研究论文

一种可电离阳离子脂质的合成工艺改进

沈卓艺[1,2]，李 明[2]，高 强[2]，董 霄[1]，何 军[1,2]*

（1. 上海大学医学院，上海 200444；2. 中国医药工业研究总院，医药先进制造国家工程研究中心，上海 201203）

摘要：可电离阳离子脂质 8-[(2- 羟乙基)[8-(壬氧基)-8- 氧代－辛基]氨基]辛酸 -1- 辛基壬酯（**1**）是核酸药物递送系统中的一种重要组分。该文改进了 **1** 的合成工艺。以正壬醇（**2**）为起始原料，与 8- 溴辛酸（**3**）经酯化反应得 8- 溴辛酸壬酯（**4**），正壬醛（**5**）与正辛烷溴化镁（**6**）经格氏反应，得到 9- 十七醇（**7**）。以 8- 氨基辛酸（**11**）为另一起始物料，与二碳酸二叔丁酯［$(Boc)_2O$］反应得 *N*-Boc-8- 氨基辛酸（**12**），**12** 与 **7** 经酯化反应得 *N*-Boc-8- 氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（**13**），**13** 与三氟乙酸经脱 Boc 保护反应，得 8- 氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（**14**）。后 **14** 与 **4** 经亲核取代反应，得 8-[[8-(壬氧基)-8- 氧代 - 辛基]氨基]辛酸 -1- 辛基壬酯（**15**），最后 **15** 与 2- 溴乙醇经亲核取代反应，接入脂质头部，得目标产物 **1**。与已报道路线相比，总收率由 7.6%提至 32.7%（以 **2** 计），纯度 98.6%。**14** 制备 **1** 的 2 步反应收率由 20.1%提高至 49.2%。

关键词：阳离子脂质；核酸递送；合成

中图分类号：TQ460.4 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-8255(2025)03-0341-05

引用：沈卓艺，李 明，高 强，等．一种可电离阳离子脂质的合成工艺改进［J］．中国医药工业杂志，2025, 56(3)：0341-0345．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.03.008

Improved Synthetic Process of an Ionizable Cationic Lipid

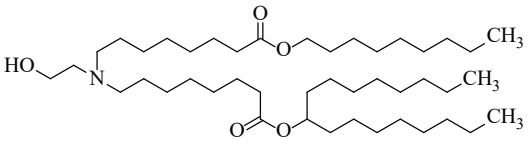
SHEN Zhuoyi[1,2], LI Ming[2], GAO Qiang[2], DONG Xiao[1], HE Jun[1,2]*

(*1. School of Medicine, Shanghai University, Shanghai 200444; 2. National Advanced Medical Engineering Research Center, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: The ionizable cationic lipid, heptadecan-9-yl 8-[(2-hydroxyethyl)[8-(nonyloxy)-8-oxooctyl]amino]-octanoate(**1**), is an important component in delivery systems of nucleic acid drugs. In this paper, an improved synthetic process of **1** was developed. Nonyl 8-bromooctanoate(**4**) was synthesized by esterification from the commercially available material 1-nonanol(**2**) with 8-bromooctanoic acid(**3**). Heptadecan-9-ol(**7**) was synthesized by Grignard reaction from nonanal(**5**) with *n*-octylmagnesium bromide(**6**). 8-Aminooctanoic acid(**11**), as another starting material, was reacted with *di-tert*-butyl dicarbonate[$(Boc)_2O$] to obtain 8-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]octanoic acid(**12**). 8-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]octanoate-1-octylnonyl ester(**13**), which was synthesized by esterification from **12** with **7**, reacted with trifluoroacetic acid to obtain 8-aminooctanoate-1-octylnonyl ester(**14**). Then, 8-[[8-(nonyloxy)-8-oxooctyl]amino]-octanoate-1-octylnonyl ester(**15**) was synthesized via the nucleophilic substitution reaction with **14** and **4**. Finally, the target **1** was obtained from **15** and 2-bromoethanol by nucleophilic substitution reaction with the purity of 98.6%. Compared with the reported routes, the overall yield increased from 7.6% to 32.7%(based on **2**), and the yield of the two-step reaction from **14** to **1** raised from 20.1% to 49.2%.

