



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201021853 A1

(43)公開日： 中華民國 99 (2010) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：098138946

(22)申請日： 中華民國 98 (2009) 年 11 月 17 日

(51)Int. Cl. : *A61K9/127 (2006.01)*

A61K47/48 (2006.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/11/17 美國 61/115,287

2008/11/17 美國 61/115,365

2008/11/17 美國 61/115,348

(71)申請人：安龍製藥公司 (美國) ENZON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：趙 洪 ZHAO, HONG (US)；顏威利 YAN, WEILI (CN)；史連軍 SHI, LIANJUN (CN)；洛伊森 麥克森 ROYZEN, MAKSIM (US)；武德淳 WU, DECHUN (US)

(74)代理人：桂齊恆；閻啟泰

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：55 項 圖式數：5 共 149 頁

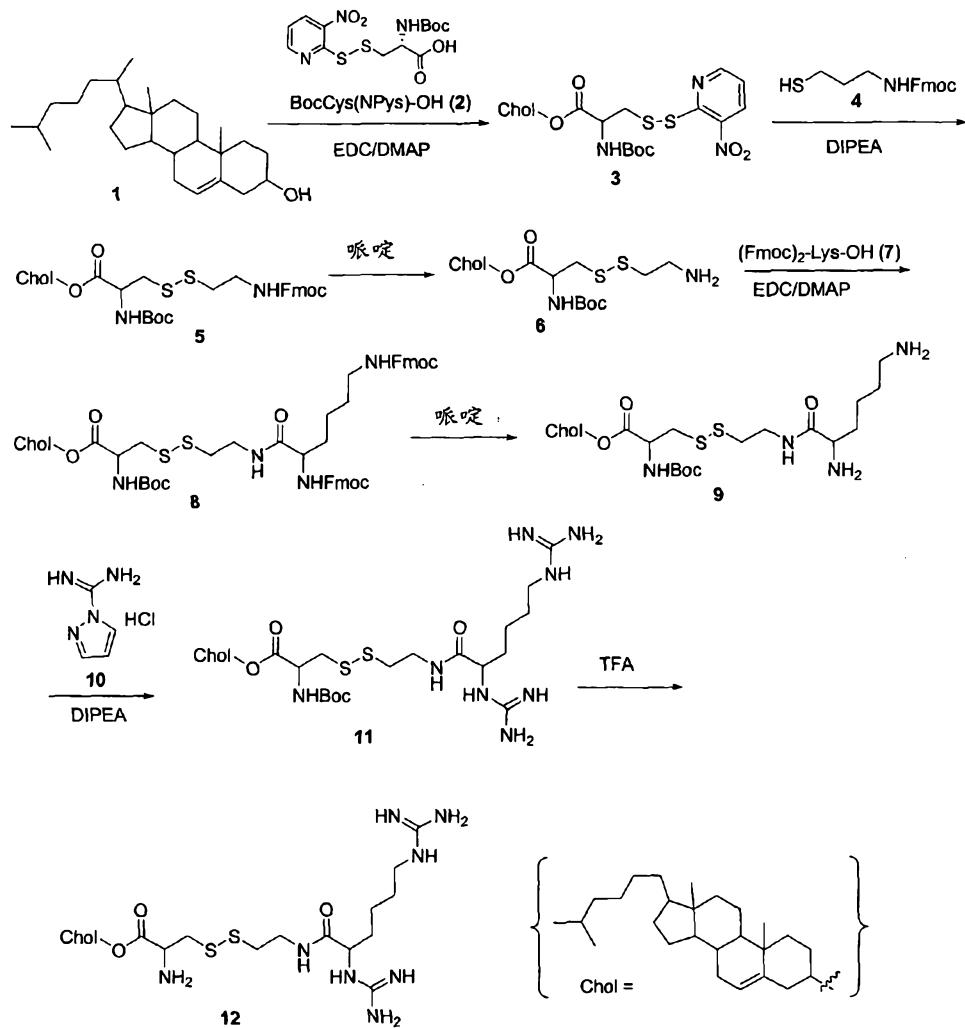
(54)名稱

用於核酸遞送系統的可釋放陽離子脂質

RELEASABLE CATIONIC LIPIDS FOR NUCLEIC ACIDS DELIVERY SYSTEMS

(57)摘要

本發明係針對用於遞送核酸之可釋放陽離子脂質及奈米粒子組成物，以及使用其調節標靶基因表現之方法。詳言之，本發明係關於包含酸不穩定鍵聯基之陽離子脂質，以及含該脂質之奈米粒子組成物。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201021853 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：098138946

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 11 月 17 日

(51)Int. Cl. : *A61K9/127 (2006.01)*

A61K47/48 (2006.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/11/17 美國 61/115,287

2008/11/17 美國 61/115,365

2008/11/17 美國 61/115,348

(71)申請人：安龍製藥公司 (美國) ENZON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：趙 洪 ZHAO, HONG (US)；顏威利 YAN, WEILI (CN)；史連軍 SHI, LIANJUN (CN)；洛伊森 麥克森 ROYZEN, MAKSIM (US)；武德淳 WU, DECHUN (US)

(74)代理人：桂齊恆；閻啟泰

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：55 項 圖式數：5 共 149 頁

(54)名稱

用於核酸遞送系統的可釋放陽離子脂質

RELEASABLE CATIONIC LIPIDS FOR NUCLEIC ACIDS DELIVERY SYSTEMS

(57)摘要

本發明係針對用於遞送核酸之可釋放陽離子脂質及奈米粒子組成物，以及使用其調節標靶基因表現之方法。詳言之，本發明係關於包含酸不穩定鍵聯基之陽離子脂質，以及含該脂質之奈米粒子組成物。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

【相關申請案之交互參照】

本申請案主張 2008 年 11 月 17 日申請之美國臨時專利申請案第 61/115,287、61/115,365 及 61/115,348 號之優先權權益，其各者之內容係以引用方式併入本文中。

【先前技術】

已提出使用核酸之療法來治療各種疾病。一種所提出之此類核酸療法為反義療法是，其中治療基因可選擇性地調節與疾病相關之基因表現且使可能與治療疾病之其他治療方式相關之副作用降至最低。

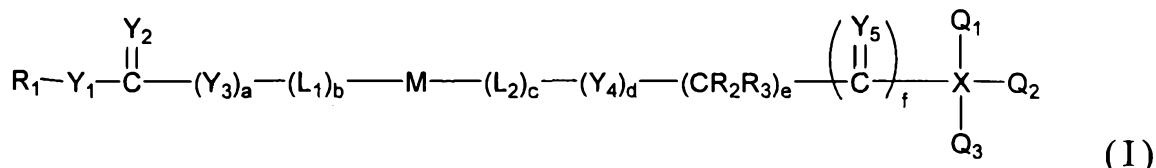
然而，使用核酸之療法由於受到與這類治療性核酸之遞送及穩定性相關之難題而迄今一直受到限制。已提出若干基因遞送系統以克服以上提及之難題，且有效地在試管內及活體內將治療基因引入標靶區域，諸如癌細胞或其他細胞或組織。一個這類試圖改良遞送及增進治療性基因之細胞吸收的嘗試已經採用脂質體作為遞送媒質。不幸地，目前可利用的脂質體不能有效地將寡核苷酸遞送至身體內，雖然在質體遞送方面已做到一些進展。

儘管有這些先前的嘗試及進展，仍然有提供改良之核酸遞送系統的需求。本發明即解決此需求。

【發明內容】

本發明提供含有酸不穩定鍵聯基之可釋放陽離子脂質，以及用於核酸遞送之含有該脂質之奈米粒子組成物。多核酸，諸如寡核苷酸，係被包封於含有陽離子脂質、融合性脂質及PEG脂質之混合物的奈米粒子複合物內。

根據本發明之此態樣，用於遞送核酸（亦即寡核苷酸）之可釋放陽離子脂質具有式（I）：



其中

R_1 為膽固醇或其類似物；

Y_1 為 O、S 或 NR_4 ；

Y_2 和 Y_5 獨立地為 O、S 或 NR_5 ；

$\text{Y}_{3,4}$ 獨立地為 O、S 或 NR_6 ；

L_{1-2} 為獨立選擇之雙官能鍵聯基；

M 為酸不穩定鍵聯基；

(a)、(d)和(f)獨立地為零或 1；

(b)、(c)和(e)獨立地為 0 或正整數；

X 為 C、N 或 P；

Q_1 為 H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(\text{L}_{11})_{d1}-\text{R}_{11}$ ；

Q_2 為 H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(\text{L}_{12})_{d2}-\text{R}_{12}$ ；

Q_3 為孤電子對、($=\text{O}$)、H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(\text{L}_{13})_{d3}-\text{R}_{13}$ ；

其限制條件為

(i) 當 X 為 C 時， Q_3 不為孤電子對或($=\text{O}$)；

(ii) 當 X 為 N 時，Q₃ 為孤電子對；及

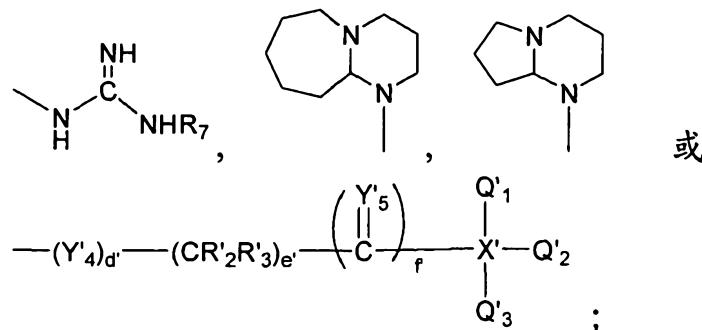
(iii) 當 X 為 P 時，Q₃ 為 (=O) 且 (f) 為 0，

其中

L₁₁、L₁₂ 及 L₁₃ 為獨立選擇之雙官能間隔基；

(d1)、(d2) 及 (d3) 獨立地為 0 或正整數；

R₁₁、R₁₂ 及 R₁₃ 獨立地為氫、NH₂、



其中

Y'₄ 為 O、S 或 NR'₆；

Y'₅ 獨立地為 O、S 或 NR'₅；

(d') 和 (f') 獨立地為 0 或 1；

(e') 為 0 或正整數；

X' 為 C、N 或 P；

Q'₁ 為 H、C₁₋₆ 烷基、NH₂ 或 -(L'₁₁)_{d'1}-R'₁₁；

Q'₂ 為 H、C₁₋₆ 烷基、NH₂ 或 -(L'₁₂)_{d'2}-R'₁₂；

Q'₃ 為孤電子對、(=O)、H、C₁₋₆ 烷基、NH₂ 或 -(L'₁₃)_{d'3}-R'₁₃；

其限制條件為

(i) 當 X' 為 C 時，Q'₃ 不為孤電子對或 (=O)；

(ii) 當 X' 為 N 時，Q'₃ 為孤電子對；及

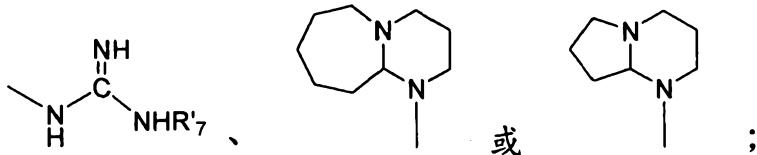
(iii) 當 X' 為 P 時， Q'_{1-3} 為 (=O) 且 (f') 為 0，

其中

L'_{11} 、 L'_{12} 及 L'_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

(d'1)、(d'2)及(d'3)獨立地為 0 或正整數；

R'_{11} 、 R'_{12} 及 R'_{13} 獨立地為氫、 NH_2 、

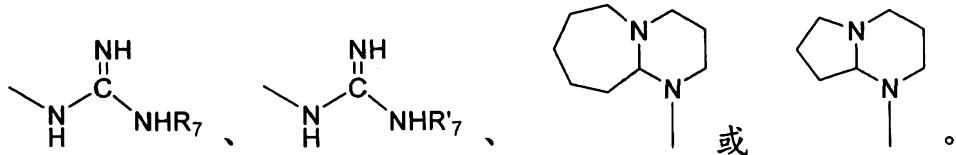


R_{2-6} 、 R'_{2-3} 及 R'_{5-6} 獨立地選自於氫、羥基、胺、 C_{1-6}

烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炫基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炫基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基；以及

R_7 及 R'_{7-} 獨立地選自於氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} �炫基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} �炫基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基，

其限制條件為 Q_{1-3} 和 Q'_{1-3} 中至少一者包括



本發明亦提供用於核酸遞送之奈米粒子組成物。

根據本發明，用於遞送核酸（亦即寡核苷酸）之奈米粒子組成物包含：

(i) 式(I)化合物；

(ii) 融合性脂質；及

(iii) PEG 脂質。

在本發明之另一態樣中，提供在活體內及試管內將核酸（較佳為寡核苷酸）遞送至細胞或組織之方法。由本文所述之方法引入之寡核苷酸可調節標靶基因之表現。

本發明之另一態樣提供抑制哺乳動物（較佳為人類）之標靶基因（亦即致癌基因及與疾病相關之基因）表現之方法。該方法包括使諸如癌細胞之細胞或組織與自本文所述之奈米粒子組成物製備之奈米粒子/奈米粒子複合物接觸。包封於奈米粒子內之寡核苷酸被釋放，其接著介導所治療細胞或組織中 mRNA 或蛋白質之下調。用奈米粒子治療容許在惡性疾病治療（諸如癌細胞生長之抑制）中調節標靶基因之表現（及伴隨的與其相關之益處）。這類療法可作為單一治療進行或作為組合療法的一部分與一或多種適用及/或批准的治療一起進行。

在進一步態樣中，本發明提供製造式(I)化合物以及含有該化合物之奈米粒子的方法。

本文所述之可釋放陽離子脂質之奈米粒子組成物提供用於活體內及試管內投予核酸的手段。

本文所述之可釋放陽離子脂質可中和核酸的負電荷並促進其中含有核酸之奈米粒子的細胞吸收。本文之陽離子脂質提供每膽固醇部分多單位的陽離子部分，以提供在(i)中和核酸負電荷及(ii)與核酸形成緊密離子複合物方面的高效率。此技術對於治療性寡核苷酸之遞送及使用治療性寡

核苷酸治療哺乳動物（即人類）是有利的。

本文所述之化合物提供藉由與核酸形成多離子複合物控制奈米粒子大小的手段。

本文所述之化合物使奈米粒子複合物及其中的核酸在生物體液中穩定。不受任何理論約束，咸信奈米粒子複合物增強所包封之核酸的穩定性，至少部分地因為庇護分子免受核酸酶作用，從而保護其免於降解。

本文所述之陽離子脂質，相較於通常具有大約或小於10%負載之技術已知中性或帶負電之奈米粒子，允許高效率（亦即約50%、70%、較佳80%以上）的核酸（寡核苷酸）負載。不受任何理論拘束，該高負載有部份可因為下述事實而達成：在本文所述之式(I)可釋放陽離子脂質中具有高pKa(13-14)之胍鎂基團與核酸之磷酸基團形成實質上緊密兩性的離子氫鍵，藉此使得更多的核酸得以有效地填充至奈米粒子內部隔室內。

本文所述之奈米粒子提供優於中性或帶負電奈米粒子的進一步優點，在於奈米粒子的聚集或沉澱較不可能發生。不受任何理論拘束，所要的性質有部份是歸因於與核酸形成氫鍵或靜電作用之陽離子脂質係被包封在奈米粒子內，且非陽離子/融合性脂質與PEG脂質包圍在該可釋放陽離子脂質與核酸外的事實。

奈米粒子可在廣pH範圍，諸如約2至約12下製備。本文所述之奈米粒子亦可臨床上在所要的生理pH，諸如約7.2至約7.6下使用。

本文所述之奈米粒子容許細胞在試管內和活體內轉染而無需藉助轉染劑。奈米粒子之高轉染效率亦提供將治療性核酸遞送至細胞內的手段。

式(I)化合物包括酸不穩定鍵聯基。這種鍵聯基促進奈米粒子和核內體在酸性環境中的破壞/去穩定作用。酸性環境可包括細胞外及細胞內環境。細胞內酸性環境包括例如在細胞質內的核內體。因此，本文所述之化合物幫助釋放出被包含在奈米粒子內之治療劑而從核內體逃逸至細胞質中。

本文所述之奈米粒子遞送系統亦容許足量之治療性寡核苷酸可經由 EPR (增強滲透與滯留) 作用而在所欲標靶區域 (諸如癌細胞) 處可供選擇性地利用。本文所述之奈米粒子組成物因此改良癌細胞或組織中特定 mRNA 下調。

根據本發明，本文所述之奈米粒子可遞送一或多種相同或不同治療劑 (例如反應寡核苷酸)，從而獲得在疾病治療方面之協同效應。

其他及另外優點將自以下敘述顯而易知。

就本發明之目的而言，術語「殘基」應理解為意謂其所指之化合物，例如膽固醇等，在已經與另一化合物進行取代反應後所殘留之部分。

就本發明之目的而言，術語「烷基」係指飽和脂族烴，包括直鏈、支鏈及環狀烷基。術語「烷基」亦包括烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、環烷基烷基、雜環烷基及 C₁₋₆ 烷基羧基烷基。較佳地，烷基具有 1 至 12 個碳。更佳地，其為

約 1 至 7 個碳、又更佳約 1 至 4 個碳之低碳烷基。烷基可經取代或未經取代。經取代時，取代基較佳包括鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氟基、烷基、烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、疏基、羥基、氟基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 紛基、芳基及胺基。

就本發明之目的而言，術語「經取代」係指增加一種來自以下之群之部分或以其置換在官能基或化合物內所含之一或多個原子：鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氟基、烷基、烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、疏基、羥基、氟基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 烷基羧基烷基、芳基及胺基。

就本發明之目的而言，術語「烯基」係指含有至少一個碳-碳雙鍵之基團，包括直鏈、支鏈及環狀基團。較佳地，烯基具有約 2 至 12 個碳。更佳地，其為約 2 至 7 個碳、又更佳約 2 至 4 個碳之低碳烯基。烯基可經取代或未經取代。經取代時，取代基較佳包括鹵基、氧基、疊氮基、硝基、氟基、烷基、烷氧基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氧基烷基、烷基胺基、三鹵甲基、羥基、疏基、羥基、氟基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 紛基、芳基及胺基。

就本發明之目的而言，術語「炔基」係指含有至少一個碳-碳參鍵之基團，包括直鏈、支鏈及環狀基團。較佳地，

炔基具有約 2 至 12 個碳。更佳地，其為約 2 至 7 個碳、又更佳約 2 至 4 個碳之低碳炔基。炔基可經取代或未經取代。經取代時，取代基較佳包括齒基、氧基、疊氮基、硝基、氰基、烷基、烷氨基、烷基-硫基、烷基-硫基-烷基、烷氨基烷基、烷基胺基、三齒甲基、羥基、疏基、羥基、氰基、烷基矽烷基、環烷基、環烷基烷基、雜環烷基、雜芳基、烯基、炔基、C₁₋₆ 煙基、芳基及胺基。「炔基」之實例包括炔丙基、丙炔及 3-己炔。

就本發明之目的而言，術語「芳基」係指含有至少一個芳族環之芳族煙環系統。芳族環可視情況與其他芳族煙環或非芳族煙環耦合或以其他方式連接。芳基之實例包括例如苯基、萘基、1,2,3,4-四氫萘及聯苯。芳基之較佳實例包括苯基及萘基。

就本發明之目的而言，術語「環烷基」係指 C₃₋₈ 環煙。環烷基之實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基及環辛基。

就本發明之目的而言，術語「環烯基」係指含有至少一個碳-碳雙鍵之 C₃₋₈ 環煙。環烯基之實例包括環戊烯基、環戊二烯基、環己烯基、1,3-環己二烯基、環庚烯基、環庚三烯基及環辛烯基。

就本發明之目的而言，術語「環烷基烷基」係指經 C₃₋₈ 環烷基取代之烷基。環烷基烷基之實例包括環丙基甲基及環戊基乙基。

就本發明之目的而言，術語「烷氨基」係指經由氧橋

與母分子部分連接之具有指示數目之碳原子的烷基。烷氨基之實例包括例如甲氨基、乙氨基、丙氨基及異丙氨基。

就本發明之目的而言，「烷芳基」係指經烷基取代之芳基。

就本發明之目的而言，「芳烷基」係指經芳基取代之烷基。

就本發明之目的而言，術語「烷氨基烷基」係指經烷氨基取代之烷基。

就本發明之目的而言，術語「烷基-硫基-烷基」係指烷基-S-烷基硫醚，例如甲基硫基甲基或甲基硫基乙基。

就本發明之目的而言，術語「胺基」係指正如此項技術中已知，藉由一或多個氨基被有機基團置換而自氮衍生之含氮基團。舉例而言，術語「醯基胺基」及「烷基胺基」係指分別經醯基及烷基取代基取代之特定 N-取代有機基團。

就本發明之目的而言，術語「烷基羰基」係指經烷基取代之羰基。

就本發明之目的而言，術語「鹵素」或「鹵基」係指氯、氟、溴及碘。

就本發明之目的而言，術語「雜環烷基」係指含有至少一個選自氮、氧及硫之雜原子的非芳族環系統。雜環烷基環視情況可與其他雜環烷基環及/或非芳族烴環稠合或以其他方式連接。較佳雜環烷基具有 3 至 7 個成員。雜環烷基之實例包括例如哌啶、嗎啉、哌啶、四氫呋喃、吡咯啶

及吡唑。較佳雜環烷基包括哌啶基、哌嗪基、嗎啉基及吡咯啶基。

就本發明之目的而言，術語「雜芳基」係指含有至少一個選自氮、氧及硫之雜原子的芳族環系統。雜芳基環可與一或多個雜芳基環、芳族或非芳族烴環或雜環烷基環稠合或以其他方式連接。雜芳基之實例包括例如吡啶、呋喃、噻吩、5,6,7,8-四氫異噁啉及嘧啶。雜芳基之較佳實例包括噻吩基、苯并噻吩基、吡啶基、噁啉基、吡嗪基、嘧啶基、咪唑基、苯并咪唑基、呋喃基、苯并呋喃基、噻唑基、苯并噻唑基、異噁唑基、噁二唑基、異噻唑基、苯并異噻唑基、三唑基、四唑基、吡咯基、吲哚基、吡唑基及苯并吡唑基。

就本發明之目的而言，術語「雜原子」係指氮、氧及硫。

在一些具體實例中，經取代之烷基包括羧基烷基、氨基烷基、二烷基氨基、羥基烷基及疏基烷基；經取代之烯基包括羧基烯基、氨基烯基、二烯基氨基、羥基烯基及疏基烯基；經取代之炔基包括羧基炔基、氨基炔基、二炔基氨基、羥基炔基及疏基炔基；經取代之環烷基包括諸如4-氯環己基之部分；芳基包括諸如萘基之部分；經取代之芳基包括諸如3-溴苯基之部分；芳烷基包括諸如甲苯基之部分；雜烷基包括諸如乙基噻吩之部分；經取代之雜芳基包括諸如3-甲氧基噁唑之部分；烷氧基包括諸如甲氧基之部分；以及苯氧基包括諸如3-硝基苯氧基之部分。齒基應理

解為包括氟基、氯基、碘基及溴基。

就本發明之目的而言，「正整數」應理解為包括等於或大於 1 且如將為一般熟習此項技術者所瞭解，在一般熟習此項技術者視為合理之範圍內的整數。

就本發明之目的而言，術語「鍵聯」應理解為包括一個基團與另一個基團之共價（較佳）或非共價連接，亦即為化學反應之結果。

就本發明之目的而言，術語「有效量」及「足量」應意謂達成如一般熟習此項技術者所理解之所需效果或治療效果之量。

使用本文所述之奈米粒子組成物形成之術語「奈米粒子」及/或「奈米粒子複合物」係指以脂質為基之奈米複合物。奈米粒子含有包封於陽離子脂質、融合性脂質與 PEG 脂質之混合物中的核酸，諸如寡核苷酸。或者，奈米粒子可在無核酸之情況下形成。

就本發明之目的而言，術語「治療性寡核苷酸」係指用作醫藥或診斷劑之寡核苷酸。

就本發明之目的而言，「基因表現之調節」應理解為廣泛包括在不考慮投藥途徑之情況下，相較於未經本文所述之奈米粒子治療時所觀測到之基因表現，下調或上調任何類型的基因，較佳為與癌症及炎症相關之基因。

就本發明之目的而言，「標靶基因表現之抑制」應理解為意謂相較於無本文所述之奈米粒子治療時所觀測之結果，mRNA 表現或轉譯蛋白質之量被降低或削弱。這種抑制

之適合檢定包括例如使用熟習此項技術者已知之技術檢查蛋白質或 mRNA 含量，諸如圓點墨點法、北方墨點法、原位雜交、ELISA、免疫沈澱、酶功能以及熟習此項技術者已知之表現型檢定。所治療狀況可例如由細胞（較佳癌細胞）或組織中之 mRNA 含量降低來證實。

泛言之，當獲得所想要的反應時，應視為成功抑制或治療。舉例而言，可藉由獲得例如 10% 或更高（亦即 20%、30%、40%）與腫瘤生長抑制相關之基因下調來界定成功抑制或治療。或者，可藉由相較於未經本文所述之奈米粒子治療時所觀測之結果，在癌細胞或組織中致癌基因 mRNA 含量（包括熟習此項技術者預期之其他臨床標記物）方面，得到至少 20% 或較佳 30%、更佳 40% 或更高（亦即 50% 或 80%）的降低來界定成功治療。

另外，在說明中為方便起見使用單數術語決不意欲具有如此的限制。因此，舉例而言，提及包含寡核苷酸、膽固醇類似物、陽離子脂質、融合性脂質、PEG 脂質等之組成物係指該寡核苷酸、膽固醇類似物、陽離子脂質、融合性脂質、PEG 脂質等之一或多個分子。亦涵蓋寡核苷酸可為相同或不同類型之基因。亦應瞭解本發明不限於本文中揭示之特定構型、製程步驟及物質，因為這類構型、製程步驟及物質可在某種程度上變化。

【實施方式】

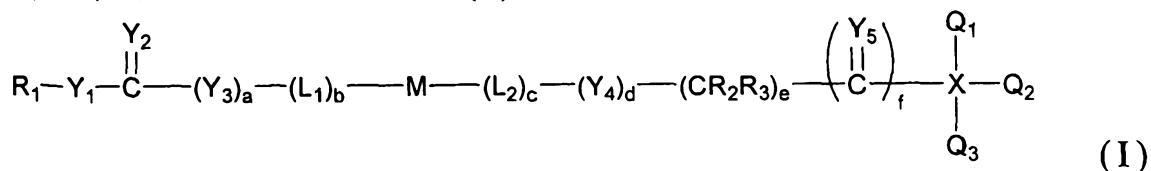
在本發明之一態樣中，提供含有多陽離子部分之可釋放脂質。根據本發明提供用於遞送核酸之含有該脂質之奈

米粒子組成物。該奈米粒子組成物可含有(i)式(I)化合物；(ii)融合性脂質；及(iii)PEG脂質。所涵蓋之核酸包括寡核苷酸或質體，較佳為寡核苷酸。藉由使用本文所述之奈米粒子組成物製備之奈米粒子包括被包封在該脂質載體內之核酸。

A. 式(I)之可釋放陽離子脂質

1. 概述

根據本發明，提供式(I)之化合物：



其中：

R_1 為膽固醇或其類似物；

Y_1 為O、S或 NR_4 ，較佳為O；

Y_2 和 Y_5 獨立地為O、S或 NR_5 ，較佳為O；

Y_{3-4} 獨立地為O、S或 NR_6 ，較佳為O或 NR_6 ；

L_{1-2} 為獨立選擇之雙官能鍵聯基；

M為酸不穩定鍵聯基；

(a)、(d)和(f)獨立地為零或1；

(b)、(c)和(e)獨立地為零或正整數，較佳為零或約1至約10之整數（例如1、2、3、4、5、6）；

X為C、N或P；

Q_1 為H、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 NH_2

或 $-(\text{L}_{11})_{\text{d}1}-\text{R}_{11}$ ；

Q_2 為H、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 NH_2

或 $-(L_{12})_{d2}-R_{12}$ ；

Q_3 為孤電子對、($=O$)、H、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 NH_2 或 $-(L_{13})_{d3}-R_{13}$ ；

其限制條件為

(i) 當 X 為 C 時， Q_3 不為孤電子對或($=O$)；

(ii) 當 X 為 N 時， Q_3 為孤電子對；及

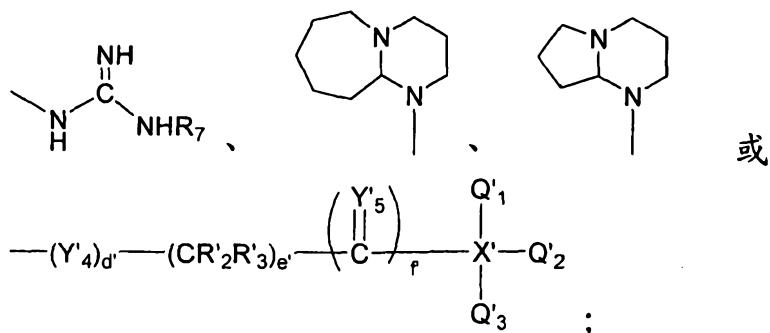
(iii) 當 X 為 P 時， Q_3 為($=O$)且(f)為 0，

其中

L_{11} 、 L_{12} 及 L_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

(d1)、(d2)及(d3)獨立地為 0 或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數（例如 1、2、3、4、5、6），且更佳為零、1、2、3、4；

R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 獨立地為氫、 NH_2 、



其中

Y'_4 為 O、S 或 NR'_6 ，較佳為 O 或 NR'_6 ；

Y'_5 獨立地為 O、S 或 NR'_5 ，較佳為 O；

(d')和(f')獨立地為零或 1；

(e')為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數（例如 1、2、3、4、5、6）；

X' 為 C、N 或 P；

Q'_1 為 H、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 NH_2 或 $-(L'_{11})_{d'1}-R'_{11}$ ；

Q'_2 為 H、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 NH_2 或 $-(L'_{12})_{d'2}-R'_{12}$ ；

Q'_3 為孤電子對、($=O$)、H、 C_{1-6} 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、 NH_2 或 $-(L'_{13})_{d'3}-R'_{13}$ ；

其限制條件為

(i) 當 X' 為 C 時， Q'_3 不為孤電子對或($=O$)；

(ii) 當 X' 為 N 時， Q'_3 為孤電子對；及

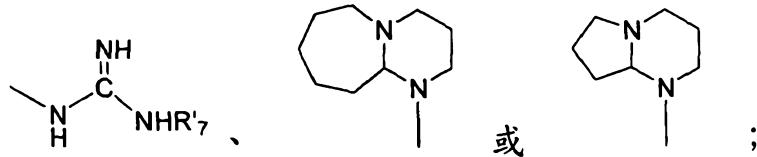
(iii) 當 X' 為 P 時， Q'_3 為($=O$)且(f')為 0，

其中

L'_{11} 、 L'_{12} 及 L'_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

($d'1$)、($d'2$)及($d'3$)獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數（例如 1、2、3、4、5、6）；

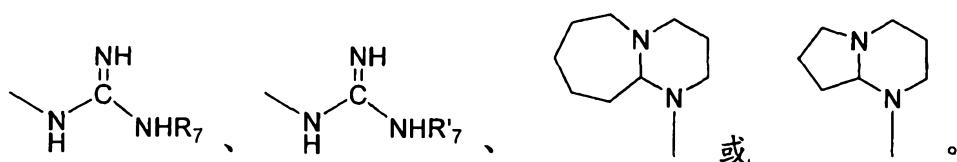
R'_{11} 、 R'_{12} 及 R'_{13} 獨立地為氫、 NH_2 、



R_{2-3} 及 R'_{2-3} 獨立地選自於氫、胺、羥基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基，較佳為氫、羥基、胺、甲基、乙基及丙基；以及

$R_{4,7}$ 及 $R'_{5,7}$ 獨立地選自於氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基，較佳為氫、甲基、乙基及丙基，

其限制條件為 Q_{1-3} 和 Q'_{1-3} 中至少一或多者（例如一者、二者、三者）包括



當(b)或(c)等於或大於2時， L_1 和 L_2 在每次出現時係獨立地相同或不同。

當(e)或(e')等於或大於2時， $-C(R_2R_3)-$ 和 $-C(R_2R_3)-$ ，在每次出現時係獨立地相同或不同。

當(d1)、(d2)或(d3)等於或大於2時， L_{11} 、 L_{12} 和 L_{13} 在每次出現時係獨立地相同或不同。

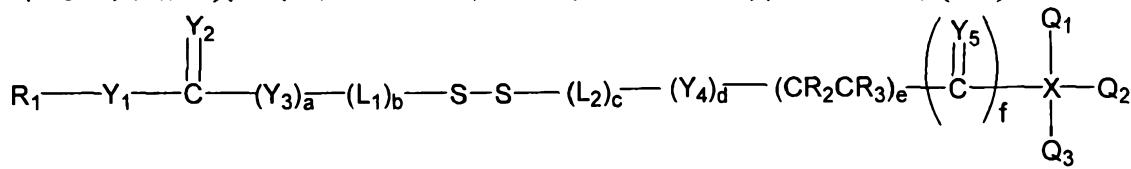
當(d'1)、(d'2)或(d'3)等於或大於2時， L'_{11} 、 L'_{12} 和 L'_{13} 在每次出現時係獨立地相同或不同。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能鍵聯基與雙官能間隔基之組合包括其中鍵聯基和間隔基之變數與取代基之組合為可允許而使這類組合產生穩定式(I)化合物之組合。舉例而言，等值物與取代基之組合不允許氧、氮或羰基直接與S-S或亞胺相鄰定位。

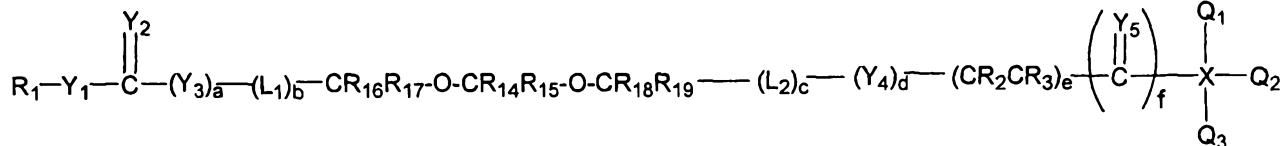
在一較佳態樣中，M為-S-S-、-

$\text{CR}_{16}\text{R}_{17}\text{-O-CR}_{14}\text{R}_{15}\text{-O-CR}_{18}\text{R}_{19}$ - 或 $-\text{N=CR}_{10}-$ 或 $-\text{CR}_{10}=\text{N}-$ 。在

某些具體實例中，可釋放陽離子脂質具有式(Ia)：



在某些具體實例中，可釋放陽離子脂質具有式(Ib)：



其中

R_{14-15} 係獨立地選自於氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炫基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} �炫基、 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、雜芳氧基、 C_{2-6} 烷醯基、芳基醯基、 C_{2-6} 烷氧酰基、芳氧酰基、 C_{2-6} 烷醯氧基、芳基醯氧基、經取代之 C_{2-6} 烷醯基、經取代之芳基酰基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基、經取代之芳基酰氧基；較佳而言， R_{14} 和 R_{15} 係選自於氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基及芳烷基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；且

R_{16-19} 係獨立地選自於氫、羥基、胺、經取代之胺、疊氮基、羧基、氰基、齒基、羥基、硝基、矽烷基醚、矽醯基、酰基、 C_{1-6} 烷基酰基、芳基酰基、經取代之芳基酰基、

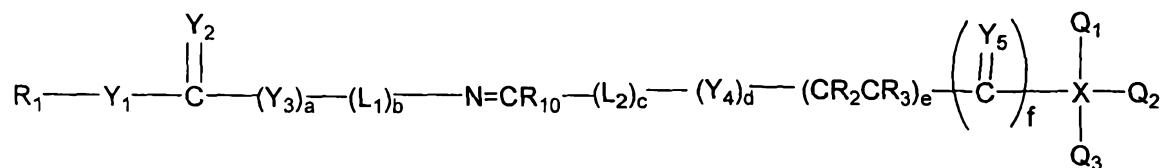
經取代之 C₁₋₆ 烷基硫基、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 炫基、C₃₋₁₉ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₂₋₆ 烯基、經取代之 C₂₋₆ �炫基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、C₁₋₆ 雜烷基、經取代之 C₁₋₆ 雜烷基、C₁₋₆ 烷氧基、芳氧基、C₁₋₆ 雜烷氧基、雜芳氧基、C₂₋₆ 烷醯基、芳基酰基、C₂₋₆ 烷氧酰基、芳氧酰基、C₂₋₆ 烷醯氧基、芳基酰氧基、經取代之 C₂₋₆ 烷醯氧基、經取代之芳基酰基、經取代之 C₂₋₆ 烷醯氧基、經取代之芳基酰基及經取代之芳基酰氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基。

較佳而言，R₁₄ 與 R₁₅ 不同時為氫。

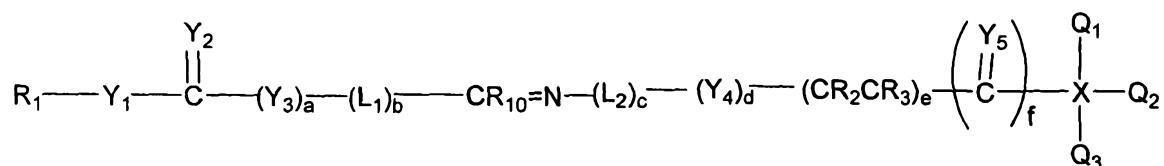
在一較佳具體實例中，R₁₄ 和 R₁₅ 係選自於氫、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₈ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、芳基、經取代之芳基及芳烷基。

