LÍPIDOS CON AMINA MODIFICADOS

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica la prioridad respecto a la solicitud de patente provisional estadounidense n.° 62/775,783, presentada el 5 de diciembre de 2018, cuyo contenido total se incorpora a la presente mediante referencia.

Antecedentes

Las nanopartículas lipídicas que se formulan con lípidos con amina ionizables pueden servir como vehículos de carga para la administración de agentes biológicamente activos, en particular, polinucleótidos, tales como ARN, ARNm y ARN guías en las células. Las composiciones de LNP que contienen lípidos ionizables pueden facilitar la administración de agentes con oligonucleótidos a través de la membrana celular, y se pueden usar para introducir componentes y composiciones para la edición génica en células vivas. Los agentes biológicamente activos que son particularmente difíciles de administrar a las células incluyen proteínas, fármacos a base de ácidos nucleicos y derivados de estos, particularmente, fármacos que incluyen oligonucleótidos relativamente grandes, tales como ARNm. Las composiciones para la administración de tecnología prometedora de edición génica a las células, tal como la administración de componentes del sistema CRISPR/Cas9, son de particular interés (por ejemplo, ARNm que codifica una nucleasa y ARN guía asociado (ARNg)).

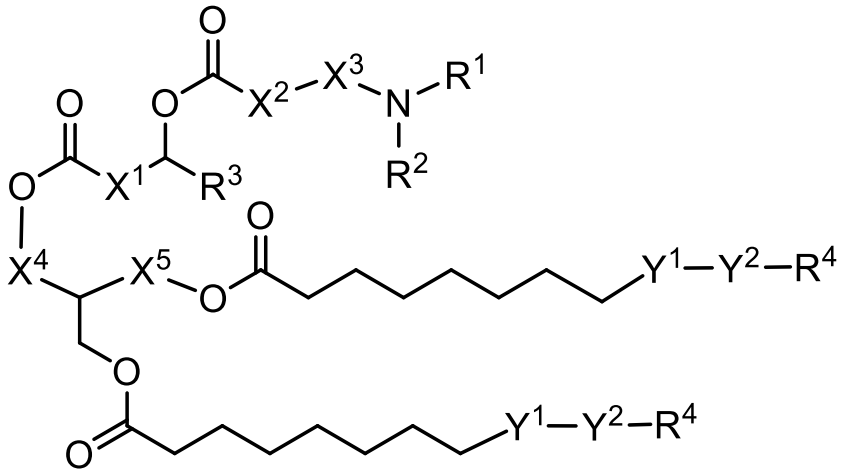
Se necesitan composiciones para administrar la proteína y componentes de ácido nucleico de CRISPR/Cas a una célula, tal como una célula en un paciente. En particular, son de particular interés las composiciones para administrar ARNm que codifica el componente de la proteína CRISPR y para administrar ARN guías de CRISPR. También son de particular interés las composiciones con propiedades útiles para la administración *in vitro* e *in vivo* que pueden estabilizar y administrar componentes de ARN.

Breve compendio

En la presente descripción se proporcionan lípidos que contienen amina que son útiles para la formulación de composiciones con nanopartículas lipídicas (LNP). Tales composiciones de LNP pueden tener propiedades ventajosas para la administración a las células de cargas de ácido nucleico, tales como componentes de edición génica de CRISPR/Cas.

En determinadas modalidades, la presente descripción se refiere a un compuesto que tiene una estructura

con la Fórmula (IA):



(IA)

en donde, independientemente para cada aparición,

X^1 es alquileno C_{1-3} o  ,

X^2 se selecciona de O, NH, NMe, y un enlace,

X^3 es alquileno C_{2-4},

X^4 es alquileno C_1 o un enlace,

X^5 es alquileno C_1 o un enlace,

R^1 es alquilo C_{1-3},

R^2 es alquilo C_{1-3}, o

R^2, junto con el átomo de nitrógeno y R^1 o un átomo de carbono de X^3, forman un anillo de 4 miembros, 5 miembros o 6 miembros,

Y^1 se selecciona de un enlace, -CH=CH-, -(C=O)O-, y -O(C=O)-,

Y^2 se selecciona de $-CH_2-CH=CH-$ y alquileno C_3-C_4,

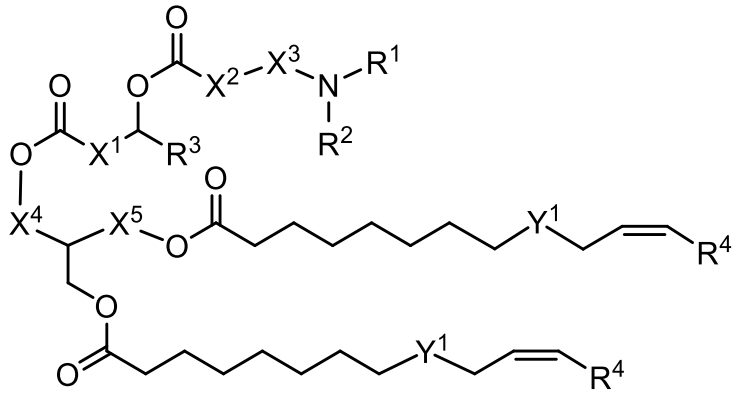
R^3 se selecciona de H, cicloalquilo C_{5-7}, alquenilo C_8-C_{10}, y alquilo C_{3-18},

R^4 es alquilo C_{4-8},

o una sal de este,

con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^3 es alquilo C_{12} lineal, X^1 es alquileno C_2, X^2 es O, X^3 es alquileno C_3, X^4 es un enlace, X^5 es alquileno C_1, Y^1 es *cis* -CH=CH-, e $-Y^2–R^4$ es *cis* $-CH_2-CH=CH-$(alquilo C_5), entonces R^1 es alquilo C_{2-3}.

En determinadas modalidades, la presente descripción se refiere a un compuesto que tiene una estructura de la Fórmula (I):



en donde, independientemente para cada aparición,

X^1 es alquileno C_{2-3},

X^2 se selecciona de O, NH, NMe, y un enlace,

X^3 es alquileno C_{2-4},

X^4 es alquileno C_1 o un enlace,

X^5 es alquileno C_1 o un enlace,

R^1 es alquilo C_{1-2},

R^2 es alquilo C_{1-2}, o

R^2, junto con el átomo de nitrógeno y R^1 o un átomo de carbono de X^3, forman un anillo de 5 miembros o 6 miembros,

Y^1 se selecciona de -CH=CH-, -(C=O)O-, y -O(C=O)-,

R^3 se selecciona de H, cicloalquilo C_{5-7}, y alquilo C_{3-18},

R^4 es alquilo C_{4-7},

o una sal de este,

con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^3 es alquilo C_{12} lineal, X^1 es alquileno C_2, X^2 es O, X^3 es alquileno C_3, X^4 es un enlace, X^5 es alquileno C_1, Y^1 es *cis* -CH=CH-, y R^4 es alquilo C_5, entonces R^1 es alquilo C_2, o una sal de este, tal como una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I) con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^3 es alquilo C_{12} lineal, X^1 es C_2 alquileno, X^2 es O, X^3 es alquileno C_3, X^4 es un enlace, X^5 es alquileno C_1, e Y^1 es *cis* -CH=CH-, entonces R^1 es alquilo C_2.

En determinadas modalidades, X^1 es alquileno C_2 lineal. En otras modalidades, X^1 es alquileno C_1. En algunas modalidades, X^1 es alquileno C_3 lineal o alquileno C_3 ramificado.

En algunas otras modalidades, X^2 es NH u O. En determinadas modalidades preferidas, X^2 es O y X^3 es

alquileno C_{3-4}. En algunas modalidades, X^3 es alquileno C_{2-3}. En determinadas modalidades, X^2 es NMe o un enlace.

En determinadas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 4 miembros. En determinadas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 5 miembros. En algunas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 6 miembros. Alternativamente, R^2 puede ser alquilo C_2. En algunos casos, R^2 es alquilo C_1. En algunas modalidades, R^2 está sustituido, por ejemplo, con un grupo hidroxi, un ejemplo de R^2 incluye alquilo C_2 sustituido con hidroxi.

En determinadas modalidades, R^1 es alquilo C_1. Alternativamente, R^1 puede ser alquilo C_2. En algunas modalidades, R^1 está sustituido, por ejemplo, con un grupo hidroxi, un ejemplo de R^1 incluye alquilo C_2 sustituido con hidroxi. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 4 miembros. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 5 miembros. En incluso otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 6 miembros.

En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{8-16} lineal, por ejemplo, alquilo C_{7-12} lineal, tal como alquilo C_{7-9} lineal. Alternativamente, R^3 puede ser alquilo C_{3-6} lineal. En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{6-10} ramificado. En otras modalidades, R^3 es cicloalquilo C_{5-7}, por ejemplo, cicloalquilo C_6. En algunas modalidades, R^3 es H. En algunas modalidades, R^3 es alquenilo C_{8-10}.

En determinadas modalidades, R^4 es alquilo C_{5-6} lineal.

En algunas modalidades, X^4 es un enlace.

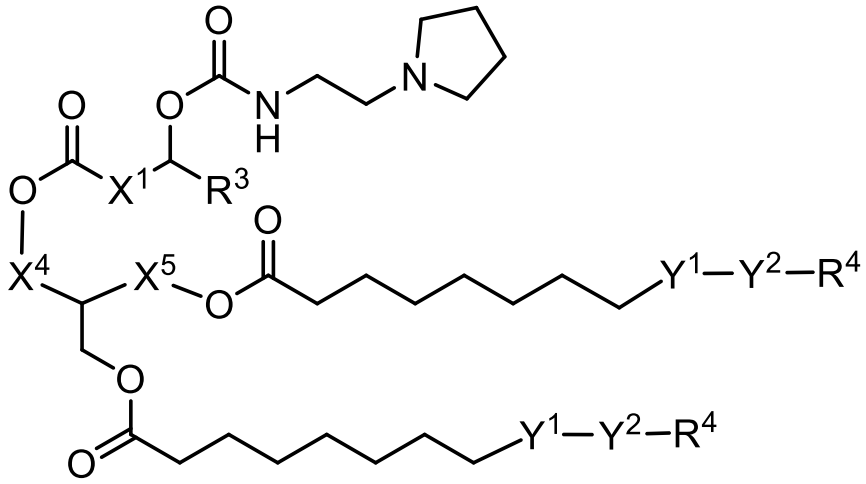
En determinadas modalidades, X^5 es un alquileno C_1.

En algunas modalidades, Y^2–R^4 es $–CH_2$-CH=CH-R^4.

En otras modalidades, Y^2 es alquileno C_3 lineal.

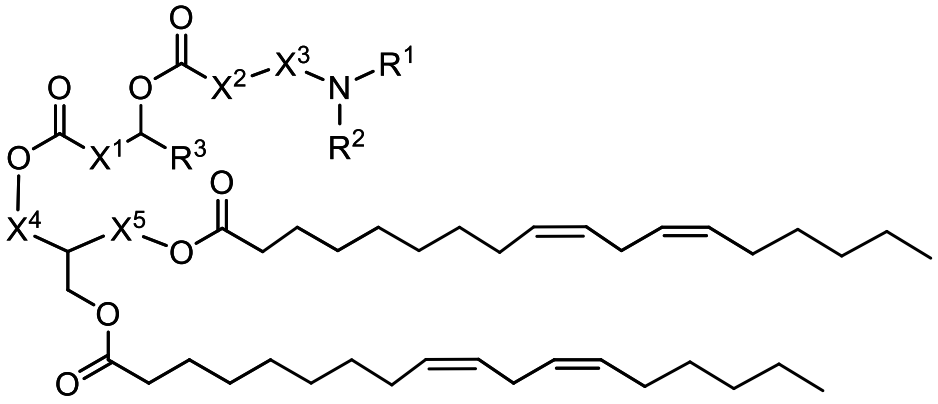
En algunas modalidades, Y^1 se selecciona de un enlace, -CH=CH-, y -O(C=O)-, por ejemplo, -CH=CH- y -O(C=O)-.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula II:



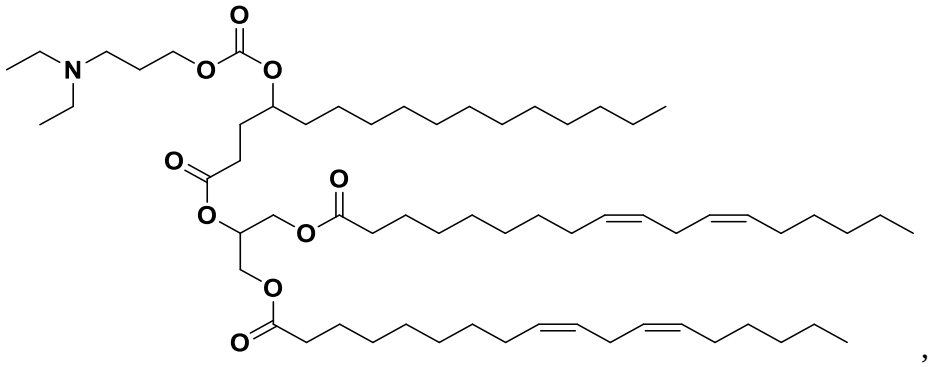
(II), en donde las variables se definen tal como para la Fórmula (IA).

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula III:

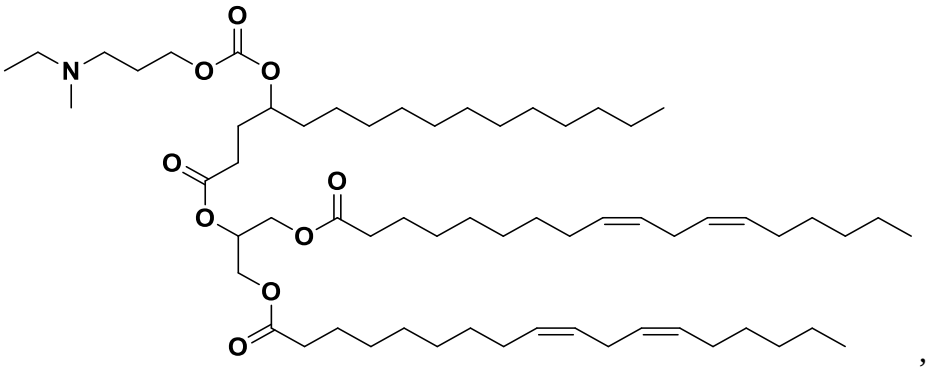


(III), en donde las variables se definen tal como para la Fórmula (IA).

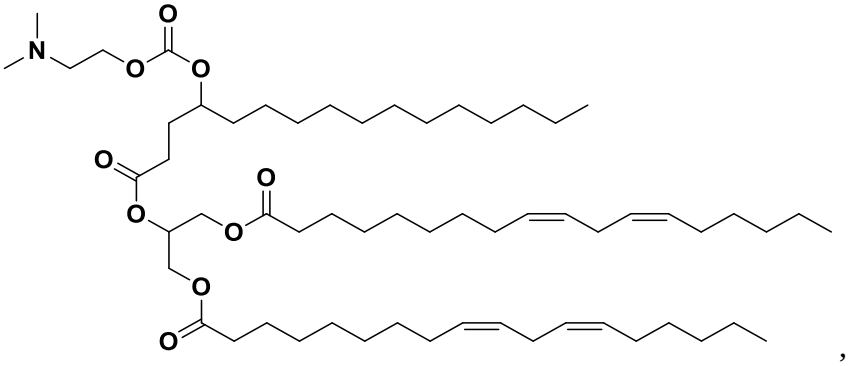
Los compuestos representativos con la Fórmula (IA) o (I) incluyen:



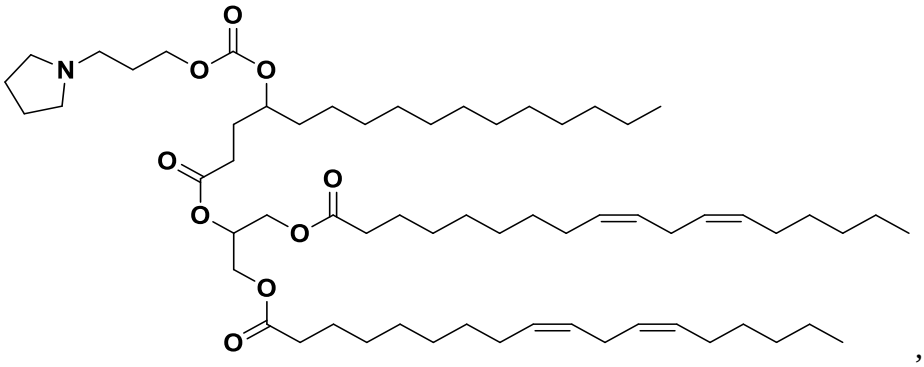
,



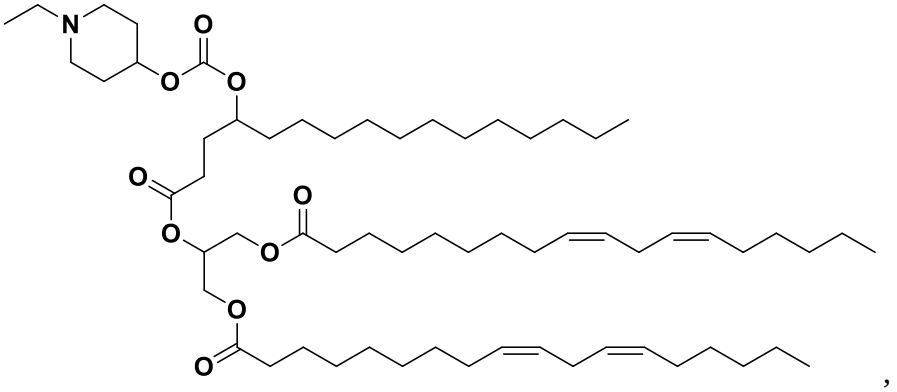
,



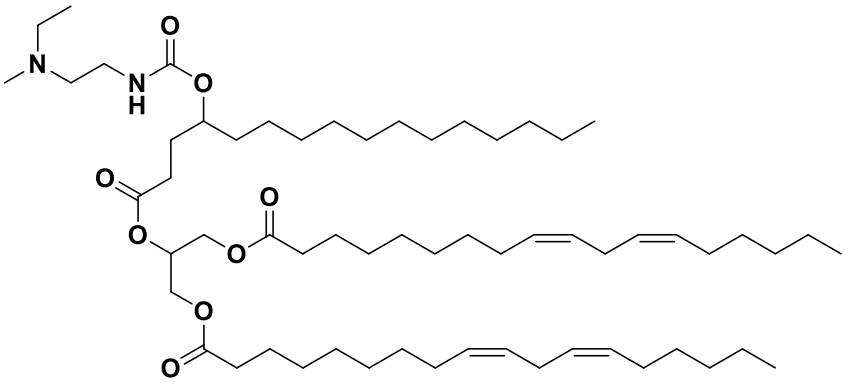
,



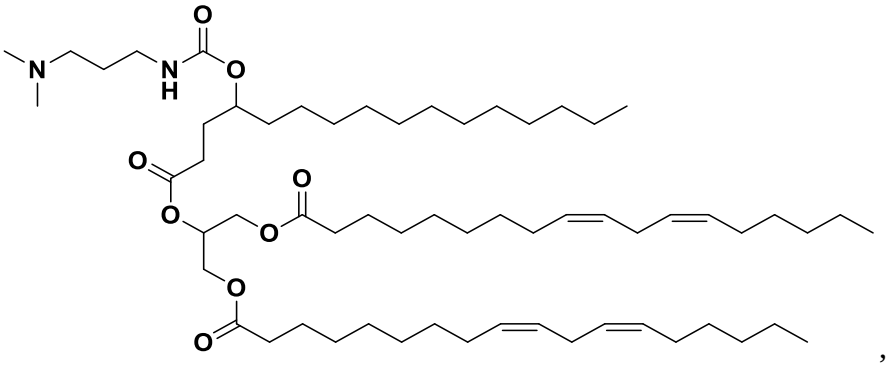
,



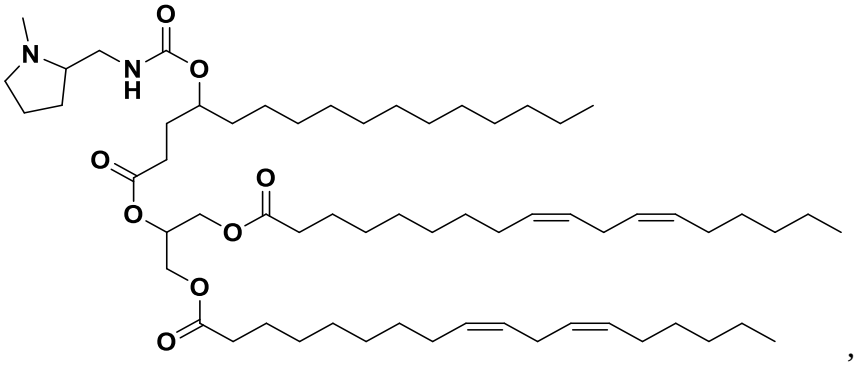
,



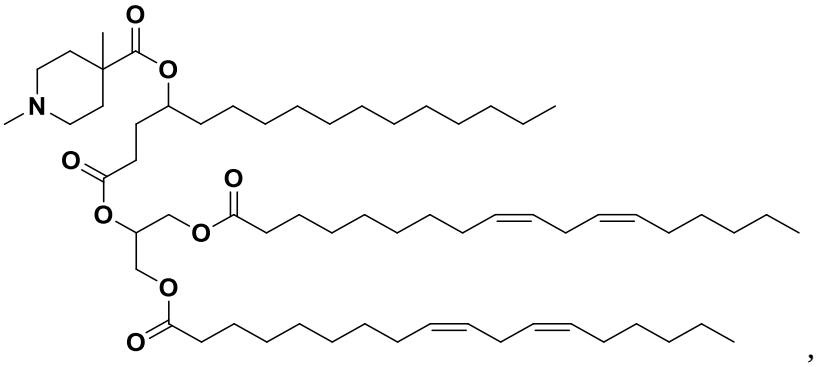
,



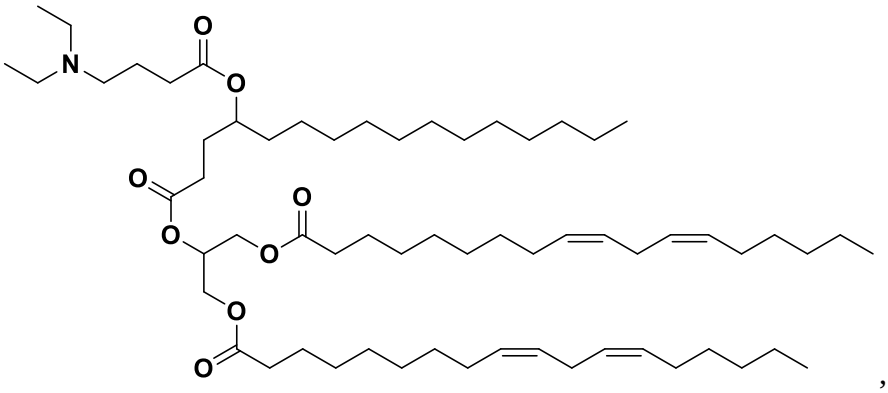
,



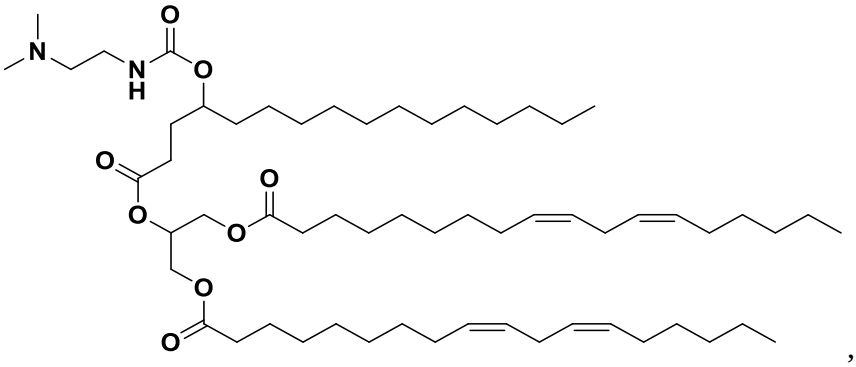
,



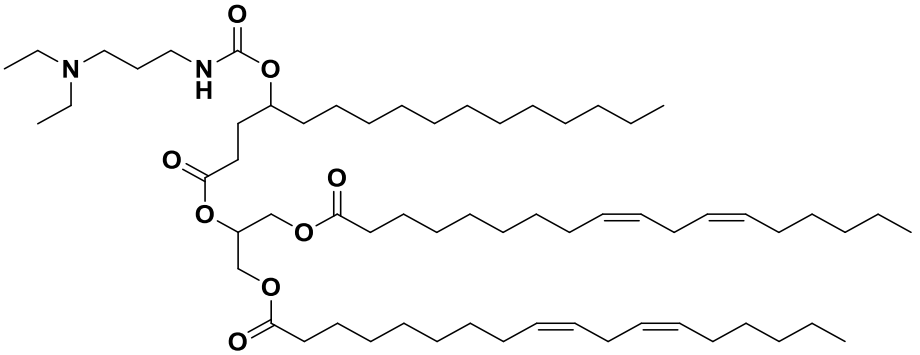
,



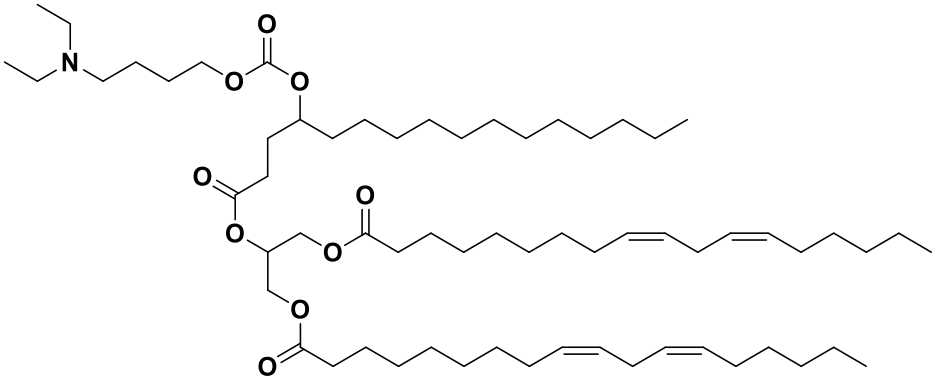
,



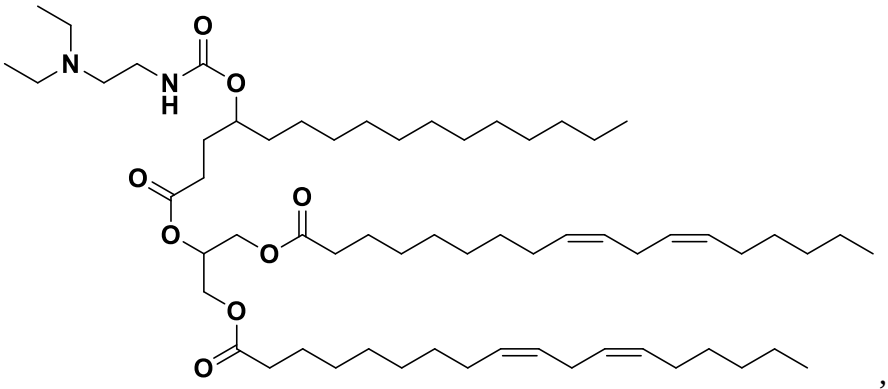
,



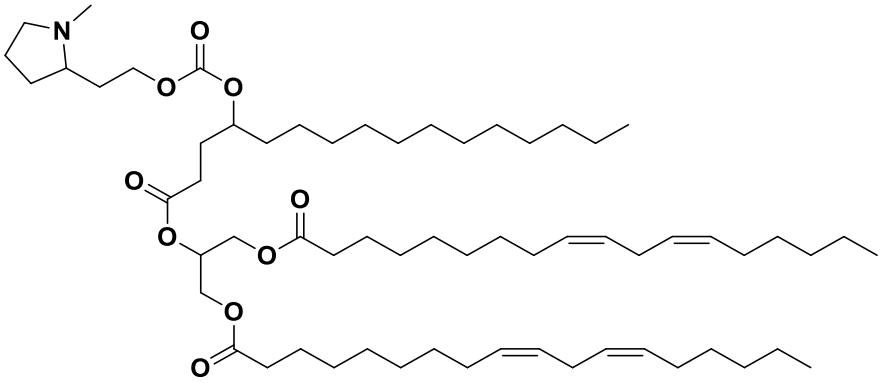
,



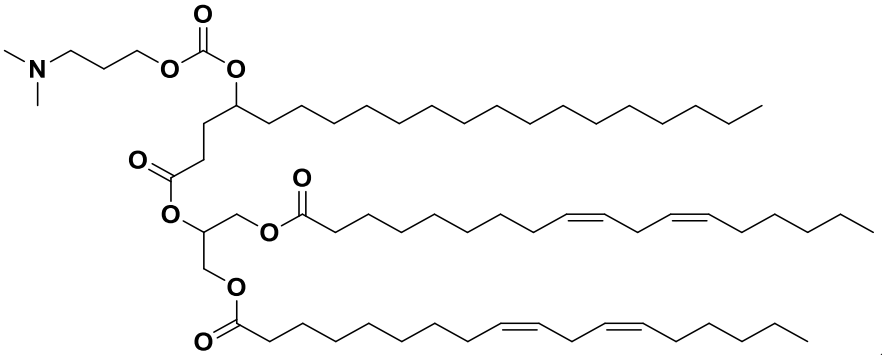
,



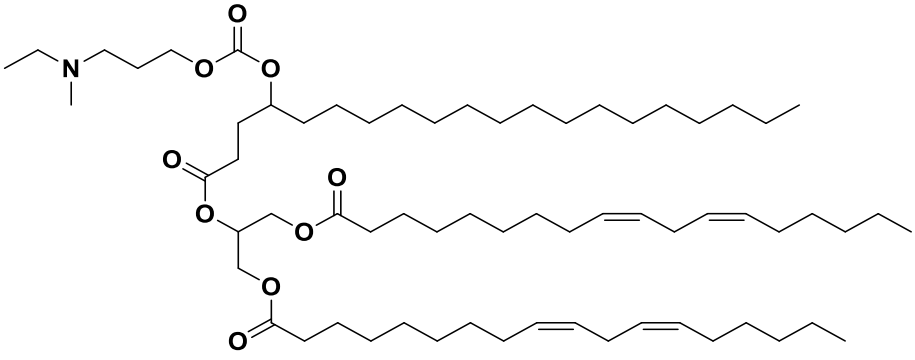
,



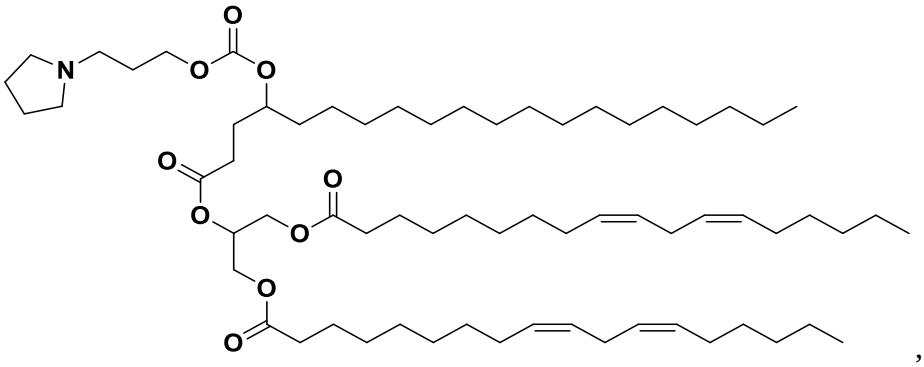
,

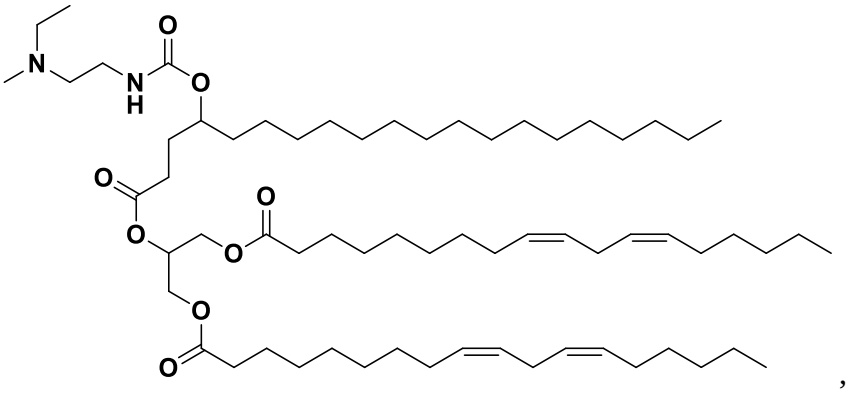


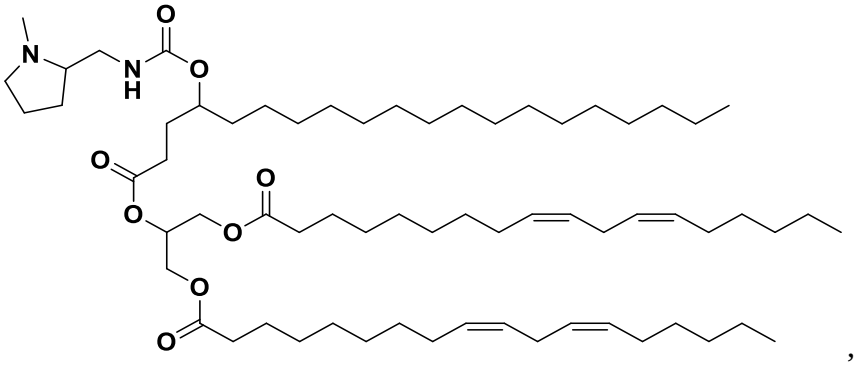
,

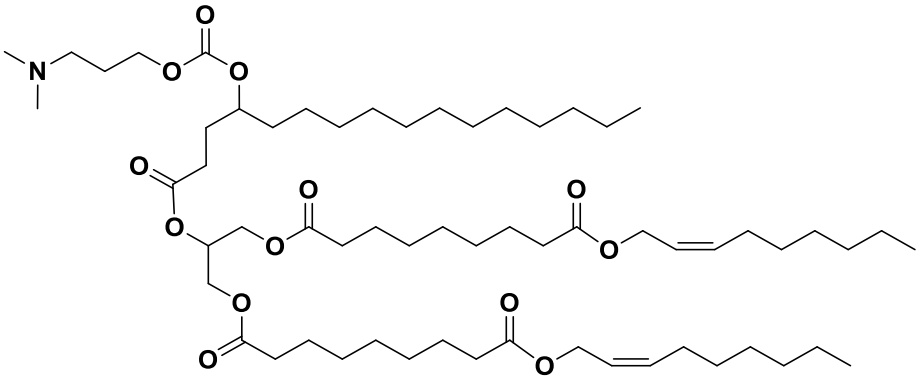


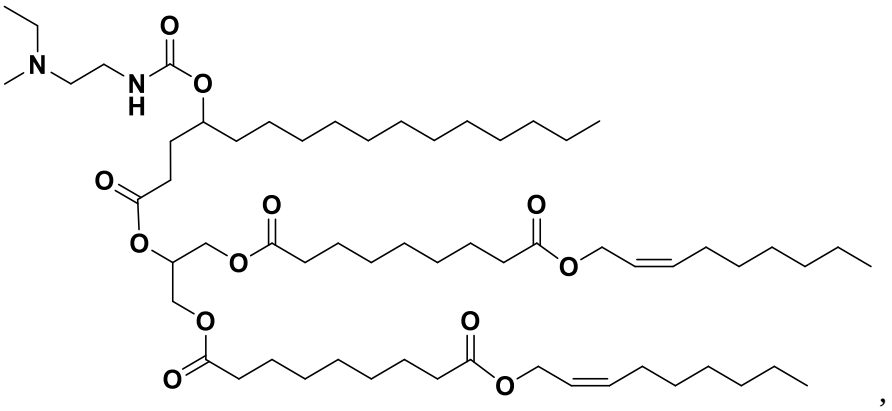
,


,

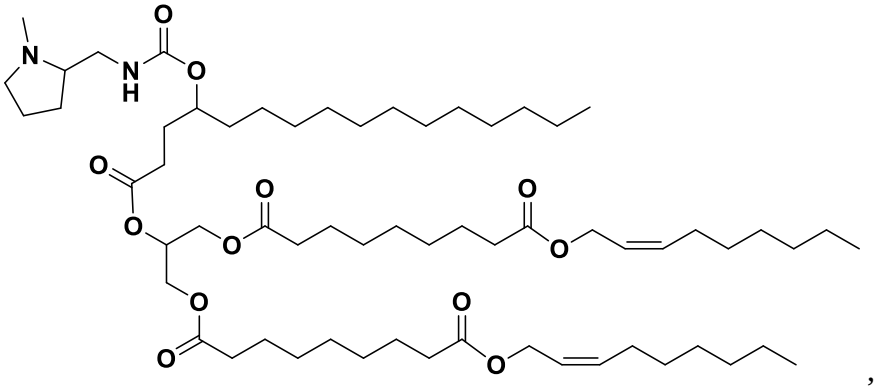

,


,

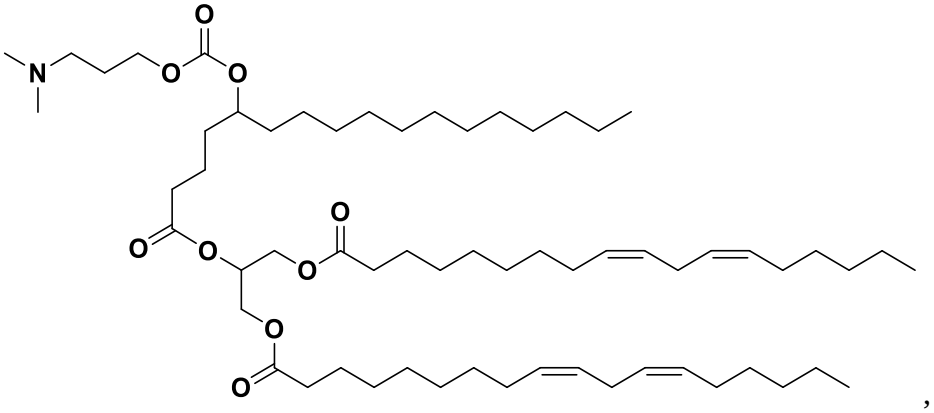

,



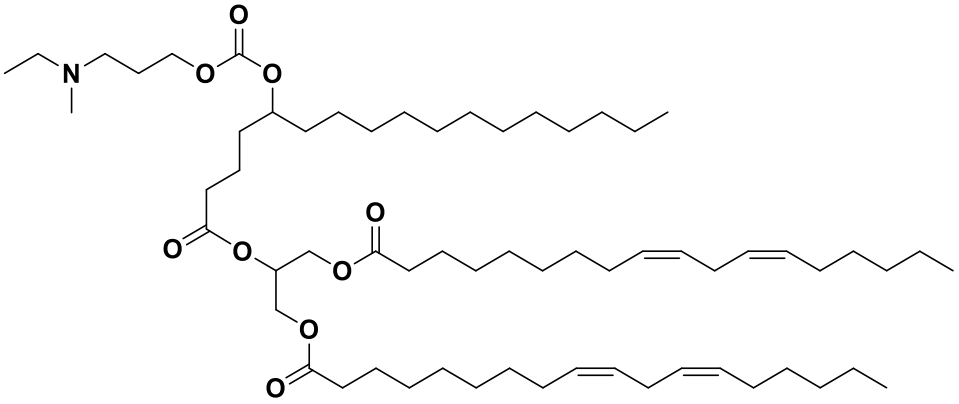
,



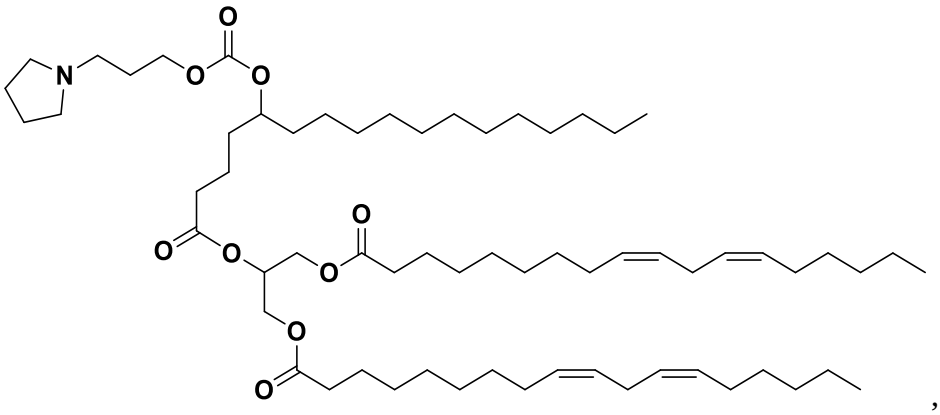
,



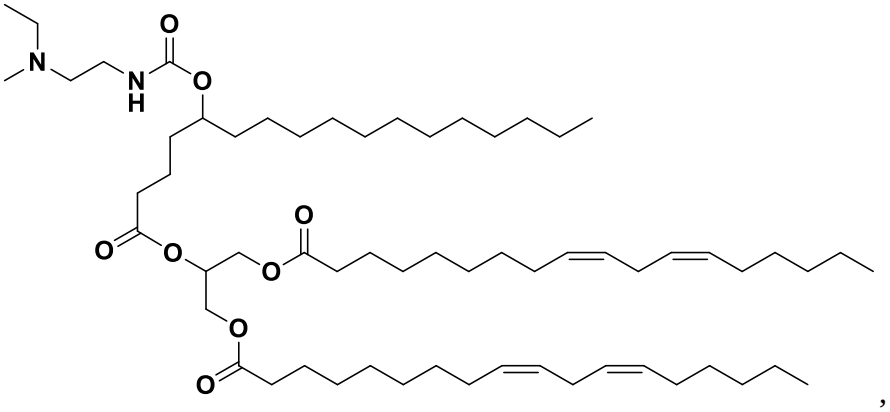
,



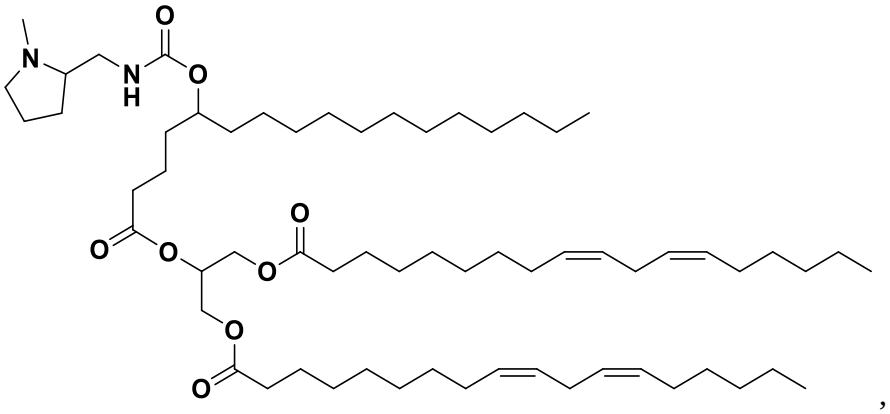
,



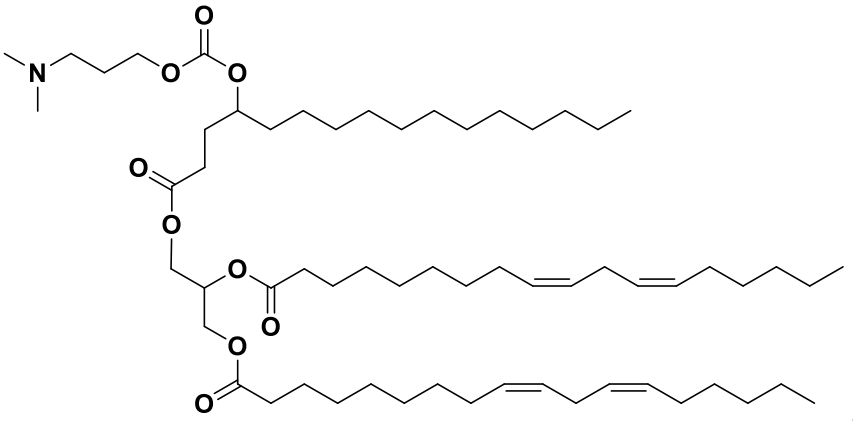
,



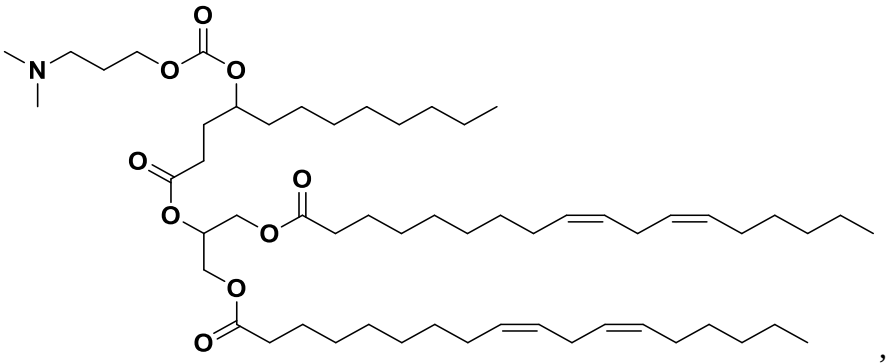
,



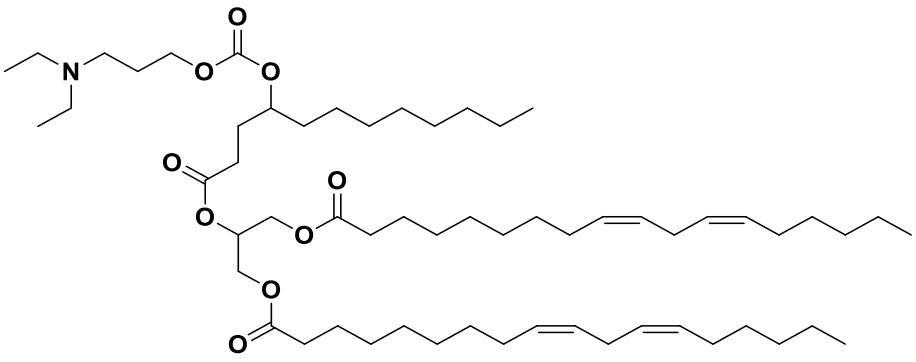
,



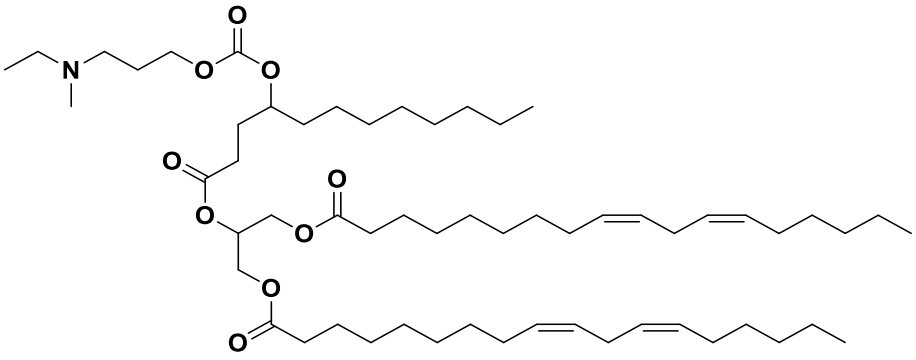
,



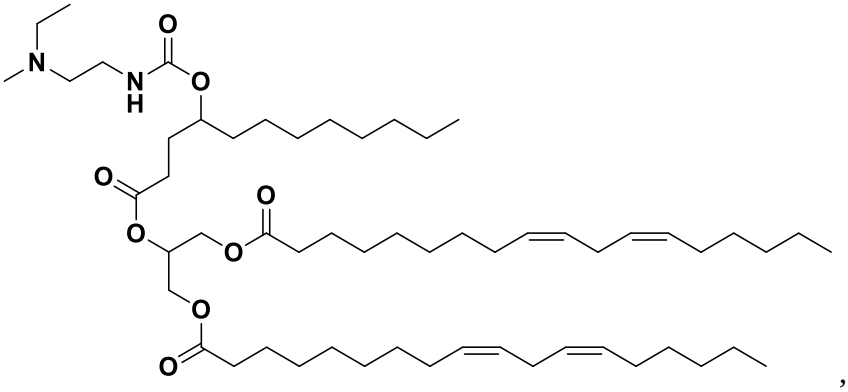
,



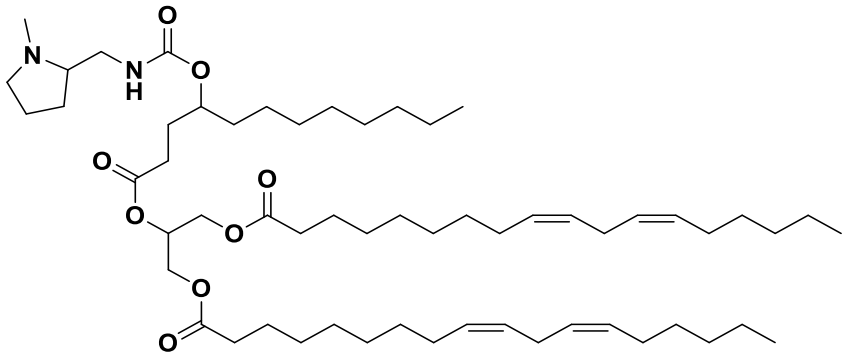
,



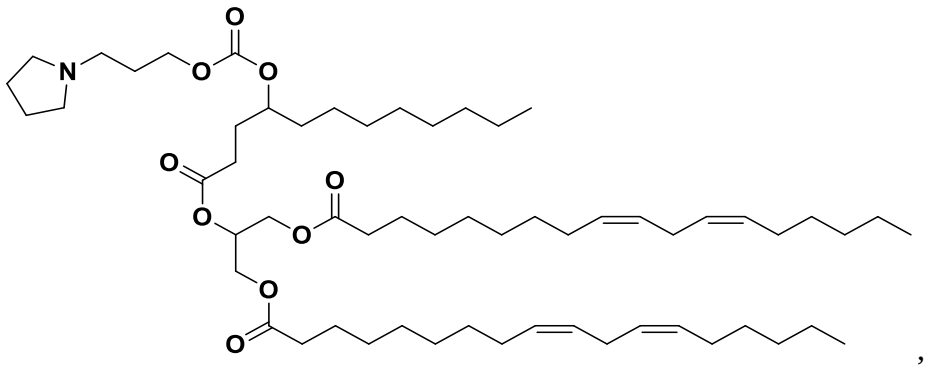
,



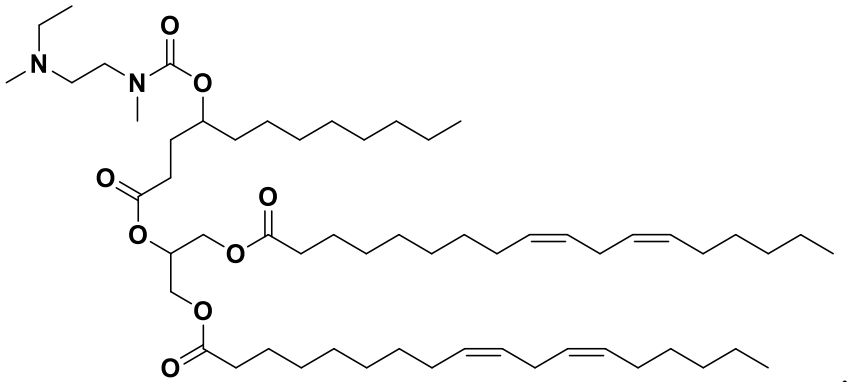
,



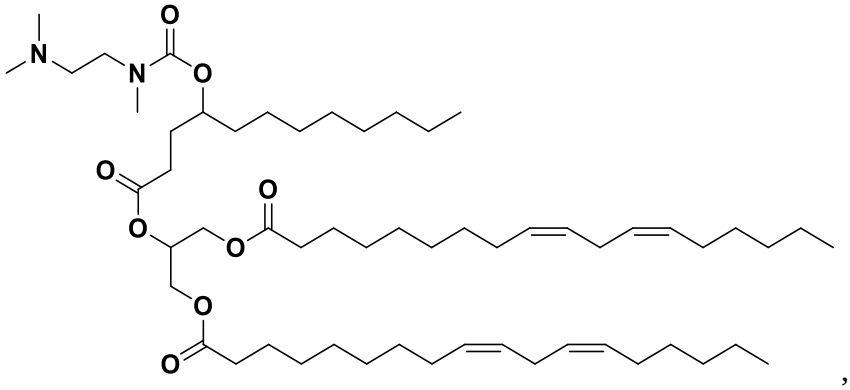
,



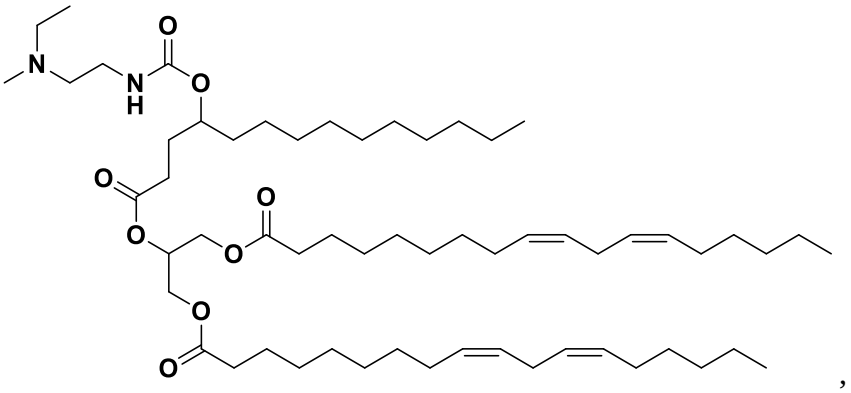
,



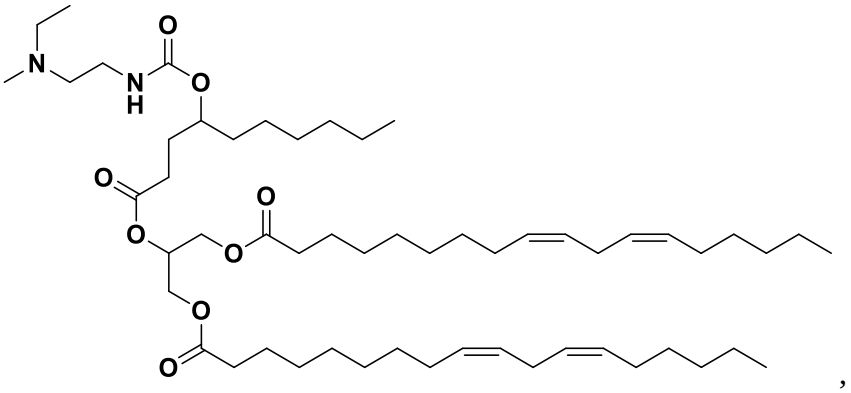
,



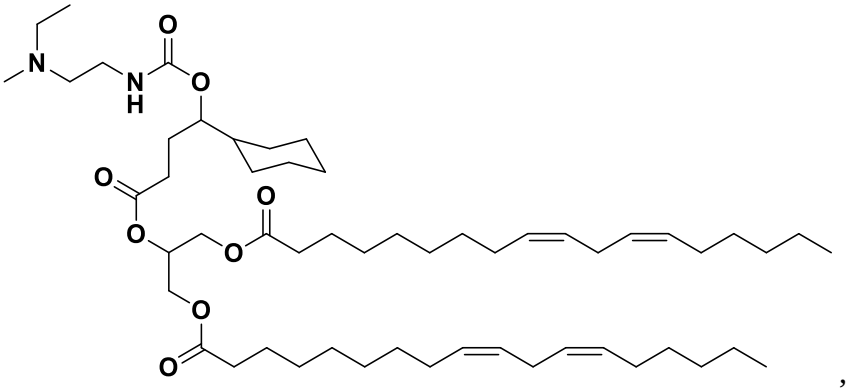
,



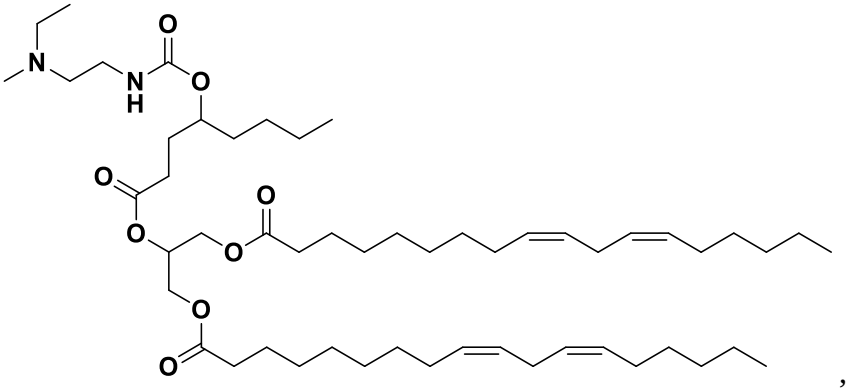
,



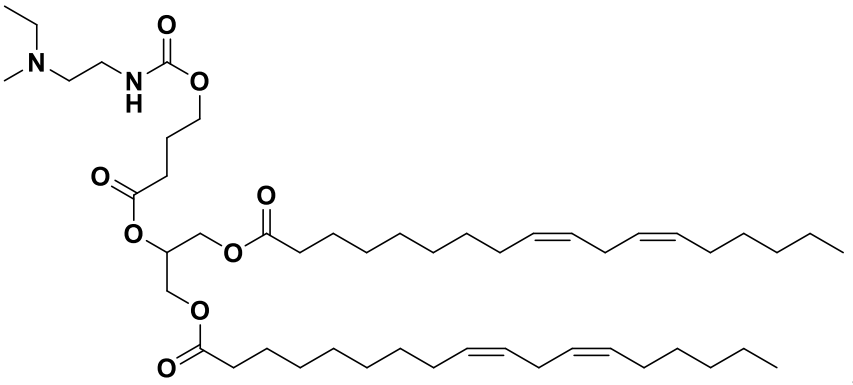
,



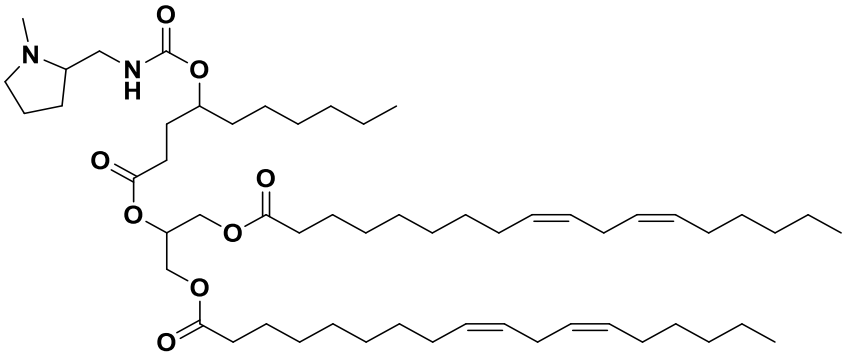
,



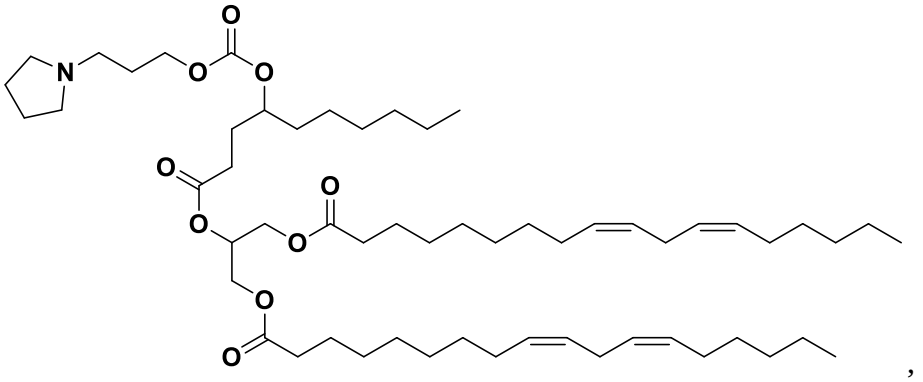
,



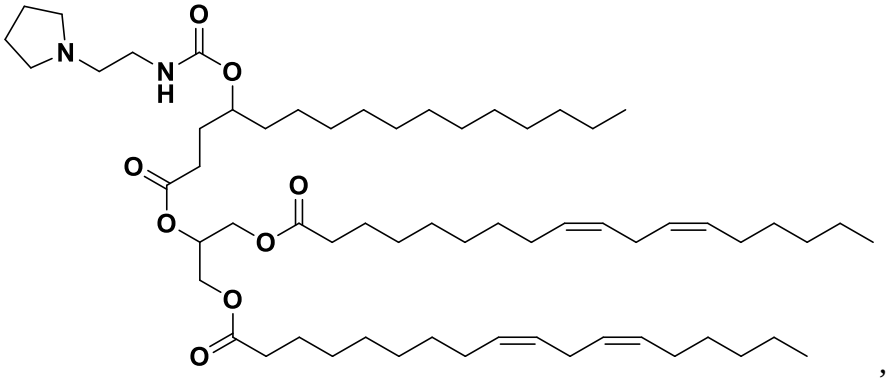
,



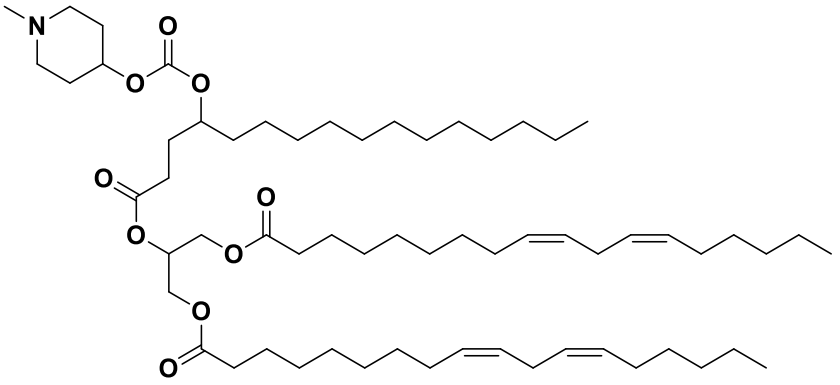
,



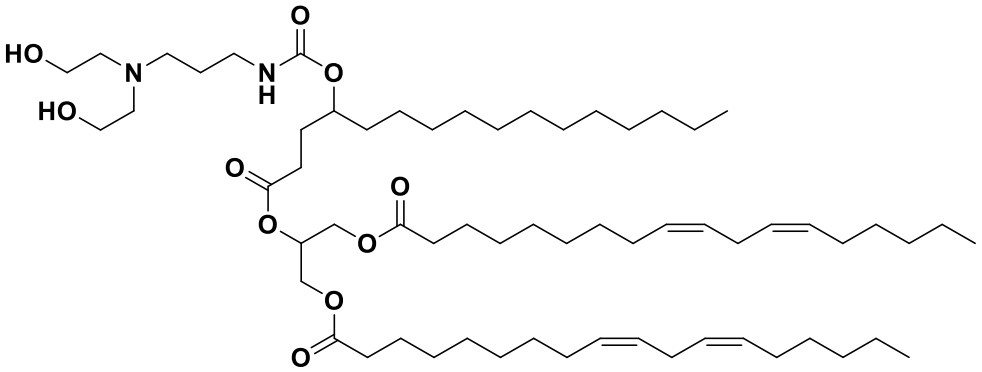
,



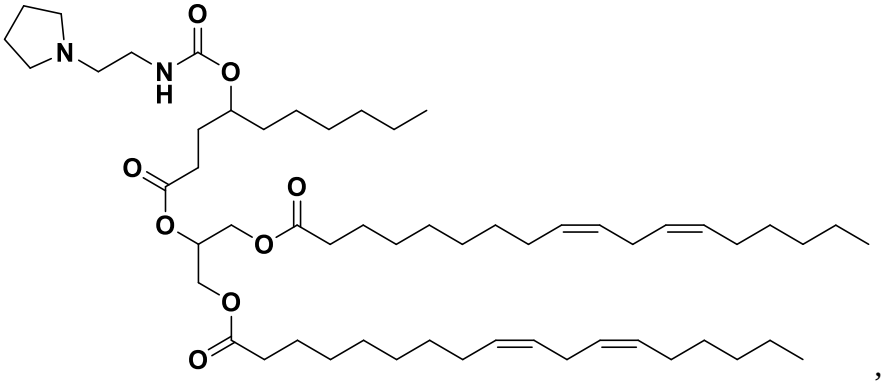
,



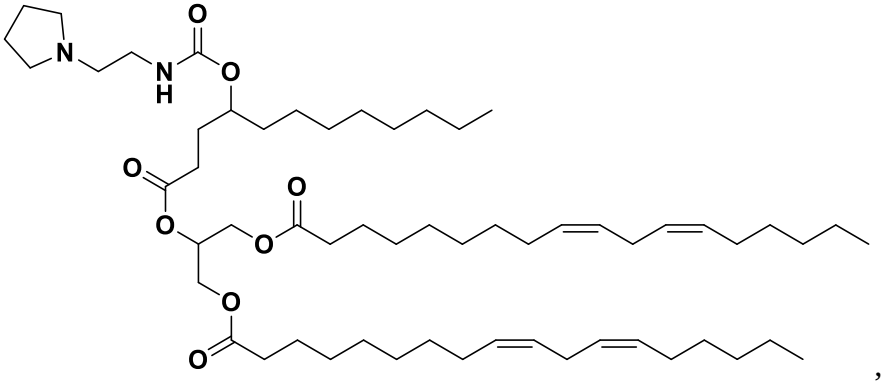
,



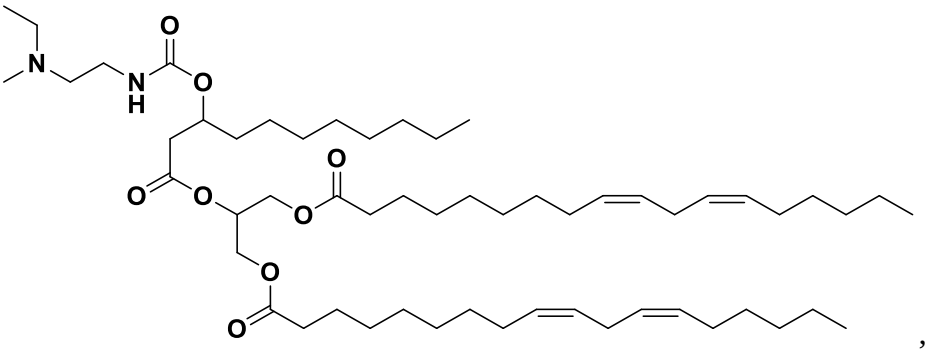
,



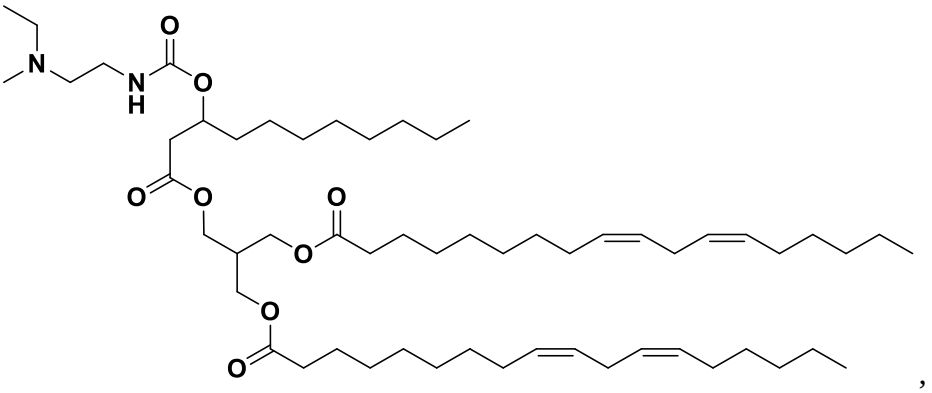
,



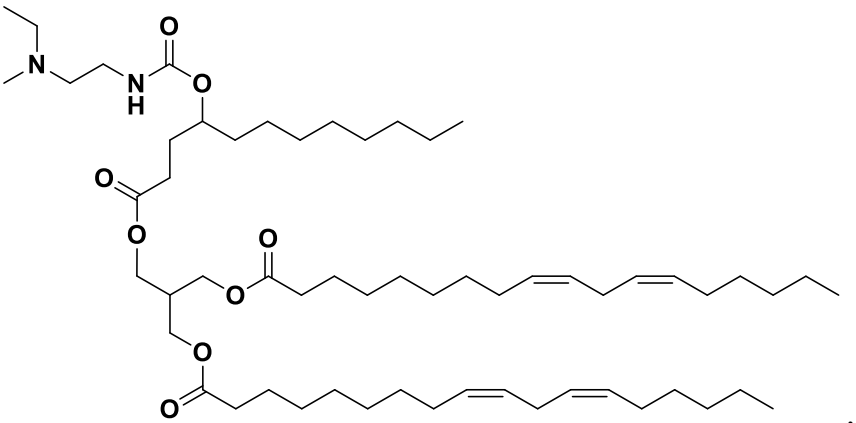
,



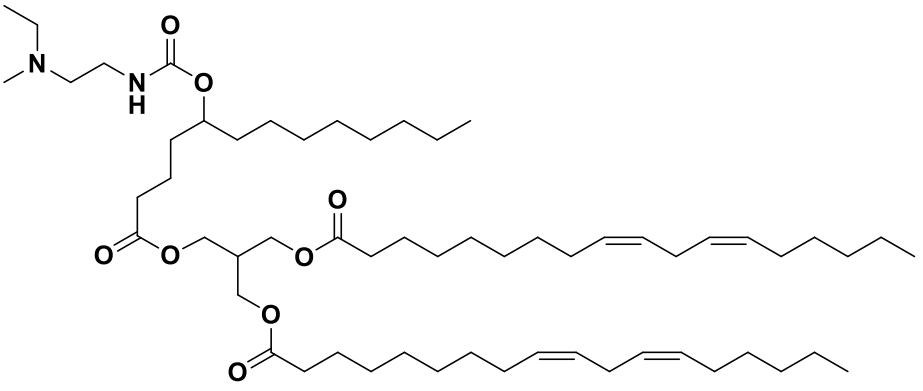
,



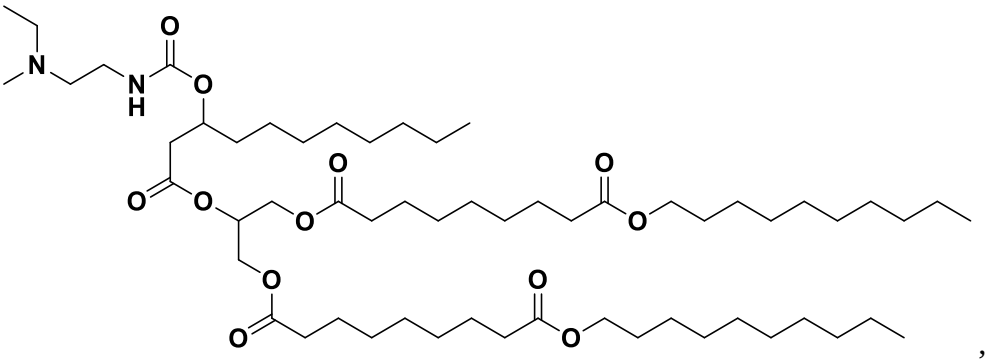
,



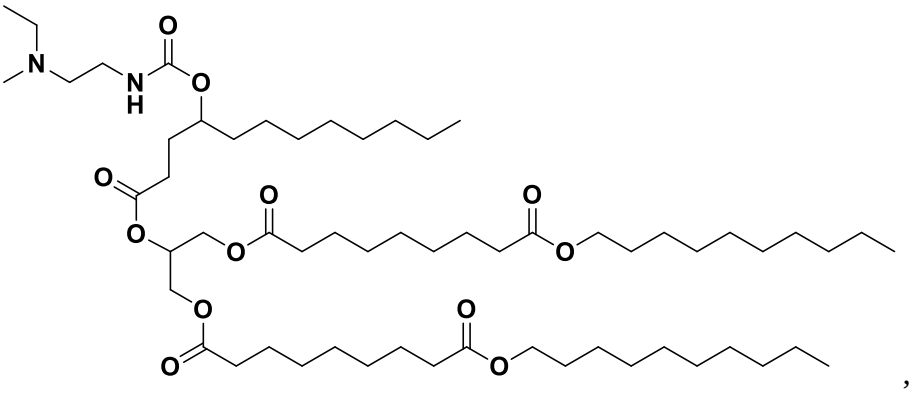
,



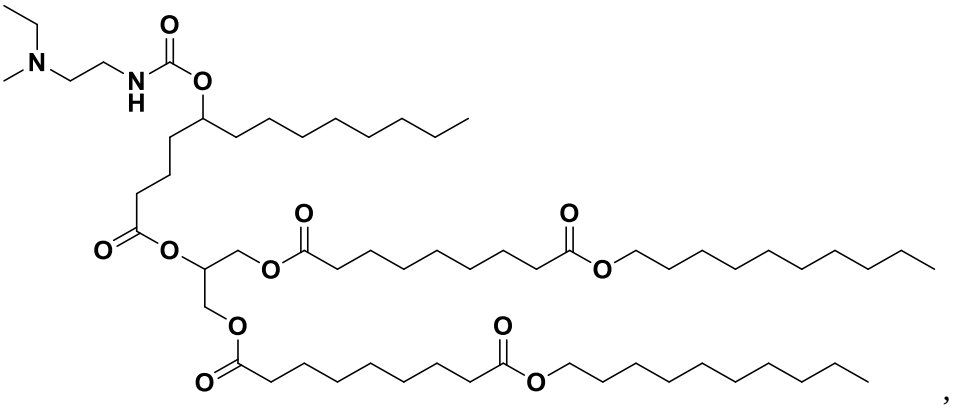
,



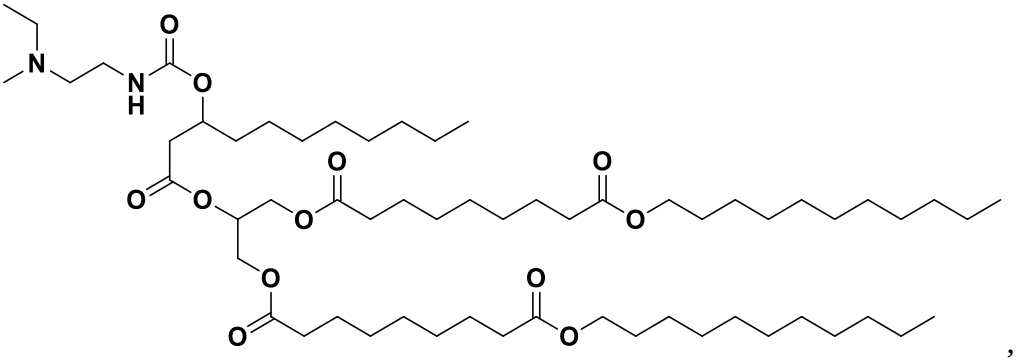
,



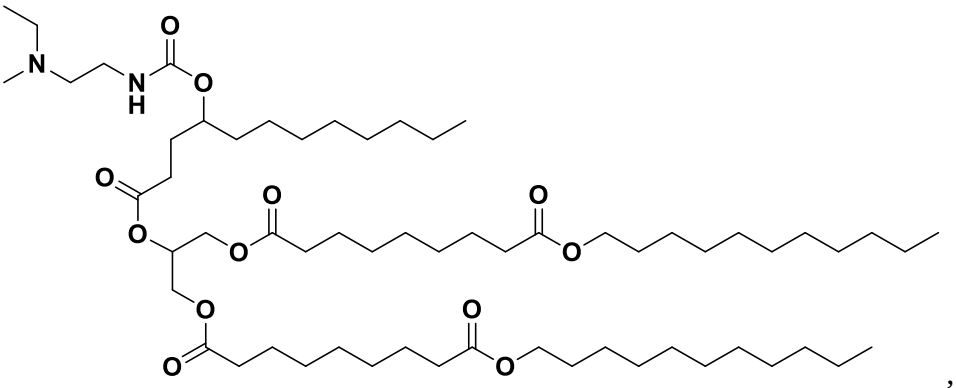
,



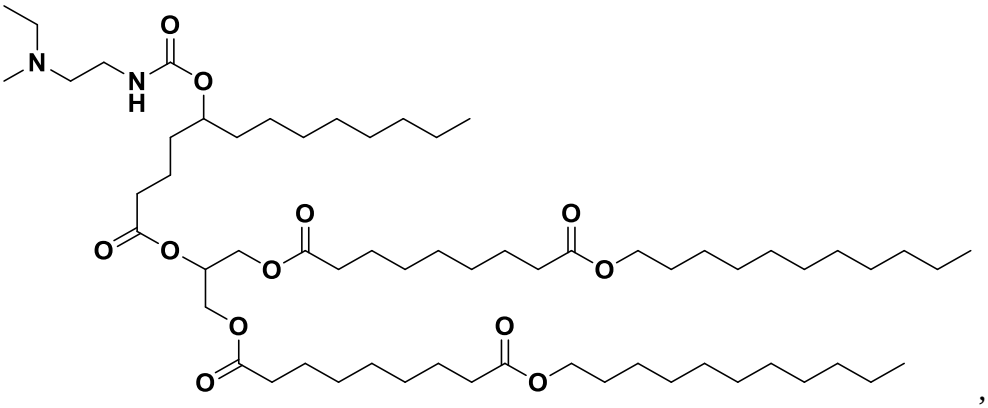
,



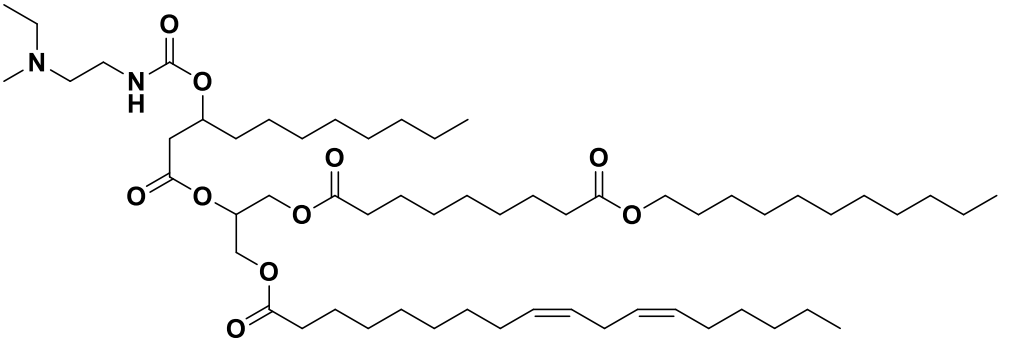
,



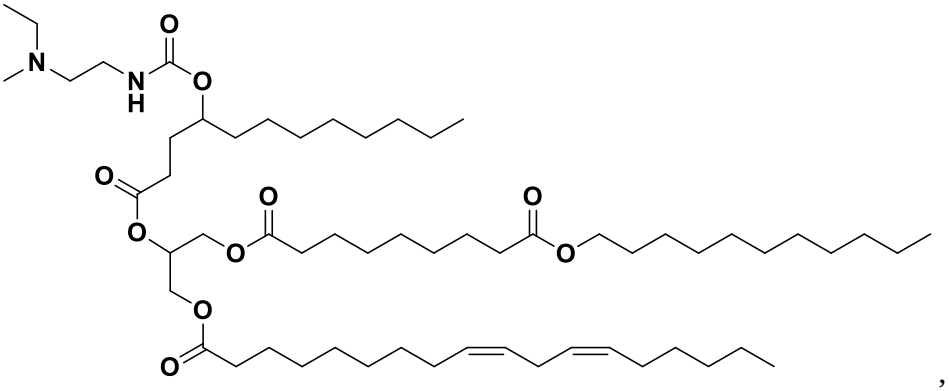
,



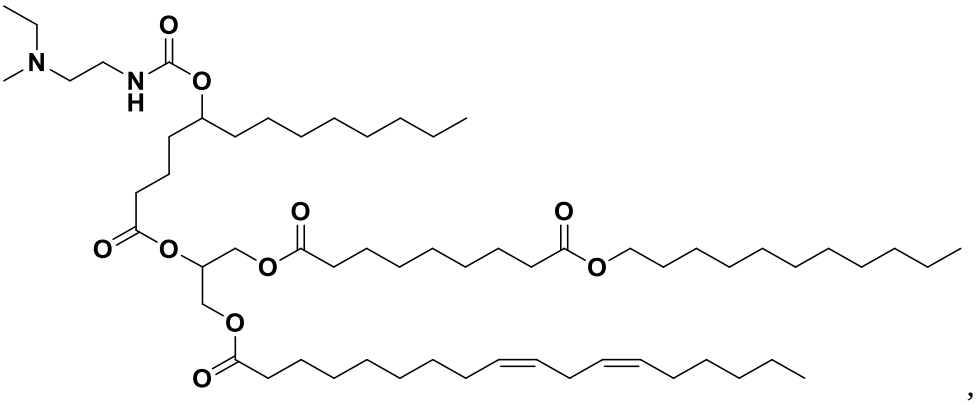
,



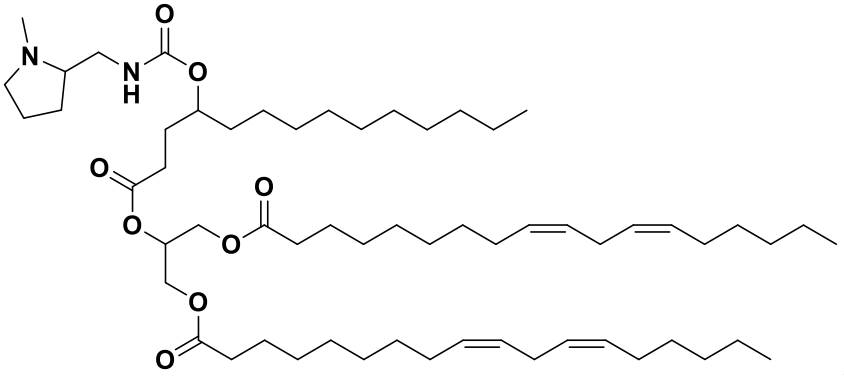
,



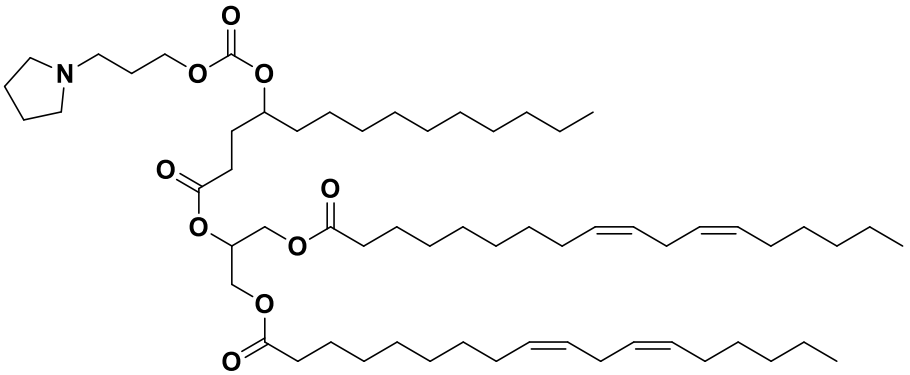
,



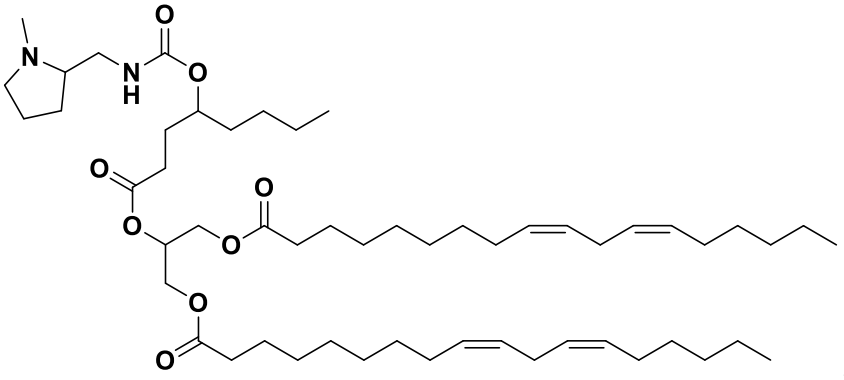
,



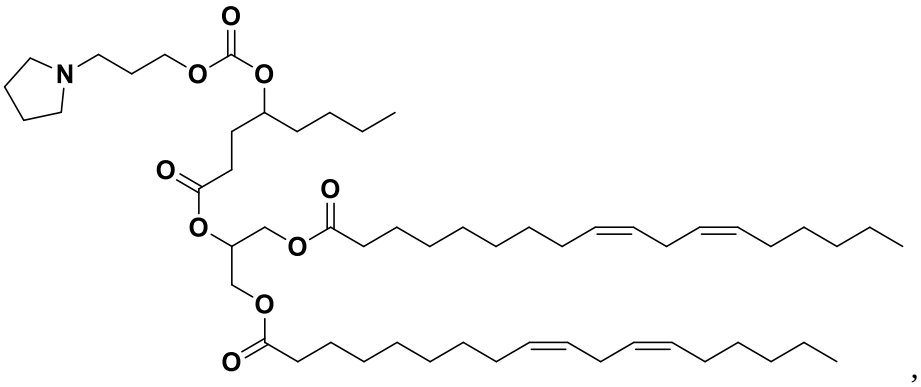
,



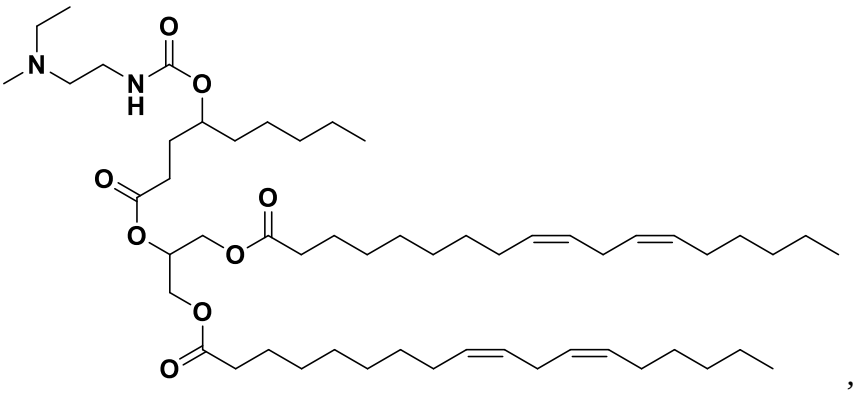
,



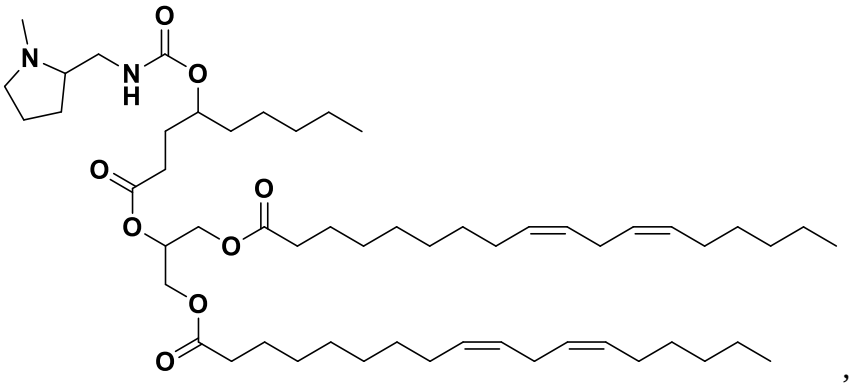
,



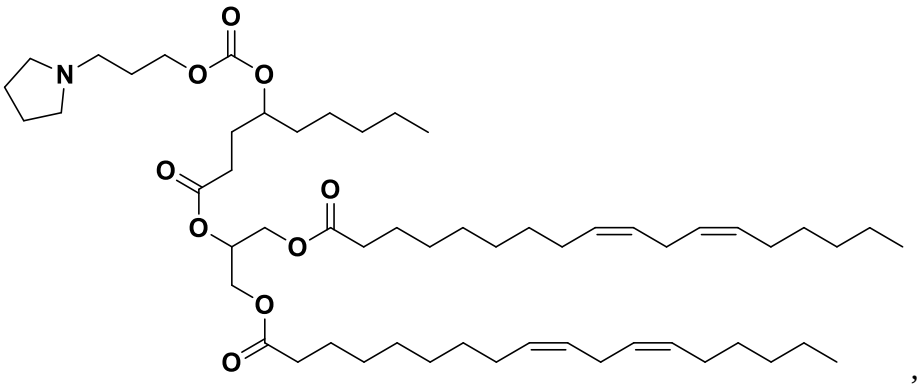
,



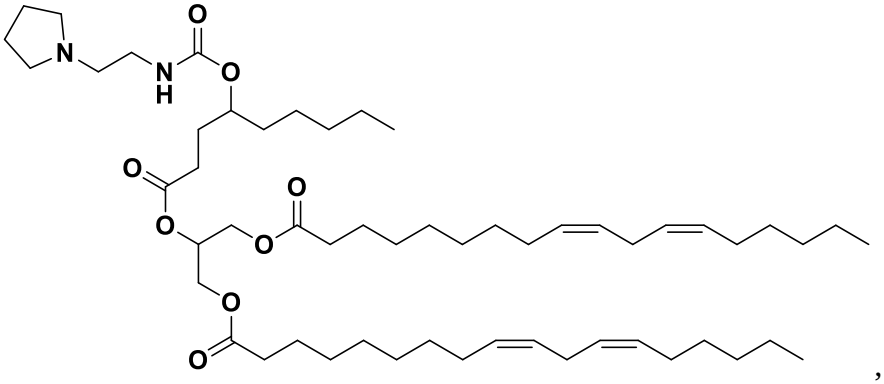
,



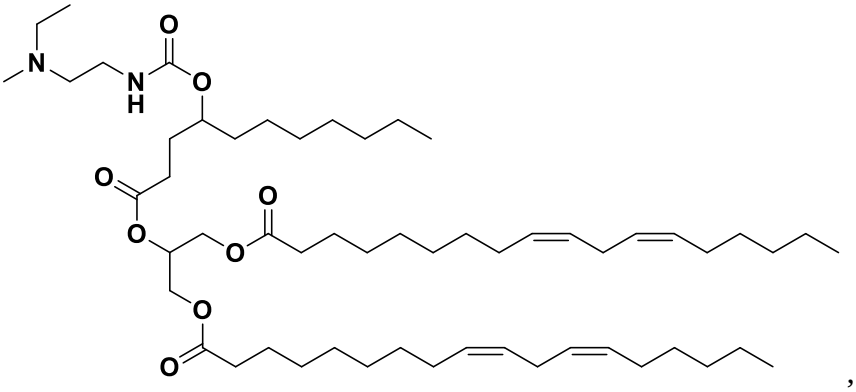
,



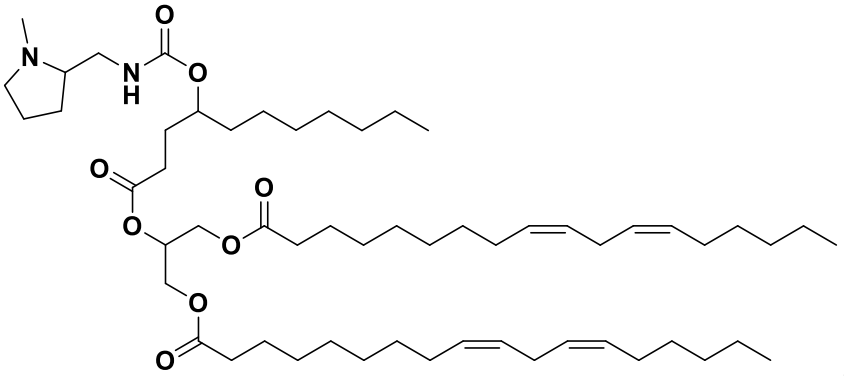
,



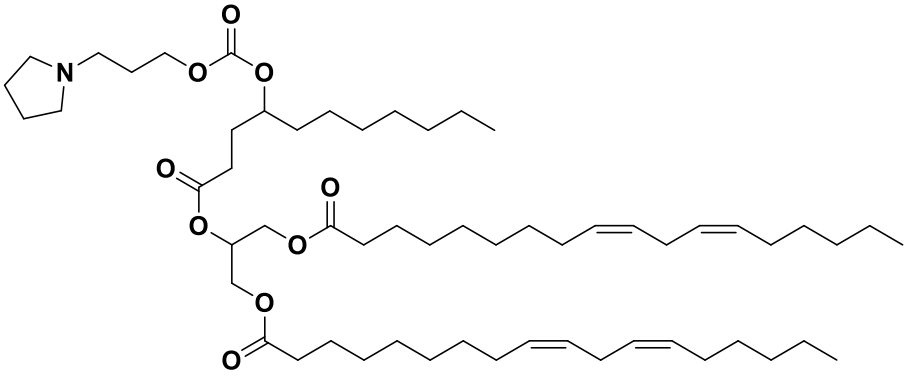
,



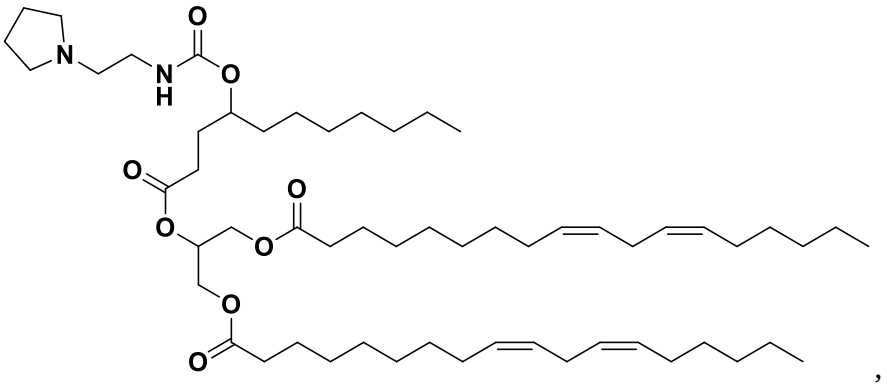
,

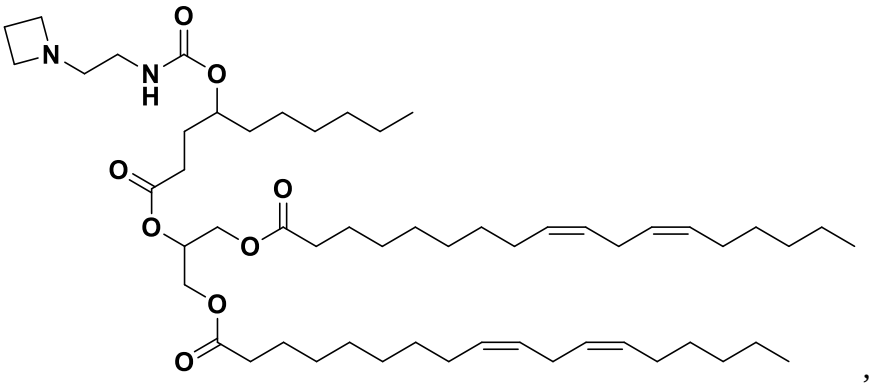


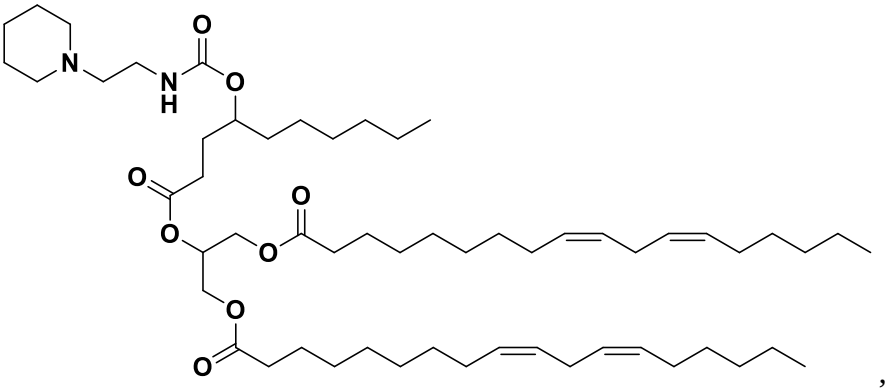
,

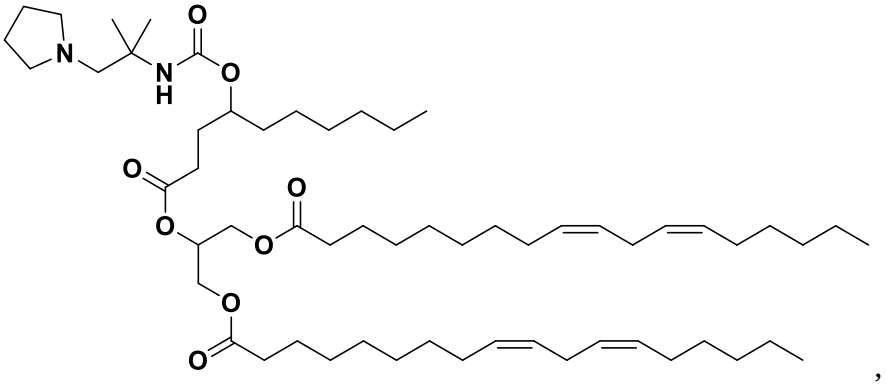


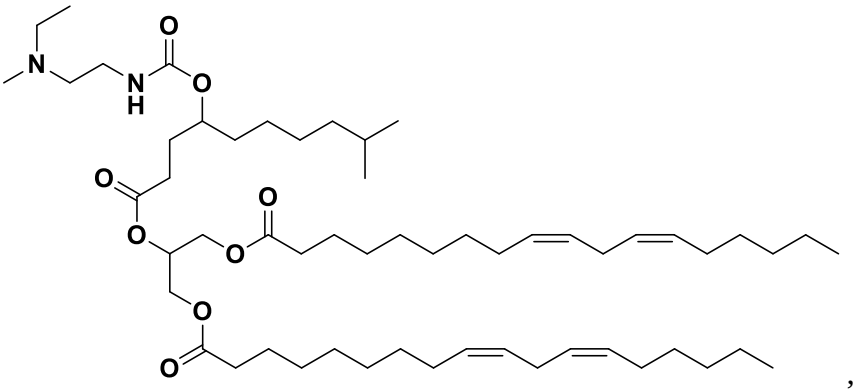
,


,

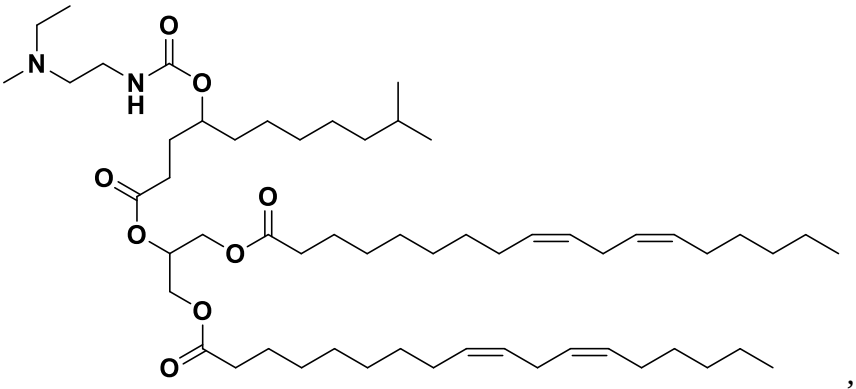

,


,

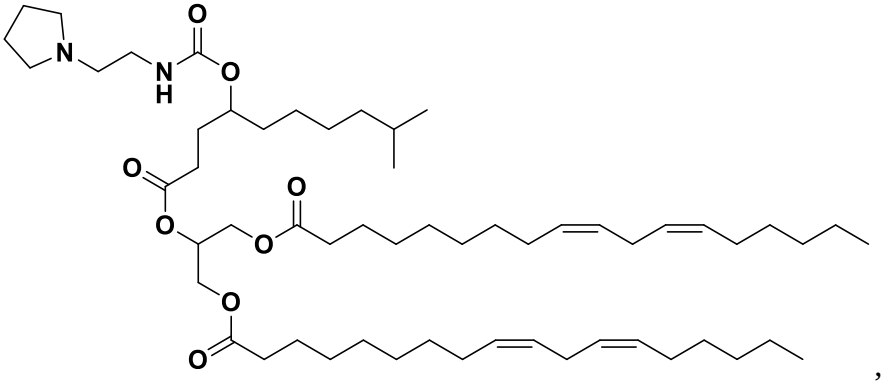

,



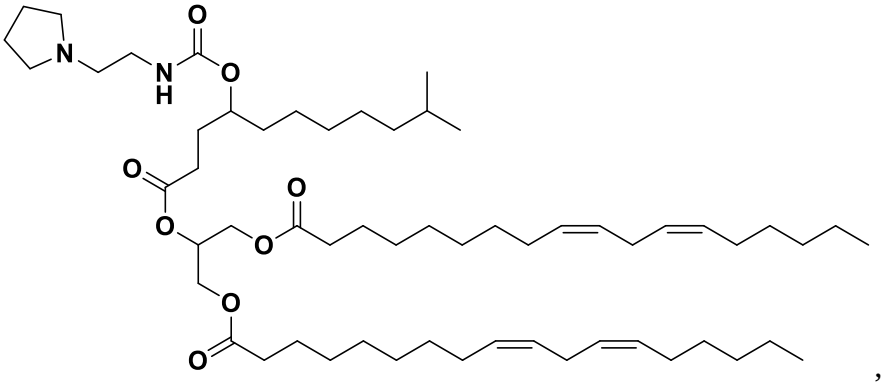
,



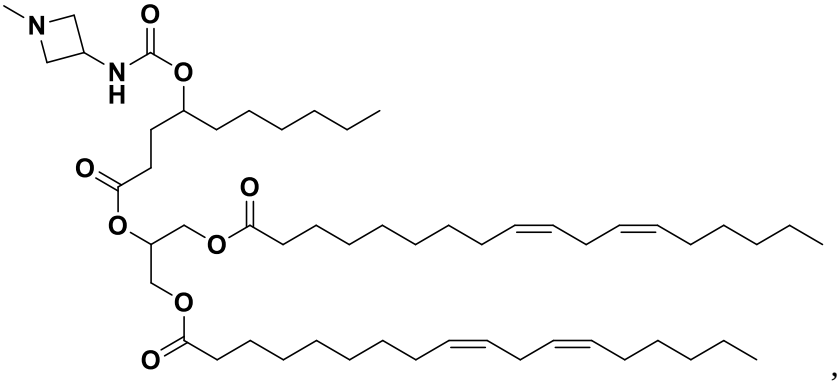
,



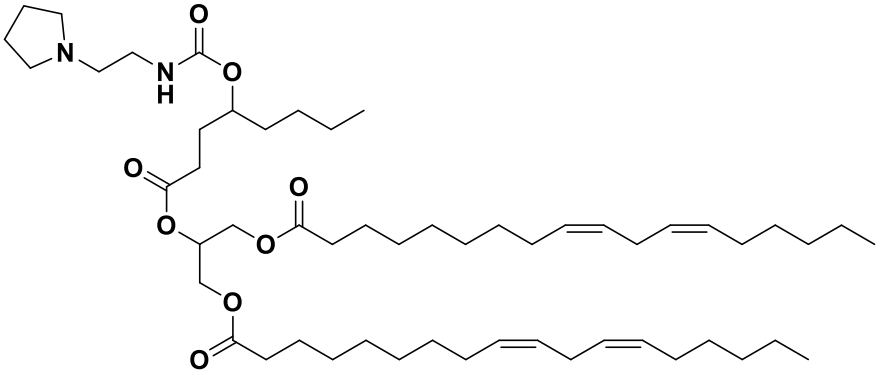
,



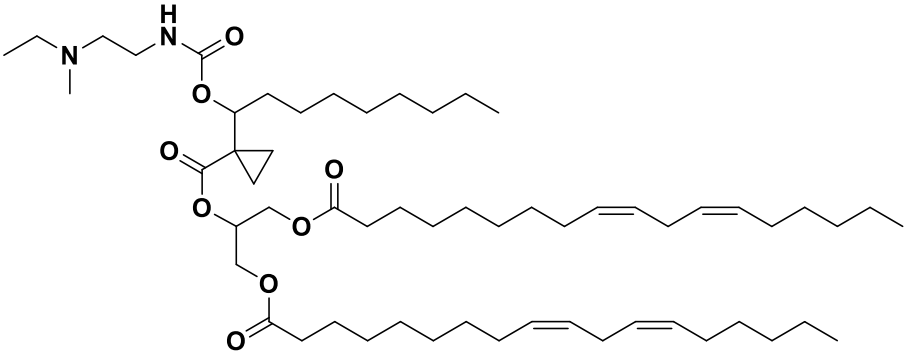
,



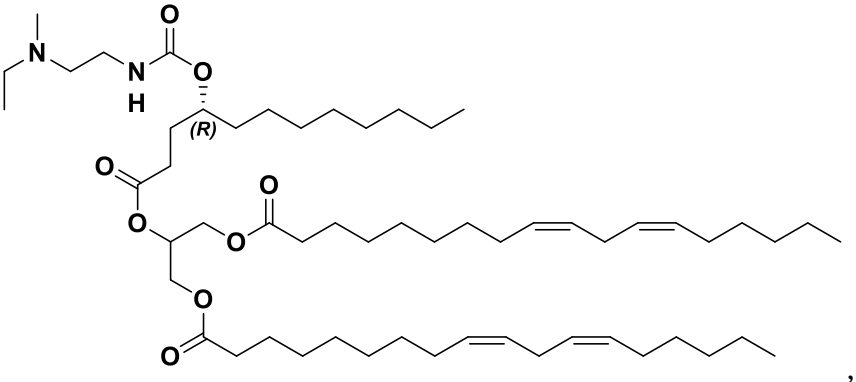
,



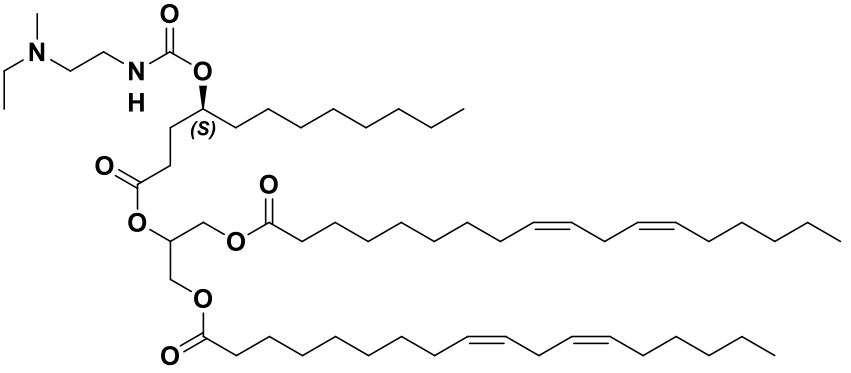
,



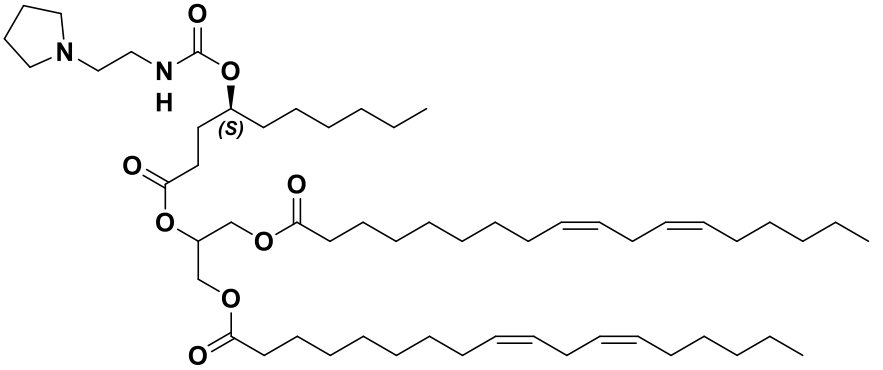
,



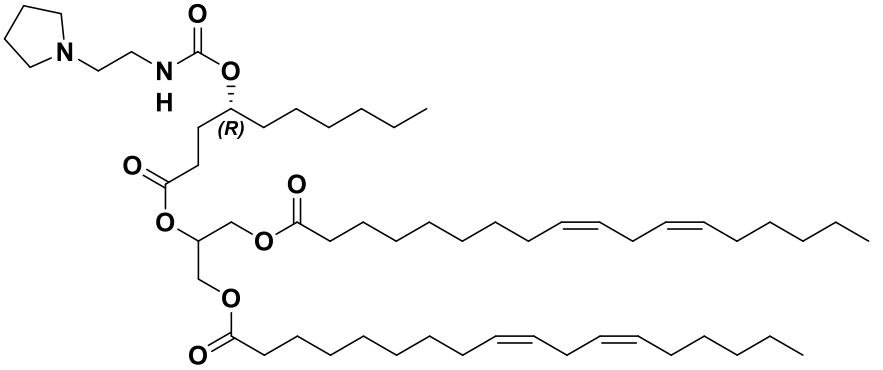
,


O
N
N
H
O
O
(S)
O
O
O
O
O
O
O

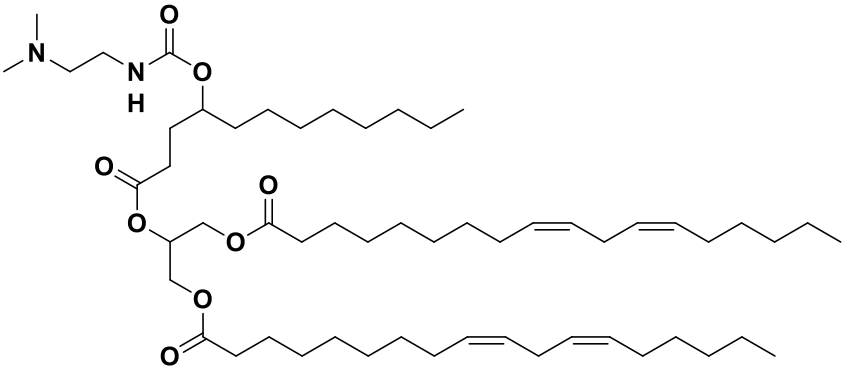
,


O
N
N
H
O
O
(S)
O
O
O
O
O
O
O

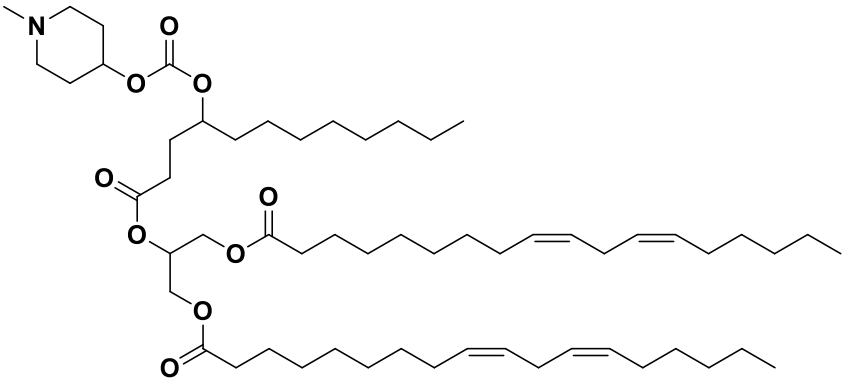
,


O
N
N
H
O
O
(R)
O
O
O
O
O
O
O

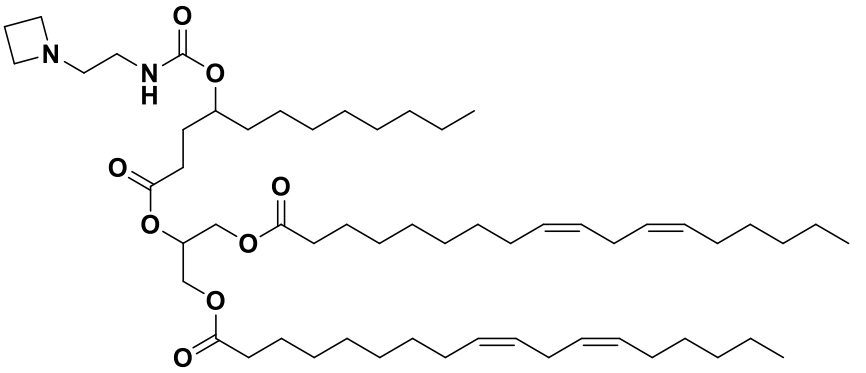
,


O
N
N
H
O
O
O
O
O
O
O
O
O

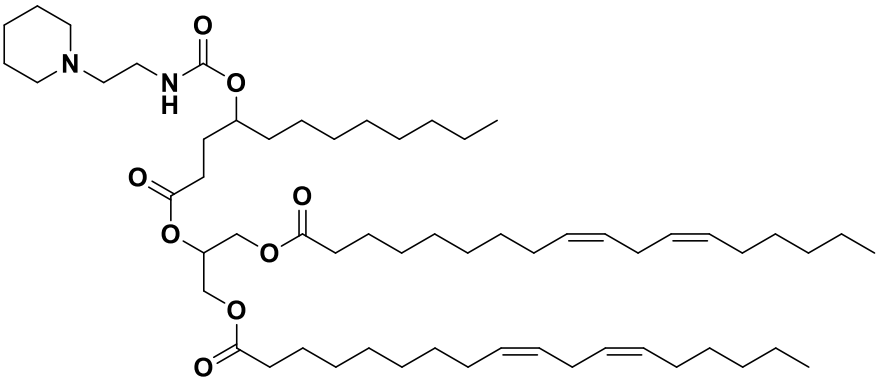
,



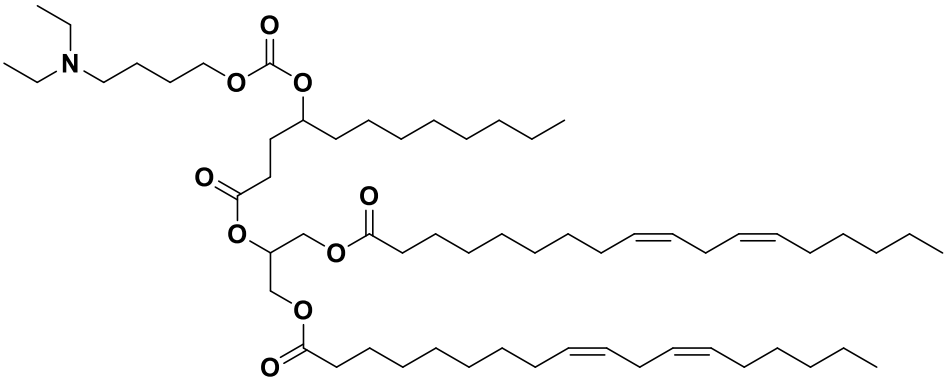
,



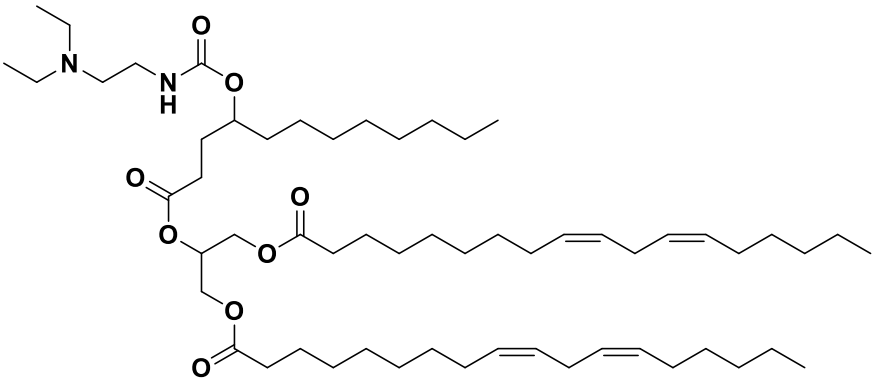
,



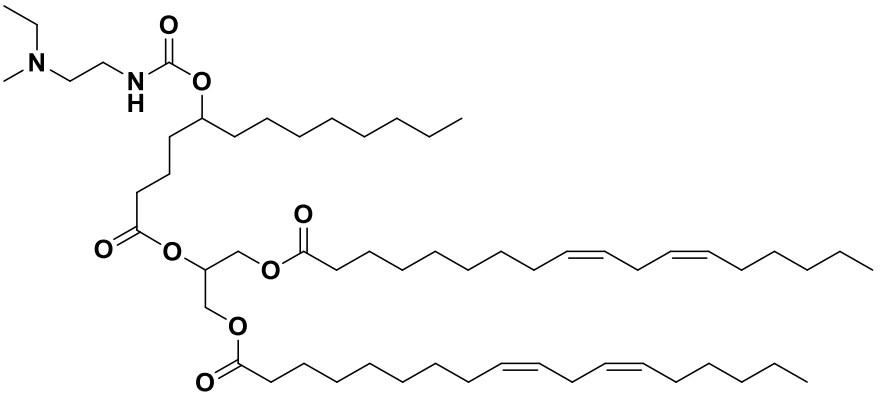
,



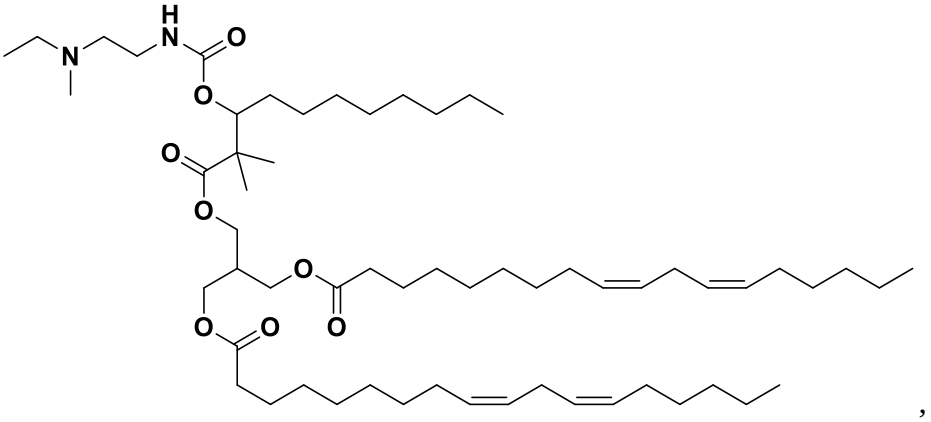
,



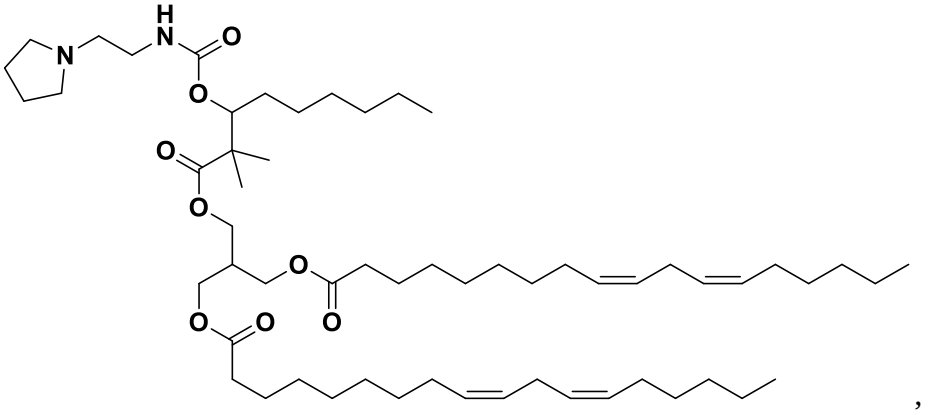
,



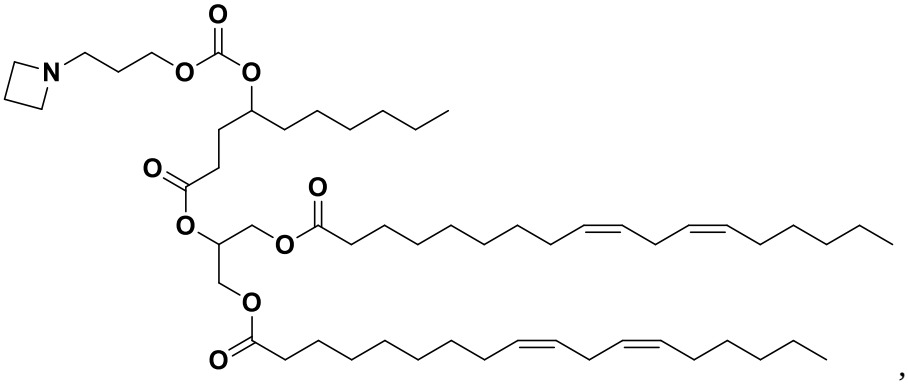
,



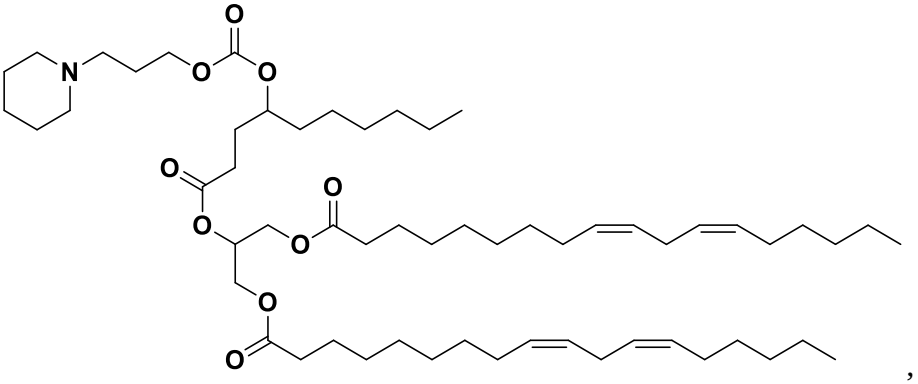
,



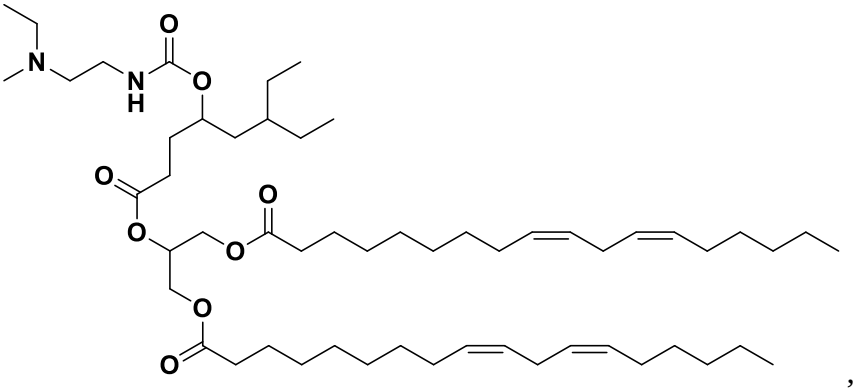
,



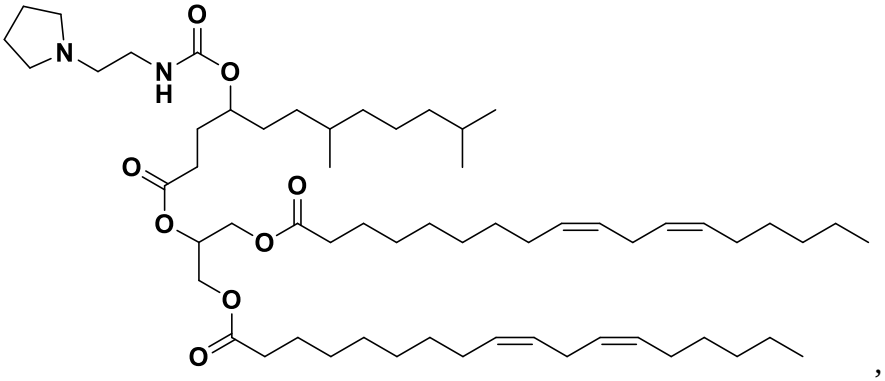
,



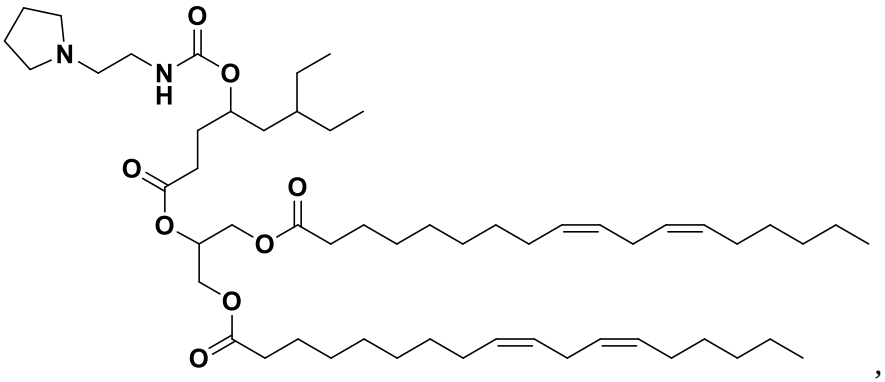
,



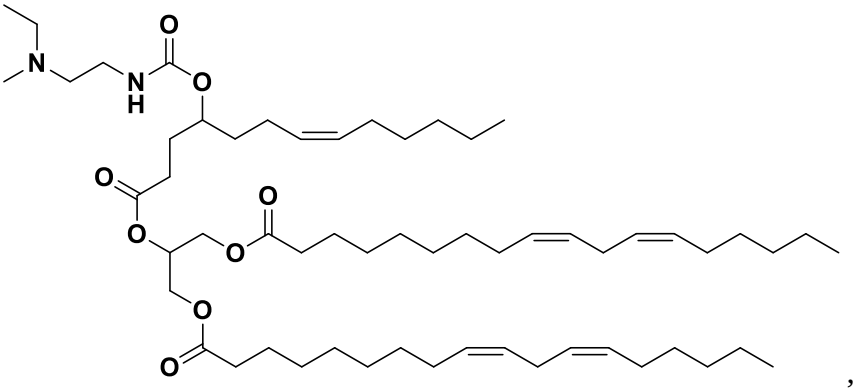
,



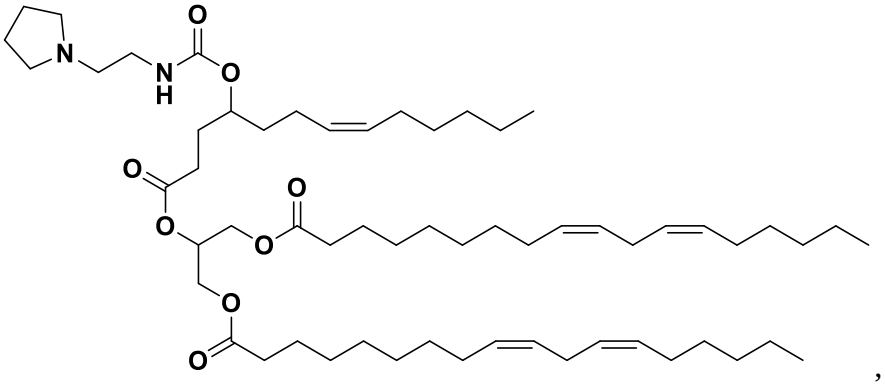
,



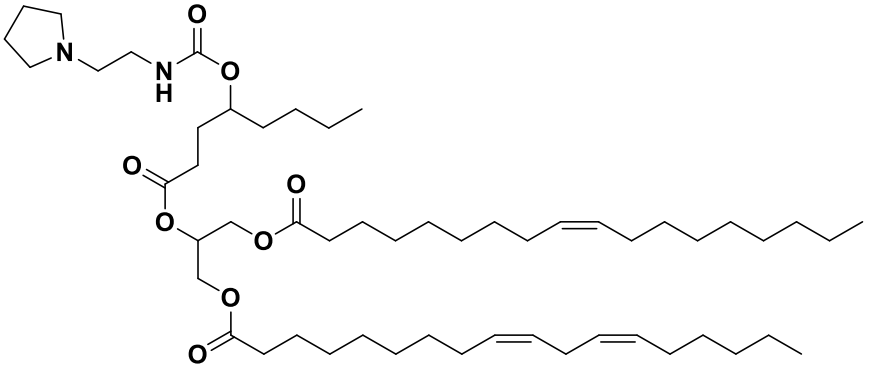
,



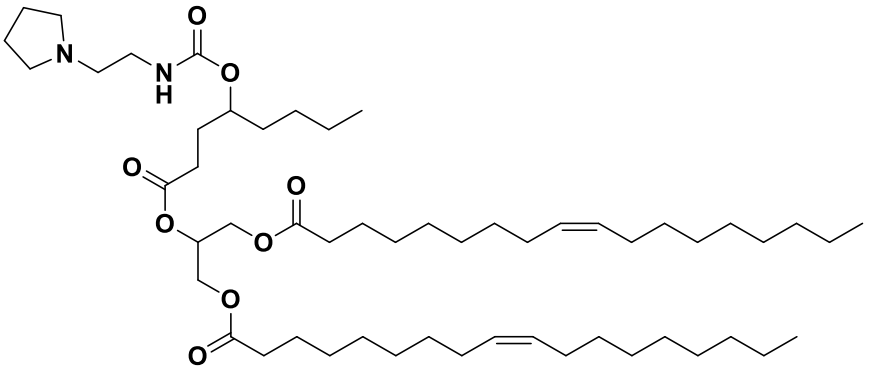
,



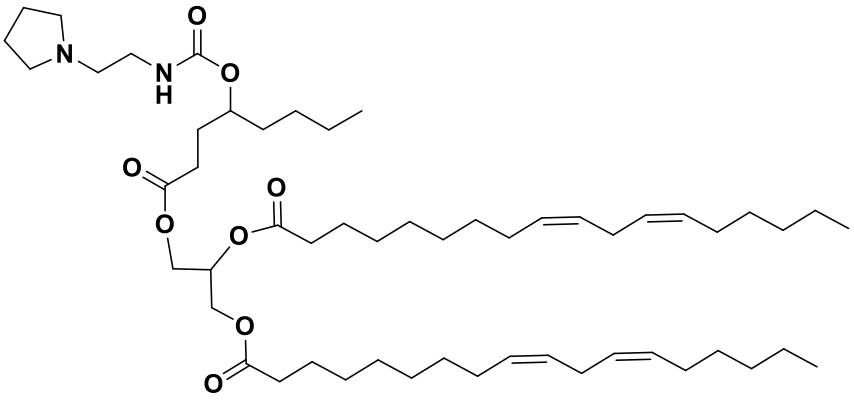
,



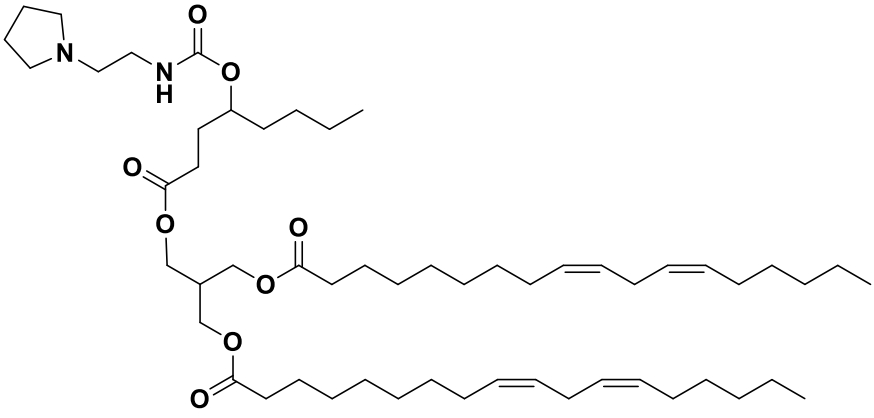
,



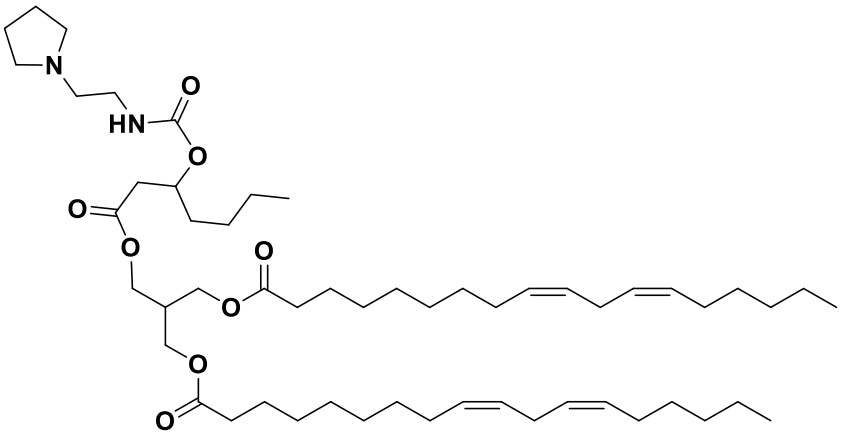
,



,



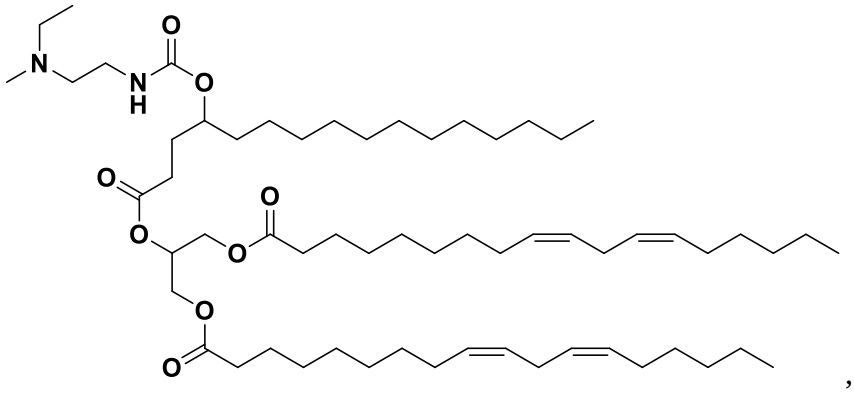
, y



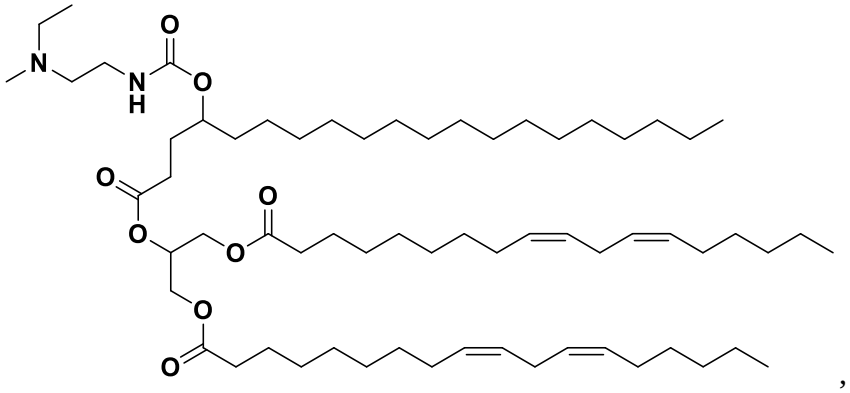
,

o una sal de estos, preferentemente, una sal farmacéuticamente aceptable.

