

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 702 374**

51 Int. Cl.:

C07D 211/22 (2006.01)
C07D 211/46 (2006.01)
C12N 15/11 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 47/54 (2007.01)
C07C 219/16 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.07.2014 PCT/JP2014/068002**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.01.2015 WO15005253**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.07.2014 E 14822439 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018 EP 3020701**

54 Título: **Lípido novedoso**

30 Prioridad:

08.07.2013 JP 2013142677

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

28.02.2019

73 Titular/es:

**DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (100.0%)
3-5-1, Nihonbashi Honcho Chuo-ku
Tokyo 103-8426, JP**

72 Inventor/es:

**KOIZUMI, MAKOTO;
ONISHI, YOSHIYUKI;
NIWA, TAKAKO;
TAMURA, MASAKAZU y
KASUYA, YUJI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 702 374 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Lípido novedoso

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un novedoso lípido catiónico, un novedoso lípido catiónico que forma una partícula lipídica, una partícula lipídica que comprende el lípido catiónico, una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende la partícula lipídica junto con un ácido nucleico, una composición farmacéutica que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico como principio activo, y un procedimiento de tratamiento que utiliza la composición farmacéutica.

Antecedentes de la técnica

10 Los procedimientos para inhibir la expresión de un gen diana en las células, tejidos o individuos incluyen un enfoque en el que ARN bicatenario se introduce en las células, tejidos o individuos. Mediante esta introducción de ARN bicatenario, el ARNm que tiene homología con la secuencia se degrada, de forma que la expresión del gen diana queda inhibida. Este efecto se denomina "interferencia de ARN" o "ARNi". La interferencia de ARN se notificó inicialmente *C. elegans* por ejemplo, la Referencia no de patente 1) y posteriormente también se ha notificado en
15 plantas (véase por ejemplo, la Referencia no de patente 2).

Se ha notificado que el ARN bicatenario que consiste en hebras de 21 nucleótidos de sentido directo y de sentido contrario que tienen un saliente de 2 nucleótidos en el extremo 3' (ARN interferente pequeño: ARNip) tiene un efecto de interferencia del ARN en células de vertebrados cultivadas (véase por ejemplo, la Referencia no de patente 3). El
20 ARNip se considera de utilidad para la identificación de funciones génicas, cribado de líneas celulares adecuadas para la producción de sustancias útiles, regulación de genes implicados en enfermedades, etc., pero, de manera característica, se degrada fácilmente con RNasa (véase por ejemplo, la Referencia no de patente 4).

Puesto que un polinucleótido bicatenario tal como ARNip o ARNip modificado es una molécula que tiene un peso molecular de aproximadamente 13.000, solubilidad en agua, y carga eléctrica, se utiliza de forma general una
25 técnica de administración tal como un reactivo de transfección para permitir que polinucleótido bicatenario permee una membrana celular (véase por ejemplo, la Referencia no de patente 5). Particularmente, los liposomas se utilizan ampliamente en la administración de moléculas de ácido nucleico mediante la encapsulación de una molécula de ácido nucleico tal como un ADN plásmido en un liposoma para formar una partícula lipídica de ácido nucleico (véase por ejemplo, la Referencia no de patente 6). Además, se ha notificado que un liposoma que contiene un lípido catiónico es capaz de suministrar ARNip a células, mediante la formación de una partícula lipídica de ácido nucleico
30 por mezclado con el ARNip (véase, por ejemplo, la Referencia de patente 1). El lípido catiónico, sin embargo, es un componente no biológico. A este respecto, se ha solicitado un lípido catiónico que se pueda usar a baja concentración. Un derivado de ácido dimetilaminovalérico (Referencia de patente 1), un derivado de ácido dimetilaminobutírico (Referencia de patente 2), un derivado de dimetilaminoetilcarbonato (Referencia de patente 3), o similares se conocen como el lípido catiónico.

35 Los presentes inventores han llevado a cabo esmerados estudios para obtener una partícula lipídica que consiste en un lípido catiónico que pueda encapsular en su interior una molécula de ácido nucleico tal como un polinucleótido bicatenario (por ejemplo, ARNip), ADN, o un oligonucleótido de sentido contrario y se puede usar a baja concentración. Como resultado, los presentes inventores han completado la presente invención descubriendo un
40 novedoso lípido catiónico y han descubierto además una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende el novedoso lípido catiónico que puede encapsular en su interior una molécula de ácido nucleico, que se puede usar a baja concentración, y permite un elevado nivel de administración a las células.

Listado de citas

Referencias de patente

45 Referencia de patente 1: Publicación internacional n.º WO 2012/108397
Referencia de patente 2: Publicación internacional n.º WO 2012/054365
Referencia de patente 3: Publicación internacional n.º WO 2010/054405

Referencias no de patente

50 Referencia no de patente 1: Nature, 1998, Vol. 391, p. 806-811
Referencia no de patente 2: Science, 1999, Vol. 286, p. 950-952
Referencia no de patente 3: Nature, 2001, Vol. 411, p. 494-498
Referencia no de patente 4: Clinical Chemistry, 2002, Vol. 48, p. 1647-1653
Referencia no de patente 5: Journal of Medicinal Chemistry, 2010, Vol. 57, p. 7887-7901
Referencia no de patente 6: Gene Therapy 1999, Vol. 6, p. 271-281

Sumario de la invención

Problema técnico

Un objeto de la presente invención es proporcionar un novedoso lípido catiónico que forma una partícula lipídica.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un novedoso lípido catiónico que forma una partícula lipídica junto con un lípido anfipático, un esteroil, y un lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar una partícula lipídica que comprende el lípido catiónico.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende la partícula lipídica y adicionalmente un ácido nucleico.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico como principio activo.

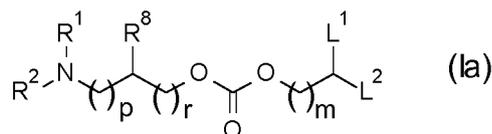
Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un procedimiento de tratamiento que utiliza la composición farmacéutica.

Solución al problema

Específicamente, la presente invención proporciona:

(1) Un lípido catiónico representado por la fórmula general (Ia) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable:

[Fórmula 1]



en el que

cada uno de R^1 y R^2 independientemente representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C_1-C_6 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α , un grupo alquenilo C_2-C_6 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α , un grupo alquinilo C_2-C_6 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o un grupo cicloalquilo C_3-C_7 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o R^1 y R^2 forman un anillo heterocíclico de 3 a 10 miembros con el átomo de nitrógeno unido a los mismos, en el que el anillo heterocíclico opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α y que opcionalmente contiene uno o más átomos seleccionados entre un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre, además del átomo de nitrógeno unido a R^1 y R^2 , como átomos que constituyen el anillo heterocíclico; R^8 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C_1-C_6 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o R^1 y R^8 juntos representan un grupo $-(CH_2)_q-$;

el grupo de sustituyentes α representa el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo hidroxilo, un grupo sulfanilo, un grupo amino, un grupo ciano, un grupo alquilo C_1-C_6 , un grupo alquilo C_1-C_6 halogenado, un grupo alcoxi C_1-C_6 , un grupo alquilsulfanilo C_1-C_6 , un grupo alquilamino C_1-C_6 y un grupo alcanilo C_1-C_7 ;

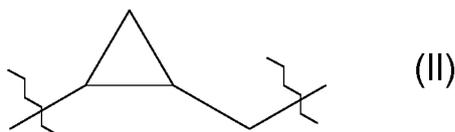
L^1 representa un grupo alquilo $C_{10}-C_{24}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo alquenilo $C_{10}-C_{24}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo alquinilo C_3-C_{24} que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 o un grupo (alquil C_1-C_{10})-(Q) $_k$ -(alquilo C_1-C_{10}) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 ; L^2 representa, independientemente de L^1 , un grupo alquilo $C_{10}-C_{24}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo alquenilo $C_{10}-C_{24}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo alquinilo C_3-C_{24} que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo (alquil C_1-C_{10})-(Q) $_k$ -(alquilo C_1-C_{10}) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo (alcoxi $C_{10}-C_{24}$)metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo (alquenil $C_{10}-C_{24}$)oximetilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 , un grupo (alquil C_3-C_{24})oximetilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β_1 o un grupo (alquil C_1-C_{10})-(Q) $_k$ -(alcoxi C_1-C_{10}) metilo que

opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$; el grupo de sustituyentes $\beta 1$ representa el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo ciano, un grupo alquilo C_1-C_6 , un grupo alquilo C_1-C_6 halogenado, un grupo alcoxi C_1-C_6 , un grupo alquilsulfanilo C_1-C_6 , un grupo alcanilo C_1-C_7 , un grupo alcanilo C_1-C_7 , un grupo alcoxialcoxi C_3-C_7 , un grupo (alcoxi C_1-C_6)carbonilo, un grupo (alcoxi C_1-C_6)carboxilo, un grupo (alcoxi C_1-C_6) carbamoilo y un grupo (alquilamino C_1-C_6)carboxilo;

5

Q representa un grupo representado por la siguiente fórmula (II):

[Fórmula 2]



cuando cada uno de L^1 y L^2 tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ y el grupo de sustituyentes $\beta 1$ es un grupo alquilo C_1-C_6 , un grupo alcoxi C_1-C_6 , un grupo alquilsulfanilo C_1-C_6 , un grupo alcanilo C_1-C_7 o un grupo alcanilo C_1-C_7 , el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ en L^1 y el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ en L^2 opcionalmente se unen entre sí para formar una estructura cíclica;

10

k representa 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7;

m representa 0 o 1;

15

p representa 0, 1 o 2;

q representa 1, 2, 3 o 4 y

r representa 0, 1, 2 o 3,

siempre que $p + r$ sea 2 o más o $q + r$ sea 2 o más;

(2) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que cada uno de R^1 y R^2 es independientemente un grupo alquilo C_1-C_6 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α ;

20

(3) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que cada uno de R^1 y R^2 es independientemente un grupo alquilo C_1-C_3 ;

(4) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que tanto R^1 como R^2 son grupos metilo;

25

(5) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^1 y R^2 forman azetidina, pirrolidina, piperidina, azepano, dihidropirrol, dihidropiridina, tetrahidropiridina, piperazina, morfolina, dihidrooxazol o dihidrotiazol que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α , junto con el átomo de nitrógeno al que está unido;

30

(6) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^1 y R^2 forman azetidina, pirrolidina, piperidina o morfolina que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α , junto con el átomo de nitrógeno al que está unido;

(7) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^1 y R^2 forman azetidina, pirrolidina o morfolina junto con el átomo de nitrógeno al que está unido;

35

(8) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^1 y R^2 juntos representan un grupo $-(CH_2)_q-$; $p + q$ es 2, 3 o 4 y R^2 es un grupo alquilo C_1-C_3 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α ;

(9) El lípido catiónico de acuerdo con (8) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^2 es un grupo alquilo C_1-C_3 ;

40

(10) El lípido catiónico de acuerdo con (8) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^2 es un grupo metilo;

(11) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (10) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que L^1 es un grupo alquilo $C_{17}-C_{19}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo alquenoilo $C_{17}-C_{19}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ o un grupo (alquil C_1-C_4)-(Q)_k-(alquilo C_4-C_9) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ y k es 1, 2 o 3;

45

(12) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (10) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que L^1 es un grupo heptadecenilo, un grupo octadecenilo, un grupo nonadecenilo, un grupo heptadecadienilo, un grupo octadecadienilo, un grupo nonadecadienilo, un grupo heptadecatrienilo, un grupo octadecatrienilo o un grupo nonadecatrienilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$;

50

(13) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (10) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que L^1 es un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadecenilo, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadecenilo, un grupo cis-9-octadecenilo (grupo oleilo), un grupo cis-8,11-heptadecadienilo, un grupo cis-9,12-octadecadienilo (grupo linoleilo), un grupo cis-10,13-nonadecadienilo o un grupo cis-6,9,12-

55

octadecatrienilo (grupo linolenilo);

(14) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (13) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que L^2 es un grupo alquilo C_{10} - C_{19} que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo alquenilo C_{10} - C_{19} que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo (alquil C_1 - C_4)-(Q)_k-(alquilo C_4 - C_9) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo (alcoxi C_{10} - C_{19})metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo (alquenil C_{10} - C_{19})oximetilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ o un grupo (alquil C_1 - C_{10})-(Q)_k-(alcoxi C_1 - C_{10})metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ y k es 1, 2 o 3;

(15) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (13) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que L^2 es un grupo decilo, un grupo decenilo, un grupo undecilo, un grupo undecenilo, un grupo dodecilo, un grupo dodecenilo, un grupo decadienilo, un grupo undecadienilo, un grupo dodecadienilo, un grupo heptadecadienilo, un grupo octadecadienilo, un grupo nonadecadienilo, un grupo heptadecatrienilo, un grupo octadecatrienilo, un grupo deciloximetilo, un grupo deceniloximetilo, un grupo undeciloximetilo, un grupo undeceniloximetilo, un grupo dodeciloximetilo, un grupo dodeceniloximetilo, un grupo decadieniloximetilo, un grupo undecadieniloximetilo, un grupo dodecadieniloximetilo, un grupo heptadecadieniloximetilo, un grupo octadecadieniloximetilo, un grupo nonadecadieniloximetilo, un grupo heptadecatrieniloximetilo, un grupo octadecatrieniloximetilo o un grupo nonadecatrieniloximetilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$;

(16) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (13) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que L^2 es un grupo decilo, un grupo cis-7-decenilo, un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadecenilo, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadecenilo, un grupo cis-9-octadecenilo (grupo oleilo), un grupo cis-8,11-heptadecadienilo, un grupo cis-9,12-octadecadienilo (grupo linoleilo), un grupo cis-10,13-nonadecadienilo, un grupo cis-6,9,12-octadecatrienilo (grupo linolenilo), un grupo deciloximetilo, un grupo cis-7-deceniloximetilo, un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadeceniloximetilo, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadeceniloximetilo, un grupo cis-9-octadeceniloximetilo (grupo oleiloximetilo), un grupo cis-8,11-heptadecadieniloximetilo, un grupo cis-9,12-octadecadieniloximetilo (grupo linoleiloximetilo), un grupo cis-10,13-nonadecadieniloximetilo o un grupo cis-6,9,12-octadecatrieniloximetilo (grupo linoleniloximetilo);

(17) El lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (16) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo, en el que m es 0;

(18) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que tanto R^1 como R^2 son grupos metilo; R^8 es un átomo de hidrógeno; L^1 es un grupo alquilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alquenilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L^2 es un grupo alquilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alquenilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C_{10} - C_{19})metilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alquenil C_{10} - C_{19})oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p + r es 2; y m es 0;

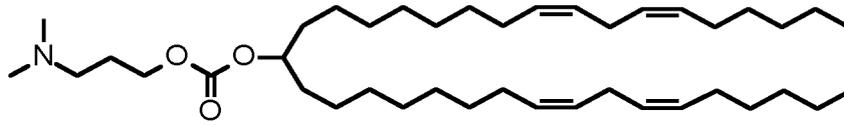
(19) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^2 es un grupo metilo; R^1 y R^8 juntos representan un grupo $-(CH_2)_q^-$; L^1 es un grupo alquilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alquenilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L^2 es un grupo alquilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alquenilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C_{10} - C_{19})metilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alquenil C_{10} - C_{19})oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p es 2; q es 2; r es 0; y m es 0;

(20) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^2 es un grupo metilo; R^1 y R^8 juntos representan un grupo $-(CH_2)_q^-$; L^1 es un grupo alquilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alquenilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L^2 es un grupo alquilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alquenilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C_{10} - C_{19})metilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alquenil C_{10} - C_{19})oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p es 1; q es 2 o 3; r es 1; y m es 0;

(21) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R^2 es un grupo metilo; R^1 y R^8 juntos representan un grupo $-(CH_2)_q^-$; L^1 es un grupo alquilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alquenilo C_{17} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L^2 es un grupo alquilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alquenilo C_{10} - C_{19} opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C_{10} - C_{19})metilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alquenil C_{10} - C_{19})oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p es 0; q es 3 o 4; r es 2; y m es 0;

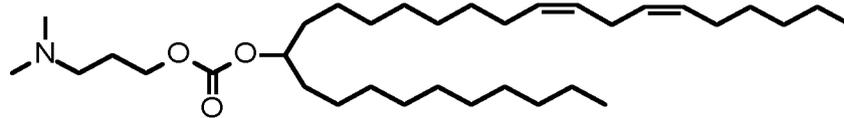
(22) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 3]



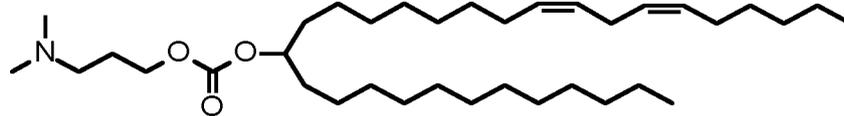
(23) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 4]



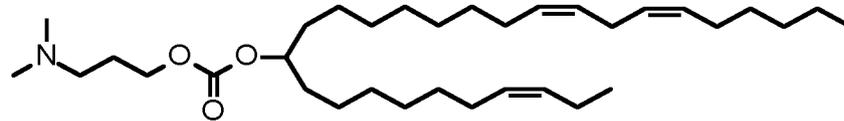
5 (24) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 5]



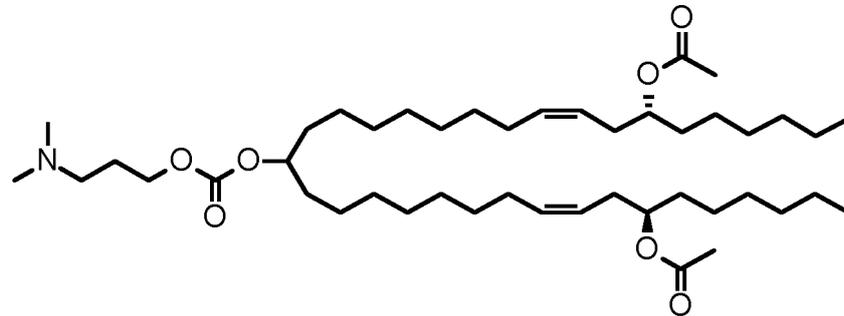
(25) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 6]



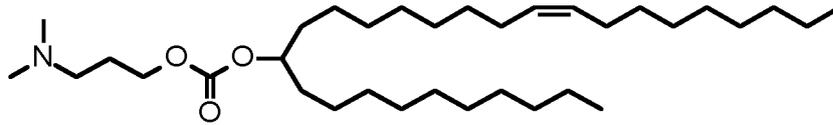
(26) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 7]



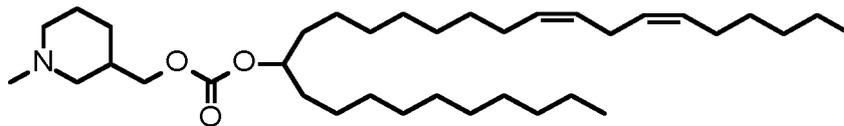
10 (27) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 8]



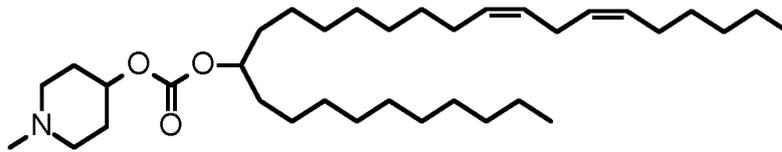
(28) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 9]



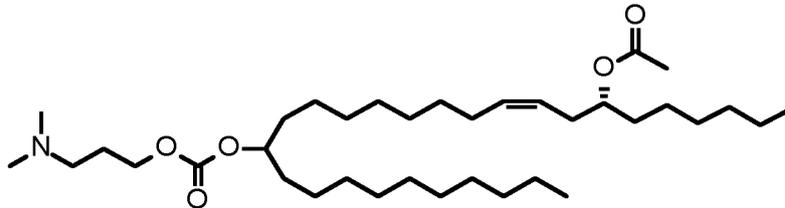
(29) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 10]



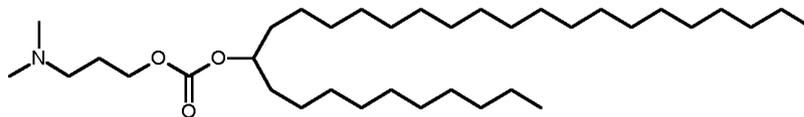
5 (30) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 11]



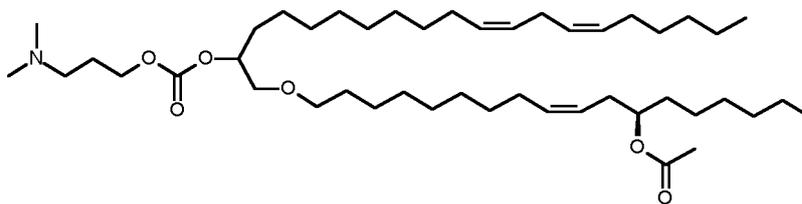
(31) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 12]



10 (32) El lípido catiónico de acuerdo con (1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que el lípido catiónico está representado por la fórmula:

[Fórmula 13]



- (33) Una partícula lipídica comprende al menos un lípido catiónico de acuerdo con uno cualquiera de (1) a (32);
- (34) La partícula lipídica de acuerdo con (33), que además comprende una agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica;
- 5 (35) La partícula lipídica de acuerdo con (34), en la que la agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica es un PEG-lípido;
- (36) La partícula lipídica de acuerdo con (35), en la que el PEG-lípido es N-[metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA) o metoxipolietilenglicol 1,2-dimiristoil-sn-glicerol;
- 10 (37) La partícula lipídica de acuerdo con (35), en la que el PEG-lípido es N-[metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA);
- (38) La partícula lipídica de acuerdo con (35), en la que el PEG-lípido es N-[metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dipalmitiloxipropil-3-amina (PEG-C-DPA) o 1,2-dipalmitoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol;
- 15 (39) La partícula lipídica de acuerdo con (35), en la que el PEG-lípido es N-[metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dipalmitiloxipropil-3-amina (PEG-C-DPA);
- (40) La partícula lipídica de acuerdo con (35), en la que el PEG-lípido es N-[metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-diesteariloxipropil-3-amina (PEG-C-DSA) o metoxipolietilenglicol 1,2-diestearoil-sn-glicerol;
- 20 (41) La partícula lipídica de acuerdo con (35), en la que el PEG-lípido es N-[metoxipoli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-diesteariloxipropil-3-amina (PEG-C-DSA);
- (42) La partícula lipídica de acuerdo con uno cualquiera de (35) a (41), en la que el PEG tiene un peso molecular de 1.000 a 5.000;
- (43) La partícula lipídica de acuerdo con uno cualquiera de (35) a (41), en la que el PEG tiene un peso molecular de 1.800 a 2.200;
- 25 (44) La partícula lipídica de acuerdo con uno cualquiera de (33) a (43), que además comprende un esteroil;
- (45) La partícula lipídica de acuerdo con (44), en la que el esteroil es colesterol;
- (46) La partícula lipídica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones (33) a (45), que además comprende un lípido anfipático;
- 30 (47) La partícula lipídica de acuerdo con (46), en la que el lípido anfipático es al menos uno cualquiera seleccionado entre diestearoil-fosfatidilcolina (DSPC), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), 1-palmitoil-2-oleoilfosfatidilcolina (POPC), dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE) y esfingomiolina (SM);
- (48) La partícula lipídica de acuerdo con (46), en la que el lípido anfipático es diestearoilfosfatidilcolina (DSPC) o dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC);
- 35 (49) La partícula lipídica de acuerdo con uno cualquiera de los puntos (46) a (48), en la que la composición lipídica del lípido anfipático, el esteroil, el lípido catiónico, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica supone el 25% o menos del lípido anfipático, 15% o más del esteroil, de 20% al 70% del lípido catiónico, y de 1% al 10% del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica, en términos de cantidad molar;
- 40 (50) La partícula lipídica de acuerdo con uno cualquiera de los puntos (46) a (48), en la que la composición lipídica del lípido anfipático, el esteroil, el lípido catiónico, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica supone el 15% o menos del lípido anfipático, 32% o más del esteroil, de 45% al 65% del lípido catiónico, y de 1,5% al 3% del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica, en términos de cantidad molar;
- 45 (51) Una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende una partícula lipídica de acuerdo con uno cualquiera de los puntos (33) a (50) y un ácido nucleico;
- (52) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con el punto (51), en la que el ácido nucleico es uno cualquiera seleccionado entre el grupo que consiste de un ADN monocatenario, un ARN monocatenario, un polinucleótido monocatenario de un ADN y un ARN mezclado entre sí, un ADN bicatenario, un ARN bicatenario, un polinucleótido híbrido de ADN-ARN, y dos polinucleótidos de ADN y ARN mezclados entre sí;
- 50 (53) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con el punto (51), en la que el ácido nucleico es un polinucleótido monocatenario o bicatenario que tiene un efecto de interferencia del ARN;
- (54) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con el punto (51), en la que el ácido nucleico es un ARN monocatenario;
- 55 (55) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (54), en la que la relación entre el número de moléculas del lípido catiónico (N) y el número de átomos de fósforo derivados del ácido nucleico (P) es de 2,0 a 9,0;

(56) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (54), en la que la relación entre el número de moléculas del lípido catiónico (N) y el número de átomos de fósforo derivados del ácido nucleico (P) es de 3,0 a 9,0;

5 (57) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (56), en la que el tamaño promedio de partícula es de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 300 nm;

(58) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (56), en la que el tamaño promedio de partícula es de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 200 nm;

(59) La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (56), en la que el tamaño promedio de partícula es de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm;

10 (60) Una composición farmacéutica que comprende una partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (59) como principio activo;

(61) La composición farmacéutica de acuerdo con el punto (60), en la que la composición farmacéutica está prevista para el tratamiento o prevención de una enfermedad derivada de la expresión de un gen diana;

15 (62) La composición farmacéutica de acuerdo con el punto (60), en la que la enfermedad derivada de la expresión del gen diana es cáncer, enfermedad hepática, enfermedad de la vesícula, fibrosis, anemia, o enfermedad genética;

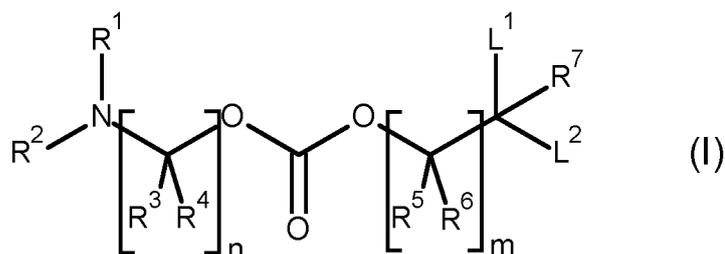
(63) Un procedimiento para inhibir la expresión de un gen diana, que comprende administrar una partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (59) a un mamífero;

20 (64) Un procedimiento para tratar o prevenir una enfermedad derivada de la expresión de un gen diana, que comprende administrar una partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con uno cualquiera del punto (51) al (59) a un mamífero;

(65) El procedimiento de acuerdo con el punto (64), en el que la enfermedad derivada de la expresión de un gen diana es cáncer; y

(66) Un lípido catiónico representado por la fórmula general (I):

[Fórmula 14]



25 en el que

30 cada uno de R¹ y R² independientemente representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α, un grupo alqueno C₂-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α, un grupo alquino C₂-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o un grupo cicloalquilo C₃-C₇ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o R¹ y R² forman un anillo heterocíclico de 3 a 10 miembros con el átomo de nitrógeno unido a los mismos, en el que el anillo heterocíclico opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α y que opcionalmente contiene uno o más átomos seleccionados entre un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre, además del átomo de nitrógeno unido a R¹ y R², como átomos que constituyen el anillo heterocíclico;

35 cada uno de R³ y R⁴ independientemente representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o R³ y R⁴ forman un anillo de hidrocarburo de 3 a 10 miembros junto con el átomo de carbono al que está unido o R¹ forma un anillo heterocíclico de 3 a 10 miembros junto con el átomo de nitrógeno unido a R¹,

40 R³ y el átomo de carbono unido a R³, en el que el anillo heterocíclico opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α y que opcionalmente contiene uno o más átomos seleccionados entre un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre, además del átomo de nitrógeno unido a R¹, como átomos que constituyen el anillo heterocíclico;

45 cada uno de R² y R⁴ independientemente representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α, un grupo alqueno C₂-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α o un grupo alquino C₂-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α;

50 cada uno de R⁵ y R⁶ independientemente representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₃;

R⁷ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α;

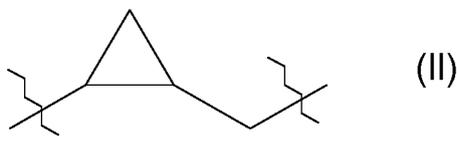
el grupo de sustituyentes α representa el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo hidroxilo, un grupo sulfanilo, un grupo amino, un grupo ciano, un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alquilo C₁-C₆ halogenado, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo C₁-C₆, un grupo alquilamino C₁-C₆ y un grupo alcanilo C₁-C₇;

5 cada uno de L¹ y L² independientemente representa un grupo alquilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β , un grupo alqueno C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β , un grupo alquino C₃-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β , o un grupo (alquil C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquilo C₁-C₁₀) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β ;

10 grupo de sustituyentes β representa el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo hidroxilo, un grupo sulfanilo, un grupo amino, un grupo ciano, un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alquilo C₁-C₆ halogenado, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo C₁-C₆, un grupo alcanilo C₁-C₇, un grupo alcanilo C₁-C₇, un grupo alcoxialcoxi C₃-C₇, un grupo alcoxicarbonilo C₁-C₆, un grupo alcoxicarboxilo C₁-C₆, un grupo alcoxycarbamoilo C₁-C₆ y un grupo alquilaminocarboxilo C₁-C₆;

15 Q representa un grupo representado por la siguiente fórmula (II):

[Fórmula 15]



20 cuando cada uno de L¹ y L² tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β y el grupo de sustituyentes β es un grupo sulfanilo, un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo C₁-C₆, un grupo alcanilo C₁-C₇ o un grupo alcanilo C₁-C₇, el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β en L¹ y el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β en L² opcionalmente se unen entre sí para formar una estructura cíclica;

k representa un número entero de 1 a 7;

m representa un número entero de 0 o 1 y

n representa un número entero de 3 a 6.

25 **Efectos ventajosos de la invención**

La presente invención puede proporcionar un novedoso lípido catiónico que forma una partícula lipídica.

La presente invención también puede proporcionar un novedoso lípido catiónico que forma una partícula lipídica junto con un lípido anfipático, un esteroide, y un lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica.

30 La presente invención puede proporcionar además una partícula lipídica que comprende el lípido catiónico.

La presente invención puede proporcionar además una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende la partícula lipídica y además un ácido nucleico.

La presente invención puede proporcionar además una composición farmacéutica que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico como principio activo.

35 La presente invención puede proporcionar además un procedimiento para tratar una enfermedad usando la composición farmacéutica.

Breve descripción de los dibujos

[Figura 1] La Figura 1 es un diagrama que resume un procedimiento para producir un intermedio (A5) para su uso en la síntesis de un lípido catiónico representado por la fórmula (I).

40 [Figura 2] La Figura 2 es un diagrama que resume un procedimiento B para su uso en la síntesis del lípido catiónico representado por la fórmula (I).

[Figura 3] La Figura 3 es un diagrama que resume un procedimiento C para su uso en la síntesis del lípido catiónico representado por la fórmula (I).

45 [Figura 4] La Figura 4 es un diagrama que muestra la estructura de cada ácido nucleico que tiene una estructura bicatenaria entre los ácidos nucleicos que constituyen partículas lipídicas de ácido nucleico. En el diagrama, las secuencias superiores representan secuencias de sentido directo, y las secuencias inferiores representan secuencias de sentido contrario. Para los símbolos, el cuadrado sin rellenar (□) representa un ARN, el círculo relleno (●) representa un ADN, y el círculo sin rellenar (○) representa un 2'-O-metil ARN. La línea entre los

símbolos representa un enlace fosfodiéster entre los nucleósidos. En el diagrama, p representa $-P(=O)(OH)-$. Cuando p está unido, un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo final del polinucleótido se elimina. Cuando el extremo del polinucleótido no está unido, el extremo 3' o 5' del ARN, el ADN, o el 2'-O-metil ARN es un grupo OH. X representa un compuesto que modifica el extremo 5' de una hebra de sentido contrario descrito en el párrafo "3-4-2. Polinucleótido bicatenario modificado" de la memoria descriptiva. "enlazador" significa un polinucleótido enlazador descrito en el párrafo "3-4-3. Polinucleótido monocatenario modificado" de la memoria descriptiva.

[Figura 5] La Figura 5 es un diagrama que muestra la actividad inhibitoria de la expresión de PLK-1 mostrada, en tumor, por una partícula lipídica de ácido nucleico que tiene un compuesto del Ejemplo 19, 45, o 54 del Ejemplo de ensayo 10.

[Figura 6] La Figura 6 es un diagrama que muestra que una partícula lipídica de ácido nucleico que contiene un compuesto del Ejemplo 8 en el Ejemplo de ensayo 11 fomenta la expresión del ARNm. Los recuadros superiores representan imágenes de núcleos teñidos con Hoechst, y los recuadros inferiores representan imágenes de mCherry.

15 **Descripción de las realizaciones**

A partir de ahora en el presente documento, las realizaciones la presente invención se describirán detalladamente.

1. Lípido catiónico

El lípido catiónico desvelado en la presente memoria descriptiva se puede usar solo y se puede usar junto con una sustancia adicional. Por ejemplo, el lípido catiónico se puede usar como un componente que constituye una partícula lipídica y se puede usar como un componente que constituye una partícula lipídica de ácido nucleico.

1- 1. Definición de grupo

En la presente invención, el "lípido catiónico" es un lípido, en el que algunas moléculas tienen una carga neta positiva de acuerdo con la pKa del lípido a un pH seleccionado tal como pH fisiológico. El lípido catiónico de la presente invención es un lípido que puede ionizarse (lípido ionizable) y difiere de un lípido catiónico en que tiene una amina cuaternaria, que es un lípido, en el que todas las moléculas tienen una carga neta positiva a cualquier pH (por ejemplo, cloruro de N,N-dioleil-N,N-dimetilamonio (DODAC)).

El "grupo alquilo C_1-C_6 " en las definiciones de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^7 , R^8 , el grupo de sustituyentes α y el grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo sec-butilo, un grupo *tert*-butilo, un grupo n-pentilo, un grupo isopentilo, un grupo 2-metilbutilo, un grupo neopentilo, un grupo 1-etilpropilo, un grupo n-hexilo, un grupo 4-metilpentilo, un grupo 3-metilpentilo, un grupo 2-metilpentilo, un grupo 1-metilpentilo, un grupo 3,3-dimetilbutilo, un grupo 2,2-dimetilbutilo, un grupo 1,1-dimetilbutilo, un grupo 1,2-dimetilbutilo, un grupo 1,3-dimetilbutilo, un grupo 2,3-dimetilbutilo y un grupo 2-etilbutilo. Preferentemente, el grupo alquilo C_1-C_6 es un grupo alquilo C_1-C_4 , más preferentemente un grupo alquilo C_1-C_3 .

El "grupo alquilo C_1-C_3 " en las definiciones de R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , y R^6 se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 3 átomos de carbono. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo y un grupo isopropilo. Preferentemente, el grupo C_1-C_3 es un grupo metilo.

El "grupo alqueno C_2-C_6 " en las definiciones de R^1 , R^2 y R^4 se refiere a un grupo alqueno lineal o ramificado que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo vinilo, un grupo 1-propenilo, un grupo 2-propenilo, un grupo isopropenilo, un grupo 1-metil-2-propenilo, un grupo 2-metil-2-propenilo, un grupo 1-butenilo, un grupo 2-butenilo, un grupo 3-butenilo, un grupo 2-metil-1-propenilo, un grupo 1-pentenilo, un grupo 4-pentenilo, un grupo 1-metil-4-pentenilo y un grupo 5-hexenilo.

El "grupo C_2-C_6 alqueno" en las definiciones de R^1 , R^2 y R^4 se refiere a un grupo alqueno lineal o ramificado que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Ejemplos del mismo puede incluir un grupo etenilo, un grupo 1-propinilo, un grupo 2-propinilo, un grupo 1-metil-2-propinilo, un grupo 1-butenilo, un grupo 2-butenilo, un grupo 3-butenilo, un grupo 1-pentinilo, un grupo 4-pentinilo, un grupo 1-metil-4-pentinilo y un grupo 5-hexinilo.

El "grupo cicloalquilo C_3-C_7 " en las definiciones de R^1 y R^2 se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene de 3 a 7 átomos de carbono. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo ciclopropilo, un grupo ciclobutilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo y un grupo cicloheptilo.

El "anillo heterocíclico de 3 a 10 miembros" en las definiciones de R^1 , R^2 y R^3 se refieren a un grupo heterocíclico monocíclico o bicíclico de 3 a 10 miembros saturado o parcialmente insaturado que contiene al menos un átomo de nitrógeno y opcionalmente contiene además uno o más átomos seleccionados entre el grupo que consiste en un átomo de nitrógeno, un átomo de azufre y un átomo de oxígeno. Ejemplos del mismo pueden incluir azetidina, pirrolidina, piperidina, azepano, dihidropirrol, dihidropiridina, tetrahidropiridina, piperazina, morfolina, dihidrooxazol y dihidrotiazol. El anillo heterocíclico formado por R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno unido a los mismos es preferentemente azetidina, pirrolidina o morfolina. El anillo heterocíclico formado por R^1 junto con el átomo de

nitrógeno unido a R¹, R³, y el átomo de carbono unido a R³ es preferentemente azetidina, pirrolidina, piperidina o morfolina.

5 El "anillo de hidrocarburo de 3 a 10 miembros" en las definiciones de R³ y R⁴ se refiere a un grupo de anillo de hidrocarburo saturado que tiene de 3 a 10 átomos de carbono. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo ciclopropilo, un grupo ciclobutilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo cicloheptilo, un grupo ciclooctilo, un grupo ciclononilo y un grupo ciclodecanilo.

El "átomo de halógeno" en las definiciones del grupo de sustituyentes α y el grupo de sustituyentes β es un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo y preferentemente es un átomo de flúor.

10 El "grupo alquilo C₁-C₆ halogenado" en las definiciones del grupo de sustituyentes α y el grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que uno o dos átomos de hidrógeno en el "grupo alquilo C₁-C₆" descrito anteriormente se sustituyen con el "átomo de halógeno" descrito anteriormente. Ejemplos de los mismos incluyen un grupo fluorometilo, un grupo clorometilo, un grupo 1-fluoroetilo, un grupo 1-cloroetilo, un grupo 2-fluoroetilo y un grupo 1,2-difluoropropilo. El grupo alquilo C₁-C₆ halogenado es preferentemente un grupo alquilo C₁-C₄ halogenado, más preferentemente un grupo alquilo C₁-C₃ halogenado.

15 El "grupo alcoxi C₁-C₆" en las definiciones del grupo de sustituyentes α y el grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el "grupo alquilo C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un átomo de oxígeno. Ejemplos de los mismos incluyen un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo n-propoxi, un grupo n-butoxi, un grupo s-butoxi, un grupo *terc*-butoxi y un grupo n-pentoxi. El grupo alcoxi C₁-C₆ es preferentemente un grupo alcoxi C₁-C₄, más preferentemente un grupo alcoxi C₁-C₂.

20 El "grupo alquilsulfanilo C₁-C₆" en las definiciones del grupo de sustituyentes α y el grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el "grupo alquilo C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un átomo de azufre. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metilsulfanilo, un grupo etilsulfanilo, un grupo n-propilsulfanilo, un grupo n-butilsulfanilo, un grupo s-butilsulfanilo, un grupo *terc*-butilsulfanilo y un grupo n-pentilsulfanilo. El grupo C₁-C₆ alquilsulfanilo es preferentemente un grupo alquilsulfanilo C₁-C₄, más preferentemente un grupo alquilsulfanilo C₁-C₂.

25 El "grupo alquilamino C₁-C₆" en la definición del grupo de sustituyentes α se refiere a un grupo en el que "grupo alquilo C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un átomo de nitrógeno. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metilamino, un grupo etilamino, un grupo n-propilamino, un grupo n-butilamino, un grupo s-butilamino, un grupo *terc*-butilamino, un grupo n-pentilamino, un grupo n-hexilamino, un grupo N,N-dimetilamino, un grupo N,N-dietilamino, un grupo N,N-din-propilamino, un N,N-diisopropilamino, un grupo N,N-di-n-butilamino, un grupo N,N-diisobutilamino, un grupo N,N-di-s-butilamino y un grupo N,N-di-*terc*-butilamino. El grupo alquilamino C₁-C₆ es preferentemente un grupo alquilamino C₁-C₄, más preferentemente un grupo alquilamino C₁-C₂.

30 El "grupo alcanilo C₁-C₇" en las definiciones del grupo de sustituyentes α y el grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo alcanilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo formilo, un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butirilo, un grupo isobutirilo, un grupo pentanoilo, un grupo pivaloilo, un grupo valerilo, un grupo isovalerilo, un grupo hexanoilo y un grupo heptanoilo.

35 El "grupo alcanilo C₁-C₇" en la definición del grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el "grupo alcanilo C₁-C₇" descrito anteriormente está unido a un átomo de oxígeno. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo formiloxi, un grupo acetiloxi, un grupo propioniloxi, un grupo butiriloxi, un grupo isobutiriloxi, un grupo pentanoiloxi, un grupo pivaloiloxi, un grupo valeriloxi, un grupo isovaleriloxi, un grupo hexanoiloxi y un grupo heptanoiloxi.

40 El "grupo alcoxialcoxi C₃-C₇" en la definición del grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que uno o dos átomos de carbono de un alcanilo lineal, ramificado o cíclico que tiene de 3 a 7 átomos de carbono se sustituyen con un átomo de oxígeno y el grupo resultante se une además con un átomo de oxígeno (excepto para peróxido). Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metoximetoxi, un grupo etoximetoxi, un grupo etoxietoxi, un grupo 2-tetrahidrofuranoiloxi y un grupo 2-tetrahidropiranoloxi.

45 El "grupo (alcoxi C₁-C₆)carbonilo" en la definición del grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el "grupo alcoxi C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un grupo carbonilo. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metoxicarbonilo, un grupo etoxicarbonilo, un grupo propoxicarbonilo, un grupo isopropoxicarbonilo, un grupo butoxicarbonilo, un grupo isobutoxicarbonilo, un grupo *sec*-butoxicarbonilo, un grupo *terc*-butoxicarbonilo, un grupo pentiloxicarbonilo y un grupo hexiloxicarbonilo.

50 El "grupo (alcoxi C₁-C₆)carboxilo" en la definición del grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el "grupo alcoxi C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un grupo carboxilo. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metoxicarboxilo, un grupo etoxicarboxilo, un grupo propoxicarboxilo, un grupo isopropoxicarboxilo, un grupo butoxicarboxilo, un grupo isobutoxicarboxilo, un grupo *sec*-butoxicarboxilo, un grupo *terc*-butoxicarboxilo, un grupo pentiloxicarboxilo y un grupo hexiloxicarboxilo.

55 El "grupo alcoxi (C₁-C₆)carbamoilo" en la definición del grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el

"grupo alcoxi C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un grupo carbamoilo. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metoxicarbamoilo, un grupo etoxicarbamoilo, un grupo propoxicarbamoilo, un grupo isopropoxicarbamoilo, un grupo butoxicarbamoilo, un grupo isobutoxicarbamoilo, un grupo *sec*-butoxicarbamoilo, un grupo *terc*-butoxicarbamoilo, un grupo pentiloxicarbamoilo y un grupo hexiloxicarbamoilo.

- 5 El "grupo (alquilamino C₁-C₆)carboxilo" en la definición del grupo de sustituyentes β se refiere a un grupo en el que el "grupo alquilamino C₁-C₆" descrito anteriormente está unido a un grupo carboxilo. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo metilaminocarboxilo, un grupo etilaminocarboxilo, un grupo *n*-propilaminocarboxilo, un grupo *n*-butilaminocarboxilo, un grupo *s*-butilaminocarboxilo, un grupo *terc*-butilaminocarboxilo, un grupo *n*-pentilaminocarboxilo, un grupo *n*-hexilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-dimetilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-dietilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-di-*n*-propilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-diisopropilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-di-*n*-butilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-diisobutilaminocarboxilo, un grupo *N,N*-di-*s*-butilaminocarboxilo y un grupo *N,N*-di-*terc*-butilaminocarboxilo.

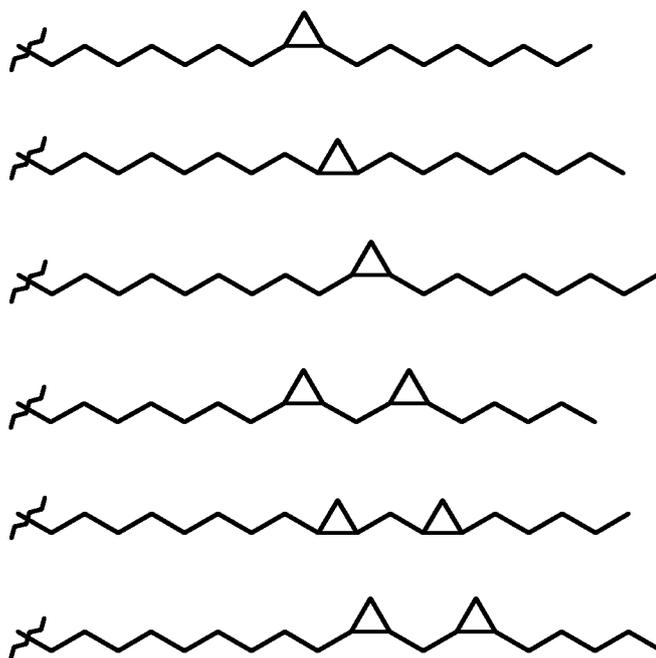
- 15 El "grupo alquilo C₁₀-C₂₄" en las definiciones de L¹ y L² se refiere a un grupo alquilo lineal que tiene de 10 a 24 átomos de carbono. Ejemplos del mismo pueden incluir un grupo decilo, un grupo undecilo, un grupo dodecilo, un grupo tridecilo, un grupo tetradecilo, un grupo pentadecilo, un grupo hexadecilo, un grupo heptadecilo, un grupo octadecilo, un grupo nonadecilo, un grupo icosilo, un grupo hencosilo, un grupo docosilo, un grupo tricosilo y un grupo tetracosilo. El "grupo alquilo C₁₀-C₂₄" representado por L¹ es preferentemente un grupo heptadecilo, un grupo octadecilo o un grupo nonadecilo. El "grupo alquilo C₁₀-C₂₄" representado por L² es preferentemente un grupo decilo, un grupo undecilo o un grupo dodecilo.

- 20 El "grupo alqueno C₁₀-C₂₄" en las definiciones de L¹ y L² se refiere a un grupo alqueno lineal que tiene de 10 a 24 átomos de carbono. El "grupo alqueno C₁₀-C₂₄" en la presente solicitud incluye uno cualquiera de un grupo alcadieno C₁₀-C₂₄, un grupo alcatrieno C₁₀-C₂₄ y un grupo alcatetraeno C₁₀-C₂₄. Ejemplos de los mismos pueden incluir un grupo deceno, un grupo undeceno, un grupo dodeceno, un grupo trideceno, un grupo tetradeceno, un grupo pentadeceno, un grupo hexadeceno, un grupo heptadeceno, un grupo octadeceno, un grupo nonadeceno, un grupo icoseno, un grupo hencoseno, un grupo docoseno, un grupo tricoseno, un grupo tetracoseno, un grupo decadieno, un grupo undecadieno, un grupo dodecadieno, un grupo tridecadieno, un grupo tetradecadieno, un grupo pentadecadieno, un grupo hexadecadieno, un grupo heptadecadieno, un grupo octadecadieno, un grupo nonadecadieno, un grupo icosadieno, un grupo hencosadieno, un grupo docosadieno, un grupo tricosadieno, un grupo tetracosadieno, un grupo decatrieno, un grupo undecatrieno, un grupo dodecatrieno, un grupo tridecatrieno, un grupo tetradecatrieno, un grupo pentadecatrieno, un grupo hexadecatrieno, un grupo heptadecatrieno, un grupo octadecatrieno, un grupo nonadecatrieno, un grupo icosatrieno, un grupo hencosatrieno, un grupo docosatrieno, un grupo tricosatrieno y un grupo tetracosatrieno. El "grupo alqueno C₁₀-C₂₄" representado por L¹ es preferentemente un grupo heptadeceno, un grupo octadeceno, un grupo nonadeceno, un grupo heptadecadieno, un grupo octadecadieno, un grupo nonadecadieno, un grupo heptadecatrieno, un grupo octadecatrieno o un grupo nonadecatrieno. L¹ es preferentemente un grupo (R)-11-acetiloxi-*cis*-8-heptadeceno, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-*cis*-8-heptadeceno, un grupo *cis*-9-octadeceno (grupo oleilo), un grupo *cis*-8,11-heptadecadieno, un grupo *cis*-9,12-octadecadieno (grupo linoleilo), un grupo *cis*-10,13-nonadecadieno o un grupo *cis*-6,9,12-octadecatrieno (grupo linolenilo). El "grupo alqueno C₁₀-C₂₄" representado por L² es preferentemente un grupo deceno, un grupo undeceno, un grupo dodeceno, un grupo heptadeceno, un grupo octadeceno, un grupo decadieno, un grupo undecadieno, un grupo dodecadieno, un grupo heptadecadieno, un grupo octadecadieno, un grupo nonadecadieno, un grupo heptadecatrieno, un grupo octadecatrieno o un grupo nonadecatrieno. L² es preferentemente un grupo *cis*-7-deceno, un grupo (R)-11-acetiloxi-*cis*-8-heptadeceno, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-*cis*-8-heptadeceno, un grupo *cis*-9-octadeceno (grupo oleilo), un grupo *cis*-8,11-heptadecadieno, un grupo *cis*-9,12-octadecadieno (grupo linoleilo), un grupo *cis*-10,13-nonadecadieno o un grupo *cis*-6,9,12-octadecatrieno (grupo linolenilo).

