



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.13

(21) Номер заявки
201891018

(22) Дата подачи заявки
2014.03.06

(51) Int. Cl. C07C 217/58 (2006.01)
A61K 31/137 (2006.01)

(54) ЛИПИДЫ И ЛИПИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ДОСТАВКИ АКТИВНЫХ АГЕНТОВ

(31) 61/774,759; 61/918,162

(32) 2013.03.08; 2013.12.19

(33) US

(43) 2018.09.28

(62) 201591662; 2014.03.06

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НОВАРТИС АГ (CH)

(72) Изобретатель:
Бариза Джереми Ли, Беквит Роан
Эрик Джон, Боуман Кит, Байерс
Кристал, Фазал Танзина, Гэмбер
Гэбриэл Грант, Ли Кэмерон Чак-
Манн, Тичкуле Ритеш Бханудасджи,
Варджис Чандра, Ван Шуанси, Вест
Лора, Забава Томас, Чжао Цзюньпин
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) SHINICHI MOCHIZUKI ET AL.:
"Relationship between DNA-Transfection Efficiency
and Chemical Structures of Aromatic Cationic Lipids",
BULLETIN OF THE CHEMICAL SOCIETY
OF JAPAN, vol. 85, no. 3, 15 March 2012
(2012-03-15), 15 March 2012 (2012-03-15), pages
354-359, XP008170665, ISSN: 0009-2673, DOI:
10.1246/BCSJ.20110296 [retrieved on 2012-03-15],
Scheme 1

TAN REN ET AL.: "Synthesis and
Characterization of Aromatic Ring-Based Cationic
Lipids for Gene Delivery In Vitro and In Vivo",
JOURNAL OF DRUG TARGETING, HARWOOD

ACADEMIC PUBLISHERS GMBH, DE, vol.
7, no. 4, 1 January 1999 (1999-01-01), pages
285-292, XP008170628, ISSN: 1061-186X, DOI:
10.3109/10611869909085511, figure 1

SHOTA FUJII ET AL.: "Thermodynamics of
Lipoplex Formation: Relationship between the Lipid
Alkyl Tail Length and Thermodynamic Functions",
CHEMISTRY LETTERS, vol. 41, no. 5, 1 January
2012 (2012-01-01), pages 501-503, XP055128221,
ISSN: 0366-7022, DOI: 10.1246/cl.2012.501, figure 1

Tan Ren and Dexi Liu: "Synthesis of
targetable cationic amphiphiles", Tetrahedron Letters,
vol. 40, 1 January 1999 (1999-01-01), pages
7621-7625, XP055129209, Retrieved from the
Internet: URL: [http://www.sciencedirect.com/science/
article/pii/S0040403999015580/pdf?md5=f245d
84e6e2fe57194356f225be5684e&pid=1-s2.0-S00
40403999015580-main.pdf](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403999015580/pdf?md5=f245d84e6e2fe57194356f225be5684e&pid=1-s2.0-S0040403999015580-main.pdf) [retrieved on
2014-07-16], Scheme 1 and 2

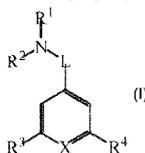
EP-A1-0064158

EP-A1-0225543

HUSSEIN I. A. ET AL.: "Rheological
behavior of associating ionic polymers based on
diallylammonium salts containing single-, twin-, and
triple-tailed hydrophobes", EUROPEAN POLYMER
JOURNAL, PERGAMON PRESS LTD. OXFORD,
GB, vol. 46, no. 5, 1 May 2010 (2010-05-01),
pages 1063-1073, XP027011621, ISSN: 0014-3057
[retrieved on 2010-01-28], compound 2b

GEORGE R. PETTIT ET AL.:
"ANTINEOPLASTIC AGENTS: IX. N-BENZYL-
N-BIS(2-HALOETHYL)AMINES", CANADIAN
JOURNAL OF CHEMISTRY, vol. 41, no. 12, 1
December 1963 (1963-12-01), pages 2962-2968,
XP055129119, ISSN: 0008-4042, DOI: 10.1139/
v63-435, table 1

(57) Данное изобретение предоставляет соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, в которой R¹-R⁴, L и X определены в настоящем описании. Соединения формулы (I) и их фармацевтически приемлемые соли представляют собой катионные липиды, пригодные для доставки биологически активных агентов в клетки и ткани.

Область техники, к которой относится изобретение

Данное изобретение относится к соединениям катионных липидов и к композициям, содержащим такие соединения. Данное изобретение также относится к способам получения таких соединений и композиций и к способам и применениям таких соединений и композиций, например, для доставки биологически активных агентов, таких как агенты РНК в клетки и ткани.

Уровень техники

Доставка биологически активных агентов (включая терапевтически подходящие соединения) к объектам часто осложняется трудностями в соединениях, достигающих целевую клетку или ткань. В частности, доставка многих биологически активных агентов в живые клетки сильно ограничивается сложной мембранной системой клеток. Данные ограничения могут привести к необходимости применения более высоких концентраций биологически активных агентов, что является желательным для достижения результата, что повышает риск развития токсических эффектов и побочных эффектов. Одним из решений данной проблемы является применение конкретных молекул-носителей, которые обеспечивают селективный вход в клетку. Липидные носители, биоразлагаемые полимеры и различные конъюгированные системы могут быть использованы для улучшения доставки биологически активных агентов в клетки.

Один из классов биологически активных агентов, который является наиболее трудным для доставки в клетки, представляет собой биотерапевтические средства (включая нуклеозиды, нуклеотиды, полинуклеотиды, нуклеиновые кислоты и производные, такие как агенты РНК). Обычно нуклеиновые кислоты являются стабильными в течение только ограниченного периода в клетках или плазме. Развитие РНК-интерференции, РНК-терапии, РНК-лекарственных средств, антисенстерпии и генной терапии, в том числе, увеличило потребность в эффективных средствах введения активных агентов на основе нуклеиновых кислот в клетки. По этим причинам композиции, которые могут стабилизировать и доставлять агенты на основе нуклеиновых кислот в клетки, представляют особый интерес.

Наиболее хорошо изученные подходы для улучшения транспорта чужеродных нуклеиновых кислот в клетки включают использование вирусных векторов или катионных липидов. Вирусные векторы могут быть использованы для переноса генов эффективно в некоторые типы клеток, но они, как правило, не могут быть использованы для введения химически синтезированных молекул в клетки.

Альтернативный подход состоит в применении доставки композиций, содержащих катионные липиды, которые взаимодействуют с биологически активным агентом в одной части и взаимодействуют с мембранной системой в другой части (для обзора см. Feigner, 1990, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 5, 162-187 и Feigner, 1993, *J. Liposome Res.*, 3, 3-16). Такие композиции, как сообщается, содержат липосомы.

С первого описания липосом в 1965 г. Bangham (*J. Mol. Biol.* 13, 238-252) наблюдался устойчивый интерес и усилия в разработке систем-носителей на основе липидов для доставки биологически активных агентов. Способ введения функциональных нуклеиновых кислот в культивируемые клетки с помощью использования положительно заряженных липосом был впервые описан Philip Feigner et al. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 84, 7413-7417 (1987). Способ был позже продемонстрирован *in vivo* K. L. Brigham et al., *Am. J. Med. Sci.*, 298, 278-281 (1989).

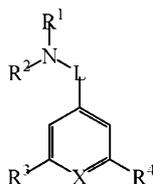
Липосомы представляют собой привлекательные носители, поскольку они защищают биологические молекулы от разрушения, при этом улучшая их клеточное поглощение. Из различных классов липосом липосомы, которые содержат катионные липиды, обычно используются для доставки полианионов (например, нуклеиновых кислот). Такие липосомы могут быть получены с использованием катионных липидов самих по себе, и необязательно включая другие липиды и амфифилы, такие как фосфатидилэтаноламин. Хорошо известно в данной области техники, что как композиция липидного состава, также как и способ его получения влияет на структуру и размер полученного агрегата.

Применение катионных липидов для клеточной доставки биологически активных агентов имеет несколько преимуществ. Инкапсулирование анионных соединений с использованием катионных липидов является по существу количественным вследствие электростатического взаимодействия. Кроме того, полагают, что катионные липиды взаимодействуют с отрицательно заряженными клеточными мембранами, инициируя клеточно-мембранный транспорт (Akhtar et al., 1992, *Trends Cell Bio.*, 2, 139; Xu et al., 1996, *Biochemistry* 35, 5616).

Существует потребность в дополнительных катионных липидах, которые облегчают системную и местную доставку биологически активных агентов, таких как агенты РНК в клетки. Существует также потребность в катионных липидах, которые по сравнению с теми катионными липидами, которые известны в данной области техники, улучшают системную и местную доставку биологически активных агентов в клетки. Существует дополнительная потребность в составах липидов, которые имеют оптимизированные физические характеристики для улучшенной системной и местной доставки биологически активных агентов в определенные органы и опухоли, в частности, опухоли за пределами печени.

Сущность изобретения

В одном аспекте данное изобретение предоставляет соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, в которой R¹-R⁴, L и X определены в настоящем описании. Соединения формулы (I) и их фармацевтически приемлемые соли представляют собой катионные липиды, используемые при доставке биологически активных агентов в клетки и ткани.

Во втором аспекте данное изобретение предоставляет липидную композицию, содержащую соединение в соответствии с формулой (I) (т.е. липидную композицию изобретения) или его фармацевтически приемлемую соль. В другом варианте осуществления присутствует по меньшей мере один другой липидный компонент. В другом варианте осуществления липидная композиция также содержит биологически активный агент, необязательно в комбинации с одним или более другими липидными компонентами. В другом варианте осуществления липидная композиция находится в форме липосомы. В другом варианте осуществления липидная композиция находится в форме липидной наночастицы (ЛНЧ). В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна для доставки в печень. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна для доставки в опухоль. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна в целях иммунизации.

В третьем аспекте данное изобретение предоставляет фармацевтическую композицию (т.е. состав), содержащую липидную композицию по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент. В другом варианте осуществления по меньшей мере один другой липидный компонент присутствует в липидной композиции. В другом варианте осуществления липидная композиция находится в форме липосомы. В другом варианте осуществления липидная композиция находится в форме липидной наночастицы. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна для доставки в печень. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна для доставки в опухоль. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой ДНК или РНК. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой киРНК. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой мРНК. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна в целях иммунизации и биологически активный агент представляет собой РНК, которая кодирует иммуноген.

В четвертом аспекте данное изобретение предоставляет способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества липидной композиции по изобретению пациенту, нуждающемуся в таком лечении. В одном варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента миРНК. В другом варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента мРНК.

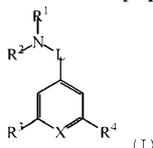
В пятом аспекте данное изобретение предоставляет применение липидной композиции по изобретению для лечения заболевания или состояния у пациента. В одном варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента РНКи. В другом варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента мРНК.

В шестом аспекте данное изобретение предоставляет способ иммунизации объекта в отношении представляющего интерес иммуногена, включающий стадию введения иммунологически эффективного количества липидной композиции по изобретению объекту в комбинации с РНК, которая кодирует иммуноген.

В седьмом аспекте данное изобретение предоставляет применение липидной композиции по изобретению для иммунизации объекта в отношении представляющего интерес иммуногена. Липид используется в комбинации с РНК, которая кодирует иммуноген.

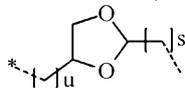
Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение предоставляет соединение формулы (I)

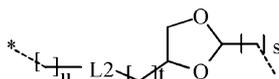


в которой

L представляет собой C₁₋₆алкилен, *-C₁₋₄алкилен-L2-, *-C₁₋₄алкилен-L2-C₁₋₄алкилен-,



или



в которой * обозначает присоединение фрагмента к NR^1R^2 группе;

L2, присоединенный в любом направлении, представляет собой $-C(O)O-$, $-OC(O)O-$ или $-CONH-$;

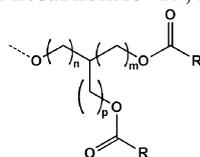
каждый s представляет собой независимо 0, 1 или 2;

каждый t представляет собой независимо 0, 1, 2, 3 или 4;

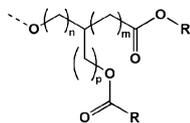
u представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

R^1 и R^2 представляют собой каждый независимо необязательно замещенный C_{1-6} алкил; где указанный C_{1-6} алкил необязательно замещен одним или двумя заместителями, каждый независимо выбран из группы, состоящей из OH, COOH и COO- C_{1-4} алкила, или R^1 и R^2 соединены вместе, образуя необязательно замещенное 4-7-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, выбранных из N и O, причем указанное гетероциклическое кольцо необязательно замещено одним-тремя заместителями OH;

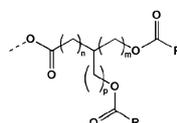
R^3 и R^4 представляют собой каждый независимо $-R^c$, где цепь R^c представляет собой



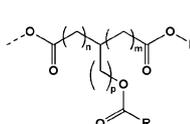
(c1)



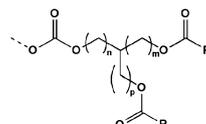
(c2),



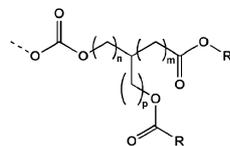
(c3),



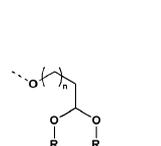
(c4),



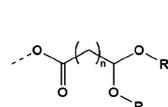
(c5),



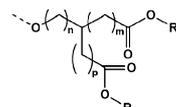
(c6),



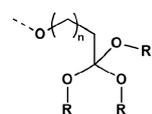
(c7),



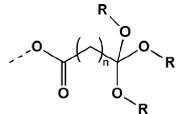
(c8),



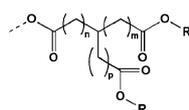
(c9),



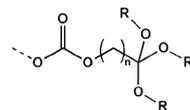
(c10),



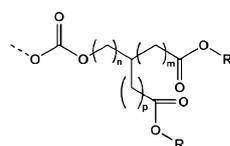
(c11),



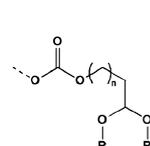
(c12),



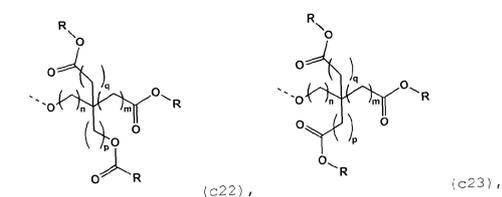
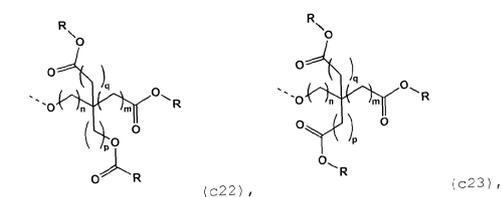
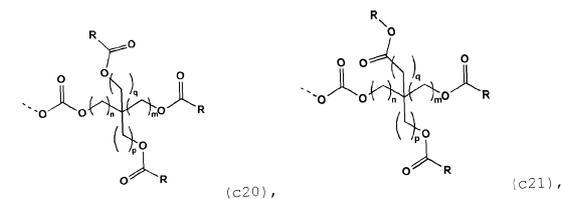
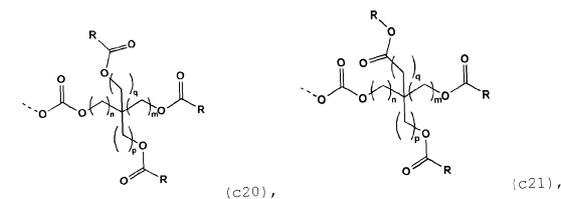
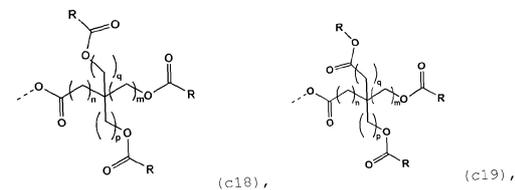
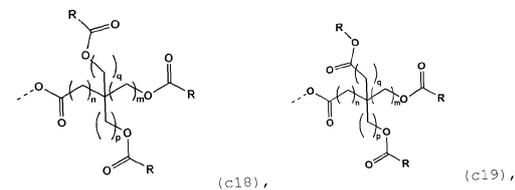
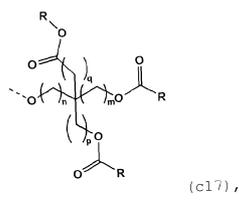
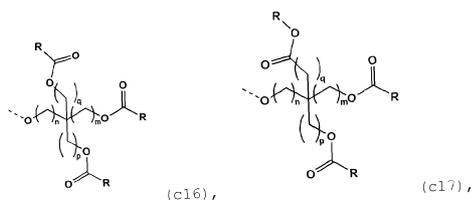
(c13),



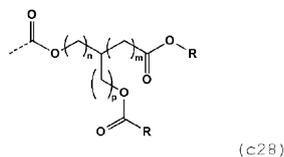
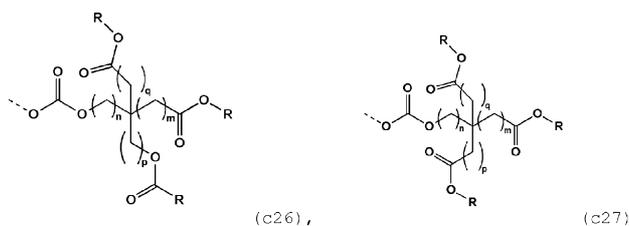
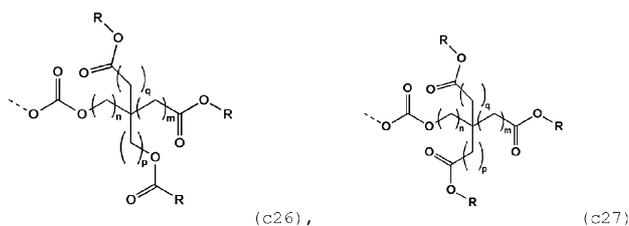
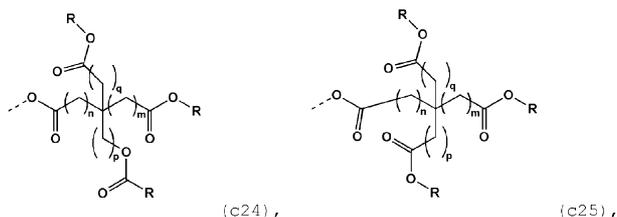
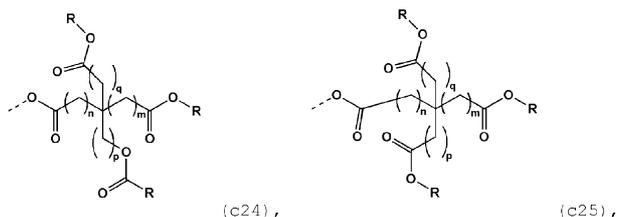
(c14),



(c15),



ИЛИ



R представляет собой C_{5-22} алкил, C_{5-22} алкенил или C_{5-22} алкинил;

n представляет собой 0-12;

m, p и q представляют собой каждый независимо 0, 1, 2, 3 или 4;

при условии, что цепь R^c имеет 12-70 атомов углерода;

X представляет собой CR^6 или N; и R^6 представляет собой H, гало, C_{1-6} алкил или R^4 .

Варианты осуществления

В одном варианте осуществления R^1 и R^2 представляют собой каждый независимо необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В другом варианте осуществления R^1 и R^2 представляют собой каждый независимо необязательно замещенный метил или необязательно замещенный этил. В другом варианте осуществления R^1 представляет собой метил и R^2 представляет собой необязательно замещенный этил. В другом варианте осуществления R^1 и R^2 оба представляют собой метил.

В другом варианте осуществления R^1 и R^2 соединены вместе, образуя необязательно замещенное 4-7-членное гетероциклическое кольцо. В другом варианте осуществления 4-7-членное гетероциклическое

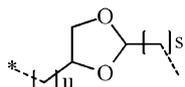
кольцо представляет собой необязательно замещенный азетидинил, необязательно замещенный пирролил или необязательно замещенный пиперидинил. В другом варианте осуществления 4-7-членное гетероциклическое кольцо представляет собой азетидинил, пирролил или пиперидинил, каждый из которых необязательно замещен одной OH-группой. В другом варианте осуществления 4-7-членное гетероциклическое кольцо представляет собой азетидинил, пирролил или пиперидинил.

В другом варианте осуществления L представляет собой C₁₋₆алкилен, *-C₁₋₄алкилен-L2-, *-C₁₋₄алкилен-L2-C₁₋₄алкилен-,

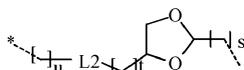


или

В другом варианте осуществления L представляет собой *-C₁₋₃ алкилен-L2-, *-C₁₋₄алкилен-L2-C₁₋₂алкилен



где s представляет собой 0 и u представляет собой 1, или



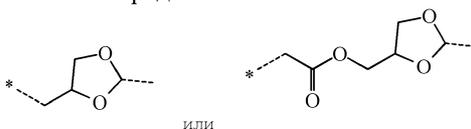
где s представляет собой 0, t представляет собой 1 и u представляет собой 1.

В другом варианте осуществления L представляет собой метилен, этилен или пропилен. В другом варианте осуществления L представляет собой метилен.

В другом варианте осуществления L2, присоединенный в любом направлении, представляет собой -C(O)O-, -OCOO- или -CONH-.

В другом варианте осуществления L представляет собой *-C₁₋₄ алкилен-L2-C₁₋₂алкилен, где L2, присоединенный в любом направлении, представляет собой -C(O)O- или -OC(O)O-.

В другом варианте осуществления L представляет собой:



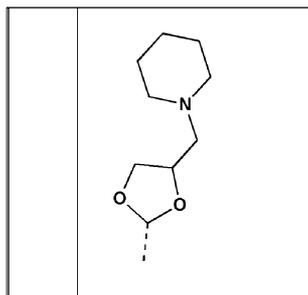
или

В одном варианте осуществления L-NR¹R²-группу формулы (I) выбирают из списка в табл. 1.

Таблица 1

L-NR¹R²-группы формулы (I), где пунктирная линия указывает на точку присоединения к формуле (I).

Структура	Структура	Структура



В другом варианте осуществления R^c представляет собой (с1) или (с3). В другом варианте осуществления R^c представляет собой (с1) или (с3), где n представляет собой 1 или 2; m представляет собой 0 или 1 и p представляет собой 1.

В другом варианте осуществления X представляет собой CR^6 , где R^6 представляет собой H, хлор, бром или C_{1-3} алкил. Предпочтительно X представляет собой CH.

В другом варианте осуществления X представляет собой N.

Один из вариантов осуществления настоящего изобретения представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из

- 1- (3, 5-бис ((Z) -октадец-9-ен-1-илокси) фенил) -N, N-диметилметанамин,
- 1- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) фенил) -N, N-диметилметанамин,
- 2, 2'- ((3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил) азанедиил) диэтанол,
- 1- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил) пирролидин,
- 1- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил) азетидин-3-ол,
- этил-2- ((3, 5-бис ((Z) -октадец-9-ен-1-илокси) бензил) (метил) амино) ацетат,
- 1- (3, 5-бис ((Z) -октадец-9-ен-1-илокси) бензил) пирролидин,
- 2- ((3, 5-бис ((Z) -октадец-9-ен-1-илокси) бензил) (метил) амино) уксусная кислота,
- 1- ((2- (3, 5-бис ((Z) -октадец-9-ен-1-илокси) фенил) -1, 3-

диоксолан-4-ил) метил) пирролидин,

1- (2- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) фенил) -1, 3-диоксолан-4-ил) -N, N-диметилметанамин,

1- ((2- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) фенил) -1, 3-диоксолан-4-ил) метил) пиперидин,

(2- (3, 5-бис ((Z) -октадец-9-ен-1-илокси) фенил) -1, 3-диоксолан-4-ил) метил-2- (диметиламино) ацетат,

3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил-4- (диметиламино) бутаноат,

3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил-3- (диметиламино) пропаноат,

3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил-2- (диметиламино) ацетат,

4-метил-3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил-3- (диметиламино) пропаноат,

3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил-3- (диметиламино) -2-метилпропаноат,

2- (диметиламино) этил-2, 6-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) изоникотинат,

3- (диметиламино) пропил-2, 6-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) изоникотинат,

(9Z, 9' Z, 12Z, 12' Z) -5- ((3- (диметиламино) пропаноил) окси) метил) -1, 3-фенилен-бис (октадека-9, 12-диеноат) ,

(9Z, 9' Z, 12Z, 12' Z) -5- ((4- (диметиламино) бутаноил) окси) метил) -1, 3-фенилен-бис (октадека-9, 12-диеноат) ,

(2, 6-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) пиридин-4-ил) метил-3- (диэтиламино) пропаноат,

(9Z, 9' Z, 12Z, 12' Z) -5- ((3- (диметиламино) пропаноил) окси) метил) -1, 3-фенилен) бис (метилен) бис (октадека-9, 12-диеноат) ,

(2, 6-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) пиридин-4-ил) метил-4- (диметиламино) бутаноат,

(2, 6-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) пиридин-4-ил) метил-3- (диметиламино) пропаноат,

1-(2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)-N,N-диметилметанамин,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен бис(метилен) бис(октадека-9,12-диеноат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен бис(метилен) дитридеканоат,
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен бис(метилен) бис(3-октилундеканоат),
 (9Z,12Z)-3-(диметиламино)метил)-5-(((3-октилундеканоил)окси)метил)бензил(октадека-9,12-диеноат),
 ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)изофталат,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси)) бис(этан-2,1-диил) бис(окси)) бис(этан-2,1-диил) бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-(диэтиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси)) бис(этан-2,1-диил) бис(окси)) бис(этан-2,1-диил) бис(октадека-9,12-диеноат),
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-3-(диметиламино)пропаноат,
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-4-(диметиламино)бутаноат,
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенэтил-3-(диметиламино)пропаноат,
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен бис(метилен) бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((2-(диметиламино)этокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен бис(метилен) бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диметиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен бис(метилен) бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((2-

(диметиламино) этокси карбонил) окси метил) -1, 3-фенилен-
 бис (октадека-9, 12-диеноат) ,
 3- (диметиламино) пропил-4-изопропил-3, 5-бис ((9Z, 12Z) -
 октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензилкарбонат,
 4-бром-3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-
 илокси) бензил (3- (диметиламино) пропил) карбонат,
 4-хлор-3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-
 илокси) бензил (3- (диметиламино) пропил) карбонат,
 N- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-илокси) бензил) -2-
 (диметиламино) ацетамид,
 O, O' - ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-
 фенилен) бис (метилен)) ди ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-
 ил) дисукцинат,
 O, O' - ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-
 фенилен) бис (метилен)) бис (10- (октаноилокси) децил) дисукцинат,
 O¹, O¹ - ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-фенилен) бис (метилен)) -
 8-динонилдиоктандиоат,
 O¹, O¹ - ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-фенилен) бис (метилен)) -
 9-диоктилдинонандиоат,
 3- (3, 5-бис ((9Z, 12Z) -октадека-9, 12-диен-1-
 илокси) фенил) пропил-3- (диметиламино) пропаноат,
 (9Z, 9' Z, 12Z, 12' Z) - ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-
 фенилен) бис (метилен)) бис (окси)) бис (4-оксобутан-4, 1-
 диил) бис (октадека-9, 12-диеноат) ,
 ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-
 фенилен) бис (метилен)) бис (окси)) бис (8-оксооктан-8, 1-
 диил) бис (деканоат) ,
 ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-
 фенилен) бис (метилен)) бис (окси)) бис (4-оксобутан-4, 1-
 диил) диоктаноат,
 ((5- ((диметиламино) метил) -1, 3-
 фенилен) бис (метилен)) бис (окси)) бис (6-оксогексан-6, 1-
 диил) диоктаноат,
 (5- ((диметиламино) метил) -1, 3-фенилен) бис (метилен) бис (10-
 (октаноилокси) деканоат) ,
 (5- ((диметиламино) метил) -1, 3-фенилен) бис (метилен) бис (8-

(октаноилокси) октаноат),
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(окси) бис(6-оксогексан-6,1-диил) бис(деcanoат),
 4,4'-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(бутан-1,2-диил) тетраоктаноат,
 (R)-4-(3-((S)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-(диметиламино)метил)феноксид бутан-1,2-диилдиоктаноат,
 (S)-4-(3-((S)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-(диметиламино)метил)феноксид бутан-1,2-диилдиоктаноат,
 (R)-4-(3-((R)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-(диметиламино)метил)феноксид бутан-1,2-диилдиоктаноат,
 N,N-диметил-1-(3,4,5-трис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанамин,
 (((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(пропан-3,1-диил) бис(окси) бис(4-оксобутан-4,1-диил) бис(деcanoат),
 O¹,O¹-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(пропан-3,1-диил)-9-диоктилдинонандиоат,
 3-(диметиламино)метил)-5-((8-(октаноилокси)октаноил)окси)метил)бензил-3-октилундеcanoат,
 2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилэтанамин,
 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилпропан-1-амин,
 2-(3-(4-(5-(диметиламино)метил)-2-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)феноксид)бутоксид)-3-оксопропил)пропан-1,3-диилдигексаноат,
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(8-деканамидооктаноат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(6-((нонилокси)карбонил)окси)гексаноат),
 бис(1,3-бис(октаноилокси)пропан-2-ил)-0,0'-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) дисукцинат,
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(бутан-4,1-диил) бис(пропан-3,2,1-триил) тетраоктаноат,
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(метилен) бис(пропан-3,2,1-триил) тетраоктаноат,
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(5-гептилдодеcanoат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(7-гексилтридеcanoат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(9-пентилтетрадеcanoат),
 (((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(бутан-4,1-диил) бис(окси) бис(пропан-3,2,1-триил) тетраоктаноат,
 1-(3,5-бис(4,4-бис(октилокси)бутоксид)фенил)-N,N-диметилметанамин,

или его фармацевтически приемлемая соль.

В контексте настоящего описания термин "алкил" относится к полностью насыщенным разветвленным или неразветвленным углеводородным цепям, содержащим определенное число атомов углерода. Например, C₁₋₆-алкил относится к алкильной группе, содержащей от 1 до 6 атомов углерода. Алкильные

группы могут быть необязательно замещенными одним или более заместителями, как определено в формуле (I). Типичные примеры алкила включают, но не ограничиваются ими, метил, этил, н-пропил, изо-пропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил, н-ундеканил, н-додеканил, н-тридеканил, 9-метилгептадеканил и подобные.

В контексте настоящего описания термин "алкилен" относится к двухвалентной алкильной группе, как определено выше в настоящем описании. Типичные примеры алкилена включают, но не ограничиваются ими, метилен, этилен, н-пропилен, изопропилен, н-бутилен, втор-бутилен, изобутилен, трет-бутилен, н-пентилен, изопентилен, неопентилен, н-гексилен, 3-метилгексилен, 2,2-диметилпентилен, 2,3-диметилпентилен, н-гептилен, н-октилен, н-нонилен, н-децилен и подобные.

В контексте настоящего описания термин "алкенил" относится к ненасыщенной разветвленной или неразветвленной углеводородной цепи, содержащей определенное число атомов углерода и одну или более углерод-углеродных двойных связей в цепи. Например, C₂₋₆ алкенил относится к алкенильной группе, содержащей от 2 до 6 атомов углерода с одной или более углерод-углеродными двойными связями в цепи. В некоторых вариантах осуществления алкенильные группы содержат одну углерод-углеродную двойную связь в цепи. В других вариантах осуществления алкенильные группы содержат более чем одну углерод-углеродную двойную связь в цепи. Алкенильные группы могут быть необязательно замещенными одним или более заместителями, как определено в формуле (I). Типичные примеры алкенила включают, но не ограничиваются ими, этиленил, пропенил, бутенил, пентенил, гексенил и подобные. Другие примеры алкенила включают, но не ограничиваются ими: Z-октадец-9-енил, Z-ундец-7-енил, Z-гептадека-8-енил, (9Z,12Z)-октадека-9,12-диенил, (8Z,11Z)-гептадека-8,11-диенил и (8Z,11Z,14Z)-гептадека-8,11,14-триенил.

В контексте настоящего описания термин "алкинил" относится к ненасыщенной разветвленной или неразветвленной углеводородной цепи, содержащей определенное число атомов углерода и одну или более углерод-углеродных тройных связей. Например, C₂₋₆ алкинил относится к алкинильной группе, содержащей от 2 до 6 атомов углерода с одной или более углерод-углеродными тройными связями в цепи. В некоторых вариантах осуществления алкинильные группы содержат одну углерод-углеродную тройную связь в цепи. В других вариантах осуществления алкинильные группы содержат более чем одну углерод-углеродную тройную связь в цепи. Алкинильные группы могут быть необязательно замещенными одним или более заместителями, как определено в формуле (I). Типичные примеры алкинила включают, но не ограничиваются ими, этинил, 1-пропинил, пропаргил, бутинил, пентинил, гексинил и подобные.

В контексте настоящего описания термин "галоген" относится к фтору, хлору, бром и йоду.

В контексте настоящего описания термин "гетероциклический" относится к 4-7-членному насыщенному или ненасыщенному моноциклическому или бициклическому кольцу, содержащему от 1 до 2 гетероатомов. Гетероциклические кольцевые системы не являются ароматическими. Гетероциклические группы, содержащие более одного гетероатома, могут содержать различные гетероатомы. Гетероциклические группы могут быть необязательно замещенными одним или более заместителями, как определено в формуле (I). Гетероциклические группы представляют собой моноциклические, спиро, или конденсированные, или мостиковые бициклические кольцевые системы. Примеры моноциклических гетероциклических групп включают тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, 1,4-диоксанил, морфолинил, 1,4-дितिанил, азетидинил, пиперазинил, пиперидинил, 1,3-диоксоланил, имидазолидинил, имидазолинил, пирролинил, пирролидинил, тетрагидропиранил, дигидропиранил, 1,2,3,6-тетрагидропиридинил, оксатиоланил, дитиоланил, 1,3-диоксанил, 1,3-дितिанил, оксатианил, тиоморфолинил, 1,4,7-триокса-10-азациклододеканил, азапанил и подобные.

Примеры спирогетероциклических колец включают, но не ограничиваются ими, 1,5-диокса-9-азаспиро[5.5]ундеканил, 1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]деканил, 2-окса-7-азаспиро[3.5]нонанил и подобные. Конденсированные гетероциклические кольцевые системы имеют от 8 до 11 кольцевых атомов и включают группы, в которых гетероциклическое кольцо конденсировано с фенильным кольцом. Примеры конденсированных гетероциклических колец включают, но не ограничиваются ими, декагидрохинолинил, (4aS,8aR)-декагидроизохинолинил, (4aS,8aS)-декагидроизохинолинил, октагидроциклопента[с]пирролил, изоинолинил, (3aR,7aS)-гексагидро-[1,3]диоксоло[4,5-с]пиридинил, октагидро-1H-пирроло[3,4-b]пиридинил, тетрагидроизохинолинил и подобные.

В контексте настоящего описания термин "оптический изомер" или "стереоизомер" относится к любой из различных стереоизомерных конфигураций, которые могут существовать для данного соединения по настоящему изобретению, и включает геометрические изомеры. Следует понимать, что заместитель может быть присоединен к хиральному центру атома углерода. Термин "хиральная" относится к молекулам, которые обладают свойством неналожимости зеркальных изображений молекулы, тогда как термин "ахиральная" относится к молекулам, зеркальные изображения которых можно наложить друг на друга. Следовательно, изобретение включает энантиомеры, диастереомеры или рацематы соединения. "Энантиомеры" представляют собой пару стереоизомеров, которые не являются зеркальными изображениями, которые можно наложить друг на друга. Смесь 1:1 пары энантиомеров представляет собой "рацемическую" смесь. Термин используется для обозначения рацемической смеси в случае необходимости.

"Диастереоизомеры" представляют собой стереоизомеры, которые содержат по меньшей мере два асимметричных атома, но которые не являются зеркальными отображениями друг друга. Абсолютная стереохимия указана в соответствии с R-S-системой Кана-Ингольда-Прелога. Когда соединение представляет собой чистый энантиомер, стереохимия у каждого хирального атома углерода может быть определена или R, или S. Разделенные соединения, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены (+) или (-) в зависимости от направления (право- или левовращающие), в котором они вращают плоскость поляризованного света при длине волны D-линии натрия. Некоторые соединения, описанные в настоящей заявке, содержат один или более асимметрических центров или осей и могут, таким образом, образовывать энантиомеры, диастереомеры и другие стереоизомерные формы, которые могут быть определены, исходя из абсолютной стереохимии, как (R)- или (S)-.

В зависимости от выбора исходных материалов и методик соединения могут присутствовать в форме одного из возможных изомеров или в виде их смесей, например, в виде чистых оптических изомеров или в виде смесей изомеров, таких как рацематы и диастереоизомерные смеси, в зависимости от количества асимметрических атомов углерода. Настоящее изобретение предусматривает включение всех таких возможных изомеров, включая рацемические смеси, диастереоизомерные смеси и оптически чистые формы. Оптически активные (R)- и (S)-изомеры могут быть получены с использованием хиральных синтонов или хиральных реагентов или разделены с использованием стандартных методик. Если соединение содержит двойную связь, заместитель может быть E- или Z-конфигурации. Если соединение содержит дизамещенный циклоалкил, циклоалкильный заместитель может иметь цис- или транс-конфигурацию. Все таутомерные формы также должны быть включены.

Любой асимметрический атом (например, углерод или подобные) соединения(й) по настоящему изобретению может быть представлен в рацемической или энантиомерно обогащенной, например (R)-, (S)- или (R,S)-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления каждый асимметрический атом имеет по меньшей мере 50% энантиомерного избытка, по меньшей мере 60% энантиомерного избытка, по меньшей мере 70% энантиомерного избытка, по меньшей мере 80% энантиомерного избытка, по меньшей мере 90% энантиомерного избытка, по меньшей мере 95% энантиомерного избытка или по меньшей мере 99% энантиомерного избытка в (R)- или (S)-конфигурации. Заместители на атомах с ненасыщенными двойными связями могут, если возможно, находиться в цис-(Z)- или транс-(E)-форме.

Соответственно, используемое в данном описании соединение по настоящему изобретению может находиться в форме одного из возможных изомеров, ротамеров, атропоизомеров, таутомеров или их смесей, например, как, по существу, чистые геометрические (цис- или транс-) изомеры, диастереомеры, оптические изомеры (антиподы), рацематы или их смеси.

Любые полученные смеси изомеров могут быть разделены на основе физико-химических различий составляющих на чистые или, по существу, чистые геометрические или оптические изомеры, диастереомеры, рацематы, например, с помощью хроматографии и/или фракционной кристаллизации.

Любые полученные рацематы конечных продуктов или интермедиатов могут быть разделены на оптические антиподы с помощью известных способов, например, с помощью разделения их диастереомерных солей, полученных с оптически активной кислотой или основанием, и высвобождения оптически активного кислотного или основного соединения. В частности, основной фрагмент может быть использован таким образом для разделения соединений по настоящему изобретению на их оптические антиподы, например, с помощью фракционной кристаллизации соли, образованной с оптически активной кислотой, например, винной кислотой, дибензоилвинной кислотой, диацетилвинной кислотой, ди-O,O'-толуоилвинной кислотой, миндальной кислотой, яблочной кислотой или камфор-10-сульфоновой кислотой. Рацемические продукты также могут быть разделены с помощью хиральной хроматографии, например, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хирального адсорбента.

В контексте настоящего описания термины "соль" или "соли" относятся к кислотно-аддитивной или основно-аддитивной соли соединения изобретения. "Соли" включают, в частности, "фармацевтически приемлемые соли". Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства соединений данного изобретения и которые, как правило, не являются биологически или иным образом нежелательными. Во многих случаях соединения по настоящему изобретению способны образовывать кислотные и/или основные соли за счет наличия amino и/или карбоксильных групп или подобных им групп.

Фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли могут быть образованы с неорганическими кислотами и органическими кислотами, например ацетат, аспартат, бензоат, безилат, бромид/гидробромид, бикарбонат/карбонат, бисульфат/сульфат, камфорсульфонат, хлорид/гидрохлорид, хлортеофиллонат, цитрат, этандисульфат, фумарат, глюцептат, глюконат, глюкурокат, гиппурат, гидроиодид/иодид, изетионат, лактат, лактобионат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, манделат, мезилат, метилсульфат, нафтоат, напзилат, никотинат, нитрат, октадеканоат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, фосфат/гидрофосфат/дигидрофосфат, полигалактуронат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфосалицилат, тартрат, тозилат и трифторацетат.

Неорганические кислоты, из которых могут быть получены соли, включают, например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную ки-

слоту и подобные.

Органические кислоты, из которых могут быть получены соли, включают, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, гликолевую кислоту, щавелевую кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, фумаровую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, бензойную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, толуолсульфоновую кислоту, сульфосалициловую кислоту и подобные. Фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли могут быть образованы с неорганическими и органическими основаниями.

Неорганические основания, из которых могут быть получены соли, включают, например, соли аммония и металлов групп I-XII периодической системы. В некоторых вариантах осуществления соли получают из натрия, калия, аммония, кальция, магния, железа, серебра, цинка и меди; наиболее предпочтительными являются соли аммония, калия, натрия, кальция и магния.

Органические основания, из которых могут быть получены соли, включают, например, первичные, вторичные и третичные амины, замещенные амины, включая замещенные амины природного происхождения, циклические амины, основные ионообменные смолы и подобные. Некоторые органические амины включают изопропиламин, бензатин, холинат, диэтиламин, диэтиламин, лизин, меглумин, пиперазин и трометамин.

Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из основного или кислотного фрагмента с помощью стандартных химических способов. Как правило, такие соли могут быть получены с помощью взаимодействия форм свободной кислоты данных соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания (такого как гидроксид, карбонат, бикарбонат Na, Ca, Mg или K или подобные) или с помощью взаимодействия форм свободного основания данных соединений со стехиометрическим количеством соответствующей кислоты. Такие реакции обычно проводят в воде, или в органическом растворителе, или в смеси двух. Как правило, использование неводных сред, таких как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил является желательным при наличии соответствующей возможности. Списки дополнительных пригодных солей могут быть найдены, например, в "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); и в "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

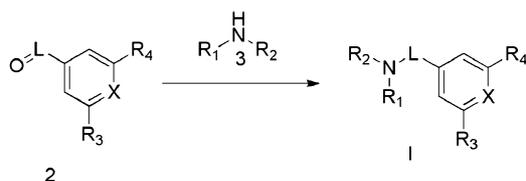
Общие способы синтеза катионных липидов

Настоящее изобретение также включает способы получения соединений формулы (I). В описанных реакциях может быть необходимо защитить реакционноспособные функциональные группы, например гидроксильные, амина, имино, тио или карбоксигруппы, где они являются желательными в конечном продукте, чтобы избежать их нежелательного участия в реакциях.

Соединения и способы по настоящему изобретению будут более понятны с использованием следующих схем синтеза, которые предназначены только для иллюстрации способов, с помощью которых соединения обычно могут быть получены, и не предназначены для ограничения объема изобретения, как определено в формуле изобретения.

Конечные соединения формулы (I) могут быть получены, как описано в Схеме I.

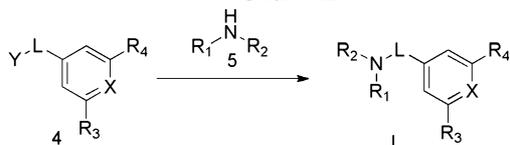
Схема I



Соединение формулы (I) может быть получено с помощью взаимодействия соединения формулы 2 с соединением формулы 3 с использованием соответствующего восстанавливающего агента (например, ацетоксиборгидрида натрия и подобного) и необязательно кислоты Льюиса (например, тетраизопроксоксида титана и подобного) в соответствующем растворителе, таком как этанол. Реакция может быть проведена при температуре от комнатной температуры до 80°C и может занимать до 24 ч до завершения.

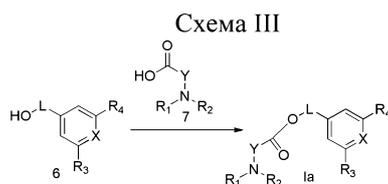
Соединения формулы (I) также могут быть получены с помощью методики, как описано в Схеме II.

Схема II



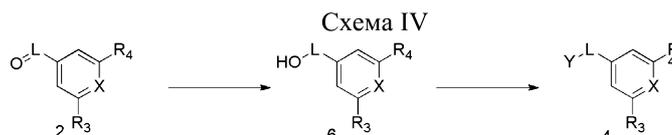
Соединение формулы (I) может быть получено с помощью взаимодействия соединения формулы 4, где Y представляет собой хлор, бром, иод, мезил, тозил или другую уходящую группу, с соединением формулы 5 в ДМФ или другом соответствующем растворителе при температуре от 20 до 180°C.

Конечные соединения формулы (Ia) могут быть получены, как описано в Схеме III.



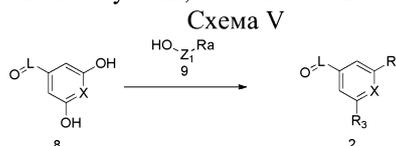
Соединение формулы (Ia) может быть получено с помощью взаимодействия спирта формулы 6 с кислотой формулы 7 в дихлорметане или другом соответствующем растворителе с использованием EDC или другого соответствующего связывающего агента с необязательным основанием или катализатором, таким как ДМАП при температуре от 20 до 150°C.

Соединения формулы 4 и 6 могут быть получены из соответствующего прекурсора формулы 7 с помощью способов, известных специалисту в данной области техники, например, как описано в Схеме IV.



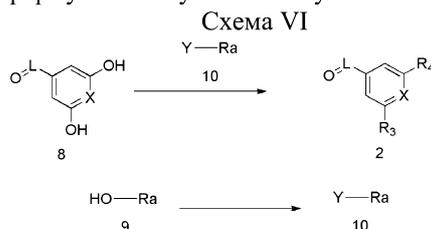
Соединение формулы 6 может быть получено с помощью взаимодействия соединения формулы 2 с боргидридом натрия или другим соответствующим восстанавливающим агентом (например, гидридом диизобутилалюминия, боргидридом лития и т.д.) в этаноле или другом соответствующем растворителе при температуре от -20 до 150°C. Соединение формулы 4 может быть получено из соединения формулы 6 с помощью реакции с мезилангидридом или другим соответствующим активирующим агентом (например, тозилхлоридом, оксихлоридом фосфора и т.д.) в дихлорметане или другом соответствующем растворителе при температуре от -20 до 80°C.

Соединения формулы 2 могут быть получены, как описано в Схеме V.



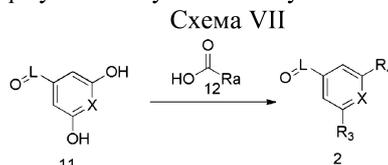
Соединение формулы 2 может быть получено из соединения формулы 8 с помощью взаимодействия с соединением формулы 9 в присутствии DIAD или другого соответствующего диазосоединения (например, DEAD и т.д.) с трифенилфосфином или другим соответствующим фосфином (например, триметилфосфином) в дихлорметане или другом соответствующем растворителе при температуре от -20 до 50°C.

Альтернативно, соединения формулы 2 могут быть получены в соответствии со Схемой VI.



Соединение формулы 2 может быть получено из соединения формулы 8 с помощью взаимодействия с соединением формулы 10, где Y представляет собой галоген, мезилат или другую подходящую уходящую группу, в присутствии карбоната калия или другого соответствующего основания (например, карбоната цезия, ортофосфата калия и т.д.) в ДМФ или другом соответствующем растворителе при температуре от 20 до 180°C. Соединение формулы 10 может быть получено из соединения формулы 9 с помощью взаимодействия с мезилхлоридом или другим соответствующим активирующим агентом (например, тозилхлоридом, оксихлоридом фосфора и т.д.) в присутствии пиридина или другого соответствующего основания в дихлорметане или другом соответствующем растворителе при температуре от -20 до 180°C.

Альтернативно, соединения формулы 2 могут быть получены в соответствии со Схемой VII.

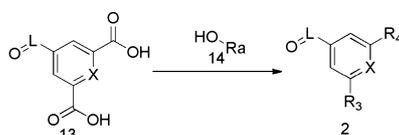


Соединение формулы 2 может быть получено из соединения формулы 11 с помощью взаимодейст-

вия с соединением формулы 12 и EDC или другим соответствующим связывающим агентом (например, DIC, HATU и т.д.) в присутствии ДМАП или другого соответствующего катализатора и ДИЭА или другого соответствующего основания в дихлорметане или другом соответствующем растворителе (например, ДМФ, ДХЭ и т.д.) при температуре от 0 до 180°C.

Альтернативно, соединения формулы 2 могут быть получены в соответствии со Схемой VIII.

Схема VIII



Соединение формулы 2 может быть получено из соединения формулы 13 с помощью взаимодействия с соединением формулы 14 и EDC или другим соответствующим связывающим агентом (например, DIC, HATU и т.д.) в присутствии ДМАП или другого соответствующего катализатора и ДИЭА или другого соответствующего основания в дихлорметане или другом соответствующем растворителе (например, ДМФ, ДХЭ и т.д.) при температуре от 0 до 180°C.

рКа для катионных липидов

Соединения формулы (I) представляют собой катионные липиды, используемые для доставки биологически активных агентов в клетки и ткани. Было обнаружено, что липидные композиции для доставки биологически активных агентов могут быть приспособлены преимущественно для целевого одного типа клеток или органа по сравнению с другим, изменяя только катионный липид в составе. Например, катионный липид с рКа от приблизительно 5,1 до приблизительно 7,4, как правило, эффективен при использовании в составе для доставки в печень. В одном варианте осуществления рКа катионного липида составляет от приблизительно 5,1 до приблизительно 7,4 для доставки в печень. В другом варианте осуществления рКа катионного липида составляет от приблизительно 5,3 до приблизительно 7,0 для доставки в печень. В другом варианте осуществления рКа катионного липида составляет от приблизительно 5,3 до приблизительно 6,6 для доставки в печень. Для доставки в опухоль катионный липид с рКа от приблизительно 5,3 до приблизительно 6,4 является наиболее эффективным при использовании в составе для доставки биологически активного агента в опухоль. Таким образом, в одном варианте осуществления рКа катионного липида составляет от приблизительно 5,3 до приблизительно 6,4 для доставки в опухоль. В другом варианте осуществления рКа катионного липида составляет от приблизительно 5,4 до приблизительно 6,2 для доставки в опухоль. В другом варианте осуществления рКа катионного липида составляет от приблизительно 5,8 до приблизительно 6,1 для доставки в опухоль. В целях иммунизации рКа катионного липида является эффективным от 5,0 до 7,6, например, от 5,7 до 5,9 (см. WO 2012/006378).

Липидные композиции

Настоящее изобретение предоставляет липидную композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение формулы (I), т.е. липидную композицию изобретения. В одном варианте осуществления присутствует, по меньшей мере, один другой липидный компонент. Такие композиции также могут содержать биологически активный агент, необязательно в комбинации с одним или более другими липидными компонентами.

Один вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и другой липидный компонент. Такие другие липидные компоненты включают, но не ограничиваются ими, катионные липиды, нейтральные липиды, анионные липиды, желчные липиды и скрытые липиды.

Катионные липиды, пригодные для использования в липидной композиции по изобретению включают, но не ограничиваются ими, N,N-диолеил-N,N-диметиламмония хлорид (DODAC), N,N-дистеарил-N,N-диметиламмония бромид (DDAB), N-(1-(2,3-диолеилокси)пропил)-N,N,N-триметиламмония хлорид (DOTAP), 1,2-диолеоил-3-диметиламмоний-пропан (DODAP), N-(1-(2,3-диолеилокси)пропил)-N,N,N-триметиламмония хлорид (DOTMA), 1,2-диолеоилкарбамил-3-диметиламмония-пропан (DOCDAP), 1,2-дидолеоил-3-диметиламмония-пропан (DLINDAP), дилаурил (C_{12:0}) триметиламмония пропан (DLTAP), доктадециламидоглицилспермин (DOGS), DC-Choi, диолеилокси-N-(2-(сперминкарбоксамидо)этил)-N,N-диметил-1-пропанаминия трифторацетат (DOSPA), 1,2-димиристилоксипропил-3-диметилгидроксэтиламмония бромид (DMRIE), 3-диметиламино-2-(холест-5-ен-3-бета-оксибутан-4-окси)-1-(цис,цис-9,12-октадекадиенокси)пропан (CLinDMA), N,N-диметил-2,3-диолеилокси)пропиламин (DODMA), 2-[5'-(холест-5-ен-3[бета]-окси)-3'-оксапентокси]-3-диметил-1-(цис,цис-9',12'-октадекадиенокси)пропан (CpLinDMA), и N,N-диметил-3,4-диолеилоксибензиламин (DMOBA), и 1,2-N,N'-диолеилкарбамил-3-диметиламинопропан (DOcarbDAP). В одном варианте осуществления катионный липид представляет DOTAP или DLTAP.

Нейтральные липиды, пригодные для использования в липидной композиции изобретения, включают, например, различные нейтральные, незаряженные или цвиттер-ионные липиды. Примеры нейтральных фосфолипидов, пригодных для использования в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются ими 5-гептадецилбензол-1,3-диол (резорцин), холестерина гемисукцинат (CHEMS), ди-

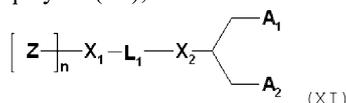
пальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ), дистеароилфосфатидилхолин (ДСФХ), фосфохолин (ДОФХ), димиристоилфосфатидилхолин (ДМФХ), фосфатидилхолин (ПДФХ), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (ДАРС), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), яичный фосфатидилхолин (яФХ), дилаурилоилфосфатидилхолин (ДЛФХ), димиристоилфосфатидилхолин (ДМФХ), 1-миристоил-2-пальмитоилфосфатидилхолин (МПФХ), 1-пальмитоил-2-миристоилфосфатидилхолин (ПМФХ), 1-пальмитоил-2-стеароилфосфатидилхолин (ПСФХ), 1,2-диарахидоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (ДВРС), 1-стеароил-2-пальмитоилфосфатидилхолин (СПФХ), 1,2-дизйкозеноил-sn-глицеро-3-фосфохолин (ДЭФХ), пальмитоилолеилфосфатидилхолин (ПОФХ), лизофосфатидилхолин, диолеилфосфатидилэтаноламин (ДОФЭ), дилинолеилфосфатидилхолин, дистеароилфосфатидилэтаноламин (ДСФЭ), димиристоилфосфатидилэтаноламин (ДМФЭ), дипальмитоилфосфатидилэтаноламин (ДПФЭ), пальмитоилолеилфосфатидилэтаноламин (ПОФЭ), лизофосфатидилэтаноламин и их комбинации. В одном варианте осуществления нейтральный фосфолипид выбран из группы, состоящей из дистеароилфосфатидилхолина (ДСФХ) и димиристоилфосфатидилэтаноламина (ДМФЭ).

Анионные липиды, пригодные для использования в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются ими, фосфатидилглицерин, кардиолипин, диацилфосфатидилсерин, диацилфосфатидную кислоту, N-додеканоилфосфатидилэтаноламин, N-сукцинилфосфатидилэтаноламин, N-глутарилфосфатидилэтаноламин и лизилфосфатидилглицерин.

Подходящие нейтральные и анионные липиды также включают описанные в US 2009/0048197.

Хелперные липиды представляют собой липиды, которые до некоторой степени усиливают трансфекцию (например, трансфекцию наночастицы, включающей биологически активный агент). Механизм, с помощью которого хелперный липид усиливает трансфекцию, может включать, например, повышение стабильности частиц и/или усиление мембранной фузогенности. Хелперные липиды включают стероиды и алкилрезорцины. Хелперные липиды, пригодные для использования в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются ими, холестерин, 5-гептадецилрезорцин и холестерина гемисукцинат.