Key Words: cationic lipids; nucleic acid delivery; synthesis

美国 Moderna 公司研发的 8-[(2- 羟乙基)[8-(壬氧基)-8- 氧代 - 辛基] 氨基] 辛酸 -1- 辛基壬酯（通常称为 Lipid 5[1]，**1**，图 1），是一种可以递送核酸药物的高效、安全的可电离阳离子脂质。由 **1** 与胆固醇、辅助磷脂和聚乙二醇化脂质组成的脂质纳米粒可用于静脉注射，其中 **1** 可与带负电荷的核酸分子（如 DNA 或 RNA）紧密结合[2]，形成稳定的复合物，从而有效保护核酸药物免受核酸酶的降解而失去活性，同时提高药物在细胞内的转运效率，减轻不良反应，提高患者的治疗体验和生活质量，有望为临床治疗多种肿瘤和遗传性疾病提供新的策略和手段[3—4]。



1

图 1　1 的化学结构

Fig.1　Chemical Structure of **1**

目前，文献[5—9]报道的 **1** 合成路线主要有以下 2 条（图 2）。

路线一[5—7]：以正壬醇（**2**）为起始原料，先与 8- 溴辛酸（**3**）经酯化反应，得 8- 溴辛酸壬酯（**4**）。以正壬醛（**5**）为另一起始原料，与正辛烷溴化镁（**6**）经格氏反应，得 9- 十七醇（**7**）。**7** 与 **3** 经酯化反应，得 8- 溴辛酸 -1- 辛基壬酯（**8**），**8** 与乙醇胺经 S_N2 反应，得 8-(2- 羟乙基）氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（**9**），最后 **9** 与 **4** 经亲核取代反应，得目标产物 **1**。总收率 7.6%（以 **2** 计）。该路线在 S_N2 反应和亲核取代反应分别接了头部与长直链，这 2 步反应收率仅 18.0%（以 **8** 计）。

路线二[8—9]：**4** 与 **8** 的制备同路线一，将 **4** 与乙醇胺经 S_N2 反应，得 8-[(2- 羟乙基）氨基] 辛酸壬酯（**10**），**10** 与 **8** 经亲核取代反应，得目标产物 **1**。总收率 8.5%（以 **2** 计）。该路线由 **4** 制备得到 **1** 的 2 步反应收率为 20.1%（以 **4** 计）。该路线虽然提高了反应总收率，仍存在反应时间较长、反应温度较高、能耗较高等缺点。

本研究在路线一的基础上进行了工艺优化（图 3）。以 **2** 为起始原料与 **3** 经酯化反应，得到 **4**；**5** 与 **6** 经格氏反应得 **7**。以 8- 氨基辛酸（**11**）为另一起始物料，与二碳酸二叔丁酯 [$(Boc)_2O$] 反应得 *N*-Boc-8- 氨基辛酸（**12**），经稀盐酸调节 pH 值后用乙酸乙酯萃取。**12** 与 **7** 经酯化反应得 *N*-Boc-8- 氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（**13**），**13** 与三氟乙酸经脱 Boc 保护反应得 8- 氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（**14**）。后 **14** 与 **4** 经亲核取代反应，得 8-[[8-(壬氧基)-8- 氧代 - 辛基]- 氨基] 辛酸 -1- 辛基壬酯（**15**）。最后，**15** 与 2- 溴乙醇经亲核取代反应接入脂质头部，得目标产物 **1**。并优化了反应条件。

①制备 **4** 时，将脱水剂 1- 乙基 -3-(3- 二甲胺基丙基）碳二亚胺盐酸盐（EDC · HCl）的用量由 1.0 当量提至 2.5 当量，反应温度由 20 ℃提高至 30 ℃，反应时间由 18 h 延长至 24 h，优化后的酯化反应条件可使反应更完全，收率由 77.0%[9] 提高至 90.6%（以 **2** 计）。