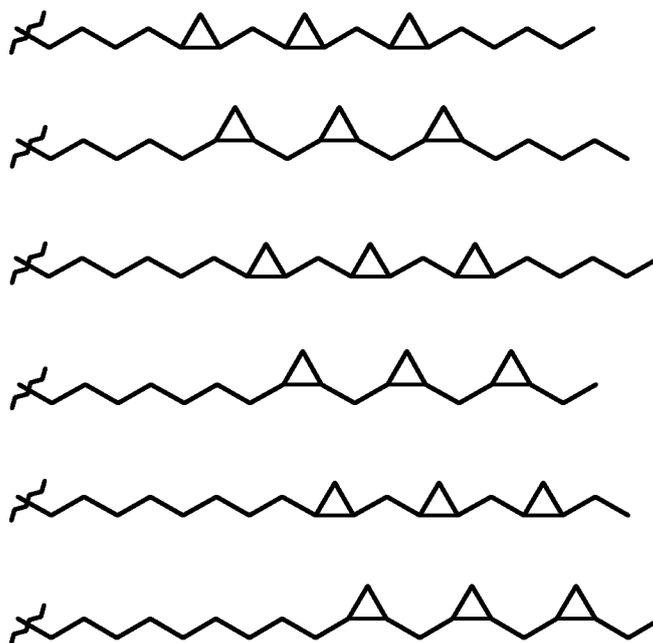
- 50 El "grupo alquino C₃-C₂₄" en las definiciones de L¹ y L² se refiere a un grupo alquino lineal que tiene de 3 a 24 átomos de carbono. El "grupo alquino C₃-C₂₄" en la presente solicitud incluye uno cualquiera de un grupo alcadieno C₃-C₂₄, un grupo C₃-C₂₄ y un grupo alcatetraeno C₃-C₂₄. El grupo alquino C₃-C₂₄ es, por ejemplo, un grupo propino, un grupo butino, un grupo pentino, un grupo hexino, un grupo heptino, un grupo octino, un grupo nonino, un grupo decino, un grupo undecino, un grupo dodecino, un grupo tridecino, un grupo tetradecino, un grupo pentadecino, un grupo hexadecino, un grupo heptadecino, un grupo octadecino, un grupo nonadecino, un grupo icosino, un grupo hencosino, un grupo docosino, un grupo tricosino o un grupo tetracosino y preferentemente es un grupo decino.

- 55 El "grupo (alquil C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquilo C₁-C₁₀)" en las definiciones de L¹ y L² es, por ejemplo, un grupo representado por una cualquiera de las siguientes fórmulas estructurales:

[Fórmula 16]



[Fórmula 17]



5 El "grupo (alcoxi C₁₀-C₂₄) metilo" en la definición de L² se refiere a un grupo en el que el "grupo alquilo C₁₀-C₂₄" descrito anteriormente está unido a un átomo de oxígeno que también está unido a un grupo metilo. Los ejemplos del mismo pueden incluir un grupo deciloximetilo, un grupo undeciloximetilo, un grupo dodeciloximetilo, un grupo trideciloximetilo, un grupo tetradeciloximetilo, un grupo pentadeciloximetilo, un grupo hexadeciloximetilo, un grupo heptadeciloximetilo, un grupo octadeciloximetilo, un grupo nonadeciloximetilo, un grupo icosiloximetilo, un grupo heniciloximetilo, un grupo docosiloximetilo, un grupo tricosiloximetilo y un grupo tetracosiloximetilo. El "grupo (alcoxi C₁₀-C₂₄)metilo" es preferentemente un grupo deciloximetilo, un grupo undeciloximetilo o un grupo dodeciloximetilo.

10

El "grupo (alquenil C₁₀-C₂₄)oximetilo" en la definición de L² se refiere a un grupo en el que el "grupo alquenilo C₁₀-C₂₄" descrito anteriormente está unido a un átomo de oxígeno que también está unido a un grupo metilo. El "grupo (alquenil C₁₀-C₂₄)oximetilo" en la presente solicitud incluye uno cualquiera de un grupo (alcadienil C₁₀-C₂₄)oximetilo, un grupo (alcatrienil C₁₀-C₂₄)oximetilo y un grupo (alcatetraenil C₁₀-C₂₄)oximetilo. Ejemplos de los mismos pueden

5 incluir un grupo deceniloximetilo, un grupo undeceniloximetilo, un grupo dodeceniloximetilo, un grupo trideceniloximetilo, un grupo tetradeceniloximetilo, un grupo pentadeceniloximetilo, un grupo hexadeceniloximetilo, un grupo heptadeceniloximetilo, un grupo octadeceniloximetilo, un grupo nonadeceniloximetilo, un grupo icoseniloximetilo, un grupo hencoseniloximetilo, un grupo docoseniloximetilo, un grupo tricoseniloximetilo, un grupo tetracoseniloximetilo, un grupo decadieniloximetilo, un grupo undecadieniloximetilo, un grupo dodecadieniloximetilo, un grupo tridecadieniloximetilo, un grupo tetradecadieniloximetilo, un grupo pentadecadieniloximetilo, un grupo hexadecadieniloximetilo, un grupo heptadecadieniloximetilo, un grupo octadecadieniloximetilo, un grupo nonadecadieniloximetilo, un grupo icosadieniloximetilo, un grupo hencosadieniloximetilo, un grupo docosadieniloximetilo, un grupo tricosadieniloximetilo, un grupo tetracosadieniloximetilo, un grupo decatrieniloximetilo, un grupo undecatrieniloximetilo, un grupo dodecatrieniloximetilo, un grupo tridecatrieniloximetilo, un grupo tetradecatrieniloximetilo, un grupo pentadecatrieniloximetilo, un grupo hexadecatrieniloximetilo, un grupo heptadecatrieniloximetilo, un grupo octadecatrieniloximetilo, un grupo nonadecatrieniloximetilo, un grupo icosatrieniloximetilo, un grupo hencosatrieniloximetilo, un grupo docosatrieniloximetilo, un grupo tricostrieniloximetilo y un grupo tetracosatrieniloximetilo. El "grupo (alquencil C₁₀-C₂₄)oximetilo" es preferentemente 15 un grupo deceniloximetilo, un grupo undeceniloximetilo, un grupo dodeceniloximetilo, un grupo heptadeceniloximetilo, un grupo octadeceniloximetilo, un grupo decadieniloximetilo, un grupo undecadieniloximetilo, un grupo dodecadieniloximetilo, un grupo heptadecadieniloximetilo, un grupo octadecadieniloximetilo, un grupo nonadecadieniloximetilo, un grupo heptadecatrieniloximetilo, un grupo octadecatrieniloximetilo o un grupo nonadecatrieniloximetilo, más preferentemente un grupo cis-7-deceniloximetilo, un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadeceniloximetilo, un grupo (R)-11-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadeceniloximetilo, un grupo cis-9-octadeceniloximetilo (grupo oleiloximetilo), un grupo cis-8,11-heptadecadieniloximetilo, un grupo cis-9,12-octadecadieniloximetilo (grupo linoleiloximetilo), un grupo cis-10,13-nonadecadieniloximetilo o un grupo cis-6,9,12-octadecatrieniloximetilo (grupo linoleniloximetilo).

25 El "grupo (alquencil C₃-C₂₄)oximetilo" en la definición de L² se refiere a un grupo en el que el "grupo alquencil C₃-C₂₄" descrito anteriormente está unido a un átomo de oxígeno que también está unido a un grupo metilo. El "grupo (alquencil C₃-C₂₄)oximetilo" en la presente solicitud incluye uno cualquiera de un grupo (alcadiencil C₃-C₂₄)oximetilo, un grupo (alcatriencil C₃-C₂₄)oximetilo y un grupo (alcatetrainil C₃-C₂₄)oximetilo. El "grupo (alquencil C₃-C₂₄)oximetilo" es, por ejemplo, un grupo propiniloximetilo, un grupo butiniloximetilo, un grupo pentiniloximetilo, un grupo hexiniloximetilo, un grupo heptiniloximetilo, un grupo octiniloximetilo, un grupo noniniloximetilo, un grupo deciniloximetilo, un grupo undeciniloximetilo, un grupo dodeciniloximetilo, un grupo trideciniloximetilo, un grupo tetradeciniloximetilo, un grupo pentadeciniloximetilo, un grupo hexadeciniloximetilo, un grupo heptadeciniloximetilo, un grupo octadeciniloximetilo, un grupo nonadeciniloximetilo, un grupo icosiniloximetilo, un grupo hencosiniloximetilo, un grupo docosiniloximetilo, un grupo tricostrieniloximetilo o un grupo tetracosiniloximetilo y es preferentemente un grupo deciniloximetilo.

35 El "grupo (alquil C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquil C₁-C₁₀) oximetilo" en la definición de L² se refiere a un grupo en el que el "grupo (alquil C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquilo C₁-C₁₀)" descrito anteriormente está unido a un átomo de oxígeno que también está unido a un grupo metilo.

40 Cuando cada uno de L¹ y L² tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β y el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β en L¹ y el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β en L² se unen entre sí para formar una estructura cíclica, el grupo de sustituyentes β es preferentemente un grupo alcanoiloxi C₂-C₆, más preferentemente un grupo propioniloxi. Más específicamente, el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β en L¹ y el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β en L² se unen entre sí para formar un grupo -OCOCH₂CH₂COO-.

45 El grupo de sustituyentes β en la presente solicitud es preferentemente el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo ciano, un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alquilo C₁-C₆ halogenado, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo C₁-C₆, un grupo alcanoil C₁-C₇, un grupo alcanoiloxi C₁-C₇, un grupo alcoxialcoxi C₃-C₇, un grupo (alcoxi C₁-C₆)carbonilo, un grupo (alcoxi C₁-C₆)carboxilo, un grupo (alcoxi C₁-C₆)carbamoilo y un grupo (alquilamin C₁-C₆)carboxilo (grupo de sustituyentes β₁), más preferentemente un grupo alcanoiloxi C₂-C₅, más preferentemente un grupo acetiloxi o un grupo propioniloxi, de forma particularmente preferente un grupo acetiloxi.

50 El lípido catiónico de la presente invención puede convertirse en una "sal farmacológicamente aceptable" mediante un procedimiento habitual. Ejemplos preferentes de dichas sales pueden incluir: sales metálicas incluyendo sales de metales alcalinos tales como una sal de sodio, una sal de potasio y una sal de litio, sales de metales alcalinotérreos, tales como una sal de calcio y una sal de magnesio, una sal de aluminio, una sal de hierro, una sal de cinc, una sal de cobre, una sal de níquel y una sal de cobalto; sales de amina incluyendo sales inorgánicas tales como sal de amonio y sales orgánicas tales como una sal de t-octilamina, una sal de dibencilamina, una sal de morfolina, una sal de glucosamina, una sal de éster alquílico de fenilglicina, una sal de etilendiamina, una sal de N-metilglucamina, una sal de guanidina, una sal de dietilamina, una sal de trietilamina, una sal de diciclohexilamina, una sal de N,N'-dibenciletilendiamina, una sal de cloroprocaína, una sal de procaína, una sal de dietanolamina, una sal de N-bencilfenetilamina, una sal de piperazina, una sal de tetrametilamonio y una sal de tris(hidroximetil)aminometano; sales de ácidos inorgánicos tales como un hidroháluro (por ejemplo, un fluorhidrato, un clorhidrato, un bromhidrato y un yodhidrato), un nitrato, un perclorato, un sulfato y un fosfato; sales de ácidos orgánicos tales como alcanosulfonatos inferiores (por ejemplo, un metanosulfonato, un trifluorometanosulfonato y un etanosulfonato), arilsulfonatos (por

ejemplo, un bencenosulfonato y un p-toluenosulfonato), un acetato, un malato, un fumarato, un succinato, un citrato, un tartrato, un oxalato y un maleato; y sales de aminoácidos tales como una sal de glicina, una sal de lisina, una sal de arginina, una sal de ornitina, un glutamato y un aspartato.

5 El lípido catiónico de la presente invención puede existir también en forma de un hidrato o un solvato. La presente invención abarca incluso dicho hidrato o solvato.

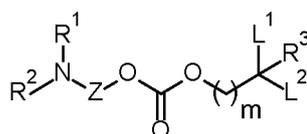
El lípido catiónico de la presente invención puede tener un estereoisómero, un isómero geométrico o un atropoisómero. La presente invención abarca incluso estos isómeros y mezclas de isómeros arbitrarios a cualquier relación arbitraria, a menos que se indique otra cosa.

1-2. Ejemplo específico de lípido catiónico

10 Ejemplos específicos del lípido catiónico de la presente invención pueden incluir los compuestos de 1-1 a 1-481 descritos a continuación en la tabla 1 y los compuestos de 2-1 a 2-570 descritos a continuación en la tabla 2. En las tablas 1 y 2, "C17-1" representa un grupo cis-8-heptadecenilo; "C18-1" representa un grupo cis-9-octadecenilo (grupo oleilo); "C17-2" representa un grupo cis,cis-8,11-heptadecadienilo; "Lin" representa un grupo cis,cis-9,12-octadecadienilo (grupo linoleilo); "C19-2" representa un grupo cis,cis-10,13-nonadecadienilo; "C17-31" representa un grupo cis,cis,cis-5,8,11-heptadecatrienilo; "C17-32" representa un grupo cis,cis,cis-8,11,14-heptadecatrienilo; "C17-33" representa un grupo 7-[2-({2-etilciclopropil}metil)ciclopropil]metil]ciclopropil]heptilo; "C17-A" representa un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadecenilo; "C17-H" representa un grupo (R)-11-hexeniloxi-cis-8-heptadecenilo; "C17-OH" representa un grupo (R)-11-hidroxi-cis-8-heptadecenilo; "C17-T" representa un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadecenilo; "C17-T2" representa un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-furan-2-iloxi)-cis-8-heptadecenilo; "Me" representa un grupo metilo; "Et" representa un grupo etilo; "Pr" representa un grupo propilo; "C10" representa un grupo decilo; "C11" representa un grupo undecilo; "C12" representa un grupo dodecilo; "C13" representa un grupo tridecilo; "C14" representa un grupo tetradecilo; "C15" representa un grupo pentadecilo; "C16" representa un grupo hexadecilo; "C17" representa un grupo heptadecilo; "C18" representa un grupo octadecilo; "C19" representa un grupo nonadecilo; "C20" representa un grupo icosilo; "C21" representa un grupo henicosisilo; "C22" representa un grupo docosisilo; "C23" representa un grupo tricosilo; "C24" representa un grupo tetracosilo; "C10-1" representa un grupo cis-7-decenilo; "C10-2" representa un grupo 7-decinilo; "C17-O-Su-O-C17" representa un grupo en que los grupos (R)-11-hidroxi-cis-8-heptadecenilo se reticulán mediante ácido succínico; y "-" representa un enlace sencillo.

(Tabla 1)

[Fórmula 18]



Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-1	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
1-2	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C11	H
1-3	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C12	H
1-4	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C13	H
1-5	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C14	H
1-6	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C15	H
1-7	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
1-8	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
1-9	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C11	H
1-10	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C12	H
1-11	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C13	H
1-12	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C14	H
1-13	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C15	H
1-14	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C16	H
1-15	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
1-16	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-17	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-18	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H

ES 2 702 374 T3

1-19	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-20	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-21	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-22	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-23	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-1	C10	H
1-24	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-1	C10	H
1-25	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-1	C10	H
1-26	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
1-27	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-1	C10	H
1-28	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	Me
1-29	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	Me
1-30	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	Et
1-31	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-32	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-33	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-34	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-35	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-36	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-37	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-38	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-1	C10-1	H
1-39	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-1	C10-1	H
1-40	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-1	C10-1	H
1-41	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10-1	H
1-42	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-1	C10-1	H

(continuación)

Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-43	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C11	H
1-44	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C12	H
1-45	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C13	H
1-46	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C14	H
1-47	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C15	H
1-48	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C16	H
1-49	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17	H
1-50	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-51	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-52	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-53	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-54	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-55	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-56	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-57	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
1-58	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-1	C17-1	H
1-59	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-1	C17-1	H
1-60	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
1-61	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-1	C17-1	H
1-62	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	Me
1-63	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	Me
1-64	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	Et
1-65	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C18	H
1-66	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C19	H
1-67	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C20	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-68	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C21	H
1-69	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C22	H
1-70	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C23	H
1-71	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C24	H
1-72	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-73	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-74	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-75	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-76	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-77	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-78	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-79	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-2	C10	H
1-80	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C10	H
1-81	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-2	C10	H
1-82	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
1-83	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C10	H
1-84	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	Me
1-85	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	Me
1-86	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	Et
1-87	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-88	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-89	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-90	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-91	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-92	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-93	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-94	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-2	C10-1	H
1-95	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C10-1	H
1-96	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-2	C10-1	H
1-97	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-1	H
1-98	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C10-1	H
1-99	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-100	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-101	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-102	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-103	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-104	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-105	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-106	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-2	C10-2	H
1-107	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C10-2	H
1-108	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-2	C10-2	H
1-109	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10-2	H
1-110	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C10-2	H
1-111	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C11	H
1-112	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C12	H
1-113	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C13	H
1-114	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C14	H
1-115	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C15	H
1-116	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C16	H
1-117	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-118	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-119	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-120	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-121	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-122	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-123	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-124	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-125	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-126	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-127	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-128	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
1-129	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C17-2	H
1-130	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-2	C17-2	H
1-131	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
1-132	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-2	C17-2	H
1-133	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C18	H
1-134	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C19	H
1-135	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C20	H
1-136	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C21	H
1-137	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C22	H
1-138	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C23	H
1-139	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C24	H
1-140	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-141	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-142	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-143	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-144	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-145	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-146	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-147	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-31	C10	H
1-148	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-31	C10	H
1-149	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-31	C10	H
1-150	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C10	H
1-151	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-31	C10	H
1-152	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-153	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-154	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-155	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-156	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-157	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-158	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-159	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-31	C17-31	H
1-160	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-31	C17-31	H
1-161	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-31	C17-31	H
1-162	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-31	C17-31	H
1-163	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-31	C17-31	H
1-164	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-165	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-166	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-167	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-168	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-169	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-170	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-171	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-32	C10	H
1-172	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C10	H
1-173	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-32	C10	H
1-174	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H
1-175	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C10	H
1-176	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-177	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-178	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-179	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-180	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-181	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-182	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-183	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-32	C17-32	H
1-184	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C17-32	H
1-185	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-32	C17-32	H
1-186	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H
1-187	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C17-32	H
1-188	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-189	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-190	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-191	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-192	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-193	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-194	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-195	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-33	C10	H
1-196	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C10	H
1-197	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-33	C10	H
1-198	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H
1-199	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C10	H
1-200	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-201	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-202	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-203	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-204	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-205	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-206	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-207	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-33	C17-33	H
1-208	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C17-33	H
1-209	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-33	C17-33	H
1-210	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H
1-211	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C17-33	H
1-212	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-213	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-214	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-215	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-216	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-217	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-218	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-219	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-A	C10	H
1-220	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C10	H
1-221	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-A	C10	H
1-222	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
1-223	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C10	H
1-224	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C11	H
1-225	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C12	H
1-226	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C13	H
1-227	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C14	H
1-228	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C15	H
1-229	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C16	H
1-230	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17	H
1-231	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-1	H
1-232	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-2	H
1-233	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-234	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-235	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-236	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-237	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-238	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-239	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-240	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
1-241	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C17-A	H
1-242	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-A	C17-A	H
1-243	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
1-244	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C17-A	H
1-245	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C18	H
1-246	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C18-1	H
1-247	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C19	H
1-248	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C19-2	H
1-249	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C20	H
1-250	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C21	H
1-251	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C22	H
1-252	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C23	H
1-253	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C24	H
1-254	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	Lin	H
1-255	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-256	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-257	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-258	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-259	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-260	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-261	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-262	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-H	C10	H
1-263	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-H	C10	H
1-264	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-H	C10	H
1-265	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
1-266	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-H	C10	H
1-267	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C11	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-268	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C12	H
1-269	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C13	H
1-270	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C14	H
1-271	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C15	H
1-272	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C16	H
1-273	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17	H
1-274	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-1	H
1-275	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-2	H
1-276	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-277	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-278	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-279	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-280	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-281	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-282	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-283	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
1-284	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-H	C17-H	H
1-285	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-H	C17-H	H
1-286	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
1-287	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-H	C17-H	H
1-288	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C18	H
1-289	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C18-1	H
1-290	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C19	H
1-291	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C19-2	H
1-292	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C20	H
1-293	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C21	H
1-294	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C22	H
1-295	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C23	H
1-296	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C24	H
1-297	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	Lin	H
1-298	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C10	H
1-299	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C11	H
1-300	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C12	H
1-301	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C13	H
1-302	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C14	H
1-303	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C15	H
1-304	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C16	H
1-305	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C17	H
1-306	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C17-1	H
1-307	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C17-2	H
1-308	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C17-OH	H
1-309	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C18	H
1-310	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C18-1	H
1-311	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C19	H
1-312	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C19-2	H
1-313	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C20	H
1-314	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C21	H
1-315	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C22	H
1-316	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C23	H
1-317	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	C24	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-318	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-OH	Lin	H
1-319	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-320	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-321	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-322	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-323	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-324	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-325	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-326	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-327	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-328	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-329	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-330	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-331	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-332	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-333	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-O-Su	-O-C17	H
1-334	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-335	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-336	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-337	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-338	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-339	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-340	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-341	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-T	C10	H
1-342	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-T	C10	H
1-343	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-T	C10	H
1-344	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
1-345	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-T	C10	H
1-346	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C11	H
1-347	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C12	H
1-348	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C13	H
1-349	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C14	H
1-350	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C15	H
1-351	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C16	H
1-352	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17	H
1-353	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-1	H
1-354	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-2	H
1-355	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-356	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-357	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-358	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-359	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-360	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-361	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-362	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
1-363	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-T	C17-T	H
1-364	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-T	C17-T	H
1-365	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
1-366	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-T	C17-T	H
1-367	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C18	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-368	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C18-1	H
1-369	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C19	H
1-370	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C19-2	H
1-371	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C20	H
1-372	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C21	H
1-373	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C22	H
1-374	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C23	H
1-375	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C24	H
1-376	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	Lin	H
1-377	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-378	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-379	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-380	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-381	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-382	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-383	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-384	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-T2	C10	H
1-385	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-T2	C10	H
1-386	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-T2	C10	H
1-387	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
1-388	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-T2	C10	H
1-389	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C11	H
1-390	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C12	H
1-391	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C13	H
1-392	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C14	H
1-393	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C15	H
1-394	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C16	H
1-395	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17	H
1-396	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-1	H
1-397	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-2	H
1-398	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-399	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-400	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-401	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-402	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-403	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-404	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-405	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
1-406	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-T2	C17-T2	H
1-407	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-T2	C17-T2	H
1-408	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
1-409	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-T2	C17-T2	H
1-410	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C18	H
1-411	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C18-1	H
1-412	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C19	H
1-413	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C19-2	H
1-414	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C20	H
1-415	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C21	H
1-416	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C22	H
1-417	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C23	H

ES 2 702 374 T3

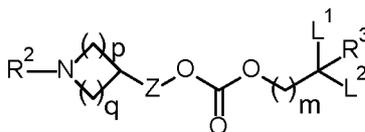
(continuación)							
Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-418	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C24	H
1-419	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	Lin	H
1-420	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
1-421	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C11	H
1-422	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C12	H
1-423	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C13	H
1-424	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C14	H
1-425	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C15	H
1-426	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C16	H
1-427	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C17	H
1-428	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
1-429	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-430	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-431	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-432	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-433	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-434	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-435	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-436	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C18-1	C18-1	H
1-437	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C18-1	C18-1	H
1-438	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C18-1	C18-1	H
1-439	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H
1-440	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C18-1	C18-1	H
1-441	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	Me
1-442	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	Me
1-443	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	Et
1-444	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-445	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-446	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-447	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-448	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-449	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-450	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-451	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C19-2	C10	H
1-452	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C19-2	C10	H
1-453	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C19-2	C10	H
1-454	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H
1-455	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C19-2	C10	H
1-456	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	Me
1-457	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	Me
1-458	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	Et
1-459	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-460	Me	Et	1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-461	Me	Pr	1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-462	Et	Et	1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-463	-(CH ₂) ₃ -		1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-464	-(CH ₂) ₄ -		1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-465	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H
1-466	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	Lin	C10	H
1-467	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H

(continuación)

Compuesto	R ¹	R ²	m	Z	L ¹	L ²	R ³
1-468	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-469	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-470	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-471	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-472	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-473	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-474	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	Lin	Lin	H
1-475	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	Lin	Lin	H
1-476	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	Lin	Lin	H
1-477	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
1-478	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	Lin	Lin	H
1-479	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	Me
1-480	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	Me
1-481	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	Et

(Tabla 2)

[Fórmula 19]



Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
-----------	----------------	---	---	---	---	----------------	----------------	----------------

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-1	Me	0	2	0	-	C17-1	C10	H
2-2	Me	0	3	0	-	C17-1	C10	H
2-3	Me	0	4	0	-	C17-1	C10	H
2-4	Me	1	2	0	-	C17-1	C10	H
2-5	Me	1	3	0	-	C17-1	C10	H
2-6	Me	2	2	0	-	C17-1	C10	H
2-7	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-8	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-9	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-10	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-11	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-12	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-13	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	H
2-14	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-15	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-16	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-17	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-18	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-19	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-20	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C10	H
2-21	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-22	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-23	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-24	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-25	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-26	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-27	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H
2-28	Me	1	3	0	-	C17-1	C10	Me
2-29	Me	2	2	0	-	C17-1	C10	Me
2-30	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	Me
2-31	Me	0	2	0	-	C17-1	C17-1	H
2-32	Me	0	3	0	-	C17-1	C17-1	H
2-33	Me	0	4	0	-	C17-1	C17-1	H
2-34	Me	1	2	0	-	C17-1	C17-1	H
2-35	Me	1	3	0	-	C17-1	C17-1	H
2-36	Me	2	2	0	-	C17-1	C17-1	H
2-37	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-38	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-39	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-40	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-41	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-42	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-43	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-44	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-45	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-46	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-47	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-48	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-49	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H
2-50	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-51	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-52	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-53	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-54	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-55	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-56	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-57	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H
2-58	Me	1	3	0	-	C17-1	C17-1	Me
2-59	Me	2	2	0	-	C17-1	C17-1	Me
2-60	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	Me
2-61	Me	0	2	0	-	C17-2	C10	H
2-62	Me	0	3	0	-	C17-2	C10	H
2-63	Me	0	4	0	-	C17-2	C10	H
2-64	Me	1	2	0	-	C17-2	C10	H
2-65	Me	1	3	0	-	C17-2	C10	H
2-66	Me	2	2	0	-	C17-2	C10	H
2-67	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-68	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-69	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-70	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-71	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-72	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-73	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H
2-74	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-75	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-76	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-77	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-78	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-79	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-80	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H
2-81	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-82	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-83	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-84	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-85	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-86	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-87	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H
2-88	Me	1	3	0	-	C17-2	C10	Me
2-89	Me	2	2	0	-	C17-2	C10	Me
2-90	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	Me
2-91	Me	0	2	0	-	C17-2	C17-2	H
2-92	Me	0	3	0	-	C17-2	C17-2	H
2-93	Me	0	4	0	-	C17-2	C17-2	H
2-94	Me	1	2	0	-	C17-2	C17-2	H
2-95	Me	1	3	0	-	C17-2	C17-2	H
2-96	Me	2	2	0	-	C17-2	C17-2	H
2-97	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-98	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-99	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-100	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-101	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-102	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-103	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-104	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-105	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-106	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-107	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-108	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-109	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-110	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H
2-111	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-112	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-113	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-114	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-115	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-116	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-117	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H
2-118	Me	1	3	0	-	C17-2	C17-2	Me
2-119	Me	2	2	0	-	C17-2	C17-2	Me
2-120	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	Me
2-121	Me	0	2	0	-	C17-A	C10	H
2-122	Me	0	3	0	-	C17-A	C10	H
2-123	Me	0	4	0	-	C17-A	C10	H
2-124	Me	1	2	0	-	C17-A	C10	H
2-125	Me	1	3	0	-	C17-A	C10	H
2-126	Me	2	2	0	-	C17-A	C10	H
2-127	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-128	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-129	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-130	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-131	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-132	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-133	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H
2-134	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-135	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-136	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-137	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-138	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-139	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-140	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H
2-141	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-142	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-143	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-144	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-145	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-146	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-147	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H
2-148	Me	1	3	0	-	C17-A	C10	Me
2-149	Me	2	2	0	-	C17-A	C10	Me
2-150	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	Me

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-151	Me	0	2	0	-	C17-A	C17-A	H
2-152	Me	0	3	0	-	C17-A	C17-A	H
2-153	Me	0	4	0	-	C17-A	C17-A	H
2-154	Me	1	2	0	-	C17-A	C17-A	H
2-155	Me	1	3	0	-	C17-A	C17-A	H
2-156	Me	2	2	0	-	C17-A	C17-A	H
2-157	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-158	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-159	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-160	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-161	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-162	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-163	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-164	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-165	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-166	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-167	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-168	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-169	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-170	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H
2-171	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-172	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-173	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-174	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-175	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-176	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-177	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H
2-178	Me	1	3	0	-	C17-A	C17-A	Me
2-179	Me	2	2	0	-	C17-A	C17-A	Me
2-180	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	Me
2-181	Me	0	2	0	-	C17-H	C10	H
2-182	Me	0	3	0	-	C17-H	C10	H
2-183	Me	0	4	0	-	C17-H	C10	H
2-184	Me	1	2	0	-	C17-H	C10	H
2-185	Me	1	3	0	-	C17-H	C10	H
2-186	Me	2	2	0	-	C17-H	C10	H
2-187	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-188	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-189	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-190	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-191	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-192	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-193	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H
2-194	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H
2-195	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H
2-196	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H
2-197	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H
2-198	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H
2-199	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H
2-200	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-201	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-202	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-203	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-204	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-205	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-206	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-207	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H
2-208	Me	1	3	0	-	C17-H	C10	Me
2-209	Me	2	2	0	-	C17-H	C10	Me
2-210	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	Me
2-211	Me	0	2	0	-	C17-H	C17-H	H
2-212	Me	0	3	0	-	C17-H	C17-H	H
2-213	Me	0	4	0	-	C17-H	C17-H	H
2-214	Me	1	2	0	-	C17-H	C17-H	H
2-215	Me	1	3	0	-	C17-H	C17-H	H
2-216	Me	2	2	0	-	C17-H	C17-H	H
2-217	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-218	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-219	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-220	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-221	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-222	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-223	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-224	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-225	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-226	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-227	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-228	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-229	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-230	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H
2-231	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-232	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-233	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-234	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-235	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-236	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-237	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H
2-238	Me	1	3	0	-	C17-H	C17-H	Me
2-239	Me	2	2	0	-	C17-H	C17-H	Me
2-240	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	Me
2-241	Me	0	2	0	-	C17-T	C10	H
2-242	Me	0	3	0	-	C17-T	C10	H
2-243	Me	0	4	0	-	C17-T	C10	H
2-244	Me	1	2	0	-	C17-T	C10	H
2-245	Me	1	3	0	-	C17-T	C10	H
2-246	Me	2	2	0	-	C17-T	C10	H
2-247	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H
2-248	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H
2-249	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H
2-250	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)								
Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-251	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H
2-252	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H
2-253	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H
2-254	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-255	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-256	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-257	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-258	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-259	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-260	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H
2-261	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-262	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-263	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-264	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-265	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-266	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-267	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H
2-268	Me	1	3	0	-	C17-T	C10	Me
2-269	Me	2	2	0	-	C17-T	C10	Me
2-270	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	Me
2-271	Me	0	2	0	-	C17-T	C17-T	H
2-272	Me	0	3	0	-	C17-T	C17-T	H
2-273	Me	0	4	0	-	C17-T	C17-T	H
2-274	Me	1	2	0	-	C17-T	C17-T	H
2-275	Me	1	3	0	-	C17-T	C17-T	H
2-276	Me	2	2	0	-	C17-T	C17-T	H
2-277	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-278	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-279	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-280	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-281	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-282	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-283	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-284	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-285	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-286	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-287	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-288	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-289	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-290	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H
2-291	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-292	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-293	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-294	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-295	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-296	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-297	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H
2-298	Me	1	3	0	-	C17-T	C17-T	Me
2-299	Me	2	2	0	-	C17-T	C17-T	Me
2-300	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	Me

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-301	Me	0	2	0	-	C17-T2	C10	H
2-302	Me	0	3	0	-	C17-T2	C10	H
2-303	Me	0	4	0	-	C17-T2	C10	H
2-304	Me	1	2	0	-	C17-T2	C10	H
2-305	Me	1	3	0	-	C17-T2	C10	H
2-306	Me	2	2	0	-	C17-T2	C10	H
2-307	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-308	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-309	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-310	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-311	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-312	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-313	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H
2-314	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-315	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-316	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-317	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-318	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-319	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-320	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H
2-321	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-322	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-323	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-324	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-325	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-326	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-327	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H
2-328	Me	1	3	0	-	C17-T2	C10	Me
2-329	Me	2	2	0	-	C17-T2	C10	Me
2-330	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	Me
2-331	Me	0	2	0	-	C17-T2	C17-T2	H
2-332	Me	0	3	0	-	C17-T2	C17-T2	H
2-333	Me	0	4	0	-	C17-T2	C17-T2	H
2-334	Me	1	2	0	-	C17-T2	C17-T2	H
2-335	Me	1	3	0	-	C17-T2	C17-T2	H
2-336	Me	2	2	0	-	C17-T2	C17-T2	H
2-337	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-338	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-339	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-340	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-341	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-342	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-343	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-344	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-345	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-346	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-347	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-348	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-349	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H
2-350	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-351	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-352	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-353	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-354	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-355	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-356	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-357	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H
2-358	Me	1	3	0	-	C17-T2	C17-T2	Me
2-359	Me	2	2	0	-	C17-T2	C17-T2	Me
2-360	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	Me
2-361	Me	0	2	0	-	Lin	Lin	H
2-362	Me	0	3	0	-	Lin	Lin	H
2-363	Me	0	4	0	-	Lin	Lin	H
2-364	Me	1	2	0	-	Lin	Lin	H
2-365	Me	1	3	0	-	Lin	Lin	H
2-366	Me	2	2	0	-	Lin	Lin	H
2-367	Me	0	2	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-368	Me	0	3	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-369	Me	0	4	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-370	Me	1	1	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-371	Me	1	2	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-372	Me	1	3	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-373	Me	2	2	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H
2-374	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-375	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-376	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-377	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-378	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-379	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-380	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H
2-381	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-382	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-383	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-384	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-385	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-386	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-387	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H
2-388	Me	1	3	0	-	Lin	Lin	Me
2-389	Me	2	2	0	-	Lin	Lin	Me
2-390	Me	1	3	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	Me
2-391	Me	0	2	0	-	C16	C10	H
2-392	Me	0	3	0	-	C16	C10	H
2-393	Me	0	4	0	-	C16	C10	H
2-394	Me	1	2	0	-	C16	C10	H
2-395	Me	1	3	0	-	C16	C10	H
2-396	Me	2	2	0	-	C16	C10	H
2-397	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C16	C10	H
2-398	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C16	C10	H
2-399	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C16	C10	H
2-400	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C16	C10	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-401	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C16	C10	H
2-402	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C10	H
2-403	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C16	C10	H
2-404	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-405	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-406	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-407	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-408	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-409	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-410	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H
2-411	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-412	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-413	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-414	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-415	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-416	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-417	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H
2-418	Me	1	3	0	-	C16	C10	Me
2-419	Me	2	2	0	-	C16	C10	Me
2-420	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C10	Me
2-421	Me	0	2	0	-	C16	C16	H
2-422	Me	0	3	0	-	C16	C16	H
2-423	Me	0	4	0	-	C16	C16	H
2-424	Me	1	2	0	-	C16	C16	H
2-425	Me	1	3	0	-	C16	C16	H
2-426	Me	2	2	0	-	C16	C16	H
2-427	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-428	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-429	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-430	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-431	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-432	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-433	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C16	C16	H
2-434	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-435	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-436	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-437	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-438	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-439	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-440	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H
2-441	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-442	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-443	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-444	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-445	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-446	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-447	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H
2-448	Me	1	3	0	-	C16	C16	Me
2-449	Me	2	2	0	-	C16	C16	Me
2-450	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C16	Me

ES 2 702 374 T3

(continuación)								
Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-451	Me	0	2	0	-	C17	C10	H
2-452	Me	0	3	0	-	C17	C10	H
2-453	Me	0	4	0	-	C17	C10	H
2-454	Me	1	2	0	-	C17	C10	H
2-455	Me	1	3	0	-	C17	C10	H
2-456	Me	2	2	0	-	C17	C10	H
2-457	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-458	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-459	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-460	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-461	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-462	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-463	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17	C10	H
2-464	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-465	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-466	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-467	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-468	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-469	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-470	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H
2-471	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-472	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-473	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-474	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-475	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-476	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-477	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H
2-478	Me	1	3	0	-	C17	C10	Me
2-479	Me	2	2	0	-	C17	C10	Me
2-480	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C10	Me
2-481	Me	0	2	0	-	C17	C17	H
2-482	Me	0	3	0	-	C17	C17	H
2-483	Me	0	4	0	-	C17	C17	H
2-484	Me	1	2	0	-	C17	C17	H
2-485	Me	1	3	0	-	C17	C17	H
2-486	Me	2	2	0	-	C17	C17	H
2-487	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-488	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-489	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-490	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-491	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-492	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-493	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17	C17	H
2-494	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H
2-495	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H
2-496	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H
2-497	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H
2-498	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H
2-499	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H
2-500	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H

ES 2 702 374 T3

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-501	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-502	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-503	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-504	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-505	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-506	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-507	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H
2-508	Me	1	3	0	-	C17	C17	Me
2-509	Me	2	2	0	-	C17	C17	Me
2-510	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C17	Me
2-511	Me	0	2	0	-	C18	C10	H
2-512	Me	0	3	0	-	C18	C10	H
2-513	Me	0	4	0	-	C18	C10	H
2-514	Me	1	2	0	-	C18	C10	H
2-515	Me	1	3	0	-	C18	C10	H
2-516	Me	2	2	0	-	C18	C10	H
2-517	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-518	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-519	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-520	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-521	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-522	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-523	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C18	C10	H
2-524	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-525	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-526	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-527	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-528	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-529	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-530	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H
2-531	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-532	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-533	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-534	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-535	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-536	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-537	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H
2-538	Me	1	3	0	-	C18	C10	Me
2-539	Me	2	2	0	-	C18	C10	Me
2-540	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C10	Me
2-541	Me	0	2	0	-	C18	C18	H
2-542	Me	0	3	0	-	C18	C18	H
2-543	Me	0	4	0	-	C18	C18	H
2-544	Me	1	2	0	-	C18	C18	H
2-545	Me	1	3	0	-	C18	C18	H
2-546	Me	2	2	0	-	C18	C18	H
2-547	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C18	C18	H
2-548	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C18	C18	H
2-549	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C18	C18	H
2-550	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C18	C18	H

(continuación)

Compuesto	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-551	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C18	C18	H
2-552	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C18	H
2-553	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C18	C18	H
2-554	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-555	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-556	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-557	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-558	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-559	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-560	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H
2-561	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-562	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-563	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-564	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-565	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-566	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-567	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H
2-568	Me	1	3	0	-	C18	C18	Me
2-569	Me	2	2	0	-	C18	C18	Me
2-570	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C18	Me

1-3. Procedimiento para producir un lípido catiónico

El lípido catiónico de la presente invención puede producirse mediante la aplicación de diversos procedimientos de síntesis conocidos en la técnica. Los procedimientos de síntesis conocidos en la técnica incluyen aquellos descritos en "Comprehensive Organic Transformations (2^a ed.)", Wiley-VCH, 1999, "Comprehensive Organic Synthesis", Pergamon Press, 1991, etc. Dependiendo de la clase de grupo funcional usado, la protección de un material de partida o de un intermedio con un grupo protector adecuado o la reacción después de sustituir con un grupo funcional que puede convertirse fácilmente en el grupo funcional de interés puede ser eficaz para la producción. Dicho grupo funcional incluye un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, un grupo amino, enlaces múltiples y similares. La protección y desprotección del grupo funcional o la derivación al grupo funcional puede llevarse a cabo por un procedimiento conocido en la técnica. El procedimiento conocido en la técnica incluye "Protective Groups in Organic Synthesis (4^a ed.)", Wiley-Interscience, 2006, etc.

El procedimiento para producir el lípido catiónico (I) de la presente invención, que se resume en las figuras 1 a 3, se mostrará a continuación. Sin embargo, el procedimiento de producción no está limitado a los procedimientos descritos a continuación.

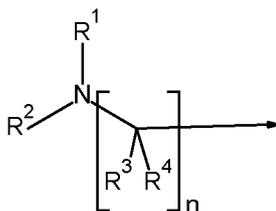
En las fórmulas, Cada uno de G¹, G², G³, G⁴ y G⁵ independientemente representa un átomo de hidrógeno, un sustituyente seleccionado entre el grupo de sustituyentes β o un sustituyente que puede servir como un precursor o forma sintética protegida químicamente aceptable para inducir cualquier sustituyente del grupo de sustituyentes β.

cada uno de p¹ y p² independientemente representa un número entero de 0 a 21.

Cada uno de G⁶, G⁷, G¹⁰, G¹¹ y G¹² independientemente representa un grupo alquilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β, un grupo alquenilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β, un grupo alquinilo C₃-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β, un grupo (alquilo C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquilo C₁-C₁₀) que opcionalmente tienen uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β o un sustituyente que puede servir como un precursor o forma sintética protegida aceptable químicamente para inducir cualquiera de estos sustituyentes.

G⁸ representa un sustituyente representado por la siguiente fórmula estructural o un sustituyente que puede servir como un precursor o forma sintética protegida aceptable químicamente para inducir el sustituyente:

[Fórmula 20]



G⁹ no está particularmente limitado siempre que pueda usarse generalmente como un grupo protector para un grupo carboxilo. Los ejemplos de los mismos incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, un grupo butilo, un grupo isobutilo, un grupo *sec*-butilo, un grupo *terc*-butilo, un grupo bencilo, un grupo *p*-nitrobencilo, un grupo *o*-nitrobencilo y un grupo *p*-metoxibencilo.

5 1-3-1. Procedimiento A

El procedimiento A se resume en la figura 1.

1-3-1-1. Etapa A-1

10 La etapa A-1 es la etapa de producir un compuesto alquino interno (A3) que tiene un grupo hidroxilo a partir de un compuesto alquino terminal (A1) que tiene un grupo hidroxilo y un compuesto alquilo (A2) que tiene un sustituyente saliente.

El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos de los mismos incluyen disolventes hidrocarburo aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo, sulfóxido y halogenados. Se prefieren los disolventes polares apróticos tales como disolventes de amida y sulfóxido y es más preferida la *N,N*-dimetilformamida (DMF).

15 Los ejemplos del reactivo usado incluyen los compuestos de metales de transición. Se prefieren compuestos de cobre y es más preferido el yoduro de cobre (I).

Se usan como aditivos dos o más sales inorgánicas, bases inorgánicas, alcóxidos de metales alcalinos, alcóxidos de metales alcalinotérreos, bases orgánicas y similares. Se prefieren las sales inorgánicas y las bases inorgánicas y son más preferidos el yoduro de sodio y el carbonato de potasio.

20 La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 0°C a 100°C, preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

25 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

30 1-3-1-2. Etapa A-2

La etapa A-2 es la etapa de producir un compuesto alquino interno (A4) que tiene un grupo formilo a partir de un compuesto alquino interno (A3) que tiene un grupo hidroxilo.

35 El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos de los mismos incluyen disolventes sulfóxido. Se prefiere el sulfóxido de dimetilo (DMSO).

Los ejemplos del reactivo usado incluyen complejos de trióxido de azufre-piridina y cloruro de ácido oxálico.

Se usan bases inorgánicas y bases orgánicas como aditivos. Se prefieren bases orgánicas y es más preferida trietilamina.

40 La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 0°C a 100°C, preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración;

añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-1-3. Etapa A-3

La etapa A-3 es la etapa de producir un compuesto alquino interno (A5) que tiene un grupo carboxilo a partir del compuesto alquino interno (A4) que tiene un grupo formilo.

El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes alcohólicos, amino y acuosos. Se prefieren los disolventes alcohólicos y es más preferido el alcohol *terc*-butílico.

Los ejemplos del reactivo usado incluyen agentes de oxidación inorgánicos tales como clorito sódico.

Se usan como aditivos sales inorgánicas, bases inorgánicas, alcóxidos de metales alcalinos y alcóxidos de metales alcalinotérreos. Se prefieren los fosfatos y son más preferidos los dihidrogenofosfatos de sodio.

El aditivo más usado es, por ejemplo, 2-metil-2-buteno.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 0°C a 100°C, preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-2. Procedimiento B

El procedimiento B se resume en la figura 2.

1-3-2-1. Etapa B-1

La etapa B-1 es la etapa de producción de una amida de ácido N-metoxi carboxílico (B2) a partir de un ácido carboxílico (B1).

El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos de los mismos incluyen disolventes hidrocarburo aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo, sulfóxido y halogenados. Se prefieren los disolventes hidrocarburo halogenados y es más preferido el diclorometano.

Los ejemplos del material secundario usado incluyen clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina.

Los ejemplos del reactivo usado incluyen agentes de condensación deshidratantes tales como carbodiimidas. Se prefiere clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida.

Como aditivos se usan bases inorgánicas, alcóxidos de metales alcalinos, alcóxidos de metales alcalinotérreos y bases orgánicas. Se prefieren bases orgánicas y es más preferida trietilamina. El aditivo más usado es un compuesto heterocíclico N-hidroxi como activador de condensación deshidratante. Se prefiere el 1-hidroxibenzoimidazol hidrato.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de -78°C a 100°C, preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-2-2. Etapa B-2

La etapa B-2 es la etapa de producción de una cetona (B3) a partir de la amida de ácido N-metoxi carboxílico (B2).

5 El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo y sulfóxido. Se prefieren los disolventes éter tales como éter dietílico y tetrahidrofurano.

Los ejemplos del reactivo usado incluyen reactivos de Grignard, reactivos de alquillitio y reactivos de alquilocinc. Se prefieren los reactivos de Grignard y los reactivos de alquillitio.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de -78°C a 100°C, preferentemente de -30°C a temperatura ambiente.

10 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-2-3. Etapa B-3

La etapa B-3 es la etapa de producción de un alcohol (B4) a partir de la cetona (B3).

20 El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes éter, éster, amida, nitrilo, sulfóxido, alcohol, amina y acuosos. Se prefieren los disolventes protónicos tales como disolventes alcohólicos y acuosos y es más preferida una solución acuosa de metanol o etanol.

25 Los ejemplos de los reactivos usados incluyen reactivos de boro y reactivos de aluminio usados habitualmente como agentes de reducción. Se prefiere el borohidruro sódico.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 0°C a 100°C, preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

30 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-2-4. Etapa B-4

La etapa B-4 es la etapa de producción de un alcohol (B4') que tiene un doble enlace en la molécula a partir del alcohol (B4) que tiene un triple enlace en la molécula.

40 El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes éter, éster, amida, alcohol, amina y acuosos. Se prefieren los disolventes protónicos tales como disolventes alcohólicos y acuosos y son más preferidos metanol o etanol.

45 Los ejemplos del material secundario usado incluyen agentes reductores tales como hidrógeno gaseoso o donantes de hidrógeno. Se prefieren hidrógeno, borohidruro sódico y similares. Estos materiales secundarios se usan solos o en combinación de dos o más de los mismos.

Los ejemplos del catalizador usados incluyen compuestos de metales de transición. Se prefieren los metálicos de paladio soportados, compuestos de níquel y compuestos de cobalto y son más preferidos los de acetato de paladio y níquel (II) tetrahidrato soportados en polietilénimina.

50 En el caso de usar un compuesto de níquel, un compuesto de cobalto o similar como catalizador, como aditivos se usan bases orgánicas. Se prefiere la etilendiamina.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y

ES 2 702 374 T3

similares y habitualmente es de -78°C a 80°C , preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar y a continuación eliminando por destilación el disolvente. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

5

10 1-3-2-5. Etapa B-5

La etapa B-5 es la etapa de producción de un carbonato (B5) a partir del alcohol (B4).

El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo, sulfóxido hidrocarburo halogenado y amina. Se prefieren disolventes polares inferiores tales como disolventes hidrocarburos halogenados y aromáticos y son más preferidos tolueno y diclorometano.

15

Los ejemplos del material secundario usado incluyen alcoholes y carbonatos activos tales como carbonato sustituido con p-nitrofenilo.

En el caso de usar un alcohol como el material secundario, algunos ejemplos del reactivo usado incluyen equivalentes fosgeno. Se prefieren difosgeno y trifosgeno.

20

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de -78°C a 100°C , preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

25

30 1-3-2-6. Etapa B-6

La etapa B-6 es la etapa de producción de un carbonato (B5') que tiene un doble enlace en la molécula a partir del carbonato (B5) que tiene un triple enlace en la molécula.

Esta etapa puede realizarse del mismo modo que en la etapa B-4.

1-3-2-7. Etapa B-7

35

La etapa B-7 es la etapa de producción de un aldehído (B7) a partir del alcohol (B6).

Se pueden usar varias reacciones generales de oxidación. En el caso de usar un sulfóxido como agente de oxidación, el disolvente usado es preferentemente dimetilsulfóxido.

Los ejemplos del reactivo usado incluyen cloruro de oxalilo, ácido trifluoroacético, dicitclohexilcarbodiimida y complejos de trióxido de azufre y piridina.

40

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de -78°C a 80°C , preferentemente de 0°C a 60°C .

Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

45

50 1-3-2-8. Etapa B-8

La etapa B-8 es la etapa de producción un alcohol (B4) a partir del aldehído (B7).