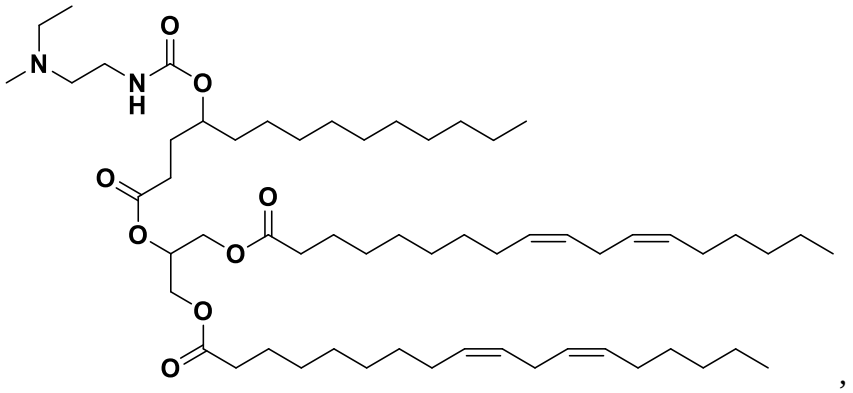
En algunas modalidades, el compuesto se selecciona de

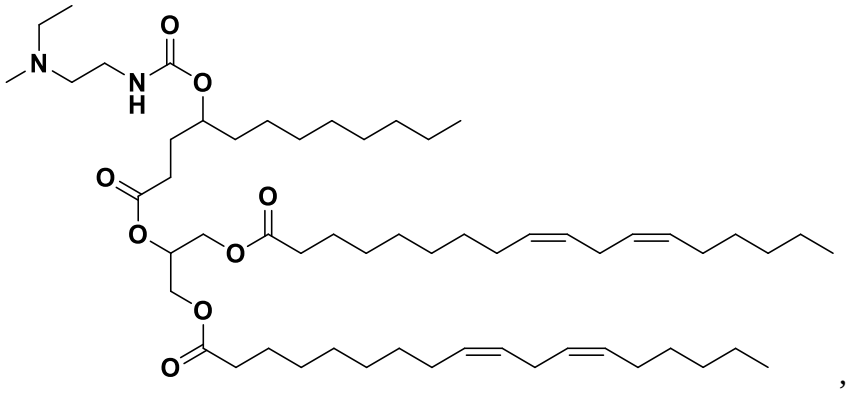


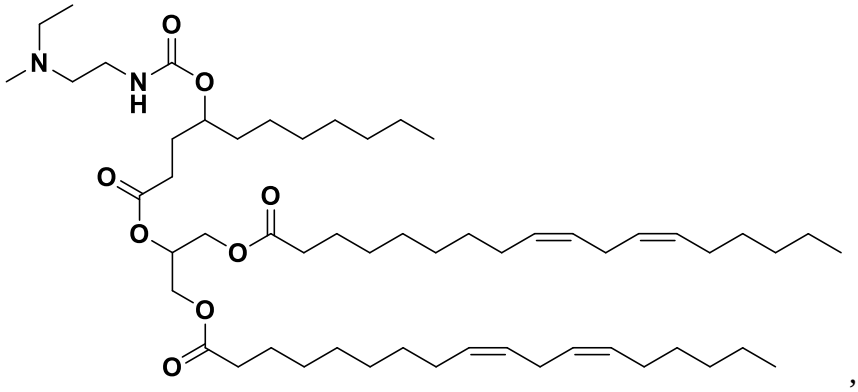
,

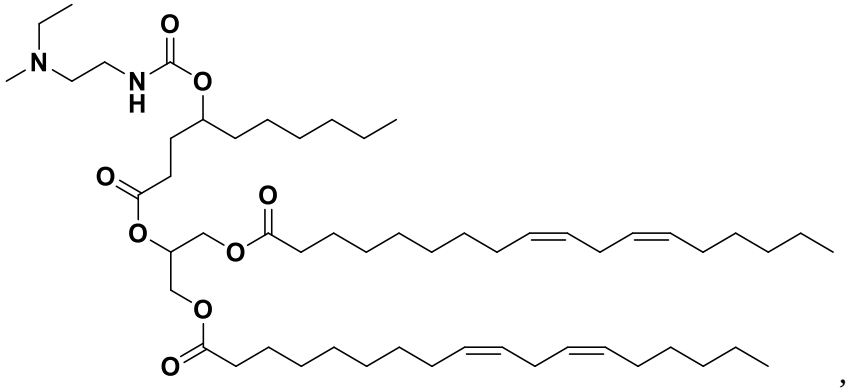


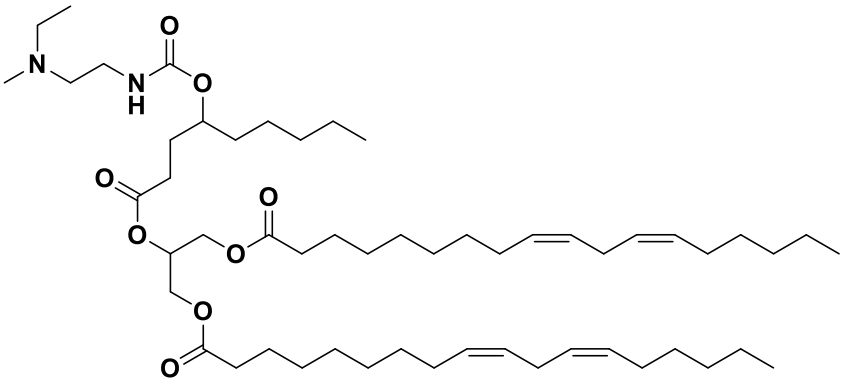
,


,

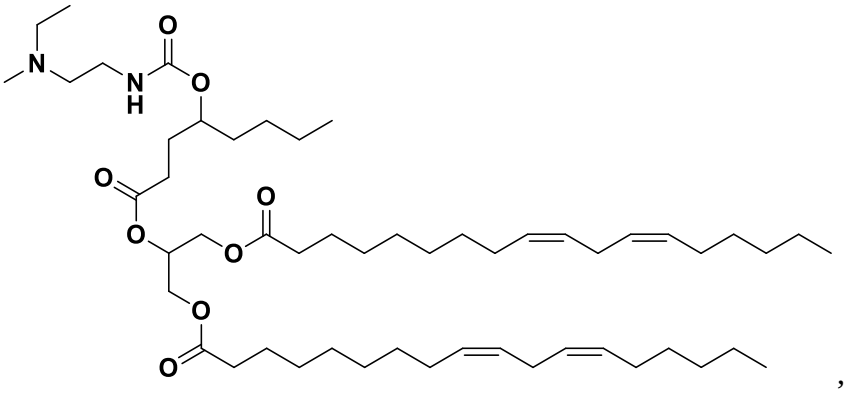

,


,

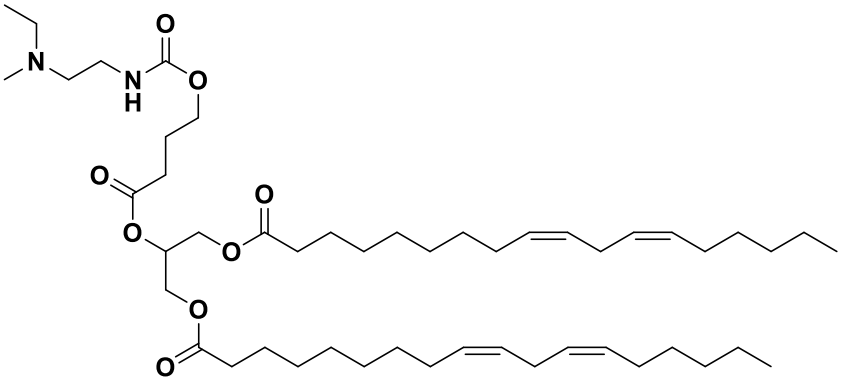

,



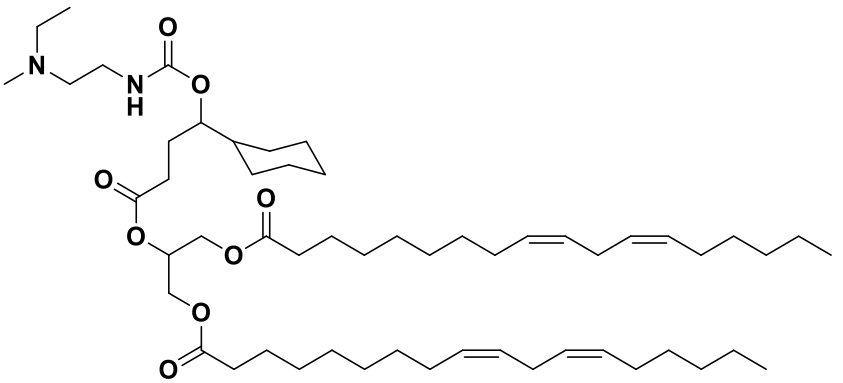
,



,

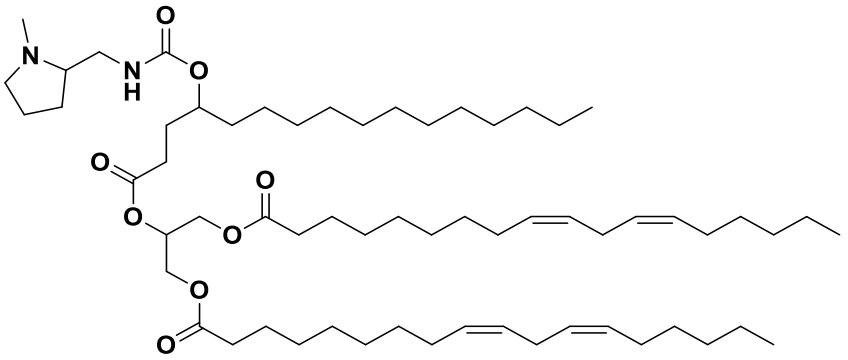


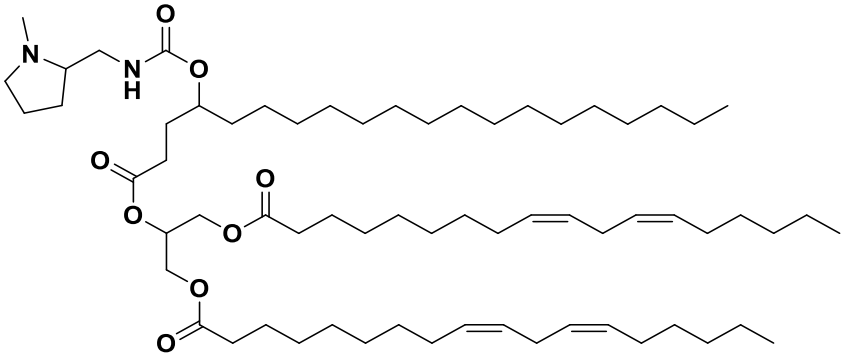
, y

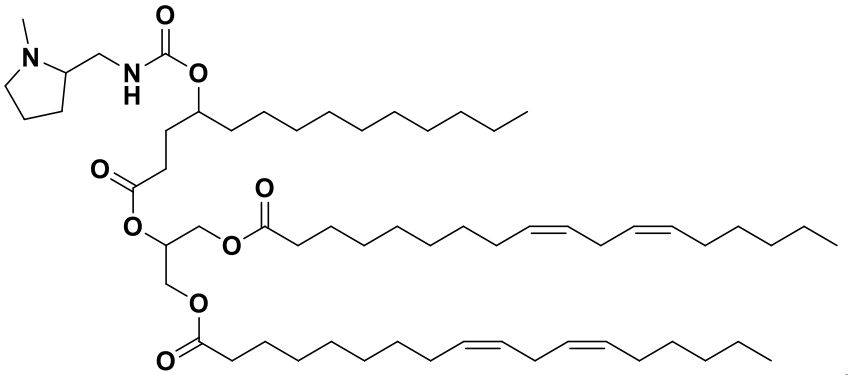


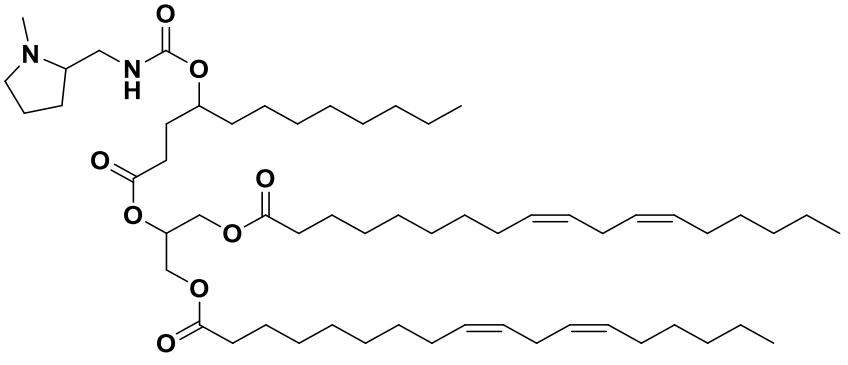
o una sal de estos.

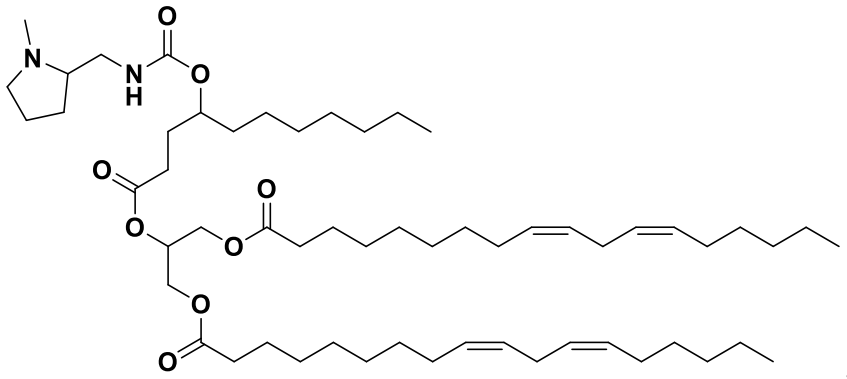
En otras modalidades, el compuesto se selecciona de

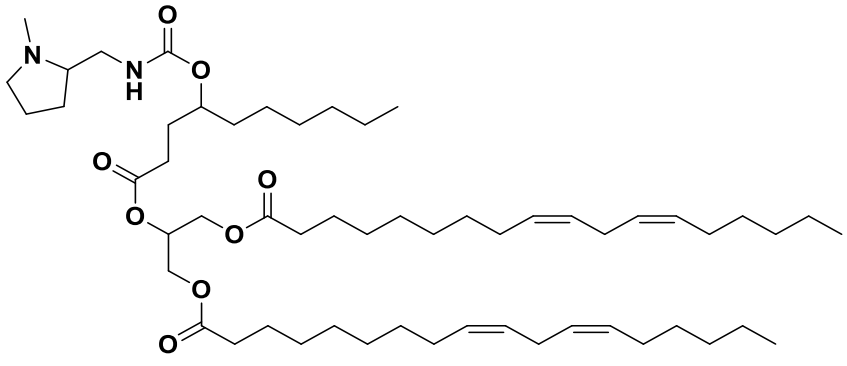

,

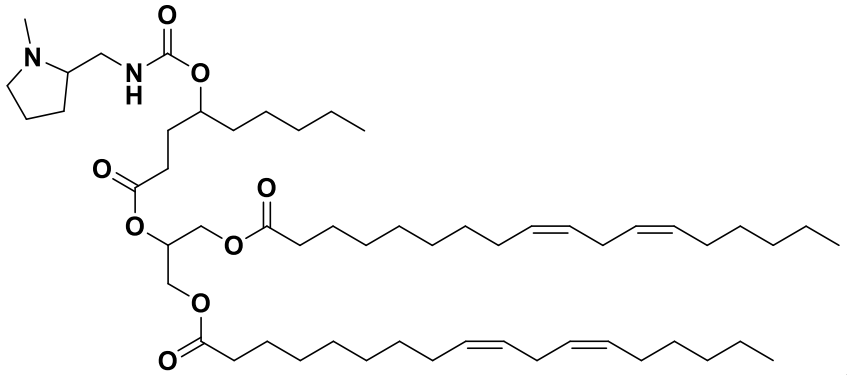

,

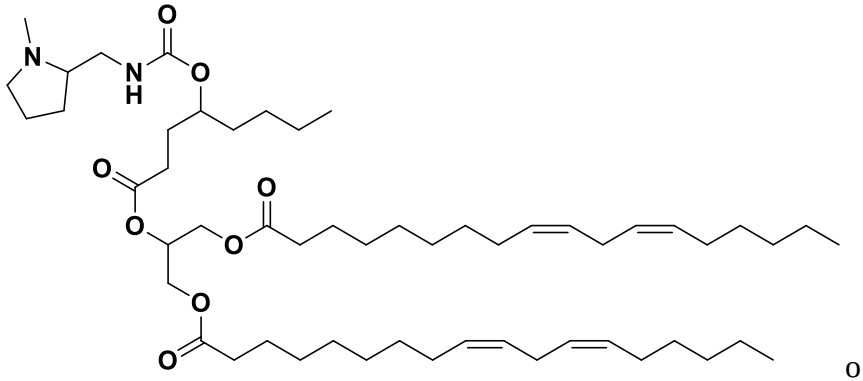

,


,

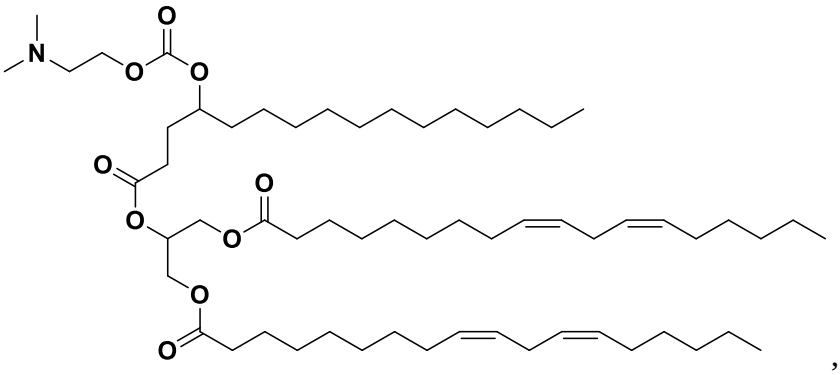

,


,

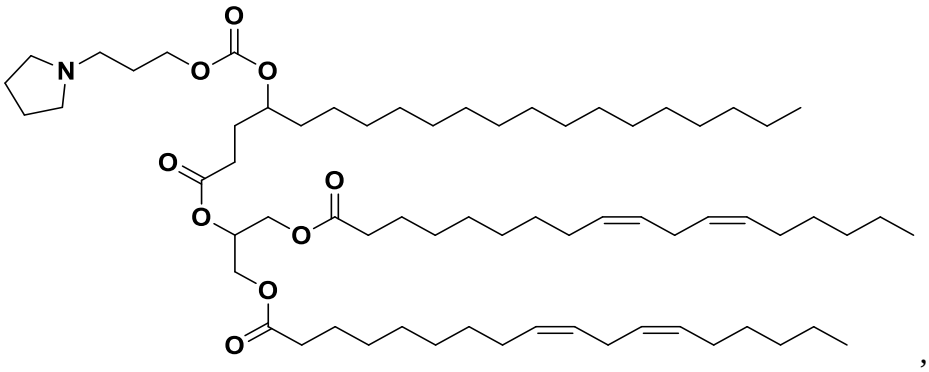

, y


o una sal de estos.

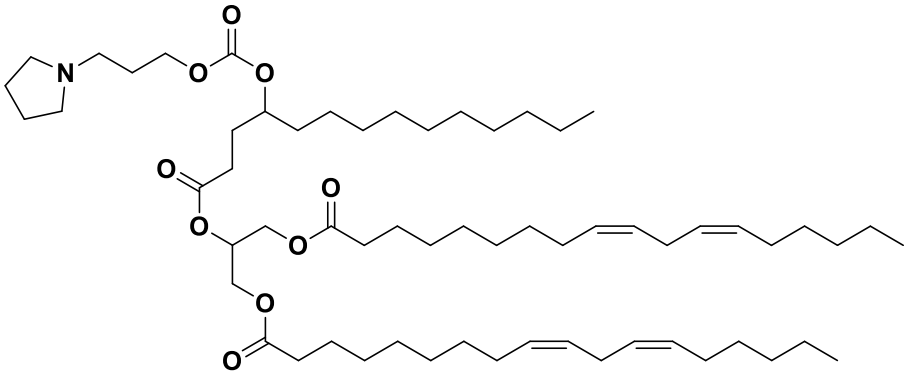
En aun otras modalidades, el compuesto se selecciona de



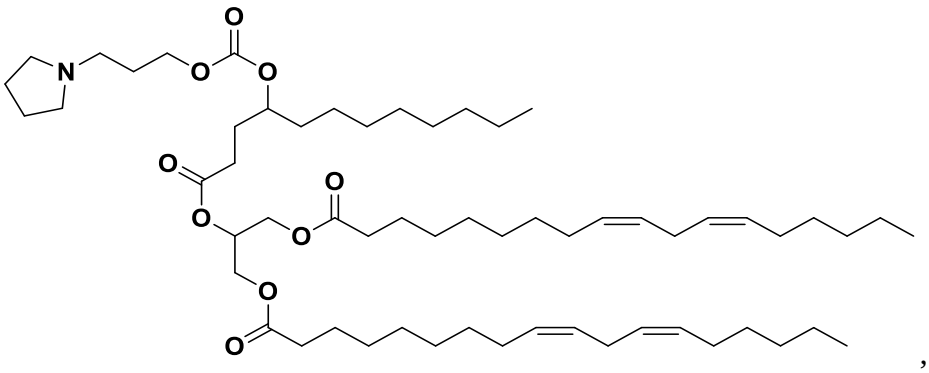
,



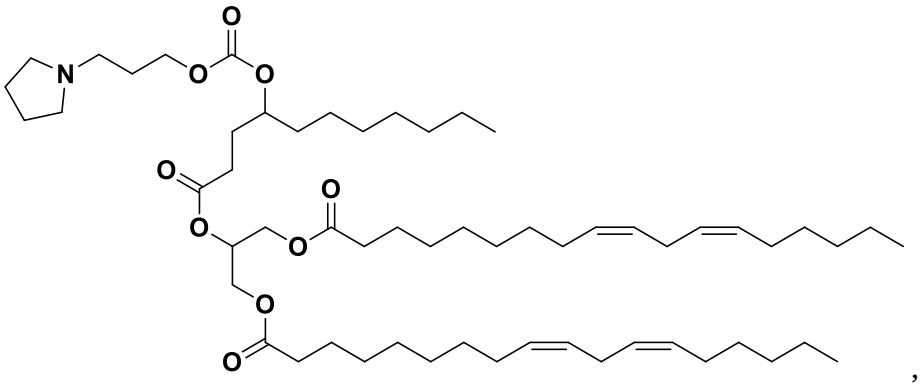
,

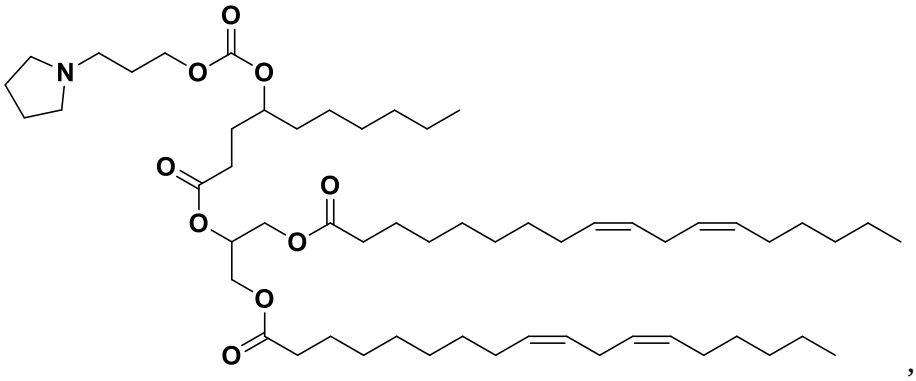


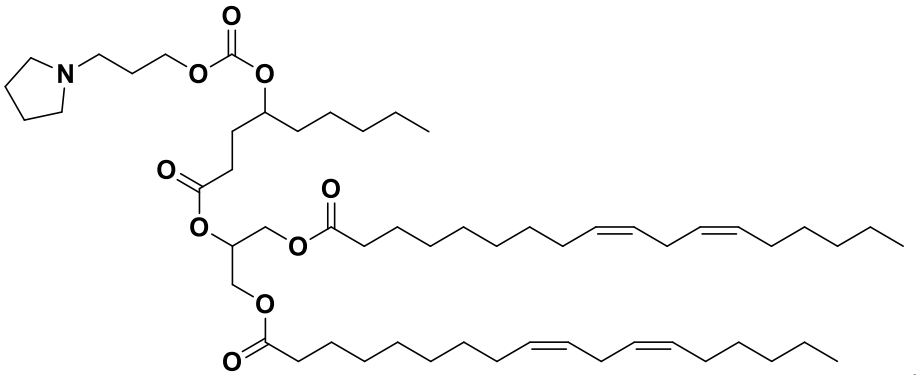
,

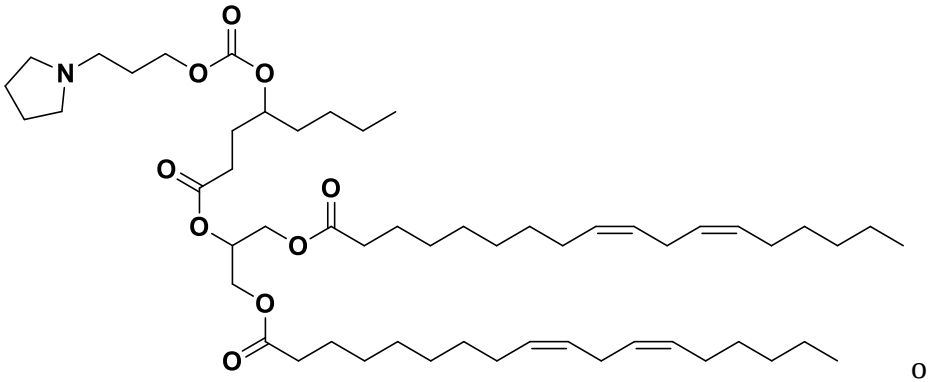


,


,


,


, y


o una sal de estos.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier compuesto descrito en la presente, en donde la pKa de la forma protonada del compuesto es de alrededor de 5,1 a alrededor de 8,0, por ejemplo,

de alrededor de 5,6 a alrededor de 7,2, de alrededor de 5,7 a alrededor de 6,5, o de alrededor de 5,8 a alrededor de 6,2. En algunas modalidades, la pKa de la forma protonada del compuesto es de alrededor de 5,5 a alrededor de 6,0. En determinadas modalidades, la pKa de la forma protonada del compuesto es de alrededor de 6,1 a alrededor de 6,3.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a una composición que comprende cualquier compuesto descrito en la presente,

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a una composición que comprende cualquier compuesto descrito en la presente y un componente lipídico, por ejemplo, que comprende de alrededor de 50 % en peso de un compuesto descrito en la presente y un componente lipídico, por ejemplo, un lípido con amina, preferentemente, un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II) o (III).

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición descrita en la presente, en donde la composición es una composición de LNP. Por ejemplo, la descripción se refiere a una composición de LNP que comprende cualquier compuesto descrito en la presente y un componente lipídico. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el componente lipídico comprende un lípido auxiliar y un lípido PEG. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el componente lipídico comprende un lípido auxiliar, un lípido PEG y un lípido neutro. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, que comprende, además, un crioprotector. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, que comprende, además, un amortiguador. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, que comprende, además, un componente de ácido nucleico. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, que comprende, además, un componente de ARN o ADN. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde la composición de LNP tiene una relación de N/P de alrededor de 3-10, por ejemplo, la relación de N/P es de alrededor de 6 ± 1, o la relación de N/P es de alrededor de 6 ± 0,5. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde la composición de LNP tiene una relación de N/P de alrededor de 6.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el componente de ARN comprende un ARNm. En determinadas modalidades, la

descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el componente de ARN comprende un agente de unión a ADN guiado por ARN, por ejemplo, un ARNm de nucleasa Cas, tal como un ARNm de nucleasa Cas clase 2 o un ARNm de nucleasa Cas9.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ARNm es un ARNm modificado. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el componente de ARN comprende un ácido nucleico ARNg. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ácido nucleico de ARNg es un ARNg.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a una composición de LNP descrita en la presente, en donde el componente de ARN comprende un ARNm de nucleasa Cas de clase 2 y un ARNg. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ácido nucleico ARNg es o codifica un ARN guía doble (ARNgd). En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ácido nucleico ARNg es o codifica un ARN guía simple (ARNgs).

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ARNg es un ARNg modificado. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ARNg modificado comprende una modificación en uno o más de los primeros cinco nucleótidos en un extremo 5'. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, en donde el ARNg modificado comprende una modificación en uno o más de los últimos cinco nucleótidos en un extremo 3'.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier composición de LNP descrita en la presente, que comprende, además, al menos una plantilla de ácido nucleico.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a un método de edición génica, que comprende poner en contacto una célula con una LNP. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, que comprende escindir el ADN.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a un método para escindir el ADN, que comprende poner en contacto una célula con una composición de LNP. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método para escindir el ADN descrito en la presente, en donde la etapa de escisión comprende introducir un corte de ADN monocatenario. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método para escindir el ADN descrito en la presente, en donde la etapa de escisión

comprende introducir un corte de ADN bicatenario. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método para escindir el ADN descrito en la presente, en donde la composición de LNP comprende un ARNm de Cas clase 2 y un ácido nucleico de ARN guía. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método para escindir el ADN descrito en la presente, que comprende, además, introducir al menos una plantilla de ácido nucleico en la célula. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método para escindir el ADN descrito en la presente, que comprende poner en contacto la célula con una composición de LNP que comprende una plantilla de ácido nucleico.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génico descrita en la presente, en donde el método comprende administrar la composición de LNP a un animal, por ejemplo, un ser humano. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde el método comprende administrar la composición de LNP a una célula, por ejemplo, una célula eucariota.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde el método comprende administrar ARNm formulado en una primera composición de LNP y una segunda composición de LNP que comprende uno o más de un ARNm, un ARNg, un ácido nucleico de ARNg y una plantilla de ácido nucleico. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde la primera y la segunda composición de LNP se administran en forma simultánea. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde la primera y la segunda composición de LNP se administran en forma secuencial. En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde el método comprende administrar el ARNm y el ácido nucleico de ARN guía formulados en una única composición de LNP.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde la edición génica produce una inactivación génica.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a cualquier método de edición génica descrito en la presente, en donde la edición génica produce una corrección génica.

Breve descripción de las figuras

Las **Figuras 1A-1C** muestran la edición in vivo en el locus TTR y los compuestos evaluados en el ensayo. La Figura 1A ilustra las estructuras químicas de los compuestos que se evalúan. La Figura 1B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 1C

muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

La **Figura 2** es un gráfico que muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración mediante el uso de LNP que comprenden un compuesto con la Fórmula (IA) o un compuesto de control. También se muestran los datos de la respuesta a la dosis.

Las **Figuras 3A-3B** muestran los resultados después de la administración mediante el uso de LNP que comprenden un compuesto con la Fórmula (IA). La Figura 3A es un gráfico que muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 3B es un gráfico que muestra TTR en suero (µg/mL), después de la administración.

Las **Figuras 4A-4C** muestran la edición in vivo en el locus TTR y los compuestos evaluados en el ensayo. La Figura 4A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 4B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 4C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 5A-5C** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 5A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 5B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 5C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 6A-6C** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 6A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 6B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 6C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 7A-7C** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 7A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 7B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 7C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 8A-8C** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 8A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba donde n=1, 2 o 3. La Figura 8B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 8C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las Figuras 9A-9C muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 9A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de

prueba. La Figura 9B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 9C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 10A-10C** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 10A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 10B muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 10C muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 11A-11D** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 11A y la Figura 11B ilustran las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 11C muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de ratón después de la administración. La Figura 11D muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 12A-12B** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 12A muestra el porcentaje de edición de TTR en células hepáticas de rata después de la administración. La Figura 12B muestra los niveles de TTR en suero (µg/mL) después de la administración.

Las **Figuras 13A-13B** muestran compuestos con la Fórmula (IA) y los resultados de la administración mediante el uso de los compuestos. La Figura 13A ilustra las estructuras químicas de los compuestos de prueba. La Figura 13B muestra el porcentaje de edición de TTR en células HUH7 después de la administración.

Descripción detallada

En la presente descripción se proporcionan lípidos, en particular, lípidos ionizables, que son útiles para administrar agentes biológicamente activos, que incluyen ácidos nucleicos, tales como ARN componentes de CRISPR/Cas (la «carga»), a una célula, y métodos para preparar y usar dichas composiciones. Los lípidos y sales farmacéuticamente aceptables de estos se proporcionan opcionalmente como composiciones que comprenden los lípidos, que incluyen composiciones de LNP. En determinadas modalidades, la composición de LNP puede comprender un agente biológicamente activo, por ejemplo, un componente de ARN, y un componente lipídico que incluye un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), tal como se define en la presente. En algunas modalidades, el componente de ARN comprende un ácido nucleico. En algunas modalidades, los lípidos se usan para administrar un agente biológicamente

activo, por ejemplo, un ácido nucleico tal como un ARNm a una célula tal como una célula hepática. En determinadas modalidades, el componente de ARN incluye un ARNg y, opcionalmente, un ARNm que codifica una nucleasa Cas de clase 2 y, opcionalmente, un ARNg o ácidos nucleicos que codifican ARNg. También se proporcionan métodos de edición génica y métodos para crear células modificadas genéticamente mediante el uso de estas composiciones.

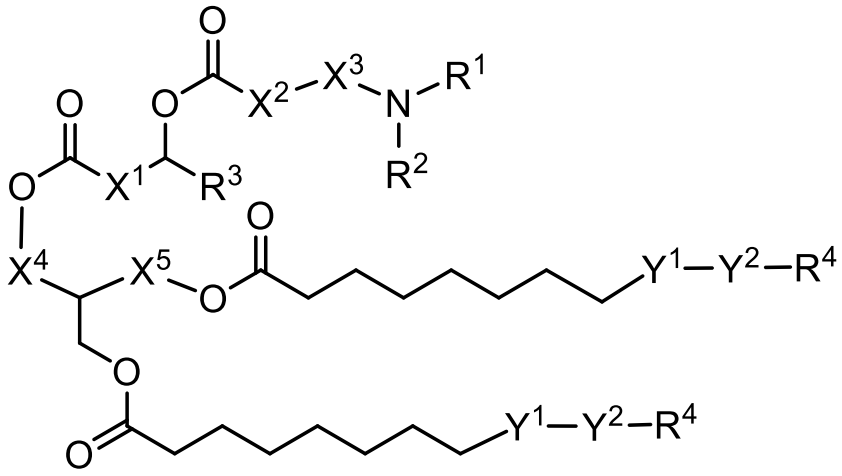
Composiciones de nanopartículas lipídicas

En la presente se describen diversas composiciones de LNP para administrar agentes biológicamente activos, tales como ácidos nucleicos, por ejemplo, ARNm y ARNg, que incluyen cargas de CRISPR/Cas. Tales composiciones de LNP incluyen un «lípido con amina ionizable», junto con un lípido neutro, un lípido PEG y un lípido auxiliar. «Nanopartícula lipídica» o «LNP» hace referencia, sin limitar el significado, a una partícula que comprende múltiples componentes de LNP (es decir, más de uno) que se asocian en forma física entre sí mediante fuerzas intermoleculares.

Lípidos

En la descripción se proporcionan lípidos que pueden usarse en composiciones de LNP.

En determinadas modalidades, la presente descripción se refiere a un compuesto que tiene una estructura con la Fórmula (IA):



(IA)

en donde, independientemente para cada aparición,

X^1 es alquileno C_{1-3} o  ,

X^2 se selecciona de O, NH, NMe, y un enlace,

X^3 es alquileno C_{2-4},

X^4 es alquileno C_1 o un enlace,

X^5 es alquileno C_1 o un enlace,

R^1 es alquilo C_{1-3},

R^2 es alquilo C_{1-3}, o

R^2, junto con el átomo de nitrógeno y R^1 o un átomo de carbono de X^3, forman un anillo de 4 miembros, 5 miembros o 6 miembros,

cada Y^1 se selecciona independientemente de un enlace, -CH=CH-, -(C=O)O-, y -O(C=O)-,

cada Y^2 se selecciona independientemente de $-CH_2-CH=CH-$ y alquileno C_3-C_4,

R^3 se selecciona de H, cicloalquilo C_{5-7}, alquenilo C_8-C_{10}, y alquilo C_{3-18},

cada R^4 es independientemente alquilo C_{4-8},

o una sal de este,

con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^3 es alquilo C_{12} lineal, X^1 es alquileno C_2, X^2 es O, X^3 es alquileno C_3, X^4 es un enlace, X^5 es alquileno C_1, Y^1 es *cis* -CH=CH-, e $-Y^2–R^4$ es *cis* $-CH_2-CH=CH-$(alquilo C_5), entonces R^1 es alquilo C_{2-3}.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA) con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^1 es alquilo C_{2-3}.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde R^2 no es Me.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde R^1 no es Me.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde R^3 no es alquilo C_{12} lineal.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde X^1 no es alquileno C_2.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde X^2 no es O.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde X^3 no es alquileno C_3

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde X^4 no es un enlace.

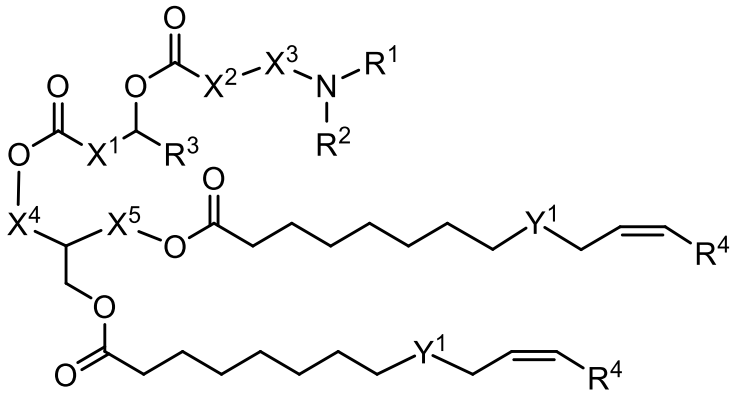
En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde X^5 no es alquileno C_1.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde Y^1 no es *cis* -CH=CH-.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (IA), en donde $-Y^2–R^4$ no

es *cis* -CH_2-CH=CH-(alquilo C_5).

En determinadas modalidades, la presente descripción se refiere a un compuesto con la Fórmula (I):



en donde, independientemente para cada aparición,

X^1 es alquileno C_{2-3},

X^2 se selecciona de O, NH, NMe, y un enlace,

X^3 es alquileno C_{2-4},

X^4 es alquileno C_1 o un enlace,

X^5 es alquileno C_1 o un enlace,

R^1 es alquilo C_{1-2},

R^2 es alquilo C_{1-2}, o

R^2, junto con el átomo de nitrógeno y R^1 o un átomo de carbono de X^3, forman un anillo de 5 miembros o 6 miembros,

Y^1 se selecciona de -CH=CH-, -(C=O)O-, y -O(C=O)-,

R^3 se selecciona de H, cicloalquilo C_{5-7}, y alquilo C_{3-18},

R^4 es alquilo C_{4-7},

o una sal de este,

con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^3 es alquilo C_{12} lineal, X^1 es alquileno C_2, X^2 es O, X^3 es alquileno C_3, X^4 es un enlace, X^5 es alquileno C_1, Y^1 es *cis* -CH=CH-, y R^4 es alquilo C_5, entonces R^1 es alquilo C_2, o una sal de este, tal como una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I) con la condición de que, cuando R^2 es Me, R^3 es alquilo C_{12} lineal, X^1 es C_2 alquileno, X^2 es O, X^3 es alquileno C_3, X^4 es un enlace, X^5 es alquileno C_1, e Y^1 es *cis* -CH=CH-, entonces R^1 es alquilo C_2.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I) con la condición de que,

cuando R^2 es Me, R^1 es alquilo C_2.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde R^2 no es Me.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde R^1 no es Me.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde R^3 no es alquilo C_{12} lineal.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde X^1 no es alquileno C_2.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde X^2 no es O.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde X^3 no es alquileno C_3.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde X^4 no es un enlace.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde X^5 no es alquileno C_1.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula (I), en donde Y^1 no es *cis* -CH=CH-.

En algunas modalidades, el compuesto está enriquecido enantioméricamente o enriquecido diastereoméricamente, por ejemplo, el compuesto está enriquecido enantioméricamente.

En determinadas modalidades, X^1 es alquileno C_2 lineal. En otras modalidades, X^1 es alquileno C_1. En algunas modalidades, X^1 es alquileno C_3 lineal o alquileno C_3 ramificado.

En algunas otras modalidades, X^2 es NH u O. En determinadas modalidades preferidas, X^2 es O y X^3 es alquileno C_{3-4}. En algunas modalidades, X^3 es alquileno C_{2-3}. En determinadas modalidades, X^2 es NMe o un enlace.

En determinadas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 4 miembros. En determinadas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 5 miembros. En algunas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 6 miembros. Alternativamente, R^2 puede ser alquilo C_2. En algunos casos, R^2 es alquilo C_1. En algunas modalidades, R^2 está sustituido, por ejemplo, con un grupo hidroxi, un ejemplo de R^2 incluye alquilo C_2 sustituido con hidroxi.

En determinadas modalidades, R^1 es alquilo C_1. Alternativamente, R^1 puede ser alquilo C_2. En algunas modalidades, R^1 está sustituido, por ejemplo, con un grupo hidroxi, un ejemplo de R^1 incluye alquilo C_2

sustituido con hidroxi. En algunas modalidades, R^1 no está sustituido. En algunas modalidades, R^2 no está sustituido. En modalidades preferidas, R^1 y R^2 no están sustituidos. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 4 miembros. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 5 miembros. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 6 miembros.

En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{8-16} lineal, por ejemplo, alquilo C_{7-12} lineal, tal como alquilo C_{7-9} lineal. Alternativamente, R^3 puede ser alquilo C_{3-6} lineal. En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{6-10} ramificado. En otras modalidades, R^3 es cicloalquilo C_{5-7}, por ejemplo, cicloalquilo C_6. En algunas modalidades, R^3 es H. En algunas modalidades, R^3 es alquenilo C_{8-10}.

En determinadas modalidades, R^4 es alquilo C_{5-6} lineal.

En algunas modalidades, X^4 es un enlace.

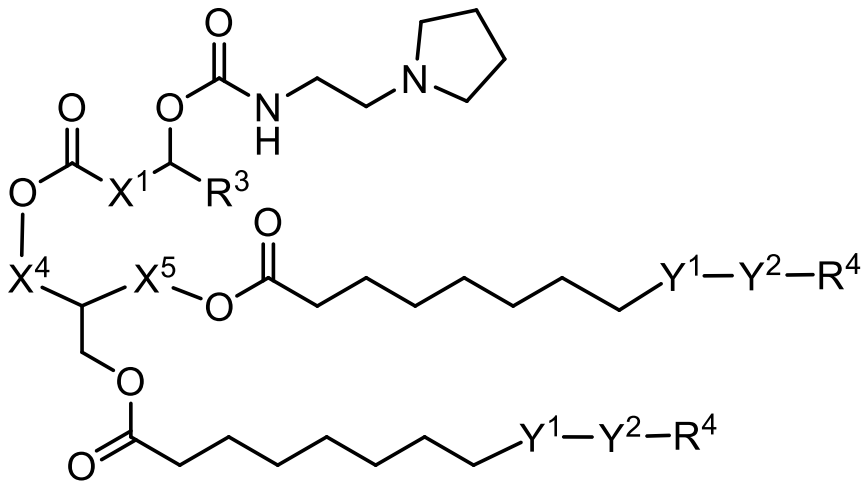
En determinadas modalidades, X^5 es un alquileno C_1.

En algunas modalidades, Y^2–R^4 es $–CH_2$-CH=CH-R^4.

En otras modalidades, Y^2 es alquileno C_3 lineal.

En algunas modalidades, Y^1 se selecciona de un enlace, -CH=CH-, y -O(C=O)-, por ejemplo, -CH=CH- y -O(C=O)-.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula II:



(II), en donde las variables se definen tal como para la Fórmula (IA).

En determinadas modalidades, X^1 es alquileno C_2 lineal. En otras modalidades, X^1 es alquileno C_1. En algunas modalidades, X^1 es alquileno C_3 lineal o alquileno C_3 ramificado.

En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{8-16} lineal, por ejemplo, alquilo C_{7-12} lineal, tal como alquilo C_{7-9} lineal. Alternativamente, R^3 puede ser alquilo C_{3-6} lineal. En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{6-10} ramificado. En otras modalidades, R^3 es cicloalquilo C_{5-7}, por ejemplo, cicloalquilo C_6. En algunas

modalidades, R^3 es H. En algunas modalidades, R^3 es alquenilo C_{8-10}.

En determinadas modalidades, R^4 es alquilo C_{5-6} lineal.

En algunas modalidades, X^4 es un enlace.

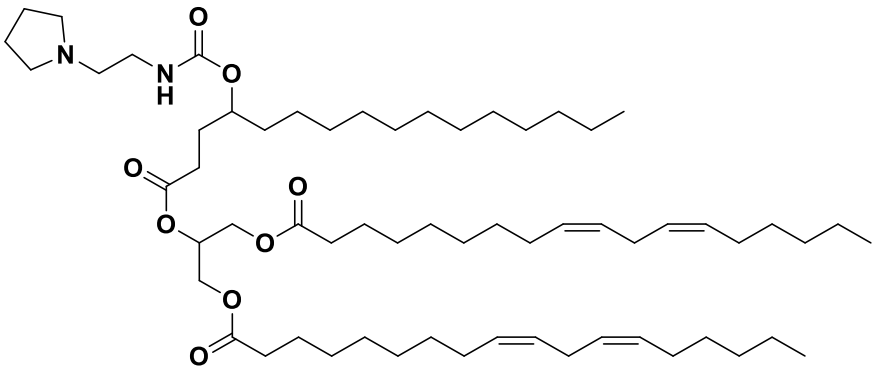
En determinadas modalidades, X^5 es un alquileno C_1.

En algunas modalidades, Y^2–R^4 es $–CH_2$-CH=CH-R^4.

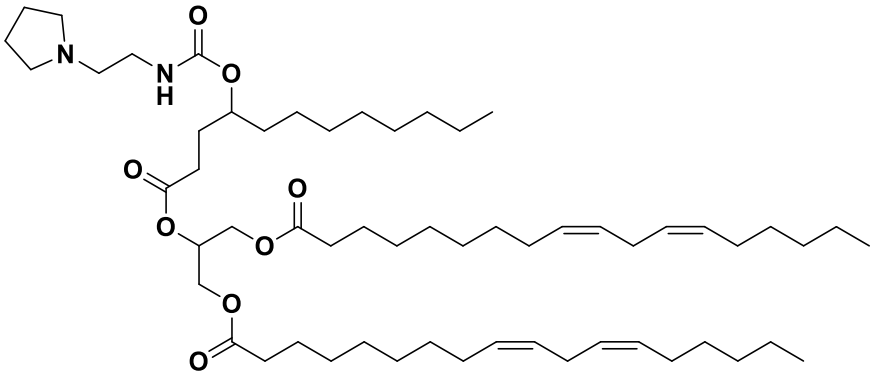
En otras modalidades, Y^2 es alquileno C_3 lineal.

En algunas modalidades, Y^1 se selecciona de un enlace, -CH=CH-, y -O(C=O)-, por ejemplo, -CH=CH- y -O(C=O)-.

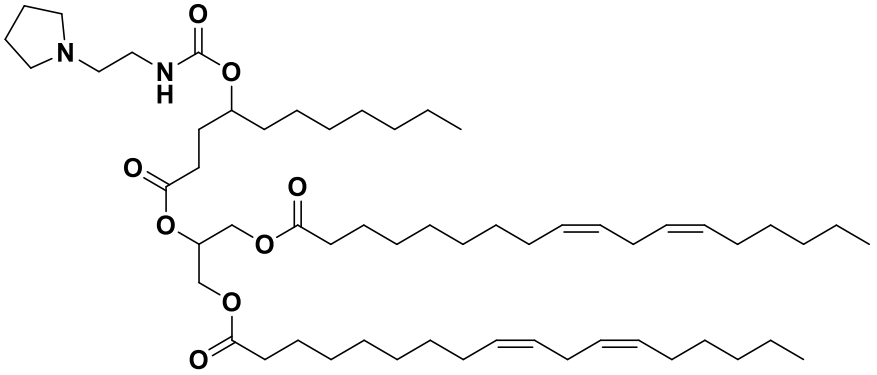
En determinadas modalidades, el compuesto se selecciona de:



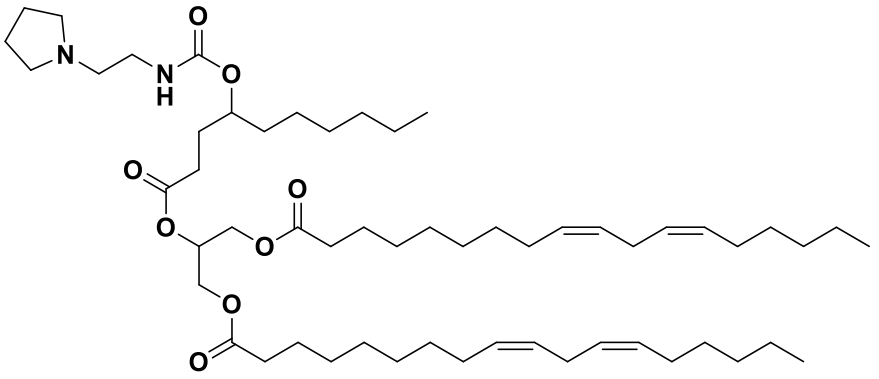
,



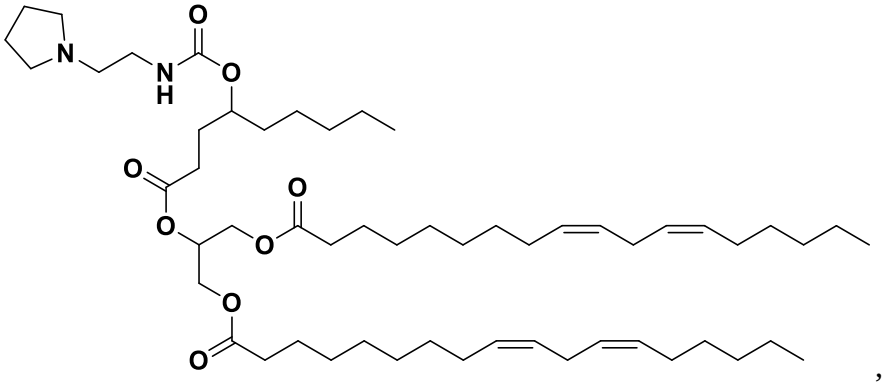
,



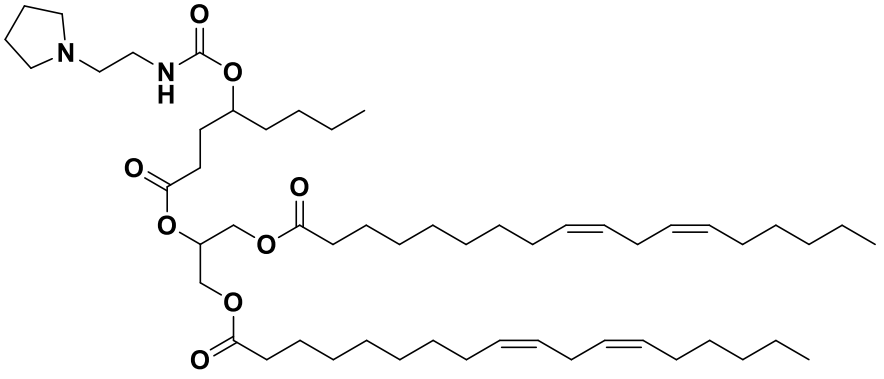
,



,

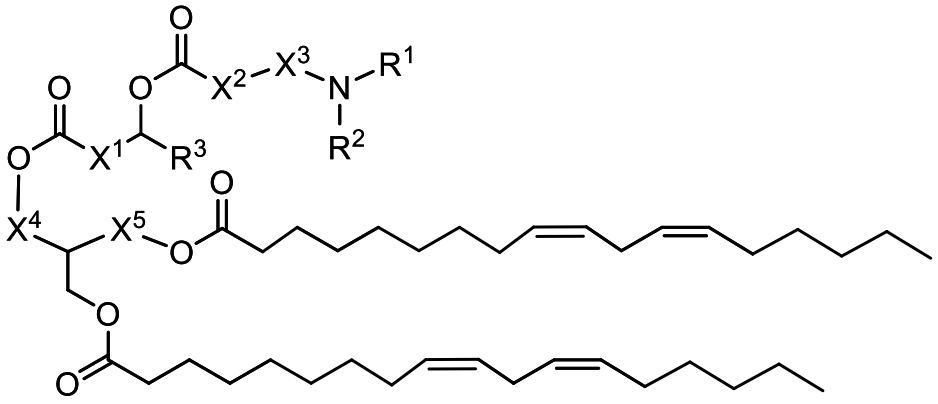


, y



, o una sal de estos.

En determinadas modalidades, el compuesto es un compuesto con la Fórmula III:



(III), en donde las variables se definen tal como para la Fórmula (IA).

En determinadas modalidades, X^1 es alquileno C_2 lineal. En otras modalidades, X^1 es alquileno C_1. En algunas modalidades, X^1 es alquileno C_3 lineal o alquileno C_3 ramificado.

En algunas otras modalidades, X^2 es NH u O. En determinadas modalidades preferidas, X^2 es O y X^3 es alquileno C_{3-4}. En algunas modalidades, X^3 es alquileno C_{2-3}. En determinadas modalidades, X^2 es NMe o un enlace.

En determinadas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 4 miembros. En determinadas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 5 miembros. En algunas modalidades, R^2 y un átomo de carbono de X^3, juntos, forman un anillo de 6 miembros. Alternativamente, R^2 puede ser alquilo C_2. En algunos casos, R^2 es alquilo C_1. En algunas modalidades, R^2 está sustituido, por ejemplo, con un grupo hidroxi, un ejemplo de R^2 incluye alquilo C_2 sustituido con hidroxi.

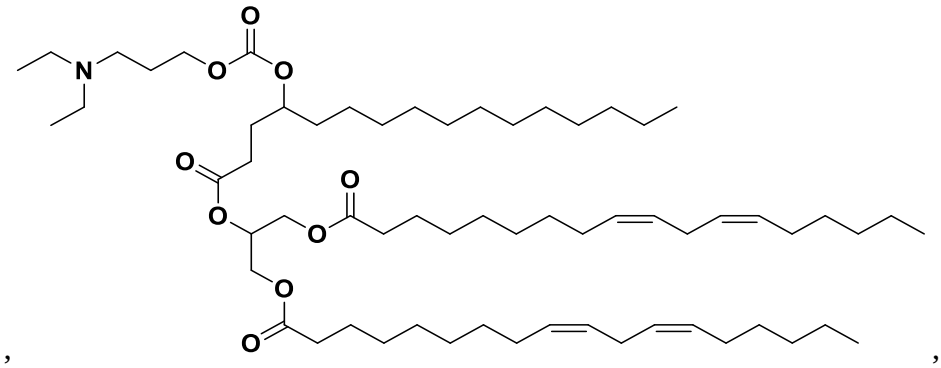
En determinadas modalidades, R^1 es alquilo C_1. Alternativamente, R^1 puede ser alquilo C_2. En algunas modalidades, R^1 está sustituido, por ejemplo, con un grupo hidroxi, un ejemplo de R^1 incluye alquilo C_2 sustituido con hidroxi. En algunas modalidades, R^1 no está sustituido. En algunas modalidades, R^2 no está sustituido. En modalidades preferidas, R^1 y R^2 no están sustituidos. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 4 miembros. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 5 miembros. En otras modalidades, R^1 y R^2, juntos, forman un anillo de 6 miembros.

En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{8-16} lineal, por ejemplo, alquilo C_{7-12} lineal, tal como alquilo C_{7-9} lineal. Alternativamente, R^3 puede ser alquilo C_{3-6} lineal. En algunas modalidades, R^3 es alquilo C_{6-10} ramificado. En otras modalidades, R^3 es cicloalquilo C_{5-7}, por ejemplo, cicloalquilo C_6. En algunas modalidades, R^3 es H. En algunas modalidades, R^3 es alquenilo C_{8-10}.

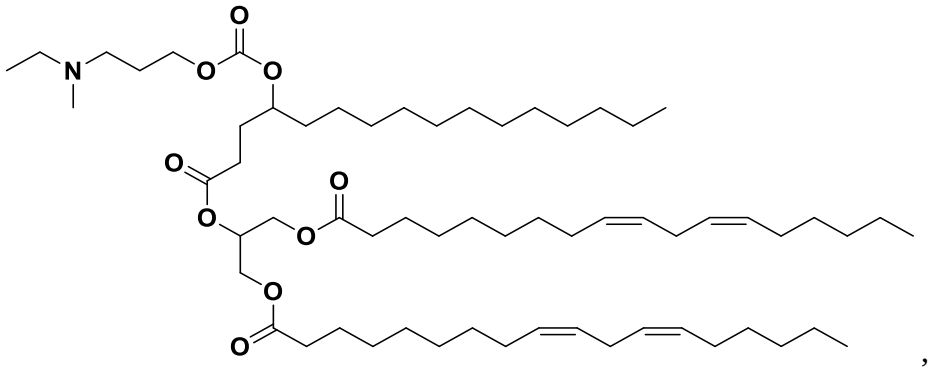
En algunas modalidades, X^4 es un enlace.

En determinadas modalidades, X^5 es un alquileno C_1.

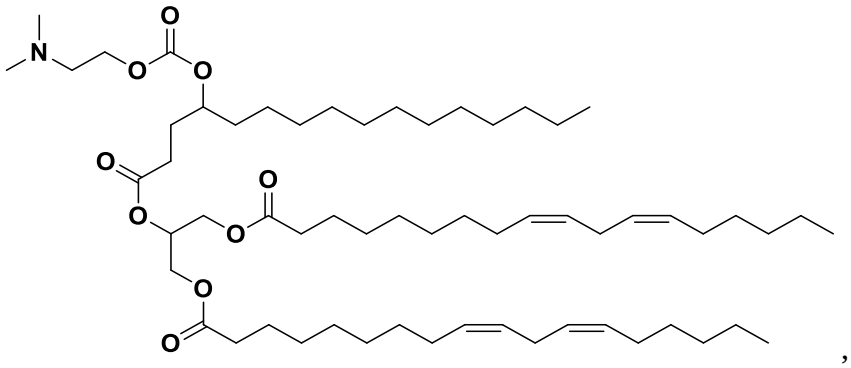
Los compuestos representativos con la Fórmula (IA) o (I) incluyen:



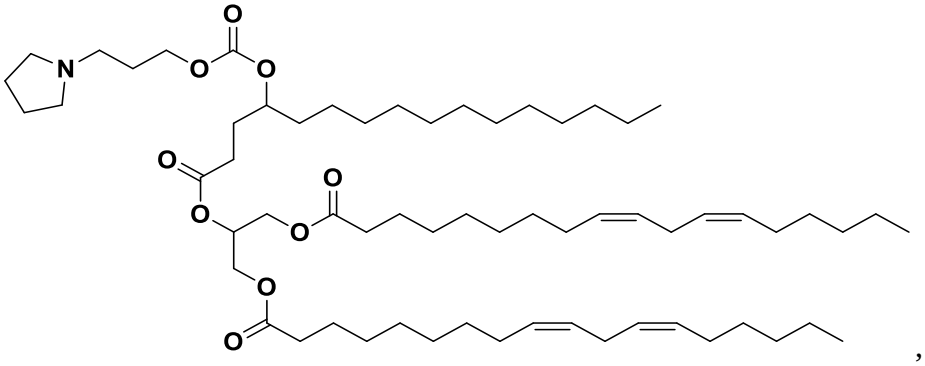
,



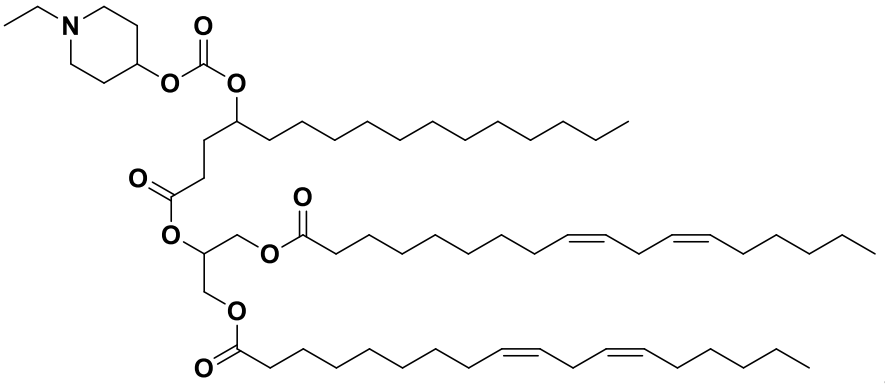
,



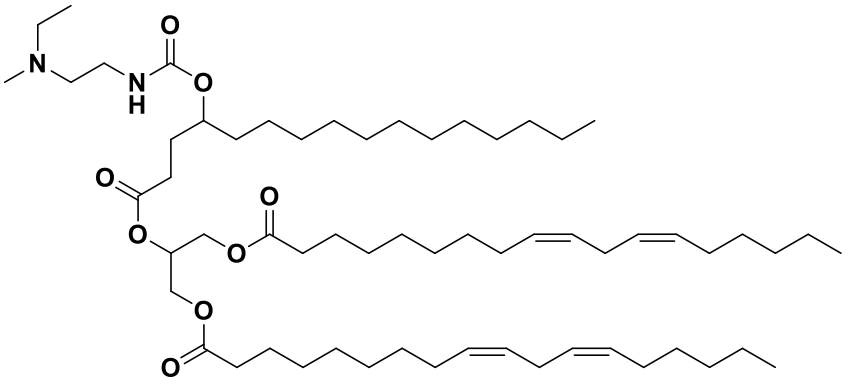
,



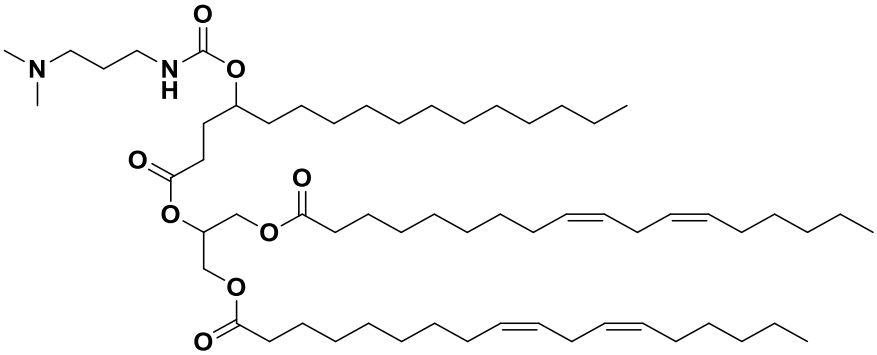
,



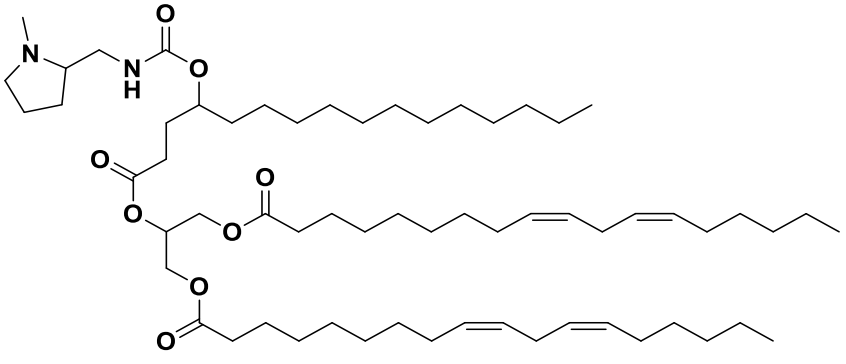
,



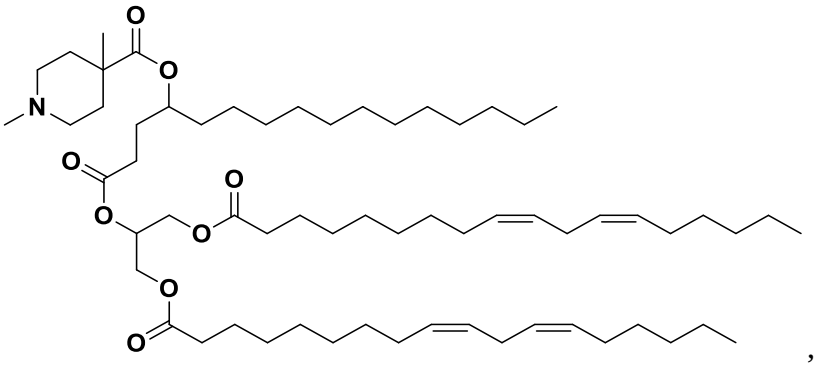
,



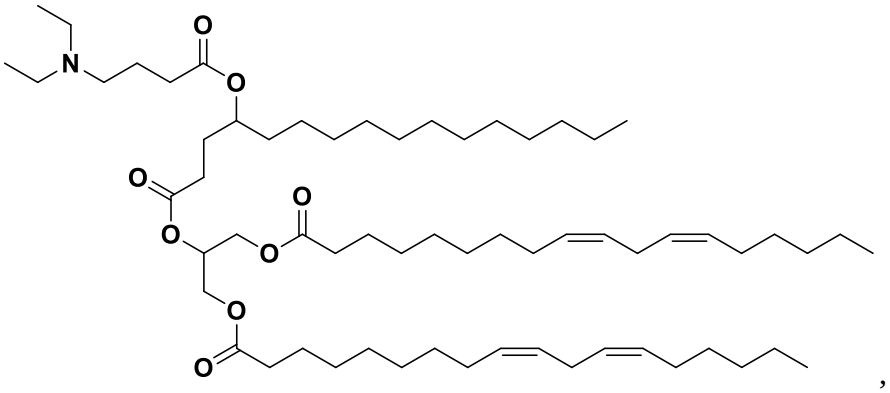
,



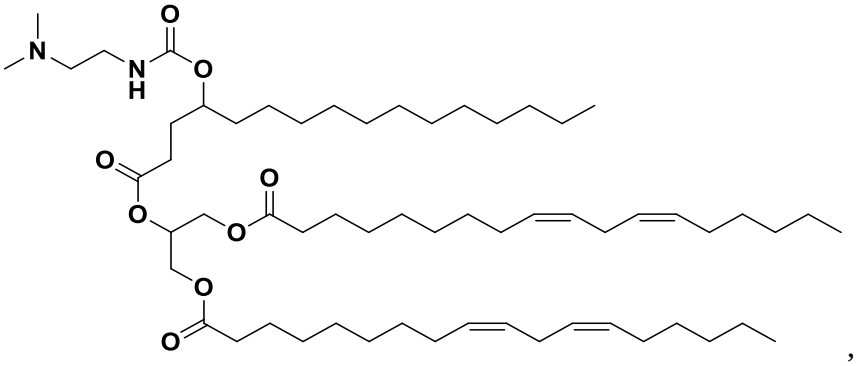
,



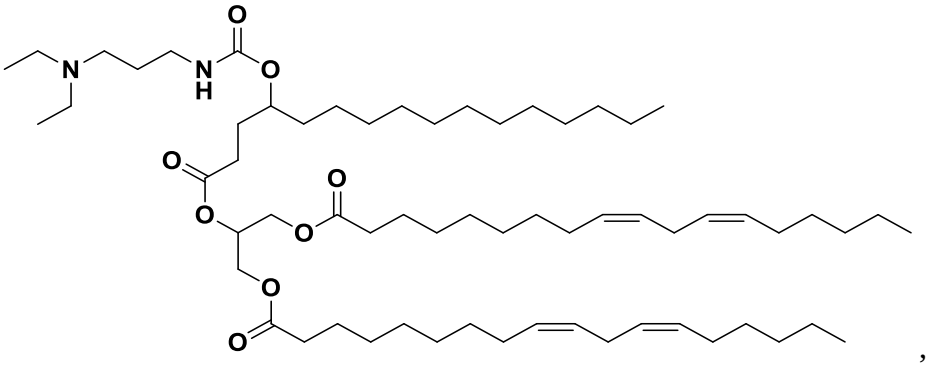
,



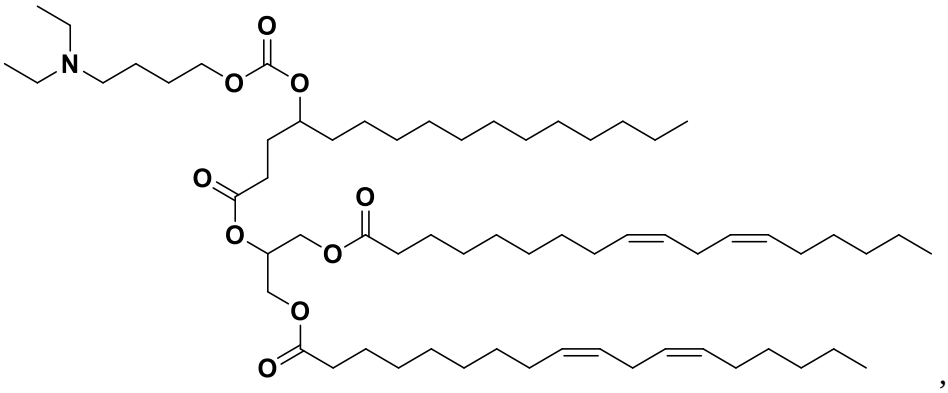
,



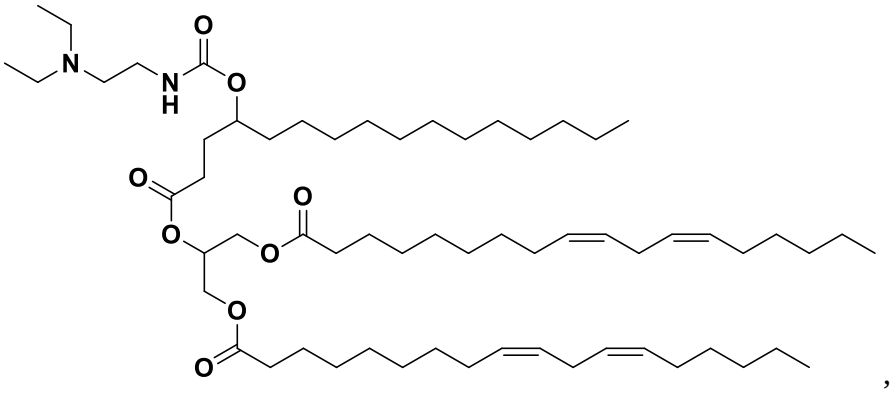
,



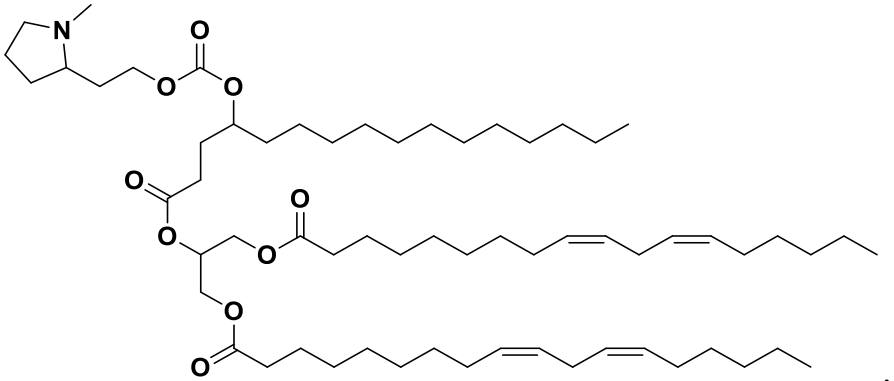
,



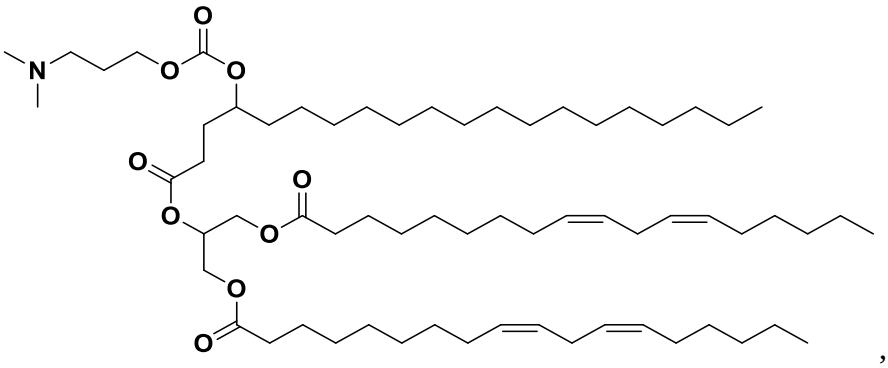
,



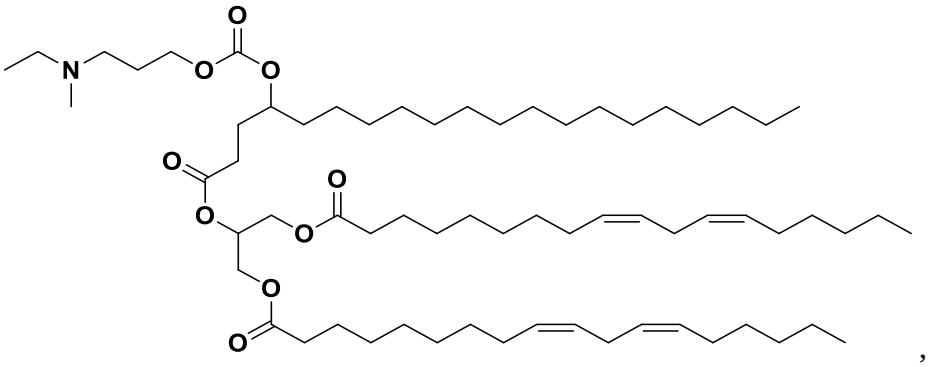
,



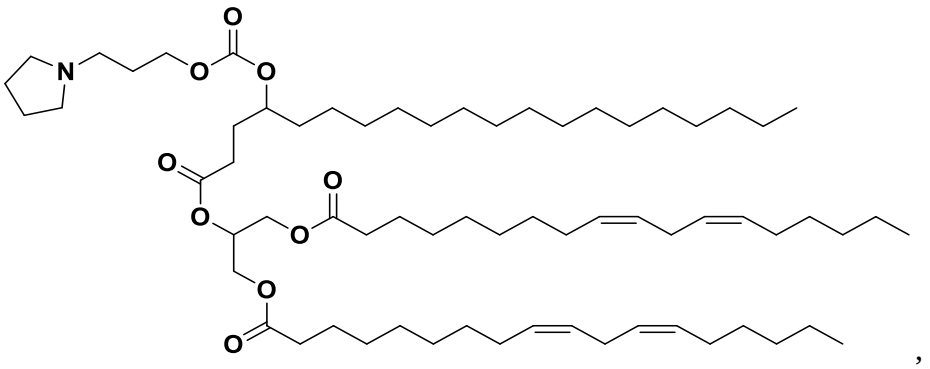
,



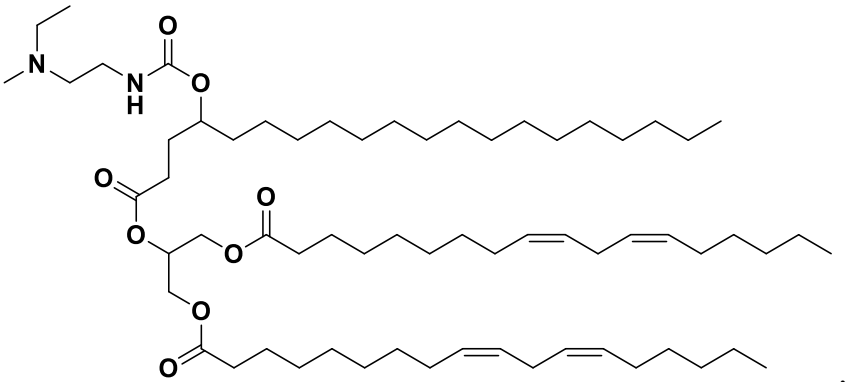
,



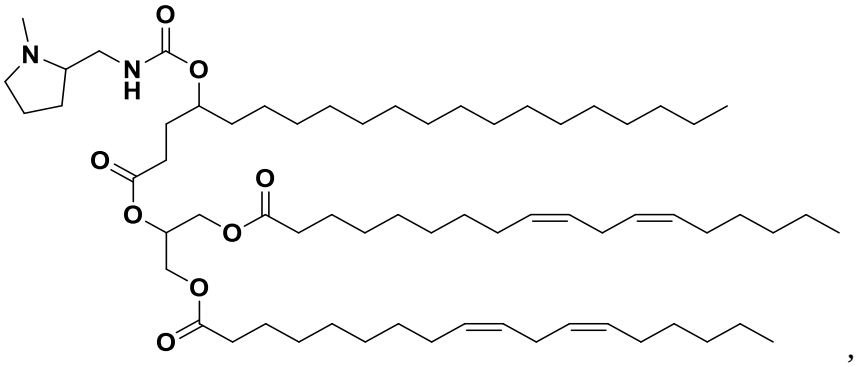
,



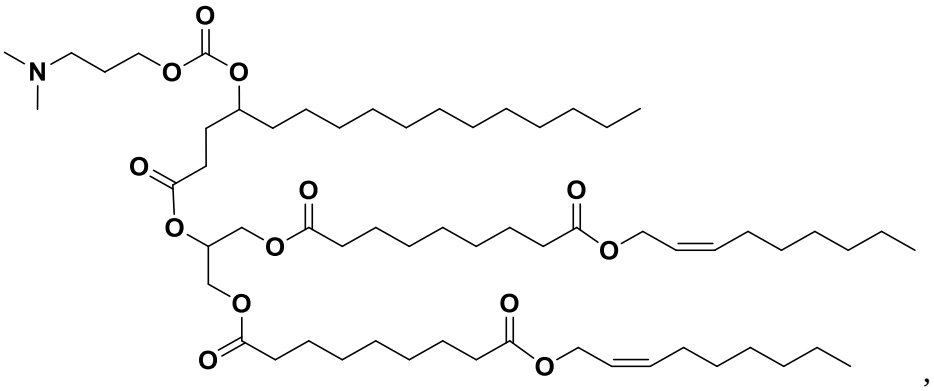
,



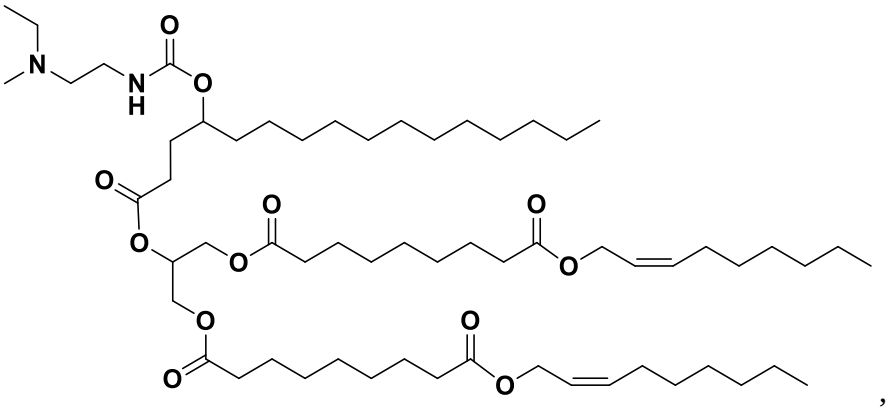
,



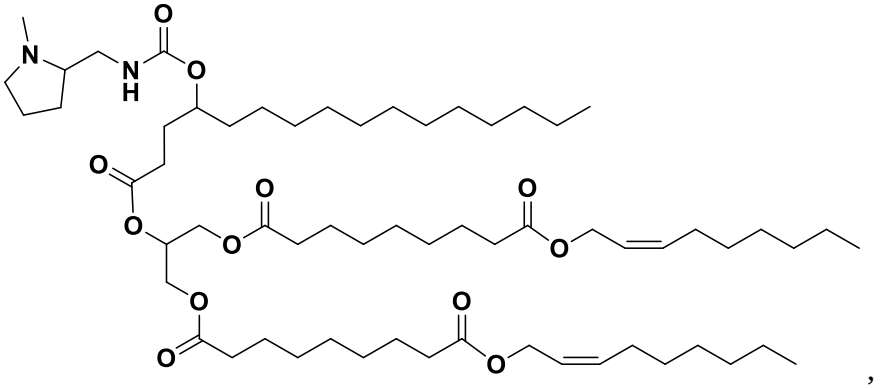
,



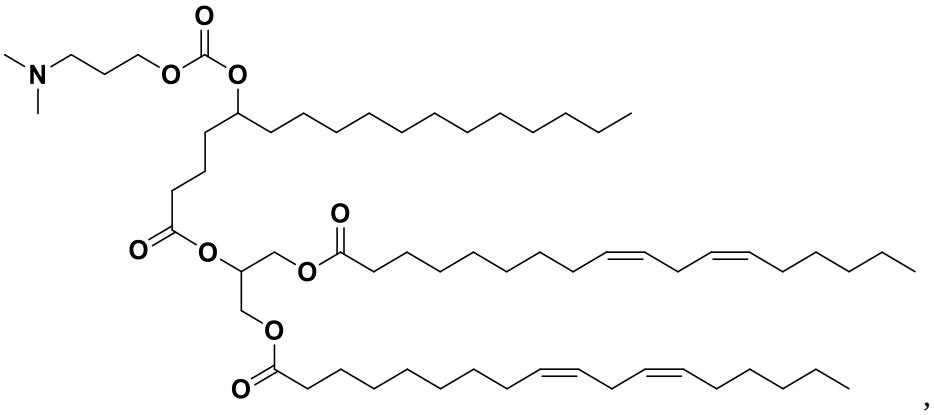
,



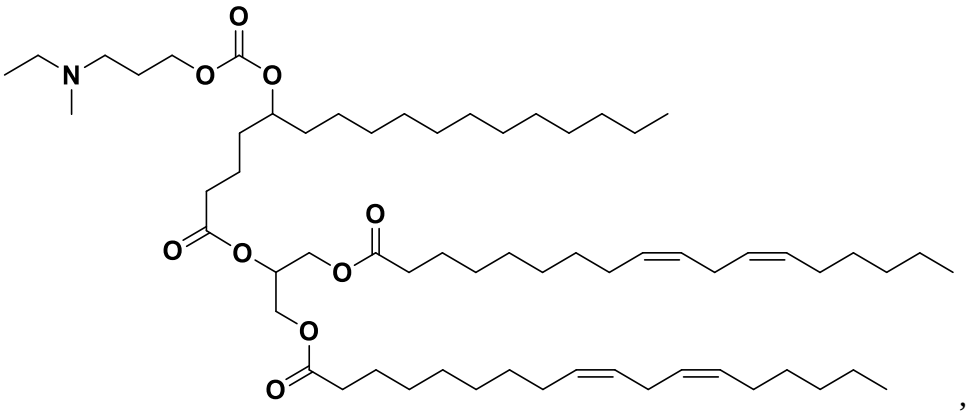
,



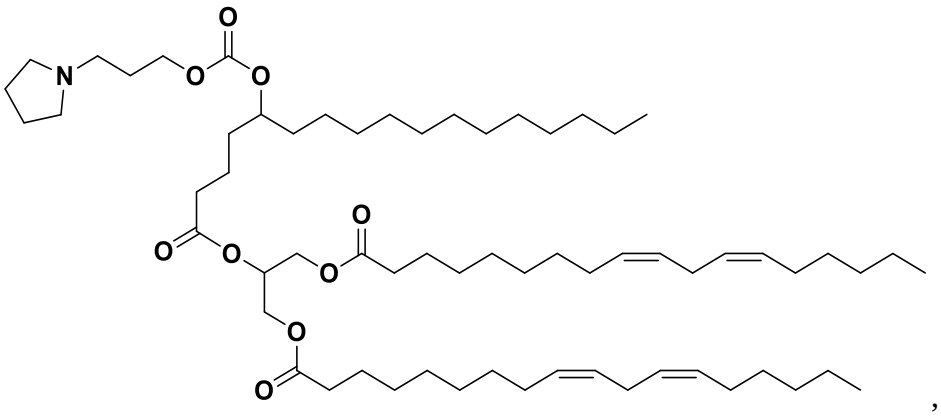
,



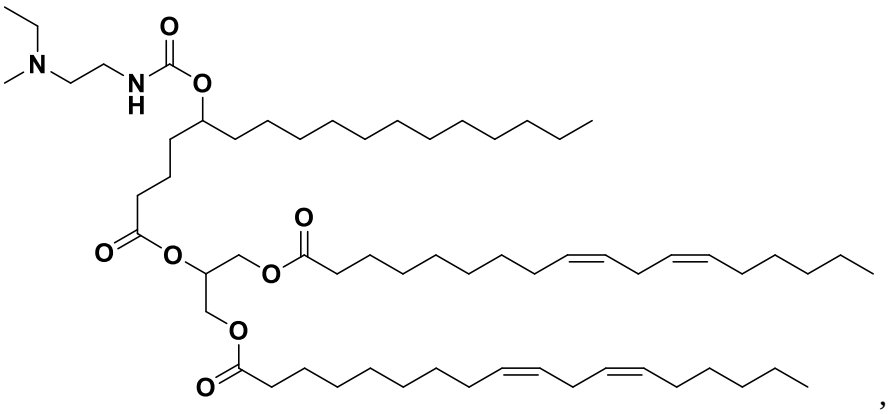
,



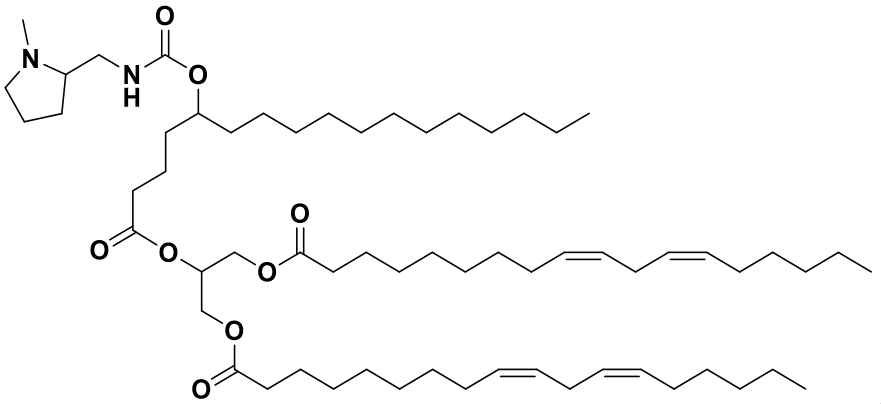
,



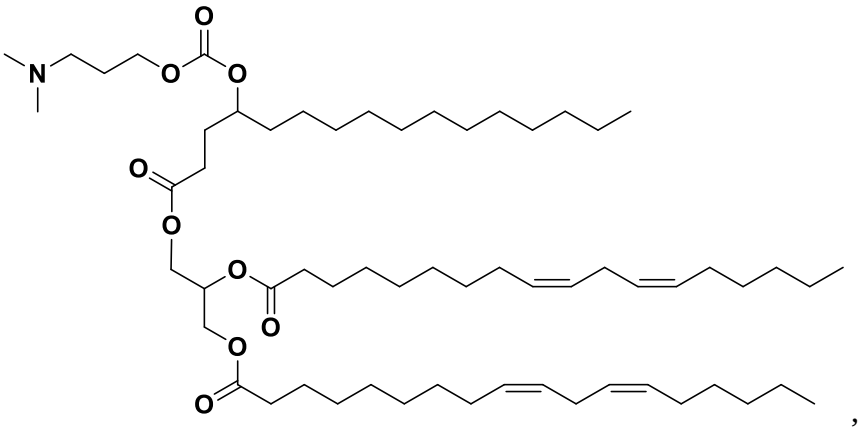
,



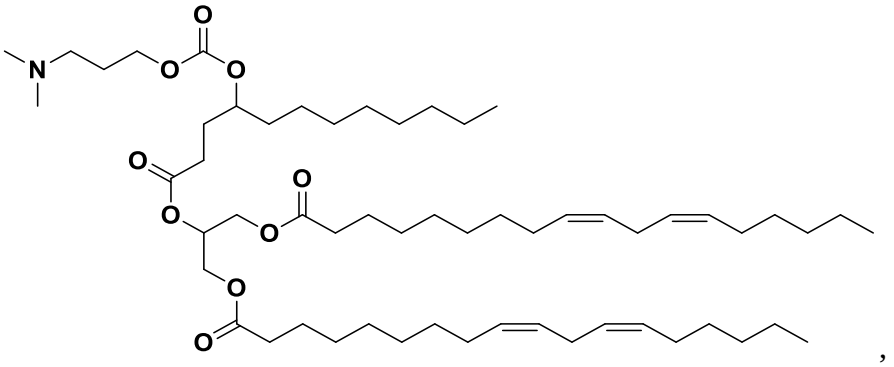
,



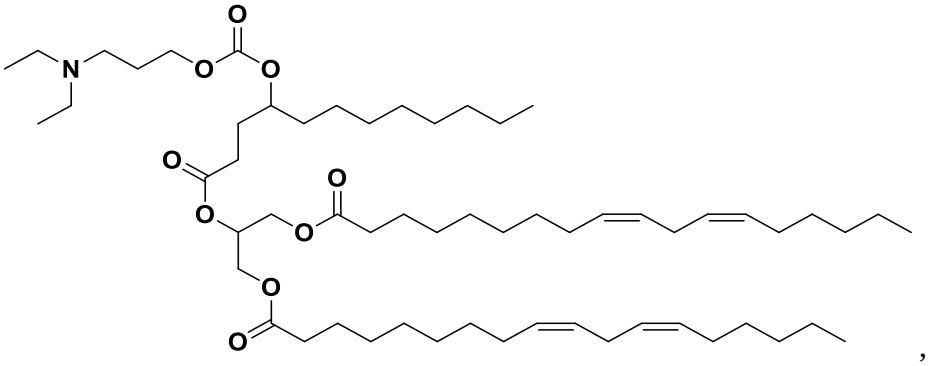
,



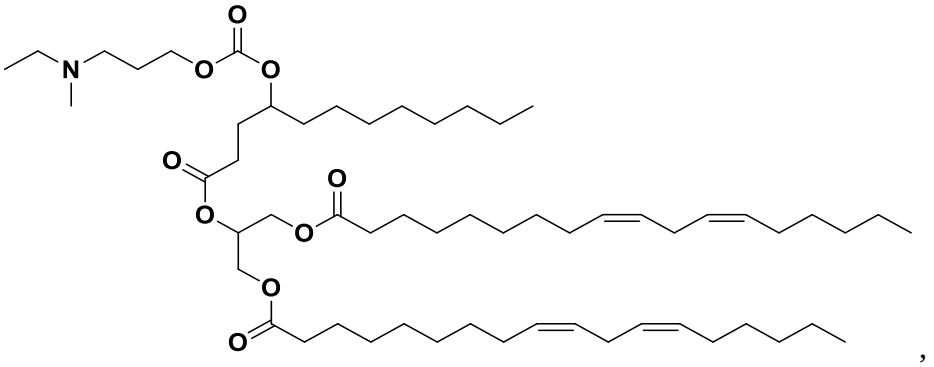
,



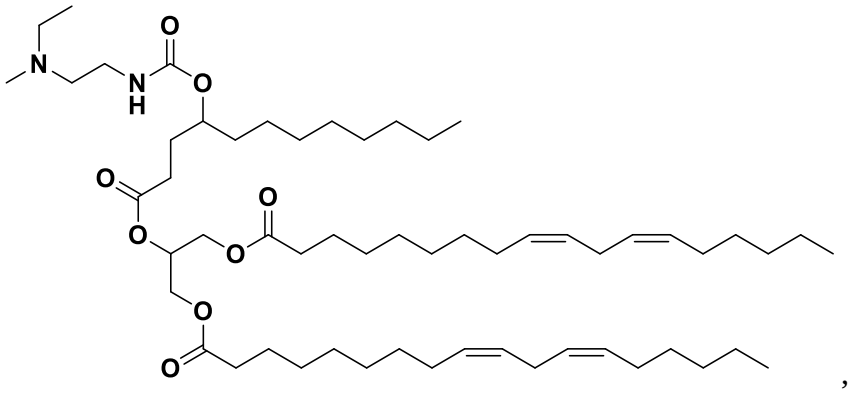
,



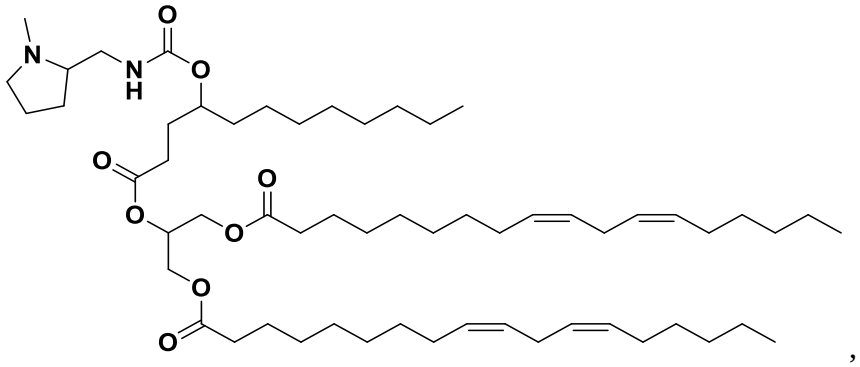
,



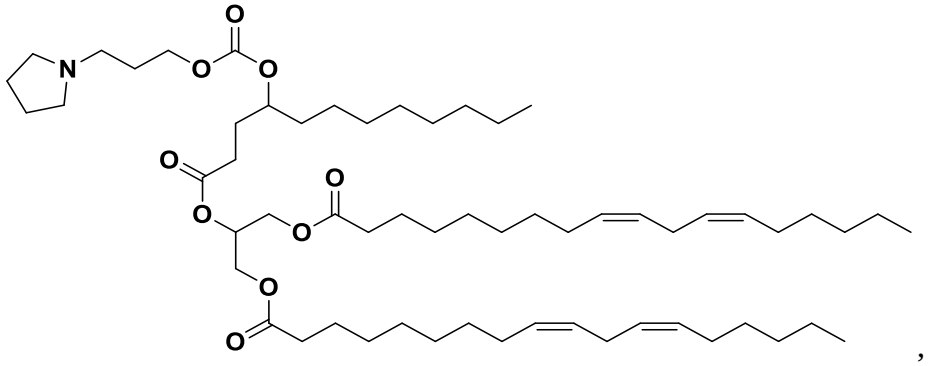
,



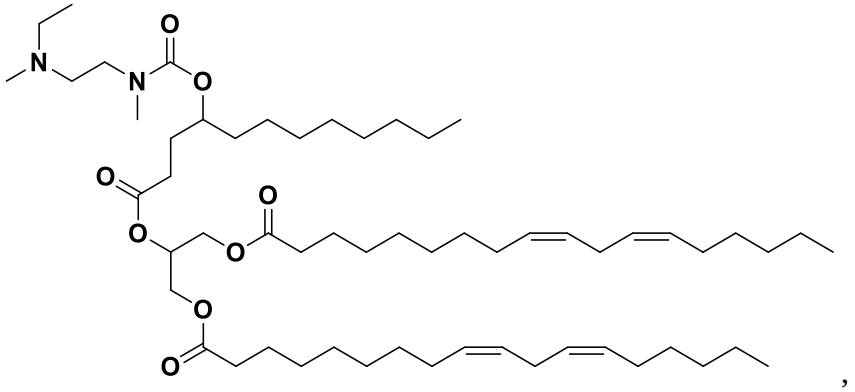
,



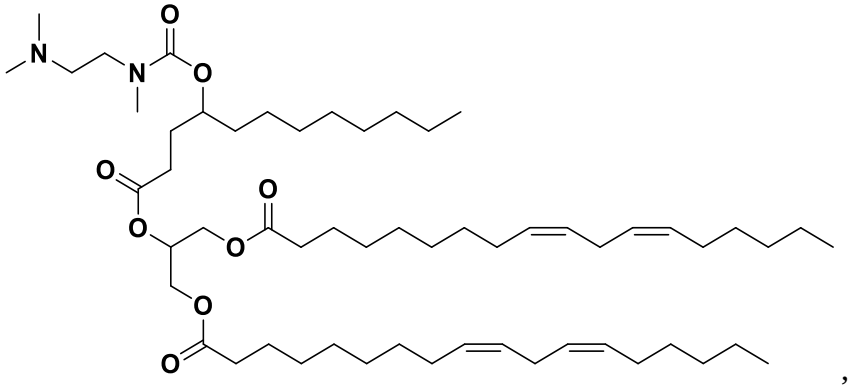
,



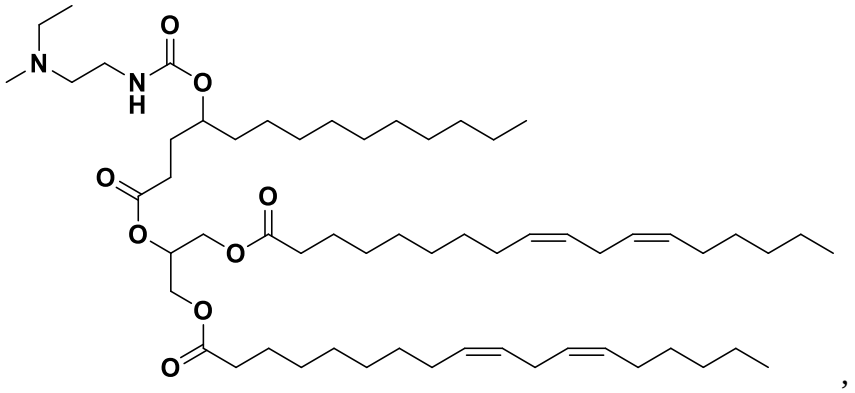
,



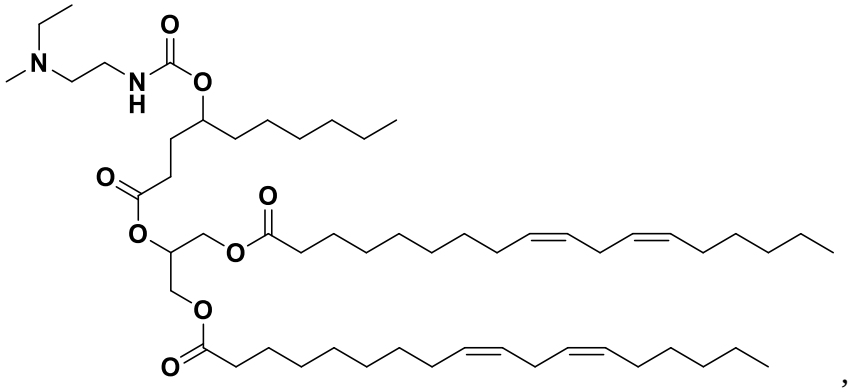
,



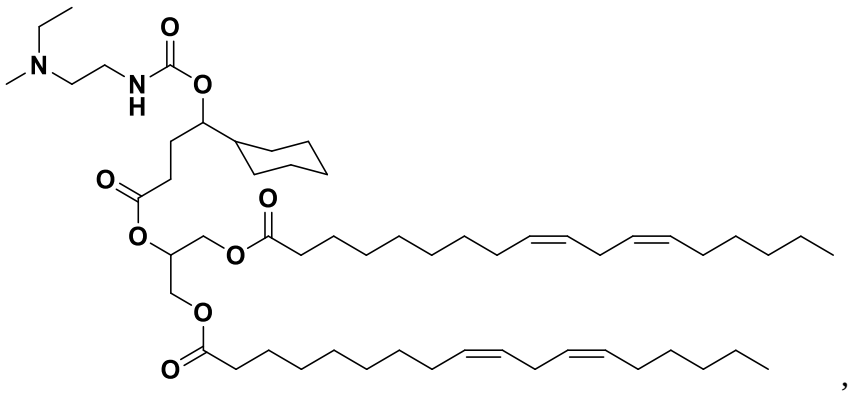
,



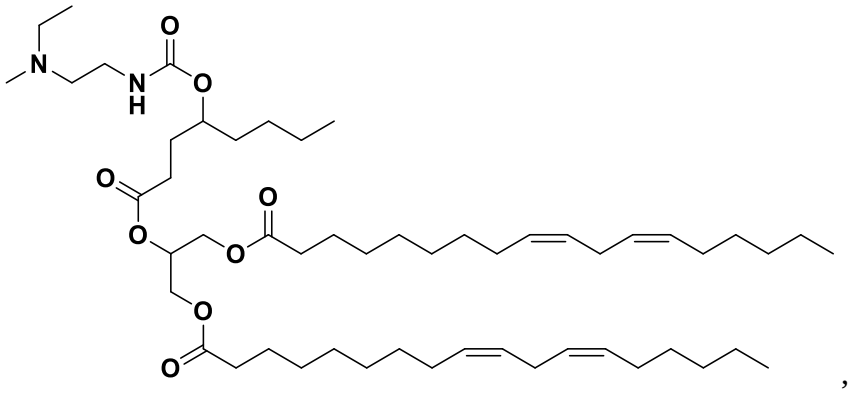
,



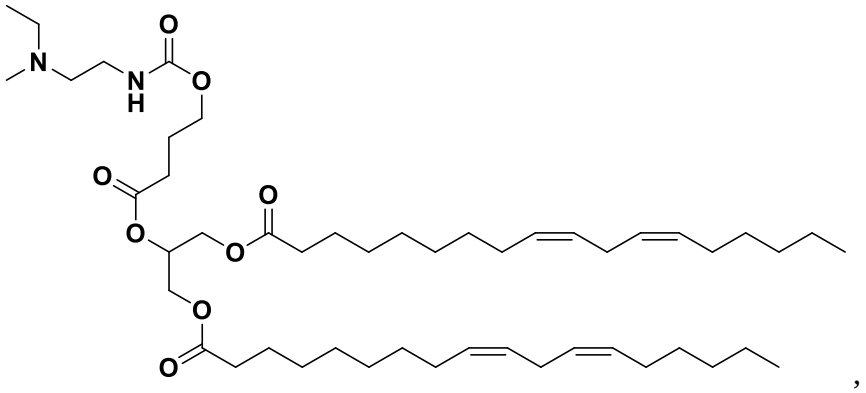
,



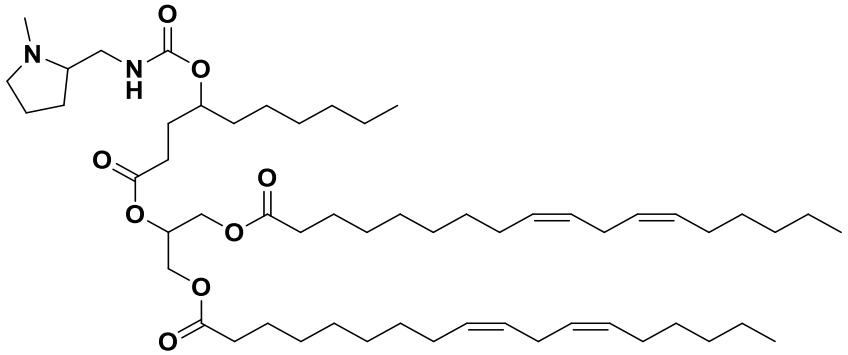
,



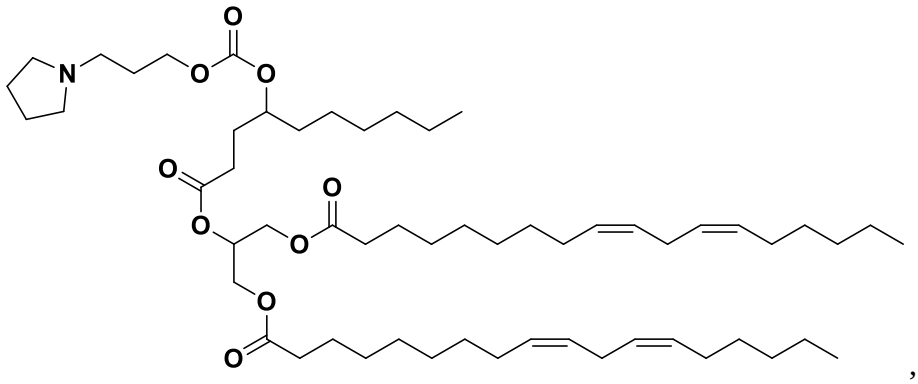
,



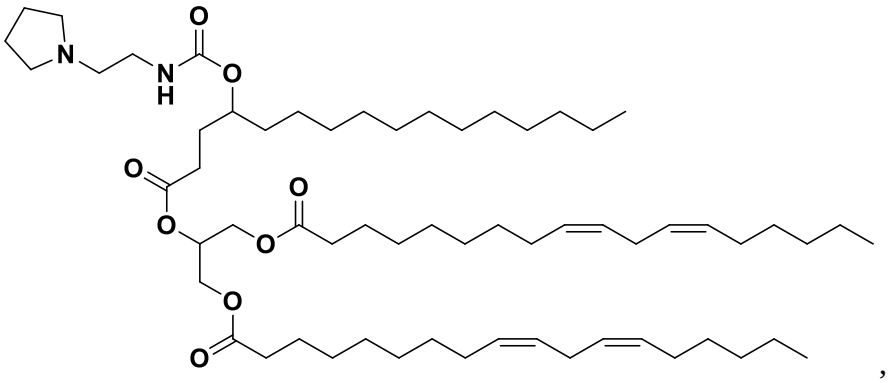
,



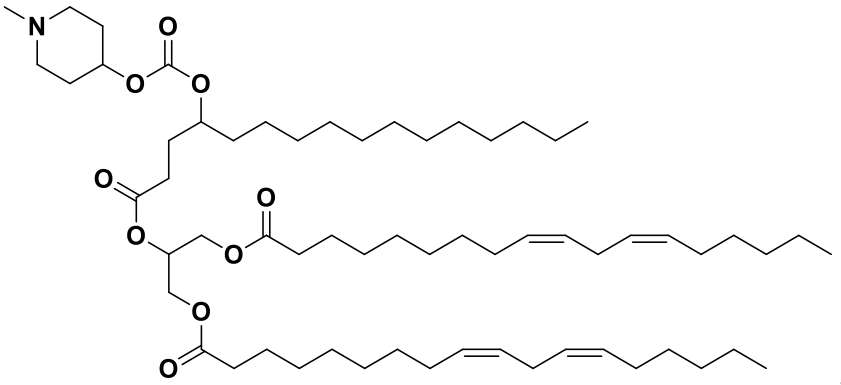
,



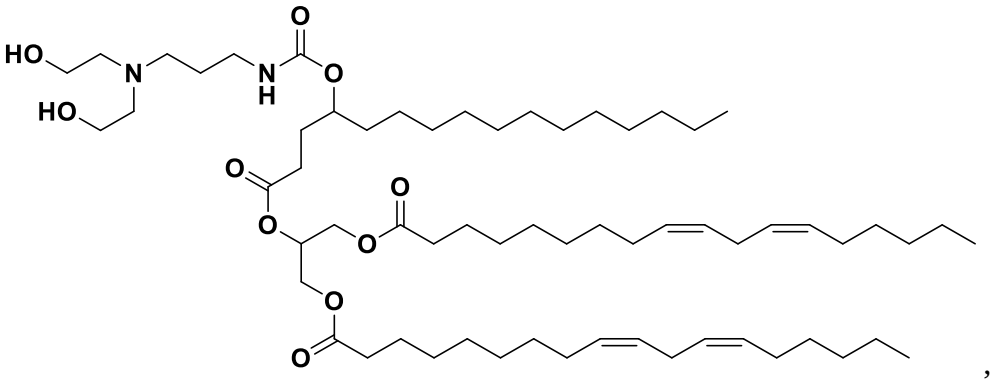
,



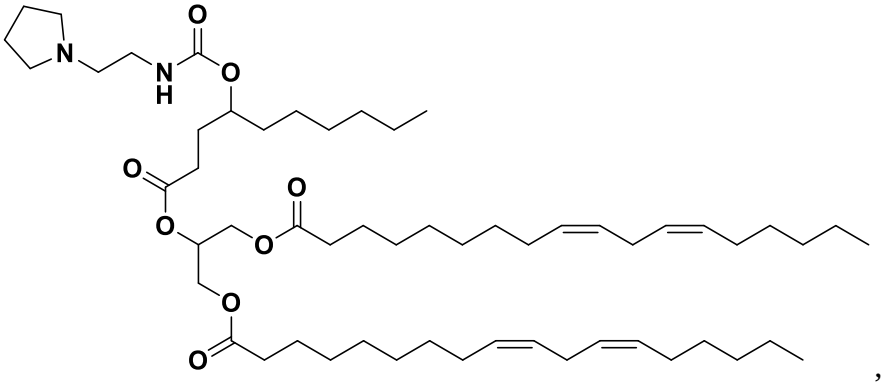
,



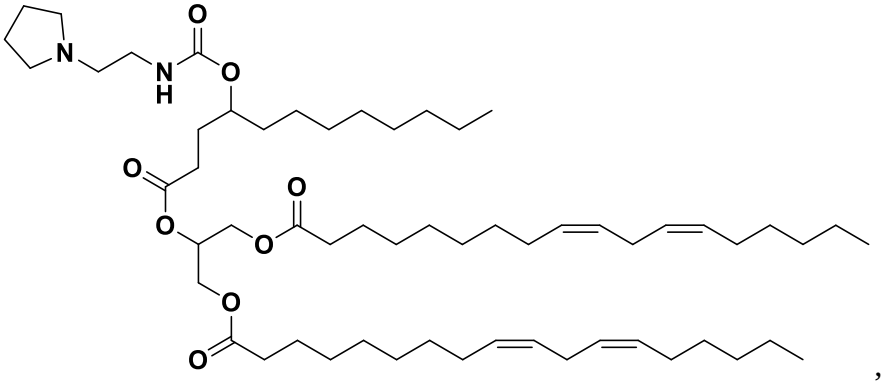
,



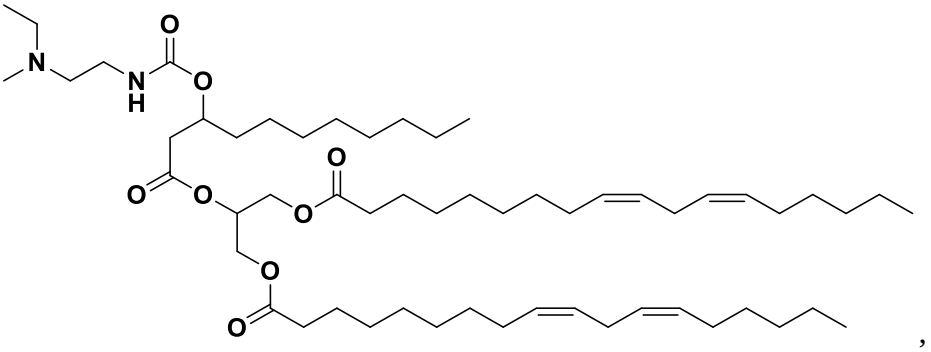
,



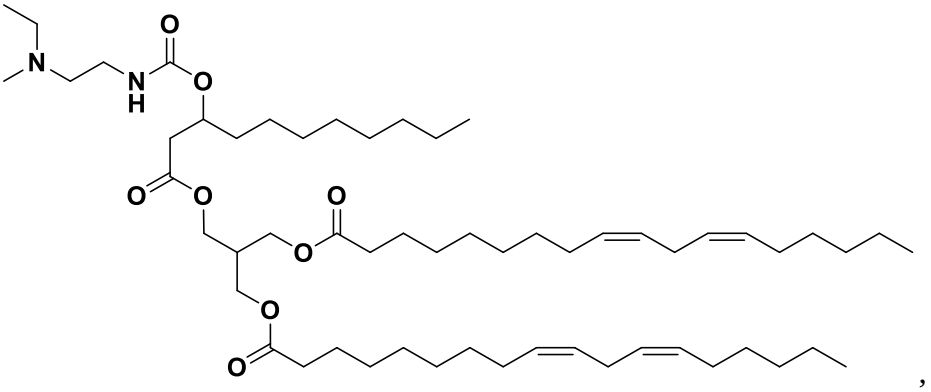
,



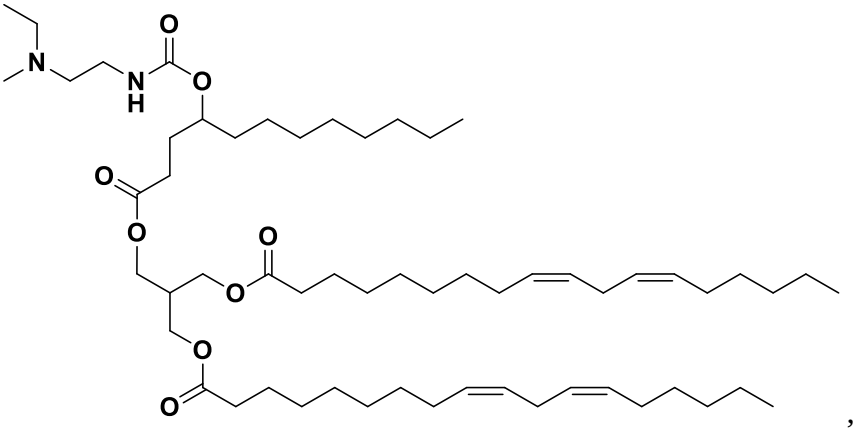
,



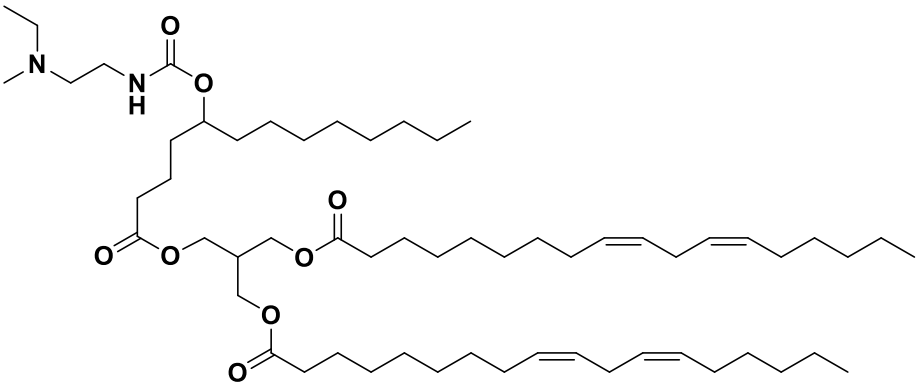
,



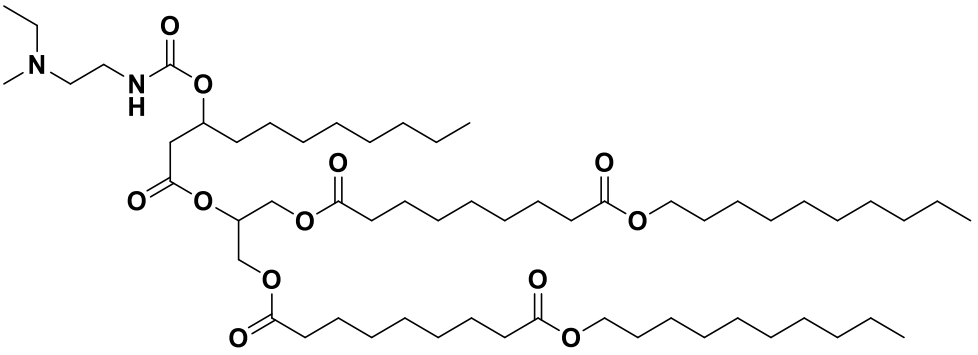
,



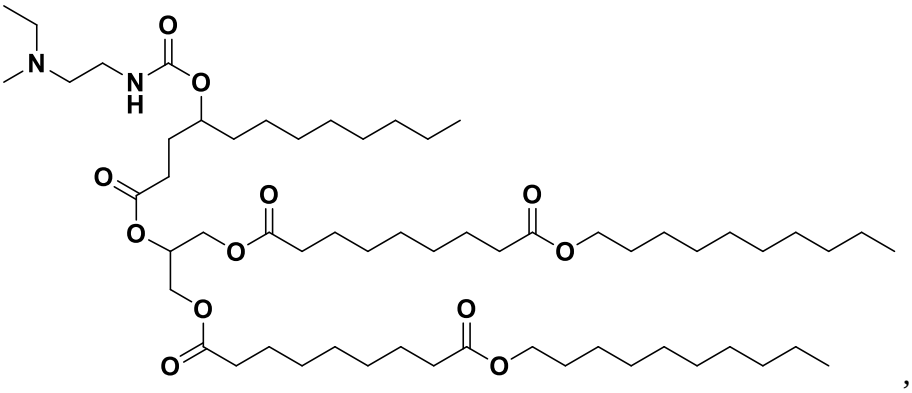
,



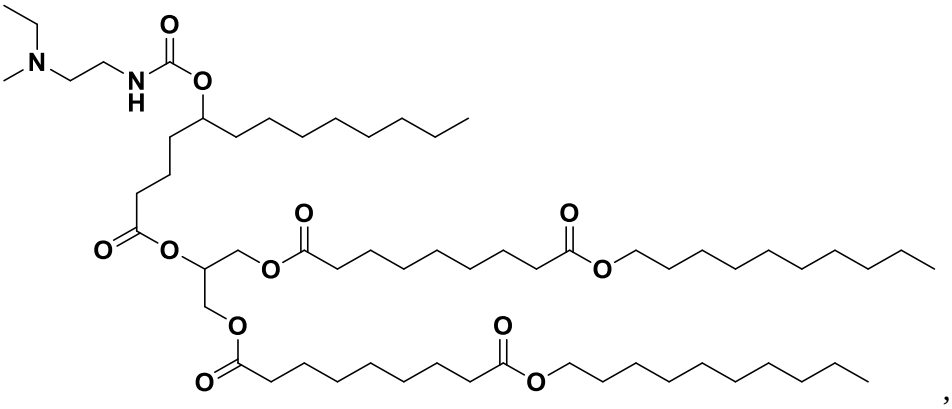
,



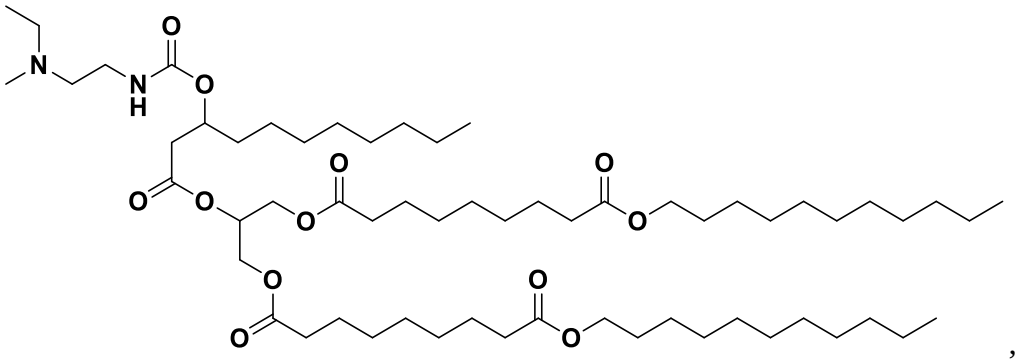
,



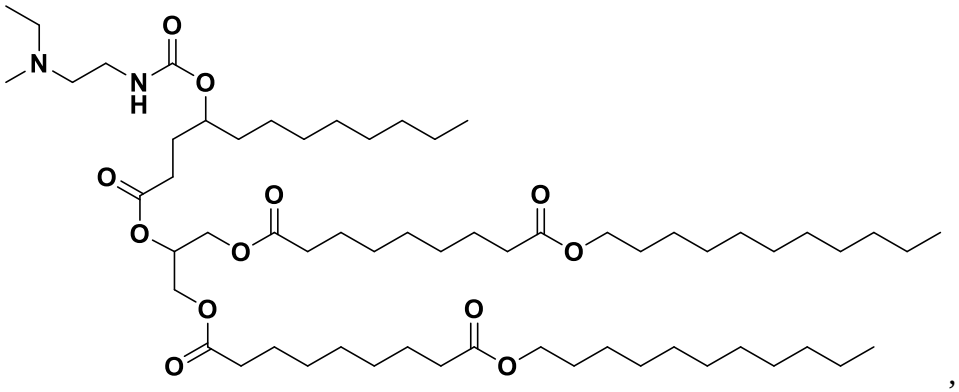
,



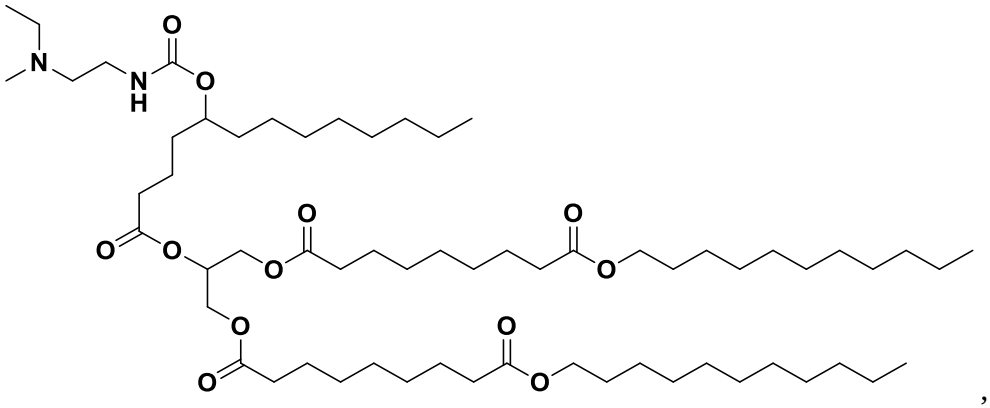
,



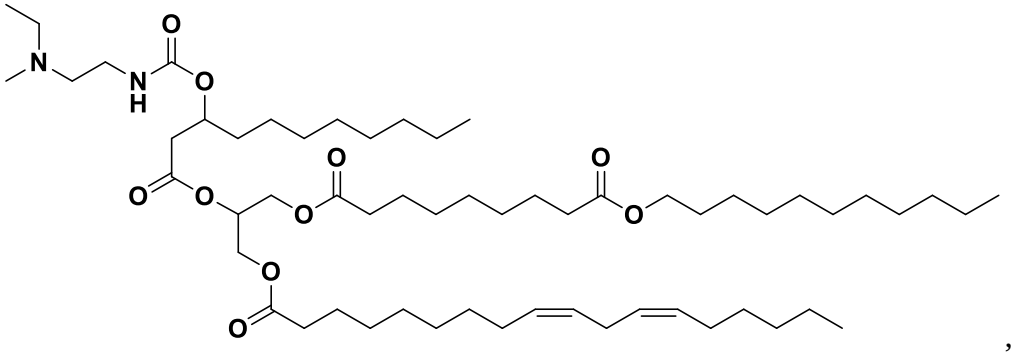
,



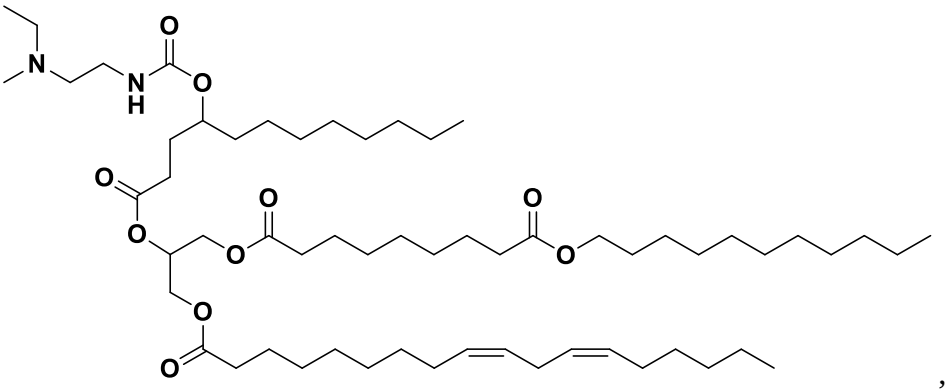
,



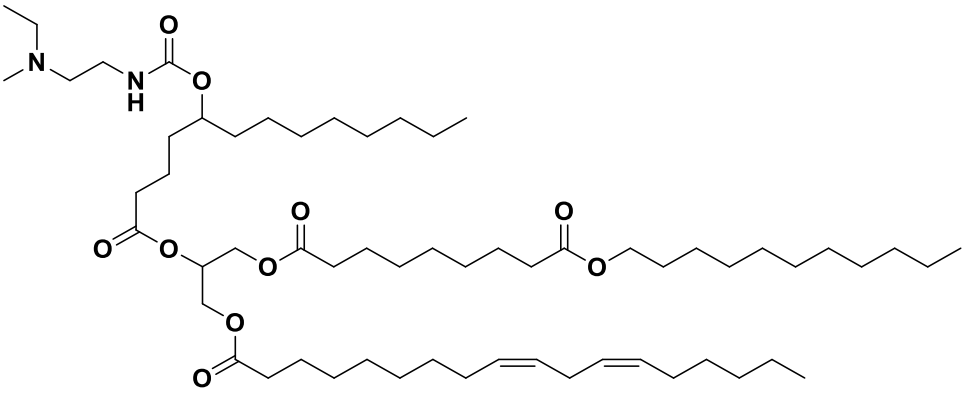
,



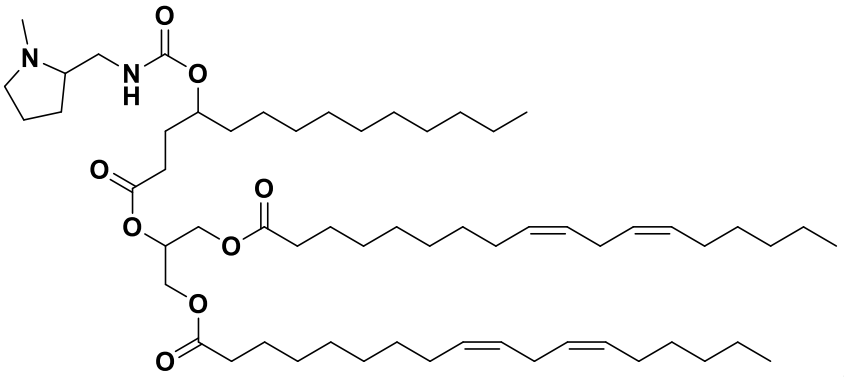
,



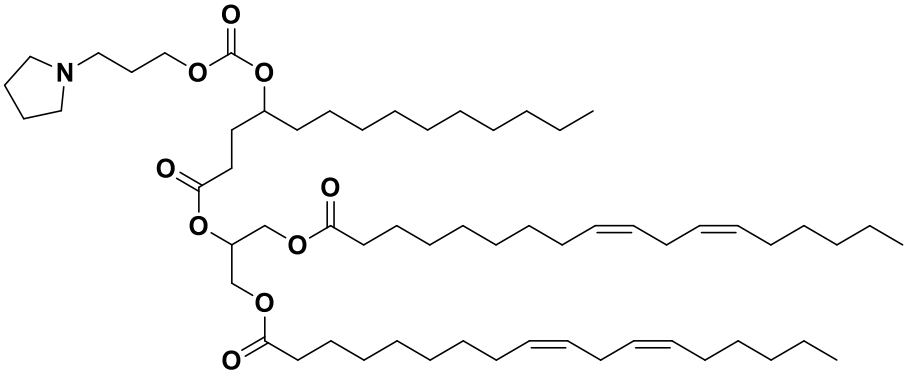
,



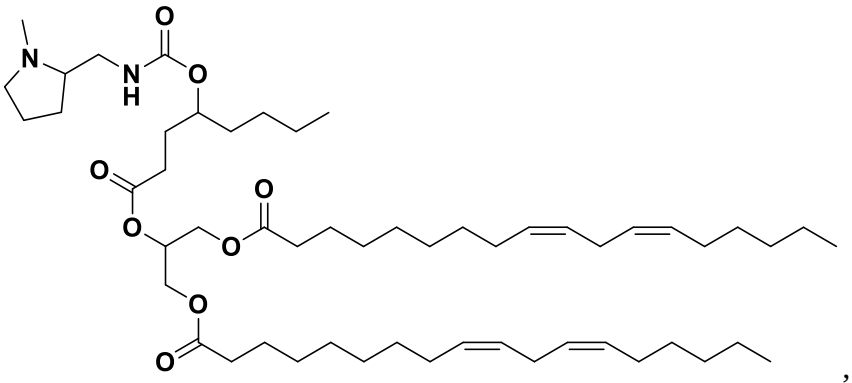
,



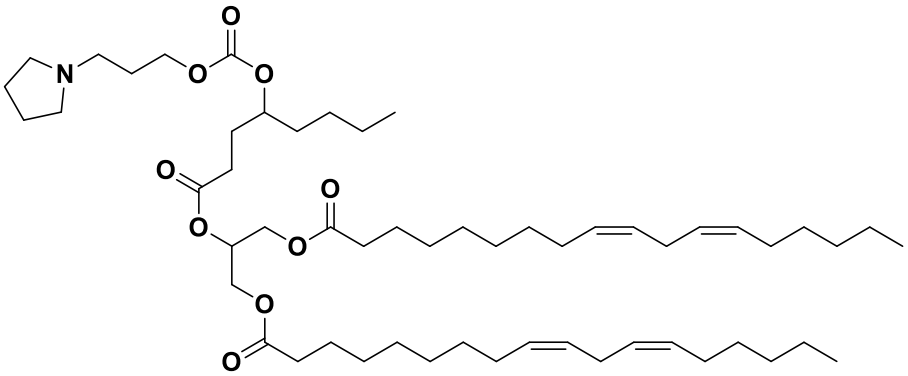
,



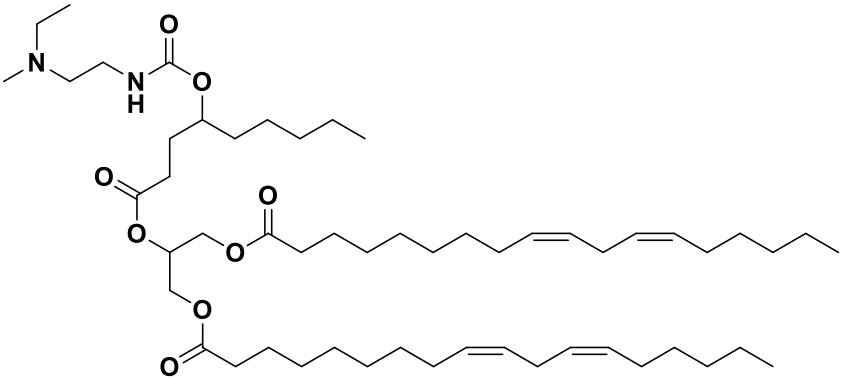
,



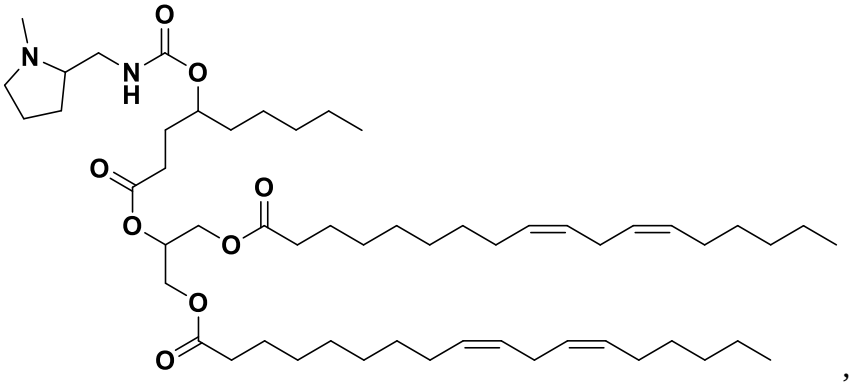
,



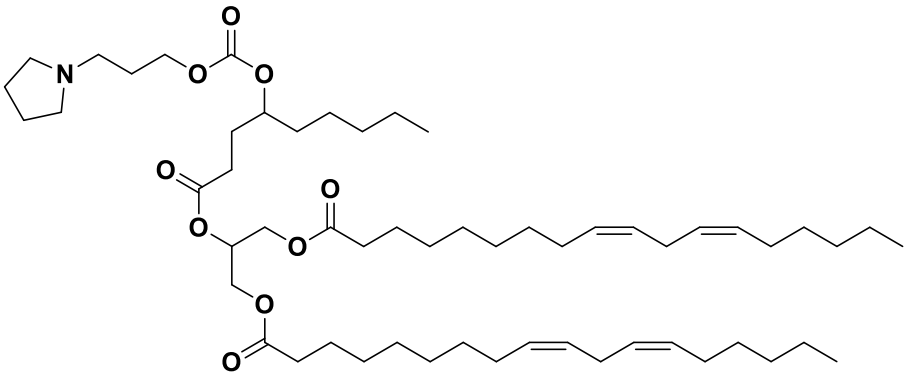
,



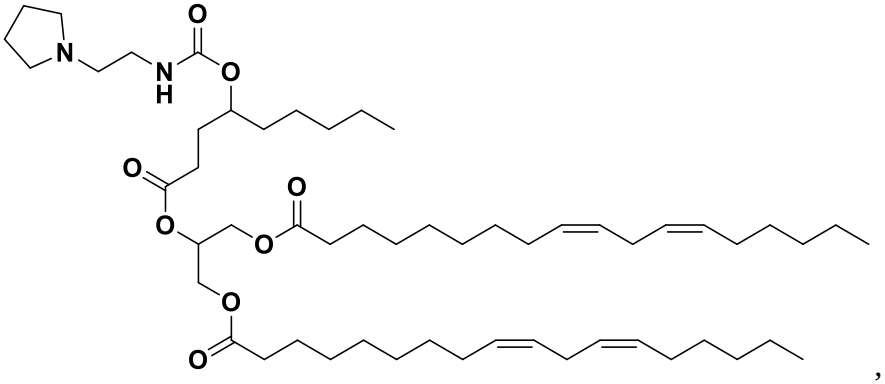
,



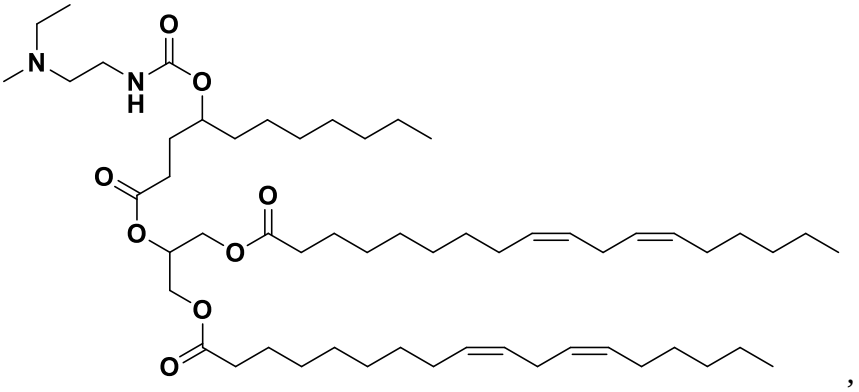
,



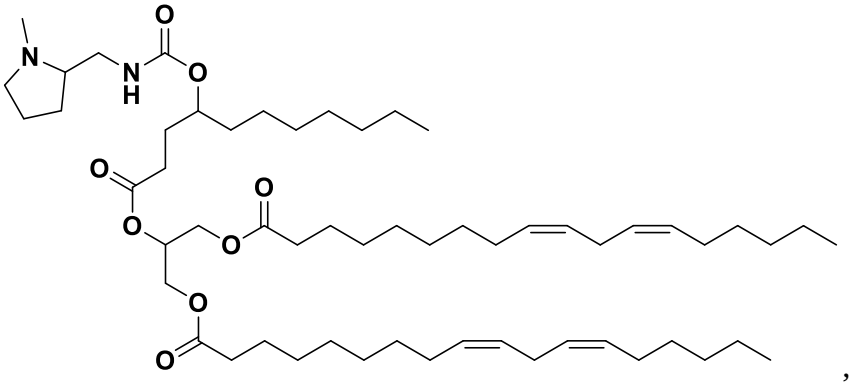
,



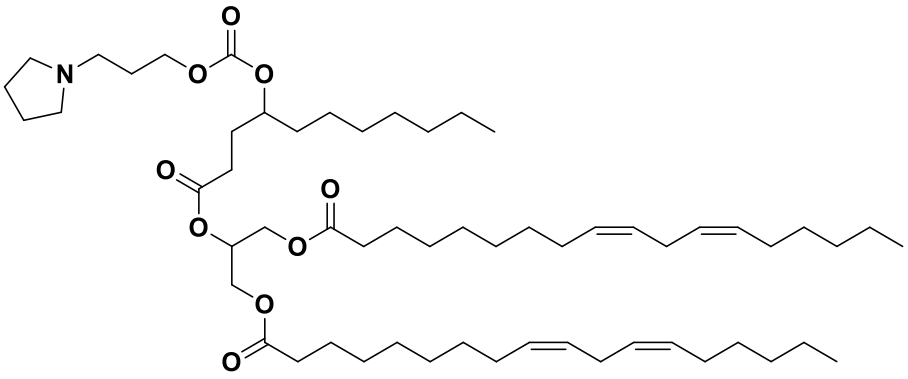
,



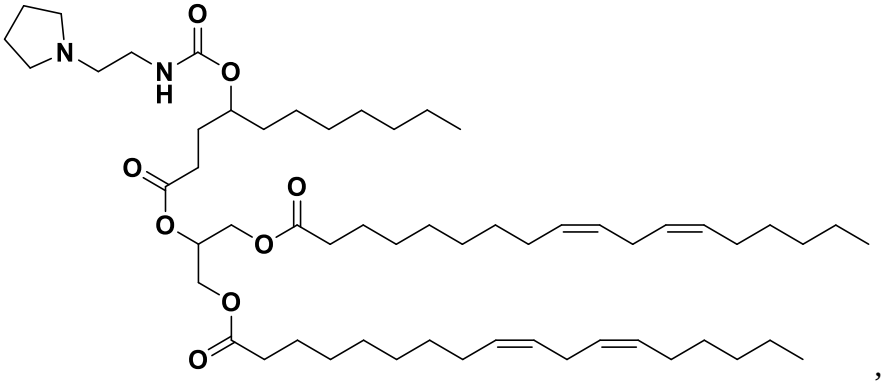
,



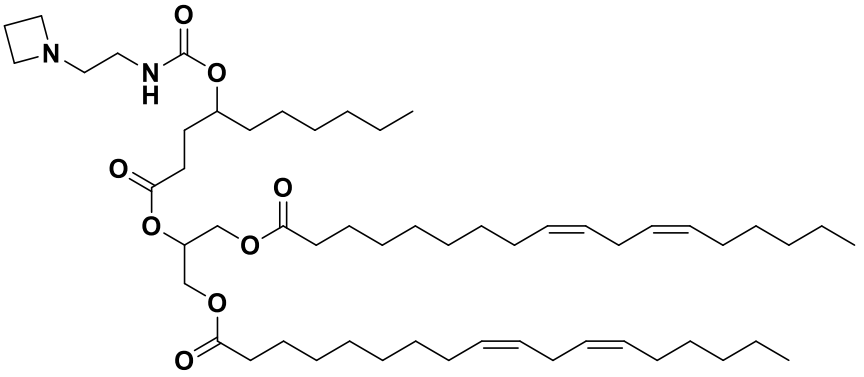
,



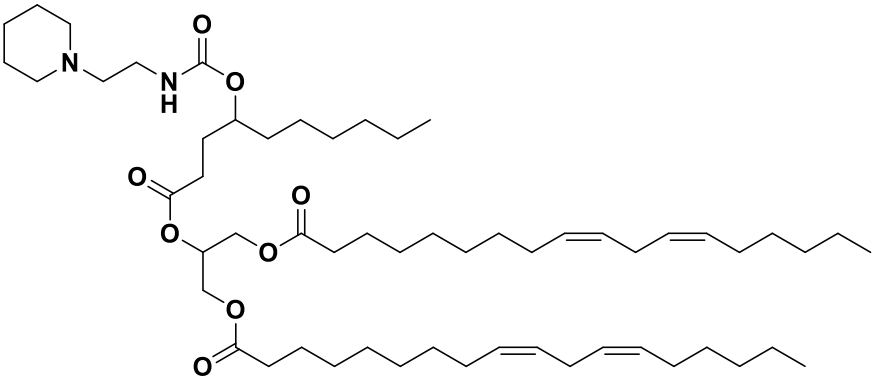
,



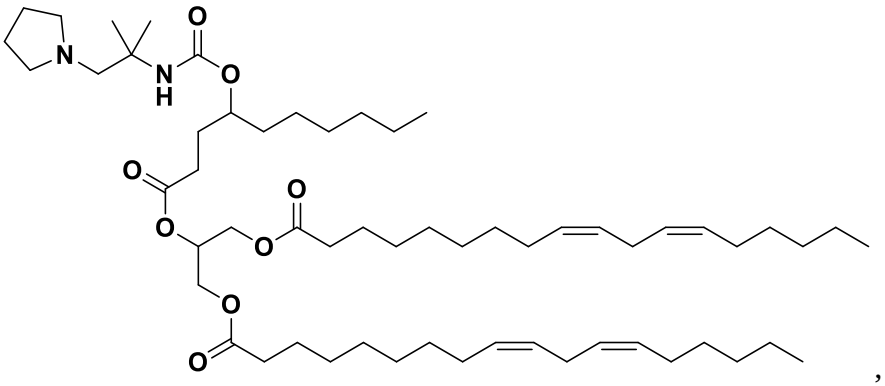
,



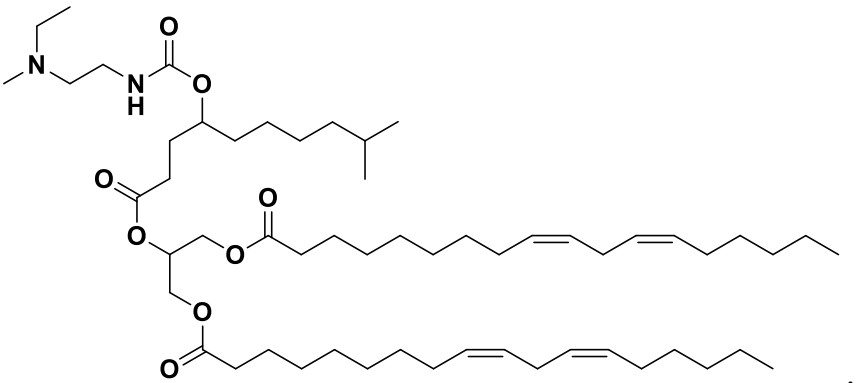
,



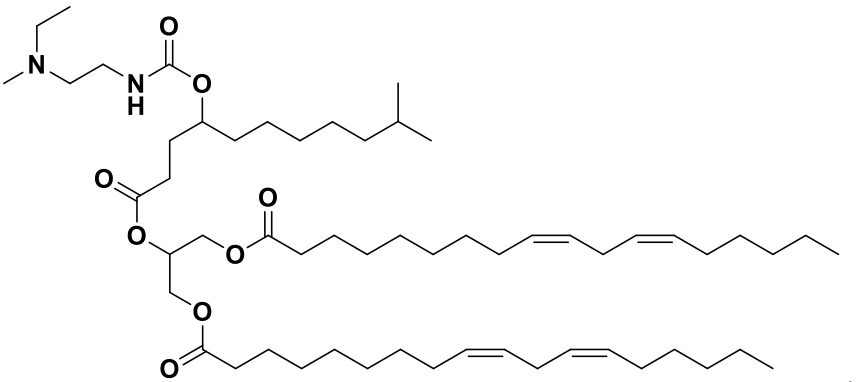
,



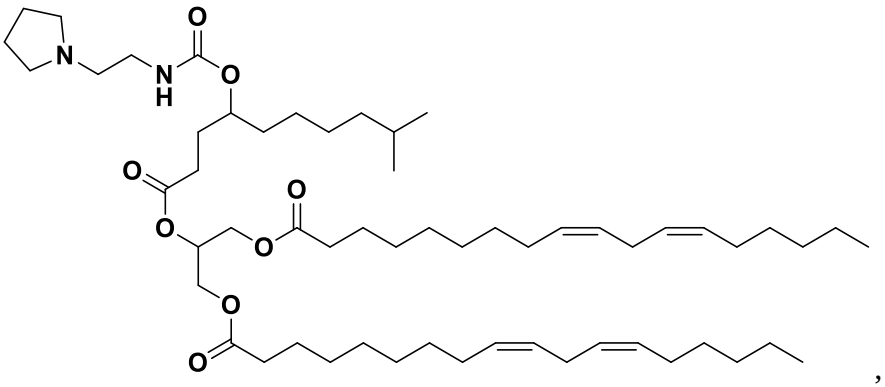
,



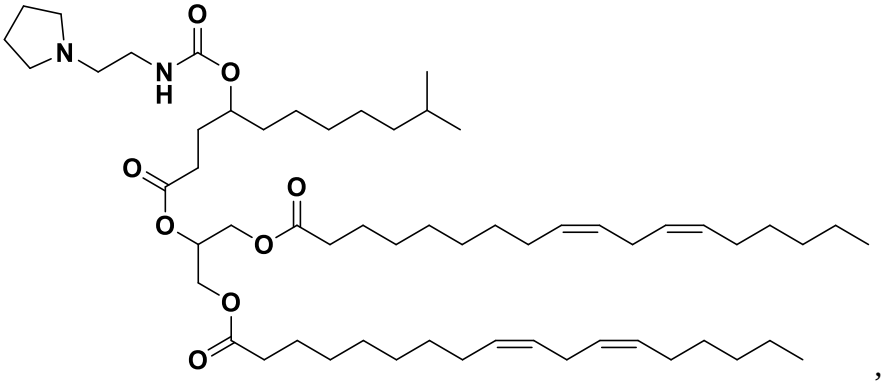
,



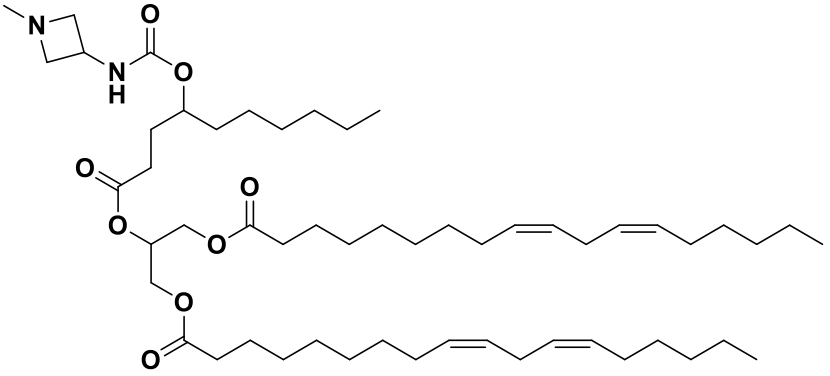
,



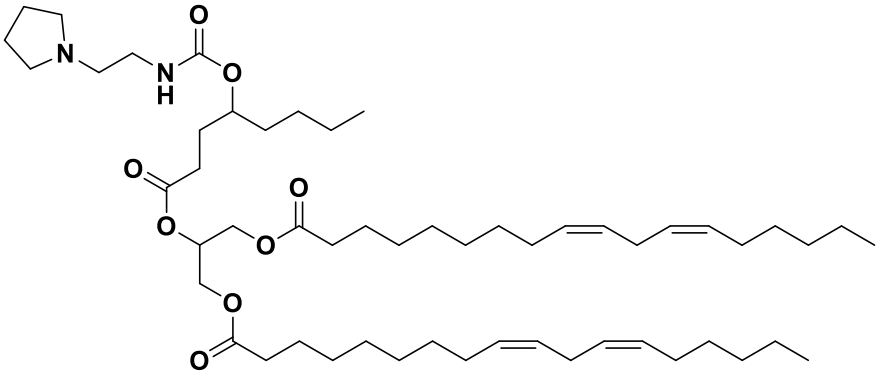
,



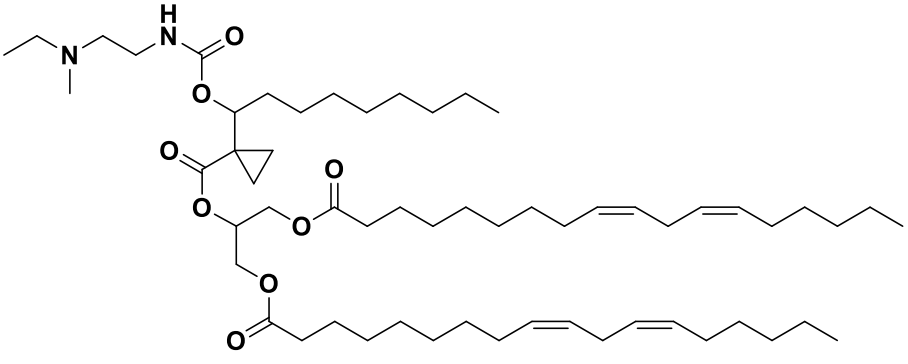
,



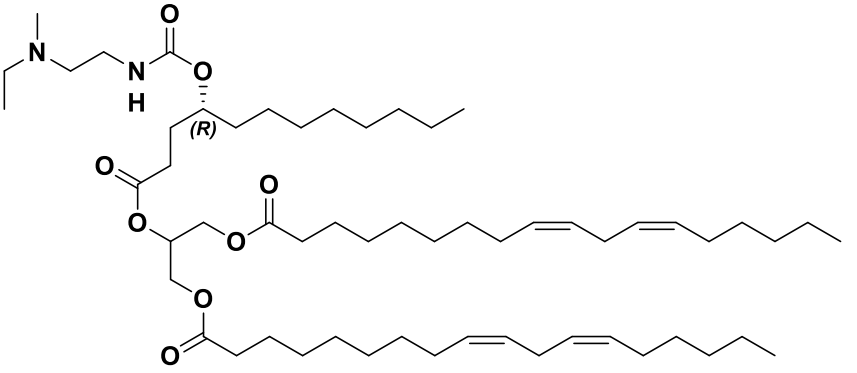
,



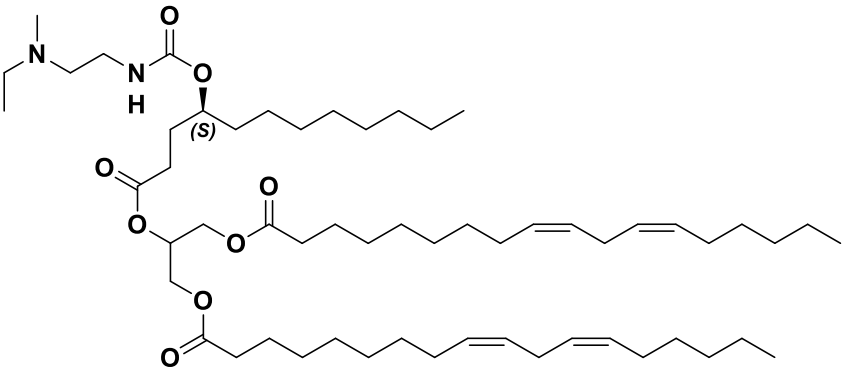
,



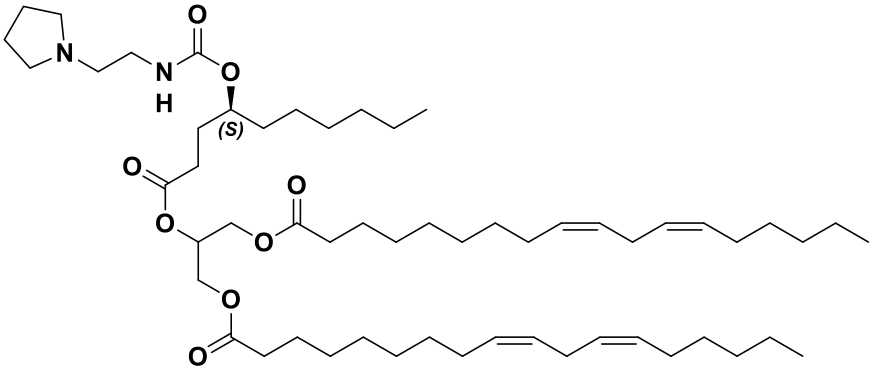
,



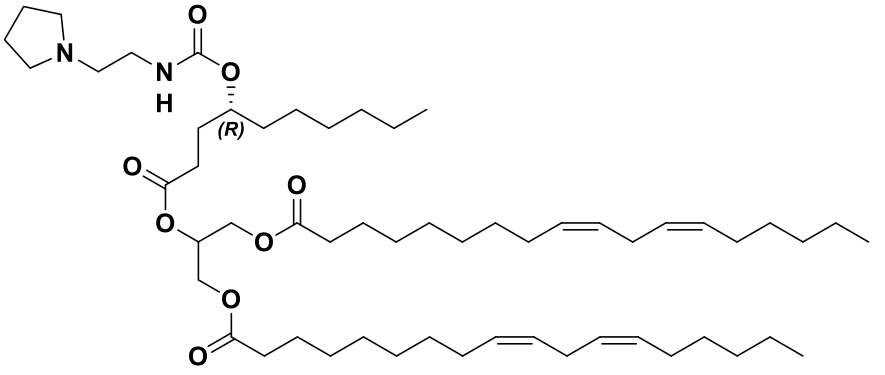
,



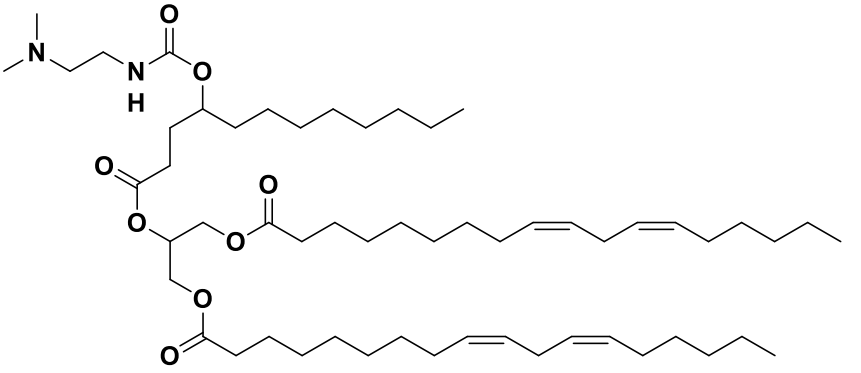
,



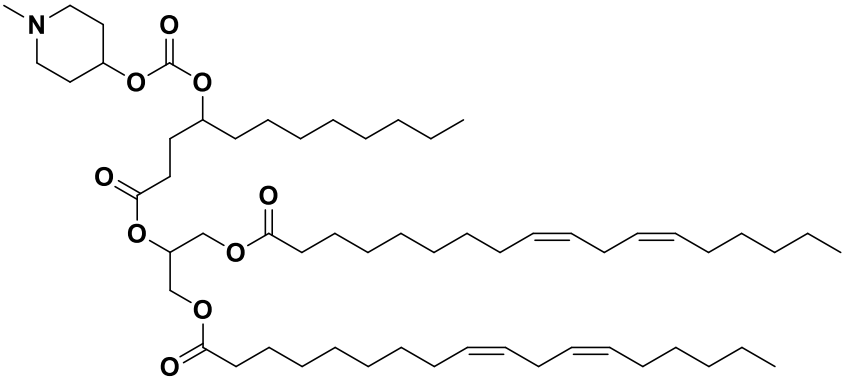
,



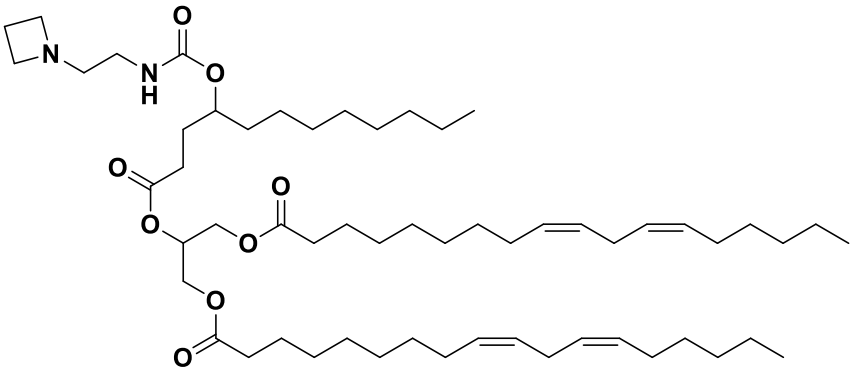
,



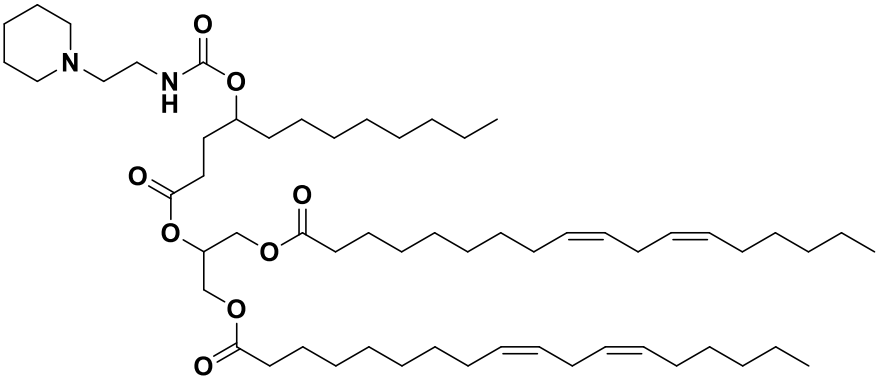
,



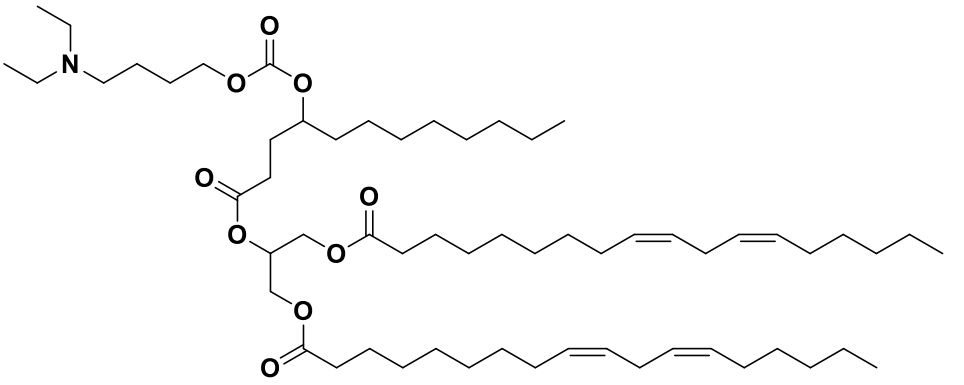
,



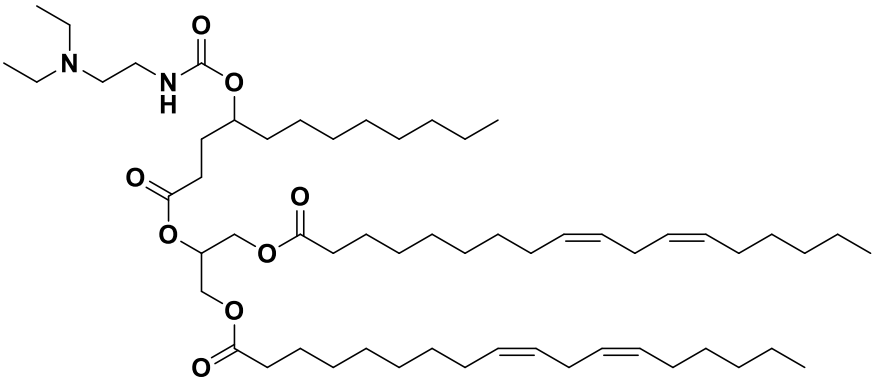
,



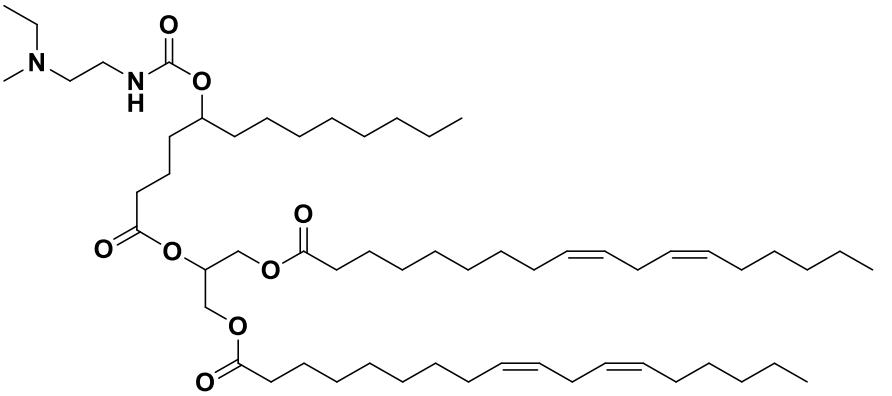
,



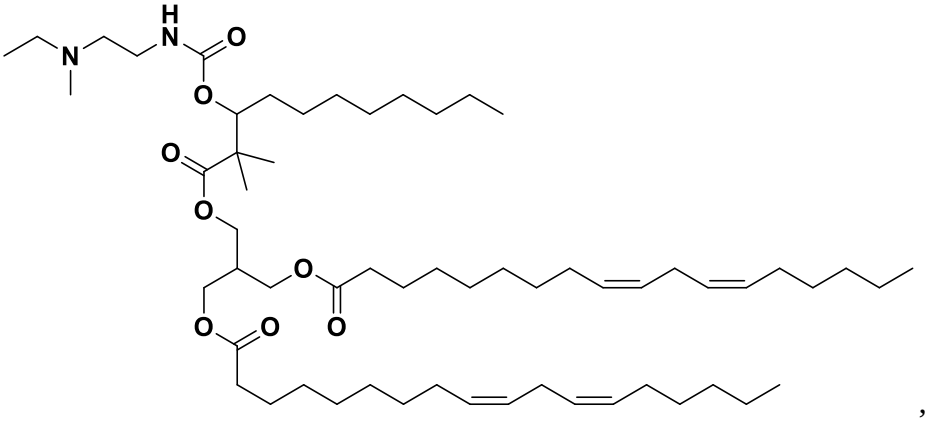
,



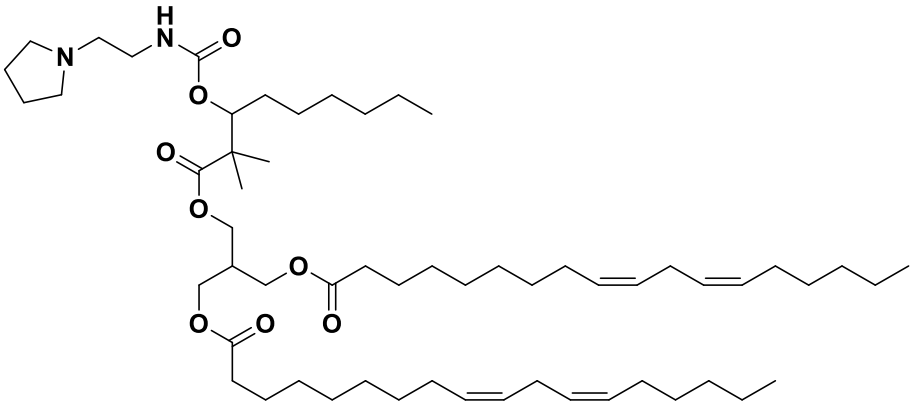
,



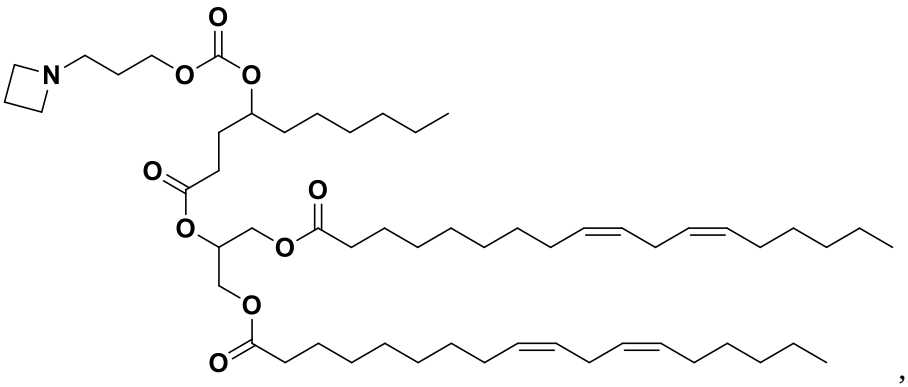
,



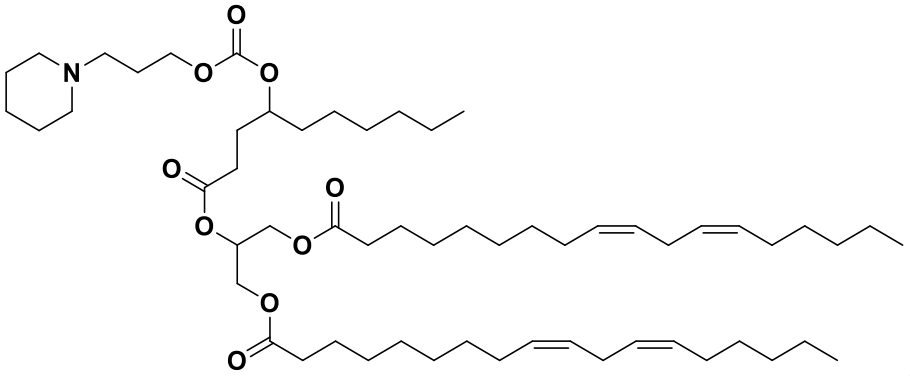
,



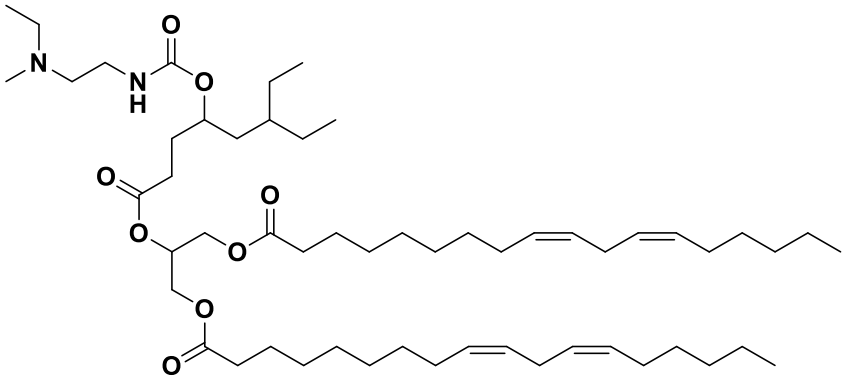
,



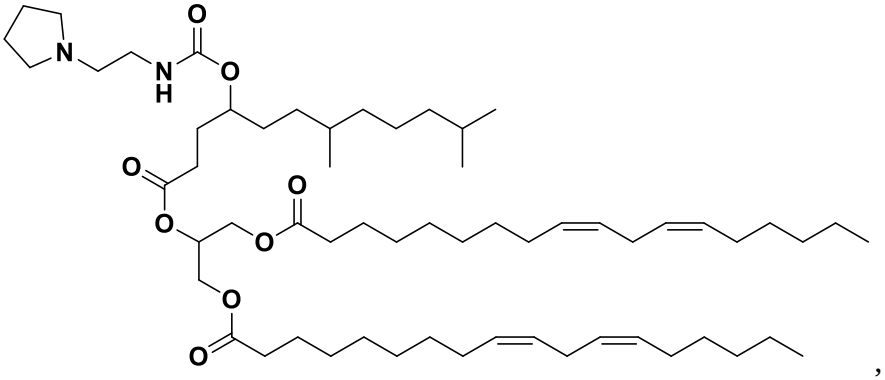
,



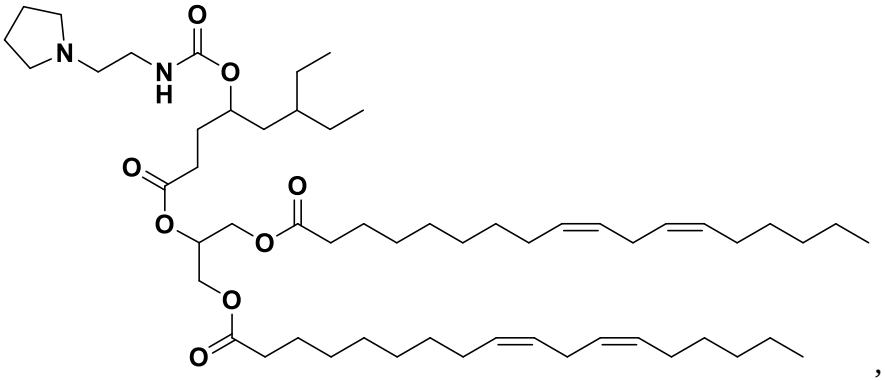
,



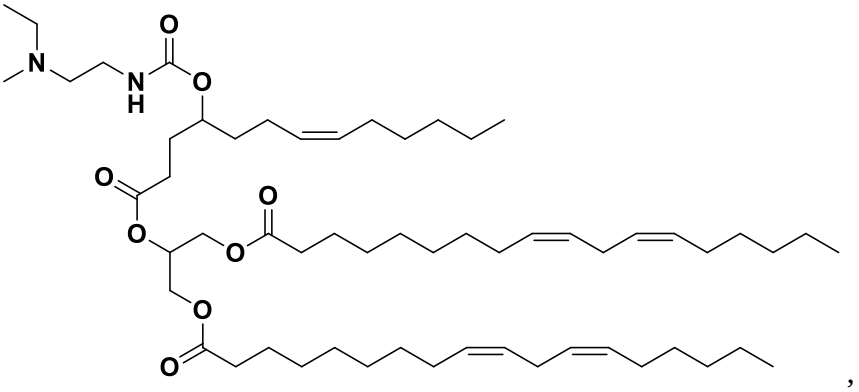
,



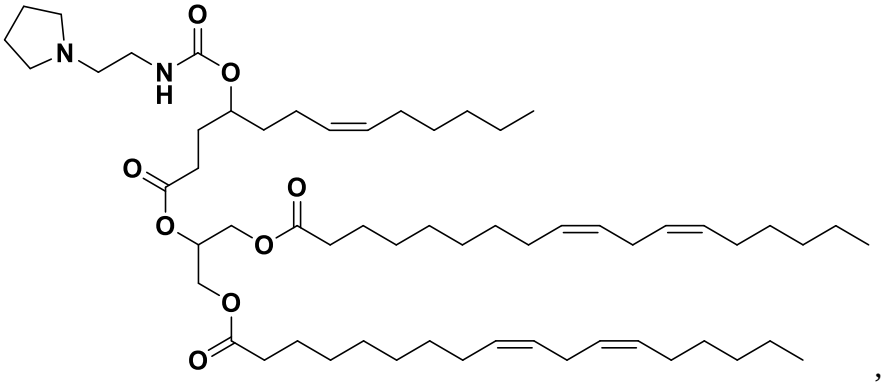
,



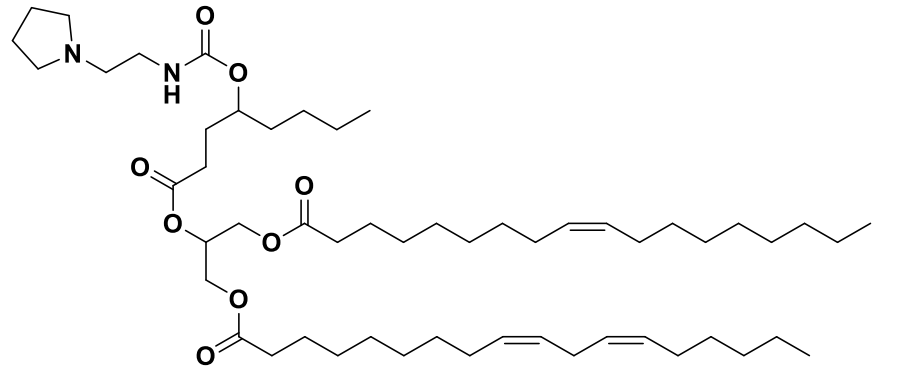
,



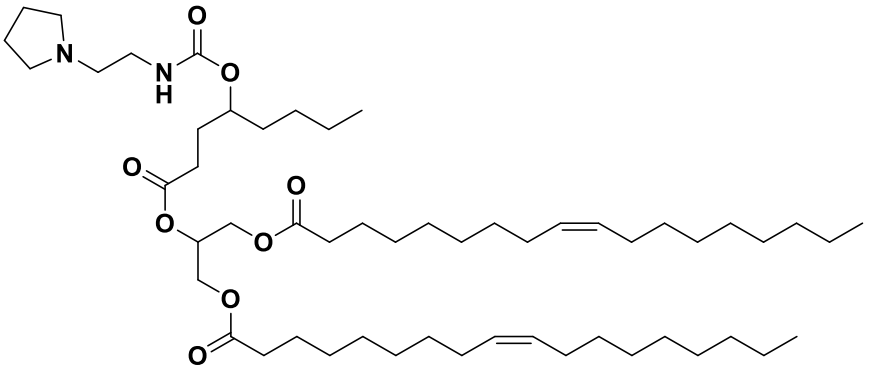
,



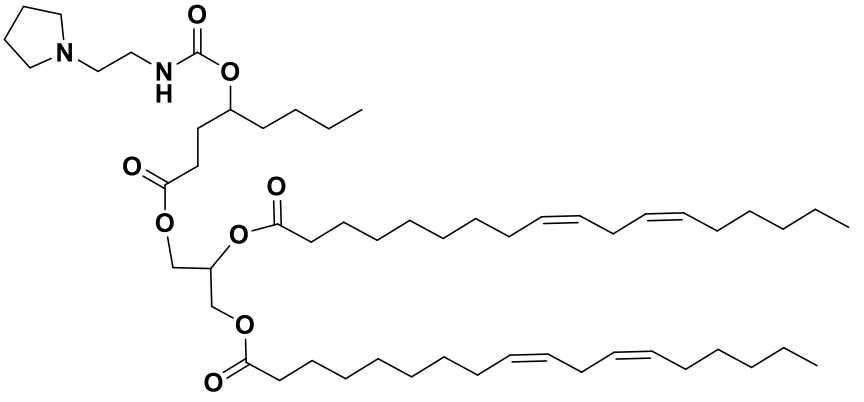
,



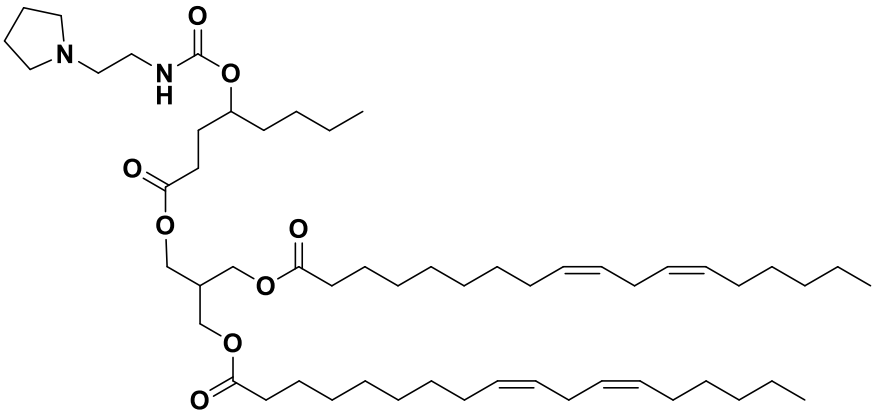
,



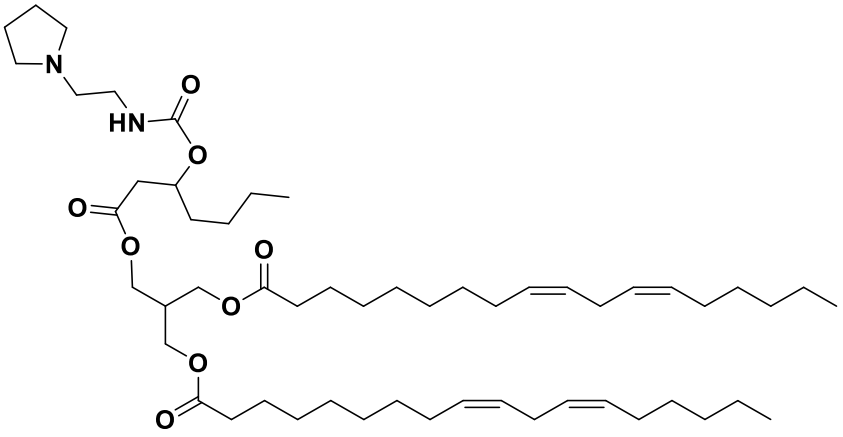
,



,



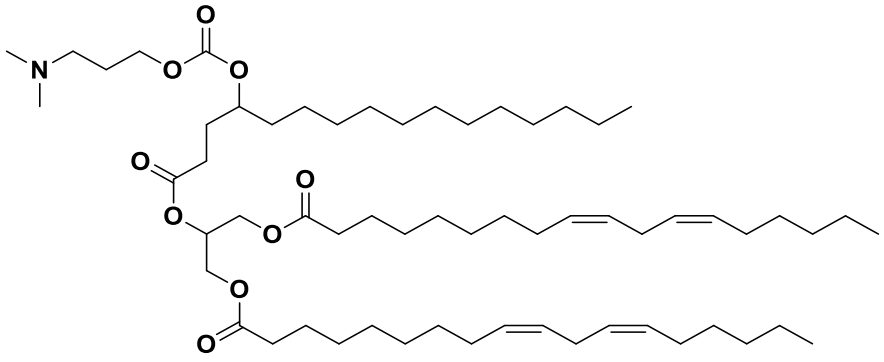
, y



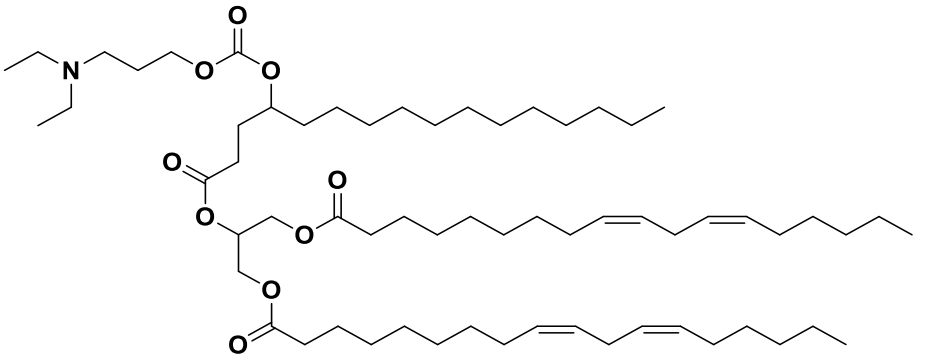
,

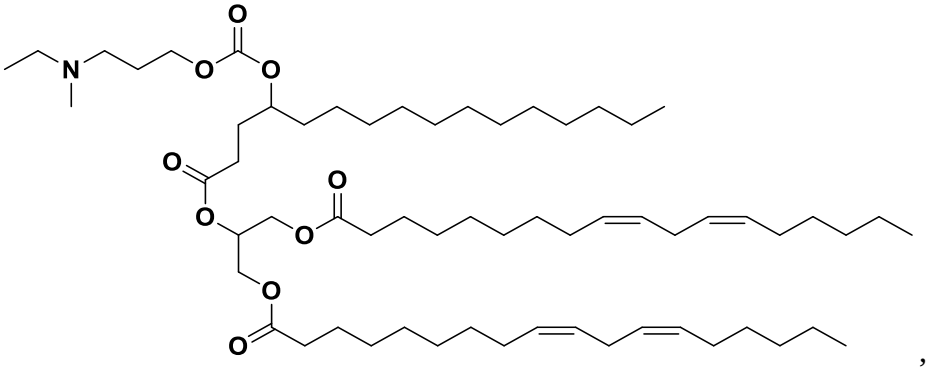
o una sal de estos, tal como una sal farmacéuticamente aceptable.

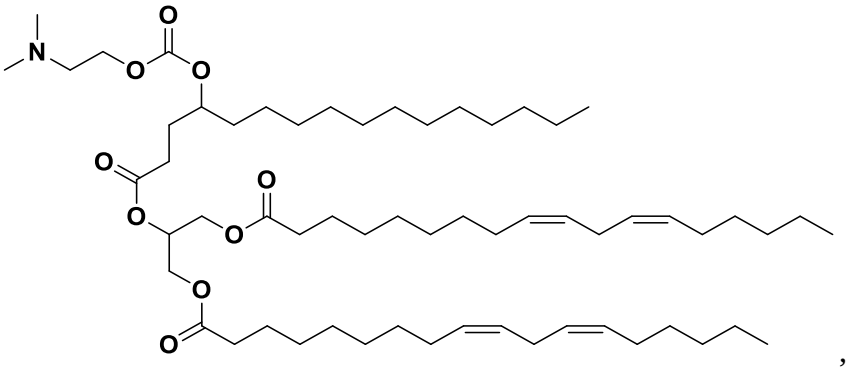
Los compuestos representativos con la Fórmula (IA) o (I) incluyen:

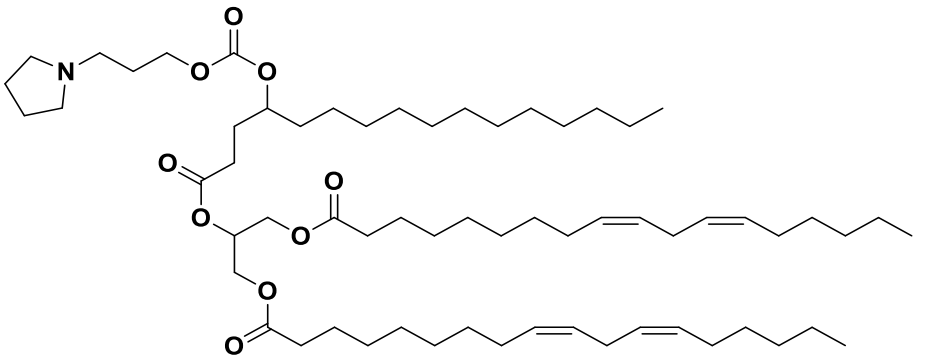


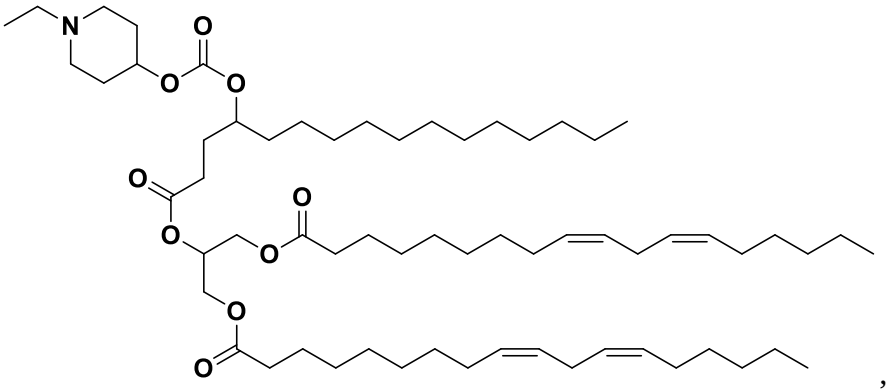
,


,

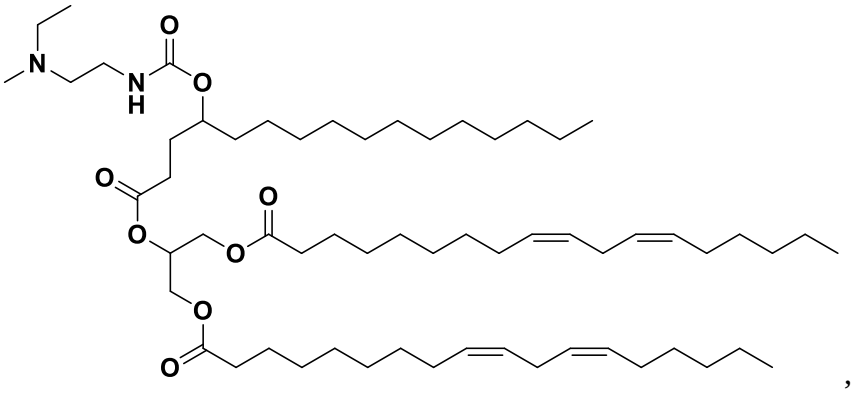

,


,

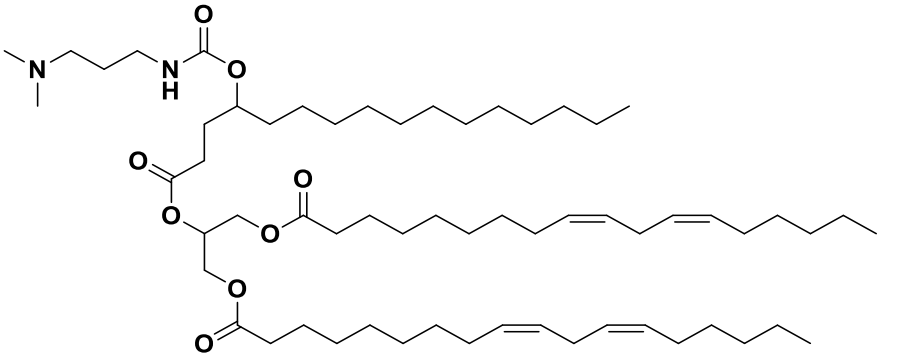

,



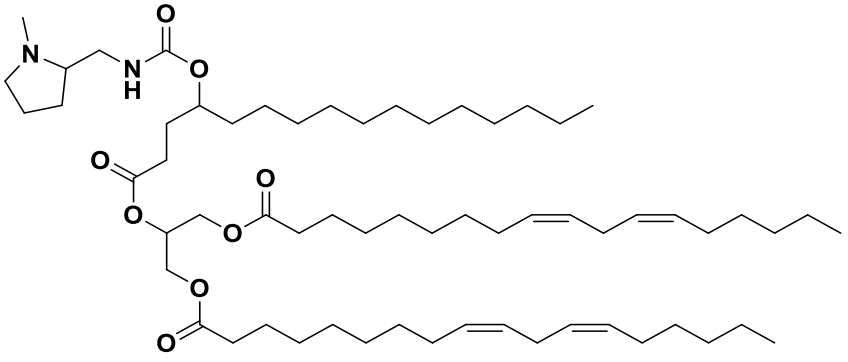
,



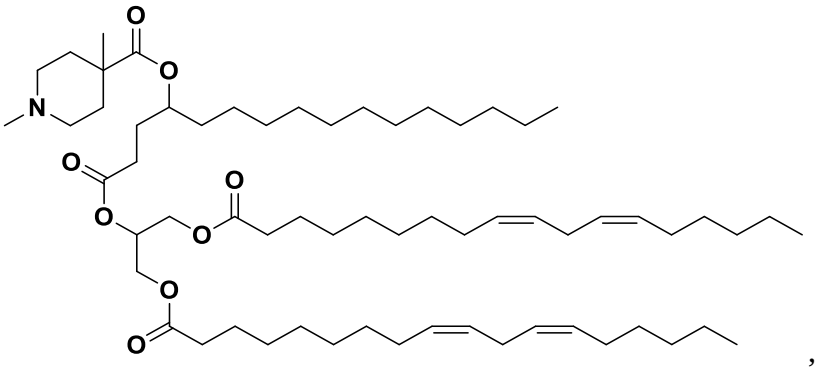
,



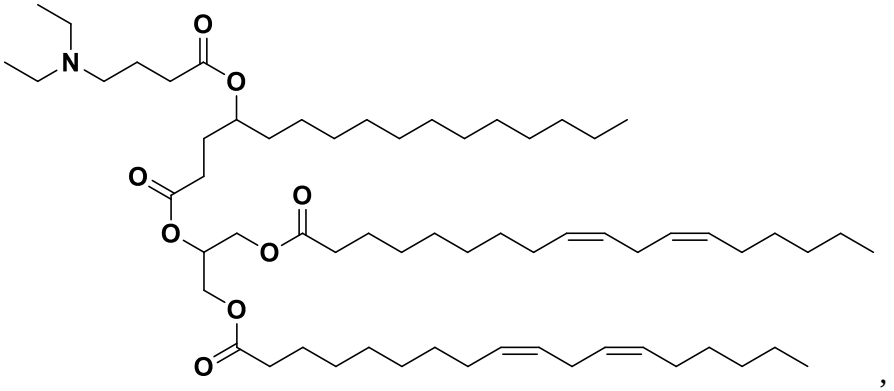
,



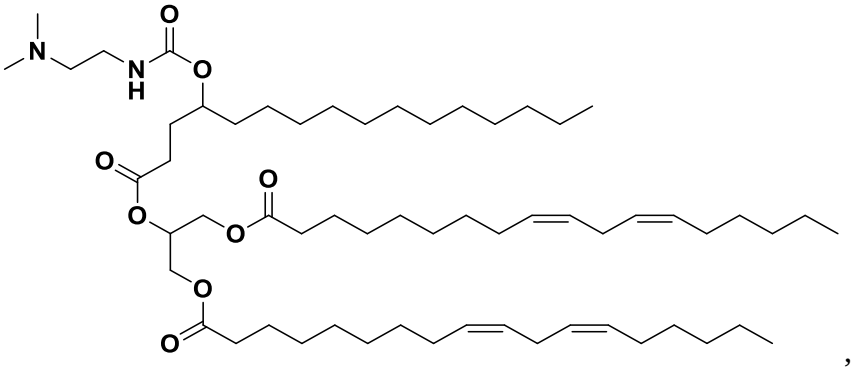
,



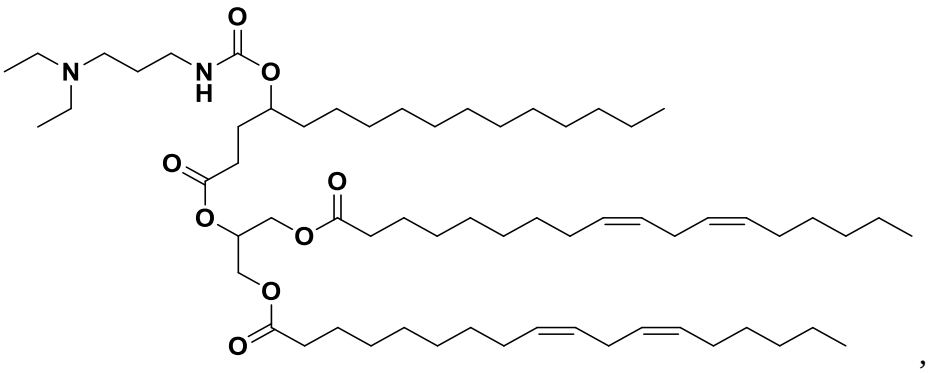
,



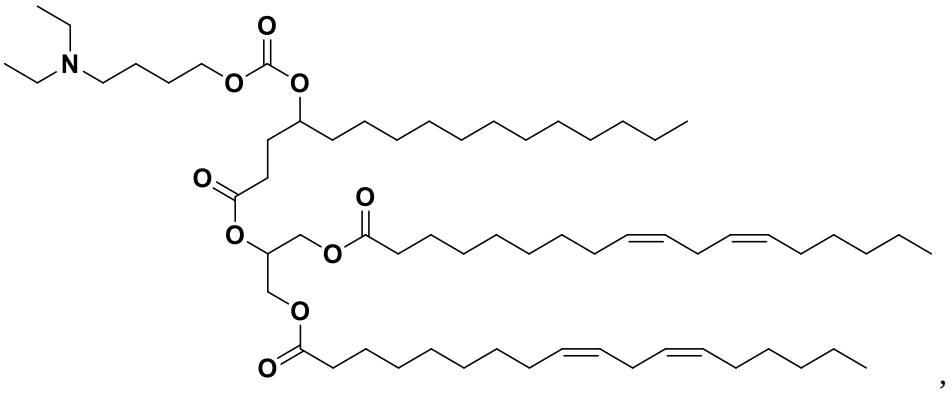
,



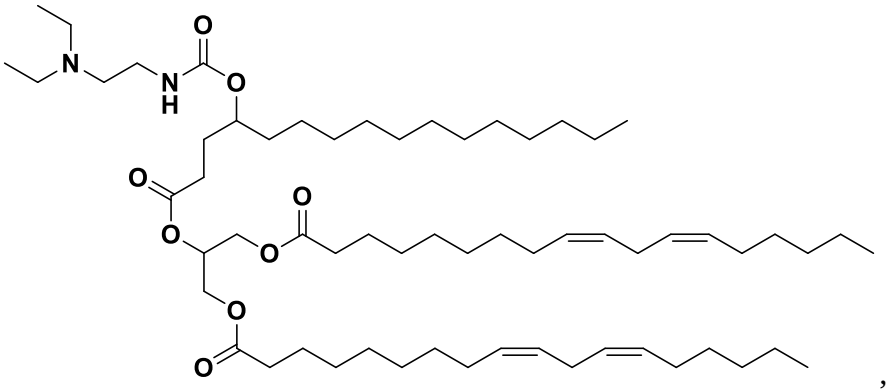
,



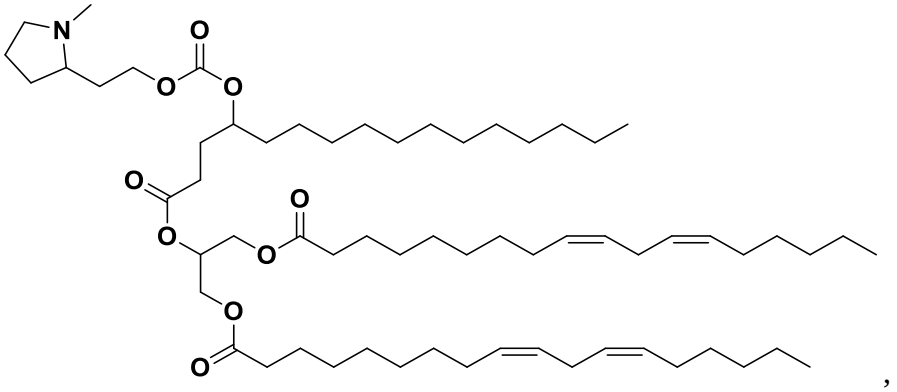
,



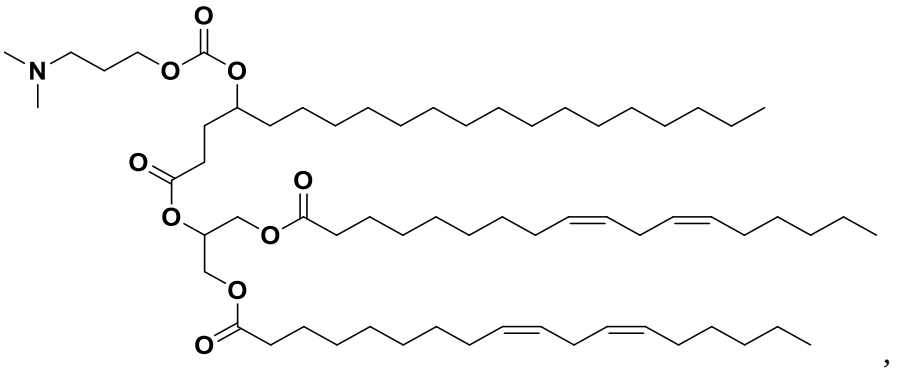
,



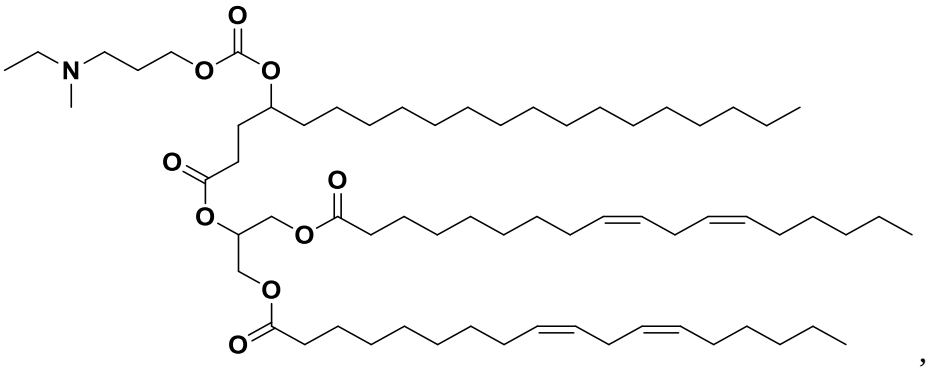
,



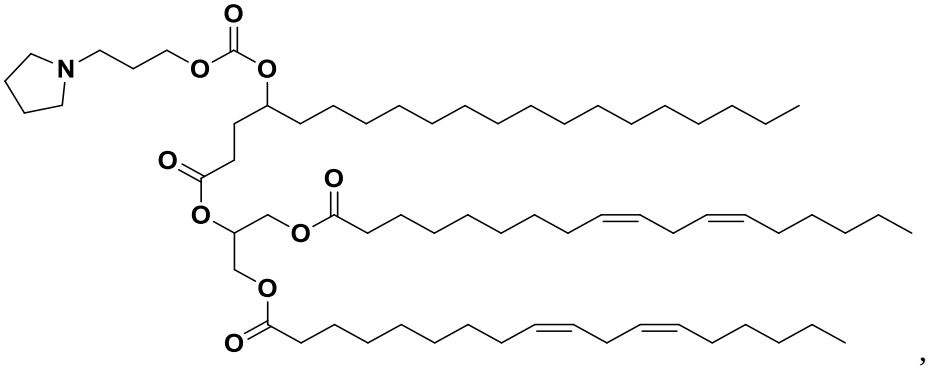
,



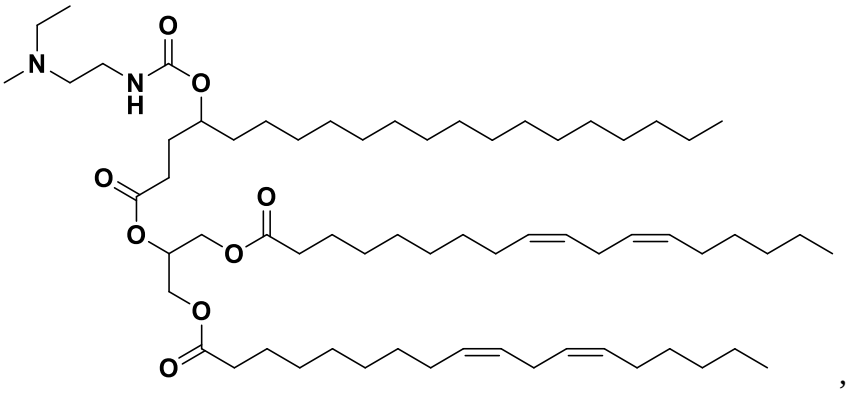
,



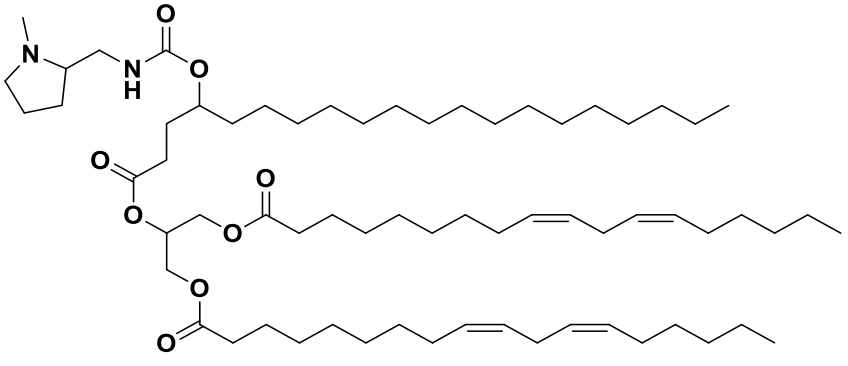
,



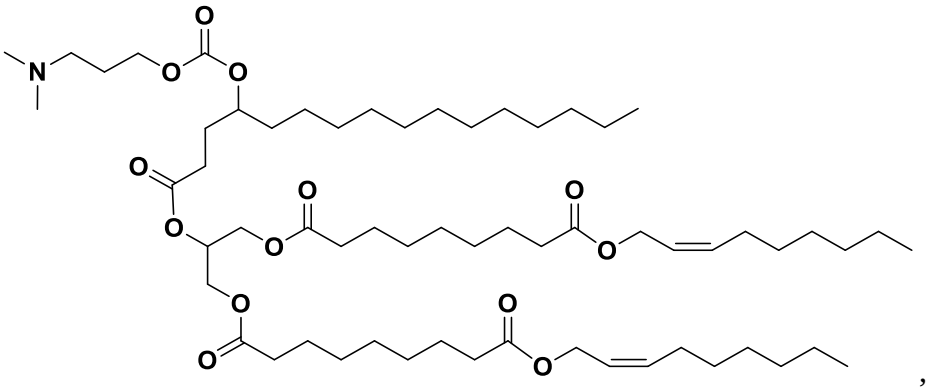
,



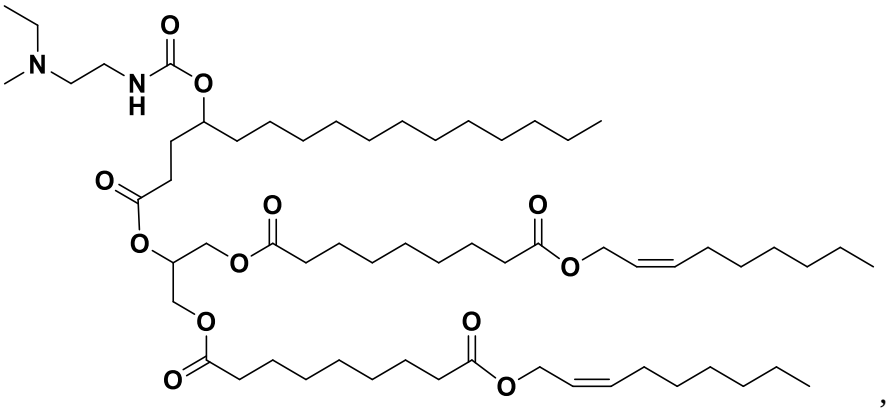
,



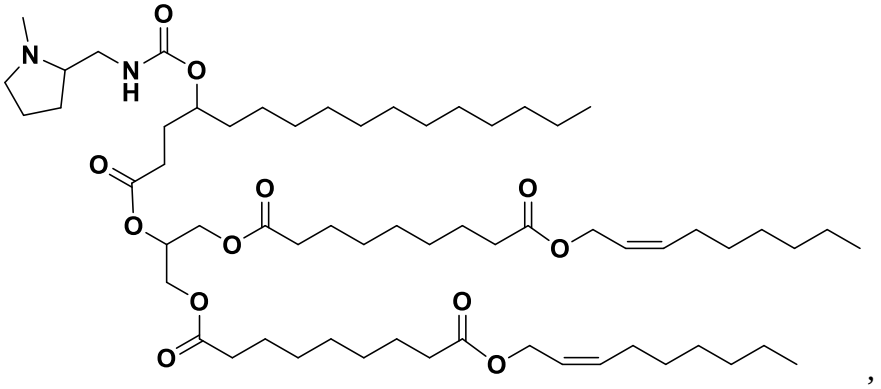
,



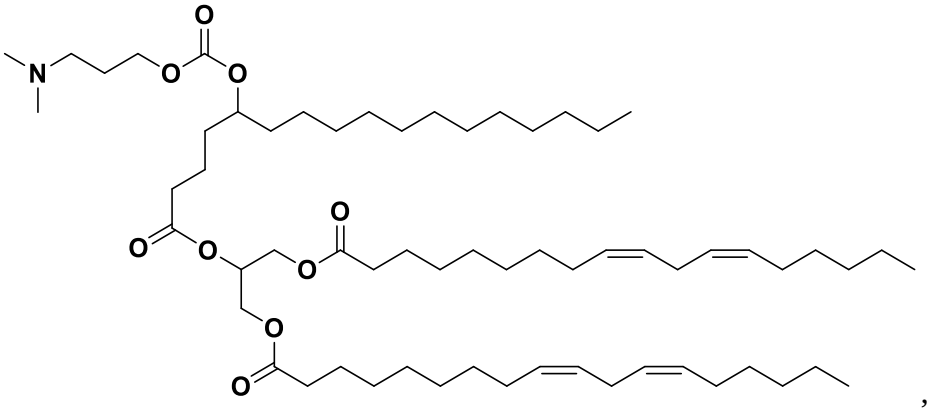
,



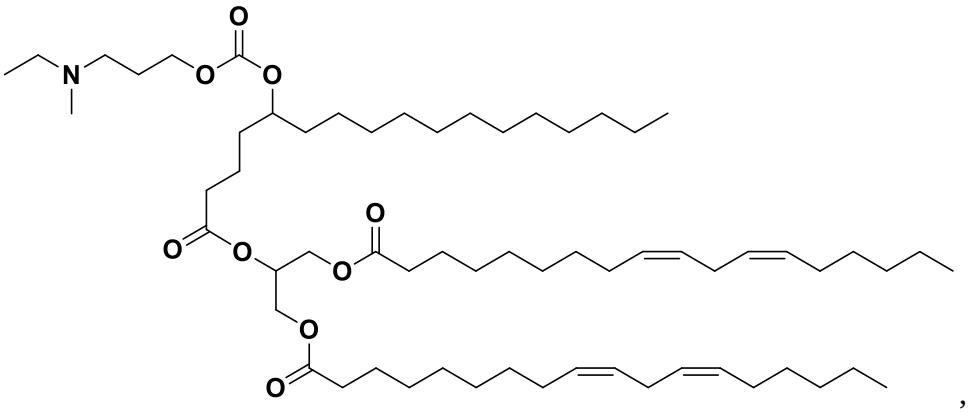
,



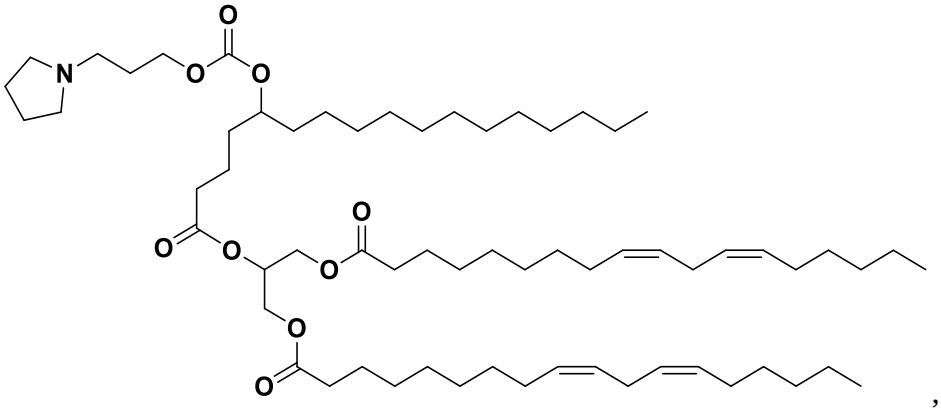
,



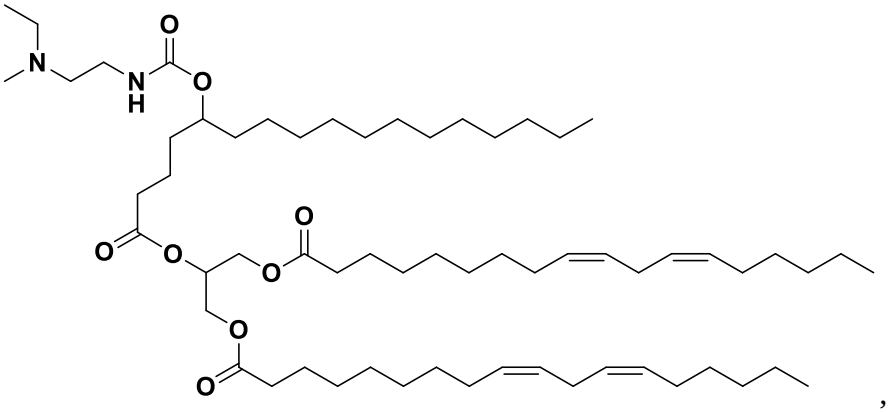
,



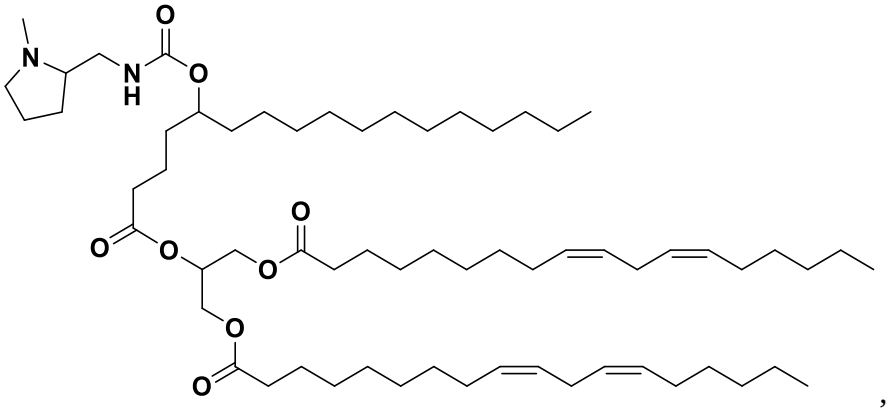
,



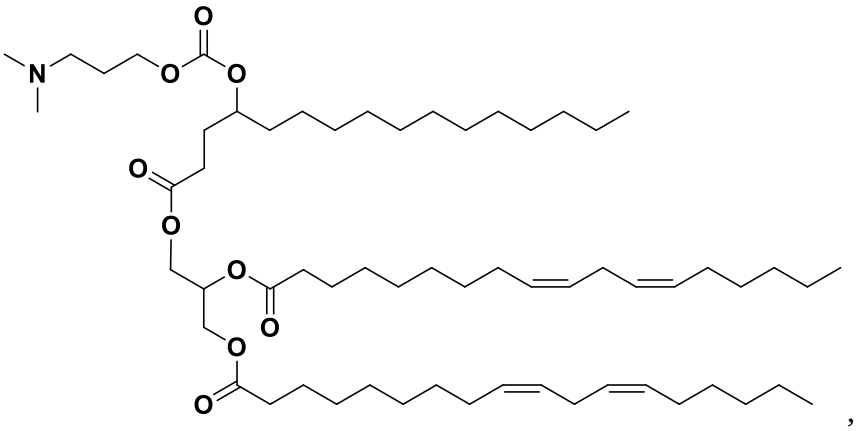
,



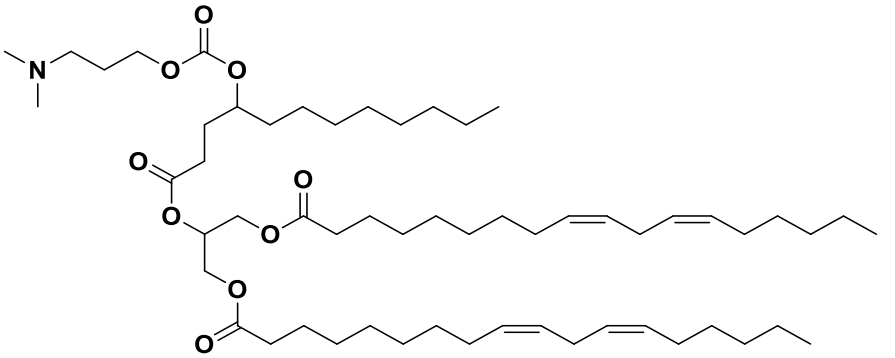
,



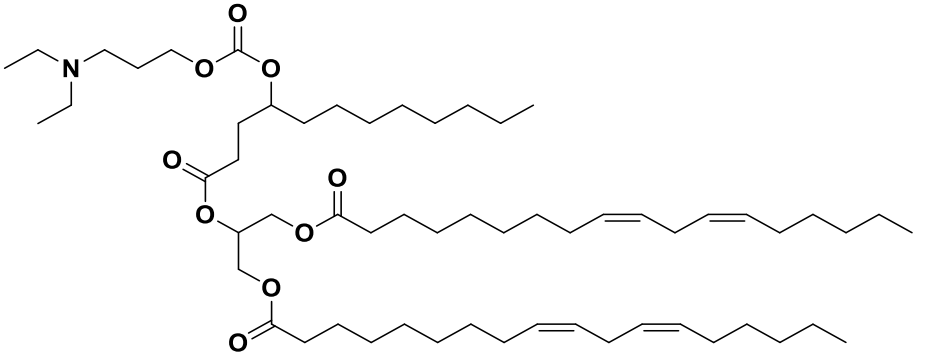
,



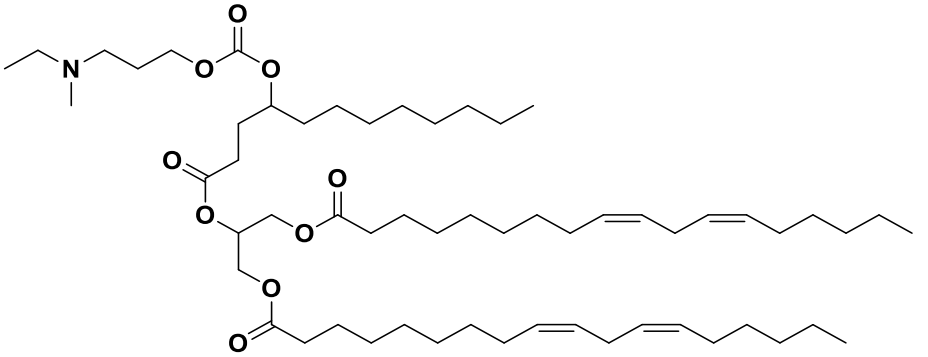
,



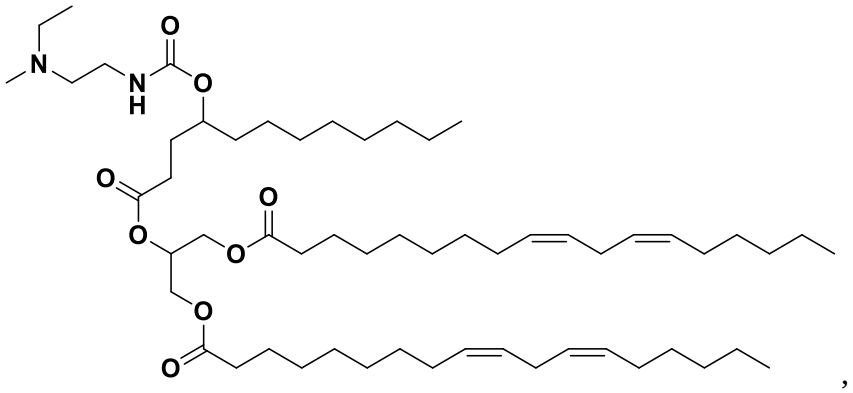
,



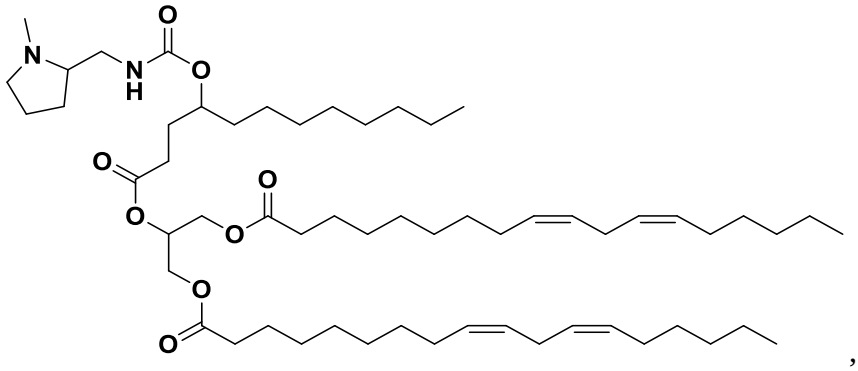
,



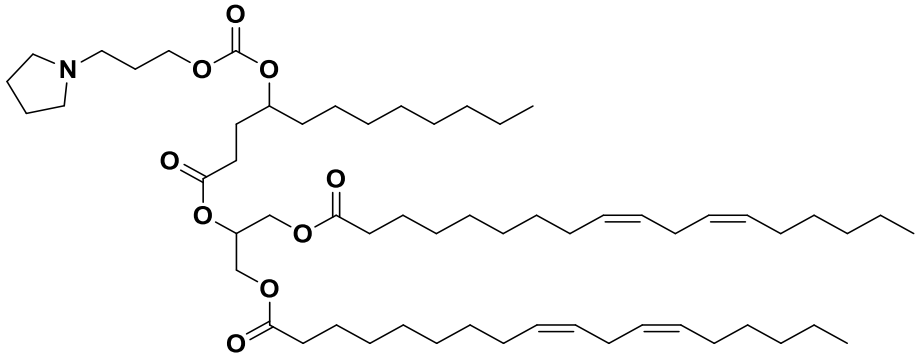
,



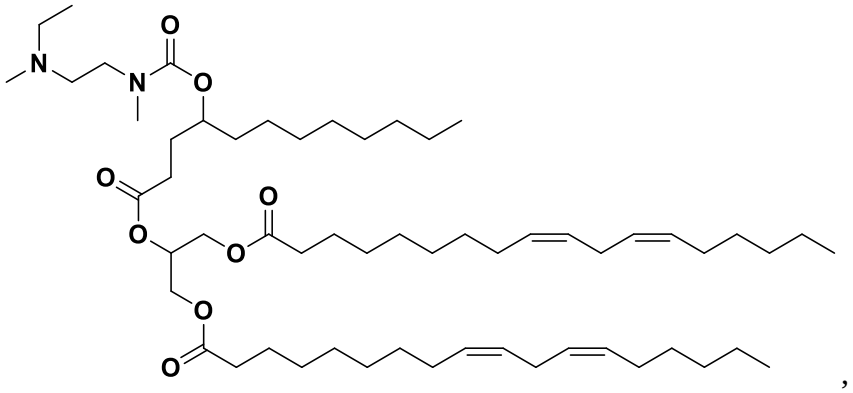
,



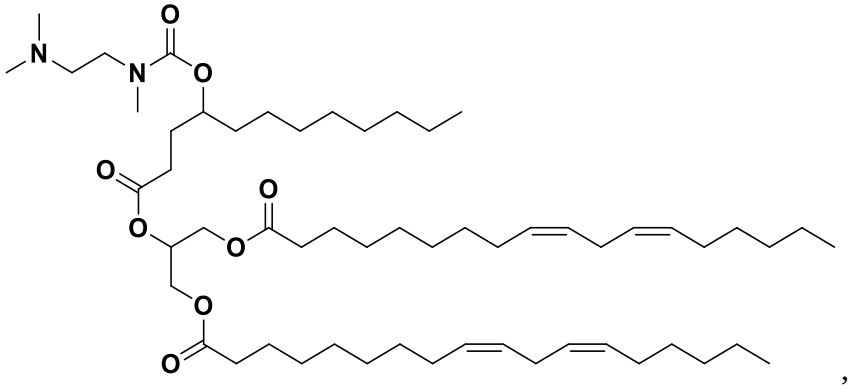
,



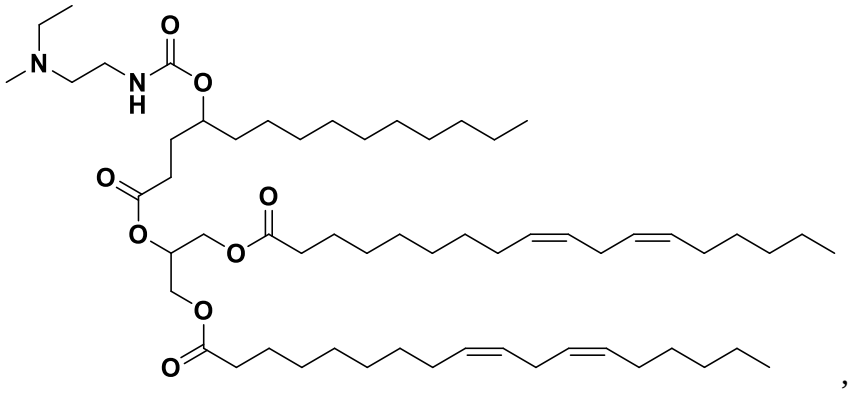
,



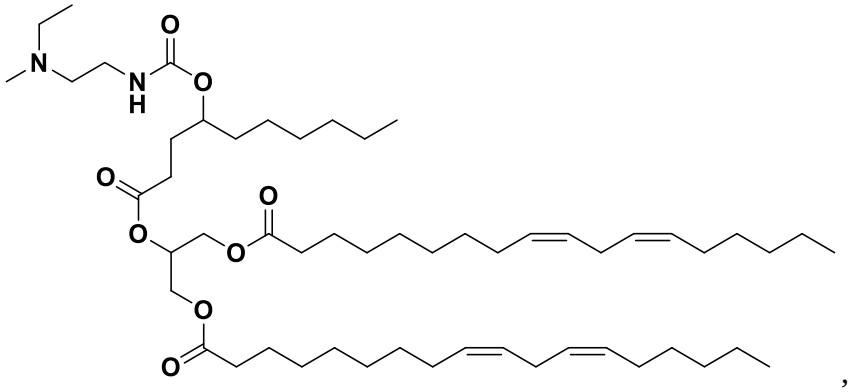
,



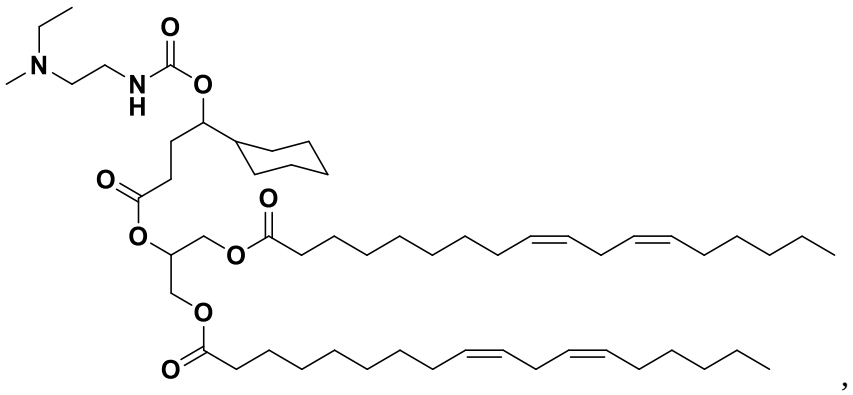
,



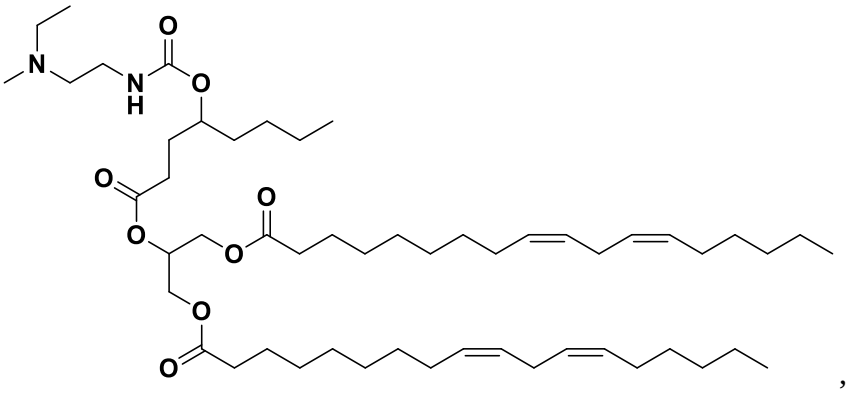
,



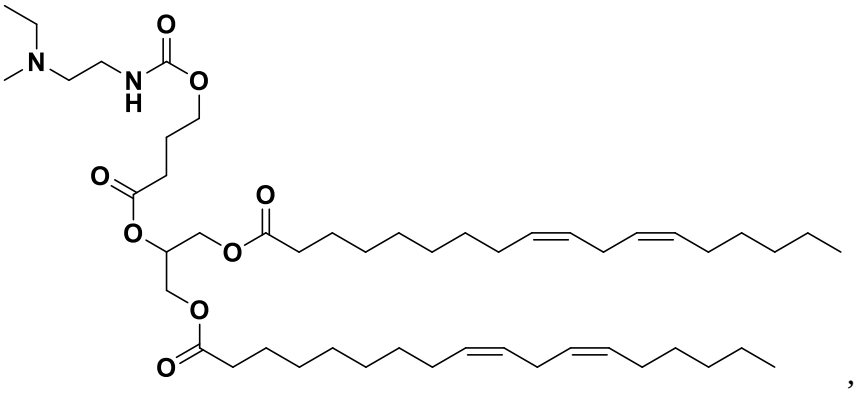
,



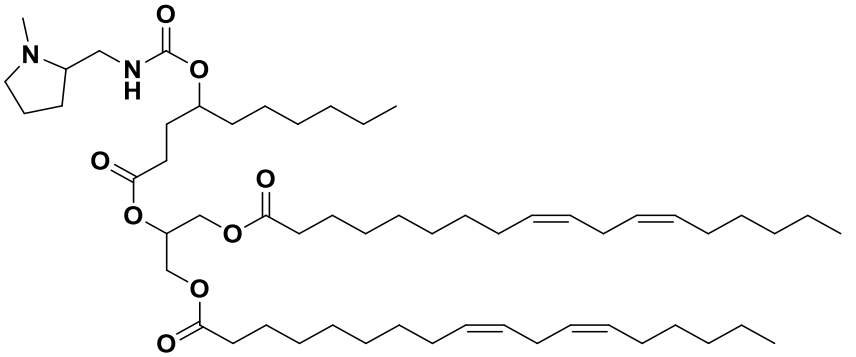
,



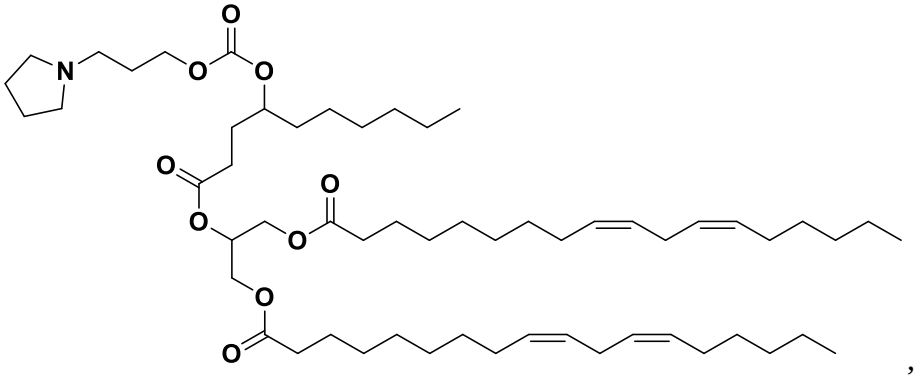
,



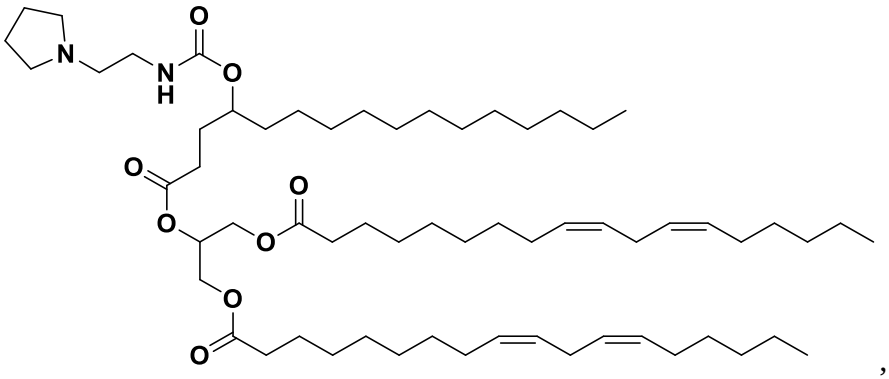
,



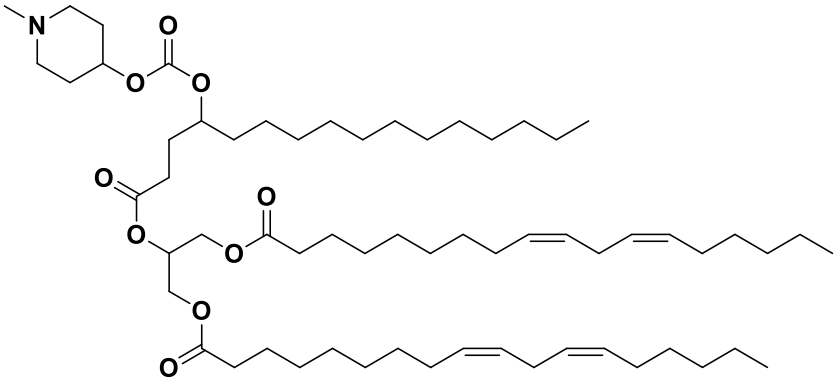
,



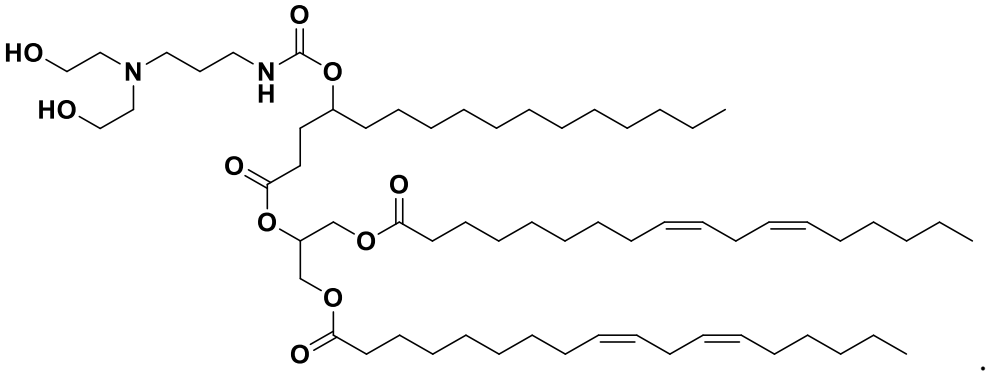
,



,

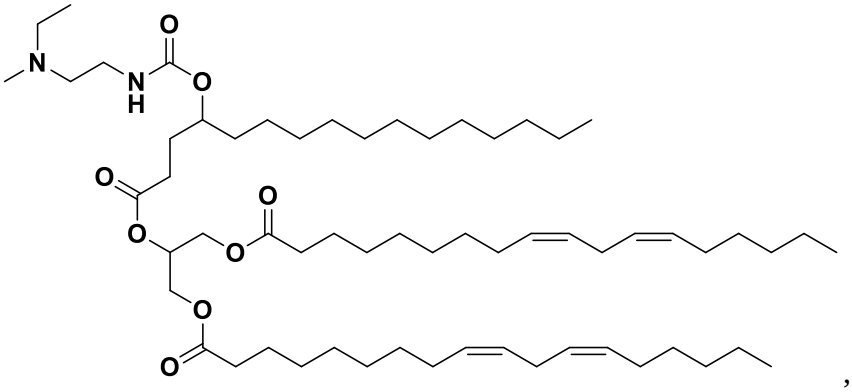


, y

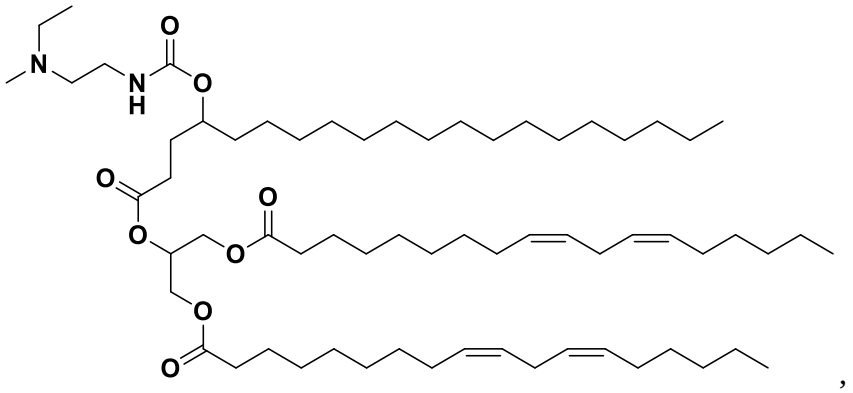


.

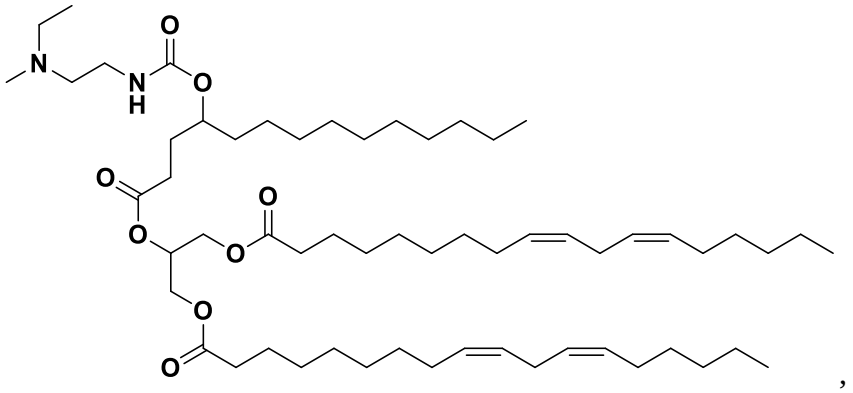
En algunas modalidades, el compuesto se selecciona de



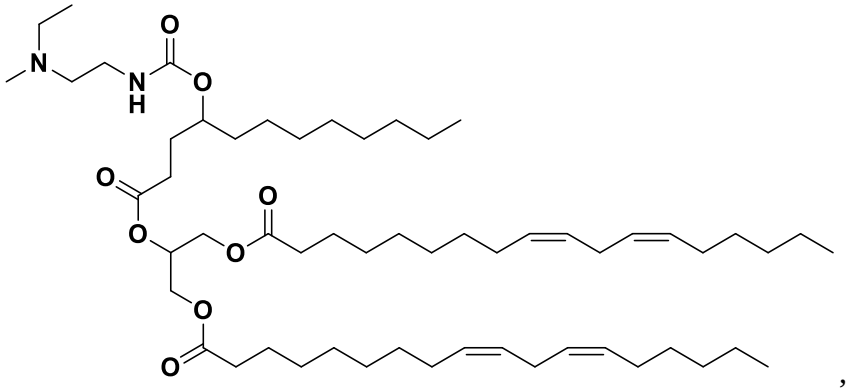
,



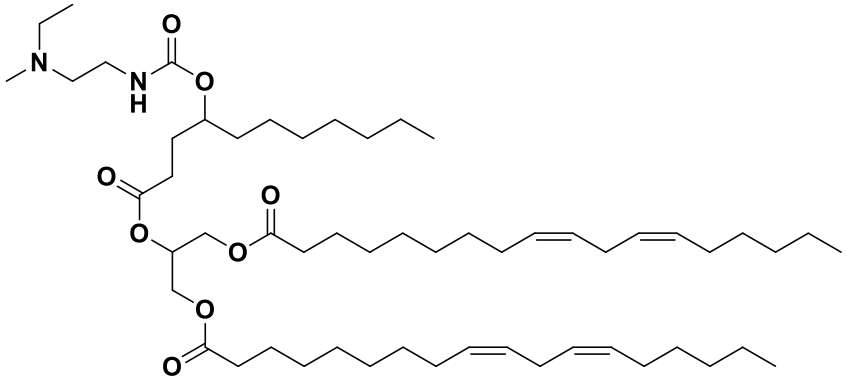
,



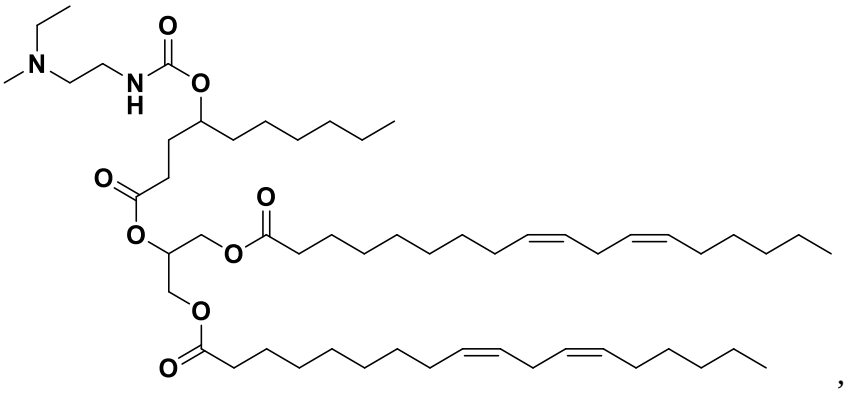
,



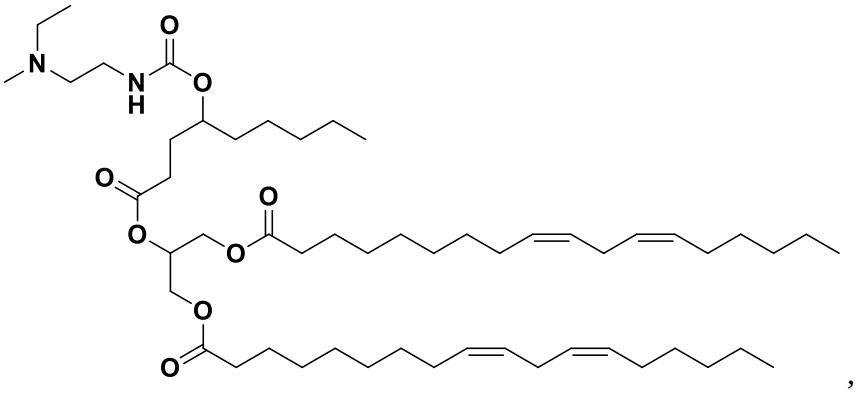
,



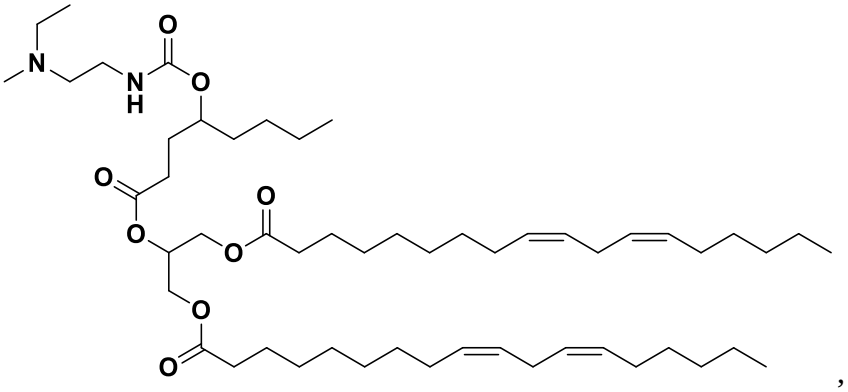
,



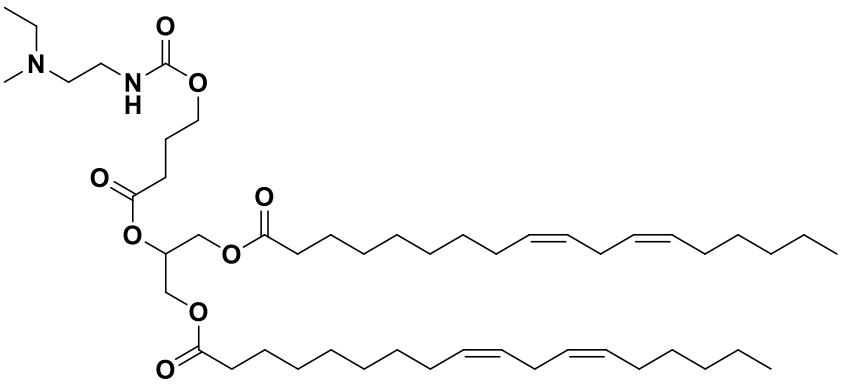
,



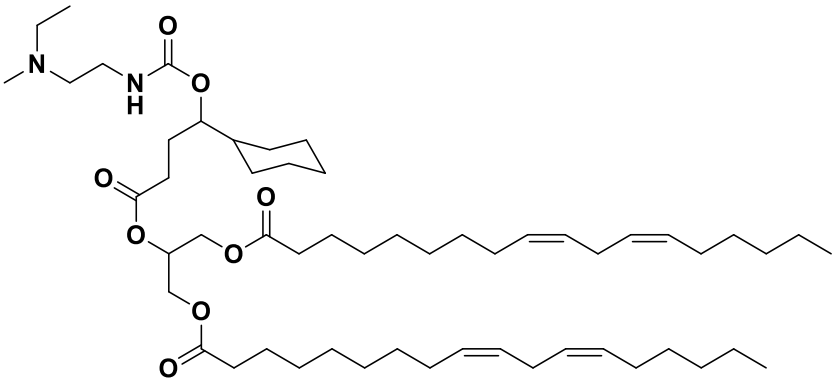
,



,

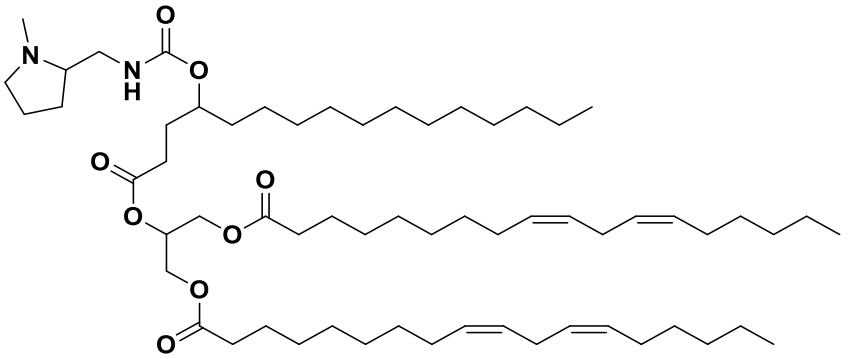


, y

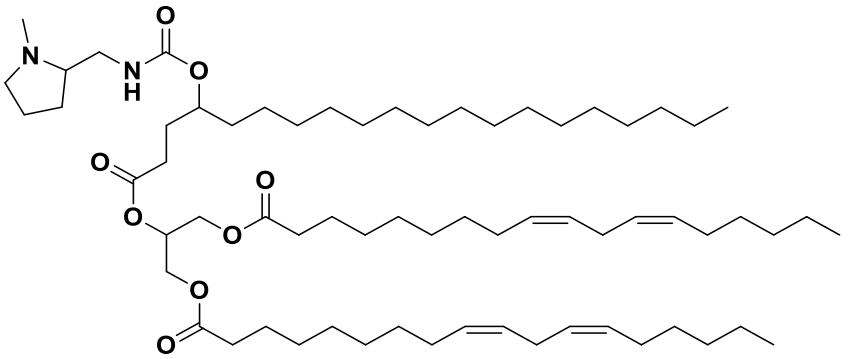


o una sal de estos.

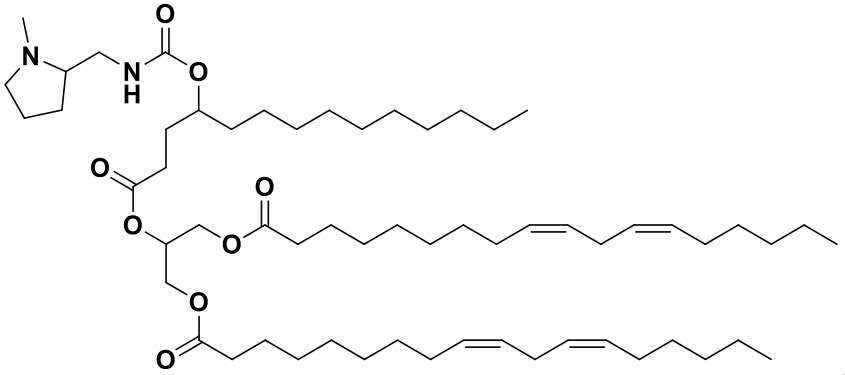
En otras modalidades, el compuesto se selecciona de



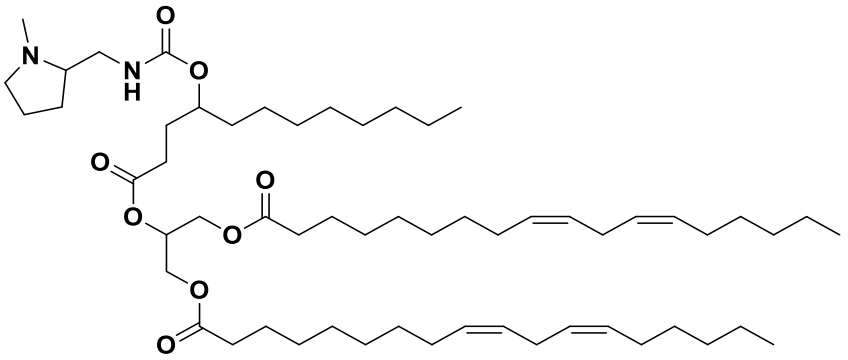
,



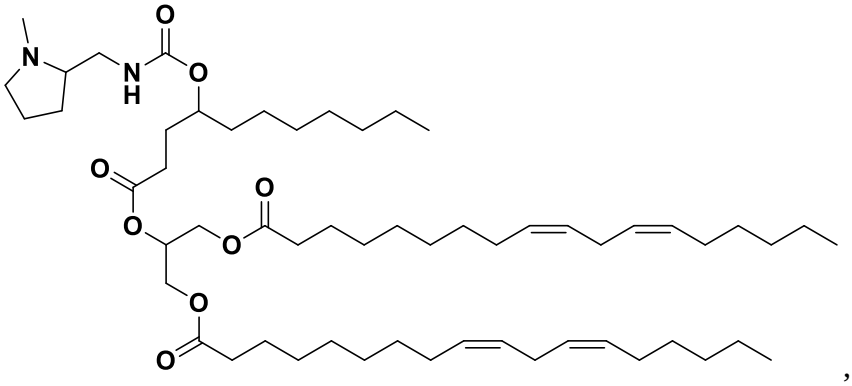
,



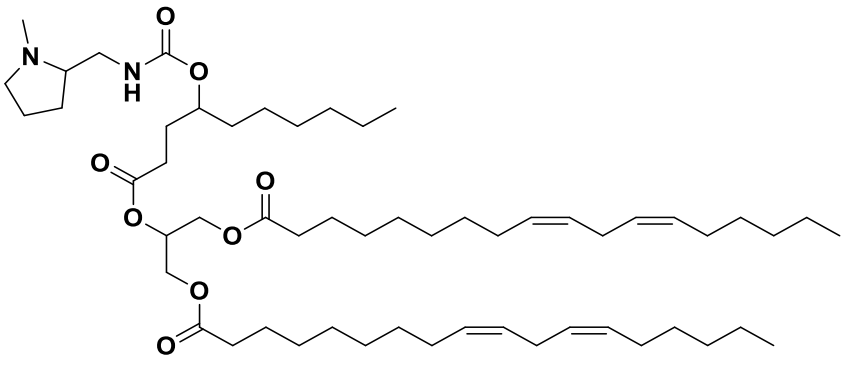
,



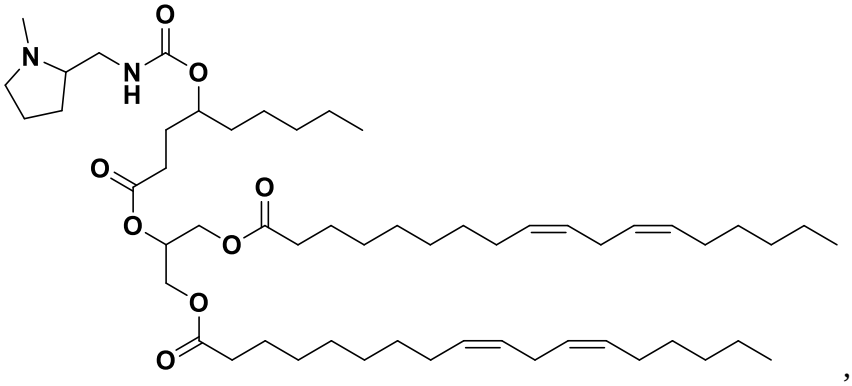
,



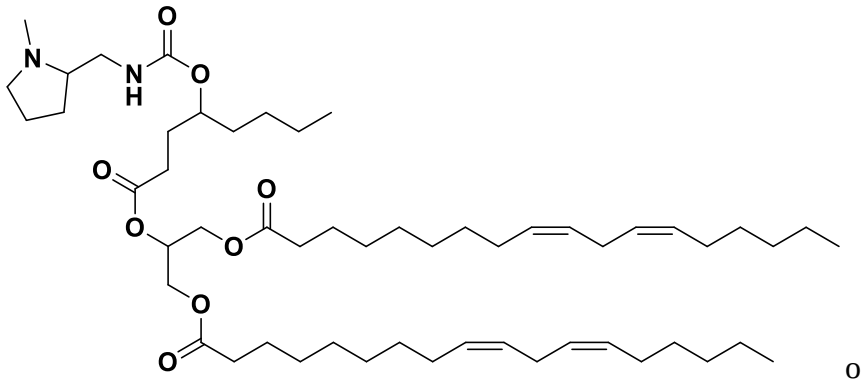
,



,

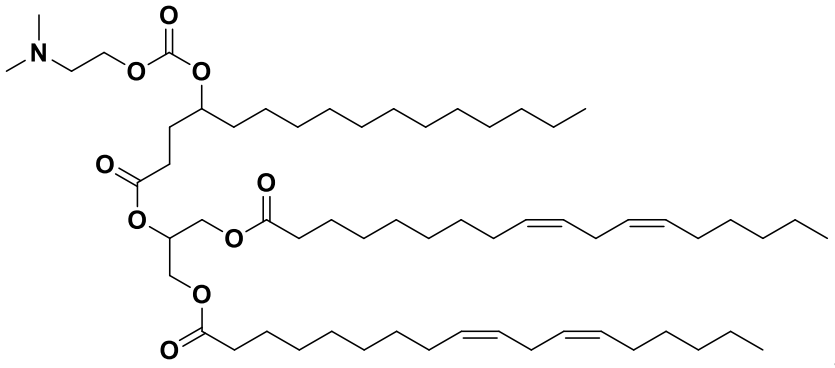


, y

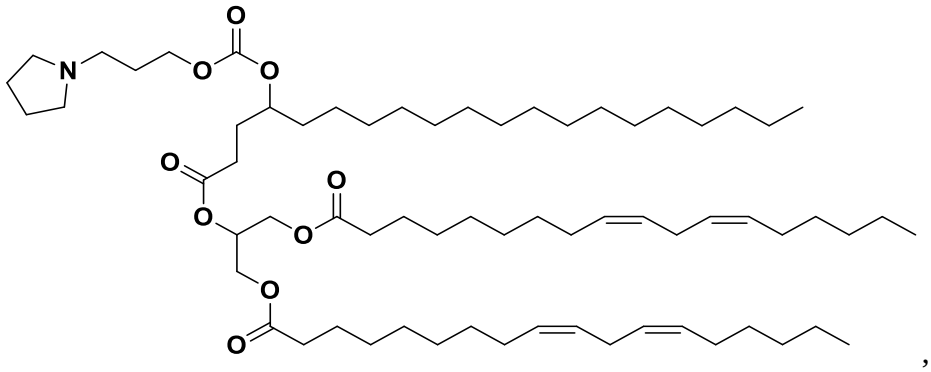


o una sal de estos.

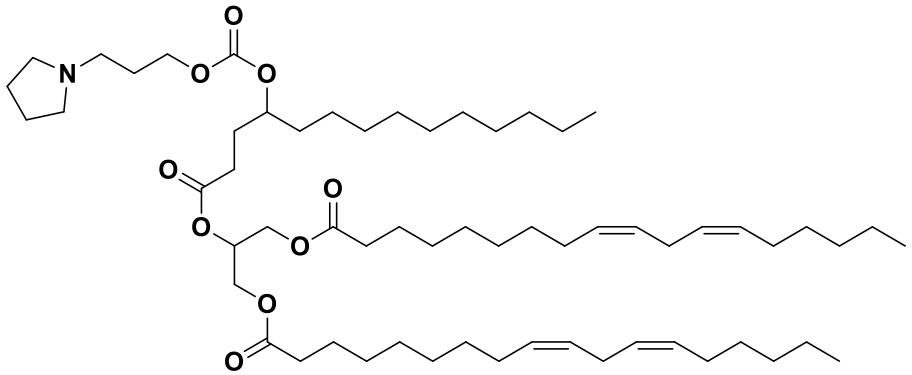
En aun otras modalidades, el compuesto se selecciona de



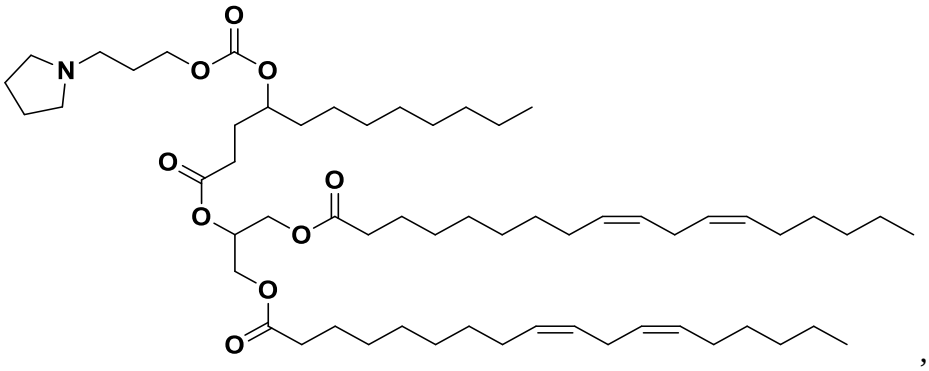
,



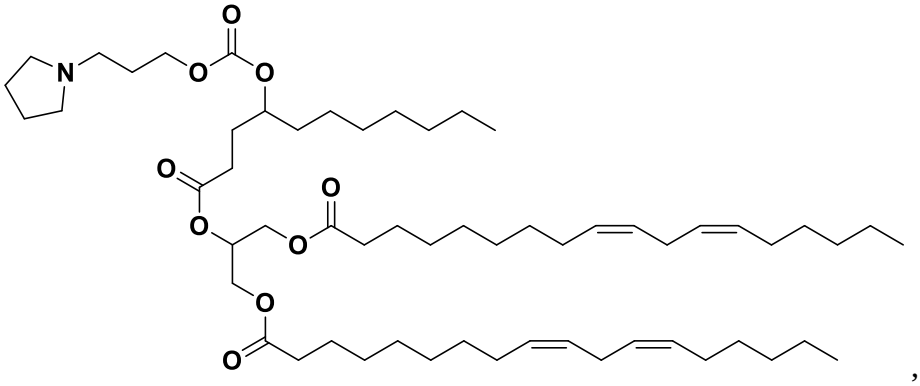
,



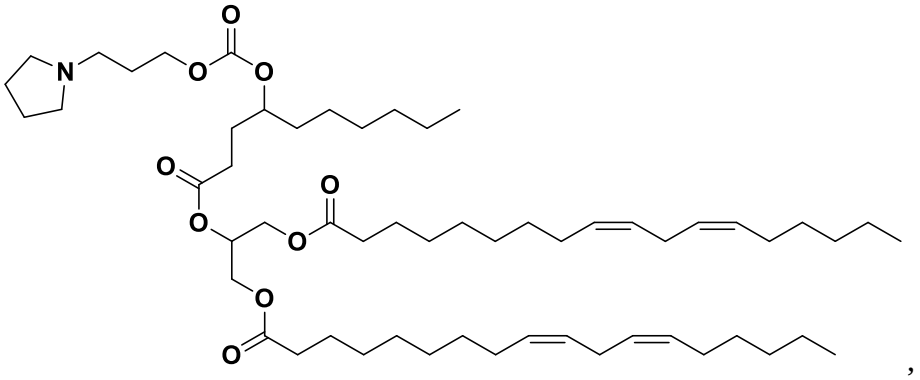
,



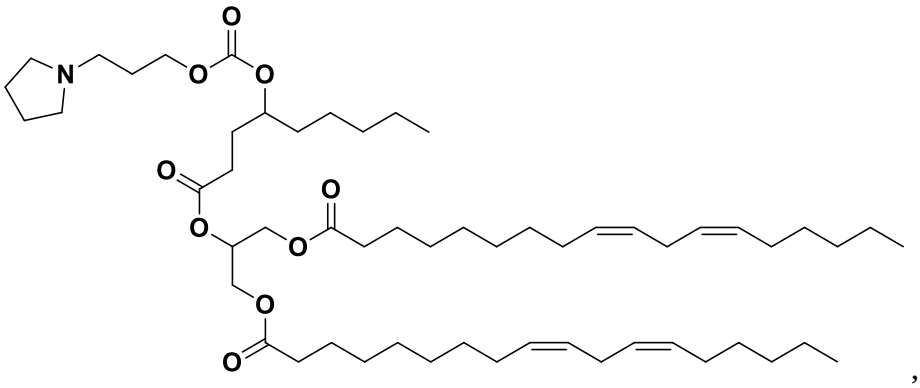
,



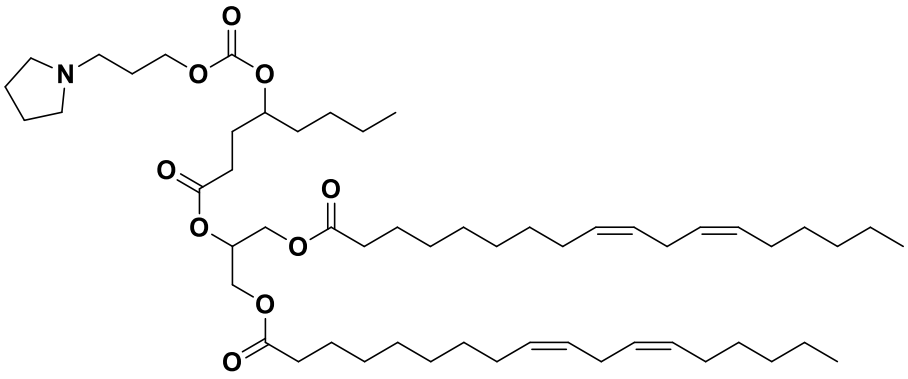
,



,



, y



o una sal de estos.

En determinadas modalidades, al menos 75 % del compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de las composiciones lipídicas formuladas tal como se describe en la presente se elimina del plasma del sujeto dentro de 8, 10, 12, 24, o 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7, o 10 días después de la administración. En determinadas modalidades, al menos 50 % de las composiciones lipídicas que comprenden un compuesto de la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), tal como se describe en la presente, se elimina del plasma del sujeto dentro de 8, 10, 12, 24 o 48 horas, o 3, 4, 5, 6, 7 o 10 días después de la administración, lo que puede determinarse, por ejemplo, al medir un lípido (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula (IA), (I), (II), o (III)), ARN (por ejemplo, ARNm), u otro componente en el plasma. En determinadas modalidades, se mide el lípido libre en oposición al lípido encapsulado del ARN o el componente de ácido nucleico de la composición lipídica. La eliminación de lípidos puede medirse tal como se describe en la bibliografía. Véase Maier, M.A., et ál. Biodegradable Lipids Enabling Rapidly Eliminated Lipid Nanoparticles for Systemic Delivery of RNAi Therapeutics. *Mol. Ther.* 2013, 21(8), 1570-78 ("*Maier*"). Por ejemplo, en *Maier*, se administraron sistemas de LNP-ARNip que contenían ARNip dirigido a luciferasa a ratones C57Bl/6 machos de seis a ocho semanas de edad por medio de inyección intravenosa en bolo de 0,3 mg/kg en la vena lateral de la cola. Se recogieron muestras de sangre, hígado y bazo 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96 y 168 horas después de la dosis. Se perfundieron los ratones con solución salina antes de recoger el tejido, y las muestras de sangre se procesaron para obtener plasma. Todas las muestras se procesaron y analizaron mediante LC-MS. Además, *Maier* describe un procedimiento para evaluar la toxicidad después de la administración de las composiciones de LNP-ARNip. Por ejemplo, un ARNip dirigido a luciferasa se administró a 0, 1, 3, 5 y 10 mg/kg (5 animales/grupo) por medio de una única inyección intravenosa en bolo con un volumen de dosis de 5 mL/kg a ratas Sprague-Dawley macho. Después de 24 horas, se obtuvo alrededor de 1 mL de sangre de la vena yugular de animales conscientes y se aisló el suero. 72 horas después de la dosis, todos los animales se sacrificaron para realizar la necropsia. Se realizó la evaluación de los signos clínicos, peso corporal, química del suero, pesos de los órganos e histopatología. Aunque

Maier describe métodos para evaluar las formulaciones de LNP-ARNip, estos métodos pueden aplicarse para evaluar la eliminación, farmacocinética y toxicidad de las composiciones lipídicas, tal como las composiciones de LNP, de la presente descripción.

En determinadas modalidades, las composiciones lipídicas con los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) que se describen en la presente tienen una mayor velocidad de eliminación con respecto a los lípidos con amina ionizables alternativos. En algunas de dichas modalidades, la velocidad de eliminación es una velocidad de eliminación de lípidos, por ejemplo, la velocidad a la que se elimina un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la sangre, el suero o el plasma. En algunas modalidades, la velocidad de eliminación es una velocidad de eliminación de carga (por ejemplo, un agente biológicamente activo), por ejemplo, la velocidad a la que se elimina un componente de carga de la sangre, el suero o el plasma. En algunas modalidades, la velocidad de eliminación es una velocidad de eliminación de ARN, por ejemplo, la velocidad a la que se elimina un ARNm o un ARNg de la sangre, el suero o el plasma. En algunas modalidades, la velocidad de eliminación es la velocidad a la que se elimina una LNP de la sangre, el suero o el plasma. En algunas modalidades, la velocidad de eliminación es la velocidad a la que se elimina una LNP de un tejido, tal como tejido hepático o tejido del bazo. Resulta deseable que una velocidad de eliminación elevada produzca un perfil de seguridad sin efectos no deseados considerables y/o menor acumulación de LNP en la circulación y/o en los tejidos.

Los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción pueden formar sales dependiendo del pH del medio en el que se encuentran. Por ejemplo, en un medio ligeramente ácido, los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) pueden protonarse y, por lo tanto, presentar una carga positiva. En cambio, en un medio ligeramente básico, tal como, por ejemplo, sangre con un pH de aproximadamente 7,35, los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) no pueden protonarse y, por lo tanto, no presentan carga. En algunas modalidades, los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción pueden protonarse predominantemente a un pH de al menos alrededor de 9. En algunas modalidades, los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción pueden protonarse predominantemente a un pH de al menos alrededor de 10.

El pH al que se protona predominantemente un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) se relaciona con su pKa intrínseca. En modalidades preferidas, una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción tiene una pKa en el intervalo de alrededor de 5,1 a alrededor de 8,0, incluso más preferentemente, de alrededor de 5,5 a alrededor de 7,5, por ejemplo, de alrededor de 6,1 a alrededor de 6,3. En otras modalidades preferidas, una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II),

o (III) de la presente descripción tiene una pKa en el intervalo de alrededor de 5,3 a alrededor de 8,0, por ejemplo, de alrededor de 5,6 a alrededor de 7,2, de alrededor de 5,7 a alrededor de 6,5. En otras modalidades, una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción tiene una pKa en el intervalo de alrededor de 5,7 a alrededor de 6,4, por ejemplo, de alrededor de 5,8 a alrededor de 6,2. En otras modalidades preferidas, una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción tiene una pKa en el intervalo de alrededor de 5,7 a alrededor de 6,5, por ejemplo, de alrededor de 5,8 a alrededor de 6,4. De manera alternativa, una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción tiene una pKa en el intervalo de alrededor de 5,8 a alrededor de 6,5. En algunas modalidades, la pKa de la forma protonada del compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) es de alrededor de 5,5 a alrededor de 6,0. Una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción puede tener una pKa en el intervalo de alrededor de 6,0 a alrededor de 8,0, preferentemente, de alrededor de 6,0 a alrededor de 7,5. La pKa de una sal de un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) puede ser una consideración importante en la formulación de LNP, ya que se descubrió que las LNP formuladas con determinados lípidos que tienen una pKa en el intervalo de alrededor de 5,5 a alrededor de 7,0 son eficaces para la administración de la carga *in vivo*, por ejemplo, en el hígado. Además, se descubrió que las LNP formuladas con determinados lípidos que tienen una pKa en el intervalo de alrededor de 5,3 a alrededor de 6,4 son eficaces para la administración *in vivo*, por ejemplo, en tumores. Véase, por ejemplo, WO 2014/136086.