Скрытые липиды представляют собой липиды, которые увеличивают период времени, в течение которого наночастицы могут существовать *in vivo* (например, в крови). Скрытые липиды, пригодные для использования в липидной композиции изобретения, включают, но не ограничиваются ими, скрытые липиды, содержащие гидрофильную головку, связанную с липидным фрагментом. Примеры таких скрытых липидов включают соединения формулы (XI), как описано в WO 2011/076807,



или их соль или фармацевтически приемлемое производное, где

Z представляет собой компонент гидрофильной головки, выбранный из ПЭГ и полимеров на основе поли(оксазолина), поли(этиленоксида), поли(винилового спирта), поли(глицерина), поли(N-винилпирролидона), поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламида], полисахаридов и поли(аминокислот), в котором полимер может быть линейным или разветвленным и в котором полимер может быть необязательно замещенным;

в которой Z полимеризован с помощью n субъединиц;

n представляет собой среднечисловую степень полимеризации от 10 до 200 единиц Z, где n оптимизирован для различных типов полимеров;

L₁ необязательно замещен C₁₋₁₀алкиленовым или C₁₋₁₀гетероалкиленовым линкером, включая ноль, один, два или более из простого эфира (например, -O-), сложного эфира (например, C(O)O-), сукцината (например, -O(O)C-CH₂-CH₂-C(O)O-), карбамата (например, -OC(O)-NR'-), карбоната (например, -OC(O)O-), кетона (например, -C-C(O)-C-), карбонила (например, -C(O)-), мочевины (например, -NRC(O)NR'-), амина (например, -NR'-), амида (например, -C(O)NR'-), имина (например, -C(NR')-), тиоэфира (например, -S-), ксантата (например, -OC(S)S-) и фосфодиэфира (например, -OP(O)₂O-); любой из которых может быть замещен нулевой, одной или более Z группами;

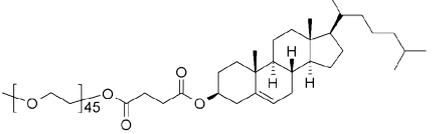
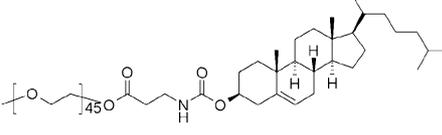
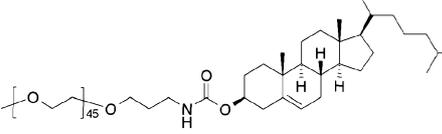
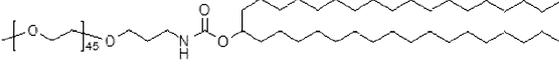
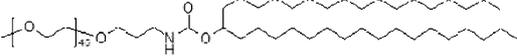
где R' независимо выбран из -H, -NH-, -NH₂, -O-, -S-, фосфата или необязательно замещенного C₁₋₁₀алкилена;

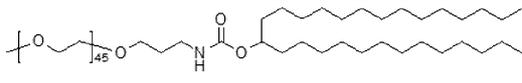
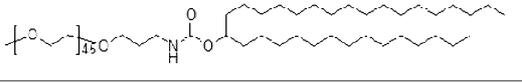
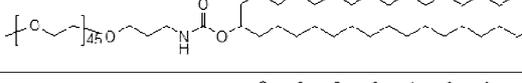
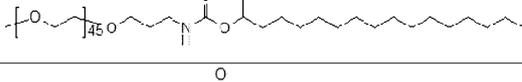
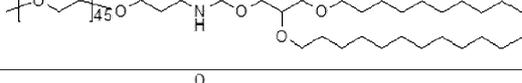
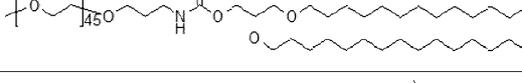
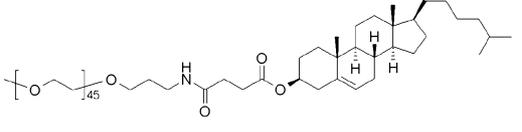
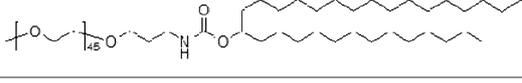
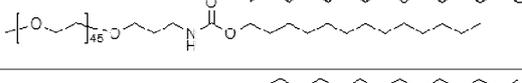
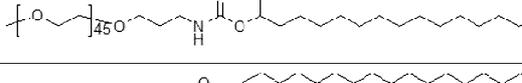
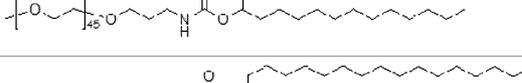
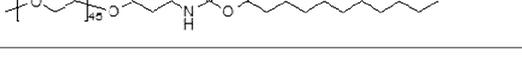
X₁ и X₂ независимо выбраны из углерода или гетероатома, выбранного из -NH-, -O-, -S- или фосфата;

A₁ и A₂ независимо выбраны из C₆₋₃₀алкила, C₆₋₃₀алкенила и C₆₋₃₀алкинила, где A₁ и A₂ могут быть одинаковыми или различными, или где A₁ и A₂ вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный стероид.

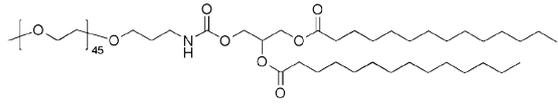
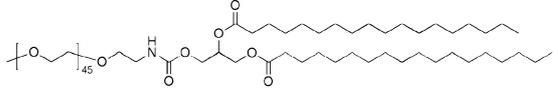
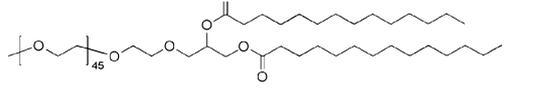
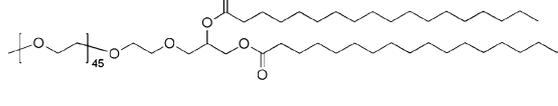
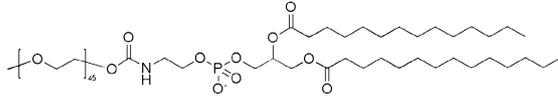
Определенные скрытые липиды включают, но не ограничиваются ими, липиды, перечисленные в табл. 3.

Таблица 3. Скрытые липиды

Скрытый липид	Липид
S001	
S002	
S003	
S004	
S005	

S006	
S007	
S008	
S009	
S010	
S011	
S012	
S013	
S014	
S015	
S016	
S017	

S018	
S019	
S020	
S021	
S022	
S023	
S024	
S025	
S026	
S027	
S028	

S029	
S030	
S031	
S032	
S033	

Другие скрытые липиды, пригодные для использования в липидной композиции по настоящему изобретению, и информацию о биохимии таких липидов можно найти в Romberg et al., *Pharmaceutical Research*, Vol. 25, No. 1, 2008, p.55-71 и Hoekstra et al., *Biochimica et Biophysica Acta* 1660 (2004) 41-52.

В одном варианте осуществления подходящий скрытый липид содержит группу, выбранную из ПЭГ (иногда называемого как поли(этиленоксид) и полимеров на основе поли(оксазолина), поли(винилового спирта), поли(глицерина), поли(N-винилпирролидона), полиаминокислот и поли[N-(2-гидроксипропил)метакриламида]. Дополнительные подходящие ПЭГ-липиды раскрыты, например, в WO 2006/007712.

Определенные подходящие скрытые липиды включают полиэтиленгликоль-диацилглицерин или полиэтиленгликоль-диацилглицерамид (ПЭГ-DAG) конъюгаты, включая содержащие диалкилглицериновую или диалкилглицерамидную группу, имеющую длину алкильной цепи, независимо содержащей от приблизительно C₄ до приблизительно C₄₀ насыщенных или ненасыщенных атомов углерода. Диалкилглицериновая или диалкилглицерамидная группа может дополнительно содержать одну или более замещенных алкильных групп. В любом из вариантов осуществления, описанных в настоящей заявке, конъюгат ПЭГ может быть выбран из ПЭГ-дилаурилглицерина, ПЭГ-димиристилглицерина (ПЭГ-DMG) (каталожный # GM-020 от NOF, Токио, Япония), ПЭГ-дипальмитоилглицерина, ПЭГ-дистерилглицерина, ПЭГ-дилаурилглицерамида, ПЭГ-димиристилглицерамида, ПЭГ-дипальмитоилглицерамида и ПЭГ-дистерилглицерамида, ПЭГ-холестерина (1-[8'-(холест-5-ен-3[бета]окси)карбоксамидо-3',6'-диооктанил]карбамоил-[омега]-метил-поли(этиленгликоля), ПЭГ-DMB (3,4-дитетрадекоксибензил-[омега]-метил-поли(этиленгликолевого)эфира), 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоля)-2000] (каталожный # 880150P от Avanti Polar Lipids, Alabaster, Алабама, США).

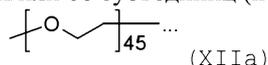
В одном варианте осуществления скрытый липид представляет собой S010, S011 или S024.

В другом варианте осуществления скрытый липид представляет собой ПЭГ-димиристилглицерин (ПЭГ-DMG).

Если не указано иное, в контексте настоящего описания термин "ПЭГ" означает любой полимер полиэтиленгликоля или другого полиалкиленового эфира. В одном варианте осуществления ПЭГ представляет собой необязательно замещенный линейный или разветвленный полимер этиленгликоля или этиленоксида. В одном варианте осуществления ПЭГ является незамещенным. В одном варианте осуществления ПЭГ является замещенным, например, одной или более алкильными, алкокси, ацильными или арильными группами. В одном варианте осуществления термин включает сополимеры ПЭГ, такие как ПЭГ-полиуретан или ПЭГ-полипропилен (см., например, J. Milton Harris, *Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications* (1992)); в другом варианте осуществления термин не включает сополимеры ПЭГ. В одном варианте осуществления ПЭГ имеет молекулярную массу от приблизительно 130 до приблизительно 50000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 30000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 20000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 15000, в подварианте осуществления от при-

близительно 150 до приблизительно 10000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 6000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 5000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 4000, в подварианте осуществления от приблизительно 150 до приблизительно 3000, в подварианте осуществления от приблизительно 300 до приблизительно 3000, в подварианте осуществления от приблизительно 1000 до приблизительно 3000 и в подварианте осуществления от приблизительно 1500 до приблизительно 2500.

В некоторых вариантах осуществления ПЭГ представляет собой "ПЭГ-2К", также называемый "ПЭГ 2000", который имеет среднюю молекулярную массу приблизительно 2000 дальтон. ПЭГ-2К представлен в настоящем описании с помощью следующей формулы (XIIa), в которой n представляет собой 45, подразумевая, что среднечисловая степень полимеризации составляет приблизительно 45 субъединиц. Однако другие варианты осуществления ПЭГ, известные в данной области техники, могут быть использованы, включая, например, такие, в которых среднечисловая степень полимеризации составляет приблизительно 23 субъединицы (n=23) и/или 68 субъединиц (n=68).



Липидные композиции по изобретению также могут содержать один или более биологически активных агентов, включая, но не ограничиваясь ими, антитела (например, моноклональные, химерные, гуманизированные, нанотела и их фрагменты и т.д.), холестерин, гормоны, пептиды, белки, химиотерапевтические и другие виды противоопухолевых агентов, низкомолекулярные лекарственные средства, витамины, кофакторы, нуклеозиды, нуклеотиды, олигонуклеотиды, ферментативные нуклеиновые кислоты, антисмысловые нуклеиновые кислоты, триплекс-образующие олигонуклеотиды, антисмысловые ДНК или РНК-композиции, химерные ДНК:РНК-композиции, аллозимы, аптамеры, рибозим, ловушки и их аналоги, плазмиды и другие типы экспрессионных векторов, и небольшие молекулы нуклеиновых кислот, агенты РНКи, молекулы короткой интерферирующей нуклеиновой кислоты (киНК), ДСФХ (киРНК), двухцепочечной РНК (дцРНК), микро-РНК (миРНК) и короткой шпилечной РНК (кшРНК), пептидо-нуклеиновую кислоту (ПНК), рибонуклеотид запертой нуклеиновой кислоты (ЗНК), морфолинонуклеотид, треозонуклеиновую кислоту (ТНК), гликольнуклеиновую кислоту (ГНК), ксиРНК (короткую внутренне сегментированную интерферирующую РНК), айРНК (асимметрическую интерферирующую РНК) и миРНК с 1, 2 или более несоответствиями между смысловой и антисмысловой нитью в соответствующих клетках и/или тканях, таких как в клеточной культуре, объекте или организме. Липидные композиции по изобретению также могут включать мРНК (матричную РНК) в качестве биологически активного агента. Такие соединения могут быть очищенными или частично очищенными, и могут быть встречающимися в природе или синтетическими, и могут быть химически модифицированными. В одном варианте осуществления биологически активный агент представляет собой агент РНКи, молекулу короткой интерферирующей нуклеиновой кислоты (киНК), короткой интерферирующей РНК (киРНК), двухцепочечной РНК (дцРНК), микро-РНК (миРНК) или короткой шпилечной РНК (кшРНК). В одном варианте осуществления биологически активный агент представляет собой агент РНКи, пригодный для опосредования РНК-интерференции (РНКи). В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой агент миРНК. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой мРНК.

Различные способы загрузки биологически активных агентов в липидные композиции, такие как липосомы и липидные наночастицы доступны в данной области техники, включая как пассивные, так и активные способы загрузки. Используемый точный способ может быть выбран на основе многочисленных факторов, которые включают, но не ограничиваются ими, например, биологически активный агент, который должен быть загружен, способ хранения, который используют после загрузки, размер полученной частицы и предполагаемый режим дозирования. Способы включают, например, механическое перемешивание лекарственного средства и липидов во время образования или восстановления липосом, растворение всех компонентов в органическом растворителе и концентрирование их в сухой пленке, образование рН или ионного градиента для внедрения активного агента во внутреннюю часть липосомы, создавая трансмембранный потенциал, и ионофор-опосредованную загрузку. См., например, РСТ публикацию WO 95/08986, патент США № 5837282, патент США № 5837282 и патент США № 7811602.

Под "липидной наночастицей" подразумевают частицу, которая содержит множество (т.е. более одной) липидных молекул, физически связанных друг с другом с помощью сил межмолекулярного взаимодействия. Липидные наночастицы могут представлять собой, например, микросферы (включая однослойные и многослойные везикулы, например, липосомы), дисперсную фазу в эмульсии, мицеллы или дисперсную фазу в суспензии.

Липидные наночастицы имеют размер от приблизительно 1 до приблизительно 2500 нм, от приблизительно 1 до приблизительно 1500 нм, от приблизительно 1 до приблизительно 1000 нм, в подварианте осуществления от приблизительно 50 до приблизительно 600 нм, в подварианте осуществления от приблизительно 50 до 400 нм, в подварианте осуществления от приблизительно 50 до приблизительно 250 нм и в подварианте осуществления от приблизительно 50 до приблизительно 150 нм. Если не указано

иное, все размеры, упоминаемые в настоящем описании, представляют собой средние размеры (диаметры) полностью образованной наночастицы, как измерено с помощью метода динамического рассеяния света на Malvern Zetasizer. Образец наночастиц разбавляют в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ), так что интенсивность представляет собой приблизительно 200-400 кимп. Данные представлены как средневзвешенное значение измерения интенсивности.

Один вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и другой липидный компонент. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и хелперный липид, например холестерин. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин и нейтральный липид, например, ДСФХ. Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин, нейтральный липид, например, ДСФХ и скрытый липид, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024. Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин, нейтральный липид, например, ДСФХ, скрытый липид, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024 и биологически активный агент, например, кРНК. Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин, нейтральный липид, например, ДСФХ, скрытый липид, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024 и биологически активный агент, например, мРНК. Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную наночастицу, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин, нейтральный липид, например, ДСФХ, и скрытый липид, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024, и биологически активный агент, например кРНК. Другой вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет липидную наночастицу, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин, нейтральный липид, например ДСФХ, и скрытый липид, например ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024, и биологически активный агент, например мРНК.

Варианты осуществления настоящего изобретения также предоставляют липидные композиции, описанные согласно соответствующим молярным соотношениям компонентов липидов в составе, в котором косая черта ("/") обозначает соответствующие компоненты, как предусмотрено в настоящем описании.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и хелперный липид, например холестерин в липидном молярном соотношении 55-40 соединения формулы (I)/55-40 хелперного липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин и нейтральный липид, например ДСФХ в липидном молярном соотношении 55-40 соединения формулы (I)/55-40 хелперного липида/15-5 нейтрального липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин, нейтральный липид, например, ДСФХ и скрытый липид, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024 в липидном молярном соотношении 55-40 соединения формулы (I)/55-40 хелперного липида/15-5 нейтрального липида/10-1 скрытого липида.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и хелперный липид, например холестерин в липидном молярном соотношении 50-40 соединения формулы (I)/50-40 хелперного липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин и нейтральный липид, например ДСФХ в липидном молярном соотношении 50-40 соединения формулы (I)/50-40 хелперного липида/15-5 нейтрального липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин, нейтральный липид, например ДСФХ, скрытый липид, например ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024 в липидном молярном соотношении 50-40 соединения формулы (I)/50-40 хелперного липида/15-5 нейтрального липида/5-1 скрытого липида.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и хелперный липид, например холестерин в липидном молярном соотношении 47-43 соединения формулы (I)/47-43 хелперного липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин и нейтральный липид, например ДСФХ в липидном молярном соотношении 47-43 соединения формулы (I)/47-43 хелперного липида/12-7 нейтрального липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин, нейтральный липид, например ДСФХ, скрытый липид, например ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024 в липидном молярном соотношении 47-43 соединения формулы (I)/47-43 хелперного липида/12-7 нейтрального липида/4-1 скрытого липида.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой липидную композицию, содержащую соединение формулы (I) и хелперный липид, например холестерин в липидном мо-

лярном соотношении приблизительно 45 соединения формулы (I)/приблизительно 44 хелперного липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например, холестерин и нейтральный липид, например, ДСФХ в липидном молярном соотношении приблизительно 45 соединения формулы (I)/приблизительно 44 хелперного липида/приблизительно 9 нейтрального липида. Другой вариант осуществления предоставляет липидную композицию, содержащую соединение формулы (I), хелперный липид, например холестерин, нейтральный липид, например, ДСФХ, скрытый липид, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024 в липидном молярном соотношении приблизительно 45 соединения формулы (I)/приблизительно 44 хелперного липида/приблизительно 9 нейтрального липида/приблизительно 2 скрытого липида, например, ПЭГ-DMG, S010, S011 или S024.

Предпочтительные соединения формулы (I) для применения в вышеуказанных липидных композициях приведены в примерах 38, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 52, 62, 63, 92, 93, 94 и 112. Наиболее предпочтительные соединения приведены в примерах 38 и 52. Предпочтительные биологически активные агенты для применения в вышеуказанных липидных композициях представляют собой кРНК. Другой предпочтительный биологически активный агент для применения в вышеуказанных липидных композициях представляет собой мРНК.

Липидные композиции по настоящему изобретению могут быть дополнительно оптимизированы специалистом в данной области техники с помощью комбинирования катионных липидов с желательным диапазоном рКа, скрытых липидов, хелперных липидов и нейтральных липидов в составах, включая, например, липосомные составы, составы липидных наночастиц (ЛНЧ) и подобные, для доставки в определенные клетки и ткани *in vivo*. В одном варианте осуществления дополнительную оптимизацию получают с помощью регулирования липидного молярного соотношения между данными различными типами липидов. В одном варианте осуществления дополнительную оптимизацию получают с помощью регулирования одного или более из желательного размера частиц, соотношения N/P, способов получения и/или режима дозирования (например, количества доз, вводимых в течение некоторого времени, фактической дозы в мг/кг, регулирования времени дозирования, комбинирования с другими терапевтическими средствами и т.д.). Различные методики оптимизации, известные специалисту в данной области техники, относящиеся к вышеперечисленным вариантам осуществления, рассматриваются как часть данного изобретения.

Общие способы получения липидных наночастиц

Следующие способы могут быть использованы для создания липидных наночастиц изобретения. Для достижения уменьшения размера и/или для повышения однородности размера частиц специалист в данной области техники может использовать стадии способа, изложенные ниже, экспериментируя с различными комбинациями. Кроме того, специалист в данной области техники может применять обработку ультразвуком, фильтрацию или другие методики разделения по размерам, которые используются в липосомальных составах.

Способ получения композиции по изобретению обычно включает предоставление водного раствора, такого как цитратный буфер, содержащего биологически активный агент в первом резервуаре, предоставление второго резервуара, содержащего органический раствор, такой как органический спирт, например, этанол, липида(ов) и затем смешивание водного раствора с органическим раствором липида. Первый резервуар необязательно находится в гидравлическом сообщении со вторым резервуаром. Стадия смешивания необязательно сопровождается стадией инкубирования, стадией фильтрации и стадией разбавления и/или концентрирования. Стадия инкубирования включает выдерживание раствора из стадии смешивания в сосуде в течение от приблизительно 0 до приблизительно 100 ч (предпочтительно от приблизительно 0 до приблизительно 24 ч) при приблизительно комнатной температуре и необязательно в защищенном от света месте. В одном варианте осуществления стадия разбавления следует за стадией инкубирования. Стадия разбавления может включать разбавление водным буфером (например, цитратным буфером), например, с использованием насоса (например, перистальтического насоса). Стадия фильтрации представляет собой ультрафильтрацию. Ультрафильтрация включает концентрирование разбавленного раствора с последующей диафильтрацией, например, с использованием подходящей насосной системы (например, насоса, такого как перистальтический насос или его эквивалент) в сочетании с подходящей ультрафильтрационной мембраной (например, картриджи GE из полых волокон или эквивалент).

В одном варианте осуществления стадия смешивания предоставляет прозрачную единственную фазу.

В одном варианте осуществления после стадии смешивания органический растворитель удаляют для получения суспензии частиц, в которой биологически активный агент инкапсулирован в липид(ы), например, в липидный бислой.

Выбор органического растворителя обычно будет включать рассмотрение полярности растворителя и легкости, с которой растворитель может быть удален при последующих стадиях образования частиц. Органический растворитель, который также используется в качестве солюбилизирующего агента, находится предпочтительно в количестве, достаточном для обеспечения прозрачной однофазной смеси биологически активных агентов и липидов. Органический растворитель может быть выбран из одного или

более (например, двух) из хлороформа, дихлорметана, диэтилового эфира, циклогексана, циклопентана, бензола, толуола, метанола и других алифатических спиртов (например, C₁-C₈), таких как этанол, пропанол, изопропанол, бутанол, трет-бутанол, изобутанол, пентанол и гексанол.

Стадия смешивания может проводиться с помощью любых способов, например, с помощью механических средств, таких как вихревой смеситель.

Способы, используемые для удаления органического растворителя, обычно будут включать диафильтрацию, или испарение при пониженном давлении, или продувку потока инертного газа (например, азота или аргона) через смесь.

В других вариантах осуществления способ дополнительно включает добавление нелипидных поликатионов, которые являются пригодными для осуществления трансформации клеток с применением настоящих композиций. Примеры подходящих нелипидных поликатионов включают, но ограничиваются ими, гексадиметрина бромид (продаваемый под торговым названием ПОЛИБРЕН® от Aldrich Chemical Co., Милуоки, Висконсин, США) или другие соли гексадиметрина. Другие подходящие поликатионы включают, например, соли поли-L-орнитина, поли-L-аргинина, поли-L-лизина, поли-D-лизина, полиаллиламина и полиэтиленimina. В некоторых вариантах осуществления образование липидных наночастиц могут проводить или в однофазной системе (например, однофазной Bligh и Dyer или аналогичной смеси водных и органических растворителей), или в двухфазной системе с подходящим перемешиванием.

Липидная наночастица может быть образована в одно- или двухфазной системе. В однофазной системе катионный липид(ы) и биологически активный агент каждый растворяют в объеме однофазной смеси. Объединение двух растворов обеспечивает единую смесь, в которой образуются комплексы. В двухфазной системе катионные липиды связываются с биологически активным агентом (который присутствует в водной фазе) и "втягивают" его в органическую фазу. В одном варианте осуществления липидные наночастицы получают с помощью способа, который включает: (а) взаимодействие биологически активного агента с раствором, содержащим некатионные липиды и детергент, с образованием смеси соединения-липид; (b) взаимодействие катионных липидов со смесью соединения-липид для нейтрализации части отрицательного заряда биологически активного агента и образования заряд-нейтрализованной смеси биологически активного агента и липидов и (с) удаление детергента из заряд-нейтрализованной смеси.

В одной группе вариантов осуществления раствор нейтральных липидов и детергента представляет собой водный раствор. Взаимодействие биологически активного агента с раствором нейтральных липидов и детергента обычно осуществляется с помощью смешивания вместе первого раствора биологически активного агента и второго раствора липидов и детергента. Предпочтительно, раствор биологически активного агента представляет собой также раствор детергента. Количество нейтрального липида, которое используется в настоящем способе, обычно определяется на основе количества используемого катионного липида и обычно представляет собой от приблизительно 0,2 до 5-кратного количества катионного липида, предпочтительно от приблизительно 0,5 до приблизительно 2-кратного количества используемого катионного липида.

Полученная таким образом смесь биологически активного агента-липид взаимодействует с катионными липидами для нейтрализации части отрицательного заряда, который связан с представляющей интерес молекулой (или другими полианионными материалами). Количество используемых катионных липидов обычно представляет собой количество, достаточное для нейтрализации, по меньшей мере 50% отрицательного заряда биологически активного агента. Предпочтительно отрицательный заряд будет представлять собой по меньшей мере 70% нейтрализованного, более предпочтительно по меньшей мере 90% нейтрализованного.

Способы, используемые для удаления детергента, обычно включают диализ. Когда присутствуют органические растворители, удаление обычно осуществляют с помощью диафильтрации или испарения при пониженном давлении или с помощью продувки потока инертного газа (например, азота или аргона) через смесь.

В настоящем описании раскрыто устройство для получения композиции по настоящему изобретению. Устройство обычно включает первый резервуар для хранения водного раствора, содержащего биологически активный агент, и второй резервуар для хранения органического раствора липидов. Устройство также обычно включает механизм насоса, способный перекачать водный и органический липидный растворы в область для смешивания или камеру для смешивания по существу при равной скорости потока. В одном варианте осуществления область для смешивания или камера для смешивания включает Т-образный патрубок или его эквивалент, который позволяет водному и органическому потокам жидкости объединиться в качестве вводимых материалов в Т-образный соединитель и полученным объединенным водным и органическим растворам выйти из Т-образного соединителя в резервуар для сбора или его эквивалент.

Способы доставки биологически активных агентов и лечения заболевания

Катионные липиды формулы (I) и их липидные композиции являются пригодными в фармацевтических композициях или составах, используемых для доставки биологически активных агентов. Составы, содержащие катионные липиды формулы (I) или их липидные композиции, могут находиться в различных формах, включая, но не ограничиваясь ими, агенты, образующие доставку частиц, включая микро-

частицы, наночастицы, и трансфекционные агенты, которые являются пригодными для доставки различных молекул в клетки. Определенные составы являются эффективными при трансфекции или доставке биологически активных агентов, таких как антитела (например, моноклональные, химерные, гуманизированные, нанотела и их фрагменты и т.д.), холестерин, гормоны, пептиды, белки, химиотерапевтические и другие виды противоопухолевых агентов, низкомолекулярные лекарственные средства, витамины, кофакторы, нуклеозиды, нуклеотиды, олигонуклеотиды, ферментативные нуклеиновые кислоты, антисмысловые нуклеиновые кислоты, триплекс-образующие олигонуклеотиды, антисмысловые ДНК или РНК-композиции, химерные ДНК:РНК-композиции, аллозимы, аптамеры, рибозим, ловушки и их аналоги, плазмиды и другие типы экспрессионных векторов, и небольшие молекулы нуклеиновой кислоты, агенты РНКи, молекулы короткой интерферирующей нуклеиновой кислоты (киНК), короткой интерферирующей РНК (киРНК), двухцепочечной РНК (дцРНК), микро-РНК (миРНК) и короткой шпилечной РНК (кшРНК), молекулы пептидонуклеиновой кислоты (ПНК), рибонуклеотид запертой нуклеиновой кислоты (ЗНК), морфолинонуклеотид, трезонуклеиновая кислота (ТНК), гликоль-нуклеиновая кислота (ГНК), квиРНК (короткая внутренне сегментированная интерферирующая РНК), аиРНК (асимметрическая интерферирующая РНК) и миРНК с 1, 2 или более несоответствиями между смысловой и антисмысловой нитью в соответствующих клетках и/или тканях, таких как в клеточной культуре, объекте или организме. Вышеизложенный список биологически активных агентов является только примерным и не предназначен для ограничения. Например, липидные составы также являются эффективными при трансфекции или доставке агентов мРНК в клетку. Такие соединения могут быть очищенными или частично очищенными, и могут быть встречающимися в природе или синтетическими, и могут быть химически модифицированными.

Такие составы, содержащие биологически активные агенты, являются пригодными, например, в предоставлении композиций для предотвращения, ингибирования или лечения заболеваний, состояний или признаков в клетке, объекте или организме. Заболевания, состояния или признаки включают, но не ограничиваются ими, пролиферативные заболевания, включая рак, воспалительное заболевание, отторжение трансплантата и/или ткани, аутоиммунные заболевания или состояния, связанное с возрастом заболевание, неврологическое или нейродегенеративное заболевание, респираторное заболевание, сердечно-сосудистое заболевание, глазное заболевание, метаболическое заболевание, дерматологическое заболевание, слуховое заболевание, заболевание печени, заболевание почек и т.д.

Количество активного агента, вводимого в одной дозе, представляет собой количество выше минимальной терапевтической дозы, но ниже токсической дозы. Фактическое количество в дозе может быть определено лечащим врачом в зависимости от ряда факторов, таких как история болезни пациента, применение других терапий, биологически активный агент, который предоставляют, и природа заболевания. Количество вводимого биологически активного агента можно регулировать во время лечения в зависимости от ответа пациента на лечение и присутствия или тяжести любых связанных с лечением побочных эффектов. Примерные дозировки и лечение для соединений, которые были одобрены соответствующим надзорным органом, известны и доступны специалисту в данной области техники. Смотрите, например, Physician's Desk Reference, 64th ed., Physician's Desk Reference Inc. (2010), Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa. (1985) и Remington The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Williams Publishers (2005).

В одном варианте осуществления однократную дозу биологически активного агента вводят пациенту, нуждающемуся в таком лечении. В одном варианте осуществления вводят многократные дозы, в котором многократные дозы могут вводить одновременно, последовательно или попеременно. В одном варианте осуществления одинаковый состав вводят за несколько доз. В одном варианте осуществления составы отличаются на несколько доз. В различных вариантах осуществления дозы могут вводить один раз в день или в течение одного, двух, трех, четырех или более последующих дней. В одном варианте осуществления дозы вводят один раз в неделю. В одном варианте осуществления дозы вводят один раз в две недели. В одном варианте осуществления пациенты получают, по меньшей мере, два курса лечения и потенциально больше в зависимости от ответа пациента на лечение. В режимах единичного агента общие курсы лечения определяются пациентом и лечащим врачом, основываясь на наблюдаемых ответах и токсичности. Вышеуказанные режимы дозирования должны рассматриваться как неограничивающие примеры. Другие режимы дозирования рассматриваются как находящиеся в пределах объема изобретения и зависят от желаемого терапевтического эффекта.

Изобретение также предоставляет способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества липидной композиции по изобретению пациенту, нуждающемуся в таком лечении. В одном варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента киРНК. В другом варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента мРНК.

Изобретение также предоставляет применение липидной композиции по изобретению для лечения заболевания или состояния у пациента. В одном варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента киРНК. В другом варианте осуществления заболевание или состояние поддается лечению с помощью введения агента мРНК.

Общее количество липидов в композиции, которую вводят, представляет собой в одном варианте осуществления от приблизительно 5 до приблизительно 30 мг липида на мг биологически активного агента (например, кРНК), в другом варианте осуществления от приблизительно 5 до приблизительно 25 мг липида на мг биологически активного агента (например, кРНК), в другом варианте осуществления от приблизительно 7 до приблизительно 25 мг липида на мг биологически активного агента (например, кРНК) и в одном варианте осуществления от приблизительно 7 до приблизительно 15 мг липида на мг биологически активного агента (например, кРНК).

В другом варианте осуществления общее количество липидов в композиции, которую вводят, представляет собой от приблизительно 5 до приблизительно 30 мг липида на мг биологически активного агента (например, мРНК), в другом варианте осуществления от приблизительно 5 до приблизительно 25 мг липида на мг биологически активного агента (например, мРНК), в другом варианте осуществления от приблизительно 7 до приблизительно 25 мг липида на мг биологически активного агента (например, мРНК) и в одном варианте осуществления от приблизительно 7 до приблизительно 15 мг липида на мг биологически активного агента (например, мРНК).

В контексте настоящего описания "лечение" включает улучшающее, радикальное и профилактическое лечение. В контексте настоящего описания "пациент" означает животное, предпочтительно млекопитающее, предпочтительно человека, нуждающегося в лечении.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству соединения по изобретению и биологически активного агента (например, терапевтического соединения), необходимому для лечения или облегчения целевого заболевания или состояния.

Термин "иммунологически эффективное количество" относится к количеству соединения по изобретению и РНК, которая кодирует иммуноген, необходимый для вызывания иммунного ответа, который распознает иммуноген (например, применительно к патогену). Термин "иммуноген" относится к любому веществу или организму, который вызывает иммунный ответ при введении в организм. Фраза "РНК, которая кодирует иммуноген" относится к полинуклеотиду, такому как матричная РНК или репликон, который клетка или организм способен перевести в полипептид в соответствии с последовательностью кодонов таких РНК.

Под используемым в настоящем описании "пролиферативным заболеванием" подразумевают любое заболевание, состояние, признак, генотип или фенотип, охарактеризованный нерегулируемым ростом клеток или репликацией, как известно в данной области техники. В одном варианте осуществления пролиферативное заболевание представляет собой рак. В другом варианте осуществления пролиферативное заболевание представляет собой опухоль. В одном варианте осуществления пролиферативное заболевание включает, но не ограничивается ими, например, жидкие опухоли, такие как, например, лейкозы, например острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), острый лимфоцитарный лейкоз (ОЛЛ), множественная миелома и хронический лимфоцитарный лейкоз; и солидные опухоли, например, СПИД-ассоциированный рак, такой как саркома Капоши; рак молочной железы; рак костей; рак мозга; рак головы и шеи, неходжкинскую лимфому, аденому, плоскоклеточную карциному, рак гортани, рак желчного пузыря и желчных протоков, рак сетчатки, рак пищевода, рак желудочно-кишечного тракта, рак яичников, рак матки, рак щитовидной железы, рак яичек, рак эндометрия, меланому, рак толстой и прямой кишки, рак легких, рак мочевого пузыря, рак предстательной железы, рак легких (включая немелкоклеточную карциному легких), рак поджелудочной железы, саркомы, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак головы и шеи, рак кожи, назофарингеальную карциному, липосаркому, эпителиальную карциному, почечно-клеточную карциному, аденокарциному желчного пузыря, эндометриальную саркому, мультирезистентный рак. В одном варианте осуществления пролиферативное заболевание включает неоваскуляризацию, связанную с ангиогенезом опухоли, макулярную дегенерацию (например, влажную/сухую возрастную макулярную дегенерацию), неоваскуляризацию роговицы, диабетическую ретинопатию, неоваскулярную глаукому, миопическую дегенерацию. В одном варианте осуществления пролиферативное заболевание включает ретенноз и поликистоз почек.

Под используемым в настоящем описании "аутоиммунным заболеванием" подразумевают любое заболевание, состояние, признак, генотип или фенотип, охарактеризованный аутоиммунитетом, как известно в данной области техники. Аутоиммунные заболевания включают, но не ограничиваются ими, например, рассеянный склероз, сахарный диабет, волчанку, склеродерму, фибромиалгию, отторжение при трансплантации (например, профилактический эффект в отношении отторжения аллотрансплантата), пернициозную анемию, ревматоидный артрит, системную красную волчанку, дерматомиозит, тяжелую миастению, эритематозную волчанку, рассеянный склероз и болезнь Грейвса.

Под "инфекционным заболеванием" подразумевают любое заболевание, нарушение или состояние, связанное с инфекционным агентом, таким как вирус, бактерия, грибок, прion или паразит.

Изобретение может быть использовано для иммунизации в отношении патогенов, которые вызывают инфекционное заболевание. Примеры таких патогенов приведены ниже.

Под "неврологическим заболеванием" подразумевают любое заболевание, нарушение или состояние, поражающее центральную или периферическую нервную систему. Неврологические заболевания включают, но не ограничиваются ими, заболевания или нарушения или периферической, или централь-

ной нервной системы, включая, например, болезнь Альцгеймера, аневризму, повреждение мозга, синдром запястного канала, аневризму сосудов головного мозга, хроническую боль, болезнь Крейтцфельда-Якоба, эпилепсию, хорею Гентингтона, менингит, эпилепсию и другие неврологические заболевания, нарушения и синдромы.

Под "респираторным заболеванием" подразумевают любое заболевание или состояние, поражающее дыхательные пути. Респираторные заболевания включают, но не ограничиваются ими, например, астму, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), аллергический ринит, синусит, аллергические реакции, затрудненное дыхание, респираторный дистресс-синдром, муковисцидоз, легочную гипертензию или вазоконстрикцию и эмфизему.

Под "сердечно-сосудистым заболеванием" подразумевают заболевание или состояние, поражающее сердце и сосудистую систему. Сердечно-сосудистые заболевания включают, но не ограничиваются ими, например, ишемическую болезнь сердца (ИБС), цереброваскулярную болезнь (ЦВБ), аортальный стеноз, заболевание периферических сосудов, инфаркт миокарда (сердечный приступ), аритмию и застойную сердечную недостаточность.

Под используемым в настоящем описании "глазным заболеванием" подразумевают любое заболевание, состояние, признак, генотип или фенотип глаз и связанных с ними структур. Глазные заболевания включают, но не ограничиваются ими, например, кистозный макулярный отек, диабетическую ретинопатию, решетчатую дистрофию, окклюзию вены сетчатки, окклюзию артерии сетчатки, макулярную дегенерацию (например, возрастную макулярную дегенерацию, такую как влажная ВМД или сухая ВМД), токсоплазмоз, пигментный ретинит, конъюнктивальный разрыв, разрыв роговицы, глаукому и подобные.

Под "метаболическим заболеванием" подразумевают любое заболевание или состояние, поражающее метаболические пути. Метаболическое заболевание может привести к ненормальному метаболическому процессу или врожденному вследствие наследственного нарушения фермента (врожденное нарушение обмена веществ) или приобретенному вследствие заболевания эндокринного органа или недостаточности метаболически важного органа, такого как печень. В одном варианте осуществления метаболическое заболевание включает ожирение, резистентность к инсулину и диабет (например, 1-ого типа и/или диабет 11-ого типа).

Под "дерматологическим заболеванием" подразумевают любое заболевание или состояние кожи, дермы или любой подструктуры в ней, такой как волосы, фолликула и т.д. Дерматологические заболевания, нарушения, состояния и признаки могут включать псориаз, эктопический дерматит, рак кожи, такой как меланома и базально-клеточная карцинома, выпадение волос, удаление волос и изменения в пигментации.

Под "слуховым заболеванием" подразумевают любое заболевание или состояние слуховой системы, включая ухо, такое как внутреннее ухо, среднее ухо, наружное ухо, слуховой нерв и любые подструктуры в нем. Слуховые заболевания, нарушения, условия и признаки могут включать потерю слуха, глухоту, шум в ушах, головокружение, нарушение равновесия и координации движения.

В контексте настоящего описания термин "короткая интерферирующая нуклеиновая кислота" (киНК) относится к любой молекуле нуклеиновой кислоты, способной ингибировать или подавлять экспрессию генов или репликацию вируса с помощью опосредования РНК-интерференции (РНКи) или сайленсинга генов последовательно-специфическим образом. Она включает молекулы короткой интерферирующей РНК (киРНК), микроРНК (миРНК), коротких интерферирующих олигонуклеотидов и химически модифицированной короткой интерферирующей нуклеиновой кислоты. киРНК ответственны за РНК-интерференцию, процесс последовательно-специфического посттранскрипционного сайленсинга генов у животных и растений. киРНК генерируются рибонуклеазой III расщепления из более длинной двухцепочечной РНК (дцРНК), которая является гомологичной или специфичной для целевого подавляемого гена.

Термин "РНК-интерференция" (РНКи) представляет собой методику посттранскрипционного целевого сайленсинга генов, которая использует агент РНКи для расщепления матричной РНК (мРНК), содержащей последовательность, которая является такой же как или подобной агенту РНКи. См.: Zamore and Haley, 2005, *Science*, 309, 1519-1524; Zamore et al., 2000, *Cell*, 101, 25-33; Elbashir et al., 2001, *Nature*, 411, 494-498; и Kreutzer et al., PCT Publication WO 00/44895; Fire, PCT Publication WO 99/32619; Mello and Fire, PCT Publication WO 01/29058 и подобные.

В контексте настоящего описания РНКи соответствует другим терминам, применяемым для описания последовательно-специфической РНК-интерференции, таким как посттранскрипционный сайленсинг генов, ингибирование трансляции, ингибирование транскрипции или эпигенетика. Например, составы, содержащие липиды изобретения, могут быть использованы в сочетании с молекулами киНК для эпигенетически подавления генов или на посттранскрипционном уровне и/или предтранскрипционном уровне. В неограничивающем примере модуляция экспрессии генов с помощью молекул киНК может происходить в результате киНК-опосредованного расщепления РНК (или кодирующей, или некодирующей РНК) с помощью RISC или альтернативно ингибирования трансляции, как известно в данной области техники. В другом варианте осуществления модуляция экспрессии генов с помощью киНК может происходить в результате ингибирования транскрипции, такой как сообщается, например, в Janowski et al., 2005, *Nature Chemical Biology*, 1, 216-222.

Термин "ингибитор РНКи" представляет собой любую молекулу, которая может подавлять (например, снижать или ингибировать) функцию или активность РНК-интерференции в клетке или у пациента. Ингибитор РНКи может подавлять, снижать или ингибировать РНКи (например, РНКи-опосредованное расщепление целевого полинуклеотида, ингибирование трансляции или подавление транскрипции) с помощью взаимодействия или вмешательства в функцию любого компонента пути РНКи, включая белковые компоненты, такие как RISC или компоненты нуклеиновых кислот, такие как миРНК или киРНК. Ингибитор РНКи может представлять собой молекулу киНК, антисмысловую молекулу, аптамер или небольшую молекулу, которая взаимодействует или вмешивается в функцию RISC, миРНК, или киРНК, или любой другой компонент пути РНКи в клетке или у пациента. При ингибировании РНКи (например, РНКи-опосредованном расщеплении целевого полинуклеотида, ингибировании трансляции или подавлении транскрипции) ингибитор РНКи может быть использован для модуляции (например, активации или подавления) экспрессии целевого гена. В одном варианте осуществления ингибитор РНК используется для активации экспрессии генов с помощью вмешательства (например, уменьшения или предотвращения) в эндогенное подавление или ингибирование экспрессии генов через ингибирование трансляции, ингибирование транскрипции или RISC-опосредованное расщепление полинуклеотида (например, мРНК). Сталкиваясь с механизмами эндогенной репрессии, сайленсинга или ингибирования экспрессии генов, ингибиторы РНКи изобретения, следовательно, могут быть использованы для активации экспрессии генов для лечения заболеваний или состояний, возникающих в результате потери функции. Термин "ингибитор РНКи" используют взаимозаменяемо с термином "киРНК" в различных вариантах осуществления в настоящем описании.

Термин "матричная рибонуклеиновая кислота" (матричная РНК, мРНК) относится к молекуле рибонуклеиновой кислоты (РНК), которая опосредует перенос генетической информации к рибосомам в цитоплазме, где она служит в качестве основы для синтеза белка. Она синтезируется из матричной ДНК в течение процесса транскрипции. См. The American Heritage® Dictionary of the English Language, Fourth Edition (Updated in 2009). Houghton Mifflin Company.

"Рибонуклеиновая кислота" (РНК) представляет собой полимер нуклеотидов, соединенных фосфодиэфирной связью, в котором каждый нуклеотид содержит рибозу или ее модификацию в качестве компонента сахара. Каждый нуклеотид содержит аденин (А), гуанин (G), цитозин (С), урацил (U) или их модификации в качестве основания. Генетическая информация в молекуле мРНК закодирована в последовательности нуклеотидных оснований молекулы мРНК, которые расположены в кодонах, состоящих из трех нуклеотидных оснований каждый. Каждый кодон кодирует определенную аминокислоту полипептида за исключением стоп-кодонов, которые останавливают трансляцию (синтез белка). В живой клетке мРНК транспортируется в рибосому, место синтеза белка, где она предоставляет генетическую информацию для синтеза белка (трансляции). Для подробного описания см. Alberts B et al. (2007) Molecular Biology of the Cell, Fifth Edition, Garland Science.

В эукариотах мРНК транскрибируется *in vivo* в хромосомах с помощью клеточного фермента РНК-полимеразы. Во время или после транскрипции *in vivo* 5'-кэп (также называемый РНК-кэп, РНК-7-метилгуанозин-кэп или РНК m7G кэп) добавляют *in vivo* к 5'-концу мРНК. 5'-кэп представляет собой конечный 7-метилгуанозинный остаток, который связан через 5'-5'-трифосфатную связь с первым транскрибируемым нуклеотидом. Кроме того, большинство эукариотических молекул мРНК имеют полиаденилильный фрагмент ("поли(А)хвост") на 3'-конце молекулы мРНК. *In vivo* эукариотическая клетка добавляет поли(А)хвост после транскрипции часто длиной приблизительно 250 остатков аденозина. Таким образом, типичная зрелая эукариотическая мРНК имеет структуру, которая начинается в 5'-конце мРНК кэп нуклеотида с последующей 5'-нетранслируемой областью (5'UTR) нуклеотидов, затем открытой рамкой считывания, которая начинается с иницирующего кодона, который представляет собой триплет AUG нуклеотидных оснований, то есть кодирующую последовательность для белка, и которая заканчивается стоп-кодоном, который может представлять собой триплет UAA, UAG или UGA нуклеотидных оснований, затем 3'-нетранслируемой областью (3'UTR) нуклеотидов и заканчивая полиаденозиновым хвостом. Принимая во внимание, что характерные особенности типичной зрелой эукариотической мРНК выработаны естественным образом в эукариотической клетке *in vivo*, такие же или структурно и функционально эквивалентные характерные особенности могут быть получены *in vitro* с использованием методов молекулярной биологии. Соответственно, любая РНК, имеющая структуру, подобную типичной зрелой эукариотической мРНК, может функционировать как мРНК и находится в рамках термина "матричная рибонуклеиновая кислота".

Молекула мРНК обычно имеет размер, при котором она может быть инкапсулирована в липидную наночастицу изобретения. В то время как размер молекулы мРНК варьируется в природе в зависимости от идентификации видов мРНК, которая кодирует определенный белок, средний размер молекулы мРНК составляет 500-10000 оснований.

В контексте настоящего описания термин "ферментативная нуклеиновая кислота" относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая обладает комплементарностью в субстрат-связывающей области к определенному целевому гену и также имеет ферментативную активность, которая действует для специфического расщепления целевой РНК, при этом инактивируя молекулу целевой РНК. Комплементарные

участки обеспечивают достаточную гибридизацию молекулы ферментативной нуклеиновой кислоты к целевой РНК и таким образом допускают расщепление. Комплементарность 100% является предпочтительной, но комплементарность только 50-75% также может быть пригодной в данном изобретении (см. например, Werner and Uhlenbeck, 1995, *Nucleic Acids Research*, 23, 2092-2096; Hammann et al., 1999, *Antisense and Nucleic Acid Drug Dev.*, 9, 25-31). Нуклеиновые кислоты могут быть модифицированы в основании, сахаре и/или фосфатных группах. Термин ферментативная нуклеиновая кислота используется взаимозаменяемо с фразами, такими как рибозимы, каталитическая РНК, ферментативная РНК, каталитическая ДНК, аптазим или аптамер-связывающий рибозим, способный к регулированию рибозим, каталитические олигонуклеотиды, нуклеозим, ДНКзим, РНК-фермент, эндорибонуклеаза, эндонуклеаза, минизим, лидзим, олигозим или ДНК-фермент. Все данные терминологии описывают молекулы нуклеиновой кислоты с ферментативной активностью. Основные особенности молекулы ферментативной нуклеиновой кислоты заключаются в том, что она имеет специфический субстратсвязывающий участок, который является комплементарным к одной или более целевым областям нуклеиновых кислот, и что она имеет нуклеотидные последовательности в пределах или окружающие тот субстратсвязывающий участок, которые придают активность расщепления и/или лигирования нуклеиновой кислоты молекуле (см. например, Cech et al., патент США 4987071; Cech et al., 1988, 260 JAMA 3030). Рибозимы и молекулы ферментативной нуклеиновой кислоты по изобретению могут быть химически модифицированными, например, как описано в данной области техники и далее в настоящей заявке.

В контексте настоящего описания термин "антисмысловая нуклеиновая кислота" относится к молекуле неферментативной нуклеиновой кислоты, которая связывается с целевой РНК посредством РНК-РНК, или РНК-ДНК, или РНК-ПНК (пептидная нуклеиновая кислота; Egholm et al., 1993 *Nature* 365, 566) взаимодействий и изменяет активность целевой РНК (для обзора см. Stein and Cheng, 1993 *Science* 261, 1004 и Woolf et al., патент США 5849902). Антисмысловая ДНК может быть синтезирована химически или экспрессирована с помощью использования экспрессионного вектора одноцепочечной ДНК или его эквивалента. Антисмысловые молекулы по изобретению могут быть химически модифицированными, например, как описано в данной области техники.

В контексте настоящего описания термин "активирующая область РНазы Н", относится к области (обычно более чем или равной 4-25 нуклеотидов в длину, предпочтительно 5-11 нуклеотидов в длину) молекулы нуклеиновой кислоты, способной связываться с целевой РНК с образованием нековалентного комплекса, который распознается клеточным ферментом РНазой Н (см., например, Agrow et al., патент США 5849902; Agrow et al., патент США 5989912). Фермент РНаза Н связывается с комплексом молекулы нуклеиновой кислоты - целевой РНК и расщепляет последовательность целевой РНК.

В контексте настоящего описания термин "2-5А антисмысловая химера" относится к антисмысловому олигонуклеотиду, содержащему 5'-фосфорилированный 2'-5'-связанный аденилатный остаток. Данные химеры связываются с целевой РНК последовательно-специфическим образом и активируют клеточную 2-5А-зависимую рибонуклеазу, которая, в свою очередь, расщепляет целевую РНК (Torgence et al., 1993 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1300; Silverman et al., 2000, *Methods Enzymol.*, 313, 522-533; Player and Torgence, 1998, *Pharmacol. Ther.*, 78, 55-113). Молекулы 2-5А антисмысловой химеры могут быть химически модифицированными, например, как описано в данной области техники.

В контексте настоящего описания термин "триплексобразующие олигонуклеотиды" означает олигонуклеотид, который может связываться с двухцепочечной ДНК последовательно-специфическим образом для получения трехниточной спирали. Было показано, что образование такой структуры тройной спирали ингибирует транскрипцию целевого гена (Duval-Valentin et al., 1992 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 504; Fox, 2000, *Curr. Med. Chem.*, 7, 17-37; Praseuth et al., 2000, *Biochim. Biophys. Acta*, 1489, 181-206). Молекулы триплекс-образующего олигонуклеотида по изобретению могут быть химически модифицированными, например, как описано в данной области техники.

В контексте настоящего описания термин "ловушка РНК" относится к молекуле РНК или аптамеру, который предназначен для предпочтительного связывания с предварительно определенным лигандом. Такое связывание может привести к ингибированию или активации целевой молекулы. Ловушка РНК или аптамер может конкурировать с встречающейся в природе связывающей мишенью за связывание определенного лиганда. Подобным образом ловушка РНК может быть предназначена для связывания с рецептором и блокировать связывание эффекторной молекулы или может быть предназначена для связывания с представляющим интерес рецептором и предотвратить взаимодействие с рецептором. Молекулы ловушки по изобретению могут быть химически модифицированными, например, как описано в данной области техники.

В контексте настоящего описания термин "одноцепочечная ДНК" (оцДНК) относится к встречающейся в природе или синтетической молекуле дезоксирибонуклеиновой кислоты, содержащей линейную одиночную цепь, например, оцДНК может быть смысловой и антисмысловой последовательностью гена или EST (экспрессирующейся маркерной последовательностью).

В контексте настоящего описания термин "аллозим" относится к молекуле аллостерической ферментативной нуклеиновой кислоты, включая, например, патент США № 5834186, 5741679, 5589332, 5871914 и публикации PCT № WO 00/24931, WO 00/26226, WO 98/27104 и WO 99/29842.

В контексте настоящего описания термин "аптамер" подразумевает полинуклеотидную композицию, которая специфически связывается с целевой молекулой, в которой полинуклеотид имеет последовательность, которая отличается от последовательности, обычно распознаваемой целевой молекулой в клетке. С другой стороны, аптамер может представлять собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая связывается с целевой молекулой, в которой целевая молекула естественным образом не связывается с нуклеиновой кислотой. Целевая молекула может быть любой представляющей интерес молекулой. Молекулы аптамера по изобретению могут быть химически модифицированными, например, как описано в данной области техники.

Состав липидных композиций

Для фармацевтического применения липидные композиции по изобретению могут вводить энтеральными или парентеральными путями, включая внутривенное, внутримышечное, подкожное, чрескожное, через дыхательные пути (аэрозоль), пероральное, интраназальное, ректальное, вагинальное, буккальное, носоглоточное, желудочно-кишечное или сублингвальное введение. Введение может быть системным или местным. Местное введение может включать, например, катетеризацию, имплантацию, осмотический насос, прямую инъекцию, кожное/чрескожное применение, стентирование, ушные/глазные капли или введение в воротную вену. Соединения формулы (I) должны быть оценены в отношении их биофармацевтических свойств, таких как растворимость и стабильность раствора (через pH), проницаемость и т.д., чтобы выбрать наиболее подходящую лекарственную форму и путь введения для лечения предполагаемого показания.

Композиции по изобретению обычно, но не обязательно, будут введены в виде состава в сочетании с одним или более фармацевтически приемлемыми эксципиентами. Термин "эксципиент" включает любой ингредиент, отличный от соединения(й) изобретения, другой липидный компонент(ы) и биологически активный агент. Эксципиент может придать или функциональные (например, контроль скорости высвобождения лекарственного средства) и/или нефункциональные (например, вспомогательное вещество или разбавитель) характерные особенности составам. Выбор эксципиента в значительной степени будет зависеть от таких факторов, как определенный способ введения, влияние эксципиента на растворимость и стабильность, и особенность лекарственной формы.

Типичные фармацевтически приемлемые эксципиенты включают: разбавители, например, лактозу, декстрозу, сахарозу, маннит, сорбит, целлюлозу и/или глицин; смазывающие вещества, например, диоксид кремния, тальк, стеариновую кислоту, ее соль магния или кальция и/или полиэтиленгликоль; связывающие вещества, например алюмосиликат магния, крахмальную пасту, желатин, трагант, метилцеллюлозу, натрий-карбоксиметилцеллюлозу и/или поливинилпирролидон; разрыхлители, например, крахмалы, агар, альгиновую кислоту, или ее натриевую соль, или шипучие смеси; и/или абсорбенты, красители, ароматизаторы и/или подсластители.

Эксципиент может представлять собой носитель водного раствора, который может необязательно содержать буферный раствор (например, буферный раствор ФСБ) и/или сахар.

Всестороннее обсуждение фармацевтически приемлемых эксципиентов является доступным в Genapo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2000, 20th edition (ISBN: 0683306472).

Композиции по изобретению могут вводить перорально. Пероральное введение может включать глотание, так что соединение поступает в желудочно-кишечный тракт и/или буккальное, лингвальное или сублингвальное введение, с помощью которого соединение попадает в кровоток непосредственно из ротовой полости.

Композиции по изобретению могут вводить парентерально. Соединения и композиции по изобретению могут вводить непосредственно в кровоток, в подкожную ткань, в мышцу или во внутренний орган. Подходящие способы введения включают внутривенное, внутриартериальное, интратекальное, интравентрикулярное, интрауретральное, интрастернальное, интракраниальное, внутримышечное, внутрисуставное и подкожное. Подходящие устройства для введения включают игольные (в том числе микроигольные) инъекторы, безыгольные инъекторы и методики инфузии.

Парентеральные составы обычно представляют собой водные или масляные растворы. Когда раствор является водным, эксципиенты представляют собой, такие как сахара (включая, но не ограничиваясь ими, глюкозу, маннит, сорбит и т.д.), соли, углеводы и буферные агенты (предпочтительно pH от 3 до 9), но для некоторых применений они могут быть более подходяще приготовлены в виде стерильного неводного раствора или в виде сухой формы, которые будут использоваться в сочетании с подходящим наполнителем, таким как стерильная апиrogenная вода (ВДИ).

Парентеральные составы могут включать импланты, полученные из разлагаемых полимеров, таких как полиэфиры (т.е. полимолочная кислота, полилактид, полилактид-ко-гликолид, поликапролактон, полигидроксibuтират), полиортоэфиры и полиангидриды. Данные составы могут вводить через хирургический разрез в подкожную ткань, мышечную ткань или непосредственно в определенные органы.

Получение парентеральных составов в стерильных условиях, например, с помощью лиофилизации может быть легко осуществлено с использованием стандартных фармацевтических методик, хорошо известных специалисту в данной области техники.

Растворимость соединений и композиций, используемых при получении парентеральных раство-

ров, может быть увеличена с помощью использования соответствующих методик получения, таких как включение соразтворителей и/или повышающих растворимость агентов, таких как поверхностно-активные вещества, мицеллярные структуры и циклодекстрины.

Композиции по изобретению могут вводить интраназально или с помощью ингаляции, обычно в форме сухого порошка (или отдельно, в виде смеси, например, в сухой смеси с лактозой, или в виде частиц смешанных компонентов, например, в смеси с фосфолипидами, такими как фосфатидилхолин) из ингалятора сухого порошка, в форме аэрозольного спрея из герметичного контейнера, насоса, разбрызгивателя, распылителя (предпочтительно распылителя с использованием электрогидродинамики для получения мелкодисперсного тумана) или небулайзера с использованием или без использования подходящего пропеллента, такого как 1,1,1,2-тетрафторэтан или 1,1,1,2,3,3,3-гептафторпропан или в форме назальных капель. Для интраназального применения порошок может содержать биоадгезивный агент, например, хитозан или циклодекстрин.