El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo y sulfóxido. Se prefieren los disolventes éter tales como éter dietílico y tetrahidrofurano.

- 5 Los ejemplos del reactivo usado incluyen reactivos de Grignard, reactivos de alquillitio y reactivos de alquilocinc. Se prefieren los reactivos de Grignard y los reactivos de alquillitio.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de -78°C a 100°C, preferentemente de -30°C a temperatura ambiente.

- 10 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-3. Procedimiento C

El procedimiento C se resume en la figura 3.

1-3-3-1. Etapa C-1

- 20 La etapa C-1 es la etapa de producción de un malonato monosustituido (C2) a partir de un malonato sin sustituir (C1).

El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo, sulfóxido y alcohol. Se prefieren disolventes aromáticos tales como tolueno y xileno.

- 25 Los ejemplos del material secundario usado incluyen haluros de alquilo y sulfonatos de alquilo.

Los ejemplos del reactivo usado incluyen bases inorgánicas, alcóxidos de metales alcalinos, alcóxidos de metales alcalinotérreos y bases orgánicas. Se prefieren hidruro de sodio y metóxido de sodio.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 0°C a 200°C, preferentemente de 50°C a 150°C.

- 30 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-3-2. Etapa C-2

La etapa C-2 es la etapa de producción de un éster (C3) a partir del malonato monosustituido (C2).

- 40 El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos, éster, amida, nitrilo, sulfóxido y acuosos.

Se prefieren disolventes polares apróticos tales como disolventes amida y sulfóxido y es más preferido el sulfóxido de dimetilo (DMSO).

- 45 Los ejemplos del reactivo usado incluyen sales inorgánicas y bases inorgánicas. Se prefieren cloruro de litio y cianuro de sodio.

Los ejemplos del aditivo usado incluyen agua.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 80°C a 200°C, preferentemente de 120°C a 180°C.

- Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.
- 5
- 1-3-3-3. Etapa C-3
- 10 La etapa C-3 es la etapa de producción de un cetoéster (C4) a partir del éster (C3).
- El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos, éter, éster, amida, nitrilo y sulfóxido. Se prefieren disolventes aromáticos y son más preferidos los xilenos.
- 15 Los ejemplos del material secundario usado incluyen varios ésteres de ácido orgánico que tienen una estructura condensada con el mismo alcohol como material de partida.
- Los ejemplos del reactivo usado incluyen bases inorgánicas, alcóxidos de metales alcalinos, alcóxidos de metales alcalinotérreos y bases orgánicas. Se prefiere el hidruro de sodio.
- La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 50°C a 200°C, preferentemente de 120°C a 180°C.
- 20 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.
- 25
- 1-3-3-4. Etapa C-4
- 30 La etapa C-4 es la etapa de producción de una cetona (C5; compuesto correspondiente con B3) a partir del cetoéster (C4).
- El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes éter, éster, amida, nitrilo, sulfóxido, alcohol y acuoso. Se prefieren los disolventes protónicos tales como disolventes alcohólicos y acuosos y es más preferida una solución acuosa de metanol o etanol.
- 35 Los ejemplos del reactivo usado incluyen bases inorgánicas, alcóxidos de metales alcalinos y alcóxidos de metales alcalinotérreos. Se prefieren el hidróxido de sodio y el hidróxido de litio.
- La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de 0°C a 120°C, preferentemente de 50°C a 100°C.
- 40 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.
- 45
- 1-3-3-5. Etapa C-5
- La etapa C-5 es la etapa de producción de un malonato disustituido (C6) a partir del malonato monosustituido (C2).
- Esta etapa puede realizarse del mismo modo que en la etapa C-1.
- 50 1-3-3-6. Etapa C-6
- La etapa C-6 es la etapa de producción de un éster (C7) a partir del malonato disustituido (C6).

Esta etapa puede realizarse del mismo modo que en la etapa C-2.

1-3-3-7. Etapa C-7

La etapa C-7 es la etapa de producción de un alcohol 2-sustituido (C8) a partir del éster (C7).

5 El disolvente usado no está particularmente limitado siempre que el disolvente no inhiba la reacción y pueda disolver los materiales de partida en cierta medida. Los ejemplos del mismo incluyen disolventes aromáticos y éter. Se prefiere el tetrahidrofurano.

Los ejemplos del reactivo usado incluyen agentes de reducción generales tales como hidruro de aluminio y litio.

La temperatura de reacción difiere dependiendo de los tipos de los materiales de partida, el disolvente, el reactivo y similares y habitualmente es de -78°C a 80°C, preferentemente de 0°C a temperatura ambiente.

10 Después de completarse la reacción, el compuesto de interés de esta reacción se recoge de la mezcla de reacción de acuerdo con un procedimiento habitual. El compuesto de interés se obtiene, por ejemplo, mediante: neutralización adecuada de la mezcla de reacción o eliminación de la materia insoluble, en caso de haberlos, por filtración; añadiendo después agua y un disolvente orgánico no miscible en agua tal como hexano o acetato de etilo; lavando después con agua, separando la capa orgánica que contiene el compuesto de interés; secando la capa orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, sulfato sódico anhidro, bicarbonato de sodio anhidro o similar; y a continuación eliminar el disolvente por destilación. El compuesto de interés obtenido se vuelve a purificar, si es necesario, por un procedimiento habitual, por ejemplo, recristalización, reprecipitación o cromatografía.

1-3-3-8. Etapa C-8

La etapa C-8 es la etapa de producción de un carbonato (C9) a partir del alcohol 2-sustituido (C8).

20 Esta etapa puede realizarse del mismo modo que en la etapa B-5.

2. Partícula lipídica

La partícula lipídica de la presente memoria descriptiva incluye una composición que tiene una estructura seleccionada entre un liposoma, un agregado lipídico en el que se agregan los lípidos y una micela. La estructura de la partícula lipídica no se limita a estos siempre que la partícula lipídica sea una composición que contenga un lípido. 25 El liposoma tiene una estructura bicapa lipídica y tiene una fase acuosa en el interior. El liposoma se clasifica como un liposoma multilamelar, que tiene una estructura multicapa de bicapas lipídicas o un liposoma unilamelar, que tiene una bicapa. El liposoma de la presente invención incluye ambos liposomas.

La "partícula lipídica" de la presente invención incluye cualquier composición seleccionada entre los siguientes (a) a (c):

- 30 (a) una composición que comprende un lípido catiónico y una agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica,
 (b) una composición que comprende un lípido catiónico, una agregación reductora de lípidos durante el formación de la partícula lipídica y un estero, y
 35 (c) una composición que comprende un lípido catiónico, una agregación reductor de lípidos durante la formación de la partícula lipídica, un estero, y un lípido anfipático.

En este contexto, el lípido catiónico es uno o dos de los distintos lípidos catiónicos descritos en el anterior párrafo "1. Lípido catiónico". Algunos ejemplos específicos del mismo pueden incluir uno o dos o más de los compuestos descritos en la Tabla 1 o 2.

40 Los ejemplos del lípido anfipático pueden incluir uno o dos o más de los descritos a continuación en el párrafo "2-1. Lípido anfipático".

Los ejemplos del estero pueden incluir uno o dos o más de los descritos a continuación en el párrafo "2-2. Estero".

Los ejemplos de la agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica pueden incluir uno o dos o más de los descritos a continuación en el párrafo "2-3. Agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica".

45 2-1. Lípido anfipático

En la presente memoria descriptiva, el "lípido anfipático" se refiere a un lípido que tiene afinidad tanto por disolventes polares como no polares.

Los ejemplos del lípido anfipático pueden incluir lípidos descritos en "Liposomes: from physics to applications", capítulo 1. Chemistry of lipids and liposomes (publicado por Elsevier B. V. en 1993, autor: D. D. Lasic), etc. El lípido anfipático incluye, por ejemplo, fosfolípidos, glucolípidos, aminolípidos, esfingolípidos, glicoles y ácidos grasos 50

saturados o insaturados, aunque el lípido anfipático de la presente invención no está limitado a ellos. En los párrafos 2-1-1 a 2-1-3 se describen algunos ejemplos de los mismos.

2-1-1. Fosfolípidos

5 Los fosfolípidos están divididos en general en glicerosfosfolípidos y esfingofosfolípidos. Ejemplos habituales de glicerosfosfolípidos incluyen fosfatidilcolinas (PC), fosfatidilserinas (PS), fosfatidilinositales (PI), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidiletanolaminas (PE) y ácidos fosfatídicos (PA). Por otra parte, los ejemplos típicos de esfingofosfolípidos incluyen esfingomielina (SM). Por ejemplo, pueden enumerarse los lípidos descritos en los siguientes (a) a (g).

(a) Fosfatidilcolinas

10 Algunos ejemplos específicos de fosfatidilcolinas pueden incluir dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), dioleoilfosfatidilcolina (DOPC), dilaurilfosfatidilcolina (DLPC), didecanoilfosfatidilcolina (DDPC), dioctanoilfosfatidilcolina (DOPC), dihexanoilfosfatidilcolina (DHPC), dibutirilfosfatidilcolina (DBPC), dielaidoilfosfatidilcolina (DEPC), dilinoleoilfosfatidilcolina, diarauquidonoilfosfatidilcolina, diicosenoilfosfatidilcolina, diheptanoilfosfatidilcolina, dicaproilfosfatidilcolina, diheptadecanoilfosfatidilcolina, dibehenoilfosfatidilcolina, eleoestearoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina de huevo hidrogenada (HEPC), fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), 1-palmitoil-2-araquidonoilfosfatidilcolina, 1-palmitoil-2-oleoilfosfatidilcolina (POPC), 1-palmitoil-2-linoleoilfosfatidilcolina, 1-palmitoil-2-miristoilfosfatidilcolina, 1-palmitoil-2-estearoilfosfatidilcolina, 1-estearoil-2-palmitoilfosfatidilcolina, 1,2-dimiristoilamido-1,2-desoxifosfatidilcolina, 1-miristoil-2-palmitoilfosfatidilcolina, 1-miristoil-2-estearoilfosfatidilcolina, di-0-hexadecilfosfatidilcolina, trans-dielaidoilfosfatidilcolina, dipalmitelaidoil-fosfatidilcolina, n-octadecil-2-metilfosfatidilcolina, n-octadecilfosfatidilcolina, 1-laurilpropanodiol-3-fosfocolina, eritro-N-lignoceroilfosfatidilcolina y palmitoil-(9-cis-octadecenoil)-3-sn-fosfatidilcolina. Algunos ejemplos preferidos pueden incluir DSPC, DPPC y DMPC.

(b) Fosfatidilserinas

25 Algunos ejemplos específicos de fosfatidilserinas incluyen diestearoilfosfatidilserina (DSPS), dimiristoilfosfatidilserina (DMPS), dilaurilfosfatidilserina (DLPS), dipalmitoilfosfatidilserina (DPPS), dioleoilfosfatidilserina (DOPS), lisofosfatidilserina, eleoestearoilfosfatidilserina y 1,2-di-(9-cis-octadecenoil)-3-sn-fosfatidilserina.

(c) Fosfatidilinositales

30 Algunos ejemplos específicos de los fosfatidilinositales incluyen dipalmitoilfosfatidilinositol (DPPI), diestearoilfosfatidilinositol (DSPPI) y dilaurilfosfatidilinositol (DLPI).

(d) Fosfatidilglicerol

35 Algunos ejemplos específicos de los fosfatidilglicerol incluyen dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), diestearoilfosfatidilglicerol (DSPG), dioleoilfosfatidilglicerol (DOPG), dilaurilfosfatidilglicerol (DLPG), dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG), lisofosfatidilglicerol, fosfatidilglicerol de soja hidrogenado (HSPG), fosfatidilglicerol de huevo hidrogenado (HEPG) y cardiolipina (difosfatidilglicerol).

(e) Fosfatidiletanolaminas

40 Algunos ejemplos específicos de las fosfatidiletanolaminas incluyen dipalmitoilfosfatidiletanolamina (DPPE), diestearoilfosfatidiletanolamina (DSPE), dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), dilaurilfosfatidiletanolamina (DLPE), dimiristoilfosfatidiletanolamina (DMPE), didecanoilfosfatidiletanolamina (DDPE), N-glutarilfosfatidiletanolamina (NGPE), lisofosfatidiletanolamina, N-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-il)-1,2-dioleoil-sn-fosfatidiletanolamina, eleoestearoilfosfatidiletanolamina, N-succinildioleoilfosfatidiletanolamina y 1-hexadecil-2-palmitoilglicerofosfatidiletanolamina. Algunos ejemplos preferidos de los mismos pueden incluir DOPE.

(f) Ácidos fosfatídicos

45 Algunos ejemplos específicos de los ácidos fosfatídicos incluyen ácido dipalmitoilfosfatídico (DPPA), ácido diestearoilfosfatídico (DSPA), ácido dimiristoilfosfatídico (DMPA) y ácido dioleoilfosfatídico (DOPA).

(g) Esfingofosfolípidos

Algunos ejemplos específicos de los esfingofosfolípidos incluyen esfingomielina (SM), dipalmitoilesfingomielina, diestearoilesfingomielina, ceramida ciliatina, ceramida fosforiletanolamina y ceramida fosforilglicerol. Algunos ejemplos preferidos de los mismos pueden incluir SM.

50 2-1-2. Glucolípidos

Los glucolípidos están divididos en general en gliceroglucolípidos y esfingoglucolípidos. Por ejemplo, pueden

enumerarse los lípidos descritos en los siguientes (a) o (b).

(a) Gliceroglucolípidos

5 Algunos ejemplos específicos de gliceroglucolípidos incluyen diglicosil diglicérido, glucosil diglicérido, digalactosil diglicérido, galactosil diglicérido, sulfoxirribosil diglicérido, (1,3)-D-manosil (1,3)diglicérido, digalactosil glicérido, digalactosil dilauoil glicérido, digalactosil dimiristoil glicérido, digalactosil dipalmitoil glicérido, digalactosil diestearoil glicérido, galactosil glicérido, galactosil dilauoil glicérido, galactosil dimiristoil glicérido, galactosil dipalmitoil glicérido, galactosil diestearoil glicérido y digalactosil diacil glicerol.

(b) Esfingoglucolípidos

10 Algunos ejemplos específicos de los esfingoglucolípidos pueden incluir ceramida (cerebrósido), galactosil ceramida, lactosil ceramida, digalactosil ceramida, gangliósido GM1, gangliósido GM2, gangliósido GM3, sulfátido, ceramida oligohexóxido y globósido.

2-1-3. Ácidos grasos saturados o insaturados

15 Algunos ejemplos específicos de los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos insaturados incluyen ácidos grasos saturados o insaturados que tienen cada uno de 5 a 30 átomos de carbono, tales como ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecilénico, ácido laúrico, ácido tridecilénico, ácido mistífico, ácido pentadecilénico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico, ácido nonadecilénico, ácido araquídico, ácido dodecenoico, ácido tetradecenoico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido eicosenoico, ácido erúcido y ácido docosapentaenoico.

2-2. Esterol

20 Algunos ejemplos específicos del esterol pueden incluir colesterol, ácido colesterol succínico, dihidrocolesterol, lanosterol, dihidrolanosterol, desmosterol, estigmasterol, sitosterol, campesterol, brasicasterol, zimosterol, ergosterol, fucosterol, 22-cetosterol, 20-hidroxisterol, 7-hidroxicolesterol, 19-hidroxicolesterol, 22-hidroxicolesterol, 25-hidroxicolesterol, 7-deshidrocolesterol, 5 α -colest-7-en-3 β -ol, epicolesterol, deshidroergosterol, sulfato de colesterol, hemisuccinato de colesterol, ftalato de colesterol, fosfato de colesterol, valerato de colesterol, 3 β -[N-(N',N'-dimetilaminoetano)-carbamoil]-colesterol, acetato de colesterol, oleato de colesterol, linoleato de colesterol, miristato de colesterol, palmitato de colesterol, araquidato de colesterol, coprostanol, éster de colesterol, fosforilcolina de colesterilo y 3,6,9-trioxaoctan-1-ol-colesteril-3e-ol. Algunos ejemplos preferidos de los mismos pueden incluir colesterol y hemisuccinato de colesterol, más preferentemente colesterol.

2-3. Agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica

30 Puede usarse un enlace lipídico con un polímero soluble en agua no iónico como la agregación reductora de lípidos durante la formación de la partícula lipídica.

El polímero soluble en agua no iónico se refiere a un polímero que no tiene un grupo disociable en un sitio distinto al extremo en un medio acuoso tal como agua o una solución tampón o un polímero derivado del polímero cuyo extremo es alcoxi. Los ejemplos de dicho polímero soluble en agua no iónico pueden incluir:

- 35 (1) un polímero de vinilo o iónico que tiene, como constituyente, una unidad monomérica tal como alcohol de vinilo, metil vinil éter, vinilpirrolidona, vinil oxazolidona, vinil metil oxazolidona, 2-vinilpiridina, 4-vinilpiridina, N-vinilsuccinimida, N-vinilformamida, N-vinil-N-metilformamida, N-vinilacetamida, N-vinil-N-metilacetamida, metacrilato de 2-hidroxietilo, acrilamida, metacrilamida, N,N-dimetilacrilamida, N-isopropilacrilamida, diacetona acrilamida, metilolacrilamida, acrilolmorfolina, acrilolpirrolidina, acrilolpiperidina, estireno, clorometilestireno, bromometilestireno, acetato de vinilo, metacrilato de metilo, acrilato de butilo, cianoacrilato de metilo, cianoacrilato de etilo, cianoacrilato de n-propilo, cianoacrilato de isopropilo, cianoacrilato de n-butil, cianoacrilato de isobutilo, cianoacrilato de *terc*-butilo, metacrilato de glicidilo, etil vinil éter, n-propil vinil éter, isopropil vinil éter, n-butil vinil éter, isobutil vinil éter o *terc*-butil vinil éter o un polímero derivado del polímero mediante alcoxilación de su extremo;
- 40 (2) un ácido poliamino no iónico que tiene, como constituyente, una unidad monomérica cualquiera seleccionada entre aminoácidos tales como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, serina, treonina, asparagina y glutamina o un polímero derivado del polímero mediante la alcoxilación de su extremo;
- 45 (3) un polipéptido sintético no iónico que tiene, como constituyente, dos o más unidades monoméricas seleccionadas entre ácidos inorgánicos tales como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, serina, treonina, asparagina y glutamina o un polímero derivado del polímero mediante la alcoxilación de su extremo;
- 50 (4) un poliéster no iónico que tiene, como constituyente, una unidad monomérica seleccionada entre un ácido glicólico y un ácido láctico o un polímero derivado del polímero mediante la alcoxilación de su extremo;
- 55 (5) un poliéter no iónico que tiene, como constituyente, una unidad monomérica entre glicoles tales como metilenglicol, etilenglicol, n-propilenglicol, isopropilenglicol e hidroxipropilenglicol o un polímero derivado del polímero mediante la alcoxilación de su extremo;

(6) un polímero natural no iónico que incluyen azúcares tales como dextrano, pectina y pululano o un polímero derivado del polímero mediante la alcoxilación de su extremo;

(7) un polímero natural modificado no iónico que incluye celulosas tales como metilcelulosa e hidroxipropilcelulosa o un polímero derivado del polímero mediante la alcoxilación de su extremo; y

5 (8) un polímero de bloque o un copolímero de injerto que tiene dos o más polímeros diferentes seleccionados entre los polímeros (1) a (7) den forma de unidades constituyentes o un copolímero derivado del copolímero mediante la alcoxilación de su extremo.

De estos polímeros solubles en agua no iónicos, se prefiere un poliéter no iónico, un poliéster no iónico un ácido poliamino no iónico o un polipéptido sintético no iónico o un polímero derivado de cualquiera de estos polímeros mediante la alcoxilación del extremo. Es más preferido un poliéter no iónico o un poliéster no iónico o un polímero derivado de cualquiera de estos polímeros mediante la alcoxilación del extremo. Es aún más preferido un poliéter no iónico o un poliéter monoalcoxi no iónico. Es particularmente preferido polietilenglicol o monometoxipolietilenglicol. El más preferido es monometoxipolietilenglicol.

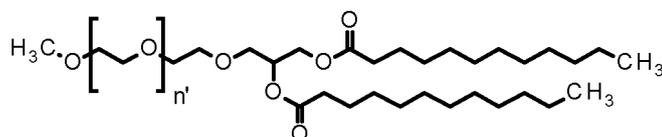
El peso molecular promedio del polímero soluble en agua no iónico no está particularmente limitado y es preferentemente de 1000 a 12000, más preferentemente de 1000 a 5000, aún más preferentemente de 1800 a 2200.

Por ejemplo, puede usarse uno de los lípidos enumerados en los párrafos "2-1. Lípidos anfipáticos" y "2-2. Esterol" en el resto lipídico.

Algunos ejemplos específicos del lípido unidos con el polímero soluble en agua no iónico pueden incluir, pero sin limitación, monometoxipolietilenglicol unido a diacilglicerol, monometoxipolietilenglicol unido a fosfatidiletanolamina y monometoxipolietilenglicol unido a ceramida (patente de Estados Unidos n.º 5.885.613).

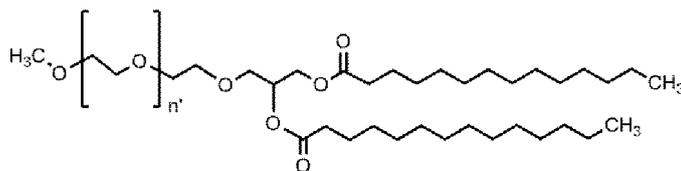
Más ejemplos específicos de los mismos pueden incluir 1,2-dilauroil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 21]



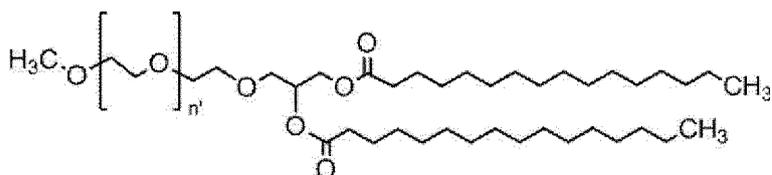
1,2-dimiristoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 22]



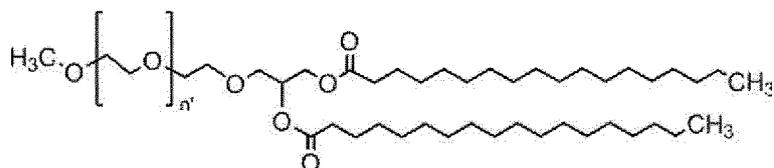
1,2-dipalmitoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 23]



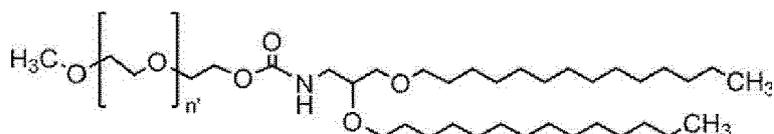
25 1,2-diestearoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 24]



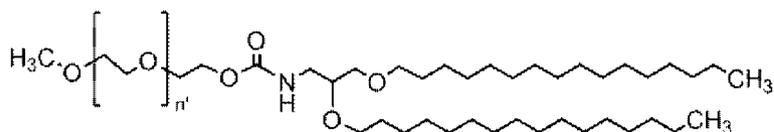
N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA; J. Controlled Release (2006) 112, págs. 280-290) representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 25]



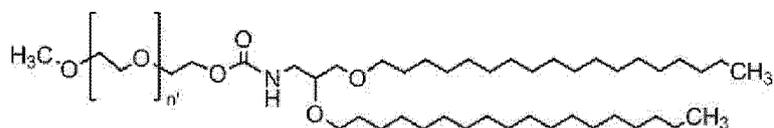
N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dipalmitiloxipropil-3-amina (PEG-C-DPA; J. Controlled Release (2006) 112, págs. 280-290) representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 26]



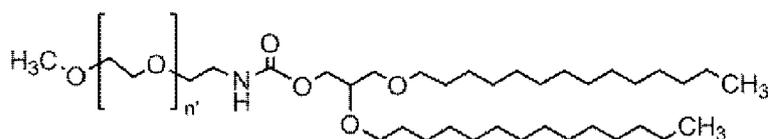
5 N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-diosteariloxipropil-3-amina (PEG-C-DSA; J. Controlled Release (2006) 112, págs. 280-290) representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 27]



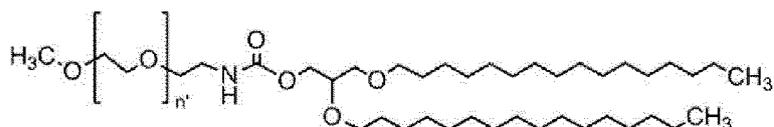
mPEG2000-1,2-di-O-miristil-sn3-carbomoilglicérido (PEG-DMG; descrito en el ejemplo 21 de WO2009/132131) representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 28]



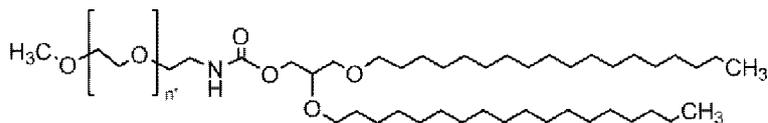
10 mPEG2000-1,2-di-O-palmitil-sn3-carbomoilglicérido (PEG-DPG; descrito en el ejemplo 21 de WO2009/132131) representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 29]



y mPEG2000-1,2-di-O-estearil-sn3-carbomoilglicérido (PEG-DSG; descrito en el ejemplo 21 de WO2009/132131) representado por la siguiente fórmula:

[Fórmula 30]



todos los cuales tiene PEG con un peso molecular de aproximadamente 2000.

Algunos ejemplos preferidos de los mismos pueden incluir N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA) y 1,2-dimiristoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol. Ejemplos más preferidos de los mismos pueden incluir N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA).

$\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ - en las fórmulas estructurales descritas anteriormente representa el polímero soluble en agua no iónico. Su peso molecular promedio no está particularmente limitado y es preferentemente de 1000 a 12000, más preferentemente de 1000 a 5000, aún más preferentemente de 1800 a 2200. n' representa un valor numérico estimado a partir del peso molecular medio del polímero soluble en agua no iónico y el número no está particularmente limitado y es preferentemente de 20 a 280, más preferentemente de 20 a 120, aún más preferentemente de 35 a 50.

También puede usarse PEG normal en lugar de o al mismo tiempo que el PEG-lípido descrito anteriormente siempre que el PEG pueda evitar la agregación de las partículas lipídicas. El PEG puede eliminarse por diálisis antes de administración si la partícula lipídica es estable después de su producción.

2-4. Otros componentes de la partícula lipídica

La partícula lipídica de la presente invención puede contener una sustancia adicional siempre que la partícula lipídica mantenga su estructura. Un ejemplo de dicha partícula lipídica puede incluir una partícula lipídica que contiene uno o dos o más sustancias seleccionadas entre un oligómero de poliamida (véase la patente de los Estados Unidos n.º 6320017), un péptido, una proteína, y un detergente.

Un componente de la partícula lipídica de la presente invención puede estar unido con un ligando que tenga capacidad de direccionamiento hacia una molécula diana.

Los ejemplos de ligando pueden incluir: (1) una hormona, un factor de crecimiento, un fragmento de oligopéptido del mismo, o un compuesto de bajo peso molecular, que está unido a un receptor celular en particular expresado de forma dominante por una células a la que se desea administrar; y (2) un anticuerpo policlonal o monoclonal, o un fragmento adecuado del mismo (por ejemplo, un Fab o $\text{F}(\text{ab}')_2$), que se une específicamente a un epítipo antigénico que se encuentra de forma dominante en una célula diana.

2-5. Relación de composición de una partícula lipídica

El lípido catiónico de la partícula lipídica de acuerdo con la presente invención está contenido en de aproximadamente 20% a aproximadamente 80%, preferentemente aproximadamente de 20% a aproximadamente 70%, más preferentemente de aproximadamente 45% a aproximadamente 65%, en términos de cantidad molar con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. En lo que respecta a la cantidad molar del lípido catiónico usado en la presente invención, el límite inferior es preferentemente 20%, más preferentemente 45%, con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica, y el límite superior es preferentemente 80%, más preferentemente 70%, adicionalmente preferentemente 65%, con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. El lípido anfipático está contenido de aproximadamente un 0% a aproximadamente un 35%, preferentemente aproximadamente de 0% a aproximadamente 20%, más preferentemente de aproximadamente 5% a aproximadamente 15%, en términos de cantidad molar con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. En lo que respecta a la cantidad molar del lípido anfipático usado en la presente invención, el límite inferior es preferentemente 5% con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica, y el límite superior es preferentemente 35%, más preferentemente 20%, adicionalmente preferentemente 15%, con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. El esteroil está contenido de aproximadamente un 0% a aproximadamente un 70%, preferentemente aproximadamente de 15% a aproximadamente 70%, más preferentemente de aproximadamente 15% a aproximadamente 35%, en términos de cantidad molar con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. En lo que respecta a la cantidad molar del esteroil usado en la presente invención, el límite inferior es preferentemente 15% con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica, y el límite superior es preferentemente 70%, más preferentemente 35%, con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. El lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica está contenido de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10%, preferentemente aproximadamente de 1% a aproximadamente 10%, más preferentemente de aproximadamente 1,5% a aproximadamente 10%, especialmente preferentemente de aproximadamente 1,5% a aproximadamente 3%, en términos de cantidad molar con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica. En lo que respecta a la cantidad molar del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica de la presente invención, el límite inferior es preferentemente 0,5%, más preferentemente 1%, adicionalmente preferentemente 1,1%, aún más preferentemente 1,2%, aún más preferentemente 1,3%, especialmente preferentemente 1,4%, lo más preferentemente 1,5%, con respecto a todos

los lípidos presentes en la partícula lipídica, y el límite superior es preferentemente 10%, más preferentemente 5%, adicionalmente preferentemente 3%, con respecto a todos los lípidos presentes en la partícula lipídica.

Cuando el lípido anfipático, el esteroles, el lípido catiónico, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica se usan en la partícula lipídica de la presente invención, la composición lipídica es preferentemente 20% o menos del lípido anfipático, 15% al 70% del esteroles, de 20% al 70% del lípido catiónico, y de 1% al 10% del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica, más preferentemente de 5% al 15% o menos del lípido anfipático, 15% al 40% o más del esteroles, de 45% al 65% del lípido catiónico, y de 1,5% al 3% del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica, en términos de cantidad molar.

- 10 Los ejemplos preferidos de la partícula lipídica de la presente invención pueden incluir una partícula lipídica que tenga cualquier relación seleccionada entre relaciones molares de lípido anfipático:esteroles:lípido catiónico: lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica de 10:48:40:2, 10:38:50:2, 10:33:55:2, 10:28:60:2, 15:33:50:2, 10:48.5:40:1.5, y 10:47.5:40:2.5. Los ejemplos más preferidos de los mismos pueden incluir una partícula lipídica que tenga cualquier relación seleccionada entre relaciones molares de lípido anfipático:esteroles:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica de 10:38:50:2, 10:33:55:2, 10:28:60:2, y 15:33:50:2.

3. Partícula lipídica de ácido nucleico

- 20 La presente invención proporciona una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende la partícula lipídica descrita en el anterior párrafo "2. Partícula lipídica" y un ácido nucleico adicional. La expresión "partícula lipídica de ácido nucleico" significa un complejo de la partícula lipídica y un ácido nucleico. Un ejemplo de la partícula lipídica de ácido nucleico en el que la partícula lipídica está complejada con el ácido nucleico puede incluir una partícula lipídica de ácido nucleico que tiene una estructura donde un ácido nucleico está enterrado en la bicapa de un lípido. Un ejemplo de la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención puede incluir una composición que comprende el ácido nucleico, el lípido catiónico, el lípido anfipático, el esteroles, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica.

- 25 La relación (N/P) entre el número de moléculas del lípido catiónico (N) y el número de átomos de fósforo derivados del ácido nucleico (P) en la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención es preferentemente aproximadamente de 2,0 a 15,0, más preferentemente de aproximadamente 2,0 a 12,0, adicionalmente preferentemente de 2,0 a 9,0, aún más preferentemente de 3,0 a 9,0. El límite inferior de la relación N/P es preferentemente 2,0, más preferentemente 2,5, adicionalmente preferentemente 3,0, y el límite superior del mismo es preferentemente 15,0, más preferentemente 12,0, más preferentemente 9,0.

- 30 La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención tiene un tamaño de partícula promedio de preferentemente aproximadamente 30 nm a aproximadamente 300 nm, más preferentemente de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 200 nm, adicionalmente preferentemente aproximadamente de 30 nm a aproximadamente 100 nm. El tamaño de partícula promedio se refiere a un tamaño de partícula promedio en volumen medido sobre la base del principio del procedimiento de dispersión de luz dinámica, o similar usando un aparato tal como un Potencial Zeta/Dimensionador de partículas NICOMP(TM) 380ZLS (Particle Sizing Systems, LLC).

- 40 Un ácido nucleico que se degrada mediante nucleasa en condiciones habituales es resistente a la degradación por nucleasa en una solución acuosa, cuando está presente en la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención.

La partícula lipídica de ácido nucleico y un procedimiento de preparación de la misma se desvelan en las patentes de Estados Unidos números 5.753.613, 5.785.992, 5.705.385, 5.976.567, 5.981.501, 6.110.745, y 6.320.017, y en las publicaciones internacionales números WO 96/40964 y WO 07/012191.

- 45 En la presente memoria descriptiva, el término "ácido nucleico", "oligonucleótido", o "polinucleótido" se refiere a un polímero que contiene al menos dos desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos en cualquier forma de una hebra sencilla, una hebra doble, y una hebra triple.

- 50 Una secuencia de ácido nucleico específica también abarca, implícitamente, variantes modificadas conservativamente (por ejemplo, sustitutos de codones degenerados), alelos, ortólogos, SNP, y secuencias complementarias de los mismos, y secuencias especificadas de forma explícita, salvo que se especifique otra cosa.

el ADN puede estar en la forma de una hebra de sentido contrario, un ADN plásmido, una porción de ADN plásmido, un ADN concentrado de antemano, un producto de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), un vector (P1, PAC, BAC, YAC, o cromosoma artificial), un casete de expresión, una secuencia quimérica, un ADN cromosómico, o un derivado de estos grupos.

- 55 En la presente memoria descriptiva, el término "ácido nucleico" se utiliza para todos aquellos de un gen, un plásmido, un ADNc, un ARN mensajero (ARNm), y una molécula de ARN de interferencia (por ejemplo, un ARNip o

ARNip expresado a partir de un plásmido).

3-1. Ácido nucleico que forma una partícula lipídica de ácido nucleico

El ácido nucleico que forma la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención puede incluir cualquier forma conocida para los expertos en la materia. Los ejemplos específicos de dicha forma de ácido nucleico puede incluir un ADN monocatenario, un ARN monocatenario, y un polinucleótido monocatenario de un ADN y un ARN mezclado con otros. Los ejemplos específicos de otras formas de ácido nucleico pueden incluir un polinucleótido bicatenario que consiste en un ADN bicatenario, un ARN bicatenario, un polinucleótido híbrido de ADN-ARN, o dos polinucleótidos de ADN y ARN mezclados entre sí.

3-2. Nucleósido o nucleótido

Cada nucleósido o nucleótido que constituye el ácido nucleico contenido en la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención incluye tanto un nucleósido natural, como un nucleósido modificado o un nucleótido modificado preparado mediante modificación química. Los ejemplos del nucleósido o nucleótido modificado incluye un nucleósido o nucleótido modificado con azúcar, un nucleósido o nucleótido modificado con nucleobase, un nucleósido o nucleótido con la cadena principal modificada, y combinaciones de los mismos (véase por ejemplo, Nucleic Acid Research, 1997, Vol. 25, n.º 22, 4429-4443).

En la presente memoria descriptiva, el "nucleósido natural" se refiere a un 2'-desoxinucleósido tal como 2'-desoxiadenosina, 2'-desoxiguanosina, 2'-desoxicitidina, 2'-desoxi-5-metilcitidina, y timidina o un ribonucleósido tal como adenosina, guanosina, citidina, 5-metilcitidina, y uridina. Además, el "oligonucleótido" se refiere a un oligonucleótido constituido por un compuesto en el que el resto azúcar del nucleósido forma un éster con ácido fosfórico. En la presente memoria descriptiva, los términos "oligonucleótido" y "polinucleótido" se utilizan indistintamente.

En la presente memoria descriptiva, 2'-desoxiadenosina se puede denominar como A^t; 2'-desoxiguanosina se puede denominar como G^t; 2'-desoxicitidina se puede denominar como C^t; 2'-desoxi-5-metilcitidina se puede denominar como 5meC^t; timidina se puede denominar como T^t; 2'-desoxiuridina se puede denominar como U^t; adenosina se puede denominar como A^r; guanosina se puede denominar como G^r; citidina se puede denominar como C^r; 5-metilcitidina se puede denominar como 5meC^r; y uridina se puede denominar como U^r. Además, en la presente memoria descriptiva, un nucleótido de 2'-desoxiadenosina se puede denominar como A^p; un nucleótido de 2'-desoxiguanosina se puede denominar como G^p; un nucleótido de 2'-desoxicitidina se puede denominar como C^p; un nucleótido de 2'-desoxi-5-metilcitidina se puede denominar como 5meC^p; un nucleótido de timidina se puede denominar como T^p; un nucleótido de 2'-desoxiuridina se puede denominar como U^p; un nucleótido de adenosina se puede denominar como A^{rp}; un nucleótido de guanosina se puede denominar como G^{rp}; un nucleótido de citidina se puede denominar como C^{rp}; un nucleótido de 5-metilcitidina se puede denominar como 5meC^{rp}; un nucleótido de uracilo se puede denominar como U^{rp}.

En la presente memoria descriptiva, donde existe una forma de éster de fosforotioato en lugar de una forma de fosfoéster de un nucleótido, una contraparte de A^p se puede denominar como A^s; una contraparte de G^p se puede denominar como G^s; una contraparte de C^p se puede denominar como C^s; una contraparte de 5meC^p se puede denominar como 5meC^s; una contraparte de T^p se puede denominar como T^s; una contraparte de U^p se puede denominar como U^s; una contraparte de A^{rp} se puede denominar como A^{rs}; una contraparte de G^{rp} se puede denominar como G^{rs}; una contraparte de C^{rp} se puede denominar como C^{rs}; una contraparte de 5meC^{rp} se puede denominar como 5meC^{rs}; y una contraparte de U^{rp} se puede denominar como U^{rs}.

En la presente memoria descriptiva, la expresión "nucleósido modificado con azúcar" se refiere a un nucleósido modificado en su resto de azúcar. Los ejemplos del nucleósido modificado con azúcar incluyen 2'-O-metil nucleósido, 2'-O,4'-C-etilen nucleósido (ENA), y 2'-O,4'-C-metilen nucleótido (BNA/LNA).

En particular, los ejemplos de modificación 2'-O-metilo incluyen 2'-O-metil nucleósido y 2'-O-metil nucleótido: una contraparte de A^t se puede denominar como A^{m1t}; una contraparte de G^t se puede denominar como G^{m1t}; una contraparte de C^t se puede denominar como C^{m1t}; una contraparte de 5meC^t se puede denominar como 5meC^{m1t}; una contraparte de U^t se puede denominar como U^{m1t}; una contraparte de A^{rp} se puede denominar como A^{m1p}; una contraparte de G^{rp} se puede denominar como G^{m1p}; una contraparte de C^{rp} se puede denominar como C^{m1p}; una contraparte de 5meC^{rp} se puede denominar como 5meC^{m1p}; una contraparte de U^{rp} se puede denominar como U^{m1p}; una contraparte de A^{rs} se puede denominar como A^{m1s}; una contraparte de G^{rs} se puede denominar como G^{m1s}; una contraparte de C^{rs} se puede denominar como C^{m1s}; una contraparte de 5meC^{rs} se puede denominar como 5meC^{m1s}; y una contraparte de U^{rs} se puede denominar como U^{m1s}.

En el Listado de secuencias adjunto a la presente memoria descriptiva, "cm" en el elemento <223> de cada secuencia representa 2'-O-metilcitidina; "um" representa 2'-O-metiluridina; y "gm" representa 2'-O-metilguanosina.

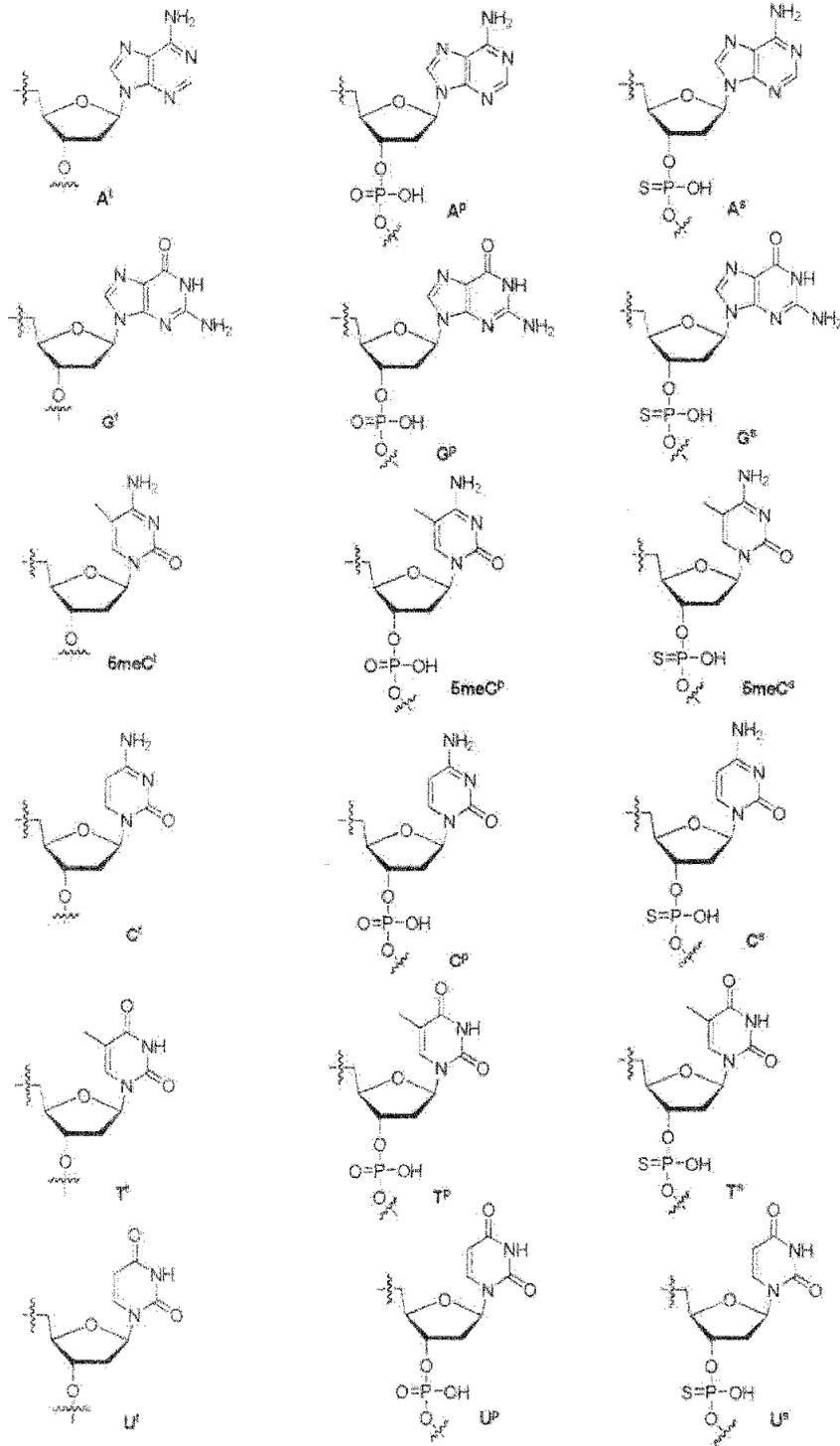
En la presente memoria descriptiva, la unidad nucleótido de 2'-O,4'-C-etileno y la "unidad ENA" se refieren a aquellos nucleósidos que tienen una ENA, y también se refieren a los nucleósidos y nucleótidos que tienen una unidad ENA: una contraparte de A^t se puede denominar como A^{2t}; una contraparte de A^p se puede denominar como

5 A^{e2p} ; una contraparte de A^s se puede denominar como A^{e2s} ; una contraparte de G^t se puede denominar como G^{2t} ; una contraparte de G^p se puede denominar como G^{e2p} ; una contraparte de G^s se puede denominar como G^{e2s} ; una contraparte de $5meC^t$ se puede denominar como C^{2t} ; una contraparte de $5meC^p$ se puede denominar como C^{e2p} ; una contraparte de $5meC^s$ se puede denominar como C^{e2s} ; una contraparte de T^t se puede denominar como T^{2t} ; una contraparte de T^p se puede denominar como T^{e2p} ; y una contraparte de T^s se puede denominar como T^{e2s} .

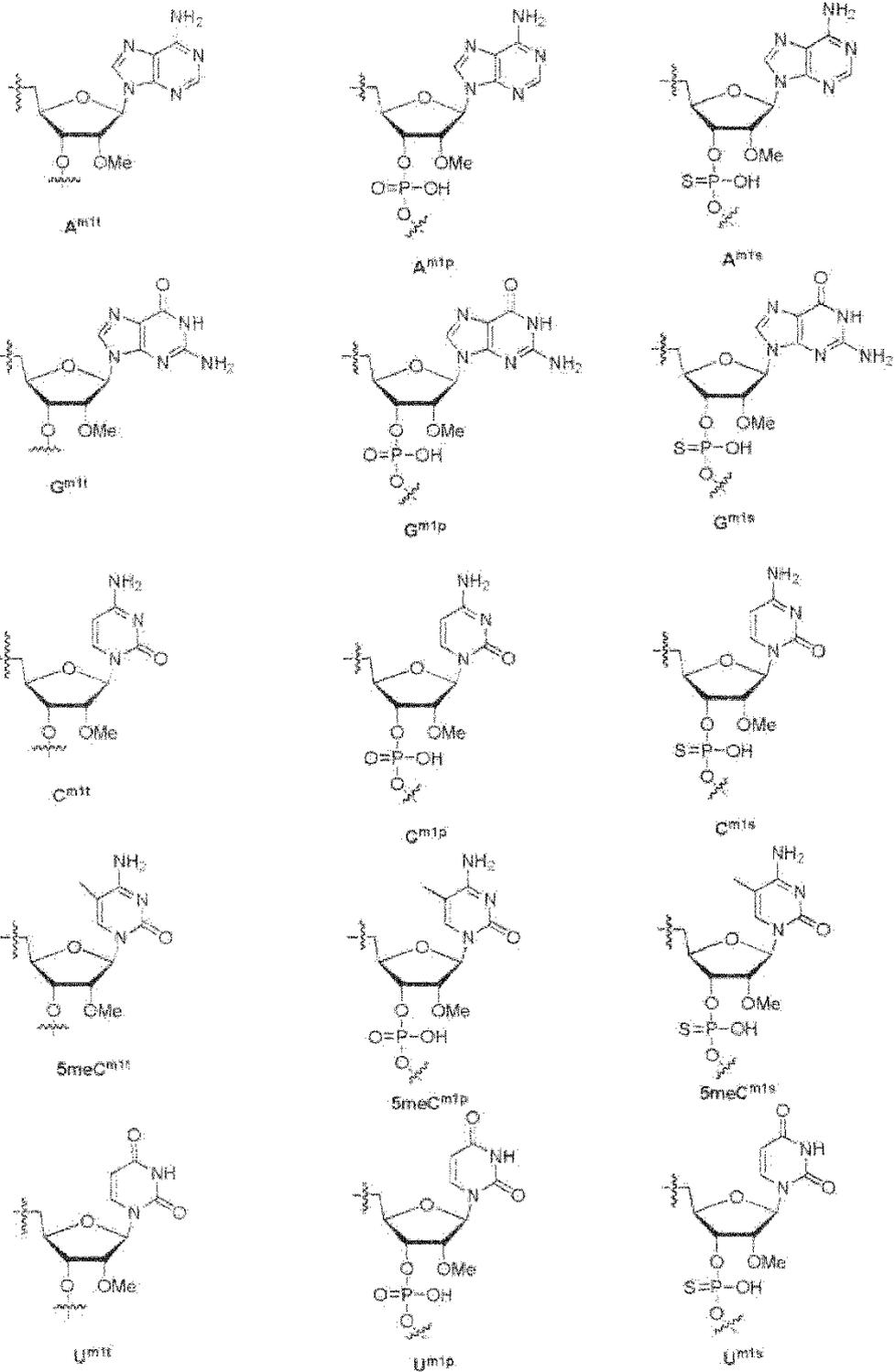
10 En la presente memoria descriptiva, la unidad de nucleótido de 2'-O,4'-C-metileno y la "unidad 2',4'-BNA/LNA" se refieren a aquellos nucleósidos y nucleótidos que tienen un 2',4'-BNA/LNA y también se refieren a nucleósidos y nucleótidos que tienen una unidad 2',4'-BNA/LNA: una contraparte de A^t se puede denominar como A^{1t} ; una contraparte de A^p se puede denominar como A^{e1p} ; una contraparte de A^s se puede denominar como A^{e1s} ; una contraparte de G^t se puede denominar como G^{1t} ; una contraparte de G^p se puede denominar como G^{e1p} ; una contraparte de G^s se puede denominar como G^{e1s} ; una contraparte de $5meC^t$ se puede denominar como C^{1t} ; una contraparte de $5meC^p$ se puede denominar como C^{e1p} ; una contraparte de $5meC^s$ se puede denominar como C^{e1s} ; una contraparte de T^t se puede denominar como T^{1t} ; una contraparte de T^p se puede denominar como T^{e1p} ; y una contraparte de T^s se puede denominar como T^{e1s} .