②制备 **13** 时，同样将 EDC · HCl 的用量由 1.0 当量提至 2.5 当量，反应温度由 20 ℃提高至 30 ℃，反应时间由 18 h 延长至 24 h，并加入 *N*,*N*- 二异丙基乙胺（*N*,*N*-diisopropylethylamine，DIPEA）作为碱催化剂，收率为 86.5%（以 **7** 计）。

③制备 **14** 时，将三氟乙酸的用量由 2.0 当量提至 13.1 当量，使反应完全，使用饱和碳酸钠溶液而非氨水将 pH 至调至 7 ～ 8，防止 **14** 被氨解。

④制备 **15** 时，反应增加了氮气保护装置，防止 **15** 因不稳定而被氧化，并且经过筛选将 **4** 的用量调整为 0.6 当量，避免了 **15** 与 **4** 继续反应生成双取代副产物 **15'**，反应收率为 64.7%（以 **14** 计）。

本研究改变了目标产物 **1** 结构中脂质头部与侧链疏水长直链的连接顺序，先接上侧链、后接入头

收稿日期：2024-07-19

基金项目：上海市“科技创新行动计划”细胞与基因治疗专项项目 (23J21900600)、上海市“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项项目 (23S41900200)

作者简介：沈卓艺 (1998—)，女，硕士研究生，专业方向：新型核酸药物递送系统的研究。

通信作者：何　军 (1976—)，男，研究员，博士生导师，从事新型核酸药物递送系统的研究。

E-mail：chinaynhe@163.com

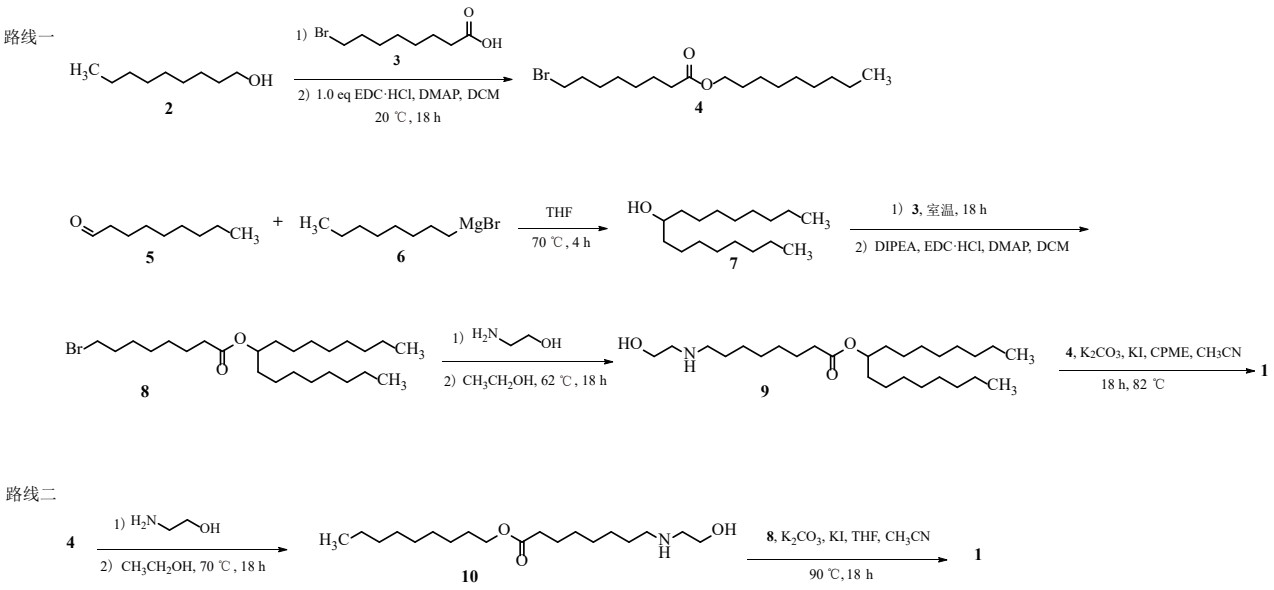


图 2　1 的文献合成路线

Fig.2　Synthetic Routes of **1** in the Literature

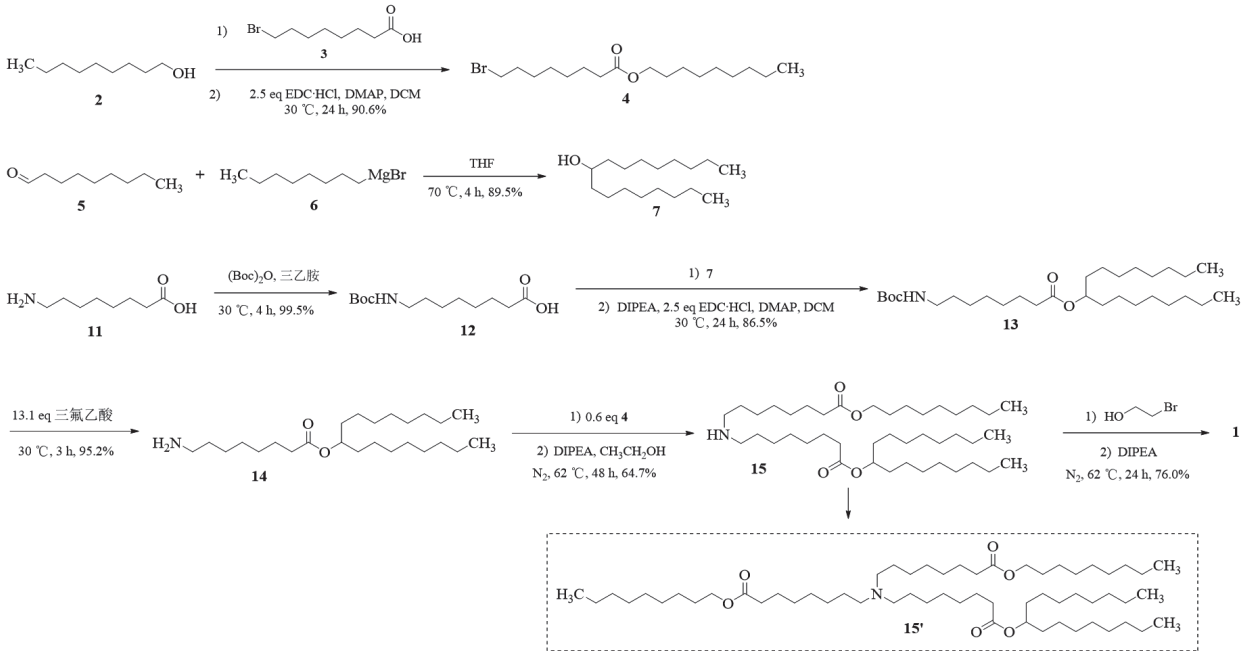


图 3　1 的优化合成路线

Fig.3　Improved Synthetic Route of **1**

部。由 **14** 制备 **1** 的 2 步反应总收率由 20.1%[8—9]（路线二中 **4** 制备 **1** 的两步反应，以 **4** 计）提高至 49.2%（以 **14** 计）。优化后的路线总收率 32.7%（以 **2** 计），纯度 98.6%。