更佳地，R₁₄ 和 R₁₅ 係選自於 C₁₋₆ 烷基（甲基、乙基、丙基）及 C₃₋₈ 支鏈烷基。在一特定具體實例中，R₁₄ 和 R₁₅ 皆為甲基。

在某些具體實例中，可釋放陽離子脂質具有式(Ic)或(Ic')：



或



其中 R₁₀ 為氫、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₈ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、

經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、芳基及經取代之芳基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基。

在一較佳態樣中，式(I)化合物包括二或多個：



在另一較佳態樣中，式(I)化合物包括 R₁₁、R₁₂ 和 R₁₃ 之二或多者。

在一個較佳具體實例中，Y₁ 為氧。

在另一個較佳具體實例中，Y₂ 和 Y₅ 皆為氧。

在一個具體實例中，(d1)和(d2)不同時為零。

在另一個具體實例中，(d1)、(d2)、(d3)、(d'1)、(d'2) 和 (d'3) 不同時為零。

本文所述之式(I)可釋放陽離子脂質在所選 pH 值，諸如 pH<13 (例如 pH 6-12、pH 6-8) 下可攜有淨正電荷或中性電荷。

2. 雙官能鍵聯基：L₁ 及 L₂ 基團

根據本發明，L₁ 包括但不限於：

-(CR₂₁R₂₂)_{t1}-[C(=Y₁₆)]_{a3-}，

-(CR₂₁R₂₂)_{t1}Y₁₇-(CR₂₃R₂₄)_{t2}-(Y₁₈)_{a2}-[C(=Y₁₆)]_{a3-}，

-(CR₂₁R₂₂CR₂₃R₂₄Y₁₇)_{t1}-[C(=Y₁₆)]_{a3-}，

-(CR₂₁R₂₂CR₂₃R₂₄Y₁₇)_{t1}(CR₂₅R₂₆)_{t4}-(Y₁₈)_{a2}-[C(=Y₁₆)]_{a3-}，

-[(CR₂₁R₂₂CR₂₃R₂₄)_{t2}Y₁₇]_{t3}(CR₂₅R₂₆)_{t4}-(Y₁₈)_{a2}-[C(=Y₁₆)]_{a3-}，

-(CR₂₁R₂₂)_{t1}-[(CR₂₃R₂₄)_{t2}Y₁₇]_{t3}(CR₂₅R₂₆)_{t4}-(Y₁₈)_{a2}-[C(=Y₁₆)]_{a3-}，

-(CR₂₁R₂₂)_{t1}(Y₁₇)_{a2}[C(=Y₁₆)]_{a3}(CR₂₃R₂₄)_{t2}-，

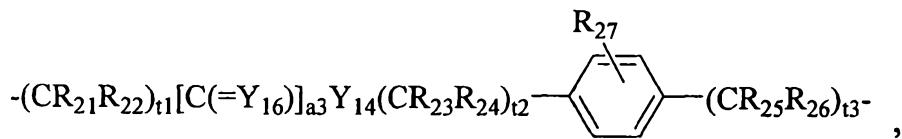
-(CR₂₁R₂₂)_{t1}(Y₁₇)_{a2}[C(=Y₁₆)]_{a3}Y₁₄(CR₂₃R₂₄)_{t2}-，

-(CR₂₁R₂₂)_{t1}(Y₁₇)_{a2}[C(=Y₁₆)]_{a3}(CR₂₃R₂₄)_{t2}-Y₁₅-(CR₂₃R₂₄)_{t3}-，

$-(CR_{21}R_{22})_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=Y_{16})]_{a3}Y_{14}(CR_{23}R_{24})_{t2}-Y_{15}-(CR_{23}R_{24})_{t3}-$ ，

$-(CR_{21}R_{22})_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=Y_{16})]_{a3}(CR_{23}R_{24}CR_{25}R_{26}Y_{19})_{t2}(CR_{27}CR_{28})_{t3}-$ ，

$-(CR_{21}R_{22})_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=Y_{16})]_{a3}Y_{14}(CR_{23}R_{24}CR_{25}R_{26}Y_{19})_{t2}(CR_{27}CR_{28})_{t3}-$ ，及



其中：

Y_{16} 為 O、NR₂₈ 或 S，較佳為 O；

Y_{14-15} 和 Y_{17-19} 獨立地為 O、NR₂₉ 或 S，較佳為 O 或 NR₂₉；

R_{21-27} 係獨立地選自於氫、羥基、胺、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₂支鏈烷基、C₃₋₈環烷基、經取代之 C₁₋₆烷基、經取代之 C₃₋₈環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、C₁₋₆雜烷基、經取代之 C₁₋₆雜烷基、C₁₋₆烷氧基、苯氧基及 C₁₋₆雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

R_{28-29} 係獨立地選自於氫、C₁₋₆烷基、C₃₋₁₂支鏈烷基、C₃₋₈環烷基、經取代之 C₁₋₆烷基、經取代之 C₃₋₈環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、C₁₋₆雜烷基、經取代之 C₁₋₆雜烷基、C₁₋₆烷氧基、苯氧基及 C₁₋₆雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

(t1)、(t2)、(t3)及(t4)獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；且 (a2)和(a3)獨立地為零或 1。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能 L₁鍵聯基包括其中取代基與變數之組合為可允許而使這類組合產生穩定式(I)化合物的鍵聯基。舉例而言，當(a3)為零時，Y₁₇不直接與 Y₁₄

鍵聯。

就本發明之目的而言，當雙官能鍵聯基之值為等於或大於 2 之正整數時，可使用相同或不同雙官能鍵聯基。

當 (t1)、(t2)、(t3) 或 (t4) 獨立地等於或大於 2 時， $R_{21}-R_{28}$ 在每次出現時係獨立地相同或不同。

在一具體實例中， Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 為 O 或 NH；且 R_{21-29} 獨立地為氫或甲基。

在另一具體實例中， Y_{16} 為 O； Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 為 O 或 NH；且 R_{21-29} 為氫。

在某些具體實例中， L_1 係獨立地選自於下列：

$-(CH_2)_{t1}-[C(=O)]_{a3-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}Y_{17}-(CH_2)_{t2}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3-}$ ，

$-(CH_2CH_2Y_{17})_{t1}-[C(=O)]_{a3-}$ ，

$-(CH_2CH_2Y_{17})_{t1}(CH_2)_{t4}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3-}$ ，

$-[(CH_2CH_2)_{t2}Y_{17}]_{t3}(CH_2)_{t4}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}-[(CH_2)_{t2}Y_{17}]_{t3}(CH_2)_{t4}-(Y_{18})_{a2}-[C(=O)]_{a3-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}Y_{14}(CH_2)_{t2-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}(CH_2)_{t2}-Y_{15}-(CH_2)_{t3-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}Y_{14}(CH_2)_{t2}-Y_{15}-(CH_2)_{t3-}$ ，

$-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}(CH_2CH_2Y_{19})_{t2}(CH_2)_{t3-}$ ，及

$-(CH_2)_{t1}(Y_{17})_{a2}[C(=O)]_{a3}Y_{14}(CH_2CH_2Y_{19})_{t2}(CH_2)_{t3-}$ ，

其中

Y_{14-15} 及 Y_{17-19} 獨立地為 O 或 NH；

(t1)、(t2)、(t3) 及 (t4) 獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；且

(a2) 及 (a3) 獨立地為零或 1。

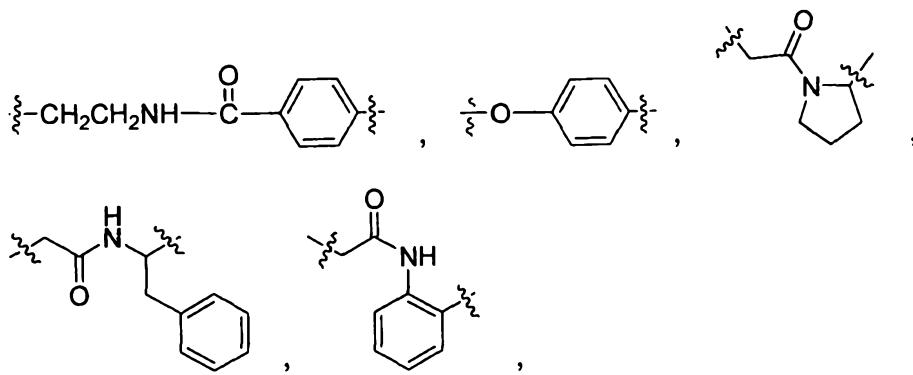
當 (t1) 或 (t3) 等於或大於 2 時， Y_{17} 在每次出現時相同或不同。

當 (t2) 等於或大於 2 時， Y_{19} 在每次出現時相同或不同。

在另一具體實例及/或替代具體實例中， L_1 基團之例示性實例係選自於下列：

- CH₂-， -(CH₂)₂-， -(CH₂)₃-， -(CH₂)₄-， -(CH₂)₅-， -(CH₂)₆-， -NH(CH₂)-，
- CH(NH₂)CH₂-，
- (CH₂)₄-C(=O)-， -(CH₂)₅-C(=O)-， -(CH₂)₆-C(=O)-，
- CH₂CH₂O-CH₂O-C(=O)-，
- (CH₂CH₂O)₂-CH₂O-C(=O)-，
- (CH₂CH₂O)₃-CH₂O-C(=O)-，
- (CH₂CH₂O)₂-C(=O)-，
- CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH-C(=O)-，
- (CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH-C(=O)-，
- CH₂-O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH-C(=O)-，
- CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH-C(=O)-，
- CH₂-O-CH₂CH₂O-CH₂C(=O)-，
- CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-CH₂C(=O)-，
- (CH₂)₄-C(=O)NH-， -(CH₂)₅-C(=O)NH-， -(CH₂)₆-C(=O)NH-，
- CH₂CH₂O-CH₂O-C(=O)-NH-，
- (CH₂CH₂O)₂-CH₂O-C(=O)-NH-，
- (CH₂CH₂O)₃-CH₂O-C(=O)-NH-，
- (CH₂CH₂O)₂-C(=O)-NH-，
- CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH-C(=O)-NH-，
- (CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH-C(=O)-NH-，
- CH₂-O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH-C(=O)-NH-，
- CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH-C(=O)-NH-，

-CH₂-O-CH₂CH₂O-CH₂C(=O)-NH- ,
 -CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-CH₂C(=O)-NH- ,
 -(CH₂CH₂O)₂- , -CH₂CH₂O-CH₂O-
 -(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH- , -(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂NH- ,
 -CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH- ,
 -CH₂-O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH- ,
 -CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH- ,
 -CH₂-O-CH₂CH₂O- , -CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂- ,

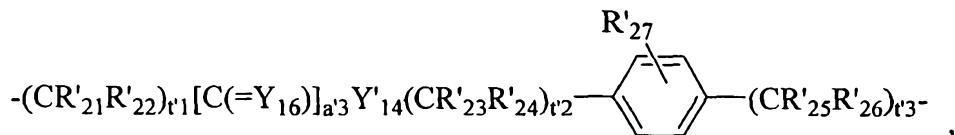


-C(=O)NH(CH₂)₂- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₂- ,
 -C(=O)NH(CH₂)₃- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₃- ,
 -C(=O)NH(CH₂)₄- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₄- ,
 -C(=O)NH(CH₂)₅- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₅- ,
 -C(=O)NH(CH₂)₆- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₆- ,
 -C(=O)O(CH₂)₂- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₂- ,
 -C(=O)O(CH₂)₃- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₃- ,
 -C(=O)O(CH₂)₄- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₄- ,
 -C(=O)O(CH₂)₅- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₅- ,
 -C(=O)O(CH₂)₆- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₆- ,
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₂- ,
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₃- ,
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₄- ,
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₅- ,
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₆- ,

- $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_2^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_3^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_4^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_5^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)O(CH_2)_6^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_2^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_3^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_4^-$,
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_5^-$, 及
 - $(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_6^-$.

在某些具體實例中， L_2 包括但不限於：

- $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'2}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}Y'_{14}-(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22}CR'_{23}R'_{24}Y'_{14})_{t'1}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'2}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22}CR'_{23}R'_{24}Y'_{14})_{t'1}(CR'_{25}R'_{26})_{t'2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}^-$,
 - $[(CR'_{21}R'_{22}CR'_{23}R'_{24})_{t'2}Y'_{14}]_{t'1}(CR'_{25}R'_{26})_{t'2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}[(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}Y'_{14}]_{t'2}(CR'_{25}R'_{26})_{t'3}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'4}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}Y'_{15}(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}-Y'_{15}-(CR'_{23}R'_{24})_{t'3}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}Y'_{14}(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}-Y'_{15}-(CR'_{23}R'_{24})_{t'3}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{23}R'_{24}CR'_{25}R'_{26}Y'_{15})_{t'2}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}^-$,
 - $(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}Y'_{17}(CR'_{23}R'_{24}CR'_{25}R'_{26}Y'_{15})_{t'2}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}^-$, 及



其中：

Y'_{16} 為 O、 NR'_{28} 或 S，較佳者；

Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 獨立地為 O、 NR'_{29} 或 S，較佳為 O 或 NR'_{29} ；
 R'_{21-27} 獨立地選自於氫、羥基、胺、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

R'_{28-29} 獨立地選自於氫、羥基、胺、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

(t'1)、(t'2)、(t'3)及(t'4)獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；且 (a'2)和(a'3)獨立地為零或 1。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能 L_2 鍵聯基包括其中鍵聯基之變數與取代基之組合為可允許而使這類組合產生穩定式(I)化合物的鍵聯基。舉例而言，當(a'3)為零時， Y'_{14} 不直接與 Y'_{14} 或 Y'_{17} 鍵聯。

就本發明之目的而言，當可釋放鍵聯基之雙官能 L_2 鍵聯基之值為等於或大於 2 之正整數時，可使用相同或不同雙官能鍵聯基。

在一具體實例中， Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 為 O 或 NH；且 R'_{21-29} 獨立地為氫或甲基。

在另一具體實例中， Y'_{16} 為 O； Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 為 O 或

NH；且 R'_{21-29} 為氫。

在某些具體實例中， L_2 係選自於下列：

$-(CH_2)_{t'1} - [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'2}^-$ ，

$-(CH_2)_{t'1} Y'_{14} - (CH_2)_{t'2} - (Y'_{15})_{a'2} - [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'3}^-$ ，

$-(CH_2CH_2Y'_{14})_{t'1} - [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'2}^-$ ，

$-(CH_2CH_2Y'_{14})_{t'1} (CH_2)_{t'2} - (Y'_{15})_{a'2} - [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'3}^-$ ，

$-[(CH_2CH_2)_{t'2} Y'_{14}]_{t'1} (CH_2)_{t'2} - (Y'_{15})_{a'2} - [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'3}^-$ ，

$-(CH_2)_{t'1} - [(CH_2)_{t'2} Y'_{14}]_{t'2} (CH_2)_{t'3} - (Y'_{15})_{a'2} - [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'4}^-$ ，

$-(CH_2)_{t'1} (Y'_{14})_{a'2} [C(=O)]_{a'3} (CH_2)_{t'2}^-$ ，

$-(CH_2)_{t'1} (Y'_{14})_{a'2} [C(=O)]_{a'3} Y'_{15} (CH_2)_{t'2}^-$ ，

$-(CH_2)_{t'1} (Y'_{14})_{a'2} [C(=O)]_{a'3} Y'_{14} (CH_2)_{t'2} - Y'_{15} - (CH_2)_{t'3}^-$ ，

$-(CH_2)_{t'1} (Y'_{14})_{a'2} [C(=O)]_{a'3} (CH_2CH_2Y'_{15})_{t'2} (CH_2)_{t'3}^-$ ，及

$-(CH_2)_{t'1} (Y'_{14})_{a'2} [C(=O)]_{a'3} Y'_{17} (CH_2CH_2Y'_{15})_{t'2} (CH_2)_{t'3}^-$ ，

其中

Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 獨立地為 O 或 NH；

$(t'1)$ 、 $(t'2)$ 、 $(t'3)$ 及 $(t'4)$ 獨立地為 0 或正整數，較佳為 0 或約 1 至約 10 之正整數（例如 1、2、3、4、5、6）；且 $(a'2)$ 和 $(a'3)$ 獨立地為零或 1。

當 $(t'1)$ 或 $(t'2)$ 等於或大於 2 時， Y'_{14} 在每次出現時相同或不同。

當 $(t'2)$ 等於或大於 2 時， Y'_{15} 在每次出現時相同或不同。

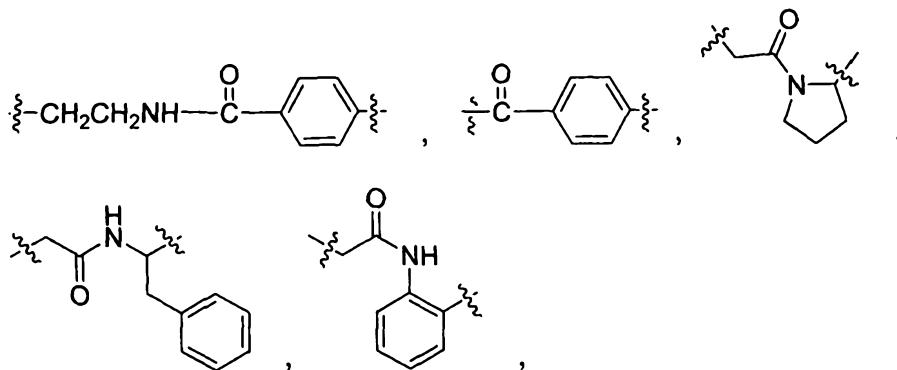
在另一具體實例及/或替代具體實例中， L_2 基團之例示性實例係選自於下列：

$-CH_2^-$ ， $-(CH_2)_2^-$ ， $-(CH_2)_3^-$ ， $-(CH_2)_4^-$ ， $-(CH_2)_5^-$ ， $-(CH_2)_6^-$ ， $-NH(CH_2)-$ ，

$-CH(NH_2)CH_2^-$ ，

$-O(CH_2)_2^-$ ， $-C(=O)O(CH_2)_3^-$ ， $-C(=O)NH(CH_2)_3^-$ ，

$-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_3-$,
 $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-\text{CH}_2-\text{OC}(=\text{O})-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-\text{CH}_2-\text{OC}(=\text{O})-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$,
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$,
 $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$,
 $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-$,
 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$,
 $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{O}-$.
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ - , $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ - ,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ - ,
 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ - ,
 $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ - ,
 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ - , $-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2$ - ,



$-(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-$,
 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$,
 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$,
 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$, $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$,

-C(=O)NH(CH₂)₅-， -CH₂C(=O)NH(CH₂)₅-，
 -C(=O)NH(CH₂)₆-， -CH₂C(=O)NH(CH₂)₆-，
 -C(=O)O(CH₂)₂-， -CH₂C(=O)O(CH₂)₂-，
 -C(=O)O(CH₂)₃-， -CH₂C(=O)O(CH₂)₃-，
 -C(=O)O(CH₂)₄-， -CH₂C(=O)O(CH₂)₄-，
 -C(=O)O(CH₂)₅-， -CH₂C(=O)O(CH₂)₅-，
 -C(=O)O(CH₂)₆-， -CH₂C(=O)O(CH₂)₆-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₂-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₃-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₄-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₅-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₆-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₂-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₃-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₄-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₅-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₆-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₂-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₃-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₄-，
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₅-， 及
 -(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₆-。

在另一具體實例及/或替代具體實例中，雙官能鍵聯基 L₁ 和 L₂ 可為具有經取代之飽和或不飽和、支鏈或直鏈 C₃₋₅₀ 烷基（亦即 C₃₋₄₀ 烷基、C₃₋₂₀ 烷基、C₃₋₁₅ 烷基、C₃₋₁₀ 烷基等）的間隔基，其中視情況一或多個碳係經 NR₆、O、S 或 C(=Y)（較佳 O 或 NH）置換，但不超過 70%（亦即小於 60%、50%、

40%、30%、20%、10%）之碳係經置換。

3. 雙官能間隔基： L_{11-13} 及 L'_{11-13} 基團

根據本發明，雙官能間隔基 L_{11-13} 及 L'_{11-13} 為可與陽離子部分如胍鎘、DBU、DBN 等連接之末端雙官能鍵聯基。雙官能間隔基 L_{11-13} 及 L'_{11-13} 獨立地選自於下列：

$-(CR_{31}R_{32})_{q1-}$ ；及

$-Y_{26}(CR_{31}R_{32})_{q1-}$ ，

其中：

Y_{26} 為 O、NR₃₃ 或 S，較佳為 O 或 NR₃₃；

R_{31-32} 獨立地選自於氫、OH、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₂ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、C₁₋₆ 雜烷基、經取代之 C₁₋₆ 雜烷基、C₁₋₆ 烷氧基、苯氧基及 C₁₋₆ 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

R_{33} 係選自於氫、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₂ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、C₁₋₆ 雜烷基、經取代之 C₁₋₆ 雜烷基、C₁₋₆ 烷氧基、苯氧基及 C₁₋₆ 雜烷氧基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；且

(q1) 為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 10 之整數（例如 1、2、3、4、5、6）。

涵蓋於本發明範疇內之雙官能間隔基包括其中取代基與變數之組合為可允許而使這類組合產生穩定式(I)化合物的間隔基。

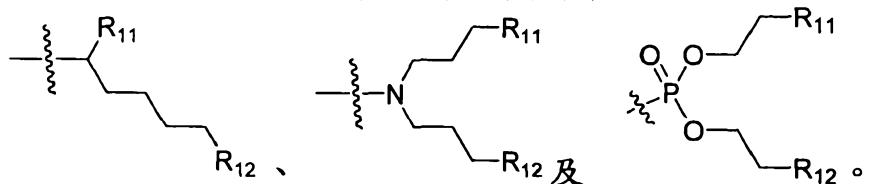
當(q1)等於或大於 2 時，R₃₁ 及 R₃₂ 在每次出現時獨立地為相同或不同的。

在一較佳具體實例中， R_{31-33} 獨立地為氫或甲基。

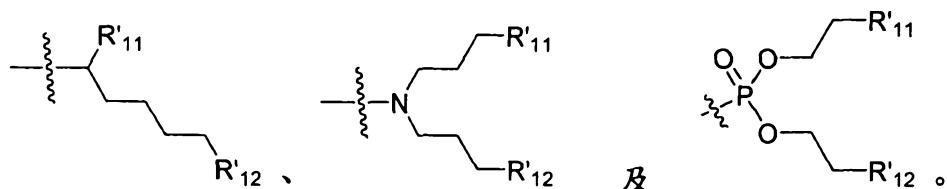
在另一及/或替代具體實例中， L_{11-13} 及 L'_{11-13} 係獨立地選自於下列：

- CH₂-，-(CH₂)₂-，-(CH₂)₃-，-(CH₂)₄-，-(CH₂)₅-，-(CH₂)₆-，
- O(CH₂)₂-，-O(CH₂)₃-，-O(CH₂)₄-，-O(CH₂)₅-，-O(CH₂)₆-，
- (CH₂CH₂O)-CH₂CH₂-，
- (CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂-，
- C(=O)O(CH₂)₃-，-C(=O)NH(CH₂)₃-，
- C(=O)(CH₂)₂-，-C(=O)(CH₂)₃-，
- CH₂-C(=O)-O(CH₂)₃-，
- CH₂-C(=O)-NH(CH₂)₃-，
- CH₂-OC(=O)-O(CH₂)₃-，
- CH₂-OC(=O)-NH(CH₂)₃-，
- (CH₂)₂-C(=O)-O(CH₂)₃-，
- (CH₂)₂-C(=O)-NH(CH₂)₃-，
- CH₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
- CH₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
- (CH₂)₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
- (CH₂)₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
- CH₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂-，及
- (CH₂)₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂-。

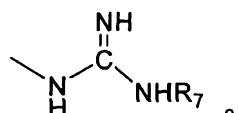
根據本發明， $X(Q_1)(Q_2)(Q_3)$ 部分的一些實例包括：



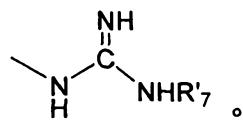
$X'(Q'_1)(Q'_2)(Q'_3)$ 部分的一些實例包括：



在一較佳具體實例中， R_{11} 和 R_{12} 皆包括：



較佳而言， R'_{11} 和 R'_{12} 皆包括：



B. 式(I)化合物之製備

代表性特定化合物之合成係闡述於實施例中。然而，一般而言，本發明化合物可以若干方式製備。製備本文所述之式(I)化合物之方法包括使胺官能化之膽固醇（官能化膽固醇）與 1H-吡唑-1-甲脒反應以提供胍鎘部分。與膽固醇鍵聯之胺可為一級及/或二級胺，且在 1H-吡唑-1-甲脒中之胺可未經取代或經取代。在一具體實例中，製備本文所述之式(I)化合物之方法包括使具有二硫鍵之膽固醇衍生物與含胺部分反應，接著使胺轉化成胍鎘，以提供具有二硫鍵之陽離子脂質。

在另一具體實例中，製備本文所述之式(I)化合物之方法包括使具有縮酮鍵之膽固醇衍生物與含胺部分反應，接著使胺轉化成胍鎘，以提供具有縮酮或縮醛部分之陽離子脂質。

在又另一具體實例中，製備本文所述之式(I)化合物之方法包括使具有醛之膽固醇衍生物與含胺部分反應形成亞胺，接著使該胺轉化成胍鎘，以提供具有亞胺部分之陽離子脂質。

一個製備含二硫鍵之膽固醇陽離子脂質的代表性實施例係示於圖 1 中。首先，在諸如偶合劑 (EDC) 及鹼存在下使膽固醇與含 2-硝基吡啶基二硫化物基團之胺受保護之半胱胺酸反應，形成半胱胺酸膽固醇酯 (化合物 3)。該酯之

2-硝基吡啶基二硫化物基團係與含硫醇基與胺保護基之雙官能間隔基反應，形成二硫鍵。除去雙官能間隔基之胺保護基，接著與具有末端胺之分支部分共軛，提供胺官能化之膽固醇。將該胺官能化之膽固醇之末端胺用 1H-吡唑-1-甲脒處理，提供含二硫鍵之陽離子脂質。

另一個製備含有含縮酮鍵聯基之膽固醇陽離子脂質的代表性實施例係示於圖 2 及 3 中。製備含縮酮鍵之雙官能鍵聯基（化合物 23）。將該含縮酮之雙官能鍵聯基的二胺中之一用三氟乙酸乙酯保護。使活化膽固醇碳酸酯如膽固醇氯甲酸酯、膽固醇 NHS 碳酸酯或膽固醇 PNP 碳酸酯與該雙官能鍵聯基中之其他親核性胺反應，接著使三氟乙醯胺基去保護，以製備具有末端胺之膽固醇衍生物。使該末端胺進一步與離胺酸反應，以製備具有分支部分之膽固醇衍生物（化合物 30）。使該膽固醇衍生物之分支部分上的胺與 1H-吡唑-1-甲脒反應，提供含縮酮基之膽固醇陽離子脂質。

又另一個製備包含亞胺鍵聯基之膽固醇陽離子脂質的代表性實施例係示於圖 4 中。在二步驟中從化合物 41 和 42 製備含胺與受保護胺之雙官能鍵聯基（化合物 44）。使活化膽固醇碳酸酯如膽固醇氯甲酸酯、膽固醇 NHS 碳酸酯或膽固醇 PNP 碳酸酯與含醛化合物（例如 3-甲氧基-4-羥基苯甲醛）反應，以提供含醛之膽固醇衍生物。使雙官能鍵聯基之親核性胺與該含醛之膽固醇衍生物反應，以形成亞胺鍵，接著在溫和鹼性條件下進行胺去保護，以提供含末端

胺之膽固醇衍生物。使末端胺與 1H-吡唑-1-甲脒反應，提供含亞胺基之膽固醇陽離子脂質。

根據本發明，這些方法可採用替代的技術已知技術來製備式(I)化合物而無須過度實驗。

含胺化合物與膽固醇之連接可使用標準有機合成技術，在鹼存在下，使用一般熟習此項技術者所已知之偶合劑，諸如 1,3-二異丙基碳化二亞胺 (DIPC)、二烷基碳化二亞胺、2-鹼基-1-烷基吡啶鹼化物、1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺 (EDC)、丙烷膦酸環酐 (PPACA) 及二氯磷酸苯酯來進行。

在另一具體實例中，當膽固醇或含胺化合物係用脫離基如 NHS、PNP 或氯甲酸酯活化時，並不需要偶合劑，且反應在鹼存在下進行。

一般而言，本文所述之式(I)化合物較佳係藉由使活化膽固醇與含胺親核試劑在諸如 DMAP 或 DIEA 之鹼存在下反應而製備。較佳而言，該反應係在諸如二氯甲烷、氯仿、甲苯、DMF 或其混合物之惰性溶劑中進行。反應亦較佳係在諸如 DMAP、DIEA、吡啶、三乙胺等之鹼存在下，在 -4 °C 至約 70 °C (例如 -4 °C 至約 50 °C) 之溫度下進行。在一個較佳具體實例中，反應係在 0 °C 至約 25 °C 或 0 °C 至約室溫的溫度下進行。

保護基從含胺化合物之移除可使用強酸 (諸如三氟乙酸 (TFA)、HCl、硫酸等) 或催化氫化、自由基反應等來進行。或者，胺保護基之移除可使用鹼 (諸如哌啶) 來進

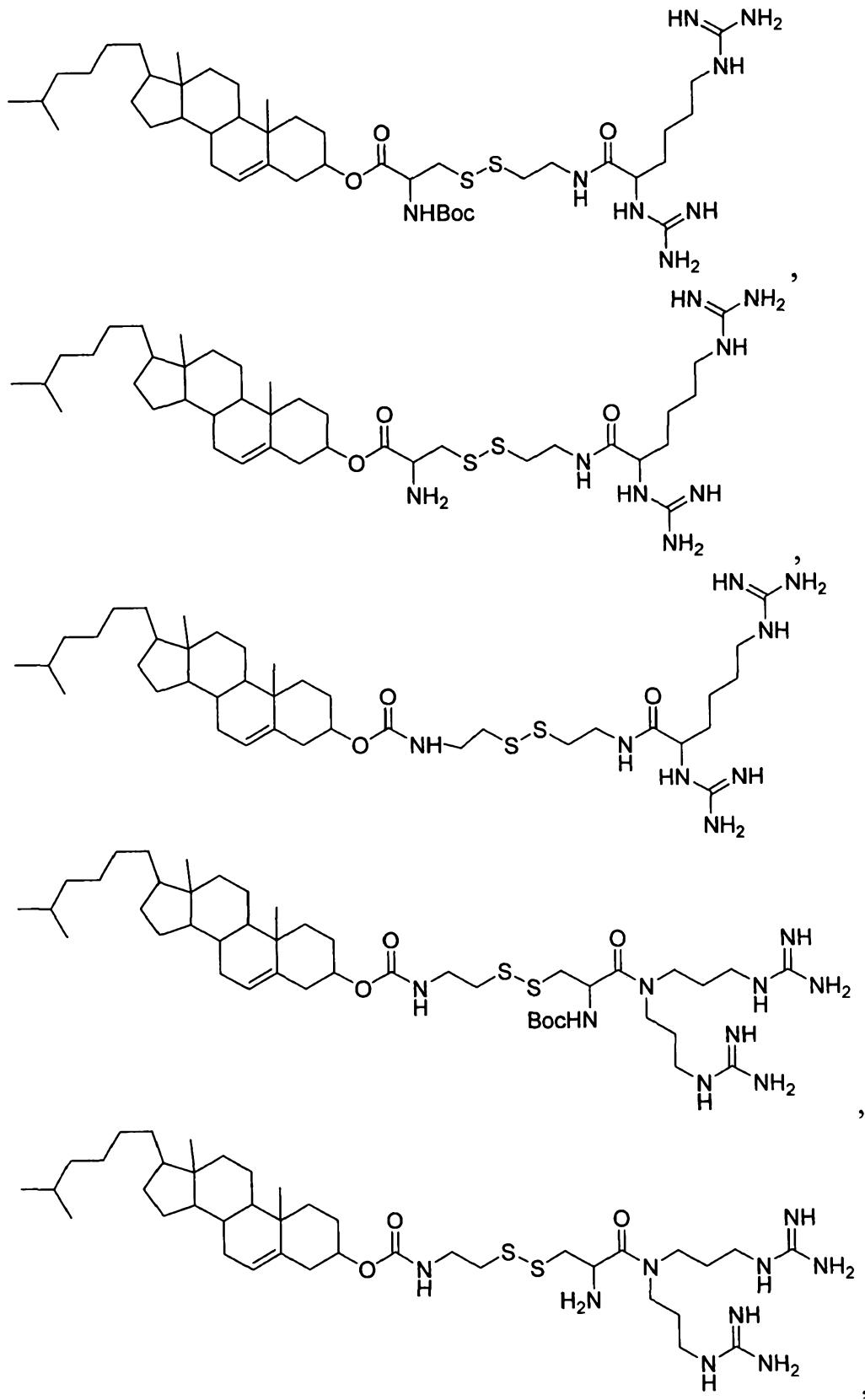
行。在一個具體實例中，Boc 基團之去保護係使用 HCl 之二
噁烷溶液進行。在另一個具體實例中，Fmoc 基團之去保護
係使用哌啶進行。去保護反應可在 -4 °C 至約 50 °C 之溫度下
進行。較佳而言，反應係在 0 °C 至約 25 °C 或至室溫之溫度
下進行。在另一具體實例中，Boc 基團之去保護係在室溫下
進行。

胺轉化成脲鎘部分之作用係藉由使與膽固醇鍵聯之胺
(例如化合物 9 之胺) 與 1H-吡唑-1-甲脒在諸如二氯甲烷、
氯仿、DMF 或其混合物之惰性溶劑中反應來進行。其他試
劑，諸如 N-BOC-1H-吡唑-1-甲脒或 N,N'-二-(第三丁氧羰基)
硫脲和偶合劑，亦可用以使胺轉化成脲部分。

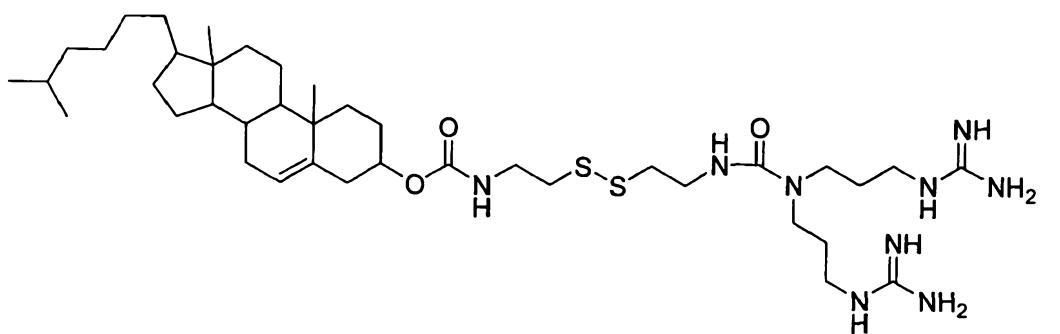
一般熟習此技術者已知的偶合劑，諸如 1,3-二異丙基碳
化二亞胺 (DIPIC)、二烷基碳化二亞胺、2-齒基-1-烷基吡
啶齒化物、1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺 (EDC)、
丙烷膦酸環酐 (PPACA) 及二氯磷酸苯酯，可用在本文所
述之陽離子脂質之製備中。該反應較佳係在諸如 DMAP、
DIEA、吡啶、三乙胺等之鹼存在下，在 -4 °C 至約 50 °C
的溫度下進行。在一個較佳具體實例中，反應係在 0 °C 至約
25 °C 或至室溫之溫度下進行。