15 A partir de ahora en el presente documento, se muestra la fórmula estructural de cada nucleótido.

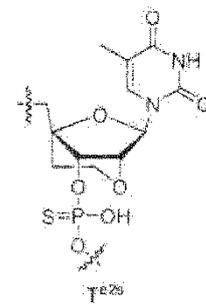
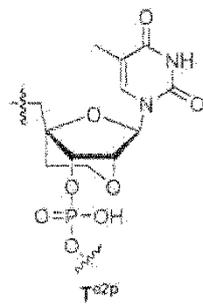
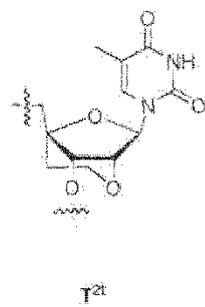
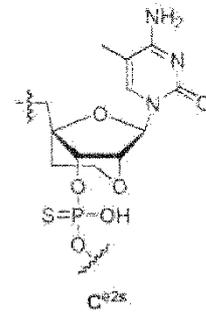
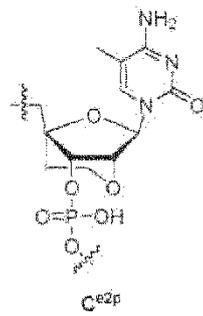
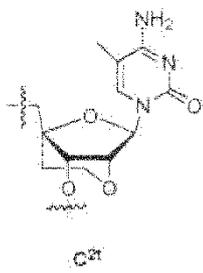
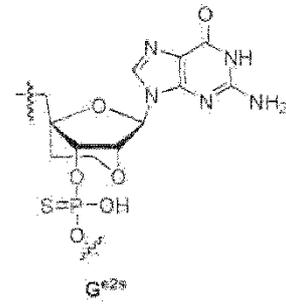
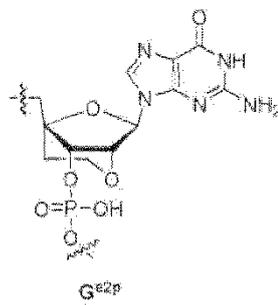
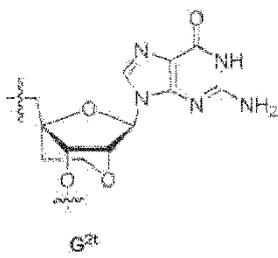
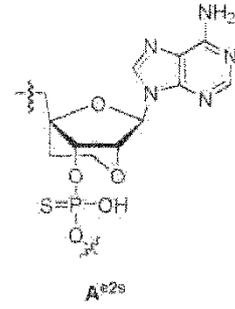
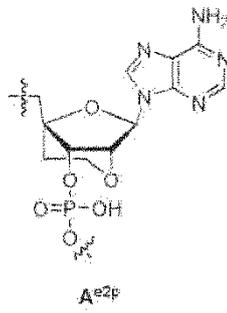
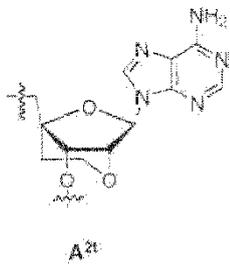
[Fórmula 31]



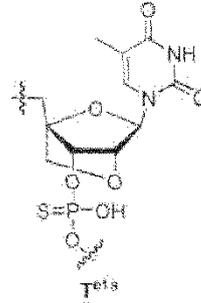
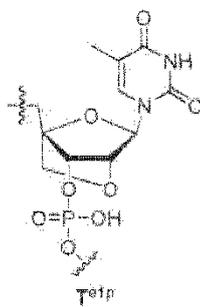
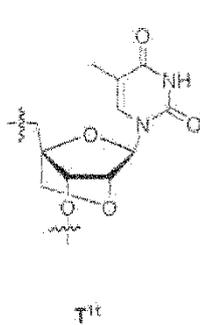
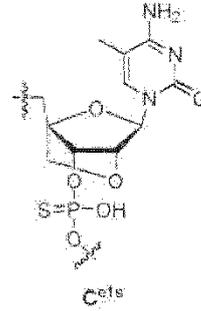
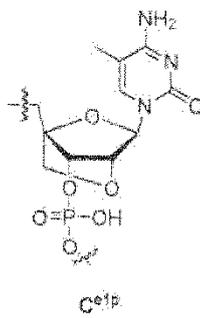
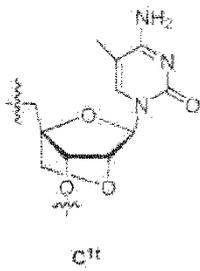
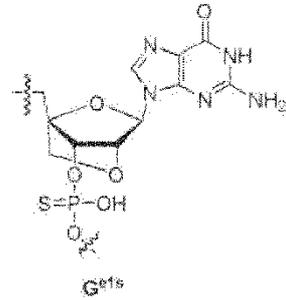
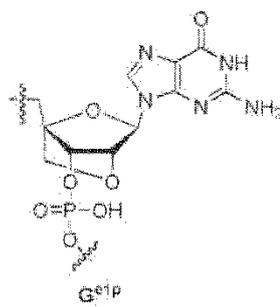
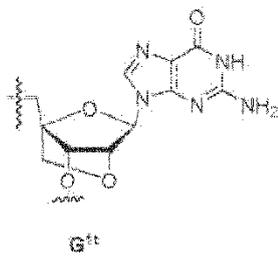
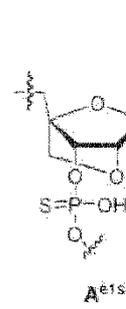
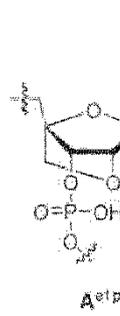
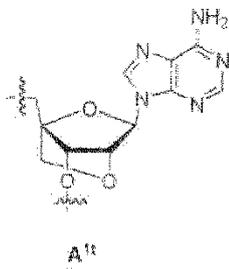
[Fórmula 32]



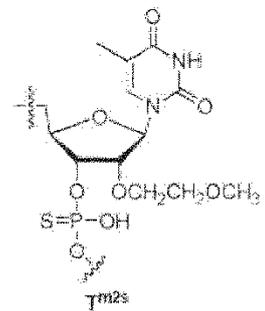
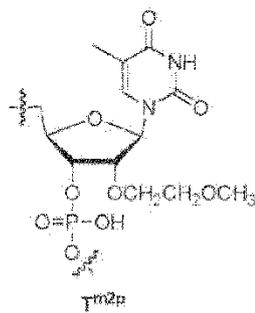
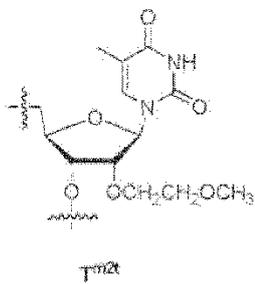
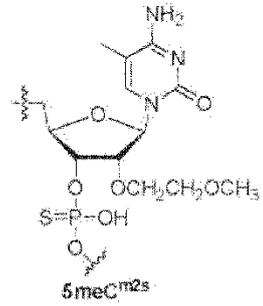
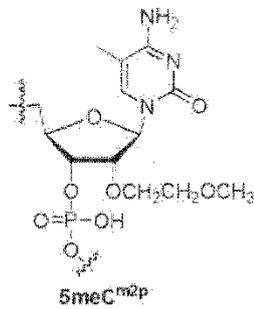
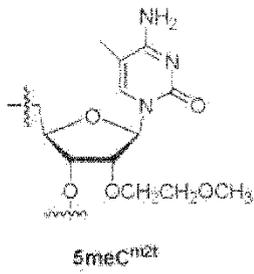
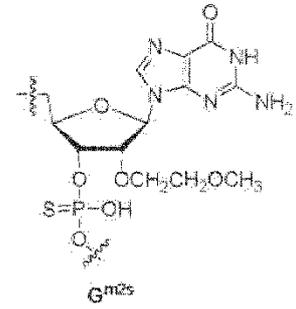
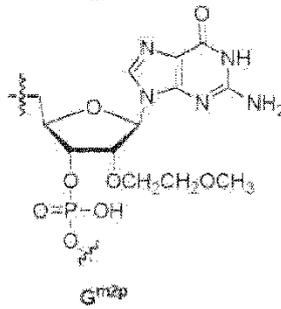
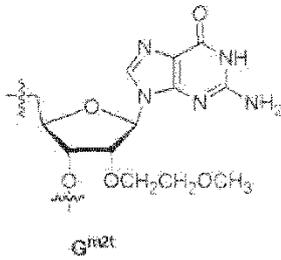
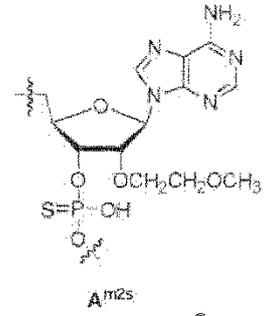
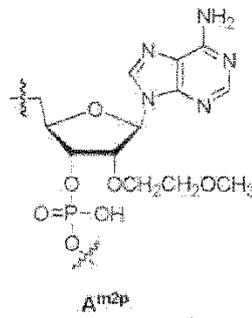
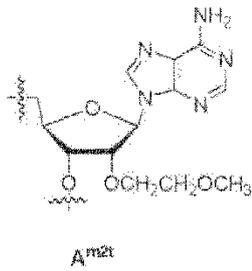
[Fórmula 33]



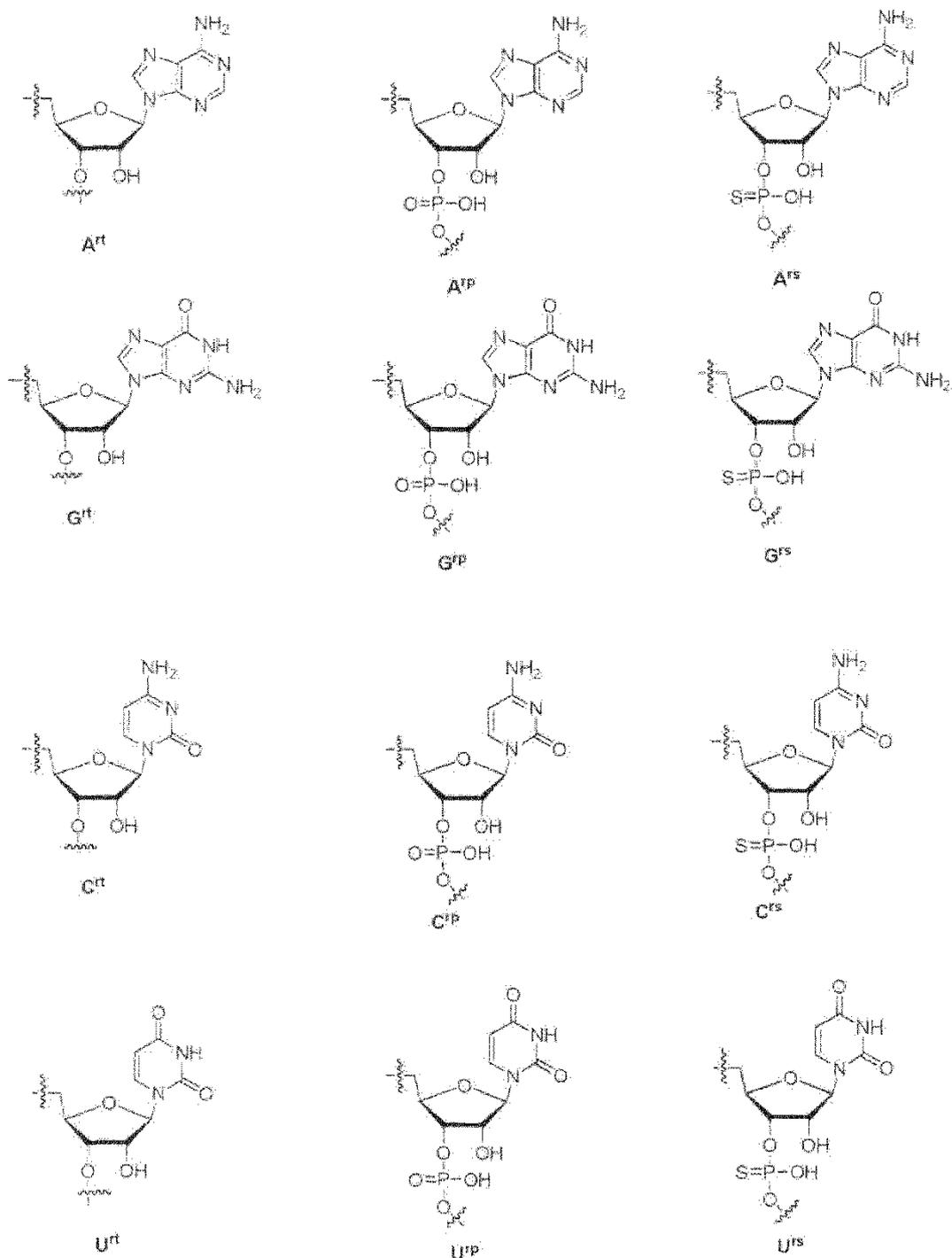
[Fórmula 34]



[Fórmula 35]



[Fórmula 36]



3-3. Gen diana

En la presente memoria descriptiva, el "gen diana" no está especialmente limitado a condición de que sea ARN de células, tejidos, o individuos, en el que o en los que esté gen se introduce (a partir de ahora en el presente documento, se pueden denominar como "receptores"). El gen diana puede ser ARNm que se traduce a una proteína o puede ser ARN no codificante que no se traduce a una proteína. Los ejemplos del ARN no codificante incluyen ARN funcional, por ejemplo, una región no traducida de ARNm, ARNt, ARNr, ARN no codificante análogo a ARN (ARNnc análogo a ARNm), ARN no codificante largo (ARNnc largo), ARN nuclear pequeño (ARNnp), ARN nucleolar pequeño (ARNsno), y microARN (miARN). Específicamente, el gen diana puede ser endógeno para los receptores de la introducción, o puede ser exógeno e introducirse en el mismo mediante un enfoque tal como una transferencia

génica. Puede también ser un gen presente en un cromosoma o en un gen extracromosómico. Los ejemplos del gen exógeno incluyen, pero sin limitación, los derivados de virus, bacterias, hongos, y protozoos, que puede infectar los receptores. La función del gen puede ser conocida o desconocida.

5 Los ejemplos de dicho gen diana puede incluir genes cuya expresión está específicamente aumentada y/o que estén específicamente mutados en pacientes que tengan una enfermedad en particular. Los ejemplos de enfermedades pueden incluir una enfermedad del sistema nervioso central (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, demencia, y trastornos de la alimentación), enfermedad inflamatoria (por ejemplo, alergia, reumatismo, artrosis y lupus eritematoso), enfermedad cardiovascular (por ejemplo, hipertensión, cardiomegalia, angina de pecho, arteriosclerosis, e hipercolesterolemia), cáncer (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, 10 cáncer prostático, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer pancreático, y melanoma maligno), enfermedad respiratoria (por ejemplo, neumonía, bronquitis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y fibrosis pulmonar), diabetes mellitus, retinopatía diabética, nefropatía diabética, anemia (por ejemplo, anemia asociada con enfermedad crónica y anemia por deficiencia de hierro resistente al hierro), degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad 15 inmunitaria (por ejemplo, enfermedad de Crohn, dermatitis atópica, enfermedad autoinmunitaria, inmunodeficiencia, y leucemia), enfermedad del hígado/vesícula biliar (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis hepática, hepatitis, insuficiencia hepática, colestasis, y cálculos), enfermedad gastrointestinal (por ejemplo, úlcera, enteritis, e hipoabsorción), infección, adiposidad, y fibrosis (por ejemplo, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal y mielofibrosis). Los ejemplos de los genes causantes de estas enfermedades pueden incluir, pero sin limitación, 20 proteína quinesina del huso (KSP), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), transtirretina (TTR), proproteína subtilisina convertasa/kexina tipo 9 (PCSK9), quinasa 1 (PLK-1), ApoB-100, subunidad M2 de la ribonucleótido reductasa (RRM2), clusterina, proteína de choque térmico 27 (Hsp27), survivina, factor de iniciación eucariota-4E (eIF-4E), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), la subunidad alfa del receptor de interleucina 4 (IL-4R α), Factor XI, Factor VII, N-ras, H-ras, K-ras, bcl-2, bcl-xL, Her-1, Her-2, Her-3, Her-4, MDR-1, gen de la β -catenina humana, polipéptido 3 de secuencia DDX3 (DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp), unido a X), secuencia 1 del gen de la leucemia de células mieloides (MCL1), PKR (Eif2ak2), Hsp47 (Serpinh1), Hecidina, proteína c activa (APC), 25 transductor de la señal y activador de la transcripción (STAT3), colágeno, de tipo I, alfa 1 (Col1A1).

3-4. Polinucleótido bicatenario

30 Cuando el ácido nucleico contenido en la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención es un ácido nucleico que tiene un efecto de interferencia de ARN sobre un gen diana, el ácido nucleico no está limitado por su estructura y la modificación química siempre que haya un efecto de interferencia de ARN. Los ejemplos de los mismos pueden incluir un ARNip (véase, por ejemplo, el documento WO2002/044321 y Current Opinion in Chemical Biology 570-579), AtuRNAi que consiste en un polinucleótido que contiene ARN y 2'-OMeARN alternativamente 35 unidos (véase por ejemplo el documento WO2004/015107), un polinucleótido bicatenario en el que las hebras de sentido directo y de sentido contrario de los polinucleótidos que contienen ADN y 2'-OMeARN unidos alternativamente forman una doble cadena según el emparejamiento de bases de Watson-Crick entre diferentes tipos de ácidos nucleicos (véase, por ejemplo, el documento WO2010/001909), que se describe a continuación en el párrafo 3-4-1, un ácido nucleico que consiste en un polinucleótido modificado en el extremo (véase, por ejemplo, el documento WO2010/052715), que se describe a continuación en el párrafo 3-4-2, y un polinucleótido monocatenario 40 en el que el extremo 5' de un polinucleótido con hebra en sentido contrario y el extremo 3' de un polinucleótido con hebra de sentido directo están unidos entre sí mediante un enlazador para formar una sola hebra, que adicionalmente forma intramolecularmente una estructura bicatenaria según el emparejamiento de bases de Watson-Crick (véase, por ejemplo, el documento WO2012/074038), que se describe más adelante en el párrafo 3-4-3.

En la Figura 4 se muestran las estructuras de estos polinucleótidos.

45 En la presente memoria descriptiva, la expresión "tener una secuencia de nucleótidos idéntica a la de un gen diana" se refiere a tener una secuencia idéntica a al menos una parte de la secuencia de nucleótidos del gen diana. Esto incluye una secuencia completamente idéntica y también incluye una secuencia sustancialmente idéntica a condición de que el polinucleótido resultante tenga un efecto de interferencia del ARN y/o un efecto de inhibición de la expresión génica sobre el gen diana.

50 La expresión "tener una secuencia de nucleótidos complementaria de la del gen diana" se refiere a tener una secuencia complementaria con al menos una parte de la secuencia de nucleótidos del gen diana. Esto incluye una secuencia completamente complementaria y también incluye una secuencia sustancialmente idéntica a condición de que el polinucleótido resultante tenga un efecto de interferencia del ARN y/o un efecto de una inhibición de la expresión génica sobre el gen diana. Cuando se sabe que el gen diana tiene SNP o similares, una secuencia que 55 tenga estas variaciones también se incluye como secuencia de nucleótidos idéntica. En la presente memoria descriptiva, un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos complementaria de la de un gen diana y tiene un efecto de interferencia de ARN y/o un efecto de inhibición de la expresión génica sobre el gen diana se denomina como un polinucleótido contra el gen diana.

60 La secuencia de nucleótidos del ácido nucleico contenido en la partícula de ácido nucleico de la presente invención no está especialmente limitada siempre que tenga un efecto de interferencia del ARN y/o un efecto inhibitorio de la expresión génica sobre el gen diana. Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos se puede determinar estableciendo

las secuencias de las hebras de sentido directo y de sentido contrario sobre la base de una secuencia con predicción de tener un efecto de interferencia del ARN sobre el gen diana mediante el uso de un programa informático (por ejemplo, GENETYX(R): fabricado por GENETYX CORPORATION), y también se puede determinar confirmando adicionalmente el efecto de interferencia del ARN y/o un efecto de inhibición de la expresión génica sobre el gen diana de un polinucleótido preparado sobre la base de la secuencia seleccionada.

Las respectivas longitudes de cadena de las hebras de sentido directo y de sentido contrario del polinucleótido bicatenario que tienen un efecto de interferencia de ARN pueden tener cualquier longitud desde 10 nucleótidos a la longitud completa del marco de lectura abierto (ORF) del gen diana, con la condición de que el polinucleótido resultante tenga un efecto de interferencia de ARN y/o un efecto inhibitorio de la expresión génica. Las longitudes de cadena respectivas de las hebras de sentido directo y de sentido contrario son, preferentemente, cualquier longitud desde 18 nucleótidos a la longitud completa del marco de lectura abierto (ORF) del gen diana, más preferentemente de 10 a 100 nucleótidos, adicionalmente preferentemente de 15 a 30 nucleótidos.

En el caso de usar un polinucleótido bicatenario con hebras de sentido directo y de sentido contrario de polinucleótidos que tienen ADN y 2'-OMeARN unidos alternativamente según el emparejamiento de bases de Watson-Crick entre diferentes tipos de ácidos nucleicos (documento WO2010/001909) de forma que el polinucleótido bicatenario tenga un efecto de interferencia del ARN, la longitud de la cadena de la hebra de sentido directo tiene preferentemente de 18 a 21 nucleótidos, más preferentemente 18 o 19 nucleótidos. La longitud de la cadena de la hebra de sentido contrario tiene preferentemente de 19 a 21 nucleótidos, más preferentemente 21 nucleótidos. Este polinucleótido no tiene que tener una estructura bicatenaria en su conjunto, y también incluye la parte que se solapa parcialmente en los extremos 5' y/o 3'. El extremo solapante tiene de 1 a 5 nucleótidos, preferentemente de 1 a 3 nucleótidos, más preferentemente 2 nucleótidos. Los ejemplos más preferibles del polinucleótido incluyen un polinucleótido que tiene una estructura donde el extremo 3' del polinucleótido con hebra en sentido contrario solapa en 2 nucleótidos (estructura solapante), y que tiene 18 pares de bases.

3-4-1. Polinucleótidos que contienen ADN y 2'-OMeARN alternativamente unidos

Un ejemplo del ácido nucleico contenido en la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención puede incluir un polinucleótido bicatenario en el que las hebras de sentido directo y sentido contrario de los polinucleótidos que contienen ADN y 2'-OMeARN alternativamente unidos están unidos mediante emparejamiento de bases de Watson-Crick entre diferentes tipos de ácidos nucleicos.

Los ejemplos específicos de dichos polinucleótidos bicatenarios incluyen un polinucleótido bicatenario constituido por una hebra de sentido directo CT-169 descrita en el Ejemplo 51 del documento WO2010/001909: HO-G^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-H (SEQ ID NO:1 del Listado de secuencias) y una hebra de sentido contrario CT-157 descrita en el Ejemplo 45 del mismo:

HO-P(=O)(OH)

U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-H (SEQ ID NO:2 del Listado de secuencias); y

un polinucleótido bicatenario constituido por una hebra de sentido directo CT-103 descrita en el Ejemplo 20 del documento WO2010/001909: HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-A^p-H (SEQ ID NO:3 del Listado de secuencias) y una hebra de sentido contrario CT-157 descrita en el Ejemplo 45 del mismo:

HO-P(=O)(OH)-O-

U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-H (SEQ ID NO:2 del Listado de secuencias).

3-4-2. Polinucleótido bicatenario modificado

En el caso de utilizar un ácido nucleico que tenga un efecto de interferencia de ARN como el ácido nucleico contenido en la partícula lipídica de ácido nucleico, otro ejemplo del mismo puede incluir un ácido nucleico modificado en el extremo de su polinucleótido siempre que el ácido nucleico tenga el efecto de interferencia del ARN. Los ejemplos de los mismos pueden incluir un polinucleótido bicatenario derivado de un polinucleótido bicatenario que tiene un efecto de interferencia del ARN (por ejemplo, ARNip, AtuRNAi, o un polinucleótido bicatenario en el que las hebras de sentido directo y de sentido contrario de los polinucleótidos que tienen ADN y 2'-OMeARN unidos alternativamente según el emparejamiento de bases de Watson-Crick entre diferentes tipos de ácidos nucleicos (véase por ejemplo, el documento WO2010/001909)), y modificado en 5' con arilfosfato en el grupo fosfato del extremo 5' de su hebra de sentido contrario (véase por ejemplo, el documento WO2010/052715).

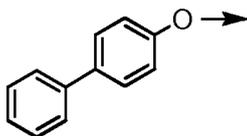
Los ejemplos específicos de dicho polinucleótido bicatenario modificado incluyen un polinucleótido bicatenario modificado constituido por una hebra de sentido directo CT-169 descrita en el Ejemplo 1 del documento WO2010/052715: HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-H (SEQ ID NO:1 del Listado de secuencias) y una hebra de sentido contrario que tenga cualquiera de las secuencias seleccionadas entre las (1)

a (3) siguientes:

(1) una hebra de sentido contrario CT-292 descrita en el Ejemplo 17 del mismo:

X-P(=O)(OH)-O-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:4 del Listado de secuencias) en la que X se representa por la siguiente fórmula:

[Fórmula 37]

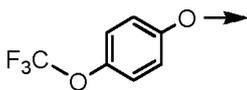


;

(2) una hebra de sentido contrario CT-315 descrita en el Ejemplo 26 del mismo:

X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:5 del Listado de secuencias) en la que X se representa por la siguiente fórmula:

[Fórmula 38]

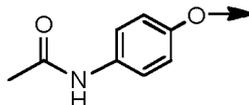


;

y
(3) una hebra de sentido contrario CT-387 descrita en el Ejemplo 83 del mismo:

X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:6 del Listado de secuencias) en la que X se representa por la siguiente fórmula:

[Fórmula 39]



3-4-3. Polinucleótido monocatenario modificado

El ácido nucleico contenido en la partícula lipídica de ácido nucleico también incluye un polinucleótido que tiene un polinucleótido con hebra de sentido directo contra el gen diana y un polinucleótido con hebra de sentido contrario que tiene una secuencia de nucleótidos complementaria del polinucleótido con hebra de sentido directo y tiene una estructura monocatenaria donde el extremo 5' del polinucleótido con hebra de sentido contrario y el extremo 3' del polinucleótido con hebra de sentido directo están unidos entre sí mediante una estructura fosfodiéster formada mediante un enlace siempre que el polinucleótido tenga un efecto de interferencia del ARN (véase por ejemplo, el documento WO2012/074038).

Los ejemplos específicos de dicho compuesto pueden incluir:

un polinucleótido CT-454 descrito en el Ejemplo 12 del documento WO2012/074038: HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:7 (región de la hebra de sentido directo) y la SEQ ID NO:8 (región de la hebra de sentido contrario) del Listado de secuencias);

un polinucleótido HS-005 descrito en el Ejemplo 28 del mismo: HO-C^p-G^{m1p}-A^p-G^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-A^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-A^{m1p}-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-C^p-U^{m1p}-C^p-G^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:9 (región de la hebra de sentido directo) y la SEQ ID NO:10 (región de la hebra de sentido contrario) del Listado de secuencias);

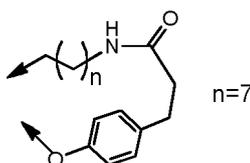
un polinucleótido HS-006 descrito en el Ejemplo 29 del mismo: HO-C^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-T^p-G^{m1p}-G^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-C^p-U^{m1p}-A^p-U^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-A^p-U^{m1p}-A^p-G^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-C^{m1p}-C^p-A^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-

TP-C^{m1p}-TP-G^{m1p}-TP-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:11 (región de la hebra de sentido directo) y la SEQ ID NO:12 (región de la hebra de sentido contrario) del Listado de secuencias);

un polinucleótido HS-005s descrito en el Ejemplo 30 del mismo: HO-C^p-G^{m1p}-A^p-G^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-TP-A^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-TP-A^{m1p}-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-C^p-U^{m1p}-C^p-G^{m1p}-TP^s-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:13 (región de la hebra de sentido directo) y la SEQ ID NO:14 (región de la hebra de sentido contrario) del Listado de secuencias);

y un polinucleótido HS-006s descrito en el Ejemplo 31 del mismo: HO-C^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-TP-G^{m1p}-G^p-G^{m1p}-TP-G^{m1p}-C^p-U^{m1p}-A^p-U^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-A^p-U^{m1p}-A^p-G^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-C^{m1p}-C^p-A^{m1p}-TP-G^{m1p}-TP-G^{m1p}-TP-C^{m1p}-TP-G^{m1p}-TP^s-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:15 (región de la hebra de sentido directo) y la SEQ ID NO:16 (región de la hebra de sentido contrario) del Listado de secuencias), en la que X se representa por la siguiente fórmula:

[Fórmula 40]



El grupo metileno terminal de X se une al extremo 3' del polinucleótido con hebra de sentido directo para formar un enlace fosfodiéster, y el átomo de oxígeno unido al grupo fenilo se une al extremo 5' del polinucleótido con hebra de sentido contrario para formar un enlace fosfodiéster.

15 3-4-3. ARN monocatenario

El ácido nucleico contenido en la partícula lipídica de ácido nucleico puede ser cualquier ARN monocatenario sin limitaciones concretas y también incluye un ARNm que se traduce en una proteína. Para mejorar la eficacia de la traducción, su secuencia también puede incluir una estructura de protección (por ejemplo, m7GpppG) o un sitio de entrada del ribosoma interno (IRES) en el extremo 5' y/o una cola PoliA en el extremo 3'. Además, la región 3' y/o 5' no traducida puede contener una secuencia que contribuye a la estabilización de una proteína, o una secuencia que promueve la traducción.

El ARN monocatenario se puede producir mediante una reacción de transcripción *in vitro* a partir de un ADN que tenga una secuencia de nucleótidos deseada. Las enzimas, soluciones tampón, y una mezcla de nucleósido-5'-trifosfato (adenosina-5'-trifosfato (ATP), guanosina-5'-trifosfato (GTP), citidina-5'-trifosfato (CTP), y uridina-5'-trifosfato (UTP)) necesaria para la transcripción *in vitro* están comercialmente disponibles (AmpliScribe T7 High Yield Transcription Kit (Epicentre), mMESSAGE mMACHINE T7 Ultra Kit (Life Technologies, Inc.), etc.). El ADN utilizado para producir el ARN monocatenario es un ADN clonado y, por ejemplo, se usa un ADN plásmido, o un fragmento de ADN.

Para mejorar la estabilidad y obtener adicionalmente un ARNm que tienen inmunogenicidad reducida, se puede introducir un nucleótido modificado en el ARNm mediante el uso de un nucleósido-5'-trifosfato junto con un nucleósido-5'-trifosfato no modificado en la reacción de transcripción *in vitro* (Kormann, M. (2011) Nature Biotechnology 29, 154-157.). Los ejemplos del uridina-5'-trifosfato modificado pueden incluir 2-tiouridina-5'-trifosfato, 4-tiouridina-5'-trifosfato, 4'-tiouridina-5'-trifosfato, y pseudouridina-5'-trifosfato. Los ejemplos del citidina-5'-trifosfato modificado utilizados puede incluir 5-metilcitidina-5'-trifosfato y 4-tiocitidina-5'-trifosfato. El uridina-5'-trifosfato modificado y el citidina-5'-trifosfato modificado se pueden usar al mismo tiempo que los nucleósido-5'-trifosfatos modificados.

La relación entre el uridina-5'-trifosfato no modificado y el uridina-5'-trifosfato modificado es preferentemente de 50 al 95% del uridina-5'-trifosfato no modificado y de 5 al 50% del uridina-5'-trifosfato modificado, más preferentemente del 70 al 95% del uridina-5'-trifosfato no modificado y del 5 al 30% del uridina-5'-trifosfato modificado. La relación entre el citidina-5'-trifosfato no modificado y el citidina-5'-trifosfato modificado es preferentemente de 50 al 95% del citidina-5'-trifosfato no modificado y del 5 al 50% del citidina-5'-trifosfato modificado, más preferentemente del 70 al 95% del citidina-5'-trifosfato no modificado y del 5 al 30% del citidina-5'-trifosfato modificado.

El ARN monocatenario que contiene el nucleótido modificado (o el nucleósido modificado) obtenido mediante la reacción de transcripción *in vitro* usando el nucleósido-5'-trifosfato modificado se puede hidrolizar completamente con nucleasa (si es necesario, que también se puede desfosforilar con fosfatasa) y analizarse usando, por ejemplo, cromatografía en capa fina (TLC) o cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), para determinar el contenido del nucleótido modificado y un nucleótido no modificado (o el contenido del nucleósido no modificado y un nucleósido no modificado).

La relación entre la uridina no modificada y la uridina modificada es preferentemente de 50 al 95% de la uridina no modificado y del 5 al 50% de la uridina modificada, más preferentemente de 70 al 95% de la uridina no modificado y

de 5 al 30% de la uridina modificada. La relación entre la citidina no modificada y la citidina modificada es preferentemente de 50 al 95% de la citidina no modificada y de 5 al 50% de la citidina modificada, más preferentemente de 70 al 95% de la citidina no modificada y de 5 al 30% de la citidina modificada.

5 El ARN monocatenario se utiliza para tratar una enfermedad o suministrar una proteína beneficiosa. El ARN monocatenario se suministra a un órgano responsable de la enfermedad mediante la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención y se transporta adicionalmente al interior del citoplasma. Cuando el ARN monocatenario codifica una proteína, el ARN monocatenario se traduce a una proteína del citoplasma de forma que dicha proteína proporciona la curación de la enfermedad.

10 Una diana del tratamiento de la enfermedad puede ser la ausencia de una proteína debido a una mutación génica o una disminución del suministro de la proteína. Incluso si la proteína está presente, la mutación de su gen produce la mutación de la proteína, y esta variante de proteína puede tener funciones más débiles que las de la proteína natural, en algunos casos. Para dicha delección o deficiencia de la proteína, se puede usar un ARN monocatenario que codifica la proteína se puede usar para proporcionar la curación de la enfermedad. Los ejemplos de la enfermedad que se puede usar el ARN monocatenario puede incluir una enfermedad causada por un defecto genético (enfermedad genética), y una enfermedad causada por la ausencia de una proteína en el organismo debido a una insuficiencia del órgano.

15 Los ejemplos de la enfermedad causada por un defecto genético (enfermedad genética)(el nombre del gen está indicado entre paréntesis) puede incluir una enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo Ia (glucosa-6-fosfatasa), enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo Ib (glucosa-6-fosfato translocasa), enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo III (amiló-1,6-glucosidasa), enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo IV (amiló-1,4→1,6 transglucosilasa), enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo VI (fosforilasa hepática), enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo IX, enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo VIII (fosforilasa quinasa hepática), deficiencia de α 1-antitripsina (α 1-antitripsina), hemocromatosis congénita, deficiencia en hepcidina (hepcidina), hemofilia A y B (factores de coagulación VIII y IX, respectivamente), deficiencia congénita en anticoagulantes (proteína C, inactivador de los factores de coagulación Va y VIIIa), púrpura trombocitopénica trombótica (ADAMTS13), trombocitopenia amegacariocítica congénita, y deficiencia en trombopoyetina (trombopoyetina). Los ejemplos de la enfermedad causada por la ausencia de una proteína en el organismo debido a un fallo en un órgano pueden incluir la hormona del crecimiento de eritropoyetina (EPO) (somatotropina o hGH).

3-5. Procedimiento para producir la partícula lipídica de ácido nucleico

30 El procedimiento para producir la partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención no está especialmente limitada siempre que la partícula lipídica de ácido nucleico se puede producir según el procedimiento. La partícula lipídica de ácido nucleico se puede producir, por ejemplo, según un procedimiento tal como un procedimiento de película fina, un procedimiento de evaporación en fase invertida, un procedimiento de inyección de metanol, un procedimiento de inyección de éter, un procedimiento de deshidratación-rehidratación, un procedimiento de diálisis con detergentes, un procedimiento de hidratación, o un procedimiento de congelación-descongelación. Más concretamente, la partícula lipídica de ácido nucleico se puede producir por el procedimiento de inyección con metanol descrito a continuación.

40 Los materiales hidrófobos tales como el lípido catiónico, el lípido anfipático, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica se disolvieron en 50 al 90% de etanol. Por otra parte, los materiales hidrófilos tales como el ácido nucleico se disuelven en una solución tamponada de pH 3 a 6.

La solución de los lípidos en etanol y la solución acuosa del ácido nucleico se mezclan en una relación en volumen de 1:20 a 1:1 para formar una partícula lipídica y para formar una partícula lipídica de ácido nucleico mediante la interacción electrostática entre el ácido nucleico cargado negativamente y el lípido catiónico cargado positivamente. Como resultado, se obtiene una dispersión de la partícula lipídica de ácido nucleico en bruto.

45 En otro aspecto, la solución de los lípidos en etanol se mezcla con una solución tamponada exenta del ácido nucleico para formar una partícula lipídica. Después, la partícula lipídica se puede mezclar con la solución acuosa del ácido nucleico para formar una partícula lipídica de ácido nucleico.

50 Posteriormente, el etanol y los ácidos nucleicos libres contenidos en la dispersión de la partícula lipídica de ácido nucleico en bruto se eliminan por un procedimiento tal como ultrafiltración o diálisis para obtener una partícula lipídica de ácido nucleico estable.

Los ejemplos de dicha partícula lipídica de ácido nucleico pueden incluir una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende los componentes en cualquier relación molar seleccionada entre el grupo que consiste de lo siguiente (a) a (g):

- 55 (a) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 10:48:40:2,
(b) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 10:38:50:2,

(c) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 10:33:55:2,

(d) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 10:28:60:2,

5 (e) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 15:33:50:2,

(f) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico: lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 10:48.5:40:1.5, y

10 (g) lípido anfipático:esterol:lípido catiónico:lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica = 10:47.5:40:2.5.

La relación (N/P) entre el número de moléculas del lípido catiónico (N) y el número de átomos de fósforo derivados del ácido nucleico (P) en la partícula lipídica de ácido nucleico es preferentemente aproximadamente de 2,0 a 15,0, más preferentemente de aproximadamente 2,0 a 12,0, más preferentemente, 2,0 al 9,0, aún más preferentemente de 3,0 a 9,0. El límite inferior de la relación N/P es preferentemente 2,0, más preferentemente 2,5, adicionalmente preferentemente 3,0, y el límite superior del mismo es preferentemente 15,0, más preferentemente 12,0, más preferentemente 9,0.

4. Composición farmacéutica que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico

La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención se puede usar en un producto farmacéutico siempre que la partícula lipídica de ácido nucleico tenga un efecto de interferencia del ARN y/o un efecto inhibidor de genes de un gen diana.

El producto farmacéutico no está especialmente limitado siempre que el producto farmacéutico sea para el tratamiento o prevención de una enfermedad derivada de la expresión de un gen diana. Los ejemplos preferidos de los mismos incluyen productos farmacéuticos para tratar o prevenir una enfermedad del sistema nervioso central (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, demencia, y trastornos de la alimentación), enfermedad inflamatoria (por ejemplo, alergia, reumatismo, artrosis y lupus eritematoso), enfermedad cardiovascular (por ejemplo, hipertensión, cardiomegalia, angina de pecho, arteriosclerosis, e hipercolesterolemia), cáncer (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer prostático, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer pancreático, y melanoma maligno), enfermedad respiratoria (por ejemplo, neumonía, bronquitis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y fibrosis pulmonar), diabetes mellitus, retinopatía diabética, nefropatía diabética, anemia (por ejemplo, anemia asociada con una enfermedad crónica, anemia con deficiencia de hierro resistente al tratamiento con hierro, y anemia por cáncer), degeneración macular relacionada con la edad, enfermedad inmunitaria (por ejemplo, enfermedad de Crohn, dermatitis atópica, enfermedad autoinmunitaria, inmunodeficiencia, y leucemia), enfermedad del hígado/vesícula biliar (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis hepática, hepatitis, insuficiencia hepática, colestasis, y cálculos), enfermedad gastrointestinal (por ejemplo, úlcera, enteritis, e hipoabsorción), infección, adiposidad, y fibrosis (por ejemplo, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal y mielofibrosis). El producto farmacéutico es más preferentemente para el tratamiento o la prevención de un cáncer (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario, cáncer prostático, cáncer gástrico, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello de útero, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer pancreático, y melanoma maligno), enfermedad respiratoria (por ejemplo, neumonía, bronquitis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y fibrosis pulmonar), y/o enfermedad del hígado/vesícula biliar (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis hepática, hepatitis, insuficiencia hepática, colestasis, y cálculos). El producto farmacéutico es adicionalmente preferentemente para el tratamiento o la prevención de cáncer (cáncer de colon, cáncer de recto, y cáncer de hígado), anemia (por ejemplo, anemia asociada con una enfermedad crónica, anemia con deficiencia de hierro resistente al tratamiento con hierro, y anemia por cáncer), enfermedad del hígado (esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis hepática, y hepatitis), enfermedad de la vesícula (colestasis), y fibrosis (fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, y fibrosis renal).

La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención se puede usar en un producto farmacéutico siempre que el ARN monocatenario se utiliza para tratar una enfermedad o suministrar una proteína beneficiosa. Los ejemplos de este caso se han mostrado en el párrafo 3-4-3.

La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención se puede administrar tanto sola como en una mezcla con un transportador fisiológicamente aceptable seleccionado de acuerdo con una vía de administración y una práctica farmacéutica convencional.

En general, se utiliza una solución salina convencional como transportador farmacéuticamente aceptable.

55 Otros transportadores preferidos incluyen, por ejemplo, agua, agua tamponada, soluciones salinas al 0,4% y glicina al 0,3% y también incluyen albúminas, lipoproteínas, y glicoproteínas tales como globulinas para mejorar la estabilidad.

Los transportadores farmacéuticos se añaden por lo general después de la formación de partículas. Por lo tanto, tras

la formación de la partícula, la partícula se puede diluir en un transportador farmacéuticamente aceptable tal como una solución salina convencional.

5 La partícula de una formulación farmacéutica puede tener un intervalo de concentración muy amplio. Específicamente, la concentración es inferior a aproximadamente 0,05%, habitualmente de aproximadamente 2 al 5%, o de al menos aproximadamente 2 al 5% a aproximadamente 10 al 30%, del peso, y está seleccionado principalmente a partir del volumen, viscosidad, o similar de un líquido de acuerdo con un modo de administración seleccionado. Por ejemplo, la concentración puede estar elevada de forma que una carga del líquido asociado con el tratamiento se puede disminuir. Esto es especialmente deseable para pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva relacionada con aterosclerosis o hipertensión severa. Como alternativa, una partícula constituida por un lípido irritante se puede diluir hasta una concentración baja, que puede reducir la inflamación en el sitio de administración.

10 Normalmente, la concentración del ácido nucleico en la partícula lipídica de ácido nucleico es aproximadamente de 1 al 20%, más preferentemente de aproximadamente 3 al 10%.

15 La composición farmacéutica de la presente invención se puede esterilizar mediante una técnica de esterilización bien conocida. Una solución acuosa se puede envasar para su uso o se puede filtrar y criodesecar en condiciones asépticas. La preparación criodesecada se combina con una solución acuosa aséptica antes de la administración. La composición puede contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables necesarias para aproximarse a un estado fisiológico, por ejemplo, un agente de ajuste del pH y un agente tamponante (por ejemplo, acetato sódico, lactato de sodio, cloruro sódico, cloruro de potasio y cloruro de calcio) y un regulador osmótico.

20 Además, la suspensión de partículas puede contener un agente protector de lípidos que protege los lípidos e los radicales libres y del daño por peroxidación de lípidos durante el almacenamiento. Se prefiere un inactivador de radicales libres lipófilo tal como alfa tocoferol y un agente quelante específico de iones soluble en agua tal como ferrioxamina.

25 Otros ejemplos del uso de la partícula lipídica de ácido nucleico incluyen, pero sin limitación, geles, aceites, y emulsiones. La partícula lipídica de ácido nucleico se puede también incorporar a una amplia gama de formas de dosificación locales. Por ejemplo, la suspensión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico se puede formular y administrar como una crema local, pasta, pomada, gel, loción, o similares.

30 La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención también proporciona un procedimiento para transferir un ácido nucleico (por ejemplo, plasmídico o ARNip) a una célula. El procedimiento se lleva a cabo *in vitro* o *in vivo* formando en primer lugar la partícula como se ha descrito anteriormente y poniendo después en contacto la partícula con una célula durante un tiempo suficiente para administrar el ácido nucleico a la célula.

35 La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención se puede adsorber en prácticamente todos los tipos de célula con los que se mezcla la partícula lipídica de ácido nucleico, o se pone en contacto. Una vez que la partícula lipídica de ácido nucleico se ha adsorbido en la misma, la partícula puede experimentar cualquiera de los siguientes eventos: la partícula experimenta endocitosis mediante el resto celular; la membrana celular está sustituida por el lípido; y la partícula se fusiona con la célula.

La administración o la recaptación del resto de ácido nucleico de la partícula se produce mediante una cualquiera de dichas rutas. Particularmente, cuando se produce la fusión, la membrana de la partícula se incorpora a la membrana celular de forma que el contenido de la partícula se combina con el fluido intracelular.

40 La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención es útil para el tratamiento o prevención de todos los signos, enfermedades, o síntomas implicados o que son sensibles al nivel de expresión de un gen diana en células o tejidos. La enfermedad a tratar o prevenir no está especialmente limitada siempre que sea una enfermedad derivada de la expresión de un gen diana. La enfermedad es preferentemente cáncer, anemia, enfermedad hepática, enfermedad de la vesícula, fibrosis, o enfermedad genética. La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención se puede administrar a un mamífero (preferentemente un ser humano) que lo necesita.

45 La presente invención proporciona un procedimiento para inhibir o regular negativamente la expresión de un gen diana en una célula o tejido. Cuando el gen diana es un gen que no codifica ARN que no se traduce a una proteína, la presente invención proporciona también un procedimiento para inhibir o regular negativamente la expresión de un ARN no codificante y además regular positivamente, en algunos casos, regular negativamente la expresión de un gen implicado en el ARN no codificante.

Ejemplos

55 En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá más específicamente con referencia a los ejemplos, ejemplos de referencia y ejemplos de ensayo. Sin embargo, la presente invención no pretende limitarse a los mismos. En los ejemplos siguientes, se realizaron procedimientos de ingeniería genética por los procedimientos descritos en "Molecular Cloning" [Sambrook, J., Fritsch, E. F. y Maniatis, T., publicado en 1989 por Cold Spring Harbor Laboratory Press] o de acuerdo con las instrucciones de los reactivos disponibles en el mercado

o los kits usados, a menos que se indique otra cosa.

(Ejemplo de referencia 1)

Carbonato de 4-nitrofenil(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo

5 A una solución de diisopropiletilamina (0,50 g, 3,8 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (0,12 g, 0,95 mmol) en diclorometano (61 ml), se le añadió (6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ol (0,50 g, 0,95 mmol), descrito en los ejemplos 1 y 7 de WO2010042877, y cloroformiato de 4-nitrofenilo (0,38 g, 1,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 5 horas. La materia volátil se eliminó a presión reducida y se eliminó por filtración un sólido formado por la adición de acetato de etilo. El disolvente de la solución obtenida se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés (0,61 g, 93%).
10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,8 Hz), 1,21 - 1,44 (36H, m), 1,59 - 1,73 (4H, m), 2,00 - 2,09 (8H, m), 2,77 (4H, t, J = 6,8 Hz), 4,77 - 4,85 (1H, m), 5,28 - 5,42 (8H, m), 7,38 (2H, d, J = 9,3 Hz), 8,28 (2H, d, J = 9,3 Hz).

(Ejemplo de referencia 2)

Carbonato de 2-(dimetilamino)etil(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo

15 A una solución de carbonato de 4-nitrofenil(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo (0,20 g, 0,29 mmol) obtenido en el ejemplo de referencia 1, 2-dimetilaminoetanol (0,26 g, 2,9 mmol), y diisopropiletilamina (0,15 g, 1,2 mmol) en diclorometano (10 ml), se le añadió 4-dimetilaminopiridina (0,14 g, 1,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (100 mg, 54%). Este compuesto es un compuesto descrito en una tabla de WO2010/054405.
20 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,8 Hz), 1,20 - 1,40 (36H, m), 1,45 - 1,65 (4H, m), 1,96 - 2,08 (8H, m), 2,28 (6H, s), 2,60 (2H, t, J = 5,9 Hz), 2,77 (4H, t, J = 6,8 Hz), 4,21 (2H, t, J = 5,9 Hz), 4,64 - 4,71, 1H, m), 5,27 - 5,42 (8H, m). EM (EN+) m/z 644 [M+H]⁺
25 HRMS (EN+) m/z 644,6012 (3,0 mDa).

(Ejemplo 1)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo (compuesto ejemplar 1-467)

30 A una solución de carbonato de 4-nitrofenil(6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraen-19-ilo (0,20 g, 0,29 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 1, 3-dimetilamino-1-propanol (0,30 g, 2,9 mmol) y diisopropiletilamina (0,15 g, 1,2 mmol) en diclorometano (10 ml), se le añadió 4-dimetilaminopiridina (0,14 g, 1,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (100 mg, 53%).
35 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,8 Hz), 1,20 - 1,40 (36H, m), 1,45 - 1,65 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,3, 7,3 Hz), 1,95 - 2,10 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 2,77 (4H, t, J = 6,8 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,3 Hz), 4,63 - 4,73, 1H, m), 5,27 - 5,43 (8H, m).
40 EM (EN+) m/z 658 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 658,6164 (2,6 mDa).

(Ejemplo de referencia 3) (6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ona

45 A una solución de linoleato de metilo (30,0 g, 101 mmol) en xileno (55 ml), se le añadió una suspensión de hidruro sódico (5,05 g, 63%, 132 mmol), lavado con anterioridad con hexano en xileno (10 ml), durante 10 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a 150°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite.
50 A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (413 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (102 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 100°C durante 5,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (23,0 g, 91%).
55 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,6 Hz), 1,24 - 1,40 (28H, m), 1,51 - 1,60 (4H, m), 2,01 - 2,09 (8H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 5,29 - 5,43 (8H, m).