实验部分

8- 溴辛酸壬酯（4）

将 DCM（200 mL）、**3**（24.18 g，108.38 mmol，上

海泰坦科技股份有限公司）和 **2**（13.03 g，90.31 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）加至 500 mL 反应瓶中，溶清后再加 EDC · HCl（43.28 g，225.78 mmol）和 4- 二甲胺基吡啶（1.83 g，18.06 mmol，4-dimethylaminopyridine，DMAP），于 30 ℃反应 24 h，TLC［展开剂：正己烷和乙酸乙酯（体积比 10 ∶ 1），10 % 磷钼酸乙醇显色］跟踪反应。反应液加 DCM（500 mL×2），分别用饱和碳酸氢钠水溶液（250 mL）和饱和氯化钠水溶液（250 mL）洗涤，静置分层，有机相合并后经无水硫酸镁干燥，过滤，滤液减压浓缩，剩余物经柱色谱［洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 6 ∶ 1）］分离、纯化，得淡黄色液体 **4**（28.58 g，90.6 %）。纯度 94.6 %［HPLC 归一化法：色谱柱 UHPLC XB-C_{18} 柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相 A 为三氟乙酸和水（体积比 1 ∶ 1 000），B 为三氟乙酸和甲醇（体积比 1 ∶ 1 000），梯度洗脱（0—1 min，A 90 % —85 %；1—15 min，A 85 %—25 %；15—17 min，A 25 %；17—30 min，A 25 %—0；30—32 min，A 0；32—32.5 min，A 0—90 %；32.5—40 min，A 90 %）；柱温 60 ℃；检测器 电喷雾检测器；流速 0.5 mL/min；进样量 5 μL］。^{1}H NMR（600 MHz, $CDCl_3$）δ: 3.99（t, *J*=6.7 Hz, 2H），3.33（t, *J*=6.8 Hz, 2H），2.22（t, *J*=7.5 Hz, 2H），1.75 ～ 1.83（m, 2H），1.54（dt, *J*=13.9、6.9 Hz, 4H），1.08 ～ 1.43（m, 18H），0.81（t, *J*=7.0 Hz, 3H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 349.20［M+H］$^+$。

9- 十七醇（7）

将镁条（1.50 g，61.3 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）、无水 THF（200 mL）、溴辛烷（13 g，67.43 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）和碘粒（17.08 g，上海泰坦科技股份有限公司）加至 500 mL 反应瓶中，加热至 70 ℃反应，镁条大部分分解后，缓慢滴加 **5**（8.70 g，61.3 mmol，上海泰坦科技股份有限公司），30 min 滴加完毕，保温反应 4 h。反应液用 1 mol/L 稀盐酸调至 pH 3 ～ 4 后，用乙酸乙酯（250 mL×2）萃取，有机相用纯净水（250 mL）洗涤后减压浓缩，剩余物经柱色谱［洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 15 ∶ 1）］分离、纯化，得白色固体 **7**（14.04 g，89.5 %）。mp 61.0 ～ 61.7 ℃（文献[10]：58.0 ～ 62.0 ℃）。ESI-MS（*m*/*z*）: 279.15［M+Na］$^+$。

***N*-Boc-8- 氨基辛酸（12）**

将 **11**（25 g，157.01 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）加至 1 000 mL 反应瓶中，加入纯净水（250 mL）搅拌溶清后，加入丙酮（500 mL）、$(Boc)_2O$（37.69 g，172.69 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）、三乙胺（31.78 g，314.06 mmol，上海泰坦科技股份有限公司），于 30 ℃反应 4 h，TLC［展开剂：DCM 和甲醇（体积比 20 ∶ 1），10 %磷钼酸乙醇显色］跟踪反应。反应液减压蒸除溶剂后，用 1 mol/L 稀盐酸调至 pH 4 ～ 5，用乙酸乙酯（500 mL×2）萃取，有机相合并后用饱和氯化钠水溶液（250 mL）洗涤，经无水硫酸镁干燥后，过滤，滤液减压浓缩，得无色油状物 **12**（40.52 g，99.5 %）。^{1}H NMR（400 MHz, $CHCl_3$-*d*）δ: 4.54（s, 1H），2.96 ～ 3.18（m, 2H），2.32（t, *J*=7.5 Hz, 2H），1.55 ～ 1.68（m, 2H），1.41 ～ 1.51（m, 11H），1.20 ～ 1.39（m, 7H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 282.17［M+Na］$^+$。

