 (m, 2H); 1,50-0,96 (br. m, 60H); 0,81 (m, 15H).

BG: Compuesto 57: 8-((2-(1-(N-(2-(Dinonilamino)etil)-N-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo

Etapa 1: 4-(2-((8-Metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: C₃₀H₅₈N₂O₄

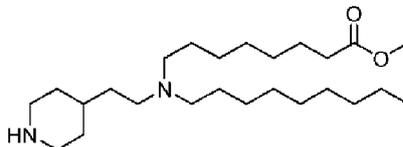
Peso molecular: 510,80

A una mezcla de 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (239 mg, 0,67 mmol) y 8-bromooctanoato de metilo (192 mg, 0,81 mmol) en MeCN (10 ml) se añadió K₂CO₃ (188 mg, 1,35 mmol) y KI (11 mg, 0,07 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA y se filtró sobre una capa de celite enjuagando con EtOAc y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-80 %/hexanos) proporcionó 4-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (241 mg, 70 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,87 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 512,76 para C₃₀H₅₈N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,07 (br. m, 2H); 3,69 (s, 3H); 2,70 (m, 2H); 2,37 (br. m, 8H); 1,75-1,00 (br. m, 40H); 0,90 (t, 3H).

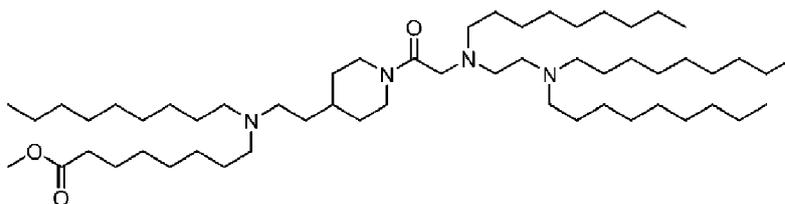
Etapa 2: 8-(Nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)octanoato de metilo



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 8-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)octanoato de metilo a partir de 4-(2-((8-metoxi-8-oxooctil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (241 mg, 0,47 mmol) y TFA (1,8 ml, 24 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (193 mg, 99 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,69 (s, 3H); 3,08 (m, 2H); 2,60 (m, 2H); 2,49-2,24 (br. m, 8H); 2,06 (br, 1H); 1,78-1,02 (br. m, 31H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 3: 8-((2-(1-(N-(2-(Dinonilamino)etil)-N-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)octanoato de metilo



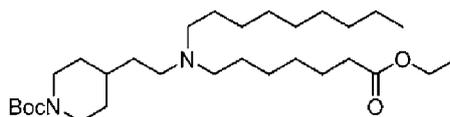
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 8-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino) octanoato de metilo a partir de 8-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)octanoato de metilo (141 mg, 0,34 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (188 mg, 0,38 mmol), *i*Pr₂EtN (132 μ l, 0,76 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 614 μ l, 1,03 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (70 mg, 23 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,97 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 890,24 para C₅₆H₁₁₂N₄O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,64-4,09 (br. m, 2H); 3,69 (s, 3H); 3,42-2,83 (br. m, 3H); 2,69-2,24 (br. m, 19H); 1,81-0,99 (br. m, 73H); 0,90 (t, 12H).

BH: Compuesto 58: 7-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)heptanoato de etilo

Etapa 1: 4-(2-((7-Etoxi-7-oxoheptil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

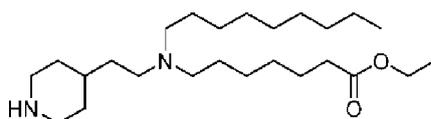


De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(2-((7-etoxi-7-oxoheptil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (239 mg, 0,67 mmol), 7-bromoheptanoato de etilo (192 mg, 0,81 mmol), K₂CO₃ (188 mg, 1,35 mmol) y KI (11 mg, 0,07 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (247 mg, 72 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,91 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 511,62 para C₃₀H₅₈N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,12 (br. m, 4H); 2,80-2,15 (br. m, 10H); 1,75-1,00 (br. m, 41H); 0,90 (t, 3H).

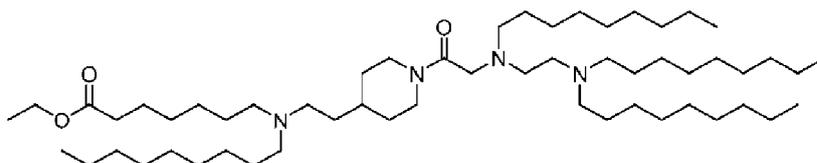
Etapa 2: 7-(Nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)heptanoato de etilo



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 7-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)heptanoato de etilo a partir de 4-(2-((7-etoxi-7-oxoheptil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (247 mg, 0,48 mmol) y TFA (1,9 ml, 24 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (194 mg, 98 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,14 (t, 2H); 3,08 (m, 2H); 2,60 (m, 2H); 2,52-2,24 (br. m, 8H); 2,12 (br, 1H); 1,77-1,05 (br. m, 32H); 0,90 (t, 3H).

7-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)heptanoato de etilo



De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 7-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)heptanoato de etilo a partir de 7-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)heptanoato de etilo (141 mg, 0,34 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (188 mg, 0,38 mmol), *i*Pr₂EtN (132 μ l, 0,76 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 614 μ l, 1,03 mmol) en THF (10 ml).

ES 2 913 626 T5

Rendimiento (42 mg, 14 %). UPLC/ELSD: TR = 3,00 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 890,32 para C₅₆H₁₁₂N₄O₃

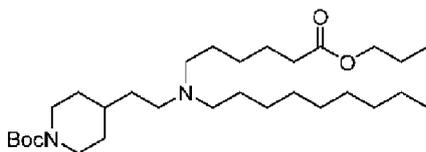
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,55-3,95 (br. m, 4H); 3,38-2,72 (br. m, 4H); 2,66-2,10 (br. m, 18H); 1,72-0,91 (br. m, 74H); 0,81 (t, 12H).

5

BI: Compuesto 59: 6-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)hexanoato de propilo

Etapa 1: 4-(2-(nonil(6-oxo-6-propoxihexil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

10



De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(2-(nonil(6-oxo-6-propoxihexil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (239 mg, 0,67 mmol), 6-bromohexanoato de propilo (192 mg, 0,81 mmol), K₂CO₃ (188 mg, 1,35 mmol) y KI (11 mg, 0,07 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (240 mg, 70 %).

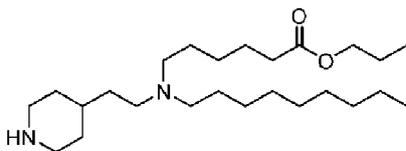
15

UPLC/ELSD: TR = 1,93 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 511,78 para C₃₀H₅₈N₂O₄

20

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,05 (br. m, 4H); 2,80-2,20 (br. m, 10H); 1,85-1,04 (br. m, 38H); 0,92 (t, 6H).

Etapa 2: 6-(Nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)hexanoato de propilo



25

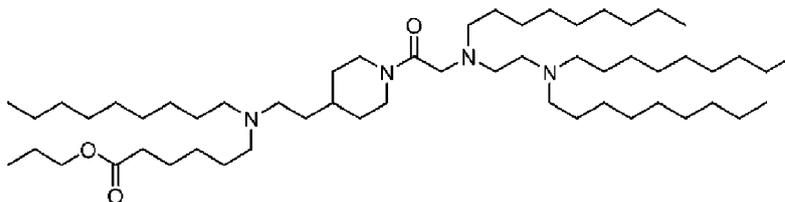
De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 6-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)hexanoato de propilo a partir de 4-(2-(nonil(6-oxo-6-propoxihexil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (240 mg, 0,47 mmol) y TFA (1,8 ml, 23 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (183 mg, 95 %).

30

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 2H); 3,08 (m, 2H); 2,60 (m, 2H); 2,35 (br. m, 8H); 1,95 (br, 1H); 1,75-1,00 (br. m, 29H); 0,92 (m, 6H).

35

Etapa 3: 6-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)hexanoato de propilo



De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 6-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)hexanoato de propilo a partir de 6-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)hexanoato de propilo (141 mg, 0,34 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (188 mg, 0,38 mmol), *i*Pr₂EtN (132 μl, 0,76 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 614 μl, 1,03 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (67 mg, 22 %).

40

UPLC/ELSD: TR = 3,02 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 890,32 para C₅₆H₁₁₂N₄O₃

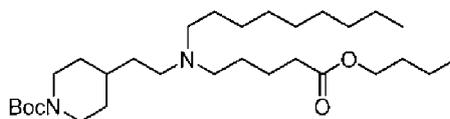
45

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,65-4,13 (br. m, 2H); 4,05 (t, 2H); 3,50-2,81 (br. m, 4H); 2,69-2,18 (br. m, 18H); 1,98-1,02 (br. m, 71H); 0,92 (br. m, 15H).

50

BJ: Compuesto 60: 5-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)pentanoato de butilo

Etapa 1: 4-(2-((5-Butoxi-5-oxopentil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



5

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(2-((5-butoxi-5-oxopentil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (239 mg, 0,67 mmol), 5-bromopentanoato de butilo (192 mg, 0,81 mmol), K_2CO_3 (188 mg, 1,35 mmol) y KI (11 mg, 0,07 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (211 mg, 61 %).

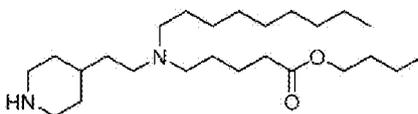
10

UPLC/ELSD: TR = 1,95 min. MS (ES): m/z (MH^+) 511,78 para $C_{30}H_{58}N_2O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,09 (br. m, 4H); 2,70 (br. m, 2H); 2,38 (br. m, 8H); 1,73-1,02 (br. m, 38H); 0,93 (br. m, 6H).

15

Etapa 2: 5-(Nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)pentanoato de butilo



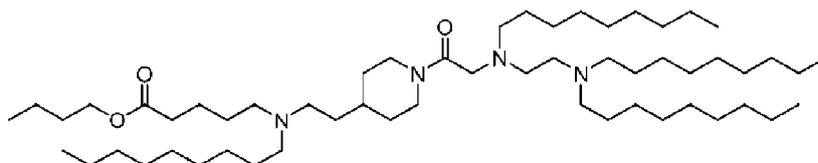
Fórmula química: $C_{25}H_{50}N_2O_2$

Peso molecular: 410,69

20 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 5-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)pentanoato de butilo a partir de 4-(2-((5-butoxi-5-oxopentil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (211 mg, 0,41 mmol) y TFA (1,6 ml, 21 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (169 mg, 99 %).

25 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,09 (t, 2H); 3,07 (m, 2H); 2,60 (m, 2H); 2,37 (br. m, 8H); 1,83 (br, 1H); 1,76-1,04 (br. m, 29H); 0,93 (br. m, 6H).

Etapa 3: 5-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)pentanoato de butilo



30

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 5-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)pentanoato de butilo a partir de 5-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)pentanoato de butilo (141 mg, 0,34 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonylglicina (188 mg, 0,38 mmol), iPr_2EtN (132 μ l, 0,76 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 614 μ l, 1,03 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (46 mg, 15 %). UPLC/ELSD: TR = 3,03 min. MS (ES): m/z (MH^+) 890,32 para $C_{56}H_{112}N_4O_3$

35

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,62-4,13 (br. m, 2H); 4,09 (t, 2H); 3,41-2,84 (br. m, 4H); 2,72-2,25 (br. m, 18H); 1,82-1,02 (br. m, 71H); 0,91 (br. m, 15H).

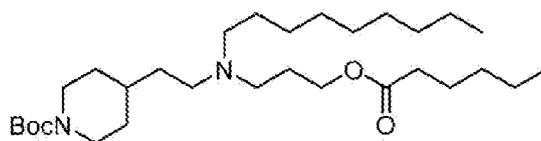
40

BK: Compuesto 61: Hexanoato de 3-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)propilo

Etapa 1: 4-(2-((3-(Hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

45

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{30}H_{58}N_2O_4$

Peso molecular: 510,80

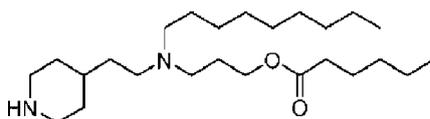
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(2-((3-
 5 (hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(2-
 (nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (239 mg, 0,67 mmol), hexanoato de 3-bromopropilo (192
 mg, 0,81 mmol), K_2CO_3 (188 mg, 1,35 mmol) y KI (11 mg, 0,07 mmol) en MeCN (10 ml). Rendimiento (195 mg,
 57 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,97 min. MS (ES): m/z (MH^+) 511,86 para $C_{30}H_{58}N_2O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,11 (br. m, 4H); 2,69 (m, 2H); 2,56-2,22 (br. m, 8H); 1,76 (m, 2H); 1,65 (m,
 4H); 1,55-1,05 (br. m, 32H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 2: Hexanoato de 3-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)propilo

15

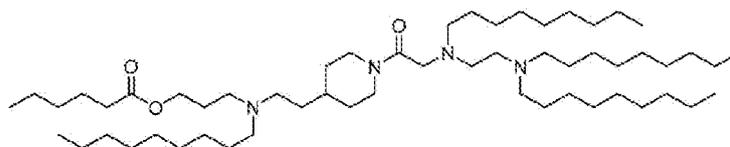


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó hexanoato de 3-(nonil(2-(piperidin-
 4-il)etil)amino)propilo a partir de 4-(2-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-
 20 butilo (195 mg, 0,38 mmol) y TFA (1,5 ml, 19 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (149 mg, 95 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,12 (t, 2H); 3,08 (m, 2H); 2,70-2,22 (br. m, 10H); 2,07 (br, 1H); 1,70 (br. m,
 6H); 1,48-1,00 (br. m, 23H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 3: Hexanoato de 3-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)propilo

25



Fórmula química: $C_{56}H_{112}N_4O_3$

Peso molecular: 889,54

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó hexanoato de 3-((2-(1-(*N*-(2-
 30 (dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)propilo a partir de hexanoato de 3-(nonil(2-
 (piperidin-4-il)etil)amino)propilo (141 mg, 0,34 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (188 mg, 0,38
 mmol), iPr_2EtN (132 μ l, 0,76 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 614 μ l, 1,03 mmol) en THF (10 ml).
 Rendimiento (64 mg, 21 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,02 min. MS (ES): m/z (MH^+) 890,41 para $C_{56}H_{112}N_4O_3$

35

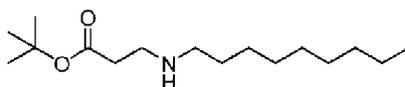
1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,67 (br. m, 4H); 3,42-2,81 (br. m, 3H); 2,73-2,23 (br. m, 19H); 1,87-1,00
 (br. m, 71H); 0,90 (t, 15H).

BL: Compuesto 62: 4-((3-(4-(3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)-3-
 oxopropil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

40

Etapa 1: 3-(Nonilamino)propanoato de *terc*-butilo

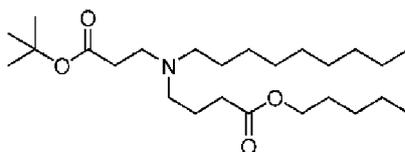
ES 2 913 626 T5



De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 44, se sintetizó 3-(nonilamino)propanoato de *tert*-butilo a partir de clorhidrato de 3-aminopropanoato de *tert*-butilo (2,8 g, 15 mmol), 1-bromononano (3,2 g, 15 mmol), K₂CO₃ (4,3 g, 31 mmol) y KI (256 mg, 1,54 mmol) en MeCN (200 ml). Rendimiento (1,74 g, 42 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 2,86 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,46 (t, 2H); 1,65 (br, 1H); 1,47 (br. m, 11H); 1,29 (br. m, 12H); 0,90 (t, 3H).

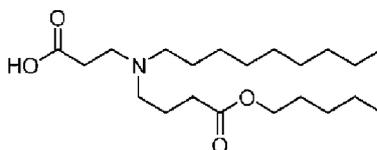
10 Etapa 2: 4-((3-(*tert*-Butoxi)-3-oxopropil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó 4-((3-(*tert*-butoxi)-3-oxopropil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 3-(nonilamino)propanoato de *tert*-butilo (750 mg, 2,76 mmol), 4-bromobutanoato de pentilo (786 mg, 3,31 mmol), K₂CO₃ (764 mg, 5,52 mmol) y KI (46 mg, 0,28 mmol) en MeCN (30 ml). Rendimiento (934 mg, 79 %). UPLC/ELSD: TR = 1,82 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 428,62 para C₂₅H₄₉NO₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 2,74 (t, 2H); 2,50-2,28 (br. m, 8H); 1,76 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,50-1,14 (br. m, 27H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 3: Ácido 3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propanoico

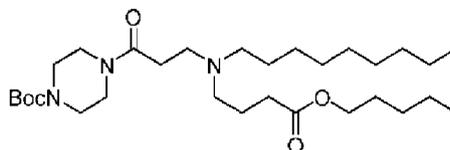


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó ácido 3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propanoico a partir de 4-((3-(*tert*-butoxi)-3-oxopropil)(nonil)amino)butanoato de pentilo (934 mg, 2,18 mmol) y TFA (8,4 ml, 109 mmol) en DCM (10 ml). Rendimiento (793 mg, 98 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,23 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 372,52 para C₂₁H₄₁NO₄

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,10 (t, 2H); 2,88 (t, 2H); 2,70 (br. m, 4H); 2,52 (t, 2H); 2,38 (t, 2H); 1,90 (m, 2H); 1,73-1,49 (br. m, 4H); 1,47-1,17 (br. m, 16H); 0,92 (m, 6H).

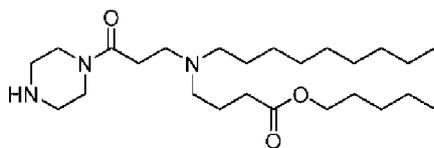
Etapa 4: 4-(3-(Nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de ácido 3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propanoico (793 mg, 2,13 mmol), 1-boc-piperazina (477 mg, 2,56 mmol), *i*Pr₂EtN (0,82 ml, 4,7 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 3,8 ml, 6,4 mmol). Rendimiento (1,15 g, 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,86 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 540,65 para C₃₀H₅₇N₃O₅

Etapa 5: 4-(Nonil(3-oxo-3-(piperazin-1-il)propil)amino)butanoato de pentilo

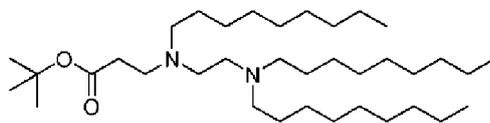


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó 4-(nonil(3-oxo-3-(piperazin-1-il)propil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,15 g, 2,13 mmol) y TFA (8,2 ml, 106 mmol) en DCM (10 ml). Rendimiento (901 mg, 96 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,75 min. MS (ES): m/z (MH^+) 440,47 para $C_{25}H_{49}N_3O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (t, 2H); 3,70-3,40 (br. m, 4H); 2,88 (br. m, 6H); 2,57 (br. m, 6H); 2,36 (t, 2H); 1,83 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,49 (m, 2H); 1,41-1,18 (br. m, 17H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 6: 3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoato de *terc*-butilo



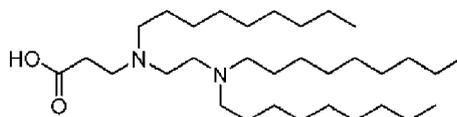
15

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 46, se sintetizó 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoato de *terc*-butilo a partir de 3-(nonilamino)propanoato de *terc*-butilo (1,13 mg, 4,14 mol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (1,65 g, 4,97 mmol), K_2CO_3 (1,15 g, 8,33 mmol) y KI (138 mg, 0,83 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (1,41 g, 60 %).

20

UPLC/ELSD: TR = 2,90 min. MS (ES): m/z (MH^+) 567,79 para $C_{36}H_{74}N_2O_2$ 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,78 (t, 2H); 2,69-2,29 (br. m, 12H); 1,55-1,15 (br. m, 51H); 0,90 (t, 9H).

25 Etapa 7: Ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico a partir de 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoato de *terc*-butilo (1,41 g, 2,49 mmol) y TFA (9,6 ml, 124 mmol) en DCM (10 ml). Rendimiento (924 mg, 73 %).

30

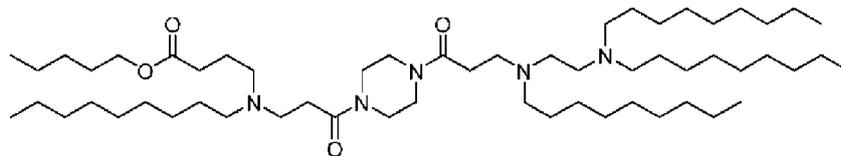
UPLC/ELSD: TR = 2,26 min. MS (ES): m/z (MH^+) 511,78 para $C_{32}H_{66}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,76 (br. m, 6H); 2,61 (br. m, 6H); 2,47 (t, 2H); 1,52 (br. m, 6H); 1,40-1,10 (br. m, 36H); 0,90 (t, 9H).

35

Etapa 8: 4-((3-(4-(3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

40



De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-((3-(4-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(nonil(3-oxo-3-(piperazin-1-il)propil)amino)butanoato de pentilo (268 mg, 0,61 mmol), ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico (343 mg, 0,67 mmol), *i*Pr₂EtN (234 μ l, 1,34 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,09 ml, 1,83 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (243 mg, 43 %).

45

UPLC/ELSD: TR = 2,26 min. MS (ES): m/z (MH^+) 933,10 para $C_{57}H_{113}N_5O_4$ 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,07 (t, 2H); 3,72-3,40 (br. m, 8H); 2,81 (m, 4H); 2,66-2,28 (br. m, 20H); 1,77 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,54-1,08

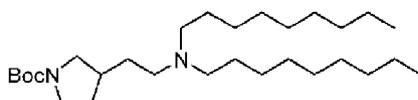
50

ES 2 913 626 T5

(br. m, 60H); 0,90 (t, 15H).

BM: Compuesto 69: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-(2-(dinonilamino)etil)pirrolidina-1-il)etan-1-ona

5 Etapa 1: 3-(2-(Dinonilamino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

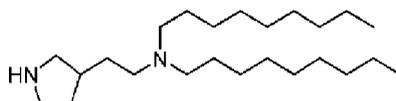


10 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 3-(2-(dinonilamino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 3-(2-aminoetil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,25 g, 5,47 mmol), 1-bromononano (1,13 g, 5,47 mmol), K₂CO₃ (757 mg, 5,47 mmol) y KI (91 mg, 0,55 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (710 mg, 28 %).

15 UPLC/ELSD: TR = 2,23 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 467,74 para C₂₉H₅₅N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,67-3,34 (br. m, 2H); 3,34-2,75 (br. m, 2H); 2,52-1,89 (br. m, 8H); 1,70-1,03 (br. m, 40H); 0,90 (t, 6H).

20 Etapa 2: *N*-Nonil-*N*-(2-(pirrolidina-3-il)etil)nonan-1-amina



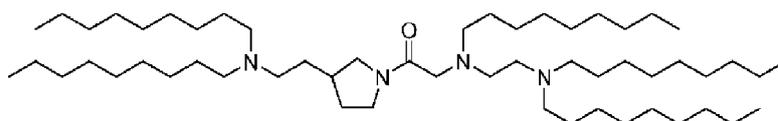
Fórmula química: C₂₄H₅₀NO₂

25 Peso molecular: 366,68

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(2-(pirrolidina-3-il)etil)nonan-1-amina a partir de 3-(2-(dinonilamino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (710 mg, 1,52 mmol) y TFA (5,8 ml, 76 mmol) en DCM (6 ml). Rendimiento (541 mg, 97 %).

30 UPLC/ELSD: TR = 1,23 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 367,70 para C₂₄H₅₀N₂ ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,32-1,90 (br. m, 11H); 1,66-1,14 (br. m, 33H); 0,90 (t, 6H).

35 Etapa 3: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-(2-(dinonilamino)etil)pirrolidina-1-il)etan-1-ona

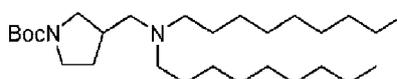


40 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-(2-(dinonilamino)etil)pirrolidina-1-il)etan-1-ona a partir de *N*-nonil-*N*-(2-(pirrolidina-3-il)etil)nonan-1-amina (250 mg, 0,68 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (308 mg, 0,62 mmol), *i*Pr₂EtN (0,24 ml, 1,4 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,1 ml, 1,9 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (100 mg, 19 %). UPLC/ELSD: TR = 3,17 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 846,20 para C₃₃H₁₁₂N₄O

45 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,82-2,90 (br. m, 6H); 2,74-1,94 (br. m, 16H); 1,83-1,00 (br. m, 75H); 0,90 (t, 15H).

BN: Compuesto 70: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-((dinonilamino)metil)pirrolidina-1-il)etan-1-ona

50 Etapa 1: 3-((Dinonilamino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



55 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 3-((dinonilamino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 3-(aminometil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,0 g, 10,0 mmol), 1-bromononano (2,07 g, 10,0 mmol), K₂CO₃ (1,39 g, 10,0 mmol) y KI (166 mg, 1,00 mmol) en MeCN (100 ml).

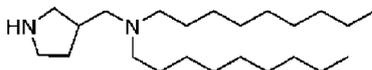
ES 2 913 626 T5

Rendimiento (1,16 g, 26 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,17 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 453,72 para C₂₉H₅₅N₂O₂

5 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,72-2,90 (br. m, 4H); 2,36 (br. m, 6H); 2,04-1,04 (br. m, 40H); 0,90 (t, 6H).

Etapla 2: *N*-Nonil-*N*-(pirrolidin-3-ilmetil)nonan-1-amina



10

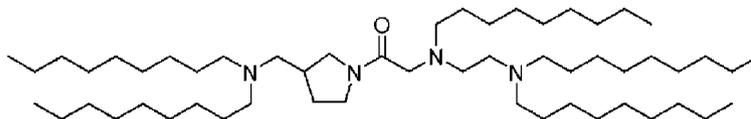
De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(pirrolidin-3-ilmetil)nonan-1-amina a partir de 3-((dinonilamino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,16 g, 2,56 mmol) y TFA (9,8 ml, 128 mmol) en DCM (10 ml). Rendimiento (900 mg, 99 %).

15 UPLC/ELSD: TR = 1,17 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 353,66 para C₂₃H₄₈N₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,33-2,23 (br. m, 10H); 1,99 (br, 1H); 1,65-1,00 (br. m, 31H); 0,90 (t, 6H).

Etapla 3: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-((dinonilamino)metil)pirrolidin-1-il)etan-1-ona

20

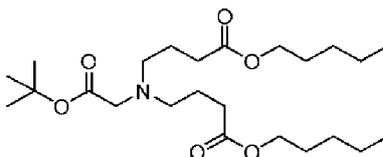


25 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-((dinonilamino)metil)pirrolidin-1-il)etan-1-ona a partir de *N*-nonil-*N*-(pirrolidin-3-ilmetil)nonan-1-amina (200 mg, 0,57 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (256 mg, 0,52 mmol), *i*Pr₂EtN (0,198 ml, 1,14 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,92 ml, 1,56 mmol). Rendimiento (114 mg, 27 %). UPLC/ELSD: TR = 3,22 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 832,26 para C₅₄H₁₁₀N₄O

30 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,79-2,96 (br. m, 6H); 2,75-2,18 (br. m, 16H); 2,12-1,01 (br. m, 73H); 0,90 (t, 15H).

BO: Compuesto 72: 4,4'-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)azanodiil)dibutirato de dipentilo

35 Etapla 1: 4,4'-((2-(*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)azanodiil)dibutirato de dipentilo



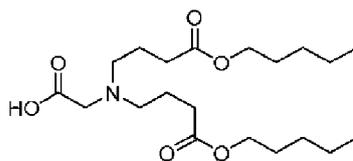
40 A una mezcla de *tert*-butilglicina (200 mg, 1,52 mmol) y 4-bromobutanoato de pentilo (759 mg, 3,2 mmol) en MeCN (30 ml) se añadió K₂CO₃ (637 mg, 4,6 mmol) y KI (51 mg, 0,30 mmol) y la mezcla se dejó agitar a 82 °C durante 12 horas. La suspensión se enfrió a TA, se filtró sobre una capa de celite enjuagando con EtOAc y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-20 %/hexanos) proporcionó 4,4'-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)azanodiil)dibutirato de dipentilo (230 mg, 34 %).

45 UPLC/ELSD: TR = 1,54 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 444,61 para C₂₄H₄₅NO₆

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,07 (t, 4H); 3,22 (s, 2H); 2,63 (t, 4H); 2,36 (t, 4H); 1,77 (m, 4H); 1,64 (m, 4H); 1,47 (s, 9H); 1,35 (br. m, 8H); 0,93 (t, 6H).

50 Etapla 2: Bis(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina

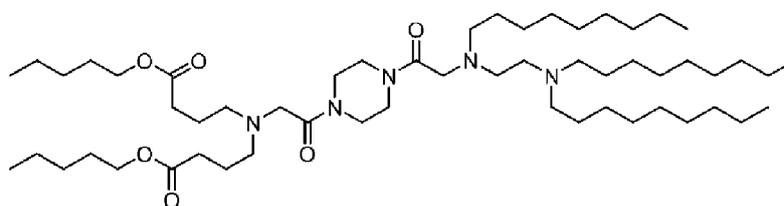
ES 2 913 626 T5



De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó bis(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina a partir de 4,4'-((2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)azanodiil)dibutirato de dipentilo (230 mg, 0,52 mmol) y TFA (2 ml, 26 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (200 mg, 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,80 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 388,51 para C₂₀H₃₇NO₆ ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,05 (t, 4H); 3,10 (s, 2H); 2,58 (m, 4H); 2,32 (t, 4H); 1,80 (br. m, 4H); 1,63 (br. m, 4H); 1,32 (br. m, 8H); 0,92 (t, 6H).

Etapa 3: 4,4'-((2-(4-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)azanodiil)dibutirato de dipentilo



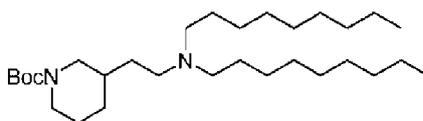
De la misma manera que en la Etapa 7 para el Compuesto 44, se sintetizó 4,4'-((2-(4-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)azanodiil)dibutirato de dipentilo a partir de bis(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina (200 mg, 0,52 mmol), 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(piperazin-1-il)etan-1-ona (265 mg, 0,47 mmol) *i*Pr₂EtN (180 μl, 1,03 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 838 μl, 1,41 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (250 mg, 57 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,85 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 935,26 para C₃₃H₁₀₇N₃O₆

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 4H); 3,78-3,46 (br. m, 8H); 3,34 (br. m, 4H); 2,72-2,24 (br. m, 18H); 1,78 (m, 4H); 1,64 (m, 4H); 1,50-1,16 (br. m, 50H); 0,91 (m, 15H).

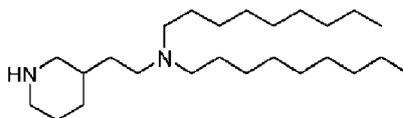
BP: Compuesto 73: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-(2-(dinonilamino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona

Etapa 1: 3-(2-(Dinonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 3-(2-(dinonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-(2-aminoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,00 g, 4,38 mmol), 1-bromononano (907 mg, 4,38 mmol), K₂CO₃ (610 mg, 4,38 mmol) y KI (73 mg, 0,44 mmol) en MeCN (50 ml). Rendimiento (514 mg, 24 %). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,12-2,24 (br. m, 10H); 1,92-1,00 (br. m, 44H); 0,90 (t, 6H).

N-Nonil-*N*-(2-(piperidin-3-il)etil)nonan-1-amina

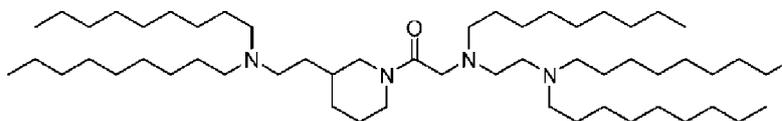


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(2-(piperidin-3-il)etil)nonan-1-amina a partir de 3-(2-(dinonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (514 mg, 1,07 mmol) y TFA (4,1 ml, 53 mmol) en DCM (4 ml). Rendimiento (378 mg, 93 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,27 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 381,62 para C₂₅H₅₂N₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,12-1,95 (br. m, 11H); 1,93-0,98 (br. m, 35H); 0,90 (t, 6H).

2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-(2-(dinonilamino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona



5

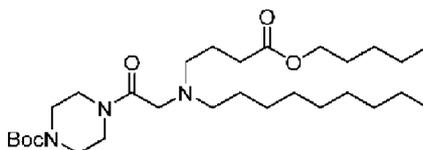
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(3-(2-(dinonilamino)etil)piperidin-1-il)etan-1-ona a partir de *N*-nonil-*N*-(2-(piperidin-3-il)etil)nonan-1-amina (250 mg, 0,66 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (297 mg, 0,60 mmol), *i*Pr₂EtN (0,23 ml, 1,3 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,06 ml, 1,8 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (136 mg, 27 %). UPLC/ELSD: TR = 3,22 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 860,39 para C₅₆H₁₁₄N₄O

10

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,56-4,01 (br. m, 2H); 3,48-2,20 (br. m, 20H); 1,99-1,00 (br. m, 77H); 0,90 (t, 15H).

15

BQ: Compuesto 71: 4-(Nonil(2-(4-(*N*-nonil-*N*-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)glicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)amino)butanoato de pentilo Etapa 1: 4-(*N*-Nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



20

De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(*N*-nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de *N*-nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicina (480 mg, 1,34 mmol), 1-bocpiperazina (275 mg, 1,48 mmol), *i*Pr₂EtN (5,14 μl, 2,95 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 2,40 ml, 4,03 mmol) en THF (15 ml). Rendimiento (700 mg, 99 %).

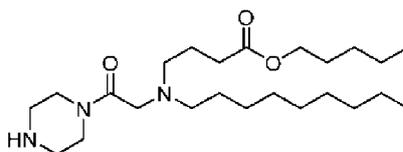
25

UPLC/ELSD: TR = 1,90 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 526,79 para C₂₉H₅₅N₃O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,70-3,10 (br. m, 14H); 2,45 (t, 2H); 2,13 (br. m, 2H); 2,00-1,00 (br. m, 29H); 0,91 (br. m, 6H).

30

Etapa 2: 4-(Nonil(2-oxo-2-(piperazin-1-il)etil)amino)butanoato de pentilo



35

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(nonil(2-oxo-2-(piperazin-1-il)etil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(*N*-nonil-*N*-(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)glicil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (700 mg, 1,33 mmol) y TFA (5,1 ml, 66,6 mmol) en DCM (5 ml). Rendimiento (560 mg, 99 %).

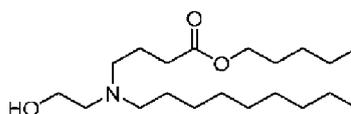
40

UPLC/ELSD: TR = 0,77 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 426,65 para C₂₄H₄₇N₃O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,07 (t, 2H); 3,59 (br. m, 4H); 3,28 (s, 2H); 2,86 (br. m, 4H); 2,50 (br. m, 4H); 2,33 (t, 2H); 2,05 (br, 1H); 1,77 (m, 2H); 1,63 (m, 2H); 1,30 (br. m, 18H); 0,91 (m, 6H).

45

Etapa 3: 4-((2-Hidroxietil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



50

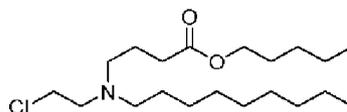
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-((2-hidroxietil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 2-(nonilamino)etan-1-ol (350 mg, 1,87 mmol), 4-

bromobutanoato de pentilo (487 mg, 2,06 mmol), K_2CO_3 (572 mg, 4,11 mmol) y KI (31 mg, 0,19 mmol) en MeCN (40 ml). Rendimiento (427 mg, 66 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,25 min. MS (ES): m/z (MH^+) 344,55 para $C_{20}H_{41}NO_3$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,09 (t, 2H); 3,61 (t, 2H); 2,67 (t, 2H); 2,56 (m, 4H); 2,36 (t, 2H); 1,85 (m, 2H); 1,65 (m, 2H); 1,49 (m, 2H); 1,42-1,18 (br. m, 16H); 0,91 (m, 6H).

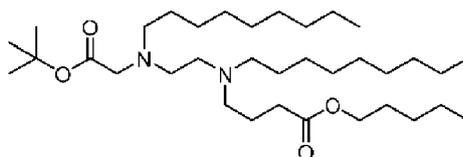
Etapa 4: 4-((2-Cloroetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



De la misma manera que en la Etapa 2 para el Compuesto 18, se sintetizó 4-((2-cloroetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-((2-hidroxi)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo (427 mg, 1,27 mmol), cloruro de metanosulfonilo (120 μ l, 1,55 mmol) y trimetilamina (225 μ l, 1,62 mmol) en DCM (8 ml). Rendimiento (448 mg, 99 %). UPLC/ELSD: TR = 1,52 min. MS (ES): m/z (MH^+) 362,51 para $C_{20}H_{40}ClNO_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,07-3,71 (br. m, 4H); 3,45-2,76 (br. m, 6H); 2,30 (br. m, 2H); 2,24-1,05 (br. m, 22H); 0,82 (br. m, 6H).

Etapa 5: 4-((2-((2-*tert*-Butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

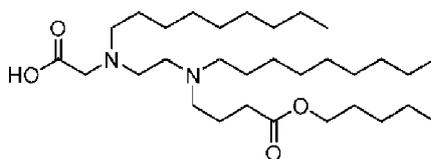


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 46, se sintetizó 4((2-((2-*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de nonilglicinato de *tert*-butilo (338 mg, 1,31 mmol), 4-((2-cloroetil)(nonil)amino)butanoato de pentilo (527 mg, 1,46 mmol), K_2CO_3 (402 mg, 2,89 mmol) y KI (22 mg, 0,13 mmol) en MeCN (30 ml). Rendimiento (200 mg, 26 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,03 min. MS (ES): m/z (MH^+) 583,95 para $C_{35}H_{70}N_2O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,07 (t, 2H); 3,27 (s, 2H); 2,76-2,24 (br. m, 12H); 1,85-1,10 (br. m, 45H); 0,90 (m, 9H).

Etapa 6: *N*-Nonil-*N*-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)glicina



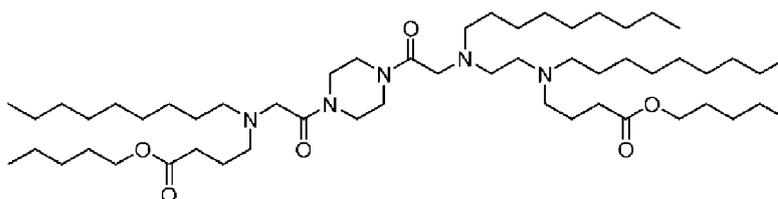
De la misma manera que en la Etapa 5 para el Compuesto 46, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)glicina a partir de 4((2-((2-*tert*-butoxi)-2-oxoetil)(nonil)amino)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo (200 mg, 0,34 mmol) y TFA (1,31 ml, 17,2 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (160 mg, 89 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,39 min. MS (ES): m/z (MH^+) 527,77 para $C_{31}H_{62}N_2O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,09 (t, 2H); 3,27 (s, 2H); 2,94-2,74 (br. m, 6H); 2,61 (t, 2H); 2,37 (m, 2H); 2,15-1,90 (br. m, 2H); 1,80-1,05 (br. m, 36H); 0,90 (m, 9H).

Etapa 7: 4-(Nonil(2-(4-(*N*-nonil-*N*-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)glicil)piperazin-1-il)-2-oxoetil)amino)butanoato de pentilo

ES 2 913 626 T5



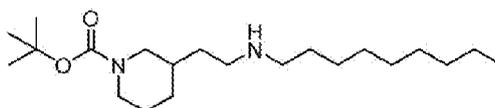
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(nonil(2-(4-(*N*-nonil-*N*-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)glicil) piperazin-1-il)-2-oxoetil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(nonil(2-oxo-2-(piperazin-1-il)etil)amino)butanoato de pentilo (142 mg, 0,33 mmol), *N*-nonil-*N*-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)glicina (160 mg, 0,30 mmol), *i*Pr₂EtN (116 µl, 0,67 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 542 µl, 0,91 mmol). Rendimiento (53 mg, 19 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,79 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 935,34 para C₃₃H₁₀₇N₃O₆

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 4H); 3,78-3,53 (br. m, 8H); 3,32 (br. m, 4H); 2,76-2,24 (br. m, 18H); 1,87-1,10 (br. m, 58H); 0,91 (br. m, 15H).