(Ejemplo de referencia 4)

(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ol

5 A una solución de (6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ona (23,0 g, 46,1 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 3 en metanol (187 ml) y tetrahidrofurano (187 ml), se le añadió borohidruro sódico (1,74 g, 46,1 mmol) y después se hizo reaccionar la mezcla a temperatura ambiente durante 80 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con una solución mezcla de hexano-acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (22,2 g, 96%).
10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,24 - 1,48 (36H, m), 2,01 - 2,09 (8H, m), 2,77 (4H, t, J = 6,3 Hz), 3,55 - 3,62 (1H, m), 5,29 - 5,43 (8H, m).

(Ejemplo de referencia 5)

Carbonato de 4-nitrofenil(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ilo

15 A una solución de diisopropiletilamina (0,20 g, 1,5 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (0,05 g, 0,38 mmol) en diclorometano (25 ml), se le añadió (6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ol (0,19 g, 0,38 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 4, y cloroformiato de 4-nitrofenilo (0,15 g, 0,77 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. La materia volátil se eliminó a presión reducida y el sólido formado por la adición de hexano se eliminó por filtración. El disolvente de la solución obtenida se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés (0,12 g, 47%).
20

(Ejemplo 2)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ilo (compuesto ejemplar 1-118)

25 A una solución de carbonato de 4-nitrofenil(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ilo (0,03 g, 0,05 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 5, 3-dimetilamino-1-propanol (0,05 g, 0,5 mmol) y diisopropiletilamina (0,03 g, 0,2 mmol) en diclorometano (6 ml), se le añadió 4-dimetilaminopiridina (0,02 g, 0,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 4 días. Se añadió más 3-dimetilamino-1-propanol (0,1 g, 1 mmol) a la misma y la mezcla se hizo reaccionar durante otros 2 días. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (10 mg, 31%).
30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,6 Hz), 1,22 - 1,42 (34H, m), 1,48 - 1,65 (4H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,98 - 2,10 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 4,18 (2H, t, 6,6 Hz), 4,64 - 4,73 (1H, m), 5,37 - 5,43 (8H, m).
35 EM (EN+) m/z 630 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 630,5839 (1,4 mDa).

(Ejemplo 3)

40 Carbonato de 4-(dimetilamino)butil(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ilo (compuesto ejemplar 1-129)

45 A una solución de carbonato de 4-nitrofenil(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ilo (0,12 g, 0,18 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 5, 4-dimetilamino-1-butanol (0,22 g, 1,8 mmol) y diisopropiletilamina (0,10 g, 0,72 mmol) en diclorometano (10 ml), se le añadió 4-dimetilaminopiridina (0,09 g, 0,72 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (30 mg, 26%).
50 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,6 Hz), 1,21 - 1,42 (34H, m), 1,47 - 1,64 (6H, m), 1,71 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,99 - 2,09 (8H, m), 2,21 (6H, s), 2,27 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 4,14 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,63 - 4,72 (1H, m), 5,28 - 5,43 (8H, m).
EM (EN+) m/z 644 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 644,6008 (2,6 mDa).

(Ejemplo de referencia 6)

55 (9Z,26Z)-pentatriaconta-9,26-dien-18-ona

5 A una solución de oleato de metilo (10,0 g, 33,4 mmol) en xileno (18 ml), se le añadió durante 5 minutos una suspensión de hidruro sódico (1,65 g, 63%, 43,4 mmol), lavada con anterioridad con hexano en xileno (3 ml), y después la mezcla se hizo reaccionar a 150°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite. A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (135 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (33 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 100°C durante 5,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, seguido por la formación de un sólido con un disolvente de acetona-hexano. Después de eliminar el sólido por filtración, el disolvente se eliminó por destilación de la solución resultante a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (7,50 g, 89%).
 10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,8 Hz), 1,21 - 1,36 (40H, m), 1,52 - 1,60 (4H, m), 1,97 - 2,04 (8H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,6 Hz), 5,30 - 5,39 (4H, m).

(Ejemplo de referencia 7)

(9Z,26Z)-pentatriaconta-9,26-dien-18-ol

20 A una solución de (9Z,26Z)-pentatriaconta-9,26-dien-18-ona (5,0 g, 9,9 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 6, en metanol (40 ml) y tetrahidrofurano (40 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,38 g, 9,9 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 80 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (4,5 g, 90%). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 6,6 Hz), 1,21 - 1,37 (48H, m), 1,37 - 1,49 (4H, m), 1,97 - 2,06 (8H, m), 3,55 - 3,62 (1H, m), 5,31 - 5,40 (4H, m).

(Ejemplo 4)

Carbonato de 3-dimetilaminopropil(9Z,26Z)-pentatriaconta-9,26-dien-18-ilo (compuesto ejemplar 1-50)

30 A una solución de (9Z,26Z)-pentatriaconta-9,26-dien-18-ol (0,25 g, 0,50 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 7, y piridina (0,25 g, 3,1 mmol) en tolueno (5,0 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,10 g, 0,34 mmol) en tolueno (0,74 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 100 minutos, se le añadió 3-dimetilamino-1-propanol (0,54 g, 5,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (296 mg, 94%).
 35 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,86 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,36 (44H, m), 1,50 - 1,59 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,8, 7,3 Hz), 1,97 - 2,04 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,8 Hz), 4,65 - 4,72 (1H, m), 5,33 - 5,37 (4H, m). EM (EN+) m/z 634 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 634,6169 (3,1 mDa).

40 (Ejemplo de referencia 8)

(3Z,6Z,9Z,26Z,29Z,32Z)-pentatriaconta-3,6,9,26,29,32-hexaen-18-ona

45 A una solución de α-linolenato de metilo (10,0 g, 33,4 mmol) en xileno (18 ml), se le añadió durante 5 minutos una suspensión de hidruro sódico (1,65 g, 63%, 43,4 mmol), lavada con anterioridad con hexano en xileno (3 ml) y después la mezcla se hizo reaccionar a 150°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite. A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (135 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (33 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 100°C durante 5,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, seguido por la formación de un sólido con un disolvente de acetona-hexano. Después de eliminar el sólido por filtración, el disolvente se eliminó por destilación de la solución resultante a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (6,10 g, 74%).
 50 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,98 (6H, t, J = 7,6 Hz), 1,22 - 1,40 (16H, m), 1,52 - 1,60 (4H, m), 2,00 - 2,19 (8H, m), 2,39 (4H, t, J = 7,6 Hz), 2,74 - 2,83 (8H, m), 5,28 - 5,43 (12H, m).

(Ejemplo de referencia 9)

(3Z,6Z,9Z,26Z,29Z,32Z)-pentatriaconta-3,6,9,26,29,32-hexaen-18-ol

A una solución de (3Z,6Z,9Z,26Z,29Z,32Z)-pentatriaconta-3,6,9,26,29,32-hexaen-18-ona (5,0 g, 10,1 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 8, en metanol (41 ml) y tetrahidrofurano (41 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,38 g, 10 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 80 minutos. Después de

5 tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (4,0 g, 79%).

10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,98 (6H, t, J = 7,6 Hz), 1,24 - 1,48 (24H, m), 2,00 - 2,20 (8H, m), 2,75 - 2,84 (8H, m), 3,55 - 3,61 (1H, m), 5,29 - 5,43 (12H, m).

(Ejemplo 5)

Carbonato de 3-dimetilaminopropil(3Z,6Z,9Z,26Z,29Z,32Z)-pentatriaconta-3,6,9,26,29,32-hexaen-18-ilo (compuesto ejemplar 1-176)

15 A una solución de (3Z,6Z,9Z,26Z,29Z,32Z)-pentatriaconta-3,6,9,26,29,32-hexaen-18-ol (0,25 g, 0,50 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 9 y piridina (0,25 g, 3,1 mmol) en tolueno (5,0 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,10 g, 0,34 mmol) en tolueno (0,75 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 100 minutos, se le añadió 3-dimetilamino-1-propanol (0,55 g, 5,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato

20 sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (274 mg, 87%, mezcla isomérica).

25 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,98 (6H, t, J = 7,6 Hz), 1,24 - 1,39 (20H, m), 1,49 - 1,62 (4H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,6 Hz), 2,00 - 2,19 (8H, m), 2,22, (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 2,74 - 2,84 (8H, m), 4,17 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,28 - 5,44 (12H, m).

EM (EN+) m/z 626 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 626,5512 (-0,5 mDa).

(Ejemplo de referencia 10)

(6Z,9Z,12Z,23Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,12,23,26,29-hexaen-18-ona

30 A una solución de γ-linolenato de metilo (5,00 g, 17,1 mmol) en xileno (9 ml), se le añadió durante 5 minutos una suspensión de hidruro sódico (0,85 g, 63%, 22,2 mmol), lavada con anterioridad con hexano en xileno (1,5 ml) y después la mezcla se hizo reaccionar a 150°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de

35 etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite. A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (69 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (17 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 100°C durante 5,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, seguido por la formación de un sólido con un disolvente de acetona-

40 hexano. Después de eliminar el sólido por filtración, el disolvente se eliminó por destilación de la solución resultante a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (3,80 g, 90%).

45 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,86 - 0,91 (6H, m), 1,23 - 1,42 (16H, m), 1,55 - 1,63 (4H, m), 1,98 - 2,20 (8H, m), 2,39 (4H, t, J = 7,6 Hz), 2,78 - 2,83 (8H, m), 5,25 - 5,44 (12H, m).

(Ejemplo de referencia 11)

(6Z,9Z,12Z,23Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,12,23,26,29-hexaen-18-ol

50 A una solución de (6Z,9Z,12Z,23Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,12,23,26,29-hexaen-18-ona (3,0 g, 6,1 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 10, en metanol (25 ml) y tetrahidrofurano (25 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,23 g, 6,1 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 80 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (2,1 g, 70%).

55 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,86 - 0,91 (6H, m), 1,24 - 1,50 (24H, m), 1,99 - 2,21 (8H, m), 2,78 - 2,84 (8H, m), 3,55 - 3,62 (1H, m), 5,28 - 5,44 (12H, m).

(Ejemplo 6)

Carbonato de 3-dimetilaminopropil(6Z,9Z,12Z,23Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,12,23,26,29-hexaen-18-ilo (compuesto ejemplar 1-152)

5 A una solución de (6Z,9Z,12Z,23Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,12,23,26,29-hexaen-18-ol (0,25 g, 0,50 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 11 y piridina (0,25 g, 3,1 mmol) en tolueno (5,0 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,10 g, 0,34 mmol) en tolueno (0,75 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 100 minutos, se le añadió 3-dimetilamino-1-propanol (0,55 g, 5,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (240 mg, 76%).

10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,86 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,42 (20H, m), 1,51 - 1,63 (4H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,3 Hz), 1,99 - 2,19 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 2,78 - 2,83 (8H, m), 4,17 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,72 (1H, m), 5,30 - 5,45 (12H, m).

15 EM (EN+) m/z 626 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 626,5515 (0,3 mDa).

(Ejemplo de referencia 12)

Di-(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilpropanodioato de dimetilo

20 A una solución de malonato de dimetilo (13,5 g, 102 mmol) en tolueno (500 ml), se le añadió durante 5 minutos una suspensión de hidruro sódico (5,17 g, 63%, 136 mmol), lavada con anterioridad con hexano en tolueno (6 ml). Después de agitar a 80°C durante 30 minutos, se le añadió metanosulfonato de (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilo (compuesto descrito en el ejemplo 1 de WO2009/132131, 23,4 g, 67,9 mmol) y la mezcla se agitó a 100°C durante 4 horas y se agitó a 120°C durante 2 horas. Después de tratar con una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico, la mezcla de reacción se sometió a extracción y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (9,71 g).

25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,90 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,07 - 1,16 (4H, m), 1,21 - 1,40 (32H, m), 1,82 - 1,89 (4H, m), 2,01 - 2,08 (8H, m), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 3,71 (6H, s), 5,29 - 5,43 (8H, m).

30 También se obtuvo un subproducto de (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilpropanodioato de dimetilo en forma de un líquido incoloro (8,50 g).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,21 - 1,37 (18H, m), 1,81 - 1,90 (2H, m), 1,96 - 2,05 (4H, m), 2,74 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,32 (1H, t, J = 7,4 Hz), 3,70 (6H, s), 5,25 - 5,39 (4H, m).

(Ejemplo de referencia 13)

(11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]jicosa-11-dienoato de metilo

35 A una solución de di-(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilpropanodioato de dimetilo (5,00 g, 7,95 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 12 y agua (2,15 g, 119 mmol) en dimetilsulfóxido (39,5 ml), se le añadió cloruro de litio (1,01 g, 23,9 mmol). Después de agitar a 150°C durante 5 horas, se añadieron agua (2,15 g, 119 mmol) y cloruro de litio (1,01 g, 23,9 mmol). La mezcla se hizo reaccionar a 160°C durante 5 horas y se enfrió a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (3,00 g, 66%). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,20 - 1,47 (38H, m), 1,55 - 1,64 (2H, m), 2,01 - 2,09 (8H, m), 2,28 - 2,37 (1H, m), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 3,67 (3H, s), 5,29 - 5,46 (8H, m).

45 (Ejemplo de referencia 14)

(11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]jicosa-11,14-dien-1-ol

50 A una solución de (11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]jicosa-11-dienoato de metilo (3,00 g, 5,25 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 13 en tetrahidrofurano (40 ml), se le añadió hidruro de litio y aluminio (0,400 g, 10,5 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se trató con agua (0,4 ml), una solución acuosa al 15% de hidróxido sódico (0,4 ml) y agua (1,2 ml) y se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (1,00 g, 35%).

55 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,24 - 1,44 (38H, m), 1,97 - 2,09 (9H, m), 2,78 (4H, t, J = 6,6 Hz), 4,15 (2H, t, J = 6,3 Hz), 5,29 - 5,43 (8H, m).

(Ejemplo 7)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]icosa-11,14-dien-1-ilo (compuesto ejemplar 1-477)

Una solución de (11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]icosa-11,14-dien-1-ol (0,15 g, 0,28 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 14 y piridina (0,14 g, 1,8 mmol) en tolueno (0,6 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,06 g, 0,19 mmol) en tolueno (0,24 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 2 horas, la mezcla de reacción se calentó a 10°C, se agitó durante 30 minutos y se enfrió de nuevo a 0°C. Se le añadió 3-dimetilamino 1-propanol (0,30 g, 2,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (130 mg, 70%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,21 - 1,40 (40H, m), 1,62 - 1,69 (1H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 - 2,09 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,78 (4H, t, J = 6,6 Hz), 4,03 (2H, d, J = 5,9 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 5,29 - 5,43 (8H, m). EM (EN+) m/z 672 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 672,6309 (1,4 mDa).

(Ejemplo de referencia 15)

(9Z,12Z)-N-metoxi-N-metiloctadeca-9,12-dienamida

A una solución de ácido linoleico (10,0 g, 35,7 mmol) y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (6,56 g, 71,3 mmol) en diclorometano (250 ml), se le añadió 1-hidroxibenzimidazol hidrato (10,9 g, 71,3 mmol), trietilamina (7,22 g, 71,3 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (13,7 g, 71,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (11,4 g, 99%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,24 - 1,40 (14H, m), 1,63 (2H, quint, J = 7,4 Hz), 2,00 - 2,09 (4H, m), 2,41 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,18 (3H, s), 3,68 (3H, s), 5,29 - 5,43 (4H, m).

(Ejemplo de referencia 16)

(19Z,22Z)-octacososa-19,22-dien-11-ona

Una solución de (9Z,12Z)-N-metoxi-N-metiloctadeca-9,12-dienamida (11,4 g, 35,2 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 15, en tetrahidrofurano (157 ml) se enfrió a 15°C en un baño de agua. Una solución de bromuro de n-decil magnesio 1 N en tetrahidrofurano (52,9 ml, 52,9 mmol) se añadió gota a gota a la misma durante 20 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (14,3 g, 99%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 0,90 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,20 - 1,40 (28H, m), 1,50 - 1,60 (4H, m), 2,00 - 2,09 (4H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 5,28 - 5,42 (4H, m).

(Ejemplo de referencia 17)

(19Z,22Z)-octacososa-19,22-dien-11-ol

A una solución de (19Z,22Z)-octacososa-19,22-dien-11-ona (14,3 g, 35,2 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 16, en metanol (106 ml) y tetrahidrofurano (106 ml), se le añadió borohidruro sódico (1,33 g, 35,2 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 70 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (13,5 g, 95%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 0,90 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,23 - 1,47 (40H, m), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,54 - 3,62 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).

(Ejemplo 8)

Carbonato de 3-dimetilaminopropil(9Z,12Z)-octacososa-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 1-72)

Una solución de (19Z,22Z)-octacososa-19,22-dien-11-ol (0,15 g, 0,37 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,18 g, 2,3 mmol) en tolueno (0,8 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,07 g, 0,25 mmol) en tolueno (0,31 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 1 hora, la

mezcla de reacción se calentó a 10°C, se agitó durante 20 minutos y se enfrió de nuevo a 0°C. Se le añadió 3-dimetilamino 1-propanol (0,40 g, 3,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (100 mg, 51%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,22 - 1,39 (32H, m), 1,49 - 1,62 (4H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,6 Hz), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,72 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).

EM (EN+) m/z 536 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 536,5038 (-0,5 mDa).

(Ejemplo 9)

Carbonato de (1-metilpiperidin-3-il)metil(9Z,12Z)-octacos-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 2-72)

Una solución de (19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-11-ol (0,26 g, 0,64 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,32 g, 4,0 mmol) en tolueno (7,4 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,13 g, 0,44 mmol) en tolueno (0,9 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma (1-metil-3-piperidil)metanol (0,87 g, 6,7 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (360 mg, 55%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,21 - 1,39 (32H, m), 1,49 - 1,76 (9H, m), 1,86 - 1,92 (1H, m), 1,96 - 2,07 (5H, m), 2,26 (3H, s), 2,74 (1H, d, J = 10,5 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,8 Hz), 2,85 (1H, d, J = 10,5 Hz), 3,94 (1H, dt, J = 3,2, 7,3 Hz), 4,06 (1H, ddd, J = 3,2, 5,9, 10,7 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).

EM (EN+) m/z 562 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 562,5196 (-0,3 mDa).

(Ejemplo 10)

Carbonato de 1-metilpiperidin-4-il(9Z,12Z)-octacos-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 2-66)

Una solución de (19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-11-ol (0,300 g, 0,738 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,368 g, 4,65 mmol) en tolueno (7,4 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,151 g, 0,509 mmol) en tolueno (1,1 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 4-hidroxil-1-metilpiperidina (0,892 g, 7,75 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (249 mg, 62%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,20 - 1,40 (32H, m), 1,49 - 1,62 (4H, m), 1,73 - 1,84 (2H, m), 1,92 - 2,01 (2H, m), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,16 - 2,25 (2H, m), 2,28 (3H, s), 2,65 - 2,73 (2H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,57 - 4,66 (1H, m), 4,64 - 4,73 (1H, m), 5,28 - 5,43 (4H, m).

EM (EN+) m/z 548 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 548,5042 (-0,1 mDa).

(Ejemplo 11)

Carbonato de (1-metilpirrolidin-3-il)metil(9Z,12Z)-octacos-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 2-71)

Una solución de (19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-11-ol (0,300 g, 0,738 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,368 g, 4,65 mmol) en tolueno (7,4 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,151 g, 0,509 mmol) en tolueno (1,1 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma (1-metilpirrolidin-3-il)metanol (0,892 g, 7,75 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (234 mg, 58%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,20 - 1,40 (32H, m), 1,45 - 1,64 (5H, m), 1,95 - 2,07 (5H, m), 2,30 (1H, dd, J = 5,5, 9,4 Hz), 2,34 (3H, s), 2,51 (2H, t, J = 7,0 Hz), 2,23 - 2,62 (1H, m), 2,65 (1H, dd, J = 7,8, 9,0 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,3 Hz), 4,03 (1H, ddd, J = 2,0, 7,8, 9,8 Hz), 4,07 (1H, ddd, J = 2,0, 7,0, 10,6 Hz), 4,68 (1H, tt, J = 5,5, 7,0

Hz), 5,29 - 5,43 (4H, m).
 EM (EN+) m/z 548 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 548,5050 (0,7 mDa).

(Ejemplo 12)

5 Carbamato de 1-metilpirrolidin-3-il(9Z,12Z)-octacosaa-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 2-64)

Una solución de (19Z,22Z)-octacosaa-19,22-dien-11-ol (0,150 g, 0,369 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,184 g, 2,32 mmol) en tolueno (3,7 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,0755 g, 0,254 mmol) en tolueno (0,55 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 10 0°C. Se añadió a la misma 1-metil-3-pirrolidinol (0,392 g, 3,87 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a 15 cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (99,9 mg, 50%).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz), 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,22 - 1,40 (32H, m), 1,47 - 1,60 (4H, m), 1,92 (1H, dddd, J = 2,7, 6,3, 7,4, 13,7 Hz), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,28 (1H, dddd, J = 6,3, 7,4, 7,8, 13,7 Hz), 2,36 (3H, s), 2,41 (1H, ddd, J = 6,3, 7,8, 9,0 Hz), 2,67 (1H, dd, J = 2,7, 10,9 Hz), 2,73 (1H, ddd, J = 6,3, 7,4, 9,0 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 2,82 (1H, dd, J = 5,9, 10,9 Hz), 4,67 (1H, tt, J = 5,5, 7,0 Hz), 5,08 (1H, ddt, J = 5,9, 7,8, 2,7 Hz), 20 5,28 - 5,43 (4H, m). EM (EN+) m/z 534 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 534,4891 (0,5 mDa).

(Ejemplo 13)

Carbonato de 2-(1-metilpirrolidin-2-il)etil(9Z,12Z)-octacosaa-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 2-75)

Una solución de (19Z,22Z)-octacosaa-19,22-dien-11-ol (0,200 g, 0,492 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,245 g, 3,10 mmol) en tolueno (5 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,101 g, 0,339 mmol) en tolueno (0,74 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 25 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 1-metil-2-pirrolidinametanol (0,667 g, 5,16 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a 30 cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (98,5 mg, 36%).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz), 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,22 - 1,40 (32H, m), 1,44 - 1,85 (8H, m), 1,92 - 2,18 (8H, m), 2,32 (3H, s), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,06 (1H, ddd, J = 2,3, 8,2, 8,6 Hz), 4,11 - 4,26 (2H, m), 35 4,65 - 4,72 (1H, m), 5,29 - 5,43 (4H, m).
 EM (EN+) m/z 562 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 562,5203 (0,4 mDa).

(Ejemplo 14)

40 Carbonato de (1-metilpiperidin-4-il)metil(9Z,12Z)-octacosaa-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 2-73)

Una solución de (19Z,22Z)-octacosaa-19,22-dien-11-ol (0,200 g, 0,492 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,245 g, 3,10 mmol) en tolueno (5 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,101 g, 0,339 mmol) en tolueno (0,74 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 45 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 4-hidroximetil-1-metilpiperidina (0,667 g, 5,16 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a 50 cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (21,7 mg, 8%).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz), 0,90 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,23 - 1,39 (28H, m), 1,49 - 1,61 (6H, m), 1,63 - 1,71 (1H, m), 1,74 (2H, d, J = 14,1 Hz), 1,91 (2H, t, J = 11,7 Hz), 2,00 - 2,03 (4H, m), 2,27 (3H, s), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 2,86 (2H, d, J = 11,7 Hz), 3,98 (2H, d, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,71 (1H, m), 5,29 - 5,43 (4H, m).
 EM (EN+) m/z 562 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 562,5204 (0,5 mDa).
 55

(Ejemplo de referencia 18)

(21Z,24Z)-triacontaa-21,24-dien-13-ol

A una solución de (9Z,12Z)-N-metoxi-N-metil-octacos-9,12-dienamida (0,50 g, 1,5 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 15 en tetrahidrofurano (6,9 ml), se le añadió gota a gota una solución de bromuro de n-dodecil magnesio 1 N en éter dietílico (4,6 ml, 4,6 mmol) durante 3 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener una mezcla que contenía una presunta cetona intermedia (0,93 g). A una solución de esta mezcla de cetona en metanol (4,6 ml) y tetrahidrofurano (4,6 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,06 g, 1,5 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,59 g, 89%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 6,8 Hz), 0,90 (3H, t, J = 6,8 Hz), 1,22 - 1,48 (44H, m), 2,02 - 2,08 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,8 Hz), 3,55 - 3,62 (1H, m), 5,30 - 5,42 (4H, m).

15 (Ejemplo 15)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(21Z,24Z)-triaconta-21,24-dien-13-ilo (compuesto ejemplar 1-112)

Una solución de (21Z,24Z)-triaconta-21,24-dien-13-ol (0,15 g, 0,35 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 18 y piridina (0,17 g, 2,2 mmol) en tolueno (3,4 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,07 g, 0,24 mmol) en tolueno (0,5 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0°C durante 2 horas, se añadió a la misma 3-dimetilamino 1-propanol (0,37 g, 3,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (177 mg, 91%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,21 - 1,40 (36H, m), 1,49 - 1,63 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,6 Hz), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 2,78 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,72 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).

EM (EN+) m/z 564 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 564,5359 (0,3 mDa).

30 (Ejemplo de referencia 19)

(19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-3-in-11-ona

A una solución de (9Z,12Z)-N-metoxi-N-metil-octacos-9,12-dienamida (1,00 g, 3,09 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 15 en tetrahidrofurano (6,2 ml), se le añadió gota a gota una solución de cloruro de (decin-7-inil)magnesio 0,5 N en tetrahidrofurano (12,4 ml, 6,20 mmol) durante 3 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (1,03 g, 83%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,11 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,23 - 1,61 (24H, m), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,11 - 2,19 (4H, m), 2,36 - 2,41 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,8 Hz), 5,29 - 5,42 (4H, m).

(Ejemplo de referencia 20)

(19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-3-in-11-ol

A una solución de (19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-3-in-11-ona (1,0 g, 2,56 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 19 en metanol (7,7 ml) y tetrahidrofurano (7,7 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,097 g, 2,6 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,78 g, 75%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,11 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,24 - 1,52 (28H, m), 2,02 - 2,08 (4H, m), 2,11 - 2,19 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,8 Hz), 3,55 - 3,62 (1H, m), 5,30 - 5,42 (4H, m).

(Ejemplo 16)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-3-in-11-ilo (compuesto ejemplar 1-99)

55 Una solución de (19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-3-in-11-ol (0,15 g, 0,37 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 20 y piridina (0,19 g, 2,4 mmol) en tolueno (3,7 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución

de trifosgeno (0,076 g, 0,26 mmol) en tolueno (0,5 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0°C durante 2 horas, se añadió a la misma 3-dimetilamino 1-propanol (0,40 g, 3,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (183 mg, 93%).

- 5 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 6,6 Hz), 1,11 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,23 - 1,64 (28H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,3 Hz), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,10 - 2,19 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,71 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).
- 10 EM (EN+) m/z 532 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 532,4739 (0,9 mDa).

(Ejemplo de referencia 21)

(3Z,19Z,22Z)-octacos-3,19,22-trien-11-ol

A acetato de níquel (II) tetrahidrato (0,24 g, 0,97 mmol), se le añadió etanol (12 ml) en atmósfera de hidrógeno gaseoso y se añadió una solución de borohidruro sódico (0,037 g, 0,97 mmol) en etanol (6 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, se añadió etilendiamina (0,23 g, 3,9 mmol) y la mezcla se volvió a agitar durante 15 minutos. Posteriormente, se añadió a la misma una solución de (19Z,22Z)-octacos-19,22-dien-3-in-11-ol (0,39 g, 0,97 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 20 en etanol (6 ml) durante 1 minuto y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5,5 horas en atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con una solución al 20% de acetato de etilo en hexano y se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,37 g, 95%).

- 15 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,1 Hz), 0,95 (3H, t, J = 7,3 Hz), 1,23 - 1,48 (28H, m), 1,99 - 2,08 (8H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,8 Hz), 3,55 - 3,61 (1H, m), 5,29 - 5,42 (6H, m).
- 20

(Ejemplo 17)

- 25 Carbamato de 3-(dimetilamino)propil(3Z,19Z,22Z)-octacos-3,19,22-trien-11-ilo (compuesto ejemplar 1-87)

Una solución de (3Z,19Z,22Z)-octacos-3,19,22-trien-11-ol (0,15 g, 0,37 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 21 y piridina (0,19 g, 2,4 mmol) en tolueno (3,7 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,075 g, 0,26 mmol) en tolueno (0,5 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0°C durante 2 horas, se añadió a la misma 3-dimetilamino 1-propanol (0,40 g, 3,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (136 mg, 69%).

- 30 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 6,6 Hz), 0,95 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,22 - 1,40 (24H, m), 1,49 - 1,64 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,3 Hz), 1,97 - 2,08 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,17 (2H, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,27 - 5,43 (6H, m).
- 35 EM (EN+) m/z 534 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 534,4891 (0,5 mDa).

(Ejemplo 18)

- 40 Carbamato de 4-(dimetilamino)butil(11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]licos-11,14-dien-1-ilo (compuesto ejemplar 1-478)

Una solución de (11Z,14Z)-2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]licos-11,14-dien-1-ol (0,15 g, 0,28 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 14 y piridina (0,14 g, 1,8 mmol) en tolueno (0,6 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,06 g, 0,19 mmol) en tolueno (0,24 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 2 horas, la mezcla de reacción se calentó a 10°C, se agitó durante 30 minutos y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 4-dimetilamino 1-butanol (0,35 g, 2,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (80 mg, 42%).

- 45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,86 - 0,92 (6H, m), 1,20 - 1,40 (40H, m), 1,50 - 1,59 (2H, m), 1,63 - 1,74 (3H, m), 2,01 - 2,09 (8H, m), 2,21 (6H, s), 2,28 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,78 (4H, t, J = 6,6 Hz), 4,02 (2H, d, J = 5,9 Hz), 4,14 (2H, t, J = 6,6 Hz), 5,29 - 5,43 (8H, m).
- 50 EM (EN+) m/z 686 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 686,6461 (1,0 mDa).
- 55

(Ejemplo de referencia 22)

Octacosan-11-ol

- 5 A una solución de octadecanal (0,62 g) en tetrahidrofurano (2,3 ml), se le añadió una solución de bromuro de n-decil magnesio 1 N en éter dietílico (4,6 ml, 4,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un sólido ceroso de color blanco (0,34 g, 36%).

(Ejemplo 19)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propiloctacosan-11-ilo (compuesto ejemplar 1-8)

- 10 Una solución de octacosan-11-ol (0,11 g, 0,27 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 22 y piridina (0,13 g, 1,7 mmol) en tolueno (2,7 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,055 g, 0,18 mmol) en tolueno (0,40 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0°C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,29 g, 2,8 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (114 mg, 79%).
- 15 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,35 (46H, m), 1,48 - 1,64 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,17 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m).
- 20 EM (EN+) m/z 540 [M+H]⁺
HRMS (EN+)m/z 540,5344 (-1,2 mDa).

(Ejemplo de referencia 23)

(Z)-N-metoxi-N-metiloctadec-9-enamida

- 25 A una solución de ácido oleico (10,3 g, 36,3 mmol) y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (7,08 g, 72,6 mmol) en diclorometano (250 ml), se le añadió 1-hidroxibenzoimidazol hidrato (11,1 g, 72,6 mmol), trietilamina (7,34 g, 72,6 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (13,9 g, 72,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (12,1 g, 99%).
- 30 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,22 - 1,37 (20H, m), 1,63 (2H, quint, J = 7,3 Hz), 1,97 - 2,04 (4H, m), 2,41 (2H, t, J = 7,3 Hz), 3,18 (3H, s), 3,68 (3H, s), 5,31 - 5,38 (2H, m).

(Ejemplo de referencia 24)

- 35 (Z)-octacos-19-en-11-ona

- A una solución de (Z)-N-metoxi-N-metiloctadec-9-enamida (0,50 g, 1,5 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 23, en tetrahidrofurano (7,7 ml), se le añadió una solución de bromuro de n-decil magnesio 1 N en tetrahidrofurano (3,1 ml, 3,1 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora y posteriormente a 60°C durante 30 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la materia volátil se eliminó a presión reducida. El residuo se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,59 g, 93%).
- 40 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,90 (6H, m), 1,20 - 1,36 (34H, m), 1,52 - 1,60 (4H, m), 1,98 - 2,04 (4H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,3 Hz), 5,32 - 5,38 (2H, m).
- 45

(Ejemplo de referencia 25)

(Z)-octacos-19-en-11-ol

- 50 A una solución de (Z)-octacos-19-en-11-ona (0,59 g, 1,4 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 24, en metanol (4,3 ml) y tetrahidrofurano (4,3 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,054 g, 1,4 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 60 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,45 g, 77%).

(Ejemplo 20)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z)-octacos-19-en-11-ilo (compuesto ejemplar 1-16)

Una solución de (Z)-octacos-19-en-11-ol (0,45 g, 1,1 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 25 y piridina (0,55 g, 6,9 mmol) en tolueno (11 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,23 g, 6,9 mmol) en tolueno (1,7 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (1,2 g, 12 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (530 mg, 89%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (6H, t, J = 6,8 Hz), 1,21 - 1,37 (38H, m), 1,49 - 1,62 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,6 Hz), 1,97 - 2,04 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,32 - 5,37 (2H, m).

EM (EN+) m/z 538 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 538,5193 (-0,6 mDa).

(Ejemplo de referencia 26)

Octadeca-9,12,15-triin-1-ol

A una solución de 9-decin-1-ol (5,15 g, 33,4 mmol) y 1-bromo-octa-2,5-diina (compuesto conocido, 6,18 g, 33,4 mmol) en N,N-dimetilformamida (66 ml), se le añadió yoduro de sodio (5,56 g, 37,1 mmol), carbonato potásico (10,2 g, 74,1 mmol) y yoduro de cobre (I) (7,06 g, 37,1 mmol) en ese orden y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. La materia no soluble se eliminó a través de celite. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con un disolvente mezclado de hexano y acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (8,40, 97%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 1,12 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,24 - 1,42 (10H, m), 1,48 (2H, tt, J = 7,1, 7,6 Hz), 1,57 (2H, tt, J = 6,6, 7,1 Hz), 2,12 - 2,21 (4H, m), 3,14 (2H, s), 3,14 (2H, s), 3,64 (2H, t, J = 6,6 Hz).

(Ejemplo de referencia 27)

Ácido octadeca-9,12,15-triiónico

A una solución de octadeca-9,12,15-triin-1-ol (8,40 g, 32,5 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 26 y trietilamina (16,4 g, 163 mmol) en dimetilsulfóxido (97 ml), se le añadió trióxido de azufre-piridina (12,9 g, 81,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y el líquido de color pardo obtenido se disolvió en alcohol *tert*-butílico (130 ml) y 2-metil-2-buteno (18 ml). A la solución, se le añadió gota a gota una solución de dihidrogenofosfato de sodio dihidrato (11,2 g, 71,5 mmol) y clorito sódico (6,47 g, 71,5 mmol) en agua (130 ml) durante 5 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 50 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se sometió a extracción con un disolvente mezclado de hexano-acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un sólido de color amarillo (6,13 g, 69%). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 1,12 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,27 - 1,41 (6H, m), 1,48 (2H, tt, J = 7,1, 7,3 Hz), 1,64 (2H, tt, J = 7,1, 7,6 Hz), 2,12 - 2,20 (4H, m), 2,35 (2H, t, J = 7,6 Hz), 3,14 (4H, s).

(Ejemplo de referencia 28)

N-metoxi-N-metiloctadeca-9,12,15-triinamida

A una solución de ácido octadeca-9,12,15-triionico (5,13 g, 18,8 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 27 y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (3,67 g, 37,7 mmol) en diclorometano (132 ml), se le añadió 1-hidroxibenzoimidazol hidrato (5,77 g, 37,7 mmol), trietilamina (3,81 g, 37,7 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (7,22 g, 37,7 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (4,00 g, 67%). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 1,12 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,29 - 1,41 (6H, m), 1,48 (2H, tt, J = 7,1, 7,3 Hz), 1,63 (2H, quint, J = 7,3 Hz), 2,11 - 2,20 (4H, m), 2,41 (2H, t, J = 7,3 Hz), 3,14 (4H, s), 3,18 (3H, s), 3,68 (3H, s).

(Ejemplo de referencia 29)

Octacososa-19,22,25-triin-11-ona

5 A una solución de N-metoxi-N-metiloctadec-9,12,15-triinamida (1,00 g, 3,17 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 28, en tetrahidrofurano (15 ml), se le añadió una solución de bromuro de n-decil magnesio 1 N en tetrahidrofurano (6,34 ml, 6,34 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora y posteriormente a 60°C durante 30 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la materia volátil se eliminó a presión reducida. El residuo se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,40 g, 32%).

10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,12 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,20 - 1,39 (20H, m), 1,47 (2H, tt, J = 7,1, 7,3 Hz), 1,51 - 1,59 (4H, m), 2,12 - 2,20 (4H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,6 Hz), 3,14 (4H, s).

(Ejemplo de referencia 30)

Octacososa-19,22,25-triin-11-ol

15 A una solución de octacososa-19,22,25-triin-11-ona (0,40 g, 1,0 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 29, en metanol (3,0 ml) y tetrahidrofurano (3,0 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,038 g, 1,0 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 60 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,25 g, 62%). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,12 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,21 - 1,52 (30H, m), 2,12 - 2,20 (4H, m), 3,14 (2H, s), 3,14 (2H, s), 3,55 - 3,60 (1H, m).

20

(Ejemplo de referencia 31)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil-octacososa-19,22,25-triin-11-ilo

25 Una solución de octacososa-19,22,25-triin-11-ol (0,25 g, 0,63 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 30 y piridina (0,31 g, 4,0 mmol) en tolueno (6,2 ml) se enfrió a 0°C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,13 g, 0,43 mmol) en tolueno (0,9 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0°C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,68 g, 6,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 30 2,5 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,22 g, 66%).

35 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,1 Hz), 1,12 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,20 - 1,60 (30H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,6 Hz), 2,11- 2,20 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 3,14 (4H, s), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m).

(Ejemplo 21)

Carbamato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22Z,25Z)-octacososa-19,22,25-trien-11-ilo (compuesto ejemplar 1-164)

40 A acetato de níquel (II) tetrahidrato (0,104 g, 0,417 mmol), se le añadió etanol (5,0 ml) en atmósfera de gas hidrógeno y se añadió una solución de borohidruro sódico (0,015 g, 0,417 mmol) en etanol (2,5 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, se añadió etilendiamina (0,100 g, 1,67 mmol) y la mezcla se volvió a agitar durante 15 minutos. Posteriormente, se añadió a la misma una solución de carbamato de 3-(dimetilamino)propil-octacososa-19,22,25-triin-11-ilo (0,220 g, 0,417 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 31, en etanol (2,5 ml) se añadió durante 1 minuto y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con una solución de hexano y se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro.

45 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 6,8 Hz), 0,98 (3H, t, J = 7,6 Hz), 1,20 - 1,39 (26H, m), 1,49 - 1,62 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,3 Hz), 1,99 - 2,11 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 2,78 - 2,83 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,28 - 5,43 (6H, m).

50 EM (EN+) m/z 534 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 534,4885 (-0,1 mDa).

(Ejemplo de referencia 32)

(9Z,12R)-12-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi]octadec-9-enoato de metilo

A una solución de ricinolato de metilo (16,7 g, 53,4 mmol) e imidazol (7,28 g, 107 mmol) en N,N-dimetilformamida

- (53,4 ml), se le añadió cloruro de *terc*-butil(dimetil)silano (12,1 g, 80,2 mmol) durante 2 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (23,2 g, 99%).
- 5 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,03 - 0,06 (6H, m), 0,86 - 0,90 (12H, m), 1,22 - 1,45 (18H, m), 1,62 (2H, tt, J = 6,8, 7,6 Hz), 2,01 (2H, c, J = 6,6 Hz), 2,18 (2H, t, J = 5,9 Hz), 2,30 (2H, t, J = 7,6 Hz), 3,65 (1H, quint, J = 5,9 Hz), 3,67 (3H, s), 5,33 - 5,45 (2H, m).
- (Ejemplo de referencia 33)
- 10 (5R,7Z,24Z,27R)-5,27-dihexil-2,2,3,3,29,29,30,30-octametil-4,28-dioxa-3,29-disilahentriaconta-7,24-dien-16-ona
- A una solución de (9Z,12R)-12-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi]octadec-9-enoato de metilo (12 g, 28,1 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 32, en xileno (15 ml), se le añadió una suspensión de hidruro sódico (1,37 g, 64%, 36,6 mmol), lavado con anterioridad con hexano en xileno (5 ml), durante 5 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a 150°C durante 5,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con hexano. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite. A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (120 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (28 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 90°C durante 5,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con hexano. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro.
- 15 El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (7,24 g, 67%).
- 20 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,03 - 0,06 (12H, m), 0,86 - 0,90 (24H, m), 1,21 - 1,45 (36H, m), 1,51 - 1,59 (4H, m), 2,01 (4H, c, J = 6,6 Hz), 2,18 (4H, t, J = 5,9 Hz), 2,38 (4H, t, J = 7,6 Hz), 3,65 (2H, quint, J = 5,9 Hz), 5,32 - 5,46 (4H, m).
- 25 (Ejemplo de referencia 34)
- (5R,7Z,24Z,27R)-5,27-dihexil-2,2,3,3,29,29,30,30-octametil-4,28-dioxa-3,29-disilahentriaconta-7,24-dien-16-ol
- A una solución de (5R,7Z,24Z,27R)-5,27-dihexil-2,2,3,3,29,29,30,30-octametil-4,28-dioxa-3,29-disilahentriaconta-7,24-dien-16-ona (5,5 g, 7,2 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 33, en metanol (22 ml) y tetrahidrofurano (22 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,27 g, 7,2 mmol) durante 2 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la materia volátil se eliminó a presión reducida. El residuo se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (5,0 g, 91%).
- 30 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,03 - 0,05 (12H, m), 0,86 - 0,90 (24H, m), 1,22 - 1,47 (44H, m), 2,01 (4H, c, J = 6,6 Hz), 2,18 (4H, t, J = 5,9 Hz), 3,55 - 3,61 (1H, m), 3,65 (2H, quint, J = 5,9 Hz), 5,34 - 5,46 (4H, m).
- 35 (Ejemplo de referencia 35)
- Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(5R,7Z,24Z,27R)-5,27-dihexil-2,2,3,3,29,29,30,30-octametil-4,28-dioxa-3,29-disilahentriaconta-7,24-dien-16-ilo
- 40 A una solución de (5R,7Z,24Z,27R)-5,27-dihexil-2,2,3,3,29,29,30,30-octametil-4,28-dioxa-3,29-disilahentriaconta-7,24-dien-16-ol (1,00 g, 1,31 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 34 y piridina (0,651 g, 8,23 mmol) en tolueno (13,1 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,268 g, 0,690 mmol) en tolueno (1,96 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (1,42 g, 13,7 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (1,15 g, 98%).
- 45 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,03 - 0,05 (12H, m), 0,88 (6H, t, J = 6,8 Hz), 0,89 (18H, s), 1,21 - 1,46 (40H, m), 1,49 - 1,62 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,8, 7,3 Hz), 2,01 (4H, c, J = 6,6 Hz), 2,18 (4H, t, J = 5,9 Hz), 2,22 (2H, t, J = 7,3 Hz), 3,65 (2H, quint, J = 5,9 Hz), 4,17 (2H, t, J = 6,8 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,33 - 5,46 (4H, m).
- 50 (Ejemplo 22)
- Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(7R,9Z,26Z,29R)-7,29-dihidroxipentatriaconta-9,26-dien-18-ilo (compuesto ejemplar 1-308)
- 55 A carbonato de 3-(dimetilamino)propil(5R,7Z,24Z,27R)-5,27-dihexil-2,2,3,3,29,29,30,30-octametil-4,28-dioxa-3,29-disilahentriaconta-7,24-dien-16-ilo (1,15 g, 1,29 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 35, se le añadió una

solución de fluoruro de tetra-n-butilamonio 1 N en tetrahidrofurano (19,3 ml, 19,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,56 g, 65%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (6H, t, J = 6,8 Hz), 1,23 - 1,38 (36H, m), 1,40 - 1,50 (4H, m), 1,50 - 1,62 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,8, 7,3 Hz), 2,04 (4H, c, J = 7,1 Hz), 2,21 (4H, t, J = 7,1 Hz), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 3,57 - 3,64 (2H, m), 4,17 (2H, t, J = 6,8 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 5,37 - 5,44 (1H, m), 5,54 - 5,58 (1H, m).

10 (Ejemplo 23)

Diacetato de (7R,9Z,26Z,29R)-18-([3-(Dimetilamino)propoxi]carbonil)oxi)pentatriaconta-9,26-dieno-7,29-diilo (compuesto ejemplar 1-233)

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil(7R,9Z,26Z,29R)-7,29-dihidroxipentatriaconta-9,26-dien-18-ilo (0,15 g, 0,23 mmol), obtenido en el ejemplo 22 y piridina (0,36 g, 4,5 mmol) en diclorometano (4,5 ml), se le añadió cloruro de ácido acético (0,18 g, 2,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (155 mg, 92%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,38 (40H, m), 1,49 - 1,63 (8H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,3 Hz), 1,98 - 2,05 (10H, m), 2,22 (6H, s), 2,24 - 2,33 (4H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,3 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,71 (1H, m), 4,87 (2H, quint, J = 6,3 Hz), 5,29 - 5,36 (2H, m), 5,44 - 5,50 (2H, m).

EM (EN+) m/z 750 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 750,6247 (-0,1 mDa).

25 (Ejemplo 24)

3-(dimetilamino)propilcarbonato de (7R,9Z,26Z,29R)-7,29-dihexil-2,5-dioxo-1,6-dioxaciclónonacos-9,26-dien-18-ilo (compuesto ejemplar 1-319)

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil(7R,9Z,26Z,29R)-7,29-dihidroxipentatriaconta-9,26-dien-18-ilo (1,19 g, 1,72 mmol), obtenido en el ejemplo 22 y piridina (1,13 g, 14,3 mmol) en diclorometano (40 ml), se le añadió gota a gota una solución de cloruro de ácido succínico (0,186 g, 1,20 mmol) en diclorometano (13 ml) durante 1,5 horas y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (20 mg, 1%).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (6H, t, J = 6,6 Hz), 1,21 - 1,39 (40H, m), 1,51 - 1,63 (8H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,3 Hz), 1,98 - 2,07 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,28 (2H, t, J = 7,1 Hz), 2,32 (2H, t, J = 7,3 Hz), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 2,60 (4H, s), 4,17 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,68 (1H, quint, J = 6,1 Hz), 4,86 - 4,92 (2H, m), 5,29 - 5,36 (2H, m), 5,43 - 5,50 (2H, m). EM (EN+) m/z 748 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 748,6091 (0,0 mDa).

(Ejemplo de referencia 36)

(11Z,14Z)-N-metoxi-N-metilicosa-11,14-dienamida

A una solución de (11Z,14Z)-icosa-11,14-dienoato (compuesto 3 descrito en Chem. Lett. 1998, 2, 175, 4,45 g, 14,4 mmol) y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (2,87 g, 28,9 mmol) en diclorometano (71 ml), se le añadió 1-hidroxibenzoimidazol hidrato (3,90 g, 28,9 mmol), trietilamina (2,95 g, 28,9 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (5,53 g, 28,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para finalizar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después se sometió el residuo a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (5,00 g, 99%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,24 - 1,40 (18H, m), 1,62 (2H, quint, J = 7,4 Hz), 2,02 - 2,07 (4H, m), 2,41 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,18 (3H, s), 3,68 (3H, s), 5,29 - 5,43 (4H, m).

(Ejemplo de referencia 37)

(21Z,24Z)-triaconta-21,24-dien-11-ol

55 A una solución de (11Z,14Z)-N-metoxi-N-metilicosa-11,14-dienamida (0,50 g, 1,4 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 36, en tetrahidrofurano (6,3 ml), se le añadió gota a gota una solución de bromuro de n-decil magnesio 1

N en éter dietílico (4,3 ml, 4,3 mmol) durante 3 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice. A una solución del aceite obtenido en metanol (5,4 ml) y tetrahidrofurano (5,4 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,05 g, 1,3 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener una mezcla que contenía el compuesto de interés.

(Ejemplo 25)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(21Z,24Z)-triaconta-21,24-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 1-444)

A una solución de (21Z,24Z)-triaconta-21,24-dien-11-ol (0,15 g, 0,35 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 37 y piridina (0,17 g, 2,18 mmol) en tolueno (0,7 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,07 g, 0,25 mmol) en tolueno (0,29 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió 3-dimetilamino 1-propanol (0,37 g, 3,6 mmol) a la misma y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (100 mg, 51%).
 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,21 - 1,40 (36H, m), 1,49 - 1,61 (4H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,6 Hz), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,6 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,65 - 4,72 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).
 EM (EN+) m/z 564 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 564,5352 (-0,4 mDa).

(Ejemplo 26)

3-(pirrolidin-1-il)propilcarbonato de (19Z,22Z)-octacosa-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 1-77)

Una solución de (19Z,22Z)-octacosa-19,22-dien-11-ol (0,200 g, 0,492 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,245 g, 3,10 mmol) en tolueno (4,9 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma una solución de trifosgeno (0,101 g, 0,339 mmol) en tolueno (0,74 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-(pirrolidin-1-il)propan-1-ol (0,667 g, 5,16 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (127 mg, 46 %).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 6,7 Hz), 0,89 (3H, t, J = 6,7 Hz), 1,20 - 1,40 (32H, m), 1,48 - 1,64 (4H, m), 1,74 - 1,81 (4H, m), 1,90 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,45 - 2,54 (4H, m), 2,53 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,19 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,70 (1H, tt, J = 5,5, 7,0 Hz), 5,28 - 5,43 (4H, m).
 EM (EN+) m/z 562 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 562,5203 (0,4 mDa).