舉例而言，藉由本文所述之方法製備之些代表性具
體實例包括但不限於下列：

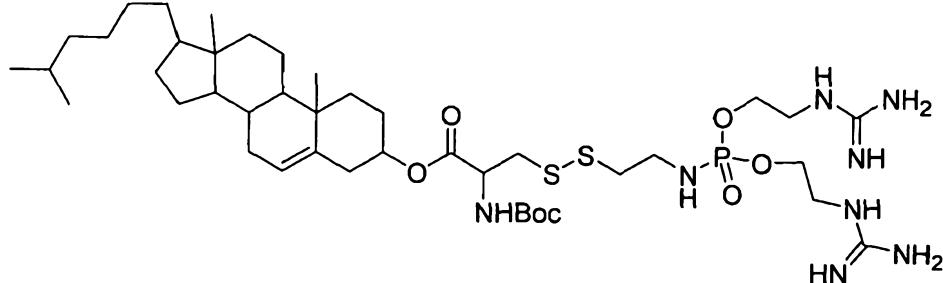
201021853



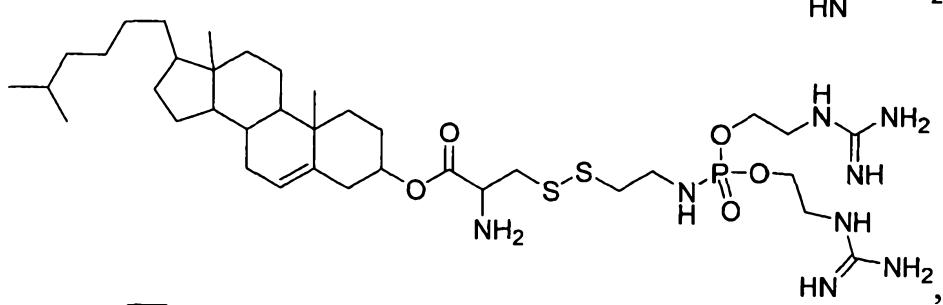
201021853



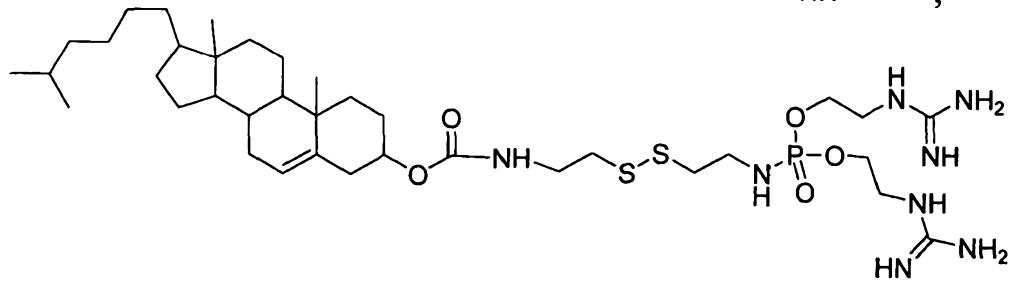
,



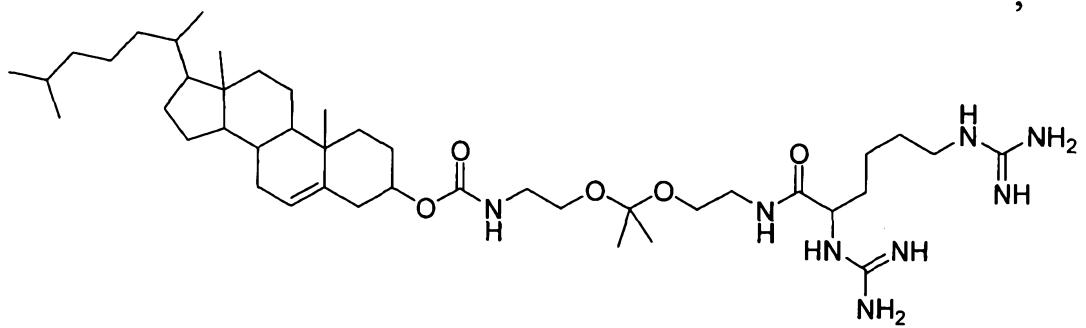
,



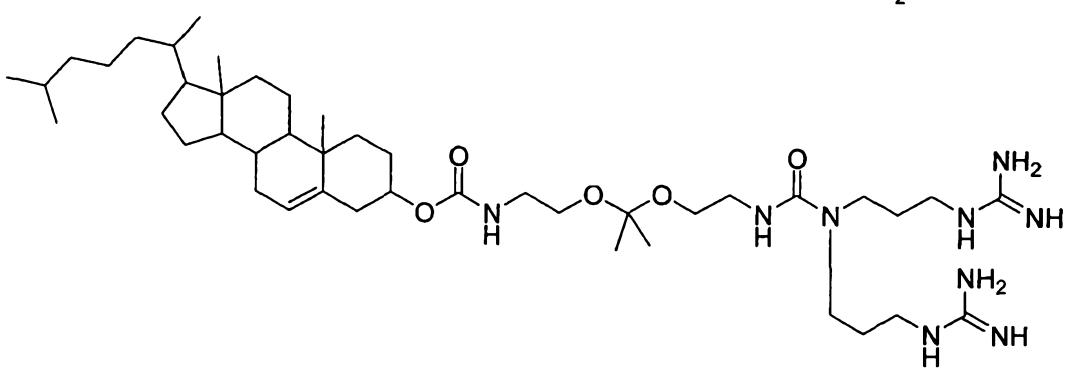
,



,

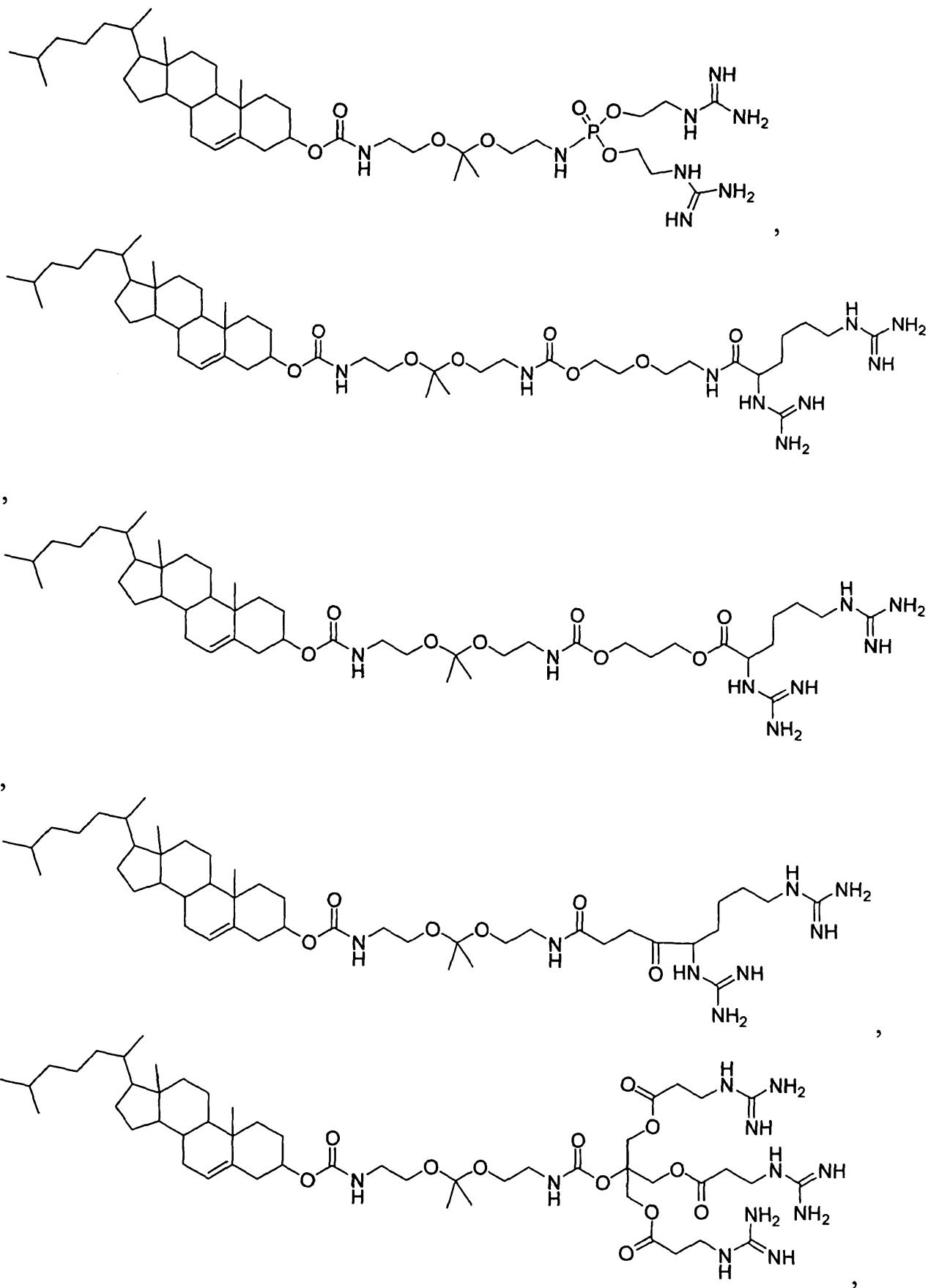


,

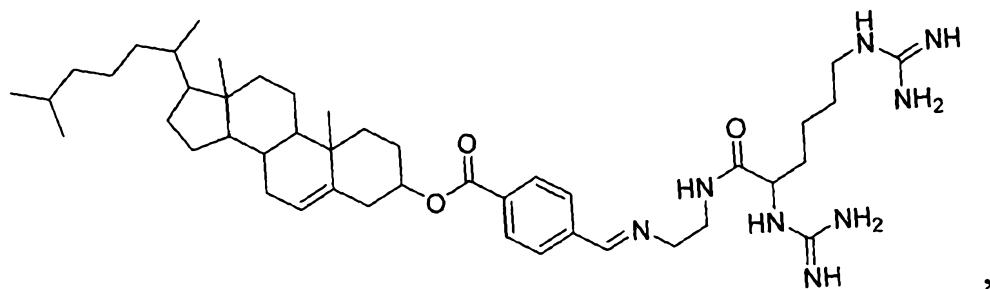
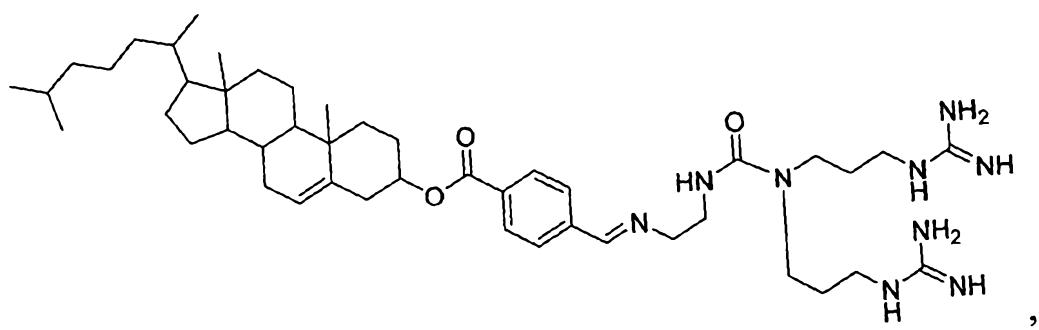


,

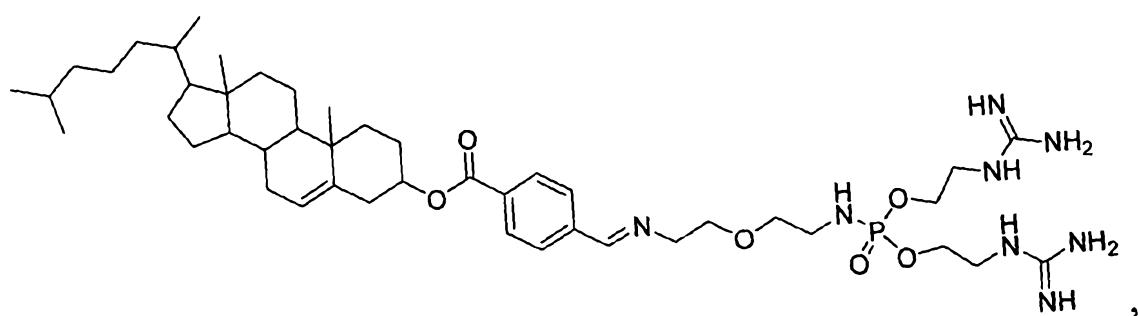
201021853



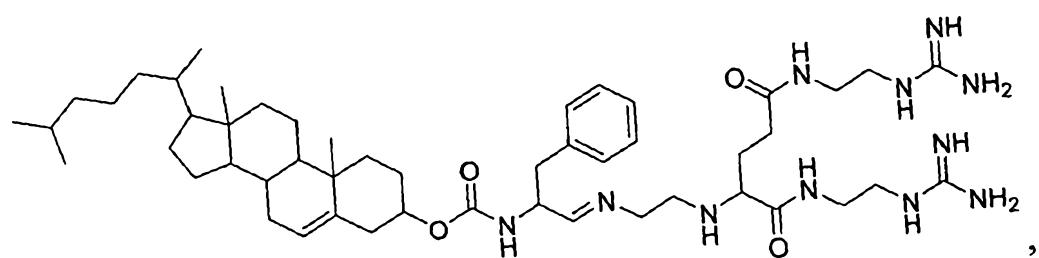
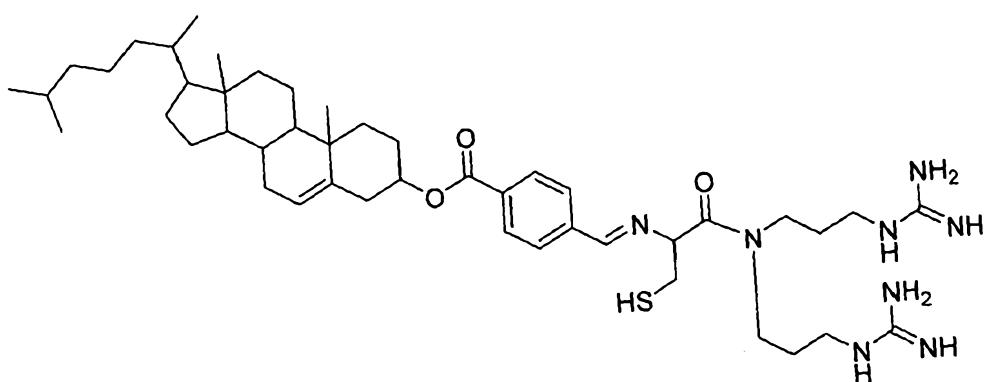
201021853

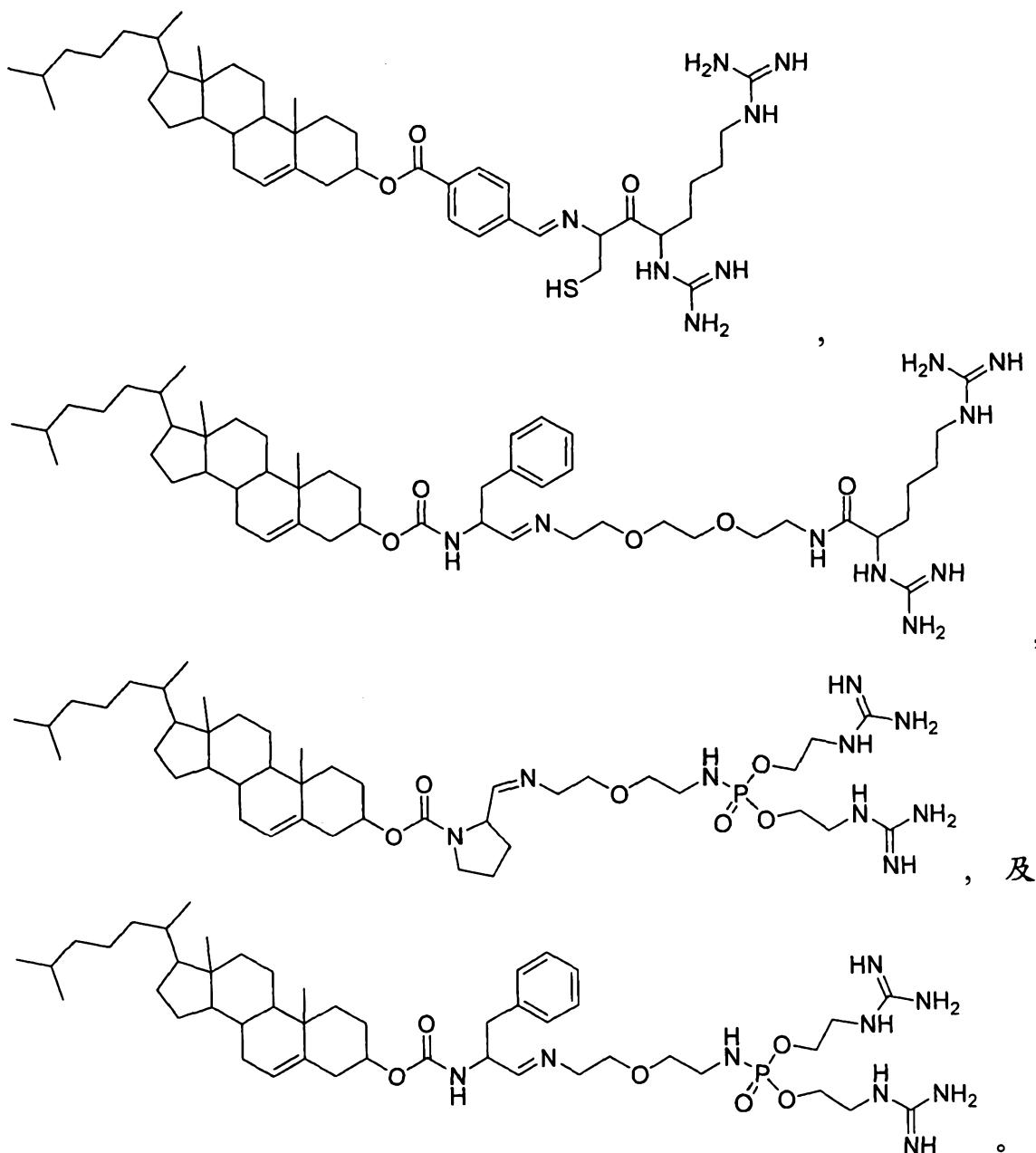


●



●





C. 奈米粒子組成物

1. 概述

在本發明之一態樣中，奈米粒子組成物含有陽離子脂質。

根據本發明，奈米粒子組成物含有式(I)化合物、融合性脂質及PEG脂質。

在一較佳態樣中，奈米粒子組成物包含膽固醇。

在本發明之另一態樣中，本文所述之奈米粒子組成物可含有技術已知之陽離子脂質。含有不同融合性脂質（非陽離子脂質）之混合物及/或不同PEG脂質之混合物的奈米粒子組成物亦涵蓋在內。

在另一較佳態樣中，奈米粒子組成物含有包括莫耳比範圍從存在於奈米粒子組成物中之總脂質（醫藥載劑）之約10%至約99.9%之式(I)化合物的陽離子脂質。

陽離子脂質組份範圍可從存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約2%至約60%、約5%至約50%、約10%至約45%、約15%至約25%或約30%至約40%。

在一具體實例中，陽離子脂質係以存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約15至約25%（亦即15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25%）的量存在。

根據本發明，奈米粒子組成物可含有莫耳比為存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約20%至約85%、約25%至約85%、約60%至約80%（例如65%、75%、78%或80%）的總融合性/非陽離子脂質，包括膽固醇及/或以非膽固醇為基之融合性脂質。在一具體實例中，總融合性/非陽離子脂質為存在於奈米粒子組成物中之總脂質的約80%。

在某些具體實例中，以非膽固醇為基之融合性/非陽離子脂質係以存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約25%至約78%（25%、35%、47%、60%或78%）或約60%至約78%之莫耳比存在。在一具體實例中，以非膽固醇為基之融合性脂質/非陽離子脂質為存在於奈米粒子組成物中之總脂質

的約 60%。

在某些具體實例中，除了非膽固醇融合性脂質外，奈米粒子組成物亦包括莫耳比範圍從存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 0%至約 60%、約 10%至約 60%或約 20%至約 50%（例如 20%、30%、40%或 50%）之膽固醇。在一具體實例中，膽固醇為存在於奈米粒子組成物中之總脂質的約 20%。

在某些具體實例中，奈米粒子組成物中所含之 PEG-脂質的莫耳比範圍從存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 0.5%至約 20%、約 1.5%至約 18%。在奈米粒子組成物之一具體實例中，PEG 脂質係以總脂質之約 2%至約 10%（例如 2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或 10%）之莫耳比被包含。舉例而言，總 PEG 脂質為存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 2%。

2. 陽離子脂質

在本發明之一態樣中，式(I)化合物係被包含在奈米粒子組成物中。

在本發明之另一態樣中，本文所述之奈米粒子組成物可包括其他的技術已知陽離子脂質。所涵蓋之其他適合的脂質包括例如：

氯化 N-[1-(2,3-二油醯基氧基)丙基]-N,N,N-三甲銨 (DOTMA)；

氯化 1,2-雙(油醯基氧基)-3-3-(三甲銨)丙烷或 N-(2,3-二油醯基氧基)丙基)-N,N,N-三甲銨 (DOTAP)；

201021853

1,2-雙(二肉豆蔻醯基氨基)-3-3-(三甲氨基)丙烷
(DMTAP)；

溴化1,2-二肉豆蔻基氨基丙基-3-二甲基羟基乙基铵或
溴化N-(1,2-二肉豆蔻基氨基丙基-3-基)-N,N-二甲基-N-羟基乙
基铵(DMRIE)；

溴化二甲基二(十八烷基)铵或溴化N,N-二硬脂酰基
-N,N-二甲基铵(DDAB)；

3-(N-(N',N'-二甲基氨基乙烷)胺甲酰基)膽固醇(DC-膽
固醇)；

3 β -[N',N'-二胍基乙基-氨基乙烷]胺甲酰基膽固醇
(BGTC)；

2-(2-(3-(雙(3-氨基丙基)氨基)丙基氨基)乙酰胺基)-N,N-二-十四烷基乙酰胺(RPR209120)；

1,2-二烯酰基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼(亦即1,2-二
油酰基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼、1,2-二硬脂酰基-sn-甘
油基-3-乙基磷酸膽鹼及1,2-二棕櫚酰基-sn-甘油基-3-乙基
磷酸膽鹼)；

四甲基四棕櫚酰基精胺(TMTPS)；

四甲基四油烯基精胺(TMTOS)；

四甲基四月桂基精胺(TMTLS)；

四甲基四肉豆蔻基精胺(TMTMS)；

四甲基二油基精胺(TMDOS)；

2,5-雙(3-氨基丙基氨基)-N-(2-(二(十八烷基)氨基)-2-
側氨基乙基)戊酰胺(DOGS)；

2,5-雙(3-胺基丙基胺基)-N-(2-(二(Z)-十八-9-二烯基胺基)-2-側氨基乙基)戊醯胺 (DOGS-9-en)；

2,5-雙(3-胺基丙基胺基)-N-(2-(二(9Z,12Z)-十八-9,12-二烯基胺基)-2-側氨基乙基)戊醯胺 (DLinGS)；

N4-精胺膽固醇基胺基甲酸酯 (GL-67)；

(9Z,9'Z)-2-(2,5-雙(3-胺基丙基胺基)戊醯胺基)丙烷-1,3-二基-二(十八)-9-烯酸酯 (DOSPER)；

三氟乙酸 2,3-二油醯基氨基-N-[2(精胺甲醯胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙銨 (DOSPA)；

1,2-二肉豆蔻醯基-3-三甲銨-丙烷；1,2-二硬脂醯基-3-三甲銨-丙烷；

二(十八烷基)二甲銨 (DODMA)；

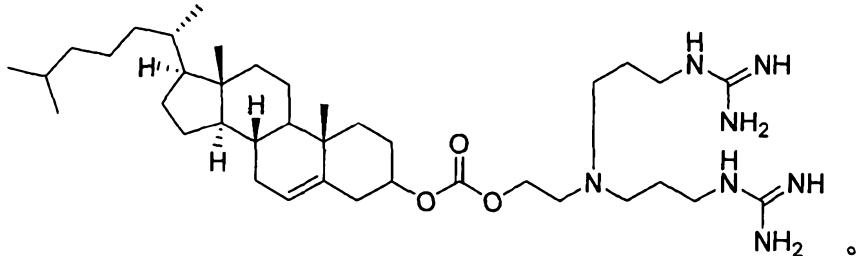
二硬脂醯基二甲銨 (DSDMA)；

氯化 N,N-二油烯基-N,N-二甲基銨 (DODAC)；其醫藥上可接受之鹽及混合物。

陽離子脂質之詳情亦描述於 US2007/0293449 及美國專利第 4,897,355 號、第 5,279,833 號、第 6,733,777 號、第 6,376,248 號、第 5,736,392 號、第 5,686,958 號、第 5,334,761 號、第 5,459,127 號、第 2005/0064595 號、第 5,208,036 號、第 5,264,618 號、第 5,279,833 號、第 5,283,185 號、第 5,753,613 號及第 5,785,992 號中。

在另一具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可含有在 PCT/US09/52396 中所述之陽離子脂質，其內容以引用的方式併入本文中。舉例而言，本文所述之奈米粒子組成

物可包含式(I)化合物與下列之混合物：



另外，可使用包括陽離子脂質之市售製劑：例如 LIPOFECTIN[®]（含有 DOTMA 及 DOPE 之陽離子脂質體，來自 GIBCO/BRL, Grand Island, New York, USA）； LIPOFECTAMINE[®]（含有 DOSPA 及 DOPE 之陽離子脂質體，來自 GIBCO/BRL, Grand Island, New York, USA）；及 TRANSFECTAM[®]（含有 DOGS 之陽離子脂質體，來自 Promega Corp., Madison, Wisconsin, USA）。

3. 融合/非陽離子脂質

根據本發明，奈米粒子組成物可含有融合性脂質。融合性脂質包括非陽離子脂質，諸如中性不帶電脂質、兩性離子脂質及陰離子脂質。出於本發明之目的，術語「融合性脂質」與「非陽離子脂質」可互換。中性脂質包括在所選 pH 值下，較佳在生理 pH 值下以不帶電荷或中性兩性離子形式存在之脂質。這類脂質之實例包括二醯基磷脂醯膽鹼、二醯基磷脂醯乙醇胺、腦醯胺、鞘髓磷脂、腦磷脂、膽固醇、腦苷脂及二醯基甘油。

陰離子脂質包括在生理 pH 值下帶負電之脂質。此等脂質包括但不限於磷脂醯甘油、心磷脂、二醯基磷脂醯絲氨酸、二醯基磷脂酸、N-十二醯基磷脂醯乙醇胺、N-丁二醯基磷脂醯乙醇胺、N-戊二醯基磷脂醯乙醇胺、離胺醯基磷

脂醯甘油、棕櫚醯基油醯基磷脂醯甘油（POPG）及經其他陰離子改質基團改質之中性脂質。

許多融合性脂質包括一般具有疏水性部分及極性頭基之兩性脂質，且可於水溶液中形成微脂粒。

所涵蓋之融合性脂質包括天然存在及合成之磷脂及相關脂質。

非陽離子脂質之非限制性清單係選自於磷脂及以非磷脂為基之物質，諸如：卵磷脂；溶血卵磷脂；二醯基磷脂醯膽鹼；溶血磷脂醯膽鹼；磷脂醯乙醇胺；溶血磷脂醯乙醇胺；磷脂醯絲氨酸；磷脂醯肌醇；鞘髓磷脂；腦磷脂；腦醯胺；心磷脂；磷脂酸；磷脂醯甘油；腦苷脂；磷酸二鯨蠟基酯；

1,2-二月桂醯基-sn-甘油（DLG）；

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油（DMG）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油（DPG）；

1,2-二硬脂酰基-sn-甘油（DSG）；

1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DLPA）；

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DMPA）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DPPA）；

1,2-二硬脂酰基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DSPA）；

1,2-二花生醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DAPC）；

1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DLPC）；

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DMPC）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼（DPePC）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或二棕櫚醯基
磷脂醯膽鹼 (DPPC) ;

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或二硬脂醯基
磷脂醯膽鹼 (DSPC) ;

1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺 (DLPE) ;

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺或二肉豆
蔻醯基磷酸乙醇胺 (DMPE) ;

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺或二棕櫚醯
基磷脂醯乙醇胺 (DPPE) ;

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺或二硬脂醯
基磷脂醯乙醇胺 (DSPE) ;

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺或二油醯基磷
脂醯乙醇胺 (DOPE) ;

1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DLPG) ;

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DMPG) 或
1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸-sn-1-甘油
(DMP-sn-1-G) ;

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油或二棕櫚醯基
磷脂醯甘油 (DPPG) ;

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油 (DSPG) 或 1,2-
二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸-sn-1-甘油 (DSP-sn-1-G) ;

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸-L-絲胺酸 (DPPS) ;

1-棕櫚醯基-2-亞油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼
(PLinO_{PC}) ;

1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或棕櫚醯基油醯基磷脂醯膽鹼（POPC）；

1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（POPG）；

1-棕櫚醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（P-溶血-PC）；

1-硬脂醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（S-溶血-PC）；二植烷醯基磷脂醯乙醇胺（DPhPE）；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼或二油醯基磷脂醯膽鹼（DOPC）；

1,2-二植烷醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼（DPhPC）；

二油醯基磷脂醯甘油（DOPG）；

棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺（POPE）；

二油醯基-磷脂醯乙醇胺 4-(N-順丁烯二醯亞胺甲基)-環己烷-1-甲酸酯（DOPE-mal）；

16-O-單甲基 PE；

16-O-二甲基 PE；

18-1-反式 PE；1-硬脂醯基-2-油醯基-磷脂醯乙醇胺（SOPE）；

1,2-二反油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺（反式DOPE）；及其醫藥上可接受之鹽及混合物。融合性脂質之詳情係描述於美國專利公開案第 2007/0293449 號及第 2006/0051405 號中。

非陽離子脂質包括固醇或類固醇，諸如膽固醇。

其他非陽離子脂質為例如硬脂胺、十二烷胺、十六烷

胺、乙醯基棕櫚酸酯、蓖麻油酸甘油酯、硬脂酸十六烷酯、肉豆蔻酸異丙酯、兩性丙烯酸系聚合物、硫酸三乙醇胺月桂酯、硫酸烷基芳酯聚乙氧基化脂肪醯胺及溴化二(十八烷基)二甲基銨。

所涵蓋之陰離子脂質包括磷脂醯絲氨酸、磷脂酸、磷脂醯膽鹼、血小板活化因子 (PAF)、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯-DL-甘油、磷脂醯肌醇、磷脂醯肌醇、心磷脂、溶血磷脂、氫化磷脂、鞘髓磷脂、神經節苷脂、植物鞘胺醇、鞘胺醇、其醫藥上可接受之鹽及混合物。

適用於製備本文所述之奈米粒子組成物之適合非陽離子脂質包括二醯基磷脂醯膽鹼（例如二硬脂醯基磷脂醯膽鹼、二油醯基磷脂醯膽鹼、二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼及二亞油醯基磷脂醯膽鹼）、二醯基磷脂醯乙醇胺（例如二油醯基磷脂醯乙醇胺及棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺）、腦醯胺或鞘髓磷脂。此等脂質中之醯基較佳為具有飽和及不飽和碳鏈之脂肪酸，諸如亞油醯基、異硬脂醯基、油醯基、反油醯基、岩芹醯基、次亞麻油醯基、油脂硬脂醯基、花生醯基、肉豆蔻醯基、棕櫚醯基及月桂醯基。更佳而言，醯基為月桂醯基、肉豆蔻醯基、棕櫚醯基、硬脂醯基或油醯基。或者及/較佳地，脂肪酸具有飽和及不飽和 C₈-C₃₀（較佳 C₁₀-C₂₄）碳鏈。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯膽鹼包括：

1,2-二癸醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DDPC, C10:0,

C10:0)；

1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DLPC, C12:0, C12:0)；

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DMPC, C14:0, C14:0)；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DPPC, C16:0, C16:0)；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DSPC, C18:0, C18:0)；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DOPC, C18:1, C18:1)；

1,2-二芥子醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DEPC, C22:1, C22:1)；

1,2-二(二十碳五烯醯基)-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(EPA-PC, C20:5, C20:5)；

1,2-雙二十二碳六烯醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DHA-PC, C22:6, C22:6)；

1-肉豆蔻醯基-2-棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(MPPC, C14:0, C16:0)；

1-肉豆蔻醯基-2-硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(MSPC, C14:0, C18:0)；

1-棕櫚醯基-2-硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(PMPC, C16:0, C14:0)；

1-棕櫚醯基-2-硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼

201021853

(PSPC, C16:0, C18:0) ;

1-硬脂醯基-2-肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼
(SMPC, C18:0, C14:0) ;

1-硬脂醯基-2-棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼
(SPPC, C18:0, C16:0) ;

1,2-肉豆蔻醯基-油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺
(MOPC, C14:0, C18:0) ;

1,2-棕櫚醯基-油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺
(POPC, C16:0, C18:1) ;

1,2-硬脂醯基-油醯基-sn-甘油基-3-磷脂乙醇胺
(POPC, C18:0, C18:1), 及其醫藥上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種溶血磷脂醯膽鹼包括：

1-肉豆蔻醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼
(M-LyoPC, C14:0) ;

1-棕櫚醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼
(P-LyoPC, C16:0) ;

1-硬脂醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼
(S-LyoPC, C18:0) 及其醫藥上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯甘油係選自：

氫化大豆磷脂醯甘油 (HSPG) ;

非氫化卵磷脂醯甘油 (EPG) ;

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（DMPG，C14:0，C14:0）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（DPPG，C16:0，C16:0）；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（DSPG，C18:0，C18:0）；

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（DOPG，C18:1，C18:1）；

1,2-二芥子醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（DEPG，C22:1，C22:1）；

1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油（POPG，C16:0，C18:1）及其醫藥上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂酸包括：

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DMPA，C14:0，C14:0）；

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DPPA，C16:0，C16:0）；

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸（DSPA，C18:0，C18:0）及其醫藥上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯乙醇胺包括：

氫化大豆磷脂醯乙醇胺（HSPE）；

非氫化卵磷脂醯乙醇胺（EPE）；

201021853

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DMPE, C14:0, C14:0) ;

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DPPE, C16:0, C16:0) ;

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DSPE, C18:0, C18:0) ;

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DOPE, C18:1, C18:1) ;

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DEPE, C22:1, C22:1) ;

1,2-二芥子醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (POPE, C16:0, C18:1) 及其醫藥上可接受之鹽及混合物。

適用於本文所述之奈米粒子組成物之各種磷脂醯絲氨酸包括：

1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲氨酸
(DMPS, C14:0, C14:0) ;

1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲氨酸 (DPPS, C16:0, C16:0) ;

1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲氨酸 (DSPS, C18:0, C18:0) ;

1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸-1-絲氨酸 (DOPS, C18:1, C18:1) ;

1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-3-磷酸-1-絲氨酸 (POPS, C16:0、C18:1) 及其醫藥上可接受之鹽及混合物。

在一較佳具體實例中，適用於製備本文所述之奈米粒子組成物之適當中性脂質包括例如：

二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOPE），

二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺（DSPE），

棕櫚醯基油醯基磷脂醯乙醇胺（POPE），

卵磷脂醯膽鹼（EPC），

二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼（DPPC），

二硬脂醯基磷脂醯膽鹼（DSPC），

二油醯基磷脂醯膽鹼（DOPC），

棕櫚醯基油醯基磷脂醯膽鹼（POPC），

二棕櫚醯基磷脂醯甘油（DPPG），

二油醯基磷脂醯甘油（DOPG），

二油醯基-磷脂醯乙醇胺 4-(N-順丁烯二醯亞胺甲基)-環己烷-1-甲酸酯（DOPE-mal）、膽固醇、其醫藥上可接受之鹽及混合物。

在某些較佳具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物包括 DSPC、EPC、DOPE 等及其混合物。

在本發明之另一態樣中，奈米粒子組成物含有非陽離子脂質，諸如固醇。奈米粒子組成物較佳含有膽固醇或其類似物，且更佳為膽固醇。

4. PEG 脂質

根據本發明，本文所述之奈米粒子組成物含有 PEG 脂質。PEG 脂質延長本文所述之奈米粒子之循環且防止奈米粒子過早自身體排泄。PEG 脂質減少免疫產生性且增強奈

米粒子之穩定性。

適用於奈米粒子組成物中之 PEG 脂質包括 PEG 化形式之融合性/非陽離子脂質。舉例而言，PEG 脂質包括與二醯基甘油共軛之 PEG (PEG-DAG)、與二醯基甘醯胺共軛之 PEG、與二烷氧基丙基共軛之 PEG (PEG-DAA)、與磷脂共軛之 PEG(諸如與磷脂醯乙醇胺偶合之 PEG(PEG-PE))、與腦醯胺共軛之 PEG (PEG-Cer)、與膽固醇衍生物共軛之 PEG (PEG-Chol) 或其混合物。參看美國專利第 5,885,613 號及第 5,820,873 號及美國專利公開案第 2006/051405 號，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。

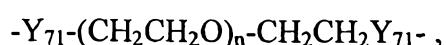
PEG 通常係由下結構表示：



其中 (n) 是約 5 至約 2300、較佳約 5 至約 460 之正整數，如此 PEG 脂質之聚合部分便具有約 200 至約 100,000 道爾頓、較佳約 200 至約 20,000 道爾頓之平均數量分子量。(n) 表示聚合物的聚合度且係取決於聚合物的分子量。

在一較佳態樣中，PEG 為數量平均分子量範圍從約 200 至約 20,000 道爾頓、更佳約 500 至約 10,000 道爾頓、又更佳約 1,000 至約 5,000 道爾頓（亦即約 1,500 至約 3,000 道爾頓）之聚乙二醇。在一具體實例中，PEG 具有約 2,000 道爾頓之分子量。在另一具體實例中，PEG 具有約 750 道爾頓之分子量。

或者，聚乙二醇 (PEG) 殘基部分可由以下結構表示：



-Y₇₁-C(=Y₇₂)-(CH₂)_{a12}-Y₇₃-(CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂-Y₇₃-(CH₂)_{a12}-C(=Y₇₂)-Y₇₁- 及
-Y₇₁-(CR₇₁R₇₂)_{a12}-Y₇₃-(CH₂)_{b12}-O-(CH₂CH₂O)_n-(CH₂)_{b12}-Y₇₃-(CR₇₁R₇₂)_{a12}-Y₇₁-，

其中：

Y₇₁ 和 Y₇₃ 獨立地為 O、S、SO、SO₂、NR₇₃ 或鍵；

Y₇₂ 為 O、S 或 NR₇₄，較佳為氧；

R₇₁₋₇₄ 獨立地選自於氫、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、C₂₋₆ 烷基、C₃₋₁₉ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₂₋₆ 烯基、經取代之 C₂₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、C₁₋₆ 雜烷基、經取代之 C₁₋₆ 雜烷基、C₁₋₆ 烷氧基、芳氧基、C₁₋₆ 雜烷氧基、雜芳氧基、C₂₋₆ 烷醯基、芳基羧基、C₂₋₆ 烷氧醯基、芳氧醯基、C₂₋₆ 烷醯氧基、芳基羧酰基、經取代之 C₂₋₆ 烷醯氧基、經取代之芳基羧基、經取代之 C₂₋₆ 烷醯氧基及經取代之芳基羧酰基，較佳為氫、甲基、乙基或丙基；