***N*-Boc-8- 氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（13）**

将 **7**（12.50 g，48.8 mmol）、**12**（15.20 g，58.6 mmol）和 DCM（210 mL）加至 500 mL 反应瓶中，搅拌溶清后，再加 DIPEA（35 mL）、DMAP（1.19 g，9.76 mmol）和 EDC·HCl（23.40 g，122 mmol），30 ℃搅拌反应 24 h，TLC（条件同化合物 12）跟踪反应。反应液用 1 mol/L 稀盐酸调至 pH 4 ～ 5，后用 DCM（500 mL×2）萃取，有机相合并后减压浓缩，剩余物经柱色谱［洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 10 ∶ 1）］分离、纯化，得淡黄色固体 **13**（20.98 g，86.5 %）。mp 43.1 ～ 45.5 ℃。^{1}H NMR（400 MHz, $CHCl_3$-*d*）δ: 4.85（p, *J*=6.2 Hz, 1H），3.09（t, *J*=7.1 Hz, 2H），2.26（t, *J*=7.5 Hz, 2H），1.56 ～ 1.66（m, 2H），1.40 ～ 1.55（m, 15H），1.16 ～ 1.38（m, 30H），0.87（t, *J*=6.8 Hz, 6H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 520.43［M+Na］$^+$。

8- 氨基辛酸 -1- 辛基壬酯（14）

将 **13**（19.70 g，39.57 mmol）和 DCM（60 mL）加至 250 mL 反应瓶中，搅拌溶清后再加三氟乙酸（40 mL），于 30 ℃反应 3 h，TLC［展开剂：正己烷

和乙酸乙酯（体积比 15 ∶ 1），10%磷钼酸乙醇显色］跟踪反应。反应液用饱和碳酸钠溶液调至 pH 7 ～ 8 后，用 DCM（500 mL×2）萃取，有机相合并后经无水硫酸镁干燥，过滤，滤液减压浓缩，剩余物经柱色谱［洗脱剂：石油醚、乙酸乙酯和甲醇（体积比 1 ∶ 2 ∶ 0.5）］分离、纯化，得黄色油状物 **14**（14.98 g，95.2%）。纯度 94.3%（HPLC 归一化法，条件同化合物 **4**）。^{1}H NMR（400 MHz, $CHCl_3$-*d*）δ: 7.82（br s, 2H）, 4.84（p, *J*=6.3 Hz, 1H）, 2.83 ～ 3.00（m, 2H）, 2.26（t, *J*=7.5 Hz, 2H）, 1.54 ～ 1.70（m, 4H）, 1.41 ～ 1.53（m, 4H）, 1.19 ～ 1.36（m, 30H）, 0.87（t, *J*=6.6 Hz, 6H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 398.40［M+H］$^+$。

8-［［8-（壬氧基）-8- 氧代－辛基］氨基］辛酸 -1- 辛基壬酯（15）

将 **14**（6 g，15.08 mmol）、**4**（3.18 g，9.05 mmol）、DIPEA（2.73 g，21.11 mmol）和乙醇（6 mL）加至 50 mL 反应瓶中，在氮气保护下，于 62 ℃反应 48 h，TLC［展开剂：正己烷、乙酸乙酯和甲醇（体积比 2 ∶ 4 ∶ 0.5），10%磷钼酸乙醇显色］跟踪反应。反应液用乙酸乙酯（70 mL×2）稀释，并用饱和碳酸氢钠水溶液（30 mL）和饱和氯化钠水溶液（30 mL）洗涤，静置分层，有机相合并后经无水硫酸镁干燥，过滤，滤液减压浓缩，剩余物经柱色谱［洗脱剂：石油醚和乙酸乙酯（体积比 1 ∶ 2）的混合溶液］分离、纯化，得淡黄色油状物 **15**（6.50 g，64.7%）。^{1}H NMR（400 MHz, $CDCl_3$）δ: 4.85（p, *J*=6.3 Hz, 1H）, 4.21（t, *J*=4.8 Hz, 2H）, 2.61（t, *J*=7.4 Hz, 4H）, 2.32（t, *J*=7.4 Hz, 2H）, 2.27（t, *J*=7.4 Hz, 4H）, 1.21 ～ 1.64（m, 62H）, 0.82 ～ 0.90（m, 9H）；ESI-MS（*m*/*z*）: 666.62［M+H］$^+$。