BR: Compuesto 80: 4-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-3-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

Etapa 1: 3-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: C₂₁H₄₂N₂O₂

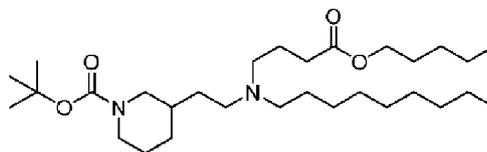
Peso molecular: 354,58

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 3-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-(2-aminoetil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,00 g, 4,38 mmol), 1-bromononano (907 mg, 4,38 mmol), K₂CO₃ (610 mg, 4,38 mmol) y KI (73 mg, 0,44 mmol) en MeCN (50 ml). Rendimiento (474 mg, 31 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,23 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 355,58 para C₂₁H₄₂N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,88 (br, 2H); 3,00-2,43 (br. m, 6H); 1,92-0,97 (br. m, 30H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 2: 3-(2-(Nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

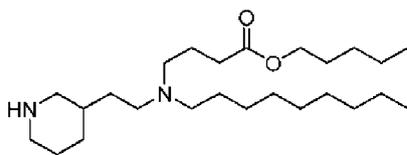


De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 3-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (474 mg, 1,34 mmol), 4-bromobutanoato de pentilo (380 mg, 1,6 mmol), K₂CO₃ (223 mg, 1,60 mmol) y KI (44 mg, 0,27 mmol) en MeCN (15 ml). Rendimiento (492 mg, 72 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,09 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 511,70 para C₃₀H₅₈N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,90 (br. m, 2H); 2,87-2,22 (br. m, 10H); 1,91-1,00 (br. m, 38H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 3: 4-(Nonil(2-(piperidin-3-il)etil)amino)butanoato de pentilo

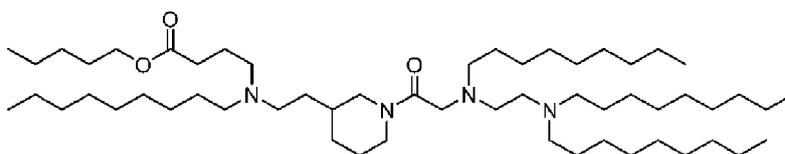


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(nonil(2-(piperidin-3-
 5 il)etil)amino)butanoato de pentilo a partir de 3-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)piperidina-1-
 carboxilato de *tert*-butilo (492 mg, 0,96 mmol) y TFA (3,7 ml, 48 mmol) en DCM (4 ml). Rendimiento (390 mg,
 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,85 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 411,72 para C₂₅H₅₀N₂O₂ ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm
 4,08 (t, 2H); 3,03 (br. m, 2H); 2,66-2,18 (br. m, 10H); 2,18-0,98 (br. m, 30H); 0,91 (m, 6H).

10

Etapa 4: 4-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-3-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-
 15 *N*-nonilglicil)piperidin-3-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(nonil(2-(piperidin-3-
 il)etil)amino)butanoato de pentilo (250 mg, 0,61 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (275 mg, 0,55
 mmol), *i*Pr₂EtN (0,21 ml, 1,2 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,98 ml, 1,7 mmol). Rendimiento (96
 mg, 20 %).

20

UPLC/ELSD: TR = 3,08 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 890,32 para C₅₆H₁₁₂N₄O₃

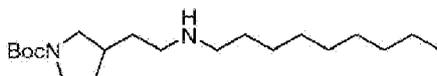
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,55-4,01 (br. m, 4H); 3,48-2,21 (br. m, 22H); 1,95-1,00 (br. m, 71H); 0,90
 (m, 15H).

25

BS: Compuesto 81: 4-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)pirrolidina-3-il)etil)(nonil)amino)butanoato de
 pentilo

30

Etapa 1: 3-(2-(Nonilamino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



Fórmula química: C₂₀H₄₀N₂O₂

Peso molecular: 340,55

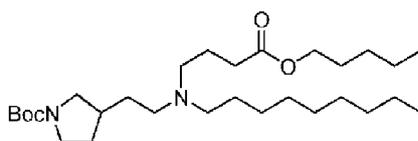
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 3-(2-(nonilamino)etil)pirrolidina-1-
 35 carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-(2-aminoetil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,25 g, 5,47 mmol),
 1-bromononano (1,13 g, 5,47 mmol), K₂CO₃ (757 mg, 5,47 mmol) y KI (91 mg, 0,55 mmol) en MeCN (100 ml).
 Rendimiento (420 mg, 23 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,08 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 341,52 para C₂₀H₄₀N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,68-1,91 (br. m, 9H); 1,71-1,12 (br. m, 28H); 0,90 (t, 3H).

40

Etapa 2: 3-(2-(Nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



45

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 3-(2-(nonil(4-oxo-4-
 (pentiloxi)butil)amino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-(2-(nonilamino)etil)pirrolidina-1-

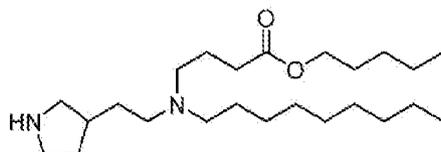
ES 2 913 626 T5

carboxilato de *terc*-butilo (420 mg, 1,23 mmol), 4-bromobutanoato de pentilo (321 mg, 1,36 mmol), K₂CO₃ (187 mg, 1,36 mmol) y KI (41 mg, 0,25 mmol). Rendimiento (390 mg, 64 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,98 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 497,67 para C₂₉H₅₆N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,50 (br. m, 2H); 3,34-2,76 (br. m, 2H); 2,52-1,87 (br. m, 10H); 1,87-1,02 (br. m, 34H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 3: 4-(Nonil(2-(pirrolidin-3-il)etil)amino)butanoato de pentilo



Fórmula química: C₂₄H₄₈N₂O₂

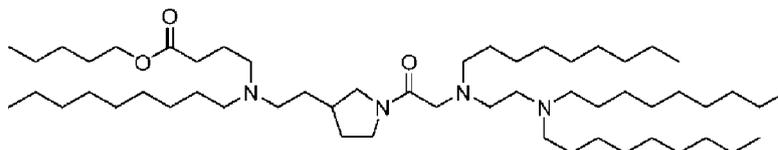
Peso molecular: 396,66

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(nonil(2-(pirrolidin-3-il)etil)amino)butanoato de pentilo a partir de 3-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (390 mg, 0,79 mmol) y TFA (3,0 ml, 40 mmol) en DCM (3 ml). Rendimiento (298 mg, 96 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,81 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 397,62 para C₂₄H₄₈N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,20-2,82 (br. m, 4H); 2,58-2,24 (br. m, 8H); 2,11-1,11 (br. m, 28H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 4: 4-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)pirrolidin-3-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



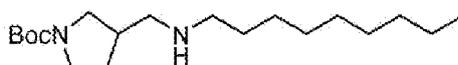
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)pirrolidin-3-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(nonil(2-(pirrolidin-3-il)etil)amino)butanoato de pentilo (202 mg, 0,51 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (230 mg, 0,46 mmol), *i*Pr₂EtN (0,177 ml, 1,0 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,82 ml, 1,4 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (109 mg, 27 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,06 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 876,30 para C₃₃H₁₁₀N₄O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,83-2,85 (br. m, 7H); 2,78-1,88 (br. m, 19H); 1,83-1,14 (br. m, 67H); 0,90 (m, 15H).

BT: Compuesto 82: 4-(((1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)pirrolidin-3-il)metil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

Etapa 1: 3-((Nonilamino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Fórmula química: C₁₉H₃₈N₂O₂

Peso molecular: 326,53

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 3-((nonilamino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 3-(aminometil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,0 g, 10,0 mmol), 1-bromononano (2,07 g, 10,0 mmol), K₂CO₃ (1,39 g, 10,0 mmol) y KI (166 mg, 1,00 mmol) en MeCN (100 ml).

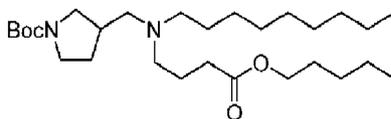
ES 2 913 626 T5

Rendimiento (1,53 g, 47 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,92 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 327,54 para C₁₉H₃₈N₂O₂

5 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,69-1,79 (br. m, 9H); 1,74-1,13 (br. m, 26H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 2: 3-((Nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)metilpirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



10

De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 3-((nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 3-((nonilamino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (500 mg, 1,53 mmol), 4-bromobutanoato de pentilo (400 mg, 1,68 mmol), K₂CO₃ (423 mg, 3,07 mmol) y KI (51 mg, 0,31 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (233 mg, 32 %).

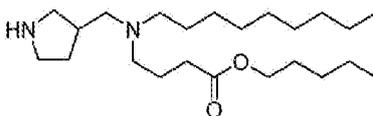
15

UPLC/ELSD: TR = 1,85 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 483,65 para C₂₈H₅₄N₂O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,59-2,91 (br. m, 4H); 2,49-1,83 (br. m, 10H); 1,83-1,13 (br. m, 32H); 0,91 (m, 6H).

20

Etapa 3: 4-(Nonil(pirrolidin-3-ilmetil)amino)butanoato de pentilo



Fórmula química: C₂₃H₄₆N₂O₂

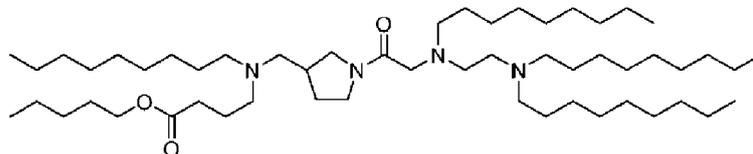
Peso molecular: 382,63

25 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(nonil(pirrolidin-3-ilmetil)amino)butanoato de pentilo a partir de 3-((nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)metil)pirrolidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (233 mg, 0,48 mmol) y TFA (1,84 ml, 24 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (179 mg, 97 %).

30 UPLC/ELSD: TR = 0,70 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 383,51 para C₂₃H₄₆N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,11-2,81 (br. m, 3H); 2,67-1,51 (br. m, 16H); 1,51-1,03 (br. m, 19H); 0,91 (m, 6H).

35 Etapa 4: 4-(((1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)pirrolidin-3-il)metil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



40 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(((1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)pirrolidin-3-il)metil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(nonil(pirrolidin-3-ilmetil)amino)butanoato de pentilo (179 mg, 0,47 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (211 mg, 0,43 mmol), *i*Pr₂EtN (163 μl, 0,95 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 0,76 ml, 1,1 mmol). Rendimiento (88 mg, 24 %).

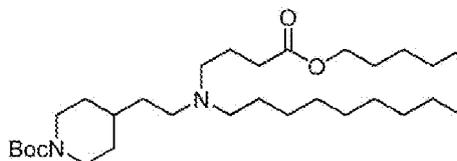
45 UPLC/ELSD: TR = 3,05 min. MS (ES): m/z (MH⁺) 862,28 para C₃₄H₁₀₈N₄O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,76-2,17 (br. m, 24H); 2,12-1,05 (br. m, 67H); 0,90 (m, 15H).

50 BU: Compuesto 83: 4-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

ES 2 913 626 T5

Etapa 1: 4-(2-(Nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Fórmula química: $C_{30}H_{58}N_2O_4$

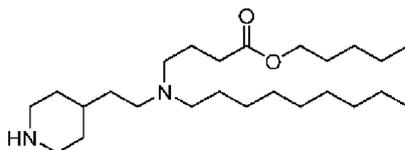
Peso molecular: 510,80

5 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(2-(nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(2-(nonilamino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 1,41 mmol), 4-bromobutanoato de pentilo (368 mg, 1,55 mmol), K_2CO_3 (390 mg, 2,82 mmol) y KI (23 mg, 0,14 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (487 mg, 68 %).

10 UPLC/ELSD: TR = 2,03 min. MS (ES): m/z (MH^+) 511,57 para $C_{30}H_{58}N_2O_4$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (m, 4H); 2,69 (m, 2H); 2,51-2,25 (br. m, 8H); 1,83-1,55 (br. m, 6H); 1,53-1,02 (br. m, 32H); 0,91 (m, 6H).

15 Etapa 2: 4-(Nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)butanoato de pentilo

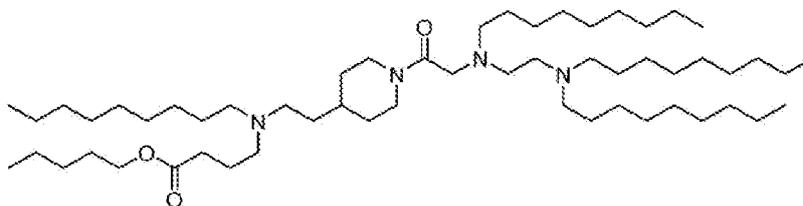


20 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(2-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)etil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (487 mg, 0,953 mmol) y TFA (3,6 ml, 48 mmol) en DCM (4 ml). Rendimiento (386 mg, 98 %).

25 UPLC/ELSD: TR = 0,87 min. MS (ES): m/z (MH^+) 411,43 para $C_{25}H_{50}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (t, 2H); 3,07 (m, 2H); 2,60 (m, 2H); 2,50-2,28 (br. m, 8H); 2,03 (br, 1H); 1,86-1,55 (br. m, 6H); 1,52-1,02 (br. m, 23H); 0,91 (m, 6H).

30 Etapa 3: 4-((2-(1-(*N*-(2-(Dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



Fórmula química: $C_{56}H_{112}N_4O_3$

Peso molecular: 889,54

35 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-((2-(1-(*N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicil)piperidin-4-il)etil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(nonil(2-(piperidin-4-il)etil)amino)butanoato de pentilo (351 mg, 0,855 mmol), *N*-(2-(dinonilamino)etil)-*N*-nonilglicina (467 mg, 0,941 mmol), iPr_2EtN (328 μ l, 1,88 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,53 ml, 2,56 mmol) en THF (15 ml). Rendimiento (192 mg, 25 %).

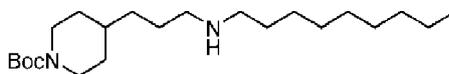
40 UPLC/ELSD: TR = 3,00 min. MS (ES): m/z (MH^+) 890,13 para $C_{56}H_{112}N_4O_3$ 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,61-4,14 (br. m, 2H); 4,08 (t, 2H); 3,40-2,24 (br. m, 22H); 1,86-0,99 (br. m, 71H); 0,90 (m, 15H).

BV: Compuesto 84: 4-((3-(1-(3-(2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperidin-4-

il)propil)(nonil)amino)butanoato de pentilo

Etapa 1: 4-(3-(Nonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

5



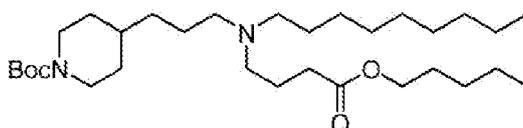
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 4-(3-(nonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(3-aminopropil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (2,50 g, 10,3 mmol), 1-bromononano (2,14 g, 10,3 mmol), K_2CO_3 (2,85 g, 20,6 mmol) y KI (171 mg, 0,10 mmol) en MeCN (200 ml). Rendimiento (1,27 g, 33 %).

10

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (m, 2H); 2,69 (br. m, 6H); 1,79-0,98 (br. m, 32H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 2: 4-(3-(Nonil(4-oxo-4-pentiloxi)butil)amino)propil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

15



Fórmula química: $C_{33}H_{60}N_2O_4$

Peso molecular: 524,83

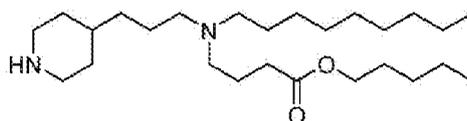
De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo a partir de 4-(3-(nonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (500 mg, 1,36 mmol), 4-bromobutanoato de pentilo (354 mg, 1,49 mmol), K_2CO_3 (375 mg, 2,71 mmol) y KI (23 mg, 0,14 mmol) en MeCN (20 ml). Rendimiento (624 mg, 88 %).

20

UPLC/ELSD: TR = 2,12 min. MS (ES): m/z (MH^+) 525,60 para $C_{31}H_{60}N_2O_4$ 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (br. m, 4H); 2,69 (m, 2H); 2,38 (br. m, 8H); 1,85-1,55 (br. m, 6H); 1,54-1,00 (br. m, 34H); 0,91 (m, 6H).

25

Etapa 3: 4-(Nonil(3-(piperidin-4-il)propil)amino)butanoato de pentilo



Fórmula química: $C_{26}H_{52}N_2O_2$

Peso molecular: 424,71

De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó 4-(nonil(3-(piperidin-4-il)propil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-(3-(nonil(4-oxo-4-(pentiloxi)butil)amino)propil)piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (624 mg, 1,19 mmol) y TFA (4,5 ml, 60 mmol) en DCM (5 ml). Rendimiento (467 mg, 92 %).

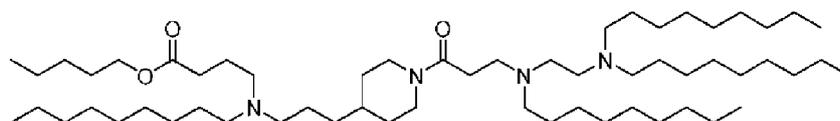
35

UPLC/ELSD: TR = 0,94 min. MS (ES): m/z (MH^+) 424,62 para $C_{26}H_{52}N_2O_2$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (t, 2H); 3,16 (m, 2H); 2,65 (m, 2H); 2,39 (br. m, 8H); 1,84-1,57 (br. m, 6H); 1,52-1,04 (br. m, 26H); 0,91 (m, 6H).

40

Etapa 4: 4-((3-(1-(3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperidin-4-il)propil)(nonil)amino)butanoato de pentilo



45

De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-((3-(1-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperidin-4-il)propil)(nonil)amino)butanoato de pentilo a partir de 4-

ES 2 913 626 T5

(nonil(3-(piperidin-4-il)propil)amino)butanoato de pentilo (259 mg, 0,61 mmol), ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico (343 mg, 0,67 mmol), *i*Pr₂EtN (234 µl, 1,34 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,09 ml, 1,83 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (270 mg, 48 %).

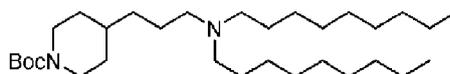
5 UPLC/ELSD: TR = 2,85 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 918,18 para C₅₈H₁₁₆N₄O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,61 (m, 1H); 4,08 (t, 2H); 4,08 (m, 1H); 3,08-2,72 (br. m, 4H); 2,63-2,26 (br. m, 20H); 1,87-1,57 (br. m, 6H); 1,54-1,00 (br. m, 67H); 0,90 (m, 15H).

10 BW: Compuesto 85: 3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(3-(dinonilamino)propil)piperidin-1-il)propan-1-ona

Etapa 1: 4-(3-(Dinonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

15



De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 49, se sintetizó 4-(3-(dinonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(3-aminopropil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (2,50 g, 10,3 mmol), 1-bromononano (2,14 g, 10,3 mmol), K₂CO₃ (2,85 g, 20,6 mmol) y KI (171 mg, 0,10 mmol) en MeCN (200 ml). Rendimiento (1,03 g, 20 %).

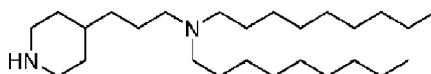
20

UPLC/ELSD: TR = 2,46 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 495,66 para C₃₁H₆₂N₂O₂

25 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,09 (br. m, 2H); 2,69 (br. m, 2H); 2,39 (br. m, 6H); 1,75-1,00 (br. m, 46H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 2: *N*-Nonil-*N*-(3-(piperidin-4-il)propil)nonan-1-amina

30

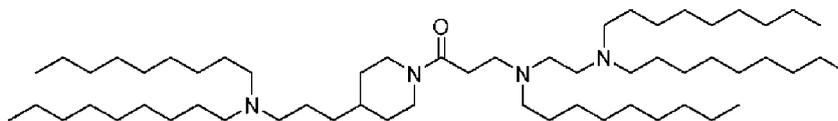


De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó *N*-nonil-*N*-(3-(piperidin-4-il)propil)nonan-1-amina a partir de 4-(3-(dinonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,03 g, 2,08 mmol) y TFA (8,0 ml, 104 mmol) en DCM (10 ml). Rendimiento (778 mg, 95 %).

35 UPLC/ELSD: TR = 1,31 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 395,61 para C₂₆H₃₄N₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,18-2,50 (br. m, 4H); 2,40 (br. m, 6H); 1,70 (m, 2H); 1,58-1,03 (br. m, 36H); 0,90 (t, 6H).

40 Etapa 3: 3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(3-(dinonilamino)propil)piperidin-1-il)propan-1-ona



45 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)-1-(4-(3-(dinonilamino)propil)piperidin-1-il)propan-1-ona a partir de *N*-nonil-*N*-(3-(piperidin-4-il)propil)nonan-1-amina (247 mg, 0,63 mmol), ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico (352 mg, 0,69 mmol), *i*Pr₂EtN (240 µl, 1,4 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 1,1 ml, 1,9 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (293 mg, 53 %).

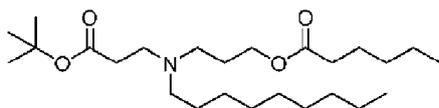
50 UPLC/ELSD: TR = 3,01 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 888,08 para C₅₈H₁₁₈N₄O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,61 (m, 1H); 3,86 (m, 1H); 2,99 (m, 1H); 2,82 (m, 2H); 2,61-2,29 (br. m, 19H); 1,75 (m, 2H); 1,60-1,00 (br. m, 77H); 0,89 (t, 15H).

55 BX: Compuesto 86: Hexanoato de 3-((3-(4-(3-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)(nonil)amino)propilo

Etapa 1: Hexanoato de 3-((3-(*tert*-butoxi)-3-oxopropil)(nonil)amino)propilo

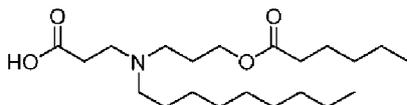
ES 2 913 626 T5



5 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 44, se sintetizó heptanoato de 2-((3-(*tert*-butoxi)-3-oxopropil)(nonil)amino)etilo a partir de 3-(nonilamino)propanoato de *tert*-butilo (750 mg, 2,76 mmol), hexanoato de 3-bromopropilo (786 mg, 3,32 mmol), K₂CO₃ (764 mg, 5,53 mmol) y KI (46 mg, 0,28 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (661 mg, 56 %).

10 UPLC/ELSD: TR = 1,80 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 428,49 para C₂₅H₄₉NO₄ ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,12 (t, 2H); 2,73 (t, 2H); 2,56-2,24 (br. m, 8H); 1,77 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,55-1,10 (br. m, 27H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 2: Ácido 3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propanoico

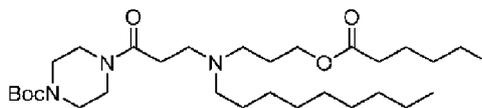


15 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 44, se sintetizó ácido 3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propanoico a partir de hexanoato de 3-((3-(*tert*-butoxi)-3-oxopropil)(nonil)amino)propilo (661 mg, 1,55 mmol) y TFA (5,9 ml, 77 mmol) en DCM (6 ml). Rendimiento (556 mg, 97 %).

20 UPLC/ELSD: TR = 1,14 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 372,31 para C₂₁H₄₁NO₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,13 (t, 2H); 2,84 (t, 2H); 2,72 (t, 2H); 2,62 (t, 2H); 2,46 (t, 2H); 2,31 (t, 2H); 1,90 (m, 2H); 1,72-1,10 (br. m, 20H); 0,90 (M, 6H).

25 Etapa 3: 4-(3-((3-(Hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo

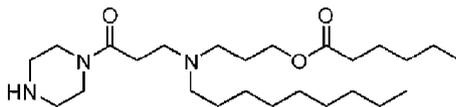


30 De la misma manera que en la Etapa 3 para el Compuesto 11, se sintetizó 4-(3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de ácido 3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propanoico (570 mg, 1,49 mmol), 1-boc-piperazina (334 mg, 1,80 mmol), *i*Pr₂EtN (573 μl, 3,29 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 2,67 ml, 4,49 mmol) en THF (20 ml). Rendimiento (635 mg, 79 %).

35 UPLC/ELSD: TR = 1,85 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 540,52 para C₃₀H₃₇N₃O₅

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,12 (t, 2H); 3,60 (m, 2H); 3,46 (br. m, 6H); 2,80 (m, 2H); 2,58-2,37 (br. m, 6H); 2,30 (t, 2H); 1,78 (m, 2H); 1,63 (m, 2H); 1,54-1,10 (br. m, 27H); 0,90 (m, 6H).

40 Etapa 4: Hexanoato de 3-(nonil(3-oxo-3-(piperazin-1-il)propil)amino)propilo



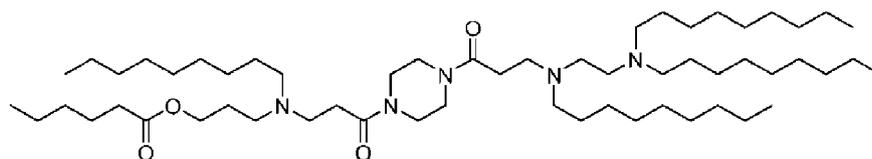
45 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó hexanoato de 3-(nonil(3-oxo-3-(piperazin-1-il)propil)amino)propilo a partir de 4-(3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propanoil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (635 mg, 1,18 mmol) y TFA (4,5 ml, 59 mmol) en DCM (5 ml). Rendimiento (510 mg, 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,72 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 440,47 para C₂₅H₄₉N₃O₃

50

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,12 (t, 2H); 3,60 (m, 2H); 3,46 (m, 2H); 2,85 (br. m, 6H); 2,49 (br. m, 6H); 2,30 (t, 2H); 1,80 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,52-1,10 (br. m, 19H); 0,91 (m, 6H).

55 Etapa 5: Hexanoato de 3-((3-(4-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)(nonil)amino)propilo



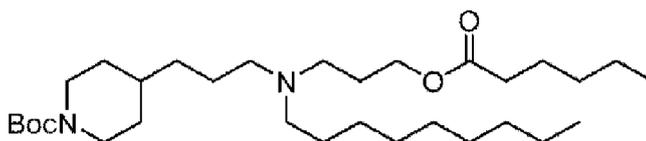
5 De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó hexanoato de 3-((3-(4-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperazin-1-il)-3-oxopropil)(nonil)amino)propilo a partir de hexanoato de 3-(nonil(3-oxo-3-(piperazin-1-il)propil)amino)propilo (154 mg, 0,351 mmol), ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico (197 mg, 0,386 mmol), *i*Pr₂EtN (134 μ l, 0,77 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 616 μ l, 1,05 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (69 mg, 21 %).

10 UPLC/ELSD: TR = 2,70 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 933,10 para C₅₇H₁₁₃N₅O₄

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,12 (t, 2H); 3,72-3,40 (br. m, 8H); 2,81 (br. m, 4H); 2,61-2,36 (br. m, 18H); 2,30 (t, 2H); 1,78 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 1,54-1,06 (br. m, 60H); 0,90 (m, 15H).

15 BY: Compuesto 87: Hexanoato de 3-((3-(1-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperidin-4-il)propil)(nonil)amino)propilo

Etapa 1: 4-(3-((3-(Hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo



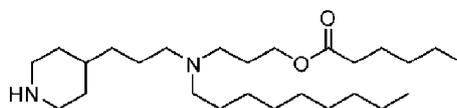
20

25 De la misma manera que en la Etapa 1 para el Compuesto 57, se sintetizó 4-(3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo a partir de 4-(3-(nonilamino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (500 mg, 1,36 mmol), hexanoato de 3-bromopropilo (386 mg, 1,63 mmol), K₂CO₃ (375 mg, 2,71 mmol) y KI (45 mg, 0,27 mmol) en MeCN (100 ml). Rendimiento (322 mg, 45 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,09 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 525,60 para C₃₁H₆₀N₂O₄

30 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,12 (br. m, 4H); 2,67 (m, 2H); 2,56-2,24 (br. m, 8H); 1,90-1,00 (br. m, 40H); 0,91 (m, 6H).

Etapa 2: Hexanoato de 3-(nonil(3-(piperidin-4-il)propil)amino)propilo



35

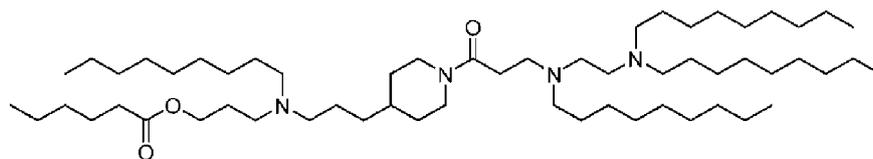
40 De la misma manera que en la Etapa 4 para el Compuesto 11, se sintetizó hexanoato de 3-(nonil(3-(piperidin-4-il)propil)amino)propilo a partir de 4-(3-((3-(hexanoiloxi)propil)(nonil)amino)propil)piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (322 mg, 0,614 mmol) y TFA (2,3 ml, 31 mmol) en DCM (2,5 ml). Rendimiento (260 mg, 99 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,89 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 425,54 para C₂₆H₅₂N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,12 (t, 2H); 3,12 (m, 2H); 2,75-2,24 (br. m, 10H); 1,84-1,54 (br. m, 6H); 1,54-1,02 (br. m, 26H); 0,90 (m, 6H).

45

Etapa 3: Hexanoato de 3-((3-(1-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperidin-4-il)propil)(nonil)amino)propilo



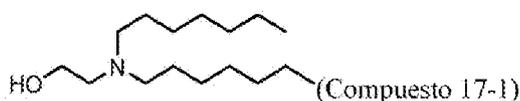
De la misma manera que en la Etapa 11 para el Compuesto 11, se sintetizó hexanoato de 3-((3-(1-(3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoil)piperidin-4-il)propil(nonil)amino)propilo

(149 mg, 0,351 mmol), ácido 3-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)propanoico (197 mg, 0,386 mmol), *i*Pr₂EtN (134 μ l, 0,77 mmol) y T3P (solución de EtOAc al 50 %, 616 μ l, 1,05 mmol) en THF (10 ml). Rendimiento (39 mg, 12 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,83 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 918,01 para C₅₈H₁₁₆N₄O₃

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 4,61 (m, 1H); 4,12 (t, 2H); 3,87 (m, 1H); 3,08-2,74 (br. m, 4H); 2,70-2,23 (br. m, 20H); 1,82-1,56 (br. m, 6H); 1,56-1,00 (br. m, 67H); 0,90 (m, 15H).

BZ. Compuesto 17-1: 2-(Dihexilamino)etan-1-ol



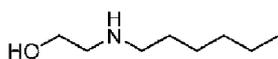
A una solución de 1-bromohexano (5 g, 82 mmol) en MeCN (380 ml) se añadió etanolamina (11,5 ml, 82 mmol), K₂CO₃ (22,7 g, 164 mmol) y KI (1,36 g, 8,2 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 2-(dihexilamino)etan-1-ol (2,58 g, 14 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,41 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 229,95 para C₁₄H₃₁NO RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,62 (t, 2H); 2,70 (t, 2H); 2,57 (t, 4H); 1,50 (br. m, 4H); 1,30 (br, 12H); 0,91 (t, 6H).

CA. Compuesto 17-2: 2-(Hexil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol

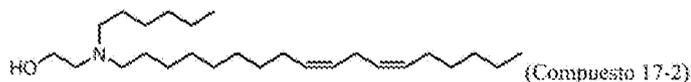
Etapa 1: 2-(Hexilamino)etan-1-ol

Se aisló 2-(hexilamino)etan-1-ol de la misma reacción que produjo con el Compuesto 1, 2-(dihexilamino)etan-1-ol.



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 3,62 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,62 (t, 2H); 2,10-1,80 (br. m, 2H); 1,49 (m, 2H); 1,30 (br. m, 6H); 0,89 (t, 3H).

Etapa 2: 2-(Hexil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol



A una solución de (6Z,9Z)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (0,2 g, 0,61 mmol) en MeCN (3,5 ml) se añadió 2-(hexilamino)etan-1-ol (80 mg, 0,55 mmol), K₂CO₃ (76 mg, 0,55 mmol) y KI (9 mg, 0,06 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo y se extrajo con agua. Los extractos combinados se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-10 %/DCM) proporcionó 2-(hexil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (23 mg, 11 %).

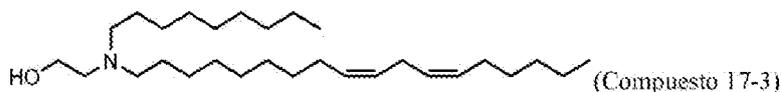
UPLC/ELSD: TR = 2,47 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 394,60 para C₂₆H₅₁NO

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : ppm 5,36 (m, 4H); 4,07 (m, 2H); 3,23-3,13 (m, 6H); 2,77 (m, 2H); 2,04 (m, 4H); 1,86 (m, 4H); 1,34 (m, 23H); 0,89 (m, 6H)

CB. Compuesto 17-3: 2-(Nonil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol

ES 2 913 626 T5

El Compuesto 17-3 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-2.



5

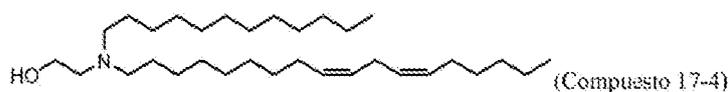
UPLC/ELSD: TR = 2,72 min. MS (ES): m/z (MH^+) 436,63 para $C_{29}H_{57}NO$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36 (m, 4H); 3,55 (t, 2H); 2,77 (t, 2H); 2,60 (t, 2H); 2,47 (m, 4H); 2,04 (m, 4H); 1,55-1,18 (br. m, 33H); 0,87 (m, 6H).

10

CD. Compuesto 17-4: 2-(Dodecil((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol

El Compuesto 17-4 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-2.



15

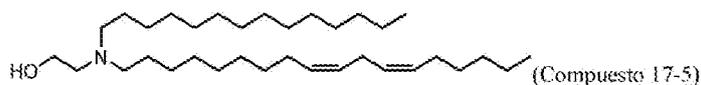
UPLC: TR = 3,18 min. MS (ES): m/z (MH^+) 478,516 para $C_{32}H_{63}NO$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,33 (m, 4H); 3,53 (s, 2H); 2,75 (t, 2H); 2,58 (m, 2H); 2,45 (m, 4H); 2,03 (dt, 4H); 1,43 (m, 4H); 1,24 (m, 34H); 0,86 (m, 6H).

20

CE. Compuesto 17-5: 2-(((9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dien-1-il)(tetradecil)amino)etan-1-ol

El Compuesto 17-5 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-2.



25

Fórmula química: $C_{34}H_{67}NO$

Peso molecular: 505,92

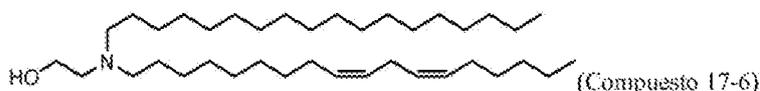
UPLC/ELSD: TR = 3,39 min. MS (ES): m/z (MH^+) 506,56 para $C_{34}H_{67}NO$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,37 (m, 4H); 3,58 (m, 2H); 2,80 (m, 2H); 2,69-2,42 (br. m, 5H); 2,07 (m, 4H); 1,56-1,18 (br. m, 44H); 0,91 (m, 6H).

30

CF. Compuesto 17-6: 2-(((9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dien-1-il)(octadecil)amino)etan-1-ol

El Compuesto 17-6 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-2.



35

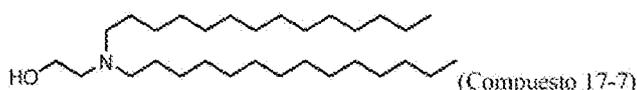
UPLC/ELSD: TR = 3,68 min. MS (ES): m/z (MH^+) 562,58 para $C_{38}H_{75}NO$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,39 (m, 4H); 3,58 (m, 2H); 2,80 (m, 2H); 2,68-2,44 (br. m, 5H); 2,07 (m, 4H); 1,57-1,20 (br. m, 52H); 0,91 (m, 6H).

40

CG. Compuesto 17-7: 2-(Ditetradecilamino)etan-1-ol

El Compuesto 17-7 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.



45

UPLC/ELSD: TR = 3,30 min. MS (ES): m/z (MH^+) 454,46 para $C_{30}H_{63}NO$

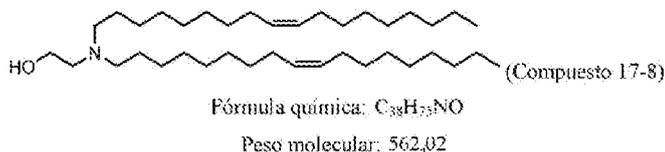
1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,54 (br. m, 2H); 2,59 (br. m, 2H); 2,46 (br. m, 4H); 1,56-1,17 (br. m, 48H);

50

0,90 (br. m, 6H).

CG. Compuesto 17-8: 2-(Di((Z)-octadec-9-en-1-il)amino)etan-1-ol

5 El Compuesto 17-8 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.

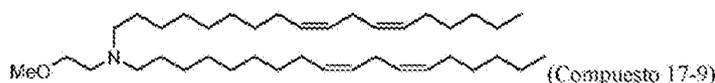


10 UPLC/ELSD: TR = 7,325 min. MS (ES): m/z (MH^+) 562,60 para $C_{38}H_{75}NO$ 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,34 (m, 4H); 3,53 (t, 2H); 2,58 (t, 2H); 2,45 (t, 4H); 2,01 (m, 8H); 1,44 (m, 4H); 1,38-1,18 (br. m, 44H); 0,88 (t, 6H).

CH. Compuesto 17-9: (9Z,12Z)-N-(2-Metoxietil)-N-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina

15

El Compuesto 17-9 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.

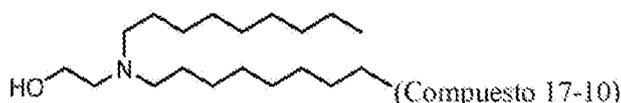


20 UPLC/ELSD: TR = 3,53 min. MS (ES): m/z (MH^+) 572,72 para $C_{39}H_{73}NO$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,39 (m, 8H); 3,47 (m, 2H); 3,37 (s, 3H); 2,80 (m, 4H); 2,5 (m, 2H); 2,46 (m, 4H); 2,09 (m, 8H); 1,50-1,22 (m, 36H); 0,92 (m, 6H).

25 Cl. Compuesto 17-10: 2-(Dinonilamino)etan-1-ol

El Compuesto 17-10 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.



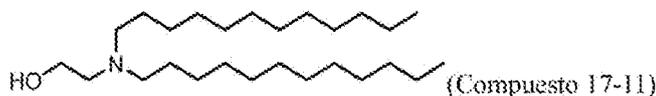
30

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,57 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,49 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 24H); 0,91 (t, 6H).

CJ: Compuesto 17-11: 2-(Didodecilamino)etan-1-ol

35

El Compuesto 17-11 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.

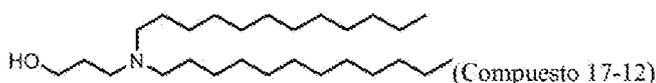


40 UPLC/ELSD: TR = 2,69 min. MS (ES): m/z (MH^+) 398,56 para $C_{26}H_{53}NO$ 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,57 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,49 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 36H); 0,91 (t, 6H).

CK. Compuesto 17-12: 3-(Didodecilamino)propan-1-ol

45

El Compuesto 17-12 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.



50

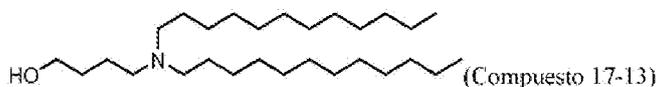
UPLC/ELSD: TR = 2,75 min. MS (ES): m/z (MH^+) 412,36 para $C_{27}H_{57}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,79 (t, 2H); 2,66 (t, 2H); 2,43 (br. m, 4H); 1,69 (br. m, 2H); 1,47 (br. m, 4H); 1,25 (br. m, 36H); 0,87 (t, 6H).

ES 2 913 626 T5

CL. Compuesto 17-13: 4-(Didodecilamino)butan-1-ol

El Compuesto 17-13 se sintetizó según el mismo procedimiento que el Compuesto 17-1.



Fórmula química: $C_{28}H_{59}NO$

Peso molecular: 425,79

5

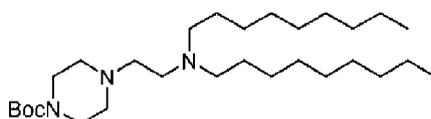
UPLC/ELSD: TR = 2,80 min. MS (ES): m/z (MH^+) 426,42 para $C_{28}H_{59}NO$

10 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,56 (br. m, 2H); 2,46 (br. m, 6H); 1,66 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,26 (br. m, 36H); 0,88 (t, 6H).