(a12) 及 (b12) 獨立地為零或正整數，較佳為零或約 1 至約 6 之整數（例如 1、2、3、4、5、6），且更佳為 1 或 2；且

(n) 為約 5 至約 2300、較佳約 5 至約 460 之整數。

PEG 之末端可以 H、NH₂、OH、CO₂H、C₁₋₆ 烷基（例如甲基、乙基、丙基）、C₁₋₆ 烷氧基、醯基或芳基為端基。在一較佳具體實例中，PEG 之末端羥基係經甲氧基或甲基取代。在一較佳具體實例中，用於 PEG 脂質中之 PEG 為甲氧基 PEG。

PEG 可直接或經由鍵聯基部分與脂質共軛。使用美國

專利第 5,122,614 號及第 5,808,096 號中描述之活化技術及此項技術中已知之其他技術，無須過度實驗，即可將與脂質結構共軛之聚合物轉化為適當活化之聚合物。

適用於製備 PEG 脂質之經活化 PEG 之實例包括例如：甲氧基聚乙二醇-丁二酸酯、mPEG-NHS、甲氧基聚乙二醇-丁二酸丁二醯亞胺酯、甲氧基聚乙二醇-乙酸(mPEG-CH₂COOH)、甲氧基聚乙二醇-胺(mPEG-NH₂)及甲氧基聚乙二醇-三氟乙礦酸酯(mPEG-TRES)。

在某些態樣中，具有末端羧酸基之聚合物可用於製備 PEG 脂質。製備高純度之具有末端羧酸之聚合物的方法描述於美國專利申請案第 11/328,662 號中，其內容係以引用的方式併入本文中。

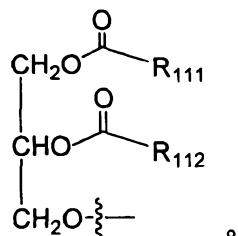
在替代態樣中，具有末端氨基之聚合物可用於製造 PEG-脂質。製備高純度之含有末端胺之聚合物之方法描述於美國專利申請案第 11/508,507 號及第 11/537,172 號中，其各內容係以引用的方式併入本文中。

PEG 與脂質可經由鍵聯，亦即非含酯鍵聯基部分或含酯鍵聯基部分而鍵結。適當非含酯鍵聯基包括但不限於：醯胺基鍵聯基部分、氨基鍵聯基部分、羧基鍵聯基部分、胺甲酸酯鍵聯基部分、碳酸酯(OC(=O)O)鍵聯基部分、脲鍵聯基部分、醚鍵聯基部分、丁二醯鍵聯基部分及其組合。適當酯鍵聯基部份包括例如：丁二醯基、磷酸酯(-O-P(=O)(OH)-O-)、礦酸酯及其組合。

在一具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括

聚乙二醇-二醯基甘油（PEG-DAG）或聚乙烯-二醯基甘醯胺。適合的聚乙二醇-二醯基甘油或聚乙二醇-二醯基甘醯胺共軛物包括烷基鏈長獨立地含有約 C₄ 至約 C₃₀（較佳約 C₈ 至約 C₂₄）飽和或不飽和碳原子的二烷基甘油或二烷基甘醯胺基團。二烷基甘油或二烷基甘醯胺基團可另外包括一或多個經取代之烷基。

本文中使用之術語「二醯基甘油」（DAG）係指具有兩個脂肪醯基鏈 R₁₁₁ 及 R₁₁₂ 之化合物。R₁₁₁ 及 R₁₁₂ 具有長度約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24 個碳）之相同或不同碳鏈且係藉由酯鍵聯與甘油鍵結。醯基可為飽和或不飽和的而具有各種不飽和度。DAG 具有通式：



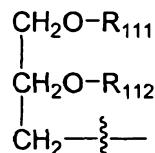
在一較佳具體實例中，PEG-二醯基甘油共軛物為 PEG-二月桂基甘油（C₁₂）、PEG-二肉豆蔻基甘油（C₁₄，DMG）、PEG-二棕櫚醯基甘油（C₁₆，DPG）或 PEG-二硬脂醯基甘油（C₁₈，DSG）。熟習此項技術者將容易瞭解其他二醯基甘油亦涵蓋在 PEG-二醯基甘油共軛物中。適用於本發明之 PEG-二醯基甘油共軛物及其製造及使用方法係描述於美國專利公開案第 2003/0077829 號及 PCT 專利申請案第 CA 02/00669 號中，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。

PEG-二醯基甘油共軛物之實例可選自於 PEG-二月桂基甘油（C₁₂）、PEG-二肉豆蔻基甘油（C₁₄）、PEG-二棕櫚

醯基甘油 (C_{16})、PEG-二硬脂醯基甘油 (C_{18})。PEG-二醯基甘醯胺共軛物之實例包括 PEG-二月桂基甘醯胺 (C_{12})、PEG-二肉豆蔻基甘醯胺 (C_{14})、PEG-二棕櫚醯基甘醯胺 (C_{16}) 及 PEG-二硬脂醯基甘醯胺 (C_{18})。

在另一具體實例中，本文所述之聚合奈米粒子可包括聚乙二醇-二烷氧基丙基共軛物 (PEG-DAA)。

術語「二烷氧基丙基」係指具有兩個烷基鏈 R_{111} 及 R_{112} 之化合物。 R_{111} 及 R_{112} 烷基包括在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24 個碳）之間的相同或不同碳鏈長度。烷基可為飽和的，或具有不同的不飽和度。二烷氧基丙基具有通式：



其中 R_{111} 及 R_{112} 烷基為具有約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24 個碳）之相同或不同烷基。烷基可為飽和或不飽和者。適合的烷基包括但不限於月桂基 (C_{12})、肉豆蔻基 (C_{14})、棕櫚基 (C_{16})、硬脂基 (C_{18})、油醯基 (C_{18}) 及二十基 (C_{20})。

在一具體實例中， R_{111} 與 R_{112} 皆相同，亦即 R_{111} 與 R_{112} 皆為肉豆蔻基 (C_{14})，皆為硬脂基 (C_{18}) 或皆為油醯基 (C_{18}) 等。在另一具體實例中， R_{111} 與 R_{112} 不同，亦即 R_{111} 為肉豆蔻基 (C_{14}) 而 R_{112} 為硬脂醯基 (C_{18})。在一較佳具體實例中，PEG-二烷基丙基共軛物包括相同的 R_{111} 與 R_{112} 。

在又另一具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE)。適用於 PEG

脂質共軛之磷脂醯乙醇胺可含有碳鏈長度在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24 個碳）範圍內之飽和或不飽和脂肪酸。適合的磷脂醯乙醇胺包括但不限於：二肉豆蔻醯基磷脂醯乙醇胺（DMPE）、二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺（DPPE）、二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOPE）及二硬脂醯基磷脂醯乙醇胺（DSPE）。

在又另一具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括與腦醯胺共軛之 PEG（PEG-Cer）。腦醯胺僅具有一個醯基。腦醯胺可具有碳鏈長度在約 4 至約 30 個碳（較佳約 8 至約 24 個碳）範圍內之飽和或不飽和脂肪酸。

在替代具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包括與膽固醇衍生物共軛之 PEG。術語「膽固醇衍生物」意謂含有經改質（亦即取代及/或消去）之膽固醇結構的任何膽固醇類似物。本文中之術語膽固醇衍生物亦包括類固醇激素及膽汁酸。

PEG 脂質之例示性實例包括 N-(羥基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二肉豆蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (${}^{2\text{kDa}} \text{mPEG-DMPE}$ 或 ${}^{5\text{kDa}} \text{mPEG-DMPE}$)；N-(羥基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (${}^{2\text{kDa}} \text{mPEG-DPPE}$ 或 ${}^{5\text{kDa}} \text{mPEG-DPPE}$)；N-(羥基-甲氧基聚乙二醇)-1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (${}^{750\text{Da}} \text{mPEG-DSPE} 750$ 、 ${}^{2\text{kDa}} \text{mPEG-DSPE} 2000$ 、 ${}^{5\text{kDa}} \text{mPEG-DSPE}$)；其醫藥上可接受之鹽（亦即鈉鹽）及混合物。

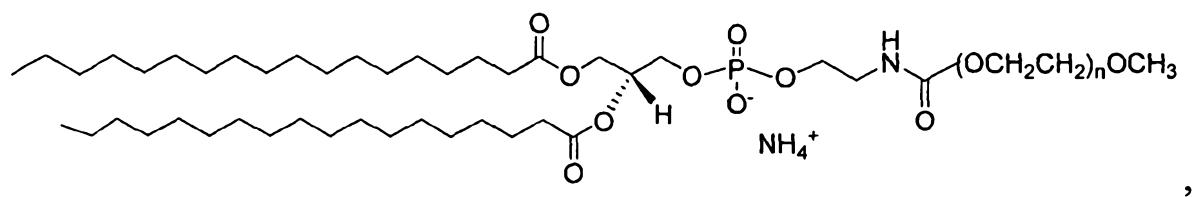
在某些較佳具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物包括具有PEG-DAG或PEG-腦醯胺之PEG脂質，其中PEG具有約200至約20,000、較佳約500至約10,000且更佳約1,000至約5,000之平均分子量。

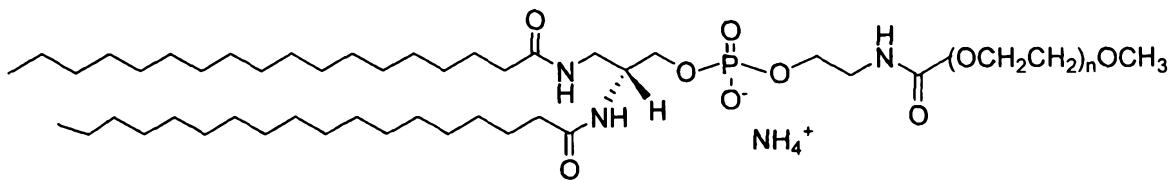
PEG-DAG及PEG-腦醯胺之若干例示性具體實例係提供於表1中。

表 1.

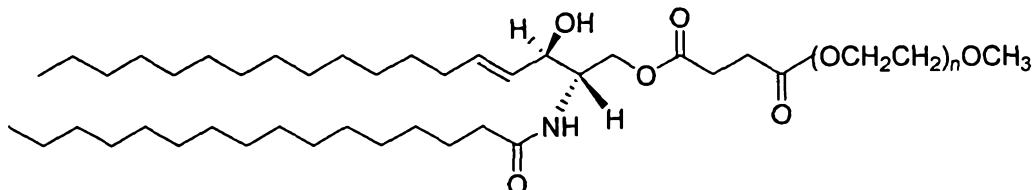
PEG-脂質	
PEG-DAG	mPEG-二肉豆蔻醯基甘油
	mPEG-二棕櫚醯基甘油
	mPEG-二硬脂酰基甘油
PEG-腦醯胺	mPEG-CerC ₈
	mPEG-CerC ₁₄
	mPEG-CerC ₁₆
	mPEG-CerC ₂₀

較佳而言，本文所述之奈米粒子組成物包括選自於PEG-DSPE、PEG-二棕櫚醯基糖醯胺(C₁₆)、PEG-腦醯胺(C₁₆)等及其混合物之PEG脂質。mPEG-DSPE、mPEG-二棕櫚醯基糖醯胺(C₁₆)及mPEG-腦醯胺(C₁₆)之結構如下：





及



其中，(n)為約 5 至約 2300、較佳約 5 至約 460 之整數。

在一較佳具體實例中，(n)為約 45。在另一具體實例中且作為以 PAO 為主之聚合物（諸如 PEG）之替代物，可使用一或多種有效非抗原性物質，諸如聚葡萄糖、聚乙二醇、以碳水化合物為主之聚合物、羥丙基甲基丙烯醯胺（HPMA）、聚氧化烯及/或其共聚物。可用來替代 PEG 之適合聚合物之實例包括但不限於聚乙二烯吡咯啶酮、聚甲基嗎唑啉、聚乙基嗎唑啉、聚羥丙基甲基丙烯醯胺、聚甲基丙烯醯胺及聚二甲基丙烯醯胺、聚乳酸、聚乙醇酸及衍生纖維素，諸如羥甲基纖維素或羥乙基纖維素。亦參看共同讓渡之美國專利第 6,153,655 號，其內容係以引用的方式併入本文中。一般熟習此項技術者將瞭解，可採用與如本文中針對 PAO（諸如 PEG）所述相同類型之活化作用。一般熟習此項技術者亦將進一步瞭解，上述清單僅為例示性且涵蓋所有具有本文所述品質的聚合物質。就本發明之目的而言，「實質上或有效非抗原性」意謂在此項技術中所瞭解為無毒的且在哺乳動物中不會引起明顯免疫原性反應的所有物質。

在又另一具體實例中，本文所述之奈米粒子組成物可包含具有可釋放鍵聯基如縮酮或亞胺之 PEG 脂質。這類可釋放 PEG 脂質使核酸（寡核苷酸）得以在遞送系統進入細胞之後與遞送系統分離。這類可釋放 PEG 脂質之其他詳情係描述於標題分別為”Releasable Polymeric Lipids Based on Imine Moiety For Nucleic Acids Delivery System” 和 ”Releasable Polymeric Lipids Based on Ketal or Acetal Moiety For Nucleic Acids Delivery System” 之美國臨時專利申請案第 61/115,379 和 61/115,371 號，以及同一日期申請且標題為” Releasable Polymeric Lipids For Nucleic Acids Delivery Systems」之 PCT 專利申請案第 _____ 號中，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。

5. 核酸/寡核苷酸

本文所述之奈米粒子組成物可用於將各種不同的核酸遞送至細胞或組織中。核酸包括質體及寡核苷酸。較佳而言，本文所述之奈米粒子組成物係用於遞送寡核苷酸。

為更充分地理解本發明之範圍，茲定義以下術語。此項技術者應瞭解術語「核酸」或「核苷酸」適用於去氧核糖核酸（「DNA」）、核糖核酸（「RNA」），無論為單股或雙股者，除非另外說明，以及適用於其任何化學修飾產物或類似物，例如鎖核酸（LNA）。此項技術者將容易瞭解，所包括之術語「核酸」為多核酸、其衍生物、修飾產物及類似物。「寡核苷酸」一般為相對較短之多核苷酸，例如大小範圍從長度約 2 至 200 個核苷酸，較佳約 8 至約

50 個核苷酸，更佳約 8 至約 30 個核苷酸，且更佳約 8 至約 20 個或約 15 至約 28 個核苷酸者。除非另外說明，否則本發明之寡核苷酸一般為合成核酸，且為單股者。術語「多核苷酸」及「多核酸」亦可在本文中作同義使用。

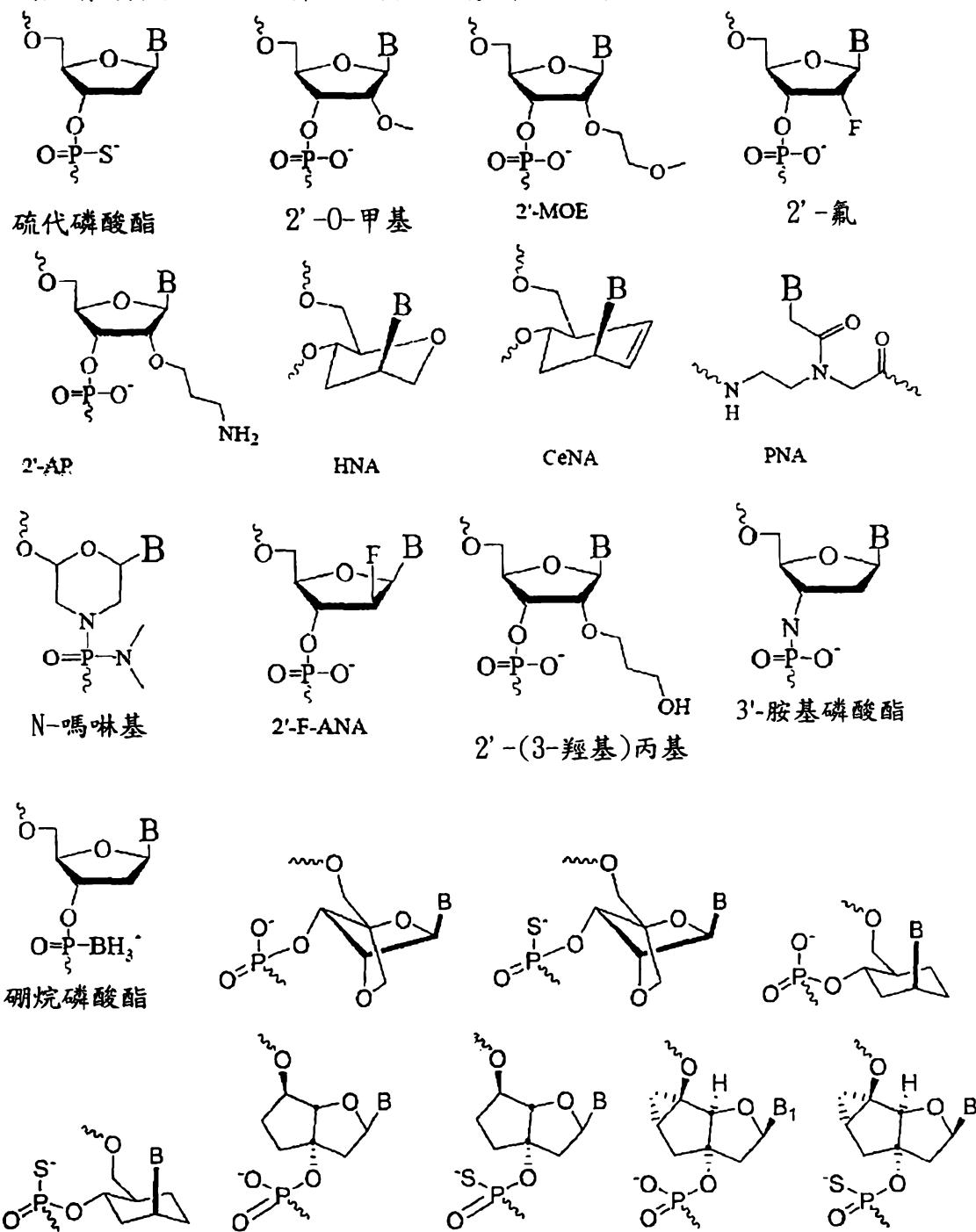
寡核苷酸（類似物）不侷限於單一種類之寡核苷酸，而是設計成以廣泛不同的這種部分作用，應瞭解，鍵聯基可與一或多個 3'-末端或 5'-末端連接，通常為核苷酸之 PO₄ 基團或 SO₄ 基團。所涵蓋之核酸分子可包括硫代磷酸酯核苷酸間鍵聯修飾、糖修飾、核酸鹼基修飾及/或磷酸酯骨架修飾。寡核苷酸可含有天然磷酸二酯骨架或硫代磷酸酯骨架或任何其他經修飾之骨架類似物，諸如 LNA（鎖核酸）、PNA（具有肽骨架之核酸）、CpG 寡聚物及諸如此類，諸如在 Tides 2002, Oligonucleotide and Peptide Technology Conferences, 2002 年 5 月 6 日至 8 日, Las Vegas, NV 及 Oligonucleotide & Peptide Technologies, 2003 年 11 月第 18 期及第 19 期, Hamburg, Germany 中所揭示者，其內容係以引用的方式併入本文中。

本發明所涵蓋之對寡核苷酸之修飾，舉例而言，包括對寡核苷酸加成或取代官能部分，其併入額外電荷、極化性、氫鍵、靜電相互作用及官能性。這類修飾包括但不限於 2'-位糖修飾、5-位嘧啶修飾、8-位嘌呤修飾、環外胺 (exocyclic amine) 處之修飾、4-硫代尿苷之取代、5-溴或 5-碘尿嘧啶之取代、骨架修飾、甲基化、鹼基配對組合如異鹼基 (isobase) 異胞苷與異胍，以及類似組合。本發明範

疇內所涵蓋之寡核苷酸亦可包括 3'及 / 或 5'帽 (cap) 結構。

就本發明之目的而言，「帽結構」應理解為意謂已併至寡核苷酸之任一末端的化學修飾。該帽可存在於 5'-末端 (5'-帽) 或 3'-末端 (3'-帽) 處，或可存在於二末端上。5'-帽之非限制性實例包括反轉無鹼基 (inverted abasic) 殘基 (部分)，4',5'-亞甲基核苷酸；1-(β -D-赤咈喃糖基)核苷酸、4'-硫代核苷酸、碳環核苷酸；1,5-去水己糖醇核苷酸；L-核苷酸； α -核苷酸；修飾鹼基核苷酸；二硫代磷酸酯鍵聯；蘇-咈喃戊糖基核苷酸；無環 3',4'-斷核苷酸；無環 3,4-二羥丁基核苷酸；無環 3,5-二羥戊基核苷酸；3'-3'-反轉核苷酸部分；3'-3'-反轉無鹼基部分；3'-2'-反轉核苷酸部分；3'-2'-反轉無鹼基部分；磷酸 1,4-丁二醇酯；3'-氨基磷酸酯；磷酸己酯；磷酸氨基己酯；3'-磷酸酯；3'-硫代磷酸酯；二硫代磷酸酯；或橋接或非橋接膦酸甲酯部分。詳情係描述於 WO 97/26270 中，其內容係以引用的方式併入本文中。3'-帽可包括例如：4',5'-亞甲基核苷酸；1-(β -D-赤咈喃糖基)核苷酸；4'-硫代核苷酸、碳環核苷酸；磷酸 5'-氨基烷酯；磷酸 1,3-二氨基-2-丙酯；磷酸 3-氨基丙酯；磷酸 6-氨基己酯；磷酸 1,2-氨基十二烷酯；磷酸羥丙酯；1,5-去水己糖醇核苷酸；L-核苷酸； α -核苷酸；修飾鹼基核苷酸；二硫代磷酸酯；蘇-咈喃戊糖基核苷酸；無環 3',4'-斷核苷酸；3,4-二羥丁基核苷酸；3,5-二羥戊基核苷酸；5'-5'-反轉核苷酸部分；5'-5'-反轉無鹼基部分；5'-氨基磷酸酯；5'-硫代磷酸酯；磷酸 1,4-丁二醇酯；5'-氨基；橋接及 / 或非橋接 5'-氨基磷酸

酯、硫代磷酸酯及/或二硫代磷酸酯；橋接或非橋接膦酸甲酯及 5'-巯基部分。亦參看 Beaucage 及 Iyer, 1993, *Tetrahedron* 49, 1925；其內容係以引用的方式併入本文中。核苷類似物之非限制性清單具有如下結構：



參看 Freier 及 Altmann; *Nucl. Acid Res.*, 1997, 25, 4429-4443 及 Uhlmann; *Curr. Opinion in Drug Development*,

2000, 3(2), 293-213 中所述之更多核苷類似物實例，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。

術語「反義」，當用於本文時，係指與編碼基因產物或編碼控制序列之特定 DNA 序列或 RNA 序列互補的核苷酸序列。術語「反義股」用於指稱與「有義」股互補之核酸股。在正常進行之細胞代謝中，DNA 分子之有義股為編碼多肽及/或其他基因產物之股。有義股充當合成信使 RNA（「mRNA」）轉錄物（反義股）之模板，該信使 RNA 轉錄物繼而指導任何經編碼基因產物之合成。反義核酸分子可由此項技術中已知之任何方法產生，包括合成。被引入細胞中之後，此轉錄股即與細胞所產生之天然序列組合，形成雙股體（duplex）。接著，此等雙股體阻斷 mRNA 之進一步轉錄或其轉譯。標示「負」或(-)亦為技術已知係指反義股；而「正」或(+)亦為技術已知係指有義股。

就本發明之目的而言，「互補」應理解為意謂一個核酸序列與另一個核酸序列形成氫鍵。互補百分比表示一個核酸分子中可與第二個核酸序列形成氫鍵（亦即，沃森-克里克鹼基配對（Watson-Crick base pairing））之相連殘基的百分比，亦即在 10 個殘基中有 5、6、7、8、9、10 個即為 50%、60%、70%、80%、90% 及 100% 互補。「完全互補」意謂一個核酸序列之所有相連殘基均與第二個核酸序列中相同數目之相連殘基形成氫鍵。

適用於本文所述之奈米粒子的核酸（諸如一或多種相同或不同之寡核苷酸或寡核苷酸衍生物）可包含約 5 至約

1000 個核酸，且較佳為相對較短之多核苷酸，例如大小範圍較佳從長度約 8 至約 50（例如約 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30）個核苷酸。

在一態樣中，被包封於本文所述奈米粒子中之適用核酸包括具有天然磷酸二酯骨架或硫代磷酸酯骨架或任何其他經修飾之骨架類似物的寡核苷酸及寡去氧核苷酸，諸如：

LNA（鎖核酸）；

PNA（具有肽骨架之核酸）；

短干擾 RNA（siRNA）；

微 RNA（miRNA）；

具有肽骨架之核酸（PNA）；

二胺基磷酸酯(N-嗎啉基)寡核苷酸（PMO）；

三環 DNA；

誘餌 ODN（雙股寡核苷酸）；

催化性 RNA 序列（RNAi）；

核糖核酸酶；

適體（aptamer）；

鏡像異構體（spiegelmer）（L-構型寡核苷酸）；

CpG 寡聚物；及諸如此類，例如下列文獻中所揭示者：

Tides 2002, Oligonucleotide and Peptide Technology Conferences, 2002 年 5 月 6 日至 8 日, Las Vegas, NV；及 Oligonucleotide & Peptide Technologies, 2003 年 11 月第 18 期及第 19 期, Hamburg, Germany，其內容係以引用的方式

併入本文中。

在被包封於奈米粒子中之核酸的另一態樣中，寡核苷酸可視情況包含此項技術中已知之任何適合的核苷酸類似物及衍生物，包括下表 2 中所列者：

表 2. 代表性核苷酸類似物及衍生物

4-乙醯基胞苷	5-甲氧基胺甲基-2-硫代尿苷
5-(羧基羥甲基)尿苷	β ,D-甘露糖基辯苷 (beta, D-mannosylqueuosine)
2'-O-甲基胞苷	5-甲氧基羥甲基-2-硫代尿苷
5-甲氧基羥甲基尿苷	5-羧基甲基胺甲基-2-硫代尿苷
5-甲氧基尿苷	5-羧基甲基胺甲基甲基尿苷
二氫尿苷	2-甲基硫基-N6-異戊烯基腺苷
2'-O-甲基假尿苷	N-[(9- β -D-呋喃核糖基-2-甲基硫代嘌呤-6-基)胺甲醯基]蘇胺酸
D-半乳糖基辯苷	N-[(9- β -D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)N-甲基胺甲醯基]蘇胺酸
2'-O-甲基鳥苷	尿苷-5-氨基乙酸-甲酯
2'-鹼基-腺苷	2'-鹼基-胞苷
2'-鹼基-鳥苷	2'-鹼基-胸腺嘧啶
2'-鹼基-尿苷	2'-鹼基-甲基胞苷
2'-氨基-腺苷	2'-氨基-胞苷
2'-氨基-鳥苷	2'-氨基-胸腺嘧啶
2'-氨基-尿苷	2'-氨基-甲基胞苷
肌苷	尿苷-5-氨基乙酸
N6-異戊烯基腺苷	懷丁氧苷 (Wybutoxosine)
1-甲基腺苷	假尿苷
1-甲基假尿苷	辯苷 (Queuosine)
1-甲基鳥苷	2-硫代胞苷
1-甲基肌苷	5-甲基-2-硫代尿苷
2,2-二甲基鳥苷	2-硫代尿苷
2-甲基腺苷	4-硫代尿苷
2-甲基鳥苷	5-甲基尿苷
3-甲基胞苷	N-[(9- β -D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)-胺甲醯基]蘇胺酸
5-甲基胞苷	2'-O-甲基-5-甲基尿苷
N6-甲基腺苷	2'-O-甲基尿苷
7-甲基鳥苷	懷丁苷 (Wybutosine)
5-甲基胺基甲基尿苷	3-(3-氨基-3-羧基-丙基)尿苷
鎖腺苷	鎖胞苷
鎖鳥苷	鎖胸腺嘧啶
鎖尿苷	鎖甲基胞苷

在一較佳態樣中，舉例而言，被包封在奈米粒子中之標靶寡核苷酸包括但不限於致癌基因、促血管生成路徑基因、促細胞增殖路徑基因、病毒感染因子基因及促炎性路徑基因。

在一較佳具體實例中，被包封在本文所述之奈米粒子中的寡核苷酸參與靶向腫瘤細胞，或下調與腫瘤細胞相關之基因或蛋白質表現及/或腫瘤細胞對抗癌治療劑之抗性。舉例而言，用於下調任何技術已知與癌症相關之細胞蛋白（例如 BCL-2）的反義寡核苷酸均可用於本發明。參看 2004 年 4 月 9 日申請之美國專利申請案第 10/822,205 號，其內容係以引用的方式併入本文中。較佳治療性寡核苷酸之非限制性清單包括反義 bcl-2 寡核苷酸、反義 HIF-1 α 寡核苷酸、反義存活素 (survivin) 寡核苷酸、反義 ErbB3 寡核苷酸、反義 PIK3CA 寡核苷酸、反義 HSP27 寡核苷酸、反義雄激素受體寡核苷酸、反義 Gli2 寡核苷酸及反義 β -索煙素 (β -catenin) 寡核苷酸。

更佳而言，本文所述之根據本發明之寡核苷酸包括硫代磷酸酯骨架及 LNA。

在一較佳具體實例中，寡核苷酸可為例如反義存活素 LNA、反義 ErbB3 LNA 或反義 HIF1- α LNA。

在另一較佳具體實例中，寡核苷酸可為例如具有與 Genasense® (a/k/a 奧利默森鈉 (oblimersen sodium)，由 Genta 公司 (Berkeley Heights, NJ) 生產) 相同或實質上類似之核苷酸序列的寡核苷酸。Genasense® 為 18 聚體

(18-mer) 硫代磷酸酯反義寡核苷酸 (SEQ ID NO:4)，其與人類 bcl-2 mRNA 之起始序列的前六個密碼子互補 (人類 bcl-2 mRNA 為技術已知的，且在例如美國專利第 6,414,134 號中描述為 SEQ ID NO:19，該專利以引用的方式併入本文中)。

所涵蓋之較佳具體實例包括：

(i) 反義存活素 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 1) :



其中大寫字母表示 LNA，「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(ii) 反義 Bcl2 siRNA :

有義 5'-gcaugcggccucuguuugadTdT-3' (SEQ ID NO: 2)

反義 3'-dTdTcguaacgcccggagacaacu-5' (SEQ ID NO: 3)

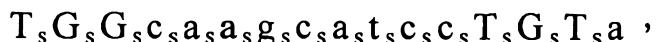
其中 dT 表示 DNA；

(iii) Genasense (硫代磷酸酯反義寡核苷酸) (SEQ ID NO: 4) :



其中小寫字母表示 DNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(iv) 反義 HIF1 α LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 5) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(v) 反義 ErbB3 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 6) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(vi) 反義 ErbB3 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 7) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(vii) 反義 PIK3CA LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 8) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(viii) 反義 PIK3CA LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 9) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(ix) 反義 HSP27 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 10) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(x) 反義 HSP27 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 11) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xi) 反義 雄激素受體 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 12) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xii) 反義 雄激素受體 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 13) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xiii) 反義 GLI2 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 14) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

(xiv) 反義 GLI2 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 15) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架；

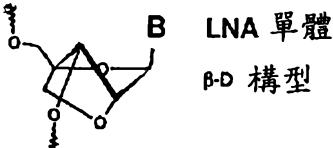
(xv) 反義 β -索煙素 LNA 寡聚物 (SEQ ID NO: 16) :



其中大寫字母表示 LNA，且「s」表示硫代磷酸酯骨架。

小寫字母表示 DNA 單元，粗體大寫字母表示 LNA 單元，諸如 β -D-氧基-LNA 單元。LNA 單體中之所有胞嘧啶鹼基均為 5-甲基胞嘧啶。下標「s」表示硫代磷酸酯鍵聯。

LNA 包括如下所示之 2'-O,4'-C 亞甲基雙環核苷酸：



參看在標題為「LNA Oligonucleotides and the Treatment of Cancer」之美國專利申請案第 11/272,124 號及標題為「Oligomeric Compounds for the Modulation Survivin Expression」之美國專利申請案第 10/776,934 號中所揭示之存活素 LNA 的詳細描述，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。關於 HIF-1 α 調節，亦參看美國專利第 7,589,190 號及美國專利公開案第 2004/0096848 號；關於 ErbB3 調節，見美國專利公開案第 2008/0318894 號及 PCT/US09/063357；關於 PIK3CA 調節，見美國專利公開案第 2009/0192110 號；關於 HSP27 調節，見 PCT/IB09/052860；關於雄激素受體調節，見美國專利公開案第 2009/0181916 號；及標題為「RNA Antagonists Targeting GLI2」之美國臨時申請案第 61/081,135 號及 PCT

申請案第 PCT/IB09/006407 號；及關於 β 索煙素調節，見美國專利公開案第 2009/0005335 號及第 2009/0203137 號；其各者之內容亦以引用的方式併入本文中。適合之標靶基因的其他實例係描述於 WO 03/74654、PCT/US03/05028 及美國專利申請案第 10/923,536 號中，其內容係以引用的方式併入本文中。

在另一具體實例中，本文所述之奈米粒子可包括與促核內體釋放基團可釋放地鍵聯之寡核苷酸。核內體釋放促進基團，諸如富含組胺酸之肽，可使核內體膜不穩定/破壞之，從而促進治療劑之細胞質遞送。富含組胺酸之肽增強寡核苷酸至細胞質之核內體釋放。隨後，細胞內釋放之寡核苷酸可移位至細胞核。寡核苷酸-富含組胺酸之肽共軛物之其他詳情係描述於 2008 年 11 月 17 日申請之美國臨時專利申請案第 61/115,350 號及第 61/115,326 號，及同一日期申請且標題為「Releasable Conjugates For Nucleic Acids Delivery Systems」之 PCT 專利申請案第 _____ 號中，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。

6. 靶向基團

視情況/較佳地，本文所述之奈米粒子組成物進一步包括針對特定細胞或組織類型之靶向配位體。可使用鍵聯分子，諸如醯胺、醯胺基、羧基、酯、肽、二硫化物、矽烷、核苷、無鹼基核苷、聚醚、聚胺、聚醯胺、肽、碳水化合物、脂質、聚煙、磷酸酯、胺基磷酸酯、硫代磷酸酯、磷酸烷酯、順丁烯二醯亞胺基鍵聯基或光不穩定鍵聯基，將

靶向基團與奈米粒子組成物之任何組份（較佳為陽離子脂質及 PEG-脂質）連接。可使用此項技術中已知之任何技術使靶向基團與奈米粒子組成物之任何組份共軛而無須過度實驗。

舉例而言，可將靶向劑與 PEG 脂質之聚合部分連接以在活體內將奈米粒子引導至標靶區域。本文所述之奈米粒子之靶向遞送增強包封治療性核酸之奈米粒子的細胞吸收，藉此改善治療功效。在某些態樣中，一些細胞穿透性肽可用多種靶向肽置換以供靶向遞送至腫瘤部位。

在本發明之一較佳態樣中，靶向部分，諸如單鏈抗體 (SCA) 或單鏈抗原結合抗體、單株抗體、細胞黏附肽（諸如 RGD 肽及選擇素 (Selectin)）、細胞穿透性肽 (CPP)（諸如 TAT、穿透素 (Penetratin) 及 $(\text{Arg})_9$ ）、受體配位體、靶向碳水化合物分子或凝集素 (lectin) 等，使奈米粒子得以特異性地針對靶向區域。參看 *J Pharm Sci.* 2006 年 9 月；95(9): 1856-72 Cell adhesion molecules for targeted drug delivery，其內容係以引用的方式併入本文中。

較佳的靶向部分包括單鏈抗體 (SCA) 或抗體之單鏈可變片段 (sFv)。SCA 含有可結合或識別標靶腫瘤細胞之特異性分子的抗體結構域。除保持抗原結合部位之外，與 PEG-脂質共軛之 SCA 可減少抗原性且增加 SCA 在血流中之半衰期。

術語「單鏈抗體」(SCA)、「單鏈抗原結合分子或抗體」或「單鏈 Fv」(sFv) 係互換使用。單鏈抗體具有針對

抗原之結合親和力。單鏈抗體（SCA）或單鏈Fv可以若干方式構築，且已以若干方式構築。單鏈抗原結合蛋白之理論及產生的描述係見於共同讓渡之美國專利申請案第10/915,069號及美國專利第6,824,782號中，其各者之內容係以引用的方式併入本文中。

典型地，SCA或Fv域可選自在文獻中以其縮寫而為吾人所知的單株抗體，如26-10、MOPC 315、741F8、520C9、McPC 603、D1.3、鼠類phOx、人類phOx、RFL3.8 sTCR、1A6、Se155-4、18-2-3、4-4-20、7A4-1、B6.2、CC49、3C2、2c、MA-15C5/K₁₂Go、Ox等（參看Huston, J. S.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)；Huston, J. S.等人，SIM News 38(4) (增刊):11 (1988)；McCartney, J.等人，ICSU Short Reports 10:114 (1990)；McCartney, J. E.等人，unpublished results (1990)；Nedelman, M. A.等人，J. Nuclear Med. 32(增刊):1005 (1991)；Huston, J. S.等人，Molecular Design and Modeling: Concepts and Applications, B部分，J. J. Langone編，Methods in Enzymology 203:46-88(1991)；Huston, J. S.等人，Advances in the Applications of Monoclonal Antibodies in Clinical Oncology, Epenetos, A. A. (編), London, Chapman & Hall (1993); Bird, R. E.等人，Science 242:423-426(1988); Bedzyk, W. D.等人，J. Biol. Chem. 265:18615-18620 (1990); Colcher, D.等人，J. Nat. Cancer Inst. 82:1191-1197 (1990); Gibbs, R. A.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4001-4004 (1991)；

Milenic, D. E. 等人, Cancer Research 51:6363-6371 (1991) ; Pantoliano, M. W. 等人, Biochemistry 30:10117-10125 (1991) ; Chaudhary, V. K. 等人, Nature 339:394-397 (1989) ; Chaudhary, V. K. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1066-1070 (1990) ; Batra, J. K. 等人, Biochem. Biophys. Res. Comm. 171:1-6(1990) ; Batra, J. K. 等人, J. Biol. Chem. 265:15198-15202(1990); Chaudhary, V. K. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:9491-9494 (1990) ; Batra, J. K. 等人, Mol. Cell. Biol. 11:2200-2205 (1991) ; Brinkmann, U. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8616-8620 (1991) ; Seetharam, S. 等人, J. Biol. Chem. 266:17376-17381 (1991) ; Brinkmann, U. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3075-3079(1992) ; Glockshuber, R. 等人, Biochemistry 29:1362-1367 (1990) ; Skerra, A. 等人, Bio/Technol. 9:273-278(1991) ; Pack, P. 等人, Biochemistry 31:1579-1534 (1992) ; Clackson, T. 等人, Nature 352:624-628(1991) ; Marks, J. D. 等人, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991) ; Iverson, B. L. 等人, Science 249:659-662(1990) ; Roberts, V. A. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6654-6658(1990) ; Condra, J. H. 等人, J. Biol. Chem. 265:2292-2295 (1990) ; Laroche, Y. 等人, J. Biol. Chem. 266:16343-16349(1991) ; Holvoet, P. 等人, J. Biol. Chem. 266:19717-19724 (1991) ; Anand, N. N. 等人, J. Biol. Chem. 266:21874-21879(1991); Fuchs, P. 等人, Biol Technol.