Герметичный контейнер, насос, разбрызгиватель, распылитель или небулайзер содержит раствор или суспензию соединения(й) по изобретению, содержащую, например, этанол, водный этанол или подходящий альтернативный агент для диспергирования, солюбилизации или продления высвобождения композиций изобретения, пропеллент(ы) в качестве растворителя и необязательное поверхностно-активное вещество, такое как сорбитан триолеат, олеиновая кислота или олигомолочная кислота.

Перед использованием в составе сухого порошка или суспензии композицию тонко измельчают до размера, подходящего для доставки с помощью ингаляции (обычно менее 5 микрон). Это может быть достигнуто любым подходящим способом измельчения, таким как размол на спиральной струйной мельнице, размол на струйной мельнице с псевдооживленным слоем, обработка сверхкритической жидкостью для образования наночастиц, гомогенизация под высоким давлением или сушка распылением.

Капсулы (полученные, например, из желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы), блистеры и картриджи для применения в ингаляторе или инсуффляторе могут содержать порошкообразную смесь соединения или композиции изобретения, подходящее порошкообразное основание, такое как лактоза или крахмал и модификатор характеристик, такой как/-лейцин, маннит или стеарат магния. Лактоза может быть безводной или в форме моногидрата, предпочтительно последнее. Другие подходящие эксципиенты включают декстран, глюкозу, мальтозу, сорбит, ксилит, фруктозу, сахарозу и трегалозу.

Составы для ингаляционного/интраназального введения могут быть получены для немедленного и/или модифицированного высвобождения, используя, например, PGLA. Составы с модифицированным высвобождением включают отсроченное, замедленное, прерывистое, контролируемое, направленное и запрограммированное высвобождение.

Подходящие составы для трансдермального применения включают терапевтически эффективное количество соединения или композиции по изобретению с носителем. Предпочтительные носители включают легко поглощаемые фармакологически приемлемые растворители, способствующие проникновению через кожу организма-хозяина. Характерно, трансдермальные устройства находятся в виде вязки, содержащей поддерживающий элемент, резервуар, содержащий соединение необязательно в смеси с носителями, необязательно регулирующий скорость барьер для доставки соединения в кожу организма-хозяина с контролируемой и предварительно определенной скоростью в течение длительного периода времени и средства для доставки устройства в кожу.

Липидные композиции по изобретению вводят с помощью любого из ряда способов, включая парентеральный, внутривенный, системный, местный, пероральный, внутриопухолевый, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, ингаляционный или любой такой способ доставки. В одном варианте осуществления композиции вводят парентерально, т.е. внутрисуставно, внутривенно, внутрибрюшинно, подкожно или внутримышечно. В определенном варианте осуществления липосомальные композиции вводят с помощью внутривенной инфузии или внутрибрюшинно с помощью болюсной инъекции.

Липидные композиции по изобретению могут быть получены в виде фармацевтических композиций, пригодных для доставки объекту. Фармацевтические композиции по изобретению будут часто дополнительно содержать один или более буферных растворов (например, нейтральный забуференный раствор или фосфатно-солевой буферный раствор), углеводы (например, глюкозу, маннозу, сахарозу, декстрозу или декстраны), маннит, белки, полипептиды или аминокислоты, такие как глицин, антиоксиданты, бактериостатические средства, хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион, адьюванты (например, гидроксид алюминия), растворенные вещества, которые делают состав изотоническим, гипотоническим или слабо гипертоническим по отношению к крови реципиента, суспендирующие агенты, загущающие агенты и/или консерванты. Альтернативно, композиции по настоящему изобретению могут быть получены в виде лиофилизата.

Подходящие составы для использования в настоящем изобретении могут быть найдены, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17.sup.th Ed. (1985). Часто внутривенные композиции будут содержать раствор липосом, суспендированных в приемлемом носителе, таком как водный носитель.

В одном варианте осуществления данное изобретение предоставляет фармацевтическую композицию (т.е. состав), содержащую липидную композицию по изобретению и фармацевтически приемлемый

носитель или эксципиент. В другом варианте осуществления по меньшей мере один другой липидный компонент присутствует в липидной композиции. В другом варианте осуществления липидная композиция находится в форме липосомы. В другом варианте осуществления липидная композиция находится в форме липидной наночастицы. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна для доставки в печень. В другом варианте осуществления липидная композиция пригодна для доставки в опухоль. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой ДНК или РНК. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой киРНК. В другом варианте осуществления биологически активный агент представляет собой мРНК.

В целях иммунизации композицию обычно получают в виде инъекционного лекарственного средства и будут вводить с помощью инъекции (например, с помощью внутримышечной инъекции).

Изобретение также предоставляет устройство для доставки (например, шприц, небулайзер, распылитель, ингалятор, кожный пластырь и т.д.), содержащее композицию по изобретению. Данное устройство может быть использовано для введения фармацевтической композиции объекту, например человеку для иммунизации.

Клетки и органы, на которые направлено изобретение

Соединения, композиции, способы и применения по изобретению могут быть использованы для доставки биологически активного агента в одно или более из следующего у пациента: печень или клетки печени (например, гепатоциты); почку или клетки почки; опухоль или клетки опухоли; ЦНС или клетки ЦНС (центральную нервную систему, например, мозг и/или спинной мозг); ПНС или клетки ПНС (периферическую нервную систему); легкое или клетки легкого; сосудистую систему или клетки сосудистой системы; кожу или клетки кожи (например, клетки дермы и/или фолликулярные клетки); глаз или клетки глаз (например, желтое пятно, ямку, рогову, сетчатку) и ухо или клетки уха (например, клетки внутреннего уха, среднего уха и/или наружного уха).

Соединения, композиции, способы и применения по изобретению также могут быть использованы для доставки биологически активного агента (например, РНК, которая кодирует иммуноген) в клетки иммунной системы.

В одном варианте осуществления соединения, композиции, способы и применения по изобретению служат для доставки биологически активного агента в клетки печени (например, гепатоциты). В одном варианте осуществления соединения, композиции, способы и применения по изобретению служат для доставки биологически активного агента в опухоль или клетки опухоли (например, клетки первичной опухоли или метастатического рака).

Для доставки биологически активного агента в печень или клетки печени в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с печенью или клетками печени пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции, инъекции в воротную вену, катетеризации, стентирования), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в почку или клетки почки в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с почкой или клетками почки пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции, катетеризации, стентирования), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в опухоль или клетки опухоли в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с опухолью или клетками опухоли пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции, катетеризации, стентирования), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в ЦНС или клетки ЦНС (например, клетки головного мозга и/или клетки спинного мозга) в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с ЦНС или клетками ЦНС (например, клетками головного мозга и/или клетками спинного мозга) пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции, катетеризации, стентирования, введения осмотического насоса (например, интратекального или вентрикулярного)), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в ПНС или клетки ПНС в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с ПНС или клетками ПНС пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в легкое или клетки легкого в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с легким или клетками легкого пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, ингаляци-

онного введения непосредственно в ткани и клетки легкого), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в сосудистую систему или клетки сосудистой системы в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с сосудистой системой или клетками сосудистой системой пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, зажима, катетеризации, стентирования), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в кожу или клетки кожи (например, клетки дермы и/или фолликулярные клетки) в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с кожей или клетками кожи (например, клетками дермы и/или фолликулярными клетками) пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, непосредственного нанесения на кожу, ионофореза), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в глаз или клетки глаза (например, желтое пятно, ямку, роговицу, сетчатку) в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с глазом или клетками глаза (например, желтым пятном, ямкой, роговицей, сетчаткой) пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции, внутриглазной инъекции, окологлазной инъекции, субретинального введения, ионофореза, применения глазных капель, имплантатов), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента в ухо или клетки уха (например, клетки внутреннего уха, среднего уха и/или наружного уха) в одном варианте осуществления композиция по изобретению взаимодействует с ухом или клетками уха (например, клетками внутреннего уха, среднего уха и/или наружного уха) пациента, как общеизвестно в данной области техники, например, посредством парентерального введения (например, внутривенного, внутримышечного, подкожного введения) или местного введения (например, прямой инъекции), чтобы облегчить доставку.

Для доставки биологически активного агента (например, РНК, кодирующей иммуноген) в клетки иммунной системы (например, антигенпредставляющие клетки, включая профессиональные антигенпредставляющие клетки) в одном варианте осуществления композиция по изобретению доставляется внутримышечно, после чего иммунные клетки могут проникнуть в место доставки и обработать доставленную РНК. Такие иммунные клетки могут включать макрофаги (например, полученные из костного мозга макрофаги), дендритные клетки (например, полученные из костного мозга плазмациитоидные дендритные клетки и/или полученные из костного мозга миелоидные дендритные клетки), моноциты (например, моноциты периферической крови человека) и т.д. (например, см. WO 2012/006372).

Иммунизация в соответствии с изобретением

В целях иммунизации изобретение включает доставку РНК, которая кодирует иммуноген. Иммуноген вызывает иммунный ответ, который распознает иммуноген, и поэтому может быть использован для обеспечения иммунитета в отношении патогена, или в отношении аллергена, или в отношении опухолевого антигена. Иммунизация в отношении заболевания и/или инфекции, вызванной патогеном, является предпочтительной.

РНК доставляется с липидной композицией по изобретению (например, с липосомой или ЛНЧ), и обычно изобретение использует липосомы или ЛНЧ, в которые инкапсулируется иммуноген-кодирующая РНК. Инкапсулирование в липосомы может защитить РНК от расщепления РНазой.

В одном варианте осуществления изобретение предоставляет липосому, имеющую липидный бислоем, инкапсулирующий водное ядро, в которой: (i) липидный бислоем содержит липид по изобретению; и (ii) водное ядро включает РНК, которая кодирует иммуноген. Если композиция содержит популяцию липосом с различными диаметрами, в целях иммунизации она может быть полезной, если (i) по меньшей мере 80% от количества липосом имеют диаметры в диапазоне от 60 до 180 нм и предпочтительно в диапазоне от 80 до 160 нм и/или (ii) средний диаметр (по интенсивности, например, Z-среднее значение) популяции находится в диапазоне от 60 до 180 нм и предпочтительно в диапазоне от 80 до 160 нм. Диаметры в пределах множества в идеале должны иметь коэффициент полидисперсности <0,2.

После введения *in vivo* композиции для иммунизации доставленная РНК высвобождается и транслируется в клетке, чтобы предоставить иммуноген *in situ*. РНК является плюс ("+") нитевой, так что она может транслироваться клетками без необходимости каких-либо промежуточных стадий репликации, таких как обратная транскрипция. Она также может связываться с рецепторами TLR7, экспрессированными иммунными клетками, таким образом иницируя адьювантный эффект.

Предпочтительные плюс (+)- нитевые РНК являются самореплицирующимися. Самореплицирующаяся молекула РНК (репликон) при доставке в клетку позвоночных даже без каких-либо белков может привести к получению множества дочерних РНК с помощью транскрипции из себя (через антисмысловую копию, которую она генерирует из себя). Самореплицирующаяся молекула РНК, таким образом, представляет собой обычно \pm нитевую молекулу, которая может быть непосредственно транслирована

после доставки в клетку, и данная трансляция дает РНК-зависимую РНК-полимеразу, которая затем производит как антисмысловые, так и смысловые транскрипты из доставленной РНК. Таким образом, доставленная РНК приводит к образованию множества дочерних РНК. Данные дочерние РНК, также как коллинеарные субгеномные транскрипты могут быть транслированы сами по себе, чтобы обеспечить *in situ* экспрессию кодированного иммуногена, или могут быть транскрибированы, чтобы обеспечить дополнительные транскрипты с таким же смыслом, как доставленная РНК, которая транслируется, чтобы обеспечить *in situ* экспрессию иммуногена. Общий результат данной последовательности транскрипций представляет собой огромную амплификацию в числе вводимых репликонов РНК, и таким образом кодированный иммуноген становится основным полипептидным продуктом клеток.

Одной подходящей системой для достижения саморепликации является применение РНК-репликона на основе альфа-вируса. Данные \pm нитевые репликоны транслируются после доставки в клетку с получением репликазы (или репликазы-транскриптазы). Репликаза транслируется как полипротеин, который саморасщепляется, чтобы обеспечить репликационный комплекс, который создает геномные - нитевые копии \pm нитевой доставленной РНК. Данные -нитевые транскрипты могут сами транскрибироваться для получения дополнительных копий \pm нитевой родительской РНК и также для получения субгеномного транскрипта, который кодирует иммуноген. Трансляция субгеномного транскрипта, таким образом, приводит к *in situ* экспрессии иммуногена инфицированной клеткой. Подходящие репликоны альфа-вируса могут использовать репликазу из вируса Синдбис, вируса леса Семлики, вируса восточного энцефалита лошадей, вируса венесуэльского энцефалита лошадей и т.д. Последовательности вирусов мутантного или дикого типа могут быть использованы, например аттенуированный ТС83-мутант VEEV был использован в репликонах.

Предпочтительная самореплицирующаяся молекула РНК, таким образом, кодирует (i) РНК-зависимую РНК-полимеразу, которая может транскрибировать РНК из самореплицирующейся молекулы РНК и (ii) иммуноген. Полимераза может представлять собой репликазу альфа-вируса, например, содержащую один или более белков альфа-вируса nsP1, nsP2, nsP3 и nsP4.

В то время как природные геномы альфа-вируса кодируют структурные вирионные белки в дополнение к неструктурному полипротеину репликазы, предпочтительно, что самореплицирующаяся молекула РНК по изобретению не кодирует структурные белки альфа-вируса. Таким образом, предпочтительная самореплицирующаяся РНК может привести к получению копий геномной РНК себя в клетке, но не к получению РНК-содержащих вирионов. Неспособность получить данные вирионы означает, что в отличие от дикого типа альфа-вируса самореплицирующаяся молекула РНК не может сохранить себя в инфекционной форме. Структурные белки альфа-вируса, которые являются необходимыми для сохранения в вирусах дикого типа, отсутствуют из самореплицирующихся РНК по изобретению и их положение берется из гена(ов), кодирующего представляющий интерес иммуноген, таким образом, что субгеномный транскрипт кодирует иммуноген, а не структурные вирионные белки альфа-вируса.

Таким образом, пригодная самореплицирующаяся молекула РНК по изобретению может иметь две открытые рамки считывания. Первая (5') открытая рамка считывания кодирует репликазу; вторая (3') открытая рамка считывания кодирует иммуноген. В некоторых вариантах осуществления РНК может иметь дополнительные (например, по ходу транскрипции) открытые рамки считывания, например, для кодирования дополнительных иммуногенов (смотри ниже) или для кодирования дополнительных полипептидов.

Самореплицирующаяся молекула РНК может иметь 5'-последовательность, которая является совместимой с закодированной репликазой.

Самореплицирующиеся молекулы РНК могут иметь различные длины, но обычно они представляют собой 5000-25000 нуклеотидов длиной, например, 8000-15000 нуклеотидов или 9000-12000 нуклеотидов. Таким образом, РНК длиннее, чем наблюдаемые при доставке кРНК.

Молекула РНК может иметь 5'-кэп (например, 7-метилгуанозин). Данный кэп может усилить трансляцию РНК *in vivo*.

Пригодный 5'-нуклеотид молекулы РНК по изобретению может иметь 5'-трифосфатную группу. В кэпированных РНК она может быть связана с 7-метилгуанозином через 5'-5' мост. 5'-трифосфат может усилить связывание RIG-I и таким образом активировать адьювантные эффекты.

Молекула РНК может иметь 3'-поли(А)-хвост. Она может также включать последовательность распознавания поли(А)-полимеразы (например, AAUAAA) вблизи ее 3'-конца.

Пригодная молекула РНК по изобретению в целях иммунизации, как правило, будет одноцепочечной. Одноцепочечные РНК обычно могут инициировать адьювантный эффект с помощью связывания с TLR7, TLR8, РНК-хеликазами и/или PKR. Доставленная РНК в двухцепочечной форме (дцРНК) может связываться с TLR3, и данный рецептор также может активизироваться дцРНК, которая образуется или в процессе репликации одноцепочечной РНК или в пределах вторичной структуры одноцепочечной РНК.

Молекулы РНК в целях иммунизации могут быть легко получены с помощью транскрипции *in vitro* (IVT). При IVT могут использовать созданную матричную (кДНК) и распространенную в форме плазмид в бактериях или полученную синтетически (например, с помощью синтеза генов и/или инженерных ме-

тодов полимеразной цепной реакции (ПЦР)). Например, ДНК-зависимую РНК-полимеразу (такую как бактериофаг T7, T3 или SP6 РНК-полимеразы) могут использовать, чтобы транскрибировать РНК из матричной ДНК. Соответствующее кэппирование и реакции поли-А присоединения могут быть использованы по мере необходимости (хотя поли-А репликаона обычно кодируется в матричной ДНК). Данные РНК-полимеразы могут иметь строгие требования в отношении транскрибируемого 5'-нуклеотида(ов), и в некоторых вариантах осуществления данные требования должны соответствовать требованиям кодируемой репликазы, чтобы гарантировать, что IVT-транскрибированная РНК может эффективно функционировать в качестве субстрата для ее самокодируемой репликазы.

Как обсуждалось в WO 2011/005799, самореплицирующаяся РНК может включать (в дополнение к любой 5'-кэп-структуре) один или более нуклеотидов, имеющих модифицированное нуклеосамооснование. Например, самореплицирующаяся РНК может включать один или более модифицированных нуклеосамооснований пиримидина, таких как остатки псевдоуридина и/или 5-метилцитозина. В некоторых вариантах осуществления, однако, РНК содержит немодифицированные нуклеосамооснования и может включать немодифицированные нуклеотиды, т.е. все нуклеотиды в РНК являются стандартными рибонуклеотидами А, С, G и U (за исключением любой 5'-кэп-структуры, которая может включать 7'-метилгуанозин). В других вариантах осуществления РНК может включать любой 5'-кэп содержащий 7'-метилгуанозин и первые 1, 2 или 3 5'-рибонуклеотиды могут быть метилированными в 2'-положении рибозы.

Используемая в изобретении РНК в целях иммунизации в идеале включает только фосфодиэфирные связи между нуклеозидами, но в некоторых вариантах осуществления она может содержать фосфорамидатные, фосфортионатные и/или метилфосфонатные связи.

Количество РНК в липосоме может варьироваться. Количество индивидуальных самореплицирующихся молекул РНК в липосоме представляет собой обычно <50, например <20, <10, <5 или 1-4 в липосоме.

Используемые в изобретении молекулы РНК в целях иммунизации кодируют полипептидный иммуноген. После введения РНК транслируется *in vivo* и иммуноген может вызвать иммунный ответ у реципиента. Иммуноген может вызвать иммунный ответ в отношении патогена (например, бактерии, вируса, грибка или паразита), но в некоторых вариантах осуществления он вызывает иммунный ответ в отношении аллергена или опухолевого антигена. Иммунный ответ может включать гуморальный иммунный ответ (обычно включая IgG) и/или клеточно-опосредованный иммунный ответ. Полипептидный иммуноген обычно будет вызывать иммунный ответ, который распознает соответствующий полипептид патогена (или аллерген, или опухоль), но в некоторых вариантах осуществления полипептид может действовать как миметоп, чтобы вызывать иммунный ответ, который распознает сахарид. Иммуноген обычно будет представлять собой поверхностный полипептид, например, адгезии, гемагглютинин, гликопротеин оболочки, спайковый гликопротеин и т.д.

Молекула РНК может кодировать единичный полипептидный иммуноген или многочисленные полипептиды. Многочисленные иммуногены могут быть представлены в виде единичного полипептидного иммуногена (объединенного полипептида) или в виде отдельных полипептидов. Если иммуногены экспрессированы в виде отдельных полипептидов из репликаона, тогда один или более из них могут иметь 3'-5'-направление IRES или дополнительный элемент вирусного промотора. Кроме того, многочисленные иммуногены могут быть экспрессированы из полипротеина, который кодирует отдельные иммуногены, соединенные с короткой аутокаталитической протеазой (например, белок 2А вируса ящура), или как интeины.

В некоторых вариантах осуществления иммуноген вызывает иммунный ответ в отношении одной из данных бактерий:

Neisseria meningitidis: пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, мембранные белки, такие как адгезины, аутопереносчики, токсины, связывающие железо белки и фактор Н-связывающий белок. Комбинация трех пригодных полипептидов раскрыта в Giuliani et al. (2006) Proc Natl Acad Sci USA 103(29): 10834-9.

Streptococcus pneumoniae: пригодные полипептидные иммуногены раскрыты в WO 2009/016515. Они включают, но не ограничиваются ими, RrgB пилус субъединицу, предшественник бета-N-ацетилгексозаминидазы (spr0057), spr0096, общий стресс-белок GSP-781 (spr2021, SP2216), серин/треонинкиназу StkP (SP1732) и пневмококковый поверхностный адгезии PsaA.

Streptococcus pyogenes: пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, раскрытые в WO 02/34771 и WO 2005/032582.

Moraxella catarrhalis

Bordetella pertussis: Пригодные иммуногены коклюша включают, но не ограничиваются ими, коклюшный токсин или анатоксин (PT), филаментозный гемагглютинин (ФГА), пертактин и агглютиногены 2 и 3.

Staphylococcus aureus: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, раскрытые в WO 2010/119343, такие как гемолизин, esxA, esxB, феррихромсвязывающий белок (sta006) и/или липопротеин sta011.

Clostridium tetani: типичный иммуноген представляет собой столбнячный анатоксин.

Corynebacterium diphtheriae: типичный иммуноген представляет собой дифтерийный анатоксин.

Haemophilus influenzae: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, раскрытые в WO 2006/110413 и WO 2005/111066.

Pseudomonas aeruginosa

Streptococcus agalactiae: пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, раскрытые в WO02/34771.

Chlamydia trachomatis: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, PepA, LcrE, ArtJ, DnaK, CT398, OmpH-подобный, L7/L12, OmcA, AtoS, CT547, Eno, HtrA и MurG (например, как раскрыто в WO 2005/002619). LcrE (WO2006/138004) и HtrA (WO 2009/109860) представляют собой два предпочтительных иммуногена.

Chlamydia pneumoniae: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, раскрытые в WO 02/02606.

Helicobacter pylori: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, CagA, VacA, NAP и/или уреазу (WO 03/018054).

Escherichia coli: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, иммуногены, полученные из энтеротоксигенной *E.coli* (ETEC), энтероагрегирующей *E.coli* (EAggEC), диффузно-адгезивной *E.coli* (DAEC), энтеропатогенной *E.coli* (EPEC), внекишечной патогенной *E.coli* (ExPEC) и/или энтерогеморрагической *E.coli* (EHEC). Штаммы ExPEC включают уропатогенную *E.coli* (UPEC) и менингит/сепсис-ассоциированную *E.coli* (MNEC). Пригодные иммуногены UPEC раскрыты в WO 2006/091517 и WO 2008/020330. Пригодные иммуногены MNEC раскрыты в WO 2006/089264. Пригодный иммуноген для некоторых типов *E.coli* представляет собой AcdD (WO 2009/104092).

Bacillus anthracis

Yersinia pestis: Пригодные иммуногены включают, но не ограничиваются ими, раскрытые в WO 2007/049155 и WO 2009/031043.

Staphylococcus epidermis

Clostridium perfringens или *Clostridium botulinum*

Legionella pneumophila

Coxiella burnetii

Brucella, такая как *B.abortus*, *B.canis*, *B.melitensis*, *B.neotomae*, *B.ovis*, *B.suis*, *B.pinnipediae*.

Francisella, такая как *F.novicida*, *F.philomiragia*, *F.tularensis*.

Neisseria gonorrhoeae

Treponema pallidum

Haemophilus ducreyi

Enterococcus faecalis или *Enterococcus faecium*

Staphylococcus saprophyticus

Yersinia enterocolitica

Mycobacterium tuberculosis

Rickettsia

Listeria monocytogenes

Vibrio cholerae

Salmonella typhi

Borrelia burgdorferi

Porphyromonas gingivalis

Klebsiella

В некоторых вариантах осуществления иммуноген вызывает иммунный ответ в отношении одного из данных вирусов:

Ортомиксовирус: Пригодные иммуногены могут происходить от вируса гриппа А, В или С, включая гемагглютинин, нейраминидазу или матриксные белки М2. Где иммуноген представляет собой гемагглютинин вируса гриппа А, он может быть из любого подтипа, например, Н1, Н2, Н3, Н4, Н5, Н6, Н7, Н8, Н9, Н10, Н11, Н12, Н13, Н14, Н15 или Н16.

Парамиксовирусы: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из пневмовирусов (например, респираторно-синцитиального вируса, РСВ), рубулавирисов (например, вируса эпидемического паротита), парамиксовирусов (например, вируса парагриппа), метапневмовирусов и морбилливирусов (например, вируса кори).

Поксвирусы: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из ортопоксвируса, такого как натуральная оспа, включая, но не ограничиваясь ими, *Variola major* и *Variola minor*.

Пикорнавирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из пикорнавирусов, таких как энтеровирусы, риновирусы, гепарнавирус, кардиовирусы и афтовирусы. В одном варианте осуществления энтеровирус представляет собой полиовирус, например, полиовирус 1-го типа, 2-го типа и/или 3-го типа. В другом варианте осуществления энтеровирус представляет собой энтеровирус EV71. В другом варианте осуществления энтеровирус представляет собой вирус коксаки А или В.

Буньявирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из ортобуньявируса,

такого как вирус калифорнийского энцефалита, флебовируса, такого как вирус лихорадки долины Рифт или наиовируса, такого как вирус конго-крымской геморрагической лихорадки.

Гепарнавирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из гепарнавируса, такого как вирус гепатита А (ВГА).

Филовирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из филовируса, такого как вирус Эбола (включая эболовирус Заир, Берег Слоновой Кости, Рестон или Судан) или вирус Марбург.

Тогавирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из тогавируса, такого как рубивирус, альфавирус или артеривирус. Он включает вирус краснухи.

Флавивирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из флавивируса, такого как вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), вирус Денге (1-го, 2-го, 3-го или 4-го типа), вирус желтой лихорадки, вирус японского энцефалита, вирус кьясанурской лесной болезни, вирус лихорадки Западного Нила, вирус энцефалита Сент-Луис, вирус российского весенне-летнего энцефалита, вирус энцефалита Повассан.

Пестивирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из пестивируса, такого как вирус диареи крупного рогатого скота (BVDV), классическая чума свиней (КЧС) или пограничная болезнь овец (ПБО).

Гепаднавирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из гепаднавируса, такого как вирус гепатита В. Композиция может включать поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).

Другие вирусы гепатита: Композиция может включать иммуноген из вируса гепатита С, вируса гепатита дельта, вируса гепатита Е или вируса гепатита G.

Рабдовирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из рабдовируса, такого как лиссавирус (например, вирус бешенства) и везикуловирус (VSV).

Калицивирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из калицивируса, такого как вирус Норволк (норовирус) и Норволк-подобные вирусы, такие как вирус Гавайи и вирус Снежных гор.

Коронавирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из коронавируса ТОРС, инфекционного бронхита птиц (ИБП), вируса гепатита мышей (MHV) и вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС). Иммуноген коронавируса может представлять собой спайковый полипептид.

Ретровирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из онковируса, лентивируса (например, ВИЧ-1 или ВИЧ-2) или спумавируса.

Реовирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из ортореовируса, ротавируса, орбивируса или колтивируса.

Парвовирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из парвовируса В19.

Герпесвирус: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из вируса герпеса человека, такого как исключительно для примера вирус простого герпеса (ВПГ) (например, типа ВПГ 1 и 2), вирус ветряной оспы (ВВО), вирус Эпштейна-Барра (ВЭБ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6), вирус герпеса человека 7-го типа (ВГЧ-7) и вирус герпеса человека 8-го типа (ВГЧ-8).

Паповавирусы: иммуногены включают, но не ограничиваются ими, полученные из папилломавирусов и полиомавирусов. Вирус папилломы (человека) может быть серотипа 1, 2, 4, 5, 6, 8, 11, 13, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 41, 42, 47, 51, 57, 58, 63 или 65, например, одного или более серотипов 6, 11, 16 и/или 18.

Аденовирус: иммуногены включают полученные из серотипа 36 (Ad-36).

В некоторых вариантах осуществления иммуноген вызывает иммунный ответ в отношении вируса, который инфицирует рыбу, такого как вирус инфекционной анемии лососевых (ISAV), вирус заболевания поджелудочной железы лососевых (SPDV), вирус инфекционного некроза поджелудочной железы (IPNV), вирусная болезнь канального сома (CCV), вирус лимфоцистоза рыб (FLDV), вирус инфекционного некроза гемопоэтической ткани лососевых (ИНГТЛ), герпес кои, пикорна-подобный вирус лососевых (также известный как пикорна-подобный вирус атлантического лосося), вирус пресноводного лосося (LSV), ротавирус атлантического лосося (ASR), вирус заболевания чешуи радужной форели (TSD), онкогенный вирус кижуча (CSTV) или вирусная геморрагическая септицемия (ВГС).

Грибковые иммуногены могут быть получены из дерматофитов, включая *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouini*, *Microsporum canis*, *Microsporum distortum*, *Microsporum equinum*, *Microsporum gypsum*, *Microsporum nanum*, *Trichophyton concentricum*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton gallinae*, *Trichophyton gypsum*, *Trichophyton megnini*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton quinckeanum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleini*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verrucosum*, *T. verrucosum* var. *album*, var. *discoides*, var. *ochraceum*, *Trichophyton violaceum* и/или *Trichophyton faviforme*; или из *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus flavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Candida albicans*, *Candida enolase*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida stellatoidea*, *Can-*

didia kusei, *Candida parakwsei*, *Candida lusitanae*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida guilliermondi*, *Cladosporium carrionii*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum clavatum*, *Histoplasma capsulatum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Microsporidia*, *Encephalitozoon spp.*, *Septata intestinalis* и *Enterocytozoon bienersi*; наименее распространенными являются *Brachiola spp.*, *Microsporidium spp.*, *Nosema spp.*, *Pleistophora spp.*, *Trachipleistophora spp.*, *Vittaforma spp.* *Paracoccidioides brasiliensis*, *Pneumocystis carinii*, *Pythium insidiosum*, *Pityrosporum ovale*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces pombe*, *Scedosporium apiospermum*, *Sporothrix schenckii*, *Trichosporon beigeli*, *Toxoplasma gondii*, *Penicillium marneffeii*, *Malassezia spp.*, *Fonsecaea spp.*, *Wangiella spp.*, *Sporothrix spp.*, *Basidiobolus spp.*, *Conidiobolus spp.*, *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Absidia spp.*, *Mortierella spp.*, *Cunninghamella spp.*, *Saksenaia spp.*, *Alternaria spp.*, *Curvularia spp.*, *Helminthosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Monolinia spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Paecilomyces spp.*, *Pithomyces spp.* и *Cladosporium spp.*

В некоторых вариантах осуществления иммуноген вызывает иммунный ответ в отношении паразита из рода плазмодий, такого как *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* или *P.ovale*. Таким образом, изобретение может быть использовано для иммунизации в отношении малярии. В некоторых вариантах осуществления иммуноген вызывает иммунный ответ в отношении паразита из семейства *Caligidae*, в частности из родов *Lereophtheirus* и *Caligus*, например морских вшей, таких как *Lereophtheirus salmonis* или *Caligus rogercresseyi*.

В некоторых вариантах осуществления иммуноген вызывает иммунный ответ в отношении пыльцевых аллергенов (пыльцевых аллергенов деревьев, ароматической травы, растений и травы); аллергенов насекомых или паукообразных (аллергенов вдыхаемых, слюны и яда, например, клещевых аллергенов, аллергенов тараканов и мошек, аллергенов яда перепончатокрылых насекомых); аллергенов шерсти и перхоти животных (например, от собаки, кошки, лошади, крысы, мыши и т.д.); и пищевых аллергенов (например, глина). Важными аллергенами пыльцы деревьев, трав и растений являются те, которые происходят из таксономических отрядов *Fagales*, *Oleales* *Pinales* и *platanaceae*, включая, но не ограничиваясь ими, березу (*Betula*), ольху (*Alnus*), орешник (*Corylus*), граб (*Carpinus*) и оливу (*Olea*), кедр (*Cryptomeria* и *Juniperus*), платан (*Platanus*), отряда *Poales*, включая травы родов *Lolium*, *Phleum*, *Poa*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Holcus*, *Phalaris*, *Secale* и *Sorghum*, отрядов *Asterales* и *Urticales*, включая растения родов *Ambrosia*, *Artemisia* и *Parietaria*. Другими важными вдыхаемыми аллергенами являются такие, которые происходят от клещей домашней пыли рода *Dermatophagoides* и *Euroglyphus*, амбарных клещей, например *Lepidoglyphus*, *Glycyphagus* и *Tyrophagus*, которые происходят от тараканов, мошек и блох, например, *Blattella*, *Periplaneta*, *Chironomus* и *Stenocephalides* и которые происходят от животных, таких как кошка, собака и лошадь, аллергенов ядов, включая такие, которые происходят от жалящих или кусающихся насекомых, таких как те, которые происходят от таксономического отряда *Hymenoptera*, включая пчел (*Apidae*), ос (*Vespeidae*) и муравьев (*Formicoidae*).

В некоторых вариантах осуществления иммуноген представляет собой опухолевый антиген, выбранный из: (a) антигенов рака семенников, таких как NY-ESO-1, SSX2, SCP1, также как полипептидов семейств RAGE, BAGE, GAGE и MAGE, например, GAGE-1, GAGE-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6 и MAGE-12 (которые могут быть использованы, например, для направления на меланому, опухоли легких, головы и шеи, NSCLC, опухоли молочных желез, желудочно-кишечные и мочевого пузыря), (b) мутированных антигенов, например p53 (связанного с различными солидными опухолями, например, раком прямой кишки, легких, головы и шеи), p21/Ras (связанного, например, с меланомой, раком поджелудочной железы и раком прямой кишки), CDK4 (связанного, например, с меланомой), MUM1 (связанного, например, с меланомой), каспазы-8 (связанной, например, с раком головы и шеи), CIA 0205 (связанного, например, с раком мочевого пузыря), HLA-A2-R1701, бета-катенина (связанного, например, с меланомой), TCR (связанного, например, с Т-клеточной неходжкинской лимфомой), BCR-abl (связанного, например, с хронической миелогенной лейкемией), триозофосфат изомеразы, KIA 0205, CDC-27 и LDLR-FUT, (c) сверхэкспрессированных антигенов, например Галектина 4 (связанного, например, с раком прямой кишки), Галектина 9 (связанного, например, с болезнью Ходжкина), протеиназы 3 (связанной, например, с хронической миелогенной лейкемией), WT 1 (связанного, например, с различными лейкемиями), карбоангидразы (связанной, например, с раком почки), альдолазы А (связанной, например, с раком легких), PRAME (связанного, например, с меланомой), HER-2/neu (связанного, например, с раком молочной железы, толстой кишки, легких и яичников), маммаглобина, альфа-фетопротейна (связанного, например, с гепатомой), KSA (связанного, например, с раком прямой кишки), гастрина (связанного, например, с раком поджелудочной железы и желудка), теломеразного каталитического протеина, MUC-1 (связанного, например, с раком молочной железы и яичников), G-250 (связанного, например, с карциномой клеток почек), p53 (связанного, например, с раком молочной железы и толстой кишки) и карциноэмбрионного антигена (связанного, например, с раком молочной железы, раком легких и раком желудочно-кишечного тракта, таким как рак прямой кишки), (d) являющихся общими антигенами, например, антигенов меланома-меланоцитной дифференциации, таких как MART-1/Melan A, gp100, MC1R, меланоцит-стимулирующий рецептор гормонов, тирозиназа, тирозиназа-связанный протеин-1/TRP1 и тирозиназа-связанный протеин-2/TRP2 (ассоциированные, например, с меланомой), (e) ассоциированных с простатой антигенов, таких как PAP, PSA, PSMA, PSH-P1, PSM-P1, PSM-P2, связан-

ных, например, с раком простаты, (f) иммуноглобулиновых идиотипов (связанных с миеломой и В-клеточной лимфомой, например). В некоторых вариантах осуществления опухолевые иммуногены включают, но не ограничиваются ими, p15, Ном/Мел-40, H-Ras, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, антигены вируса Эпштейна-Барра, EBNA, антигены вируса папилломы человека (ВПЧ), включая Е6 и Е7, антигены вируса гепатита В и С, антигены Т-лимфотропного вируса человека, TSP-180, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, mn-23H1, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, САМ 17.1, NuMa, K-ras, p16, TAGE, PSCA, CT7, 43-9F, 5T4, 791 Tgp72, beta-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, САМ43, CD68\KP1, CO-029, FGF-5, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90 (Mac-2-связывающий белок/циклофилин С-ассоциированный белок), TAAL6, TAG72, TLP, TPS и подобные.

Фармацевтическая композиция изобретения, в частности одна, пригодная для иммунизации, может включать один или более низкомолекулярных иммуностимуляторов. Например, композиция может включать агонист TLR2 (например, Pam3CSK4), агонист TLR4 (например, аминоктилглюкозаминид-фосфат, такой как Е6020), агонист TLR7 (например, имиквимод), агонист TLR8 (например, резиквимид) и/или агонист TLR9 (например, IC31). Любой такой агонист в идеале имеет молекулярную массу <2000 Да. Такой агонист(ы) в некоторых вариантах осуществления может быть инкапсулирован с РНК в липосомы, но в других вариантах осуществления они являются неинкапсулированными.

Примеры

Катионные липиды Формулы (I)

Следующие примеры предназначены для иллюстрации изобретения и не должны истолковываться как его ограничение. Температуры представлены в градусах по Цельсию. Если не указано иное, все испарительные концентрации осуществляются при пониженном давлении, предпочтительно от приблизительно 15 мм рт.ст. до 100 мм рт.ст. (=20-133 мбар). Структуру конечных продуктов, интермедиатов и исходных материалов подтверждают с помощью стандартных аналитических методов, например, микроанализа или спектральных характеристик, например, МС, ИК или ЯМР. Используемые сокращения являются стандартными в данной области техники, некоторые из которых описаны ниже.

Очистку на флэш-колодке предпочтительно проводят на силикагеле с использованием соответствующего элюента изократической или градиентной композиции.

Анализ ВЭЖХ проводят на колонке Waters Atlantis dC18 (4,6×150 мм, 3 мм) с градиентным элюированием (от 0 до 95% ацетонитрила в воде, модифицированной 0,1% об/об трифторуксусной кислотой, более 20 мин и скоростью потока 1,4 мл/мин), если не указано иное.

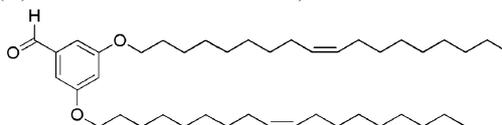
Спектры ¹H-ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance II 400 МГц. Все химические сдвиги приведены в миллионных долях (δ) относительно тетраметилсилана. Следующие сокращения используются для обозначения модели сигнала: с=синглет, д=дублет, т=триплет, к=квартет, кв=квинтет, м=мультиплет, уш=уширенный. Данные ЭР-МС регистрировали с использованием масс-спектрометра Waters LTC Premier с двойным источником электрораспылительной ионизации на жидкостном хроматографе Agilent 1100. Сульфадиметоксин [Sigma, m/z=311,0814 (M+1)] использовали в качестве стандарта, вводимого через канал LockSpray™ каждое третье сканирование.

Сокращения

С Цельсий
 ДХМ дихлорметан
 град градусы
 ДИЭА N,N-диизопропилэтиламин
 ДИПЭА N,N-диизопропилэтиламин
 ДМАП 4-диметиламинопиридин
 ДМФ N,N-диметилформамид
 ДМСО диметилсульфоксид
 EDC 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид
 ЭР-МС масс-спектрометрия с электрораспылением
 EtOAc этилацетат
 EtOH этанол
 г грамм
 ч час(ы)
 НАТУ 2-(1H-7-азабензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурия гексафторфосфат
 НОВт гидроксibenзотриазол
 ВЭЖХ высокоэффективная жидкостная хроматография
 кг килограмм
 л литр
 ЛАГ литийалюминийгидрид
 ЖХ жидкостная хроматография
 ЖХ-МС жидкостная хроматография и масс-спектрометрия

MeOH метанол
 MS масс-спектрометрия
 мбар миллибар
 мин минуты
 мл миллилитр(ы)
 мм миллиметр
 мкМ микромолярный
 m/z отношение массы к заряду
 нм нанометр
 нМ наномолярный
 N нормальный
 NaOEt этилат натрия
 NMP N-метилпирролидон
 ЯМР ядерный магнитный резонанс
 Pd/C палладий на угле
 PdCl₂ (dppf).CH₂Cl₂ 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий (II) дихлорида дихлорметановый комплекс
 фунт/кв.дюйм фунт на квадратный дюйм
 м.д. миллионные доли
 pTsOH п-толуолсульфоновая кислота
 квин квинтуплет
 рац рацемический
 Rt время удерживания
 ТБАФ фторид тетрабутиламмония
 TBDPS трет-бутилдифенилсилильный эфир
 TBTU O-(Бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония
 тетрафторборат
 ТСЕР трис(2-карбоксиэтил)фосфин
 ТЕА триэтиламин
 ТФУК трифторуксусная кислота
 ТГФ тетрагидрофуран
 ТГП тетрагидропиран
 ТСХ тонкослойная хроматография
 TMS-CN триметилсилилцианид
 TsOH толуолсульфоновая кислота
 Синтез примера 1:

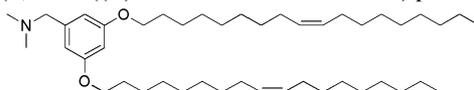
Интермедиат 1a: 3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)бензальдегид



В колбу, содержащую ДМФ (40 мл) добавляли 3,5-дигидроксibenзальдегид (2 г, 14,2 ммоль), карбонат калия (5,88 г, 42,6 ммоль) и олеилмезилат (11,3 г, 32,6 ммоль). Полученную смесь нагревали до 80°C в течение ночи при перемешивании. Реакционную смесь охлаждали и добавляли воду и EtOAc. Органический слой собирали, промывали солевым раствором и высушивали над сульфатом магния. Смесь отфильтровывали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 8,53 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гептане): R_f=0,56.

Соединение примера 1: 1-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилметанамин



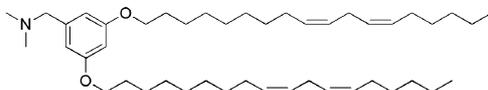
Интермедиат 1a (4 г, 6,26 ммоль) перемешивали в EtOH (25 мл) и добавляли гидрохлорид диметиламина (1,02 г, 12,5 ммоль) с последующим добавлением ТЕА (1,21 мл, 8,76 ммоль) и тетраизопророксида титана (1,8 мл, 6,3 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре и добавляли боргидрид натрия (355 мг, 9,39 ммоль) в виде одной порции. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь гасили 7 N аммиаком в MeOH (8,94 мл, 62,6 ммоль) и полученную белую суспензию отфильтровывали через целит с промыванием ДХМ. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали на силикагеле от 0 до 50% EtOAc в гептане, обеспечивая 2,66 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 6,46 (д, J=2,0 Гц, 2H), 6,36 (т, J=2,5 Гц, 1H), 5,41-5,31 (м, 4H), 3,93 (т, J=6,9 Гц, 4H), 3,34 (с, 2H), 2,24 (с, 6H), 2,09-1,98 (м, 8H), 1,81-1,69 (м, 4H), 1,50-1,21 (м, 44H), 0,89 (т, J=7,0 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=668,8 (MH⁺).

Примеры 2-7 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 1.

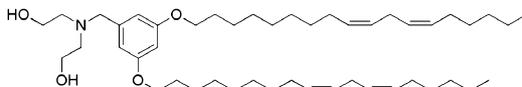
Пример 2: 1-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилметанамин



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 6,46 (д, J=2,5 Гц, 2H), 6,35 (т, J=2,3 Гц, 1H), 5,44-5,30 (м, 8H), 3,93 (т, J=6,5 Гц, 4H), 3,34 (с, 2H), 2,78 (т, J=6,2 Гц, 4H), 2,24 (с, 6H), 2,13-1,99 (м, 8H), 1,81-1,71 (м, 4H), 1,49-1,23 (м, 32H), 0,90 (т, J=6,8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=664,9 (MH⁺).

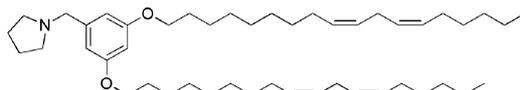
Пример 3: 2,2'-((3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)азанедиил)диэтанол



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 6,46-6,44 (м, 2H), 6,38-6,34 (м, 1H), 5,44-5,29 (м, 8H), 3,92 (т, J=6,5 Гц, 4H), 3,69-3,63 (м, 6H), 2,82-2,71 (м, 8H), 2,12-2,00 (м, 8H), 1,82-1,70 (м, 4H), 1,51-1,22 (м, 32H), 0,90 (т, J=6,9 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=724,6 (MH⁺).

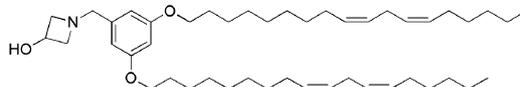
Пример 4: 1-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)пирролидин



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 6,52-6,47 (м, 2H), 6,36-6,32 (м, 1H), 5,47-5,26 (м, 8H), 3,93 (т, J=6, 6 Гц, 4H), 3,55 (с, 2H), 2,83-2,74 (м, 4H), 2,57-2,47 (м, 4H), 2,14-2,00 (м, 8H), 1,86-1,70 (м, 8H), 1,52-1,21 (м, 32H), 0,90 (т, J=6,8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=690,5 (MH⁺).

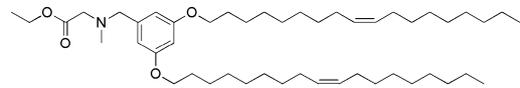
Пример 5: 1-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)азетидин-3-ол



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 6,49 (д, J=2,0 Гц, 2H), 6,42 (т, J=2,1 Гц, 1H), 5,33-5,47 (м, 7H), 4,46 (тт, J=6,7, 3,6 Гц, 1H), 3,94 (т, J=6,7 Гц, 4H), 3,76-3,85 (м, 4H), 3,59 (д, J=10,3 Гц, 2H), 2,80 (т, J=6,5 Гц, 4H), 2,00-2,12 (м, 8H), 1,78 (дтд, J=7,8, 6,8, 5,8 Гц, 4H), 1,41-1,51 (м, 4H), 1,25-1,41 (м, 27H), 0,83-0,95 (м, J=6,8, 6,8 Гц, 5H) м.д.

ЭР-МС m/z=692,5 (MH⁺).

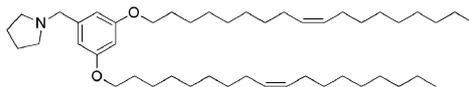
Пример 6: этил-2-((3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)бензил)(метил)амино)ацетат



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,50 (с, 2H), 6,36 (с, 1H), 5,39-5,32 (м, 4H), 4,18 (к, J=7,0 Гц, 2H), 3,92 (т, J=6,5 Гц, 4H), 3,60 (с, 2H), 3,24 (с, 2H), 2,40 (с, 3H), 2,10-1,95 (м, 8H), 1,80-1,60 (м, 4H), 1,50-1,15 (м, 47H), 0,88 (т, J=7,0 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=740,9 (MH⁺).

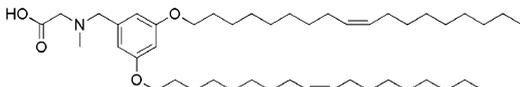
Пример 7: 1-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)бензил)пирролидин



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,53 (с, 2H), 6,35 (с, 1H), 5,38-5,30 (м, 4H), 3,92 (т, J=6,5 Гц, 4H), 3,62 (уш.с, 2H), 2,62 (м, 4H), 2,10-1,95 (м, 8H), 1,90-1,80 (м, 4H), 1,80-1,65 (м, 4H), 1,50-1,20 (м, 43H), 0,87 (т, J=7,0 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=694,9 (MH⁺).

Пример 8: 2-((3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)бензил)(метил)амино)уксусная кислота



К раствору соединения из примера 6 (160 мг, 0,22 ммоль) в диоксане (7 мл) добавляли 50% HCl в

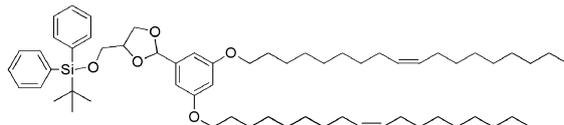
воде (6,57 мл). Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение ночи и затем охлаждали до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали с использованием сильной катионообменной смолы с последующей колоночной хроматографией на силикагеле с использованием ДХМ/MeOH в качестве элюента, обеспечивая 123 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 10,34 (уш.с 1H), 6,57 (с, 2H), 6,42 (с, 1H), 5,38-5,30 (м, 4H), 4,17 (с, 2H), 3,87 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 3,51 (с, 2H), 2,77 (с, 3H), 2,10-1,95 (м, 8H), 1,80-1,60 (м, 4H), 1,50-1,15 (м, 44H), 0,87 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 168,6, 160,6, 132,3, 129,9, 129,7, 109,0, 101,8, 68,1, 60,0, 57,6, 41,1, 31,8, 29,7, 29,5, 29,5, 29,4, 29,4, 29,2, 29,2, 27,2, 26,0, 22,6, 14,1 м.д.

Синтез примера 9:

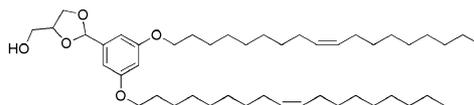
Интермедиат 9а: ((2-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метокси)(трет-бутил)дифенилсилан



К Интермедиату 1а (1 г, 1,56 ммоль) в MePh (30 мл) добавляли TBDPS-защищенный глицерин (0,52 г, 1,56 ммоль) и моногидрат TsOH (0,03 г, 0,16 ммоль). Смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи и затем охлаждали до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 1,28 г смеси, содержащей целевой продукт.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гептане): $R_f=0,45$.

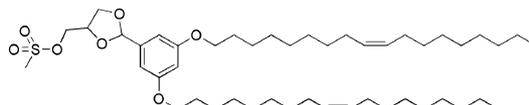
Интермедиат 9b: (2-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метанол



К раствору Интермедиата 9а (1,28 г, 1,34 ммоль) в ТГФ (10 мл) добавляли ТБАФ (9,9 мл, 1,0 М в ТГФ, 9,93 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 638 мг (67%) целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 50% EtOAc в гептане): $R_f=0,65$.

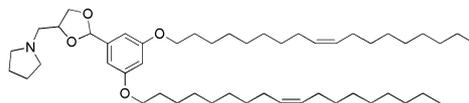
Интермедиат 9с: (2-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метилметансульфонат



К раствору Интермедиата 9b (638 мг, 0,895 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли ДИЭА (0,78 мл, 4,5 ммоль) и MsCl (0,35 мл, 4,5 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный продукт использовали без дополнительной очистки.

ЭР-МС $m/z=791,4$ (MH⁺).

Соединение примера 9: 1-((2-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метил)пирролидин



Раствор Интермедиата 9с (708 мг, 0,895 ммоль) растворяли в пирролидине (3,0 мл, 36,2 ммоль) и нагревали до 140°C в микроволновом реакторе. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 292 мг целевого продукта.

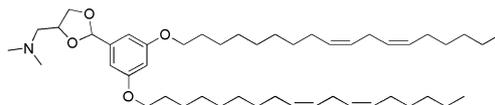
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,62 (дд, $J=6, 0$ Гц, 2,5 Гц, 2H), 6,44-6,42 (м, 1H), 5,89 (с, 0,50H), 5,75 (с, 0,50H), 5,37-5,35 (м, 4H), 4,42-4,33 (м, 1H), 4,26-4,23 (м, 0,50H), 4,12 (дд, $J=7,8$ Гц, 6,8 Гц, 0,50H), 3,93 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 3,80 (дд, $J=7,8$ Гц, 6,8 Гц, 0,50H), 3,71-3,67 (м, 0,50H), 2,81-2,73 (м, 2H), 2,65-2,57 (м, 4H), 2,05-2,00 (м, 8H), 1,81-1,73 (м, 8H), 1,48-1,27 (м, 44H), 0,89 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=766,6$ (MH⁺).

Примеры 10 и 11 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 9.

Пример 10: 1-(2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)-N,N-

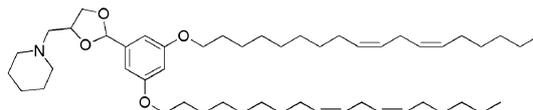
диметилметанами́н



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,59-6,65 (м, 2H), 6,44 (т, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,32-5,44 (м, 6H), 4,32-4,42 (м, 1H), 4,08-4,18 (м, 1H), 3,94 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 3,78 (дд, $J=8,0, 6,5$ Гц, 1H), 2,74-2,83 (м, 4H), 2,51-2,66 (м, 2H), 2,31-2,37 (м, 6H), 2,00-2,11 (м, 8H), 1,68-1,85 (м, 6H), 1,20-1,50 (м, 32H), 0,84-0,93 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=736,5$ (MH $^+$).

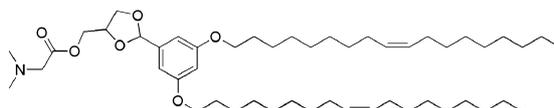
Пример 11: 1-((2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метил)пиперидин



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,63 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,45 (т, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,74 (с, 1H), 5,29-5,48 (м, 8H), 4,38 (т, $J=6,1$ Гц, 1H), 4,07-4,15 (м, 1H), 3,96 (т, $J=6,6$ Гц, 4H), 3,78 (дд, $J=8,1, 6,6$ Гц, 1H), 2,80 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 2,62-2,72 (м, 1H), 2,50-2,62 (м, 4H), 2,40-2,50 (м, 2H), 2,08 (д, $J=7,1$ Гц, 4H), 1,70-1,83 (м, 4H), 1,53-1,70 (м, 7H), 1,23-1,53 (м, 34H), 0,91 (т, $J=7,1$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z 776,7 (MH $^+$).

Пример 12: (2-(3,5-бис((Z)-октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метил-2-(диметиламино)ацетат



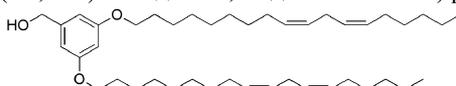
К раствору Интермедиата 9b (2,42 г, 3,39 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли N,N-диметилглицин (0,38 г, 3,73 ммоль) с последующим добавлением НАТУ (1,55 г, 4,07 ммоль) и пиридина (1,1 мл, 13 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента, обеспечивая 1,14 г целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,60 (дт, $J=8,8$ Гц, 2,0 Гц, 2H), 6,44-6,41 (м, 1H), 5,87 (с, 0,33H), 5,73 (с, 0,33H), 5,45 (с, 0,33H), 5,36-5,30 (м, 4H), 4,74 (м, 0,33H), 3,91 (м, 0,33H), 3,76 (м, 0,33H), 4,50-4,06 (м, 4H), 3,91 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 3,31 (с, 0,66H), 3,22 (с, 0,66H), 3,19 (с, 0,66H), 2,38 (с, 2H), 2,36 (с, 2H), 2,34 (с, 2H), 2,04-1,99 (м, 8H), 1,78-1,71 (м, 4H), 1,50-1,26 (м, 44H), 0,87 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=798,5$ (MH $^+$).

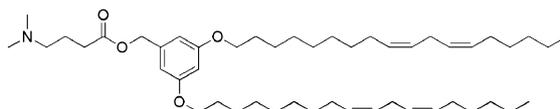
Синтез примера 13:

Интермедиат 13а: (3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанол



К Интермедиату 1а (1,5 г, 2,4 ммоль) в ТГФ (10 мл) и MeOH (5 мл) добавляли боргидрид натрия (0,116 г, 3,07 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение ночи и затем гасили MeOH и водой. Полученный продукт экстрагировали EtOAc и органические слои высушивали над сульфатом натрия. Продукт декантировали, и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение примера 13: 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-4-(диметиламино)бутаноат



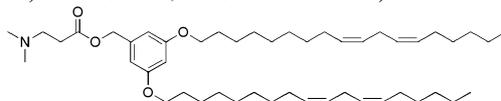
К Интермедиату 13а (486 мг, 0,762 ммоль) в ДХМ (5 мл) добавляли 4-диметиламинобутановую кислоту (100 мг, 0,762 ммоль) с последующим добавлением ДИЭА (0,32 мл, 1,83 ммоль), ДМАП (50 мг, 0,41 ммоль) и EDC (175 мг, 0,92 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и очищали непосредственно на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента, обеспечивая 319 мг (56%) целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,48-6,45 (м, 2H), 6,41-6,38 (м, 1H), 5,44-5,29 (м, 8H), 5,04 (с, 2H), 3,92 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,81-2,75 (м, 4H), 2,41 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,29 (т, $J=7,3$ Гц, 2H), 2,21 (с, 6H), 2,10-2,00 (м, 8H), 1,87-1,71 (м, 6H), 1,51-1,23 (м, 32H), 0,90 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=750,7$ (MH $^+$).

Примеры 14-17 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 13.