CM. Compuesto 19-1: *N*-Nonil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)nonan-1-amina

Etapa 1: 4-(2-(dinonilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo

15

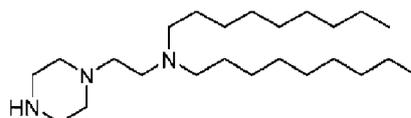


20 Se dejó agitar una mezcla de 1-bromononano (1,81 g, 8,72 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (2,0 g, 8,72 mmol), K_2CO_3 (2,4 g, 17,4 mmol), KI (145 mg, 0,872 mmol) en 44 ml de MeCN a 65 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 4-(2-(dinonilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (924 mg, 1,92 mmol, 44 %).

25 UPLC/ELSD: TR = 1,99 min. MS (ES): m/z (MH^+) 482,36 para $C_{29}H_{59}N_3O_2$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,45 (br. m, 4H); 3,10 (br. m, 2H); 2,59 (br. m, 2H); 2,44 (br. m, 8H); 1,60-1,00 (br. m, 37H); 0,91 (t, 6H).

30 Etapa 2: Compuesto 19-1: *N*-Nonil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)nonan-1-amina



35 Se trató una solución de 4-(2-(dinonilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (924 mg, 1,92 mmol) en 8 ml de DCM con TFA (7,4 ml, 96 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se concentró y el residuo bruto se recogió en cloroformo y se lavó con Na_2CO_3 al 5 % y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %/[DCM MeOH al 20 % NH_4OH al 1 %]) proporcionó *N*-nonyl-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)nonan-1-amina (563 mg, 1,48 mmol, 77 %).

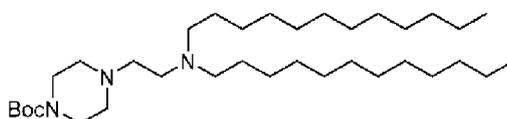
40

UPLC/ELSD: TR = 1,27 min. MS (ES): m/z (MH^+) 382,54 para $C_{24}H_{51}N_3$

45 RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,92 (br. m, 4H); 2,62 (br. m, 2H); 2,48 (br. m, 10H); 2,40-1,88 (br. m, 1H); 1,46 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 24H); 0,91 (t, 6H).

CN. Compuesto 19-2: *N*-Dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina

Etapa 1: 4-(2-(Didodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



50

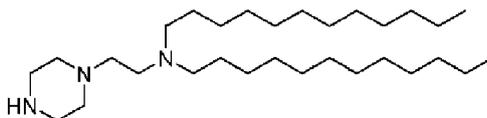
ES 2 913 626 T5

Se dejó agitar a temperatura ambiente una mezcla de 1-bromododecano (1,1 ml, 4,6 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (1,0 g, 4,4 mmol), K_2CO_3 (0,61 g, 4,4 mmol), en 10 ml de MeCN durante 12 h. Transcurrido este tiempo la reacción se filtró y se concentró. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM con NH_4OH al 1 % para producir 4-(2-(didodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (450 mg, 0,80 mmol, 18 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,87 min. MS (ES): m/z (MH^+) 566,655 para $C_{35}H_{71}N_3O_2$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,40 (m, 4H); 2,56 (m, 2H); 2,40 (m, 10H); 1,44 (s, 9H); 1,40-1,24 (m, 40H), 0,86 (t, 6H).

Etapa 2: Compuesto 19-2: *N*-Dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina



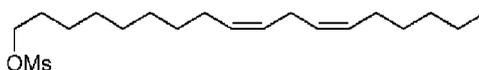
Se trató una solución de 4-(2-(didodecilamino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (154 mg, 0,27 mmol) en 1 ml de DCM con TFA (0,21 ml, 2,7 mmol). La reacción se dejó agitar durante la noche. Transcurrido este tiempo se añadió TFA (0,1 ml, 1,3 mmol). Después de 3 h adicionales, se concentró la reacción. El residuo bruto se recogió en DCM y se lavó con K_2CO_3 al 5 % y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM con NH_4OH al 1 %) para proporcionar *N*-dodecil-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina (109 mg, 87 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,10 min. MS (ES): m/z (MH^+) 466,379 para $C_{30}H_{63}N_3$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 2,88 (t, 4H); 2,61 (m, 2H); 2,45 (m, 10H); 1,43-1,24 (m, 40H); 0,86 (t, 6H).

CO. Compuesto 19-3: (9Z,12Z)-*N*-((9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dien-1-il)-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)octadeca-9,12-dien-1-amina

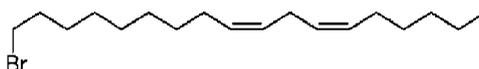
Etapa 1: Metanosulfonato de (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilo



A una solución a 0 °C de alcohol linoleílico (10 ml, 31,2 mmol) y trietilamina (5,68 ml, 40,5 mmol) en DCM (50 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de metanosulfonylo (2,66 ml, 34,3 mmol) en DCM (20 ml). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se dejó agitar durante 4 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con solución saturada de $NaHCO_3$ y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-40 %/hexanos) proporcionó metanosulfonato de (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilo (10,0 g, 93 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,35 (m, 4H); 4,22 (t, 2H); 2,99 (s, 3H); 2,77 (t, 2H); 2,04 (q, 4H); 1,74 (m, 2H); 1,30 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

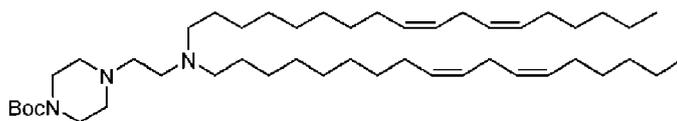
Etapa 2: (6Z,9Z)-18-Bromooctadeca-6,9-dieno



A una solución de metanosulfonato de (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilo (10,0 g, 29,0 mmol) en éter dietílico (372 ml) se añadió etil eterato de bromuro de magnesio (22,5 g, 87,1 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con K_2CO_3 al 1 % y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO proporcionó (6Z,9Z)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (8,9 g, 93 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36 (m, 4H); 3,41 (t, 2H); 2,77 (t, 2H); 2,05 (q, 4H); 1,86 (m, 2H); 1,48-1,22 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

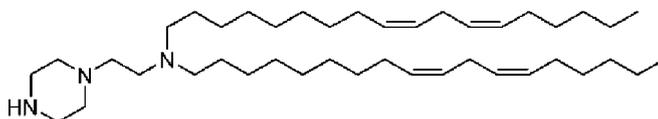
Etapa 3: 4-(2-(Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo



- 5 Se dejó agitar a temperatura ambiente una mezcla de (6Z,9Z)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (1,5 g, 4,55 mmol), 4-(2-aminoetil)-1-boc-piperazina (1,04 g, 4,54 mmol), K_2CO_3 (1,27 g, 9,10 mmol), KI (75 mg, 0,452 mmol) en 22 ml de MeCN durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-50 %/[DCM, MeOH al 20 %, NH_4OH al 1 %]) proporcionó 4-(2-(di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,08 g, 1,49 mmol, 65 %).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,43-5,26 (br. m, 8H); 3,42 (t, 4H); 2,77 (m, 4H); 2,57 (m, 2H); 2,41 (br. m, 10H); 2,04 (br. m, 8H); 1,60-1,00 (br. m, 45H); 0,89 (t, 6H).

- 15 Etapa 4: Compuesto 19-3: (9Z,12Z)-*N*-((9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dien-1-il)-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)octadeca-9,12-dien-1-amina

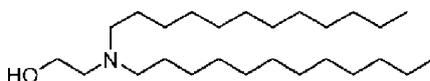


- 20 Se trató una solución de 4-(2-(di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)piperazina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,06 g, 1,46 mmol) en 6 ml de DCM con TFA (5,6 ml, 73 mmol). Después de 4 horas, se concentró la mezcla. El residuo bruto se recogió en cloroformo, se lavó con Na_2CO_3 al 5 % y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %/[DCM, MeOH al 20 %, NH_4OH al 1 %]) y cromatografía ultrarrápida ISCO C18 (50-100 % [MeCN TFA al 1 %]/[H_2O TFA al 1 %]). Las fracciones deseadas se lavaron con Na_2CO_3 al 5 % y se extrajeron con hexanos. Los hexanos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron al vacío para proporcionar (9Z,12Z)-*N*-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)-*N*-(2-(piperazin-1-il)etil)octadeca-9,12-dien-1-amina (108 mg, 12 %).

- 30 UPLC/ELSD: TR = 2,98 min. MS (ES): m/z (MH^+) 626,75 para $C_{42}H_{79}N_3$

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,47-5,25 (br. m, 8H); 2,92 (m, 4H); 2,76 (m, 4H); 2,66 (br. m, 2H); 2,50 (br. m, 10H); 2,05 (m, 8H); 1,60-1,10 (br. m, 36H); 0,89 (t, 6H).

- 35 CP. Compuesto 19-4: *N*-Dodecil-*N*-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina Intermedio 1: 2-(Didodecilamino)etan-1-ol

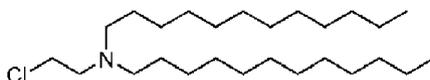


- 40 A una solución de 1-bromododecano (10 g, 40,1 mmol) en MeCN (84 ml) se añadió etanolamina (1,10 ml 18,2 mmol), K_2CO_3 (11,1 g, 80,1 mmol) y KI (302 mg, 1,82 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 2-(didodecilamino)etan-1-ol (3,87 g, 53 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,69 min. MS (ES): m/z (MH^+) 398,56 para $C_{26}H_{55}NO$

- 50 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,57 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,49 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br. m, 36H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 2: *N*-(2-Cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina

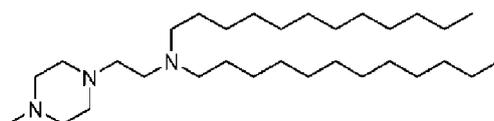


55

A una solución a 0 °C de 2-(didodecilamino)etan-1-ol (3,87 g, 9,73 mmol) y trietilamina (1,76 ml, 12,6 mmol) en DCM (50 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de metanosulfonilo (0,941 ml, 12,2 mmol) en DCM (5 ml). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-10 %/hexanos) proporcionó *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (1,92 g, 47 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,51 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,47 (br. m, 4H); 1,44 (br. m, 4H); 1,28 (br. m, 36H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 3: Compuesto 19-4: *N*-Dodecil-*N*-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina

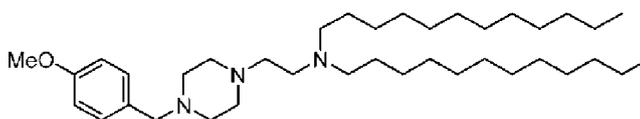


Se dejó agitar a 82 °C una mezcla de *N*-metilpiperazina (40 µl, 0,36 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (166 mg, 0,4 mmol) y K₂CO₃ (50 mg, 0,36 mmol) en 2 ml de MeCN durante 12 h. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se filtró y se concentró. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM con NH₄OH al 1 %) para proporcionar *N*-dodecil-*N*-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina (87,9 mg, 51 %).

UPLC: TR = 2,24 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 480,662 para C₃₁H₆₅N₃

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 2,49 (m, 16H); 2,36 (s, 3H); 1,50 (m, 4H); 1,34 (m, 36H); 0,96 (t, 6H).

CQ. Compuesto 19-5: *N*-Dodecil-*N*-(2-(4-(4-metoxibencil)piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina



Fórmula química: C₃₈H₇₁N₃O

Peso molecular: 586,01

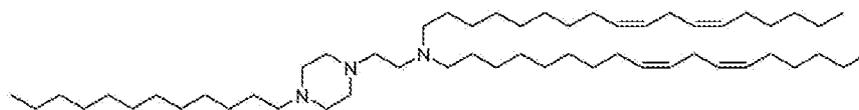
30

Se dejó agitar a 80 °C una mezcla de 1-(4-metoxibencil)piperazina (206 mg, 1,0 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (289 mg, 0,69 mmol), K₂CO₃ (286 mg, 2,07 mmol) y KI (11 mg, 0,069 mmol) en 3,5 ml de MeCN durante 2 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se inactivó con agua. La mezcla se extrajo con EtOAc tres veces. Los extractos orgánicos agrupados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM) para proporcionar *N*-dodecil-*N*-(2-(4-(4-metoxibencil)piperazin-1-il)etil)dodecan-1-amina (0,24 g, 59 %).

UPLC: TR = 2,30 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 586,92 para C₃₈H₇₁N₃O

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 7,19 (d, 2H); 6,83 (d, 2H); 3,78 (s, 3H); 3,42 (s, 2H); 2,99-2,45 (br. m, 16H); 1,71-1,24 (br. m, 40H); 0,86 (t, 6H).

CR. Compuesto 19-6: (9*Z*,12*Z*)-*N*-(2-(4-Dodecilpiperazin-1-il)etil)-*N*-((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina



Fórmula química: C₅₃H₉₃N₃

Peso molecular: 794,44

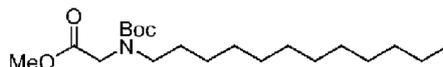
Se dejó agitar a 65 °C una mezcla de (9*Z*,12*Z*)-*N*-((9*Z*,12*Z*)-Octadeca-9,12-dien-1-il)-*N*-(2-(piperazin-1-

il)etil)octadeca-9,12-dien-1-amina (54 mg, 0,086 mmol), 1-bromododecano (24 mg, 0,095 mmol), K_2CO_3 (24 mg, 0,172 mmol), KI (2 mg, 0,012 mmol), en 1,5 ml de THF durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100 %/[DCM MeOH al 20 % Et_3N al 1 %]) proporcionó (9Z,12Z)-*N*-(2-(4-dodecylpiperazin-1-il)etil)-*N*-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina (51 mg, 0,064 mmol, 74 %). UPLC/ELSD: TR = 3,40 min. MS (ES): m/z (MH^+) 795,12 para $C_{54}H_{103}N_3$.

CS. Compuesto 20-1: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina

10

Etapa 1: *N*-(*tert*-Butoxicarbonil)-*N*-dodecilglicinato de metilo



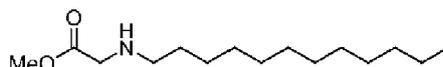
15 Se trató una solución a 0 °C de éster metílico de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)glicina (7,7 g, 40,7 mmol) en DMF (100 ml) con NaH (60 %, 1,71 g, 42,7 mmol) y la mezcla se dejó agitar durante 30 minutos. Se dejó que la solución volviera a la temperatura ambiente antes de añadir 1-bromododecano (15,2 g, 61,0 mmol) y se dejó agitar la reacción durante la noche. La reacción se inactivó con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-20 %/hexanos) proporcionó *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (4,03 g, 28 %).

20

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,01-3,84 (br. m, 2H); 3,75 (s, 3H); 3,27 (br. m, 2H); 1,67-1,39 (br. m, 11H); 1,28 (br, 18H); 0,90 (t, 3H).

25

Etapa 2: Dodecilglicinato de metilo



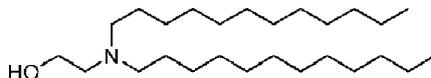
30 A una solución a 0 °C de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (4,03 g, 11,3 mmol) en DCM (17 ml) se añadió gota a gota TFA (17 ml, 226 mmol). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 6 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el material bruto se disolvió en DCM. La solución se lavó con NaOH al 10 % y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar dodecilglicinato de metilo (2,84 g, 98 %).

35

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,75 (s, 3H); 3,44 (s, 2H); 2,62 (t, 2H); 1,70 (br, 1H); 1,51 (m, 2H); 1,29 (br, 18H); 0,90 (t, 3H).

Etapa 3: 2-(Didodecilamino)etan-1-ol

40



A una solución de 1-bromododecano (10 g, 40,1 mmol) en MeCN (84 ml) se añadió etanolamina (1,10 ml 18,2 mmol), K_2CO_3 (11,1 g, 80,1 mmol) y KI (302 mg, 1,82 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se extrajo con hexanos y los extractos combinados se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó 2-(didodecilamino)etan-1-ol (3,87 g, 53 %).

45

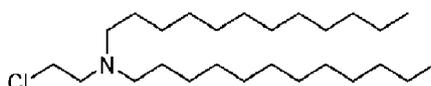
UPLC/ELSD: TR = 2,69 min. MS (ES): m/z (MH^+) 398,56 para $C_{26}H_{55}NO$

50

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,57 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 2,49 (br. m, 4H); 1,48 (br. m, 4H); 1,29 (br, 36H); 0,91 (t, 6H).

Etapa 4: *N*-(2-Cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina

55



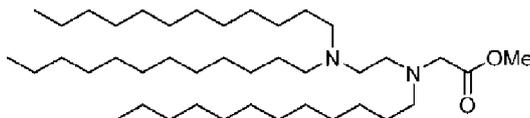
A una solución a 0 °C de 2-(didodecilamino)etan-1-ol (3,87 g, 9,73 mmol) y trietilamina (1,76 ml, 12,6 mmol) en

ES 2 913 626 T5

DCM (50 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de metanosulfonilo (0,941 ml, 12,2 mmol) en DCM (5 ml). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-10 %/hexanos) proporcionó *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (1,92 g, 47 %).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,51 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,47 (br. m, 4H); 1,44 (br. m, 4H); 1,28 (br, 36H); 0,90 (t, 6H).

Etapa 5: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo

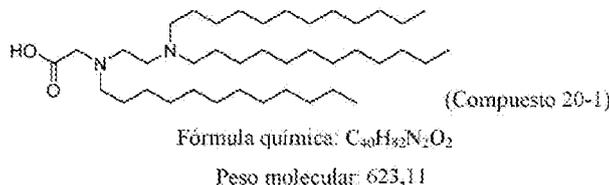


A una solución de dodecilglicinato de metilo (425 mg, 1,65 mmol) en MeCN (10 ml) se añadió *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (825 mg, 1,98 mmol), K₂CO₃ (457 mg, 3,30 mmol) y KI (27 mg, 0,165 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 72 horas. La mezcla de reacción se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (652 mg, 62 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,77 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 638,18 para C₄₁H₈₄N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,72 (s, 3H); 3,41 (s, 2H); 2,90-2,20 (br. m, 10H); 1,60-1,00 (br. m, 60H); 0,90 (t, 9H).

Etapa 6: *N*-(2-(Didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina



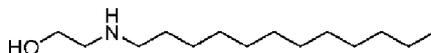
Se dejó agitar a 65 °C una solución de *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicinato de metilo (652 mg, 1,02 mmol) en THF (6 ml) y LiOH 1 M (5 ml, 5 mmol) durante 16 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se acidificó con HCl al 10 %. La mezcla se extrajo con cloroformo y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (MeOH al 0-20 %/DCM) proporcionó *N*-(2-(didodecilamino)etil)-*N*-dodecilglicina (153 mg, 24 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,60 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 624,07 para C₄₀H₈₂N₂O₂

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,02-3,40 (br. m, 6H); 3,16 (br, 6H); 1,78 (br, 6H); 1,46-1,01 (br. m, 54H); 0,90 (t, 9H).

CT. Compuesto 20-2: 6-(Dodecil(2-(dodecil(2-hidroxietil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo

Etapa 1: 2-(Dodecilamino)etan-1-ol



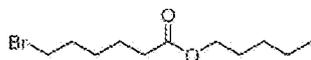
Se disolvió dodecilglicinato de metilo (3,4 g, 13,2 mmol) en 2 ml de THF bajo atmósfera de N₂ y se dejó enfriar el matraz de reacción en un baño de hielo. A la solución se añadió lentamente LiAlH₄ (0,55 g, 14,5 mmol). La reacción se dejó agitar a la misma temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición posterior de 0,55 ml de H₂O, 0,55 ml de NaOH al 10 % y a continuación 1,65 ml de H₂O. A continuación, la reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM, con NH₄OH al 1 %) para producir 2-(dodecilamino)etan-1-ol (1,9 g, 8,28 mmol, 63 % de rendimiento).

ES 2 913 626 T5

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,63 (t, 2H); 2,78 (t, 2H); 2,63 (t, 2H); 1,48 (m, 2H); 2,14 (m, 18H); 0,88 (t, 3H).

Etapa 2: 6-Bromohexanoato de pentilo

5



Fórmula química: C₁₁H₂₁BrO₂

Peso molecular: 265,19

A una solución de ácido 6-bromohexanoico (2 g, 10,3 mmol) y pentan-1-ol (2,2 ml, 20,5 mmol) en 26 ml de DCM, se añadieron EDC·HCl (1,97 g, 10,3 mmol) y DMAP (0,26 g, 2,1 mmol). La solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de agua. La mezcla se extrajo tres veces con DCM. Los extractos orgánicos se agruparon y lavaron con solución saturada de NaHCO₃, ácido cítrico al 10 % y salmuera. A continuación, los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) para producir el producto deseado (2,3 g, 8,67 mmol).

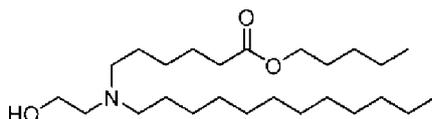
10

15

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,06 (t, 2H); 3,39 (t, 2H); 2,30 (t, 2H); 1,84 (m, 2H); 1,62 (m, 4H); 1,46 (m, 2H); 1,31 (m, 4H); 0,88 (t, 3H).

Etapa 3: 6-(Dodecil(2-hidroxietil)amino)hexanoato de pentilo

20



A una solución de 2-(dodecilamino)etan-1-ol (0,50 g, 2,18 mmol) en 10 ml de THF, se añadió 6-bromohexanoato de pentilo (0,87 g, 3,27 mmol) seguido de K₂CO₃ (0,60 g, 4,36 mmol) y KI (36 mg, 0,22 mmol). La reacción se dejó agitar bajo N₂ a 65 °C durante 24 h. Transcurrido de este tiempo, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la reacción se diluyó con agua. La mezcla se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos agrupados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-20 % en hexanos) para producir 6-(dodecil(2-hidroxietil)amino)hexanoato de pentilo (300 mg, 33 %).

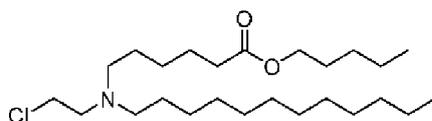
25

30

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 2H); 3,51 (m, 2H); 2,56 (m, 2H); 2,42 (m, 4H); 2,28 (t, 2H); 1,60 (m, 4H); 1,42 (m, 4H); 1,30-1,24 (m, 24); 0,87 (m, 6H).

Etapa 4: 6-((2-Cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo

35



A una solución a 0 °C de 6-(dodecil(2-hidroxietil)amino)hexanoato de pentilo (300 mg, 0,73 mmol) en 2 ml de DCM, se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,062 ml, 0,80 mmol), seguido de trietilamina (0,13 ml, 1,3 mmol). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 12 h bajo N₂. La reacción se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos agrupados se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. La capa acuosa se volvió a extraer con EtOAc tres veces. Los extractos orgánicos se agruparon y lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se combinó y la purificación mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) proporcionó 6-((2-cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo (285 mg, 66 %).

40

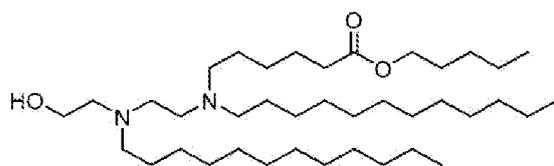
45

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,04 (t, 2H); 3,45 (t, 2H); 2,74 (t, 2H); 2,43 (m, 4H); 2,28 (t, 2H); 1,65-1,59 (m, 4H); 1,31-1,24 (m, 32H); 0,88 (m, 6H).

50

Etapa 5: 6-(Dodecil(2-(dodecil(2-hidroxietil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo

ES 2 913 626 T5



(Compuesto 20-2)

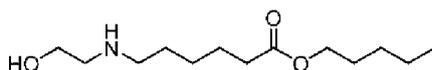
A una solución de 6-((2-cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de pentilo (94 mg, 0,22 mmol) en MeCN (2 ml) y THF (2 ml) se añadió 2-(dodecilamino)etan-1-ol (50 mg, 0,22 mmol), K₂CO₃ (60 mg, 0,44 mmol) y KI (4 mg, 0,022 mmol). La reacción se dejó agitar a 65 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos y EtOAc. El filtrado se extrajo con EtOAc tres veces. Los extractos orgánicos se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100%, [MeOH al 20 %, NH₄OH al 1 %]/DCM) proporcionó 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo (21 mg, 15 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,86 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 625,86 para C₃₉H₈₀N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,07-4,05 (m, 2H); 3,53 (m, 2H), 2,60-2,43 (br. m, 12H); 2,33-2,29 (m, 2H); 1,65-1,64 (m, 4H); 1,46 (m, 6H); 1,34-1,28 (br. m, 42H); 0,92-0,90 (m, 9H).

CU. Compuesto 20-3: 6-((2-(Didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo

Etapa 1: 6-((2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo

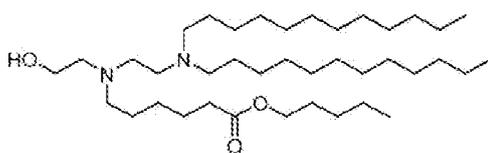


A una solución de 6-bromohexanoato de pentilo (4,65 g, 17,5 mmol) en MeCN (88 ml) se añadió etanolamina (1,10 ml 17,5 mmol), K₂CO₃ (4,85 g, 35,1 mmol) y KI (291 mg, 1,75 mmol). La reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los sólidos se lavaron con hexanos y EtOAc. El filtrado se extrajo con EtOAc tres veces. Los extractos orgánicos se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (DCM al 0-100%, [MeOH al 20 %, NH₄OH al 1 %]/DCM) proporcionó 6-((2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo (1,74 g, 41 %).

UPLC/ELSD: TR = 0,30 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 246,21 para C₁₃H₂₇NO₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,69 (t, 2H), 2,82 (t, 2H); 2,68 (t, 2H); 2,35-2,31 (m, 4H); 1,72-1,52 (br. m, 6H); 1,39-1,32 (br. m, 6H); 0,93 (t, 3H).

Etapa 2: 6-((2-(Didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo



(Compuesto 20-3)

Fórmula química: C₃₉H₈₀N₂O₃

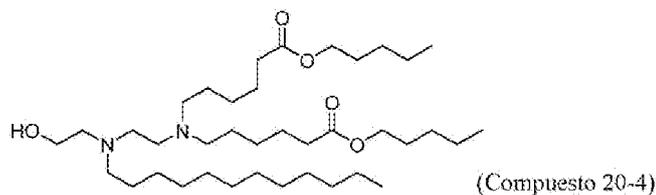
Peso molecular: 625,08

De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 6-((2-(didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo a partir de 6-((2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo (108 mg, 0,44 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (183 mg, 0,44 mmol), K₂CO₃ (122 mg, 0,88 mmol) y KI (7,3 mg, 0,044 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (88 mg, 32 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,92 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 626,0 para C₃₉H₈₀N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,07 (t, 2H); 3,53 (t, 2H), 2,62-2,40 (br. m, 12H); 2,31 (t, 2H); 1,70-1,60 (m, 4H); 1,53-1,43 (m, 6H); 1,27 (br. m, 42H); 0,91 (m, 9H).

CV. Compuesto 20-4: 6,6'-((2-(Dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo



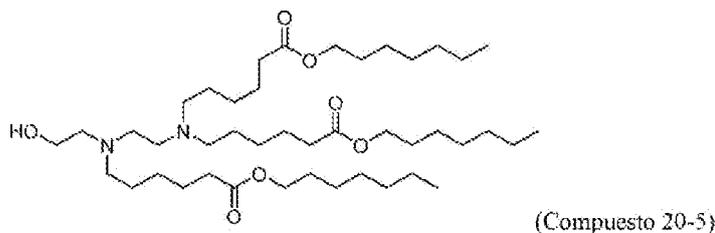
5 De la misma manera que el pentil-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato, se sintetizó 6,6'-((2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo a partir de 2-(dodecilamino)etan-1-ol (60 mg, 0,26 mmol), 6,6'-((2-cloroetil)azanodiil)dihexanoato de dipentilo (118 mg, 0,26 mmol), K_2CO_3 (73 mg, 0,53 mmol) y KI (5 mg, 0,026 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (60 mg, 36 %).

10 UPLC/ELSD: TR = 2,37 min. MS (ES): m/z (MH^+) 641,95 para $C_{38}H_{76}N_2O_5$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (t, 4H); 3,57 (m, 2H), 2,64-2,53 (br. m, 12H); 2,32 (t, 4H); 1,72-1,60 (m, 8H); 1,50 (m, 6H); 1,38-1,28 (br. m, 30H); 0,95-0,88 (m, 9H).

15 CW. Compuesto 20-5:

6,6'-((2-((6-(Heptiloxi)-6-oxohexil)(2 hidroxi)etil)amino)etil)azanodiil)dihexanoato de diheptilo



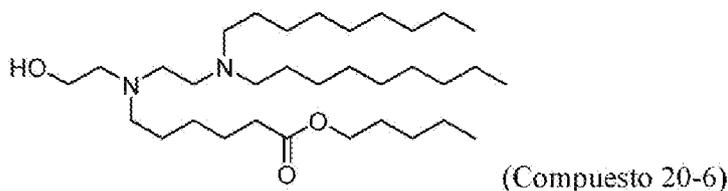
20

De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 6,6'-((2-((6-(heptiloxi)-6-oxohexil)(2-hidroxi)etil)amino)etil)azanodiil)dihexanoato de diheptilo a partir de 6-((2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de heptilo (100 mg, 0,37 mmol), 6,6'-((2-cloroetil)azanodiil)dihexanoato de diheptilo (184 mg, 0,37 mmol), K_2CO_3 (101 mg, 0,73 mmol) y KI (6 mg, 0,037 mmol) en MeCN (2 ml) y THF (2 ml). Rendimiento (91 mg, 34 %).

25

UPLC/ELSD: TR = 3,33 min. MS (ES): m/z (MH^+) 742,08 para $C_{43}H_{84}N_2O_7$ RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (t, 6H); 3,66 (m, 2H); 3,23-2,53 (br. m, 12H); 2,37-2,30 (m, 6H); 1,74-1,31 (br. m, 48H); 0,93-0,89 (m, 9H).

30 CX. Compuesto 20-6: 6-((2-(Dinonilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo



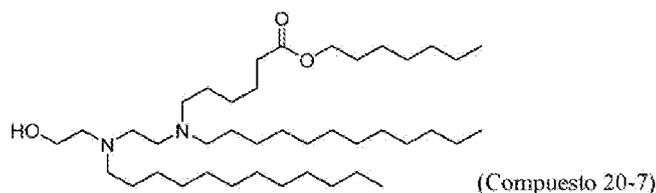
35 De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 6-((2-(dinonilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo a partir de 6-((2-hidroxi)etil)amino)hexanoato de pentilo (100 mg, 0,41 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (101 mg, 0,41 mmol), K_2CO_3 (108 mg, 0,82 mmol) y KI (7 mg, 0,041 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (25 mg, 13 %).

40 UPLC/ELSD: TR = 3,37 min. MS (ES): m/z (MH^+) 541,90 para $C_{33}H_{68}N_2O_3$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 4,08 (t, 2H); 3,54 (t, 2H), 2,63-2,42 (br. m, 12H); 2,32 (t, 2H); 1,71-1,61 (m, 4H); 1,51-1,46 (m, 6H); 1,35-1,29 (br. m, 30H); 0,95-0,88 (m, 9H).

45 CX. Compuesto 20-7: 6-(Dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de heptilo

ES 2 913 626 T5

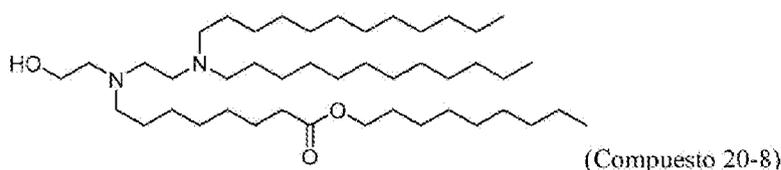


De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de heptilo a partir de 2-(dodecilamino)etan-1-ol (100 mg, 0,37 mmol), 6-((2-cloroetil)(dodecil)amino)hexanoato de heptilo (152 mg, 0,37 mmol), K₂CO₃ (101 mg, 0,73 mmol) y KI (6 mg, 0,037 mmol) en MeCN (2 ml) y THF (2 ml). Rendimiento (41 mg, 17 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,14 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 654,0 para C₄₁H₈₄N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,55 (t, 2H), 2,63-2,45 (br. m, 12H); 2,32 (t, 2H); 1,71-1,59 (m, 4H); 1,54-1,28 (br. m, 52H); 0,92-0,88 (m, 9H).

CY. Compuesto 20-8: 8-((2-(Didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)octanoato de nonilo



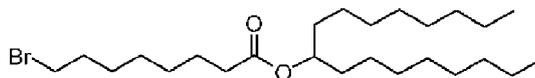
De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 8-((2-(didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)octanoato de nonilo a partir de 8-((2-hidroxi)etil)amino)octanoato de nonilo (240 mg, 0,73 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (335 mg, 0,80 mmol), K₂CO₃ (121 mg, 0,88 mmol) y KI (12 mg, 0,072 mmol) en MeCN (1,5 ml) y THF (1,5 ml). Rendimiento (122 mg, 24 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,41 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 709,93 para C₄₅H₉₂N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,08 (t, 2H); 3,56 (m, 2H), 2,91-2,37 (br. m, 12H); 2,31 (m, 2H); 1,64 (br. m, 4H); 1,55-1,20 (br. m, 60H); 0,91 (m, 9H).

CZ: Compuesto 20-9: 8-((2-(Didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)octanoato de heptadecan-9-ilo

Etapas 1: 8-Bromooctanoato de heptadecan-9-ilo

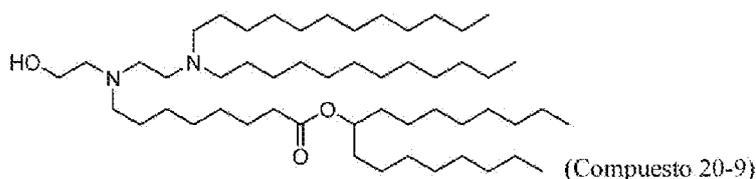


A una solución de ácido 8-bromooctanoico (1,04 g, 4,6 mmol) y heptadecan-9-ol (1,5 g, 5,8 mmol) en diclorometano (20 ml) se añadió clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (1,1 g, 5,8 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (3,3 ml, 18,7 mmol) y DMAP (114 mg, 0,9 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 18 h. La reacción se diluyó con diclorometano y se extrajo con solución saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. La capa orgánica se filtró y el filtrado se evaporó al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo al 0-10 % en hexanos) para obtener 8-bromooctanoato de heptadecan-9-ilo (875 mg, 1,9 mmol, 41 %).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,89 (m, 1H); 3,42 (m, 2H); 2,31 (m, 2H); 1,89 (m, 2H); 1,73-1,18 (br. m, 36H); 0,88 (m, 6H).

Etapas 2: 8-((2-(Didodecilamino)etil)(2-hidroxi)etil)amino)octanoato de heptadecan-9-ilo

ES 2 913 626 T5

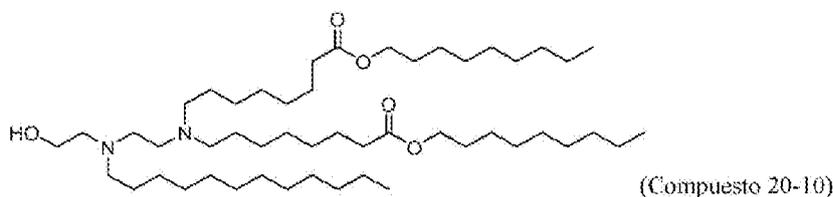


De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 8-((2-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)octanoato de heptadecan-9-ilo a partir de 8-((2-hidroxi)etil)amino)octanoato de heptadecan-9-ilo (100 mg, 0,23 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (94 mg, 0,23 mmol), K₂CO₃ (63 mg, 0,45 mmol) y KI (4 mg, 0,023 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (107 mg, 57 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,91 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 822,3 para C₅₃H₁₀₈N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,89 (p, 1H); 3,56 (m, 2H), 2,62-2,45 (br. m, 12H); 2,30 (t, 2H); 1,88-1,11 (br. m, 78H); 0,92-0,88 (m, 12H).

DA. Compuesto 20-10: 8,8'-((2-(Dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)azanodiil)diocanoato de dinonilo

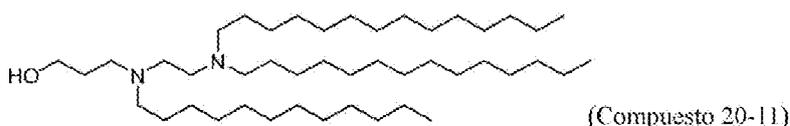


De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 8,8'-((2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)azanodiil)diocanoato de dinonilo a partir de 2-(dodecilamino)etan-1-ol (100 mg, 0,44 mmol), 8,8'-((2-cloroetil)azanodiil)diocanoato de dinonilo (269 mg, 0,44 mmol), K₂CO₃ (121 mg, 0,87 mmol) y KI (72 mg, 0,044 mmol) en MeCN (2,5 ml) y THF (2,5 ml). Rendimiento (172 mg, 49 %).

UPLC/ELSD: TR = 4,09 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 810,31 para C₅₀H₁₀₀N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 4,07 (t, 4H); 3,55 (m, 2H), 2,64-2,47 (br. m, 12H); 2,31 (t, 4H); 1,66-1,59 (br. m, 8H); 1,46-1,28 (br. m, 60H); 0,92-0,88 (m, 9H).

DB: Compuesto 20-11: 3-((2-(Ditetradecilamino)etil)(dodecil)amino)propan-1-ol

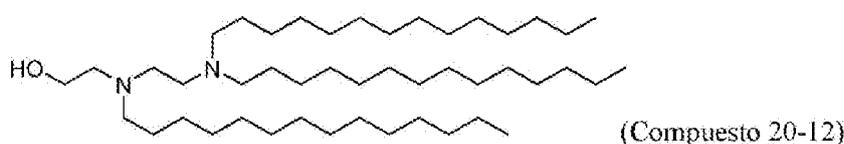


De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 3-((2-(ditetradecilamino)etil)(dodecil)amino)propan-1-ol a partir de 3-(dodecilamino)propan-1-ol (50 mg, 0,21 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-tetradeciltetradecan-1-amina (109 mg, 0,23 mmol), K₂CO₃ (57 mg, 0,41 mmol) y KI (3,4 mg, 0,021 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (65 mg, 46 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,65 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 679,81 para C₄₅H₉₄N₂O

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,76 (t, 2H); 2,63-2,42 (br. m, 12H), 1,66-1,26 (br. m, 70H); 0,90-0,86 (m, 9H).

DC: Compuesto 20-12: 2-((2-(Ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etan-1-ol



De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se

ES 2 913 626 T5

sintetizó 2-((2-(ditetradecilamino)etil)(tetradecil)amino)etan-1-ol a partir de 2-(tetradecilamino)etan-1-ol (100 mg, 0,39 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-tetradeciltetradecan-1-amina (184 mg, 0,39 mmol), K₂CO₃ (107 mg, 0,78 mmol) y KI (6,5 mg, 0,039 mmol) en MeCN (2 ml) y THF (2 ml). Rendimiento (87 mg, 32 %).

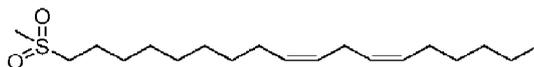
5 UPLC/ELSD: TR = 3,81 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 694,02 para C₄₆H₉₆N₂O

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,56 (m, 2H); 2,61-2,45 (br. m, 12H), 1,47-1,29 (br. m, 72H); 0,91 (m, 9H).

DD: Compuesto 20-13: 2-((2-(Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol

10

Etapa 1: (6Z,9Z)-18-(Metilsulfonil)octadeca-6,9-dieno



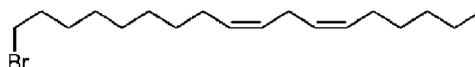
15 A una solución a 0 °C de alcohol linoleílico (10 ml, 31,2 mmol) y trietilamina (5,68 ml, 40,5 mmol) en DCM (50 ml) se añadió gota a gota una solución de cloruro de metanosulfonilo (2,66 ml, 34,3 mmol) en DCM (20 ml). Se dejó que la reacción volviera a la temperatura ambiente y se dejó agitar durante 4 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO (EtOAc al 0-40 %/hexanos) proporcionó (6Z,9Z)-18-(metilsulfonil)octadeca-6,9-dieno (10,0 g, 93 %).