9:1369-1372(1991)；Breitling, F. 等人, Gene 104:104-153 (1991)；Seehaus, T. 等人, Gene 114:235-237 (1992)；Takkinen, K. 等人, Protein Engng. 4:837-841 (1991)；Dreher, M. L. 等人, J. Immunol. Methods 139:197-205 (1991)；Mottez, E. 等人, Eur. J. Immunol. 21:467-471 (1991)；Traunecker, A. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8646-8650 (1991)；Traunecker, A. 等人, EMBO J. 10:3655-3659 (1991)；Hoo, W. F. S. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4759-4763 (1993))。各前述出版物係以引用的方式併入本文中。

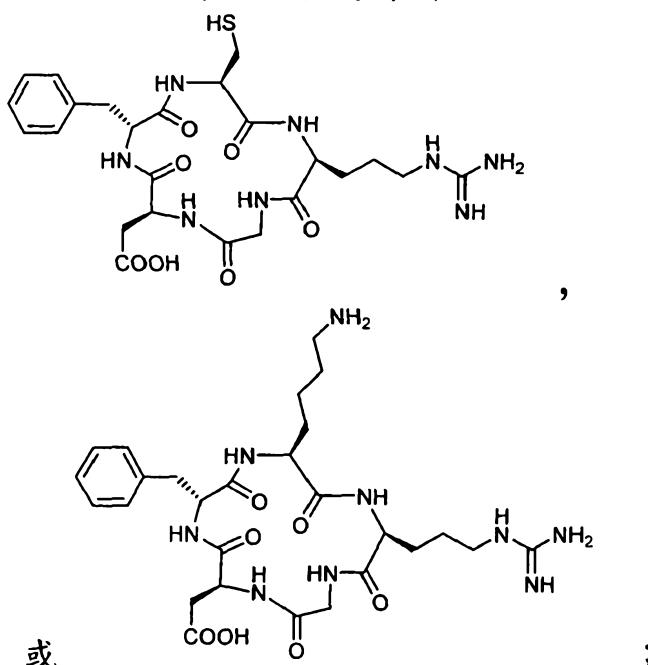
靶向基團之非限制清單包括血管內皮細胞生長因子、FGF2、體抑素(somatostatin)及體抑素類似物、轉鐵蛋白、促黑素(melanotropin)、ApoE及ApoE肽、馮威里氏因子(von Willebrand's Factor)及馮威里氏因子肽、腺病毒纖維蛋白及腺病毒纖維蛋白肽、PD1及PD1肽、EGF及EGF肽、RGD肽、葉酸鹽、對甲氧基苯甲醯胺(anisamide)等。熟習此項技術者所瞭解之其他選用靶向劑亦可用於本文所述之奈米粒子中。

在一較佳具體實例中，適用於本文所述化合物之靶向劑包括單鏈抗體(SCA)、RGD肽、選擇素、TAT、穿透素、(Arg)₉、葉酸、對甲氧基苯甲醯胺等，且此等藥劑之結構為：

C-TAT：(SEQ ID NO: 17) CYGRKKRRQRRR；

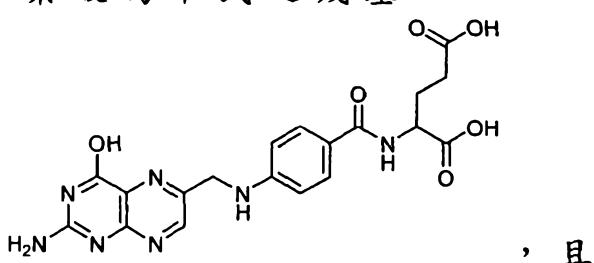
C-(Arg)₉：(SEQ ID NO: 18) CRRRRRRRRR；

RGD 可為直鏈或環狀：



或

葉酸為下式之殘基：



，且

對甲氧基苯甲醯胺為 $p\text{-MeO-Ph-C(=O)OH}$ 。

Arg_9 可包括用於共軛之半胱胺酸，諸如 CRRRRRRRRR，且 TAT 可在肽末端處添加另外的半胱胺酸，諸如 CYGRKKRRQRRRC。

就本發明之目的而言，本說明書及圖中所用之縮寫表示以下結構：

(i) C-diTAT (SEQ ID NO: 19) =

CYGRKKRRQRRRYGRKKRRQRRR-NH₂；

(ii) 直鏈 RGD (SEQ ID NO: 20) = RGDC；

(iii) 環狀 RGD (SEQ ID NO: 21 及 SEQ ID NO: 22) =

c-RGDFC 或 c-RGDFK；

(iv) RGD-TAT (SEQ ID NO: 23) =
CYGRKKRRQRRRGGGRGDS-NH₂；及

(v) Arg₉ (SEQ ID NO: 24) = RRRRRRRRRR。

或者，靶向基團包括：糖及碳水化合物，諸如半乳糖、半乳糖胺及 N-乙醯半乳糖胺；激素，諸如雌激素、睪固酮、助孕酮、葡萄糖皮質酮 (glucocortisone)、腎上腺素、胰島素、升糖素、皮質醇、維生素 D、甲狀腺激素、視黃酸及生長激素；生長因子，諸如 VEGF、EGF、NGF 及 PDGF；神經傳遞質，諸如 GABA、麴胺酸鹽、乙醯膽鹼；NOGO；三磷酸肌醇；腎上腺素；去甲腎上腺素；一氧化氮、肽、維生素（諸如葉酸鹽及吡哆醇 (pyridoxine)）；可在活體內或試管內與細胞表面受體相互作用之藥物、抗體及任何其他分子。

D. 奈米粒子之製備

本文所述之奈米粒子可藉由任何技術已知方法製備而無須過度實驗。

舉例而言，奈米粒子可製備如下：於第一貯器中提供核酸（諸如寡核苷酸）水溶液（或不含核酸之水溶液以供用於比較研究），於第二貯器中提供含有本文所述奈米粒子組成物之有機脂質溶液，且將水溶液與有機脂質溶液混合，以使得有機脂質溶液與水溶液混合而產生包封核酸之奈米粒子。該方法之詳情係描述於美國專利公開案第 2004/0142025 號中，其內容係以引用的方式併入本文中。

或者，本文所述之奈米粒子可使用此項技術中已知之任何方法製備，包括例如清潔劑透析法，或利用有機溶劑以在混合組份期間提供單一相之改良逆相法。在清潔劑透析法中，使核酸（亦即 siRNA）與陽離子脂質之清潔劑溶液接觸以形成經塗佈之核酸複合物。

在本發明之一具體實例中，陽離子脂質係與諸如寡核苷酸之核酸組合以產生約 1:20 至約 20:1 之電荷比，較佳為約 1:5 至約 5:1 之比，且更佳約 1:2 至約 2:1 之比。

在本發明之一具體實例中，陽離子脂質係與諸如寡核苷酸之核酸組合以產生約 1:1 至約 20:1、約 1:1 至約 12:1 之電荷比，且更佳為約 2:1 至約 6:1 之比。或者，奈米組成物之氮對磷酸酯（N/P）比範圍從約 2:1 至約 5:1（亦即 2.5:1）。

在另一具體實例中，可藉由使用雙泵系統製備本文所述之奈米粒子。一般而言，該方法包括於第一貯器中提供含有核酸之水溶液且於第二貯器中提供含有所述奈米粒子組成物之脂質溶液。藉由使用雙泵系統混合該二溶液以提供奈米粒子。隨後以水性緩衝液稀釋所得混合溶液且可藉由透析來純化及/或分離所形成之奈米粒子。奈米粒子可經進一步加工以藉由經 $0.22 \mu\text{m}$ 過濾器過濾而滅菌。

含有核酸之奈米粒子範圍從直徑約 5 至約 300 nm。較佳而言，藉由使用動態光散射（Dynamic Light Scattering, DLS）技術測量，奈米粒子具有小於約 150 nm（例如約 50-150 nm）之中數直徑，更佳為小於約 100 nm 之直徑。大部分奈

米粒子具有約 30 至 100 nm (例如 59.5、66、68、76、80、93、96 nm) 、較佳約 60 至約 95 nm 之中數直徑。熟習技術者將瞭解使用其他諸如 TEM 之技術已知技術之測量，當與 DLS 技術比較，可提供減半的中數直徑數。如聚合度分布性所示，本發明奈米粒子為在大小方面為實質上均勻的。

視情況，可藉由任何此技術中已知之方法將奈米粒子篩分。可進行篩分以便達到合意大小範圍及相對窄之奈米粒子大小分布。有若干技術可用於將奈米粒子篩分至合意大小。參看例如美國專利第 4,737,323 號，其內容係以引用的方式併入本文中。

本發明提供製備血清穩定奈米粒子之方法，使得核酸（例如 LNA 或 siRNA）被包封於脂質多層結構（亦即脂質雙層）中且免被降解。本文所述之奈米粒子在水溶液中為穩定的。被包含在本發明奈米粒子中之核酸被保護而免於存在於體液中之核酸酶。

另外，根據本發明製備之奈米粒子在生理 pH 值下較佳為中性或帶正電荷的。

使用本文所述之奈米粒子組成物製備之奈米粒子或奈米粒子複合物包括：(i)式(I)化合物；(ii)中性脂質/融合性脂質；(iii)PEG-脂質及(iv)核酸，諸如寡核苷酸。

在一具體實例中，奈米粒子組成物包括下列混合物：

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE) 與膽固醇之混合物；

式(I)化合物、二醯基磷脂醯膽鹼、與磷脂醯乙醇胺共

軛之 PEG (PEG-PE) 與膽固醇之混合物；

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、二醯基磷脂醯膽鹼、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE) 與膽固醇之混合物；

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、與腦醯胺共軛之 PEG (PEG-Cer) 與膽固醇之混合物；或

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE)、與腦醯胺共軛之 PEG (PEG-Cer) 與膽固醇之混合物。

其他奈米粒子組成物可藉由將含有技術已知陽離子脂質的組成物改質來製備。可藉由添加技術已知之陽離子脂質將含有式(I)化合物之奈米粒子組成物改質。參看美國專利申請公開案第 2008/0020058 號之表 IV 中所述之技術已知之組成物，其內容係以引用的方式併入本文中。

用於製備奈米粒子之非限制性奈米粒子組成物清單係示於表 3 中。

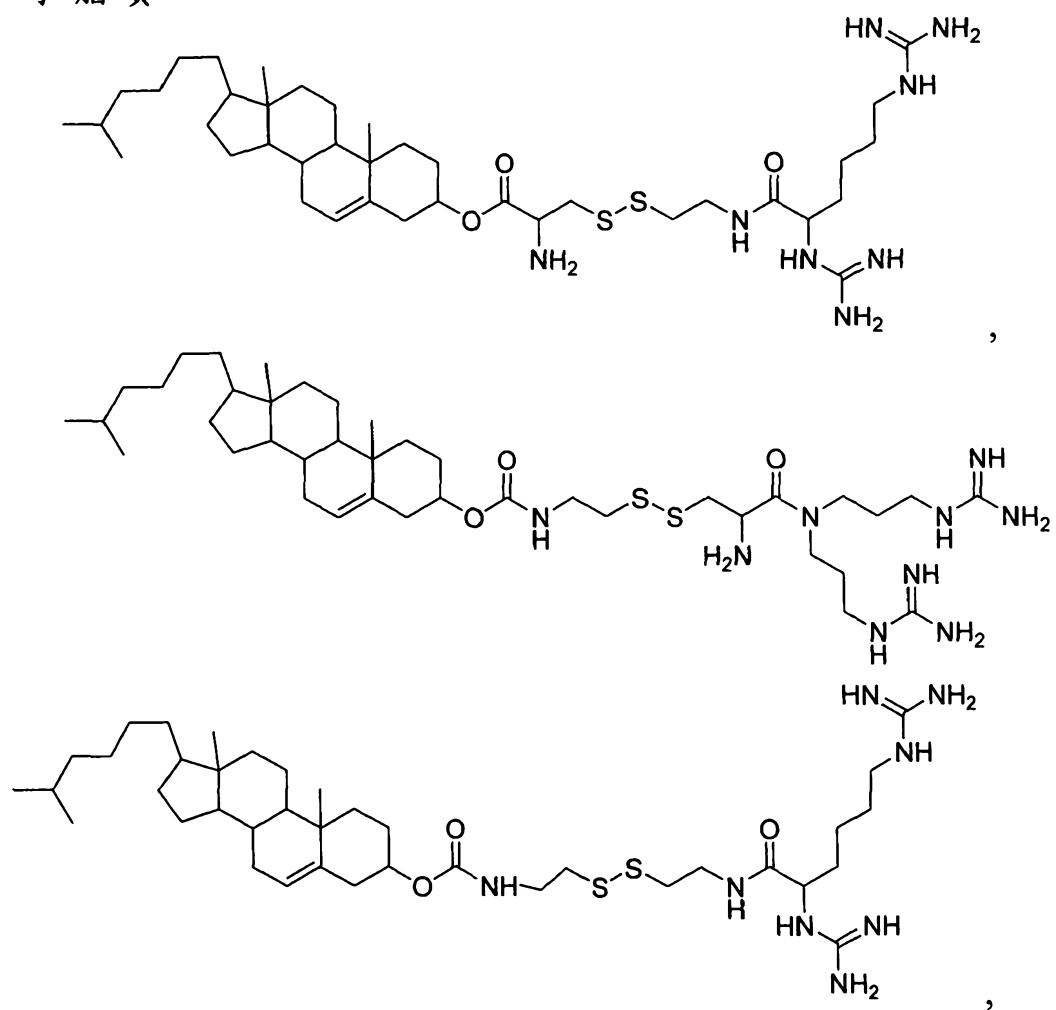
表 3.

樣品 編號	奈米粒子組成物	莫耳比	Oligo
1	式(I)化合物: DOPE: DSPC: 膽固醇: DSPE-PEG	15:15:20:40:10	Oligo-1
2	式(I)化合物: DOPE: DSPC: 膽固醇: DSPE-PEG	15:5:20:50:10	Oligo-1
3	式(I)化合物: DOPE: DSPC: 膽固醇: DSPE-PEG	25:15:20:30:10	Oligo-1
4	式(I)化合物: EPC: 膽固醇: DSPE-PEG	20:47:30: 3	Oligo-1
5	式(I)化合物: DOPE: 膽固醇: DSPE-PEG	17:60:20:3	Oligo-1
6	式(I)化合物: DOPE: DSPE-PEG	20:78: 2	Oligo-1
7	式(I)化合物: DOPE: 膽固醇: C16mPEG-腦醯胺	17:60:20:3	Oligo-2
8	式(I)化合物: DOPE: 膽固醇: DSPE-PEG: C16mPEG-腦醯胺	18:60:20:1:1	Oligo-2

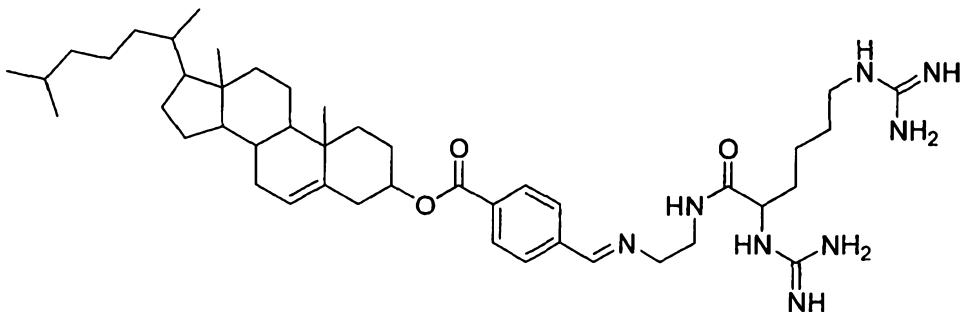
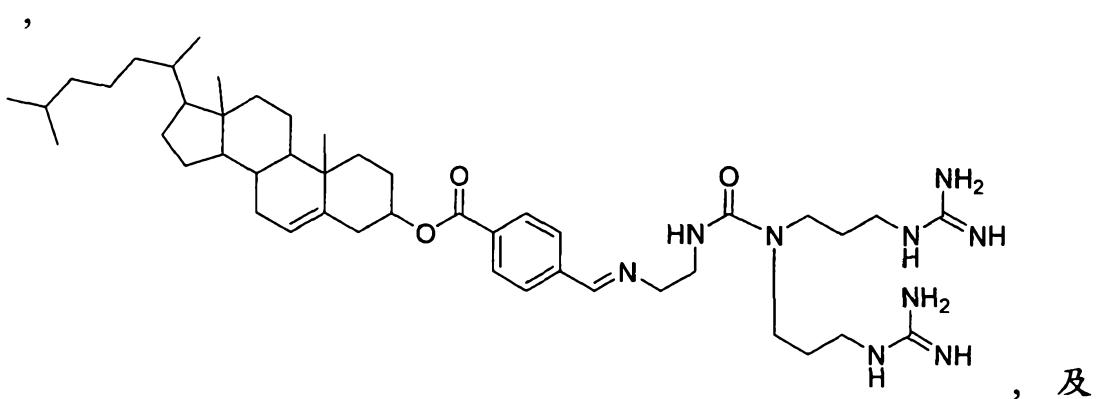
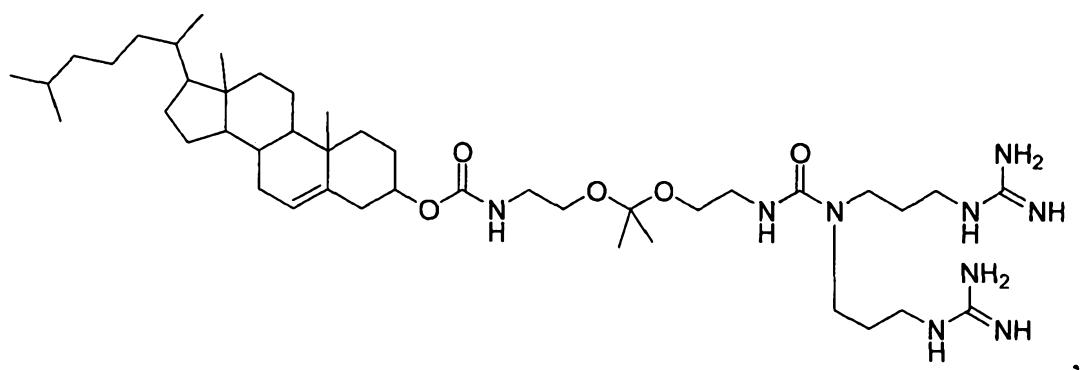
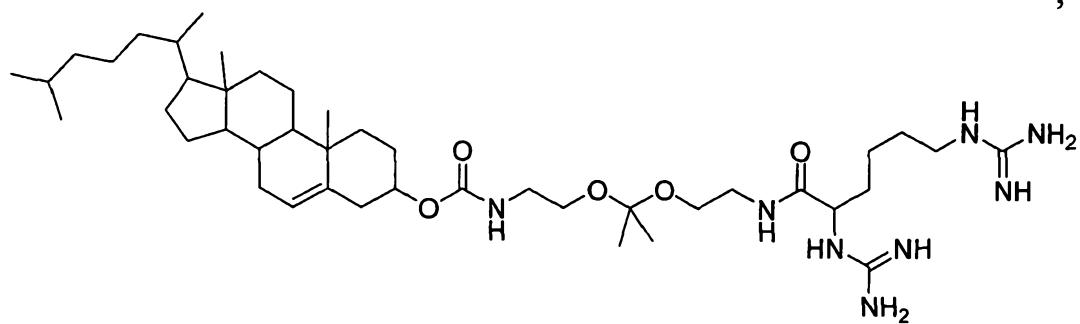
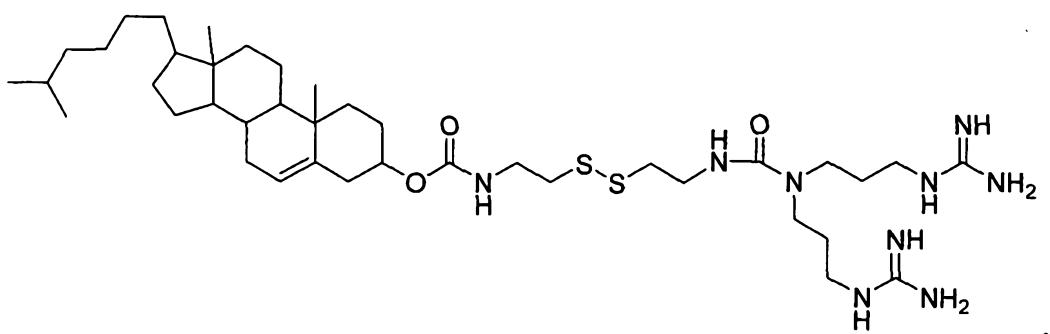
在一具體實例中，奈米粒子中之式(I)化合物:DOPE:膽固醇:PEG-DSPE:C16mPEG-腦醯胺之莫耳比分別為約18%:60%:20%:1%:1%之莫耳比。（樣品編號8）

在另一具體實例中，奈米粒子含有莫耳比為存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約17%:60%:20%:3%的式(I)化合物、DOPE、膽固醇及C16mPEG-腦醯胺。（樣品編號7）

這些奈米粒子組成物較佳係含有具有下結構之可釋放陽離子脂質：



201021853



如本文中所用之莫耳比係指相對於存在於奈米粒子組成物中之總脂質的量。

E. 治療方法

本文所述之奈米粒子可單獨或與其他療法組合用於預防、抑制、降低或治療與細胞或組織中標靶基因表現量有關或對其反應之任何病徵、疾病或病狀的治療中。該方法包括將本文所述之奈米粒子投予有需要之哺乳動物。

本發明之一態樣提供在活體內及/或試管內將諸如核酸/寡核苷酸之治療劑引入或遞送至哺乳動物細胞中之方法。

根據本發明之方法包括使細胞與本文所述之化合物接觸。該遞送可作為適合之醫藥組成物的一部分在活體內進行，或在活體外或試管內環境中直接遞送至細胞。

本發明適用於將寡核苷酸引入哺乳動物中。本文所述之化合物可投予哺乳動物，較佳為人類。

根據本發明，本發明較佳係提供抑制或下調（或調節）哺乳動物細胞或組織中之基因表現的方法。基因表現之下調或抑制可在活體內、活體外及/或試管內達成。該等方法包括使人類細胞或組織與包封核酸之奈米粒子接觸或將奈米粒子投予有需要之哺乳動物。一旦接觸已經發生，當相較於在缺乏本文所述之奈米粒子的情況下所觀測之結果，在活體內、活體外或試管內達成至少約 10%、較佳至少約 20%或更高（例如至少約 25%、30%、40%、50%、60%）時，即認為基因表現，諸如在 mRNA 或蛋白質含量方面，有成功的抑制或下調發生。

就本發明之目的而言，「抑制」或「下調」應理解為意謂相較於在缺乏本文所述之奈米粒子的情況下所觀測之結果，標靶基因之表現，或編碼一或多個蛋白質次單元之 RNA 或均等 RNA 之含量，或一或多個蛋白質次單元之活性被降低。

在一較佳具體實例中，舉例而言，標靶基因包括但不限於致癌基因、促血管生成路徑基因、促細胞增殖路徑基因、病毒感染因子基因及促炎性路徑基因。

較佳地，標靶基因之基因表現在癌細胞或組織，例如腦、乳房、結腸直腸、胃、肺、口腔、胰腺、前列腺、皮膚或子宮頸癌細胞中受到抑制。癌細胞或組織可來自下列之一或多者：實體腫瘤、淋巴瘤、小細胞肺癌、急性淋巴球性白血病（ALL）、胰腺癌、神經膠母細胞瘤、卵巢癌、胃癌、乳癌、結腸直腸癌、前列腺癌、子宮頸癌、腦腫瘤、KB 癌症、肺癌、結腸癌、表皮癌等。

在一特定具體實例中，根據本文所述之方法的奈米粒子包括例如反義 bcl-2 寡核苷酸、反義 HIF-1 α 寡核苷酸、反義存活素寡核苷酸、反義 ErbB3 寡核苷酸、反義 PIK3CA 寡核苷酸、反義 HSP27 寡核苷酸、反義雄激素受體寡核苷酸、反義 Gli2 寡核苷酸及反義 β -索煙素寡核苷酸。

根據本發明，可使用可包括寡核苷酸（SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO 2 及 3、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID

NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 及 SEQ ID NO: 16，其中各核酸為天然存在或經修飾之核酸) 之奈米粒子。本文所涵蓋之療法使用被包封於上述奈米粒子中之核酸。在一具體實例中，含有八個或以上連續反義核苷酸之治療性核苷酸可用於治療中。

或者，亦提供治療哺乳動物之方法。該方法包括將有效量之含有本文所述奈米粒子的醫藥組成物投予有需要之患者。方法功效將視核酸對所治病狀之功效而定。本發明提供治療哺乳動物中各種醫學病狀的方法。該方法包括向需要這種治療之哺乳動物投予有效量之含有被包封治療性核酸之奈米粒子。本文所述之奈米粒子尤其適用於治療諸如(但不限於)癌症、發炎疾病及自體免疫疾病之疾病。

在一具體實例中，亦提供治療患有惡性腫瘤或癌症之患者之方法，其包括將有效量之含有本文所述奈米粒子的醫藥組成物投予有需要之患者。所治療之癌症可為下列之一或多者：實體腫瘤、淋巴瘤、小細胞肺癌、急性淋巴球性白血病(ALL)、胰腺癌、神經膠母細胞瘤、卵巢癌、胃癌、結腸直腸癌、前列腺癌、子宮頸癌、腦腫瘤、KB 癌症、肺癌、結腸癌、表皮癌等。奈米粒子藉由下調標靶基因之基因表現而適用於治療哺乳動物之贅生性疾病、降低腫瘤負荷、防止腫瘤轉移及防止腫瘤/贅生性生長之復發。舉例而言，奈米粒子適用於治療轉移性疾病(亦即轉移至肝臟中之癌症)。

在另一態樣中，本發明提供活體內或試管內抑制癌細

胞之生長或增殖之方法。該方法包括使癌細胞與本文所述之奈米粒子接觸。在一具體實例中，本發明提供在活體內或試管內抑制癌症生長之方法，其中細胞表現 ErbB3 基因。

在另一態樣中，本發明提供一種將核酸（例如反義 ErbB3 LNA 寡核苷酸）遞送至癌細胞內之方法，其在癌細胞內可與例如細胞核中之 ErbB3 mRNA 結合。因此，ErbB3 蛋白質表現被抑制，此抑制癌細胞之生長。該方法將寡核苷酸（例如反義寡核苷酸，包括 LNA）引入癌細胞中，且降低癌細胞或組織中之標靶基因（例如存活素、HIF-1 α 或 ErbB3）表現。

或者，本發明提供調節癌細胞之細胞凋亡的方法。在又另一態樣中，亦提供活體內或試管內增加癌細胞或組織對化療劑之敏感度的方法。

在又另一態樣中，提供活體內或試管內殺死腫瘤細胞之方法。該方法包括將本文所述之化合物引入腫瘤細胞中以降低基因表現（諸如 ErbB3 基因），及使腫瘤細胞與足以殺死一部分腫瘤細胞之量的至少一種抗癌劑（例如化療劑）接觸。因此，所殺死之腫瘤細胞部分可多於在缺乏本文所述奈米粒子的情況下由相同量化療劑殺死之腫瘤細胞部分。

在本發明之另一態樣中，抗癌劑/化療劑可與本文所述之化合物同時或依序組合使用。本文所述之化合物可在抗癌劑之前或與其同時投予或在投予抗癌劑之後投予。因此，本文所述之奈米粒子可在化療劑治療之前、期間或之

後投予。

尚有其他態樣包括將本文所述之本發明化合物與其他抗癌療法組合以達成協同或相加效益。

或者，本文所述之奈米粒子組成物可用來將較佳具有負電荷或中性電荷之醫藥活性劑遞送至哺乳動物。可將包封醫藥活性劑/化合物之奈米粒子投予有需要之哺乳動物。醫藥活性劑/化合物包括小分子量分子。通常，醫藥活性劑具有小於約 1,500 道爾頓（亦即小於 1,000 道爾頓）之分子量。

在另一具體實例中，本文所述之化合物可用以遞送核酸、醫藥活性劑或其組合。

在又另一具體實例中，與治療相關之奈米粒子可含有一或多種治療性核酸（可相同或不同，例如相同或不同寡核苷酸）及/或一或多種醫藥活性劑之混合物以供協同應用。

F. 奈米粒子之醫藥組成物/調配物

包括本文所述奈米粒子之醫藥組成物/調配物可連同一或多種生理上可接受之載劑來調配，該載劑包含有助於將活性化合物加工成在醫藥上可使用之製劑的賦形劑及助劑。適當調配物視所選投藥途徑而定，亦即是否進行局部或全身性治療。

適合的形式有部分視用法或進入途徑而定，例如經口、經皮或注射。在此項技術中已知之關於製備適當調配物的考慮因素包括但不限於毒性及會阻礙組成物或調配物發揮其作用之任何不利因素。

本文所述之奈米粒子之醫藥組成物可經口、經肺、局部或非經腸投予。局部投藥包括但不限於經由表皮、經皮、眼睛途徑投予，包括經由黏膜，例如包括陰道及直腸遞送。亦涵蓋非經腸投予，包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注。

在一較佳具體實例中，含有治療性寡核苷酸之奈米粒子係以靜脈內（i.v.）或腹膜內（i.p.）方式投予。在本發明之許多態樣中，非經腸途徑為較佳的。

對於注射，包括但不限於靜脈內、肌肉內及皮下注射而言，本發明之奈米粒子可調配於水溶液中，較佳調配於生理相容性之緩衝液（諸如生理鹽水緩衝液）或極性溶劑（包括但不限於吡咯啶酮或二甲亞砜）中。

亦可調配奈米粒子供快速注射或連續輸注之用。注射用調配物可以單位劑型（例如以安瓶形式或以多劑量容器）存在。適用組成物包括但不限於處於油性或水性媒劑中之懸浮液、溶液或乳液，且可含有佐劑，諸如懸浮、穩定及/或分散劑。非經腸投予用醫藥組成物包括水溶性形式之水溶液。水性注射懸浮液可含有調節懸浮液黏度之物質，諸如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇或聚葡萄糖。視情況，懸浮液亦可含有適合的穩定劑及/或增加奈米粒子在溶液中之濃度的藥劑。或者，奈米粒子可呈粉末形式，以供在使用之前用合適媒劑（例如無菌、無熱原質之水）復原。

對於經口投藥，本文所述之奈米粒子可藉由將奈米粒子與在此項技術中熟知之醫藥上可接受之載劑組合來調

配。這類載劑使本發明奈米粒子能夠調配為供患者經口攝入之錠劑、丸劑、口含劑、糖衣錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、糊劑、漿液、溶液、懸浮液、供在患者飲用水中稀釋之濃溶液及懸浮液、供在患者食物中稀釋之預混物，及諸如此類。經口使用之醫藥製劑可使用固體賦形劑，視情況研磨所得混合物且必要時在添加其他合適助劑後加工顆粒之混合物以獲得錠劑或糖衣錠核心來製備。適用賦形劑尤其為：填充劑，諸如糖（例如乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇）；纖維素製劑，例如玉米澱粉、小麥澱粉、大米澱粉及馬鈴薯澱粉；及其他物質，諸如明膠、黃蓍樹膠（gum tragacanth）、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉及/或聚乙烯吡咯啶酮（PVP）。必要時，可添加崩解劑，諸如交聯聚乙烯吡咯啶酮、瓊脂或海藻酸。亦可使用諸如海藻酸鈉之鹽。

對於吸入投藥，本發明奈米粒子可以氣溶膠噴霧形式，使用加壓包或噴霧器及適合推進劑便利地遞送。

奈米粒子亦可使用例如習知栓劑基質如可可脂或其他甘油酯調配為直腸用組成物，諸如栓劑或保留灌腸劑。

除了先前描述之調配物外，奈米粒子亦可調配為積存式（depot）製劑。這類長效調配物可藉由植入（例如皮下或肌肉內）或藉由肌肉內注射來投予。本發明化合物可用適合之聚合物質或疏水性物質（例如含有藥理上可接受之油之乳液形式）、離子交換樹脂進行調配，或調配為微溶性衍生物，諸如但不限於微溶性鹽，以用於此投藥途徑。

另外，奈米粒子可使用持續釋放系統遞送，諸如含有奈米粒子之固體疏水性聚合物之半滲透性基質。各種持續釋放物質已經確立且為熟習此項技術者所熟知。

另外，可在本文所述奈米粒子之醫藥組成物中使用抗氧化劑及懸浮劑。

G. 劑量

適足以抑制一或多種預選基因之表現的劑量（諸如在臨床情況下之治療有效量）之決定，完全在熟習此項技術者之能力範圍內，尤其根據本文中之揭示內容。

對於本發明之方法中所用之任何治療性核酸而言，治療有效量最初可由試管內檢定來估計。隨後，可調配該劑量用於動物模型中，以獲得包括有效劑量之循環濃度範圍。隨後可使用該資訊以更準確地決定適用於患者之劑量。

所投予之醫藥組成物之量將視其中所含核酸之效力而定。一般而言，治療中所用之含核酸奈米粒子之量為在哺乳動物中有效達成所需治療結果之量。當然，各種奈米粒子之劑量在某種程度上將視其中所包封之核酸（或醫藥活性劑）（例如寡核昔酸）而變化。另外，劑量當然可視劑型及投藥途徑而變化。然而，一般而言，被包封於本文所述之奈米粒子中之核酸可以範圍從約 0.1 公克/公斤/週至約 1 公克/公斤/週、較佳從約 1 至約 500 毫克/公斤且更佳從 1 至約 100 毫克/公斤（亦即從約 3 至約 90 毫克/公斤/劑）之量投予。

上述範圍為示意性的且熟習此項技術者將根據臨床經

驗及治療適應症來決定最佳劑量。另外，確實的調配物、投藥途徑及劑量可由個別醫師鑒於患者之病狀來選擇。另外，本文所述奈米粒子之毒性及治療功效可藉由標準醫藥程序在細胞培養物或實驗動物中使用在此項技術中熟知之方法來測定。

或者，視核酸效力能而定，在治療中可使用約 1 毫克/公斤/劑至約 100 毫克/公斤/劑（0.1 至 100 毫克/公斤/劑）之量。單位劑型一般範圍從約 1 毫克至約 60 毫克的活性劑寡核苷酸。

在一具體實例中，本發明之治療包括將本文所述之奈米粒子以約 1 至約 60 毫克/公斤/劑（約 25 至 60 毫克/公斤/劑、約 3 至約 20 毫克/公斤/劑），諸如 60、45、35、30、25、15、5 或 3 毫克/公斤/劑（可在單或多劑方案中）之量投予。舉例而言，本文所述之奈米粒子可在 q3dx9 下以 5、25、30 或 60 毫克/公斤/劑之量靜脈內投予。對於另一實例而言，治療方案包括以每週約 4 至約 18 毫克/公斤/劑，或每週約 4 至約 9.5 毫克/公斤/劑之量投予反義寡核苷酸（例如在六週循環中，每週約 8 毫克/公斤/劑，歷時 3 週）。

或者，被包封在本文所述奈米粒子內之寡核苷酸的遞送包括在活體內、活體外或試管內使約 0.1 至約 1000 μM 、較佳約 10 至約 1500 μM （亦即約 10 至約 1000 μM 、約 30 至約 1000 μM ）濃度之寡核苷酸與腫瘤細胞或組織接觸。

組成物可每天投予一次，或分成可作為多週治療方案

之一部分給予的多劑量。如一般熟習此項技術者所瞭解，精確劑量將視病狀之階段及嚴重程度、諸如腫瘤之疾病對核酸之感受性及所治療患者之個別特徵而定。

在本發明之投予奈米粒子之所有態樣中，所提及之劑量係基於寡核苷酸分子之量，而非所投予之奈米粒子之量。

預期治療將進行一或多天，直至獲得所需臨床結果。包封治療性核酸（或醫藥活性劑）之奈米粒子之精確投藥量、投藥頻率及投藥時段當然將視患者之性別、年齡及醫學病狀以及主治臨床醫師所確定之疾病嚴重程度而變化。

更進一步的態樣包括將本文所述之本發明奈米粒子與其他抗癌療法組合以達成協同或相加效益。

實施例

以下實施例用來提供對本發明之進一步理解，但並不意謂以任何方式限制本發明之有效範圍。

在實施例中，所有合成反應皆在乾燥氮氣或氬氣之氛圍下進行。N-(3-胺基丙基)-1,3-丙二胺、BOC-ON、LiOCl₄、膽固醇及 1H-吡唑-1-甲脒鹽酸鹽係購自 Aldrich。所有其他試劑及溶劑係在未進一步純化之情況下使用。LNA Oligo-1 靶向存活素基因及 Oligo-2 靶向 ErbB3 基因為自製且其序列在表 4 中給出。核苷間鍵聯為硫代磷酸酯、^mC 表示甲基化胞嘧啶，且大寫字母指示 LNA。

表 4.