En determinadas modalidades, la descripción se refiere a un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II) o (III) que está enantioenriquecido. El nivel de enantioenriquecimiento de un compuesto puede expresarse como exceso enantiomérico (ee). El ee de un compuesto se puede medir dividiendo la diferencia en las fracciones de los enantiómeros entre la suma de las fracciones de los enantiómeros. Por ejemplo, si se encuentra que un compuesto comprende 98 % del enantiómero (S), y 2 % del enantiómero (R), entonces el ee del compuesto es (98-2)/(98+2), o 96 %. En determinadas modalidades, el compuesto con la fórmula (IA), (I), (II), o (III) tiene alrededor de 30 % ee o mayor, 40 % ee o mayor, 50% ee o mayor, 60 % ee o mayor, 70 % ee o mayor, alrededor de 80 % ee, alrededor de 85 % ee, alrededor de 88 % ee, alrededor de 90 % ee, alrededor de 91 % ee, alrededor de 92 % ee, alrededor de 93 % ee, alrededor de 94 % ee, alrededor de 95 % ee, alrededor de 96 % ee, alrededor de 97 % ee, alrededor de 98 % ee, alrededor de 99 % ee, o alrededor de 99 % ee, incluso donde este % ee es mayor que el % ee del material de partida, tal como 0 % ee (racémico). En determinadas modalidades, el compuesto de fórmula (IA), (I), (II), o (III) está enantioenriquecido. En determinadas modalidades, el compuesto de fórmula (IA), (I), (II), o (III) es

enantiopuro. En algunas modalidades donde el compuesto tiene más de un estereocentro, ese estereocentro puede enriquecerse sustancialmente independientemente de la disposición/enriquecimiento estereoquímico de cualquier otro estereocentro de la molécula. Por ejemplo, un compuesto descrito en la presente puede tener 30 % de o más, 40 % de o más, 50 % de o más, 60 % de o más, 70 % de o más, 80 % de o más, 90 % de o más, 95 % de o más, o incluso 98 % de o más en un estereocentro específico.

Lípidos adicionales

Los «lípidos neutros» adecuados para su uso en una composición lipídica de la descripción incluyen, por ejemplo, una variedad de lípidos neutros, sin carga o zwitteriónicos. Los ejemplos de fosfolípidos neutros adecuados para su uso en la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), fosfocolina (DOPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), fosfatidilcolina (PLPC), 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DAPC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilcolina de huevo (EPC), dilauriloilfosfatidilcolina (DLPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), 1-miristoil-2-palmitoil fosfatidilcolina (MPPC), 1-palmitoil-2-miristoil fosfatidilcolina (PMPC), 1-palmitoil-2-estearoil fosfatidilcolina (PSPC), 1,2-diaracidoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DBPC), 1-estearoil-2-palmitoil fosfatidilcolina (SPPC), 1,2-dieicosenoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DEPC), palmitoiloleoil fosfatidilcolina (POPC), lisofosfatidil colina, dioleoil fosfatidiletanolamina (DOPE), dilinoleoilfosfatidilcolina diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE), dimiristoil fosfatidiletanolamina (DMPE), dipalmitoil fosfatidiletanolamina (DPPE), palmitoiloleoil fosfatidiletanolamina (POPE), lisofosfatidiletanolamina y combinaciones de estos. En determinadas modalidades, el fosfolípido neutro puede seleccionarse de distearoilfosfatidilcolina (DSPC) y dimiristoil fosfatidiletanolamina (DMPE), preferentemente, distearoilfosfatidilcolina (DSPC).

Los «lípidos auxiliares» incluyen esteroides, esteroles y resorcinoles de alquilo. Los lípidos auxiliares adecuados para su uso en la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, colesterol, 5-heptadecilresorcinol y hemisuccinato de colesterol. En determinadas modalidades, el lípido auxiliar puede ser colesterol o un derivado de este, tal como hemisuccinato de colesterol.

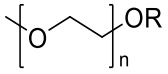
Los lípidos PEG pueden afectar la cantidad de tiempo de existencia de las nanopartículas *in vivo* (por ejemplo, en la sangre). Los lípidos de PEG pueden ayudar en el proceso de formulación, por ejemplo, al reducir la agregación de partículas y controlar el tamaño de las partículas. Los lípidos de PEG utilizados en la presente pueden modular las propiedades farmacocinéticas de las LNP. Típicamente, el lípido de PEG comprende un resto lipídico y un resto polimérico basado en PEG (al que a veces se denomina poli(óxido de etileno)) (un resto de PEG). Los lípidos de PEG adecuados para su uso en una composición

lipídica con un compuesto de la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) de la presente descripción e información sobre la bioquímica de tales lípidos se pueden encontrar en Romberg et ál., Pharmaceutical Research 25(1), 2008, págs. 55-71 y Hoekstra et ál., Biochimica et Biophysica Acta 1660 (2004) 41-52. Los lípidos de PEG adicionales que son adecuados se describen, por ejemplo, en WO 2015/095340 (pág. 31, línea 14 a pág. 37, línea 6), WO 2006/007712 y WO 2011/076807 («lípidos ocultos»).

En algunas modalidades, el resto lipídico puede derivar de un diacilglicerol o diacilglicamida, incluso los que comprenden un grupo dialquilglicerol o dialquilglicamida que tenga una longitud de cadena de alquilo que comprende independientemente de alrededor de C4 a alrededor de C40 átomos de carbono saturados o no saturados, en donde la cadena puede comprender uno o más grupos funcionales, tal como, por ejemplo, una amida o éster. En algunas modalidades, la longitud de la cadena de alquilo comprende alrededor de C10 a C20. El grupo dialquilglicerol o dialquilglicamida puede comprender, además, uno o más grupos alquilo sustituidos. Las longitudes de cadena pueden ser simétricas o asimétricas.

A menos que se indique de otro modo, el término «PEG», tal como se usa en la presente, significa cualquier polietilenglicol u otro polímero de polialquilenéter, tal como un polímero de etilenglicol u óxido de etileno lineal o ramificado opcionalmente sustituido. En determinadas modalidades, el resto de PEG no está sustituido. De manera alternativa, el resto de PEG puede estar sustituido, por ejemplo, con uno o más grupos alquilo, alcoxi, acilo, hidroxi o arilo. Por ejemplo, el resto de PEG puede comprender un copolímero de PEG tal como PEG-poliuretano o PEG-polipropileno (véase, por ejemplo, J. Milton Harris, Poly(ethylene glycol) chemistry: biotechnical and biomedical applications (1992)); alternativamente, el resto de PEG puede ser un homopolímero de PEG. En determinadas modalidades, el resto de PEG tiene un peso molecular de alrededor de 130 a alrededor de 50 000, tal como de alrededor de 150 a alrededor de 30 000, o incluso de alrededor de 150 a alrededor de 20 000. De manera similar, el resto de PEG puede tener un peso molecular de alrededor de 150 a alrededor de 15 000, de alrededor de 150 a alrededor de 10 000, de alrededor de 150 a alrededor de 6000, o incluso de alrededor de 150 a alrededor de 5000. En determinadas modalidades preferidas, el resto de PEG tiene un peso molecular de alrededor de 150 a alrededor de 4000, de alrededor de 150 a alrededor de 3000, de alrededor de 300 a alrededor de 3000, de alrededor de 1000 a alrededor de 3000, o de alrededor de 1500 a alrededor de 2500.

En determinadas modalidades preferidas, el resto de PEG es un «PEG-2K», también denominado «PEG 2000», que tiene un peso molecular promedio de alrededor de 2000 daltons. PEG-2K se representa en la presente mediante la siguiente fórmula (II), en donde n es 45, lo que significa que el grado promedio

ponderado de polimerización comprende alrededor de 45 subunidades  (II). Sin embargo, pueden utilizarse otras modalidades de PEG conocidas en la técnica, que incluyen, por ejemplo, aquellas donde el grado promedio ponderado de polimerización comprende alrededor de 23 subunidades (n=23) y/o 68 subunidades (n=68). En algunas modalidades, n puede variar de alrededor de 30 a alrededor de 60. En algunas modalidades, n puede variar de alrededor de 35 a alrededor de 55. En algunas modalidades, n puede variar de alrededor de 40 a alrededor de 50. En algunas modalidades, n puede variar de alrededor de 42 a alrededor de 48. En algunas modalidades, n puede ser 45. En algunas modalidades, R puede seleccionarse de H, alquilo sustituido y alquilo no sustituido. En algunas modalidades, R puede ser alquilo no sustituido, tal como metilo.

En cualquiera de las modalidades descritas en la presente, el lípido de PEG puede seleccionarse de PEG-dilauroilglicerol, PEG-dimiristoilglicerol (PEG-DMG) (n.º de catálogo GM-020 de NOF, Tokio, Japón), PEG-dipalmitoilglicerol, PEG-distearoilglicerol (PEG-DSPE) (n.º de catálogo DSPE-020CN, NOF, Tokio, Japón), PEG-dilaurilglicamida, PEG-dimiristilglicamida, PEG-dipalmitoilglicamida, y PEG-distearoilglicamida, PEG-colesterol (1-[8'-(Colest-5-en-3[beta]-oxi)carboxamido-3',6'-dioxaoctanil]carbamoil-[omega]-metil-poli(etilenglicol), PEG-DMB (éter de 3,4-ditetradecoxilbencil-[omega]-metil-poli(etileno glicol)), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (PEG2k-DMG) (n.º de catálogo 880150P de Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama, EE. UU.), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (PEG2k-DSPE) (n.º de catálogo 880120C de Avanti Polar Lipids, Alabaster, Alabama, EE. UU.), 1,2-distearoil-sn-glicerol, metoxipolietilenglicol (PEG2k-DSG; GS-020, NOF Tokio, Japón), poli(etilenglicol)-2000-dimetacrilato (PEG2k-DMA), y 1,2-distеariloxipropil-3-amina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (PEG2k-DSA). En determinadas de dichas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-DMG. En algunas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-DSG. En otras modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-DSPE. En algunas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-DMA. En aun otras modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-C-DMA. En determinadas modalidades, el lípido de PEG puede ser el compuesto S027, descrito en WO2016/010840 (párrafos [00240] a [00244]). En algunas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-DSA. En otras modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-C11. En algunas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-C14. En algunas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-C16. En algunas modalidades, el lípido de PEG puede ser PEG2k-C18.

Los lípidos catiónicos adecuados para su uso en una composición lipídica de la descripción incluyen, de modo no taxativo, cloruro de N,N-dioleil-N,N-dimetilamonio (DODAC), bromuro N,N-distearil-N,N-dimetilamonio (DDAB), cloruro N-(1-(2,3-dioleoiloxi)propil)-N,N,N-trimetilamonio (DOTAP), 1,2-Dioleoil-3-Dimetilamonio-propano (DODAP), cloruro de N-(1-(2,3-dioleiloxi)propil)-N,N,N-trimetilamonio (DOTMA), 1,2-Dioleoilcarbamil-3-Dimetilamonio-propano (DOCDAP), 1,2-Dilineoil-3-Dimetilamonio-propano (DLINDAP), dilauril(C12:0) trimetil amonio propano (DLTAP), Dioctadecilamidoglicil espermina (DOGS), DC-Choi, Dioleoiloxi-N-[2-(esperminacarboxamido)etil]-N,N-dimetil-1-propanaminiotrifluoroacetato (DOSPA), bromuro de 1,2-Dimiristiloxipropil-3-dimetil-hidroxietil amonio (DMRIE), 3-Dimetilamino-2-(Colest-5-en-3-beta-oxibutan-4-oxi)-1-(cis,cis-9,12-octadecadienoxi)propano (CLinDMA), N,N-dimetil-2,3-dioleiloxi)propilamina (DODMA), 2-[5'-(colest-5-en-3[beta]-oxi)-3'-oxapentoxi)-3-dimetil-1-(cis,cis-9',1-2'-octadecadienoxi) propano (CpLinDMA), N,N-Dimetil-3,4-dioleiloxibencilamina (DMOBA) y 1,2-N,N'-Dioleilcarbamil-3-dimetilaminopropano (DOcarbDAP). En una modalidad, el lípido catiónico es DOTAP o DLTAP.

Los lípidos aniónicos adecuados para su uso en la presente descripción incluyen, de modo no taxativo, fosfatidilglicerol, cardiolipina, diacilfosfatidilserina, ácido diacilfosfatídico, N-dodecanoil fosfatidil etanolamina, N-succinil fosfatidiletanolamina, N-glutaril fosfatidiletanolamina, hemisuccinato de colesterol (CHEMS) y lisilfosfatidilglicerol.

Composiciones lipídicas

En la presente descripción se proporciona una composición lipídica que comprende al menos un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) o una sal de estos (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable de estos) y al menos otro componente lipídico. Tales composiciones también contienen un agente biológicamente activo, opcionalmente, combinado con uno o más de otros componentes lipídicos. En algunas modalidades, las composiciones lipídicas comprenden un componente lipídico y un componente acuoso que comprende un agente biológicamente activo.

En una modalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y al menos otro componente lipídico. En otra modalidad, la composición lipídica comprende, además, un agente biológicamente activo, opcionalmente, combinado con uno o más de otros componentes lipídicos. En otra modalidad, la composición lipídica se encuentra en forma de un liposoma. En otra modalidad, la composición lipídica se encuentra en forma de una nanopartícula lipídica (LNP). En otra modalidad, la composición lipídica es adecuada para su administración en el hígado.

En una modalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y otro componente lipídico. Dichos otros componentes lipídicos incluyen, de modo no taxativo, lípidos neutros, lípidos auxiliares, lípidos de PEG, lípidos catiónicos y lípidos aniónicos. En determinadas modalidades, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y un lípido neutro, por ejemplo, DSPC, opcionalmente, con uno o más componentes lipídicos adicionales. En otra modalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y un lípido auxiliar, por ejemplo, colesterol, opcionalmente, con uno o más componentes lipídicos adicionales. En otra modalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y un lípido de PEG, opcionalmente, con uno o más componentes lipídicos adicionales. En otra modalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y un lípido catiónico, opcionalmente, con uno o más componentes lipídicos adicionales. En otra modalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, y un lípido aniónico, opcionalmente, con uno o más componentes lipídicos adicionales. En una submodalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, un lípido auxiliar y un lípido de PEG, opcionalmente, con un lípido neutro. En otra submodalidad, la composición lipídica comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, un lípido auxiliar, un lípido de PEG y un lípido neutro.

Las composiciones que contienen lípidos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, o composiciones lipídicas de estos, pueden encontrarse en diversas formas, que incluyen, de modo no taxativo, agentes de administración que forman partículas, que incluyen micropartículas, nanopartículas y agentes de transfección que son útiles para administrar diversas moléculas a las células. Las composiciones específicas son eficaces para la transfección o administración de agentes biológicamente activos. Los agentes biológicamente activos preferidos son ARN y ADN. En otras modalidades, el agente biológicamente activo se selecciona de ARNm, ARNg y ADN. El ARNg puede ser un ARNgd o un ARNgs. En determinadas modalidades, la carga incluye un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN (por ejemplo, una nucleasa Cas, una nucleasa Cas de clase 2 o Cas9), un ARNg o un ácido nucleico que codifica un ARNg o una combinación de ARNm y ARNg.

En los Ejemplos 2-48, 50-97, 99-103 y 105-113 se proporcionan ejemplos de compuestos con la Fórmula

(IA), (I), (II) o (III) para su uso en las composiciones lipídicas anteriores.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 2. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 3. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 4. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 5. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 6. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 7. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 8. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 9. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 10.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 11. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 12. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 13. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 14. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 15. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 16. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 17. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 18. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 19. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 20.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 21. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 22. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 23. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 24. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 25. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 26. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 27. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 28. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 29. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 30.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 31. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 32. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 33. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 34. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el

Compuesto 35. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 36. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 37. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 38. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 39. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 40.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 41. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 42. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 43. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 44. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 45. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 46. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 47. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 48. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 50.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 51. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 52. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 53. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 54. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 55. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 56. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 57. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 58. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 59. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 60.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 61. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 62. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 63. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 64. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 65. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 66. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 67. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 68. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 69. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 70.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 71. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 72. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 73. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 74. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 75. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 76. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 77. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 78. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 79. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 80.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 81. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 82. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 83. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 84. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 85. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 86. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 87. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 88. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 89. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 90.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 91. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 92. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 93. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 94. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 95. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 96. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 97. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 99. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 100.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 101. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 102. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 103. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 105. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 106. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 107.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 108. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 109. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 110.

En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 111. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 112. En determinadas modalidades, el compuesto con la Fórmula (IA) es el Compuesto 113.

En determinadas modalidades, el compuesto no es el Compuesto 1. En determinadas modalidades, el compuesto no es el Compuesto 49. En determinadas modalidades, el compuesto no es el Compuesto 114.

Composiciones de LNP

Las composiciones lipídicas pueden proporcionarse como composiciones de LNP. Las nanopartículas lipídicas pueden ser, por ejemplo, microesferas (que incluyen vesículas unilamelares y multilamelares, por ejemplo, «liposomas», capas dobles de lípidos en fase lamelar que, en algunas modalidades, son sustancialmente esféricas y, en modalidades más particulares, pueden comprender un núcleo acuoso, por ejemplo, que comprende una parte sustancial de moléculas de ARN), una fase dispersa en una emulsión, micelas o una fase interna en una suspensión.

Las LNP tienen un tamaño de alrededor de 1 a alrededor de 1000 nm, de alrededor de 10 a alrededor de 500 nm, de alrededor de 20 a alrededor de 500 nm, en una submodalidad, de alrededor de 50 a alrededor de 400 nm, en una submodalidad, de alrededor de 50 a alrededor de 300 nm, en una submodalidad, de alrededor de 50 a alrededor de 200 nm y, en una submodalidad, de alrededor de 50 a alrededor de 150 nm y, en otra submodalidad, de alrededor de 60 a alrededor de 120 nm. Preferentemente, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 60 nm a alrededor de 100 nm. Los tamaños promedio (diámetros) de la LNP totalmente formada pueden medirse con dispersión dinámica de la luz en un instrumento Malvern Zetasizer. La muestra de LNP se diluye en solución salina amortiguada con fosfato (PBS), de modo que la velocidad de recuento sea de aproximadamente 200 – 400 kcps. Los datos se presentan como promedio ponderado de la medición de intensidad.

En las modalidades de la presente descripción se proporcionan composiciones lipídicas descritas de acuerdo con las relaciones molares respectivas de los componentes lipídicos en la composición. Todos los números de % molar se proporcionan como una fracción del componente lipídico de la composición lipídica o, más específicamente, las composiciones de LNP. En determinadas modalidades, el % molar del compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) puede ser de alrededor de 30 % molar a alrededor de 70 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del compuesto con la Fórmula (I) (IA), (I), (II), o (III)

puede ser de al menos 30 % molar, al menos 40 % molar, al menos 50 % molar o al menos 60 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido neutro puede ser de alrededor de 0 % molar a alrededor de 30 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido neutro puede ser de alrededor de 0 % molar a alrededor de 20 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido neutro puede ser de alrededor de 10 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido neutro puede ser de alrededor de 9 % molar.

En determinadas modalidades, el % molar del lípido auxiliar puede ser de alrededor de 0 % molar a alrededor de 80 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido auxiliar puede ser de alrededor de 20 % molar a alrededor de 60 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido auxiliar puede ser de alrededor de 30 % molar a alrededor de 50 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido auxiliar puede ser de alrededor de 30 % molar a alrededor de 40 % molar o de alrededor de 35 % molar a alrededor de 45 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido auxiliar se ajusta en función de la concentración del compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), del lípido neutro y/o del lípido de PEG para llevar el componente lipídico al 100 % molar.

En determinadas modalidades, el % molar del lípido de PEG puede ser de alrededor de 1 % molar a alrededor de 10 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido de PEG puede ser de alrededor de 1 % molar a alrededor de 4 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido de PEG puede ser de alrededor de 1 % molar a alrededor de 2 % molar. En determinadas modalidades, el % molar del lípido de PEG puede ser de alrededor de 1,5 % molar.

En diversas modalidades, una composición de LNP comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal de estos (tal como una sal farmacéuticamente aceptable de estos (por ejemplo, tal como se describe en la presente)), un lípido neutro (por ejemplo, DSPC), un lípido auxiliar (por ejemplo, colesterol) y un lípido de PEG (por ejemplo, PEG2k-DMG). En algunas modalidades, una composición de LNP comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos (por ejemplo, tal como se describe en la presente), DSPC, colesterol y un lípido de PEG. En algunas de dichas modalidades, la composición de LNP comprende un lípido de PEG que comprende DMG, tal como PEG2k-DMG. En determinadas modalidades preferidas, una composición de LNP comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, colesterol, DSPC y PEG2k-DMG.

En determinadas modalidades, las composiciones lipídicas, tal como composiciones de LNP, comprenden un componente lipídico y un componente de ácido nucleico, por ejemplo, un componente de ARN, y se

puede medir la relación molar del compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) con respecto al ácido nucleico. En las modalidades de la presente descripción también se proporcionan composiciones lipídicas que tienen una relación molar definida entre los grupos amina con carga positiva de las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) (N) y los grupos fosfato con carga negativa (P) del ácido nucleico que se va a encapsular. Esto puede representarse matemáticamente mediante la ecuación N/P. En algunas modalidades, una composición lipídica, tal como una composición de LNP, puede comprender un componente lipídico que comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos; y un componente de ácido nucleico, en donde la relación de N/P es de alrededor de 3 a 10. En algunas modalidades, una composición de LNP puede comprender un componente lipídico que comprende un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos; y un componente ARN, en donde la relación de N/P es de alrededor de 3 a 10. Por ejemplo, la relación de N/P puede ser de alrededor de 4-7. De manera alternativa, la relación de N/P puede ser de alrededor de 6, por ejemplo, 6 ± 1 o 6 ± 0,5.

En algunas modalidades, el componente acuoso comprende un agente biológicamente activo. En algunas modalidades, el componente acuoso comprende un polipéptido, opcionalmente, combinado con un ácido nucleico. En algunas modalidades, el componente acuoso comprende un ácido nucleico, tal como un ARN. En algunas modalidades, el componente acuoso es un componente de ácido nucleico. En algunas modalidades, el componente de ácido nucleico comprende ADN y se puede denominar componente de ADN. En algunas modalidades, el componente de ácido nucleico comprende ARN y se puede denominar componente de ARN. En algunas modalidades, el componente acuoso, tal como un componente de ARN, puede comprender un ARNm, tal como un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN. En algunas modalidades, el agente de unión a ADN guiado por ARN es una nucleasa Cas. En determinadas modalidades, el componente acuoso puede comprender un ARNm que codifica Cas9. En determinadas modalidades, el componente acuoso puede comprender un ARNg. En algunas composiciones que comprenden un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, la composición comprende, además, un ácido nucleico de ARNg, tal como un ARNg. En algunas modalidades, el componente acuoso comprende un agente de unión a ADN guiado por ARN y un ARNg. En algunas modalidades, el componente acuoso comprende un ARNm de nucleasa Cas y un ARNg. En algunas modalidades, el componente acuoso comprende un ARNm de nucleasa Cas de clase 2 y un ARNg. En determinadas modalidades, una composición lipídica, tal como una composición de LNP, puede

comprender un ARNm que codifica una nucleasa Cas tal como una nucleasa Cas de clase 2, un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, un lípido auxiliar, opcionalmente, un lípido neutro y un lípido de PEG. En determinadas composiciones que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas, tal como una nucleasa Cas de clase 2, el lípido auxiliar es colesterol. En otras composiciones de LNP que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas, tal como una nucleasa Cas clase 2, el lípido neutro es DSPC. En modalidades adicionales que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas, tal como una nucleasa Cas de clase 2, por ejemplo, Cas9, el lípido de PEG es PEG2k-DMG. En composiciones específicas que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas tal, como una nucleasa Cas de clase 2, y un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos. En determinadas composiciones, la composición comprende, además, un ARNg, tal como un ARNgd o un ARNgs.

En algunas modalidades, una composición lipídica, tal como una composición de LNP, puede comprender un ARNg. En determinadas modalidades, una composición puede comprender un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, un ARNg, un lípido auxiliar, opcionalmente, un lípido neutro y un lípido de PEG. En determinadas composiciones de LNP que comprenden un ARNg, el lípido auxiliar es colesterol. En algunas composiciones que comprenden un ARNg, el lípido neutro es DSPC. En modalidades adicionales que comprenden un ARNg, el lípido de PEG es PEG2k-DMG. En determinadas composiciones, el ARNg se selecciona de ARNgd y ARNgs.

En determinadas modalidades, una composición lipídica, tal como una composición de LNP, comprende un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN y un ARNg, que puede ser un ARNgs, en un componente acuoso y un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III) en un componente lipídico. Por ejemplo, una composición de LNP puede comprender un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, un ARNm que codifica una nucleasa Cas, un ARNg, un lípido auxiliar, un lípido neutro y un lípido de PEG. En determinadas composiciones que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas y un ARNg, el lípido auxiliar es colesterol. En algunas composiciones que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas y un ARNg, el lípido neutro es DSPC. En modalidades adicionales que comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas y un ARNg, el lípido de PEG es PEG2k-DMG.

En determinadas modalidades, las composiciones lipídicas, tal como las composiciones de LNP incluyen un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como un ARNm de Cas de clase 2 y al menos un ARNg. En determinadas modalidades, la composición de LNP incluye una relación de ARNg con respecto a

ARNm de agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como ARNm de nucleasa Cas de clase 2 de alrededor de 1:1 o alrededor de 1:2. En algunas modalidades, la relación es de alrededor de 25:1 a alrededor de 1:25, de alrededor de 10:1 a alrededor de 1:10, de alrededor de 8:1 a alrededor de 1:8, de alrededor de 4:1 a alrededor de 1:4, o de alrededor de 2:1 a alrededor de 1:2.

Las composiciones lipídicas descritas en la presente, tales como las composiciones de LNP, pueden incluir una plantilla ácido nucleico, por ejemplo, una plantilla de ADN. La plantilla de ácido nucleico puede administrarse junto con las composiciones lipídicas o separada de estas, que comprenden un compuesto con la Fórmula (IA), (I), (II), o (III), o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, que incluyen como composiciones de LNP. En algunas modalidades, la plantilla de ácido nucleico puede ser monocatenaria o bicatenaria, dependiendo del mecanismo de reparación deseado. La plantilla puede tener regiones de homología respecto al ADN diana, por ejemplo, dentro de la secuencia de ADN diana y/o respecto a secuencias adyacentes al ADN diana.

En algunas modalidades, las LNP se forman mediante la mezcla de una solución acuosa de ARN con una solución lipídica a base de solvente orgánico. Las soluciones o solventes adecuados incluyen o pueden contener: agua, PBS, amortiguador Tris, NaCl, amortiguador de citrato, amortiguador de acetato, etanol, cloroformo, dietiléter, ciclohexano, tetrahidrofurano, metanol, isopropanol. Por ejemplo, el solvente orgánico puede ser etanol al 100 %. Se puede usar un amortiguador farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, para la administración *in vivo* de LNP. En determinadas modalidades, el amortiguador se utiliza para mantener el pH de la composición que comprende LNP a un pH de 6,5 o superior. En determinadas modalidades, el amortiguador se utiliza para mantener el pH de la composición que comprende LNP a un pH de 7,0 o superior. En determinadas modalidades, la composición tiene un pH en el intervalo de alrededor de 7,2 a alrededor de 7,7. En modalidades adicionales, la composición tiene un pH en el intervalo de alrededor de 7,3 a alrededor de 7,7, o en el intervalo de alrededor de 7,4 a alrededor de 7,6. En modalidades adicionales, la composición tiene un pH de alrededor de 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6 o 7,7. El pH de la composición puede medirse con una micro sonda de pH. En determinadas modalidades, se incluye un crioprotector en la composición. Los ejemplos no taxativos de crioprotectores incluyen sacarosa, trehalosa, glicerol, DMSO y etilenglicol. Las composiciones ilustrativas pueden incluir hasta 10 % de crioprotector, tal como, por ejemplo, sacarosa. En determinadas modalidades, la composición puede comprender tris, solución salina y sacarosa (TSS). En determinadas modalidades, la composición de LNP puede incluir alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 % de crioprotector. En determinadas modalidades, la composición de LNP puede incluir alrededor de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 % de sacarosa. En algunas

modalidades, la composición de LNP puede incluir un amortiguador. En algunas modalidades, el amortiguador puede comprender un amortiguador de fosfato (PBS), un amortiguador Tris, un amortiguador de citrato y mezclas de estos. En determinadas modalidades, el amortiguador comprende NaCl. En determinadas modalidades, el amortiguador carece de NaCl. Los ejemplos de cantidades de NaCl pueden variar de alrededor de 20 mM a alrededor de 45 mM. Los ejemplos de cantidades de NaCl pueden variar de alrededor de 40 mM a alrededor de 50 mM. En algunas modalidades, la cantidad de NaCl es de alrededor de 45 mM. En algunas modalidades, el amortiguador es amortiguador Tris. Los ejemplos de cantidades de Tris pueden variar de alrededor de 20 mM a alrededor de 60 mM. Los ejemplos de cantidades de Tris pueden variar de alrededor de 40 mM a alrededor de 60 mM. En algunas modalidades, la cantidad de Tris es de alrededor de 50 mM. En algunas modalidades, el amortiguador comprende NaCl y Tris. Determinadas modalidades ilustrativas de las composiciones de LNP contienen sacarosa al 5 % y NaCl 45 mM en amortiguador Tris. En otras modalidades ilustrativas, las composiciones contienen sacarosa en una cantidad de alrededor de 5 % p/v, NaCl alrededor de 45 mM y Tris alrededor de 50 mM a pH 7,5. Las cantidades de sal, amortiguador y crioprotector pueden variar de modo que se mantenga la osmolalidad de la composición total. Por ejemplo, la osmolalidad final puede mantenerse por debajo de 450 mOsm/L. En otras modalidades, la osmolalidad se encuentra entre 350 y 250 mOsm/L. Determinadas modalidades tienen una osmolalidad final de 300 +/- 20 mOsm/L o 310 +/- 40 mOsm/L.

En algunas modalidades, se usa mezcla microfluida, mezcla en T o mezcla cruzada de la solución acuosa de ARN y la solución lipídica en un solvente orgánico. En determinados aspectos, pueden variar las velocidades de flujo, tamaño de las uniones, geometría de las uniones, forma de las uniones, diámetro del tubo, soluciones y/o concentraciones de ARN y lípidos. Las LNP o las composiciones de LNP se pueden concentrar o purificar, por ejemplo, mediante diálisis, filtro centrífugo, filtración de flujo tangencial o cromatografía. Las LNP pueden almacenarse como una suspensión, una emulsión o un polvo liofilizado, por ejemplo. En algunas modalidades, una composición de LNP se almacena a 2-8 °C, en determinados aspectos, las composiciones de LNP se almacenan a temperatura ambiente. En modalidades adicionales, una composición de LNP se almacena congelada, por ejemplo, a -20 °C o -80 °C. En otras modalidades, una composición de LNP se almacena a una temperatura en el intervalo de alrededor de 0 °C a alrededor de -80 °C. Las composiciones de LNP congeladas pueden descongelarse antes de su uso, por ejemplo, en hielo, a temperatura ambiente, o a 25 °C.

Las LNP lipídicas pueden ser, por ejemplo, microesferas (que incluyen vesículas unilamelares y multilamelares, por ejemplo, «liposomas», capas dobles de lípidos en fase lamelar que, en algunas

modalidades, son sustancialmente esféricas y, en modalidades más particulares, pueden comprender un núcleo acuoso, por ejemplo, que comprende una parte sustancial de moléculas de ARN), una fase dispersa en una emulsión, micelas o una fase interna en una suspensión.

Las composiciones lipídicas preferidas, tales como las composiciones de LNP, son biodegradables, dado que no acumulan niveles citotóxicos *in vivo* con una dosis terapéuticamente eficaz. En algunas modalidades, las composiciones no provocan una respuesta inmunitaria innata que produzca efectos sustancialmente adversos en un nivel de dosis terapéutico. En algunas modalidades, las composiciones proporcionadas en la presente no provocan toxicidad en un nivel de dosis terapéutico.

En algunas modalidades, las LNP descritas en la presente tienen un índice de polidispersión (PDI) que puede variar de alrededor de 0,005 a alrededor de 0,75. En algunas modalidades, la LNP tiene un PDI que puede variar de alrededor de 0,01 a alrededor de 0,5. En algunas modalidades, la LNP tiene un PDI que puede variar de alrededor de cero a alrededor de 0,4. En algunas modalidades, la LNP tiene un PDI que puede variar de alrededor de cero a alrededor de 0,35. En algunas modalidades, la LNP tiene un PDI que puede variar de alrededor de cero a alrededor de 0,35. En algunas modalidades, el PDI de LNP puede variar de cero a alrededor de 0,3. En algunas modalidades, la LNP tiene un PDI que puede variar de alrededor de cero a alrededor de 0,25. En algunas modalidades, el PDI de LNP puede variar de cero a alrededor de 0,2. En algunas modalidades, la LNP tiene un PDI que puede ser menor que alrededor de 0,08, 0,1, 0,15, 0,2, o 0,4.

Las LNP descritas en la presente tienen un tamaño (por ejemplo, diámetro promedio Z) de alrededor de 1 a alrededor de 250 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 10 a alrededor de 200 nm. En modalidades adicionales, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 20 a alrededor de 150 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 50 a alrededor de 150 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 50 a alrededor de 100 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 50 a alrededor de 120 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 60 a alrededor de 100 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 75 a alrededor de 150 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 75 a alrededor de 120 nm. En algunas modalidades, las LNP tienen un tamaño de alrededor de 75 a alrededor de 100 nm. A menos que se indique lo contrario, todos los tamaños mencionados en la presente son tamaños (diámetros) promedio de nanopartículas totalmente formadas, tal como se miden mediante dispersión dinámica de la luz en un Malvern Zetasizer. La muestra de nanopartículas se diluye en solución salina amortiguada con fosfato

(PBS), de manera que la velocidad de recuento sea de aproximadamente 200-400 kcps. Los datos se presentan como promedio ponderado de la medición de intensidad (diámetro promedio Z).

En algunas modalidades, las LNP se forman con una eficiencia de encapsulación promedio en el intervalo de alrededor de 50 % a alrededor de 100 %. En algunas modalidades, las LNP se forman con una eficiencia de encapsulación promedio en el intervalo de alrededor de 50 % a alrededor de 95 %. En algunas modalidades, las LNP se forman con una eficiencia de encapsulación promedio en el intervalo de alrededor de 70 % a alrededor de 90 %. En algunas modalidades, las LNP se forman con una eficiencia de encapsulación promedio en el intervalo de alrededor de 90 % a alrededor de 100 %. En algunas modalidades, las LNP se forman con una eficiencia de encapsulación promedio en el intervalo de alrededor de 75 % a alrededor de 95 %.

Carga

La carga administrada mediante la composición de LNP puede ser un agente biológicamente activo. En determinadas modalidades, la carga es o comprende uno o más agentes biológicamente activos, tales como ARNm, ARN guía, ácido nucleico, vector de expresión, plantilla de ácido nucleico, agente de unión a ADN guiado por ARN, anticuerpo (por ejemplo, monoclonal, quimérico, humanizado, nanocuerpo y fragmentos de estos, etc.), colesterol, hormona, péptido, proteína, agentes quimioterapéuticos y otros tipos de antineoplásicos, fármaco de bajo peso molecular, vitamina, cofactor, nucleósido, nucleótido, oligonucleótido, ácido nucleico enzimático, ácido nucleico antisentido, oligonucleótido formador de triples, composición de ADN o ARN antisentido, composición quimérica de ADN:ARN, alozima, aptámero, ribozima, señuelos y análogos de estos, plásmido y otros tipos de vectores, y molécula pequeña de ácido nucleico, agente de ARNi, ácido nucleico interferente corto (ARNip), ARN interferente corto (ARNip), ARN bicatenario (ARNbc), micro ARN (miARN), ARN horquillado corto (ARNhc) y moléculas de «ARN autorreplicante» (que codifica una actividad de la enzima replicasa y puede dirigir su propia replicación o amplificación in vivo), ácido nucleico peptídico (PNA), un ribonucleótido de ácido nucleico bloqueado (LNA), nucleótido de morfolino, ácido nucleico de treosa (TNA), ácido nucleico de glicol (GNA), sisiRNA (ARN interferente pequeño segmentado internamente) e ARNia (ARN interferente asimétrico). La lista que antecede de agentes biológicamente activos es solamente ilustrativa y no se pretende que sea taxativa. Dichos compuestos pueden purificarse o purificarse parcialmente, y pueden ser de origen natural o sintéticos, y pueden modificarse químicamente.

La carga administrada mediante la composición de LNP puede ser un ARN, tal como una molécula de ARNm que codifica una proteína de interés. Por ejemplo, se incluye un ARNm para expresar una proteína

tal como proteína fluorescente verde (GFP), un agente de unión a ADN guiado por ARN o una nucleasa Cas. Se proporcionan las composiciones de LNP que incluyen un ARNm de nucleasa Cas, por ejemplo, un ARNm de nucleasa Cas de clase 2, que permite la expresión en una célula de una nucleasa Cas de clase 2 tal como una proteína Cas9 o Cpf1. Además, la carga puede contener uno o más ARN guía o ácidos nucleicos que codifican ARN guía. También se puede incluir una plantilla de ácido nucleico, por ejemplo, para reparación o recombinación, en la composición, o se puede usar una plantilla de ácido nucleico en los métodos descritos en la presente. En una submodalidad, la carga comprende un ARNm que codifica una Cas9 de *Streptococcus pyogenes* y, opcionalmente, un ARNg de *S. pyogenes*. En una submodalidad adicional, la carga comprende un ARNm que codifica una Cas9 de *Neisseria meningitidis* y, opcionalmente, un ARNg de *nme*.

«ARNm» hace referencia a un polinucleótido y comprende un marco de lectura abierto que puede traducirse en un polipéptido (es decir, puede servir como sustrato para la traducción con un ribosoma y ARNt amino-acilado). El ARNm puede comprender una cadena principal de fosfato-azúcar que incluye residuos de ribosa o análogos de estos, por ejemplo, residuos de 2'-metoxi ribosa. En algunas modalidades, los azúcares de una cadena principal de fosfato-azúcar de ARNm consisten esencialmente en residuos de ribosa, residuos de 2'-metoxi ribosa, o una combinación de estos. En general, los ARNm no contienen una cantidad considerable de residuos de timidina (por ejemplo, 0 residuos o menos de 30, 20, 10, 5, 4, 3 o 2 residuos de timidina; o menos de 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,2 % o 0,1 % de contenido de timidina). Un ARNm puede contener uridinas modificadas en algunas o todas sus posiciones de uridina.

Carga de CRISPR/Cas

En determinadas modalidades, las composiciones descritas comprenden un ARNm que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como una nucleasa Cas. En modalidades particulares, las composiciones descritas comprenden un ARNm que codifica una nucleasa Cas de clase 2, tal como Cas9 de *S. pyogenes*.

Tal como se usa en la presente, un «agente de unión a ADN guiado por ARN» significa un polipéptido o complejo de polipéptidos que tienen actividad de unión a ARN y ADN, o una subunidad de unión a ADN de tal complejo, en donde la actividad de unión a ADN es específica de la secuencia y depende de la secuencia del ARN. Los agentes de unión a ADN guiados por ARN ilustrativos incluyen cleavasas/nickasas Cas y formas inactivadas de estas («agentes de unión a ADN dCas»). «Nucleasa Cas», tal como se usa en la presente, abarca cleavasas Cas, nickasas Cas y agentes de unión a ADN dCas. Los

agentes de unión de cleavasas/nickasas Cas y ADN dCas incluyen complejo de Csm o Cmr de un sistema CRISPR tipo III, la subunidad Cas10, Csm1 o Cmr2 de este, un complejo de cascada de un sistema CRISPR tipo I, la subunidad Cas3 de este y nucleasas Cas de clase 2. Tal como se usa en la presente, una «nucleasa Cas de clase 2» es un polipéptido de cadena simple con actividad de unión a ADN guiada por ARN. Las nucleasas Cas de clase 2 incluyen cleavasas/nickasas Cas de clase 2 (por ejemplo, las variantes H840A, D10A o N863A), que tienen además actividad de cleavasas o nickasa de ADN guiada por ARN y agentes de unión a ADN dCas de clase 2, en las que se inactiva la actividad de cleavasa/nickasa. Las nucleasas Cas de clase 2 incluyen, por ejemplo, proteínas Cas9, Cpf1, C2c1, C2c2, C2c3, HF Cas9 (por ejemplo, las variantes N497A, R661A, Q695A, Q926A), HypaCas9 (por ejemplo, las variantes N692A, M694A, Q695A, H698A), eSPCas9(1.0) (por ejemplo, las variantes K810A, K1003A, R1060A) y eSPCas9(1.1) (por ejemplo, las variantes K848A, K1003A, R1060A) y modificaciones de estas. La proteína Cpf1, Zetsche et ál., *Cell*, 163: 1-13 (2015), es homóloga a Cas9, y contiene un dominio de nucleasa similar a RuvC. Las secuencias de Cpf1 de Zetsche se incorporan en su totalidad mediante referencia. Véase, por ejemplo, Zetsche, Tablas S1 y S3. Véase, por ejemplo, Makarova et ál., *Nat Rev Microbiol*, 13(11): 722-36 (2015); Shmakov et ál., *Molecular Cell*, 60:385-397 (2015).

Tal como se usa en la presente, «ribonucleoproteína» (RNP) o «complejo de RNP» hace referencia a un ARN guía junto con un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como una nucleasa Cas, por ejemplo, una cleavasa Cas, nickasa Cas o un agente de unión a ADN dCas (por ejemplo, Cas9). En algunas modalidades, el ARN guía sirve para guiar el agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como Cas9, hacia una secuencia diana, y el ARN guía se hibrida y el agente se une a la secuencia diana; en los casos donde el agente es una cleavasa o una nickasa, la unión puede estar seguida de escisión o mella.

En algunas modalidades de la presente descripción, la carga para la composición de LNP incluye al menos un ARN guía que comprende secuencias guía que dirigen un agente de unión a ADN guiado por ARN, que puede ser una nucleasa (por ejemplo, una nucleasa Cas tal como Cas9), a un ADN diana. El ARNg puede guiar la nucleasa Cas o nucleasa Cas de clase 2 a una secuencia diana en una molécula de ácido nucleico diana. En algunas modalidades, un ARNg se une a una nucleasa Cas de clase 2 y proporciona especificidad de escisión mediante esta. En algunas modalidades, el ARNg y la nucleasa Cas pueden formar una ribonucleoproteína (RNP), por ejemplo, un complejo de CRISPR/Cas, tal como un complejo de CRISPR/Cas9. En algunas modalidades, el complejo de CRISPR/Cas puede ser un complejo de CRISPR/Cas9 Tipo II. En algunas modalidades, el complejo de CRISPR/Cas puede ser un complejo de CRISPR/Cas de Tipo V, tal como un complejo de Cpf1/ARN guía. Las nucleasas Cas y ARNg análogos

pueden emparejarse. Las estructuras de andamiaje de ARNg que se emparejan con cada nucleasa Cas de clase 2 varían con el sistema CRISPR/Cas específico.

«ARN guía», «ARNg» y simplemente «guía» se usan en la presente de forma indistinta para hacer referencia a un ácido nucleico análogo para un agente de unión a ADN guiado por ARN. Un ARNg puede ser un ARNcr (también conocido como ARN CRISPR) o a la combinación de un ARNcr y un ARNtr (también conocido como ARNtracr). Los ARN guía pueden incluir ARN modificados, tal como se describe en la presente. El ARNcr y ARNtr pueden asociarse como una única molécula de ARN (ARN guía simple, ARNgs) o en dos moléculas de ARN separadas (ARN guía doble, ARNgd). «ARN guía» o «ARNg» se refieren a ambos tipos. El ARNtr puede ser una secuencia de origen natural, o una secuencia de ARNtr con modificaciones o variaciones en comparación con las secuencias de origen natural.

Tal como se usa en la presente, una «secuencia guía» hace referencia a una secuencia dentro de un ARN guía que es complementaria a una secuencia diana y funciona para dirigir un ARN guía a una secuencia diana para la unión o modificación (por ejemplo, escisión) mediante un agente de unión a ADN guiado por ARN. Una «secuencia guía» también puede mencionarse como una «secuencia de direccionamiento» o una «secuencia espaciadora». Una secuencia guía puede tener una longitud de 20 pares de bases, por ejemplo, en el caso de *Streptococcus pyogenes* (es decir, Spy Cas9) y los homólogos/ortólogos de Cas9 relacionados. También pueden utilizarse secuencias más cortas o más largas como guías, por ejemplo, con 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia diana está en un gen o en un cromosoma, por ejemplo, y es complementaria a la secuencia guía. En algunas modalidades, el grado de complementariedad o de identidad entre una secuencia guía y su secuencia diana correspondiente puede ser de al menos o de alrededor de 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %. En algunas modalidades, la secuencia guía y la región diana pueden ser 100 % complementarias o idénticas con respecto a una región de al menos 15, 16, 17, 18, 19, o 20 nucleótidos contiguos. En otras modalidades, la secuencia guía y la región diana pueden contener al menos un error de emparejamiento. Por ejemplo, la secuencia guía y la secuencia diana pueden contener 1, 2, 3 o 4 errores de emparejamiento, donde la longitud total de la secuencia diana es de al menos 17, 18, 19, 20 o más pares de bases. En algunas modalidades, la secuencia guía y la región diana pueden contener 1-4 errores de emparejamiento donde la secuencia guía comprende al menos 17, 18, 19, 20 o más nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia guía y la región diana pueden contener 1, 2, 3 o 4 errores de emparejamiento, donde la secuencia guía comprende 20 nucleótidos.

Las secuencias diana para las proteínas de unión a ADN guiadas por ARN tales como las proteínas Cas

incluyen tanto la cadena positiva como la negativa del ADN genómico (es decir, la secuencia proporcionada y el complemento inverso de la secuencia), ya que el sustrato de ácido nucleico para una proteína Cas es un ácido nucleico bicatenario. Por consiguiente, cuando se dice que una secuencia guía es «complementaria a una secuencia diana», se entiende que la secuencia guía puede dirigir un ARNg para unirse al complemento inverso de la secuencia diana. Por lo tanto, en algunas modalidades, cuando la secuencia guía se une al complemento inverso de una secuencia diana, la secuencia guía es idéntica a determinados nucleótidos de la secuencia diana (por ejemplo, la secuencia diana que no incluye el PAM) excepto por la sustitución de U por T en la secuencia guía.

La longitud de la secuencia de direccionamiento puede depender del sistema de CRISPR/Cas y los componentes utilizados. Por ejemplo, diferentes nucleasas Cas de clase 2 de diferentes especies de bacterias tienen diversas longitudes de secuencia de direccionamiento óptimas. Por consiguiente, la secuencia de direccionamiento puede comprender una longitud de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50 o más de 50 nucleótidos. En algunas modalidades, la longitud de la secuencia diana es 0, 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos más larga o más corta que la secuencia guía de un sistema de CRISPR/Cas de origen natural. En determinadas modalidades, el andamiaje de ARNg y nucleasa Cas se derivará del mismo sistema CRISPR/Cas. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento puede comprender o consistir en 18-24 nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento puede comprender o consistir en 19-21 nucleótidos. En algunas modalidades, la secuencia de direccionamiento puede comprender o consistir en 20 nucleótidos.

En algunas modalidades, el ARNgs es un «ARNgs de Cas9» capaz de mediar la escisión de ADN guiada por ARN mediante una proteína Cas9. En algunas modalidades, el ARNgs es un «ARNgs de Cpf1» capaz de mediar la escisión de ADN guiada por ARN mediante una proteína Cpf1. En determinadas modalidades, el ARNg comprende un ARNcr y ARN tracr suficiente para formar un complejo activo con una proteína Cas9 y mediar la escisión de ADN guiada por ARN. En determinadas modalidades, el ARNg comprende un ARNcr suficiente para formar un complejo activo con una proteína Cpf1 y mediar la escisión de ADN guiada por ARN. Véase Zetsche 2015.

Determinadas modalidades de la descripción también proporcionan ácidos nucleicos, por ejemplo, casetes de expresión, que codifican el ARNg descrito en la presente. Un «ácido nucleico de ARN guía» se utiliza en la presente para hacer referencia a un ARN guía (por ejemplo, un ARNgs o un ARNgd) y un casete de expresión de ARN guía, que es un ácido nucleico que codifica uno o más ARN guías.

ARN modificados

En determinadas modalidades, las composiciones lipídicas, tal como las composiciones de LNP, comprenden ácidos nucleicos modificados, que incluyen ARN modificados.

Puede haber nucleósidos o nucleótidos modificados presentes en un ARN, por ejemplo, un ARNg o ARNm. Un ARNg o ARNm que comprende uno o más nucleósidos o nucleótidos modificados, por ejemplo, se denomina un ARN «modificado» para describir la presencia de una o más configuraciones o componentes de origen natural y/o no natural que se utilizan en lugar, o además, de los residuos A, G, C y U canónicos. En algunas modalidades, un ARN modificado se sintetiza sin un nucleósido o nucleótido no canónico, llamado aquí «modificado».

Los nucleósidos o nucleótidos modificados pueden incluir: (i) alteración, por ejemplo, reemplazo, de uno o ambos oxígenos que no son de unión a fosfato y/o uno o más de los oxígenos de unión a fosfato en la unión de cadena principal de fosfodiéster (un ejemplo de modificación a la cadena principal); (ii) alteración, por ejemplo, reemplazo, de un constituyente del azúcar ribosa, por ejemplo, del 2' hidroxilo en el azúcar ribosa (un ejemplo de modificación de azúcar); (iii) reemplazo en conjunto del resto de fosfato con enlazadores «defosfo» (un ejemplo de modificación de la cadena principal); (iv) modificación o reemplazo de una nucleobase de origen natural, inclusive una nucleobase no canónica (un ejemplo de modificación de base); (v) reemplazo o modificación de la cadena principal de ribosa-fosfato (un ejemplo de modificación de la cadena principal); (vi) modificación del extremo 3' o el extremo 5' del oligonucleótido, por ejemplo, eliminación, modificación o reemplazo de un grupo fosfato terminal o conjugación de un resto, casquete o enlazador (tales modificaciones al casquete 3' o 5' pueden comprender una modificación de azúcar y/o de la cadena principal); y/o (vii) modificación o reemplazo del azúcar (un ejemplo de modificación de azúcar).

Determinadas modalidades comprenden una modificación a un ARNm, ARNg o ácido nucleico. Determinadas modalidades comprenden una modificación en el extremo 5' a un ARNm, ARNg o ácido nucleico. Determinadas modalidades comprenden una modificación en el extremo 3' a un ARNm, ARNg o ácido nucleico. Un ARN modificado puede contener modificaciones en el extremo 5' y el extremo 3'. Un ARN modificado puede contener uno o más residuos modificados en ubicaciones que no sean los extremos. En determinadas modalidades, un ARNg incluye al menos un residuo modificado. En determinadas modalidades, un ARNm incluye al menos un residuo modificado.

Los ácidos nucleicos no modificados son susceptibles a la degradación, por ejemplo, mediante nucleasas intracelulares o las que se encuentran en el suero. Por ejemplo, las nucleasas pueden hidrolizar enlaces fosfodiéster de ácido nucleico. Por consiguiente, en un aspecto, los ARN (por ejemplo, ARNm, ARNg)

que se describen en la presente pueden contener uno o más nucleósidos o nucleótidos modificados, por ejemplo, para introducir estabilidad hacia las nucleasas intracelulares o basadas en suero. En algunas modalidades, las moléculas de ARNg modificado descritas en la presente pueden presentar una respuesta inmunitaria innata reducida cuando se introducen en una población de células, tanto *in vivo* como *ex vivo*. El término «respuesta inmunitaria innata» incluye una respuesta celular a ácidos nucleicos exógenos, que incluyen ácidos nucleicos de cadena simple, que implica la inducción de liberación y expresión de citocinas, particularmente, los interferones, y muerte celular.

Por consiguiente, en algunas modalidades, el ARN o el ácido nucleico en las composiciones de LNP descritas comprende al menos una modificación que confiere una estabilidad mayor o potenciada al ácido nucleico, inclusive, por ejemplo, resistencia mejorada a la digestión de nucleasa in vivo. Tal como se usan en la presente, los términos «modificación» y «modificado», en cuanto tales términos se relacionan con los ácidos nucleicos que se proporcionan en la presente, incluyen al menos una alteración que preferentemente potencia la estabilidad y hace que el ARN o el ácido nucleico sea más estable (por ejemplo, resistente a la digestión de nucleasa) que la versión natural o de origen natural del ARN o el ácido nucleico. Tal como se usan en la presente, los términos «estable» y «estabilidad», en cuanto tales términos se relacionan con los ácidos nucleicos de la presente descripción, y particularmente con respecto al ARN, hacen referencia a una resistencia mayor o potenciada a la degradación, por ejemplo, mediante nucleasa (es decir, endonucleasas o exonucleasas) que normalmente son capaces de degradar tal ARN. La mayor estabilidad puede incluir, por ejemplo, menor sensibilidad a la hidrólisis u otra destrucción con enzimas endógenas (por ejemplo, endonucleasas o exonucleasas) o condiciones dentro del tejido o la célula diana, lo que aumenta o potencia de este modo la permanencia de tal ARN o ácido nucleico en la célula, el tejido, el sujeto y/o el citoplasma seleccionado. Las moléculas de ARN o ácido nucleico estabilizadas que se proporcionan en la presente tienen semividas más prolongadas con respecto a sus homólogos no modificados de origen natural (por ejemplo, la versión natural del ARNm). También se contemplan los términos «modificación» y «modificado», en cuanto tales términos se relacionan con el ARNm de las composiciones de LNP que se describen en la presente, son alteraciones que mejoran o potencian la traducción de los ácidos nucleicos de ARNm, inclusive, por ejemplo, la inclusión de secuencias que funcionan al inicio de la traducción de proteínas (por ejemplo, la secuencia de consenso de Kozak). (Kozak, M., Nucleic Acids Res 15 (20): 8125-48 (1987)).

En algunas modalidades, un ARN o ácido nucleico de las composiciones de LNP descritas en la presente se sometió a una modificación química o biológica para hacerlo más estable. Las modificaciones

ilustrativas a un ARN, tal como un ARNm, incluyen la reducción de una base (por ejemplo, mediante la eliminación o la sustitución de un nucleótido con otro) o la modificación de una base, por ejemplo, la modificación química de una base. La expresión «modificaciones químicas», tal como se usa en la presente, incluye modificaciones que introducen químicas diferentes a las observadas en ácidos nucleicos o ARN de origen natural, por ejemplo, modificaciones covalentes tales como la introducción de nucleótidos modificados, (por ejemplo, análogos de nucleótidos o la inclusión de grupos colgantes que no se encuentran de forma natural en tales moléculas de ácido nucleico o ARN).

En algunas modalidades de una modificación de la cadena principal, el grupo fosfato de un residuo modificado puede modificarse mediante el reemplazo de uno o más de los oxígenos con un sustituyente diferente. Además, el residuo modificado, por ejemplo, residuo modificado presente en un ácido nucleico modificado, puede incluir el reemplazo en conjunto de un residuo de fosfato no modificado con un grupo fosfato modificado, tal como se describe en la presente. En algunas modalidades, la modificación de la estructura principal de fosfato puede incluir alteraciones que den como resultado ya sea un enlazador sin carga o un enlazador con carga con una distribución de carga asimétrica.

Los ejemplos de grupos fosfato modificados incluyen fosforotioato, fosforoselenatos, borano fosfatos, ésteres de borano fosfato, fosfonatos de hidrógeno, fosforamidatos, fosfonatos de arilo o alquilo y fosfodiésteres. El átomo de fósforo en un grupo fosfato no modificado es quiral. Sin embargo, el reemplazo de uno de los oxígenos que no forman puentes con uno de los átomos o grupos de átomos anteriores vuelven quiral al átomo de fósforo. El átomo de fósforo estereogénico puede poseer la configuración «R» (Rp en la presente) o la configuración «S» (Sp en la presente). La estructura principal también puede modificarse mediante el reemplazo de un oxígeno que forma puentes (es decir, el oxígeno que une el fosfato con el nucleósido) con nitrógeno (fosforamidatos puenteados), azufre (fosforotioatos puenteados) y carbono (metilenfosfonatos puenteados). El reemplazo se puede producir en cualquiera de los oxígenos de unión o en ambos oxígenos de unión. El grupo fosfato puede reemplazarse mediante conectores que no contienen fósforo, en determinadas modificaciones de la cadena principal. En algunas modalidades, el grupo fosfato con carga puede reemplazarse con un resto neutro. Los ejemplos de restos que pueden reemplazar el grupo fosfato pueden incluir, de modo no taxativo, por ejemplo, fosfonato de metilo, hidroxilamino, siloxano, carbonato, carboximetilo, carbamato, amida, tioéter, enlazador de óxido de etileno, sulfonato, sulfonamida, tioformacetal, formacetal, oxima, metilenimino, metilenmetilimino, metilenhidrazo, metilendimetilhidrazo y metilenoximetilimino.

ARNm

En algunas modalidades, una composición o formulación descrita en la presente comprende un ARNm que comprende un marco de lectura abierto (ORF) que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como una nucleasa Cas o una nucleasa Cas de clase 2, tal como se describe en la presente. En algunas modalidades, se proporciona, usa o administra un ARNm que comprende un ORF que codifica un agente de unión a ADN guiado por ARN, tal como una nucleasa Cas o una nucleasa Cas de clase 2. Un ARNm puede comprender uno o más de un casquete en 5', una región no traducida en 5' (UTR), una UTR en 3' y una cola de poliadenina. El ARNm puede comprender un marco de lectura abierto modificado, por ejemplo, para codificar una secuencia de localización nuclear o para usar codones alternados para codificar la proteína.

El ARNm en las composiciones de LNP descritas puede codificar, por ejemplo, una hormona, una enzima, un receptor, un polipéptido, un péptido, que se secretan, u otra proteína de interés que se secreta normalmente. En una modalidad, el ARNm puede tener opcionalmente modificaciones químicas o biológicas que, por ejemplo, mejoran la estabilidad y/o la semivida de tal ARNm o que mejoran o facilitan de otro modo la producción de proteínas.

Además, las modificaciones adecuadas incluyen alteraciones en uno o más nucleótidos de un codón de modo el codón que codifique el mismo aminoácido, pero sea más estable que el codón que se encuentra en la versión natural del ARNm. Por ejemplo, se ha demostrado una relación inversa entre la estabilidad del ARN y una mayor cantidad de residuos citidinas (C) y/o uridinas (U), y se descubrió que el ARN que carece de residuos de C y U es estable para la mayoría de las RNasas (Heidenreich, et ál. J Biol Chem 269, 2131-8 (1994)). En algunas modalidades, se reduce la cantidad de residuos de C y/o U en una secuencia de ARNm. En otra modalidad, se reduce la cantidad de residuos de C y/o U mediante la sustitución de un codón que codifica un aminoácido particular por otro codón que codifica el mismo aminoácido o uno relacionado. Las modificaciones contempladas a los ácidos nucleicos de ARNm también incluyen la incorporación de pseudouridinas. La incorporación de pseudouridinas en los ácidos nucleicos de ARNm puede potenciar la estabilidad y la capacidad de traducción, así como disminuir la inmunogenicidad in vivo. Véase, por ejemplo, Karikó, K., et ál., Molecular Therapy 16 (11): 1833-1840 (2008). Las sustituciones y modificaciones al ARNm pueden llevarse a cabo mediante métodos ya conocidos para el experto en la técnica.

Las limitaciones para la reducción de la cantidad de residuos de C y U en una secuencia probablemente serán mayores en la región de codificación de un ARNm, en comparación con una región no traducida, (es decir, probablemente no será posible eliminar todos los residuos de C y U presentes en el mensaje

mientras que se conserva la capacidad del mensaje de codificar la secuencia de aminoácidos deseada). La redundancia del código genético, sin embargo, presenta una oportunidad para permitir que se reduzca la cantidad de residuos de C y/o U que se encuentran presentes en la secuencia, mientras que se mantiene la misma capacidad de codificación (es decir, dependiendo de qué aminoácido se codifique con un codón, diversas posibilidades diferentes son posibles para la modificación de las secuencias de ARN).

El término modificación también incluye, por ejemplo, la incorporación de enlaces que no sean de nucleótidos o nucleótidos modificados en las secuencias de ARNm (por ejemplo, modificaciones a uno o ambos de los extremos 3′ y 5′ de una molécula de ARNm que codifica una proteína o enzima funcional secretada). Tales modificaciones incluyen la adición de bases a una secuencia de ARNm (por ejemplo, la inclusión de una cola de poli A o una cola de poli A más larga), la alteración de la UTR en 3′ o la UTR en 5′, la formación de complejos del ARNm con un agente (por ejemplo, una proteína o una molécula de ácido nucleico complementaria) y la inclusión de elementos que cambian la estructura de una molécula de ARNm (por ejemplo, que forma estructuras secundarias).

Se cree que la cola de poli A estabiliza los mensajes naturales. Por lo tanto, en una modalidad, se puede agregar una cola larga de poli A a una molécula de ARNm que, por lo tanto, hace que el ARNm sea más estable. Las colas de poli A pueden agregarse mediante el uso de una variedad de técnicas reconocidas en la técnica. Por ejemplo, pueden agregarse colas de poli A largas al ARNm sintético o transcrito in vitro mediante el uso de la poli A polimerasa (Yokoe, et ál. Nature Biotechnology. 1996; 14: 1252-1256). Un vector de transcripción también puede codificar colas de poli A largas. Además, pueden agregarse colas de poli A mediante transcripción directamente de los productos de PCR. En una modalidad, la longitud de la cola de poli A es de al menos alrededor de 90, 200, 300, 400, al menos 500 nucleótidos. En una modalidad, la longitud de la cola de poli A se ajusta para controlar la estabilidad de una molécula de ARNm modificada y, por lo tanto, la transcripción de la proteína. Por ejemplo, dado que la longitud de la cola de poli A puede influir en la semivida de una molécula de ARNm, la longitud de la cola de poli A puede ajustarse para modificar el nivel de resistencia del ARNm respecto a las nucleasas y, por lo tanto, controlar el transcurso de tiempo de la expresión de proteínas en una célula. En una modalidad, las moléculas de ARNm estabilizado son suficientemente resistentes para la degradación in vivo (por ejemplo, con nucleasas), de modo que se puedan administrar a la célula diana sin un vehículo de transferencia.

En una modalidad, un ARNm puede modificarse mediante la incorporación de secuencias no traducidas (UTR) en 3′ y/o 5′ que no se encuentran en forma natural en el ARNm de tipo salvaje. En una modalidad, la secuencia flanqueante en 3′ y/o 5′ que flanquea naturalmente un ARNm y codifica una segunda proteína

no relacionada se puede incorporar en la secuencia de nucleótidos de una molécula de ARNm que codifica una proteína funcional o terapéutica para modificarla. Por ejemplo, las secuencias en 3′ o 5′ de moléculas de ARNm que son estables (por ejemplo, globina, actina, GAPDH, tubulina, histona o enzimas cíclicas de ácido cítrico) se pueden incorporar en la región 3′ y/o 5′ de una molécula de ácido nucleico de ARNm sentido para aumentar la estabilidad de la molécula de ARNm sentido. Véase, por ejemplo, US2003/0083272.

Se pueden encontrar descripciones más detalladas de las modificaciones de ARNm en US2017/0210698A1, en las páginas 57-68, cuyo contenido se incorpora a la presente.

Plantilla de ácido nucleico

Las composiciones y los métodos que se describen en la presente pueden incluir una plantilla de ácido nucleico. La plantilla puede usarse para alterar o insertar una secuencia de ácido nucleico en el sitio diana o cerca de este para una proteína de unión a ADN guiada por ARN tal como una nucleasa Cas, por ejemplo, una nucleasa Cas de clase 2. En algunas modalidades, los métodos comprenden introducir una plantilla en la célula. En algunas modalidades, puede proporcionarse una única plantilla. En otras modalidades, pueden proporcionarse dos o más plantillas, de manera que pueda producirse la edición en dos o más sitios diana. Por ejemplo, pueden proporcionarse diferentes plantillas para editar un único gen en una célula, o dos genes diferentes en una célula.

En algunas modalidades, la plantilla puede utilizarse en recombinación homóloga. En algunas modalidades, la recombinación homóloga puede dar como resultado la integración de la secuencia de plantilla o una parte de la secuencia de plantilla en la molécula de ácido nucleico diana. En otras modalidades, la plantilla puede utilizarse en reparación dirigida por homología, que implica la invasión de la cadena de ADN en el sitio de escisión en el ácido nucleico. En algunas modalidades, la reparación dirigida por homología puede dar como resultado la inclusión de la secuencia de plantilla en la molécula de ácido nucleico diana editada. En otras modalidades adicionales, la plantilla puede utilizarse en la edición génica mediada por unión de extremos no homólogos. En algunas modalidades, la secuencia de plantilla no tiene similitud con la secuencia de ácido nucleico cerca del sitio de escisión. En algunas modalidades, se incorpora la plantilla o una parte de la secuencia de plantilla. En algunas modalidades, la plantilla incluye secuencias de repeticiones terminales invertidas (ITR) flanqueantes.

En algunas modalidades, la secuencia de plantilla puede corresponder a, comprender o consistir en una secuencia endógena de una célula diana. De manera adicional o alternativa, también puede corresponder a, comprender o consistir en una secuencia exógena de una célula diana. Tal como se usa en la presente,

el término «secuencia endógena» hace referencia a una secuencia que es natural de la célula. La expresión «secuencia exógena» hace referencia a una secuencia que no es natural de una célula, o una secuencia cuya ubicación natural en el genoma de la célula es en una ubicación diferente. En algunas modalidades, la secuencia endógena puede ser una secuencia genómica de la célula. En algunas modalidades, la secuencia endógena puede ser una secuencia cromosómica o extracromosómica. En algunas modalidades, la secuencia endógena puede ser una secuencia de plásmidos de la célula.

En algunas modalidades, la plantilla contiene ADNmc o ADNbc que contiene secuencias de repeticiones terminales invertidas (ITR) flanqueantes. En algunas modalidades, la plantilla se proporciona como un vector, plásmido, minicírculo o nanocírculo o producto de PCR.

En algunas modalidades, el ácido nucleico está purificado. En algunas modalidades, el ácido nucleico se purifica mediante el uso de un método de precipitación (por ejemplo, precipitación de LiCl, precipitación de alcohol o un método equivalente, por ejemplo, tal como se describe en la presente). En algunas modalidades, el ácido nucleico se purifica mediante el uso de un método basado en cromatografía, tal como método basado en HPLC o un método equivalente (por ejemplo, tal como se describe en la presente). En algunas modalidades, el ácido nucleico se purifica mediante el uso de un método de precipitación (por ejemplo, precipitación de LiCl) y un método de precipitación basado en HPLC. En algunas modalidades, el ácido nucleico se purifica mediante filtración de flujo tangencial (TFF).

Los compuestos o composiciones generalmente, pero no necesariamente, incluirán uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término «excipiente» incluye cualquier ingrediente que no sea el compuesto de la descripción, los demás componentes lipídicos ni el agente biológicamente activo. Un excipiente puede proporcionar una característica funcional (por ejemplo, controlar la velocidad de liberación del fármaco) y/o no funcional (por ejemplo, procesar un auxiliar o diluyente) a las composiciones. La selección del excipiente dependerá en gran medida de factores tales como el modo de administración particular, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y la estabilidad, y la naturaleza de la forma de dosificación.

Las formulaciones parenterales son típicamente suspensiones o soluciones acuosas u oleosas. Cuando la formulación es acuosa, los excipientes, tales como azúcares (inclusive, de modo no taxativo, glucosa, manitol, etc.), sales, carbohidratos y agentes amortiguadores (preferentemente, a un pH de 3 a 9), pero, para algunas aplicaciones, se pueden formular de forma más adecuada con una solución no acuosa estéril o en forma seca para ser utilizada junto con un vehículo adecuado, tal como agua estéril y libre de pirógenos (WFI).

Si bien las invenciones se describen junto con las modalidades ilustradas, se entenderá que no se pretende limitar la invención a tales modalidades. Por el contrario, se pretende que las invenciones abarquen todas las alternativas, modificaciones y equivalentes, incluso equivalentes de características específicas, que puedan incluirse dentro de las invenciones, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Tanto la descripción general como la descripción detallada que anteceden, así como los ejemplos que siguen a continuación, son ilustrativos y explicativos solamente y no restringen la descripción. Los títulos de las secciones usados en la presente tienen únicamente fines de organización y no debe interpretarse que limiten la materia deseada de ningún modo. En caso de que cualquier documento bibliográfico incorporado mediante referencia contradiga cualquier término definido en la presente memoria descriptiva, la presente memoria descriptiva será la que rija. Todos los intervalos proporcionados en la solicitud abarcan los extremos, a menos que se establezca lo contrario.

Definiciones

Cabe destacar que, tal como se usa en la presente solicitud, la forma singular «un», «una» y «el/la» incluyen referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a «una composición» incluye múltiples composiciones y la referencia a «una célula» incluye múltiples células, y similares. El uso de «o» es inclusivo y significa «y/o», a menos que se indique lo contrario.

A menos que se indique específicamente en la memoria descriptiva que antecede, las modalidades en la memoria descriptiva que mencionan «que comprende/n» varios componentes, también se contemplan como «que consiste/n en» o «que consiste/n esencialmente en» los componentes mencionados; las modalidades en la memoria descriptiva que mencionan «que consiste/n en» varios componentes, también se contemplan como «que comprende/n» o «que consiste/n esencialmente en» los componentes mencionados; las modalidades en la memoria descriptiva que mencionan «alrededor de» varios componentes, también se contemplan como «en» los componentes mencionados; y las modalidades en la memoria descriptiva que mencionan «que consiste/n esencialmente en» varios componentes, también se contemplan como «que consiste/n en» o «que comprende/n» los componentes mencionados (esta capacidad de intercambio no se aplica al uso de estos términos en las reivindicaciones).

Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el intervalo. Se entiende que los valores medidos y medibles son aproximados, tomando en cuenta las cifras significativas y el error asociado con la medición. Tal como se usan en la presente solicitud, los términos «alrededor de» y «aproximadamente» tienen su significado conocido en la técnica; el uso de uno en oposición al otro no necesariamente implica

que haya un alcance diferente. A menos que se indique de otor modo, debe entenderse que los números en la presente solicitud, con o sin un término que los modifique tal como «alrededor de» o «aproximadamente», abarcan la divergencia y/o fluctuaciones normales que comprenderá el experto en la técnica pertinente. En determinadas modalidades, el término «aproximadamente» o «alrededor de» se refiere a un intervalo de valores que se encuentra dentro del 25 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, o menos en cualquier dirección (mayor o menor) de un valor de referencia establecido a menos que se indique lo contrario o sea evidente por el contexto (excepto cuando dicho número supere el 100 % de un valor posible).

Tal como se usa en la presente, el término «poner en contacto» significa establecer una conexión física entre dos o más entidades. Por ejemplo, poner en contacto una célula de mamífero con una composición de nanopartículas significa que la célula de mamífero y una nanopartícula comparten una conexión física. Los métodos para poner en contacto células con entidades externas in vivo y ex vivo se conocen en las técnicas biológicas. Por ejemplo, el contacto de una composición de nanopartículas y una célula de mamífero dispuesta dentro de un mamífero puede realizarse mediante diversas vías de administración (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intradérmica, y subcutánea) y puede implicar diversas cantidades de composiciones de nanopartículas. Además, una composición de nanopartículas puede entrar en contacto con más de una célula de mamífero.

Tal como se usa en la presente, el término «administrar» significa proporcionar una entidad a un destino. Por ejemplo, administrar un agente terapéutico y/o profiláctico a un sujeto puede implicar administrar una composición de nanopartículas que incluye el producto terapéutico y/o profiláctico al sujeto (por ejemplo, mediante una vía intravenosa, intramuscular, intradérmica, o subcutánea). La administración de una composición de nanopartículas a un mamífero o célula de mamífero puede implicar poner en contacto uno o más células con la composición de nanopartículas.

Tal como se usa en la presente, «eficiencia de encapsulación» hace referencia a la cantidad de un agente terapéutico y/o profiláctico que se vuelve parte de una composición de nanopartículas, con respecto a la cantidad inicial total del agente terapéutico y/o profiláctico usado en la preparación de una composición de nanopartículas. Por ejemplo, si se encapsulan 97 mg de agente terapéutico y/o profiláctico en una composición de nanopartículas de un total de 100 mg de agente terapéutico y/o profiláctico proporcionado inicialmente a la composición, la eficiencia de encapsulación puede determinarse en 97 %. Tal como se usa en la presente, la «encapsulación» puede hacer referencia a un cerramiento, confinamiento, entorno o envoltura total, sustancial o parcial.

Tal como se usa en la presente, el término «biodegradable» se usa para hacer referencia a materiales que, cuando se introducen en las células, se descomponen mediante el mecanismo celular (por ejemplo, degradación enzimática) o mediante hidrólisis en componentes que las células pueden reutilizar o descartar sin efectos tóxicos significativos en las células. En determinadas modalidades, los componentes generados por la descomposición de un material biodegradable no inducen la inflamación y/u otros efectos no deseados *in vivo*. En algunas modalidades, los materiales biodegradables se descomponen en forma enzimática. De manera alternativa o adicional, en algunas modalidades, los materiales biodegradables se descomponen mediante hidrólisis.

Tal como se usa en la presente, la «relación de N/P» es la relación molar de átomos de nitrógeno ionizables (en el intervalo de pH fisiológico) en un lípido (por ejemplo, compuesto con la Fórmula I) con respecto a los grupos fosfato en un ARN, por ejemplo, en una composición de nanopartículas que incluye un componente lipídico y un ARN.

Las composiciones también pueden incluir sales de uno o más compuestos. Las sales pueden ser sales farmacéuticamente aceptables. Tal como se usa en la presente, «sales farmacéuticamente aceptables» hace referencia a derivados de los compuestos descritos, en donde el compuesto original se altera al convertir un resto de ácido o base existente en su forma salina (por ejemplo, al hacer reaccionar un grupo de base libre con un ácido orgánico adecuado). Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, de modo no taxativo, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas, sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos, y similares. Las sales de adición de ácido representativas incluyen sales de acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, sulfato de laurilo, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos, que incluyen, a modo no taxativo, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente descripción incluyen las sales no tóxicas

convencionales del compuesto original formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente descripción pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene un resto ácido o básico mediante métodos químicos convencionales. En general, dichas sales pueden prepararse al hacer reaccionar las formas básicas o ácidas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido o la base adecuados en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de ambos; en general, se prefieren los medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17.ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418, Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. H. Stahl y C. G. Wermuth (eds.), Wiley-VCH, 2008, y Berge et ál., Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19 (1977), cada uno de los cuales se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia.

Tal como se usa en la presente, el «índice de polidispersión» es una relación que describe la homogeneidad de la distribución del tamaño de partículas de un sistema. Un valor pequeño, por ejemplo, menor que 0,3 indica una distribución estrecha del tamaño de partícula. En algunas modalidades, el índice de polidispersión puede ser menor que 0,1.

Tal como se usa en la presente, «transfección» hace referencia a la introducción de una especie (por ejemplo, un ARN) en una célula. La transfección puede producirse, por ejemplo, in vitro, ex vivo o in vivo.

El término «alquilo», tal como se usa en la presente, es un grupo hidrocarburo saturado, ramificado o no ramificado de 1 a 24 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *s*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, isopentilo, *s*-pentilo, neopentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, dodecilo, tetradecilo, hexadecilo, eicosilo, tetracosilo, y similares. El grupo alquilo puede ser cíclico o acíclico. El grupo alquilo puede ser ramificado o no ramificado (es decir, lineal). El grupo alquilo también puede estar sustituido o no sustituido (preferentemente, no sustituido). Por ejemplo, el grupo alquilo puede estar sustituido con uno o más grupos que incluyen, de modo no taxativo, alquilo, cicloalquilo, alcoxi, amino, éter, haluro, hidroxi, nitro, sililo, sulfoxo, sulfonato, carboxilato o tiol, tal como se describe en la presente. Un grupo «alquilo inferior» es un grupo alquilo que contiene de uno a seis (por ejemplo, de uno a cuatro) átomos de carbono.

El término «alquenilo», tal como se usa en la presente, hace referencia a un grupo alifático que contiene al menos un enlace doble carbono-carbono y se pretende que incluya tanto «alquenilos no sustituidos» como «alquenilos sustituidos», donde estos últimos hacen referencia a restos alquenilo con sustituyentes

que remplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del grupo alquenilo. Dichos sustituyentes pueden presentarse en uno o más carbonos incluidos o no en uno o más de los enlaces dobles. Asimismo, dichos sustituyentes incluyen todos aquellos contemplados para los grupos alquilo, tal como se menciona más adelante, excepto en los casos en los que lo impide la estabilidad. Por ejemplo, se contempla que un grupo alquenilo puede sustituirse con uno o más grupos alquilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo o heteroarilo. Los grupos alquenilo ilustrativos incluyen, de modo no taxativo, vinilo (-CH=CH_2), alilo (-CH_2CH=CH_2), ciclopentenilo (-C_5H_7) y 5-hexenilo (-$CH_2CH_2CH_2CH_2$CH=CH_2).

Un grupo «alquileno» hace referencia a un radical alquilo divalente que puede ser ramificado o no ramificado (es decir, lineal). Cualquiera de los grupos alquilo monovalentes antemencionados puede convertirse en un alquileno por abstracción de un segundo átomo de hidrógeno del alquilo. Los alquilenos representativos incluyen alquileno C_{2-4} y alquileno C_{2-3}. Los grupos alquileno típicos incluyen, de modo no taxativo -CH(CH_3)-, -C(CH_3)$_2$-, -CH_2CH_2-, -CH_2CH(CH_3)-, -CH_2C(CH_3)$_2$-, -$CH_2CH_2CH_2$-, -$CH_2CH_2CH_2CH_2$-, y similares. El grupo alquileno también puede estar sustituido o no sustituido. Por ejemplo, el grupo alquileno puede estar sustituido con uno o más grupos que incluyen, de modo no taxativo, alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, alcoxi, amino, éter, haluro, hidroxi, nitro, sililo, sulfoxo, sulfonato, sulfonamida, urea, amida, carbamato, éster, carboxilato o tiol, tal como se describe en la presente.

El término «alquenileno» incluye grupos hidrocarbilo acíclico no saturados, lineales o ramificados, divalentes que tienen al menos un enlace doble carbono-carbono y, en una modalidad, no tienen enlaces triples carbono-carbono. Cualquiera de los grupos alquenilo monovalentes antemencionados puede convertirse en un alquenileno por abstracción de un segundo átomo de hidrógeno del alquenilo. Los alquenilenos representativos incluyen alquenilenos C_{2-6}.

El término «C_{x-y}», cuando se utiliza junto con un resto químico, tal como alquilo o alquileno significa que incluye grupos que contienen de x a y carbonos en la cadena. Por ejemplo, el término «alquilo C_{x-y}» hace referencia a grupos hidrocarburo saturados sustituidos o no sustituidos, inclusive grupos alquilo y alquileno de cadena lineal y de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena.

Incorporación mediante referencia

El contenido de los artículos, las patentes y las solicitudes de patente, y todos los otros documentos e información disponibles en formato electrónico que se mencionan o citan en la presente, se incorporan a esta en su totalidad mediante referencia en la misma medida que si se incorporara mediante referencia cada publicación individual en forma específica e individual. El solicitante se reserva el derecho de

incorporar en forma física a la presente solicitud todo material e información de cualquiera de tales artículos, patentes, solicitudes de patente y otros documentos físicos o electrónicos.

Ejemplos

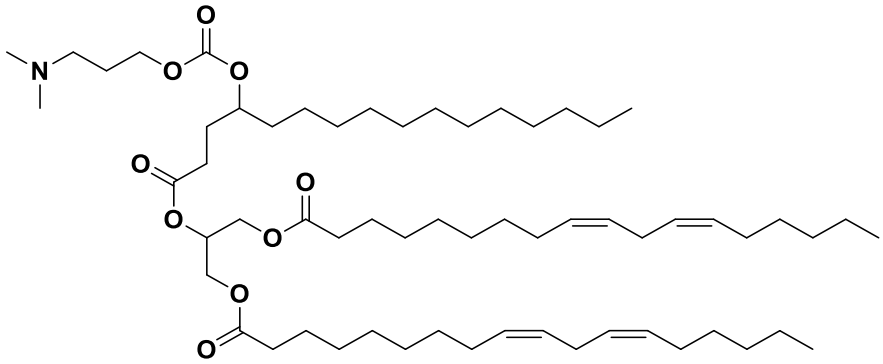
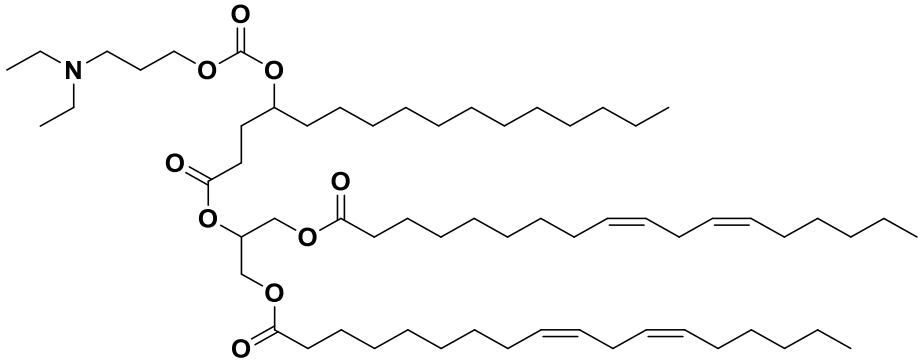
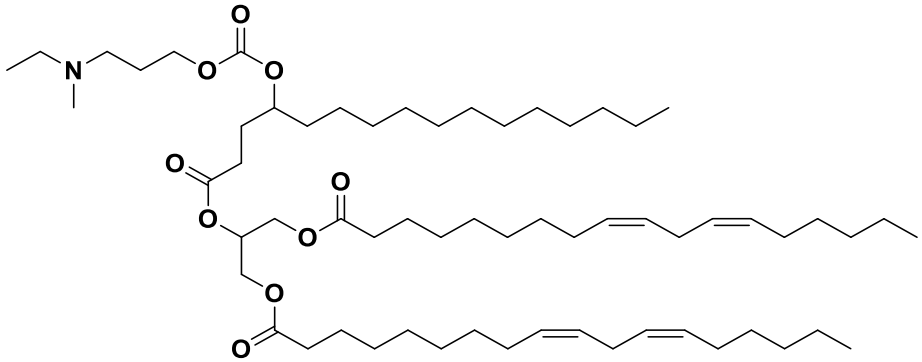
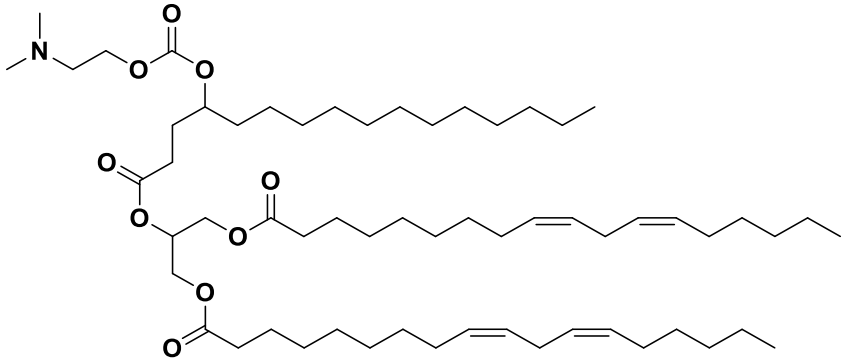
Información general

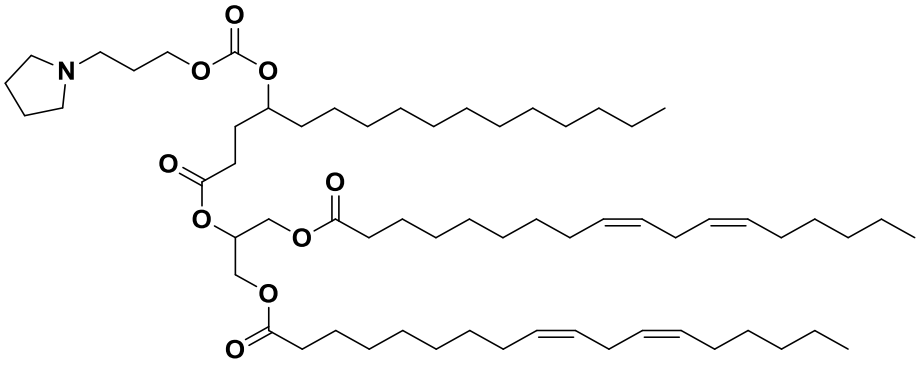
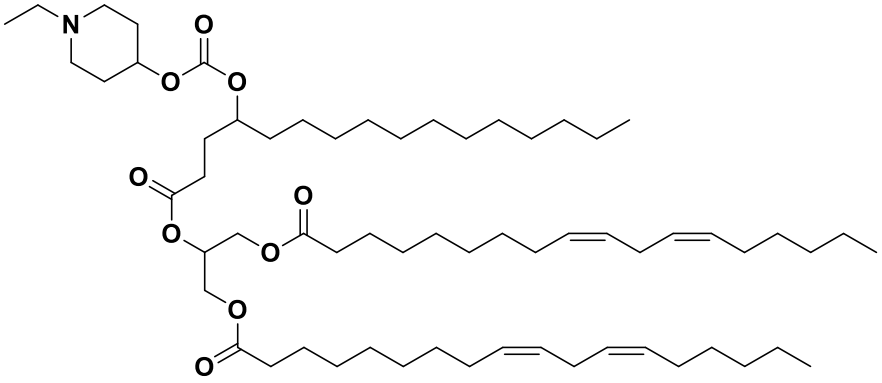
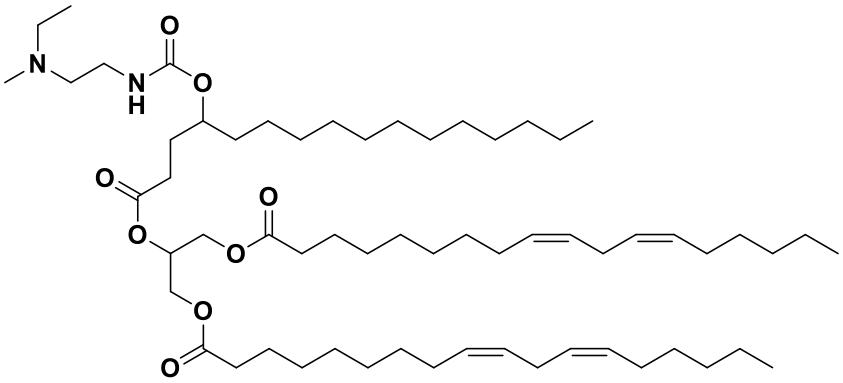
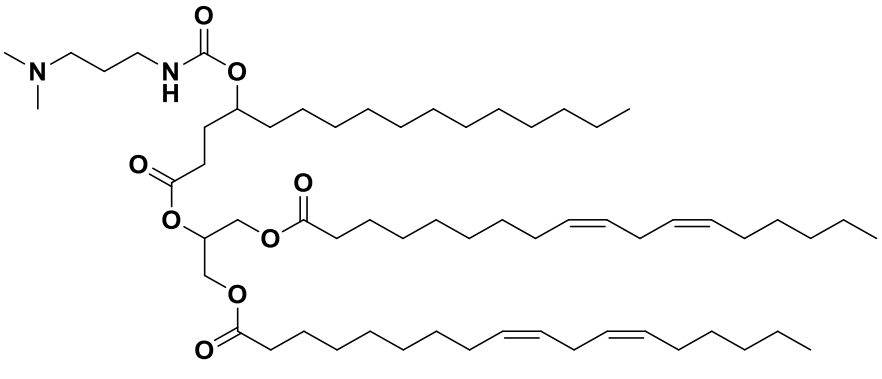
Todos los reactivos y solventes se adquirieron y se usaron tal cual se recibieron de los proveedores comerciales o se sintetizaron de acuerdo con los procedimientos citados. Todos los intermedios y compuestos finales se purificaron mediante el uso de cromatografía de columna ultrarrápida en gel de sílice. Se registraron espectros de NMR en un espectrómetro Bruker o Varian de 400 MHz y se recolectaron los datos de NMR en $CDCl_3$ a temperatura ambiente. Los cambios químicos se informaron en partes por millón (ppm) con respecto a $CDCl_3$ (7,26). Los datos para ^1H NMR se informan de la siguiente manera: desplazamiento químico, multiplicidad (br = amplio, s = singlete, d = doblete, t = triplete, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes, q = cuarteto, m = multiplete, ddd = doblete de doblete de dobletes, td = triplete de dobletes, tt = triplete de tripletes, tdd = triplete de doblete de dobletes, dddd = doblete de doblete de doblete de dobletes), constante de acoplamiento e integración. Los datos de MS se registraron en un espectrómetro de masas Waters SQD2 con una fuente de ionización por electropulverización (ESI). La pureza de los compuestos finales se determinó mediante UPLC-MS-ELS con un instrumento de cromatografía líquida Waters Acquity clase H equipado con un espectrómetro de masas SQD2 con matriz de fotodiodos (PDA) y detectores de dispersión de luz por evaporación (ELS).

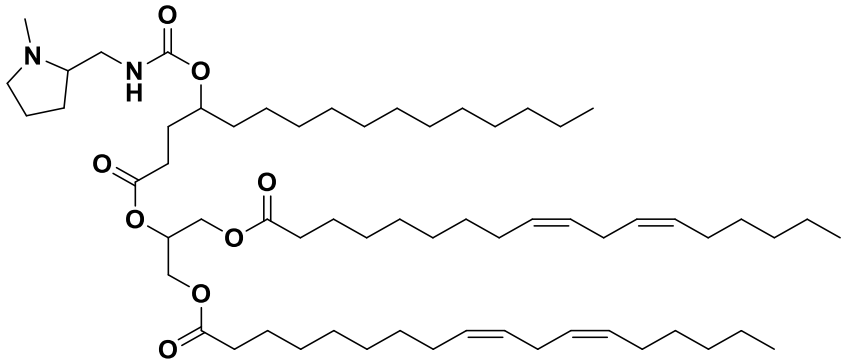
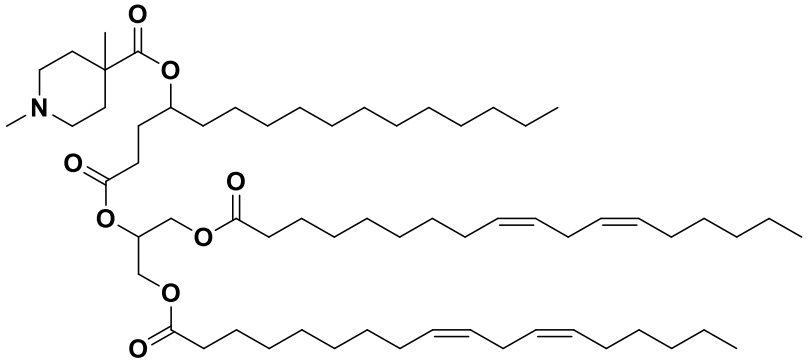
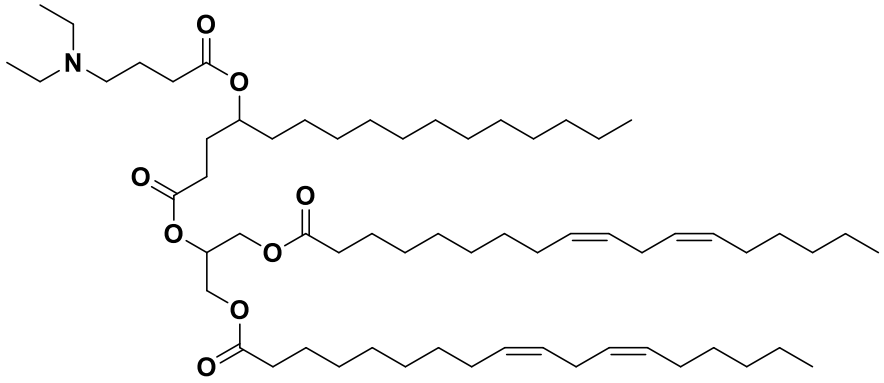
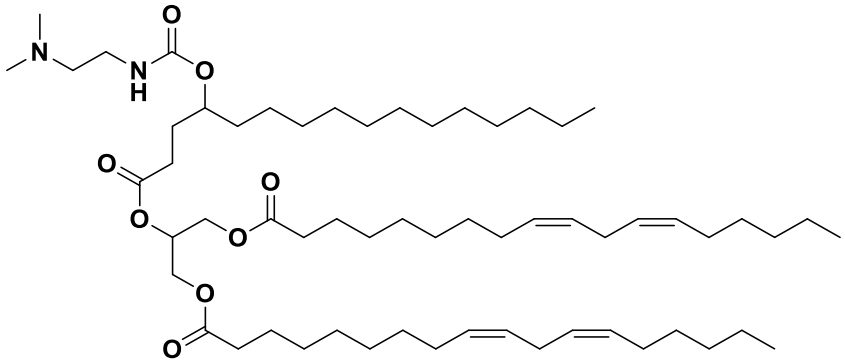
Se determinó la pKa de cada lípido con amina de acuerdo con el método en Jayaraman, et ál. (Angewandte Chemie, 2012) con las siguientes adaptaciones. Se determinó la pKa para lípidos con amina no formulados en etanol. Se diluyeron soluciones madre de lípidos (2,94 mM) en amortiguadores de fosfato de sodio (0,1 M, Boston Bioproducts) de diferente pH (intervalo de pH: 4,5-9,0), lo que produjo una concentración final de lípidos de aprox. 100 µM. Las muestras de prueba se suplementaron con TNS {sal sódica de ácido 6-(p-Toluidino)-2-naftalenosulfónico}, se incubaron y se midió la intensidad de fluorescencia mediante el uso de longitudes de onda de excitación y emisión de 321 nm y 448 nm, respectivamente. Los datos registrados se normalizaron y los valores de pKa respectivos se derivaron del ajuste sigmoidal.

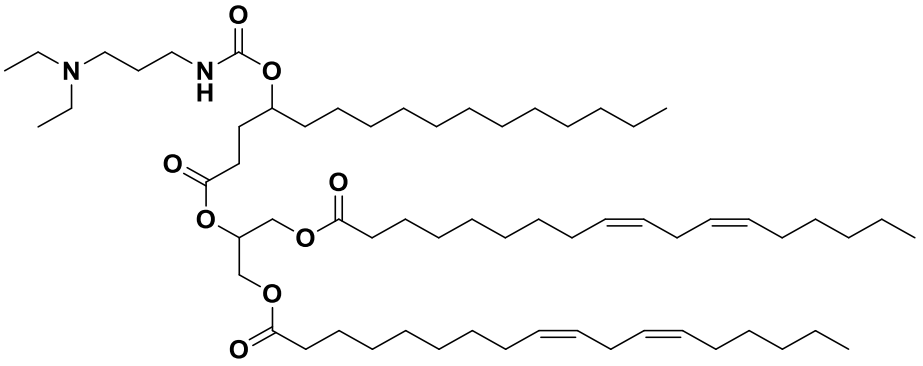
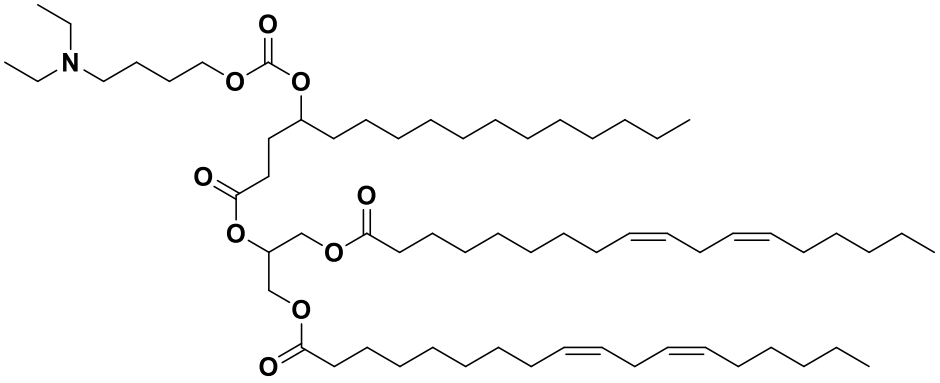
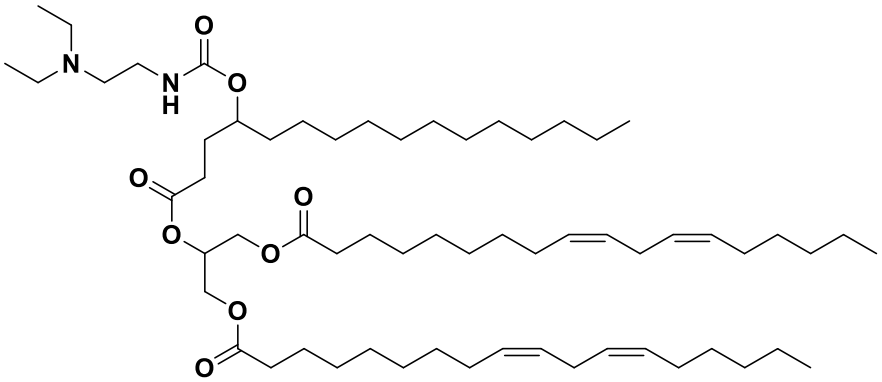
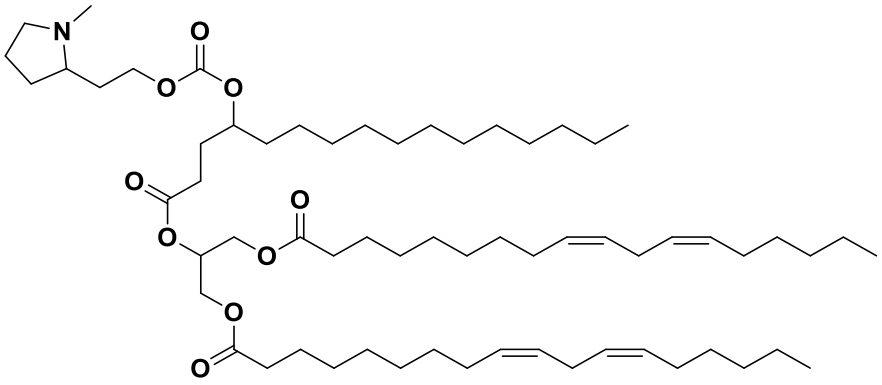
Tabla 1. Compuestos

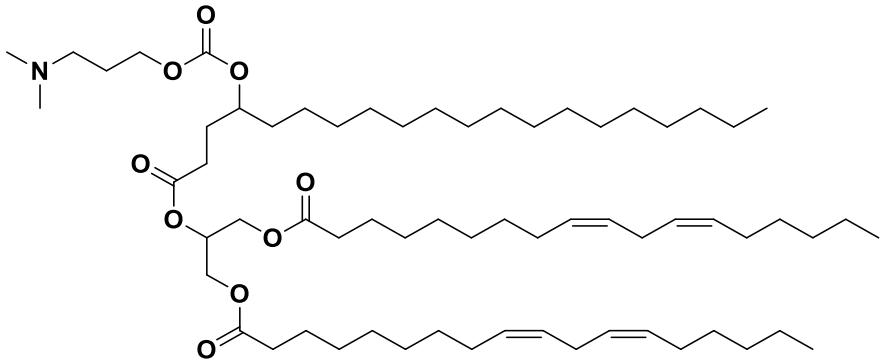
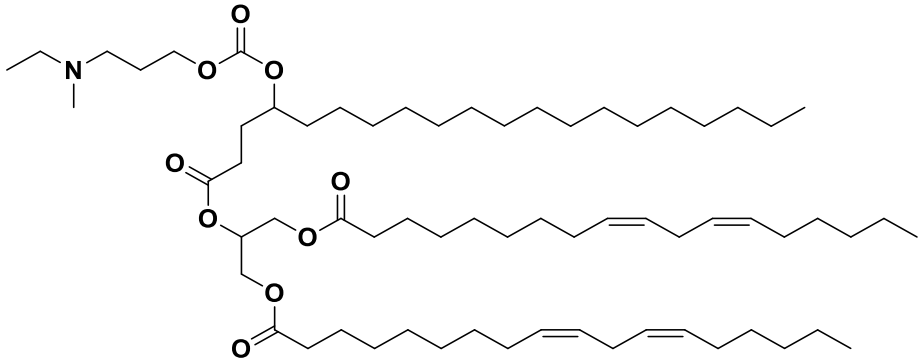
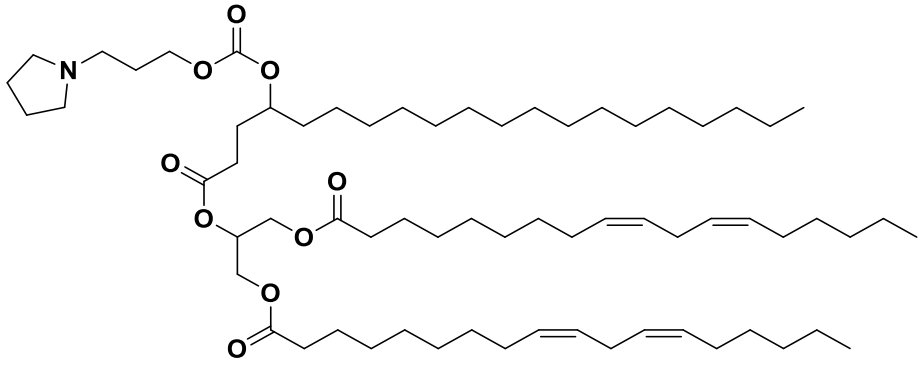
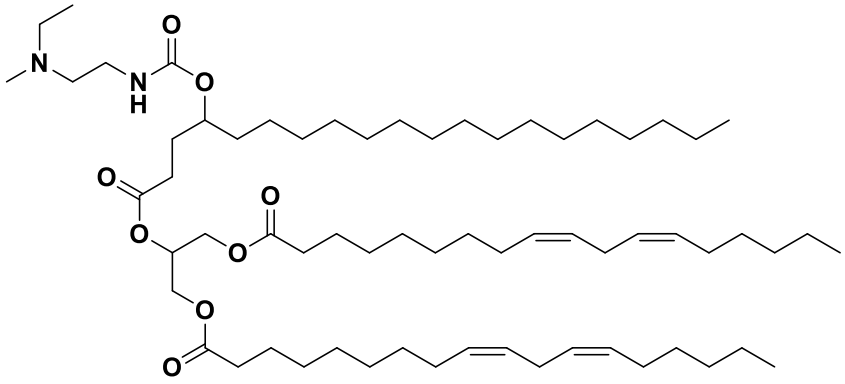
Compuesto (pKa)	Estructura

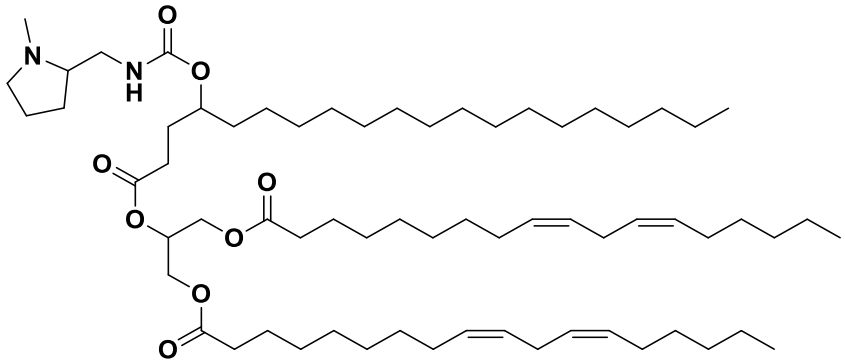
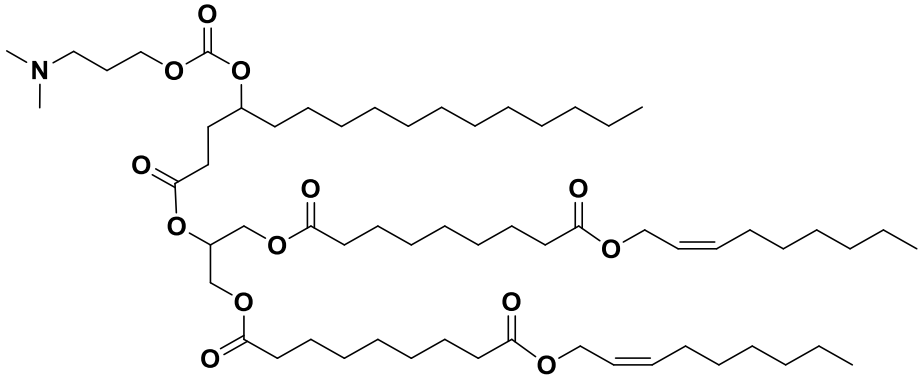
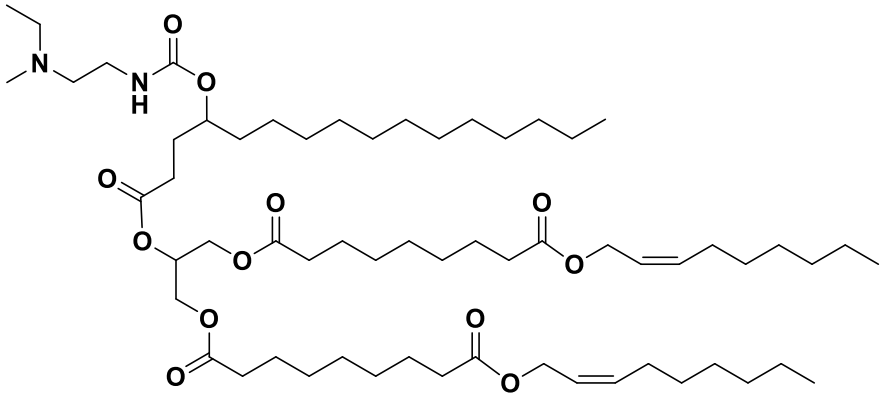
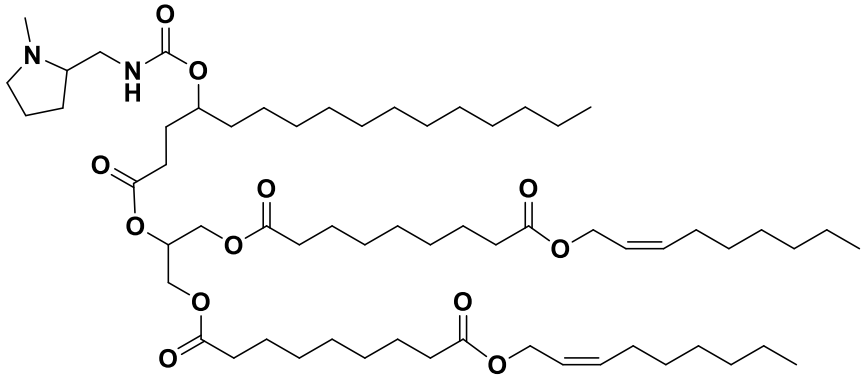
1 (6,35)	
2 (5,28)	
3 (5,89)	
4 (< 5)	

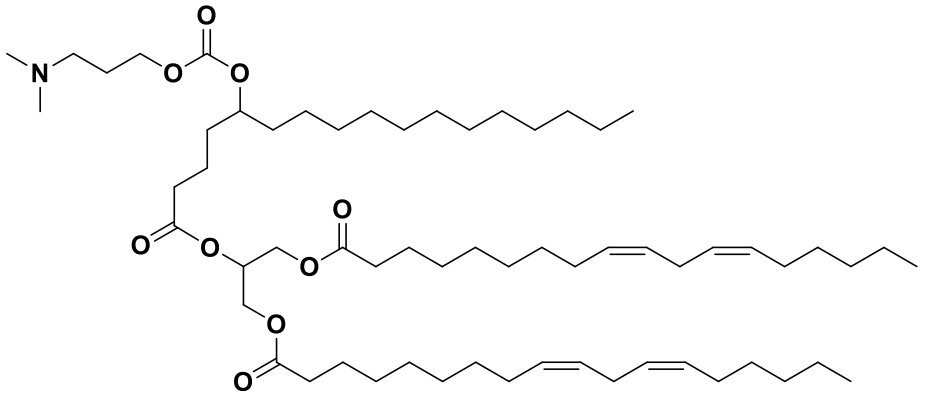
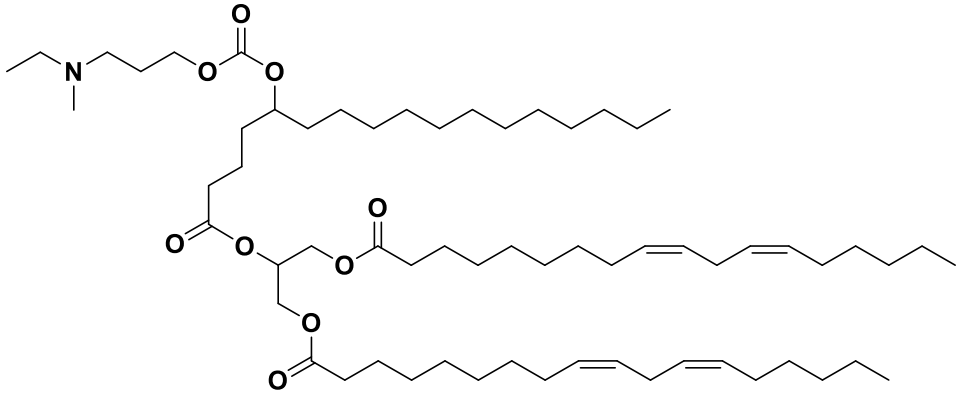
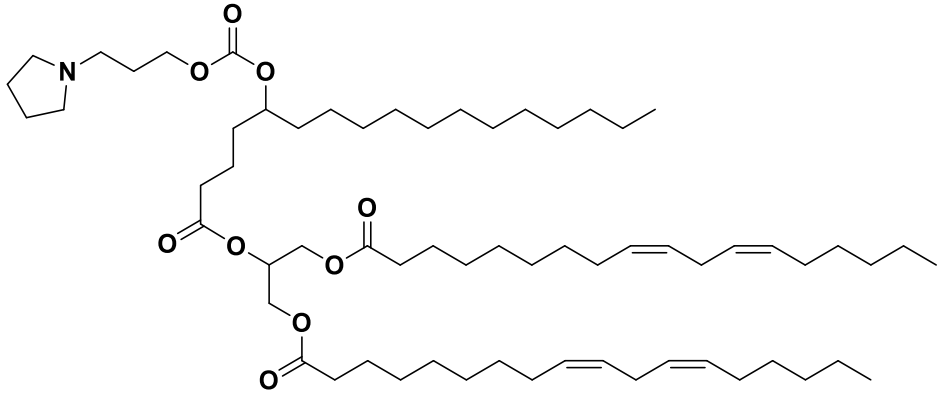
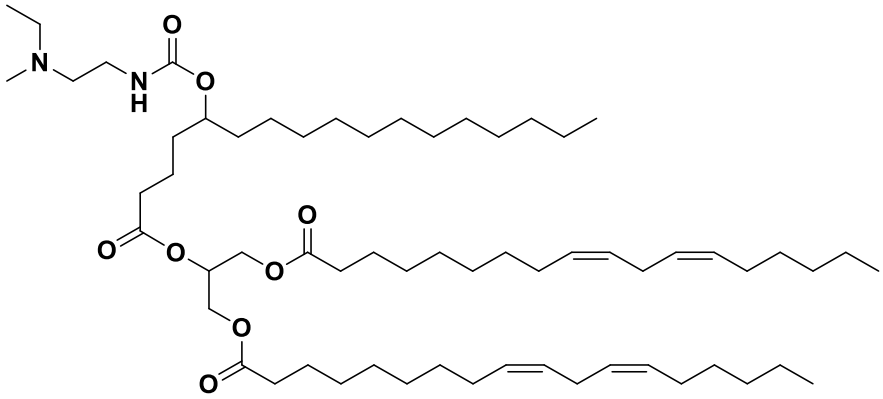
5 (6,25)	
6 (5,37)	
7 (6,36)	
8 (7,54)	

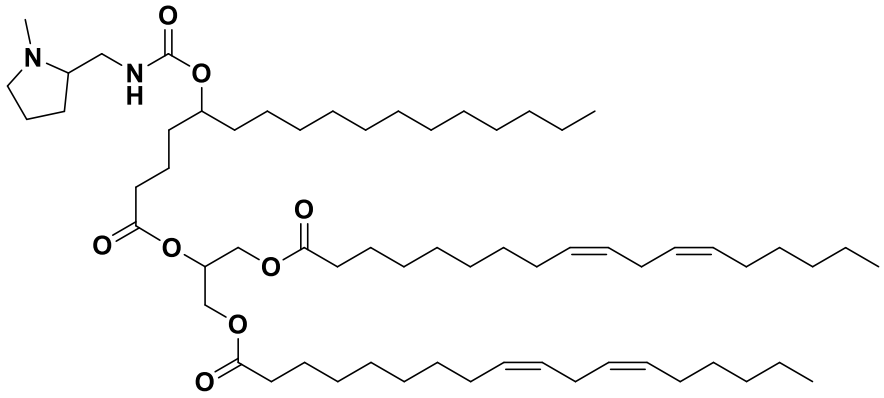
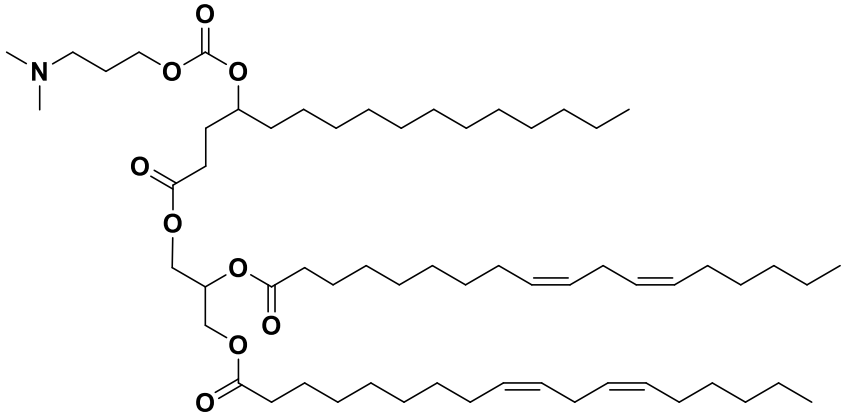
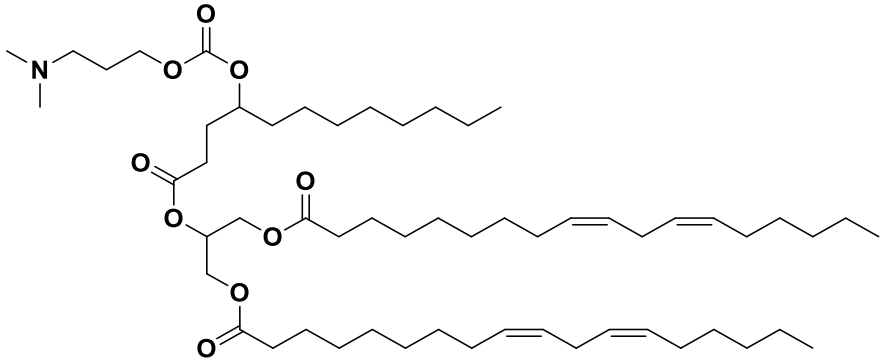
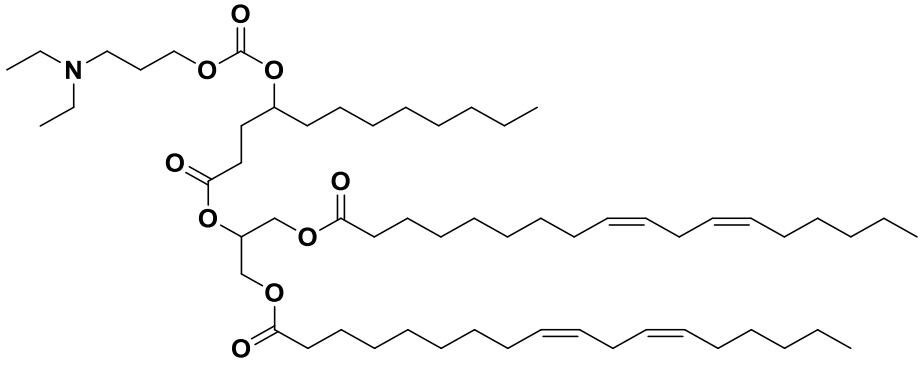
9 (6,32)	
10 (6,05)	
11 (5,60)	
12 (6,82)	

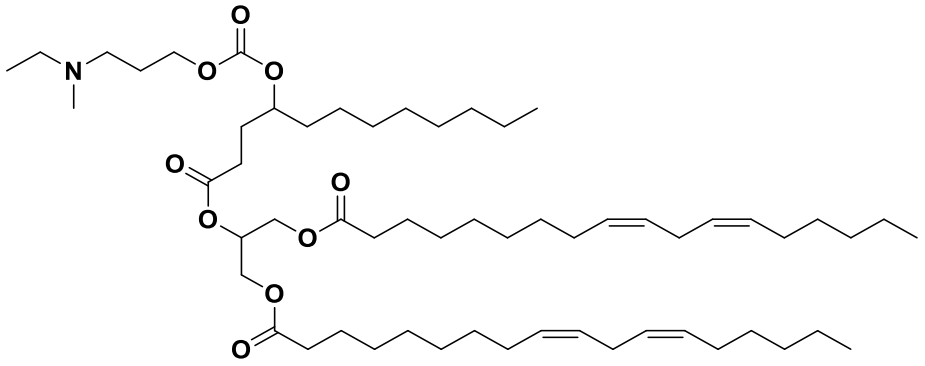
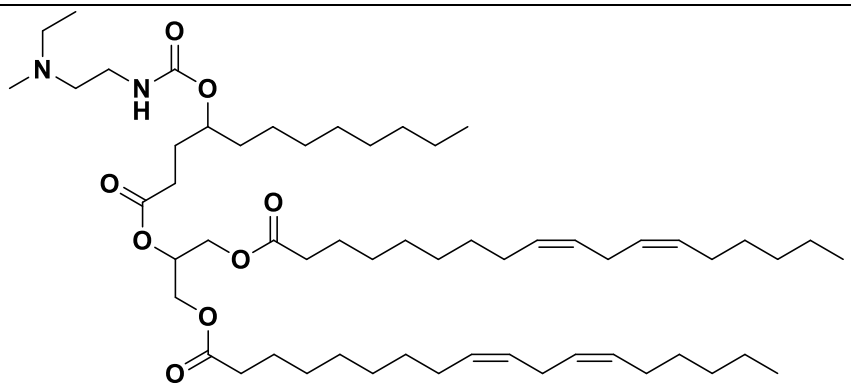
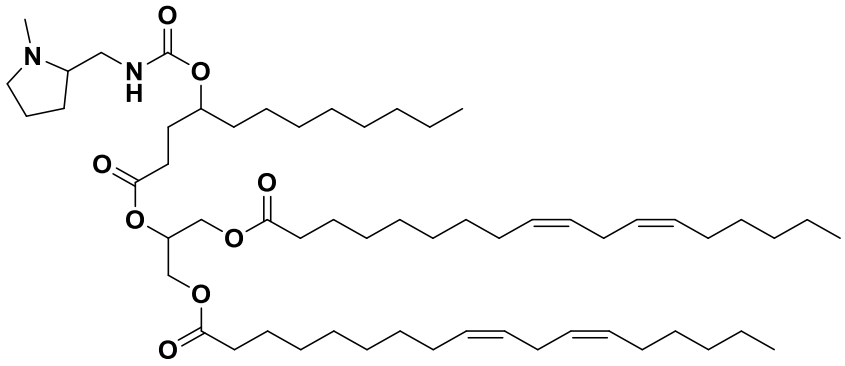
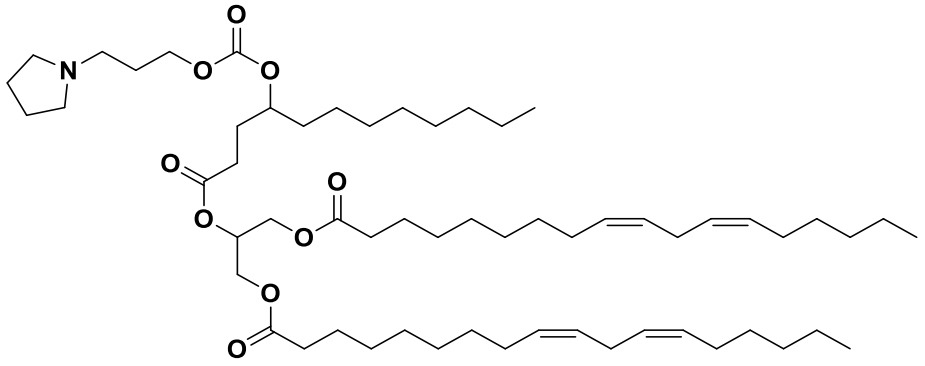
13 (7,20)	
14 (5,91)	
15 (5,90)	
16 (5,72)	

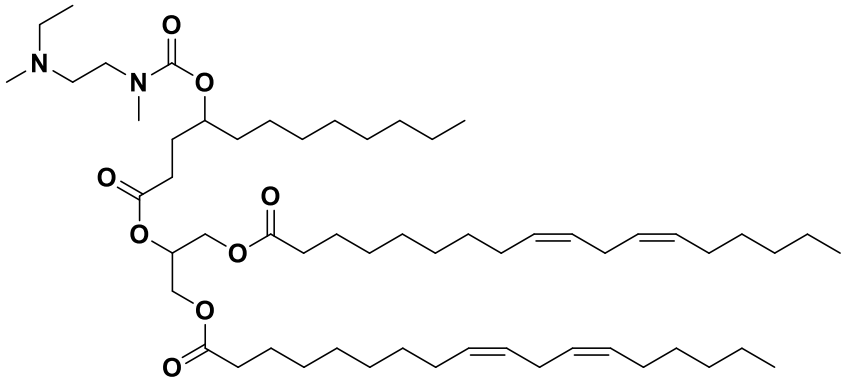
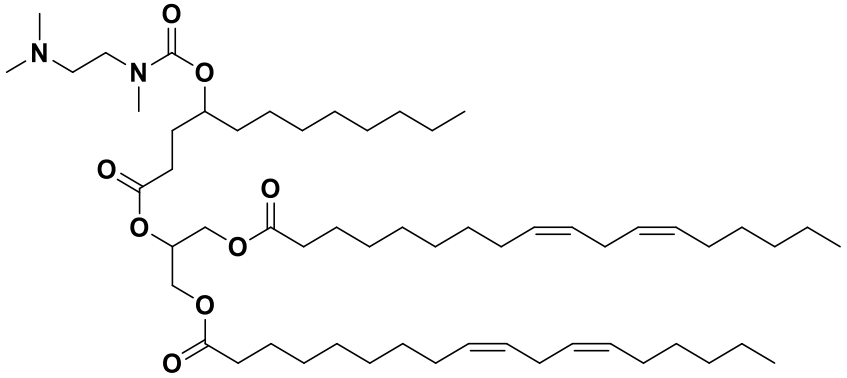
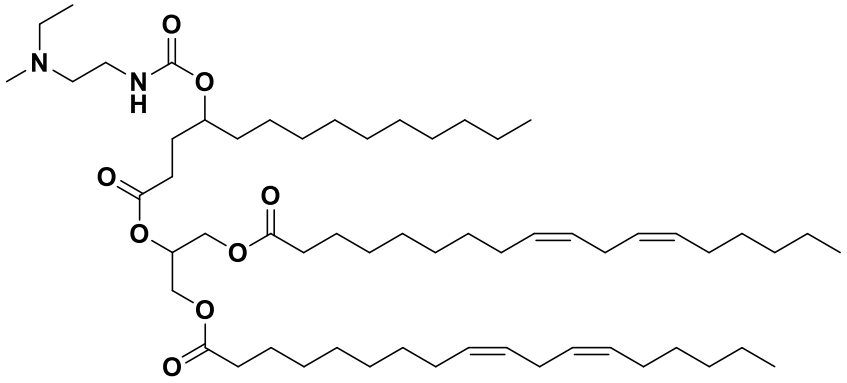
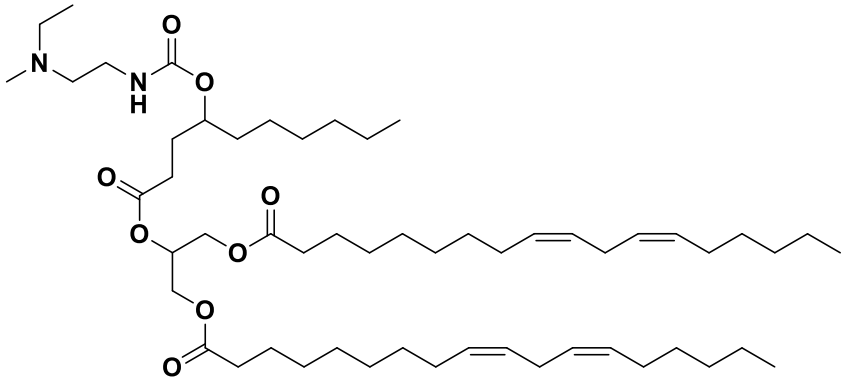
17 (6,18)	
18 (5,83)	
19 (5,99)	
20 (6,17)	

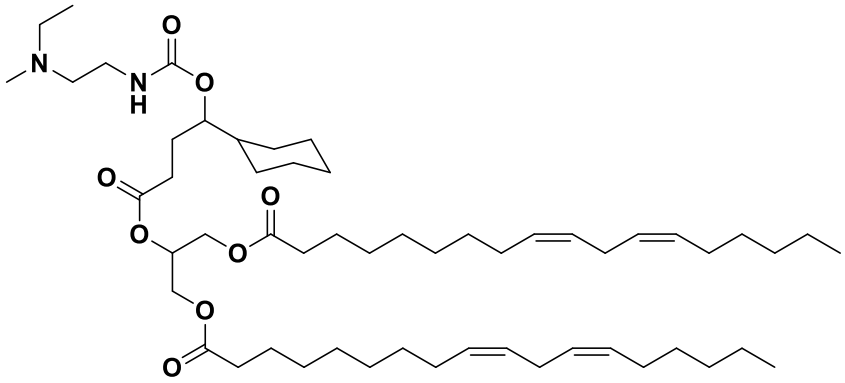
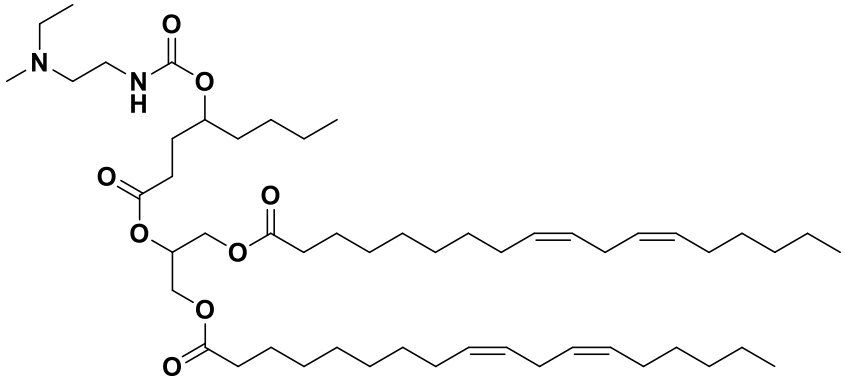
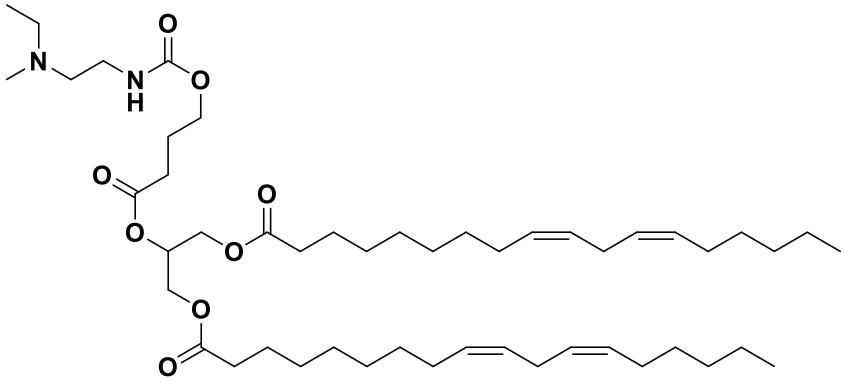
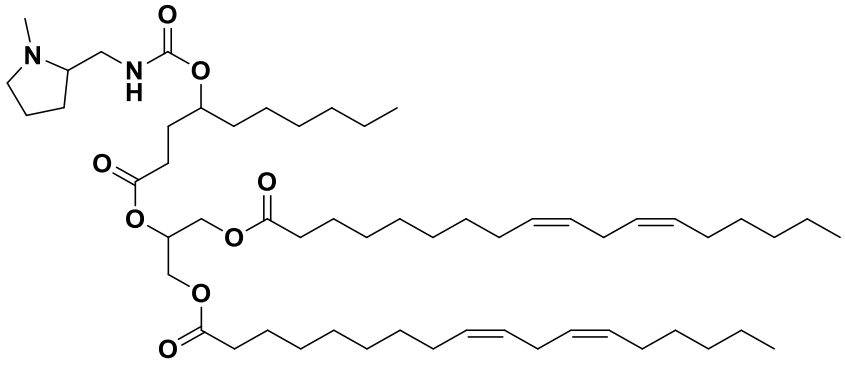
21 (6,12)	
22 (6,06)	
23 (6,19)	
24 (6,10)	

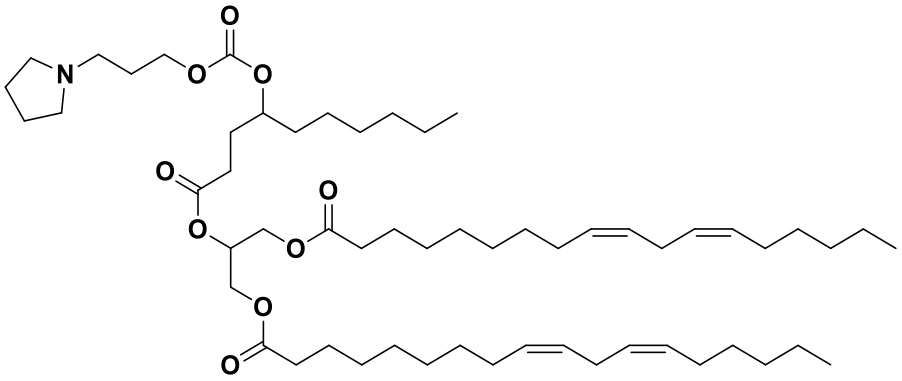
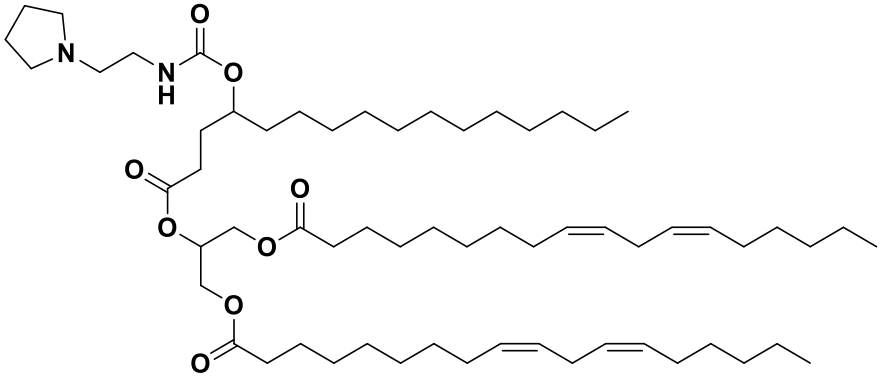
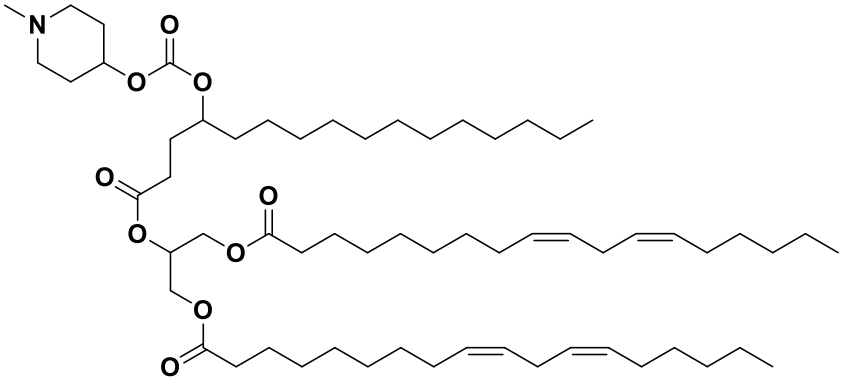
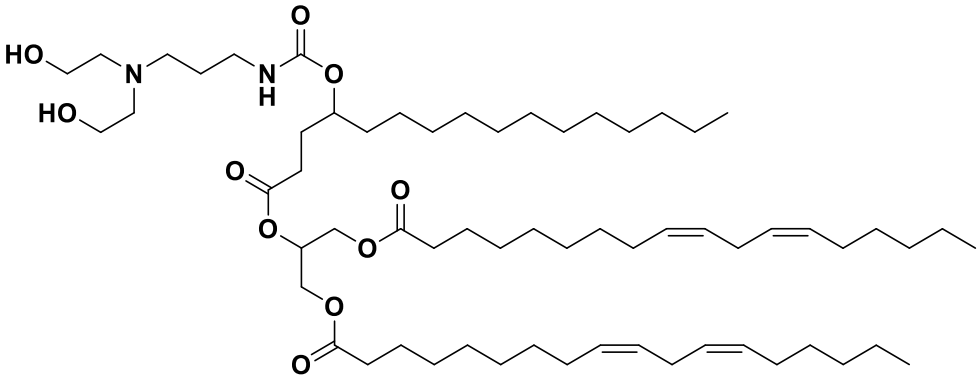
25 (6,12)	
26 (5,82)	
27 (5,97)	
28 (6,06)	