(Ejemplo de referencia 38)

(19Z,22R)-22-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi]octacos-19-en-11-ona

A una solución de (9Z,12R)-12-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi]octadec-9-enoato de metilo (2,00 g, 4,69 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 32 y undecanoato de metilo (2,82 g, 14,1 mmol) en xileno (20 ml), se le añadió durante 5 minutos una suspensión de hidruro sódico (0,879 g, 64%, 23,4 mmol) lavado con antelación con hexano en xileno (8 ml) y después la mezcla se hizo reaccionar a 150 °C durante 6,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite. A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (94 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (23 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 90 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con hexano. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener un líquido que contenía el compuesto de interés (3,41 g, que contenía impurezas).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,03 - 0,05 (6H, m), 0,85 - 0,91 (15H, m), 1,21 - 1,44 (36H, m), 1,50 - 1,60 (4H, m), 1,97 - 2,04 (2H, m), 2,18 (2H, t, J = 6,3 Hz), 2,38 (4H, t, J = 7,4 Hz), 3,61 - 3,68 (1H, m), 5,33 - 5,46 (2H, m).

(Ejemplo de referencia 39)

(19Z,22R)-22-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]octacos-19-en-11-ol

5 A una solución de la mezcla que contenía (19Z,22R)-22-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]octacos-19-en-11-ona (3,41 g) obtenida en el ejemplo de referencia 38 en metanol (24 ml) y tetrahidrofurano (24 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,30 g, 8,0 mmol) durante 2 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la materia volátil se eliminó a presión reducida. El residuo se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener un líquido que contenía el compuesto de interés (3,54 g, que contenía impurezas).

(Ejemplo de referencia 40)

3-(dimetilamino)propilcarbonato de (19Z,22R)-22-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]octacos-19-en-11-ilo

15 Una solución de la mezcla que contenía (19Z,22R)-22-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]octacos-19-en-11-ol (3,54 g) obtenida en el ejemplo de referencia 39 y piridina (4,00 g, 50,6 mmol) en tolueno (78,8 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y a la misma se añadió durante 2 minutos una solución de trifosgeno (1,62 g, 5,45 mmol) en tolueno (11,8 ml). Después de agitar a 0 °C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (8,81 g, 85,4 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener un líquido que contenía el compuesto de interés (2,58 g, que contenía impurezas).

20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,03 - 0,06 (6H, m), 0,85 - 0,91 (15H, m), 1,23 - 1,64 (40H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 1,97 - 2,04 (2H, m), 2,15 - 2,20 (2H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,61 - 3,68 (1H, m), 4,17 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,69 (1H, tt, J = 5,5, 7,0 Hz), 5,32 - 5,46 (2H, m).

(Ejemplo 27)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ilo (compuesto ejemplar 1-298)

30 A la mezcla que contenía 3-(dimetilamino)propilcarbonato de (19Z,22R)-22-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]octacos-19-en-11-ilo (2,58 g.) obtenida en el ejemplo de referencia 40, se le añadió una solución de fluoruro de tetra-n-butilamonio 1 N en tetrahidrofurano (23,2 ml, 23,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para terminar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,500 g).

35 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 6,7 Hz), 0,89 (3H, t, J = 6,7 Hz), 1,20 - 1,38 (28H, m), 1,40 - 1,62 (8H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 2,01 - 2,08 (2H, m), 2,18 - 2,23 (2H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,61 (1H, tt, J = 5,3, 5,9 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,69 (1H, tt, J = 5,5, 6,3 Hz), 5,36 - 5,45 (1H, m), 5,52 - 5,60 (1H, m).

EM (EN+) m/z 554 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 554,5146 (-0,2 mDa).

40 (Ejemplo 28)

Acetato de (7R,9Z)-18-([3-(dimetilamino)propiloxi]carbonil]oxi)octacos-9-en-7-ilo (compuesto ejemplar 1-212)

45 A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ilo (0,20 g, 0,36 mmol) obtenida en el ejemplo 27 y piridina (0,57 g, 7,2 mmol) en diclorometano (7,2 ml), se le añadió cloruro de acetilo (0,28 g, 3,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (42 mg, 2 0%).

50 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 6,7 Hz), 0,89 (3H, t, J = 6,7 Hz), 1,20 - 1,37 (32H, m), 1,48 - 1,61 (4H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 1,97 - 2,02 (2H, m), 2,03 (3H, s), 2,22 (6H, s), 2,28 (2H, dd, J = 6,3, 7,0 Hz), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,69 (1H, tt, J = 5,5, 6,3 Hz), 4,87 (1H, quint, J = 6,3 Hz), 5,32 (1H, dtt, J = 11,0, 1,6, 7,0 Hz), 5,47 (dtt, J = 11,0, 1,6, 7,0 Hz).

EM (EN+) m/z 596 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 596,5269 (1,5 mDa).

55 (Ejemplo de referencia 41)

1,15-bis[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]pentadecan-8-ona

A una solución de 8-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octanoato de metilo (intermedio del compuesto 6 descrito en *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, 13, 1037, 1,50 g, 4,48 mmol) en xileno (6,0 ml), se le añadió durante 2 minutos una suspensión de hidruro sódico (0,219 g, 64%, 5,83 mmol), lavado con anterioridad con hexano en xileno (0,7 ml) y después la mezcla se hizo reaccionar a 150 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con hexano. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un aceite. A este aceite, se le añadió tetrahidrofurano (22,4 ml) y una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (5,4 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a 90 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se trató con agua y se sometió a extracción con una solución mezclada de hexano y acetato de etilo. La capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,294 g, 23%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,17) (6H, m), 0,57 - 1,61 (60H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,4 Hz).

15 (Ejemplo de referencia 42)

1,15-bis[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]pentadecan-8-ol

A una solución de 1,15-bis[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]pentadecan-8-ona (0,29 g, 0,51 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 41 en metanol (1,5 ml) y tetrahidrofurano (1,5 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,019 g, 0,51 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 90 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,23 g, 78 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,16) (6H, m), 0,57 - 1,60 (64H, m), 3,54 - 3,63 (1H, m).

25 (Ejemplo 29)

3-dimetilaminopropilcarbonato de 1,15-bis[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]pentadecan-8-ilo (compuesto ejemplar 1-200)

Una solución de 1,15-bis[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]pentadecan-8-ol (0,13 g, 0,22 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 42 y piridina (0,11 g, 1,4 mmol) en tolueno (2,2 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma una solución de trifosgeno (0,046 g, 0,15 mmol) en tolueno (0,34 ml) durante 2 minutos. La solución resultante se agitó a 0 °C durante 20 minutos, después se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 40 minutos y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,24 g, 2,4 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (150 mg, 94 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,16) (6H, m), 0,56 - 1,66 (64H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,17 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,70 (1H, tt, J = 5,5, 7,0 Hz).

40 EM (EN+) m/z 710 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 710,6463 (1,2 mDa).

(Ejemplo de referencia 43)

8-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]-N-metoxi-N-metiloctanamida

A una solución de 8-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octanoato de metilo (compuesto 6 descrito en *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, 13, 1037, 3,00 g, 9,36 mmol) y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (1,83 g, 18,7 mmol) en diclorometano (65,5 ml), se le añadió 1-hidroxibenzoimidazol hidrato (2,87 g, 18,7 mmol), trietilamina (1,89 g, 18,7 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (3,59 g, 18,7 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para terminar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (3,08 g, 91 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,17) (3H, m), 0,57 - 1,56 (28H, m), 1,57 - 1,67 (2H, m), 2,41 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,18 (3H, s), 3,68 (3H, s).

55 (Ejemplo de referencia 44)

1-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octadecan-8-ona

Una solución de 8-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]-N-metoxi-N-metiloctanamida (2,00 g, 5,50 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 43, en tetrahidrofurano (24,5 ml) se enfrió a 15 °C en un baño de agua. Una solución de n-decilmagnesio de bromuro 1 N en tetrahidrofurano (8,25 ml, 8,25 mmol) se añadió gota a gota a la misma durante 15 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente.

5 Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (1,56 g, 64 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,17) (3H, m), 0,57 - 1,62 (49H, m), 2,38 (4H, t, J = 7,4 Hz).

10 (Ejemplo de referencia 45)

1-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octadecan-8-ol

A una solución de 1-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octadecan-8-ona (1,56 g, 3,51 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 44 en metanol (10,5 ml) y tetrahidrofurano (10,5 ml), se le añadió borohidruro sódico (0,133 g, 3,51 mmol) y después la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 90 minutos.

15 Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (1,50 g, 96 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,17) (3H, m), 0,57 - 1,56 (53H, m), 3,54 - 3,62 (1H, m).

20 **(Ejemplo 30)**

Carbonato de 3-dimetilaminopropil-1-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octadecan-8-ilo (compuesto ejemplar 1-188)

Una solución de 1-[2-({2-[(2-etilciclopropil)metil]ciclopropil}metil)ciclopropil]octadecan-8-ol (0,25 g, 0,56 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 45 y piridina (0,28 g, 3,5 mmol) en tolueno (5,6 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma una solución de trifosgeno (0,12 g, 0,39 mmol) en tolueno (0,84 ml) durante 2 minutos. La solución resultante se agitó a 0 °C durante 20 minutos, después se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 40 minutos y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,61 g, 5,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (155 mg, 48 %).

25 La solución resultante se agitó a 0 °C durante 20 minutos, después se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 40 minutos y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,61 g, 5,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (155 mg, 48 %).

30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,16) (3H, m), 0,57 - 1,65 (53H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,67 (1H, tt, J = 5,5, 7,0 Hz).

35 EM (EN+) m/z 576 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 576,5367 (1,1 mDa).

(Ejemplo 31) Preparación de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

Una solución lipídica que tiene una concentración de lípidos totales de 25 mM en etanol al 90 % con diestearoilfosfatidilcolina (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina: a partir de ahora en el presente documento, denominada como DSPC, NOF CORPORATION), colesterol (a partir de ahora en el presente documento, denominado como Chol, Sigma-Aldrich, Inc.), el compuesto descrito en el Ejemplo 1, 2, 3, u 8 (a partir de ahora en el presente documento, denominado como LP), y N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (a partir de ahora en el presente documento, denominada como PEG-C-DMA) se prepararon con una relación molar de DSPC:Chol:LP:PEG-C-DMA = 20:48:30:2.

45 Un polinucleótido CT-157:

HO-P(=O)(OH)-O-

U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (SEQ ID NO:2 del Listado de secuencias) (polinucleótido que contiene una secuencia complementaria de las posiciones de nucleótidos 3139-3157 del gen de la β-catenina humana (n.º de registro de GenBank NM_001904.3)) y

50 un polinucleótido CT-169:

HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1t}-H (SEQ ID NO:1 del Listado de secuencias) (que contiene una secuencia de las posiciones de nucleótido 3139-3156 del gen de la β-catenina humana (n.º de registro de GenBank NM_001904.3))

descrito en los Ejemplos 45 y 51 de la publicación internacional n.º WO 2010/001909 se sintetizaron con un sintetizador de ADN, se introdujeron en una cantidad de 300 pmol/tubo, y se secaron a presión reducida. 30 µl de un tampón de suspensión de ARNip (Qiagen N.V.) se añadieron a lo anterior, y la mezcla se calentó a 65 °C durante 1 minuto y después se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos para hibridación para obtener una solución de 10 µM del polinucleótido bicatenario. Después, la concentración de la solución se ajustó a 1 mg/ml con una solución de

55

tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) para obtener una solución de polinucleótido bicatenario. La solución lipídica y la solución de polinucleótido bicatenario se calentaron a 37 °C y se mezclaron (100 µl de cada). Posteriormente, 200 µl de una solución de tampón citrato, (tampón citrato 20 mM, NaCl 300 mM, pH 6,0) se añadió al anterior, y la mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos para obtener una dispersión de la partícula lipídica de ácido nucleico. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se dializó contra aproximadamente 100 ml de una solución de tampón fosfato (pH 7,4) durante de 12 a 18 horas (Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100 KD, Spectra/Por) para eliminación del etanol y eliminación de los polinucleótidos bicatenarios no encapsulados mediante neutralización para obtener una dispersión purificada de una partícula lipídica de ácido nucleico con ARNip encapsulado que contiene el compuesto descrito en el Ejemplo 1, 2, 3, u 8. Las muestras de control usadas fueron el compuesto descrito en el Ejemplo de referencia 2 y el compuesto 1 descritos en el documento WO2012/054365.

(Ejemplo 32) Caracterización de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

Se caracterizó la dispersión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31. A continuación se describirá cada procedimiento de caracterización.

(1) Tamaño de partícula promedio

El tamaño de partícula del liposoma se midió con un Potencial Zeta/Dimensionador de partículas NICOMP((TM)) 380ZLS (Particle Sizing Systems, LLC). En las tablas, el tamaño de partícula promedio se indica por un tamaño de partícula promedio en volumen, y el valor numérico seguido por ± representa una desviación.

(2) Tasa de encapsulación del polinucleótido bicatenario

La tasa de encapsulación del polinucleótido bicatenario se midió con el kit de ensayo Quant-iT RiboGreen RNA (Invitrogen Corp.) según el documento adjunto.

Específicamente, el polinucleótido bicatenario en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se cuantificó en presencia y ausencia de un detergente Triton X-100 al 0,015 %, y el índice de encapsulación se calculó de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\frac{[\text{Cantidad del polinucleótido bicatenario en presencia de detergente}] - [\text{Cantidad del polinucleótido bicatenario en ausencia del detergente}]}{[\text{Cantidad del polinucleótido bicatenario en presencia del detergente}]} \times 100 (\%)$$

(3) Relación entre el polinucleótido bicatenario y el lípido

La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se mezcló con acetonitrilo y cloroformo en una relación de 1:1:1 y se centrifugó a 15.000 rp, durante 2 minutos. Después, se recuperó la capa acuosa obtenida como una capa superior, seguido por la extracción del polinucleótido bicatenario. La cantidad del polinucleótido bicatenario en la muestra se midió mediante cromatografía de intercambio iónico (sistema: Agilent 1100 series, columna: TSKgel DEAE-2SW (2,6 x 150 mm) (Tosoh Corp), tampón A: 20 % de acetonitrilo, tampón B: 20 % de acetonitrilo y formiato de amonio 1,6 M, gradiente (%B): 30-55 % (0-20 min), caudal: 1 ml/min, temperatura: 40 °C, detección: 260 nm).

La cantidad de fosfolípido en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se midió con un Phospholipid C-Test Wako (Wako Pure Chemical Industries Ltd.) según el documento adjunto. Específicamente, el fosfolípido de la muestra se cuantificó en presencia de un detergente de Triton X-100 al 1 %.

Las cantidades de colesterol y de LP en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se midieron por cromatografía en fase inversa (sistema: Agilent 1100 series, columna: columna de HPLC Chromolith Performance RP-18 protegida en sus extremos 100-3 monolítica (Merck), tampón A: ácido trifluoroacético al 0,01 %, tampón B: ácido trifluoroacético al 0,01 % y metanol, gradiente (%B): 87-92 % (0-10 min), caudal: 2 ml/min, temperatura: 50 °C, detección: 205 nm).

La cantidad total de lípidos se calculó a partir de la cantidad de fosfolípido y la relación de composición de los componentes lipídicos que constituyen el liposoma, y la relación entre el polinucleótido y el lípido se calculó a partir de la cantidad anteriormente mencionada del polinucleótido y la cantidad total de lípidos de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\frac{[\text{Concentración de polinucleótido bicatenario}]}{[\text{Concentración de lípidos totales}]} \text{ (p/p)}$$

Los resultados se muestran en la Tabla 3.

(Tabla 3)

Nombre LP	Tasa de encapsulación del polinucleótido (%)	Relación entre el polinucleótido y el ARNip lipídico/lípido (p/p)	Tamaño promedio de partícula (nm)
Ejemplo de Referencia 2	89,0	0,104	139±50
Ejemplo 1	94,3	0,109	183±41
Ejemplo 2	96,3	0,099	215±70
Ejemplo 3	98,6	0,099	187±31

5 La cantidad total de lípidos se calculó a partir de la cantidad del fosfolípido, la cantidad de colesterol y la cantidad de LP, y la relación de composición de los componentes lipídicos que constituyen el liposoma, y la relación entre el polinucleótido y el lípido se calculó a partir de la cantidad anteriormente mencionada del polinucleótido y la cantidad total de lípidos de acuerdo con la siguiente expresión:

$$[\text{Concentración de polinucleótido bicatenario}] / [\text{Concentración de lípidos totales}] \text{ (p/p)}$$

Los resultados se muestran en la Tabla 4.

(Tabla 4)

Nombre LP	Tasa de encapsulación del polinucleótido (%)	Relación entre el polinucleótido y el ARNip lipídico/lípido (p/p)	Tamaño promedio de partícula (nm)
Compuesto 1	93,0	0,075	138±24
Ejemplo 8	96,4	0,072	157±46

10 Estos resultados mostraron que el polinucleótido bicatenario quedó encapsulado en la partícula lipídica, y que esta partícula lipídica de ácido nucleico tuvo un tamaño de partículas promedio de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 300 nm.

(Ejemplo de ensayo 1)

15 Como se describe a continuación, la intensidad de la actividad inhibitoria de la expresión del gen de la β -catenina humana se comparó entre partículas lipídicas de ácido nucleico, preparadas cada una de ellas usando un lípido novedoso.

(1) Transfección

20 La concentración de una línea de células de cáncer colorrectal humano SW480 (derivada de adenocarcinoma colorrectal humano) se ajustó a 50.000 células/ml en un medio RPMI1640 (fabricado por Invitrogen Corp.) que contenía suero de feto bovino al 10 % (medio de cultivo). Después, la solución de cultivo resultante se inoculó a 100 μ l/pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Corning Inc./Falcon) y se cultivó a 37 °C durante 1 día con CO₂ al 5,0 %. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31 se diluyó con un medio de cultivo para preparar una serie de dilución con concentraciones finales del polinucleótido bicatenario de 30, 3,0, 0,3, y 0,03 nM en el medio. Después, cada dilución se añadió a las células tras eliminar el sobrenadante del cultivo, y el cultivo se continuó adicionalmente durante 3 días. Esta operación se llevó a cabo a N = 3 para cada concentración.

(2) PCR en tiempo real

30 Un lisato y un ADNc para medición por PCR en tiempo real se prepararon a partir de las células transfectadas usando el kit TaqMan(R) Fast-Cells-to-Ct kit (Life Technologies, Inc./Ambion) de acuerdo con el manual de instrucciones. En la preparación del lisado, se usó solución de lisis suplementadas con DNasa I. Las sondas de la PCR en tiempo real usadas fueron los ensayos de expresión génica TaqMan(R) (CTNNB1, sonda FAM) (Hs00355045_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.) para el gen de la β -catenina humana y una sonda de un gen GAPDH humano como patrón interno (sonda VIC, Hs99999905_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.). 5 μ l de TaqMan(R) Fast Advanced Master Mix, 2 μ l de agua exenta de ARNasa, 0,5 μ l de cada sonda, y 2 μ l de la solución de ADNc preparada se añadieron a cada pocillo de una placa de PCR de 384 pocillos (fabricada por Applied Biosystems Inc.) para llevar la cantidad total hasta 10 μ l, que se cargó a continuación en un sistema PCR en tiempo real ViiA(TM) 7 (fabricado por Applied Biosystems, Inc.) y se sometió a la PCR en las condiciones que se indican a continuación. La PCR en tiempo real se llevó a cabo a N = 4 para el ADNc preparado a partir del lisato.

35 Activación inicial de la PCR: 95 °C durante 20 segundos

40 PCR: 95 °C durante 1 segundo

62 °C durante 20 segundos

Este ciclo de PCR se realizó repetidamente 40 veces.

(3) Análisis de la PCR en tiempo real

El análisis cuantitativo se llevó a cabo por el procedimiento $\Delta\Delta Ct$. Se determinó un valor ($\Delta\Delta Ct$) restando el ΔCt de una célula no tratada (= NC) a partir de la diferencia en el valor de Ct (ΔCt) entre la β -catenina humana y GAPDH humano de cada transfectante, y se calculó un valor relativo (RQ) respecto a NC de acuerdo con la siguiente expresión:

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Cuando RQ = 1 se definió como una tasa de inhibición del 0 % y RQ = 0 se definió como la tasa de inhibición teórica del 100 %, el valor de la CI_{50} de la partícula lipídica de ácido nucleico se calculó con GraphPad PRISM (GraphPad Software Inc.). Como resultado, como se muestra en la Tabla 5, la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto de Ejemplo 1, 2, o 3 mostró una fuerte actividad inhibidora de la expresión génica del gen de la β -catenina, en comparación con la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el lípido del Ejemplo de Referencia 2 usado como control. Estos resultados demostraron que los compuestos de los Ejemplos 1, 2 y 3 son lípidos novedosos útiles para preparar partículas lipídicas de ácido nucleico que muestran fuerte actividad.

(Tabla 5)

	Actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana CI_{50} (nM)
Ejemplo de Referencia 2	>30
Ejemplo 1	3,5
Ejemplo 2	6,8
Ejemplo 3	0,44

(Ejemplo de ensayo 2)

Como se describe a continuación, la intensidad de la actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana se comparó entre partículas lipídicas de ácido nucleico, preparadas cada una de ellas usando un lípido novedoso.

(1) Transfección

La concentración de una línea de células de cáncer hepático humano HepG2 (derivada de cáncer de hígado humano) se ajustó a 50000 células/ml en un medio DMEM (fabricado por Invitrogen Corp.) que contenía suero de feto bovino al 10 % (medio de cultivo). Después, la solución de cultivo resultante se inoculó a 100 μ l/pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Corning Inc./Falcon) y se cultivó a 37 °C durante 1 día con CO_2 al 5,0 %. La dispersión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31 se diluyó con un medio de cultivo para preparar una serie de dilución con concentraciones finales del polinucleótido bicatenario de 30, 3, 0,3, y 0,03 nM en el medio. Después, cada dilución se añadió a las células tras eliminar el sobrenadante del cultivo, y el cultivo se continuó adicionalmente durante 3 días. Esta operación se llevó a cabo a N = 3 para cada concentración.

(2) PCR en tiempo real

Un lisado y un ADNc para medición por PCR en tiempo real se prepararon a partir de las células transfectadas usando el kit TaqMan(R) Fast-Cells-to-Ct kit (Life Technologies, Inc./Ambion) de acuerdo con el manual de instrucciones. En la preparación del lisado, se usó solución de lisis suplementadas con DNasa I. Las sondas de la PCR en tiempo real usadas fueron los ensayos de expresión génica TaqMan(R) (CTNNB1, sonda FAM) (Hs00355045_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.) para el gen de la β -catenina humana y una sonda de un gen GAPDH humano como patrón interno (sonda VIC, Hs99999905_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.). 5 μ l de TaqMan(R) Fast Advanced Master Mix, 2 μ l de agua exenta de ARNasa, 0,5 μ l de cada sonda, y 2 μ l de la solución de ADNc preparada se añadieron a cada pocillo de una placa de PCR de 384 pocillos (fabricada por Applied Biosystems Inc.) para llevar la cantidad total hasta 10 μ l, que se cargó a continuación en un sistema PCR en tiempo real ViiA(TM) 7 (fabricado por Applied Biosystems, Inc.) y se sometió a la PCR en las condiciones que se indican a continuación. La PCR en tiempo real se llevó a cabo a N = 4 para el ADNc preparado a partir del lisado.

Activación inicial de la PCR: 95 °C durante 20 segundos

PCR: 95 °C durante 1 segundo

62 °C durante 20 segundos

Este ciclo de PCR se realizó repetidamente 40 veces.

(3) Análisis de la PCR en tiempo real

El análisis cuantitativo se llevó a cabo por el procedimiento $\Delta\Delta Ct$. Se determinó un valor ($\Delta\Delta Ct$) restando el ΔCt de

una célula no tratada (= NC) a partir de la diferencia en el valor de Ct (ΔCt) entre la β -catenina humana y GAPDH humano de cada transfectante, y se calculó un valor relativo (RQ) respecto a NC de acuerdo con la siguiente expresión:

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

- 5 Cuando RQ = 1 se definió como una tasa de inhibición del 0 % y RQ = 0 se definió como la tasa de inhibición teórica del 100 %, el valor de la CI_{50} de la partícula lipídica de ácido nucleico se calculó con GraphPad PRISM (GraphPad Software Inc.). Como resultado, como se muestra en la Tabla 6, la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto de Ejemplo 1, 2, o 3 mostró una fuerte actividad inhibidora de la expresión génica del gen de la β -catenina, en comparación con la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el lípido del Ejemplo de Referencia 2 usado como control. Estos resultados demostraron que los compuestos de los Ejemplos 1, 2 y 3 son lípidos novedosos útiles para preparar partículas lipídicas de ácido nucleico que muestran fuerte actividad.
- 10

(Tabla 6)

	Actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana CI_{50} (nM)
Ejemplo de Referencia 2	>30
Ejemplo 1	0,38

(continuación)

	Actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana CI50 (nM)
Ejemplo 2	0,47
Ejemplo 3	0,35

(Ejemplo de ensayo 3)

Como se describe a continuación, la intensidad de la actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana se comparó entre partículas lipídicas de ácido nucleico, preparadas cada una de ellas usando un lípido novedoso.

(1) Transfección

La concentración de una línea de células de cáncer colorrectal humano SW480 (derivada de adenocarcinoma colorrectal humano) se ajustó a 50000 células/ml en medio RPMI1640 (fabricado por Invitrogen Corp.) que contenía suero de feto bovino al 10 % (medio de cultivo). Después, la solución de cultivo resultante se inoculó a 100 μ l/pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Corning Inc./Falcon) y se cultivó a 37 °C durante 1 día con CO₂ al 5,0 %. La dispersión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31 se diluyó con un medio de cultivo para preparar una serie de dilución con concentraciones finales del polinucleótido bicatenario de 30, 3, 0,3, y 0,03 nM en el medio. Después, cada dilución se añadió a las células tras eliminar el sobrenadante del cultivo, y el cultivo se continuó adicionalmente durante 4 horas. Esta operación se llevó a cabo a N = 3 para cada concentración.

(2) PCR en tiempo real

Un lisato y un ADNc para medición por PCR en tiempo real se prepararon a partir de las células transfectadas usando el kit TaqMan(R) Fast-Cells-to-Ct kit (Life Technologies, Inc./Ambion) de acuerdo con el manual de instrucciones. En la preparación del lisado, se usó solución de lisis suplementadas con DNasa I. Las sondas de la PCR en tiempo real usadas fueron los ensayos de expresión génica TaqMan(R) (CTNNB1, sonda FAM) (Hs00355045_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.) para el gen de la β -catenina humana y una sonda de un gen GAPDH humano como patrón interno (sonda VIC, Hs99999905_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.). 5 μ l de TaqMan(R) Fast Advanced Master Mix, 2 μ l de agua exenta de ARNasa, 0,5 μ l de cada sonda, y 2 μ l de la solución de ADNc preparada se añadieron a cada pocillo de una placa de PCR de 384 pocillos (fabricada por Applied Biosystems Inc.) para llevar la cantidad total hasta 10 μ l, que se cargó a continuación en un sistema PCR en tiempo real ViiA(TM) 7 (fabricado por Applied Biosystems, Inc.) y se sometió a la PCR en las condiciones que se indican a continuación. La PCR en tiempo real se llevó a cabo a N = 4 para el ADNc preparado a partir del lisato.

Activación inicial de la PCR: 95 °C durante 20 segundos

PCR: 95 °C durante 1 segundo

62 °C durante 20 segundos

Este ciclo de PCR se realizó repetidamente 40 veces.

(3) Análisis de la PCR en tiempo real

El análisis cuantitativo se llevó a cabo por el procedimiento $\Delta\Delta Ct$. Se determinó un valor ($\Delta\Delta Ct$) restando el ΔCt de una célula no tratada (= NC) a partir de la diferencia en el valor de Ct (ΔCt) entre la β -catenina humana y GAPDH humano de cada transfectante, y se calculó un valor relativo (RQ) respecto a NC de acuerdo con la siguiente expresión:

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Cuando RQ = 1 se definió como una tasa de inhibición del 0 % y RQ = 0 se definió como la tasa de inhibición teórica del 100 %, el valor de la CI₅₀ de la partícula lipídica de ácido nucleico se calculó con GraphPad PRISM (GraphPad Software Inc.). Como resultado, como se muestra en la Tabla 7, la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto de Ejemplo 8 mostró una fuerte actividad inhibidora de la expresión génica del gen de la β -catenina, en comparación con la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto lípido 1 usado como control. Estos resultados demuestran que el compuesto del Ejemplo 8 es un lípido novedoso útil para preparar partículas lipídicas de ácido nucleico que presentan actividad intensa.

(Tabla 7)

	Actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana CI50 (nM)
Compuesto 1	>30
Ejemplo 8	8,3

(Ejemplo de ensayo 4)

Como se describe a continuación, la intensidad de la actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana se comparó entre partículas lipídicas de ácido nucleico, preparadas cada una de ellas usando un lípido novedoso.

5 (1) Transfección

La concentración de una línea de células de cáncer de cuello de útero humano Hela (derivada de cáncer de cuello de útero humano) se ajustó a 50000 células/ml en un medio DMEM (fabricado por Invitrogen Corp.) que contenía suero de feto bovino al 10 % (medio de cultivo). Después, la solución de cultivo resultante se inoculó a 100 μ l/pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Corning Inc./Falcon) y se cultivó a 37 °C durante 1 día con CO₂ al 5,0 %. La dispersión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31 se diluyó con un medio de cultivo para preparar una serie de dilución con concentraciones finales del polinucleótido bicatenario de 30, 3, 0,3, y 0,03 nM en el medio. Después, cada dilución se añadió a las células tras eliminar el sobrenadante del cultivo, y el cultivo se continuó adicionalmente durante 4 horas. Esta operación se llevó a cabo a N = 3 para cada concentración.

15 (2) PCR en tiempo real

Un lisato y un ADNc para medición por PCR en tiempo real se prepararon a partir de las células transfectadas usando el kit TaqMan(R) Fast-Cells-to-Ct kit (Life Technologies, Inc./Ambion) de acuerdo con el manual de instrucciones. En la preparación del lisado, se usó solución de lisis suplementadas con DNasa I. Las sondas de la PCR en tiempo real usadas fueron los ensayos de expresión génica TaqMan(R) (CTNNB1, sonda FAM) (Hs00355045_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.) para el gen de la β -catenina humana y una sonda de un gen GAPDH humano como patrón interno (sonda VIC, Hs99999905_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.). 5 μ l de TaqMan(R) Fast Advanced Master Mix, 2 μ l de agua exenta de ARNasa, 0,5 μ l de cada sonda, y 2 μ l de la solución de ADNc preparada se añadieron a cada pocillo de una placa de PCR de 384 pocillos (fabricada por Applied Biosystems Inc.) para llevar la cantidad total hasta 10 μ l, que se cargó a continuación en un sistema PCR en tiempo real ViiA(TM) 7 (fabricado por Applied Biosystems, Inc.) y se sometió a la PCR en las condiciones que se indican a continuación. La PCR en tiempo real se llevó a cabo a N = 4 para el ADNc preparado a partir del lisato.
Activación inicial de la PCR: 95 °C durante 20 segundos
PCR: 95 °C durante 1 segundo
62 °C durante 20 segundos

30 Este ciclo de PCR se realizó repetidamente 40 veces.

(3) Análisis de la PCR en tiempo real

El análisis cuantitativo se llevó a cabo por el procedimiento $\Delta\Delta Ct$. Se determinó un valor ($\Delta\Delta Ct$) restando el ΔCt de una célula no tratada (= NC) a partir de la diferencia en el valor de Ct (ΔCt) entre la β -catenina humana y GAPDH humano de cada transfectante, y se calculó un valor relativo (RQ) respecto a NC de acuerdo con la siguiente expresión:

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

40 Cuando RQ = 1 se definió como una tasa de inhibición del 0 % y RQ = 0 se definió como la tasa de inhibición teórica del 100 %, el valor de la CI₅₀ de la partícula lipídica de ácido nucleico se calculó con GraphPad PRISM (GraphPad Software Inc.). Como resultado, como se muestra en la Tabla 8, la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto de Ejemplo 8 mostró una fuerte actividad inhibidora de la expresión génica del gen de la β -catenina, en comparación con la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto lípido 1 usado como control. Estos resultados demuestran que el compuesto del Ejemplo 8 es un lípido novedoso útil para preparar partículas lipídicas de ácido nucleico que presentan actividad intensa.

(Tabla 8)

	Actividad inhibidora de la expresión del gen de la β -catenina humana CI ₅₀ (nM)
Compuesto 1	20
Ejemplo 8	2,2

45 (Ejemplo de ensayo 5) Medición de la actividad inhibidora del crecimiento celular del compuesto del Ejemplo contra células Hep3B (célula de cáncer de hígado, humano)

El medio usado es MEM (fabricado por Invitrogen Corp.) (que contenía suero de feto bovino al 10 % (fabricado por HyClone Laboratories, Inc.), piruvato de sodio 1 mM (fabricado por Invitrogen Corp.), y 1 x aminoácidos no esenciales (fabricado por Invitrogen Corp.)). Las células de una línea de células de cáncer de hígado Hep3B que tenían una densidad dada se introdujeron (150 μ l/pocillo) en una placa de 96 pocillos y posteriormente se cultivaron

a 37 °C durante 24 horas con CO₂ al 5 %. La dispersión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31 se añadió después a concentraciones finales de 0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 1, y 3 µM a cada pocillo, y las células se cultivaron posteriormente durante 72 horas (3 días). Tras cultivar durante 72 horas (3 días), se midió la actividad inhibitoria del crecimiento celular del compuesto de cada Ejemplo se midió en un ensayo MTT. Específicamente, 20 µl de una solución MTT (5 mg/ml en suero salino tamponado con fosfato (PBS)) se añadieron adicionalmente a cada pocillo, y las células se cultivaron a 37 °C durante 4 horas con CO₂ al 5 %. Tras eliminar el sobrenadante del cultivo, se añadió adicionalmente DMSO (150 µl) a cada pocillo, seguido por agitación durante 5 minutos. La absorbancia (540 nm) de la placa se leyó con un lector de placas (SpectraMax Plus³⁸⁴, fabricado por Molecular Devices Corporation). Se determinó la relación relativa entre el número de células vivas en el grupo de administración del compuesto y el número de células vivas en un grupo sin tratar. Después, se calculó la concentración CI₅₀ para la cual se inhibió el 50 % del crecimiento de las células.

(Ejemplo de ensayo 6) Ensayo antitumoral *in vivo* del compuesto del Ejemplo

Tras aclimatación y la sensibilización de cada ratón atímico durante 1 semana, 1 x 10⁷ células Hep3B cultivadas se trasplantaron de forma subcutánea en la región lateral del ratón atímico. Aproximadamente 2 semanas después del trasplante del tumor, los ratones se agruparon usando como índice el volumen tumoral, y se administró por vía intravenosa la dispersión que contenía la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 31 (administrada a una dosis tal como 1 o 3 mg/kg) dos o tres veces a la semana en la cola de cada ratón. Se administró PBS a un grupo del control. El tamaño del tumor se midió, y se observaron los cambios en el volumen tumoral.

En el caso de verificar una inactivación génica *in vivo*, un día después de la administración, se recogió una masa tumoral del ratón que tenía el cáncer, y se extrajo el ácido nucleico utilizando el reactivo de lisis QIAzol (fabricado por Qiagen N.V.) y cloroformo. Después, se purificó el ARN total utilizando el mini kit RNeasy (fabricado por Qiagen N.V.) de acuerdo con el protocolo adjunto. Este se usó para cuantificar el ARNm de la molécula diana mediante PCR Taqman.

(Ejemplo 33) Preparación de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

Una solución lipídica que tiene una concentración total de lípidos de 26,8 mM en etanol con diestearoilfosfatidilcolina (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina: a partir de ahora en el presente documento, denominada como DSPC, NOF CORPORATION), colesterol (a partir de ahora en el presente documento, denominado como Chol, Sigma-Aldrich, Inc.), el compuesto descrito en el Ejemplo 8 (a partir de ahora en el presente documento, denominado como LP), y N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (a partir de ahora en el presente documento, denominada como PEG-C-DMA) se prepararon con una relación molar descrita en la Tabla 9.

La concentración de un polinucleótido bicatenario descrito en Nature Biotechnology (2008) 26, 561-569 (siFVII: ARNip contra el Factor VII de ratón) se ajustó a 1 mg/ml con una solución de tampón citrato (tampón citrato 10 mM, pH 4,0) que contenía etanol al 30 % para obtener una solución de polinucleótido bicatenario.

La solución lipídica, la solución de polinucleótido bicatenario, y una solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) se calentaron a 37 °C. La solución lipídica se añadió gota a gota a la solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) y se mezcló con esta de tal manera que la solución volumétrica entre la solución lipídica y la solución de tampón citrato fue de 3:7 para obtener una dispersión de liposomas en bruto. Posteriormente, la dispersión de liposomas en bruto se añadió gota a gota a la solución del polinucleótido bicatenario y se mezcló con esta de tal manera que la relación (N/P) de los átomos de nitrógeno (N) derivados de LP a los átomos de fósforo (P) derivados del polinucleótido bicatenario fue de 3. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos para obtener una dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se dializó contra aproximadamente 100 ml de una solución de tampón fosfato (pH 7,4) durante de 12 a 18 horas (Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100 KD, Spectra/Por) para la eliminación del etanol y la eliminación de los polinucleótidos bicatenarios no encapsulados neutralización para obtener una dispersión purificada de una partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el polinucleótido bicatenario y el lípido descrito en la Tabla 9.

(Tabla 9)

	DSPC	Chol	LP	PEG-C-DMA
Partícula 1	10	68	20	2
Partícula 2	10	58	30	2
Partícula 3	10	48	40	2
Partícula 4	10	43	45	2
Partícula 5	10	38	50	2
Partícula 6	10	33	55	2
Partícula 7	10	28	60	2

Partícula 8	10	18	70	2
Partícula 9	55	33	10	2
(continuación)				
	DSPC	Chol	LP	PEG-C-DMA
Partícula 10	45	33	20	2
Partícula 11	35	33	30	2
Partícula 12	25	33	40	2
Partícula 13	20	33	45	2
Partícula 14	15	33	50	2
Partícula 15	10	33	55	2
Partícula 16	5	33	60	2
Partícula 17	0	33	65	2
Partícula 18	10	49,5	40	0,5
Partícula 19	10	49	40	1
Partícula 20	10	48,5	40	1,5
Partícula 21	10	48	40	2
Partícula 22	10	47,5	40	2,5
Partícula 23	10	47	40	3
Partícula 24	10	46,5	40	3,5
Partícula 25	10	46	40	4
Partícula 26	10	45	40	5
Partícula 27	10	40	40	10

(Ejemplo 34) Caracterización de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

5 Se caracterizó la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 33. La caracterización se llevó a cabo mediante los procedimientos descritos en el Ejemplo 32, y el índice de encapsulación del polinucleótido en la partícula lipídica de ácido nucleico descrita en el Ejemplo 33, la relación en peso del polinucleótido al lípido, y el tamaño de partícula promedio se muestran en las Tablas 10, 11, y 12.

(Tabla 10)

	Composición lipídica*	Índice de encapsulación (%)	ARNip/lípido (p/p)**	Tamaño de partícula (nm)
Partícula 1	10/68/20/2	96	0,044	133±23
Partícula 2	10/58/30/2	98	0,061	153±46
Partícula 3	10/48/40/2	98	0,083	127±20
Partícula 4	10/43/45/2	98	0,084	143±41
Partícula 5	10/38/50/2	98	0,094	133±27
Partícula 6	10/33/55/2	94	0,115	137±10
Partícula 7	10/28/60/2	81	0,117	184±39
Partícula 8	10/18/70/2	50	0,127	162±31

*Composición lipídica: DSPC/Chol/IP/PEG-C-DMA (relación molar)

**ARNip/lípido (p/p): relación en peso de polinucleótido a lípido

(Tabla 11)

	Composición lipídica*	Índice de encapsulación (%)	ARNip/lípido (p/p)**	Tamaño de partícula (nm)
Partícula 9	55/33/10/2	93	0,014	193±42
Partícula 10	45/33/20/2	93	0,022	206±77
Partícula 11	35/33/30/2	90	0,055	203±73
Partícula 12	25/33/40/2	93	0,084	177±59
Partícula 13	20/33/45/2	92	0,093	109±22

Partícula 14	15/33/50/2	92	0,073	111±20
Partícula 15	10/33/55/2	95	0,111	119±13
(continuación)				
	Composición lipídica*	Índice de encapsulación (%)	ARNip/lípido (p/p)**	Tamaño de partícula (nm)
Partícula 16	5/33/60/2	95	0,136	135±15
Partícula 17	0/33/65/2	91	0,160	124±25

*Composición lipídica: DSPC/Chol/IP/PEG-C-DMA (relación molar)
 **ARNip/lípido (p/p): relación en peso de polinucleótido a lípido

(Tabla 12)

	Composición lipídica*	Índice de encapsulación (%)	ARNip/lípido (p/p)**	Tamaño de partícula (nm)
Partícula 18	10/49,5/40/0,5	97	0,096	349±222
Partícula 19	10/49/40/1	96	0,091	206±54
Partícula 20	10/48,5/40/1,5	97	0,098	140±54
Partícula 21	10/48/40/2	98	0,091	109±36
Partícula 22	10/47,5/40/2,5	99	0,090	140±19
Partícula 23	10/47/40/3	98	0,089	152±27
Partícula 24	10/46,5/40/3,5	98	0,084	131±52
Partícula 25	10/46/40/4	98	0,086	156±66
Partícula 26	10/45/40/5	94	0,083	79±27
Partícula 27	10/40/40/10	91	0,055	83±47

*Composición lipídica: DSPC/Chol/IP/PEG-C-DMA (relación molar)
 **ARNip/lípido (p/p): relación en peso de polinucleótido a lípido

Estos resultados mostraron que el polinucleótido bicatenario quedó encapsulado en la partícula lipídica, y que esta partícula lipídica de ácido nucleico tuvo un tamaño de partículas promedio de aproximadamente 80 nm a aproximadamente 300 nm.

(Ejemplo de ensayo 7) medición de la proteína del Factor VII (FVII)

Se midió la proteína del Factor VII de acuerdo con el procedimiento descrito en Nature Biotechnology (2010) 28, 172-176. Ratones C57BL6/J (machos, 9 semanas de edad) se agruparon aleatoriamente (n = 4). La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 33 se inyectó por vía intravenosa a una dosis de 0,3 mg/kg en la cola de cada ratón. Un día después de la administración, se recogieron aproximadamente 50 µl de sangre de la vena de la cola, y se obtuvo plasma. Se midió la cantidad de proteína del Factor VII en el plasma obtenido utilizando el kit de ensayo Biophen FVII (fabricado por Aniera Corp.) de acuerdo con el protocolo adjunto.

Cuando la cantidad de FVII de las respectivas muestras de plasma recogidas en cantidades iguales de individuos en un grupo de administración PBS se definió como 100 %, la relación relativa (%) de la cantidad de FVII en una muestra de plasma de cada individuo se usó como el valor de medición (A). Se determinó un valor promedio (B) a partir de los valores de medición respectivos de los individuos en el grupo de administración PBS. La relación relativa del valor de medición (A) de cada individuo se determinó a partir de la expresión: $A / B \times 100$ (%). El valor promedio de las relaciones relativas en el grupo de administración de cada partícula lipídica de ácido nucleico se muestra en las Tablas 13, 14, y 15. Como resultado, como se muestra en las Tablas 13, 14 y 15, las partículas 1 a 8, las partículas 12 a 17, las partículas 20 a 24, la partícula 26, y la partícula 27 como las partículas lipídicas de ácido nucleico preparadas en el Ejemplo 33 presentaron una intensa actividad inhibidora de FVII. Estos resultados demostraron que una partícula lipídica de ácido nucleico que tiene la composición lipídica que se encuentra en las partículas 1 a 8, las partículas 12 a 17, las partículas 20 a 24, la partícula 26, y la partícula 27 son útiles como partícula lipídica de ácido nucleico capaz de inhibir la expresión génica.

(Tabla 13)

	Cantidad relativa de FVII (%)
PBS	100
Partícula 1	36
Partícula 2	<10
Partícula 3	<10

Partícula 4	20
-------------	----

(continuación)

Cantidad relativa de FVII (%)	
-------------------------------	--

Partícula 5	<10
-------------	-----

Partícula 6	<10
-------------	-----

Partícula 7	<10
-------------	-----

Partícula 8	<10
-------------	-----

(Tabla 14)

Cantidad relativa de FVII (%)	
-------------------------------	--

PBS	100
-----	-----

Partícula 10	Sin actividad
--------------	---------------

Partícula 11	Sin actividad
--------------	---------------

Partícula 12	79
--------------	----

Partícula 13	22
--------------	----

Partícula 14	<10
--------------	-----

Partícula 15	26
--------------	----

Partícula 16	<10
--------------	-----

Partícula 17	<10
--------------	-----

(Tabla 15)

Cantidad relativa de FVII (%)	
-------------------------------	--

PBS	100
-----	-----

Partícula 18	Sin actividad
--------------	---------------

Partícula 19	Sin actividad
--------------	---------------

Partícula 20	<10
--------------	-----

Partícula 21	<10
--------------	-----

Partícula 22	<10
--------------	-----

Partícula 23	<10
--------------	-----

Partícula 24	27
--------------	----

Partícula 26	28
--------------	----

Partícula 27	49
--------------	----

5 (Ejemplo de referencia 46)

Carbonato de 3-bromopropil(9Z,12Z)-octacososa-19,22-dien-11-ilo

Una solución de (19Z,22Z)-octacososa-19,22-dien-11-ol (0,55 g, 1,4 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 17 y piridina (0,67 g, 8,5 mmol) en tolueno (14 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma una solución de trifosgeno (0,28 g, 0,93 mmol) en tolueno (2,0 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se le añadió 3-bromo-1-propanol (2,0 g, 14 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo-hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,32 g, 41 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,21 - 1,40 (32H, m), 1,52 - 1,61 (4H, m), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,23 (2H, quint, J = 6,3 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,49 (2H, t, J = 6,3 Hz), 4,27 (2H, t, J = 6,3 Hz), 4,66 - 4,73 (1H, m), 5,29 - 5,44 (4H, m).

20 (Ejemplo 35)

Carbonato de 3-(azetidín-1-il)propil(9Z,12Z)-octacososa-19,22-dien-11-ilo (compuesto ejemplar 1-76)

A una solución de carbonato de 3-bromopropil(9Z,12Z)-octacososa-19,22-dien-11-ilo (0,16 g, 0,28 mmol) obtenida en

el ejemplo de referencia 46 en tetrahidrofurano (8,0 ml), se le añadió azetidina (0,40 g, 7,0 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a 120 °C durante 50 minutos en condiciones de irradiación de microondas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo-hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para

- 5 obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (119 mg, 77 %).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,21 - 1,40 (32H, m), 1,47 - 1,61 (4H, m), 1,71 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 - 2,10 (m, 6H), 2,46 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,16 (4H, t, J = 6,6 Hz), 4,15 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,71 (1H, m), 5,28 - 5,42 (4H, m).
 10 EM (EN+) m/z 548 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 548,5044 (0,1 mDa).

(Ejemplo 36)

Carbonato de (1-metilpiperidin-3-il)metil(6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ilo (compuesto ejemplar 2-102)

- 15 Una solución de (6Z,9Z,26Z,29Z)-pentatriaconta-6,9,26,29-tetraen-18-ol (0,22 g, 0,44 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 4 y piridina (0,22 g, 2,8 mmol) en tolueno (4,4 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,090 g, 0,30 mmol) en tolueno (0,66 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió (1-metil-3-piperidil)metanol (0,60 g, 4,6 mmol) a la misma y la mezcla se hizo reaccionar
- 20 durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo-hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (201 mg, 70 %).
- 25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, m), 0,92 - 1,04 (1H, m), 1,21 - 1,40 (36H, m), 1,48 - 1,78 (8H, m), 1,85 - 1,94 (1H, m), 1,96 - 2,10 (9H, m), 2,26 (3H, s), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 2,72 - 2,90 (2H, m), 3,94 (1H, dd, J = 7,4, 10,6 Hz), 4,05 (1H, dd, J = 5,5, 10,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 5,28 - 5,42 (8H, m).
 EM (EN+) m/z 656 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 656,5981 (-0,1 mDa).

30 (Ejemplo 37)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22R)-22-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octacos-19-en-11-ilo (compuesto ejemplar 1-334)

- A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ilo (0,21 g, 0,38 mmol) obtenida en el ejemplo 27 y ácido p-toluenosulfónico monohidrato (0,079 g, 0,42 mmol) en diclorometano (3,8 ml), se le añadió 3,4-dihidro-2H-pirano (0,16 g, 1,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3
- 35 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (210 mg, 87 %).
- 40 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,85 (48H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,7, 7,4 Hz), 1,98 - 2,06 (2H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,44 - 3,52 (1H, m), 3,57 - 3,72 (1H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,64 - 4,75 (2H, m), 5,32 - 5,50 (2H, m).
 EM (EN+) m/z 638 [M+H]⁺
 HRMS (EN+) m/z 638,5723 (1,6 mDa).

45 (Ejemplo de referencia 47)

(19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ona

- A la (19Z,22R)-22-[[*terc*-butil(dimetil)silil]oxi]ocacos-19-en-11-ona (2,0 g, 3,7 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 38, se le añadió una solución 1 M de fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 5 horas. Después de tratar con agua para terminar la reacción, la
- 50 mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener un líquido que contenía el compuesto de interés (0,66 g). El producto se usó directamente en la siguiente reacción sin purificación adicional.