20

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,35 (m, 4H); 4,22 (t, 2H); 2,99 (s, 3H); 2,77 (t, 2H); 2,04 (q, 4H); 1,74 (m, 2H); 1,30 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

25

Etapa 2: (6Z,9Z)-18-Bromo-octadeca-6,9-dieno



30 A una solución de (6Z,9Z)-18-(metilsulfonil)octadeca-6,9-dieno (10,0 g, 29,0 mmol) en éter dietílico (372 ml) se añadió etil eterato de bromuro de magnesio (22,5 g, 87,1 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con K₂CO₃ al 1 % y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO proporcionó (6Z,9Z)-18-bromo-octadeca-6,9-dieno (8,9 g, 93 %).

35

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,36 (m, 4H); 3,41 (t, 2H); 2,77 (t, 2H); 2,05 (q, 4H); 1,86 (m, 2H); 1,48-1,22 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

40 Etapa 3: 2-((2-(Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol



(Compuesto 20-13)

45 De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol a partir de 2-(dodecilamino)etan-1-ol (50 mg, 0,22 mmol), (9Z,12Z)-*N*-(2-cloroetil)-*N*-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina (126 mg, 0,22 mmol), K₂CO₃ (60 mg, 0,44 mmol), and KI (3,6 mg, 0,022 mmol) en MeCN (2 ml). Rendimiento (33 mg, 20 %).

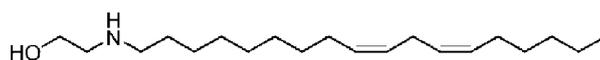
50 UPLC/ELSD: TR = 3,74 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 770,20 para C₅₂H₁₀₀N₂O

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 5,39 (m, 8H); 3,55 (m, 2H), 2,80 (m, 4H); 2,61-2,44 (br. m, 12H); 2,07 (m, 8H); 1,46-1,29 (br. m, 56H); 0,92 (m, 9H).

55 DE: Compuesto 20-14: 2-((2-(Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol

Etapa 1: 2-(((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol

ES 2 913 626 T5



Fórmula química: $C_{20}H_{39}NO$

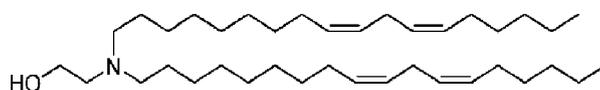
Peso molecular: 309,54

De la misma manera que el 2-(dodecilamino)etan-1-ol, se sintetizó 2-(((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol a partir de etanolamina (0,37 ml, 6,1 mmol), (6Z,9Z)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (2,0 g, 6,1 mmol), K_2CO_3 (1,67 g, 12,1 mmol) y KI (101 mg, 0,607 mmol) en MeCN (28 ml). Rendimiento (453 mg, 24 %).

UPLC/ELSD: TR = 5,457 min. MS (ES): m/z (MH^+) 311,38 para $C_{20}H_{39}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36 (m, 4H); 3,62 (t, 2H); 2,78 (m, 4H); 2,61 (t, 2H); 2,05 (m, 4H); 1,49 (m, 2H); 1,30 (br. m, 16H); 0,89 (t, 3H).

Etap 2: 2-(Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol

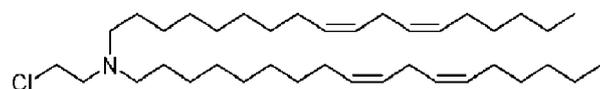


De la misma manera que el 2-(didodecilamino)etan-1-ol, se sintetizó 2-(di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol a partir de (6Z,9Z)-18-bromooctadeca-6,9-dieno (4 g, 12,1 mmol), etanolamina (0,334 ml, 5,52 mmol), K_2CO_3 (3,36 g, 24,3 mmol) y KI (92 mg, 0,552 mmol) en MeCN (26 ml). Rendimiento (1,9 g, 62 %).

UPLC/ELSD: TR = 6,80 min. MS (ES): m/z (MH^+) 557,94 para $C_{38}H_{71}NO$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,35 (m, 8H); 3,52 (t, 2H); 2,77 (t, 4H); 2,57 (t, 2H); 2,43 (t, 4H); 2,04 (q, 8H); 1,48-1,18 (br. m, 36H); 0,89 (t, 6H).

Etap 3: (9Z,12Z)-N-(2-Cloroetil)-N-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina



De la misma manera que el compuesto N-(2-cloroetil)-N-dodecildodecan-1-amina, se sintetizó (9Z,12Z)-N-(2-cloroetil)-N-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina a partir de 2-(di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (250 mg, 0,45 mmol), trietilamina (81 μ l, 0,58 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (38 μ l, 0,49 mmol) en DCM (2 ml). Rendimiento (134 mg, 52 %).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,36 (m, 8H); 3,49 (t, 2H); 2,78 (m, 6H); 2,45 (t, 4H); 2,05 (q, 8H); 1,48-1,18 (br. m, 36H); 0,89 (t, 6H).

Etap 4: 2-((2-(Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol



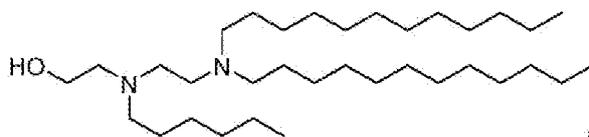
(Compuesto 20-14)

De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etil)((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol a partir de 2-(((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (75 mg, 0,24 mmol), (9Z,12Z)-N-(2-cloroetil)-N-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)octadeca-9,12-dien-1-amina (154 mg, 0,27 mmol), K_2CO_3 (67 mg, 0,49 mmol), and KI (4 mg, 0,024 mmol) en MeCN (2 ml). Rendimiento (35 mg, 17 %).

UPLC/ELSD: TR = 3,94 min. MS (ES): m/z (MH^+) 850,03 para $C_{33}H_{108}N_2O$

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,35 (br. m, 12H); 2,77 (t, 6H); 2,70-2,38 (br. m, 14H); 2,05 (m, 12H); 1,50-1,00 (br. m, 54H); 0,88 (t, 9H).

DF: Compuesto 20-15: 2-((2-(Didodecilamino)etil)(hexil)amino)etan-1-ol



(Compuesto 20-15)

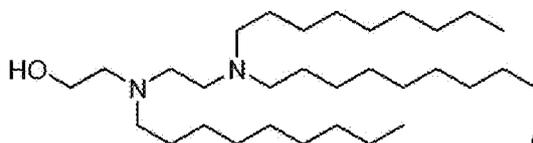
5 De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxietil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(hexil)amino)etan-1-ol a partir de 2-(hexilamino)etan-1-ol (50 mg, 0,34 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (143 mg, 0,34 mmol), K_2CO_3 (95 mg, 0,69 mmol) y KI (5,7 mg, 0,034 mmol) en MeCN (2 ml). Rendimiento (145 mg, 80 %).

10 UPLC/ELSD: TR = 2,73 min. MS (ES): m/z (MH^+) 525,66 para $C_{34}H_{72}N_2O$.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,54 (m, 2H); 2,61-2,44 (br. m, 12H), 1,46-1,28 (br. m, 48H); 0,90 (m, 9H).

DG: Compuesto 20-16: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(nonil)amino)etan-1-ol

15



(Compuesto 20-16)

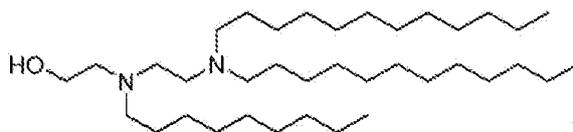
20 A una solución de 2-((2-aminoetil)amino)etan-1-ol (2,0 g, 18,6 mmol) y DCE (50 ml) a 0 °C se añadió nonanal (12,8 ml, 74,6 mmol), seguido de AcOH (3,2 ml, 55,9 mmol). La reacción se dejó agitar a 0 °C durante 20 min. Se añadió $Na(OAc)_3BH$ (15,8 g, 74,6 mmol) y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó mediante la adición lenta de solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ y se extrajo con DCM tres veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía ultrarrápida sobre sílice ISCO proporcionó 2-((2-(dinonilamino)etil)(nonil)amino)etan-1-ol. Rendimiento (75 mg, 0,8 %).

25

UPLC/ELSD: TR = 2,28 min. MS (ES): m/z (MH^+) 483,47 para $C_{21}H_{46}N_2O$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,53 (m, 2H); 2,61-2,41 (br. m, 12H), 1,43-1,25 (br. m, 42H); 0,86 (m, 9H).

30 DH: Compuesto 20-17: 2-((2-(Didodecilamino)etil)(nonil)amino)etan-1-ol



(Compuesto 20-17)

35 De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxietil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(nonil)amino)etan-1-ol a partir de 2-(nonilamino)etan-1-ol (50 mg, 0,27 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (111 mg, 0,27 mmol), K_2CO_3 (74 mg, 0,53 mmol) y KI (4,4 mg, 0,027 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 ml). Rendimiento (29 mg, 19 %).

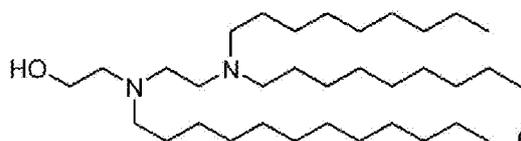
40

UPLC/ELSD: TR = 3,05 min. MS (ES): m/z (MH^+) 567,91 para $C_{37}H_{78}N_2O$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 3,71 (m, 2H); 3,14-2,97 (br. m, 8H), 2,80 (m, 2H); 2,66 (m, 2H); 1,70 (m, 4H); 1,53 (m, 2H); 1,34-1,28 (br. m, 48H); 0,90 (m, 9H).

DI: Compuesto 20-18: 2-((2-(Dinonilamino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol

45



(Compuesto 20-18)

De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxietil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(dinonilamino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol a partir de 2-(dodecilamino)etan-1-ol (100 mg, 0,44

ES 2 913 626 T5

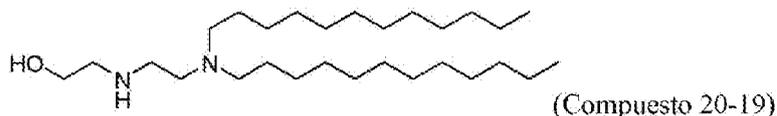
mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-nonilnonan-1-amina (145 mg, 0,44 mmol), K₂CO₃ (120 mg, 0,87 mmol) y KI (7,2 mg, 0,044 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (155 mg, 67 %).

UPLC/ELSD: TR = 2,78 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 525,99 para C₃₄H₇₂N₂O

5

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,55 (m, 2H); 2,63-2,47 (br. m, 12H), 1,47-1,28 (br. m, 48H); 0,90 (m, 9H).

DJ: Compuesto 20-19: 2-((2-(Didodecilamino)etil)amino)etan-1-ol



10

Se combinaron etanolamina (50 mg, 0,82 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (0,75 g, 1,8 mmol), K₂CO₃ (0,25 g, 1,8 mmol) y KI (14 mg, 0,082) y 4 ml de THF en un matraz de fondo redondo. La reacción se colocó en una manta calefactora a 65 °C y se dejó agitar bajo N₂ durante 12 h. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar la reacción a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se lavó con H₂O y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El material bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa C18 (MeCN al 5-100 % en H₂O con TFA al 0,1 %). Las fracciones se agruparon y concentraron. El material aislado se recogió en CHCl₃, se lavó con NaOH al 10 % y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. A continuación, el producto se volvió a purificar mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH al 0-20 % en DCM con NH₄OH al 1 %) para producir 2-((2-(didodecilamino)etil)amino)etan-1-ol (0,15 g, 41 %).

15

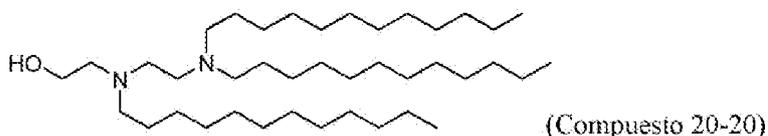
20

UPLC/ELSD: TR = 2,15 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 441,37 para C₂₈H₆₀N₂O

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,59 (t, 2H); 2,75 (t, 2H); 2,62 (t, 2H); 2,50 (t, 2H); 2,37 (t, 4H); 1,39 (m, 4H); 1,24 (m 38H); 0,86 (t, 6H).

25

DK: Compuesto 20-20: 2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol



30

Se dejó enfriar bajo N₂ una solución de 2-((2-aminoetil)amino)etan-1-ol (2 g, 19,2 mmol) en 50 ml de DCE en un baño de hielo. Se añadió dodecanal (26 ml, 76,8 mmol) seguido de ácido acético (3,3 ml, 57,6 mmol). Después de 20 min, se añadió Na(OAc)₃BH (16,3 g, 76,8 mmol). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 48 h. Transcurrido de este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición en porciones de solución saturada de NaHCO₃. La mezcla se extrajo tres veces con DCM. Los extractos orgánicos agrupados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-100 % en hexanos) dos veces para producir 2-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)etan-1-ol limpio (7,4 g, 63 %).

35

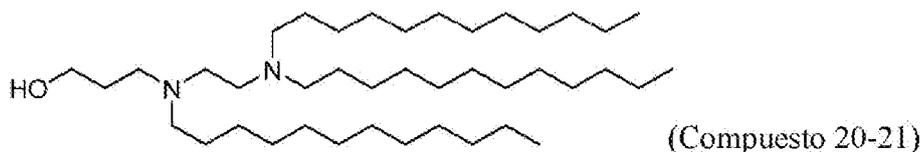
40

UPLC/ELSD: TR = 3,20 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 609,97 para C₄₀H₈₄N₂O

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,51 (t, 2H); 2,57-2,40 (br. m, 12H), 1,41-1,23 (br. m, 60H); 0,86 (t, 9H).

45

DL: Compuesto 20-21: 3-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)propan-1-ol



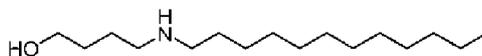
De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 3-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)propan-1-ol a partir de 3-(dodecilamino)propan-1-ol (39 mg, 0,16 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (75 mg, 0,18 mmol), K₂CO₃ (44 mg, 0,32 mmol) y KI (2,7 mg, 0,016 mmol) en THF (1 ml). Rendimiento (170 mg, >98 %).

50

UPLC/ELSD: TR = 3,29 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 623,71 para C₄₁H₈₆N₂O

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,76 (m, 2H); 2,64-2,39 (br. m, 12H), 1,66 (m, 2H); 1,44-1,26 (br. m, 60H); 0,88 (m, 9H).

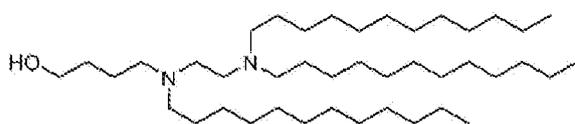
5 **DM: Compuesto 20-22: 4-((2-(Didodecilamino)etil)(dodecil)amino)butan-1-ol 4-(Dodecilamino)butan-1-ol**



10 De la misma manera que el 2-(dodecilamino)etan-1-ol, se sintetizó 4-(dodecilamino)butan-1-ol a partir de 4-aminobutan-1-ol (2,5 ml, 27 mmol), 1-bromododecano (6,75 g, 27 mmol), K₂CO₃ (7,5 g, 54 mmol) y KI (450 mg, 2,7 mmol) en MeCN (125 ml). Rendimiento (303 mg, 4 %).

UPLC/ELSD: TR = 1,09 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 258,22 para C₁₆H₃₅NO

15 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,60 (t, 2H); 2,76-2,62 (br. m, 4H); 1,72-1,58 (br. m, 6H); 1,29 (br. m, 18H); 0,89 (t, 3H).



(Compuesto 20-22)

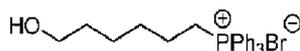
20 De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 4-((2-(didodecilamino)etil)(dodecil)amino)butan-1-ol a partir de 4-(dodecilamino)butan-1-ol (75 mg, 0,29 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (133 mg, 0,32 mmol), K₂CO₃ (80 mg, 0,58 mmol) y KI (5 mg, 0,029 mmol) en MeCN (2 ml). Rendimiento (104 mg, 56 %).

25 UPLC/ELSD: TR = 3,27 min. MS (ES): *m/z* (MH⁺) 637,85 para C₄₂H₈₈N₂O

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 3,56 (br. m, 2H); 2,58 (br. m, 4H); 2,45 (br. m, 8H); 1,65 (br. m, 4H); 1,45 (br. m, 6H); 1,25 (br. m, 54H), 0,88 (t, 9H).

30 **DN: Compuesto 20-23: (Z)-2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodec-6-en-1-il)amino)etan-1-ol**

Etapa 1: Bromuro de (6-hidroxihexil)trifenilfosfonio



35

Se combinaron 6-bromo-1-hexanol (4,89 g, 27 mmol) y trifenilfosfina (7,87 g, 30 mmol) y 50 ml de MeCN en un matraz de fondo redondo. El matraz se equipó con un condensador y se colocó en una manta calefactora y la reacción se dejó agitar a 82 °C durante 48 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la solución se canuló en 200 ml de Et₂O, produciendo un precipitado blanco. Se dejaron sedimentar los sólidos y se eliminó el disolvente por decantación. Se añadieron 20 ml de DCM para disolver los sólidos y a continuación se añadieron lentamente 100 ml de Et₂O para producir un precipitado blanco. A continuación se eliminó el disolvente al vacío para producir bromuro de (6-hidroxihexil)trifenilfosfonio limpio (9,4 g, 21,2 mmol, con un rendimiento del 78 %).

45 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: ppm 7,80 (m, 15H); 3,80 (m, 2H); 3,65 (m, 2H); 2,23 (m, 2H); 1,68 (m, 4H); 1,52 (m, 4H).

Etapa 2: (Z)-Dodec-6-en-1-ol

50



Se dejó enfriar una solución de bromuro de (6-hidroxihexil)trifenilfosfonio (3,0 g, 6,77 mmol) en 25 ml de THF en un baño de acetona/hielo seco a -78 °C. Una vez enfriado, se añadió gota a gota *n*-BuLi (2,5 M en hexanos) (5,7 ml, 14,2 mmol). Después de 1 h, se añadieron 10 ml adicionales de THF y *n*-BuLi (1,35 ml) y se continuó agitando a la misma temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se añadió 1-hexanal (1,6 ml, 13,5 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta y se agitó durante 3 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de un exceso de solución saturada de NH₄Cl. La solución se extrajo tres veces con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-50 % en hexanos) para producir el producto deseado como un aceite transparente (0,76 g, 4,1 mmol, 61 %).

60

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : ppm 5,34 (m, 2H); 3,62 (t, 2H); 2,01 (m, 4H); 1,56 (m, 2H); 1,35-1,27 (m, 11H); 0,87 (t, 3H).

5 Etapa 3: Metanosulfato de (Z)-dodec-6-en-1-ilo



10 A una solución a 0 °C de (Z)-dodec-6-en-1-ol (1,81 g, 9,3 mmol) en 20 ml de DCM, se añadió Et_3N (1,7 ml, 12,1 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,80 ml, 10,2 mmol). La reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se inactivó mediante la adición de agua y la mezcla se extrajo dos veces con DCM. Los extractos orgánicos se agruparon, se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) para producir el producto deseado limpio (2,2 g, 8,4 mmol, 90 %).

15 $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : ppm 5,34 (m, 2H); 4,20 (t, 2H); 2,98 (s, 3H); 2,01 (m, 4H); 1,74 (m, 2H); 1,38-1,27 (m, 10H); 0,87 (t, 3H).

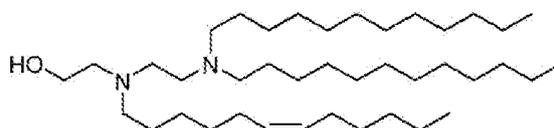
20 Etapa 4: (Z)-1-Bromododec-6-eno



25 En un matraz de fondo redondo, bajo N_2 , se disolvió metanosulfonato de (Z)-dodec-6-en-1-ilo (2,2 g, 8,3 mmol) en 40 ml de Et_2O . Se añadió $\text{MgBr}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (6,5 g, 25 mmol) y la reacción se dejó agitar durante 48 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de hielo. A continuación, la mezcla se extrajo con Et_2O tres veces. Los extractos orgánicos agrupados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc al 0-30 % en hexanos) para producir el producto deseado (1,8 g, 7,28 mmol, 88 %).

30 $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : ppm 5,34 (m, 2H); 3,39 (t, 2H); 2,01-1,84 (m, 6H); 1,28 (m, 10H); 0,87 (t, 3H).

Etapa 5: (Z)-2-((2-(Didodecilamino)etil)(dodec-6-en-1-il)amino)etan-1-ol



(Compuesto 20-23)

35

De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó (Z)-2-((2-(didodecilamino)etil)(dodec-6-en-1-il)amino)etan-1-ol a partir de (Z)-2-(dodec-6-en-1-ilamino)etan-1-ol (100 mg, 0,44 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (183 mg, 0,44 mmol), K_2CO_3 (122 mg, 0,88 mmol) y KI (7,3 mg, 0,044 mmol) en MeCN (1 ml) y THF (1 ml). Rendimiento (90 mg, 34 %).

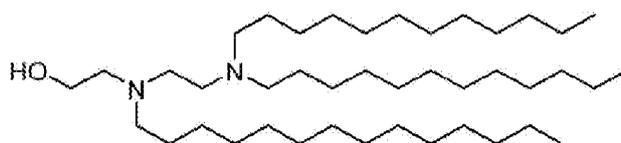
40

UPLC/ELSD: TR = 3,24 min. MS (ES): m/z (MH^+) 608,08 para $\text{C}_{40}\text{H}_{82}\text{N}_2\text{O}$

$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : ppm 5,42-5,35 (m, 2H); 3,55 (m, 2H), 2,62-2,45 (br. m, 12H); 2,06-2,00 (m, 4H); 1,48-1,28 (br. m, 52H); 0,91 (m, 9H).

45

DO: Compuesto 20-24: 2-((2-(Didodecilamino)etil)(tetradecil)amino)etan-1-ol



(Compuesto 20-24)

50

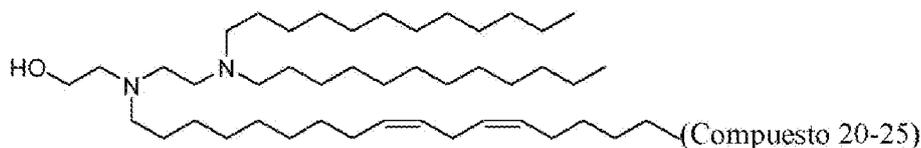
De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxi)etil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)(tetradecil)amino)etan-1-ol a partir de 2-(tetradecilamino)etan-1-ol (100 mg, 0,39 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (162 mg, 0,39 mmol), K_2CO_3 (107 mg, 0,78 mmol) y KI (6,5 mg, 0,039 mmol) en MeCN (3 ml). Rendimiento (128 mg, 52 %).

55

UPLC/ELSD: TR = 3,47 min. MS (ES): m/z (MH^+) 637,92 para $\text{C}_{42}\text{H}_{88}\text{N}_2\text{O}$

$\text{RMN } ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : ppm 3,54 (m, 2H); 2,61-2,44 (br. m, 12H); 1,46-1,28 (br. m, 64H); 0,91 (m, 9H).

DP: Compuesto 20-25: 2-((2-(Didodecilamino)etil)((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol



5

De la misma manera que el 6-(dodecil(2-(dodecil(2-hidroxietil)amino)etil)amino)hexanoato de pentilo, se sintetizó 2-((2-(didodecilamino)etil)((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol a partir de 2-(((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)amino)etan-1-ol (50 mg, 0,16 mmol), *N*-(2-cloroetil)-*N*-dodecildodecan-1-amina (67 mg, 0,16 mmol), K_2CO_3 (45 mg, 0,32 mmol) y KI (3 mg, 0,016 mmol) en MeCN (2 ml). Rendimiento (45 mg, 41 %).

10

UPLC/ELSD: TR = 3,64 min. MS (ES): m/z (MH^+) 689,95 para $C_{46}H_{92}N_2O$

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : ppm 5,39-5,32 (m, 4H); 3,56 (m, 2H), 2,80 (m, 2H); 2,62-2,52 (br. m, 12H); 2,08 (m, 4H); 1,48-1,28 (br. m, 58H); 0,91 (m, 9H).

15

DQ. Compuesto 21-1: 1-(2,2-Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopropil)-*N,N* dimetilmetanamina



20

A 0 °C, se añadió lentamente una solución de nonano-1,9-diol (96,16 g, 0,60 mol) en 100 ml de DMF a una suspensión de NaH (24,0 g, 0,60 mol) en 800 ml de DMF. Después de agitar durante 1 h, se añadió lentamente una solución de bromuro de bencilo (71,4 ml, 0,60 mol) en 200 ml de DMF. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La TLC mostró que el material de partida estaba casi consumido. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y a continuación se extrajo con EtOAc (3 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera y a continuación se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 : EtOAc al 0 a 100 %/hexanos y a continuación MeOH al 0 a 5 %/diclorometano) para producir el producto como un aceite incoloro (74,4 g, 50 %).

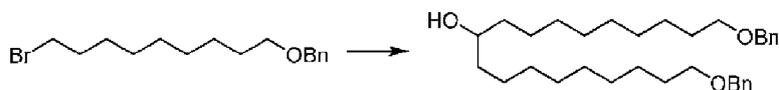
25



30

A 0 °C, a una solución de 9-(benciloxi)nonan-1-ol (14,88 g, 61,5 mmol) en 150 ml de diclorometano, se añadió CBR_4 (30,6 mmol, 92,2 mmol). Y a continuación se añadió en porciones trifetilfosfina (27,4 g, 0,104 mol). Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la TLC mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y a continuación se extrajo con diclorometano (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera y a continuación se secaron sobre sulfato de magnesio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó mediante ISCO (SiO_2 : EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (21,0 g, cuant.).

35



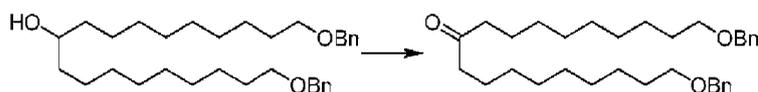
40

A una suspensión de magnesio (3,23 g, 0,134 mol) en 80 ml de THF, se añadió una cantidad catalítica de yodo y a continuación se agitó hasta que desapareció el color. Se añadió lentamente una solución de (((9-bromononil)oxi)metil)benceno (21,0 g, 67,2 mmol) en 40 ml de THF en 15 min a temperatura ambiente y a continuación la mezcla se calentó a reflujo durante 1 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió gota a gota una solución de formiato de metilo (4,2 ml, 67,2 mmol) en 10 ml de THF y la mezcla se agitó durante la noche. La reacción se inactivó mediante la adición de HCl 5 N y agua, y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se disolvió en EtOH y a continuación se añadieron KOH y agua. Después de agitar durante la noche, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad. Se añadió agua y a continuación se ajustó el pH ~7 con HCl 1 N. La mezcla se extrajo con EtOAc (2 X) y la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio. Después de la filtración y concentración, el producto bruto se purificó mediante ISCO (SiO_2 : EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (6,64 g, 40 %).

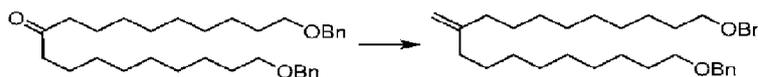
45

50

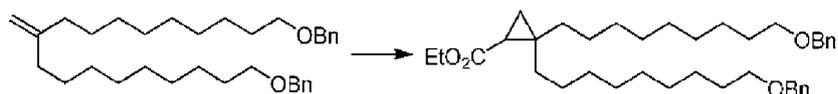
55



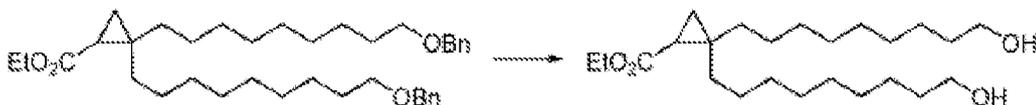
- 5 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 1,19-bis(benciloxi)nonadecan-10-ol (6,64 g, 13,4 mmol) en 30 ml de diclorometano a una solución de peryodinano de Dess-Martin (7,94 g, 18,7 mmol) en 70 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 3 h. La TLC mostró que se había consumido el material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y a continuación se añadieron solución de Na₂S₂O₃ al 10 % y solución saturada de bicarbonato de sodio. Después de la extracción con diclorometano (2 X), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se concentraron. El residuo se disolvió en éter y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio, la solución se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 20 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (6,23 g, 94 %).



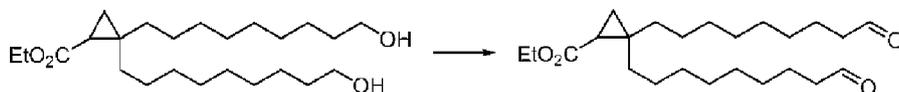
- 15 A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (1,70 g, 15,1 mmol) a una solución de bromuro de metilfosfonio (5,40 g, 15,1 mmol) en 80 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió a través de una cánula a la mezcla de reacción una solución de 1,19-bis(benciloxi)nonadecan-10-ona (6,23 g, 12,6 mmol) en 20 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces) y a continuación la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró que la reacción se había completado y la mezcla de reacción se filtró a través de Celite. Después de la concentración, el producto bruto se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (6,0 g, 96 %).



- 25 A una solución a reflujo de (((10-metilenonadecano-1,19-diil)bis(oxi))bis(metileno))dibenceno (2,99 g, 6,08 mmol) en 160 ml de diclorometano, se añadió una solución de Cu(acac)₂ (180 mg, 0,69 mmol) en 40 ml de diclorometano. Y a continuación se añadió diazoacetato de etilo (que contiene diclorometano al 13 %, 1,1 ml 9 X) cada 30 min. La MS mostró la formación de producto. La reacción se inactivó con MeOH y se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (3,65 g, contiene 1 equivalente de acetato como subproducto).

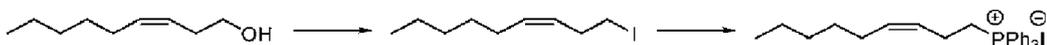


- 35 Se agitó a temperatura ambiente una mezcla de 2,2-bis(9-(benciloxi)nonil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (2,8 g, 4,8 mmol) y paladio sobre carbono (10 % en peso, 500 mg) en 500 ml de EtOAc bajo globo de hidrógeno durante 4,5 h. La MS y TLC mostraron una reacción completa. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró para proporcionar el producto mezclado con el subproducto, succinato de dietilo (2,53 g, contiene 0,94 equivalentes de subproducto, 94 %).



- 45 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 2,2-bis(9-hidroxinonil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (2,4 g, 6 mmol) en 100 ml de diclorometano a una suspensión de peryodinano de Dess-Martin (7,67 g, 18 mmol) en 100 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de inactivar con solución acuosa de Na₂S₂O₃ al 10 % y solución saturada de bicarbonato de sodio, la mezcla se extrajo con diclorometano (2 X). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para producir el producto como un aceite incoloro (2,3 g, contiene aproximadamente 0,7 g de subproducto).

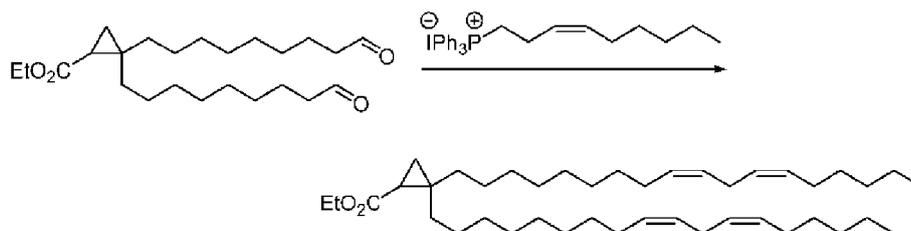
- 50 Preparación de yoduro de (Z)-non-3-en-1-iltrifenilfosfonio:



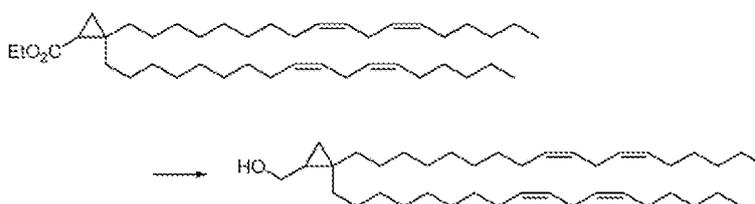
- 55 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de trifetilfosfina (110 g, 0,419 mol) en 200 ml de diclorometano a

una solución de (Z)-non-3-en-1-ol (49,6 g, 0,349 mol), imidazol (50,0 g, 0,732 mol) y yodo (124 g, 0,488 mol) en 800 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró que quedaba una pequeña cantidad de (Z)-non-3-en-1-ol. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se trituró con hexanos. La solución se filtró a través de un tapón de gel de sílice y se eluyó con hexanos para proporcionar el yoduro como un líquido incoloro (81 g, 92 %).

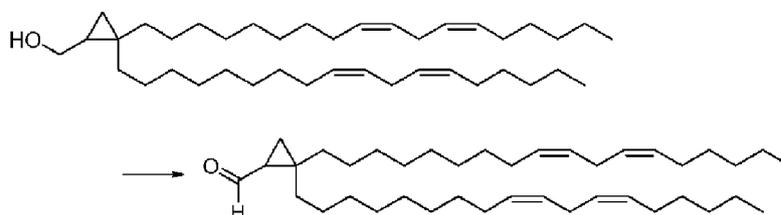
Se calentó a reflujo una solución de (Z)-1-yodonon-3-eno (81 g, 0,321 mol) y trifetilfosfina (169 g, 0,643 mol) en acetonitrilo (1,1 l) durante la noche. Después de concentrar hasta sequedad, el residuo se trituró con hexanos. La goma blanca se disolvió en diclorometano y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: MeOH al 0 a 5 %/CH₂Cl₂) para proporcionar el producto como un aceite incoloro que a continuación se convirtió en un sólido de color blanco (114 g, 69 %).



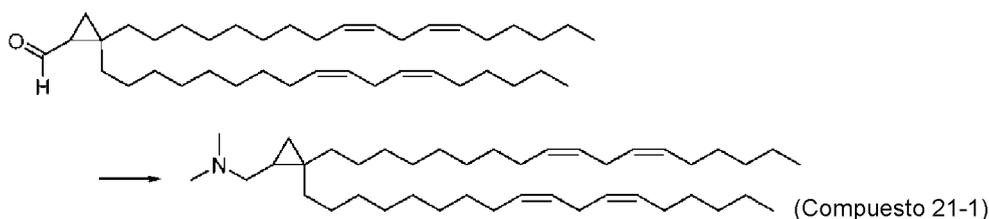
A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (1,98 g, 17,7 mmol) a una solución de yoduro de (Z)-non-3-en-1-iltrifenilfosfonio (9,2 g, 17,9 mmol) en 300 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 2,2-bis(9-oxononil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (2,05 g, 5,2 mmol) en 100 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces), y a continuación se dejó calentar la reacción hasta temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con hexanos (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 5%/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (1,54 g, 48 %).



Se añadió lentamente una solución de hidruro de litio y aluminio (2,0 M en THF, 1,9 ml, 3,8 mmol) a una solución de 2,2-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (1,54 g, 2,52 mmol) en 150 ml de THF y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La reacción se inactivó mediante la adición lenta de Na₂SO₄·10H₂O, a continuación, la mezcla se filtró y se lavó con THF. El filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 15 %/Hexanos) para producir el producto como un aceite incoloro (1,2 g, 84 %).



A 0 °C, se añadió lentamente una solución de (2,2-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopropil)metanol (1,04 g, 1,83 mmol) en 100 ml de diclorometano a una suspensión de peryodinato de Dess-Martin (1,18 g, 2,77 mmol) en 200 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de inactivar con solución saturada de bicarbonato de sodio, la mezcla se extrajo con diclorometano (2 X). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para producir el producto como un aceite incoloro (0,95 g, 91 %).



Fórmula química: C₄₂H₇₇N

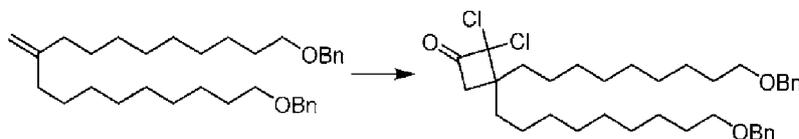
5 Peso molecular: 596,09

10 A una solución de 2,2-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-yl)ciclopropano-1-carbaldehído (0,95 g, 1,68 mmol) en 300 ml de THF, se añadieron secuencialmente dimetilamina (2,0 M en THF, 2 ml, 4 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (840 mg, 4 mmol) y ácido acético (0,23 ml, 4 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La MS mostró que la reacción se había completado y se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio para inactivar la reacción. La mezcla se extrajo con EtOAc (2 X) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: MeOH al 0 a 10 %/diclorometano) para producir el producto 1-(2,2-Di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-yl)ciclopropil)-N,N-dimetilmetanamina como un aceite incoloro (0,56 g, 56 %).

20 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,27-5,42 (m, 8 H), 2,76 (t, 4 H, J = 6,2 Hz), 2,38 (bs, 8 H), 2,04 (q, 8 H, J = 6,6 Hz), 1,18-1,41 (m, 38 H), 0,96-1,17 (m, 2 H), 0,88 (t, 6 H, J = 6,6 Hz), 0,66-0,76 (m, 1 H), 0,48-0,56 (m, 1 H), 0,05-0,13 (m, 1 H).

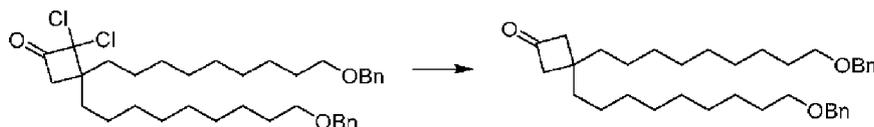
20 APCI: m/z = 596,6 [M+H]⁺.

DR. Compuesto 21-2: 4-(Dimetilamino)butanoato de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-yl)ciclobutilo



25 Preparación del par Zn-Cu: Se agitó una suspensión de polvo de zinc (10 g) en 10 ml de HCl 4 M durante 10 min y a continuación se decantó la fase acuosa. Después de lavar el sólido con agua (2 x 20 ml), se añadieron posteriormente 20 ml de agua y sulfato de cobre (0,75 g). Después de agitar durante la noche, se decantó el agua y a continuación se lavó el residuo con THF (2 x 10 ml). El sólido negro se secó al vacío y se almacenó en nitrógeno.

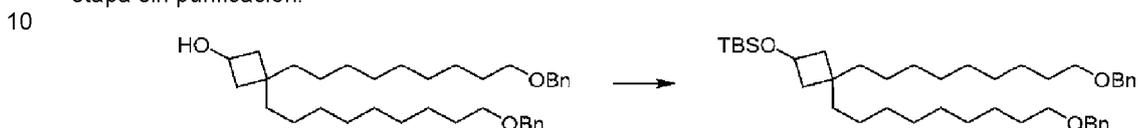
35 A una suspensión del par Zn-Cu (1,295 g, 19,8 mmol) en 30 ml de éter purgado con nitrógeno 3 veces, se añadió una solución de (((10-metilenononadecano-1,19-dil)bis(oxi))bis(metileno))dibenceno (2,96 g, 6,0 mmol) en 10 ml de éter purgado con nitrógeno y a continuación se añadió gota a gota una solución de POCl₃ (1,85 ml, 19,8 mmol) y cloruro de 2,2,2-tricloroacetilo (2,23 ml, 19,8 mmol) en 15 ml de éter purgado con nitrógeno. Después de la adición, la mezcla se calentó a reflujo durante 22 h. La TLC mostró trazas de material de partida. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y a continuación se añadieron 8,0 g de carbonato de potasio. Se añadieron gota a gota 30 ml de MeOH y se agitó hasta que no hubo desprendimiento de gas. Se añadió EtOAc y la mezcla se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (3,02 g, 83 %).