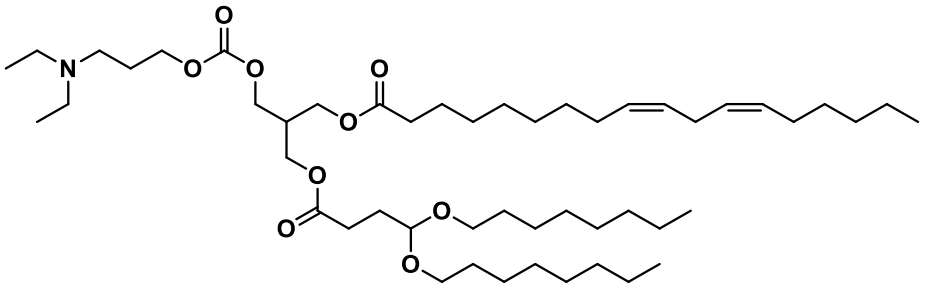
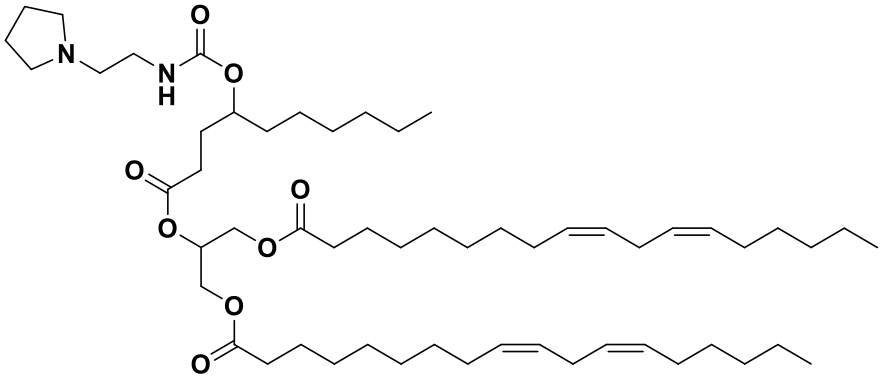
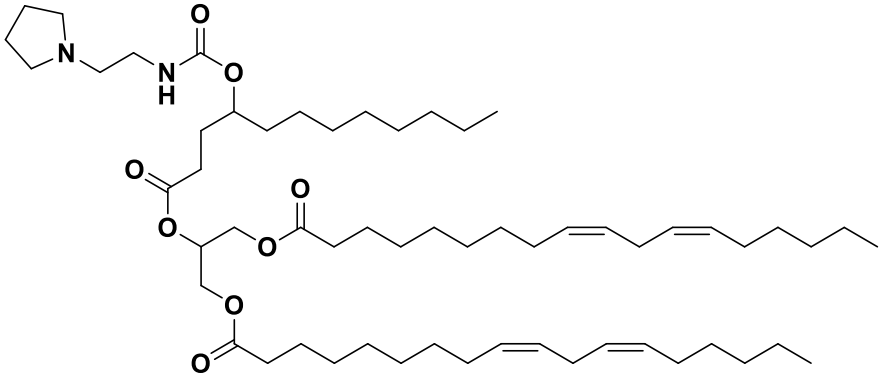
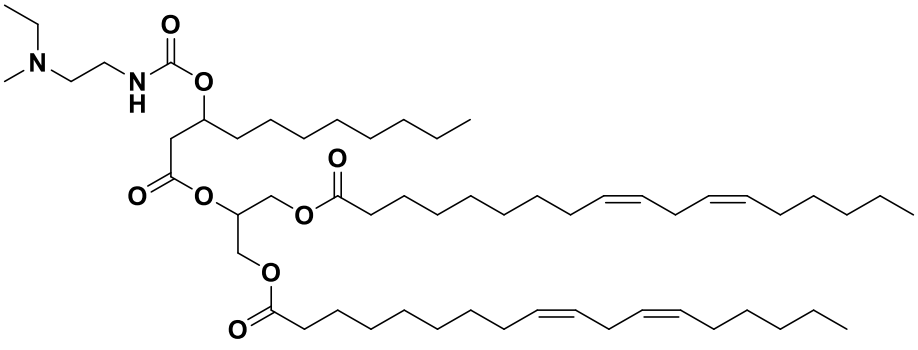
29 (6,05)	
30 (6,53)	
31 Compuesto 31 (6,28)	
32 (5,64)	

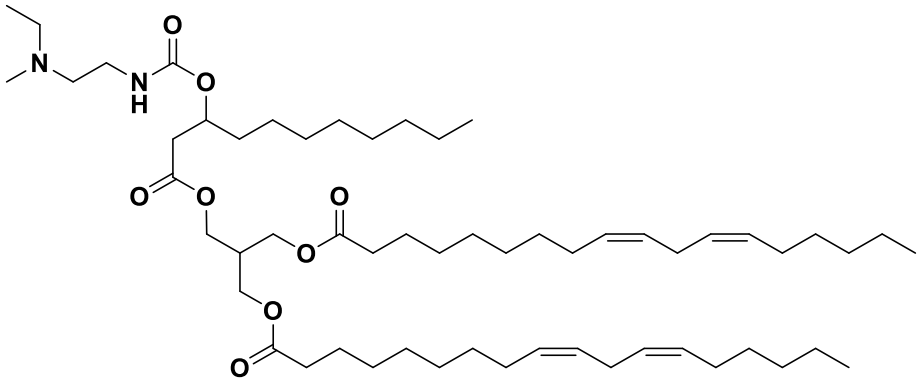
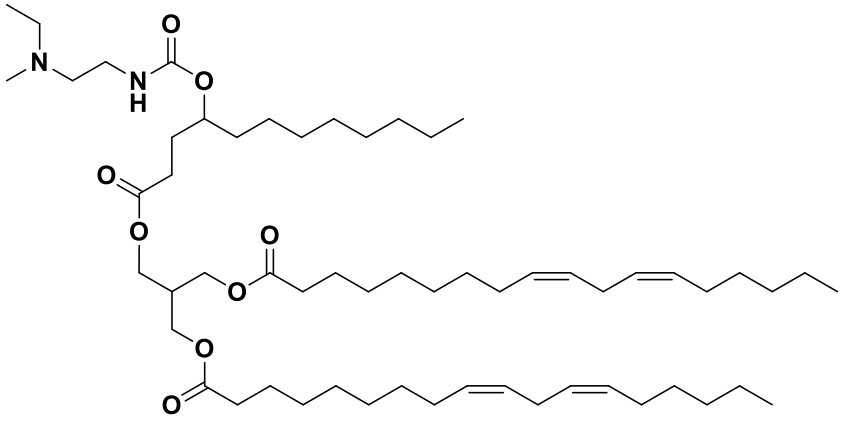
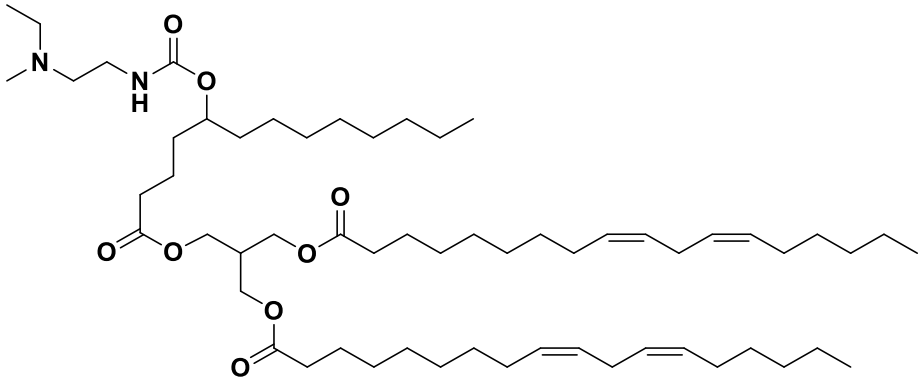
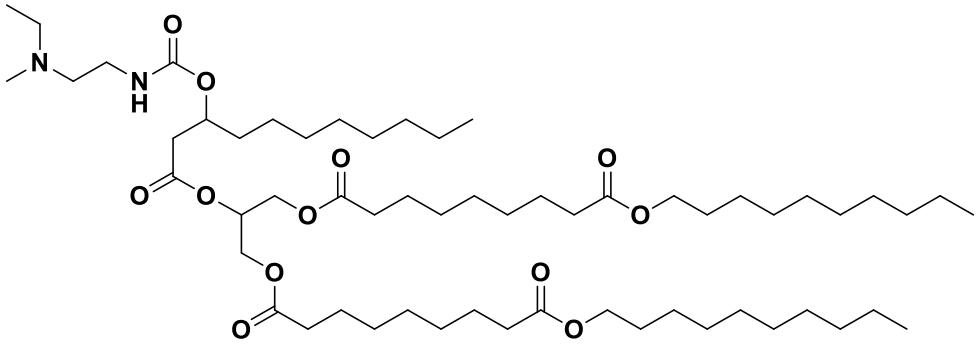
33 (5,95)	
34 (6,36)	
35 (6,35)	
36 (6,13)	

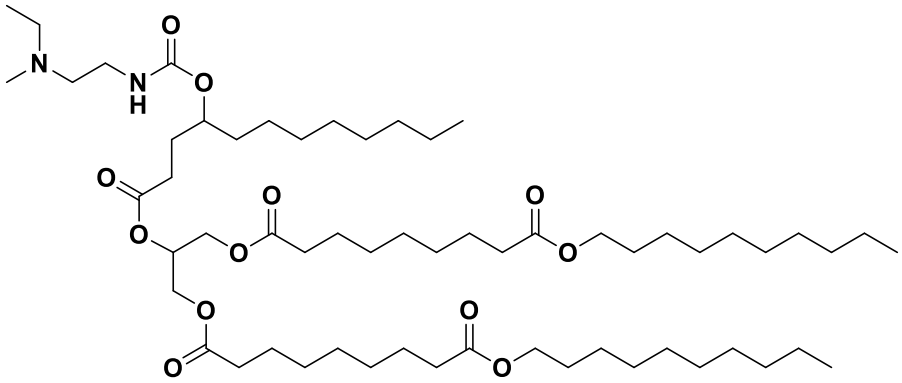
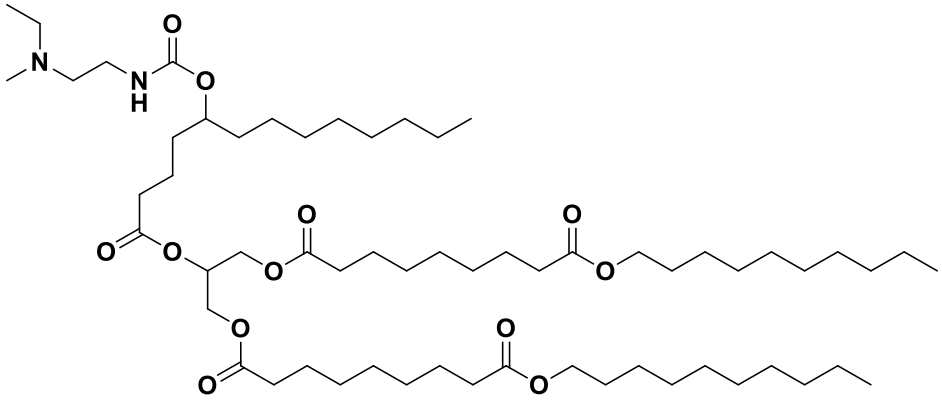
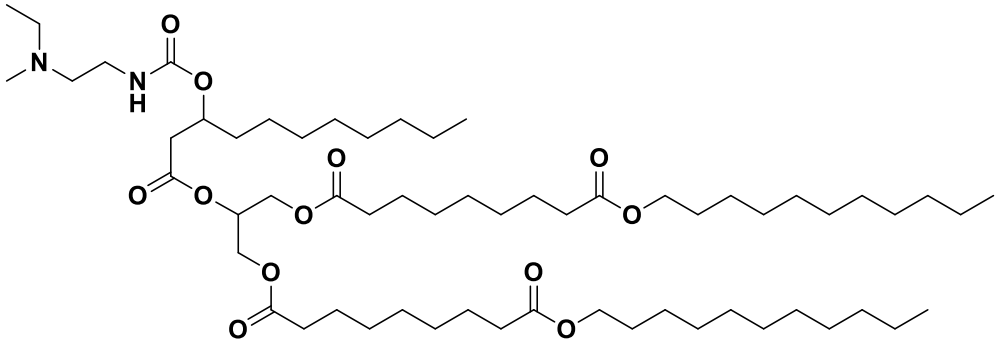
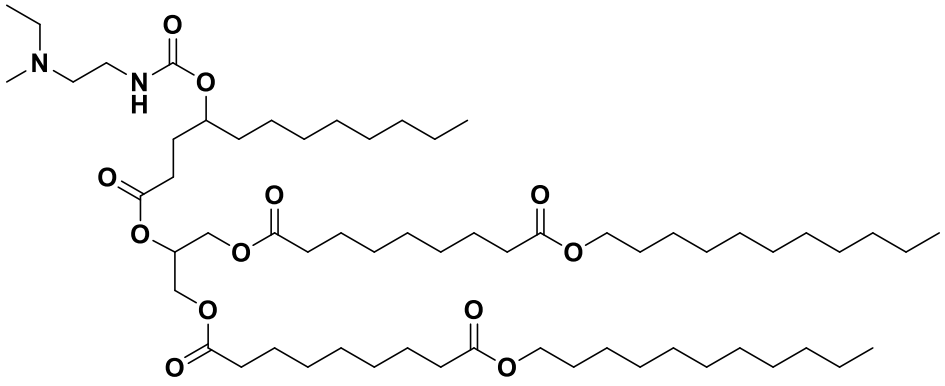
37 (5,36)	
38 (5,62)	
39 (6,32)	
40 (6,34)	

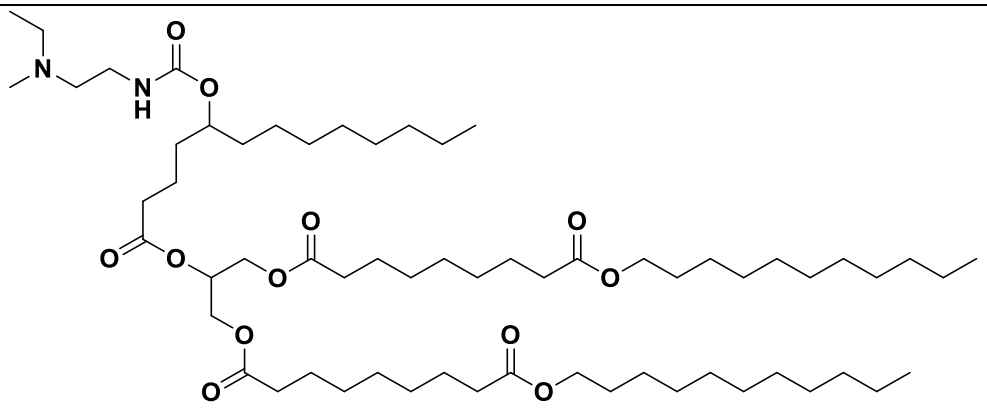
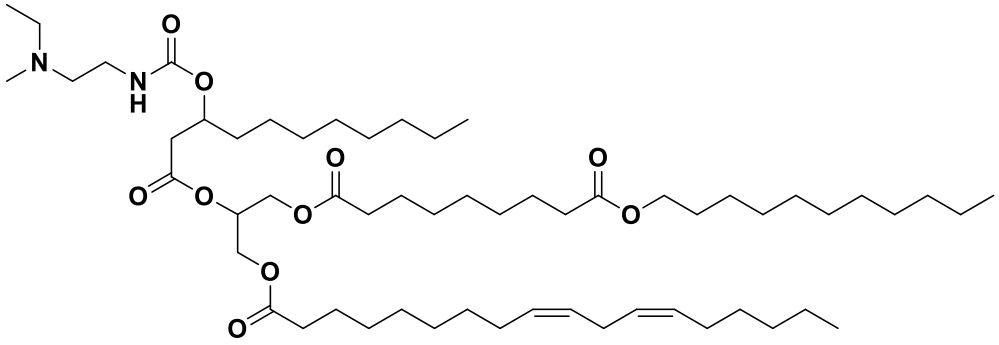
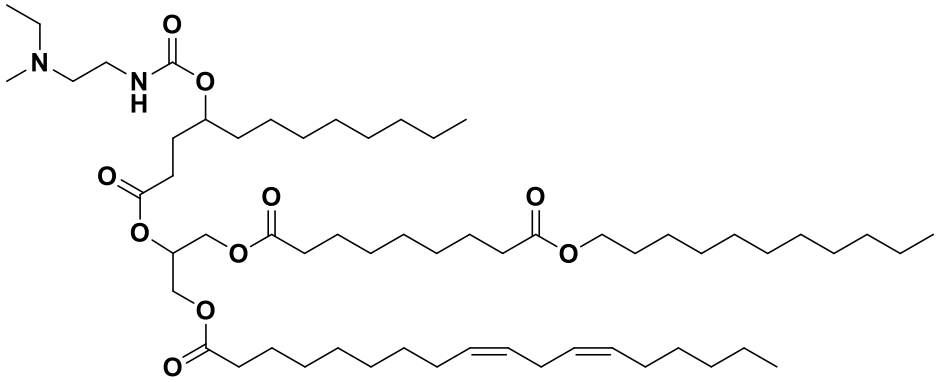
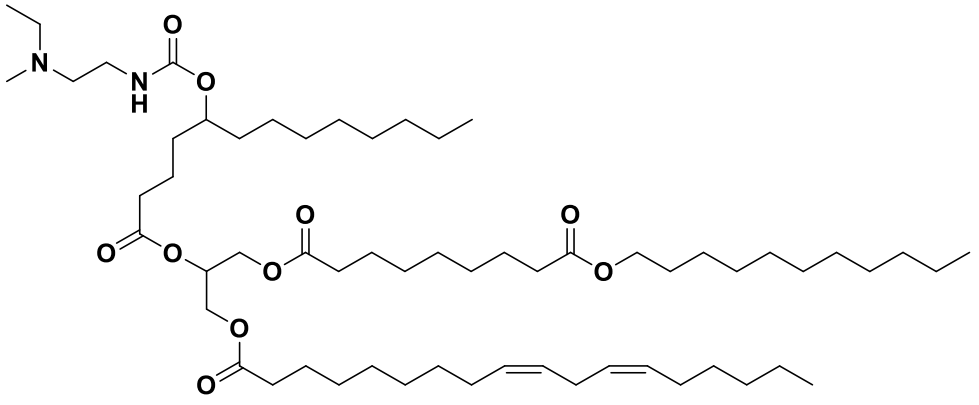
41 (6,51)	
42 (6,52)	
43 (7,33)	
44 (6,45)	

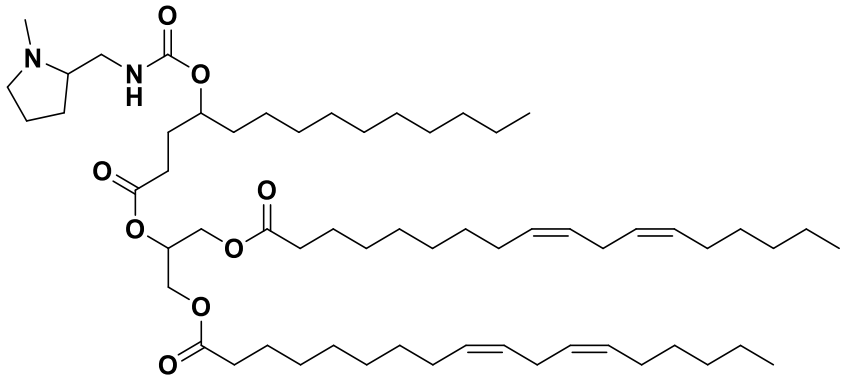
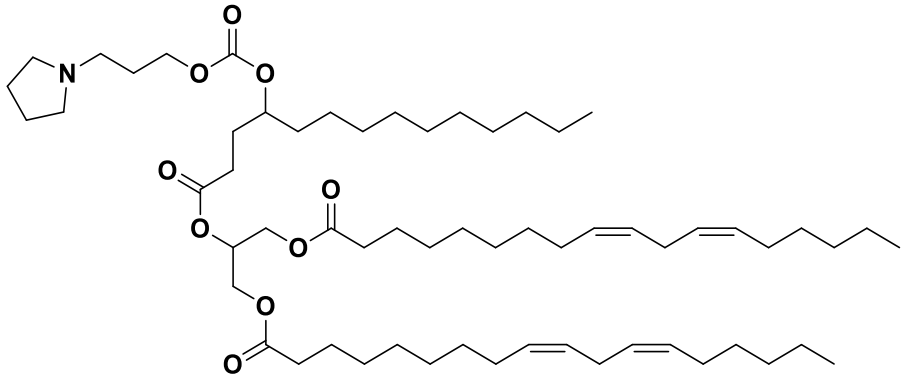
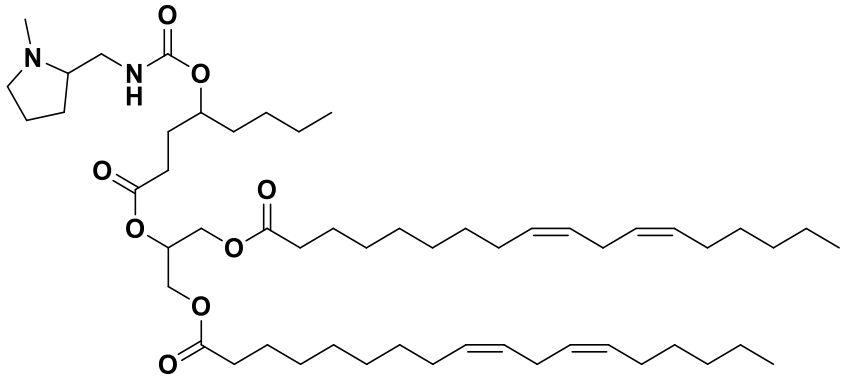
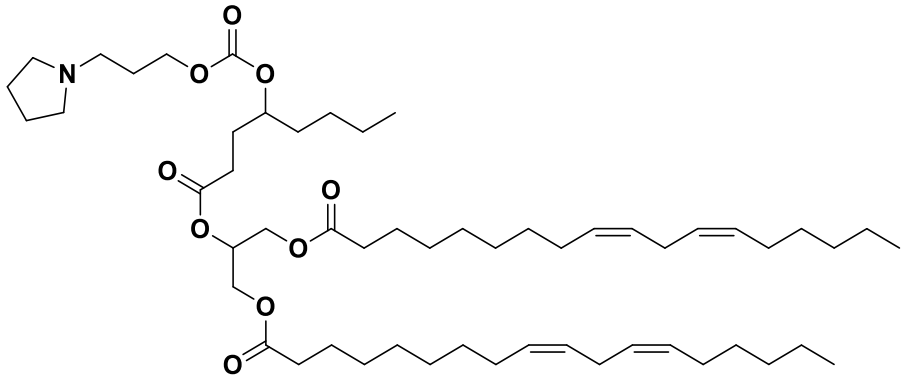
45 (5,79)	
46 (6,16)	
f47 (5,99)	
48 (ND)	

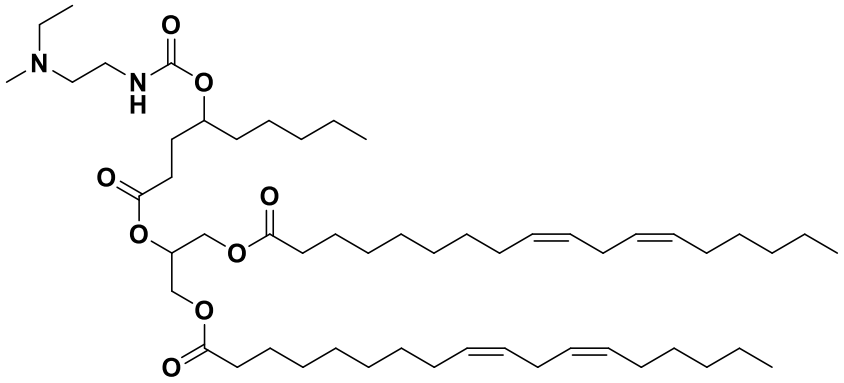
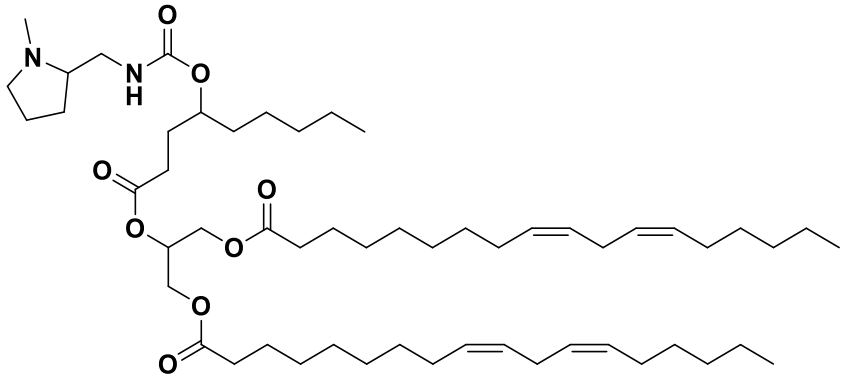
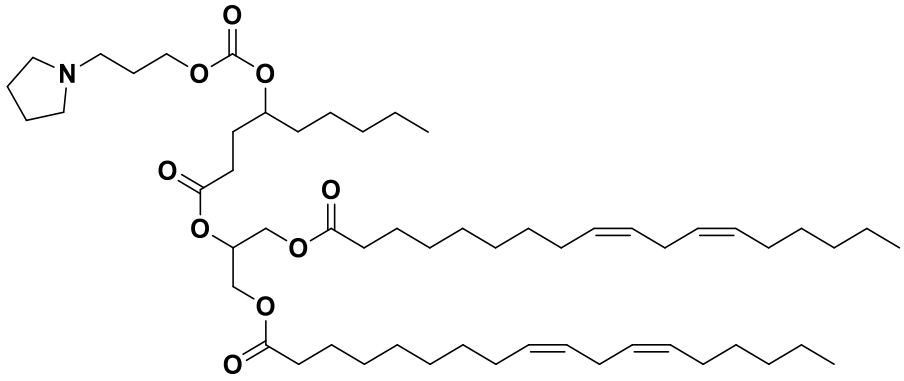
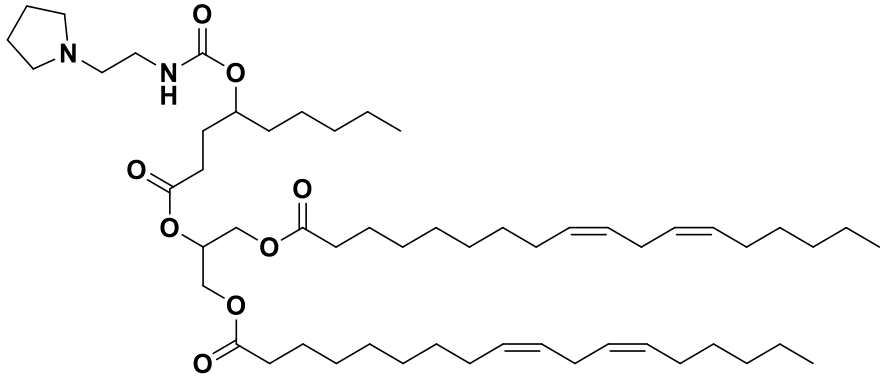
49	
50 (6,50)	
51 (6,37)	
52 (6,26)	

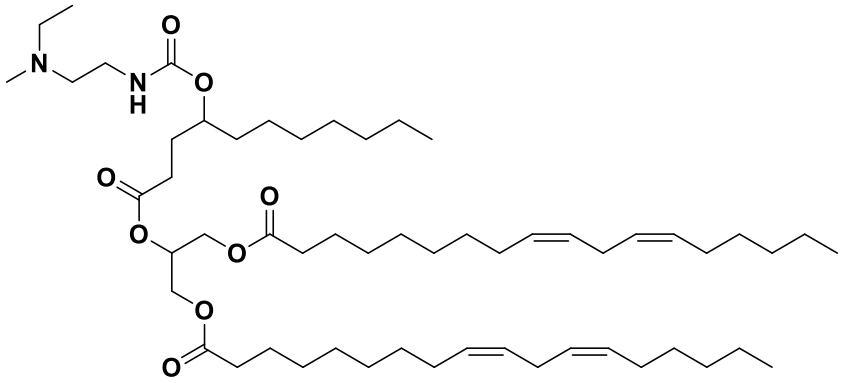
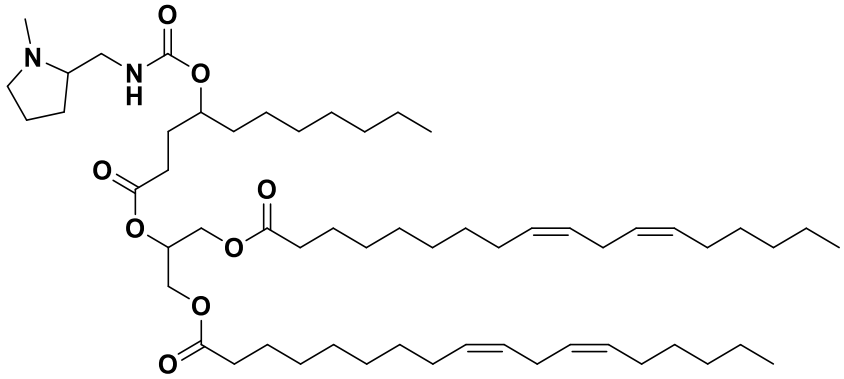
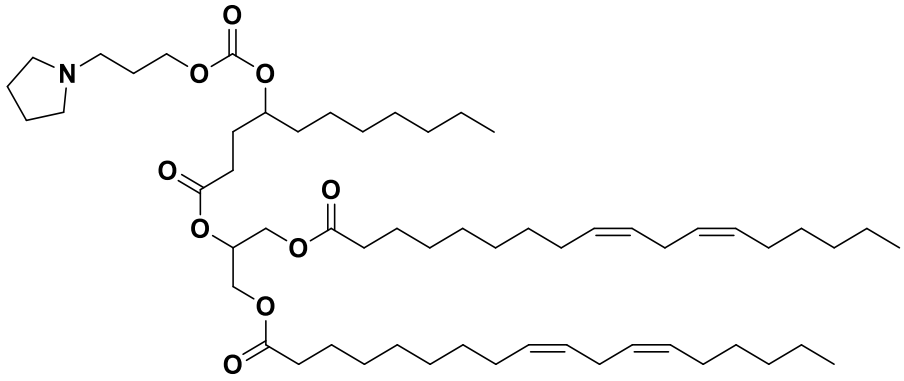
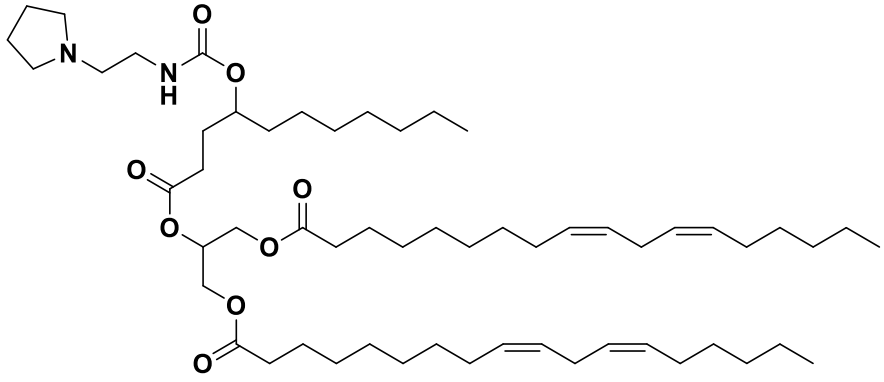
53 (6,29)	
54 (6,25)	
55 (6,43)	
56 (6,28)	

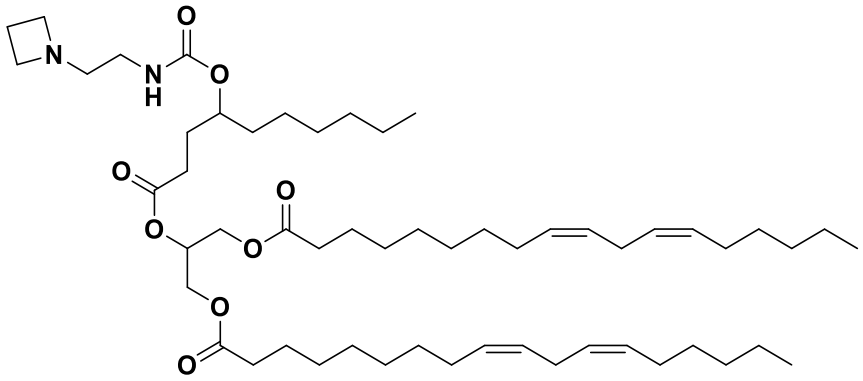
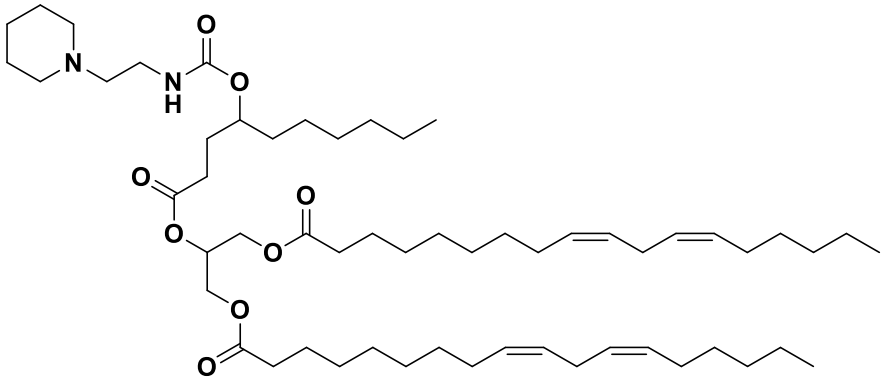
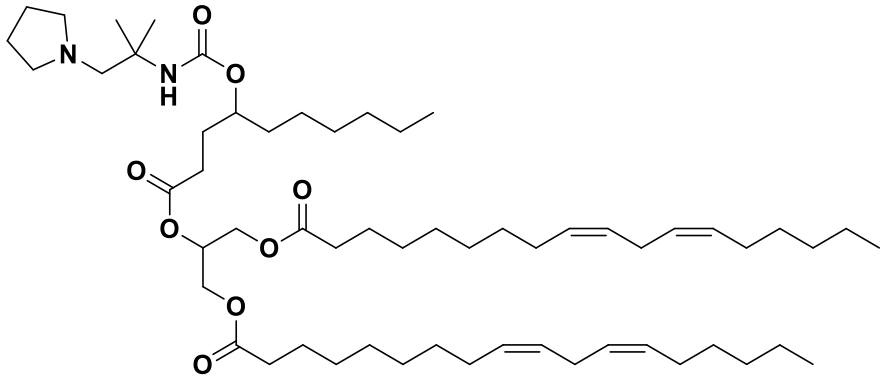
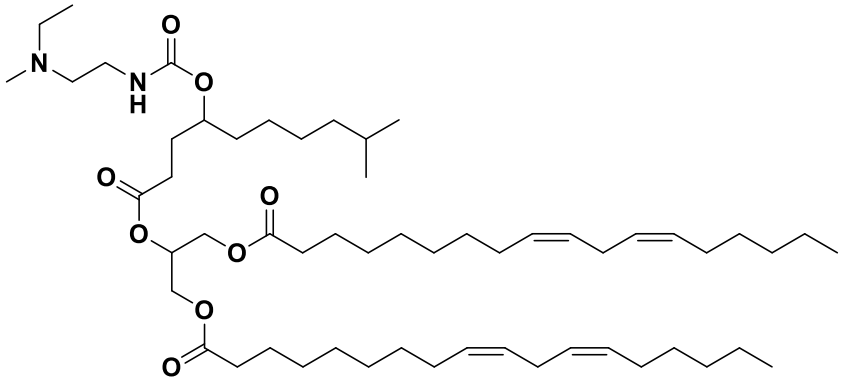
57 (6,18)	
58 (6,32)	
59 (6,34)	
60 (6,22)	

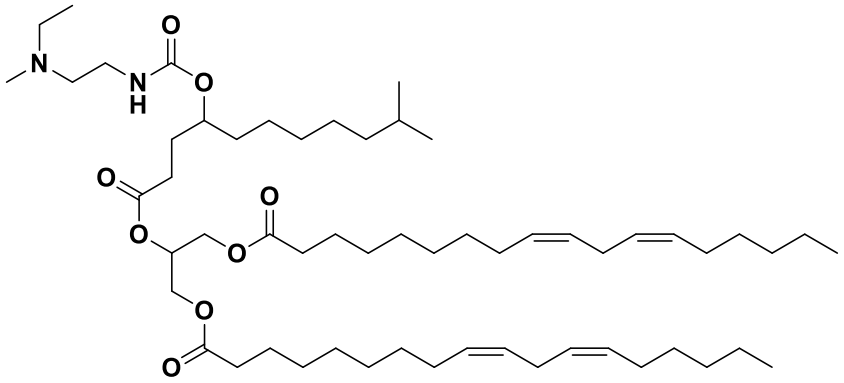
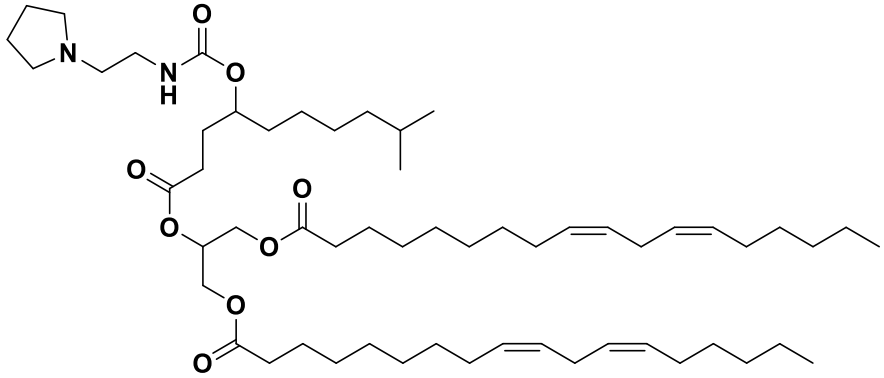
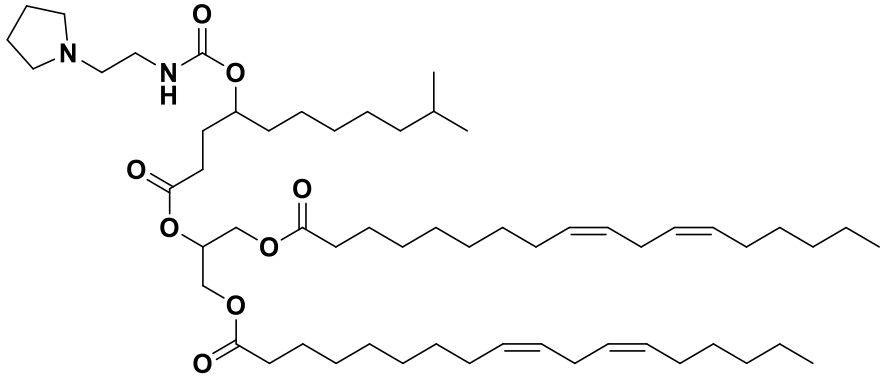
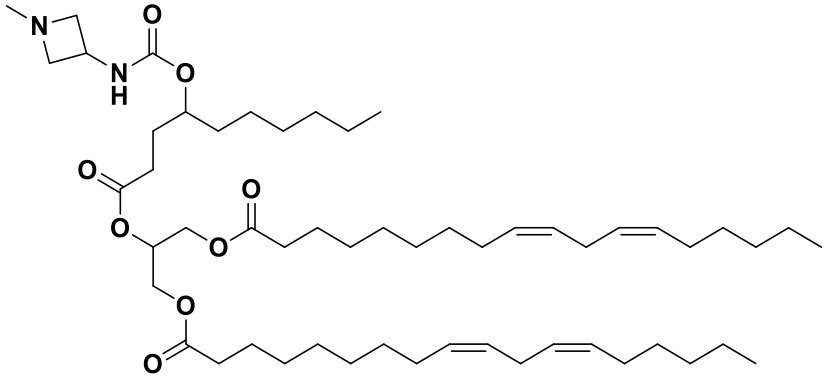
61 (6,29)	
62 (6,32)	
63 (6,32)	
64 (6,30)	

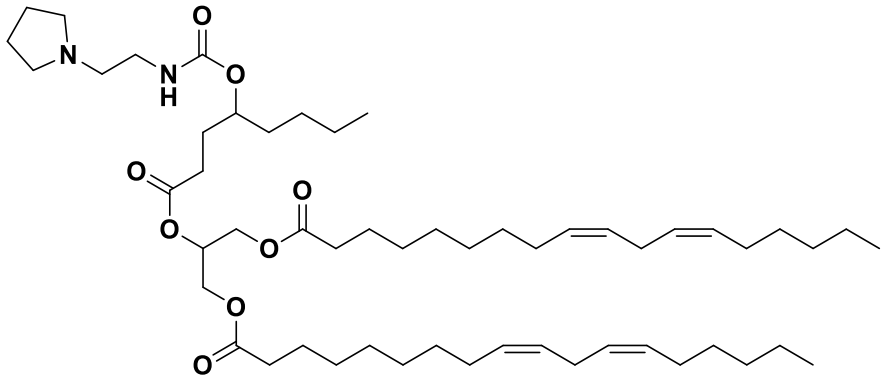
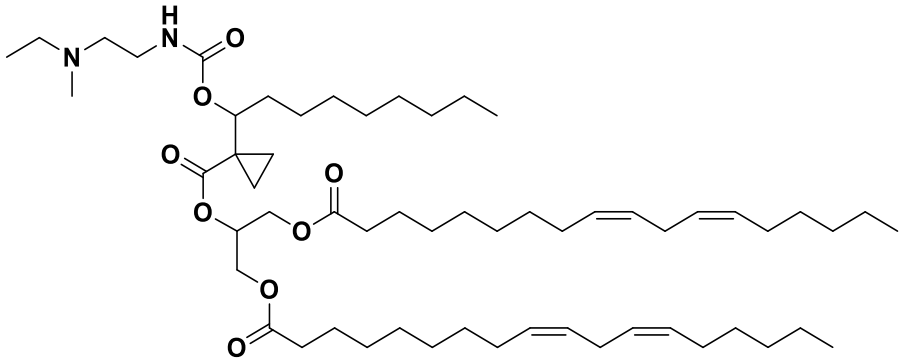
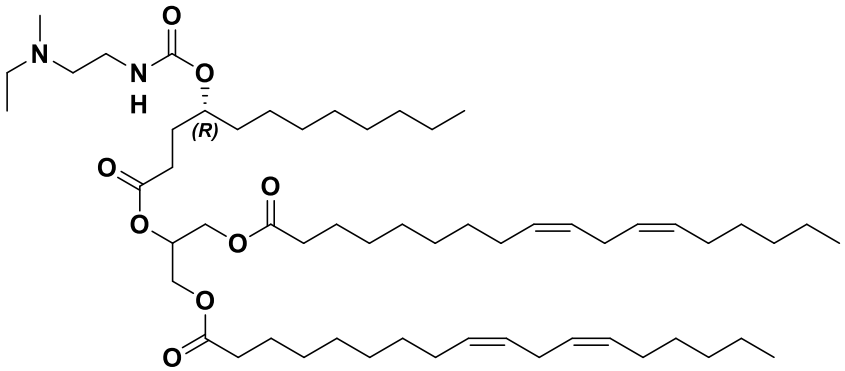
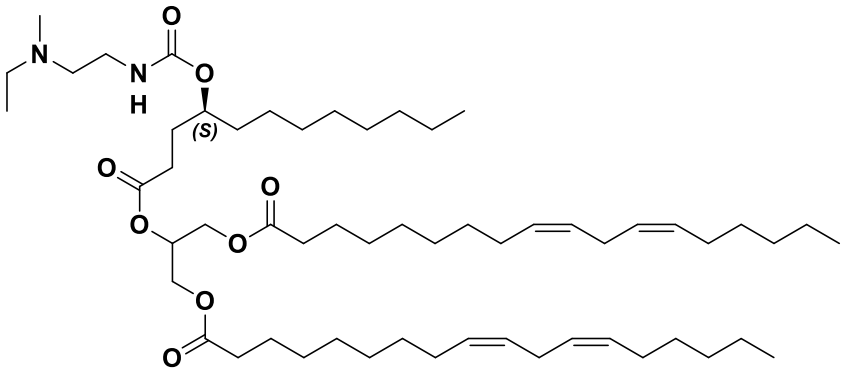
65 (6,37)	
66 (6,15)	
67 (6,43)	
68 (6,32)	

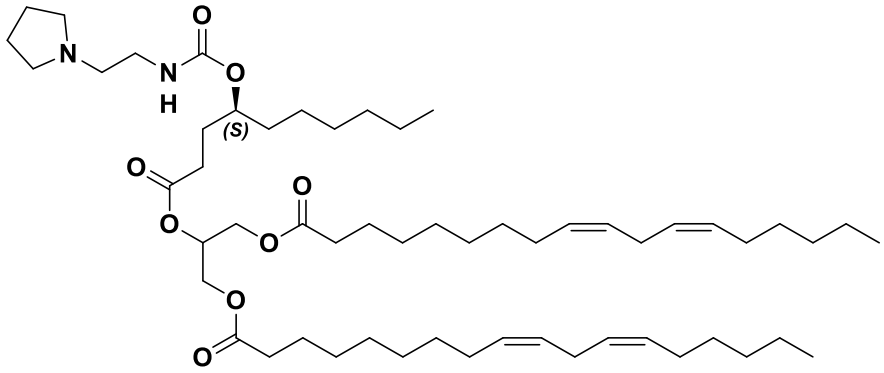
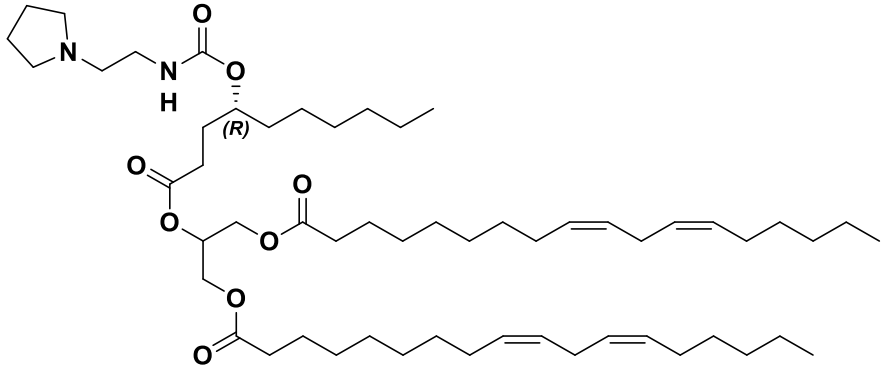
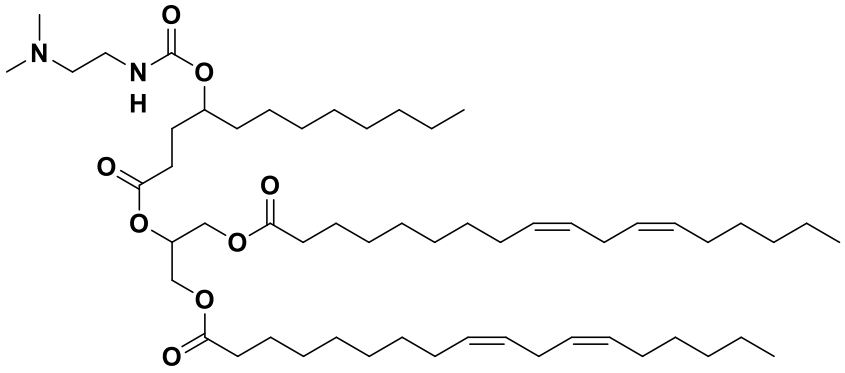
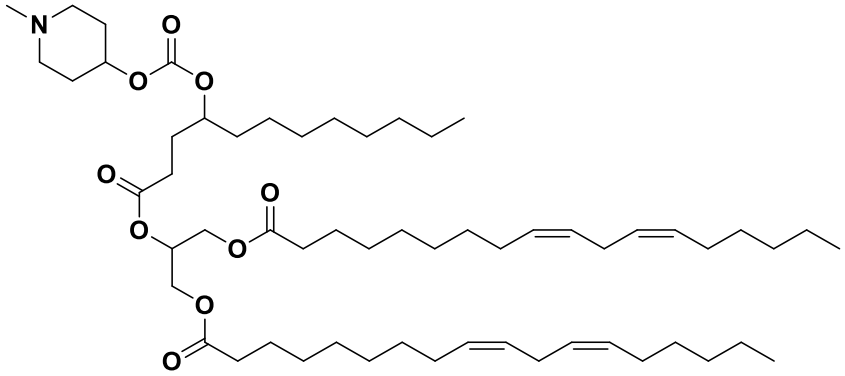
69 (6,44)	
70 (6,61)	
71 (6,28)	
72 (7,01)	

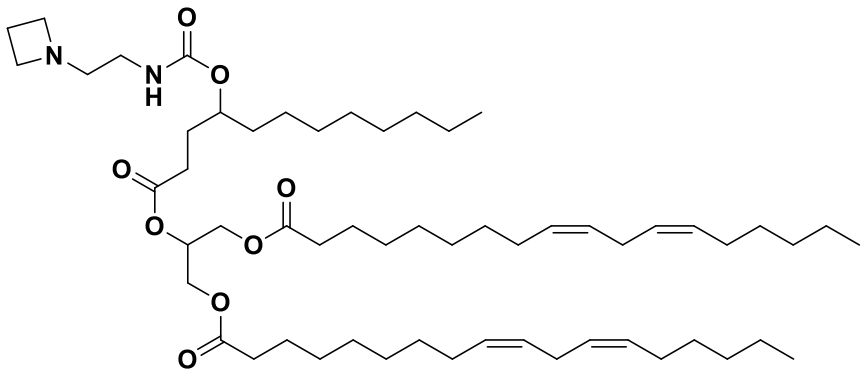
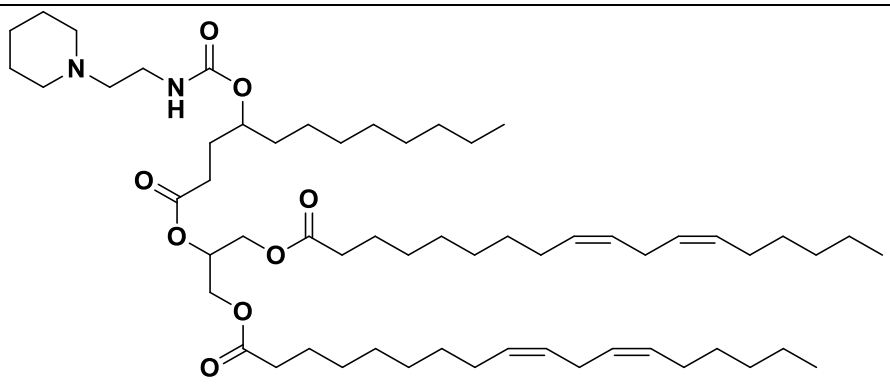
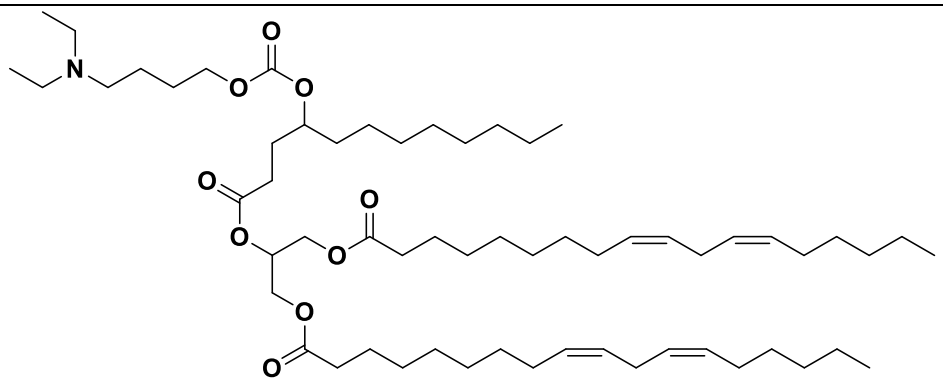
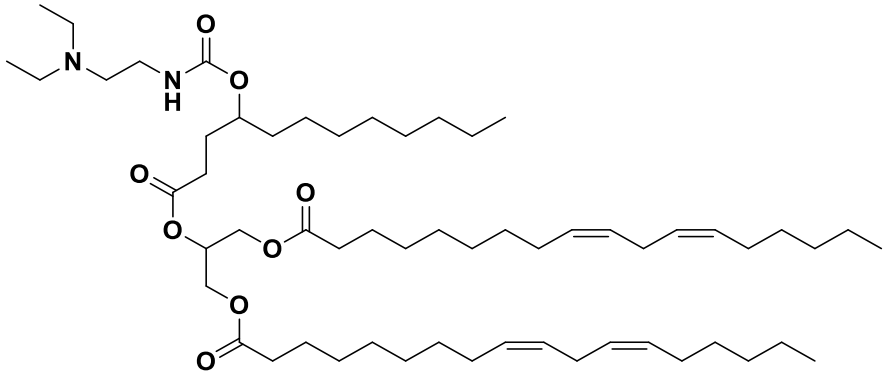
73 (6,41)	
74 (6,44)	
75 (6,17)	
76 (6,74)	

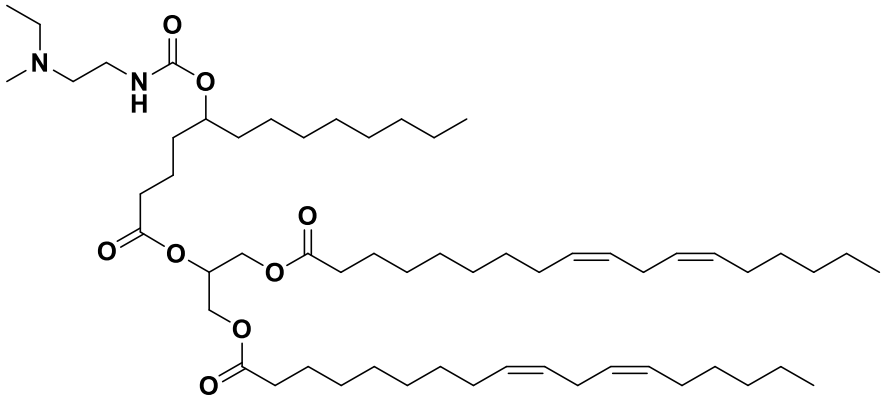
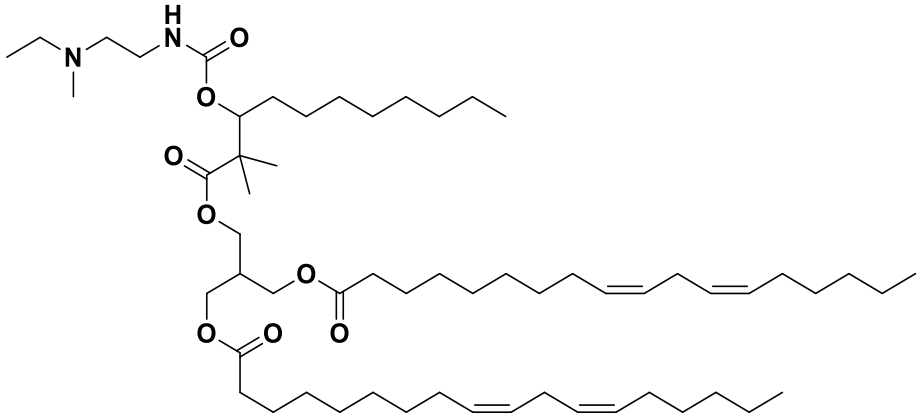
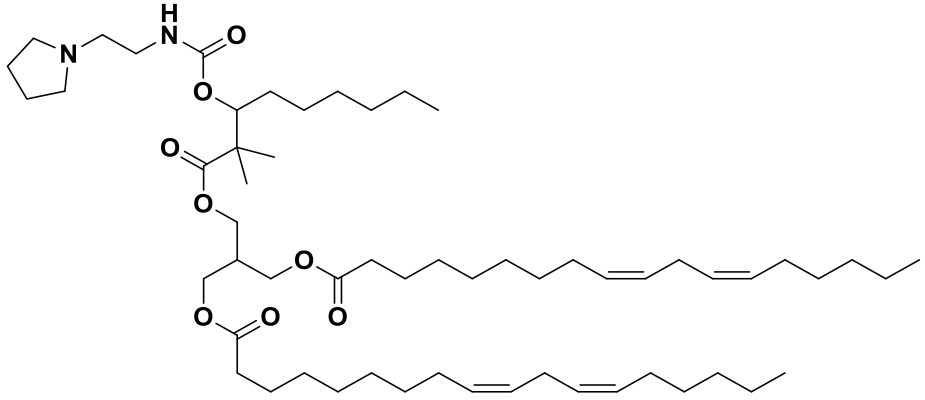
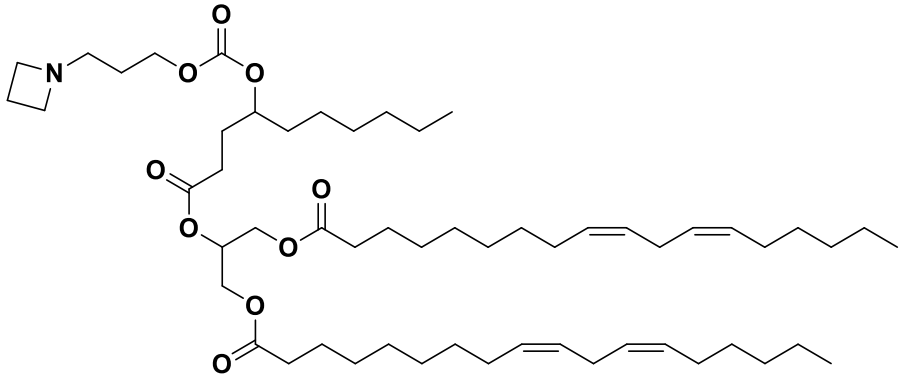
77 (7,23)	
78 (5,93)	
79 (4,96)	
80 (6,41)	

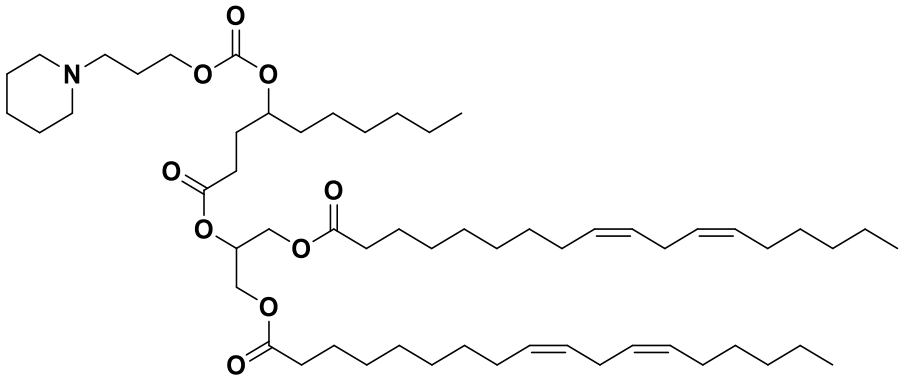
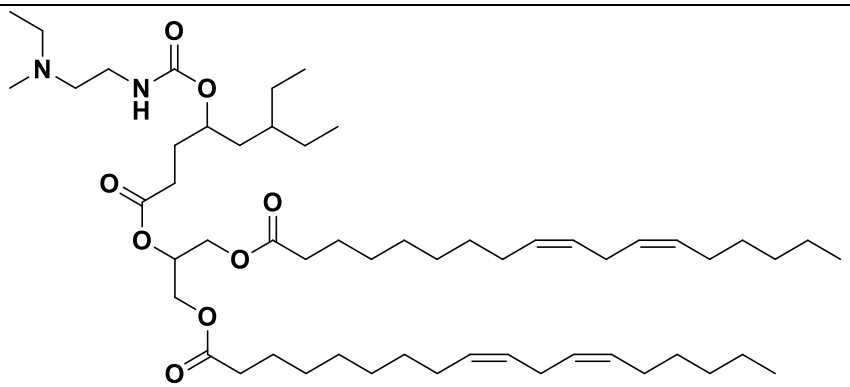
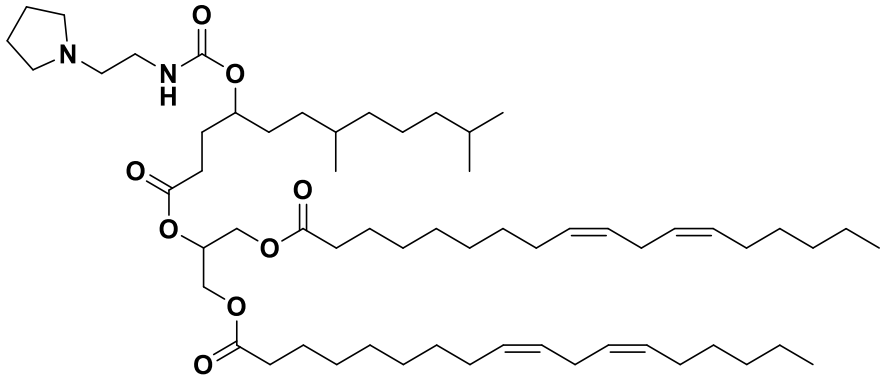
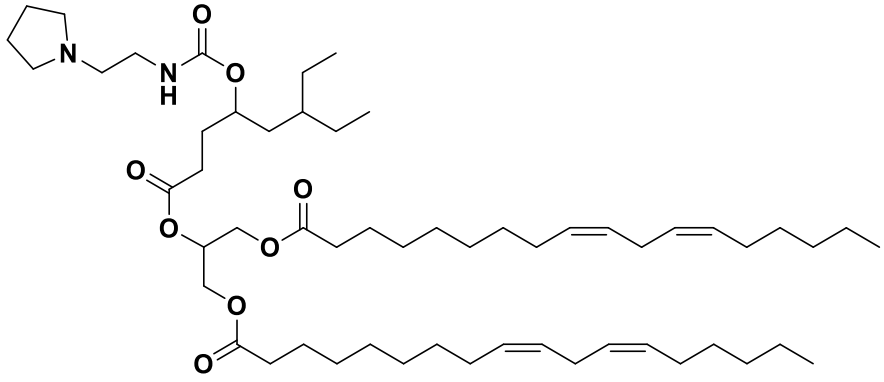
81 (6,42)	
82 (6,71)	
83 (6,61)	
84 (7,39)	

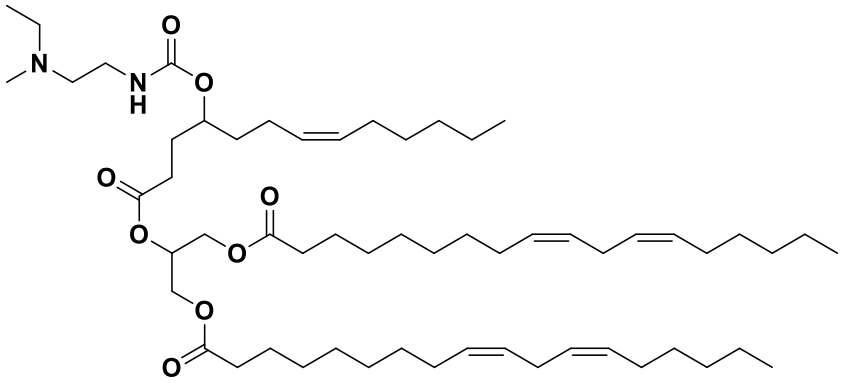
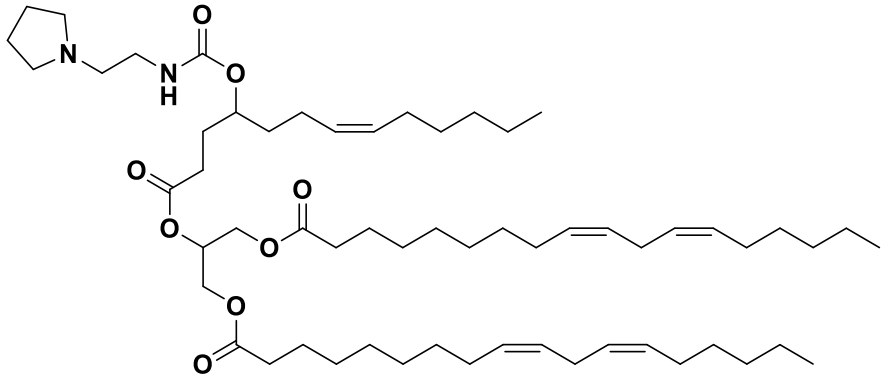
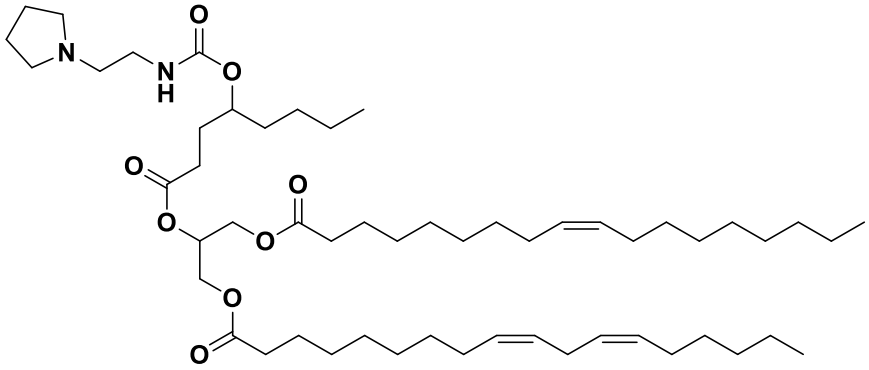
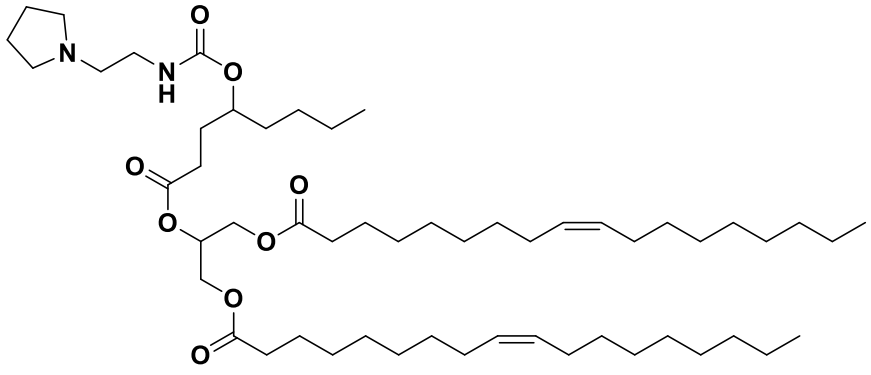
85 (7,02)	
86 (6,23)	
87 (ND)	
88 (ND)	

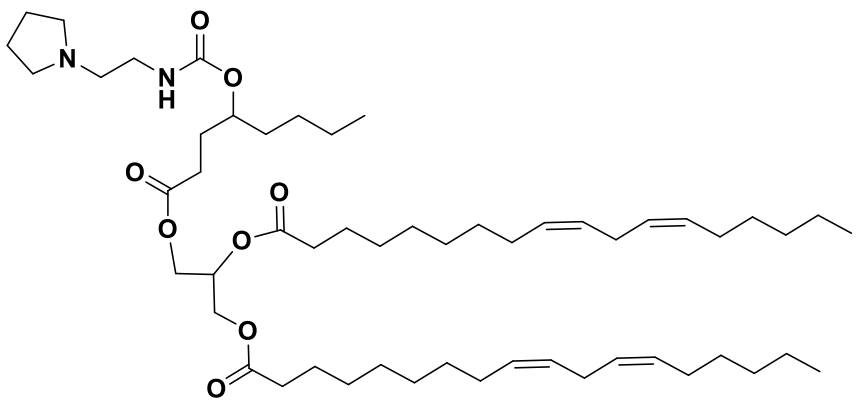
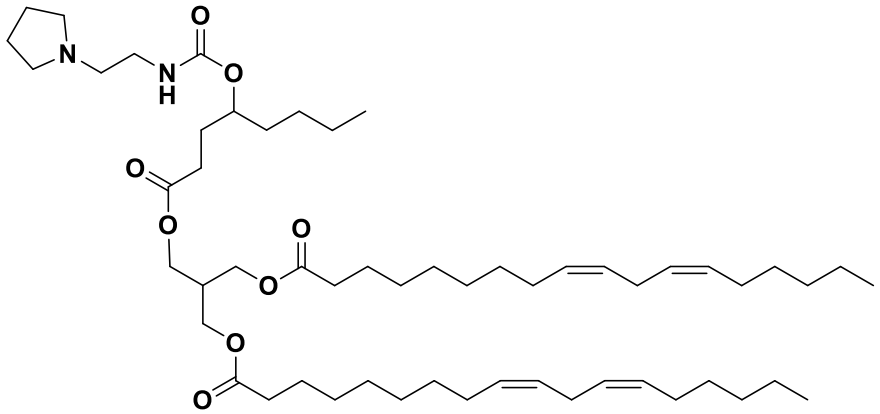
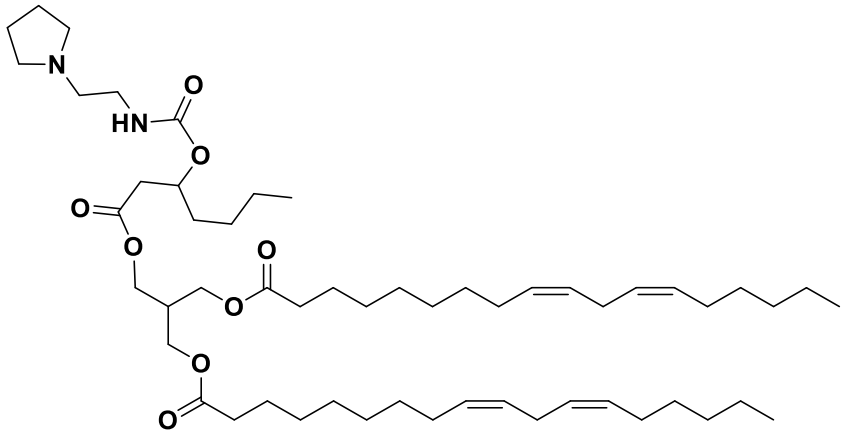
89 (6,76)	
90 (6,80)	
91 (6,48)	
92 (5,96)	

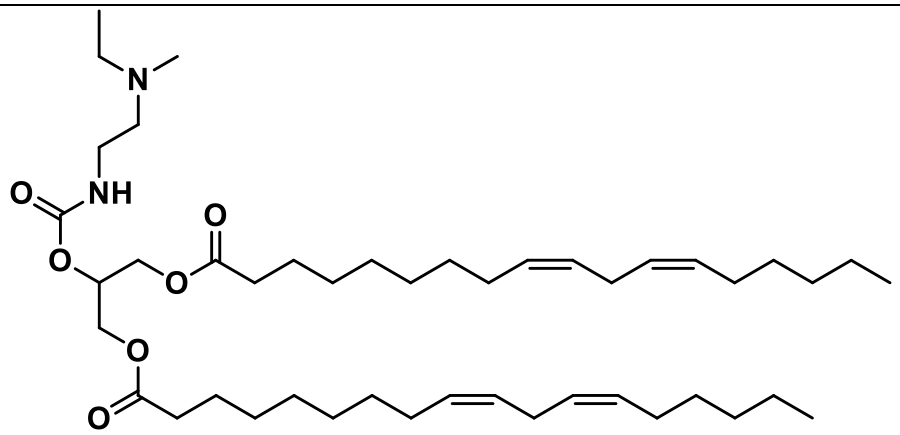
93 (6,96)	
94 (5,80)	
95 (6,15)	
96 (6,14)	

97 (6,38)	
99 (5,96)	
100 (6,60)	
101 (6,75)	

102 (5,16)	
103 (6,09)	
105 (6,53)	
106 (6,80)	

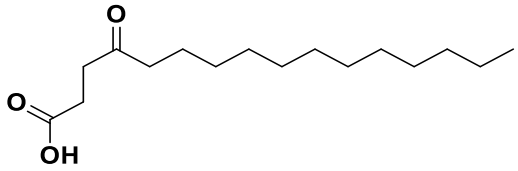
107 (6,35)	
108 (6,52)	
109 (6,91)	
110 (7,01)	

111 (7,02)	
112 (7,02)	
113 (7,02)	

114 (6,93)	

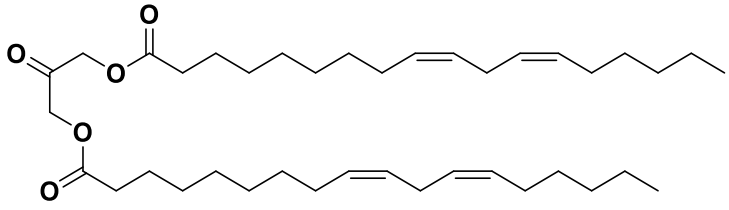
Ejemplo 1 – Compuesto comparativo 1

Intermedio 1a: ácido 4-oxohexadecanoico



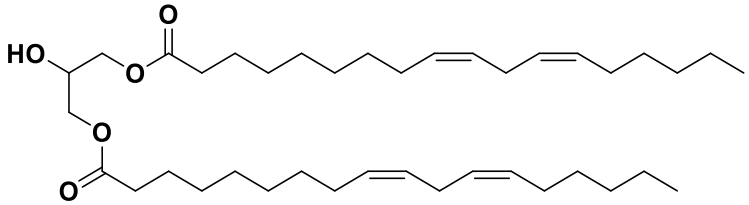
Se enfrió una solución de anhídrido succínico (3,0 g, 1,0 equiv.) en THF (0,1 M) hasta -78 °C, seguido por la adición de bromuro de dodecil magnesio (solución 1,0 M en hexanos, 0,5 equiv.) por goteo durante 5 min. La reacción se mantuvo a -78 °C durante al menos 18 h antes de inactivarse mediante la adición de agua y HCl 1 M. La mezcla de reacción se concentró al vacío, y la capa acuosa resultante se extrajo 3x con DCM. Las capas de DCM combinadas se extrajeron luego 2x con NaOH 2 M, y las capas acuosas combinadas se acidificaron a pH = 1 mediante el uso de HCl concentrado. Después, se extrajo la mezcla 3x con DCM. Las capas de DCM combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener el material bruto. El material bruto se trituró 3x con hexanos, y el precipitado resultante se filtró para obtener el producto como un sólido blanco (1,31 g, 33 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,72 (ddd, J = 7,0, 5,8, 1,1 Hz, 2H), 2,67 – 2,60 (m, 2H), 2,44 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,59 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 1,26 (d, J = 2,7 Hz, 18H), 0,91 – 0,85 (m, 3H).

Intermedio 1b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-oxopropano-1,3-diilo



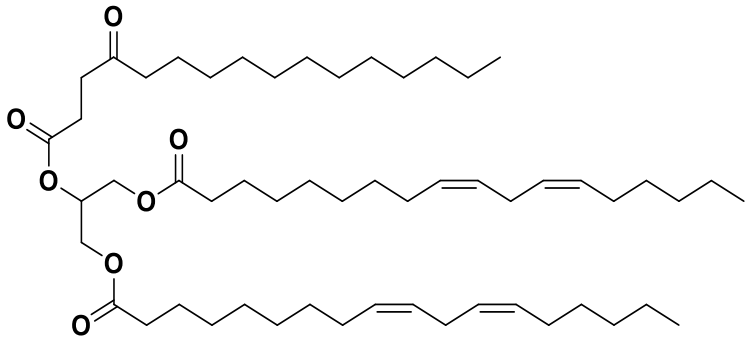
A una solución de dihidroxiacetona (1,55 g, 1,0 equiv) en DCM (0,1 M) se le agregó ácido linoleico (2,05 equiv), DMAP (0,2 equiv), DIPEA (2,4 equiv), y EDCI (2,4 equiv). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante al menos 18 h. Una vez completada, la mezcla se inactivó mediante la adición de agua, y la capa orgánica se lavó 1x con HCl 1 M y 1x con $NaHCO_3$ al 5 %. Luego, la capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) hasta obtener el producto como un aceite incoloro (8,0 g, 75 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,28 (m, 8H), 4,75 (s, 4H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,42 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,67 (q, J = 7,4 Hz, 4H), 1,40 – 1,24 (m, 28H), 0,95 – 0,86 (m, 6H).

Intermedio 1c: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 2-hidroxi-3-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoiloxi]propilo



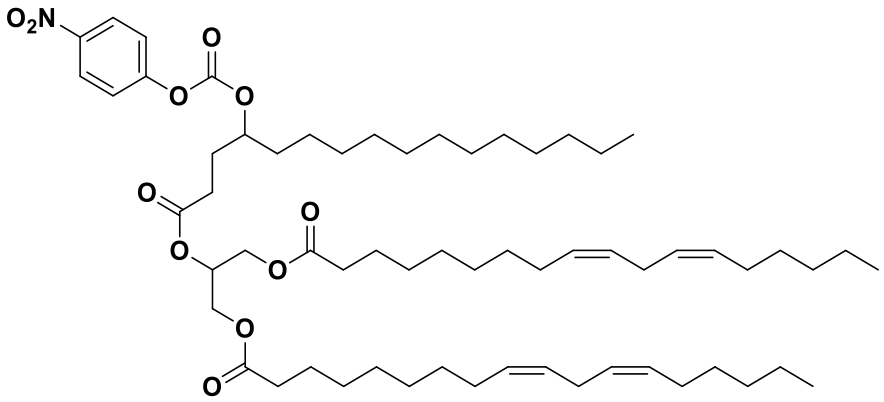
Una solución del Intermedio 1b (8,1 g, 1,0 equiv) en 4:2:1 THF/agua/tolueno (0,05-0,1 M) se enfrió hasta 0-5 °C, seguido por la adición de $NaBH_4$ (1,7 equiv). La reacción se agitó durante al menos 1 h 0-25 °C. Una vez completada, la mezcla se inactivó mediante la adición de agua y EtOAc, y la mezcla se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (5,9 g, 73 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,26 (m, 8H), 4,23 – 4,10 (m, 4H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,42 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,38 – 2,31 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,68 – 1,57 (m, 4H), 1,42 – 1,23 (m, 29H), 0,93 – 0,85 (m, 6H).

Intermedio 1d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxohexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 1c (1,0 equiv) en DCM (0,2 M) se le agregó el Intermedio 1a (1,0-1,2 equiv), Et_3N o DIPEA (1,5-4,5 equiv), DMAP (0,1-0,2 equiv), y EDCI (1-2 equiv). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante al menos 12 h antes de inactivarse mediante la adición de agua. La mezcla se lavó 1x con HCl 1 M y 1x con $NaHCO_3$ al 5 %. Luego, la capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (780 mg, 79 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (tt, J = 5,9, 4,3 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,15 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 2,84 – 2,74 (m, 4H), 2,71 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,59 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,32 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,60 (dd, J = 14,7, 7,3 Hz, 6H), 1,44 – 1,20 (m, 49H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,3 Hz, 9H).

Intermedio 1e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxohexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

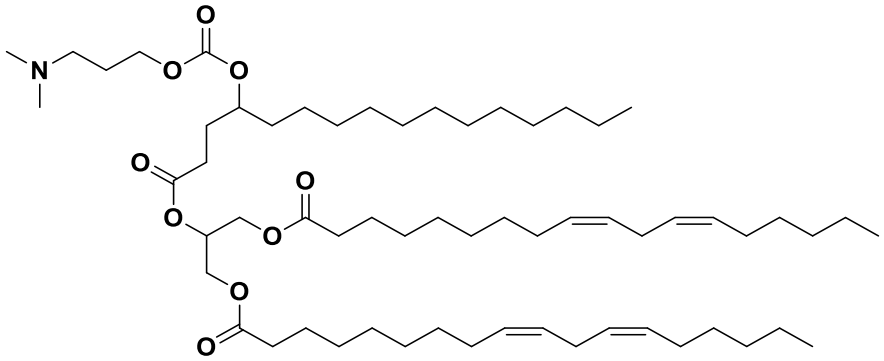


Una solución del Intermedio 1d (1,43 g, 1,0 equiv) en 4:2:1 THF/agua/tolueno (0,05-0,1 M) se enfrió hasta 0-5 °C, seguido por la adición de $NaBH_4$ (5,0 equiv). La reacción se mantuvo a 0-25 °C durante al menos 2 h. Después, la reacción se diluyó con agua y EtOAc y la mezcla bifásica resultante se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener un alcohol intermedio como un aceite incoloro.

El alcohol resultante se resolubilizó inmediatamente en DCM (0,1 M), seguido por la adición de piridina (2-3 equiv) y cloroformiato de 4-nitrofenilo (1-1,5 equiv). La reacción se agitó durante al menos 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo 3x con DCM. Las capas de DCM combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (910 mg, 54 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,37 – 8,25 (m, 2H), 7,48 – 7,40 (m, 2H), 5,49 –

5,25 (m, 9H), 4,96 – 4,84 (m, 1H), 4,34 (dd, J = 12,0, 4,3 Hz, 2H), 4,18 (dd, J = 11,9, 5,7 Hz, 2H), 2,79 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,49 (dd, J = 8,4, 6,7 Hz, 2H), 2,33 (tt, J = 7,6, 4,2 Hz, 4H), 2,16 – 1,95 (m, 10H), 1,81 – 1,71 (m, 1H), 1,65 (ddq, J = 15,2, 7,5, 4,8, 4,2 Hz, 6H), 1,50 – 1,13 (m, 50H), 0,90 (td, J = 6,8, 3,7 Hz, 9H).

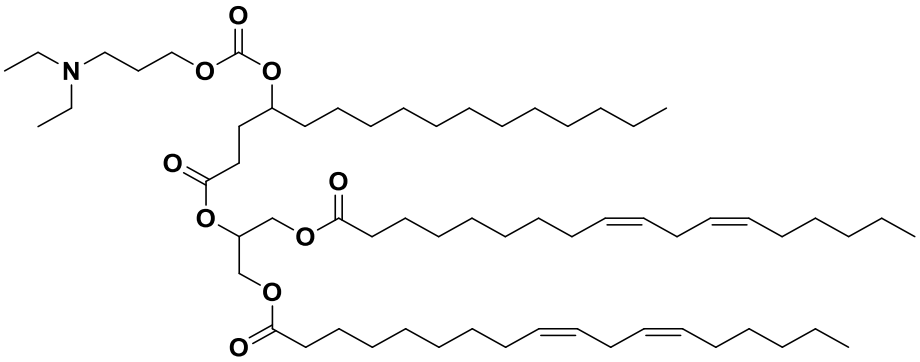
Compuesto 1: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 1e (250 mg, 1,0 equiv) en MeCN (0,1 M) se le agregó piridina (3,0 equiv), 3-(dimetilamino)propan-1-ol (1,5-3,0 equiv), y DMAP (1,0 equiv). La reacción se agitó durante al menos 2 horas a temperatura ambiente. Luego, se agregó heptano (0,1 M) a la mezcla de reacción, y la capa de heptano se lavó 3x con MeCN. Las capas de MeCN combinadas se volvieron a extraer tres veces con heptano, y las capas de heptano combinadas se lavaron una última vez con MeCN. Luego, se retiró el heptano al vacío, y el material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM) para obtener el producto como un aceite incoloro (100 mg, 41 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,22 (m, 9H), 4,72 (tdd, J = 7,5, 5,3, 4,0 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 12,0, 4,4 Hz, 2H), 4,23 – 4,10 (m, 4H), 2,84 – 2,73 (m, 4H), 2,62 – 2,27 (m, 13H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 2,01 – 1,84 (m, 4H), 1,68 – 1,50 (m, 7H), 1,43 – 1,21 (m, 50H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1001,2 m/z [M+H].

Ejemplo 2 – Compuesto 2

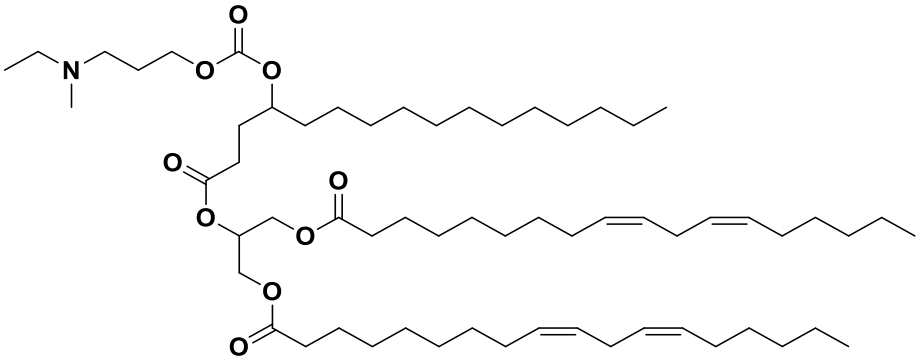
Compuesto 2: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 2 se sintetizó con 64 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 3-(dietilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,20 (m, 9H), 4,72 (tdd, J = 7,5, 5,3, 4,0 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,23 – 4,10 (m, 4H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,57 – 2,36 (m, 8H), 2,31 (td, J = 7,6, 1,3 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,97 – 1,77 (m, 4H), 1,61 (t, J = 7,4 Hz, 6H), 1,40 – 1,21 (m, 49H), 1,01 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1029,7 m/z [M+H].

Ejemplo 3 – Compuesto 3

Compuesto 3: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(etil(metil)amino)propoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

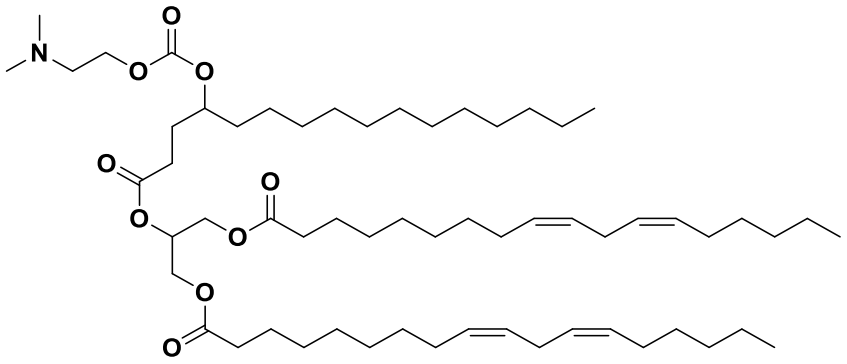


El Compuesto 3 se sintetizó con 79 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 3-((metil)etilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,49 – 5,20 (m, 9H), 4,77 – 4,67 (m, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,16 (tdd, J = 11,9, 6,2, 2,5 Hz, 4H), 2,77 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,70 – 2,37 (m, 7H), 2,37 – 2,25 (m, 7H), 2,13 – 1,82 (m, 12H), 1,69 – 1,48 (m, 7H), 1,42 – 1,20 (m, 46H), 1,14 (s, 2H), 0,88 (td, J = 6,8, 3,9 Hz, 7H). MS: 1015,7 m/z [M+H].

Ejemplo 4 – Compuesto 4

Compuesto 4: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-

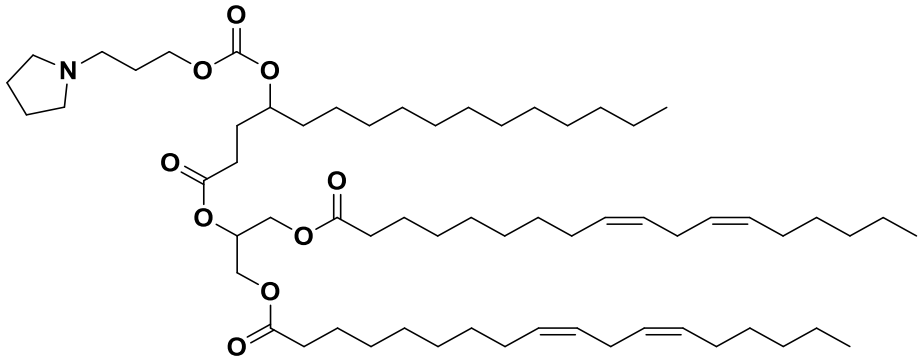
(dimetilamino)etoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 4 se sintetizó con 93 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 2-dimetilaminoetan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,31 (m, 8H), 5,25 (tt, J = 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,73 (tdd, J = 7,6, 5,5, 4,0 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 4H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,4 Hz, 2H), 2,77 (td, J = 6,0, 1,1 Hz, 4H), 2,70 (d, J = 16,4 Hz, 1H), 2,49 – 2,29 (m, 11H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,99 – 1,81 (m, 2H), 1,67 – 1,50 (m, 8H), 1,40 – 1,21 (m, 48H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,2 Hz, 9H). MS: 987,6 m/z [M+H].

Ejemplo 5 – Compuesto 5

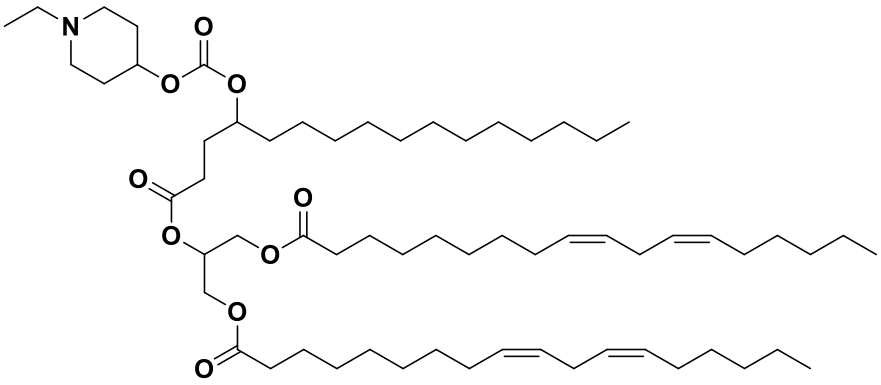
Compuesto 5: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 5 se sintetizó con 54 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,21 (m, 9H), 4,72 (tdd, J = 7,3, 5,5, 4,2 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,17 (dddd, J = 15,3, 9,1, 7,3, 3,7 Hz, 4H), 2,77 (td, J = 6,0, 1,1 Hz, 4H), 2,57 (d, J = 8,8 Hz, 6H), 2,40 (dt, J = 8,7, 6,5 Hz, 2H), 2,31 (td, J = 7,6, 1,2 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,98 – 1,83 (m, 5H), 1,80 (p, J = 3,2 Hz, 4H), 1,68 – 1,50 (m, 7H), 1,41 – 1,18 (m, 48H), 0,96 – 0,81 (m, 9H). MS: 1027,6 m/z [M+H].

Ejemplo 6 – Compuesto 6

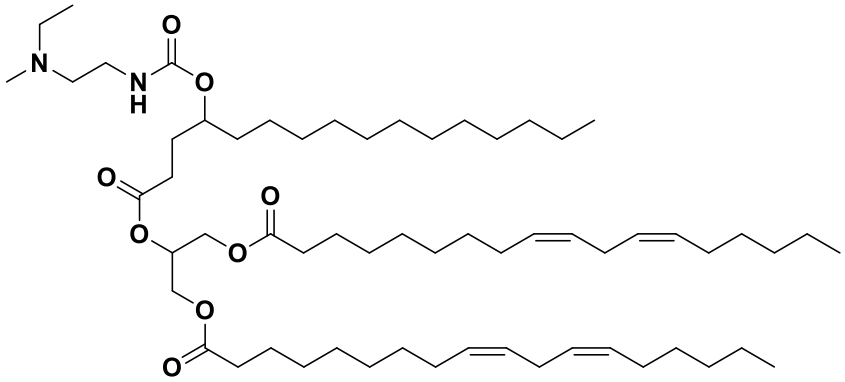
Ejemplo 6: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-etilpiperidin-4-il)oxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 6 se sintetizó con 53 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 1-etilpiperidin-4-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,21 (m, 9H), 4,72 (tdd, J = 7,6, 5,3, 4,0 Hz, 1H), 4,64 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,1 Hz, 2H), 2,84 – 2,70 (m, 6H), 2,51 – 2,36 (m, 4H), 2,31 (td, J = 7,6, 1,4 Hz, 4H), 2,24 (d, J = 23,1 Hz, 2H), 2,11 – 1,93 (m, 11H), 1,92 – 1,73 (m, 4H), 1,70 – 1,52 (m, 8H), 1,43 – 1,21 (m, 48H), 1,09 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,2 Hz, 9H). MS: 1028,2 m/z [M+H].

Ejemplo 7 – Compuesto 7

Compuesto 7: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

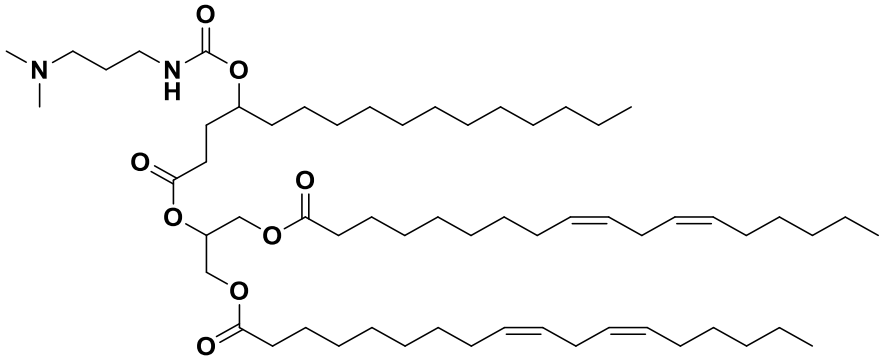


El Compuesto 7 se sintetizó con 66 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,47 – 5,08 (m, 10H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,3 Hz, 2H), 3,24 (q, J = 6,0 Hz, 2H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,53 – 2,26 (m, 10H), 2,21 (s, 3H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,98 – 1,74 (m, 2H), 1,68 – 1,41 (m, 8H), 1,41 – 1,19 (m, 49H), 1,04 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,95 – 0,82 (m,

9H). MS: 1001,1 m/z [M+H].

Ejemplo 8 – Compuesto 8

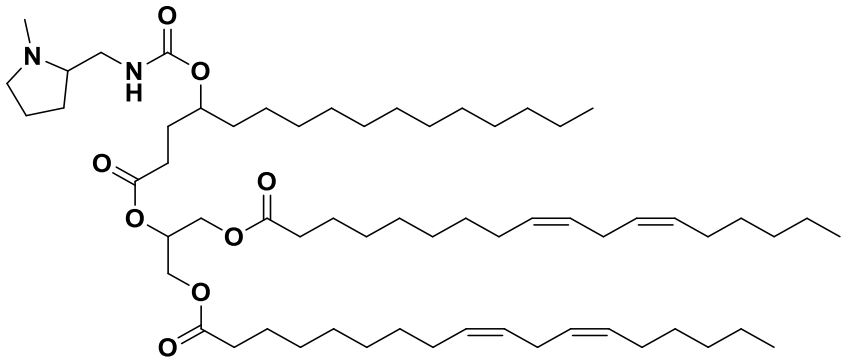
Compuesto 8: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dimetilamino)propil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 8 se sintetizó con 55 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y N1,N1-dimetilpropano-1,3-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 5,43 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (tt, J = 5,8, 4,4 Hz, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 2,2 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 1,6 Hz, 2H), 3,23 (h, J = 6,4 Hz, 2H), 2,82 – 2,73 (m, 4H), 2,48 – 2,20 (m, 14H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,97 – 1,42 (m, 12H), 1,42 – 1,20 (m, 48H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1000,6 m/z [M+H].

Ejemplo 9 – Compuesto 9

Compuesto 9: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

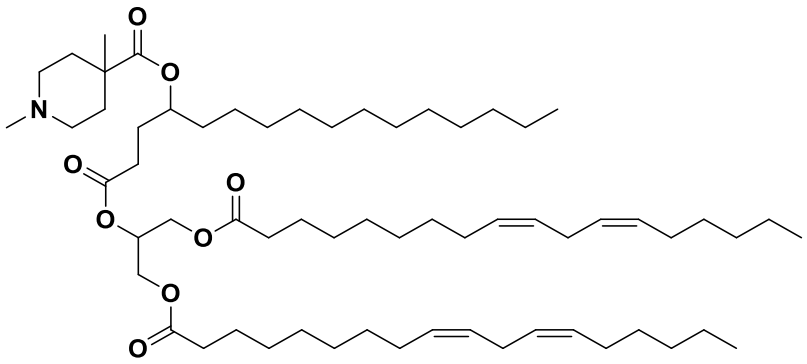


El Compuesto 9 se sintetizó con 65 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y (1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 5,45 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (ddd, J = 10,2, 5,8, 4,4 Hz, 1H), 5,19 – 5,11 (m, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,0 Hz, 2H), 3,44 – 3,31 (m, 1H), 3,19 – 3,02 (m, 2H), 2,84

– 2,72 (m, 4H), 2,46 – 2,16 (m, 12H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,97 – 1,66 (m, 6H), 1,66 – 1,42 (m, 8H), 1,42 – 1,20 (m, 49H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,2 Hz, 9H). MS: 1013,1 m/z [M+H].

Ejemplo 10 – Compuesto 10

Compuesto 10: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((1,4-dimetilpiperidina-4-carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

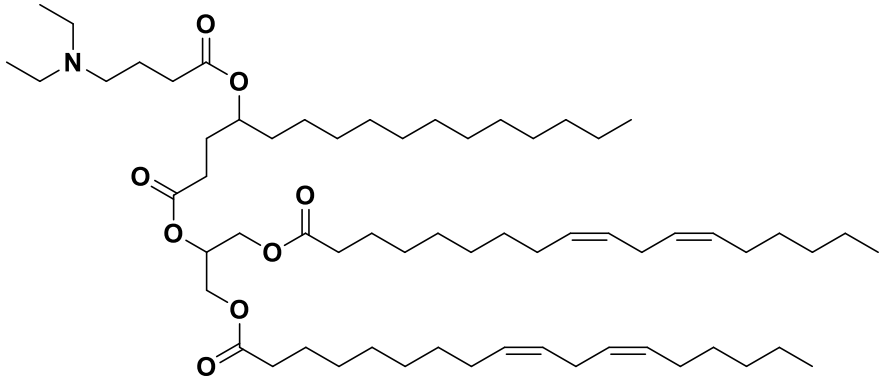


Una solución del Intermedio 1d (360 mg, 1,0 equiv) en 4:2:1 THF/agua/tolueno (0,05 M) se enfrió hasta 0 °C, seguido por la adición de $NaBH_4$ (5,0 equiv). La reacción se mantuvo a 0 °C durante 18 h. Después, la reacción se diluyó con agua y EtOAc y la mezcla bifásica resultante se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener un alcohol intermedio como un aceite incoloro.

El alcohol bruto resultante se resolubilizó inmediatamente en DCM (0,1 M), seguido por la adición de ácido 1,4-dimetilpiperidina-4-carboxílico (1,0 equiv), DMAP (0,1 equiv), DIPEA (4,0 equiv), y EDCI (1,5 equiv). La reacción se agitó a temperatura ambiente. Después de 16 h, se agregó más ácido 1,4-dimetilpiperidina-4-carboxílico (1,0 equiv), DMAP (0,05 equiv), DIPEA (2,0 equiv), y EDCI (1,5 equiv) a la reacción, y la reacción se calentó hasta 40 °C. Después de dos horas adicionales, la reacción se inactivó mediante la adición de agua y DCM, y la capa orgánica se lavó 1x con HCl 1 M, 1x con $NaHCO_3$ al 5 %, y 1x con salmuera. La capa orgánica resultante se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM) para obtener el producto como un aceite rosa (94 mg, 22 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,22 (m, 9H), 4,92 (ddd, J = 11,6, 7,5, 4,7 Hz, 1H), 4,30 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 12,0, 5,8, 1,9 Hz, 2H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,67 (s, 2H), 2,41 – 2,25 (m, 9H), 2,14 (d, J = 14,2 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,98 – 1,78 (m, 3H), 1,66 – 1,49 (m, 9H), 1,43 – 1,18 (m, 50H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,3 Hz, 9H).

Ejemplo 11 – Compuesto 11

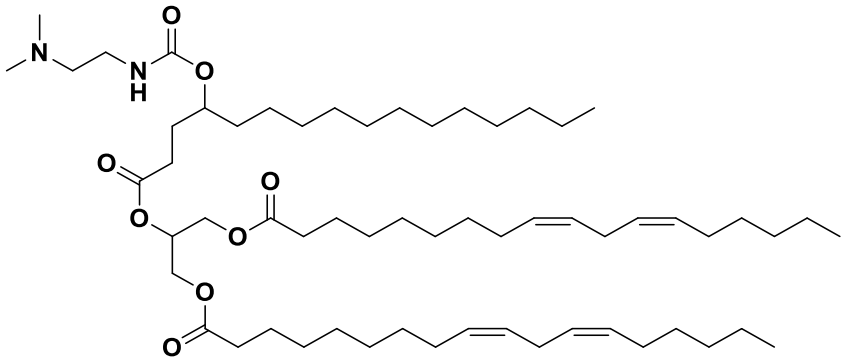
Compuesto 11: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((4-(dietilamino)butanoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 11 se sintetizó con 17 % de rendimiento a partir del Intermedio 1d y ácido 3-(dietilamino)butanoico mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 10. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 5,43 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (tt, J = 5,8, 4,4 Hz, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 2,2 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 1,6 Hz, 2H), 3,23 (h, J = 6,4 Hz, 2H), 2,82 – 2,73 (m, 4H), 2,48 – 2,20 (m, 14H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,97 – 1,42 (m, 12H), 1,42 – 1,20 (m, 48H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1013,9 m/z [M+H].

Ejemplo 12 – Compuesto 12

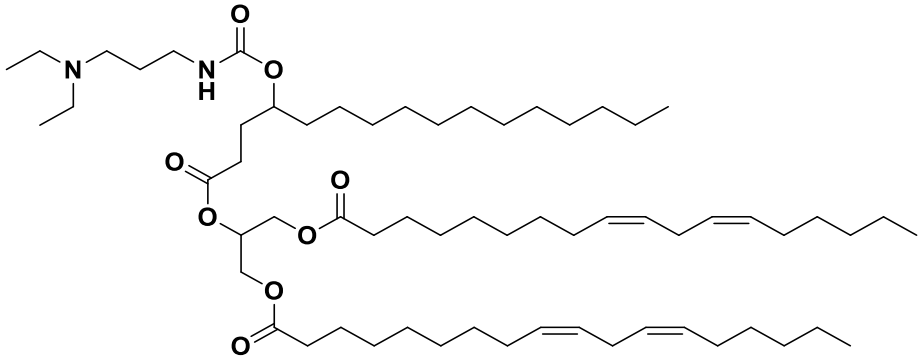
Compuesto 12: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 12 se sintetizó con 67 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,29 (m, 8H), 5,29 – 5,18 (m, 2H), 4,75 (s, 1H), 4,34 – 4,24 (m, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,6 Hz, 2H), 3,25 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 2,77 (td, J = 6,2, 1,2 Hz, 4H), 2,47 – 2,35 (m, 4H), 2,35 – 2,28 (m, 4H), 2,24 (s, 6H), 2,05 (q, J = 7,1 Hz, 8H), 1,98 – 1,73 (m, 4H), 1,65 – 1,42 (m, 7H), 1,40 – 1,20 (m, 48H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,3 Hz, 9H). MS: 987,2 m/z [M+H].

Ejemplo 13 – Compuesto 13

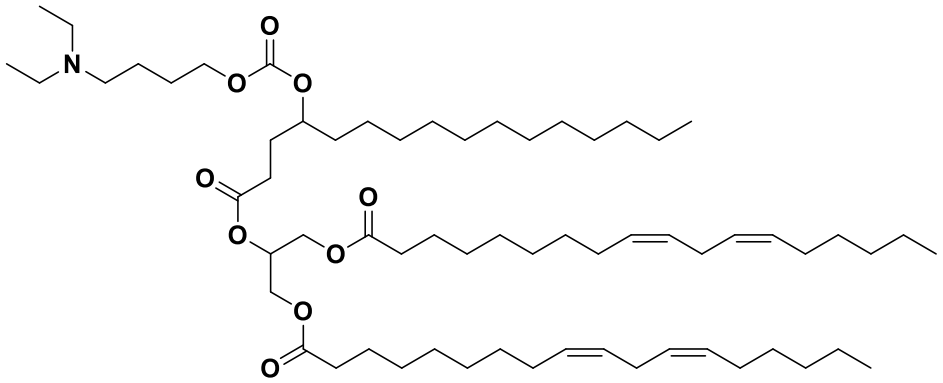
Compuesto 13: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dietilamino)propil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 13 se sintetizó con 62 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y N1,N1-dietilpropano-1,3-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,93 (s, 1H), 5,44 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (ddd, J = 5,8, 4,5, 1,3 Hz, 1H), 4,74 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 2,7 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 1,2 Hz, 2H), 3,24 (tt, J = 13,2, 6,6 Hz, 2H), 2,81 – 2,71 (m, 4H), 2,57 (d, J = 7,7 Hz, 6H), 2,38 (ddd, J = 8,9, 6,8, 3,2 Hz, 2H), 2,35 – 2,28 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,6 Hz, 8H), 1,94 – 1,85 (m, 2H), 1,79 (dq, J = 14,8, 8,1 Hz, 2H), 1,73 – 1,56 (m, 7H), 1,56 – 1,43 (m, 3H), 1,40 – 1,20 (m, 47H), 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,3 Hz, 9H). MS: 1029,2 m/z [M+H].

Ejemplo 14 – Compuesto 14

Compuesto 14: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-(dietilamino)butoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

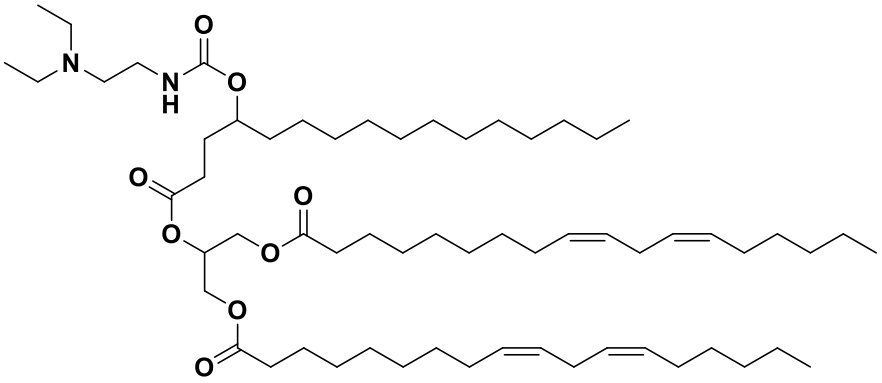


El Compuesto 14 se sintetizó con 60 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y N1,N1-dimetiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,30 (m, 9H), 5,28 (tt, J = 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,78 – 4,69 (m, 1H), 4,31 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,22 – 4,09 (m, 4H), 2,79 (td, J = 6,1, 1,1 Hz, 4H), 2,63 (q, J = 7,2 Hz, 4H), 2,55 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,47 – 2,38

(m, 2H), 2,38 – 2,30 (m, 4H), 2,07 (q, J = 7,1 Hz, 8H), 2,02 – 1,85 (m, 2H), 1,76 – 1,51 (m, 11H), 1,45 – 1,21 (m, 49H), 1,08 (t, J = 7,2 Hz, 6H), 0,95 – 0,82 (m, 9H). MS: 1044,1 m/z [M+H].

Ejemplo 15 – Compuesto 15

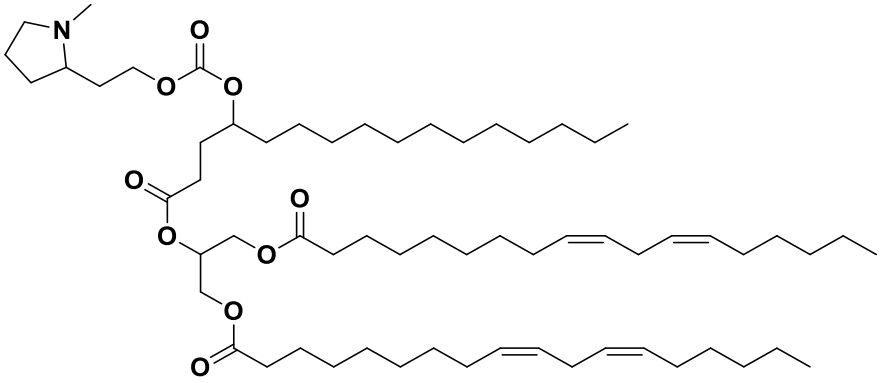
Compuesto 15: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(dietilamino)etil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 15 se sintetizó con 75 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y N1,N1-dietiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,29 (m, 9H), 5,25 (ddd, J = 5,8, 4,4, 1,4 Hz, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,2 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,0 Hz, 2H), 3,23 (q, J = 5,7 Hz, 2H), 2,80 – 2,73 (m, 4H), 2,57 (q, J = 7,0 Hz, 6H), 2,38 (ddd, J = 9,0, 6,6, 4,7 Hz, 2H), 2,34 – 2,28 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,90 (h, J = 9,0, 7,9 Hz, 1H), 1,80 (p, J = 7,3, 6,5 Hz, 1H), 1,66 – 1,44 (m, 7H), 1,40 – 1,20 (m, 53H), 1,03 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,3 Hz, 9H). MS: 1014,9 m/z [M+H].

Ejemplo 16 – Compuesto 16

Compuesto 16: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(1-metilpirrolidin-2-il)etoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

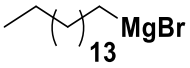


El Compuesto 16 se sintetizó con 78 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 2-(1-metilpirrolidin-2-il)etan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ

5,43 – 5,28 (m, 9H), 5,25 (tt, J = 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,72 (qd, J = 7,6, 4,6 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,26 – 4,09 (m, 4H), 3,14 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,45 – 2,28 (m, 9H), 2,22 (td, J = 11,5, 10,9, 6,0 Hz, 2H), 2,15 – 1,91 (m, 12H), 1,69 – 1,48 (m, 9H), 1,42 – 1,20 (m, 50H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1027,9 m/z [M+H].

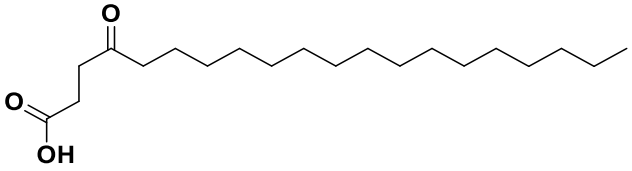
Ejemplo 17 – Compuesto 17

Intermedio 17a: bromuro de hexadecilmagnesio



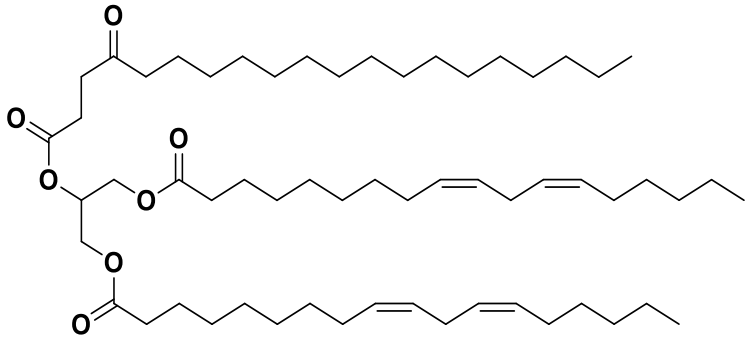
A una solución de Mg (15,92 g, 2 equiv) en THF (300 mL) se le agregó I_2 (0,01 equiv), luego, se agregó 1-bromohexadecano (1,0 equiv) en THF (100 mL) a lo anterior por goteo a 80 °C. La mezcla se agitó durante 6 h a 80 °C El producto se obtuvo con un rendimiento cuantitativo como un líquido marrón y se usó inmediatamente en la siguiente etapa.

Intermedio 17b: ácido 4-oxoicosanoico



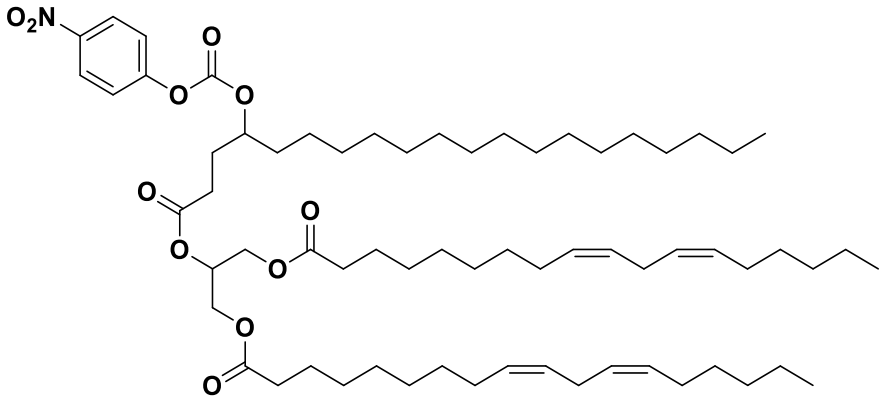
Una solución de anhídrido succínico (54 g, 1,0 equiv) en THF (1,2 M) se enfrió hasta -78 °C, seguido por la adición del Intermedio 17a. La reacción se mantuvo a -78 °C durante 12 h antes de verterse en NH_4Cl sat. y se extrajo 3x con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. La purificación mediante cromatografía en columna produjo el producto como un sólido blanco (4 g, 2 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,11 (t, J = 6,7 Hz, 1H), 2,80 – 2,62 (m, 4H), 2,46 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 1,63 (dq, J = 14,7, 7,1 Hz, 2H), 1,49 – 1,20 (m, 27H), 0,90 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 17c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxoicosanoil)oxi)propano-1,3-diilo



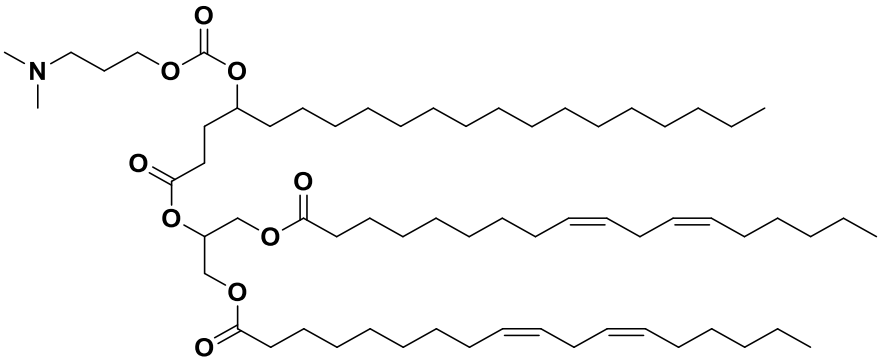
El Intermedio 17c se sintetizó con 53 % de rendimiento a partir del Intermedio 17b y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,21 (m, 9H), 4,29 (dt, J = 11,9, 4,1 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 4,06 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 2,73 (dt, J = 22,5, 6,5 Hz, 6H), 2,67 – 2,54 (m, 4H), 2,42 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 9H), 1,61 (q, J = 7,9, 7,3 Hz, 8H), 1,42 – 1,15 (m, 55H), 0,88 (td, J = 6,7, 4,0 Hz, 9H).

Intermedio 17d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)icosanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 17d se sintetizó con 29 % de rendimiento a partir del Intermedio 17c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,33 – 8,24 (m, 2H), 7,43 – 7,34 (m, 2H), 5,45 – 5,23 (m, 8H), 4,92 – 4,82 (m, 1H), 4,31 (dd, J = 12,0, 4,3 Hz, 2H), 4,20 – 4,09 (m, 2H), 2,76 (t, J = 6,3 Hz, 4H), 2,47 (dd, J = 8,3, 6,7 Hz, 2H), 2,30 (td, J = 7,6, 4,2 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 7,2 Hz, 9H), 1,61 (ddt, J = 11,5, 7,4, 3,7 Hz, 4H), 1,43 – 1,22 (m, 49H), 0,88 (td, J = 6,9, 3,8 Hz, 9H).

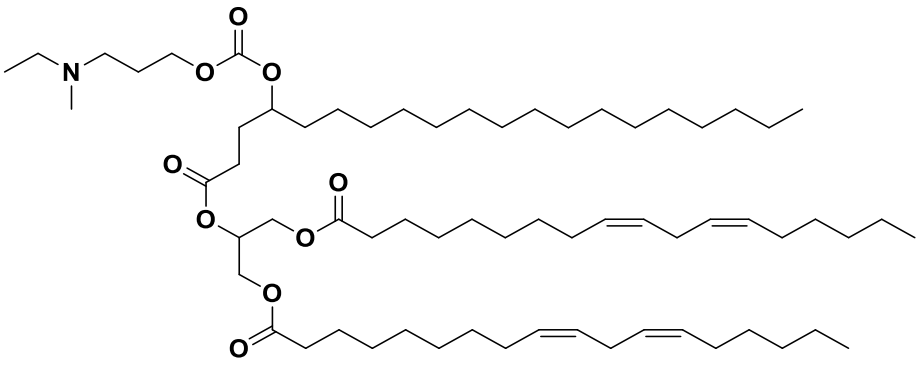
Compuesto 17: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)icosanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 17 se sintetizó con 74 % de rendimiento a partir del Intermedio 17d y 3-(dimetilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,22 (m, 10H), 4,72 (tdd, J = 7,5, 5,4, 4,0 Hz, 1H), 4,36 – 4,25 (m, 2H), 4,23 – 4,08 (m, 4H), 2,82 – 2,71 (m, 4H), 2,50 – 2,28 (m, 9H), 2,25 (s, 6H), 2,09 – 1,97 (m, 9H), 1,91 – 1,80 (m, 3H), 1,70 – 1,47 (m, 7H), 1,40 – 1,20 (m, 57H), 0,96 – 0,82 (m, 9H). MS: 1058,1 m/z [M+H].

Ejemplo 18 – Compuesto 18

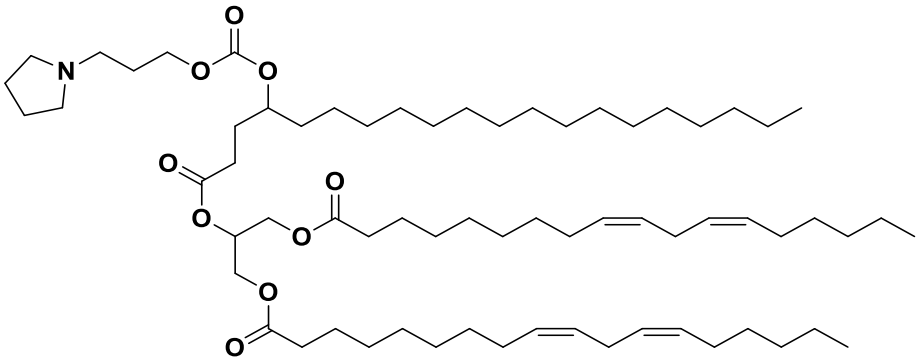
Compuesto 18: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(etil(metil)amino)propoxi)carbonil)oxi)icosanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 18 se sintetizó con 77 % de rendimiento a partir del Intermedio 17d y 3-((metil)etilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,22 (m, 10H), 4,72 (qd, J = 7,7, 4,7 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 12,0, 4,4 Hz, 2H), 4,20 – 4,10 (m, 4H), 2,83 – 2,73 (m, 4H), 2,51 – 2,36 (m, 6H), 2,35 – 2,28 (m, 4H), 2,24 (s, 3H), 2,10 – 1,99 (m, 9H), 1,91 – 1,82 (m, 3H), 1,66 – 1,52 (m, 6H), 1,42 – 1,19 (m, 60H), 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1072,3 m/z [M+H].

Ejemplo 19 – Compuesto 19

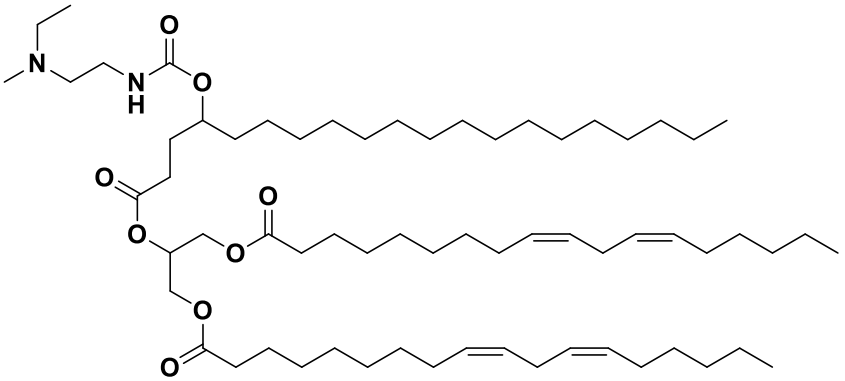
Compuesto 19: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)icosanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 19 se sintetizó con 67 % de rendimiento a partir del Intermedio 17d y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,22 (m, 9H), 4,72 (tt, J = 7,5, 4,5 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,24 – 4,10 (m, 4H), 2,83 – 2,72 (m, 4H), 2,57 (d, J = 8,3 Hz, 6H), 2,40 (dt, J = 8,6, 6,7 Hz, 2H), 2,31 (td, J = 7,6, 1,2 Hz, 4H), 2,04 (dd, J = 8,5, 5,3 Hz, 8H), 2,00 – 1,86 (m, 4H), 1,86 – 1,78 (m, 4H), 1,53 (ddt, J = 14,1, 8,3, 4,7 Hz, 7H), 1,44 – 1,20 (m, 56H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,2 Hz, 9H). MS: 1084,2 m/z [M+H].

Ejemplo 20 – Compuesto 20

Compuesto 20: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)icosanoil)oxi)propano-1,3-diilo

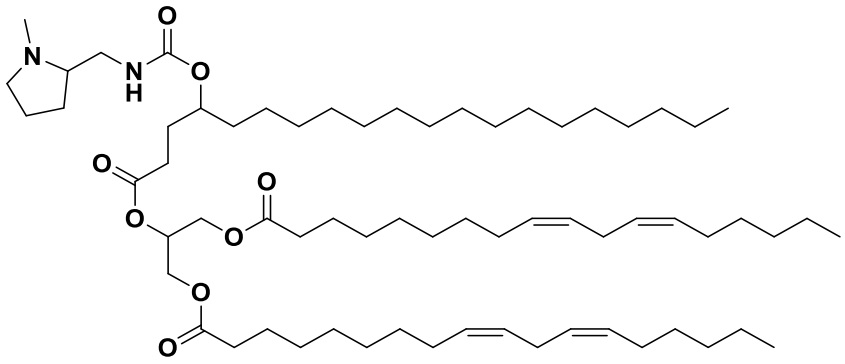


El Compuesto 20 se sintetizó con 73 % de rendimiento a partir del Intermedio 17d y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,17 (m, 10H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,3 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,4 Hz, 2H), 3,25 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,50 – 2,36 (m, 6H), 2,36 – 2,28 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,94 – 1,71 (m, 4H), 1,66 – 1,20 (m, 63H), 1,05 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,2 Hz, 9H). MS: 1056,6 m/z [M+H].

Ejemplo 21 – Compuesto 21

Compuesto 21: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-

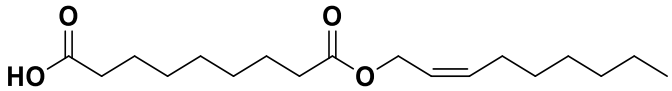
il)metil)carbamoil)oxi)icosanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 21 se sintetizó con 85 % de rendimiento a partir del Intermedio 17d y (1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,30 (m, 8H), 5,29 – 5,18 (m, 2H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,21 – 4,07 (m, 2H), 3,46 – 3,30 (m, 1H), 3,11 (ddt, J = 22,3, 8,9, 4,3 Hz, 2H), 2,80 – 2,72 (m, 4H), 2,45 – 2,15 (m, 12H), 2,04 (dd, J = 8,5, 5,3 Hz, 9H), 1,96 – 1,77 (m, 4H), 1,71 (tq, J = 8,4, 5,1, 4,0 Hz, 2H), 1,65 – 1,45 (m, 8H), 1,39 – 1,20 (m, 60H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,4 Hz, 9H). MS: 1068,8 m/z [M+H].

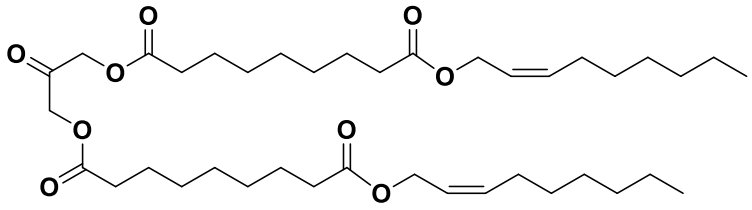
Ejemplo 22 – Compuesto 22

Intermedio 22a: ácido (Z)-9-(non-2-en-1-iloxi)-9-oxononanoico



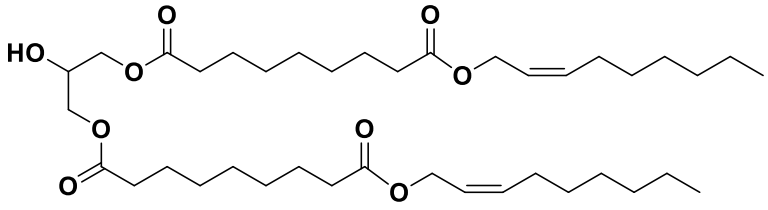
A una solución de ácido nonanodioico (25 g, 1,3 equiv) en THF (100 mL) a 0 °C, se le agregó por goteo cloruro de oxalilo (1,0 equiv) durante un minuto. A continuación, se agregó por goteo DMF (0,1 equiv) durante un minuto. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 10 min, seguido por temperatura ambiente durante 10 min. A continuación, la reacción se enfrió nuevamente hasta 0 °C, seguido por la adición de cis-2-nonen-1-ol (1,0 equiv) en THF (100 mL). La reacción se agitó a 0 °C durante 5 min, luego, se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Una vez completada, la reacción se concentró al vacío, se suspendió con DCM y se filtró. El filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (80 g, MeOH/DCM) para obtener el producto como un aceite amarillo pálido (15 g, 47 %) que se usó directamente en las etapas posteriores.

Intermedio 22b: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-oxopropano-1,3-diilo)



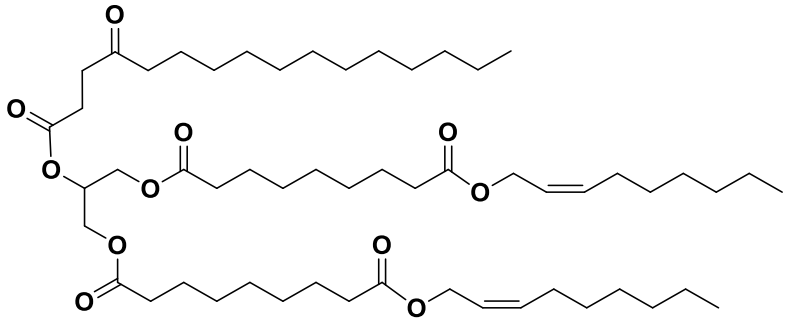
El Intermedio 22b se sintetizó con 73 % de rendimiento mediante la combinación de dihidroxiacetona y el Intermedio 22a mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1b.

Intermedio 22c: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-hidroxipropano-1,3-diilo)



El Intermedio 22c se sintetizó con 71 % de rendimiento a partir del Intermedio 22b mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1c, excepto que la reacción se completó después de 45 min. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,64 (dtt, J = 11,0, 7,3, 1,3 Hz, 2H), 5,52 (dtt, J = 10,9, 6,8, 1,5 Hz, 2H), 4,67 – 4,58 (m, 4H), 4,23 – 4,05 (m, 5H), 2,51 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 2,32 (dt, J = 18,1, 7,6 Hz, 8H), 2,15 – 2,00 (m, 4H), 1,61 (td, J = 10,0, 2,7 Hz, 8H), 1,42 – 1,20 (m, 28H), 0,93 – 0,83 (m, 6H).

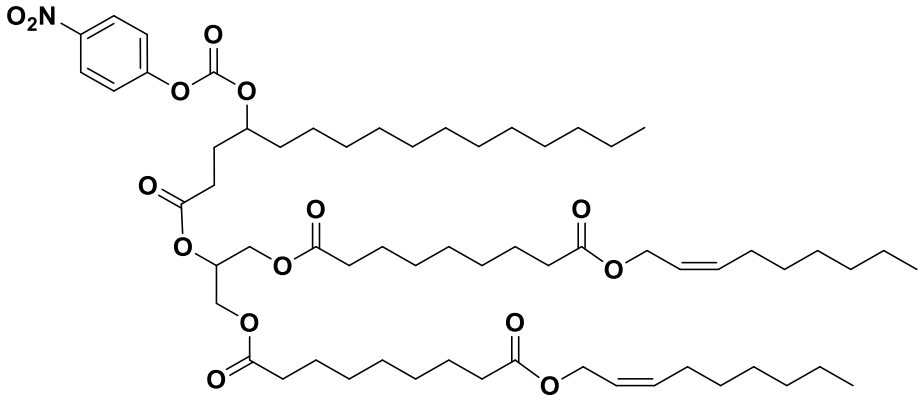
Intermedio 22d: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-oxohexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Intermedio 22d se sintetizó con 38 % de rendimiento a partir del Intermedio 22c y el Intermedio 1a mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,66 (dtt, J = 11,0, 7,3, 1,3 Hz, 2H), 5,54 (dtt, J = 11,0, 6,9, 1,5 Hz, 2H), 5,26 (tt, J = 5,9, 4,3 Hz, 1H), 4,64 (dd, J = 6,9, 1,3 Hz, 4H), 4,31 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,17 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,74 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,68 – 2,56 (m, 2H), 2,45 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,33 (td, J = 7,6, 6,0 Hz, 8H), 2,19 – 2,07 (m, 4H), 1,70 – 1,57 (m, 12H), 1,43 – 1,23 (m, 46H), 0,98 – 0,84 (m, 9H).

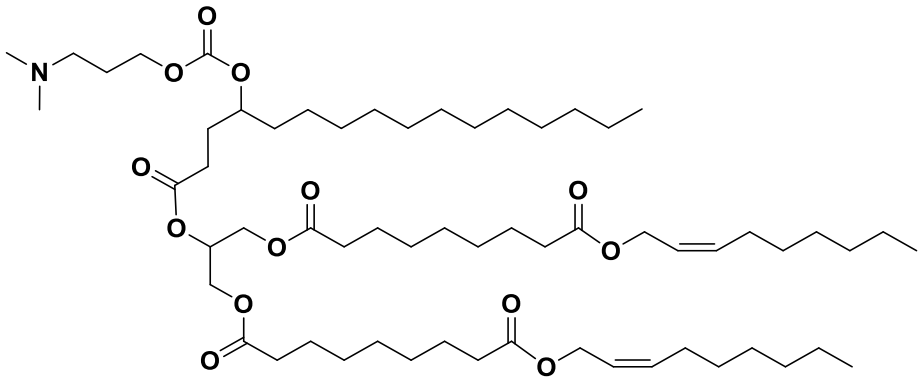
Intermedio 22e: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-(((4-

nitrofenoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Intermedio 22e se sintetizó con 51 % de rendimiento a partir del Intermedio 22d mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,38 – 8,31 (m, 1H), 8,31 – 8,24 (m, 2H), 7,54 – 7,47 (m, 1H), 7,44 – 7,36 (m, 2H), 5,64 (dtt, J = 11,0, 7,3, 1,3 Hz, 2H), 5,51 (dtt, J = 11,0, 6,8, 1,5 Hz, 2H), 5,26 (tt, J = 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,86 (ddd, J = 11,8, 7,5, 4,8 Hz, 1H), 4,65 – 4,57 (m, 4H), 4,36 – 4,25 (m, 2H), 4,21 – 4,10 (m, 2H), 2,50 – 2,44 (m, 2H), 2,30 (td, J = 7,5, 4,5 Hz, 8H), 2,13 – 2,05 (m, 4H), 1,62 (d, J = 37,2 Hz, 9H), 1,46 – 1,18 (m, 49H), 0,94 – 0,80 (m, 9H).

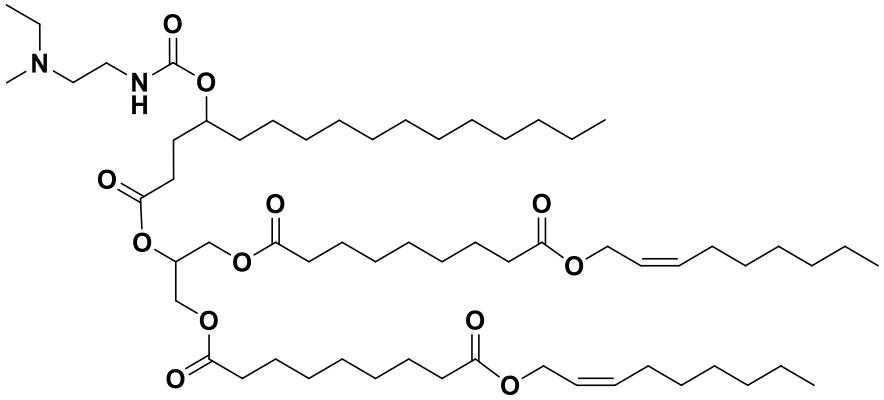
Compuesto 22: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-(((3-(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 22 se sintetizó con 54 % de rendimiento a partir del Intermedio 22e y 3-(dimetilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,71 – 5,58 (m, 2H), 5,52 (dtt, J = 10,9, 6,8, 1,5 Hz, 2H), 5,25 (tt, J = 5,7, 4,4 Hz, 1H), 4,72 (ddd, J = 11,7, 7,4, 4,5 Hz, 1H), 4,62 (dd, J = 6,8, 1,3 Hz, 4H), 4,34 – 4,25 (m, 2H), 4,25 – 4,08 (m, 4H), 2,39 (ddd, J = 12,9, 8,4, 6,4 Hz, 4H), 2,34 – 2,21 (m, 13H), 2,09 (tdd, J = 7,4, 5,7, 1,5 Hz, 4H), 2,02 – 1,67 (m, 7H), 1,69 – 1,51 (m, 11H), 1,42 – 1,19 (m, 45H), 0,97 – 0,78 (m, 8H). MS: 1065,7 m/z [M+H].