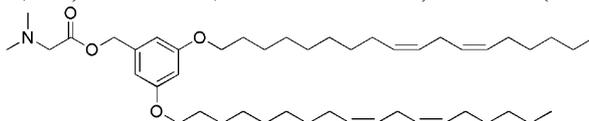
Пример 14: 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-3-(диметиламино)пропаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49-6,46 (м, 2H), 6,42-6,39 (м, 1H), 5,44-5,29 (м, 8H), 5,05 (с, 2H), 3,93 (т, $J=6,8$ Гц, 4H), 2,82-2,75 (м, 4H), 2,68-2,61 (м, 2H), 2,59-2,52 (м, 2H), 2,25 (с, 6H), 2,12-2,01 (м, 8H), 1,82-1,71 (м, 4H), 1,52-1,23 (м, 32H), 0,90 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=736,8$ (МН⁺).

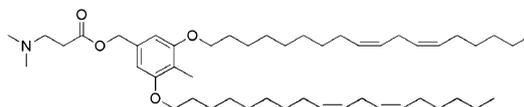
Пример 15: 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-2-(диметиламино)ацетат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51-6,46 (м, 2H), 6,42-6,39 (м, 1H), 5,46-5,29 (м, 8H), 5,09 (с, 2H), 3,92 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 3,23 (с, 2H), 2,83-2,75 (м, 4H), 2,37 (с, 6H), 2,12-2,00 (м, 8H), 1,83-1,70 (м, 4H), 1,50-1,23 (м, 32H), 0,89 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=722,4$ (МН⁺).

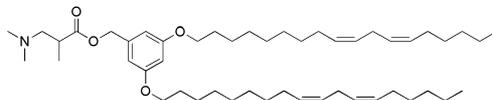
Пример 16: 4-метил-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-3-(диметиламино)пропаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51 (с, 2H), 5,31-5,45 (м, 8H), 5,07 (с, 2H), 3,97 (т, $J=6,6$ Гц, 4H), 2,80 (дд, $J=6,3$, 6,3 Гц, 4H), 2,68 (т, $J=7,1$ Гц, 2H), 2,54 (т, $J=7,3$ Гц, 2H), 2,27 (с, 6H), 2,04-2,13 (м, 11H), 1,76-1,85 (м, 4H), 1,46-1,53 (м, 4H), 1,26-1,45 (м, 32H), 0,92 (т, $J=6,8$ Гц, 5H), 0,93 (уш.с, 1H) м.д.

ЭР-МС $m/z=750,5$ (МН⁺).

Пример 17: 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-3-(диметиламино)-2-метилпропаноат

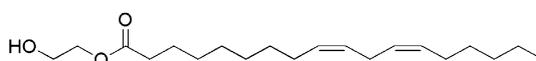


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,40 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,34-6,29 (м, 1H), 5,36-5,21 (м, 8H), 4,98 (с, 2H), 3,85 (т, $J=6,6$ Гц, 4H), 2,70 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 2,66-2,54 (м, 2H), 2,14 (с, 6H), 1,98 (к, $J=6,6$ Гц, 8H), 1,72-1,64 (м, 4H), 1,42-1,34 (м, 4H), 1,33-1,16 (м, 36H), 1,10 (д, $J=6,6$ Гц, 3H), 0,85-0,79 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=750,3$ (МН⁺).

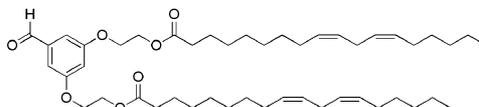
Синтез примера 18:

Интермедиат 18а: (9Z,12Z)-2-гидроксиэтил-октадека-9,12-диеноат



Линолевою кислоту (5,0 г, 17,83 ммоль) растворяли в 39,9 мл этиленгликоля при перемешивании. К смеси добавляли EDC (5,136 г, 26,7 ммоль) и HOBT (4,10 г, 26,7 ммоль) с последующим добавлением триэтиламина (7,45 мл, 53,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч и контролировали завершение реакции с помощью ТСХ. Неочищенное вещество разбавляли 100 мл дихлорметана и промывали 50 мл воды и 50 мл солевого раствора. Органический слой отделяли и высушивали над безводным сульфатом натрия. Неочищенный продукт наносили сухим на целит и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с градиентом от 10 до 40% EtOAc в гептане. Продукт восстанавливали в виде прозрачного масла (3,884 г, 67,1%). ТСХ (силикагель, 20% EtOAc в гептане): $R_f=0,22$.

Интермедиат 18b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

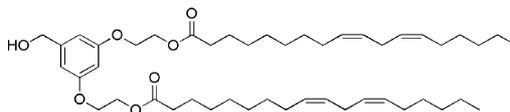


Интермедиат 18а (1,5 г, 4,62 ммоль), 3,5-дигидроксибензальдегид (0,319 г, 2,311 ммоль) и трифенилфосфин (1,273 г, 4,85 ммоль) растворяли в 19 мл безводного ТГФ. Добавляли DIAD (0,944 мл, 4,85 ммоль) и реакционную смесь оставляли перемешиваться 48 ч при комнатной температуре. Реакционную

смесь непосредственно концентрировали на целите и очищали с помощью хроматографии на силикагеле с градиентом от 10 до 20% EtOAc в гептане. Продукт выделяли в виде бесцветного масла (1,077 г, 62,1%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,92 (с, 1H), 7,06 (д, $J=2,3$ Гц, 2H), 6,76 (т, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,31-5,43 (м, 8H), 4,43-4,49 (м, 4H), 4,20-4,26 (м, 4H), 2,78 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 2,37 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 2,01-2,11 (м, 8H), 1,58-1,71 (м, 5H), 1,24-1,42 (м, 30H), 0,90 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

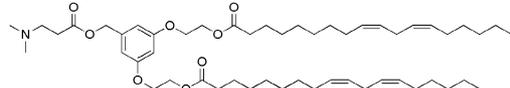
Интермедиат 18с: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(гидроксиметил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



Интермедиат 18b (465,2 мг, 0,619 ммоль) растворяли в 4,1 мл сухого этанола в атмосфере азота. Боргидрид натрия (46,9 мг, 1,239 ммоль) добавляли в виде одной порции и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Завершение реакции контролировали с помощью ТСХ. Реакционную смесь гасили уксусной кислотой, разбавляли 10 мл воды и экстрагировали в 30 мл ДХМ. Полученные органические слои объединяли, высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали. Продукт восстанавливали в виде 429 мг прозрачного масла.

ТСХ (силикагель, 30% EtOAc в гептане): $R_f=0,55$

Соединение примера 18: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



Интермедиат 18с (50 мг, 0,066 ммоль) и N,N-диметиламинопропионовую кислоту (10,20 мг, 0,066 ммоль) растворяли в 4 мл ДХМ. Добавляли НАТУ (37,9 мг, 0,100 ммоль) с последующим добавлением триэтиламина (9,25 мкл, 0,066 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 18 ч при комнатной температуре и контролировали с помощью ЖХМС. Реакционную смесь разбавляли 100 мл ДХМ и 50 мл воды. Органические слои разделяли, затем промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали.

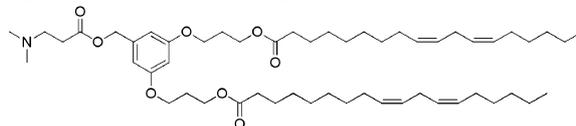
Неочищенный продукт очищали на силикагеле метанолом и дихлорметаном в качестве элюента. Продукт дополнительно очищали с помощью ВЭЖХ (колонка Waters Sunfire C8 с от 5 до 100% 1:1 ацетонитрила:изопропанола в воде, модифицированной 0,1% ТФУК). Фракции, содержащие продукт, распределяли между дихлорметаном и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия в течение одного часа. Дихлорметановый слой высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,54 (д, $J=2,26$ Гц, 2H), 6,45 (т, $J=2,26$ Гц, 1H), 5,28-5,49 (м, 8H), 5,07 (с, 2H), 4,35-4,48 (м, 4H), 4,08-4,22 (м, 4H), 2,79 (т, $J=6,53$ Гц, 4H), 2,60-2,72 (м, 2H), 2,49-2,60 (м, 2H), 2,37 (т, $J=7,65$ Гц, 4H), 2,27 (с, 6H), 1,97-2,14 (м, 8H), 1,56-1,74 (м, 4H), 1,23-1,44 (м, 28H), 0,85-0,97 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=852,7$ (MН+).

Примеры 19-23 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 18.

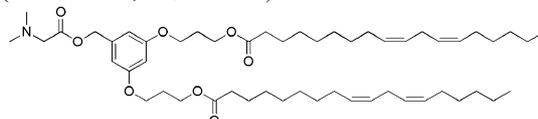
Пример 19: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,50 (д, $J=2,3$ Гц, 2H), 6,41 (т, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,33-5,44 (м, 8H), 5,07 (с, 2H), 4,27 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 4,03 (т, $J=6,1$ Гц, 4H), 2,73-2,78 (м, 4H), 2,64 (д, $J=7,3$ Гц, 2H), 2,29-2,37 (м, 10H), 2,12 (дд, $J=6,3, 6,3$ Гц, 4H), 2,02-2,10 (м, 8H), 1,63 (дд, $J=7,3, 7,3$ Гц, 5H), 1,25-1,41 (м, 32H), 0,91 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=880,4$ (MН+).

Пример 20: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((2-(диметиламино)ацетокси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

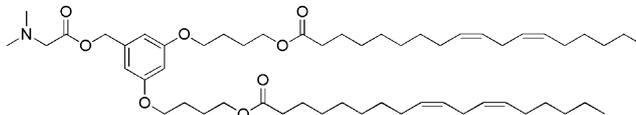


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,42 (т, $J=2,0$ Гц, 1H), 5,27-5,47 (м, 8H), 5,11 (с,

2H), 4,27 (дд, J=6,4, 6,4 Гц, 4H), 4,03 (дд, J=6,1, 6,1 Гц, 4H), 3,30 (с, 2H), 2,79 (дд, J=6,4, 6,4 Гц, 4H), 2,44 (с, 6H), 2,32 (дд, J=7,5, 7,5 Гц, 4H), 2,03-2,15 (м, 12H), 1,53-1,77 (м, 14H), 1,25-1,43 (м, 32H), 0,91 (т, J=6,8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=866,4 (MH⁺).

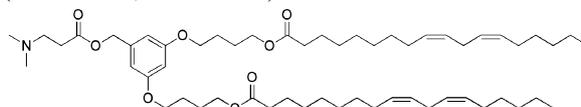
Пример 21: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((2-(диметиламино)ацетокси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,48 (д, J=2,3 Гц, 2H), 6,40 (т, J=2,1 Гц, 1H), 5,43-5,32 (м, 8H), 5,11 (с, 2H), 4,17-4,10 (м, 4H), 3,96 (дд, J=5,6, 5,6 Гц, 4H), 3,54 (с, 2H), 3,20-3,27 (м, J=7,3 Гц, 3H), 2,81 (с, 22H), 2,77 (дд, J=6,7, 6,7 Гц, 4H), 2,63 (с, 6H), 2,30 (дд, J=7,7, 7,7 Гц, 4H), 2,01-2,08 (м, 8H), 1,86-1,78 (м, 8H), 1,66-1,58 (м, 5H), 1,42-1,37 (м, 7H), 1,37-1,23 (м, 36H), 0,91-0,87 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=894,5 (MH⁺).

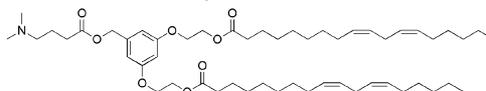
Пример 22: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ: 6,48 (д, J=2,3 Гц, 2H), 6,40 (уш.с, 1H), 5,32-5,43 (м, 8H), 5,11 (с, 2H), 4,10-4,17 (м, 4H), 3,96 (т, J=5,6 Гц, 4H), 3,54 (с, 2H), 3,23 (к, J=7,3 Гц, 2H), 2,77 (дд, J=6,7, 6,7 Гц, 4H), 2,63 (с, 6H), 2,30 (дд, J=7,7, 7,7 Гц, 4H), 2,02-2,07 (м, 8H), 1,79-1,88 (м, 8H), 1,58-1,68 (м, 5H), 1,23-1,39 (м, 38H), 0,89 (т, J=6,5 Гц, 7H) м.д.

ЭР-МС m/z=908,7 (MH⁺).

Пример 23: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(((4-(диметиламино)бутаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

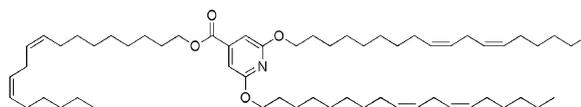


¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,84 (с, 1H), 6,74 (д, J=1,5 Гц, 2H), 5,21-5,35 (м, 8H), 5,07 (с, 2H), 4,31 (т, J=4,8 Гц, 4H), 4,03-4,08 (м, 4H), 2,69 (т, J=6,1 Гц, 4H), 2,47-2,58 (м, 8H), 2,35-2,41 (м, 7H), 2,23-2,28 (м, 5H), 1,95-2,00 (м, 8H), 1,79-1,86 (м, 2H), 1,52-1,59 (м, 5H), 1,17-1,32 (м, 37H), 0,82 (т, J=6,8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=866,4 (MH⁺).

Синтез примера 24:

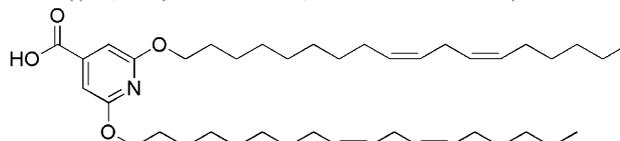
Интермедиат 24а: (9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил-2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)изоникотинат



Раствор цитразиновой кислоты (1,8 г, 11,6 ммоль) в ДМФ (60 мл) перемешивали при комнатной температуре и добавляли линолеилмезилат (16,0 г, 46,4 ммоль) и карбонат калия (8,02 г, 58,0 ммоль). Смесь нагревали до 80°C в течение ночи и затем охлаждали до комнатной температуры, и добавляли воду (50 мл) и EtOAc (100 мл). Органическую фазу собирали, и высушивали над сульфатом натрия, и затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 5,2 г целевого продукта.

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 165,3, 163,5, 142,9, 130,2, 130,1, 130,1, 120,8, 127,9, 101,2, 66,6, 65,7, 31,6, 29,7, 29,7, 29,5, 29,4, 29,4, 29,3, 29,3, 29,1, 28,6, 27,2, 26,1, 26,0, 25,6, 22,6, 14,1 м.д.

Интермедиат 24b: 2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)изоникотиновая кислота

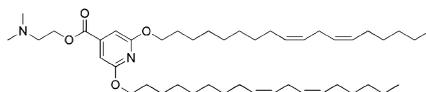


Интермедиат 24а (3,06 г, 3,40 ммоль) перемешивали в EtOH (15 мл) и добавляли гидроксид калия (329 мг, 5,10 ммоль). Мутный раствор становился прозрачным, и добавляли воду (10 мл) и ТГФ (8 мл). Полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный остаток очищали на силикагеле с использованием сме-

си гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 1,6 г целевого продукта.

ЭР-МС $m/z=652,4$ (MH⁺).

Соединение примера 24: 2-(диметиламино)этил-2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)изоникотинат

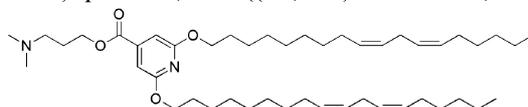


Интермедиат 24b (311 мг, 0,477 ммоль) перемешивали в ДМФ (15 мл) и добавляли НВТУ (651 мг, 1,717 ммоль), НОВт (120 мг, 0,444 ммоль) и ДИЭА (0,582 мл, 3,34 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, реакционную смесь выливали в воду (50 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc. Органические фазы собирали, высушивали над сульфатом натрия и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 207 мг целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,85 (с, 2H), 5,32-5,44 (м, 8H), 4,42 (т, J=8 Гц, 2H), 4,27 (т, J=8 Гц, 2H), 2,79 (т, J=8 Гц, 2H), 2,71 (т, J=8 Гц, 2H), 2,34 (с, 6H), 2,07 (дд, J=8 Гц, 8H), 1,78 (к, J=8 Гц, 4H), 1,27-1,48 (м, 32H), 0,91 (т, J=8 Гц, 6H) м. д.

ЭР-МС $m/z=723,4$ (MH⁺).

Пример 25: 3-(диметиламино)пропил-2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)изоникотинат



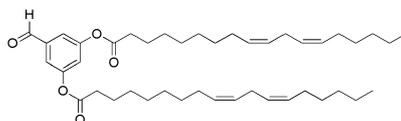
Пример 25 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения Примера 24.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,84 (с, 2H), 5,32-5,44 (м, 8H), 4,37 (т, J=8 Гц, 2H), 4,28 (т, J=8 Гц, 4H), 2,79 (т, J=8 Гц, 4H), 2,45 (т, J=8 Гц, 2H), 2,29 (с, 6H), 2,07 (дд, J=8 Гц, 8H), 1,97 (к, J=5 Гц, 2H), 1,78 (к, J=8 Гц, 6H), 1,27-1,48 (м, 32H), 0,90 (т, J=8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=737,5$ (MH⁺).

Синтез примера 26:

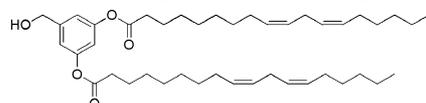
Интермедиат 26а: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-формил-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат)



Раствор 3,5-дигидроксибензальдегида (500 мг, 3,62 ммоль) в DCE (9 мл) помещали в микроволновую вилу и добавляли линолевую кислоту (2,03 г, 7,24 ммоль), ДИЭА (1,26 мл, 7,24 ммоль), ДМАП (442 мг, 3,62 ммоль) и EDC (1,74 г, 9,05 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80°C в микроволновом реакторе в течение 20 мин и затем хранили при 4°C в течение 2 дней. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 1,44 г целевого продукта.

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 190,2, 171,6, 151,7, 138, 130,3, 130,0, 128,1, 127,9, 121,5, 119,9, 34,3, 31,5, 29,6, 29,4, 29,2, 29,1, 29,1, 27,2, 27,2, 25,6, 24,8, 22,6, 14,1 м.д.

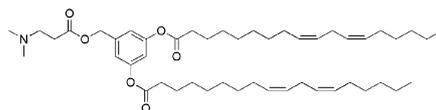
Интермедиат 26b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(гидроксиметил)-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат)



Интермедиат 26а (1,44 г, 2,17 ммоль) перемешивали в ТГФ (18 мл) и EtOH (18 мл) и полученный раствор охлаждали на ледяной бане. Добавляли боргидрид натрия (25 мг, 0,65 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc и дважды промывали водой. Полученный органический слой высушивали над сульфатом натрия и затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc с последующим использованием смеси ДХМ/MeOH в качестве элюента, обеспечивая 850 мг (59%) целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,01-6,97 (м, 2H), 6,82-6,80 (м, 1H), 5,45-5,30 (м, 8H), 4,71 (с, 2H), 2,82-2,75 (м, 4H), 2,58-2,51 (м, 4H), 2,12-2,01 (м, 8H), 1,80-1,70 (м, 4H), 1,45-1,23 (м, 28H), 0,93-0,86 (м, 6H) м.д.

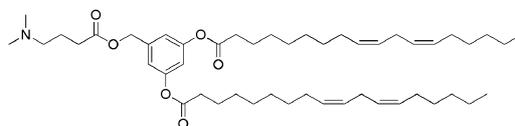
Соединение примера 26: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат)



К Интермедиату 26b (330 мг, 0,496 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли 3-диметиламинопропионой кислоты гидрохлорид (114 мг, 0,744 ммоль), EDC (143 мг, 0,744 ммоль), ДМАП (6 мг, 0,05 ммоль) и ТЕА (0,277 мл, 1,98 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, затем очищали непосредственно на модифицированном муравьиной кислотой силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс с последующим использованием смеси ДХМ/МеОН в качестве элюента, обеспечивая 428 мг целевого продукта в виде соли муравьиной кислоты и 697 мг в виде свободного основания. Характеристика соли муравьиной кислоты.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,41 (д, J=1,26 Гц, 0,5Н, формиат), 6,99 (д, J=2,01 Гц, 2Н), 6,89 (т, J=2,13 Гц, 1Н), 5,26-5,48 (м, 8Н), 5,13 (с, 2Н), 2,93 (к, J=7,03 Гц, 2Н), 2,80 (т, J=6,80 Гц, 4Н), 2,67-2,77 (м, 2Н), 2,56 (т, J=7,53 Гц, 4Н), 2,45 (д, J=5,52 Гц, 6Н), 1,97-2,17 (м, 8Н), 1,75 (кв, J=7,47 Гц, 4Н), 1,23-1,50 (м, 28Н), 0,81-0,98 (м, 6Н) м.д. ЭР-МС m/z=764,6 (МН⁺).

Пример 27: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((4-(диметиламино)бутаноил)окси)метил)-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат)



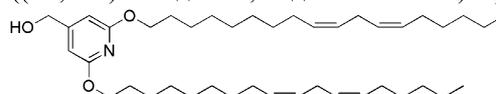
Пример 27 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 26.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,97 (д, J=2,0 Гц, 2Н), 6,87 (т, J=2,1 Гц, 1Н), 5,27-5,48 (м, 8Н), 5,10 (с, 2Н), 2,78 (т, J=6,5 Гц, 4Н), 2,54 (т, J=7,5 Гц, 4Н), 2,41 (т, J=7,4 Гц, 2Н), 2,27-2,35 (м, 2Н), 2,22 (с, 6Н), 2,00-2,12 (м, 8Н), 1,82 (кв, J=7,3 Гц, 2Н), 1,74 (кв, J=7,5 Гц, 4Н), 1,23-1,46 (м, 28Н), 0,89 (т, J=7,0 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=778,5 (МН⁺).

Синтез примера 28.

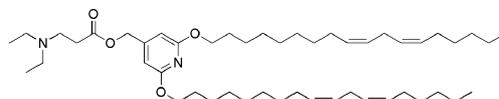
Интермедиат 28а: (2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метанол



Интермедиат 24b (3,5 г, 3,89 ммоль) перемешивали в ТГФ (50 мл) и раствор охлаждали на ледяной бане. К данному холодному раствору медленно добавляли литийалюминийгидрид (570 мг, 15 ммоль). После добавления реакцию смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Осторожно добавляли лед и полученную смесь экстрагировали ЕтОАс. Органические слои собирали, и высушивали над сульфатом натрия, и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента, обеспечивая 1,3 г целевого продукта.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,27 (с, 2Н), 5,44-5,27 (м, 8Н), 4,63 (с, 2Н), 4,23 (т, J=5,7 Гц, 4Н), 2,82-2,75 (м, 4Н), 2,10-2,02 (м, 8Н), 1,80-1,72 (м, 4Н), 1,47-1,23 (м, 32Н), 0,93-0,86 (м, 6Н) м.д.

Соединение примера 28: (2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метил-3-(диэтиламино)пропаноат

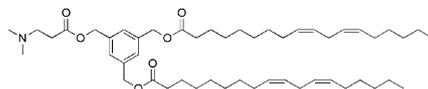


Интермедиат 28а (334 мг, 0,523 ммоль) перемешивали в ДХМ (20 мл) с 3-диэтиламинопропионой кислоты гидрохлоридом (143 мг, 0,785 ммоль). Добавляли НАТУ (397 мг, 1,05 ммоль) и реакцию смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента, обеспечивая 171 мг целевого продукта.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,25 (с, 2Н), 5,32-5,44 (м, 8Н), 5,04 (с, 2Н), 4,24 (т, J=8 Гц, 4Н), 2,78-2,87 (м, 6Н), 2,55 (дд, J=8 Гц, 6Н), 2,07 (дд, J=8 Гц, 8Н), 1,78 (к, J=8 Гц, 4Н), 1,27-1,48 (м, 32Н), 1,05 (т, J=8 Гц, 6Н), 0,91 (т, J=8 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=765,7 (МН⁺).

Пример 29. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метил)бис(октадека-9,12-диеноат)



Пример 29 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются

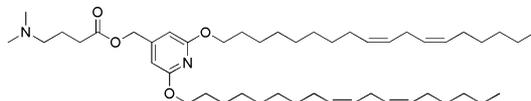
ся для получения Интермедиата 33а и примера 18.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,30 (с, 3H), 5,28-5,45 (м, 8H), 5,14 (с, 2H), 5,11 (с, 4H), 2,77 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,61-2,70 (м, 2H), 2,51-2,59 (м, 2H), 2,37 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 2,05 (к, $J=6,9$ Гц, 8H), 1,59-1,73 (м, 6H), 1,22-1,43 (м, 26H), 0,89 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=792,4$ (MH $^+$).

Примеры 30-31 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 28.

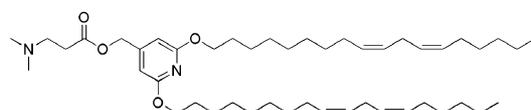
Пример 30. (2,6-бис((9Z,12Z)-Октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метил-4-(диметиламино)бутаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,24 (с, 2H), 5,46-5,33 (м, 8H), 5,05 (с, 2H), 4,24 (т, $J=6,7$ Гц, 4H), 2,81-2,72 (м, 7H), 2,66-2,61 (м, 2H), 2,34 (с, 6H), 2,02-2,11 (м, 8H), 1,80-1,72 (м, 4H), 1,49-1,40 (м, $J=6,0$, 13,8 Гц, 5H), 1,40-1,25 (м, 32H), 0,90 (т, $J=6,9$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=751,7$ (MH $^+$).

Пример 31. (2,6-бис((9Z,12Z)-Октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метил-3-(диметиламино)пропаноат

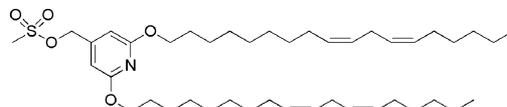


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,42 (т, $J=2,0$ Гц, 1H), 5,44-5,30 (м, 8H), 5,11 (с, 2H), 4,27 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 4,03 (т, $J=6,1$ Гц, 4H), 3,30 (с, 2H), 2,79 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 2,44 (с, 6H), 2,32 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,17-2,10 (м, 4H), 2,09-2,03 (м, 9H), 1,68-1,57 (м, 10H), 1,42-1,26 (м, 34H), 0,91 (т, $J=6,8$ Гц, 6H).

ЭР-МС $m/z=737,5$ (MH $^+$).

Синтез примера 32:

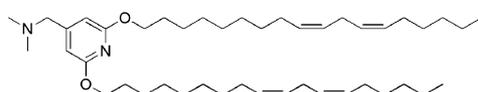
Интермедиат 32а: (2,6-бис((9Z,12Z)-Октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метилметансульфонат



Интермедиат 28а (330 мг, 0,517 ммоль) перемешивали в ДХМ (30 мл) с ТЕА (0,290 мл, 2,07 ммоль) и полученный раствор охлаждали на ледяной бане. Добавляли MsCl (0,08 мл, 1,0 ммоль) и полученную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры при перемешивании в течение 4 ч. Реакционную смесь обрабатывали HCl (30 мл, 1М в воде) и ДХМ (50 мл) и органический слой собирали. Продукт высушивали над сульфатом натрия, и летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением 360 мг продукта, который использовали без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,27-6,36 (с, 2H), 5,32-5,44 (м, 10H), 5,14 (с, 1H), 4,39-4,50 (м, 1H), 4,17-4,30 (м, 5H), 3,41 (к, $J=7,03$ Гц, 1H), 3,01-3,06 (м, 2H), 2,74-2,84 (м, 5H), 2,07 (к, $J=6,86$ Гц, 10H), 1,70-1,87 (м, 5H), 1,66 (с, 2H), 1,24-1,55 (м, 34H), 0,91 (т, $J=6,78$ Гц, 6H) м.д.

Соединение примера 32. 1-(2,6-бис((9Z,12Z)-Октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)-N,N-диметилметанамин



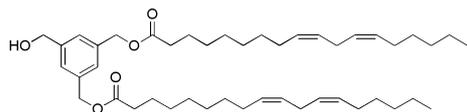
Интермедиат 32а (360 мг, 0,503 ммоль) перемешивали в ДМФ (3 мл) с диметиламино (3 мл, 2М, 11,9 ммоль) и смесь нагревали в микроволновом реакторе до 140°C в течение 30 мин. Данное нагревание повторяли, пока не прореагировал весь исходный материал, как определяли с помощью ТСХ. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕtОAc в качестве элюента, обеспечивая 123 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,27 (с, 2H), 5,32-5,44 (м, 8H), 4,26 (т, $J=8$ Гц, 4H), 3,33 (с, 2H) 2,80 (т, $J=8$ Гц, 4H), 2,26 (с, 6H), 2,07 (дд, $J=8$ Гц, 8H), 1,78 (к, $J=5$ Гц, 4H), 1,27-1,48 (м, 32H), 0,92 (т, $J=8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=665,5$ (MH $^+$).

Синтез примера 33.

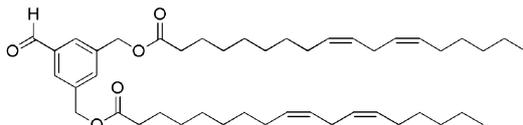
Интермедиат 33а: (9Z,9'Z,12Z, 12'Z)-(5-(гидроксиметил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



Линолевою кислоту (3,42 г, 12,19 ммоль) перемешивали с EDC (2,33 г, 12,2 ммоль) в ДХМ (30 мл). После растворения добавляли ДИЭА (2,60 мл, 14,9 ммоль) и ДМАП (145 мг, 1,19 ммоль). После 10 мин перемешивания добавляли бензол-1,3,5-триилтриметанол (1,0 г, 6,0 ммоль) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 1,36 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 20% EtOAc в гептане): $R_f=0,12$.

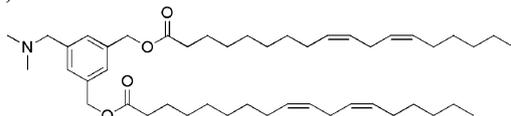
Интермедиат 33b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-формил-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



Интермедиат 33a (214 мг, 0,309 ммоль) перемешивали в ДХМ (30 мл) и добавляли PDC (244 мг, 0,648 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 210 мг целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 20% EtOAc в гептане): $R_f=0,44$.

Соединение примера 33: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



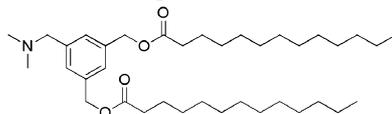
Интермедиат 33b (210 мг, 0,30 ммоль) перемешивали в DCE (10 мл) и добавляли диметиламин (0,53 мл, 2,0 М в ТГФ, 1,06 ммоль). Добавляли уксусную кислоту (0,017 мл, 0,304 ммоль) и триацетоксиборгидрид натрия (129 мг, 0,608 ммоль) и продукт перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc с последующим использованием смеси ДХМ/MeOH в качестве элюента, обеспечивая 186 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,29-7,25 (м, 2H), 7,25-7,22 (м, 1H), 5,44-5,27 (м, 8H), 5,10 (с, 4H), 3,44 (с, 2H), 2,81-2,74 (м, 4H), 2,36 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 2,10-2,01 (м, 8H), 1,70-1,58 (м, 4H), 1,42-1,21 (м, 28H), 0,89 (т, $J=6,9$ Гц, 6H) м. д.

ЭР-МС $m/z=721,1$ (МН⁺).

Примеры 34-36 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 33.

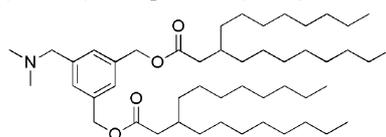
Пример 34. (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)дитридеканоат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,21 (с, 2H); 7,18 (с, 1H), 5,03 (с, 4H); 3,42 (уш.с, 2H); 2,28 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 2,22 (с, 6H); 1,61-1,53 (м, 4H); 1,27-1,15 (м, 36H); 0,81 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=588,5$ (МН⁺).

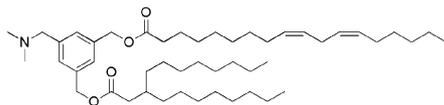
Пример 35. (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(3-октилундеканоат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,26 (с, 2H), 7,24 (с, 1H), 5,10 (с, 4H), 3,43 (с, 2H), 2,29 (д, $J=7,4$ Гц, 2H), 2,25 (с, 6H), 1,87 (м, 2H), 1,31-1,25 (м, 58H), 0,91-0,87 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=756,6$ (МН⁺).

Пример 36. (9Z,12Z)-3-((Диметиламино)метил)-5-(((3-октилундеcanoил)окси)метил)бензил-октадека-9,12-диеноат

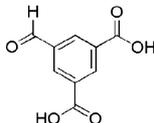


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,28-7,25 (м, 2H), 7,25-7,22 (м, 1H), 5,44-5,29 (м, 4H), 5,10 (с, 4H), 3,43 (с, 2H), 2,83-2,73 (м, 2H), 2,36 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,29 (д, $J=6,8$ Гц, 2H), 2,25 (с, 6H), 2,10-2,00 (м, 4H), 1,92-1,80 (м, 1H), 1,71-1,57 (м, 2H), 1,43-1,17 (м, 42H), 0,94-0,83 (м, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=736,6$ (МН $^+$).

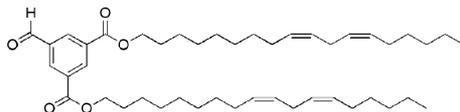
Синтез примера 37.

Интермедиат 37a: 5-формилизофталевая кислота



К раствору 3-формил-5-(метоксикарбонил) бензойной кислоты (1 г, 4,80 ммоль) в ТГФ (25 мл) добавляли LiOH (12,01 мл, 24,02 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Наблюдали частичный гидролиз. Реакционную смесь нагревали до 50°C в течение дополнительных 16 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и водой (50 мл) и pH доводили до нейтрального с помощью 1 N HCl. Органический слой собирали, промывали водой (2x50 мл) и высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт использовали без дополнительной очистки.

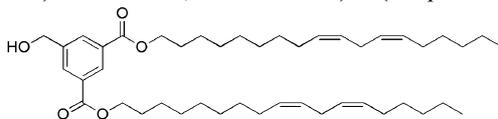
Интермедиат 37b: ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5-формилизофталат



Интермедиат 37a (700 мг, 0,36 ммоль) перемешивали в ДХМ (15 мл) и добавляли оксалилхлорид (3,16 мл, 36 ммоль) вместе с каплей ДМФ. Полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный остаток повторно растворяли в ТГФ (10 мл). Добавляли линолеиловый спирт (2,02 г, 7,57 ммоль) с последующим добавлением ТЕА (2,51 мл, 18,0 ммоль) и полученную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и водой (50 мл). Органический слой собирали, промывали водой (2x50 мл) и высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 350 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,66 (с, 1H), 8,26 (с, 2H), 5,25-5,53 (м, 8H), 4,16-4,43 (м, 4H), 3,47-3,67 (м, 1H), 2,77 (т, $J=5,68$ Гц, 4H), 2,05 (д, $J=6,32$ Гц, 7H), 1,91 (уш.с, 2H), 1,65-1,85 (м, 4H), 1,37-1,53 (м, 5H), 1,09-1,37 (м, 28H), 0,88 (т, $J=6,19$ Гц, 6H) м.д.

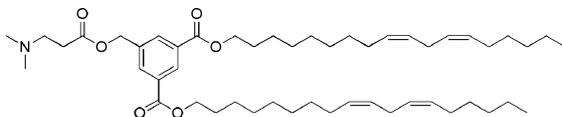
Интермедиат 37c: ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5-(гидроксиметил)изофталат



К раствору Интермедиата 37b (250 мг, 0,36 ммоль) в ТГФ (30 мл) и EtOH (15 мл) добавляли боргидрид натрия (17,8 мг, 0,47 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре и затем разбавляли EtOAc (50 мл) и водой (50 мл). Органический слой собирали, промывали водой (2x50 мл) и высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 260 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,60 (т, $J=1,51$ Гц, 1H), 8,13-8,32 (м, 2H), 5,22-5,46 (м, 8H), 4,82 (д, $J=5,77$ Гц, 2H), 4,34 (т, $J=6,78$ Гц, 4H), 2,77 (т, $J=6,53$ Гц, 4H), 1,93-2,13 (м, 9H), 1,70-1,86 (м, 4H), 1,20-1,49 (м, 32H), 0,76-1,00 (м, 6H) м.д.

Соединение примера 37: ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)изофталат



К раствору 3-диметиламинопропионовой кислоты (25 мг, 0,16 ммоль) в ДХМ (3 мл) добавляли EDC (31 мг, 0,16 ммоль) и ДМАП (1,32 мг, 0,011 ммоль) с последующим добавлением ТЕА (0,06 мл, 0,43 ммоль). Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре и добавляли

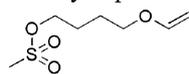
Интермедиат 37с (75 мг, 0,11 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч и затем разбавляли ДХМ (20 мл) и водой (20 мл). Органический слой собирали, промывали водой (2×20 мл) и затем высушивали над сульфатом магния. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 41 мг целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,63 (т, J=1,6 Гц, 1H), 8,20 (д, J=1,8 Гц, 2H), 5,47-5,26 (м, 8H), 5,22 (с, 2H), 4,35 (т, J=6,8 Гц, 4H), 2,89-2,74 (м, 6H), 2,74-2,65 (м, J=7,0 Гц, 2H), 2,39 (с, 6H), 2,12-1,95 (м, 8H), 1,87-1,71 (м, 4H), 1,49-1,19 (м, 33H), 0,89 (т, J=7,0 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=792,4 (MH⁺).

Синтез примера 38.

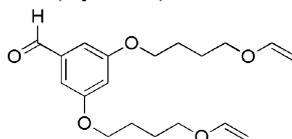
Интермедиат 38a: 4-(винилокси)бутилметансульфонат



Раствор 4-(винилокси)бутан-1-ола (50 г, 430 ммоль) в ДХМ (430 мл) охлаждали на ледяной бане. К данному раствору добавляли TEA (90 мл, 646 ммоль) с последующим добавлением по каплям метансульфонилхлорида (36,9 мл, 473 ммоль). В течение второй половины добавления образовывался белый осадок, и как добавление завершалось, реакционная смесь становилась бледно-оранжевой. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, позволяя льду расплавиться и реакционной смеси дойти до температуры окружающей среды. Реакционную смесь выливали в делительную воронку и разбавляли 400 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия (водн.) и 400 мл EtOAc. Слои разделяли и водный слой экстрагировали 300 мл EtOAc еще два раза. Слои EtOAc промывали 200 мл насыщенного раствора бикарбоната натрия, затем водой, и слой EtOAc затем высушивали над сульфатом натрия, и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 84 г (100%) целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,47 (дд, J=6,8, 14,3 Гц, 1H), 4,29 (т, J=6,3 Гц, 2H), 4,19 (дд, J=2,0, 14,3 Гц, 1H), 4,02 (дд, J=2,0, 6,8 Гц, 1H), 3,74 (т, J=5,9 Гц, 2H), 3,03 (с, 3H), 1,96-1,85 (м, 2H), 1,86-1,73 (м, 2H) м.д.

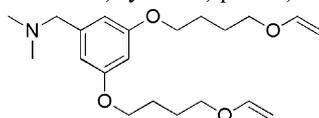
Интермедиат 38b: 3,5-бис(4-(винилокси)бутоксид)бензальдегид



Интермедиат 38a (84 г, 435 ммоль) перемешивали в ДМФ (400 мл) и добавляли 3,5-дигидроксибензальдегид (27,3 г, 198 ммоль) с последующим добавлением карбоната калия (109 мг, 791 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80°C в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли EtOAc (600 мл) и водой (700 мл). Органический слой собирали, и водный слой снова экстрагировали EtOAc (300 мл). Органические слои объединяли и промывали водой (4×300 мл), высушивали над сульфатом натрия и затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 56 г целевого продукта.

ЭР-МС m/z=335,1 (MH⁺).

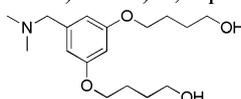
Интермедиат 38с: 1-(3,5-бис(4-(винилокси)бутоксид)фенил)-N,N-диметилметанамин



Интермедиат 38b (37 г, 111 ммоль) перемешивали с диметиламином (116 мл, 2М в ТГФ, 332 ммоль) и уксусной кислотой (6,33 мл, 111 ммоль) в ДХМ (400 мл). К данной смеси добавляли триацетоксиборгидрид натрия (58,6 г, 277 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. К реакционной смеси добавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия (800 мл) и EtOAc (1000 мл). Органическую фазу собирали и водную фазу экстрагировали EtOAc (500 мл). Объединенные органические фазы высушивали над сульфатом натрия, и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 34 г целевого продукта.

ЭР-МС m/z=364,9 (MH⁺).

Интермедиат 38d: 4,4'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-1-ол)

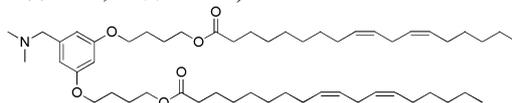


К раствору Интермедиата 38с (42 г, 116 ммоль) в EtOAc (200 мл) добавляли HCl (87 мл, 4М в диок-

сане, 348 ммоль). После завершения реакции при контролировании с помощью ТСХ добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (500 мл) и pH доводили до 10 с помощью добавления твердого карбоната калия. Добавляли EtOAc (600 мл) и органический слой собирали. Водный слой экстрагировали EtOAc (3×500 мл) и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением 35 г продукта, который использовали без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,50 (д, J=2,2, Гц, 2H), 6,37 (т, J=2,3 Гц, 1H), 4,01 (т, J=6,1 Гц, 4H), 3,79-3,68 (м, 6H), 3,36 (с, 2H), 2,26 (с, 6H), 1,93-1,82 (м, 4H), 1,82-1,67 (м, 4H) м.д.

Соединение примера 38: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



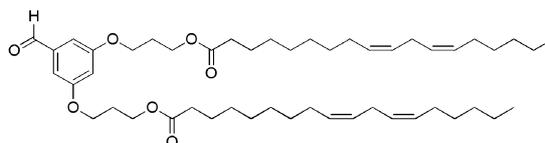
К раствору Интермедиата 36 (10 г, 32 ммоль) в ДХМ (161 мл) добавляли ДМАП (392 мг, 3,21 ммоль), ДИЭА (16,8 мл, 96 ммоль) и линолевую кислоту (18,9 г, 67,4 ммоль). Добавляли EDC (14,8 г, 77 ммоль) и вещество оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (500 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (3×600 мл). Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия, и затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 18,6 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,50 (уш.с, 2H), 6,36 (уш.с, 1H), 5,28-5,45 (м, 8H), 4,14 (т, J=6, 05 Гц, 4H), 3,98 (т, J=5,70 Гц, 4H), 3,39 (уш.с, 2H), 2,78 (т, J=6,55 Гц, 4H), 2,16-2,41 (м, 10H), 1,98-2,12 (м, 8H), 1,77-1,90 (м, 8H), 1,52-1,71 (м, 4H), 1,20-1,43 (м, 28H), 0,90 (т, J=6,85 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=836,7 (MH⁺).

Синтез примера 39:

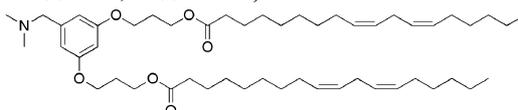
Интермедиат 39а: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



Интермедиат 39а может быть получен способом, аналогичным получению Интермедиата 18b с использованием линолевой кислоты и 1,3-пропандиола в качестве исходных материалов.

ТСХ (силикагель, 40% EtOAc в гептане): R_f=0,74.

Соединение примера 39: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



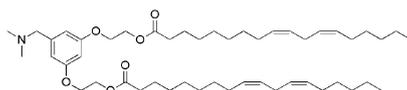
К раствору Интермедиата 39а (2,42 г, 3,11 ммоль) в DCE (20 мл) добавляли диметиламин (3,25 мл, 2,0 М в ТГФ, 6,5 ммоль) и уксусную кислоту (0,18 мл, 3,1 ммоль) с последующим добавлением триацетоксиборгидрида натрия (1,32 г, 6,21 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия с последующим добавлением ДХМ. Органический слой собирали и затем промывали дополнительным насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Полученный водный слой снова экстрагировали ДХМ, и органические слои объединяли и высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc с последующим использованием смеси ДХМ/MeOH в качестве элюента с получением 1,4 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 0,89 (т, J=8,00 Гц, 6H) 1,21-1,43 (м, 28H) 1,55-1,71 (м, 4H) 1,98-2,14 (м, 12H) 2,25 (с, 6H) 2,30 (т, J=7,65 Гц, 4H) 2,77 (т, J=8,00 Гц, 4H) 3,35 (с, 2H), 4,02 (т, J=6,15 Гц, 4H) 4,25 (т, J=6,40 Гц, 4H) 5,24-5,52 (м, 8H) 6,35 (т, J=2,26 Гц, 1H) 6,48 (д, J=2,26 Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС m/z=809,2 (MH⁺).

Примеры 40-64 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 38, примера 39 и примера 52.

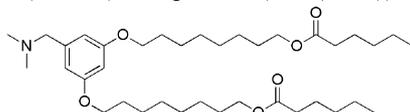
Пример 40. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,88 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,22-1,42 (м, 28H) 1,56-1,71 (м, 4H) 1,98-2,10 (м, 8H) 2,23 (с, 6H) 2,34 (т, $J=7,53$ Гц, 4H) 2,76 (т, $J=6,53$ Гц, 4H) 3,34 (с, 2H), 4,08-4,20 (м, 4H) 4,35-4,46 (м, 4H) 5,26-5,44 (м, 8H), 6,38 (т, $J=2,26$ Гц, 1H) 6,51 (д, $J=2,26$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=781,3$ (МН $^+$).

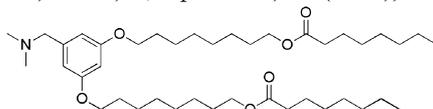
Пример 41. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)дигексаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,90 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,29-1,52 (м, 24H) 1,63 (кв, $J=7,45$ Гц, 8H) 1,71-1,82 (м, 4H) 2,26 (с, 6H) 2,30 (т, $J=7,58$ Гц, 4H) 3,37 (с, 2H), 3,93 (т, $J=6,57$ Гц, 4H) 4,06 (т, $J=6,69$ Гц, 4H) 6,35 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 6,47 (д, $J=2,27$ Гц, 3H) м.д.

ЭР-МС $m/z=620,2$ (МН $^+$).

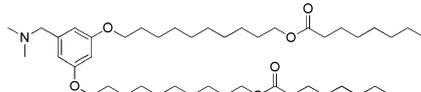
Пример 42. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)диооктаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,88 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,19-1,50 (м, 32H) 1,55-1,68 (м, 8H) 1,71-1,85 (м, 4H) 2,21-2,39 (м, 10H) 3,40 (уш.с, 2H) 3,94 (т, $J=6,44$ Гц, 4H) 4,07 (т, $J=6,69$ Гц, 4H) 6,36 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 6,49 (д, $J=2,02$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=676,6$ (МН $^+$).

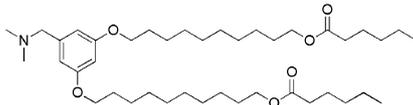
Пример 43. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(декан-10,1-диил)диооктаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,88 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,21-1,50 (м, 40H) 1,62 (кв, $J=6,95$ Гц, 8H) 1,70-1,82 (м, 4H) 2,25 (с, 6H) 2,29 (т, $J=7,58$ Гц, 4H) 3,35 (с, 2H), 3,93 (т, $J=6,57$ Гц, 4H) 4,06 (т, $J=6,82$ Гц, 4H) 6,35 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 6,46 (д, $J=2,27$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=732,1$ (МН $^+$).

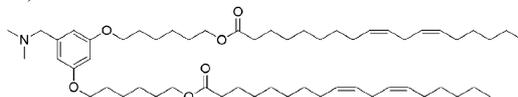
Пример 44. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(декан-10,1-диил)дигексаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,89 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,23-1,51 (м, 32H) 1,57-1,69 (м, 8H) 1,70-1,82 (м, 4H) 2,24-2,39 (м, 10H) 3,43 (уш.с, 2H) 3,94 (т, $J=6,57$ Гц, 4H) 4,06 (т, $J=6,69$ Гц, 4H) 6,37 (т, $J=2,15$ Гц, 1H) 6,50 (д, $J=1,52$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=676,6$ (МН $^+$).

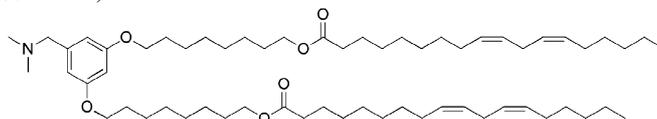
Пример 45. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,90 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,23-1,52 (м, 36H) 1,65 (дт, $J=14,59, 7,48$ Гц, 8H) 1,73-1,83 (м, 4H) 1,99-2,11 (м, 8H) 2,24 (с, 6H) 2,30 (т, $J=7,58$ Гц, 4H) 2,78 (т, $J=6,57$ Гц, 4H) 3,39 (уш.с, 2H) 3,94 (т, $J=6,44$ Гц, 4H) 4,08 (т, $J=6,69$ Гц, 4H) 5,25-5,49 (м, 8H) 6,35 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 6,46 (д, $J=2,27$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=892,8$ (МН $^+$).

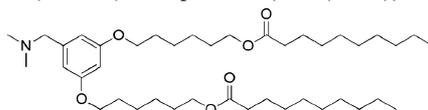
Пример 46. ((9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,89 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,23-1,51 (м, 44H) 1,55-1,69 (м, 8H) 1,71-1,82 (м, 4H) 1,99-2,11 (м, 8H) 2,24 (с, 6H) 2,30 (т, $J=7,58$ Гц, 4H) 2,78 (т, $J=6,57$ Гц, 4H) 3,35 (с, 2H), 3,93 (т, $J=6,57$ Гц, 4H) 4,07 (т, $J=6,69$ Гц, 4H) 5,28-5,45 (м, 8H) 6,35 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 6,46 (д, $J=2,27$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=948,8$ (МН+).

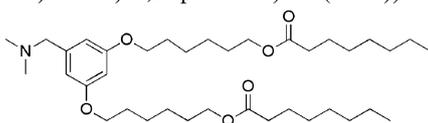
Пример 47. ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(гексан-6,1-диил)бис(деcanoат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49-6,43 (м, 2H), 6,37-6,32 (м, 1H), 4,07 (т, $J=6,6$ Гц, 4H), 3,93 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 3,35 (с, 2H), 2,29 (т, $J=7,6$ Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 1,84-1,72 (м, 4H), 1,72-1,55 (м, 8H), 1,55-1,36 (м, 8H), 1,36-1,16 (м, 24H), 0,88 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=676,4$ (МН+).

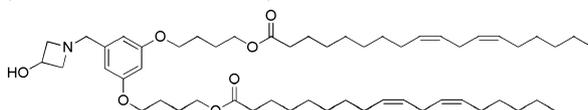
Пример 48. ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(гексан-6,1-диил)диооктаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ : 6,65-6,58 (м, 2H), 6,44-6,39 (м, 1H), 4,07 (т, $J=6,6$ Гц, 4H), 3,96 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 3,72 (с, 2H), 2,52 (с, 6H), 2,29 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 1,84-1,73 (м, 4H), 1,72-1,56 (м, 8H), 1,55-1,36 (м, 8H), 1,36-1,18 (м, 16H), 0,91-0,84 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=620,4$ (МН+).

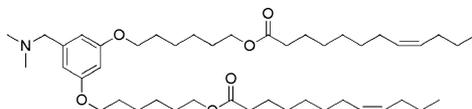
Пример 49. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((3-гидроксиазетидин-1-ил)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,45 (д, $J=2,01$ Гц, 2H), 6,35 (т, $J=1,00$ Гц, 1H), 5,31-5,44 (м, 8H), 4,11-4,19 (м, 5H), 3,97 (т, $J=1,00$ Гц, 4H), 3,65-3,76 (м, 2H), 3,60 (с, 2H), 2,79 (т, $J=1,00$ Гц, 4H), 2,32 (т, $J=7,53$ Гц, 4H), 2,07 (к, $J=6,78$ Гц, 8H), 1,80-1,89 (м, 8H), 1,64 (д, $J=16,81$ Гц, 6H), 1,24-43 (м, 31H), 0,91 (т, $J=1,00$ Гц, 6H) м.д.

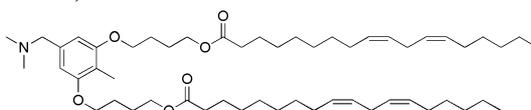
ЭР-МС $m/z=864,6$ (МН+).

Пример 50. (8Z,8'Z)-((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(гексан-6,1-диил)бис(додец-8-еноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,48 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,35 (т, $J=2,2$ Гц, 1H), 5,43-5,25 (м, 4H), 4,08 (т, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,94 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 3,38 (с, 2H), 2,30 (т, $J=7,6$ Гц, 4H), 2,27 (с, 6H), 2,07-1,90 (м, 8H), 1,85-1,70 (м, 4H), 1,71-1,55 (м, 8H), 1,55-1,29 (м, 24H), 0,90 (т, $J=7,4$ Гц, 6H) м.д. ЭР-МС $m/z=728,5$ (МН+).

Пример 51. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((Диметиламино)метил)-2-метил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

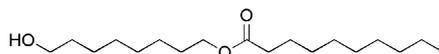


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,48 (с, 2H), 5,32-5,44 (м, 8H), 4,17 (т, $J=8$ Гц, 4H), 4,01 (т, $J=8$ Гц, 4H), 3,37 (с, 2H), 2,79 (т, $J=8$ Гц, 4H), 2,32 (т, $J=8$ Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 2,10 (с, 3H), 2,08 (дд, $J=8$ Гц, 8H), 1,87 (к, $J=5$ Гц, 8H), 1,64 (м, 4H), 1,27-1,48 (м, 28H), 0,90 (т, $J=8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=850,6$ (МН+).

Синтез примера 52.

Интермедиат 52а: 8-гидроксиоктилдеcanoат



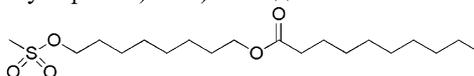
В круглодонной колбе смешивали октан-1,8-диол (21,90 г, 150 ммоль), этилдеcanoат (10 г, 49,9 ммоль) и тригидрат п-толуолсульфоновой кислоты (0,4 г, 2,103 ммоль). Колбу помещали на роторный испаритель при пониженном давлении (100 мбар) и медленно вращали при 100°C на масляной бане с образованием прозрачного расплава. После 6 ч давление снижали до 10 мбар и реакционную смесь выдерживали в течение 15 мин. Затем реакционную смесь разбавляли 150 мл гептана и перемешивали, пока не начал затвердевать октан-диол. Реакционную смесь помещали на ледяную баню и перемешивали 10 мин, затем отфильтровывали. Остаток промывали дополнительным количеством 150 мл гептана, и объединенные фильтраты переносили в делительную воронку. Слой гептана промывали 3×150 мл воды, затем

объединенную промывную воду снова экстрагировали 100 мл гептана. Объединенные экстракты гептана высушивали над сульфатом магния, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого продукта (с примесью бис-ацилированного продукта), который использовали без дополнительной очистки.

Кроме того, Интермедиат 52a может быть синтезирован следующим образом. В круглодонной колбе октан-1,8-диол (58,5 г, 400 ммоль) растворяли в пиридине (100 мл). К полученному раствору по каплям добавляли деканоилхлорид (41,5 мл, 200 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при температуре окружающей среды. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением твердого остатка. Добавляли гептан (300 мл) и полученную суспензию энергично перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь отфильтровывали, и остаток промывали 500 мл дополнительного количества гептана. Фильтрат промывали 1 N водным раствором HCl (3×200 мл) и объединенные водные слои снова экстрагировали 150 мл гептана. Объединенные слои гептана высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого продукта (с примесью бис-ацилированного продукта), который использовали без дополнительной очистки.

ЭР-МС $m/z=301,6$ (MH⁺).

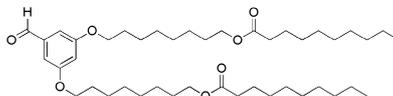
Интермедиат 52b: 8-((метилсульфонил)окси)октилдеcanoат



В круглодонной колбе Интермедиат 52a (62,7 г, 210 ммоль Интермедиата 52a) и триэтиламин (32,2 мл, 231 ммоль) помещали в дихлорметан (безводный, 400 мл). Раствор охлаждали на ледяной бане и добавляли по каплям метансульфонилхлорид (16,38 мл, 210 ммоль) более 5 мин. Реакционную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 2 ч, после этого времени охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь нагревали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь переносили в делительную воронку и промывали 1N водным раствором HCl (3×200 мл). Объединенные водные промывные растворы снова экстрагировали 100 мл дихлорметана. Объединенные экстракты ДХМ высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения (68% массовая чистота), которое использовали без дополнительной очистки.

ЭР-МС $m/z=378,7$ (MH⁺).