LNA Oligo	序列
Oligo-1 (SEQ ID NO: 1)	5'- ^m CT ^m CAatccatgg ^m CAGc-3'
Oligo-2 (SEQ ID NO: 6)	5'-TAGcctgtcaatt ^m CT ^m C-3'

在整個實施例中可使用以下縮寫：諸如 LNA（鎖核酸）、BACC（2-[N,N'-二(2-鈦丙基)]胺基乙基-膽固醇基-碳酸酯）、Chol（膽固醇）、DIEA（二異丙基乙胺）、DMAP（4-N,N-二甲基胺基-吡啶）、DOPE（L- α -二油醯基磷脂醯乙醇胺，Avanti Polar Lipids（USA）或 NOF（Japan））、DLS（動態光散射）、DSPC（1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼）（NOF, Japan）、DSPE-PEG（1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺-N-(聚乙二醇)2000 銨鹽或鈉鹽，Avanti Polar Lipids（USA）及 NOF（Japan））、KD（阻斷表現（knowndown））、EPC（卵磷脂醯膽鹼，Avanti Polar Lipids（USA））及 C16 mPEG-腦醯胺（N-棕櫚醯基-神經鞘胺醇-1-丁二醯基(甲氧基聚乙二醇)2000，Avanti Polar Lipids（USA））。亦可使用其他縮寫，諸如 FAM（6-羧基螢光素）、FBS（胎牛血清）、GAPDH（甘油醛-3-磷酸脫氫酶）、DMEM（杜爾貝科改良伊格爾氏培養基（Dulbecco's Modified Eagle's Medium））、MEM（改良伊格爾氏培養基（Modified Eagle's Medium））、TEAA（乙酸四乙銨）、TFA（三氟乙酸）、RT-qPCR（反轉錄-定量聚合酶鏈反應）。

實施例 1. 一般 NMR 方法

除非另有指定，否則使用 Varian Mercury 300 NMR 光譜儀及氯化氯仿作為溶劑，在 300 MHz 下獲得 ^1H NMR 光譜，且在 75.46 MHz 下獲得 ^{13}C NMR 光譜。化學位移 (δ) 係以來自四甲基矽烷 (TMS) 之低場百萬分率 (ppm) 報告。

實施例 2. 一般 HPLC 方法

反應混合物及中間物與最終產物之純度由 Beckman Coulter System Gold® HPLC 儀器來監測。其採用 ZORBAX® 300SB C8 逆相管柱 (150×4.6 mm) 或 Phenomenex Jupiter® 300A C18 逆相管柱 (150×4.6 mm)，使用 168 二極體陣列 UV 偵測器，使用流速 1 毫升/分鐘的 10-90% 乙腈於 0.05% TFA 中之梯度或流速 1 毫升/分鐘的 25-35% 乙腈於 50 mM TEAA 緩衝液中之梯度。陰離子交換層析係在來自 GE healthcare 之 AKTA 探測器 100A (Amersham Biosciences) 上使用填充於來自 Waters 之 AP-Empty 玻璃管柱中的來自 Applied Biosystems 之 Poros 50HQ 強陰離子交換樹脂進行。脫鹽係藉由使用來自 Amersham Biosciences 之 HiPrep 26/10 脫鹽管柱完成（針對 PEG-Oligo）。

實施例 3. 一般 mRNA 下調程序

將細胞維持於完全培養基 (F-12K 或 DMEM，補充有 10% FBS) 中。將每孔含有 2.5×10^5 個細胞之 12 孔板在 37 °C 下培育隔夜。以 Opti-MEM® 洗滌細胞一次且每孔添加 400 μ L Opti-MEM®。隨後向各孔中添加含有寡核苷酸之奈米粒子或 Lipofectamine2000® 之溶液。將細胞培育 4 小時，接著每孔添加 600 μ L 培養基，且培育 24 小時。在處理 24 小時之後，由 RT-qPCR 定量標靶基因（諸如人類存活素）及管家基因 (housekeeping gene)（諸如 GAPDH）之細胞內 mRNA 含量。將 mRNA 之表現量正規化。

實施例 4. 一般 RNA 製備程序

對於試管內 mRNA 下調研究而言，總 RNA 係遵循製造

商之說明，使用 RNAqueous Kit[®] (Ambion) 來製備。RNA 濃度係藉由 OD_{260 nm} 使用 Nanodrop 來測定。

實施例 5. 一般 RT-qPCR 程序

所有試劑皆來自 Applied Biosystems：高容量 cDNA 反轉錄套組[®] (4368813) 、 20x PCR 母體混合物 (4304437) 及用於人類 GAPDH(目錄號 0612177) 及存活素 (BIRK5 Hs00153353) 之 TaqMan[®] 基因表現檢定套組。對於最終體積為 50 μ L 之 cDNA 合成使用 2.0 μ g 總 RNA。反應係在 PCR 溫度循環器中於 25°C 下進行 10 分鐘，在 37°C 下進行 120 分鐘，在 85°C 下進行 5 秒，然後儲存在 4°C 下。即時 PCR 係以 50°C -2 分鐘、95°C -10 分鐘及 95°C -15 秒 / 60°C -1 分鐘之程式進行 40 個循環。對於各 qPCR 反應，在 30 μ L 最終體積中使用 1 μ L cDNA。

實施例 6：化合物 3 之製備

使膽固醇 (化合物 1) 與受保護半胱胺酸 (化合物 2) 在 EDC 和 DMAP 存在下反應，形成膽固醇半胱胺酸 (化合物 3) 。

實施例 7：化合物 5 之製備

使化合物 3 與含硫醇基之雙官能間隔基 (化合物 4) 在 DIPEA 存在下反應，提供形成二硫鍵之化合物 5 。

實施例 8：化合物 6 之製備

將化合物 5 以哌啶與 DMF (1:1) 處理以除去 Fmoc 基團而提供化合物 6 。

實施例 9：化合物 8 之製備

使化合物 6 與 FmocLys-OH(化合物 7)在 EDC 和 DMAP 存在下偶合，提供化合物 8。

實施例 10：化合物 9 之製備

將化合物 8 以哌啶與 DMF (1:1) 處理以除去 Fmoc 基團而提供化合物 9。

實施例 11：化合物 11 之製備

在室溫下，在 9 (1.48 毫莫耳) 於 12 毫升無水氯仿之溶液中加入 1H-吡唑-1-甲脒 HCl (化合物 10 , 0.87 克 , 5.9 毫莫耳) ，接著加入 DIEA (1.03 毫升 , 5.9 毫莫耳) 。使反應回流 16 小時。使溶液冷卻到室溫。將混合物用 15 毫升 ACN 沉澱並將粗製固體以離心分離。將固體溶解於 14 毫升水 /ACN (1:1) 溶液中。在完全溶解之後，添加 14 毫升 ACN 以沉澱出固體。將固體離心及乾燥，得到產物。

實施例 12：化合物 12 之製備

將化合物 11 以 TFA 處理以除去 BOC 基團並提供化合物 12 。

實施例 13：化合物 22 之製備

將 N-(2-羥基乙基)苯二甲醯亞胺 (4 , 25 克 , 130.8 毫莫耳 , 1 當量) 溶解於 500 毫升無水苯中且共沸 1 小時，移除 125 毫升苯，接著冷卻至室溫且添加 *p*-TsOH (0.240 克 , 1.26 毫莫耳 , 0.0096 當量) 。使反應混合物冷卻至 0-5°C ，隨後在 0-5°C 下經由加料漏斗添加 2- 甲氧基丙烯 (10.4 克 , 13.8 毫升 , 143.8 毫莫耳 , 1.1 當量) ，歷時 15 分鐘。將反應混合物在 0-5°C 下攪拌 1 小時，接著加熱至 89-95°C 且共

沸 3 小時以移除 MeOH/苯。在移除溶劑之後，冷卻溶液以停止共沸，且添加等體積之苯。在 3 小時之後，使反應混合物冷卻至室溫，且添加 30 毫升 TEA 及 5 毫升乙酸酐，且在室溫下攪拌隔夜。將反應混合物在真空中於 35°C 下濃縮，以移除 2/3 體積之苯且用 300 毫升己烷逐滴沉澱粗產物。將沉澱物過濾出來且以己烷洗滌。在 65°C 下將固體(8.5 g)溶解於 70 毫升甲苯中，且使溶液冷卻至 0°C。將產物藉由離心收集，以己烷洗滌，且在真空中與 CCl₄ 共蒸發，獲得 4.9 克產物：¹³C NMR δ 24.67, 38.09, 57.88, 100.39, 123.05, 131.92, 133.66, 167.88。

實施例 14：化合物 23 之製備

將化合物 22 (4.9 克，11.6 毫莫耳) 溶解於 6M NaOH (9.1 克 NaOH 於 38 毫升水中) 中且使溶液回流隔夜。使所得溶液冷卻至室溫，隨後用 40 毫升 1:1 (v/v) 氯仿/IPA 萃取三次，經無水硫酸鈉脫水，且在真空中於 35°C 下濃縮。將固體懸浮於己烷中兩次及懸浮於 CCl₄ 中一次，且在真空中於 35°C 下乾燥，獲得產物 (1.8 克，95%)：¹³C NMR δ 24.99, 42.08, 43.81, 62.82, 63.58, 77.41, 99.64。

實施例 15：化合物 25 之製備

將化合物 23 (1.8 克，11.1 毫莫耳，1 當量) 溶解於 36 毫升無水 THF 中，在乾冰/IPA 浴中冷卻至 -78°C，接著添加三氟乙酸乙酯。在室溫下攪拌反應混合物 1.5 小時，隨後藉由與己烷共蒸發，在真空中移除溶劑，得到粗產物。粗產物係藉由在去活化氧化鋁上使用 DCM 及 MeOH(100:0.1 至

98:2, v/v) 之管柱層析來純化，獲得 1.30 克產物： ^{13}C NMR δ 24.88, 40.68, 41.11, 42.13, 57.99, 60.26, 62.10, 99.83。

實施例 16：化合物 27 之製備

將化合物 26(2.88 毫莫耳) 和化合物 25(15.0 毫莫耳) 溶解於 60 毫升無水 DCM 與 8 毫升無水 DMF 中。添加 DIEA (0.60 克, 0.82 毫升, 4.61 毫莫耳, 1.6 當量) 並將反應混合物在室溫下攪拌隔夜。將所得反應溶液在真空中於室溫下濃縮，接著在冰浴中於 0-5 °C 添加乙醚以沉澱出固體。將固體過濾及藉管柱層析純化，提供化合物 27。

實施例 17：化合物 28 之製備

將化合物 27 以 K_2CO_3 處理以提供化合物 28。

實施例 18：化合物 29 之製備

使化合物 28 與 FmocLys-OH(化合物 7) 在 EDC 和 DMAP 存在下偶合，提供化合物 29。

實施例 19：化合物 30 之製備

將化合物 29 以哌啶與 DMF (1:1) 處理以除去 Fmoc 基團，得到化合物 30。

實施例 20：化合物 31 之製備

在室溫下，在 30(1.48 毫莫耳) 於 12 毫升無水氯仿之溶液中加入 1H-吡唑-1-甲脒 HCl(化合物 10, 0.87 克, 5.9 毫莫耳)，接著加入 DIEA (1.03 毫升, 5.9 毫莫耳)。使反應回流 16 小時。使溶液冷卻到室溫。將混合物用 15 毫升 ACN 沉澱並將粗製固體以離心分離。將固體溶解於 14 毫升水/ACN (1:1) 溶液中。在完全溶解之後，添加 14 毫

升 ACN 以沉澱出固體。將固體離心及乾燥，得到產物。

實施例 21：化合物 43 之製備

使化合物 41 與化合物 42 在 DIEA 存在下反應，提供化合物 43。

實施例 22：化合物 44 之製備

使化合物 43 以 TFA 之 DCM 溶液處理，提供化合物 44。

實施例 23：化合物 46 之製備

使膽固醇氯甲酸酯（化合物 26）與 2-甲氧基-4-羥基苯甲醛（化合物 45）在 DIEA 存在下反應，提供化合物 46。

實施例 24：化合物 47 之製備

使化合物 44 與化合物 46 在分子篩存在下反應，提供形成亞胺鍵之化合物 47。

實施例 25：化合物 48 之製備

將化合物 47 以哌啶與 DMF (1:1) 處理以除去 Fmoc 基團。將反應攪拌 30 分鐘，然後在 HiPrep 管柱上用水脫鹽，得到化合物 48。

實施例 26：化合物 49 之製備

在室溫下，在 48 (1.48 毫莫耳) 於 12 毫升無水氯仿之溶液中加入 1H-吡唑-1-甲脒 HCl (化合物 10, 0.87 克, 5.9 毫莫耳)，接著加入 DIEA (1.03 毫升, 5.9 毫莫耳)。使反應回流 16 小時。使溶液冷卻到室溫。將混合物用 15 毫升 ACN 沉澱並將粗製固體以離心分離。將固體溶解於 14 毫升水/ACN (1:1) 溶液中。在完全溶解之後，添加 14 毫升 ACN 以沉澱出固體。將固體離心及乾燥，得到產物。

實施例 27：化合物 51 之製備

將 TEA(33.6 克，0.033 莫耳)加到膽固醇氯甲酸酯(26, 5 克，0.011 莫耳)於 CH_2Cl_2 (200 毫升)與 DMF(100 毫升)之溶液中，接著添加胱胺二鹽酸鹽(50, 25 克，0.11 莫耳)。將反應混合物在室溫下攪拌 5 天。將不溶的殘餘物過濾並將洗提液在減壓下濃縮。將殘餘物藉急驟管柱層析使用 5-10% MeOH 於 CH_2Cl_2 中之溶液純化，得到 0.9 克(14%)產物。

實施例 28：化合物 52 之製備

使化合物 51 與 FmocLys-OH(化合物 7)在 EDC 和 DMAP 存在下偶合，提供化合物 52。

實施例 29：化合物 53 之製備

將化合物 52 以哌啶與 DMF(1:1)處理以除去 Fmoc 基團，得到化合物 53。

實施例 30：化合物 54 之製備

在室溫下，在 53(1.48 毫莫耳)於 12 毫升無水氯仿之溶液中加入 1H-吡唑-1-甲脒 HCl(化合物 10, 0.87 克，5.9 毫莫耳)，接著加入 DIEA(1.03 毫升，5.9 毫莫耳)。使反應回流 16 小時。使溶液冷卻到室溫。將混合物用 15 毫升 ACN 沉澱並將粗製固體以離心分離。將固體溶解於 14 毫升水/ACN(1:1)溶液中。在完全溶解之後，添加 14 毫升 ACN 以沉澱出固體。將固體離心及乾燥，得到產物。

實施例 31：核酸-奈米粒子組成物之製備

在此實施例中，製備包封各種核酸，如含 LNA 之寡核

昔酸的奈米粒子組成物。舉例而言，在 10 毫升 90% 乙醇中使化合物 54、DOPE、膽固醇、DSPE-PEG 與 C₁₆mPEG-腦醯胺以 18:60:20:1:1 之莫耳比混合（總脂質 30 微莫耳）。將 LNA 寡核昔酸（0.4 微莫耳）溶解於 10 毫升 20 mM Tris 緩衝液（pH 7.4-7.6）中。在加熱至 37°C 之後，經由雙注射泵將兩溶液混合在一起，且隨後以 20 毫升 20 mM Tris 緩衝液（300 mM NaCl，pH 7.4-7.6）稀釋該混合溶液。將混合物在 37°C 下培育 30 分鐘且在 10 mM PBS 緩衝液（138 mM NaCl，2.7 mM KCl，pH 7.4）中透析。在藉由透析自混合物移除乙醇之後獲得穩定的粒子。藉由離心濃縮奈米粒子溶液。將奈米粒子溶液轉移至 15 毫升離心過濾裝置（Amicon Ultra-15，Millipore，USA）中。在離心期間，離心速度為 3,000 rpm 且溫度為 4°C。在一段既定時間之後，收集濃縮的懸浮液且藉由經由 0.22 μm 注射過濾器（Millex-GV，Millipore，USA）過濾來滅菌。

奈米粒子之直徑和聚合度分布性係在 25°C 下，在作為介質的水（Sigma）中，用 Plus 90 型粒度分析器動態光散射儀器（Brookhaven，New York）測量。

LNA 寡核昔酸之包封效率係藉由 UV-VIS（Agilent 8453）測定。背景 UV-vis 光譜係藉由掃描溶液（其為包含 PBS 緩衝鹽水（250 μL）、甲醇（625 μL）及氯仿（250 μL）之混合溶液）獲得。為了測定經包封之核酸濃度，將甲醇（625 μL）及氯仿（250 μL）添加至 PBS 緩衝鹽水奈米粒子懸浮液（250 μL）中。在混合之後，獲得澄清溶

液，且使此溶液經超音波處理 2 分鐘，隨後在 260 nm 下測量吸光度。根據方程式 (1) 及 (2) 計算經包封之核酸濃度及負載效率：

$$C_{en} (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times OD_{260} \text{ 單位 } (\mu\text{g/mL}) \times \text{稀釋因子 } (\mu\text{L}/\mu\text{L}) \quad \dots \dots (1)$$

其中稀釋因子係由檢定體積 (μL) 除以樣品儲備液體積 (μL) 而得。

$$\text{包封效率 } (\%) = [C_{en}/C_{initial}] \times 100 \quad \dots \dots (2)$$

其中 C_{en} 為純化之後被包封於奈米粒子懸浮液中的核酸（亦即 LNA 寡核苷酸）濃度，且 $C_{initial}$ 為在形成奈米粒子懸浮液之前的初始核酸（LNA 寡核苷酸）濃度。各種不同奈米粒子組成物之實施例係概述於表 5 中。

表 5.

樣品 編號	奈米粒子組成物	莫耳比	Oligo
1	式(I)化合物: DOPE: DSPC : 膽固醇 : PEG-DSPE	15:15:20:40:10	Oligo-1
2	式(I)化合物: DOPE: DSPC: 膽固醇: PEG-DSPE	15:5:20:50:10	Oligo-1
3	式(I)化合物: DOPE: DSPC: 膽固醇: PEG-DSPE	25:15:20:30:10	Oligo-1
4	式(I)化合物: EPC: 膽固醇: PEG-DSPE	20:47:30: 3	Oligo-1
5	式(I)化合物: DOPE: 膽固醇: PEG-DSPE	17:60:20:3	Oligo-1
6	式(I)化合物: DOPE: PEG-DSPE	20:78:2	Oligo-1
7	式(I)化合物: DOPE: 膽固醇:C16mPEG-腦醯胺	17:60:20:3	Oligo-2
8	式(I)化合物: DOPE: 膽固醇: PEG-DSPE: C16mPEG-腦醯胺	18:60:20:1:1	Oligo-2

表 6.

樣品編號	奈米粒子組成物	莫耳比	Oligo
NP1	式(I)化合物: DOPE: 脂固醇: PEG-DSPE: C16mPEG-腦醯胺	18:60:20:1:1	Oligo-2
NP2	式(I)化合物: DOPE: 脂固醇: PEG-DSPE: C16mPEG-腦醯胺	18:60:20:1:1	FAM-Oligo-2
NP3	式(I)化合物: DOPE: 脂固醇: PEG-DSPE: C16mPEG-腦醯胺	18:60:20:1:1	無

*式(I)化合物：化合物 12、化合物 31、化合物 49 及化合物 54。

實施例 32：奈米粒子穩定性

奈米粒子穩定性係定義為其在 PBS 緩衝液中在 4°C 下隨時間保持結構完整性之能力。奈米粒子之膠體穩定性係藉由監測平均直徑隨時間之變化來評估。將由表 6 中樣品編號 NP1 所製備之奈米粒子分散於 10 mM PBS 緩衝液(138 mM NaCl, 2.7 mM KC1, pH 7.4) 中且儲存於 4°C 下。在指定時間點，取約 20-50 μL 奈米粒子懸浮液且以純水稀釋至 2 毫升。在 25°C 下藉由 DLS 測量奈米粒子大小。

實施例 33：試管內奈米粒子細胞吸收

被包含在本文所述奈米粒子內之核酸的細胞吸收效率係在人類癌細胞如前列腺癌細胞 (15PC3 細胞株) 中評估。樣品 NP2 之奈米粒子係使用實施例 31 中所述之方法製備。LNA 寡核苷酸 (Oligo-2) 係用 FAM 標記以供螢光顯微鏡學研究。

奈米粒子係在 15PC3 細胞株中做評估。將細胞維持於完全培養基 (DMEM, 補充有 10% FBS) 中。將每孔含有 2.5×10^5 個細胞之 12 孔板在 37°C 下培育隔夜。以 Opti-MEM® 洗滌細胞一次且每孔添加 400 微升 Opti-MEM®。然後將細胞以包封核酸 (FAM-修飾 Oligo 2) 之樣品編號 NP2 (200

nM) 之奈米粒子溶液或以作為對照組之不含奈米粒子之自由核酸 (裸 FAM-修飾 Oligo 2) 之溶液處理。將細胞在 37 °C 下培育 24 小時。將細胞以 PBS 洗滌五次，然後每孔以 300 毫升 Hoechst 溶液 (2 毫克/毫升) 染色 30 分鐘，接著以 PBS 洗滌 5 次。將細胞以預冷卻 (-20°C) 之 70% EtOH 於 -20°C 下固定 20 分鐘。在螢光顯微鏡下檢視細胞，以評估被包封在本文所述奈米粒子內之核酸的細胞吸收效率。

實施例 34：在各種不同人類癌細胞中奈米粒子對 mRNA 下調之試管內功效

本文所述之奈米粒子之功效係在各種不同癌細胞，例如人類表皮樣癌細胞 (A431)、人類胃癌細胞 (N87)、人類肺癌細胞 (A549、HCC827、H1581)、人類前列腺癌細胞 (15PC3、LNCaP、PC3、CWR22、DU145)、人類乳癌細胞 (MCF7、SKBR3)、結腸癌細胞 (SW480)、胰腺癌細胞 (BxPC3) 及黑色素瘤 (518A2) 中評估。將細胞用下列之一處理：包封反義 ErbB3 寡核苷酸之奈米粒子 (樣品 NP1) 或空安慰劑奈米粒子 (樣品編號 NP3)。奈米粒子各者對 ErbB3 表現下調之試管內功效係藉由實施例 3 中所述之程序測量。

實施例 35. 在人類前列腺癌異種移植小鼠模型之腫瘤及肝中奈米粒子對 mRNA 下調之作用

本文所述奈米粒子之活體內功效係在人類前列腺癌異種移植之小鼠中評估。藉由皮下注射 5×10^6 個細胞/小鼠至右副腰窩中，在裸小鼠中形成 15PC3 人類前列腺腫瘤。當

腫瘤達到 100 mm^3 的平均體積時，將小鼠隨機分組，每組 5 隻小鼠。將每組的小鼠以包封反義 ErbB3 寡核苷酸之奈米粒子（樣品 NP1）或對應的裸寡核苷酸（Oligo 2）處理。奈米粒子係靜脈內（i.v.）以 15 毫克/公斤/劑、5 毫克/公斤/劑、1 毫克/公斤/劑或 0.5 毫克/公斤/劑以 q3d \times 4（或 q3d \times 10）給予。劑量以奈米粒子中之寡核苷酸之量計。裸寡核苷酸係腹膜內以 30 毫克/公斤/劑或靜脈內以 25 毫克/公斤/劑或 45 毫克/公斤/劑以 q3d \times 4 紿予 12 天。在最終給劑之後二十四小時處死小鼠。自小鼠收集血漿樣品且儲存於 -20°C 下。亦自小鼠收集腫瘤及肝樣品。就腫瘤及肝中之 mRNA KD 分析樣品。觀察這些動物的存活者。

【圖式簡單說明】

圖 1 示意性說明如實施例 6-12 中所述製備化合物 12 之反應流程。

圖 2 示意性說明如實施例 13-18 中所述製備化合物 29 之反應流程。

圖 3 示意性說明如實施例 19-20 中所述製備化合物 31 之反應流程。

圖 4 示意性說明如實施例 21-26 中所述製備化合物 49 之反應流程。

圖 5 示意性說明如實施例 27-30 中所述製備化合物 54 之反應流程。

【主要元件符號說明】

無

201021853

序列表

<110> 安龍製藥公司
趙洪(Hong ZHAO)
顏威利(Weili YAN)
史連軍(Lianjun SHI)
洛伊森麥克森(Maksim ROYZEN)
武德淳(Dechun WU)

<120> 用於核酸遞送系統的可釋放陽離子脂質

<130> 213.1309-PCT

<140>

<141>

<150> 61/115, 287
<151> 2008-11-17

●<150> 61/115, 348
<151> 2008-11-17

<150> 61/115, 365
<151> 2008-11-17

<160> 24

<170> PatentIn version 第3.5版

<210> 1
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

●<400> 1
ctcaatccat ggcagc 16

<210> 2
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 組合DNA/RNA分子描述：
合成寡核苷酸

<220>
<221> 雜項資料
<222> (1) (19)
<223> RNA

<400> 2

gcaugcggcc ucuguuugat t

21

<210> 3
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 組合DNA/RNA分子描述：
 人工序列之描述：

<220>
 <221> 雜項資料
 <222> (1) (19)
 <223> RNA

<400> 3
 ucaaacagag gccgcaugct t

21

<210> 4
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：
 合成寡核苷酸

<400> 4
 tctccagcg tgcgccat

19

<210> 5
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：
 合成寡核苷酸

<400> 5
 tggcaagcat cctgtta

16

<210> 6
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列之描述：
 合成寡核苷酸

<400> 6

201021853

tagcctgtca cttctc

16

<210> 7
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 7
gctccagaca tcactc

16

<210> 8
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 8
agccattcat tccacc

16

<210> 9
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 9
ttatttgca tctcag

16

<210> 10
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 10
cgtgtatttc cgcggt

16

<210> 11

201021853

<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 11
ggcacagcca gtggcg

16

<210> 12
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 12
cccaaggcac tgcaga

16

<210> 13
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 13
accaagtttc ttcagc

16

<210> 14
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 14
ctccttggtg cagtct

16

<210> 15
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

201021853

<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 15
tcagattcaa accca

15

<210> 16
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成寡核苷酸

<400> 16
gtgttctaca ccatta

16

<210> 17
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 17
Cys Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 18
Cys Arg
1 5 10

<210> 19
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 19

201021853

Cys Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Tyr Gly Arg Lys
1 5 10 15

Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
20

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 20

Arg Gly Asp Cys
1

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 21

Arg Gly Asp Phe Cys
1 5

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 22

Arg Gly Asp Phe Lys
1 5

<210> 23

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：
合成肽

201021853

<400> 23
Cys Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Gly Gly Gly Arg
1 5 10 15
Gly Asp Ser

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：
合成肽

<400> 24
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：98138946

A61K 9/127

(2006.01)

※申請日：98.11.17 ※IPC 分類：

A61K 47/48

(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 39/13

(2006.01)

用於核酸遞送系統的可釋放陽離子脂質

A61P 35/00

(2006.01)

RELEASABLE CATIONIC LIPIDS FOR NUCLEIC
ACIDS DELIVERY SYSTEMS

二、中文發明摘要：

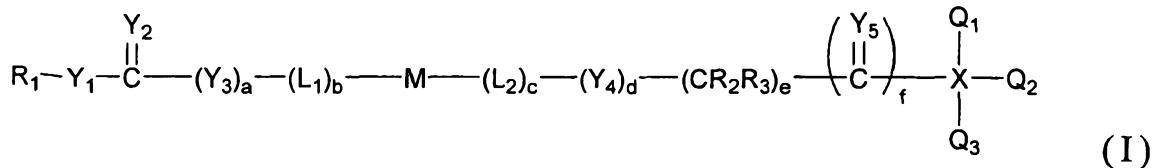
本發明係針對用於遞送核酸之可釋放陽離子脂質及奈米粒子組成物，以及使用其調節標靶基因表現之方法。詳言之，本發明係關於包含酸不穩定鍵聯基之陽離子脂質，以及含該脂質之奈米粒子組成物。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to releasable cationic lipids and nanoparticle compositions for the delivery of nucleic acids and methods of modulating an expression of a target gene using the same. In particular, the invention relates to cationic lipids including an acid labile linker, and nanoparticle compositions containing the same.

七、申請專利範圍：

1. 一種式(I)化合物，



其中

R_1 為膽固醇或其類似物；

Y_1 為 O、S 或 NR_4 ；

Y_2 和 Y_5 獨立地為 O、S 或 NR_5 ；

Y_{3-4} 獨立地為 O、S 或 NR_6 ；

L_{1-2} 為獨立選擇之雙官能鍵聯基；

M 為酸不穩定鍵聯基；

(a)、(d)和(f)獨立地為零或1；

(b)、(c)和(e)獨立地為0或正整數；

X 為 C、N 或 P；

Q_1 為 H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(L_{11})_{d1}-R_{11}$ ；

Q_2 為 H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(L_{12})_{d2}-R_{12}$ ；

Q_3 為孤電子對、($=O$)、H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(L_{13})_{d3}-R_{13}$ ；

其限制條件為

(i) 當 X 為 C 時， Q_3 不為孤電子對或($=O$)；

(ii) 當 X 為 N 時， Q_3 為孤電子對；及

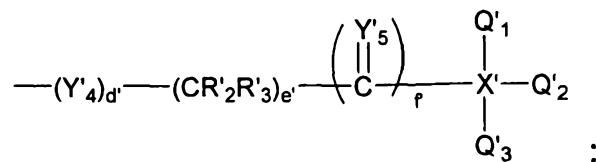
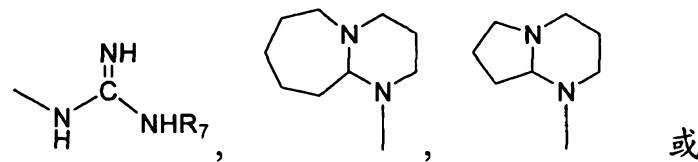
(iii) 當 X 為 P 時， Q_3 為($=O$)且(f)為0，

其中

L_{11} 、 L_{12} 及 L_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

(d1)、(d2)及(d3)獨立地為0或正整數；

R_{11} 、 R_{12} 及 R_{13} 獨立地為氫、 NH_2 、



其中

Y'_4 為 O、S 或 NR'_6 ；

Y'_5 獨立地為 O、S 或 NR'_5 ；

(d')和(f')獨立地為 0 或 1；

(e')為 0 或正整數；

X' 為 C、N 或 P；

Q'_1 為 H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(L'_{11})^{d'1}-R'_{11}$ ；

Q'_2 為 H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(L'_{12})^{d'2}-R'_{12}$ ；

Q'_3 為孤電子對、($=O$)、H、 C_{1-6} 烷基、 NH_2 或 $-(L'_{13})^{d'3}-R'_{13}$ ；

其限制條件為

(i) 當 X' 為 C 時， Q'_3 不為孤電子對或($=O$)；

(ii) 當 X' 為 N 時， Q'_3 為孤電子對；及

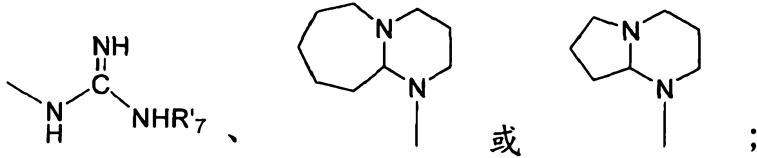
(iii) 當 X' 為 P 時， Q'_3 為($=O$)且(f')為 0，

其中

L'_{11} 、 L'_{12} 及 L'_{13} 為獨立選擇之雙官能間隔基；

(d'1)、(d'2)及(d'3)獨立地為 0 或正整數；

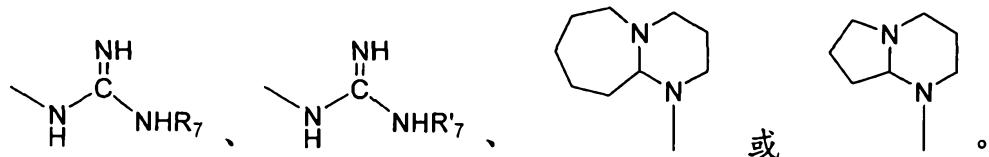
R'_{11} 、 R'_{12} 及 R'_{13} 獨立地為 氢、 NH_2 、



R_{2-3} 及 R'_{2-3} 獨立地選自於 氢、羥基、胺、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基所組成之群組；以及

R_{4-7} 及 R'_{5-7} 獨立地選自於 氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基及經取代之 C_{1-6} 雜烷基所組成之群組，

其限制條件為 Q_{1-3} 和 Q'_{1-3} 中至少一者包括



2. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 M 級選自於 $-S-S-$ 、含縮酮或縮醛部分及含亞胺部分所組成之群組。

3. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 M 為 $-S-S-$ 。

4. 如申請專利範圍第 3 項之化合物，其中 M 為 $-CR_{16}R_{17}-O-CR_{14}R_{15}-O-CR_{18}R_{19}-$

其中

R_{14-15} 級獨立地選自於 氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6}

炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、雜芳氧基、 C_{2-6} 烷醯基、芳基醯基、 C_{2-6} 烷氧醯基、芳氧醯基、 C_{2-6} 烷醯氧基、芳基醯氧基、經取代之 C_{2-6} 烷醯基、經取代之芳基醯基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基、經取代之芳氧醯基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基及經取代之芳基醯氧基所組成之群組；且

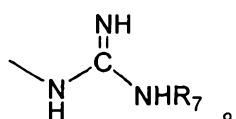
R_{16-19} 係獨立地選自於氫、胺、經取代之胺、疊氮基、羧基、氰基、齒基、羥基、硝基、矽烷基醚、礦醯基、疏基、 C_{1-6} 烷基疏基、芳基疏基、經取代之芳基疏基、經取代之 C_{1-6} 烷基硫基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-19} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{2-6} 烯基、經取代之 C_{2-6} 炔基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、雜芳基、經取代之雜芳基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、芳氧基、 C_{1-6} 雜烷氧基、雜芳氧基、 C_{2-6} 烷醯基、芳基醯基、 C_{2-6} 烷氧醯基、芳氧醯基、 C_{2-6} 烷醯氧基、芳基醯氧基、經取代之 C_{2-6} 烷醯基、經取代之芳氧醯基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基、經取代之芳基醯基、經取代之 C_{2-6} 烷醯氧基及經取代之芳基醯氧基所組成之群組。

5.如申請專利範圍第 4 項之化合物，其中 R_{14} 和 R_{15} 係選自於氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代

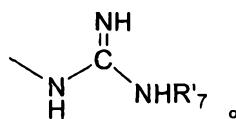
之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基及芳烷基所組成之群組。

6. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 M 為 $-N=CR_{10}-$ 或 $-CR_{10}=N-$ ，其中 R_{10} 為氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-8} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基及經取代之芳基。

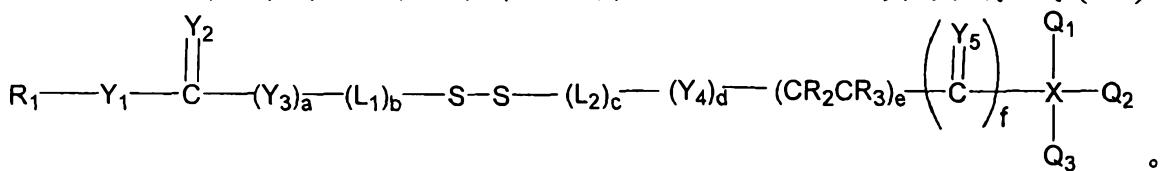
7. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 Q_1 和 Q_2 皆包括



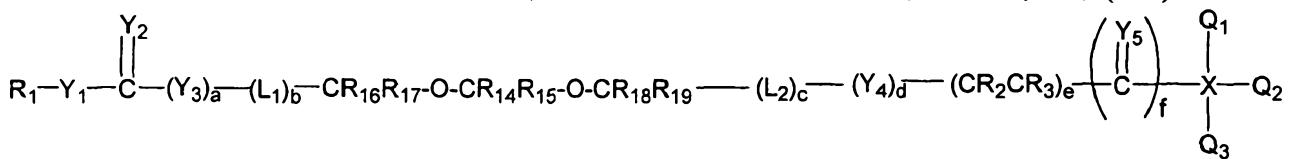
8. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 Q'_1 和 Q'_2 皆包括



9. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其具有式(Ia)：



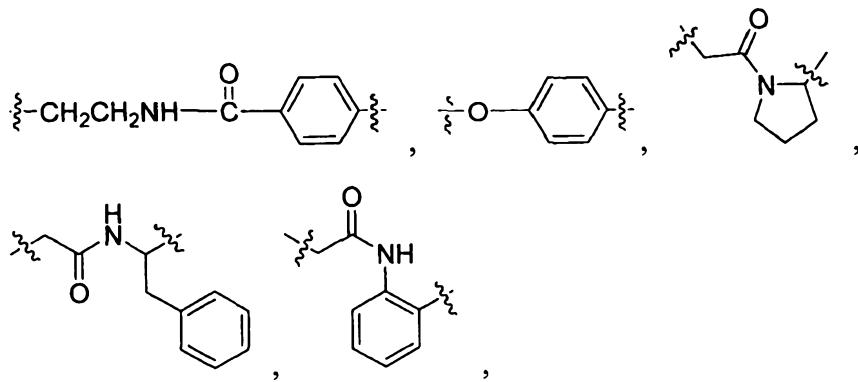
10. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其具有式(Ib)：