Ejemplo 23 – Compuesto 23

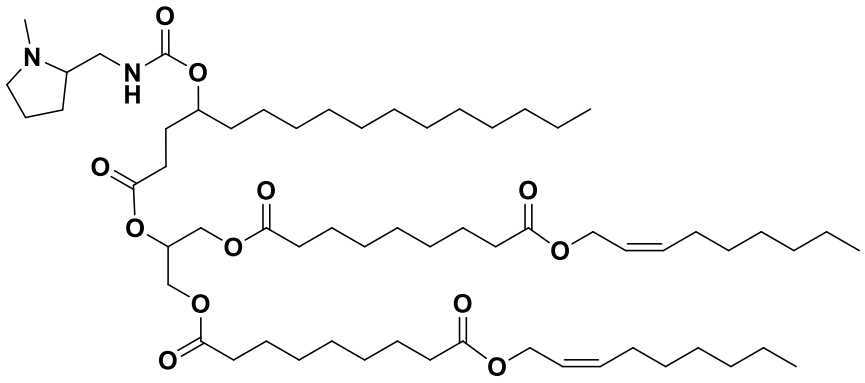
Compuesto 23: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 23 se sintetizó con 59 % de rendimiento a partir del Intermedio 22e y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,72 – 5,59 (m, 2H), 5,52 (dtt, J = 11,0, 6,8, 1,5 Hz, 2H), 5,36 – 5,18 (m, 2H), 4,75 (s, 1H), 4,62 (dd, J = 6,9, 1,2 Hz, 4H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,5 Hz, 2H), 3,35 – 3,20 (m, 2H), 2,56 – 2,43 (m, 4H), 2,38 (ddd, J = 8,7, 6,6, 4,1 Hz, 2H), 2,34 – 2,19 (m, 11H), 2,10 (qd, J = 7,4, 1,5 Hz, 4H), 1,96 – 1,72 (m, 3H), 1,63 (d, J = 6,9 Hz, 11H), 1,41 – 1,18 (m, 48H), 1,07 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,93 – 0,81 (m, 9H). MS: 1065,2 m/z [M+H].

Ejemplo 24 – Compuesto 24

Compuesto 24: 9,9'-di((Z)-non-2-en-1-il) di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)

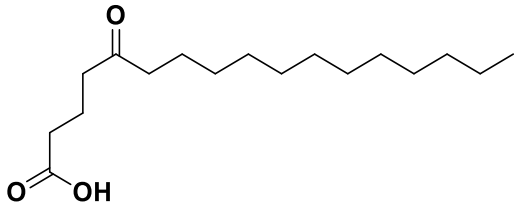


El Compuesto 24 se sintetizó a partir del Intermedio 22e y (1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,71 – 5,59 (m, 2H), 5,52 (dtt, J = 10,9, 6,8, 1,5 Hz, 2H), 5,24 (ddd, J = 8,8, 5,8, 4,4 Hz, 2H), 4,76 (s, 1H), 4,62 (dd, J = 6,9, 1,3 Hz, 4H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,2 Hz, 2H), 3,39 (q, J = 11,2, 10,1 Hz, 1H),

3,10 (t, J = 14,0 Hz, 2H), 2,50 – 2,20 (m, 15H), 2,10 (qd, J = 7,4, 1,5 Hz, 4H), 1,97 – 1,67 (m, 6H), 1,61 (d, J = 7,3 Hz, 12H), 1,41 – 1,18 (m, 47H), 0,97 – 0,79 (m, 9H). MS: 1076,7 m/z [M+H].

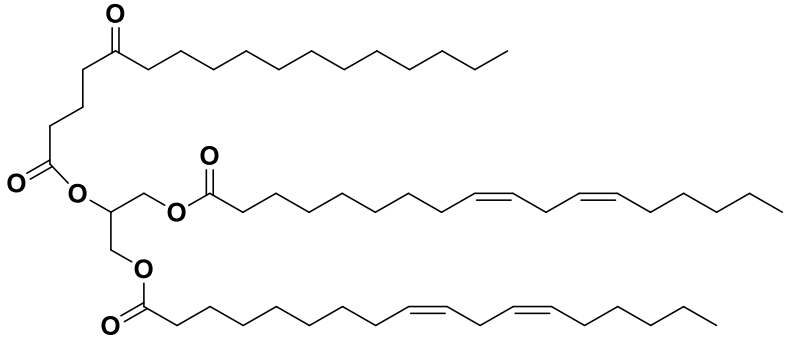
Ejemplo 25 – Compuesto 25

Intermedio 25a: ácido 5-oxoheptadecanoico



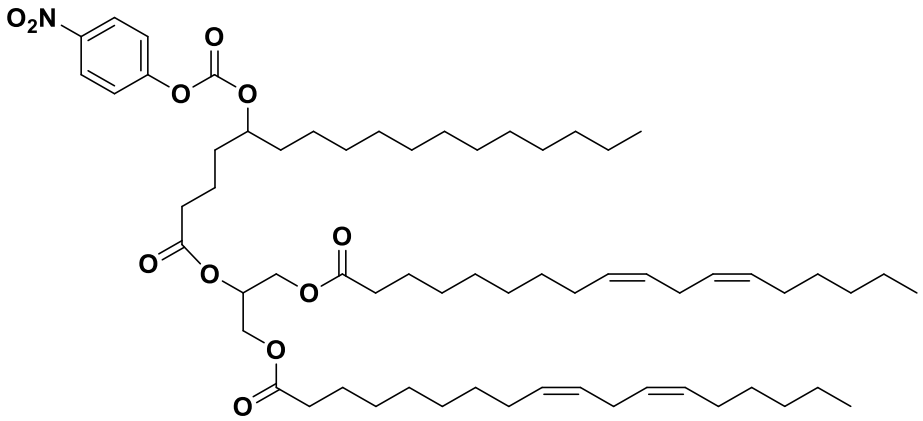
El Intermedio 25a se sintetizó con 64 % de rendimiento a partir de una solución de anhídrido glutárico y bromuro de dodecilmagnesio mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1a. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,75 (t, J = 6,7 Hz, 1H), 2,49 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,44 – 2,35 (m, 4H), 1,90 (p, J = 7,2 Hz, 2H), 1,56 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,26 (d, J = 4,0 Hz, 19H), 0,88 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 25b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-oxoheptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



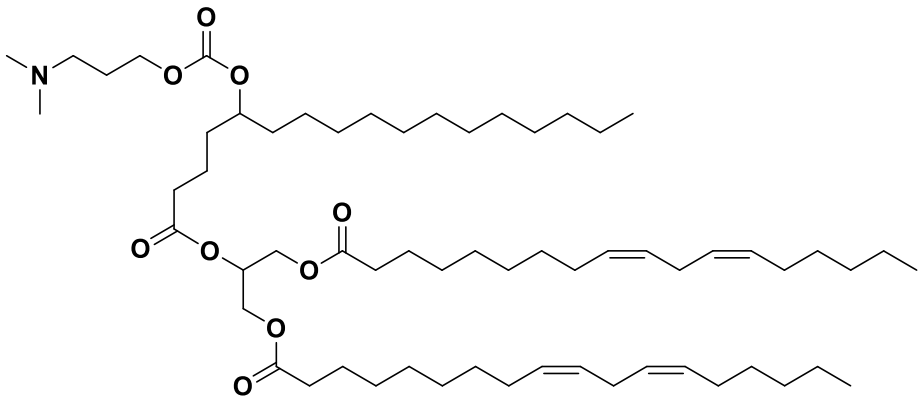
El Intermedio 25b se sintetizó con 55 % de rendimiento a partir del Intermedio 25a y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,19 (m, 9H), 4,30 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,12 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,46 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,42 – 2,24 (m, 8H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,88 (p, J = 7,2 Hz, 2H), 1,57 (dp, J = 21,3, 7,2 Hz, 6H), 1,43 – 1,18 (m, 41H), 0,87 (td, J = 6,8, 4,1 Hz, 8H).

Intermedio 25c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)heptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 25c se sintetizó con 23 % de rendimiento a partir del Intermedio 25b mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,31 – 8,24 (m, 2H), 7,42 – 7,35 (m, 2H), 5,44 – 5,19 (m, 9H), 4,83 (q, J = 5,7 Hz, 1H), 4,31 (ddd, J = 12,0, 4,4, 2,9 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 2,1 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,3 Hz, 4H), 2,34 (dt, J = 30,7, 7,0 Hz, 6H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,80 – 1,52 (m, 14H), 1,29 (dd, J = 19,3, 12,3 Hz, 44H), 0,88 (td, J = 6,8, 3,7 Hz, 9H).

Compuesto 25: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-(((3-(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)heptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

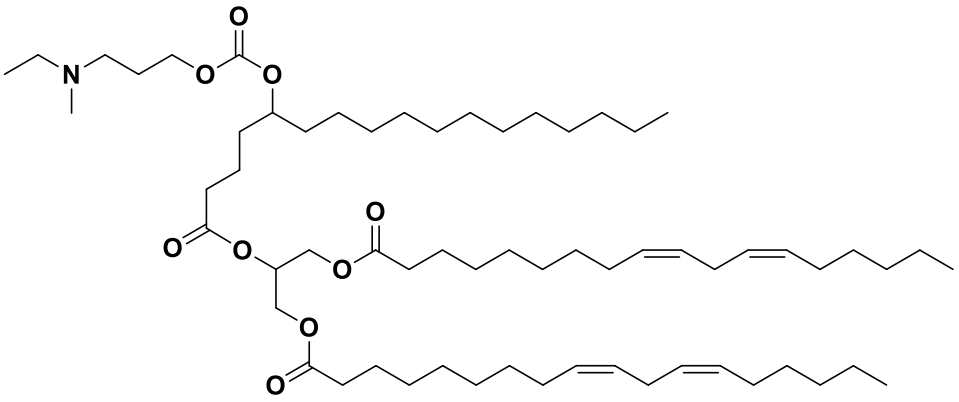


El Compuesto 25 se sintetizó con 94 % de rendimiento a partir del Intermedio 25c y 3-(dimetilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,19 (m, 9H), 4,74 – 4,65 (m, 1H), 4,29 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,7 Hz, 2H), 4,25 – 4,07 (m, 4H), 2,82 – 2,72 (m, 4H), 2,39 – 2,28 (m, 8H), 2,22 (s, 6H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,84 (dq, J = 8,2, 6,7 Hz, 2H), 1,73 – 1,50 (m, 14H), 1,41 – 1,18 (m, 50H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,2 Hz, 9H). MS: 1016,11 m/z [M+H].

Ejemplo 26 – Compuesto 26

Compuesto 26: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-(((3-

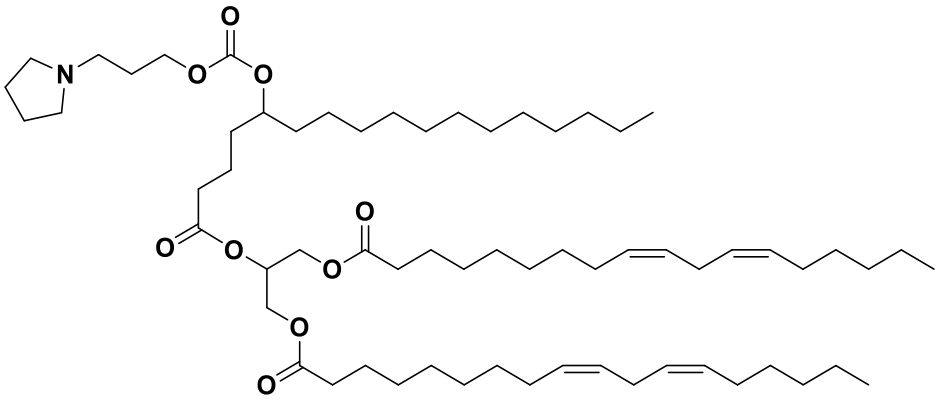
(etil(metil)amino)propoxi)carbonil)oxi)heptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 26 se sintetizó con 84 % de rendimiento a partir del Intermedio 25c y 3-((metil)etilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,20 (m, 10H), 4,69 (dq, J = 7,5, 5,5 Hz, 1H), 4,29 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,6 Hz, 2H), 4,25 – 4,10 (m, 4H), 2,83 – 2,72 (m, 4H), 2,45 – 2,38 (m, 4H), 2,37 – 2,28 (m, 6H), 2,21 (s, 3H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,88 – 1,79 (m, 2H), 1,74 – 1,52 (m, 13H), 1,44 – 1,22 (m, 51H), 1,04 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,1 Hz, 9H). MS: 1030,1 m/z [M+H].

Ejemplo 27 – Compuesto 27

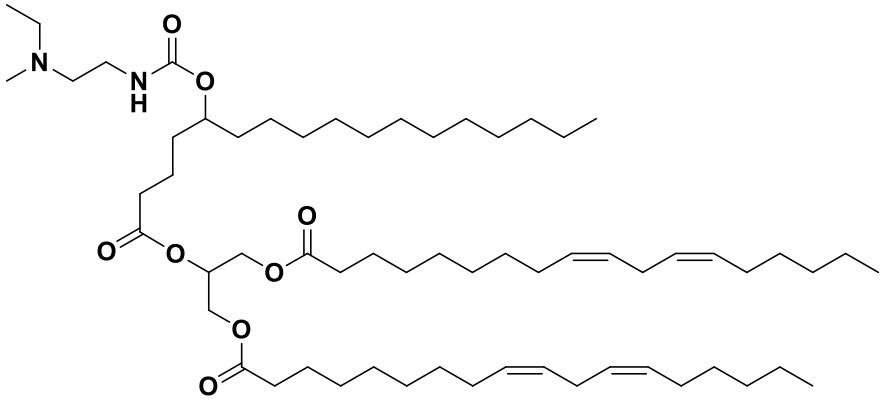
Compuesto 27: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)heptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 27 se sintetizó con 79 % de rendimiento a partir del Intermedio 25c y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,21 (m, 10H), 4,69 (dt, J = 7,1, 5,3 Hz, 1H), 4,29 (ddd, J = 11,9, 4,3, 1,6 Hz, 2H), 4,25 – 4,10 (m, 4H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,52 (dd, J = 14,8, 7,1 Hz, 6H), 2,33 (dt, J = 13,4, 7,2 Hz, 6H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,89 (dq, J = 10,8, 6,8 Hz, 2H), 1,82 – 1,74 (m, J = 3,8, 3,3 Hz, 4H), 1,71 – 1,53 (m, 13H), 1,40 – 1,21 (m, 49H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,2 Hz, 9H). MS: 1041,8 m/z [M+H].

Ejemplo 28 – Compuesto 28

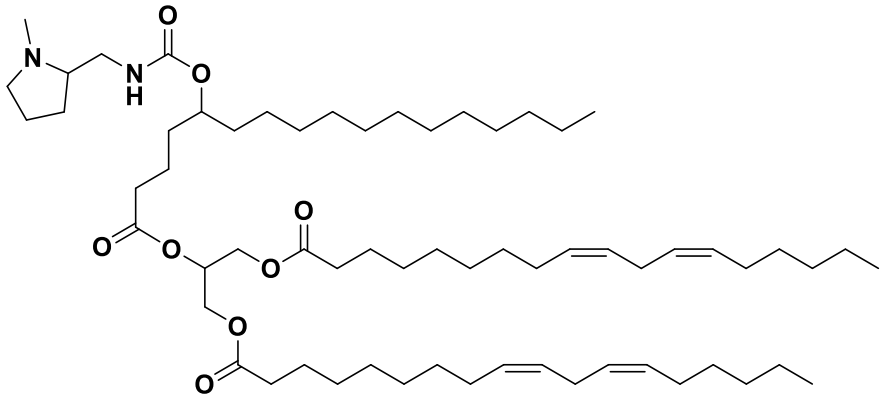
Compuesto 28: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)heptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 28 se sintetizó con 87 % de rendimiento a partir del Intermedio 25c y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,21 (m, 10H), 5,12 (s, 1H), 4,80 – 4,65 (m, 1H), 4,29 (dt, J = 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,19 – 4,09 (m, 2H), 3,24 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 2,83 – 2,72 (m, 4H), 2,44 (dt, J = 14,6, 6,6 Hz, 4H), 2,38 – 2,27 (m, 6H), 2,20 (s, 3H), 2,04 (dd, J = 7,8, 5,7 Hz, 8H), 1,74 – 1,42 (m, 15H), 1,42 – 1,19 (m, 50H), 1,04 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,4 Hz, 9H). MS: 1014,1 m/z [M+H].

Ejemplo 29 – Compuesto 29

Compuesto 29: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)heptadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

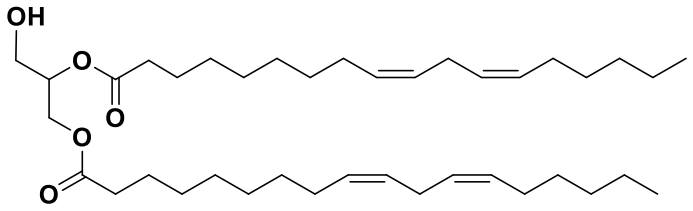


El Compuesto 29 se sintetizó con 93 % de rendimiento a partir del Intermedio 25c y (1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,21 (m, 11H), 5,08 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,74 (s, 1H), 4,29 (dt, J = 11,9, 4,6 Hz, 2H), 4,13 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,5 Hz, 2H), 3,39 (q, J = 11,3, 10,6 Hz, 1H), 3,08 (d, J = 25,9 Hz, 2H), 2,82 – 2,73 (m, 4H), 2,39

– 2,18 (m, 12H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 9H), 1,91 – 1,82 (m, 1H), 1,62 (dddd, J = 27,4, 20,2, 13,2, 6,7 Hz, 18H), 1,42 – 1,20 (m, 52H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,4 Hz, 9H). MS: 1026,8 m/z [M+H].

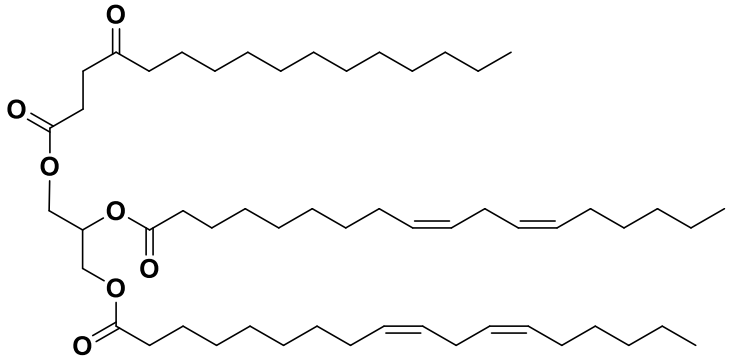
Ejemplo 30 – Compuesto 30

Intermedio 30a: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 3-hidroxipropano-1,2-diilo



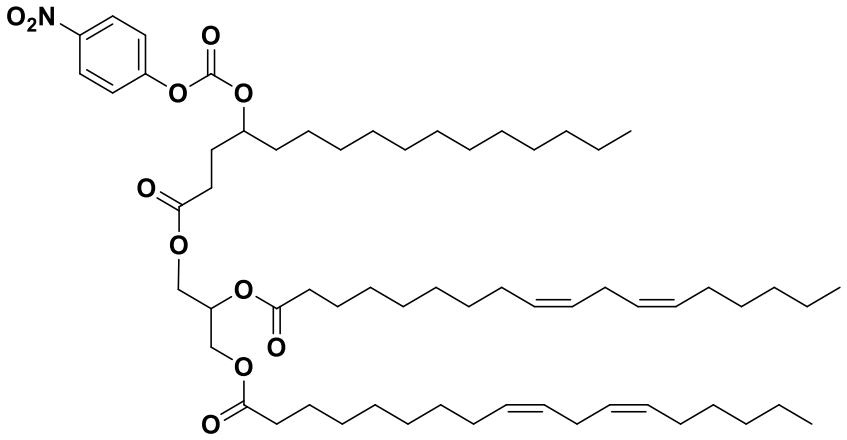
A una solución de glicerol (1,59 g, 1,0 equiv) en DCM (0,1 M) se le agregó ácido linoleico (2,05 equiv), DMAP (0,2 equiv), DIPEA (2,4 equiv), EDCI (2,4 equiv) y 1 mL de DMF en secuencia. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 65 h. Una vez completada, la mezcla se inactivó mediante la adición de agua, y la capa orgánica se lavó 1x con HCl 1 M y 1x con NaHCO3 al 5 %. Luego, la capa orgánica se secó en Na2SO4, se filtró y se concentró al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,28 (m, 8H), 5,13 – 5,04 (m, 1H), 4,32 (dd, J = 11,9, 4,6 Hz, 1H), 4,23 (dd, J = 11,9, 5,6 Hz, 1H), 3,73 (ddd, J = 6,5, 5,0, 1,3 Hz, 2H), 2,82 – 2,73 (m, 4H), 2,33 (dt, J = 8,8, 7,5 Hz, 4H), 2,03 (dq, J = 13,1, 6,6 Hz, 9H), 1,69 – 1,57 (m, 4H), 1,44 – 1,23 (m, 29H), 0,96 – 0,83 (m, 6H).

Intermedio 30b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 3-((4-oxohexadecanoil)oxy)propano-1,2-diilo



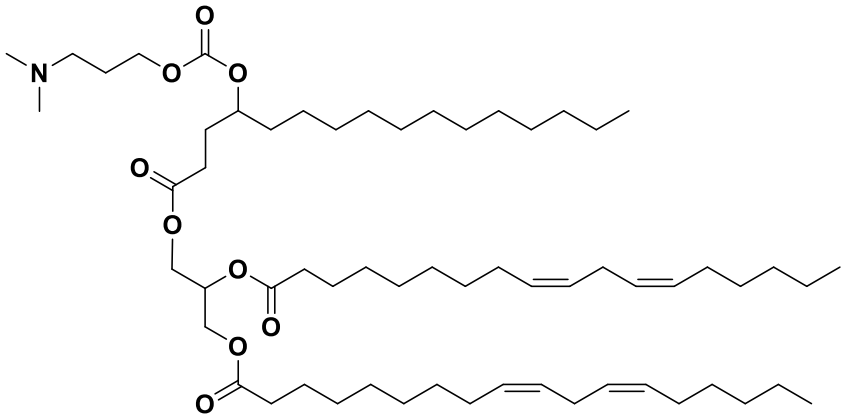
El Intermedio 30b se sintetizó con 66 % de rendimiento a partir del Intermedio 30a y el Intermedio 1a mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,26 (m, 9H), 4,29 (ddd, J = 11,8, 4,3, 2,1 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 7,7, 6,0 Hz, 2H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,71 (td, J = 6,3, 5,6, 2,4 Hz, 2H), 2,62 – 2,55 (m, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,31 (td, J = 7,6, 5,4 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,66 – 1,54 (m, 8H), 1,41 – 1,19 (m, 47H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,4 Hz, 9H).

Intermedio 30c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 3-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,2-diilo



El Intermedio 30c se sintetizó con 40 % de rendimiento a partir del Intermedio 30b mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1e.

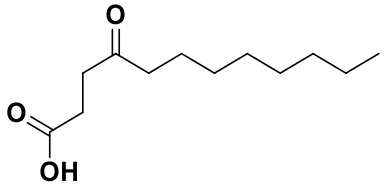
Compuesto 30: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 9-dodecil-2-metil-7,12-dioxo-6,8,13-trioxa-2-azahexadecano-15,16-diilo



El Compuesto 30 se sintetizó con 84 % de rendimiento a partir del Intermedio 30c y 3-((metil)etilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,20 (m, 8H), 4,76 – 4,67 (m, 1H), 4,29 (ddd, J = 11,9, 4,3, 1,7 Hz, 2H), 4,22 – 4,11 (m, 4H), 2,77 (t, J = 6,7 Hz, 4H), 2,45 – 2,28 (m, 8H), 2,22 (s, 6H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 2,00 – 1,79 (m, 4H), 1,69 – 1,51 (m, 6H), 1,40 – 1,17 (m, 48H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,8 Hz, 8H). MS: 1002,2 m/z [M+H].

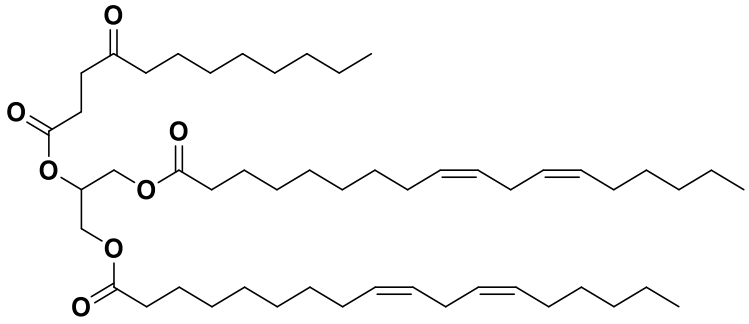
Ejemplo 31 – Compuesto 31

Intermedio 31a: ácido 4-oxodecanoico



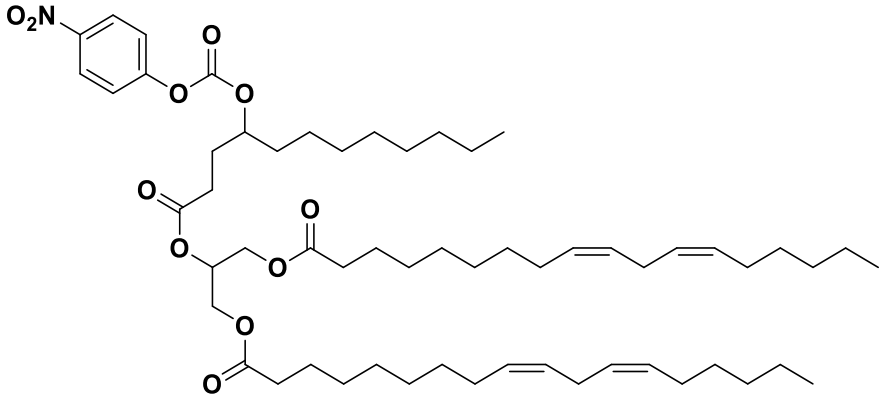
El Intermedio 31a se sintetizó con 9 % de rendimiento a partir de una solución de anhídrido succínico y bromuro de octilmagnesio mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1a. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,71 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,62 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,57 (p, J = 7,1 Hz, 2H), 1,26 (d, J = 3,6 Hz, 10H), 0,87 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 31b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxododecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



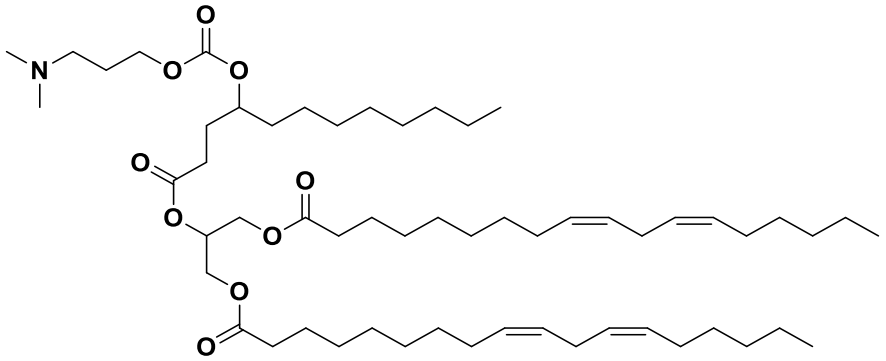
El Intermedio 31b se sintetizó con 38 % de rendimiento a partir del Intermedio 31a y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,47 – 5,19 (m, 8H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,15 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,71 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,59 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,32 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,67 – 1,53 (m, 6H), 1,40 – 1,20 (m, 37H), 0,88 (td, J = 6,8, 5,0 Hz, 9H).

Intermedio 31c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 31c se sintetizó con 68 % de rendimiento mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,26 – 8,16 (m, 2H), 7,40 – 7,30 (m, 2H), 5,39 – 5,05 (m, 9H), 4,80 (tdd, J = 7,5, 5,4, 4,0 Hz, 1H), 4,49 – 4,04 (m, 4H), 2,77 – 2,63 (m, 4H), 2,45 – 2,18 (m, 6H), 2,08 – 1,85 (m, 10H), 1,74 – 1,46 (m, 6H), 1,41 – 1,11 (m, 40H), 0,81 (td, J = 6,9, 2,4 Hz, 9H).

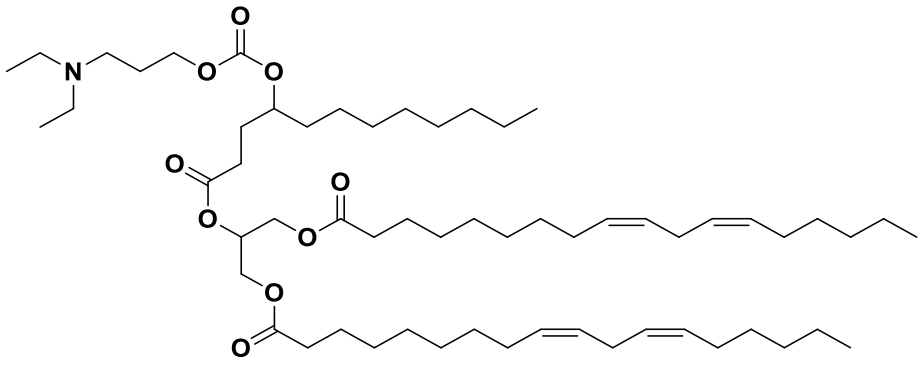
Compuesto 31: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dimetilamino)propoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 31 se sintetizó con 71 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y 3-(dimetilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,22 (m, 9H), 4,72 (tdd, J = 7,4, 5,3, 4,0 Hz, 1H), 4,34 – 4,26 (m, 2H), 4,23 – 4,10 (m, 4H), 2,82 – 2,72 (m, 4H), 2,45 – 2,36 (m, 4H), 2,31 (ddd, J = 8,0, 7,1, 1,2 Hz, 4H), 2,25 (s, 6H), 2,05 (q, J = 6,6 Hz, 8H), 1,99 – 1,91 (m, 1H), 1,91 – 1,82 (m, 3H), 1,67 – 1,53 (m, 6H), 1,40 – 1,21 (m, 41H), 0,94 – 0,82 (m, 9H). MS: 945,6 m/z [M+H].

Ejemplo 32 – Compuesto 32

Compuesto 32: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

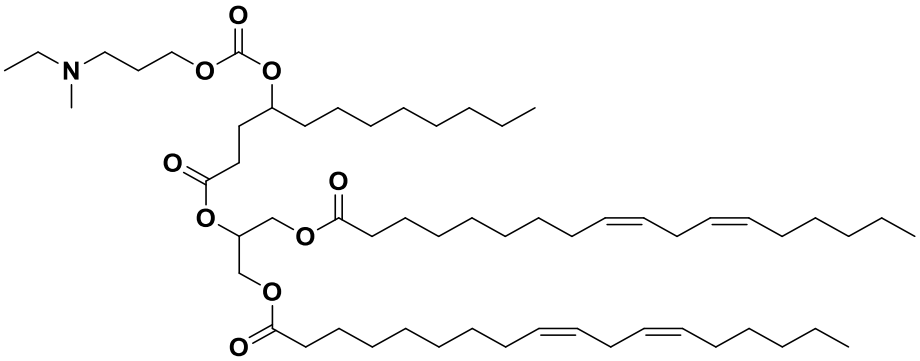


El Compuesto 32 se sintetizó con 71 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y 3-(dietilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz,

$CDCl_3$) δ 5,43 – 5,28 (m, 9H), 5,25 (ddd, J = 5,8, 4,4, 1,5 Hz, 1H), 4,72 (tdd, J = 7,6, 5,4, 4,0 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,25 – 4,08 (m, 5H), 2,77 (td, J = 6,1, 1,1 Hz, 4H), 2,64 – 2,53 (m, 6H), 2,40 (dt, J = 8,7, 6,8 Hz, 2H), 2,31 (ddd, J = 8,0, 7,2, 1,1 Hz, 4H), 2,10 – 2,01 (m, 10H), 1,95 (dddd, J = 11,1, 9,2, 6,9, 3,5 Hz, 1H), 1,91 – 1,81 (m, 3H), 1,69 – 1,49 (m, 7H), 1,39 – 1,20 (m, 42H), 1,05 (t, J = 7,2 Hz, 6H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,9 Hz, 9H). MS: 974,0 m/z [M+H].

Ejemplo 33 – Compuesto 33

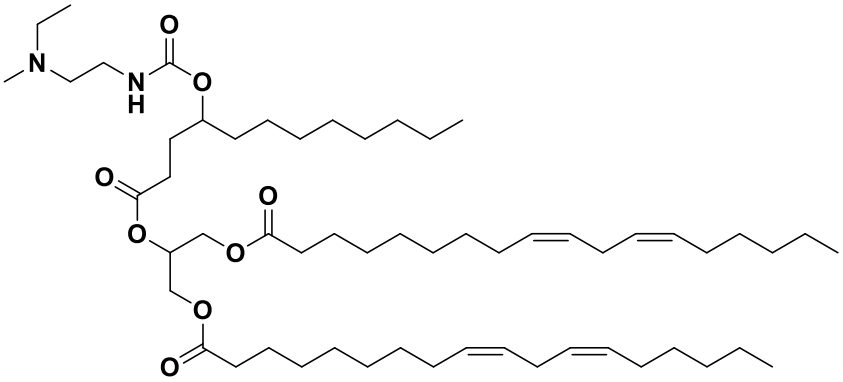
Compuesto 33: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(etil(metil)amino)propoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 33 se sintetizó con 79 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y 3-((metil)etilamino)propan-1-ol mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,21 (m, 10H), 4,72 (tdd, J = 9,5, 6,7, 4,1 Hz, 1H), 4,38 – 4,25 (m, 2H), 4,25 – 4,10 (m, 4H), 2,77 (td, J = 6,2, 1,1 Hz, 4H), 2,51 – 2,38 (m, 6H), 2,37 – 2,27 (m, 5H), 2,24 (d, J = 2,4 Hz, 3H), 2,05 (q, J = 7,1 Hz, 8H), 1,97 – 1,83 (m, 4H), 1,70 – 1,50 (m, 7H), 1,39 – 1,21 (m, 41H), 1,06 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,94 – 0,84 (m, 9H), 960,1 m/z [M+H].

Ejemplo 34 – Compuesto 34

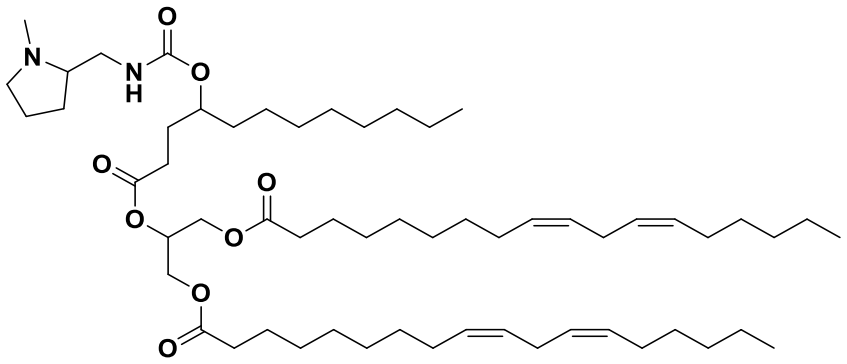
Compuesto 34: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 34 se sintetizó con 59 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,13 (m, 10H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,3 Hz, 2H), 3,25 (q, J = 5,7 Hz, 2H), 2,83 – 2,73 (m, 4H), 2,53 – 2,35 (m, 6H), 2,35 – 2,27 (m, 4H), 2,21 (d, J = 3,3 Hz, 3H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,96 – 1,74 (m, 3H), 1,66 – 1,43 (m, 7H), 1,41 – 1,21 (m, 41H), 1,05 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 6,9, 5,6 Hz, 9H), 944,7 m/z [M+H].

Ejemplo 35 – Compuesto 35

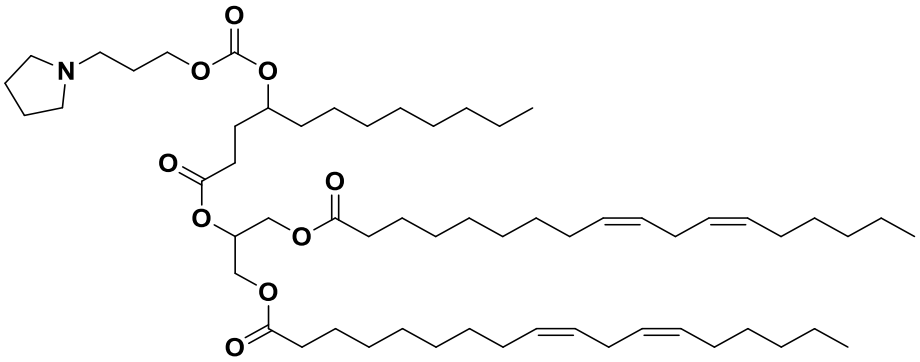
Compuesto 35: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 35 se sintetizó con 71 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y (1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,21 (m, 10H), 4,86 – 4,66 (m, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,1 Hz, 2H), 3,48 – 3,35 (m, 1H), 3,22 – 3,00 (m, 2H), 2,83 – 2,71 (m, 4H), 2,47 – 2,19 (m, 12H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,96 – 1,67 (m, 6H), 1,67 – 1,42 (m, 8H), 1,41 – 1,19 (m, 41H), 0,95 – 0,84 (m, 9H), 956,5 m/z [M+H].

Ejemplo 36 – Compuesto 36

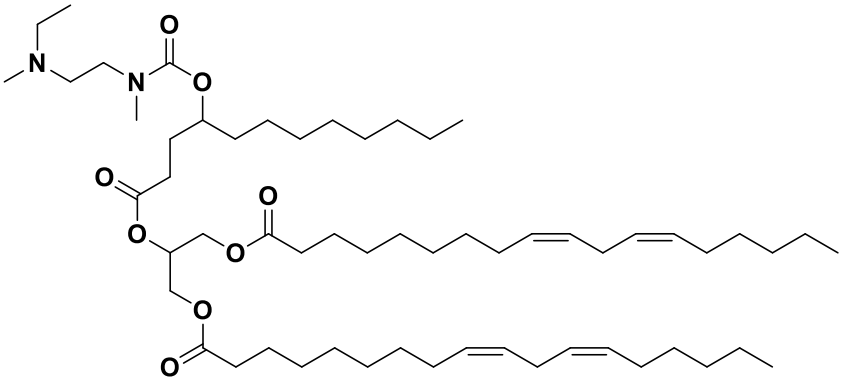
Compuesto 36: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 36 se sintetizó con 34 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,22 (m, 9H), 4,72 (tdd, J = 7,4, 5,4, 4,0 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,25 – 4,08 (m, 4H), 2,82 – 2,72 (m, 4H), 2,67 (t, J = 7,6 Hz, 5H), 2,47 – 2,27 (m, 6H), 2,09 – 1,91 (m, 11H), 1,91 – 1,80 (m, 4H), 1,68 – 1,47 (m, 7H), 1,47 – 1,19 (m, 42H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,8 Hz, 9H), 971,3 m/z [M+H].

Ejemplo 37 – Compuesto 37

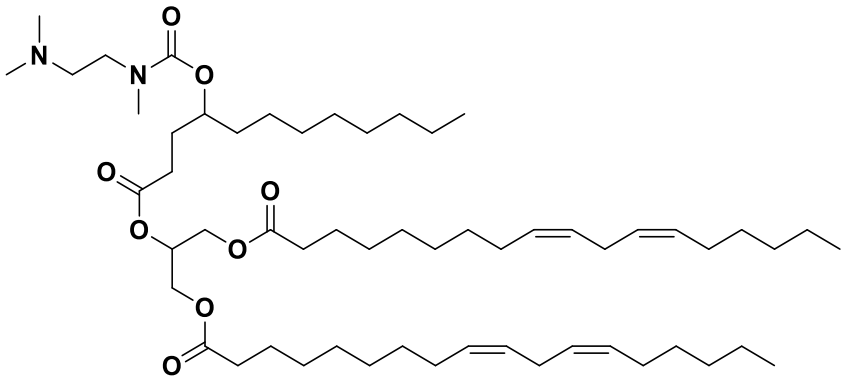
Compuesto 37: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)(metil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 37 se sintetizó con 67 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y N1-etil-N1,N2-dimetiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,18 (m, 8H), 4,78 (s, 1H), 4,28 (dt, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 3,44 – 3,24 (m, 2H), 2,91 (d, J = 8,1 Hz, 3H), 2,81 – 2,71 (m, 4H), 2,60 – 2,21 (m, 12H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 7H), 1,98 – 1,46 (m, 14H), 1,43 – 1,19 (m, 37H), 1,14 – 1,00 (m, 3H), 0,88 (td, J = 7,0, 5,3 Hz, 8H), 958,6 m/z [M+H].

Ejemplo 38 – Compuesto 38

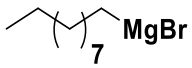
Compuesto 38: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(dimetilamino)etil)(metil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi) propano-1,3-diilo



El Compuesto 38 se sintetizó con 83 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y N1,N1,N2-trimetiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,19 (m, 8H), 4,78 (s, 1H), 4,28 (dt, J = 11,9, 4,1 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 3,37 (d, J = 23,8 Hz, 2H), 2,91 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 2,82 – 2,72 (m, 4H), 2,54 – 2,21 (m, 13H), 2,04 (q, J = 6,7 Hz, 7H), 1,95 – 1,44 (m, 14H), 1,42 – 1,21 (m, 37H), 0,88 (td, J = 7,0, 5,3 Hz, 8H), 944,5 m/z [M+H].

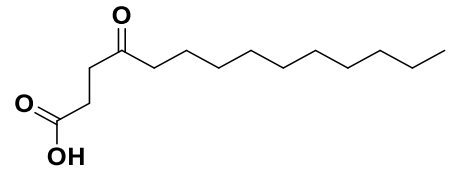
Ejemplo 39 – Compuesto 39

Intermedio 39a: bromuro de decilmagnesio



A una solución de Mg (10,99 g, 2 equiv) y I_2 (0,0001 eq) en THF (250 mL) se le agregó por goteo 1-bromodecano (1,0 equiv) a 80 °C durante 2 h. Después de la adición, la mezcla se agitó a esta temperatura durante 2 h. El producto bruto de bromuro de decilmagnesio se obtuvo como una solución de color marrón oscuro que se usó inmediatamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

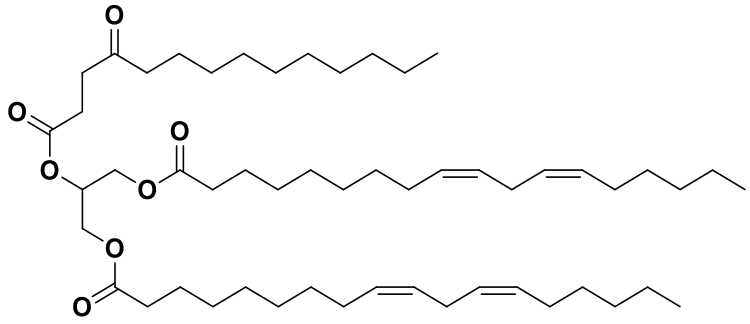
Intermedio 39b: ácido 4-oxotetradecanoico



Una solución de anhídrido succínico (45 g, 1,0 equiv) en THF (1,1 M) se enfrió hasta -78 °C, seguido por la adición del Intermedio 39a. La reacción se mantuvo a -78 °C durante 2 h antes de agitarse a 15 °C durante 16 h. Luego, la reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl sat., se diluyó con H_2O, y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. La purificación mediante cromatografía en columna produjo el producto como un sólido blanco (7,8 g, 7 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,74 (dd, J = 6,9, 5,2 Hz, 2H), 2,70 – 2,63

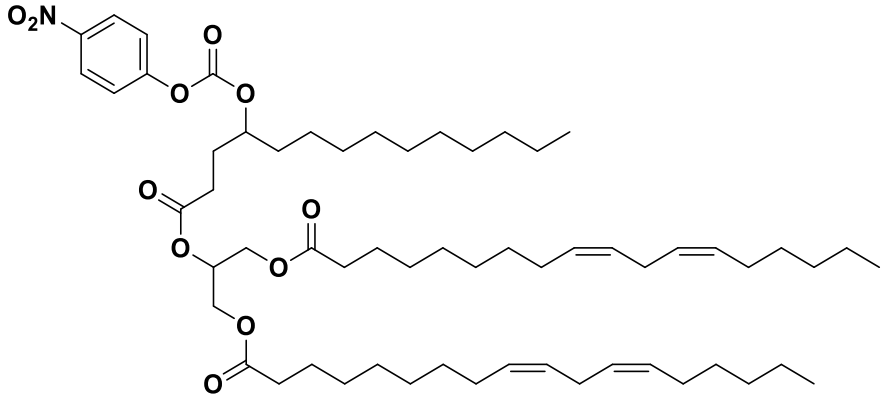
(m, 2H), 2,46 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,67 – 1,54 (m, 2H), 1,29 (d, J = 5,2 Hz, 14H), 0,90 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Intermedio 39c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxotetradecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 39c se preparó a partir del Intermedio 39b y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,18 (m, 9H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,74 (dt, J = 22,1, 6,8 Hz, 6H), 2,66 – 2,56 (m, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,59 (tq, J = 14,2, 7,5 Hz, 7H), 1,41 – 1,18 (m, 44H), 0,88 (td, J = 6,9, 4,6 Hz, 9H).

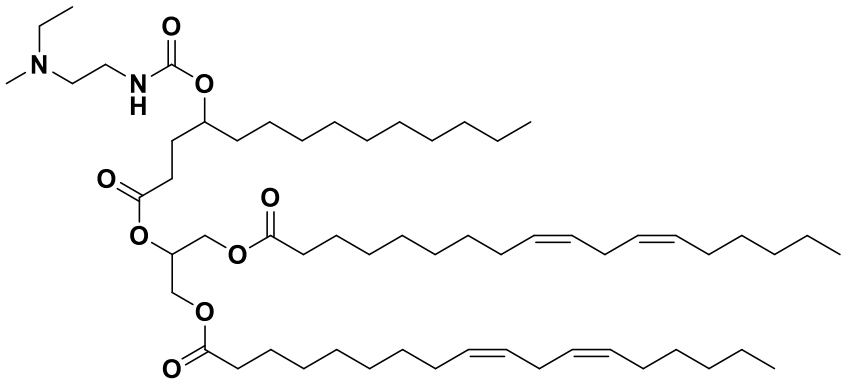
Intermedio 39d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)tetradecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 39c en MeOH (0,13 M) se le agregó $NaBH_4$ (2,5 eq) lentamente a 5 °C. La mezcla a esta temperatura durante 2 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante adición de H_2O y, luego, se extrajo 2x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener un aceite incoloro que se reconstituyó inmediatamente en DCM (1 M), seguido por la adición de 4-nitrofenilcloformiato (1,5 equiv) y piridina (2 equiv) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h, momento después del cual la mezcla de reacción

se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el Intermedio 39d con 31 % de rendimiento. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,33 – 8,22 (m, 2H), 7,46 – 7,33 (m, 2H), 5,43 – 5,23 (m, 9H), 4,31 (dd, J = 12,0, 4,3 Hz, 2H), 4,15 (dd, J = 12,0, 5,8 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,3 Hz, 4H), 2,47 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,30 (td, J = 7,6, 4,2 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 7,3 Hz, 10H), 1,67 (dt, J = 47,7, 6,1 Hz, 7H), 1,30 (tq, J = 14,3, 4,9, 3,0 Hz, 53H), 0,88 (td, J = 6,8, 3,5 Hz, 10H).

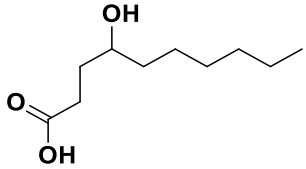
Compuesto 39: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tetradecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 39 se sintetizó con 78 % de rendimiento a partir del Intermedio 39d y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,49 – 5,17 (m, 9H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,3 Hz, 2H), 3,26 (q, J = 6,0 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,52 – 2,27 (m, 10H), 2,23 (s, 3H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,95 – 1,42 (m, 14H), 1,42 – 1,18 (m, 40H), 1,05 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 6,8, 4,5 Hz, 7H), 972,9 m/z [M+H].

Ejemplo 40 – Compuesto 40

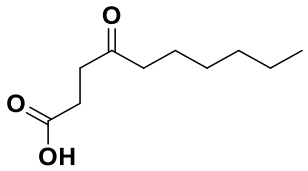
Intermedio 40a: ácido 4-hidroxidecanoico



A una solución de 5-hexiltetrahidrofuran-2-ona (15 g, 1,0 equiv) en EtOH (240 mL) y H_2O (80 mL) se le agregó NaOH (2,0 equiv). La reacción se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla se concentró para eliminar el EtOH. Luego se ajustó el pH a 5 mediante HCl 1 N acuoso y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó

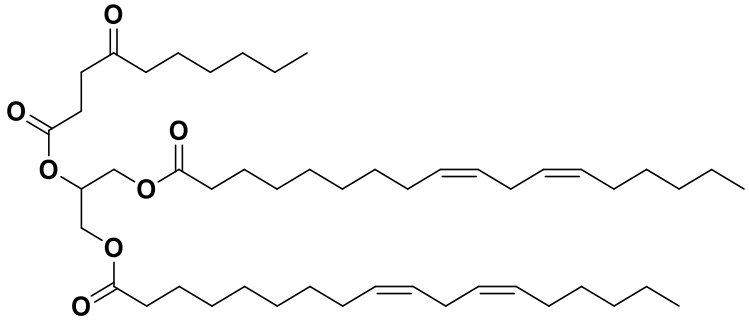
mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido blanco (48 %).

Intermedio 40b: ácido 4-oxodecanoico



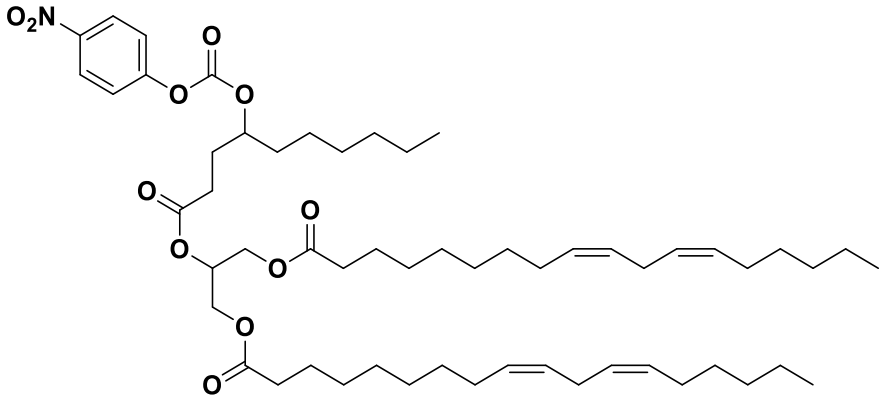
A una solución de NaH_2PO_4 (17 equiv) y Na_2HPO_4 (2,4 equiv) en H_2O (1000 mL) se le agregó el Intermedio 40a (10 g, 1,0 equiv). Luego, se agregó NaClO (200 mL, 6~8 % Cl) a la solución. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 12 h. Luego, a la mezcla se le agregó H_3PO_4 (200 mL, 85 %) y gel de sílice (300 g). La mezcla se secó a presión reducida y se lavó 3x con EtOAc. La capa orgánica se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtoAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido blanco (80 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,70 (dd, J = 7,0, 5,3 Hz, 2H), 2,63 – 2,58 (m, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,58 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 1,33 – 1,19 (m, 6H), 0,90 – 0,83 (m, 3H).

Intermedio 40c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



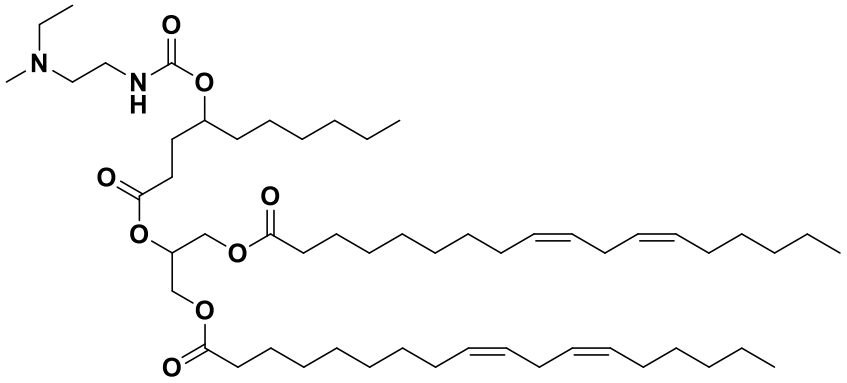
El Intermedio 40c se sintetizó con 40 % de rendimiento a partir del Intermedio 40b y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (tt, J = 5,9, 4,3 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,73 (dt, J = 22,4, 6,7 Hz, 7H), 2,58 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,59 (q, J = 6,7 Hz, 7H), 1,40 – 1,22 (m, 35H), 0,88 (td, J = 6,8, 4,0 Hz, 9H).

Intermedio 40d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 40d se sintetizó con 31 % de rendimiento a partir del Intermedio 40c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,37 – 8,27 (m, 2H), 7,43 (dd, J = 9,1, 5,9 Hz, 2H), 5,45 – 5,24 (m, 9H), 4,34 (dd, J = 12,0, 4,3 Hz, 2H), 4,18 (dd, J = 11,9, 6,0 Hz, 2H), 2,79 (t, J = 6,3 Hz, 4H), 2,49 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,41 – 2,30 (m, 4H), 2,07 (q, J = 6,9 Hz, 9H), 1,83 – 1,58 (m, 7H), 1,48 – 1,12 (m, 37H), 1,00 – 0,82 (m, 9H).

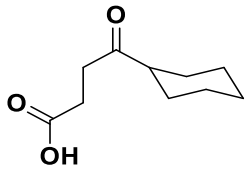
Compuesto 40: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 40 se sintetizó con un rendimiento del 53% a partir del Intermedio 40d y N1 -etil-N1-metiletano-1,2-diamina usando el método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,19 (m, 9H), 4,76 (s, 1H), 4,32 – 4,22 (m, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,4 Hz, 2H), 3,26 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,57 – 2,36 (m, 6H), 2,36 – 2,27 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,05 (q, J = 6,6 Hz, 8H), 1,98 – 1,42 (m, 15H), 1,41 – 1,19 (m, 35H), 1,06 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 9,7, 8,2, 4,2 Hz, 9H). MS: 916,7 m/z [M+H].

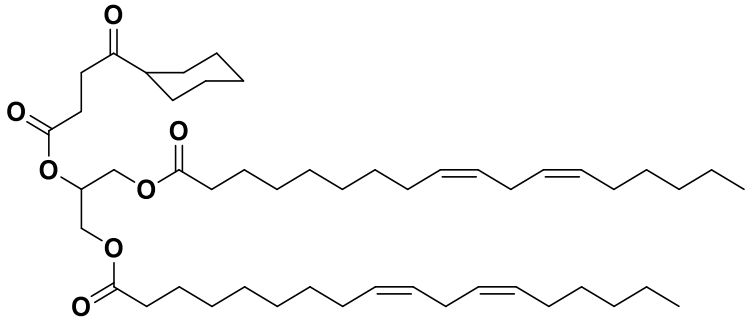
Ejemplo 41 – Compuesto 41

Intermedio 41a: ácido 4-ciclohexil-4-oxobutanoico



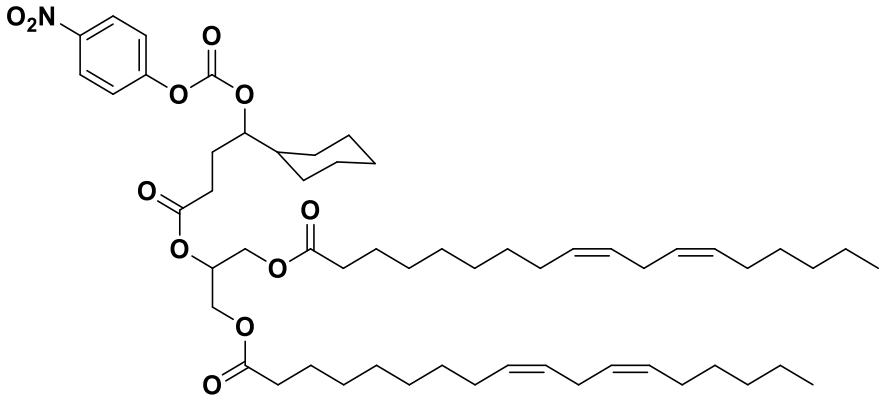
A una solución de anhídrido succínico (30 g, 1,0 equiv) en Et_2O (300 mL) se le agregó CuI (0,1 equiv). La mezcla se enfrió hasta -20 °C. Luego, se agregó bromuro de ciclohexilmagnesio (1,0 equiv) a la mezcla. La reacción se calentó hasta 25 °C y se agitó durante 14 h. La reacción se inactivó con la adición de HCl 1 M ac. y se agitó durante 15 min. Luego, la reacción se filtró, y el filtrado se extrajo 3x con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido rosa pálido (13 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,09 (s, 1H), 2,66 (dt, J = 55,4, 6,5 Hz, 4H), 2,35 (td, J = 10,8, 9,3, 5,2 Hz, 1H), 1,75 (ddd, J = 43,2, 36,6, 11,9 Hz, 5H), 1,46 – 1,09 (m, 5H).

Intermedio 41b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-ciclohexil-4-oxobutanoil)oxi)propano-1,3-diilo



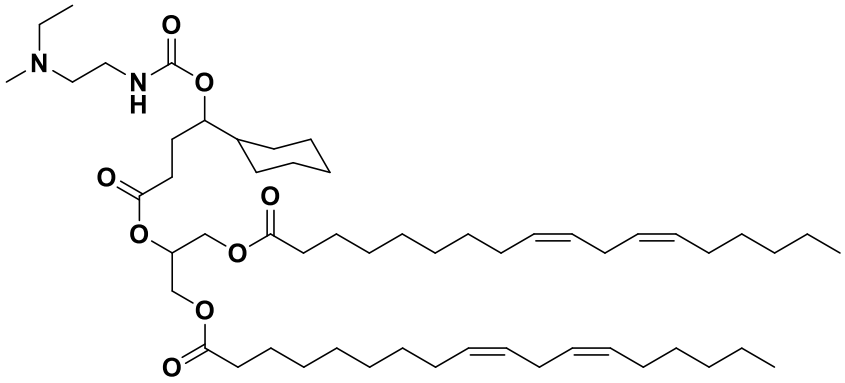
El Intermedio 41b se sintetizó con 34 % de rendimiento a partir del Intermedio 41a y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl^3$) δ 5,42 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (ddd, J = 10,2, 5,6, 4,2 Hz, 1H), 4,28 (dt, J = 11,9, 4,6 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 2,3 Hz, 2H), 2,81 – 2.70 (m, 6H), 2,64 – 2,54 (m, 3H), 2,38 – 2,27 (m, 5H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,89 – 1,55 (m, 11H), 1,40 – 1,20 (m, 34H), 0,88 (t, J = 6,8 Hz, 6H).

Intermedio 41c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-ciclohexil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)butanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 41c se sintetizó con 14 % de rendimiento a partir del Intermedio 41b mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,33 – 8,21 (m, 2H), 7,45 – 7,34 (m, 2H), 5,44 – 5,13 (m, 9H), 4,70 (ddd, J = 9,3, 6,1, 3,4 Hz, 1H), 4,50 (dd, J = 12,3, 3,9 Hz, 1H), 4,35 – 4,10 (m, 4H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,50 – 2,40 (m, 2H), 2,38 – 2,22 (m, 4H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 10H), 1,85 – 1,52 (m, 10H), 1,49 – 1,00 (m, 31H), 0,88 (t, J = 6,8 Hz, 6H).

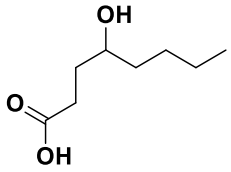
Compuesto 41: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-ciclohexil-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)butanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 41 se sintetizó con 60 % de rendimiento a partir del Intermedio 41d y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,09 (m, 9H), 4,60 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 1,6 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 2,9 Hz, 2H), 3,25 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,54 – 2,15 (m, 12H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,99 – 0,95 (m, 50H), 0,93 – 0,80 (m, 6H). MS: 914,5 m/z [M+H].

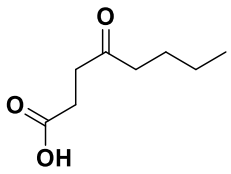
Ejemplo 42 – Compuesto 42

Intermedio 42a: ácido 4-hidroxioctanoico



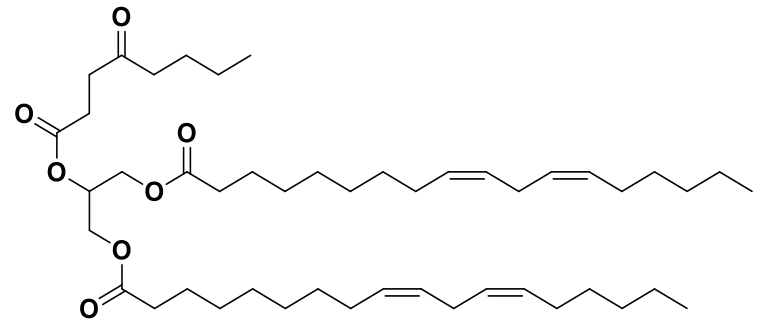
El Intermedio 42a se sintetizó con 53 % de rendimiento a partir de 5-butiltetrahidrofuran-2-ona mediante el uso del método empleado para el Intermedio 39b.

Intermedio 42b: ácido 4-oxooctanoico



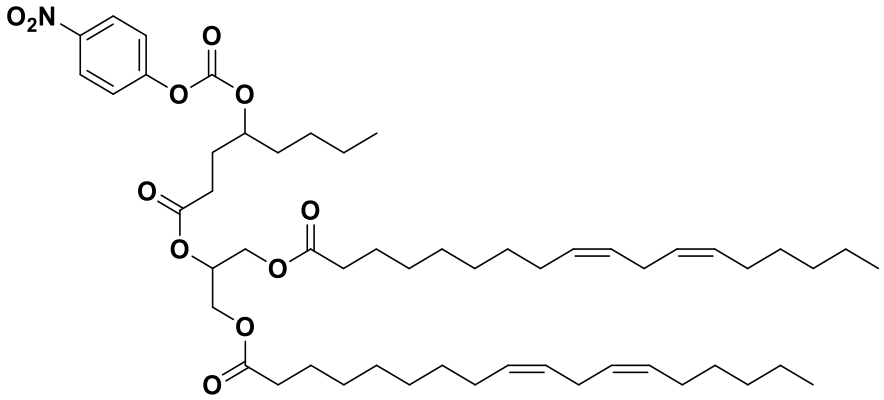
El Intermedio 42b se sintetizó con 61 % de rendimiento a partir del Intermedio 42a mediante el uso del método empleado para el Intermedio 38b. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,65 (ddd, J = 7,0, 5,8, 1,1 Hz, 2H), 2,56 (ddd, J = 7,1, 6,0, 1,2 Hz, 2H), 2,38 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,56 – 1,44 (m, 2H), 1,30 – 1,17 (m, 2H), 0,84 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

Intermedio 42c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxooctanoil)oxi)propano-1,3-diilo



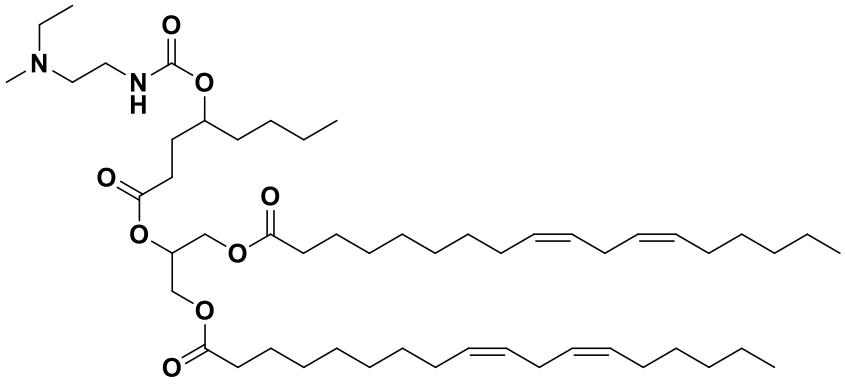
El Intermedio 42c se sintetizó con 29 % de rendimiento a partir del Intermedio 42b y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,35 (tq, J = 18,2, 9,4, 7,6 Hz, 8H), 5,24 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 12,0, 3,9 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 12,1, 5,8 Hz, 2H), 2,74 (dt, J = 20,9, 6,7 Hz, 6H), 2,59 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,7 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,60 (t, J = 7,5 Hz, 8H), 1,31 (d, J = 14,1 Hz, 29H), 0,88 (t, J = 6,9 Hz, 9H).

Intermedio 42d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 42d se sintetizó con 51 % de rendimiento a partir del Intermedio 40c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,28 (dd, J = 7,8, 4,7 Hz, 2H), 7,47 – 7,36 (m, 2H), 5,32 (dp, J = 19,8, 9,2 Hz, 8H), 5,17 (s, 1H), 4,87 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,49 (d, J = 12,2 Hz, 1H), 4,36 – 4,09 (m, 4H), 2,75 (d, J = 6,7 Hz, 4H), 2,49 (dt, J = 23,8, 7,9 Hz, 2H), 2,42 – 2,14 (m, 5H), 2,03 (q, J = 7,2 Hz, 10H), 1,73 (s, 1H), 1,61 (dd, J = 23,8, 11,9 Hz, 6H), 1,31 (d, J = 14,4 Hz, 30H), 0,89 (tt, J = 9,5, 7,0, 2,7 Hz, 9H).

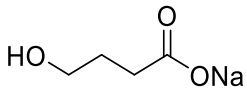
Compuesto 42: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 42 se sintetizó con un rendimiento del 93% a partir del Intermedio 42d y N1 -etil-N1-metiletano-1,2-diamina usando el método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,10 (m, 11H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 1,3 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,8, 5,8, 3,3 Hz, 2H), 3,25 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,39 (ddd, J = 8,7, 6,6, 4,3 Hz, 6H), 2,35 – 2,28 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,96 – 1,74 (m, 3H), 1,61 (s, 11H), 1,42 – 1,22 (m, 34H), 1,10 – 0,99 (m, 3H), 0,95 – 0,83 (m, 9H).

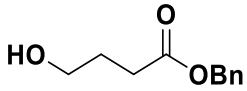
Ejemplo 43 – Compuesto 43

Intermedio 43a: 4-hidroxibutanoato de sodio



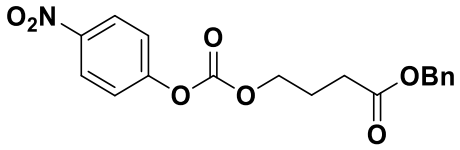
A una mezcla de tetrahidrofuran-2-ona (10 g, 1,0 equiv) in H_2O (100 mL) se le agregó NaOH (4,0 equiv), y la mezcla se desgasificó y se purgó 3x con N_2. La mezcla se agitó a 25 °C durante 24 h en atmósfera de N_2. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener el residuo bruto como un aceite incoloro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (12 g, bruto).

Intermedio 43b: 4-hidroxibutanoato de bencilo



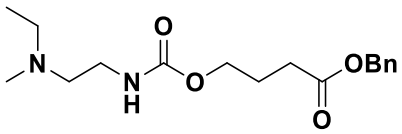
A una mezcla del Intermedio 43a (12 g, 1,0 equiv) en acetona (100 mL) se le agregó TBAB (0,05 equiv) y bromuro de bencilo (1,2 equiv), y la mezcla se desgasificó y se vertió 3x con N_2. La mezcla se agitó a 60 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se diluyó con EtOAc y se lavó 1x con cada uno de NaH_SO_4 1 N, $NaHCO_3$ y H_2O. La capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró, y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (43 %).

Intermedio 43c: 4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)butanoato de bencilo



A una mezcla del Intermedio 43b (5 g, 1,0 equiv) en DCM (150 mL) se le agregó cloroformiato de 4-nitrofenilo (1,0 equiv), y la mezcla se desgasificó y se vertió 3x con N_2. La reacción se enfrió hasta 0 °C, seguido por la adición de piridina (2,0 equiv). La reacción se agitó a 25 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se diluyó con hexanos y se filtró. El filtrado se lavó 10x con H_2O, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (32 %).

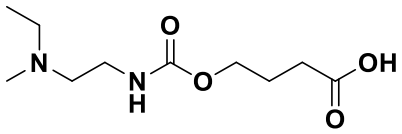
Intermedio 43d: 4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)butanoato de bencilo



A una mezcla del Intermedio 43c (3 g, 1,0 equiv) en MeCN (50 mL) se le agregó N1-etil-N1-metiletano-

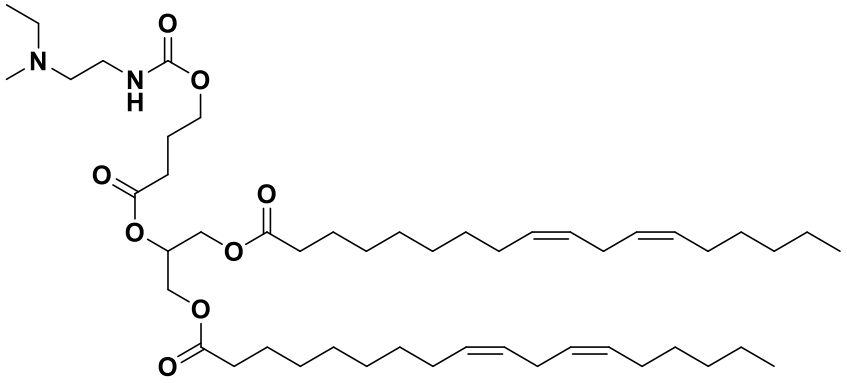
1,2-diamina (2,5 equiv), piridina (3,0 equiv), y DMAP (1,0 equiv). La mezcla se desgasificó y se purgó 3x con N_2, y la mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h en N_2. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (56 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,33 – 7,23 (m, 4H), 5,24 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,04 (dt, J = 12,9, 6,7 Hz, 2H), 3,19 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 3,00 (s, 1H), 2,39 (dt, J = 10,4, 6,6 Hz, 6H), 2,13 (s, 3H), 1,89 (p, J = 6,9 Hz, 2H), 0,98 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Intermedio 43e: ácido 4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)butanoico



A una mezcla del Intermedio 43d (1,5 g, 1,0 equiv) en MeOH (30 mL) se le agregó Pd/C (10 % en peso, 0,05 equiv), y la mezcla se desgasificó y se purgó 3x con H_2. La mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 1 h en atmósfera de H_2, momento después del cual el filtrado se concentró para obtener un residuo bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 4,11 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 3,49 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,29 – 3,21 (m, 5H), 2,89 (s, 3H), 2,38 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,92 (p, J = 6,7 Hz, 2H), 1,34 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

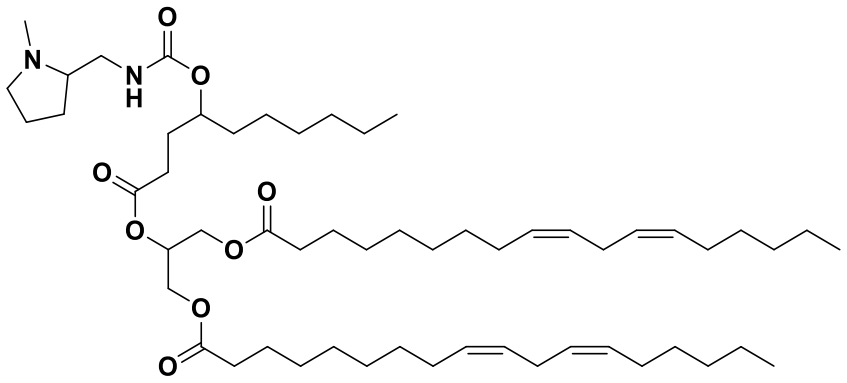
Compuesto 43: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)butanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 43 se sintetizó con 45 % de rendimiento a partir del Intermedio 43d y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,22 (m, 9H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,18 – 4,06 (m, 4H), 3,25 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,43 (dt, J = 10,5, 7,3 Hz, 6H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,20 (s, 3H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,95 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 1,59 (d, J = 7,1 Hz, 7H), 1,40 – 1,22 (m, 26H), 1,04 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (t, J = 6,8 Hz, 6H).

Ejemplo 44 – Compuesto 44

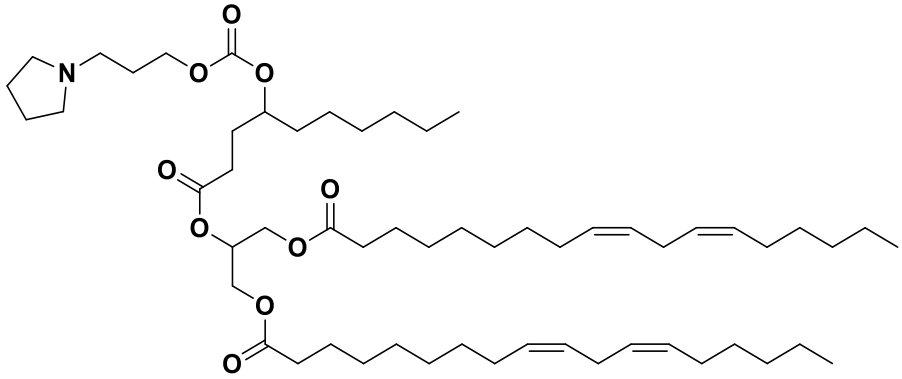
Compuesto 44: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 44 se sintetizó con 35 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y (1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,20 (m, 9H), 5,16 (s, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,0 Hz, 2H), 3,39 (s, 1H), 3,10 (d, J = 27,2 Hz, 2H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,43 – 2,18 (m, 11H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,96 – 1,42 (m, 17H), 1,30 (dqt, J = 12,8, 8,8, 5,4 Hz, 36H), 0,92 – 0,83 (m, 9H). MS: 928,9 m/z [M+H].

Ejemplo 45 – Compuesto 45

Compuesto 45: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo

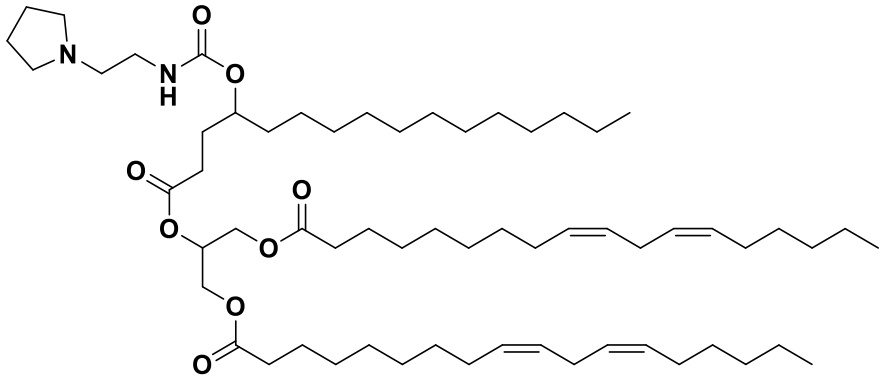


El Compuesto 45 se sintetizó con 52 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,21 (m, 9H), 4,72 (ddd, J = 11,3, 8,8, 5,7 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,25 – 4,10 (m, 4H), 2,81 – 2,74 (m, 4H), 2,59 (s, 5H), 2,40 (dt, J = 8,6, 6,4 Hz, 2H), 2,36 – 2,27 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,98 – 1,78 (m, 9H), 1,67 – 1,51 (m, 7H), 1,41 – 1,21 (m, 36H), 0,88 (td, J = 7,0, 5,0 Hz, 9H).

MS: 943,8 m/z [M+H].

Ejemplo 46 – Compuesto 46

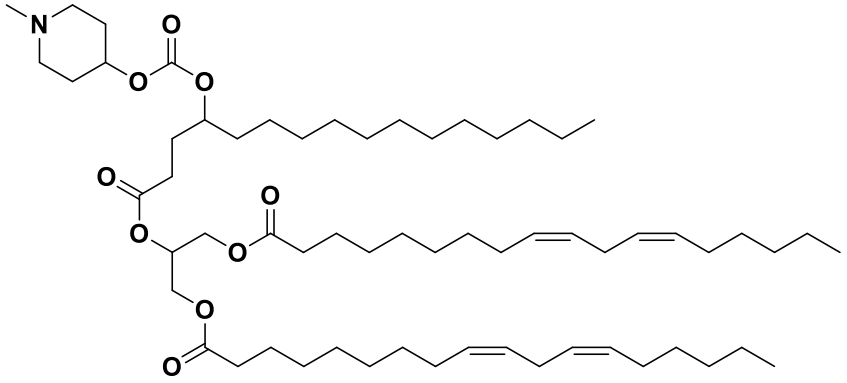
Compuesto 46: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 46 se sintetizó con 53 % de rendimiento a partir del Intermedio 1e y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,55 (s, 1H), 5,46 – 5,21 (m, 9H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,6 Hz, 2H), 3,35 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,81 – 2,60 (m, 9H), 2,39 (ddd, J = 8,6, 6,7, 3,8 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,84 (s, 7H), 1,66 – 1,19 (m, 55H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,3 Hz, 9H). MS: 1012,5 m/z [M+H].

Ejemplo 47 – Compuesto 47

Compuesto 47: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpiperidin-4-il)oxi)carbonil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

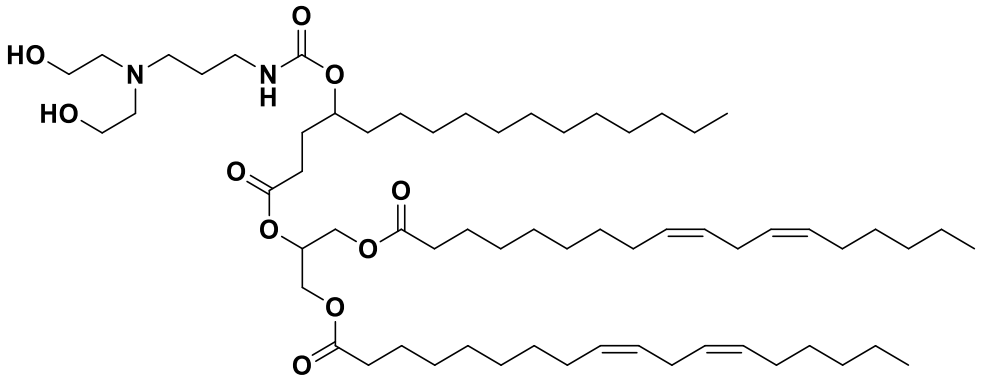


A una solución del Intermedio 1e (250 mg, 1,0 equiv) en MeCN (0,1 M) se le agregó piridina (3,0 equiv), 1-metilpiperidin-4-ol (1,5 equiv), y DMAP (1,0 equiv). La reacción se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. Se agregó una parte adicional de 1-metilpiperidin-4-ol (3,0 equiv), y la mezcla se calentó hasta

50 °C. Luego de 2 h, se agregó una parte adicional de DMAP (1.0 equiv), y la reacción se mantuvo durante otras 2 h. Después de completarse, se agregó heptano (0,1 M) a la mezcla de reacción, y la capa de heptano se lavó 3x con MeCN. Las capas de MeCN combinadas se volvieron a extraer tres veces con heptano, y las capas de heptano combinadas se lavaron una última vez con MeCN. Luego, se retiró el heptano al vacío, y el material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM) para obtener el producto como un aceite incoloro (62 mg, 32 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,20 (m, 9H), 4,77 – 4,60 (m, 2H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,6 Hz, 2H), 2,83 – 2,66 (m, 6H), 2,46 – 2,26 (m, 11H), 2,08 – 1,71 (m, 18H), 1,71 – 1,47 (m, 8H), 1,40 – 1,21 (m, 47H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,2 Hz, 9H). MS: 1013,7 m/z [M+H].

Ejemplo 48 – Compuesto 48

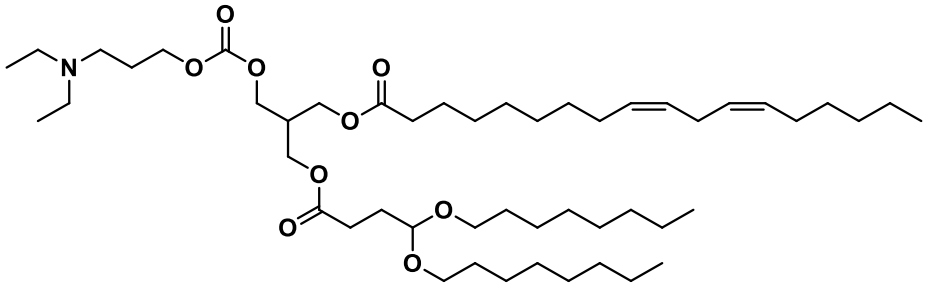
Compuesto 48: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(bis(2-hidroxietil)amino)propil)carbamoil)oxi)hexadecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 1e (250 mg, 1,0 equiv) en MeCN (0,1 M) se le agregó piridina (3,0 equiv) y 2-[(3-aminopropil)(2-hidroxietil)amino]etan-1-ol (1,5 equiv). La reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Después de completarse, se agregó heptano (0,1 M) a la mezcla de reacción, y la capa de heptano se lavó 3x con MeCN. Las capas de MeCN combinadas se volvieron a extraer tres veces con heptano, y las capas de heptano combinadas se lavaron una última vez con MeCN. Luego, se retiró el heptano al vacío, y el material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM) para obtener el producto como un aceite incoloro (97 mg, 48 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,20 (m, 9H), 4,76 (s, 1H), 4,29 (ddd, J = 11,9, 4,6, 1,8 Hz, 2H), 4,16 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 3,72 (t, J = 5,0 Hz, 4H), 3,35 – 3,22 (m, 2H), 2,98 – 2,46 (m, 14H), 2,41 – 2,28 (m, 6H), 2,09 – 1,86 (m, 9H), 1,80 (dd, J = 14,2, 7,2 Hz, 3H), 1,67 – 1,42 (m, 7H), 1,42 – 1,18 (m, 46H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,3 Hz, 9H). MS: 1060,6 m/z [M+H].

Ejemplo 49 – Compuesto comparativo 49

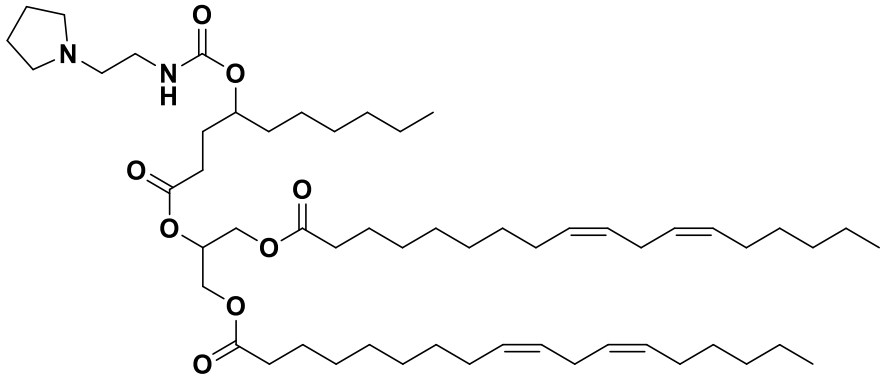
Compuesto 49: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-((4,4-bis(octiloxi)butanoil)oxi)-2-((((3-(dietilamino)propoxi)carbonil)oxi)metil)propilo



El Compuesto 49 se sintetizó de acuerdo con los métodos descritos en WO 2015/095340 Al (Ejemplo 13). 1H NMR (CDCl3, 400 MHz) δ 5,35 (m, 4H), 4,48 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 4,17 (m, 8H), 3,56 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 2,77 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,55 (q, J = 7,2 Hz, 6H), 2,40 (m, 3H), 2,30 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 4H), 1,92 (m, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,57 (m, 6H), 1,30 (m, 34H), 1,03 (t, J = 7,2 Hz, 6H), 0,88 (m, 9H) ppm; MS: 853 m/z [M+H].

Ejemplo 50 – Compuesto 50

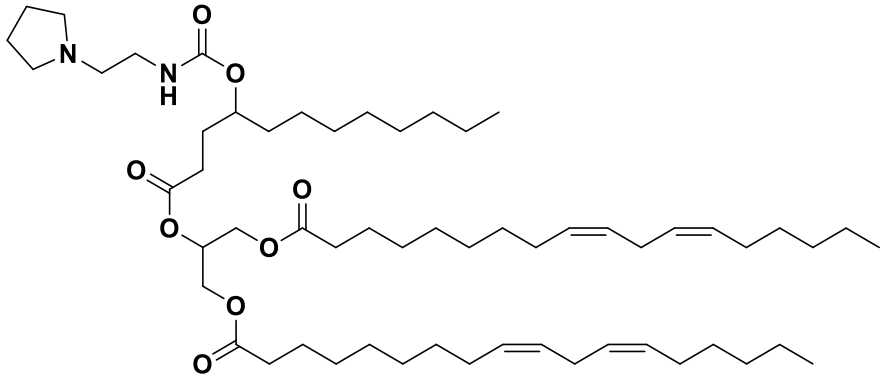
Compuesto 50: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 50 se sintetizó con 36 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,49 – 5,29 (m, 8H), 5,27 – 5,20 (m, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,8 Hz, 2H), 3,35 (s, 2H), 2,83 – 2,44 (m, 10H), 2,39 (ddd, J = 8,4, 6,7, 3,3 Hz, 2H), 2,36 – 2,25 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,98 – 1,43 (m, 15H), 1,42 – 1,20 (m, 33H), 0,89 (td, J = 6,1, 5,4, 0,9 Hz, 9H). MS: 928,6 m/z [M+H].

Ejemplo 51 – Compuesto 51

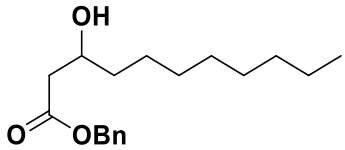
Compuesto 51: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 51 se sintetizó con 27 % de rendimiento a partir del Intermedio 31c y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,55 (s, 1H), 5,44 – 5,28 (m, 8H), 5,28 – 5,22 (m, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,9 Hz, 2H), 3,37 (s, 2H), 2,83 – 2,51 (m, 10H), 2,39 (ddd, J = 8,4, 6,8, 3,1 Hz, 2H), 2,35 – 2,27 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,97 – 1,41 (m, 17H), 1,41 – 1,20 (m, 40H), 0,94 – 0,84 (m, 9H). MS: 957,0 m/z [M+H].

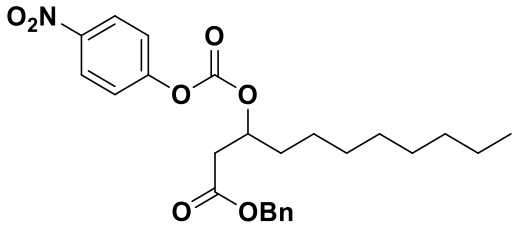
Ejemplo 52 – Compuesto 52

Intermedio 52a: 3-hidroxiundecanoato de bencilo



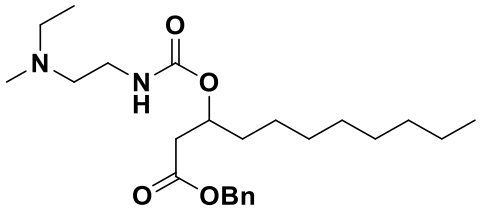
A una solución de THF (150 mL) a 66 °C en atmósfera de N_2 se le agregó por goteo Zn (22,99 g, 1,0 equiv.) y nonanal (25 g, 1,0 equiv.). A continuación, se agregó por goteo 2-bromoacetato de bencilo (50,00 g, 1,24 eq) a la mezcla de reacción lentamente y con cuidado. Tras la adición completa de 2-bromoacetato de bencilo, la mezcla se enfrió y se agitó a 20 °C durante 2 h. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el THF, y el residuo resultante se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y se purificaron mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (25 g, 49 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,33 – 7,24 (m, 5H), 5,09 (s, 2H), 3,95 (tt, J = 7,7, 3,8 Hz, 1H), 2,75 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 2,56 – 2,35 (m, 2H), 1,54 – 1,11 (m, 18H), 0,81 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 52b: 3-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)undecanoato de bencilo



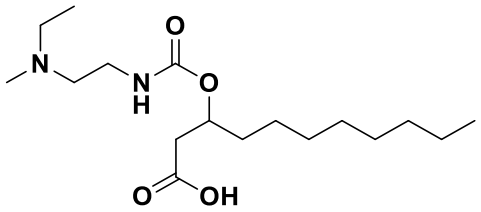
A una solución del Intermedio 52a (25 g, 1,0 equiv.) en DCM (250 mL) se le agregó carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (17,23 g, 1,0 equiv.) y piridina (13,80 mL, 2,0 equiv.) en atmósfera de N_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. Al completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM, y el residuo resultante se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y se purificaron mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (12 g, 31 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,31 – 8,01 (m, 4H), 7,28 (s, 5H), 5,22 – 5,14 (m, 2H), 5,13 – 5,01 (m, 4H), 2,68 (dd, J = 14,8, 6,4 Hz, 3H), 1,75 – 1,64 (m, 2H), 1,30 – 1,19 (m, 18H), 0,80 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Intermedio 52c: 3-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)undecanoato de bencilo



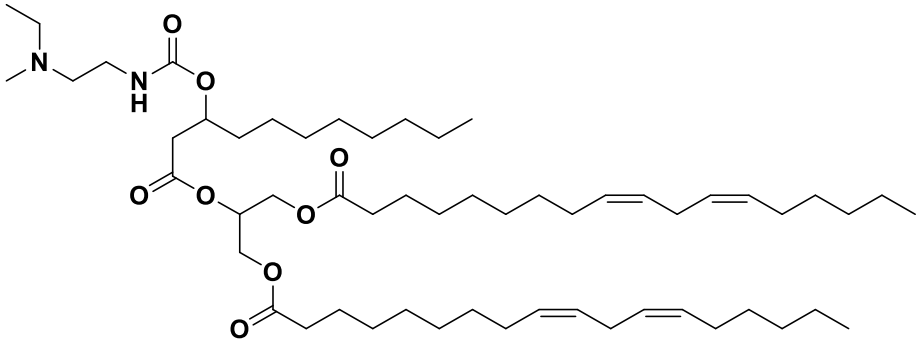
A una solución del Intermedio 52b (14 g, 1,0 equiv.) y N'-etil-N'-metil-etano-1,2-diamina (6,25 g, 2,0 equiv.) en MeCN (400 mL) se le agregó piridina (7,41 mL, 3,0 equiv.) y DMAP (3,74 g, 1,0 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. Una vez completada, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el MeCN y el residuo resultante se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida y se purificaron mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (6 g, 47 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,39 – 7,28 (m, 5H), 5,11 (s, 4H), 3,21 (h, J = 6,8 Hz, 2H), 2,62 (td, J = 14,4, 13,6, 6,4 Hz, 2H), 2,50 – 2,39 (m, 4H), 1,59 (h, J = 8,2 Hz, 2H), 1,25 (d, J = 16,1 Hz, 14H), 1,03 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,86 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 52d: ácido 3-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)undecanoico



A una solución del intermedio 52c (6 g, 1,0 equiv) en MeOH (60 mL) se le agregó Pd/C (2 g, 10 % p/p). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en H_2. Luego, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite marrón. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 12,76 (s, 1H), 6,28 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 5,01 (p, J = 6,1, 5,6 Hz, 1H), 3,30 (qq, J = 13,8, 6,0 Hz, 2H), 2,70 (hd, J = 12,1, 11,0, 5,4 Hz, 3H), 2,37 (d, J = 14,1 Hz, 4H), 1,51 (ddq, J = 21,6, 14,2, 6,7 Hz, 2H), 1,34 – 1,14 (m, 11H), 1,10 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,80 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

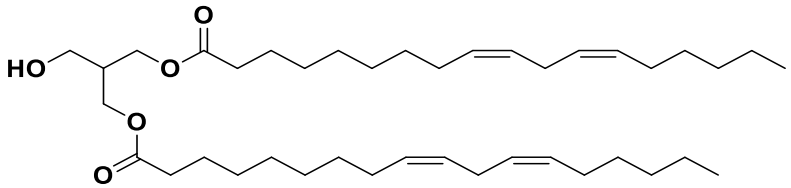
Compuesto 52: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((3-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 52d (1,0-1,1 equiv.) y el Intermedio 1c (1,0-1,1 equiv.) en DCM (0,1-0,25 equiv.) se le agregó DMAP (0,25 equiv.), DIPEA (3,5 equiv.), y EDCI (1,5 equiv.) en secuencia. La reacción se agitó a 23 °C durante al menos 16 h. Se agregó más DMAP (0,25 equiv.) a la reacción, y la reacción se agitó a 23 °C durante otras 6 h. Luego, la reacción se inactivó mediante la adición de agua, se lavó 1x con HCl 1 M y 1x con $NaHCO_3$ al 5 %. La capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna proporcionó el producto como un aceite incoloro (28 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,53 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (s, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 15,9, 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,15 (dt, J = 13,4, 6,8 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,59 (tt, J = 15,9, 9,0 Hz, 6H), 2,37 – 2,14 (m, 6H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 7H), 1,59 (d, J = 14,2 Hz, 12H), 1,46 – 0,97 (m, 42H), 0,96 – 0,81 (m, 9H). MS: 930,8 m/z [M+H].

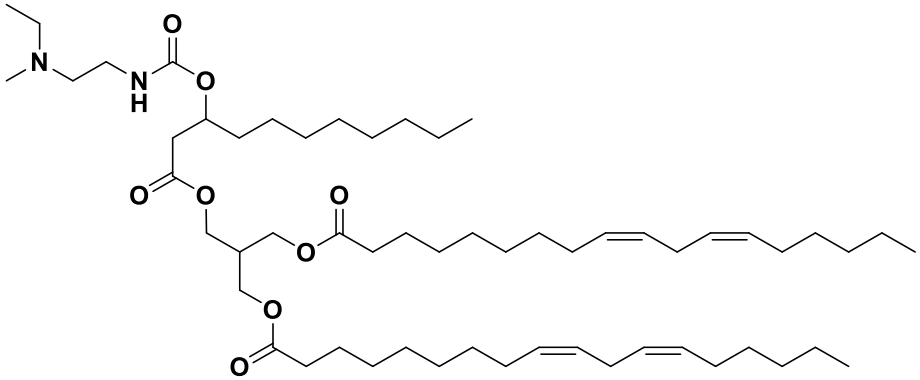
Ejemplo 53 – Compuesto 53

Intermedio 53a: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(hidroximetil)propano-1,3-diilo



A una solución de ácido linoleico (20 g, 1,0 equiv.) y 2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (7,57 g, 1,0 equiv.) en DCM (200 mL) se le agregó EDCI (13,67 g, 1,0 equiv.), DMAP (1,39 g, 0,16 equiv.) y DIPEA (37,27 mL, 3,0 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM, y el residuo resultante se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (6,3 g, 11 %). ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 5,44 – 5,30 (m, 8H), 4,17 (qd, J = 11,1, 6,0 Hz, 4H), 3,63 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,80 (t, J = 6,1 Hz, 4H), 2,35 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,21 (h, J = 6,0 Hz, 1H), 2,14 – 2,03 (m, 8H), 1,64 (p, J = 7,4 Hz, 4H), 1,46 – 1,28 (m, 27H), 0,93 (t, J = 6,7 Hz, 6H).

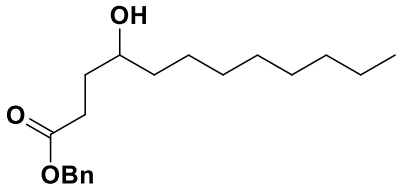
Compuesto 53: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) 2-(11-metil-5-octil-3,7-dioxo-2,6-dioxa-8,11-diazatridecil)propano-1,3-diilo



El Compuesto 53 se sintetizó con 45 % de rendimiento a partir del Intermedio 52d y el Intermedio 53a mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,48 – 5,24 (m, 8H), 5,07 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 4,20 – 4,07 (m, 6H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,62 – 2,46 (m, 4H), 2,45 – 2,37 (m, 2H), 2,34 – 2,15 (m, 6H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,43 – 0,97 (m, 43H), 0,95 – 0,83 (m, 9H). MS: 944,8 m/z [M+H].

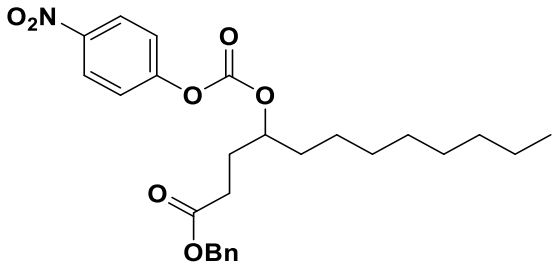
Ejemplo 54 – Compuesto 54

Intermedio 54a: 4-hidroxidodecanoato de bencilo



A una solución de 5-octiltetrahidrofuran-2-ona (20 g, 1,0 equiv) en agua (200-250 mL) se le agregó NaOH (1,1 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 24 h en atmósfera de N_2. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente agua. El material bruto resultante se reconstituyó en acetona (200 mL), seguido por la adición de TBAB (0,05 equiv.) y BnBr (1,2-1,5 equiv.). La mezcla se calentó hasta 60 °C y se agitó durante 12 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se vertió en solución saturada de $NaHCO_3$. El producto se extrajo 3x con EtOAc, y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (20 g, 39 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,45 – 7,29 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 3,65 – 3,57 (m, 1H), 2,51 (td, J = 7,2, 2,7 Hz, 2H), 1,86 (dtd, J = 14,6, 7,4, 3,5 Hz, 1H), 1,71 (ddd, J = 14,2, 8,6, 7,1 Hz, 1H), 1,61 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 1,52 – 1,17 (m, 17H), 0,88 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

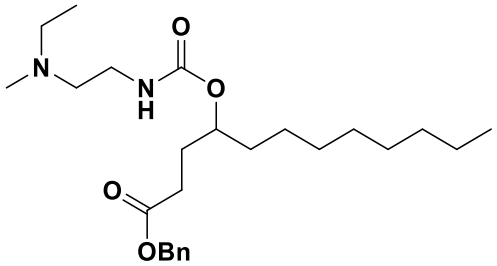
Intermedio 54b: 4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)dodecanoato de bencilo



A una solución del intermedio 54a (10 g, 1,0 equiv.) en DCM (80-100 mL) se le agregó carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (1,5 equiv.). La reacción se desgasificó y se purgó 3x con N_2 y se enfrió hasta 0 °C antes de la adición de piridina (2,0 equiv.). El mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se reconstituyó en hexanos y se filtró. El filtrado resultante se lavó 3x con agua, y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (9 g, 29 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,27 (dd, J = 9,8, 7,8 Hz, 2H), 7,50 – 7,30 (m, 8H), 5,12 (d, J = 8,3 Hz,

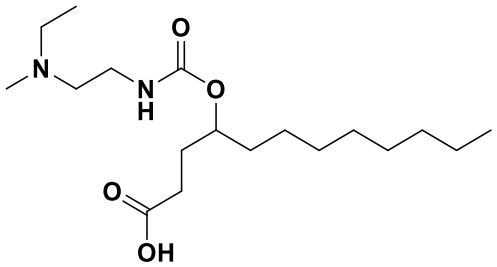
2H), 4,87 (ddt, J = 12,2, 7,3, 4,1 Hz, 1H), 2,50 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,16 – 2,06 (m, 1H), 1,99 (dq, J = 14,8, 7,5 Hz, 1H), 1,73 (ddd, J = 14,0, 12,0, 7,0 Hz, 1H), 1,63 (tt, J = 8,6, 4,5 Hz, 1H), 1,45 – 1,19 (m, 12H), 0,94 – 0,84 (m, 3H).

Intermedio 54c: 4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 54b (9 g, 1,0 equiv.) en MeCN (45-90 mL) se le agregó N'-etil-N'-metil-etano-1,2-diamina (1,5- 2,5 equiv.), piridina (3-4 equiv.), y DMAP (2,33 g, 1,0 equiv.), y la mezcla resultante se desgasificó y se purgó 3x con N_2. La reacción se calentó hasta 70 °C y se agitó durante 2 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla se concentró para eliminar el solvente, y el residuo resultante se diluyó con EtOAc y se lavó 3x con $NaHCO_3$ sat. y 3x con agua. Luego, la capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y concentró al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite amarillo pálido (5 g, 60 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.38 – 7.22 (m, 5H), 5.04 (s, 2H), 4.69 (s, 1H), 3.16 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.45 – 2.27 (m, 6H), 2.13 (s, 3H), 1.95 – 1.71 (m, 2H), 1.40 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 1.34 – 1.09 (m, 13H), 0.96 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 0.80 (t, J = 6.7 Hz, 3H).

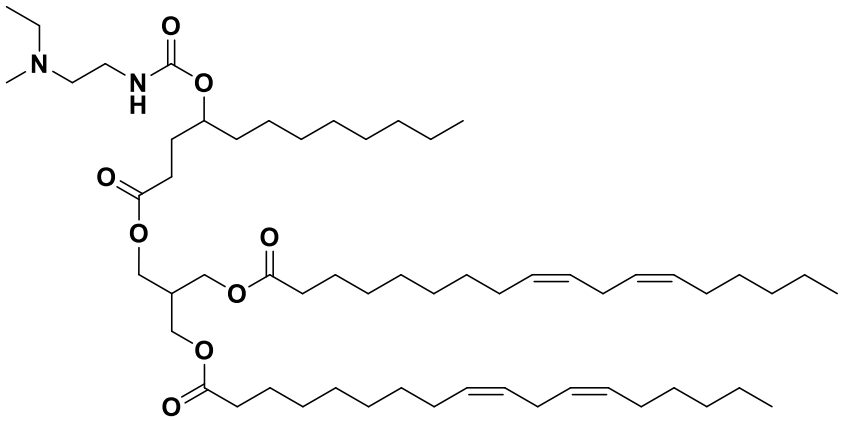
Intermedio 54d: ácido 4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoico



A una solución del intermedio 54c (6 g, 1,0 equiv) en MeOH (60 mL) se le agregó Pd/C (1.8 g, 10 % p/p). La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en H_2. Luego, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite marrón (3,2 g, 67 %). ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD)

δ 4,76 (dp, J = 8,1, 4,1 Hz, 1H), 3,65 (dt, J = 14,0, 7,0 Hz, 1H), 3,28 – 3,10 (m, 4H), 3,07 (ddd, J = 11,3, 7,5, 2,1 Hz, 1H), 2,79 (s, 3H), 2,27 (ddd, J = 14,0, 8,2, 4,4 Hz, 1H), 2,20 – 1,99 (m, 2H), 1,86 – 1,74 (m, 1H), 1,71 – 1,56 (m, 1H), 1,48 (dq, J = 13,7, 7,6, 6,8 Hz, 1H), 1,31 (dd, J = 14,1, 7,0 Hz, 14H), 0,94 – 0,83 (m, 3H).

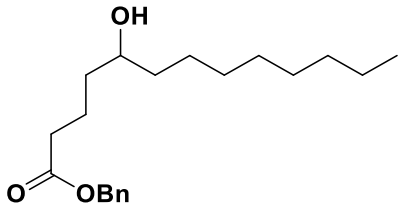
Compuesto 54: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) 2-(12-metil-6-octil-3,8-dioxo-2,7-dioxa-9,12-diazatetradecil)propano-1,3-diilo



El Compuesto 54 se sintetizó con 47 % de rendimiento a partir del Intermedio 54d y el Intermedio 53a mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,26 (m, 8H), 4,75 (s, 1H), 4,12 (d, J = 6,0 Hz, 6H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,55 – 2,34 (m, 6H), 2,34 – 2,19 (m, 6H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,97 – 1,70 (m, 4H), 1,61 (t, J = 7,2 Hz, 10H), 1,41 – 1,00 (m, 43H), 0,94 – 0,82 (m, 9H). MS: 959,1 m/z [M+H].

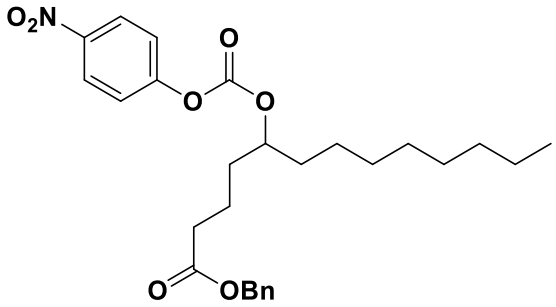
Ejemplo 55 – Compuesto 55

Intermedio 55a: 5-hidroxitridecanoato de bencilo



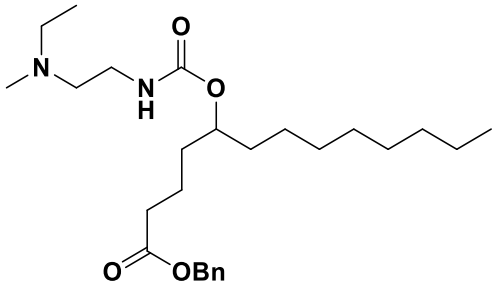
El Intermedio 55a se preparó con 25 % de rendimiento a partir de 6-octiltetrahidropiran-2-ona mediante el uso del método empleado para el Intermedio 54a. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,34 (qt, J = 9,5, 4,5 Hz, 5H), 5,11 (s, 2H), 3,57 (s, 1H), 2,39 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,85 – 1,65 (m, 2H), 1,60 – 1,11 (m, 18H), 0,98 – 0,80 (m, 3H).

Intermedio 55b: 5-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)tridecanoato de bencilo



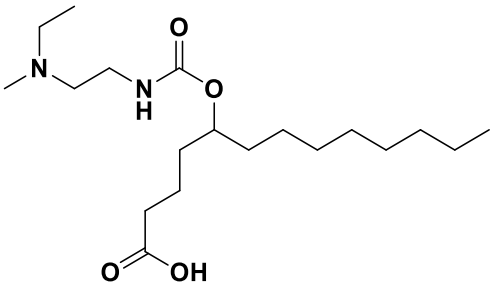
El Intermedio 55b se preparó con 37 % de rendimiento a partir del Intermedio 55a mediante el uso del método empleado para el Intermedio 54b. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,32 – 8,24 (m, 3H), 7,39 (dddd, J = 20,3, 9,9, 5,7, 1,9 Hz, 8H), 5,12 (s, 2H), 4,87 – 4,75 (m, 1H), 2,41 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,69 (dddt, J = 33,5, 23,3, 14,2, 6,0 Hz, 6H), 1,51 – 1,01 (m, 13H), 0,87 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Intermedio 55c: 5-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tridecanoato de bencilo



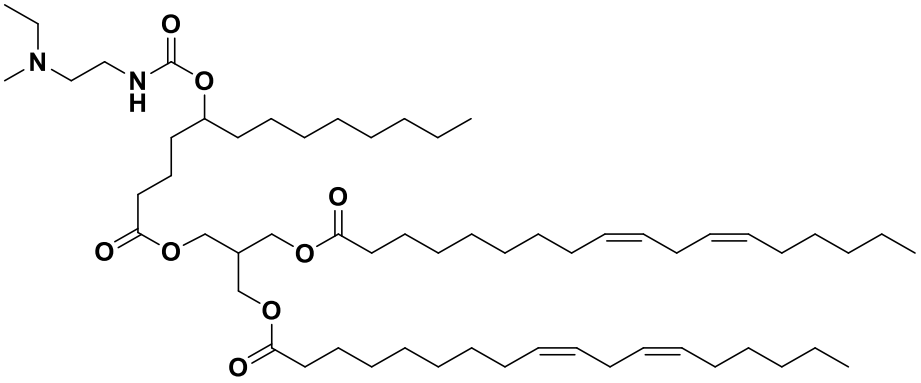
El Intermedio 55c se preparó con 53 % de rendimiento a partir del Intermedio 55b mediante el uso del método empleado para el Intermedio 54c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 – 7,18 (m, 5H), 5,04 (s, 2H), 4,65 (p, J = 6,5 Hz, 1H), 3,19 (q, J = 6,4, 5,9 Hz, 2H), 2,49 – 2,23 (m, 6H), 2,16 (d, J = 29,0 Hz, 3H), 1,69 – 1,54 (m, J = 6,7 Hz, 2H), 1,44 (tt, J = 13,6, 7,1 Hz, 4H), 1,37 – 1,05 (m, 14H), 0,98 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,80 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Intermedio 55d: ácido 5-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tridecanoico



A una solución del intermedio 55c (2,2 g, 1,0 equiv) en THF(20 mL) se le agregó Pd/C (2,5 g, 10 % p/p). La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en H_2. Luego, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite marrón (1 g, 58 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 12,81 (s, 1H), 5,93 – 5,72 (m, 1H), 4,61 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 3,68 – 3,47 (m, 1H), 3,29 – 3,04 (m, 1H), 2,76 (tt, J = 17,2, 9,1 Hz, 3H), 2,40 (s, 3H), 2,34 – 2,06 (m, 2H), 1,85 – 0,87 (m, 22H), 0,80 (t, J = 6,4 Hz, 3H).

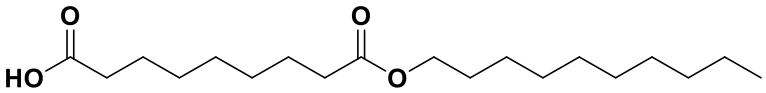
Compuesto 55: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) 2-(13-metil-7-octil-3,9-dioxo-2,8-dioxa-10,13-diazapentadecil)propano-1,3-diilo



El Compuesto 55 se preparó con 58 % de rendimiento a partir del Intermedio 53a y el Intermedio 55d mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,27 (m, 8H), 4,73 (s, 1H), 4,12 (d, J = 6,0 Hz, 6H), 3,32 (s, 2H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,49 (d, J = 45,9 Hz, 4H), 2,43 – 2,22 (m, 10H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,75 – 1,42 (m, 13H), 1,42 – 1,21 (m, 40H), 1,11 (s, 3H), 0,95 – 0,82 (m, 9H). MS: 972,8 m/z [M+H].

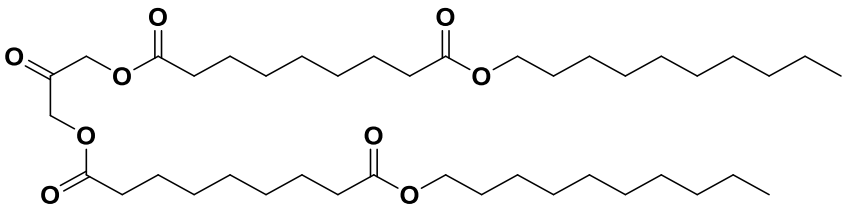
Ejemplo 56 – Compuesto 56

Intermedio 56a: ácido 9-(deciloxi)-9-oxononanoico



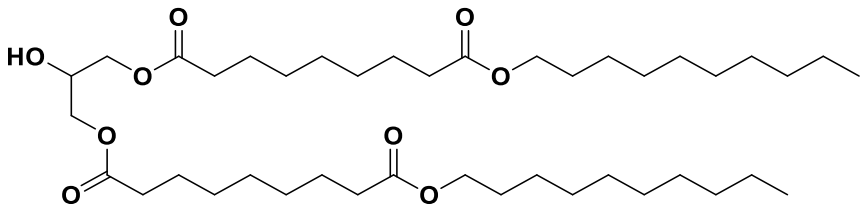
A una mezcla de ácido (90 g, 1,0 equiv.) en THF (300-900 mL) a 0 °C se le agregó DMF (0,1-0,2 equiv.) y $(COCl)_2$ (1,0 equiv.) por goteo. La mezcla se desgasificó y se purgó 3x con N_2, y luego, la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Se agregó decan-1-ol (1,0 equiv.) por goteo a la mezcla de reacción a 0 °C y se agitó a 20 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente, y la solución resultante se vertió en agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, luego, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido blanco (20 g, 6 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,05 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,34 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,29 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,62 (q, J = 7,3 Hz, 6H), 1,41 – 1,15 (m, 19H), 0,88 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 56b: 9,9'-didecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-oxopropano-1,3-diilo)



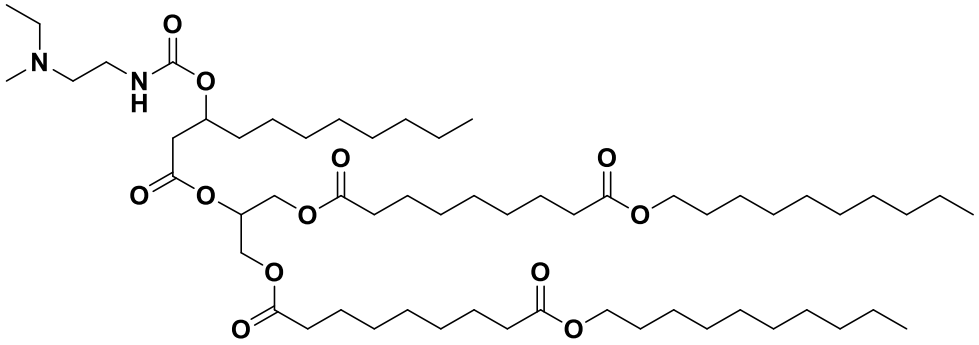
A una mezcla de 1,3-dihidroxipropan-2-ona (1,37 g, 0,5 equiv.), EDCI (1,0 equiv.) y DMAP (1,0 equiv.) en DCM (100-200 mL) se le agregó el Intermedio 56a (1,0 equiv.) en partes a 0 °C, y la mezcla se desgasificó y se purgó 3x con N_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente, y la solución resultante se vertió en agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, luego, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido blanco (10 g, 46 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,74 (d, J = 2,1 Hz, 4H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,41 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 2,28 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 1,62 (d, J = 8,8 Hz, 12H), 1,39 – 1,19 (m, 39H), 0,87 (t, J = 6,7 Hz, 6H).

Intermedio 56c: 9,9'-didecil di(nonanodioato) O'1,O1-(2-hidroxipropano-1,3-diilo)



A una solución del Intermedio 56b (13,4 g, 1,0 equiv.) en THF/tolueno/agua (4:1:2, 0,4 M) a 0 °C en N_2 se le agregó $NaBH_4$ (1,5 equiv.). La mezcla se agitó a 15-20 °C durante 5 h en N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, luego, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido blanco (5.1 g, 38 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,15 – 4,03 (m, 5H), 3,98 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,44 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,25 (dt, J = 24,2, 7,5 Hz, 8H), 1,55 (q, J = 7,1 Hz, 12H), 1,22 (d, J = 22,7 Hz, 38H), 0,81 (t, J = 6,7 Hz, 6H).

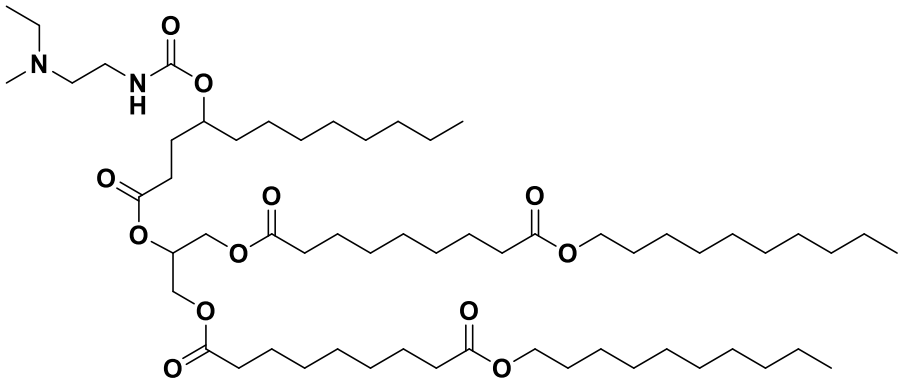
Compuesto 56: 9,9'-didecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((3-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 56 se preparó con 36 % de rendimiento a partir del Intermedio 52d y el Intermedio 56c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,24 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 5,13 – 5,04 (m, 1H), 4,28 (ddd, J = 14,5, 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 8,3, 5,8 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 3,31 (s, 2H), 2,58 (qd, J = 15,3, 6,4 Hz, 6H), 2,30 (dt, J = 10,3, 7,6 Hz, 10H), 1,61 (dd, J = 10,1, 4,1 Hz, 16H), 1,29 (dt, J = 17,6, 3,3 Hz, 54H), 0,88 (td, J = 6,9, 1,9 Hz, 9H). MS: 1027,2 m/z [M+H].

Ejemplo 57 – Compuesto 57

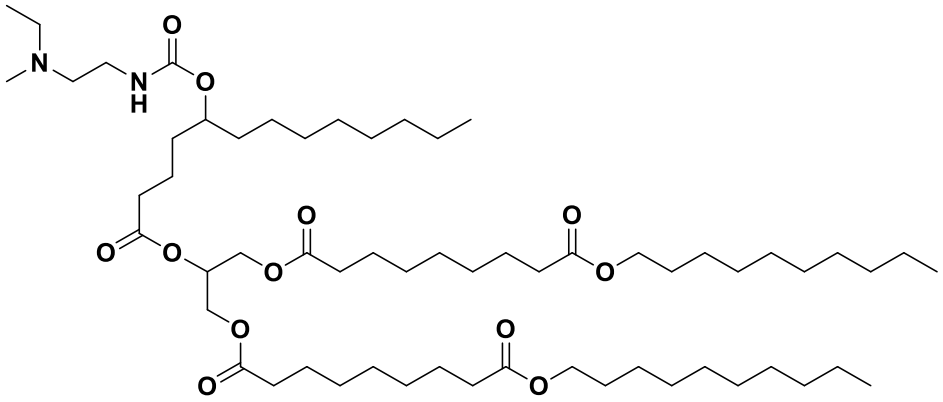
Compuesto 57: 9,9'-didecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 57 se preparó con 55 % de rendimiento a partir del Intermedio 54d y el Intermedio 56c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 – 5,21 (m, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,8, 4,4, 1,2 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,9, 4,6 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 3,29 (s, 2H), 2,38 (ddd, J = 8,6, 6,9, 2,7 Hz, 5H), 2,35 – 2,12 (m, 10H), 1,98 – 1,73 (m, 3H), 1,68 – 1,37 (m, 17H), 1,29 (dt, J = 19,5, 4,1 Hz, 54H), 0,88 (td, J = 6,9, 1,9 Hz, 9H). MS: 1040,8 m/z [M+H].

Ejemplo 58 – Compuesto 58

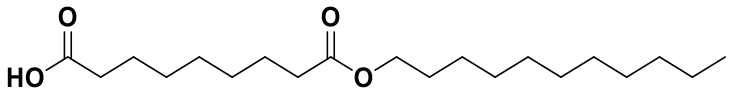
Compuesto 58: 9,9'-didecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((5-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tridecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 58 se preparó con 60 % de rendimiento a partir del Intermedio 55d y el Intermedio 56c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,27 – 5,20 (m, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 2,8 Hz, 2H), 4,13 (ddd, J = 11,9, 5,9, 2,6 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,7 Hz, 4H), 3,31 (s, 2H), 2,39 – 2,09 (m, 12H), 1,62 (dq, J = 13,8, 7,2, 6,5 Hz, 22H), 1,41 – 0,99 (m, 54H), 0,88 (td, J = 6,9, 2,0 Hz, 9H). MS: 1055,0 m/z [M+H].

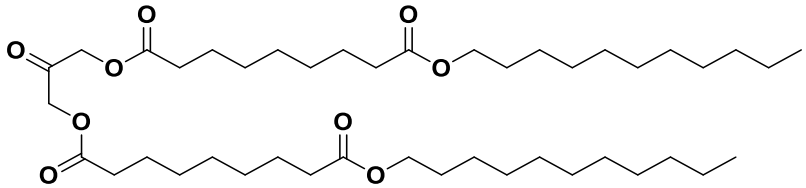
Ejemplo 59 – Compuesto 59

Intermedio 59a: ácido 9-oxo-9-(undeciloxi)nonanoico



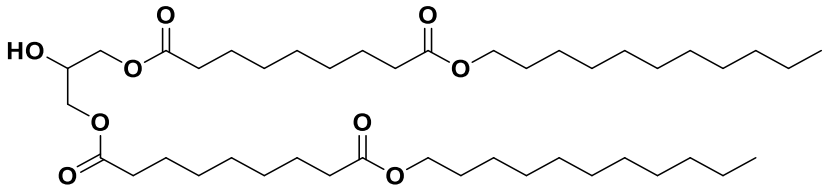
El Intermedio 59a se preparó con 41 % de rendimiento a partir de ácido nonanodioico y undecan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Intermedio 56a. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,05 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,31 (dt, J = 22,6, 7,5 Hz, 4H), 1,62 (q, J = 7,1 Hz, 6H), 1,40 – 1,18 (m, 23H), 0,87 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 59b: 9,9'-diundecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-oxopropano-1,3-diilo)



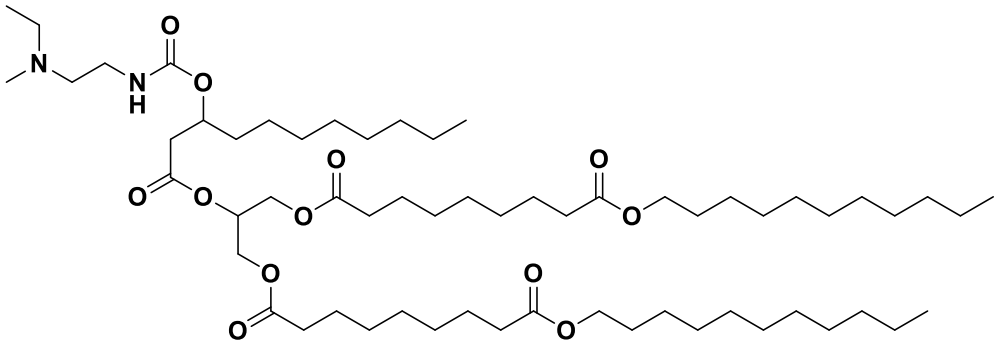
El Intermedio 59b se preparó con 23 % de rendimiento a partir de 1,3-dihidroxipropan-2-ona y el Intermedio 59a mediante el uso del método empleado para el Intermedio 56b. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3,98 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,35 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,57 (dt, J = 18,6, 6,9 Hz, 6H), 1,36 – 1,12 (m, 23H), 0,89 – 0,76 (m, 3H).

Intermedio 59c: 9,9'-diundecol di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-hidroxipropano-1,3-diilo)



El Intermedio 59c se preparó con 47 % de rendimiento a partir del Intermedio 59b mediante el uso del método empleado para el Intermedio 56c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,23 – 4,00 (m, 9H), 2,52 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 2,31 (dt, J = 24,2, 7,5 Hz, 8H), 1,62 (q, J = 7,0 Hz, 13H), 1,29 (d, J = 23,9 Hz, 43H), 0,88 (t, J = 6,7 Hz, 6H).

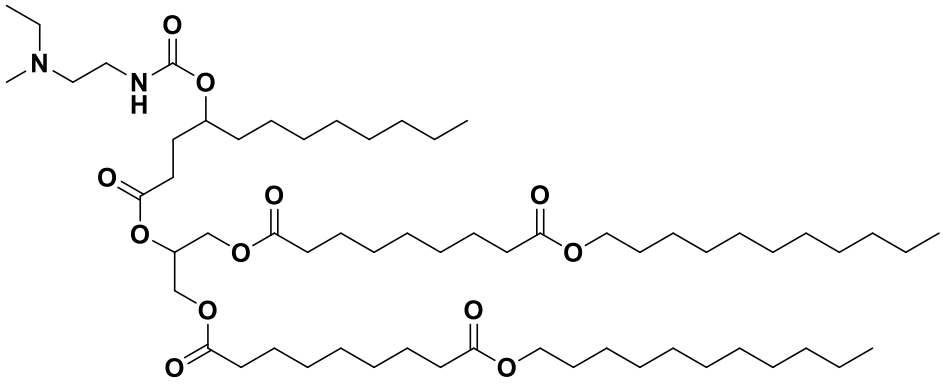
Compuesto 59: 9,9'-diundecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((3-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 59 se preparó con 35 % de rendimiento a partir del Intermedio 52d y el Intermedio 59c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,23 (s, 1H), 5,08 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 4,28 (ddd, J = 15,0, 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,14 (dt, J = 13,1, 6,7 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,58 (qd, J = 15,4, 6,6 Hz, 4H), 2,30 (dt, J = 10,4, 7,5 Hz, 10H), 1,60 (q, J = 7,7, 6,9 Hz, 20H), 1,43 – 0,97 (m, 58H), 0,88 (td, J = 6,9, 1,9 Hz, 9H). MS: 1054,9 m/z [M+H].

Ejemplo 60 – Compuesto 60

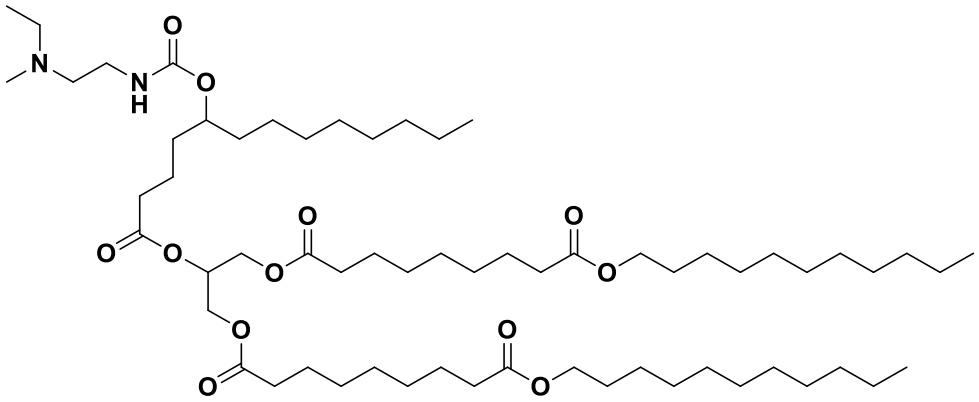
Compuesto 60: 9,9'-diundecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 60 se preparó con 79 % de rendimiento a partir del Intermedio 54d y el Intermedio 59c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,25 (p, J = 5,1 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 2,7 Hz, 2H), 4,15 (dt, J = 11,7, 5,6 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,38 (t, J = 7,5 Hz, 5H), 2,35 – 2,11 (m, 10H), 1,98 – 1,41 (m, 23H), 1,41 – 0,96 (m, 57H), 0,88 (td, J = 6,9, 1,8 Hz, 9H). MS: 1068,9 m/z [M+H].

Ejemplo 61 – Compuesto 61

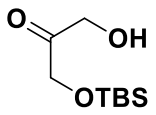
Compuesto 61: 9,9'-diundecil di(nonanodioato) de O'1,O1-(2-((5-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tridecanoil)oxi)propano-1,3-diilo)



El Compuesto 61 se preparó con 61 % de rendimiento a partir del Intermedio 55d y el Intermedio 59c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,29 – 5,20 (m, 1H), 4,72 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 2,3 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,9, 2,0 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,82 – 2,13 (m, 15H), 1,82 – 1,39 (m, 21H), 1,39 – 0,97 (m, 56H), 0,88 (td, J = 6,9, 1,9 Hz, 9H). MS: 1083,0 m/z [M+H].

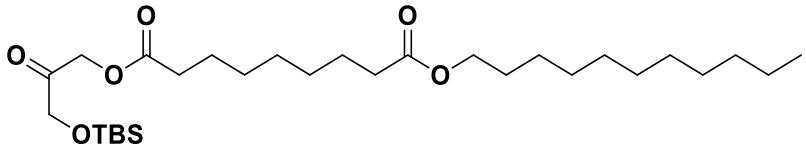
Ejemplo 62 – Compuesto 62

Intermedio 62a: 1-((terc-butildimetilsilil)oxi)-3-hidroxipropan-2-ona



A una mezcla de 1,3-dihidroxipropan-2-ona (50 g, 1,0 equiv.), imidazol (37,79 g, 1,0 equiv.) en THF (40 mL) a 0 °C se le agregó TBSCl (83,66 g, 1,0 equiv.), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hex) para obtener el producto como un aceite incoloro (15 g, 13 %).

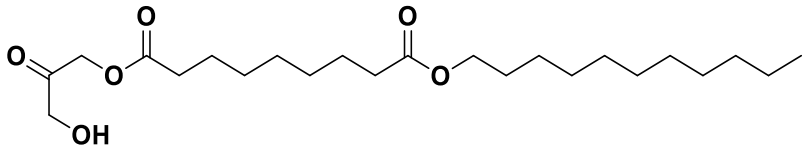
Intermedio 62b: 9-undecil nonanodioato de 1-(3-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-oxopropilo)



A una mezcla del Intermedio 62a (10 g, 1,0 equiv.), EDCI (9,38 g, 1,0 equiv.), y DMAP (5,98 g, 1,0 equiv.) en DCM (300 mL) a 0 °C se le agregó el Intermedio 59a (16,76 g, 1,0 equiv.), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM, y el residuo resultante se diluyó con agua. El material bruto se

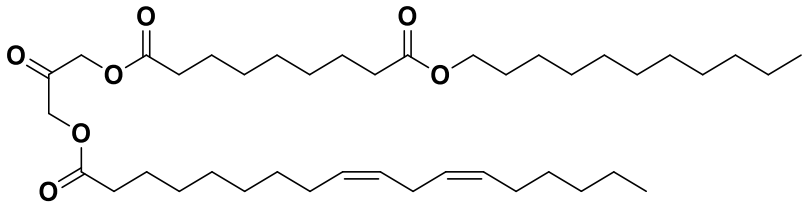
extrajo 3x con EtOAc, y las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (11 g, 43 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,84 (s, 2H), 4,16 (s, 2H), 3,95 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,32 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,18 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,61 – 1,48 (m, 6H), 1,30 – 1,12 (m, 22H), 0,82 (s, 9H), 0,78 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Intermedio 62c: 9-undecil nonanodioato de 1-(3-hidroxi-2-oxopropilo)



A una mezcla del Intermedio 62b (11 g, 1,0 equiv.) en THF (50 mL) se le agregó piridina HF·(3,75 mL, 8,0 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un sólido blanco (6 g, 70 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,70 (s, 2H), 4,30 (s, 2H), 3,98 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,95 (s, 1H), 2,36 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,57 (dt, J = 20,3, 7,1 Hz, 6H), 1,37 – 1,10 (m, 22H), 0,81 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

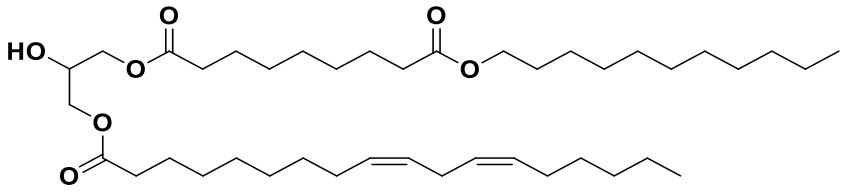
Intermedio 62d: 9-undecil nonanodioato de 1-(3-(((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoil)oxi)-2-oxopropilo)



A una solución del Intermedio 62c (6 g, 1,0 equiv.) en DCM (100 mL) a 0 °C se le agregó EDCI (1,0 equiv.), DMAP (1,0 equiv.). La solución se desgasificó y se purgó 3x con N_2 seguido por la adición de ácido linoleico (4 mL, 1,0 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM, y el residuo resultante se diluyó con agua. El material bruto se extrajo 3x con EtOAc, y las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (7,5 g, 55 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,70 (s, 2H), 4,30 (s, 2H), 3,98 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,95 (s, 1H),

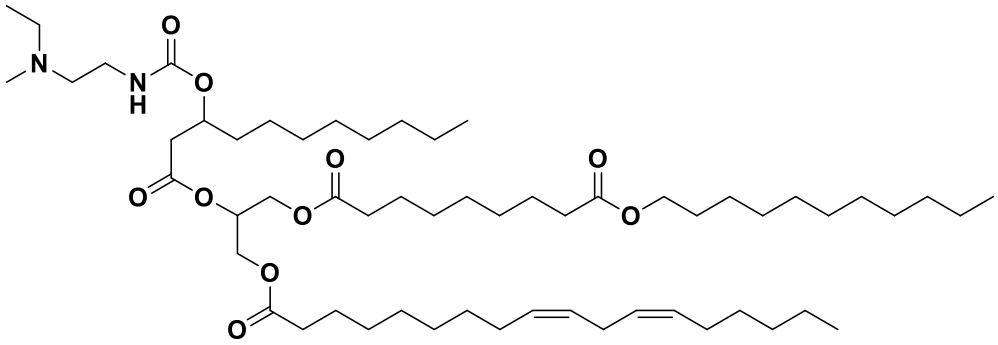
2,36 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,22 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,57 (dt, J = 20,3, 7,1 Hz, 6H), 1,37 – 1,10 (m, 22H), 0,81 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 62e: 9-undecil nonanodioato de 1-(2-hidroxi-3-(((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoil)oxi)propilo)



A una solución del Intermedio 62d (7 g, 1,0 equiv.) en THF/tolueno/agua (4:1:2, 0,04 M) a 0 °C se le agregó $NaBH_4$ (5 equiv.), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla se inactivó con NH_4Cl sat. a 5 °C y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron 2x con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron para producir un residuo. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hex) para obtener el producto como un aceite incoloro (6 g, 85 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,25 (m, 4H), 4,25 – 3,90 (m, 8H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,55 (s, 1H), 2,30 (dt, J = 24,5, 7,6 Hz, 6H), 2,03 (q, J = 6,8 Hz, 4H), 1,61 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,48 – 1,06 (m, 35H), 0,87 (td, J = 6,8, 3,8 Hz, 6H).