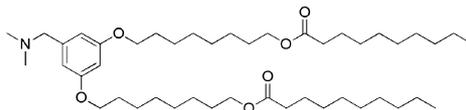
Интермедиат 52c: ((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(деcanoат)



В круглодонной колбе Интермедиат 52b (78,0 г, 206 ммоль Интермедиата 52b), 3,5-дигидроксibenзальдегид (12,5 г, 91 ммоль) и карбонат цезия (88 г, 272 ммоль) помещали в ДМФ (500 мл). Реакционную смесь нагревали на масляной бане от температуры окружающей среды до 80°C. После 16 ч при 80°C реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды, переносили в делительную воронку и разбавляли 500 мл этилацетата, 500 мл гептана и 1500 мл воды. Полный объем реакционной смеси отфильтровывали через слой целита, который отдельно промывали 500 мл этилацетата и 500 мл гептана. Фильтрат разделяли на слои и водный слой экстрагировали промывным раствором целита после фильтрования с последующим количеством 1000 мл гептана. Объединенные органические слои промывали 500 мл воды, высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали, темно-коричневый фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали на силикагеле этилацетатом и гептаном в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=703,4$ (MH⁺).

Соединение примера 52. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(деcanoат)

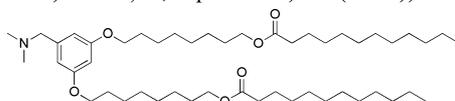


В круглодонной колбе Интермедиат 52c (47,5 г, 67,6 ммоль) помещали в дихлорметан (300 мл) с последующим добавлением диметиламина (2M в ТГФ, 203 мл, 406 ммоль) и уксусной кислоты (3,87 мл, 67,6 ммоль). К полученному раствору добавляли триацетоксиборгидрид натрия (35,8 г, 169 ммоль). После 16 ч при температуре окружающей среды реакционную смесь гасили 300 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия и 300 мл воды и полученные слои разделяли. Органический слой промывали 2×200 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Объединенные водные слои экстрагировали 2×300 мл дихлорметана. Объединенные экстракты дихлорметана высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на силикагеле ацетоном и гептаном в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,88 (т, $J=8,00$ Гц, 6H) 1,18-1,50 (м, 40H) 1,56-1,70 (м, 8H) 1,70-1,81 (м, 4H) 2,24 (с, 6H) 2,30 (т, $J=7,53$ Гц, 4H) 3,34 (с, 2H), 3,93 (т, $J=6,53$ Гц, 4H) 4,06 (т, $J=6,78$ Гц, 4H) 6,35 (т, $J=2,26$ Гц, 1H) 6,46 (д, $J=2,26$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=732,5$ (МН+).

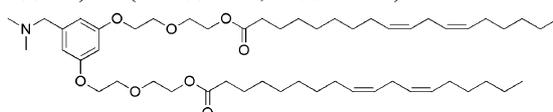
Пример 53. ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)дидодеканоат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,83-0,97 (м, 6H) 1,19-1,51 (м, 48H) 1,56-1,68 (м, 8H) 1,71-1,83 (м, 4H) 2,24 (с, 6H) 2,30 (т, $J=7,53$ Гц, 4H) 3,34 (с, 2H) 3,93 (т, $J=6,53$ Гц, 4H) 4,06 (т, $J=6,78$ Гц, 4H) 6,35 (т, $J=2,26$ Гц, 1H) 6,46 (д, $J=2,01$ Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=788,6$ (МН+).

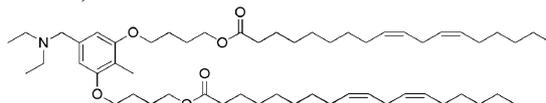
Пример 54. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,59 (уш.с, 2H), 6,44 (уш.с, 1H), 5,27-5,44 (м, 8H), 4,26 (т, $J=4,9$ Гц, 4H), 4,13 (т, $J=4,65$ Гц, 4H), 3,85 (т, $J=4,65$ Гц, 4H), 3,77 (т, $J=4,9$ Гц, 4H), 3,50 (уш.с, 2H), 2,77 (т, $J=6,65$ Гц, 4H), 2,21-2,52 (м, 10H), 1,96-2,12 (м, 8H), 1,55-1,70 (м, 4H), 1,19-1,45 (м, 28H), 0,89 (т, $J=6,90$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=868,9$ (МН+).

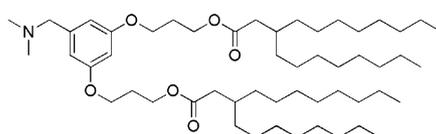
Пример 55. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-((Диэтиламино)метил)-2-метил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,52 (с, 2H), 5,32-5,44 (м, 8H), 4,16 (т, $J=8$ Гц, 4H), 4,00 (т, $J=8$ Гц, 4H), 3,52 (с, 2H), 2,79 (т, $J=8$ Гц, 4H), 2,54 (дд, $J=8$ Гц, 4H), 2,32 (т, $J=8$ Гц, 4H), 2,09 (с, 3H), 2,08 (дд, $J=8$ Гц, 8H), 1,87 (к, $J=5$ Гц, 8H), 1,64 (м, 4H), 1,27-1,48 (м, 28H), 1,06 (т, $J=8$ Гц, 6H), 0,91 (т, $J=8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=878,6$ (МН+).

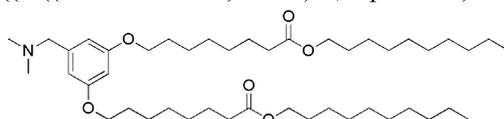
Пример 56. ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(3-октил-ундеканоат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,48 (д, $J=2,02$ Гц, 2H) 6,35 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 4,25 (т, $J=6,32$ Гц, 4H) 4,03 (т, $J=6,19$ Гц, 4H) 3,35 (с, 2H), 2,20-2,30 (м, 10H) 2,10 (кв, $J=6,25$ Гц, 4H) 1,84 (уш.с, 2H) 1,19-1,36 (м, 56H) 0,81-0,97 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=844,7$ (МН+).

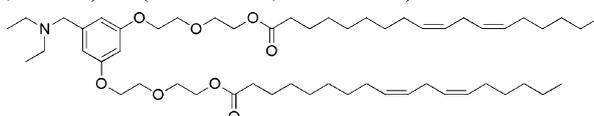
Пример 57. Дидецил-8,8'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))диоктаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51-6,45 (м, 2H), 6,38-6,33 (м, 1H), 4,06 (т, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,93 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 3,40 (с, 2H), 2,30 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,28 (с, 6H), 1,82-1,71 (м, 4H), 1,70-1,56 (м, 8H), 1,54-1,20 (м, 40H), 0,93-0,84 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=732,4$ (МН+).

Пример 58. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((Диэтиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

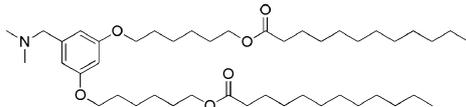


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,54 (д, $J=2,3$ Гц, 2H), 6,37 (т, $J=2,25$ Гц, 1H), 5,25-5,46 (м, 8H), 4,26 (т, $J=4,8$ Гц, 4H), 4,11 (т, $J=4,75$ Гц, 4H), 3,85 (т, $J=4,75$ Гц, 4H), 3,77 (т, $J=4,9$ Гц, 4H), 3,48 (с, 2H), 2,77 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,50 (к, $J=7,1$ Гц, 4H), 2,34 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 1,98-2,13 (м, 8H), 1,55-1,70 (м, 4H), 1,22-1,42

(м, 28Н), 1,03 (т, J=7,2 Гц, 6Н), 0,89 (т, J=6,9 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=896,8 (МН+).

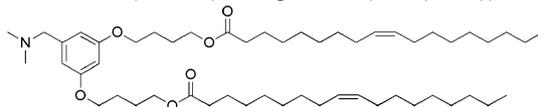
Пример 59. ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(гексан-6,1-диил)дидодеканоат



¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,48 (д, J=2,26 Гц, 2Н) 6,36 (т, J=2,51 Гц, 1Н) 4,08 (т, J=6,65 Гц, 4Н) 3,94 (т, J=6,40 Гц, 4Н) 3,43 (с, 2Н) 2,23-2,35 (м, 10Н) 2,03 (с, 1Н) 1,78 (ддт, J=14,05, 13,30, 7,53, 7,53 Гц, 4Н) 1,57-1,70 (м, 8Н) 1,38-1,53 (м, 8Н) 1,22-1,34 (м, 33Н) 0,88 (т, J=6,02 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=732,6 (МН+).

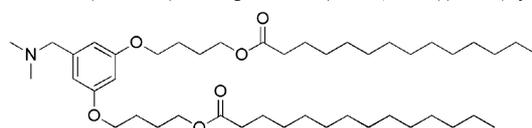
Пример 60. (Z)-((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)диолеат



¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,49 (уш.с, 2Н), 6,36 (т, J=2,0 Гц, 1Н), 5,44-5,28 (м, 4Н), 4,15 (т, J=5,8 Гц, 4Н), 3,98 (т, J=5,8 Гц, 4Н), 3,36 (уш.с, 2Н), 2,38-2,18 (м, 10Н), 2,10-1,95 (м, 8Н), 1,92-1,76 (м, 8Н), 1,71-1,56 (м, J=7,3, 7,3 Гц, 4Н), 1,30 (д, J=15,6 Гц, 40Н), 0,90 (т, J=6,5 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=840,7 (МН+).

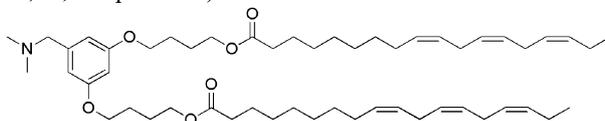
Пример 61. ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)дитетрадеканоат



¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,54 (уш.с, 2Н), 6,37 (уш.с, 1Н) 4,14 (т, J=6,30 Гц, 4Н) 3,98 (т, J=5, 65 Гц, 4Н) 3,48 (уш.с, 2Н), 2,22-2,51 (м, 10Н) 1,73-1,93 (м, 8Н) 1,62 (м, 4Н) 1,19-1,49 (м, 40Н), 0,88 (т, J=6,9 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=732,7 (МН+).

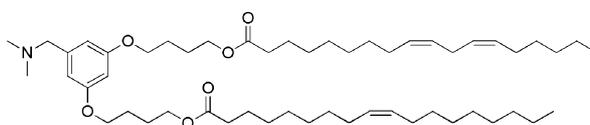
Пример 62. (9Z,9'Z,12Z,12'Z,15Z,15'Z)-((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12,15-триеноат)



¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,51 (д, J=1,8 Гц, 2Н), 6,36 (т, J=2,3 Гц, 1Н), 5,55-5,18 (м, 12Н), 4,15 (т, J=5,5 Гц, 4Н), 3,98 (т, J=5,6 Гц, 4Н), 3,41 (уш.с, 2Н), 2,82 (т, J=6,0 Гц, 8Н), 2,39-2,22 (м, 10Н), 2,17-2,00 (м, 8Н), 1,92-1,74 (м, 9Н), 1,71-1,55 (м, 4Н), 1,45-1,22 (м, 16Н), 0,99 (т, J=7,5 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=833,0 (МН+).

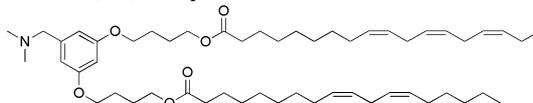
Пример 63. (9Z,12Z)-4-(3-((Диметиламино)метил)-5-(4-(олеилокси)бутоксифеноксифенокси)бутил-октадека-9,12-диеноат



¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,51 (с, 2Н), 6,37 (т, J=2,0 Гц, 1Н), 5,49-5,23 (м, 6Н), 4,15 (т, J=6,5 Гц, 4Н), 3,99 (т, J=5, 6 Гц, 4Н), 3,42 (уш.с, 2Н), 2,79 (т, J=6,7 Гц, 2Н), 2,39-2,21 (м, 10Н), 2,18-1,95 (м, 8Н), 1,94-1,73 (м, 8Н), 1,73-1,55 (м, 4Н), 1,44-1,19 (м, 34Н), 0,95-0,86 (м, J=4,0, 6,8, 6,8 Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС m/z=838,7 (МН+).

Пример 64: (9Z,12Z,15Z)-4-(3-((диметиламино)метил)-5-(4-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диеноилокси)бутоксифеноксифенокси)бутилоктадека-9,12,15-триеноат

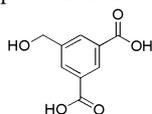


¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,48 (д, J=2,0 Гц, 2Н), 6,35 (т, J=2,3 Гц, 1Н), 5,48-5,27 (м, 10Н), 4,15 (т, J=5,8 Гц, 4Н), 3,98 (т, J=5,8 Гц, 4Н), 3,36 (с, 2Н), 2,90-2,73 (м, 6Н), 2,32 (т, J=7,7 Гц, 4Н), 2,26 (с, 6Н), 2,16-2,00 (м, 8Н), 1,93-1,75 (м, 8Н), 1,64 (т, J=7,3 Гц, 4Н), 1,44-1,22 (м, 22Н), 0,99 (т, J=7,5 Гц, 3Н), 0,91 (т, J=7,0 Гц, 3Н) м.д.

ЭР-МС m/z=835,0 (МН+).

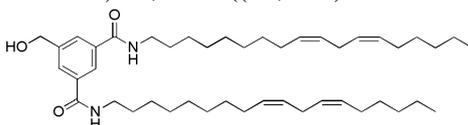
Синтез примера 65.

Интермедиат 65а: 5-(гидроксиметил)изофталевая кислота



К раствору диэтил-5-(гидроксиметил)изофталата (509 мг, 2,02 ммоль) в ТГФ (5 мл) добавляли NaOH (5,04 мл, 1,0 М в воде, 5,04 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 дней при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт использовали без дополнительной очистки.

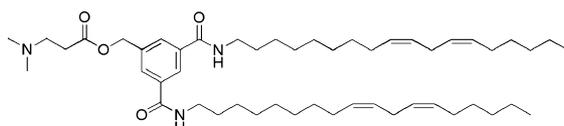
Интермедиат 65b: 5-(гидроксиметил)-N¹, N³-ди((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)изофталамид



Интермедиат 65а (168 мг, 0,694 ммоль) перемешивали в ДХМ (25 мл) и добавляли EDC (399 мг, 2,08 ммоль) и НОВт (319 мг, 2,08 ммоль) с последующим добавлением ТЕА (0,481 мл, 3,47 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин и добавляли линолеиламина гидрохлорид (419 мг, 1,39 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и затем разбавляли ДХМ (100 мл) и водой (100 мл). Органический слой собирали и промывали водой (2×50 мл) и высушивали над сульфатом магния. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента, обеспечивая 150 мг целевого продукта.

ЭР-МС m/z=691,4 (МН⁺).

Соединение примера 65: 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-3-(диметиламино)пропанат

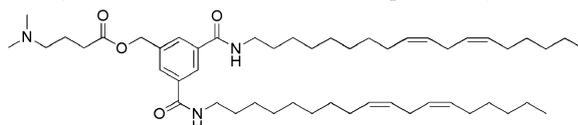


Пример 65 может быть получен из Интермедиата 65b с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 37.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,11 (т, J=1,5 Гц, 1H), 7,89 (д, J=1,5 Гц, 2H), 6,43 (т, J=5,6 Гц, 2H), 5,25-5,48 (м, 8H), 5,19 (с, 2H), 3,33-3,53 (м, 4H), 2,77 (т, J=6,5 Гц, 4H), 2,60-2,70 (м, 2H), 2,49-2,60 (м, 2H), 2,26 (с, 6H), 2,05 (к, J=6,9 Гц, 8H), 1,55-1,71 (м, 4H), 1,18-1,47 (м, 32H), 0,89 (т, J=7,0 Гц, 6H) м. д.

ЭР-МС m/z=790,4 (МН⁺).

Пример 66. 3,5-бис((9Z,12Z)-Октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-4-(диметиламино)бутаноат



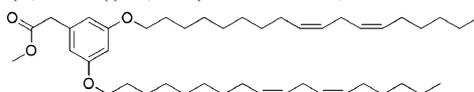
Пример 66 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения Примера 65.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,11 (т, J=1,6 Гц, 1H), 7,88 (д, J=1,5 Гц, 2H), 6,50 (т, J=5,6 Гц, 2H), 5,20-5,48 (м, 8H), 5,15 (с, 2H), 3,31-3,55 (м, 4H), 2,66-2,85 (м, 4H), 2,41 (т, J=7,4 Гц, 2H), 2,28 (т, J=7,3 Гц, 2H), 2,20 (с, 6H), 2,04 (к, J=6,9 Гц, 8H), 1,82 (к, J=7,4 Гц, 2H), 1,54-1,67 (м, 4H), 1,17-1,45 (м, 32H), 0,88 (т, J=7,0 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС m/z=804,5 (МН⁺).

Синтез примера 67.

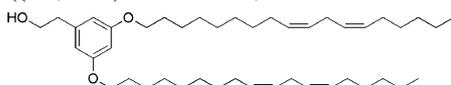
Интермедиат 67а: метил-2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)ацетат



К раствору метил-3-(3,5-дигидроксифенил)ацетата (1,0 г, 5,4 ммоль) в ДМФ (25 мл) добавляли линолеилметилат (4,16 г, 12,1 ммоль) и карбонат калия (3,0 г, 21,6 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 100°C в течение 4 ч, после чего реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли воду (100 мл). Полученную смесь экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Органические слои объединяли, промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси н-гексан/EtOAc в качестве элюента с получением 3,3 г целевого продукта.

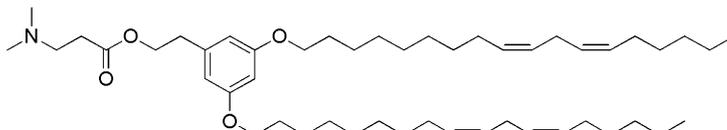
ЭР-МС $m/z=680$ (MH⁺).

Интермедиат 67b: 2-(3,5-бис((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)этанол



Интермедиат 67a (3,3 г, 4,8 ммоль) перемешивали в ТГФ (50 мл) и охлаждали на ледяной бане. Раствор литийалюминийгидрида (370 мг, 97 ммоль) в ТГФ (3 мл) медленно добавляли к перемешиваемой реакционной смеси. После добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Продукт затем снова охлаждали на ледяной бане и добавляли воду (5 мл) и EtOAc (5 мл). Через 10 мин полученную суспензию отфильтровывали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 2,8 г продукта, который использовали без дополнительной очистки.

Соединение Примера 67: 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенэтил-3-(диметиламино)пропаноат

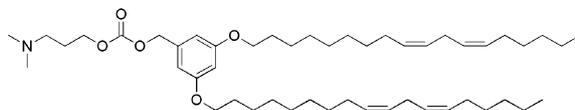


К Интермедиату 67b (75 мг, 0,12 ммоль) в ДХМ (3 мл) добавляли 3-диметиламинопропионовой кислоты гидрохлорид (26 мг, 0,17 ммоль) и НАТУ (88 мг, 0,23 ммоль) с последующим добавлением ТЕА (0,016 мл, 0,12 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и затем добавляли воду (2 мл). Смесь экстрагировали ДХМ (3x5 мл) и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием смеси ДХМ/MeOH в качестве элюента с получением 72 мг целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,32-6,37 (м, 3H), 5,28-5,44 (м, 8H), 4,37 (т, J=7,2 Гц, 2H), 3,92 (т, J=6,6 Гц, 4H), 3,36 (т, J=6,4 Гц, 2H), 2,86-2,92 (м, 8H), 2,75-2,81 (м, 6H), 2,06 (дд, J=6,7, 6,7, 6,7 Гц, 8H), 1,71-1,80 (м, 4H), 1,41-1,49 (м, 4H), 1,24-1,41 (м, 32H), 0,90 (т, J=7,1 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=750,5$ (MH⁺).

Пример 68. 3,5-бис((9Z,12Z)-Октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат

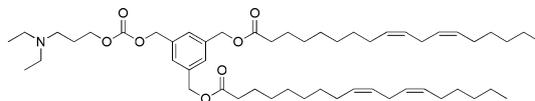


Интермедиат 13a (82,5 мг, 0,130 ммоль) растворяли в сухом CDCl₃ (2 мл) добавляли 4-нитрофенилхлорформат (28,7 мг, 0,142 ммоль) с последующим добавлением пиридина (0,011 мл, 0,129 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 50°C в течение 30 мин. По истечении этого времени нагревание выключали и реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ТСХ, которая показывала полный расход ИВ (исходного вещества). Интермедиат концентрировали и повторно растворяли в дихлорметане (3 мл) добавляли 3-(диметиламино)пропан-1-ол (66,8 мг, 0,648 ммоль) с последующим добавлением ДМАП (3,16 мг, 0,026 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 72 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь гасили водой (2 мл) и экстрагировали дополнительным количеством ДХМ (3x5 мл). Органические слои концентрировали. Неочищенный продукт очищали на силикагеле с использованием от 0 до 6% MeOH в ДХМ в качестве элюента с получением 47 мг целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,51 (д, J=2,3 Гц, 2H), 6,42 (т, J=2,3 Гц, 1H), 5,32-5,48 (м, 8H), 5,09 (с, 2H), 4,23 (т, J=6,7 Гц, 2H), 3,94 (т, J=6,5 Гц, 4H), 2,80 (дд, J=6,4, 6,4 Гц, 4H), 2,37 (т, J=7,0 Гц, 2H), 2,24 (с, 6H), 1,99-2,16 (м, 8H), 1,82-1,91 (м, 2H), 1,72-1,82 (м, 4H), 1,41-1,50 (м, 5H), 1,27-1,41 (м, 29H), 0,83-0,97 (м, J=6,8, 6,8 Гц, 5H) м.д.

ЭР-МС $m/z=766,5$ (MH⁺).

Пример 69. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



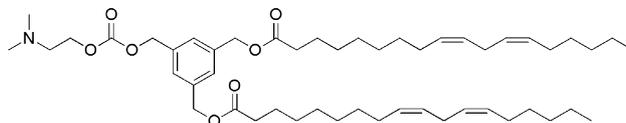
Пример 69 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые описаны для Интермедиата 33a и примера 68.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,33 (с, 2H), 7,31 (с, 1H), 5,25-5,45 (м, 8H), 5,16 (с, 2H), 5,11 (с, 4H), 4,22 (т, J=6,5 Гц, 2H), 2,73-2,82 (м, 4H), 2,43-2,55 (м, 6H), 2,37 (т, J=7,5 Гц, 4H), 2,01-2,09 (м, 8H), 1,83 (кв, J=6,5 Гц, 2H), 1,57-1,71 (м, 5H), 1,21-1,42 (м, 28H), 1,01 (т, J=7,2 Гц, 6H), 0,89 (т, J=6,8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=850,6$ (МН+).

Примеры 70 и 71 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 69.

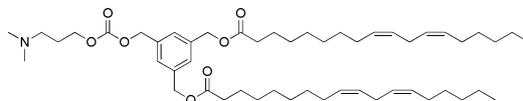
Пример 70. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((2-(диметиламино)этокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,33 (с, 2H), 7,30 (с, 1H), 5,29-5,43 (м, 8H), 5,16 (с, 2H), 5,11 (с, 4H), 4,25 (т, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,77 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,60 (т, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,37 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 2,29 (с, 6H), 2,05 (к, $J=6,8$ Гц, 8H), 1,52-1,75 (м, 4H), 1,24-1,40 (м, 29H), 0,88 (т, $J=6,8$ Гц, 5H) м.д.

ЭР-МС $m/z=808,5$ (МН+).

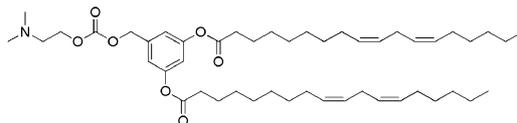
Пример 71. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диметиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,34 (с, 2H), 7,32 (с, 1H), 5,29-5,45 (м, 8H), 5,17 (с, 2H), 5,12 (с, 4H), 4,24 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 2,79 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,34-2,41 (м, 6H), 2,24 (с, 6H), 2,06 (к, $J=6,7$ Гц, 8H), 1,87 (кв, $J=6,5$ Гц, 2H), 1,61-1,72 (м, 4H), 1,25-1,42 (м, 29H), 0,91 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=822,6$ (МН+).

Пример 72. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((2-(диметиламино)этокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(октадека-9,12-диеноат)



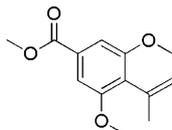
Пример 72 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 26b и примера 68.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,01 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,89 (т, $J=2,1$ Гц, 1H), 5,30-5,46 (м, 8H), 5,14 (с, 2H), 4,26 (т, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,79 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 2,61 (т, $J=5,8$ Гц, 2H), 2,54 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,29 (с, 6H), 2,01-2,11 (м, 8H), 1,74 (дт, $J=14,7, 7,5$ Гц, 4H), 1,24-1,46 (м, 31H), 0,90 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=780,4$ (МН+).

Синтез примера 73.

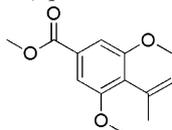
Интермедиат 73a: метил-4-бром-3,5-диметоксибензоат



К раствору 4-бром-3,5-дигидроксибензойной кислоты (28 г, 120,7 ммоль) в ацетоне (300 мл) добавляли диметилсульфат (53 г, 422,4 ммоль) и карбонат калия (58 г, 422,4 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 4 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь отфильтровывали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток перекристаллизовывали из метанола с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,82$

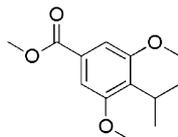
Интермедиат 73b: метил-3,5-диметокси-4-(проп-1-ен-2-ил)бензоат



К раствору Интермедиата 73a (6,0 г, 21,9 ммоль) в ДМФ (100 мл) добавляли изопропенилтрибутил-станнан (7,98 г, 24,1 ммоль), фторид цезия (6,66 г, 43,8 ммоль) и $\text{Pd}[(\text{трет-бутил})_3\text{P}]_4$ (225 мг, 0,44 ммоль). Реакционную смесь нагревали на бане при 100°C в течение 3 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,45$

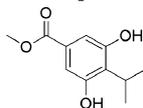
Интермедиат 73с: метил-4-изопропил-3,5-диметоксибензоат



К раствору Интермедиата 73b (4,0 г, 16,94 ммоль) в метаноле (200 мл) добавляли 10% Pd/C (4,0 г) и формиат аммония (21,35 г, 339,0 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 90°C на нагревательной бане в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и отфильтровывали через целит. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном (2×100 мл), объединенные экстракты ДХМ промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,50$

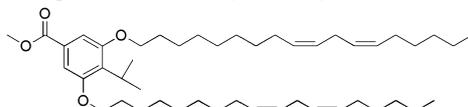
Интермедиат 73d: метил-3,5-дигидрокси-4-изопропилбензоат



К раствору Интермедиата 73с (2,0 г, 8,40 ммоль) в дихлорметане (200 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли трибромид бора (42 мл, 1М в ДХМ, 42 ммоль) и иодид тетрабутиламмония (15,53 г, 42,01 ммоль). Через 3 ч реакционную смесь выливали в насыщенный водный раствор хлорида аммония. Реакционную смесь экстрагировали дихлорметаном (2×100 мл) и объединенные экстракты ДХМ промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,05$

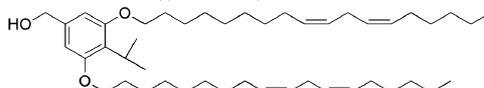
Интермедиат 73е: метил-4-изопропил-3,5-бис((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензоат



К раствору Интермедиата 73d (1,4 г, 6,66 ммоль) в ДМФ (60 мл) добавляли линолеилмезилат (5,05 г, 14,66 ммоль) и карбонат калия (3,68 г, 26,66 ммоль). Реакционную смесь нагревали на масляной бане при 100°C в течение 2 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (2×200 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,82$

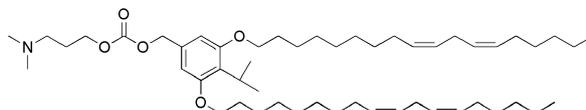
Интермедиат 73f: (4-изопропил-3,5-бис((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанол



К раствору Интермедиата 73е (3,8 г, 5,38 ммоль) в ТГФ (80 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли литийалюминийгидрид (410 мг, 10,76 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, затем гасили водой. Реакционную смесь отфильтровывали через целит и фильтрат экстрагировали этилацетатом (2×150 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,21$

Соединение примера 73. 3-(Диметиламино)пропил-4-изопропил-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензилкарбонат



Пример 73 может быть получен из Интермедиата 73f с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются в синтезе примера 68.

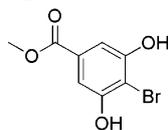
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,52 (с, 2H), 5,50-5,25 (м, 8H), 5,07 (с, 2H), 4,21 (т, J=6,5 Гц, 2H), 3,93 (т,

$J=6,4$ Гц, 4Н), 3,63 (кв, $J=7,1$ Гц, 1Н), 2,79 (т, $J=6,4$ Гц, 4Н), 2,36 (т, $J=7,5$ Гц, 2Н), 2,22 (с, 6Н), 2,06 (к, $J=6,8$ Гц, 8Н), 1,92-1,71 (м, 6Н), 1,56-1,41 (м, 4Н), 1,41-1,20 (м, 34Н), 0,90 (т, $J=6,8$ Гц, 3Н) м.д.

ЭР-МС $m/z=808,8$ (МН⁺).

Синтез Примера 74.

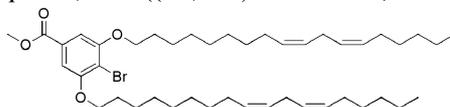
Интермедиат 74а: метил-4-бром-3,5-дигидроксibenзоат



К раствору 4-бром-3,5-дигидроксibenзойной кислоты (7,0 г, 30,2 ммоль) в метаноле добавляли хлортриметилсилан (8,11 г, 75,4 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 3 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток разбавляли водой и экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным водн. раствором бикарбоната натрия и соевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения, которое использовали без дополнительной очистки.

ТСХ (силикагель, 30% этилацетата в гексане): $R_f=0,33$

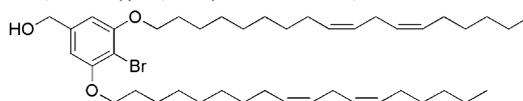
Интермедиат 74b: метил-4-бром-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензоат



Интермедиат 74b может быть получен из Интермедиата 74а с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 73е.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,70$

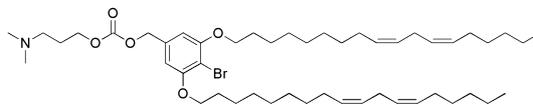
Интермедиат 74с: (4-бром-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанол



К раствору Интермедиата 74b (500 мг, 0,67 ммоль) в дихлорметане (20 мл), охлаждаемому на бане сухой лед/ацетон, добавляли DIBAL-H (25% в толуоле, 0,96 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин, затем гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония. Реакционную смесь отфильтровывали через целит и фильтрат экстрагировали дихлорметаном (2×50 мл). Объединенные экстракты ДХМ промывали соевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 20% этилацетата в гексане): $R_f=0,49$

Соединение примера 74: 4-бром-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат



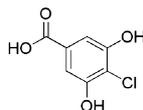
Пример 74 может быть получен из Интермедиата 74с с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются в синтезе примера 68.

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,55 (с, 2Н), 5,44-5,30 (м, 8Н), 5,08 (с, 2Н), 4,22 (т, $J=6,7$ Гц, 2Н), 4,02 (т, $J=6,5$ Гц, 4Н), 2,78 (т, $J=6,3$ Гц, 4Н), 2,35 (т, $J=7,4$ Гц, 2Н), 2,22 (с, 6Н), 2,06 (к, $J=6,7$ Гц, 8Н), 1,90-1,77 (м, 6Н), 1,55-1,46 (м, 4Н), 1,42-1,22 (м, 28Н), 0,89 (т, $J=6,8$ Гц, 6Н) м.д.

ЭР-МС $m/z=844,4$ (МН⁺), наблюдали изотопное распределение брома.

Синтез примера 75:

Интермедиат 75а: 4-хлор-3,5-дигидроксibenзойная кислота

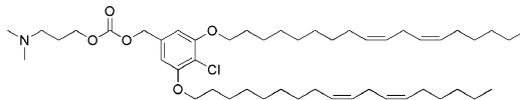


К раствору 3,5-дигидроксibenзойной кислоты (4 г, 26,0 ммоль) в метаноле (25 мл) добавляли раствор N-хлорсукцинимид (3,64 г, 27,3 ммоль) в метаноле (10 мл) более 1 ч. После 16 ч реакцию смесь выливали в холодную воду и экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали соевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения, которое ис-

пользовали без дополнительной очистки.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,15$

Соединение примера 75: 4-хлор-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат



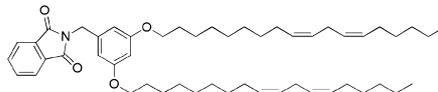
Пример 75 может быть получен из Интермедиата 75а с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются в синтезе примера 74.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,59 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 6,48 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 5,51-5,29 (м, 8H), 5,26 (с, 2H), 4,25 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 4,00 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 3,94 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 2,80 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 2,38 (т, $J=7,0$ Гц, 2H), 2,24 (с, 6H), 2,07 (к, $J=6,7$ Гц, 8H), 1,91-1,75 (м, 6H), 1,55-1,44 (м, 4H), 1,44-1,24 (м, 30H), 0,91 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=800,6$ (МН⁺), наблюдали изотопное распределение хлора.

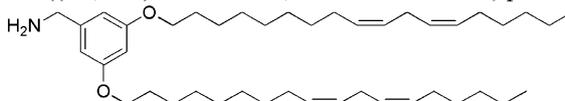
Синтез примера 76:

Интермедиат 76а: 2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)изоиндолин-1,3-дион



Интермедиат 13а (120 мг, 0,188 ммоль), изоиндолин-1,3-дион (34,6 мг, 0,235 ммоль) и трифенилфосфин (64,2 мг, 0,245 ммоль) растворяли в ТГФ (1,5 мл). Затем по каплям добавляли ДИАД (0,044 мл, 0,226 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Завершение реакции контролировали с помощью ЖХМС. Реакционную смесь концентрировали, затем промывали водой, затем соевым раствором, и высушивали над сульфатом натрия, и повторно концентрировали. Целевой продукт получали в виде смеси с трифенилфосфиноксидом с получением 144,0 мг продукта.

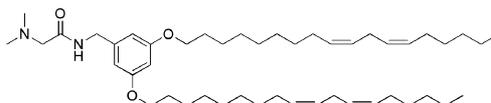
Интермедиат 76b: (3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанамин



Интермедиат 76а (144 мг, 0,188 ммоль, смесь) растворяли в EtOH (3,7 мл). Добавляли гидразин (0,030 мл, 0,940 ммоль) и реакционную смесь нагревали в течение 4 ч при 50°C. Завершение реакции контролировали с помощью ЖХМС. Реакционную смесь концентрировали и суспендировали в ДХМ (10 мл). Реакционную смесь отфильтровывали. Затем фильтрат загружали на ДХМ предварительно уравновешенную колонку BondElute SCX. Колонку промывали 3CV ДХМ и затем продукт элюировали смесью ДХМ + 5% 7N аммиака в метаноле, чтобы восстановить 57 мг целевого продукта.

ЭР-МС $m/z=636,5$ (МН⁺).

Соединение примера 76: N-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)-2-(диметиламино)ацетамид



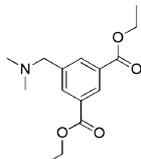
Интермедиат 76b (36,1 мг, 0,057 ммоль), 2-(диметиламино)уксусной кислоты гидрохлорид (23,77 мг, 0,170 ммоль) и НАТУ (43,2 мг, 0,114 ммоль) растворяли в ДХМ (4 мл). Затем добавляли триэтиламин (0,032 мл, 0,227 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре и проверяли с помощью ЖХМС. Реакционную смесь гасили водой (2 мл) и экстрагировали дополнительным количеством ДХМ (3x5 мл). Реакционную смесь очищали с помощью хроматографии на силикагеле 0 до 5% MeOH в ДХМ с получением 20 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,34 (уш.с, 1H), 6,43 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,40-6,33 (м, 1H), 5,54-5,30 (м, 8H), 4,40 (д, $J=6,1$ Гц, 2H), 3,94 (т, $J=6,6$ Гц, 4H), 3,01 (с, 2H), 2,80 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 2,30 (с, 6H), 2,13-1,98 (м, 8H), 1,70-1,82 (м, $J=6,6$ Гц, 4H), 1,53-1,23 (м, 41H), 0,91 (т, $J=7,1$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=721,5$ (МН⁺).

Синтез Примера 77:

Интермедиат 77а: диэтил-5-((диметиламино)метил)изофталат

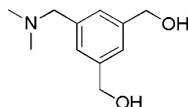


В круглодонной колбе диэтил-5-(гидроксиэтил)изофталат (15,53 г, 47,6 ммоль) и ДИПЭА (10,39

мл, 59,5 ммоль) помещали в хлороформ (40 мл). Полученную суспензию перемешивали в течение 1 ч. К полученной суспензии добавляли ангидрид толуолсульфоновой кислоты (10 г, 39,6 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. Через 20 ч реакционный раствор добавляли по каплям к диметиламину (60 мл, 120 ммоль) более ~30 мин, чтобы контролировать экзотермическую реакцию ниже температуры кипения с обратным холодильником. Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (200 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (200 мл) и водой (50 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (3×100 мл). Органические слои высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 0-10% метанола в дихлорметане) с последующей флэш-хроматографией (силикагель, 0-100% этилацетата в дихлорметане, 0-10% метанола в этилацетате) с получением 7,3 г целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 1,44 (т, $J=7,2$ Гц, 6H); 2,29 (с, 6H); 3,55 (с, 2H); 4,43 (к, $J=7,1$ Гц, 4H); 8,20 (д, $J=1,5$ Гц, 2H); 8,61 (т, $J=1,5$ Гц, 1H) м.д.

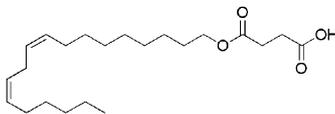
Интермедиат 77b: (5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)диметанол



В круглодонной колбе ЛАГ (2,480 г, 65,3 ммоль) загружали в тетрагидрофуран (50 мл) и реакционную смесь помещали на водяную баню с температурой окружающей среды. Интермедиат 77a (7,3 г, 26,1 ммоль) растворяли в ТГФ (10 мл) и добавляли по каплям более 10 мин к суспензии ЛАГ для поддержания экзотермической реакции ниже температуры кипения с обратным холодильником. Полученную зеленую суспензию перемешивали в течение ночи при температуре окружающей среды, после этого времени цвет изменялся до темно-серого. Реакционную смесь разбавляли до 150 мл дополнительным количеством ТГФ и гасили водой (2,5 мл) с помощью добавления по каплям для поддержания температуры ниже температуры кипения с обратным холодильником. После перемешивания при температуре окружающей среды в течение 15 мин реакционную смесь дополнительно гасили 2,5 М водным NaOH (5 мл) с помощью добавления по каплям более 5 мин. Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 5 мин и добавляли по каплям воду (7,5 мл) более 1 мин, в результате чего суспензия становилась белой. Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч, после чего соли отфильтровывали через целит с промыванием этилацетатом. Фильтрат собирали и концентрировали при пониженном давлении с получением вязкого бесцветного масла. Вещество растворяли в дихлорметане и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель 0-50% метанола в дихлорметане). Фракции продукта собирали и растворители удаляли при пониженном давлении с получением бесцветного масла. Вещество растворяли в дихлорметане (100 мл) и отфильтровывали. Промывание остатка этилацетатом приводило к дополнительному осадку. Растворители удаляли при пониженном давлении, и вещество повторно растворяли в этилацетате (100 мл), отфильтровывали и растворители удаляли при пониженном давлении с получением 4 г целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 2,21 (с, 6H); 3,37 (с, 2H); 3,77 (уш.с, 2H); 4,56 (с, 4H); 7,16 (с, 2H); 7,21 (с, 1H) м.д.

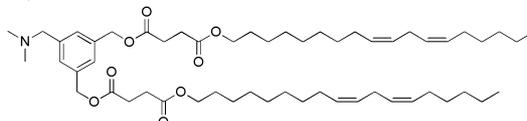
Интермедиат 77c: 4-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)-4-оксобутановая кислота



Во флаконе из боросиликатного стекла линолеиловый спирт (2 г, 7,51 ммоль) и ДМАП (0,046 г, 0,375 ммоль) перемешивали в хлороформе (7 мл). Добавляли янтарный ангидрид (1,127 г, 11,26 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды. Через 3 дня реакционную смесь непосредственно очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель, 0-10% метанола в дихлорметане), которая обеспечивала 2,73 г целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,91 (т, $J=7,0$ Гц, 3H); 1,27-1,41 (м, 17H); 1,64 (м, 2H); 2,07 (дд, $J=7,0$, 13,8 Гц, 4H); 2,62-2,73 (м, 4H); 2,79 (т, $J=6,7$ Гц, 2H); 4,11 (т, $J=6,8$ Гц, 2H); 5,32-5,44 (м, 4H) м.д.

Соединение Примера 77: O,O'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)дисукцинат



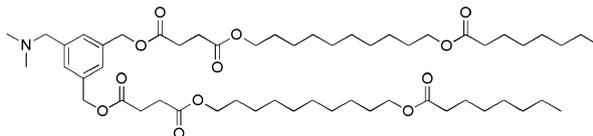
Во флаконе из боросиликатного стекла Интермедиат 77b (250 мг, 1,280 ммоль) перемешивали в ди-

хлорметане (10 мл). Последовательно добавляли ДИПЭА (0,671 мл, 3,84 ммоль), ДМАП (15,64 мг, 0,128 ммоль), EDC (736 мг, 3,84 ммоль) и вещество из Интермедиата 77с (1032 мг, 2,82 ммоль). Реакционную смесь герметично закрывали и перемешивали при температуре окружающей среды. Через 2 дня реакционную смесь непосредственно очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (силикагель, уравновешенный 1% муравьиной кислотой в дихлорметане, очищение 0-10% метанола в дихлорметане) с получением 916 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,24 (с, 0,5H, формиат); 7,55 (с, 2H); 7,41 (с, 1H); 5,43-5,31 (м, 8H); 5,20 (с, 4H); 4,16 (с, 2H); 4,08 (т, $J=6,8$ Гц, 4H); 2,79 (т, $J=6,8$ Гц, 4H); 2,75 (с, 6H); 2,75-2,66 (м, 8H); 2,06 (к, $J=6,6$ Гц, 8H); 1,66-1,59 (м, 4H); 1,40-1,27 (м, 32H); 0,90 (т, $J=6,5$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=892,7$ (МН⁺).

Пример 78: O^1, O^1 -((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(10-(октаноил-окси)децил)дисукцинат



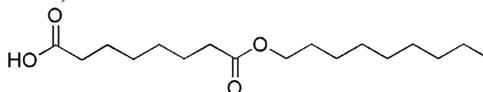
Пример 78 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 18а и примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,37 (с, 1,6H, формиат); 7,42 (с, 2H); 7,38 (с, 1H); 5,18 (с, 4H); 4,10-4,05 (м, 10H); 2,74-2,65 (м, 14H); 2,31 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 1,66-1,59 (м, 12H); 1,40-1,25 (м, 40H); 0,90 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=960,9$ (МН⁺)

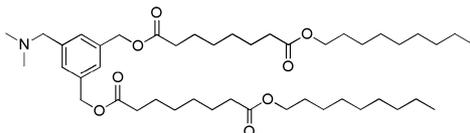
Синтез примера 79:

Интермедиат 79а: 8-(нонилокси)-8-оксооктановая кислота



В 250 мл круглодонной колбе, снабженной магнитной мешалкой, субериновую кислоту (5 г, 28,7 ммоль) и EDC (6,60 г, 34,4 ммоль) растворяли в ДХМ (150 мл). Добавляли ДИПЭА (15,04 мл, 86 ммоль) с последующим добавлением ДМАП (1,403 г, 11,48 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч перед добавлением 1-нонанола (5,01 мл, 28,7 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 1 г целевого продукта.

Соединение примера 79: O^1, O^1 -((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))-8-динонилдиоктандиоат

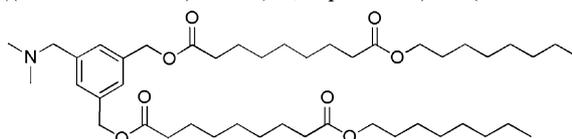


Пример 79 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,26 (с, 2H), 7,23 (с, 1H), 5,10 (с, 4H), 4,05 (т, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,44 (с, 2H), 2,36 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 2,31-2,25 (м, 10H), 1,69-1,58 (м, 12H), 1,36-1,27 (м, 32H), 0,88 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=760,4$ (МН⁺).

Пример 80: O^1, O^1 -((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))-9-диокилдинонандиоат



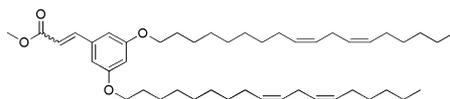
Пример 80 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 79.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,27 (с, 2H), 7,24 (с, 1H), 5,11 (с, 4H), 4,07 (т, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,44 (с, 2H), 2,37 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 2,30 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,26 (с, 6H), 1,67-1,59 (м, 12H), 1,33-1,29 (м, 32H), 0,90 (т, $J=8,0$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=760,4$ (МН⁺).

Синтез Примера 81:

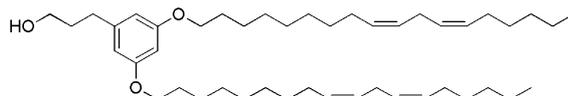
Интермедиат 81а: метил-3-(3,5-бис((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)акрилат



Триметилфосфоацетат (357 мг, 1,96 ммоль) добавляли к суспензии NaH (78 мг, 1,96 ммоль) в ТГФ (10 мл), которую перемешивали на ледяной бане. Через 10 мин исходный альдегид (1 г, 1,63 ммоль), полученный с использованием методики, аналогичной описанной в Примере 1а, растворяли в ТГФ (5 мл) и медленно добавляли. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, и затем добавляли охлажденную льдом воду (5 мл), и полученную смесь экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 1,2 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): $R_f=0,77$.

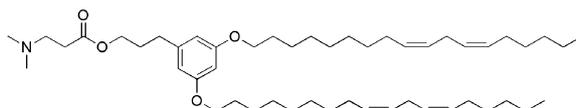
Интермедиат 81b: 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)пропан-1-ол



Интермедиат 81a (2,6 г, 3,7 ммоль) в ТГФ (75 мл) охлаждали на ледяной бане и добавляли порциями литийалюминийгидрид (300 мг, 7,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 45 мин на охлаждающей бане и затем гасили охлажденной льдом водой. Полученный продукт отфильтровывали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 2,5 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гексане): $R_f=0,21$

Соединение примера 81: 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)пропил-3-(диметиламино)пропаноат



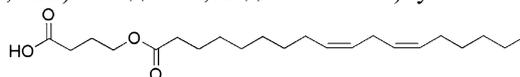
Пример 81 может быть получен из Интермедиата 81b с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для синтеза примера 13.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,34 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,32 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,27-5,47 (м, 8H), 4,16 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 3,93 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,92-3,03 (м, 2H), 2,80 (дд, $J=6,4, 6,4$ Гц, 4H), 2,61-2,69 (м, 4H), 2,58 (с, 6H), 2,07 (к, $J=6,9$ Гц, 8H), 1,91-2,03 (м, 2H), 1,71-1,85 (м, $J=7,8$ Гц, 4H), 1,42-1,52 (м, 4H), 1,23-1,41 (м, 29H), 0,91 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=764,6$ (MH⁺).

Синтез примера 82:

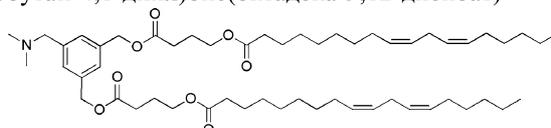
Интермедиат 82a: 4-((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диеноилокси)бутановая кислота



Исходный спирт, (9Z, 12Z)-4-гидроксибутилоктадека-9,12-диеноат (1,0 г, 2,8 ммоль), полученный с использованием методики как для Интермедиата 18а, перемешивали в ацетоне (25 мл) и охлаждали на ледяной бане. Добавляли по каплям реактив Джонса (2,27 мл, 2,5 М, 5,67 ммоль) и ледяную баню удаляли. После 1 ч перемешивания добавляли MeOH (5 мл) с последующим добавлением EtOAc (220 мл). Полученную смесь промывали смесью 1:1 вода:солевой раствор и затем соевым раствором. Полученный органический слой высушивали над сульфатом натрия и затем летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 672 мг целевого продукта.

^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3) δ 6. 178,3, 173,8, 130,2, 130,0, 128,0, 127,9, 63,0, 34,2, 31,5, 30,4, 29,6, 29,3, 29,2, 29,1, 27,2, 25,6, 24,9, 23,7, 22,5, 14,1 м.д.

Соединение примера 82: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метиле))бис(окси))бис(4-оксобутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



Интермедиат 82a (672 мг, 1,83 ммоль) перемешивали в DCE (40 мл). Добавляли EDC (501 мг, 2,6 ммоль) с последующим добавлением вещества из Интермедиата 77b (170 мг, 0,87 ммоль) в виде раствора в DCE (10 мл). Добавляли TEA (0,485 мл, 3,48 ммоль) и ДМАП (21 мг, 0,17 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 3 дней при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали при

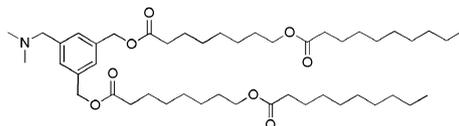
пониженном давлении и неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОAc в качестве элюента с получением 359 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,31-7,28 (м, 2H), 7,25-7,23 (м, 1H), 5,44-5,28 (м, 8H), 5,12 (с, 4H), 4,11 (т, $J=6,4$ Гц, 4H), 2,81-2,73 (м, 4H), 2,46 (т, $J=7,4$ Гц, 4H), 2,32-2,24 (м, 9H), 2,09-1,94 (м, 12H), 1,69-1,51 (м, 5H), 1,42-1,22 (м, 28H), 0,89 (т, $J=6,9$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=892,7$ (MH $^+$).

Примеры 83-88 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 82.

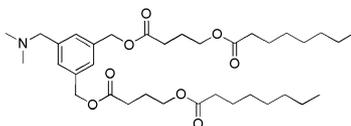
Пример 83. (((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(8-оксооктан-8,1-диил)бис(деcanoат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,28-7,25 (м, 2H), 7,24-7,21 (м, 1H), 5,10 (с, 4H), 4,05 (т, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,43 (с, 2H), 2,36 (т, $J=7,6$ Гц, 4H), 2,29 (т, $J=7,6$ Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 1,72-1,52 (м, 12H), 1,42-1,14 (м, 36H), 0,95-0,75 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=788,4$ (MH $^+$).

Пример 84. (((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(4-оксобутан-4,1-диил)диоктаноат

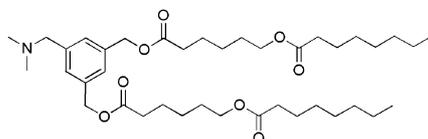


Пример 84 был охарактеризован как соль муравьиной кислоты.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,33 (с, 1H, формиат); 7,54 (с, 2H); 7,39 (с, 1H); 5,17 (с, 4H); 4,15 (с, 2H), 4,12 (т, $J=6,4$ Гц, 4H); 2,74 (с, 6H); 2,50 (т, $J=7,4$ Гц, 4H); 2,30 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 2,04-1,97 (м, 4H); 1,65-1,58 (м, 4H); 1,34-1,23 (м, 16H); 0,88 (т, $J=6,7$ Гц, 6H) м.д.

ЖХМС $m/z=620,2$ (MH $^+$).

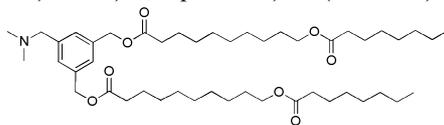
Пример 85. (((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(6-оксогексан-6,1-диил)диоктаноат



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,30 (с, 0,6H, формиат); 7,54 (с, 2H); 7,40 (с, 1H); 5,15 (с, 4H); 4,15 (с, 2H); 4,06 (т, $J=6,5$ Гц, 4H); 2,74 (с, 6H); 2,42 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 2,29 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 1,73-1,58 (м, 12H); 1,44-1,36 (м, 4H); 1,34-1,23 (м, 16H); 0,88 (т, $J=6,3$ Гц, 6H) м.д.

ЖХМС $m/z=676,2$ (MH $^+$).

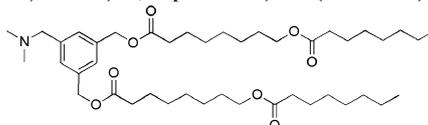
Пример 86. (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(10-(октаноилокси)decanoат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,50 (с, 2H); 7,38 (с, 1H); 5,14 (с, 4H); 4,06 (т, $J=6,8$ Гц, 4H); 3,97 (с, 2H); 2,63 (с, 6H); 2,39 (т, $J=7,7$ Гц, 4H); 2,30 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 1,69-1,59 (м, 12H); 1,38-1,25 (м, 36H); 0,89 (т, $J=7,0$, 6H) м.д.

ЖХМС $m/z=788,8$ (MH $^+$).

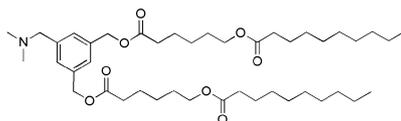
Пример 87. (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(8-(октаноилокси)октаноат)



^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,52 (с, 2H); 7,38 (с, 1H); 5,15 (с, 4H); 4,06 (т, $J=6,7$ Гц, 4H); 3,99 (с, 2H); 2,65 (с, 6H); 2,40 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 2,30 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 1,70-1,59 (м, 12H); 1,38-1,25 (м, 28H); 0,89 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЖХМС $m/z=732,8$ (MH $^+$).

Пример 88. (((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(6-оксогексан-6,1-диил)бис(decanoат)

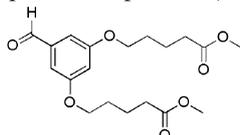


^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,54 (с, 2H); 7,38 (с, 1H); 5,15 (с, 4H); 4,07 (т, $J=6,7$ Гц, 4H); 4,02 (с, 2H); 2,66 (с, 6H); 2,42 (т, $J=7,5$ Гц, 4H); 2,30 (т, $J=7,7$ Гц, 4H); 1,74-1,58 (м, 12H); 1,45-1,37 (м, 4H); 1,35-1,22 (м, 24H); 0,89 (т, $J=7,0$ Гц, 6H) м.д.

ЖХМС $m/z=732,8$ (MH $^+$).

Синтез примера 89:

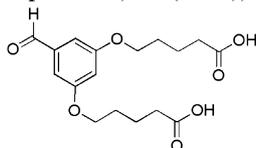
Интермедиат 89а: диметил-5,5'-((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))дипентаноат



К раствору 3,5-дигидроксибензальдегида (1,0 г, 7,24 ммоль) в ацетоне (35 мл) добавляли метил-5-бромпентаноат (3,53 г, 18,1 ммоль). Добавляли карбонат калия (3,0 г, 22 ммоль) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником на масляной бане. После нагревания в течение ночи реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 дней. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и продукт повторно суспендировали в ДХМ. Полученную смесь отфильтровывали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента с получением 824 мг целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,89 (с, 1H), 6,99 (с, 2H), 6,68 (с, 1H), 4,01 (м, 4H), 3,68 (с, 6H), 2,41 (м, 4H), 1,84 (м, 8H) м.д.

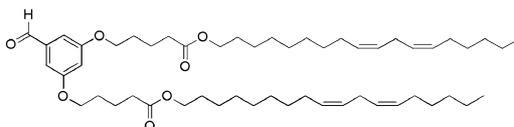
Интермедиат 89b: 5,5'-((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))дипентановая кислота



Интермедиат 89а (824 мг, 2,25 ммоль) перемешивали в ЕтОН (15 мл). Добавляли гидроксид калия (505 мг, 9,0 ммоль) и воду (5 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем продукт разбавляли ЕтОАс (100 мл) и промывали 1 М HCl (2×50 мл). Полученную органическую фазу высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением 710 мг целевого продукта.

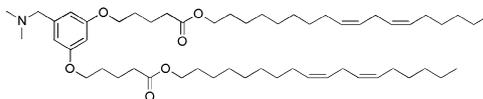
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,90 (с, 1H), 7,03 (с, 2H), 6,81 (с, 1H), 4,02 (м, 4H), 2,29 (м, 4H), 1,6-1,8 (м, 8H) м.д.

Интермедиат 89с: ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5,5'-((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))дипентаноат



Интермедиат 89b (710 мг, 2,1 ммоль) перемешивали в ДХМ (20 мл). Линолеиловый спирт (1,40 г, 5,25 ммоль) добавляли вместе с ДМАП (64 мг, 0,52 ммоль) и моногидратом паратолюлсульфоновой кислоты (100 мг, 0,52 ммоль). Затем добавляли EDC (1,0 г, 5,25 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 48 ч. Продукт очищали непосредственно с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/ЕтОАс в качестве элюента с получением 1,32 г продукта, содержащего целевой продукт и приблизительно 30% линолеилового спирта. Продукт использовали без дополнительной очистки.