。

11. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其具有式(Ic)或(Ic')：

$-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{C(=O)-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{C(=O)-}$,
 $-(\text{CH}_2)_4\text{-C(=O)NH-}$, $-(\text{CH}_2)_5\text{-C(=O)NH-}$,
 $-(\text{CH}_2)_6\text{-C(=O)NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{O-C(=O)-NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{O-C(=O)-NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_3\text{-CH}_2\text{O-C(=O)-NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-C(=O)-NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-C(=O)-NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-C(=O)-NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-C(=O)-NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-C(=O)-NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{C(=O)-NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{C(=O)-NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-, -CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{O-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_3\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$,
 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{O-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{NH-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{O-}$,
 $-\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_2\text{-}$,

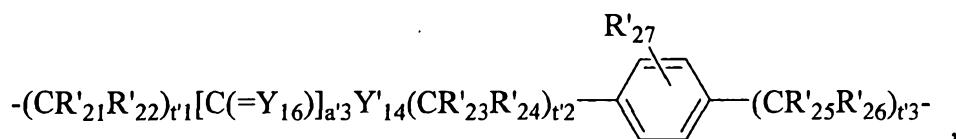


-C(=O)NH(CH₂)₂- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₂- ,
-C(=O)NH(CH₂)₃- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₃- ,
-C(=O)NH(CH₂)₄- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₄- ,
-C(=O)NH(CH₂)₅- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₅- ,
-C(=O)NH(CH₂)₆- , -CH₂C(=O)NH(CH₂)₆- ,
-C(=O)O(CH₂)₂- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₂- ,
-C(=O)O(CH₂)₃- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₃- ,
-C(=O)O(CH₂)₄- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₄- ,
-C(=O)O(CH₂)₅- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₅- ,
-C(=O)O(CH₂)₆- , -CH₂C(=O)O(CH₂)₆- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₂- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₃- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₄- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₅- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)NH(CH₂)₆- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₂- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₃- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₄- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₅- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)O(CH₂)₆- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₂- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₃- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₄- ,
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₅- ,及
-(CH₂CH₂)₂NHC(=O)(CH₂)₆- 。

16. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中L₂係選自由下列所組成之群組：

-(CR'₂₁R'₂₂)_{t'1}-[C(=Y'₁₆)]_{a'3}(CR'₂₇CR'₂₈)_{t'2}- ,

$-(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}Y'_{14}-(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22}CR'_{23}R'_{24}Y'_{14})_{t'1}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'2}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22}CR'_{23}R'_{24}Y'_{14})_{t'1}(CR'_{25}R'_{26})_{t'2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}-$,
 $-[(CR'_{21}R'_{22}CR'_{23}R'_{24})_{t'2}Y'_{14}]_{t'1}(CR'_{25}R'_{26})_{t'2}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}[(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}Y'_{14}]_{t'2}(CR'_{25}R'_{26})_{t'3}-(Y'_{15})_{a'2}-[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'4}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}Y'_{15}(CR'_{23}R'_{24})_{t'2}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}(CR'_{23}R'_{24}CR'_{25}R'_{26}Y'_{15})_{t'2}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}-$,
 $-(CR'_{21}R'_{22})_{t'1}(Y'_{14})_{a'2}[C(=Y'_{16})]_{a'3}Y'_{17}(CR'_{23}R'_{24}CR'_{25}R'_{26}Y'_{15})_{t'2}(CR'_{27}CR'_{28})_{t'3}-$, 及



其中：

Y'_{16} 為 O、 NR'_{28} 或 S；

Y'_{14-15} 及 Y'_{17} 獨立地為 O、 NR'_{29} 或 S；

R'_{21-27} 係獨立地選自由下列所組成之群組：氫、羥基、胺、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基；

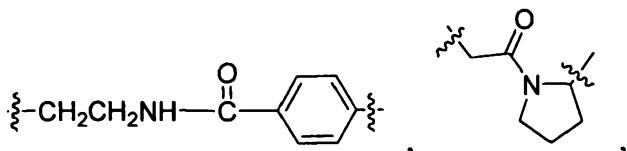
R'_{28-29} 係獨立地選自由下列所組成之群組：氫、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-12} 支鏈烷基、 C_{3-8} 環烷基、經取代之 C_{1-6} 烷基、經取代之 C_{3-8} 環烷基、芳基、經取代之芳基、芳烷基、 C_{1-6} 雜烷基、經取代之 C_{1-6} 雜烷基、 C_{1-6} 烷氧基、苯氧基及 C_{1-6} 雜烷氧基；

(t'1)、(t'2)、(t'3)及(t'4)獨立地為零或正整數；且
(a'2)和(a'3)獨立地為零或1。

17. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中L₂係選自由下列所組成之群組：

-CH₂-，-(CH₂)₂-，-(CH₂)₃-，-(CH₂)₄-，-(CH₂)₅-，-(CH₂)₆-，-(CH₂)NH-
-CH₂CH(NH₂)-，
-O(CH₂)₂-，-C(=O)O(CH₂)₃-，-C(=O)NH(CH₂)₃-，
-C(=O)(CH₂)₂-，-C(=O)(CH₂)₃-，
-CH₂-C(=O)-O(CH₂)₃-，
-CH₂-C(=O)-NH(CH₂)₃-，
-CH₂-OC(=O)-O(CH₂)₃-，
-CH₂-OC(=O)-NH(CH₂)₃-，
-(CH₂)₂-C(=O)-O(CH₂)₃-，
-(CH₂)₂-C(=O)-NH(CH₂)₃-，
-CH₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
-CH₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
-(CH₂)₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
-(CH₂)₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-，
-CH₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂-，
-(CH₂CH₂O)₂-，-CH₂CH₂O-CH₂O-。
-(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH-，-(CH₂CH₂O)₃-CH₂CH₂NH-，
-CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH-，
-CH₂-O-CH₂CH₂O-CH₂CH₂NH-，
-CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-CH₂CH₂NH-，
-CH₂-O-CH₂CH₂O-，-CH₂-O-(CH₂CH₂O)₂-，

201021853



- $\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$,

- $\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$, - $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_4-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_5-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_6-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_2-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_3-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_4-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_5-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})\text{O}(\text{CH}_2)_6-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_2-$,

- $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{NHC}(=\text{O})(\text{CH}_2)_3-$,

$-(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_4^-$,
 $-(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_5^-$, 及
 $-(CH_2CH_2)_2NHC(=O)(CH_2)_6^-$ 。

18. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 L_{11-13} 及 L'_{11-13} 係獨立地選自由下列所組成之群組：

$-(CR_{31}R_{32})_{q1^-}$; 及
 $-Y_{26}(CR_{31}R_{32})_{q1^-}$,

其中：

Y_{26} 為 O、NR₃₃ 或 S；

R₃₁₋₃₂ 獨立地選自於氫、OH、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₂ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、C₁₋₆ 雜烷基、經取代之 C₁₋₆ 雜烷基、C₁₋₆ 烷氧基、苯氧基及 C₁₋₆ 雜烷氧基所組成之群組；

R₃₃ 係選自於氫、C₁₋₆ 烷基、C₃₋₁₂ 支鏈烷基、C₃₋₈ 環烷基、經取代之 C₁₋₆ 烷基、經取代之 C₃₋₈ 環烷基、C₁₋₆ 雜烷基、經取代之 C₁₋₆ 雜烷基、C₁₋₆ 烷氧基、苯氧基及 C₁₋₆ 雜烷氧基所組成之群組；且

(q1) 為零或正整數。

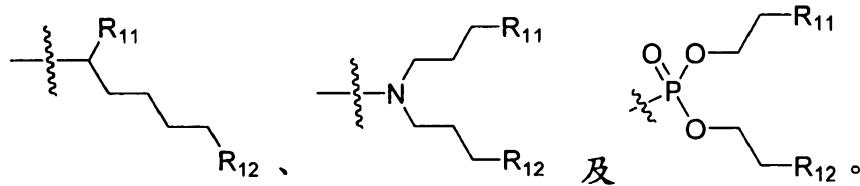
19. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其中 L_{11-13} 及 L'_{11-13} 係獨立地選自由下列所組成之群組：

$-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$,
 $-O(CH_2)_2-$, $-O(CH_2)_3-$, $-O(CH_2)_4-$, $-O(CH_2)_5-$, $-O(CH_2)_6-$,
 $-(CH_2CH_2O)-CH_2CH_2-$,
 $-(CH_2CH_2O)_2-CH_2CH_2-$,
 $-C(=O)O(CH_2)_3-$, $-C(=O)NH(CH_2)_3-$,
 $-C(=O)(CH_2)_2-$, $-C(=O)(CH_2)_3-$,

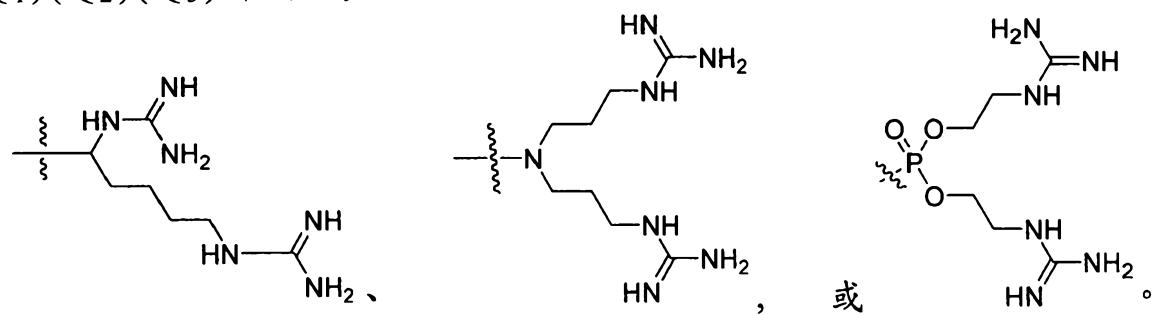
-CH₂-C(=O)-O(CH₂)₃- ,
 -CH₂-C(=O)-NH(CH₂)₃- ,
 -CH₂-OC(=O)-O(CH₂)₃- ,
 -CH₂-OC(=O)-NH(CH₂)₃- ,
 -(CH₂)₂-C(=O)-O(CH₂)₃- ,
 -(CH₂)₂-C(=O)-NH(CH₂)₃- ,
 -CH₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- ,
 -CH₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- ,
 -(CH₂)₂C(=O)O(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- ,
 -(CH₂)₂C(=O)NH(CH₂)₂-O-(CH₂)₂- ,
 -CH₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂- , 及
 -(CH₂)₂C(=O)O(CH₂CH₂O)₂CH₂CH₂- 。

20. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中X(Q₁)(Q₂)(Q₃)

部分係獨立地選自由下列所組成之群組：

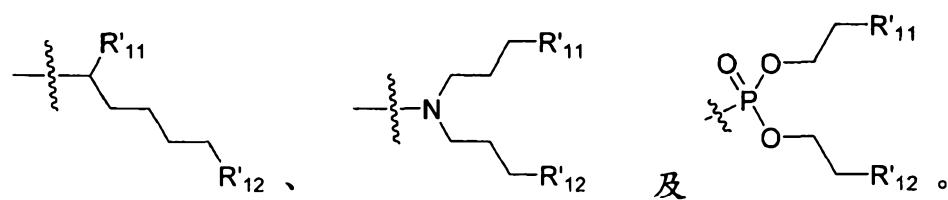


21. 如申請專利範圍第20項之化合物，其中該X(Q₁)(Q₂)(Q₃)部分為：

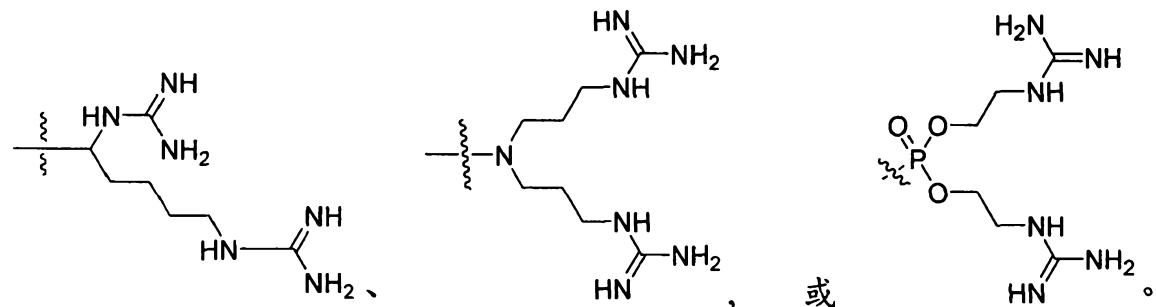


22. 如申請專利範圍第1項之化合物，其中X(Q'1)(Q'2)(Q'3)部分係獨立地選自由下列所組成之群組：

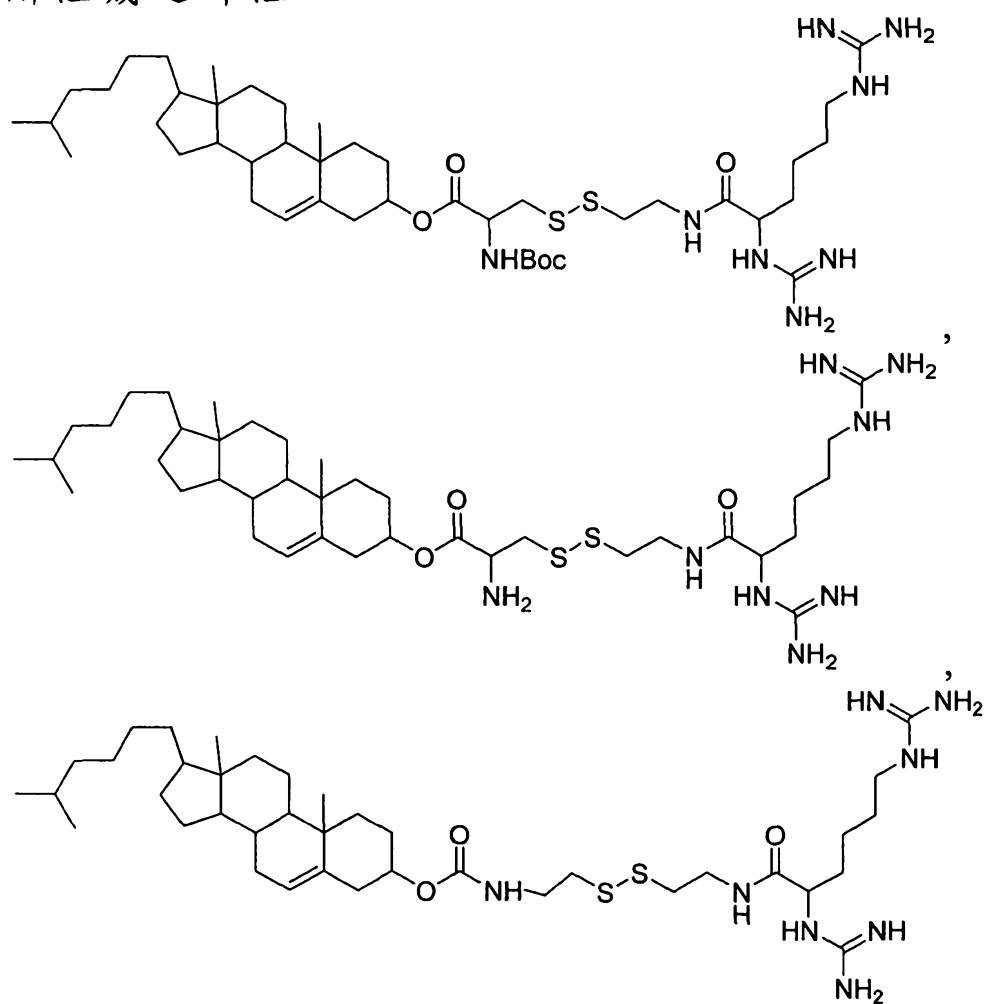
201021853



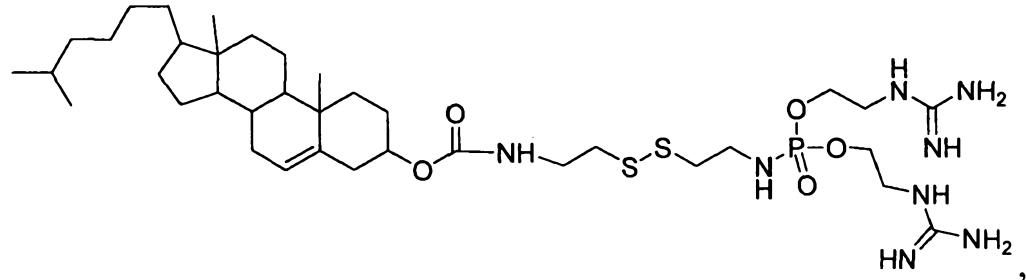
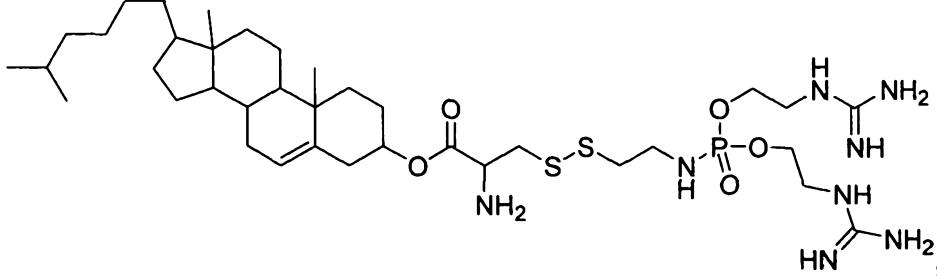
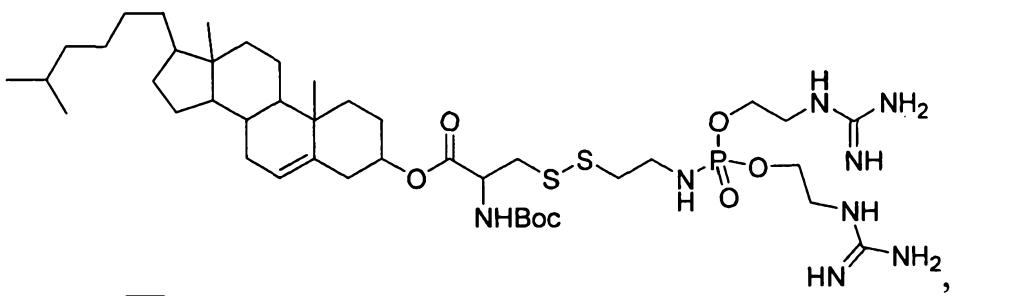
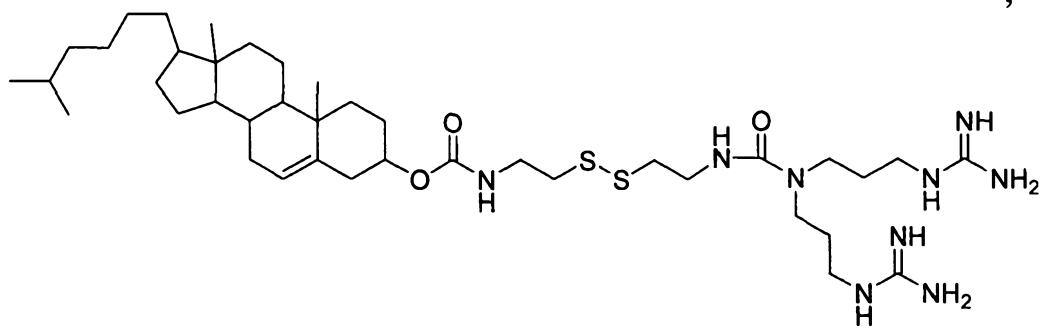
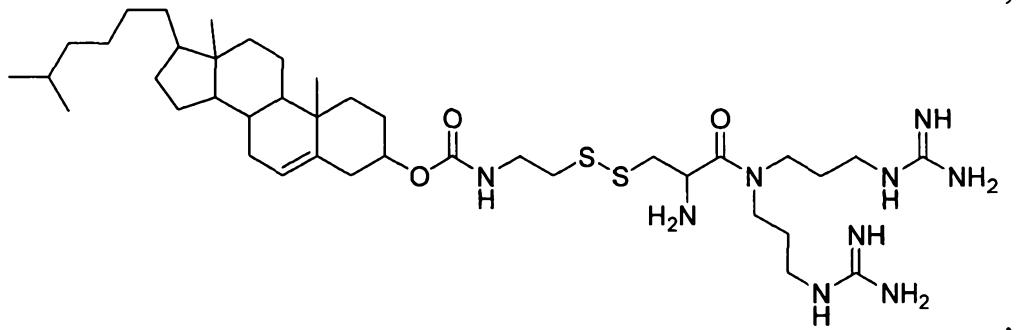
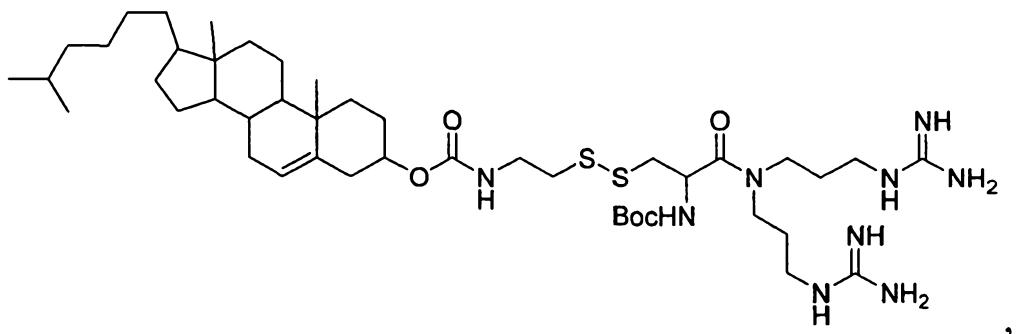
23. 如申請專利範圍第 22 項之化合物，其中該 $X(Q'_1)(Q'_2)(Q'_3)$ 部分為：



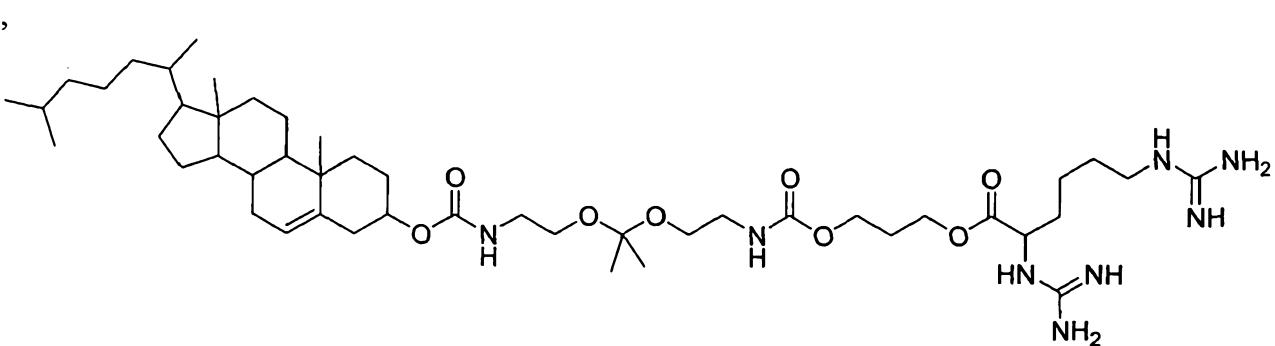
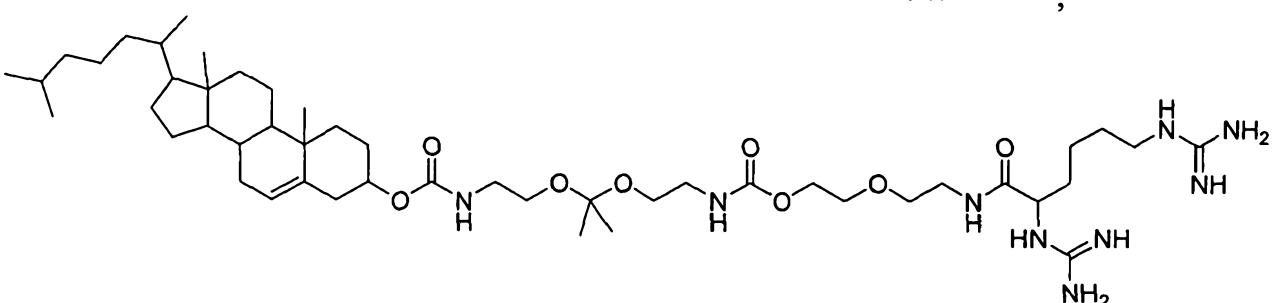
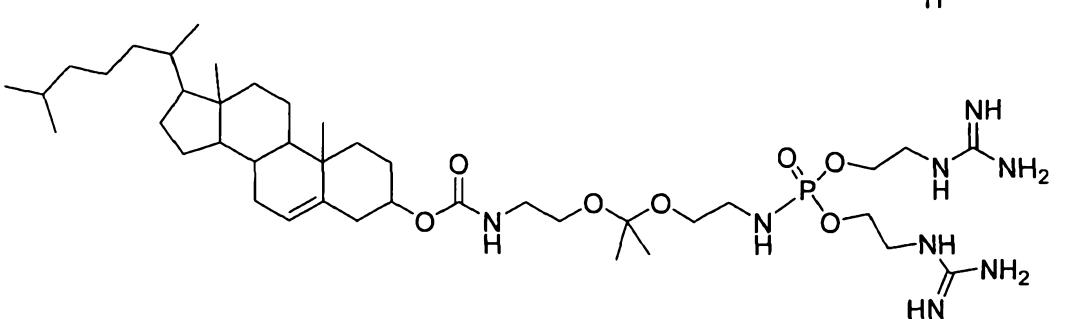
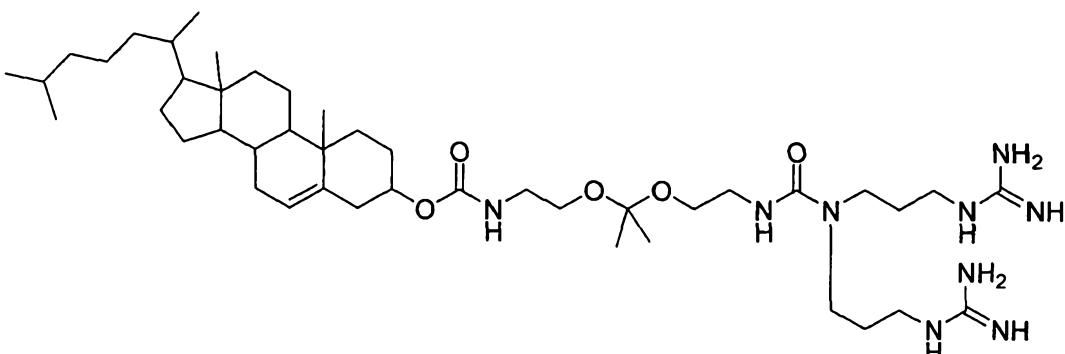
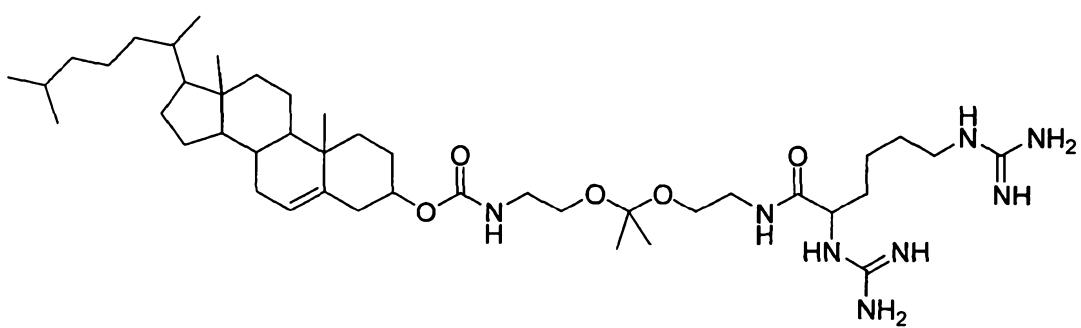
24. 如申請專利範圍第 1 項之化合物，其係選自由下列所組成之群組：



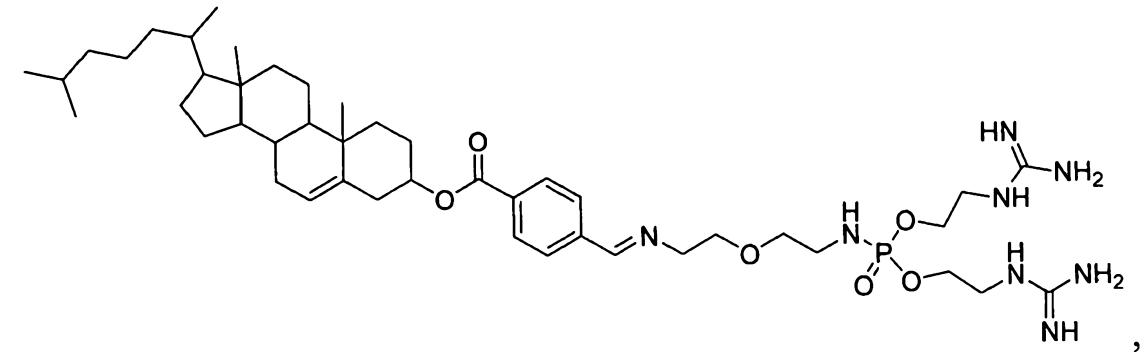
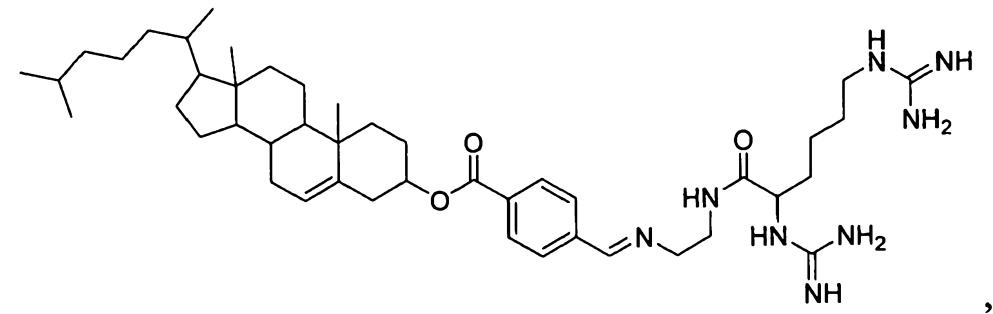
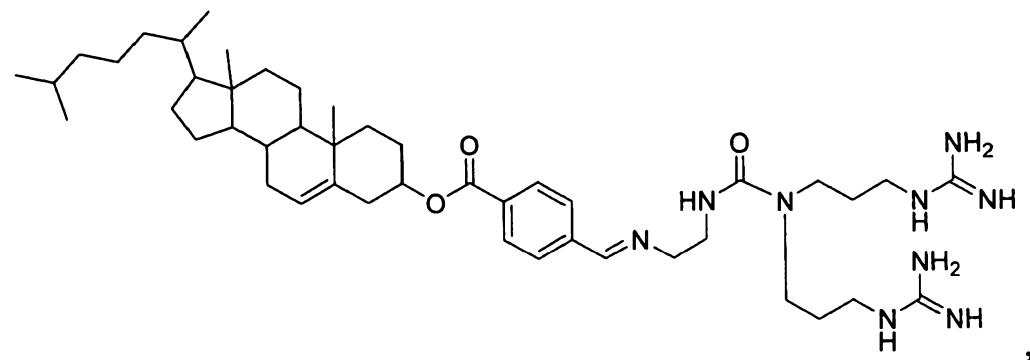
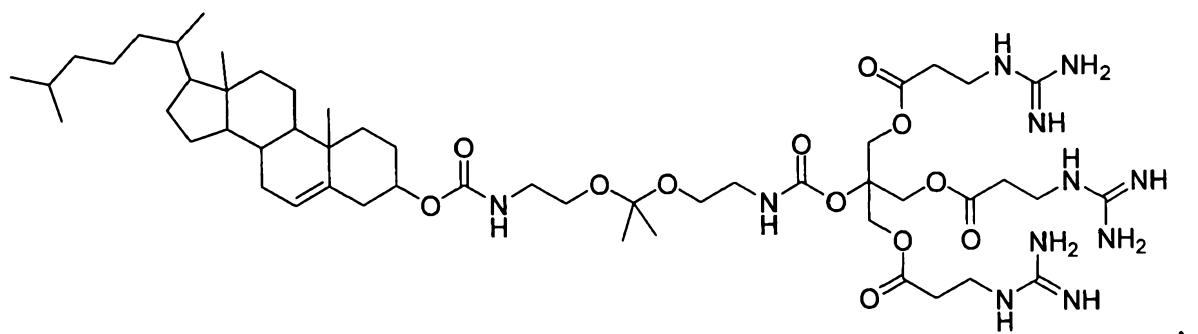
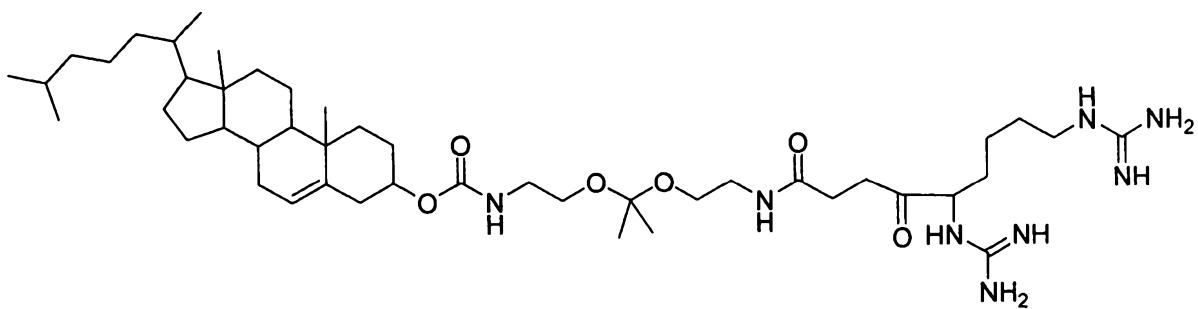
201021853



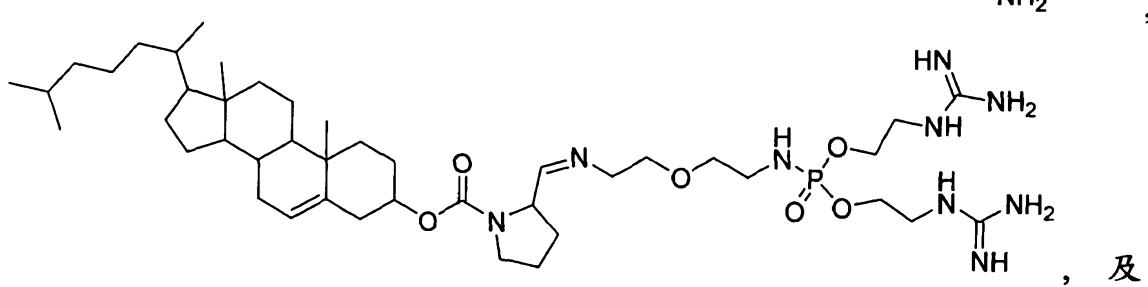
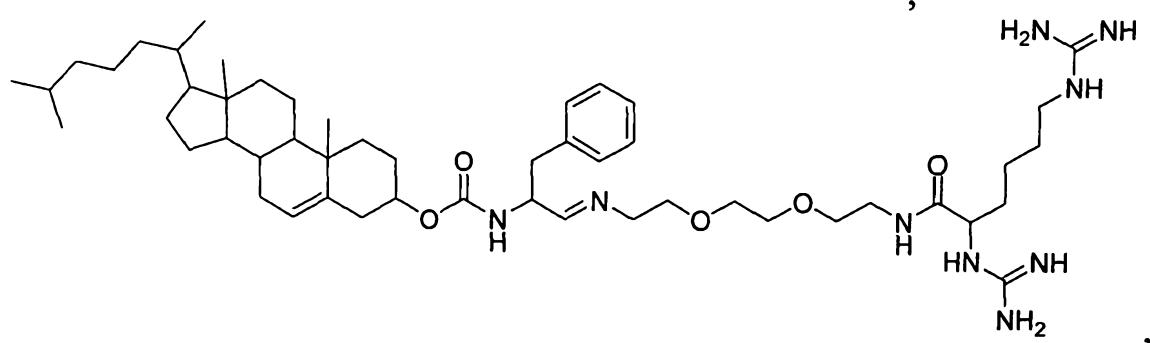
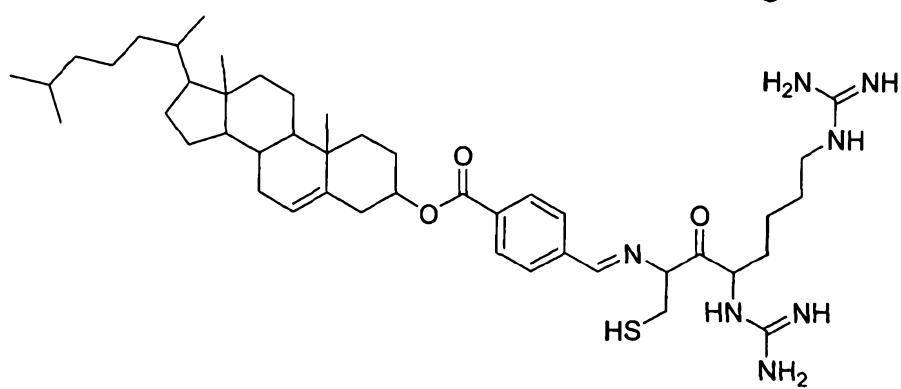
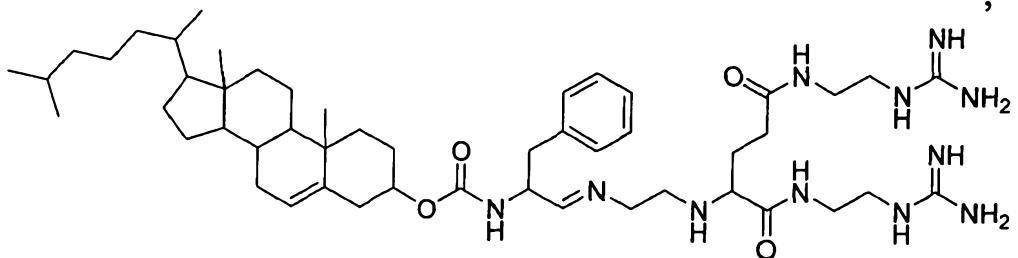
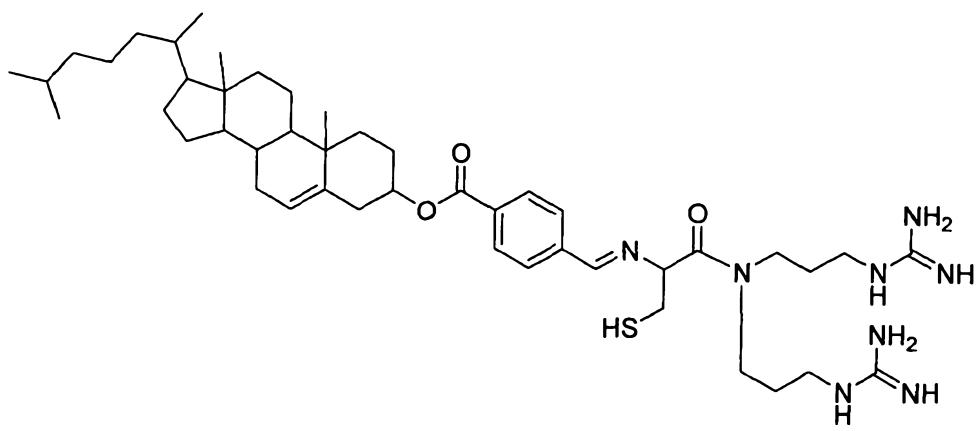
201021853