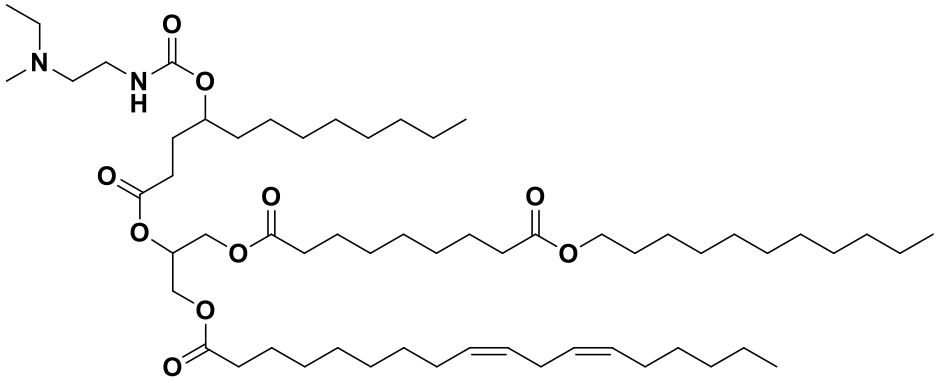
Compuesto 62: 9-undecil nonanodioato de 1-(3-metil-13-((((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoil)oxi)metil)-9-octil-7,11-dioxo-8,12-dioxa-3,6-diazatetradecan-14-ilo)



El Compuesto 62 se preparó con 36 % de rendimiento a partir del Intermedio 52d y el Intermedio 62e mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,47 – 5,28 (m, 4H), 5,23 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 5,14 – 5,04 (m, 1H), 4,28 (ddd, J = 15,3, 11,9, 4,6 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,8, 7,5, 5,8 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,38 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,58 (qd, J = 15,2, 6,3 Hz, 5H), 2,37 – 2,22 (m, 7H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 4H), 1,62 (d, J = 6,8 Hz, 14H), 1,48 – 0,97 (m, 50H), 0,97 – 0,79 (m, 9H). MS: 992,3 m/z [M+H].

Ejemplo 63 – Compuesto 63

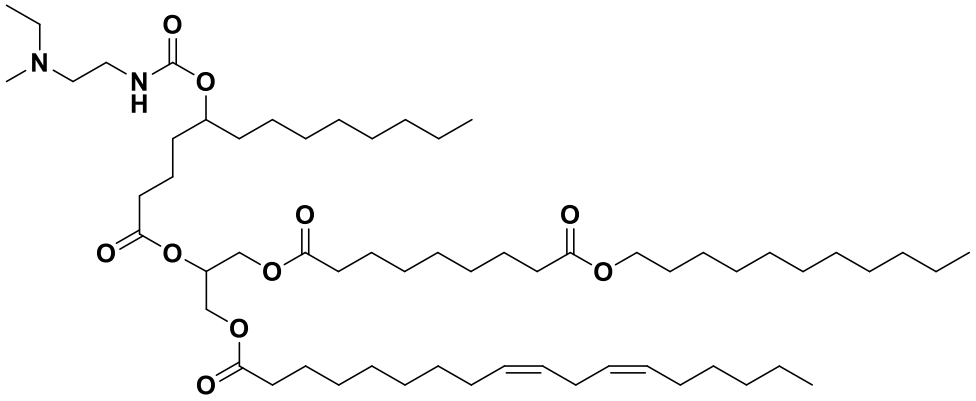
Compuesto 63: 9-undecil nonanodioato de 1-(3-metil-14-((((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoil)oxi)metil)-9-octil-7,12-dioxo-8,13-dioxa-3,6-diazapentadecan-15-ilo)



El Compuesto 63 se preparó con 79 % de rendimiento a partir del Intermedio 54d y el Intermedio 62e mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,28 (m, 4H), 5,25 (ddd, J = 5,8, 4,5, 1,4 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,2 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,31 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,70 – 2,12 (m, 15H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 4H), 1,97 – 1,72 (m, 3H), 1,61 (h, J = 6,5 Hz, 12H), 1,40 – 1,19 (m, 47H), 1,11 (s, 3H), 0,96 – 0,81 (m, 9H). MS: 1006,9 m/z [M+H].

Ejemplo 64 – Compuesto 64

Compuesto 64: 9-undecil nonanodioato de 1-(3-metil-15-((((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoil)oxi)metil)-9-octil-7,13-dioxo-8,14-dioxa-3,6-diazahexadecan-16-ilo)

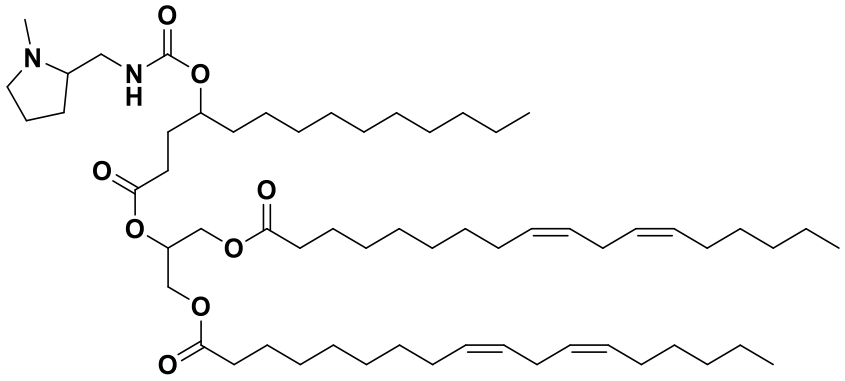


El Compuesto 64 se preparó con 79 % de rendimiento a partir del Intermedio 55d y el Intermedio 62e mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,48 – 5,28 (m, 4H), 5,24 (h, J = 4,9, 4,4 Hz, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,29 (ddd, J = 11,9, 4,4, 3,3 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,1 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,31 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,67 – 2,11 (m, 14H),

2,05 (q, J = 6,8 Hz, 4H), 1,73 – 1,41 (m, 17H), 1,41 – 0,95 (m, 50H), 0,94 – 0,82 (m, 9H). MS: 1021,0 m/z [M+H].

Ejemplo 65 – Compuesto 65

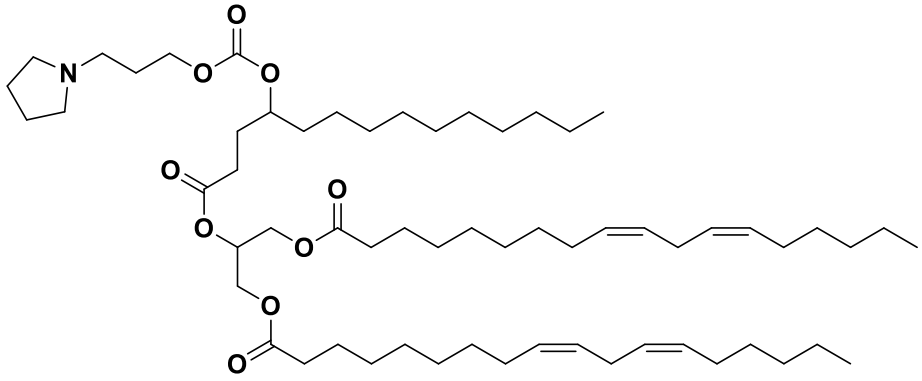
Compuesto 65: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)tetradecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 65 se preparó con 75 % de rendimiento a partir del Intermedio 39d y 1-(1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (ddd, J = 10,2, 5,7, 4,4 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,20 – 4,11 (m, 2H), 3,45 (s, 1H), 3,21 (s, 2H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,46 – 2,24 (m, 9H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 2,01 – 1,42 (m, 16H), 1,41 – 1,20 (m, 45H), 0,88 (td, J = 7,0, 4,7 Hz, 9H). MS: 984,9 m/z [M+H].

Ejemplo 66 – Compuesto 66

Compuesto 66: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)tetradecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

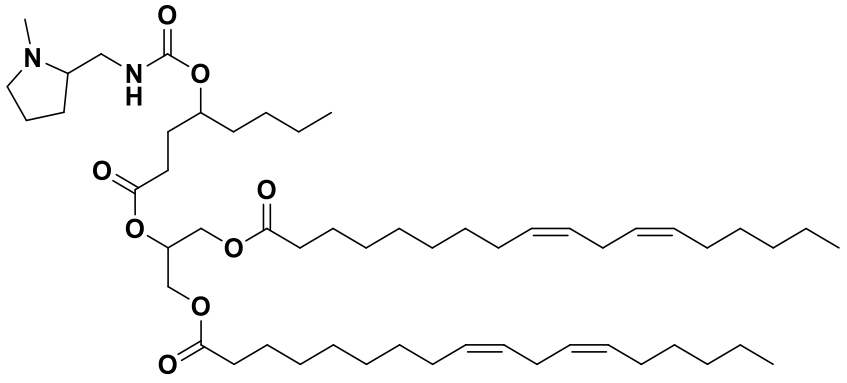


El Compuesto 66 se preparó con 65 % de rendimiento a partir del Intermedio 39d y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,57 – 5,21 (m, 9H), 4,72 (dt, J = 12,2, 5,2 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,24 – 4,07 (m, 4H), 2,82 – 2,74 (m, 4H), 2,60 (d, J = 102,7 Hz, 5H), 2,45 – 2,38 (m, 2H), 2,38 – 2,26 (m, 4H), 2,13 – 1,73 (m,

16H), 1,73 – 1,43 (m, 9H), 1,41 – 1,16 (m, 42H), 1,04 – 0,74 (m, 9H). MS: 999,4 m/z [M+H].

Ejemplo 67 – Compuesto 67

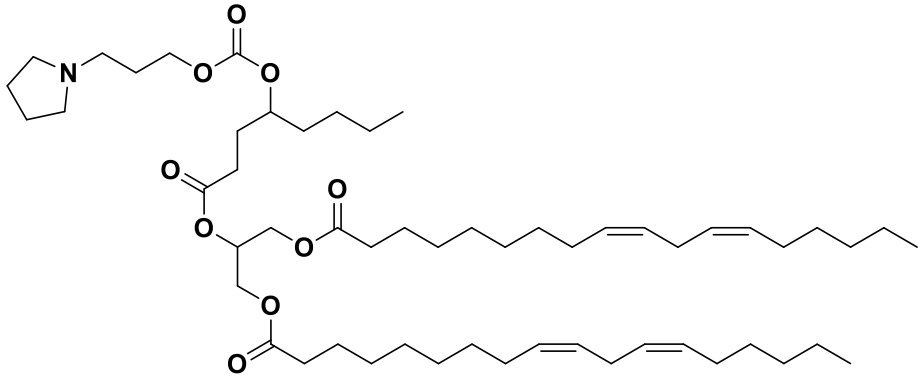
Compuesto 67: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 67 se preparó con 50 % de rendimiento a partir del Intermedio 42d y 1-(1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,08 (m, 9H), 4,77 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,8, 4,5, 1,8 Hz, 2H), 4,20 – 4,12 (m, 2H), 3,48 (s, 1H), 3,33 (s, 2H), 2,77 (td, J = 6,1, 1,2 Hz, 4H), 2,63 – 2,23 (m, 11H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 9H), 1,98 – 1,42 (m, 14H), 1,42 – 1,22 (m, 32H), 0,96 – 0,81 (m, 9H). MS: 900,0 m/z [M+H].

Ejemplo 68 – Compuesto 68

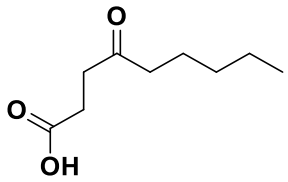
Compuesto 68: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 68 se preparó con 43 % de rendimiento a partir del Intermedio 42d y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,04 (m, 9H), 4,72 (tt, J = 7,4, 5,1 Hz, 1H), 4,40 – 4,10 (m, 6H), 2,81 – 2,74 (m, 4H), 2,54 (d, J = 58,1 Hz, 5H), 2,40 (ddd, J = 8,4, 6,8, 4,4 Hz, 2H), 2,36 – 2,27 (m, 4H), 2,11 – 1,73 (m, 16H), 1,73 – 1,43 (m, 8H), 1,43 – 1,21 (m, 31H), 0,99 – 0,77 (m, 9H). MS: 915,7 m/z [M+H].

Ejemplo 69 – Compuesto 69

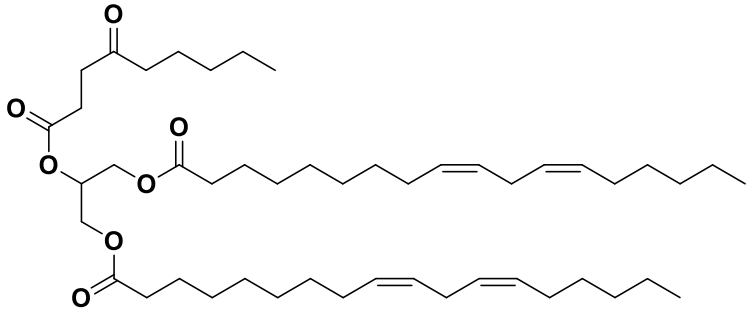
Intermedio 69a: ácido 4-oxononanoico



A una mezcla de 5-pentiltetrahidrofuran-2-ona (50 g, 1,0 equiv.) en 3:1 EtOH/H_2O (500 mL) se le agregó NaOH (2,0 equiv.) en una parte a 15 °C en N_2. La mezcla se agitó a 15 °C durante 12 h. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se extrajo 2x con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para obtener un residuo bruto.

El residuo bruto se reconstituyó posteriormente en DCM (1 L), seguido por la adición de DMP (3 equiv.) en una parte a 15 °C en N_2. La mezcla se agitó a 15 °C durante 4 h. Después de completarse, la reacción se concentró a presión reducida, y la solución se ajustó a pH = 3 con HCl 1 M. La suspensión se filtró y se lavó con H_2O. La torta de filtración resultante se disolvió en EtOAc, se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró para obtener el producto como un sólido blanco (22 g, 45 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,72 (dd, J = 7,0, 5,4 Hz, 2H), 2,63 (ddd, J = 7,2, 5,9, 1,2 Hz, 2H), 2,44 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,64 – 1,54 (m, 2H), 1,36 – 1,20 (m, 4H), 0,89 (t, J = 6,9 Hz, 3H).

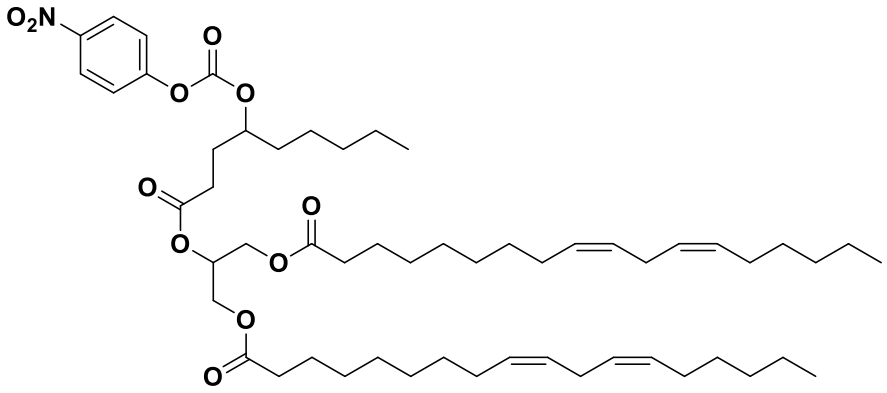
Intermedio 69b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxononanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 69b se sintetizó con 74 % de rendimiento a partir del Intermedio 69a y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,16 (m, 9H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,14 (dt, J = 11,8, 6,0 Hz, 2H), 2,74 (dt, J = 21,5, 6,5 Hz, 6H), 2,59 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,32 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (dd, J = 8,6, 5,3 Hz, 8H), 1,60

(ddd, J = 14,2, 8,4, 4,8 Hz, 6H), 1,50 – 1,06 (m, 32H), 0,89 (t, J = 6,8 Hz, 9H).

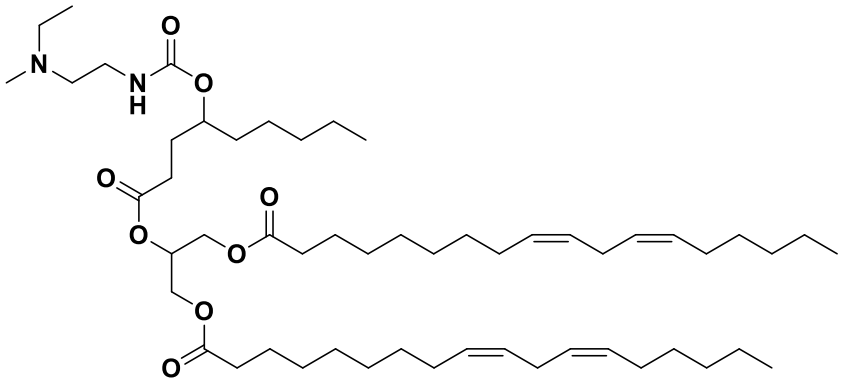
Intermedio 69c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)nonanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 69b (10 g, 1,0 equiv.) en THF (300 mL), tolueno (150 mL) y H_2O (75 mL) se le agregó $NaBH_4$ (5,0 equiv.) a 5 °C. La mezcla se agitó a 15 °C durante 3 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, se agregó Na_2SO_4 a la mezcla de reacción a 0 °C, y la mezcla resultante se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna para obtener un intermedio de alcohol como un aceite incoloro.

El intermedio se reconstituyó inmediatamente en DCM (80 mL), seguido por la adición de piridina (1,67 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (2 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna para producir el producto como un aceite incoloro (4,05 g, 33 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,26 – 8,19 (m, 2H), 7,40 – 7,28 (m, 2H), 5,43 – 5,11 (m, 9H), 4,80 (tt, J = 7,5, 4,4 Hz, 1H), 4,25 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,09 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,40 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,33 – 2,16 (m, 4H), 1,97 (q, J = 6,8 Hz, 10H), 1,67 (ddt, J = 13,4, 9,9, 4,7 Hz, 1H), 1,55 (dtd, J = 15,7, 8,4, 7,4, 4,8 Hz, 5H), 1,43 – 1,16 (m, 36H), 0,83 (q, J = 6,8 Hz, 9H).

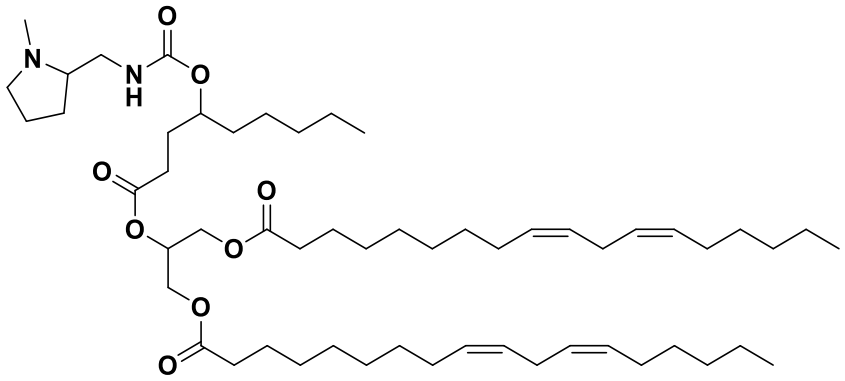
Compuesto 69: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)nonanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 69 se preparó con 77 % de rendimiento a partir del Intermedio 69c y N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,35 (pt, J = 8,8, 4,4 Hz, 8H), 5,25 (p, J = 5,1 Hz, 1H), 4,76 (dt, J = 12,3, 6,7 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,15 (dh, J = 11,4, 5,9 Hz, 2H), 3,31 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,62 – 2,45 (m, 4H), 2,38 (dt, J = 9,0, 6,2 Hz, 2H), 2,30 (q, J = 13,0, 10,4 Hz, 8H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 9H), 1,91 (tt, J = 9,5, 4,5 Hz, 1H), 1,81 (dt, J = 14,7, 7,8 Hz, 1H), 1,65 – 1,43 (m, 7H), 1,40 – 1,17 (m, 36H), 1,09 (q, J = 8,8, 8,2 Hz, 3H), 0,88 (q, J = 6,5 Hz, 9H). MS: 902,6 m/z [M+H].

Ejemplo 70 – Compuesto 70

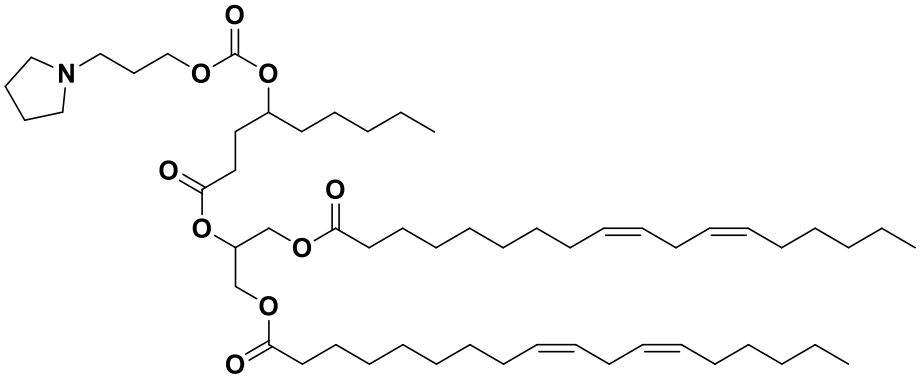
Compuesto 70: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)nonanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 70 se preparó con 62 % de rendimiento a partir del Intermedio 69c y 1-(1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,29 (m, 8H), 5,25 (p, J = 5,2 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,15 (dq, J = 11,7, 5,8 Hz, 2H), 3,46 (d, J = 25,9 Hz, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,34 (dt, J = 31,1, 8,3 Hz, 12H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,99 – 1,42 (m, 16H), 1,42 – 1,19 (m, 35H), 0,88 (q, J = 6,8 Hz, 9H). MS: 914,4 m/z [M+H].

Ejemplo 71 – Compuesto 71

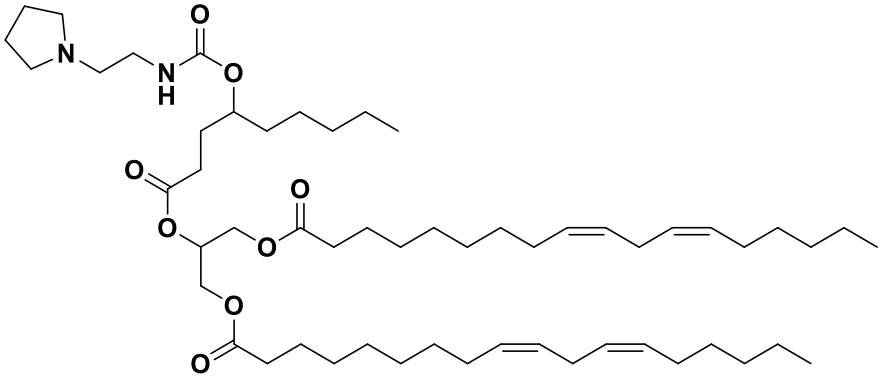
Compuesto 71: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)nonanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 71 se preparó con 78 % de rendimiento a partir del Intermedio 69c y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, Cloroformo-d) δ 5.50 – 5.28 (m, 8H), 5.25 (p, J = 5.1 Hz, 1H), 4.72 (tt, J = 7.8, 4.5 Hz, 1H), 4.36 – 4.26 (m, 2H), 4.23 – 4.11 (m, 4H), 2.77 (t, J = 6.7 Hz, 4H), 2.41 (dt, J = 15.0, 9.0 Hz, 2H), 2.31 (t, J = 7.5 Hz, 5H), 2.05 (q, J = 6.9 Hz, 8H), 2.00 – 1.75 (m, 9H), 1.72 – 1.48 (m, 8H), 1.43 – 1.20 (m, 35H), 1.00 – 0.75 (m, 9H). MS: 929,4 m/z [M+H].

Ejemplo 72 – Compuesto 72

Compuesto 72: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)nonanoil)oxi)propano-1,3-diilo

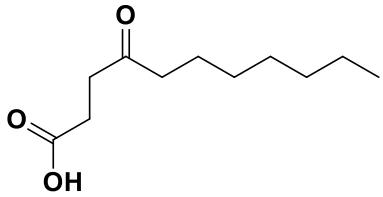


El Compuesto 72 se preparó con 72 % de rendimiento a partir del Intermedio 69c y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,49 (s, 1H), 5,34 (dtt, J = 18,0, 6,9, 3,9 Hz, 8H), 5,25 (p, J = 5,1 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (dt, J = 11,6, 5,4 Hz, 2H), 3,40 – 3,27 (m, 2H), 2,80 – 2,50 (m, 11H), 2,45 – 2,35 (m, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 5H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 9H), 1,97 – 1,67 (m, 8H), 1,60 (q, J = 7,3 Hz, 8H), 1,33 (d, J =

26,5 Hz, 36H), 0,88 (q, J = 6,5 Hz, 9H). MS: 914,7 m/z [M+H].

Ejemplo 73 – Compuesto 73

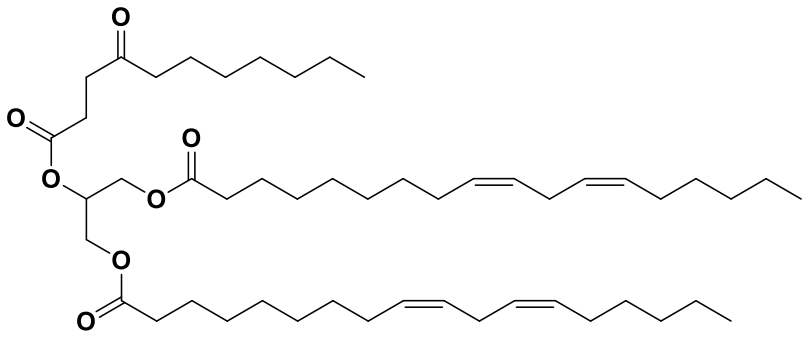
Intermedio 73a: ácido 4-oxoundecanoico



A una solución de 5-heptiltetrahidrofuran-2-ona (20 g, 1,0 equiv.) en 2:1 EtOH/H_2O (400 mL) se le agregó NaOH (1.1 equiv). La mezcla se desgasificó y se purgó 3x con N_2, y luego, la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente, y se agregó HCl 1 N al residuo resultante hasta pH = 3. La suspensión resultante se filtró, y la torta filtrada se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo.

El residuo resultante se reconstituyó en DCM (200 mL), seguido por la adición de DMP (3 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h. Después de completarse, la mezcla se concentró a presión reducida, y el residuo resultante se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un sólido blanco (10 g, 46 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,65 (dd, J = 7,0, 5,3 Hz, 2H), 2,56 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,37 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,51 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,27 – 1,13 (m, 8H), 0,86 – 0,76 (m, 3H).

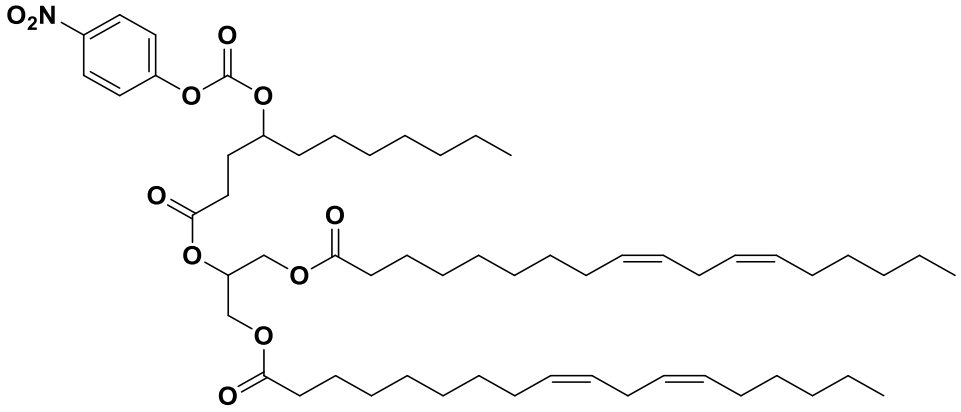
Intermedio 73b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-oxoundecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 73b se sintetizó con 42 % de rendimiento a partir del Intermedio 73a y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 (dddd, J

= 12,3, 10,7, 8,7, 5,5 Hz, 8H), 5,21 – 5,15 (m, 1H), 4,22 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,13 – 4,05 (m, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,64 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,52 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,36 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,02 – 1,95 (m, 8H), 1,53 (h, J = 7,0 Hz, 6H), 1,33 – 1,16 (m, 37H), 0,81 (td, J = 6,8, 4,7 Hz, 9H).

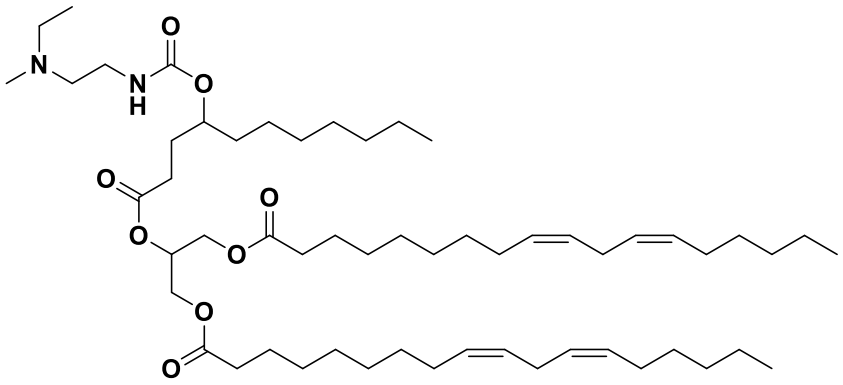
Intermedio 73c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 73b (25 g, 1,0 equiv.) en THF (500 mL), tolueno (125 mL), y H_2O (250 mL) a 0 °C en N_2 se le agregó $NaBH_4$ (5,0 equiv.). La mezcla se agitó a 5 °C durante 1 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, el residuo se vertió en solución saturada de NH_4Cl y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el alcohol intermedio como un residuo incoloro.

El intermedio se reconstituyó inmediatamente en DCM (100 mL), seguido por la adición de piridina (2 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (2 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C en atmósfera de N_2 durante 5 h, momento después del cual la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo resultante se diluyó con hexanos y se filtró. El filtrado se lavó 3x con agua 1x con salmuera antes de secarse en Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna proporcionó el producto como un aceite incoloro (5,2 g, 40 %). 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 8,28 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,41 (dd, J = 8,6, 6,1 Hz, 2H), 5,33 (tdd, J = 23,5, 11,3, 6,1 Hz, 9H), 4,87 (tt, J = 7,7, 4,6 Hz, 1H), 4,32 (dd, J = 12,0, 4,4 Hz, 2H), 4,16 (dd, J = 12,0, 5,8 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,47 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,39 – 2,25 (m, 4H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 10H), 1,79 – 1,55 (m, 7H), 1,48 – 1,15 (m, 36H), 0,89 (t, J = 6,7 Hz, 9H).

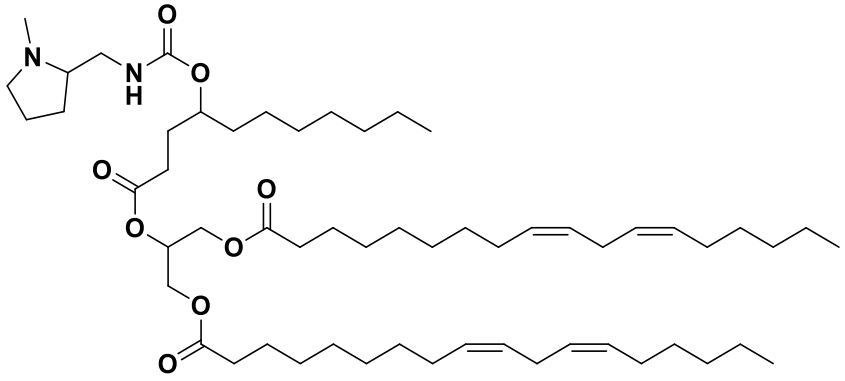
Compuesto 73: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 73 se preparó con 53 % de rendimiento a partir del Intermedio 73c y (2-aminoetil)(etil)metilamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,47 – 5,27 (m, 8H), 5,24 (q, J = 5,1 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (dt, J = 11,6, 5,4 Hz, 2H), 3,31 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,7 Hz, 4H), 2,61 – 2,35 (m, 6H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 7H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,90 (q, J = 11,5, 9,0 Hz, 1H), 1,81 (dt, J = 14,5, 7,6 Hz, 1H), 1,65 – 1,41 (m, 9H), 1,39 – 1,19 (m, 38H), 1,10 (s, 3H), 0,88 (q, J = 7,0 Hz, 9H). MS: 930,3 m/z [M+H].

Ejemplo 74 – Compuesto 74

Compuesto 74: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpirrolidin-2-il)metil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

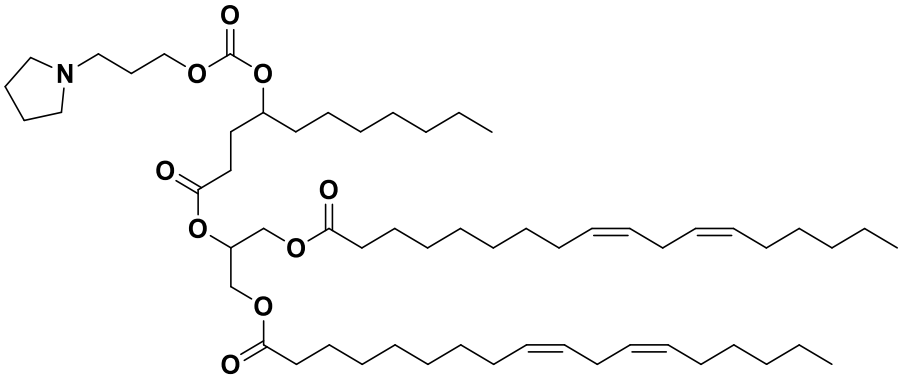


El Compuesto 74 se preparó con 55 % de rendimiento a partir del Intermedio 73c y 1-(1-metilpirrolidin-2-il)metanamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,34 (dtt, J = 18,0, 6,9, 3,8 Hz, 8H), 5,25 (p, J = 5,2 Hz, 1H), 4,81 – 4,72 (m, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (dt, J = 11,7, 5,2 Hz, 2H), 3,43 (s, 1H), 3,17 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,34 (dt, J = 31,2, 8,3 Hz, 11H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,99 – 1,43 (m, 16H), 1,43 – 1,13 (m, 39H), 0,88 (q, J = 7,7,

7,2 Hz, 9H). MS: 942,8 m/z [M+H].

Ejemplo 75 – Compuesto 75

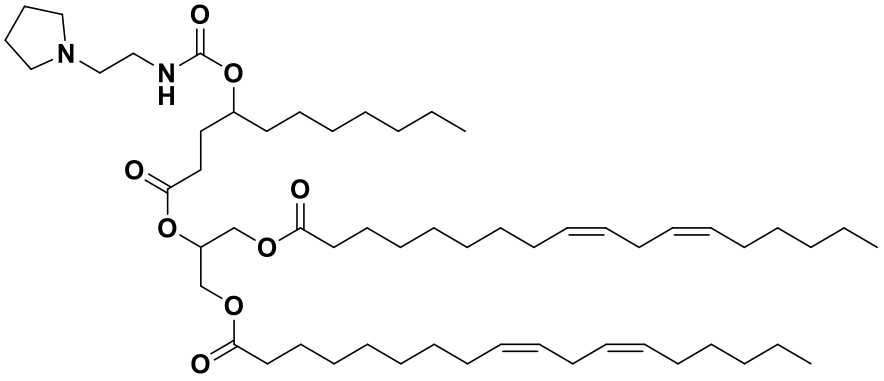
Compuesto 75: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(pirrolidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 75 se preparó con 73 % de rendimiento a partir del Intermedio 73c y 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,46 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (p, J = 5,1 Hz, 1H), 4,72 (tt, J = 7,8, 4,5 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,22 – 4,11 (m, 4H), 2,77 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,45 – 2,37 (m, 2H), 2,31 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 2,01 – 1,91 (m, 3H), 1,91 – 1,78 (m, 5H), 1,67 – 1,50 (m, 9H), 1,39 – 1,22 (m, 39H), 0,88 (q, J = 6,6 Hz, 9H). MS: 957,4 m/z [M+H].

Ejemplo 76 – Compuesto 76

Compuesto 76: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

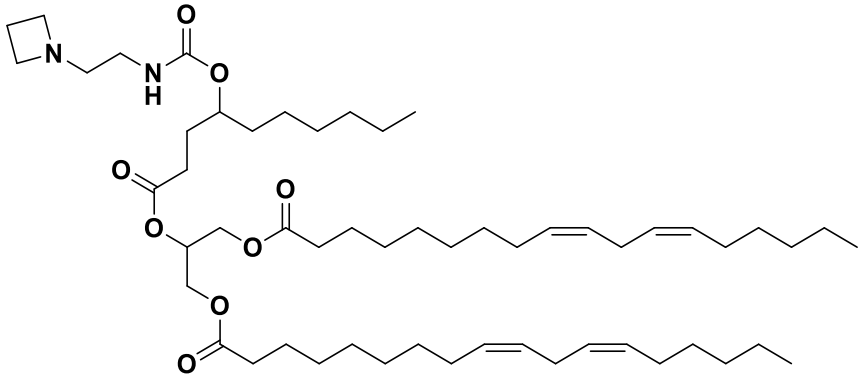


El Compuesto 76 se preparó con 81 % de rendimiento a partir del Intermedio 73c y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,56 (s, 1H), 5,46 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (p, J = 5,2 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (dt, J = 11,7, 5,5 Hz, 2H), 3,43 – 3,31 (m, 2H), 2,77 (t, J = 6,7 Hz, 11H), 2,45 – 2,35 (m, 2H), 2,31 (t, J = 7,6

Hz, 4H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,97 – 1,74 (m, 7H), 1,69 – 1,43 (m, 8H), 1,43 – 1,09 (m, 39H), 0,88 (q, J = 7,0 Hz, 9H). MS: 943,2 m/z [M+H].

Ejemplo 77 – Compuesto 77

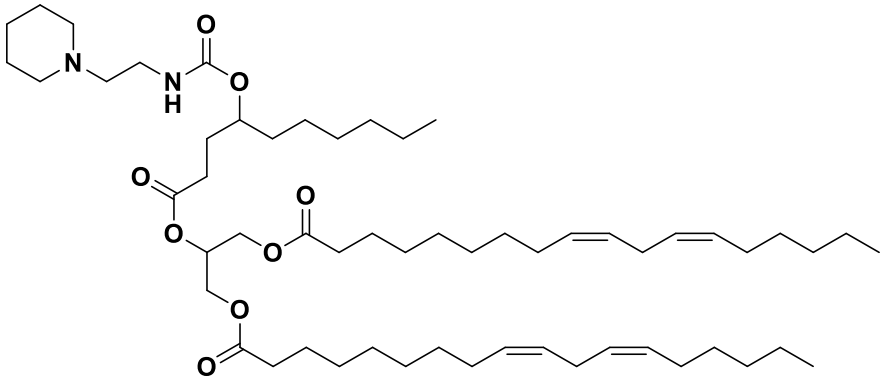
Compuesto 77: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(azetidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 77 se preparó con 36 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 2-(azetidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,29 (m, 8H), 5,25 (h, J = 4,6, 4,1 Hz, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 1,9 Hz, 2H), 4,15 (ddt, J = 11,9, 5,8, 3,6 Hz, 2H), 3,74 – 3,54 (m, 3H), 3,48 – 3,38 (m, 1H), 3,31 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 2,86 (s, 1H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,41 – 2,26 (m, 7H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,97 – 1,87 (m, 2H), 1,87 – 1,77 (m, 2H), 1,60 (d, J = 7,2 Hz, 8H), 1,44 – 1,15 (m, 37H), 0,96 – 0,84 (m, 9H). MS: 914,7 m/z [M+H].

Ejemplo 78 – Compuesto 78

Compuesto 78: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(piperidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo

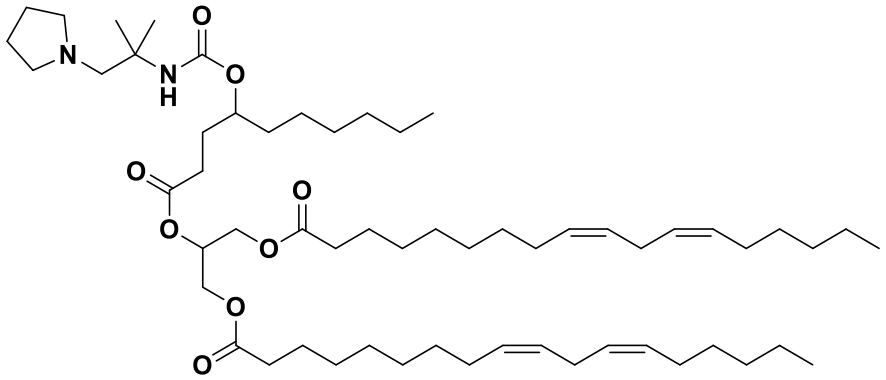


El Compuesto 78 se preparó con 60 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 2-(piperidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,47 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (h, J = 4,8 Hz, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,4, 1,3 Hz, 2H), 4,15 (dt, J =

11,8, 5,7 Hz, 2H), 3,42 (s, 2H), 2,80 – 2,72 (m, 4H), 2,44 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 2,39 (ddd, J = 8,6, 6,9, 2,5 Hz, 2H), 2,36 – 2,27 (m, 5H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,95 – 1,41 (m, 18H), 1,41 – 1,20 (m, 37H), 0,96 – 0,81 (m, 9H). MS: 942,4 m/z [M+H].

Ejemplo 79 – Compuesto 79

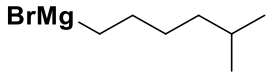
Compuesto 79: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-metil-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-il)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 79 se preparó con 48 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 2-metil-1-(pirrolidin-1-il)propan-2-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,21 (m, 9H), 4,72 (s, 1H), 4,28 (ddt, J = 11,9, 4,4, 2,2 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,6 Hz, 2H), 2,86 – 2,49 (m, 8H), 2,39 (td, J = 8,2, 7,4, 2,2 Hz, 1H), 2,31 (td, J = 7,6, 1,8 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 2,00 – 1,45 (m, 17H), 1,45 – 1,03 (m, 41H), 0,98 – 0,77 (m, 9H). MS: 956,5 m/z [M+H].

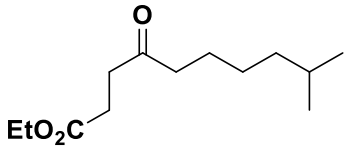
Ejemplo 80 – Compuesto 80

Intermedio 80a: bromuro de (5-metilhexil)magnesio



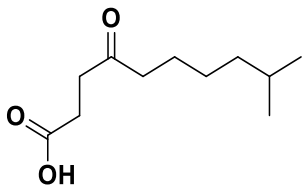
A una solución de Mg (1,63 g, 1,2 equiv.) y I_2 (0,1 equiv.) en THF (100 mL) se le agregó 1-bromo-5-metil-hexano (1,0 equiv.) a 15 °C. La mezcla se agitó a 40 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Sin procesamiento adicional. La mezcla de reacción se usó en la siguiente etapa directamente. Se obtuvo bromo(5-metilhexil)magnesio en THF como una solución gris.

Intermedio 80b: 9-metil-4-oxodecanoato de etilo



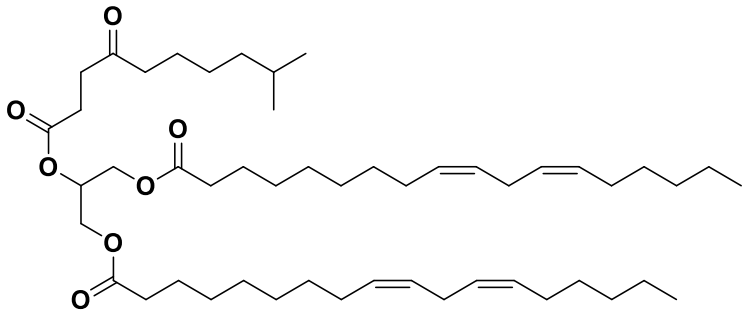
A una solución de 4-cloro-4-oxo-butanoato de etilo (16 g, 1,0 equiv.) en THF (150 mL) se le agregó CuI (1,0 equiv.) y el Intermedio 80a (2,0 equiv.) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron 2x con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto (10 g, 45 % de rendimiento) como un aceite incoloro. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,50 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,38 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,55 – 1,45 (m, 3H), 1,28 – 1,15 (m, 6H), 1,15 – 1,06 (m, 2H), 0,79 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

Intermedio 80c: ácido 9-metil-4-oxodecanoico



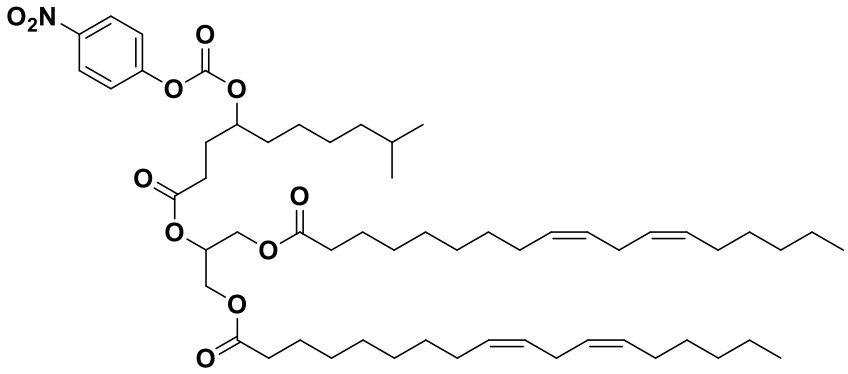
A una solución del intermedio 80b (10 g, 1,0 equiv.) en EtOH (100 mL) se le agregó KOH (3,0 equiv.) a 20 °C. La mezcla se agitó a 50 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. Luego, la reacción se concentró para eliminar el EtOH, y el pH se ajustó a 5,5 con HCl (1 M). La mezcla resultante se diluyó con agua y se extrajo 2x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron 2x con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto (4,4 g, 50 %) como un sólido blanco. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,71 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,63 (ddd, J = 7,0, 5,8, 1,1 Hz, 2H), 2,44 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,53 (dq, J = 19,8, 7,0, 6,6 Hz, 3H), 1,31 – 1,24 (m, 2H), 1,16 (dt, J = 8,6, 6,7 Hz, 2H), 0,85 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

Intermedio 80d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((9-metil-4-oxodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 80d se sintetizó con 40 % de rendimiento a partir del Intermedio 80c y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (p, J = 5,1 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,71 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,59 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,67 – 1,50 (m, 8H), 1,39 – 1,21 (m, 29H), 1,22 – 1,12 (m, 3H), 0,93 – 0,82 (m, 12H).

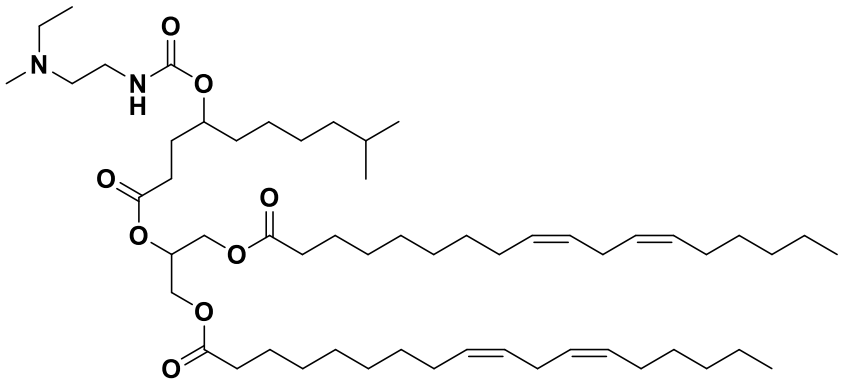
Intermedio 80e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((9-metil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 80d (1.5 g, 1,0 equiv.) en THF (30 mL), tolueno (15 mL) y H2O (7.5 mL) se le agregó $NaBH_4$ (5,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 5 °C durante 5 h. Después de completarse la reducción, la mezcla de reacción se dividió entre THF y H_2O, y la fase orgánica resultante se separó, se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el alcohol intermedio como un aceite amarillo. El intermedio resultante se reconstituyó inmediatamente en DCM (10 mL), seguido por la adición de piridina (2.0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (2.0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 5 h. Luego, la mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite

incoloro. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,25 – 8,18 (m, 2H), 7,38 – 7,28 (m, 2H), 5,39 – 5,15 (m, 9H), 4,80 (tt, J = 7,1, 4,3 Hz, 1H), 4,25 (dd, J = 12,0, 4,3 Hz, 2H), 4,13 – 4,04 (m, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,40 (dd, J = 8,3, 6,6 Hz, 2H), 2,33 – 2,19 (m, 4H), 2,05 – 1,85 (m, 10H), 1,67 (ddt, J = 14,6, 9,4, 4,8 Hz, 1H), 1,52 (dddq, J = 32,6, 26,2, 13,2, 6,6, 6,1 Hz, 8H), 1,37 – 1,17 (m, 30H), 1,11 (dt, J = 9,0, 6,5 Hz, 2H), 0,94 – 0,66 (m, 12H).

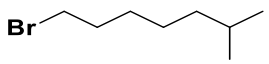
Compuesto 80: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)-9-metildecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 80 se preparó con 68 % de rendimiento a partir del Intermedio 80e y (2-aminoetil)(etil)metilamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,22 (m, 9H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 12,0, 4,5, 1,5 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,7 Hz, 2H), 3,37 (s, 3H), 2,77 (td, J = 6,0, 1,3 Hz, 4H), 2,39 (ddd, J = 8,4, 6,9, 2,4 Hz, 2H), 2,35 – 2,28 (m, 5H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,86 (ddt, J = 37,3, 14,4, 7,1 Hz, 3H), 1,77 – 1,38 (m, 12H), 1,39 – 1,19 (m, 34H), 1,15 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,94 – 0,79 (m, 12H). MS: 929,9 m/z [M+H].

Ejemplo 81 – Compuesto 81

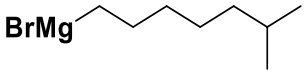
Intermedio 81a: 1-bromo-6-metilheptano



A una solución de PPh_3 (66,97 g, 1,33 equiv.) en DCM (300 mL) se le agregó Br_2 (1,33 equiv.) a 0 °C. Luego, se agregó 6-metilheptan-1-ol (1,0 equiv.) en una parte. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Después de completarse, la mezcla de reacción se diluyó con H_2O, y la fase orgánica se separó. La capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. Se agregó pentano, y se filtró el óxido de trifenilfosfina precipitado. La fase orgánica a presión reducida para proporcionar un residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener

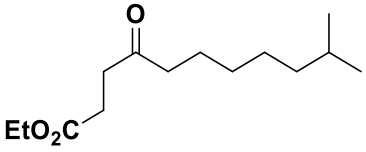
el producto como un aceite amarillo (30 g, 81 %). ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 3,41 (td, J = 6,9, 1,1 Hz, 2H), 1,91 – 1,79 (m, 2H), 1,59 – 1,49 (m, 1H), 1,45 – 1,35 (m, 2H), 1,34 – 1,25 (m, 3H), 1,21 – 1,12 (m, 2H), 0,86 (dd, J = 6,6, 1,1 Hz, 6H).

Intermedio 81b: bromuro de (6-metilheptil)magnesio



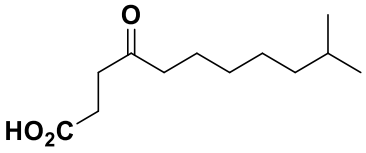
A una solución de Mg (4,53 g, 1,2 equiv.) y I_2 (0,1 equiv.) en THF (300 mL) se le agregó el Intermedio 81a (1,0 equiv.) a 15 °C. La mezcla se agitó a 40 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Sin procesamiento adicional. La mezcla de reacción se usó directamente en la siguiente etapa. Se obtuvo bromo(6-metilheptil)magnesio en THF como una solución gris.

Intermedio 81c: 10-metil-4-oxoundecanoato de etilo



A una solución de 4-cloro-4-oxo-butanoato de etilo (25 g, 1,0 equiv.) y CuI (1,0 equiv.) en THF (200 mL) se le agregó el Intermedio 81b (1,0 equiv.) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se separaron, se lavaron 2x con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (10 g, 27 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,06 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,50 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,37 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,51 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,43 (dq, J = 13,2, 6,6 Hz, 1H), 1,26 – 1,15 (m, 7H), 1,14 – 1,04 (m, 2H), 0,79 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

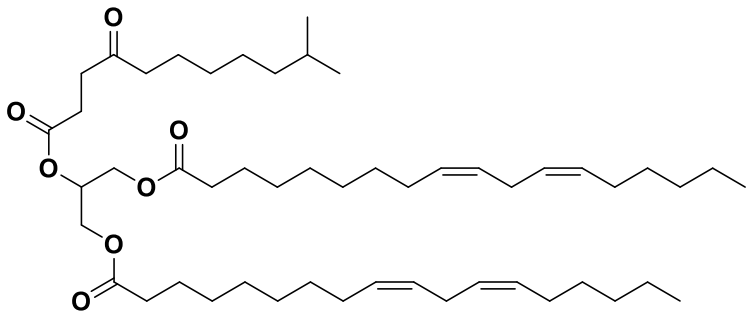
Intermedio 81d: ácido 10-metil-4-oxoundecanoico



Una mezcla del Intermedio 81c (10 g, 1,0 equiv.) y KOH (3,0 equiv.) en EtOH (50 mL) se desgasificó y

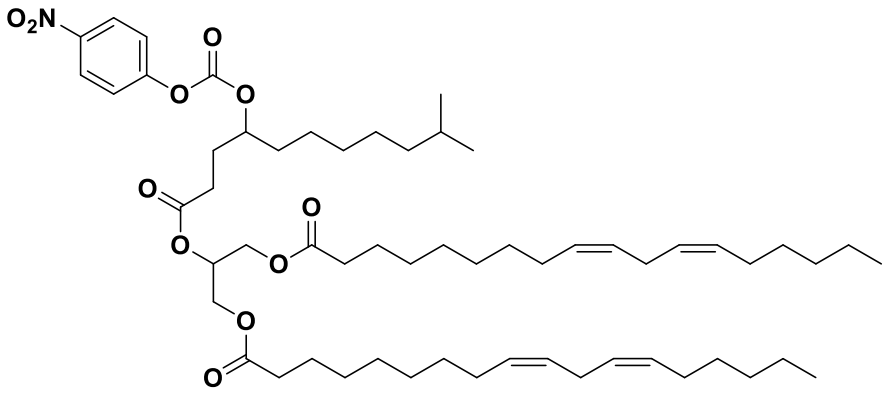
se purgó 3x con N_2, y luego, la mezcla se agitó a 50 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla se concentró para eliminar el EtOH, luego, se ajustó a pH 5,5 con HCl (1 M). Luego, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se separaron, se lavaron 2x con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un sólido blanco (4 g, 45 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,65 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,56 (ddd, J = 7,1, 5,9, 1,2 Hz, 2H), 2,37 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,51 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 1,42 (dt, J = 13,2, 6,6 Hz, 1H), 1,20 (tt, J = 4,9, 2,5 Hz, 4H), 1,14 – 1,05 (m, 2H), 0,79 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

Intermedio 81e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((10-metil-4-oxoundecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



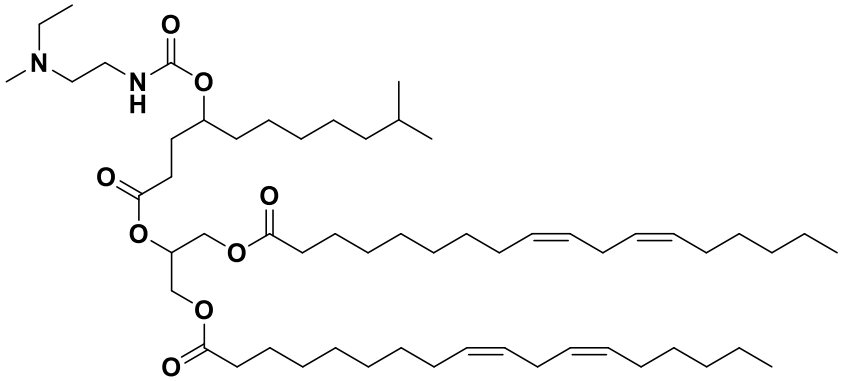
El Intermedio 81e se sintetizó con 40 % de rendimiento a partir del Intermedio 81d y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 1d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,39 – 5,20 (m, 8H), 5,17 (ddd, J = 10,1, 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,21 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,07 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,69 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,64 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,52 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,36 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,24 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 1,97 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,66 – 1,46 (m, 7H), 1,33 – 1,13 (m, 35H), 1,08 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 0,84 – 0,77 (m, 12H).

Intermedio 81f: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((10-metil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 81e (6 g, 1,0 equiv.) en THF (120 mL), tolueno (30 mL) y H_2O (60 mL) se le agregó $NaBH_4$ (5,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 5 °C durante 5 h. Después de completarse la reducción, la mezcla de reacción se dividió entre THF y H_2O, y la fase orgánica resultante se separó, se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el alcohol intermedio como un aceite amarillo. El intermedio resultante se reconstituyó inmediatamente en DCM (10 mL), seguido por la adición de piridina (2.0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (2.0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Luego, la mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (4,3 g, 59 %). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,27 – 8,16 (m, 2H), 7,37 – 7,29 (m, 2H), 5,43 – 5,12 (m, 9H), 4,80 (s, 1H), 4,25 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 – 4,06 (m, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,40 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,24 (td, J = 7,5, 4,1 Hz, 4H), 2,05 – 1,88 (m, 9H), 1,71 – 1,62 (m, 1H), 1,62 – 1,47 (m, 6H), 1,45 – 0,97 (m, 35H), 0,89 – 0,66 (m, 12H).

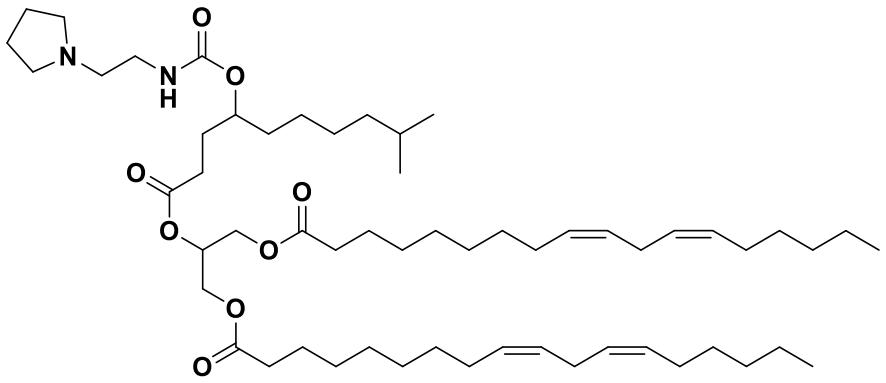
Compuesto 81: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)-10-metilundecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 81 se preparó con 85 % de rendimiento a partir del Intermedio 81f y (2-aminoetil)(etil)metilamina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,21 (m, 9H), 4,76 (s, 1H), 4,33 – 4,23 (m, 2H), 4,15 (dt, J = 11,8, 5,7 Hz, 2H), 3,38 (d, J = 40,4 Hz, 3H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,38 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,32 (td, J = 7,6, 1,1 Hz, 5H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,96 – 1,78 (m, 3H), 1,68 – 1,43 (m, 12H), 1,43 – 1,20 (m, 36H), 1,14 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,93 – 0,80 (m, 12H). MS: 944,5 m/z [M+H].

Ejemplo 82 – Compuesto 82

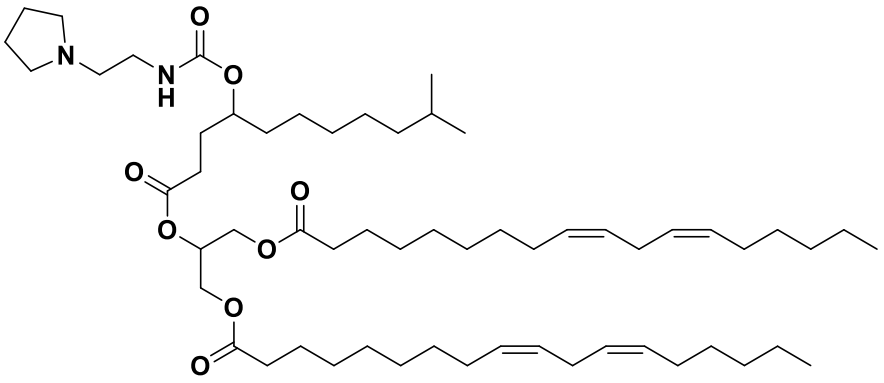
Compuesto 82: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((9-metil-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 82 se preparó con 86 % de rendimiento a partir del Intermedio 80e y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,87 (s, 1H), 5,43 – 5,23 (m, 9H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 12,0, 4,5, 2,6 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,6 Hz, 2H), 3,52 – 3,42 (m, 2H), 2,94 (s, 5H), 2,82 – 2,75 (m, 4H), 2,39 (ddd, J = 8,4, 6,9, 2,0 Hz, 2H), 2,36 – 2,29 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 2,01 – 1,76 (m, 7H), 1,67 – 1,45 (m, 8H), 1,40 – 1,21 (m, 33H), 1,15 (s, 2H), 0,93 – 0,81 (m, 12H). MS: 942,3 m/z [M+H].

Ejemplo 83 – Compuesto 83

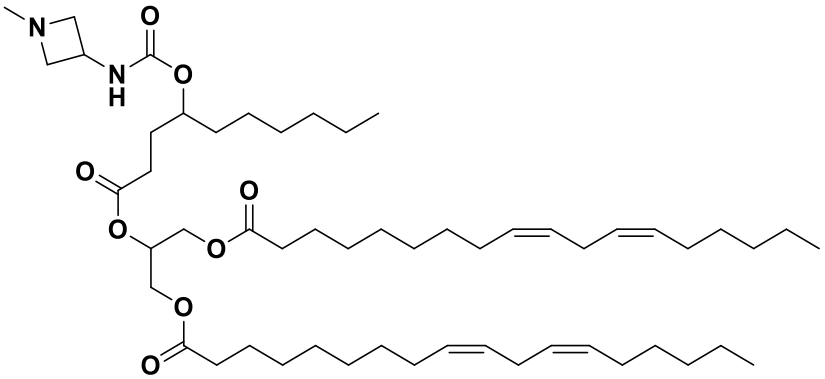
Compuesto 83: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((10-metil-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)undecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 83 se preparó con 87 % de rendimiento a partir del Intermedio 81f y 2-(pirrolidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,99 (s, 1H), 5,45 – 5,19 (m, 9H), 4,76 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 3,2 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,7 Hz, 2H), 3,50 (d, J = 6,3 Hz, 2H), 2,99 (s, 5H), 2,81 – 2,73 (m, 4H), 2,39 (ddd, J = 8,2, 6,9, 1,8 Hz, 2H), 2,35 – 2,28 (m, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 2,02 – 1,77 (m, 7H), 1,66 – 1,43 (m, 8H), 1,41 – 1,20 (m, 35H), 1,14 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 0,95 – 0,81 (m, 12H). MS: 956,5 m/z [M+H].

Ejemplo 84 – Compuesto 84

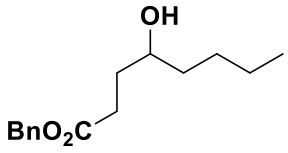
Compuesto 84: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((1-metilazetidin-3-il)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 84 se preparó con 87 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 1-metilazetidin-3-amina mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,28 (m, 8H), 5,23 (p, J = 5,2 Hz, 1H), 4,77 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,28 (dt, J = 10,9, 5,2 Hz, 2H), 4,16 (ddd, J = 8,7, 5,6, 2,8 Hz, 2H), 3,99 (s, 2H), 3,81 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,7 Hz, 4H), 2,65 (s, 2H), 2,40 – 2,29 (m, 6H), 2,05 (q, J = 7,0 Hz, 8H), 1,93 (dtd, J = 15,1, 7,6, 3,8 Hz, 1H), 1,83 (q, J = 7,4 Hz, 1H), 1,66 – 1,44 (m, 7H), 1,40 – 1,17 (m, 37H), 0,88 (q, J = 7,0 Hz, 9H). MS: 900,4 m/z [M+H].

Ejemplo 85 – Compuesto 85

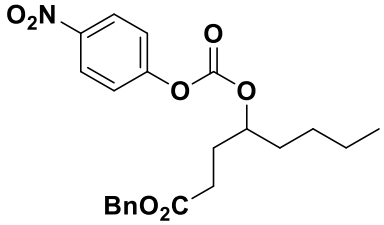
Intermedio 85a: 4-hidroxioctanoato de bencilo



A una solución de 5-butiltetrahidrofuran-2-ona (20 g, 1,0 equiv.) en H_2O (50 mL) se le agregó NaOH (5,63 g, 1,0 equiv). La mezcla se agitó a 25 °C durante 12 h. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el H_2O.

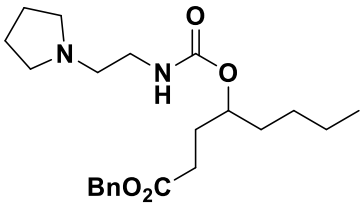
El residuo resultante se reconstituyó en DMF (100 mL), seguido por la adición de BnBr (14,08 g, 1,0 equiv.). La mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DMF. El residuo se diluyó con H_2O (150 mL) y se extrajo 3x con EtOAc, se secó en Na_2SO_4, y se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (15 g, 43 %).

Intermedio 85b: 4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)octanoato de bencilo



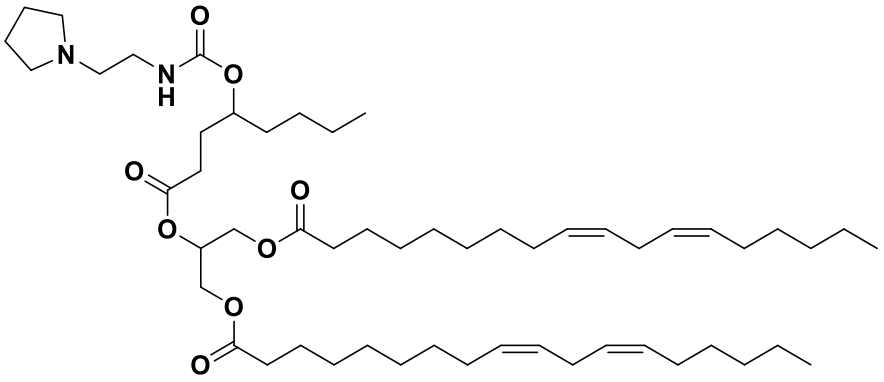
A una mezcla del Intermedio 85a (15 g, 1,0 equiv.) en DCM (150 mL) se le agregó carbonocloridato (4-nitrofenilo) (32,21 g, 5,0 equiv.) en N_2, y luego, se agregó piridina (5,16 mL, 2,0 equiv.) a la mezcla. El mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente. El residuo se diluyó con hexanos y se filtró. El filtrado se lavó 3x con H_2O. La capa orgánica se lavó 1x con salmuera, se secó en Na_2SO_4, y se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (12 g, 48 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,31 – 8,17 (m, 2H), 7,42 – 7,30 (m, 6H), 5,13 (s, 2H), 4,87 (qd, J = 7,6, 4,8 Hz, 1H), 2,50 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,11 (dtd, J = 15,3, 7,8, 4,0 Hz, 1H), 2,00 (dt, J = 14,7, 7,6 Hz, 1H), 1,82 – 1,69 (m, 1H), 1,63 (ddt, J = 14,3, 8,5, 5,0 Hz, 1H), 1,45 – 1,27 (m, 4H), 1,01 – 0,83 (m, 3H).

Intermedio 85c: 4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 85b (4 g, 2,0 equiv.) y 2-pirrolidin-1-iletanamina (550 mg, 1,0 equiv.) en MeCN (20 mL) se le agregó DMAP (59 mg, 0,1 equiv.), luego, piridina (1,17 mL, 3,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el MeCN (20 mL). El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (1,8 g, 48 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,32 – 7,23 (m, 5H), 5,03 (d, J = 10,2 Hz, 3H), 4,69 (s, 1H), 3,23 (dq, J = 18,7, 5,9 Hz, 3H), 2,70 (s, 2H), 2,60 – 2,40 (m, 7H), 2,34 (td, J = 8,3, 7,6, 2,7 Hz, 2H), 1,87 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 1,70 (t, J = 3,8 Hz, 6H), 1,44 (d, J = 24,4 Hz, 2H), 1,22 (q, J = 11,9 Hz, 4H), 0,80 (t, J = 4,2 Hz, 3H).

Compuesto 85: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



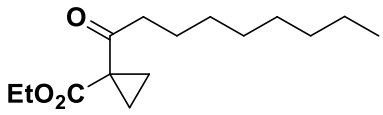
A una solución del intermedio 85c (1,8 g, 1,0 equiv.) en THF(9 mL) se le agregó Pd/C (0,5 g, 10 % p/p) en atmósfera de Ar. La mezcla se purgó 3x con H_2, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de H_2 (15 Psi). La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para eliminar el THF.

El material bruto resultante se disolvió en DCM (10 mL), seguido por la adición de DMAP (65 mg, 0,16 equiv.), DIPEA (1,74 mL, 3,0 equiv.), y EDCI (638 mg, 1,0 equiv.). Luego, se agregó el Intermedio 1c (2,05 g, 1,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 16 h en atmósfera de N_2. La mezcla de

reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 2x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (1,1 g, 50 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,39 – 5,21 (m, 7H), 5,18 (p, J = 5,0 Hz, 1H), 5,09 (s, 1H), 4,76 – 4,65 (m, 1H), 4,22 (dd, J = 12,0, 4,4 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,4 Hz, 2H), 3,21 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,51 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,43 (d, J = 5,8 Hz, 4H), 2,32 (ddd, J = 8,9, 6,6, 3,9 Hz, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,9 Hz, 7H), 1,91 – 1,66 (m, 6H), 1,63 – 1,35 (m, 8H), 1,25 (tq, J = 7,2, 4,6, 3,6 Hz, 30H), 0,82 (t, J = 6,7 Hz, 9H). MS: 900,4 m/z [M+H].

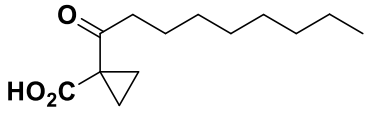
Ejemplo 86 – Compuesto 86

Intermedio 86a: 1-nonanoilciclopropano-1-carboxilato de etilo



A una solución de ciclopropano-1,1-dicarboxilato de dietilo (15 g, 1,0 equiv.) en THF (200 mL) se le agregó una solución de bromo(octil)magnesio (2 M, 40,28 mL, 1,0 equiv.) por goteo a -78 °C en N_2. El mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se vertió en NH_4Cl ac. La fase acuosa se extrajo 3x con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó con otro lote mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (20 g, 48 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,13 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,57 – 1,49 (m, 2H), 1,35 (s, 4H), 1,21 (dd, J = 8,7, 5,5 Hz, 16H), 0,81 (t, J = 6,9 Hz, 6H).

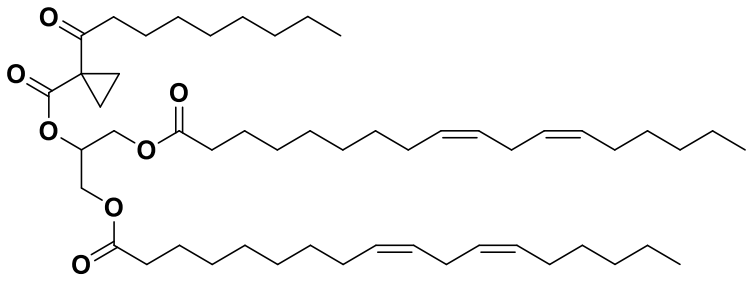
Intermedio 86b: ácido 1-nonanoilciclopropano-1-carboxílico



A una solución del Intermedio 86a (10 g, 1,0 equiv.) en EtOH (60 mL) y H_2O (30 mL) se le agregó NaOH (2,36 g, 1,5 equiv.) y LiOH (1,41 g, 1,5 equiv.) en N_2. Luego, la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se ajustó a pH = 3 mediante la adición de HCl 2 N. Luego, la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h en atmósfera de N_2. La mezcla se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El producto se recolectó como

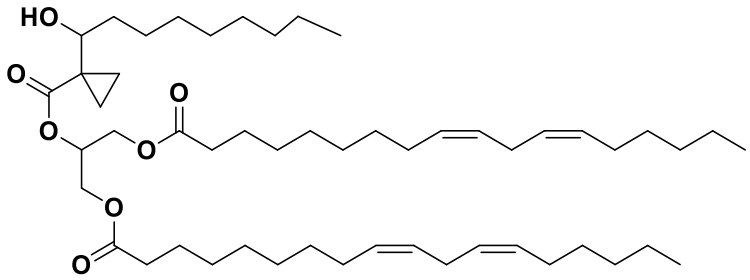
un aceite incoloro (5 g, 28 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,25 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,96 (q, J = 4,4 Hz, 2H), 1,71 (q, J = 4,4 Hz, 2H), 1,64 – 1,55 (m, 2H), 1,26 (d, J = 3,7 Hz, 11H), 0,87 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Intermedio 86c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((1-nonanoilciclopropano-1-carbonil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 86b (6 g, 1,0 equiv.), Int. 1C (16,36 g, 1,0 equiv.), EDCI (6,10 g, 1,5 equiv.), y DMAP (324 mg, 0,1 equiv.) en DCM (60 mL) se le agregó Et_3N (5,54 mL, 1,5 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. Luego, se vertió en agua y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (8 g, 37 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 (dtt, J = 15,4, 10,8, 5,8 Hz, 8H), 4,26 (dd, J = 12,1, 4,1 Hz, 2H), 4,08 (dd, J = 12,0, 6,1 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,24 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,54 (p, J = 7,0 Hz, 9H), 1,43 – 1,33 (m, 4H), 1,33 – 1,15 (m, 40H), 0,85 – 0,79 (m, 9H).

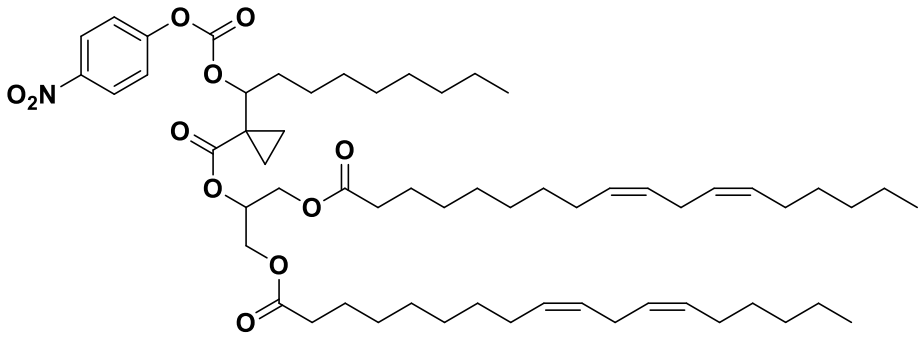
Intermedio 86d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((1-(1-hidroxinonil)ciclopropano-1-carbonil)oxi)propano-1,3-diilo



Una solución del Intermedio 86c (8 g, 1,0 equiv) en 4:2:1 THF/agua/tolueno (0,05-0,1 M) se enfrió hasta 0-5 °C, seguido por la adición de $NaBH_4$ (5,0 equiv). La reacción se mantuvo a 0-25 °C durante al menos 2 h. Después, la reacción se diluyó con agua y EtOAc y la mezcla bifásica resultante se extrajo 3x con

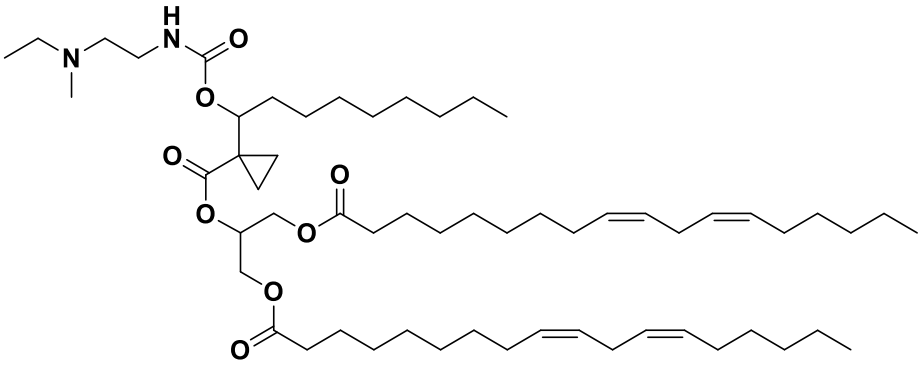
EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/hexanos) para obtener el producto como un aceite incoloro (4 g, 50 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,33 (tdq, J = 20,3, 10,0, 5,6, 4,9 Hz, 9H), 4,28 (dt, J = 12,0, 4,0 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 12,1, 8,0, 6,0 Hz, 2H), 3,18 – 3,12 (m, 1H), 2,77 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,68 (s, 1H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,68 – 1,48 (m, 9H), 1,40 – 1,16 (m, 43H), 0,98 (ddd, J = 10,7, 6,7, 4,1 Hz, 1H), 0,93 – 0,84 (m, 9H), 0,81 (ddd, J = 9,7, 6,8, 4,2 Hz, 1H).

Intermedio 86e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((1-(1-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)nonil)ciclopropano-1-carbonil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 86d (4 g, 1,0 equiv.) en DCM (40 mL) se le agregó carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (1,95 g, 2,0 equiv.), piridina (781 uL, 2,0 equiv.) a 0 °C. Luego, la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente. El residuo se reconstituyó en éter de petróleo y se filtró. El filtrado se lavó con H_2O. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4 anhidro, se filtraron, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto (2,8 g, 59 %) como un aceite incoloro. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,25 – 8,16 (m, 2H), 7,36 – 7,26 (m, 2H), 5,27 (tdd, J = 17,5, 8,5, 4,0 Hz, 9H), 4,84 (dd, J = 9,1, 4,4 Hz, 1H), 4,24 (dt, J = 11,9, 3,8 Hz, 2H), 4,08 (dd, J = 11,8, 5,8 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,3 Hz, 4H), 2,23 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,02 – 1,93 (m, 8H), 1,82 (qd, J = 9,4, 4,9 Hz, 1H), 1,69 (ddt, J = 14,4, 10,0, 5,1 Hz, 1H), 1,53 (t, J = 7,2 Hz, 5H), 1,35 – 1,16 (m, 41H), 1,07 – 1,01 (m, 1H), 0,95 – 0,89 (m, 1H), 0,81 (td, J = 6,8, 3,8 Hz, 9H).

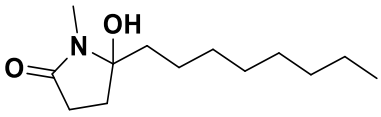
Compuesto 86: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((1-(1-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)nonil)ciclopropano-1-carbonil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 86 se sintetizó con un rendimiento del 90% a partir del Intermedio 86e y N1 -etil-N1-metiletano-1,2-diamina usando el método empleado en el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,53 – 5,22 (m, 9H), 4,75 (dd, J = 8,7, 4,5 Hz, 1H), 4,29 (ddd, J = 22,5, 11,8, 4,3 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 3,30 (s, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,54 (d, J = 13,7 Hz, 4H), 2,38 – 2,21 (m, 7H), 2,05 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,60 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 1,40 – 1,17 (m, 40H), 1,12 – 1,00 (m, 4H), 0,91 – 0,85 (m, 9H). MS: 956,1 m/z [M+H].

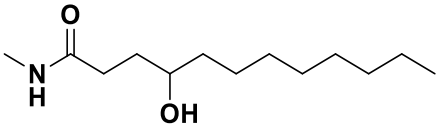
Ejemplo 87 – Compuesto 87

Intermedio 87a: 5-hidroxi-1-metil-5-octilpirrolidin-2-ona



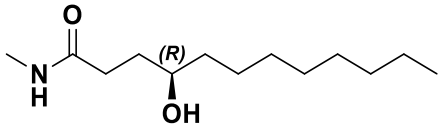
A una solución de 1-metilpirrolidina-2,5-diona (20 g, 1,0 equiv.) en THF (150 mL) se le agregó bromo(octil)magnesio (1 M, 265 mL, 1,5 equiv.) por goteo a 15 °C en N_2. La mezcla se agitó a 15 °C durante 12 h en N_2. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl a 0 °C. Luego, se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un sólido blanco (20 g, 50 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3,75 (s, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,43 (ddd, J = 16,4, 10,0, 6,4 Hz, 1H), 2,24 (ddd, J = 16,7, 10,0, 4,5 Hz, 1H), 2,13 (ddd, J = 13,6, 10,0, 6,4 Hz, 1H), 1,93 (ddd, J = 14,0, 10,0, 4,7 Hz, 1H), 1,73 (td, J = 13,4, 3,7 Hz, 1H), 1,65 – 1,53 (m, 1H), 1,35 – 1,07 (m, 12H), 0,88 – 0,76 (m, 3H).

Intermedio 87b: 4-hidroxi-N-metildodecanamida



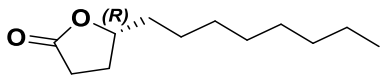
A una solución del Intermedio 87a (15 g, 1,0 equiv.) en MeOH (150 mL) se le agregó $NaBH_4$ (4,99 g, 2,0 equiv.) en partes. La mezcla se agitó a 15 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl a 0 °C, y luego, se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un sólido blanco (8 g, 53 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,93 (s, 1H), 3,60 – 3,50 (m, 1H), 3,11 (s, 1H), 2,73 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,36 – 2,20 (m, 2H), 1,78 (dddd, J = 14,3, 7,7, 6,5, 3,1 Hz, 1H), 1,58 (ddt, J = 13,8, 8,9, 6,7 Hz, 1H), 1,46 – 1,09 (m, 14H), 0,87 – 0,77 (m, 3H).

Intermedio 87c: (R)-4-hidroxi-N-metildodecanamida



A una solución del Intermedio 87b (1,0 equiv.) en Et_2O (0,2 - 1 M) se le agregó Novozym 435 (0,89 equiv.) y acetato de vinilo (2,0 equiv.). La mezcla se agitó a 40 °C durante 96 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna. El material recolectado de la columna se sometió a las condiciones de reacción tres veces adicionales para obtener (R)-88c como un sólido amarillo (24 % de rendimiento). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,57 (s, 1H), 3,54 (tt, J = 7,7, 3,6 Hz, 1H), 2,74 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,64 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 2,28 (td, J = 6,9, 3,2 Hz, 2H), 1,79 (dtd, J = 14,3, 7,0, 3,1 Hz, 1H), 1,60 (ddd, J = 14,3, 8,8, 6,8 Hz, 2H), 1,47 – 1,12 (m, 14H), 0,87 – 0,74 (m, 3H).

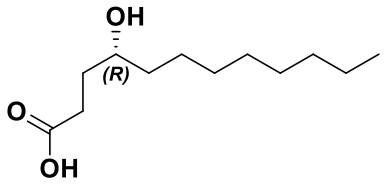
Intermedio 87d: (R)-5-octildihidrofuran-2(3H)-ona



A una solución del Intermedio 87d (1,0 equiv.) en MeOH (0,1-1,0 M) se le agregó NaOH (10 equiv.). La mezcla se agitó a 80 °C durante al menos 2 h, después de lo cual se agregó HCl (1-2 M, 10,0 equiv.) y la mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,41 (p, J = 6,9 Hz, 1H), 2,46 (dd, J = 9,5, 6,8 Hz, 2H), 2,25 (dq, J = 13,4, 6,7 Hz, 1H), 1,78 (dq, J = 12,7, 9,3 Hz, 1H), 1,72 – 1,62 (m, 1H), 1,60 – 1,47 (m, 1H), 1,45 –

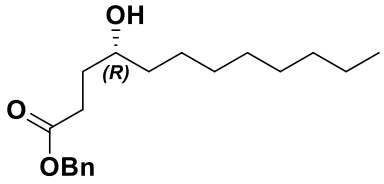
1,10 (m, 14H), 0,81 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Intermedio 87e: ácido (R)-4-hidroxidodecanoico



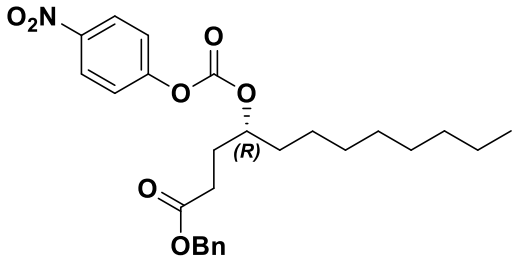
A una solución del Intermedio 87d (1,0 equiv.) en H_2O (0,1 – 0,5 M) se le agregó NaOH (1,0 – 1,5 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante al menos 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Intermedio 88f: (R)-4-hidroxidodecanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 87e (1,0 equiv.) en acetona (0,3 M) se le agregó BnBr (1,0 – 1,5 equiv.) y TBAB (0,05 equiv.). La mezcla se agitó a 60 °C durante al menos 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo (1) se purificó mediante cromatografía en columna, o (2) se diluyó con $NaHCO_3$ sat., se extrajo 3x con EtOAc, se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró antes de purificarse mediante cromatografía en columna. Ambos métodos proporcionaron el producto en forma de un aceite amarillo (54 % de rendimiento).

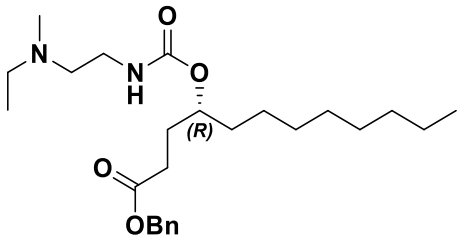
Intermedio 87g: (R)-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)dodecanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 87f (1,0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (3,0 equiv.) en DCM (0,3 – 1,2 M) se le agregó piridina (3,0 equiv.) a 0-20 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante al menos 1

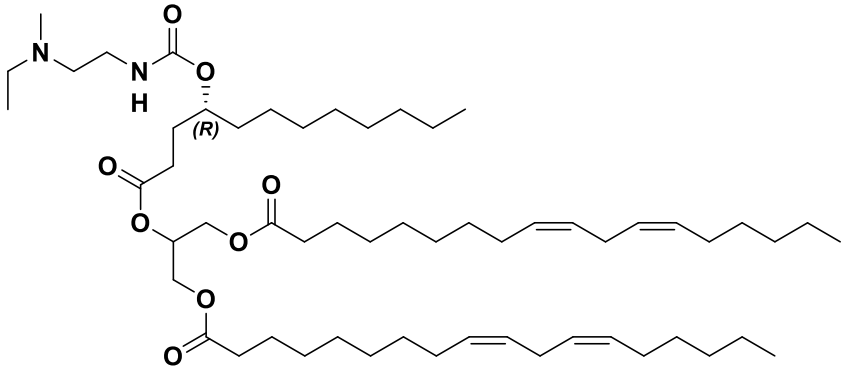
h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo (1) se purificó mediante cromatografía en columna, o (2) se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. El producto se recolectó como un aceite amarillo pálido (36 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,22 – 8,13 (m, 2H), 7,29 (d, J = 2,0 Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,80 (tt, J = 7,6, 4,5 Hz, 1H), 2,43 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,04 (ddt, J = 15,3, 7,8, 3,9 Hz, 1H), 1,92 (dq, J = 14,8, 7,4 Hz, 1H), 1,71 – 1,61 (m, 1H), 1,55 (ddd, J = 14,3, 9,1, 5,2 Hz, 1H), 1,36 – 1,13 (m, 11H), 0,81 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Intermedio 87h: (R)-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



A una solución del intermedio 87g (1,0 equiv.) y N'-etil-N'-metil-etano-1,2-diamina (3,0 equiv.) en MeCN (0,1 – 0,2 M) se le agregó piridina (3,0 equiv.) y DMAP (1,0 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. Luego, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (88 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,60 – 7,23 (m, 5H), 5,04 (s, 2H), 4,77 – 4,64 (m, 1H), 3,15 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,36 (ddt, J = 12,3, 8,2, 4,3 Hz, 5H), 2,13 (s, 3H), 1,96 – 1,70 (m, 3H), 1,55 – 1,33 (m, 2H), 1,29 – 1,10 (m, 13H), 0,96 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,80 (t, J = 6,7 Hz, 4H).

Compuesto 87: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((R)-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



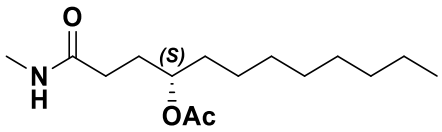
A una solución del Intermedio 87h (1,0 equiv.) en THF (0,1 – 0,3 M) se le agregó Pd/C (10 % p/p, 1,0

equiv.). La mezcla se agitó a 15-20 °C durante 5 h en H_2 (15 Psi). Después de completarse, la mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo.

A una solución del residuo y el Intermedio 1c (1,0 equiv.) en DCM (10 mL) se le agregó EDCI (1,0 equiv.), DMAP (0,1 equiv.) y Et_3N (1,05 equiv.). La mezcla se agitó a 15-20 °C durante al menos 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo pálido (61 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,40 – 5,14 (m, 8H), 5,08 (s, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,21 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 12,0, 5,9, 3,3 Hz, 2H), 3,17 (q, J = 6,0 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,43 – 2,28 (m, 5H), 2,24 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,14 (s, 3H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 7H), 1,79 (ddd, J = 42,6, 15,1, 7,5 Hz, 3H), 1,53 (q, J = 7,6 Hz, 8H), 1,33 – 1,06 (m, 37H), 0,97 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,81 (q, J = 6,3 Hz, 9H). MS: 944,1 m/z [M+H].

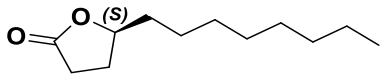
Ejemplo 88 – Compuesto 88

Intermedio 88a: acetato de (S)-1-(metilamino)-1-oxododecan-4-ilo



El Intermedio 88a se sintetizó con 23 % de rendimiento a partir del Intermedio 87b mediante el uso del método empleado para el Intermedio 87c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,81 (s, 1H), 4,79 (tq, J = 8,5, 3,8 Hz, 1H), 2,73 (d, J = 4,8 Hz, 3H), 2,17 – 2,03 (m, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,95 – 1,63 (m, 3H), 1,56 – 1,36 (m, 2H), 1,19 (d, J = 8,4 Hz, 11H), 0,81 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

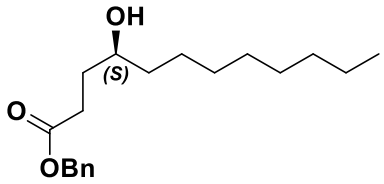
Intermedio 88b: (S)-5-octildihidrofuran-2(3H)-ona



]

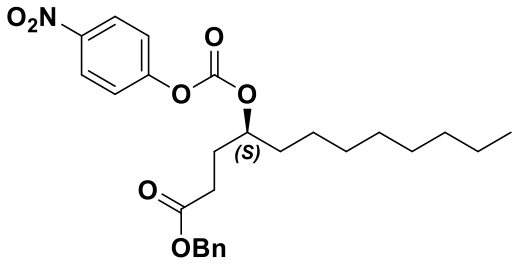
El Intermedio 88b se preparó a partir del Intermedio 88a mediante el uso del método empleado para el Intermedio 87d.

Intermedio 88c: (S)-4-hidroxidodecanoato de bencilo



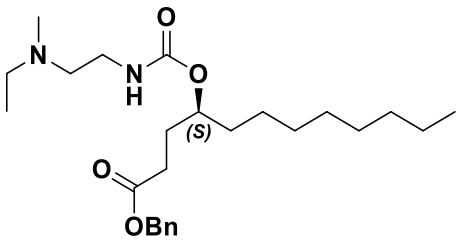
El Intermedio 88c se preparó a partir del Intermedio 88b mediante el uso de los métodos empleados para los Intermedios 87e y 87f.

Intermedio 88d: (S)-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)dodecanoato de bencilo



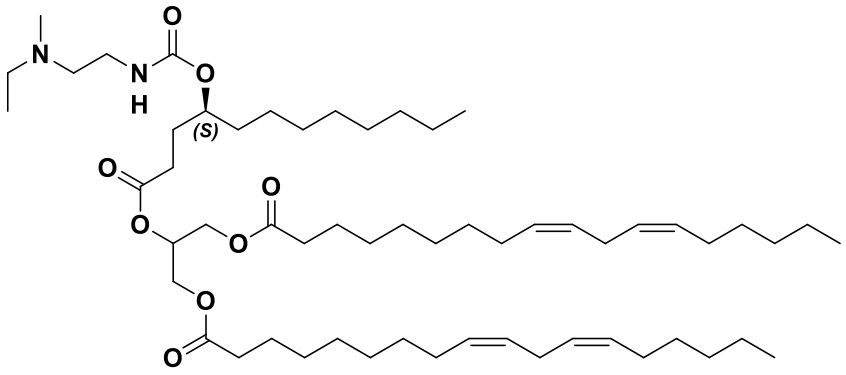
El Intermedio 88d se preparó a partir del Intermedio 88c mediante el uso del método empleado para el Intermedio 88g.

Intermedio 88e: (S)-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



El Intermedio 88e se sintetizó con 47 % de rendimiento a partir del Intermedio 88e mediante el uso del método empleado para el Intermedio 87h.

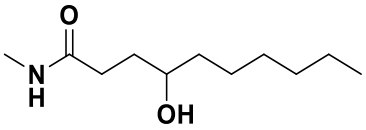
Compuesto 88: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((S)-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 88 se sintetizó con 42 % de rendimiento a partir del Intermedio 88d mediante el uso del método empleado en el Compuesto 87.

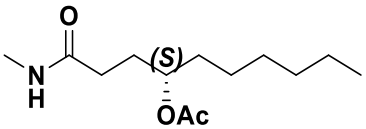
Ejemplo 89 – Compuesto 89

Intermedio 89a: 4-hidroxi-N-metildecanamida



A una mezcla de clorhidrato de metanamina (19,83 g, 2,0 equiv.) en DCM (250 mL) se le agregó $AlMe_3$ (2 M, 152,72 mL, 2,08 equiv.) por goteo a 0 °C en N_2. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. Luego, esta solución se agregó por goteo a una solución de 5-hexiltetrahidrofuran-2-ona (25 g, 1,0 equiv.) en DCM (100 ml) en N_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de HCl (1 N) a 0 °C. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo 3x con DCM. La fase orgánica combinada se lavó 3x con salmuera, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un sólido blanco (67 %). ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 3,50 (td, J = 7,7, 3,8 Hz, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,29 (ddt, J = 25,9, 16,6, 6,8 Hz, 2H), 1,77 (dddd, J = 13,3, 9,2, 6,8, 3,9 Hz, 1H), 1,66 – 1,55 (m, 1H), 1,42 (h, J = 4,0 Hz, 3H), 1,39 – 1,25 (m, 8H), 0,95 – 0,87 (m, 3H).

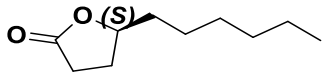
Intermedio 89b: acetato de (S)-1-(metilamino)-1-oxodecan-4-ilo



El intermedio 89b se sintetizó con 23 % de rendimiento mediante el uso del método empleado en el Intermedio 87c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,70 (s, 1H), 4,79 (tt, J = 8,4, 4,4 Hz, 1H), 2,74 (d, J = 4,8

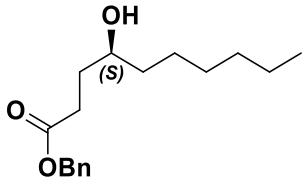
Hz, 3H), 2,11 (dp, J = 21,3, 7,7, 7,2 Hz, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,86 (tdd, J = 13,6, 6,7, 3,2 Hz, 1H), 1,81 – 1,70 (m, 1H), 1,45 (ddp, J = 19,0, 13,6, 6,6, 6,1 Hz, 2H), 1,27 – 1,12 (m, 8H), 0,80 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 89c: (S)-5-hexildihidrofuran-2(3H)-ona



El Intermedio 89c se sintetizó con 78 % de rendimiento a partir del Intermedio 89b mediante el uso del método empleado en el Intermedio 87d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,48 (ddd, J = 13,7, 7,5, 5,6 Hz, 1H), 2,52 (dd, J = 9,5, 6,9 Hz, 2H), 2,31 (dq, J = 13,4, 6,7 Hz, 1H), 1,91 – 1,80 (m, 1H), 1,80 – 1,68 (m, 1H), 1,58 (dq, J = 13,8, 5,2 Hz, 1H), 1,51 – 1,21 (m, 8H), 0,87 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

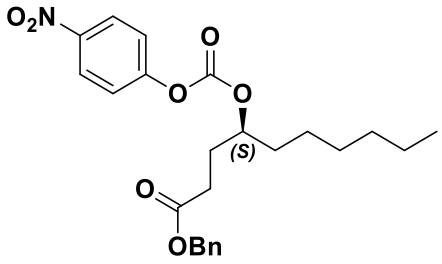
Intermedio 89d: (S)-4-hidroxidecanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 89c (3 g, 1,0 equiv.) en EtOH (25 mL) y H_2O (5 mL) se le agregó NaOH (1,1 equiv.) en N_2. Luego, la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente.

El residuo resultante se sometió al método empleado en el Intermedio 87f para obtener el producto como un aceite incoloro (3 g, 50 %).

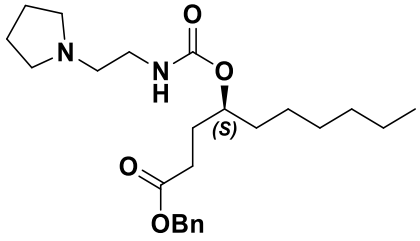
Intermedio 89e: (S)-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)decanoato de bencilo



A una solución del intermedio 89d (3 g, 1,0 equiv.) en DCM (30 mL) se le agregó carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (3,26 g, 1,5 equiv.) en N_2. Luego, se agregó piridina (1,74 mL, 2,0 equiv.) a la mezcla a 0 °C. El mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró

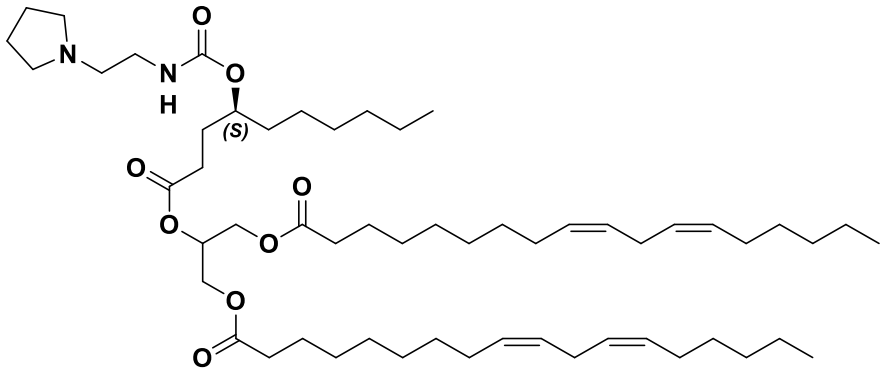
a presión reducida para eliminar el solvente para proporcionar un residuo. El residuo se diluyó con hexanos y se filtró. El filtrado se lavó 3x con H_2O. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (2 g, 42 %). ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,23 – 8,13 (m, 2H), 7,37 – 7,18 (m, 7H), 5,39 (s, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,47 (s, 1H), 4,00 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,42 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,00 (ddt, J = 15,0, 7,6, 3,8 Hz, 1H), 1,85 (dt, J = 14,7, 7,3 Hz, 1H), 1,57 (ddt, J = 21,1, 14,0, 6,8 Hz, 2H), 1,35 – 1,16 (m, 8H), 0,91 – 0,75 (m, 3H).

Intermedio 89f: (S)-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 89e (1,5 g, 1,0 equiv.) en MeCN (15 mL) se le agregó 2-pirrolidin-1-iletanamina (1,16 g, 3,0 equiv.), piridina (819 uL, 3,0 equiv.), DMAP (413 mg, 1,0 equiv.) en N_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el solvente. El residuo se diluyó con EtOAc y se lavó 5x con $NaHCO_3$ 1 N y 3x con H_2O. La capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo pálido (0,65 g, 41 %). ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,41 – 7,26 (m, 5H), 5,11 (d, J = 1,1 Hz, 2H), 4,73 (dd, J = 10,9, 5,7 Hz, 1H), 3,26 (dd, J = 6,7, 1,7 Hz, 2H), 2,79 – 2,57 (m, 7H), 2,41 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,99 – 1,74 (m, 7H), 1,53 (s, 3H), 1,36 – 1,24 (m, 9H), 0,92 – 0,86 (m, 3H).

Compuesto 89: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((S)-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo

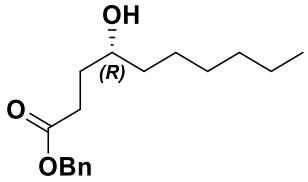


A una suspensión de Pd/C (10 % p/p, 1,0 – 3,0 equiv.) en THF (0,2 – 0,5 M) se le agregó el Intermedio 89f (1,0 equiv.). La mezcla se agitó a 15-25 °C durante al menos 5 h en atmósfera de H_2. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite marrón espeso.

El aceite marrón se reconstituyó inmediatamente en DCM (0,2 – 0,5 M) seguido por la adición del Intermedio 1c (1,0 equiv.), EDCI (1,2 equiv.), DMAP (0,1 – 0,2 equiv.) y Et_3N (1,5 equiv.) a 0 °C en N_2. La mezcla se agitó a 20 °C durante al menos 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (23 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,49 – 5,22 (m, 8H), 5,18 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,22 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,12 – 4,04 (m, 2H), 3,28 – 3,15 (m, 2H), 2,70 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,50 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,32 (s, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,83 (s, 1H), 1,70 (s, 5H), 1,38 – 0,94 (m, 37H), 0,81 (q, J = 6,6 Hz, 9H). MS: 928,4 m/z [M+H].

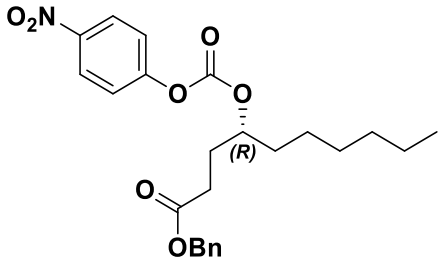
Ejemplo 90 – Compuesto 90

Intermedio 90a: (R)-4-hidroxidecanoato de bencilo



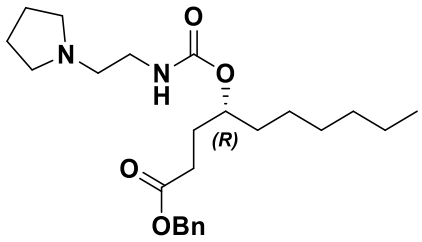
El Intermedio 90a se sintetizó con 27 % de rendimiento a partir de (5R)-5-hexiltetrahidrofuran-2-ona mediante el uso del método empleado en el Intermedio 89d.

Intermedio 90b: (R)-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)decanoato de bencilo



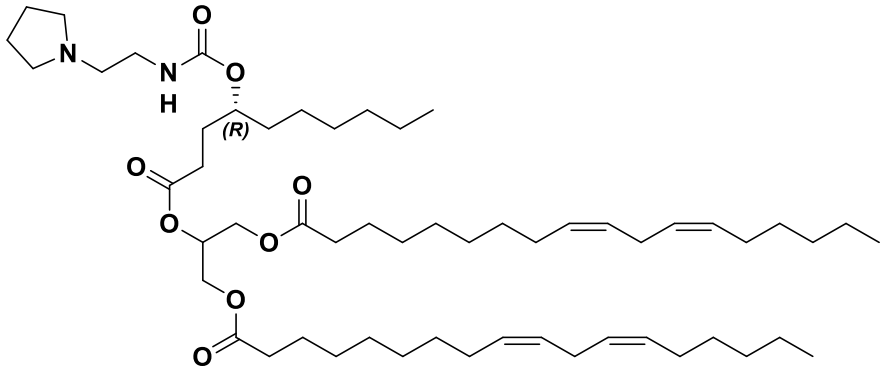
El Intermedio 90b se sintetizó con 57 % de rendimiento a partir del Intermedio 90a mediante el uso del método empleado en el Intermedio 89e.

Intermedio 90c: (R)-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoato de bencilo



El Intermedio 90c se sintetizó con 47 % de rendimiento a partir del Intermedio 90b mediante el uso del método empleado en el Intermedio 89f.

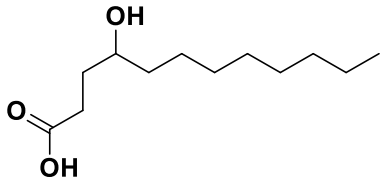
Compuesto 90: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((R)-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 90 se sintetizó con 27 % de rendimiento a partir del Intermedio 90c mediante el uso del método empleado en el Compuesto 89.

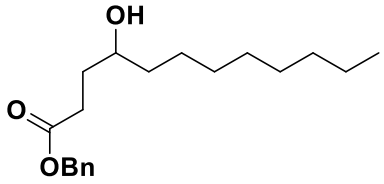
Ejemplo 91 – Compuesto 91

Intermedio 91a: Ácido 4-hidroxidodecanoico



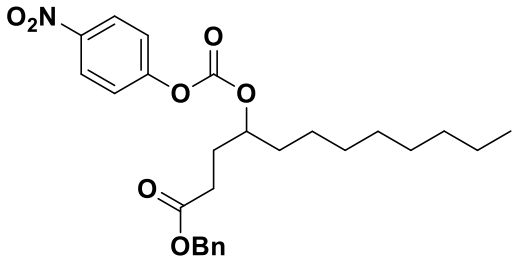
A una solución de 5-octiltetrahidrofuran-2-ona (20 g, 1,0 equiv.) en H_2O (200 mL) se le agregó NaOH (4,03 g, 1,0 equiv). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el H_2O. Esto produjo el producto bruto como un sólido blanco (14 g, 65 %). ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 3,55 (ddd, J = 9,5, 7,5, 4,6 Hz, 1H), 2,19 (qdd, J = 15,0, 9,3, 6,3 Hz, 2H), 1,69 (dddd, J = 13,9, 9,4, 6,4, 4,4 Hz, 1H), 1,59 (dddd, J = 14,0, 9,2, 7,7, 6,4 Hz, 1H), 1,46 – 1,30 (m, 3H), 1,23 (d, J = 6,6 Hz, 11H), 0,86 – 0,77 (m, 3H).

Intermedio 91b: 4-hidroxidodecanoato de bencilo



A una solución del intermedio 91a (10 g, 1,0 equiv.) en DMF (100 mL) se le agregó BnBr (7.91 g, 1,0 equiv.). La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo 2x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (5,7 g, 40 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,46 – 7,28 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 3,61 (h, J = 4,6 Hz, 1H), 2,51 (td, J = 7,3, 2,9 Hz, 2H), 1,86 (dtd, J = 14,6, 7,4, 3,5 Hz, 1H), 1,76 – 1,59 (m, 3H), 1,42 (q, J = 12,1, 9,1 Hz, 4H), 1,28 (d, J = 11,9 Hz, 12H), 0,88 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

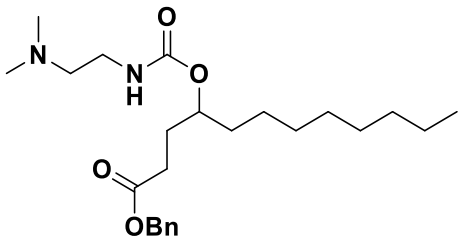
Intermedio 91c: 4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)dodecanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 91b (10 g, 1,0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (9,87 g, 1,05

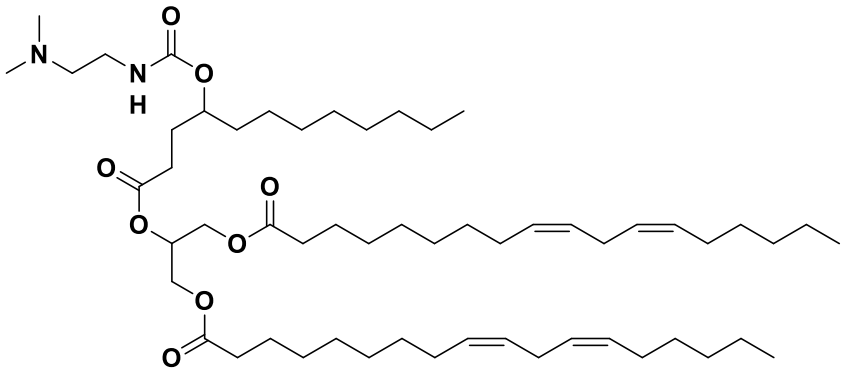
equiv.) en DCM (100 mL) se le agregó piridina (3,95 mL, 1,5 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (7,5 g, 49 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,30 – 8,21 (m, 2H), 7,48 – 7,26 (m, 7H), 5,22 (d, J = 69,6 Hz, 2H), 4,87 (tt, J = 7,5, 4,5 Hz, 1H), 2,59 – 2,42 (m, 2H), 1,80 – 1,57 (m, 2H), 1,52 – 1,16 (m, 13H), 0,88 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Intermedio 91d: 4-(((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



A una solución del Intermedio 91c (1,0 equiv.) en MeCN (0,1 – 0,5 M) se le agregó diamina y aminoalcohol (N',N'-dimetiletano-1,2-diamina (2,0 - 3,0 equiv.)), piridina (3,0 equiv.), y DMAP (0,1 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15-25 °C durante al menos 2 h. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, se diluyó con H_2O, y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron para obtener un residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (79 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,46 – 7,28 (m, 5H), 5,08 (s, 1H), 4,76 (s, 1H), 3,23 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,40 (ddt, J = 12,0, 8,9, 4,5 Hz, 4H), 2,21 (s, 7H), 1,94 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 1,82 (p, J = 7,6 Hz, 1H), 1,61 – 1,40 (m, 3H), 1,39 – 1,16 (m, 14H), 0,87 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Compuesto 91: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(dimetilamino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi) propano-1,3-diilo

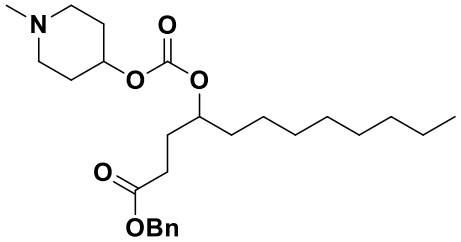


A una solución del Intermedio 91d en THF (0,1 – 0,5 M) se le agregó Pd/C (10 % p/p). La mezcla se agitó a 25 °C durante al menos 5 h en atmósfera de H_2 a 15 Psi. El producto resultante se diluyó en THF y se filtró para eliminar el sólido. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el intermedio de ácido carboxílico como un aceite marrón.

A partir del aceite resultante, posteriormente, se sintetizó el Compuesto 91 con 15 % de rendimiento mediante el uso del método empleado en el Intermedio 90f. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,26 (m, 8H), 5,27 – 5,20 (m, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,28 (ddd, J = 11,9, 4,5, 1,3 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,4 Hz, 2H), 3,24 (q, J = 5,7 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 6,7 Hz, 4H), 2,44 – 2,35 (m, 4H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,22 (s, 6H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,97 – 1,84 (m, 2H), 1,80 (dt, J = 14,9, 7,7 Hz, 1H), 1,67 – 1,42 (m, 8H), 1,42 – 1,14 (m, 39H), 0,88 (td, J = 6,8, 5,2 Hz, 9H). MS: 930,4 m/z [M+H].

Ejemplo 92 – Compuesto 92

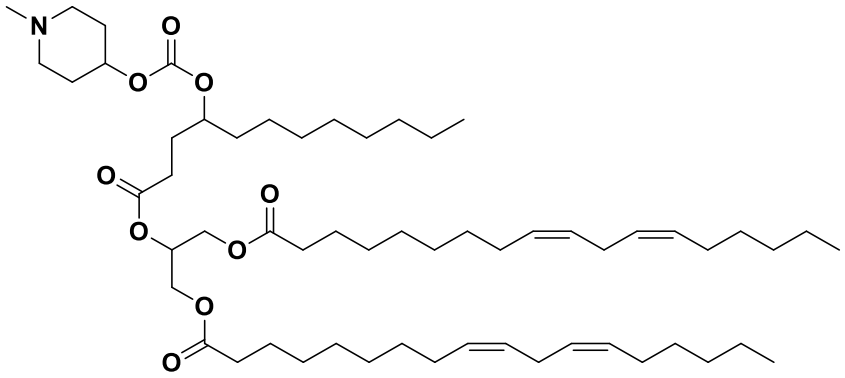
Intermedio 92a: 4-((((1-metilpiperidin-4-il)oxi)carbonil)oxi)dodecanoato de bencilo



El Intermedio 92a se sintetizó con 94 % de rendimiento a partir del Intermedio 91c y 1-metilpiperidin-4-ol mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,39 – 7,28 (m, 5H), 5,11 (s, 2H), 4,73 (dtd, J = 11,8, 5,4, 4,6, 2,7 Hz, 1H), 4,62 (tt, J = 8,6, 4,2 Hz, 1H), 2,68 (s, 2H), 2,48 – 2,37 (m, 2H), 2,29 (s, 5H), 2,01 – 1,84 (m, 4H), 1,78 (dtt, J = 12,5, 8,2, 3,5 Hz, 2H), 1,67 – 1,58 (m, 1H), 1,58 – 1,46 (m, 1H), 1,27 (d, J = 15,6 Hz, 13H), 0,87 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Compuesto 92: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-((((1-metilpiperidin-4-

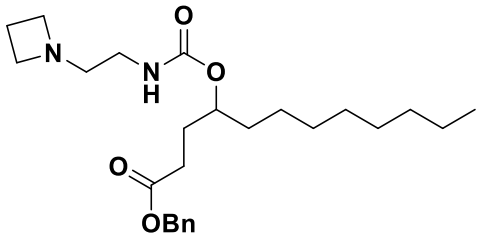
il)oxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 92 se sintetizó con 28 % de rendimiento a partir del Intermedio 92a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 91. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,39 – 5,21 (m, 8H), 5,21 – 5,16 (m, 1H), 4,65 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 4,57 – 4,52 (m, 1H), 4,22 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 11,9, 5,8, 4,1 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,61 (s, 2H), 2,36 – 2,29 (m, 2H), 2,29 – 2,18 (m, 7H), 2,14 (s, 2H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,93 – 1,84 (m, 4H), 1,83 – 1,77 (m, 1H), 1,77 – 1,65 (m, 3H), 1,54 (t, J = 7,3 Hz, 13H), 1,33 – 1,12 (m, 41H), 0,81 (td, J = 6,9, 5,3 Hz, 9H). MS: 957,4 m/z [M+H].

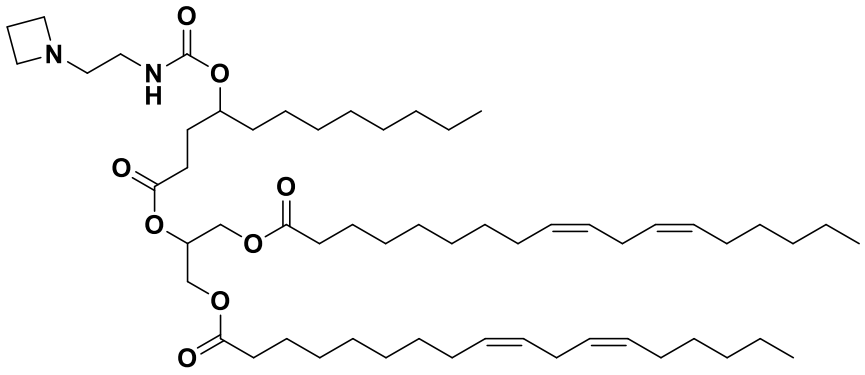
Ejemplo 93 – Compuesto 93

Intermedio 93a: 4-(((2-(azetidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



El Intermedio 93a se sintetizó con 80 % de rendimiento a partir del Intermedio 91c y 2-(azetidin-1-il)etanamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 92d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,49 – 7,26 (m, 5H), 5,11 (s, 2H), 5,04 (s, 1H), 4,74 (s, 1H), 3,20 (t, J = 7,0 Hz, 4H), 3,11 (q, J = 5,8 Hz, 2H), 2,50 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 2,41 (ddd, J = 8,6, 6,7, 3,2 Hz, 2H), 2,10 – 2,00 (m, 2H), 1,96 – 1,88 (m, 1H), 1,82 (d, J = 15,4 Hz, 4H), 1,46 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 1,34 – 1,18 (m, 14H), 0,87 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

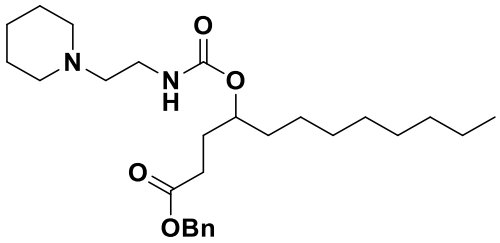
Compuesto 93: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(azetidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 93 se sintetizó con 18 % de rendimiento a partir del Intermedio 93a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 91. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,36 – 5,22 (m, 8H), 5,18 (p, J = 5,0 Hz, 1H), 4,98 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 4,68 (s, 1H), 4,22 (ddd, J = 11,9, 4,5, 1,6 Hz, 2H), 4,08 (ddq, J = 11,7, 5,8, 2,8 Hz, 2H), 3,12 (t, J = 7,0 Hz, 4H), 3,05 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,43 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 2,31 (ddd, J = 8,8, 6,6, 4,2 Hz, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,99 (dq, J = 10,0, 6,9 Hz, 10H), 1,88 – 1,68 (m, 3H), 1,59 – 1,36 (m, 7H), 1,34 – 1,11 (m, 42H), 0,86 – 0,77 (m, 9H). MS: 942,1 m/z [M+H].

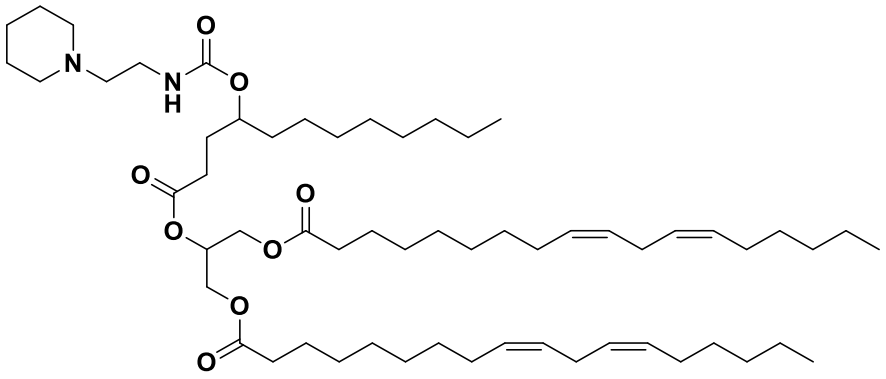
Ejemplo 94 – Compuesto 94

Intermedio 94a: 4-(((2-(piperidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



El Intermedio 94a se sintetizó con 68 % de rendimiento a partir del Intermedio 91c y 2-(piperidin-1-il)etan-1-amina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 – 7,28 (m, 5H), 5,10 (s, 3H), 4,75 (s, 1H), 3,22 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,64 (s, 1H), 2,45 – 2,29 (m, 8H), 1,99 – 1,88 (m, 1H), 1,82 (dq, J = 15,0, 8,0 Hz, 1H), 1,48 (dt, J = 53,9, 5,8 Hz, 9H), 1,34 – 1,17 (m, 12H), 0,86 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

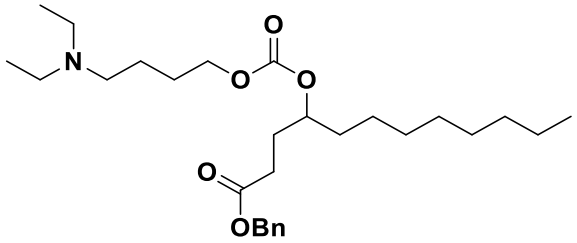
Compuesto 94: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(piperidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 94 se sintetizó con 22 % de rendimiento a partir del Intermedio 94a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 91. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,29 (qq, J = 11,7, 6,7 Hz, 8H), 5,18 (p, J = 5,1 Hz, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,22 (ddd, J = 11,9, 4,5, 2,2 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,6 Hz, 2H), 3,18 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,39 – 2,18 (m, 12H), 1,98 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,91 – 1,79 (m, 1H), 1,79 – 1,68 (m, 1H), 1,61 – 1,33 (m, 15H), 1,33 – 1,10 (m, 42H), 0,81 (q, J = 6,4 Hz, 9H). MS: 970,2 m/z [M+H].

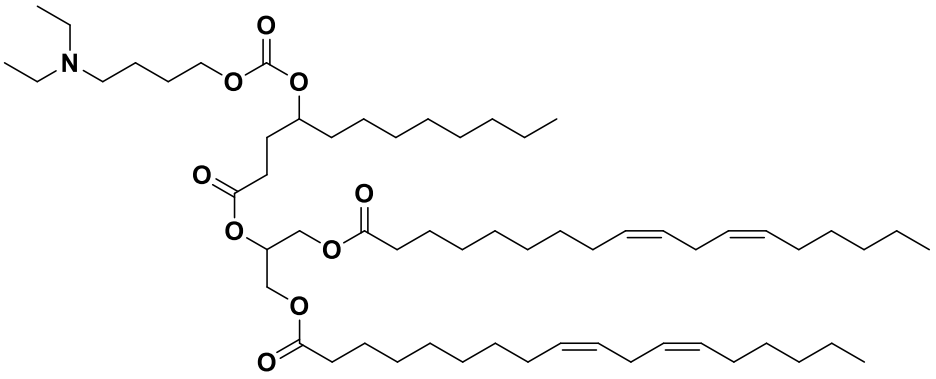
Ejemplo 95 – Compuesto 95

Intermedio 95a: 4-(((4-(dietilamino)butoxi)carbonil)oxi)dodecanoato de bencilo



El Intermedio 95a se sintetizó con 83 % de rendimiento a partir del Intermedio 91c y 4-(dietilamino)butan-1-ol mediante el uso del método empleado en el Intermedio 92d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,44 – 7,28 (m, 5H), 5,11 (s, 2H), 4,72 (tdd, J = 7,6, 5,4, 4,0 Hz, 1H), 4,11 (td, J = 6,7, 3,8 Hz, 2H), 2,49 (q, J = 7,1 Hz, 4H), 2,42 (dtd, J = 7,7, 5,1, 4,4, 2,5 Hz, 4H), 1,99 (dddd, J = 14,4, 8,9, 7,0, 4,1 Hz, 1H), 1,89 (dtd, J = 14,7, 8,4, 6,5 Hz, 1H), 1,64 (ddt, J = 17,4, 10,5, 6,2 Hz, 3H), 1,56 – 1,46 (m, 3H), 1,34 – 1,21 (m, 13H), 1,00 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 0,87 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

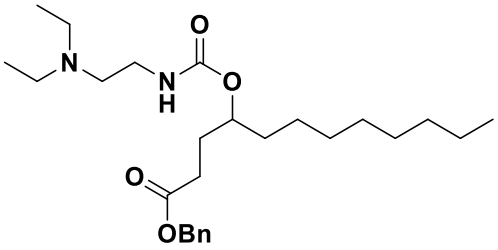
Compuesto 95: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((4-(dietilamino)butoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 95 se preparó con 27 % de rendimiento a partir del Intermedio 95a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 91. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,35 (qdd, J = 10,6, 4,4, 1,7 Hz, 8H), 5,27 – 5,22 (m, 1H), 4,71 (tt, J = 7,6, 2,7 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,13 (dtt, J = 10,4, 6,6, 3,7 Hz, 4H), 2,76 (t, J = 6,6 Hz, 4H), 2,50 (q, J = 7,2 Hz, 4H), 2,41 (ddd, J = 15,2, 8,0, 6,4 Hz, 4H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,98 – 1,82 (m, 3H), 1,72 – 1,47 (m, 12H), 1,39 – 1,21 (m, 42H), 1,00 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 0,88 (td, J = 6,8, 4,8 Hz, 9H). MS: 987,5 m/z [M+H].

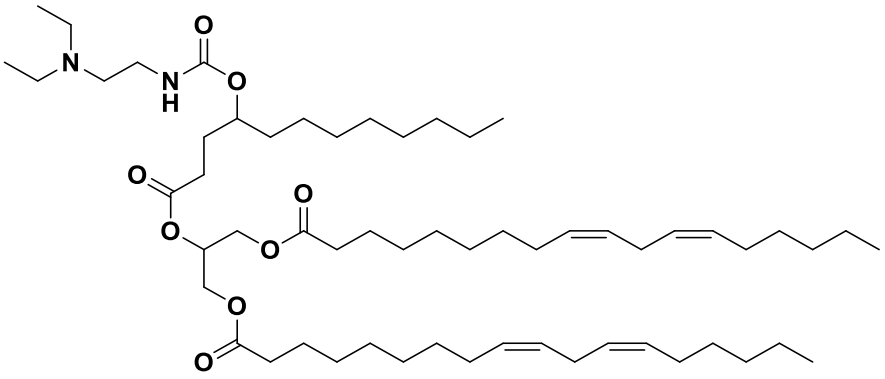
Ejemplo 96 – Compuesto 96

Intermedio 96a: 4-(((2-(dietilamino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoato de bencilo



El Intermedio 96a se sintetizó con 58 % de rendimiento a partir del Intermedio 91c y N',N'-dietiletano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,39 – 7,28 (m, 5H), 5,19 (s, 1H), 5,11 (s, 2H), 4,76 (s, 1H), 3,51 (s, 2H), 3,27 – 3,15 (m, 2H), 2,54 (dd, J = 8,7, 5,9 Hz, 6H), 2,41 (ddd, J = 9,0, 6,9, 2,6 Hz, 2H), 1,94 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 1,83 (p, J = 7,3 Hz, 1H), 1,63 – 1,40 (m, 3H), 1,35 – 1,17 (m, 13H), 1,01 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 0,87 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

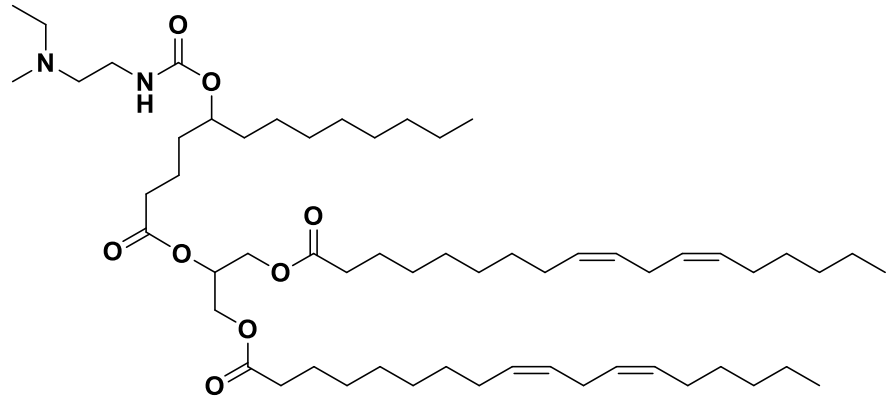
Compuesto 96: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((2-(dietilamino)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi) propano-1,3-diilo



El Compuesto 96 se preparó con 42 % de rendimiento a partir del Intermedio 96a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 91. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,29 (qq, J = 11,4, 6,5 Hz, 8H), 5,18 (p, J = 5,2 Hz, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,21 (ddd, J = 11,8, 4,5, 2,0 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 12,0, 5,9, 2,7 Hz, 2H), 3,12 (dt, J = 13,0, 6,3 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,45 (q, J = 7,3 Hz, 6H), 2,28 (dt, J = 27,2, 8,0 Hz, 6H), 1,98 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,83 (s, 1H), 1,78 – 1,68 (m, 1H), 1,54 (t, J = 7,2 Hz, 9H), 1,35 – 1,11 (m, 42H), 0,81 (q, J = 6,3 Hz, 9H). MS: 958,4 m/z [M+H].

Ejemplo 97 – Compuesto 97

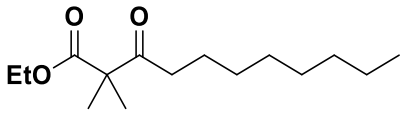
Compuesto 97: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((5-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tridecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 96 se preparó con 75 % de rendimiento a partir del Intermedio 55d y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado para el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,28 (m, 8H), 5,27 – 5,22 (m, 1H), 5,12 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 4,76 – 4,67 (m, 1H), 4,28 (dt, J = 11,9, 4,5 Hz, 2H), 4,13 (ddd, J = 12,0, 5,9, 4,5 Hz, 2H), 3,23 (h, J = 7,2, 6,2 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,6 Hz, 4H), 2,43 (dt, J = 14,5, 6,6 Hz, 4H), 2,35 – 2,27 (m, 6H), 2,19 (s, 3H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,71 – 1,46 (m, 13H), 1,40 – 1,19 (m, 42H), 1,03 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,92 – 0,83 (m, 9H). MS: 958,5 m/z [M+H].

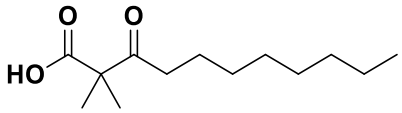
Ejemplo 98

Intermedio 98a: 2,2-dimetil-3-oxoundecanoato de etilo



A una solución de N-isopropilpropan-2-amina (20,0 mL, 1,0 equiv.) en THF (1-3 M) se le agregó n-BuLi (2,5 M, 56,60 mL, 1,0 equiv.) a -78 °C en N_2. La mezcla se agitó a -78 °C durante 20 min. Luego, se agregó 2-metilpropanoato de etilo (18,96 mL, 1,0 equiv.) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante otros 20 min. Se agregó cloruro de nonanoilo (26,60 mL, 1,0 equiv.) en THF (200 mL) por goteo a la solución anterior. La mezcla se dejó calentar hasta 15 °C y se agitó a 15 °C durante 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de agua helada, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (15 g, 41 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,11 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 2,36 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,56 – 1,46 (m, 2H), 1,28 (s, 6H), 1,25 – 1,13 (m, 13H), 0,80 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

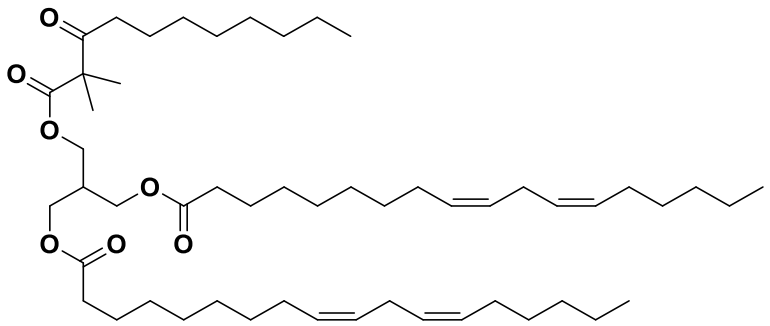
Intermedio 98b: ácido 2,2-dimetil-3-oxoundecanoico



Una mezcla del Intermedio 98a (15 g, 1,0 equiv.), LiOH (2,10 g, 1,5 equiv.), KOH (4,92 g, 1,5 equiv.) en EtOH (120 mL) y H_2O (40 mL) se desgasificó y se purgó 3x con N_2, y luego, la mezcla se agitó a 40 °C durante 3 h en atmósfera de N_2. La muestra se concentró para eliminar el EtOH. Luego, el pH se ajustó a 5-6 con HCl (1 M). La mezcla se dividió entre H_2O y EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (5 g, 37 %). 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 2,46 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,58 – 1,47 (m, 2H), 1,33 (s, 6H), 1,20 (s, 10H), 0,81 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

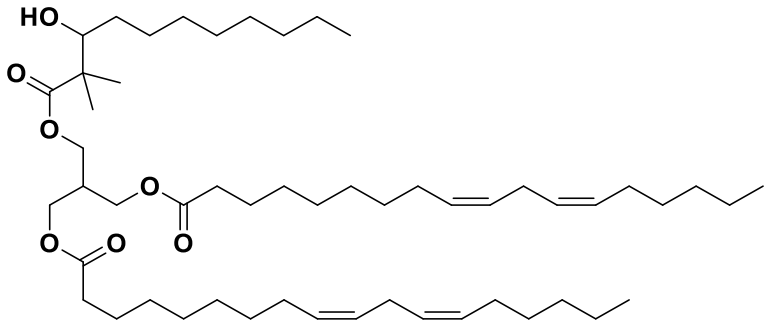
Ejemplo 99 – Compuesto 99

Intermedio 99a: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((2,2-dimetil-3-oxoundecanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 53a (12,16 g, 1,1 equiv.) en THF (20 mL) se le agregó el Intermedio 98b (4 g, 1,0 equiv.), DBAD (8,07 g, 2,0 equiv.) y PPh_3 (9,19 g, 2,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 15 min. Luego, la mezcla se agitó a 15 °C durante 16 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (3 g, 20 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,27 (dtt, J = 10,8, 8,7, 6,1 Hz, 8H), 4,10 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 4,03 (d, J = 6,0 Hz, 4H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,37 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,23 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,52 (tt, J = 14,2, 7,4 Hz, 8H), 1,31 – 1,17 (m, 46H), 0,85 – 0,77 (m, 12H).