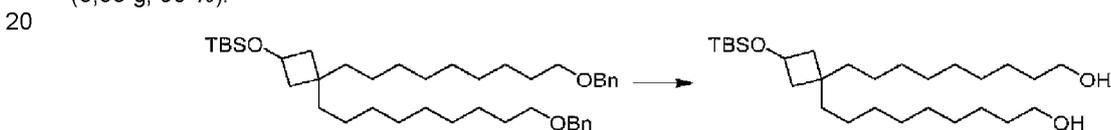
45 A una solución de 3,3-bis(9-(benciloxi)nonil)-2,2-diclorociclobutan-1-ona (3,02 g, 5,0 mmol) en 80 ml de MeOH, se añadió polvo de Zn (1,96 g, 30 mmol). Después de agitar durante 15 min, se añadió cloruro de amonio (1,6 g, 30 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La TLC mostró que la reacción se había completado y la mezcla se concentró hasta sequedad. Se añadieron 100 ml de agua y 100 ml de EtOAc y la mezcla se filtró a través de Celite. El filtrado se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio. Tras la filtración y concentración se obtuvo el producto (2,58 g, 97 %), que se utilizó para la siguiente etapa sin purificación.



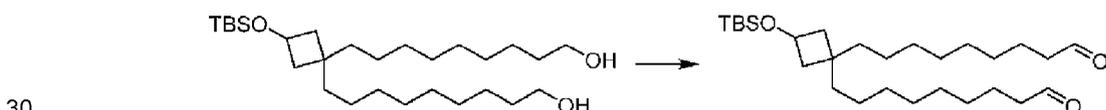
5 A 0 °C, se añadió borohidruro de sodio (0,51 g, 13,51 mmol) a una solución de 3,3-bis(9-(benciloxi)nonil)ciclobutan-1-ona (2,58 g, 4,82 mmol) en 48 ml de MeOH/THF (5:1), y a continuación la reacción se agitó a esta temperatura durante 1 h. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de bicarbonato de sodio y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el producto se obtuvo como un aceite incoloro (2,68 g, cuant.), que se utilizó para la siguiente etapa sin purificación.



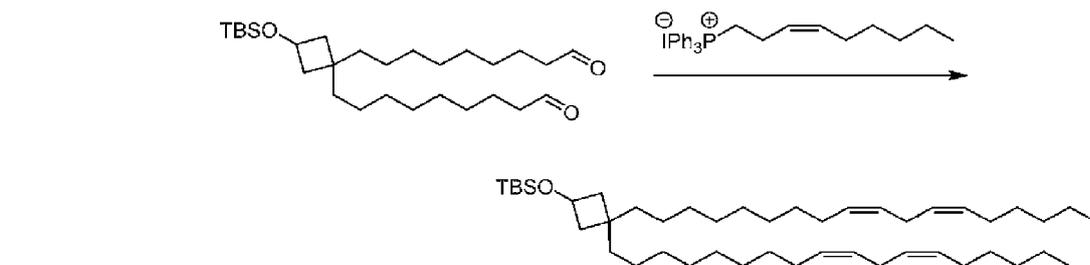
10 A una solución de 3,3-bis(9-(benciloxi)nonil)ciclobutan-1-ol (3,31 g, 6,17 mmol) e imidazol (0,92 g, 13,57 mmol) en 50 ml de diclorometano, se añadió cloruro de *tert*-butildimetilsililo (1,15 g, 7,28 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La TLC mostró una reacción completa. Se añadió agua para inactivar la reacción y la mezcla se extrajo con diclorometano (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 20 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (3,53 g, 90 %).



15 Se purgó una mezcla de (3,3-bis(9-(benciloxi)nonil)ciclobutoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano (3,53 g, 5,42 mmol) y paladio sobre carbono (10 % en peso, 0,71 g) en 350 ml de EtOAc con nitrógeno e hidrógeno, respectivamente. Después de agitar bajo un globo de hidrógeno durante la noche, la TLC mostró que la reacción se había completado y a continuación la mezcla de reacción se filtró a través de Celite. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 70 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (2,35 g, 92 %).

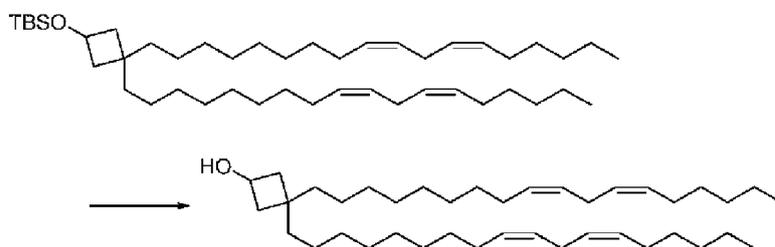


20 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 9,9'-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclobutano-1,1-diil)bis(nonan-1-ol) (1,49 g, 3,16 mmol) en 20 ml de diclorometano a una solución de peryodinano de Dess-Martin (2,68 g, 6,33 mmol) en 70 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 3 h. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y a continuación se añadieron solución de Na₂S₂O₃ al 10 % y solución saturada de bicarbonato de sodio. Después de la extracción con diclorometano (2 X), las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (0,88 g, 60 %).

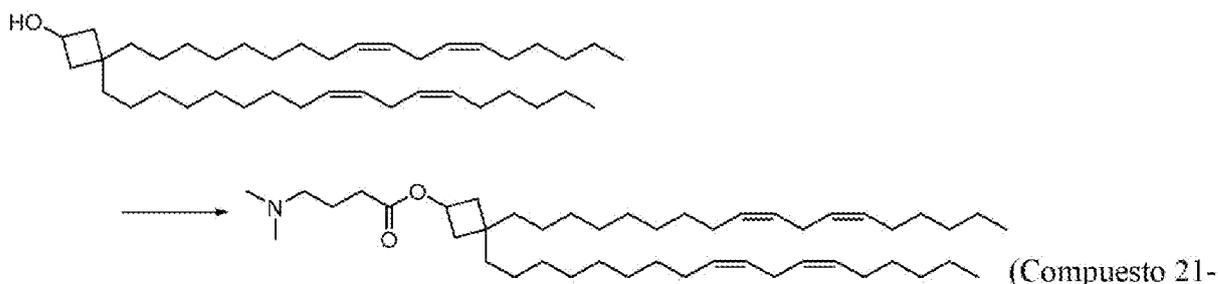


30 A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (0,51 g, 4,53 mmol) a una solución de yoduro de (Z)-non-3-en-1-iltrifenilfosfonio (2,33 g, 4,53 mmol) en 30 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 9,9'-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclobutano-1,1-diil)dinonanal (0,88 g, 1,89 mmol) en 25 ml de THF (purgado con nitrógeno

3 veces) y a continuación se dejó calentar la reacción hasta temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 20 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (543 mg, 42 %).



10 A una solución de *tert*-butil(3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclobutoxi)dimetilsilano (0,67 g, 0,98 mmol) en 60 ml de THF, se añadió una solución de TBAF (1,0 M en THF, 9,8 ml, 9,8 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La TLC mostró una reacción completa. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 20 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (0,64 g, cuant.).



2)

Fórmula química: C₄₆H₈₃NO₂

15

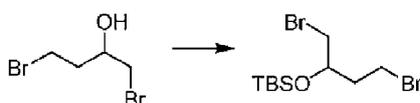
Peso molecular: 682,18

20 0 °C, se añadieron piridina (2,4 ml) y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en peso en DMF, 2,4 ml, 4,16 mmol) a una solución de clorhidrato de ácido 4-(dimetilamino)butanoico (564 mg, 3,37 mmol) en 6 ml de DMF. Después de agitar durante 10 min, se añadió una solución de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclobutan-1-ol (0,64 g, 1,12 mmol) en 4 ml de DMF y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La MS y TLC mostraron la formación de producto. Se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio para inactivar la reacción y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio y concentrar, el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 100 %/hexanos) para proporcionar el producto 4-(dimetilamino)butanoato de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclobutilo como un aceite de color ligeramente amarillo (479 mg, 63 %).

30 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,28-5,42 (m, 8 H), 4,89-4,99 (m, 1 H), 2,76 (t, 4 H, J = 6,1 Hz), 2,30 (t, 4 H, J = 7,4 Hz), 2,23 (s, 6 H), 2,15-2,21 (m, 2H), 2,04 (q, 8 H, J = 6,6 Hz), 1,68-1,84 (m, 4 H), 1,08-1,40 (m, 40 H), 0,88 (t, 6 H, J = 6,6 Hz).

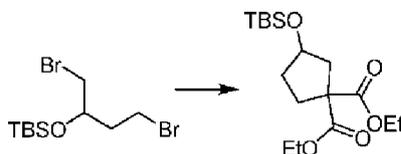
35 APCI: m/z 682,6 (M+H)⁺.

DS. Compuesto 21-3: 3-(Dimetilamino)propanoato de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentilo

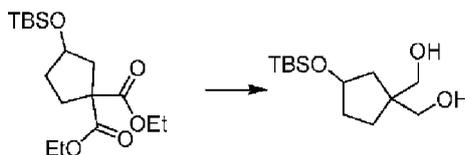


40 A 0 °C, a una solución de 1,4-dibromobutan-2-ol (75,0 g, 0,328 mol) e imidazol (49,0 g, 0,72 mol) en 500 ml de diclorometano, se añadió gota a gota una solución de cloruro de *tert*-butildimetilsililo (57,0 g, 0,36 mol) en 300

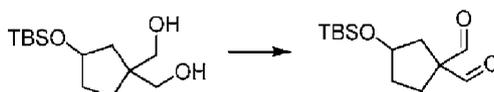
- ml de diclorometano. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se mantuvo en agitación durante la noche. La TLC mostró una conversión limpia. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con diclorometano. Después de la concentración, el residuo se recogió con diclorometano y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 . Después de la filtración y concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 : éter al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar un producto puro como un líquido incoloro (83,05 g, 71 %).



- 10 Se agitó a temperatura ambiente una solución de *tert*-butil((1,4-dibromobutan-2-il)oxi)dimetilsilano (53,7 g, 0,152 mol), malonato de dietilo (10,0 g, 0,138 mol), carbonato de potasio (47,6 g, 0,345 mol) y bromuro de tetrabutilamonio (4,45 g, 13,8 mmol) en 700 ml de DMF durante 3 días. La TLC casi no mostró material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3 X) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de cloruro de amonio y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio, la solución se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 : EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para producir el producto deseado como un aceite incoloro (36,92 g, 77 %).

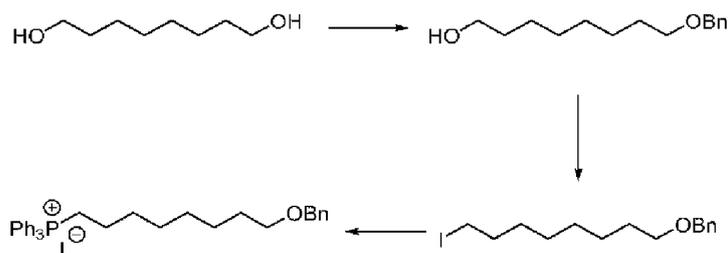


- 20 A 0 °C, se añadió una solución de hidruro de litio y aluminio (2,0 M en THF, 43,2 ml, 86,4 mmol) a una solución de 3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-dicarboxilato de dietilo (14,89 g, 43,2 mmol) en 60 ml de THF y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una conversión limpia. La reacción se inactivó añadiendo lentamente agua (6 ml) y NaOH 1 N (20 ml) y a continuación se agitó durante 30 min. La suspensión se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO_2 : EtOAc al 0 a 90 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (9,86 g, 88 %).



- 30 A -78 °C, se añadió gota a gota una solución de DMSO (2,15 ml, 30,3 mmol) en 10 ml de diclorometano a una solución de cloruro de oxalilo (1,35 ml, 15,2 mmol) en 15 ml de diclorometano y a continuación se añadió inmediatamente una solución de 3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-diil)dimetanol (1,88 g, 7,2 mmol) en 15 ml de diclorometano. Después de agitar durante 30 min, se añadió trietilamina (7,25 ml, 52,0 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente. La TLC mostró una conversión limpia. La reacción se inactivó con agua y se extrajo con éter (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de cloruro de amonio y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio, la solución se filtró y se concentró para producir el producto como un aceite amarillo (2,00 g, cuant.), que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

- 40 Preparación de yoduro de (8-(benziloxi)octil)trifenilfosfonio:



- 45 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de octano-1,8-diol (100 g, 0,684 mol) en 100 ml de DMF a una suspensión de NaH (27,35 g, 0,684 mol) en 700 ml de DMF. Después de agitar durante 30 min, se añadió

lentamente una solución de cloruro de bencilo (78,7 ml, 0,684 moles) en 200 ml de DMF. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La TLC mostró que el material de partida estaba casi consumido. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera y a continuación se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 60 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (85,83 g, 53 %).

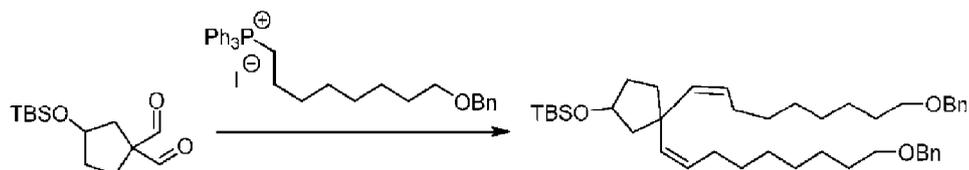
5

A 0 °C, se añadió lentamente una solución de trifenilfosfina (114,4 g, 0,436 mol) en 300 ml de diclorometano a una solución de 8-(benciloxi)octan-1-ol (85,83 g, 0,363 mol), imidazol (52 g, 0,76 mol) y yodo (129,1 g, 0,51 mol) en 1200 ml de diclorometano y a continuación se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente durante 3 días. Después de la filtración, el filtrado se concentró y el residuo se trituró con hexanos. La solución se filtró a través de un tapón de gel de sílice y se eluyó con éter al 10 % en hexanos para proporcionar el producto como un líquido turbio (81,09 g). El sólido gomoso se disolvió en diclorometano y se pasó a través de gel de sílice y se eluyó con éter al 10 % en hexanos para proporcionar un líquido turbio (20,0 g). Rendimiento total: 101,1 g (80 %).

15

Se calentó a reflujo una solución de (((8-yodooctil)oxi)metil)benceno (101,1 g, 0,293 mol) y trifenilfosfina (154,1 g, 0,586 mol) en acetonitrilo (1 l) durante la noche. Después de concentrar hasta sequedad, el residuo se disolvió en diclorometano y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: MeOH al 0 a 10 %/CH₂Cl₂) para proporcionar el producto como un aceite amarillo (144,1 g, 81 %).

20



A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (2,42 g, 21,6 mmol) a una solución de yoduro de 8-(benciloxi)octil)trifenilfosfonio (14,2 g, 23,3 mmol) en 80 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-dicarbaldéido (2,00 g, 7,2 mmol) en 20 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces) y a continuación la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con éter (2 X). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: éter al 0 a 6 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (3,77 g, 79 %).

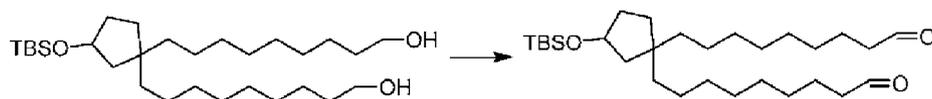
30

35



Se purgó con nitrógeno una mezcla de ((3,3-bis((*Z*)-9-(benciloxi)non-1-en-1-il)ciclopentil)oxi)(*tert*-butil)dimetilsilano (3,04 g, 4,6 mmol) y paladio sobre carbono (10 %, 600 mg) en 200 ml de EtOAc, a continuación con hidrógeno y a continuación se agitó bajo hidrógeno durante la noche. La TLC y MS mostraron una reacción completa. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró para producir el producto como un aceite incoloro (2,32 g, cuant.).

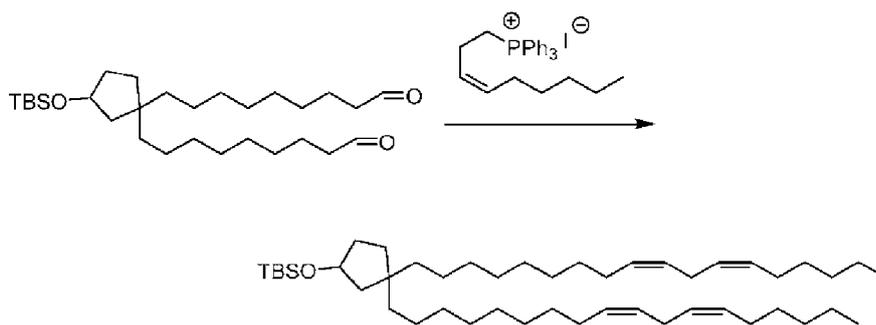
40



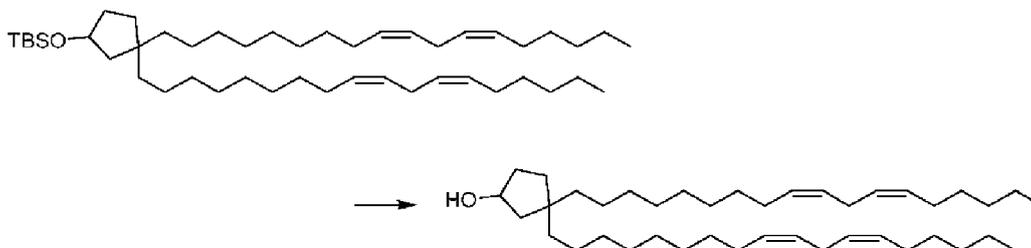
A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 9,9'-3-(((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-diil)bis(nonan-1-ol) (2,32 g, 4,6 mmol) en 30 ml de diclorometano a una solución de peryodinato de Dess-Martin (5,46 g, 12,88 mmol) en 70 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 4 h. La TLC mostró que se había consumido el material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y a continuación se añadieron solución de Na₂S₂O₃ al 10 % y solución saturada de bicarbonato de sodio. Después de la extracción con diclorometano (2 X), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se concentraron. El residuo se disolvió en éter y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio, la solución se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 50 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (0,73 g, 16 %).

50

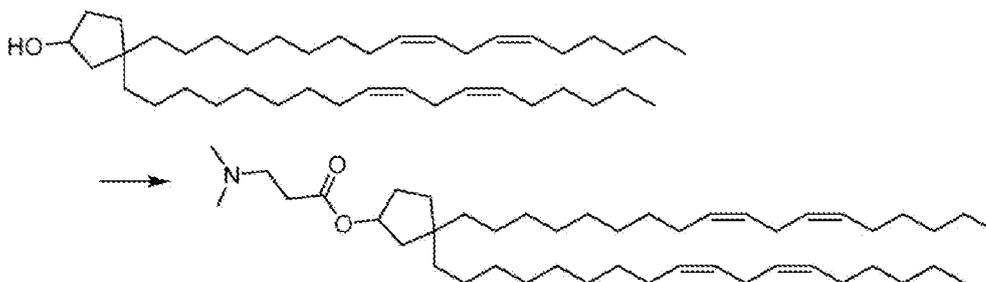
55



- 5 A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (363 mg, 3,23 mmol) a una solución de yoduro de (Z)-non-3-en-1-iltrifenilfosfonio (1,66 g, 3,23 mmol) en 30 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 9,9'-(3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-diil)dinonanal (0,52 g, 1,08 mmol) en 10 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces) y a continuación se dejó calentar la reacción hasta temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con éter (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 5 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (170 mg, 22 %).



- 15 A una solución de *tert*-butil(3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentil)oxi)dimetilsilano (170 mg, 0,24 mmol) en 20 ml de THF, se añadió una solución de TBAF (1,0 M en THF, 2,4 ml, 2,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC mostró una reacción completa. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 20 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (80 mg, 57 %).



(Compuesto 21-3)

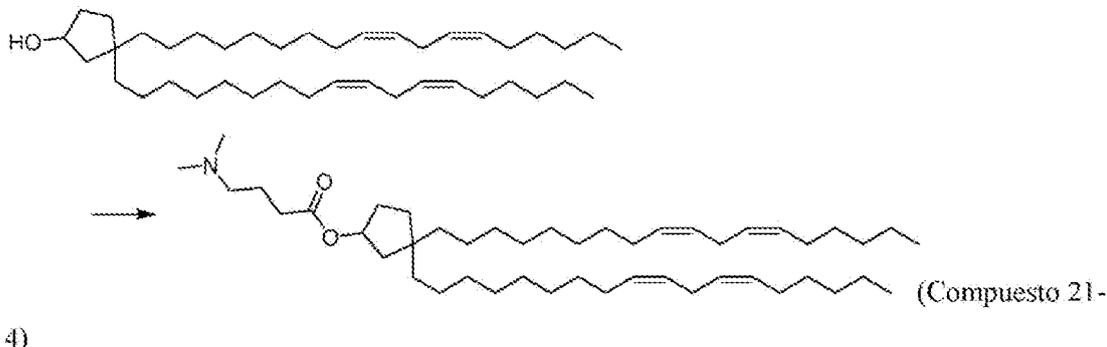
- 25 A 0 °C, se añadieron piridina (0,1 ml) y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en peso en EtOAc, 0,51 mmol) a una solución de clorhidrato de ácido 3-(dimetilamino)propanoico (63 mg, 0,41 mmol) en 3 ml de DMF. Después de agitar durante 10 min, se añadió una solución de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentano-1-ol (80 mg, 0,14 mmol) en 2 ml de DMF y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La MS y TLC mostraron la formación de producto. Se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio para inactivar la reacción y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). La capa orgánica combinada se lavó con agua y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio y concentrar, el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 100 %/hexanos) para proporcionar el producto 3-(Dimetilamino)propanoato de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentilo como un aceite incoloro (59 mg, 62 %).

- 35 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,28-5,42 (m, 8 H), 5,12-5,17 (m, 1 H), 2,76 (t, 4 H, J = 6,0 Hz), 2,59 (t, 2 H, J = 6,9 Hz), 2,42 (t, 2 H, J = 6,9 Hz), 2,23 (s, 6H), 2,04 (q, 8 H, J = 6,9 Hz), 1,75-2,00 (m, 2 H), 1,38-1,72 (m, 5 H), 1,14-1,39 (m, 39 H), 0,88 (t, 6 H, J = 6,9 Hz).

APCI: m/z 682,6 (M+H)⁺.

DT. Compuesto 21-4: 4-(Dimetilamino)butanoato de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentilo

5



A 0 °C, se añadieron piridina (0,6 ml) y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en peso en DMF, 2,4 ml, 4,16 mmol) a una solución de clorhidrato de ácido 4-(dimetilamino)butanoico (565 mg, 3,37 mmol) en 3 ml de DMF. Después de agitar durante 10 min, se añadió una solución de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentan-1-ol (0,65 g, 1,115 mmol) en 1 ml de DMF y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La MS y TLC mostraron la formación de producto. Se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio para inactivar la reacción y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). La capa orgánica combinada se lavó con agua y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio y concentrar, el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 100 %/hexanos) para proporcionar el producto 4-(dimetilamino)butanoato de 3,3-di((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il)ciclopentilo como un aceite incoloro (556 mg, 72 %).

10

15

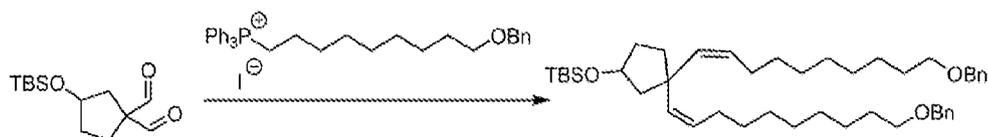
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,28-5,42 (m, 8 H), 5,06-5,15 (m, 1 H), 2,76 (t, 4 H, J = 6,0 Hz), 2,29 (t, 4 H, J = 7,4 Hz), 2,23 (s, 6 H), 2,04 (q, 8 H, J = 6,6 Hz), 1,14-1,99 (m, 48 H), 0,88 (t, 6 H, J = 6,9 Hz).

20

APCI: m/z 696,6 (M+H)⁺.

DU. Compuesto 21-5: 3-(Dimetilamino)propanoato de 3,3-di((10Z,13Z)-nonadeca-10,13-dien-1-il)ciclopentilo

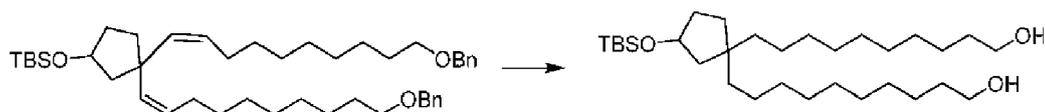
25



A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (10,03 g, 89,4 mmol) a una solución de yoduro de (9-(benciloxi)nonil)trifenilfosfonio (43,0 g, 69,0 mmol) en 160 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-dicarbaldéido (7,70 g, 29,8 mmol) en 60 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces) y a continuación la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con éter (2 X). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: éter al 0 a 6 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (6,52 g, 32 %).

30

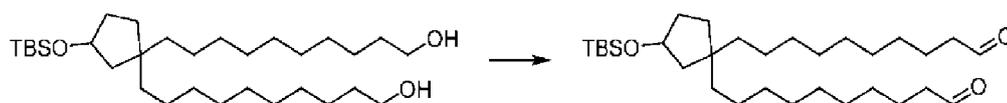
35



40

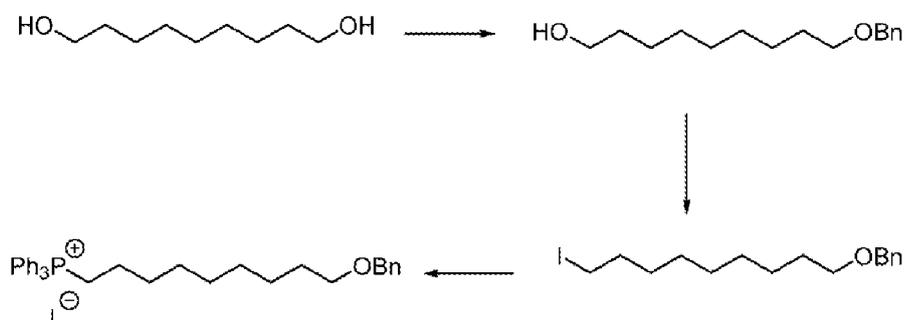
Se purgó con nitrógeno una mezcla de ((3,3-bis((Z)-10-(benciloxi)dec-1-en-1-il)ciclopentil)oxi)(*tert*-butil)dimetilsilano (6,52 g, 9,86 mmol) y paladio sobre carbono (10 %, 1,30 g) en 400 ml de EtOAc, a continuación con hidrógeno y a continuación se agitó bajo hidrógeno durante la noche. La TLC y MS mostraron una reacción completa. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 80 %/hexanos) para producir el producto como un semisólido (4,60 g, 96 %).

45



5 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 10,10'-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-diil)bis(decan-1-ol) (4,60 g, 9,49 mmol) en 100 ml de diclorometano a una solución de peryodinato de Dess-Martin (11,276 g, 26,6 mmol) en 50 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y a continuación se añadieron solución de Na₂S₂O₃ al 10 % y solución saturada de bicarbonato de sodio. Después de extraer con diclorometano (2 X), la capa orgánica combinada se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto bruto se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 80 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (1,20 g, 26 %).

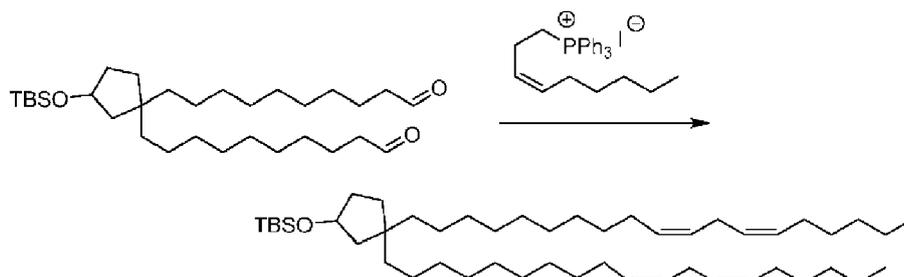
15 Preparación de yoduro de (9-(benciloxi)nonil)trifenilfosfonio:



20 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de nonano-1,9-diol (96,16 g, 0,60 mol) en 100 ml de DMF a una suspensión de NaH (24,0 g, 0,60 mol) en 800 ml de DMF. Después de agitar durante 1 h, se añadió lentamente una solución de bromuro de bencilo (71,4 ml, 0,60 mol) en 200 ml de DMF. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La TLC mostró que estaba casi consumida. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y a continuación se extrajo con EtOAc (3 X). La capa orgánica combinada se lavó con agua y salmuera y a continuación se secó sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 100 %/hexanos y a continuación MeOH al 0 a 5 %/diclorometano) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (74,4 g, 50 %).

30 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de trifenilfosfina (30,65 g, 0,117 mol) en 100 ml de diclorometano a una solución de 9-(benciloxi)nonan-1-ol (23,0 g, 0,097 mol), imidazol (13,93 g, 0,204 mol) y yodo (34,60 g, 0,136 mol) en 200 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la filtración, el filtrado se concentró y el residuo se trituró con hexanos. La solución se filtró a través de un tapón de gel de sílice y se eluyó con éter al 10 % en hexanos para proporcionar el producto como un líquido turbio (32,2 g, 95 %).

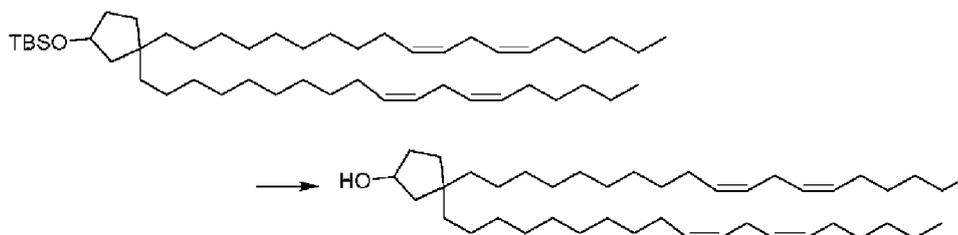
35 Se calentó a reflujo una solución de (((9-yodononil)oxi)metil)benceno (32,2 g, 0,093 mol) y trifenilfosfina (48,93 g, 0,186 mol) en acetonitrilo (500 ml) durante la noche. Después de concentrar hasta sequedad, el residuo se disolvió en diclorometano y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: MeOH al 0 a 10 %/CH₂Cl₂) para proporcionar el producto como un aceite amarillo (44,4 g, 78 %).



40

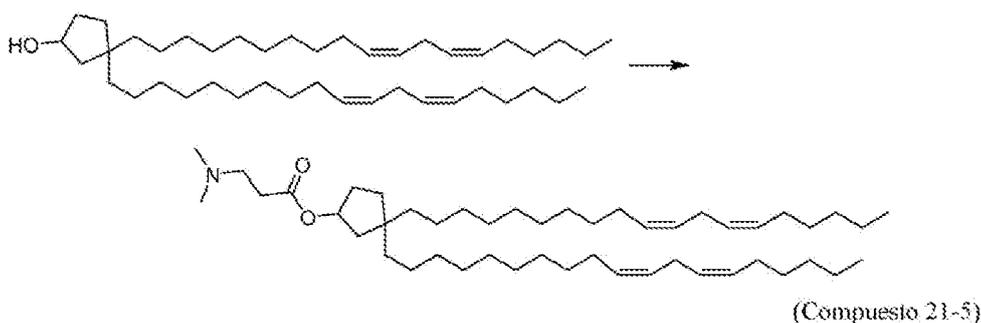
A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (587 mg, 5,23 mmol) a una solución de yoduro de (*Z*)-non-3-en-1-

- 5 ilitrifetilfosfonio (3,69 g, 7,17 mmol) en 70 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 10,10'-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)ciclopentano-1,1-diil)bis(decenal) 9' (838 mg, 1,65 mmol) en 30 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces) y a continuación se dejó calentar la reacción hasta temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con éter (2 X). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 5 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (926 mg, 77 %).



10

- 15 A una solución de *tert*-butil(3,3-di((10Z,13Z)-nonadeca-10,13-dien-1-il)ciclopentil)oxi)dimetilsilano (926 mg, 1,27 mmol) en 100 ml de THF, se añadió una solución de TBAF (1,0 M en THF, 13,3 ml, 13,3 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La TLC mostró una reacción completa. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 20 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (830 mg, cuant.).

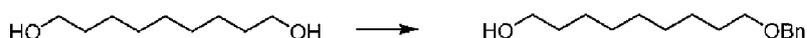


(Compuesto 21-5)

- 20 A 0 °C, se añadieron piridina (0,35 ml) y solución de anhídrido propilfosfónico (50 % en peso en EtOAc, 0,7 ml, 1,21 mmol) a una solución de clorhidrato de ácido 3-(dimetilamino)propanoico (151 mg, 0,98 mmol) en 6 ml de DMF. Después de agitar durante 10 min, se añadió una solución de 3,3-di((10Z,13Z)-nonadeca-10,13-dien-1-il)ciclopentano-1-ol (200 mg, 0,33 mmol) en 4 ml de DMF y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La MS y TLC mostraron la formación de producto. Se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio para inactivar la reacción y a continuación se extrajo con EtOAc (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio y concentrar, el residuo se purificó mediante ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 100 %/hexanos) para proporcionar el producto 3-(Dimetilamino)propanoato de 3,3-di((10Z,13Z)-nonadeca-10,13-dien-1-il)ciclopentilo como un aceite incoloro (135 mg, 58 %).
- 30 RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,28-5,42 (m, 8 H), 5,10-5,17 (m, 1 H), 2,76 (t, 4 H, J = 6,1 Hz), 2,59 (t, 2 H, J = 6,9 Hz), 2,42 (t, 2 H, J = 6,9 Hz), 2,23 (s, 6H), 2,04 (q, 8 H, J = 6,9 Hz), 1,75-2,00 (m, 2 H), 1,38-1,72 (m, 5 H), 1,14-1,39 (m, 43 H), 0,88 (t, 6 H, J = 6,9 Hz).

35 APCI: m/z 710,7 (M+H)⁺

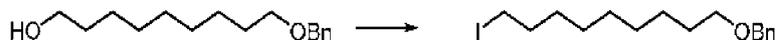
DV. Compuesto 21-6: 1-(2,3-Di((8Z,11Z)-heptadeca-8,11-dien-1-il)ciclopropil)-N,N-dimetilmetanamina



40

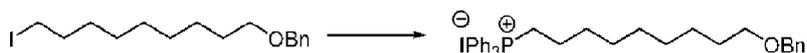
- 45 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de nonano-1,9-diol (96,16 g, 0,60 mol) en 100 ml de DMF a una suspensión de NaH (24,0 g, 0,60 mol) en 800 ml de DMF. Después de agitar durante 1 h, se añadió lentamente una solución de bromuro de bencilo (71,4 ml, 0,60 mol) en 200 ml de DMF. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La TLC mostró que el material de partida estaba casi consumido. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo y a continuación se extrajo con EtOAc (3 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera y a continuación se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 100 %/hexanos y a continuación MeOH al 0 a 5

%/diclorometano) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (74,4 g, 50 %).

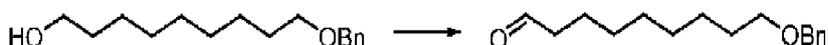


- 5 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de trifetilfosfina (6,29 g, 24 mmol) en 100 ml de diclorometano a una solución de 9-(benciloxi)nonan-1-ol (5,0 g, 20 mmol), imidazol (2,9 g, 42 mmol) y yodo (8,5 g, 33,6 mmol) en 100 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la concentración, el residuo se trituró con hexanos para proporcionar el producto como un líquido turbio (5,38 g, 75 %).

10

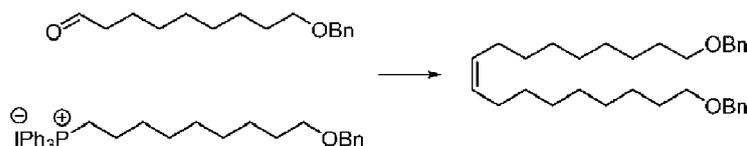


15 Se calentó a reflujo una solución de (((9-yodononil)oxi)metil)benceno (5,38 g, 14,9 mmol) y trifetilfosfina (7,8 g, 29,8 mmol) en acetonitrilo (100 ml) durante la noche. Después de concentrar hasta sequedad, el residuo se disolvió en diclorometano y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: MeOH al 0 a 10 %/CH₂Cl₂) para proporcionar el producto como un aceite amarillo (8,5 g, 92 %).



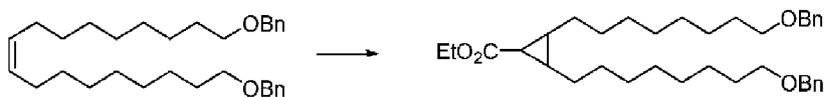
- 20 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 9-(benciloxi)nonan-1-ol (5,0 g, 20 mmol) en 50 ml de diclorometano a una suspensión de peryodinano de Dess-Martin (12,5 g, 29,5 mmol) en 100 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de inactivar con solución saturada de bicarbonato de sodio, la mezcla se extrajo con diclorometano (2 X). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para producir el producto como un aceite incoloro (4,0 g, 80 %).

25



- 30 A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (1,54 g, 13,7 mmol) a una suspensión de yoduro de (9-(benciloxi)nonil)trifenilfosfonio (8,5 g, 13,6 mmol) en 150 ml de THF. Después de 1 h, se añadió gota a gota a la mezcla de reacción una solución de 9-(benciloxi)nonanal (3,0 g, 12 mmol) en 50 ml de THF y a continuación se dejó calentar la reacción hasta temperatura ambiente durante 4 h. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con hexanos (2 X). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó con cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: diclorometano al 0 a 100 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (3,5 g, 63 %).

35



- 40 A una solución a reflujo de (Z)-1,18-bis(benciloxi)octadec-9-eno (3,5 g, 7,5 mmol) en 200 ml de diclorometano, se añadió una solución de Cu(acac)₂ (200 mg, 0,76 mmol) en 40 ml de diclorometano. Y a continuación se añadió diazoacetato de etilo (que contiene diclorometano al 13 %, 1,3 ml 9 x) cada 30 min. La MS mostró la formación de producto. La reacción se inactivó con MeOH y se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 10 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (2,23 g, 82 % puro mezclado con subproducto de acetato).

45



- 50 Se agitó a temperatura ambiente una mezcla de 2,3-bis(8-(benciloxi)octil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (2,23 g, 4,05 mmol) y paladio sobre carbono (10 % en peso, 200 mg) en 200 ml de EtOAc bajo globo de hidrógeno durante 4,5 h. La MS y TLC mostraron una reacción completa. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró para proporcionar el producto mezclado con el subproducto, succinato de dietilo (1,62 g, contiene 0,55 equivalentes de subproducto, 84 %).

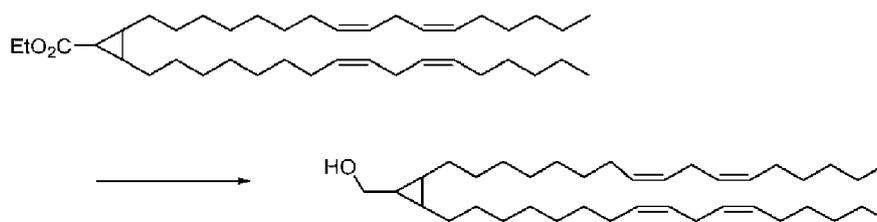
55



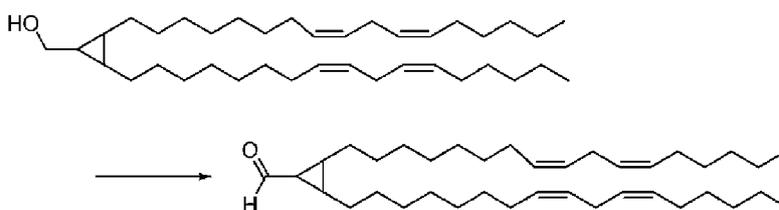
5 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de 2,3-bis(8-hidroxiocil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (1,43 g, 4,03 mmol) en 100 ml de diclorometano a una suspensión de peryodiano de Dess-Martin (3,63 g, 8,5 mmol) en 150 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de inactivar con solución saturada de bicarbonato de sodio, la mezcla se extrajo con diclorometano (2 X). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para producir el producto como un aceite incoloro (1,2 g, 81 %).