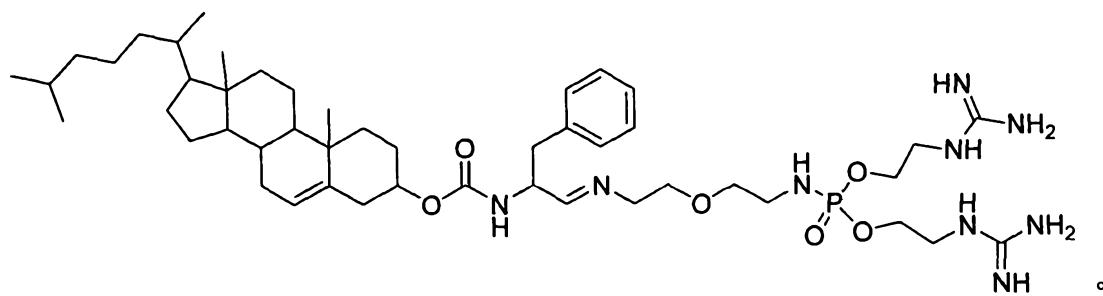


201021853



201021853

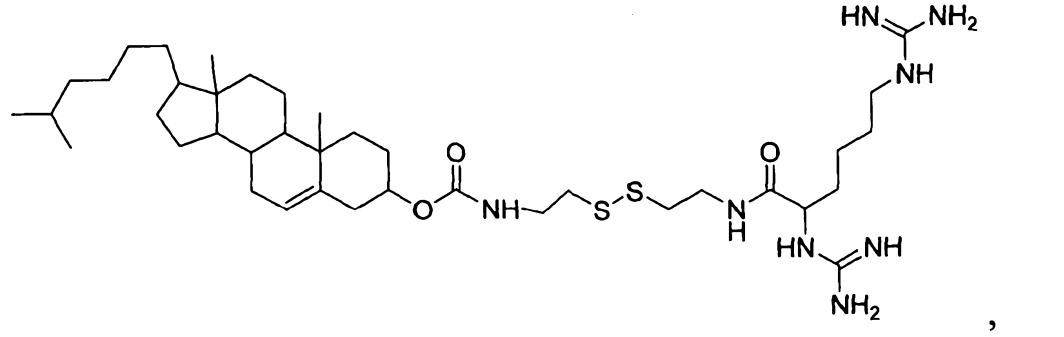
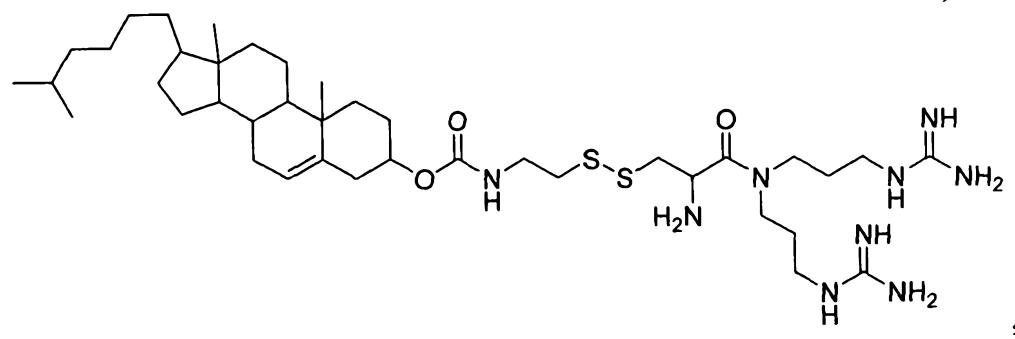
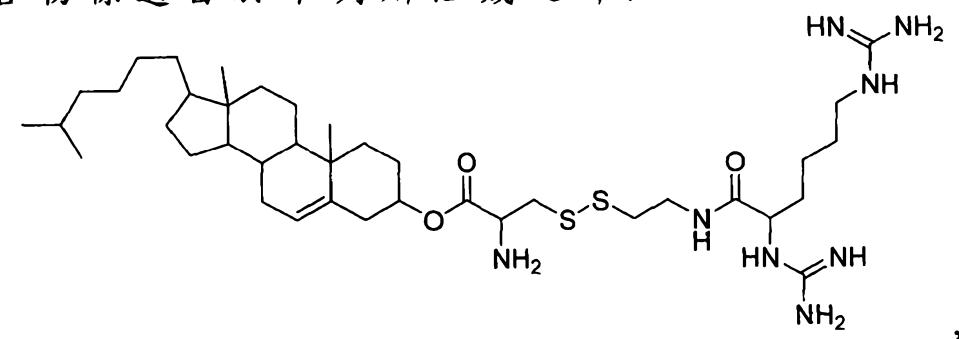




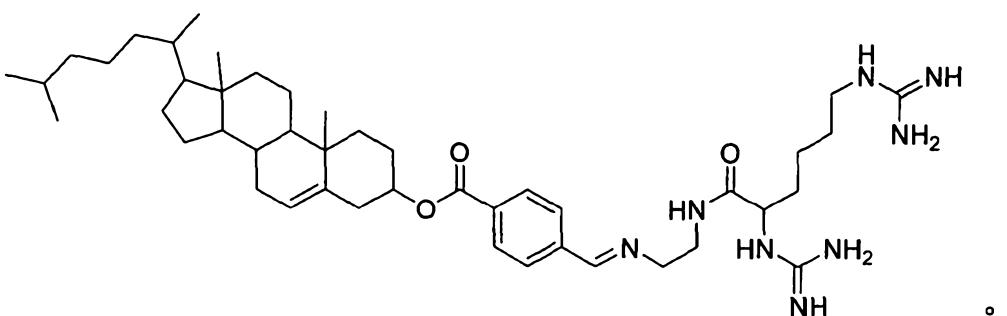
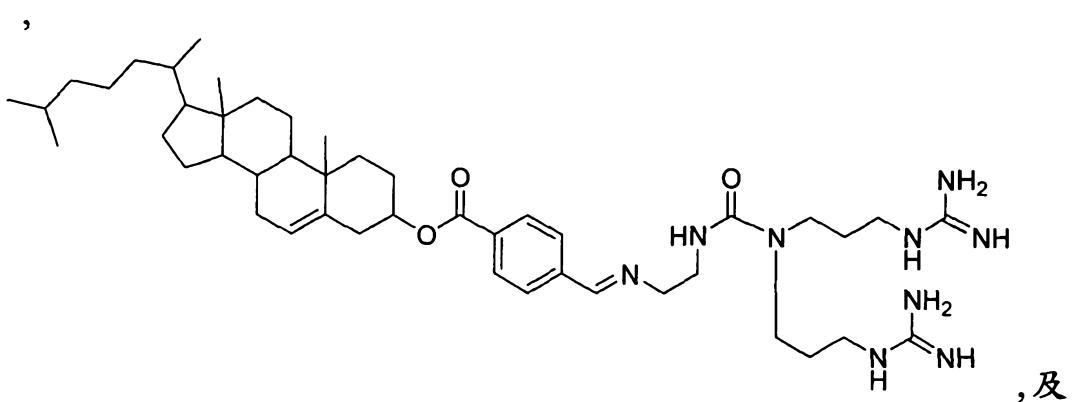
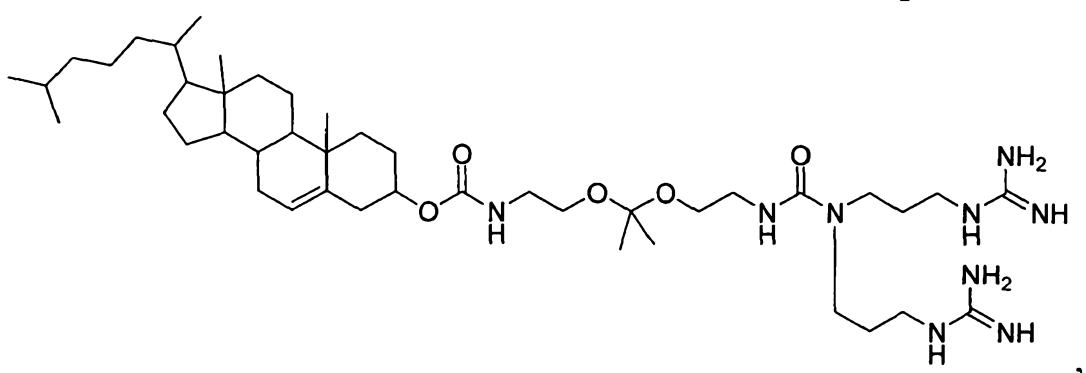
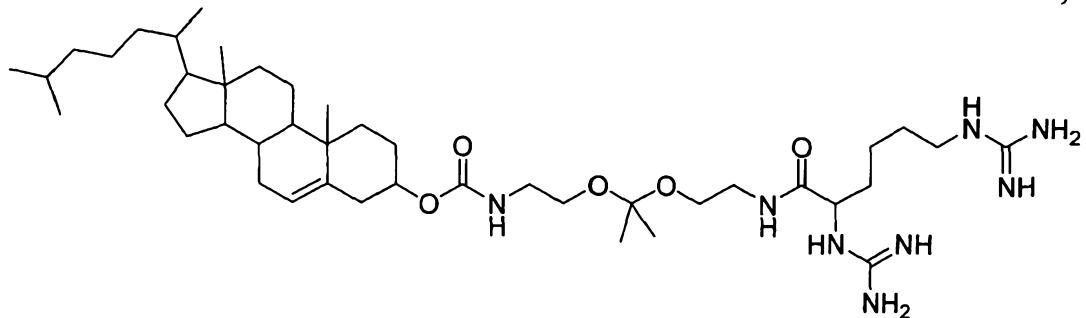
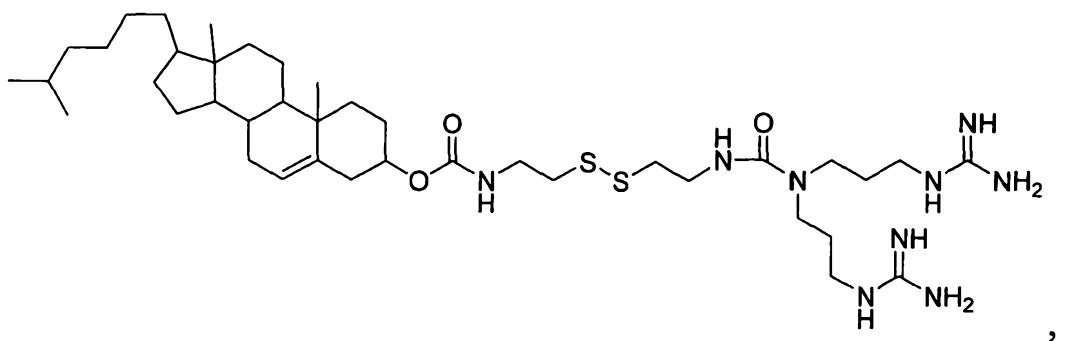
25. 一種奈米粒子組成物，其包含如申請專利範圍第 1 項之式(I)化合物。

26. 如申請專利範圍第 25 項之奈米粒子組成物，其進一步包含融合性脂質及 PEG 脂質。

27. 如申請專利範圍第 25 項之奈米粒子組成物，其中式(I)化合物係選自於下列所組成之群組：



201021853



28.如申請專利範圍第 26 項之奈米粒子組成物，其中該

融合性脂質係選自於 DOPE、DOGP、POPC、DSPC、EPC 及其組合所組成之群組。

29.如申請專利範圍第 26 項之奈米粒子組成物，其中該 PEG 脂質係選自於 PEG-DSPE、PEG-二棕櫚醯基甘醯胺、C16mPEG-腦醯胺及其組合所組成之群組。

30.如申請專利範圍第 26 項之奈米粒子組成物，其另外包含膽固醇。

31.如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物，其中式(I)化合物之莫耳比係在存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 10%至約 99.9%的範圍內。

32.如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物，其中式(I)化合物之莫耳比係在存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 15%至約 25%的範圍內。

33.如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物，其中包括式(I)化合物之陽離子脂質、以非膽固醇為基之融合性脂質、PEG 脂質及膽固醇之莫耳比為存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 15-25%:20-78%:0-50%:2-10%。

34.如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物，其係選自於下列所組成之群組：

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE) 與膽固醇之混合物；

式(I)化合物、二醯基磷脂醯膽鹼、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE) 與膽固醇之混合物；

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、二醯基磷脂醯膽

鹼、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE) 與膽固醇之混合物；

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、與腦醯胺共軛之 PEG (PEG-Cer) 與膽固醇之混合物；或

式(I)化合物、二醯基磷脂醯乙醇胺、與磷脂醯乙醇胺共軛之 PEG (PEG-PE)、與腦醯胺共軛之 PEG (PEG-Cer) 與膽固醇之混合物。

35.如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物，其中式(I)化合物、DOPE、膽固醇及 C16mPEG-腦醯胺係以為存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 17%:60%:20%:3% 的莫耳比被包含。

36.如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物，其中式(I)化合物、DOPE、膽固醇、PEG-DSPE 及 C16mPEG-腦醯胺係以為存在於奈米粒子組成物中之總脂質之約 18%:60%:20%:1%:1% 的莫耳比被包含。

37.一種奈米粒子，其包含被包封於如申請專利範圍第 30 項之奈米粒子組成物內的核酸。

38.如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子，其中該核酸為單股或雙股寡核苷酸。

39.如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子，其中該核酸係選自由下列所組成之群組：脫氧核苷酸、核糖核苷酸、鎖核酸 (LNA)、短干擾 RNA (siRNA)、微 RNA (miRNA)、適體 (aptamer)、肽核酸 (PNA)、二胺基磷酸酯 N-嗎啉基寡核苷酸 (PMO)、三環-DNA、雙股寡核苷酸 (誘餌

ODN) 、催化性 RNA (RNAi) 、適體 、鏡像異構體 (spiegelmer) 、 CpG 寡聚物及其組合。

40.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸為反義寡核苷酸。

41.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸具有磷酸二酯或硫代磷酸酯鍵聯及其組合。

42.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸包括 LNA 。

43.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸具有約 8 至 50 個核苷酸。

44.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸抑制致癌基因、促血管生成路徑基因、促細胞增殖路徑基因、病毒感染因子基因及促炎性路徑基因之表現。

45.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸係選自由下列所組成之群組：反義 bcl-2 寡核苷酸、反義 HIF-1 α 寡核苷酸、反義存活素 (survivin) 寡核苷酸、反義 ErbB3 寡核苷酸、反義 PIK3CA 寡核苷酸、反義 HSP27 寡核苷酸、反義雄激素受體寡核苷酸、反義 Gli2 寡核苷酸及反義 β -索煙素 (β -catenin) 寡核苷酸。

46.如申請專利範圍第 38 項之奈米粒子，其中該寡核苷酸包含八個或以上如 SEQ ID NO: 1 、 SEQ ID NO 2 及 3 、 SEQ ID NO: 4 、 SEQ ID NO: 5 、 SEQ ID NO: 6 、 SEQ ID NO: 7 、 SEQ ID NO: 8 、 SEQ ID NO: 9 、 SEQ ID NO: 10 、 SEQ ID NO: 11 、 SEQ ID NO: 12 、 SEQ ID NO: 13 、 SEQ ID NO: 14 、 SEQ

ID NO: 15 及 SEQ ID NO: 16 中所示之連續核苷酸，且各核酸為天然存在或經修飾之核酸。

47.如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子，其中該核酸與式(I)化合物之電荷比在約 1:20 至約 20:1 之範圍內。

48.如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子，其中該奈米粒子具有範圍從約 50 nm 至約 150 nm 之大小。

49.一種治療哺乳動物之疾病的方法，其包括將如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子投予有需要之哺乳動物。

50.一種將寡核苷酸引入細胞中之方法，其包括使細胞與如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子接觸。

51.一種抑制人類細胞或組織之基因表現的方法，其包括使人類細胞或組織與如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子接觸。

52.如申請專利範圍第 51 項之方法，其中該細胞或組織為癌細胞或組織。

53.一種下調哺乳動物之基因表現的方法，其包括將有效量之如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子投予有需要之哺乳動物。

54.一種抑制癌細胞生長或增殖之方法，其包括使癌細胞與如申請專利範圍第 37 項之奈米粒子接觸。

55.如申請專利範圍第 54 項之方法，其進一步包括投予抗癌劑。

201021853

八、圖式：

(如次頁)

201021853

圖 1

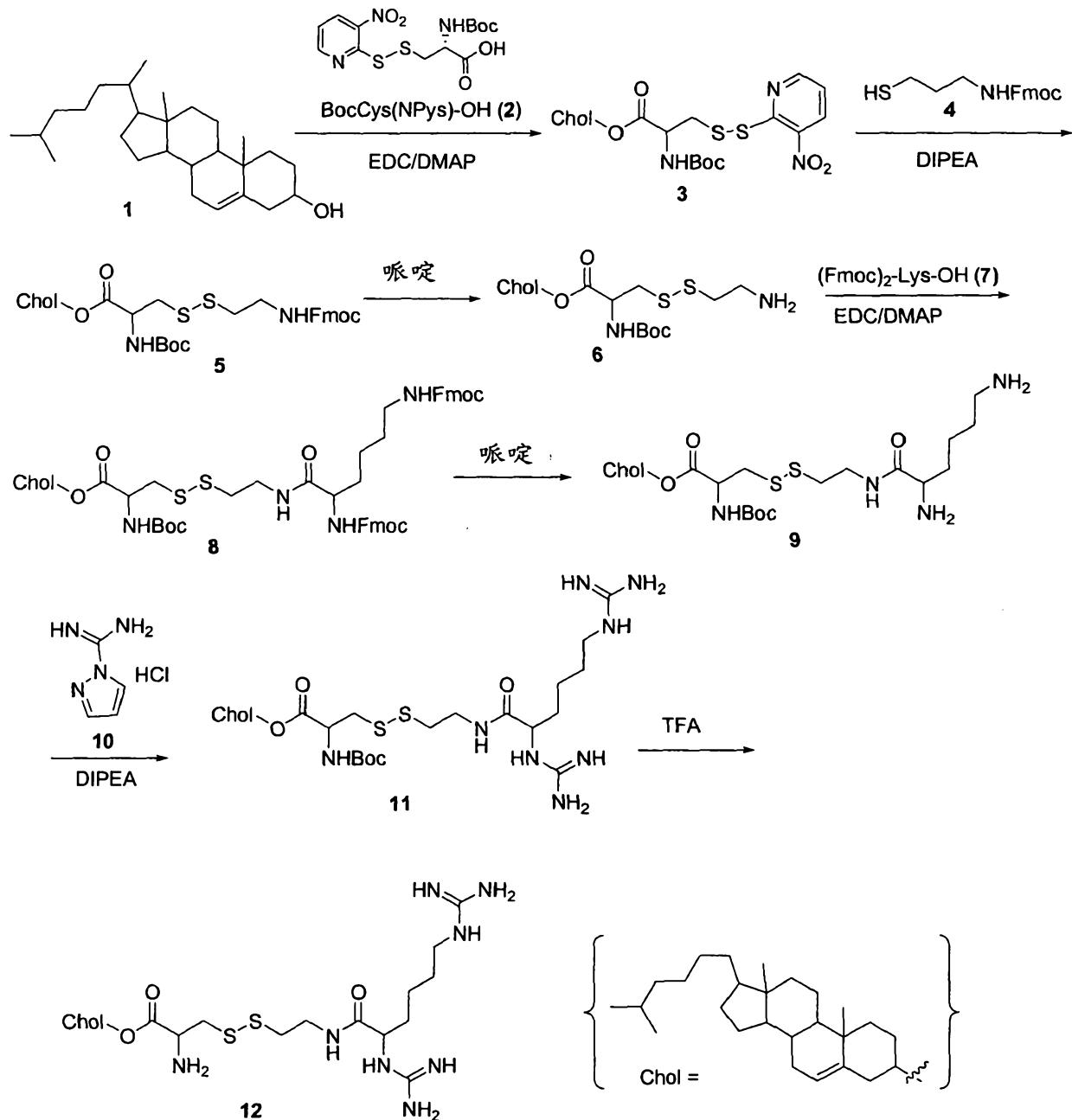
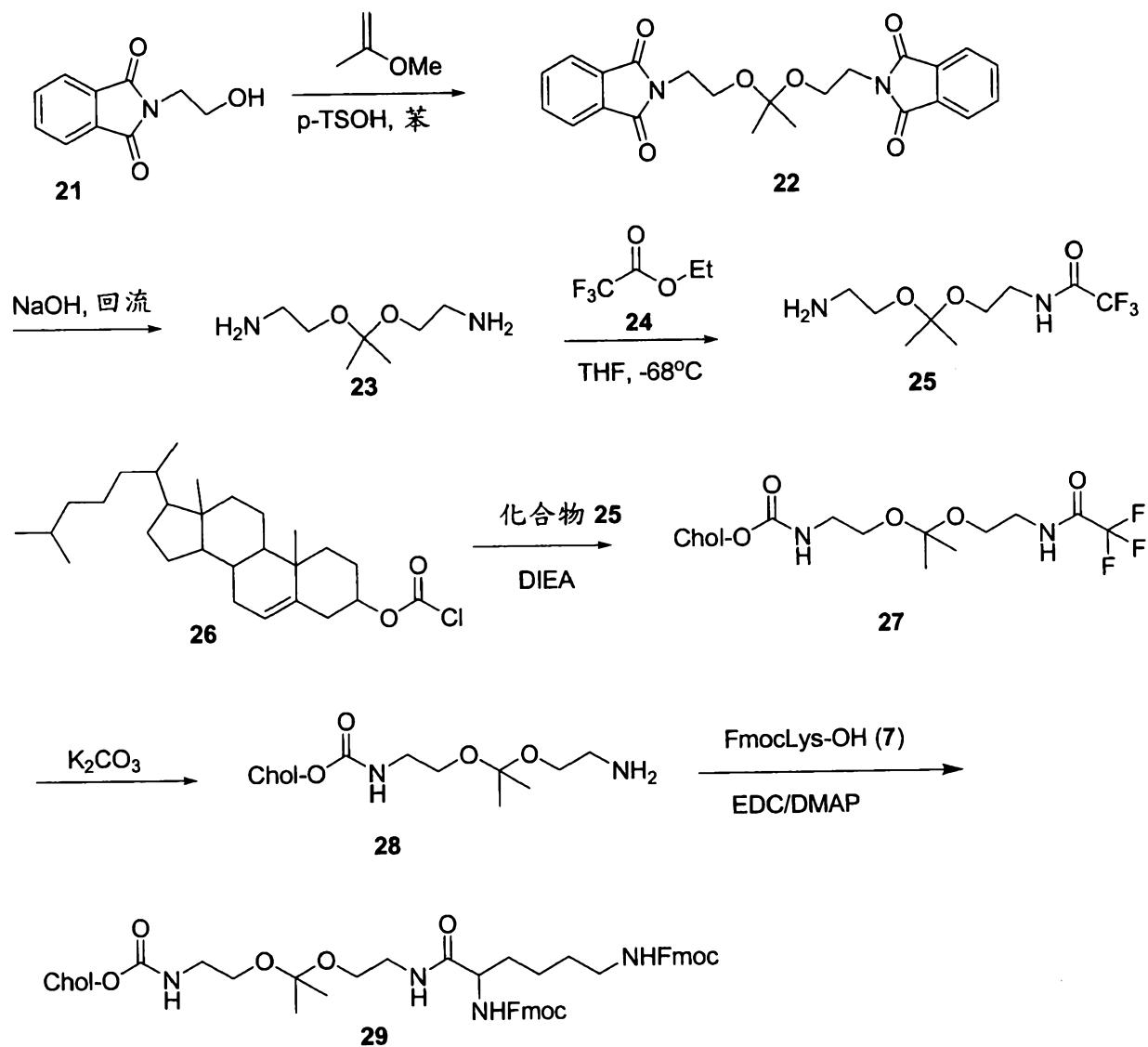
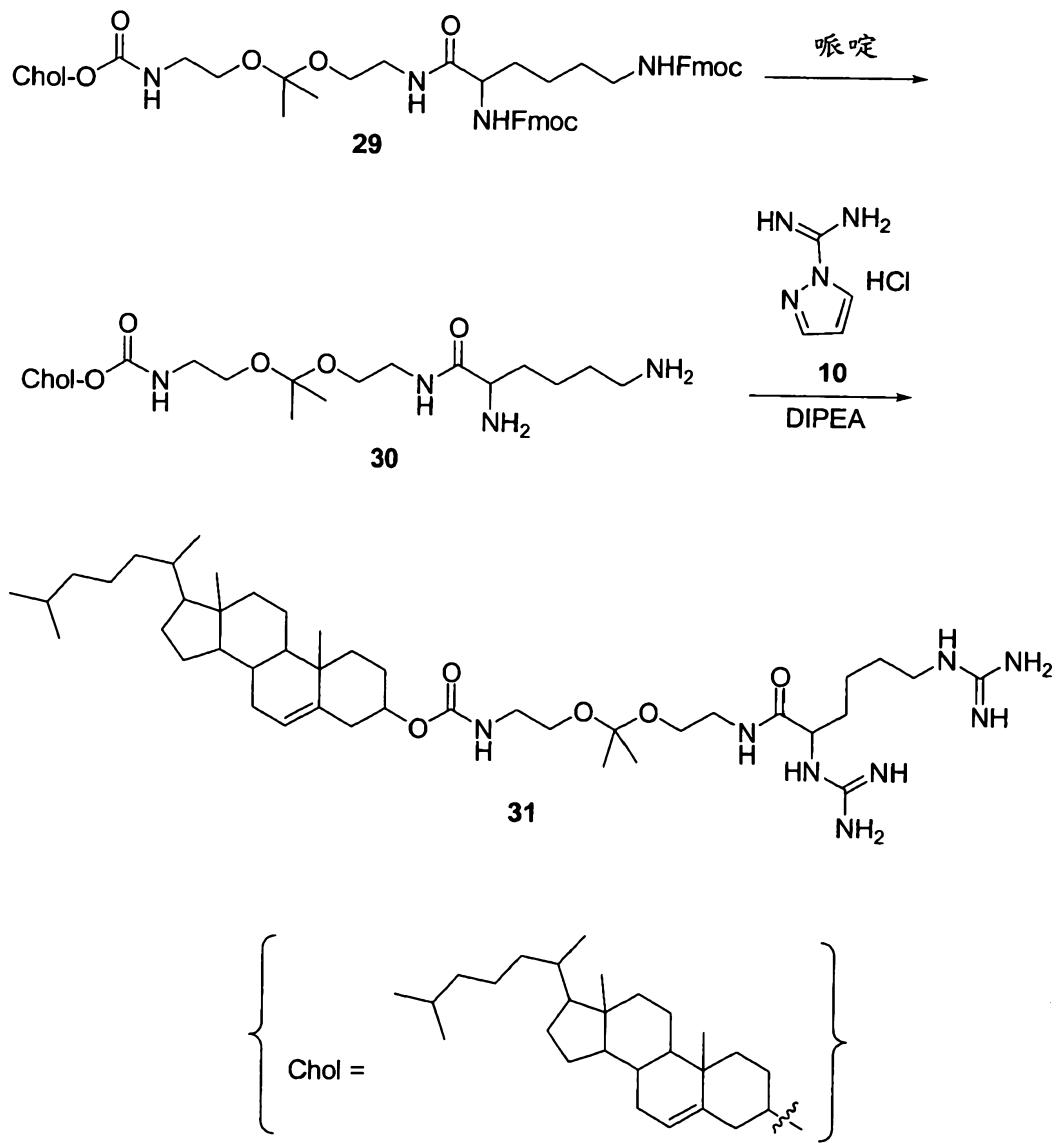


圖 2

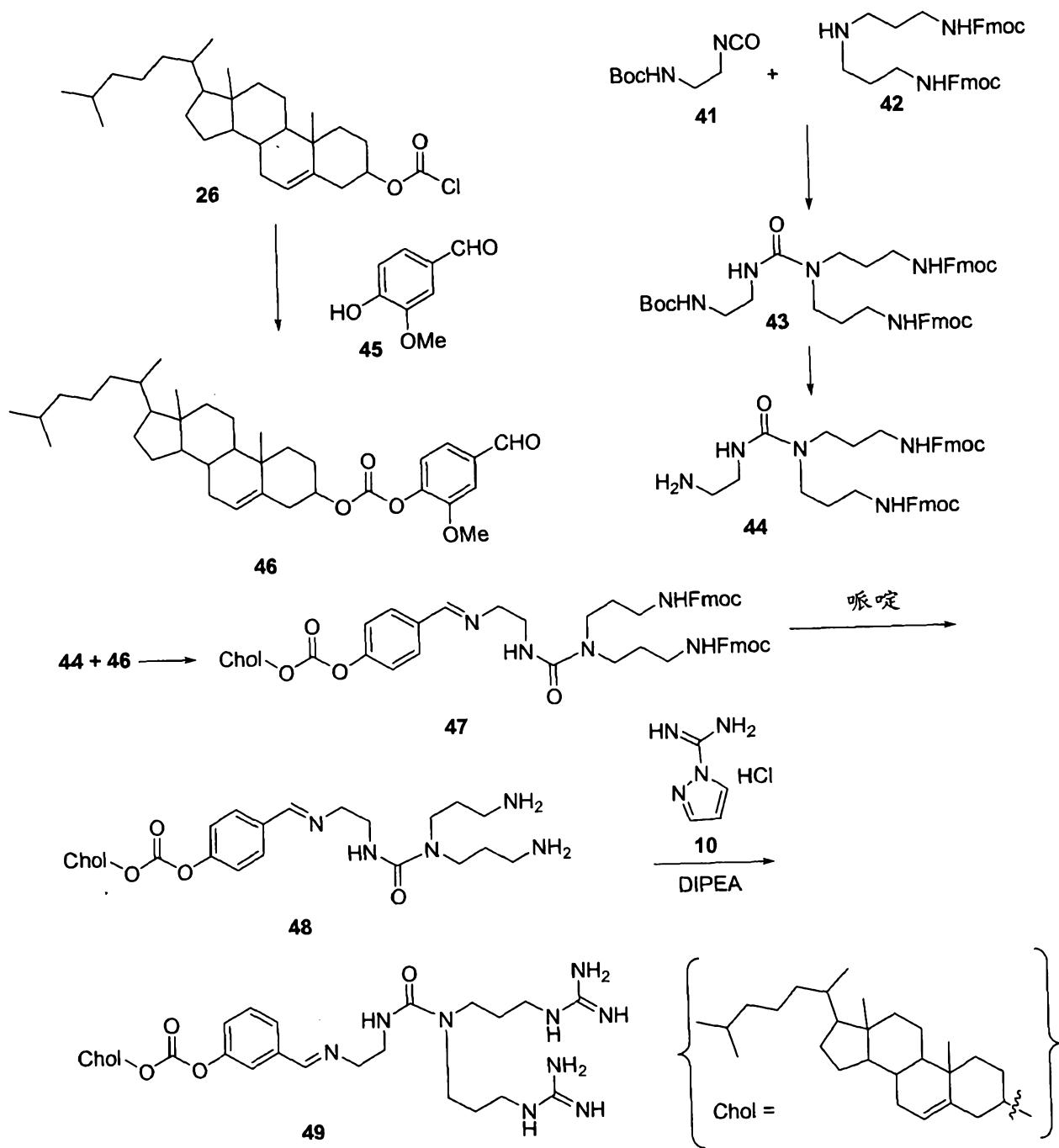


201021853

圖 3

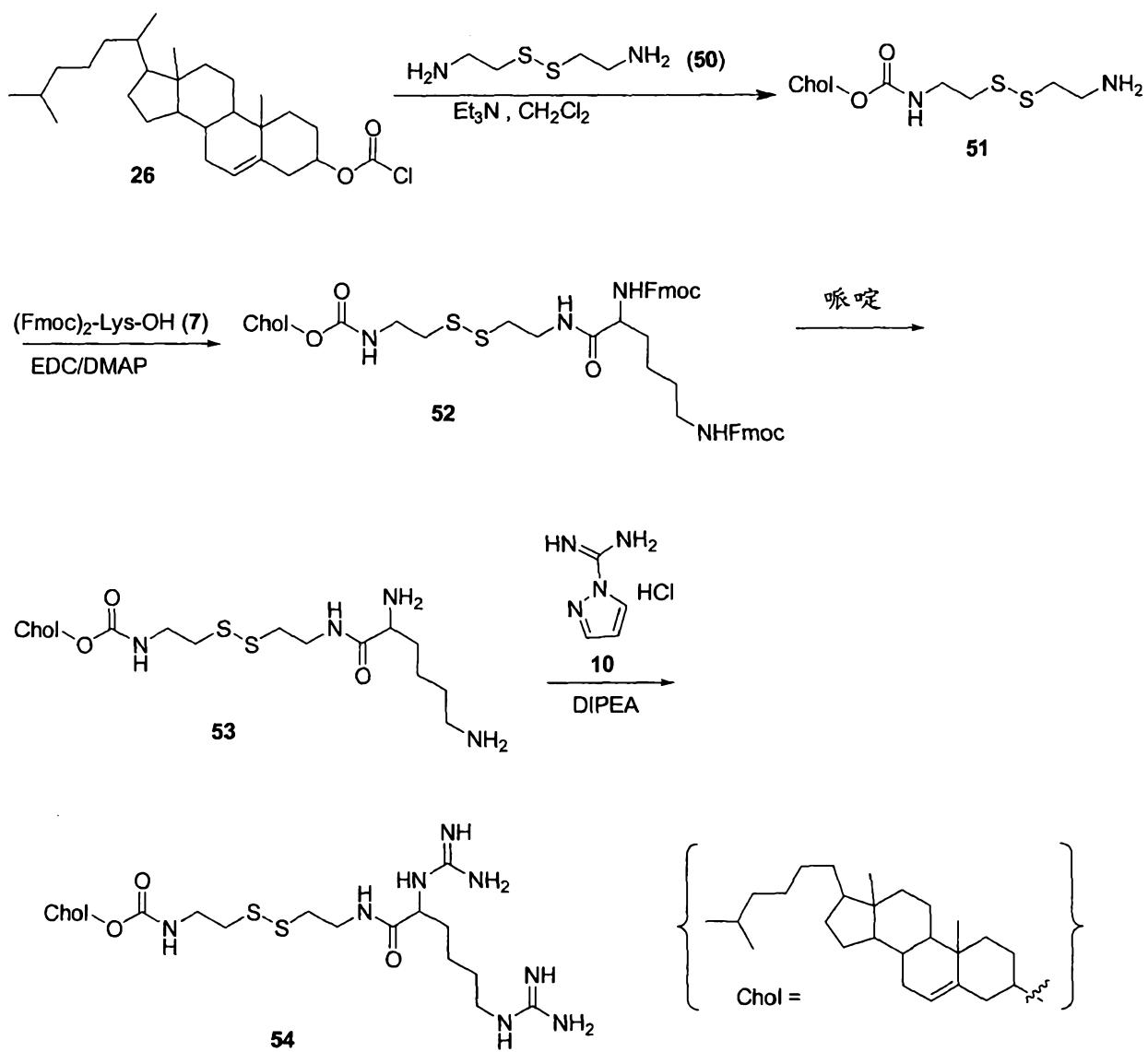


四 4



201021853

圖 5



201021853

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 1 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明:

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