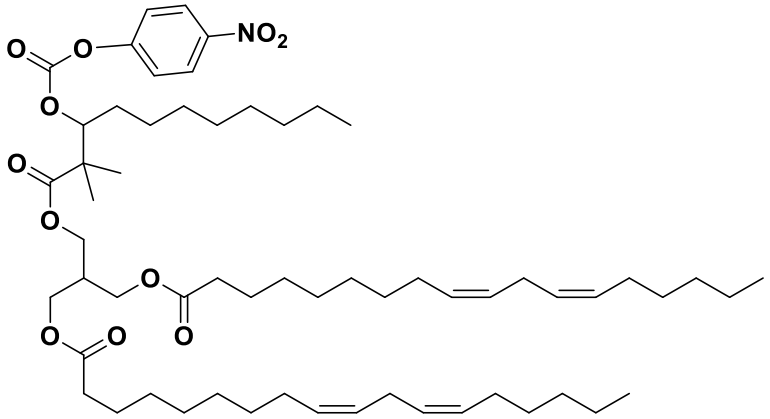
Intermedio 99b: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((3-hidroxi-2,2-dimetilundecanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 99a (1,0 equiv.) en 4:2:1 THF:H_2O:tolueno (0,025 – 0,1 se le agregó $NaBH_4$ (5,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se dividió entre THF y H_2O, y la fase orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (33 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,41 – 5,25 (m, 8H), 4,20 – 4,07 (m, 7H), 3,63 (dd, J = 10,2, 6,7 Hz, 1H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,40 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,30 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,59 (q, J = 7,3 Hz, 6H), 1,40 – 1,22 (m, 40H), 1,16 (d, J = 4,5 Hz, 6H), 0,88 (td, J = 6,8, 4,0

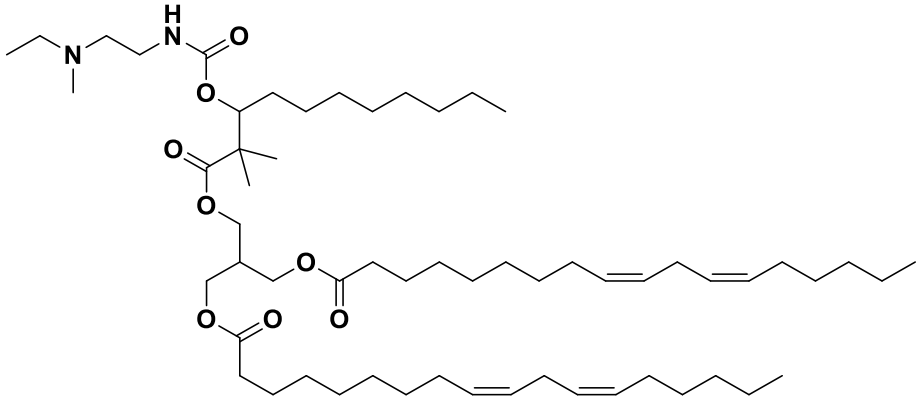
Hz, 9H).

Intermedio 99c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((2,2-dimetil-3-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)undecanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 99b (1 g, 1,0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (478 mg, 2,0 equiv.) en DCM (10 mL) se le agregó piridina (191 uL, 2,0 equiv.) a 0 °C en N_2. La mezcla se agitó a 15-25 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (0,8 g, 67 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,20 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,30 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 5,29 (dq, J = 13,1, 7,1, 6,1 Hz, 8H), 5,03 (dd, J = 10,4, 2,3 Hz, 1H), 4,08 (dd, J = 6,0, 2,5 Hz, 6H), 2,69 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,35 (p, J = 6,0 Hz, 1H), 2,23 (q, J = 8,4, 7,7 Hz, 4H), 1,97 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,53 (h, J = 7,1, 5,9 Hz, 8H), 1,36 – 1,12 (m, 56H), 0,85 – 0,77 (m, 12H).

Compuesto 99: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(4,4,11-trimetil-5-octil-3,7-dioxo-2,6-dioxa-8,11-diazatridecil)propano-1,3-diilo

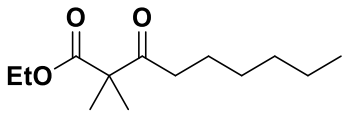


A una solución del Intermedio 99c (1,0 equiv.) en MeCN (0,1 M) se le agregó diamina (N'-etil -N'-metil-

etano-1,2-diamina (3,0 equiv.)), DMAP (1,0 equiv.), y piridina (3,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15 °C durante al menos 2 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (66 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 (pt, J = 11,5, 5,8 Hz, 8H), 4,90 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 4,11 – 4,02 (m, 5H), 3,17 (dt, J = 13,4, 7,3 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,37 (dq, J = 12,3, 6,2 Hz, 5H), 2,23 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,14 (s, 3H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 7H), 1,54 (p, J = 6,8 Hz, 4H), 1,37 – 1,06 (m, 49H), 0,97 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,81 (q, J = 6,9 Hz, 9H). MS: 973,5 m/z [M+H].

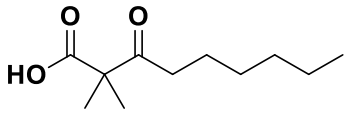
Ejemplo 100 – Compuesto 100

Intermedio 100a: 2,2-dimetil-3-oxononanoato de etilo



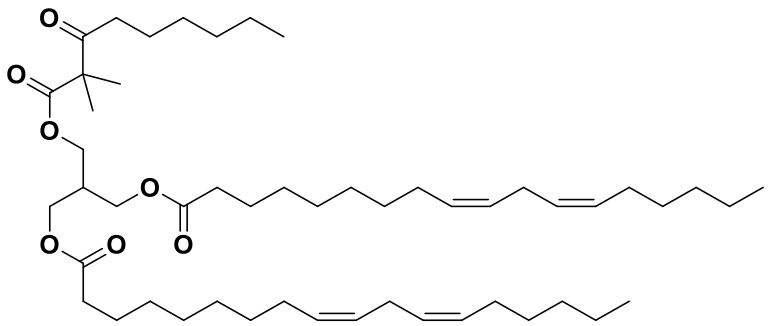
El Intermedio 100a se sintetizó con 26 % de rendimiento a partir de N-isopropilpropan-2-amina, 2-metilpropanoato de etilo, y cloruro de heptanoilo mediante el uso del método empleado en el Intermedio 99a. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,14 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,40 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,60 – 1,47 (m, 2H), 1,36 – 1,14 (m, 13H), 0,84 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Intermedio 100b: ácido 2,2-dimetil-3-oxononanoico



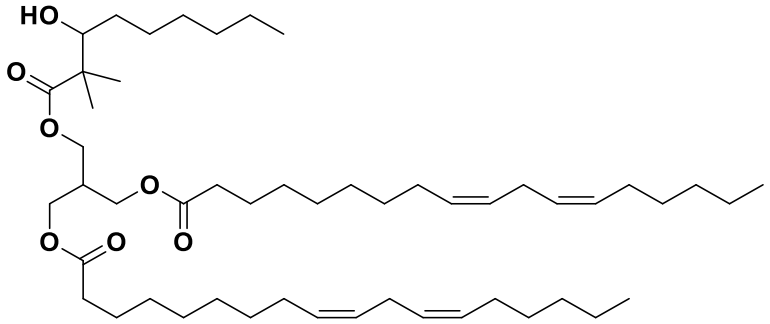
Una mezcla del Intermedio 100a (20 g, 1,0 equiv.), LiOH (3,15 g, 1,5 equiv.), KOH (7,37 g, 1,5 equiv.) en EtOH (6 mL) y H_2O (2 mL) se agitó a 40 °C durante 4 h en atmósfera de N2. La mezcla se concentró para eliminar el EtOH. Luego, el pH se ajustó a 5-6 con HCl (1 M). La mezcla se dividió entre H_2O y EtOAc y se extrajo 2x con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (6 g, 34 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,53 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,58 (p, J = 7,2 Hz, 2H), 1,40 (s, 6H), 1,34 – 1,23 (m, 6H), 0,92 – 0,81 (m, 3H).

Intermedio 100c: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((2,2-dimetil-3-oxononanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 1c (19,06 g, 1,1 equiv.) en THF (50 mL) se le agregó PPh_3 (14,41 g, 2,0 equiv.) y DBAD (12,65 g, 2,0 equiv.), y el Intermedio 100b (5,5 g, 1,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 20 min, y la mezcla se dejó calentar hasta 15 °C, y luego, se agitó a 15 °C durante 16 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (4 g, 18 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 (tt, J = 11,1, 5,4 Hz, 8H), 4,10 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 4,05 (dd, J = 10,4, 6,0 Hz, 4H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,34 (dt, J = 17,5, 6,6 Hz, 3H), 2,23 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,61 – 1,44 (m, 8H), 1,39 (d, J = 14,2 Hz, 3H), 1,35 – 1,14 (m, 41H), 0,85 – 0,76 (m, 9H).

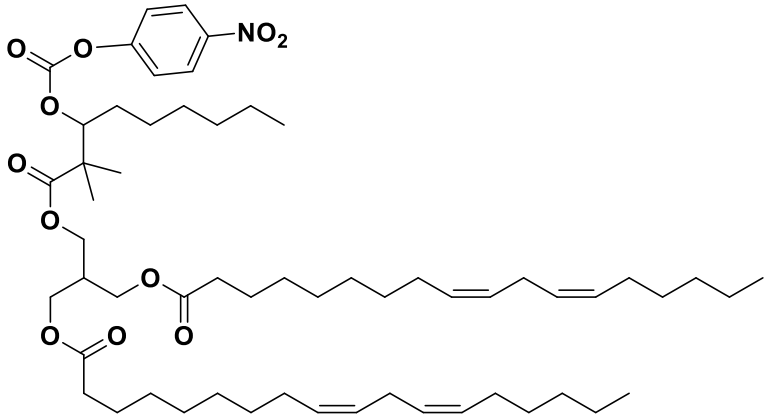
Intermedio 100d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((3-hidroxi-2,2-dimetilnonanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 100c (1,0 equiv.) en 4:2:1 THF:H_2O:tolueno (0,025 – 0,1 se le agregó $NaBH_4$ (5,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 5 °C durante 5 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se dividió entre THF y H_2O, y la fase orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna

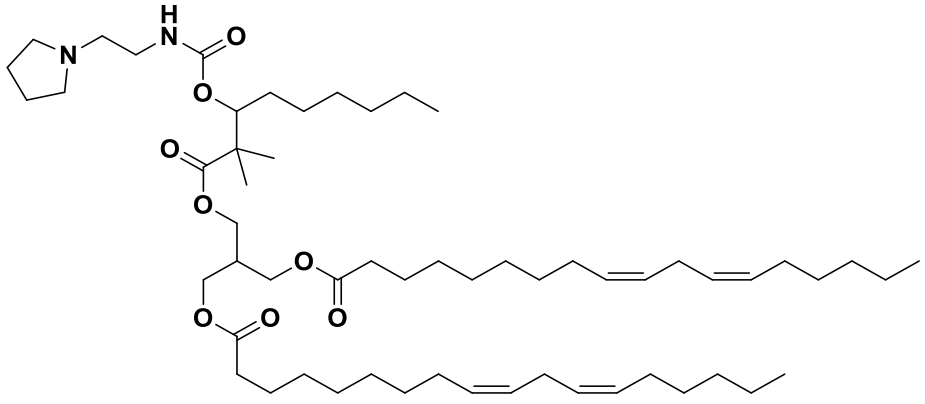
para obtener el producto como un aceite incoloro (20 %).

Intermedio 100e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((2,2-dimetil-3-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)nonanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 100d (0.4 g, 1,0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (890 mg, 9,0 equiv.) en DCM (5 mL) se le agregó piridina (119 uL, 3,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 15 °C durante 3 h en atmósfera de N_2. Luego, la mezcla se agitó a 25 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (0,2 g, 42 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,21 (dd, J = 9,3, 2,5 Hz, 2H), 7,31 (dd, J = 9,4, 2,8 Hz, 2H), 5,43 – 5,16 (m, 8H), 5,03 (dd, J = 10,3, 2,3 Hz, 1H), 4,12 – 3,99 (m, 6H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,35 (h, J = 6,0 Hz, 1H), 2,22 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,97 (t, J = 6,9 Hz, 7H), 1,63 – 1,47 (m, 6H), 1,40 – 1,12 (m, 41H), 0,82 (t, J = 6,7 Hz, 9H).

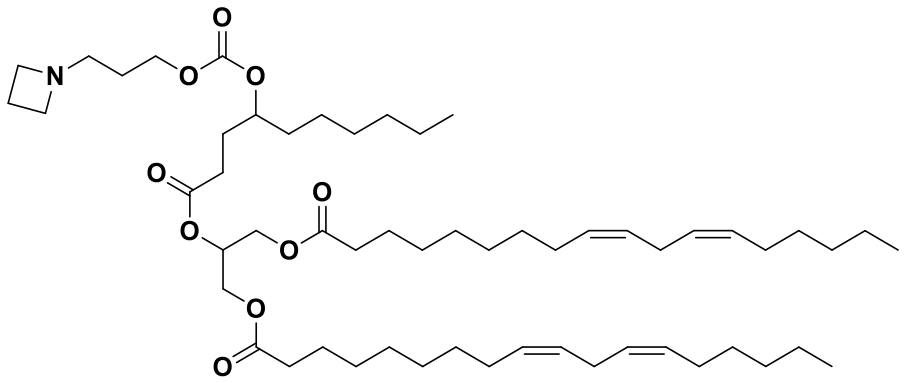
Compuesto 100: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((2,2-dimetil-3-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)nonanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



El Compuesto 100 se sintetizó con 90 % de rendimiento a partir del Intermedio 100e y 2-pirrolidin-1-iletanamina mediante el uso del método empleado en el Compuesto 99. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 (tdq, J = 17,2, 12,4, 5,8, 5,3 Hz, 8H), 4,90 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 4,13 – 4,00 (m, 6H), 3,22 (ddq, J = 19,5, 12,8, 6,3, 5,8 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,51 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,44 (d, J = 6,0 Hz, 4H), 2,34 (p, J = 6,0 Hz, 1H), 2,23 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,70 (h, J = 7,5 Hz, 4H), 1,54 (p, J = 7,0 Hz, 4H), 1,41 – 1,06 (m, 44H), 0,81 (dt, J = 9,6, 6,7 Hz, 9H). MS: 956,4 m/z [M+H].

Ejemplo 101 – Compuesto 101

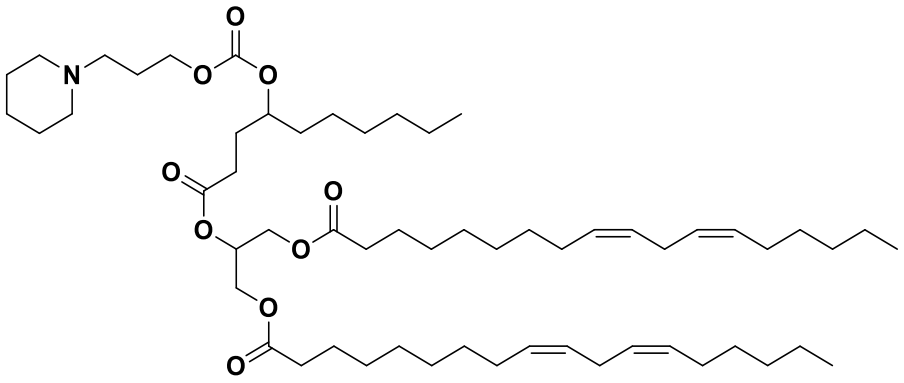
Compuesto 101: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(azetidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 101 se sintetizó con 65 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 3-(azetidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,45 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (tt, J = 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,71 (ddd, J = 11,5, 7,6, 4,7 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,3 Hz, 2H), 4,15 (dddd, J = 13,3, 7,2, 5,5, 3,2 Hz, 4H), 3,18 (t, J = 7,0 Hz, 4H), 2,82 – 2,72 (m, 4H), 2,48 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,40 (dt, J = 8,8, 6,8 Hz, 2H), 2,31 (td, J = 7,6, 1,2 Hz, 4H), 2,10 – 1,99 (m, 10H), 1,99 – 1,84 (m, 2H), 1,77 – 1,50 (m, 15H), 1,42 – 1,21 (m, 37H), 0,88 (td, J = 6,9, 5,4 Hz, 9H). MS: 929,3 m/z [M+H].

Ejemplo 102 – Compuesto 102

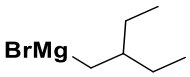
Compuesto 102: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((4-(((3-(piperidin-1-il)propoxi)carbonil)oxi)decanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 102 se sintetizó con 72 % de rendimiento a partir del Intermedio 40d y 3-(piperidin-1-il)propan-1-ol mediante el uso del método empleado para el Ejemplo 1. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,28 (m, 8H), 5,25 (ddd, J = 5,8, 4,3, 1,5 Hz, 1H), 4,76 – 4,69 (m, 1H), 4,37 – 4,24 (m, 2H), 4,24 – 4,10 (m, 4H), 2,82 – 2,71 (m, 4H), 2,48 – 2,26 (m, 12H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 2,01 – 1,81 (m, 4H), 1,71 – 1,49 (m, 17H), 1,43 (s, 2H), 1,40 – 1,24 (m, 37H), 0,88 (td, J = 6,9, 5,0 Hz, 9H). MS: 957,1 m/z [M+H].

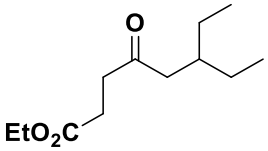
Ejemplo 103 – Compuesto 103

Intermedio 103a: bromuro de (2-etilbutil)magnesio



A una solución de Mg (1,1 equiv.) y I_2 (0,1 equiv.) en THF (0,4 – 0,5 M) se le agregó 3-(bromometil)pentano (1,0 equiv.) por goteo. La mezcla se agitó a 40 °C durante al menos 1 h. La mezcla de reacción se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

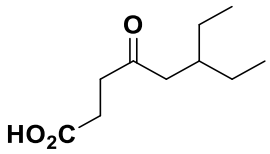
Intermedio 103b: 6-etil-4-oxooctanoato de etilo



A una solución de 4-cloro-4-oxo-butanoato de etilo (1,0 equiv.) en THF (0.3 M) se le agregó CuI (1-2 equiv.) y el Intermedio 103a (1-2 equiv.) a -78 °C por goteo. La mezcla se agitó a -78 °C durante al menos 1.5 h. Después de completarse, se agregó NH_4Cl saturado, y la reacción se extrajo 3x con EtOAc. La capa orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite marrón (82 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,05 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 2,65 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,49 (d, J = 13,1 Hz, 2H), 2,30 (d, J = 6,8 Hz,

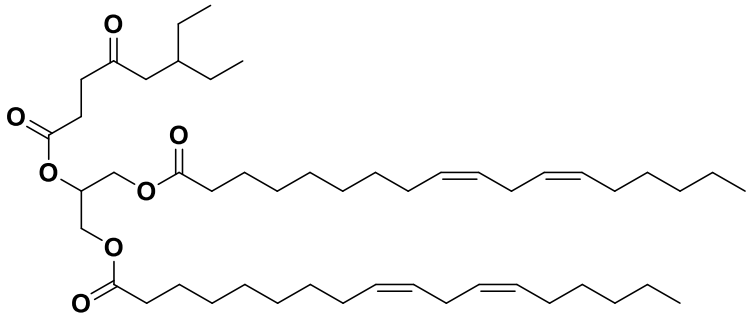
2H), 1,82 – 1,71 (m, J = 6,5 Hz, 1H), 1,33 – 1,13 (m, 7H), 0,78 (t, J = 7,4 Hz, 6H).

Intermedio 103c: ácido 6-etil-4-oxooctanoico



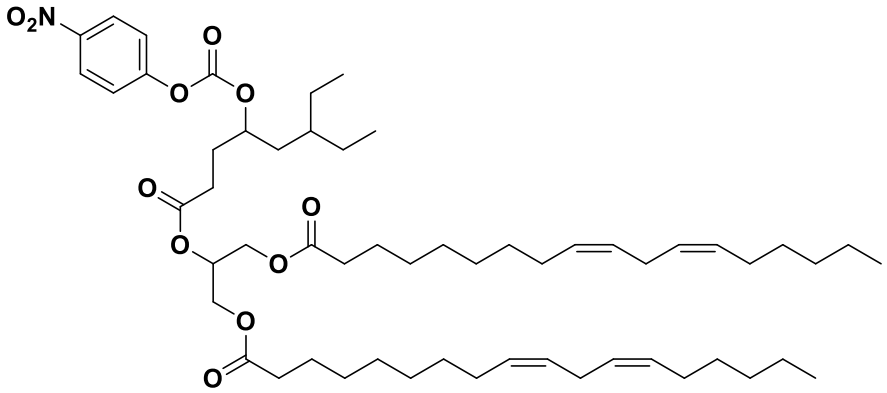
A una solución del Intermedio 103c (1,0 equiv.) en 3:1 EtOH/H_2O (0,2 M) se le agregó NaOH (1,5 equiv), LiOH (1,5 equiv.). La mezcla se agitó a 40 °C durante al menos 1 h. Al completarse, el pH de la reacción se ajustó a 3 mediante el uso de HCl 1 M, y la reacción se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La capa orgánica se secó en Na_2SO_4, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (46 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,69 – 2,60 (m, 2H), 2,56 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,30 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 1,75 (hept, J = 6,4 Hz, 1H), 1,22 (qp, J = 13,8, 6,6 Hz, 4H), 0,78 (t, J = 7,4 Hz, 6H).

Intermedio 103d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((6-etil-4-oxooctanoil)oxi)propano-1,3-diilo



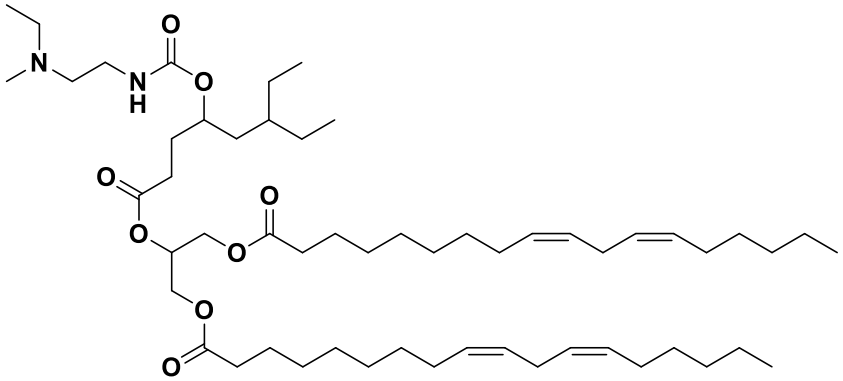
A una solución del Intermedio 103c (1,0 equiv.) en DCM (0,2 – 0,5 M) se le agregó el Intermedio 1c (1,0 equiv.), EDCI (1,2 equiv.), DMAP (0,1 – 0,2 equiv.) y Et_3N (1,5 equiv.) a 0 °C en N_2. La mezcla se agitó a 20-25 °C durante al menos 12 h en atmósfera de N_2. La mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. La fase orgánica combinada se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite amarillo (40 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,40 – 5,21 (m, 8H), 5,18 (p, J = 5,0 Hz, 1H), 4,23 (dt, J = 11,9, 5,0 Hz, 2H), 4,08 (dd, J = 11,9, 5,9 Hz, 2H), 2,67 (dt, J = 20,4, 6,5 Hz, 6H), 2,51 (td, J = 6,5, 2,9 Hz, 2H), 2,32 – 2,22 (m, 5H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,75 (p, J = 6,4 Hz, 1H), 1,53 (q, J = 7,2 Hz, 4H), 1,35 – 1,09 (m, 31H), 0,80 (dt, J = 16,7, 6,9 Hz, 12H).

Intermedio 103e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((6-etil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 103e se sintetizó con 46 % de rendimiento a partir del Intermedio 103d mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,21 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,27 (tt, J = 14,1, 7,8 Hz, 8H), 4,89 (p, J = 7,4 Hz, 1H), 4,32 – 4,02 (m, 4H), 2,70 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,41 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,32 – 2,19 (m, 4H), 1,98 (q, J = 7,2 Hz, 10H), 1,69 – 1,40 (m, 7H), 1,39 – 1,16 (m, 36H), 0,82 (t, J = 6,9 Hz, 12H).

Compuesto 103: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((6-etil-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo

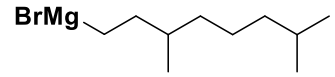


El Compuesto 103 se sintetizó con 98 % de rendimiento a partir del Intermedio 103e y N'-etil-N'-metil-etano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,42 – 5,21 (m, 8H), 5,18 (q, J = 5,0 Hz, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,21 (ddd, J = 11,8, 4,4, 1,8 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,4 Hz, 2H), 3,17 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,44 – 2,27 (m, 6H), 2,24 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,13 (s, 3H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,84 (dq, J = 8,4, 4,4 Hz,

1H), 1,71 (dd, J = 14,8, 7,5 Hz, 1H), 1,58 – 1,43 (m, 8H), 1,29 – 1,16 (m, 38H), 0,96 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 0,80 (ddd, J = 13,4, 6,7, 3,7 Hz, 13H). MS: 916,3 m/z [M+H].

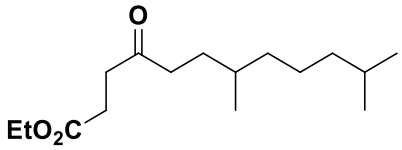
Ejemplo 104

Intermedio 104a: bromuro de (3,7-dometiloctil)magnesio



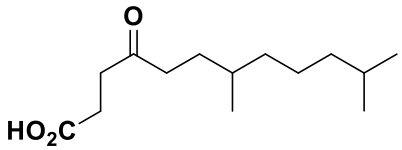
El Intermedio 104a se sintetizó a partir de 1-bromo-3,7-dimetil-octano mediante el uso del método empleado en el Intermedio 104a.

Intermedio 104b: 7,11-dimetil-4-oxododecanoato de etilo



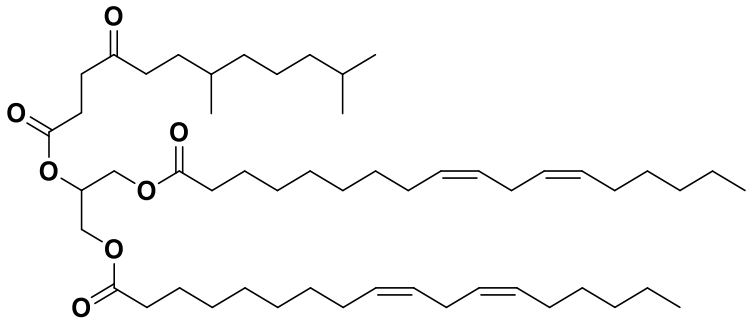
El Intermedio 104b se sintetizó con 66 % de rendimiento a partir del Intermedio 104a mediante el uso del método empleado en el Intermedio 103b. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,11 (qd, J = 7,1, 2,5 Hz, 2H), 2,71 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,56 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,49 – 2,35 (m, 2H), 1,68 – 1,54 (m, 1H), 1,49 (dq, J = 13,2, 6,6 Hz, 1H), 1,43 – 1,31 (m, 2H), 1,24 (td, J = 8,0, 7,1, 3,6 Hz, 6H), 1,10 (dddd, J = 16,9, 9,9, 4,7, 2,0 Hz, 3H), 0,84 (d, J = 6,5 Hz, 9H).

Intermedio 104c: ácido 7,11-dimetil-4-oxododecanoico



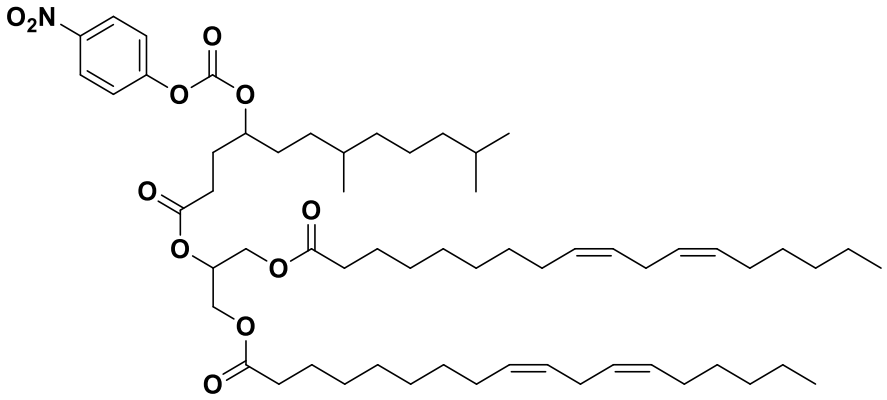
El Intermedio 104c se sintetizó con 51 % de rendimiento a partir del Intermedio 104b mediante el uso del método empleado en el Intermedio 103c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2,72 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,63 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,50 – 2,36 (m, 2H), 1,61 (ddt, J = 11,8, 9,0, 4,3 Hz, 1H), 1,51 (hept, J = 6,6 Hz, 1H), 1,45 – 1,34 (m, 2H), 1,24 (ddt, J = 16,2, 13,5, 4,2 Hz, 4H), 1,11 (ddt, J = 16,0, 9,6, 5,9 Hz, 3H), 0,91 – 0,81 (m, 9H).

Intermedio 104d: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((7,11-dimetil-4-oxododecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 104d se sintetizó con 58 % de rendimiento a partir del Intermedio 104c mediante el uso del método empleado en el Intermedio 103d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,41 – 5,28 (m, 8H), 5,24 (ddd, J = 10,2, 5,8, 4,3 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (dd, J = 11,9, 5,8 Hz, 2H), 2,74 (dt, J = 17,5, 6,5 Hz, 6H), 2,58 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,48 – 2,37 (m, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,60 (ddd, J = 10,0, 5,6, 2,6 Hz, 6H), 1,54 – 1,47 (m, 1H), 1,42 – 1,19 (m, 34H), 1,10 (ddt, J = 19,6, 10,0, 6,9 Hz, 4H), 0,93 – 0,80 (m, 15H).

Intermedio 104e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((7,11-dimetil-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo

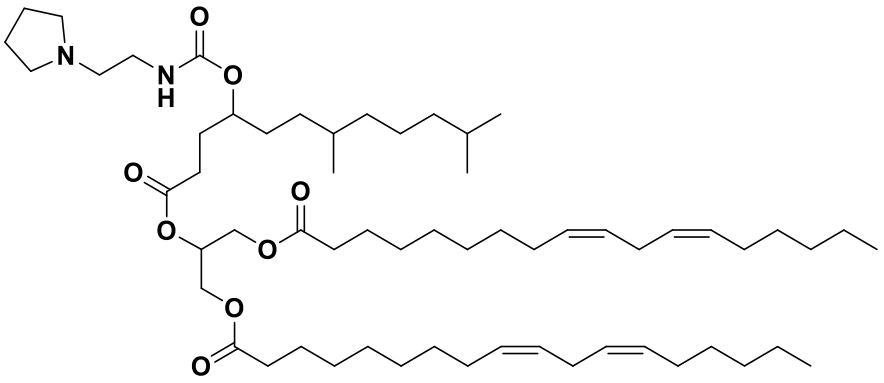


El Intermedio 104e se sintetizó con 58 % de rendimiento a partir del Intermedio 104d mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,27 – 8,11 (m, 2H), 7,36 – 7,29 (m, 2H), 5,36 – 5,16 (m, 9H), 4,78 (ddq, J = 12,5, 7,0, 3,4 Hz, 1H), 4,25 (dd, J = 12,0, 4,3 Hz, 2H), 4,12 – 4,05 (m, 2H), 2,70 (t, J = 6,3 Hz, 4H), 2,40 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,24 (tt, J = 7,7, 4,0 Hz, 4H), 2,07 – 1,88 (m, 10H), 1,72 – 1,48 (m, 7H), 1,44 (ddd, J = 13,3, 6,6, 1,3 Hz, 1H), 1,39 – 1,14 (m, 34H), 1,06 (dtd, J = 8,6, 6,7, 4,7 Hz, 3H), 0,86 – 0,76 (m, 15H).

Ejemplo 105 – Compuesto 105

Compuesto 105: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((7,11-dimetil-4-(((2-(pirrolidin-1-

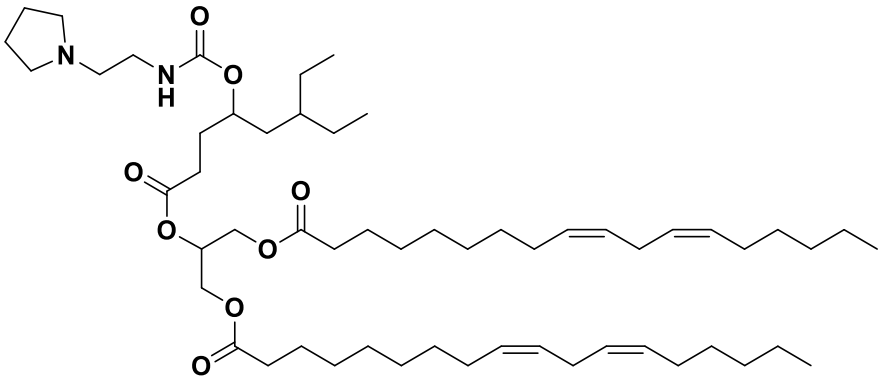
il)etil)carbamoil)oxi)dodecanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 105 se sintetizó con 62 % de rendimiento a partir del Intermedio 104e y 2-pirrolidin-1-iletanamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,38 – 5,22 (m, 8H), 5,22 – 5,15 (m, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,67 (s, 1H), 4,22 (dd, J = 12,0, 4,4 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 11,9, 5,9, 3,5 Hz, 2H), 3,20 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,51 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,43 (d, J = 5,9 Hz, 4H), 2,32 (ddd, J = 9,2, 6,7, 3,7 Hz, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,84 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 1,77 – 1,66 (m, 5H), 1,54 (p, J = 7,1 Hz, 7H), 1,44 (p, J = 6,6 Hz, 3H), 1,35 – 1,10 (m, 34H), 1,10 – 0,96 (m, 5H), 0,86 – 0,74 (m, 15H). MS: 984,2 m/z [M+H].

Ejemplo 106 – Compuesto 106

Compuesto 106: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-((6-etil-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo

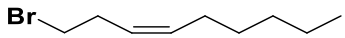


El Compuesto 106 se preparó con 78 % de rendimiento a partir del Intermedio 103e y 2-pirrolidin-1-iletanamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,28 (qt, J = 11,5, 6,0 Hz, 8H), 5,19 (q, J = 5,0 Hz, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,22 (dd, J = 12,2, 4,5 Hz, 2H), 4,08 (ddd, J = 11,8, 5,8, 3,5 Hz, 2H), 3,22 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,53 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,33 (dd, J = 9,6, 7,0 Hz, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 7H), 1,89 – 1,80 (m, 2H), 1,76 – 1,61 (m, 7H), 1,60 – 1,45 (m, 6H), 1,34 – 1,16 (m, 33H), 0,87 – 0,72 (m, 12H). MS: 928,4

m/z [M+H].

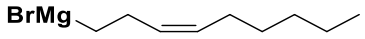
Ejemplo 107 – Compuesto 107

Intermedio 107a: (Z)-1-bromonon-3-eno



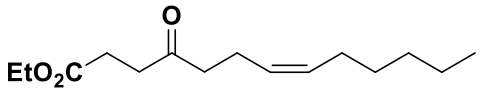
A una solución de PPh_3 (36,79 g, 1,33 equiv.) en DCM (1 M) se le agregó Br_2 (7,23 mL, 1,33 eq) a 0 °C. Se agregó (Z)-non-3-en-1-ol (15 g, 1,0 equiv.) a la mezcla de reacción, y la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se inactivó mediante adición de H_2O 0 °C y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (15 g, 69 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,47 – 5,30 (m, 2H), 3,64 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,18 – 2,06 (m, 2H), 2,02 (q, J = 6,7 Hz, 2H), 1,77 (s, 1H), 1,62 (p, J = 6,9 Hz, 2H), 1,38 – 1,20 (m, 6H), 0,87 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Intermedio 107b: bromuro de (Z)-non-3-en-1-ilmagnesio



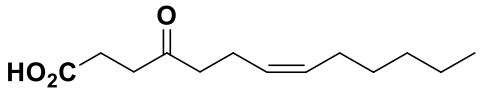
A una suspensión de Mg (2,13 g, 1,2 equiv.) en THF (150 mL) se le agregó I_2 (1,86 g, 0,1 equiv.). Luego, se agregó el Intermedio 107a (15 g, 1,0 equiv.) a la mezcla, y la mezcla se agitó a 45 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se usó para la siguiente etapa directamente sin purificación adicional.

Intermedio 107c: (Z)-4-oxotridec-7-enoato de etilo



El Intermedio 107c se sintetizó con 75 % de rendimiento a partir del Intermedio 107b mediante el uso del método empleado en el Intermedio 103b. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,23 (m, 2H), 4,10 (qd, J = 7,1, 3,2 Hz, 3H), 2,69 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,55 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,47 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,30 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 2,01 – 1,95 (m, 2H), 1,34 – 1,18 (m, 11H), 0,86 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

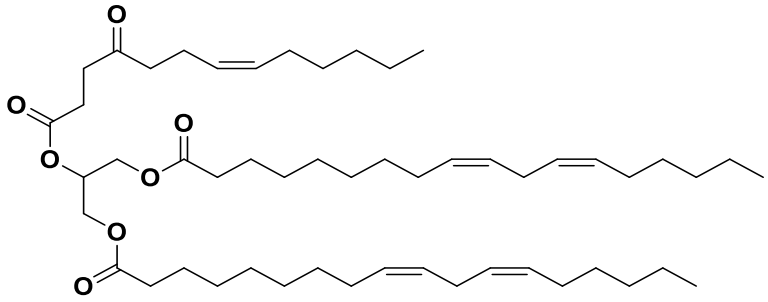
Intermedio 107d: ácido (Z)-4-oxotridec-7-enoico



El Intermedio 107d se sintetizó con 80 % de rendimiento a partir del Intermedio 107c mediante el uso del

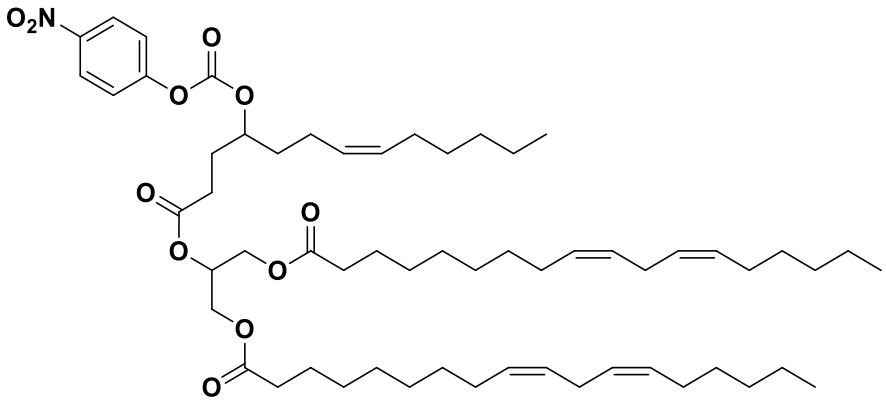
método empleado en el Intermedio 103c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,23 (ddt, J = 34,8, 17,4, 7,8 Hz, 2H), 4,27 – 3,96 (m, 2H), 2,58 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,38 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,31 – 2,08 (m, 4H), 1,92 (q, J = 6,9 Hz, 2H), 1,75 (s, 2H), 1,21 (dq, J = 15,0, 9,2, 8,0 Hz, 6H), 0,80 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 107e: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((Z)-4-oxotridec-7-enoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 107e se sintetizó con 80 % de rendimiento a partir del Intermedio 107d y el Intermedio 1c mediante el uso del método empleado en el Intermedio 104c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,35 – 5,22 (m, 9H), 5,21 – 5,15 (m, 1H), 4,23 (dt, J = 11,9, 4,8 Hz, 2H), 4,12 – 4,01 (m, 4H), 2,76 – 2,67 (m, 4H), 2,65 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,55 – 2,49 (m, 2H), 2,42 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,25 (t, J = 7,6 Hz, 6H), 1,98 (q, J = 7,2 Hz, 13H), 1,54 (p, J = 7,6 Hz, 4H), 1,32 – 1,18 (m, 37H), 0,82 (td, J = 7,0, 1,7 Hz, 9H).

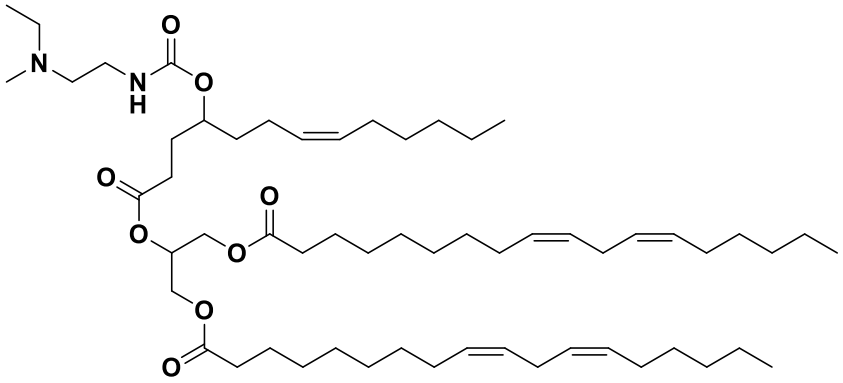
Intermedio 107f: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((Z)-4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)tridec-7-enoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Intermedio 107f se sintetizó con 21 % de rendimiento a partir del Intermedio 107e mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1e. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,48 – 8,20 (m, 2H), 7,56 – 7,32 (m, 2H), 5,45 – 5,20 (m, 10H), 4,88 (tt, J = 7,9, 4,6 Hz, 1H), 4,30 (ddd, J = 12,1, 10,3, 4,5 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 2,1 Hz, 2H), 2,74 (dt, J = 19,6, 6,5 Hz, 5H), 2,59 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 2,48 (q, J = 7,1

Hz, 2H), 2,41 – 2,24 (m, 5H), 2,15 (q, J = 7,7 Hz, 1H), 2,09 – 1,96 (m, 10H), 1,61 (q, J = 12,7, 9,4 Hz, 5H), 1,39 – 1,20 (m, 30H), 0,99 – 0,69 (m, 9H).

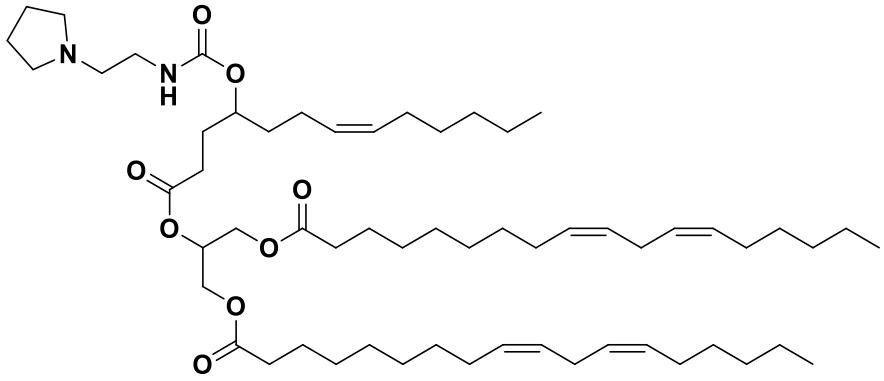
Compuesto 107: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((Z)-4-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)tridec-7-enoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 107 se sintetizó con 56 % de rendimiento a partir del Intermedio 107f y N'-etil-N'-metil-etano-1,2-diamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,41 – 5,29 (m, 9H), 5,24 (p, J = 5,0 Hz, 1H), 5,16 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 4,81 – 4,74 (m, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,3 Hz, 2H), 3,23 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,48 – 2,36 (m, 6H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,20 (s, 3H), 2,02 (dq, J = 20,4, 7,0 Hz, 12H), 1,96 – 1,87 (m, 2H), 1,81 (dd, J = 14,7, 7,3 Hz, 1H), 1,65 – 1,55 (m, 7H), 1,39 – 1,22 (m, 35H), 1,03 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 0,88 (td, J = 7,0, 2,3 Hz, 9H). MS: 955,3 m/z [M+H].

Ejemplo 108 – Compuesto 108

Compuesto 108: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((Z)-4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)tridec-7-enoil)oxi)propano-1,3-diilo

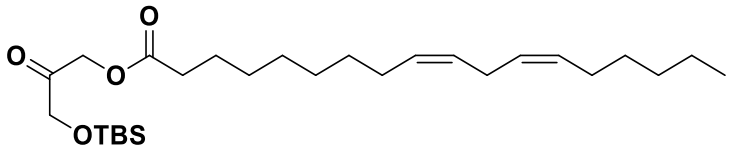


El Compuesto 108 se sintetizó con 51 % de rendimiento a partir del Intermedio 107f y 2-pirrolidin-1-iletanamina mediante el uso del método empleado en el Intermedio 91d. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ

5,43 – 5,26 (m, 9H), 5,24 (q, J = 5,1 Hz, 1H), 4,78 (tt, J = 8,6, 4,6 Hz, 1H), 4,28 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,14 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,5 Hz, 2H), 3,29 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,66 – 2,50 (m, 5H), 2,39 (ddd, J = 9,6, 6,7, 3,6 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,01 (dq, J = 20,4, 7,1 Hz, 12H), 1,87 – 1,72 (m, 5H), 1,59 (q, J = 7,3 Hz, 6H), 1,40 – 1,15 (m, 31H), 0,88 (td, J = 6,9, 2,2 Hz, 9H). MS: 967,3 m/z [M+H].

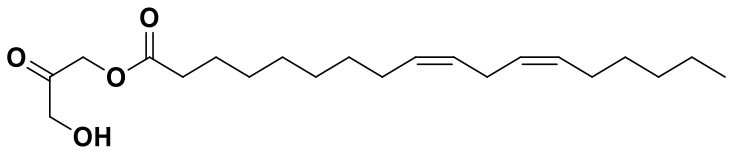
Ejemplo 109 – Compuesto 109

Intermedio 109a: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-((terc-butildimethilsilil)oxi)-2-oxopropilo



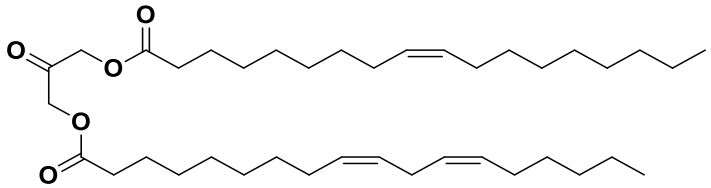
El Intermedio 109a se sintetizó con 63 % de rendimiento a partir del Intermedio 62a y ácido linoleico mediante el uso del método empleado en el Intermedio 62b. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,31 – 5,19 (m, 4H), 4,84 (s, 2H), 4,16 (s, 2H), 2,67 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,32 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,94 (q, J = 6,9 Hz, 4H), 1,57 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 1,31 – 1,13 (m, 15H), 0,80 (d, J = 15,1 Hz, 12H).

Intermedio 109b: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-hidroxi-2-oxopropilo



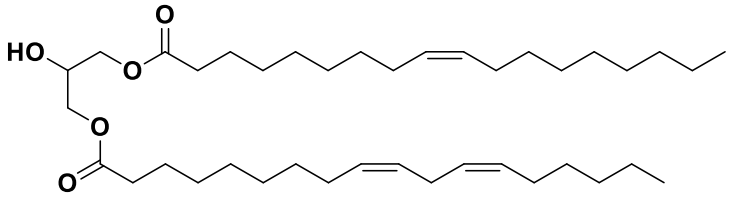
A una solución del intermedio 109a (1,0 equiv.) en THF (180 mL) se le agregó HF-piridina (5,0 equiv.). La mezcla se agitó a 25 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el THF. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (66 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,33 (dtd, J = 12,5, 10,3, 9,5, 5,6 Hz, 4H), 4,74 (s, 1H), 4,36 (s, 1H), 2,76 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,41 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 2,37 – 2,27 (m, 1H), 2,03 (q, J = 6,9 Hz, 4H), 1,65 (p, J = 7,1 Hz, 2H), 1,41 – 1,24 (m, 14H), 0,87 (t, J = 6,7 Hz, 3H).

Intermedio 109c: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-(oleoiloxi)-2-oxopropilo



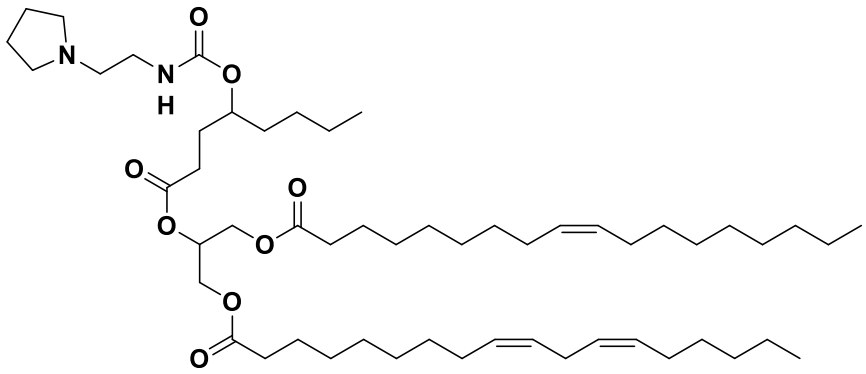
El Intermedio 109c se sintetizó con 50 % de rendimiento a partir del Intermedio 109b y ácido oleico mediante el uso del método empleado en el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,37 – 5,22 (m, 6H), 4,68 (s, 4H), 2,70 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,35 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 2,02 – 1,91 (m, 8H), 1,60 (q, J = 7,3 Hz, 4H), 1,33 – 1,17 (m, 33H), 0,81 (dt, J = 7,0, 3,3 Hz, 6H).

Intermedio 109d: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 2-hidroxi-3-(oleiloxi)propilo



El Intermedio 109d se sintetizó con 50 % de rendimiento a partir del Intermedio 109c mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.37 – 5.21 (m, 6H), 4.15 – 4.00 (m, 4H), 2.70 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 2.28 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 2.04 – 1.89 (m, 8H), 1.56 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 1.23 (dt, J = 13.9, 7.0 Hz, 34H), 0.82 (td, J = 6.8, 3.8 Hz, 6H).

Compuesto 109: (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoato de 3-(oleoiloxi)-2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propilo

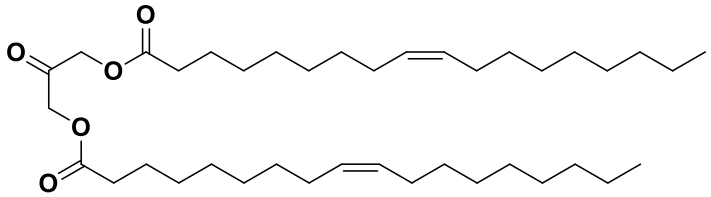


El Compuesto 109 se sintetizó a partir del Intermedio 109d y el Intermedio 85c mediante el uso del método empleado en el Compuesto 85. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,35 (tdd, J = 8,8, 6,5, 3,6 Hz, 5H), 5,28 – 5,22 (m, 1H), 5,16 (s, 1H), 4,29 (dd, J = 11,9, 4,4 Hz, 2H), 4,15 (ddd, J = 11,9, 5,8, 3,3 Hz, 2H), 3,34 –

3,22 (m, 2H), 2,77 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,55 (d, J = 30,6 Hz, 5H), 2,39 (ddd, J = 8,8, 6,6, 3,8 Hz, 2H), 2,31 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,09 – 1,97 (m, 7H), 1,91 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 1,78 (d, J = 6,0 Hz, 4H), 1,61 (t, J = 7,2 Hz, 6H), 1,30 (td, J = 10,5, 9,4, 4,7 Hz, 30H), 0,91 – 0,87 (m, 6H). MS: 902,3 m/z [M+H].

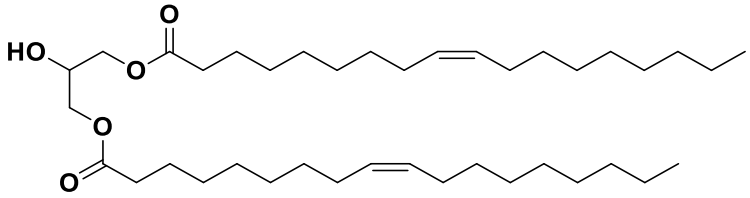
Ejemplo 110 –Compuesto 110

Intermedio 110a: dioleato de 2-oxopropano-1,3-diilo



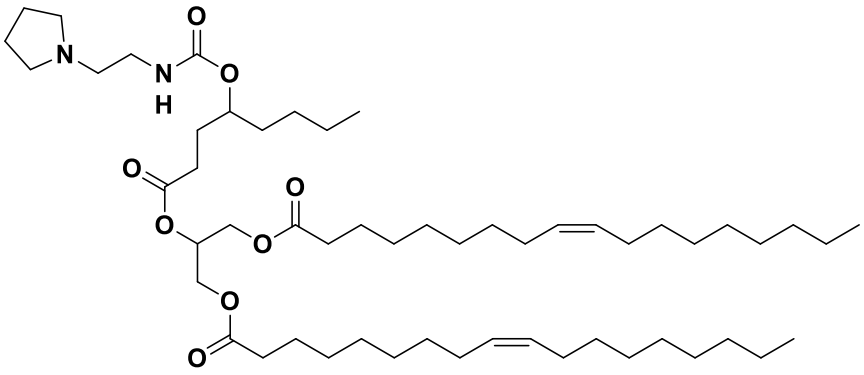
A una solución de 1,3-dihidroxipropan-2-ona (5 g, 0,5 equiv.) en DCM (300 mL) se le agregó DMAP (1,1 equiv.) y EDCI (1,0 equiv.). A continuación, se agregó ácido oleico (1,0 equiv.) a la mezcla anterior y se agitó a 25 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron en Na_2SO_4, se filtraron, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (8 g, 12 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,34 – 5,21 (m, 4H), 4,68 (s, 4H), 2,35 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 1,94 (q, J = 6,4 Hz, 8H), 1,60 (q, J = 7,4 Hz, 4H), 1,31 – 1,14 (m, 38H), 0,89 – 0,75 (m, 6H).

Intermedio 110b: dioleato de 2-hidroxipropano-1,3-diilo



El Intermedio 110b se sintetizó con 47 % de rendimiento a partir del Intermedio 110a mediante el uso del método empleado en el Intermedio 1c. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,41 – 5,26 (m, 4H), 4,22 – 4,06 (m, 4H), 2,34 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,01 (q, J = 6,4 Hz, 7H), 1,63 (p, J = 7,2 Hz, 4H), 1,28 (d, J = 14,2 Hz, 33H), 0,90 – 0,81 (m, 6H).

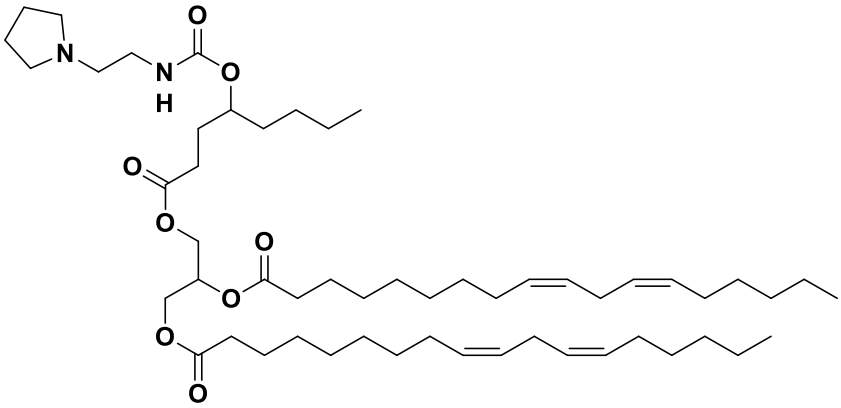
Compuesto 110: dioleato de 2-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,3-diilo



El Compuesto 110 se sintetizó a partir del Intermedio 110b y el Intermedio 85c mediante el uso del método empleado en el Compuesto 85. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,33 – 5,22 (m, 4H), 5,22 – 5,15 (m, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,28 – 4,17 (m, 2H), 4,08 (ddq, J = 12,2, 6,4, 2,9 Hz, 2H), 3,21 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 2,51 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,43 (d, J = 6,0 Hz, 4H), 2,32 (ddd, J = 8,6, 6,6, 3,7 Hz, 2H), 2,24 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,94 (q, J = 6,7 Hz, 8H), 1,87 – 1,78 (m, 1H), 1,70 (p, J = 3,1 Hz, 5H), 1,61 – 1,36 (m, 9H), 1,22 (d, J = 13,2 Hz, 45H), 0,82 (td, J = 6,9, 3,7 Hz, 9H). MS: 904,2 m/z [M+H].

Ejemplo 111 – Compuesto 111

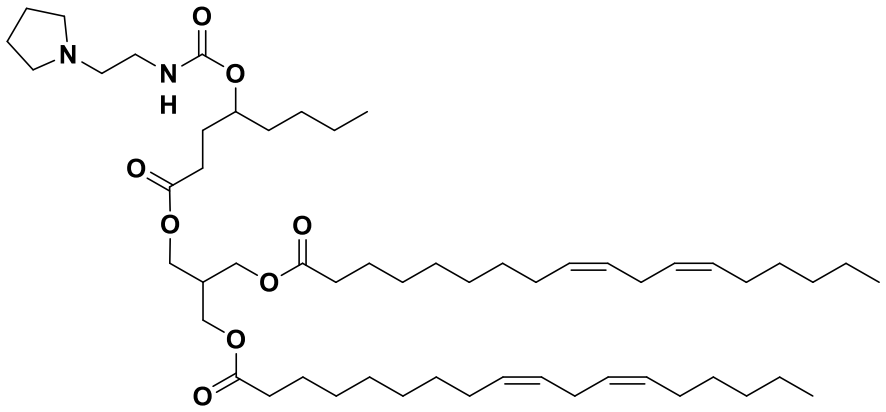
Compuesto 111 - (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 3-((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)propano-1,2-diilo



El Compuesto 111 se sintetizó a partir del Intermedio 85c y el Intermedio 30a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 85. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,43 – 5,27 (m, 8H), 5,24 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 5,14 (s, 1H), 4,74 (s, 1H), 4,27 (ddd, J = 12,2, 8,2, 4,2 Hz, 2H), 4,18 – 4,09 (m, 2H), 3,27 (q, J = 5,9 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,57 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,50 (s, 4H), 2,37 (td, J = 8,9, 7,8, 3,5 Hz, 2H), 2,30 (td, J = 7,5, 4,4 Hz, 4H), 2,03 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,98 – 1,86 (m, 2H), 1,76 (h, J = 3,1 Hz, 5H), 1,59 (tt, J = 9,8, 5,1 Hz, 7H), 1,38 – 1,21 (m, 30H), 0,87 (t, J = 6,7 Hz, 9H). MS: 900,1 m/z [M+H].

Ejemplo 112 – Compuesto 112

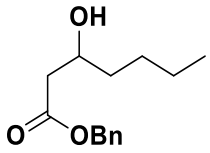
Compuesto 112: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((4-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)octanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



El Compuesto 112 se sintetizó a partir del Intermedio 86c y el Intermedio 53a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 84. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,44 – 5,28 (m, 8H), 5,19 (s, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,12 (d, J = 5,9 Hz, 6H), 3,29 (q, J = 6,1 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 2,64 – 2,49 (m, 6H), 2,38 (ddd, J = 10,1, 8,5, 4,8 Hz, 3H), 2,30 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,05 (q, J = 6,8 Hz, 8H), 1,90 (s, 2H), 1,86 – 1,72 (m, 6H), 1,61 (t, J = 7,3 Hz, 7H), 1,32 (tq, J = 7,6, 4,9, 3,7 Hz, 33H), 0,89 (t, J = 6,7 Hz, 9H). MS: 914,1 m/z [M+H].

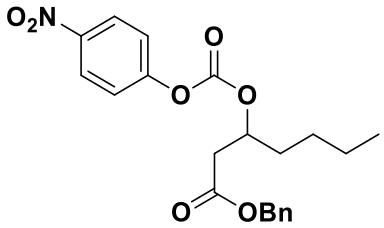
Ejemplo 113 – Compuesto 113

Intermedio 113a: 3-hidroxiheptanoato de bencilo



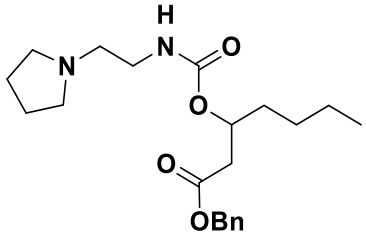
Se vertió Zn en HCl (1 M) y se agitó durante 30 min. La mezcla se filtró, y el precipitado se lavó con EtOH. El sólido se secó a presión reducida para obtener Zn recién preparado. A una suspensión de Zn (15,18 g, 2,0 equiv.) en THF (50 mL) se le agregó pentanal (1,0 equiv.) y 2-bromoacetato de bencilo (1,5 equiv.) por goteo a 66 °C durante 0,5 h. Luego, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (10 g, 36 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,34 (d, J = 4,1 Hz, 5H), 5,14 (s, 2H), 4,01 (tt, J = 8,4, 3,6 Hz, 1H), 2,87 (s, 1H), 2,59 – 2,41 (m, 2H), 1,57 – 1,47 (m, 1H), 1,43 (qd, J = 9,6, 8,9, 4,6 Hz, 2H), 1,37 – 1,24 (m, 4H), 0,93 – 0,87 (m, 3H).

Intermedio 113b: 3-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)heptanoato de bencilo



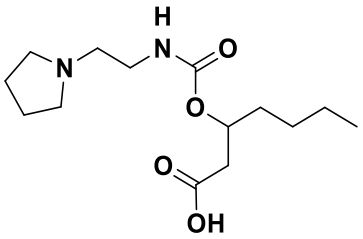
A una solución del Intermedio 113a (8 g, 1,0 equiv.) y carbonocloridato de (4-nitrofenilo) (2,0 equiv.) en DCM (10 mL) se le agregó piridina (3,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h en atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el DCM. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (8 g, 59 % de rendimiento). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,30 – 8,21 (m, 2H), 7,39 – 7,28 (m, 7H), 5,16 (d, J = 3,3 Hz, 2H), 2,82 – 2,69 (m, 2H), 1,81 – 1,68 (m, 2H), 1,43 – 1,30 (m, 5H), 0,94 – 0,89 (m, 3H).

Intermedio 113c: 3-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)heptanoato de bencilo



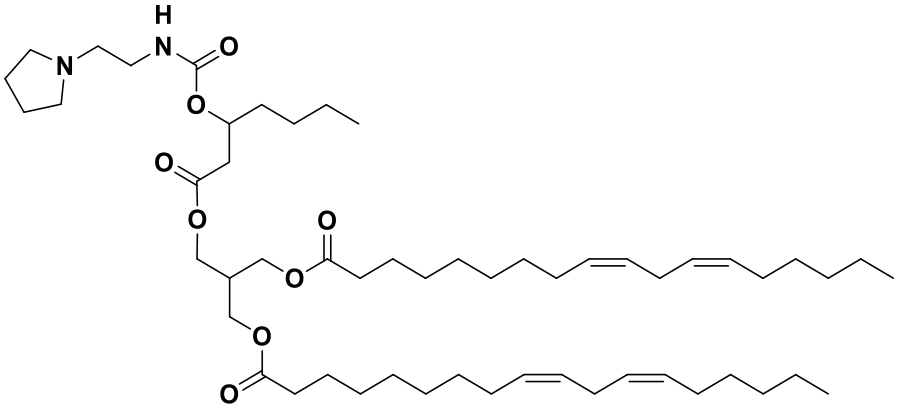
A una solución del Intermedio 113b (0.5 g, 1,0 equiv.) y 2-pirrolidin-1-iletanamina (3,0 equiv.) en MeCN (10 mL) se le agregó DMAP (0,1 equiv.) y piridina (3,0 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para eliminar el MeCN. El residuo se diluyó con H_2O y se extrajo 3x con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (0,4 g, 85 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,36 – 7,20 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 3,17 (dt, J = 13,3, 6,4 Hz, 2H), 2,56 (td, J = 13,2, 11,4, 6,3 Hz, 2H), 2,50 – 2,37 (m, 6H), 1,72 – 1,63 (m, J = 4,0, 3,5 Hz, 4H), 1,49 (s, 2H), 1,28 – 1,20 (m, 4H), 0,81 (q, J = 4,2, 3,2 Hz, 3H).

Intermedio 113d: ácido 3-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)heptanoico



A una solución del intermedio 113c (3,5 g, 1,0 equiv.) en THF(10 mL) se le agregó Pd/C (10 % p/p). La mezcla se purgó 3x con H_2, y la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h en atmósfera de H_2. Luego, la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar un residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el producto como un aceite incoloro (2 g, 75 %). ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10,00 (s, 1H), 6,46 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 5,02 (dt, J = 10,0, 5,2 Hz, 1H), 3,43 – 3,25 (m, 3H), 2,92 (dt, J = 21,7, 6,5 Hz, 6H), 2,37 (qd, J = 14,9, 6,4 Hz, 2H), 1,87 (q, J = 4,4, 2,9 Hz, 4H), 1,64 – 1,45 (m, 2H), 1,24 (h, J = 7,7, 6,7 Hz, 4H), 0,88 – 0,75 (m, 3H).

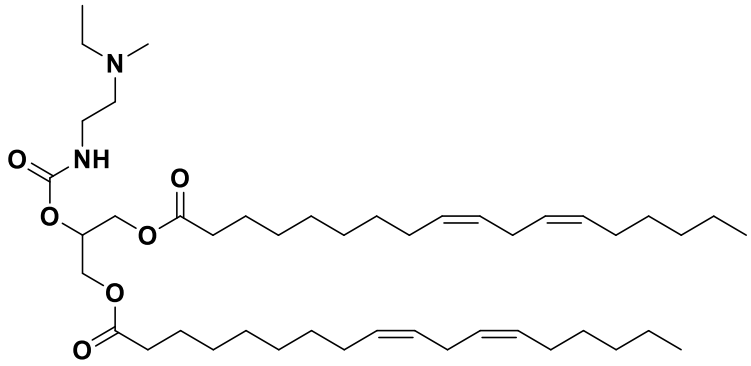
Compuesto 113: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((3-(((2-(pirrolidin-1-il)etil)carbamoil)oxi)heptanoil)oxi)metil)propano-1,3-diilo



El Compuesto 113 se sintetizó a partir del Intermedio 113c y el Intermedio 53a mediante el uso del método empleado en el Compuesto 52. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,37 – 5,18 (m, 8H), 5,00 (q, J = 6,4 Hz, 1H), 4,06 (p, J = 6,5, 6,1 Hz, 6H), 3,21 (p, J = 7,3, 6,8 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,5 Hz, 4H), 2,55 – 2,39 (m, 7H), 2,32 (p, J = 6,0 Hz, 1H), 2,23 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,98 (q, J = 6,8 Hz, 7H), 1,76 – 1,63 (m, 5H), 1,54 (t, J = 7,3 Hz, 6H), 1,33 – 1,15 (m, 30H), 0,82 (t, J = 6,7 Hz, 9H). MS: 900,1 m/z [M+H].

<u>Ejemplo 114 – Compuesto comparativo 114</u>

Compuesto 114: (9Z,9'Z,12Z,12'Z)-bis(octadeca-9,12-dienoato) de 2-(((2-(etil(metil)amino)etil)carbamoil)oxi)propano-1,3-diilo



A una solución del Intermedio 1c (250 mg, 1,0 equiv) en DCM (2 mL) se le agregó piridina (3,0 equiv) y cloroformiato de 4-nitrofenilo (1,1 equiv). La reacción se agitó a 25 °C durante 2 h, momento después del cual la reacción se inactivó mediante la adición de agua y se extrajo 3x con DCM. Las capas orgánicas se secaron en Na2SO4, se filtraron y se concentraron. El residuo bruto resultante se reconstituyó en MeCN (2 mL) seguido por la adición de piridina (3,0 equiv), N1-etil-N1-metiletano-1,2-diamina (1,5 equiv), y DMAP (1,0 equiv). La reacción se agitó a 25 °C durante 16 h. Luego, se agregó heptano a la mezcla de reacción, y la capa de heptano se lavó 3x con MeCN. Las capas de MeCN combinadas se volvieron a extraer tres veces con heptano, y las capas de heptano combinadas se lavaron una última vez con MeCN. Luego, se retiró el heptano al vacío, y el material bruto se purificó mediante cromatografía en columna (MeOH/DCM) para obtener el producto como un aceite incoloro (138 mg, 46 %). 1H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 5,49 – 5,27 (m, 8H), 5,14 (p, J = 5,0 Hz, 1H), 4,33 – 4,12 (m, 4H), 3,29 (q, J = 5,7 Hz, 2H), 2,83 – 2,71 (m, 4H), 2,60 – 2,38 (m, 5H), 2,38 – 2,16 (m, 7H), 2,04 (q, J = 6,9 Hz, 8H), 1,69 – 1,56 (m, 4H), 1,42 – 1,22 (m, 28H), 1,07 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,96 – 0,85 (m, 6H).

Ejemplo 115 – Materiales y métodos

Composiciones de LNP

Se prepararon LNP mediante el uso de varios lípidos con amina en un sistema de lípidos de 4 componentes que consistía en un lípido ionizable (por ejemplo, un lípido con amina), DSPC, colesterol y PEG-2k-DMG.En los ensayos para el porcentaje de edición en el hígado de ratones, se formuló ARNm de Cas9 y ARNgs químicamente modificado dirigidos a una secuencia de ratón en LNP, en una relación de 1:1 p/p o una relación de 1:2 p/p.

Formulación de LNP – flujo cruzado

Los componentes lipídicos se disolvieron en etanol al 100 % con las relaciones molares de componentes lipídicos que se describen a continuación. El ARNm de Cas9 y el ARNgs modificado químicamente se combinaron y se disolvieron en citrato 25 mM, NaCl 100 mM, pH 5,0, lo que produjo una concentración

de la carga de ARN total de aproximadamente 0,45 mg/mL. Las LNP se formularon con una relación de N/P de alrededor de 6, con la relación de ARNgs químicamente modificado: ARNm de Cas9 en una reacción de 1:1 o 1:2 p/p, tal como se describe a continuación.

Las LNP se formaron mediante mezcla por chorro de impacto del lípido en etanol con dos volúmenes de soluciones de ARN y un volumen de agua. El lípido en etanol se mezcla mediante una cruz mezcladora con los dos volúmenes de solución de ARN. Una cuarta corriente de agua se mezcla con la corriente de salida de la cruz a través de una T en línea (Véase, por ejemplo, WO2016010840, Figura 2). Las LNP se mantuvieron durante 1 hora a temperatura ambiente, y se diluyeron adicionalmente con agua (aproximadamente 1:1 v/v). Las LNP diluidas se concentraron mediante el uso de filtración de flujo tangencial en un cartucho de lámina plana (Sartorius, MWCO 100 kD) y luego se les cambió el amortiguador mediante diafiltración en Tris 50 mM, NaCl 45 mM, sacarosa al 5 % (p/v), pH 7,5 (TSS). De manera alternativa, el intercambio final de amortiguador en TSS se completó con columnas desalinizadoras PD-10 (GE). De ser necesario, se concentraron las composiciones mediante centrifugación con filtros para centrífuga Amicon de 100 kDa (Millipore). Luego, la mezcla resultante se filtró mediante el uso de un filtro estéril de 0,2 μm. La LNP final se almacenó de 4 °C o -80 °C hasta su uso posterior.

Analítica de la composición de LNP

Se utiliza dispersión dinámica de la luz («DLS») para caracterizar el índice de polidispersión («pdi») y el tamaño de las LNP de la presente descripción. La DLS mide la dispersión de luz que resulta de someter una muestra a una fuente de luz. El PDI, tal como se determina mediante las mediciones de DLS, representa la distribución de tamaño de las partículas (alrededor del tamaño de partículas promedio) en una población, donde una población perfectamente uniforme tiene un PDI de cero.

Se usa dispersión de luz electroforética para caracterizar la carga superficial de la LNP a un pH específico. La carga superficial, o potencial zeta, es una medida de la magnitud de la repulsión/atracción electrostática entre partículas en la suspensión de LNP.

Se usa fraccionamiento de flujo en campo de flujo asimétrico – dispersión de la luz de múltiples ángulos (AF4-MALS) para separar las partículas en la composición mediante radio hidrodinámico, y luego, se miden los pesos moleculares, los radios hidrodinámicos y los radios de la media cuadrática de las partículas fraccionadas. Esto permite evaluar el peso molecular y las distribuciones de tamaño, así como características secundarias tales como el radio del gráfico de Burchard-Stockmeyer (relación del radio de media cuadrática («rms») respecto al radio hidrodinámico en función del tiempo, lo que sugiere la densidad interna del núcleo de una partícula) y el gráfico de conformación de rms (logaritmo del radio

rms en función del logaritmo de peso molecular cuando la pendiente del ajuste lineal resultante proporciona un grado de compactibilidad en oposición a la elongación).

Se puede usar el análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA, Malvern Nanosight) para determinar la distribución del tamaño de las partículas, así como la concentración de partículas. Las muestras de LNP se diluyen adecuadamente y se inyectan en un portaobjetos de microscopio. Una cámara registra la luz dispersada a medida que las partículas se infunden lentamente a través del campo de visión. Una vez capturada la película, el análisis de seguimiento de nanopartículas procesa la película mediante el seguimiento de píxeles y el cálculo de un coeficiente de difusión. Este coeficiente de difusión puede traducirse en el radio hidrodinámico de la partícula. El instrumento también cuenta la cantidad de partículas individuales contadas en el análisis para obtener la concentración de partículas.

Puede usarse microscopía crioelectrónica («cryo-EM») para determinar el tamaño de las partículas, morfología y características estructurales de una LNP.

El análisis de composición de lípidos de las LNP puede determinarse a partir de cromatografía líquida seguida de detección en aerosol cargado (LC-CAD). Este análisis puede proporcionar una comparación del contenido lipídico real con el contenido lipídico teórico.

Las composiciones de LNP se analizan para determinar el tamaño promedio de las partículas, el índice de polidispersión (pdi), el contenido de ARN total, la eficiencia de encapsulación del ARN y el potencial zeta. Las composiciones de LNP pueden caracterizarse, además, mediante análisis de lípidos, AF4-MALS, NTA, y/o cryo-EM. El tamaño promedio de las partículas y la polidispersión se miden mediante dispersión dinámica de la luz (DLS) mediante el uso de un instrumento Zetasizer DLS de Malvern. Las muestras de LNP se diluyeron con amortiguador PBS antes de medirse con DLS. El diámetro promedio Z, que es una medición basada en la intensidad del tamaño promedio de las partículas, se informó junto con el diámetro promedio en número y el pdi. También se usa un instrumento Malvern Zetasizer para medir el potencial zeta de la LNP. Las muestras se diluyen 1:17 (50 µL en 800 µL) en PBS 0,1X, pH 7,4 antes de la medición. Se usa un ensayo basado en fluorescencia (Ribogreen®, ThermoFisher Scientific) para determinar la concentración de ARN total y ARN libre. Se calcula la eficiencia de encapsulación como (ARN total - ARN libre)/ARN total. Las muestras de LNP se diluyen adecuadamente con amortiguador TE 1x que contiene Triton-X 100 al 0,2 % para determinar el ARN total o amortiguador TE 1x para determinar el ARN libre. Se preparan curvas estándar con el uso de la solución de ARN de partida para elaborar las composiciones y se diluyen en amortiguador TE 1x +/- Triton-X 100 al 0,2 %. Luego, se agrega tinte RiboGreen® diluido (de acuerdo con las instrucciones del fabricante) a cada uno de los estándares y

muestras y se deja incubar durante aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente en ausencia de luz. Se utiliza un lector de microplacas SpectraMax M5 (Molecular Devices) para leer las muestras con longitudes de onda de excitación, corte automático y emisión fijadas en 488 nm, 515 nm y 525 nm, respectivamente. El ARN total y el ARN libre se determinan a partir de las curvas estándar adecuadas.

Se calcula la eficiencia de encapsulación como (ARN total - ARN libre)/ARN total. Puede utilizarse el mismo procedimiento para determinar la eficiencia de encapsulación de un componente de la carga a base de ADN. Puede utilizarse tinte Oligogreen para el ADN monocatenario, y tinte Picogreen para el ADN bicatenario.

AF4-MALS se utiliza para observar las distribuciones de tamaño y peso molecular, así como las estadísticas secundarias de esos cálculos. Las LNP se diluyen según sea adecuado y se inyectan en un canal de separación AF4 mediante el uso de un inyector automático de HPLC cuando se enfocan, y luego, se eluye con un gradiente exponencial en el flujo cruzado a través del canal. Todo el fluido se impulsa mediante una bomba de HPLC y el instrumento Wyatt Eclipse. Las partículas que eluyen del canal AF4 fluyen a través de un detector UV, un detector de dispersión de luz de múltiples ángulos, un detector de dispersión de luz cuasi-elástico y un detector de índice de refracción diferencial. Los datos sin procesar se procesan mediante el uso de un modelo Debye para determinar el peso molecular y el radio de rms a partir de las señales del detector.

Los componentes lipídicos de las LNP se analizan cuantitativamente mediante HPLC acoplada a un detector de aerosol cargado (CAD). La separación cromatográfica de 4 componentes lipídicos se logra mediante HPLC de fase inversa. CAD es un detector destructor basado en la masa que detecta todos los compuestos no volátiles y la señal es coherente independientemente de la estructura del analito.

Cargas de ARNg y ARNm de Cas9

Se preparó la carga de ARNm de Cas9 mediante transcripción *in vitro*. Se generó ARNm de Cas9 con casquetes y poliadenilado que comprendía 1X NLS (SEQ ID NO: 3) o una secuencia de la Tabla 24 de PCT/US2019/053423 (que se incorpora a la presente mediante referencia) mediante transcripción *in vitro* mediante el uso de una plantilla de ADN de plásmido linealizada y ARN polimerasa T7. Por ejemplo, se puede linealizar el ADN de plásmido que contiene un promotor T7 y una región poli(A/T) de 100 nt al incubarlo a 37 °C durante 2 horas con XbaI con las siguientes condiciones: 200 ng/µL de plásmido, 2 U/µL de XbaI (NEB), y amortiguador de reacción 1x. Se puede inactivar XbaI al calentar la reacción a 65 °C durante 20 min. Se puede purificar el plásmido linealizado a partir de la enzima y sales del amortiguador con una columna de sílice maxi spin (Epoch Life Sciences) y analizarse con gel de agarosa

para confirmar la linealización. La reacción IVT para generar ARNm modificado de Cas9 se puede llevar a cabo mediante incubación a 37 °C durante 4 horas en las siguientes condiciones: 50 ng/µL de plásmido linealizado; GTP, ATP, CTP y N1-metil pseudo-UTP (Trilink) 2 mM cada uno; ARCA 10 mM (Trilink); 5 U/µL de ARN polimerasa T7 (NEB); 1 U/µL de inhibidor de RNasa murina (NEB); 0,004 U/µL de pirofosfatasa inorgánica de *E. coli* (NEB); y amortiguador de reacción 1x. Después de una incubación de 4 h, se agregó DNasa TURBO (ThermoFisher) hasta una concentración final de 0,01 U/µL y la reacción se incubó durante otros 30 minutos para eliminar la plantilla de ADN. Se purificó el ARNm de Cas9 con un método que contenía precipitación de LiCl.

Los ARNgs de los siguientes ejemplos se sintetizaron químicamente.

Administración de LNP *in vivo*

Se utilizaron ratones hembra CD-1 de entre 6-10 semanas de edad en cada estudio. Los animales se pesaron y se agruparon de acuerdo con el peso corporal para preparar las soluciones de dosificación en función del peso promedio grupal. Se dosificaron las LNP por medio de la vena lateral de la cola en un volumen de 0,2 mL por animal (aproximadamente 10 mL por kilogramo de peso corporal). Se observó periódicamente a los animales para determinar efectos adversos durante al menos 24 horas después de la dosis.

Para los estudios que miden la edición *in vivo* en el hígado, se dosificó a ratones hembra CD-1 a 0,1 mpk, a menos que se indique lo contrario. Los animales se sacrificaron a los 6 o 7 días mediante desangrado mediante punción cardíaca con anestesia de isoflurano. Se recolectó tejido hepático de cada animal para la extracción y análisis de ADN. Se recolectó la sangre en tubos separadores de suero y en tubos que contenían citrato de sodio amortiguado para plasma, tal como se describe en la presente. Se midieron las cohortes de ratones para determinar la edición mediante secuenciación de última generación (NGS).

Secuenciación NGS

Brevemente, para determinar de forma cuantitativa la eficiencia de edición en la ubicación diana en el genoma, se aisló ADN genómico y se utilizó secuenciación profunda para identificar la presencia de inserciones y eliminaciones introducidas mediante edición génica.

Se diseñaron cebadores de PCR alrededor del sitio diana (por ejemplo, B2M) y se amplificó el área genómica de interés. Se realizó PCR adicional de acuerdo con los protocolos del fabricante (Illumina) para agregar la química necesaria para la secuenciación. Se secuenciaron los amplicones en un instrumento MiSeq de Illumina. Se alinearon las lecturas con el genoma de referencia pertinente (por ejemplo, GRCm38) después de eliminar las que tenían puntuaciones de calidad bajas. Los archivos resultantes de

las lecturas se mapearon respecto al genoma de referencia (archivos BAM), donde se seleccionaron las lecturas que se superponían con la región de interés y se calculó la cantidad de lecturas de tipo salvaje en relación con la cantidad de lecturas que contenían una inserción, sustitución o eliminación.

El porcentaje de edición (por ejemplo, la «eficiencia de edición» o «edición porcentual») se define como la cantidad total de lecturas de secuencia con inserciones o eliminaciones respecto a la cantidad total de lecturas de secuencia, incluidas las de tipo salvaje.

Análisis ELISA de transtiretina (TTR)

Se recolectó sangre y se aisló el suero tal como se indica. Los niveles totales de TTR en suero de ratón se determinaron mediante el uso del kit de ELISA de prealbúmina de ratón (transtiretina) (Aviva Systems Biology, Cat. OKIA00111). Brevemente, los sueros se diluyeron en serie con el diluyente de la muestra del kit, por ejemplo, hasta una dilución final de 10 000 veces y/o 2500 veces. La muestra diluida se agregó a las placas de ELISA y el ensayo se llevó a cabo de acuerdo con las instrucciones. Los datos de TTR en suero de los grupos de tratamiento se expresan como un porcentaje de los niveles de control de vehículo.

Ejemplo 116 - Evaluación de la eficacia de los lípidos mediante edición *in vivo*

Se evaluó la eficiencia de la edición in vivo de los materiales administrados con las formulaciones incluidos varios compuestos lipídicos con amina. La edición se midió mediante el uso de G282 (SEQ ID NO: 1) que se dirige al gen TTR de ratón o G650 (SEQ ID NO: 2) que se dirige al gen B2M de ratón. Se evaluó la eficacia de los lípidos descritos anteriormente mediante experimentos de edición *in vivo*. Las LNP se formularon en una relación de 1:1 p/p de ARNgs con respecto a ARNm de Cas9, y una relación de N/P de alrededor de 6. las concentraciones molares de lípidos en el componente lipídico de las LNP se expresan como % molar de lípido con amina/DSPC/colesterol/PEG-2k-DMG, por ejemplo, 50/10/38,5/1,5. Las LNP finales se caracterizaron para determinar la eficiencia de encapsulación, índice de polidispersión y tamaño promedio de las partículas, de acuerdo con los métodos analíticos proporcionados anteriormente. El análisis del tamaño promedio de las partículas, polidispersión (PDI), contenido de ARN total y eficiencia de encapsulación del ARN se muestran en la Tabla 2. También se midieron los valores de pKa de los siguientes lípidos ionizables y se proporcionan en la Tabla 1.

En el Experimento 9, a continuación, se evaluaron una serie de compuestos que se basan en el compuesto 7 y que varían por la inclusión de un cicloalquilo C_6 o un alquilo C_{4-12} en la posición R^3 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 1A. Tal como se muestra en la Tabla 3 y las Figuras 1B y 1C, los seis compuestos evaluados fueron eficaces para la edición in vivo. En el Ejemplo 119, a continuación, también se evalúan grupos R^3 adicionales en la serie de compuestos basados en el compuesto 7.

Tabla 2 – Analítica de la composición.

Compuesto n.º	Composición relación (% molar)	Encap-sulación (%)	Prom. Z Tamaño (nm)	PDI	Prom. ponderado Tamaño (nm)	Exp.
1	50/10/38,5/1,5	99	79,25	0,085	57,00	1
3	50/10/38,5/1,5	98	83,58	0,042	67,38	1
7	50/10/38,5/1,5	98	87,93	0,052	70,97	1
8	50/10/38,5/1,5	98	94,18	0,066	71,54	1
9	50/10/38,5/1,5	97	83,72	0,049	67,39	1
30	50/10/38,5/1,5	98	116,20	0,040	97,58	1
49	50/9/38/3	99	86,06	0,033	71,23	1
5	50/10/38,5/1,5	97	88,86	0,003	73,37	2
6	50/10/38,5/1,5	98	68,98	0,075	50,12	2
10	50/10/38,5/1,5	98	68,38	0,079	51,46	2
49	50/9/38/3	98	75,34	0,052	59,17	2
11	50/10/38,5/1,5	98	92,55	0,063	70,42	3
12	50/10/38,5/1,5	98	73,87	0,051	56,58	3
49	50/9/38/3	97	78,85	0,036	64,05	3
14	50/10/38,5/1,5	96	95,77	0,023	77,66	4
15	50/10/38,5/1,5	97	90,90	0,055	71,35	4
16	50/10/38,5/1,5	98	84,13	0,039	66,00	4
49	50/9/38/3	98	82,71	0,056	64,97	4
1	50/9/39,5/1,5	96	89,37	0,041	70,27	5
17	50/10/38,5/1,5	98	91,32	0,037	72,26	5
18	50/10/38,5/1,5	99	77,64	0,057	58,93	5
19	50/10/38,5/1,5	99	82,31	0,011	66,83	5
20	50/10/38,5/1,5	98	88,10	0,056	70,77	5
21	50/10/38,5/1,5	99	80,80	0,041	65,00	5
31	50/10/38,5/1,5	98	93,72	0,009	76,38	5

Compuesto n.º	Composición relación (% molar)	Encap-sulación (%)	Prom. Z Tamaño (nm)	PDI	Prom. ponderado Tamaño (nm)	Exp.
32	50/10/38,5/1,5	98	78,88	0,054	62,21	5
33	50/10/38,5/1,5	98	87,33	0,036	70,78	5
34	50/10/38,5/1,5	96	90,69	0,044	73,81	5
35	50/10/38,5/1,5	97	85,62	0,063	68,07	5
36	50/10/38,5/1,5	97	76,38	0,058	60,24	5
49	50/9/38/3	98	82,71	0,056	64,97	5
7	50/10/38,5/1,5	98	95,20	0,020	76,61	6
9	50/10/38,5/1,5	98	85,62	0,048	68,63	6
22	50/10/38,5/1,5	98	98,32	0,026	79,28	6
23	50/10/38,5/1,5	97	94,38	0,048	75,29	6
24	50/10/38,5/1,5	98	109,50	0,133	72,78	6
49	50/9/38/3	99	75,92	0,040	60,22	6
1	50/9/39,5/1,5	97	90,24	0,002	74,63	7
25	50/10/38,5/1,5	99	81,90	0,029	64,59	7
26	50/10/38,5/1,5	99	79,29	0,047	62,17	7
27	50/10/38,5/1,5	99	85,38	0,040	65,81	7
28	50/10/38,5/1,5	98	90,56	0,029	73,19	7
29	50/10/38,5/1,5	83	90,05	0,002	74,44	7
49	50/9/38/3	98	80,07	0,019	64,16	7
34	50/10/38,5/1,5	98	92,98	0,014	75,69	8
38	50/10/38,5/1,5	98	87,14	0,045	68,11	8
49	50/9/38/3	98	86,84	0,020	71,49	8
7	50/10/38,5/1,5	97	89,00	0,034	73,67	9
34	50/10/38,5/1,5	97	85,93	0,043	68,07	9
39	50/10/38,5/1,5	98	89,19	0,004	73,72	9
40	50/10/38,5/1,5	97	98,55	0,023	81,09	9
41	50/10/38,5/1,5	98	109,00	0,036	88,36	9

Compuesto n.º	Composición relación (% molar)	Encap-sulación (%)	Prom. Z Tamaño (nm)	PDI	Prom. ponderado Tamaño (nm)	Exp.
42	50/10/38,5/1,5	98	113,80	0,014	93,70	9
43	50/10/38,5/1,5	97	136,60	0,014	113,90	9
49	50/9/38/3	99	86,26	0,017	70,81	9
49	50/9/38/3	96	83,65	0,031	67,22	9
114	50/10/38,5/1,5	95	120,3	0,011	100,5	9
34	50/10/38,5/1,5	98	92,98	0,014	75,69	10
38	50/10/38,5/1,5	98	87,14	0,045	68,11	10
49	50/9/38/3	98	86,84	0,020	71,49	10
49	50/9/38/3	96	83,65	0,031	67,22	10

En la Tabla 3 se muestran los porcentajes de edición en el hígado de ratón tal como se midió con NGS.

Tabla 3. Eficiencia de edición en el hígado de ratón, que proporciona % formación de indel para los experimentos G282 y G650 y niveles de TTR en suero para los experimentos G282.

	Edición			TTR en suero					
Comp. n.º	% promedio de Indel	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	Número de muestra (n)	TTR en suero (%TSS)	Guía	Exp.
TSS	0,1	0,1	4	884	113	5	100 %	G282	1
1	13,1	8,2	5	671	201	5	76 %	G282	1
3	23,7	8,5	5	691	182	5	78 %	G282	1
7	45,3	8,3	5	270	132	5	31 %	G282	1
8	0,1	0,1	5	745	97	5	84 %	G282	1
9	44,1	13,3	5	339	184	5	38 %	G282	1
30	10,4	4,8	5	841	89	5	95 %	G282	1
49	33,5	8,9	5	388	103	5	44 %	G282	1

	Edición			TTR en suero					
Comp. n.º	% promedio de Indel	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	Número de muestra (n)	TTR en suero (%TSS)	Guía	Exp.
TSS	0,1	0,1	5					G650	2
5	17,5	4,4	5					G650	2
6	0,4	0,1	5					G650	2
10	5,3	1,3	5					G650	2
49	10,2	2,8	4					G650	2
TSS	0,1	0,1	5					G650	3
11	9,2	1,2	5					G650	3
12	5,5	2,4	5					G650	3
49	15,7	5,5	5					G650	3
TSS	0,1	0,0	5					G650	4
14	20,6	8,7	5					G650	4
15	18,0	2,4	5					G650	4
16	10,1	1,7	5					G650	4
49	15,4	3,5	5					G650	4
TSS	0,2	0,1	5					G650	5
1	18,6	3,9	5					G650	5
17	12,3	4,4	5					G650	5
18	4,5	1,4	5					G650	5
19	13,0	4,1	5					G650	5
20	15,4	5,1	5					G650	5
21	12,1	1,4	5					G650	5
31	15,6	1,8	5					G650	5
32	11,6	2,0	5					G650	5
33	20,0	5,0	5					G650	5

	Edición			TTR en suero					
Comp. n.º	% promedio de Indel	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	Número de muestra (n)	TTR en suero (%TSS)	Guía	Exp.
34	44,8	8,3	5					G650	5
35	35,5	6,6	5					G650	5
36	30,0	8,4	5					G650	5
49	22,3	4,6	5					G650	5
TSS	0,0	0,0	5					G650	6
7	22,6	5,6	5					G650	6
9	20,3	2,0	5					G650	6
22	6,7	2,4	5					G650	6
23	7,3	2,0	5					G650	6
24	6,8	0,9	5					G650	6
49	11,4	2,2	5					G650	6
TSS	0,0	0,1	5					G650	7
1	3,2	0,8	5					G650	7
25	10,2	5,5	5					G650	7
26	5,2	1,4	5					G650	7
27	13,0	2,8	5					G650	7
28	17,8	2,5	5					G650	7
29	3,6	0,7	5					G650	7
49	20,5	4,3	5					G650	7
TSS	0,1	0	5	777	89	5	100 %	G282	8
34	50,4	6,3	5	101	62	5	13 %	G282	8
38	26,7	6,1	5	301	51	5	39 %	G282	8
49	38,6	8,0	5	247	82	5	32 %	G282	8
TSS	0,1	0,1	5	812	33	5	100 %	G282	9

	Edición			TTR en suero					
Comp. n.º	% promedio de Indel	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	Número de muestra (n)	TTR en suero (%TSS)	Guía	Exp.
7	46,1	6,8	5	271	73	5	33 %	G282	9
34	32,4	5,4	5	367	97	5	45 %	G282	9
39	36,5	7,3	5	335	99	5	41 %	G282	9
40	44,7	8,1	5	251	61	5	31 %	G282	9
41	28,8	15,9	5	393	190	5	48 %	G282	9
42	21,6	7,3	5	473	122	5	58 %	G282	9
49	15,8	6,6	5	602	60	5	74 %	G282	9
49	30,7	6,7	5	527	145	5	65 %	G282	9
114	0,8	1,1	5	637	49	5	78 %	G282	9
TSS	0,1	0	5	777	89	5	100 %	G282	10
34	50,4	6,3	5	101	62	5	13 %	G282	10
38	26,7	6,1	5	301	51	5	39 %	G282	10
49	38,6	8,0	5	247	82	5	32 %	G282	10
49	30,4	5,1	5	311	76	5	38 %	G282	10

Ejemplo 117 – Capacidad de respuesta a la dosis de la edición en el hígado

Para evaluar si la edición respondía a la dosis, se realizaron experimentos *in vivo* en varios niveles de dosis de LNP. Se formuló el ARNm de Cas9 del Ejemplo 115 como LNP con un ARNgs que se dirige a TTR (G00282; SEQ ID NO: 1). Se formularon estas LNP en una relación de 1:1 p/p de ARNgs y ARNm de Cas9. Se formularon las LNP mediante el uso del procedimiento de flujo cruzado con composiciones molares lipídicas tales como las descritas en la Tabla 4 en una relación de N/P de 6,0.

Se analizaron las composiciones de LNP para determinar el tamaño promedio de las partículas, la polidispersión (pdi), el contenido de ARN total y la eficiencia de encapsulación de ARN, tal como se describe en el Ejemplo 115.

El análisis del tamaño promedio de partículas, la polidispersión (PDI), el contenido total de ARN y la

eficiencia de encapsulación del ARN se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: Analítica de la composición

Número de compuesto	Relación de composición (% molar)	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)
7	50/10/38,5/1,5	97	85,09	0,033	68,39
9	50/10/38,5/1,5	97	74,83	0,033	59,99
49	50/9/38/3	98	84,93	0,007	69,51

Se dosificó i.v. a ratones hembra CD-1 a 0,1 mpk o 0,3 mpk y se evaluó para determinar la edición en el hígado. Los resultados se muestran en la Figura 2 y la Tabla 5.

Tabla 5: Edición en el hígado de TTR y nivel de TTR en suero para la respuesta a la dosis

Número de compuesto	Dosis (mpk)	% promedio de Indel	SD	N
TSS	n/a	0,4	0,1	5
7	0,1	49,1	8,9	5
7	0,3	69,4	0,8	5
9	0,1	50,6	6,5	5
9	0,3	64,5	3,8	5
49	0,1	26,8	5,7	5
49	0,3	60,6	5,9	5

Ejemplo 118

Para evaluar la posibilidad de aumento de la dosificación, se llevaron a cabo experimentos de respuesta a la dosis *in vivo*. Se formuló el ARNm de Cas9 del Ejemplo 115 como LNP con un ARNg que se dirige a TTR (G00282; SEQ ID NO: 1). Se formularon, prepararon y analizaron estas LNP, tal como se describe en el Ejemplo 115, mediante el uso de una relación de 1:1 p/p de ARNgs y ARNm de Cas9. El análisis de la composición para estas LNP se describe en la Tabla 6.

Tabla 6: Analítica de la composición

Número de compuesto	Relación de composición (% molar)	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)
Compuesto 5	50/10/38,5/1,5	99	76,02	0,009	62,64
Compuesto 34	50/10/38,5/1,5	98	86,45	0,015	71,97
Compuesto 49	50/9/38/3	99	83,63	0,011	69,75

Se dosificó i.v. a ratones hembra CD-1 a 0,1 mpk o 0,3 mpk y se evaluó para determinar la edición en el hígado. Los resultados se muestran en la Figura 3A y la Figura 3B y la Tabla 7.

Tabla 7: Edición y niveles de TTR en suero

		Edición			TTR en suero			
Compuesto Número	Dosis (mpk)	% promedio de Indel	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS
TSS	TSS	0,1	0,0	5	818	118	5	100 %
5	0,1	26,1	2,2	5	549	33	5	67 %
5	0,3	52,5	5,1	5	233	100	5	28 %
34	0,1	54,9	4,6	4	170	55	4	21 %
34	0,3	68,3	1,5	5	45	12	5	5 %
49	0,1	50,0	11,5	5	254	107	4	31 %
49	0,3	67,7	2,5	5	40	13	3	5 %

Ejemplo 119 - Evaluación de la eficacia de administración de lípidos mediante edición *in vivo*

Se evaluó la eficiencia de edición in vivo para los materiales administrados con las formulaciones con longitudes de cola variables a través de experimentos de edición *in vivo*. Se formularon LNP, tal como se describió anteriormente, con G502 (SEQ ID NO: 4), que se dirige al gen TTR de ratón, que se usó para medir la edición. Las formulaciones contenían una relación de 1:2 p/p de ARNgs con respecto a ARNm de Cas9. La caracterización de las LNP finales se muestra en la Tabla 8. Se midieron los valores de pKa de los lípidos ionizables y se muestran en la Tabla 1.

En el Experimento 4, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 7 que varían por la

inclusión de un alquilo C_{5-12} en la posición R^3 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 4A. Tal como se muestra en la Tabla 9 y las Figuras 4B y 4C, los cinco compuestos evaluados fueron eficaces para la edición in vivo.

En el Experimento 8, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 9 que varían por la inclusión de un alquilo C_{5-12} en la posición R^3 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 5A. En el Experimento 2, se evaluó el Compuesto 287 de esta serie que incluía un alquilo C_4 en la posición R^3. Tal como se muestra en la Tabla 9 y las Figuras 5B y 5C, todos los compuestos evaluados en esta serie fueron eficaces para la edición in vivo.

En el Experimento 3, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 46 que varían por la inclusión de un alquilo C_{5-8} en la posición R^3 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 6A. El Compuesto 46 incluye un alquilo a C_{12} en la posición R^3, y se evaluaron compuestos con longitud de la cola variable. Tal como se muestra en la Tabla 9 y las Figuras 6B y 6C, los compuestos con grupos R^3 con C_5 (Compuesto 72), C_6 (Compuesto 50), C_7 (Compuesto 76), y C_8 (Compuesto 51) fueron eficaces para la edición in vivo.

En el Experimento 7, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 5 que varían por la inclusión de un alquilo C_{5-10} en la posición R^3 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 7A. En el Experimento 2, se evaluó el Compuesto 66 de esta serie que incluye un alquilo C_4 en la posición R^3. El Compuesto 5 incluye un alquilo C_{12} en la posición R^3, y se demostró que es eficaz para la edición in vivo en los Ejemplos 116 y 118. Tal como se muestra en la Tabla 9 y las Figuras 7B y 7C, todos los compuestos adicionales evaluados en esta serie fueron eficaces para la edición in vivo.

En el Experimento 1, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 34 que varían en las posiciones X^1 e Y^1 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 8A. El Compuesto 52 y el Compuesto 34 comparten grupos dilinoleicos en la posición Y^1 y varían por la inclusión de grupos alquileno C_{0-1} en la posición X^1. El Compuesto 53, el Compuesto 54 y el Compuesto 55 comparten grupos triol en la posición Y^1 y varían por la inclusión de un grupo alquileno C_{0-2} en la posición X^1. El Compuesto 56, el Compuesto 57 y el Compuesto 58 comparten grupos de 20 átomos en la posición Y^1 y varían por la inclusión de un grupo alquileno C_{0-1} en la posición X^1. El Compuesto 59, el Compuesto 60 y el Compuesto 61 comparten grupos de 21 átomos en la posición Y^1 y varían por la inclusión de un grupo alquileno C_{0-2} en la posición X^1. El Compuesto 62, el Compuesto 63 y el Compuesto 64 comparten grupos de 21 átomos y linoleico heterogéneo en la posición Y^1 y varían por la inclusión de un grupo alquileno C_{0-2} en la posición X^1. Tal como se muestra en la Tabla 9 y las Figuras 8B y 8C, todos los compuestos evaluados fueron

eficaces para la edición in vivo.

En el Experimento 5, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 50 que varían en las posiciones X^2 de la Fórmula (1A), tal como se ilustra en Figura 9A. Tal como se muestra en la Tabla 9 y las Figuras 9B y 9C, todos los compuestos evaluados fueron eficaces para la edición in vivo en la dosis de 0,1 mpk.

En el Experimento 6, se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 34, tal como se ilustra en Figura 10A. El Compuesto 86 y el Compuesto 99 varían con respecto al Compuesto 34 en la posición X^1 de la Fórmula (1A). El Compuesto 103 varía con respecto al Compuesto 34 en la posición de R^3 de la fórmula (1A). El Compuesto 87 y el Compuesto 88 representan los enantiómeros R y S en el carbono entre las posiciones R^3 y X^1 del Compuesto racémico 34. Los datos se muestran en la Tabla 9 y las Figuras 10B y 10C. Todos los compuestos evaluados en esta serie en ratones fueron eficaces para la edición in vivo.

En el Experimento 9, se evaluó una serie de compuestos basados en el Compuesto 50, tal como se ilustra en Figura 11A. El Compuesto 90 y el Compuesto 89 representan los enantiómeros R y S en el carbono entre las posiciones R^3 y X^1 del Compuesto racémico 50. El Compuesto 100 y el Compuesto 107 varían con respecto al Compuesto 50 en las posiciones R^3 y X^1. El Compuesto 105, el Compuesto 106 y el Compuesto 108 varían con respecto al Compuesto 50 en la posición R^3. Los datos se muestran en la Tabla 9 y la s Figuras 11B y 11C. Todos los compuestos evaluados en esta serie en ratones fueron eficaces para la edición in vivo.

Tabla 8 – Analítica de la composición

Comp. n.º	Composición Relación (% molar)	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)	Exp.
49	50/9/38/3	98 %	87,92	0,05	69,84	1
1	50/10/38,5/1,5	99 %	68,63	0,04	54,84	1
34	50/10/38,5/1,5	98 %	93,66	0,02	76,32	1
52	50/10/38,5/1,5	98 %	90,75	0,03	74,35	1
53	50/10/38,5/1,5	99 %	92,99	0,05	75,76	1
54	50/10/38,5/1,5	99 %	94,16	0,04	75,05	1
55	50/10/38,5/1,5	97 %	117,30	0,02	99,29	1

Comp. n.º	Composición Relación (% molar)	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)	Exp.
56	50/10/38,5/1,5	96 %	112,50	0,03	91,81	1
57	50/10/38,5/1,5	98 %	100,40	0,02	83,73	1
59	50/10/38,5/1,5	97 %	109,90	0,03	88,36	1
60	50/10/38,5/1,5	97 %	103,40	0,07	79,57	1
61	50/10/38,5/1,5	97 %	102,00	0,06	79,7	1
62	50/10/38,5/1,5	97 %	106,40	0,04	87,26	1
63	50/10/38,5/1,5	98 %	106,00	0,04	82,18	1
64	50/10/38,5/1,5	97 %	106,40	0,02	86,19	1
49	50/9/39,5/3	98 %	88,36	0,014	73,13	2
44	50/9/39,5/1,5	99 %	97,65	0,034	78,34	2
45	50/9/39,5/1,5	99 %	102,70	0,021	85,54	2
67	50/9/39,5/1,5	99 %	102,20	0,043	82,14	2
68	50/9/39,5/1,5	99 %	122,30	0,051	100,4	2
49	50/9/38/3	93	77,07	0,03	63,19	3
50	50/10/38,5/1,5	98	94,33	0,02	76,57	3
51	50/10/38,5/1,5	98	96,78	0,02	80,57	3
72	50/10/38,5/1,5	98	106,80	0,02	88,38	3
76	50/10/38,5/1,5	98	94,32	0,01	78,11	3
49	50/9/38/3	98	81,83	0,026	66,26	4
7	50/10/38,5/1,5	98	87,61	0,002	73,07	4
39	50/10/38,5/1,5	98	89,83	0,015	73,52	4
40	50/10/38,5/1,5	97	101,10	0,027	81,51	4
69	50/10/38,5/1,5	96	108,90	0,017	88,76	4
73	50/10/38,5/1,5	97	95,81	0,029	76,59	4
49	50/10/38,5/1,5	98	83,00	0,03	65	5
50	50/10/38,5/1,5	98	103,00	0,06	77	5
77	50/10/38,5/1,5	98	104,00	0,08	78	5

Comp. n.º	Composición Relación (% molar)	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)	Exp.
78	50/10/38,5/1,5	97	91,00	0,13	59	5
79	50/10/38,5/1,5	98	75,00	0,09	55	5
84	50/10/38,5/1,5	99	91,00	0,03	75	5
49	50/9/38/3	99 %	90,00	0,02	74	6
34	50/10/38,5/1,5	98 %	89,00	0,03	73	6
86	50/10/38,5/1,5	98 %	87,00	0,04	68	6
99	50/10/38,5/1,5	99 %	79,00	0,03	64	6
103	50/10/38,5/1,5	91 %	102,00	0,01	82	6
87	50/10/38,5/1,5	98 %	83,00	0,06	63	6
88	50/10/38,5/1,5	98 %	88,00	0,02	73	6
49	50/9/38/3	93	77,07	0,026	63,19	7
66	50/10/38,5/1,5	98	79,79	0,035	65,07	7
36	50/10/38,5/1,5	98	75,9	0,058	58,34	7
75	50/10/38,5/1,5	98	89,78	0,02	73,46	7
45	50/10/38,5/1,5	98	95,26	0,012	77,92	7
71	50/10/38,5/1,5	97	104,5	0,035	86,63	7
49	50/9/38/3	98 %	84,47	0,026	69,01	8
9	50/10/38,5/1,5	98 %	64,83	0,074	48,82	8
65	50/10/38,5/1,5	99 %	69,67	0,056	52,04	8
35	50/10/38,5/1,5	99 %	81,51	0,068	62,82	8
74	50/10/38,5/1,5	99 %	92,14	0,024	74,58	8
44	50/10/38,5/1,5	99 %	104,3	0,034	85,76	8
70	50/10/38,5/1,5	99 %	124,2	0,018	102	8
49	50/9/38/3	98	87	0,04	70	9
50	50/10/38,5/1,5	97	98	0,04	78	9
90	50/10/38,5/1,5	98	99	0,02	81	9
89	50/10/38,5/1,5	98	88	0,01	73	9

Comp. n.º	Composición Relación (% molar)	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)	Exp.
100	50/10/38,5/1,5	99	102	0,05	83	9
105	50/10/38,5/1,5	99	80	0,02	64	9
106	50/10/38,5/1,5	99	91	0,01	74	9
107	50/10/38,5/1,5	98	89	0,03	72	9
108	50/10/38,5/1,5	99	89	0,03	73	9
49	50/9/38/3	0,98	90	0,04	75	10
34	50/10/38,5/1,5	0,98	95	0,03	77	10
91	50/10/38,5/1,5	0,98	97	0,01	82	10
92	50/10/38,5/1,5	0,98	67	0,06	51	10
93	50/10/38,5/1,5	0,98	103	0,01	86	10
94	50/10/38,5/1,5	0,98	70	0,06	53	10
95	50/10/38,5/1,5	0,98	105	0,01	88	10
51	50/10/38,5/1,5	0,98	98	0,02	82	10
96	50/10/38,5/1,5	0,98	89	0,03	73	10
97	50/10/38,5/1,5	0,98	92	0,03	75	10

En la Tabla 9 se muestran los porcentajes de edición en el hígado de ratón tal como se midió con NGS.

Tabla 9. Eficiencia de edición en el hígado de ratón, que proporciona % formación de indel para los experimentos G502 y niveles de TTR en suero.

		Edición			TTR en suero				
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Exp.
TSS	n/a	0,1	0,00	5	1076,77	368,43	5	100,00	1
49	0,1	37,58	10,65	5	501,07	107,20	5	46,53	1
1	0,1	28,82	9,24	5	522,07	212,60	5	48,49	1
34	0,1	64,95	4,74	5	101,04	45,14	5	9,38	1

		Edición			TTR en suero				
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Exp.
52	0,1	60,14	8,13	5	186,42	92,64	5	17,31	1
53	0,1	61,50	4,89	5	150,43	53,66	5	13,97	1
54	0,1	57,22	5,81	5	197,28	90,55	5	18,32	1
55	0,1	15,86	7,12	5	783,74	94,62	5	72,79	1
56	0,1	16,94	2,41	5	750,53	94,88	5	69,70	1
57	0,1	50,76	11,63	5	264,64	112,65	5	24,58	1
59	0,1	10,28	6,63	5	868,93	145,85	5	80,70	1
60	0,1	23,88	12,59	5	651,52	199,20	5	60,51	1
61	0,1	9,40	1,17	5	877,31	93,63	5	81,48	1
62	0,1	23,74	9,69	5	623,37	138,65	5	57,89	1
63	0,1	6,53	2,41	5	902,96	96,13	5	83,86	1
64	0,1	5,84	1,04	5	919,42	90,82	5	85,39	1
TSS	n/a	0,24	0,05	5	1232,25	259,96	5	100,00	2
49	0,03	6,5	0,39	5	1128,34	197,52	5	91,56	2
4	0,03	8,6	1,00	5	900,69	291,61	5	73,09	2
45	0,03	5,16	1,38	5	965,93	156,29	5	78,39	2
67	0,03	5,94	1,63	5	806	219,39	5	65,41	2
68	0,03	6,48	0,05	5	845,04	259,96	5	68,58	2
TSS	n/a	0,18	0,04	5	1161,07	311,28	5	100,00	3
49	0,03	5,02	2,30	5	960,376	129,68	5	82,71	3
49	0,1	30,66	10,27	5	544,37	183,72	5	46,89	3
50	0,03	37,54	24,51	5	528,43	165,52	5	45,51	3
50	0,1	65,56	3,59	5	160,42	44,32	5	13,82	3
51	0,03	38,8	5,98	5	447,172	44,70	5	38,51	3
51	0,1	65,62	4,90	5	108,258	49,36	5	9,32	3
72	0,03	27,72	10,69	5	777	191,77	5	66,92	3
72	0,1	53,06	8,34	5	306,856	39,10	5	26,43	3

		Edición			TTR en suero				
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Exp.
76	0,03	27,32	14,64	5	939,50	171,63	5	69,72	3
76	0,1	63,08	6,07	5	148,554	67,25	5	12,79	3
TSS	n/a	0,24	0,05	5	690,45	84,84	5	100 %	4
49	0,03	28,78	9,67	5	464,17	74,74	5	67 %	4
49	0,1	56,82	4,70	5	154,53	60,30	5	22 %	4
7	0,03	38,23	13,85	4	397,92	52,45	4	58 %	4
7	0,1	66,72	5,63	5	66,59	45,44	5	10 %	4
69	0,03	36,68	6,47	5	370,88	69,44	5	54 %	4
69	0,1	67,38	5,13	4	85,93	27,44	4	12 %	4
40	0,03	34,53	5,48	4	529,70	128,79	4	77 %	4
40	0,1	69,44	2,12	5	64,65	21,93	5	9 %	4
73	0,03	57,32	7,29	5	173,78	81,14	5	25 %	4
73	0,1	70,76	2,03	5	30,62	14,97	5	4 %	4
39	0,03	44,74	14,44	5	286,24	100,55	5	41 %	4
39	0,1	66,66	4,44	5	39,85	20,49	5	6 %	4
TSS	n/a	0,16	0,05	5	809,30	145,45	5	100	5
49	0,03	16,98	10,77	5	592,00	150,58	5	73,1	5
49	0,1	40,32	11,31	5	379,70	106,18	5	46,9	5
77	0,03	5,18	0,79	5	552,80	84,36	5	68,3	5
77	0,1	10,36	3,05	5	652,20	179,50	5	80,6	5
78	0,03	7	2,04	5	807,50	97,21	5	99,8	5
78	0,1	24,2	7,13	5	537,90	74,96	5	66,5	5
79	0,03	0,58	0,19	5	703,50	195,81	5	86,9	5
79	0,1	3,34	1,51	5	812,20	203,80	5	100,4	5
84	0,03	11,24	3,37	5	649,70	161,07	5	80,3	5
84	0,1	18,86	9,21	5	592,10	98,42	5	73,2	5
50	0,03	23,92	3,08	5	567,70	202,13	5	70,1	5

		Edición			TTR en suero				
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Exp.
50	0,1	49,6	14,63	5	241,90	104,88	5	29,9	5
TSS	n/a	0,1	0,07	5	964,34	179,38	5	100,00	6
49	0,03	3,28	1,05	5	969,91	131,91	5	100,57	6
49	0,1	26,88	6,84	5	609,23	222,39	5	63,17	6
34	0,03	19,66	3,87	5	820,73	196,33	5	85,10	6
34	0,1	50,82	2,43	5	306,74	84,07	5	31,80	6
86	0,03	9,62	5,42	5	897,846	166,96	5	93,10	6
86	0,1	50,7	6,45	5	277,696	38,44	5	28,80	6
99	0,03	10,2	4,30	5	891,268	228,52	5	92,42	6
99	0,1	37,12	6,54	5	413,382	113,60	5	42,87	6
103	0,03	20,16	7,23	5	696,58	103,62	5	72,23	6
103	0,1	51,98	7,53	5	280,156	106,56	5	29,05	6
87	0,03	16,08	4,23	5	773,57	157,56	5	80,21	6
87	0,1	51,78	6,51	5	321,386	85,50	5	33,33	6
88	0,03	20,66	9,33	5	723,87	105,48	5	75,06	6
88	0,1	57,32	7,41	5	322,566	132,08	5	33,45	6
TSS	n/a	0,16	0,05	5	1648,15	261,09	5	100	7
49	0,03	4,08	1,33	5	1459,99	292,22	5	88,584	7
49	0,1	27,5	8,04	5	860,90	343,62	5	52,234	7
66	0,03	27,64	8,25	5	901,24	307,33	5	54,682	7
66	0,1	55,26	4,08	5	324,25	115,30	5	19,674	7
36	0,03	9,96	0,82	5	1249,04	115,28	5	75,785	7
36	0,1	35,92	2,78	5	722,28	85,81	5	43,824	7
75	0,03	29,6	6,95	5	743,29	58,71	5	45,098	7
75	0,1	57,22	7,58	5	197,72	99,45	5	11,996	7
45	0,03	31,1	4,96	5	715,87	97,41	5	43,435	7
45	0,1	60,3	6,80	5	166,30	55,94	5	10,09	7

		Edición			TTR en suero				
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Exp.
71	0,03	20,94	7,55	5	781,63	115,04	5	47,425	7
71	0,1	55,78	2,10	5	248,13	55,94	5	15,055	7
TSS	n/a	0,1	0,00	5	748,33	130,95	5	100,00	8
49	0,03	7,62	6,50	5	735,41	83,84	5	98,27	8
49	0,1	37,46	4,17	5	369,43	45,54	5	49,37	8
9	0,03	0,84	0,46	5	853,25	107,87	5	114,02	8
9	0,1	3,46	1,09	5	772,22	172,17	5	103,19	8
65	0,03	1,32	0,31	5	896,77	143,42	5	119,84	8
65	0,1	10,12	9,68	5	742,52	151,70	5	99,22	8
35	0,03	4,46	0,70	5	780,47	74,29	5	104,30	8
35	0,1	17,94	4,99	5	741,82	79,87	5	99,13	8
74	0,03	4,36	1,25	5	752,38	120,29	5	100,54	8
74	0,1	11,12	1,63	5	823,58	126,35	5	110,06	8
44	0,03	4,76	1,10	5	897,76	51,74	5	119,97	8
44	0,1	17,97	7,30	5	589,60	52,34	5	78,79	8
70	0,03	4,84	1,77	5	945,08	81,30	5	126,29	8
70	0,1	8,04	1,17	5	654,70	98,42	5	87,49	8
TSS	n/a	0,1	0,00	5	964,50	154,71	5	100	9
49	0,03	20,54	12,51	5	677,31	194,76	5	70,22	9
50	0,03	21,74	8,62	5	687,70	218,46	5	71,3	9
90	0,03	26,02	5,64	5	578,26	188,44	5	59,95	9
89	0,03	31,02	2,76	5	469,27	63,53	5	48,65	9
100	0,03	31,3	6,03	5	450,19	47,05	5	46,68	9
105	0,03	33,86	8,75	5	462,70	120,85	5	47,97	9
106	0,03	11,58	3,69	5	795,41	161,67	5	82,47	9
106	0,03	1,98	1,16	5	855,49	158,34	5	88,7	9
107	0,03	26,98	4,62	5	564,55	102,79	5	58,53	9

		Edición			TTR en suero				
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Exp.
108	0,03	27	4,04	5	550,89	102,92	5	57,12	9
TSS	n/a	0,14	0,05	5	767,76	98,15	5	100 %	10
49	0,03	10,33	2,15	4	704,2	126,26	4	92 %	10
34	0,03	37,44	10,7	5	419,07	133,1	5	55 %	10
91	0,03	22,7	6,77	5	681,26	63,6	5	89 %	10
92	0,03	2,38	0,79	5	923,39	226,76	5	120 %	10
93	0,03	12,68	1,94	5	765,38	95,14	5	100 %	10
94	0,03	1,82	1,29	5	838,22	110,3	5	109 %	10
95	0,03	37,96	13,54	5	589,77	283,04	5	77 %	10
51	0,03	30,86	4,36	5	619,84	114,91	5	81 %	10
96	0,03	28,04	3,67	5	540,39	120	5	70 %	10
97	0,03	28,26	3,88	5	603,03	177,26	5	79 %	10

Ejemplo 120. Eficacia de edición y tolerabilidad de los lípidos *in vivo*

Para evaluar la eficacia de los lípidos, se llevaron a cabo experimentos de respuesta a la dosis *in vivo*. Se formuló el ARNm de Cas9 del Ejemplo 115 como LNP con un ARNg que se dirige a TTR (G00534; SEQ ID NO: 5). Se formularon, prepararon y analizaron estas LNP, tal como se describe en el Ejemplo 115, mediante el uso de una relación de 1:2 p/p de ARNgs y ARNm de Cas9. El análisis de la composición para estas LNP se describe en la Tabla 10.

Tabla 10. Analítica de la composición

Compuesto Número	Composición	Encapsulación (%)	Tamaño prom. Z (nm)	PDI	Tamaño prom. en número (nm)
49	50/9/38/3	97	87,84	0,028	69,85
34	50/10/38,5/1,5	93	96,43	0,052	76,08

45	50/10/38,5/1,5	95	101,00	0,052	83,48
50	50/10/38,5/1,5	87	98,55	0,050	79,18

Para determinar la eficacia, se dosificó i.v. a ratas hembra Sprague Dawley a 0,1 mpk o 0,03 mpk. 6-7 días después de la dosis, las ratas se sacrificaron mediante asfixia con CO2. La sangre se recolectó en tubos separadores de suero. La biopsia de hígado se procesó para el ADNg y se evaluó para determinar la edición mediante los métodos de NGS descritos en el Ejemplo 115. Los resultados se muestran en la Tabla 11 y las Figuras 12A y 12B. Para determinar la tolerabilidad, se dosificó a ratas hembra Sprague Dawley a 6 mpk y, 24 horas después de la dosis, los animales se sacrificaron mediante asfixia con CO2. La sangre se recolectó en tubos separadores de suero y se envió a un CRO externo para la cuantificación de las enzimas hepáticas mediante un panel de enzimas hepáticas. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 11. Eficiencia de edición en ratas, que proporciona % formación de indel para los experimentos G534 y niveles de TTR en suero.

		Edición			TTR en suero					
Compuesto n.º	Dosis (mpk)	% de edición	SD	N	TTR en suero (ug/ml)	SD	N	%TSS	Guías (ARNg)	Exp.
TSS		0,1	0,00	5	845,3	70,69	5	100 %	G534	1
49	0,03	4,76	1,49	5	790,9	82,94	5	94 %	G534	1
49	0,1	25,62	14,18	5	669,5	181,13	5	79 %	G534	1
34	0,03	21,22	6,54	5	514,2	119,36	5	61 %	G534	1
34	0,1	53,9	7,17	5	188,9	112,67	5	22 %	G534	1
45	0,03	10,76	8,80	5	910,4	73,77	5	110 %	G534	1
45	0,1	48,16	2,90	5	270,7	109,71	5	32 %	G534	1
50	0,03	26,9	9,04	5	581,7	76,89	5	69 %	G534	1
50	0,1	62,6	1,04	5	116,6	24,78	5	14 %	G534	1

Tabla 12. Resultados del panel de enzimas hepáticas de hígado de rata

Comp. n.º	Dosis (mg/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Creatina cinasa (U/L)	GGT (U/L)	ALP (U/L)	Bilirrubina total (mg/dL)
TSS		47	72	132,2	0	318,4	0,1
49	6	408,5	534,8	157,5	2	784,3	0,6
34	6	179,6	349,6	184,8	3,4	542	0,2
45	6	163,2	681	1103	2,4	439,8	0,3
50	6	250,8	820,8	272	11	508,6	0,4

Ejemplo 121 – Edición in vitro con compuestos de la serie alquilo R^3

Se evaluaron una serie de compuestos basados en el Compuesto 46 que varían por la inclusión de un alquilo C_{4-12} en la posición R^3 de la Fórmula (1A) (tal como se ilustra en Figura 13A) para la edición in vitro. Se cultivó la línea de células de carcinoma HUH7 (Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank, Cat. JCRB0403) en medio DMEM suplementado con suero bovino fetal al 10 % y penicilina-estreptomicina al 1 %. Las células se colocaron en placas a una densidad de 20 000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos 24 horas antes de la transfección (~80 % de confluencia al momento de la transfección). Se formularon las LNP a una relación de 1:2 p/p de ARNgs y ARNm de Cas9 mediante el uso del procedimiento de flujo cruzado con composiciones molares lipídicas tales como las descritas en la Tabla 13 en una relación de N/P de 6,0. Se analizaron las composiciones de LNP para determinar el tamaño promedio de las partículas, la polidispersión (pdi), el contenido de ARN total y la eficiencia de encapsulación de ARN, tal como se describe en el Ejemplo 115. El análisis del tamaño promedio de partículas, la polidispersión (PDI), el contenido total de ARN y la eficiencia de encapsulación del ARN se muestran en la Tabla 13. Las LNP se diluyeron en medio, se incubaron durante 5 minutos a 37C y se pipetearon sobre células a una dosis de 2000 ng de ARN por pocillo. Cada condición se evaluó por duplicado biológico. Las células se cosecharon después de la transfección a las 6 horas. El ADN genómico se extrajo mediante el uso de 50 µL/pocillo de solución de extracción de ADN BuccalAmp (Epicentre, Cat. QE09050) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Todas las muestras de ADN se sometieron a PCR y el posterior análisis de NGS, para la edición en el locus diana G000502, tal como se describió anteriormente. Tal como se muestra en la Tabla 14 y la Figura 13B, todos los compuestos evaluados fueron eficaces para la edición in vitro.

Tabla 13 – Analítica de la composición

Comp. n.º	Relación de composición (% molar)	Tamaño prom. Z [nm]	PDI	Promedio en número [nm]	%E
49	50/9/38/3	93,14	0,015	74,82	98
34	50/10/38,5/1,5	93,01	0,009	75,88	97
46	50/10/38,5/1,5	94,54	0,003	76,76	99
51	50/10/38,5/1,5	97,21	0,009	80	98
76	50/10/38,5/1,5	98,79	0,024	81,12	97
50	50/10/38,5/1,5	102,8	0,021	84,16	97
72	50/10/38,5/1,5	111,4	0,018	91,47	94
85	50/10/38,5/1,5	117,1	0,045	93,05	96

Tabla 14 – Edición in vitro

Comp. n.º	Edición	SD
49	22,6	0,8
34	49,0	2,5
46	63,7	6,4
51	69,0	9,7
76	61,2	9,9
50	64,3	5,6
72	65,8	7,3
85	66,4	0,4

TABLA DE SECUENCIAS

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
G00282	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmG	1

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
ARNgs dirigido a TTR de ratón	mCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmU mGmCmU*mU*mU*mU	
G00650 ARNgs dirigido a B2M humano	mG*mA*mC*AAGCACCAGAAAGACCAGUUUUAGAmG mCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmU mGmCmU*mU*mU*mU	2
ARNm que codifica Cas9	GGGUCCCGCAGUCGGCGUCCAGCGGCUCUGCUUGUU CGUGUGUGUGUCGUUGCAGGCCUUAUUCGGAUCCG CCACCAUGGACAAGAAGUACAGCAUCGGACUGGAC AUCGGAACAAACAGCGUCGGAUGGGCAGUCAUCAC AGACGAAUACAAGGUCCCGAGCAAGAAGUUCAAGG UCCUGGGAAACACAGACAGACACAGCAUCAAGAAG AACCUGAUCGGAGCACUGCUGUUCGACAGCGGAGA AACAGCAGAAGCAACAAGACUGAAGAGAACAGCAA GAAGAAGAUACACAAGAAGAAAGAACAGAAUCUGC UACCUGCAGGAAAUCUUCAGCAACGAAAUGGCAAA GGUCGACGACAGCUUCUUCCACAGACUGGAAGAAA GCUUCCUGGUCGAAGAAGACAAGAAGCACGAAAGA CACCCGAUCUUCGGAAACAUCGUCGACGAAGUCGCA UACCACGAAAAGUACCCGACAAUCUACCACCUGAGA AAGAAGCUGGUCGACAGCACAGACAAGGCAGACCU GAGACUGAUCUACCUGGCACUGGCACACAUGAUCA AGUUCAGAGGACACUUCCUGAUCGAAGGAGACCUG AACCCGGACAACAGCGACGUCGACAAGCUGUUCAUC CAGCUGGUCCAGACAUACAACCAGCUGUUCGAAGA	3

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
	AAACCCGAUCAACGCAAGCGGAGUCGACGCAAAGG CAAUCCUGAGCGCAAGACUGAGCAAGAGCAGAAGA CUGGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGAGAAAA GAAGAACGGACUGUUCGGAAACCUGAUCGCACUGA GCCUGGGACUGACACCGAACUUCAAGAGCAACUUC GACCUGGCAGAAGACGCAAAGCUGCAGCUGAGCAA GGACACAUACGACGACGACCUGGACAACCUGCUGGC ACAGAUCGGAGACCAGUACGCAGACCUGUUCCUGG CAGCAAAGAACCUGAGCGACGCAAUCCUGCUGAGC GACAUCCUGAGAGUCAACACAGAAAUCACAAAGGC ACCGCUGAGCGCAAGCAUGAUCAAGAGAUACGACG AACACCACCAGGACCUGACACUGCUGAAGGCACUGG UCAGACAGCAGCUGCCGGAAAAGUACAAGGAAAUC UUCUUCGACCAGAGCAAGAACGGAUACGCAGGAUA CAUCGACGGAGGAGCAAGCCAGGAAGAAUUCUACA AGUUCAUCAAGCCGAUCCUGGAAAAGAUGGACGGA ACAGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGAGAAGA CCUGCUGAGAAAGCAGAGAACAUUCGACAACGGAA GCAUCCCGCACCAGAUCCACCUGGGAGAACUGCACG CAAUCCUGAGAAGACAGGAAGACUUCUACCCGUUC CUGAAGGACAACAGAGAAAAGAUCGAAAAGAUCCU GACAUUCAGAAUCCCGUACUACGUCGGACCGCUGGC AAGAGGAAACAGCAGAUUCGCAUGGAUGACAAGAA AGAGCGAAGAAACAAUCACACCGUGGAACUUCGAA GAAGUCGUCGACAAGGGAGCAAGCGCACAGAGCUU CAUCGAAAGAAUGACAAACUUCGACAAGAACCUGC CGAACGAAAAGGUCCUGCCGAAGCACAGCCUGCUG UACGAAUACUUCACAGUCUACAACGAACUGACAAA	

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
	GGUCAAGUACGUCACAGAAGGAAUGAGAAAGCCGG CAUUCCUGAGCGGAGAACAGAAGAAGGCAAUCGUC GACCUGCUGUUCAAGACAAACAGAAAGGUCACAGU CAAGCAGCUGAAGGAAGACUACUUCAAGAAGAUCG AAUGCUUCGACAGCGUCGAAAUCAGCGGAGUCGAA GACAGAUUCAACGCAAGCCUGGGAACAUACCACGA CCUGCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCCUGG ACAACGAAGAAAACGAAGACAUCCUGGAAGACAUC GUCCUGACACUGACACUGUUCGAAGACAGAGAAAU GAUCGAAGAAAGACUGAAGACAUACGCACACCUGU UCGACGACAAGGUCAUGAAGCAGCUGAAGAGAAGA AGAUACACAGGAUGGGGAAGACUGAGCAGAAAGCU GAUCAACGGAAUCAGAGACAAGCAGAGCGGAAAGA CAAUCCUGGACUUCCUGAAGAGCGACGGAUUCGCA AACAGAAACUUCAUGCAGCUGAUCCACGACGACAG CCUGACAUUCAAGGAAGACAUCCAGAAGGCACAGG UCAGCGGACAGGGAGACAGCCUGCACGAACACAUC GCAAACCUGGCAGGAAGCCCGGCAAUCAAGAAGGG AAUCCUGCAGACAGUCAAGGUCGUCGACGAACUGG UCAAGGUCAUGGGAAGACACAAGCCGGAAAACAUC GUCAUCGAAAUGGCAAGAGAAAACCAGACAACACA GAAGGGACAGAAGAACAGCAGAGAAAGAAUGAAGA GAAUCGAAGAAGGAAUCAAGGAACUGGGAAGCCAG AUCCUGAAGGAACACCCGGUCGAAAACACACAGCU GCAGAACGAAAAGCUGUACCUGUACUACCUGCAGA ACGGAAGAGACAUGUACGUCGACCAGGAACUGGAC AUCAACAGACUGAGCGACUACGACGUCGACCACAUC GUCCCGCAGAGCUUCCUGAAGGACGACAGCAUCGAC	

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
	AACAAGGUCCUGACAAGAAGCGACAAGAACAGAGG AAAGAGCGACAACGUCCCGAGCGAAGAAGUCGUCA AGAAGAUGAAGAACUACUGGAGACAGCUGCUGAAC GCAAAGCUGAUCACACAGAGAAAGUUCGACAACCU GACAAAGGCAGAGAGAGGAGGACUGAGCGAACUGG ACAAGGCAGGAUUCAUCAAGAGACAGCUGGUCGAA ACAAGACAGAUCACAAAGCACGUCGCACAGAUCCU GGACAGCAGAAUGAACACAAAGUACGACGAAAACG ACAAGCUGAUCAGAGAAGUCAAGGUCAUCACACUG AAGAGCAAGCUGGUCAGCGACUUCAGAAAGGACUU CCAGUUCUACAAGGUCAGAGAAAUCAACAACUACC ACCACGCACACGACGCAUACCUGAACGCAGUCGUCG GAACAGCACUGAUCAAGAAGUACCCGAAGCUGGAA AGCGAAUUCGUCUACGGAGACUACAAGGUCUACGA CGUCAGAAAGAUGAUCGCAAAGAGCGAACAGGAAA UCGGAAAGGCAACAGCAAAGUACUUCUUCUACAGC AACAUCAUGAACUUCUUCAAGACAGAAAUCACACU GGCAAACGGAGAAAUCAGAAAGAGACCGCUGAUCG AAACAAACGGAGAAACAGGAGAAAUCGUCUGGGAC AAGGGAAGAGACUUCGCAACAGUCAGAAAGGUCCU GAGCAUGCCGCAGGUCAACAUCGUCAAGAAGACAG AAGUCCAGACAGGAGGAUUCAGCAAGGAAAGCAUC CUGCCGAAGAGAAACAGCGACAAGCUGAUCGCAAG AAAGAAGGACUGGGACCCGAAGAAGUACGGAGGAU UCGACAGCCCGACAGUCGCAUACAGCGUCCUGGUCG UCGCAAAGGUCGAAAAGGGAAAGAGCAAGAAGCUG AAGAGCGUCAAGGAACUGCUGGGAAUCACAAUCAU GGAAAGAAGCAGCUUCGAAAAGAACCCGAUCGACU	

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
	UCCUGGAAGCAAAGGGAUACAAGGAAGUCAAGAAG GACCUGAUCAUCAAGCUGCCGAAGUACAGCCUGUU CGAACUGGAAAACGGAAGAAAGAGAAUGCUGGCAA GCGCAGGAGAACUGCAGAAGGGAAACGAACUGGCA CUGCCGAGCAAGUACGUCAACUUCCUGUACCUGGCA AGCCACUACGAAAAGCUGAAGGGAAGCCCGGAAGA CAACGAACAGAAGCAGCUGUUCGUCGAACAGCACA AGCACUACCUGGACGAAAUCAUCGAACAGAUCAGC GAAUUCAGCAAGAGAGUCAUCCUGGCAGACGCAAA CCUGGACAAGGUCCUGAGCGCAUACAACAAGCACA GAGACAAGCCGAUCAGAGAACAGGCAGAAAACAUC AUCCACCUGUUCACACUGACAAACCUGGGAGCACCG GCAGCAUUCAAGUACUUCGACACAACAAUCGACAG AAAGAGAUACACAAGCACAAAGGAAGUCCUGGACG CAACACUGAUCCACCAGAGCAUCACAGGACUGUACG AAACAAGAAUCGACCUGAGCCAGCUGGGAGGAGAC GGAGGAGGAAGCCCGAAGAAGAAGAGAAAGGUCUA GCUAGCCAUCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCA UGAGAAUAAGAGAAAGAAAAUGAAGAUCAAUAGCU UAUUCAUCUCUUUUUCUUUUUCGUUGGUGUAAAGC CAACACCCUGUCUAAAAAACAUAAAUUUCUUUAAU CAUUUUGCCUCUUUUCUCUGUGCUUCAAUUAAUAA AAAAUGGAAAGAACCUCGAGAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAUCUAG	
G000502 ARNgs dirigido	mA*mC*mA*CAAAUACCAGUCCAGCGGUUUUAGAmG mCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAA	4

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO.
a TTR de ratón	GGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmU mGmCmU*mU*mU*mU	
ARNgs de G000534 dirigido a TTR de rata	mA*mC*mG*CAAAUAUCAGUCCAGCGGUUUUAGAmG mCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAA GGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmU mGmCmU*mU*mU*mU	5

Las modificaciones y enlaces de fosforotioato 2′-O-metilo son tal como se representa más adelante (m = 2’-OMe; * = fosforotioato).

5