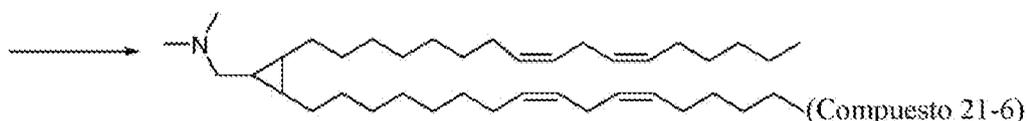
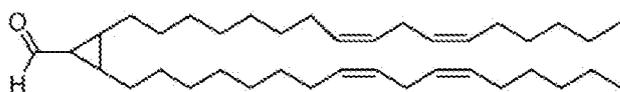
10 A 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (1,7 g, 15,1 mmol) a una solución de yoduro de (Z)-non-3-en-1-iltrifenilfosfonio (5,8 g, 15,1 mmol) en 150 ml de THF que se purgó con nitrógeno 3 veces. Después de 1 h, se transfirió mediante una cánula a la mezcla de reacción una solución de 2,3-bis(8-oxooctil)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (1,2 g, 3,28 mmol) en 50 ml de THF (purgado con nitrógeno 3 veces), y a continuación se dejó calentar la reacción hasta temperatura ambiente durante la noche. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó con solución saturada de cloruro de amonio y a continuación se extrajo con hexanos (2 X). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó por ISCO (SiO₂: EtOAc al 0 a 3 %/hexanos) para proporcionar el producto como un aceite incoloro (1,3 g, 68 %).



25 Se añadió lentamente una solución de hidruro de litio y aluminio (2,0 M en THF, 1,7 ml, 3,35 mmol) a una solución de 2,3-di((8Z,11Z)-heptadeca-8,11-dien-1-il)ciclopropano-1-carboxilato de etilo (1,3 g, 2,23 mmol) en 150 ml de THF y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La TLC mostró una reacción completa. La reacción se inactivó mediante la adición lenta de Na₂SO₄·10H₂O, a continuación la mezcla se filtró y se lavó con THF. El filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: EtOAc al 0 a 10 %/Hexanos) para producir el producto como un aceite incoloro (1,1 g, 91 %).



35 A 0 °C, se añadió lentamente una solución de (2,3-di((8Z,11Z)-heptadeca-8,11-dien-1-il)ciclopropil)metanol (1,1 g, 2,03 mmol) en 50 ml de diclorometano a una suspensión de peryodiano de Dess-Martin (1,30 g, 3,05 mmol) en 150 ml de diclorometano y a continuación la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de inactivar con solución saturada de bicarbonato de sodio, la mezcla se extrajo con diclorometano (2 X). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para producir el producto como un aceite incoloro (0,87 g, 79 %).



A una solución de 2,3-di((8Z,11Z)-heptadeca-8,11-dien-1-il)ciclopropano-1-carbaldehído (0,87 g, 1,61 mmol) en 200 ml de THF, se añadieron secuencialmente dimetilamina (2,0 M en THF, 1,61 ml, 3,22 mmol), triacetoxiborohidruro de sodio (682 mg, 3,22 mmol) y ácido acético (0,19 ml, 3,22 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La MS mostró que la reacción se había completado y se añadió solución saturada de bicarbonato de sodio para inactivar la reacción. La mezcla se extrajo con EtOAc (2 X) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la filtración y concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂: MeOH al 0 a 10 %/diclorometano) para producir el producto 1-(2,3-di((8Z,11Z)-heptadeca-8,11-dien-1-il)ciclopropil)-N,N-dimetilmetanamina como un aceite incoloro (620 mg, 65 %).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,27-5,42 (m, 8 H), 2,76 (t, 4 H, J = 6,0 Hz), 2,38 (bs, 8 H), 2,04 (q, 8 H, J = 6,6 Hz), 1,18-1,59 (m, 36 H), 0,88 (t, 6 H, J = 6,6 Hz), 0,52-0,58 (m, 2 H), 0,28-0,38 (m, 1 H).

APCI: m/z 568,6 (M+H)⁺.

Ejemplo 2: Producción de composiciones de nanopartículas

Producción de composiciones de nanopartículas

Con el fin de investigar composiciones de nanopartículas seguras y eficaces para su uso en la administración de agentes terapéuticos y/o profilácticos a las células, se preparan y evalúan una variedad de formulaciones. Específicamente, se optimizan los elementos particulares y las relaciones de los mismos en el componente lipídico de las composiciones de nanopartículas.

Las nanopartículas se pueden preparar con procedimientos de mezcla tales como microfluídicos y mezcla de unión en T de dos corrientes de fluido, una de las cuales contiene el agente terapéutico y/o profiláctico y la otra tiene los componentes lipídicos.

Las composiciones lipídicas se preparan combinando un lípido según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), un fosfolípido (tal como DOPE o DSPC, que se puede obtener de Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL), un lípido PEG (tal como 1,2-dimiristoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol, también conocido como PEG-DMG, que se puede obtener de Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL), y un lípido estructural (tal como el colesterol, que se puede obtener de Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Alemania) a concentraciones de alrededor de 50 mM en etanol. Las soluciones se deben refrigerar para su almacenamiento a, por ejemplo, -20 °C. Los lípidos se combinan para proporcionar las relaciones molares deseadas (véase, por ejemplo, la Tabla 1) y se diluyen con agua y etanol hasta una concentración final de lípidos de entre alrededor de 5,5 mM y alrededor de 25 mM.

Las composiciones de nanopartículas que incluyen un agente terapéutico y/o profiláctico y un componente lipídico se preparan combinando la solución lipídica con una solución que incluye el agente terapéutico y/o profiláctico a relaciones de p:p componente lipídico a agente terapéutico y/o profiláctico de entre alrededor de 5:1 y alrededor de 50:1. La solución de lípidos se inyecta rápidamente usando un sistema basado en microfluidos NanoAssemblr a velocidades de flujo entre alrededor de 10 ml/min y alrededor de 18 ml/min en la solución de agente terapéutico y/o profiláctico para producir una suspensión con una relación de agua con respecto a etanol de entre alrededor de 1:1 y alrededor de 4:1.

Para composiciones de nanopartículas que incluyen un ARN, las soluciones del ARN a concentraciones de 0,1 mg/ml en agua desionizada se diluyen en tampón de citrato de sodio 50 mM a un pH entre 3 y 4 para formar una solución madre.

Las composiciones de nanopartículas se pueden procesar mediante diálisis para eliminar el etanol y lograr el intercambio de amortiguador. Las formulaciones se dializan dos veces contra solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4, a volúmenes 200 veces mayores que el del producto primario utilizando casetes Slide-A-Lyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL) con un valor de corte de peso molecular de 10 kD. La primera diálisis se realiza a temperatura ambiente durante 3 horas. A continuación, las formulaciones se dializan durante la noche a 4 °C. La suspensión de nanopartículas resultante se filtra a través de filtros estériles de 0,2 μm (Sarstedt, Numbrecht, Alemania) en viales de vidrio y se sellan con cierres de engarce. Generalmente se obtienen soluciones de composiciones de nanopartículas de 0,01 mg/ml a 0,10 mg/ml.

El procedimiento descrito anteriormente induce la nanoprecipitación y la formación de partículas. Para lograr la misma nanoprecipitación, se pueden usar procedimientos alternativos que incluyen, pero sin limitarse a, la unión en T y la inyección directa.

Caracterización de composiciones de nanopartículas

Se puede utilizar un Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, RU) para determinar el tamaño de partícula, el índice de polidispersidad (IPD) y el potencial zeta de las composiciones de nanopartículas en PBS 1x para determinar el tamaño de partícula y PBS 15 mM para determinar el potencial zeta.

5

La espectroscopía ultravioleta visible puede usarse para determinar la concentración de un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, ARN) en composiciones de nanopartículas. Se añaden 100 µl de la formulación diluida en PBS 1x a 900 µl de una mezcla 4:1 (v/v) de metanol y cloroformo. Después de la mezcla, el espectro de absorbancia de la solución se registra, por ejemplo, entre 230 nm y 330 nm en un espectrofotómetro DU 800 (Beckman Coulter, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA). La concentración de agente terapéutico y/o profiláctico en la composición de nanopartículas se puede calcular en función del coeficiente de extinción del agente terapéutico y/o profiláctico utilizado en la composición y de la diferencia entre la absorbancia a una longitud de onda de, por ejemplo, 260 nm y el valor de referencia a una longitud de onda de, por ejemplo, 330 nm.

10

15

Para composiciones de nanopartículas que incluyen un ARN, se puede usar un ensayo de ARN QUANT-IT™ RIBOGREEN® (Invitrogen Corporation Carlsbad, CA) para evaluar la encapsulación de un ARN por la composición de nanopartículas. Las muestras se diluyen a una concentración de aproximadamente 5 µg/ml en una solución tampón TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,5). Se transfieren 50 µl de las muestras diluidas a una placa de 96 pocillos de poliestireno y se añaden a los pocillos 50 µl de tampón TE o 50 µl de una solución de Triton X-100 al 2 %. La placa se incuba a una temperatura de 37 °C durante 15 minutos. El reactivo RIBOGREEN® se diluye 1:100 en tampón TE, y se añaden 100 µl de esta solución a cada pocillo. La intensidad de fluorescencia se puede medir usando un lector de placas de fluorescencia (Contador Multilabel Wallac Victor 1420; Perkin Elmer, Waltham, MA) a una longitud de onda de excitación de, por ejemplo, alrededor de 480 nm y una longitud de onda de emisión de, por ejemplo, alrededor de 520 nm. Los valores de fluorescencia del blanco de reactivo se restan de los de cada una de las muestras y el porcentaje de ARN libre se determina dividiendo la intensidad de fluorescencia de la muestra intacta (sin adición de Triton X-100) por el valor de fluorescencia de la muestra alterada (causado por la adición de Triton X-100).

20

25

30 Estudios de formulación *in vivo*

Con el fin de monitorear la eficacia de diversas composiciones de nanopartículas para administrar agentes terapéuticos y/o profilácticos a células diana, se preparan y administran diferentes composiciones de nanopartículas que incluyen un agente terapéutico y/o profiláctico particular (por ejemplo, un ARN modificado o de origen natural tal como un ARNm) a poblaciones de roedores. A los ratones se les administra por vía intravenosa, intramuscular, intraarterial o intratumoral una única dosis que incluye una composición de nanopartículas con una formulación tal como las proporcionadas en la Tabla 1. En algunos aspectos, se puede hacer que los ratones inhalen dosis. Los tamaños de dosis pueden variar de 0,001 mg/kg a 10 mg/kg, donde 10 mg/kg describe una dosis que incluye 10 mg de un agente terapéutico y/o profiláctico en una composición de nanopartículas por cada 1 kg de masa corporal del ratón. También se puede emplear una composición de control que incluya PBS.

35

40

Tras la administración de composiciones de nanopartículas a ratones, los perfiles de administración de dosis, las respuestas a dosis y la toxicidad de formulaciones particulares y dosis de las mismas se pueden medir mediante ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), formación de imágenes bioluminiscentes u otros procedimientos. Para composiciones de nanopartículas que incluyen ARNm, también se pueden evaluar los ciclos temporales de expresión de proteínas. Las muestras recolectadas de los roedores para su evaluación pueden incluir sangre, sueros y tejido (por ejemplo, tejido muscular del sitio de una inyección intramuscular y tejido interno); la recolección de muestras puede implicar el sacrificio de los animales.

45

50

Las composiciones de nanopartículas que incluyen ARNm son útiles en la evaluación de la eficacia y utilidad de diversas formulaciones para la administración de agentes terapéuticos y/o profilácticos. Los niveles más altos de expresión de proteína inducidos por la administración de una composición que incluye un ARNm serán indicativos de mayores eficiencias de administración de ARNm de composición de nanopartículas y/o traducción de ARNm. Dado que no se cree que los componentes que no son de ARN afecten a las propias maquinarias de traducción, es probable que un nivel más alto de expresión de proteína indique una mayor eficiencia de administración del agente terapéutico y/o profiláctico mediante una composición de nanopartículas dada con respecto a otras composiciones de nanopartículas o la ausencia de las mismas.

55

60 Ejemplo 3: Formulaciones de muestra

Las composiciones de nanopartículas que incluyen un agente terapéutico y/o profiláctico se pueden optimizar según la selección de un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I), la selección de lípidos adicionales, la cantidad de cada lípido en el componente lipídico y la relación p:p del componente lipídico con respecto al agente terapéutico y/o profiláctico, como se describe en esta invención. Los compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 67, 69, 70, 73, 80-85,

65

87-100, 102, 104, 106, 108 y 109 son compuestos de la invención.

Se realizaron estudios iniciales para comparar la eficacia de administración de composiciones de nanopartículas que incluyen diversos compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1). El lípido catiónico MC3 es un estándar actual en la técnica. Por consiguiente, se utilizó la formulación MC3 estándar que incluye alrededor del 50 % en moles de MC3, alrededor del 10 % en moles de DSPC, alrededor del 38,5 % en moles de colesterol y alrededor del 1,5 % en moles de PEG-DMG como base para este estudio. Las composiciones de nanopartículas que incluyen DOPE o DSPC como fosfolípido, colesterol como lípido estructural, PEG-DMG como lípido PEG, un ARN y un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) se prepararon según los Ejemplos 1 y 2. Las relaciones de los lípidos fueron 40:20:38,5:1,5 % en moles para el lípido descrito en esta invención:DOPE:colesterol:PEG-DMG o 50:10:38,5:1,5 % en moles para el lípido descrito en esta invención:DSPC:colesterol:PEG-DMG. El ARN utilizado fue un ARNm que codifica la luciferasa G5 (Luc) o hEPO G5. Las Tablas 1, 1b, 17-1, 19-1, 20-1 y 21-1 resumen el contenido y las características de las formulaciones.

Como se muestra en las Tablas 1 y 1a, las composiciones de nanopartículas que incluyen el Compuesto 1 produjeron las partículas más grandes entre las de las Tablas 1 y 1a, mientras que las que incluían los Compuestos 34 y 50 produjeron las partículas más pequeñas entre las de las Tablas 1 e 1a. Las eficiencias de encapsulación entre las de las Tablas 1 y 1a fueron más altas para las composiciones que incluían los Compuestos 36, 37, 40 y 41 y más bajas para las que incluían los Compuestos 1 y 24.

Tabla 1. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

25

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
1	203,2		46,2	5,95
2*	94,7	0,108	96	6,39
3	73,5	0,044	92,5	s.d.
4	89,7	0,120	96,78	7,12
5	85,1	0,140	98,1	7,01
6	81,4	0,160	98,9	6,62
7	85,1	0,130	99,1	6,94
8	83,3	0,110	98,5	6,87
9	78,0	0,170	99,5	6,76
10	81,3	0,130	99,2	6,58
11	87,4	0,099	99,5	6,54
12	87,8	0,096	96,9	5,44
13	97,7	0,080	64,2	6,30
14	88,7	0,008	96,6	6,31
15#	100,3	0,120	90,2	6,32
16#	77,4	0,140	98,2	6,28
17	82,3	0,180	96,6	6,67
18	76,7	0,120	98,4	6,17
19	76,1	0,100	97,2	6,29
20	106,4	0,150	84,2	6,12
21	98,3	0,239	98,6	6,29
22#	75,4	0,130	98,3	6,15
23	85,4	0,058	82,9	6,07
24*	110,4	0,131	36,4	6,01
25	90,0	0,186	97,0	6,20

ES 2 913 626 T5

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
26*	74,2	0,112	84,9	6,19
27	86,4	0,211	97,9	6,14
28	87,4	0,099	80,2	6,04
29	105,3	0,060	48,8	5,97
30	95,0	0,110	74,3	6,09
31	87,9	0,130	77,5	6,31
32	79,3	0,160	83,6	6,28
33	797	0,138	98,1	6,06
34*	66,0	0,077	98,1	5,74
36*	100,8	0,110	100,2	7,81
37*	86,6	0,107	99,9	6,45
40*	78,9	0,210	100,0	6,78
41*	69,0	0,239	99,9	7,02
42	116,4	0,190	97,1	6,77
43	99,0	0,220	99,1	6,72
44	94,9	0,190	89,5	6,82
45	100,2	0,200	94,9	6,77
46	81,8	0,160	97,5	6,77
47	89,8	0,180	53,1	6,82
48	111,4	0,099	79,3	6,99
49	95,8	0,200	98,8	6,4
50	65,6	0,190	98,7	5,55
51	766	0,190	98,4	6,44
52	94,4	0,100	97,5	6,77
Fórmula IV	94,2		97,6	6,25
MC3	86,2	0,117	97,70	s.d.

s.d.=sin determinar
 *=Formulado con lípido:DSPC:Chol:PEG-DMG 50:10:38,5:1,5
 #=Formulado con ARNm de hEPO

Tabla 1b. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos de una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)
53	103,0	0,23	82,8
54	93,0	0,23	96,9
55	119,5	0,23	95,2
56	117,4	0,24	99,0
57	101,9	0,23	98,8
58	112,8	0,23	98,9
59	104,7	0,23	98,6
60	105,7	0,23	98,8

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)
61	86,8	0,23	99,1
62	61,7	0,18	97,73
69	74,4	0,24	99,31
70	79,8	0,24	99,14
71	99,9	0,18	91,0
72	102,5	0,22	92,7
73	84,3	0,25	98,85
80	65,8	0,2	98,93
81	65,3	0,17	99,27
82	76,1	0,24	99,23
83	73,2	0,22	99,12
84	68,6	0,19	98,48
85	69,9	0,24	99,18
86	53,6	0,14	97,42
87	80,9	0,21	98,67
MC3	74,7	0,17	97,3

5 Como se muestra en la Tabla 17-1, los Compuestos 17-7 y 17-12 produjeron las partículas más pequeñas entre las de la Tabla 17-1, mientras que los Compuestos 17-2 y 17-10 produjeron las partículas más grandes entre las de la Tabla 17-1. Las eficiencias de encapsulación para los Compuestos 17-6 y 17-8 fueron comparables a la de MC3. Los Compuestos 17-2 y 17-10 no encapsularon ARN con alta eficiencia.

Tabla 17-1. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (17-1).

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
17-2	136,9	0,104	57,2	6,92
17-3	117,9	0,095	82,1	6,69
17-4	95,6	0,154	94,5	6,34
17-5	88,4	0,137	94,2	6,92
17-6	80,2	0,117	97,3	6,73
17-7	68,5	0,110	95,6	5,68
17-8	86,4	0,20	96,9	6,16
17-9	87,1	0,138	95,0	4,93
17-10	165,0	0,239	30,3	2,85
17-11	87,3	0,24	88,7	6,76
17-12	76,1	0,148	95,04	6,83
17-13	90,4	0,176	89,22	6,89
MC3	83,8	0,138	98,0	s.d.

s.d.= sin determinar

10

Como se muestra en la Tabla 19-1, las composiciones que incluyeron el Compuesto 19-6 produjeron las partículas más grandes entre las de la Tabla 19-1 con la eficiencia de encapsulación más baja, mientras que las que incluyeron el Compuesto 19-3 produjeron las partículas más pequeñas entre las de la Tabla 19-1 con la más alta eficiencia de encapsulación.

15

Tabla 19-1. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (19-1) o (19-11).

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
19-1	98,0	0,071	83,4	6,76
19-2	72,0	0,239	98,8	7,32
19-3	47,9	0,076	99,7	7,24
19-4	111,4	0,071	95,2	7,09
19-5	106,9	0,204	93,6	6,32
19-6	137,7	0,088	16,9	5,89
MC3	83,3	0,122	97,6	s.d.

s.d.= sin determinar

- 5 Como se muestra en la Tabla 20-1, las composiciones que incluyeron el Compuesto 20-12 produjeron las partículas más grandes entre las de la Tabla 20-1, mientras que las composiciones que incluyeron los Compuestos 20-8, 20-9 y 20-15 produjeron las partículas más pequeñas entre las de la Tabla 20-1. Las eficiencias de encapsulación para los compuestos de la Tabla 20-1 fueron las más altas para las composiciones que incluían el Compuesto 20-19.

10

Tabla 20-1. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (20-1).

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
20-1*	87,8	0,078	90,7	4,48
20-2	71,8	0,130	91,6	6,60
20-3	76,4	0,110	95,8	6,82
20-4	82,1	0,160	91,3	6,86
20-5	119,3	0,210	78,1	6,79
20-6	82,5	0,220	94,7	6,73
20-7	73,6	0,170	92,4	6,66
20-8	67,9	0,141	96,6	6,43
20-9	64,5	0,130	95,9	6,22
20-10	85,7	0,130	91,4	6,42
20-11	96,1	0,118	97,5	5,38
20-12	147,1	0,217	82,3	6,58
20-13	74,3	0,057	97,7	5,83
20-14	124,0	0,215	94,5	5,89
20-15	67,4	0,118	97,4	6,48
20-16	73,5	0,225	97,2	6,62
20-17	71,2	0,092	98,2	6,25
20-18	70,1	0,150	91,1	6,31
20-19	74,9	0,145	99,5	4,73
20-20	86,8	0,159	95,2	6,41
20-21	78,6	0,238	84,7	5,78
20-22	73,8	0,146	95,3	5,90
20-23	88,1	0,080	95,3	6,56

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
20-24	90,6	0,038	96,9	6,06
20-25	71,7	0,171	98,4	6,23
MC3	84,0	0,117	97,4	s.d.
s.d. = sin determinar * = Formulado con DOPE				

5 Como se muestra en la Tabla 21-1, las composiciones que incluyeron el Compuesto 21-1 produjeron las partículas más grandes entre las de la Tabla 21-1, mientras que las que incluyeron el Compuesto 21-2 produjeron las partículas más pequeñas entre las de la Tabla 21-1. La eficiencia de encapsulación para todas las composiciones de la Tabla 21-1 fue superior al 98 %.

Tabla 21-1. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (21-1).

Compuesto n.º	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa
21-1	119,9	0,237	98,4	6,07
21-2	83,0	0,200	99,4	6,98
21-4	94,9	0,193	98,8	7,01
21-6	86,8	0,110	98,9	6,99
MC3	91,4	0,1191	98,1	s.d.
s.d. = sin determinar				

10

Ejemplo 4: Expresión de Luc inducida por formulaciones de muestra

15 La eficacia de las composiciones de nanopartículas presentadas en la Tablas 1, 1a, 17-1, 19-1, 20-1 y 21-1 se evaluó con un estudio de bioluminiscencia. Las formulaciones se administraron por vía intravenosa a ratones (n = 6) a una dosis de 0,5 mg/kg (mpk) y se midió la bioluminiscencia en puntos de tiempo de 3, 6 y 24 horas. Se evaluaron la formulación MC3 estándar y un control de PBS para su comparación. Los compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 67, 69, 70, 73, 80-85, 87-100, 102, 104, 106, 108 y 109 son compuestos de la invención.

20 Como es evidente en la Tabla 2, el flujo total para las composiciones presentadas en ella fue generalmente comparable a las 3 y 6 horas. El flujo total después de 24 horas fue generalmente más bajo que en puntos de tiempo anteriores. Entre las composiciones de la Tabla 2, las composiciones que incluyen los Compuestos 18, 23 y 30 mostraron el flujo más alto después de 3 horas. De las composiciones de la Tabla 2, las composiciones que incluyen los Compuestos 36 y 37 mostraron el flujo más bajo después de 24 horas. En general, estos resultados sugieren que los compuestos descritos en esta invención pueden ser útiles en aplicaciones de transfección.

30 Tabla 2. Expresión de luciferasa inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
2	6,01E+09	3,23E+09	3,23E+09
3	3,75E+08	1,12E+09	s.d.
11	1,23E+10	3,81E+09	8,20E+08
12	1,06E+10	1,38E+10	6,03E+08
13	3,59E+09	3,80E+09	3,11E+08
14	9,86E+08	1,56E+09	1,02E+08
17	7,55E+09	2,49E+09	7,61E+08
18	2,13E+10	1,76E+10	7,00E+08

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
19	1,06E+10	6,52E+09	2,65E+09
20	1,00E+11	1,11E+11	4,60E+09
21	1,13E+10	1,08E+10	1,18E+08
23	2,33E+10	3,40E+10	1,06E+09
25	1,06E+10	1,08E+10	2,72E+08
26	1,65E+07	1,04E+07	2,75E+06
27	4,56E+09	4,70E+09	1,36E+08
28	6,18E+09	7,28E+09	4,02E+08
29	1,22E+08	2,51E+08	2,69E+07
30	2,87E+10	1,59E+10	1,95E+09
31	1,43E+10	1,42E+10	3,07E+08
32	6,85E+08	5,88E+08	4,37E+07
33	1,64E+09	4,71E+09	1,54E+08
34	7,77E+06	1,88E+07	2,19E+06
36	6,90E+05	3,93E+05	1,68E+05
37	1,19E+07	6,66E+06	9,38E+05
40	1,24E+08	1,07E+07	5,62E+06
41	4,06E+07	2,04E+07	6,05E+07
42	s.d.	4,99E+10	s.d.
43	s.d.	4,54E+09	s.d.
44	s.d.	1,07E+10	s.d.
45	s.d.	7,86E+10	s.d.
46	s.d.	5,26E+09	s.d.
47	s.d.	2,64E+09	s.d.
48	s.d.	1,05E+08	s.d.
49	s.d.	5,67E+10	s.d.
50	s.d.	1,48E+08	s.d.
51	s.d.	6,70E+10	s.d.
52	s.d.	9,85E+10	s.d.
MC3	1,63E+10	1,73E+10	1,16E+09
s.d.= sin determinar			

5 Como es evidente en la Tabla 17-2, las composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 mostraron el flujo total más alto de la Tabla 17-2, mientras que las que incluían los Compuestos 17-4 y 17-8 mostraron un flujo sustancialmente mayor que las composiciones que incluían los Compuestos 17-2, 17-3. y 17-7. El flujo total a las 6 horas fue mayor que a las 3 horas para algunas composiciones de la Tabla 17-2. Generalmente, para las composiciones de la Tabla 17-2, el flujo total a las 24 horas fue menor que el flujo total medido a las 3 o 6 horas.

10 Tabla 17-2. Expresión de luciferasa inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (17-1).

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
17-2	2,83E+05	3,76E+05	2,64E+05
17-3	5,58E+05	1,38E+06	9,90E+05
17-4	1,22E+09	3,60E+08	6,05E+07
17-5	6,64E+08	8,54E+08	5,97E+07
17-6	6,27E+07	1,19E+08	1,27E+07
17-7	4,68E+05	6,82E+05	5,46E+05
17-8	1,02E+09	5,94E+08	3,79E+07
17-9	6,87E+06	9,97E+06	3,43E+05
17-10	6,61E+05	1,16E+06	4,06E+05
17-11	1,86E+06	2,82E+06	2,70E+05
17-12	2,94E+06	2,54E+06	4,66E+05
17-13	1,10E+06	1,80E+06	7,95E+05
MC3	1,63E+10	2,13E+10	1,01E+09

5 Como es evidente en la Tabla 19-2, las composiciones que incluyen MC3 indujeron la expresión más alta de las composiciones de la Tabla 19-2 en cada punto de tiempo. Las composiciones que incluían los Compuestos 19-5 y 19-6 produjeron el siguiente flujo más alto de la Tabla 19-2 en cada punto de tiempo, mientras que las que incluían el Compuesto 19-2 produjeron el flujo total más bajo de la Tabla 19-2 en cada punto de tiempo.

Tabla 19-2. Expresión de luciferasa inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (19-1) o (19-II).

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
19-1	6,77E+05	1,85E+06	2,75E+05
19-2	1,96E+05	3,51E+05	2,29E+05
19-3	1,69E+06	1,21E+06	3,39E+05
19-4	6,61E+05	4,75E+05	3,44E+05
19-5	2,37E+07	1,44E+07	2,76E+06
19-6	1,07E+07	1,27E+07	1,29E+06
MC3	1,53E+10	1,73E+10	1,13E+09

10

Como es evidente en la Tabla 20-2, el flujo para las composiciones de la Tabla 20-2 fue generalmente más alto 3 horas después de la administración. El flujo total para las composiciones de la Tabla 20-2 fue más alto después de 3 horas para las composiciones que incluyen MC3, Compuesto 20-6 o Compuesto 20-7. Entre las composiciones de la Tabla 20-2, la expresión 24 horas después de la administración fue más baja para las composiciones que incluyen los Compuestos 20-1, 20-6 y 20-16.

15

Tabla 20-2. Expresión de luciferasa inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (20-1).

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
20-1	1,44E+06	8,30E+05	4,53E+05
20-2	1,35E+09	2,18E+09	6,49E+07
20-3	5,35E+09	3,00E+09	6,49E+07

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
20-4	3,01E+06	1,75E+06	6,82E+08
20-5	6,07E+07	1,99E+07	2,07E+06
20-6	3,39E+10	5,44E+06	5,48E+05
20-7	1,22E+10	8,94E+09	2,65E+08
20-8	2,76E+09	4,37E+09	1,30E+08
20-9	3,65E+08	6,91E+08	4,81E+07
20-10	5,05E+09	2,16E+09	2,54E+08
20-11	1,44E+09	8,83E+08	2,40E+07
20-12	1,57E+09	1,84E+09	1,24E+08
20-13	7,01E+08	1,82E+09	7,39E+07
20-14	1,76E+09	4,07E+08	8,10E+07
20-15	3,36E+08	2,25E+08	2,08E+07
20-16	7,88E+05	6,25E+05	2,16E+05
20-17	1,97E+07	1,44E+07	1,54E+06
20-18	5,80E+09	6,48E+09	1,54E+09
20-19	5,37E+05	7,60E+05	6,08E+05
20-20	4,56E+09	3,27E+09	3,56E+08
20-21	1,43E+09	1,02E+09	1,13E+08
20-22	4,00E+09	3,01E+09	2,20E+08
20-23	1,91E+09	1,42E+09	1,13E+08
20-24	7,47E+08	1,64E+08	9,72E+06
20-25	1,16E+09	1,78E+09	3,82E+07
MC3	1,73E+10	1,94E+10	8,48E+08

5 Como es evidente en la Tabla 21-2, las composiciones que incluyeron MC3 produjeron la expresión de luciferasa más alta de la Tabla 21-2 en cada punto de tiempo, mientras que, entre las composiciones de la Tabla 21-2, aquellas que incluyeron el Compuesto 21-2 mostraron la menor expresión a las 3 y 6 horas. Cada composición de la Tabla 21-2 mostró una expresión sustancial. El flujo generalmente disminuyó con el tiempo. Estos resultados sugieren que los compuestos descritos en esta invención pueden ser útiles en aplicaciones de transfección.

10 Tabla 21-2. Expresión de luciferasa inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (21-1).

Compuesto n.º	Flujo total		
	3 horas	6 horas	24 horas
21-1	3,66E+09	4,19E+09	4,19E+09
21-2	5,99E+08	8,09E+08	8,09E+08
21-4	1,15E+09	1,26E+09	1,26E+09
21-6	2,92E+09	4,54E+09	1,40E+08
MC3	1,69E+10	2,87E+10	2,23E+10

Ejemplo 5: Expresión de Luc inducida por formulaciones de muestra en diferentes órganos

15 La eficacia de las composiciones de nanopartículas presentadas en las Tablas 1, 1a, 17-1, 19-1, 20-1 y 21-1

se evaluó adicionalmente midiendo la expresión de luciferasa modificada en el hígado, pulmón, bazo y fémur tras la administración de una composición dada. Los compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 67, 69, 70, 73, 80-85, 87-100, 102, 104, 106, 108 y 109 son compuestos de la invención. Las formulaciones se administraron por vía intravenosa a ratones (n = 3) a una dosis de 0,5 mpk y se midió la bioluminiscencia después de 6 horas. También se evaluaron la formulación MC3 estándar y un control de PBS.

Como es evidente en la Tabla 3, la expresión fue más alta en el hígado para todas las formulaciones de la Tabla 3. De las composiciones de la Tabla 3, el flujo total más alto se midió para las composiciones que incluían el Compuesto 20. La expresión en pulmón y bazo fue generalmente comparable para los compuestos de la Tabla 3, mientras que la expresión en el fémur, donde se midió, fue algo menor.

Tabla 3. Expresión de luciferasa en diversos órganos 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	Flujo total			
	Hígado	Pulmón	Bazo	Fémur
2	3,33E+08	4,76E+05	1,14E+07	s. d.
3	1,36E+08	8,47E+05	9,51E+05	s. d.
11	1,67E+09	2,21E+06	7,21E+06	1,47E+06
12	1,05E+09	6,76E+06	1,11E+07	s. d.
13	6,10E+08	2,89E+06	3,63E+07	1,99E+06
14	2,62E+08	3,56E+06	1,46E+07	s. d.
17	4,26E+08	7,26E+05	3,20E+06	6,71E+05
18	3,91E+09	1,87E+07	1,60E+07	3,31E+06
19	1,89E+09	2,27E+06	8,28E+06	2,75E+06
20	1,42E+10	1,46E+08	6,11E+07	8,91E+06
21	1,24E+09	2,51E+06	1,17E+07	s. d.
23	4,94E+09	1,51E+07	2,95E+07	3,17E+06
25	2,68E+09	5,88E+06	6,00E+06	s. d.
26	2,35E+06	3,49E+04	2,30E+05	s. d.
27	7,84E+08	3,56E+06	3,34E+06	s. d.
28	8,10E+08	5,73E+06	5,67E+06	1,16E+06
29	2,27E+07	4,70E+05	2,97E+06	s. d.
30	2,42E+09	1,61E+07	7,18E+06	2,22E+06
31	1,54E+09	9,81E+06	1,28E+07	9,89E+05
32	8,36E+07	6,75E+05	9,38E+05	1,02E+05
33	6,15E+08	2,84E+06	4,82E+06	1,18E+06
34	2,79E+06	5,63E+04	1,22E+06	s. d.
36	5,85E+04	2,74E+04	1,24E+05	s. d.
37	1,92E+06	6,90E+05	9,75E+05	s. d.
40	1,33E+06	1,42E+05	5,68E+05	s. d.
41	3,00E+06	1,34E+05	2,13E+06	s. d.
42	5,53E+09	s. d.	2,29E+08	s. d.
43	2,60E+08	s. d.	4,52E+07	s. d.
44	1,11E+09	s. d.	1,19E+08	s. d.
45	7,87E+09	s. d.	1,70E+08	s. d.

Compuesto n.º	Flujo total			
	Hígado	Pulmón	Bazo	Fémur
46	3,84E+08	s.d.	4,35E+07	s.d.
47	4,95E+08	s.d.	1,42E+08	s.d.
48	1,04E+07	s.d.	1,50E+07	s.d.
49	1,21E+10	s.d.	6,65E+07	s.d.
50	2,14E+07	s.d.	1,94E+05	s.d.
51	3,55E+09	s.d.	2,24E+07	s.d.
52	1,18E+10	s.d.	8,74E+08	s.d.
IV	9,15E+08	s.d.	6,15E+08	s.d.
MC3	2,31E+09	8,61E+06	1,95E+07	3,08E+06
s.d.= sin determinar				

5 Como es evidente en la Tabla 17-3, el flujo total para las composiciones de la Tabla 17-3 fue generalmente mayor en el hígado que en otros órganos. El flujo total en el hígado para las composiciones de nanopartículas de la Tabla 17-3, que incluyen los Compuestos 17-5 y 17-8, fue algo comparable a las que incluyeron MC3, que mostró el flujo total más alto de la Tabla 17-3 en cada órgano. Para las composiciones de la Tabla 17-3, el flujo total en el bazo fue generalmente más alto que en el pulmón y fue más alto para las composiciones que incluyen los Compuestos 17-4, 17-5 y 17-8.

10 Tabla 17-3. Expresión de luciferasa en diversos órganos 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (17-1)

Compuesto n.º	Flujo total			
	Hígado	Pulmón	Bazo	Fémur
17-2	6,42E+04	1,96E+04	4,16E+04	s.d.
17-3	2,51E+05	1,56E+04	1,02E+05	s.d.
17-4	8,00E+07	1,95E+05	2,30E+06	s.d.
17-5	1,17E+08	8,13E+05	2,13E+06	s.d.
17-6	2,16E+07	1,54E+05	9,06E+05	s.d.
17-7	7,44E+04	1,35E+04	3,46E+04	s.d.
17-8	2,27E+08	6,11E+05	4,25E+06	s.d.
17-9	1,39E+06	1,40E+04	3,72E+05	2,29E+04
17-10	2,00E+05	2,52E+04	1,74E+04	s.d.
17-11	5,06E+05	1,20E+04	3,37E+05	s.d.
17-12	4,94E+05	4,89E+04	7,81E+04	s.d.
17-13	3,56E+05	4,66E+04	1,90E+05	s.d.
MC3	2,75E+09	7,25E+06	2,62E+07	6,03E+06
s.d.= sin determinar				

15 Como es evidente en la Tabla 19-3, el flujo total para las composiciones de la Tabla 19-3 fue mayor para las composiciones que incluían MC3. Para las composiciones de la Tabla 19-3, la expresión en el hígado fue mayor que la expresión en el pulmón y el bazo para todos los compuestos de la Tabla 19-3 evaluados. De las composiciones de la Tabla 19-3, las composiciones que incluían el Compuesto 19-2 produjeron el flujo total más bajo en el hígado.

20 Tabla 19-3. Expresión de luciferasa en diversos órganos 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (19-1) o (19-11).

Compuesto n.º	Flujo total		
	Hígado	Pulmón	Bazo
19-1	8,53E+05	1,06E+04	1,58E+04
19-2	5,73E+04	2,33E+04	3,56E+04
19-3	2,65E+05	3,00E+04	2,55E+05
19-4	1,46E+05	4,49E+04	3,69E+04
19-5	5,99E+06	3,46E+04	2,10E+05
19-6	3,27E+06	1,81E+05	3,47E+06
MC3	2,39E+09	5,83E+06	2,45E+07

5 Como es evidente en la Tabla 20-3, la expresión de los compuestos de la misma fue generalmente más alta en el hígado y más baja en el pulmón y el fémur. El flujo total para los compuestos de la Tabla 20-3 en el hígado fue más alto para las composiciones que incluían MC3 o el Compuesto 20-7 y más bajo para las que incluían el Compuesto 20-16.

Tabla 20-3. Expresión de luciferasa en diversos órganos 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (20-1).

Compuesto n.º	Flujo total			
	Hígado	Pulmón	Bazo	Fémur
20-1	3,19E+05	3,79E+04	1,70E+05	s.d.
20-2	6,01E+08	4,52E+06	3,12E+07	1,07E+06
20-3	4,33E+08	6,08E+05	6,35E+06	1,73E+06
20-4	2,93E+05	1,11E+04	4,51E+04	2,09E+04
20-5	2,67E+06	5,80E+04	3,40E+06	9,53E+04
20-6	7,75E+05	2,32E+04	2,35E+05	s.d.
20-7	1,00E+09	1,38E+07	4,58E+07	s.d.
20-8	8,09E+08	3,45E+06	2,70E+07	1,62E+06
20-9	1,57E+08	1,30E+06	5,11E+06	2,89E+05
20-10	4,40E+08	5,01E+06	9,67E+07	3,09E+06
20-11	3,60E+08	5,86E+05	9,24E+06	s.d.
20-12	3,08E+08	3,58E+06	6,15E+07	1,37E+06
20-13	1,65E+08	9,09E+05	1,04E+07	3,11E+05
20-14	5,22E+07	1,08E+05	7,03E+05	s.d.
20-15	6,74E+07	5,56E+05	1,86E+06	s.d.
20-16	9,55E+04	1,44E+04	6,57E+04	s.d.
20-17	2,99E+06	2,79E+04	9,56E+04	s.d.
20-18	4,83E+08	1,84E+06	2,36E+06	3,78E+05
20-19	3,80E+05	1,96E+04	2,74E+04	s.d.
20-20	8,92E+08	1,12E+06	1,39E+07	s.d.
20-21	1,27E+08	1,98E+05	2,20E+06	s.d.
20-22	2,88E+08	5,04E+05	1,65E+06	s.d.
20-23	3,06E+08	1,28E+06	4,19E+06	5,10E+05
20-24	4,05E+07	1,08E+05	1,11E+06	s.d.
20-25	1,88E+08	7,85E+05	4,16E+06	3,13E+05

Compuesto n.º	Flujo total			
	Hígado	Pulmón	Bazo	Fémur
MC3	2,48E+09	1,28E+07	2,85E+07	2,60E+06
s.d.= sin determinar				

Como es evidente en la Tabla 21-3, la expresión fue máxima en el hígado y mínima en el pulmón para todas las composiciones de la Tabla 21-3. De las composiciones de la Tabla 21-3, las composiciones que incluyeron MC3 produjeron la expresión más alta en cada órgano, mientras que las composiciones que incluyeron los Compuestos 21-2 y 21-4 produjeron la expresión más baja en cada órgano.

Tabla 21-3. Expresión de luciferasa en diversos órganos 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (21-1).