8-［（2- 羟乙基）［8-（壬氧基）-8- 氧代 - 辛基］-氨基］辛酸 -1- 辛基壬酯（1）

将 **15**（3.93 g，5.81 mmol）、2- 溴乙醇（1.10 g，8.72 mmol，上海泰坦科技股份有限公司）和 DIPEA（1.12 g，8.72 mmol）加至 25 mL 反应瓶中，在氮气保护下，于 62 ℃反应 24 h，TLC（条件同化合物 **15**）跟踪反应。反应液用乙酸乙酯（50 mL×2）稀释，并用饱和碳酸氢钠水溶液（30 mL）和饱和氯化钠水溶液（30 mL）洗涤，静置分层，有机相合并后经无水硫酸镁干燥，过滤，滤液减压浓缩，剩余物经柱色谱（条件同化合物 **14**）分离、纯化，得淡黄色油状物 **1**（3.18 g，76.0 %）。纯度 98.6 %（HPLC 条件同化合物 **4**）。^{1}H NMR（600 MHz, CDCl3）δ: 4.73 ～ 4.85（m, 1H）, 3.99（t, *J*=6.8 Hz, 2H）, 3.45（t, *J*=5.2 Hz, 2H）, 2.50（s, 2H）, 2.32 ～ 2.42（m, 4H）, 2.21（q, *J*=7.5 Hz, 4H）, 1.12 ～ 1.82（m, 62H）, 0.74 ～ 0.87（m, 9H）。ESI-MS（*m*/*z*）: 710.67［M+H］$^+$。

参考文献：

[1] SABNIS S, KUMARASINGHE E S, SALERNO T, *et al*. A novel amino lipid series for mRNA delivery: improved endosomal escape and sustained pharmacology and safety in non-human primates［J］. *Mol Ther*, 2018, **26**(6): 1509-1519.

[2] 江芷萱，贾瑞沂，丁 源，等. 用于胶质母细胞瘤治疗的 siRNA 非病毒递送系统研究进展［J］. 中国医药工业杂志，2024, **55**(10): 1307-1317.

[3] CI L, HARD M, ZHANG H, *et al*. Biodistribution of lipid 5, mRNA, and its translated protein following intravenous administration of mRNA-encapsulated lipid nanoparticles in rats［J］. *Drug Metab Dispos*, 2023, **51**(7): 813-823.

[4] HUANG X, KONG N, ZHANG X, *et al*. The landscape of mRNA nanomedicine［J］. *Nat Med*, 2022, **28**(6): 2273-2287.

[5] BENENATO K E, MARK C, EDWARD H. Compounds and compositions for intracellular delivery of therapeutic agents: WO, 2020/061367A1［P］. 2020-03-26.

[6] BENENATO K E, MARK C, EDWARD H, *et al*. Branched tail lipid compounds and compositions for intracellular delivery of therapeutic agents: US, 2021087135A1［P］. 2021-03-25.

[7] 南京康德祥医药科技有限公司. 一种 4- 辛基苯乙醇的制备方法：中国，111978154A［P］. 2020-11-24.

[8] HAMILTON G L, PATWARDHAN N N, SAGO C D, *et al*. Nanomaterials comprising carbonates: WO, 2022140239A1［P］. 2022-06-30.

[9] WANG Z H. Ionizable lipid molecule, preparation method therefor, and application thereof in preparation of lipid nanoparticle: WO, 2022166213A1［P］. 2022-08-11.

[10] CHEN G Y, LAN S C, LIN P Y, *et al*. Synthesis and characterization of a thiadiazole/benzoimidazole-based copolymer for solar cell applications. Journal of Polymer Science［J］. *J Polym Sci Pol Chem*, 2010, **48**(20): 4456-4464.