Соединение примера 89: ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5,5'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))дипентаноат

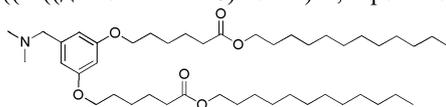


Пример 89 может быть получен из Интермедиата 89с с использованием способов, аналогичных тем, которые описаны в примере 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,46 (д, $J=2,20$ Гц, 2H), 6,33 (т, $J=2,30$ Гц, 1H), 5,27-5,45 (м, 8H), 4,07 (т, $J=6,80$ Гц, 4H), 3,88-4,01 (м, 4H), 3,34 (с, 2H), 2,78 (т, $J=6,65$ Гц, 4H), 2,33-2,44 (м, 4H), 2,24 (с, 6H), 1,98-2,13 (м, 8H), 1,75-1,88 (м, 8H), 1,55-1,70 (м, 4H), 1,22-1,43 (м, 32H), 0,90 (т, $J=6,90$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=864,5$ (МН⁺).

Пример 90. Дидодецил-6,6'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))дигексаноат



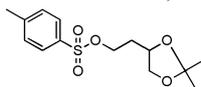
Пример 90 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 89.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,48 (уш.с, 2H) 6,35 (уш.с, 1H) 4,00-4,11 (м, 4H) 3,94 (т, J=6,44 Гц, 4H) 2,34 (т, J=7,45 Гц, 5H) 2,27 (уш.с, 3H) 1,57-1,85 (м, 12H) 1,40-1,57 (м, 4H) 1,20-1,39 (м, 40H) 0,80-0,98 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=732,1$ (МН⁺).

Синтез примера 91:

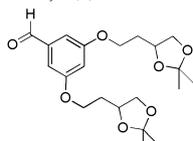
Интермедиат 91a: 2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этил-4-метилбензолсульфонат



К суспензии 2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этанола (10 г, 68,4 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли пиридин (25 мл). Добавляли ангидрид толуолсульфоновой кислоты (26,8 г, 82 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 8,92 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,82-7,77 (м, 2H), 7,38-7,32 (м, 2H), 4,21-4,07 (м, 3H), 4,05-3,99 (м, 1H), 3,55-3,49 (м, 1H), 2,45 (с, 3H), 1,97-1,83 (м, 2H), 1,34 (с, 3H), 1,29 (с, 3H) м.д.

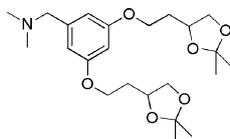
Интермедиат 91b: 3,5-бис(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этокси)бензальдегид



В колбу, содержащую Интермедиат 91a (8,92 г, 29,7 ммоль), добавляли 3,5-дигидроксибензальдегид (1,9 г, 13,8 ммоль) и ДМФ (50 мл). Добавляли карбонат калия (5,7 г, 41,3 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 80°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали и добавляли воду. Полученный продукт экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 1,9 г целевого продукта.

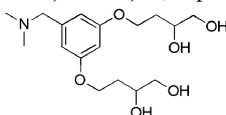
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,89 (с, 1H), 7,02-6,99 (м, 2H), 6,72-6,68 (м, 1H), 4,36-4,26 (м, 2H), 4,18-4,07 (м, 6H), 3,68-3,62 (м, 2H), 2,10-2,02 (м, 4H), 1,43 (с, 3H), 1,37 (с, 3H) м.д.

Интермедиат 91c: 1-(3,5-бис(2-(2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)этокси)фенил)-N,N-диметилметанамин



Интермедиат 91b (1,4 г, 3,55 ммоль) перемешивали в DCE (35 мл). Добавляли диметиламин (7,10 мл, 2M в ТГФ, 14,2 ммоль) с последующим добавлением уксусной кислоты (0,20 мл, 3,6 ммоль) и затем триэтоксисборгидрида натрия (1,88 г, 8,87 ммоль). Реакционную смесь закрывали и оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором бикарбоната натрия и полученную смесь экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении до 1,34 г неочищенного продукта, который использовали без дополнительной очистки.

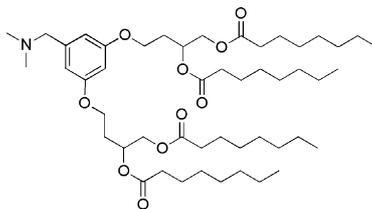
Интермедиат 91d: 4,4'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-1,2-диол)



Интермедиат 91c (1,34 г, 3,16 ммоль) перемешивали в MeOH (20 мл). Добавляли концентрированный водный раствор HCl (0,19 мл, 6,33 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и продукт использовали без дополнительной очистки.

ЭР-МС $m/z=344,2$ (МН⁺).

Соединение примера 91: 4,4'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-1,2-диил)тетраоктаноат



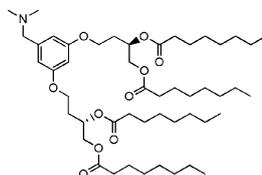
Интермедиат 91d (1,0 г, 2,63 ммоль) перемешивали в ДМФ (6 мл) до полного растворения. Добавляли ДХМ (6 мл) с последующим добавлением пиридина (1,7 мл, 21 ммоль) и ДМАП (0,096 мг, 0,79 ммоль). К перемешиваемой реакционной смеси медленно добавляли октаноилхлорид (2,14 г, 13,16 ммоль) и полученную смесь перемешивали в течение 3 дней при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли водой и насыщенным водным раствором бикарбоната натрия и полученную смесь экстрагировали ДХМ и EtOAc. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Продукт очищали с использованием силикагеля, который был предварительно промыт 1% уксусной кислотой (по объему) в ДХМ. Соединение элюировали смесью EtOAc/гептан и фракции, содержащие продукт, промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Полученные органические слои высушивали над сульфатом натрия и затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный продукт очищали второй раз на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 1,65 г целевого продукта

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,59 (уш.с, 2H) 6,36 (уш.с, 1H) 5,25-5,37 (м, 2H) 4,35 (дд, J=12,05, 3,26 Гц, 2H) 4,12 (дд, J=11,92, 6,15 Гц, 2H) 3,91-4,09 (м, 4H), 3,58 (уш.с, 2H), 2,25-2,55 (м, 14H) 2,01-2,13 (м, 4H) 1,49-1,70 (м, 8H) 1,13-1,39 (м, 32H) 0,77-0,99 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=848,6$ (МН⁺).

Примеры 92-94 могут быть получены с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 91.

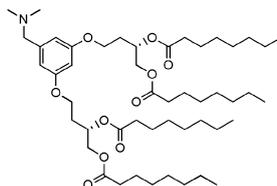
Пример 92. (R)-4-(3-((S)-3,4-бис(Октаноилокси)бутокси)-5-((диметиламино)метил)фенокси)бутан-1,2-диилдиооктаноат



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 0,74-0,97 (м, 12H) 1,14-1,40 (м, 32H) 1,51-1,71 (м, 8H) 2,07 (к, J=5, 94 Гц, 4H) 2,21-2,46 (м, 14H) 3,44 (с, 2H) 3,89-4,07 (м, 4H) 4,12 (дд, J=11,92, 6,15 Гц, 2H) 4,34 (дд, J=12,05, 3,26 Гц, 2H), 5,20-5,40 (м, 2H) 6,32 (т, J=2,26 Гц, 1H) 6,49 (д, J=2,01 Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=848,3$ (МН⁺).

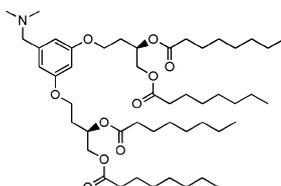
Пример 93. (S)-4-(3-((S)-3,4-бис(Октаноилокси)бутокси)-5-((диметиламино)метил)фенокси)бутан-1,2-диилдиооктаноат



¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 0,87 (м, 12H) 1,14-1,38 (м, 32H) 1,48-1,72 (м, 8H) 2,07 (к, J=6,19 Гц, 4H) 2,22-2,41 (м, 14H) 3,44 (с, 2H), 3,87-4,07 (м, 4H) 4,12 (дд, J=11,92, 6,15 Гц, 2H) 4,34 (дд, J=12,05, 3,26 Гц, 2H) 5,20-5,40 (м, 2H) 6,32 (т, J=2,26 Гц, 1H) 6,49 (д, J=2,01 Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=848,3$ (МН⁺).

Пример 94. (R)-4-(3-((R)-3,4-бис(Октаноилокси)бутокси)-5-((диметиламино)метил)фенокси)бутан-1,2-диилдиооктаноат



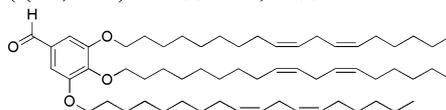
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 0,87 (м, 12H) 1,12-1,40 (м, 32H) 1,47-1,71 (м, 8H) 2,07 (к, J=6,44 Гц, 4H)

2,18-2,38 (м, 14H) 3,47 (с, 2H), 3,85-4,06 (м, 4H) 4,12 (дд, J=11,92, 6,15 Гц, 2H) 4,34 (дд, J=11,92, 3,39 Гц, 2H) 5,20-5,40 (м, 2H) 6,33 (т, J=2,26 Гц, 1H) 6,49 (д, J=2,01 Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС m/z=848,3 (MH⁺).

Синтез Примера 95:

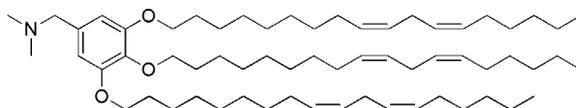
Интермедиат 95а: 3,4,5-трис((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензальдегид



3,4,5-тригидроксибензальдегид (600 мг, 3,89 ммоль), LinOMs (4427 мг, 12,85 ммоль) и карбонат калия (2690 мг, 19,47 ммоль) перемешивали в ДМФ (30 мл) и нагревали до 80°C в течение ночи. Реакционную смесь выливали в воду со льдом (100 мл) и экстрагировали диэтиловым эфиром (100 мл×2). Органическую фазу собирали и высушивали над сульфатом натрия и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 2,76 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,84 (с, 1H), 7,72 (дд, J=5,77, 3,26 Гц, 1H), 7,50-7,58 (м, 1H), 7,09 (с, 2H), 5,22-5,47 (м, 13H), 4,23 (т, J=6,02 Гц, 1H), 3,94-4,12 (м, 7H), 2,78 (т, J=6,40 Гц, 7H), 2,06 (к, J=6,69 Гц, 13H), 1,78-1,91 (м, 5H), 1,73-1,78 (м, 2H), 1,70 (дд, J=11,42, 5,40 Гц, 1H), 1,58 (с, 1H), 1,42-1,55 (м, 8H) 1,22-1,42 (м, 51H) 0,82-0,98 (м, 13H) м.д.

Соединение примера 95: N,N-диметил-1-(3,4,5-трис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанамин



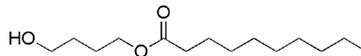
Пример 95 может быть получен из Интермедиата 95а с использованием условий реакции, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 33.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,50 (с, 2H), 5,44-5,29 (м, 12H), 4,00-3,91 (м, 6H), 3,32 (с, 2H), 2,81-2,75 (м, 6H), 2,24 (с, 6H), 2,10-2,01 (м, 12H), 1,85-1,65 (м, 8H), 1,52-1,24 (м, 50H), 0,92-0,86 (м, 9H) м.д.

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 152,9, 137,5, 134,1, 130,2, 130,1, 130,1, 128,0, 127,9, 107,3, 73,3, 69,0, 64,7, 45,4, 31,3, 30,3, 29,7, 29,7, 29,6, 29,6, 29,5, 29,4, 29,4, 29,3, 29,3, 27,3, 27,2, 27,2, 26,1, 25,6, 22,6, 14,1 м.д.

Синтез примера 96:

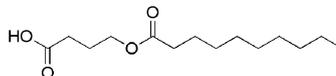
Интермедиат 96а: 4-гидроксибутилдеканат



К раствору бутандиола (3,54 г, 39,3 ммоль) в ДХМ (80 мл) добавляли пиридин (1,65 мл, 20,4 ммоль) и ДМАП (0,38 г, 3,2 ммоль). Добавляли деканоилхлорид (3,0 г, 15,7 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 3,3 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,1 (м, 2H), 3,7 (м, 2H), 2,3 (м, 2H), 1,7 (м, 2H), 1,6 (м, 4H), 1,3 (м, 12H), 0,9 (м, 3H) м.д.

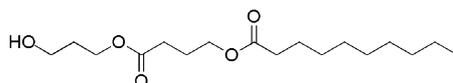
Интермедиат 96b: 4-(деканоиокси)бутановая кислота



Интермедиат 96b может быть получен из Интермедиата 96а с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 84а.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,1 (м, 2H), 2,5 (м, 2H), 2,3 (м, 2H), 2,0 (м, 2H), 1,6 (м, 2H), 1,3 (м, 12H), 0,9 (м, 3H) м.д.

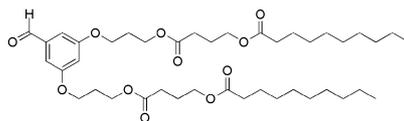
Интермедиат 96с: 4-(3-гидроксипропокси)-4-оксобутилдеканат



Интермедиат 96с может быть получен из Интермедиата 96b и 1,3-пропандиола с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения Интермедиата 18а.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 4,3 (м, 2H), 4,1 (м, 2H), 3,7 (м, 2H), 2,4 (м, 2H), 2,3 (м, 2H), 2,0 (м, 2H), 1,9 (м, 3H), 1,6 (м, 2H), 1,3 (м, 12H), 0,9 (м, 3H) м.д.

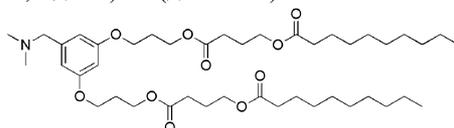
Интермедиат 96d: (((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(окси))бис(4-оксобутан-4,1-диил)бис(деканат)



Интермедиат 96d может быть получен из Интермедиата 96с с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 18b.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9, 9 (с, 1H), 7,0 (с, 2H), 6,7 (с, 1H), 4,3 (м, 4H), 4,1 (м, 8H), 2,4 (м, 4H), 2,3 (м, 4H), 2,2 (м, 4H), 2,0 (м, 4H), 1,6 (м, 4H), 1,3 (м, 24H), 0,9 (м, 6H) м.д.

Соединение примера 96: (((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил)бис(окси))бис(4-оксобутан-4,1-диил)бис(деcanoат)



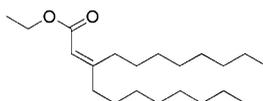
Пример 96 может быть получен из Интермедиата 96d с использованием условий реакции, аналогичных тем, которые применяются в синтезе примера 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,81-0,92 (м, 6H) 1,18-1,37 (м, 24H) 1,53-1,67 (м, 4H) 1,96 (кв, $J=6,90$ Гц, 4H) 2,09 (кв, $J=6,27$ Гц, 4H) 2,23 (с, 6H) 2,28 (т, $J=7,53$ Гц, 4H) 2,40 (т, $J=7,53$ Гц, 4H) 3,33 (с, 2H), 4,02 (т, $J=6,02$ Гц, 4H) 4,09 (т, $J=6,00$ Гц, 4H) 4,26 (т, $J=6,27$ Гц, 4H) 6,33 (т, $J=2,26$ Гц, 1H) 6,47 (д, $J=2,26$ Дж Гц, 2H) м.д.

ЭР-МС $m/z=764,5$ (MH $^+$).

Синтез примера 97:

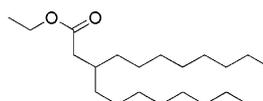
Интермедиат 97a: этил-3-октилундец-2-еноат



Раствор 9-гептадеканола (15 г, 59 ммоль) и триэтилфосфоноацетата (13,2 г, 59 ммоль) перемешивали в ТГФ (100 мл). К данной реакционной смеси добавляли NaOEt (26,4 мл, 21% в EtOH, 70,7 ммоль) и полученный раствор нагревали с обратным холодильником в течение 48 ч. Реакционную смесь подкисляли 1М HCl и затем разбавляли EtOAc. Органический слой собирали и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия. Полученный органический продукт высушивали над сульфатом натрия, и летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента, обеспечивая 11,7 г целевого продукта.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 5,62 (с, 1H), 4,01-4,26 (м, 2H) 2,49-2,68 (м, 2H) 2,13 (м, 2H) 1,44 (дд, $J=7,33$, 4,80 Гц, 4H) 1,17-1,35 (м, 23H) 0,83-0,98 (м, 6H) м.д.

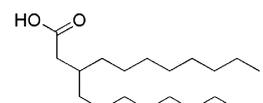
Интермедиат 97b: этил-3-октилундеcanoат



Интермедиат 97a (11,75 г, 36,2 ммоль) перемешивали в ДХМ (16,5 мл) и MeOH (165 мл). Добавляли Pd/C (3,85 г, 10% Pd) и реакционную колбу оснащали баллоном, наполненным водородом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Реакционную смесь дегазировали азотом и отфильтровывали через целит с промыванием ДХМ и MeOH. Фильтрат собирали и летучие вещества удаляли при пониженном давлении с получением 10,6 г продукта, который использовали без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,13 (к, $J=7,16$ Гц, 2H) 2,39 (т, $J=7,45$ Гц, 2H) 2,22 (д, $J=6,82$ Гц, 2H) 1,84 (уш.с, 1H) 1,56 (т, $J=7,20$ Гц, 2H) 1,19-1,36 (м, 27H) 0,81-0,95 (м, 6H) м.д.

Интермедиат 97с: 3-октилундекановая кислота

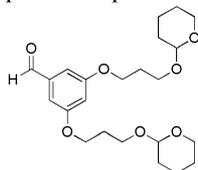


Интермедиат 97b (10,6 г, 32,5 ммоль) перемешивали с NaOH (9,74 мл, 10 М, 97,4 ммоль) в MeOH (100 мл) и ДХМ (10 мл). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Водную HCl добавляли для нейтрализации раствора, летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный продукт возвращали в ДХМ. Органические слои промывали водным насыщенным раствором бикарбоната натрия и полученный водный слой экстрагировали ДХМ. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом магния, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc

в качестве элюента. Полученный продукт переносили в ДХМ и загружали в NH₂-функционализированную колонку. Колонку промывали ДХМ и затем ДХМ/MeOH. Продукт элюировали подкисленным метанолом, и элюент концентрировали при пониженном давлении. Остаток помещали в ДХМ и промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, высушивали над сульфатом магния, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении с получением 6,5 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 2,28 (д, J=7,07 Гц, 2H) 1,86 (уш.с, 1H) 1,15-1,44 (м, 28H) 0,82-0,97 (м, 6H) м.д.

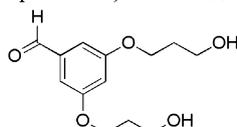
Интермедиат 97d: 3,5-бис(3-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)пропокси)бензальдегид



Раствор 3,5-дигидроксибензальдегида (3 г, 22 ммоль) и 2-(3-бромпропокси)тетрагидро-2H-пирана (8,11 мл, 47,8 ммоль) перемешивали в ДМФ (100 мл). Добавляли карбонат калия (15 г, 109 ммоль) и реакцию смесь нагревали до 80°C в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли солевым раствором и EtOAc с последующим добавлением насыщенного водного раствора бикарбоната натрия. Полученную смесь отфильтровывали, органический слой собирали, высушивали над сульфатом натрия и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 3,8 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,88 (с, 1H) 6,84-7,12 (м, 2H) 6,68 (т, J=2,40 Гц, 1H) 4,52-4,76 (м, 1H) 4,13 (т, J=6,32 Гц, 2H) 3,78-4,05 (м, 2H) 3,44-3,73 (м, 2H) 1,97-2,27 (м, 2H) 1,79-1,92 (м, 1H) 1,67-1,79 (м, 1H) 1,41-1,67 (м, 4H) м.д.

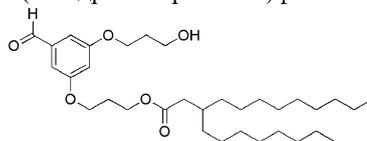
Интермедиат 97e: 3,5-бис(3-гидроксипропокси)бензальдегид



Интермедиат 97d (2,6 г, 6,15 ммоль) перемешивали в MeOH (40 мл), ТГФ (40 мл) и HCl (24,6 мл, 1 N в воде, 24,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия и реакцию смесь концентрировали при пониженном давлении. Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном, и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, и полученный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 1,4 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,90 (с, 1H) 7,03 (д, J=2,27 Гц, 2H) 6,73 (т, J=2,27 Гц, 1H) 4,17 (т, J=6,06 Гц, 4H) 3,88 (т, J=5,81 Гц, 4H) 1,98-2,20 (м, 4H) м.д.

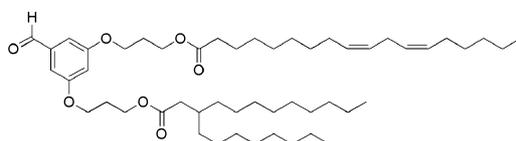
Интермедиат 97f: 3-(3-формил-5-(3-гидроксипропокси)феноксипропил-3-октилдодеканойл)пропил-3-октилдодеканойл



Интермедиат 97e (1,0 г, 3,93 ммоль), кислоту из Интермедиата 97с (1,41 г, 4,72 ммоль), EDC (0,90 г, 4,7 ммоль), ДИЭА (2,06 мл, 11,8 ммоль) и ДМАП (0,48 г, 3,93 ммоль) растворяли в DCE (20 мл) и полученный раствор делили на две порции. Каждую часть нагревали в микроволновом реакторе в течение 20 мин при 70°C. Полученные смеси объединяли и очищали непосредственно с помощью хроматографии на силикагеле с использованием смеси гептан/EtOAc в качестве элюента с получением 680 мг целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,90 (с, 1H) 7,02 (дд, J=7,83, 2,27, 1,26 Гц, 1H) 6,72 (т, J=2,27 Гц, 1H) 4,22-4,35 (м, 2H) 4,13-4,22 (м, 2H) 4,09 (т, J=6,06 Гц, 1H) 3,88 (к, J=5,81 Гц, 2H) 2,25 (д, J=6,82 Гц, 2H) 1,99-2,19 (м, 4H) 1,84 (уш.с, 1H) 1,14-1,38 (м, 30H) 0,89 (тд, J=6,95, 3,54 Гц, 6H) м.д.

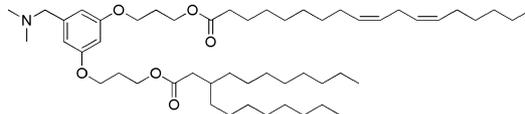
Интермедиат 97g: (9Z,12Z)-3-(3-формил-5-(3-((3-октилдодеканойл)окси)пропокси)феноксипропил-октадека-9, 12-диеноат



Интермедиат 97g может быть получен из Интермедиата 97f с использованием условий, применяемых для получения Интермедиата 18a.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,90 (с, 1H) 7,01 (д, $J=2,27$ Гц, 2H) 6,70 (т, $J=2,27$ Гц, 1H) 5,28-5,44 (м, 4H) 4,27 (т, $J=6,32$ Гц, 4H) 4,02-4,17 (м, 4H) 2,78 (т, $J=6,44$ Гц, 2H) 2,32 (т, $J=7,45$ Гц, 2H) 2,25 (д, $J=6,82$ Гц, 2H) 2,14 (кв, $J=6,19$ Гц, 4H) 1,98-2,09 (м, 4H) 1,84 (уш.с, 1H) 1,58-1,70 (м, 2H) 1,18-1,41 (м, 42H) 0,77-0,99 (м, 9H) м.д.

Соединение примера 97: (9Z,12Z)-3-(3-((диметиламино)метил)-5-(3-((3-октилундеcanoил)окси)пропокси)фенокси)пропилотдадека-9,12-диеноат



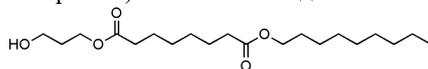
Пример 97 может быть получен из Интермедиата 97g с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 39.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49 (уш.с, 2H) 6,27-6,43 (м, 1H) 5,29-5,46 (м, 4H) 4,26 (т, $J=6,32$ Гц, 4H) 4,03 (т, $J=6,19$ Гц, 4H) 3,36 (уш.с, 2H) 2,78 (т, $J=6,57$ Гц, 2H) 2,18-2,39 (м, 10H) 1,96-2,18 (м, 8H) 1,84 (уш.с, 1H) 1,48-1,73 (м, 4H) 1,17-1,47 (м, 40H) 0,74-1,03 (м, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=826,3$ (MH $^+$).

Синтез примера 98:

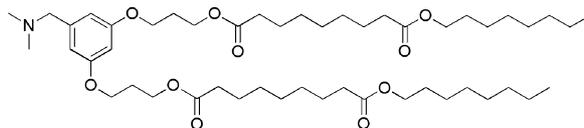
Интермедиат 98a: 1-(3-гидроксипропил)-8-нонилоткандиоат



Интермедиат 98a может быть получен из Интермедиата 79a с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения Интермедиата 18a.

ТСХ (силикагель, 5% MeOH в ДХМ): $R_f=0,51$.

Соединение примера 98: O^{H} , O^{I} -(((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил))-9-диоктилдинонандиоат



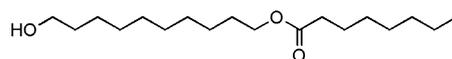
Пример 98 может быть получен из Интермедиата 98a с использованием условий, аналогичных тем, которые описаны для получения примера 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,47 (с, 2H), 6,34 (с, 1H), 4,25 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 4,07-4,01 (м, 8H), 3,34 (с, 2H), 2,29 (к, $J=7,2$ Гц, 8H), 2,24 (с, 6H), 2,09 (кв, $J=6,2$ Гц, 4H), 1,65-1,58 (м, 12H), 1,31-1,28 (м, 32H), 0,88 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=848,5$ (MH $^+$).

Синтез примера 99:

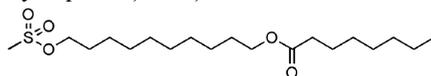
Интермедиат 99a: 10-гидроксидецилоктаноат



Получают из 1,10-декандиола и октаноилхлорида с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения Интермедиата 96a.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,06 (т, $J=6,65$ Гц, 2H), 3,64 (т, $J=6,65$ Гц, 2H), 2,29 (т, $J=7,65$ Гц, 2H), 1,50-1,70 (м, 5H), 1,18-1,41 (м, 19H), 0,88 (т, $J=7,28$ Гц, 3H) м.д.

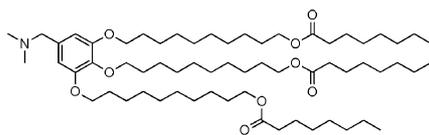
Интермедиат 99b: 10-((метилсульфонил)окси)децилоктаноат



Смесь Интермедиата 99a (3,34 г, 11,1 ммоль) и триэтиламина (6,2 мл, 44 ммоль) в ДХМ (40 мл) перемешивали на ледяной бане и добавляли MsCl (1,04 мл, 13,3 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Затем реакционную смесь выливали в воду со льдом. Полученную органическую фазу собирали, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением 4,2 г продукта, который использовали без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,23 (т, $J=6,57$ Гц, 1H), 4,06 (т, $J=6,82$ Гц, 2H), 3,15 (с, 1H), 3,01 (с, 1H), 2,30 (т, $J=7,58$ Гц, 2H), 1,75 (дд, $J=8,08, 6,82$ Гц, 1H), 1,62 (т, $J=6,95$ Гц, 5H), 1,40 (т, $J=7,33$ Гц, 4H), 1,18-1,34 (м, 17H), 0,89 (т, $J=7,10$ Гц, 3H) м.д.

Соединение примера 99: ((5-((диметиламино)метил)бензол-1,2,3-триил)трис(окси))трис(декан-10,1-диил)триоктаноат

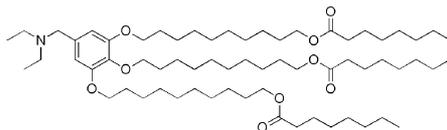


Конечное соединение затем получали из Интермедиата 99b, следуя методикам, аналогичным тем, которые применяются для получения Интермедиата 97d и примера 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51 (с, 2H), 4,03-4,12 (м, 6H), 3,89-4,03 (м, 6H), 3,33 (с, 2H), 2,31 (т, $J=7,53$ Гц, 6H), 2,25 (с, 6H), 1,69-1,87 (м, 6H), 1,55-1,69 (м, 12H), 1,42-1,55 (м, 6H), 1,21-1,42 (м, 54H), 0,82-0,96 (м, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=1030,7$ (МН+).

Пример 100. ((5-((Диэтиламино)метил)бензол-1,2,3-триил)трис(окси))трис(декан-10,1-диил)три-октаноат

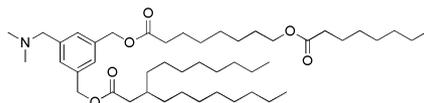


Пример 100 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 99.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,55 (с, 2H), 4,02-4,12 (м, 6H), 3,90-4,02 (м, 6H), 3,48 (с, 2H), 2,53 (к, $J=7,11$ Гц, 4H), 2,31 (т, $J=7,53$ Гц, 6H), 1,69-1,87 (м, 6H), 1,57-1,69 (м, 12H), 1,41-1,54 (м, 6H), 1,23-1,41 (м, 54H), 1,05 (т, $J=7,03$ Гц, 6H), 0,84-0,96 (м, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=1058,7$ (МН+).

Пример 101. 3-((Диметиламино)метил)-5-(((8-(октаноилокси)октаноил)окси)метил)бензил-3-октил-ундеcanoат



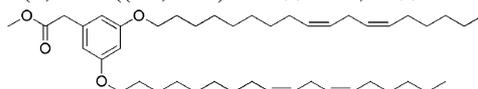
Пример 101 может быть получен из Интермедиата 77b, кислоты, полученной подобно методике Интермедиата 79a, и Интермедиата 97с с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,27 (с, 2H), 7,24 (с, 1H), 5,11 (с, 4H), 4,06 (т, $J=6,8$ Гц, 2H), 3,44 (с, 2H), 2,37 (т, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,32-2,29 (м, 4H), 2,26 (с, 6H), 1,88 (м, 1H), 1,70-1,59 (м, 6H), 1,35-1,26 (м, 42H), 0,89 (т, $J=6,8$ Гц, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=744,4$ (МН+).

Синтез примера 102:

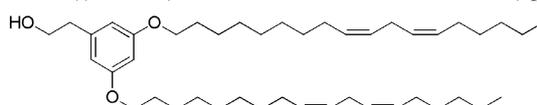
Интермедиат 102a: метил-2-(3,5-бис((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)ацетат



К суспензии карбоната калия (12,1 г, 88 ммоль) в диметилформамиде (100 мл) добавляли метил-2-(3,5-дигидроксифенил)ацетат (4,0 г, 22 ммоль) и линолеилмезилат (16,6 г, 48 ммоль). Реакционную смесь нагревали на бане при 100°C в течение 4 ч, затем оставляли охлаждаться до температуры окружающей среды. Добавляли воду (100 мл) и реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и н-гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=680$ (МН+).

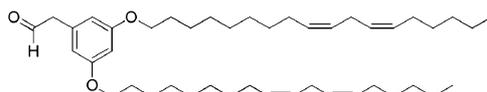
Интермедиат 102b: 2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)этанол



К суспензии литийалюминийгидрида (671 мг, 17,6 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл) медленно добавляли раствор Интермедиата 104a (6 г, 8,8 ммоль) в ТГФ (38 мл). Затем реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 ч, после этого времени реакционную смесь охлаждали на бане при 0°C и гасили водой (5 мл) и этилацетатом (5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, затем отфильтровывали через целит. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=652$ (МН+).

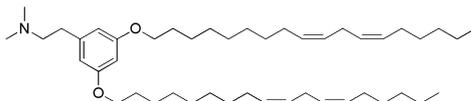
Интермедиат 102с: 2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)ацетальдегид



К раствору Интермедиата 102b (5,3 г, 8,1 ммоль) в дихлорметане (86 мл) добавляли периодинан Десса-Мартина (10,3 г, 24 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч, после этого времени реакционную смесь гасили с помощью добавления водного раствора бикарбоната натрия. Реакционную смесь экстрагировали дихлорметаном, и объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и н-гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=649$ (MH^+).

Соединение примера 102: 2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметиламин



К раствору Интермедиата 102с (2,5 г, 3,8 ммоль) в этаноле (10 мл) и тетрагидрофуране (10 мл) добавляли гидрохлорид диметиламина (627 мг, 5,7 ммоль) с последующим добавлением триэтиламина (1,1 мл, 7,7 ммоль) и изопропоксида титана (IV) (2,1 г, 7,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды, после чего добавляли боргидрид натрия (216 мг, 5,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 10 ч.

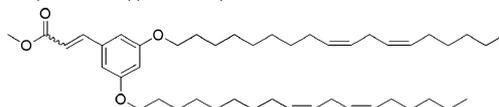
Реакционную смесь гасили с помощью медленного добавления воды (2 мл) и полученную смесь отфильтровывали через целит. Остаток промывали тетрагидрофураном, и объединенные фильтраты концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле, используя метанол в дихлорметане с 0,1% гидроксида аммония в качестве элюента, с получением целевого соединения.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 6,36 (д, $J=2,3$ Гц, 2H); 6,32 (т, $J=2,0$ Гц, 1H); 5,44-5,32 (м, 8H), 3,93 (т, $J=6,5$ Гц, 4H); 2,81-2,74 (м, 6H); 2,62-2,58 (м, 2H); 2,36 (с, 6H); 2,08 (т, $J=6,9$ Гц, 4H); 2,06 (т, $J=6,9$ Гц, 4H); 1,78 (кв, $J=7,0$ Гц, 4H); 1,48-1,27 (м, 32H), 0,90 (т, $J=7,0$ Гц, 6H).

ЭР-МС $m/z=678,7$ (MH^+).

Синтез примера 103:

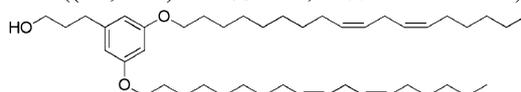
Интермедиат 103а: метил-3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)акрилат



К суспензии гидрида натрия (60% дисперсия, 18 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл), охлаждаемой на бане при 0°C, добавляли триметилфосфоацетат (1,0 г, 18 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут, затем медленно добавляли раствор альдегида, полученного с использованием условий, аналогичных тем, которые указаны в примере 1а, (7,5 г, 12 ммоль) в тетрагидрофуране (25 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение дополнительного 1 ч, затем добавляли воду со льдом (5 мл). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (3×100 мл), объединенные органические фазы высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и н-гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гексане): $R_f=0,77$.

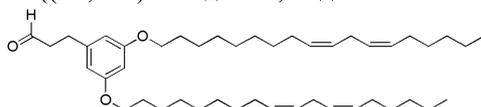
Интермедиат 103b: 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)пропан-1-ол



К раствору Интермедиата 103а (7,7 г, 11,1 ммоль) в ТГФ (100 мл), охлаждаемому на бане при 0°C, добавляли литийалюминийгидрид (927 мг, 24 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 45 мин, затем медленно добавляли воду со льдом. Полученную смесь отфильтровывали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и н-гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гексане): $R_f=0,21$.

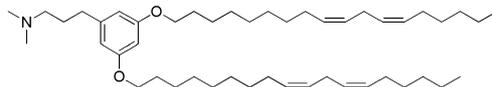
Интермедиат 103с: 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)пропаналь



Раствор Интермедиата 105b (2,5 г, 3,8 ммоль) в тетрагидрофуране (40 мл) добавляли ко второму раствору 2-иодоксибензойной кислоты (2,3 г, 8,3 ммоль) в ДМСО (8 мл). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли эфиром и отфильтровывали через целит. Добавляли воду и реакционную смесь экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические слои высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гексане): $R_f=0,75$.

Соединение примера 103: 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилпропан-1-амин



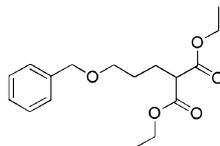
К раствору Интермедиата 103с (2,0 г, 3,0 ммоль) в этаноле (40 мл) добавляли гидрохлорид диметиламина (742 мг, 9,0 ммоль), триэтиламин (913 мг, 9,0 ммоль) и изопропоксид титана (IV) (2,5 г, 9,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре амина в течение 10 ч, после чего добавляли боргидрид натрия (172 мг, 4,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 10 ч, после чего добавляли воду (2 мл). Реакционную смесь отфильтровывали через целит и остаток промывали тетрагидрофураном. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием элюента метанола и дихлорметана, модифицированного 0,1% гидроксидом аммония, с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,26 (д, $J=2,0$ Гц, 2H), 6,21 (т, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,22-5,35 (м, 8H), 3,84 (т, $J=6,7$ Гц, 4H), 2,71 (т, $J=6,3$ Гц, 4H), 2,49 (т, $J=7,8$ Гц, 2H), 2,22 (т, $J=7,3$ Гц, 2H), 2,15 (с, 6H), 1,98 (к, $J=6,9$ Гц, 8H), 1,65-1,74 (м, $J=7,0$ Гц, 6H), 1,33-1,42 (м, 5H), 1,15-1,33 (м, 33H), 0,82 (т, $J=6,8$ Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=692,5$ (MH^+).

Синтез примера 104:

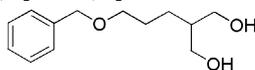
Интермедиат 104а: диэтил-2-(3-(бензилокси)пропил)малонат



К суспензии гидроксида натрия (1,05 г, 26 ммоль) в тетрагидрофуране (40 мл) добавляли диэтилмалонат (7 г, 44 ммоль). После прекращения выделения газа добавляли ((3-бромпропокси)метил)бензол (5 г, 22 ммоль). Реакционную смесь нагревали на бане при 90°C в течение 6 ч, затем охлаждали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (100 мл) и промывали водой (100 мл). Водный слой отделяли и экстрагировали диэтиловым эфиром (2×100 мл). Объединенные органические слои высушивали над сульфатом магния и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,31-7,38 (м, 4H), 7,25-7,31 (м, 1H), 4,50 (с, 2H), 4,10-4,27 (м, 7H), 3,50 (т, $J=6,3$ Гц, 2H), 3,32-3,41 (м, 2H), 1,93-2,08 (м, 2H), 1,60-1,73 (м, 2H), 1,20-1,38 (м, 10H) м.д.

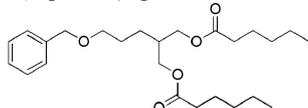
Интермедиат 104b: 2-(3-(бензилокси)пропил)пропан-1,3-диол



К раствору Интермедиата 104а (7 г, 23 ммоль) в тетрагидрофуране (100 мл), охлаждаемому на бане при 0°C , добавляли литийалюминийгидрид (2,58 г, 68 ммоль). Охлаждающую баню удаляли и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. В реакционную смесь добавляли лед и смесь экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,27-7,39 (м, 5H), 4,51 (с, 2H), 3,75-3,88 (м, 2H), 3,60-3,73 (м, 2H), 3,41-3,55 (м, 2H), 2,39 (т, $J=5,1$ Гц, 2H), 1,76 (дт, $J=7,2, 3,5$ Гц, 1H), 1,59-1,71 (м, 3H), 1,32-1,45 (м, 2H)

Интермедиат 104с: 2-(3-(бензилокси)пропил)пропан-1,3-диилдигексаноат



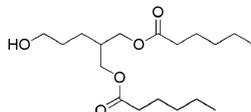
К смеси Интермедиата 104b (600 мг, 2,7 ммоль), пиридина (466 мг, 5,9 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридина (16 мг, 0,13 ммоль) в дихлорметане (30 мл) добавляли гексаноилхлорид (792 мг, 5,9 ммоль).

Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч, затем выливали в 6 М водный HCl (20 мл). Смесь экстрагировали диэтиловым эфиром (2×40 мл).

Объединенные органические фазы высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,27-7,39 (м, 5H), 4,43 (с, 2H), 3,96-4,06 (м, 4H), 3,39-3,42 (т, 2H), 2,20-2,24 (т, 4H), 1,94 (м, 1H), 1,52-1,60 (м, 8H), 1,39 (м, 2H), 1,17-1,26 (м, 10H), 0,80-0,85 (т, 6H) м.д.

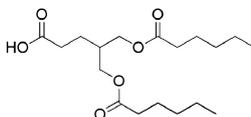
Интермедиат 104d: 2-(3-гидроксипропил)пропан-1,3-диилдигексаноат



Интермедиат 104с (1 г, 2,4 ммоль) и палладий (10 мас.% на угле, 20 мг) помещали в метанол (10 мл). В реакционной смеси повышали давление с помощью водорода до 54 фунт/кв.дюйм и перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Давление снижали и реакционную смесь отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,06-4,14 (м, 4H), 3,66-3,70 (м, 2H), 2,03-2,06 (м, 1H), 1,59-1,69 (м, 6H), 1,46-1,48 (м, 2H), 1,29-1,36 (м, 10H), 0,89-0,93 (м, 6H) м.д.

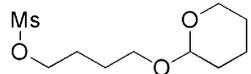
Интермедиат 104е: 5-(гексаноилокси)-4-(гексаноилокси)метилпентановая кислота



К раствору Интермедиата 104d (760 мг, 2,3 ммоль) в ацетоне (10 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли реактив Джонса (2 М, 1,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч. Добавляли метанол (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 5 мин, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток помещали в этилацетат (50 мл) и воду (540 мл) и органическую фазу собирали, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением ожидаемого продукта.

ЭР-МС $m/z=343$ (М-Н).

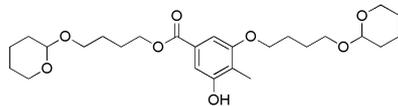
Интермедиат 104f: 4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутилметансульфонат



К смеси ТНР-защищенного 1,4-бутандиола (9,2 г, 53 ммоль) и метансульфонилхлорида (7,26 г, 63 ммоль) в дихлорметане (50 мл), охлаждаемой на ледяной бане, добавляли триэтиламин (16,0 г, 158 ммоль). Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 30 мин. Реакционную смесь выливали в воду со льдом. Органическую фазу отделяли, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,49-4,51 (м, 1H), 4,22 (т, 2H), 3,69-3,80 (м, 2H), 3,33-3,47 (м, 2H), 2,95 (с, 3H), 1,44-1,83 (м, 11H) м.д.

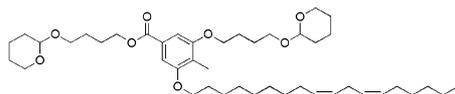
Интермедиат 104g: 4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутил-3-гидрокси-4-метил-5-(4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутоксид)бензоат



Смесь Интермедиата 104f (20,4 г, 81 ммоль), 3,5-дигидрокси-4-метилбензойной кислоты (4,12 г, 25 ммоль) и карбоната калия (13,55 г, 98 ммоль) в диметилформамиде (100 мл) нагревали на бане при 80°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и выливали в воду со льдом (150 мл). Смесь экстрагировали диэтиловым эфиром (2×150 мл) и объединенные органические фазы высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=479$ (М-Н).

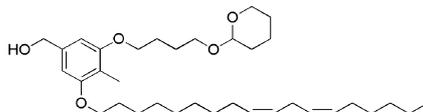
Интермедиат 104h: 4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутил-4-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)-5-(4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутоксид)бензоат



Смесь Интермедиата 104g (2,07 г, 4,3 ммоль), линолеилмезилата (1,78 г, 5,2 ммоль) и карбоната калия (2,38 г, 17,2 ммоль) в диметилформамиде (20 мл) нагревали на бане при 80°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и выливали в воду со льдом (150 мл). Смесь экстрагировали диэтиловым эфиром (2×100 мл). Органические фазы объединяли, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,20 (с, 2H), 5,34-5,42 (м, 4H), 4,60-4,63 (м, 2H), 4,36 (т, 2H), 4,00-4,08 (м, 4H), 3,83-3,86 (м, 4H), 3,47-3,51 (м, 4H), 2,80 (т, 2H), 2,16 (с, 3H), 2,06-2,08 (м, 5H), 1,73-1,84 (м, 14H), 1,51-1,60 (м, 20H), 1,29-1,37 (м, 18H), 0,90 (м, 4H) м.д.

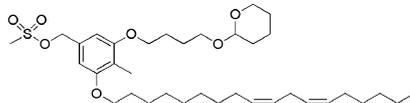
Интермедиат 104i: 4-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)-5-(4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутоксифенил)метанол



К раствору Интермедиата 104h (1,55 г, 2,1 ммоль) в тетрагидрофуране (25 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли литийалюминийгидрид (89 мг, 2,3 ммоль). Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Добавляли лед и смесь экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу отделяли, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

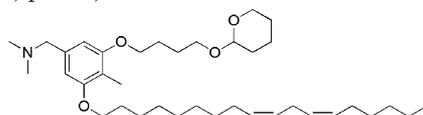
¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,54 (с, 2H), 5,34-5,44 (м, 4H), 3,97-4,03 (м, 4H), 3,85-3,87 (м, 2H), 3,49-3,52 (м, 2H), 2,80 (т, 2H), 2,11 (с, 3H), 2,07-2,08 (м, 4H), 1,72-1,90 (м, 18H), 1,26-1,35 (м, 16H), 0,91 (т, 4H) м.д.

Интермедиат 104j: 4-метил-3-((9Z, 12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)-5-(4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутоксифенил)бензилметансульфонат



К смеси Интермедиата 104i (580 мг, 1,0 ммоль) и метансульфонилхлорида (143 мг, 1,2 ммоль) в дихлорметане (20 мл), охлаждаемой на ледяной бане, добавляли триэтиламин (420 мг, 4,2 ммоль). Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 30 мин, после чего реакционную смесь выливали в воду со льдом. Органическую фазу собирали, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения, которое использовали без дополнительной очистки.

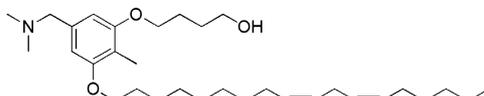
Интермедиат 104k: N,N-диметил-1-(4-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)-5-(4-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бутоксифенил)метанамин



Интермедиат 104j (660 мг, 1,0 ммоль), иодид натрия (600 мг, 4,0 ммоль) и диметиламин (2М в тетрагидрофуране, 2 мл) помещали в диметилформамид (5 мл). Реакционную смесь герметично закрывали и нагревали до 120°C с помощью микроволнового излучения в течение 40 мин. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в этилацетате (50 мл) и промывали водой (50 мл). Органическую фазу собирали, высушивали над сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием дихлорметана и метанола в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС m/z=586,3 (MН⁺).

Интермедиат 104l: 4-(5-((диметиламино)метил)-2-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)феноксифенан-1-ол

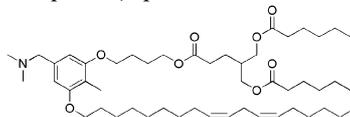


К раствору Интермедиата 104k (520 мг, 0,89 ммоль) в метаноле (10 мл) добавляли водный HCl (2 М,

2 мл). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 30 мин, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в толуоле (3 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения в виде соли гидрохлорида.

ЭР-МС $m/z=502,3$ (МН⁺).

Соединение примера 104: 2-(3-(4-(5-((диметиламино)метил)-2-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенокси)бутоксис)-3-оксопропил)пропан-1,3-диилдигексаноат



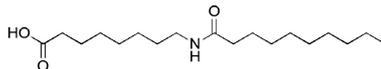
К раствору Интермедиата 104e (250 мг, 0,73 ммоль) добавляли EDCI (167 мг, 0,871 ммоль), диизопропилэтиламин (0,190 мл, 1,1 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридин (1,8 мг, 0,015 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при температуре окружающей среды, затем добавляли спирт Эксперимента 104i (480 мг, 0,892 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием дихлорметана и метанола с модификатором 1% уксусной кислотой. Фракции, содержащие продукт, промывали раствором бикарбоната натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток повторно очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,48 (с, 1H), 6,47 (с, 1H), 5,32-5,44 (м, 4H), 3,95-4,19 (м, 10H), 3,37 (с, 2H), 2,80 (т, J=8 Гц, 2H), 2,42 (т, J=8 Гц, 2H), 2,32 (т, J=8 Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 2,10 (с, 3H), 2,08 (дд, J=8 Гц, 4H), 1,86 (к, J=5 Гц, 4H), 1,64 (м, 4H), 1,27-1,48 (м, 24H), 0,91 (т, J=8 Гц, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=828,4$ (МН⁺).

Синтез примера 105:

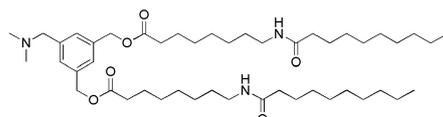
Интермедиат 105a: 8-деканамидооктановая кислота



К раствору деканоилхлорида (3,73 г, 20 ммоль) и пиридина (3,10 г, 39 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляли 8-аминокаприловую кислоту (3,27 г, 21 ммоль). Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой и дихлорметаном и водную фазу доводили до pH от 4 до 6 с помощью растворов 1 N водной HCl и бикарбоната натрия. Органическую фазу отделяли и промывали водой. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 5% MeOH в ДХМ): R_f=0,25.

Соединение примера 105: (5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(8-деканамидооктаноат)



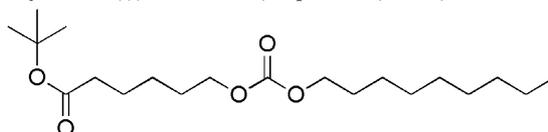
Пример 105 может быть получен из Интермедиата 105a с использованием условий, аналогичных тем, которые описаны для синтеза примера 77.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,21 (с, 2H), 7,18 (с, 1H), 5,90 (т, J=5,4 Гц, 2H), 5,05 (с, 4H), 3,38 (с, 2H), 3,17 (к, J=6,9 Гц, 4H), 2,31 (т, J=7,5 Гц, 4H), 2,20 (с, 6H), 2,11 (т, J=7,7 Гц, 4H), 1,62-1,53 (м, 8H), 1,46-1,39 (м, 4H), 1,27-1,21 (м, 36H), 0,82 (т, J=6,9 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=786,5$ (МН⁺).

Синтез примера 106:

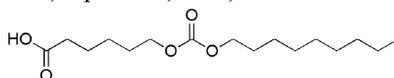
Интермедиат 106a: трет-бутил-6-(((нонилокси)карбонил)окси)гексаноат



К раствору 4-нитрофенилхлорформиата (3,75 г, 19 ммоль), 4-(диметиламино)пиридина (0,65 г, 5,3 ммоль) и пиридина (3,15 г, 40 ммоль) в дихлорметане (30 мл) добавляли трет-бутил-6-гидроксигексаноат (2,5 г, 13 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Добавляли нонанол (5,75 г, 40 ммоль) и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 20% EtOAc в гептане): $R_f=0,58$.

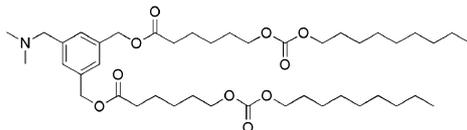
Интермедиат 106b: 6-(((нонилокси)карбонил)окси)гексановая кислота



Раствор Интермедиата 106a (2,42 г, 6,7 ммоль) в трифторуксусной кислоте (3,0 мл) перемешивали при вращении в течение 1 мин, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в дихлорметане (10 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 10,20 (уш.с, 1H), 4,18-4,13 (м, 4H), 2,45 (т, $J=7,3$ Гц, 2H), 1,76-1,64 (м, 6H), 1,50-1,27 (м, 14H), 0,89 (м, 3H) м.д.

Соединение примера 106: (5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(6-(((нонилокси)карбонил)окси)гексаноат)



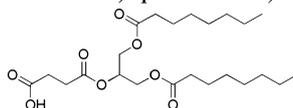
Пример 106 может быть получен из Интермедиата 106b с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для синтеза примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,26 (с, 2H), 7,23 (с, 1H), 5,10 (с, 4H), 4,12 (т, $J=6,7$ Гц, 8H), 3,43 (с, 2H), 2,38 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 2,25 (с, 6H), 1,73-1,62 (м, 12H), 1,46-1,27 (м, 28H), 0,88 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=764,3$ (MH $^+$).

Синтез примера 107:

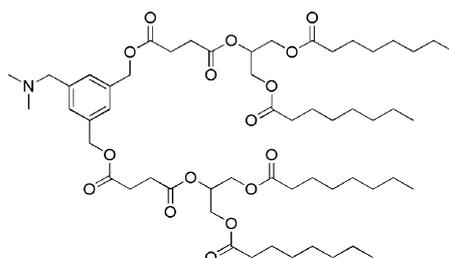
Интермедиат 107a: 4-(((1,3-бис(октаноилокси)пропан-2-ил)окси)-4-оксобутановая кислота



К раствору 1,3-дикаприлина (1,0 г, 2,9 ммоль) в толуоле (12 мл) добавляли янтарный ангидрид (0,320 г, 3,2 ммоль). Реакционную смесь герметично закрывали и нагревали при микроволновом облучении при 140°C в течение 40 мин. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и концентрировали при пониженном давлении. Остаток суспендировали в ДХМ и отфильтровывали через целит. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 13,26 (уш.с, 1H), 5,32-5,26 (м, 1H), 4,35-4,28 (м, 2H), 4,23-4,15 (м, 2H), 2,70-2,65 (м, 4H), 2,38-2,31 (м, 4H), 1,70-1,55 (м, 4H), 1,40-1,20 (м, 16H), 0,91-0,88 (м, 6H) м.д.

Соединение примера 107: бис(1,3-бис(октаноилокси)пропан-2-ил)-O,O'-((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))дисукцинат



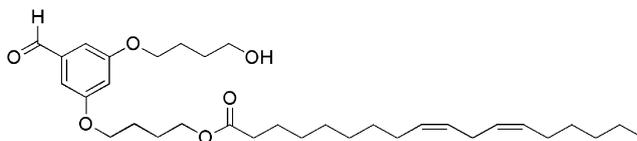
Пример 107 может быть получен из Интермедиата 107a с использованием условий, аналогичных тем, которые описаны для синтеза примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,27 (с, 2H), 7,23 (с, 1H), 5,30-5,25 (м, 2H), 5,13 (с, 4H), 4,34-4,28 (м, 4H), 4,21-4,13 (м, 4H), 3,43 (с, 2H), 2,70-2,67 (м, 8H), 2,35-2,30 (м, 8H), 2,25 (с, 6H), 1,65-1,58 (м, 8H), 1,32-1,27 (м, 32H), 0,88 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=1048,5$ (MH $^+$).

Синтез примера 108:

Интермедиат 108a: (9Z,12Z)-4-(3-формил-5-(4-гидроксибутоксифенокси)бутилоктадека-9,12-диеноат

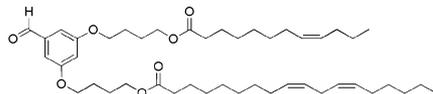


К раствору линолевой кислоты (2,33 г, 8,3 ммоль) в дихлорэтаноле (21 мл) добавляли EDCI (2,41 г, 12,6 ммоль), ДИПЭА (1,63 г, 12,6 ммоль) и ДМАП (0,10 г, 0,84 ммоль). Добавляли диол, полученный с использованием условий, аналогичных тем, которые описаны в примере 99e, и реакционную смесь гер-

метично закрывали, и нагревали при микроволновом облучении при 80°C в течение 20 мин. Реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с последующим использованием метанола и дихлорметана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,90 (с, 1H), 7,00 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 6,69 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,22-5,47 (м, 4H), 4,15 (т, $J=6,1$ Гц, 2H), 3,97-4,10 (м, 2H), 2,77 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 2,31 (т, $J=7,7$ Гц, 2H), 1,97-2,14 (м, 4H), 1,72-1,97 (м, 5H), 1,46-1,70 (м, 4H), 1,23-1,45 (м, 15H), 0,89 (т, $J=6,8$ Гц, 3H) м.д.

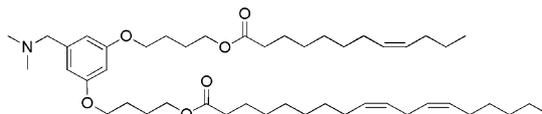
Интермедиат 108b: (9Z,12Z)-4-(3-(4-((Z)-додец-8-еноилокси)бутокси)-5-формилфенокси)бутилоктадека-9,12-диеноат



К раствору додец-8-еновой кислоты (60,1 мг 0,30 ммоль) в дихлорэтано (690 мкл) добавляли EDCI (79 мг 0,41 ммоль), диизопропилэтиламин (53 мг, 0,41 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридин (3,4 мг, 0,03 ммоль). Добавляли Интермедиат 110a (150 мг, 0,28 ммоль) и реакционную смесь герметично закрывали и нагревали при микроволновом облучении при 80°C в течение 20 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с последующим использованием метанола и дихлорметана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,90 (с, 1H), 7,00 (д, $J=2,3$ Гц, 2H), 6,69 (т, $J=2,3$ Гц, 1H), 5,23-5,45 (м, 6H), 4,15 (т, $J=6,1$ Гц, 4H), 4,03 (т, $J=5,9$ Гц, 4H), 2,77 (т, $J=6,5$ Гц, 2H), 2,31 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 1,94-2,12 (м, 8H), 1,75-1,94 (м, 8H), 1,51-1,72 (м, 6H), 1,21-1,45 (м, 23H), 0,79-1,02 (м, 6H) м.д.