(Ejemplo de referencia 48)

Acetato de (7R,9Z)-18-hidroxiocacos-9-en-7-ilo

- 55 A una solución de la mezcla que contenía (19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ona (0,33 g) obtenida en el ejemplo de referencia 47 y piridina (1,1 g, 14 mmol) en diclorometano (7,1 ml), se le añadió cloruro de acetilo (0,56 g, 7,1

mmol) gota a gota durante 1 minuto y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de tratar con agua para terminar la reacción, se llevó a cabo la extracción y la materia volátil se eliminó a presión reducida para obtener una mezcla líquida. Esta mezcla se disolvió en tetrahidrofurano (2,1 ml) y metanol (2,1 ml). A la solución, se le añadió borohidruro sódico (0,054 g, 1,4 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener un líquido que contenía el compuesto de interés (0,33 g). El producto se usó directamente en la siguiente reacción sin purificación adicional.

(Ejemplo 38)

10 Acetato de (7R,9Z)-18-(((1-metilpiperidin-3-il)metoxi]carbonil)oxi)octacos-9-en-7-ilo (compuesto ejemplar 2-132)

Una solución de la mezcla que contenía acetato de (7R,9Z)-18-hidroxiocacos-9-en-7-ilo (0,33 g) obtenida en el ejemplo de referencia 48 y piridina (0,35 g, 4,5 mmol) en tolueno (7,1 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma una solución de trifosgeno (0,14 g, 0,49 mmol) en tolueno (1,1 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 10 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 30 minutos y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se le añadió (1-metil-3-piperidil)metanol (0,96 g, 7,4 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 90 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (110 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,86 - 0,91 (6H, m), 0,93 - 1,05 (1H, m), 1,17 - 1,38 (36H, m), 1,48 - 1,78 (8H, m), 1,85 - 1,94 (1H, m), 1,96 - 2,07 (6H, m), 2,24 - 2,34 (5H, m), 2,74 (1H, d, J = 10,5 Hz), 2,86 (1H, d, J = 10,5 Hz), 3,95 (1H, ddd, J = 2,7, 7,4, 10,2 Hz), 4,06 (1H, ddd, J = 2,7, 5,9, 10,2 Hz), 4,64 - 4,71 (1H, m), 4,87 (1H, quint, J = 6,3 Hz), 5,27 - 5,37 (1H, m), 5,43 - 5,51 (1H, m).

EM (EN+) m/z 622 [M+H]⁺

25 HRMS (EN+) m/z 622,5438 (2,8 mDa).

(Ejemplo de referencia 49)

Caproato de (7R,9Z)-18-hidroxiocacos-9-en-7-ilo

A una solución de la mezcla que contenía (19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ona (0,30 g) obtenida en el ejemplo de referencia 47 y piridina (1,1 g, 14 mmol) en diclorometano (7,1 ml), se le añadió anhídrido caproico (0,76 g, 3,5 mmol) gota a gota durante 1 minuto, después se añadió 4-(dimetilamino)piridina (0,01 g) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 90 minutos. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, se llevó a cabo la extracción y la materia volátil se eliminó a presión reducida para obtener una mezcla líquida. Esta mezcla se disolvió en tetrahidrofurano (2,1 ml) y metanol (2,1 ml). A la solución se le añadió borohidruro sódico (0,054 g, 1,4 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener un líquido que contenía el compuesto de interés (0,17 g). El producto se usó directamente en la siguiente reacción sin purificación adicional.

(Ejemplo 39)

40 Caproato de (7R,9Z)-18-(((3-(dimetilamino)propiloxi]carbonil)oxi)octacos-9-en-7-ilo (compuesto ejemplar 1-255)

Una solución de la mezcla que contenía caproato de (7R,9Z)-18-hidroxiocacos-9-en-7-ilo (0,17 g) obtenida en el ejemplo de referencia 49 y piridina (0,16 g, 2,0 mmol) en tolueno (3,3 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,067 g, 0,22 mmol) en tolueno (0,49 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 45 minutos y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,35 g, 3,4 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (150 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,84 - 0,92 (9H, m), 1,20 - 1,38 (40H, m), 1,48 - 1,66 (8H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,97 - 2,04 (2H, m), 2,22 (6H, s), 2,27 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 4,88 (1H, quint, J = 6,3 Hz), 5,27 - 5,37 (1H, m), 5,42 - 5,51 (1H, m).

EM (EN+) m/z 652 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 652,5892 (1,2 mDa).

(Ejemplo 40)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22R)-22-(tetrahidrofurano-2-iloxi)ocacos-19-en-11-ilo (compuesto ejemplar 1-377)

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil(19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ilo (0,055 g, 0,099 mmol) obtenida en el ejemplo 27 y ácido p-toluenosulfónico hidrato (0,026 g, 0,14 mmol) en diclorometano (1,3 ml), se le añadió 2,3-dihidrofurano (0,044 g, 0,63 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (33 mg, 53 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,82 - 0,88 (6H, m), 1,20 - 1,62 (48H, m), 1,74 - 2,05 (8H, m), 2,21 (6H, s), 2,33 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,51 - 4,05 (3H, m), 4,15 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,62 - 4,70 (1H, m), 5,28 - 5,46 (3H, m).

EM (EN+) m/z 624 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 624,5574 (0,7 mDa).

(Ejemplo 41)

Dipropionato de (7R,9Z,26Z,29R)-18-(((3-(dimetilamino)propoxi]carbonil]oxi)pentatriaconta-9,26-dieno-7,29-diilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil(7R,9Z,26Z,29R)-7,29-dihidroxipentatriaconta-9,26-dien-18-ilo (0,35 g, 0,53 mmol) obtenida en el ejemplo 22 y piridina (0,83 g, 10,5 mmol) en diclorometano (5,3 ml), se le añadió cloruro de ácido propiónico (0,49 g, 5,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (260 mg, 64 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,84 - 0,91 (6H, m), 1,13 (6H, t, J = 7,4 Hz), 1,22 - 1,39 (36H, m), 1,48 - 1,61 (8H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 (4H, dd, J = 6,6, 7,0 Hz), 2,22 (6H, s), 2,30 (4H, c, J = 7,4 Hz), 2,28 - 2,33 (4H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 4,88 (2H, tt, J = 5,9, 6,6 Hz), 5,33 (2H, ttd, J = 1,2, 7,0, 10,9 Hz), 5,46 (2H, ttd, J = 1,2, 7,0, 10,9 Hz).

EM (EN+) m/z 778 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 778,6555 (-0,6 mDa).

(Ejemplo de referencia 50)

(9Z,12R)-octadec-9-eno-1,12-diol

A una solución de hidruro de litio y aluminio (3,87 g, 102 mmol) en tetrahidrofurano (235 ml), se le añadió (9Z,12R)-12-hidroxiocadec-9-enoato de metilo (31,1 g, 78,4 mmol, compuesto conocido en las referencias (J. Org. Chem., 2001, 66, 22, 7487-7495)) gota a gota durante 50 minutos y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Después de tratar con agua (4 ml), se le añadió acetato de etilo y los componentes sólidos se eliminaron por filtración. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (17,9 g, 62 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 6,6 Hz), 1,21 - 1,87 (22H, m), 1,98 - (2H, m), 2,20 - 2,40 (2H, m), 3,44 - 3,52 (1H, m), 3,58 - 3,71 (3H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,64 - 4,74 (1H, m), 5,33 - 5,49 (2H, m).

(Ejemplo de referencia 51)

Metanosulfonato de (9Z,12R)-12-hidroxiocadec-9-en-1-ilo

Una solución de (9Z,12R)-octadec-9-eno-1,12-diol (17,9 g, 48,6 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 50 y trietilamina (5,90 g, 58,3 mmol) en diclorometano (122 ml) se enfrió a 0 °C. Se le añadió cloruro de metanosulfonilo (6,68 g, 58,3 mmol) gota a gota durante 5 minutos y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un líquido de color amarillo que contenía el compuesto de interés.

(Ejemplo de referencia 52)

(7R,9Z)-18-bromoocadec-9-en-7-ol

A una solución del líquido que contenía metanosulfonato de (9Z,12R)-12-hidroxiocadec-9-en-1-ilo (21,6 g, 48,4 mmol, cantidad teórica) obtenida en el ejemplo de referencia 51 en éter dietílico (145 ml), se le añadió un complejo de bromuro de magnesio y éter dietílico (31,2 g, 121 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua enfriada con hielo, la mezcla de reacción se sometió a extracción con éter dietílico y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se disolvió en etanol (100 ml). A la solución, se le añadió una solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (80 ml) y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La material volátil se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se sometió a extracción con acetato de etilo y

la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (14,1 g, 84 %).

(Ejemplo de referencia 53)

5 2-[[{(7R,9Z)-18-bromooctadec-9-en-7-il]oxi]tetrahidro-2H-pirano

A una solución de (7R,9Z)-18-bromooctadec-9-en-7-ol (14,1 g, 40,6 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 52 y ácido p-toluenosulfónico hidrato (0,154 g, 0,81 mmol) en diclorometano (81,2 ml), se le añadió 3,4-dihidro-2H-pirano (6,83 g, 81,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (15,1, 86%).

(Ejemplo de referencia 54)

(7R,9Z,28Z,31R)-7,31-Bis(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)heptatriaconta-9,28-dien-19-ol

15 Se sumergió magnesio seco (virutas, 0,42 g, 17,4 mmol) en tetrahidrofurano (3,0 ml). Se le añadió 1,2-dibromoetano (3 gotas) y la mezcla se agitó vigorosamente. Después de que la solución se volviera negro-grisácea, se le añadió una solución de 2-[[{(7R,9Z)-18-bromooctadec-9-en-7-il]oxi]tetrahidro-2H-pirano (5,00 g, 11,6 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 53, en tetrahidrofurano (8,5 ml) durante 1 hora y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. A esta solución, se le añadió formiato de etilo (0,47 g, 5,79 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua para terminar la reacción, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se disolvió en etanol (25 ml). A la solución, se le añadió una solución acuosa 5 N de hidróxido sódico (5 ml) se añadió y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con agua y después se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (2,10 g, 50 %).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,23 - 1,62 (52H, m), 1,66 - 1,89 (4H, m), 1,98 - (4H, m), 2,20 - 2,41 (4H, m), 3,45 - 3,52 (2H, m), 3,54 - 3,71 (3H, m), 3,87 - 3,98 (2H, m), 4,64 - 4,75 (2H, m), 5,33 - 5,50 (4H, m).

30 (Ejemplo de referencia 55)

3-(dimetilamino)propilo de (7R,9Z,28Z,31R)-7,31-Bis(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)heptatriaconta-9,28-dien-19-ilo

Una solución de (7R,9Z,28Z,31R)-7,31-bis(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)heptatriaconta-9,28-dien-19-ol (1,00 g, 1,36 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 54 y piridina (0,68 g, 8,6 mmol) en tolueno (13,6 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,279 g, 0,94 mmol) en tolueno (2,05 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1,5 horas y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (1,48 g, 14,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (1,00 g, 85 %).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,85 (56H, m), 1,79 - 1,88 (2H, m), 1,98 - 2,06 (4H, m), 2,20 - 2,38 (12H, m), 3,44 - 3,52 (2H, m), 3,58 - 3,71 (2H, m), 3,87 - 3,97 (2H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,7 Hz), 4,64 - 4,74 (3H, m), 5,32 - 5,49 (4H, m).

45 (Ejemplo de referencia 56)

3-(dimetilamino)propilcarbonato de (7R,9Z,28Z,31R)-7,31-dihidroxihéptatriaconta-9,28-dien-19-ilo

A una solución de 3-(dimetilamino)propilo de (7R,9Z,28Z,31R)-7,31-bis(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)heptatriaconta-9,28-dien-19-ilo (1,00 g, 1,16 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 55 en etanol (11,6 ml), se le añadió solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (5,79 ml, 11,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,68 g, 84 %).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,61 (48H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,18 - 2,24 (10H, m), 2,34 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,61 (2H, quint, J = 5,9 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 5,36 - 5,44 (2H, m), 5,52 - 5,61 (2H, m).

(Ejemplo 42)

Acetato de (7R,9Z,28Z,31R)-19-([3-(dimetilamino)propoxi]carbonil)oxi)heptatriaconta-9,28-dieno-7,31-diilo

A una solución de 3-(dimetilamino)propilcarbonato de (7R,9Z,28Z,31R)-7,31-dihidroxiheptatriaconta-9,28-dien-19-ilo (0,68 g, 0,98 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 56 y piridina (2,3 g, 29 mmol) en diclorometano (9,8 ml), se le añadió cloruro de acetilo (1,2 g, 15 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (523 mg, 69 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,20 - 1,38 (40H, m), 1,48 - 1,61 (8H, m), 1,85 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,98 - 2,08 (10H, m), 2,22 (6H, s), 2,29 (4H, dt, J = 6,3, 6,6 Hz), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 4,87 (2H, quint, J = 6,3 Hz), 5,36 (1H, ttd, J = 1,2, 6,6, 10,9 Hz), 5,47 (1H, ttd, J = 1,2, 6,6, 10,9 Hz).

EM (EN+) m/z 778 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 778,6557 (-0,4 mDa).

(Ejemplo de referencia 57)

(21Z,24R)-24-([*tert*-butil(dimetil)silil]oxi)triacont-21-en-13-ona

A una solución de (9Z,12R)-12-([*tert*-butil(dimetil)silil]oxi)-N-metoxi-N-metilooctadec-9-enamida (0,80 g, 1,8 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 32 en éter dietílico (8,8 ml), se le añadió gota a gota una solución de n-dodecil bromuro de magnesio 1 N en éter dietílico (2,6 ml, 2,6 mmol) durante 1 minuto y después la mezcla se hizo reaccionar a durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,55 g, 55 %).

(Ejemplo de referencia 58)

(21Z,24R)-24-hidroxitriacont-21-en-13-ona

A la (21Z,24R)-24-([*tert*-butil(dimetil)silil]oxi)triacont-21-en-13-ona (0,55 g, 0,97 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 57, se le añadió una solución de fluoruro de tetra-n-butilamonio 1 N en tetrahidrofurano (4,9 ml, 4,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con agua, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,23 g, 52 %).

(Ejemplo de referencia 59)

Acetato de (7R,9Z)-18-oxotriacont-9-en-7-ilo

A una solución de (21Z,24R)-24-hidroxitriacont-21-en-13-ona (0,23 g, 0,51 mmol) obtenida en el ejemplo de referencia 58 y piridina (0,81 g, 10 mmol) en diclorometano (5,1 ml), se le añadió cloruro de acetilo (0,40 g, 5,1 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,21 g, 84 %).

(Ejemplo de referencia 60)

Acetato de (7R,9Z)-18-hidroxitriacont-9-en-7-ilo

A una solución de acetato de (7R,9Z)-18-oxotriacont-9-en-7-ilo (0,21 g, 0,43 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 59, en tetrahidrofurano (1,3 ml) y metanol (1,3 ml), se le añadió borohidruro sódico (32 mg, 0,85 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un líquido de color amarillo que contenía el compuesto de interés.

(Ejemplo 43)

Acetato de (7R,9Z)-18-([3-(dimetilamino)propoxi]carbonil)oxi)triacont-9-en-7-ilo

Una solución del líquido que contenía acetato de (7R,9Z)-18-hidroxitriacont-9-en-7-ilo (0,21 g, 0,42 mmol, cantidad teórica) obtenida en el ejemplo de referencia 60 y piridina (0,21 g, 2,7 mmol) en tolueno (4,2 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,087 g, 0,29 mmol) en tolueno (0,64 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1,5 horas y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,46 g, 4,5 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (111 mg, 42 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,23 - 1,35 (36H, m), 1,48 - 1,66 (6H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,97 - 2,05 (2H, m), 2,03 (3H, s), 2,22 (3H, s), 2,25 - 2,32 (2H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 4,86 (1H, quint, J = 6,3 Hz), 5,28 - 5,51 (2H, m).

EM (EN+) m/z 624 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 624,5566 (-0,1 mDa).

(Ejemplo de referencia 61)

Butirato de (7R,9Z)-18-oxotriacont-9-en-7-ilo

A una solución de (19Z,22R)-22-hidroxiocacos-19-en-11-ona (0,34 g, 0,80 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 39 y piridina (1,3 g, 16 mmol) en diclorometano (8,0 ml), se le añadió cloruro de ácido butírico (0,86 g, 8,0 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,40 g, 100 %).

(Ejemplo de referencia 62)

Butirato de (7R,9Z)-18-hidroxiocacos-9-en-7-ilo

A una solución de butirato de (7R,9Z)-18-oxotriacont-9-en-7-ilo (0,40 g, 0,81 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 61, en tetrahidrofurano (2,4 ml) y metanol (2,4 ml), se le añadió borohidruro sódico (61 mg, 1,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un líquido de color amarillo que contenía el compuesto de interés.

(Ejemplo 44)

Butirato de (7R,9Z)-18-({[3-(dimetilamino)propoxi]carbonil}oxi)ocacos-9-en-7-ilo

Una solución del líquido que contenía butirato de (7R,9Z)-18-hidroxiocacos-9-en-7-ilo (0,40 g, 0,81 mmol, cantidad teórica), obtenido en el ejemplo de referencia 62 y piridina (0,40 g, 5,1 mmol) en tolueno (8,1 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,17 g, 0,56 mmol) en tolueno (1,2 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1,5 horas y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,88 g, 8,5 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (99 mg, 20 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,90 (6H, m), 0,94 (3H, t, J = 7,4 Hz), 1,21 - 1,39 (32H, m), 1,47 - 1,62 (6H, m), 1,65 (2H, sext, J = 7,4 Hz), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 (2H, c, J = 6,6 Hz), 2,22 (6H, s), 2,23 - 2,39 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,72 (1H, m), 4,89 (2H, quint, J = 6,3 Hz), 5,28 - 5,50 (2H, m).

EM (EN+) m/z 624 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 624,5599 (3,2 mDa).

(Ejemplo de referencia 63)

Triacontan-11-ol

A una solución de icosanal (0,64 g, 2,2 mmol) en éter dietílico (11 ml), se le añadió gota a gota una solución de bromuro de n-decil magnesio 1 N en éter dietílico (3,2 ml, 3,2 mmol) durante 2 minutos y después la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se

sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,37 g, 39 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0), 1,20 - 1,33 (50H, m), 1,36 - 1,48 (4H, m), 3,54 - 3,62 (1H, a).

(Ejemplo 45)

5 Carbonato de 3-(dimetilamino)propil triacontan-11-ilo

A una solución de triacontan-11-ol (0,18 g, 0,41 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 63 y piridina (0,20 g, 2,6 mmol) en tolueno (4,1 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,084 g, 0,28 mmol) en tolueno (0,62 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,44 g, 4,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de

10 tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (185 mg, 79 %).

15 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,84 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,16 - 1,32 (50H, m), 1,44 - 1,60 (4H, m), 1,82 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,19 (6H, s), 2,32 (2H, t, J = 7,4 Hz), 4,14 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,61 - 4,68 (1H, m).

EM (EN+) m/z 568 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 568,5663 (-0,6 mDa).

(Ejemplo 46)

Carbonato de (1-metilpiperidin-3-il)metil triacontan-11-ilo

20 A una solución de triacontan-11-ol (0,18 g, 0,41 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 63 y piridina (0,20 g, 2,6 mmol) en tolueno (4,1 ml), se le añadió una solución de trifosgeno (0,084 g, 0,28 mmol) en tolueno (0,62 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió a la misma 1-metil-3-piperidinametanol (0,56 g, 4,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de

25 extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (145 mg, 60 %).

30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,20 - 1,36 (50H, m), 1,48 - 1,77 (8H, m), 1,85 - 1,94 (1H, m), 1,95 - 2,07 (1H, m), 2,26 (3H, s), 2,75 (1H, d, J = 10,9 Hz), 2,86 (1H, d, J = 10,9 Hz), 3,94 (1H, dd, J = 7,4, 10,9 Hz), 4,06 (1H, dd, J = 5,9, 10,9 Hz), 4,64 - 4,71 (1H, m).

EM (EN+) m/z 594 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 594,5827 (0,2 mDa).

(Ejemplo de referencia 64)

(6Z,9Z)-18-[2-(eteniloxi)etoxi]octadeca-6,9-dieno

35 A una solución de alcohol de linoleilo (3,90 g, 14,6 mmol), tosilvinil etilenglicol (4,76 g, 16,1 mmol) y sulfato de tetrabutilamonio (1,24 g, 3,66 mmol) en tolueno (23,4 ml), se le añadió una solución acuosa al 50% de hidróxido sódico (11,5 ml) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió a la misma tosilvinil etilenglicol (2,00 g, 6,76 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 5 días y

40 noches. La mezcla de reacción se diluyó con agua y después se sometió a extracción con éter dietílico y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (2,44, 50%).

45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,25 - 1,40 (16H, m), 1,54 - 1,63 (2H, m), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,48 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,64 - 3,68 (2H, m), 3,81 - 3,85 (2H, m), 4,01 (1H, dd, J = 2,0, 7,0 Hz), 4,19 (1H, dd, J = 2,0, 14,1 Hz), 6,52 (1H, dd, J = 7,0, 14,1 Hz).

(Ejemplo de referencia 65)

2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-ilo]etanol

50 A una solución de (6Z,9Z)-18-[2-(eteniloxi)etoxi]octadeca-6,9-dieno (5,70 g, 17 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 64, en etanol (34 ml) y tetrahidrofurano (34 ml), se le añadió una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico (17 ml, 17 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua y después se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (2,00 g, 38 %).

55 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,23 - 1,40 (16H, m), 1,51 - 1,63 (2H, m), 1,95 (1H, t, J = 6,3 Hz), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,53 (2H, t, J = 4,3 Hz), 3,73 (2H, dt, J = 6,3, 4,3 Hz), 5,29 - 5,43

(4H, m).

(Ejemplo de referencia 66)

[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]acetaldehído

5 A una solución de 2-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]etanol (1,00 g, 3,2 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 65 y trietilamina (1,63 g, 16,1 mmol) en dimetilsulfóxido (6,4 ml), se le añadió un complejo de trióxido de azufre-piridina (1,54 g, 9,7 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua y después se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,57 g, 57%).

10 RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 1,11 (3H, t, J = 6,8 Hz), 1,25 - 1,41 (16H, m), 1,59 - 1,67 (2H, m), 2,02 - 2,08 (4H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,53 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,06 (2H, s), 5,30 - 5,42 (4H, m), 9,74 - 9,75 (1H, m).

(Ejemplo de referencia 67)

(11Z,14Z)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosa-11,14-dien-2-ol

15 A una solución de [(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]acetaldehído (1,27 g, 4,1 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 66, en éter dietílico (12,4 ml), se le añadió bromuro de linoleil magnesio 0,5 N (14 ml, 7,0 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas y posteriormente a 60 °C durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,48 g, 21 %).

20 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,23 - 1,46 (34H, m), 1,52 - 1,61 (4H, m), 2,01 - 2,08 (8H, m), 2,31 (1H, d, J = 3,1 Hz), 2,77 (4H, t, J = 6,6 Hz), 3,23 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,39 - 3,51 (3H, m), 3,72 - 3,81 (1H, m), 5,29 - 5,43 (8H, m).

25 (Ejemplo 47)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil(11Z,14Z)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosa-11,14-dien-2-ilo

Una solución de (11Z,14Z)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosa-11,14-dien-2-ol (0,27 g, 0,48 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 67 y piridina (0,24 g, 3,0 mmol) en tolueno (4,8 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma una solución de trifosgeno (0,099 g, 0,33 mmol) en tolueno (0,72 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1,5 horas y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,52 g, 5,1 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (330 mg, 24 %).

30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 - 0,94 (6H, m), 1,24 - 1,43 (34H, m), 1,52 - 1,67 (4H, m), 1,86 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,96 - 2,11 (8H, m), 2,24 (6H, s), 2,38 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,79 (4H, t, J = 6,6 Hz), 3,38 - 3,54 (4H, m), 4,21 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,82 - 4,89 (1H, m), 5,31 - 5,45 (8H, m).

35 EM (EN+) m/z 688 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 688,6269 (2,5 mDa).

40

(Ejemplo de referencia 68)

10-{2-[(2-pentilciclopropil)metil]ciclopropil}-1-[(8-{2-[(2-pentilciclopropil)metil]ciclopropil}octil)oxi]decan-2-ol

45 A una solución de una solución de dietilcinc 1,1 N en hexano (7,3 ml, 7,7 mmol) en diclorometano (12 ml) enfriada a 0 °C, se le añadió cloroyodometano (1,7 g, 9,6 mmol) durante 10 minutos, después se añadió una solución de (11Z,14Z)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosa-11,14-dien-2-ol (0,27 g, 0,48 mmol), obtenida en el ejemplo de referencia 67 y cloroyodometano (1,0 g, 5,7 mmol) en diclorometano (7,0 ml) durante 40 minutos y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con diclorometano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,29 g, 98 %).

50 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,32) - (-0,24) (4H, m), 0,57 - 0,84 (12H, m), 0,85 - 0,92 (6H, m), 0,97 - 1,62 (50H, m), 2,31 (1H, d, J = 3,1 Hz), 3,23 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,39 - 3,52 (3H, m), 3,73 - 3,80 (1H, m).

55 (Ejemplo 48)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil 10-{2-[(2-pentilciclopropil)metil]ciclopropil}-1-[(8-{2-[(2-pentilciclopropil)metil]ciclopropil}octil)oxi]decan-2-ilo

Una solución de 10-{2-[(2-pentilciclopropil)metil]ciclopropil}-1-[(8-{2-[(2-pentilciclopropil)metil]ciclopropil}octil)oxi]decan-2-ol (0,17 g, 0,28 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 68 y piridina (0,14 g, 1,7 mmol) en tolueno (2,8 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se añadió a la misma solución de trifosgeno (0,056 g, 0,19 mmol) en tolueno (0,42 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 1 hora, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,30 g, 2,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (135 mg, 66 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: (-0,34) - (-0,23) (4H, m), 0,57 - 0,84 (12H, m), 0,86 - 0,92 (6H, m), 0,97 - 1,66 (50H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,35 - 3,53 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,80 - 4,87 (1H, m).
EM (EN+) m/z 744 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 744,6876 (0,6 mDa).

(Ejemplo de referencia 69)

1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosan-2-ol

A una solución de [(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]acetaldehído (0,22 g, 0,71 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 66 en tetrahidrofurano (2,9 ml), se le añadió cloruro de octadecil magnesio 0,5 N (3,0 ml, 1,5 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,13 g, 31 %).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,20 - 1,62 (52H, m), 2,01 - 2,08 (4H, m), 2,31 (1H, d, J = 3,1 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,23 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,39 - 3,55 (3H, m), 3,73 - 3,80 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).

(Ejemplo 49)

30 Carbonato de 3-(dimetilaminopropil)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosan-2-ilo

Una solución de 1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icosan-2-ol (0,13 g, 0,22 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 69 y piridina (0,11 g, 1,4 mmol) en tolueno (2,2 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,045 g, 0,15 mmol) en tolueno (0,33 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 40 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,24 g, 2,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (86 mg, 56 %).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,41 (48H, m), 1,50 - 1,66 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,35 - 3,53 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,80 - 4,86 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).
EM (EN+) m/z 692 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 692,6588 (3,1 mDa).

(Ejemplo de referencia 70)

(11Z,14Z)-1-(octadeciloxi)icosan-11,14-dien-2-ol

A una solución de octadecan-1-iloxiacetaldehído (0,25 g, 0,80 mmol) en tetrahidrofurano (2,4 ml), se le añadió bromuro de linoleil magnesio 0,5 N (2,4 ml, 1,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,17 g, 38 %).
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 - 0,94 (6H, m), 1,22 - 1,70 (52H, m), 2,04 - 2,11 (4H, m), 2,35 (1H, d, J = 3,1 Hz), 2,80 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,26 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,42 - 3,58 (3H, m), 3,75 - 3,83 (1H, m), 5,32 - 5,45 (4H, m).

(Ejemplo 50)

Carbamato de 3-(dimetilaminopropil)(11Z,14Z)-1-(octadeciloxi)icos-11,14-dien-2-ilo

Una solución de (11Z,14Z)-1-(octadeciloxi)icos-11,14-dien-2-ol (0,17 g, 0,30 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 70 y piridina (0,15 g, 1,9 mmol) en tolueno (3,0 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,062 g, 0,21 mmol) en tolueno (0,45 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,33 g, 3,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (53 mg, 25 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,21 - 1,40 (48H, m), 1,50 - 1,65 (4H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,01 - 2,09 (4H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,35 - 3,53 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,80 - 4,87 (1H, m), 5,29 - 5,42 (4H, m).

EM (EN+) m/z 692 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 692,6578 (2,1 mDa).

(Ejemplo de referencia 71)

(11Z,14R)-1-(octadeciloxi)-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ol

Se sumergió magnesio seco (virutas, 0,48 g, 19,8 mmol) en tetrahydrofurano (4,0 ml). Se le añadió 1,2-dibromoetano (3 gotas) y la mezcla se agitó vigorosamente. Después de que la solución se volviera negro-grisácea, se le añadió una solución de 2-[[[(7R,9Z)-18-bromooctadec-9-en-7-il]oxi]tetrahydro-2H-pirano (5,70 g, 13,2 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 53, en tetrahydrofurano (18,5 ml) durante 40 minutos y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas.

Se añadió una alícuota de 7,5 ml de la solución de reactivo de Grignard obtenida a una solución de octadecan-1-iloxiacetaldehído (0,78 g, 2,5 mmol) en tetrahydrofurano (7,5 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,61 g, 37 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,89 (6H, t, J = 7,0 Hz), 1,20 - 2,40 (64H, m), 3,23 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,39 - 3,56 (5H, m), 3,58 - 3,70 (1H, m), 3,73 - 3,81 (1H, m), 3,87 - 3,98 (1H, m), 4,64 - 4,74 (1H, m), 5,34 - 5,50 (2H, m).

(Ejemplo de referencia 72)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-1-(octadeciloxi)-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ilo

Una solución de (11Z,14R)-1-(octadeciloxi)-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ol (0,61 g, 0,92 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 71 y piridina (0,46 g, 5,8 mmol) en tolueno (9,2 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,19 g, 0,63 mmol) en tolueno (1,4 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,99 g, 9,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,41 g, 56 %).

(Ejemplo de referencia 73)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-14-hidroxi-1-(octadeciloxi)icos-11-en-2-ilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-1-(octadeciloxi)-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ilo (0,41 g, 0,52 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 72, en etanol (5,2 ml), se le añadió una solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (2,6 ml, 5,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,34 g, 92 %).

(Ejemplo 51)

Acetato de (7R,9Z)-19-([3-(dimetilamino)propoxi]carbonil)oxi)-20-(octadeciloxi)icos-9-en-7-ilo

- 5 A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-14-hidroxi-1-(octadeciloxi)icos-11-en-2-ilo (0,11 g, 0,16 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 73 y piridina (0,25 g, 3,1 mmol) en diclorometano (1,6 ml), se le añadió cloruro de ácido acético (0,12 g, 1,6 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (75 mg, 64 %).
- 10 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,21 - 1,37 (50H, m), 1,50 - 1,66 (6H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,97 - 2,06 (5H, m), 2,22 (6H, s), 2,25 - 2,31 (2H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,35 - 3,51 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,79 - 4,91 (2H, m), 5,28 - 5,36 (1H, m), 5,43 - 5,51 (1H, m).
- EM (EN+) m/z 752 [M+H]⁺
HRMS (EN+) m/z 752,6775 (3,4 mDa).

(Ejemplo de referencia 74)

(11Z,14R)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ol

- 15 Se sumergió magnesio seco (virutas, 0,24 g, 9,7 mmol) en tetrahydrofurano (3,0 ml). Se le añadió 1,2-dibromoetano (4 gotas) y la mezcla se agitó vigorosamente. Después de que la solución se volviera negro-grisácea, se le añadió una solución de 2-[[7R,9Z]-18-bromooctadec-9-en-7-il]oxi]tetrahydro-2H-pirano (2,8 g, 6,5 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 53, en tetrahydrofurano (18,5 ml) durante 40 minutos y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente.
- 20 A la solución del reactivo de Grignard obtenido, se le añadió [(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxil]acetaldehído (2,0 g, 6,5 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 66 y la mezcla se hizo reaccionar a 60 °C durante 2 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,27 g, 6 %).
- 25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,22 - 2,40 (54H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,23 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,39 - 3,56 (5H, m), 3,58 - 3,72 (1H, m), 3,72 - 3,81 (1H, m), 3,86 - 3,98 (1H, m), 4,64 - 4,74 (1H, m), 5,28 - 5,49 (6H, m).

(Ejemplo de referencia 75)

- 30 Carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ilo
- Una solución de (11Z,14R)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ol (0,27 g, 0,41 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 74 y piridina (0,20 g, 2,6 mmol) en tolueno (4,1 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,084 g, 0,28 mmol) en tolueno (0,61 ml) durante 2 minutos. Después de agitar a 0 °C durante 15 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,44 g, 4,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,16 g, 48 %).
- 35 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,23 - 1,88 (50H, m), 1,98 - 2,09 (8H, m), 2,22 (6H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,35 - 3,52 (5H, m), 3,59 - 3,71 (1H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,63 - 4,73 (1H, m), 4,80 - 4,87 (1H, m), 5,29 - 5,49 (6H, m).

- 45 (Ejemplo de referencia 76)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-14-hidroxi-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icos-11-en-2-ilo

- 50 A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]-14-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)icos-11-en-2-ilo (0,16 g, 0,20 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 75, en etanol (0,98 ml), se le añadió una solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (0,49 ml, 0,98 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,08 g, 60 %).

- 55 **(Ejemplo 52)**

Acetato de (7R,9Z)-19-([3-(dimetilamino)propoxi]carbonil)oxi)-20-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]icos-9-en-7-ilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14R)-14-hidroxi-1-[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-iloxi]licos-11-en-2-ilo (0,08 g, 0,11 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 76 y piridina (0,37 g, 4,5 mmol) en diclorometano (2,3 ml), se le añadió cloruro de acetilo (0,18 g, 2,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (53 mg, 63 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,23 - 1,40 (36H, m), 1,50 - 1,64 (6H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,97 - 2,09 (9H, m), 2,22 (6H, s), 2,25 - 2,32 (2H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,35 - 3,52 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,80 - 4,91 (2H, m), 5,28 - 5,51 (6H, m).

EM (EN+) m/z 748 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 748,6489 (3,4 mDa).

(Ejemplo de referencia 77)

2-[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]etanol

A una suspensión de hidruro sódico (64%, 2,97 g, 79,2 mmol) en N,N-dimetilformamida, se le añadió etilenglicol (5,25 g, 84,5 mmol) y la mezcla se agitó a 80 °C durante 45 minutos. Se añadió a la misma metanosulfonato de (9Z,12R)-12-hidroxi octadec-9-en-1-ilo (11,8 g, 26,4 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 51 y la mezcla se hizo reaccionar a 80 °C durante 2 horas. Después de tratar con agua, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (8,36 g, 77 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,23 - 1,62 (26H, m), 1,66 - 1,75 (1H, m), 1,78 - 1,87 (1H, m), 1,97 - 2,07 (3H, m), 2,23 (1H, t, J = 6,3 Hz), 2,26 - 2,41 (1H, m), 3,47 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,53 (2H, dd, J = 3,1, 5,1 Hz), 3,58 - 3,72 (1H, m), 3,87 - 3,98 (1H, m), 4,64 - 4,74 (1H, m), 5,33 - 5,49 (2H, m).

(Ejemplo de referencia 78)

[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]acetaldehído

A una solución de 2-[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]etanol (5,36 g, 13,0 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 77 y trietilamina (6,57 g, 65,0 mmol) en dimetilsulfóxido (26,0 ml), se le añadió un complejo de trióxido de azufre-piridina (5,17 g, 32,5 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 2,5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua y después se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (3,96 g, 74 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,23 - 1,67 (26H, m), 1,66 - 1,75 (1H, m), 1,78 - 1,86 (1H, m), 1,98 - 2,07 (3H, m), 2,20 - 2,41 (2H, m), 3,44 - 3,54 (3H, m), 3,55 - 3,71 (1H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,06 (2H, s), 4,64 - 4,74 (1H, m), 5,32 - 5,49 (2H, m), 9,75 (1H, s).

(Ejemplo de referencia 79)

1-[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosan-2-ol

A una solución de [(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]acetaldehído (0,40 g, 0,97 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 78, en tetrahidrofurano (2,9 ml), se le añadió cloruro de octadecil magnesio 0,5 N (2,4 ml, 1,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,24 g, 37 %).

(Ejemplo de referencia 80)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil 1-[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosan-2-ilo

Una solución de 1-[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosan-2-ol (0,24 g, 0,36 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 79 y piridina (0,18 g, 2,3 mmol) en tolueno (3,6 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,074 g, 0,25 mmol) en tolueno (0,54 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 10 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,39 g, 3,8 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y

después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,24 g, 84 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,88 (3H, t, J = 7,0 Hz), 1,21 - 1,75 (60H, m), 1,81 - 2,40 (8H, m), 2,22 (6H, s), 3,35 - 3,53 (5H, m), 3,58 - 3,72 (1H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,73 (1H, m), 4,80 - 4,87 (1H, m), 5,32 - 5,49 (2H, m).

(Ejemplo de referencia 81)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil 1-[[[(9Z,12R)-12-hidroxiocetadec-9-en-1-il]oxi]icosan-2-ilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil 1-[[[(9Z,12R)-12-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosan-2-ilo (0,24 g, 0,30 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 80, en etanol (3,0 ml), se le añadió una solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (1,5 ml, 3,0 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,16 g, 76 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,21 - 1,65 (54H, m), 1,84 (2H, dd, J = 6,6, 7,4 Hz), 2,05 (2H, c, J = 6,6 Hz), 2,18 - 2,24 (2H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,35 - 3,52 (4H, m), 3,37 - 3,65 (1H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,83 (1H, quint, J = 5,9 Hz), 5,35 - 5,44 (1H, m), 5,52 - 5,61 (1H, m).

(Ejemplo 53)

Acetato de (20,23R)-2-metil-9-octadecil-7-oxo-6,8,11-trioxa-2-azanonacos-20-en-23-ilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil 1-[[[(9Z,12R)-12-hidroxiocetadec-9-en-1-il]oxi]icosan-2-ilo (0,16 g, 0,23 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 81 y piridina (0,36 g, 4,6 mmol) en diclorometano (2,3 ml), se le añadió cloruro de acetilo (0,18 g, 2,3 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (121 mg, 70 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,22 - 1,38 (50H, m), 1,49 - 1,65 (6H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,97 - 2,06 (5H, m), 2,22 (6H, s), 2,25 - 2,32 (2H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 3,35 - 3,53 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,79 - 4,91 (2H, m), 5,28 - 5,36 (1H, m), 5,43 - 5,51 (1H, m).

EM (EN+) m/z 752 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 752,6802 (3,4 mDa).

(Ejemplo de referencia 82)

(11Z,14Z)-1-[[[(9Z,12R)-12-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosa-11,14-dien-2-ol

A una solución de [[[(9Z,12R)-12-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]acetaldehído (0,40 g, 0,97 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 78, en tetrahydrofurano (2,9 ml), se añadió bromuro de linoleil magnesio 0,5 N (2,9 ml, 1,5 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio, la mezcla de reacción se sometió a extracción con acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido amarillo (0,37 g, 57 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,23 - 1,87 (48H, m), 1,98 - 2,40 (9H, m), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,23 (1H, dd, J = 8,2, 9,4 Hz), 3,39 - 3,52 (4H, m), 3,58 - 3,71 (1H, m), 3,73 - 3,80 (1H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,64 - 4,74 (1H, m), 5,29 - 5,49 (6H, m).

(Ejemplo de referencia 83)

Carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14Z)-1-[[[(9Z,12R)-12-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosa-11,14-dien-2-ilo

Una solución de (11Z,14Z)-1-[[[(9Z,12R)-12-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosa-11,14-dien-2-ol (0,37 g, 0,56 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 82 y piridina (0,28 g, 3,5 mmol) en tolueno (5,6 ml) se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se le añadió una solución de trifosgeno (0,11 g, 0,39 mmol) en tolueno (0,84 ml) durante 1 minuto. Después de agitar a 0 °C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y se enfrió de nuevo a 0 °C. Se añadió a la misma 3-dimetilamino-1-propanol (0,61 g, 5,9 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,33 g, 75 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,23 - 1,75 (48H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,98 - 2,40 (8H, m), 2,22 (6H, s), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,3 Hz), 3,35 - 3,53 (5H, m), 3,58 - 3,71 (1H, m), 3,87 - 3,97 (1H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,64 - 4,74 (1H, m), 4,80 - 4,87 (1H, m), 5,29 - 5,48 (6H, m).

(Ejemplo de referencia 84)

5 Carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14Z)-1-[[[(9Z,12R)-12-hidroxiocetadec-9-en-1-il]oxi]icosa-11,14-dien-2-ilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14Z)-1-[[[(9Z,12R)-12-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)octadec-9-en-1-il]oxi]icosa-11,14-dien-2-ilo (0,33 g, 0,42 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 83, en etanol (4,2 ml), se le añadió una solución acuosa 2 N de ácido clorhídrico (2,1 ml, 4,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y acetato de etilo y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,29 g, 98 %).

(Ejemplo 54)

15 Acetato de (20,23R)-2-metil-9-[[[(9Z,12Z)-octadeca-9,12-dien-1-il]-7-oxo-6,8,11-trioxa-2-azanonacos-20-en-23-ilo

A una solución de carbonato de 3-(dimetilamino)propil (11Z,14Z)-1-[[[(9Z,12R)-12-hidroxiocetadec-9-en-1-il]oxi]icosa-11,14-dien-2-ilo (0,51 g, 0,72 mmol), obtenido en el ejemplo de referencia 84 y piridina (1,1 g, 14 mmol) en diclorometano (7,2 ml), se le añadió cloruro de acetilo (0,57 g, 7,2 mmol) y la mezcla se hizo reaccionar durante una noche a temperatura ambiente. Después de tratar con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, la mezcla de reacción se sometió a extracción con hexano y la capa orgánica obtenida se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y después el residuo se sometió a cromatografía en columna sobre gel de sílice para obtener el compuesto de interés en forma de un líquido incoloro (0,42 g, 78 %).

25 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 0,85 - 0,92 (6H, m), 1,23 - 1,40 (36H, m), 1,49 - 1,65 (6H, m), 1,84 (2H, tt, J = 6,6, 7,4 Hz), 1,98 - 2,08 (9H, m), 2,22 (6H, s), 2,25 - 2,32 (2H, m), 2,36 (2H, t, J = 7,4 Hz), 2,77 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,35 - 3,53 (4H, m), 4,18 (2H, t, J = 6,6 Hz), 4,80 - 4,91 (2H, m), 5,28 - 5,51 (6H, m).

EM (EN+) m/z 748 [M+H]⁺

HRMS (EN+) m/z 748,6476 (2,1 mDa).

(Ejemplo 55) Caracterización de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

30 Se obtuvo una dispersión de una partícula lipídica de ácido nucleico que contenía el compuesto descrito en el Ejemplo de referencia 2, Ejemplo 41, Ejemplo 42, o Ejemplo 43 de la misma manera que en el Ejemplo 31. La dispersión que contiene la partícula lipídica de ácido nucleico se caracterizó mediante los siguientes procedimientos.

(1) Tamaño de partícula promedio

35 El tamaño de partícula del liposoma se midió con un Potencial Zeta/Dimensionador de partículas NICOMP((TM)) 380ZLS (Particle Sizing Systems, LLC). En las tablas, el tamaño de partícula promedio se indica por un tamaño de partícula promedio en volumen, y el valor numérico seguido por ± representa una desviación.

(2) Tasa de encapsulación del polinucleótido bicatenario

La tasa de encapsulación del polinucleótido bicatenario se midió con el kit de ensayo Quant-iT RiboGreen RNA (Invitrogen Corp.) según el documento adjunto.

40 Específicamente, el polinucleótido bicatenario en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se cuantificó en presencia y ausencia de un detergente Triton X-100 al 0,015 %, y el índice de encapsulación se calculó de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\frac{[\text{Cantidad del polinucleótido bicatenario en presencia de detergente}] - [\text{Cantidad del polinucleótido bicatenario en ausencia del detergente}]}{[\text{Cantidad del polinucleótido bicatenario en presencia del detergente}]} \times 100 (\%)$$

(3) Relación entre el polinucleótido bicatenario y el lípido

Se midió la cantidad del polinucleótido bicatenario en una muestra de la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico en presencia de un detergente Triton X-100 al 5 % mediante cromatografía de intercambio iónico (sistema:

Agilent 1100 series, columna: DNAPac PA200 (4 x 250 mm) (Thermo Fisher Scientific K.K.), tampón A: Tris 10 mM, perclorato de sodio 25 mM, y etanol al 20 %, pH 7,0, tampón B: Tris 10 mM, perclorato de sodio 250 mM, y etanol al 20 %, pH 7,0, gradiente (%B): 20-70 % (0-15 min), caudal: 0,5 ml/min, temperatura: 40 °C, detección: 260 nm).

5 La cantidad de fosfolípido en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se midió con un Phospholipid C-Test Wako (Wako Pure Chemical Industries Ltd.) según el documento adjunto. Específicamente, el fosfolípido de la muestra se cuantificó en presencia de un detergente de Triton X-100 al 1 %.

10 Las cantidades de colesterol y de LP en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se midieron por cromatografía en fase inversa (sistema: Agilent 1100 series, columna: columna de HPLC Chromolith Performance RP-18 protegida en sus extremos 100-3 monolítica (Merck), tampón A: ácido trifluoroacético al 0,01 %, tampón B: ácido trifluoroacético al 0,01 % y metanol, gradiente (%B): 82-92 % (0-10 min), caudal: 2 ml/min, temperatura: 50 °C, detección: 205 nm).

15 La cantidad total de lípidos se calculó a partir de la cantidad del fosfolípido, la cantidad de colesterol y la cantidad de LP, y la relación de composición de los componentes lipídicos que constituyen el liposoma, y la relación entre el polinucleótido y el lípido se calculó a partir de la cantidad anteriormente mencionada del polinucleótido y la cantidad total de lípidos de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\frac{[\text{Concentración de polinucleótido bicatenario}]}{[\text{Concentración de lípidos totales}]} \text{ (p/p)}$$

Los resultados se muestran en la Tabla 16.

(Tabla 16)

Nombre LP	Tasa de encapsulación del polinucleótido (%)	Relación entre el polinucleótido y el ARNip lipídico/lípido (p/p)	Tamaño promedio de partícula (nm)
Referencia	94	0,055	165 ± 11
Ejemplo 2			
Ejemplo 41	97	0,101	158±40
Ejemplo 42	97	0,077	188±45
Ejemplo 43	97	0,075	174±31

20 Estos resultados mostraron que el polinucleótido bicatenario quedó encapsulado en la partícula lipídica, y que esta partícula lipídica de ácido nucleico tuvo un tamaño de partículas promedio de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 200 nm.

(Ejemplo de ensayo 8)

25 Con los mismos procedimientos que en el Ejemplo de ensayo 3, se trataron células SW480 con cada uno 50 nM, 5 nM, 0,5 nM, y 0,05 nM de cada una de las partículas lipídicas de ácido nucleico preparadas usando un novedoso lípido, y se comparó la intensidad de la actividad inhibidora de la expresión del gen de la β-catenina humana entre estas partículas.

30 Como resultado, como se muestra en la Tabla 17, la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto de Ejemplo 41, 42, o 43 mostró una fuerte actividad inhibidora de la expresión génica del gen de la β-catenina, en comparación con la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el lípido del Ejemplo de Referencia 2 usado como control. Estos resultados demuestran que el compuesto del Ejemplo 8 es un lípido novedoso útil para preparar partículas lipídicas de ácido nucleico que presentan actividad intensa.

(Tabla 17)

	Actividad inhibidora de la expresión del gen de la β-catenina humana CI50 (nM)
Ejemplo de Referencia 2	>50
Ejemplo 41	2,6
Ejemplo 42	6,0
Ejemplo 43	24

(Ejemplo 56) Caracterización de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

35 Una solución lipídica que tiene una concentración total de lípidos de 26,8 mM en etanol con diestearoilfosfatidilcolina (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina: a partir de ahora en el presente documento, denominada como DSPC, NOF

5 CORPORATION), colesterol (a partir de ahora en el presente documento, denominado como Chol, Sigma-Aldrich, Inc.), el compuesto descrito en el Ejemplo 23, o 28 (a partir de ahora en el presente documento, denominado como LP), y N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (a partir de ahora en el presente documento, denominada como PEG-C-DMA) se prepararon con una relación molar de DSPC:Chol:LP:PEG-C-DMA = 10:48:40:2.

La concentración de un polinucleótido bicatenario descrito en Nature Biotechnology (2008) 26, 561-569 (siFVII: ARNip contra el Factor VII de ratón) se ajustó a 1 mg/ml con una solución de tampón citrato (tampón citrato 10 mM, pH 4,0) que contenía etanol al 30 % para obtener una solución de polinucleótido bicatenario.

10 La solución lipídica, la solución de polinucleótido bicatenario, y una solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) se calentaron a 37 °C. La solución lipídica se añadió gota a gota a la solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) y se mezcló con esta de tal manera que la solución volumétrica entre la solución lipídica y la solución de tampón citrato fue de 3:7 para obtener una dispersión de liposomas en bruto. Posteriormente, la dispersión de liposomas en bruto se añadió gota a gota a la solución del polinucleótido bicatenario y se mezcló con esta de tal manera que la relación (N/P) de los átomos de nitrógeno (N) derivados de LP a los
15 átomos de fósforo (P) derivados del polinucleótido bicatenario fue de 3. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos para obtener una dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se dializó contra aproximadamente 100 ml de una solución de tampón fosfato (pH 7,4) durante de 12 a 18 horas (Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100 KD, Spectra/Por) para la eliminación del etanol y la eliminación de los polinucleótidos bicatenarios no encapsulados neutralización para obtener una dispersión purificada de una partícula
20 lipídica de ácido nucleico que contiene el polinucleótido bicatenario y el compuesto descrito en el Ejemplo 23 o 28.

La partícula lipídica de ácido nucleico obtenida se caracterizó mediante los procedimientos descritos en el Ejemplo 55, y el índice de encapsulación del polinucleótido en la partícula lipídica de ácido nucleico, la relación en peso del polinucleótido al lípido, y el tamaño de partícula promedio se muestran en la Tabla 18.