Compuesto n.º	Flujo total		
	Hígado	Pulmón	Bazo
21-1	3,62E+08	5,44E+05	3,27E+07
21-2	5,50E+07	2,53E+05	1,56E+07
21-4	9,89E+07	2,13E+05	1,27E+07
21-6	4,79E+08	2,09E+06	1,94E+07
MC3	3,05E+09	6,60E+06	4,73E+07

Ejemplo 6: Producción de citocinas inducida por formulaciones de muestra

La introducción de material extraño en el cuerpo de un mamífero induce una respuesta inmunitaria innata que promueve la producción de citocinas. Dichas respuestas inmunitarias a, por ejemplo, composiciones de nanopartículas que incluyen agentes terapéuticos y/o profilácticos, son indeseables. Por lo tanto, se mide la inducción de determinadas citocinas para evaluar la eficacia de las composiciones de nanopartículas. Las concentraciones de diversas citocinas en ratones tras la administración intravenosa de composiciones de nanopartículas presentadas en las Tablas 1, 1a, 17-1, 19-1, 20-1 y 21-1 a una dosis de 0,5 mpk se midieron a las 6 horas. También se evaluaron la formulación MC3 estándar y un control de PBS. Los compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 67, 69, 70, 73, 80-85, 87-100, 102, 104, 106, 108 y 109 son compuestos de la invención.

Como es evidente en la Tabla 4, la expresión de IP-10 fue menor que la expresión de IL-6 para las composiciones de la Tabla 4. De las composiciones de la Tabla 4, las composiciones que incluyen el Compuesto 13 indujeron la expresión más alta tanto de IL-6 como de IP-10, mientras que las composiciones que incluían el Compuesto 3 inducían la expresión más baja de IL-6 y las que incluían el Compuesto 36 inducían la expresión más baja de IP-10.

Tabla 4. Inducción de citocinas 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
2	s.d.	3365
3	7	341
11	250	3305
12	31	2382
13	301	7266
14	17	209
17	164	545
18	263	655
19	70	2326
20	127	2080

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
21	48	652
23	259	3702
25	131	1823
26	17	175
27	42	2564
28	73	5364
29	108	3454
30	300	4235
31	188	2513
32	174	727
33	37	1577
34	28	159
36	41	118
37	s. d.	198
40	134	919
41	116	350
MC3	92	438
s. d. = sin determinar		

5 Como es evidente en la Tabla 17-4, las composiciones de nanopartículas de la Tabla 17-4 indujeron niveles de IP-10 más altos que los niveles de IL-6. De las composiciones de nanopartículas de la Tabla 17-4, las composiciones que incluyeron MC3 y el Compuesto 17-4 indujeron los niveles más altos de IL-6 e IP-10, mientras que las que incluyeron los Compuestos 17-2, 17-3 y 17-10 indujeron los niveles más bajos de IL-6 y las composiciones que incluyen los Compuestos 17-2 y 17-3 indujeron los niveles más bajos de IP-10.

10 Tabla 17-4. Inducción de citocinas 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (17-1).

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
17-2	9,88	72,8
17-3	6,97	66,8
17-4	80,7	560
17-5	49,2	300
17-6	25,0	134
17-7	49,9	100
17-8	s. d.	135
17-9	35,2	112
17-10	7,33	243
17-11	s. d.	s. d.
17-12	83,1	148
17-13	84,3	222
MC3	107	500

Como es evidente en la Tabla 19-4, de las composiciones de nanopartículas de la Tabla 19-4, las composiciones que incluían el Compuesto 19-6 inducían la expresión más alta de IL-6, mientras que las que

incluían el Compuesto 19-3 inducían la expresión más baja de IL-6. De las composiciones de nanopartículas de la Tabla 19-4, las composiciones que incluían los Compuestos 19-4 y 19-6 produjeron la expresión más alta de IP-10, mientras que las que incluían el Compuesto 19-1 indujeron la expresión más baja de IP-10.

- 5 Tabla 19-4. Inducción de citocinas 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (19-1) o (19-11).

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
19-1	144,4	51,1
19-2	s.d.	s.d.
19-3	5,4	177,5
19-4	129,2	430,9
19-5	s.d.	s.d.
19-6	7571	433
MC3	65,7	323,9

s.d.= sin determinar

- 10 Como es evidente en la Tabla 20-4, para las composiciones de nanopartículas de la Tabla 20-4, la inducción de IP-10 fue generalmente más alta que la inducción de IL-6. Para las composiciones de nanopartículas de la Tabla 20-4, la inducción de IP-10 fue más alta para las composiciones que incluían el Compuesto 20-14 y más baja para las composiciones que incluían el Compuesto 20-6. La inducción de IL-6 fue más alta para las composiciones que incluían el Compuesto 20-10 y más baja para las composiciones que incluían el Compuesto 20-6 para las composiciones de nanopartículas de la Tabla 20-4.

- 15 Tabla 20-4. Inducción de citocinas 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (20-1).

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
20-1	62,4	2065,8
20-2	118,5	522,9
20-3	105,8	671,5
20-4	169,3	270,5
20-5	140,8	2012,3
20-6	0	25,3
20-7	24,5	696,3
20-8	18,4	134,0
20-9	152,1	271,1
20-10	739,0	2356,8
20-11	46,9	1700,5
20-12	445,7	3864,5
20-13	87,8	70,0
20-14	311,1	8436,6
20-15	49,4	136,3
20-16	s.d.	395,7
20-17	6,3	1207,0
20-18	102	572,7
20-19	s.d.	127,2
20-21	68,4	900,4

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
20-22	118,6	810,6
20-23	236,4	457,8
20-24	67,1	1678,6
20-25	20,6	188,0
MC3	119,5	499,1

Como es evidente en la Tabla 21-4, la inducción de IP-10 por composiciones de la misma fue sustancialmente mayor que la inducción de IL-6.

- 5 Tabla 20-4. Inducción de citocinas 6 horas después de la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (21-1).

Compuesto n.º	IL-6	IP-10
21-1	s.d.	1265,1
21-2	s.d.	477,9
21-4	s.d.	577,2
21-6	10,2	641,3
MC3	31,1	304,5

Ejemplo 7: Expresión de hEPO inducida por formulaciones de muestra

10

Las formulaciones se prepararon según la Tabla 5 e incluyeron ARNm que codifica hEPO.

Tabla 5. Características de las composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa). Los compuestos 4-10, 42, 43, 49-52, 57-61, 63-66, 67, 69, 70, 73, 80-85, 87-100, 102, 104, 106, 108 y 109 son compuestos de la invención.

15

Compuesto n.º	Composición en moles (%)	Componentes	Tamaño (nm)	IPD	EE (%)	pKa	Conc. (ug/ml)
12	40:20:38,5:1,5	Lípido:DOPE:Col: PEG-DMG	87,5	0,13	93,79	5,444	320,14
14	40:20:38,5:1,5	Lípido:DOPE:Col: PEG-DMG	76,8	0,14	98,91	6,308	603,76
15	40:20:38,5:1,5	Lípido:DOPE:Col: PEG-DMG	100,3	0,12	90,15	6,323	713,00
20	40:20:38,5:1,5	Lípido:DOPE:Col: PEG-DMG	114,5	0,14	94,39	s.d.	1264,28
22	40:20:38,5:1,5	Lípido:DOPE:Col: PEG-DMG	75,4	0,13	98,29	6,153	564,97
23	40:20:38,5:1,5	Lípido:DOPE:Col: PEG-DMG	98,5	0,16	77,19	6,070	438,20
23	50:10:38,5:1,5	Lípido:DSPC:Col: PEG-DMG	95,2	0,11	51,46	6,164	454,58
MC3	50:10:38,5:1,5	Lípido:DSPC:Col: PEG-DMG	76,5	0,11	97,37	s.d.	470,45

s.d.= sin determinar

Las formulaciones se administraron por vía intravenosa a ratas (n=3 ó 6) a una dosis de 0,2 mg/kg o 0,5 mg/kg (mpk) y los niveles de hEPO se midieron en puntos temporales de 3, 6 y 24 horas. Después del punto de tiempo de 48 horas, se recogieron y congelaron los hígados y los bazo. Como es evidente en la Tabla 6, las composiciones que incluyeron MC3 produjeron la expresión de hEPO más alta en cada punto de tiempo, mientras que las composiciones que incluyeron el Compuesto 16 produjeron la expresión de hEPO más baja

20

en cada punto de tiempo.

Tabla 6. Expresión de hEPO inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa)

5

Compuesto n.º	hEPO (pg/ml)		
	3 horas	6 horas	24 horas
12	592260	424740	165404
14	280973	158520	58805
15	103773	125320	67965
16	35387	41720	17184
20	s.d.	227420	s.d.
22	181627	267680	75571
23 (DOPE)	249213	275440	120104
23 (DSPC)	86627	71360	29008
MC3	1407947	1036013	436243
s.d.= sin determinar			

Como se muestra en la Tabla 7a, la expresión de hEPO en ratones fue sustancialmente mayor para las composiciones que incluían el Compuesto 12 que para las que incluían MC3. Por el contrario, la expresión de hEPO en ratas inducida por la administración de una composición de nanopartículas que incluye un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), y (IIIa) fue sustancialmente más baja que la medida para MC3. La expresión de Luc en ratones fue varias veces mayor para el Compuesto 23 que para MC3 pero significativamente menor para los Compuestos 12 y 14. La Tabla 7b muestra las expresiones de Luc en ratones CD-1 frente a ratones LDLr^{-/-}. Las Tablas 7c y 7d muestran expresiones de proteínas adicionales y datos de aclaramiento de composiciones con diversos compuestos descritos en esta invención en comparación con MC3. La Tabla 7e muestra los datos de expresión de hEPO en ratones CD-1 a una dosis de 0,5 mpk. Se lograron resultados similares con diferentes cepas de ratones, por ejemplo, ratones quiméricos con hígados humanizados (PXB) o ratones inmunodeficientes (SCID).

10

15

Tabla 7a. Comparación de la expresión inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 o compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

20

Compuesto n.º	Lípido/MC3 Luc CD-1 (ratones)		Lípido/MC3 hEPO CD-1 (ratones)		Lípido/MC3 hEPO S.D. (ratas)	% de dosis restante 6 h ratones CD-1		% de dosis restante 24 h ratones CD-1	
11	1,03		s.d.		s.d.				
12	0,21		2,3		0,32				
14	0,070		s.d.		0,12				
15	s.d.		s.d.		0,095				
16	s.d.		s.d.		0,031				
20	5,0		s.d.		s.d.				
22	s.d.		s.d.		0,20				
23 (DOPE)	5,2		2,4		0,21				
42	3,99		s.d.		s.d.	58		53	
43	0,34					69		64	
44	0,82		s.d.		s.d.	< 1		< 1	
45	6,50		s.d.		s.d.	33		24	
46	0,46					1		< 1	
47	0,22					1		< 1	

Compuesto n.º	Lípido/MC3 Luc CD-1 (ratones)	Lípido/MC3 hEPO CD-1 (ratones)	Lípido/MC3 hEPO S.D. (ratas)	% de dosis restante 6 h ratones CD-1	% de dosis restante 24 h ratones CD-1
48	0,01			< 1	< 1
49	5,23	s.d.	s.d.	49	40
50	0,01			56	47
51	5,22	s.d.	s.d.	54	41
52	7,46	s.d.	s.d.	46	40
MC3	1	1	1	88	55

s.d. = sin determinar

Tabla 7b. Comparación de la expresión de Luc inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 o compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa) en ratones CD-1 y ratones LDLr-/-

5

Compuesto n.º	Lípido/MC3 ratones CD-1	ABC 0,5 mpk	Lípido/KL22 ABC ratones LDLr-/- 0,5 mpk, LDLr	Niveles de lípidos LDL/ratones LDLr-/- si tratar 0,5 mpk, LDLr
4	3,70		2,03	0,54
5	2,62		1,86	0,47
6	1,72		0,37	0,91
7	1,51		2,46	0,63
8	2,33		3,74	0,66
9	0,73		0,58	0,87
10	1,14		0,71	0,98
MC3	1		0,15	0,55
KL22			1	0,51

Tabla 7c. Comparación de la expresión inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 o compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	ABC (p/s*h)	Lípido/MC3 ABC	Relación hígado/bazo	% de dosis restante 6 h	% de dosis restante 24 h
53	9,22 E+09	0,07	17	1,35	0,77
54	1,89 E+10	0,13	32	5,18	4,77
55	2,00 E+10	0,14	9	2,58	1,60
56	1,77 E+11	1,25	29	1,21	0,16
57	1,21 E+11	0,85	15	0,88	0,24
58	1,38 E+11	0,97	11	1,37	0,61
59	1,19 E+11	0,84	5	6,99	5,03
60	2,84 E+11	2,00	15	21,18	15,98
61	4,65 E+11	3,27	30	1,31	0,13
71	1,77 E+11	1,25	25	12,39	9,25
72	6,53 E+10	0,46	6	7,06	6,40
MC3	1,42 E+11	-	55	55,70	55,43

10

Tabla 7d. Comparación de la expresión de hEPO en ratas SD inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 o compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6),

(Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	ABC (0,1 mpk)	ABC/MC3 0,1 mpk	ABC (1 mpk)	ABC/MC3 1 mpk	% de dosis restante Hígado de rata (48 h)	% de dosis restante Hígado de ratón (24 h)
4	2,12 E+06	1,3	6,79 E+07	0,58	37,82	N.A.
45	1,45 E+06	0,90	2,00 E+08	1,7	8,57	23,7
49	5,98 E+06	3,7	1,44 E+08	1,2	38,45	40,3
MC3	1,62 E+06	-	1,17 E+08	-	43,11	55

- 5 Tabla 7e. Comparación de la expresión de hEPO en ratones CD-1 inducida por la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 o compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa) a una dosis de 0,5 mpk.

Compuesto n.º	ABC (p/s*h) ratones CD-1 0,5 mpk	Lípido/MC3 ABC
62	3,46 E+7	0,97
69	2,33 E+8	6,52
70	6,34 E+7	1,77
73	1,41 E+8	3,93
80	6,24 E+7	1,74
81	1,08 E+8	3,01
82	1,29 E+8	3,62
83	5,21 E+7	1,46
84	5,10 E+7	1,43
85	1,27 E+8	3,54
86	1,75 E+7	0,49
87	2,86 E+7	0,80

- 10 También se midió la cantidad de lípido en el hígado y el bazo 48 horas después de la administración de una composición de nanopartículas. Como se muestra en la Tabla 8, menos del 6 % de las dosis que incluían los Compuestos 14, 15 y 16 permanecieron en el hígado después de 48 horas. Por el contrario, aproximadamente el 60 % de las dosis que incluían MC3 o el Compuesto 22 permanecieron en el hígado después de 48 horas. Menos del 3 % de la dosis permaneció en el bazo para cada composición evaluada.

- 15 Tabla 8. Niveles de lípidos en el hígado y el bazo tras la administración de composiciones de nanopartículas que incluyen MC3 o compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III) y (IIIa).

Compuesto n.º	Lípido en el hígado (ng/g)	% de dosis restante en el hígado	Lípido en el bazo (ng/g)	% de dosis restante en el bazo
4	21950	38	5345	0,61
12	16850	23,8	2325	0,22
14	3990	5,54	1620	0,15
15	3070	4,22	971	0,089
16	597	0,79	293	0,026
22	36800	58,7	3887	0,41
23 (DOPE)	32900	51,4	26100	2,72

Compuesto n.º	Lípido en el hígado (ng/g)	% de dosis restante en el hígado	Lípido en el bazo (ng/g)	% de dosis restante en el bazo
MC3	21750	51	2785	0,44

Ejemplo 8: Optimización de las relaciones lípido:agente terapéutico

Las cantidades relativas de componente lipídico y agente terapéutico y/o profiláctico en una composición de nanopartículas se pueden optimizar según consideraciones de eficacia y tolerabilidad. Para composiciones que incluyen un ARN como agente terapéutico y/o profiláctico, la relación N:P puede servir como una métrica útil.

Como la relación N:P de una composición de nanopartículas controla tanto la expresión como la tolerabilidad, las composiciones de nanopartículas con relaciones N:P bajas y expresión fuerte son deseables. Las relaciones N:P varían según la relación de lípidos a ARN en una composición de nanopartículas. Por lo tanto, la relación p/p del lípido total con respecto al ARN varía entre 10:1, 15:1, 20:1, 32:1, 40:1, 50:1 y 60:1 para una formulación lipídica que incluye alrededor del 50 % en moles de un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1), alrededor del 10 % en moles de fosfolípido (por ejemplo, DOPE o DSPC), alrededor del 38,5 % en moles de lípido estructural (por ejemplo, colesterol) y alrededor del 1,5 % en moles de lípido PEG (por ejemplo, PEG-DMG). Las relaciones N:P se calculan para cada composición de nanopartículas suponiendo un solo átomo de nitrógeno protonado. También se miden la eficiencia de encapsulación (EE), el tamaño y el índice de polidispersidad de cada composición.

Generalmente, las composiciones con mayores relaciones de lípido total:ARN producen partículas más pequeñas con mayores eficiencias de encapsulación, las cuales son deseables. Sin embargo, la relación N:P para tales formulaciones generalmente excede de 4. Los estándares actuales en la técnica, tales como la formulación de MC3 descrita anteriormente tienen relaciones N:P de 5,67. Por lo tanto, se debe lograr un equilibrio entre la relación N:P, el tamaño y la eficiencia de la encapsulación.

Con el fin de explorar la eficacia de las composiciones de nanopartículas con diferentes relaciones N:P, se examina la expresión de luciferasa (Luc) o eritropoyetina humana (hEPO) en ratones después de dosis bajas (0,05 mg/kg) o altas (0,5 mg/kg) de composiciones de nanopartículas administradas por vía intravenosa. La concentración de Luc o hEPO expresada se mide 3, 6 y/o 24 horas después de la administración.

Ejemplo 9: Optimización del contenido de una composición que comprende un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1)

Como las partículas más pequeñas con eficiencias de encapsulación más altas son generalmente deseables, las cantidades relativas de varios elementos en componentes lipídicos de composiciones de nanopartículas se optimizan según estos parámetros.

Se selecciona un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) para su optimización. La cantidad relativa del compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) se varía entre el 30 % en moles y el 60 % en moles en composiciones que incluyen DOPE o DSPC como fosfolípidos para determinar la cantidad óptima del compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) en las formulaciones. Las formulaciones se preparan usando un procedimiento estandarizado con una relación de agua a etanol en la solución de ARNm lipídica de 3:1 y una velocidad de inyección de la solución lipídica en la solución de ARNm de 12 ml/min en un sistema basado en microfluidos NanoAssemblr. Este procedimiento induce la nano-precipitación y la formación de partículas. También se pueden usar procedimientos alternativos que incluyen, pero sin limitarse a, unión en T o inyección directa para lograr la misma nano-precipitación.

Generalmente se prefieren formulaciones que produzcan las partículas más pequeñas con las eficiencias de encapsulación más altas, sin embargo, pueden ser deseables tamaños de partículas más grandes o más pequeños en función de una aplicación dada (por ejemplo, en función del tamaño de fenestración de un órgano diana). Las composiciones también se evalúan por sus niveles de expresión de Luc o hEPO y perfiles de citocinas.

Ejemplo 10: Optimización de fosfolípido

La cantidad relativa de fosfolípido en un componente lipídico de una composición de nanopartículas se varía para optimizar aún más la formulación. Se selecciona un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-1), (19-1), (19-11), (20-1) y (21-1) para su uso en la composición de nanopartículas y DOPE y DSPC se seleccionan como fosfolípidos. También se pueden evaluar fosfolípidos adicionales. Las composiciones de nanopartículas se preparan con el contenido relativo de fosfolípidos que

varía entre el 0 % en moles y el 30 % en moles. Las composiciones se evalúan por su tamaño, eficiencia de encapsulación, niveles de expresión de Luc o hEPO y perfiles de citocinas.

Ejemplo 11: Optimización de lípido estructural

5 La cantidad relativa de lípido estructural en un componente lipídico de una composición de nanopartículas se
 10 varía para optimizar aún más la formulación. Se selecciona un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-
 (Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-1), (19-II), (20-1) y (21-1) para su uso en la composición de
 nanopartículas y el colesterol se selecciona como lípido estructural. También se pueden evaluar lípidos
 15 estructurales adicionales. Las composiciones de nanopartículas se preparan con el contenido lipídico
 estructural relativo que varía entre el 18,5 % en moles y el 48,5 % en moles. Las composiciones se evalúan
 por su tamaño, eficiencia de encapsulación, niveles de expresión de Luc o hEPO y perfiles de citocinas.

Ejemplo 12: Optimización de lípido PEG

15 La cantidad relativa de lípido PEG en un componente lipídico de una composición de nanopartículas se varía
 para optimizar aún más la formulación. Se selecciona un compuesto según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6),
 (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-1) y (21-1) para su uso en la composición de
 nanopartículas y PEG-DMG se selecciona como lípido PEG. También se pueden evaluar lípidos PEG
 20 adicionales. Las composiciones de nanopartículas se preparan con un contenido relativo de lípidos PEG que
 varía entre el 0 % en moles y el 10 % en moles. Las composiciones se evalúan por su tamaño, eficiencia de
 encapsulación, niveles de expresión de Luc o hEPO y perfiles de citocinas.

25 Las formulaciones ejemplares útiles en la optimización de formulaciones de composiciones de nanopartículas
 se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Formulaciones ejemplares que incluyen compuestos según una de las fórmulas (I), (Ia1)-(Ia6), (Ib), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (17-I), (19-I), (19-II), (20-I) y (21-I).

Composición (% en moles)	Componentes
40:20:38,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:15:38,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:10:38,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:5:38,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:5:33,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:20:33,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:20:28,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:20:23,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:20:18,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
40:15:43,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:15:33,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:15:28,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:15:23,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
40:10:48,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:10:43,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:10:33,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:10:28,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
40:5:53,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:5:48,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:5:43,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
40:20:40:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:20:35:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG

Composición (% en moles)	Componentes
50:20:30:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:20:25:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:20:20:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
40:15:45:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:15:40:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:15:35:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:15:30:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:15:25:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
40:10:50:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
45:10:45:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:0:48,5:1,5	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
50:10:40:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
55:10:35:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG
60:10:30:0	Compuesto:Fosfolípido:Col:PEG-DMG

Ejemplo 13: Optimización de tamaños de partículas

5 Los tamaños de fenestración para diferentes órganos corporales a menudo varían; por ejemplo, se sabe que el riñón tiene un tamaño de fenestración más pequeño que el hígado. Por lo tanto, la administración dirigida de un agente terapéutico y/o profiláctico (por ejemplo, la administración específica) a un órgano o grupo de órganos particular puede requerir la administración de composiciones de nanopartículas con diferentes tamaños de partículas. Con el fin de investigar este efecto, las composiciones de nanopartículas con formulaciones tales como las incluidas en la Tabla 9 se preparan con una variedad de tamaños de partículas usando un instrumento Nanoassemblr. Las composiciones de nanopartículas incluyen un ARN que codifica Luc. Cada composición de nanopartículas de diferente tamaño se administra posteriormente a ratones para evaluar el efecto del tamaño de partícula en la selectividad de administración. La expresión de Luc en dos o más órganos o grupos de órganos se puede medir usando bioluminiscencia para evaluar la expresión relativa en cada órgano.

15

Ejemplo 14: Administración después del pretratamiento

La administración de composiciones de nanopartículas a sujetos puede provocar inflamación, reacciones relacionadas con la infusión y otros efectos indeseables indicativos de baja tolerabilidad. Estos efectos se pueden atribuir a la inmunoadactividad no deseada.

20

Con el fin de combatir los efectos negativos, las composiciones de nanopartículas se administran conjuntamente con una o más sustancias (por ejemplo, medicación conjunta o agentes terapéuticos y/o profilácticos adicionales) a sujetos. Los agentes terapéuticos y/o profilácticos adicionales potencialmente útiles incluyen esteroides (por ejemplo, corticosteroides), antihistaminas, bloqueadores del receptor de H1, bloqueadores del receptor de H2, compuestos antiinflamatorios, estatinas, inhibidores de BTK, agonistas de S1P1, moduladores del receptor de glucocorticoides (GRM) y estradiolos. Los primates no humanos se tratan previamente con uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados de entre dexametasona y acetaminofén. El agente terapéutico adicional se administra ya sea 24 horas, 1 hora, o ambas 24 horas y 1 hora antes de la administración de una composición de nanopartículas. El protocolo de muestra se resume en la Tabla 10. Los perfiles de citocinas, la inflamación y otros parámetros se miden y comparan para evaluar la efectividad del pretratamiento.

30

Tabla 10. Protocolo de muestra para el estudio de pretratamiento.

35

Grupo	Tiempo de pretratamiento	Agente(s) terapéutico(s) adicional(es) administrado(s)
1	Ninguno	Ninguno
2	24 horas	Dexametasona
3	24 horas	Acetaminofén

Grupo	Tiempo de pretratamiento	Agente(s) terapéutico(s) adicional(es) administrado(s)
4	24 horas	Dexametasona y acetaminofén
5	1 hora	Dexametasona
6	1 hora	Acetaminofén
7	1 hora	Dexametasona y acetaminofén
8	24 horas y 1 hora	Dexametasona
9	24 horas y 1 hora	Acetaminofén
10	24 horas y 1 hora	Dexametasona y acetaminofén

Por ejemplo, un ciclo de tratamiento terapéutico útil puede implicar administrar un agente terapéutico y/o profiláctico adicional tanto el día anterior como el día (una hora antes) de la administración de una composición de nanopartículas a un nivel de dosis de 1,3 mpk. Se pueden formular agentes terapéuticos y/o profilácticos adicionales para su administración por una variedad de vías diferentes. Por ejemplo, la dexametasona puede administrarse por vía oral. En general, se administran agentes terapéuticos y/o profilácticos adicionales a niveles de dosificación típicos o aprobados clínicamente.

5 Ejemplo 15: Administración a primates no humanos

10 Se evalúa la tolerabilidad y eficacia de las composiciones de nanopartículas para primates no humanos en monos *Cynomolgus*. A los monos se les administra una composición de nanopartículas optimizada que incluye un ARNm que codifica hEPO una vez a la semana durante cuatro semanas. Los niveles de proteína hEPO, ARNm y perfiles de citocinas se miden utilizando técnicas basadas en ELISA antes y 2, 6, 12, 24, 48, 72 y 120 horas después de cada administración.

15 Los efectos del pretratamiento en primates no humanos se evalúan usando una formulación MC3 estándar que incluye un ARNm que codifica hEPO. El diseño del estudio se resume en la Tabla 11. A los monos machos se les administra la composición de nanopartículas una vez a la semana durante cuatro semanas a una velocidad de dosis de 5 ml/kg/h y se les trata previamente con metotrexato o dexametasona.

20 Tabla 11. Protocolo para el estudio de pretratamiento en monos *Cynomolgus*.

Grupo	Material de prueba	Nivel de dosis (mg/kg)	Agente terapéutico adicional administrado	Concentración de dosis (mg/ml)	Número de monos
1	MC3	0	Ninguno	0	3
2	ARNm de hEPO en MC3	0,3	Ninguno	0,06	3
3	ARNm de hEPO en MC3	0,3	Metotrexato	0,06	3
4	ARNm de hEPO en MC3	0,3	Dexametasona	0,06	3

25 Ejemplo 16: Procedimientos de tratamiento de enfermedades y trastornos

Se selecciona para su uso una formulación de composición de nanopartículas que tiene alta tolerabilidad (por ejemplo, que provoca una respuesta inmunitaria baja) y eficacia (por ejemplo, que facilita la encapsulación eficiente y eficaz de un agente terapéutico y/o profiláctico y la administración del agente a una diana deseada). Se selecciona un agente terapéutico y/o profiláctico para la formulación con la composición de nanopartículas con base en la afección de un sujeto. Por ejemplo, un ARNm que codifica un factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A) puede seleccionarse para promover la angiogénesis para tratar la enfermedad renovascular aterosclerótica, mientras que un ARNip capaz de eliminar la apolipoproteína B (apoB) puede seleccionarse para tratar una enfermedad o trastorno metabólico tal como dislipidemia.

35 Un sujeto que necesita tratamiento se trata previamente con una pequeña dosis de dexametasona una o más horas antes del tratamiento con la composición de nanopartículas. La composición de nanopartículas se administra preferentemente al sujeto por vía intravenosa, sin embargo, también son aceptables las vías de administración intramuscular, intradérmica, subcutánea, intranasal o por inhalación. El tratamiento se proporciona en una dosis de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg de agente terapéutico y/o profiláctico y se repite diariamente, semanalmente, quincenalmente o mensualmente según las necesidades

del sujeto.

Ejemplo17: Expresión inducida por formulaciones de muestra tras la administración intramuscular

- 5 Se prepararon formulaciones de muestra que incluían ARNm de luciferasa modificada (Luc) y ARNm de H10 y se administraron por vía intramuscular el día 1 y el día 21 y la expresión e inmunogenicidad resultantes se evaluaron simultáneamente. Se prepararon formulaciones que incluían compuestos según la fórmula (20-1) y se administraron a dosis de 0,001 y 0,01 mpk (por ejemplo, dosis de 0,0005 mpk de una formulación que incluía ARNm de Luc y una formulación que incluía ARNm de H10 o dosis de 0,005 mpk de una formulación que incluía ARNm de Luc y una formulación que incluía ARNm de H10). Como se muestra en la Tabla 20-4, el flujo total fue mayor tras la administración de la segunda dosis para cada composición y en cada nivel de dosis. El flujo total fue mayor para el nivel de dosis más alto.

- 15 Tabla 12. Flujo total (p/s) medido 6 horas después de la administración intramuscular de composiciones de nanopartículas que incluyen compuestos según la fórmula (20-1).

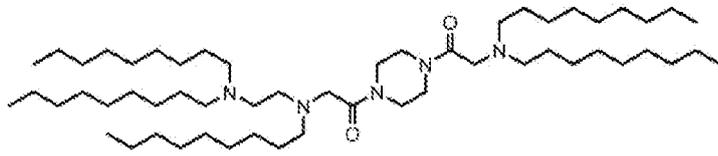
Compuesto	0,001 mpk Dosis 1	0,001 mpk Dosis 2	0,01 mpk Dosis 1	0,01 mpk Dosis 2
20-1	3,50E+05	1,99E+06	3,16E+06	1,04E+07
20-4	1,04E+06	s. d.	9,46E+06	s. d.
20-6	8,57E+05	9,79E+05	3,41E+06	6,04E+06
MC3	1,23E+06	1,09E+06	1,79E+07	3,13E+07

- 20 Debe entenderse que, si bien los compuestos y procedimientos de la presente descripción se han descrito junto con la descripción detallada de los mismos, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la presente descripción, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

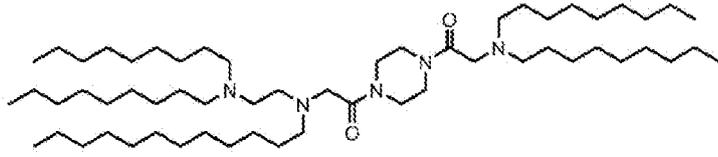
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado de:

5

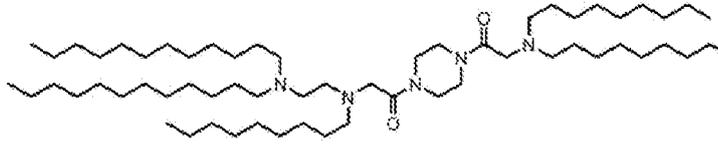


(Compuesto 4),

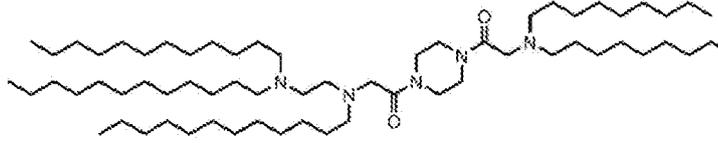


(Compuesto 5),

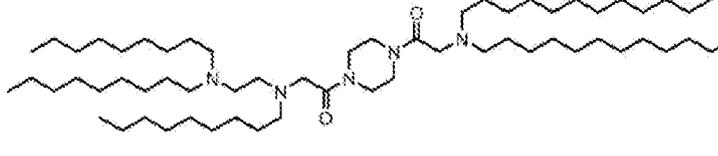
10



(Compuesto 6),

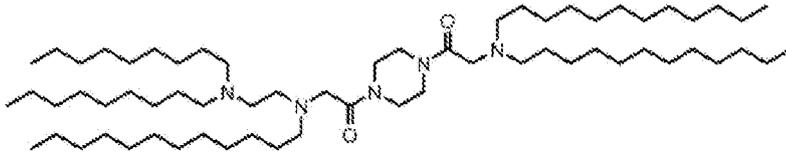


(Compuesto 7),

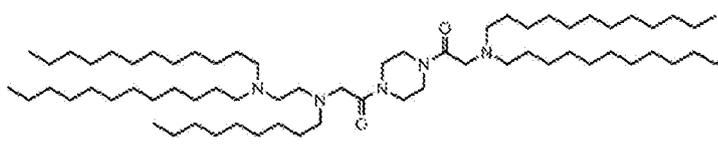


(Compuesto 8),

15

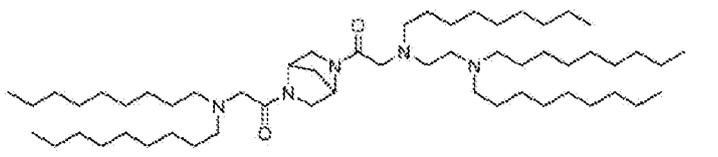


(Compuesto 9),

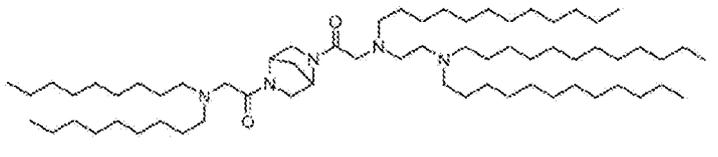


(Compuesto 10),

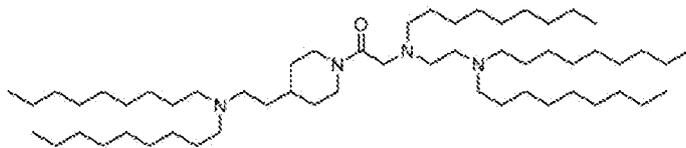
20



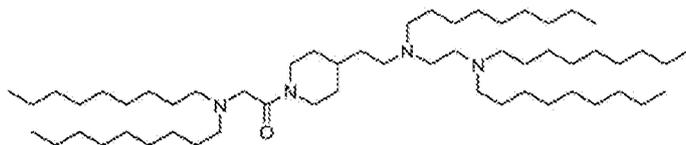
(Compuesto 42),



(Compuesto 43),

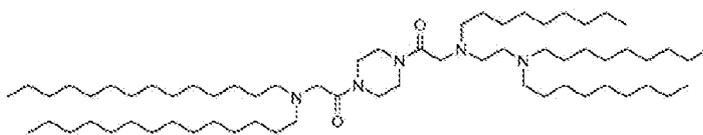


(Compuesto 49),

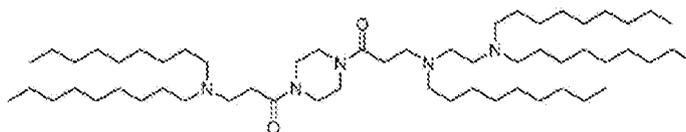


(Compuesto 50),

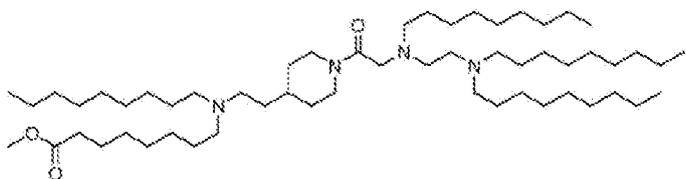
5



(Compuesto 51),

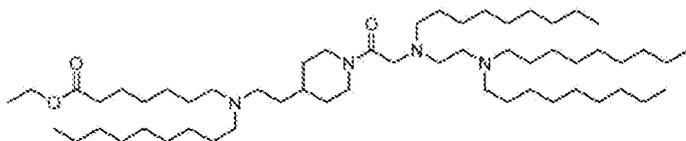


(Compuesto 52),

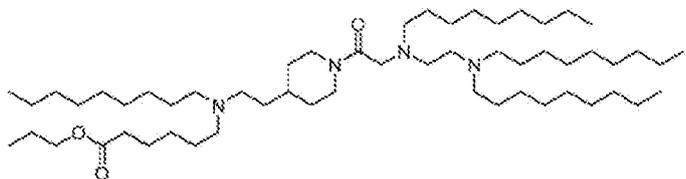


(Compuesto 57),

10

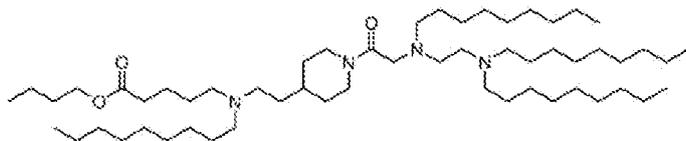


(Compuesto 58),

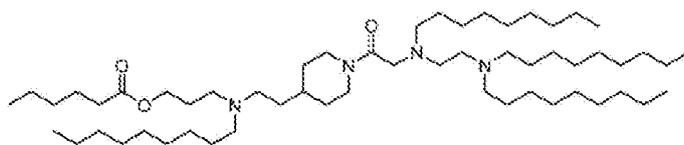


(Compuesto 59),

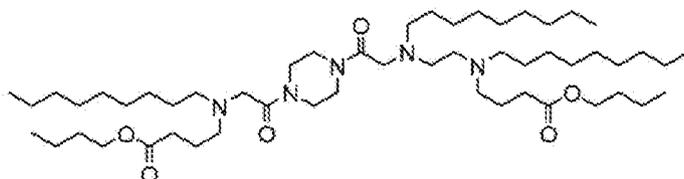
15



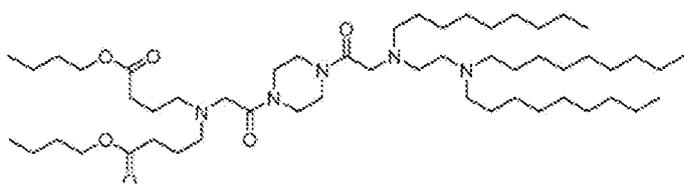
(Compuesto 60),



(Compuesto 61),

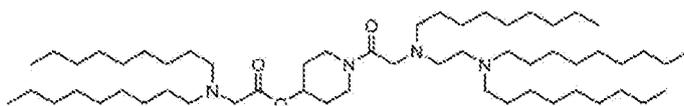


(Compuesto 63),

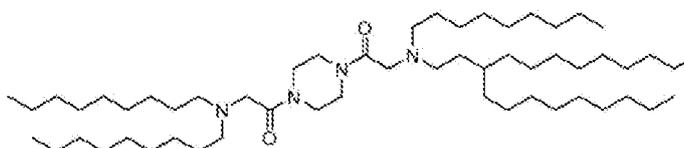


(Compuesto 64),

5

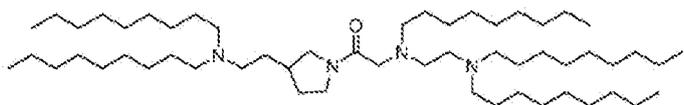


(Compuesto 65),

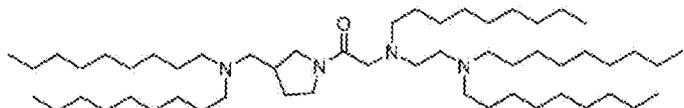


(Compuesto 66),

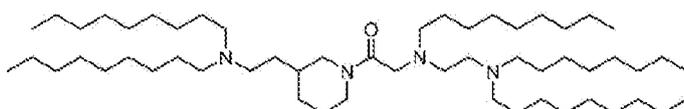
10



(Compuesto 69),

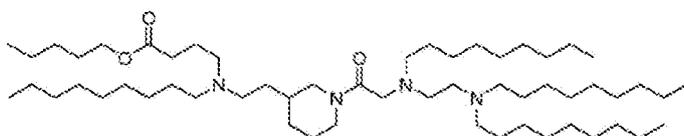


(Compuesto 70),

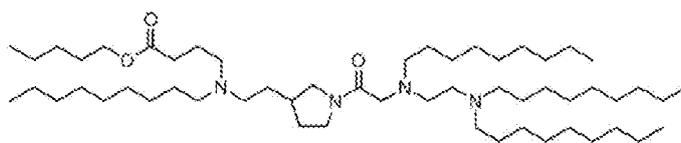


(Compuesto 73),

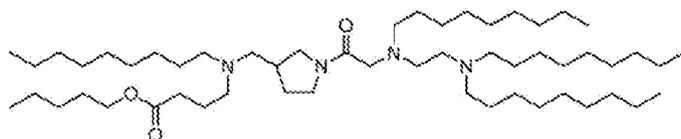
15



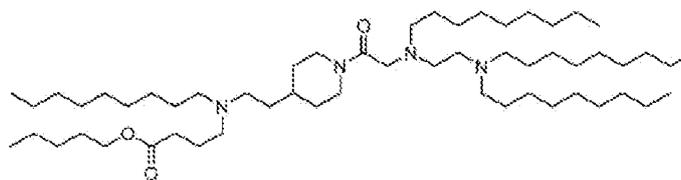
(Compuesto 80),



(Compuesto 81),

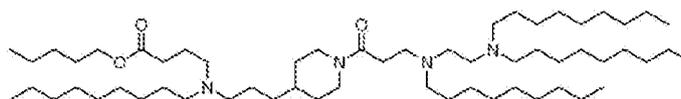


(Compuesto 82),

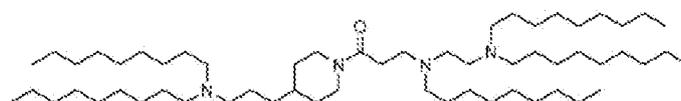


(Compuesto 83),

5

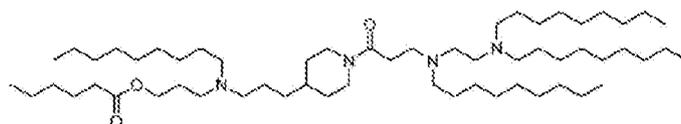


(Compuesto 84),

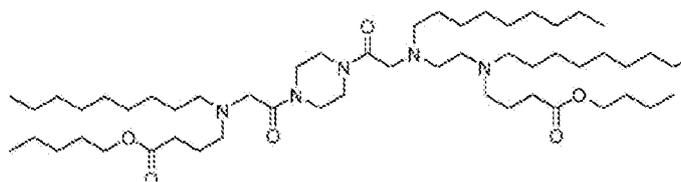


(Compuesto 85),

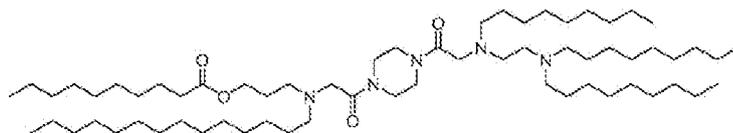
10



(Compuesto 87),

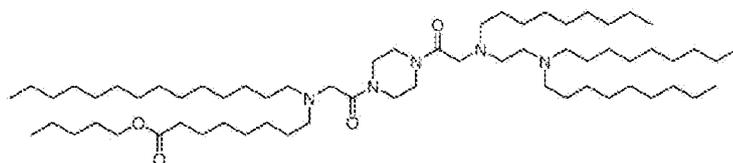


(Compuesto 88),

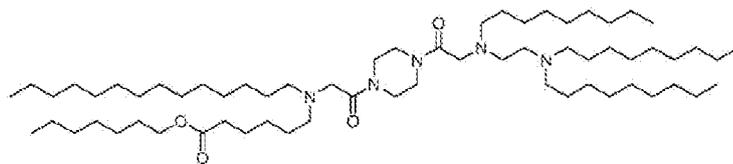


(Compuesto 89),

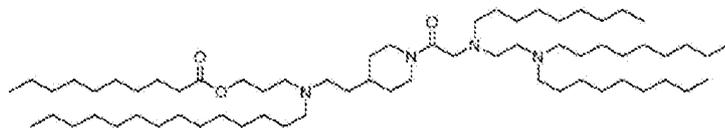
15



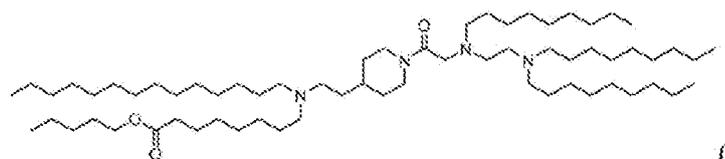
(Compuesto 90),



(Compuesto 91),

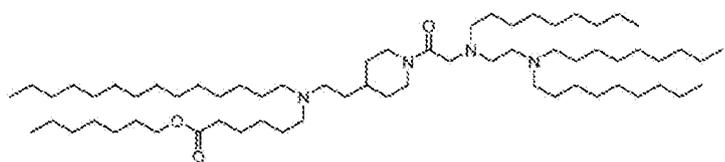


(Compuesto 92),

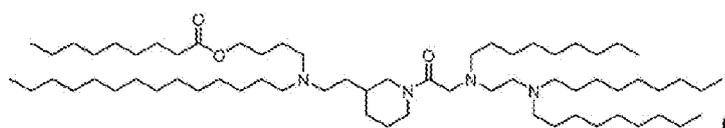


(Compuesto 93),

5

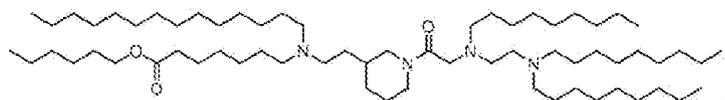


(Compuesto 94),

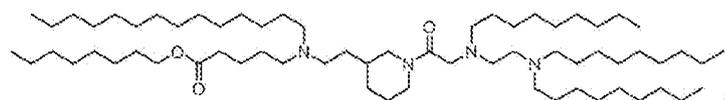


(Compuesto 95),

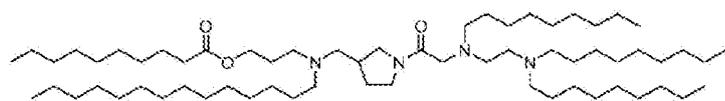
10



(Compuesto 96),

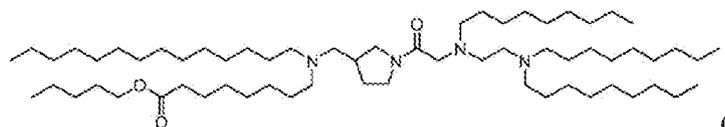


(Compuesto 97),

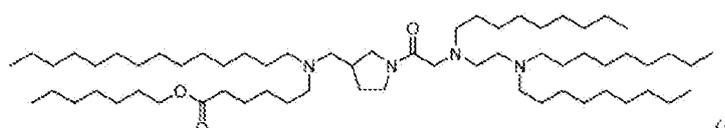


(Compuesto 98),

15

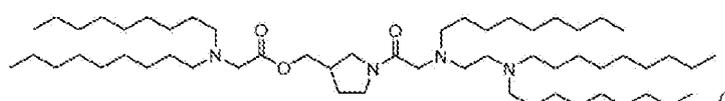


(Compuesto 99),

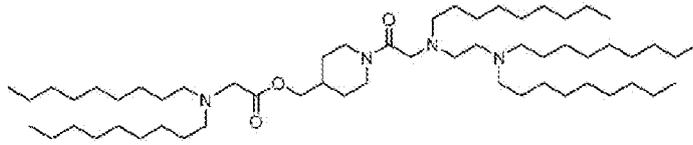


(Compuesto 100),

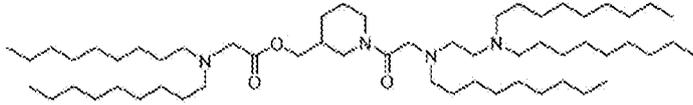
20



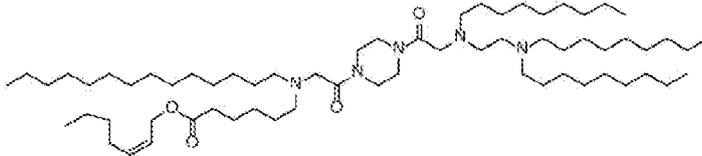
(Compuesto 102),



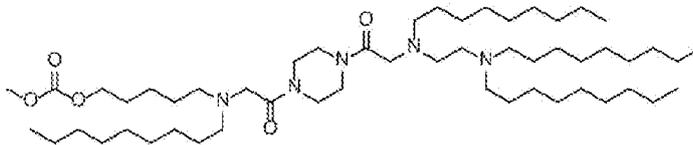
(Compuesto 104),



(Compuesto 106),



(Compuesto 108), y

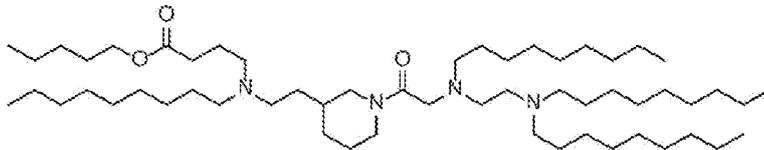


(Compuesto 109),

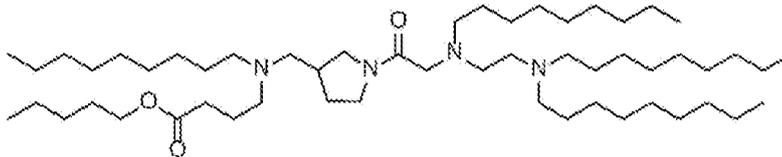
y sales de los mismos.

10

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona de entre:



(Compuesto 80),



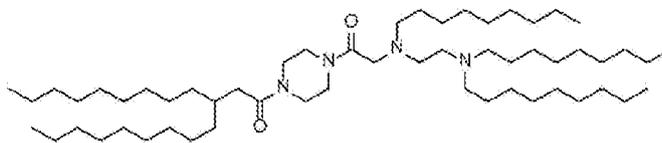
(Compuesto 82),

y sales de los mismos.

15

3. Un compuesto seleccionado de entre el Compuesto 67:

20

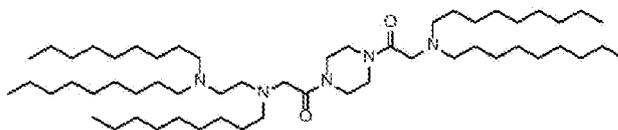


(Compuesto 67)

y sales del mismo.

25

4. El compuesto de la reivindicación 1, donde el compuesto se selecciona de entre el Compuesto 4:



(Compuesto 4)

y sales del mismo.

5. Una composición de nanopartículas que comprende un componente lipídico que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

5 6. La composición de nanopartículas de la reivindicación 5, donde el componente lipídico comprende además: (i) un fosfolípido; (ii) un lípido estructural y/o (iii) un lípido PEG.

7. La composición de nanopartículas de cualquiera de las reivindicaciones 5-6, donde el lípido estructural se selecciona de entre el grupo que consiste en colesterol, fecosterol, sitosterol, ergosterol, campesterol, estigmasterol, brasicasterol, tomatidina, ácido ursólico, alfa-tocoferol y mezclas de los mismos.

8. La composición de nanopartículas de cualquiera de las reivindicaciones 5-7, que comprende además un agente terapéutico y/o profiláctico; opcionalmente donde el agente terapéutico y/o profiláctico es

15 (i) una vacuna o un compuesto capaz de provocar una respuesta inmunitaria;

(ii) un ácido nucleico; o

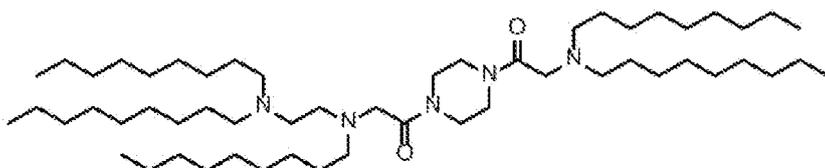
20 (iii) un ácido ribonucleico (ARN), opcionalmente donde el ARN se selecciona de entre el grupo que consiste en un ARN interferente pequeño (ARNip), un ARN interferente asimétrico (ARNia), un microARN (miARN), un ARN de Dicer sustrato (ARNds), un ARN de horquilla pequeña (ARNhp), un ARN mensajero (ARNm) y mezclas de los mismos.

9. Una composición farmacéutica que comprende la composición de nanopartículas de cualquiera de las reivindicaciones 5-8 y un portador farmacéuticamente aceptable.

10. La composición de nanopartículas de cualquiera de las reivindicaciones 5-8, para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero que lo necesita, opcionalmente donde el mamífero es un ser humano.

11. La composición de nanopartículas para su uso según la reivindicación 10, donde la enfermedad o trastorno se caracteriza por una actividad proteica o polipeptídica disfuncional o aberrante, o donde la enfermedad o trastorno se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedades infecciosas, cáncer y enfermedades proliferativas, enfermedades genéticas, enfermedades autoinmunes, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardio y renovasculares y enfermedades metabólicas.

12. La composición de nanopartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-11, donde la composición de nanopartículas comprende el Compuesto 4:



(Compuesto 4).

13. La composición de nanopartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-12, donde la composición de nanopartículas se administra por vía intravenosa, intramuscular, intradérmica, subcutánea, intranasal o por inhalación.

14. La composición de nanopartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-13, donde se administra al mamífero una dosis de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg del agente terapéutico y/o profiláctico.

15. La composición de nanopartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-14, donde el procedimiento comprende además, antes de la etapa de contacto o administración, pretratar dicho mamífero con uno o más compuestos adicionales, donde el pretratamiento comprende administrar dicho uno o más compuestos adicionales a dicho mamífero; opcionalmente donde dicho mamífero se pretrata 24 o menos horas antes de la etapa de contacto o administración, opcionalmente alrededor de una hora antes de la etapa de contacto o administración.

16. La composición de nanopartículas para su uso según la reivindicación 15, donde dicho uno o más compuestos adicionales se seleccionan de entre el grupo que consiste en compuestos antiinflamatorios, esteroides, estatinas, estradiolos, inhibidores de BTK, agonistas de S1P1, moduladores del receptor de glucocorticoides (GRM) y antihistaminas; opcionalmente donde dicho uno o más compuestos adicionales se

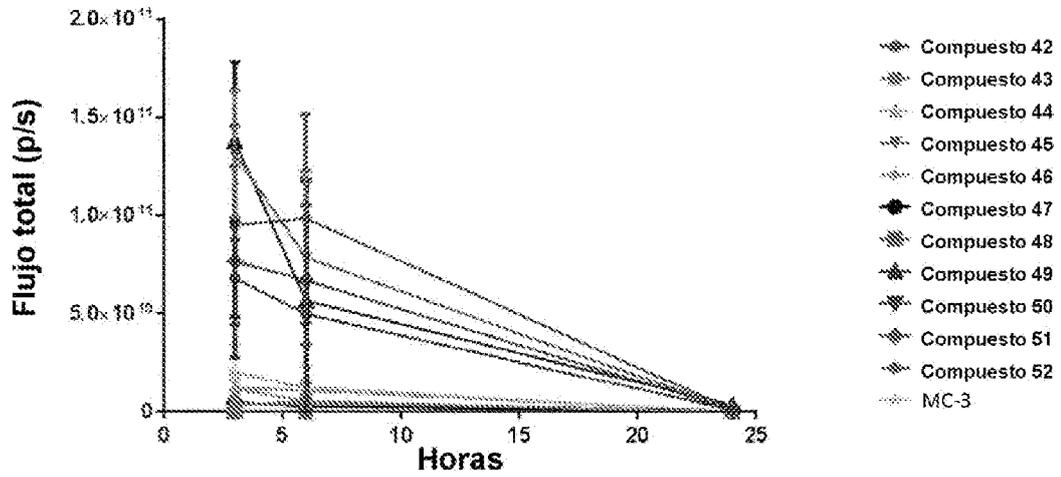
seleccionan de entre el grupo que consiste en dexametasona, metotrexato, acetaminofén, un bloqueador del receptor H1 y un bloqueador del receptor H2.

5 17. La composición de nanopartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-16, donde el mamífero (a) es deficiente en LDLR; (b) es deficiente en apoE; y/o (c) tiene una interacción LDLR-apoE anormal.

10 18. La composición de nanopartículas para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 10-16, donde el mamífero (a) no es deficiente en LDLR; (b) no es deficiente en apoE; y/o (c) tiene una interacción LDLR-apoE normal.

FIGURA 1

Expresión de Luc de cuerpo entero



Expresión de Luc de cuerpo entero

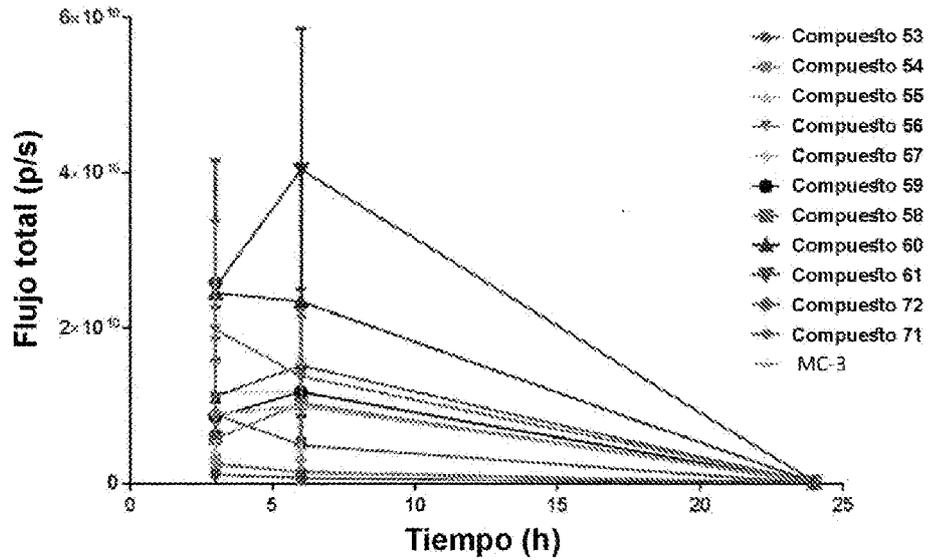


FIGURA 2

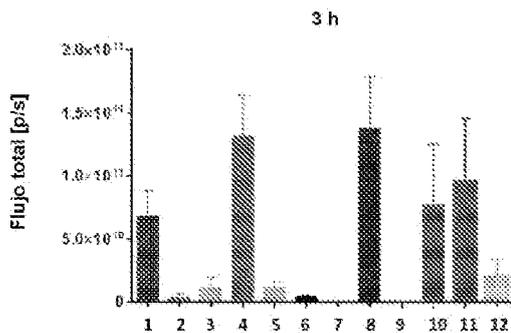


FIGURA 3

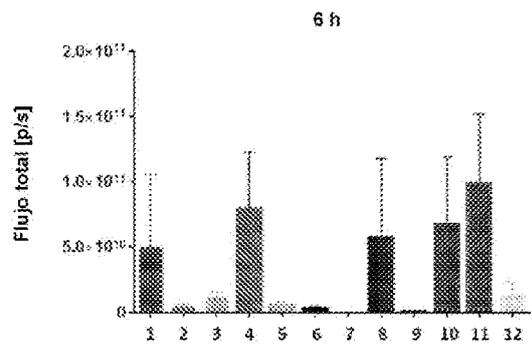


FIGURA 4

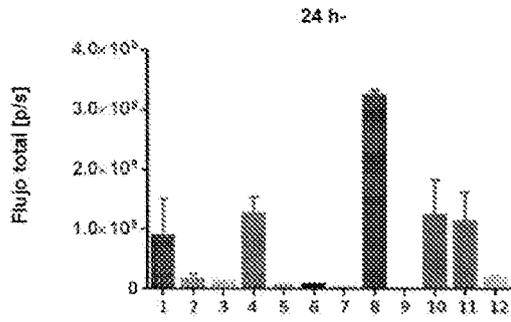


FIGURA 5

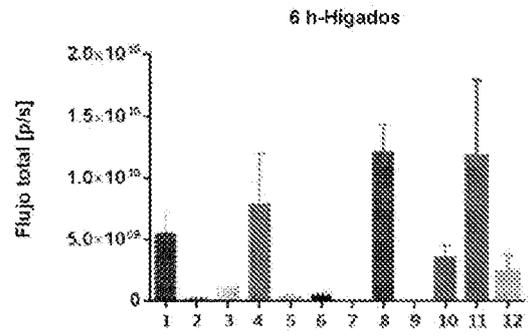


FIGURA 6

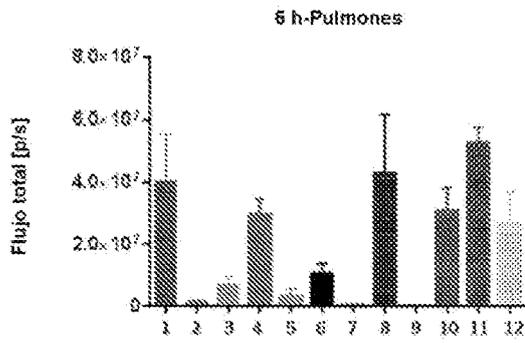


FIGURA 7

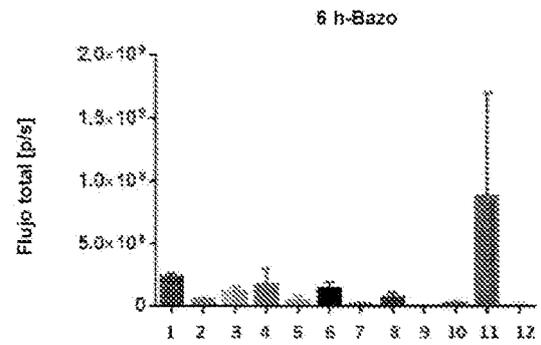


FIGURA 8

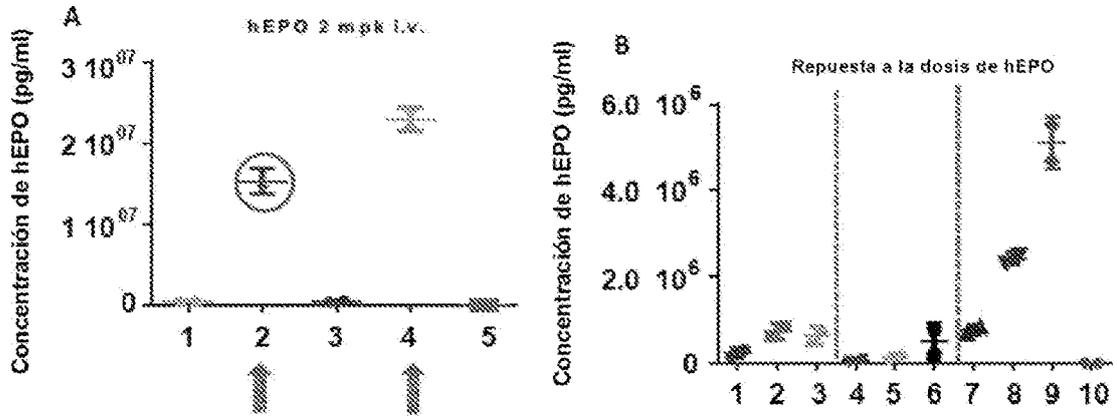


FIGURA 9

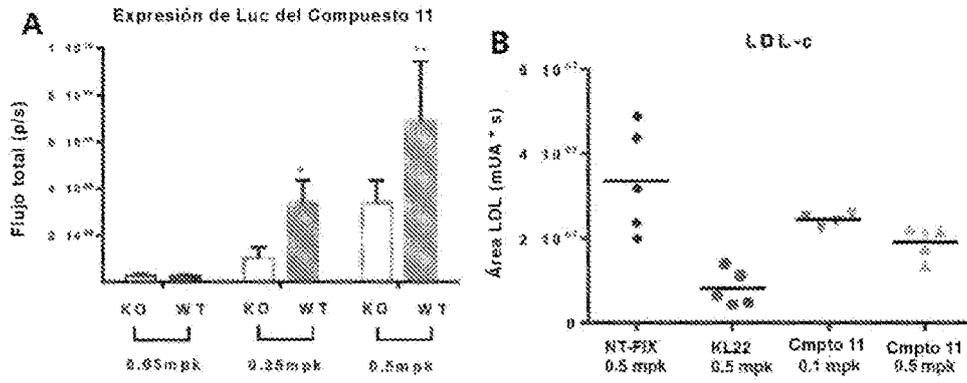


FIGURA 10

Compuesto 4, 0.01 mpk, Expresión de NHP hEPO

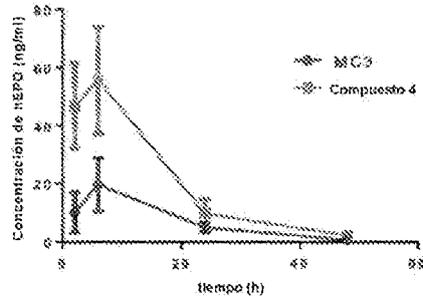


FIGURA 11

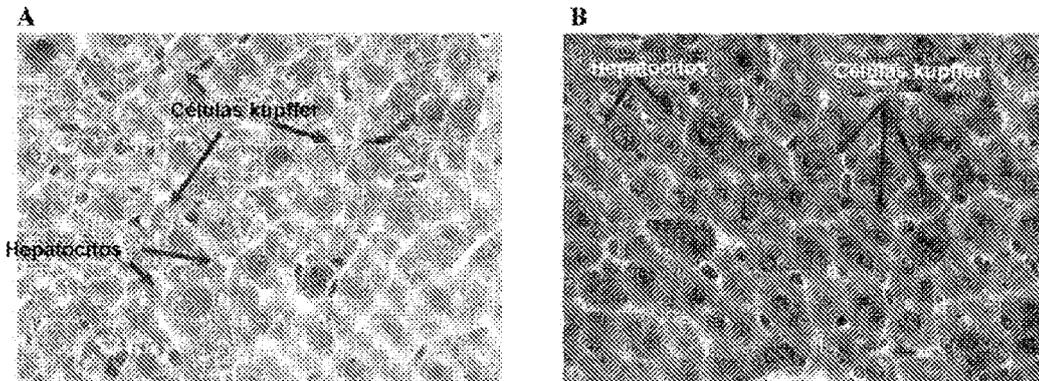


FIGURA 12

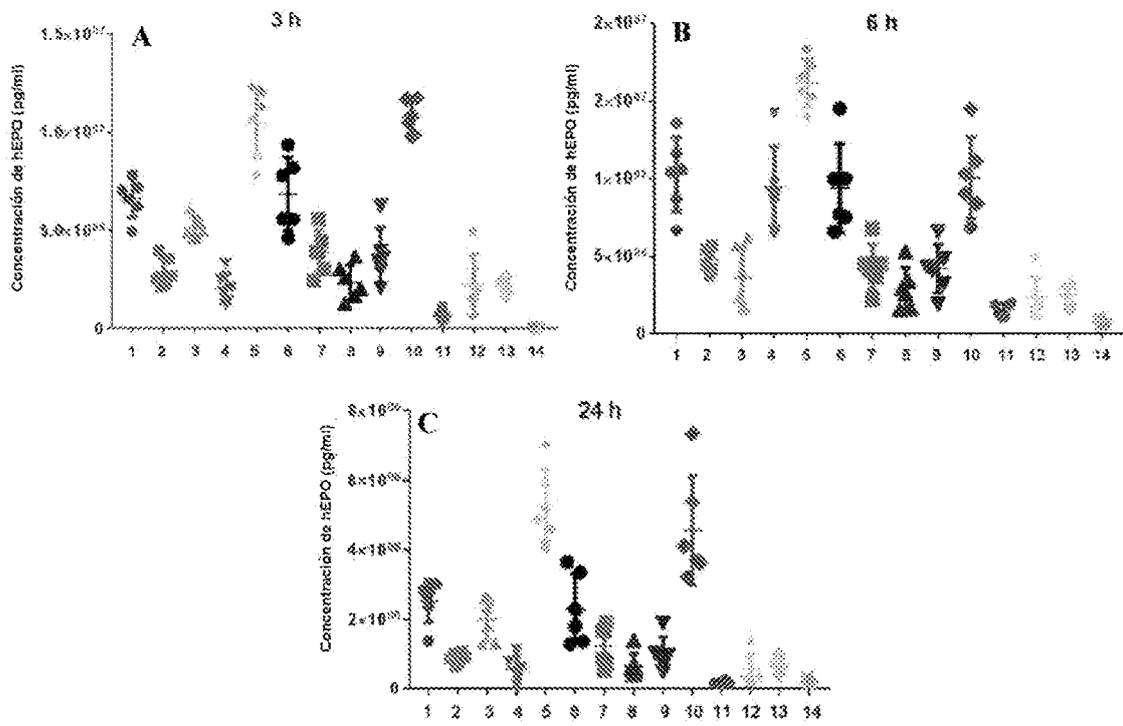


FIGURA 13

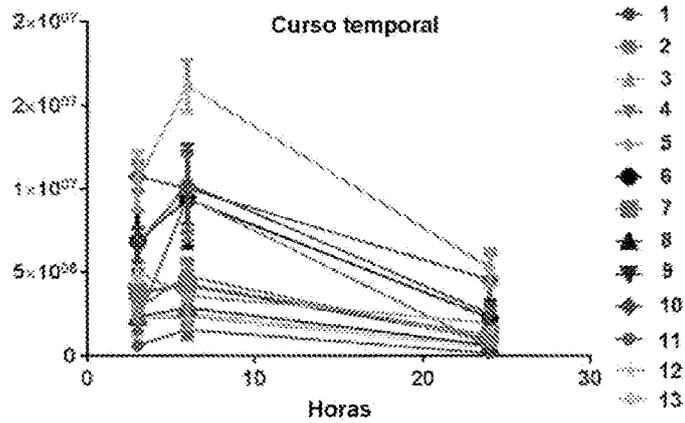


FIGURA 14

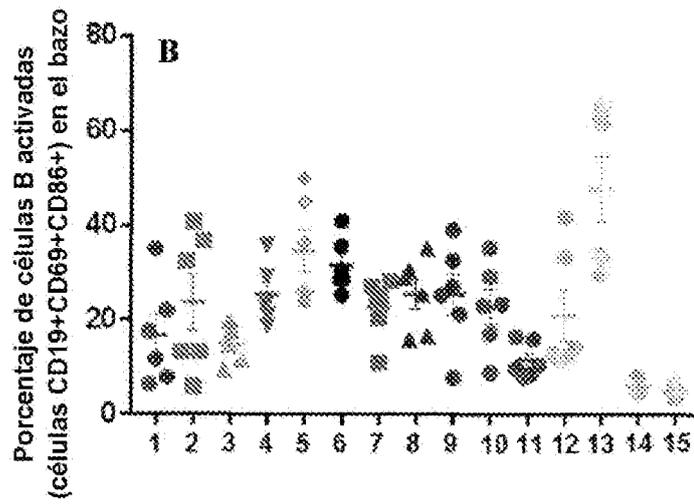
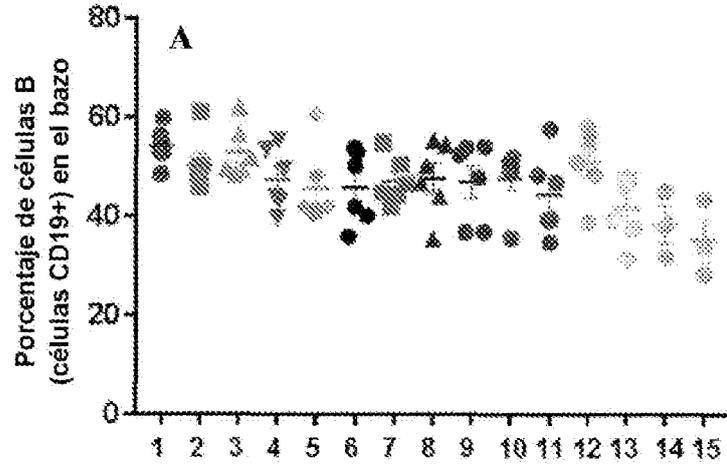


FIGURA 15

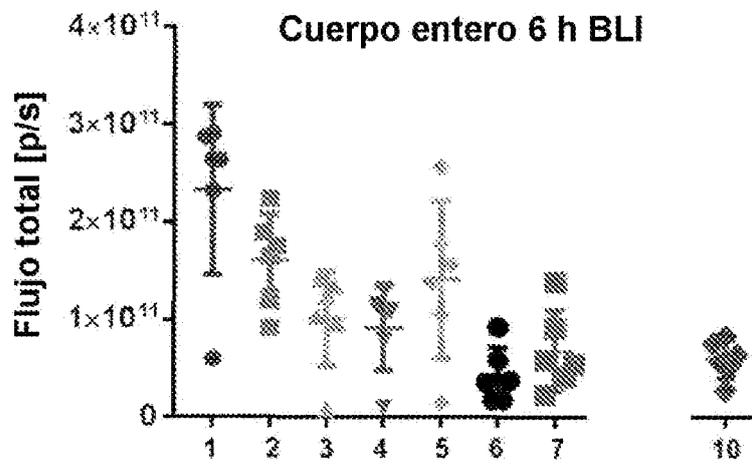


FIGURA 16

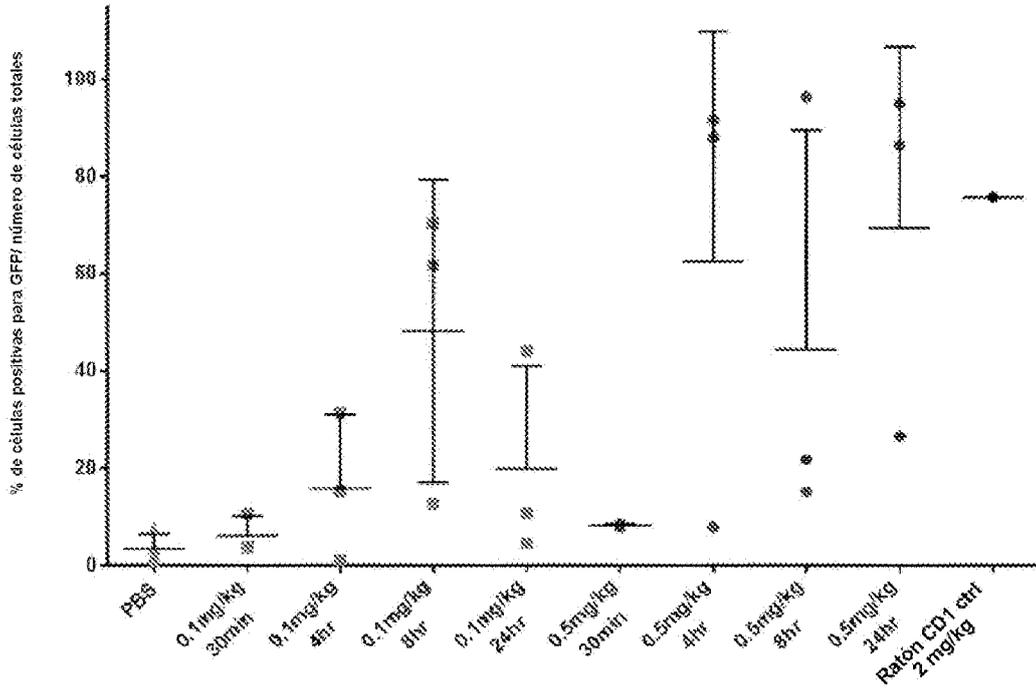


FIGURA 17

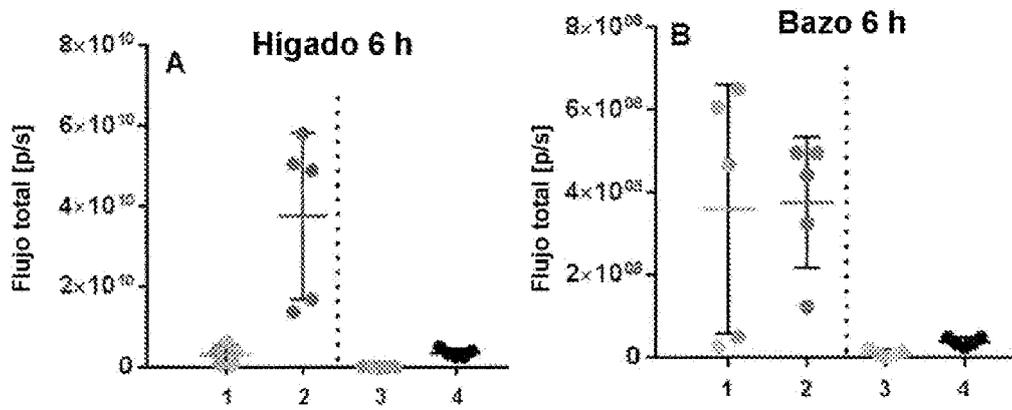


FIGURA 18

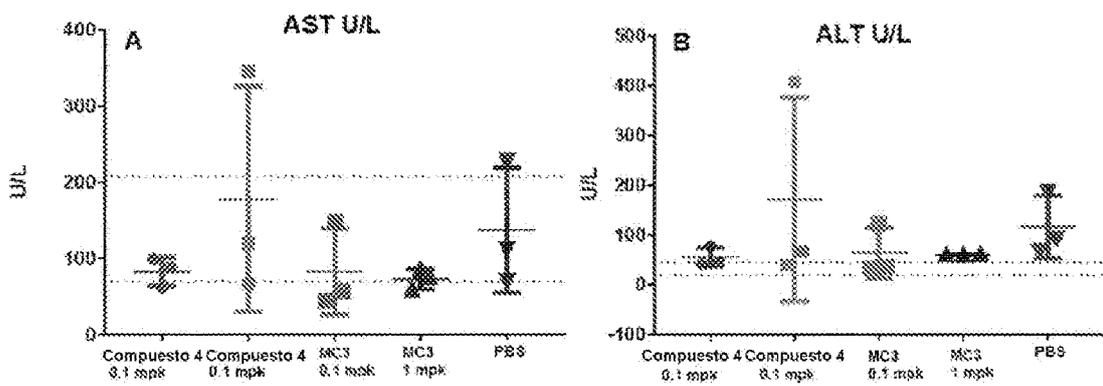


FIGURA 19

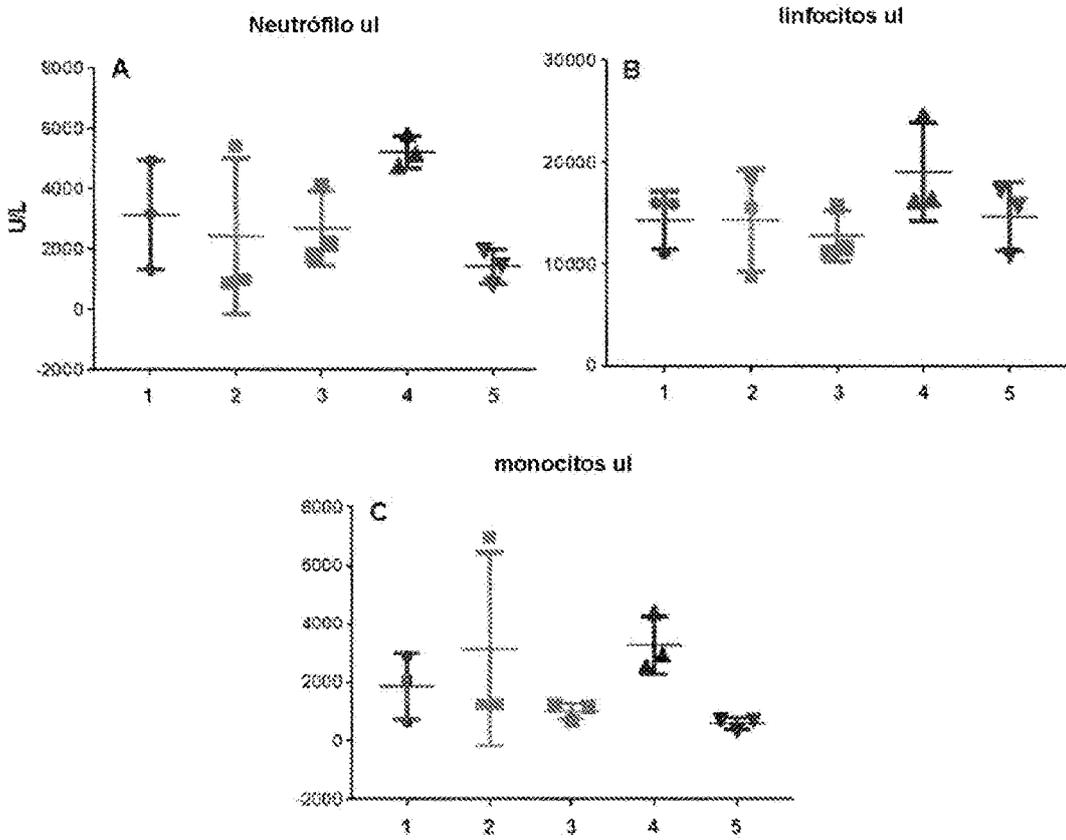


FIGURA 20