Соединение примера 108: (9Z,12Z)-4-(3-(4-((диметиламино)метил)-5-(4-((Z)-додец-8-еноилокси)бутокси)фенокси)бутилоктадека-9,12-диеноат

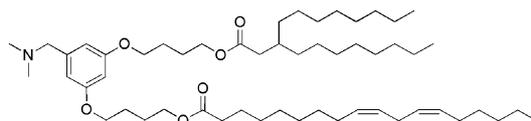


Пример 108 может быть получен из Интермедиата 108b с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для синтеза примера 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,48 (д, $J=2,26$ Гц, 2H) 6,35 (т, $J=1,00$ Гц, 1H) 5,37 (д, $J=4,77$ Гц, 5H) 4,15 (с, 4H) 3,98 (с, 4H) 3,36 (с, 2H), 2,74-2,83 (м, 2H) 2,32 (т, $J=7,53$ Гц, 4H) 2,25 (с, 6H) 1,96-2,11 (м, 8H) 1,77-1,91 (м, 8H) 1,60 (с, 8H) 1,27-1,43 (м, 23H) 0,88-0,95 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=754,5$ (MH $^+$).

Пример 109. (9Z,12Z)-4-(3-((диметиламино)метил)-5-(4-((3-октилундеcanoил)окси)бутокси)фенокси)бутилоктадека-9,12-диеноат



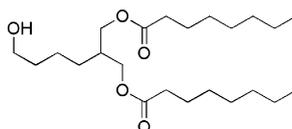
Пример 109 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения Интермедиата 97с и примера 108.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49 (д, $J=2,01$ Гц, 2H) 6,36 (т, $J=4,30$ Гц, 1H) 5,37 (д, $J=5,77$ Гц, 4H) 4,11-4,19 (м, 4H) 3,98 (т, $J=5,65$ Гц, 4H) 3,40 (с, 2H) 2,79 (т, $J=6,65$ Гц, 2H) 2,23-2,34 (м, 10H) 2,07 (д, $J=7,78$ Гц, 5H) 1,79-1,90 (м, 9H) 1,23-1,40 (м, 44H) 0,86-0,94 (м, 9H) м.д.

ЭР-МС $m/z=854,5$ (MH $^+$).

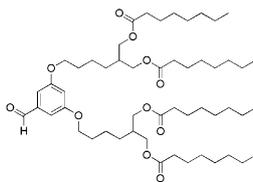
Синтез примера 110:

Интермедиат 110a: 2-(4-гидроксибутил)пропан-1,3-диилдиоктаноат



Интермедиат 110a может быть получен с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 104d. Данный интермедиат использовали непосредственно на следующей стадии без очистки.

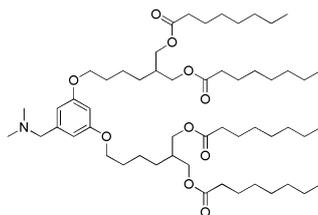
Интермедиат 110b: (((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноат



Интермедиат 110b может быть получен из Интермедиата 110a с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются в синтезе Интермедиата 104f и Интермедиата 104g.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,87 (с, 1H), 6,97 (с, 2H), 6,67 (с, 1H), 3,96-4,11 (м, 12H), 2,29 (т, 8H), 2,00 (м, 2H), 1,76-1,82 (м, 4H), 1,58-1,61 (м, 12H), 1,41-1,45 (м, 4H), 1,25-1,27 (м, 34H), 0,87 (т, 12H) м.д.

Соединение примера 110: (((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноат



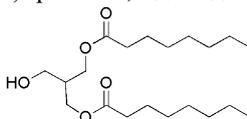
Пример 110 может быть получен из Интермедиата 110с с использованием условий, аналогичных тем, которые описаны для получения примера 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49-6,44 (м, 2H), 6,35-6,31 (м, 1H), 4,14-4,01 (м, 8H), 3,97-3,90 (м, 4H), 3,35 (с, 2H), 2,34-2,27 (м, 8H), 2,25 (с, 6H), 2,08-1,98 (м, 2H), 1,82-1,71 (м, 4H), 1,68-1,38 (м, 16H), 1,36-1,19 (м, 32H), 0,93-0,84 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=932,6$ (MH^+).

Синтез примера 111:

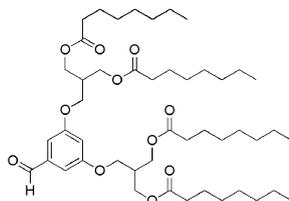
Интермедиат 111a: 2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диилдиоктаноат



К раствору октаноилхлорида (12,3 г, 75 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляли ДМАП (1,84 г, 15 ммоль) и пиридин (11,9 г, 150 ммоль). Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 5 мин, затем добавляли 2-(гидроксиметил)-1,3-пропандиол (4,0 г, 38 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи, затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле с использованием этилацетата и гептана с получением целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 20% EtOAc в гептане): $R_f=0,21$.

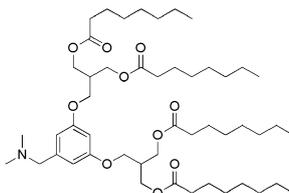
Интермедиат 111b: (((5-формил-1,3-фенилен)бис(окси))бис(метилен))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноат



Интермедиат 111b может быть получен из Интермедиата 111a с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения Интермедиата 18b.

ТСХ (силикагель, 20% EtOAc в гептане): $R_f=0,44$.

Соединение примера 111: (((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(метилен))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноат



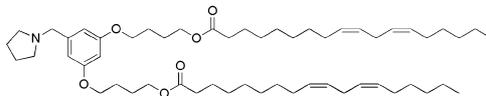
Пример 111 может быть получен из Интермедиата 111b с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 33.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,51 (с, 2H), 6,37 (с, 1H), 4,25-4,22 (м, 8H), 4,00-3,98 (м, 4H), 3,52 (уш.с,

2H), 2,53-2,50 (м, 2H), 2,34-2,30 (м, 14H), 1,65-1,58 (м, 8H), 1,31-1,25 (м, 32H), 0,87 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=848,4$ (MH⁺).

Пример 112. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(пирролидин-1-илметил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)



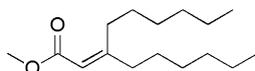
Пример 112 может быть получен из Интермедиата 38b с использованием условий, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 38.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,52 (с, 2H), 6,35 (с, 1H), 5,44-5,32 (м, 8H), 4,15 (т, J=5,6 Гц, 4H), 3,98 (т, J=5,1 Гц, 4H), 3,57 (с, 2H), 2,79 (т, J=6,4 Гц, 4H), 2,54 (уш.с, 4H), 2,32 (т, J=7,5 Гц, 4H), 2,07 (к, J=6,7 Гц, 8H), 1,79-1,90 (м, 12H), 1,68-1,59 (м, 5H), 1,42-1,27 (м, 27H), 0,91 (т, J=6,8 Гц, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=862,8$ (MH⁺).

Синтез примера 113:

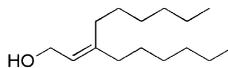
Интермедиат 113a: метил-3-гексилнон-2-еноат



К суспензии гидрида натрия (60% в парафиновом масле, 14,16 г, 335 ммоль) в ТГФ (500 мл), охлаждаемой на ледяной бане, медленно добавляли триметилфосфоноацетат (50,74 г, 278,8 ммоль). Через 2 ч медленно добавляли тридекан-7-он (6,5 г, 32,8 ммоль) и реакционную смесь нагревали до температуры окружающей среды. Через 1 ч реакционную смесь нагревали с обратным холодильником. После 4 дней реакционную смесь охлаждали и добавляли для гашения реакционной смеси 1 N HCl (водн.). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (3×200 мл). Объединенные органические экстракты высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Концентрат очищали на силикагеле, используя смесь этилацетат/гексан в качестве элюента, с получением 8,0 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): R_f=0,72.

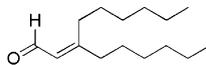
Интермедиат 113b: 3-гексилнон-2-ен-1-ол



К раствору Интермедиата 113a (8,1 г, 31,9 ммоль) в ТГФ (100 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли гидрид диизобутилалюминия (25% в толуоле, 54,4 мл, 95,6 ммоль). Через 30 мин реакционную смесь доводили до температуры окружающей среды. После 6 ч реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и гасили водой со льдом (50 мл) и 1N HCl (водн., 15 мл). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (2×60 мл) и соевым раствором (60 мл). Органический экстракт высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Концентрат очищали на силикагеле, используя смесь этилацетат/гексан в качестве элюента, с получением 6,8 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 20% этилацетата в гексане): R_f=0,29.

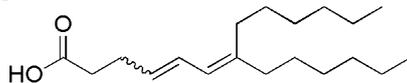
Интермедиат 113c: 3-гексилнон-2-еналь



К перемешиваемой суспензии IBX (21,0 г, 75,12 ммоль) в ДМСО (30 мл), нагреваемой до 30°C, добавляли Интермедиат 113b в ТГФ (100 мл). Реакционную смесь выдерживали при 25-30°C в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром и отфильтровывали через целит с промыванием диэтиловым эфиром. Фильтрат промывали водой (2×200 мл) и соевым раствором (200 мл). Органический экстракт высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении с получением 6,0 г целевого продукта, который использовали без дополнительной очистки.

ТСХ (силикагель, 10% этилацетата в гексане): R_f=0,50.

Интермедиат 113d: 7-гексилтридека-4,6-диеновая кислота

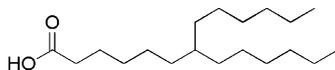


К суспензии (3-карбоксыпропил)трифенилфосфония бромид (19,09 г, 44,6 ммоль) в ТГФ (80 мл) и ГМФА (5 мл), охлаждаемой на ледяной бане, добавляли NaHMDS (1,0 M в ТГФ, 111 мл, 111 ммоль). Медленно добавляли Интермедиат 113c (5,0 г, 22,3 ммоль) в ТГФ (20 мл) и реакционную смесь нагревали до 30°C. После 16 ч реакционную смесь разбавляли 200 мл воды и подкисляли 2N HCl (водн.). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (3×100 мл). Объединенные органические экстракты высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Кон-

центрат очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетат/гексан в качестве элюента с получением 4,0 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 30% EtOAc в н-гексане): $R_f=0,21$.

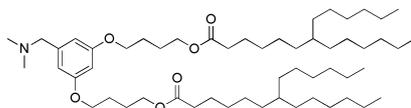
Интермедиат 113e: 7-гексилтридекановая кислота



К суспензии Интермедиата 113d (4,0 г, 13,6 ммоль) в метаноле (100 мл) в сосуде шейкере Рааг добавляли Pd/C (10% Pd/C, 2,0 г). Реакционную смесь помещали на устройство шейкера и создавали давление до 60 фунт/кв.дюйм водородом. Через 2 ч реакционную смесь отфильтровывали через целит с промыванием метанолом (2×50 мл). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и концентрат очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетат/н-гексан в качестве элюента с получением 3,9 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 30% EtOAc в н-гексане): $R_f=0,21$.

Соединение примера 113: ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(7-гексилтридеканоат)

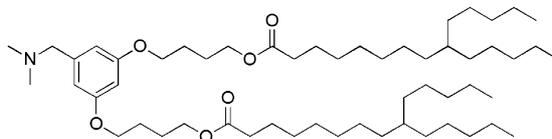


Пример 113 может быть получен из Интермедиата 38d и Интермедиата 113e с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 38.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,58 (уш.с, 2H), 6,38 (уш.с, 1H), 4,08-4,19 (м, 4H), 3,93-4,08 (м, 4H), 3,56 (уш.с, 2H), 2,41 (уш.с, 6H), 2,23-2,35 (м, 4H), 1,75-1,93 (м, 8H), 1,51-1,73 (м, 6H), 1,13-1,41 (м, 52H), 0,75-1,02 (м, 12H) м.д.

^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3) δ 174,03 (2C), 160,29 (2C), 107,85 (3C), 101,26, 67,46 (2C), 63,89 (3C), 44,26 (2C), 37,37 (2C), 34,40 (2C), 33,63 (4C), 33,51 (2C), 31,98 (4C), 29,85 (4C), 29,71 (2C), 26,66 (4C), 26,38 (2C), 25,84, 25,80, 25,48 (2C), 25,07 (2C), 22,74 (4C), 14,18 (4C) м.д.

Пример 114. ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(9-пентилтетрадеканоат)



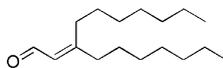
Пример 114 может быть получен из Интермедиата 38d с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 113.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49 (уш.с, 2H), 6,35 (с, 1H), 4,09-4,23 (м, 4H), 3,98 (т, $J=5,56$ Гц, 4H), 3,38 (уш.с, 2H), 2,19-2,37 (м, 10H), 1,75-1,94 (м, 8H), 1,48-1,75 (м, 10H), 1,14-1,39 (м, 48H), 0,89 (т, $J=7,07$ Гц, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=872,9$ (MH⁺).

Синтез примера 115:

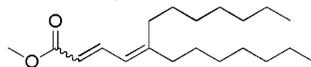
Интермедиат 115a: 3-гептилдец-2-еналь



Интермедиат 115a может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения Интермедиата 113c в синтезе примера 113.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гексане): $R_f=0,63$.

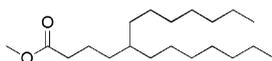
Интермедиат 115b: метил-5-гептилдодека-2,4-диеноат



К суспензии гидрида натрия (55% в парафиновом масле, 3,5 г, 74,3 ммоль) в ТГФ (70 мл), охлаждаемой на ледяной бане, добавляли триметилфосфоацетат (9,6 мл, 59,5 ммоль). Через 10 мин добавляли Интермедиат 115a (7,5 г, 29,7 ммоль) в ТГФ (10 мл) и реакционную смесь оставляли нагреваться до температуры окружающей среды. Через 2 ч реакционную смесь гасили с помощью медленного добавления воды со льдом (20 мл). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Органические экстракты промывали водой и солевым раствором. Органический слой высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении с получением 8,0 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 10% EtOAc в гексане): $R_f=0,75$.

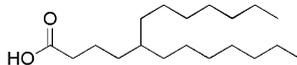
Интермедиат 115c: метил-5-гептилдодеканоат



К раствору Интермедиата 115b (8,0 г, 25,95 ммоль) в метаноле (350 мл) добавляли палладий на угле (10% Pd/C, 1,0 г). Реакцию проводили под давлением 1 атм водорода, поставляемого с помощью баллона. После 14 ч реакцию смесь отфильтровывали через целит с промыванием метанолом. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 7,7 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 5% метанола в дихлорметане): $R_f=0,63$.

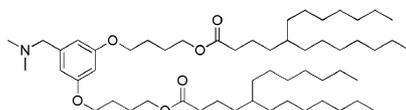
Интермедиат 115d: 5-гептилдодекановая кислота



К смеси 5N гидроксида натрия (водн., 125 мл) и метанола (350 мл) добавляли Интермедиат 115c (7,7 г, 24,7 ммоль) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником. После 16 ч реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и гасили с помощью добавления концентрированного водного HCl до кислого. Смесь экстрагировали этилацетатом (2×250 мл). Органические экстракты высушивали над сульфатом натрия, отфильтровывали и концентрировали при пониженном давлении. Концентрат очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетат/гексан в качестве элюента с получением 7,0 г целевого продукта.

ТСХ (силикагель, 50% EtOAc в гептане): $R_f=0,82$.

Соединение примера 115: ((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(5-гептилдодеканат)

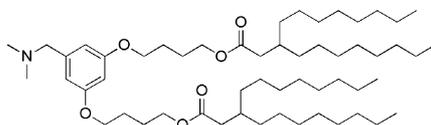


Пример 115 может быть получен из Интермедиата 38d и Интермедиата 115d с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 38.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,48 (д, $J=1,76$ Гц, 2H), 6,35 (т, $J=2,13$ Гц, 1H), 4,14 (т, $J=5,90$ Гц, 4H), 3,97 (т, $J=5,52$ Гц, 4H), 3,38 (уш.с, 2H), 2,19-2,36 (м, 10H), 1,76-1,93 (м, 8H), 1,60 (дт, $J=15,31$, 7,65 Гц, 4H), 1,15-1,40 (м, 54H), 0,79-0,95 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=873,0$ (MH $^+$).

Пример 116: ((5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(3-октилундеканат)

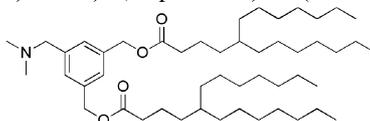


Пример 116 может быть получен из Интермедиата 3 8d и Интермедиата 97c с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 38.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,63-6,82 (м, 2H), 6,38-6,52 (м, 1H), 4,09-4,23 (м, 4H), 4,02 (т, $J=5,56$ Гц, 4H), 2,49-2,84 (м, 6H), 2,24 (д, $J=7,07$ Гц, 4H), 1,75-1,98 (м, 10H), 1,49-1,69 (м, 2H), 1,16-1,39 (м, 56H), 0,79-0,94 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=872,3$ (MH $^+$).

Пример 117: (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(5-гептилдодеканат)

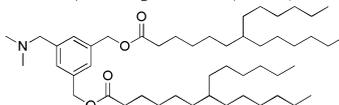


Пример 117 может быть получен из Интермедиата 77b и Интермедиата 115d с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,35 (уш.с, 2H), 7,29 (уш.с, 1H), 5,12 (с, 4H), 3,62 (уш.с, 2H), 2,35 (т, $J=7,58$ Гц, 10H), 1,62 (дт, $J=15,16$, 7,58 Гц, 4H), 1,14-1,43 (м, 54H), 0,80-0,99 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=756,7$ (MH $^+$).

Пример 118: (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(7-гексилтридеканат)

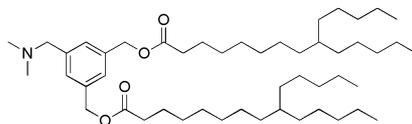


Пример 118 может быть получен из Интермедиата 77b и Интермедиата 113e с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 77.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,30 (с, 2H), 7,22-7,29 (м, 1H), 5,11 (с, 4H), 3,55 (уш.с, 2H), 2,23-2,46 (м, 10H), 1,65 (кв, $J=7,40$ Гц, 4H), 1,18-1,41 (м, 54H), 0,79-0,94 (м, 12H) м.д.

^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3) δ 173,70 (2C), 136,83 (2C), 128,86 (3C), 127,01, 65,67 (2C), 63,60, 45,01 (2C), 37,38 (2C), 34,34 (2C), 33,63 (4C), 33,53 (2C), 31,97 (4C), 29,85 (4C), 29,70 (2C), 26,66 (4C), 26,40 (2C), 25,02 (2C), 22,74 (4C), 14,17 (4C) м.д.

Пример 119. (5-((Диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(9-пентилтетрадеканоат)



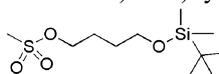
Пример 119 может быть получен из Интермедиата 77b с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 118.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,24-7,34 (м, 3H), 5,11 (с, 4H), 3,55 (уш.с, 2H), 2,23-2,43 (м, 10H), 1,64 (кв, $J=7,28$ Гц, 4H), 1,11-1,41 (м, 54H), 0,88 (т, $J=7,03$ Гц, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=756,5$ (MH $^+$).

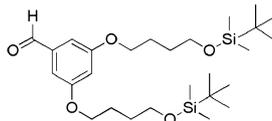
Синтез примера 120.

Интермедиат 120a: 4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)бутилметансульфонат



К раствору 4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)бутан-1-ола (10,0 г, 49,0 ммоль) в дихлорметане (100 мл) добавляли триэтиламин (20,4 мл, 147 ммоль) и метансульфонилхлорид (4,93 мл, 63,7 ммоль). После 5 ч реакционную смесь гасили водой (150 мл) и экстрагировали дихлорметаном (2×150 мл). Объединенные слои ДХМ промывали соевым раствором (100 мл), высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения. ТСХ (силикагель, 20% этилацетат в гексане): $R_f=0,42$

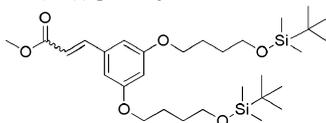
Интермедиат 120b: 3,5-бис(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)бутоксифенил)бензальдегид



К раствору 3,5-дигидроксибензальдегида (2,5 г, 18,1 ммоль) в ДМФ (50 мл) добавляли карбонат калия (12,50 г, 90,5 ммоль) с последующим добавлением Интермедиата 120a (12,76 г, 45,3 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80°C и перемешивали в течение 24 ч. Реакционную смесь охлаждали, гасили водой (200 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×200 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (150 мл), высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и полученный остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ТСХ (силикагель, 30% этилацетата в гексане): $R_f=0,71$

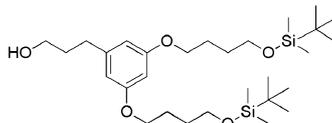
Интермедиат 120c: метил-3-(3,5-бис(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)бутоксифенил)акрилат



К раствору триметилфосфоацетата (3,0 мл, 20,6 ммоль) в ТГФ (70 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли гидрид натрия (898 мг, 55% дисперсия, 20,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин, затем добавляли раствор Интермедиата 120b (7,0 г, 13,7 ммоль) в ТГФ (30 мл). Охлаждающую баню удаляли и реакцию продолжали в течение дополнительных 90 мин. Реакционную смесь гасили водой (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (2×200 мл). Объединенные органические экстракты промывали соевым раствором (200 мл), высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=567,5$ (MH $^+$).

Интермедиат 120d: 3-(3,5-бис(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)бутоксифенил)пропан-1-ол

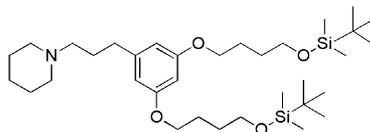


К раствору Интермедиата 120c (7,0 г, 12,4 ммоль) в ТГФ (100 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли литийалюминийгидрид (1,88 г, 49,4 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч. Реакционную смесь гасили холодной водой и отфильтровывали через целит. Фильтрат экстрагировали этилацетатом (2×200 мл) и объединенные органические экстракты промывали соевым раствором (200

мл), высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого продукта, который использовали без дополнительной очистки.

ЭР-МС $m/z=541,4$ (МН⁺).

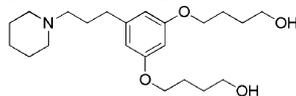
Интермедиат 120e: 1-(3-(3,5-бис(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)бутокси)фенил)пропил)пиперидин



К раствору тозилангидрида (Ts₂O, 1,81 г, 5,55 ммоль) в дихлорметане (25 мл) добавляли триэтиламин (1,03 мл, 7,40 ммоль) с последующим добавлением Интермедиата 120d (2,0 г, 3,70 ммоль) в ДХМ (15 мл). Через 1 ч добавляли пиперидин (3,15 г, 18,50 ммоль) и реакцию герметично закрывали. После дополнительных 15 ч реакцию смесь разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали дихлорметаном (2×100 мл). Объединенные экстракты дихлорметана промывали соевым раствором (200 мл), высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали на силикагеле с использованием смеси метанол:дихлорметан в качестве элюента с получением целевого соединения.

ЭР-МС $m/z=608,3$ (МН⁺).

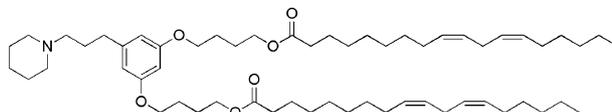
Интермедиат 120f: 4,4'-((5-(3-(пиперидин-1-ил)пропил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-1-ол)



К раствору Интермедиата 120e (1,3 г, 2,14 ммоль) в диэтиловом эфире (10 мл) добавляли HCl в диоксане (20 мл). Через 2 ч реакцию смесь концентрировали при пониженном давлении и промывали диэтиловым эфиром. Остаток разбавляли насыщенным водным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Объединенные органические экстракты высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением целевого соединения, которое использовали без дополнительной очистки.

ЭР-МС $m/z=380,1$ (МН⁺).

Соединение примера 120: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(пиперидин-1-ил)пропил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

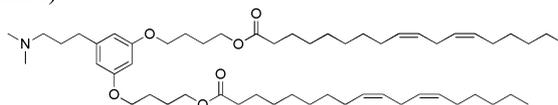


Пример 120 может быть получен из Интермедиата 120f с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 38.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,33 (д, J=2,01 Гц, 2H), 6,21-6,31 (м, 1H), 5,22-5,51 (м, 8H), 4,07-4,22 (м, 4H), 3,95 (т, J=5,52 Гц, 4H), 2,78 (т, J=6, 65 Гц, 4H), 2,56 (т, J=7,53 Гц, 2H), 2,35-2,54 (м, 4H), 2,26-2,35 (м, 4H), 2,05 (к, J=6,61 Гц, 8H), 1,77-1,98 (м, 10H), 1,55-1,76 (м, 8H), 1,42-1,55 (м, 2H), 1,20-1,42 (м, 30H), 0,85-0,99 (м, 6H) м.д.

¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃) δ 173,98 (2C), 160,07 (2C), 130,24 (2C), 130,07 (2C), 128,05 (2C), 127,91 (2C), 106,92 (3C), 98,74 (1C), 67,21 (2C), 63,91 (2C), 58,48, 54,34 (2C), 34,36 (2C), 34,02, 31,55 (2C), 29,63 (2C), 29,37 (2C), 29,21 (2C), 29,17 (2C), 29,15 (2C), 27,22 (4C), 25,90 (2C), 25,64 (2C), 25,47 (2C), 25,00 (2C), 24,21 (2C), 22,61 (2C), 14,12 (2C) м.д. ЭР-МС $m/z=904,9$ (МН⁺).

Пример 121: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-(диметиламино)пропил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

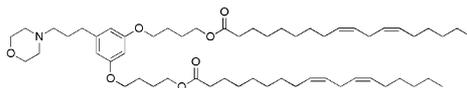


Пример 121 может быть получен из Интермедиата 120d с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 120.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,33 (д, J=2,02 Гц, 2H) 6,25-6,31 (м, 1H) 5,26-5,47 (м, 8H) 4,07-4,22 (м, 4H), 3,96 (т, J=5,56 Гц, 4H) 2,78 (т, J=6,57 Гц, 4H) 2,62 (т, J=7,33 Гц, 4H) 2,52 (уш.с, 6H) 2,30 (т, J=7,58 Гц, 4H) 2,05 (к, J=6, 65 Гц, 10H) 1,76-1,94 (м, 8H) 1,55-1,70 (м, 4H) 1,21-1,46 (м, 28H) 0,81-0,98 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=864,6$ (МН⁺).

Пример 122. (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(3-морфолинопропил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат)

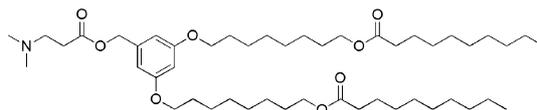


Пример 122 может быть получен из Интермедиата 120d с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 120.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,33 (д, $J=2,26$ Гц, 2H), 6,23-6,30 (м, 1H), 5,23-5,48 (м, 8H), 4,07-4,22 (м, 4H), 3,95 (т, $J=5,52$ Гц, 4H), 3,75 (уш.с, 4H), 2,78 (т, $J=6,53$ Гц, 4H), 2,56-2,64 (м, 2H), 2,35-2,51 (м, 4H), 2,30 (т, $J=7,65$ Гц, 4H), 2,05 (д, $J=6,78$ Гц, 8H), 1,75-1,97 (м, 10H), 1,53-1,72 (м, 6H), 1,16-1,44 (м, 28H), 0,79-1,01 (м, 6H) м.д.

ЭР-МС $m/z=906,9$ (MH $^+$).

Пример 123. ((5-(((3-(Диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(деканоат)

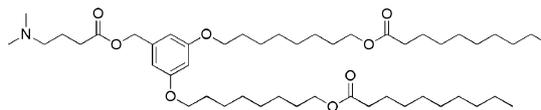


Пример 123 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения Примера 18 и Примера 52.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,47 (д, $J=2,2$ Гц, 2H), 6,40 (т, $J=2,2$ Гц, 1H), 5,07 (с, 2H), 4,05 (т, $J=6,7$ Гц, 4H), 3,92 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 3,00 (т, $J=7,0$ Гц, 2H), 2,71 (т, $J=7,1$ Гц, 2H), 2,56 (с, 6H), 2,29 (т, $J=7,6$ Гц, 4H), 2,07 (с, 2H), 1,76 (к, $J=6,7$ Гц, 4H), 1,61 (тд, $J=7,4, 7,0, 3,9$ Гц, 8H), 1,43 (д, $J=7,9$ Гц, 4H), 1,39-1,11 (м, 34H), 0,91-0,83 (м, 6H).

ЭР-МС $m/z=805,0$ (MH $^+$)

Пример 124. ((5-(((4-(Диметиламино)бутаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(октан-8,1-диил)бис(деканоат)



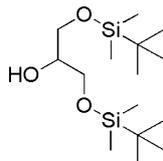
Пример 124 может быть получен с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 18 и примера 52.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,46 (д, $J=2,2$ Гц, 2H), 6,39 (т, $J=2,2$ Гц, 1H), 5,04 (с, 2H), 4,05 (т, $J=6,7$ Гц, 4H), 3,92 (т, $J=6,5$ Гц, 4H), 2,62 (с, 6H), 2,51 (т, $J=6,9$ Гц, 2H), 2,29 (т, $J=7,5$ Гц, 4H), 1,95 (к, $J=7,0$ Гц, 2H), 1,80-1,71 (м, 4H), 1,61 (дк, $J=7,2, 3,9$ Гц, 8H), 1,44 (т, $J=7,7$ Гц, 4H), 1,40-1,20 (м, 38H), 0,87 (т, $J=6,7$ Гц, 6H).

ЭР-МС $m/z=819,0$ (MH $^+$)

Пример 125.

Интермедиат 125а: 2,2,3,3,9,9,10,10-октаметил-4,8-диокса-3,9-дисилаундекан-6-ол

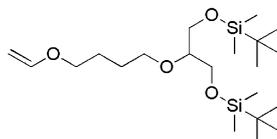


Суспензию глицерина (5 г, 54,3 ммоль), имидазола (8,1 г, 119 ммоль) и трет-бутилхлордиметилсилана (16,37 г, 109 ммоль) в ТГФ (40 мл) перемешивали в течение 15 ч. Реакционную смесь гасили водой (300 мл) и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали.

Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 3,55-3,76 (м, 4H), 2,47 (уш.с, 1H), 1,61 (уш.с, 1H), 0,79-1,06 (м, 18H), -0,06-0,21 (м, 12H) м. д.

Интермедиат 125b: 6-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-2,2,3,3-тетраметил-4,7,12-триокса-3-силатетрадец-13-ен

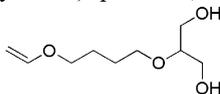


К раствору Интермедиата 38а (2 г, 10,3 ммоль) и Интермедиата 125а (3,30 г, 10,3 ммоль) в ТГФ (20 мл), охлаждаемому на бане сухой лед/ацетон, добавляли гидрид натрия (0,618 г, 60% дисперсия, 15,44 ммоль). Через 1 ч охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь оставляли нагреваться до температуры окружающей среды в течение 4 ч с последующим нагреванием с обратным холодильником в течение

ние 1 ч. Смесь охлаждали до температуры окружающей среды и гасили водой со льдом. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом (100 мл). Органический экстракт высушивали над сульфатом магния, отфильтровывали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,47 (дд, $J=14,31$, 6,78 Гц, 1H), 4,11-4,22 (м, 1H), 3,98 (дт, $J=7,03$, 2,01 Гц, 1H), 3,56-3,76 (м, 6H), 3,42-3,56 (м, 2H), 3,30-3,42 (м, 1H), 1,60-1,81 (м, 4H), 0,80-1,01 (м, 18H), 0,00-0,12 (м, 12H) м.д.

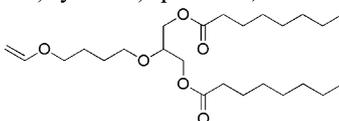
Интермедиат 125с: 2-(4-(винилокси)бутокси)пропан-1,3-диол



К раствору Интермедиата 125b (1,4 г, 3,34 ммоль) в ТГФ (10 мл) добавляли фторид тетрабутиламония (10 мл, 1М в ТГФ, 10 ммоль). Через 2 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли этилацетатом и промывали водой и соевым раствором, высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гексана в качестве элюента с получением целевого продукта.

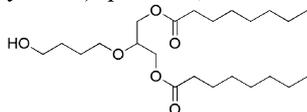
ТСХ (силикагель, 50% этилацетата в гексане): $R_f=0,10$.

Интермедиат 125d: 2-(4-(винилокси)бутокси)пропан-1,3-диилдиоктаноат



К раствору октановой кислоты (584 мг, 4,05 ммоль), Интермедиата 125с (350 мг, 1,84 ммоль), ДМАП (22,5 мг, 0,184 ммоль) и диизопропилэтиламина (713 мг, 5,52 ммоль) в дихлорметане (10 мл), охлаждаемому на ледяной бане, добавляли EDCI (846 мг, 4,42 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи, после чего реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения. ТСХ (силикагель, 50% этилацетата в гептане): $R_f=0,85$

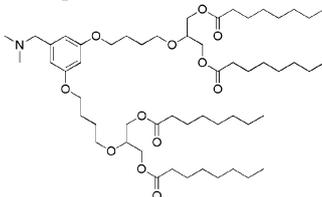
Интермедиат 125е: 2-(4-гидроксибутокси)пропан-1,3-диилдиоктаноат



К раствору Интермедиата 125d (520 мг, 1,18 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (0,181 мл, 2,35 ммоль). Через 1 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента с получением целевого соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,23 (дд, $J=11,54$, 5,02 Гц, 2H), 4,12 (дд, $J=11,54$, 5,52 Гц, 2H), 3,71 (кв, $J=5,14$ Гц, 1H), 3,64 (дт, $J=15,43$, 5,83 Гц, 4H), 2,34 (т, $J=7,00$ Гц, 4H), 1,56-1,73 (м, 8H), 1,19-1,41 (м, 16H), 0,81-1,01 (м, 6H) м.д.

Соединение примера 125: (((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил)бис(окси))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноат



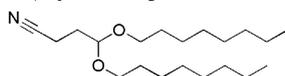
Пример 125 может быть получен из Интермедиата 125е с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 39 или примера 52.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 6,49 (с, 2H), 6,34 (т, $J=2,01$ Гц, 1H) 4,17-4,26 (м, 4H) 4,08-4,17 (м, 4H) 3,95 (т, $J=6,15$ Гц, 4H) 3,71 (кв, $J=5,14$ Гц, 2H) 3,63 (т, $J=6,27$ Гц, 4H) 3,42 (уш.с, 2H) 2,24-2,40 (м, 14H) 1,79-1,90 (м, 4H) 1,69-1,79 (м, 4H) 1,62 (кв, $J=7,34$ Гц, 8H) 1,21-1,38 (м, 32H) 0,83-0,94 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС $m/z=964,7$ (МН⁺).

Синтез примера 126:

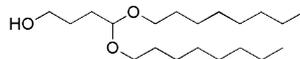
Интермедиат 126а: 4,4-бис(октилокси)бутаннитрил



К смеси 4,4-диэтоксипутаннитрила (15 г, 95 ммоль) и октанола (37,3 г, 286 ммоль) добавляли п-толуолсульфонат пиридиния (1,2 г, 4,77 ммоль) и смесь нагревали до 105°C. Через 72 ч реакцию смесь охлаждали и очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетат/гептан в качестве элюента с получением 9,34 г целевого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 4,56 (т, J=5,40 Гц, 1H), 3,61 (дт, J=9,16, 6,59 Гц, 2H), 3,44 (дт, J=9,22, 6,68 Гц, 2H), 2,43 (т, J=7,28 Гц, 2H), 1,95 (тд, J=7,34, 5,40 Гц, 2H), 1,50-1,66 (м, 4H), 1,17-1,44 (м, 20H), 0,80-0,95 (м, 6H) м.д.

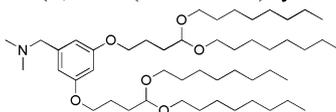
Интермедиат 126b: 4,4-бис(октилокси)бутан-1-ол



К раствору Интермедиата 126a (5 г, 15,4 ммоль) в дихлорметане (60 мл), охлаждаемому на бане сухой лед/ацетон, добавляли DIBAL-H (1,0 М в толуоле, 15,4 мл, 15,4 ммоль). После 1,5 ч охлаждающую баню удаляли и реакцию смесь нагревали до температуры окружающей среды. Реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония (20 мл) и водой (10 мл) и экстрагировали дихлорметаном. Экстракты ДХМ промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом магния и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали и остаток повторно растворяли в метаноле (20 мл). Добавляли боргидрид натрия (0,581 г, 15,4 ммоль). Через 1 ч реакцию смесь гасили водой и реакцию смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления метанола. Полученную смесь экстрагировали этилацетатом и экстракты этилацетата промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, высушивали над сульфатом натрия и отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали на силикагеле с использованием этилацетата и гептана в качестве элюента.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 4,34-4,46 (м, 2H), 3,47 (дт, J=9,03, 6,53 Гц, 2H), 3,28-3,41 (м, 6H), 1,35-1,58 (м, 8H), 1,13-1,35 (м, 18H), 0,79-0,91 (м, 6H) м.д.

Соединение примера 126: 1-(3,5-бис(4,4-бис(октилокси)бутоксифенил)-N,N-диметилметанамин



Пример 126 может быть получен из Интермедиата 126b с использованием способов, аналогичных тем, которые применяются для получения примера 39 или примера 52.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 6,48 (д, J=2,01 Гц, 2H), 6,35 (т, J=2,13 Гц, 1H), 4,48-4,58 (м, 2H), 3,96 (т, J=5,90 Гц, 4H), 3,58 (дт, J=9,29, 6,65 Гц, 4H), 3,33-3,49 (м, 6H), 2,28 (с, 6H) 1,73-1,92 (м, 8H), 1,57 (кв, J=6,96 Гц, 8H), 1,18-1,42 (м, 40H), 0,79-0,97 (м, 12H) м.д.

ЭР-МС m/z=792,8 (MH⁺).

Липидные композиции

Липидные наночастицы (ЛНЧ) получали смешиванием равных объемов липидов, растворенных в спирте, с кнРНК, растворенной в цитратном буфере, с помощью способа истекающей струи. Раствор липида содержит соединение катионного липида изобретения, хелперный липид (холестерин), необязательный нейтральный липид (ДСФХ) и ПЭГ (ПЭГ) липид при концентрации 8-16 мг/мл с целью 12 мг/мл в спирте. Относительные молярные соотношения каждого липидного компонента в составах данного изобретения представлены в табл. 4 и 5. Соотношение кнРНК к общему количеству липидов представляет собой приблизительно 0,05 (мас./мас.). Где состав ЛНЧ содержит четыре липидных компонента, молярные соотношения соответствуют типу липидов, как видно в первых четырех столбцах таблицы, в том порядке, в котором они появляются. Соотношение липидов находится в диапазоне от 20 до 70 мол.% для катионных липидов с целью 40-60, молярный процент хелперных липидов находится в диапазоне от 20 до 70 с целью от 30 до 50, молярный процент нейтральных липидов находится в диапазоне от 0 до 30, молярный процент липидов ПЭГ находится в диапазоне от 1 до 6 с целью от 2 по 5. Концентрация раствора кнРНК находится в диапазоне от 0,7 до 1,0 мг/мл с целью от 0,8 до 0,9 мг/мл в цитрате натрия: буфер хлорида натрия pH 4-6 с целью 4,5-5,5. ЛНЧ получают смешиванием равных объемов раствора липидов в этаноле с кнРНК, растворенной в цитратном буфере, с помощью способа истекающей струи при использовании смесительного устройства с ВД в диапазоне от 0,25 до 2,0 мм при скорости потока от 10 до 640 мл/мин. Смешанный раствор ЛНЧ выдерживают при комнатной температуре в течение 0-24 ч до проведения стадии разбавления. Затем раствор концентрируют и подвергают диафильтрации с помощью подходящего буфера путем способа ультрафильтрации с использованием мембран с диафрагмой MW от 30 до 500 кДа. Конечный продукт отфильтровывают в стерильных условиях и хранят при 4°C.

кнРНК

кнРНК, используемую в липидных наночастицах, описанных выше, получали из двухцепочечных последовательностей кнРНК, специфичных к последовательности целевой мРНК.

1. FVII кнРНК двухцепочечная последовательность 5' UUu AAU UGA AAC cAA GAc Auu 3' (SEQ ID NO: 1) 5' uGu cuu GGu uuc AAu uAA Auu 3' (SEQ ID NO: 2)

2. PLK1-424 киРНК двухцепочечная последовательность 5' UAU UUA AgG AGG GUG AuC Uuu 3' (SEQ ID NO: 3)

5' AGA Uca cCC Ucc uuA AAU auu 3' (SEQ ID NO:4)

Следующие сокращения используют в данных последовательностях:

A=аденозин

U=уридин

G=гуанозин

C=цитозин

a=2'-О-метиладенозин

u=2'-О-метилуридин

g=2'-О-метилгуанозин

c=2'-О-метилцитозин

Измерения рКа

Если не указано иное, все рКа, упомянутые в настоящем описании, измеряли при стандартной температуре и давлении. Кроме того, если не указано иное, все ссылки на рКа представляют собой ссылки на рКа, измеренные с помощью следующей методики.

2 мМ раствор липидов в этаноле получали с помощью взвешивания липидов и затем растворения их в этаноле. 0,3 мМ раствор флуоресцентного образца TNS в смеси этанол:метанол 9:1 получали с помощью сначала создания 3 мМ раствора TNS в метаноле и затем разбавления до 0,3 мМ этанолом.

Получали водный буфер, содержащий 200 мМ двухосновного фосфата натрия и 100 мМ лимонной кислоты. Буфер разделяли на двенадцать частей и рН доводили или с помощью 12N HCl, или 6N NaOH до 4,21-4,33, 4,86-4,99, 5,23-5,37, 5,46-5,54, 5,65-5,74, 5,82-5,89, 6,09-6,18, 6,21-6,32, 6,45-6,52, 6,66-6,72, 6,83-6,87, 7,19-7,28. 400 мкл 2мМ раствора липидов и 800 мкл 0,3 мМ раствора TNS смешивали.

При использовании устройства с высокой пропускной способностью жидкости Hamilton Microlab Star и управляющего программного обеспечения Hamilton 7,5 мкл образца/смеси липидов добавляли в 242,5 мкл буфера в 1 мл 96-луночный планшет (модель NUNC 260252, Nalgae Nunc International). Это было сделано со всеми двенадцатью буферами.

После перемешивания в 1 мл 96-луночном планшете 100 мкл каждой смеси образец/липид/буфер переносили в 250 мкл черный с прозрачным дном 96-луночный планшет (модель COSTAR 3904, Corning).

Измерения флуоресценции проводят на спектрофотометре SpectraMax M5 с использованием программного обеспечения SoftMax pro 5,2 и следующих параметров:

Режим считывания:

Флуоресценция, верхнее считывание

Длины волн: Ex 322 нм, Em 431 нм, Auto Cutoff On 420 нм

Чувствительность: Считывание 6, ФЭУ: Авто

Автоматическое смешивание: Сначала: Положение "Выключено"

Автоматическая калибровка: Положение "Включено"

Тип исследуемого планшета: 96-луночный стандартный clrbtm

Лунки для считывания: Считывание всего планшета

Время установления: Положение "Выключено"

Колонка Wav. приоритет: приоритет колонки

Скорость каретки: Нормальная

Автосчитывание: Положение "Выключено"

После измерения значение фоновой флуоресценции пустой лунки 96-луночного планшета вычитали из каждого значения для смеси образец/липид/буфер. Значения интенсивности флуоресценции затем нормировали к значению при самом низком рН. Приведенные интенсивности флуоресценции по отношению к значениям рН затем наносили на график в программном обеспечении Microsoft Excel. Двенадцать точек соединяли линией с равномерно распределенными постоянными.

Была обнаружена точка на линии, при которой приведенная интенсивность флуоресценции была равной 0,5. Было обнаружено значение рН, соответствующее приведенной интенсивности флуоресценции, равной 0,5, и считалось рКа липида.

рКа, определенное с помощью данного способа, является точным до приблизительно 0,1 единиц рКа.

Измерения индекса полидисперсности (PDI)

Если не указано иное, все PDI, упомянутые в настоящем описании, представляют собой PDI полностью образованной наночастицы, как измерено с помощью метода динамического рассеяния света на Malvern Zetasizer. Образец наночастиц разбавляли в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ), так что интенсивность представляла собой приблизительно 200-400 кимп. Данные представлены в таблицах 4 и 5 как средневзвешенное значение измерения интенсивности.

Размер частиц липидных наночастиц

Если не указано иное, все измерения размеров частиц, указанные в табл. 4 и 5, представляют собой

Z-средний размер частицы полностью образованной наночастицы, как измерено с помощью метода динамического рассеяния света на Malvern Zetasizer. Образец наночастиц разбавляли в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ), так что интенсивность представляет собой приблизительно 200-400 кимп.

Биологические анализы

Дозирование Фактора VII мышам

Мышей-самок CD-1 получали от Harlan Labs и содержали в стандартных лабораторных условиях без ограничения корма и воды. Животные весили приблизительно 25 г на момент дозирования. Составленный Фактор VII кРНК вводили в виде разовой дозы внутривенно через боковую хвостовую вену. Через приблизительно 48 ч после инъекции мышей умерщвляли с помощью ингаляции CO₂ с последующим кровоизвлечением через полую вену. Кровь собирали в пробирки, содержащие антикоагулянт 0,105M цитрат натрия, для анализа активности Фактора VII в плазме.

Анализ активности Фактора VII

Собранную плазму от инъекцированных мышей анализировали на ферментную активность фактора VII с использованием набора Biophen FVII от Nyphen Biomedical (каталожный номер 221304). Градуировочную кривую испытания получали, используя объединенные аликваты плазмы от контрольных животных, получающих носитель. Все образцы разбавляли, чтобы находиться в пределах линейного диапазона градуировочной кривой и сообщали об активности Фактора VII по сравнению с контрольной плазмой.

Липидные наночастицы, содержащие липидные соединения формулы (I) и FVII кРНК двухцепочечную последовательность, перечисленные выше, исследовали в анализе активности Фактора VII. Результаты данного анализа приведены в табл. 4 ниже как процентная самая низкая ферментативная активность Фактора VII плазмы при дозе 0,3 и 0,03 мг/кг.

Таблица 4. Результаты анализа активности Фактора VII с использованием FVII кРНК липидных наночастиц

Катионный липид формулы (I)	Хелперный липид	Нейтральный липид	Скрытый липид	¹ Молярное соотношение липидов	Размер (нм)	PDI	² pKa	KD FVII 0,3 мг/кг	KD FVII 0,03 мг/кг
Пр. 1	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	87,16	0,124	5,59	---	30,8
Пр. 1	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	98,2	0,05	5,59	75,1	---
Пр. 2	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	92,85	0,067	5,57	---	55
Пр. 2	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	97,4	0,04	5,46	95,5	---
Пр. 14	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	81,74	0,059	6,11	---	---
Пр. 26	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	121,6	0,046	6,45	---	---
Пр. 26	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	104,3	0,04	6,45	58,1	---
Пр. 31	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	81,16	0,049	6,01	---	---
Пр. 33	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	79,15	0,042	5,85	---	---
Пр. 33	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	107,8	0,06	5,75	90,4	---
Пр. 34	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	113,8	0,036	5,95	---	---
Пр. 34	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	126,0	0,06	5,61	0	---
Пр. 38	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	120	0,04	5,93	---	43,6
Пр. 38	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	108,0	0,02	5,9	99	---
Пр. 39	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	122,9	0,044	5,91	---	---

Пр. 40	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	94,28	0,062	6,17	---	8,2
Пр. 40	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	110,9	0,02	6,17	89,8	---
Пр. 41	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	170,7	0,119	5,83	---	---
Пр. 42	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	120	0,084	5,93	---	92,8
Пр. 43	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	121,9	0,066	5,85	---	---
Пр. 43	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	157,8	0,08	5,85	97,4	---
Пр. 44	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	172,9	0,077	5,66	---	---
Пр. 45	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	102,8	0,072	5,57	---	---
Пр. 46	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	102,4	0,135	6,18	---	---
Пр. 47	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	125,9	0,035	6,07	---	---
Пр. 47	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	109,3	0,06	6,07	99	---
Пр. 48	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	152,3	0,105	5,93	---	---
Пр. 49	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	111,1	0,046	5,99	---	---
Пр. 50	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	126	0,056	5,92	---	---
Пр. 51	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	103,2	0,052	5,91	---	---
Пр. 52	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	145,4	0,052	5,96	---	73,5
Пр. 52	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	109,4	0,1	5,96	---	72,5
Пр. 53	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	113,3	0,079	6,03	---	---
Пр. 53	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	129,1	0,1	5,84	96,6	---
Пр. 55	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	106,9	0,043	6,37	---	---
Пр. 55	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	101,9	0,10	6,03	98,0	---
Пр. 56	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	99,47	0,114	5,93	---	---
Пр. 56	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	110,1	0,01	5,71	71,0	---
Пр. 57	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	123,8	0,059	5,94	---	---
Пр. 57	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	108,4	0,03	5,94	96,7	---
Пр. 58	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	138,9	0,022	5,9	---	15,25
Пр. 58	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	120,6	0,06	6,02	78,1	---
Пр. 59	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	92,56	0,064	6,09	---	48,24
Пр. 60	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	95,55	0,098	6,21	---	49,75
Пр. 61	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	81,79	0,076	5,82	---	0
Пр. 62	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	102,5	0,066	5,9	---	85,8
Пр. 63	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	91,66	0,057	5,92	---	75
Пр. 69	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	98,13	0,053	5,3	---	---
Пр. 77	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	154,1	0,014	6,09	---	---
Пр. 78	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	178,2	0,043	6,02	---	---
Пр. 79	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2			6,48	---	---
Пр. 82	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	119,2	0,064	6,03	---	---
Пр. 83	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	128,5	0,005	6,15	---	---
Пр. 85	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2			5,72	---	---
Пр. 86	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	120,3	0,058	5,84	---	0
Пр. 86	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	128,7	0,05	5,81	55,3	---
Пр. 87	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	159,2	0,089	6,07	---	---

Пр. 88	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	152,4	0,046	5,99	---	---
Пр. 89	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	101,5	0,076	6,02	---	---
Пр. 90	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	87,54	0,073	5,81	---	---
Пр. 91	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	111,9	0,053	6,01	---	---
Пр. 91	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	124,3	0,06	6,01	99,0	---
Пр. 92	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	117,3	0,065	5,92	---	89,4
Пр. 93	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	121,5	0,071	6,00	---	89,71
Пр. 94	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	116,4	0,073	6,16	---	90
Пр. 96	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	197,3	0,14	5,71	---	---
Пр. 97	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	98,01	0,106	5,82	---	---
Пр. 98	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	164,6	0,096	5,94	---	---
Пр. 99	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	96,61	0,061	5,75	---	---
Пр. 100	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	105,9	0,121	6,17	---	26,9
Пр. 100	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	106,4	0,07	5,69	94,0	---
Пр. 101	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	---	---	6,32	---	---
Пр. 104	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	---	---	6,02	---	---
Пр. 106	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	149,3	0,083	6,04	---	---
Пр. 107	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	191,7	0,071	6,11	---	---
Пр. 109	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	91,98	0,09	5,98	---	68,97
Пр. 110	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	183,3	0,071	5,66	---	---
Пр. 111	Хол	ДСФХ	SO10	45/44/9/2	161,9	0,048	6,27	---	---
Пр. 112	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	96,1	0,1	6,08	---	86
Пр. 113	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	87,5	0,132	6,03	---	57,6
Пр. 114	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	94,9	0,1	5,97	---	44
Пр. 115	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	89,0	0,1	5,87	---	78
Пр. 116	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	87,5	0,094	5,67	---	29
Пр. 117	---	---	---	---	---	---	5,46	---	---
Пр. 118	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	84,8	0,058	5,67	---	46,3
Пр. 119	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	85,3	0,073	5,84	---	7,8
Пр. 120	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	96,5	0,056	6,31	---	83,7
Пр. 121	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Пр. 122	---	---	---	---	---	---	5,06	---	---
Пр. 123	---	---	---	---	---	---	6,08	---	---
Пр. 124	---	---	---	---	---	---	7,11	---	---
Пр. 125	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	194,7	0,086	5,75	---	---
Пр. 126	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DMG	45/44/9/2	95,2	0,075	5,54	---	31,7

¹Порядок типов липидов, как они появляются в молярном соотношении, соответствует порядку, при котором липиды появляются в первых четырех столбцах таблицы.

²рКа относится к рКа катионного липида формулы (I)

Анализ ксенотрансплантата LS411N

Мышам-самкам Nu/Nu (6-8 недель) подкожно имплантировали 5×10^6 LS411N клетки. Рост опухоли контролировали с помощью измерения штангенциркулем до начала лечения. Мыши, имеющие 150-250 мм³ подкожные опухоли, были рандомизированы и включены в исследование. Составы основной кРНК разбавляли до 0,3 м/мл ФСБ для дозирования. Животные, включенные в различные группы, получали однократную суточную болюсную инъекцию IV 3 мг/кг кРНК в течение трех дней. Опухоли отбирали для исследования через 24 ч после последней инъекции, чтобы оценить регулирование целевого гена с помощью ПЦР в реальном времени (qRT-PCR).

Липидные наночастицы, содержащие липидные соединения формулы (I) и PLK1-424 кРНК двухцепочечную последовательность, перечисленные выше, исследовали в анализе ксенотрансплантата LS411N. Результаты данного анализа приведены в табл. 5 ниже как процентная самая низкая PLK-1 мРНК по сравнению с контролем при введении в виде единичной суточной дозы в течение трех дней при дозе 3 мг/кг.

Таблица 5. Липидные наночастицы, содержащие PLK1-424 киРНК, и результаты анализа ксенотрансплантата LS411N

Катионный липид формулы (I)	Нейтральный липид	Хелперный липид	Скрытый липид	³ Молярное соотношение липидов	Размер (нм)	PDI	⁴ pKa	LS411 KD 3x3 мг/кг
Пример 1	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	74,56	0,152	5,59	---
Пример 2	Хол	ДСФХ	S011	45/44/9/2	88,19	0,1	5,57	---
Пример 38	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	116,8	0,036	5,93	60
Пример 38	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DSG	45/44/9/2	116,8	0,036	5,93	58
Пример 39	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	114,3	0,039	5,91	55
Пример 42	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	181,1	0,06	5,93	50
Пример 43	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	150,7	0,046	5,85	40
Пример 52	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	132,2	0,06	5,96	50
Пример 52	Хол	ДСФХ	ПЭГ-DSG	45/44/9/2	132,2	0,06	5,96	69
Пример 57	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	116,3	0,038	5,94	60
Пример 63	Хол	ДСФХ	ПЭГ_DSG	45/44/9/2	108,6	0,047	5,9	66
Пример 91	Хол	ДСФХ	S010	45/44/9/2	136,1	0,032	6,01	45

³Порядок типов липидов, как они появляются в молярном соотношении, соответствует порядку, при котором липиды появляются в первых четырех столбцах таблицы.

⁴pKa относится к pKa катионного липида формулы (I)

Исследования иммунизации

Популяцию мышей BALB/c иммунизировали липосомами, содержащими ДСФХ, холестерин и различные липиды по изобретению (или для сравнения катионный липид 1,2-дидолеилокси-N,N-диметил-3-аминопропан или "DLinDMA"). Липосомы инкапсулировали 0,1 мкг "vA317" самореплицирующегося репликона РНК, который кодирует F-белок респираторно-синцитиального вируса (см. WO 2012/031043). В качестве отрицательного контроля мыши получали 1 мкг "голого" репликона. Дозы давали или в дни 0 & 21, или дни 0 & 42. Иммунные ответы оценивали через 2 недели после каждой дозы (2wp1, 2wp2) и в некоторых случаях также через 4 недели после второй дозы (4wp2). Проводили четыре серии экспериментов, каждый со своим собственным "голым" контролем. Во всех экспериментах сыворотки оценивали в двух пулах, и анти-PCSB-F титры показаны в табл. 6 ниже.

Таблица 6. Иммунизационные титры в отношении F-белка РСВ

Катионный липид формулы (I)	курс	2wp1 пул 1	2wp1 пул 2	2wp2 пул 1	2wp2 пул 2	4wp2 пул 1	4wp2 пул 2
Голый	A	115	264	692	5371	-	-
DLinDMA	A	819	954	18318	21731	-	-
Пример 2	A	217	259	12785	8232	-	-
Пример 13	A	495	620	7157	12316	-	-
Пример 14	A	1234	2089	44059	45246	-	-
Пример 9	A	1832	1352	29707	18788	-	-
Голый	B	155	48	3264	1440	4747	1954
DLinDMA	B	13	4	18290	5538	13936	7020
Пример 12	B	88	128	4550	4828	4787	3972
Голый	A	219	255	855	1052	1157	1726
DLinDMA	A	4336	6460	19155	19141	26504	28008
Пример 26	A	4	4	10	10	10	10
Пример 14	A	3098	3539	12785	14582	13687	18851
Пример 25	A	1217	1883	1611	1156	2850	1767
Голый	A	2699	905	5253	5491	4323	5008
DLinDMA	A	4585	3390	60395	56229	50799	35992
Пример 14	A	1192	1206	34906	28736	21375	21347
Пример 66	A	75	75	75	75	75	75
Пример 68	A	1031	494	11315	7800	12963	17734
Пример 81	A	1779	1553	24648	15304	41921	34684
Пример 29	A	2101	3584	12529	18669	23930	37278
Пример 70	A	1416	3110	31550	20124	18779	18358
Пример 69	A	2853	4481	23851	20793	19075	21504

Курс: A=дней 0 & 21;

B=дней 0 & 42.