(Tabla 18)

Nombre LP	Tasa de encapsulación del polinucleótido (%)	Relación entre el polinucleótido y el ARNip lipídico/lípido (p/p)	Tamaño promedio de partícula (nm)
Ejemplo 23	99	0,076	219±49
Ejemplo 28	97	0,083	177±36

25 Estos resultados mostraron que el polinucleótido bicatenario quedó encapsulado en la partícula lipídica, y que esta partícula lipídica de ácido nucleico tuvo un tamaño de partículas promedio de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 300 nm.

(Ejemplo de ensayo 9) medición de la proteína del Factor VII (FVII)

30 Con los mismos procedimientos que en el Ejemplo de ensayo 7, la intensidad de la actividad inhibidora de la expresión de la proteína del Factor VII se comparó entre partículas lipídicas de ácido nucleico, preparadas cada una de ellas usando un lípido novedoso. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada se inyectó por vía intravenosa a una dosis de 0,1 mg/kg en la cola de cada ratón. Un día y 6 días después de la administración, se recogieron aproximadamente 50 µl de sangre de la vena de la cola, y se obtuvo plasma.

35 En la Tabla 19 se muestran los resultados obtenidos 1 día y 6 días después de la administración. Como resultado, la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto del Ejemplo 23 o 28 presentó una fuerte actividad inhibidora de FVII. Estos resultados demostraron que la partícula lipídica de ácido nucleico que tiene el compuesto del Ejemplo 23 o 28 es útil como una partícula lipídica de ácido nucleico capaz de inhibir la expresión génica.

(Tabla 19)

	Cantidad relativa de FVII (%)	
	1 día después	6 días después
PBS	100	100
Ejemplo 23	21	32
Ejemplo 28	45	57

(Ejemplo 57) Caracterización de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

40 Una solución lipídica que tiene una concentración de lípidos de 6,5 mM en etanol con dipalmitoilfosfatidilcolina (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfolina: a partir de ahora en el presente documento, denominada como DPPC, NOF CORPORATION), colesterol (a partir de ahora en el presente documento, denominado como Chol, Sigma-Aldrich, Inc.), el compuesto descrito en el Ejemplo 19, 45, o 54 (a partir de ahora en el presente documento, denominado LP), y N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-distearoiloxipropil-3-amina (a partir de ahora en el presente

documento, denominado PEG-C-DSA) se prepararon en una relación molar de DPPC:Col:LP:PEG-C-DSA = 7:33.5:57:2,5.

5 La concentración de un polinucleótido bicatenario descrito en Journal Clinical Investigation (2009) 119, 661-673 (PLK1424-2/A: ARNip contra el PLK1 de ratón) se ajustó a 1 mg/ml con una solución de tampón citrato (tampón citrato 10 mM, pH 4,0) que contenía etanol al 30 % para obtener una solución de polinucleótido bicatenario.

10 La solución lipídica, la solución de polinucleótido bicatenario, y una solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) se calentaron a 37 °C. La solución lipídica se añadió gota a gota a la solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) y se mezcló con esta de tal manera que la solución volumétrica entre la solución lipídica y la solución de tampón citrato fue de 3:7 para obtener una dispersión de liposomas en bruto. Posteriormente, la dispersión de liposomas en bruto se añadió gota a gota a la solución del polinucleótido bicatenario y se mezcló con esta de tal manera que la relación (N/P) de los átomos de nitrógeno (N) derivados de LP a los átomos de fósforo (P) derivados del polinucleótido bicatenario fue de 3. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos para obtener una dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se dializó contra aproximadamente 100 ml de una solución de tampón fosfato (pH 7,4) durante de 12 a 18 horas (Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100 KD, Spectra/Por) para la eliminación del etanol y la eliminación de los polinucleótidos bicatenarios no encapsulados neutralización para obtener una dispersión purificada de una partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el polinucleótido bicatenario y el compuesto descrito en el Ejemplo 19, 45 o 54.

20 La partícula lipídica de ácido nucleico obtenida se caracterizó mediante los procedimientos descritos en el Ejemplo 55, y el índice de encapsulación del polinucleótido en la partícula lipídica de ácido nucleico, la relación en peso del polinucleótido al lípido, y el tamaño de partícula promedio se muestran en la Tabla 20.

(Tabla 20)

Nombre LP	Tasa de encapsulación del polinucleótido (%)	Relación entre el polinucleótido y el ARNip lipídico/lípido (p/p)	Tamaño promedio de partícula (nm)
Ejemplo 19	97	0,095	103±16
Ejemplo 45	96	0,093	100±27
Ejemplo 54	98	0,078	127±29

25 Estos resultados mostraron que el polinucleótido bicatenario quedó encapsulado en la partícula lipídica, y que esta partícula lipídica de ácido nucleico tuvo un tamaño de partículas promedio de aproximadamente 50 nm a aproximadamente 150 nm.

(Ejemplo de ensayo 10)

30 Tras la aclimatación y la sensibilización de cada ratón atímico (CAnN.Cg-Foxn1[nu]/CrIcrIj[Foxn1nu/Foxn1nu]) durante 8 días, células Hep3B cultivadas humanas (1×10^7 células/ratón) se trasplantaron por vía subcutánea en la región lateral derecha del ratón. 19 días después del trasplante del tumor, los ratones se agruparon según el volumen tumoral como índice y, al día siguiente, la dispersión que contenía la partícula lipídica de ácido nucleico preparada en Ejemplo 57 se administró por vía intravenosa (administrada en dosis de 1 mg/kg y 3 mg/kg) en la cola de cada ratón. Se administró PBS a un grupo del control. El día después de la administración de la partícula lipídica de ácido nucleico, se recogió una masa tumoral del ratón que tenía el cáncer, y se extrajo el ácido nucleico utilizando el reactivo de lisis QIAzol (fabricado por Qiagen N.V.) y cloroformo. Después, se purificó el ARN total utilizando el mini kit QIAGNE RNeasy (fabricado por Qiagen N.V.) de acuerdo con el protocolo adjunto.

35 16 µl del ARN purificado y 4 µl de la mezcla maestra SuperScript VILO (Life Technologies, Inc.) se mezclaron y usaron en una reacción a TA en las condiciones dadas a continuación.

reacción a TA:

40 25 °C durante 10 min
42 °C durante 60 min
85 °C durante 5 min.

45 Las sondas de la PCR en tiempo real usadas fueron los ensayos de expresión génica TaqMan(R) (PLK-1, sonda FAM, Hs00153444_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.) como sonda génica de PLK-1 humana y Ensayos para la expresión del gen TaqMan(R) (sonda VIC, Hs99999905_m1, fabricados por Applied Biosystems, Inc.) como sonda génica GAPDH como patrón interno. 5 µl de TaqMan(R) Fast Advanced Master Mix, 2,66 µl de agua exenta de ARNasa, 0,17 µl de cada sonda génica, y 2 µl de la solución de ADNc preparada se añadieron a cada pocillo de una placa de PCR de 384 pocillos (fabricada por Applied Biosystems, Inc.) para llevar la cantidad total hasta 10 µl, que se cargó a continuación en un sistema de PCR en tiempo real ViiA(TM) 7 (fabricado por Applied Biosystems, Inc.) y se sometió a la PCR en las condiciones dadas a continuación. La PCR en tiempo real se llevó a cabo a N = 4 para el ADNc preparado.

50 Activación inicial de la PCR: 95 °C durante 20 segundos

PCR: 95 °C durante 1 segundo
62 °C durante 20 segundos

Este ciclo de PCR se realizó repetidamente 40 veces.

- 5 El análisis cuantitativo se llevó a cabo por el procedimiento $\Delta\Delta Ct$. Se determinó un calor ($\Delta\Delta Ct$) restando ΔCt del grupo de administración de PBS de la diferencia en valor Ct (ΔCt) entre PLK-1 humano y GAPDH humano en los grupos de administración de cada partícula lipídica de ácido nucleico, y el valor relativo (RQ) respecto al grupo de administración de PBS, $RQ_{\text{máx}}$, y $RQ_{\text{mín}}$ se calcularon de acuerdo con las siguientes expresiones:

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

- 10 $RQ_{\text{máx}} = 2^{-95 \%IC \text{ de } \Delta\Delta Ct}$ (95 %IC de $\Delta\Delta Ct$: el valor máximo del intervalo de confianza de 95 % de $\Delta\Delta Ct$)
 $RQ_{\text{mín}} = 2^{-95 \%IC \text{ de } \Delta\Delta Ct}$ (95 %IC de $\Delta\Delta Ct$: el valor mínimo del intervalo de confianza de 95 % de $\Delta\Delta Ct$)
(IC: intervalo de confianza)

En la Figura 5 se muestran los resultados. En el diagrama, las barras de error se calcularon de acuerdo con la siguiente expresión:

- 15 + barras de error: $RQ_{\text{máx}} - RQ$, - barras de error: $RQ - RQ_{\text{mín}}$

Como resultado, como se muestra en la figura 5, la partícula lipídica de ácido nucleico que tiene el compuesto del Ejemplo 19, 45, o 54 presentó una fuerte actividad inhibitoria de la expresión de PLK-1 en tumores. Estos resultados demostraron que la partícula lipídica de ácido nucleico que tiene el compuesto del Ejemplo 19, 45 o 54 es útil como una partícula lipídica de ácido nucleico capaz de inhibir la expresión génica.

- 20 **(Ejemplo 58)** Preparación de una partícula lipídica de ácido nucleico con ARNm encapsulado

- 25 Diestearoilfosfatidilcolina (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina: a partir de ahora en el presente documento, denominada como DSPC, NOF CORPORATION), colesterol (a partir de ahora en el presente documento, denominado como Chol, Sigma-Aldrich, Inc.), el compuesto descrito en el Ejemplo 8 (a partir de ahora en el presente documento, denominado como LP), y N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (a partir de ahora en el presente documento, denominada como PEG-C-DMA) se prepararon con una relación molar de DSPC:Chol:LP:PEG-C-DMA = 10:48:40:2 en etanol para dar una concentración de lípidos totales de 10 mM. La solución lipídica obtenida se añadió gota a gota a una solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) y se mezcló con la anterior de tal forma que la relación de volumen entre la solución lipídica y la solución de tampón citrato fue 3:7 para obtener una dispersión bruta de una partícula lipídica.

- 30 Por otra parte, la concentración de ARNm de mCherry (5meC, ψ) (a partir de ahora en el presente documento, denominado como ARNm de mCherry, n.º de catálogo: L-6113, TriLink BioTechnologies, Inc.) o ARNm de luciferasa (5meC, ψ) (a partir de ahora en el presente documento, denominado como ARNm de FLuc, n.º de catálogo: L-6107, TriLink BioTechnologies, se ajustó a 0,1 mg/ml con una solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) que contenía etanol al 30 %.

- 35 Posteriormente, 790 μ l de la dispersión de partículas lipídicas en bruto y 350 μ l de la solución de ARNm se mezclaron de tal manera que la relación (N/P) del número de moléculas LP (N) al número de átomos de fósforo derivados de ARNm (P) tenía una relación molar N/P = 9,0. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos para obtener una dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se dializó contra aproximadamente 100 ml de una solución de tampón fosfato (pH 7,4) durante de 12 a 18 horas (Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100 KD, Spectra/Por) para la eliminación del etanol topara obtener una dispersión purificada de partículas lipídicas de ácido nucleico que encapsulan ARNm que contiene el compuesto descrito en el Ejemplo 8.

(Ejemplo 59) Caracterización de partículas lipídicas de ácido nucleico que encapsulan ARNm

- 45 Se caracterizó la dispersión que contenía partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 58. A continuación se describirá cada procedimiento de caracterización.

(1) Tamaño de partícula promedio

El tamaño de partícula del liposoma se midió con un Potencial Zeta/Dimensionador de partículas NICOMP((TM)) 380ZLS (Particle Sizing Systems, LLC). En las tablas, el tamaño de partícula promedio se indica por un tamaño de partícula promedio en volumen, y el valor numérico seguido por \pm representa una desviación.

- 50 (2) Índice de encapsulación del ARNm

Se midió el índice de encapsulación del ARNm utilizando el kit de ensayo del ARN Quant-iT RiboGreen RNA Assay

kit (Invitrogen Corp.) de acuerdo con el documento adjunto.

Específicamente, el ARNm en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se cuantificó en presencia y ausencia de un detergente Triton X-100 al 0,015 % y se calculó el índice de encapsulación de acuerdo con la siguiente expresión:

$$5 \quad \frac{\{[\text{Cantidad del ARNm en presencia del detergente}] - [\text{Cantidad del ARNm en ausencia del detergente}]\}}{[\text{Cantidad del ARNm en presencia del detergente}]} \times 100$$

(%)

(3) Relación de ARNm a lípidos

10 La cantidad de fosfolípido en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se midió con un Phospholipid C-Test Wako (Wako Pure Chemical Industries Ltd.) según el documento adjunto. Específicamente, el fosfolípido de la muestra se cuantificó en presencia de un detergente de Triton X-100 al 1 %.

15 Las cantidades de colesterol y de LP en la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se midieron por cromatografía en fase inversa (sistema: Agilent 1100 series, columna: columna de HPLC Chromolith Performance RP-18 protegida en sus extremos 100-3 monolítica (Merck), tampón A: ácido trifluoroacético al 0,01 %, tampón B: ácido trifluoroacético al 0,01 % y metanol, gradiente (%B): 82-92 % (0-10 min), caudal: 2 ml/min, temperatura: 50 °C, detección: 205 nm).

20 La cantidad total de lípidos se calculó a partir de la cantidad del fosfolípido, la cantidad de colesterol, y la cantidad de LP, y la relación de composición de los componentes lipídicos que constituyen el liposoma, y se calculó la relación del ARNm al lípido a partir de la "cantidad de ARNm en presencia del detergente" del párrafo anterior (2) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\frac{[\text{concentración de ARNm en presencia del detergente}]}{[\text{Concentración total de lípidos}]} \text{ (p/p)}$$

Los resultados se muestran en la Tabla 21.

25 (Tabla 21)

ARNm	Índice de encapsulación del ARNm (%)	Relación de ARNm a lípido de ARNm/lípido (p/p)	Tamaño promedio de partícula (nm)
mCherry	98	0,037	151±71
FLuc	98	0,038	145±56

Estos resultados mostraron que el ARNm se encapsuló en la partícula lipídica, y esta partícula lipídica del ácido nucleico tenía un tamaño de partícula promedio de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 200 nm.

(Ejemplo de ensayo 11)

30 Como se describe a continuación, se midió la expresión de mCherry utilizando una partícula lipídica de ácido nucleico preparada utilizando un novedoso lípido.

(1) Transfección

35 La concentración de una línea de células HuH-7 de un carcinoma hepatocelular humano se ajustó a 10.000 células/ml en un medio DMEM (fabricado por Invitrogen Corp.) que contenía suero de feto de bovino al 10 % (medio de cultivo). Después, la solución de cultivo resultante se inoculó a 100 µl/pocillo en una placa de 96 pocillos de fondo plano (fabricada por Corning Inc./Falcon) y se cultivó a 37 °C durante 1 día con CO₂ al 5,0 %. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 58 se diluyó con un medio de cultivo para preparar una serie de dilución con concentraciones finales del ARNm de 2, 0,4, y 0,08 µg/ml en el medio. Después, cada dilución se añadió a las células tras eliminar el sobrenadante del cultivo, y el cultivo se continuó adicionalmente. Esta operación se llevó a cabo a N = 3 para cada concentración. Se cultivó un grupo de control solo con medio de cultivo.

40 (2) Observación fluorescente de mCherry

Un día después de la transfección, el medio de cultivo se eliminó, y 100 µl de 10 N Mildform (Wako Pure Chemical

Industries Ltd.) se añadieron a cada pocillo y se dejó a temperatura ambiente durante 10 minutos en la oscuridad. Tras lavar con Mildform 10 N con DPBS (DPBS de Dulbecco, Life Technologies, Inc.), 50 µl de Hoechst 33342, trihidrocloruro, trihidrato (fabricado por Invitrogen Corp.) concentración ajustada a 20 µg/ml con DPBS se añadió a cada pocillo y se dejó a temperatura ambiente durante 1 hora en la oscuridad. Tras sustituir por DPBS, se observó la fluorescencia con un IN Cell Analyzer 6000 (GE Healthcare Japan Corp.). Las condiciones de medición fueron las siguientes: Hoechst; longitud de onda de excitación: 405 nm, longitud de onda de detección: 455 nm/50 nm (filtro de longitud de onda central/ancho de banda), y mCherry; longitud de onda de excitación: 561 nm, longitud de onda de detección: 605 nm/52 nm (filtro de longitud de onda central/ancho de banda).

En la Figura 6 se muestran los resultados. Los recuadros superiores de este diagrama representan imágenes de núcleos teñidos con Hoechst, y los recuadros inferiores representan imágenes de mCherry. Se descubrió que la partícula lipídica de ácido nucleico que tiene el compuesto del Ejemplo 8 fomentaba la expresión de mCherry. Estos resultados demostraron que la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto del Ejemplo 8 es útil como una partícula lipídica de ácido nucleico capaz de promover la expresión de ARNm.

(3) Medición del nivel de la expresión de la luciferasa

Seis horas después de la transfección, el nivel de expresión de la luciferasa se midió con un ensayo de gen indicador de la luciferasa, de alta sensibilidad (fabricado por F. Hoffmann-La Roche, Ltd.) de acuerdo con el documento adjunto. En la Tabla 22 se muestra un valor promedio de las unidades de luminiscencia relativa (ULR) a N = 3.

(Tabla 22)

Concentración de ARNm (µg/ml)	ULR (1×10 ⁵)
0	0
0,08	0,7
0,4	2,7
2,0	3,7

Como resultado, se descubrió que la partícula lipídica de ácido nucleico que tiene el compuesto del Ejemplo 8 fomentaba la expresión de FLuc. Estos resultados demostraron que la partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el compuesto del Ejemplo 8 es útil como una partícula lipídica de ácido nucleico capaz de promover la expresión de ARNm.

(Ejemplo 60) Preparación de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

Diestearioilfosfatidilcolina (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina: a partir de ahora en el presente documento, denominada como DSPC, NOF CORPORATION), colesterol (a partir de ahora en el presente documento, denominado como Chol, Sigma-Aldrich, Inc.), el compuesto descrito en el Ejemplo 8 (a partir de ahora en el presente documento, denominado como LP), y N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (a partir de ahora en el presente documento, denominada como PEG-C-DMA) se prepararon con una relación molar de DSPC:Chol:LP:PEG-C-DMA = 10:48:40:2 en una solución lipídica que tiene una concentración total de lípido de 26,8 mM en etanol.

La concentración de un polinucleótido bicatenario descrito en Nature Biotechnology (2008) 26, 561-569 (siFVII: ARNip contra el Factor VII de ratón) se ajustó a 1 mg/ml con una solución de tampón citrato (tampón citrato 10 mM, pH 4,0) que contenía etanol al 30 % para obtener una solución de polinucleótido bicatenario.

La solución lipídica, la solución de polinucleótido bicatenario, y una solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) se calentaron a 37 °C. La solución lipídica se añadió gota a gota a la solución de tampón citrato (tampón citrato 20 mM, pH 4,0) y se mezcló con esta de tal manera que la solución volumétrica entre la solución lipídica y la solución de tampón citrato fue de 3:7 para obtener una dispersión de liposomas en bruto. Posteriormente, la dispersión de liposomas en bruto se añadió gota a gota a la solución del polinucleótido bicatenario y se mezcló con esta de tal manera que la relación (N/P) entre el número de moléculas de LP (N) y el número de átomos de fósforo (P) derivados del polinucleótido bicatenario se describe en la Tabla 23. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos para obtener una dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico. La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico se dializó contra aproximadamente 100 ml de una solución de tampón fosfato (pH 7,4) durante de 12 a 18 horas (Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100 KD, Spectra/Por) para la eliminación del etanol y la eliminación de los polinucleótidos bicatenarios no encapsulados neutralización para obtener una dispersión purificada de una partícula lipídica de ácido nucleico que contiene el polinucleótido bicatenario y el lípido descrito en el Ejemplo 8.

(Tabla 23)

Relación N/P

Partícula 28	2,0
Partícula 29	2,5
Partícula 30	3,0
Partícula 31	3,5
Partícula 32	4,0
Partícula 33	4,5
Partícula 34	5,0
Partícula 35	6,0

(Ejemplo 61) Caracterización de una partícula lipídica de ácido nucleico con polinucleótido bicatenario encapsulado

Se caracterizó la dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 60. La caracterización se llevó a cabo mediante los procedimientos descritos en el Ejemplo 32, y el índice de encapsulación del polinucleótido en la partícula lipídica de ácido nucleico descrita en el Ejemplo 60, la relación en peso del polinucleótido al lípido, y el tamaño de partícula promedio se muestran en la Tabla 24.

5

(Tabla 24)

	Relación N/P*	Índice de encapsulación (%)	ARNip/lípido (p/p)**	Tamaño de partícula (nm)
Partícula 28	2,0	96	0,128	126±40
Partícula 29	2,5	97	0,099	134±9
Partícula 30	3,0	97	0,085	139±50
Partícula 31	3,5	98	0,066	147±39
Partícula 32	4,0	98	0,063	142±43
Partícula 33	4,5	98	0,057	141±23
Partícula 34	5,0	99	0,051	137±26
Partícula 35	6,0	99	0,037	151±38

*Relación N/P: relación entre el número de moléculas de LP (N) y el número de átomos de fósforo (P) derivados del polinucleótido bicatenario

**ARNip/lípido (p/p): relación en peso de polinucleótido a lípido

Estos resultados mostraron que el polinucleótido bicatenario quedó encapsulado en la partícula lipídica, y que esta partícula lipídica de ácido nucleico tuvo un tamaño de partículas promedio de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 200 nm.

10 (Ejemplo de ensayo 12) medición de la proteína del Factor VII (FVII)

Se midió la proteína del Factor VII de acuerdo con el procedimiento descrito en Nature Biotechnology (2010) 28, 172-176. Ratonos C57BL6/J (machos, 9 semanas de edad) se agruparon aleatoriamente (n = 4). La dispersión de partículas lipídicas de ácido nucleico preparada en el Ejemplo 60 se inyectó por vía intravenosa a una dosis de 0,3 mg/kg en la cola de cada ratón. Un día después de la administración, se recogieron aproximadamente 50 µl de sangre de la vena de la cola, y se obtuvo plasma. Se midió la cantidad de proteína del Factor VII en el plasma obtenido utilizando el kit de ensayo Biophen FVII (fabricado por Anlara Corp.) de acuerdo con el protocolo adjunto.

15

Cuando la cantidad de FVII de las respectivas muestras de plasma recogidas en cantidades iguales de individuos en un grupo de administración PBS se definió como 100 %, la relación relativa (%) de la cantidad de FVII en una muestra de plasma de cada individuo se usó como el valor de medición (A). Se determinó un valor promedio (B) a partir de los valores de medición respectivos de los individuos en el grupo de administración PBS. La relación relativa del valor de medición (A) de cada individuo se determinó a partir de la expresión: $A / B \times 100$ (%). El valor promedio de las relaciones relativas en el grupo de administración de cada partícula lipídica de ácido nucleico se muestra en la Tabla 25. Como resultado, como se muestra en la Tabla 25, las partículas 28 a 35 como las partículas lipídicas de ácido nucleico preparadas en el Ejemplo 60 presentaron una intensa actividad inhibidora de FVII. Estos resultados demostraron que una partícula lipídica de ácido nucleico que tiene la composición de lípido que se encuentra en las partículas 28 a 35 es útil como una partícula lipídica de ácido nucleico capaz de inhibir la expresión génica.

20

25

(Tabla 25)

	Cantidad relativa de FVII (%)
PBS	100
Partícula 28	38

Partícula 29	11
Partícula 30	<10
Partícula 31	<10
Partícula 32	31
Partícula 33	<10
Partícula 34	<10
Partícula 35	<10

Aplicabilidad industrial

La presente invención puede proporcionar un novedoso lípido catiónico que forma una partícula lipídica junto con un lípido anfipático, un esteroles, y un lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica.

La presente invención puede proporcionar también una partícula lipídica que comprende el lípido catiónico.

- 5 La presente invención puede proporcionar además una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende la partícula lipídica y además un ácido nucleico. La partícula lipídica de ácido nucleico de la presente invención se puede usar en una composición farmacéutica.

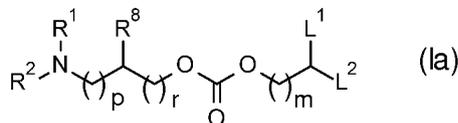
Texto libre del Listado de secuencias

- 10 SEQ ID NO:1: CT-169
 SEQ ID NO:2: CT-157
 SEQ ID NO:3: CT-103
 SEQ ID NO:4: CT-292
 SEQ ID NO:5: CT-315
 SEQ ID NO:6: CT-387
 15 SEQ ID NO:7: Región de la hebra de sentido directo de CT-454
 SEQ ID NO:8: Región de la hebra de sentido contrario de CT-454
 SEQ ID NO:9: Región de la hebra de sentido directo de HS-005
 SEQ ID NO:10: Región de la hebra de sentido contrario de HS-005
 SEQ ID NO:11: Región de la hebra de sentido directo de HS-006
 20 SEQ ID NO:12: Región de la hebra de sentido contrario de HS-006
 SEQ ID NO:13: Región de la hebra de sentido directo de HS-005s
 SEQ ID NO:14: Región de la hebra de sentido contrario de HS-005s
 SEQ ID NO:15: Región de la hebra de sentido directo de HS-006s
 SEQ ID NO:16: Región de la hebra de sentido contrario de HS-006s
 25

REIVINDICACIONES

1. Un lípido catiónico representado por la fórmula general (Ia) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:

[Fórmula 1]



en la que

5 cada uno de R¹ y R² independientemente representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo C₁-C₆ que
 opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α, un grupo alquenoilo
 C₂-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α, un
 grupo alquinilo C₂-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de
 10 sustituyentes α, o un grupo cicloalquilo C₃-C₇ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados
 entre el grupo de sustituyentes α o R¹ y R² forman un anillo heterocíclico de 3 a 10 miembros junto con el átomo
 de nitrógeno unido a los mismos, en el que el anillo heterocíclico opcionalmente tiene uno o más sustituyentes
 seleccionados entre el grupo de sustituyentes α y que opcionalmente contiene uno o más átomos seleccionados
 entre un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre, además del átomo de nitrógeno unido a
 R¹ y R², como átomos que constituyen el anillo heterocíclico;

15 R⁸ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁-C₆ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes
 seleccionados entre el grupo de sustituyentes α;

o R¹ y R⁸ juntos representan el grupo -(CH₂)_q;
 el grupo de sustituyentes α representa el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo
 hidroxilo, un grupo sulfanilo, un grupo amino, un grupo ciano, un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alquilo C₁-C₆
 20 halogenado, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo C₁-C₆, un grupo alquilamino C₁-C₆ y un grupo
 alcanilo C₁-C₇;

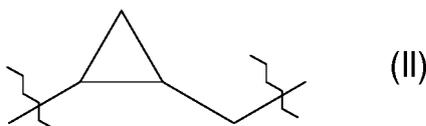
L¹ representa un grupo alquilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el
 grupo de sustituyentes β₁, un grupo alquenoilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes
 seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁, un grupo alquinilo C₃-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más
 25 sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁ o un grupo (alquil C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquilo C₁-C₁₀)
 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁;

L² representa, independientemente de L¹, un grupo alquilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente tiene uno o más
 sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁, un grupo alquenoilo C₁₀-C₂₄ que opcionalmente
 tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁, un grupo alquinilo C₃-C₂₄ que
 30 opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁, un grupo (alquil
 C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alquilo C₁-C₁₀) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de
 sustituyentes β₁, un grupo (alcoxi C₁₀-C₂₄)metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados
 entre el grupo de sustituyentes β₁, un grupo (alquenoil C₁₀-C₂₄)oximetilo que opcionalmente tiene uno o más
 sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁, un grupo (alquinil C₃-C₂₄) oximetilo que
 35 opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁ o un grupo (alquil
 C₁-C₁₀)-(Q)_k-(alcoxi C₁-C₁₀)metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo
 de sustituyentes β₁;

el grupo de sustituyentes β₁ representa el grupo que consiste en un átomo de halógeno, un grupo oxo, un grupo
 ciano, un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alquilo C₁-C₆ halogenado, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo
 C₁-C₆, un grupo alcanilo C₁-C₇, un grupo alcanilo C₁-C₇, un grupo alcoxialcoxi C₃-C₇, un grupo (alcoxi C₁-
 40 C₆)carbonilo, un grupo (alcoxi C₁-C₆)carboxilo, un grupo (alcoxi C₁-C₆)carbamoilo y un grupo (alquilamino C₁-
 C₆)carboxilo;

Q representa un grupo representado por la siguiente fórmula (II):

[Fórmula 2]



45 cuando cada uno de L¹ y L² tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁ y el
 grupo de sustituyentes β₁ es un grupo alquilo C₁-C₆, un grupo alcoxi C₁-C₆, un grupo alquilsulfanilo C₁-C₆, un
 grupo alcanilo C₁-C₇ o un grupo alcanilo C₁-C₇, el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de
 sustituyentes β₁ en L¹ y el o los sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes β₁ en L²
 opcionalmente se unen entre sí para formar una estructura cíclica;
 k representa 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7;

m representa 0 o 1;
 p representa 0, 1 o 2;
 g representa 1, 2, 3 o 4; y
 r representa 0, 1, 2 o 3,

5 con la condición de que $p + r$ sea 2 o más o $q + r$ sea 2 o más.

2. El lípido catiónico de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que:

- 10 (a) cada uno de R^1 y R^2 es independientemente un grupo alquilo C_1-C_6 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α ;
 (b) cada uno de R^1 y R^2 es independientemente un grupo alquilo C_1-C_3 ;
 (c) tanto R^1 como R^2 son grupos metilo;
 (d) R^1 y R^2 forman azetidina, pirrolidina, piperidina, azepano, dihidropirrol, dihidropiridina, tetrahidropiridina, piperazina, morfolina, dihidrooxazol o dihidrotiazol que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos;
 15 (e) R^1 y R^2 forman azetidina, pirrolidina, piperidina o morfolina que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos;
 (f) R^1 y R^2 forman azetidina, pirrolidina o morfolina junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos; o
 (g) R^1 y R^2 juntos representan el grupo $-(CH_2)_q-$; $p + q$ es 2, 3 o 4; y R^2 es un grupo alquilo C_1-C_3 que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes α .

20 3. El lípido catiónico de acuerdo con la reivindicación 2(g) o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que R^2 es un grupo alquilo C_1-C_3 .

4. El lípido catiónico de acuerdo con la reivindicación 2(g) o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que R^2 es un grupo metilo.

25 5. El lípido catiónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que:

- (a) L^1 es un grupo alquilo $C_{17}-C_{19}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo alquenilo $C_{17}-C_{19}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ o un grupo (alquil C_1-C_4)-(Q)_k-(alquilo C_4-C_9) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$; y k es 1, 2 o 3;
 30 (b) L^1 es un grupo heptadecenilo, un grupo octadecenilo, un grupo heptadecadienilo, un grupo octadecadienilo, un grupo nonadecadienilo, un grupo heptadecatrienilo, un grupo octadecatrienilo o un grupo nonadecatrienilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$; o
 35 (c) L^1 es un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadecenilo, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadecenilo, un grupo cis-9-octadecenilo (grupo oleilo), un grupo cis-8,11-heptadecadienilo, un grupo cis-9,12-octadecadienilo (grupo linoleilo), un grupo cis-10,13-nonadecadienilo o un grupo cis-6,9,12-octadecatrienilo (grupo linolenilo).

6. El lípido catiónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que:

- 40 (a) L^2 es un grupo alquilo $C_{10}-C_{19}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo alquenilo $C_{10}-C_{19}$ que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo (alquil C_1-C_4)-(Q)_k-(alquilo C_4-C_9) que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo (alcoxi $C_{10}-C_{19}$)metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$, un grupo (alquenil $C_{10}-C_{19}$)oximetilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$ o un grupo (alquil C_1-C_{10})-(Q)_k-(alcoxi C_1-C_{10})metilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$; y k es 1, 2 o 3;
 45 (b) L^2 es un grupo decilo, un grupo decenilo, un grupo undecilo, un grupo undecenilo, un grupo dodecilo, un grupo dodecenilo, un grupo decadienilo, un grupo undecadienilo, un grupo dodecadienilo, un grupo heptadecadienilo, un grupo octadecadienilo, un grupo nonadecadienilo, un grupo heptadecatrienilo, un grupo octadecatrienilo, un grupo nonadecatrienilo, un grupo deciloximetilo, un grupo deceniloximetilo, un grupo undeciloximetilo, un grupo undeceniloximetilo, un grupo dodeciloximetilo, un grupo dodeceniloximetilo, un grupo decadieniloximetilo, un grupo undecadieniloximetilo, un grupo dodecadieniloximetilo, un grupo heptadecadieniloximetilo, un grupo octadecadieniloximetilo, un grupo nonadecadieniloximetilo, un grupo heptadecatrieniloximetilo, un grupo octadecatrieniloximetilo o un grupo nonadecatrieniloximetilo que opcionalmente tiene uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo de sustituyentes $\beta 1$; o
 50 (c) L^2 es un grupo decilo, un grupo cis-7-decenilo, un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadecenilo, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadecenilo, un grupo cis-9-octadecenilo (grupo oleilo), un grupo cis-8,11-heptadecadienilo, un grupo cis-9,12-octadecadienilo (grupo linoleilo), un grupo cis-10,13-nonadecadienilo, un

grupo cis-6,9,12-octadecatrienilo (grupo linolenilo), un grupo deciloximetilo, un grupo cis-7-deceniloximetilo, un grupo (R)-11-acetiloxi-cis-8-heptadeceniloximetilo, un grupo (R)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)-cis-8-heptadeceniloximetilo, un grupo cis-9-octadeceniloximetilo (grupo oleiloximetilo), un grupo cis-8,11-heptadecadieniloximetilo, un grupo cis-9,12-octadecadieniloximetilo (grupo linoleiloximetilo), un grupo cis-10,13-nonadecadieniloximetilo o un grupo cis-6,9,12-octadecatrieniloximetilo (grupo linoleniloximetilo).

7. El lípido catiónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que m es 0.

8. El lípido catiónico de acuerdo con la reivindicación 1 o una de sus sales farmacológicamente aceptables, en el que:

(a) tanto R¹ como R² son grupos metilo; R⁸ es un átomo de hidrógeno; L¹ es un grupo alquilo C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alqueno C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L² es un grupo alquilo C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alqueno C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C₁₀-C₁₉)metilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alqueno C₁₀-C₁₉)oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p + r es 2; y m es 0;

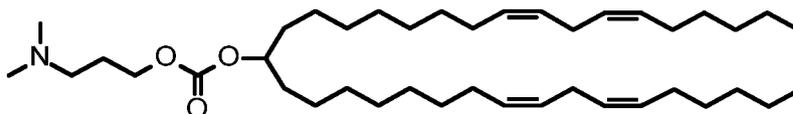
(b) R² es un grupo metilo; R¹ y R⁸ juntos representan un grupo -(CH₂)_q-; L¹ es un grupo alquilo C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alqueno C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L² es un grupo alquilo C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alqueno C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C₁₀-C₁₉)metilo grupo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alqueno C₁₀-C₁₉)oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p es 2; q es 2; r es 0; y m es 0;

(c) R² es un grupo metilo; R¹ y R⁸ juntos representan un grupo -(CH₂)_q-; L¹ es un grupo alquilo C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alqueno C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L² es un grupo alquilo C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alqueno C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C₁₀-C₁₉)metilo grupo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alqueno C₁₀-C₁₉)oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p es 1; q es 2 o 3; r es 1; y m es 0;

(d) R² es un grupo metilo; R¹ y R⁸ juntos representan el grupo -(CH₂)_q-; L¹ es un grupo alquilo C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo alqueno C₁₇-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; L² es un grupo alquilo C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo alqueno C₁₀-C₁₉ opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi, un grupo (alcoxi C₁₀-C₁₉)metilo grupo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi o un grupo (alqueno C₁₀-C₁₉)oximetilo opcionalmente sustituido por un grupo acetiloxi; p es 0; q es 3 o 4; r es 2; y m es 0;

(e) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 3]



(f) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 4]



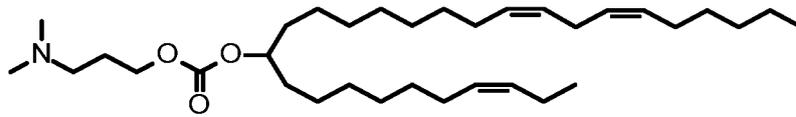
(g) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 5]



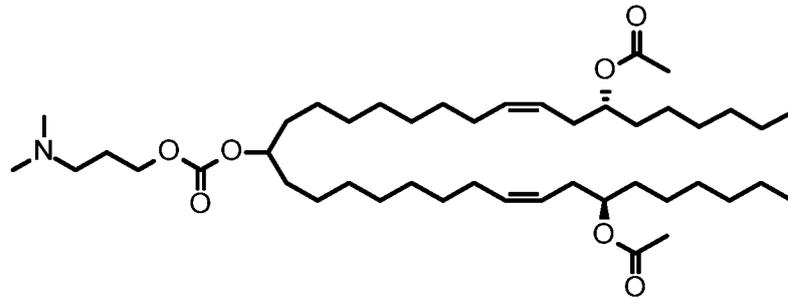
(h) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 6]



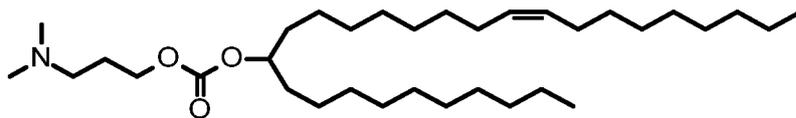
(i) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 7]



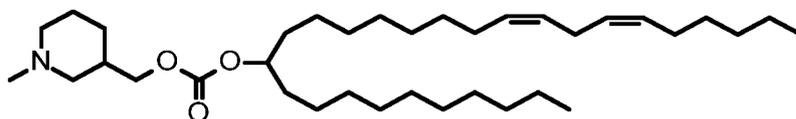
(j) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 8]



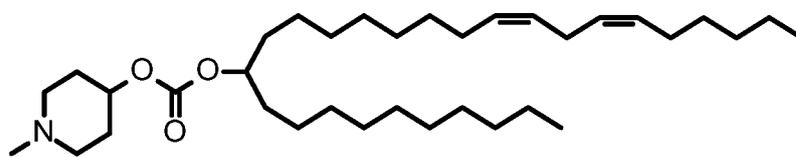
(k) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 9]



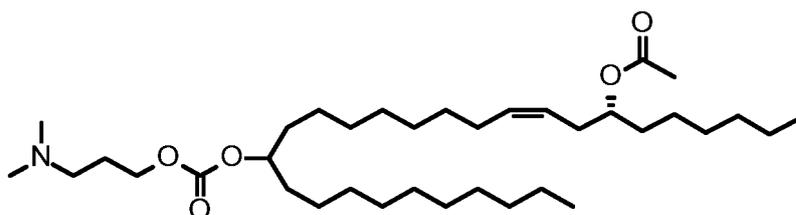
(l) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 10]



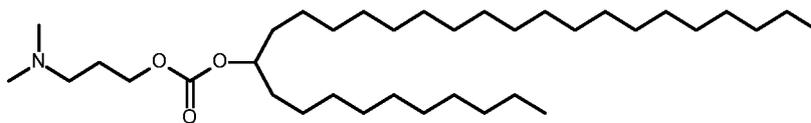
5 (m) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

[Fórmula 11]



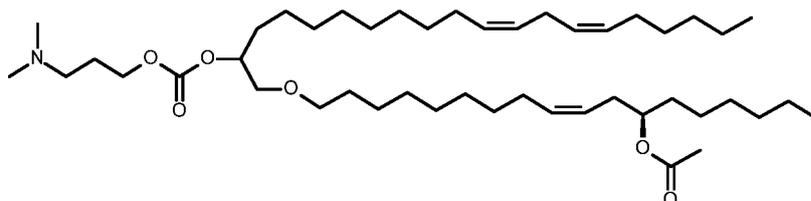
(n) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula

[Fórmula 12]



o
(o) el lípido catiónico se representa mediante la fórmula:

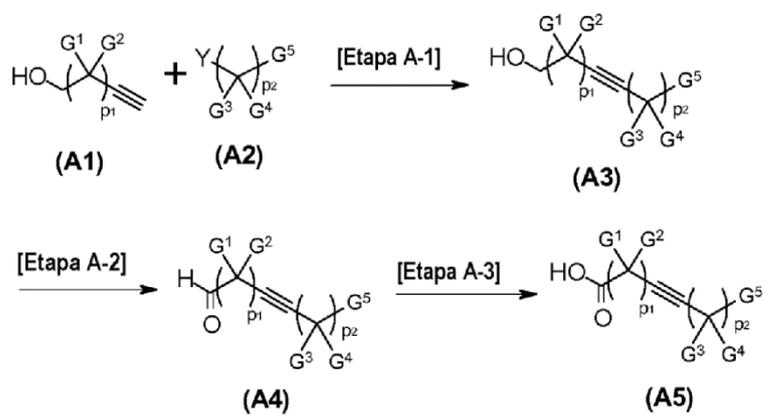
[Fórmula 13]



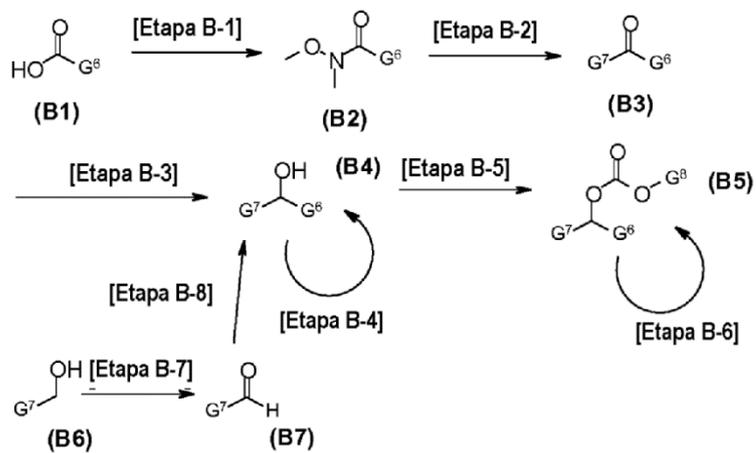
9. Una partícula lipídica que comprende al menos un lípido catiónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 5 10. La partícula lipídica de acuerdo con la reivindicación 9, que además comprende un lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica.
11. La partícula lipídica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica es un PEG-lípido.
12. La partícula lipídica de acuerdo con la reivindicación 11, en la que:
- 10 (a) el PEG-lípido es N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA) o 1,2-dimiristoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol;
- (b) el PEG-lípido es N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dimiristiloxipropil-3-amina (PEG-C-DMA);
- (c) el PEG-lípido es N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dipalmitiloxipropil-3-amina (PEG-C-DPA) o 1,2-dipalmitoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol;
- 15 (d) el PEG-lípido es N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-dipalmitiloxipropil-3-amina (PEG-C-DPA);
- (e) el PEG-lípido es N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-diesteariloxipropil-3-amina (PEG-C-DSA) o 1,2-diestearoil-sn-glicerol metoxipolietilenglicol; o
- (f) el PEG-lípido es N-[metoxi poli(etilenglicol)2000]carbamoil]-1,2-diesteariloxipropil-3-amina (PEG-C-DSA).
- 20 13. La partícula lipídica de acuerdo con la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en la que el PEG tiene un peso molecular de 1.000 a 5.000; opcionalmente en la que el PEG tiene un peso molecular de 1800 a 2200.
14. La partícula lipídica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, que comprende adicionalmente un esteroil; opcionalmente en la que el esteroil es colesterol.
- 25 15. La partícula lipídica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, que comprende además un lípido anfipático; opcionalmente en el que el lípido anfipático es al menos uno cualquiera seleccionado entre diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), 1-palmitoil-2-oleoilfosfatidilcolina (POPC), dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), y esfingomielina (SM); y opcionalmente en la que el lípido anfipático es diestearoilfosfatidilcolina (DSPC) o dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC).
16. La partícula lipídica de acuerdo con la reivindicación 15, en la que:
- 30 (a) la composición lipídica del lípido anfipático, el esteroil, el lípido catiónico, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica supone el 25 % o menos del lípido anfipático, 15 % o más del esteroil, de 20 % al 70 % del lípido catiónico, y de 1 % al 10 % del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica, en términos de cantidad molar; o
- (b) la composición lipídica del lípido anfipático, el esteroil, el lípido catiónico, y el lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica supone el 15 % o menos del lípido anfipático, 32 % o más del esteroil,
- 35 de 45 % al 65 % del lípido catiónico, y de 1,5 % al 3 % del lípido que reduce la agregación durante la formación de la partícula lipídica, en términos de cantidad molar.
17. Una partícula lipídica de ácido nucleico que comprende una partícula lipídica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 16 y un ácido nucleico.
18. La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 17, en la que:

- (a) el ácido nucleico es uno cualquiera seleccionado entre el grupo que consiste de un ADN monocatenario, un ARN monocatenario, un polinucleótido monocatenario de un ADN y un ARN mezclado entre sí, un ADN bicatenario, un ARN bicatenario, un polinucleótido híbrido de ADN-ARN, y dos polinucleótidos de ADN y ARN mezclados entre sí;
- 5 (b) el ácido nucleico es un polinucleótido monocatenario o bicatenario que tiene un efecto de interferencia del ARN; o
(c) el ácido nucleico es un ARN monocatenario.
19. La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 17 o la reivindicación 18, en la que:
- 10 (a) La relación (N/P) entre el número de moléculas del lípido catiónico (N) y el número de átomos de fósforo derivados del ácido nucleico (P) es de 2,0 a 9,0; o
(b) La relación (N/P) entre el número de moléculas del lípido catiónico (N) y el número de átomos de fósforo derivados del ácido nucleico (P) es de 3,0 a 9,0.
20. La partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19, en la que:
- 15 (a) el tamaño de partícula promedio es de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 300 nm;
(b) el tamaño de partícula promedio es de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 200 nm; o
(c) el tamaño de partícula promedio es de aproximadamente 30 nm a aproximadamente 100 nm.
21. Una composición farmacéutica que comprende una partícula lipídica de ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20 como principio activo.
- 20 22. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 21, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad derivada de la expresión de un gen diana.
23. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 22, en la que la enfermedad derivada de la expresión de un gen diana es cáncer, enfermedad hepática, enfermedad de la vesícula, fibrosis, anemia, o enfermedad genética.

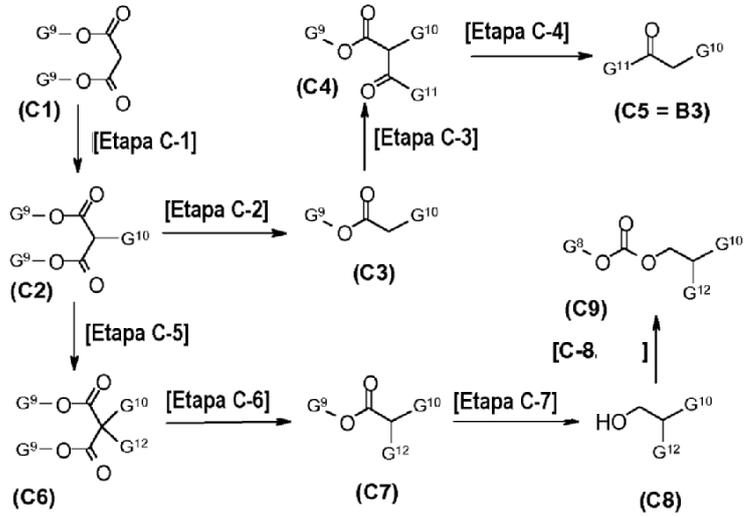
[Figura 1]



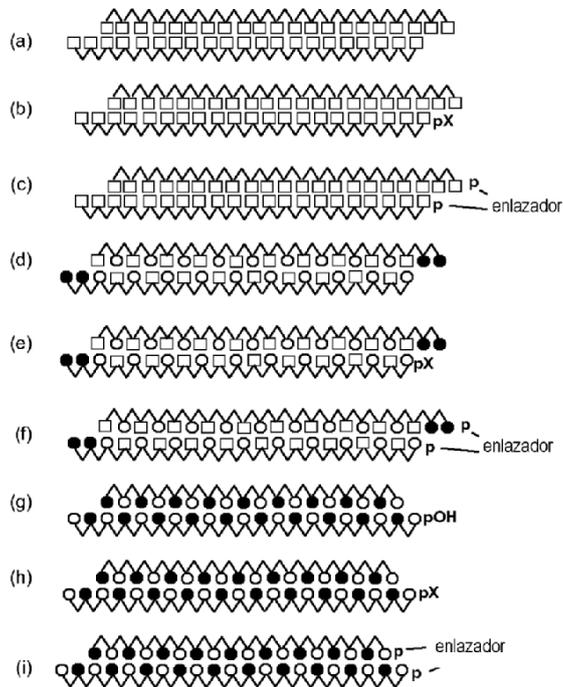
[Figura 2]



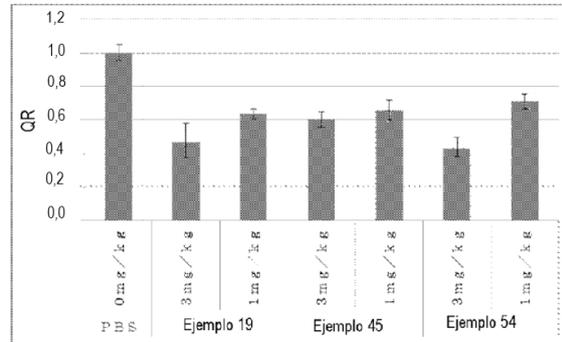
[Figura 3]



[Figura 4]



[Figura 5]



[Figura 6]