Протокол транскрипции мРНК

Строили кольцевую плазмидную ДНК-матрицу, которая содержала транскрипционную кассету мРНК, состоящую из следующих характерных черт: консенсусного промотора ДНК-зависимой РНК-полимеразы бактериофага Т7, 5'-нетранслируемой области (UTR), последовательности Козака и открытой рамки считывания, и 3' UTR, и 120 нуклеотидов длиной полиаденозинового (полиА120) хвоста. Плазмидную ДНК-матрицу репродуцировали в *E.coli*, выделяли и линеаризовали с помощью расщепления рестрикционными ферментами непосредственно 3' поли120 хвоста. Плазмидную ДНК объединяли с Т7 РНК-полимеразой, рибонуклеотидными трифосфатами, ингибитором РНазы, ферментом пирофосфатазой, дитиотреитолом, спермидином и ферментным реакционным буфером и инкубировали в течение 1 часа при 37°C. Добавляли фермент ДНКазу I для расщепления плазмидной ДНК-матрицы и инкубировали в течение 0,5 ч при 37°C. мРНК выделяли с помощью последовательного осаждения хлоридом лития, промывания осадка в 70% этаноле, повторного суспендирования осадка мРНК в воде, повторного осаждения изопропанолом и ацетатом натрия и промывания осадка снова в 70% этаноле. Конечный осадок мРНК повторно суспендировали в воде.

Реагент	Концентрация	Примечания
Вода, свободная	от	Оставшийся
нуклеаз		объем
Трис-НСl рН 8,0 (мМ)	40	
MgCl ₂ (мМ)	20	
АТФ, ЦТФ, ГТФ, УТФ (мМ)	4	
		Для создания 100% PsU мРНК не включают УТФ в реакцию. Для создания 100% немодифицированной мРНК не включают PsU в реакцию
Псевдоуридин (мМ)	4	
ДТТ (мМ)	10	
Спермидин (мМ)	2	
Линеаризованная плазмидная ДНК (мкг/мкл)	0,05	
Пирофосфатаза (ед/мкл)	0,004	
Ингибитор РНазы (ед/мкл)	1	
Т7 РНК полимеразы (ед/мкл)	5	
ДНаза I (ед/мкл)	0,04	

TEV-h лептин-GAopt-2xhBG-120A (SEQ ID NO: 5)

Особенности последовательности:

Вирус гравировки табака (ВГТ) 5' UTR: 14-154

Оптимальная последовательность Козака: 155-163

Человеческий лептин, кодирующий аминокислоты 1-167 белка доступа # NP_000221, последовательность кодонов, оптимизированная GeneArt: 164-664 2 стоп-кодона: 665-670 2 копии человеческого бета-глобина 3'UTR: 689-954 120 нуклеотидов полиА хвоста: 961-1080

```
GGGAGACGCGUGUAAAUAACAAAUCUCAACACAACAUAUACAAAACAAACGAAUCUC
AAGCAAUCAAGCAUUCUACUUCUAUUGCAGCAAUUUAAAUCAUUUCUUUUAAAAGCAAAAGCAA
UUUUCUGAAAAUUUUCACCAUUUACGAACGAUAGCCGCCACCAUGCACUGGGGAACCCUGUGC
```

GGAUUCCUGUGGCUGUGGCCCUACCUGUUCUAUGUGCAAGCCGUGCCCAUCCAGAAGGUGCAG
 GACGACACCAAGACCCUGAUCAGACCAUCGUGACCCGGGAUCAACGACAUCAGCCACACCCAG
 AGCGUGUCCAGCAAGCAGAAAGUGACCCGGCCUGGACUUCUACCCCGGCCUGCACCCUAUCCUG
 ACCCUGUCCAAGAUGGACCAGACCCUGGCCGUGUACCAGCAGAUCCUGACCAGCAUGCCCAGC
 CGGAACGUGAUCCAGAUCAGCAACGACCUGGAAAACCCUGCGGGACCUGCUGCACGUGCUGGCC
 UUCAGCAAGAGCUGCCAUCUGCCUUGGGCCAGCGGCCUGGAAACCCUGGAUUCUCUGGGCGGA
 GUGCUGGAAGCCAGCGGCUACUCUACAGAGGUGGUGGCCUAGAGCAGACUGCAGGGCAGCCUG
 CAGGAUAUGCUGUGGCAGCUGGAUCUGAGCCCCGGCUGCUAAUAGCGGACCCGGCGAUAGAUGA
 AGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAUUUCUAUUAAAGGUUCCUUGUUCUCCUAAGUCCAACUACUA
 AACUGGGGGAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAACAUUUAUUU
 UCAUUGCAGCUCGCUUUCUUGCUGUCCAUUUCUAUUAAAGGUUCCUUGUUCUCCUAAGUCCA
 ACUACUAAACUGGGGGAUUAUGAAGGGCCUUGAGCAUCUGGAUUCUGCCUAAUAAAAACA
 UUUUUUUUCAUUGCGGCCGCAA
 AA
 AAAAAAAAAAAAAA (SEQ ID NO:5)

Упаковка мРНК

Все оборудование и расходные материалы одноразового применения были удостоверены как не обладающие активностью РНКазы производителем или очищались от РНКазы с помощью использования реагента RNaseZap (Life Technologies). мРНК инкапсулировали в катионный липидный амин к мРНК фосфату (N:P) молярное соотношение 4:1. Липиды (катионный липид, ДСФХ, холестерин и липидированный ПЭГ или скрытый липид) растворяли в этаноле. Молярные соотношения представляли собой 40:10:38:2 соответственно. Смесь недолго обрабатывали ультразвуком, затем осторожно перемешивали в течение 5 мин и затем выдерживали при 37°C до использования. мРНК заменяли в цитратном буфере pH 5,8-6,0 с использованием центрифужных концентраторов Amicon Ultra-15, конечную концентрацию доводили до 0,5 мг/мл и выдерживали при 37°C до использования. Равные объемы липидов в этаноле, мРНК в цитратном буфере и отдельно цитратного буфера втягивали в шприцы одноразового применения. Вводные трубки шприцов, содержащих липиды и мРНК, прикрепляли Т-образному разветвлению и вводная трубка шприца, содержащего отдельно цитратный буфер, составляла пару с трубкой, выходящей из Т-образного разветвления через сосуд для сбора, содержащий магнитную мешалку на активной пластине для смешивания. Шприцы помещали в шприцевой насос, установленный, чтобы изгнать содержимое при скорости потока 1 мл в минуту.

Насос активировали и собранные мРНК в липидных наночастицах переносили в диализную трубку SnakeSkin (10000 MWCO, Thermo Scientific). Материал подвергали диализу в отношении РНКазы и апириногенного 1x фосфатно-солевого буферного раствора в течение ночи при 4°C.

Измерение инкапсуляции мРНК

Процент инкапсуляции мРНК в липидных наночастицах определяли с использованием набора Quant-iT Ribogreen RNA Assay (Life Technologies). ЛНЧ-мРНК суспензию анализировали в буфере (мРНК вне частицы) и буфере плюс детергент Тритон X-100 (общее количество мРНК). Вычисленная разница представляла собой мРНК внутри частицы. 1000 нг/мл основного материала из полученной РНК в наборе получали и использовали для образования градуировочной кривой (0 нг/мл, 15,63-1000 нг/мл) в ТЕ и ТЕ + 0,75% Тритона X-100. Образцы ЛНЧ-мРНК в ТЕ-буфере и ТЕ-буфере + 0,75% Тритона X-100 получали с помощью соответствующего разбавления, так что считывание было в диапазоне градуировочной кривой (400-2000-кратное). В 384-луночный планшет (Costar необработанный # 3573) 0,04 мл стандарта (в двух повторностях) или образца (в трех повторностях) добавляли в каждую лунку. Реагент Ribogreen разбавляли в 240 раз буфером ТЕ и добавляли 0,06 мл в лунку. Содержимое лунок смешивали и измеряли флуоресценцию (возбуждение=480 нм, эмиссия=520 нм). Фоновые значения (не РНК) вычитали из значений стандартного и исследуемого образцов и концентрации РНК определяли в образцах, используя градуировочные кривые. Процент инкапсуляции образца определяли с помощью деления разницы в концентрациях между образцом + тритоном и образцом в буфере отдельно на концентрацию образца + тритона.

h Лептин

Внутривенная инъекция в хвостовую вену мыши модифицированного синтетического лептина мРНК

Перед инъекцией в хвостовую вену массы тела мышей записывали и взвешивали питание с мышами, сгруппированными в соответствии с их массой тела. Мышей готовили с помощью нагревания их под нагревательной лампой в течение ~2 мин, с мышами приблизительно 12 дюймов от лампы для обогрева.

Для метода проведения инъекции в хвостовую вену мышей помещали в фиксатор и хвосты очища-

ли 70% спиртом. Иглу размера 27 (Becton Dickinson, каталожный # 305109), соединенную с 1 мл шприцом (Becton Dickinson, каталожный # 309659), вставляли в хвостовую вену поверхностью скоса вверх и поршень шприца вытаскивали в обратном направлении, чтобы обеспечить попадание крови в шприц. Желаемый объем модифицированного синтетического лептина мРНК вводили вручную с умеренным давлением и скоростью. Иглу затем вынимали, и кровотечение останавливали с помощью надавливания на место инъекции марли.

Расположенных по одному 8-9 недельных мышей-самцов C57BL/6 использовали для исследования *in vivo*. ЖЭХБ-очищенный модифицированный синтетический лептин мРНК (SEQ ID NO: 5), в котором уридины были замещены псевдоуридинами, упаковывали в катионный липид (N:P молярное соотношение=8:1) и затем разбавляли в инъекционном солевом растворе до дозы 10 мкг на среднюю массу тела группы.

В день 0 животных взвешивали и распределяли в соответствии со средней массой тела. Мышам вводили дозы, и потребление пищи (FI) записывали для каждого из дней 1-7 и дней 9, 11 и 16.

Подкожная инъекция мышам модифицированного синтетического лептина мРНК

До подкожной инъекции массы тела мышей записывали и взвешивали питание с мышами, сгруппированными в соответствии с их массой тела. Мышей зажимали руками и помещали на рабочую поверхность. Их вытаскивали за загривок и поднимали подлежащую мышцу, пространство, в которое вставляли иглу размера 25, соединенную с 1 мл шприцом. Поршень шприца вытаскивали в обратном направлении таким образом, чтобы обеспечить, чтобы жидкость не попала в шприц, и затем желаемый объем лептина мРНК вводили вручную при умеренном давлении и скорости. Иглу затем извлекали и мышей возвращали в их клетки.

8-9 недельных мышей-самцов C57BL/6 использовали для исследования *in vivo*. ЖЭХБ-очищенный модифицированный синтетический лептин мРНК (SEQ ID NO: 5), в котором уридины были замещены псевдоуридинами (N:P молярное соотношение=8:1), упакованный в несколько катионных липидов, разбавляли в инъекционном солевом растворе до дозы 10 мкг на среднюю массу тела группы.

В день 0 животных взвешивали и распределяли в соответствии со средней массой тела. Мышам вводили дозы в 9 утра, и кровь брали в 9 утра в день 0. Кровь также брали в 9 утра в каждый из дней 1 и 2 и оценивали уровни белка лептина. Массу тела и потребление пищи также записывали.

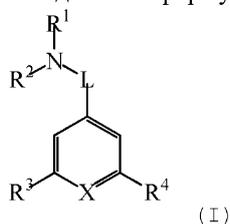
Человеческий лептин в плазме мышей измеряли с помощью ELISA. Антитела, приобретенные в R&D Systems duoset (Cat# DY398E, part# 840279 для иммобилизованного антитела и part# 840280 для детекторного антитела), восстанавливали с помощью ФСБ и титровали, снова используя ФСБ. Иммобилизованное антитело наносили в 4 мкг/мл в 30 мкл/лунка на белый 384-луночный планшет Nunc® Maxiisorp (Кат. # 460372). После инкубирования в течение ночи при комнатной температуре иммобилизованное антитело отсасывали и планшет блокировали в течение 2 ч при комнатной температуре 90 мкл/лунка KPL молочным блокатором (Кат. # 50-82-00). После завершения инкубирования планшет отсасывали и рекомбинантные стандарты и образцы добавляли в планшет 30 мкл/лунка в течение 2 ч при 37°C при встряхивании при 600 об/мин. Разбавления образца/стандарта проводили с использованием разбавителя образца на основе казеина. Промывание/отсасывание 3 раза 100 мкл/лунка проводили с использованием раствора для промывки планшета Teknova (Кат. # P1192). Далее детекторное антитело разбавляли с помощью разбавителя для детекции антител на основе казеина 12,5 нг/мл и добавляли в 30 мкл/лунка в течение 2 ч при комнатной температуре. После данного инкубирования планшет снова промывали и добавляли раствор полистрептавидин-HRP (Кат. # 21140) в разведении 1:1250 в HRP буфере для разведения в каждую лунку (30 мкл/лунка) и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. Окончательное промывание/отсасывание удаляло раствор HRP, и добавляли хемилюминесцентный субстрат 30 мкл/лунка (Кат. # 1859678 & 1859679). Планшет быстро прочитывали с помощью планшет-ридера SpectraMaxM5 со временем интеграции 50 мс. Динамический диапазон ELISA представляет собой от 100 до 2000 пг/мл (6,25-125 pM) человеческого лептина. Анализ применим к плазме мышей, крыс и макакрабедов.

Номер примера	% инкапсуляции	Размер (нм)	PDI	Экспрессия лептина IV- C57Bl/6, 24 ч (нг/мл)	Экспрессия лептина SC- C57Bl/6, 24 ч (нг/мл)
38	90,9	142,3	0,083	17,21	0,99
39	73,1	156,0	0,090	10,47	0,79
43	71,1	176,0	0,042	13,56	0,66
52	95,1	143,9	0,109	21,18	0,85
57	96,0	127,8	0,102	9,17	
59	87,0	134,7	0,106	8,08	1,16
78	71,1	164,0	0,150	0,96	
79	91,6	140,5	0,116	1,36 (6ч)	
85	93,1	134,8	0,125	1,78	
90	80,9	164,7	0,090	0,74	
92	72,5	134,2	0,073	1,34	

Пронумерованные варианты осуществления

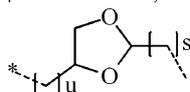
Вариант осуществления 1.

Настоящее изобретение предоставляет соединение формулы (I)

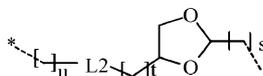


где

L представляет собой C₁₋₆алкилен, *-C₁₋₄алкилен-L2-, *-C₁₋₄алкилен-L2-C₁₋₄алкилен-



или



где * обозначает присоединение фрагмента к NR¹R² группе;

L2, присоединенный в любом направлении, представляет собой -C(O)O-, -OC(O)O- или -CONH-;

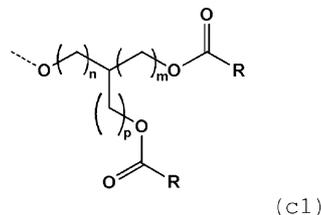
каждый s представляет собой независимо 0, 1 или 2;

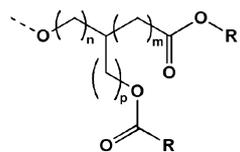
t представляет собой независимо 0, 1, 2, 3 или 4;

каждый u представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

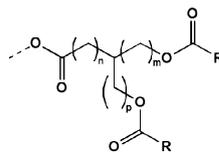
R¹ и R² представляют собой каждый независимо незамещенный или замещенный C₁₋₆алкил; где указанный C₁₋₆алкил необязательно замещен одним или двумя заместителями, каждый независимо выбран из группы, состоящей из OH, COOH и COO-C₁₋₄алкила, или R¹ и R² соединены вместе, образуя незамещенное или замещенное 4-7-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, выбранных из N и O, причем указанное гетероциклическое кольцо необязательно замещено одним-тремя заместителями OH;

R³ и R⁴ представляют собой каждый независимо цепь -R^c, где R^c представляет собой

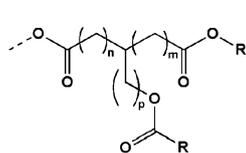




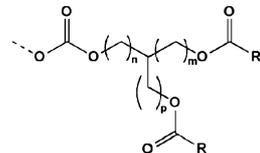
(c2),



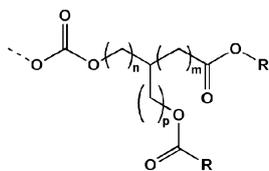
(c3),



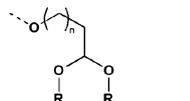
(c4),



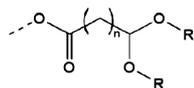
(c5),



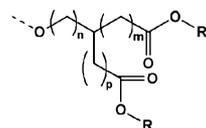
(c6),



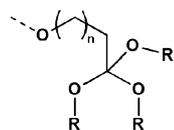
(c7),



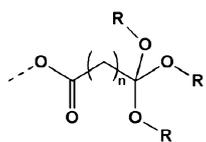
(c8),



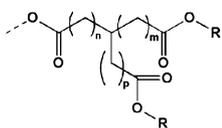
(c9),



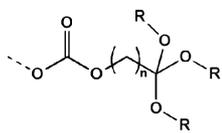
(c10),



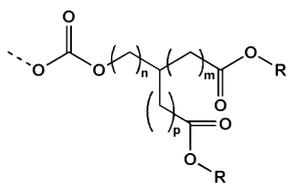
(c11),



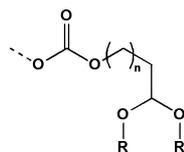
(c12),



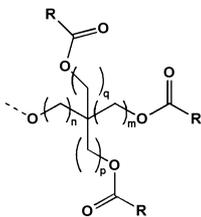
(c13),



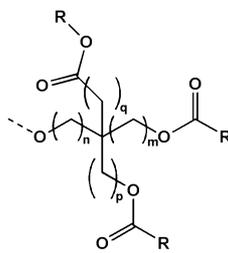
(c14),



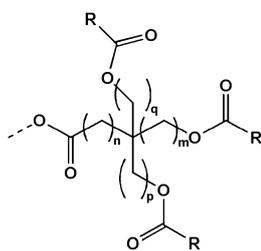
(c15),



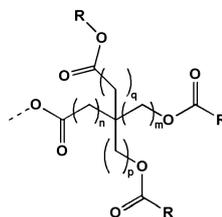
(c16),



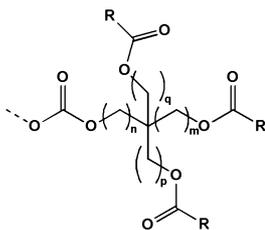
(c17),



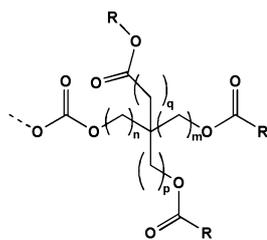
(c18),



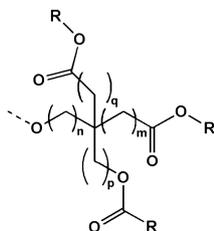
(c19),



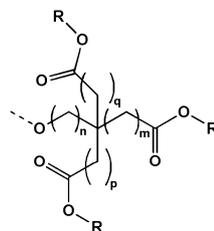
(c20),



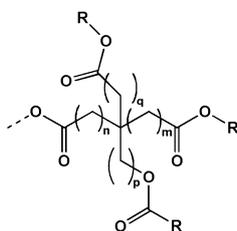
(c21),



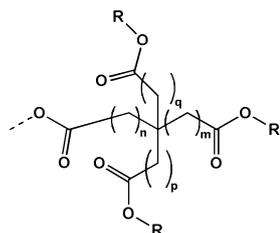
(c22),



(c23),

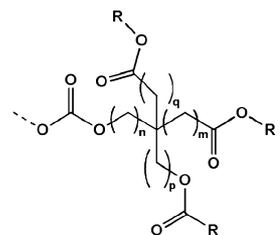


(c24),

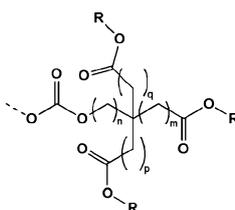


(c25),

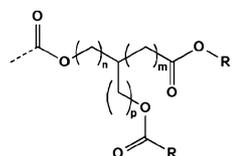
или



(c26),



(c27)



(c28)

R представляет собой C_{5-22} алкил, C_{5-22} алкенил или C_{5-22} алкинил;

n представляет собой 0-12;

m, p и q представляют собой каждый независимо 0, 1, 2, 3 или 4;

при условии, что цепь R^c имеет 12-70 атомов углерода;

X представляет собой CR^6 или N и

R^6 представляет собой H, гало, C_{1-6} алкил или R^4 ;

или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 2.

Соединение по варианту осуществления 1, в котором X представляет собой CR^6 ; или его фармацев-

тически приемлемая соль.

Вариант осуществления 3.

Соединение по варианту осуществления 2, в котором R^6 представляет собой H, хлор, бром или C_{1-3} алкил, или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 4.

Соединение по варианту осуществления 3, в котором R^6 представляет собой H; или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 5.

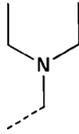
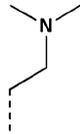
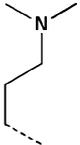
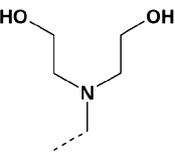
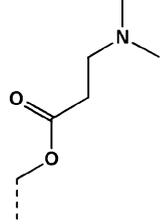
Соединение по варианту осуществления 4, в котором L представляет собой метилен, этилен, или пропилен, или L представляет собой *- C_{1-3} алкилен-O-C(O)-, или L представляет собой *- C_{1-4} алкилен-L2- C_{1-2} алкилен, где L2, присоединенный в любом направлении, представляет собой C(O)O или OC(O)O; или его фармацевтически приемлемая соль.

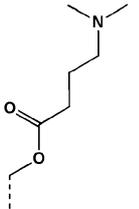
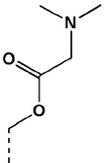
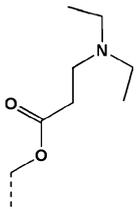
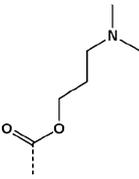
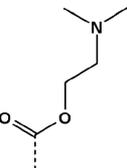
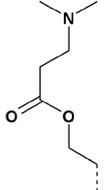
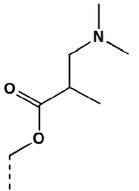
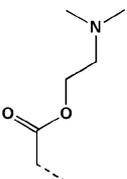
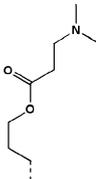
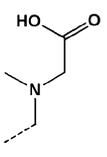
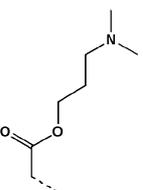
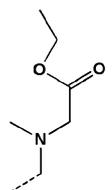
Вариант осуществления 6.

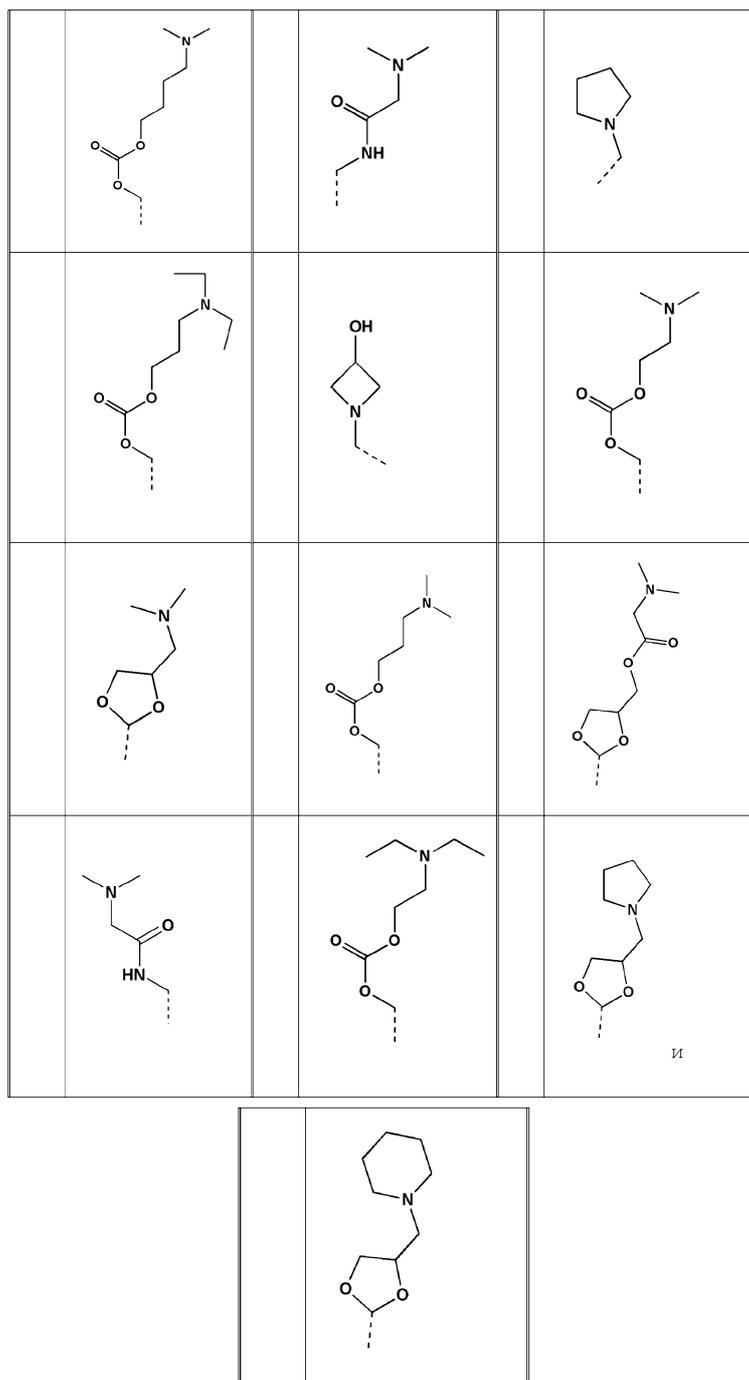
Соединение по варианту осуществления 5, в котором R^1 и R^2 представляют собой каждый независимо незамещенный или замещенный метил, или незамещенный или замещенный этил; или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 7.

Соединение по варианту осуществления 4, в котором L-NR¹R²-группу формулы (I) выбирают из группы, состоящей из

	Структура		Структура		Структура
					
					



где пунктирная линия указывает на точку присоединения к формуле (I); или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 8. Соединение по варианту осуществления 7, в котором R^c представляет собой с1 или с3; n представляет собой 1 или 2; m представляет собой 0 или 1 и p представляет собой 1; или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 9. Соединение по варианту осуществления 8, в котором $R^4 = R^3$; или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 10. Соединение, выбранное из группы, состоящей из

1- (3,5-бис ((Z)-октадец-9-ен-1-илокси) фенил) -N,N-диметилметанамин,

1- (3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) фенил) -N,N-диметилметанамин,

2,2'- ((3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил) азанедиил) диэтанол,

1- (3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил) пирролидин,

1- (3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил) азетидин-3-ол,

этил-2- ((3,5-бис ((Z)-октадец-9-ен-1-илокси) бензил) (метил) амино) ацетат,

1- (3,5-бис ((Z)-октадец-9-ен-1-илокси) бензил) пирролидин,

2- ((3,5-бис ((Z)-октадец-9-ен-1-илокси) бензил) (метил) амино) уксусная кислота,

1- ((2- (3,5-бис ((Z)-октадец-9-ен-1-илокси) фенил) -1,3-диоксолан-4-ил) метил) пирролидин,

1- (2- (3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) фенил) -1,3-диоксолан-4-ил) -N,N-диметилметанамин,

1- ((2- (3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) фенил) -1,3-диоксолан-4-ил) метил) пиперидин,

(2- (3,5-бис ((Z)-октадец-9-ен-1-илокси) фенил) -1,3-диоксолан-4-ил) метил-2- (диметиламино) ацетат,

3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил-4- (диметиламино) бутаноат,

3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил-3- (диметиламино) пропаноат,

3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил-2- (диметиламино) ацетат,

4-метил-3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил-3- (диметиламино) пропаноат,

3,5-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) бензил-3- (диметиламино) -2-метилпропаноат,

2- (диметиламино) этил-2,6-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) изоникотинат,

3- (диметиламино) пропил-2,6-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) изоникотинат,

(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5- ((3- (диметиламино) пропаноил) окси) метил) -1,3-фенилен-бис (октадека-9,12-диеноат),

(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5- ((4- (диметиламино) бутаноил) окси) метил) -1,3-фенилен-бис (октадека-9,12-диеноат),

(2,6-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) пиридин-4-ил) метил-3- (диэтиламино) пропаноат,

(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5- ((3- (диметиламино) пропаноил) окси) метил) -1,3-фенилен) бис (метил) бис (октадека-9,12-диеноат),

(2,6-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) пиридин-4-ил) метил-4- (диметиламино) бутаноат,

(2,6-бис ((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси) пиридин-4-ил) метил-3- (диметиламино) пропаноат,

1-(2,6-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)-N,N-диметилметанамин,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
 (5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)дитридеканоат,
 (5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(3-октилундеканоат),
 (9Z,12Z)-3-((диметиламино)метил)-5-(((3-октилундеканоил)окси)метил)бензилоктадека-9,12-диеноат,
 ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-ил)-5-(((3-((диметиламино)пропаноил)окси)метил)изофталат,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил))бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-((диэтиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил))бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат),
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-3-(диметиламино)пропаноат,
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-4-(диметиламино)бутаноат,
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенэтил-3-(диметиламино)пропаноат,
 3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((2-(диметиламино)этоксид)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(5-(((3-(диметиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((2-

(диметиламино)этоксикарбонил)окси)метил)-1,3-фенилен-
 бис(октадека-9,12-диеноат),
 3-(диметиламино)пропил-4-изопропил-3,5-бис((9Z,12Z)-
 октадека-9,12-диен-1-илокси)бензилкарбонат,
 4-бром-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-
 илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат,
 4-хлор-3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-
 илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбонат,
 N-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)-2-
 (диметиламино)ацетамид,
 O,O'-((5-(диметиламино)метил)-1,3-
 фенилен)бис(метилен)ди((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-
 ил)дисукцинат,
 O,O'-((5-(диметиламино)метил)-1,3-
 фенилен)бис(метилен)бис(10-октаноилокси)децил)дисукцинат,
 O¹,O¹-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)-
 8-динонилдиоктандиоат,
 O¹,O¹-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)-
 9-диоктилдинонандиоат,
 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-
 илокси)фенил)пропил-3-(диметиламино)пропаноат,
 (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-((5-(диметиламино)метил)-1,3-
 фенилен)бис(метилен)бис(окси)бис(4-оксобутан-4,1-
 диил)бис(октадека-9,12-диеноат),
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-
 фенилен)бис(метилен)бис(окси)бис(8-оксооктан-8,1-
 диил)бис(деcanoат),
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-
 фенилен)бис(метилен)бис(окси)бис(4-оксобутан-4,1-
 диил)диоктаноат,
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-
 фенилен)бис(метилен)бис(окси)бис(6-оксогексан-6,1-
 диил)диоктаноат,
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(10-
 (октаноилокси)деcanoат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(8-

(октаноилокси) октаноат),
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(окси) бис(6-оксогексан-6,1-диил) бис(деcanoат),
 4,4'-(5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(бутан-1,2-диил) тетраоктаноат,
 (R)-4-(3-(S)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-(диметиламино)метил) фенокси) бутан-1,2-диилдиоктаноат,
 (S)-4-(3-(S)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-(диметиламино)метил) фенокси) бутан-1,2-диилдиоктаноат,
 (R)-4-(3-(R)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-(диметиламино)метил) фенокси) бутан-1,2-диилдиоктаноат,
 N,N-диметил-1-(3,4,5-трис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанамин,
 (((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(пропан-3,1-диил) бис(окси) бис(4-оксобутан-4,1-диил) бис(деcanoат),
 O¹,O²-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(пропан-3,1-диил)-9-диоктилдинонандиоат,
 3-(диметиламино)метил)-5-((8-(октаноилокси)октаноил)окси)метил)бензил-3-октилундеcanoат,
 2-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилэтанамин,
 3-(3,5-бис((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилпропан-1-амин,
 2-(3-(4-(5-(диметиламино)метил)-2-метил-3-(9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)фенокси)бутоксид)-3-оксопропил)пропан-1,3-диилдигексаноат,
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(8-деканамидооктаноат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(6-((нонилокси)карбонил)окси)гексаноат),
 бис(1,3-бис(октаноилокси)пропан-2-ил)-O,O'-((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) дисукцинат,
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(бутан-4,1-диил) бис(пропан-3,2,1-триил) тетраоктаноат,
 ((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(метилен) бис(пропан-3,2,1-триил) тетраоктаноат,
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(5-гептилдодеcanoат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(7-гексилтридеcanoат),
 (5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(метилен) бис(9-пентилтетрадеcanoат),
 (((5-(диметиламино)метил)-1,3-фенилен) бис(окси) бис(бутан-4,1-диил) бис(окси) бис(пропан-3,2,1-триил) тетраоктаноат,
 1-(3,5-бис(4,4-бис(октилокси)бутоксид)фенил)-N,N-диметилметанамин,
 или его фармацевтически приемлемая соль.

Вариант осуществления 11. Липидная композиция, содержащая соединение по любому из вариан-

тов осуществления 1-10 или его фармацевтически приемлемую соль и биологически активный агент.

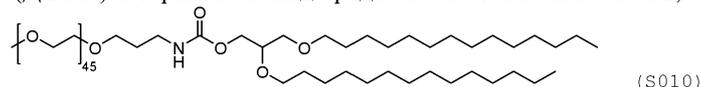
Вариант осуществления 12. Липидная композиция по варианту осуществления 11, в которой биологически активный агент представляет собой короткую интерферирующую РНК (киРНК).

Вариант осуществления 13. Липидная композиция по варианту осуществления 13, дополнительно содержащая хелперный липид.

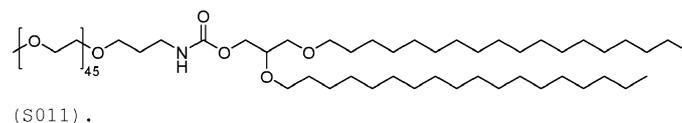
Вариант осуществления 14. Липидная композиция по варианту осуществления 13, дополнительно содержащая нейтральный липид.

Вариант осуществления 15. Липидная композиция по варианту осуществления 14, дополнительно содержащая скрытый липид.

Вариант осуществления 16. Липидная композиция по варианту осуществления 15, в которой хелперный липид представляет собой холестерин, нейтральный липид представляет собой дистеарилфосфатидилхолин (ДСФХ) и скрытый липид представляет собой ПЭГ-DMG,



или



Вариант осуществления 17. Липидная композиция по варианту осуществления 15 в форме липидной наночастицы.

Вариант осуществления 18. Липидная композиция по варианту осуществления 16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 45/44/9/2 соответственно.

Вариант осуществления 19. Липидная композиция по варианту осуществления 16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 55-40/55-40/15-5/10-1 соответственно.

Вариант осуществления 20. Липидная композиция по варианту осуществления 16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 50-40/50-40/15-5/5-1 соответственно.

Вариант осуществления 21. Липидная композиция по варианту осуществления 16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 47-43/47-43/12-7/4-1 соответственно.

Вариант осуществления 22. Фармацевтическая композиция, содержащая липидную композицию по любому из вариантов осуществления 11-21 и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

Вариант осуществления 23. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества липидной композиции по любому из вариантов осуществления 11-21 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

Вариант осуществления 24. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по варианту осуществления 22 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

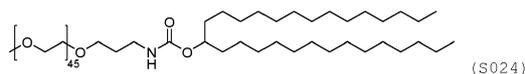
Вариант осуществления 25. Липидная композиция по варианту осуществления 11, в которой биологически активный агент представляет собой матричную РНК (мРНК).

Вариант осуществления 26. Липидная композиция по варианту осуществления 25, дополнительно содержащая хелперный липид.

Вариант осуществления 27. Липидная композиция по варианту осуществления 26, дополнительно содержащая нейтральный липид.

Вариант осуществления 28. Липидная композиция по варианту осуществления 27, дополнительно содержащая скрытый липид.

Вариант осуществления 29. Липидная композиция по варианту осуществления 26, в которой хелперный липид представляет собой холестерин, нейтральный липид представляет собой ДСФХ и скрытый липид представляет собой ПЭГ-DMG, S010, S011 или



Вариант осуществления 30. Липидная композиция по варианту осуществления 29 в форме липидной наночастицы.

Вариант осуществления 31. Липидная композиция по варианту осуществления 29, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010, S011 или S024, 40/38/10/2 соответственно.

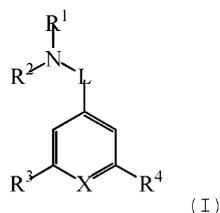
Вариант осуществления 32. Фармацевтическая композиция, содержащая липидную композицию по любому из вариантов осуществления 25-31 и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

Вариант осуществления 33. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества липидной композиции по любому из вариантов осуществления 25-31 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

Вариант осуществления 34. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по варианту осуществления 32 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

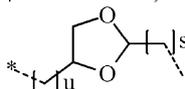
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)

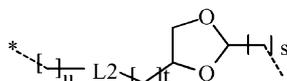


где

L представляет собой C₁₋₆алкилен, *-C₁₋₄алкилен-L2-, *-C₁₋₄алкилен-L2-C₁₋₄алкилен-,



или



где * обозначает присоединение фрагмента к NR¹R² группе;

L2, присоединенный в любом направлении, представляет собой -C(O)O-, -OC(O)O- или -CONH-;

каждый s представляет собой независимо 0, 1 или 2;

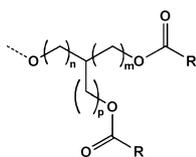
t представляет собой независимо 0, 1, 2, 3 или 4;

каждый u представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

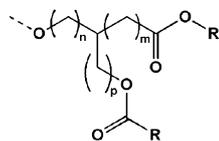
R¹ и R² представляют собой каждый независимо незамещенный или замещенный C₁₋₆алкил; где указанный C₁₋₆алкил необязательно замещен одним или двумя заместителями, каждый независимо выбран из группы, состоящей из: OH, COOH и COO-C₁₋₄алкила, или

R¹ и R² соединены вместе, образуя незамещенное или замещенное 4-7-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-2 гетероатома, выбранных из N и O, причем указанное гетероциклическое кольцо необязательно замещено одним-тремя заместителями OH;

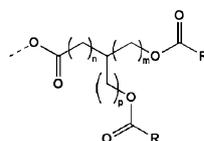
R³ и R⁴ представляют собой каждый независимо цепь -R^c, где R^c представляет собой



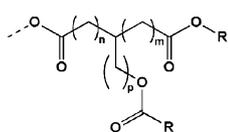
(c1)



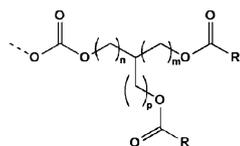
(c2),



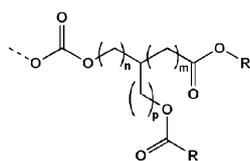
(c3),



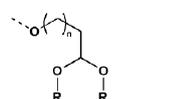
(c4),



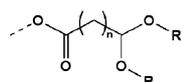
(c5),



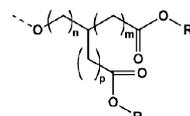
(c6),



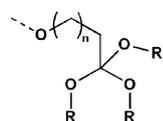
(c7),



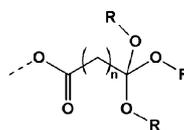
(c8),



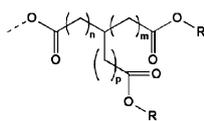
(c9),



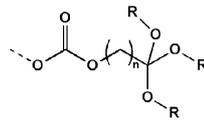
(c10),



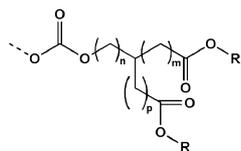
(c11),



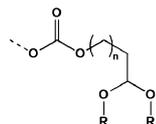
(c12),



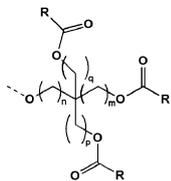
(c13),



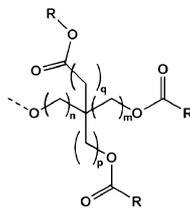
(c14),



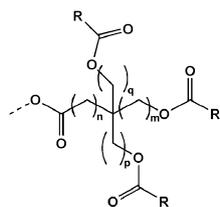
(c15),



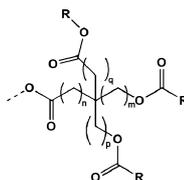
(c16),



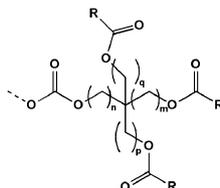
(c17),



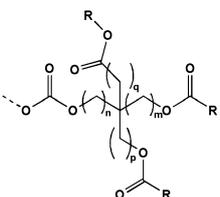
(c18),



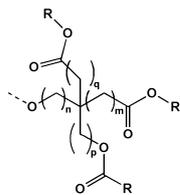
(c19),



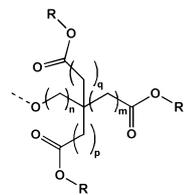
(c20),



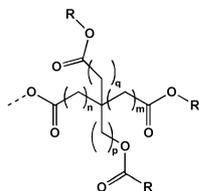
(c21),



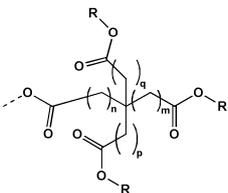
(c22),



(c23),

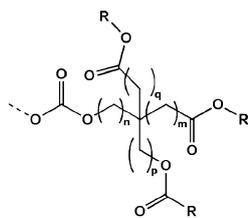


(c24),

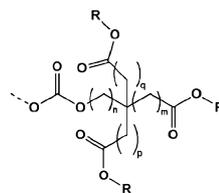


(c25),

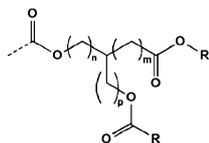
ИЛИ



(с26),



(с27)



(с28)

R представляет собой C_{5-22} алкил, C_{5-22} алкенил или C_{5-22} алкинил;

n представляет собой 0-12;

m, p и q представляют собой каждый независимо 0, 1, 2, 3 или 4;

при условии, что цепь R^c имеет 12-70 атомов углерода;

X представляет собой CR^6 или N и

R^6 представляет собой H, гало, C_{1-6} алкил или R^4 ;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, в котором X представляет собой CR^6 ; или его фармацевтически приемлемая соль.

3. Соединение по п.2, в котором R^6 представляет собой H, хлор, бром или C_{1-3} алкил, или его фармацевтически приемлемая соль.

4. Соединение по п.3, в котором R^6 представляет собой H; или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п.4, в котором

L представляет собой метилен, этилен, или пропилен, или

L представляет собой *- C_{1-3} алкилен- $O-C(O)-$, или

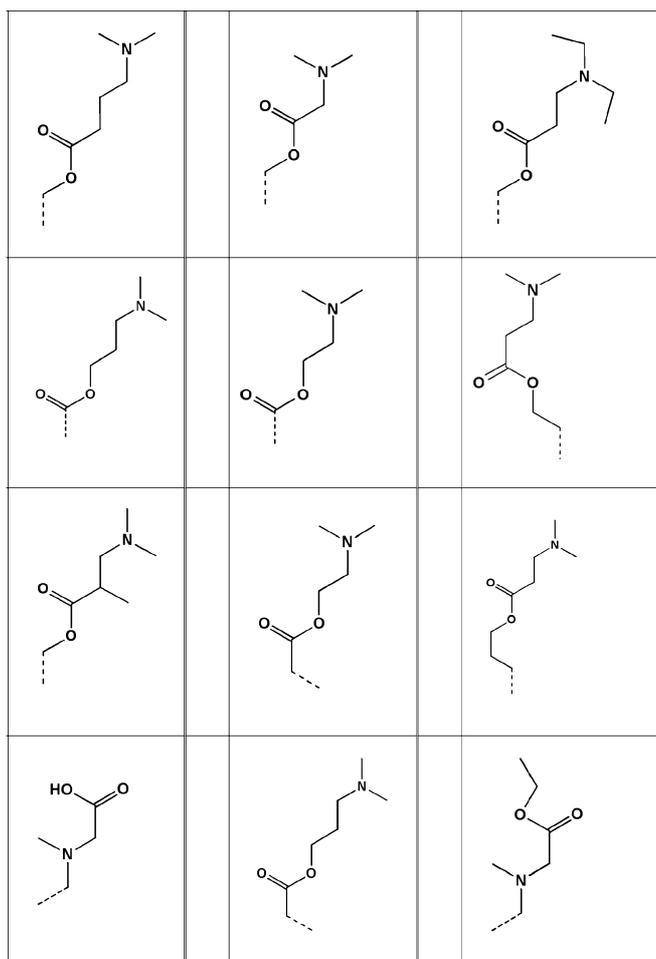
L представляет собой *- C_{1-4} алкилен- L_2-C_{1-2} алкилен, где L_2 , присоединенный в любом направлении, представляет собой $C(O)O$ или $OC(O)O$; или его фармацевтически приемлемая соль.

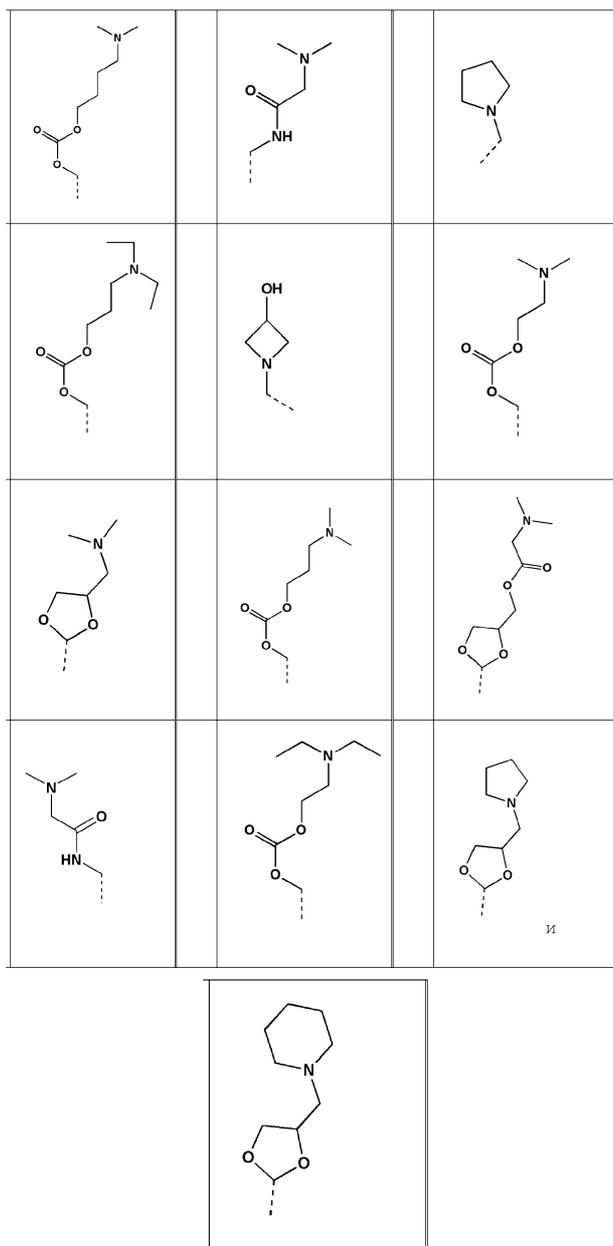
6. Соединение по п.5, в котором R^1 и R^2 представляют собой каждый независимо незамещенный или замещенный метил, или незамещенный или замещенный этил; или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Соединение по п.4, в котором $L-NR^1R^2$ -группу в соединении формулы (I) выбирают из группы, состоящей из

Структура	Структура	Структура

040257





где пунктирная линия указывает на точку присоединения к формуле (I); или его фармацевтически приемлемая соль.

8. Соединение по п.7, в котором R^c представляет собой $c1$ или $c3$; n представляет собой 1 или 2; m представляет собой 0 или 1 и p представляет собой 1; или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Соединение по любому из пп.1-8, в котором $R^d = R^3$; или его фармацевтически приемлемая соль.

10. Соединение, выбранное из группы, состоящей из

- 1-(3,5-бис((Z)октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилметанамина,
- 1-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилметанамина,
- 2,2'-((3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)азанедиил)диэтанола,
- 1-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)пирролидина,
- 1-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)азетидин-3-ола,
- этил-2-((3,5-бис((Z)октадец-9-ен-1-илокси)бензил)(метил)амино)ацетата,
- 1-(3,5-бис((Z)октадец-9-ен-1-илокси)бензил)пирролидина,
- 2-((3,5-бис((Z)октадец-9-ен-1-илокси)бензил)(метил)амино)уксусной кислоты,
- 1-((2-(3,5-бис((Z)октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метил)пирролидина,
- 1-(2-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)-N,N-диметилметанамина,
- 1-((2-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метил)пиперидина,
- (2-(3,5-бис((Z)октадец-9-ен-1-илокси)фенил)-1,3-диоксолан-4-ил)метил-2-(диметиламино)ацетата,
- 3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-4-(диметиламино)бутаноата,
- 3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-3-(диметиламино)пропаноата,

3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-2-(диметиламино)ацетата,
4-метил-3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-3-(диметиламино)пропаноата,
3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил-3-(диметиламино)-2-метилпропаноата,
2-(диметиламино)этил-2,6-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)изоникотината,
3-(диметиламино)пропил-2,6-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)изоникотината,
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат),
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((4-(диметиламино)бутаноил)окси)метил)-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат),
(2,6-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метил-3-(диэтиламино)пропаноата,
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
(2,6-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метил-4-(диметиламино)бутаноата,
2,6-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)метил-3-(диметиламино)пропаноата,
1-(2,6-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)пиридин-4-ил)-N,N-диметилметанамина,
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)дигридеканоата,
(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(3-октилундеканоат),
(9Z,12Z)-3-(((диметиламино)метил)-5-(((3-октилундеканоил)окси)метил)бензилоктадека-9,12-диеноата,
ди((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-ил)-5-(((3-(диметиламино)пропаноил)окси)метил)изофталата,
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил))бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат),
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-(((диэтиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(этан-2,1-диил))бис(окси))бис(этан-2,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат),
3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-3-(диметиламино)пропаноата,
3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илкарбамоил)бензил-4-(диметиламино)бутаноата,
3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенэтил-3-(диметиламино)пропаноата,
3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбоната,
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((2-(диметиламино)этоксикарбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((3-(диметиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(октадека-9,12-диеноат),
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-5-(((2-(диметиламино)этоксикарбонил)окси)метил)-1,3-фенилен-бис(октадека-9,12-диеноат),
3-(диметиламино)пропил-4-изопропил-3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензилкарбонат,
4-бром-3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбоната,
4-хлор-3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил(3-(диметиламино)пропил)карбоната,
N-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)бензил)-2-(диметиламино)ацетамида,
O,O'-(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))ди((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-ил)дисукцината,
O,O'-(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(10-(октаноилокси)децил)дисукцината,
O¹,O¹'-(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)-8-динонилдиоктандиоата,
O¹,O¹'-(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))-9-диокилдинонандиоата,
3-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)пропил-3-(диметиламино)пропаноата,
(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-(((5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(4-оксобутан-4,1-диил)бис(октадека-9,12-диеноат),
(((5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(8-оксооктан-8,1-диил)бис(деканоат),
(((5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(4-оксобутан-4,1-диил)диоктаноата,
(((5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(6-оксогексан-6,1-диил)диоктаноата,
(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(10-(октаноилокси)деканоат),
(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(8-(октаноилокси)октаноат),
(((5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))бис(окси))бис(6-оксогексан-6,1-диил)бис(деканоат),
4,4'-(5-(((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-1,2-диил)тетраоктаноата,

(R)-4-(3-((S)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-((диметиламино)метил)феноксид)бутан-1,2-диилдиоктаноата,

(S)-4-(3-((S)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-((диметиламино)метил)феноксид)бутан-1,2-диилдиоктаноата,

(R)-4-(3-((R)-3,4-бис(октаноилокси)бутоксид)-5-((диметиламино)метил)феноксид)бутан-1,2-диилдиоктаноата,

N,N-диметил-1-(3,4,5-трис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)метанамина,
(((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил))бис(окси))бис(4-оксубутан-4,1-диил)бис(деканоеат),

O¹,O¹-(((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(пропан-3,1-диил))-9-диокилдиднонандиоата,

3-((диметиламино)метил)-5-(((8-(октаноилокси)октаноил)окси)метил)бензил-3-октилундеканоеата,
2-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилэтанамин,
3-(3,5-бис((9Z,12Z)октадека-9,12-диен-1-илокси)фенил)-N,N-диметилпропан-1-амин,
2-(3-(4-(5-((диметиламино)метил)-2-метил-3-((9Z,12Z)-октадека-9,12-диен-1-илокси)феноксид)бутоксид)-3-оксопропил)пропан-1,3-диилдигексаноеата,

(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(8-деканамидооктаноеат),
(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(6-(((нонилокси)карбонил)окси)гексаноеат),
бис(1,3-бис(октаноилокси)пропан-2-ил)-O,O¹-(((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен))дисулцината),

((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноеата,

((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(метилен))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноеата,

(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(5-гептилдодеканоеат),

(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(7-гексилтридеканоеат),

(5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(метилен)бис(9-пентилтетрадеканоеат),

((5-((диметиламино)метил)-1,3-фенилен)бис(окси))бис(бутан-4,1-диил))бис(окси))бис(пропан-3,2,1-триил)тетраоктаноеата,

1-(3,5-бис(4,4-бис(октилокси)бутоксид)фенил)-N,N-диметилметанамина,

или его фармацевтически приемлемая соль.

11. Липидная композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-10 или его фармацевтически приемлемую соль и биологически активный агент.

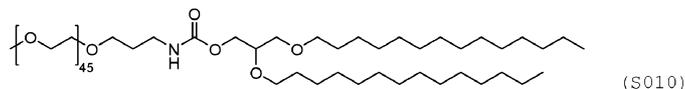
12. Липидная композиция по п.11, в которой биологически активный агент представляет собой короткую интерферирующую РНК (киРНК).

13. Липидная композиция по п.12, дополнительно содержащая хелперный липид.

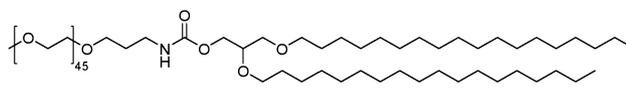
14. Липидная композиция по п.13, дополнительно содержащая нейтральный липид.

15. Липидная композиция по п.14, дополнительно содержащая скрытый липид.

16. Липидная композиция по п.15, в которой хелперный липид представляет собой холестерин, нейтральный липид представляет собой дистеароилфосфатидилхолин (ДСФХ) и скрытый липид представляет собой ПЭГ-DMG,



или



17. Липидная композиция по п.15 в форме липидной наночастицы.

18. Липидная композиция по п.16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 45/44/9/2 соответственно.

19. Липидная композиция по п.16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 55-40/55-40/15-5/10-1 соответственно.

20. Липидная композиция по п.16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 50-40/50-40/15-5/5-1 соответственно.

21. Липидная композиция по п.16, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010 или S011, 47-43/47-43/12-7/4-1 соответственно.

22. Фармацевтическая композиция, содержащая липидную композицию по любому из пп.11-21 и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

23. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества липидной композиции по любому из пп.11-21 пациенту, нуждающемуся в таком

лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

24. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п.22 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

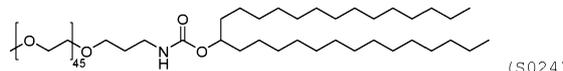
25. Липидная композиция по п.11, в которой биологически активный агент представляет собой матричную РНК (мРНК).

26. Липидная композиция по п.25, дополнительно содержащая хелперный липид.

27. Липидная композиция по п.26, дополнительно содержащая нейтральный липид.

28. Липидная композиция по п.27, дополнительно содержащая скрытый липид.

29. Липидная композиция по любому из пп.26-28, в которой хелперный липид представляет собой холестерин, нейтральный липид представляет собой ДСФХ и скрытый липид представляет собой ПЭГ-DMG, S010, S011 или



30. Липидная композиция по п.29 в форме липидной наночастицы.

31. Липидная композиция по п.29, имеющая молярное соотношение соединения формулы (I)/холестерина/ДСФХ/S010, S011 или S024, 40/38/10/2 соответственно.

32. Фармацевтическая композиция, содержащая липидную композицию по любому из пп.25-31 и фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

33. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества липидной композиции по любому из пп. 25-31 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

34. Способ лечения заболевания или состояния, включающий стадию введения терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п.32 пациенту, нуждающемуся в таком лечении, где заболевание или состояние выбирают из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, воспалительного заболевания, отторжения трансплантата и/или ткани, аутоиммунного заболевания или состояния, связанного с возрастом заболевания, неврологического или нейродегенеративного заболевания, респираторного заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, глазного заболевания, метаболического заболевания, дерматологического заболевания, слухового заболевания, заболевания печени, заболевания почек.

